Archive of SID

"مجله علوم زراعی ایران"
جلد چهارم، شماره ۴، ۱۳۸۱

بررسی اثر تنظیم کننده‌های رشد NAA، BAP، ریز نمونه موقعیت های مختلف فلس و دوره نوری بر کشت بافت گل سوسن چلچراغ

Effcts of plant growth regulators NAA, BAP. different explants scale photoperiod on tissue culture of *Lilium ledebourii* Boiss

معصومه معمار مشرفی[۱]، احمد معینی[۲] و ایرج توسلیان[۳]

چکیده

سوسن چلچراغ با نام علمی*Lilium ledebourii* Boiss یکی از گونه‌های خودرو جنس سوسن است که در بخش های شمالی ایران می روید. این گونه دارای ارزش زینتی و پتانسیل اقتصادی بالایی به عنوان یک گل جدید می‌باشد که به شدت در خطر انقراض قرار دارد. به منظور معرفی و اهلی کردن این گیاه بومی خودرو اولین قدم بررسی روش های مناسب تکثیر می‌باشد لذا از تکنیک کشت بافت با تنظیم کنندگان رشد در شرایط مختلف استفاده گردید. آزمایش با استفاده از طرح فاکتوریل در قالب کاملاً تصادفی با چهار فاکتور به شرح ذیل درسه تکرار انجام گردید: ۱ـ دوره نوری در دو سطح : الف ـ تیمار روشنایی (۱۶ ساعت نور و ۸ ساعت تاریکی) ب ـ تیمار تاریکی مداوم ۲ـ نواحی مختلف تهیه ریز نمونه در دو سطح : الف ـ ریز نمونه‌های حاصل از نیمه بالایی فلس ب ـ ریز نمونه‌های حاصل از نیمه پایینی فلس ۳ـ غلظت‌های مختلف تنظیم کننده رشد BAP در سه سطح ۰، ۰/۰۱و ۰/۱ $mg\ l^{-1}$ ۴ـ غلظت‌های مختلف تنظیم کننده رشد NAA در چهار سطح ۰، ۰/۰۱ ، ۰/۰۵ و۰/۱ $mg\ l^{-1}$. نتایج آزمایش نشان داد که تیمار نوری سبب افزایش وزن کل، تعداد پیازچه و درصد باززایی شد. در حالی که تیمار تاریکی سبب افزایش وزن پیازچه ، درصد ریشه زایی و تعداد ریشه گردید ریزنمونه‌های حاصل از نیمه پایینی فلس نیز سبب افزایش بیشتر تعداد و وزن پیازچه ، تعداد ریشه و درصد ریشه زایی و باززایی گردیدند. سطوح مختلف BAP بر تعدادی از صفات اندازه‌گیری شده اثر منفی گذاشتند. بیشترین تعداد پیازچه ، درصد باززایی و ریشه‌زایی از تیمار شاهد و حداکثر وزن پیازچه از تیمار BAP ۰/۱ $mg\ l^{-1}$ و بیشترین تعداد ریشه نیز از تیمار شاهد و BAP $mg\ l^{-1}$ ۰/۰۱ به دست آمد. سطوح مختلف NAA نیز بر صفات اندازه‌گیری شده تفاوت معنی‌داری را نشان دادند. بیشترین وزن کل وتعداد پیازچه از تیمار NAA $mg\ l^{-1}$ ۰/۱ به دست آمد. هم چنین کلیه سطوح NAA سبب افزایش وزن پیازچه شدند. غلظت های NAA $mg\ l^{-1}$ ۰/۱ و ۰/۰۵نیز سبب افزایش درصد ریشه زایی و تعداد ریشه گردیدند.

واژه های کلیدی: سوسن چلچراغ ، کشت بافت ، پیازچه ، تنظیم کننده‌های رشد NNA , BAP ریز نمونه و دوره نوری.

مقدمه

ایران یکی از مراکز اصلی گونه‌های بومی گیاهی در جهان است. این گونه‌ها به ۱۵۰ تیره تعلق دارد و بالغ بر ۱۷۲۷ گونه بومی را شامل می گردد که تقریباً ۲۵ درصد کل گونه‌ها می‌باشد. سوسن چلچراغ از گونه‌های خودروی جنس سوسن است که در بخش‌های شمالی

تاریخ دریافت: ۱۳۸۱/۷/۱۶ تاریخ پذیرش: ۱۳۸۱/۱۱/۱۴

۱ و ۲- استادیاران دانشگاه تربیت مدرس ۳- دانشجوی کارشناسی ارشد دانشگاه تربیت مدرس

www.SID.ir

Archive of SID

ایران می‌روید. این گونه دارای ارزش زینتی و پتانسیل اقتصادی بالایی به عنوان یک گل جدید می‌باشد که به شدت در خطر انقراض قرار دارد.

به دست آوردن گیاهان محلی و خودرو به منظور استفاده بالقوه و بالفعل در صنعت گیاهان زراعی و زینتی یک امر ضروری برای تحقیقات و ایجاد نوآوری‌های علمی در علوم کشاورزی است. دسترسی مداوم به بهره‌برداری از تنوع ژنتیکی که در طبیعت یافت می‌شود اهمیت زیادی در تکامل و بهبود محصولات زراعی و زینتی دارد (Hannipman, 2000).

سوسن چلچراغ با نام علمی *Lilium ledebourii* پتانسیل بسیار بالایی را به عنوان یک گل جدید و مناسب برای عرضه به بازار گل ایران و جهان دارد. این گل بسیار زیبا از جمله گل های پیازی بوده و دارای خصوصیات مناسبی چون بلند بودن ساقه گل دهنده ، دوام مناسب گل و ظاهری شگفت‌انگیز می‌باشد (قهرمان، ۱۳۷۰) به منظور معرفی و اهلی کردن گیاهان بومی خودرو مراحل مختلفی باید صورت گیرد که یکی از مهم ترین این مراحل بررسی روش های تکثیر می‌باشد. به علت سرعت کند و آهسته‌ای که سیستم های طبیعی تکثیر دارند و احتمال آلودگی مجدد و سریع مواد مادری روش های تکثیر مؤثر و سریع مورد نیاز می‌باشد. یک روش تکثیر که امروزه نقش مهمی در تولیدات کشاورزی به خصوص در گیاهان زینتی دارد روش کشت بافت می‌باشد. تکثیر از طریق کشت بافت در سوسن به صورت گسترده‌ای مطالعه شده و به منظور تکثیر از ریز نمونه‌های برگ ، فلس ، ساقه، گلبرگ و دمگل استفاده شده است. ثابت شده که قطعات فلس های پیاز سوسن ریز نمونه‌های مناسبی برای تکثیر از طریق کشت بافت هستند (Niimi, 1995).

در بررسی که بر روی رقم *L. Speciosum* cv. Rubrum No10 انجام گرفت نتایج نشان دادند که NAA به میزان ۱ mg l^{-1} و ۰/۱ سبب افزایش تعداد پیازچه در هر ریز نمونه فلس می‌گردد. غلظت های مختلف (۰/۱ mg l^{-1} ، ۰/۰۵ ، ۰/۰۱ ، ۰) سایتوکینین‌های BA و 2ip اثر معنی داری بر باززایی پیازچه‌ها نداشتند ولی سبب رشد غیرعادی پیازچه‌ها شدند. انبار کردن پیازهای مادری درصفر درجه سانتیگراد به مدت یک سال سبب کاهش نیاز به NAA گردید و پس از این تیمار میزان NAA مورد نیاز برای باززایی بهینه از ۰/۱ mg l^{-1} به ۰/۰۵ کاهش پیدا کرد (Van-Aartrijk and Blim- Barnhoorn , 1981).

در تحقیق دیگری که به منظور تکثیر پیازچه‌های حاصل از کشت بافت گونه *L. japonicum* انجام گرفت. ریز نمونه‌های فلس این گونه برروی محیط کشت MS حاوی NAA و سیتوکینین هایی چون BA , 2ip , Kin , و Zeatin یا ترکیبی از آنها در محیط‌های تاریکی یا روشنایی در دماهای ۲۵ $\mathring{C}$ یا ۲۰ $\mathring{C}$ قرار گرفتند. 2ip در مقایسه با سایر سیتوکینین ها در ۲۰ $\mathring{C}$ و روشنایی مداوم بیشترین درصد باززایی را نشان داد و تیمار NAA ۰/۱ mg l^{-1} نتایج مشابهی داشت. (Maesto et al., 1994). در تحقیقی که به منظور مطالعه اثر نور یا تاریکی بر روی رقم *L.concolar* parthenion انجام گرفت درصد تعداد پیازچه‌های تشکیل شده در هر ریز نمونه تعداد پیازچه در هر فلس و قطر پیازچه در تیمار روشنایی از تیمار تاریکی بیشتر بود ولی میانگین وزن تر آن ها تفاوتی نداشت (Jeong, 1996). در مطالعه‌ای که بر روی رقم parthenion (*L. concolar*) انجام گردید، فلس ها به صورت عرضی به سه قسمت مساوی بخش های انتهایی ، میانی و تحتانی تقسیم گردیدند. هر قسمت بر روی محیط کشت MS حاوی یا فاقد تنظیم کننده‌های رشد NAA , BA در زیر نور قرار گرفتند. نتایج حاصله نشان داد که بدون مواد تنظیم کننده رشد بهترین نتایج از بخش های تحتانی فلس به دست آمد و هیچ پیازچه‌ای از قسمت انتهایی فلس حاصل نگردید ولی در حضور تنظیم‌کننده‌های رشد mg ۰/۰۱ l^{-1} و BA ۰/۱ mg l^{-1} بخش های انتهایی اندام های بیشتری را تشکیل دادند (Jeong , 1996) . در

www.SID.ir

Archive of SID

بررسی که بر روی یک رقم سوسن بومی ژاپن به نام Yuri - (*L. japonicum* Sasa) انجام گرفت نتایج نشان داد که تیمار سرمایی پس از کشت بافت به میزان حداقل ۱۲ هفته قبل از انتقال به خاک برای از بین بردن رکورد پیازچه‌ها ضروری می‌باشد و باعث تسریع در رشد اندام ها می گردد (Deklerk et al., 1992).

در تحقیق حاضر اثر تنظیم کننده‌های رشد NAA , BAP و ریز نمونه موقعیت های مختلف فلس و دوره نوری به منظور تولید پیازچه این گل مورد بررسی و ارزیابی قرار گرفت.

مواد و روش ها

پیاز سوسن چلچراغ *Lilium ledebourii* بعد از خشک شدن قسمت های هوایی گیاه از محل رویش طبیعی از منطقه داماش از توابع شهرستان رودبار در استان گیلان جمع آوری گردیدند و پس از انتقال به آزمایشگاه به منظور ضد عفونی مواد گیاهی ، ابتدا فلس‌های آسیب‌دیده و آلوده حذف شده و سپس فلس‌های سالم را از صفحه انتهایی جدا کرده و در محلول قارچکش بنومیل ۰/۲ درصد به مدت ۳۰ دقیقه قرار داده پس از چند مرتبه شستشو با آب آن ها را به مدت ۳۰ ثانیه در اتانل ۷۰٪ ضد عفونی گردید و سپس آن ها را با آب مقطر استریل شستشو داده و به مدت ۲۰ دقیقه در محلول هیپوکلریت سدیم ۱٪ قرار داده و نهایتاً سه مرتبه با آب مقطر استریل شستشو داده شدند. ریز نمونه‌ها را در محیط کشت MS (Murashige and Skoog, 1962) که شامل میواینوسیتول($100\ mg\ l^{-1}$) و نیاسین ($5\ mg\ l^{-1}$)،پیریدوکسین ($0/5\ mg\ l^{-1}$)، تیامین ($0/1\ mg\ l^{-1}$) گلیسین ($2\ mg\ l^{-1}$)، هیدروبیات کازیین ($1\ g\ l^{-1}$) ساکارز ($30\ g\ l^{-1}$). pH نیز(۵/۷) با استفاده از سود ۱ نرمال قبل از اتوکلاو در ۱۲۱ $\dot{C}$ به مدت ۱۵ دقیقه تعدیل گردید و در $20^{\circ}C$ در تاریکی قرار داده شدند. تنظیم کننده‌های رشدBAP به میزان ۰ ، ۰/۰۱، ۰/۱ $mg\ l^{-1}$ و NAA ۰/۱ ، ۰/۰۵ و ۰/۰۱ $mg\ l^{-1}$ یا ترکیبی از آن ها به محیط‌های کشت افزوده گردید.

ریز نمونه‌های ضد عفونی شده اولیه در زیر ایرفلولامینار به دو بخش نیمه بالایی و نیمه پایینی فلس به صورت عرضی تقسیم شدند و از هر نیمه دو ریز نمونه به ابعاد ۷×۷ mm جدا گردیده و به لوله‌های آزمایشی به ابعاد ۱۸۰ mm × ۲۲ بر حسب تیمارهای مختلف بر روی محیط کشت قرار داده شدند. سپس لوله‌های آزمایش به دو دسته تقسیم شده یک دسته در تاریکی و دسته دیگر در روشنایی (۱۶ ساعت نور به شدت ۲۴۰۰-۱۸۰۰ لوکس) قرار داده شدند. دمای اطاقک رشد در طول آزمایش ۲ ± ۲۵ $\dot{C}$ بود. پس از چهار ماه فاکتورهای ارزیابی رشد و نمو پیازچه‌ها شامل : وزن کل (پینه + ریز نمونه + پیازچه‌ها) ، تعداد پیازچه ، وزن پیازچه ، قطر پیازچه ، درصد ریشه‌زایی ، تعداد ریشه‌ها و درصد باززایی آن ها اندازه‌گیری گردید. سپس به منظور برطرف شدن رکود حاصل از کشت بافت پیازچه‌ها به مدت سه ماه به یخچال و دمای ۲ ± ۵ $\dot{C}$ منتقل گردید و پس از برطرف شدن رکود گیاهچه‌های کاملی از گیاه سوسن چلچراغ تولید گردید. به منظور بررسی و تعیین بهترین تیمارها از آزمایش فاکتوریل با طرح پایه کاملاً تصادفی استفاده گردید. در آزمایش کشت بافت تیمارهای مورد استفاده دو سطح تیمار نوری ، دو سطح محل تهیه ریز نمونه ، سه سطح تنظیم کننده رشد BAP و چهار سطح تنظیم کننده رشد NAA بودند که در سه تکرار و هر تکرار شامل چهار نمونه آزمایش بود. در پایان آزمایش داده‌های به دست آمده مورد بررسی و ارزیابی قرار گرفتند. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری (Statistical Analysis System) S.A.S انجام گرفته و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵٪ انجام گرفت نمودارهای مربوطه نیز به کمک نرم‌افزار Excel تحت ویندوز رسم گردید.

www.SID.ir

Archive of SID

نتایج و بحث

سطوح مختلف NAA بر صفات اندازه‌گیری شده معنی‌دار گردید (جدول ۱). وزن کل در تیمار با غلظت α-NAA ۰/۱mg l^{-1} حداکثر (۱/۵۸ g) و در تیمار شاهد حداقل است (۱/۰۷ g). تعداد پیازچه در غلظت ۰/۱ حداکثر (۳/۴۲) و تیمار شاهد حداقل (۲/۴۷) ، وزن پیازچه در غلظت ۰/۱ حداکثر (۱۶۳/۱ mg) و حداقل در تیمار شاهد (۱۱۷/۸ mg) و درصد ریشه‌زایی نیز در غلظت ۰/۱ حداکثر (۶۹/۶) و در تیمار شاهد حداقل (۴۹/۷) بود. وزن کل ، تعداد پیازچه، وزن پیازچه و درصد ریشه‌زایی در تیمار α -NAA۰/۱ حداکثر و در تیمار کنترل حداقل است (جدول ۲) (شکل ۱).

اثر سطوح مختلف BAP بر صفات اندازه‌گیری شده نشان داد که بیشترین تعداد پیازچه در تیمار شاهد به دست آمد ولی این تیمار کمترین وزن پیازچه را تولید کرد. بیشترین درصد ریشه‌زایی در تیمار شاهد و حداکثر تعداد ریشه از تیمارهای شاهد و غلظت ۰/۰۱ mg l^{-1} BAP به دست آمد.

اصولاً کمتر پدیده‌ای را در گیاه می‌توان نام برد که هورمون ها در تنظیم آن نقش اساسی نداشته باشند تمایز یابی پیازچه‌های نابجا در قطعات فلس های پیازی در سوسن می‌تواند به وسیله تغییر در میزان هورمون ها تنظیم گردد. به نظر می‌رسد اثر جدا کردن فلس از پیاز مادری و تمایز یابی پیازچه به وسیله دخالت در میزان هورمون های گیاهی چون اکسین و ستیوکینین اعمال گردد. به طوری که نتایج تحقیقات (Ishioka and Tanimoto, 1993) نشان داد که در تیمار شاهد که فاقد تنظیم کننده‌های رشد بود، میزان پروتئین اندازه‌گیری شده در وزن تر هر ریز نمونه کمتر از محیط دارای تنظیم کننده‌های رشد NAA یا BA یا ترکیب آن ها بود. در این محیط‌ها میزان پروتئین در اوایل دوره کاشت به شدت افزایش یافته و سپس به تدریج تا دهمین روز کاهش یافت. تغییرات کمی پروتئین هایی که در مراحل اولیه تمایزیابی سنتز شده بودند بر روی ژل پلی‌آکرپل آمید پنج باند با وزن مولکولی ۱۷ ، ۳۲ ، ۶۰ ، ۶۲ و ۸۰ کیلو دالتون (KD) را در قطعات فلس نشان داد. مطالعات بعدی مشخص کرد که پلی پپتیدی با وزن مولکولی کم برای تمایزیابی اندام های نابجا از گیاهان عالی ضروری هستند کوشش هایی نیز در جهت به دست آوردن اطلاعاتی مبنی بر سنتز پروتئین در طی تمایزیابی پیازچه‌ها و سعی در جدا کردن ژن های کد کننده این پروتئین ها و نقش هورمون های گیاهی بر آن ها انجام گرفته است (Ishioka and Tanimoto, 1993).

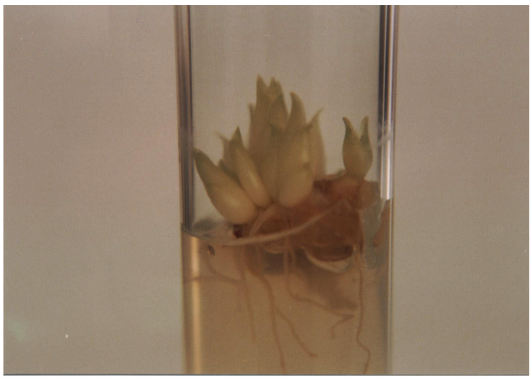
به نظر می‌رسد پدیده مورفوژنز که شامل دو مرحله تمایزیابی (Differentiation) و طویل شدن (Elongation) است تحت تأثیر هورمون ها قرار می‌گیرد ولی فعالیت تمایزیابی حتماً منجر به طویل شدن و رشد سلولی نمی‌شود. به طوری که غلظت‌های مختلف هورمون ها تعداد پیازچه متفاوتی را تولید می‌کنند ولی از نظر وزنی با یکدیگر فرق چندانی نداشته‌اند. از طرفی با توجه به رقابت شدیدتر پیازچه‌ها در محیط کشت بافت رقابت بین پیازچه‌ها بر سر به دست آوردن مواد غذایی سبب می‌گردد تا تیماری که دارای پیازچه بیشتری است با وجود داشتن اکسین بیشتر وزن پیازچه بیشتری را تولید نکند در قطر پیازچه‌ها نیز اختلاف معنی‌داری مشاهده نمی‌گردد. بیشترین وزن پیازچه نیز در تیمار ۰/۰۱ mg l^{-1} BAP و ۰/۱ حاصل گردید (جدول ۲) که با توجه به کمتر بودن تعداد پیازچه باززایی شده در هر ریزنمونه و در نتیجه رقابت کمتر پیازچه‌ها بر سر مواد غذایی امری قابل قبول به نظر می‌رسد. نتایج به دست آمده نشان داد پیازچه‌های حاصل از محیط فاقد BAP برای کشت در محیط آزاد مناسب تر هستند زیرا به زمان کمتری نیاز دارند تا به اندازه مناسب برای گلدهی برسند. هم چنین وزن تر پیازچه‌های باززایی شده در این آزمایش به طور مشخصی بیشتر از گزارش های سایر پژوهشگران بود که این امر ممکن است به علت اختلاف در گونه، طول مدت کشت و شرایط متفاوت

www.SID.ir

Archive of SID

شکل ۱- پیازچه‌های حاصل از کشت بافت ریز نمونه‌های فلسی در غلظت ۰/۱ نفتالن استیک اسید

Fig. 1. Effect of 0.1 mg l^{-1} NAA on number of bulblet of scale explant



شکل ۲- پیازچه های حاصل از کشت بافت ریز نمونه های فلسی در روشنایی

Fig. 2. Effect of lightness on number of bulblet of scale explant

شکل ۳ - پیازچه های حاصل از کشت بافت ریز نمونه‌های فلسی در تاریکی

Fig. 3. Effect of darkness on number of bulblet

محیط کشت چون دما و نور باشند.

تجزیه واریانس اثر محل تهیه ریز نمونه از بخش‌های بالایی یا پایینی فلس نشان داد به جز در صفاتی چون وزن کل و قطر پیازچه اختلاف معنی‌داری (P =۰/۰۵)در تعداد پیازچه و اختلاف بسیار معنی داری را (P = ۰/۰۰۱) در صفاتی چون وزن پیازچه ، درصد

www.SID.ir

Archive of SID

ریشه‌زایی ، تعداد ریشه و درصد باززایی ریز نمونه‌ها شاهد بودیم. حداکثر تعداد پیازچه ، وزن پیازچه ، درصد ریشه‌زایی ، تعداد ریشه ودرصد باززایی در نیمه پایینی فلس حداکثر و حداقل در نیمه بالایی فلس است (جدول ۲). این تفاوت ها می‌تواند نشانگر تفاوت نسبت مواد غذایی و هورمونی در قسمت های مختلف فلس باشد. احتمالاً سرعت و میزان تقسیم سلولی نیز در نیمه پایین از نیمه بالایی فلس بیشتر است.

شدت ، تناوب و کیفیت نور می‌تواند اثرات مختلفی را بر روی ریز نمونه بگذارند. اثر تیمار نوری بر وزن کل بیانگر اختلاف معنی‌دار در بین دو تیمار بود و در تیمار روشنایی تعداد پیازچه و درصد باززایی ماکزیمم گرچه تیمار تاریکی حداکثر وزن پیازچه ، درصد ریشه‌زایی و تعداد ریشه را نشان داده است (جدول ۲). به نظر می‌رسد تولید پینه و پیازچه بیشتر در تیمار روشنایی منجر به افزایش وزن کل گردیده است. انکوباسیون در روشنایی به طور مشخصی سبب افزایش تولید پیازچه از هر فلس گردید احتمالاً شدت نور پایین با تأثیر بر روی میزان IAA داخلی سبب تولید بیشتر پیازچه می‌گردد هم چنین ممکن است نور متناوب (۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی) برای فعالیت فیتوکروم مناسب تر باشد و با تغییر در نسبت (Pfr/pt) بر تعادل هورمون های داخلی و نفوذپذیری سلول ها اثر کرده و سبب افزایش تعداد پیازچه گردد(شکل های ۲ و ۳).

نتایج این آزمایش با نتایج اغلب پژوهشگران مطابقت دارد. در بررسی بر روی گونه L.rubellum تیمار نوری بخصوص نور مداوم سبب افزایش مقدار پیازچه گردید (Niimi, 1995). در حالی که استیمات وآشر (Stimart and Asher, 1978) نتایج متناقضی را مبنی بر استفاده از نور به دست آوردند که ظاهراً این امر به گونه سوسن بستگی دارد

در گونه *L. longiflorum* نیز تعداد پیازچه بیشتری در تیمار روشنایی نسبت به تاریکی به دست آمد (Van Lee et al., 1999). هم چنین تشکیل پداژک در گلایل در روشنایی بیشتر از تاریکی بود (Danto and Bhojwani, 1995). وزن پیازچه‌های حاصل از تیمار تاریکی نیز نسبت به تیمار روشنایی بیشتر بود که با توجه به رقابت پیازچه‌ها به منظور دسترسی بهتر و بیشتر به مواد غذایی قابل بررسی است و بنابراین پیازچه‌های باززایی شده در تاریکی وزن بیشتری داشتند که با گزارش های سایرین (Niimi 1985; Maesato et al., 1994) مطابقت دارد.

اثر متقابل نور و محل تهیه ریز نمونه بر روی وزن کل، وزن پیازچه و تعداد ریشه معنی دار بوده است و واکنش تیمار نوری بستگی به موقعیت فلس در صفات ذکر شده دارد به طوری که تیمار روشنایی و ریز نمونه پایینی فلس حداکثر وزن کل (۱/۵٦g) تیمار تاریکی و ریز نمونه نیمه بالایی فلس حداکثر وزن پیازچه (۱۷۹/۷g) و تعداد ریشه را (۲/۷۸) داشته‌اند گرچه تعداد ریشه با تیمار روشنایی و نیمه بالایی فلس در سطح ۵٪ آزمون دانکن تفاوت معنی داری ندارند (جدول ۱).

اثر متقابل نور و تیمار BAP بر وزن کل ، تعداد پیازچه و درصد باززایی ریز نمونه‌ها معنی‌دار بوده است(جدول ۲) و واکنش تیمار نوری بستگی به تیمار BAP در صفات ذکر شده دارد به طوری که تیمار روشنایی و کنترل حداکثر وزن کل (۱/٤۸ گرم) تعداد پیازچه (٤/٤) و تیمار تاریکی و شاهد ماکزیمم درصد باززایی (۵۹) را نشان داده است (جدول ۳).

اثر متقابل نور و تیمار NAA بر وزن کل ، تعداد پیازچه و درصد باززایی ریز نمونه‌ها معنی‌دار بوده است (جدول ۲) و واکنش تیمار نوری بستگی به تیمار NAA در صفات ذکر شده دارد به طوری که تیمار روشنایی و NAA با غلظت $0/1\ mg\ l^{-1}$ حداکثر وزن کل (۱/٦۷g) و تعداد پیازچه (۴/۳۰) در حالی که همان غلظت NAA در تیمار تاریکی حداکثر درصد باززایی را (۵۵/۵) نشان داده است (جدول ۳).

اثر متقابل موقعیت فلس و BAP نیز بر تعداد پیازچه، وزن پیازچه، قطر پیازچه، تعداد ریشه و درصد باززایی

www.SID.ir

Archive of SID

معنی دار بوده است (جدول ۲) و واکنش محل تهیه ریز نمونه بستگی به تیمار BAP در صفات ذکر شده دارد به طوری که ریز نمونه پایینی فلس و تیمار شاهد حداکثر تعداد پیازچه (۳/٤۷) و درصد باززایی (٦٦/۳) را نشان داده در حالی که همان تیمار ریز نمونه با غلظت BAP ۰/۱ mg l^{-1} حداکثر وزن (۱۸۲/۳ mg) و قطر پیازچه (۸/٤۹ mm) را نشان داده است.

تیمار نیمه پایینی فلس و BAP با غلظت ۰/۱ mg l^{-1} و ۰/۰۱ (۱٦۱ mg) (۱۸۲ mg) در سطح ۵٪ (آزمون دانکن) بر روی وزن پیازچه یکسان هستند و تعداد ریشه نیز در نیمه پایینی فلس و BAP با غلظت ۰/۰۱ mg l^{-1} حداکثر (۲/۵۲) است. گرچه همین موقعیت ریزنمونه با BAP غلظت‌های ۰ mg l^{-1} و ۰/۱ (۲/٤۱) (۲/۳۱) در سطح ۵٪ (آزمون دانکن) یکسان هستند. (جدول ۳).

اثر متقابل محل تهیه ریز نمونه و تیمار NAA بر وزن کل، تعداد پیازچه، وزن پیازچه درصد ریشه زایی و تعداد ریشه معنی‌دار بوده است(جدول ۲) و واکنش محل تهیه ریز نمونه بستگی به NAA دارد. نیمه پایینی فلس و غلظت ۰/۱ میلیگرم در لیتر حداکثر وزن کل (۱/٦۵ g) و تعداد پیازچه (۳/۵٤) را نشان داده، گرچه با نیمه بالایی فلس و غلظت ۰/۱ NAA (۳/۵) در سطح ۵٪ (آزمون دانکن) در تعداد پیازچه تفاوت معنی‌داری ندارند. درصد باززایی در نیمه پایینی فلس و NAA با غلظت ۰/۰۱ حداکثر (٦۳/۲) می‌باشد گرچه با سایر غلظت‌های ۰/۰۱ (٦۱/۳) ، ۰/۰۵ (۵۷/۹) و صفر (۵۸/۲) در سطح ۵٪ یکسان هستند(جدول ۳).

اثر متقابل BAP , NAA نیز بر روی وزن کل ، وزن پیازچه و درصد باززایی ریز نمونه‌ها معنی‌دار بوده است (جدول ۲) و واکنش BAP بستگی به تیمار NAA دارد به طوری که BAP با غلظت۰/۱و NAA با غلظت ۰/۰۱ mg l^{-1} حداکثر وزن کل (۱/۷۷ g) و وزن پیازچه (۱۸۹/۱ mg) را داشته‌اند گرچه با تیمار BAP با غلظت ۰/۰۱ و NAA با غلظت ۰/۱ mg l^{-1} در وزن پیازچه (۱۸۵/۹) اختلاف ندارد. NAA و BAP با غلظت ۰/۰۱ حداکثر درصد باززایی (٦۰/۵) را نشان داده‌اند (جدول ۳).

اثر متقابل نور ، موقعیت فلس ، NAA بر روی وزن پیازچه ، تعداد ریشه و درصد باززایی ریز نمونه‌ها معنی‌دار بوده است(جدول ۲) به طوری که تیمار تاریکی و ریز نمونه‌های نیمه پایینی فلس و NAA با غلظت ۰/۱ mg l^{-1} حداکثر وزن پیازچه (۲۳۹/٤ mg) ، تعداد ریشه (۳/۵) و درصد باززایی (٦۵) را نشان داده است. گرچه با تیمار تاریکی و نیمه پایینی فلس و NAA با غلظت ۰/۰۵ یکسان (۳/٤) و درصد باززایی در همین تیمار نیز ٦۳ درصد است که همین تیمار با NAA با غلظت ۰/۱ mg l^{-1} (٦۵ درصد) در باززایی اختلاف ندارد(جدول ۳).

اثر متقابل نور، موقعیت فلس و BAP بر روی درصد ریشه‌زایی و باززایی معنی‌دار بوده است(جدول ۲) به طوری که تیمار تاریکی و ریز نمونه نیمه بالایی فلس و تیمار شاهد حداکثر ریشه زایی (٪۸۰/۹) و باززایی (٪۷۳/۵) را نشان داده است (جدول ۳).

اثر متقابل نور، BAP , NAA بر روی وزن کل، تعداد پیازچه، تعداد ریشه و درصد باززایی ریز نمونه‌ها معنی دار بوده است (جدول ۲). تیمار تاریکی و BAP با غلظت ۰/۱ و NAA با غلظت ۰/۰۱ mg l^{-1} حداکثر وزن کل (۱/۸۹) را نشان داده و تیمار روشنایی بدون BAP و NAA با غلظت ۰/۱ mg l^{-1} حداکثر تعداد پیازچه (۵/۳۵) و تعداد ریشه (۳/۱۵) را داشته، گرچه تعداد ریشه در تیمار روشنایی با غلظت صفر BAP و NAA با غلظت mg l^{-1} ۰/۱ حداکثر تعداد ریشه را (۳/۱۵) نشان داده است. تیمار روشنایی و BAP , NAA با غلظت ۰/۰۱ mg l^{-1} حداکثر درصد باززایی (٦۷) را نشان داده‌اند (جدول ۳).

اثر متقابل موقعیت فلس، NAA وBAP بر روی وزن کل، وزن پیازچه و درصد باززایی ریز نمونه‌ها معنی‌دار بوده است (جدول ۲) به طوری که نیمه بالایی فلس در غلظت های صفر وBAP و NAA به غلظت ۰/۱ و

www.SID.ir

Archive of SID

نیمه پایینی فلس وNAA و BAP به غلظت ۰/۱ و ۰/۰۱ حداکثر وزن کل (1/78 g) را نشان داده‌اند و حداکثر وزن پیازچه در تیمار نیمه پایینی فلس و BAP به غلظت ۰/۰۱ و NAA به غلظت $mg\ l^{-1}$ ۰/۱ حداکثر(۲۲۸ mg) بوده است.

حداکثر درصد باززایی در ریز نمونه‌های نیمه پایینی فلس و NAA و BAP با غلظت $mg\ l^{-1}$ ۰/۰۱ (۷۱/۲) است (جدول ۳).

اثر متقابل نور، موقعیت فلس، BAP , NAA بر روی وزن کل، تعداد پیازچه، وزن پیازچه، تعداد ریشه و درصد باززایی ریز نمونه‌ها معنی‌دار است (جدول ۲). به طوری که تیمار روشنایی و نیمه بالایی فلس و BAP با غلظت صفر و NAA با غلظت ۰/۱ میلیگرم در لیتر حداکثر وزن کل (۲/۲۲g) را نشان داده گرچه این تیمارها در سطح ۵٪ (آزمون دانکن) تفاوت معنی‌داری با تیمارهای روشنایی ، و نیمه بالایی فلس و BAP با غلظت ۰/۱ و NAA به غلظت $mg\ l^{-1}$ ۰/۰۱ ندارند.

تعداد پیازچه درتیمار روشنایی و نیمه بالایی فلس و غلظت صفر BAP و NAA به غلظت $mg\ l^{-1}$ ۰/۱ حداکثر (۵/۳٤) بوده است. گرچه این تیمارها با نیمه پایینی فلس (۵/۲۷) در سطح ۵٪ (آزمون دانکن) تفاوت معنی‌داری نداشته است.

وزن پیازچه در تیمار تاریکی و نیمه پایینی فلس و BAP به غلظت ۰/۰۱ و NAA به غلظت $mg\ l^{-1}$ ۰/۱ حداکثر(۳۰۲ mg) بوده است. گرچه با تیمارهای تاریکی و نیمه بالایی فلس و BAP به غلظت ۰/۱ و NAA با غلظت ۰/۰۱ (۲۹۱) و هم چنین تیمار تاریکی و نیمه پایینی فلس و BAP با غلظت ۰/۱ و NAA با غلظت $mg\ l^{-1}$ ۰/۰۵ (۲۸٦) در سطح ۵٪ (آزمون دانکن) دارای تفاوت معنی‌داری نیستند.

تعداد ریشه در تیمار تاریکی و نیمه پایینی فلس و BAP با غلظت ۰/۰۱ و NAA با غلظت $mg\ l^{-1}$ ۰/۱ حداکثر (٤) و با تیمار تاریکی و نیمه پایینی فلس و BAP و NAA با غلظت $mg\ l^{-1}$ ۰/۱mg (۳/۹۷) و هم چنین تیمار تاریکی و نیمه پایینی فلس و تیمار شاهد BAP و NAA با غلظت $mg\ l^{-1}$ ۰/۰۵ (۳/۹۲) در سطح ۵٪ (آزمون دانکن) دارای تفاوت معنی‌داری نیستند.

درصد باززایی در تیمار تاریکی و ریز نمونه پایینی فلس و غلظت صفر BAP و غلظت $mg\ l^{-1}$ NAA ۰/۰۵ حداکثر(۹۱) بوده است (جدول ۳).

منابع مورد استفاده References

آزادی، پ. و ل. معینی، ۱۳۸۰. صنعت ریزازدیادی و اهمیت آن در گیاهان زینتی. چکیده مقالات اولین سمینار علمی و کاربردی گل و گیاهان زینتی ایران ، نشر دفتر امور گل و گیاهان زینتی، قارچ های خوراکی و دارویی معاونت باغبانی جهاد کشاورزی . ص ٦٢

هارتمن، اچ. تی، دی. ای کِستر و اف. ای. دیویس، ۱۳۷۳. ازدیاد نباتات، مبانی و روش ها. ترجمه: خوشخوی، م. چاپ دوم، ج ۲، انتشارات دانشگاه شیراز. ۷۷٦ ص.

قهرمان، ل. ۱۳۷۰ فلور رنگی ایران. انتشارات موسسهٔ جنگل ها و مراتع . ج ١٦ شماره ١٩٤٤.

Danto , P.K. and S.S. Bhojwani, 1995. *In vitro* corm formation and field evaluation of corm derived plants of gladiolus . Scientia Horticulture , **61:**115-129.

De Kelerk , G., K.S. , Kim , M.V. Schadewijk, and M. Gerrits. 1992. Growth of bulblets of *lilium speciosum* in vitro and soil . Acta Horticulturae, **325:** 513–520.

Hannipman , E. 2000. Sustainable exploration in ornamental horticulture , an example : Hippesastrum (Amaryllidaceae). Acta Horticulturae, **541:**67–73.

www.SID.ir

Archive of SID

Ishioka, N. and S. Tanimoto, 1993. Changes in proteins during bulblet differentiation in *Lilium longiflorum* Bullrtin of the faculty of Agriculture , Saga Universtiy, **74:**107–113.

Jalili, A. and Z. Jamzad, 1999. Red data book of Iran . Research Insttiute of Forests and Rangelands , Tehran , Iran. P. 748.

Jeong , J.H., 1996. *In vitro* propagation of bulb scale section of several Korean native lilies . Acta Horticulturae, **414:**269– 276.

Maesato, K., K., Sharada , H., Fukui, T. Hara and K.S. Sarma, 1994. *In vitro* bulblet regeneration from bulb scale explants of *Lilium japonicum* Thunb . Effect of Plant growth regulators and culture environment .J. of Hort. Sci., **69(2):**289–297.

Marinangeli, P. and N. Curvetto, 1997. Increased sucrose and salt concentrations in culture medium improve growth of micropropagated *Lilium* bulblets .Biocell, **21(2):**161–164.

Marinangeli, P. and N.Curvetti , 1998. Growth in soil of micro and macro propagated *Lilium* bulblets. Φ yton. **63(1,2):**237–244.

Murashig, T. and F. Skoog, 1962. A revised medium for rapid growth and biossay with tobacco tissue cultures. Physiol. Plant**15 :**473-497.

Niimi, Y. 1985. Factor affecting the regeneration and growth of bulblets in bulb- scale culture of *Lilium rubllum* Baker.J. of the Japanese Soc. for Hort. Sci., **54(1):**82-86.

Niimi,Y. 1995. *In vitro* propagation and *post-in vitro* establishment of bulblets of *Lillium japonicum* Thunb. J. of Japan Soc. Hort. Sci., **63(4):**843-852.

Stimart, D. J and D. D. Asher. 1978. Tissue culture of bulb section for asexual propagation of *Lilium longiflorum* Thunb.Journal Am. Soc. of Hort. Sci. **103:**182-184.

Van Aartrijk and Blom-Barnhoorn. 1981. Growth regulators requirements for adventitious from lilium bulb-scale tissue in vitro,in relation to duration of bulb storage and cultivar.Scientia Horticulturae, **14:**261-268.

Van, Lee. B., D. T. Nhut, and K. T. Thanh-Van. 1999. Plant production via shoot regeneration from thin cell layer pseudo-bulblets explants of *Lilium longiflorum in vitro*.Plant Biology and Pathology,**322:**303-310.

www.SID.ir