Archive of SID

"نهال و بذر"
جلد ۲۳ ، شماره ۲، سال ۱۳۸٦

تکثیر درون شیشه‌ای یکی از ارقام تجاری سوسن (*Lilium longiflorum* var. Ceb-Dazzle) با استفاده از روش جنین‌زایی رویشی مستقیم*

In vitro Propagation of a Commercial Cultivar of Lilium (*Lilium longiflorum* var. Ceb-Dazzle) Through Direct Somatic Embryogenesis

سولماز خسروی، علی وطن‌پورازغندی، رحیم حداد و نرگس مجتهدی

پژوهشکده بیوتکنولوژی کشاورزی ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۸۴/۱۰/۱۰

چکیده

خسروی، س.، وطن پورازغندی، ع.، حداد، ر.، و مجتهدی، ن. ۱۳۸۶. تکثیر درون شیشه‌ای یکی از ارقام تجاری سوسن (*Lilium longiflorum* var.Ceb-Dazzle) با استفاده از روش جنین‌زایی رویشی مستقیم. **نهال و بذر** ۲۳: ۱۶۸-۱۵۹.

سوسن یکی از گیاهان مهم زینتی است و در تجارت گل دارای ارزش زیادی است. در این تحقیق اثر غلظت‌های متفاوت پیکلرام (۰، ۱، ۲، ۳، ۶ و ۹ میلی‌گرم در لیتر)، تیدیازرن (۰، ۰/۵، ۱، ۱/۵ و ۲ میلی‌گرم در لیتر)، نفتالین استیک اسید (۱/۵ میلی‌گرم در لیتر) در ترکیب با تیدیازرن (۰/۰۸، ۰/۲ و ۰/۴ میلی‌گرم در لیتر)، ۴،۲ دی کلروفنوکسی استیک اسید (۲/۵، ۵ و ۱۰ میلی‌گرم در لیتر) در ترکیب با بنزیل آمینوپورین (۰/۲۵ میلی‌گرم در لیتر) و نیز نوع ریزنمونه (قسمت‌های قاعده‌ای، میانی و نوک فلس‌های پیاز سوسن) بر القای جنین‌زایی رویشی مستقیم در رقم تجاری سوسن (*Lilium longiflorum* var. Ceb-Dazzle) در قالب چهار آزمایش جداگانه مورد ارزیابی قرار گرفت. ریزنمونه‌ها پس از ضدعفونی سطحی در محیط پایه MS همراه با ۳٪ ساکارز و ۰/۳٪ فیتاژل و غلظت‌های مختلف تنظیم‌کننده‌های رشد کشت شدند. نتایج نشان داد که استفاده از ۲ میلی‌گرم در لیتر پیکلرام به همراه ریزنمونه‌های میانی فلس توانست بیشترین جنین به ازای هر ریزنمونه (به طور متوسط ۳۰/۶) را القا نماید. جنین زایی به صورت مستقیم و بدون تشکیل بافت پینه‌ای القا شد. غلظت‌های متفاوت تیدیازرن به تنهایی و یا در ترکیب با نفتالین استیک اسید و نیز ۴،۲ دی کلروفنوکسی استیک اسید در ترکیب با بنزیل آمینوپورین اثری بر القای جنین‌زایی رویشی در ریزنمونه‌ها نداشت و همگی منجر به تشکیل پیازچه شدند. جنین‌های القا شده جهت بلوغ به محیط MS بدون هورمون منتقل شده و پس از طی مراحل بلوغ به گلدان انتقال یافتند.

واژه‌های کلیدی: سوسن، پیکلرام، تیدیازرن، نفتالین استیک اسید، ۴،۲ دی کلروفنوکسی استیک اسید، جنین‌زایی رویشی.

* بخشی از پایان نامه کارشناسی ارشد نگارنده اول در گروه بیوتکنولوژی کشاورزی دانشگاه بین المللی امام خمینی (ره) قزوین که در قالب طرح تحقیقاتی شماره ۸۲۱۳۴-۲۹-۳۰-۱۲۱ پژوهشکده بیوتکنولوژی کشاورزی ایران اجرا شده است.

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

سوسن (Lilium) یکی از ۲۲۰ جنس متعلق به خانواده لیلیاسه (Liliaceae) و تک لپه است که حدود ۸۵ گونه را شامل می‌شود و همگی از گونه‌های زینتی هستند. سوسن به علت داشتن گل‌های بزرگ و جذاب از نظر اقتصادی بسیار حایز اهمیت است. این گیاه یکی از مهم‌ترین محصولات پیازی به شمار می‌رود و هفتمین رتبه را بین گل‌های شاخه بریده دنیابه خود اختصاص داده است (Varshney *et al*., 2000).

این جنس در ایران دارای یک گونه به نام سوسن چلچراغ (*Lilium ledeburii*) است که در گیلان می‌روید (قهرمان، ۱۳۷۳). کشور ایران با سطح زیر کشتی معادل ٤٤٤۰ هکتار در بین ٤۲ کشور تولید کننده گل و گیاهان زینتی، در رتبه شانزدهم قرار دارد و سطح زیر کشت آن نسبت به سطح زیر کشت جهانی (۳٦۰۰۰۰ هکتار در سال ۲۰۰٤) از ۱/۳ ٪ فراتر نمی‌رود (بشیراعظمی، ۱۳۷٦؛ بی‌نام، ۱۳۸۳). از آن جا که سوسن یکی از گیاهان مهم زینتی و بازارپسند در جهان و ایران است، همه ساله برای تکثیر این گیاه نیاز است که پیاز آن از کشورهای تولید کننده خریداری شود. در خصوص واردات پیاز، علاوه بر مشکلاتی که فراروی تولیدکنندگان قرار دارد، سالانه مبالغ قابل توجهی ارز نیز از کشور خارج می‌شود و از طرف دیگر به همراه پیازهای وارداتی، امکان ورود آفات و بیماری‌های قرنطینه‌ای نیز وجود دارد.

ازدیاد پیاز سوسن به طور معمول با استفاده از فلس پیاز و زمانی‌که خواب آن شکسته شده باشد، انجام می‌شود. ازدیاد از این طریق بستگی به گونه، رقم و اندازه فلس دارد. از سوی دیگر بیماری‌های مختلفی، رشد و کیفیت پیازهای تکثیر شده را تحت تأثیر قرار می‌دهند و تولید پیازهای سالم و عاری از بیماری، به وسیله روش‌های سنتی بسیار مشکل و زمان‌بر است (Nuth *et al*., 2001). با توجه به موارد و مشکلاتی که در زمینه ازدیاد سنتی گیاه سوسن وجود دارد، به کارگیری روش‌های کشت بافت به منظور تکثیر و تولید پیاز آن، می‌تواند به رفع این مشکلات کمک نماید.

تکثیر درون شیشه‌ای سوسن با استفاده از کشت قطعات فلس پیاز می‌تواند از طریق ایجاد پیازچه و یا جنین‌زایی رویشی صورت گیرد. فاکتورهای متعددی مانند شرایط رشدی و فیزیولوژیکی گیاه مادری، نوع وغلظت هورمون‌های مورد استفاده و شرایط محیطی بر تشکیل گیاهچه در شرایط درون شیشه‌ای اثر دارند. روش جنین‌زایی رویشی در مقایسه با روش باززایی از طریق پیازچه، به علت دارا بودن ظرفیت تولید بالا و امکان تکثیر مداوم توده‌های جنین‌زا به عنوان منبع دایمی از مواد اولیه برای تکثیر رقم مورد نظر، به عنوان یکی از بهترین روش‌های تکثیر سوسن گزارش شده است (Nuth *et al*., 2001).

تحقیقات نشان داده است که جنین‌زایی رویشی در واریته Easter Lili با کشت

www.SID.ir

Archive of SID

مادگی و گلبرگ (Tribulato *et al.*, 1997)، در *Lilium formosamum* var. Wallace (Nakano *et al.*, 2000) و در هیبریدهای *Lilium longiflorum* (Kim *et al.*, 2003) با کشت فلس‌های پیازامکان‌پذیر است. درپژوهش حاضر تلاش شده تا با استفاده از غلظت‌های مختلف تنظیم‌کننده‌های رشد و نیز با استفاده از انواع ریزنمونه، القای جنین‌زایی رویشی در رقم *Lilium longiflorum* var.Ceb-Dazzle مورد تحقیق قرار گیرد و سرانجام دستورالعمل لازم برای تکثیر انبوه آن از طریق فناوری کشت بافت به روش جنین‌زایی رویشی فراهم شود.

مواد و روش‌ها

در این تحقیق از پیازهای وارداتی *Lilium longiflorum* var. Ceb-Dazzle به عنوان ریزنمونه استفاده شد. این رقم جزو هیبریدهای L/A است که از تلاقی *Lilium longiflorum* (L) و هیبریدهای آسیایی (A) به وجود آمده است. پیازهای رقم مذکور از یکی از واردکنندگان پیازهای زینتی از هلند خریداری شد. از آن جایی که این پیازها به صورت منجمد شده وارد کشور می‌شوند، ابتدا جهت استفاده ۲۴ الی ۴۸ ساعت در دمای معمولی اتاق قرار گرفت. پس از ضدعفونی سطحی، ریزنمونه‌ها از فلس‌های پیاز تهیه و در محیط‌های کشت تحت تیمارهای هورمونی قرار گرفتند. برای ضدعفونی سطحی، ابتدا فلس‌ها در الکل ۷۰٪ به مدت ۳۰ ثانیه و بعد در محلول وایتکس ۵۰٪ (محتوی ۵/۵ درصد (w/v) هیپوکلریت سدیم) به مدت ۱۵ دقیقه قرار داده شدند و پس از دو بار شستشو با آب مقطر استریل در حمام آب گرم ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۵ دقیقه قرار گرفتند.

محیط MS به عنوان محیط پایه به همراه (w/v) ۳٪ ساکارز، (w/v) ۰/۳٪ فیتاژل و غلظت‌های متفاوت تنظیم‌کننده‌های رشد در قالب چهار آزمایش جداگانه، به شرح ذیل، جهت کشت ریزنمونه‌ها استفاده شد.

۱ـ پیکلرام (۰، ۱، ۲، ۳، ٦ و ۹ میلی‌گرم در لیتر)

۲ـ تیدیازرن (۰، ۰/۵، ۱، ۱/۵ و ۲ میلی‌گرم در لیتر)

۳ـ نفتالین استیک اسید (۱/۵ میلی‌گرم در لیتر) در ترکیب با تیدیازرن (۰/۰۸، ۰/۲ و ۰/۴ میلی‌گرم در لیتر)

٤ـ ۲، ۴ دی کلروفنوکسی استیک اسید (۲/۵، ۵ و ۱۰ میلی‌گرم در لیتر) در ترکیب با بنزیل آمینوپورین (۰/۲۵ میلی‌گرم در لیتر).

pH تمام محیط‌های کشت قبل از اتوکلاو روی ۵/۸ تنظیم و سپس در دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد و فشار ۱/۵ اتمسفر به مدت ۱۵ دقیقه استریل شدند. انواع ریزنمونه‌های قاعده‌ای، میانی و انتهایی فلس در تیمارهای پیکلرام و ۲،۴ دی کلروفنوکسی استیک اسید استفاده شد ولی در تیمارهای تیدیازرن فقط از قسمت‌های قاعده‌ای فلس به عنوان ریزنمونه استفاده شد.

www.SID.ir

Archive of SID

کلیه تیمارها حداقل در سه تکرار و در هر تکرار پنج ریزنمونه قرار داده شد. این محیط‌ها پس از کشت ریزنمونه در شرایط ۱٦ ساعت روشنایی (با نور ۹۰ میکرومول در مترمربع در ثانیه) و ۸ ساعت تاریکی و در دمای ۱±۲٤ درجه سانتی گراد نگهداری شدند. واکشت ریزنمونه‌ها هر چهار هفته یک بار تکرار شد. کشت‌ها هر هفته یک بار توسط بینی‌کولار مورد ارزیابی قرار گرفتند و هرگونه تغییر و پیشرفت در فرایند واکنش آن‌ها ثبت شد.

جهت ارزیابی میزان تأثیر تیمارهای مذکور بر جنین‌زایی، تعداد جنین‌های القا شده در هر ریزنمونه شمارش شد. دو آزمایش اثر غلظت‌های مختلف پیکلرام و نوع ریزنمونه و اثر ۲، ۴ دی کلروفنوکسی استیک اسید در ترکیب با بنزیل آمینوپورین همراه با نوع ریزنمونه به صورت آزمایش‌های فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی و بقیه آزمایش‌ها که فقط شامل مطالعه یک فاکتور بودند در قالب طرح کاملاً تصادفی اجرا شدند.

جهت بلوغ، جنین‌های القا شده به محیط MS پایه (بدون هورمون) منتقل شدند. سه ماه پس از انتقال، گیاهچه‌های ایجاد شده در محیط MS بدون هورمون، به گلدان‌های حاوی پیت منتقل شدند. بدین صورت که گیاهچه‌ها به آرامی از محیط جدا شده و به کمک آب، فیتاژل متصل به آن‌ها شسته شد. سپس در گلدان‌های کوچکی که قبلا پیت ضدعفونی شده در آن‌ها ریخته شده بود، کشت داده شده و بلافاصله آبیاری و با درپوش شیشه‌ای پوشانده شدند. در این مرحله، آبیاری به موقع، طوری که پوسیدگی یا خشک شدن پیازچه‌ها را به دنبال نداشته باشد، بسیار مهم بود.

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها به کمک نرم افزار آماری SAS و مقایسه میانگین‌ها با آزمون چند دامنه‌ای دانکن انجام شد. جهت نرمال نمودن داده‌ها از تبدیل جذری ($y=\sqrt{x+0.05}$) استفاده شد.

نتایج و بحث

از میان تنظیم‌کننده‌های رشد مورد تحقیق (پیکلرام، تیدیازرن, نفتالین استیک اسید در ترکیب با تیدیازرن و ۲، ۴ دی کلروفنوکسی استیک اسید در ترکیب با بنزیل آمینوپورین)، پیکلرام به تنهایی قادر به القای جنین‌زایی رویشی در این رقم سوسن بود. نتایج تجزیه واریانس اثر تیمارهای پیکلرام و نوع ریزنمونه در جدول ۱ آورده شده است. یک ماه پس از کشت، ریزنمونه‌ها نسبت به تیمارهای پیکلرام واکنش نشان دادند. شروع واکنش با متورم شدن بافت ریزنمونه همراه بود و نهایتا دو ماه بعد از کشت، جنین‌ها ظاهر شدند (شکل ۱). جنین‌ها کاملاً کروی و زرد رنگ بودند که به طور مستقیم از بافت ریزنمونه و بدون ظهور پینه ظاهر شدند. کلیه غلظت‌های به کار رفته پیکلرام باعث القای جنین‌زایی در ریزنمونه‌های مورد آزمایش شدند. بیشترین تعداد جنین در هر ریزنمونه با به کار بردن ۲ میلی‌گرم در لیتر پیکلرام به دست آمد (جدول ۲).

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۱- تجزیه واریانس داده‌های تبدیل شده مربوط به اثر مقادیر مختلف پیکلرام و نوع ریزنمونه بر القای جنین‌زایی در سوسن

Table 1. Analysis of variance for the effect of different concentrations of Picloram and types of explant on induction of somatic embryogenesis in *Lilium longiflorum* var. Ceb-Dazzle

منابع تغییرات S. O. V.	درجه آزادی df.	جمع مربعات SS	میانگین مربعات MS	شاخص F F value
Picloram	5	0.85	0.17	14.58**
Explant	2	0.65	0.32	28.04**
Picloram×Explant	10	0.37	0.03	3.16**

**: Significant at 1% probability level.

**: معنی دار در سطح احتمال ۱٪.

شکل ۱- جنین‌های رویشی کروی تشکیل شده دو ماه پس از کشت

Fig. 1. Developing somatic embryos (globular stage) two months after culture

نوع ریزنمونه نیز بر تعداد جنین‌های به دست آمده مؤثر بود و بیشترین تعداد جنین در ریزنمونه‌هایی که از قسمت‌های قاعده‌ای فلس‌های پیاز گرفته شده بودند، حاصل شد (جدول ۳). این نتایج با نتایج Jeong (1996) مطابقت دارد. وی در آزمایش‌های خود اثر نوع ریزنمونه را بر باززایی چندین رقم سوسن بومی کشور کره بررسی کرد و گزارش داد که ریزنمونه‌های تهیه شده از قسمت‌های قاعده‌ای فلس باززایی بهتری نشان دادند. مساتو و همکاران (Maesato *et al*., 1994) نیز در مورد اثر نوع ریزنمونه بر باززایی *Lilium japonicum* نتایج مشابهی را ارائه کردند.

اثر متقابل معنی‌داری بین نوع ریزنمونه و تیمارهای پیکلرام مشاهده شد (جدول ۴). در ریزنمونه‌های تهیه شده از قسمت‌های قاعده‌ای فلس، بیشترین تعداد جنین رویشی با کاربرد ۳ میلی‌گرم در لیتر پیکلرام (به طور متوسط معادل ۲۵ جنین رویشی به ازای هر ریزنمونه) حاصل شد. در صورتی که بالاترین تعداد جنین (به طور میانگین ۳۰/۶ جنین رویشی به ازای هر ریزنمونه) از

www.SID.ir

Archive of SID

قسمت‌های میانی در ازای کاربرد ۲ میلی‌گرم در لیتر پیکلرام به دست آمد. این در حالی است که در ریزنمونه انتهایی فلس بیشترین جنین رویشی (به طور متوسط ۱۰/۱ جنین به ازای هر ریزنمونه) با کاربرد ۹ میلی‌گرم در لیتر پیکلرام به دست آمد.

جدول ۲- اثر مقادیر مختلف پیکلرام بر میانگین تعداد جنین رویشی به ازای هر ریزنمونه کشت شده

Table 2. Effect of different concentrations of Picloram on number of somatic embryos/explant

	غلظت پیکلرام Picloram (mgl^{-1})					
تعداد جنین در هر ریزنمونه	0	1	2	3	6	9
Embryos/ explant	0.0 c	11.4 b	18.6 ab	16 ab	15.6 ab	15.3 ab

میانگین‌ها با حروف مشترک فاقد اختلاف معنی‌دار هستند.

Means with similar letters are not significantly different.

جدول ۳- اثر نوع ریزنمونه بر میانگین تعداد جنین رویشی به ازای هر ریزنمونه کشت شده در تیمارهای پیکلرام

Table 3. Effect of explant types treated with Picloram on number of somatic embryos/explant

	نوع ریز نمونه Explant type		
تعداد جنین در هر ریز نمونه	قاعده ای Basal	میانی Central	انتهایی Distal
Embryos/ explant	19.9 a	14.1 a	4.4 b

میانگین‌ها با حروف مشترک فاقد اختلاف معنی‌دار هستند.

Means with similar letters are not significantly different.

سایر تیمارهای به کار رفته در این تحقیق همگی بر باززایی مستقیم از طریق تولید پیازچه موثر بودند ولی نتوانستند جنین‌زایی رویشی را در ریزنمونه‌ها القا نمایند. برخلاف نوس و همکاران (Nuth *et al*., 2002) که توانستند با اعمال تیمارهای مختلف نفتالین استیک اسید و تیدیازرن به القای جنین‌زایی رویشی دست یابند، اعمال این تیمارها در آزمایش‌های این تحقیق منجر به تشکیل پیازچه در ریزنمونه‌ها شد و جنین‌زایی حاصل نگردید. این محققین با کشت ریزنمونه‌هایی از پیازچه‌های کاذب (Pseudo-bulblet)سوسن در محیط MS در مدت زمان ۴۵ روز به ساختارهای جنین مانند دست یافتند که بعد از انتقال به محیط فاقد هورمون، طی ۹۰ روز به گیاهچه تبدیل شدند. ریباس و ارگاس و همکاران (Ribas-Vargas *et al*., 2003) به منظور بهینه‌سازی روش‌باززایی سوسن‌جهت ایجادارقام تراریخته مقاوم به بیماری‌های قارچی، توانستند با کشت ریزنمونه‌هایی از ساقه و گلبرگ

www.SID.ir

Archive of SID

Lilium longiflorum var. White Heaven و هیبرید Oriental 'Star gazer' روی محیط MS نیمه جامد حاوی بنزیل آمینوپورین و ۴،۲ دی کلروفنوکسی استیک اسید بعد از ۱۲ هفته به جنین‌های رویشی دست یابند. اما کاربرد این تنظیم‌کننده‌های رشد نیز بر روی ریزنمونه‌های فلس پیاز در آزمایش حاضر نتوانست جنین‌زایی رویشی را در این رقم از سوسن القا نماید و باعث ایجاد پیاززایی در ریزنمونه‌ها شد.

جدول ۴- اثر متقابل تیمارهای پیکلرام و نوع ریزنمونه بر میانگین تعداد جنین رویشی به ازای هر ریزنمونه کشت شده

Table 4. Combination effects of Picloram and explant types on number of somatic embryos/explant

نوع ریزنمونه Explant type		غلظت پیکلرام Picloram (mgl^{-1}) 0	1	2	3	6	9
Basal	قاعده ای	0 c	24.5 ab	22.0 ab	25.0 ab	22.6 ab	20.5 ab
Central	میانی	0 c	9.0 abc	30.6 a	18.1 ab	17.0 abc	16.7 abc
Distal	انتهایی	0 c	0.0 c	10.0 bc	8.4 c	5.1 bc	10.1 abc

میانگین‌ها با حروف مشترک در هر ستون فاقد اختلاف معنی‌دار هستند.

Means with similar letters in each column are not significantly different.

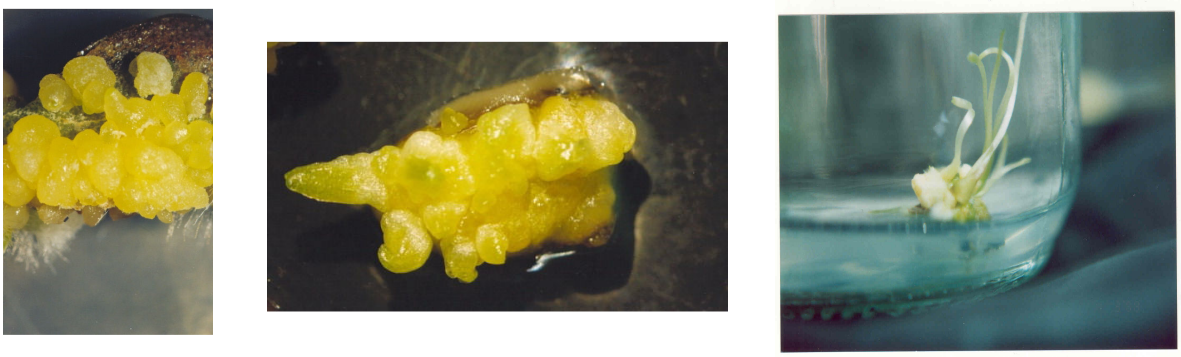
دو هفته بعد از انتقال جنین‌های القا شده به محیط MS پایه (بدون هورمون) جهت بلوغ، ریشه‌ها شروع به ظهور کرده و بعد از یک ماه اندام‌های برگ مانندی که در انتها حاوی پیازچه بودند، ظاهر شدند (شکل ۲). سه ماه پس از انتقال، گیاهچه‌های ایجاد شده در محیط MS، به گلدان‌های حاوی پیت منتقل شدند (شکل ۳). راندمان زنده ماندن گیاهچه‌ها (از ۲۵۰ گیاهچه منتقل شده) دو ماه پس از انتقال به شرایط برون شیشه ۱۰۰٪ بود.

نتایج حاصل از کاربرد غلظت‌های مختلف پیکلرام در این آزمایش با جدیدترین یافته‌های تحقیقاتی در این خصوص مشابهت دارد. کیم و همکاران (Kim *et al.*, 2003) با کاربرد غلظت‌های مشابه به کار رفته در این آزمایش توانستند با ایجاد پینه جنین‌زا به روشی برای تکثیر هیبریدهای Oriental و Easter Lili دست یابند. مزیت نتایج به دست آمده در تحقیق حاضر نسبت به نتایج کیم و همکاران، حذف مرحله پینه‌ای و کوتاه کردن دوره ازدیاد رویشی و کاهش احتمال به وجود آمدن گیاهان شیمر و تنوع سوماکلونال در یک ازدیاد توده‌ای است. تحقیقات دیگری نیز در مورد ایجاد پینه جنین‌زا در

www.SID.ir

Archive of SID

Lilium formasanum از طریق کاربرد پیکلرام گزارش شده است (Nakano *et al.*, 2000؛ Suzuki *et al.*, 1998). همچنین کاربرد پیکلرام به عنوان یک اکسین مؤثر در القای جنین‌زایی رویشی در تعدادی از گیاهان دیگر نیز گزارش شده است (Karun *et al.*, 2004 ؛ Bach, 1992؛ Gude *et al.*, 1997)، در حالی که اکسین‌هایی نظیر نفتالین استیک اسید

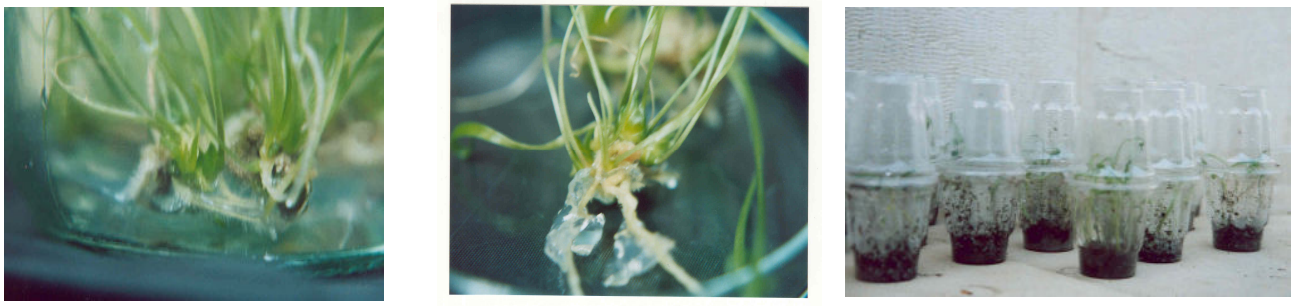


a b c

شکل ۲- مراحل بلوغ جنین‌های منتقل شده به محیط پایه MS بدون هورمون طی سه ماه

a : ظهور ریشه در جنین‌های کروی دو هفته بعد از انتقال b : شروع تشکیل اندام‌های برگ مانند در جنین‌های کروی یک ماه پس از انتقال c : تشکیل گیاهچه کامل از جنین کروی

Fig. 2. Maturation of somatic embryos on hormone-free MS medium
a: Root formation 2 weeks after transfer b: Appearance of leaf-like organs on globular embryos one month after transfer c: Whole plantlet development



a b c

شکل ۳- a و b : جنین‌های بالغ شده در محیط MS بدون هورمون c : گیاهچه‌های بالغ شده پس از انتقال به گلدان‌های حاوی پیت در مرحله سازگاری

Fig. 3. a and b: Matured embryos on hormone-free MS Medium c: Plantlets after transferring to pit-containing pots for acclimatization

www.SID.ir

Archive of SID

و ۴،۲ دی کلروفنوکسی استیک اسید بر ایجاد جنین‌زایی رویشی در این گیاهان مؤثر نبوده‌اند.

با آزمایش‌های انجام شده مشخص شد که کاربرد ۲ میلی‌گرم در لیتر پیکلرام و استفاده از قسمت میانی فلس، بهترین تیمار برای القای جنین‌زایی رویشی در *Lilium longiflorum* var. Ceb-Dazzle است. بلوغ جنین‌ها و باززایی گیاهچه از آن‌ها نیز در محیط MS پایه (بدون هورمون) حاصل شد. به نظر می‌رسد که یافته‌های حاصل از این پژوهش می‌تواند در تهیه پروتکل تجاری تکثیر سوسن به کار گرفته شود. با این وجود پیشنهاد می‌شود در تحقیقات بعدی محیط‌های کشت مناسب برای تکثیر مدوام جنین‌های رویشی القا شده جهت قطع وابستگی به منابع اولیه ریزنمونه و نیز محیط‌های مناسب برای افزایش راندمان بلوغ و باززایی گیاهچه از جنین‌های رویشی مورد تحقیق قرار گیرد.

سپاسگزاری

بدینوسیله از همکاری‌های گروه محترم بیوتکنولوژی کشاورزی بین‌المللی امام خمینی، مدیریت محترم و همکاران پژوهشکده بیوتکنولوژی کشاورزی به ویژه بخش تحقیقات کشت بافت و انتقال ژن تشکر و قدردانی می‌گردد. از آقای دکتر سید الیاس مرتضوی نیز به خاطر راهنمایی‌های ارزنده در تجزیه و تحلیل آماری نتایج، تشکر و قدردانی می‌شود.

منابع مورد استفاده **References**

بی‌نام، ۱۳۸۳. آمارنامه کشاورزی. دفتر آمار و فناوری اطلاعات، وزارت جهاد کشاورزی.

بشیراعظمی، ع. ۱۳۷۶. گذری بر مسایل و مشکلات صادرات گل و گیاهان زینتی ایران. خلاصه مقالات اولین کنگره علوم باغبانی. کرج. صفحه ۶.

قهرمان، ا. ۱۳۷۳. کورموفیت‌های ایران (سیستماتیک گیاهی). مرکز نشر دانشگاهی، تهران.

Bach, A. 1992. Somatic embryogenesis from zygotic embryos and meristems of *Freesia hybrida*. Acta Horticulturae 235: 429-434.

Gude, H., and Dijkema, M. H. G. E. 1997. Somatic embryogenesis in Tulip. Acta Horticulturae 430: 275-280.

Jeong, J. H. 1996. *In vitro* propagation of bulb scale section of several Korean native lilies. Acta Horticulturae 414: 749-760.

Karun, A., Siril, E.A., Radha, E., and Parthasarathi, V.A. 2004. Somatic embryogenesis and plantlet regeneration from leaf and inflorescence explant of arecanut (*Areca cathecu* L.). Current Science 86: 1623-1628.

www.SID.ir

Archive of SID

Kim, S. K., Lee, J. S., Haung, K. H., and Ahn, B. J. 2003. Utilization of embryogenic cell cultures for the mass production of bulblets in oriental and easter lilies. Acta Horticulturae 625: 253-259.

Maesato, K., Sharada, K., Fukui, H., Hara, T., and Sarma, K. S. 1994. *In vitro* bulblet regeneration from bulb scale explants of *Lilium japonicum* Thanb. Effect of plant growth regulatores and culture enviroment. Horticultural Science 69: 289-297.

Nakano, M., Sakakibara, T., Suzuki, S., and Saito, H. 2000. Decrease in the regeneration potentioal of long-term cell suspension cultures of *Lilium longiflorum* Wallace and restoration by the auxin transport inhibitor 2,3,5,-triiodobenzoic acid. Plant Science 158: 129-137.

Nuth, D. T., Le, V. B., Minh, T. N., Teixeira de Silva, J., Fukai, S., Tanaka, M., and Tanh Van, K. T. 2002. Somatic embryogenesis through pseudo-bulblet transverse thin cell layer of *Lilium longiflorum*. Plant Growth Regulation 37: 193-198.

Nuth, D. T., Lee, V. B., Teixeira de Silva, J., and Aswath, C. R. 2001. Thin cell layer culture system in Lilium: Regeneration and transformation perspectives. *In vitro* Cellular and Developmental Biology-Plant 37: 516-523.

Suzuki, S., Nimi, Y., Sakakibara, T., Hosokawa, K., Yamamura, S., and Nakano, M. 1998. Effects of several antibiotics and bialaphos on the growth and organ formation of *Lilium formasanum* calli and transient expression of the *guse*A gene after co-coltivation with *Agrobacterium tumefaciaens*. Plant Biothechnology 15: 213-216.

Tribulato, A., Remotti, P. C., and Loffler, H. J. M. 1997. Occurrence of embryo like structures and plant regeneration from a cell suspension of *Lilium longiflorum.* Acta Horticulturae 447: 205-206.

Varshney, A., Dhan, V., and Sirivastava, P. S. 2000. A protocol for *in vitro* mass propagation of lily through liquid stationary culture. *In vitro* Cellular and Developmental Biology-Plant 36: 383-391.

آدرس نگارندگان:

سولماز خسروی، علی وطن پورازغندی و نرگس مجتهدی- پژوهشکده بیوتکنولوژی کشاورزی ایران، صندوق پستی ۱۸۹۷-۳۱۵۳۵، کرج.

رحیم حداد- گروه بیوتکنولوژی کشاورزی، دانشگاه بین المللی امام خمینی (ره) قزوین، صندوق پستی ۲۸۸-۳۴۱۹۴، قزوین.

www.SID.ir