نقدی بر تولید انبوه پیاز لیلیوم از طریق کشت بافت
(توجیه فنی تولید پیاز لیلیوم)

سیده سمیه شفیعی ماسوله

گروه ژنتیک و بهنژادی، پژوهشکده گل و گیاهان زینتی، موسسه تحقیقات علوم باغبانی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، محلات، ایران

نویسنده مسئول: shafiee.masouleh@areeo.ac.ir; shafyii@gmail.com

چکیده

لیلیوم یکی از گیاهان زینتی بسیار مهم از نظر محبوبیت بعد از رز، داوودی و میخک در دنیا و ایران است که با استفاده از اندام زیرزمینی (پیاز) برای تولید تجاری تکثیر می‌شود. محققان و نیز تولیدکنندگان تجاری این گیاه همواره به دنبال بهترین روش برای افزایش عملکرد تولید بوده‌اند و بنابراین هر یک از محققان بنا به دلایل توجیهی خویش روشی را برای این هدف برگزیده‌اند. یکی از این روش‌ها که شاید بتوان آن را نسبت به سایر روش‌ها جدید دانست استفاده از روش کشت بافت است. می دانیم که هدف علوم خدمت به بشریت و افزایش بهره‌وری است. کشت بافت روش مناسبی برای اهداف خاص (نجات جنین، انتقال ژن، ازدیاد گیاهانی که دارای مشکل هستند و ...) است، اما پژوهش‌های بسیاری برای تولید انبوه پیاز لیلیوم با روش کشت بافت گزارش شده است. به راستی تمام این محققان حتی با دلایل خویش کدام مشکل ازدیاد لیلیوم را مرتفع نموده‌اند؟ آیا این گیاه برای تکثیر و تولید انبوه دارای مشکل است؟ آیا کشت بافت به عنوان سیستم ازدیاد برای لیلیوم دارای مزیت خاص (مانند افزایش اندازه پیاز، افزایش کیفیت، کاهش دوره تولید) می‌باشد؟ آیا هر افزایش عملکردی (تولید تعداد زیاد پیازچه) مزیت محسوب می شود؟ این مقاله با روش تحلیلی-توصیفی و نتایج پژوهش پیشین سعی دارد تا دلایل انتقادی بر رد نیاز به تولید پیاز لیلیوم از روش ریزازدیادی (که صرفاً با هدف تولید انبوه بیان می‌شود و نه اهداف اصلاحی و ژنتیکی) ارائه دهد.

کلمات کلیدی: ریزازدیادی، فلس‌برداری، کشت بافت، گل سوسن.

مقدمه

گیاه لیلیوم (سوسن) از جنس *Lilium*، زیردسته تک‌لپه‌ای‌ها و خانواده Liliaceae می‌باشد. تقریباً شامل ۱۰۰ گونه و بومی شمال آمریکا، اروپا و آسیا است که بین عرض‌های جغرافیایی ۶۳ درجه شمالی در کامچاتکا[1] در روسیه (*Lilium tunifolium, L. mededoides*) و ۱۱ درجه شمالی در جنوب هند (*L. neilgherrens*) پراکنش دارند. ساختار بنیادی گل‌های لیلیوم شامل ریشه، ساقه، گل و برگ است. اندام ذخیره‌ای اغلب گونه‌ها پیاز بدون‌پوشش[2] است (شفیعی ماسوله، ۱۳۹۳).

انواع گونه‌های لیلیوم نه تنها به وسیله بذر، بلکه به‌وسیله اندام‌های زیر زمینی (پیاز) تکثیر می‌شوند (شفیعی ماسوله، ۱۳۸۷)، از این رو در طبقه‌بندی گیاه‌شناسی، از گونه‌های لیلیوم باعنوان ژئوفیت‌های[3] زینتی نام برده می‌شود. نقش اولیه پیاز لیلیوم، ذخیره آب و مواد غذایی و تأمین مواد برای رشد و نمو در فصل بعدی و بنابراین تضمین بقای نسل است. فلس‌ها برگ‌های تغییرشکل‌یافته و متورم هستند و حاوی مواد غذایی ذخیره شده به‌صورت نشاسته می‌باشند. اندازه پیازها به تعداد و میزان تراکم فلس‌ها بستگی دارد (شفیعی ماسوله، ۱۳۹۳). گیاهان لیلیوم می‌توانند از بذر، تقسیم پیاز، قلمه، فلس‌برداری، پیازچه‌های ساقه‌ای، پیازچه‌های هوایی و ریزازدیادی تکثیر شوند. اغلب رقم‌های لیلیوم از طریق فلس‌برداری تکثیر می‌شوند، درحالی‌که رقم‌های *L. × formolongi* به‌طور تجاری با بذر تکثیر می‌شوند. مزیت ازدیاد از طریق پیازچه این است که گلدهی در این روش یک سال زودتر از گیاهان حاصل از فلس‌برداری اتفاق می‌افتد. اما در تولید تجاری، اساساً به‌دلیل هزینه کارگری برای جمع‌آوری پیازچه، استفاده نمی‌شود. ازدیاد به‌وسیله کشت بافت در دورگه‌ها و گونه‌های مختلف نیز انجام شده است (Kamenetsky and Okubo, 2013).

---

[1]. Kamchatka
[2]. Nonetunicate bulbs
[3]. Geophytes

IrHC2019

تا کنون تحقیقات زیادی برای تولید انبوه لیلیوم از طریق کشت بافت گزارش شده است، ولی هیچ مطالعه‌ای صورت نگرفته است که آیا واقعا کشت بافت نسبت به فلس‌برداری برای تولید انبوه لیلیوم مزیت است یا خیر؟ هدف از این مطالعه تبیین عدم نیاز به تولید پیازچه فلسی لیلیوم از طریق کشت بافت (صرفاً با هدف تولید انبوه بدون مقصودهایی همچون اصلاح ژنتیکی از طریق نجات جنین، انتقال ژن، عاری‌سازی از ویروس) است.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه یک روش تحلیلی-تطبیقی و کتابخانه‌ای بر اساس نتایج و گزارشات پژوهشگران در مورد تولید پیاز لیلیوم به روش غیرجنسی برای تولید پیازچه فلسی در دو روش کشت بافت و فلس‌برداری با سه شاخص مشابه بررسی و گزارش شده توسط آنها (تعداد پیازچه فلسی تشکیل شده، وزن تر پیازچه فلسی و قطر پیازچه فلسی) استفاده شد. سپس درصد موفقیت کشت بافت نسبت به روش فلس‌برداری (روش مرسوم تولید پیاز لیلیوم) محاسبه گردید و بر اساس زمان تقریبی گزارش شده برای تولید پیازچه فلسی مورد تحلیل قرار گرفت. گزارشات تحقیقات بر اساس بهترین شرایط گزارش شده در آزمایشات محققان در این مقاله ارائه شده است. روش آماری مورد استفاده در این مطالعه از نوع روش آماری ساده (محاسبه درصد اختلاف) در سه شاخص مورد بررسی و در دو روش مورد مطالعه می‌باشد.

نتایج و بحث

تعداد زیادی از پژوهشگران امروزه بر تولید انبوه پیاز لیلیوم از روش کشت بافت متمرکز شده‌اند، از جمله؛ Han و همکاران (۲۰۰۴) با هدف تولید انبوه با روشی مبتنی بر کاهش هزینه نیروی انسانی برای بازکشت از فلس پیاز به عنوان ریزنمونه در محیط موراشیگ-اسکوگ و هورمون‌های IAA و BA استفاده کردند. نات (۱۹۹۸) آزمایشی را طراحی کردند که از گره ساقه، پیازچه‌هایی تولید شود که بدون نیاز به دوره استراحت بتوانند به صورت گیاهچه رشد کنند. از راس ساقه به عنوان ریز نمونه استفاده کردند و گره ساقه تولید شده را به‌عنوان ریزنمونه دوم کشت نمودند. محیط موراشیگ –اسکوگ و هورمون BA برای تشکیل شاخساره و برای تشکیل پیازچه کاذب و NAA برای ریشه‌دهی مورد استفاده قرار گرفت و در مجموع یک کشت و سه بازکشت داشتند. هدف Lian و همکاران (۲۰۰۳) تولید پیازچه‌های بزرگ با کیفیت، با استفاده از بیورآکتور بود. از پیازچه‌های حاصل از کشت مریستم به‌عنوان ریز نمونه استفاده کردند. محیط موراشیگ-اسکوگ، سه بار بازکشت، با ۹۰ گرم در لیتر ساکارز از شرایط کشت بافت آنها بود. Arzate-Fernández و همکاران (۲۰۰۷) با هدف حفاظت از گونه در معرض خطر *Lilium maculatum* var. *bukosanense* (Honda) Hara از روش کشت بافت استفاده کردند. ریزنمونه، فلس داخلی پیاز بود. محیط موراشیگ-اسکوگ همراه با تنظیم کننده‌های رشد گیاهی را برای اهداف خود مورد استفاده قرار دادند. هدف Han و همکاران (۲۰۰۵) تولید پیازچه‌های بزرگتر که بتوانند در سال اول در خاک شاخساره تولید کنند بود. فلس‌های پیاز تولید شده در محیط موراشیگ-اسکوگ به‌عنوان ریز نمونه برای تولید شاخساره در محیط کشت جدید استفاده شد. آنها از سه نوع تنظیم‌کننده رشد گیاهی، ساکارز و زغال فعال بهره بردند.

نمونه‌هایی از پژوهش‌های انجام شده به روش فلس‌برداری برای تولید پیاز لیلیوم توسط محققان گزارش شده است. Hatamzadeh و همکاران (۲۰۱۴) تاثیر دوره انباری را بر تولید پیازچه فلسی بزرگ‌تر هدف پژوهش خویش قرار دادند. از پیاز مادری به‌عنوان مواد تکثیر استفاده کردند. بسته‌های کوکوپیت و پرلیت مرطوب در انبار ۲۵ درجه سانتی‌گراد و تاریکی شرایط تکثیر پیاز به روش فلس‌برداری بود. Park (۱۹۹۶) تولید پیازچه فلسی رقم Stargezer را با استفاده از محل قرارگیری فلس در طبق پیاز مورد پژوهش قرار دادند. پیازهای مادری بدون سرمادهی (فلس‌های داخلی و میانی) در بستر ماسه و ورمیکولیت و شرایط تاریکی در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد استفاده شدند. Kim و همکاران (۲۰۰۷) برای تولید پیازچه یک‌ساله از پیازچه-های فلسی تولید شده از فلس مادری در بستر پیت استفاده کردند. Matsuo (۱۹۷۲) برای تولید پیازچه فلسی در *L. longiflorum* cv. Senkaku از فلس مادری در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد در فایتوترون استفاده کردند. نتایج بررسی‌های انجام شده برای تولید انبوه پیازچه فلسی لیلیوم در دو روش کشت بافت و فلس برداری در جدول ۱ ارائه شده است.

IrHC2019

جدول ۱- مقایسه درصد موفقیت تولید پیازچه فلسی لیلیوم در گزارش‌های پژوهشی از روش کشت بافت نسبت به فلس‌برداری

روش پژوهش	منبع	تعداد پیازچه فلسی تشکیل شده[الف]	وزن تر پیازچه فلسی (میلی-گرم)[ب]	قطر پیازچه (میلی‌متر)[ج]	درصد موفقیت بر اساس الف*	درصد موفقیت بر اساس ب**	درصد موفقیت بر اساس ج*	زمان صرف شده (ماه)
روش کشت بافت	(Han *et al.* 2004)	۱۸/۵	۲/۹۲	۴/۴	+۸۲۵	-۳۲/۰۹	-۵۲/۴۳	۵
	(Nhut, 1998)	۲	گزارش نشده	گزارش نشده	۰	-	-	۴
	(Lian *et al.*, 2003)	۱۲۰	۳	گزارش نشده	+۵۹۰۰	-۳۰/۳۲	-	
	(Arzate-Fernández *et al.*, 2007)	۶	گزارش نشده	۱-۲	+۲۰۰	-	-۷۹/۸۹	۷-۸
	(Han *et al.*, 2005)	۱	۱/۵	۱۱/۶	-۵۰	-۶۵/۱۲	+۲۵/۴۰	۸
روش فلس‌برداری	(Hatamzadeh *et al.*, 2014)	۲	گزارش نشده	۹/۹۵	-	-	-	۵
	(Park, 1996)	۶/۵	۴/۳	۲/۳	-	-	-	۵
	(Kim *et al.*, 2007)	گزارش نشده	گزارش نشده	۲/۸۶	-	-	-	گزارش نشده
	(Matsuo, 1972)	گزارش نشده	گزارش نشده	۱/۸۵	-	-	-	۵

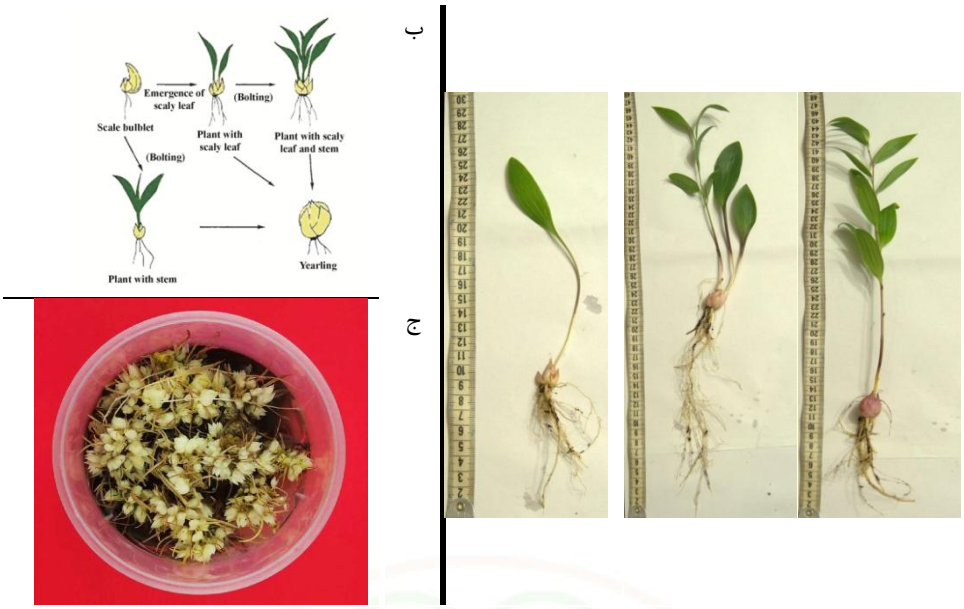
* محاسبه بر اساس مقادیر گزارش شده در منبع (Hatamzadeh *et al.*, 2014) انجام شده است.

** محاسبه بر اساس مقدار گزارش شده در منبع (Park, 1996) انجام شده است.

مرسوم‌ترین روش تجاری تولید پیازهای قابل پیش‌رسی لیلیوم، روش فلس‌برداری است. در این روش، از فلس‌برداری تا تولید پیازهای قابل پیش‌رسی نیاز به سه فصل رشد است. در روش فلس‌برداری، فلس‌ها را از پیاز مادری جدا می‌کنند و در شرایط مناسب رشد از نظر دما، بستر کشت و رطوبت قرار می‌دهند و پیازچه‌های نابجا[۴] (پیازچه‌های فلسی) در قاعده هر کدام از فلس‌ها (محل اتصال به طبق) تشکیل می‌شود. در هر فلس که به گونه، رقم و اندازه فلس بستگی دارد، ۵-۳ پیازچه فلسی در محل اتصال فلس به طبق یعنی در قاعده فلس جدا شده از پیاز مادری، تشکیل می‌شود. این روش به‌ویژه برای ایجاد و تکثیر ارقام عاری از بیماری مفید است. می‌توان گفت تقریباً همه گونه‌های لیلیوم از طریق فلس‌برداری قابل تکثیر هستند. تشکیل پیازچه‌های فلسی از نظر تعداد، وزن، کیفیت و نوع گیاهی (شکل ۱، الف و ب)، که از آن تشکیل می‌شود علاوه‌بر گونه و رقم و اندازه فلس، به تأثیر عوامل محیطی مانند دما، رطوبت و نوع بستر کشت بستگی دارد.

4. Adventitious bulblets

IrHC2019



شکل ۱- (الف) گیاهان لیلیوم هیبرید Oriental رقم 'Arabian Red'، به‌ترتیب از راست به چپ؛گیاه نوع برون‌خاکی، گیاه نوع درون‌خاکی- برون‌خاکی و گیاه نوع درون‌خاکی، از نظر اندازه گیاه در دوره تولید پیازچه یک‌ساله بعد از گذشت یک ماه از کشت پیازچه فلسی (عکس از نگارنده). (ب) توالی رشد پیاز لیلیوم از پیازچه فلسی تا پیازچه یک‌ساله (شفیعی ماسوله، ۱۳۹۳) (ج) پیازچه‌های تشکیل شده از شاخساره، با ۲۵۰ گرم بر لیتر ساکارز بعد از ۸ هفته افزودن محیط مایع (Han *et al*., 2004).

در روش کشت بافت از ریزنمونه‌های مختلف شامل فلس، گره ساقه، رأس ساقه و غیره در چندین بازکشت برای تکثیر پیاز استفاده می‌کنند، همانطور که قبلاً در این بخش بدان‌ها اشاره شد. اما با وجود تولید تعداد زیادی پیازچه که اغلب پس از چندین بازکشت به آن دست می‌یابند (شکل ۱ ج)، پیازچه‌ها بسیار کوچک هستند و سازگارسازی و رشد بعدی آنها در محیط طبیعی تا رسیدن به پیاز قابل پیش‌رسی (اندازه محیط پیاز بیش از ۱۵ تا ۲۵ سانتی‌متر؛ که به نوع و کولتیوار لیلیوم بستگی دارد) نیازمند صرف هزینه (مواد محیط کشت و هورمون‌ها) و نیروی انسانی و زمان طولانی‌تر است. همانطور که در جدول ۱ مشاهده می‌کنید، شاید درصد تولید انبوه موفقیت آمیز باشد (در مواردی بیش از ۵۰۰۰ درصد) اما تعداد زیادی پیازچه کوچک و کم وزن تولید می‌شود (در تمام موارد بیش از ۳۰ تا ۵۰ درصد کاهش در اندازه و وزن پیازچه نسبت به روش ارزان و راحت فلس‌برداری) که در روش فلس‌برداری بدان توجهی نمی‌شود و حتی دور ریخته می‌شوند. همانطور که در جدول ۱ مشاهده می کنید، زمان تولید پیازچه‌های فلسی نه تنها با روش کشت بافت کاهش نمی‌یابد بلکه در مواردی طولانی‌تر بوده و پس از آن نیز به دلیل اندازه بسیار کوچک، دوره‌های طولانی‌تر و ناموفقی را از نظر تجاری در محیط طبیعی و گلخانه طی می‌نمایند.

کافی است درباره تولید انبوه لیلیوم از طریق کشت بافت در منابع اطلاعاتی جستجو شود، تعداد بسیار زیادی تحقیق که مشابه گزارشات ارائه شده در این مقاله می‌باشد دیده می‌شود. آری، کشت بافت گیاه لیلیوم، به صورت صد درصد قابل رد نیست، اما اگر در پژوهش‌ها و اهداف منحصر به تولید انبوه به کار رود بدون اینکه هدفی اصلاحی یا ژنتیکی در کنار آن باشد، فقط صرف وقت و هزینه، بدون هیچ گونه بهره‌وری بوده و به‌عنوان روش علمی کاربردی و هدفمند پذیرفته نیست. این موضوع در مورد سایر گیاهان از جمله دیگر گیاهان زینتی، سبزیجات و درختان میوه نیز قابل تأمل است و می‌بایست توسط محققان متخصص مورد بازنگری و نقد و بررسی قرار گیرد.

منابع

شفیعی ماسوله، س. س. ۱۳۸۷. ارزیابی و مدل‌سازی اثرات برخی عوامل در پیش‌بینی زمان گلدهی و شاخص عملکرد گل سوسن. پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه گیلان.

IrHC2019

شفیعی ماسوله، س.س. ۱۳۹۳. اثرهای کربوکسی‌متیل کیتوسان و نانوکیتوسان مغناطیسی بر رشد و نمو سوخ گل سوسن دورگه شرقی 'Arabian Red'. پایان نامه دکتری تخصصی، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه گیلان.

Arzate-Fernández, A. M., Miwa, M., Shimada, T., Yonekura, T. and Ogawa, K. 2007. In vitro propagation of miyamasukashi-yuri (*Lilium maculatum* Thunb. var. Bukosanense), an endangered plant species. Revista Fitotecnia Mexicana, 30(4): 373-379.

Han, B. H., Yae, B. W., Yu, H. J. and Peak, K. Y. 2005. Improvement of in vitro micropropagation of *Lilium* oriental hybrid 'Casablanca'by the formation of shoots with abnormally swollen basal plates. Scientia Horticulturae, 103(3): 351-359.

Han, B. H., Yu, H. J., Yae, B. W. and Peak, K. Y. 2004. In vitro micropropagation of *Lilium longiflorum* 'Georgia'by shoot formation as influenced by addition of liquid medium. Scientia Horticulturae, 103(1): 39-49.

Hatamzadeh, A., Shafiee-Masouleh, S. S., Samizadeh, H. and Rad-Moghadam, K. 2015. Extending storage duration of mother scales for enlarging scale bulblets and soluble carbohydrates content in lily "Arabian Red". Journal of Ornamental Plants, 5(1): 7-13.

Kamenetsky, R .and Okubo H .2013. Ornamental geophytes, from basic science to sustainable production. CRC Press.

Kim, S. H., Niedziela Jr, C. E., Nelson, P. V., De Hertogh, A. A., Swallow, W. H. and Mingis, N. C. 2007. Growth and development of *Lilium longiflorum* 'Nellie White'during bulb production under controlled environments: I. Effects of constant, variable and greenhouse day/night temperature regimes on scale and stem bulblets. Scientia horticulturae, 112(1): 89-94.

Lian, M., Chakrabarty, D. and Paek, K. Y. 2002. Growth and uptake of sucrose and mineral ions by bulblets of *Lilium* Oriental Hybrid 'Casablanca'during bioreactor culture. The Journal of Horticultural Science and Biotechnology, 77(3): 253-257.

Matsuo, E., 1972. Studies on the Easter lily (*Lilium longiflorum* THUMB.) of Senkaku Retto (Pinnacle Islands). Journal of the Japanese Society for Horticultural Science, *41*(4), pp.383-392.

Nhut, D. T. 1998. Micropropagation of lily (*Lilium longiflorum*) via in vitro stem node and pseudo-bulblet culture. Plant Cell Reports, 17(12): 913-916.

Park, N. B. 1996. Effect of temperature, scale position, and growth regulators on the bulblet formation and growth during propagation of *Lilium*. Acta Horticultrae. 414: 252-262.

A critique of mass production of lily bulbs through tissue culture approach

(Technical justification of *Lilium* bulb production)

Seyedeh-Somayyeh Shafiei-Masouleh*

Department of Genetics and Breeding, Ornamental Plants Research Center (OPRC), Horticultural Sciences Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Mahallat, Iran

**Corresponding Author: shafiee.masouleh@areeo.ac.ir; shafyii@gmail.com*

Abstract

Lilium is one of the most important ornamental plants in terms of popularity after rose flower, chrysanthemum and carnation in the world and Iran, which is propagated by storage organ (bulb) for commercial production. Researchers as well as growers have always sought the best method for raising the production performance, and therefore each of the researchers, for their own reasons, has chosen a method for this purpose. One of these methods, which may be new to other methods, is the use of tissue culture. We know that the goal of science is to serve the humanity and increase the utility. Tissue culture is a suitable method for specific purposes (embryo rescue, gene transfer, proliferation of plants that have a problem, etc.), but many studies have been performed on the mass production of lily bulbs by tissue culture. Indeed, all of these researchers what problems of lily have removed, with their own reasons? Is there any problem with its mass production and propagation? Is tissue culture as a propagation system for *Lilium* with a particular advantage (such as increasing the bulb size, increasing the quality, reducing the production period)? Is any yield increase (production of large numbers of bulbs) benefit? This article, by an analytical-descriptive method, and based on the results of the previous research, has tried to provide critical reasons for the rejection of the need to produce *Lilium* bulbs by micropropagation method, which is expressed just for the purpose of mass propagation and not for genetic and breeding purposes.

Keywords: Lily, Micropropagation, Scaling, Tissue culture

IrHC2019