دومین همایش بین المللی وپنجمین همایش ملی
پژوهش های محیط زیست و کشاورزی ایران
The second international and the fifth notional conference of IRANs
Environmental and Agricultural Research
۱۳ اسفند ۱۳۹٤
March 03 2016

تکثیر جوانه با استفاده از کورم زعفران (*Crocus sativus*) در شرایط این ویترو

عاطفه حاجی‌زاده[۱]، عباس صفرنژاد*[۲]، نسرین مشتاقی[۳] ، عبدالرضا باقری[۳]

[۱]دانشجوی کارشناسی ارشد بیوتکنولوژی کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد atefeh.hajizadeh۱۹۹۱@stu.um.ac.ir

[۲]عضو هیات علمی پژوهشکده تحقیقات بیوتکنولوژی کشاورزی (ABRII)، شعبه شرق و شمال‌شرق کشور sebre۱۴@abrii.ac.ir

[۳]عضو هیات علمی گروه بیوتکنولوژی و به نژادی گیاهی دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد moshtaghi@um.ac.ir

چکیده

زعفران با نام علمی *Crocus sativus* یکی از گیاهان زراعی مهم است که ماهیت تریپلوئیدی این گونه سبب سختی تکثیر جنسی در این گیاه شده است لذا تکثیر رویشی از طریق کورم‌ها تنها راه ازدیاد این گیاه است. نرخ تولید کورم‌های دختری در شرایط طبیعی کم می‌باشد و همچنین قارچ‌های بیماری‌زا و ویروس‌هایی که کورم‌ها را مورد هجوم قرار می‌دهند می‌توانند بر عملکرد این گیاه در شرایط خاص تاثیر بگذارند. لذا کشت بافت می‌تواند در تولید انبوه موثری از کورم‌های عاری از بیماری کمک نماید. بدین منظور کورم‌های ضدعفونی شده به اندازه ۱ تا ۲ سانتی‌متری در شرایط استریل جدا شده و برای جوانه‌زنی مورد استفاده قرار گرفتند. ریزنمونه‌ها در ۱۸ تیمار متفاوت شامل محیط کشت‌های MS و SH با ترکیب هورمونی BAP (۱، ۲ و ۳ میلی‌گرم در لیتر)و NAA (۰، ۰/۵ و ۱میلی‌گرم در لیتر) منتقل شدند. نتایج حاصل از آزمایش نشان داده است که بیشترین درصد جوانه زنی (۸۸/۱۴٪) و میانگین تعداد جوانه (۲/۹۵) در هر ریزنمونه در محیط کشت SH، بیشترین درصد جوانه زنی (۸۳/۳۳٪) و میانگین تعداد جوانه (۲/۸۸) در هر ریزنمونه در غلظت ۳ میلی‌گرم در لیتر از هورمون BAP و همچنین بیشترین درصد جوانه زنی (۸۴/۰۶٪) و میانگین تعداد جوانه (۳/۱۷) در هر ریزنمونه در غلظت یک میلی‌گرم در لیتر از هورمون NAA بوده است. همچنین بین اثرات متقابل آنها تفاوت معنی داری وجود نداشته است. در مرحله بعد این جوانه‌ها بایستی به منظور تحریک تولید کورم در محیط کشت مناسب با ترکیب هورمونی مناسب قرار گیرند. لذا این روش می‌تواند، روش باززایی مستقیم مناسبی جهت تکثیر جوانه این گیاه در شرایط این ویترو باشد.

واژه‌های کلیدی: تکثیر جوانه، زعفران، کورم، کشت بافت، این ویترو

۱- مقدمه

زعفران با نام علمی *Crocus sativus* L.، به خانواده زنبقیان[۱] تعلق دارد. این گیاه یکی از گیاهان زراعی مهمی است که از زمان‌های قدیم به خاطر استفاده از آن کشت می‌شده است (تئوفراستوس، ۱۹۲۶؛ داسکوس، ۱۹۸۰؛ نگبی و همکاران، ۱۹۸۹). نام این گیاه دارویی و صنعتی از کوریکوس[۲] نام منطقه‌ای در سیلیسیا واقع در شرق مدیترانه گرفته شده‌است. در صنایع غذایی و داروسازی به عنوان طعم‌دهنده، آرام‌بخش، ضداسپاسم، کاهنده فشارخون، چربی و کلسترول خون، اشتهاآور، ضدافسردگی و مقوی معده استفاده می‌شود (ابراهیم‌زاده و همکاران، ۱۳۸۵). هم‌چنین، به دلیل داشتن خاصیت آنتی‌اکسیدانی به عنوان پیشگیری‌کننده از بیماری‌های قلبی-عروقی و سرطان نیز مطرح است. مهم‌ترین ترکیبات موجود در کلاله زعفران شامل ترکیبات زردرنگ محلول در آب (مشتقات کروستین)، ترکیبات تلخ‌مزه (از جمله پیکروکروسین)، اسانس (سافرانال تا ۱٪ وزن خشک)، چربی (حداکثر ۱۰٪)، رطوبت (حدود ۱۰ تا ۱۳درصد)، ویتامین‌ها و ترکیبات معدنی (حدود ۵٪) است (ابراهیم‌زاده و همکاران، ۱۳۸۵). مطالعات سیتولوژیکی نشان داده که زعفران گیاه تریپلوئید و در نتیجه عقیم (۲n=۳x=۲۴) است. ویژگی تریپلوئید بودن گونه‌ها تکثیر جنسی آنها را دچار مشکل می‌کند، اما تکثیر رویشی در آنها ممکن است. در حقیقت زعفران فقط از طریق کورم‌های تولید شده جدید تکثیر می‌یابد و به عنوان یک گیاه ژئوفیت آرام رشد می‌کند (واربرگ، ۱۹۵۷؛ متیو، ۱۹۸۲). این گیاه منحصرا از طریق رویشی تکثیر می‌شود به طوری که تنها سه یا چهار کورمچه در هر فصل تولید می‌کند (فرناندز، ۲۰۰۴). ایجاد مزارع جدید فقط به وسیله کشت کورم‌های این گیاه مقدور و معمول است. از آنجا که کورم‌ها مدت نسبتا زیادی (۵ تا ۷ سال) در زمین می‌مانند، لذا کورم‌های انتخاب شده بایستی سالم و عاری از هرگونه بیماری و یا آسیب‌دیدگی باشند (ابراهیم‌زاده و همکاران، ۱۹۹۸). این گیاه توسط قارچ‌های بیماری‌زا و ویروس‌هایی مورد هجوم قرار می‌گیرد که روی کورم‌ها قرار دارند و ممکن است بر گیاهان زراعی در شرایط خاص اثر بگذارد (تامارو و همکاران، ۱۹۷۸). پس قبل از کاشت بایستی با سموم قارچ‌کش ضدعفونی شده باشند درحالی‌که تیمار کورم‌های آلوده به ویروس با موفقیت همراه نبوده است. بنابراین برای تضمین آینده زعفران زراعی باید تکنیک‌های کشت بهبود یابد. هر تلاشی برای مدرنیزه کردن کشت زعفران ممکن است نیاز به تولید انبوه موثری از کورم‌های عاری از بیماری داشته باشد که کشت بافت در این زمینه می‌تواند کمک نماید. تکثیر به روش این ویترو[۳] برای تولید اندام‌های عاری از بیماری در بعضی از گیاهان خاکی خانواده‌های زنبقیان، آماریلیداسه[۴] و لیلیاسه[۵] بدست آمده است (هاسی، ۱۹۸۰). باتوجه به مشکلات موجود در رابطه با عاری از بیماری نمودن گیاهان پیازی، امروزه استفاده از روش‌های کشت بافت و ریزازدیادی به منظور تکثیر انبوه و عاری از عوامل بیماری‌زای آنها در مقیاس وسیع امری ضروری به نظر می‌رسد (رجب‌پور و همکاران، ۱۳۹۰). در گذشته تحقیقاتی در زمینه تکثیر جوانه در گونه‌های *Crocus* با استفاده از ترکیبات متفاوتی از هورمون‌های گیاهی و انواعی از محیط کشت‌ها انجام شده است. سیوانسان و جیونگ (۲۰۱۴)، باززایی شاخساره از ریزنمونه کورم زعفران را مورد بررسی قرار دادند؛ برای این منظور ریزنمونه‌ها را در

---

[۱] Iridaceae
[۲] Corycus
[۳] *In vitro*
[۴] Amarylidacea
[۵] liliaceae

محیط کشSchenk and Hildebrandt (SH، ۱۹۷۲) با ۰/۵، ۱، ۲ و ۴ میلی‌گرم در لیتر از ip-۲، BAP و Kin که به تنهایی و یا در ترکیب با ۰/۵و یک میلی‌گرم در لیتر از NAA تکمیل شده بودند کشت کرده و نتایج نشان داده است که بیشترین درصد شاخساره‌زایی (۹۷/۲) با میانگین تعداد ۱۱/۸ شاخساره در هر ریزنمونه در ۲ میلی‌گرم در لیتر BAP و ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر NAA بدست آمده‌است. همچنین میر و همکاران (۲۰۱۴) اثر غلظت‌های مختلفی از BA (۲/۲۲، ۲۲/۲، ۴/۴۴ و ۴۴/۴ میکرو مولار) و NAA (۱۰/۸، ۱۶/۲، ۲۱/۶ و ۲۷ میکرو مولار) در ترکیب با هم در محیط کشت‌های Murashige and Skoog (۱۹۶۲، MS) و G-۵ را بر باززایی شاخساره مورد مطالعه قرار دادند و دریافتند که بیشترین تعداد شاخساره ۱۱/۶ و طول شاخساره ۱۱/۴ سانتی‌متر در محیط کشت MS حاوی ۲۱/۶ میکرومولار NAA به اضافه ۲۲/۲ میکرومولار BAP بدست آمده است.

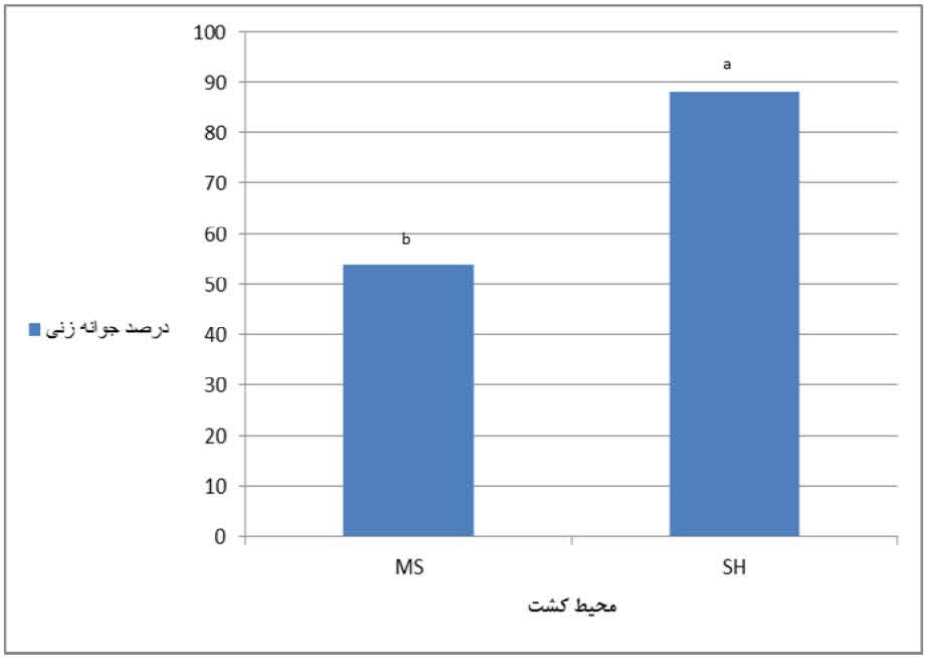
۲- مواد و روش‌ها

به منظور جوانه زدن کورم‌ها در شرایط آزمایشگاهی، کورم‌ها از مزارع زعفران اطراف شهرستان مشهد تهیه شدند. پس از انتقال کورم‌ها به آزمایشگاه، تونیک‌ها جدا شده و به مدت ۶۰ دقیقه با آب جاری شستشو شدند. برای استریل نمودن، کورم‌ها به مدت ۳۰ دقیقه در محلول کلرید جیوه ۲٪ فرو برده شده و پیوسته بهم زده می‌شدند. در انتها به منظور ازبین بردن محلول سمی کلرید جیوه، زیر هود لامینار ۲ بار با آب مقطر استریل شده و هر بار به مدت ۱۰ دقیقه شسته شدند. قطعاتی از کورم-های ضدعفونی شده که حاوی جوانه انتهایی و یا جانبی بودند در شرایط کاملا سترون به کمک اسکالپل به قطعات ۱ تا ۲ سانتی‌متری تقسیم شدند. سپس ریزنمونه‌ها در شرایط کاملا استریل به محیط کشت‌های مختلف همراه با هورمون‌های گیاهی با غلظت‌های متفاوت انتقال یافتند. شیشه‌های حاوی محیط کشت به همراه وسایل مورد نیاز قبل از کشت در اتوکلاو با دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد و فشار۱/۵ اتمسفر به مدت ۱۵ دقیقه ضدعفونی شدند. سپس ریزنمونه‌ها به ظروف کشت انتقال داده شدند. در انتها درب شیشه‌ها با فویل بسته شده و در اتاقک رشد نگه‌داری شدند. pH موادغذایی محیط کشت قبل از اتوکلاو کردن با اضافه کردن HCl و NaOH یک نرمال تنظیم شد، همچنین آگار ۰/۸٪ پس از تنظیم pH و قبل از اتوکلاو کردن به محیط کشت‌ها برای جامدشدن اضافه شد. ریزنمونه‌ها در ۱۸ تیمار متفاوت شامل محیط‌های MS و SH با ترکیب هورمونی BAP(۱، ۲ و ۳ میلی‌گرم در لیتر)و NAA (۰، ۰/۵ و ۱میلی‌گرم در لیتر) منتقل شدند. کلیه آزمایش‌ها با ۳ تکرار و هر تکرار شامل ۵ ریزنمونه انجام شدند. آنالیز داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS ۱۷ انجام شد و مقایسه میانگین نیز با استفاده از آزمون Tukey تعیین شد. همچنین گراف‌ها در نرم‌افزار اکسل رسم شدند.

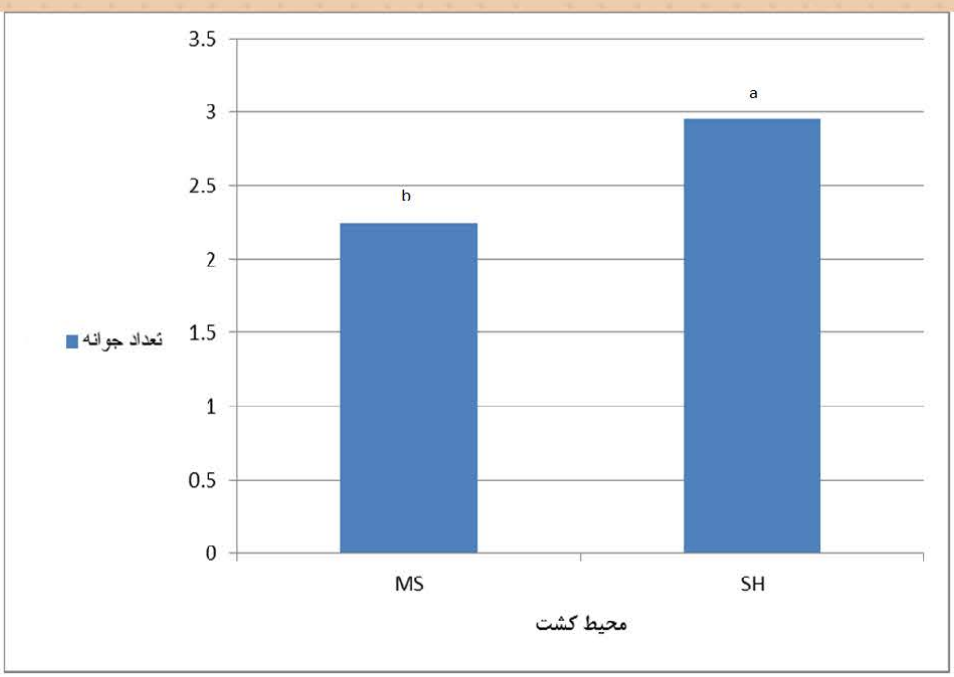
۳- نتایج وبحث

آنالیز داده‌ها در دو مرحله شامل درصد جوانه‌زنی و تعداد جوانه‌ها در ریزنمونه‌های کورم انجام شد. نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که بین محیط کشت‌های MS و SH تفاوت معنی داری وجود داشته است. در صد جوانه‌زنی در محیط کشت SH با ۸۸/۱۴٪ بیشتر از درصد جوانه‌زنی محیط کشت MS با ۵۳/۸۱٪ بوده‌است. به علاوه تعداد جوانه‌ها در

محیط کشت SH با میانگین ۲/۹۵ جوانه در هر ریزنمونه بیشتر از محیط کشت MS با میانگین ۲/۲۴ جوانه در هر ریزنمونه بوده است. شکل (۱) درصد جوانه‌زنی و شکل (۲) تعداد جوانه در هر ریزنمونه کورم زعفران را نشان می‌دهد.

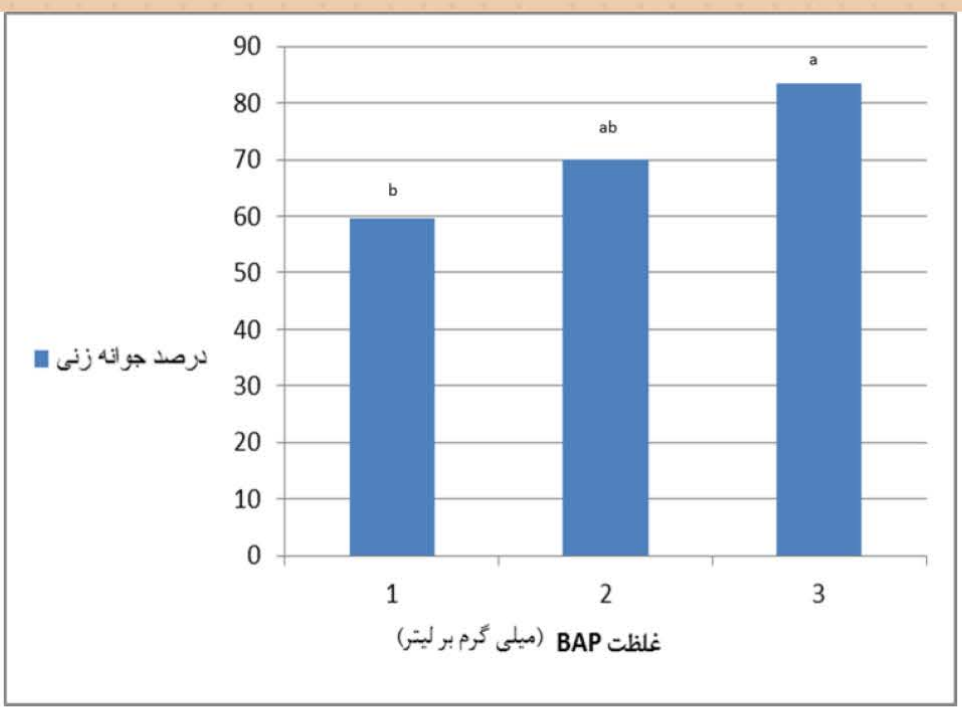


شکل (۱) تاثیر محیط کشت MS و SH بر درصد جوانه‌زنی

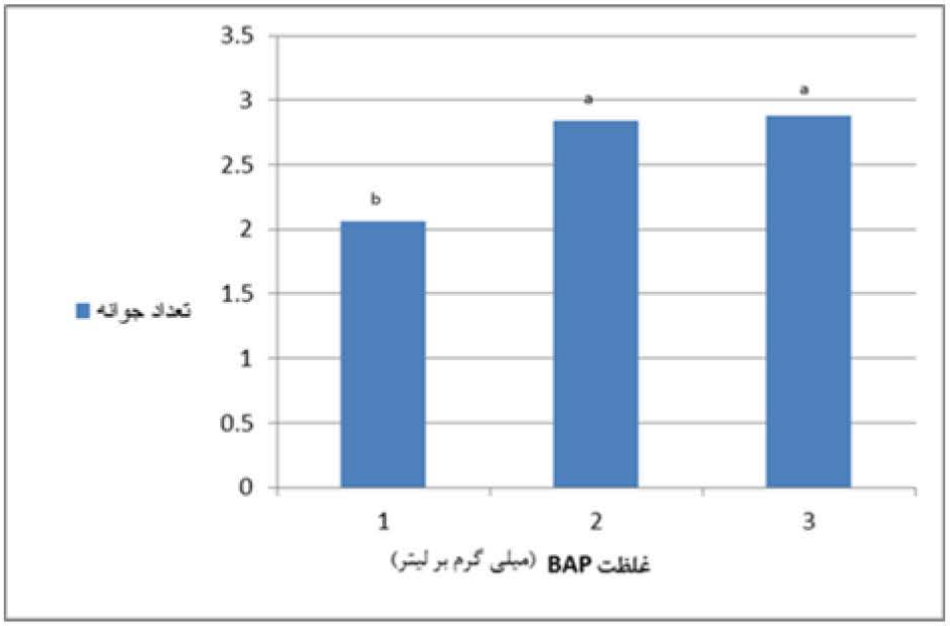


شکل (۲) تاثیر محیط کشت MS و SH بر تعداد جوانه

شکل (۳) و (۴) نتایج حاصل از آنالیز داده‌های بدست آمده از سطوح مختلف هورمون BAP را به ترتیب بر درصد جوانه‌زنی و تعداد جوانه نشان می‌دهد. همانطور که در شکل (۳) و (۴) نشان داده شده است، بین غلظت‌های ۱، ۲ و ۳ میلی‌گرم در لیتر از هورمون BAP تفاوت معنی داری وجود داشته است. در غلظت یک میلی‌گرم در لیتر از BAP، ۵۹/۶۱٪ جوانه زنی با میانگین تعداد ۲/۰۶ جوانه در هر ریزنمونه رخ داده است که این پارامترها با افزایش غلظت هورمون BAP افزایش یافته است؛ در غلظت ۳ میلی‌گرم در لیتر BAP درصد جوانه‌زنی ۸۳/۳۳٪ با میانگین تعداد ۲/۸۸ جوانه در هر ریزنمونه بوده است و علی رغم اینکه تفاوت معنی داری با سطح ۲ میلی‌گرم در لیتر بر درصد جوانه زنی و تعداد جوانه‌زنی ندارد اما به دلیل اینکه با سطح یک میلی‌گرم در لیتر تفاوت معنی داری داشته است می‌تواند بهترین غلظت برای بدست آوردن بیشترین درصد جوانه زنی و میانگین تعداد جوانه در هر ریزنمونه کورم زعفران باشد.

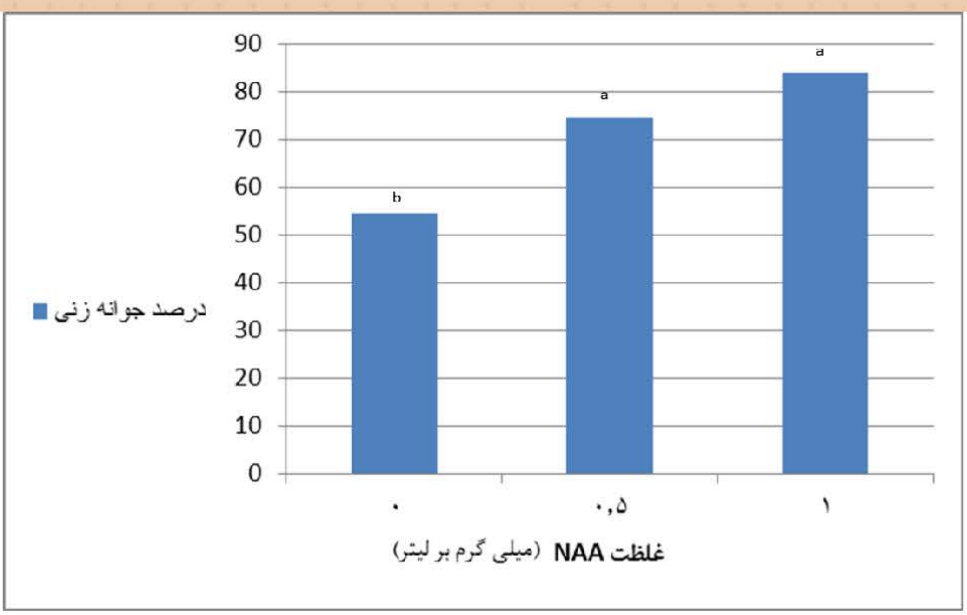


شکل(۳) تاثیر غلظت‌های ۱، ۲ و ۳ میلی‌گرم در لیتر BAP بر درصد جوانه زنی

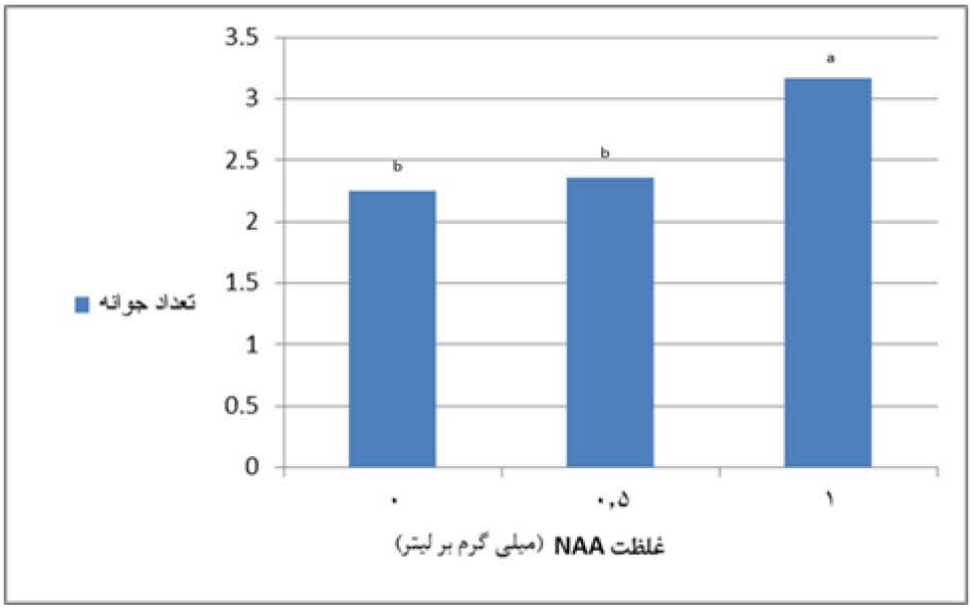


شکل(۴) تاثیر غلظت‌های ۱، ۲ و ۳ میلی‌گرم در لیتر **BAP** بر تعداد جوانه

نمودارها نشان داده است که BAP باعث افزایش جوانه‌زنی می‌شود و فراوانی القای جوانه به غلظت این هورمون وابسته است. سیتوکنین یکی از مهم‌ترین هورمون‌ها است که بر تقسیمات سلولی و القای جوانه تاثیر دارد. در تحقیقات پیشین تاثیر فزونی سیتوکنین بر باززایی اندام هوایی در گونه‌های *Crocus* گزارش شده است (پلسنر و همکاران، ۱۹۹۰؛ آسکوف و همکاران، ۲۰۰۹). همچنین تحقیقات نشان داده است که بیشترین تشکیل جوانه از ریزنمونه کورم *C. sativus* زمانی است که محیط کشت با غلظت بالایی از هورمون BAP تکمیل شده باشد (شارما و همکاران، ۲۰۰۸؛ دوی و همکاران، ۲۰۱۱). اما افزایش غلظت BAP فراتر از سطح بهینه باعث کاهش فراوانی باززایی جوانه و میانگین تعداد جوانه در هر ریزنمونه کورم می‌شود. سطح بهینه BAP بسته به گونه یا واریته متفاوت است، که این به دلیل تفاوت در جذب، انتقال و متابولیسم می‌باشد. بر اساس تحقیقات سیوانسان و جیونگ (۲۰۱۴)، BAP برای باززایی جوانه موثرتر از ۲-iP و Kin است. همچنین مجاورهت و همکاران (۲۰۰۷)، اثر ۳ سیتوکنین شامل BAP، ۲-iP و TDZ را بر باززایی جوانه زعفران، مورد مطالعه قرار داده‌اند. تحقیقات نشان داده است، اگرچه ۲-iP باعث تحریک رشد طولی جوانه‌های نورسته می‌شود اما به عنوان کم اثرترین سیتوکنین بین ۳ سیتوکنین مورد آزمایش به شمار می‌آید و این در حالی است که ریزنمونه‌های زعفران نسبت به BAP و TDZ بسیار حساس‌تر بودند علاوه بر آن جوانه‌های نورسته در حضور TDZ نسبتا فوق آبدار شدند که استفاده از گیاهی با ساقه بدون نقص می‌تواند پیش شرط موفقیت در پروتکل تکثیر و افزایش تولید گیاه سالم باشد. همچنین جوانه‌ها در حضور BAP با نرخ بسیار خوب و با بهترین کیفیت تکثیر می‌شوند و هورمون BAP می‌تواند جوانه‌های بزرگتر و قدرتمندتری را نسبت به ۲-iP و TDZ در *C. sativus* تولید می‌کند. در بسیاری از گزارشات آمده است که اضافه کردن مقدار کمی از هورمون اکسین به غلظت بهینه‌ای از هورمون سیتوکنین باعث افزایش تشکیل جوانه می‌شود (عباس و قیصر، ۲۰۱۲؛ سیوانسان و جیونگ، ۲۰۱۲). همچنین فراوانی القای جوانه و میانگین تعداد جوانه القا شده در هر ریزنمونه زمانی به صورت چشمگیری افزایش می‌یابد که محیط کشت حاوی BAP و NAA باشد (سیوانسان و جیونگ، ۲۰۱۴). نتایج مشابه با همین هورمون‌ها در گیاه *C. sativus* دیده شده است (باگیالاکشیمی، ۱۹۹۹؛ کارائوگلو و همکاران، ۲۰۰۷؛ دوی و همکاران، ۲۰۱۱). نتایج بدست آمده از آنالیز داده‌ها در این تحقیق نشان داده است که اثرات متقابل BAP و NAA معنی دار نبوده است. اما بر اساس شکل (۵) تاثیر غلظت‌های ۰، ۰/۵ و ۱ میلی‌گرم در لیتر از هورمون NAA بر درصد جوانه زنی می‌توان اظهار داشت که با افزایش غلظت این هورمون درصد جوانه-زنی نیز افزایش یافته است و تفاوت معنی‌داری بین غلظت‌های ۰/۵ و ۱ میلی‌گرم در لیتر با صفر میلی‌گرم در لیتر از NAA وجود دارد. همچنین شکل (۶) نشان داده است که بین غلظت یک میلی‌گرم در لیتر و ۰/۵ و صفر میلی‌گرم در لیتر از هورمون NAA بر تعداد جوانه‌زنی تفاوت معنی داری وجود دارد. و بر اساس این نتایج، یک میلی‌گرم در لیتر از هورمون NAA بیشترین درصد جوانه زنی و تعداد جوانه در هر ریزنمونه از کورم زعفران را تولید می‌کند.



شکل(۵) تاثیر غلظت‌های ۰، ۰/۵ و ۱ میلی‌گرم در لیتر NAA بر درصد جوانه زنی



شکل(۴) تاثیر غلظت‌های ۰، ۰/۵ و ۱ میلی‌گرم در لیتر NAA بر تعداد جوانه

۴- نتیجه‌گیری

زعفران یک گیاه تریپلوئید و در نتیجه عقیم است. کورم‌های این گیاه فقط از طریق جوانه‌زنی و تبدیل جوانه‌ها به کورم‌های جدید تکثیر می‌یابند. با توجه به مشکلات تکثیر رویشی که عاملی برای رشد آهسته و امکان آلودگی است، ریزنمونه‌هایی از قطعات کورم در محیط کشت مناسب و عاری از هرگونه آلودگی جوانه زده و اندام هوایی مورد نیاز برای تولید کورم را ایجاد می‌کنند.

۵- تشکر و قدردانی

این تحقیق بخشی از پایان‌نامه کارشناسی ارشد رشته بیوتکنولوژی، گروه بیوتکنولوژی و به‌نژادی گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد است که در قالب طرح پژوهشی در موسسه تحقیقات بیوتکنولوژی کشاورزی مشهد انجام شده است. اینجانب بر خود لازم می‌دانم از کمک‌ها و پشتیبانی ریاست محترم موسسه تحقیقات بیوتکنولوژی کشاورزی و همچنین دانشگاه فردوسی مشهد تشکر و قدردانی کنم.

۶- مراجع

ابراهیم‌زاده، ح.، رجبیان، ط.، کرمیان، ر.، ابریشم‌چی، پ . و صبورا، ع. (۱۳۸۵) .زعفران ایران با نگاه پژوهشی. انتشارات اطلاعات. تهران.

رجب‌پور، ش.، صبورا، ع. و وطن‌پور ازغندی، ع. (۱۳۹۰). تغییر غلظت هورمون‌های برون‌زا و تأثیر آن بر روی بلوغ رویان‌های بدنی و ریزبنه‌زایی زعفران زراعی (*Crocus sativus* L.). زیست شناسی گیاهی. ۸، ۴۱- ۵۸.

Abbas, H. and Qaiser, M. (۲۰۱۲). In vitro response of Ruellia bracteolata to different growth hormones an attempt to conserve an endangered species. Pak. J. Bot., ٤٤(۲), ۷۹۱-۷۹٤.

Ascough, G.D., J.E. Erwin and J. van Staden. (۲۰۰۹). Micropropagation of iridaceaea review. Plant Cell Tiss. Org. Cult., ۹۷, ۱-۱۹.

Bhagyalakshimi, N. (۱۹۹۹). Factors influencing direct shoot regeneration from ovary explants of saffron. Plant Cell, Tissue and Organ Culture. ۵۸, ۲۰۵-۲۱۱.

Devi, K., M. Sharma, M. Sing and P.S. Ahuja. (۲۰۱۱). In vitro cormlet production and growth evaluation under greenhouse conditions in saffron (Crocus sativus L.) –A commercially important crop. Eng. Life Sci., ۱۱, ۱۸۹-۱۹٤.

Douskos I., (۱۹۸۰). The crocuses of Santorini, In: Doumas C. (Ed.), Vol. ۲, Thera and the Aegean World Foundation, London.

Fernandez, J.A. (۲۰۰٤). Biology, biotechnology and biomedicine of saffron. Recent Research Developments in Plant Science. ۲, ۱۲۷-۱۵۹.

Hussey, G. (۱۹۸۰). Propagation of some members of Liliaceae, Iridaceae and Amaryllidaceae by tissue culture. In: Birkell CD, Cutler DF, Gregory M (Eds) Petaloid Monocotyledons Academic Press, London. pp ۳۳-٤۲.

Karaoglu, C., Cocu, S., Ipek, A., Parmaksiz, I., Sarihan, E., Uranbey, S., Arslan, N., Kaya, M.D., Sancak, C. Ozcan, S., Gurbuz, B., Mirici, S., Er, C. and Khawar, K.M. (۲۰۰۷). In vitro micropropagation of saffron. Acta Horticulture. (International Society for Horticultural Science). ۷۳۹, ۲۲۳-۲۲۸.

Majourhat, K., Fernandez, J.A. Martınez-Gomez, P. and Piqueras, A. (۲۰۰۷). Enhanced plantlet regeneration from cultured meristems in sprouting buds of saffron corms. Acta Hortic., ۷۳۹, ۲۷۵-۲۷۸.

Mathew, B. (۱۹۸۲). The Crocus: a Revision of the Genus Crocus. B. T. Batsford Ltd. London. pp. ۷۳-۷۸.

Mir, J.I., Ahmed, N., Shafi, W., Rashid, R., Hafiz Khan, M., Sheikh, M.A., Noor Shah, U., Zaffar, Sh. and rather, I. (۲۰۱٤). In vitro development and regeneration of microcorms in saffron(*Crocus sativus* L.). African Journal of Biotechnology. ۱۳(۲٦), ۲٦۳۷-۲٦٤۰.

Negbi, M., Dagan, B., Dror, A. and Basker, D. (۱۹۸۹). Growth, flowering, vegetative reproduction and dormancy in the saffron crocus (*Crocus sativus* L.). Israel Journal Botany. ۳۸, ۹۵-۱۱۳.

Plessner, O., M. Ziv and M. Negbi. (۱۹۹۰). *In vitro* corm production in the saffron crocus (*Crocus sativus* L.). Plant Cell Tiss. Org. Cult., ۲۰, ۸۹-۹٤.
Sharma, K.D., R. Rathour, R. Sharma, S. Goel, T.R. Sharma and B.M. Sing. ۲۰۰۸. In vitro cormlet development in *Crocus sativus*. Biol. Plant., ۵۲: ۷۰۹-۷۱۲.

Sivanesan, I. and B.R. Jeong. (۲۰۱۲). Identification of somaclonal variants in proliferating shoot cultures of *Senecio cruentus* cv. Tokyo Daruma. Plant Cell Tiss. Org. Cult., ۱۱۱, ۲٤۷-۲۵۳.

Sivanesan, I., Jana, S. and Jeong, B. (۲۰۱٤). In vitro shoot regeneration and microcorm development in *Crocus sativus* L. Pakistan Journal of Botany. ٤٦(۲), ٦۹۳-٦۹۷.

Tammaro, F. and Di Francesco, L. (۱۹۷۸). Lo Zafferano de l'Aquila. Istituto di Tecnica e Propaganda Agraria, L'Aquila. pp. ۱۵-۱۸.

Theophrastus, (۱۹۲٦). Enquiry into Plants (translated to english by Hort, A.F.), Vol. ۲, Harvard UniversityPress, Cambridge, Massachusetts. pp. ۲۵-۳۲.

Warburg, E.F. (۱۹۵۷). Crocuses. Endeavour. ۱٦, ۲۰۹-۲۱٦.

دومین همایش بین المللی وپنجمین همایش ملی
پژوهش های محیط زیست و کشاورزی ایران
The second international and the fifth notional conference of IRANs
Environmental and Agricultural Research
۱۳ اسفند ۱۳۹٤
March 03 2016

In vitro shoot regeneration of *Crocus sativus*

Atefeh Hajizadeh[۱], Abbas Safarnejad[۲], Nasrin Moshtaghi[۳], Abdolreza Bagheri[۳]

[۱]*Msc student of Agriculture Biotechnology, Ferdowsi University of Mashhad*

[۲]*Tissue Culture Department. Agric. Biotech. Res. Inst. Of Iran (ABRII)*

[۳]*Faculty of Biotechnology and Plant Breeding Department, Ferdowsi University of Mashhad*

Saffron, *Crocus sativus* L., is an important crop witch its stigmas is the most expensive spice for its odoriferous, coloring, and medicinal properties since ancient times. It is most commonly used in medicine and food industry as a flavor, sedative, anti-depressant and fat, cholesterol, blood-pressure reducing. Triploid nature of species may inhibit the sexual reproduction and so vegetative reproduction is just one of the proliferation methods in this

plant. Daughter corms production rate is slow in natural condition and also pathogenic fungi and viruses can attack to the corms. Therefore tissue culture can help us for high production corms without pathogens. For this goal aseptic terminal or axillary bud cut into ۱-۲ cm long segments in sterile conditions. Explants were cultured in ۱۸ treatments including MS and SH medium supplemented with ۱, ۲ and ۳ mg L^{-1} of BAP alone or in combination with ۰,۵ and ۱ mg L^{-1} of NAA for shoot regeneration. The results revealed that the greatest percentage of shoot induction (۸۸,۱٤٪) and the mean number of shoots (۲,۹۵) per explant was obtained on SH medium, the greatest percentage of shoot induction (۸۳,۳۳٪) and the mean number of shoots (۲,۸۸) per explant was obtained on ۳ mg L^{-1} of BAP and also the greatest percentage of shoot induction (۸٤,۰٦٪) and the mean number of shoots (۳,۱۷) per explant was obtained on ۱ mg L^{-1} of NAA. Also the results showed no significant difference between their interactions. In the next step these shoots should be transferred to the suitable medium for producing of corms. Therefore this method can be an acceptable procedure for shoot propagation.

Key words: shoot regeneration, saffron, corm, tissue culture, *in vitro*