جنین‌زایی رویشی مستقیم در سه رقم تجاری سوسن Simplon، Navona و Ceb-dazzle

نرگس مجتهدی، امید دبیراشرافی و مینا کاویانی
پژوهشکده بیوتکنولوژی کشاورزی

چکیده

تکثیر و تولید گیاهان زینتی با استفاده از تکنیک کشت بافت، یکی از روش‌های نوین پرورش این گیاهان می‌باشد. لذا، جهت یافتن دستورالعمل تکثیر تجاری این گیاه در کشور، اقدام به بررسی جنین‌زایی رویشی مستقیم سه رقم تجاری و بازارپسند سوسن شد. در این آزمایش، اثر غلظت‌های مختلف پیکلرام (۸ ،٤ ، ۲، ۱، ۰ میلی‌گرم در لیتر) بر ریزنمونه‌های لایه نازک حاصل از سه منطقه قاعده‌ای، میانی و راسی فلس پیازهای سه رقم تجاری Simplon، Navona و Ceb-dazzle به ترتیب از دورگ‌های شرقی، آسیایی و LA، در تولید جنین‌های رویشی مستقیم، در قالب یک آزمایش فاکتوریل با طرح کاملا تصادفی بررسی شد. ریزنمونه‌ها پس از ضدعفونی سطحی در محیط کشت پایه MS همراه با ساکارز ۳٪ و ویتامین‌های Gamborge's B5 و ۰/۷٪ آگار قرار گرفتند. صفات مورد بررسی شامل تعداد کل جنین‌ها، جنین‌های شاخی، بالغ و تعداد ریشه‌های گسترده، برگ‌های گسترده و تعداد پیازچه‌ها بود. اطلاعات دو ماه پس از کشت جمع‌آوری گردید. نتایج نشان داد که ریزنمونه‌های منطقه قاعده‌ای در مقایسه با مناطق دیگر به طور معنی‌داری در غلظت ۱ میلی‌گرم در لیتر پیکلرام در هر سه رقم، جنین‌های رویشی مستقیم بیشتری تولید می‌کنند. تعداد جنین‌های شاخی و بالغ نیز، در منطقه قاعده‌ای بیشتر بود.رقم Ceb-dazzle بیش از ارقام دیگر جنین تولید نمود. نتایج حاکی از تاثیر نوع رقم، غلظت پیکلرام و نوع ریزنمونه در تولید جنین‌های رویشی مستقیم با استفاده از روش کشت لایه نازک بود.

مقدمه

سوسن یکی از ۲۲۰ جنس متعلق به خانواده *Liliaceae* وتک لپه می‌باشد که حدود ۱۰۰ گونه را شامل می‌شود کـه همگـی از گونه‌های زینتی می‌باشند. به دلیل کندی روش تکثیر سنتی، ریزازدیادی در گیاهان پیازی روش دیگـری بـه غیـر از روش‌هـای سنتی برای تکثیر رویشی گیاه ایجاد کرده اسـت. تکثیـر درون شیـشه‌ای سوسـن بـا اسـتفاده از قطعـات فلـس پیـاز از طریـق پیازچه‌زایی یا جنین‌زایی رویشی صورت می‌گیرد. روش جنین‌زایی رویشی به دلیل امکان تولید بیشتر و تکثیر مداوم توده‌هـای جنین‌زا، به عنوان یکی از روش‌های مناسب تکثیر سوسن گزارش شده است (Khosravi *et al*., 2007). جنین‌زایـی رویـشی مستقیم به علت کاهش تولید گیاهان شیمر و امکان اندک ایجاد تنوع سوماکلونی، بیشتر مورد نظر می‌باشد (Gaj, 2001; Cui *et al*., 2009). لذا، اقدام به بررسی جنین‌زایی رویشی مستقیم و مقایسه آن در ارقام تجاری سوسن شد.

مواد و روش‌ها

در این تحقیق از فلس‌های پیازهای وارداتی سه رقم تجاری سوسـن *Lilium longiflorum* cv. Ceb-Dazzle, Navona و Simplon به ترتیب از دورگ‌های شرقی، آسیایی و LA به عنوان ریزنمونه، استفاده شد. فلس‌ها پس از ضدعفونی سطحی در الکل ۷۰٪ به مدت ۳۰ ثانیه و هیپوکلریت سدیم ۲/۵٪ به مدت ۱۵ دقیقه و ٤٥ دقیقه غوطه‌وری در حمـام آب گـرم ۳۷ درجـه

سانتی‌گراد، به محیط کشت پایه MS همراه با ساکارز ۳٪ و ویتامین‌های Gamborge's B5 و ۰/۷٪ آگار قرار گرفتند. در این آزمایش، اثر غلظت‌های مختلف پیکلرام (۸، ٤ ، ۲، ۱، ۰ میلی‌گرم در لیتر) بر ریزنمونه‌های لایه نازک حاصل از سه منطقه قاعده‌ای، میانی و راسی فلس پیازهای سه رقم سوسن در قالب یک آزمایش فاکتوریل با طرح کاملا تصادفی مورد ارزیابی قرار گرفت. صفات مورد بررسی شامل تعداد کل جنین‌ها، جنین‌های شاخی، بالغ و تعداد ریشه‌های گسترده، برگ‌های گسترده و تعداد پیازچه‌ها بود. اطلاعات دو ماه پس از کشت جمع‌آوری گردید.

نتایج و بحث

نتایج نشان داد که ریزنمونه‌های منطقه قاعده‌ای در مقایسه با مناطق دیگر به طور معنی‌داری در غلظت ۲ میلی‌گرم در لیتر پیکلرام در هر سه رقم، جنین‌های رویشی مستقیم بیشتری تولید می‌کنند. تعداد جنین‌های شاخی و بالغ نیز در منطقه قاعده‌ای بیشتر بود (شکل ۱). ریزنمونه‌های گیاهی در القاء جنین‌زایی رویشی تاثیر فوق‌العاده‌ای دارند.. بر طبق آخرین تحقیقات که با استفاده از ریزنمونه‌های گل‌آذین نر جوان درختان بالغ موز جهت تولید جنین‌های رویشی انجام شد، مشخص گردید که ریزنمونه‌های دارای اندازه بزرگ‌تر نسبت به ریزنمونه‌های کوچک در محیط کشت مشابه با غلظت هورمونی یکسان، فراوانی بالاتری در القاء جنین‌های رویشی نشان دادند (Pérez-Hernández and Rosell-García, 2008). در مطالعات متعددی ثابت شده است که کاربرد اکسین‌های خارجی، بهترین نوع تیمار برای القای جنین‌زایی رویشی است (Jiménez, 2001). رقم Ceb-Dazzle بیش از ارقام دیگر جنین‌های رویشی تولید نمود (جدول ۱). تاثیر نوع رقم در تولید جنین‌های رویشی در مطالعات مختلف در خرما، نخود و اکالیپتوس نیز اثبات شده است (حبشی و همکاران، ۱۳۸٦؛ کوباز و همکاران، ۱۳۸۵؛ Pinto *et al*., 2008).

جدول ۱. میانگین تعداد جنین‌های رویشی سه رقم تجاری سوسن در غلظت ۱ میلی‌گرم در لیتر پیکلرام

		میانگین تعداد جنین‌های رویشی	میانگین تعداد جنین‌های شاخی	میانگین تعداد جنین‌های بالغ	میانگین تعداد ریشه‌های گسترده
رقم Ceb-Dazzle	منطقه قاعده‌ای	۲۰/۵۸	۵/۸۸	۵/۱۸	٤/٤٥
	منطقه میانی	۹/۵۳	٤/۲	۲/٦	٦/۸۳
	منطقه راسی	۲	۰/۵	۰	۰
رقمSimplon	منطقه قاعده‌ای	۱۷/۷۷	۱/۸۵	۲	۰
	منطقه میانی	۲۵/۲	۱	۰	۰
	منطقه راسی	۱/۵	۰	۰	۰
رقمNavona	منطقه قاعده‌ای	۷/۱	۳/۲۸	۲	۰
	منطقه میانی	۳/۵۸	۸/۲۵	۰	۰
	منطقه راسی	۲/۵	۰	۰	۰

منابع

حبشی، ع.ا.، م. کاویانی، ا. موسوی و ع. رستمی. ۱۳۸٦. ریزازفزایی خرما، رویان‌زایی رویشی و باززایی. پنجمین همایش باغبانی ایران. ص ۱۷.

کوباز، پ.، م. آزموده‌فرد و ع. حبشی. ۱۳۸۵. بهینه‌سازی کشت بافت و انتقال ژن با استفاده از روش پرتاب ذره‌ای در نخود (*Cicer arietinum*)

Cui J., Chen J. and Henny R.J., 2009. Regeneration of *Aeschynanthus radicans* via direct somatic embryogenesis and analysis of regenerants with flow cytometry. 2009. *In Vitro* Cellular and Developmental Biology- Plant. 45: 34- 43.

Gaj M.D., 2001. Direct somatic embryogenesis as a rapid and efficient system for *in vitro* regeneration of *Arabidopsis thaliana*. Plant Cell Tissue and Organ Culture 64: 39–46.

Jiménez, V.M. 2001. Regulation of *in vitro* somatic embryogegensis with emphasis on to the role of endogenous hormones. Rev. Bras. Fisiol. Veg. 13 (2): 196-223.

Khosravi, S., A.V. Azghandi, R. Hadad and N. Mojtahedi. 2007. In vitro micrpropagation of Lilium longiflorum cv. Ceb-Dazzle. Journal of Agricultural Research: Seed and Plant. 23(2): 159- 168.

Pérez-Hernández J.B. and P. Rosell-García. 2008. Inflorescence proliferation for somatic embryogenesis induction and suspension-derived plant regeneration from banana (Musa AAA, cv. 'Dwarf Cavendish') male flowers. Plant Cell Reports. 27: 965–971.

Pinto, G., Y.S. Park, L. Neves, C. Arau´jo and C. Santos. 2008. Genetic control of somatic embryogenesis induction in Eucalyptus globulus Labill. Plant Cell Reports. 27: 1093–1101.

Direct somatic embryogenesis in three commercial lilium cultivars: Simplon, Navona Ceb-dazzle,

Narges Mojtahedi, Omid Dabirashrafi and Mina Kaviani

Abstract

Production of ornamental plants using tissue culture is one of the recent new techniques for propagation. To develop a practical protocol for *in vitro* propagation of Lilium, direct somatic embryogenesis studied in three commercial lilium cultivars (Simplon, Navona and Ceb-dazzle belonging to oriental, Asiatic and LA hybrids, respectively) using factorial experiment based on complete randomized design (CRD. Experiment were carried out using various concentration of Picloram (0, 1, 2, 4 and 8 $mg.L^{-1}$) on different thin cell layer explants of lilium bulb scales (Basal, Central and distal). The explants were surface sterilized and cultured on MS medium supplemented with 3% Sucrose, Gamborge's B5 vitamins and 0.7% plant agar.Parametes to evaluate direct somatic embryogenesis were number of somatic embryos, number of coleoptilar and developed embryos, root numbers, leaf numbers and number of bulblets. Data collected two months after culture. The results showed that basal part of bulb scales compared with central and distal parts and 1 mg. L^{-1} Picloram in all three cultivars produced the highest numbers of direct somatic embryos, significantly. Number of coleoptilar and developed embryos were also high in the basal part. Ceb-dazzle produced more somatic embryos than other cultivars. The results of this experiment showed that kind of cultivar, Picloram concentration and kind of explant has significant effect on production of direct somatic embryos.