نشریه علوم باغبانی (علوم و صنایع کشاورزی)
جلد ۳۲، شماره ۱، بهار ۱۳۹۷، ص.۳۳-۲۳
شاپا: ۴۷۳۰ - ۲۰۰۸

Journal of Horticultural Science
Vol. 32, No. 1, Spring 2018, P. 23-33
ISSN: 2008 - 4730

تأثیر تنظیم کننده‌های رشد گیاهی و تیمار فراصوت بر پیازچه‌زایی سوسن چلچراغ (*Lilium ledebourii*)

مهدی محب الدینی[1*] - زهرا عظیم زاده[2] - اسماعیل چمنی[3] - ملیحه عرفانی[4]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۱۲/۱۰
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۰۸/۰۳

چکیده

سوسن چلچراغ (*L. ledebourii*) کمیاب‌ترین گونه‌ی جنس سوسن است که بیشتر در ناحیه‌ی قفقاز می‌روید. ایران نیز یکی از مهمترین مناطق پراکنش این گونه در حال انقراض است. لزوم توجه به حفظ این گیاه و استفاده از آن در کارهای اصلاحی و انتقال ژن، نیاز به باززایی فراوان آن در شرایط درون شیشه‌ای دارد. بدین منظور در این تحقیق سعی شد تا با استفاده از تنظیم کننده‌های رشد گیاهی و یک تنش غیرزیستی (فراصوت) توانایی پیازچه‌زایی و ریشه‌زایی این گیاه مورد بررسی قرار گیرد. این پژوهش به صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در چهار تکرار صورت گرفت. نتایج حاصل از پژوهش نشان داد که تنظیم‌کننده‌ی رشد NAA نقش مهمی در افزایش وزن کل پیازچه‌های تولید شده دارد، به‌طوری‌که بیشترین مقادیر این صفت از غلظت ۰/۱ و ۱ میلی گرم در لیتر NAA حاصل شد. همچنین بیشترین تعداد ریشه در هر پیازچه از ترکیب تیماری ۰/۰۱ میلی گرم در لیتر BA بدست آمد. در ترکیب غلظت‌های مختلف هورمون NAA و هورمون BA، بیشترین وزن کل پیازچه‌ها در ریزنمونه‌ی پیازچه در محیط کشت MS حاوی ۰/۱ میلی گرم در لیتر NAA بدون BA بدست آمد. همچنین در غلظت بالای BA نسبت به NAA، همه‌ی سطوح فراصوت باعث افزایش تعداد فلس‌ها و وزن پیازچه‌ها گردید و بیشترین تعداد پیازچه‌ها از ۱۰، ۲۰ و ۳۰ ثانیه فراصوت‌دهی حاصل شد. اثر مثبت تیمار فراصوت بر پیازچه‌زایی و صفات مربوط به آن نشان می‌دهد که این تیمار می‌تواند تاثیر زیادی برای باززایی این گیاه در شرایط درون شیشه‌ای داشته باشد. بنابراین از آنجا که فراصوت به طور غیرمستقیم بر میزان هورمون‌های درون‌زا در ریزنمونه تاثیر می‌گذارد، توصیه می‌گردد که در کنار تیمار هورمونی می‌توان از تیمار فراصوت در تکثیر این گیاه با ارزش استفاده کرد و با استفاده از آن میزان باززایی از این گیاه را افزایش داد.

واژه‌های کلیدی: بنزیل‌آدنین، درون‌شیشه‌ای، ریشه‌زایی، نفتالین‌استیک اسید

مقدمه

گیاهان پیازی دارای ارزش تجاری زیادی هستند. گل سوسن یکی از گل‌های منحصر به فرد پیازی است که به خاطر گل‌های زیبا و رنگارنگ آن از ارزش اقتصادی بالایی برخوردار است. جنس سوسن یکی از ۲۲۰ جنس متعلق به تیره‌یLiliaceae است (۲). گونه‌های این جنس عمدتاً به دلیل گل‌های بزرگ و جذاب خود در بین گیاهان شاخه بریده محبوبیت خاصی دارند (۹). سوسن چلچراغ با نام علمی *Lilium ledebourii* (Baker) Bioss. کمیاب‌ترین گونه‌ی سوسن است که بیشتر در ناحیه‌ی قفقاز می‌روید (۱۶). ایران یکی از مهمترین مناطق پراکنش سوسن چلچراغ در جهان است. گیاه سوسن را به طرق مختلف از جمله، پیازچه‌ی هوایی، تقسیم پیاز ، فلس‌برداری ، کشت بذر و کشت بافت می‌توان ازدیاد نمود. ریزازدیادی در گیاهان پیازی به عنوان مؤثرترین روش برای تکثیر رویشی مورد استفاده قرار گرفته شده است (۲). امروزه عمده ترین روش تکثیر این گیاهان از طریق کشت بافت آنها است.کشت بافت این گیاه اولین بار در سال ۱۹۵۰انجام شد و امروزه به طور وسیع از این روش در سراسر دنیا استفاده می گردد (۲۳). در طی این سال‌ها مطالعات متعددی روی باززایی درون‌شیشه‌ای پیازچه‌های سوسن با استفاده از ریزنمونه‌های مختلف انجام گرفته است و هم‌چنان ادامه دارد. مهمترین عوامل مؤثر بر افزایش کارایی ریزازدیادی درون‌شیشه‌ای گیاهان، ریزنمونه، ژنوتیپ گیاهی، میزان تنظیم‌کننده‌های رشد، محیط کشت و عوامل فیزیکی می‌باشند (۱۵). محققان سعی دارند با تغییر غلظت‌های مختلف هورمونی روش مناسبی برای باززایی بیشتر این گیاه در کشت بافت دست پیدا کنند. در آزمایشی، تأثیر تنظیم‌کننده های رشد NAA و BA بر باززایی پیازچه از ریز نمونه‌های فلسی نوعی سوسن هیبرید

۱، ۲، ۳ و ۴- به ترتیب دانشیار، دانش آموخته کارشناسی ارشد، استاد و دانشجوی دکتری، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه محقق اردبیلی
(*- نویسنده مسئول: (Email:mohebodini@uma.ac.ir
DOI: 10.22067/jhorts4.v32i1.53354

نیز بررسی و بیش‌ترین پیازچه‌ها در هر ریزنمونه در محیط کشت LS و در ترکیب ۵ میکرومولار BA و یک میکرومولار NAA گزارش گردید (۱۴). در همین راستا تأثیر مثبت اکسین ها بر افزایش پیازچه‌زایی گل سنبل و گل لاله نیز گزارش شده است (۱۹ و ۲۰).

گیاهان به دلیل عدم تحرک، به ناچار تحت تأثیر تنش‌های محیطی قرار می‌گیرند. در حال حاضر مشخص شده است که گیاهان می‌توانند به عوامل محیطی مانند باد، باران، لمس، میدان الکتریکی و اشعه‌ی ماوراءبنفش پاسخ دهند و شرایط فیزیولوژیکی خود را برای سازگار شدن با محیط، تغییر دهند (۲۵). نتایج برخی مطالعات نشان می‌دهد که سطوح هورمون درون‌زا می‌تواند با تنش‌های محیطی زیستی و غیرزیستی تنظیم شود (۲۲). از جمله این تنش‌های محیطی می‌توان به امواج فراصوت اشاره نمود. امواج فراصوت، امواج صوتی با فرکانسی بالاتر از آستانه‌ی شنوایی انسان هستند. محدوده‌ی فرکانس قابل تشخیص برای انسان ۲۰ تا ۲۰۰۰۰ هرتز می‌باشد. به فرکانس صوتی پایین‌تر از ۲۰ هرتز فروصوت و به فرکانس‌های صوتی بالاتر از ۲۰ کیلوهرتز فراصوت اطلاق می‌گردد (۱). تحریک فراصوت می‌تواند رشد و تکثیر بافت‌ها یا سلول‌ها را تحریک کند یا باز دارد و زمان تحریک نیز نقش مهمی را در این زمینه بازی می‌کند (۱۲). تیمار فراصوت باعث تحریک باززایی مستقیم شاخه در ریزنمونه های کوتیلدونی ژنوتیپ های کدو در شرایط درون شیشه ایی شد (۶). هم‌چنین اگر هدف تولید متابولیت های ثانویه در شرایط درون شیشه ایی باشد، فراصوت منجر به رها شدن ترکیبات درون سلول شده و در کشت‌های سلول گیاهی برای برداشت مداوم متابولیت‌های ثانویه‌ی مفید است و استفاده‌ی مجدد سلول‌ها برای ادامه‌ی تولید استفاده شده بود (۱۲). موج صوتی می‌تواند روی چرخه‌ی سلولی و مرگ سلولی انواع مختلفی از سلول‌ها بطور متنوع عمل کند و به رشد سلول‌های تنباکو سرعت بخشد، همچنین نتایج تحقیقات نشان می‌دهد که موج صوتی می تواند تا حد زیادی چرخه‌ی سلولی گل داوودی را تغییر دهد (۲۵). بیشترین تحریک مؤثر ریزغده‌ی سیب‌زمینی و بالاترین درصد باززایی از ترکیب ۱۴ دقیقه تیمار فراصوت بدست آمد (۷). محققان معتقدند که، تحریک فراصوت ممکن است روی فعالیت Ca^{2}-ATPase و H بعلاوه ATPase- در غشای پلاسمایی و کانال‌های یونی دیگر که برای رشد و تکثیر سلول خیلی مهم است، تأثیر بگذارد. افزایش انعطاف پذیری دیواره ی سلولی و سیالیت غشای سلولی ممکن است یکی از مکانیسم‌های تحریک رشد سلولی توسط تحریک فراصوت باشد (۱۲). با توجه به اینکه سوسن چلچراغ، از گیاهان بومی ایران بوده و یکی از گونه‌های در حال انقراض گیاهی است، توجه به روش‌هایی برای تکثیر و باززایی بیشتر و آسان‌تر این گیاه با ارزش، لازم و ضروری به نظر می‌رسد. از این رو در این پژوهش تلاش گردید که با استفاده از ترکیب تنظیم‌کننده‌های رشد و یک تنش غیرزیستی میزان پیازچه‌زایی و ریشه‌زایی این گونه نادر مورد بررسی قرار گیرد.

مواد و روش ها

برای انجام آزمایش، پیازهای گل سوسن چلچراغ در تابستان از رویشگاه طبیعی آن در منطقه‌ی خانقاه اردبیل برداشت شده و به آزمایشگاه منتقل گردید. تکثیر پیازها چندین ماه در شرایط درون شیشه ای و بر روی محیط MS انجام شد تا ریزنمونه‌ی پیازچه مورد نظر جهت انجام آزمایش‌ها حاصل گردد. پژوهش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی در چهار تکرار با چهار آزمایش جداگانه انجام گرفت، به این ترتیب که آزمایش اول شامل تیمار NAA در چهار سطح (۰، ۰/۰۱، ۰/۱، ۱ میلی‌گرم در لیتر) و تیمار فراصوت نیز در پنج سطح (۰، ۵، ۱۰، ۲۰ و ۳۰ ثانیه) بود، که تجزیه و تحلیل، اثرات اصلی و بعد اثرات متقابل این دو تیمار به ترتیب انجام گرفت. آزمایش دوم نیز شامل هورمون BA در چهار سطح (۰، ۰/۰۱، ۰/۱، ۱ میلی‌گرم در لیتر) و تیمار فراصوت با فرکانس ۳۵ کیلو هرتز نیز در پنج سطح (۰، ۵، ۱۰، ۲۰ و ۳۰ ثانیه) انجام گرفت. آزمایش سوم از ترکیب تیماری هورمون‌های NAA و BA گردید. آزمایش چهارم از بین غلظت‌های مختلف هورمونی NAA و BA آزمایشات قبل که نتیجه بهتری در پیازچه‌زایی و ریشه‌زایی داشتند، همراه با چهار سطح فراصوت، بر روی ریزنمونه‌ی پیازچه انجام گرفت. برای فراصوت‌دهی به ریزنمونه‌ها، لوله‌ها داخل دستگاه حمام فراصوت (مدل BANDELIN) با فرکانس ۳۵ کیلوهرتز و در زمان‌های تعیین شده قرار گرفت. کشت‌های انجام شده در اتاقک رشد با دمای ۲±۲۳ درجه‌ی سانتی‌گراد و تحت ۱۶ ساعت روشنایی (شدت نور ۲۰۰۰ لوکس) و ۸ ساعت تاریکی قرار داده شد. صفات وزن پیازچه‌ها، میانگین وزن هر پیازچه، تعداد پیازچه، تعداد فلس، تعداد فلس در هر پیاز، تعداد ریشه، تعداد پیازچه ریشه دار و طول ریشه مورد بررسی قرار گرفت. تجزیه واریانس داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS 16 صورت گرفت و مقایسه میانگین داده‌ها با استفاده از روش مقایسه میانگین چند دامنه‌ای دانکن انجام شد.

نتایج و بحث

در آزمایش اول بر اساس جدول تجزیه واریانس داده‌ها، اثر اصلی هورمون NAA بر صفات مورد بررسی در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود و اثر متقابل NAA و فراصوت برای صفت میانگین وزن هر پیازچه در سطح احتمال ۵ درصد معنی دار بود (داده‌ها آورده نشدند). بیشترین تعداد پیازچه، تعداد فلس‌های تولید شده، تعداد ریشه‌ها، تعداد پیازچه‌های ریشه‌دار شده و میانگین طول ریشه‌ها در غلظت ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر NAA مشاهده شد، که با سایر

غلظت‌های NAA اختلاف معنی‌داری داشتند. نتایج حاصل از پژوهش حاضر نشان داد که تنظیم‌کننده‌ی رشد NAA نقش مهمی در افزایش وزن کل پیازچه‌های تولید شده دارد، به‌طوری‌که بیشترین مقادیر این صفت از غلظت ۰/۱ و ۱ میلی گرم در لیتر NAA حاصل شد. (جدول ۱). به نظر می‌رسد پدیده‌ی اندام‌زایی که شامل دو مرحله‌ی تمایزیابی و طویل شدن است تحت تأثیر هورمون‌ها قرار می‌گیرد، ولی فعالیت تمایزیابی حتماً منجر به طویل شدن و رشد سلولی نمی‌شود، بطوریکه غلظت‌های مختلف هورمون‌ها تعداد پیازچه‌ی متفاوتی تولید می‌کنند، ولی از نظر وزنی با یکدیگر فرق چندانی نداشته‌اند (۱۷).

در آزمایش اول بر اساس جدول تجزیه واریانس داده‌ها، اثر اصلی هورمون NAA بر صفات مورد بررسی در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود و اثر متقابل NAA و فراصوت برای صفت میانگین وزن هر پیازچه در سطح احتمال ۵ درصد معنی دار بود (داده‌ها آورده نشدند). بیشترین تعداد پیازچه، تعداد فلس‌های تولید شده، تعداد ریشه ها، تعداد پیازچه‌های ریشه‌دار شده و میانگین طول ریشه‌ها در غلظت ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر NAA مشاهده شد، که با سایر غلظت‌های NAA اختلاف معنی‌داری داشتند (جدول ۱).

جدول ۱- تأثیر تیمار NAA بر برخی خصوصیات ریز نمونه پیازچه سوسن چلچراغ

Table 1- The effect of NAA on some triats of *Lilium ledebourii* bullblet explant

غلظ هورمون NAA ($mg\ l^{-1}$)	وزن پیازچه‌ها Bulblet fresh weight	تعداد پیازچه Number of bulblet	تعداد فلس Number of scales	تعداد فلس هر پیازچه Scales per bulblet	تعداد ریشه Root number	تعداد پیازچه ریشه‌دار Number of rooted bulblet	طول ریشه Root length (mm)
0	0.231^{b}	4.95^{b}	14.7^{b}	3.2^{b}	2.7^{b}	1.3^{b}	6.7^{b}
0.01	0.276^{b}	4.95^{b}	15.15^{b}	3.5^{b}	3.05^{b}	1.7^{b}	5.2^{b}
0.1	0.483^{a}	8.6^{a}	23.85^{a}	2.9^{b}	11.25^{a}	5.1^{a}	10.15^{a}
1	0.386^{a}	3.95^{b}	12.3^{b}	4.5^{a}	5.5^{b}	2.55^{b}	3.7^{b}

اعداد با حروف مشترک در هر ستون دارای اختلاف معنی‌دار ($P<0.05$) نمی‌باشند

Numbers followed by the same letter are not significantly different($P<0.05$)

نتایج حاصل از مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که امواج فراصوت بر افزایش تعداد فلس اثر مثبت داشته و بیشترین تعداد فلس‌ها از ۱۰ ثانیه فراصوت‌دهی حاصل شد که با تیمارهای ۵ و ۲۰ ثانیه اختلاف معنی‌داری نداشت همچنین امواج فراصوت بر صفت تعداد ریشه در هر پیازچه تاثیر منفی داشته است، بطوریکه بیشترین تعداد ریشه از ریزنمونه‌های فراصوت داده نشده حاصل گردید. بیشترین پیازچه‌های ریشه‌دار شده از ۵ ثانیه فراصوت‌دهی حاصل شد که با تیمارهای صفر، ۱۰ و ۲۰ ثانیه اختلاف معنی‌داری نداشت (جدول ۲). نتایج مقایسه میانگین اثر متقابل NAA و فراصوت نشان داد که بیشترین میانگین وزن هر پیازچه تولید شده در ترکیب تیماری ۱ میلی‌گرم بر لیتر NAA و ۳۰ ثانیه فراصوت دهی حاصل شد. (جدول ۳).

جدول ۲- تأثیر تیمار فراصوت بر برخی خصوصیات ریز نمونه پیازچه سوسن چلچراغ

Table 2- The effect of ultrasound on some triats of *Lilium ledebourii* bullblet explant

مدت فراصوت Ultrasound exposure duration (s)	تعداد فلس‌ها Number of scales	تعداد پیازچه ریشه‌دار Number of rooted bulblet	تعداد ریشه هر پیازچه Root of per bulblet
0	12.81^{b}	3^{ab}	3^{a}
5	18.38^{ab}	3.5^{a}	1.2^{b}
10	21.75^{a}	2.88^{ab}	1.8^{b}
20	15^{ab}	2.44^{ab}	1.7^{b}
30	14.56^{ab}	1.5^{b}	1.5^{b}

اعداد با حروف مشترک در هر ستون دارای اختلاف معنی‌دار ($P<0.05$) نمی‌باشند

Numbers followed by the same letter are not significantly different($P<0.05$)

جدول ۳- اثرات متقابل تیمار NAA × امواج فراصوت بر میانگین وزن هر پیازچه گیاه سوسن چلچراغ

Table 3- Interaction effect of NAA× ultrasound on Bulblet mean Weight of *Lilium ledebourii*

غلظت (mg l^{-1}) NAA	مدت فراصوت Ultrasound exposure duration (s)	میانگین وزن هر پیازچه Bulblet mean Weight (g)
0	0	0.066^{bc}
	5	0.053^{c}
	10	0.056^{c}
	20	0.071^{bc}
	30	0.06^{c}
0.01	0	0.057^{c}
	5	0.05^{c}
	10	0.056^{c}
	20	0.102^{bc}
	30	0.079^{bc}
0.1	0	0.079^{bc}
	5	0.053^{c}
	10	0.05^{c}
	20	0.72^{bc}
	30	0.056^{c}
1	0	0.08^{bc}
	5	0.13^{bc}
	10	0.152^{bc}
	20	0.188^{b}
	30	0.355^{a}

اعداد با حروف مشترک در هر ستون دارای اختلاف معنی‌دار ($P<0.05$) نمی‌باشند

Numbers followed by the same letter are not significantly different ($P<0.05$)

در آزمایش دوم، نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر اصلی BA برای همه صفات به جز وزن پیازچه‌ها در سطح احتمال ۱ درصد معنی دار بود. اثر اصلی فراصوت برای صفات وزن پیازچه‌ها، تعداد پیازچه، تعداد فلس، تعداد ریشه‌ها و میانگین طول ریشه‌ها در سطح احتمال ۱ درصد معنی دار بود و اثر متقابل BA و فراصوت برای تعداد ریشه‌ها و تعداد پیازچه‌های ریشه‌دار معنی‌داربود.

بر اساس مقایسه میانگین داده‌ها، بیشترین وزن هر پیازچه از غلظت ۱ میلی‌گرم در لیتر BA بدست آمد که از این نظر با سایرغلظت‌ها اختلاف معنی‌داری داشت. بیشترین تعداد پیازچه از غلظت ۰/۰۱ میلی‌گرم در لیتر BA و بیشترین فلس‌های تولید شده از هر ریزنمونه به ترتیب از غلظت ۰/۱ و ۰/۰۱ میلی‌گرم در لیتر BA بدست آمد همچنین بیشترین تعداد فلس در هر پیازچه از غلظت ۰/۱ و ۱ میلی‌گرم در لیتر BA ۰بدست آمد که با غلظت‌های پایین این هورمون اختلاف معنی‌داری داشتند. بلندترین طول ریشه در شاهد مشاهده شد و با افزایش غلظت BA طول آن کاهش یافت و به صفر رسید. نتایج حاصل از مقایسه میانگین داده‌ها بین زمان‌های مختلف قرارگیری ریزنمونه‌ها در معرض امواج فراصوت نشان داد که همه‌ی سطوح فراصوت باعث افزایش تعداد فلس‌ها و وزن پیازچه‌ها گردید، بطوریکه ریزنمونه‌های فراصوت داده نشده کمترین مقادیر این صفات را داشتند. همچنین بیشترین تعداد پیازچه‌ها از ۱۰، ۲۰ و ۳۰ ثانیه فراصوت‌دهی حاصل شد که با سطوح پایین این تیمار اختلاف معنی‌داری داشتند. بیشترین طول ریشه از ریزنمونه‌های فراصوت داده نشده بدست آمد که با ۳۰ ثانیه فراصوت‌دهی اختلاف معنی‌داری نداشت. مقایسه میانگین داده‌ها برای اثر متقابل تیمارهای BA و امواج فراصوت نشان داد که بیشترین تعداد ریشه‌های تولید شده از ترکیب تیماری ۰/۰۱ میلی‌گرم در لیتر BA + صفر ثانیه فراصوت و تیمار شاهد مشاهده شد که با سایر تیمارها اختلاف معنی‌داری داشتند. بیشترین تعداد پیازچه‌های ریشه‌دار در ترکیب تیماری صفر میلی‌گرم در لیتر BA + ۱۰ ثانیه و ۰/۰۱ میلی‌گرم در لیتر BA + صفر ثانیه فراصوت‌دهی حاصل شد که از این لحاظ اختلاف معنی‌داری با شاهد نداشتند. بطور کلی سطوح پایین BA و فراصوت، بالاترین مقادیر همه‌ی صفات مربوط به ریشه را داشتند (داده‌ها نشان داده نشدند).

در آزمایش سوم، بر اساس جدول تجزیه واریانس داده‌ها، ترکیب تیماری هورمون NAA و BA برای همه صفات مورد بررسی در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار شد. بنابر نتایج به دست آمده، ترکیب تیماری ۰/۱ میلی گرم در لیتر NAA به‌علاوه صفر میلی گرم در لیتر BA باعث افزایش وزن پیازچه‌های تولید شده گردید که از این لحاظ اختلاف معنی‌داری با شاهد داشت. بیشترین وزن پیازچه‌ها در محیط کشت‌های حاوی ترکیب تیماری ۰/۱ میلی گرم در لیتر NAA به‌علاوه ۰/۱ میلی گرم در لیتر BA حاصل شد. بیشترین تعداد پیازچه و تعداد فلس تولید شده در محیط کشت MS حاوی ترکیب تیماری ۰/۱ میلی گرم در لیتر NAA به‌علاوه صفر میلی گرم در لیتر BA حاصل شد. مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که تعداد ریشه‌های تولید شده در محیط کشت MS حاوی ترکیب تیماری ۰/۱ میلی گرم در

لیتر NAA به‌علاوه ۰/۰۱ میلی گرم در لیتر BA حاصل شد. و بیشترین تعداد پیازچه‌های ریشه‌دار در ترکیب تیماری ۰/۱ میلی گرم در لیتر NAA به‌علاوه صفر میلی گرم در لیتر BA حاصل شد. همچنین بلندترین طول ریشه‌ها در ترکیب تیماری ترکیب تیماری ۰/۰۱ میلی گرم در لیتر NAA به‌علاوه صفر میلی گرم در لیتر BA حاصل شد که با شاهد اختلاف معنی‌داری نداشت (جدول ۴). در آزمایشی که روی *L. longiflorum* انجام شد، پیازچه‌های با وزن بالا در محیط کشت MS حاوی ۲ میلی گرم در لیتر BA همراه با ۰/۵ میلی گرم در لیتر NAA بدست آمد (۱۳). در تحقیق دیگری حداکثر میانگین وزن تر هر پیازچه با ۲ میلی گرم در لیتر NAA و ۱/۵ میلی گرم در لیتر BA پس از ۹۰ روز از کشت مشاهده شد (۱۰). همچنین به منظور باززایی پیازچه‌ها از ریزنمونه‌های گره سوسن‌های هیبرید روی محیط کشت MS حاوی ۲ میلی گرم در لیتر NAA در ترکیب با ۱/۵ میلی گرم در لیتر BA، افزایش معنی‌داری در میانگین وزن تر پیازچه‌ها مشاهده شد (۱۱).

جدول ٤- اثرات متقابل NAA × BA بر پیازچه زایی و ریشه زایی سوسن چلچراغ

Table 4- Interaction effects of NAA× BA on the bulblet production and root induction of *Lilium ledebourii*

NAA (mg l^{-1})	BA (mg l^{-1})	وزن پیازچه Bulblet fresh weigh	میانگین وزن هر پیازچه Bulblet mean Weight (g)	تعداد پیازچه Number of bulblet	تعداد فلس Number of scales	تعداد ریشه Root number	پیازچه ریشه‌دار Rooting bulblet	طول ریشه Root length (mm)
0	0	0.146^{d}	0.107^{b-f}	1.5^{de}	4.5^{d}	5.5^{bcd}	1.5^{bc}	15.25^{ab}
	0.01	0.19^{cd}	0.097^{b-f}	2^{de}	5.75^{cd}	4.25^{cd}	1.75^{bc}	9.5^{c}
	0.1	0.117^{d}	0.103^{b-f}	1^{e}	4.25^{d}	0^{d}	0^{d}	0^{f}
	1	0.141^{d}	0.158^{abc}	1^{e}	3.75^{d}	0^{d}	0^{d}	0^{f}
0.01	0	0.237^{cd}	0.064^{ef}	3.75^{cd}	8^{cd}	10.5^{bc}	2.25^{b}	15.75^{a}
	0.01	0.157^{d}	0.093^{c-f}	2^{de}	6.75^{cd}	9^{bc}	2.5^{b}	10^{c}
	0.1	0.14^{d}	0.093^{c-f}	1.5^{de}	5.5^{d}	0^{d}	0^{d}	0^{f}
	1	0.19^{cd}	0.178^{a}	1.5^{e}	5.75^{cd}	0^{d}	0^{d}	0^{f}
0.1	0	0.548^{a}	0.041^{f}	9^{a}	24.75^{a}	12^{ab}	6^{a}	9.5^{c}
	0.01	0.37^{b}	0.044^{f}	7^{ab}	19^{ab}	20.5^{a}	4.75^{a}	12.25^{bc}
	0.1	0.18^{cd}	0.182^{a}	1.5^{de}	5.5^{d}	0^{d}	0^{d}	0^{f}
	1	0.159^{d}	0.151^{a-d}	1^{e}	4^{d}	0^{d}	0^{d}	0^{f}
1	0	0.187^{cd}	0.151^{a-d}	5.5^{bc}	13^{bc}	4.75^{cd}	3^{b}	4.5^{d}
	0.01	0.306^{bc}	0.085^{def}	5.5^{bc}	15.25^{ab}	7.25^{bc}	2^{bc}	3.5^{de}
	0.1	0.303^{bc}	0.132^{a-e}	2.5^{de}	6.25^{cd}	5^{cd}	0.75^{cd}	2^{e}
	1	0.206^{cd}	0.167^{ab}	2^{de}	6^{cd}	0^{d}	0^{d}	0^{f}

اعداد با حروف مشترک در هر ستون دارای اختلاف معنی‌دار ($P<0.05$) نمی‌باشند

Numbers followed by the same letter are not significantly different($P<0.05$)

حضور تنظیم‌کننده‌های رشد منجر به کاهش وزن تر پیازچه‌ها در مقایسه با شاهد شد (۳) که این نتایج با نتایج پژوهش حاضر مطابقت نداشت. یافته‌های پژوهش حاضر نشان داد که بدون تنظیم‌کننده‌های رشد نیز تولید پیازچه صورت می گیرد. به نظر می‌رسد که نسبت اکسین به سایتوکاینین درون‌زا در فلس‌های سوسن برای تحریک القای پیازچه در هر دو شرایط نوری و تاریکی کافی است (۱۸). در ریشه‌زایی ریزنمونه‌ها، بیشترین تعداد پیازچه‌های ریشه‌دار و تعداد ریشه‌های تولید شده در محیط کشت MS حاوی ۰/۱ میلی گرم در لیتر NAA به‌علاوه ۰/۰۱ میلی گرم در لیتر BA و ۰/۱ NAA به‌علاوه صفر میلی گرم در لیتر BA حاصل شد. همچنین بلندترین طول ریشه‌ها در ترکیب تیماری ۰/۰۱ میلی گرم در لیتر NAA به‌علاوه صفر میلی گرم در لیتر BA مشاهده شد که با شاهد اختلاف معنی‌داری نداشت. با افزایش غلظت BA مقادیر مربوط به همه‌ی صفات ریشه کاهش یافت. همچنین بیشترین تعداد فلس در هر پیاز از غلظت ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر NAA و صفر میلی گرم در لیتر BA تولید شد. محققان نشان دادند که، در غلظت BA صفر، با افزایش غلظت NAA، تعداد پیازچه ها افزایش قابل توجهی پیدا کرد، در حالی که تعداد ریشه افزایش یافت به طوری که در غلظت ۰/۱ میلی گرم در لیتر بیشترین تعداد ریشه تولید شد. در سایر غلظت های BA در ترکیب با NAA نیز بالاترین تعداد ریشه در غلظت ۰/۱ میلی گرم در لیتر NAA مشاهده گردید (۱۷).

در آزمایش چهارم تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر اصلی تیمار NAA، اثر اصلی غلظت‌های مختلف BA، اثر اصلی تیمار فراصوت، اثر غلظت‌های مختلف ترکیب هورمونی NAA و BA، اثر متقابل NAA و فراصوت، اثر متقابل BA و امواج فراصوت و همچنین اثر متقابل سه جانبه NAA، BA و فراصوت بر صفات مورد بررسی معنی‌دار گردید. نتایج نشان داد که در غلظت ۰/۱ میلی گرم در لیتر NAA بیشترین وزن پیازچه‌ها، تعداد پیازچه، تعداد فلس‌ها و

تعداد پیازچه‌های ریشه دار شده را تولید کرد (جدول ۵).

سطوح هورمون درون‌زای گیاهی نقش مهمی را در اندام‌زایی و نمو درون‌شیشه‌ای گیاه بازی می‌کند و نتایج برخی مطالعات نشان داده است که سطوح هورمون درون‌زا می تواند از طریق هر دو تنش محیطی زیستی و غیرزیستی تنظیم شود. در مقایسه با تغییر در سطوح هورمونی، نسبت سایتوکینین به اکسین برای باززایی گیاه از جنین‌های سوماتیکی یا کشت‌های بافت خیلی مهم است. مکانیسمی که فراصوت رشد و تکثیر را افزایش می‌دهد، بطور کامل شناخته نشده است، اما چندین امکان وجود دارد. نقش مثبت امواج فراصوت در این آزمایش را می‌توان به تأثیر آن بر هورمون‌های درون‌زا و افزایش فعالیت آنزیم‌ها نسبت داد (۲۴). نتایج به دست آمده نشان داد که، امواج فراصوت بر میانگین تعداد و طول ریشه تأثیر منفی داشت. بیشترین مقادیر میانگین تعداد و طول ریشه، در ریزنمونه‌های فراصوت داده نشده مشاهده شد. بیشترین میانگین وزن هر پیازچه نیز از تیمار ۳۰ ثانیه فراصوت بدست آمد همچنین تیمار فراصوت باعث افزایش تعداد فلس هر پیازچه‌ها گردید (جدول ۶). نتایج حاصل از آزمایش ترکیب‌های هورمونی مختلف در ریزنمونه‌ی پیاز نشان داد که بیشترین میانگین وزن هر پیازچه و تعداد فلس هر پیازچه در محیط کشت MS حاوی ۱ NAA به‌علاوه ۰/۰۱ میلی گرم در لیتر BA حاصل شد (جدول شماره ۷). همه‌ی سطوح فراصوت همراه با ۰/۱ میلی گرم در لیتر NAA و همچنین ۱ میلی گرم در لیتر NAA به‌علاوه صفر ثانیه فراصوت‌دهی باعث تولید بلندترین ریشه‌ها شد (جدول ۸). همچنین بیشترین تعداد ریشه در هر پیازچه در ترکیب ۱ میلی‌گرم در لیتر NAA به‌علاوه ۰/۰۱ میلی گرم در لیتر BA و ۵ ثانیه فراصوت حاصل شد (جدول ۹).

جدول ۵- تأثیر تیمار NAA بر برخی خصوصیات ریز نمونه پیازچه سوسن چلچراغ

Table 5- The effect of NAA on some triats of *Lilium ledebourii* bullblet explant

غلظت هورمون NAA ($mg\ l^{-1}$)	وزن پیازچه‌ها Bulblet fresh weight	تعداد پیازچه Number of bulblet	تعداد فلس Number of scales	تعداد پیازچه ریشه‌دار Rooting bulblet
0.1	0.495^{a}	8.42^{a}	25.75^{a}	7.4^{a}
1	0.332^{b}	4.84^{b}	16.94^{b}	4.2^{b}

اعداد با حروف مشترک در هر ستون دارای اختلاف معنی‌دار ($P<0.05$) نمی‌باشند

Numbers followed by the same letter are not significantly different($P<0.05$)

جدول ٦- تأثیر تیمار فراصوت بر برخی خصوصیات ریز نمونه پیازچه سوسن چلچراغ

Table 6- The effect of ultrasound on some triats of *Lilium ledebourii* bullblet explant

مدت فراصوت Ultrasound exposure duration (s)	میانگین وزن هر پیازچه Bulblet mean Weight (g)	تعداد فلس هر پیازچه Scales per bulblet	تعداد ریشه Root number	طول ریشه Root length (mm)
0	0.057^{b}	2.92^{b}	43.5^{a}	16.81^{a}
5	0.077^{ab}	3.81^{a}	26.3^{b}	14.56^{ab}
10	0.077^{ab}	3.54^{a}	22.69^{b}	15.06^{ab}
20	0.073^{ab}	3.67^{a}	20.07^{b}	12.93^{b}
30	0.086^{a}	3.77^{a}	25.0^{b}	13.62^{ab}

اعداد با حروف مشترک در هر ستون دارای اختلاف معنی‌دار ($P<0.05$) نمی‌باشند

Numbers followed by the same letter are not significantly different($P<0.05$)

جدول ۷- اثرات متقابل BA × NAA بر پیازچه زایی و ریشه زایی سوسن چلچراغ

Table 7- Interaction effects of NAA× BA on the bulblet production and root induction of *Lilium ledebourii*

غلظت هورمون NAA ($mg\ l^{-1}$)	غلظت هورمون BA ($mg\ l^{-1}$)	میانگین وزن هر پیازچه Bulblet mean Weight (g)	تعداد فلس هر پیازچه Scales per bulblet
0.1	0	0.067^{b}	3.23^{bc}
	0.01	0.059^{b}	3.05^{c}
1	0	0.07^{b}	3.52^{b}
	0.01	0.1^{a}	4.32^{a}

اعداد با حروف مشترک در هر ستون دارای اختلاف معنی‌دار ($P<0.05$) نمی‌باشند

Numbers followed by the same letter are not significantly different ($P<0.05$)

جدول ۸- اثرات متقابل تیمار NAA × امواج فراصوت بر میانگین وزن هر پیازچه گیاه سوسن چلچراغ

Table 8- Interaction effect of NAA× ultrasound on Bulblet mean Weight of *Lilium ledebourii*

غلظت NAA (mg l^{-1})	مدت فراصوت Ultrasound exposure duration (s)	طول ریشه Root length
0.1	0	15.75[a]
	5	18.12[a]
	10	18.75[a]
	20	16.12[a]
	30	16.88[a]
1	0	17.88[a]
	5	11.00[b]
	10	11.38[b]
	20	11.29[b]
	30	10.38[b]

اعداد با حروف مشترک در هر ستون دارای اختلاف معنی‌دار (P<0.05) نمی‌باشند

Numbers followed by the same letter are not significantly different(P<0.05)

جدول ۹- تأثیر متقابل تیمار NAA × BA × فراصوت بر القای ریشه در سوسن چلچراغ

Table 9- Interaction effects of NAA× BA ×ultrasound on root induction of *Lilium ledebourii*

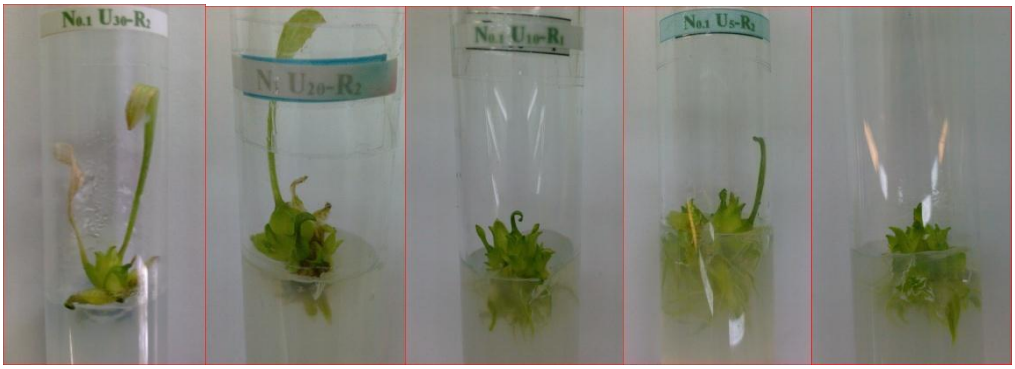
NAA (mg l^{-1})	BA (mgl^{-1})	مدت فراصوت Ultrasound exposure duration (s)	تعداد ریشه هر پیاز Root of per bulb
0.1	0	0	2.7 [gh]
		5	4.4 [efgh]
		10	2.7 [gh]
		20	2.4 [h]
		30	3.8 [efgh]
	0.01	0	3.3 [fgh]
		5	3.1 [gh]
		10	4.2 [efgh]
		20	4.7 [efg]
		30	3.1 [gh]
1	0	0	5.3 [def]
		5	8.1 [abc]
		10	7.8 [abcd]
		20	6.1 [cde]
		30	7.8 [abcd]
	0.01	0	7.1 [bcd]
		5	10.4 [a]
		10	6.1 [cde]
		20	8.7 [ab]
		30	7.4 [bcd]

اعداد با حروف مشترک در هر ستون دارای اختلاف معنی‌دار (P<0.05) نمی‌باشند

Numbers followed by the same letter are not significantly different(P<0.05)

بررسی میزان سیتوکینین و اکسین در اندام‌زایی *Lilium auratum* Lindl. در شرایط *L. speciosum* Thunb. cv.Uchida درون شیشه‌ای نشان داد که، افزودن هورمون‌های گیاهی به محیط کشت جهت تمایز و رشد اندام ها ضروری است. همچنین گزارش شد، در هر دو گونه و *L. auratum* Lindl. *L.speciosum* Thunb. cv.Uchida سیتوکینین اثر بازدارندگی در ریشه زایی داشت که در غلظت های مختلف BA بارزتر از کینتین بود (۱۴) (شکل ۱).

نقش مثبت امواج فراصوت را نیز می‌توان به این قضیه نسبت داد، که تابش فراصوت ملایم به‌طور معنی‌داری سنتز پروتئین را در سلول‌های گیاهی و پروتوپلاست‌ها تحریک می‌کند (۸). یکی از گسترده‌ترین اثرات مشاهده شده‌ی فراصوت روی سلول‌های زنده، افزایش نفوذپذیری غشا است که باعث افزایش جذب مواد خارجی و آزاد کردن محصولات درون سلولی در سلول‌ها می‌شود (۲۱). در ۲ ثانیه فراصوت‌دهی ، مقادیر اندازه‌گیری شده‌بیشتر از مقادیر شاهد بود. بر اساس این حقایق نتیجه‌گیری شد که تحریک فراصوت روی سلول گیاهی در کشت سوسپانسیون قادر به تحریک سلول گیاهی است. زمان یا شدت تحریک کلید بهبود محیط رشد سلول گیاهی است (۴).



شکل ۱- تأثیر زمان‌های مختلف قرارگیری در معرض فراصوت بر صفات پیازچه‌زایی و ریشه‌زایی سوسن چلچراغ

Figure 1- Effect of different times of ultrasound exposure on the bulblet production and root induction of *Lilium ledebourii*

بنابراین تأثیرات مثبت یا منفی امواج فراصوت در این پژوهش ممکن است به دلیل افزایش نفوذپذیری غشا و در نتیجه افزایش جذب تنظیم‌کننده‌های داخل محیط کشت باشد که موجب می‌شود تعادل هورمونی در بافت کشت شده به هم بریزد یا مساعد گردد. تکثیر سلولی یکی از مهمترین ویژگی‌های فعالیت سلول زنده و اساس رشد و نمو گیاه است که معمولاً از طریق چرخه‌ی سلولی مشخص می‌گردد (۵). اثر مثبت تیمار فراصوت بر پیازچه‌زایی و صفات مربوط به آن نشان می‌دهد که این تیمار می‌تواند تاثیر زیادی برای باززایی این گیاه در شراط درون شیشه‌ای داشته باشد. بنابراین از آنجا که فراصوت به طور غیرمستقیم بر میزان هورمون‌های درون‌زا در ریزنمونه تاثیر می‌گذارد، توصیه می‌گردد که در کنار تیمار هورمونی می‌تواند تیمار فراصوت در تکثیر این گیاه با ارزش استفاده کرد و با استفاده از آن میزان باززایی از این گیاه را افزایش داد.

نتیجه‌گیری کلی

اثر مثبت تیمار فراصوت بر پیازچهزایی و صفات مربوط به آن نشان می‌دهد که این تیمار می‌تواند تاثیر زیادی برای باززایی این گیاه در شرایط درون شیشه‌ای داشته باشد. بنابراین از آنجا که فراصوت به طور غیرمستقیم بر میزان هورمون‌های درون‌زا در ریزنمونه تأثیر می‌گذارد، توصیه می‌گردد که در کنار تیمار هورمونی از تیمار فراصوت نیز در تکثیر این گیاه با ارزش استفاده کرد و با استفاده از آن میزان باززایی این گیاه را افزایش داد.

منابع

1- Atrashi M., Tavakoli E., Darzi M.T., Hashemi J., Rozbeh S.H., and Masum M. 2011. Effect of ultrasound on the production of Carvone as a secondary metabolite in callus derived from *Bunium persicum* Boiss. Journal of Herbal Drugs, 2: 129-135. (in Persian)

2- Azadi P., and Khosh-Khui M. 2007. Micropropagation of *Lilium ledebourii* (Baker) Boiss as affected by plant growth regulator, sucrose concentration, harvesting season and cold treatments. Electronic Journal of Biotechnology, 4: 582-591.

3- Bakhshaie M., Babalar M., and Khalighi M. 2010. Somatic embryogenesis and plant regenerationof *Lilium ledebourii* (Baker) Boiss., an endangered species. Plant Cell Tissue and Organ Culture, 102: 229–235.

4- Bochu W., Jiping S., Biao L., Jie L., and Chuanren D. 2004. Soundwave stimulation triggers the content change of the endogenous hormone of the Chrysanthemum mature callus. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 37: 107-112.

5- Bochu W., Yoshikoshi A., and Sakanishi A. 1998. Carrot cell growth response in a stimulated ultrasonic environment. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 12: 89-95.

6- Gaba V., Kathiravan K., Amutha S., Singer S., Xiaodi X., and Ananthakrishnan G. 2006. The uses of ultrasound in plant tissue culture. Journal Plant Tissue Culture Engineering, 417-426.

7- Ibanescu M., Constantinovici D., and Strajeru S. 2008. Study about the ultrasound effects on potato plantlets (*Solanum tuberosum* L.), conserved in vitro through slow growth method. Studia Universitatis, 18: 41-44.

8- Joersbo M., and Brunstedt J. 1990. Direct gene transfer to plant protoplasts by mild sonication. Plant Cell Reports, 9: 207-210.

9- Kanchanapoom K., Ponpiboon T., Wirakiat W., and Kanchanapoom K. 2011. Regeneration of lily (*Lilium longiflorum* 'Easter lily') by callus derived from leaf explants cultured *in-vitro*. Science Asia, 37: 373–376.
10- Kapoor R., Kumar S., and Kanwar J.K. 2008. Bulblet regeneration from *ex-vitro* root explant in lily hybrids. Horticultural Science, 35: 107-112.
11- Kapoor R., Kumar S., and Kanwar J.K. 2009. Bulblet production from node explant grown *in-vitro* in hybrid lilies..International Journal of Plant Production, 3: 1-6.
12- Liu Y., Takatsuki H., Yoshikoshi A., Wang B., Sakanishi A. 2003. Effects of ultrasound on the growth and vacuolar H^+-ATPase activity of *Aloe arborescens* callus cells. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 32: 105-116.
13- Mir J.I., Ahmed N., Itoo H., Sheikh M.A., Rashid R., and Wani S.H. 2012. *In-vitro* propagation of Lilium (*Lilium longiflorum*). Indian Journal of Agricultural Sciences, 82(5): 455–558.
14- Novak, F.J., and Petru, E. 1981. Tissue culture of Lilium hybrids. Scientia Horticulturae, 14: 191-199.
15- Omidi M, and Farzin N. 2012 Biotechnology approaches for improvement of medicinal plants. Modern Genetics Journal 7:209-220 (in Farsi).
16- Padasht Dahkaei, M. N., Khalighi, A., Naderi, R., and Mousavi, A. 2006. Effect of temperature, propagation media and scale position on bulblet regeneration of Chelcheragh lily (*Lilium ledebourii*) by scaling method. Seed and Plant 22: 383-397. (In Persian)
17- Padasht Dahkaei M. N., Khalighi A., Naderi R., and MoUsavi A. 2008. Effect of different concentration of benzyladenine (BA) and naphthalene acetic acid (NAA) on regeneration of *Lilium ledebourii* (Chelcheragh Lily) using bulblets microscales. Seed and Plant Improvement Journal, 24: 321-332. (in Persian)
18- Pelkonen V.P., and Kauppi A. 1999. The effect of light and auxins on the regeneration of lily (*Lilium regale* Wil.) cells by somatic embryogenesis and organogenesis. International Journal of Plant Sciences, 160: 483-490.
19- Pierik R.L., and Steegmans H.M. 1975. Effect of auxins, cytokinins, gibberellins, abscisic acid and etephon on regeneration and growth of bulblets on excised bulb scale segments of hyacinth. Physiology Plant, 34: 14-17.
20- Podwyszynska M. 2006. Improvement of bulb formation in micropropagted tulips by treatment with NAA and pacleobutrazol or accymidol. Acta Horiculture, 725: 679-684.
21- Shin Y.K., Abdullahil Baque M., Elghamedi S., Lee E.J., and Paek K.Y. 2011. Effects of activated charcoal, plant growth regulators and ultrasonic pretreatments on *in-vitro* germination and protocorm formation of Calanthe hybrids. Australian Journal of Crop Science, 5: 582-588.
22- Tatari varnusfaderani M., Fotouhi Ghazvini R., Hamidoghli Y., and Hatamzadeh A. 2004. Effects of plant growth regulators and kind of bulblet initiation on *in-vitro* culture of bulb scale segments from *Lilium ledebourii* (Chelcheragh lily). Journal of Agricultural Science, 1(2): 19-27. (in Persian)
23- Una G., Sanin H., Jasmina C., Anisa R., and Damir M. 2010. *In-vitro* propagation of *Lilium martagon* L. var. cattaniae Vis. and evaluation of genotoxic potential of its leaves and bulbs extracts. Acta Biologica Slovenica, 53(2): 53- 60.
24- Wei M., Yang C.Y., and Wei S.H. 2012. Enhancement of the differentiation of protocorm like bodies of *Dendrobium officinale* to shoots by ultrasound treatment. Journal of Plant Physiology, 169: 770-774.
25- Xiujuan W., Bochu W., Yi J., Danqun H., and Chuanren D. 2003. Effect of sound stimulation on cell cycle of chrysanthemum (*Gerbera jamesonii*). Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 29: 103-107.

Journal of Horticultural Science
Vol. 32, No. 1, Spring 2018, P. 23-33
ISSN: 2008 - 4730

نشریه علوم باغبانی (علوم و صنایع کشاورزی)
جلد ۳۲، شماره ۱، بهار ۱۳۹۷، ص.۳۳-۲۳
شاپا: ۴۷۳۰ - ۲۰۰۸

Effect of Plant Growth Regulators and Ultrasound on the Bulblet Production and Root Induction in *Lilium ledebourii*

M.Mohebodini[1*] - A. Azimzadeh[2] - E. Chamani[3] - M.Erfani[4]

Received: 29-02-2016
Accepted: 25-10-2017

Introduction: Lily (*L. ledebourii*) is the rarestspeciesof the genus *Lilium*, and grows in Caucasus region. Iranis one of the important distribution areas of this endangered species. It is important as an ornamental plant due to its large and attractive white flowers that are equal to those of commercial lilies in terms of beauty.The two main constraints on growing this plant are a low multiplication rate and the high cost of bulb production. Five to ten flowers commonly appear on each plant, even specimens with up to 15 flowers have been observed. Plant tissue culture techniques are widely used in plant propagation and using these methods can effectively provide micro-propagation of this plant in large scale. High percentage ofregeneration is necessary for plant protection, using in the breeding programs and gene transfer to this plant. Therefore, the effect of plant growth regulators and abiotic stress (ultrasound) werestudied on the bulblet production and root induction of *Lilium ledebourii*.

Materials and Methods: The experiment was factorial based on completely randomized design with four replicattions and was carried out in tissue culture lab of University of MohagheghArdabili in 2015. For this purpose, segmentsof scale explant was treated with ultrasound and cultured on MS medium supplemented with different concentrations of NAA and BA alone and/or in combination with each other. In this experiment, different concentrations of NAA (0, 0.01, 0.1 and 1 mgl^{-1}) and BA (0, 0.01, 0.1 and 1 mgl^{-1}) and different Ultrasound exposure duration (0, 5, 10, 20 and 30 second) were studied. In order to remove possible contamination from the media, all media were autoclaved for 20 minutes at 121 °C. At the end of the experiment, the number of bulblet, root length, fresh weight of bulblet were recorded. The cultures were kept at 25±2°C under illumination with daylight fluorescent lamps (30 mol $m^{-2}s^{-1}$) at 16 h photoperiod. Data was subjected for analysis of variance and compare means using SPSS 16.

Results and Discussion: The results showed that ultrasound had negative effect onroot length, so that the highest root length was observed in explants without ultrasound treatment. Result also indicated that ultrasound had positive effect on bulblet production and root induction. A different effect of growth regulators was observed in similar media on the bulblet formation percentage. The 0.1 NAA concentration had a higher efficiency while increasing NAA insignificantly decreased bulblet induction. The highest total weight and number of bulblets obtained by 0.1 mgl^{-1} NAA. Concentrations of NAA increased rooting percentage. Different concentrations of NAA had also significant effects on some traits. So that, the highest weight of bulblets obtained by 0.01 and 0.1 mgl^{-1} BA and the highest number of roots obtained in control. Bulblet maximum mean weightwas in30 seconds ofultrasoundtreatment, which hada significantdifference with the control treatment (without ultrasoundtreatment). In the other hand, ultrasound increased the number and weight of bulblets.Mechanical stress and microstreaming by acoustic cavitation might be considered as the most possible cause of the various physiological effects of ultrasound on cells. The enhancement of V-ATPase transport and ATP hydrolysis activities seem to be an ultrasound-induced metabolic response of cells. High-intensity ultrasound is well known to be destructive to biological materials, disrupting the cell membranes and deactivating biological molecules such as enzymes and DNA. Low-intensity ultrasound, on the other hand, has shown a range of sub lethal biological effects that are of potential significance in biotechnology .There are several processes that take place in the presence of cells or enzymes activated by ultrasonic waves. High-energy ultrasonic waves break the cells

1 , 2, 3 and 4- Associate Professor, M.Sc. Graduated, Professor and Ph.D. Student, Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, University of Mohaghegh Respectively
(*- Corresponding Author Email: mohebodini@uma.ac.ir)

and denature the enzymes. Low-energy ultrasound can modify cellular metabolisms or facilitate the uptake of nutrient, and make them easily through the cellular walls and membranes. In the case of enzymes, the increase in the mass transfer rate of the reagents to the active site seems to be a most important factor.

Conclusions: The results showedthatthebulblet production at first stages and a little root formation in tissue culture is useful for fast bulblet inductionandthenrooting. Finally, it seems that ultrasound in combination with plant growth regulators have the potential to produce the highest average number of bulblets in the scale explant.

Keywords: Benzyladenine, *in vitro*, Naphthalene acetic acid, Rooting