

تأثیر غلظت‌های مختلف بنزیل آدنین (BA) و نفتالین استیک اسید (NAA) بر باززایی سوخک در سوسن چلچراغ (*Lilium ledebourii*) با استفاده از ریزفلس‌های سوخک

Effect of Different Concentrations of Benzyladenine (BA) and Naphthalene Acetic Acid (NAA) on Regeneration of *Lilium ledebourii* (Chelcheragh Lily) Using Bulblets Microscales

محمدنقی پاداشت دهکائی^۱، احمد خلیقی^۲، روح‌انگیز نادری^۲ و امیر موسوی^۳

- ۱- دانشجوی سابق دکتری باغبانی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات، تهران
- ۲- به ترتیب استاد و استادیار، دانشکده کشاورزی دانشگاه تهران، کرج
- ۳- استادیار، پژوهشگاه ملی مهندسی ژنتیک و زیست فناوری، تهران

تاریخ دریافت: ۱۳۸۵/۱۱/۴ تاریخ پذیرش: ۱۳۸۶/۹/۱۵

چکیده

پاداشت دهکائی، م. ن.، خلیقی، ا.، نادری، ر.، و موسوی، ا. ۱۳۸۷. تأثیر غلظت‌های مختلف بنزیل آدنین (BA) و نفتالین استیک اسید (NAA) بر باززایی سوخک در سوسن چلچراغ (*Lilium ledebourii*) با استفاده از ریزفلس‌های سوخک. نهال و بذر ۲۴: ۳۲۱-۳۳۲.

این بررسی به منظور ارزیابی قابلیت باززایی سوخک از ریزفلس‌های سوخک در شرایط درون شیشه‌ای و تأثیر تنظیم‌کننده‌های رشد بنزیل آدنین (BA) و نفتالین استیک اسید (NAA) در باززایی سوخک سوسن چلچراغ اجرا شد. تنظیم‌کننده‌های رشد BA و NAA به غلظت صفر، ۰/۰۱ و ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر در محیط کشت موراشیک و اسکوک (MS) جامد اضافه شد. آزمایش به صورت فاکتوریل ۳×۳ اجرا شد. نتایج نشان داد که ریزفلس‌ها به ویژه در غلظت‌های مناسب تنظیم‌کننده‌های رشد به خوبی قابلیت باززایی سوخک را دارند. بیشترین تعداد سوخک و ریشه در غلظت ۰/۰۱ میلی‌گرم در لیتر BA و ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر NAA به دست آمد. با افزایش غلظت تنظیم‌کننده‌های رشد، برخی از سوخک‌های باززایی شده در شرایط درون شیشه‌ای مستقیماً تولید برگ کردند و این مشخصه منفی برای سوخک‌های باززایی شده سوسن چلچراغ است. بررسی نشان داد که برای باززایی سوسن چلچراغ می‌توان از ریزفلس‌های سوخک استفاده کرد. با توجه به کمبود ماده گیاهی و پراکنش کم این گیاه بومی ایران در زیستگاه‌های طبیعی، نتایج این بررسی می‌تواند کاربرد ویژه‌ای برای ازدیاد این گیاه نادر داشته باشد.

واژه‌های کلیدی: سوسن چلچراغ، باززایی، ریزفلس، سیتوکینین، اکسین، کشت درون شیشه‌ای.

مقدمه

مدت ۸-۶ ماه ریزازدیادی کرد (Rees, 1992). در روش متداول ازدیاد لیلیوم یعنی روش فلس برداری ۱۰۰-۵۰ سوخک در سال تولید می شود که این تعداد بستگی به اندازه فلس سوخ، گونه و رقم دارد (Varshney et al., 2002). در سوسن چلچراغ، باززایی سوخک در روش فلس برداری (Scaling) در مقایسه با سایر گونه های لیلیوم کم است و بین یک تا سه سوخک در هر فلس باززایی می شود. در شرایط مناسب از نظر دمایی و بستر کشت به طور میانگین ۱/۲-۱ سوخک در هر فلس به وجود می آید و هر سوخک ۳-۶ ریزفلس (Microscale) دارد (Padasht Dahkaei, 2001, 2005)؛ (Padasht Dahkaei et al., 2006). کشت بافت در بیشتر از ۵۰ نوع گل سوخ دار تشریح شده است، اما تنها لیلیوم به صورت تجارتي تولید می شود (Van der Lide, 1992). از اندام های مختلف لیلیوم مثل فلس سوخ (Bulb Scale)، برگ، ساقه و گلبرگ می توان به عنوان ریز نمونه برای کشت بافت استفاده کرد (Hartmann, 1997). عوامل بسیاری همچون منبع ریز نمونه، غلظت ساکارز، pH و تنظیم کننده های رشد، کشت درون شیشه ای را تحت تاثیر می گذارد (Jeong, 1996). اکثر موفقیت های کسب شده در کشت بافت لیلیوم مربوط به ژنوتیپ های *L. longiflorum* بوده و موفقیت کمی از سایر گونه های لیلیوم حاصل شده است (Bahr and Compton, 2004).

سوسن چلچراغ *Lilium ledebourii* (Baker) Boiss] از تیره Liliaceae تنها گونه گیاهی از این جنس است که پراکنش آن از داماش گیلان و لنکران جمهوری آذربایجان (Wendelbo, 1978)، کلاردشت مازندران (Ghahreman, 1997)، خانقاه اردبیل (Padasht Dahkaei, 2005) و دُرْفک گیلان (Kazemi and Saberi, 2004) گزارش شده است.

در فرآیند شناسایی، ارزیابی و سرانجام تجارتي کردن ذخایر توارثی، قابلیت ازدیاد یک گیاه جدید، یکی از عوامل مهم است که باید مورد بررسی قی قرار گیرد (Roh and Lawson, 1993, 1998). سوخ (Bulb) سوسن ها (لیلیوم ها) اندام ذخیره ای زمین رُست (Geophytes) است که بدون پوشش (Non-tunicate) بوده و از فلس ها (Scales) و طبق (Basal plate) تشکیل شده است. طبق یک ساقه فشرده شده (متراکم) بوده که ساقه و ریشه ها از آن بوجود می آیند. فلس ها برگ های تغییر شکل یافته و متورم و حاوی مواد غذایی ذخیره شده هستند. اندازه سوخ ها تا اندازه زیادی به تعداد و درجه تراکم فلس ها بستگی دارد (Hartman et al., 1997؛ Roh, 1999). سوسن چلچراغ نیز دارای چنین ویژگی هایی است. لیلیوم را می توان به آسانی از طریق تکه های ساقه یا فلس سوخ با ۱۰۰-۵۰ برابر در

آزادی (Azadi, 2003) و توسلیان (Tavasolian, 2001) بیشترین تعداد سوخک باززایی شده را از قسمت پایینی فلس (Basal) سوخ مادری گزارش کردند. آزادی (۲۰۰۳) غلظت مناسب ساکارز را برای ریزازدیادی سوسن چلچراغ ۳۰ گرم در لیتر و غلظت مناسب هورمون BA و NAA را که فقط وزن سوخک باززایی شده را تحت تاثیر قرار داد ۰/۱ میلی گرم در لیتر گزارش کرد. باززایی سوخک از سایر قسمت‌های فلس به استثناء قسمت پایینی فلس سوخ سوسن چلچراغ خیلی کم صورت می‌گیرد (Tatari Varnusfaderani et al., 2004)؛ (Azadi, 2003). در مطالعه Jeong (1996) باززایی سوخک از قسمت انتهایی (Distal) فلس و در غیاب تنظیم کننده‌های رشد در گونه‌های سوخک *L. concolor* var. *partheneion* () و *L. amabile* و *L. callosum* گزارش شد. در این بررسی قابلیت باززایی سوخک از ریزفلس‌های سوخک (Microscale) سوخک باززایی شده از فلس‌های سوخ مادری (Scaling) سوسن چلچراغ و اثر تنظیم کننده‌های رشد BA و NAA در شرایط درون شیشه‌ای (*In vitro*) روی آن و ویژگی‌های سوخک باززایی شده در شرایط درون شیشه‌ای مورد ارزیابی قرار گرفت.

Dabrowski et al. (1992) به نقل از بسیاری از پژوهشگران آورده‌اند که اثر تنظیم کننده‌های رشد در اندام‌زایی لیلیوم‌های کشت شده متفاوت بوده و بعضی از آن‌ها تایید کرده‌اند که سیتوکینین‌ها تاثیری در قابلیت تولید لیلیوم‌ها از ریز نمونه‌های اولیه ندارند و حتی از تمایز جلوگیری می‌کنند. برخی محققین تاثیر تحریکی کمی را در اثر کاربرد سیتوکینین‌ها در تولید سوخک‌های لیلیوم یافته‌اند و برخی به طور موفقیت آمیزی کاربرد غلظت بالای بنزیل آدنین (BA) را در نسبتی از اکسین در قابلیت تولید لیلیوم‌ها گزارش کرده‌اند. در گزارش تاتاری و نوسفادرانی و همکاران (Tatari Varnusfaderani et al., 2004) در کشت فلس سوسن چلچراغ در شرایط درون شیشه‌ای، حداکثر میزان تولید سوخک در تیمار شاهد (بدون تنظیم کننده‌های رشد) با میانگین ۹/۱ عدد به دست آمد و با افزایش غلظت بنزیل آدنین، تعداد سوخک کاهش و کمترین تعداد سوخک با میانگین ۳ عدد در غلظت ۰/۱ میلی گرم در لیتر حاصل شد. میانگین تولید سوخک در محیط کشت شاهد و نفتالین استیک اسید به غلظت ۰/۰۱ میلی گرم در لیتر به ترتیب ۶/۵۵ و ۶/۶۶ عدد بود و در محیط حاوی نفتالین استیک اسید به غلظت ۰/۱ میلی گرم در لیتر کمترین تعداد سوخک با میانگین ۴/۷۲ عدد و بیشترین تعداد ریشه با میانگین ۵/۴۴ عدد به دست آمد.

مواد و روش‌ها

آماده کردن ریزنمونه (Explant)

در آغاز با شیوه فلس برداری (Scaling) تعداد لازم سوخک از گیاه سوسن چلچراغ (*Lilium Ledebourii*) تولید شد. آنگاه ریزفلس‌ها (Microscales) از سوخک‌ها جدا شده و به عنوان ریزنمونه (Explant) مورد استفاده قرار گرفتند. ابتدا ریزفلس‌ها با آب معمولی شستشو شدند و به مدت ۱/۵ دقیقه در اتانل ۹۶٪ و آنگاه به مدت ۲۰ دقیقه در هیپوکلرید سدیم ۰/۵ درصد ضد عفونی شده و سپس سه بار با آب مقطر سترون شستشو و آماده کشت شدند.

آماده کردن محیط کشت و شرایط آزمایش

محیط کشت کامل موراشیک و اسکوگ (MS) با ساکارز ۳۰ گرم در لیتر و آگار ۷ گرم در لیتر با pH ۵/۵ مورد استفاده قرار گرفت. این محیط کشت با غلظت‌های صفر، ۰/۰۱ و ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر برای هورمون‌های NAA و BA تهیه شد. پس از آماده سازی محیط کشت، عملیات سترون کردن در اتوکلاو با دمای ۱۲۱ °C و فشار ۱/۲ اتمسفر به مدت ۱۵ دقیقه انجام شد. افزودن هورمون‌ها و تنظیم اسیدیته قبل از سترون کردن محیط کشت انجام شد. برای کشت ریز نمونه‌ها از استوانه‌های شیشه‌ای به ارتفاع ۱۵ و قطر ۲/۲ سانتی متر استفاده شد و در هر استوانه ۱۵ میلی‌لیتر محیط کشت ریخته شد و یک ریزفلس کشت شد.

این آزمون به صورت آزمایش فاکتوریل

۳×۳ و در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۹ تیمار و ۳ تکرار اجرا شد و در هر تکرار و برای هر تیمار ده استوانه شیشه‌ای و در مجموع ۲۷۰ استوانه استفاده شد. پس از عملیات کشت در زیر هود، استوانه‌ها در اتاقک رشد با دمای ثابت ۲۵ درجه سانتی‌گراد و مجهز به لامپ‌های فلورسنت با شدت نور ۲۰۰۰ لوکس (۱۴ ساعت روشنایی و ۱۰ ساعت تاریکی) قرار داده شدند. سه ماه پس از کشت، عملیات یادداشت برداری انجام شد و تعداد ریشه و سوخک تولید شده در هر ریزفلس ثبت شد. در طول آزمایش ویژگی‌هایی همچون قابلیت کالوس‌زایی، ظهور برگ، تشکیل اولین سوخک‌های باززایی شده یادداشت شد.

نتایج و بحث

در بررسی اولیه در ارتباط با امکان باززایی سوخک در ریزفلس (Microscale) سوسن چلچراغ در شرایط درون شیشه‌ای مشخص شده بود که دمای ۲۵°C مناسب‌تر از دمای ۲۰°C و pH ۵/۵ بهتر از ۴/۵ و شرایط نوری مناسب‌تر از تاریکی برای باززایی سوخک این گیاه است (Padasht Dahkaei, 2005). با توجه به نتایج به دست آمده از آزمایش‌های قبلی در سوخک سوسن چلچراغ، این آزمایش به منظور بررسی واکنش ریزفلس‌های این گیاه به غلظت‌های مختلف هورمون‌های BA و NAA جهت باززایی سوخک‌ها انجام شد.

در تعداد سوخک باززایی شده و تعداد ریشه و بنزیل آدنین فقط در تعداد سوخک باززایی شده در سطح ۱٪ اثر معنی داری داشتند، در حالی که اثر متقابل آنها معنی دار نبود.

جدول ۱ تجزیه واریانس اثر بنزیل آدنین (BA) و نفتالین استیک اسید (NAA) را در باززایی سوخک سوسن چلچراغ نشان می‌دهد. مشاهده می‌شود که نفتالین استیک اسید

جدول ۱- تجزیه واریانس اثر بنزیل آدنین و نفتالین استیک اسید در باززایی سوخک از ریزفلس
Table 1. Variance analysis of effect of BA and NAA on bulblet regeneration from microscale

منابع تغییرات S.O.V.	درجه آزادی df.	میانگین مربعات MS	
		تعداد سوخک Number of bulblet	تعداد ریشه Number of root
BA	بنزیل آدنین 2	13.74**	0.20 ^{ns}
AA	نفتالین استیک اسید 2	0.69**	114.10**
NAA×BA	4	0.03 ^{ns}	0.21 ^{ns}
Error	خطای آزمایشی 18	0.09	0.11

ns و **: به ترتیب غیر معنی دار و معنی دار در سطح ۱ درصد

ns and **: Not significant and significant at 1%.

(NAA) را در تعداد سوخک باززایی شده و همچنین تعداد ریشه تولید شده نشان می‌دهد. جدول مربوط به اثر متقابل ملاک خوبی برای قضاوت در مورد تاثیر سطوح مختلف روی شاخص‌ها بوده و ویژگی‌های کاربردی آزمایش را به نمایش می‌گذارد. همان‌طور که ملاحظه می‌شود زمانی که غلظت BA صفر بود با افزایش غلظت NAA، تعداد سوخک افزایش قابل توجهی پیدا نکرد در حالی که تعداد ریشه افزایش یافت به طوری که در غلظت ۰/۱ میلی گرم در لیتر بیشترین تعداد ریشه (۸/۸ عدد) تولید شد. در سایر غلظت‌های BA در ترکیب با NAA نیز بالاترین تعداد ریشه در غلظت

مقایسه میانگین اثر مستقل بنزیل آدنین (BA) نشان داد که BA در غلظت‌های ۰/۰۱ و ۰/۱ میلی گرم در لیتر در تعداد سوخک باززایی شده و تعداد ریشه تولید شده (حتی صفر میلی گرم در لیتر) معنی دار نشان ندادند (داده‌ها ارائه نشده است).

جدول ۲ مقایسه میانگین اثر مستقل نفتالین استیک اسید (NAA) را در تعداد سوخک باززایی شده و تعداد ریشه نشان می‌دهد. غلظت ۰/۱ میلی گرم در لیتر نفتالین استیک اسید در تعداد سوخک و تعداد ریشه تاثیر بهتری نسبت به سایر غلظت‌ها داشت. جدول ۳ اثر متقابل بنزیل آدنین (BA) و نفتالین استیک اسید

جدول ۲- مقایسه میانگین اثر مستقل نفتالین استیک اسید در تعداد ریشه و سوخک بازاری شده از

ریزفلس

Table 2. Comparison of main effect of NAA on number of root and regenerated bulblet from microscale

غلظت نفتالین استیک اسید NAA concentration	تعداد سوخک Number of bulblet	تعداد ریشه Number of root
0.00	4.0 b	1.5 c
0.01	4.0 b	6.1 b
0.10	4.6 a	8.5 a

میانگین هایی که در هر ستون دارای حرف مشترک هستند بر اساس آزمون توکی در سطح ۱٪ معنی دار نیستند.

Means in each column followed by similar letters are not significantly different at 1% level by HSD test.

سیتو کینین را در تولید سوخک نشان می دهد. براساس این نتایج می توان در یک محیط کشت به طور مستقیم سوخک ریشه دار تولید کرد و آنگاه جهت تولید سوخ های با قابلیت گلدهی به مزرعه انتقال داد.

Jeong (1996) گزارش داد که در *L. concolor var. partheneion* نفتالین استیک اسید کمتر از ۰/۰۱ میلی گرم در لیتر در ترکیب با بنزیل آدنین با غلظت کمتر از یک میلی گرم در لیتر تشکیل سوخک را افزایش داد و بهترین نتیجه در محیط کشت حاوی NAA به غلظت ۰/۰۱ میلی گرم در لیتر و BA به غلظت ۰/۱ میلی گرم در لیتر به دست آمد. بالاترین سرعت تشکیل کالوس نیز در چنین غلظت هورمونی به دست آمد. نتایج به دست آمده از بررسی اخیر روی سوسن چلچراغ با نتایج Jeong (1996) مطابقت دارد زیرا در این آزمایش نیز با افزایش تنظیم کننده های رشد

۰/۱ میلی گرم در لیتر NAA مشاهده شد. بازاری اولین سوخک های سوسن چلچراغ، ۳۰-۲۵ روز پس از کشت ریزفلس ها مشاهده و ثبت شد و در محیط کشت حاوی غلظت های مختلف BA و NAA همیشه ابتدا بازاری سوخک و سپس تولید ریشه مشاهده شد و این مزیتی برای یک گیاه در شرایط کشت درون شیشه ای است که ریزنمونه آن بتواند در یک محیط کشت ابتدا ساقه (در اینجا سوخک) و سپس ریشه تولید کند.

با توجه به جدول ۳، بنزیل آدنین در غلظت های ۰/۰۱ و ۰/۱ میلی گرم در لیتر و در ترکیب با NAA، با افزایش غلظت NAA از صفر تا ۰/۱ میلی گرم در لیتر تعداد سوخک بازاری شده نوسان زیادی نداشت، با این وجود در دامنه ذکر شده تعداد ریشه افزایش چشمگیری نشان داد. این نتایج از طرفی اثر ریشه زایی اکسین و از طرف دیگر اثر بازاری

جدول ۳- اثر متقابل بنزیل آدنین و نفتالین استیک اسید بر شاخص های سوخک‌های باززایی شده

Table 3. Interaction of BA and NAA on characteristics of regenerated bulblets

غلظت های بنزیل آدنین BA concentration	غلظت های نفتالین استیک اسید NAA concentration	تعداد سوخک Number of bulblet	تعداد ریشه Number of root
0.00	0.00	2.5 b	1.2 c
	0.01	2.8 b	6.4 b
	0.10	3.3 b	8.8 a
0.01	0.00	4.9 a	1.6 c
	0.01	5.0a	6.1 b
	0.10	5.3 a	8.4 a
0.10	0.00	4.7 a	1.5 c
	0.01	4.8 a	5.8 b
	0.10	5.2 a	8.2 a

میانگین هایی که در هر ستون دارای حرف مشترک هستند بر اساس آزمون توکی در سطح ۱٪ معنی دار نیستند

Means in each column followed by similar letters are not significantly different at 1% level by HSD test.

بزرگ‌های فلسی (Scaly leaves) تولید کردند (شکل ۱) که این ویژگی مناسبی نیست زیرا در حین جداسازی و انتقال جهت کشت، برگ‌ها آسیب دیده و باعث اختلالات فیزیولوژیک می‌شود و تولید برگ جدید به تاخیر می‌افتد. در این سوخک‌ها خواب (Dormancy) شکسته شده است و به آن‌ها سوخک‌های بدون خواب (Non-dormant) می‌گویند و به نظر می‌رسد تنظیم‌کننده‌های رشد به ویژه BA باعث شکسته شدن خواب شده باشد. عوامل دیگری نیز در ظهور برگ‌های فلسی توسط سایر محققین از برخی از گونه‌ها و ارقام لیلیوم در روش فلس برداری نام برده شده است که شامل عواملی چون دما، جیبرلین (GA) و اسید آبسزیک (ABA) است (Suh and Lee, 1996).

میزان تشکیل کالوس افزایش یافت (شکل ۱) ضمن این که تشکیل کالوس در pH ۴/۵ نیز بیشتر از pH ۵/۵ گزارش شد (Padash Dahkaei, 2005). بر اساس گزارش Jeong (19996)، در *L. amabile* بهترین نتیجه در تیمار هورمونی ۰/۰۱ میلی گرم در لیتر NAA و ۰/۰۱ میلی گرم در لیتر BA بود و تنظیم‌کننده‌های رشد در غلظت بالا اثر بازدارندگی در نمو سوخک داشت، ولی تشکیل کالوس افزایش یافت. وجود برخی تفاوت‌ها در نتایج به دست آمده در مقایسه با نتایج بررسی سایر پژوهشگران می‌تواند ناشی از نوع گونه یا رقم باشد. در این آزمایش مشاهده شد که سوخک‌های باززایی شده در استوانه کشت با افزایش غلظت بنزیل آدنین و نفتالین استیک اسید به‌طور مستقیم و بدون سرمادهی



سوختک‌های باززایی شده
در روش فلس برداری
Regenerated bulblets in
scaling method



0.1 mg^l⁻¹ BA,
0.01 mg^l⁻¹ NAA



0.01 mg^l⁻¹ BA,
0.1 mg^l⁻¹ NAA



0.01 mg^l⁻¹ BA,
0 mg^l⁻¹ NAA



سوختک‌های باززایی شده هنگام جداسازی
Subculture of bulblets



کالوس تولید شده
Produced callus



سبز شدن سوختک‌ها پس از سرمادهی
Sprouting of bulblets after
stratification



برگ فلسی بدون
سرمادهی سوختک‌ها در
شرایط درون شیشه‌ای
Scaly leaf
without
stratification of
bulblets *in vitro*
condition

شکل ۱- باززایی سوختک در سوسن چلچراغ
Fig. 1. Regeneration of bulblets in Chelcheragh lilium

سوختک‌هایی که از ریزفلس آن‌ها در ریزازدیادی استفاده شد (چپ-اول). سوختک‌ها و کالوس باززایی شده در شرایط درون شیشه‌ای در غلظت‌های مختلف تنظیم کننده‌های رشد

Bulblets that their microscales used in micropropagation (left-first). Bulblets and callus regenerated under different concentrations of growth regulator of *in vitro* condition.

متعدد در گونه *Lilium auratum* Lindl. محیط کشت MS حاوی ۰/۱ میلی گرم در لیتر NAA به همراه ۹/۷ میلی گرم در لیتر کینتین یا ۳/۱ میلی گرم در لیتر BA و در گونه *L. speciosum* Thunb. cv. Uchida کشت MS حاوی ۰/۱ میلی گرم در لیتر NAA به همراه ۳ میلی گرم در لیتر کینتین یا ۱ میلی گرم در لیتر BA است. همچنین با افزایش غلظت NAA تمایز ریشه تحریک می‌شود، اما غلظت‌های بالاتر اثر بازدارنده دارد (غلظت‌های ۰/۰۱، ۰/۱، ۱ و ۱۰ میلی گرم در لیتر). افزودن NAA به محیط کشت به غلظت ۱۰ میلی گرم در لیتر اثر سینرژیستی در تحریک فعالیت کینتین دارد. اثر BA و کینتین در تمایز و رشد اندام توسط محققین مختلف مورد مقایسه قرار گرفت و مشخص شد که اثر فیزیولوژیکی BA قوی‌تر از کینتین است (Takayama and Misawa, 1982).

Novak and Maskova (1979) نیز گزارش کرده بودند در هر دو گونه *L. auratum* Lindl. و *L. speciosum* Thunb. cv. Uchida سیتوکینین اثر بازدارندگی در ریشه‌زایی داشت و این اثر توسط BA بارزتر از کینتین بود. در این آزمایش افزایش غلظت BA تاثیر کمی در ریشه‌زایی نشان داد به ویژه زمانی که غلظت NAA صفر بود ولی با افزایش غلظت NAA ریشه‌زایی افزایش پیدا کرد. به هر حال به عنوان یک نتیجه کاربردی، BA با غلظت ۰/۰۱

همچنین به دلیل وجود شرایط نوری در طول باززایی، سوخک‌ها سبز شدند که به دلیل تشکیل کلروفیل بود. در این بررسی کمترین تعداد ریشه و سوخک در تیمار شاهد (بدون تنظیم‌کننده‌های رشد) به دست آمد که این نتیجه با نتایج تاتاری ورنوسفادرانی و همکاران (۲۰۰۴) که کشت بافت سوسن چلچراغ را گزارش کردند مغایرت دارد با این تفاوت که در این آزمایش از ریزفلس (Microscale) سوخک استفاده شد در حالی که آن‌ها از فلس سوخ مادری استفاده کرده بودند.

Dabrowski *et al.*, (1992) گزارش کردند که تشکیل سوخک از ریز نمونه‌های اولیه لیلیوم رقم *Sonnentiger* در محیط کشت حاوی نفتالین استیک اسید (0.1 mg l^{-1}) و غلظت پائین سیتوکینین (0.3 mg l^{-1} و 0.1) در بالاتری میزان خود بود و بالاترین تعداد سوخک در محیط کشت حاوی نفتالین اسید، 2ip و بنزیل آدنین با غلظت ۰/۱ میلی گرم در لیتر به دست آمد.

Takayama and Misawa (1982) تاثیر سیتوکینین و اکسین را در اندام‌زایی *Lilium auratum* Lindl. در شرایط *L. speciosum* Thunb. cv. Uchida درون شیشه‌ای مورد بررسی قرار دادند و گزارش کردند افزودن هورمون‌های گیاهی به محیط کشت جهت تمایز و رشد اندام‌ها ضروری است. نتایج مطالعات این محققین نشان داد که شرایط بهینه برای تشکیل سوخک‌های

از ریزفلس است تا برداشت سوخ از زیستگاه طبیعی صورت نگیرد. پیشنهاد می‌شود در تحقیقات بعدی بررسی مقایسه‌ای بین باززایی سوخک از ریزفلس‌های سوخک‌های حاصل از فلس‌برداری و ریزفلس‌های سوخک‌های باززایی شده در شرایط درون شیشه‌ای انجام شود. به هر حال سوخک‌های باززایی شده در شرایط درون شیشه‌ای، پس از ۶ هفته سرمادهی (Padasht Dahkaei *et al.*, 2006) در بستر حاوی پیت و پرلیت (۱:۱) سترون شده کشت شدند و به خوبی شروع به تولید برگ کردند و فرآیند تولید سوخک و کشت در فضای آزاد با موفقیت انجام شد.

سیاسگاری

بدینوسیله از همکاران در ایستگاه تحقیقات گل و گیاهان زینتی لاهیجان به سبب همکاری صمیمانه‌ای که در انجام این پژوهش داشته‌اند قدردانی می‌شود.

References

- Azadi, P. 2003.** Effect of growth regulators, sucrose concentration and scale pieces on micropropagation of Chelcheragh lily (*Lilium ledebourii*) in spring season. Proceedings of the 2nd Science and Applied Seminar on Ornamental Plants. Page 43 (in Farsi).
- Bahr, L. R., and Compton, M. E. 2004.** Competence for *in vitro* bulblet regeneration among eight *Lilium* genotypes. HortScience 39: 127- 129.
- Dabrowski, J., Dabski, M., and Kozak, D. 1992.** The influence of some growth

میلی گرم در لیتر برای باززایی بیشترین تعداد سوخک به همراه NAA با غلظت ۰/۱ میلی گرم در لیتر برای تولید بالاترین تعداد ریشه از ریزفلس‌ها توصیه می‌شود. با این نسبت هورمونی می‌توان مبادرت به ریزازدیادی سوسن چلچراغ کرد. باید به این نکته اشاره کرد که باززایی سوخک از سایر قسمت‌های فلس به استثناء قسمت پایینی فلس سوخ سوسن چلچراغ خیلی کم صورت می‌گیرد (Azadi, 2003)؛ (Tatari Varnusfaderani *et al.*, 2004). همچنین باززایی سوخک در شرایط فلس‌برداری نیز پایین است و به طور میانگین ۱-۱/۲ سوخک در هر فلس تولید می‌شود (Padasht Dahkaei, 2001, 2005)؛ (Padasht Dahkaei *et al.*, 2006). نظر به کمبود ماده اولیه (سوخ) باید سعی شود که از سایر اندام‌ها به عنوان ریز نمونه استفاده کرد و بنابراین می‌توان از ریزفلس‌های سوخک‌های تولید شده به عنوان ریز نمونه استفاده کرد که باززایی مناسبی نیز دارند و بهترین امتیاز استفاده

- regulators on regeneration of lily bulbs *in vitro*. *Acta Horticulturae* 325: 537- 541.
- Ghahreman, A. 1997.** Flora of Iran. Vol. 16. Published by the Research Institute of Forests and Rangelands and Tehran University (In Farsi, English and French).
- Hartmann, H. T., Kester, D. E., Davies, F. T. JR, and Geneve, R. L. 1997.** Plant Propagation: Principles and Practices. Prentice Hall International, INC.
- Jeong, J. H. 1996.** *In vitro* propagation of bulb scal section of several Korean native lilies. *Acta Horticulturae* 414: 269- 276.
- Kazemi, Kh., and Saberi, V. 2004.** Chelcheragh lily (*Lilium ledebourii*) national and nature heritage. *Green Wave* 4(17): 32-34 (in Farsi).
- Novak, F. J., and Maskova, I. 1979.** Apical shoot tip culture of tomato. *HortScience* 10: 337-344.
- Padasht Dahkaei, M. N. 2001.** Effect of scale position, IBA and harvest time on bulblet formation of Chelcheragh lily (*Lilium ledebourii*). Proceeding of the First of Science and Applied Seminar on Ornamental Plants. Page 54 (in Farsi).
- Padasht Dahkaei, M. N. 2005.** The investigation of different methods for culturing and propagation of Chelcheragh lily (*Lilium ledebourii*), native of Iran, and its introduction possibility as a new floricultural crop. Ph. D. Thesis, Islamic Azad University, Science and Research Unit, Tehran, Iran (in Farsi).
- Padasht Dahkaei, M. N., Khalighi, A., Naderi, R., and Mousavi, A. 2006.** Effect of temperature, propagation media and scale position on bulblet regeneration of Chelcheragh lily (*Lilium ledebourii*) by scaling method. *Seed and Plant* 22: 383-397 (in Farsi).
- Rees, A. R. 1992.** Ornamental Bulbs, Corms and Tubers. CAB International. 220 pp.
- Roh, M. S. 1999.** Physiology and management of Lilium bulbs. *Acta Horticulturae* 482: 39- 49.
- Roh, M. S., and Lawson, R.H. 1993.** Progress of new crops research. A cooperative program between the government and industry. *Acta Horticulturae* 337: 145- 152.
- Roh, M. S. and Lawson, R. H. 1998.** Requirements for new floral crops-perspectives for the United States of America. *Acta Horticulturae* 454: 29- 38.
- Suh, J. K., and Lee, J. S. 1996.** Bulblet formation and light quality during scaling propagation of Lilium species. *Acta Horticulturae* 414: 251- 256.

- Takayama, S., and Misawa, M. 1982.** Regulation of organ formation by cytokinin and auxin in *Lilium* bulb scales grown *in vitro*. *Plant and Cell Physiology* 23: 67-74.
- Tatari varnufaderani, M., Fotouhi Ghazvini, R., Hamidoghli, Y., and Hatamzadeh, A. 2004.** Effects of plant growth regulators and kind of bulblet initiation on *in vitro* culture of bulb scale segments from *Lilium ledebourii* (Chelcheragh lily). *Journal of Agricultural Science* 1(2): 19-27 (in Farsi).
- Tavassolian, I. 2001.** Investigation of the effect of growth regulators, scale position and photoperiod on propagation of Chelcheragh lily. MSc. Thesis, College of Agriculture, Tarbiat Modarres University, Tehran, Iran. 176 pp.
- Van der Lide, P. C. G. 1992.** Tissue culture of flower bulb crops: Theory and practice. *Acta Horticulturae* 325: 419- 460.
- Varshney, A., Sharma, M. P., Adholeya, A., Dhawan, V., and Srivastava, P. S. 2002.** Enhanced growth of micropropagated bulblets of *Lilium* sp. inoculated with arbuscular mycorrhizal fungi at different P fertility levels in an alfisol. *Journal of Horticultural Science and Biotechnology* 77: 258-263.
- Wendelbo, P. 1978.** Tulips and Irises of Iran and Their Relatives. Publications of Botanical Institute of Iran. 88 pp.