باززایی ریزنمونه‌های دوفلسی پیاز آماریلیس (*Hippeastrum hybridum*) در شرایط کشت درون‌شیشه‌ای

شهلا امانی (١)، حسین زارعی (٢)، سدالله علیزاده اجیرلو (٣). کامبیز مشایخی (٤)

١-دانشجوی کارشناسی‌ارشد گروه علوم باغبانی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، ٢-استادیار گروه علوم باغبانی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، ٣-استادیار گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز، ٤-دانشیار گروه علوم باغبانی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

یکی از روش‌های نوین ازدیاد آماریلیس سیستم تکثیر دوفلسی است که با استفاده از این روش زمان موردنیاز برای ایجاد یک پیاز بالغ ٣ سال به طول می‌انجامد. هدف از این تحقیق بررسی تأثیر شرایط کشت درون‌شیشه‌ای بر میزان باززایی پیازچه از ریزنمونه‌های دوفلسی پیاز آماریلیس بود. محیط کشت مورد استفاده محیط MS محتوی ٣٪ ساکارز و ٠/٨٪ آگار بود، هیچ تنظیم‌کننده‌ی رشدی خارجی بکار برده نشد. نتایج بیانگر این بود که ١٠٠٪ دوفلسی‌ها در محیط کشت مورد استفاده باززایی داشتند و پیازچه‌ها در سطح دور از محور فلس درونی القا شدند. میانگین تعداد پیازچه تولید شده به ازای هر ریزنمونه دوفلسی از ١ تا ١/٥ متغیر بود. پیازچه‌های درون‌شیشه‌ای در همان محیط ریشه‌دار شدند و بنابراین نیازی به کاربرد هورمون‌های ریشه‌زایی نبود. در پایان آزمایش گیاهچه‌های ریشه‌دارشده با موفقیت به شرایط برون‌شیشه‌ای انتقال یافتند و پس از مقاوم‌سازی در بستری از پرلایت و کمپوست به نسبت ١:١ مستقر شدند و به میزان ١٠٠٪ بقا یافتند و توسعه پیدا کردند. از زمان کشت ریزنمونه‌ها تا ایجاد یک گیاهچه‌ی رشد کرده‌ی ریشه‌دار ٣/٥ تا ٤ ماه طول کشید که این مدت زمان در مقایسه با سیستم تکثیر دوفلسی در شرایط برون‌شیشه‌ای به مراتب کمتر بود.

کلمات کلیدی: آماریلیس، باززایی، ریزنمونه دوفلسی، کشت درون‌شیشه‌ای

مقدمه:

آماریلیس گیاهی تک‌لپه و متعلق به خانواده آماریلیداسه است که بیش از ٧٠ تا ٨٠ گونه دارد و از جمله گیاهان گلدانی و تا حدی گل‌بریده محسوب می‌شود(١ و ٣). ازدیاد این گیاه به روش‌هایی نظیر کاشت بذر، پاجوش‌های پیازی و تکنیک نوین تکثیر دوفلسی انجام می‌پذیرد. کاربرد این روش‌ها به‌دلیل بازده کم و زمان‌بر بودن آنها در سطح تجاری مقرون به صرفه نیست(٢ و ٤). از آنجا که سیستم تکثیر دوفلسی نسبت به دو روش دیگر بازدهی بیشتری دارد(٥ و ٦)، در این تحقیق تلاش بر این است تا واکنش ریزنمونه‌های دوفلسی نسبت به شرایط کشت درون‌شیشه‌ای بررسی شود. نظر به اینکه تشکیل پیازچه و نمو برگ‌ها طبق مطالعات پیشین متاثر از تغییر فصول بود، تحقیق حاضر در هر دو نیمه سال انجام پذیرفت.

مواد و روش‌ها:

این تحقیق در آزمایشگاه کشت بافت دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز در سال ١٣٩٠-١٣٨٩ انجام گرفت. مواد گیاهی در مورخ ١٣ مردادماه ١٣٨٩ از باغ گل شهرستان محلات خریداری شدند. پیازها پس از تمیز کردن و قطع کردن ریشه‌ها و اندام هوایی در زیر جریان آب نیم‌گرم به مدت دو ساعت قرار گرفتند به منظور ضدعفونی سطحی پیازها، الکل اتانول ٧٠٪ به مدت ٦٠ ثانیه و هیپوکلریدسدیم ٢/٥٪ به مدت ٢٥ دقیقه استفاده شد و در نهایت در سه تایم با آب‌مقطر استریل آبکشی شدند. ریزنمونه‌های دوفلسی در شرایط گندزدایی شده از پیازها برش داده شد و در شیشه‌های کشت محتوی ٤٠ میلی‌لیتر محیط کشت پایه‌ی موراشیگ و اسکوگ بدون هیچ تنظیم‌کننده‌ی رشد که در اتوکلاو به مدت ٢٠ دقیقه با دمای ١٢١/٥ درجه سانتیگراد و فشار ١٥ پی‌اس‌آی استریل شده بودند، کشت شدند. شیشه‌های کشت به اتاقک رشد با شرایط کنترل‌شده‌ی ١٦ ساعت روشنایی در روز با شدت نور ١٥٠٠ لوکس و دمای ٢٥ درجه سانتی‌گراد منتقل شدند. در این آزمایش ٦ عدد پیاز به قطر تقریبی ٣ سانتی‌متراستفاده شد، از هر پیاز تقریبا ٣٠ عدد ریزنمونه گرفته شد و در هر شیشه ٦ عدد ریزنمونه قرار داده شد. لازم به ذکر است که این آزمایش در قالب ٤ تکرار و در دو نیمه سال انجام گرفت تا تاثیر فصول بر میزان باززایی

بررسی شود. ثبت مشاهدات دو هفته پس از آزمایشات شروع شد. در پایان آزمایش گیاهچه‌های رشد کرده درون‌شیشه‌ای به شرایط برون‌شیشه‌ای منتقل شدند و به منظور مقاوم‌سازی در زیر جریان میست قرار گرفتند و در بستری از پرلایت و کمپوست به نسبت مساوی ۱:۱ مستقر شدند.

نتایج و بحث:

بنا بر آزمایشات ریزنمونه‌های دوفلسی پاسخ مثبتی به شرایط کشت درون‌شیشه‌ای نشان دادند بطوریکه به میزان ۱۰۰٪ باززایی داشتند. پیازچه‌ها در سطح دور از محور فلس درونی ریزنمونه‌ها القا شد زیرا بنابر مطالعات پیشین دستجات آوندی پیازچه‌ها از سطح دور از محور فلس درونی آغازش می‌یابد و سرانجام به دستجات آوندی فلس بیرونی‌تر مرتبط می‌شود(٦). میانگین تعداد پیازچه به ازای هر ریزنمونه از ۱ تا ۱/۵ متغیر بود و همچنین تغییر فصول اثری بر میزان باززایی پیازچه از ریزنمونه‌ها نداشت. گیاهچه‌های درون‌شیشه‌ای در همان محیط کشت مورداستفاده ریشه‌دار شدند و نیازی به کاربرد هورمون‌های ریشه‌زایی نبود این نتایج مشابه نتایج سیبروک و یاناگاوا بود اما با نتایج ایامادا هم‌خوانی نداشت(۵، ۷ و ۸). گیاچه‌های ریشه‌دارشده با موفقیت به شرایط برون شیشه‌ای انتقال یافتند و به میزان ۱۰۰٪ بقا یافتند.از زمان کشت ریزنمونه‌ها تا ایجاد یک گیاهچه‌ی رشد کرده‌ی ریشه‌دار ۳/۵ تا ٤ ماه طول کشید که این در مقایسه با سیستم تکثیر دوفلسی در شرایط برون‌شیشه‌ای به‌مراتب کمتر بود.

شکل۱: استقرار گیاهچه‌ها در محیط برون‌شیشه‌ای پیازچه القاشده در سطح دور از محور فلس درونی

منابع:

1- De Hertogh, A. and Le Nard, M., 1993. The Physiology of flower bulbs. Reg. No: 746, Doc. No: 613.
2- SEABROOK, J. and CUMMING. B., 1977. The in vitro propagation of Amaryllis(*Hippeastrum. Hybridum*). In vitro., Volum 13, No, 12.
3- SIDDIQUE, M.N. A., SULTANA, J. and HOSSAINl, M. M., 2007. *Ex vitro* establishment of in vitro produced plantlets and bulblets of Hippeastrum (*Hippeastrum Hybridum*). Int. J. Sustain. Crop Prod. 2(3): pp. 22-24.
4- SMITH, R.H., BURROWS, J., and KURTEN, k., 1999. Project Management: A Managerial Approach, John Wiley & Sons. P 560.
5- Okubo, H., Huang, C.W. and Uemoto, S. 1990. ROLE OF OUTER SCALE IN TWIN-SCALE PROPAGATION OF *HIPPEASTRUM HYBRIDUM* AND COMPARISON OF BULBLET FORMATION FROM SINGLE- AND TWIN-SCALES. Acta Hort. (ISHS) 266:59-66.
6- Okubo, H., Huang, C.W. and Kishimoto, F., 1999. Effects of Anti-auxins and Basal Plate on Bulblet Formation in Scale Propagation of Amaryllis (*Hippeastrum Hybridum*). J. Japan. Soc. Hort. Sci., 68(3): pp. 513-518.

7- Oyamada, T. 1974. Propagation of amaryllis, *(Hippeastrum hybridum* Hort.) by tissue culture: I. Effect of auxins and cytokinins on the callus formation and organ differentiation in the tissue culture of different parts of bulb scales. Sci. Rep. Fac. Agric. Meijo. Univ. 10: 10-19.
8- YANAGAWA, T. and OSAKI, T., 1996. *In vitro* propagation of bulblets and elimination of viruses by bulb-scale cultures of *Hippeastrum hybridum*. Plant Tissue Culture letters , 13(2), 147-152.