مجله علمی ترویجی گل و گیاهان زینتی (۱۳۹۵)، ۱(۱): ۲۸-۳۷

استفاده از سیستم کشت درون‌شیشه‌ای برای افزایش ضریب تکثیر آماریلیس (*Hippeastrum hybridum*)

امانی شهلا*[۱]، زارعی حسین[۱]، علیزاده اجیرلو سعداله[۲]، مشایخی کامبیز[۱]

۱. دانشکده تولید گیاهی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

۲. دانشکده کشاورزی، گروه علوم باغبانی و فضای سبز دانشگاه تبریز

* amanishahla@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۱۳۹٤/۰۲/۰۸، تاریخ بررسی مجدد: ۱۳۹٤/۰۷/۱٤، تاریخ پذیرش: ۱۳۹٤/۱۱/۳

چکیده

نظر به اینکه روش‌های سنتی ازدیاد آماریلیس، کند و از لحاظ اقتصادی مقرون به صرفه نمی‌باشد، ریزازدیادی این گیاه بازارپسند هدف تحقیق جاری قرار گرفت. در همین راستا دو آزمایش کلی پایه‌گذاری شد. در آزمایش اول تأثیر دو نوع محیط‌کشت (MS[۱] و NL[۲]) محتوی غلظت‌های مختلف 2,4-D (۲/۰ ،۱/۰ ،۰/۵ ،۰/۰ $mg.L^{-1}$) و در آزمایش دوم تأثیر دو نوع محیط‌کشت (MS و NL) محتوی غلظت‌های مختلف BAP (۲/۰ ،۱/۰ ،۰/۰ $mg.L^{-1}$) بر میزان صفات درصد پیازچه‌زایی، تعداد پیازچه و قطر پیازچه‌ی باززایی‌شده در مرحله استقرار، از پنج نوع ریزنمونه‌ی دوفلسی، تک فلسی با طبق، تک فلسی بدون طبق، طبق و جوانه مرکزی گل (اسکیپ) بررسی شد. بنابر نتایج بدست آمده در آزمایش اول افزایش غلظت 2,4-D بیش از حد معینی، درصد باززایی پیازچه را به شدّت کاهش داد و در مواردی موجب مرگ ریزنمونه شد. در حالیکه در آزمایش دوم تمام ریزنمونه‌ها هر چند به تعداد کم، قادر به باززایی پیازچه بودند و با افزایش غلظت BAP قطر پیازچه تولیدشده نیز افزایش یافت. به طور کلی با نظر به نتیج بدست آمده، حداکثر صفت درصد باززایی پیازچه تمام ریزنمونه‌ها در آزمایش دوم و در محیط‌کشت NL، حداکثر صفت تعداد پیازچه (4.25) در آزمایش اول و از کشت ریزنمونه‌ی تک‌فلسی با طبق تحت کشت درمحیط‌کشت NL محتوی ۱ $mg.L^{-1}$ از 2,4-D و در نهایت، حداکثر قطر پیازچه در آزمایش اول و از ریزنمونه‌های دوفلسی و تک فلسی تحت تیمار با محیط‌کشت MS محتوی ۰/۵ $mg.L^{-1}$ از 2,4-D مشاهده شد. با توجه به نتایج تحقیق جاری، می‌توان از ریزنمونه‌های پیازی برای دست‌یابی به یک پروتکل بهینه‌ی ریزازدیادی آماریلیس بهره جست.

کلمات کلیدی: آماریلیس، باززایی، پیازچه، ریزازدیادی، محیط‌کشت

[۱] Murashige and Skoog
[۲] Neumann and et al.

[Downloaded from hortsci.ut.ac.ir on 2025-05-23 at 09:46 +0330 on Tuesday December 15th 2020]
[DOR: 20.1001.1.26765993.1395.1.1.3.6]

[Downloaded from flowerjournal.ir on 2025-05-24]
Downloaded from flowerjournal.ir at 23:06 +0330 on Tuesday December 15th 2020
[DOR: 20.1001.1.26765993.1395.1.1.3.6]

مقدمه

زمانی‌که روش‌های معمول و سنتی تکثیر و ازدیاد گیاهی نمی‌تواند پاسخگوی تقاضای روزافزون مواد گیاهی و توسعه‌ی هیبریدهای مهم بویژه آماریلیس باشد ریزازدیادی قادر به تولید تعداد بی شماری گیاه همسان و هم شکل است (مشایخی ۱۳۸٦). این روش اینک در مورد بسیاری از گیاهان زینتی و گل‌دار کاربرد دارد (Mehrotra *et al.* 2007). پژوهش در مورد امکان کاربرد تکنیک‌های کشت بافت و ریزازدیادی آماریلیس از سال ۱۹٦۲ همزمان با معرفی محیط‌کشت MS توسط موراشیگ (Seabrook & Cumming 1977) آغاز گردید ولی اولین دست‌آورد اندام‌زایی ریزنمونه‌های آماریلیس در سال ۱۹۷٤ از کشت ریزنمونه‌های فلسی گزارش شد (Mii *et al.* 1974). در سوابق تحقیقی قسمت‌های مختلفی از گیاه آماریلیس به عنوان ریزنمونه مورد استفاده قرار گرفته است ولی در همه‌ی موارد نتایج موفقی گزارش نشده است حتی بنا بر گزارشات Bapat و Narayanaswamy (۱۹۷٦) تنها ۱۰٪ از کشت ها، منتج به ایجاد گیاهچه شدند. بسیاری از پژوهشگران اندام‌های مربوط به گل را منبع مناسب‌تری برای تهیه‌ی ریزنمونه نسبت به بافت‌های پیازی زیرزمینی به دلیل آلودگی کمتر توصیه نمودند (Seabrook & Ziv & Lilien-Kipni 2000; Cumming 1977). اگر چه ریزنمونه‌های ساقه گل و دمگل به عنوان بهترین بافت‌های واکنش‌دهنده به کشت معرفی شدند (Seabrook & Cumming 1977). اما در بعضی موارد فقط ساقه های گل کوتاه و نابالغ آماریلیس باززایی نشان دادند. عدم باززایی در ساقه‌های گل طویل احتمالا ناشی از غلظت بیشتر IAA و ABA درونی بیشتر آنها در مقایسه با ساقه‌های گل کوتاه است (Witomska *et al.* 2008) چنین نتیجه‌ای نیز در مورد *Amaryllis belladonna* بدست آمد (De Bruyn *et al.* 1992). با این حال بهترین نتایج بنا بر تحقیقات پیشین محققین از کشت ریزنمونه‌های پیازی بدست آمده است. از پیاز آماریلیس ریزنمونه‌هایی به‌صورت قطعات دوفلسی، بافت طبق، جوانه‌ی گل مرکزی، تک‌فلسی با طبق و بدون طبق قابل تهیه است. ریزنمونه‌های فلسی واجد بافت صفحه ی پایه‌ای در غیاب تنظیم‌کننده‌های رشد نیز قادر به باززایی بودند در حالی که این مطلب در مورد ریزنمونه‌های گل گزارش نشده است (Huang *et al.* 2005; Hussey 1975; Seabrook & Cumming 1977). از آنجائیکه وجود یا عدم وجود صفحه‌ی پایه‌ای نقش تعیین کننده بر میزان باززایی ریزنمونه‌های فلسی داشته است، به صورت جداگانه نیز توسط محققین کشت شد تا واکنش آن به شرایط درون‌شیشه‌ای بررسی شود (Seabrook & Cumming 1977; Yanagawa & Sakanishi 1980). انتخاب نوع محیط‌کشت به عوامل متعددی از جمله نوع گونه‌ی گیاهی، سن گیاه، سن اندام، نوع اندام مورد کشت و اهداف موردنظر دارد. در سوابق تحقیقی آماریلیس، محققان بسیار کمی از محیط کشت وایت (White 1954) استفاده کردند (Yanagawa & Osaki 1996; Yanagawa & Sakanishi 1977)، قریب به اکثر محققین دیگر از محیط کشت MS برای پیش‌برد اهداف کشت بافتی خود استفاده نمودند. از آنجائیکه محیط‌کشت NL از محیط‌کشت وایت مشتق گردیده و یک محیط کشت ایده‌آل برای کشت اندام‌های زیرزمینی معرفی شده است (Neumann *et al.* 2009). در تحقیق حاضر از محیط کشت NL نیز استفاده شد و کارایی آن با محیط کشت MS مقایسه شد. با توجه به نتایج و یافته های منتشرشده هنوز کاستی‌های فراوانی در زمینه‌ی کشت بافت و ریزازدیادی آماریلیس احساس می‌شد. در همین راستا باززایی ریزنمونه‌های مختلف از بخش‌های پیازی آماریلیس تحت تاثیر دو نوع محیط کشت دارای ترکیب‌های مختلف از تنظیم کننده رشد، هدف این تحقیق قرار گرفت به امید اینکه بتوان یک پروتکل ازدیادی مفید با استفاده از تکنیک‌های کشت‌بافت ارائه نمود.

مواد و روش‌ها

گلدان‌های حاوی پیاز در حال رشد آماریلیس به تعداد ۲۱ عدد، از مرکز تحقیقات گل و گیاه شهرستان محلات واقع در استان مرکزی خریداری و به گلخانه منتقل شدند. پس از شستشو و استریل کامل پیازها در آزمایشگاه کشت‌بافت، دو نوع محیط‌کشت MS و NL با سطوح مختلفی از تنظیم‌کننده‌های رشدی موردنظر تهیه شد. تیمارهای مورد آزمایش مطابق جدول ۱ پس از انجام مراحل ضدعفونی بر روی ریزنمونه‌ها اعمال شد. پس از اتمام کشت، شیشه‌های کشت به اتاق رشدی با شرایط محیطی ۱۶ ساعت روشنایی و ۲±۲۵ درجه‌سانتی‌گراد منتقل شدند. ریز نمونه‌ها پس از گذشت یک تا یک و نیم ماه به شیشه‌های کشت حاوی محیط‌کشت بدون هیچ تنظیم‌کننده‌ی رشدی بازکشت شدند. در این فاصله کشت‌ها مرتبا بازدید شد و ضمن ثبت مشاهدات و عکس‌برداری نمونه‌های آلوده حذف گردید. شاخص‌های اندازه‌گیری عبارت بودند از: درصد پیازچه‌زایی، تعداد پیازچه‌ی القایی و قطر پیازچه‌ی القاشده. این پژوهش به صورت آزمون فاکتوریل و بر پایه‌ی طرح کاملا تصادفی انجام گرفت. داده‌ها با استفاده ازنرم‌افزار آماری SPSS ver.16 تجزیه واریانس شدند. مقایسه‌ی میانگین داده‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵٪ صورت گرفت و برای ترسیم نمودارها و جداول از نرم‌افزار Excel استفاده شد.

جدول ۱. تیمارهای مورد آزمایش در مرحله‌ی استقرار ریزنمونه‌ها

MS+ 2,4-D (۰/۰، ۰/۵، ۱/۰، ۲/۰ $mg.L^{-1}$)	آزمایش اول	انواع ریزنمونه مورد کشت (دوفلسی، تک‌فلسی با طبق، جوانه مرکزی، طبق، تک‌فلسی بدون طبق)
NL+ 2,4-D (۰/۰، ۰/۵، ۱/۰، ۲/۰ $mg.L^{-1}$)		
MS + BA (۰/۰،۱/۰، ۲/۰ $mg.L^{-1}$)	آزمایش دوم	
NL + BA (۰/۰، ۱/۰، ۲/۰ $mg.L^{-1}$)		

نتایج

آزمایش اول- تاثیر2,4-D بر صفات مورد آزمایش در مرحله‌ی استقرار ریزنمونه‌ها

درصد پیازچه‌زایی ریزنمونه‌ها: بنابر نتایج بدست آمده ریزنمونه‌های دوفلسی و تک‌فلسی در غلظت‌های ۱ و ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر 2,4-D در هر دو محیط کشت به میزان ۱۰۰٪ باززایی پیازچه نمودند، در حالی که در غلظت ۲ میلی‌گرم در لیتر هیچ کدام از ریزنمونه‌ها پیازچه القا ننمودند. ریزنمونه‌های جوانه‌ی مرکزی در رتبه‌ی بعد از ریزنمونه‌های دوفلسی و تک‌فلسی، بیشترین درصد باززایی پیازچه (۴۷٪) را در محیط کشت MS با غلظت ۱ میلی‌گرم در لیتر نشان دادند. جزئیات مقایسه میانگین در شکل ۱ قابل مشاهده است.

تعداد پیازچه‌ی درون‌شیشه‌ای: مطابق شکل ۲ بیشترین تعداد پیازچه در محیط کشت NL و در غلظت‌های ۱ و ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر 2,4-D بترتیب در ریزنمونه‌ی تک‌فلسی و دوفلسی و به‌میزان ۴/۲۵ و ۳/۷۵ عدد القا شد. هر دو نوع از این ریزنمونه‌ها هنگام کشت در محیط‌کشت MS دارای 2,4-D با غلظت ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر به تعداد یکسانی پیازچه ایجاد نمودند. همچنین تعداد پیازچه در ریزنمونه‌های دوفلسی در غلظت ۱ و ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر 2,4-D در محیط‌کشت MS، مشابه با ریزنمونه‌ی تک‌فلسی در غلظت ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر در محیط کشت NL بود، عکس این مطلب نیز صادق بود. با توجه به عدم باززایی پیازچه در محیط کشت حاوی غلظت ۲ میلی‌گرم در لیتر 2,4-D انتظار پیازچه بی‌اساس بود. سه نوع دیگر ریزنمونه‌های جوانه مرکزی، طبق و تک‌فلسی بی‌طبق به طور کلی پیازچه‌ی کمتری با یک اختلاف معنی‌دار نسبت به ریزنمونه‌های تک‌فلسی و دوفلسی القا نمودند اما با مقایسه پیازچه‌ی محدودی هم که در این سه

[Downloaded from flowerjournal.ir on 2025-05-24]
Downloaded from flowerjournal.ir at 23:06 +0330 on Tuesday December 15th 2020
[DOR: 20.1001.1.26765993.1395.1.1.3.6]

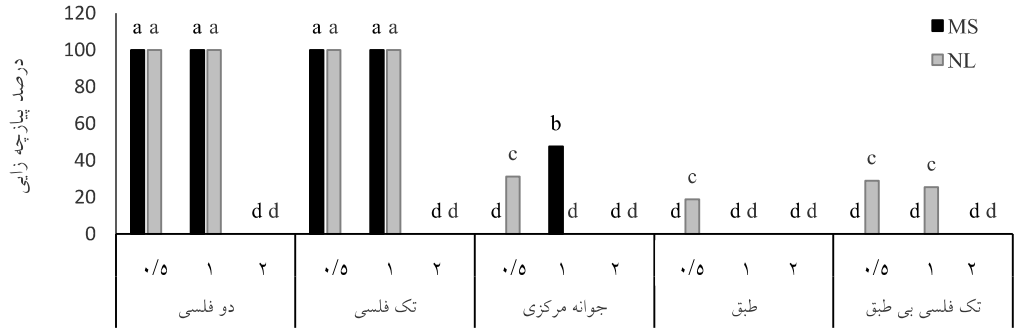
نوع ریزنمونه القا شد، ریزنمونه‌ی جوانه‌ی مرکزی پاسخ مطلوب‌تری نشان داد و تعداد پیازچه‌ی بیشتری ابتدا در محیط‌کشت NL و سپس MS با یک اختلاف معنی‌دار نسبت به دو نوع دیگر ایجاد نمود.

قطر پیازچه باززایی‌شده: قطر پیازچه‌های تشکیل‌شده‌ی درون‌شیشه‌ای در دو نوع ریزنمونه‌ی دوفلسی و تک‌فلسی با طبق در مقایسه با سه نوع دیگر صرف‌نظر از نوع محیط کشت بیشتر بود اگر چه حداکثر میزان قطر پیازچه در محیط کشت MS بدست آمد. حداقل قطر پیازچه در ریزنمونه‌ی جوانه‌ی مرکزی در محیط‌کشت NL حاوی غلظت ۱ میلی‌گرم در لیتر 2,4-D بدست آمد. درحالی‌که در همین غلظت ولی در محیط کشت MS قطر پیازچه به طور معنی‌داری بیشتر بود. در ریزنمونه‌های تک‌فلسی بدون‌طبق که تنها در محیط‌کشت NL پیازچه باززایی نمودند قطر پیازچه‌ی تشکیل شده در آن‌ها مشابه ریزنمونه‌های جوانه‌ی مرکزی بود. در ریزنمونه‌ی طبق پیازچه‌ی ایجاد شده حداقل قطر را داشت (شکل ۳).

آزمایش دوم- تاثیر BAP بر صفات مورد آزمایش در مرحله‌ی استقرار ریزنمونه‌ها

درصد پیازچه‌زایی ریزنمونه‌ها: تمام ریزنمونه‌ها با استفاده از BAP باززایی پیازچه را نشان دادند (شکل ٤). حداکثر باززایی پیازچه در غلظت ۱ میلی‌گرم در لیتر BAP و در ریزنمونه‌های دوفلسی و تک‌فلسی ابتدا در محیط کشت NL و سپس محیط‌کشت MS مشاهده شد (شکل ٥). بر خلاف انتظار در اثرات سه جانبه این شاخص حداکثر تعداد پیازچه (۳/۲) در ریزنمونه‌ی طبق کشت شده در محیط‌کشت NL با غلظت ۱ میلی‌گرم در لیتر BAP و پس از آن در ریزنمونه دوفلسی و تک‌فلسی کشت شده در محیط کشت MS حاوی ۱ میلی‌گرم در لیتر BAP بدست آمد. به طور کلی اکثر تیمارها تعداد پیازچه‌ی بیشتری در محیط‌کشت NL در مقایسه با محیط‌کشت MS باززایی نمودند (شکل ٦).

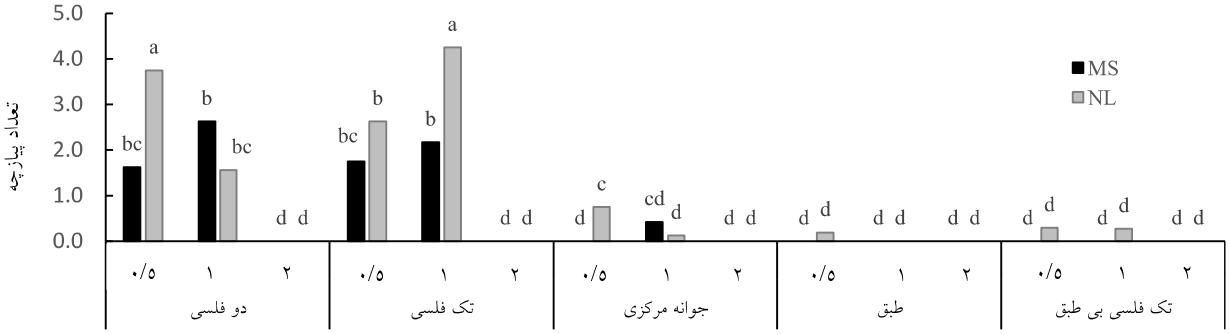
قطر پیازچه‌ی باززایی‌شده: اضافه شدن BAP به محیط‌کشت، قطر پیازچه‌ی القاشده را به طور معنی‌داری افزایش داد. در اثر متقابل ریزنمونه و محیط‌کشت، حداکثر قطر پیازچه در ریزنمونه‌های دوفلسی و تک‌فلسی مشاهده شد. ریزنمونه‌های جوانه‌ی مرکزی و تک‌فلسی بی‌طبق در محیط کشت NL تعداد پیازچه بیشتر و قطورتر باززا کردند (شکل ۷).



شکل ۱- تاثیر غلظت‌های مختلف 2,4-D و نوع ریزنمونه و محیط‌کشت بر درصد پیازچه‌زایی آماریلیس

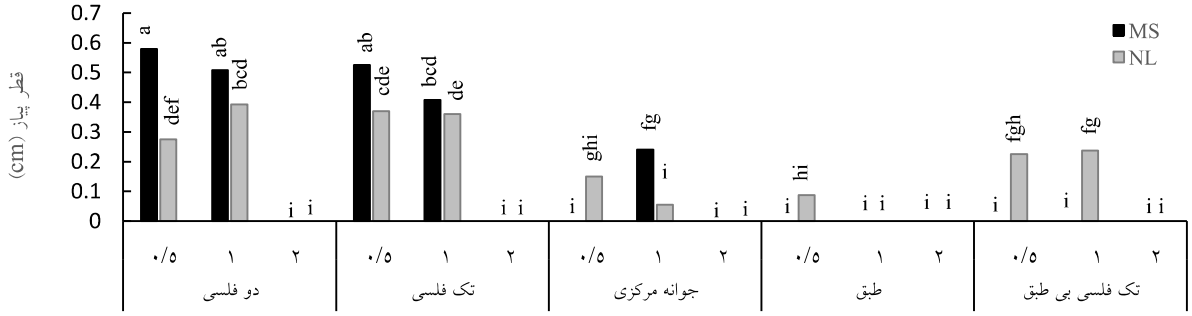
[Downloaded from flowerjournal.ir on 2025-05-24]
Downloaded from flowerjournal.ir at 23:06 +0330 on Tuesday December 15th 2020
[DOR: 20.1001.1.26765993.1395.1.1.3.6]

[Downloaded from flowerjournal.ir on 2025-05-24]
Downloaded from flowerjournal.ir at 23:06 +0330 on Tuesday December 15th 2020
[DOR: 20.1001.1.26765993.1395.1.1.3.6]



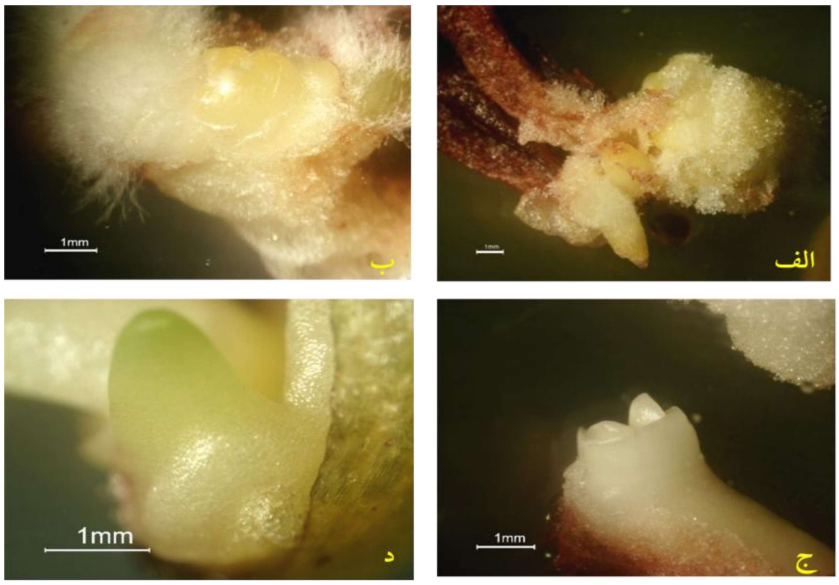
غلظت های مختلف 2,4-D ($mg.L^{-1}$)

شکل ۲- تاثیر غلظت‌های مختلف 2,4-D و نوع ریزنمونه و محیط‌کشت بر تعداد پیازچه‌ی القا شده آماریلیس



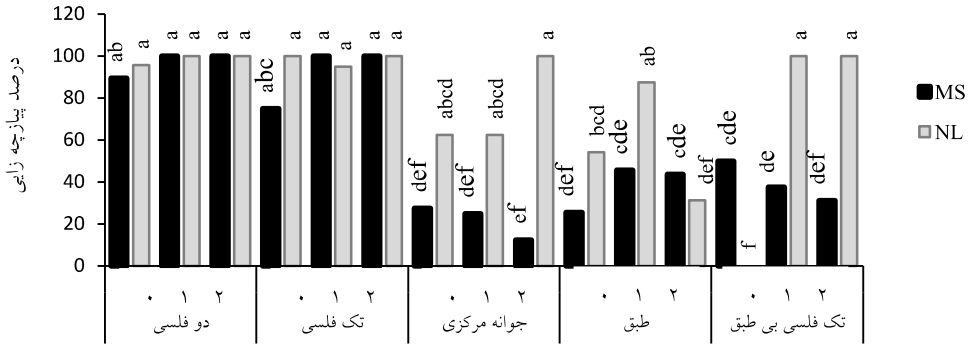
غلظت های مختلف 2,4-D ($mg.L^{-1}$)

شکل ۳- تاثیر غلظت‌های مختلف 2,4-D و نوع ریزنمونه و محیط‌کشت بر قطر پیازچه‌ی القایی آماریلیس



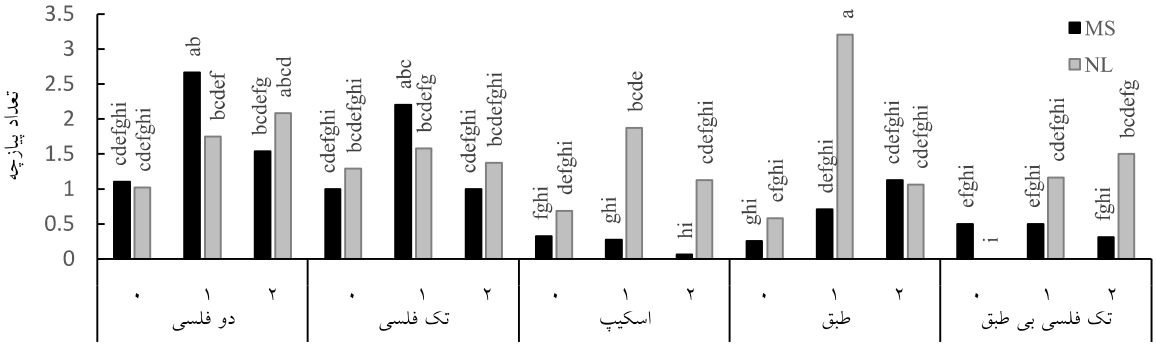
شکل ٤- مراحل پیازچه‌زایی در ریزنمونه‌ی تک‌فلسی آماریلیس در حضور ۱ میلی‌گرم در لیتر BAP در محیط‌کشت NL الف) گرایش نوک ریشه‌ها به سوی محیط کشت ب) نمایان شدن ساختار اولیه‌ی پیازچه ج) پیدایش آغازه‌های برگ د) رشد پیازچه‌ی برگدار

[Downloaded from flowerjournal.ir on 2025-05-24]
Downloaded from flowerjournal.ir at 23:06 +0330 on Tuesday December 15th 2020
[DOR: 20.1001.1.26765993.1395.1.1.3.6]



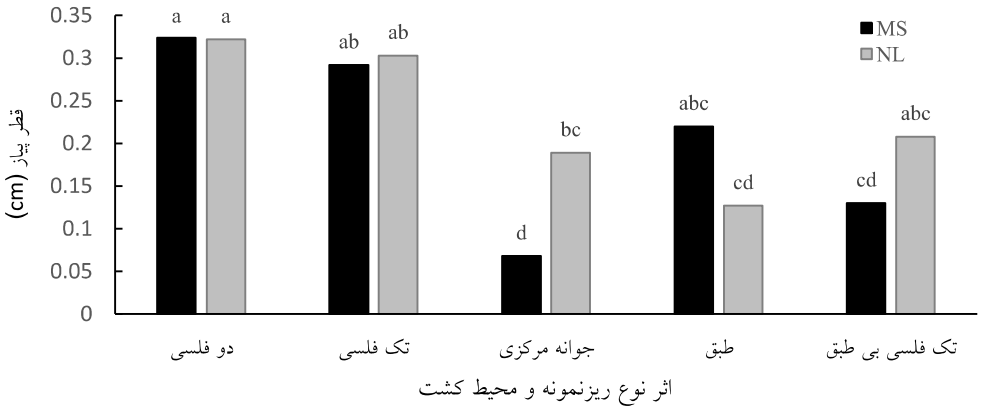
غلظت های مختلف BAP ($mg.L^{-1}$) و نوع ریزنمونه

شکل ۵- تاثیر غلظت‌های مختلف BAP و نوع ریزنمونه و محیط‌کشت بر درصد پیازچه‌زایی آماریلیس



غلظت های مختلف BAP ($mg.L^{-1}$) و نوع ریزنمونه

شکل ٦- تاثیر غلظت‌های مختلف BAP و نوع ریزنمونه و محیط‌کشت بر تعداد پیازچه‌ی درون‌شیشه‌ای آماریلیس



شکل ۷- تأثیر ریز نمونه و محیط‌کشت بر میزان قطر پیازچه‌ی درون‌شیشه‌ای یک ماه از بازکشت در محیط فاقد تنظیم‌کننده‌های رشد آماریلیس

[Downloaded from flowerjournal.ir on 2025-05-24]
Downloaded from flowerjournal.ir at 23:06 +0330 on Tuesday December 15th 2020
[DOR: 20.1001.1.26765993.1395.1.1.3.6]

بحث

درصد باززایی پیازچه: بنا بر نتایج ثبت شده در تحقیق جاری، ریزنمونه‌های مختلف پاسخ متفاوتی به سطوح مختلف تنظیم‌کننده‌های رشد کاربردی نشان دادند، به طوریکه ریزنمونه‌های تک‌فلسی (با طبق) و دوفلسی در تمام تیمارها حداکثر درصد باززایی پیازچه (۱۰۰٪) را نشان دادند. با توجه به اینکه یکی از روش‌های مطلوب ازدیاد آماریلیس در شرایط برون‌شیشه‌ای سیستم تکثیر دوفلسی است (De Bruyn *et al.* 1992)، این نتیجه دور از انتظار نبود. در همین راستا اوران و فتاش (۲۰۰۵) در پژوهش کشت‌بافتی خود در *Sternbergia clusiana* ، گیاهی از خانواده‌ی آماریلیس شاهد باززایی ۷۳٪ از ریزنمونه‌های تک‌فلسی در حضور IBA ۲۰ µM و ۷۳٪ از ریزنمونه‌های دوفلسی در حضور ترکیبی از IBA (۱۰ µM) بعلاوه BAP (۱ µM) بودند. ریزنمونه‌های طبق، جوانه‌ی مرکزی و یا تک‌فلسی‌بی‌طبق مورد آزمایش در تحقیق حاضر در آزمایش دوم باززایی پیازچه بهینه‌ای (۱۰۰-۹۲٪) در محیط‌کشت NL حاوی BAP (۲$mg.L^{-1}$) بروز دادند، در حالی که این یافته‌ها با نتایج بدست آمده توسط Oyamada (۱۹۷٤)، Bapat و Narayanaswamy (۱۹۷٦) و نیز Yanagawa (۱۹۸۰) مبنی بر عدم باززایی ریزنمونه‌های جوانه‌ی مرکزی و بافت طبق، تفاوت داشت. اثر مثبت ترکیب محیط‌کشت NL در این آزمایش‌ها به احتمال زیاد مرتبط با کازئین موجود در آن است که در نتیجه‌ی اثرات ترکیبی آن با BAP باعث افزایش بیشتر اثرات سایتوکینینی و سرانجام اثر مثبت آن بر القای پیازچه در مقایسه با محیط کشت MS می‌شود. این نتایج درحالی بدست آمد که دیگر محققین بیان نمودند که سایتوکینین‌ها هیچ تأثیری بر میزان باززایی پیازچه از ریزنمونه‌های گیاهی آماریلیس ندارد (Hussey 1975; Mii *et al.* 1974). با بررسی نتایج و یافته‌های آزمایشات استنباط شد که باززایی ریزنمونه‌ها صرف‌نظر از نوع ترکیب محیط‌کشت به طور کلی تحت کنترل بافت صفحه پایه‌ای (طبق) متصل به فلس است؛ چنانچه ریزنمونه‌های تک‌فلسی بی‌طبق تنها هنگامی باززایی نشان دادند که از نزدیک‌ترین ناحیه به طبق برداشت شدند با افزایش فاصله از طبق درصد باززایی پیازچه کاهش و نهایتا به صفر رسید. بنا بر نتایج، منطبق با یافته‌های Yanagawa و Sakanishi (۱۹۷۷)، Huang و همکاران (۱۹۹۰)، Seabrook و Cumming (۱۹۷۷) قطعاتی که دارای هر دو بافت فلس و طبق هستند بیشترین درصد باززایی پیازچه را ایجاد نمودند، باززایی اندک سایر ریزنمونه‌های فاقد بافت طبق نیز گواه این استنباط و نتایج پیشین بود.

تعداد پیازچه‌ی باززایی شده: با نظر به اینکه در تحقیق حاضر بیشترین درصد پیازچه‌زایی انواع ریزنمونه‌ها در محیط‌کشت حاوی BAP رخ داد انتظار بر این بود حداکثر تعداد پیازچه نیز در آزمایش دوم و در حضور این تنظیم‌کننده‌ی رشدی بدست آید اما مشاهدات خلاف این را ثابت کرد و حداکثر تعداد پیازچه‌ی القایی به شرح زیر حاصل شد؛ آزمایش اول: ٤/۲۵ (ریزنمونه‌ی تک‌فلسی در محیط‌کشت NL محتوی 2,4-D با غلظت ۱ $mg.L^{-1}$) - ۳/۷۵ (ریزنمونه‌ی دوفلسی در محیط‌کشت NL محتوی 2,4-D با غلظت ۰/۵ $mg.L^{-1}$) آزمایش دوم: ۳/۲۱ (ریزنمونه‌ی طبق در محیط کشت MS حاوی (۱$mg.L^{-1}$ از BAP) – ۲/٦٦ (ریزنمونه‌ی دوفلسی در محیط‌کشت MS حاوی ۱ $mg.L^{-1}$ از BAP) اثر مثبت 2,4-D در القای پیازچه توسط هانگ و همکاران (۲۰۰۵) ولی در ریزنمونه‌های دمگل آماریلیس گزارش شد، آن‌ها با کاربرد ۱ $mg.L^{-1}$ از تنظیم‌کننده‌ی 2,4-D در ترکیب با $mg.L^{-1}$ ۰/۲ از تیدیازورن بیشترین تعداد پیازچه (٦/٤) را بدست آوردند. اثر مثبت 2,4-D احتمالا ناشی از اثر غیرمستقیم آن از طریق تحریک تولید اتیلن و در نتیجه‌ی آن تحریک القای پیازچه و همچنین اثر انکارناپذیر 2,4-D در تشکیل جنین‌های سوماتیکی در ریزنمونه‌های فلسی بود. بیشترین تعداد پیازچه‌ی القا شده در تحقیقات پیشین در آزمایشات سیبروک و کامینگ به تعداد ۱۰ تا ۱۲ عدد در ریزنمونه‌های جوانه‌ی مرکزی و دمگل و در ترکیب تنظیم

کننده رشدی $mg.L^{-1}$ ۱ از 2,4-D بعلاوه $mg.L^{-1}$ ٤ از BAP ثبت شده است و در سایر مطالعات این شاخص از ۲ تا ٦/٥ عدد متغیر بود. در مغایرت با نتایج حاصل، Okubo و همکاران (۱۹۹۹) بیان نمودند که اکسین‌ها تشکیل پیازچه را کاهش خواهند داد.

قطر پیازچه‌ی باززایی‌شده: از آنجائیکه نیاز اساسی گیاه، آب و مواد غذایی است؛ فاکتور اساسی اثرگذار بر رشد پیاز فتوسنتز است بنابراین فاکتورهای موثر بر فتوسنتز بر رشد پیاز موثرتر خواهد بود (Silberbush *et al*. 2003). به عبارتی قطر پیازچه‌ی القایی ارتباط مستقیمی با ذخایر غذایی ریزنمونه و سطوح کلی فتوسنتزی (تعداد برگ) (Ephrath *et al*. 2001) در آن دارد؛ از این رو در شرایط درون‌شیشه‌ای مسلم است که ریزنمونه‌ی دوفلسی با تعداد برگ بیشتر در این صفت ارجحیت خواهد داشت. با بررسی نتایج بدست آمده انتظار به یقین تبدیل شد، به طوریکه حداکثر قطر پیازچه‌ی القایی در هر دو آزمایش ابتدا در ریزنمونه‌ی دوفلسی و سپس تک‌فلسی دارای برگ بیشتر رؤیت شد و ریزنمونه‌های جوانه‌ی مرکزی و طبق پیازچه‌هایی با کم‌ترین قطر تشکیل دادند. نوع تنظیم‌کننده‌های رشد در ترکیب با نوع محیط کشت نیز اثر قابل توجهی بر این شاخص گذاشت به طوریکه در آزمایش اول با حضور 2,4-D قطر پیازچه‌ی القا شده بیشتر بود. نوع محیط‌کشت نیز در قطر پیازچه موثر شد و در اغلب موارد بسته به نوع ریزنمونه، محیط‌کشت MS به دلیل سطوح بیشتر مواد غذایی در آن در مقایسه با محیط کشت NL در این شاخص مطلوب‌تر واقع گردید. منشأ تشکیل پیازچه نیز منطبق با یافته‌های Okubo و همکاران (۱۹۹۹) بر میزان قطر آن تاثیر گذاشت و پیازچه‌های القا شده در سطح دور از محور قطر بیشتری داشتند. با نظر به فیزیولوژی آماریلیس در شرایط طبیعی غلظت دی‌اکسیدکربن نقش تعیین‌کننده‌ای بر رشد پیاز خواهد داشت (Ephrath *et al*. 2001b) از این رو احتمال می‌رفت اثر مثبت 2,4-D در تحقیق حاضر به دلیل اثر غیرمستقیم آن در تحریک اتیلن و متعاقب آن تولید دی‌اکسیدکربن باشد. البته غلظت اکسین و نیز دی‌اکسیدکربن تا حد خاصی مطلوب است و بیشتر از آن حد سمی بوده و اثرات مضر بر جا خواهد گذاشت. ریزنمونه‌های تک‌فلسی به دلیل دارا بودن تعداد پیازچه‌ی بیشتر و در نتیجه رقابت موجود در آنها و نیز ذخیره‌ی غذایی کمتر در مقایسه با دوفلسی‌ها پیازچه‌هایی با قطر کمتر نسبت به دوفلسی‌ها ایجاد نمودند در حالی که بر خلاف نتایج مورد اشاره Huang و همکاران (۲۰۰۵) اظهار نمودند تیماری که بیشترین تعداد پیازچه را ایجاد خواهد نمود بیشترین تعداد و طول برگ و در نتیجه قطر پیازچه را نیز سبب خواهد شد.

دستور العمل ترویجی

۱- جهت افزایش راندمان پیازچه‌زایی (حداکثر تعداد پیازچه) وهمچنین دست‌یابی به پیازچه‌های قطورتر درون-شیشه‌ای در ریزنمونه‌های فلسی واجد طبق آماریلیس کاربرد محیط‌کشت NL محتوی تنظیم‌کننده رشد 2,4-D با غلظت ۰/۵ تا ۱ میلی‌گرم در لیتر پیشنهاد می‌گردد.

۲- جهت افزایش راندمان پیازچه‌زایی در ریزنمونه‌های فلسی بدون طبق و نیز جوانه مرکزی گل استفاده از محیط‌کشت NL محتوی تنظیم‌کننده رشد BAP با غلظت۱ میلی‌گرم در لیتر پیشنهاد می‌گردد.

۳- از آنجائیکه عمده‌ترین هدف ریزازدیادی آماریلیس، دست‌یابی به حداکثر تعداد پیازچه درون‌شیشه‌ای می‌باشد لذا بنا بر تحقیق حاضر ریزنمونه‌ی تک‌فلسی با طبق نسبت به سایر ریزنمونه‌ها، محیط‌کشت NL نسبت به محیط‌کشت MS و هم‌چنین تنظیم‌کننده‌ی رشد 2,4-D نسبت به BAP ارجحیت دارد.

[Downloaded from flowerjournal.ir on 2025-05-24]
Downloaded from flowerjournal.ir at 23:06 +0330 on Tuesday December 15th 2020
[DOR: 20.1001.1.26765993.1395.1.1.3.6]

منابع

مشایخی ک (۱۳۸٦). جنین‌زایی رویشی گیاهی. انشارات مختومقلی فراغی، گلستان ٤٨٣ صفحه.

Bapat VA, Narayanaswamy S (1976). Growth and organogenesis in explanted tissues of Amaryllis in culture. Bull Torrey Bot Club. 103(2):53-56.

De Bruyn MH, Ferreira DI, Slabbert MM, Pretorius J (1992). *In vitro* propagation of *Amaryllis belladonna*. Plant Cell Tiss Org. 31:179-184.

Ephrath J, Ben-Asher J, Baruchin F, Alekperov C, Dayan E, Silberbush M (2001a). Various cutting methods for the propagation of *Hippeastrum* bulbs. Biotronics. 30:75-83.

Ephrath JE, Ben Asher J, Alekpero C, Silberbush M, Dayan E (2001b). The growth and development of *Hippeastrum* in response to temperature and co2. Biotronics. 30: 63-73.

Huang CL, Chang KC, Okubo H (2005). *In vitro* morphogenesis from ovaries of *Hippeastrum* x *hybridum*. Division of Agricultural Botany Kyushu University Fukuoka Japan. 812-8581.

Huang CL, Chang KC and Okubo H (2005). *In vitro* morphogenesis from pedicels of *Hippeastrum hybridum*. J Fac Agr Kyushu Uni. 50(1):27-33.

Huang C W, Okubo H, Uemoto S (1990). Comparsion of bulblet formation from twin scales and single scales in *Hippeastrum hybridum* cultured *in vitro*. Sci Hort. 42 (1-2):151-160.

Hussey G (1975). Totipotency in tissue explants and callus of some members of the Liliaceae, Iridaceae and Amaryllidaceae. J Exp Bot. 26:253-262.

Mehrotra S, Goel MK, Kukreja AK, Mishra BN (2007). Efficiency of liquid culture systems over conventional Micropropagation Aprogress towards commercialization. Afr J Biotech. 6(13):1484-1492.

Mii M, Mori T, Iwase N (1974). Organ Formation from the excised bulb scales of *Hippeastrum Hybridum in vitro*. J Hortic Sci Biotech. 49(3):241-244.

Okubo H, Huang CW, Kishimmoto 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):513-518.

Oran S A, Fattash IA (2005). *In vitro* propagation of an endangered medicinal bulbous plant *Sternbergia clusiana* Ker-Gawler (Amaryllidaceae). J Hortic Sci Biotech. 80(4): 399-402.

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.

Janet E, Seabrook J, Cumming B (1977). The *in vitro* propagation of Amaryllis (*Hippeastrum* Spp. Hybrids). Department of Biology University of New Brunswick Canada E3B5A3. In Vitro. 13(12): 831-836.

Silberbush M, Ephrath J E, Alekperov CH, Ben-Asher J (2003). Nitrogen and potassium fertilization interactions with carbon dioxide enrichment in *Hippeastrum* bulb growth. Sci. Hort. 98:85–90.

Witomska M, Lukaszewska A, Wojtowicz M (2008). Micropropagation of *Hippeastrum* × *Chmielii* Chm. From

[Downloaded from flowerjournal.ir on 2025-05-24]
Downloaded from flowerjournal.ir at 23:06 +0330 on Tuesday December 15th 2020
[DOR: 20.1001.1.26765993.1395.1.1.3.6]

Scale and Scape explants. Propagation of Ornamental Plants. 8(3):158-160.

Yanagawa T, Sakanishi O (1980). Regenerative studies on the excised bulb tissueof various tunicated-bulbous ornamentals. J Japan Soc Hort Sci 49:119-126.

Yanagawa T, Osaki T (1996). *In vitro* propagation of bulblets and elimination of viruses by bulb-scale cultures of *Hippeastrum hybridum* bulbs. Plant Tiss Cul Lett. 13(2):147-152.

Yanagawa T, Sakanishi O (1977). Regeneration of bulblets on *Hippeastrum* bulb Segments excised from various parts of a parent bulb. J Japan Soc Hort Sci. 46(2):250-269.

Ziv M, Lilien-Kipnis H (2000). Bud regeneration from inflorescence explants for rapid propagation of geophytes *in vitro*. Plant Cell Pep. 19:845-850.

The High Propagation Efficiency of Amaryllis (*Hippeastrum Hybridum*) Using of *In Vitro* Culture System

Amani Shahla[1]*, Zarei Hossein[1], Alizadeh Ajirloo Saadallah[2], Mashayekhi Kambiz[1]

1. Department of horticulture Sciences, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources
2. Department of horticulture Sciences, Tabriz University

* amanishahla@yahoo.com

Abstract

Since conventional propagation methods of *Amaryllis* are relatively slow and they are not cost effective, therefore the micropropagation of this desirable plant was studied in the current research. Two separate experiments were carried out. In the first experiment, the effect of two media (MS and NL) and different concentrations of 2, 4-D (0.0, 0.5, 1.0 and 2.0 mg.L^{-1}) were compared. In the second experiment, the effect of media (MS and NL) and different concentrations of BAP (0, 1, 2 mg.L^{-1}) were investigated. Five different explant types (twin scale, single scale with basal plate, single scale without basal plate, scape and basal plate) were used and the rate of bulblet regeneration, the number of regenerated bulblet and diameter of regenerated bulblet were recorrded. Results showed that by increasing the concentration of 2, 4-D, bulblet production was reduced and in some cases it led to the death of explants. However in the second experiment all of explants produced bulblet in the presence of BAP and as the concentrqation of BAP was increased the size of bulblets were also increased. In conclusion, the highest rate of bulblet production were observed in the NL media containing BAP whereas, the highest number of bulblets (4.25) were observed in the NL medium containing 1.0 mg.L^{-1} of 2,4-D. The largest diameter of bulblets were produced in the first experiment from twin scale and single scale explants in MS medium containing 0.5 mg.L^{-1} of 2, 4-D. In conclusion, the bulb explants could be used to achieve an optimal micropropagation protocol of *Hippeastrum*.

Keywords: Amaryllis, Bulblet, Medium, Micropropagation, Regeneration

[Downloaded from flowerjournal.ir on 2025-05-24]
Downloaded from flowerjournal.ir at 23:06 +0330 on Tuesday December 15th 2020
[DOR: 20.1001.1.26765993.1395.1.1.3.6]