بسم الله الرحمن الرحیم
الحمد لله رب العالمین الرحمن الرحیم مالک یوم الدین
اهدنا الصراط المستقیم صراط الذین
انعمت علیهم غیر المغضوب علیهم
ولا الضالین

دانشکده علوم کشاورزی

گروه زراعت و اصلاح نباتات

پایان‌نامه برای دریافت درجه کارشناسی ارشد در رشته اصلاح نباتات

عنوان

باززایی درون شیشه‌ای و کشت سوسپانسیون سلولی گیاه سیر

اساتید راهنما

دکتر ناصر زارع

دکتر امید سفالیان

اساتید مشاور

دکتررسول اصغری زکریا

دکتر سعید خماری

توسط

رقیه مقنی‌باشی منصوریه

مهر ماه ۹۲

تعهدنامه‌ی اصالت اثر و رعایت حقوق دانشگاه

تمامی حقوق مادّی و معنوی مترتب بر نتایج، ابتکارات، اختراعات و نوآوری‌هایِ ناشی از انجام این پژوهش، متعلق به **دانشگاه محقق اردبیلی** می‌باشد. نقل مطلب از این اثر، با رعایت مقرّرات مربوطه و با ذکر نام دانشگاه محقق اردبیلی، نام استاد راهنما و دانشجو بلامانع است.

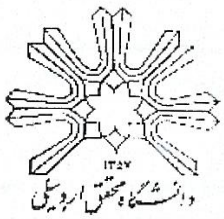
اینجانب **رقیه مقنی باشی منصوریه** دانش‌آموخته‌ی مقطع کارشناسی ارشد رشته‌ی **مهندسی کشاورزی** گرایش **اصلاح نباتات** دانشکده‌ی **علوم کشاورزی** دانشگاه محقق اردبیلی به شماره‌ی دانشجویی **۹۰۳۳٤٤۳۱۱۵** که در تاریخ **۱۳۹۲/۷/۳۰** از پایان‌نامه‌ی تحصیلی خود تحت عنوان **باززایی درون شیشه‌ای و کشت سوسپانسیون سلولی گیاه سیر** دفاع نموده‌ام، متعهد می‌شوم که:

۱) این پایان‌نامه را قبلاً برای دریافت هیچ‌گونه مدرک تحصیلی یا به عنوان هرگونه فعالیت پژوهشی در سایر دانشگاه‌ها و مؤسسات آموزشی و پژوهشی داخل و خارج از کشور ارائه ننموده‌ام.
۲) مسئولیت صحّت و سقم تمامی مندرجات پایان‌نامه‌ی تحصیلی خود را بر عهده می‌گیرم.
۳) این پایان‌نامه، حاصل پژوهش انجام شده توسط اینجانب می‌باشد.
٤) در مواردی که از دستاوردهای علمی و پژوهشی دیگران استفاده نموده‌ام، مطابق ضوابط و مقرّرات مربوطه و با رعایت اصل امانت‌داری علمی، نام منبع مورد استفاده و سایر مشخصات آن را در متن و فهرست منابع و مآخذ ذکر نموده‌ام.
۵) چنانچه بعد از فراغت از تحصیل، قصد استفاده یا هر گونه بهره‌برداری اعم از نشر کتاب، ثبت اختراع و ... از این پایان‌نامه را داشته باشم، از حوزه‌ی معاونت پژوهشی و فنّاوری دانشگاه محقق اردبیلی، مجوزهای لازم را اخذ نمایم.
٦) در صورت ارائه‌ی مقاله‌ی مستخرج از این پایان‌نامه در همایش‌ها، کنفرانس‌ها، سمینارها، گردهمایی‌ها و انواع مجلات، نام دانشگاه محقق اردبیلی را در کنار نام نویسندگان (دانشجو و اساتید راهنما و مشاور) ذکر نمایم.
۷) چنانچه در هر مقطع زمانی، خلاف موارد فوق ثابت شود، عواقب ناشی از آن (منجمله ابطال مدرک تحصیلی، طرح شکایت توسط دانشگاه و ...) را می‌پذیرم و دانشگاه محقق اردبیلی را مجاز می‌دانم با اینجانب مطابق ضوابط و مقرّرات مربوطه رفتار نماید.

نام ونام خانوادگی دانشجو: رقیه مقنی باشی منصوریه

امضا

تاریخ



دانشکده علوم کشاورزی

گروه زراعت و اصلاح نباتات

باززایی درون شیشه‌ای و کشت سوسپانسیون سلولی گیاه سیر

توسط

رقیه مقنی باشی منصوریه

پایان نامه برای دریافت درجه کارشناسی ارشد رشته اصلاح نباتات

از

دانشگاه محقق اردبیلی

ایران - اردبیل

ارزیابی وتصویب شده توسط کمیته پایان نامه با درجه.....عالی.....

دکتر ناصر زارع (استاد راهنما و رییس کمیته داوران).....(استادیار)

دکتر امید سفالیان (استاد راهنما).....(استادیار)

دکتررسول اصغری زکریا (استاد مشاور).....(دانشیار)

دکتر سعید خماری (مشاور).....(استادیار)

دکترعلی اصغری (داور داخلی).....(دانشیار)

تقدیم به:

پدر و مادر عزیزم

دو فرشته هستی بخش که مشوق من در آغاز راه و همراه

بی توقع و بی دریغ ادامه این راه بودند

سپاسگزاری

سپاس بیکران بر همدلی و همراهی و همگامی پدر و مادر دلسوز و مهربانم، یاران صمیمی زندگیم که وجودشان مایه دلگرمی و افتخار من بود هکه سجده ی ایثارشان گل محبت را در وجودم پرورانند و دامان گهربارشان لحظه های مهربانی را به من آموخت، و خواهران و برادران عزیزم که بدون آن یاری نمودن این راه برایم بس دشوار بود.

و با تقدیر و تشکر شایسته از استاد بزرگوار جناب آقای دکتر ناصر زارع که با صبوری و تلاش های بی شائبه خود مرا در انجام این پایان نامه راهنمایی نمودند کمال سپاسگزاری را دارم. از جناب اقای دکتر امید سفالیان که همیشه در به خوبی انجام شدن پایان نامه مرا راهنمایی نمودند کمال سپاسگزاری را دارم. از اساتید مشاور جناب آقای دکتر رسول اصغری زکریا و جناب آقای دکتر سعید خاری که زحمت مشاوره این پایان نامه را بر عهده داشتند کمال سپاسگزاری را دارم و در پایان از جناب آقای دکتر علی اصغری که زحمت باز خوانی و داوری این پایان نامه را بر عهده گرفتند کمال تشکر را دارم.

فهرست مطالب

عنوان **صفحه**

فصل اول ۱

۱-۱-مقدمه ۲

۱-۳- قدمت و گیاه شناسی سیر ۳

۱-۳-ترکیبات شیمیایی سیر ۵

۱-٤- خواص دارویی سیر ٦

۱-۵-کاربرد و اهمیت مهندسی کشت بافت ۷

۱-٦-مزایای کشت بافت گیاهی ۷

۱-۷- ریزازدیادی ۹

۱-۸- کشت کالوس ۹

۱-۹- کشت سوسپانسیون سلولی ۱۰

۱-۱۰-رشد کشت سلولی ۱۱

۱-۱۱- سیستم‌های کشت سلولی ۱۱

۱-۱۲- کشت بافت گیاهی و تولید متابولیت ثانویه ۱۲

۱-۱۳- جنین‌زایی سوماتیکی ۱٤

۱-۱٤- مطالعات کشت بافت در گیاه سیر ۱٦

۱-۱۵- اهداف پژوهش ۱۸

فصل دوم ۱۹

۲-۱- مواد گیاهی ۲۰
۲-۲- تهیه محیط کشت MS ۲۰
۲-۳- ضد عفونی کردن ظروف و سایر وسایل ۲۲
۲-٤- ضد عفونی کردن سیرچه‌ها ۲۲
۲-۵- تهیه کشت ریزنمونه‌ها ۲۲
۲-٦- تیمارهای تنظیم‌کننده رشد گیاهی برای القا کالوس‌زایی ۲٤
۲-۷- محیط کشت باززایی از طریق جنین‌زایی سوماتیکی ۲٤
۲-۸- محیط کشت سوسپانسیون ۲٤
۲-۹- طرح آزمایشی و تجزیه و تحلیل آماری ۲٦
فصل سوم ۲۷
۳-۱- کالوس‌زایی ۲۸
۳-۲- وزن تر کالوس ۳٤
۳-۳- رشد ساقه ۳٦
۳-٤- رشد ریشه ٤۲
۳-۵- جنین‌زایی سوماتیکی ٤۸
۳-٦- کشت سوسپانسیون ۵٤

فهرست اشکال

شکل ۱-۱- مشخصات گیاهشناسی سیر (*Allium sativum*) ٤

شکل ۲- ۲- برش طولی گیاه سیر که قسمت‌های برگ‌اولیه، طبق و ذخایر برگی را نشان می‌دهد ۲۳

شکل ۳-۱ پاسخ درون‌شیشه‌ای ریزنمونه‌های گیاه سیر الف: کالوس حاصل از ریزنمونه طبق، ب: کالوس حاصل از ریزنمونه برگ‌اولیه ۲۸

شکل ۳-۲- درصد کالوس‌زایی ریزنمونه برگ‌اولیه و طبق در ترکیبات هورمونی مختلف در گیاه سیر ۳۲

شکل ۳-۳- درصد کالوس‌زایی ترکیبات هورمونی در ریزنمونه نوک ریشه گیاه سیر..... ۳۳

شکل ۳- ٤ - میانگین درصد کالوس‌زایی 2,4-D و NAA گیاه سیر ۳۳

شکل ۳-۵- درصد وزن تر کالوس در ترکیبات هورمونی متفاوت در گیاه سیر..... ۳۵

شکل۳ – ٦- پاسخ درون شیشه‌ای ریزنمونه‌های گیاه سیر..... ۳۹

شکل۳-۷- درصد رشد ساقه ریزنمونه‌های برگ‌اولیه و طبق در ترکیبات هورمونی متفاوت در گیاه سیر ٤۰

شکل۳-۸- میانگین درصد رشد ساقه در ترکیبات هورمونی ریزنمونه نوک ریشه گیاه سیر..... ٤۱

شکل ۳- ۹ - میانگین درصد رشد ساقه 2,4-D و NAA گیاه سیر..... ٤۱

شکل ۳-۱۰- رشد ریشه از مریستم ریزنمونه طبق..... ٤٤

شکل ۳-۱۱- درصد رشد ریشه ریزنمونه‌های برگ اولیه و طبق در ترکیبات هورمونی متفاوت در گیاه سیر..... ٤٥

شکل ۳ – ۱۲- میانگین درصد رشد ریشه 2,4-D و NAA گیاه سیر..... ٤٦

شکل ۳-۱۳- میانگین درصد رشد ریشه بین غلظت (۰,۵ و ۱ میلی‌گرم بر لیتر) kin..... ٤٦

شکل۳-۱٤- میانگین درصد رشد ریشه در ترکیبات هورمونی ریزنمونه نوک‌ریشه گیاه سیر..... ٤۷

شکل ۳-۱۵- توده‌های پیش جنینی ۵۱

شکل ۳-۱۶- جنین‌های سوماتیکی بالغ سیر..... ۵۲

شکل ۳-۱۷- مقایسه محیط‌های کشت مختلف سوسپانسیون سلولی گیاه سیر..... ۵۵

شکل ۳-۱۸- تصاویری از سلول‌ها در گیاه سیر..... ۵۵

نام خانوادگی: مقنی‌باشی منصوریه **نام**: رقیه

عنوان پایان‌نامه: باززایی درون شیشه‌ای و کشت سوسپانسیون سلولی گیاه سیر

اساتید راهنما: دکتر ناصر زارع، دکتر امید سفالیان

اساتید مشاور: دکتر رسول اصغری زکریا، سعید خماری

مقطع تحصیلی: کارشناسی ارشد **رشته:** مهندسی کشاورزی

گرایش: اصلاح نباتات **دانشگاه**: **محقق اردبیلی**

دانشکده: علوم کشاورزی **تاریخ دفاع:** ۱۳۹۲/۷/۳۰ **تعداد صفحات:** ٦٨

چکیده

سیر با نام علمی *Allium sativum L.* یکی از مهمترین گیاهان دارویی است. در این تحقیق کالوس‌زایی و باززایی درون‌شیشه‌ای گیاه سیر با استفاده از ریزنمونه‌های برگ‌اولیه، طبق و نوک‌ریشه تحت تاثیر سطوح مختلف تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی 2,4-D، NAA، کینتین و BAP مورد بررسی قرار گرفت. ریزنمونه‌های طبق و برگ‌اولیه در شرایط درون شیشه‌ای بعد از گذشت یک هفته در اکثر محیط‌های کشت متورم شده و تولید کالوس کردند. اما ریزنمونه نوک‌ریشه فقط در تعداد محدودی از محیط‌های کشت به القای کالوس پاسخ داد. بیشترین درصد کالوس‌زایی(۹۱/۰۷٪ و ۸۵/۷۱٪) در ریزنمونه برگ‌اولیه و محیط‌کشت MS حاوی ۱/۵ میلی‌گرم بر لیتر NAA به همراه ۰/۵ میلی‌گرم بر لیتر BAP و ۲/۵ میلی‌گرم بر لیتر NAA به همراه یک میلی‌گرم بر لیتر kin بدست آمد. بیشترین وزن تر کالوس در محیط MS حاوی ۱/۵ میلی‌گرم بر لیتر 2,4-D به همراه ۰/۵ میلی‌گرم بر لیتر BAP و ۰/۵ میلی‌گرم بر لیتر NAA به همراه ۰/۵ میلی‌گرم بر لیتر kin (به ترتیب، ۰/٥٦١٣، ۰/٥١٣٢ گرم) مشاهده شد. بیشترین درصد رشد ساقه (٥٥/٨٨٪، ٤٤/٠٥٪، ٤٣/٨١٪) با ریزنمونه طبق به ترتیب در محیط کشت MS حاوی ۰/۵ میلی‌گرم بر لیتر NAA به همراه ۰/۵ میلی‌گرم بر لیتر BAP همچنین در محیط MS حاوی ۲/۵ میلی‌گرم بر لیتر NAA به همراه یک میلی‌گرم بر لیتر BAP و در محیط MS حاوی ۲/۵ میلی‌گرم بر لیتر NAA به همراه یک میلی‌گرم بر لیتر kin بدست آمد. بالاترین درصد رشد ریشه (٤٣/٣٨٪، ٤٢/٨٥٪) در ریزنمونه طبق در محیط‌های MS حاوی ۲/۵ میلی‌گرم بر لیتر NAA به همراه یک میلی‌گرم بر لیتر kin و محیط حاوی تنها ۰/۵ میلی‌گرم بر لیتر BAP در ریزنمونه طبق بدست آمد. کالوس‌های جنین داده و بیشتر جنین‌های سوماتیکی تبدیل به کیاهچه شده (ساقه و ریشه داده) در محیط رشد و تکامل جنین حاوی NAA و BAP بیشتر از محیط کشت MS بدون هورمون بود. به منظور ایجاد و استقرار کشت سوسپانسیون، کالوس‌های تولید شده به محیط کشت‌های متفاوتی انتقال داده شده روی شیکر ۱۲۰ دور در دقیقه تکان داده شدند. نتایج نشان داد که سلول‌ها در محیط کشت S_1 (متشکل از عناصر ماکرو آلی محیط N_6 و عناصر میکرو محیط B_5 به اضافه ۲ گرم بر لیتر عصاره مخمر و ۰/۳ میلی‌گرم بر لیتر 2,4-D و ۰/۱ میلی‌گرم بر لیتر BAP) رشد بیشتری نسبت به محیط‌های دیگر داشتند.

کلید واژه‌ها: ۱- سیر ۲- باززایی درون شیشه‌ای ۳- کالوس‌زایی ٤- *Allium sativum*

فصل اول

مقدمه و مروری بر تحقیقات گذشته

۱-۱- مقدمه

گیاهان داروئی یکی از مهمترین منابع داروئی است که از هزاران سال پیش کاربرد داشته‌اند. سازمان بهداشت جهانی تخمین زده است که بیش از ۸۰ درصد مردم به صورت سنتی یا مدرن از گیاهان دارویی استفاده می‌کنند، بعلاوه، بسیاری از داروهای شیمیایی نیز با الگوبرداری از مواد گیاهی ساخته شده‌اند (تریپاتی و تریپاتی، ۲۰۰۳). از دیر باز خواص گیاهان دارویی و کاربرد آن‌ها برای انسان‌ها شناخته شده است. شاید چنین شناختی قدمتی به عمر بشر داشته باشد. گیاهان دارویی می‌توانند منبع با ارزشی از متابولیت‌های موثر در درمان بیماری‌های انسانی باشند. به طوری که، تخمین‌زده می‌شود حدود هفتاد هزار گونه گیاهی از گلسنگ تا گونه‌های درختی مانند ژینکو، حداقل یک‌بار در طول تاریخ طب از گذشته‌های دور تاکنون به عنوان دارو در جوامع بشری استفاده شده‌اند (سیفی، ۱۳۸۲).

کشت بافت گیاهی تکنیک مناسبی جهت تکثیر گیاهان و حفظ نمونه‌های گیاهی کمیاب و در خطر انقراض، وحشی، ژنوتیپ‌های با صفات خاص و ژنوتیپ‌های مادری بوده و یکی از مراحل در هر برنامه اصلاحی می‌باشد. علیرغم پیشرفت‌های زیاد در روش‌های انتقال ژن به گیاهان، هنوز باززایی درون شیشه‌ای موفق پیش نیاز اصلی برای اکثر پروتکل‌های تراریختی محسوب می‌شود (زارع و همکاران، ۲۰۰۹). از طرفی اصلاح گیاهان به روش سنتی علاوه بر وقت‌گیر بودن در بسیاری از موارد امکان‌پذیر نیست. در حالی که فناوری جدید کشت سلول و بافت گیاهی این راه را به خوبی هموار ساخته است (شوجی و همکاران، ۱۹۹۲).

فناوری زیستی با بهره‌گیری از علوم مختلف مانند بیولوژی، بیوشیمی، ژنتیک و با استفاده از راهکارهای کشت سلول‌ها، اندام‌ها و بافت‌ها، مهندسی ژنتیک، نشانگرهای مولکولی، بررسی مسیرهای موثر در تولید آن‌ها و افزایش بیان ژن قادر است کارایی گیاهان را به عنوان منابع تجدیدپذیر جهت تولید دارو افزایش دهد (مولابگال و تسای، ۲۰۰٤). کشت بافت گیاهی در زمینه گیاهان داروئی کاربردهای متعددی دارد که مهمترین آن‌ها عبارتند از: تکثیر انبوه و سریع گیاهان داروئی یکنواخت از لحاظ محتوای ژنتیکی و کیفی، حفظ گونه‌های گیاهی در حال انقراض از طریق نگهداری در شرایط انجماد و تولید متابولیت‌های ثانویه

در شرایط درون‌شیشه‌ای از طریق کشت سوسپانسیون سلولی و کشت اندام می‌باشد (تریپاتی و تریپاتی، ۲۰۰۳: مولابگال و تسای، ۲۰۰٤: بورگاد و همکاران، ۲۰۰۲).

سیر یکی از قدیمی‌ترین گیاهان زراعی از جنس *Allium* خانواده *Alliaceae* می‌باشد، که در سلامتی انسان نقش زیادی دارد (ریویلین، ۲۰۰۱). سیر، نه فقط به عنوان چاشنی، بلکه به خاطر داشتن خواص بیولوژیکی گوناگون همچون ضد سرطان، ضد آترو اسکلروز، آنتی ترومبوتیک، ضد میکروب، ضد التهاب و آنتی اکسیدان از قدیم مورد استفاده بوده است (لنیل و سیلاجی، ۱۹۹٤). سرعت تکثیر سیر در زمین زراعی خیلی به کندی انجام می‌گیرد و سال‌های زیادی برای تولید یک گوناگونی جدید طول می‌کشد. در شرایط درون شیشه‌ای رشد ریزنمونه سرعت تکثیر سیر را امکان پذیر می‌کند (خان و همکاران، ۲۰۰٤).

۱-۲- قدمت و گیاه شناسی سیر

سیر گیاهی است که به منظور تولید به صورت یکساله کشت می‌شود. سیر به صورت خودرو از زمان‌های قدیم در شرق هندوستان وجود داشت. گیاه‌شناسان زیادی بر این عقیده‌اند که اهالی مناطق ساحلی مدیترانه نیز از زمان‌های بسیار قدیم با این گیاه آشنایی داشتند ولی این مناطق را موطن اصلی آن نمی‌دانند. موطن اصلی آن دقیقا معلوم نیست (مقصودی، ۱۳۸۸). تصور می‌شود مرکز ژنتیکی سیر آسیای مرکزی بوده و از انجا به سمت غرب، جنوب شرق گسترش یافته است (اتوه و همکاران، ۲۰۰۱).

سیرگیاهی علفی و دارای پیاز مرکب و حاوی چند پیازچه[1] کوچک است (آگوستی، ۲۰۰۳). ساقه‌ای به ارتفاع ۲۰-٤۰ سانتی متر و حتی بیشتر است. پیازچه آن که قسمت متورم و زیر زمینی گیاه را تشکیل می‌دهد، مرکب از ۵-۱۰ قطعه متورم محصور در غشای نازک و ظریف، به رنگ خاکستری مایل به سفید است. برگ‌های باریک و گل‌های به رنگ سفید ، منقوش به لکه‌های کوچک و قرمز رنگ دارد. از مشخصات برگ‌های آن این است که اولا وضع آویخته از ناحیه غلاف دارند و ثانیا پهنک برگ‌های آن طویل و منتهی به غلاف درازی است که قسمت زیادی از ساقه را فرا می‌گیرد و به علاوه، غلاف برگ‌های آن یکدیگر را می‌پوشانند (شکل ۱-۱). مجموعه گل‌های گیاه نیز همراه با برجستگی‌های کوچک،

[1] -Bulb

در راس دمگل درازی، به تعداد کم با ظاهر گل آذین چتر مانند ظاهر می‌شود. حالات غیر طبیعی مختلف در این گیاه وجود دارد که یکی از آن‌ها پیازچه مرکب از ۳ برجستگی متورم است (زرگری، ۱۳٦۹).

سیر گیاهی است عقیم و به طور طبیعی فقط از راه غیر جنسی، یعنی کشت سیرچه‌ها قابل تکثیر می‌باشد. کشت و تکثیر متوالی این گیاه در نقاط مختلف جهان و در طی سالیان متمادی باعث پیدایش اکوتیپ‌های متعددی شده است که از لحاظ مورفولوژیکی و بیوشیمیایی تفاوت قابل توجهی دارند (براولی و همکاران، ۱۹۹٦).

شکل ۱-۱- مشخصات گیاه شناسی سیر (*Allium sativum*)

۱-۳- ترکیبات شیمیایی سیر

ترکیبات موجود در سیر به دو گروه عمده ترکیبات سولفوره و غیر سولفوره تقسیم می‌گردند. خواص دارویی سیر عمدتا به دلیل حضور ترکیب سولفوره‌ای به نام آلیسین[۲] می‌باشد (هانسل و تایلر، ۱۹۹۸). سیر به طور طبیعی فاقد آلیسین بوده ولی پیش ماده آن آلیین را دارا می‌باشد، الیین در هنگام خرد شدن و بر اثر بروز یک واکنش آنزیمی توسط آنزیم آلییناز تبدیل به آلیسین، پیروات و آمونیوم می‌گردد (رابینکو و همکاران، ۱۹۹٤). علاوه بر این سیر دارای مواد داروئی موثری به نام اینولین، ویتامین‌های A، B، C است (وارگوویچ و همکاران، ۱۹۹٦).

اسانس سیر که از تقطیر آن تحت تاثیر بخار آب حاصل می‌شود، مرکب از سولفورها و پلی سولفورهای ونیل P.de Venyle، آلیل و آلیل پروپیل است. اسانس سیر که به مقدار ٦۰ گرم از هر ۱۰۰ کیکوگرم سیر به دست می‌آید، مایعی به رنگ قرمز نارنجی تا قهوه‌ای مایل به زرد و به وزن مخصوص برابر ۱/۰٤٥ تا ۱/۰٥ است و اگر تصفیه گردد به صورت بی‌رنگ و دارای بوی کم در می‌آید. اسانس سیر در غالب روغن‌های ثابت و روغن‌های معدنی حل می‌شود. در گلیسیرین و پروپیلین گلیکول غیر محلول است. از اسانس سیر برای مطبوع کردن و تغییر طعم اغذیه در صنایع غذایی استفاده به عمل می‌آورند (زرگری، ۱۳٦۹).

حدود ٥۰ تا ٦۰ درصد مواد تشکیل دهنده سیر را آب تشکیل می‌دهد. بنابراین، مقدار مواد خشک آن نسبت به سایر سبزی‌ها بیشتر است. سیر حاوی ۳۰ درصد کربوهیدرات، حدود ۱۰ درصد چربی و حدود ۷ درصد پروتئین است. مقدار کمی املاح معدنی و ویتامین‌های مختلف نیز در این گیاه موجود است. از بین این مواد ترکیبات آلدئیدی، ستنی[۳] و اترسلی[٤] دارای اهمیت بیشتری هستند. با توجه به اهمیت غذایی سیر، سطح زیست کشت و مقدار تولید آن در واحد سطح افزایش یافته است (مقصودی، ۱۳۸۸).

---

[2]- Allicin
[3] - ceton
[4] -Etersol

۱-٤- خواص دارویی سیر

متابولیت‌های ثانویه[5]، مواد آلی شیمیایی پیچیده‌ای هستند که گیاهان در طول حیات خود تولید می‌نمایند، ولی در رشد و نمو و فعالیت‌های حیاتی آن‌ها نقش ندارد و عمدتا به منظور مبارزه با بیماری‌های میکروبی در گیاه تولید می‌شوند. مواد معطر، مواد موثره دارویی، چاشنی‌ها، شیرین‌کننده‌های طبیعی، مواد ضد میکروبی و فرمون‌ها از این جمله می‌باشد. بر اساس برخی از تخمین‌ها حداقل ۱۰۰۰۰۰ متابولیت ثانویه از ۵۰۰۰۰ گونه گیاهی شناسایی شده است و هر سال ٤۰۰۰ متابولیت جدید از واریته‌های مختلف گیاهی کشف می‌شود (کومار و گوپتا، ۲۰۰۸). سیر گیاهی سنتی است که نه فقط به عنوان چاشنی، بلکه به خاطر خواص بیولوژیکی گوناگون همچنین ضد سرطان، ضد آترواسکلروز، آنتی ترومبوتیک، ضد میکروب، ضد التهاب و آنتی اکسیدان از قدیم الایام مورد استفاده بوده است (لنیل و همکاران، ۱۹۹٤). روغن سیر با داشتن خواص آنتی اکسیدان معده را در برابر اتانول محافظت می‌کند (روسن و همکاران، ۲۰۰۱). فعالیت نابود سازی رادیکال‌های آزاد و محتوای فنولی بالا در عصاره آبی سیر، به وجود آلیسین به عنوان یک جز فعال در آن وابسته است (ویمال و همکاران، ۲۰۰٤). خواص اکسیدانی سیر در ممانعت از ابتلا به بیماری‌های مرتبط با سن و بیماری‌های قلبی- عروقی نشان داده است (گورنستین و همکاران، ۲۰۰٦). عصاره سیر خام در بهبود تنش اکسیداتیو و کاهش لیپیدهای خون موثر بوده که این اثر سیر به فعالیت آنتی اکسیدانی سیر نسبت داده شده است (ویمال و همکاران، ۲۰۰٤). همچنین اثر درمانی سیر روی برخی از سرطان‌ها به علت دارا بودن خاصیت آنتی اکسیدانی نشان داده شده است (لیو و همکاران، ۲۰۰٤).

[5] - Secondry metabolit

۱-۵- کاربرد و اهمیت کشت بافت

بیوتکنولوژی ابزاری مهم برای تکثیر و افزایش تولید گیاهان دارویی به وسیله تکنیک‌هایی از قبیل باززایی از طریق اینویترو و تراریخت ژنتیکی می‌باشد (تریپاتی و تریپاتی، ۲۰۰۳). تکنیک کشت بافت، به عنوان ابزاری کارآمد در ازدیاد، تکثیر، اصلاح و تولید گیاهان در شرایط کنترل شده درون شیشه‌ای در مراکز تحقیقاتی سراسر دنیا مورد استفاده قرار می‌گیرد. در زمینه‌ی گیاهان دارویی نیز علاوه بر کاربرد آن در ریزازدیادی، تکثیر، تولید و حفاظت از گیاهان دارویی باارزش و در خطر انقراض، در دهه‌های اخیر به عنوان ابزاری موثر برای تولید متابولیت‌های ثانویه در شرایط کنترل شده نیز مطرح می‌باشد، علاوه بر این، این رهیافت امکان دستکاری و بهینه‌سازی عوامل موثر بر تولید بیشتر متابولیت‌های ثانویه را فراهم می-آورد (لینا و جایندرا، ۲۰۰۳).

باززایی گیاه با کشت قطعه‌ای از بافت گیاهی فاقد مریستمی از قبل شکل گرفته (منشا نابجا) یا از کشت سلولی و بافت کالوس (منشا مجدد) امکان‌پذیر است. باززایی گیاه به روش تکثیر جوانه جانبی، بر مبنای وجود بافت مریستمی از پیش تشکیل می‌باشد، بر عکس باززایی نابجا از مکان‌های غیر معمول از یک بافت کشت شده (مثلا سطح برگ، هیپوکوتیل، کوتیلدون، دمبرگ و نظیر آن‌ها) که بافت مریستم به طور طبیعی در این مناطق وجود ندارد، صورت می‌گیرد (فارسی و ذوالعلی، ۱۳۹۰: کاسیر و کواکس، ۲۰۰۷).

۱-٦- مزایای کشت بافت گیاهی

تولید انبوه گیاهانی با ساختار ژنتیکی یکسان، معمولترین مزیتی است که به کشت بافت گیاهی نسبت داده می‌شود

۱- تکثیر سریع کلون‌ها: با کشت بافت یا سلول ممکن است که هزاران سلول در یک کشت موجود باشد. که هر کدام قابلیت تولید گیاه کاملی را داشته باشد، این گیاهان از نظر ژنتیکی مشابه یکدیگر خواهند بود.
۲- یکنواختی ژنتیکی: به علت اینکه روش‌های کشت بافت به صورت رویشی انجام می‌گیرد، لذا از نوترکیبی تصادفی ژنتیکی که مختص تولید مثل جنسی (با تولید بذر) است، اجتناب می‌شود. بنابراین نتاج از نظر ژنتیکی یکسان هستند. .با این حال نمی‌توان پایداری ژنتیکی را توسط کشت بافت تضمین کرد زیرا احتمال وقوع جهش در هنگام تکثیر سلول‌ها بالاخص در شرایط مصنوعی

کشت همراه با سطوح بالای هورمون‌های و مواد غذایی وجود دارد. به این جهش ژنتیکی در طی تکثیر رویشی تنوع سوماکلونال گفته می‌شود.

۳- شرایط غیر آلوده: فرایند کشت درون شیشه‌ای به شرایط عاری از بیماری نیاز دارد. حفظ کشت‌های گیاهی تحت شرایط غیر آلوده، یک منبع بزرگی از مواد گیاهی عاری از بیماری‌زا را در اختیار ما قرار می‌دهد

٤- انتخاب گیاه: احتمال داشتن تعداد زیادی گیاه یا نقاط رشد در داخل یک ظرف وجود دارد. همانطور که قبلا ذکر شد، اغلب در داخل کشت‌های عادی، مقداری تنوع ژنتیکی وجود دارد. ضمنا، کشت‌ها را می‌توان به گونه‌ای تیمار کرد که میزان جهش به مقدار زیادی افزایش می‌یابد.

۵- گیاهان مادری درون شیشه‌ای: امروزه به خوبی مشخص شده است که کیفیت و شرایط رشد گیاه مادری به طور شگفت انگیزی بر روی موفقیت تکثیر، منجمله کشت بافت، موثر است. عواملی مانند مواد غذایی، آب، عوامل بیماری‌زا، نور و دما ممکن است که اثر داشته باشند.

٦- محیط کنترل شده: هنگامی که نگهداری کشت‌های گیاهی در شرایط محیطی کنترل شده مد نظر باشد، یا بر حسب نیازهای کشت یا شاید برای سایر اهداف مانند ریشه‌دار کردن درگونه‌هایی که از این نظر مشکل دارند، کشت‌های درون شیشه‌ای در اینگونه موترد دارای مزایای آشکاری می‌باشند. همچنین کشت‌های درون شیشه‌ای برای تحقیقات آزمایشگاهی بسیار مناسب هستند.

۷- حفظ و نگهداری منابع ژنتیکی: نیاز به فضای کوچک و سهولت فراهم کردن شرایط مناسب موجب شده است که کشت‌های درون شیشه‌ای، روش کاربردی مناسبی جهت حفظ گیاهان مادری کلکسیون‌ها محسوب شوند.

۸- از فنون کشت بافت ممکن است جهت تولید گیاهان هیبرید در گونه‌های ناسازگار، از طریق کشت جنین یا تخمک استفاده شود.

۹- گیاهان هاپلوئید ممکن است از طریق کشت بساک به‌دست آیند. هنگامیکه ظهور جهش‌های مغلوب مورد نیاز باشد، گیاهان هاپلوئید برتری‌هایی نسبت به مواد دیپلوئید دارند. به علاوه هاپلوئیدهای مضاعف شده هموزیگوس هستند و لذا به عنوان مواد خالص در برنامه‌های اصلاحی استفاده می‌شود.

۱۰- با استفاده از روش‌های درون شیشه‌ای در تمام طول سال می‌توان گیاه تولید کرد (باقری، ۱۳۸۲).

۱-۷- ریزازدیادی

مهمترین روش‌های تکثیر درون‌شیشه‌ای گیاهان ریزازدیادی، اندام زایی از طریق کالوس و جنین‌زایی سوماتیکی است. تکثیر کلون در شرایط درون‌شیشه‌ای را ریزازدیادی می‌نامند. جنین‌زایی سوماتیکی فرایندی است که گروهی از بافت‌ها، سلول‌های سوماتیکی برای تشکیل جنین‌های سوماتیکی که شبیه جنین‌های زیگوتی بذرهای سالم هستند. تولید جنین‌زایی سوماتیکی اولین بار از کشت سوسپانسیون سلولی گیاه هویچ گزارش شد (پرین و همکاران، ۲۰۰٤). ریزازدیادی امکان تکثیر سریع و انبوه ژنوتیپ-های مطلوب و تولید گیاهان یکسان عاری از بیماری را فراهم می‌سازد. امروزه از ریزازدیادی گیاهان داروئی مانند اوکالیپتوس (ماماقانی و همکاران، ۲۰۰۹)، آلوئه‌ورا (زارینپانج، ۲۰۱۰)، سیر (خان و همکاران، ۲۰۰٤)، سرخدار (چانگ و همکاران، ۲۰۰۱)، بارهنگ (بارنا و واخلو، ۱۹۸۸) تحقیقات متعددی انجام شده است و امکان تکثیر سریع و انبوه برخی از گونه‌های آن‌ها فراهم گردیده است. مهمترین عوامل موثر بر افزایش کارایی ریزازدیادی درون شیشه‌ای گیاهان داروئی ریزنمونه و ژنوتیپ گیاهی، میزان تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی، محیط کشت و عوامل فیزیکی می‌باشد (باسیو و چاند، ۱۹۹٦: ساتش و بهاواناندان، ۱۹۸۸: مانتل و هوگو، ۱۹۸۹: شاسانی و همکاران، ۱۹۹۸).

۱-۸- کشت کالوس

اساسا کالوس[٦] یک بافت توموری گیاهی کم و بیش سازمان‌نیافته است که در زخم‌های بافت‌ها و اندام-های تمایزیافته، به وجود می‌آیند. بنابراین کالوس یک بافت تمایزنیافته با تمایز خیلی کم است و سلول-های آن طبیعت پارانشیمی دارند. بافت ریزنمونه یک بافت تمایزیافته است (ریشه، ساقه، برگ، گل و غیره) که به عنوان ماده آغازین برای تولید بافت کالوس مورد استفاده قرار می‌گیرد (کایسر و کواکس، ۲۰۰۷).

گزارشهای متعددی در زمینه تکثیرگیاهان دارویی از طریق کالزایی وجود دارد .کالوس یک توده سلولی کم و بیش سازمان نیافته، با دیواره سلولی نازک می باشد که معمولا از سلولهای پارانشیمی بوجود آمده است .تولید

[6] - Callus