علوم باغبانی ایران
دورۀ ۴۶، شمارۀ ۲، تابستان ۱۳۹۴ (ص ۲۳۱-۲۲۵)

اثر اسپرمیدین بر ماده‌زایی شش توده پیاز خوراکی بومی استان خراسان در محیط درون‌شیشه‌ای

ژیلا زنگویی[1]، محمدرضا حسندخت[2*] و عبدالکریم کاشی[3]
۱، ۲ و ۳. دانشجوی سابق کارشناسی ارشد، دانشیار و استاد، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج
(تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۱۱/۲۶ - تاریخ تصویب: ۱۳۹۳/۴/۲۱)

چکیده

این پژوهش به‌منظور بررسی اثر دو غلظت اسپرمیدین (۰/۵ و ۱ میکرومولار) بر القای ماده‌زایی شش توده پیاز خوراکی بومی استان خراسان در محیط درون‌شیشه‌ای انجام شد. نتایج نشان داد بیشترین و کمترین درصد رویان‌زایی به‌ترتیب در محیط‌های کشت M_2 و M_5 به دست آمد. بیشترین (۱/۴۱) و کمترین (۰/۳۳) درصد رویان‌زایی به‌ترتیب متعلق به توده‌های روشناوند بیرجند و سفید نیشابور بود. بیشترین درصد باززایی (۳/۳۳) مربوط به تودۀ آشخانۀ بجنورد در محیط کشت M_2 بود. تودۀ آشخانۀ بجنورد و تودۀ درگز بیشترین و کمترین درصد بقای گیاه را داشتند (به‌ترتیب ۸۱/۲۵ و ۴۹/۸۰ درصد). بنابراین، اسپرمیدین در دو غلظت ۰/۵ و ۱ میکرومولار، بدون تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی دیگر، بر ماده‌زایی پیاز تأثیر مثبت نداشت و نبایستی جایگزین 2,4-D و BA شود. ترکیب اسپرمیدین با هورمون‌های دیگر رشدی می‌تواند سبب القای ماده‌زایی در پیاز شود.

واژه‌های کلیدی: **اسپرمیدین، پیاز، کشت درون‌شیشه‌ای، ماده‌زایی.**

مقدمه

پیاز خوراکی (۲n=۱۶) یکی از سبزی‌های مهم تیرۀ آلیاسه است. به عقیدۀ واویلوف موطن اصلی پیاز خوراکی آسیای مرکزی و غربی است. فلات ایران به‌منزلۀ بخشی از آسیای مرکزی محل پیدایش و اهلی‌شدن پیاز خوراکی است (Brewster, 1994).

برخی توده‌های پیازهای بومی که توسط کشاورزان کشت می‌شوند، صفات مطلوبی مانند مقاومت به تریپس، خاصیت انبارداری طولانی و شکل و رنگ بازارپسند دارند (Noori Moghadam *et al*., 2001). بیشتر توده‌های محلی پیاز ایرانی با اینکه صفات کیفی مطلوبی دارند، ولی در مقایسه با رقم‌های هیبرید خارجی از عملکرد کمتری برخوردارند. بنابراین، تهیۀ هیبریدهایی با صفات مطلوب و عملکرد قابل قبول، ضروری به نظر می‌رسد. با توجه به دگر گرده‌افشان بودن پیاز از نظر پروتاندری[1] (حالتی که اندام نر زودتر از اندام ماده می‌رسد)، خالص‌سازی آن‌ها از طریق تولید هاپلوئید راه را برای دستیابی به سایر هدف‌های به‌نژادی و تولید سریع‌تر هیبرید F1 هموار می‌سازد. مزیت تولید لاین از طریق تولید جنین هاپلوئید نسبت به روش سنتی، دستیابی در مدت زمان کوتاه‌تر به لاین خالص است، اگرچه در صورت وجود آلل‌های نامطلوب نهفته، هاپلوئیدکردن و به دنبال آن دوبرابر کردن تعداد کروموزوم‌ها منجر به هموزیگوت شدن آلل نامطلوب و بروز صفت نامطلوب خواهد شد. تولید هاپلوئید و سپس دوبرابر کردن کروموزوم‌های آن به ایجاد دابل‌هاپلوئید می‌انجامد که سریع‌ترین روش دستیابی به اینبریدینگ کامل طی یک مرحله است (Arzani, 2008).

هم‌اکنون روش القای گیاهان هاپلوئید پیاز از کشت تخمدان‌های گرده‌افشانی نشده و گل کامل در محیط درون‌شیشه‌ای پیشرفت‌های زیادی کرده است و به‌طور موفقیت‌آمیزی توسط شرکت‌های تولید بذر استفاده

* تلفن: ۰۲۶-۳۲۲۴۸۷۲۱
E-mail: mrhassan@ut.ac.ir
1. Protandry

می‌شود (منتشرنشده). به روش‌های مختلف ازجمله کشت تخمک (Campion & Alloni, 1990)، کشت تخمدان و گل کامل (Keller, 1990) می‌توان گیاه هاپلوئید پیاز تولید کرد اما کشت جوانهٔ گل نسبت به کشت تخمدان و تخمک، نه‌تنها تعداد بیشتری جنین تولید می‌کند، بلکه نیازمند نیروی کار کمتری است (Campion *et al*., 1992). بنابراین، تولید گیاهان هاپلوئید پیاز به روش ماده‌زایی در محیط درون‌شیشه‌ای با کشت گل کامل و به دنبال آن تولید گیاهان دابل‌هاپلوئید ساده‌ترین و سریع‌ترین روش دستیابی به هموزیگوتی کامل و تولید لاین خالص است که بدون نیاز به جداکردن تخمک یا تخمدان و فقط با کاشت گل کامل طی یک مرحله صورت می‌گیرد. آزمایش‌های انجام‌شده نشان دادند که ژنوتیپ یکی از عوامل مؤثر مهم در واکنش به روش ماده‌زایی در محیط درون‌شیشه‌ای پیاز است (Muren, 1989). برخی پژوهشگران واکنش مواد ژنتیکی متعلق به مناطق جغرافیایی مختلف آمریکا، اروپا و ژاپن را به روش ماده‌زایی در محیط درون‌شیشه‌ای آزمایش کردند و نتیجه گرفتند که رقم‌های آمریکایی نسبت به اروپایی و ژاپنی درصد رویان بیشتری تولید می‌کنند (Geofriau *et al*., 1997; Bohanec & Jakse, 1999; Martinez *et al*. (2000) تأثیر پلی‌آمین‌ها در ماده‌زایی و تولید گیاهچهٔ هاپلوئید پیاز را مطالعه کردند و دریافتند که القای رویان با تیمار ۲ میلی‌مولار پوترسین و ۰/۱ میلی‌مولار اسپرمیدین افزایش یافت. استفاده از اسپرمیدین ۰/۱ میلی‌مولار پس از ۱۵ روز از کشت، سبب تحریک تولید گیاهک شد. Ponce *et al*. (2006) اثر سایکوسل، پوترسین و مواد جامدکننده را بر روی القای ماده‌زایی در پیاز بررسی کردند و نتیجه گرفتند که افزودن پوترسین، درصد رویان‌زایی را افزایش نداد. محلول‌پاشی چتر گل با سایکوسل به میزان قابل توجهی سرعت ایجاد رویان را افزایش داد. Geofriau *et al*. (2006) پلی‌آمین‌های غنچهٔ گل را اندازه‌گیری کردند. همچنین آن‌ها پلی‌آمین‌های تیرامین، اسپرمیدین و اسپرمین (با غلظت ۱۰ تا ۲۰۰۰ میکرومولار) را به محیط کشت اضافه کردند و گزارش دادند که افزودن پلی‌آمین‌ها سبب بهبود درصد رویان‌زایی در پیاز می‌شود. هدف این پژوهش ارزیابی اثر غلظت‌های مختلف اسپرمیدین در محیط کشت القایی بر القای ماده‌زایی شش توده پیاز بومی استان خراسان بود.

مواد و روش‌ها

در این بررسی شش توده پیاز بومی استان خراسان به اسامی درگز، بنهنگ تربت حیدریه، آشخانهٔ بجنورد، روشناوند بیرجند و سفید فتح‌آباد استفاده شد و تودهٔ سفید نیشابور به‌منزلهٔ شاهد در نظر گرفته شد. برای اجرای آزمایش ابتدا تعداد چهل پیاز از هر توده انتخاب و پس از ضد عفونی با بنومیل ۲ در هزار از آبان‌ماه ۱۳۸۶ کاشته شدند. پس از گلدهی و در مرحلهٔ نزدیک به شکوفایی گل‌ها[1]، چترهای گل جمع‌آوری و به‌مدت ۳۰ ثانیه با متیل الکل ۹۶ درصد (الکل صنعتی) و ۱۰ دقیقه با هیپوکلریت سدیم ۱ درصد ضد عفونی و سه بار با آب استریل شست‌وشو شدند. گل‌ها در محیط استریل از چتر جدا و گل‌های بزرگ‌تر روی محیط‌های کشت القای رویان M_1، M_2، M_3، M_4 و M_5 قرار داده شدند (جدول۱). محیط‌های کشت یادشده حاوی عناصر پرمصرف محیط کشت پایه BDS (Dunstan & Short, 1977)، عناصر کم‌مصرف محیط کشت پایه B5 (Gamborg *et al*., 1968)، ۱۰۰ گرم در لیتر ساکارز و ویتامین‌ها (شامل ۲ میلی‌گرم در لیتر تیامین، ۱ میلی‌گرم در لیتر پیریدوکسین، ۱ میلی‌گرم در لیتر اسید نیکوتینیک و ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر میواینوزیتول) بود. همهٔ محیط‌های کشت به شکل مایع تهیه شدند و اسپرمیدین با فیلتر (۰/۲۲ میکرومتر) استریل شد و به محیط کشت اتوکلاوشده اضافه شد. آزمایش به‌صورت فاکتوریل و در قالب طرح کاملاً تصادفی شامل شش توده و پنج محیط کشت بود. هر واحد آزمایشی شامل ۶۰۰ گل در دو تکرار بود در هر پتری‌دیش ۱۵×۱۰ میلی‌متر ۳۰ گل کاشته شد. گل‌های کاشته‌شده در محیط‌های کشت یادشده پس از ۴۵ روز به محیط کشت القایی دوم حاوی عناصر پرمصرف محیط کشت پایه BDS (Dunstan & Short, 1977)، عناصر کم‌مصرف محیط کشت پایه B_5 (Gamborg *et al*., 1968)، ویتامین‌ها و ۱۰۰ گرم در لیتر

1. Anthesis

ساکارز انتقال یافتند. کشت‌ها در شرایط نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی، تحت نور مصنوعی لامپ‌های فلورسنت و دمای ۲۵ درجهٔ سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۵۰ درصد اتاقک رشد قرار داده شدند. رویان‌های قابل مشاهده با بینوکولر و در شرایط سترون از تخمک جدا و به محیط کشت باززایی (حاوی عناصر پرمصرف محیط کشت پایه BDS (Dunstan & Short, 1977)، عناصر کم‌مصرف محیط کشت پایه B_5 (Gamborg *et al.*, 1968)، ویتامین‌ها و ۴۰ گرم در لیتر ساکارز) منتقل شدند و در دمای ۲۵ درجهٔ سانتی‌گراد و با همان دورهٔ نوری قبلی قرار داده شدند. شایان ذکر است که در تمام محیط‌های کشت تهیه‌شده برای آزمایش، pH برابر با ۶ تنظیم شد.

صفات درصد رویان‌زایی (تعداد رویان قابل مشاهده در ۱۰۰ گل کشت‌شده)، درصد باززایی گیاه (تعداد گیاه باززایی شده در ۱۰۰ گل کشت‌شده) درصد بقای گیاه (تعداد گیاه باززایی شده در ۱۰۰ رویان)، زمان لازم برای ظهور رویان (روز)، درصد کالوس‌زایی و درصد شیشه‌ای‌شدن گل‌ها (Hassandokht, 2001) یادداشت‌برداری و داده‌های آزمایش با نرم‌افزار SAS تجزیه و تحلیل آماری شدند. مقایسهٔ میانگین‌ها با آزمون چنددامنه‌ای دانکن انجام شد. داده‌های به‌دست‌آمده از نظر نرمال‌بودن آزموده شدند. برای نرمال‌کردن صفات درصد رویان‌زایی، درصد باززایی، درصد بقای گیاه و درصد کالوس‌زایی از تبدیل جذری $\sqrt{x+0/5}$ استفاده شد.

جدول ۱. ترکیب* محیط‌های کشت استفاده‌شده در آزمایش

ترکیب محیط کشت	محیط کشت				
	M_1	M_2	M_3	M_4	M_5
نمک‌های پرمصرف BDS (دانستان و شورت، ۱۹۷۷)	+	+	+	+	+
نمک‌های کم‌مصرف B_5 (گامبورگ و همکاران، ۱۹۶۸)	+	+	+	+	+
ساکارز (۱۰۰ گرم در لیتر)	+	+	+	+	+
2,4-D (۲ میلی‌گرم در لیتر)	+	+	+	−	−
BA (۲ میلی‌گرم در لیتر)	+	+	+	−	−
اسپرمیدین (۰/۵ میکرومولار)	−	+	−	+	−
اسپرمیدین (۱ میکرومولار)	−	−	+	−	+

ویتامین‌ها شامل ۲ میلی‌گرم در لیتر تیامین، ۱ میلی‌گرم در لیتر پیریدوکسین، ۱ میلی‌گرم در لیتر اسید نیکوتینیک، ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر میواینوزیتول، ۶ گرم در لیتر آگار

نتایج و بحث

اثر محیط کشت

براساس جدول تجزیهٔ واریانس (جدول۲)، محیط های کشت از نظر درصد رویان‌زایی، درصد کالوس‌زایی و تعداد روزهای لازم برای ظهور رویان در سطح ۱ درصد تفاوت معناداری داشتند، ولی از نظر درصد باززایی، درصد بقا و درصد شیشه‌ای‌شدن گل‌ها تفاوت معناداری نداشتند. مقایسهٔ میانگین صفات اندازه‌گیری شده برای پنج نوع محیط کشت (جدول۳) نشان داد که محیط‌های کشت M_1، M_2 و M_3 از نظر میزان رویان‌زایی با یکدیگر تفاوت معنادار نداشتند و درصد رویان‌زایی آن‌ها بیشتر از محیط‌های کشت M_4 و M_5 بود.

جدول ۲. نتایج تجزیهٔ واریانس صفات رویان‌زایی، باززایی، بقای گیاه، کالوس‌زایی و شیشه‌ای‌شدن گل‌ها و زمان لازم تا ظهور رویان در شش توده پیاز بومی استان خراسان

منابع تغییر	درجهٔ آزادی	میانگین مربعات					
		رویان‌زایی	باززایی	بقای گیاه	کالوس‌زایی	شیشه‌ای‌شدن	زمان لازم تا ظهور رویان
محیط کشت	۴	۰/۵۷**	۰/۱۳^{ns}	۲۰/۲۲^{ns}	۴/۴۳**	۰/۶۷^{ns}	۲/۲۰**
توده	۵	۰/۱۹*	۰/۱۵*	۷/۸۴^{ns}	۱/۷۵**	۹/۰۶**	۱/۰۹**
محیط کشت × توده	۲۰	۰/۱۴^{ns}	۰/۱۴*	۸/۴۸^{ns}	۰/۵۳**	۱/۰۸*	۰/۲۸^{ns}
خطای آزمایش	۳۰	۰/۰۸	۰/۰۵	۱۲/۱۶	۰/۰۶	۰/۴۵	۰/۲۰

** تفاوت معنادار در سطح ۱ درصد؛ * تفاوت معنادار در سطح ۵ درصد؛ ns: نبود تفاوت معنادار.

نتایج گروه‌بندی برای درصد باززایی مشابه رویان‌زایی بود. Geoffriau *et al.* (2006) گزارش دادند که نسبت‌های خاصی از پلی‌آمین‌ها ازجمله اسپرمیدین برای ماده‌زایی موفق در پیاز مورد نیاز است و تیرامین، اسپرمیدین و اسپرمین در میزان تولید رویان تأثیر مثبتی دارند و افزایش غلظت اسپرمین یا اسپرمیدین سبب افزایش درصد رویان‌زایی می‌شود. براساس نتایج این پژوهش مشخص شد که اثر اسپرمیدین در دو غلظت ۰/۵ و ۱ میکرومولار بدون تنظیم‌کننده‌های رشد دیگر بر روی رویان‌زایی منفی بود (جدول۳). تأثیر مثبت 2,4-D و BA بر رویان‌زایی پیاز خوراکی توسط پژوهشگران زیادی گزارش شده است (Campion *et al.*, 1992; Bohanec & Jakse, 1999; Hassandokht, 2001; Bohanec, 2002).

جدول ۳. مقایسهٔ میانگین* محیط کشت M_1، M_2، M_3، M_4 و M_5 از نظر رویان‌زایی، باززایی، بقای گیاه، کالوس‌زایی، شیشه‌ای‌شدن گل‌ها و زمان لازم برای ظهور رویان

صفات / محیط کشت	M_1	M_2	M_3	M_4	M_5
رویان‌زایی (درصد)	۰/۹۷a	۱/۱۸a	۱/۳۰a	۰/۳۹b	۰/۱۲b
باززایی (درصد)	۰/۵۲ab	۱/۰۸a	۱/۰۲a	۰/۴۹ab	۰/۳۵ b
بقای گیاه (درصد)	۵۳/۶۷a	۷۴/۳۰a	۷۳/۰۹a	۴۶/۶۷ a	۱۰۰a
کالوس‌زایی(درصد)	۳/۴۱b	۴/۳۸a	۱/۷۹c	۰b	۰b
شیشه‌ای‌شدن گل‌ها (درصد)	۸/۴۴a	۷/۳۱a	۷/۴۶a	۱۱/۷۸a	۱۰/۴۶a
زمان لازم برای ظهور رویان (روز)	۸۷/۴۰a	۸۳/۲۶a	۸۹/۷۷a	۶۸/۵۲b	۶۸/۷۵b

* آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد.

هر پنج محیط کشت مورد نظر از نظر درصد بقای گیاه تفاوت معناداری نداشتند. محیط‌های کشت از نظر زمان لازم تا ظهور رویان تفاوت معناداری داشتند و کمترین زمان لازم تا ظهور رویان متعلق به محیط کشت M_4 بود که با محیط کشت M_5 تفاوت معناداری نداشت. هرچه زمان لازم تا ظهور رویان کوتاه‌تر شود، پروسهٔ تولید گیاه هاپلوئید و به دنبال آن لاین خالص کوتاه‌تر می‌شود و از این نظر چنین محیط‌های کشتی برتری دارند. محیط‌های کشت از نظر درصد شیشه‌ای‌شدن گل‌ها تفاوت معناداری با هم نداشتند. مقایسهٔ درصد کالوس‌زایی در محیط‌های کشت مختلف، تفاوت معناداری نشان داد. اگرچه در محیط‌های کشت‌های M_4 و M_5 هیچ کالوسی تشکیل نشد، محیط کشت M_2 بیشترین درصد کالوس‌زایی را داشت. تشکیل کالوس برای جنین‌زایی مستقیم یک عیب محسوب می‌شود و از این نظر محیط‌های کشت M_4 و M_5 بر سایر محیط‌های کشت برتری دارند.

اثر توده

نتایج تجزیهٔ واریانس (جدول۲) نشان داد که توده‌ها از نظر درصد کالوس‌زایی، درصد شیشه‌ای‌شدن و زمان لازم تا ظهور رویان، در سطح ۱ درصد و از نظر درصد رویان‌زایی و درصد باززایی در سطح ۵ درصد تفاوت معنادار داشتند، ولی از نظر درصد بقا، تفاوت معناداری مشاهده نشد. نتایج آزمون مقایسهٔ میانگین توده‌های پیاز مطالعه‌شده (جدول۴) نشان داد که تودهٔ روشناوند بیرجند بیشترین درصد رویان‌زایی، باززایی و درصد تشکیل کالوس را داشت. کمترین درصد رویان‌زایی مربوط به توده‌های آشخانهٔ بجنورد، درگز و سفید نیشابور بود. تأثیر قوی ژنوتیپ بر ماده‌زایی پیاز خوراکی توسط سایر پژوهشگران گزارش شده است (Allan *et al.*, 2004, Sulistyaningsih *et al.*, 2006). نتایج به‌دست‌آمده در این پژوهش با نتایج Muren (1989) و Hassandokht (2001) با رویان‌زایی صفر تا ۳ درصد در توده‌های پیاز خوراکی مطابقت داشت، ولی با نتایج برخی پژوهشگران (Allan *et al.*, 2004; Geofriau *et al.*, 1997; Bohanec & Jakse; 1999) در مورد برخی ژنوتیپ‌های پیاز خوراکی که درصد رویان‌زایی بالایی نشان دادند (۵ـ۷ درصد)، مطابقت نداشت. Bohanec (2002) بالابودن درصد رویان‌زایی در برخی ژنوتیپ‌های

پیاز خوراکی را به‌دلیل اینبرد لاین و دورگ‌بودن آن‌ها ذکر کرد و احتمال داد که ژن‌های نامطلوب در این ژنوتیپ‌ها حذف شده باشد. توده‌های مطالعه‌شده در این پژوهش، توده‌های پیاز خوراکی با گرده‌افشانی آزاد بودند، بنابراین واکنش کم آن‌ها به ماده‌زایی طبیعی بود.

جدول ۴. مقایسهٔ میانگین توده‌های پیاز بومی استان خراسان از نظر رویان‌زایی، باززایی، بقای گیاه، زمان لازم تا ظهور رویان، کالوس‌زایی و شیشه‌ای‌شدن گل‌ها

صفات / رقم	آشخانهٔ بجنورد	روشناوند بیرجند	بنهنگ تربت حیدریه	درگز	فتح‌آباد	نیشابور
رویان‌زایی (درصد)	۰/۶۴a	۱/۴۱ a	۰/۹۵ ab	۰/۶۱ b	۰/۸۰ ab	۰/۳۳ b
باززایی (درصد)	۱/۳۱ a	۱/۳۴ a	۰/۷۳ab	۰/۳۷ b	۰/۶۶ ab	۰/۳۷ b
بقای گیاه (درصد)	۸۱/۲۵a	۶۰/۸۶ a	۷۳/۱۱ a	۴۹/۸۰ a	۶۰/۶۳ a	۸۱/۰۰ a
کالوس‌زایی (درصد)	۰/۸۰cd	۳/۷۰a	۲/۳۰ b	۱/۱۳ c	۳/۵۱ a	۰/۰۶ d
شیشه‌ای‌شدن گل‌ها (درصد)	۹/۳۹ab	۱۶/۹۵a	۵/۷۷ c	۹/۱۵ c	۱۱/۹۷ b	۱/۳۱ d
زمان لازم برای ظهور رویان (روز)	۸۲/۸۷ab	۷۱/۶ c	۸۸/۶۸ a	۸۳/۷۰ ab	۸۸/۶۶ a	۷۹/۳۹ ab

توده‌های مختلف از نظر درصد بقا با هم تفاوت معناداری نداشتند. تودهٔ روشناوند بیرجند کمترین و رقم بنهنگ تربت حیدریه بیشترین زمان تا تولید رویان را داشتند. همچنین تودهٔ نیشابور کمترین درصد شیشه‌ای‌شدن گل‌ها را داشت (جدول۴).

اثر متقابل توده و محیط کشت

نتایج واریانس (جدول۲) نشان داد که اثر متقابل توده و محیط کشت در مورد درصد کالوس‌زایی در سطح ۱ درصد و از نظر درصد شیشه‌ای‌شدن و درصد باززایی در سطح ۰/۵ درصد معنادار بود، ولی درصد رویان‌زایی و درصد بقای گیاه تفاوت معناداری مشاهده نشد. مقایسهٔ میانگین ترکیب‌های تیماری محیط کشت و توده با آزمون دانکن (جدول۵) نشان داد که بیشترین میزان رویان‌زایی مربوط به ترکیب تیماری تودهٔ روشناوند بیرجند در محیط کشت M_3 بود. ترکیب‌های تیماری توده‌های آشخانهٔ بجنورد، روشناوند بیرجند و درگز در محیط کشت M_5 و توده‌های آشخانهٔ بجنورد و درگز در محیط کشت M_4 هیچ رویانی تولید نکردند. درصد باززایی تودهٔ روشناوند بیرجند در محیط کشت M_3 مشابه با میزان رویان‌زایی بود و به همراه تودهٔ آشخانهٔ بجنورد در محیط کشت M_2 در گروه برتر قرار گرفت. به نظر می‌رسد که تودهٔ روشناوند بیرجند در محیط کشت M_3 واکنش مناسبی به القای ماده‌زایی در بین توده‌های مطالعه‌شده از خود نشان می‌دهد.

نتایج میانگین ترکیب‌های تیماری توده در محیط کشت بررسی میزان بقای گیاه (جدول۵)، نشان داد که ترکیب‌های تیماری توده‌های آشخانهٔ بجنورد در محیط کشت‌های M_1 و M_2، بنهنگ تربت حیدریه، فتح‌آباد و سفید نیشابور در محیط کشت M_5 و سفید نیشابور در محیط کشت‌های M_2 و M_3 از بیشترین درصد بقای گیاه برخوردار بود و همگی در گروه برتر قرار گرفتند.

جدول ۴ نشان داد که ترکیب تیماری تودهٔ روشناوند بیرجند در محیط کشت M_5 بیشترین میزان شیشه‌ای‌شدن گل‌ها داشت و کمترین درصد شیشه‌ای‌شدن گل‌ها در ترکیب تیماری تودهٔ سفید نیشابور در محیط کشت M_4 و M_5 مشاهده شد. شش توده در محیط‌های کشت M_4 و M_5 هیچ کالوسی تولید نکردند. تودهٔ بنهنگ تربت حیدریه در محیط کشت M_2 بیشترین میزان تولید کالوس را به خود اختصاص داد. کمترین زمان لازم برای ظهور رویان، در ترکیب تیماری تودهٔ روشناوند بیرجند در محیط کشت M_4 مشاهده شد (جدول۵). بیشترین مدت زمان برای ظهور رویان مربوط به ترکیب‌های تیماری توده‌های بنهنگ حیدریه و فتح‌آباد در محیط کشت M_1 و توده‌های بنهنگ تربت حیدریه، فتح‌آباد، درگز و سفید نیشابور در محیط کشت M_3 و تودهٔ فتح‌آباد در محیط کشت M_2 بود. در این آزمایش از مجموع ۱۵۸۴۲ گل کشت‌شده در محیط

کشت‌های مختلف، ۱۲۸ رویان (۰/۸ درصد) تولید شد. از این تعداد ۱۴ رویان (۱۱ درصد) بدون رشد باقی ماندند. سه رویان (۲/۳۴ درصد) فقط برگ، ۸ رویان (۶/۲۵ درصد) فقط ریشه و ۷۳ رویان (۵۷ درصد) گیاه کامل تولید کردند. بیشترین میزان رویان‌زایی مربوط به تودهٔ روشناوند بیرجند در محیط کشت M_3 بود. در این مطالعه بررسی اثر دو غلظت متفاوت اسپرمیدین بر ماده‌زایی توده‌های پیاز خوراکی نشان داد که استفاده از اسپرمیدین به‌تنهایی نمی‌تواند تأثیری بر القای ماده‌زایی در پیاز خوراکی داشته باشد و استفاده از اسپرمیدین به همراه 2,4-D و BA نتایج قابل قبولی در توده‌های مختلف نشان داد.

جدول ۵. مقایسهٔ میانگین اثر متقابل محیط کشت M_1، M_2، M_3، M_4 و M_5 و تودهٔ آشخانهٔ بجنورد C_1، روشناوند بیرجند C_2، بنهنگ تربت حیدریه C_3، درگز C_4، فتح‌آباد C_5، و سفید نیشابور C_6 از نظر باززایی، کالوس‌زایی و شیشه‌ای‌شدن

محیط کشت × توده	درصد باززایی	درصد کالوس‌زایی	درصد شیشه‌ای‌شدن
C_1M_1	۰/۸۳b	۲/۵۲d-g	۱۱/۸۲b-g
C_2M_1	۰/۷۶b	۶/۹۳b	۱۰b-g
C_3M_1	۰/۳۴b	۱/۷۵efg	۱۰/۷۳b-g
C_4M_1	۰b	۳/۰۴def	۶/۸c-g
C_5M_1	۰/۴۶b	۶/۱۹bc	۱۰/۳۱b-g
C_6M_1	۰/۶۷b	۰g	۱g
C_1M_2	۳/۳۳a	۰/۹۸fg	۳/۴۷efg
C_2M_2	۱/۱۱b	۷/۵ab	۱۶/۶۷bcd
C_3M_2	۰/۸۳b	۹/۳۷a	۴/۳۷efg
C_4M_2	۰/۵۹b	۱/۴۱fg	۶/۲۵c-g
C_5M_2	۰/۲۹b	۷b	۱۰/۶۷b-g
C_6M_2	۰/۴۴b	۰g	۲/۴۱efg
C_1M_3	۰/۵۳b	۰/۴۸g	۹/۲۲b-g
C_2M_3	۳/۲۵a	۴cde	۷/۸۹b-g
C_3M_3	۰/۶۱b	۰/۳۶g	۴/۰۳efg
C_4M_3	۰/۳۴b	۱/۱۷fg	۱۳/۵۳b-f
C_5M_3	۰/۷b	۴/۳۳cd	۷/۶۶c-g
C_6M_3	۰/۳۲b	۰/۲۹g	۲/۴۵efg
C_1M_4	b۰	۰g	۱۰/۶۵b-g
C_2M_4	۰/۱۱b	۰g	b۱۹/۶۸
C_3M_4	۱/۳۴b	۰g	۷/۴c-g
C_4M_4	۰b	۰g	۱۴/۳۲b-e
C_5M_4	۰b	۰g	۱۷/۹۵bc
C_6M_4	۰b	۰g	۰/۶۷g
C_1M_5	۰b	۰g	۱۱/۸۳b-g
C_2M_5	۰b	۰g	۳۰/۴۸a
C_3M_5	۰/۳۳b	۰g	۲/۳۴fg
C_4M_5	۰b	۰g	۴/۸۴d-g
C_5M_5	۰/۳۸b	۰g	۱۳/۲۶b-f
C_6M_5	۰/۳۴b	۰g	۰g

* مقایسهٔ دانکن در سطح احتمال ۵ درصد. ستون‌های دارای حروف مشابه تفاوت معناداری با هم ندارند.

REFERENCES

1. Allan, A.R., Brants, A., Cobb, E., Goldschmied, P.A. & Earle, E.D. (2004). Fecond gynogenic lines from onion (*Allium cepa* L.) breeding materials. *Plant Science*, 167, 1055-1066.

2. Arzani, A. (2008). Breeding of Agronomical Plants. Publication of Isfahan Technoligy University, 606 pp. (in Farsi)
3. Bohanec, B., Jakse, M., Ihan, A. & Javornic, B. (1995). Studies of gynogenesis in onion (*Allium cepa* L.) induction procedures and genetic analysis of regenerants. *Plant Science*, 104 (2), 215-224.
4. Bohanec, B. & Jakse, M. (1999). Vatiation in gynogenesis response among long day onion (*Allium cepa* L.) accessions. *Plant Cell Report*, 18, 737-742.
5. Bohanec, B. (2002). Doubled haploid onions, in: H.D. Rabinowitch, L. Currah (Eds), *Allium Crop Science: Recent Advances*. CABI Publishing. Wallingford, UK, pp. 145-158.
6. Brewster, J.L. (1994). *Onion and Other Vegetable Alliums*. CAB International Publication. 236 pp.
7. Campion, B. & Alloni, C. (1990). Induction of haploid plants in onion (*Allium cepa* L.) by *in vitro* culture of unpollinated ovules. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 20, 1-6.
8. Campion, B., Azzimonti, M.T., Vicini, E. & Schiavi, M. (1992). Advances in haploid plants induction in onion (*Allium cepa* L.) through *in vitro* gynogenesis. *Plant Science*, 86, 97-104.
9. Dunstan, D.I. & Short, K.C. (1977). Improved growth of tissue cultures of onion (*Allium cepa* L.). *Acta Horticulturae*, 392, 123-128.
10. Gamborg, O.L., Miller, R.A. & Ojima, K. (1968). Nutrient requirements of suspension cultures of soybean root cells. *Experimental Cell Research*, 50, 157-158.
11. Geoffriau, E., Kahane, R. & Rancillac, M. (1997). Variation of gynogensis ability in onion (*Allium cepa* L.). *Euphytica*, 94, 37-44.
12. Geoffriau, E., Kahane, R. & Martin-Tanguy, J. (2006). Polyamies are involved in the gynogenesis process in onion. *Physiologia Plantarum*, 127, 119-129.
13. Hassandokht, M.R. (2001). *Investigation of inbred line production of Iranian onion via in vitro gynogenesis*. Ph.D. Thesis in Horticulture, University of Tehran, 141 pp. (in Farsi)
14. Keller, J. (1990). Culture of unpollinated ovules, ovaries, and flower buds in some species of the genus *Allium* and haploid induction via gynogenesis in onion (*Allium cepa* L.). *Euphytica*, 47, 241-247.
15. Martinez, L.E., Aguero, C.B., Lopez, M.E. & Galmarini, C.R. (2000). Improvement of *in vitro* gynogenesis induction in onion (*Allium cepa* L.) using polyamines. *Plant Science*, 156, 221-226.
16. Muren, R. (1989). Haploid plant induction from unpollinated ovaries in onion. *HortScience*, 24, 833-834.
17. Noori Moghadam, R., Habibi, J., Aftabi, M., Akbari Nooshad, Sh., Mortazavi Bag, A. & Baghery, R. (2001). Searching tolerance or resistance of Iranian onion cultivars to thrips. 6 th. Congress of Agronomy and Plant Breeding, Babolsar, September 2000, P. 20.
18. Ponce, M., Martinez, L. & Galmarini, C. (2006). Influence of CCC, putrescine and gellan gum concentration on gynogenic embryo induction in *Allium cepa* L. *Biologia Plantarum*, 50(3), 425-428.
19. Sulistyaningsih, E., Aoyagi, Y. & Tashiro, Y. (2006). Flower bud culture of shallot (*Allium cepa* L. *aggregatum* group) with cytogenetic analysis of resulting gynogenic plants and somaclones. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 87, 249-255.