بسم الله الرحمن الرحيم

دانشگاه محقق اردبیلی
گروه باغبانی

بررسی امکان تولید گیاهان هاپلوئید و دابل هاپلوئید از طریق کشت بافت در سوسن چلچراغ (*Lilium ledebeourii*)

استاد راهنما:

دکتر اسماعیل چمنی

اساتید مشاور:

دکتر رسول اصغری زکریا

مهندس بهزاد حاج اقراری

توسط:

یونس پوربیرامی هیر

دانشگاه محقق اردبیلی

زمستان ۱۳۸۹

تقدیر وتشکر

منت خدای را عزوجل که طاعتش موجب قربت است و به شکر اندرش مزید نعمت. اکنون که با استعانت از درگاه ایزد منان گامی دیگر از زندگی‌ام را پشت سر نهادم با خضوع و افتادگی تمام بر خود لازم می‌دانم مراتب سپاس و قدردانی صمیمانه خویش را تقدیم به همه کسانی کنم که در این پژوهش مرا یاری نمودند.

از استاد راهنمای بزرگوارم آقای دکتر اسماعیل چمنی به خاطر تمام راهنمایی‌ها و مساعدتهای بی-دریغ و ارزشمندشان در طی مراحل انجام و تدوین پایان نامه، نهایت تشکر و امتنان را دارم. از اساتید محترم مشاورم، آقایان دکتر رسول اصغری زکریا و مهندس بهزاد حاج اقراری نیز به خاطر همفکری‌ها و پیشنهادات ارزشمندشان که در بهبود این پایان نامه مرا یاری نمودند و همچنین آقای دکتر بهروز اسماعیل پور مدیر گروه محترم گروه علوم باغبانی و داور داخلی پایان نامه که همیشه مشوق و کمک رسان بنده در این مسیر بوده‌اند، سپاسگزارم

همچنین از دقت نظر و توجه داور خارجی پایان نامه آقای دکتر بهروز گلعین کمال تشکر و امتنان را دارم. جا دارد از دوستان و همکلاسیهای خوبم آقایان حسن ملکی لجایر، رحیم قادری، مهدی رحمانیان، علی کامرانی ابوالفضل خدائی و خانم‌ها نسترن حسینی، لیلا کشاورزی، پریسا جلیل وند و فاطمه بیرانوند به خاطر همدلی و کمک در تمام مراحل این دوره نهایت تقدیر و تشکر را داشته باشم.

در پایان این پایان نامه را تقدیم می‌کنم به نگاه‌های مهربان، قامت‌های استوار و همیشه مقاوم که امروزم ثمره دیروز آنهاست و کلام را توانایی و یارای بازگویی مقام والایشان نیست، مادرم، الهه عطوفت و مهربانی و پدرم، نماد فداکاری و تلاش و نیز خواهرم و برادرانم که هر چه دارم ثمره کمک‌های مادی و معنوی این عزیزان می‌باشد و مطمئناً مهربانی‌ها و کمک‌های این عزیزان با هیچ چیزی قابل جبران و مقایسه نخواهد بود. از خداوند برایشان در زندگی آرامش و خوشبختی آرزو دارم.

یونس پوربیرامی

زمستان ۱۳۸۹

نام خانوادگی: **پوربیرامی هیر** نام: **یونس**

عنوان پایان‌نامه: **بررسی امکان تولید گیاهان هاپلوئید و دابل هاپلوئید از طریق کشت بافت در سوسن چلچراغ (*Lilium ledebeourii*)**

استاد راهنما: **دکتر اسماعیل چمنی**

استادان مشاور: **دکتر رسول اصغری و مهندس بهزاد حاجی اقراری**

مقطع تحصیلی: کارشناسی ارشد رشته: باغبانی گرایش: گلکاری دانشگاه : محقق اردبیلی

دانشکده: کشاورزی تاریخ فارغ التحصیلی: تعداد صفحه: ۹۴

واژه های کلیدی: بنزیل آدنین، پیکلرام، جنین، سوسن چلچراغ، کالوس، نفتالین استیک اسید

چکیده

به منظور بررسی امکان باززایی گیاهان هاپلوئید و دابل هاپلوئید، دو آزمایش جداگانه در قالب طرح کاملاً تصادفی به‌صورت فاکتوریل در ۵ تکرار در آزمایشگاه کشت بافت و بیوتکنولوژی گروه علوم باغبانی دانشگاه محقق اردبیلی در دو سال متفاوت انجام شد. تیمارهای آزمایشی بنزیل آدنین (۰/۰۱، ۰/۱، ۰/۵، ۱ و ۲ میلی‌گرم در لیتر)، پیکلرام (۰/۱، ۱ و ۲ میلی‌گرم در لیتر) و نفتالین استیک اسید (۰/۰۱، ۰/۱، ۰/۵ و ۱ میلی‌گرم در لیتر) بودند. نتایج حاصل در سال اول نشان داد که غلظت ۱ میلی‌گرم در لیتر پیکلرام بهترین غلظت برای تولید کالوس از بساک است. نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها در مرحله اول سال دوم نشان داد که بین تیمارهای مختلف پیکلرام از لحاظ تعداد کالوس تشکیل شده اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۵ ٪ وجود دارد. مقایسه میانگین داده‌ها نیز نشان داد که در غلظت ۲ میلی‌گرم در لیتر پیکلرام کالوس بیشتری در بساک تشکیل شد. نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها در مرحله دوم سال دوم نیز نشان داد که بین تیمارهای مختلف پیکلرام و بنزیل آدنین از لحاظ قطر کالوس تشکیل شده از بساک اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ولی بین تیمارهای مختلف بنزیل آدنین از لحاظ تشکیل کالوس اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۵ ٪ وجود داشت. بیشترین میزان و نیز قطر کالوس از غلظت‌های ۲ میلی‌گرم در لیتر پیکلرام و ۰/۱ و ۱ میلی‌گرم در لیتر بنزیل آدنین بدست آمد. بین تیمارهای مختلف بنزیل آدنین و نفتالین استیک اسید نیز اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۵ ٪ از لحاظ تعداد جنین تشکیل شده در روی کالوس حاصل از بساک وجود داشت. غلظت ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر بنزیل آدنین و نفتالین استیک اسید بیشترین تعداد جنین را از کالوس حاصل از بساک تولید کردند. بین تیمارهای مختلف بنزیل آدنین از لحاظ تعداد جنین تشکیل شده روی مادگی نیز اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۵ ٪ وجود داشت ولی بین غلظت‌های مختلف نفتالین استیک اسید اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. مقایسه میانگین داده‌ها نیز نشان داد که غلظت ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر بنزیل آدنین و نیز غلظت ۰/۰۱ میلی‌گرم در لیتر نفتالین استیک اسید بیشترین میزان جنین‌زایی را از مادگی داشتند.کلیه گیاهان باززایی شده در این آزمایش ژنوتیپی مشابه گیاهان مادری داشته و دیپلوئید (۲n= ۲x= ۲۴) بودند.

فهرست مطالب :

عنوان ..... صفحه

فصل اول : کلیات و بررسی منابع

۱- ۱- مشخصات گیاهشناسی ٤

۱- ۲- پراکنش ٥

۱- ۳- شرایط محیطی ٦

۱- ۴- اهمیت اقتصادی سوسن ۷

۱- ۵- تولید تجاری ۷

۱- ۶- ۱- ازدیاد جنسی(بذر) ۸

۱- ۶- ۲- ازدیاد غیر جنسی (رویشی) ۹

۱- ۷- کشت بافت ۹

۱- ۷- ۱- مشکلات کشت بافت گیاهان پیازی ۱۰

۱- ۸- ریزازدیادی گل سوسن ۱۱

۱- ۹- تنظیم کنندههای رشد گیاهی ۱۲

۱- ۹- ۱- اکسینها ۱۲

۱- ۹- ۲- سایتوکنینها ۱۳

۱- ۱۰- کشت بساک ۱۳

۱- ۱۱- مراحل نمو گرده ۱٤

۱- ۱۱- ۱- دولپهایها ۱٤

۱- ۱۱- ۲- تک لپهایها ۱٥

۱- ۱۱- ۳- نیازهای غذایی گرده ۱٥

۱- ۱۱- ۴- فاکتورهای مؤثر در رشد گرده ۱٥

۱- ۱۲- گیاهان هاپلوئید و دابل هاپلوئید ۱٥

۱- ۱۲- ۱- میزان تولید گیاهان هاپلوئید ۱٦

۱– ۱۲– ۲– طبیعی بودن گیاهان هاپلوئید ۱۶
۱–۱۳– کاربردهای تولید گیاهان هاپلوئید و دابل هاپلوئید ۱۷
۱-۱۳– ۱– کوتاه کردن دوره اصلاحی ۱۷
۱– ۱۳– ۲– تولید گیاهان عاری از ویروس از طریق کشت بساک ۱۷
۱– ۱۳– ۳– تولید گیاهان سوپر نر در مارچوبه ۱۸
۱– ۱۵– شرایط رشد و پیش تیمار گیاهان مادری ۱۹
۱– ۱۶– عامل دیواره بساک ۱۹
۱– ۱۷– روشهای تشخیص گیاهان هاپلوئید از دیپلوئید ۱۹
۲– ۱۷– ۱– شمارش کروموزومی مریستم ریشه گیاه در مرحله متافاز ۱۹
۱– ۱۷– ۲– اندازه گیری محتوای DNA توسط دستگاه Flow Cytometry ۲۰
۱– ۱۷– ۳– شمارش تعداد کلروپلاست سلولهای محافظ روزنه برگ ۲۰
۱– ۱۷– ۴– اندازهگیری طول و عرض سلولهای محافظ روزنه ۲۰
۱– ۱۷– ۵– استفاده از صفات ظاهری گیاه ۲۰
۱– ۱۸– کشت مادگی ۲۱
۱– ۱۹– روشهای باززایی گیاهان هاپلوئید و دابل هاپلوئید ۲۱

فصل دوم مواد و روشها

۲–۱– منبع گیاهی مورد استفاده ۳۰
۲–۲– محیط کشت ۳۰
۲–۲–۱– تهیه محلولهای پایه ۳۱
۲–۲–۲– تهیه محیط کشت ۳۳
۲–۲–۳– توزیع محیط کشت ۳٤
۲–۳– ضد عفونی وسایل مورد نیاز ۳٤
۲–۴– آماده سازی هود (لامینار ایر فلو) ۳۵

۲-۶- برش و استقرار ریزنمونه ها ۳۶
۲-۷- تیمارهای آزمایشی ۳۷
۲-۸- شرایط نگهداری ریز نمونهها ۳۷
۲- ۹- روش تهیه کاریوتیپ ۳۸

فصل سوم : نتایج و بحث

۳- نتایج ٤١
۳-۱- نتایج حاصل از آزمایش در سال اول ٤١
۳- ۱- ۱- جنینزایی ٤٢
۳- ۲- نتایج حاصل از آزمایش در سال دوم ٤٤
۳- ۲- ۱- مرحله اول ٤٤
۳- ۲- ۲- مرحله دوم ٤٨
۳- ۲- ۳- مرحله سوم ٥١
۳- ۲- ۴- جنینزایی ٥٢
۳- ۳- تهیه کاریوتیپ و شمارش کروموزومی ٥٨
۳- ۳- ۱- مراحل آماده سازی نمونه کالوس سوسن چلچراغ جهت تهیه کاریوتیپ (روش اول) ٥٨
۳- ۳- ۲- مراحل آماده سازی نمونه کالوس سوسن چلچراغ جهت تهیه کاریوتیپ (روش دوم) ٥٩
۳- ۴- بحث ٦٠
۳- ۴- ۱- ترکیبات محیط کشت ٦٨
نتایج کلی ٦٩
پیشنهادات ٦٩
منابع ٧١

فهرست اشکال **صفحه**

شکل ۲- ۱- رشد گیاه در رویشگاه طبیعی (الف) و برداشت غنچه (ب) ۳۶

شکل ۲-۲- نحوه آماده سازی ریزنمونه جهت ضدعفونی (الف) و ضدعفونی آن (ب) ۴۴

شکل ۲-۳- برش و جداکردن بساک و مادگی (الف) و استقرار ریزنمونه در محیط کشت (ب) ۴۵

شکل ۳-۱- کالوس‌های از بین رفته در اثر برش ۵۱

شکل ۳- ۲- جنین‌زایی کالوس‌ها در محیط کشت جنین‌زایی ۵۲

شکل۳- ۳- انتقال گیاهچه‌های باززایی شده به محیط ریشه‌زایی ۵۲

شکل ۳- ۴- تأثیر تیمارهای مختلف بر کالوس تولید شده در مرحله اول سال دوم ۵۵

شکل ۳- ۵- تأثیر تیمارهای مختلف بر قطر کالوس در مرحله اول سال دوم ۵۶

شکل۳- ۶- تشکیل کالوس در قسمت میله پرچم بعد از طویل شدن آن ۵۸

شکل ۳- ۷- رشد میله پرچم بدون تشکیل کالوس ۵۸

شکل ۳- ۸- تأثیر تیمارهای مختلف بر کالوس تولید شده در مرحله دوم سال دوم ۶۰

شکل ۳- ۹- تأثیر تیمارهای مختلف بر قطر کالوس در مرحله دوم سال دوم ۶۱

شکل ۳- ۱۰- مادگی متورم شده و بساک‌های از بین رفته ۶۳

شکل ۳- ۱۱- نحوه کشت ریزنمونه‌ها در سال دوم ۶۳

شکل ۳- ۱۲- تأثیر تیمارهای مختلف بر تعداد جنین تولید شده از بساک ۶۶

شکل ۳- ۱۳- تأثیر تیمارهای مختلف بر تعداد جنین تولید شده از مادگی ۶۶

شکل ۳- ۱۴- درصد جنین‌زایی بساک و مادگی ۶۷

شکل۳- ۱۵- جنین‌زایی در کالوس حاصل از بساک ۶۸

شکل ۳- ۱۶- جنین‌زایی مستقیم روی مادگی ۶۸

شکل ۳- ۱۷- تهیه کاریوتیپ با روش اول ۷۲

شکل۳- ۱۸- تهیه کاریوتیپ با روش دوم ۷۳

فهرست جداول **صفحه**

جدول ۲-۱- محلول پایه عناصر پر مصرف ۳۸

جدول ۲-۲- محلول پایه عناصر کم مصرف ۳۹

جدول ۲-۳- محلول پایه آهن ۳۹

جدول ۲-۴- محلول پایه ویتامین ۴۰

جدول ۲-۵- ترکیب محیط کشت مورد استفاده برای یک لیتر ۴۱

جدول ۳- ۱- تجزیه واریانس تشکیل کالوس مرحله (A) ۵۵

جدول ۳- ۲- تجزیه واریانس قطر کالوس مرحله (A) ۵۶

جدول ۳- ۳- مقایسه میانگین تشکیل کالوس مربوط به مراحل اول و دوم سال دوم ۵۷

جدول ۳- ۴- تجزیه واریانس تشکیل و قطر کالوس بساک سال دوم مرحله (B) ۶۰

جدول۳- ۵- مقایسه میانگین قطر کالوس مراحل اول و دوم سال دوم به صورت فاکتوریل ۶۱

جدول ۳- ۶- تجزیه واریانس تعداد جنین به صورت فاکتوریل ۶۵

جدول ۳- ۷- مقایسه میانگین تعداد جنین بساک و مادگی بر پایه طرح فاکتوریل ۶۷

جدول ۳- ۸- تجزیه واریانس قطر و تشکیل کالوس سه مرحله سال دوم به صورت فاکتوریل ۶۹

جدول ۳- ۹- مقایسه میانگین تشکیل و قطر کالوس سه مرحله سال دوم به‌صورت فاکتوریل ۷۰

فصل اول

کلیات و بررسی منابع

مقدمه

گل به عنوان جلوه ای زیبا از نعمات خداوندی و نمودی پویا از عشق و سازندگی، همواره در طول تاریخ الهام بخش ادبیات و فرهنگ ملی و مذهبی ایرانیان بوده است. از سوی دیگر گل‌ها فرصت‌های مناسبی برای ابراز علاقه و دوستی، در غم‌ها و شادی‌های انسان خلق می کنند و اجازه میدهند افکار به سادگی منتقل شوند(توسلیان و معمار مشرفی، ۱۳۸۰). در سراسر جهان بیش از ۲۵۰۰۰۰ گونه گیاهی گلدار پراکنش دارد که متعلق به ۵۴۴ تیره است و ۱۲۰۰۰ گونه سرخس وجود دارد وکمتر از ۱٪ این گونه‌ها به عنوان گیاهان زینتی مورد استفاده قرار می‌گیرد (دان نوردگراف، ۲۰۰۰). بنابراین گیاهان زینتی جزئی جدا نشدنی زندگی ما انسانهاست و بر ماست که باید هرچه بیشتر و بهتر در شناخت، حفظ و ازدیاد آنها بکوشیم. یکی از روشهای نوین در این جهت، استفاده از روشهای ریزازدیادی[1] می‌باشد که این اصطلاح بطور اختصاصی به کاربرد فنون کشت بافت برای گیاه‌افزایی با استفاده از ریزنمونه‌هایی که در شرایط عاری از هر گونه آلودگی و در ظروف کشت پرورش می‌یابد مربوط می‌شود (هارتمن و همکاران، ۱۹۹۷). بنابراین کشت بافت تکنیکی است که امکان تولید گیاه در شرایط درون شیشه‌ای را فراهم می‌کند. اساس این تکنیک توانمند بودن[2] سلول‌های گیاهی است زیرا هر سلول گیاهی حاوی کلیه اطلاعات ژنتیکی لازم برای تبدیل شدن به یک گیاه کامل است. بنابراین کشت سلول، بافت یا اندام این امکان را فراهم می‌کند که با کشت یکی از اجزای گیاه سایر قسمت‌های آن نیز تشکیل شود(حسندخت و ابراهیمی، ۱۳۸۵). این تکنیک یکي از مهمترین تکنیک هاي مورد استفاده براي ازدياد غيرجنسي سريع گياهان تحت شرايط درون شيشه‌اي به حساب مي‌آيد. تکنيک کشت بافت از نظر زمان و فضاي مورد استفاده براي توليد انبوهي از گياهان عاري از بيماري بسيار مقرون به صرفه است. همچنين انتقال منابع با

1 – Micropropagation

2- Totipotency

ارزش گیاهي (ژرم پلاسم) از نواحي بومي گیاهان به اقصي نقاط دنیا با کشت بافت میسر و تسهیل شده است. تکنیک نجات جنین (رویان) یکي دیگر از کاربردهاي کشت بافت است که به نژادگران گیاهي را قادر ساخته است تا از سقط جنین‌هاي گیاهي در اثر عوامل مختلف پیشگیري نمایند. تولید گیاهان هاپلوئید (n کروموزومي) از طریق کشت گرده یا بساک یکي از کاربردهاي مهم کشت بافت در به نژادي گیاهان است.

سوسن‌ها از جمله گیاهان گلدار می‌باشند که به خاطر داشتن گل‌های بزرگ و جذاب از نظر اقتصادی اهمیت دارند و یکی از شش جنس عمده گل‌های پیازی هستند که در جهان تولید می‌شوند و چهارمین گل پیازی پس از لاله، گلایول و نرگس است. هر ساله تعداد زیادی از ارقام و دورگ‌های مختلف آن توسط بهنژادگران گیاهی تولید می‌گردد. سوسن چلچراغ با نام علمی *Lilium ledebourii* (Baker) Boiss از نظر گیاهشناسی متعلق به خانواده Liliaceae است. این گیاه سوخ‌دار و سوخ‌های آن بدون پوشش است و بر خلاف پیاز خوراکی دارای پوشش غشایی خشک نیست و بنابراین به شرایط نامساعد محیطی خارج از خاک و کمبود رطوبت حساس بوده و وجود این عوامل سبب از بین رفتن آن می‌شود. قابلیت تولید گل زیاد در هر ساقه و گل‌های بسیار معطر و زیبا از خصوصیات بارز آن است و این ویژگی‌ها در کاربرد یک گیاه به عنوان محصول زینتی جدید حائز اهمیت می‌باشد. سوسن چلچراغ در ایران اولین بار از روستای داماش در منطقه عمارلو شهرستان رودبار از استان گیلان و پس از آن از کلاردشت مازندران و خانقاه اردبیل گزارش شده است (قهرمان، ۱۳۷۶؛ وندلبور، ۱۳۵۷).

از آنجایی که این گیاه به صورت وحشی در طبیعت رشد می‌کند بنابراین، میزان هتروزیگوسی آن بالاست چرا که این گیاه در طبیعت به صورت کاملاً آزاد گرده‌افشانی کرده و از طریق تولید بذر و پیازچه بقاء یافته است. از طرف دیگر به دلیل اینکه تکثیر آنها معمولاً به صورت رویشی و از طریق فلس‌های پیازی صورت می گیرد بنابراین، این هتروزیگوسی حفظ شده و به نسل‌های بعدی منتقل می‌شود. بنابراین، برای رسیدن به هموزیگوسی در این گیاه نیاز است که آنرا وادار به خودگرده‌افشانی اجباری کرده و برای نیل به این هدف حداقل به ۵ نسل خود گرده‌افشانی اجباری لازم است تا در

صورت وجود شرایط مناسب بعد از این مدت به یک هموزیگوسی بالا (نه صد در صد) رسید. همچنین به دلیل اینکه این گیاه به صورت خودرو رشد می‌کند لذا سازگار کردن آن با شرایط رشدی گلخانه یا فضای سبز برای انجام عمل خودگرده افشانی اجباری کاری بسیار مشکل و زمان بر است و درصد زیادی از گیاهان ممکن است از بین بروند. بنابراین، برای بدست آوردن گیاهانی با هموزیگوسی صد در صد به یک روش مناسب نیاز است تا از آن طریق اقدام به اصلاح این گیاه نمود. کشت بساک یکی از روشهای مناسب برای تولید گیاهانی با هموزیگوسی صد در صد است که در این روش با کشت بساک و تولید کالوس هاپلوئید و سپس تیمار آن با مواد شیمیایی مختلف (مانند کلشی‌سین) گیاهان دابل هاپلوئید تولید می‌شود و در مقایسه با خودگشنی اجباری، این کار در مدت زمان کوتاهی انجام می گیرد و گیاهان تولید شده از لحاظ کلیه خصوصیات به هموزیگوسی صد در صد می‌رسند و از آنها می‌توان در برنامه های اصلاحی برای بدست آوردن لاین خالص، بدست آوردن هیبرید F_1 و نیز مشاهده خصوصیات مغلوب گیاهان استفاده کرد (ماشواری و همکاران، ۱۹۸۰).

۱- ۱- مشخصات گیاهشناسی

سوسن چلچراغ با نام علمی *Lilium ledebourii* (Baker) Boiss گیاهی است از شاخه اسپرماتوفیت ها، زیر شاخه نهاندانگان، رده تک لپه ایها، راسته سوسن‌ها تیره سوسن سانان و جنس سوسن می‌باشد. این تیره بیش از ۲۵۰ –۲۰۰ جنس و ۲۰۰ گونه دارد و اصولاً شامل گونه‌های دائمی علفی است. جنس سوسن تقریباً شامل ۱۰۰ گونه است که در کشورهای اورآسیا و آمریکای شمالی پراکنش دارند. بیشتر گونه‌های سوسن از آسیای شمال شرقی (چین، کره و ژاپن) منشأ گرفته‌اند. تعداد گونه‌های بومی اروپا و قفقاز (اورآسیا) تقریباً ۱۰ گونه است. عادت رشدی گونه‌های سوسن به نحوی است که در عرض‌های جغرافیایی بالاتر بهتر رشد کرده و تا ۲۰۰۰ متر بالاتر از سطح دریا نیز دیده می‌شوند (بارانوآ، ۱۹۹۶). معمولاً مناطق معتدل را برای رشد و نمو ترجیح می‌دهد و در مناطق گرم در کوهستان ها می روید. این گل از لحاظ گیاهشناسی جزء گیاهان پیازدار، تک‌لپه‌ای و دائمی می‌باشد(اکرامی، ۱۳۵۹؛ هاشمی-

اصفهانی، ۱۳۸۰). تعداد کروموزوم تمام گونه‌های گل سوسن دارای عدد پایه ۱۲ بوده (n=۱۲) و خصوصیات کاریوتیپی مشابه و اندازه ژنوم خیلی بزرگ دارند. اندازه ژنوم در سوسن‌ها یکی از بزرگترین اندازه‌ها در بین همه موجودات است. برای مثال DNA ژنومی *L.henryi* دارای ۳۲ بیلیون جفت پایه است و در برخی از گونه‌ها تعداد جفت پایه تا ۱۰۰ بیلیون می رسد. ژنوم سوسن در گروه کروموزوم-های با متاسانتریک و ساب تلوسانتریک بزرگ طبقه بندی می‌شود. تعداد کروموزوم هاپلوئید آنها ۱۲ است و این عدد در بین همه جنس‌ها بسیار پایدار است. اکثر گونه‌ها به‌طور طبیعی دیپلوئید (۲n=۲۴) هستند اما برخی گونه‌ها حالت تریپلوئیدی (۳n=۳۶) داشته و عقیم هستند. ممکن است تتراپلوئیدی به-طور طبیعی اتفاق بیفتد که معمولاً عقیم بوده و به‌نظر می‌رسد که تشکیل سلول‌های مولد میوز منجر به تشکیل خودبه‌خودی آنها می‌شود (سیلجاک یاکووله و همکاران، ۲۰۰۳).

۱- ۲- پراکنش

رویشگاه این گیاه ارزشمند در سال ۱۳۵۴ در ارتفاعات داماش از توابع عمارلوی شهرستان رودبار توسط دانشمند فرانسوی بنام کارل فردریش لدبوری[1] شناسایی شد و به خاطر بزرگداشت این دانشمند نام وی بر روی این گونه گذارده شد. سوسن چلچراغ طی مصوبه ۷۱ شورای عالی محیط زیست در تاریخ ۱۳۵۵/۵/۶ جزء آثار ملی طبیعی کشورمان به ثبت رسید. بیکر[2] این گونه را واریته‌ای ازگونه *L.monadelphum* تلقی کرده بود. سوسن چلچراغ در منطقه داماش و در دامنه های شمالی کوه های درفک از توابع شهرستان رودبار، حداکثر دو هفته بعد از آب شدن برف‌ها سر از خاک بیرون می‌آورد و از اواخر خرداد تا اوایل تیر ماه این گیاه شروع به گلدهی در این مناطق می‌کند. زمان گلدهی سوسن چلچراغ به ابری یا آفتابی بودن هوا بستگی دارد. طولانی شدن روزهای ابری زمان گلدهی را تا اوایل تیر ماه به تأخیر می-اندازد. گلبرگ‌ها حداکثر تا ۱۵ روز باقی مانده و سپس می‌ریزند ولی ساقه گیاه هنوز سبز باقی می‌ماند و در شهریور ماه بذر در داخل کپسول نمایان می‌شود. در اوایل مرداد ماه برگ‌های گیاه نیز می‌ریزد ولی ساقه گیاه

1-Karl friedrich ledebourii

2- Baker

هنوز سبز باقی می‌ماند و در شهریور ماه بذر در داخل کپسول می‌رسد و ساقه شروع به خشک شدن می‌کند. این گیاه در قسمتهای دارای نور، گسترده شده و در مقایسه با منطقه سایه، تراکم بیشتری دارد. در مناطق صخره‌ای با خاک کم‌عمق، ارتفاع ساقه کوتاه بوده و به طور متوسط ۶۰-۴۵ سانتی‌متر می‌باشد، در صورتیکه در مناطق دارای خاک عمیق تا ارتفاع ۱۶۱ سانتی‌متری نیز دیده شده است. رویشگاه داماش توسط سازمان محیط زیست، در مساحت حدود ۲ هکتار حفاظت می‌شود. این منطقه در عرض جغرافیایی ۳۶ درجه و ۴۴ دقیقه و طول جغرافیای ۴۹ درجه و ۴۸ دقیقه و در ۱۷۵۰ متری از سطح دریا واقع است. پوشش گیاهی منطقه داماش شامل گیاهان کف پوش منطقه نظیر آقطی، چاودار، گل بنفشه جنگلی، و مرغ است. بطورمتوسط ابعاد این رویشگاه ۳۰۰۰ ×۳۰۰ متر مربع است که در سرتاسر منطقه به صورت کمربندی که بالای آن سرخدارها بوده و پایین آن زیستگاه کبک‌دری است، پراکنده شده است. از خصوصیات این کمربند، مه‌گیر بودن آن در عصر اکثر روزهای بهار و تابستان است. این گیاه در ایران همچنین از کلاردشت مازندران و خانگاه اردبیل گزارش شده است (کاظمی و صابری، ۱۳۷۷؛ پاداشت، ۱۳۷۹).

۱- ۳- شرایط محیطی

سوسن گیاهی است آفتاب دوست و معمولاً در مناطق سایه رشد می‌کند. در صورتی که به هر دلیل نور کافی به این محصول نرسد، بوته ها رشد بیشتری داشته و تعداد گل کمتری می‌دهند. تیمار پیازها در محیط سرد و مرطوب به مدت ۱۰۰۰ ساعت یا ۶ هفته ویا نوردهی به جوانه‌های رویشی در حال ظهور (طول روز بلند) سبب تحریک گلدهی می‌شود. نور دهی گیاهان زمانی بیشترین تأثیر را خواهد داشت که از ساعت ۲۲ شب تا ۲ صبح با شدت ۳۷۸ لوکس به گیاه تابانده شود. نیاز سرمایی پیازها با تیمار آنها به مدت ۴ تا ۶ هفته در دمای ۳ درجه سانتیگراد بر طرف می‌شود (دوله و همکاران، ۱۹۹۹؛ خلیقی، ۱۳۸۴). این گیاه در خاکهای سبک و هوموس‌دار به خوبی رشد کرده و در دوران فعالیت به آب زیادی احتیاج دارند ولی چنانچه آب در زمین جریان نداشته باشد، برای آنها مضر است. به همین دلیل در طبیعت معمولاً در نقاط شیب‌دار که معمولاً آب زیر زمینی در حال حرکت است می‌رویند. عمق کاشت پیاز ۲۰ تا۲۵ سانتی‌متر است. البته در زمین‌های سنگین و مرطوب در مقایسه با زمین‌های سبک، در عمق کمتری کشت می‌شود (اکرامی، ۱۳۵۹).

۱- ۴- اهمیت اقتصادی سوسن

گل سوسن یکی از گلهای شاخه بریده و یا گل گلدانی منحصر به فرد پیازی است که گلهای زیبا و رنگارنگ آن از قیمت بالایی برخوردار است (خلج، ۱۳۸۴). این جنس در سراسر جهان یکی از مهمترین جنسهای گیاهان زینتی شاخه بریده پس از رز، میخک و داوودی می‌باشد (دوله و همکاران، ۱۹۹۹). تولید جهانی گل سوسن در ۱۰ کشور متمرکز شده است که کشورهای مهم به ترتیب هلند با ۴۲۸۰ هکتار (۷۷ درصد)، فرانسه با ۴۰۱ هکتار (۰/۸ درصد)، شیلی با ۲۰۵ هکتار (۰/۴ درصد)، ایالات متحده با ۲۰۰ هکتار (۰/۴ درصد)، ژاپن با ۱۸۹ هکتار (۰/۳ درصد) و نیوزلند با ۱۱۰ هکتار (۰/۲ درصد) (بوچمان، ۲۰۰۴).

در هلند سطح زیر کشت گل سوسن از حدود ۱۰۰ هکتار در سال ۱۹۶۶ به حدود ۳۰۰۰ هکتار در سال ۱۹۹۳ رسید بطوری که حدود ۸۰۰ میلیون پیازچه تولید شد و این گل در زمره مهمترین گلهای شاخه بریده، در جایگاه پنجم قرار گرفت و تولید آن بیش از ۳۰۰ میلیون شاخه گل بود (وان‌تیول و وان‌هولیستیژن، ۱۹۹۶). اخیراً بعد از گل لاله، گل سوسن دومین گل بریده در هلند می‌باشد (واندر-مولن‌موسرز و وان‌اورن، ۱۹۹۷).

۱- ۵- تولید تجاری

عموماً تولید تجاری سوسن در سه مرحله انجام می‌گیرد که شامل تولید سوخ، برنامه‌ریزی برای سوخ و پیش‌رس کردن در گلخانه است. مرحله تولید سوخ از زمان کشت اندام گیاهی تا زمان برداشت سوخ-هایی با اندازه تجاری می‌باشد که با توجه به نوع گیاه ۳-۱ سال زمان لازم دارد.

مرحله برنامه‌ریزی برای سوخ از زمانی که پرورش دهنده سوخ‌ها را دریافت می‌کند تا اینکه بهارسازی سوخ یا تیمار دورهٔ نوری روز بلند را برای ظهور ساقه اعمال کند، آغاز می‌شود. به هر حال به دلیل اینکه انبارداری طولانی مدت سوخ‌ها در ۱- درجه سانتی‌گراد گسترش پیدا کرده است این دو مرحله بویژه در *L.speciosum* و *L.× elegans* اهمیت کمتری دارد.

دوره پیش‌رس کردن در گلخانه خود به سه مرحله تقسیم می‌شود:

۱- از زمان کشت سوخ تا ظهور ساقه مثل *L. × elegans* یا از ظهور ساقه تا گل‌آغازی مثل *L.speciosum* و *L.longiflorum* و هیبریدهای LA.

۲- از گل‌آغازی تا مرحلهٔ جوانه‌های قابل مشاهده

۳- از زمان رویت جوانه‌ها تا شکوفایی

از میان این سه مرحله، مرحلهٔ اول در تولید گل‌های شاخه بریده یا گلدانی که دارای کیفیت باشند، به ویژه در افزایش تعداد جوانه‌های گل در اثر تنظیم دما و طول دورهٔ نوری بسیار مهم است (روح، ۱۹۹۹).

۱- ۶- ازدیاد گل سوسن

یکی از بزرگترین معایب ازدیاد سنتی سوسن بازده کمتر این روش ازدیاد می‌باشد بطوری که با احتساب تلفات پیازچه‌های تولید شده و همچنین با در نظر گرفتن این مسئله که در اغلب روش‌های ازدیاد سنتی پیاز مادری نیز از بین می‌رود، به نظر می‌رسد تعداد پیازچه‌های تولید شده از هر پیاز بالغ رقم قابل توجهی نباشد در تکثیر غیر جنسی در طبیعت پیازهای دختری از یک نقطه رشد واقع در محور فلس در پایگاه محور ساقه آغازیده می‌شوند در بهار پیازچه دختری، فلسهای جدیدی را تولید می‌کند، پس از گلدهی پیاز مادری، هیچ فلس جدیدی توسط پیازچه دختری تولید نمی‌شود اما اندازه و وزن آن به حدی افزایش می‌یابد تا با وزن پیاز مادری احاطه کننده آن برابر شود (اروین، ۲۰۰۲). ازدیاد این گیاه به دو روش جنسی و غیر جنسی صورت می گیرد.

۱- ۶- ۱- ازدیاد جنسی(بذر)

ازدیاد جنسی به وسیله بذر صورت می‌گیرد که مزیت عمده این روش تولید گیاهان عاری از ویروس و امکان کشت آن در زمان‌های مختلف سال می‌باشد. معمولاً بذور را از اواخر بهار تا اوایل تابستان کشت می‌کنند و ۶-۴ سال طول می‌کشد تا به گل بنشینند. ازدیاد از طریق بذر زمانی صورت می‌گیرد که کپسول

بذر شروع به قهوه‌ای شدن کرده و علائم ترک خوردگی روی کپسول ظاهر شود. در آن زمان کپسول‌ها را جمع آوری کرده و در جعبه‌های کاشت یا بطور مستقیم در فضای آزاد در محل خنک با خاک مرطوب کشت می‌کنند. در تکثیر جنسی گل سوسن بدلیل تنوع ژنتیکی اغلب گل‌های بدست آمده از گیاهان بذری نسبت به والدینشان متفاوت هستند برای رفع این مشکل از روش تکثیر غیرجنسی یا رویشی استفاده می‌شود چون در این روش‌ها گیاهان حاصله از نظر ژنتیکی شبیه گیاه مادری خواهد بود (اکرامی، ۱۳۵۹؛ خوشخوی، ۱۳۷۳).

۱- ۶- ۲- ازدیاد غیر جنسی (رویشی)

ازدیاد غیر جنسی سوسن بوسیله روش‌های متنوعی صورت می‌گیرد که از این روش‌ها می‌توان کشت پیازچه هوایی،[1] برش و تقسیم پیازچه، فلس برداری[2]، قلمه‌های جوانه برگ و قلمه ساقه را نام برد. در سیستم کشت بافت از اندام‌های مختلفی مانند فلس سوخ، برگ، ساقه، گلبرگ گل، بساک و مادگی نیز می‌توان به عنوان ریزنمونه استفاده کرد (هارتمن و همکاران، ۱۹۹۷).

۱- ۷- کشت بافت

گیاهان پیازی از لحاظ ارزش تجاری جزء گیاهان با ارزش محسوب می‌شوند. در صنعت گل، این گیاهان جایگاه ویژه‌ای داشته و در اغلب فصول قابل عرضه می‌باشند. در حالت کلی روند تکثیر در گیاهان پیازی، مخصوصاً گیاهان تیرهٔ سوسنی‌ها کند می‌باشد. از این رو روش‌های نوین ازدیاد برای چنین گیاهان با ارزشی، روز به روز در حال گسترش می‌باشد. بسیاری از گونه‌های پیازی، با روش ریزازدیادی سازگاری پیدا کرده اند. این روش بویژه برای ازدیاد سریع ارقام جدید و توسعه، نگهداری و تولید گیاهان بعنوان مواد اولیه افزایشی که از نظر ویروسی مورد آزمون قرار گرفته اند، ارزشمند می‌باشد. برای ازدیاد سوسن از طریق کشت بافت از ریز نمونه های برگ، فلس، ساقه، گلبرگ و دمگل استفاده می‌شود. قطعات فلس‌های پیاز نمونه‌های مناسبی برای ازدیاد است (خوشخوی، ۱۳۷۳).

1- Bulbil 2- Scaling

گل سوسن را به آسانی می‌توان از طریق قطعات ساقه یا فلس پیاز به تعداد ۱۰۰-۵۰ برابر در مدت ۸-۶ ماه ریز ازدیادی نمود. سیستم‌های تولید توده‌ای نیز طراحی شده است که به صورت قابل توجهی سرعت تولید را افزایش می‌دهد، برای مثال *Lilium speciosum* بیش از $۱/۲\times۱۰^{۱۰}$ و *Lilium auratum* در حدود $۳/۲\times۱۰^{۱۲}$ گیاه در مدت یک سال تولید کرده‌اند (ریبز، ۱۹۹۲). استیمارت و ایشر (۱۹۷۸) گزارش کردند که در قسمت پایینی فلس سوخ‌های سوسن شرقی پیازچه‌های بیشتر و بزرگتری تشکیل می شود. بر اساس این مشاهدات پیشنهاد شد که اختلافات فیزیولوژیکی اساسی در قسمت‌های مختلف فلس سوخ وجود دارد.

۱- ۷- ۱- مشکلات کشت بافت گیاهان پیازی

محیط کشت گیاهی به دلیل اینکه غنی از هر گونه عناصر مورد نیاز جهت رشد اندام گیاهی است و نیز به دلیل بالا بودن میزان رطوبت آن بهترین محیط را برای رشد ریزنمونه‌ها و حتی میکروارگانسم‌ها و عوامل آلوده کننده محیط کشت فراهم می‌کند. در کشت درون شیشه‌ای گیاهان پیازی، وجود آلودگی‌های قارچی و باکتریایی از مشکلات اساسی می‌باشد که می‌تواند کارآیی چنین روش‌های تکثیری را تحت تأثیر قرار دهد. در مقایسه با اندامهای هوایی، معمولاً اندام‌های زیرزمینی آلودگی‌های فراوانی به همراه دارند. خاک به‌عنوان یک محیط مناسب برای رشد و نمو انواع قارچها و باکتری‌ها می‌باشد که می‌توانند همراه با نمونه‌های گیاهی منتقل شوند. اندامهای زیرزمینی گیاهان پیازی به ویژه قطعات فلس پیاز دارای پتانسیل باززایی فراوانی هستند. اما در اکثر موارد درصد آلودگی ریزنمونه‌های تهیه شده از این اندامها زیاد است که یکی از مشکلات مهم در کشت بافت این گیاهان با استفاده از ریزنمونه‌های فلس می‌باشد به این دلیل استفاده از سایر اندام‌های گیاهان پیازی مثل گل‌ها (بساک و مادگی)، ساقهٔ گل آذین و برگها می‌تواند تا حدودی مشکل آلودگی را در ریز ازدیادی گیاهان پیازی کاهش دهد همچنین استفاده از تیمارهای ضدعفونی مناسب مانند استفاده مقدماتی از قارچ کشها و آنتی بیوتیک‌ها در کاهش آلودگی کشت‌ها نقش موثری دارند.