ریز ازدیای سوسن چلچراغ (Lilium ledebourii boiss) از طریق تولید ریز غدهای نابجا

ایمان جعفری مفیدآبادی1*، وعلی جعفری مفیدآبادی2
دانشجوی دکتری علوم باغبانی،دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم تحقیقات تهران،کرج.
دانشیار پژوهشی اصلاح نباتات،مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان گلستان،گرگان.

چکیده

از روش درون شیشه ای برای ایجاد غده های نابجا در تکثیرآسان سوسن چلچراغ (Lilium ledebourii boiss) استفاده می شود. جهت بررسی غده زایی، ریز غده های ایزوله شده اولیه به محیط های کشت (MS, DKW and half-MS) حاوی هورمونهای رشد گیاهی منتقل شدند. اثرات متوسط محیطهای کشت روی ازدیاد غده های نابجا مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج اختلاف معنی داری را در بین محیطهای کشت بکار گرفته شده در سطح یک در صد نشان داد (α=0,01). بیشترین تعداد متوسط غده های نابجا در محیط کشت MS جامد حاوی 0/1 میلی گرم در لیتر 2ip و 0/1 میلی گرم در لیتر IBA و 0/5 میلی گرم در لیتر BAP بدست آمد. محیط کشت DKW عاری از هورمونهای رشد گیاهی موجب ایجاد گیاهچه و افزایش رشد رویشی درون شیشه ای بیشتر از تولید غده نابجا شد. متوسط تعداد غده های ایجاد شده در محیط کشت Half-MS حاوی ترکیب هورمونهای رشد گیاهی به میزان 0/5 میلی گرم 2ip و 0/1 میلی گرم در لیتر IAA و محیط کشت DKW فاقد هورمونهای رشد گیاهی بترتیب 37/15 در صد و 5/05 در صد برآورد شد. بیشترین ریشه زایی گیاهچه ها در محیط کشت MS فاقد هورمونهای رشد گیاهی مشاهده شده است.

کلمات کلیدی: سوسن چهلچراغ، غده زایی، ریزازدیادی، تکثیر، غده های نابجا

مقدمه

سوسن چلچراغ Lilim ledebourii متعلق به تیره لیلیاسه (Liliaceae) است که دارای ارزش زینتی خاصی است. تکثیر سنتی آن از طریق غده زایی صورت می گیرد. از روشهای تکثیر درون شیشه ای که تا کنون برای تکثیر انبوه در سطح تجاری بسیاری از گونه های زینتی صورت پذیرفته است می توان کشت مریستمهای موجود در گیاه،ایجاد مریستمهای نابجا و همچنین رویان زایی بدنی را نام برد. روش غده زایی درون شیشه ای روش تکثیر انبوه کلونی است که برای بسیاری از گونه های گیاهی زراعی، باغی و زینتی پیاز دار مورد استفاده واقع می شود. از مزایای تکثیر غده زایی درون شیشه ای می توان به 1) تداوم طولانی مدت تکثیر گیاه مورد نظر،2) تولید گیاهان عاری از عوامل بیماریزا 3) اصالت رقم اشاره نمود. روش باززایی سوسن چلچراغ از طریق ایزوله و کشت مستقیم منطقه مریستمی غده (Stimar and Ascher 1978: Hacket 1969: Aartrijk and Blom Barnhoorn 1983) و از طریق کشت کالوس (Stimart et al. 1980: Sheridan 1968: Takayama and Misawa 1983 a: 1983 b). گزارش شده است. بمنظور تکثیر انبوه در سطح تجاری از طریق تولید ریز غده های نابجا سوسن چهلچراغ ، فاکتورهای موثر در تکثیر انبوه مورد مطالعه قرار گرفت.

مواد و روش

تهیه جدا کشت و سترون سازی: منطقه مریستم مرکزی غده های جوان سالم به عنوان جدا کشت مورد استفاده قرار گرفت. پیش سترون سازی جدا کشتها با گذاشتن غده ها در زیر رانش آب جاری و پس از آن قرار گیری در محلول هیپوکلر کلسیم 5% برای ده دقیقه انجام شد. با گذاشتن غده ها در اتانول 70 % بمدت یک دقیقه و شستشو با آب مقطر استریل شده بمدت سه دقیقه و متعاقب آن گذاشتن غده ها در محلول 25% هیپو کلر کلسیم بمدت 20 دقیقه بهمراه 5 قطره Tween -20 و در نهایت با سه بار شستشو با آب مقط سترون سترون

سازی شده،پروسه سترون سازی تکمیل گردید. قطعات مریستمی ایزوله شده در ظروف مربایی(وایول) حاوی محیط کشت در قالب طرح آماری بلوکهای کامل تصادفی با تیمار نوع محیط کشت (MS= 0,5 mg/l 2ip, 0,1 mg/l IBA و Half-MS = 0,5 mg/l 2ip + 0,1 mg/l IAA و DKW) و با سه تکرار بمنظور بررسی اثرات محیطهای کشت در ایجاد غده های نابجا منتقل شدند. محیطهای مختلف کشت شامل MS (Murashig and Skoog 1962), Half-MS و DKW (Driver and Kuniyuk 1984) دارای هورمونهای رشد گیاهی اکسین و سایتوکنین با ترکیبات و غلظتهای متفاوت مورد استفاده قرار گرفتند. PH محیطهای کشت بین 5,7-5,6 و قبل از انجام اتوکلاو تنظیم و محیطهای کشت با استفاده از آگار (BDH) با غلظت 0,6% بوسیله اتوکلاو منجمد شد. جدا کشتهای منتقل شده به محیط کشت در شرایط نوری 4500-5000 لوکس بصورت 16 ساعت روشنایی و 8 ساعت تاریکی با دمای 25 درجه نگهداری می گردد. پس از 4 الی 5 هفته انبوه غده های نابجای بوجود آمده از ریز نمونه اولیه جدا و در محیط کشت DKW فاقد هورمونهای رشد گیاهی برای دست یابی به غده کامل و یا به محیط کشت اولیه برای تولید انبوه غده های نابجا چرخه بعد منتقل شدند. گیاهچه های حاصل برای ریشه زایی به محیط کشت MS فاقد هورمونهای رشد گیاهی انتقال یافته اند.

نتایج

غده های نابجای برگی شکل از قسمت پایین بافت مریستمی کاشته شده در محیطهای کشته تشکیل شد که بتدریج با تشکیل ریشه به گیاه کامل تبدیل گردید. تشکیل غده های نابجا در تمامی محیطهای کشت مورد استفاده با ترکیب و غلظت ذکر شده مشاهده شد. لیکن تعداد غده های نابجای بوجود آمده در محیط کشت DKW با متوسط 5/05 عدد از هر جداکشت اولیه در مقایسه با سایر محیطهای کشت کمتر بود. این مقدار برای محیط کشت MS با ترکیب هورمونی0,5 mg/l 2ip, 0,1 mg/l IBA + 0,1 mg/l IBA برابر 53,65 و برای محیط کشت Half-MS با ترکیب هورمونی و غلظت 0,5 mg/l 2ip + 0,1 mg/l IAA برابر 37,15 عدد برآورد شد. اثرات هورمونهای رشد گیاهی بکار گرفته شده تحت تاثیر ترکیب و غلظت مورد استفاده قرار داشت. نتایج مندرج در جدول شماره 1 نشان می دهد که اختلاف معنی داری در سطح 1% بین محیطهای کشت مورد استفاده وجود دارد (جدول شماره 1). مقایسه میانگین اثرات محیطهای کشت در ایجاد غده های نابجا به روش دانکن نشان داد که محیط کشت MS با ترکیب هورمونی

0,5 mg/l 2ip, 0,1 mg/l IBA + 0,1 mg/l IBA بیشترین تعداد غده های نابجا را تولید و دارای اختلاف معنی داری با سایر تیمارهای محیط کشت است (جدول شماره 2). تلاشهای زیادی در تکثیر درون شیشه ای گیاه لیلیوم شده است و اکنون در سطح تجاری مورد استفاده قرار می گیرد .(Simmonds and Cumming 1976: Marinangeli and Curvetto 1997) نتایج این بررسی نشان داد که استفاده از ایجاد ریز غده های نابجا در تکثیر انبوه گیاه سوسن چلچراغ .Lilium ledobourii boiss روش ساده و اسان در سطح تجاری است. مشابه این نتایج بوسیله Stimart and Ascher در سال 1978 و Niimi در سال 1986 با استفاده از کشت مریستم مرکزی یکی دیگر از گونه های لیلیوم گزارش شد. با توجه به دادهای بدست آمده و تفاسیر نتایج در این گزارش و سایر گزارشات بین المللی، ایجادغده های نابجا به عنوان یک روش از روشهای ازدیاد درون شیشه ای تنها در گرو استفاده از ترکیبات و غلظتهای هورمونهای رشد گیاهی امکان پذیر است و به عبارت دیگر لازمه تحریک مریستمهای مرکزی به تشکیل غده های نابجا در تکثیر تجاری، استفاده از هورمدنهای رشد گیاهی است. چنانچه ملاحظه شد محیط کشت DKW فاقد هورمونهای رشد گیاهی کمترین تعداد متوسط ریز غده را از خو نشان داد (جدول شماره 2). مشابه این نتایج در گزارش Niimi در سال 1986 نیز گزارش شده است. مشابه نتایج ما در استفاده از ترکیب هورمونهای رشد گیاهی، استفاده از ترکیب هورمونهای رشد گیاهی در محیطهای مختلف کشت برای تولید انبوه درون شیشه ای گونه های مختلف لیلیوم در سایر گزارش نیز آمده است (Sundeep and Sumitra 1992).

جدول شماره 1: بررسی اثر محیطهای کشت مختلف در ایجاد غده های نابجا حاصل از کشت غده انفرادی

منبع تغییرات	DF	SS	MS	F
تکرار	19	8,782	166,850	0,8155
محیطهای کشت	2	24430,8	1134,3724**	12215,4
خطا	38	409,2	10,768	
کل	59	25006,850		

**= Significant F-Value at the 0,01 level

جدول شماره 2: مقایسه اثر متوسط محیطهای کشت در ایجاد تعداد غده های نابجا

محیطهای کشت	هورمونهای رشد	تعداد غده های نابجا
MS	0,5mg/l 2ip + 0,5 mg/l BAP + 0,1 mg/l IBA	53,65 A
Half-MS	0,5 mg/l 2ip + 0,1 mg/l IAA	37,15 B
DKW	-	5,05 C

حروف مختلف بیانگر وجود اختلاف معنی دار در سطح یک در صد است (α= 0,01)

منابع

Aartijk J., Van. Y.G. and Blom-Barnhoorn (1983): Adventitious bud formation from bulb-scale explants of Lilium sepeciosum Thumb. In vitro. Effects of wounding, TIBA and temperature. Z. Pflanzenphysiol Bd. 110:355-363.

Driver J.A. and Kuniyuki, H. (1984): In Vitro propagation of paradox walnut root stocks (Jugland hindisi x J.regia). Hortscience 19:507-509

Hacker W.P (1969): Aseptic multiplication of Lily bulblets from bulb scales. Intern. Plant. Sco. Proc. 19:105-108.

Marinageli P.A. and Currveto N.R. (1997 a): Bulb quality and traumatic acid influence bulblet formation from In vitro micro propagated Lilium species and hybrids. Hortscience 32:460

Murashige T and Skoog F. (1962): A revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue cultures.

Niimi Y (1986): Application of leaf segment cultures to In vitro bulblet production of six Lilium species. Acta Bot. Neerl. 35; 189-192.

Novak F.J. and Petru E. (1981): Tissue culture propagation of Lilium hybrids. Sci. Hort. 14:191-199.

Okazaki K. and Koizumi M.L (1995): Callus formation and regeneration of some species of Lilium. Acta Hortic. 392:97-106.

Sheridan W.F. (1974): Tissue culture of the monocot. Lilium. Planta 82:189-192.

Simmonds J.A. and Cumming B.G. (1976): Propagation of Lilium hybrids, II. Production of plantlets from bulb scale callus cultures for increased propagation rates. Scientia Hortic. 5:161-170.

Stimart D.P. and Ascher P.D (1978): Tissue culture of bulb scales sections for asexual propagation of Lilium longiflorum thumb. J.Am.Soc. Hortic. Sci. 103:182-184.

Stimart D.P. and Ascher P.D and Zagorski J.S (1980): Plants form callus of the inter specific hybrid Lilium `` Black beauty``. Hortic. Science. 15:313-315.

Sundeep P. and Sumitra S. (1992): A revised scheme for mass propagation of Easter lily. Plant Cell, Tissue and Organ Culture 30:193-197.

Takayama S. and Missawa M (1983 a): A scheme for mass propagation of Lilium In vitro. Scientia Hortic. 18:353-362.

Takayama S. and Missawa M (1983 a): The mass propagation of Lilium In vitro by stimulation of multiple adventitious bulb scale formation and by shake culture. Can.J.Bot. 61:224-228.

Wickremesinhe E.R., Holcomb E.j. and Arteca R.N (1994): A partical method for the production of flowering Easter lily from callus cultures. Sci. Hort 60:143-152.

Micropropagation of lily (Lilium ledebourii boiss) through adventitious bulblets induction

I Jafari Mofidabadi1* and A. Jafari Mofidabadi2.

1- Department of Horticultural Sciences, Science and Research Branch Islamic Azad University, Tehran, Iran.

2- Golestan Research Center for Agriculture and National Resource. Gorgan-Iran.

Summary

A simple method was used for In vitro proliferation of Lilim ledebourii through direct adventitious bulblets induction. For In vitro bulbing assay isolated scale pieces were transferred to the different culture media (MS, DKW and half-MS) containing growth regulator hormone. Mean effect of culture media on In vitro bulblets proliferation were considered. A highly significant difference was observed for buolblets initiation potential among applied culture media at 0,01 levels. Highest number of adventives bulblets(53,65) obtained in MS medium plus 0,5 mg/l 2ip, 0,1 mg/l IBA and 0,5mg/l BAP . DKW hormone free medium cased In vitro vegetative growth (plan let development) of bulblets rather than bulblet proliferation. The mean number of adventives bulblet induction on half-MS supplemented with 0,5 mg/l 2ip, 0,1 mg/l IAA and DKW without growth regulators hormones were 37.15 and 5,05 respectively. Highest root developments were observed on hormone free MS medium (78%)

Keyword: Lilim ledebourii, bulbing, In vitro proliferation, Micropropagation, and adventives bulblets