

«مقاله کوتاه علمی»

بررسی توانایی کال‌زایی و باززایی در ارقام پیاز قرمز آذرشهر و قولی قصه زنجان

Study of Potential of Callus Induction and *In vitro* Regeneration in Red Azarshahr
and Qoolquesseh Zanjan Onion Varieties

سیدعلی موسوی‌زاده^۱ و آيسان گوراوانچی^۲

- ۱- استادیار، مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان آذربایجان شرقی، تبریز
۲- کارشناس ارشد اصلاح نباتات، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز، تبریز

تاریخ دریافت: ۱۳۸۸/۱۰/۹ تاریخ پذیرش: ۱۳۸۹/۶/۲۵

موسوی‌زاده، س.ع. و گوراوانچی، آ. ۱۳۸۹. بررسی توانایی کال‌زایی و باززایی در ارقام پیاز قرمز آذرشهر و قولی قصه زنجان. مجله به‌زراعی

نهال و بذر ۲-۲۶ (۲): ۲۲۷-۲۳۲.

پیاز یکی از محصولات مهم سبزی در ایران است، اما در مورد باززایی درون شیشه‌ای ارقام مهم تجاری تاکنون تحقیقی وجود ندارد. تکثیر درون شیشه‌ای پیاز باززایی بوته‌هایی با ژنوتیپ مطلوب از جمله تکثیر ژنوتیپ‌های نر عقیم را در شرایط استریل امکان‌پذیر می‌سازد و نیز در تولید گیاهان عاری از بیماری، تکثیر کلونال، حفاظت ژرم‌پلاسما، نجات هیبریدهای بین گونه‌ای و ترانسفورماسیون ژنتیکی می‌تواند به کار رود (Eady, 1995) و ابزاری موثر در برنامه‌های اصلاحی در کنار روش‌های

کلاسیک باشد. در این تحقیق از آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار برای بررسی القای کالوس و باززایی درون شیشه‌ای با استفاده از نوک ریشه استفاده شد. عامل اول شامل ارقام پیاز قرمز آذرشهر و قولی قصه زنجان و عامل دوم شامل چهار محیط کشت (۲، ۳، ۴ و ۵) بود. در هر واحد آزمایشی از ۲۰ ریز نمونه نوک ریشه به طول ۳ میلی‌متر استفاده گردید. ترکیب محیط‌های کشت طبق جدول ۱ تهیه و pH محیط‌های کشت در دامنه $0.1 \pm 5/8$ در

آدرس پست الکترونیکی نگارنده مسئول: moosavizadeh2003@yahoo.com

جدول ۱- ترکیب محیط کشت مورد استفاده برای باززایی ارقام قرمز آذرشهر و قولی قصه زنجان از ریزنمونه‌های نوک ریشه حاصل از گیاهچه‌های دو روزه

Table1. Composition of the culture medium used for regeneration of plants of the Red Azarshahr and Gholighissa Zanzan varieties, from explants of root tips obtained from 2-day- old seedlings

شماره محیط کشت Medium No.	محیط کشت Medium	ویتامین‌ها Vitamins	ساکاروز (درصد) Sucrose (%)	تنظیم‌کننده‌های رشد (میلی‌گرم در لیتر) Regulators growth (mg L ⁻¹)	مورد استفاده Usage
1	50%MS	50%MS	1.5		germination
2	MS	N6	2	2, 4-D, 1.0	Callus induction
3	MS	N6	2	2, 4-D, 0.5	Callus induction
4	MS	N6	2	2, 4-D, 0.5 Kinetin, 0.5	Callus induction
5	MS	N6	2	2, 4-D, 1.0 Kinetin, 1.0	Callus induction
6	MS	MS	3		regeneration
7	MS	MS	3	BA, 1.0	regeneration
8	MS	MS	3	BA, 0.5	regeneration

MS: Murashige & Skoog (1962), N6: Chu *et al.* (1975)

2, 4-D: 2- 4-dichloro phenoxyocetic acid

Kinetin: 6-fur fury lamin purine

BA: N6- benzyladenine

محیط کشت‌های ۲، ۳، ۴ و ۵ (جدول ۱) برای القای کالوس (شکل ۲) کشت شده و به مدت ۸ هفته در تاریکی نگهداری شدند. هر چهار هفته یک بار محیط کشت تجدید شد. برای توسعه جنین و تشکیل پیازچه، نمونه‌های کالوس به محیط کشت ۶ (جدول ۱)، منتقل و به مدت ۴ هفته در آن نگهداری شدند. سپس به مدت ۴ هفته در محیط کشت ۷ (جدول ۱)، نگهداری و پس از آن به محیط کشت ۸ (جدول ۱)، منتقل و به مدت دو هفته نگهداری شدند. برای ادامه رشد، بوته‌های تمایز یافته نمونه‌ها دوباره به محیط کشت ۶ (جدول ۱)، منتقل گردیدند. کشت‌ها در اتاقک رشد کنترل شده در دمای

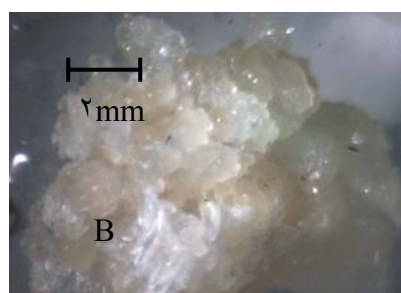
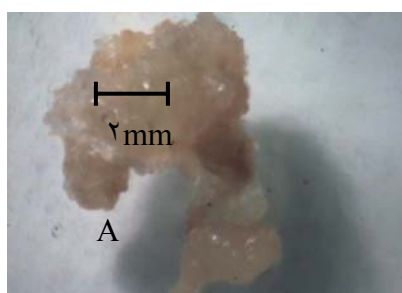
نظر گرفته شد و محیط‌های کشت به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۱۲۱ °C اتوکلاو شدند. برای تمام محیط‌های کشت از آگار-آگار خالص استفاده شد.

برای القای کالوس از هر رقم ۵۰۰ بذر انتخاب و بعد از شستشو با آب استریل و خیس کردن بذرها به مدت یک روز، با استفاده از آب اکسیژنه ۱۰ درصد و وایتکس یک درصد حاوی ۰/۴ درصد توئین ۲۰، ضد عفونی شدند و پس از شستشوی با آب استریل برای جوانه‌زنی در محیط کشت ۱ (جدول ۱) و دمای ۲۰ °C ± ۲۶ در تاریکی قرار داده شدند (شکل ۱). بعد از دو روز، نوک ریشه‌هایی به طول ۳ میلی‌متر در



شکل ۱- جوانه زنی بذرهای پیاز در محیط کشت ۱.

Fig. 1. Germination of onion seeds in the medium 1



شکل ۲- تشکیل کالوس در نوک ریشه پیاز A: قولی قصه زنجان B: قرمز آذرشهر

Fig. 2. Callus formation in the root tips of onion; A: Qooliqesseh Zanjan. B: Red Azarshahr

هفته (شکل ۳) یادداشت برداری شد و تجزیه آماری بر روی آنها با استفاده از نرم افزار MSTATC انجام و مقایسه میانگین ها با استفاده از آزمون چند دامنه ای دانکن در سطح احتمال پنج درصد انجام گرفت.

تجزیه واریانس داده ها اختلاف بسیار معنی داری بین ارقام و محیط های کشت برای تمام صفات مورد مطالعه نشان داد، اما تفاوت معنی داری برای اثر متقابل بین رقم × محیط کشت وجود نداشت (جدول ۲). نتایج نشان داد که درصد القای کالوس در هر ریزنمونه، درصد کالوس جنین زا، تعداد جنین در هر کالوس،

$26 \pm 2^\circ C$ با ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی نگهداری شدند. گیاهان باززایی شده به منظور تحریک پیازدهی به مدت ۲ هفته در معرض سرمای $4^\circ C$ قرار داده شدند. بعد از این مدت گیاهچه های درون شیشه ای که پیازچه تشکیل داده بودند به گلخانه و سپس به زمین اصلی انتقال داده شدند (شکل ۴).

صفات درصد القای کالوس از ریزنمونه، درصد کالوس جنین زا (۴-۸ هفته بعد از کشت، تعداد جنین در هر کالوس (۸-۱۲ هفته بعد از کشت)، درصد باززایی گیاه از کال ۱۶-۱۲ هفته بعد از کشت و تعداد بوته در هر ریزنمونه بعد از ۱۶



شکل ۳- تولید چندین گیاهچه در گیاهان باززایی شده
Fig. 3. Multiple shoots formation in regenerated plant



شکل ۴- گیاهچه‌های پیاز باززایی شده در گلخانه و زمین اصلی
Fig. 4. *In vitro* regeneration of onion plants in greenhouse and field

باززایی، ضریب تکثیر بالایی بخصوص اگر منشا ریز نمونه به جای گیاهچه، پیاز مادری باشد، دارد. با در نظر گرفتن تولید حدود ۷۰ عدد ریشه در هر پیاز تقریباً حدود ۴۳۴ بوته در مدت ۴ ماه از هر پیاز مادری در رقم قرمز آذرشهر می توان به دست آورد.

سپاسگزاری

بدین وسیله از مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان آذربایجان شرقی و

درصد باززایی در کالوس و تعداد بوته تولید شده در هر ریز نمونه در رقم قرمز آذرشهر بیشتر از قوی قصه زنجان بود (جدول ۳). محیط کشت N۶ همراه با توفوردی با غلظت ۰/۵ میلی گرم در لیتر برای القای کالوس و باززایی پیاز می تواند مورد استفاده قرار گیرد (جدول ۴). از نتایج حاصل از این تحقیق برای تکثیر ارقام مهم اقتصادی پیاز، ژنوتیپ های برتر، به ویژه ژنوتیپ های نرعیفیم در برنامه های تولید بذر می توان استفاده کرد. همچنین این روش

جدول ۲- تجزیه واریانس صفات مورد مطالعه در ارقام پیاز
Table2. Analysis of variance for traits in onion varieties

S.O.V.	منابع تغییرات	درجه آزادی df.	میانگین مربعات M.S				
			درصد القای کالوس از ریز نمونه Callus induction from explants (%)	درصد کال جنین زا embryogenic callus (%)	تعداد جنین در هر کال Number of embryos per callus	تعداد بوته از هر ریز نمونه Number of plants per explant	درصد باززایی از کال Regeneration of callus (%)
Variety (V)	رقم	1	0.667**	0.271**	102.54**	84.37**	0.403**
Medium culture (M)	محیط کشت	3	0.031**	0.019**	4.35**	8.49**	0.100**
V × M	رقم × محیط کشت	3	0.005 ^{ns}	0.015 ^{ns}	0.09 ^{ns}	1.49 ^{ns}	0.005 ^{ns}
Error	خطای آزمایش	16	0.004	0.002	0.69	0.79	0.005
C.V. (%)	درصد ضریب تغییرات		14.75	8.08	15.26	22.01	13.34

** : Significant at the 1% level of probability

** : معنی دار در سطح احتمال ۱٪

ns : Non-Significant

ns : غیر معنی دار

جدول ۳- میانگین صفات در توده های پیاز

Table3. Mean of traits in onion varieties

رقم	درصد القای کالوس از ریز نمونه Callus induction from explants (%)	درصد کال جنین زا Embryogenic callus (%)	تعداد جنین در هر کال Number of embryos per callus	درصد باززایی از کال Regeneration of callus percentage	تعداد بوته از هر ریز نمونه Number of plants per explant
Variety					
Red Azarshahr	60	71	7.53	68	5.9
Qooliquesseh Zanjan	27	50	3.40	42	2.2

جدول ۴- مقایسه میانگین صفات در محیط‌های کشت

Table 4. Mean comparison for traits in culture media probability

Medium No.	محیط کشت Medium	درصد القای کالوس از ریزنمونه Callus induction from explants (%)	درصد کال جنین‌زا Embryogenic callus (%)	تعداد جنین در هر کال Number of embryo per callus	درصد باززایی از کال Regeneration of callus (%)	تعداد بوته از هر ریزنمونه Number of plants per explant
2	1mg 2, 4-D	43b	57b	5.27b	67a	5.5a
3	0.5mg 2, 4-D	53a	69a	6.62a	64a	5.3a
4	0.5mg kinetin + 0.5mg 2, 4-D	42b	59b	5.40b	49b	3.7bc
5	1mg kinetin + 1mg 2, 4-D	35b	57b	4.67b	40c	2.7c

میانگین‌هایی، در هر ستون، که دارای حروف مشابه می‌باشند بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵٪ تفاوت معنی‌دار ندارند.

Means, in each column, followed by similar letter are not significantly different at the 5% probability level - Using Duncan's Multiple Range Test.

پژوهشکده بیوتکنولوژی شمال و شمال
فراهم کردند صمیمانه تشکر و قدردانی می‌شود.
غرب کشور که امکان انجام این پژوهش را

واژه‌های کلیدی: پیاز خوراکی، کال جنین‌زا، کشت بافت، ریزنمونه.

References

- Chu, C. C., Wang, C. C., Sun, S. C., Hsu, C., Yin, K. C., Chu, C. Y., and Bi, F. Y. 1975.** Establishment of an efficient medium for anther culture of rice through comparative experiments on the nitrogen sources. *Science Sinica* 18: 659-688.
- Eady, C. C. 1995.** Towards the transformation of onion (*Allium cepa* L.) *N. Z. J. Crop and Horticulture Science* 23: 239-250.
- Murashige, T., and Skoog, F. 1962.** A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiology of Plant* 15: 473-497.