مجله علمی ـ پژوهشی اکوفیزیولوژی گیاهان زراعی و علف‌های هرز، سال چهارم، شماره ۱۶، زمستان ۱۳۸۹، صفحه ۵۴-۴۳

# توانایی کال‌زایی و باززایی در دو رقم پیاز سفید کاشان و قرمز ری با استفاده از کشت نوک ریشه در شرایط درون شیشه‌ای

آیسان گوراوانچی[۱]، سیدعلی موسوی‌زاده[۲]، علی‌رضا مطلبی‌آذر[۳] و ورهرام رشیدی[۴]

## چکیده

این مطالعه جهت بررسی تاثیر محیط کشت و ژنوتیپ روی کال‌زایی و باززایی دو رقم پیاز خوراکی از طریق کشت نوک ریشه انجام گرفت. برای کال‌زایی، ریزنمونه‌های نوک ریشه‌ی گیاهچه‌های استریل دو روزه (به طول ۱ تا ۳ میلی‌متری) روی چهار محیط کشت (۱ میلی گرم در لیترD-2,4 ، ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر 2,4-D ، ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر 2,4-D به همراه ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر kinetin، ۱ میلی‌گرم در لیتر 2,4-D به همراه ۱ میلی‌گرم در لیتر kinetin) در شرایط تاریکی قرارگرفتند. واکشت نمونه‌ها بعد از ۴ هفته انجام و سپس کال‌های تولیدی به مدت ۴ هفته در محیط کشت جنین‌زایی و پس از تشکیل جنین، ۸ هفته در محیط باززایی گیاه قرار داده شدند. نتایج حاصل نشان داد که درصد کال‌زایی به طور معنی‌داری تحت تاثیر نوع رقم و محیط کشت قرار گرفت، اما اثر متقابل این دو عامل بر درصد کال‌زایی معنی‌دار نبود. درصد باززایی گیاه و تعداد جنین در هر کال به طور معنی‌داری تحت تأثیر رقم قرار داشت، اما نوع محیط کشت و اثر متقابل این دو عامل روی درصد باززایی گیاه و تعداد جنین در هر کال معنی‌دار نبود. درصد کال جنین‌زا به طور معنی‌داری تحت تأثیر رقم بوده اما نوع محیط کشت روی درصد کال جنین‌زا تأثیر معنی‌داری نداشت. رقم سفید کاشان نسبت به رقم قرمز ری از درصد کال‌زایی، درصد باززایی گیاه، تعداد جنین در هر کال، درصد کال جنین‌زای بالاتری برخوردار بوده و در محیط کشت شامل ترکیبات هورمونی 2,4-D و kinetin برای کال‌زایی، استفاده از ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر 2,4-D و ۰/۵ میلی‌گرم بر لیتر kinetin می‌تواند مفید باشد. با توجه به درصد کال‌زایی، جنین‌زایی و درصد باززایی گیاه، رقم سفید کاشان و محیط کشت حاوی ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر 2,4-D نسبت به بقیه‌ی محیط کشت‌ها، مناسب‌تر تشخیص داده شدند.

**واژگان کلیدی**: باززایی، پیاز خوراکی، جنین‌زایی، کال‌زایی، کشت درون‌شیشه‌ای.

۱- کارشناس ارشد مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان آذربایجان‌شرقی ( نگارنده‌ی مسئول) goravanchi_a@yahoo.com
۲- استادیار مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان آذربایجان‌شرقی
تاریخ دریافت: ۸۷/۱۰/۲۲
۳- استادیار گروه باغبانی دانشگاه تبریز
تاریخ پذیرش: ۹۰/۲/۱۲
۴- استادیار گروه زراعت و اصلاح نباتات دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز

Archive of SID
www.SID.ir

## مقدمه

پیاز خوراکی (*Allium cepa* L.) یکی از مهم‌ترین سبزی‌ها بوده و سطح زیر کشت و تولید آن در حال افزایش می‌باشد، با این حال به دلیل ماهیت دو ساله و دگرگرده افشان بودن آن انجام کارهای اصلاحی پرهزینه و زمان بر است (Dunstan and Short, 1978). لذا، امروزه سعی بر این است که با استفاده از روش‌های کشت بافت و سلول و بهره‌گیری از پتانسیل این روش‌ها در ریز ازدیادی، بتوان علاوه بر تکثیر غیر جنسی ژنوتیپ‌های خاص، مدت زمان برنامه‌های اصلاحی را کوتاه کرد. در پیاز باززایی از طریق اندام‌زایی (Kamstaityte and Stangs, 2002) و جنین‌زایی سوماتیکی از ریزنمونه‌های مختلف از جمله نوک ساقه، پیازچه، بذر ، نوک ریشه (Dunstan and Short, 1978). انجام شده است، با این حال کشت نوک ریشه نسبت به کشت‌های دیگر ترجیح داده می‌شود. چرا که علاوه بر سهولت تهیه نوک ریشه، باززایی گیاه نیز با فراوانی بالایی انجام می‌شود (Sacker, 1997). با استفاده از کشت نوک‌ریشه، باززایی برخی از ارقام پیاز (Myers and Simon, 1998) و دیگر گونه‌های جنس آلیوم، نظیر (*Allium sativum* L.) امکان پذیر بوده است (Vandervalk *et al*. 1992 و Sacker, 1997). کوانتاناسیرا و همکاران (Quintana-Sierra *et al*, 2005) نوک ریشه گیاهچه‌های دو روزه دو رقم پیاز را روی محیط کشت N6 با غلظت مختلف 2,4-D و kinetin کشت دادند. در تمامی محیط‌های کشت مورد بررسی کال جنین‌زا و نهایتاً گیاهچه تولید شد و اختلاف معنی‌داری بین ارقام مورد مطالعه مشاهده گردید. کال‌زایی از ارقام پیاز و موسیر با استفاده از کشت جنین بالغ روی محیط‌های کشت MS و $B_5$ به‌دست آمد.

از محیط کشت MS برای باززایی و تولید گیاهچه و محیط کشت BDS برای تولید ریشه، مورد استفاده قرار گرفت (Kahane and Rancillac, 1992). خوار و همکاران (Khar and Chowdhury, 2005) تاثیر ریزنمونه (نوک ریشه، نوک ساقه و بذر) و ژنوتیپ را بر کشت کال و باززایی پیاز بررسی کردند در هر سه ریز نمونه، محیط کشت MS با ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر 2,4-D حداکثر کال‌زایی را تولید نمود. تفاوت معنی‌داری بین سه ژنوتیپ و سه ریز نمونه مشاهده شد و باسوانت ۷۸۰ و نوک ریشه بهترین درصد کال‌زایی و باززایی گیاه را نشان دادند. به رغم اینکه، ارقام پیاز کاشته شده در ژاپن، کره جنوبی، نیوزلند، برزیل و آمریکا در شرایط درون شیشه‌ای باززایی شده‌اند (Murashige and Skoog, 1962 و Vandervalk *et al*. 1992)، ولی تاکنون در ایران در مورد کشت و باززایی درون شیشه‌ای پیاز گزارش نشده است و نتایج این نوع تحقیق در ارقام کاشته شده در ایران ناشناخته است. لذا، این تحقیق به منظور بررسی امکان تکثیر غیرجنسی پیاز جهت دستیابی به اهداف فوق الذکر انجام شد. در این تحقیق به منظور ریزازدیادی پیاز از طریق کشت نوک ریشه، اثر ژنوتیپ و ترکیبات تیماری 2,4-D و kinetin روی کال‌زایی و معیارهای رشدی و باززایی گیاه بررسی شد.

## مواد و روش‌ها

این مطالعه جهت بررسی کال‌زایی و باززایی دو رقم پیاز خوراکی از طریق کشت نوک ریشه در آزمایشگاه کشت بافت پژوهشکده بیوتکنولوژی شمال و شمال‌غرب کشور در تبریز در سال ۱۳۸۶-۱۳۸۷ انجام گرفت.

به منظور کال‌زایی و باززایی درون شیشه‌ای، بذور دو رقم پیاز سفید کاشان و قرمز ری از موسسه

Archive of SID

www.SID.ir

تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر کرج تهیه شد. از هر رقم ۵۰۰ بذر انتخاب و با استفاده از آب اکسیژنه ۱۰ درصد و وایتکس یک درصد (حاوی ۰/۴ درصد توئین۲۰) ضدعفونی شدند و در شرایط استریل روی محیط کشت MS (با نصف غلظت نمک‌ها و ویتامین‌ها) کشت شده و نوک ریشه از گیاهچه‌های دو روزه تهیه شد. نوک ریشه دو رقم بر اساس جدول ۱ روی محیط کشت حاوی تنظیم کننده‌های رشدی کشت گردید. تمامی محیط‌های کشت به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۱۲۱درجه‌ی سلسیوس اتوکلاو شدند. برای تمام محیط‌های کشت از آگار- آگار خالص بدون باز دارنده استفاده شد. نمونه‌های کشت شده در اتاقک رشد کنترل شده در دمای۲±۲۶ درجه‌ی سلسیوس با ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی نگهداری شدند. برای کال‌زایی تنها از تاریکی استفاده شد. پس از کال‌زایی از نوک ریشه، دو بار واکشت کال‌ها انجام شد. سپس کال‌های تولیدی به محیط کشت جنین زایی (۴ هفته) و نهایتاً به محیط کشت باززایی گیاه (۸ هفته) واکشت شدند.

گیاهان باززایی شده به منظور تحریک پیازدهی به مدت ۲ هفته در معرض سرمای ۴ درجه‌ی سلسیوس قرار داده شدند. سپس گیاهچه‌های درون شیشه‌ای که پیازچه تشکیل دادند به گلخانه انتقال داده شدند. در این تحقیق از آزمایش فاکتوریل در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی با سه تکرار استفاده شد. هر واحد آزمایشی شامل دو پتری‌دیش ۱۰ سانتی‌متری و هر پتری‌دیش حاوی ۱۰ ریز نمونه بود. صفات مورد بررسی در این تحقیق شامل وزن تر، قطر کال، درصد کال‌زایی از ریز نمونه (در واکشت اول و دوم)، درصد کال جنین زا (۸-۴ هفته بعد از کشت)، تعداد جنین در هر کال (۱۲-۸ هفته بعد از کشت)، درصد باززایی گیاه ( برحسب ریز نمونه و کال، ۱۶-۱۲ هفته بعد از کشت) بود. بعد از جمع‌آوری داده‌ها، آزمون صحت فرضیات تجزیه واریانس با استفاده از نرم‌افزار SPSS 13 صورت گرفت. مقایسه میانگین‌ها به روش آزمون چنددامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد.

**جدول ۱**ـ محیط‌های کشت و توالی آنها برای کال‌زایی و باززایی

**Table 1**- Culture mediums for callus induction and regeneration

| محیط کشت Culture medium | ترکیب Combination | ویتامین‌ها Vitamins | ساکاروز (درصد) Sucrose | تنظیم کننده‌های رشد (میلی‌گرم در لیتر) Growth regulators | محیط کشت مورد استفاده Culture medium |
|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 50٪ MS | 50% MS | 1/5 | - | جوانه‌زنی Germination |
| 2 | N6 | MS | 2 | (0/5 2,4-D) | کال‌زایی Callus induction |
| 3 | N6 | MS | 2 | (kinetin 0/5 +0/5 2,4-D) | کال‌زایی Callus induction |
| 4 | N6 | MS | 2 | (1 2,4-D) | کال‌زایی Callus induction |
| 5 | N6 | MS | 2 | (۱kinetin + 1 2,4-D) | کال‌زایی Callus induction |
| 6 | MS | MS | 3 | - | جنین‌زایی Embryo induction |
| 7 | MS | MS | 3 | 1BA | باززایی Regeneration |
| 8 | MS | MS | 3 | 0/5BA | باززایی Regeneration |

MS, Murashiye & Skoog;. N6, chu *et* al; 2,4-D, 2- 4-dichloro phenoxyocetic acid; BA: N6 benzyladenine pH= 5.8

www.SID.ir

## نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که درصد کال‌زایی به طور معنی‌داری تحت تاثیر نوع رقم و محیط کشت قرار گرفت اما اثر متقابل این دو عامل بر روی درصد کال‌زایی معنی‌دار نبود (جدول ۱). مقایسه میانگین ارقام نشان داد که رقم سفید کاشان نسبت به رقم قرمز ری از درصد کال‌زایی بیشتری برخوردار بود. اختلاف درصد کال‌زایی بین این ارقام را می‌توان به اختلاف ژنتیکی بین ارقام نسبت داد (جدول ۲). در هر ۴ محیط کشت مورد استفاده، کال‌زایی از کشت نوک ریشه مشاهده شد. بنابراین، در محیط‌های کشت با kinetin و بدون آن کال‌زایی اتفاق افتاده است و به نظر می‌رسد که برای کال‌زایی وجود 2,4-D ضروری بوده و لازم است که برای القای بهینه، این هورمون به محیط کشت اضافه شود. بنابراین، به نظر می‌رسد که غلظت بالای kinetin ازکال‌زایی کشت‌های نوک ریشه کاسته و با توجه به این‌که در کشت‌های حاوی ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر kinetin نیز درصد کال‌زایی نسبت به دو محیط کشت فاقد آن، کمتر می‌باشد (جدول ۳)، لذا اضافه کردن kinetin به محیط کشت جهت کال‌زایی ضروری به نظر نمی‌رسد. همچنین، با توجه به این‌که محیط‌های کشت دارای ۰/۵ و ۱ میلی‌گرم در لیتر 2,4-D از درصد کال‌زایی برابری برخوردار می‌باشند، لذا برای کال‌زایی بهینه از کشت نوک ریشه استفاده از ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر 2,4-D می‌تواند مفید واقع شود. کوانتاناسیرا و همکاران (Quintana-Sierra *et al.* 2005) نیز به نتایج فوق دست پیدا کردند.

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اختلاف معنی‌داری بین رشد نوک ریشه‌های کشت شده در ارقام مورد مطالعه وجود دارد (جدول ۱). به طوری‌که ژنوتیپ‌های مورد بررسی از لحاظ طول ریشه متفاوت بودند. هر دو رقم سفید کاشان و قرمز ری از رشد بهتری برخوردار بودند (جدول ۲). اختلاف معنی‌داری بین محیط‌های کشت و نیز اثر متقابل محیط کشت در رقم از نظر این صفت مشاهده نشد (جدول ۱). بنابراین، چهار محیط کشت مورد مطالعه باعث رشد نوک ریشه کشت شده و وجود یا عدم وجود kinetin و نیز غلظت بالای 2,4-D باعث تحریک رشد ریشه نشد. ارقام مورد بررسی نیز عکس‌العمل یکسانی از لحاظ رشد ریشه در محیط‌های کشت مورد بررسی داشتند (جدول ۳).

نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان داد که اختلاف معنی‌داری بین ارقام مورد مطالعه از لحاظ قطر کال در دو واکشت، وجود نداشت و ارقام از رشد ظاهری برابری در دو واکشت برخوردار بودند (جدول ۱). اختلاف معنی‌داری بین میانگین محیط‌های کشت مختلف از نظر این صفات مشاهده نشد (جدول ۳). بنابراین، در محیط‌های کشت با kinetin و بدون آن رشد کال صورت گرفته و نشان می‌دهد که برای افزایش قطر کال وجود هورمون 2,4-D کافی است، لذا برای رشد بهینه‌ی کال استفاده از ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر 2,4-D می‌تواند مفید واقع شود. همچنین، اثر متقابل رقم در محیط کشت معنی‌دار نبود.

تجزیه واریانس نشان داد که وزن کل کال به طور معنی‌داری تحت تأثیر رقم قرار گرفت (جدول ۱). نتایج مقایسه میانگین ارقام نشان داد که وزن کل کال تولیدی در رقم سفید کاشان بیشتر از رقم قرمز ری بود (جدول ۲). وزن کل کال از نوع محیط کشت و اثر متقابل محیط کشت در رقم متاثر نشد. هر چهار محیط کشت باعث رشد خوب کال شده (جدول ۳) و این رشد مناسب در محیط‌های کشت مورد بررسی از نوع رقم متاثر نشد، بنابراین برای رشد بهینه‌ی کال‌ها در هر چهار رقم محیط کشت حاوی ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر 2,4-D مناسب خواهد بود. واندرواک و همکاران (Vandervalk *et al.* 1992)، زینک و همکاران (Zheng *et al.* 1998) و میرز و سیمون (Myers

Archive of SID

www.SID.ir

and Simon, 1998) وجود 2,4-D و سایر اکسین‌ها از جمله ایندول استیک اسید را برای کال‌زایی موثر دانستند.

متوسط وزن کال در واکشت اول از اثرات ساده و متقابل فاکتورهای مورد مطالعه متاثر نشد و بنابراین متوسط وزن کال‌های تولید شده در ارقام و محیط‌های کشت مختلف برابر می‌باشد. این امر نشان می‌دهد که رشد ریزنمونه‌های پاسخ داده در تمامی کشت‌ها تقریبا برابر بوده و اختلاف در وزن کل کال ارقام مختلف ناشی از تفاوت در درصد کال‌زایی می‌باشد. با توجه به نتایج حاصله از تجزیه واریانس، وزن کل کال و متوسط وزن کال در واکشت دوم به طور معنی‌داری تحت تأثیر رقم و همچنین تحت تأثیر محیط کشت قرار نگرفت از طرفی اثر متقابل دو فاکتور محیط کشت و رقم بر روی این دو صفت معنی‌دار نبود (جدول ۱). رقم سفید کاشان وزن کال بالاتری را دارا بود (جدول ۲) و غلظت بالای kinetin از وزن کل کال کاسته و اضافه کردن به محیط کشت جهت افزایش وزن کل کال ضروری به نظر نمی‌رسد. برای به دست آوردن وزن بهینه‌ی کال استفاده از ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر 2,4-D می‌تواند مفید واقع شود. با توجه به این که ارزیابی وزن تر کال در واکشت دوم دقیق‌تر از واکشت اول است، لذا می‌توان نتیجه گرفت که رشد کال ارقام در محیط‌های کشت مورد بررسی به‌طور مناسبی انجام شده و ارقام توانایی رشد برابری را در محیط‌های کشت از خود نشان دادند. با این حال به‌علت معنی‌دار نبودن اثر نوع محیط کشت، می‌توان از غلظت ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر 2,4-D استفاده کرد. در کل می‌توان چنین استدلال کرد که پس از تولید کال در ارقام مختلف، رشد کال‌های حاصل برابر بوده و اگر هدف فقط تولید کال باشد هر دو رقم و محیط کشت مورد استفاده، قابل پیشنهاد برای مطالعات بعدی خواهد بود. با این حال، چون هدف از این مطالعه در نهایت تولید گیاه کامل (شکل ۱) می‌باشد، لذا نتیجه‌گیری در مورد نوع محیط کشت و رقم منوط به ارزیابی توانایی آنها در تولید گیاهچه خواهد بود.

تجزیه واریانس نشان داد که درصد کال جنین‌زا به طور معنی‌داری تحت تأثیر رقم بود، اما نوع محیط کشت روی درصد کال جنین‌زا تأثیر معنی‌داری نداشت (جدول ۱). به عبارتی تمامی محیط‌های کشت مورد آزمایش از درصد کال جنین‌زای برابری برخوردار بود. همچنین، با توجه به این که اثر متقابل نوع رقم در نوع محیط کشت بر روی درصد کال جنین‌زا معنی‌دار نبود (جدول ۱)، لذا، ارقام مورد استفاده در هر چهار محیط کشت قادر به تولید کال جنین‌زا بوده و به نظر می‌رسد که محیط کشت حاوی ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر 2,4-D برای ارقام مورد استفاده مناسب باشد. کوانتاناسیرا و همکاران (2005 Quintana- Sierra *et al.*) نیز این موارد را بر روی ژنوتیپ‌های مختلف پیاز گزارش دادند و موفق به تولید کال‌های جنین‌زا در ۱۰۰ درصد نوک ریشه‌های کشت شده در دو رقم شدند. همچنین، بیکر و وستین (به نقل از Quintana- Sierra *et al.* 2005) بر روی بادام زمینی، استینز و همکاران (به نقل از 2005 Quintana- Sierra *et al.*) بر روی فلفل گزارش کردند. همان‌طورکه در شکل ۲ نشان داده شده است،کال‌های اندام‌زا ساختارهای ویژه‌ای را تولید کردند که از لحاظ علمی جنین نامیده می‌شود. آرمسترانگ و گرین (به نقل از 2005 Quintana- Sierra *et al.*) بر روی ذرت، رابلدو پاز و توفر گرافیاس (Robledo- paz, and Tofre- Garfias, 2000) بر روی سیر و کوانتاناسیرا و همکاران (2005 Quintana- Sierra *et al.*) بر روی دو ژنوتیپ مکزیکی پیاز،کال‌های جنین‌زا را مشاهده کردند.

Archive of SID

www.SID.ir

تجزیه واریانس نشان داد که تعداد جنین در هر کال به طور معنی‌داری تحت تأثیر رقم قرار گرفت اما محیط کشت و اثر متقابل رقم در محیط کشت روی تعداد جنین تأثیر معنی‌داری نداشت (جدول ۱). مقایسه میانگین ارقام نشان داد رقم سفید کاشان بیشتر از رقم قرمز ری جنین تولید نمود (جدول ۲) و حداکثر آن در محیط کشت حاوی ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر 2,4-D دیده می‌شود (جدول ۳) و همانند صفات قبلی وجود kinetin نتوانست در کنار 2,4-D باعث بهبود تعداد جنین در هر کال شود. لذا به نظر می‌رسد که kinetin در غلظت‌های مورد استفاده بی‌تاثیر بوده است از طرف دیگر ۱ میلی‌گرم در لیتر 2,4-D نسبت به مقدار ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر از تعداد جنین کمتری برخوردار بود (هر چند که اختلاف بین آنها معنی‌دار نیست)، بنابراین هورمون‌های داخلی سلول‌های کال در حدی است که اضافه کردن 2,4-D نمی‌تواند در بهبود تولید جنین موثر باشد. باززایی پیاز در این تحقیق از نوع باززایی غیرمستقیم بود که نتایج آن براساس ریزنمونه و کال ارایه گردید.

نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان داد که درصد باززایی گیاه بر حسب ریز نمونه به طور معنی‌داری تحت تأثیر رقم قرار داشت، اما نوع محیط کشت و اثر متقابل این دو عامل روی درصد باززایی گیاه معنی‌دار نبود (جدول ۱). مقایسه میانگین ارقام نشان داد که رقم سفید کاشان بر حسب ریزنمونه از درصد باززایی بالاتری نسبت به رقم قرمز ری برخوردار بود (جدول ۲). این دو رقم از پتانسیل ژنتیکی مناسبی برای باززایی گیاه برخوردار بودند (شکل ۱). اختلاف معنی‌دار بین محیط‌های کشت دیده نشد. به نظر می‌رسد که غلظت ۰/۵ میلی‌گرم 2,4-D نسبت به بقیه‌ی محیط‌های کشت برای باززایی گیاه مناسب باشد.

تجزیه واریانس نشان داد که باززایی بر حسب کال به طور معنی‌داری تحت تأثیر رقم می‌باشد (جدول ۱). مقایسه میانگین ارقام نشان داد رقم سفید کاشان بر حسب کال باززایی بیشتری نسبت به رقم قرمز ری را داشت (جدول ۲). محیط کشت و اثر متقابل رقم در محیط کشت روی درصد باززایی بر حسب کال معنی‌دار نبود (جدول ۳). درصد باززایی در محیط‌های کشت مورد استفاده متغیر بود و نوع ترکیب هورمونی روی این صفت تاثیر نداشته و استفاده از kinetin نمی‌تواند روی درصد باززایی گیاه تاثیر مثبت داشته باشد. از طرف دیگر با توجه به معنی‌دار نبودن اثر متقابل، محیط کشت حاوی ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر 2,4-D نسبت به بقیه‌ی محیط‌های کشت برای باززایی گیاه (برحسب کال) در ارقام مورد مطالعه می‌تواند مناسب باشد. در نهایت ۰/۵میلی‌گرم 2,4-D جهت کال‌زایی و باززایی دو رقم پیاز سفید کاشان و قرمز ری مناسب تشخیص داده شد.

## نتیجه‌گیری نهایی

پیاز رقم سفید کاشان از حداکثر درصد القای کال و درصد باززایی برخوردار بود و رشد بهینه‌ی کال‌ها و باززایی در هر چهار محیط کشت حاوی ۰/۵ میلی‌گرم بر لیتر 2,4-D صورت گرفت.

## سپاس‌گزاری

بدین وسیله از پژوهشکده بیوتکنولوژی شمال و شمال غرب کشور که امکان انجام این تحقیق را فراهم کردند، صمیمانه تشکر و قدردانی می‌شود.

Archive of SID

www.SID.ir

**جدول ۱**- تجزیه واریانس صفات اندازه‌گیری شده در نوع محیط کشت و رقم در کشت بافت پیاز

**Table 1**- Analysis of variance measured traits in type of culture medium and cultivar in onion's tissue culture

| منابع تغییر S.O.V | درجه آزادی df | میانگین مربعات Mean Square | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | القای کال Callus induction | طول ریشه Root length | قطر کال در واکشت اول Callus diameter in first sub culture | قطر کال در واکشت دوم Callus diameter in second sub culture (mg) | متوسط وزن کال در واکشت اول Average weight of callus in first sub culture (mg) | متوسط وزن کال در واکشت دوم Average weight of callus in second sub culture (mg) | کال جنین‌زا (درصد) Embryogenic callus (%) | تعداد جنین در هر کال Number of embryo in each callus | باززایی از ریزنمونه Regeneration of explant | باززایی از کال Regeneration of callus |
| رقم cultivar | 1 | 0.13$^{**}$ | 2.6$^{**}$ | 0.76$^{ns}$ | 0.4$^{ns}$ | 0.0005$^{ns}$ | 0.0005$^{ns}$ | 0.002$^{*}$ | 3.9$^{*}$ | 0.05$^{**}$ | 0.001$^{*}$ |
| محیط کشت culture medium | 3 | 0.078$^{ns}$ | 3.4$^{ns}$ | 0.23$^{ns}$ | 0.9$^{ns}$ | 0.002$^{ns}$ | 0.003$^{ns}$ | 0.06$^{ns}$ | 3.6$^{ns}$ | 0.01$^{ns}$ | 0.01$^{ns}$ |
| رقم×محیط کشت culture medium×cultivar | 3 | 0.071$^{ns}$ | 7.73$^{ns}$ | 0/89$^{ns}$ | 0.8$^{ns}$ | 0.005$^{ns}$ | 0.005$^{ns}$ | 0.15$^{ns}$ | 4.3$^{ns}$ | 0.03$^{ns}$ | 0.2$^{ns}$ |
| خطای آزمایش experiment error | 16 | 0.034 | 3.08 | 0.93$^{ns}$ | 1.6 | 0.004 | 0.0043 | 0.1 | 2.06 | 0.02 | 0.1 |
| ضریب تغییرات (درصد) CV (%) | | 0.44 | 0.71 | 0.52 | 0.56 | 0.68 | 0.59 | 0.56 | 0.88 | 0.73 | 0.83 |

ns، * و ** به ترتیب غیر معنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد و یک درصد

* and ** Non- Significant at 5% and 1% probability, respectively; ns: non - significant

www.SID.ir

**جدول ۲**- مقایسه میانگین ارقام پیاز از نظرصفات مختلف مورد مطالعه در کشت بافت بر اساس‌آزمون‌دانکن

**Table 2-** Comparison of mean onion cultivars for different studied traits in tissue culture with Duncan's test method

| صفات Traits | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| ارقام Cultivars | القای‌کال (درصد) Callus Induction | طول ریشه (میلی‌متر) Root length | قطر کال در واکشت اول (میلی‌متر) Callus induction in first sub culture | قطر کال در واکشت دوم (میلی‌متر) Callus induction in second sub culture | متوسط وزن کال در واکشت اول (میلی‌گرم) Average weight of callus in first sub culture (mg) | متوسط وزن کال در واکشت دوم (میلی‌گرم) Average weight of callus in second sub culture (mg) | کال جنین‌زا (درصد) Embryogenesis callus | تعداد جنین در هر کال (عدد) The number of embryo in each callus | باززایی از ریزنمونه (درصد) Regeneration of explant | باززایی از کال (درصد) Regeneration of callus |
| سفید کاشان Kashan white | 49.46 ±5.5 a | 97.32 ±1.2 a | 20.97±2.91 a | 24.35 ±3.5 a | 9.47±2.5 a | 11.79±3.4 a | 64.24±9.6 a | 73.5±13.67 a | 25.42±4.8 a | 61.84±10.3 a |
| قرمز ری Rey red | 32.26±4.9 b | 69.88±1.3 b | 16.96±2.1 a | 21.48±3.2 a | 8.04±2.3 a | 10.19±3 a | 60.07±8.6 b | 46±12.23 b | 15±4.2 b | 59±9.2 b |

حروف غیر مشابه در هر ستون نشان‌دهنده‌ی وجود تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد می‌باشد.

Non-similar letters are significant difference at the 5% probably level

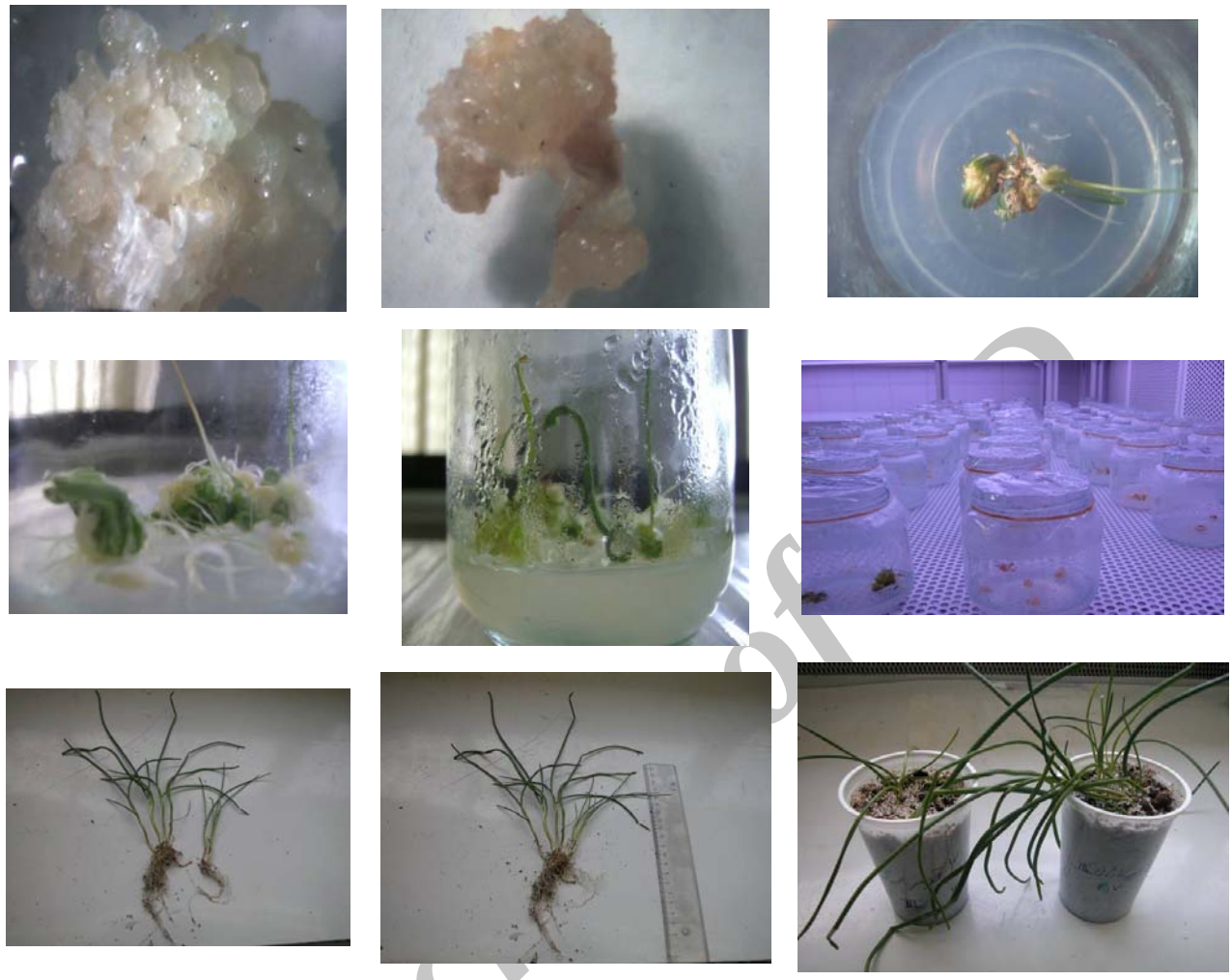
**جدول ۳- مقایسه میانگین ترکیب محیط کشت از نظر صفات مختلف مورد مطالعه در کشت بافت براساس‌آزمون دانکن**

**Table3-** Comparison of mean combined culture medium for different studied traits in tissue culture with Duncan's test method

| صفات | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| ترکیب محیط کشت | القای‌کال (درصد) Callus Induction | طول ریشه (میلی‌متر) Root length | قطر کال در واکشت اول (میلی‌متر) Callus induction in first sub culture | قطر کال در واکشت دوم (میلی‌متر) Callus induction in second sub culture | متوسط وزن کال در واکشت اول (میلی‌گرم) Average weight of callus in first sub culture (mg) | متوسط وزن کال در واکشت دوم (میلی‌گرم) Average weight of callus in second sub culture (mg) | کال جنین‌زا (درصد) Embryogenesis callus | تعداد جنین در هر کال(عدد) The number of embryo in each callus | باززایی از ریزنمونه (درصد) Regeneration of explant |
| 1mg/l 2, 4-d | 39.17±5.2 a | 97.7±5.1 a | 24.04±2.7 a | 25.23±3.3 a | 7.96±2.4 a | 10.37±3.2 a | 68.98±9.1 a | 63.3±1.2 a | 25±4.5 a |
| 0.5mg/l 2, 4-d | 58.53±5.2 a | 91.6±5.1 a | 19.16±2.7 a | 21.84±3.3 a | 11.9±2.4 a | 13.99±3.2 a | 72.81±9.1 a | 70.8±1.2 a | 23±4.5 a |
| 0.5mg/lkinetin+0.5mg/l 2,4-d | 45±4.9 a | 51.7±4.3 a | 18.6±2.6 a | 26±3.2 a | 8.71±2.3 a | 10.7±3 a | 62.04±8.6 a | 64.3±1.2 a | 20.83±4.2 a |
| 1mg/l kinetin + 1mg /l2, 4-d | 23.71±5.5 a | 10.4±6.02 a | 14.34±2.9 a | 16.44±3.5 a | 7.71±2.5 a | 9.43±3.4 a | 44.28±9.6 a | 44.4±1.3 a | 13±4.8 a |

حروف غیر مشابه در هر ستون نشان‌دهنده وجود تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد می‌باشد.

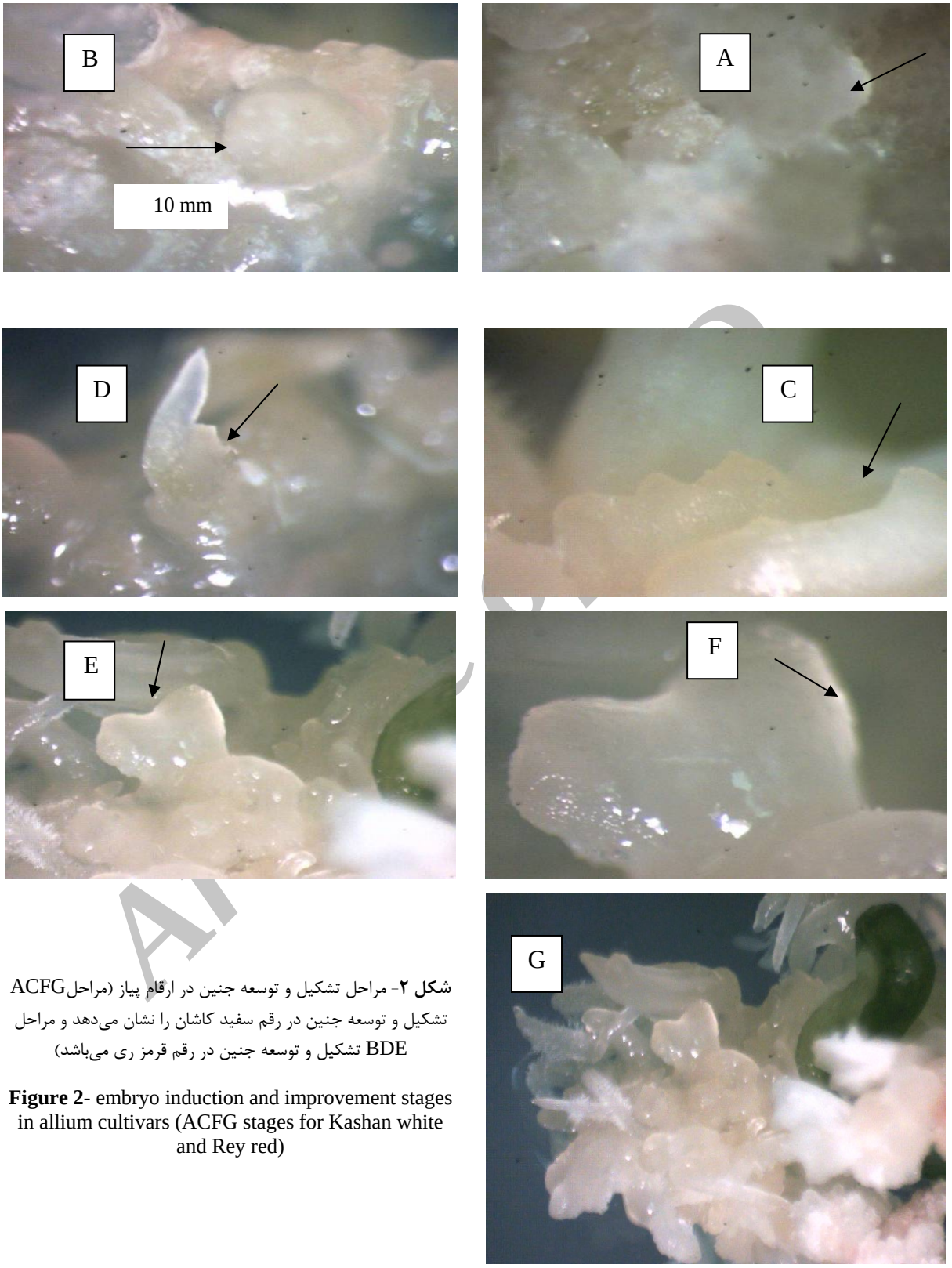
Non-similar letters are significant difference at the 5% probably level.



**شکل ۱**- چند شاخه‌ای بودن و مراحل کال‌زایی و باززایی در دو رقم پیاز سفید کاشان و قرمز ری (به ترتیب در قسمت بالا از چپ به راست)

**Figure 1**- Multi branching, callus and embryo induction stages in two allium cultivars ( Kashan white and Rey red) (left to right)

www.SID.ir




**شکل ۲**- مراحل تشکیل و توسعه جنین در ارقام پیاز (مراحلACFG تشکیل و توسعه جنین در رقم سفید کاشان را نشان می‌دهد و مراحل BDE تشکیل و توسعه جنین در رقم قرمز ری می‌باشد)

**Figure 2**- embryo induction and improvement stages in allium cultivars (ACFG stages for Kashan white and Rey red)

www.SID.ir

## References

## منابع مورد استفاده


- Dunstan, D.I. and K.C. Short. 1978. Shoot production from onion callus tissue cultures. *Scientia Horticulturae*. 9: 99- 110.
- Khar, A., R.D. Bhutani, N. Yadav, and V.K. Chowdhury. 2005. Effect of explant and genotype on callus culture and regeneration in onion (*Allium cepa* L.). *Plant cell. Tiss. Org. Cult*. 18 (3): 397-404.
- Kahane, R., M. Rancillac and B. Teyssendierdelaserve. 1992. Long- term multiplication of onion (*Allium cepa* L.) by cyclic shoot regeneration *in vitro*. *Plant Cell. Tiss. Org. Cult*. 28: 281-288.
- Kamstaityte, D.V. and V. Stangs. 2002. Path ways of onion regeneration via flower and ovary culture. *Zemdirbyste, Mcks Io Darbai*. 78: 245- 250.
- Murashige, T. and F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant*. 15: 473- 497.
- Myers, J.M. and P.W. Simon. 1998. Continuous callus production and regeneration of garlic (*Allium sativum* L.) using root segments from shoot tip. Derived platlets. *Plant Cell Rep*. 17: 726- 730.
- Quintana–Sierra, M.E., A. Robledo- Paz, A. Santancruz-Varela, M. A. Gutierrez Espinosa, G. Carrillo-Castaneda, and J.L. Cabrera- Poce. 2005. In vitro regeneration of onion (*Allium cepa* L.) plants. *Articulo en Agrociencia*. 39: 647- 655.

Robledo-Paz, A., V.M., Villalobos-Arambula, and A.E. Tofre- Garfias. 2000. Efficient plant regeneration of garlic (*Allium sativum* L.) by root tip culture. *In vitro Cellular Devel. Biol. Plant*. 36: 446- 419.

- Sacker, M.M. 1997. In vitro regeneration of onion through repetitive somatic embryogenesis. *Biologia. Plantarum*. 40: 499- 506.
- Tanikawa, T., M. Takagi, and M. Ichii. 1998. Varietal differences in plant regeneration from solid and Suspension cultures in onion (*Allium cepa* L.). *J. Japan. Soc. Hort. Sci*. 64: 856-861.
- Vandervalk, P., O.E. Schoten, F. Vestuppen, R.C. Jansenand, J.J.M. Dans. 1992. High frequency somatic embryogenesis and plant regeneration from zygote embryo derived callus culture of three *Allium* species. *Plant cell. Tiss. Org. Cult*. 30: 181- 191.
- Zheng, S., B. Henken, E. Sofiari, E. Jacobsen, F.A. Krens, and C. Kik. 1998. Factor influencing induction, propagation and regeneration of mature zygotic embryo derived callus from (*Allium cepa* L.). *Plant cell. Tiss. Org. Cult*. 53: 99- 105.


Archive of SID

www.SID.ir