اثر تنظیم کننده‌های رشد گیاهی در باززایی مستقیم سوخچه از ریزنمونه فلسی لاله واژگون

سعید حمیداوغلی[۱]، اسماعیل چمنی[۲]، یوسف حمیداوغلی[۳*] و نگار طالعی[۴]

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۱/۱۰/۱۰ ؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۲/۵/۹)

چکیده

لاله واژگون (*Fritillaria imperialis*) گیاهی تک‌لپه از خانواده Liliaceae است. علاوه بر گل زیبا از ارزش دارویی بالایی نیز برخوردار است و به‌صورت وحشی در مناطقی از کشور ایران رشد می‌کند. به‌دلیل برداشت کنترل‌نشده گل و سوخ‌های این گیاه، بقای لاله واژگون در بسیاری مناطق ایران با تهدید روبرو شده‌است. این گیاه در شرایط مناسب حدود ۶ سال طول می‌کشد تا بتواند سوخی تولید کند که توانایی تشکیل گل را دارا باشد. به‌علاوه گیاهان حاصل از بذر به‌دلیل دگر گرده افشانی گونه‌های *Fritillaria* شبیه والدین نخواهند بود. افزایش انبوه لاله واژگون از طریق روش‌های مرسوم دیگر از قبیل کشت فلس از کارایی لازم برخوردار نبوده است. بنابراین با توجه به ضرورت حفظ و محافظت از آن در عرصه‌های طبیعی، ازدیاد درون شیشه‌ای این گیاه مورد توجه قرار گرفت. در این پژوهش باززایی مستقیم سوخچه از کشت فلس‌های گندزدایی شده‌ی لاله واژگون در محیط پایه موراشیگ و اسکوگ در حضور تنظیم کننده‌های رشد IAA، TDZ، Kinetin، BA، NAA به‌طور جداگانه و ۴ ترکیب از Kinetin و NAA مورد بررسی قرار گرفت. بالاترین میزان باززایی مستقیم (۸/۳۳ عدد سوخچه)، بیشترین اندازه سوخچه (۲۶ میلی‌متر) و بالاترین تعداد ریشه (۸ عدد) در ۲ میلی‌گرم در لیتر NAA به‌دست آمدند. کمترین تولید سوخچه در تیمارهای هورمون TDZ مشاهده شد زیرا در حضور TDZ، محدود سوخچه‌های تشکیل شده به‌جای بزرگ شدن به سمت تولید کالوس‌تمایل داشتند. در تیمار BA باززایی صورت نگرفت. نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که ازدیاد درون شیشه‌ای گیاه لاله واژگون، با استفاده از ۲ میلی‌گرم هورمون NAA امکان‌پذیر می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: لاله واژگون، ازدیاد درون شیشه‌ای، هورمون‌های رشد، فلس

۱ و ۲. به‌ترتیب دانشجوی کارشناسی ارشد و دانشیار گروه علوم باغبانی، دانشگاه محقق اردبیلی

۳ و ۴. به‌ترتیب دانشیار و دانشجوی کارشناسی ارشد گروه علوم باغبانی، دانشگاه گیلان

*: مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: Hamidoghli@guilan.ac.ir

مقدمه

لالـه واژگـون (*Fritillaria* spp.) یکـی از گیاهـان موجـود در خانواده Liliaceae است. این تیره شامل گیاهـانی غالباً علفـی، دارای پیاز و ریزوم می‌باشد (٦). لاله واژگـون بـه‌دلیـل زیبـایی، بازارپسندی بـالایی دارد و بـازارهـای کشـورهـای آمریکـایی و اروپایی توجه خاصی به این گیاه نشان می‌دهند (۱). در مقیـاس تجارتی تنها ۲ گونـه لالـه واژگـون شـامل *F. imperialis* و *F. meleagris* پرورش می‌یابند (۹). این گیـاه از نظـر دارویـی نیـز اهمیت فراوان دارد و آلکالوئیدها و گلیکوزیدهـای متعـددی در این گیاه مشخص شده است. در ایران دو گونه *F. persica* و *F. imperialis* وجـود دارد کـه براسـاس سیاسـت‌هـای سـازمان حفاظت محیط زیست به‌عنوان ذخیره ژنتیکـی و عنصـر زیبـایی شناختی قلمداد شده و نیاز به حفاظت دارند زیـرا بـا توجـه بـه پراکنش محدود و متراکم، چرای دام‌ها، جاده سازی، بوته کنـی، برداشت گل و پیاز، به‌نظر می‌رسد بقای لالـه واژگـون در آینـده با چالش روبه‌رو گردد (۳).

لاله واژگون را می‌توان از طریق کاشت بذر و روش‌هـایی از قبیل تقسیم سوخ و فلس‌برداری ازدیاد کرد. از زمان کشت بـذر تا تولید سوخی که توانایی تشکیل گـل را دارا باشـد، حـدود ۶ سال زمان لازم است. با این حال در ایـن روش ازدیـاد بـه‌دلیـل هتروزیگوت بودن والدین، نتایج شبیه به اصل نخواهند شد و به همین دلیل در مورد ارقام تحت کشـت بایـد از طریـق رویشـی به‌وسیله تقسیم سوخ و فلس‌بـرداری اقـدام کـرد (۲). در مـورد بعضی جنس‌ها مثل *Lilium* فلس‌برداری موفق است ولی در لاله واژگون به‌دلیل کـم بـودن تعـداد فلـس هـا، محـدودیت نقـاط مریستمی وجود دارد (۱)، بنابراین افزایش انبوه لاله واژگـون از طریق کشت درون شیشه‌ای قابل توجیه خواهد بـود. عـلاوه بـر این موفقیت در ازدیاد درون شیشه‌ای گیاه مـی‌توانـد در پیشـبرد برنامه‌های اصلاحی در جهت انتقال ژن‌های مفیـد از گونـه‌هـای وحشی به گونه‌های تجارتی بسیار مؤثر باشد. اوکاوا و کیتاجیمـا (۱۳) کشت درون شیشه‌ای *F. camtschatcensis* را در ۸ هفتـه و در دمای ۱۵، ۲۰ و ۲۵ درجه سانتی‌گراد مـورد بررسـی قـرار دادند. بهترین شرایط برای تشـکیل سـوخچه در تیمـار تـاریکی همراه با ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر نفتـالین اسـتیک اسـید (NAA) در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد گزارش شد.

شی او و همکاران (۱۵) تولید انبوه گونه *F. hupehensis* را بـا سـه نـوع ریزنمونـه فلـس، سـاقه و بـرگ در شـرایط درون شیشه‌ای مـورد بررسـی قـرار دادنـد. بیشـترین درصـد بـاززایی سوخچه از ریزنمونه فلس و پـس از آن بـه‌ترتیـب از ریزنمونـه ساقه و برگ به‌دست آمد. هم‌چنین ۴ میلـی‌گـرم در لیتـر NAA باعـث افـزایش کـالوس‌دهـی ریزنمونـه و بهبـود ریشـه‌زایـی سوخچه‌های تشکیل شده گردید.

پـاک کـی و مـورفی (۱۴) از کشـت درون شیشـه‌ای ریـز نمونه‌های فلسی گونه *F. thunbergii*، درصـد بـالایی سـوخچه به‌دست آوردند و این سـوخچه‌هـا بعـد از ۱۲ هفتـه از کشـت، تولید برگ و ریشه نمودند. به‌طـور میـانگین ۱۳/۷ سـوخچه از فلس در محیط کشت موراشیگ و اسکوگ (MS) همراه بـا ۰/۳ میلی‌گـرم در لیتـر NAA و ۱ میلـی‌گـرم در لیتـر کینتـین (kin) به‌دست آمد. کشت‌هایی که در چرخه ۱۶ ساعت روشـنایی نـور فلورسنت ($40\ \mu mol\ m^{-2}\ s^{-1}$) و ۸ ساعت تاریکی در دمـای ۲۵ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند، سـوخچه‌هـای مطلـوب‌تـری نسبت به کشت‌هایی که در تاریکی مطلـق در دمـای ۲۵ درجـه سانتی‌گراد نگهداری شدند، تولید کردند.

محمـدی ده‌چشـمه (۱۰) در پژوهشـی بـا بررسـی بـاززایی غیرمسـتقیم از ریزنمونـه‌هـای گلبـرگ *F. imperialis*، محـیط کشتB5 (۴) دارای ۰/۱ میلی‌گرم در لیتـر بنزیـل آمینـو پـورین (BAP)، ۰/۶ میلی‌گرم در لیتـر NAA و ۰/۴ میلـی‌گـرم در لیتـر ایندول استیک اسـید (IAA) مناسـب‌تـرین تیمـار بـرای تولیـد سوخچه به تعداد ۵ عدد به ازای هر ریزنمونه گزارش نمود.

مطالعـات موجـود در زمینـه ریزازدیـادی *F. imperialis* از طریق سوخچه بسیار محدود است. با توجه بـه ارزش تجـاری، دارویـی و خطـر انقـراض گیـاه *F. imperialis* و هـم‌چنـین مشکلات موجود در زمینه ازدیاد این گیاه از طریق بذر و تقسیم سوخ، هدف این پژوهش دسـتیابی بـه محیطـی مناسـب جهـت

شکل ۱. سوخچه‌های تشکیل شده در تیمار ۲ میلی‌گرم در لیتر NAA

تولید سوخچه در محیط درون شیشه‌ای با استفاده از ریزنمونه‌های حاصل از سوخ است که می‌تواند علاوه بر ازدیاد انبوه، در جهت پیشبرد اهداف اصلاحی نیز مورد استفاده قرار گیرد.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی

سوخ‌های *F. imperialis* مورد استفاده در این پژوهش در اواخر خرداد ماه از منطقه اقلید استان فارس جمع‌آوری شدند و به آزمایشگاه کشت بافت پارک علم و فناوری استان گیلان منتقل و به‌مدت دو ماه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد جهت سپری شدن دوران رکود نگهداری شدند.

گندزدایی

ابتدا سوخ لاله واژگون با چاقو باز و تمامی قسمت‌های بیرونی و داخلی آن با آب و مایع ظرفشویی و هم‌چنین با مالش دادن ابر روی آنها به‌طور کامل شسته شدند. سپس نمونه‌ها در زیر هود استریل به‌مدت ٦٠ ثانیه در الکل ۷۰ درصد غوطه‌ور گردیدند و پس از آن به‌مدت ۲۰ دقیقه با هیپوکلریت سدیم ۱/۵ درصد گندزدایی شدند. سپس ۳ بار با آب مقطر استریل شستشو و جهت اطمینان از عدم آلودگی به‌مدت ۱ هفته به محیط کشت MS بدون هورمون منتقل شدند.

تیمارها

جهت باززایی مستقیم سوخچه، ریزنمونه‌های عاری از آلودگی به محیط کشت MS دارای ۳۰ گرم در لیتر سوکروز، ۸ گرم در لیتر آگار و pH= ۵/۸ به همراه تنظیم کننده‌های رشد IAA (۱، ۲ و ۴ میلی‌گرم در لیتر)، تیدیازورون (TDZ) (۰/۱، ۰/۲ و ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر)، kin (۱، ۲ و ۴ میلی‌گرم در لیتر)، بنزیل آدنین (BA) (۱، ۲ و ۴ میلی‌گرم در لیتر)، NAA (۱، ۲ و ۴ میلی‌گرم در لیتر) و چهار ترکیب هورمونی 1mg/l kin +1mg/l NAA، 2mg/l kin +1mg/l NAA، 1mg/l kin + 2mg/l NAA، 2mg/l kin +2mg/l NAA و محیط کشت MS بدون هورمون به‌عنوان شاهد منتقل شدند. کشت‌ها در انکوباتور در دمای $25\ ^{o}C$ و فتوپریود ١٦ ساعت نور و ۸ ساعت تاریکی نگهداری شدند. تجزیه واریانس داده‌ها با استفاده از نرم افزار SAS نسخه ۹/۱ در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۷ تکرار و ۳ نمونه در هر تکرار و مقایسه میانگین داده‌ها با استفاده از آزمون توکی در سطح احتمال ۵ درصد انجام گرفت.

نتایج

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که غلظت‌های مختلف تنظیم کننده‌های رشد گیاهی پس از ۸ هفته از کشت، بر باززایی مستقیم سوخچه، تعداد ریشه، اندازه سوخچه و وزن سوخچه لاله واژگون در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار است.

باززایی مستقیم: بررسی تأثیر غلظت‌های مختلف تنظیم‌کننده‌های رشد روی باززایی گیاه لاله واژگون نشان داد که بیشترین باززایی مستقیم (۸/۳۳) در تیمار ۲ میلی‌گرم در لیتر NAA تولید می‌شود (شکل ۱) که با تیمار 2 mg/l NAA + 1mg/l kin (۷/۳۳) اختلاف معنی‌دار نشان نداد. کمترین باززایی در تیمار شاهد مشاهده شد که با تیمارهای TDZ و

جدول ۱. مقایسه میانگین تیمارهای مختلف هورمونی روی باززایی مستقیم، قطر سوخچه و تعداد ریشه در سوخچه‌های تولید شده از کشت فلس گیاه *F. imperialis*

تیمار	تعداد سوخچه مستقیم	تعداد ریشه	قطر سوخچه (میلی‌متر)	وزن سوخچه (میلی‌گرم)
شاهد	۱ ed*	۰ f	۴/۳۳ h	۷۰ ed
۱ میلی گرم در لیتر NAA	۴/۳۳ b	۵ b	۹ egf	۱۳۰ ed
۲ میلی گرم در لیتر NAA	۸/۳۳ a	۸ a	۲۶ a	۱۵۹۰ a
۴ میلی گرم در لیتر NAA	۵ b	۵ b	۱۴ cd	۴۱۰ cbd
۱ میلی گرم در لیتر IAA	۱/۳۳ ed	۰/ ۳۳ fe	۵/۳۳ hg	۸۱ ed
۲ میلی گرم در لیتر IAA	۱/۳۳ ed	۱ fed	۷ hgf	۱۱۰ ed
۴ میلی گرم در لیتر IAA	۱/۳۳ ed	۰ f	۶ hgf	۱۰۰ ed
۰/۱ میلی‌گرم در لیتر TDZ	۱/ ۶۶ ced	۲ cfed	۵ hg	۸۰ ed
۰/۲ میلی‌گرم در لیتر TDZ	۱ ed	۱ fed	۵/۳۳ hg	۹۰ ed
۰/۵ میلی‌گرم در لیتر TDZ	۰/۶۶ e	۰ /۶۶ fe	۳ hi	۴۰ ed
۱ میلی گرم در لیتر BA	۰ e	۰ f	۰ i	۰ d
۲ میلی گرم در لیتر BA	۰ e	۰ f	۰ i	۰ d
۴ میلی گرم در لیتر BA	۰ e	۰ f	۰ i	۰ d
۱ میلی گرم در لیتر Kin	۳/۶۶ bc	۳ cbd	۹ egf	۲۱۰ ed
۲ میلی گرم در لیتر Kin	۴/۶۶ b	۳ cbd	۱۷ cb	۶۴۰ cb
۴ میلی گرم در لیتر Kin	۳ cbd	۱ fed	۱۰ edf	۲۷۰ ced
1 mg/l kin + 1 mg/l NAA	۴/۶۶ b	۲/۳۳ ced	۱۱/۳۳ ed	۲۰۰ ed
2 mg/l kin + 1 mg/l NAA	۴/۶۶ b	۲/۳۳ ced	۱۶/۳۳ cb	۶۶ b
1 mg/l kin + 2 mg/l NAA	۷/۳۳ a	۳/۳۳ cb	۲۰ b	۷۳۰ b
2 mg/l kin + 2 mg/l NAA	۴/۶۶ b	۱/۳۳ cfed	۱۶ cb	۶۴۰ cb

*: میانگین‌های دارای حروف مشترک در هر ستون در سطح ۵٪ آزمون توکی اختلاف معنی‌دار ندارند.

IAA تفاوت معنی‌داری نداشت. در هیچ‌یک از تیمارهای دارای BA، سوخچه‌ای تشکیل نشد (جدول ۱).

ریشه‌زایی

بیشترین تعداد ریشه (۸ عدد) در تیمار ۲ میلی‌گرم در لیتر NAA مشاهده شد درحالی‌که کمترین تعداد ریشه در تیمار ۱ میلی‌گرم در لیتر IAA تولید شد که با تیمار ۲ میلی‌گرم در لیتر IAA، ۴ میلی‌گرم در لیتر kin، 2 mg/l kin + 2 mg/l NAA و تیمارهای گروه TDZ تفاوت معنی داری نشان نداد. در تیمارهای شاهد، ۴ میلی‌گرم در لیتر IAA و غلظت‌های مختلف BA ریشه‌زایی انجام نشد (جدول ۱).

اندازه و وزن سوخچه

بلندترین (۲۶ میلی‌متر) و سنگین‌ترین (۱/۵۹ گرم) سوخچه پس

شکل ۲. بلندترین سوخچه تشکیل‌شده در محیط ۲ میلی‌گرم در لیتر NAA

(قسمت‌هایی از آن درحال تشکیل کالوس و باززایی غیرمستقیم است)

از ۲ ماه در تیمار ۲ میلی‌گرم در لیتر NAA به‌دست آمد (شکل ۲). کوچک‌ترین آن در تیمار شاهد با ۴/۳۳ میلی‌متر مشاهده شد که با تیمارهای گروه IAA و TDZ تفاوت معنی‌داری نشان نداد و سبک‌ترین سوخچه از محیط ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر هورمون TDZ به‌دست آمد (جدول ۱).

بحث

محمدی ده چشمه (۱۲) و غلامی (۵) علی‌رغم اعمال تیمارهای مختلف از قبیل الکل، هیپوکلریت سدیم، کلرید جیوه و تیمار حرارتی موفق به استقرار جداکشت‌های سالم از ریزنمونه فلس لاله واژگون نشدند و در نتیجه از ریزنمونه‌ی گلبرگ استفاده کردند؛ آنها ناموفق بودن خود در به‌دست آوردن ریزنمونه‌های سالم را به آلودگی داخلی باکتریایی مربوط دانستند و به‌همین دلیل به استفاده از جداکشت‌های غیر از سوخ، در ریزازدیادی گیاه لاله واژگون تأکید نمودند. نتایج این پژوهش نشان داد که با فرض وجود آلودگی داخلی در سوخ‌های مورد استفاده، این آلودگی‌ها در تمام قسمت‌های بافت فلس انتشار نداشته و یا دست‌کم بخش‌هایی از بافت فلس بدون آلودگی بوده است. به‌همین دلیل می‌توان با حذف و گندزدایی مجدد (چند مرحله‌ای) ریزنمونه‌ها، جداکشت‌های سالمی را از بافت فلس به‌دست آورد.

براساس مطالعات انجام شده روی ریزازدیادی گونه‌های مختلف *Fritilaria*، بیشترین تعداد سوخچه از ریزنمونه فلسی در گیاه *F. camtschatcensi* در تیمار ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر NAA (۱۳)، در گونه *F. hupehensis* در تیمار ۴ میلی‌گرم در لیتر NAA (۱۵) و در گونه *F. thunbergii* در تیمار۰/۳ میلی‌گرم در لیتر NAA و ۱ میلی‌گرم در لیتر کینتین گزارش شده است. این تحقیقات نشان می‌دهند که باززایی سوخچه *Fritillaria* در حضور تنظیم کننده‌های رشد گیاهی به‌ویژه NAA افزایش پیدا کرده است. در مطالعه حاضر نیز مشاهده شد که *F. imperialis* در محیط کشت MS دارای ۲ میلی‌گرم در لیتر NAA بیشترین باززایی مستقیم و رشد را دارد به‌طوری‌که بیشترین تعداد سوخچه در تیمار ۲ میلی‌گرم در لیتر NAA مشاهده شد، درحالی‌که در هر سه غلظت تیمارهای اعمال شده با BA سوخچه‌ای تشکیل نشد. در واقع BA نه تنها تولید سوخچه را تحریک نکرد بلکه در مقایسه با شاهد مانع از تولید سوخچه نیز شد. این نتایج با گزارش تاتاری و همکاران (۱۶) که عنوان نمودند اثر تیمار BA در ریزازدیادی گیاه سوسن چلچراغ باعث شد تا تعداد پیازچه، وزن پیازچه و تعداد ریشه کمتری نسبت به نمونه شاهد ایجاد شود، مطابقت دارد. با توجه به نتایج به‌دست آمده به‌نظر می‌رسد که اکسین NAA دارای نقش عمده‌ای در باززایی سوماتیکی لاله واژگون است. کومار و همکاران (۷) با استفاده از NAA بالاترین باززایی را در پیاز زنبق نسبت به هورمون‌های BA و TDZ به‌دست آوردند. با توجه به نتایج، به‌نظر می‌رسد تولید سوخچه در گیاه لاله واژگون بیشتر تحت تأثیر اکسین باشد به‌نحوی‌که بیشترین تعداد ریشه نیز از ریزنمونه‌های کشت شده در محیط دارای ۲ میلی‌گرم در لیتر NAA به‌دست آمد. این نتایج با گزارش شی‌او و همکاران (۱۵) که عنوان نمودند NAA باعث افزایش بهبود

ریشه‌زایی سوخچه‌های تشکیل شده گردید، مطابقت داشت. معلمی و چهرازی (۱۱) بیشترین تعداد ریشه را در گیاه گل کاغذی از تیمار NAA به‌دست آوردند. ماریسکا و همکاران اثر اکسین‌ها را روی رشد ریشه پیاز سوسن بررسی و بیشترین ریشه‌زایی را در محیط کشت دارای ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر IAA گزارش کردند. اکسین‌ها با تأثیر بر تقسیم سلولی، طویل شدن سلول و تمایز سلولی را تحریک می‌کنند و باعث افزایش تشکیل ریشه‌های جانبی می‌شوند (۸). هم‌چنین بیشترین اندازه و وزن سوخچه نیز در تیمار ۲ میلی‌گرم در لیتر NAA و سبک‌ترین سوخچه در تیمار ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر هورمون TDZ مشاهده شد زیرا در این غلظت از هورمون TDZ، محدود سوخچه‌های تشکیل شده به‌جای بزرگ‌شدن به سمت تولید کالوس تمایل داشتند. اکسین علاوه‌بر نقش عمده در باززایی در افزایش اندازه سوخچه نیز مؤثر است. دلیل این موضوع می‌تواند تشکیل شدن تعداد بیشتر ریشه در این غلظت از هورمون باشد که باعث جذب مواد غذایی بیشتر و رشد سریع‌تر سوخچه می‌شود. تولید سوخچه‌های مستقیم از ریزنمونه فلس ۲ ماه بعد از کاشت قابل حصول است درحالی‌که کالوس‌دهی و تولید سوخچه غیرمستقیم از روی کالوس حداقل ۴ ماه به‌طول می‌انجامد. با توجه به نرخ قابل قبول باززایی مستقیم سوخچه از ریزنمونه‌های فلسی، این روش راه سریع‌تری جهت ازدیاد درون شیشه‌ای گیاه لاله واژگون ارایه می‌دهد.

سپاسگزاری

از مسئولین و همکاران محترم پارک علم و فناوری استان گیلان به‌خاطر فراهم نمودن امکانات لازم در جهت اجرای این تحقیق تشکر و قدردانی می‌شود.

منابع مورد استفاده

1. Bryan, J. E. 2005. Bulbs. Timber Press. Oregon, London.
2. De Hertogh, A. and M. Lenard. 1993. The physiology of flower bulbs. *Elsevier* 718-739.
3. Eslamzadeh, N., H. Hoseini, H. Moradi and F. Dehkordi. 2009. Introduction of new habitat for the *Fritillaria*, a GIS approach. *Journal of Environmental Sciences and Technology* 11(1): 251-261 (In Farsi).
4. Gamborg, O. L., R .A .Miller and K. Ojima. 1968. Nutrient requirements of suspension cultures of soybean root cells. *Experimental Cell Research* 50: 151-158.
5. Gholami, M. 2007. Micropropagation of of inverted tulip (*Fritillaria imperialis* L.). MSc. Thesis, University of Avicenna. Hamedan, Iran.
6. Khalighi, A. 1997. Floriculture and Ornamental Plants of Iran, Tehran University Press, Iran.
7. Kumar, S., D. R. Sharma, Y. D. Sharma and N. S. Pathania. 2001. *In vit*ro propagation of Asiatic hybrid lily from bulb scales. *Indian Journal of Agricultural Sciences* 71: 463-465.
8. Lincoln, C. and M. Estelle. 1991. The axr1 mutation of Arabidopsis is expressed in both roots and shoots. *Journal of the Iowa Academy of Science* 98(2): 68-71.
9. MemarMoshrefi, M. 1998. Effect of hormones and environmental conditions on growthand development, bulb propagation andflowering in *Fritillaria*. PhD. Thesis, Horticulture Depatrtment., Tarbiat Modarres University. Tehran, Iran.
10. Mohammadi-Dehcheshmeh, M., A. Khalighi, R. Naderi, M. Sardari and E. Ebrahimie. 2008. Petal: A reliable explant for direct bulblet regeneration of endangered wild populations of *Fritillaria imperialis* L. *Acta Physiologia Plantarum* 30: 395-399.
11. Moalemi, N. and M. Chehrazi. 2003. The effect of auxin on rooting of cuttings (with and without leaves) in *Bougainvilliea spectabillis*. *In:* Proceeding of 3th Congress of Horticultural Science Abstracts. Karaj, Iran. pp. 110.
12. Mohamadi-Dehcheshmeh, M. 2005. Using tissue culture techniques in the reproduction of endangered species of theinverted tulip native to Iran. MSc. Thesis, Tehran University. Tehran, Iran.
13. Okawa, M., K. Junya, N. Kei, K. Norico. 1998. Studies on the propagation of *Fritillaria camtschatcensis* Ker-Gawl. by*in vitro* culture. II. Effect of plant hormones on the growth, leaf emergence, and rooting of bulblets. *Japanese Society for Horticultural Science* 68 (1): 184-188.
14. Paek, K. Y. and H. N. Murthy. 2002. High frequency of bulblet regeneration from bulb scale sections of *Fritillaria thunbergii*. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 68: 247-252.

15. Shiau, Y. J., C. D. Tai, C. C. Chen and H. S. Tsay. 2000. Studies on the tissue culture of *Fritillaria hupehensis*. *Journal of Agricultural Research of China* 49 (4): 29-38.
16. Tatari. M., R. Fotouhi Qazvini and Y. Hamidoghli. 2003. Effect of plant growth regulators and explants in *in vitro* culture of *Lilium ledebourii*. *Journal of Agricultural Sciences* 12: 19-28. (In Farsi)