گزارش کوتاه علمی

نشریه پژوهش‌های تولید گیاهی
جلد بیست و یکم، شماره دوم، ۱۳۹۳
http://jopp.gau.ac.ir

دورگ‌گیری درون‌گونه‌ای در گلایول با استفاده از کشت درون‌شیشه‌ای تخمک بالغ

*علی جعفری‌مفیدآبادی[1] و ملیحه کریمی[2]

[1]دانشیار مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی گرگان،

[2]دانش‌آموخته کارشناسی‌ارشد دانشگاه پیام‌نور، واحد شرق تهران

تاریخ دریافت: ۹۲/۱۲/۱۹ ؛ تاریخ پذیرش: ۹۳/۵/۵

چکیده

به‌منظور ایجاد تنوع ژنتیکی و دست‌یابی به دورگه‌های جدید، تلاقی بین رنگ‌های مختلف گل گلایول انجام شد. گل‌های ماده با دست اخته و سپس با دانه گرده جمع‌آوری شده، گرده‌افشانی شدند. گرده‌افشانی دستی دانه‌های گرده گل سفید بر روی مادگی گل قرمز به‌عنوان والد مادری به‌صورت دوطرفه انجام پذیرفت. خودگرده‌افشانی ارقام گل سفید و گل قرمز به‌عنوان تیمار کنترل به‌صورت گرد و غبار شدید نیز انجام شد. مقایسه اثر روش‌های گرده‌افشانی بر روی میانگین تعداد تخمک تشکیل شده در تخمدان به روش کی‌اسکوئر نشان داد که اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد بین دو نوع گرده‌افشانی وجود دارد. تجزیه و تحلیل داده‌های به‌دست آمده از نوع گرده‌افشانی و سنین مختلف جنین در جوانه‌زنی تخمک بالغ در محیط کشت نشان داد که بین نوع گرده‌افشانی در جوانه‌زنی اختلاف معنی‌داری وجود ندارد. ولی از نظر درصد جوانه‌زنی بین سنین ۲۱، ۳۰ و ٤٥ روزه جنین اختلاف معنی‌داری در سطح ۱ درصد مشاهده شد. مقایسه میانگین‌ها به روش دانکن برای معرفی مناسب‌ترین سن جنین برای کشت جنین بالغ، نشان داد که سن جنین ۳۰ روزه در هر دو نوع گرده‌افشانی بیش‌ترین درصد جوانه‌زنی (۸۲/۲۲ درصد) را دارد. گیاهچه‌های به‌دست آمده پس از انجام سازگاری تدریجی موفق به خاک منتقل شدند.

واژه‌های کلیدی: گلایول، نجات جنین، کشت تخمک، دگرگرده‌افشانی، خودگشنی، تلاقی درون‌گونه‌ای و تنوع ژنتیکی

* مسئول مکاتبه: jafarimofidabadi@gmail.com

مقدمه

گونه گیاهی گلایول‌ها متعلق به خانواده اریداسه[1] است و به گونه‌های زمستان گل و تابستان گل تقسیم‌بندی می‌شود. هیبریدهای از این گونه‌ها تحت عنوان نانوس و گراندیفلورا تولید و معرفی شده است که بیان‌گر موفقیت به‌کارگیری روش دورگ‌گیری در اصلاح این گونه زینتی می‌باشد. هیبریدهای گراندیفلورا که از تلاقی ٦-٤ گونه (آفتاب و همکاران، ۲۰۰۸؛ اندرسون و پار، ۱۹۸۹) از گونه‌های قدیمی بسیار متفاوتند و از ترکیب صفات مختلف بین‌گونه‌ای گلایول به‌وجود آمده اند. گلایول‌های قدیمی گیاهانی کوچک با تعداد گل کم و در رنگ‌های محدود هستند در حالی‌که در گلایول‌های هیبریدی امروزی گیاهانی با گل‌های درشت که گاهی تا ٤٠ گلچه روی یک شاخه گل‌دهنده دیده می‌شوند و تنوع رنگ در آن‌ها بسیار بالا می‌باشد. تکثیر جنسی از طریق خودگرده‌افشانی نیز موجب ایجاد تنوع‌های ژنتیکی دور از انتظار در گلایول می‌شود. پیکل (۱۹۷۲) با انجام تلاقی بین گونه‌های مختلف به هیبریدهایی دست یافت که کاملاً از نظر رنگ از والدین خود متفاوت بودند. او با انجام خودگرده‌افشانی در گلایول سفید نیز به گل‌های زرد، صورتی، آبی و سفید دست یافت. براساس گزارش ایشان، مشکل عمده جوانه‌زنی پوسته بسیار سخت بذور ناشی از خودگرده‌افشانی و گرده‌افشانی‌های دستی است که مستلزم سرمادهی چند ماهه و مدت زمان طولانی ٦-٤ هفته‌ای می‌باشد. بیش‌تر تلاقی‌ها در گیاهان به‌دلیل وجود ناسازگاری‌های قبل و پس از لقاح موجب عدم موفقیت در دست‌یابی به نتاج می‌شود (جعفری‌مفیدآبادی، ۲۰۰۹؛ جعفری‌مفیدآبادی و مدیر رحمتی ۲۰۰۸). روش کشت جنین در بسیاری از تلاقی‌ها برای رفع ناسازگاری پس از لقاح در گیاهان مورد استفاده قرار می‌گیرد. روش نجات جنین (تغذیه مصنوعی جنین) در قالب کشت تخمدان و تخمک روشی موفق در جوانه‌زنی بسیاری از گونه‌های گیاهی مانند، الستروما (بریدژن و همکاران، ۱۹۸۹)، سیکلامین (ایشیزاکا و یوماتسو، ۱۹۹۲)، پنبه (جعفری‌مفیدآبادی، ۲۰۰۹)، صنوبر (جعفری‌مفیدآبادی و همکاران، ۱۹۹۸) و لیلیوم (هایی، ۲۰۰۲؛ فوریویا و نومورا، ۲۰۰٤) گزارش شد. استفاده از روش تغذیه مصنوعی جنین در گلایول بیش‌تر به‌منظور: ۱) کوتاه نمودن دوره اصلاحی از طریق کاهش دوره رویشی، ۲) برطرف کردن دوره طولانی خواب بذور و ۳) برطرف کردن موانع خود ناسازگاری در جوانه‌زنی بذور انجام می‌شود.

1- Asparagalus

بنابراین این بررسی به‌منظور دست‌یابی به تنوع در رنگ گل و معرفی ارقام جدید با استفاده از تلاقی دستی بین ارقام مختلف (رنگ‌های مختلف) گراندیفلورا و روش تغذیه مصنوعی جنین انجام شد.

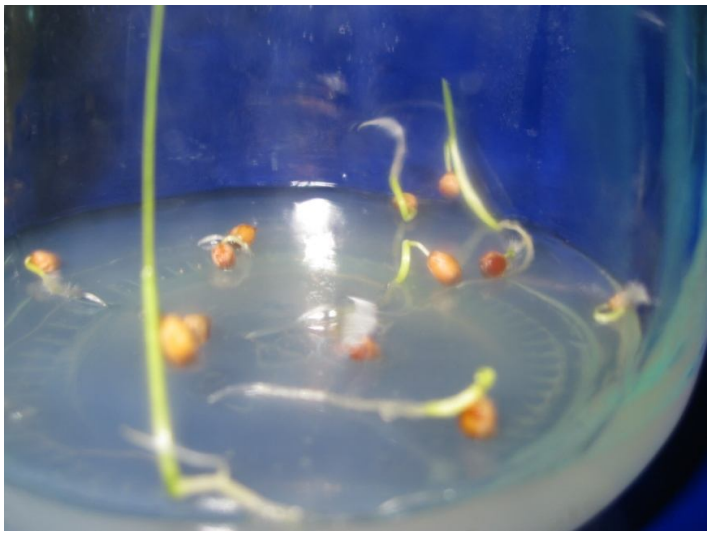
مواد و روش‌ها

کاشت غده‌های گلایول در دو رنگ سفید و قرمز در پلات‌های تلاقی به‌صورت جوی و پشته انجام گرفت. پس از ظهور گل‌ها، پرچم‌ها قبل از پارگی بساک برای کنترل گرده‌افشانی حذف شدند. دانه‌های گرده جمع‌آوری شده در داخل کاغذ صافی و درون پتری‌دیش در یخچال برای انجام گرده‌افشانی موردنظر نگهداری گردیدند. پس از آمادگی کلاله، خودگرده‌افشانی و دگرگرده‌افشانی مستقیم و معکوس بین گل‌های سفید و قرمز انجام پذیرفت. کشت تخمک‌ها در ٤ سن جنینی، ۱۵، ۲۱، ۳۰ و ٤٥ روزه انجام پذیرفت. ضدعفونی تخمدان با الکل ۷۰ درصد با برس انجام شد. در مورد تخمک‌های ۱۵ و ۲۱ روزه، بال‌برداری و برداشتن پوسته خارجی به‌دلیل تشکیل نشدن پوسته تخمک و ضدعفونی آن برای جلوگیری از آسیب به تخمک صورت نگرفت. در مورد تخمک‌های ۳۰ و ٤٥ روزه پس از بال‌برداری و برداشتن پوسته خارجی ضدعفونی به‌ترتیب زیر انجام گرفت: ابتدا نمونه‌ها ٦٠-۳۰ ثانیه در اتانول ۷۰ درصد قرار گرفتند، سپس ۱۰ دقیقه در محلول هیپوکلرید سدیم ۲۵ درصد غوطه‌ور شدند. پس از آن با آب مقطر استریل ۳ مرتبه به‌مدت ۱۰ دقیقه آبکشی شدند (تمام مراحل در زیر هود انجام گرفت). ریزنمونه‌ها پس از خشک شدن کامل به شیشه‌های مربایی شامل محیط MS جامد (بدون هورمون) منتقل شدند. آزمایش براساس آزمون آماری فاکتوریل در قالب بلوک‌های کامل تصادفی با دو تیمار نوع گرده‌افشانی و سن جنین و در سطح ٦ تکرار انجام شد. نمونه‌ها برای جوانه‌زنی در ژرمیناتور با دوره روشنایی ۸/۱٦ ساعته و دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. ارزیابی اثرات متوسط خودگرده‌افشانی و دگرگرده‌افشانی (تلاقی) در تعداد گل‌های بارور شده و تعداد تخمک تشکیل شده در تخمدان به روش آزمون کای‌اسکوئر انجام شد. داده‌های مربوط به ارزیابی اثرات سن جنین در تعداد تخمک‌های جوانه زده، براساس تجزیه و تحلیل آزمون F و سپس مقایسه میانگین‌ها به روش آزمون دانکن با استفاده از نرم‌افزار SAS صورت پذیرفت.

نتایج و بحث

خودگرده‌افشانی و دگرگرده‌افشانی دستی بین گل‌های سفید و قرمز موجب باروری و تشکیل تخمدان (درصد باروری) و جوانه‌زنی آن‌ها شد (شکل ۱). بر خلاف این‌که درصد تلاقی‌پذیری در گرده‌افشانی گل‌های ماده سفید با دانه گرده سفید بیش‌تر از دو تلاقی دیگر (گرده‌افشانی روی گل‌های ماده قرمز با دانه گرده سفید و همچنین گل‌های ماده قرمز با دانه گرده قرمز) است، ولی مقایسه میانگین به روش کای‌اسکوئر بیان‌گر عدم اختلاف معنی‌دار برای درصد باروری (تشکیل تخمدان) در سطح ۵ درصد بین تلاقی‌های انجام شده است (جدول ۱). میانگین تعداد تخمک در تخمدان نیز در تلاقی بین گل‌های ماده قرمز با دانه گرده سفید بیش‌تر از تلاقی بین گل‌های ماده سفید با دانه گرده سفید و همچنین گل‌های ماده قرمز با دانه گرده قرمز بود و دارای اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد می‌باشد (جدول ۱). گرده‌افشانی والد مادری با گل‌های سفید با دانه گرده قرمز به‌دلیل ناسازگاری احتمالی دارای تخمدان‌های چروکیده‌ای بود و هیچ تخمکی در آن تشکیل نشد و بنابراین از تجزیه و تحلیل داده‌ها حذف شد. نتایج به‌دست آمده بیان‌گر این است که ایجاد تنوع ژنتیکی برای دست‌یابی به تنوع رنگ، از طریق تلاقی بین گل‌های ماده سفید به‌عنوان والد مادری با دانه گرده قرمز به‌عنوان والد پدری، روش موفقی نبوده و باید از سایر روش‌های ایجاد تنوع استفاده نمود. براساس گزارش رمضان و همکاران (۲۰۱۰) در تلاقی رقم Sancree(white) با Advanced red(red) وقتی که قرمز به‌عنوان والد گرده‌دهنده انتخاب شد مقدار جوانه‌زنی برابر ٤٤ درصد و وقتی که رنگ سفید به‌عنوان والد پدری انتخاب شد مقدار جوانه‌زنی به ۸۰ درصد رسید. بر خلاف این گزارش در این مطالعه وقتی که رنگ سفید به‌عنوان والد مادری انتخاب شد هیچ تخمکی در تخمدان تشکیل نشد. اختلاف در تعداد تخمک‌های موجود در تخمدان در تلاقی‌ها به دقت و شدت گرده‌افشانی بستگی دارد چرا که تخمدان گیاه گلایول تخمدانی زیرین ۳ برچه‌ای با تمکن مرکزی است که در هر برچه ۲ ردیف تخمک و در هر ردیف تعداد زیادی تخمک وجود دارد. بنابراین برای تولید تعداد زیادی بذر نیازمند گرده‌افشانی در زمان مناسب می‌باشد و این زمان در گلایول هنگامی است که کلاله کاملاً سه شاخه هر شاخه دو لبه و چسبناک شده باشد. میزان بالای تلاقی‌پذیری در گلایول قرمز به‌عنوان والد مادری و تولید بذر بیش‌تر در این پایه هنگامی‌که با گرده سفید گرده‌افشانی می‌شود، ممکن است به‌علت بزرگ‌تر بودن کلاله قرمز نسبت به کلاله سفید و در ضمن چسبناک بودن محسوس کلاله‌های قرمز باشد. همین امر موجب پذیرش گرده بیش‌تر و در نهایت تولید بذر بیش‌تر شده باشد. درصد بالای انجام موفق

خودگرده‌افشانی تحت کنترل در گلایول بیان‌گر تکثیر جنسی فعال در این گونـه زینتـی در مقایـسه بـا تکثیر غیرجنسی است و بنابراین تکثیر جنسی آن زمینه بسیار مناسب برای ایجـاد تغییـرات ژنتیکـی و گزینش گل‌های گلایول جدید از نظر کمی و کیفی است.



شکل ۱- جوانه‌زنی تخمک‌های ایزوله شده (سن ۳۰ روزه) در محیط کشت MS بدون هورمون‌های رشد گیاهی.

جدول ۱- اثر نوع گرده‌افشانی بین رنگ‌های مختلف بر درصد باروری (تشکیل تخمدان) و تعداد تخمک در تخمدان و بیان اختلافات آماری.

بیان اختلاف‌های آماری	عوامل مؤثر در ترکیب‌پذیری
درصد گل‌های بارور شده (تشکیل تخمدان)	نوع گرده‌افشانی
٦٦/٦٦^{ns}	سفید × قرمز
٦٦/٦٦	سفید × سفید
٧٣/٣٣	قرمز × قرمز
میانگین تعداد تخمک در هر تخمدان	نوع گرده‌افشانی
٤١/١٦*	سفید × قرمز
٣٧/٥	سفید × سفید
٣١/١٩	قرمز × قرمز

* اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد و ^{ns} غیرمعنی‌دار.

بالا بودن میزان بذر و تلاقی‌پذیری ارقام سفید در سفید و قرمز در قرمز نشان‌دهنده این است که پایه سفید و قرمز از ارقام تجاری گونه *G. grandiflora* (hortolanus Hort.) هستند که از خودسازگاری بالایی برخوردارند و تنها دلیل این‌که به‌طور طبیعی بذر آن‌ها تشکیل نمی‌شود مسأله دیکوگامی (پروتاندری) می‌باشد. با این‌که وقتی گرده‌افشانی دستی انجام شد بذر مناسبی به‌وجود آمد. تجزیه و تحلیل داده‌های به دست آمده از جوانه‌زنی تخمک و تولید گیاه برای بیان اثرات نوع گرده‌افشانی (تلاقی و خودگشنی) و سن جنین، نشان داد که بین نوع گرده‌افشانی در جوانه‌زنی اختلاف معنی‌داری در سطح ۱ درصد وجود ندارد (جدول ۲)، در حالی‌که بین سن جنین (۲۱، ۳۰ و ٤٥ روزه تعداد روزها پس از گرده‌افشانی) در جوانه‌زنی تخمک در محیط کشت MS اختلاف بسیار معنی‌داری در سطح ۱ درصد وجود دارد (جدول ۲). مقایسه میانگین به روش دانکن برای معرفی مناسب‌ترین سن جنین برای کشت جنین بالغ، نشان داد که بین سن جنین ۲۱، ۳۰ و ٤٥ روزه اختلاف معنی‌داری وجود دارد و سن جنین ۳۰ روزه در هر دو نوع گرده‌افشانی بیش‌ترین تعداد متوسط جوانه‌زنی را دارد (جدول ۳). بر خلاف این نتایج، ایشیزاکا و اوماتسو (۱۹۹۲) قادر به جوانه‌زنی جنین با استفاده از کشت تخمک نارس و تولید گیاه دورگ شدند. جوانه‌زنی جنین در مطالعات ما برای سن ٤٥ روزه با بال‌برداری انجام شد. مشابه این نتیجه گزارش گونزاله و لوپز (۲۰۰٦) است که بیان داشته است بذرهای گلایول دارای پوسته خارجی روغنی هستند که قبل از کشت باید حذف شوند. بهزاد و کیم (۲۰۱۰) نیز قادر به جوانه‌زنی جنین با سن ۱۱ روز پس از گرده‌افشانی در دورگه لیلیوم (*Lilium. longifolium* × *Asyatic hybrid*) شدند. هرچه تعداد روزها پس از گرده‌افشانی (DAP) از ۱۱۰–٤۰ روز افزایش پیدا کرد میزان جوانه‌زنی نیز افزایش پیدا کرد. سن جنین در مطالعات به‌کارگیری روش نجات جنین در سایر گونه‌های گیاهی نشان از اهمیت آن در جوانه‌زنی جنین و دست‌یابی به تولید انبوه گیاه (آفتاب و همکاران، ۲۰۰۸) و تولید دورگ‌های بین و درون‌گونه‌ای (گرای و همکاران، ۱۹۹۰؛ ایشیزاکا و اوماتسو، ۱۹۹۲؛ جعفری‌مفیدآبادی، ۲۰۰۹) دارد.

تخمک‌های ۳۰ روزه و ۲۱ روزه به‌دست آمده از خودگرده‌افشانی و دگرگرده‌افشانی در این پژوهش، اولین آثار جوانه‌زنی را پس از مدت ۵ روز در محیط کشت MS نشان دادند ولی در تخمک‌های ٤٥ روزه، جوانه‌زنی پس از ۸ روز مشاهده شد. بر خلاف جوانه‌زنی زودهنگام در این بررسی، جوانه‌زنی بذرها به روش سنتی، در بذور گلایول‌های آفریقایی (اجداد همین گلایول‌های گراندیفلورا) هم در گروه تابستان رشدها (*G. dalenii* و *G. papilio*) که در دمای ۲۵–۱۲ درجه

سانتی‌گراد جوانه می‌زنند و هم در گروه زمستان رشدها (*G. carinatus*، *G. carneus*، *G. meliusculus* و *G. tristis*) که در دمای ۱۵-۱۰ درجه سانتی‌گراد جوانه می‌زنند و نیازمند یک دوره ٦-٤ هفته‌ای داشت (٦، ١٦). مشابه همین نتایج در مطالعات، رمضان و همکاران (۲۰۱۰) جوانه‌زنی بذر *G. alatus* (۹۲ درصد) نیازمند به انجام پیش‌تیمار بود. کارپینتر و همکاران (۱۹۹۱) پیش‌تیمار دما را برای افزایش درصد جوانه‌زنی بذر گلایول گزارش کرد. در مطالعات ایشان جوانه‌زنی بذور گلایول تحت‌تأثیر نور قرار نداشت.

جدول ۲- تجزیه واریانس داده‌های به‌دست آمده از اثرات گرده‌افشانی و سن جنین بر جوانه‌زنی جنین.

منبع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات	F
نوع گرده‌افشانی (a)	۲	۰/٥٤٣٣	۰/٤٣^{ns}
سن جنین (b)	۲	۱۰/۹۷٥۳	۸/٦۱**
a×b	٤	۰/۷۱٤۲۲	۰/٥٦^{ns}
خطا	٤۰	۱/۲۷٥۳	
کل	٥٤		

** اختلاف معنی‌دار در سطح ۱ درصد و ^{ns} غیرمعنی‌دار.

جدول ۳- اثرات متوسط سن جنین بر جوانه‌زنی جنین.

گروه‌بندی	درصد جوانه‌زنی	متوسط جوانه‌زنی جنین (تعداد)	سن جنین (b)	شماره ردیف
A	۸۲/۲۲۲	٤/۱۱۱۱	سن ۳۰ روزه	۲
A	۸۰	٤/۰۰۰	سن ٤٥ روزه	۳
B	٥۲/٥	۲/٦۲٥۰	سن ۲۱ روزه	۱

حروف متضاد بیانگر وجود اختلاف معنی‌دار در سطح ٥ درصد.

منابع

1.Aftab, F., Alam, M., and Afrasiab, H. 2008. *In vitro* multiplication and callus induction in gladiolus hybridus hort. Pak. J. Bot. 40: 2. 517-522.

2.Anderton, E.W., and Par, R. 1989. Growing gladioli. Timber Press, Oregon USA Pp: 12-13.

3.Behzad, H.A., and Kim, J.H. 2010. Effect of the strength of basal medium and the plant growth regulators on the germination of ovules in interspecific crosses between *L. fomolomgi* × *L. browoni* World Appl. Sci. J. 11: 4. 429-433.

4.Bridgen, M.P., Langhans, R., and Graig, R. 1989. Biotechnological breeding techniques for Alstroemeria. Herbertia. 45: 1-2. 93-96.
5.Carpenter, W.J., Wilfret, G.J., and Cornel, J.A. 1991. Temperature and relative humidity cover germination and storage of gladiolus seed. Hort. Sci. 26: 8. 1054-1057.
6.Furyuya, T., and Nomura, K. 2004. Rapid production of *Lilium auratum* bulbs from zygotic embryos Asia Pasific Molecular Biol. Biotech. 12: 1-2. 39-42.
7.Gonzale, A., and Lopez, J. 2006. Germination study in the three species of genus Gladiolus. Acta horticulture G83:V Inter. Symposium on New Floricultural Crops.
8.Gray, D.J., Mortensen, J.A., Benton, C.M., Durham, R.E., and Moore, G.A. 1990. Ovule culture to obtain progeny from hybrid seedless bunch grapes. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 115: 6. 1019-1024.
9.Hai, S.C. 2002. The efficiencies of various embryo rescue methods in interspecific crosses of lilium Bot. Bull. Acad. Sin. 43: 139-146.
10.Shizaka, H., and Uematsu, J. 1992. Production of interspecific hybrids of *Cyclamen persicum* Mill. and *C. hederifolium* Aiton. By ovule culture. Japan. J. Breed. 42: 353-366.
11.Jafari, M.A. 2009. Producing triploid hybrid plants through induced mutation to broaden genetic base in cotton. The ICAC Recorder. Vol. XXVII No. 3.
12.Jafari Mofidabadi, M.A., Modir-Rahmati, A., and Tavesoli, A.1998. Application of ovary and ovule culture in *P. alba* L. × *Populus euphratica* OLIV hybridization. Silvae Genet. 47: 5-6.
13.Jafari M.A., and Modir-Rahmati, A. 2008. Production of populus *euphratica Oliv.* × *P. alba* L. hybrid poplars through ovary and ovule cultures. Plant Genetic Newsletter. 122: 13-15.
14.Pickell, C. 1972. Growing bulblets and seed. The world of the gladiolus. edgewood Press, Edgewood, Pa. Pp: 90-97.
15.Ramzan, A., Hafez, I.A., Ahmad, T., and Abbas, N.A. 2010. Effect of priming with otassium nitrate and dehusking on seed germination of Gladiolus (*Gladiolus alatus*). Pak. J. Bot. 42: 1. 247-258.

Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources
J. Plant Prod. Res. Vol. 21 (2), 2014
http://jopp.gau.ac.ir

Short Technical Report

Interaspecific hybridization of *Gladiolus grandiflora* (hortolanus. Hort) using *in vitro* mature ovule embryo culture

***A. Jafari Mofidabadi[1] and M. Karimi[2]**
[1]Associate Prof., Central Research of Agriculture and Natural Resource of Golestan, Gorgan, Iran, [2]M.Sc. Graduate, University of Payam Noor, East Branch of Tehran
Received: 03/10/2014; Accepted: 07/27/2014

Abstract

In order to induce genetic variation and produce new hybrid, crosses between different varieties with different flower color have been done. Manual emasculated flowers were pollinated with collected pollen grains. Hand pollination of white flowers female parent with pollen grain of red flower male parent has been carried out in two directions. High dusting self-pollination of red and white color flowers as a control treatment took place. Mean effect of self and cross pollination on number of ovules formation in each ovary through Chi-square test indicated that there was significant differences between them at α=0.05 level. For in vitro nutrition, fertilized ovules were then transferred at different stages of embryos to the culture media. The analysis of collected data for effect of self and cross pollination and different age of embryos on mature embryo germination showed that there is no significant differences between two pollination fashions (cross and self-pollination) at α=0.05 level but there were highly significant differences between age of embryos (21, 30 and 45 days after pollination) at α=0.01 level. Mean comparison through Duncan multiple range test, indicated that highest embryo germination (82.2%) obtained in 30 days old embryos in both pollination fashions (cross and self pollination). Successful acclimatized plantlets transferred to the soilless medium before transfer to the green- house.

Keywords: *Gladiolus grandiflora*, Embryo rescue, Cross, Self-pollination, Interaspecific and Genetic variation

* Corresponding Author; Email: jafarimofidabadi@gmail.com