" نهال و بذر"
جلد ٢٤ ، شماره ٤، سال ١٣٨٧

مقایسه پیازچه‌زایی در دو رقم تجاری سوسن *Lilium longiflorum* cv. Gironde و *L. longiflorum* cv. Cassandra در شرایط درون شیشه‌ای

Comparison of *In vitro* Bulblet Production in Two Commercial Lilium Cultivars, *Lilium longiflorum* cv. Gironde and *L. longiflorum* cv. Cassandra

نرگس مجتهدی[1] و پژمان آزادی[2]

۱- مربی، پژوهشکده بیوتکنولوژی کشاورزی ایران، کرج
۲- مربی، مرکز ملی تحقیقات گل و گیاهان زینتی محلات

تاریخ دریافت: ١٣٨٦/٦/١٦ تاریخ پذیرش: ١٣٨٧/٤/٢٠

چکیده

مجتهدی، ن.، و آزادی، پ. ۱۳۸۷. **مقایسه پیازچه‌زایی در دو رقم تجاری سوسن *Lilium longiflorum* cv. Gironde و *L. longiflorum* cv. Cassandra در شرایط درون شیشه‌ای**. نهال و بذر ۲۴: ۷۳۸ - ۷۲۱.

سوسن یکی از گل‌های پیازی مهم است و هم اکنون به طور گسترده‌ای در بازار جهانی از آن استفاده می‌شود و گل‌های بریده آن با قیمت بسیار بالا در بازار جهانی به فروش می‌رسد. روش کشت بافت، بهترین روش تکثیر ارقام مختلف سوسن در دنیا شناخته شده است. به منظور به دست آوردن یک پروتکل قابل استفاده در تولید انبوه پیازچه‌های دو رقم از هیبریدهای تجاری سوسن، یکی با منشاء آسیایی (Asiatic) به نام ژیرونده و دیگری با منشاء شرقی (Oriental) به نام کاساندرا اقدام به بررسی تعدادی از عوامل موثر بر ریزازدیادی این ارقام شامل سه غلظت ساکارز(۳۰، ٦٠ و ۹۰ گرم در لیتر) و موقعیت فلس (بیرونی، میانی و درونی) و بهترین ترکیب خاک آزمایش‌های طراحی و اجرا شد. بهترین بستر جهت سازگاری و رشد پیازچه‌های کشت بافتی نیز مورد بررسی قرار گرفت. آزمایش‌ها، در قالب فاکتوریل با طرح پایه کاملا تصادفی انجام شد. ریزنمونه‌های مورد استفاده جهت القای پیازچه‌زایی، پس از ضدعفونی سطحی در داخل محیط کشت پایه MS حاوی بنزیل آمینوپورین و نفتالن استیک اسید به ترتیب به میزان۰/۰۳ و ۰/۳ میلی‌گرم در لیتر مستقر شدند. وزن، ارتفاع و تعداد پیازچه‌های تولید شده، محل تشکیل پیازچه‌های هر ریزنمونه (قاعده‌ای، جانبی، راسی)، تعداد فلس در هر پیازچه تولید شده وتعداد پیازچه‌های ریشه‌دار شده در هر ریزنمونه مورد بررسی قرار گرفت. در آزمایش‌های انجام شده مشخص شد که رقم کاساندرا از نظر وزن، طول و درصد ریشه‌زایی اختلاف معنی‌داری با رقم ژیرونده دارد. فلس میانی در هر دو رقم از نظر ارتفاع و درصد ریشه‌زایی به عنوان بهترین موقعیت فلس بود. رقم کاساندرا در غلظت ٦٠ گرم در لیتر ساکارز، بزرگ‌ترین و طویل‌ترین پیازچه‌ها را تولید کرد. بیشترین تعداد پیازچه در محل قاعده ریزنمونه‌ها در هر دو رقم تشکیل شد. در آزمون بررسی بهترین ترکیب خاک, مشخص شد که پیت بهترین بستر برای رشد پیازچه‌های کشت بافتی است و دو رقم تجاری تفاوتی از نظر رویشی در این دو بستر نشان ندادند. به طور کلی، پیازهای تجاری سوسن در محیط کشت مناسب پیازچه‌زایی، پیازچه‌هایی با اندازه‌های متفاوت تولید کرد.

واژه‌های کلیدی: سوسن، ریزازدیادی، پیازچه‌زایی، موقعیت فلس، سطح ساکارز.

نویسنده مسئول: narmojtahedi@yahoo.com

مقدمه

سوسن یکی از ۲۲۰ جنس متعلق به خانواده Liliaceae است که حدود ۸۵ گونه را شامل می‌شود و همگی از گونه‌های زینتی هستند. بسیاری از ارقام سوسن که دارای ارزش زینتی هستند و به عنوان گل‌های شاخه‌بریده استفاده می‌شوند، از تلاقی‌های بین گونه‌ای به وجود آمده‌اند. هیبریدهای شرقی و آسیایی سوسن به طور وسیعی در بازارهای بین‌المللی معامله می‌شوند (Varshney *et al*., 2000). این گل در سال ۱۹۹۶ در رده سوم تولید در تایوان، رده چهارم در ژاپن و رده پنجم در کره بود و معمولا بعد از چند گل مهم در دنیا یعنی رز، داوودی و میخک قرار می‌گیرد و بر اساس آخرین اطلاعات، رتبه هفتم را در بین گل‌های شاخه بریده دنیا به خود اختصاص داده است (Azadi, 2006). از نظر تولید به روش کشت بافت، در سال ۱۹۹۶ در اروپا با تعداد ۳ میلیون گیاه در رده نهم تولیدات کشت بافتی قرار گرفت و این نشان از اهمیت این گل در بازار جهانی و همچنین پتانسیل تکثیر این گیاه از طریق کشت بافت را دارد. واردات پیاز این گل در نیم سال اول ۱۳۸۴ به ایران حدود ۱۲۰۴۴۱ یورو بوده است (Azadi, 2006).

در کشورهایی که گونه‌های بومی این جنس وجود دارد، مطالعات گسترده‌ای برای تکثیر و معرفی آن به بازار جهانی انجام شده است. ازدیاد پیاز سوسن به طور معمول به وسیله فلس پیاز، زمانی که خواب آن شکسته شده باشد، انجام می‌شود و ازدیاد از این طریق بستگی به گونه، رقم و اندازه فلس دارد. به علت کندی روش تکثیر سنتی، ریزازدیادی در گیاهان پیازی به عنوان روش مؤثرتری برای تکثیر رویشی مورد استفاده قرار گرفته است. به علت فواید ریزازدیادی از جمله سرعت بالای تکثیر، حفظ کلیه صفات گیاه منبع و تسریع در گلدهی، این روش، بیش از روش‌های دیگر مورد توجه قرار گرفته است (Hajinajari, 1995). این روش سطح تکثیر را چندین برابر افزایش می‌دهد. (Takayama and Misawa, 1982, 1983؛ Van Aartrijk *et al*., 1990؛ Novak and Petro, 1981؛ Aartrijk and Blom-Barnhoom, 1981؛ Wickremesinhe *et al*., 1994) و امکان تولید گیاهان عاری از ویروس را فراهم می‌کند (Van Aartrijk and Bloom-Barnhoom, 1981؛ Van Aartrijk *et al*., 1990) با استفاده از روش کشت بافت، امکان تکثیر فراوان این گیاه و صدور آن به بازار جهانی گل فراهم شد و هم‌اکنون نیز مطالعاتی برای افزایش بیشتر و کیفیت بالاتر پیازچه‌های حاصل از کشت بافت در حال انجام است. این کار همزمان در کشورهای دیگر همچون کره و تایوان نیز در حال انجام است و هریک از این کشورها با اتکا به گونه‌های بومی خود سعی در تکثیر و صدور آن به بازار جهانی دارند (Ohkaewa, 2000).

در مطالعات مختلفی که روی ریزازدیادی سوسن در دنیا انجام شده است، اثر تنظیم کننده‌های رشد، غلظت ساکارز، دمای مناسب

برای رشد پیازچه‌ها و موقعیت قطعات فلس در ارقام مختلف بررسی شده است. به عنوان مثال، غلظت‌های بالای سیتوکینین و غلظت‌های کم اکسین برای تولید پیازچه‌ها در *Lilium japonicum* ضروری بود و غلظت ۱ تا ۱۰ میلی‌گرم در لیتر NAA تشکیل کالوس را سرعت می‌بخشید (Maesato *et al*., 1994)، اما در غلظت بیش از ۰/۱ میلی گرم در لیتر NAA با یا بدون BAP تشکیل پیازچه‌ها در چند رقم بومی کره‌ای کاهش یافت (Jeong, 1996).

برای غلظت ساکارز نیز پیشنهادهای متفاوتی بسته به هدف آزمایش عنوان شده است. در آزمایشی غلظت ۳٪ ساکارز پیشنهاد شد (De Klerk *et al*., 1992). در مطالعه‌ای که در *Lilium concolor* رقم Parthenion انجام شد، تاثیر درصدهای مختلف ساکارز از ۱٪ تا ۹٪ بر تشکیل پیازچه، تعداد پیازچه در هر فلس و میانگین وزن تر هر پیازچه بررسی و حداکثر تعداد پیازچه در غلظت ۶٪ ساکارز تولید شد. غلظت‌های بالاتر ساکارز سبب تاثیر نامطلوب بر پتانسیل اسمزی فلس‌ها شده و از تمایزیابی و رشد فلس‌ها جلوگیری کرد (Jeong, 1996). در بررسی دیگری که به منظور تکثیر و استقرار پیازچه‌های حاصل از کشت بافت گونه *Lilium japonicum* بر بخش‌های مختلف فلس و فلس کامل در محیط کشت پایه MS به همراه NAA ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر و BAP ۰/۰۱ میلی‌گرم در لیتر انجام شد، قطعات پائینی ریز نمونه ۲/۲ عدد پیازچه تولید کردند در حالی که ریزنمونه‌های قطعات میانی پیاز و ریزنمونه‌های قطعات راسی فقط ۰/۳ عدد پیازچه تولید کردند ضمن آن که وزن پیازچه‌های حاصل از ریزنمونه قطعات پائینی بیشتر بود (Niimi, 1995).

در مطالعه‌ای که بر گونه *Lilium concolor* رقم Partheneion انجام شد فلس‌ها به صورت عرضی به سه قسمت مساوی بخش‌های انتهایی، میانی و پائینی تقسیم شدند و هر قسمت بر روی محیط کشت MS حاوی یا فاقد تنظیم کننده‌های رشد NAA و BAP در زیر نور قرار گرفت. نتایج نشان داد که بدون مواد تنظیم کننده رشد بهترین نتایج از بخش‌های پائینی فلس به دست آمد و هیچ پیازچه‌ای از قسمت انتهایی فلس حاصل نشد (Jeong, 1996).

در این پژوهش، اثر غلظت ساکارز و موقعیت‌فلس که از عوامل موثر بر پیازچه‌زایی در شرایط درون شیشه‌ای هستند، در دو رقم تجاری سوسن (ژیرونده و کاساندارا) بررسی شده است تا با مقایسه بین این دو رقم در محیط کشت و با استفاده از نتایج آن بتوان پروتکل عملی برای ریزازدیادی این دو رقم ارایه داد.

مواد و روش‌ها

پیازهای ارقام انتخاب شده دو رقم از هیبریدهای تجاری سوسن، با منشاء آسیایی به نام ژیرونده ودیگری با منشاء شرقی به نام کاساندرا از طریق شرکت ساعی‌گل (وارد

کننده پیازهای سوسن تجاری از کشور هلند) خریداری و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

فلس‌های میانی هر پیاز جدا شده و با روش غوطه‌وری در هیپوکلریت سدیم ۲/۵٪ به مدت ۱۵ دقیقه و یک بار شستشو با آب مقطر استریل (جهت حفظ تاثیر هیپوکلریت سدیم در حمام آب گرم فقط یک بار شستشو انجام شد) به مدت پنج دقیقه و سپس غوطه‌وری در حمام آب گرم ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۵ دقیقه ضدعفونی سطحی انجام شد. محیط‌کشت مورد استفاده در آزمایش‌ها، شامل محیط‌پایه MS حاوی BAP ۰/۰۳ میلی‌گرم در لیتر و NAA ۰/۳ میلی‌گرم در لیتر همراه با ویتامین‌های تیامین با غلظت ۰/۴ میلی‌گرم در لیتر، میواینوزیتول با غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر و آگار ۰/۷٪ بود. قطعات فلس در ابعاد ۱×۱ سانتی‌متری پس از ضدعفونی در لوله‌های آزمایش حاوی ۱۰ میلی‌لیتر محیط کشت قرار گرفتند. برای ایجاد فضای بیشتر برای رشد و تولید پیازچه در فلس‌ها، محیط کشت به صورت مایل در لوله‌های آزمایش جامد شد و در نهایت در هر لوله یک ریزنمونه کشت شد.

آزمایش‌های پیازچه‌زایی

اثر غلظت کربوهیدرات بر پیازچه‌زایی ارقام مورد آزمایش

در این آزمایش، اثر سه غلظت ساکارز (۹۰، ۶۰، ۳۰ گرم در لیتر) بر پیازچه‌زایی بخش قاعده‌ای فلس‌های میانی دو رقم ژیرونده و کاساندرا در قالب یک آزمایش فاکتوریل با طرح پایه کاملا تصادفی با سه تکرار و هر تکرار شامل ۱۵ ریزنمونه انجام شد.

اثر موقعیت فلس بر پیازچه‌زایی ارقام مورد آزمایش

در این آزمایش اثر سه موقعیت فلس (بیرونی، میانی و درونی) بر پیازچه‌زایی بخش قاعده‌ای فلس‌های دو رقم ژیرونده و کاساندرا در قالب یک آزمایش فاکتوریل با طرح پایه کاملا تصادفی سه تکرار و هر تکرار شامل ۱۵ ریزنمونه انجام شد.

آزمایش سازگاری

برای تعیین بستر مناسب جهت سازگاری پیازچه‌های کشت بافتی دو رقم تجاری سوسن، پیازچه‌ها در ترکیبات مختلف خاک زیر مورد بررسی قرار گرفتند:

۱) ماسه: پیت: ورمیکولیت: شن (۱:۱:۱:۱)
۲) رس: پیت (۱:۱)
۳) رس: شن (۱:۱)
۴) رس: ورمیکولیت (۱:۱)
۵) رس: پیت: ورمیکولیت (۱: ۲: ۱)
۶) پیت

ترکیبات فوق به داخل شیشه‌های کشت ریخته شده و در تمام شیشه‌ها ۲۰ میلی لیتر محیط پایه ۱/۲MS اضافه شد. شیشه‌ها و محتویات آن‌ها قبل از کشت در دمای ۱۸۰ درجه سانتی‌گراد به مدت سه ساعت استریل شدند. پس از استریل کردن شیشه‌ها پیازچه‌های هر دو رقم، به داخل محیط‌های مورد نظر انتقال یافتند. آزمایش در قالب یک طرح کاملاً

تصادفی با ده تکرار و هر تکرار حاوی ده ریزنمونه (پیازچه) انجام شد. شیشه‌ها به دمای ۴ درجه سانتی‌گراد انتقال یافتند و پس از یک ماه به اتاق رشد با دمای ۲۴ درجه سانتی‌گراد منتقل شدند. پس از دو ماه، تعداد پیازچه‌های جوانه زده در هر شیشه و میانگین تعداد برگ‌های رشد کرده از هر پیازچه به عنوان ملاک انتخاب بهترین ترکیب خاک شمارش شدند.

شرایط دمایی برای تمام تیمارها یکسان و ریزنمونه‌های کشت شده در دمای ۱± ۲۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. از نظر شرایط محیطی تیمارها در شرایط ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی قرار گرفتند.

دو ماه پس از کشت ریزنمونه‌های فلس هر دو رقم در محیط‌های مورد نظر، صفات ذیل یادداشت‌برداری شد. با توجه به این که هر ریزنمونه تعداد متفاوتی پیازچه تولید می‌کند، صفات مورد مطالعه در هر پیازچه تولید شده بررسی شدند. درصد پیازچه‌های تشکیل شده در هر تیمار، وزن هر پیازچه‌تولید شده در هر ریزنمونه، تعداد پیازچه‌های تولید شده در هر ریزنمونه، ارتفاع هر پیازچه‌تولید شده در هر ریزنمونه، محل تشکیل پیازچه‌های هر ریزنمونه (مناطقی در هر ریزنمونه که پیازچه‌ها از آن منشاء می‌گیرند شامل مناطق قاعده‌ای، جانبی و راسی)، تعداد فلس در هر پیازچه تولید شده در هر ریزنمونه و تعداد پیازچه‌های ریشه‌دار شده در هر ریزنمونه یادداشت‌برداری شد.

داده‌های جمع‌آوری شده از انجام آزمایش‌های مختلف و در مراحل مختلف با استفاده از نرم افزارهای Excel و SAS مورد تجزیه آماری قرار گرفتند و میانگین‌ها بر اساس روش آزمون چند دامنه‌ای دانکن مقایسه شدند. قبل از تجزیه واریانس درصورت نیاز، داده‌ها با استفاده از تبدیل جذری تبدیل شدند تا به صورت توزیع نرمال درآیند.

نتایج و بحث

اثر غلظت کربوهیدرات بر پیازچه‌زایی ارقام مورد آزمایش

نتایج نشان داد که غلظت ساکارز بر تمامی صفات پیازچه‌زایی(وزن هر پیازچه، تعداد فلس در هر پیازچه، طول پیازچه و قطر پیازچه) تاثیر معنی‌داری داشت (جدول ۱). غلظت ۶۰ گرم در لیتر ساکارز در مورد تمامی صفات نتایج بهتری در مقایسه با غلظت‌های دیگر نشان داد (جدول ۲). نتایج به دست آمده توسط توسلیان (Tavassolian, 2001) در مورد سوسن چلچراغ مبنی بر معنی‌دار بودن اثر غلظت‌های مختلف ساکارز برای تمامی صفات، نتایج تحقیق حاضر را تایید می‌کند جئونگ نشان داد که بالاترین درصد تولید پیازچه در محیط حاوی ۳۰ گرم در لیتر ساکارز در *Lilium concolor* بود و مشخص شد که غلظت‌های بیشتر از ۳۰ و ۴۰ گرم در لیتر ساکارز برای رشد پیازچه‌ها ضروری نیست (Jeong, 1996). در آزمایش‌های دابروسکی و همکاران (Dabrowski *et al.*, 1992) نیز ساکارز با غلظت ۶۰ گرم در لیتر باعث تولید

جدول ۱- تجزیه واریانس اثر رقم و غلظت ساکارز بر پیازچه‌زایی دو رقم تجاری سوسن

Table 1. Analysis of variance for effects of cultivar and sucrose concentration on bulblet production of two commercial lilium cultivars

S.O.V.	منابع تغییرات	درجه آزادی df.	میانگین مربعات Mean of squares: وزن پیازچه Bulblet weight	تعداد فلس در هر پیازچه Number of scales in each bulblet	طول پیازچه Bulblet length	قطر پیازچه Bulblet thickness	تعداد پیازچه در هر ریزنمونه Bulblet number per each explant	درصد ریشه‌زایی Rooting percentage
Cultivar (Cul.)	رقم	1	2.94^{**}	4.50^{**}	248.11^{**}	$0.14^{n.s}$	1.2100^{*}	$0.00017^{n.s}$
Sucrose concentration	غلظت ساکارز	2	2.33^{**}	0.90^{*}	51.66^{**}	3.63^{**}	$0.0002^{n.s}$	$0.00010^{n.s}$
Cul.× Sucrose concentration	غلظت ساکارز×رقم	2	0.08^{**}	0.52^{*}	12.92^{**}	1.75^{**}	$0.2200^{n.s}$	$0.00020^{n.s}$

ns، * و **: به ترتیب غیرمعنی‌دار، معنی‌دار در سطح ۵٪ و ۱٪

ns, * and **: Not significant, significant at 5% and 1% levels, respectively.

جدول ۲- اثر غلظت ساکارز بر پیازچه‌زایی دو رقم تجاری سوسن

Table 2. Effect of sucrose concentrations on bulblet production of two commercial lilium cultivars

غلظت ساکارز Sucrose concentration (gl^{-1})	وزن پیازچه Bulblet weight (mg)	تعداد فلس در هر پیازچه Number of scales in each bulblet	طول پیازچه Bulblet length (mm)	قطر پیازچه Bulblet thickness (mm)	تعداد پیازچه در هر ریزنمونه Bulblet number per each explant
30	21.78 b	4.19 a	4.71 b	3.73 b	62 a
60	56.40 a	4.65 ab	5.88 a	5.10 a	65 a
90	47.02 a	3.81 b	5.64 a	4.54 a	72 a

در هر ستون میانگین‌های دارای حروف مشابه از نظر آزمون آماری دانکن در سطح آماری ۵٪ تفاوت معنی‌داری با یکدیگر ندارند.

Means in each column with the same letters are significantly different at 5% level (DMRT).

پیازچه‌هایی با وزن بیشتر شد. نوع رقم بر صفات وزن, تعداد فلس در هر پیازچه و طول پیازچه‌های تولید شده در محیط کشت اثر معنی‌دار داشت (جدول ۱). وزن و طول پیازچه‌های تولید شده رقم کاساندرا بیشتر از رقم ژیرونده بود، اما تعداد پیازچه‌های تولید شده در هر ریزنمونه در رقم ژیرونده بیشتر از رقم کاساندرا بود (جدول ۳). اثر متقابل نوع رقم و غلظت ساکارز بر همه صفات معنی‌داربود (جدول ۱، شکل ۱). با افزایش غلظت ساکارز در هر دو رقم، وزن، طول و قطر پیازچه‌های تولید شده نیز افزایش یافت (جدول ۳). رقم کاساندرا در مقایسه با رقم ژیرونده، پیازچه‌های سنگین‌تر با طول و قطر بیشتر تولید کرد، اما تعداد فلس‌های پیازچه در رقم ژیرونده بیشتر بود (جدول ۳). رقم کاساندرا درغلظت ۶۰ گرم در لیتر ساکارز پیازچه‌های سنگین‌تری تولید کرد (شکل ۱). محل تشکیل پیازچه در هر ریزنمونه (مناطقی در هر ریزنمونه که پیازچه‌ها از آن منشاء می‌گیرند) نیز در پیازچه‌زایی موثر بود. تعداد پیازچه‌های تولید شده در بخش قاعده‌ای هر ریزنمونه در هر دو رقم اختلاف فاحشی با بخش‌های دیگر داشت (جدول ۴). تعداد پیازچه‌های تولید شده در موقعیت قاعده‌ای در مورد رقم ژیرونده بیشتر از رقم کاساندرا بود (شکل ۲). با بررسی نتایج فوق می‌توان دریافت که در غلظت ۶۰ گرم در لیتر ساکارز و در بخش قاعده‌ای هر ریزنمونه در هر دو رقم تعداد بیشتری پیازچه تولید شد. رقم کاساندرا پیازچه‌های سنگین‌تر و طویل‌تری در مقایسه با رقم ژیرونده تولید کرد در صورتی که تعداد پیازچه‌های تولید شده رقم ژیرونده بیشتر بود. نتایج محققین دیگر نیز نشان داده که اثرغلظت‌های مختلف ساکارز معنی‌دار است ولی استفاده از غلظت‌های ۹۰ گرم در لیتر ساکارز به طور معنی‌داری تعداد پیازچه را کاهش می‌دهد (Aartrijk and Blom Barnhoorn, 1981). در ارقام Gran Paradiso و Sanciro به ترتیب در غلظت‌های ۶۰ و ۹۰ گرم در لیتر بیشترین تعداد پیازچه تولید شد و بهترین رشد پیازچه‌ها مشاهده شد. افزایش بیشتر غلظت ساکارز باعث کاهش معنی‌دار تعداد پیازچه‌ها در هر دو رقم شد (Varshney *et al.*, 2000). در بررسی غلظت های ۰ تا ۱۲۰ گرم در لیتر ساکارز در گلایل رقم Friendship نشان داده شده که با افزایش غلظت ساکارز به ۶۰ گرم در لیتر، درصد تشکیل کورم افزایش اما با افزایش بیشتر غلظت ساکارز، درصد تشکیل کورم کاهش یافت به طوری‌که در غلظت ۱۲۰ گرم در لیتر ساکارز هیچ کورمی تشکیل نشد (Dantu and Bhojwani, 1995).

اثر موقعیت فلس بر پیازچه‌زایی ارقام مورد آزمایش

نتایج نشان داد که موقعیت فلس بر صفات تعداد فلس در هر پیازچه و طول پیازچه تاثیر معنی‌دار داشت (جدول ۵). فلس میانی در هر دو رقم پیازچه‌های طویل‌تری تولید کرد. تعداد فلس در هر پیازچه، طول پیازچه و درصد

جدول ۳- اثر غلظت ساکارز بر پارامترهای پیازچه‌زایی در دو رقم تجاری سوسن در شرایط درون‌شیشه‌ای

Table 2. Effect of sucrose concentrations on *in vitro* bulblet production parameters of two commercial lilium cultivars

رقم Cultivar		وزن پیازچه Bulblet weight (mg)	تعداد فلس در هر پیازچه Number of scales in each bulblet	طول پیازچه Bulblet length (mm)	قطر پیازچه Bulblet thickness (mm)	تعداد پیازچه در هر ریزنمونه Bulblet number per each explant	درصد ریشه‌زایی Rooting percentage
Gironde	ژیرونده	23.63 b	4.98 a	4.68 b	4.34 a	7.62 a	45 b
Cassandra	کاساندرا	66.13 a	3.98 b	6.38 a	4.62 a	5.77 b	88 a

در هر ستون میانگین‌های دارای حروف مشابه از نظر آزمون آماری دانکن در سطح آماری ۵٪ تفاوت معنی‌داری با یکدیگر ندارند.

Means in each column with the same letters are significantly different at 5% level (DMRT).

جدول ۴- اثرمحل تشکیل پیازچه در هر ریزنمونه بر تعداد پیازچه‌های تولید شده در دو رقم تجاری سوسن

Table 4. Effect of bulblet formation position on number of bulblets of two commercial lilium cultivars

محل تشکیل پیازچه در هر ریز نمونه Position of bulblet production per each explant		تعداد پیازچه در هر ریزنمونه Bulblet number per each explant
Basal	قاعده‌ای	13.83 a
Lateral	جانبی	4.16 b
Distal	راسی	2.11 c

در هر ستون میانگین‌های دارای حروف مشابه از نظر آزمون آماری دانکن در سطح آماری ۵٪ تفاوت معنی‌داری با یکدیگر ندارند.

Means in each column with the same letters are significantly different at 5% level (DMRT).

جدول ۵- تجزیه واریانس اثر رقم و موقعیت فلس بر پیازچه‌زایی دو رقم سوسن

Table 5. Analysis of variance for cultivar and scale position effects on bulblet production of two commercial lilium cultivars

S.O.V.	منابع تغییرات	درجه آزادی df.	Mean of squares میانگین مربعات					
			وزن پیازچه Bulblet weight	تعداد فلس در هر پیازچه Number of scales in each bulblet	طول پیازچه Bulblet length	قطر پیازچه Bulblet thickness	تعداد پیازچه در هر ریزنمونه Bulblet number per each explant	درصد ریشه‌زایی Rooting percentage
Cultivar	رقم	1	4.22^{**}	$0.27^{n.s}$	60.14^{**}	$0.05^{n.s}$	$0.80^{n.s}$	0.00300^{**}
Scale positin	موقعیت فلس	2	$0.23^{n.s}$	0.04^{**}	11.44^{**}	$0.42^{n.s}$	1.05^{*}	$0.00100^{n.s}$
Cul.× Scale position	موقیت فلس×رقم	2	0.91^{**}	$2.27^{n.s}$	14.96^{**}	0.85^{**}	$0.01^{n.s}$	0.00004

ns، * و **: به ترتیب غیرمعنی‌دار، معنی‌دار در سطح ۵٪ و ۱٪

ns, * and **: Not significant, significant at 5% and 1% levels, respectively.

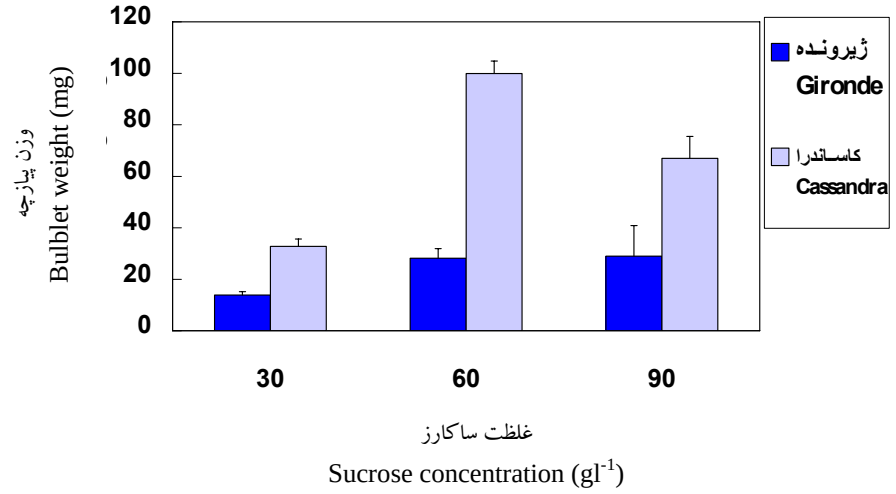
جدول ۶- اثر موقعیت فلس بر پیازچه‌زایی دو رقم تجاری سوسن

Table 6. Effect of scale position on bublet production of two commercial lilium cultivars

موقعیت فلس Scale position		وزن پیازچه Bulblet weight (mg)	تعداد فلس در هر پیازچه Number of scales in each bulblet	طول پیازچه Bulblet length (mm)	قطر پیازچه Bulblet thickness (mm)	تعداد پیازچه در هر ریزنمونه Bulblet number per each explant	درصد ریشه‌زایی Rooting percentage
External	خارجی	15.57 a	3.97 a	4.10 b	3.19 b	4.94 ab	54 ab
Centeral	میانی	21.78 a	4.19 a	4.71 a	3.73 a	6.55 a	62 a
Internal	داخلی	21.61 a	3.74 a	4.37 ab	3.43 ab	4.44 b	41 b

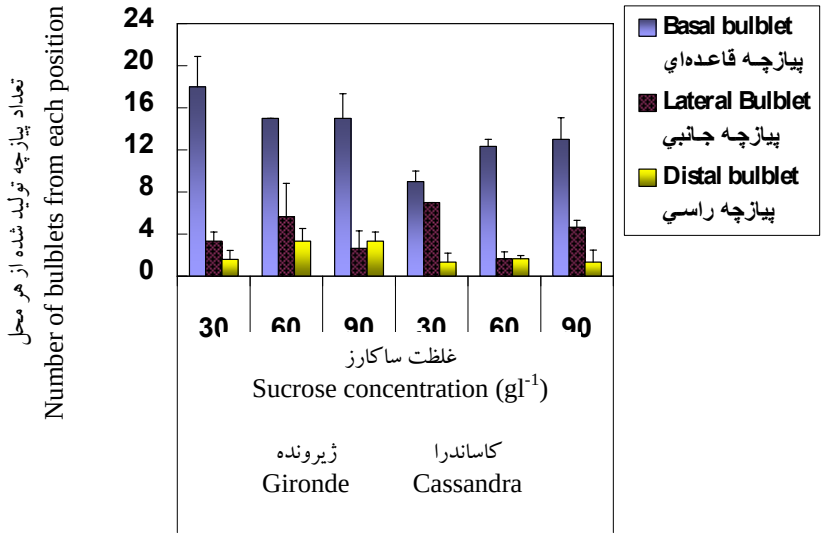
در هر ستون میانگین‌های دارای حروف مشابه از نظر آزمون آماری دانکن در سطح آماری ۵٪ تفاوت معنی‌داری با یکدیگر ندارند.

Means in each column with the same letters are significantly different at 5% level (DMRT).



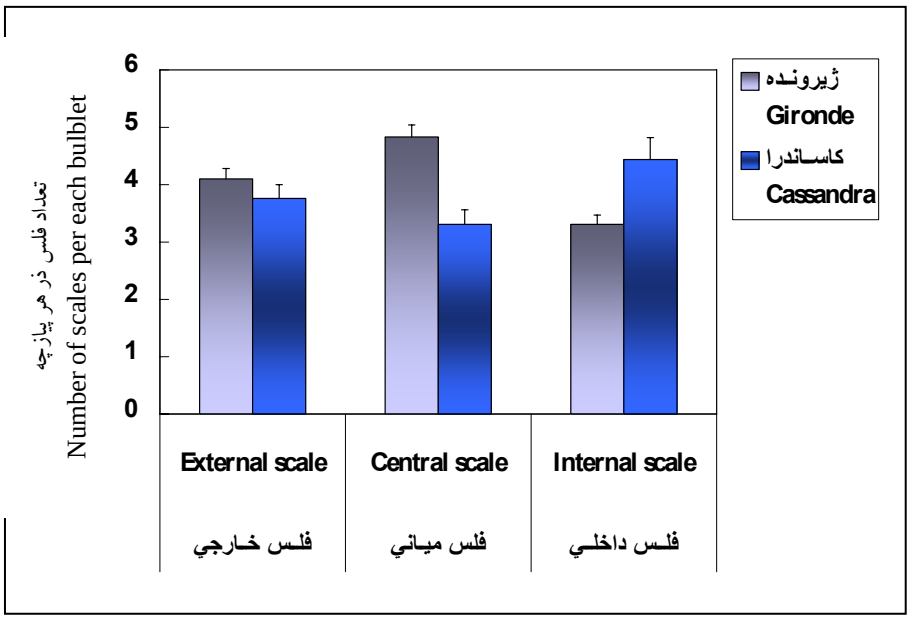
شکل ۱- اثر غلظت ساکارز بر وزن پیازچه‌های تولید شده در هر ریزنمونه دو رقم تجاری سوسن

Fig. 1. Effect of sucrose concentrations on bulblet weight per each bulblet of two commercial lilium cultivars



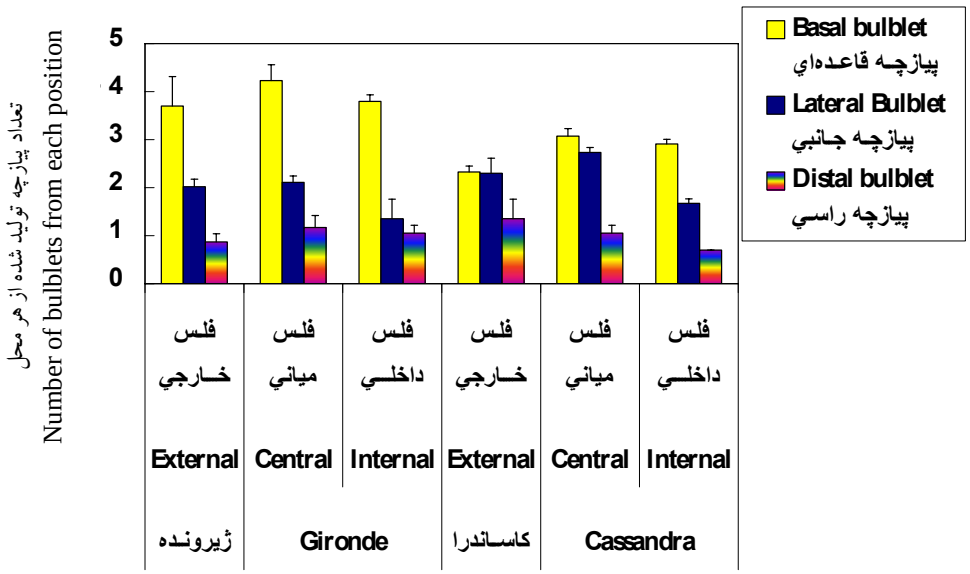
شکل ۲- اثر متقابل رقم و غلظت ساکارز بر تعداد پیازچه‌های تولید شده در هرموقعیت

Fig. 2. Interaction effect of cultivar and sucrose concentrations on number of bulblets from each position



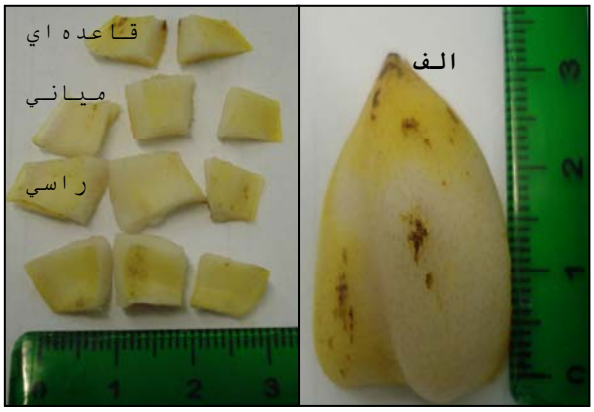
شکل ۳- اثر متقابل رقم و موقعیت فلس بر تعداد فلس در هر پیازچه

Fig. 3. Interaction effect of cultivar and scale position on number of scales per each bulblet



شکل ۴- اثر متقابل رقم و موقعیت تولید پیازچه بر تعداد پیازچه‌های تولید شده در هر موقعیت

Fig. 4. Interaction effect of cultivar and scale position on number of bulblet per each explant



شکل ۱- الف- فلس میانی ب- ریزنمونه‌های قاعده‌ای، میانی و راسی رقم ژیرونده

Fig. 1. a) Central scale b) Basal, central and distal explants of cv. Gironde

شکل ۲-پیازچه‌زایی رقم ژیرونده یک ماه پس از کشت در شرایط درون شیشه‌ای

Fig. 2. *In vitro* bulblet production of cv. Gironde one month after culture

شکل ۳-پیازچه‌تولید شده در شرایط درون شیشه‌ای از رقم ژیرونده یک ماه پس از سازگاری

Fig. 4. *In vitro* bulblet of cv. Gironde one month after acclimatization

شکل ۴-پیازچه‌های حاصل از یک ریزنمونه فلس رقم ژیرونده دو ماه پس از کشت

Fig. 3. *In vitro* bulblets produced of one scale explant of cv. Gironde two months after culture

جدول ۷- اثر موقعیت فلس بر پارامترهای پیازچه‌زایی در دو رقم تجاری سوسن در شرایط درون‌شیشه‌ای

Table 7. Scale position effect on *in vitro* bulblet production parameters of two commercial lilium cultivars

رقم		وزن پیازچه	تعداد فلس در هر پیازچه	طول پیازچه	قطر پیازچه	درصد ریشه‌زایی
Cultivar		Bulblet`s weight (mg)	Number of scales in each bulblet	Bulblet length (mm)	Bulblet thichness (mm)	Rooting percentage
Gironde	ژیرونده	11.35 b	4.16 a	4.99 a	3.53 a	38 b
Cassandra	کاساندرا	33..52 a	3.73 a	4.04 b	3.40 a	67 a

در هر ستون میانگین‌های دارای حروف مشابه از نظر آزمون آماری دانکن در سطح آماری ۵٪ تفاوت معنی‌داری با یکدیگر ندارند.

Means in each column with the same letters are significantly different at 5% level (DMRT).

جدول ۸- اثر محل تشکیل پیازچه در هر ریزنمونه بر تعداد پیازچه‌های تولید شده

Table 8. Effect of position of bulblet formation per each explant on number of bulblets

محل تشکیل پیازچه		تعداد پیازچه در هر ریزنمونه
Position of bulblet production		Bulblet number per each explant
Basal	قاعده‌ای	11.27 a
Lateral	جانبی	3.94 b
Distal	راسی	0.72 c

در هر ستون میانگین‌های دارای حروف مشابه از نظر آزمون آماری دانکن در سطح آماری ۵٪ تفاوت معنی‌داری با یکدیگر ندارند.

Means in each column with the same letters are significantly different at 5% level (DMRT).

ریشه‌زایی نیز بیشتر بود (جدول ۶). نوع رقم بر صفت وزن پیازچه تاثیر معنی‌دار داشت و همچنین بر میزان ریشه‌زایی نیز موثربود (جدول ۵). پیازچه‌های رقم کاساندرا به طور معنی‌داری دارای وزن بیشتری در مقایسه با پیازچه‌های رقم ژیرونده بودند. همچنین ریشه‌زایی پیازچه‌های کشت بافتی رقم کاساندرا در مقایسه با رقم ژیرونده بسیار بیشتر بود (۶۷٪ در برابر ۳۸٪) (جدول ۷). صفات وزن، طول و قطر پیازچه تحت اثر متقابل موقعیت فلس و نوع رقم بود (جدول ۵، شکل‌های ۳ و ۴). وزن و طول پیازچه‌ها در هر دو رقم به ترتیب از فلس خارجی به فلس داخلی افزایش یافت به طوری که پیازچه‌های تولید شده از ریزنمونه‌های فلس داخلی در هر دو رقم دارای طول و وزن بیشتری نسبت به فلس‌های دیگر بودند. رقم کاساندرا در این آزمایش نیز پیازچه‌های طویل و سنگین‌تری تولید کرد (جدول ۷). پیازچه‌های حاصل از فلس میانی در رقم ژیرونده درمقایسه با رقم کاساندرا تعداد فلس‌های بیشتری تولید کرد و قطر پیازچه‌های حاصله نیز بیشتر بود (شکل ۳). پیازچه‌زایی از مناطق مختلف ریزنمونه فلس متفاوت بود و محل تشکیل پیازچه در هر ریزنمونه جدا شده از فلس بر پیازچه‌زایی اثر معنی‌دار داشت و در این آزمایش نیز، منطقه قاعده‌ای بیشترین تعداد پیازچه را تولید کرد (جدول ۸). نتایج این آزمایش با نتایج محققین دیگر که به منظور تکثیر و استقرار پیازچه‌های حاصل از کشت بافت گونه *Lilium japonicum* بر بخش‌های مختلف فلس و فلس کامل در محیط کشت پایه MS به همراه NAA ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر و BAP ۰/۰۱ میلی‌گرم در لیتر انجام شده،مطابقت دارد (Niimi, 1995) قطعات تحتانی ریز نمونه ۲/۲ عدد پیازچه تولید کردند در حالی که ریزنمونه‌های قطعات میانی پیازچه و ریزنمونه‌های قطعات راسی فقط ۰/۳ عدد پیازچه تولید کردند ضمن این که وزن پیازچه‌های حاصل از ریز نمونه قطعات تحتانی بیشتر بود (Niimi, 1995). در گیاهان پیازی نیز این سلول‌های مریستمی هستند که قابلیت ایجاد پیازچه مستقیم را دارا هستند به صورتی که روش‌های تکثیر سنتی سوسن مانند فلس‌برداری و قطعه قطعه کردن بر اساس همین قابلیت است (Mcmillian Browse, 2000).

بررسی بهترین ترکیب خاک

نتایج نشان داد که پیت به تنهایی مناسب‌ترین بستر جهت کشت و سازگاری پیازچه‌های کشت بافتی در هر دو رقم است (جدول ۹). مقایسه تعداد پیازچه‌های جوانه زده در بستر پیت در ارقام ژیرونده و کاساندرا به ترتیب ۹۴٪ و ۹۰٪ و میانگین تعداد برگ‌های رشد یافته از هر پیازچه در دو رقم ذکر شده ۱/۶۴ و ۱/۴ بود. ترکیب رس:شن در مورد رقم ژیرونده از نظر تعداد پیازچه‌های جوانه زده و میانگین تعداد برگ‌های رشد کرده از هر پیازچه (به ترتیب ۸۶٪ و ۱/۳۸) نیز نتایج مناسبی نشان داد اما به دلیل عدم کارآیی در مورد رقم کاساندرا مورد

جدول ۹- اثر ترکیب خاک بر رشد پیازچه‌های کشت بافتی در دو رقم تجاری سوسن

Table 9. Effect of soil substrate on *in vitro* bulblet growth of two commercial lilium cultivars

Soil mixture		Gironde ژیرونده		Cassandra کاساندرا	
	ترکیب خاک	تعداد پیازچه‌های جوانه زده Number of germinated bulblets	میانگین تعداد برگ‌های رشد یافته از هر پیازچه Mean of leaf numbers from each bublet	تعداد پیازچه‌های جوانه زده Number of germinated bulblets	میانگین تعداد برگ‌های رشد یافته از هر پیازچه Mean of leaf numbers from each bublet
Sand:Peat:Vermiculite:Gravel (1:1:1:1)	ماسه: پیت: ورمیکولیت: شن	65	1.52	70	1.2
Clay:Peat (1:1)	رس: پیت	00	0.00	00	0.0
Clay:Gravel (1:1)	رس: شن	86	1.38	00	0.0
Clay:Vermiculite (1:1)	رس: ورمیکولیت	00	0.00	00	0.0
Clay:Peat:Gravel (1:2:1)	رس: پیت: ورمیکولیت	00	0.00	00	0.0
Peat	پیت	94	1.64	90	1.4

استفاده قرار نگرفت. به نظر می‌رسد به دلیل کوچک بودن پیازچه‌های رقم ژیرونده در مقایسه با رقم کاساندرا امکان رشد و جوانه‌زنی این پیازچه‌ها بیشتر بوده است (شکل‌های ۳ و ۴). نتایج به دست آمده در مورد مناسب بودن بستر پیت در دو رقم ژیرونده و کاساندرا با نتایج (Brickell, 1990) مطابقت دارد. به نظر می‌رسد پیت به علت جذب و نگهداری آب به مدتی طولانی‌تر نسبت به سایر ترکیبات، بستر مناسب‌تری را جهت سازگاری و رشد پیازچه‌های کشت بافتی فراهم می‌کند. لذا استفاده از پیت جهت کشت و رویش پیازچه‌های کشت بافتی توصیه می‌شود.

با بررسی نتایج این بررسی می‌توان دریافت که غلظت ۶۰ گرم در لیتر ساکارز و بخش قاعده‌ای هر ریزنمونه جدا شده از فلس در هر دو رقم تعداد بیشتری پیازچه تولید کرد. رقم کاساندرا پیازچه‌های سنگین‌تر و طویل‌تری در مقایسه با رقم ژیرونده تولید نمود در صورتی که تعداد پیازچه‌های تولید شده رقم ژیرونده بیشتر بود. پیت نیز بهترین بستر برای سازگاری و رشد پیازچه‌های کشت بافتی در هر دو رقم بود.

تشکر و قدردانی

از همکاری خانم مرجان آزموده‌فردکارشناس سابق و آقای دکتر سید الیاس مرتضوی عضو هیات علمی بخش تحقیقات کشت بافت وانتقال ژن موسسه تحقیقات بیوتکنولوژی کشاورزی کرج تشکر و قدردانی می‌شود.

References

Aartrijk J. V., and Blom-Barnhoorn, G. J. 1981. Growth regulator requirements for adventitious regeneration from Lilium bulb-scale tissue *in vitro* in relation to duration of bulb storage and cultivar. Scientia Horticulturae 14: 261-268.

Azadi, P. 2006. Barriers of using biotechnology in ornamental plants and the solutions. Book of Abstracts: National Symposium on Improvement of Production and Expansion to Import Ornamental Plants in Iran. Mahallat, Iran (in Farsi).

Brickell. C. 1990. The RHS Gardener's Encyclopedia of Plants and Flowers Dorling Kindersley Publishers Ltd.

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.

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

De Klerk, G. J., Delvallee, I., and Paffen, A. 1992. Dormancy release of micropropagated bulblets of *Lilium speciosum* after long culture in soil. HortScience 27: 147-148.

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

Hajinajari, H., 1995. Micropropagation. Research Institute of Forests and Rangelands Press, Tehran, Iran.

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

Mcmillian Browse, Ph. 2000. Plant Propagation. Toppan Printing Co. (UK). Ltd.

Niimi, Y. 1995. *In vitro* propagation and post *in vitro* establishment of bulblets of *Lilium japanicum* Thumb. Journal of Japanese Society of Horticultural Science 63: 843-852.

Novac, F. J., and Petro, E. 1981. Tissue culture propagation of Lilium hybrids. Scientia Horticulturae 14: 191-199.

Ohkawa, K. 2000. Flower industry in Northeast Asia: Development and introduction of new crops. Acta Horticulturae 541: 125-133.

Takayama, S., and Misawa, M. 1982. Regulation of organ formation by cytokinin and auxin in Lilium bulbscales grown *in vitro*. Plant Cell Physiology 23: 67- 74.

Takayama, S., and Misawa, M. 1983. A scheme for mass propagation of Lilium *in vitro*. Scientia Horticulturae 18: 353- 362.

Tavassolian, A. 2001. Evaluation of plant growth regulators, scale position and photoperiod on micropropagation of *Lilium ledebourii* Boiss. MSc. Thesis. Tarbiat Modarres University, Tehran, Iran. 166pp. (in Farsi).

Van Aartrijk, J., and Bloom-Barnhoorn, G. J. 1981. Growth regulator requirements for adventitious regeneration from Lilium bulb- Scale *in vitro*, in relation to duartion of bulb storage and cultivar. Scientia Horticulturae 14: 261- 268.

Van Aartrijk, J., and Bloom-Barnhoorn, G. J., and Van der Linde, P. C. G. 1990. Lilies pp. 535-576. In: Ammirato, P. V., Evans, D. A., Sharp, W. R., and Bajaj, Y. P. S. (eds.), Handbook of Plant Cell Culture, V5. Collier Macmillan Publishers, London.

Varshney, A., Dhawan, V., and Srivastava, P. S. 2000. A protocole for *in vitro* mass propagation of lily through liquid stationary culture. *In vitro* Cellular and Development Biology- Plant 36: 383- 391.

Wickremesinhe, E. R. M., Holcomb, E. J., and Arteca, R. N. 1994. A practical method for the production of flowering Easter lilies from callus cultures. Scientia Horticulturae 60: 143- 152.