" نهال و بذر"

جلد ۲۴ ، شماره ۲، سال ۱۳۸۷

تاثیر 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 Regeneraton 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. تاثیر 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:** ۳۳۲-۳۲۱.

این بررسی به منظور ارزیابی قابلیت باززایی سوخک از ریزفلس‌های سوخک در شرایط درون شیشه‌ای و تاثیر تنظیم کننده‌های 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 موراشیگ و اسکوگ (MS) جامد اضافه شد. آزمایش به‌صورت فاکتوریل ۳×۳ اجراشد. نتایج نشان داد که ریزفلس‌ها به ویژه در غلظت‌های مناسب تنظیم‌کننده‌های رشد به‌خوبی 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 تنظیم کننده‌های رشد، برخی از سوخک‌های باززایی شده در شرایط درون شیشه‌ای مستقیماً تولید برگ کردند و این مشخصهٔ منفی برای سوخک‌های باززایی شدهٔ سوسن چلچراغ است. بررسی نشان داد که برای باززایی سوسن چلچراغ می‌توان از ریزفلس‌های سوخک استفاده کرد. با توجه به کمبود مادهٔ 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.

نویسنده مسئول: padasht45@yahoo.com

مقدمه

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

در فرآیند شناسایی، ارزیابی و سرانجام تجارتی کردن ذخایر توارثی، قابلیت ازدیاد یک گیاه جدید، یکی از عوامل مهم است که باید مورد بررسی قرار گیرد (Roh and Lawson, 1993, 1998). سوخ (Bulb) سوسن‌ها (لیلیوم‌ها) اندام ذخیره‌ای زمین‌رُست (Geophytes) است که بدون پوشش (Non-tunicate) بوده و از فلس‌ها (Scales) و طبق (Basal plate) تشکیل شده است. طبق یک ساقهٔ فشرده شده (متراکم) بوده که ساقه و ریشه‌ها از آن بوجود می‌آیند. فلس‌ها برگ‌های تغییر شکل یافته و متورم و حاوی موادغذایی ذخیره شده هستند. اندازهٔ سوخ‌ها تا اندازهٔ زیادی به تعداد و درجهٔ تراکم فلس‌ها بستگی دارد (Hartman *et al.*, 1997؛ Roh, 1999). سوسن چلچراغ نیز دارای چنین ویژگی‌هایی است. لیلیوم را می‌توان به آسانی از طریق تکه های ساقه یا فلس سوخ با ۱۰۰–۵۰ برابر در مدت ۸–۶ ماه ریزازدیادی کرد (Rees, 1992). در روش متداول ازدیاد لیلیوم یعنی روش فلس‌برداری ۱۰۰–۵۰ سوخک در سال تولید می‌شود که این تعداد بستگی به اندازهٔ فلس سوخ ، گونه و رقم دارد (Varshney *et al.*, 2002). در سوسن چلچراغ، باززایی سوخک در روش فلس‌برداری (Scaling) در مقایسه با سایر گونه‌های لیلیوم کم است و بین یک تا سه سوخک در هر فلس باززایی می‌شود. در شرایط مناسب از نظر دمایی و بستر کشت به طور میانگین ۱/۲–۱ سوخک در هر فلس به وجود می‌آید و هر سوخک ۶–۳ 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 تجارتی تولید می‌شود (Van der Lide, 1992).

از اندام‌های مختلف لیلیوم مثل فلس سوخ (Bulb Scale)، برگ، ساقه و گلبرگ می‌توان به عنوان ریز نمونه برای کشت بافت استفاده کرد (Hartmann, 1997).عوامل بسیاری همچون منبع ریز نمونه، غلظت ساکارز، pH و تنظیم کننده‌های رشد، کشت درون شیشه‌ای را تحت تاثیر می‌گذارد (Jeong, 1996). اکثر موفقیت های کسب شده در کشت بافت لیلیوم مربوط به ژنوتیپ‌های *L.longiflorum* بوده و موفقیت کمی از سایر گونه‌های لیلیوم حاصل شده است (Bahr and Compton, 2004).

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 ورنوسفادرانی 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 میلی‌گرم در لیتر حاصل شد. میانگین تولید سوخک در محیط کشت شاهد و نفتالین استیک اسید به غلظت ۰/۰۱ میلی‌گرم در لیتر به ترتیب ۶/۵۵ و ۶/۶۶ عدد بود و در محیط حاوی نفتالین استیک اسید به غلظت ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر کمترین تعداد سوخک با میانگین ۴/۷۲ عدد و بیشترین تعداد ریشه با میانگین ۵/۴۴ عدد به دست آمد.

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 میلی‌گرم 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 مطالعهٔ Jeong (1996) عدم باززایی سوخک از قسمت انتهایی (Distal) فلس و در غیاب تنظیم کننده‌های رشد در گونه‌های بومی کره (*L. concolor* var. *partheneion*, *L. amabile* و *L. callosum*) گزارش شد.

در این بررسی قابلیت باززایی سوخک از ریزفلس‌های (Microscale) سوخک باززایی شده از فلس‌های سوخ مادری (Scaling) سوسن چلچراغ و اثر تنظیم‌کننده‌های 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.

مواد و روش‌ها

آماده کردن ریزنمونه (Explant)

در آغاز با شیوهٔ فلس‌برداری (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 آمادهٔ کشت شدند.

آماده کردن محیط کشت و شرایط آزمایش

محیط کشت کامل موراشیگ 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 ^{o}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 ۳تکرار اجرا شد و در هر تکرار و برای هر تیمار ده استوانهٔ 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 لامپ های 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 ویژگی‌هائی 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^{o}C مناسب‌تر از دمای ۲۰^{o}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.

جدول ۱ تجزیه واریانس اثر بنزیل آدنین(BA) و نفتالین استیک اسید (NAA) را در بازایی سوخک سوسن چلچراغ نشان می‌دهد. مشاهده می‌شود که نفتالین استیک اسید در تعداد سوخک باززایی شده و تعداد ریشه و بنزیل آدنین فقط در تعداد سوخک باززایی شده در سطح ۱٪ اثر معنی‌داری داشتند، در حالی که اثر متقابل آنها معنی‌دار نبود.

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.		درجهٔ 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 غیرمعنی‌دار و معنی‌دار در سطح ۱ درصد

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

مقایسهٔ میانگین اثر مستقل بنزیل آدنین (BA) نشان داد که BA در غلظت‌های ۰/۰۱ و ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر در تعداد سوخک باززایی شده و تعداد ریشهٔ تولید شده (حتی صفر میلی‌گرم در لیتر) معنی‌دار نشان ندادند (داده‌ها ارایه نشده است).

جدول ۲ مقایسهٔ میانگین اثر مستقل نفتالین استیک اسید (NAA) را در تعداد سوخک بازازیی شده و تعداد ریشه نشان می‌دهد. غلظت ۰/۱ میلی‌گرم 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 (NAA) را در تعداد سوخک باززایی شده و همچنین تعداد ریشهٔ 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 میلی‌گرم در لیتر بیشترین تعداد ریشه (۸/۸ عدد) تولید شد. در سایر غلظت‌های BA در ترکیب با NAA نیز بالاترین تعداد ریشه در غلظت

جدول ۲- مقایسهٔ میانگین اثر مستقل نفتالین استیک اسید در تعداد ریشه و سوخک بازازیی 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.

۰/۱ میلی گرم در لیتر NAA مشاهده شد. باززایی اولین سوخک‌های سوسن چلچراغ، ۳۰-۲۵ روز پس از کشت ریزفلس‌ها مشاهده و ثبت شد و در محیط کشت حاوی غلظت‌های مختلف BA و NAA همیشه ابتدا باززایی سوخک و سپس تولید ریشه مشاهده شد و این مزیتی برای یک گیاه در شرایط کشت درون شیشه‌ای 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 غلظت‌های 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 باززایی شده نوسان زیادی نداشت، با این وجود در دامنهٔ ذکر شده تعداد ریشه افزایش چشمگیری نشان داد. این نتایج از طرفی اثر ریشه‌زایی اکسین و از طرف دیگر اثر باززایی سیتوکینین را در تولید سوخک نشان می‌دهد. براساس این نتایج می‌توان در یک محیط کشت به طور مستقیم سوخک ریشه‌دار تولید کرد و آنگاه جهت تولید سوخ‌های 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 تنظیم‌کننده‌های رشد

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.

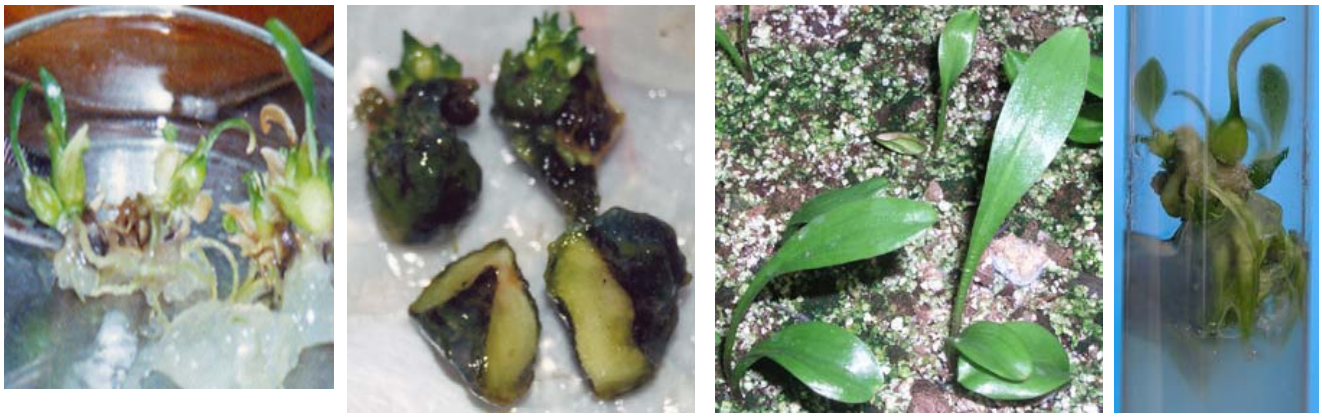
میزان تشکیل کالوس افزایش یافت (شکل ۱) ضمن این که تشکیل کالوس در pH ۴/۵ نیز بیشتر از pH ۵/۵ گزارش شد (Padasht Dahkaei, 2005). بر اساس گزارش Jeong (19996)، در *L. amabile* بهترین نتیجه در تیمار هورمونی ۰/۰۱ میلی‌گرم در لیتر NAA و ۰/۰۱ میلی‌گرم در لیتر BA بود و تنظیم‌کننده‌های رشد در غلظت بالا اثر بازدارندگی 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 استوانهٔ کشت با افزایش غلظت بنزیل آدنین و نفتالین استیک اسید به‌طور مستقیم وبدون سرمادهی برگ‌های 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 فلس‌برداری نام برده شده است که شامل عواملی چون دما، جیبرلین (GA) و اسید آبسزیک (ABA) است (Suh and Lee, 1996).

سوخک‌های باززایی شده در روش فلس‌برداری
Regenerated blulblets in scaling method

0.1 mgl^{-1} BA, 0.01 mgl^{-1} NAA

0.01 mgl^{-1} BA, 0.1 mgl^{-1} NAA

0.01 mgl^{-1} BA, 0 mgl^{-1} NAA



سوخک‌های باززایی شده هنگام جداسازی
Subculture of bulblets

کالوس تولید شده
Produced callus

سبز شدن سوخک‌ها پس از سرمادهی
Sprouting of bulblets after stratification

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

شکل ۱- باززائی سوخک در سوسن چلچراغ
Fig. 1. Regeneration of bulblets in Chelcheragh lilium

سوخک‌هایی که از ریزفلس آن‌ها در ریزازدیادی استفاده شد (چپ-اول). سوخک‌ها 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.

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 حالی‌که 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 ($0/1\ mgl^{-1}$) و غلظت پائین سیتوکینین ($0/3\ mgl^{-1}$ و ۰/۱) در بالاتری میزان خود بود و بالاترین تعداد سوخک در محیط کشت حاوی نفتالین اسید، 2ip و بنزیل آدنین با غلظت ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر به دست آمد.

Takayama and Misawa (1982) تاثیر سیتوکینین و اکسین را در اندام‌زایی *Lilium auratum* Lindl. و *L. speciosum* Thunb. cv.Uchida در شرایط 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 متعدد در گونهٔ *Lilium auratum* Lindl.، محیط کشت MS حاوی ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر NAA به همراه ۹/۷ میلی‌گرم در لیتر کینتین یا ۳/۱ میلی‌گرم در لیتر BA و در گونهٔ *L. speciosum* Thunb. cv.Uchida، محیط کشت MS حاوی ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر NAA به همراه ۳ میلی‌گرم در لیتر کینتین یا ۱ میلی‌گرم 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 میلی‌گرم در لیتر). افزودن NAA به محیط کشت به غلظت ۱۰ میلی‌گرم 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 نتیجهٔ کاربردی، BA با غلظت ۰/۰۱

میلی‌گرم در لیتر برای باززایی بیشترین تعداد سوخک به همراه NAA با غلظت ۰/۱ میلی‌گرم 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 ۱/۲-۱ سوخک در هر فلس تولید می‌شود (Padasht Dahkaei, 2001, 2005؛ Padasht Dahkaei *et al.*, 2006). نظر به کمبود مادهٔ 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 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.

سپاسگزاری

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

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 propagarion 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 bulbscales grown *in vitro*. Plant and Cell Physiology 23: 67-74.

Tatari varnusfaderani, 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.