تاثیر بنزیل آدنین (BA) و ایندول استیک اسید (IAA) بر فلس گل سوسن (*Lilium longiflorum* Thunb.) در شرایط درون شیشه‌ای

اسماعیل چمنی[1*]، نورالدین ایزدی[2]، کامبیز مشایخی[3] و موسی ترابی[4]

1- استادیار گروه علوم باغبانی دانشگاه محقق اردبیلی
2- دانشجوی سابق کارشناسی ارشد گروه علوم باغبانی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان
3- استادیار گروه علوم باغبانی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان
4- مربی گروه علوم باغبانی دانشگاه محقق اردبیلی
[*]مسئول مکاتبه: Email: echamani@uma.ac.ir

چکیده

به منظور بررسی باززایی درون شیشه‌ای فلس گل سوسن با بنزیل آدنین(BA) و ایندول استیک اسید (IAA) در محیط کشت پایه موراشی و اسکوگ (MS)، آزمایشی بصورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با 4 تکرار انجام گردید. فاکتورهای اعمال شده در این پژوهش شامل تنظیم کننده‌های رشد IAA و BA، هر یک شامل چهار سطح (0، 0/5، 1 و 2 میلی‌گرم در لیتر)، در این محیط کشت بود. بررسی نتایج حاصل نشان داد که با افزایش غلظتَ بنزیل آدنین تعداد پیازچه‌های تولید شده افزایش پیدا کرد به طوری که در غلظت 2 میلی گرم در لیتر بنزیل آدنین این افزایش در سطح احتمال 5% معنی‌دار گردید و بر عکس از تعداد ریشه‌ها کاسته شد. همچنین ایندول استیک اسید با غلظت 2 میلی گرم در لیتر به طور معنی‌داری تعداد شاخساره را افزایش داد. در این محیط کشت همبستگی ریشه‌زایی با پیازچه زایی منفی و غیر معنی‌دار بود. طبق نتایج حاصل از این پژوهش بطور میانگین از یک پیاز بالغ گل سوسن امکان حصول حدود 150-100 گیاهچه وجود دارد.

واژه های کلیدی: اندام‌زایی، ایندول استیک اسید، بنزیل آدنین، فلس، گل سوسن

Effects of Benzyladenine and Indol Acetic Acid on *In vitro* Regeneration of Lily (*Lilium longiflorum* Thunb.) Bulb Scales

E Chamani[1*], N Izadi[2], K Mashayekhi[3], M Torabi Gigloo[4]

[1] Assistant Prof of Horticultural Department, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran
[2] Former MSc graduate student, Department of Horticultural Science, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran
[3] Associate Prof. of Department of Horticultural Science, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran
[4] Lecturer of Horticultural Department, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran
[*]Corresponding Author: E-mail: echamani@uma.ac.ir

Abstract

An experiment was conducted to determine the effects of benzyladenine (0, 0.5, 1 and 2 ppm) and indol acetic acid (0, 0.5, 1 and 2 ppm) on *in vitro* regeneration of lily bulb scales on Murashige and Scoog (MS) medium. Experiment was conducted based on a completely randomized design with factorial arrangement and four replications. The results of experiment revealed that increasing the benzyladenine concentration increased the number of bulblet and decreased the number of roots. However, compared to the control, significant ($p\leq0.05$) effects of benzyladenine on bulblet and root numbers were found at 2 ppm. Also indol acetic acid at 2 ppm, significantly ($p\leq0.05$) increased the length and number of shoots. In this medium, the correlation between root and bulblet production was negative and non-significant ($p\leq0.05$). The result of experiment showed that it is possible to obtain an average of 100-150 lily plantlets from each matured bulb.

Keywords: Benzyladenine, Indol acetic acid, Lilium, Regeneration, Scale

مقدمه

گل سوسن با نام علمی *Lilium longiflorum* Thunb. متعلق به تیره لیلیاسه[1] می‌باشد. این گل از لحاظ گیاهشناسی جزء گیاهان پیازدار، تکلپه‌ای و دائمی می‌باشد استفاده از روش‌های کشت بافت برای ازدیاد گیاهان پیازی به دلیل توانایی بالای این روش‌ها برای تولید انبوه در سطح تجاری دارای اهمیت بوده و به عنوان یک روش کارآمد مطرح می‌باشند و علیرغم وجود برخی مشکلات در ریزازدیادی گیاهان پیازی پیشرفتهای فراوانی در این زمینه حاصل شده است. با این حال لازم است تا عوامل موثر در ریزازدیادی بخصوص نقش تنظیم کننده‌های گیاهی مورد بررسی قرار گیرد.

نخستین گزارش‌ها در مورد ریز ازدیادی گل سوسن در دهۀ 1950 ارائه گردید (راب 1957). جونگ (1996) بیان کرد که در کشت فلس *L. concolor* cv.

[1] Liliaceae

Partheneion را افزایش داده و بهترین نتیجه برای تشکیل پیازچه در محیط کشت حاوی 0/01 میلی گرم در لیتر NAA و 0/1 میلی گرم در لیتر BA بدست آمد. در حالی که در *L. amabile* بهترین نتیجه در تیمار هورمونی 0/01 میلی گرم در لیتر NAA و 0/01 میلی گرم در لیتر BA بدست آمد و غلظت‌های بالای تنظیم کننده‌های رشد نمو سوخک را مهار ولی تشکیل سوخک را افزایش دادند.

چنگ و همکاران (2000) ریزنمونه های گل سوسن *L. speciosum* را در محیط کشت MS حاوی 3 میلی-گرم در لیتر 2,4-D و 0/25 میلی گرم در لیتر BA وادار به کالوس زایی کرده سپس کالوس‌های تولید شده را به محیط کشت حاوی 0/1 میلی‌گرم در لیتر NAA و یک گرم بر لیتر ذغال فعال و 170 میلی‌گرم در لیتر Na_2HPO_4 واکشت کردند و بیشترین گیاهچه را از این طریق بدست آوردند. نات (1998) از کشت گره‌های ساقه‌ای گل سوسن در محیط کشت 1/2 MS حاوی 2/3 میکرومولار BA شبه‌پیازچه‌های فراوانی بدست آورد. سپس شبه پیازچه‌های تولید شده در محیط کشت حاوی 1/1 میکرومولار نفتالین استیک اسید واکشت و ریشه دار شدند. همچنین نات (2003) نشان داد که پرآوری شاخساره‌ها از ریزنمونه‌های شاخهٔ سوسن در محیط کشت حاوی 0/5 میلی‌گرم در لیتر بنزیل آدنین به بیشترین مقدار صورت می گیرد.

باکتا و همکاران (2003) گزارش کردند که استفاده از تیدیازورون در محیط کشت باعث تشکیل کالوس از ریزنمونه های برگ سوسن می شود. رامسی و گالیتز (2003) تخمک گل سوسن *L. longiflorum* را در محیط کشت حاوی 2% ، 5% و 10% ساکارز، 1 میلی گرم در لیتر توفوردی و 1 میلی گرم در لیتر بنزیل آدنین کشت کردند و نشان دادند که تشکیل کالوس در محیط کشت حاوی 5% ساکارز بیشتر از غلظت‌های دیگر صورت می‌گیرد.

کومار و همکاران (2005) آزمایشی روی گل لاله و نرگس در شرایط درون شیشه‌ای انجام دادند. در این آزمایش تاثیر غلظت‌های مختلف NAA (1 و 0/5 میلی-گرم در لیتر) وBA (5 و 3، 2، 1، 0/5 میلی‌گرم در لیتر) روی دو رقم گل لاله مورد بررسی قرار گرفت. در این آزمایش ریزنمونه‌ها در گل لاله از جوانه جانبی و ساقه گل‌دهنده و در گل نرگس از پیاز آن به صورت برش‌های عرضی تهیه گردید. نتایج آزمایش نشان داد که محیط کشت MS حاوی 1 میلی گرم در لیتر NAA و 5 میلی گرم در لیتر BA، بهترین محیط کشت برای تکثیر گل لاله و نرگس بود و محیط کشت حاوی 1 میلی‌گرم در لیتر NAA بدون BA بهترین محیط‌کشت برای تشکیل پیازچه‌های درون شیشه‌ای و ریشه‌زایی گل نرگس می-باشد. در این آزمایش مشخص شد که در گل نرگس محیط کشت MS 1/2 با 3% ساکارز و 1 میلی‌گرم در لیتر NAA بیشترین تعداد و طول ریشه و درصد ریشه زایی را تولید کرد.

آزاد و خوشخوی (2007) از کشت فلس پیازچه سوسن چلچراغ (برداشت شده در زمستان)، در محیط کشت MS حاوی 0/1 میلی گرم در NAA و 0/1 میلی گرم در لیتر BA بیشترین وزن تر پیازچه‌ها و ویژگی-های ریشه دهی را بدست آورند. همچنین در برداشت تابستانه سوخ‌ها بیشترین تعداد سوخک از هر ریزنمونه بدست آمد.

با توجه به اهمیت زیاد گل سوسن در صنعت گلکاری و ارزش اقتصادی قابل توجه این گل و نیز با در نظر گرفتن مشکلات تکثیر سنتی سوسن، به نظر می رسد کشت بافت سوسن دارای اهمیت ویژه‌ای باشد. هدف اصلی از انجام این پژوهش تعیین مناسبترین نسبت هورمونیIAA و BA در محیط کشت MS جهت باززایی و اندام زایی از ریزنمونه های تهیه شده از فلس گل سوسن در شرایط درون شیشه‌ای بود.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی و منبع ریزنمونه

این تحقیق در آزمایشگاه کشت بافت و بیوتکنولوژی گروه علوم باغبانی دانشکده کشاورزی دانشگاه محقق اردبیلی انجام گردید. پس از تهیه پیازچه‌های گل سوسن در اوایل فصل بهار به منظور برطرف کردن نیاز سرمایی، به مدت 8-7 هفته در دمای 4 درجه سانتی‌گراد در پیت مرطوب نگهداری شدند بعد از بر طرف شدن نیاز سرمایی، پیازچه‌ها در گلدان های 30 سانتی متری کشت و در شرایط گلخانه‌ای شروع به رشد کردند و حدوداً

پس از 2 ماه بوته‌ها گلدهی کردند پس از گلدهی و متوقف شدن رشد قسمت هوایی گیاه، پیازچه‌های دختری شروع به رشد کرد و 2 ماه پس از گلدهی پیازچه‌های دختری به قطر 4-3 سانتی متری رسیده و به عنوان منبع ریزنمونه استفاده گردید.

ضدعفونی مواد گیاهی

به منظور ضدعفونی ریز نمونه‌ها، ابتدا لایه های خارجی پیاز که قهوه‌ای رنگ و ناسالم بودند توسط شستشو زیر جریان آب حذف شدند. فلس‌های سالم و آبدار جدا شده از پیاز در داخل بشر حاوی توری قرار داده شده و به مدت یک ساعت زیر آب جاری قرار گرفتند تا خاک‌های سطحی فلس‌ها شسته شود. فلس‌ها سپس با چند قطره مایع ظرفشویی شستشو و با آب مقطر آبکشی شد. پس از این مرحله جهت از اتانول 70 درصد به مدت 30 ثانیه استفاده گردید و پس از انتقال بشر حاوی فلس‌ها به زیر هود لامینار فلو و آبکشی با آب مقطر استریل، از محلول هیپوکلریت سدیم 1 درصد به مدت 30- 15 دقیقه استفاده شد. پس از ضدعفونی، فلس‌ها با آب مقطر استریل در سه نوبت آبکشی شدند.

تهیه و استقرار ریزنمونه‌ها

پس از ضدعفونی سطحی فلس‌ها، قسمت‌های صدمه دیده آنها بریده شده و از قسمت‌های وسط فلس‌ها ریزنمونه‌هایی با مساحت تقریبی 0/25 سانتی متر مربع تهیه گردید. پس از این مرحله ریز نمونه‌ها با استفاده از یک پنس استریل درروی محیط کشت به حالت افقی انتقال یافتند. پس از استقرار ریزنمونه‌ها روی محیط کشت، درب ظروف کشت توسط فویل آلومینیومی بسته شد و از پارافیلم به عنوان درزبند استفاده گردید.

محیط کشت و شرایط کشت

از محیط کشت پایه MS تکمیل شده با ترکیبات دو تنظیم کننده رشدی IAA و BA هر یک شامل چهار سطح (0، 0/5، 1و 2 میلی گرم در لیتر) استفاده شد. همچنین در محیط کشت مذکور 30 گرم در لیتر ساکارز و 8 گرم در لیتر آگار بکار برده شد. pH محیط کشت در 5/8 تنظیم و در دمای 121 درجه سانتی گراد و فشار 1/2 کیلوگرم بر سانتی متر مربع اتوکلاو شدند پس از استقرار ریزنمونه ها در محیط کشت، ظروف کشت در یک اتاقک رشد با 16 ساعت روشنایی و 8 ساعت تاریکی، شدت نور 2000 لوکس و دمای 24 درجه سانتی گراد قرار داده شدند. پس از 5 هفته ریز نمونه‌ها به محیط کشت مربوطه بدون هورمون واکشت شدند. پنج هفته پس از واکشت نیز به منظور بدست آوردن داده‌ها، ریزنمونه‌ها بررسی و ارزیابی شدند. در این آزمایش صفات طول و تعداد ریشه، طول و تعداد شاخساره و همچنین تعداد پیازچه اندازه گیری شدند.

تجزیه و تحلیل داده‌ها

داده‌های بدست آمده از این آزمایش با استفاده از نرم افزار کامپیوتری SAS، در قالب طرح کاملاً تصادفی با آرایش فاکتوریل مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. مقایسه میانگین‌ها نیز توسط آزمون دانکن صورت گرفت. در نهایت با استفاده از برنامه Excel نمودارهای مربوط رسم و ضرایب همبستگی ساده بین صفات مورد اندازه‌گیری محاسبه گردید.

نتایج و بحث

تاثیر تنظیم کننده های رشد بر پیازچه زایی

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها (جدول 1) نشان داد که اثر BA بر تعداد پیازچه تولید شده از هر ریزنمونه فلسی در سطح احتمال 5 درصد معنی‌دار بود و بیشترین تعداد پیازچه با کاربرد 2 میلی گرم در لیتر BA بدست آمد و کمترین تعداد پیازچه تولید شده نیز مربوط به تیمار شاهد بود. نتایج بدست آمده از این آزمایش تاثیر مثبت هورمون BA را بر تعداد پیازچه سوسن تایید کرد (جدول 2 و شکل 1). نات و همکاران (1998) گزارش کردند که بین غلظت سایتوکینین و تشکیل پیازچه ارتباط مستقیمی وجود دارد به طوری که استفاده از سایتوکینین در القای تشکیل پیازچه کارامدتر از ترکیب سایتوکینین با اکسین است و در مرحله‌ای که ساخت

نشاسته فعال می‌شود سایتوکینین نقش مهمی در تشکیل پیازچه داشته و از فعالیت آنزیمی که نشاسته را تجزیه می کند جلوگیری می‌نماید. تاکایاما و میساوا (1979) نیز به نتایج مشابهی رسیدند. ایشان گزارش کردند که نسبت بالای سایتوکینین در محیط کشت، تعداد پیازچه تولید شده از ریزنمونه فلسی گل سوسن را افزایش می‌دهد. هاسی (1976) نیز عنوان کرد که تولید بهینه پیازچه از فلس *L. pyrenacium* و *L. longiflorum* با افزودن 2-8 میلی گرم در لیتر BA در محیط کشت MS بدست می‌آید.

تاثیر تیمارهای تنظیم کننده رشد بر صفات شاخه‌زایی

براساس نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها اثر IAA بر تعداد شاخساره در سطح احتمال 5 درصد معنی‌دار و بر طول شاخساره غیر معنی‌دار بود ولی مقایسه میانگین‌ها (جدول 3) نشان داد که با افزایش غلظت IAA اندکی بر طول شاخساره‌ها نیز افزوده می‌شود. BA و اثرمتقابل BA با IAA بر هیچ یک از موارد شاخساره زایی اثر معنی‌داری نشان نداد (جدول 1). بیشترین تعداد شاخساره با کاربرد 2 میلی گرم در لیتر از این هورمون بدست آمد و در مقایسه میانگین داده‌ها بالاتراز بقیه تیمارها قرار گرفت. در حالی که اختلاف معنی‌داری بین شاهد و تیمارهای دیگر وجود نداشت و هر سه تیمار در گروه یکسانی قرار گرفتند (جدول 3). به نظر می‌رسد IAA با تحریک تقسیم سلولی در فلس‌ها باعث افزایش تشکیل شاخساره می‌شود. نتایج حاصل از این آزمایش با نتایج آزمایشات آرتریجک (1984) مطابقت دارد. در پژوهش‌های این محقق مشخص شد که تشکیل جوانه نابجا از ریزنمونه‌های فلسی *L. speciosum* نیاز به اکسین داشته و با افزایش غلظت اکسین خارجی همبستگی مثبت دارد. پیریک و استیگمنز (1975) نیز بیان کردند که برای تشکیل شاخساره از فلس سنبل در شرایط درون شیشه‌ای وجود اکسین خارجی ضروری است.

تاثیر تیمارهای تنظیم کننده رشد بر صفات ریشه‌زایی

نتایج حاصل از تجزیه واریانس (جدول 1) نشان داد که اثر BA بر تعداد ریشه در سطح احتمال 1 درصد معنی‌دار و بر طول ریشه غیر معنی‌دار است. در عین حال، نتایج حاصل از مقایسه میانگین‌ها نشان دهنده کاهش جزئی طول ریشه با افزایش غلظت این هورمون در محیط کشت می‌باشد.

جدول 1- تجزیه واریانس تاثیر غلظت‌های مختلف IAA و BA بر تعداد پیازچه، طول و تعداد شاخساره و ریشه فلس گل سوسن در محیط کشت

منابع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات				
		تعدادپیازچه	طول شاخساره	تعدادشاخساره	طول ریشه	تعداد ریشه
IAA	3	0/06 ns	0/29 ns	0/41 *	0/03 ns	0/02 ns
BA	3	0/16 *	0/07 ns	0/39 ns	0/09 ns	1/00 **
IAA*BA	9	0/8 ns	0/17 ns	0/44 ns	0/029 ns	0/26 ns
خطای آزمایشی	45	0/04	0/10	0/40	0/033	0/15
ضریب تغییرات		16/09	29/09	30/64	19/79	31/42

ns، * و ** به ترتیب غیرمعنی‌دار و معنی‌دار در سطوح احتمال 5 و 1 درصد

جدول 2- اثر BA بر تعداد پیازچه در محیط کشت MS

تغییرات	تعداد پیازچه
BA (صفر)	1/08[b]
BA (0/5 میلی گرم در لیتر)	1/16[b]
BA (1 میلی گرم در لیتر)	1/13[b]
BA (2 میلی گرم در لیتر)	1/69[a]

*اعداد دارای حروف مشترک در هر ستون با هم اختلاف معنی‌دار ندارند

جدول 3- اثر IAA بر شاخه زایی فلس گل سوسن در محیط کشت MS

تغییرات	طول شاخساره (سانتی متر)	تعداد شاخساره
IAA(صفر)	0/44[b]	3/18[b]
IAA(0/5 میلی گرم در لیتر)	0/64[ab]	2/74[b]
IAA(1 میلی گرم در لیتر)	0/75[ab]	3/54[b]
IAA(2 میلی گرم در لیتر)	1/16[a]	5/8[a]

*اعداد دارای حروف مشترک در هر ستون باهم اختلاف معنی‌داری ندارند

جدول 4- اثر BA بر ریشه زایی فلس گل سوسن در محیط کشت MS

تغییرات	طول ریشه (سانتی متر)	تعداد ریشه
BA(صفر)	0/52[a]	1/93[a]
BA (0/5 میلی گرم در لیتر)	0/36[ab]	1/32[a]
BA (1 میلی گرم در لیتر)	0/38[ab]	1/11[a]
BA (2 میلی گرم در لیتر)	0/17[b]	0/52[b]

*اعداد دارای حروف مشترک در هر ستون باهم اختلاف معنی‌دار ندارند

جدول 5- همبستگی بین صفات مورد اندازه‌گیری در محیط کشت MS

تغییرات	طول ریشه	تعداد ریشه	طول شاخساره	تعداد شاخساره	تعدادپیازچه
طول ریشه	1				
تعداد ریشه	0/78**	1			
طول شاخساره	0/16ns	0/21ns	1		
تعداد شاخساره	0/32**	0/37**	0/38**	1	
تعداد پیازچه	0/03ns	-0/01ns	0/22**	0/44**	1

ns، * و ** به ترتیب غیرمعنی‌دار و معنی‌دار در سطوح احتمال 5 و 1 درصد

بررسی نتایج حاصل از مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که با افزایش غلظت هورمونBA بطور معنی‌داری از تعداد ریشه‌ها کاسته می‌شود. به طوری که بیشترین تعداد ریشه مربوط به تیمار بدون هورمون BA بود و کمترین تعداد ریشه نیز در غلظت 2 میلی گرم در لیتر از این هورمون بدست آمد (جدول4). با توجه به اینکه افزایش BA باعث می‌شود نسبت اکسین به سایتوکینین در محیط کشت کاهش یابد در نتیجه طبیعی است که تعداد ریشه‌های تولید شده که ارتباط مستقیمی با نسبت بالای اکسین به سایتوکینین دارد کاهش یابد. این نتایج با نتایج یافته‌های تاکایاما و میساوا (1979) نیز همسو می‌باشد. ایشان گزارش کردند که بر همکنش اکسین و سایتوکینین در محیط کشت در تشکیل ریشه و پیازچه از فلس گل سوسن نقش دارد به طوری که نسبت اکسین به سایتوکینین بالا تشکیل ریشه را افزایش می-دهد ولی در نسبت اکسین به سایتوکینین پایین تشکیل ریشه کاهش یافته و تشکیل پیازچه حالت غالب دارد. پیریک (1998) بیان کرد که سایتوکینین‌ها در غلظت پایین تقسیم سلولی را تحریک می‌کنند ولی معمولاً در غلظت-های بالاتر از نمو ریشه جلوگیری می‌کنند. همچنین تاکایاما و میسولا (1982) آزمایشی را به منظور بررسی اثرات فیزیولوژیکی کینیتین وBA بر *L. auratum* و *L. speciosum* انجام دادند. در غلظت پایین‌تر کینیتین رشد ریشه تحریک شد و یا بطور جزئی تحت تاثیر قرار گرفت در حالی که همان غلظت بنزیل آدنین بطور کامل تشکیل ریشه را مهار کرد.

طبق نتایج حاصل از تجزیه واریانس (جدول 1)، غلظت‌های مختلف هورمون IAA تاثیر معنی‌داری بر تعداد ریشه‌های تولید شده نداشت (شکل 2). علت این امر را می‌توان به شرایط درونی این رقم از جمله سطوح هورمون های داخلی آن نسبت داد. به نظر می‌رسد در آزمایش حاضر IAA داخلی موجود در فلس‌ها برای ریشه زایی به مقدار کافی وجود داشته و اعمال خارجی این هورمون نتوانسته است تاثیر موثری بر ریشه‌زایی فلس‌ها داشته باشد. کیم و کیم (2005) نیز به چنین نتایجی دست یافتند. در بررسی‌های این محققان مشخص شد که مقدار ایندول استیک اسید در فلس سوسن گونه کازابلانکا[1] در طول دوره بلوغ پیازها افزایش می یابد و مقدار IAA در فلس‌ها تا 60 روز پس از گلدهی دارای بیشترین مقدار است. واروش و همکاران (2001) نیز گزارش کردند که در فقدان هورمون برون زا تشکیل ریشه در *L. nepalens* تحریک نمی‌شود. نتایج واروش و همکاران با نتایج پژوهش حاضر مطابقت نداشت با توجه به اینکه در پژوهش حاضر ریزنمونه‌ها بدون هورمون برون نیز براحتی تعداد قابل توجهی ریشه تولید کردند می‌توان نتیجه گرفت که رقم‌های مختلف سوسن دارای مقادیر IAA درون زای متفاوتی هستند و احتمالاً رقم استفاده شده در این آزمایش از نظر ژنتیکی خود کفا از IAA بوده است. به این معنی که گاهی اندام کشت شده قادر است اکسین مورد نیاز خود را ساخت و تامین نماید و در این حالت نیازی به اکسین خارجی وجود ندارد. IAA در اکثر گیاهان بصورت خارجی تاثیر ندارد مگر اینکه بصورت NAA و یا IBA استفاده شود (مشایخی 1386). علت این امر می تواند ماهیت شیمیایی IAA باشد که هورمونی ناپایدار بوده و در برابر نور توسط فتواکسیداسیون به سرعت از سیستم کشت حذف می‌شود. القای ریشه‌زایی در غلظت‌های زیاد این ماده انجام می‌شود و ظهور ریشه‌ها در غیاب و پس از تخریب آن صورت می‌گیرد (مشایخی 1386). بنابراین احتمال می‌رود مدت زمان لازم برای تماس ریزنمونه‌ها با این اکسین برای ریشه زایی کافی نبوده است. نات (1998) گزارش کرد که افزایش NAA تعداد ریشه را در *L. longiflorum* نسبت به محیط کشت بدون هورمون بطور معنی‌داری افزایش می‌دهد. این عدم تطابق نیز می تواند به دلیل نوع اکسین بکار رفته باشد.

نتایج حاصل از محاسبه همبستگی بین صفات (جدول 5) نشان داد که به غیر از همبستگی تعداد پیازچه با تعداد ریشه، بین تمامی صفات همبستگی مثبت وجود دارد. در عین حال طول شاخساره و تعداد پیازچه با ویژگی‌های ریشه زایی همبستگی معنی‌داری نداشت در حالی که

[1] *Lilium casablanca*

همبستگی در بین بقیه صفات معنی‌دار بود. با توجه به اینکه در این محیط کشت از هورمون BA استفاده شده است می‌توان گفت که در حضور این هورمون نسبت سایتوکینین به اکسین افزایش یافته و در نتیجه ریشه-زایی مهار شده و بر عکس تعداد پیازچه تولید شده افزایش یافته است (تاکایاما و میساوا 1979). با افزایش تعداد گره در ریزنمونه تعداد شاخساره نیز افزایش می‌یابد و همچنین با افزایش طول و تعداد ریشه که با هم همبستگی مثبت دارند میزان نمک و املاح بیشتری از محیط کشت جذب و در اختیار سرآغازنده‌های شاخساره قرار داده و در نتیجه تعداد شاخساره را تا حدودی افزایش می‌دهد.

شکل 1- پیازچه زایی در محیط کشت MS

شکل2- ریشه زایی در محیط کشت MS

نتیجه گیری کلی

به طور کلی IAA شاخه زایی را بهبود بخشیده و بر ریشه‌زایی و پیازچه‌زایی تاثیری نداشت در حالی که BA به مقدار قابل توجهی تعداد پیازچه ها را افزایش داده و بر عکس از ریشه‌زایی ممانعت نمود. محیط کشت MS حاوی 2 میلی‌گرم در لیتر هورمون بنزیل آدنین برای تولید پیازچه مناسب بود. از طرف دیگر در صورتی که هدف از کشت پیازچه ها، تولید ریشه باشد در این صورت افزودن هورمون بنزیل آدنین، نه تنها تاثیری بر ریشه‌زایی آنها ندارد بلکه با افزایش غلظت آن به 2 میلی‌گرم در لیتر می‌تواند تعداد و طول ریشه‌ها را به طوری معنی‌داری کاهش دهد.

سپاسگزاری

بدینوسیله از همکاری صمیمانه آقای مهندس سیف‌اله فیضی، کارشناس آزمایشگاه کشت بافت و بیوتکنولوژی گروه علوم باغبانی دانشگاه محقق اردبیلی، در اجرای این تحقیق صمیمانه تشکر و قدردانی می‌گردد.

منابع مورد استفاده

مشایخی ک. 1386. جنین زایی رویشی گیاهی. انتشارات مختومقلی فراقی (سارلی). 483 ص.

Aartrijk V, 1984. Adventitious bud formation from bulb scale explants of *Lilium speciosum* in vitro. Dissertation, Agriculture University, Wageningen, The Netherlands.

Azad P and Khosh-Khui M, 2007. Micropropagation of *Lilium ledebourii* 'Bioss' as affected by plant growth regulator, sucrose concentration, harvesting season and cold treatments. Biotechnology 10: 583-591.

Bacchetta L, Remotti PC, Bernardini C. and Saccardo F, 2003. Adventitious shoot regeneration from leaf explants and stem nodes of Lilium. Plant Cell, Tissue and Organ Culture 74: 37- 44.

Chang C, Chen C, Tsai Y and Wei-Chin C. 2000. A tissue culture protocol for propagation of a rare plant, *Lilium speciosum* Thunb var Glorisoides Baker. Botanical Bulletin of Academia Sinica 41: 139-142.

Hassey G, 1976. In vitro release of axillary shoots from apical dominance in monocotyledonous plantlets. Annals of Botany 40: 1323-1325.

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

Kim KJ and Kim KS, 2005. Changes of endogenous growth substances during bulb maturation after flowering in Lilium oriental hybrid 'Casa Blanca'. Acta Horticulturae 673: 661-665.

Kumar S, Kashyap M and Sharma DR, 2005. In vitro regeneration and bulblet growth from lily bulb scale explants as affected by retardants, sucrose, and irradiance. Biologia Plantarum 48: 629- 632.

Nut DT, 1998. Micropropagation of lily (*Lilium longiflorum*) via in vitro stem node and pseudo-bulblet culture. Plant Cell Roports 17: 913-916.

Nut DT, 2003. The control of in vitro direct main stem formation of *Lilium longiflorum* derived from receptacle culture and rapid propagation by using in vitro stem nodes. Plant Growth Regulation 40: 179-184.

Pierik RLM, 1998. In Vitro Culture of Higher Plants. Ferdowsi Univ Press.

Pierik RLM and Steegmans HHM, 1975. Effect of auxins, cytokinins, gibberellins, abscisic acid and ethephon on regeneration and growth of bulblets on excised bulb scale segments of hyacinth. Physiologia Plantarum 34: 14-17.

Ramsay JL and Galitz DS, 2003. Basal medium and sucrose concentration influence regeneration of easter lily in ovary culture. HortScience 38: 404- 406.

Robb JM, 1957. The culture of excised tissue from bulb scales of *Lilium speciosum*. Journal of Experimental Botany 8: 348- 352.

Takayama S and Misawa M, 1979. Differentiation in Lilium, bulb scales grown in vitro. Effect of various cultural conditions. Physiologia Plantarum 46: 184-190.

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

Wawrosch C, Malla PR and Kopp B, 2001. Clonal propagation of *Lilium nepalense* D. Don, a threatened medicinal plant of Nepal. Plant Cell Reports 20: 285-288.