



نشریه علمی کشاورزی و باغبانی

دوره ۴ ■ شماره ۱ ■ بهار و تابستان ۱۳۹۵

صفحه‌های ۱۵۲-۱۴۱

انتشار الکترونیکی: بهار ۱۳۹۸

تأثیر ساکارز و پیش تیمار فراصوت بر ویژگی‌های مورفولوژیکی و میزان فنل کل سوسن چلچراغ در شرایط درون شیشه‌ای

زهرا عظیم‌زاده^۱، مهدی محب‌الدینی^{۲*}، اسماعیل چمنی^۳

۱. دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، گروه باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران.

۲. دانشیار، گروه باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران.

۳. استاد، گروه باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران.

تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۷/۱۲/۲۶

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۵/۰۴/۲۰

چکیده

به منظور بررسی اثرات ساکارز و امواج فراصوت بر گیاه سوسن چلچراغ (*Lilium ledebourii* Bioss.) در شرایط درون شیشه‌ای، آزمایش‌هایی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار انجام گردید. تیمارهای اعمال شده در این پژوهش شامل ساکارز در سه سطح (۳۰، ۴۵ و ۶۰ گرم در لیتر) و امواج فراصوت با فرکانس ۳۵ کیلوهرتز در پنج سطح (صفر، پنج، ۱۰، ۲۰ و ۳۰ ثانیه) روی دو نوع ریزنمونه فلس و پیازچه بود. بررسی نتایج به دست آمده از آزمایش اول نشان داد که در ریزنمونه پیاز، بیشترین وزن تر کل، وزن پیازچه‌ها، وزن ریشه‌ها، طول ریشه‌ها و طول گیاهچه از ترکیب تیماری 60 g L^{-1} ساکارز + ۱۰ ثانیه فراصوت دهی حاصل گردید، در حالی که کمترین میزان فنل از این ترکیب تیماری به دست آمد. بنابراین این تیمار می‌تواند به منظور بهبود ریزادیدادی سوسن چلچراغ با استفاده از ریزنمونه پیازچه به کار رود و برای افزایش میزان فنل کل نیز ترکیب تیماری 60 g L^{-1} ساکارز + ۳۰ ثانیه فراصوت دهی توصیه می‌شود. همه سطوح امواج فراصوت بر تعداد فلس‌ها، تعداد برگ و طول برگ تأثیر مثبت داشت، اما میزان کلروفیل برگ را کاهش داد. بیشترین تعداد ریشه و تعداد پیازچه‌های ریشه‌دار شده در محیط کشت حاوی 30 g L^{-1} ساکارز مشاهده شد. در هر دو ریزنمونه، محیط کشت حاوی 45 g L^{-1} ساکارز در افزایش طول ریشه مؤثر بود. در آزمایش دوم امواج فراصوت باعث از بین رفتن ریزنمونه‌های فلسی شد.

کلیدواژه‌ها: پیازچه، ریزنمونه، فراصوت دهی، فلس، کشت درون شیشه‌ای.

مقدمه

ایران یکی از مراکز اصلی گونه‌های بومی گیاهی در جهان است. سوسن چلچراغ با نام علمی *Lilium ledebourii* Bioss، گیاهی از تیره *Liliaceae* و از گونه‌های خودروی جنس سوسن است که در بخش‌های شمالی ایران می‌روید. این گونه دارای ارزش زینتی و دارویی می‌باشد و به‌شدت در معرض خطر انقراض قرار دارد [۷]. تحقیقات و ایجاد نوآوری‌های علمی در علوم کشاورزی برای تکثیر این گونه گیاهان به‌منظور جلوگیری از انقراض نسل آن‌ها و استفاده در صنعت گیاهان زینتی و دارویی می‌تواند در توسعه مناطق رویشی و معرفی آن در جهان مؤثر باشد.

مهمترین عوامل مؤثر بر افزایش کارایی ریزازدیادی درون‌شیشه‌ای گیاهان دارویی، ریزنمونه، ژنوتیپ گیاهی، میزان تنظیم‌کننده‌های رشد، محیط کشت و عوامل فیزیکی می‌باشد [۱]. قندها جزء بسیار مهمی در محیط کشت هستند. معمولاً در کشت درون‌شیشه‌ای از ساکارز با غلظت یک تا پنج درصد استفاده می‌شود، زیرا این قند هم به‌وسیله گیاه سنتز می‌شود و هم به‌صورت طبیعی در گیاه منتقل می‌شود. غلظت ساکارز بستگی زیادی به نوع و سن ریزنمونه دارد [۳]. در مطالعاتی که بر روی سوسن چلچراغ انجام گرفته، گزارش شده است که با افزایش غلظت ساکارز، درصد پیازچه‌زایی کاهش می‌یابد [۲]. همچنین غلظت ساکارز تأثیری بر وزن پیازچه‌ها نداشت [۴]. از کشت فلس پیاز سوسن چلچراغ برداشت‌شده در تابستان، بالاترین درصد تشکیل پیازچه در محیط حاوی سه درصد ساکارز به‌دست آمد و با افزایش غلظت ساکارز تا شش درصد، تعداد، طول و درصد ریشه‌دهی افزایش یافت [۹]. همچنین گزارش شده است که بیشترین تعداد و طول ریشه در محیط کشت MS حاوی 1 mg L^{-1} / ۰/۰۱ اسید نفتالین استیک (NAA) و 0.5 mg L^{-1} بنزیل آدنین

(BA) همراه با 60 و 90 g L^{-1} ساکارز حاصل شد [۲]. اثبات شده است که غلظت ساکارز، تولید متابولیت‌های ثانویه تجمع‌یافته در کشت‌ها را نیز تحت تأثیر قرار می‌دهد [۱۴].

امواج فراصوت، امواج صوتی با فرکانسی بالاتر از آستانه شنوایی انسان (معمولاً از 1000 – 2000 کیلوهرتز) هستند. در چند دهه گذشته، بسیاری از محققان اثرات بیولوژیکی مختلفی را که قابل نسبت دادن به تیمار فراصوت بود، شناسایی کردند [۸] که به‌عنوان روشی ایده‌آل برای کاربرد در کشت بافت گیاهی مورد توجه است، به‌طوری‌که بافت‌ها می‌توانند در هنگام کشت، بدون وجود حساسیت فیزیکی دستکاری شوند [۱۱]. تحریک فراصوت می‌تواند رشد و تکثیر بافت‌ها یا سلول‌ها را تحریک کند یا بازدارد و زمان تحریک نیز نقش مهمی را در این زمینه دارد [۱۴]. اگرچه شدت بالای فراصوت معمولاً برای مواد بیولوژیکی مخرب است، فراصوت خفیف ممکن است فعالیت‌های بیولوژیکی را تحریک کند [۲۰]. امواج فراصوت بسته به گونه گیاهی، سنتز متابولیت‌های ثانویه را به‌طور معنی‌داری افزایش می‌دهد [۱۰]. همچنین نشان داده شده است که تنش مکانیکی با آسیب به رشد و زنده‌مانی بسیاری از سلول‌های گیاهی، باعث اثرات منفی بر تولید متابولیت‌های ثانویه در کشت‌های سلول گیاهی می‌شود [۲۰]. از طرفی گیاهان دارای سازوکارهای ضد اکسیداسیونی در جهت کاهش اثر رادیکال‌های آزاد ناشی از تنش می‌باشند. این سازوکارها شامل بروز تغییراتی در میزان آنزیم‌های دفاعی گیاه و ترکیبات دیگری از جمله فنل‌ها می‌باشد [۵].

تاکنون مطالعه‌ای جهت بررسی تأثیر امواج فراصوت به‌عنوان یک فناوری فیزیکی محرک، بر ریزازدیادی سوسن چلچراغ انجام نشده است. با توجه به اهمیت تکثیر و ریزازدیادی سوسن چلچراغ، تحقیق حاضر

سپس ریزنمونه‌ها در لوله‌های آزمایش حاوی محیط کشت MS و غلظت‌های مختلف ساکارز کشت گردیدند. کشت‌های انجام‌شده داخل اتاقک رشد با دمای 23 ± 2 درجه سانتی‌گراد و تحت ۱۶ ساعت روشنایی و هشت ساعت تاریکی و با شدت نور ۲۰۰۰ لوکس که توسط لامپ‌های فلورسنت تأمین می‌گردید، قرار داده شدند. بعد از گذشت دو ماه صفات مورفولوژیکی و میزان فنل کل در پیازچه‌های حاصل از باززایی ریزنمونه‌ها مورد ارزیابی قرار گرفت. از جمله صفات مورفولوژیکی مورد اندازه‌گیری، وزن تر کل گیاهچه، وزن تر پیازچه‌ها، وزن کالوس و وزن ریشه‌ها بود که با ترازوی با حساسیت $0/001$ گرم، اندازه‌گیری شد. ارتفاع گیاهچه، طول ریشه و طول برگ با استفاده از خط‌کش و شاخص محتوای کلروفیل برگ‌ها با استفاده از دستگاه کلروفیل‌سنج (CCM-200) اندازه‌گیری شد. تعداد برگ، پیازچه، فلس، ریشه و پیازچه‌های ریشه‌دار شده نیز شمارش گردید.

به‌منظور اندازه‌گیری میزان فنل، نیم گرم از پیازچه‌ها درون هاون چینی له شد و به‌تدریج پنج میلی‌لیتر متانول ۸۰ درصد به محتویات هاون چینی افزوده شد. محلول یکنواخت محتویات هاون، از کاغذ صافی واتمن شماره یک عبور داده شد. محلول عبور داده شده از صافی به‌مدت پنج دقیقه با سرعت ۱۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ گردید. محتوای فنل موجود در عصاره گیاه براساس روش اسلینکارد^۱ و سینگلتون^۲ با کمی تغییر در تعیین شد [۱۷].

تجزیه واریانس داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS-16 صورت گرفت و مقایسه میانگین داده‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال خطای پنج درصد انجام شد.

به‌منظور بررسی تأثیر امواج فراصوت و غلظت ساکارز محیط کشت، بر بهبود تکثیر سوسن چلچراغ در شرایط درون‌شیشه‌ای انجام گرفت. همچنین تأثیر تیمارهای مورد آزمایش بر افزایش میزان فنل سوسن چلچراغ به‌عنوان شاخصی از میزان تولید متابولیت ثانویه در این گیاه مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

پیازهای گل سوسن چلچراغ در فصل تابستان از رویشگاه طبیعی آن در منطقه خانقاه اردبیل برداشت شده و پس از ضدعفونی در شرایط درون‌شیشه‌ای نگهداری شده بود. مواد گیاهی به‌مدت چهار ماه در محیط کشت MS [۱۵] بدون هورمون تکثیر شد تا تعداد ریزنمونه لازم جهت انجام آزمایش، حاصل گردد. پژوهش در دو آزمایش جداگانه و بر روی دو نوع ریزنمونه صورت گرفت که اولی شامل ریزنمونه فلس و دومی ریزنمونه‌هایی بودند که از قسمت وسط پیازهای رشدیافته در محیط MS در اندازه‌های تقریباً یکنواخت و حاوی تقریباً سه فلس، جدا شده بودند. تیمارهای آزمایش شامل ساکارز در سه سطح (۳۰، ۴۵ و ۶۰ گرم در لیتر) و امواج فراصوت در پنج سطح (صفر، پنج، ۱۰، ۲۰ و ۳۰ ثانیه) با فرکانس ۳۵ کیلوهرتز و توان ۳۲۰ وات بود. آزمایش‌ها به‌صورت طرح فاکتوریل و در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار انجام شدند، اما در آزمایش دوم به‌دلیل از بین رفتن تعدادی از ریزنمونه‌ها، تجزیه داده‌ها به‌صورت کاملاً تصادفی مورد آنالیز قرار گرفت. برای اعمال تیمارهای مربوط به فراصوت‌دهی، ریزنمونه‌ها داخل لوله‌های فالکون پلاستیکی حاوی آب مقطر استریل ریخته‌شده و سر آن‌ها با پنبه و درب پلاستیکی و کشیدن سلفون مسدود گردید و سپس لوله‌ها داخل دستگاه حمام فراصوت (مدل BANDELIN-DT 100 H) قرار گرفتند.

1. Slinkard
2. Singleton

نتایج و بحث

در سطح احتمال یک درصد و بر صفات وزن پیازچه‌ها، وزن ریشه‌ها، طول ریشه و میزان فنل در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار گردید. تیمار ساکارز بر صفات تعداد کل ریشه‌ها، تعداد پیازچه‌های ریشه‌دار در سطح احتمال یک درصد و بر طول ریشه در سطح احتمال پنج درصد تأثیر معنی‌داری داشت. همچنین اثر اصلی تیمار فراصوت بر وزن پیازچه‌ها، تعداد فلس‌ها، میانگین طول ریشه، طول برگ و میزان کلروفیل در سطح احتمال پنج درصد و بر تعداد برگ در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود و بر بقیه صفات تأثیر معنی‌داری نداشت (جدول ۱).

در آزمایش اول اثر غلظت‌های مختلف ساکارز و زمان‌های مختلف قرارگیری در معرض امواج فراصوت بر ریزنمونه پیاز مورد بررسی قرار گرفت. بر اساس تجزیه واریانس داده‌ها، تأثیر متقابل ساکارز و فراصوت و اثر هر کدام از این فاکتورها به صورت مجزا در صفات میانگین وزن هر پیازچه، میانگین وزن ریشه در هر پیازچه، وزن کالوس، تعداد پیازچه‌ها، تعداد فلس در هر پیازچه و تعداد ریشه در هر پیازچه معنی‌دار نبود. اثر متقابل غلظت‌های مختلف ساکارز و زمان‌های مختلف قرارگیری در معرض امواج فراصوت بر وزن تر کل و طول گیاهچه

جدول ۱. تجزیه واریانس تأثیر تیمار ساکارز و فراصوت بر صفات مورفولوژیکی و فنل کل سوسن چلچراغ در ریزنمونه پیاز

میانگین مربعات						درجه آزادی	منابع تغییرات
میانگین تعداد	تعداد	تعداد	میانگین وزن هر پیازچه (gr)	وزن پیازچه‌ها (gr)	وزن تر کل (gr)		
۰/۰۱ ^{ns}	۰/۰۷۱ ^{ns}	۰/۷۴۴ ^{ns}	۰/۰۰۲ ^{ns}	۰/۰۰۲ ^{ns}	۰/۰۰۱ ^{ns}	۲	ساکارز
۰/۰۲ ^{ns}	۰/۰۷*	۰/۵۱۱ ^{ns}	۰/۰۰۱ ^{ns}	۰/۰۳۸*	۰/۰۵۵ ^{ns}	۴	فراصوت
۰/۰۱۶ ^{ns}	۰/۰۲۸ ^{ns}	۰/۳۰۵ ^{ns}	۰/۰ ^{ns}	۰/۰۳۵*	۰/۰۷۴**	۸	ساکارز × فراصوت
۰/۰۲	۰/۰۲۶	۰/۳۲۰	۰/۰۰۱	۰/۰۱۳	۰/۰۲۳	۴۵	خطا
۶/۵۴	۱۱/۶۹	۲۰/۵۷	۴/۱۳	۱۶/۰۵	۱۸/۰۱		ضریب تغییرات (%)

ns و * و **: به ترتیب غیرمعنی‌دار، معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد.

ادامه جدول ۱. تجزیه واریانس تأثیر تیمار ساکارز و فراصوت بر صفات مورفولوژیکی و فنل کل سوسن چلچراغ در ریزنمونه پیاز

میانگین مربعات						درجه آزادی	منابع تغییرات
میانگین طول	تعداد پیازچه‌های	میانگین تعداد	تعداد	وزن کالوس	میانگین وزن ریشه		
۰/۰۱۸*	۱/۷۵۲**	۰/۰۱ ^{ns}	۰/۲۵۲**	۰/۰۰۱ ^{ns}	۰/۰۰۱ ^{ns}	۲	ساکارز
۰/۰۲*	۰/۱۲۹ ^{ns}	۰/۰۵۲ ^{ns}	۰/۰۳۵ ^{ns}	۰/۰۰۱ ^{ns}	۰/۰۰۱ ^{ns}	۴	فراصوت
۰/۰۱۳*-	۰/۲۵۷ ^{ns}	۰/۰۳۷ ^{ns}	۰/۰۶۳ ^{ns}	۰/۰۰۱ ^{ns}	۰/۰ ^{ns}	۸	ساکارز × فراصوت
۰/۰۰۵	۰/۲۱۶	۰/۰۶۸	۰/۰۴	۰/۰۰۱	۰/۰	۴۵	خطا
۵/۴۶	۱۸/۰۸	۱۳/۷۹	۱۷/۳۹	۴/۴۴	۰	۶/۸۸	ضریب تغییرات (%)

ns و * و **: به ترتیب غیرمعنی‌دار، معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد.

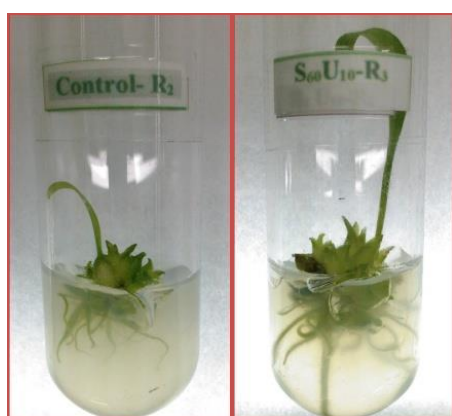
تأثیر ساکارز و پیش تیمار فراصوت بر ویژگی‌های مورفولوژیکی و میزان فنل کل سوسن چلچراغ در شرایط درون‌شیشه‌ای

ادامه جدول ۱. تجزیه واریانس تأثیر تیمار ساکارز و فراصوت بر صفات مورفولوژیکی و فنل کل سوسن چلچراغ در ریزنمونه پیاز

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات		درجه آزادی	میانگین مربعات	
		طول گیاهچه (mm)	تعداد برگ		طول برگ (mm)	طول کلروفیل
ساکارز	۲	۰/۰۱۱ ^{ns}	۰/۰۳۲ ^{ns}	۲	۰/۰۰۲ ^{ns}	۲۱۷/۶۸ ^{ns}
فراصوت	۴	۰/۰۴۸ ^{ns}	۰/۰۳ ^{**}	۴	۰/۰۰۸ [*]	۹۲۰/۵۵ ^{ns}
ساکارز × فراصوت	۸	۰/۰۵۸ ^{**}	۰/۰۹۱ ^{ns}	۷	۰/۰۰۶ ^{ns}	۱۱۸۶/۸۱ [*]
خطا	۴۵	۰/۰۱۹	۰/۰۴۲	۳۵	۰/۰۰۳	۴۲۷/۲۹
ضریب تغییرات (%)		۸/۰۳	۱۴/۶۶	۵/۰۸	۷/۳	۲۳/۰۹

ns و * و **: به ترتیب غیرمعنی‌دار، معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد.

۶۰ ساکارز + ۱۰ ثانیه فراصوت‌دهی بیشترین وزن ریشه‌ها را داشت (شکل ۱). بلندترین طول ریشه نیز از تیمار 45 g L^{-1} ساکارز + صفر ثانیه فراصوت‌دهی مشاهده شد (جدول ۲). با توجه به جدول مقایسه میانگین داده‌ها، بیشترین طول گیاهچه نیز از ترکیب تیماری 60 g L^{-1} ساکارز + ۱۰ ثانیه فراصوت‌دهی حاصل شد (شکل ۱، جدول ۲). گزارش شده است که موج صوتی در بعضی قدرت و فرکانس‌ها می‌تواند رشد گیاه را سرعت بخشد، اما مکانیسم آن هنوز روشن نیست، اما دلیل آن را می‌توان به تأثیر فراصوت بر هورمون‌های درون‌زا و افزایش فعالیت آنزیم‌ها نسبت داد [۱۹ و ۲۰].



شکل ۱. مقایسه ترکیب تیماری 60 g L^{-1} ساکارز + ۱۰ ثانیه فراصوت‌دهی با تیمار شاهد در صفات وزن تر کل، وزن پیازچه‌ها، وزن ریشه‌ها و طول گیاهچه در ریزنمونه پیازچه

بر اساس مقایسه میانگین داده‌ها بیشترین وزن تر کل از ترکیب‌های تیماری 60 g L^{-1} ساکارز + ۱۰ ثانیه فراصوت‌دهی (شکل ۱)، 30 g L^{-1} ساکارز + پنج ثانیه فراصوت‌دهی و 30 g L^{-1} ساکارز + ۲۰ ثانیه فراصوت‌دهی حاصل گشت که بیشتر مربوط به افزایش وزن پیازچه‌ها و ریشه‌ها در این تیمارها بود. بیشترین وزن پیازچه‌ها نیز از ترکیب تیماری 60 g L^{-1} ساکارز + ۱۰ ثانیه فراصوت‌دهی به‌دست آمد (شکل ۱، جدول ۲). قرارگیری کوتاه‌مدت در معرض امواج فراصوت ممکن است با افزایش نفوذپذیری غشا باعث افزایش جذب مواد غذایی و ساکارز، کاهش پتانسیل آب در درون سلول و جذب آب گردد که نتیجه آن افزایش وزن پیازچه خواهد بود. گزارش شده است که در سوسن چلچراغ بیشترین وزن پیازچه در محیط کشت حاوی 60 g L^{-1} ساکارز به‌دست آمد [۲]. در آزمایش دیگری حداکثر وزن تر پیازچه‌ها در غلظت‌های ساکارز سه و شش درصد برای فلس‌های برداشت‌شده در زمستان و غلظت شش درصد برای فلس‌های برداشت‌شده در بهار حاصل شده بود [۹]. در آزمایش دیگری که با استفاده از فلس‌های پیاز *Lilium* 'Casablanca' oriental hybrid انجام شد، رشد پیازچه‌ها در محیط کشت MS حاوی 60 g L^{-1} ساکارز به‌طور مؤثری بهبود یافت [۱۲] که با نتایج این تحقیق مطابقت داشت. مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که ترکیب تیماری 60 g L^{-1}

ساکارز چهار تا ۱۲ درصد، هشت درصد ساکارز بهینه شناخته شد. عملکرد بنزوفناتریدین از کشت‌های سوسپانسیون *Eschscholtzia californica* با افزایش غلظت ساکارز تا هشت درصد، تا ۱۰ برابر افزایش یافته بود. تأثیر تنش اسمزی ایجادشده از طریق ساکارز به تنهایی و با عوامل اسمزی دیگر، برای تنظیم تولید آنتوسیانین در کشت سوسپانسیون سلولی *Vitis vinifera* نشان داده شده است. نقش دوگانه ساکارز به‌عنوان منبع کربن و عامل اسمزی در *Solanum melongena* مشاهده شده است. با این حال غلظت بالای ساکارز تا پنج درصد، تولید آنتوسیانین را در کشت‌های سوسپانسیون سلولی *Aralia cordata* کاهش داد، اما غلظت سه درصد برای تجمع آنتوسیانین مطلوب بود [۶]. همه سطوح امواج فراصوت بر تعداد فلس‌ها، تعداد برگ و طول برگ تأثیر مثبت داشت، به‌طوری‌که کمترین مقادیر این صفات از ریزنمونه‌هایی که در معرض فراصوت نبودند مشاهده شد. ریزنمونه‌های فراصوت داده‌شده در همه سطوح بیشترین مقادیر تعداد فلس‌ها، تعداد برگ‌ها و طول برگ را داشتند. اما تیمار فراصوت باعث کاهش میزان کلروفیل شد، به‌طوری‌که بیشترین میزان کلروفیل از تیمار شاهد (صفر ثانیه فراصوت) حاصل گشت (جدول ۳). اکسین داخلی در نتیجه تنش مکانیکی تجمع می‌یابد. افزایش موضعی مقدار اکسین، ساخت اتیلن را تحریک می‌کند [۶] که این اتیلن ممکن است دلیل کاهش میزان کلروفیل در اثر فراصوت باشد. امواج فراصوت به‌عنوان یک تنش مکانیکی ممکن است با دخالت در میزان و فعالیت هورمون‌ها بر شاخه‌زایی تأثیر داشته باشد [۶]. در آزمایشی تیمارهای فراصوت، تبدیل اجسام شبه پروتوکورم *Dendrobium officinale* را به شاخه بهبود بخشید. در مقایسه با شاهد، افزایش

براساس یافته‌های حاصل از این پژوهش، بیشترین میزان فنل کل از ترکیب تیماری $60 + 30 \text{ g L}^{-1}$ ثانیه فراصوت‌دهی به‌دست آمد که با شاهد اختلاف معنی‌داری داشت. همچنین ترکیب‌های تیماری $20 + 45 \text{ g L}^{-1}$ ثانیه فراصوت‌دهی، 45 g L^{-1} ساکارز + 10 ثانیه فراصوت‌دهی، 60 g L^{-1} ساکارز + صفر ثانیه فراصوت‌دهی و 30 g L^{-1} ساکارز + 20 ثانیه فراصوت‌دهی نیز در افزایش میزان فنل نسبت به شاهد مؤثر بودند. کمترین مقدار فنل نیز از ترکیب تیماری 60 g L^{-1} ساکارز + 10 ثانیه فراصوت‌دهی به‌دست آمد (جدول ۲). در کشت‌های اندام، تولید متابولیت اغلب همراه با رشد ریزنمونه اتفاق می‌افتد [۱]. با توجه به این‌که در آزمایش حاضر بیشترین مقادیر صفات مورفولوژیکی و کمترین مقادیر میزان فنل کل از ترکیب تیماری 60 g L^{-1} ساکارز + 10 ثانیه فراصوت‌دهی حاصل شد، به‌نظر می‌رسد که این امر بیانگر نقش منفی فنل در میزان رشد باشد. غلظت ساکارز و امواج فراصوت بسته به گونه گیاهی سنتز متابولیت‌های ثانویه را افزایش می‌دهند [۱۰ و ۱۶]. با توجه به اینکه بیشترین کمترین مقدار فنل از غلظت 60 g L^{-1} ساکارز به‌دست آمده است، بنابراین افزایش فنل ممکن است بیشتر با تأثیر تنش ناشی از فراصوت در ارتباط باشد. در غلظت‌های پایین ساکارز اعمال‌شده، 20 ثانیه فراصوت تأثیر بهتری داشت. سلول‌های گیاهی در کشت سوسپانسیون که به‌طور مداوم در معرض تنش غیرزیستی از قبیل تکان شدید و تغییر در فشار اسمزی محیط کشت قرار داشتند، سطح مشخصی از پاسخ‌های دفاعی را در سلول‌ها القا کرده بود. با افزودن فراصوت به کشت به‌عنوان تنش غیرزیستی خیلی شدید، پاسخ دفاعی سلول‌ها افزوده شد [۲۰]. گزارش‌ها نشان دادند که غلظت ساکارز $2/5$ و $7/5$ درصد (w/v) در محیط کشت *Coleus blumei*، عملکرد اسیدرزماریک را به‌ترتیب به $0/8$ و $3/3$ گرم در لیتر رساند. برای تجمع ایندول‌آلکالوئید در کشت سلولی *Catharanthus roseus* در دامنه آزموده‌شده

1. Protocorm-like bodies

تأثیر ساکارز و پیش تیمار فراصوت بر ویژگی‌های مورفولوژیکی و میزان فنل کل سوسن چلچراغ در شرایط درون‌شیشه‌ای

تبدیل اجسام شبه پروتوکورم به شاخه‌ها به دنبال تیمار فراصوت، همراه با افزایش نسبت کل سیتوکینین‌ها به IAA بود که به علت کاهش سطح IAA درون‌زا و افزایش سطح کل سیتوکینین‌های درون‌زا بود [۱۹]. نتایج این گزارش‌ها مبنی بر تأثیر فراصوت بر بخش‌های رویشی گیاه با پژوهش حاضر همخوانی داشت.

جدول ۲. مقایسه میانگین ترکیبات تیماری ساکارز و فراصوت بر صفات مورفولوژیکی و میزان فنل کل ریزنمونه پیاز سوسن چلچراغ

ساکارز (g L ⁻¹)	فراصوت (s)	وزن تر کل (gr)	وزن پیازچه‌ها (gr)	وزن ریشه‌ها (gr)	طول ریشه‌ها (mm)	طول گیاهچه (mm)	میزان فنل کل (g L ⁻¹)
	۰	۰/۷ ^{bc}	۰/۴۹ ^{bc}	۰/۱۳ ^b	۱۷ ^{cd}	۴۶ ^{cd}	۷۷/۷۴ ^c
	۵	۰/۹۸ ^{ab}	۰/۶۷ ^{ab}	۰/۱۴ ^{ab}	۱۷/۷ ^{bcd}	۴۸/۷ ^{bcd}	۷۸/۲۱ ^c
۳۰	۱۰	۰/۶۵ ^{bc}	۰/۴۶ ^{bc}	۰/۱۲ ^b	۱۷ ^{cd}	۶۳/۷ ^{abc}	۸۶/۳۶ ^{bc}
	۲۰	۰/۹۷ ^{ab}	۰/۶۵ ^{ab}	۰/۲۱ ^{ab}	۱۶/۵ ^{cd}	۶۷/۷ ^{abc}	۹۵/۵۳ ^{abc}
	۳۰	۰/۴۵ ^c	۰/۳۴ ^c	۰/۰۷ ^b	۱۸/۷ ^{abcd}	۵۷/۵ ^{bcd}	۹۱/۱۸ ^{bc}
	۰	۰/۷۶ ^{bc}	۰/۵۱ ^{bc}	۰/۱۹ ^{ab}	۲۴/۲ ^a	۴۳ ^{cd}	۷۶/۹۶ ^c
	۵	۰/۷۷ ^{bc}	۰/۵۴ ^{abc}	۰/۱۵ ^{ab}	۱۹/۵ ^{abc}	۴۱/۷ ^{cd}	۷۷/۲۵ ^c
۴۵	۱۰	۰/۷۳ ^{bc}	۰/۵۶ ^{abc}	۰/۱۱ ^b	۱۷/۷ ^{bcd}	۴۱/۷ ^{cd}	۱۰۴/۵۴ ^{abc}
	۲۰	۰/۶۲ ^{bc}	۰/۴۱ ^{bc}	۰/۱۵ ^{ab}	۱۸/۷ ^{abcd}	۵۰/۲ ^{cd}	۱۱۴/۵۸ ^{ab}
	۳۰	۰/۷۵ ^{bc}	۰/۵۰ ^{bc}	۰/۱۵ ^{ab}	۲۱/۲ ^{abc}	۷۷/۵ ^{ab}	۸۷/۲۵ ^{bc}
	۰	۰/۶۷ ^{bc}	۰/۴۲ ^{bc}	۰/۱۳ ^b	۲۳/۷ ^{ab}	۵۷/۷ ^{abcd}	۹۸/۹۲ ^{abc}
	۵	۰/۷۲ ^{bc}	۰/۵۹ ^{abc}	۰/۰۹ ^b	۲۰ ^{abc}	۴۷ ^{bcd}	۸۱/۹۶ ^{bc}
۶۰	۱۰	۱/۲۸ ^a	۰/۸۵ ^a	۰/۳۱ ^a	۲۳/۲ ^{ab}	۸۹/۲ ^a	۷۱/۱۷ ^c
	۲۰	۰/۴۳ ^c	۰/۳۵ ^c	۰/۰۵ ^b	۱۴ ^d	۳۶/۷ ^d	۷۶/۱ ^c
	۳۰	۰/۶۲ ^{bc}	۰/۴۹ ^{bc}	۰/۰۸ ^b	۱۶/۲ ^{cd}	۴۹/۵ ^{bcd}	۱۲۵ ^a

میانگین‌های دارای حروف مشترک در هر ستون، از لحاظ آماری اختلاف معنی‌داری با یکدیگر ندارند (در سطح احتمال پنج درصد).

جدول ۳. مقایسه میانگین تأثیر تیمار فراصوت بر صفات مورفولوژیکی سوسن چلچراغ در ریزنمونه پیاز

میزان کلروفیل	تعداد برگ	تعداد فلس‌ها	فراصوت (s)
۲/۱ ^a	۱۲/۵ ^b	۲۰/۹ ^b	۰
۱/۶ ^b	۱۶/۸ ^{ab}	۲۹/۸ ^a	۵
۱/۶ ^b	۲۷ ^a	۲۸/۳ ^a	۱۰
۱/۴ ^b	۱۸ ^{ab}	۲۲/۴ ^{ab}	۲۰
۱/۵ ^b	۲۹ ^a	۲۲/۸ ^{ab}	۳۰

میانگین‌های دارای حروف مشترک در هر ستون، از لحاظ آماری اختلاف معنی‌داری با یکدیگر ندارند (در سطح احتمال پنج درصد).

شدت فراصوت رسیده به ریزنمونه را تحت تأثیر قرار می‌دهد [۱۱]. در این آزمایش کلیه ریزنمونه‌های فلسی که در معرض امواج فراصوت قرار گرفتند، پس از مدتی از بین رفتند که به‌نظر می‌رسد دلیل این امر عدم دقت در زمینه کم بودن میزان آب حمام فراصوت و در نتیجه شدت بالای امواج فراصوت باشد. بنابراین در آزمایش اخیر فقط داده‌های حاصل از ریزنمونه‌های فراصوت داده‌نشده مورد تجزیه قرار گرفت. تجزیه واریانس این داده‌ها نشان داد که اثر غلظت‌های مختلف ساکارز تأثیر معنی‌داری بر وزن تر کل، وزن پیازچه‌ها، میانگین وزن هر پیازچه، تعداد پیازچه‌ها، تعداد فلس‌ها، میانگین تعداد فلس هر پیازچه، وزن ریشه‌ها، میانگین وزن ریشه هر پیازچه، وزن کالوس، تعداد ریشه‌ها، میانگین تعداد ریشه در هر پیازچه، تعداد پیازچه‌های ریشه‌دارشده، طول گیاهچه، تعداد برگ، طول برگ و میزان فنل کل نداشت و فقط بر میانگین طول ریشه‌ها در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار گردید (جدول ۵). مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد بلندترین طول ریشه از محیط کشت حاوی 45 g L^{-1} ساکارز حاصل شد (جدول ۶، شکل ۲). در مطالعات انجام‌شده روی سوسن چلچراغ که همراه با استفاده از تنظیم‌کننده‌های رشد بود، با افزایش غلظت ساکارز تعداد و طول ریشه افزایش یافته بود [۲ و ۹] که با نتیجه این آزمایش مطابقت نداشت.

جدول ۴. مقایسه میانگین تأثیر تیمار ساکارز بر صفات مورفولوژیکی سوسن چلچراغ در ریزنمونه‌ی پیاز

غلظت‌های ساکارز (g L^{-1})	تعداد ریشه	تعداد پیازچه‌های ریشه‌دار
۳۰	۱۸/۸ ^a	۷/۶ ^a
۴۵	۱۴/۳ ^{ab}	۵/۲ ^b
۶۰	۱۱/۶ ^b	۴/۷ ^b

میانگین‌های دارای حروف مشترک در هر ستون، از لحاظ آماری اختلاف معنی‌داری با یکدیگر ندارند (در سطح احتمال پنج درصد).

مقایسه میانگین تأثیر غلظت‌های مختلف ساکارز نشان داد که با افزایش غلظت ساکارز در محیط کشت MS تعداد ریشه و تعداد پیازچه‌های ریشه‌دارشده کاهش یافت، به طوری که بیشترین تعداد ریشه از محیط کشت حاوی 30 g L^{-1} ساکارز حاصل گردید که با غلظت 45 g L^{-1} ساکارز اختلاف معنی‌داری از این نظر نداشت. همچنین بیشترین تعداد پیازچه‌های ریشه‌دار از 30 g L^{-1} ساکارز به دست آمد (جدول ۴). غلظت بالاتر ساکارز ممکن است با تأثیر نامطلوب بر پتانسیل اسمزی ریزنمونه، از تمایزیابی و رشد آن جلوگیری کند [۱۳]. در همه مطالعات انجام‌شده روی تشکیل پیازچه با استفاده از روش لایه‌های سلولی نازک (TCL)، محیط کشت MS نصف غلظت حاوی $1-2/7 \mu\text{M NAA}$ یا $10 \mu\text{M IBA}$ و ساکارز در غلظت $30-20 \text{ g L}^{-1}$ برای ریشه‌زایی شاخه‌ها، پیازچه‌ها و پیازچه‌های کاذب استفاده شده بود [۱۸]. در *L. auratum* و *L. speciosum* سطح مطلوب ساکارز برای تشکیل ریشه بیشتر از تشکیل پیازچه بود. در همه غلظت‌های تنظیم‌کننده‌های رشد در سوسن چلچراغ، با افزایش غلظت ساکارز تا شش درصد، تعداد، طول و درصد ریشه دهی افزایش یافت [۹]. همچنین گزارش شده است که بیشترین تعداد و طول ریشه در محیط کشت MS حاوی $0/01 \text{ mg L}^{-1} \text{ NAA}$ و $0/5 \text{ mg L}^{-1} \text{ BA}$ همراه با 60 g L^{-1} و 90 g L^{-1} ساکارز، حاصل شد و بیشترین درصد ریشه‌زایی در محیط کشت فاقد تنظیم‌کننده‌های رشد با 60 g L^{-1} ساکارز حاصل شده است [۲]. نتایج این گزارش‌ها با نتایج تحقیق حاضر مطابقت نداشت که ممکن است به دلیل تأثیر امواج فراصوت و یا عدم استفاده از تنظیم‌کننده‌های رشد در این آزمایش باشد.

در آزمایش دوم تأثیر غلظت‌های مختلف ساکارز و زمان‌های مختلف قرارگیری در معرض امواج فراصوت بر ریزنمونه فلس مورد بررسی قرار گرفت. عوامل مختلفی

تأثیر ساکارز و پیش تیمار فراصوت بر ویژگی‌های مورفولوژیکی و میزان فنل کل سوسن چلچراغ در شرایط درون‌شیشه‌ای

جدول ۵. تجزیه واریانس تأثیر تیمار ساکارز بر صفات مورفولوژیکی و فنل کل سوسن چلچراغ در ریزنمونه فلس

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات				
		وزن تر کل (gr)	وزن پیازچه‌ها (gr)	میانگین وزن هر پیازچه (gr)	تعداد پیازچه‌ها	تعداد
ساکارز	۲	۰/۰۶۵ ^{ns}	۰/۰۲۷ ^{ns}	۰/۰۲۲ ^{ns}	۰/۰۹۷ ^{ns}	۰/۱۴۱ ^{ns}
خطا	۸	۰/۱۰۵	۰/۰۲	۰/۰۱۴	۰/۱۸۲	۰/۳۱۶
ضریب تغییرات (%)		۲۵/۰۶	۱۷/۳	۱۴/۹۹	۲۴/۰۳	۲۸/۶۸

ns و **: به ترتیب غیرمعنی‌دار، معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ادرصد.

ادامه جدول ۵. تجزیه واریانس تأثیر تیمار ساکارز بر صفات مورفولوژیکی و فنل کل سوسن چلچراغ در ریزنمونه فلس

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات				
		وزن ریشه‌ها (gr)	میانگین وزن ریشه هر پیازچه (gr)	وزن کالوس (gr)	تعداد ریشه‌ها	میانگین تعداد پیازچه‌های ریشه‌ها
ساکارز	۲	۰/۰۱۱ ^{ns}	۰/۰۰۱ ^{ns}	۰/۰۷۶ ^{ns}	۰/۰۶۶ ^{ns}	۰/۰۴۳ ^{ns}
خطا	۸	۰/۰۰۶	۰/۰	۰/۰۶۴	۰/۰۹	۰/۱۵۱
ضریب تغییرات (%)		۹/۵۶	۰	۲۱/۸۸	۲۴	۱۷

ns و **: به ترتیب غیرمعنی‌دار، معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ادرصد.

ادامه جدول ۵. تجزیه واریانس تأثیر تیمار ساکارز بر صفات مورفولوژیکی و فنل کل سوسن چلچراغ در ریزنمونه فلس

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات		
		طول گیاهچه (mm)	تعداد برگ	طول برگ (mm)
ساکارز	۲	۰/۲۷۶ ^{ns}	۰/۰ ^{ns}	۰/۰۰۷ ^{ns}
خطا	۸	۰/۶۰۷	۰/۰	۰/۰۱۱
ضریب تغییرات (%)		۱۴/۰۸	۰	۸/۷۱

ns و **: به ترتیب غیرمعنی‌دار، معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ادرصد.



جدول ۶. مقایسه میانگین تأثیر تیمار ساکارز بر طول ریشه

در ریزنمونه فلس

غلظت‌های ساکارز (g L ⁻¹)	میانگین طول ریشه‌ها (mm)
۳۰	۱۳/۷۵ ^b
۴۵	۲۴/۳۳ ^a
۶۰	۱۲/۲۵ ^b

میانگین‌های دارای حروف مشترک در هر ستون، از لحاظ آماری اختلاف

معنی‌داری با یکدیگر ندارند (در سطح احتمال پنج درصد).

شکل ۲. بلندترین طول ریشه از غلظت ۴۵ g L⁻¹ ساکارز در

ریزنمونه فلس

به نشرادی گیاهان زراعی و باغی

دوره ۸ ■ شماره ۱ ■ بهار و تابستان ۱۳۹۷

نتیجه‌گیری کلی

براساس نتایج حاصل از آزمایش حاضر در تکثیر درون‌شیشه‌ای با استفاده از ریزنمونه پیازچه، بیشترین وزن تر کل، وزن پیازچه‌ها، وزن ریشه‌ها، طول ریشه‌ها و طول گیاهچه از ترکیب تیماری 60 g L^{-1} ساکارز + 10 ثانیه فراصوت‌دهی حاصل گردید، درحالی‌که کمترین میزان فنل از این ترکیب تیماری مشاهده شد که این امر می‌تواند بیانگر نقش منفی فنل در میزان رشد باشد. بیشترین میزان فنل کل نیز از ترکیب تیماری 60 g L^{-1} ساکارز + 30 ثانیه فراصوت‌دهی به‌دست آمد. همه سطوح امواج فراصوت بر تعداد فلس‌ها، تعداد برگ و طول برگ تأثیر مثبت داشت، اما میزان کلروفیل برگ را کاهش داد. در هر دو ریزنمونه غلظت 45 g L^{-1} ساکارز در افزایش طول ریشه مؤثر بود. با توجه به عدم تأثیر چشمگیر امواج فراصوت در این آزمایش، کاربرد این تیمار به تنهایی، برای اهداف ریزازدیادی و نیز تولید متابولیت ثانویه توصیه نمی‌شود.

منابع

- امیدی م. و فرزین ن (۱۳۹۱) راهکارهای بیوتکنولوژی در افزایش کارایی گیاهان دارویی. ژنتیک نوین. ۷(۳): ۲۲۰-۲۰۹.
- آزادی پ. و مجتهدی ن (۱۳۸۷) اثر تنظیم‌کننده‌های رشد، غلظت ساکارز و قطعات فلس بر ریزازدیادی پیازهای سوسن چلچراغ برداشت‌شده در فصل زمستان. پژوهش و سازندگی در زراعت و باغبانی. ۸۱(۱): ۱۵۹-۱۵۴.
- باقری ع. و صفاری م (۱۳۸۶) مبانی کشت بافت‌های گیاهی. انتشارات دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد. ۴۰۶ صفحه.
- جهانپور ز (۱۳۹۱) اثر تنظیم‌کننده‌های رشد، کربوهیدرات‌ها و تیمارهای نوری در ازدیاد درون‌شیشه‌ای سوسن چلچراغ (*Lilium ledebourii*)
- کارشناسی ارشد. (Baker) Boiss. دانشگاه گیلان. گیلان. پایان‌نامه خزائی ف.ع.، اعتباریان ح. ر.، روستائی ع. و عزیززاده ع (۱۳۸۹) مطالعه میزان تغییرات آنزیم پراکسیداز و فنل کل در میوه‌های سیب رقم زرد تیمار شده با باکتری آنتاگونیست *Pseudomonas fluorescens* و قارچ *Penicillium expansum* عامل کپک آبی سیب. به‌زراعی نهال و بندر. ۲(۴): ۴۳۳-۴۱۹.
- کافی م. و مهدوی دامغانی ع (۱۳۷۹) مکانیسم‌های مقاومت به تنش‌های محیطی در گیاهان. انتشارات دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد. ۴۷۲ صفحه.
- معمار مشرفی م.، معینی ا. و توسلیان ا (۱۳۸۱) بررسی اثر تنظیم‌کننده‌های رشد NAA، BAP. ریزنمونه موقعیت‌های مختلف فلس و دوره نوری بر کشت بافت گل سوسن چلچراغ. علوم زراعی ایران. ۴(۴): ۲۶۱-۲۵۳.
- Ananthkrishnan G, Xia X, Amutha S, Singer S, Muruganantham M, Yablonsky S, Fischer E and Gaba V (2007) Ultrasonic treatment stimulates multiple shoot regeneration and explant enlargement in recalcitrant squash cotyledon explants *in-vitro*. *Plant Cell Reports*. 26: 267-276.
- 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.
- Donenburg H and Knorr D (1995) Strategies for the improvement of secondary metabolite production in plant cell cultures. *Enzyme and Microbial Technology*. 17: 674-684.
- Gaba V, Kathiravan K, Amutha S, Singer S, Xiaodi X and Ananthkrishnan G (2006) The uses of ultrasound in plant tissue culture. *Plant Tissue Culture Engineering*. 417-426.
- Han BH, Yae BW, Yu HJ and Peak KY (2005) Improvement of *in-vitro* micropropagation of *Lilium* oriental hybrid 'Casablanca' by the formation of shoot with abnormally swollen basal plates. *Scientia Horticulturae*. 103:351-359.

13. Jeong JH (1996) *In-vitro* propagation of bulb scale section of several Korean native lilies. *Acta Horticulturae*. 414: 269-276.
14. Liu Y, Yoshikoshi A, Wang B and Sakanishi A (2003) Influence of ultrasonic stimulation on the growth and proliferation of *Oryza sativa* Nipponbare callus cells. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 27: 287-293.
15. Murashige T, Skoog F (1962) A revised medium for rapid growth and bioassays with Tobacco tissue cultures. *Plant Physiology*. 15:473-497.
16. Rao SR and Ravishankar GA (2002) Plant cell cultures: Chemical factories of secondary metabolites. *Biotechnology Advances*. 20: 101-153.
17. Slinkard K and Singleton VL (1977) Total phenol analyses: Automation and Comparison with Manual Methods. *American Journal of Enology and Viticulture* online. 1: 49-55.
18. Teixeira da Silva JA, Tran Thanh Van K, Biondi S, Nhut DT and Maddalena Altamura M (2007) Thin cell layers: developmental building blocks in ornamental biotechnology. *Floriculture and Ornamental Biotechnology*. 1: 1-13.
19. Wei M, Yang CY and Wei SH (2012) Enhancement of the differentiation of protocorm like bodies of *Dendrobium officinale* to shoots by ultrasound treatment. *Journal of Plant Physiology*. 169: 770-774.
20. Wu J and Lin L (2002) Elicitor like effects of low energy ultrasound on plant (*Panax ginseng*) cells: induction of plant defense responses and secondary metabolite production. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 59: 51-57.
21. 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.



**Breeding of Agronomic
and Horticultural Crop**
(Journal of Agriculture, University of Tehran)

Vol. 4 ■ No. 1 ■ Spring & Summer 2016

**Effect of sucrose and ultrasound pretreatment on morphological
characteristics and total phenol of Chelcheragh lily in *in-vitro* condition**

Zahra Azimzadeh¹, Mehdi Mohebodini^{2*}, Esmail Chamani³

1. Former M. Sc. Student, Department of Horticultural Science, Faculty of Agriculture, University of Mohagheh Ardabili, Ardabil, Iran.
2. Associate Professor, Department of Horticultural Science, Faculty of Agriculture, University of Mohagheh Ardabili, Ardabil, Iran.
3. Professor, Department of Horticultural Science, Faculty of Agriculture, University of Mohagheh Ardabili, Ardabil, Iran.

Received: July 10, 2016

Accepted: March 17, 2019

Abstract

To evaluate the effects of sucrose and ultrasound on Chelcheragh lily (*Lilium ledebourii* Boiss.) under *in-vitro* condition, an experiment was conducted in a factorial experiment based on completely randomized design with four replications in tissue culture laboratory of Department of Horticultural Science in Mohageg Ardebili University in 2014. Treatments in this study were sucrose in 3 levels (30, 45 and 60 g L⁻¹) and ultrasound with frequency of 35 kHz in 5 levels (0, 5, 10, 20 and 30 seconds) on the 2 types of explants (bulblet and scale). In bulb explants, the results showed that the highest fresh weight, bulbs and roots weight, root and plantlet length was obtained from 60 g L⁻¹ sucrose + 10 seconds ultrasound, but the least amount of total phenolic content was observed from this treatment combination. The highest total phenolic content was obtained from 60 g L⁻¹ sucrose + 30 seconds ultrasound. All levels of ultrasound had positive effect on number of scales, number of leafs and leaf length, but reduced the amount of chlorophyll. The highest number of roots and number of rooted bulbs was observed in MS medium containing 30 g L⁻¹ sucrose. In both explants, MS medium containing 45 g L⁻¹ sucrose was effected in increase of length of root. In second experiment, ultrasound destroyed the scale explants.

Keywords: Bulblet, explant, exposure to ultrasound, Scale, *In-vitro* culture.