تولید پیازچه گیاه موسیر (*Allium hirtifolium*) در شرایط درون شیشه‌ای

In vitro Belblet Formation of Mooseer (*Allium hirtifolium*)

حجت قهرمانی مجد[1]، فرشاد دشتی*[2]، خسرو پیری[3] و محمد باقر یاری[1]

چکیده

به‌منظور بررسی امکان تولید پیازچه گیاه موسیر در شرایط درون شیشه‌ای این مطالعه در قالب دو آزمایش جداگانه به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی و با 4 تکرار انجام شد. در آزمایش اول اثر NAA در دو غلظت 0/5 و 1 میلی‌گرم در لیتر و BA با پنج غلظت صفر، 0/5، 1، 2 و 3 میلی‌گرم در لیتر و در آزمایش دوم ساکارز در 4 غلظت 30، 45، 60 و 90 گرم در لیتر و 2 نوع قند شامل شکر معمولی و ساکارز خالص (99/9 درصد) بر تولید پیازچه از ریز نمونه‌های صفحه پایگاهی موسیر در محیط کشت پایه MS مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد در محیط کشت‌های حاوی NAA ولی بدون BA هیچ‌گونه پیازچه‌ای تولید نگردید و نمونه‌ها به سمت تولید کالوس پیش رفتند. بیش‌ترین تعداد پیازچه (متوسط 4/65) در تیمار 2 میلی‌گرم در لیتر BA و 1 میلی‌گرم در لیتر NAA و کم‌ترین آن از تیمار شاهد (بدون هورمون) به‌دست آمد. درشت‌ترین پیازچه‌ها نیز در تیمار 3 میلی‌گرم در لیتر BA و 0/5 میلی‌گرم در لیتر NAA تولید شدند. در آزمایش دوم اثر نوع قند و اثر متقابل نوع قند و سطوح مختلف قند بر تولید پیازچه معنی‌دار نبود. این امر مشخص می‌سازد که می‌توان به‌جای ساکارز از شکر معمولی استفاده نمود و هزینه‌های تولید را به‌طور قابل ملاحظه‌ای کاهش داد. با افزایش غلظت قند تا 60 گرم در لیتر تولید پیازچه‌ها افزایش یافت. کم‌ترین تعداد پیازچه در تیمار 30 و 90 گرم در لیتر قند به‌دست آمد. با افزایش غلظت قند قطر پیازچه‌های تولیدی نیز افزایش یافت.

واژه‌های کلیدی: موسیر، صفحه پایگاهی، کشت بافت، پیازچه

Archive of SID

1 و 2. به ترتیب دانشجویان کارشناسی ارشد علوم باغبانی و استادیار گروه باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان
3. دانشیار گروه بیوتکنولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان
*: نویسنده مسوول Email: dashti1350@yahoo.com

www.SID.ir

مقدمه

موسیر با نام علمی *Allium hirtifolium* گیاهی پیاز دار و چند ساله از خانواده آلیاسه می‌باشد. این گیاه بومی ایران است و به‌صورت خودرو در مراتع مرتفع و نقاطع کوهستانی می‌روید (ریشنگر[1]، 1984). گیاه موسیر در صنایع غذایی و دارویی کاربرد گسترده‌ای داشته و از این رو اهمیت اقتصادی قابل ملاحضه‌ای دارد. این گیاه دارای ارزش غذایی بالایی بوده و از برگ، پیاز و پودر آن در صنایع غذایی استفاده می‌شود (ابراهیمی و همکاران، 2008). موسیر هم‌چنین دارای خواص دارویی از جمله خاصیت ضد باکتری (رهبر و همکاران، 2006) ضد میکروبی (*تاران*[2] و همکاران، 2006) و ضد تومور می‌باشد (قدرتی آزادی و همکاران، 2008).

خواص دارویی، خوراکی و صنعتی این گیاه باعث شده که به‌صورت بی رویه و شدید مورد بهره برداری قرار گیرد به‌طوری‌که هر ساله مقدار زیادی موسیر از رویشگاه‌های طبیعی استحصال می‌شود. از طرف دیگر این گیاه ارزشمند به علت تخریب مراتع، چرای بیش از حد و هجوم آفات به شدت در حال انقراض است. بنابراین ازدیاد موسیر برای تامین نیاز روز افزون و حفظ بقای آن بسیار حایز اهمیت است. این گیاه از طریق کاشت پیازچه‌های اطراف پیاز اصلی و هم از طریق کشت بذر قابل تکثیر است، اما هر دو روش با مشکلات عملی مواجه می‌باشند. بذر موسیر دارای رکود دوگانه بوده و تولید پیاز از طریق بذر به 3-2 سال زمان تحت شرایط خوب نیاز دارد تا از نظر اقتصادی سوخ قابل قبول تولید کند(اسدیان و همکاران، 1379). تکثیر از طریق پیازچه نیز به دلیل ضریب تکثیر پایین مقرون به صرفه نمی‌باشد. به دلیل اهمیت موسیر و بالا بودن نیاز صنایع غذایی و دارویی به گیاه مزبور و هم‌چنین احتمال نابودی آن بر اثر استفاده بی رویه از طبیعت و محدودیت در تکثیر، ضروری است که از روش‌های تکثیر سریع، کارا و کوتاه مدت استفاده شود. با در نظر گرفتن موارد فوق و به دلیل محدودیت در روش‌های مرسوم تکثیر استفاده از فنون کشت بافت می‌تواند راه کار مناسب و سریعی برای ازدیاد موسیر محسوب گردد.

تکثیراز طریق کشت بافت در جنس آلیوم به صورت گسترده‌ای مورد مطالعه قرار گرفته است. و از قسمت‌های مختلفی چون بذر (*واورچ*[3] و همکاران، 2001)، مریستم ریشه (*لوسینی*[4] و همکاران، 2006 و *مارتین اردیز*[5] و همکاران، 2004)، بخش‌های مختلف گل (*لوسینی* و همکاران، 2006) و صفحه پایگاهی (*ژئو*[6] 2008؛ *گابریلیا* و *لوسیانی*[7] 2006 و *ایاب* *ایاب* و *سومی*[8] 1998) بدین منظور استفاده شده است.

صفحه پایگاهی در گیاهان پیازی از بخش‌های مناسب برای ریزازدیادی این گیاهان محسوب می‌شود وگزارش‌های متعددی در این باره وجود دارد. *ژئو* و همکاران (2008) با استفاده از صفحه پایگاهی و هورمون‌های تنظیم کننده رشد شامل بنزیل آدنین و نفتالین استیک اسید موفق به تولید پیازچه در *Allium chinense* شدند. هم‌چنین *ایاب* و *سومی* (1998) برای ریز ازدیادی سیر از صفحه پایگاهی استفاده کردند و نتیجه گرفتند که استفاده از صفحه پایگاهی برای تکثیر سیر و هم‌چنین تولید گیاهان عاری از ویروس مناسب است.

از آن‌جائی‌که تاکنون پژوهش در رابطه با کشت بافت گیاه موسیر انجام نشده است و به‌نظر می‌رسد از طریق کشت بافت بتوان گیاه را با ضریب تکثیر به مراتب بالاتر از آن‌چه در مزرعه اتفاق می‌افتد ازدیاد نمود. در این مطالعه امکان تولید پیازچه موسیر در شرایط درون شیشه‌ای از صفحه پایگاهی به‌عنوان ریز نمونه مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

این پژوهش طی دو آزمایش مجزا به‌صورت فاکتوریل و در قالب طرح کاملا تصادفی با چهار تکرار انجام شد. در آزمایش اول اثر NAA در دو غلظت 0/5 و یک میلی‌گرم در لیتر به‌عنوان فاکتور اول و BA در پنج غلظت صفر، 0/5، 1، 2 و 3 میلی‌گرم در لیتر به‌عنوان فاکتور دوم و در آزمایش دوم اثر شکر تجاری در 4 غلظت 30، 45، 60 و 90 گرم در لیتر به‌عنوان فاکتور اول و ساکارز شرکت مرک آلمان در 4 غلظت 30، 45، 60 و 90 گرم در لیتر به‌عنوان فاکتور دوم در نظر گرفته شد. آزمایش دوم به دنبال آزمایش اول به مرحله اجرا گذاشته شد، به‌طوری‌که بهترین ترکیب هورمونی حاصل از نتایج آزمایش اول یعنی 2 میلی‌گرم در لیتر BA به همراه یک میلی‌گرم در لیتر NAA جهت آزمایش دوم مورد استفاده قرار گرفت.

در این پژوهش از توده‌های موسیر بومی منطقه همدان استفاده گردید. به‌منظور تحریک جوانه زنی، پیازهای موسیر قبل از نمونه گیری به‌مدت 2 ماه در دمای 4 درجه

1. Rechinger
2. Taran *et al.*
3. Wawrosch *et al.*
4. Luciani *et al.*
5. Martın-Urdıroz *et al.*
6. Xu
7. Gabriela and Luciani
8. Ayabe and Sumi

Archive of SID
www.SID.ir

سانتی‌گراد قرار داده شدند. در آزمایش اول صفحه پایگاهی پیاز موسیر، به‌عنوان ریز نمونه مورد استفاده قرار گرفت. ریز نمونه‌ها پس از شستشو با آب معمولی، به‌مدت 2 دقیقه در الکل 75% غوطه‌ور شده و به منظور کاهش اثر منفی الکل روی بافت گیاه بلافاصله با آب مقطر استریل آبکشی شدند و سپس با قرار گیری در محلول هیپوکلریت سدیم 3 درصد به‌مدت 15 دقیقه ضدعفونی شدند. پس از این مرحله نمونه‌ها در زیر هود سه بار با آب مقطر استریل شستشو داده شدند. از محیط کشت پایه MS (موراشیک و اسکوگ،1962) همراه با 3 درصد ساکارز برای ریز نمونه‌ها استفاده گردید. پس از تهیه محیط کشت و افزودن مقادیر تیمارهای هورمونی، pH محلول روی 0/1±5/7 تنظیم و در نهایت آگار به میزان 7 گرم در لیتر به‌عنوان جامد کننده به محلول اضافه شد، و با استفاده از اتوکلاو در دمای 121 درجه سانتی‌گراد به‌مدت 15 دقیقه استریل گردید. پیازهای موسیر به‌صورت عمودی به تکه‌های دارای صفحه پایگاهی تقسیم گردیدند، به‌طوری‌که هر تکه واجد تقریباً 2 میلی‌متر صفحه پایگاهی بود. در هر ظرف کشت چهار ریز نمونه به‌صورت عمودی روی محیط کشت قرار داده شد و در اتاقک رشد با دمای 2 ± 25 درجه سانتی‌گراد و فتوپریود 16 ساعت روشنایی نگهداری گردید. ریز نمونه‌ها 3 مرتبه به فواصل زمانی 4 هفته در محیط کشت تازه با همان ترکیب اولیه واکشت شدند تا پیازچه ظاهر گردیدند. پیازچه‌های حاصل برای تولید ریشه به همان محیط کشت قبل اما فاقد هورمون منتقل گردیدند. بعد از گذشت 15 هفته، گیاهچه های ریشه‌دار شده به گلدان‌های حاوی پیت و ورمی کولایت با نسبت 2 : 1 منتقل شدند. به منظور جلوگیری از تنش رطوبتی گلدان‌ها به مدت یک هفته درون کیسه‌های پلاستیکی دارای منافذ قرار داده شدند.

طی آزمایش اول، برخی تیمارها باعث رشد کالوس در کنار نمونه‌ها شدند. در این حالت کالوس‌ها از ریز نمونه‌ها جدا و خود به‌عنوان ریز نمونه در همان محیط اولیه واکشت شدند و میزان تولید پیازچه در آن‌ها برآورد گردید. در آزمایش دوم نحوه انجام کشت، تهیه ریز نمونه و شرایط نگهداری مشابه آزمایش اول بود. در این آزمایش برای تعیین مناسب‌ترین غلظت قند بر تولید پیازچه و هم‌چنین به دلیل اختلاف فاحش قیمت بین شکر معمولی و ساکارز مرک آلمان اثر این دو نوع قند در 4 غلظت 30، 45، 60 و 90 گرم در لیتر بر تولید پیازچه موسیر مورد ارزیابی قرار گرفت. طول، قطر و تعداد پیازچه‌ها در هر ریز نمونه صفاتی بودند که در هر دو آزمایش مورد بررسی قرار گرفتند. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم افزار SAS و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن انجام گرفت. قابل ذکر است که شاهد در تجزیه واریانس حضور نداشت.

نتایج

آزمایش اول: حدود 3 هفته پس از کشت، پیازچه‌ها روی صفحه پایگاهی شروع به تشکیل و متورم شدن کردند. بر اساس اندازه گیری‌ها مدت زمان لازم برای به‌دست آوردن یک گیاهچه کامل (شکل 1) حدود 15 هفته بود. نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر سطوح مختلف BA، NAA و هم‌چنین اثر متقابل این دو تنظیم کننده رشد بر روی صفات مورد اندازه گیری در سطح 1 درصد معنی‌دار بود. با توجه به نتایج حاصل از مقایسه میانگین‌ها (جدول 1) بیش‌ترین تعداد پیازچه (با میانگین 4/65) از هر ریز نمونه از محیط کشت حاوی 2 میلی‌گرم در لیتر BA همراه با 1 میلی‌گرم در لیتر NAA و پس از آن محیط کشت حاوی 1 میلی‌گرم در لیتر BA همراه با 0/5 میلی‌گرم در لیتر NAA (با میانگین 4/55 پیازچه از هر ریز نمونه) حاصل شد که از نظر آماری اختلافی با یکدیگر نداشتند. و از طرف دیگر کم‌ترین تعداد پیازچه از محیط کشت شاهد با میانگین (0/92) پیازچه از هر ریز نمونه به‌دست آمد. در محیط کشت‌های بدون BA پیازچه‌ای حاصل نشد. بزرگ‌ترین پیازچه‌ها از نظر طول و قطر از محیط کشت حاوی 3 میلی‌گرم در لیتر BA به همراه 1 میلی‌گرم در لیتر NAA به‌دست آمد. کوچک‌ترین پیازچه‌ها از نظر طول و قطر از محیط کشت حاوی 2 میلی‌گرم در لیتر BA همراه با 1 میلی‌گرم در لیتر NAA حاصل شد. ترکیب هورمونی ذکر شده بیش‌ترین تعداد پیازچه را تولید نمود.

آزمایش دوم: نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر نوع قند و هم‌چنین اثر متقابل نوع قند و سطوح مختلف قند بر تولید پیازچه معنی‌دار نمی‌باشد. ولی سطوح مختلف قند بر تعداد پیازچه در سطح 1 درصد معنی‌دار می‌باشد. همان‌طوری‌که در شکل (2) مشخص شده مقایسه میانگین‌ها نشان داد که با افزایش غلظت ساکارز در محیط کشت تعداد پیازچه‌های حاصله نیز افزایش یافت. مقدار60 گرم در لیتر موجب تولید پیازچه بیشتری نسبت به 3 غلظت دیگر مورد استفاده شد. و کم‌ترین تعداد پیازچه در غلظت 30 و90 گرم تولید شد. قند در غلظت‌های بالا (90 گرم در لیتر) سبب تولید پیازچه‌های بزرگ‌تری نسبت به سایر تیمارها شد.

Archive of SID

www.SID.ir

a b c

d e

شکل 1: ریزازدیادی گیاه موسیر. a: پیازچه حاصل، 3 هفته بعد از کشت؛ b: پیازچه‌های حاصل، 7 هفته بعد از کشت؛ c: پیازچه حاصل، 12 هفته بعد از کشت (در محیط حاوی 2 میلی‌گرم در لیتر BA همراه با 1 میلی‌گرم در لیتر NAA)؛ d: انتقال پیازچه به محیط بدون هورمون جهت ریشه‌زایی و e: انتقال گیاهان به گلخانه

Fig. 1: mosser micropropagation. a. bulblet, 3 weeks after culture. b. bulblets, 7 weeks after culture. c. bulblet, 12 weeks after culture (in media containing 2 mg/l BA and 1 mg/l NAA). d. Transition the bulblet to hormones free media for root production. e. Transition the plants to greenhouse

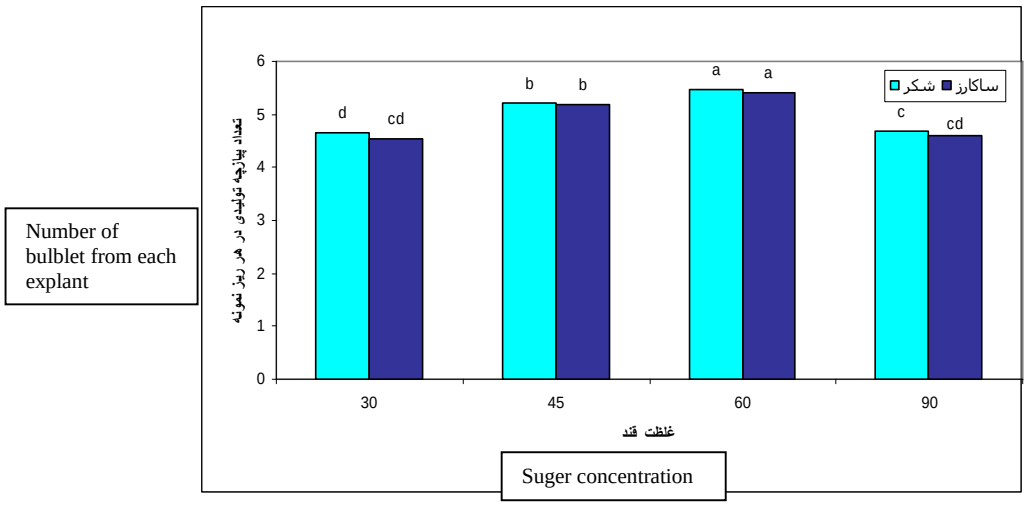
جدول 1: مقایسه میانگین اثر متقابل BA و NAA بر شاخص‌های پیازچه

Table 1: The effects of BA and NAA on bulblet traits

غلظت هورمون Hormone concentration mg/l	تعداد پیازچه (در هر ریز نمونه) Number of bulblet (in each explant)	قطر پیازچه Bulblet diameter (mm)	طول پیازچه length (mm)
اثر متقابل BA × NAA			
0×0.5	0 g	0 g	0 f
0*1	0 g	0 g	0 f
0.5×0.5	2.3 d	10.75 c	19.05 b
0.5×1	1.45 f	8.75 de	16.42 d
1×0.5	4.55 a	8.25 e	14.95 e
1×1	2.37 d	10.47 c	18.52 bc
2×0.5	3.4 b	9.15 d	17.9 c
2×1	4.65 a	7 f	15.45 e
3×0.5	1.72 e	13.75 a	21 a
3×1	3.07 c	11.65b	20.52 a
شاهد صفر (بدون هورمون)	0.92	9.25	18.77

حرف مشابه در هر ستون بیانگر عدم معنی‌دار بودن میانگین‌ها در سطح 1 درصد

www.SID.ir

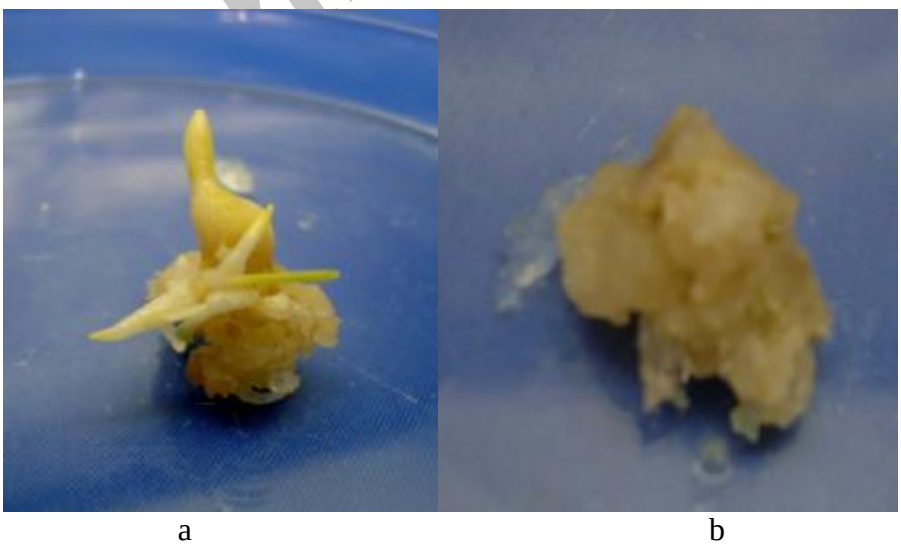


شکل 2: اثر غلظت قند بر میزان تولید پیازچه موسیر در هر ریز نمونه

Fig. 2: The effect of sucrose concentration on mooseer bulblet production in each explant

باززایی از کالوس

در آزمایش اول تیمارهای که در آن مقدار NAA در محیط کشت بیشتر از BA بود و همچنین در مواردی که میزان استفاده شده از دو تنظیم کننده برابر بود تولید کالوس مشاهده گردید (BA صفر+ NAA0/5؛ BA صفر+NAA 1؛ NAA + 0/5 BA 0/5؛ NAA+0/5 BA 1 و BA+1 NAA 1). در کشت کالوس محیط کشت‌های حاوی 1 میلی‌گرم در لیتر NAA میزان تولید کالوس بالا بود و باززایی از سطح کالوس 6-5 هفته پس از کشت مشاهده گردید (شکل 3). در بین تیمارهای کشت شده تنها در تیمارهایی باززایی صورت گرفت که در آن BA از غلظت مطلوبی در مقابل NAA بر خوردار بود (5/ میلی‌گرم در لیتر BA به همراه 5/ میلی‌گرم در لیتر NAA و 1 میلی‌گرم در لیتر BA به همراه 1 میلی-گرم در لیترNAA). و در تیمارهای که در آن BA حضور نداشت و نیز غلظت BA کمتر NAA بود باززایی از سطح کالوس مشاهده نشد.



a b

شکل 3: a: کالوس‌های تولید شده و b: باززایی از سطح کالوس با ظهور پیازچه

Fig. 3: a. callus production. b. organogenesis and bulblet production from callus

Archive of SID

www.SID.ir

بحث

عکس‌العمل ریز نمونه‌ها در شرایط کشت درون شیشه‌ای بستگی به فاکتورهای متعددی دارد. مقادیر سطوح هورمون‌های داخلی، غلظت تنظیم کننده‌های رشد خارجی و بر همکنش اثر این تنظیم کننده‌ها همگی بر پاسخ ریز نمونه موثر می‌باشد (*تورس* 1989). نفتالین استیک اسید به‌عنوان یکی از تنظیم کننده‌های رشد اکسینی نقش موثری در تقسیم سلولی دارد، بنابراین حضور آن برای باززایی لازم می‌باشد. بنزیل آدنین به‌عنوان یک سایتوکنین در تحریک رشد و نمو و تقسم سلولی نقش دارد و اضافه کردن سایتوکنین به محیط کشت سبب باززایی گیاهان می‌شود (باقری 1381). طبق نتایج حاصل، مشاهده می شود که غلظت‌های متوسط بنزیل آدنین در ترکیب با غلظت‌های پائین نفتالین استیک اسید بیش‌ترین تاثیر را در تولید پیازچه در موسیر داشته است. به‌طور کلی نسبت دو برابر بنزیل آدنین نسبت به نفتالین استیک اسید باعث اثر بهتری در تولید پیازچه می‌شود. در اکثر پژوهش‌های انجام گرفته نیز مشاهده می‌شود که در تولید پیازچه در سایر گونه‌های جنس آلیوم نسبت‌های بیشتری برای سایتوکنین نسبت به اکسین در نظر گرفته می‌شود (*ژئو* و همکاران، 2008؛ *ال‌اقباری*[1] و همکاران، 2001؛ *ایاب* و *سومی*، 1998 و *هق*[2] و همکاران، 2003). این نتایج تاکیدی بر پائین بودن احتمالی سطوح هورمونی سایتوکنین در بافت‌های موسیر می‌باشد، و به‌منظور باززایی مستقیم در موسیر غلظت سایتوکنین باید بیشتر از اکسین باشد. عدم حضور سایتوکنین یا پائین بودن نسبت سایتوکنین به اکسین باعث کاهش تولید پیازچه یا عدم تولید آن خواهد شد.

با توجه به نتایج حاصل از این آزمایش کوچک‌ترین پیازچه‌های تولیدی از نظر طول و قطر در تیمار 2 میلی‌گرم در لیتر BA به همراه 1 میلی‌گرم در لیتر NAA که بیش‌ترین تولید پیازچه را داشتند به‌دست آمد. به‌نظر می‌رسد با افزایش تعداد پیازچه، میزان مواد غذائی که به هر پیازچه می‌رسد نیز کاهش یافته و در نتیجه پیازچه اجازه رشد نمی‌یابد. با توجه به بیشتر بودن تعداد پیازچه در محیط کشت و در نتیجه رقابت بیشتر پیازچه بر سر مواد غذائی کوچک بودن سایز پیازچه‌ها امری قابل قبول به نظر می‌رسد.

تفاوتی بین شکر معمولی و ساکارز در تعداد پیازچه تولیدی مشاهده نگردید و اثر این دو نوع قند در ریزازدیادی گیاه موسیر یکسان بود. با نظر به این‌که هر دو نوع قند از نظر فرمول و ساختمان شیمیایی کاملا شبیه یکدیگر هستند و ناخالصی‌های موجود در شکر معمولی تاثیر نامطلوبی روی تکثیر موسیر نشان نداد و با توجه به قیمت بالایی ساکارز در مقایسه با شکر معمولی لذا توصیه می‌شود برای ریز ازدیادی موسیر در سطح تجاری از شکر به‌جای ساکارز استفاده شود.

با افزایش غلظت ساکارز تا 60 گرم در لیتر در محیط کشت تعداد پیازچه‌های حاصله نیز افزایش یافت. ولی در غلظت 90 گرم در لیتر میزان تولید پیازچه به‌طور معنی‌داری کاهش یافت. با توجه به این‌که افزایش میزان قند در محیط باعث افزایش ویسکوزیته محیط کشت می‌گردد، به نظر می‌رسد که سلول‌های بافت پیازچه موسیر به لحاظ افزایش ویسکوزیته محیط کشت در غلظت 90 گرم نتوانسته ارتباط جذبی مواد غذایی سلول‌ها را با محیط کشت به‌طور نرمال بر قرار کنند و بنابراین از شدت تکثیر سلولی آن‌ها کاسته شده است. اگر چه میزان سفتی فیزیکی محیط‌های مختلف کشت در غلظت‌های مختلف قند مورد بررسی قرار نگرفت، اما سفتی نسبتاً زیاد محیط کشت حاوی 90 گرم در لیتر قند به ویژه بعد از 2 هفته به وضوح آشکار بود و حکایت از آن داشت که پیازچه‌ها قادر به جذب مواد غذایی از چنین محیط کشت سفت شده‌ای نبودند. به‌طور معمول در بیشتر محیط‌های کشت از ساکارز به میزان 30 الی 60 گرم در لیتر استفاده می‌شود. غلظت قند مورد استفاده در محیط کشت به نوع گونه، جنس و سن نمونه مورد کشت بستگی دارد (پیری، 1380). مهم‌ترین منبع کربن که در تهیه محیط کشت به کار می‌رود ساکارز است. سلول‌ها و بافت‌های گیاهی مورد استفاده در کشت بافت، حتی اگر سبز و کلروفیل‌دار هم باشند به دلیل محدودیت در میزان نور و دی اکسید کربن در شرایط کشت بافت اتوتروف یا خود کفا نیستند و با محدودیت منابع قندی مواجه هستند (باقری، 1381). در تحقیقات متعددی گزارش شده است که ساکارز در غلظت‌های بالا تاثیر مطلوبی در تولید پیازچه در سایر گونه‌های جنس آلیوم دارا می‌باشد (*کلیر*[3] 1993؛ *کاستنر*[4] و همکاران، 2001 و *لیگان*[5] و همکاران، 2002).

باززایی از سطح کالوس در تیماریی مشاهده شد که در آن غلظت سایتوکنین نسبت به اکسین در تعادل بود و این نشان دهنده نقصان یا عدم کفایت سطح داخلی هورمون سایتوکنین در بافت‌های موسیر برای باززایی می‌باشد. تشکیل کالوس که طی تشکیل پیازچه در شرایط درون شیشه‌ای

1. AL-AGHABARY *et al.*
2. HAQUE *et al.*
3. KELLER *et al.*
4. Kastner *et al.*
5. LE GUEN *et al.*

Archive of SID

www.SID.ir

اتفاق افتاد احتمالاً ناشی از عدم توازن NAA در بافت ریز نمونه‌ها بوده که این خود موجب بهم خوردن تعادل فیزیولوژیکی بافت شده است، چرا که در سایر تیمارها که غلظت‌های NAA پائین‌تر از BA بود کالوس تولید نشد.

استفاده از کشت بافت به‌منظور تکثیر انبوه و تولید تجاری گیاه موسیر تا کنون گزارش نشده است. استفاده از یک برآورد تئوری، با کشت ریزنمونه‌های صفحه پایگاهی در شرایط کشت درون شیشه‌ای پس از حداکثر 12 هفته از یک پیاز موسیر به قطر 4-3 سانتی می‌توان حداکثر 25-20 پیازچه تولید کرد که این مقدار تفاوت قابل توجهی با تولید پیازچه در روش ازدیاد سنتی (3-2 پیازچه در سال) را نشان می‌دهد. بنابراین ریز ازدیادی موسیر می‌تواند به‌عنوان یک روش کارآمد و سریع برای تولید و تکثیر این گیاه ارزشمند در سطح تجاری معرفی گردد.

Archive of SID

www.SID.ir

منابع

اسدیان، ق.، جلیلی، ح.، فرامرزی، ج. و باباخانلو، پ. 1379. کشت و اهلی کردن موسیر (*Allium hirtifolium*) در همدان. مرکز تحقیقات منابع طبیعی و امور دام استان همدان. گزارش نهایی طرح.

باقری، ع. و صفاری، م .1386. مبانی کشت بافت‌های گیاهی. انتشارات دانشگاه فردوسی مشهد.

پیری، خ و نظریان فیروز آبادی، ف. 1380. راهنمای کشت بافت گیاهان. انتشارات بوعلی سینا، همدان.

Al-aghabary, K., Guo, D. P. and Zhu, Z. J. 2001. Effect of growth regulatorson plantlet regeneration and bulbing in onion (*Allium cepa*) *in vitro*. Pakistanian Journal Biological Sciences 4:374–377.

Ayabe, M. and Sumi, S. 1998. Establishment of novel tissue culture method stems disc culture and practical application to micropropagation of garlic (*Allium sativum* L.).Plant Cell Reports 7:773-779.

Ebrahimi, R., Zamani, Z. and Kashi, A. 2008. Genetic diversity evaluation of wild Persian shallot (*Allium hirtifolium* Boiss.) using morphological and RAPD Markers. Scientia Horticulturae 119: 345–351.

Gabriela, F. and Luciani, A. K. 2006. Effect of explants and growth regulators in garlic callus formation and plant regeneration. Plant Cell Tiss Organ Cult 87: 139-143.

Ghodrati Azadi, H., Mahmood Ghaffari, S., Riazi, G. H., Ahmadian, S. and Vahedi, F. 2008. Antiproliferative activity of chloroformic extract of Persian Shallot, *Allium hirtifolium*, on tumor cell lines. Cytotechnology 56:179–185.

Haque, M. S., Wada, T. and Hattori, K. 2003. Shoot regeneration and bulblet formation from and root meristem of garlic Cv Bangladesh local. Asin Journal of Plant Sciences 2(1):23-27.

Kastner, U., klahr, A., keller , E .R. J. and kahane, R. 2001. Formation of onion bulbets *in vitro* and viability during medium-term storage. Plant Caller 20 (2):137-142 .

Keller, E. R. J. 1993. Sucrose, cytokine and ethylene influence on formation of *in vitro* bulbets in onion and leek. Genetic Resource and Crop Evolution 40 (2): 113-120.

Le Guen-Le Saos, F., Hourmant, A., Esnault, F. and Chauvin, J. E. 2002. *In vitro* bulb development in shallot (*Allium cepa L.* aggregatum Group): Effects of anti-gibberellins, sucrose and light. Ann. Bot 89:419–425.

Luciani, G. F., Mary, A. K., Pellegrini, C. and Curvetto, N. R. 2006. Effects of explants and growth regulators in garlic callus formation and plant regeneration. Plant Cell Tissue Organ Cult 87:139–143.

Martı´n-Urdı´roz, N., Garrido-Gala, J., Martı´n, J. and Barandiaran, X. 2004. Effect of light on the organogenic ability of garlic roots using a one-step *in vitro* system. Plant Cell Rep 22:721–724.

Murashige, T. and Skoog, F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. Physiol. Plant 15: 473- 497.

Rahbar, M., Hoseini Taghavi, S. A., Diba, K. and Haidari, A. 2006. *In vitro* antibacterial activity of shallot (*Allium ascalonicum*) crude juice. J. Inst. Med. Plants (13), 15.1.

Rechinger, K. H. 1984. Flora Iranica, Alliaceae, Vol. 76. Akademische Druck, Univ. Verlagsanstalt Graz, Austria, 85 pp.

Taran, M., Rezaeian, M. and Izaddoost, M. 2006. *In vitro* antitrichomonas activity of *Allium hirtifolium* (Persian Shallot) in comparison with metronidazole. Iranian J Publ Health 35 (1): 92-94.

Torres, K. 1989. Tissue culture for horticulture crop. Published by Van Nostrand Reinhold .New Yourk.

Wawrosch, C., malla, P. R. and kopp, B. 2001. Micropropagation of *Allium wallichiikunth*, a threatened medicinal plant of Nepal. *In vitro* Cell Dev. Boil-Plant 37: 555-557.

Xu, Z., Yeong-Cheol Um , Y. C. and Kim, C. H. 2008. Effect of plant growth regulators, temperature and sucrose on shoot proliferation from the stem disc of Chinese jiaotou (*Allium chinense*) and *in vitro* bulblet formation. Acta Physiol Plant 30:521–528

Archive of SID

www.SID.ir

In vitro Belblet Formation of Mooseer (*Allium hirtifolium*)

Ghahremani Majd[1], H., Dashti[2]*, F., .Piri[3], Kh.[3] and Yari, M. B.[1]

Abstract

In order to study bulblet formation of mooseer from stem disc explants two separate experiments were conducted. In the first experiment, the effect of two concentrations (0.5 and 1 mg/L) of naphthaleneacetic acid (NAA) and deferent levels (0.5, 1, 2 and 3 mg/L) of benzyladenine (BA) and in the second experiment, the effect of sugar source (sucrose and common sugar) and sugar concentration (30, 45, 60 and 90 g/L) were tested. All of explants were culture in MS medium. Results showed that in media without BA no bulblet were generated and just callus were produced. The highest numbers of bulblets (4.65) were observed in 2 mg/L BA and 1 mg/L NAA which had no significant difference with 1 mg/L BA and 0.5 mg/L NAA (4.55). The biggest bulblets were produced in 3 mg/L BA and 0.5 mg/L NAA which had no significant difference with 3 mg/L BA and 1 mg/L NAA. The standard (MS medium without hormones) had the least number of bulblets. In second experiment the effect of sugar source and combination effect of sugar source and sugar concentrations were not significant on bulblet production. This showed that common sugar can be use instead of sucrose. By increasing sugar concentration up to 60 g/L bulblet production increased. The lowest number of bulblet was observed in 30 and 90 g/L sugar. In highest concentration of sucrose bigger bulblets were produced compare with other treatments.

Keywords: Mooseer, Basal plate, Tissue culture, Bulblet

Archive of SID

1. M.Sc. Student of Horticultural Sciences, Faculty of Agriculture, Bu-Ali Sina University, Hamedan
2. Assistant Professor of Horticultural Sciences, Faculty of Agriculture, Bu-Ali Sina University, Hamedan
3. Associate Professor of biotechnology, Faculty of Agriculture, Bu-Ali Sina University, Hamedan
*: Corresponding author

www.SID.ir