



ریزازدیادی گیاه مریم گلی *Salvia virgata L.*

سمیه ایزدقبول*^۱ - بهنام بهروزنام^۲ - حمید صادقی^۲

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد باغبانی و عضو باشگاه پژوهشگران جوان دانشگاه آزاد واحد جهرم.

۲- استادیار بخش باغبانی دانشگاه آزاد واحد جهرم. bbehrooznam@yahoo.com

* نویسنده مسئول مقاله: izadghabool.S@gmail.com

چکیده

گیاه سالویا از خانواده نعناعیان و دارای گونه‌های متعدد زینتی و دارویی می‌باشد. به منظور دستیابی به غلظت بهینه تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی بر افزایش درون شیشه‌ای این گیاه، آزمایش‌های مختلفی با استفاده از تنظیم‌کننده‌های رشد BAP و IAA روی ریزنمونه‌های تک‌گره حاصل از دانه‌های استریل مریم‌گلی، به صورت فاکتوریل و در قالب طرح کامل تصادفی با ۱۰ تکرار به مرحله اجرا در آمد و بازایی با استفاده از ترکیب‌های مختلف BAP و IAA روی محیط کشت موراشیگی و اسکوگ (MS) مورد بررسی قرار گرفت. طبق نتایج به دست آمده بیشترین طول شاخساره در استفاده از غلظت ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر BAP و ۱/۵ میلی‌گرم در لیتر IAA و بیشترین تعداد شاخه‌های جانبی در غلظت‌های متوسط BAP و صفر IAA مشاهده شد؛ اما تیمار ۱/۵ میلی‌گرم در لیتر BAP بدون حضور IAA بهترین تیمار برای پرآوری این گیاه، شناخته شد. بیش‌ترین طول ریشه و بالاترین درصد ریشه‌زایی نیز در غلظت ۱ میلی‌گرم در لیتر BAP مشاهده شد. گیاهچه‌های حاصل نیز به خوبی با شرایط گلخانه سازگار شدند.

واژگان کلیدی: تنظیم‌کننده‌های رشد، اندام‌زایی، *Salvia virgata*.

مقدمه

بیشتر کشورهای جهان سوم دانش، ظرفیت و منابع مالی کافی برای توسعه و برآوردن نیازهای معمول زیست‌محیطی را ندارند. از جمله مزایای اقتصادی بیوتکنولوژی کشاورزی ویژگی‌هایی است که منجر به بازگشت سرمایه بیشتر برای کشاورز، هزینه تولید کمتر از طریق تولید محصولات مقاوم به علفکش‌ها، هزینه‌ی کمتر برای کاربرد علفکش‌ها از طریق کاهش عملیات کشاورزی و تولید محصولات مقاوم به آفات می‌باشد. (۴). کشت بافت شامل مجموعه روش‌های آزمایشگاهی است که با تکیه بر خاصیت توتی پوتنسی از یک اندام یا بافت، گیاهی کامل و منطبق بر هدف مورد نظر را تولید می‌کند. با استفاده از این تکنیک



۱۱ و ۱۲ اسفندماه ۱۳۹۰ دانشگاه آزاد اسلامی خوراسگان دانشکده کشاورزی

می توان در کوتاه ترین زمان ممکن به تولید انبوه رسید. از مزایای اجتماعی بیوتکنولوژی گیاهی این است که هم در کشورهای توسعه یافته و هم کشورهای در حال توسعه قابل اجرا است. از جمله باعث کاهش هزینه های تولید، افزایش کیفیت مواد غذایی، افزایش سرمایه گذاری در بخش نوآوری و توسعه، تنوع و رشد اقتصاد روستایی، تولید مواد غذایی و کاهش فقر صاحبان مزارع کوچک می باشد (۴). جنس سالویا متعلق به تیره نعناعیان (*Lamiaceae*) یکی از بزرگترین دسته های گیاهی معطر و دارویی می باشد که عمده آن ها در غرب آسیا، آمریکا، به ویژه منطقه مکزیک و شمال آفریقا می باشند. این جنس در ایران حدود ۵۶ گونه دارد (۲). به طور اختصاصی گونه *Salvia virgata* L. در بیشتر نقاط ایران از جمله البرز، پشند، آستارا، گنچسر، گیلان، آذربایجان، کرمان و یافت می شود و زمان گلدهی آن ها از خرداد ماه تا اواخر مرداد ماه می باشد (۳). *Salvia* به دلیل داشتن اسانس، ترکیب های فنولی و ویژگی آنتی اکسیدانتی در صنایع عطر سازی و به عنوان طعم دهنده و نگهدارنده در صنایع غذایی و نیز در صنایع آرایشی-بهداشتی استفاده می شوند (۲، ۴). در این پژوهش شرایط هورمونی لازم برای باززایی این گونه مریم گلی با استفاده از تنظیم کننده های رشد گیاهی در محیط کشت پایه MS مورد بررسی قرار گرفته است.

مواد و روش ها

در این تحقیق از ریزنمونه های تک گرهی (۱۰-۸ mm) دانهال های رشد یافته در شرایط این ویتروبه عنوان ریز نمونه استفاده شد. به این منظور، بذرها پس از شستشو با آب و چند قطره مایع ظرفشویی، ۳-۲ دقیقه در اتانول ۷۰٪ و سپس به مدت ۱۵ دقیقه در معرض هیپوکلریت سدیم ۱٪ قرار گرفته در نهایت ۳ مرتبه با آب مقطر استریل شستشو داده شدند. پس از کشت بذرها در محیط کشت MS پایه، در اتاق رشد با شرایط ۱۶ ساعت روشنایی، ۸ ساعت تاریکی و دمای ۲۳-۲۵ درجه سانتی گراد نگهداری شدند. پس از ۶-۸ هفته قطعات تک گرهی ساقه دانهال ها به عنوان ریزنمونه، در ظروف کشت محتوی محیط پایه MS حاوی تنظیم کننده های رشد گیاهی BAP و IAA کشت شدند. این محیط های کشت همچنین دارای ۳٪ ساکارز، ۰/۷۵٪ آگار و ۱۰ میلی گرم در لیتر اسکوربیک اسید بودند، pH محیط ها روی $0/2 \pm 5/7$ تنظیم گردیده، عمل سترون سازی آن ها در اتوکلاو با فشار ۱/۵ بار و دمای ۱۲۱ درجه سانتی گراد به مدت ۲۰ دقیقه انجام گردید، در نهایت ۷ هفته بعد از کشت طول شاخساره، تعداد شاخه های جانبی، درصد شاخه زایی و طول ریشه در آن ها اندازه گیری شد. هر تیمار دارای ۱۰ تکرار و هر تکرار شامل ۴ ریز نمونه بود. داده های به دست آمده با استفاده از نرم افزار MSTAT-C مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند و مقایسه میانگین ها به وسیله آزمون چند دامنه ای دانکن در سطح ۱٪ انجام شد.

نتایج و بحث

در بررسی اثر سطوح مختلف BAP بر طول شاخساره، بیشترین طول شاخساره در غلظت ۰/۵ میلی گرم در لیتر BAP بیشترین تعداد شاخه های جانبی در غلظت ۱/۵ میلی گرم در لیتر و تیمار شاهد و با توجه به نتایج این جدول بیشترین در صد شاخه زایی در تیمار شاهد به دست آمده است. بیش ترین طول ریشه نیز در غلظت ۱/۵ میلی گرم در لیتر حاصل شد. با افزایش غلظت BAP، طول شاخساره و تعداد شاخه های جانبی کاهش یافت (جدول ۱).



جدول ۱- مقایسه اثر سطوح مختلف بنزیل آمینو پورین بر ویژگی های مورد بررسی

| ۲/۰ | ۱/۵ | ۱/۰ | ۰/۵ | صفر | سطوح BAP |
|--------------------|------------------|-------------------|------------------|------------------|------------------|
| (میلی گرم در لیتر) | | | | | |
| صفت | | | | | |
| ۲/۱ ^c | ۳/۸ ^a | ۳/۲ ^b | ۳/۹ ^a | ۳/۶ ^a | طول شاخساره (cm) |
| ۱/۶ ^c | ۲/۶ ^a | ۲/۴ ^{ab} | ۲/۲ ^b | ۲/۶ ^a | تعداد شاخه جانبی |
| ۷۴/۸b | ۶۵/۲c | ۶۴/۶c | ۷۴/۶b | ۷۶/۸a | درصد شاخه زایی |
| ۲/۴ ^c | ۶/۵ ^a | ۴/۲ ^b | ۱/۱ ^d | ۲/۴ ^c | طول ریشه (cm) |

میانگین های موجود در هر ردیف که حداقل دارای یک حرف مشترک هستند، در سطح ۱٪ آزمون دانکن اختلاف معنی داری با هم ندارند

مقایسه اثر غلظت های مختلف IAA، نشان داد که بیشترین طول شاخساره در استفاده از غلظت ۰/۱ میلی گرم در لیتر IAA مشاهده شد. همچنین بیشترین تعداد شاخه های جانبی تولیدی، بالاترین درصد شاخه زایی و طول ریشه در تیمار شاهد به دست آمد. با افزایش سطوح اکسین تعداد شاخه های جانبی و درصد شاخه زایی به طور معنی داری کاهش یافته است.

جدول ۲- مقایسه اثر سطوح مختلف IAA بر ویژگی های مورد بررسی

| ۱/۵ | ۱ | ۰/۵ | ۰/۱ | صفر | سطوح IAA |
|--------------------|-------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|
| (میلی گرم در لیتر) | | | | | |
| صفت | | | | | |
| ۳/۰ ^b | ۳/۳ ^{ab} | ۳/۴ ^a | ۳/۵ ^a | ۳/۴ ^a | طول شاخساره (cm) |



ششمین همایش ملی ایده های نو در کشاورزی



همایش ملی
ایده های نو در کشاورزی

۱۱ و ۱۲ اسفندماه ۱۳۹۰ دانشگاه آزاد اسلامی خوراسگان دانشکده کشاورزی

| | | | | | |
|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|------------------|
| ۱/۳ ^e | ۱/۶ ^d | ۲/۳ ^c | ۲/۶ ^b | ۳/۶ ^a | تعداد شاخه جانبی |
| ۵۲/۸ ^e | ۵۵/۰ ^d | ۶۷/۲ ^c | ۸۲/۶ ^b | ۹۸/۴ ^a | درصد شاخه زایی |
| ۰/۷ ^d | ۲/۵ ^c | ۲/۳ ^c | ۴/۶ ^b | ۶/۴ ^a | طول ریشه (cm) |

مقایسه برهمکنش BAP و IAA نیز نشان داد که بیشترین طول شاخساره در استفاده از غلظت ۰/۵ میلی گرم در لیتر BAP و ۱/۵ میلی گرم در لیتر IAA مشاهده شد و با افزایش غلظت IAA طول شاخساره نیز افزایش یافت (جدول ۳).

جدول ۳: اثر تنظیم کننده های رشد گیاهی BAP و IAA بر فراسنجه های مورد آزمایش

| طول ریشه (cm) | درصد شاخه زایی | طول شاخساره (cm) | تعداد شاخساره جانبی | BAP (mg.L ⁻¹) | IAA (mg.L ⁻¹) |
|-------------------|------------------|---------------------|---------------------|---------------------------|---------------------------|
| ۲/۳ ^e | ۱۰۰ ^a | ۳/۴ ^d | ۴۰ ^a | ۰ | ۰ |
| ۵/۴ ^d | ۱۰۰ ^a | ۳/۲ ^{defg} | ۴/۰ ^a | ۰/۵ | ۰ |
| ۱۰/۸ ^a | ۱۰۰ ^a | ۲/۹ ^{defg} | ۴/۰ ^a | ۱ | ۰ |
| ۷/۲ ^c | ۹۷ ^{ab} | ۵/۲ ^{ab} | ۴/۰ ^a | ۱/۵ | ۰ |
| ۶/۱ ^{cd} | ۹۵ ^{bc} | ۲/۴ ^{gh} | ۲/۰ ^c | ۲ | ۰ |
| ۳/۶ ^e | ۸۰ ^{ef} | ۴/۶ ^{bc} | ۲/۰ ^c | ۰ | ۰/۱ |
| ۰/۰ ^f | ۸۱ ^{ef} | ۳/۳ ^{de} | ۳/۲ ^b | ۰/۵ | ۰/۱ |
| ۷/۴ ^c | ۸۳ ^e | ۲/۵ ^{efgh} | ۳/۰ ^b | ۱ | ۰/۱ |
| ۶/۳ ^{cd} | ۹۰ ^d | ۴/۲ ^c | ۳/۰ ^b | ۱/۵ | ۰/۱ |
| ۵/۷ ^d | ۸۰ ^{ef} | ۳/۰ ^{defg} | ۲/۰ ^c | ۲ | ۰/۱ |
| ۰/۰ ^f | ۴۰ ^j | ۳/۱ ^{defg} | ۳/۰ ^b | ۰ | ۰/۵ |
| ۰/۰ ^f | ۵۰ ⁱ | ۳/۱ ^{defg} | ۱/۰ ^e | ۰/۵ | ۰/۵ |
| ۲/۸ ^e | ۷۷ ^f | ۴/۳ ^c | ۲/۲ ^c | ۱ | ۰/۵ |
| ۸/۷ ^b | ۸۰ ^{ef} | ۴/۴ ^c | ۳/۰ ^b | ۱/۵ | ۰/۵ |
| ۰/۰ ^f | ۸۹ ^d | ۲/۰ ^{hi} | ۲/۰ ^c | ۲ | ۰/۵ |

| | | | | | |
|-------------------|------------------|---------------------|-------------------|-----|-----|
| ۲/۴ ^e | ۶۴ ^g | ۴/۴ ^c | ۱/۸ ^{cd} | ۰ | ۱ |
| ۰/۰ ^f | ۹۲ ^{cd} | ۴/۴ ^c | ۱/۸ ^{cd} | ۰/۵ | ۱ |
| ۰/۰ ^f | ۲۹ ^l | ۲/۸ ^{defg} | ۱/۸ ^{cd} | ۱ | ۱ |
| ۱۰/۳ ^a | ۳۸ ^{jk} | ۳/۳ ^{def} | ۲/۰ ^c | ۱/۵ | ۱ |
| ۰/۰ ^f | ۵۲ ⁱ | ۱/۵ ⁱ | ۱/۰ ^e | ۲ | ۱ |
| ۳/۵ ^e | ۱۰۰ ^a | ۲/۵ ^{fgh} | ۲/۰ ^c | ۰ | ۱/۵ |
| ۰/۰ ^f | ۵۰ ⁱ | ۵/۴ ^a | ۱/۰ ^e | ۰/۵ | ۱/۵ |
| ۰/۰ ^f | ۳۵ ^k | ۳/۴ ^d | ۱/۰ ^e | ۱ | ۱/۵ |
| ۰/۰ ^f | ۲۱ ^m | ۱/۸ ^{hi} | ۱/۲ ^{de} | ۱/۵ | ۱/۵ |
| ۰/۰ ^f | ۵۸ ^h | ۱/۸ ^{hi} | ۱/۰ ^e | ۲ | ۱/۵ |

† در هر ستون میانگین هایی که حداقل دارای یک حرف مشترک هستند، در سطح ۱٪ آزمون دانکن اختلاف معنی داری با هم ندارند

بیشترین تعداد شاخه های جانبی نیز در غلظت های ۰/۵ تا ۱/۵ میلی گرم در لیتر BAP و تیمار شاهد با میانگین ۴ به دست آمد. در غلظت های ۰/۵ و ۱ میلی گرم در لیتر BAP با افزایش سطوح مختلف اکسین تعداد شاخه های جانبی نیز کاهش یافت. در غلظت های بالای اکسین در تمام سطوح BAP ریشه مشاهده نشد ولی در غیاب اکسین با افزایش غلظت سیتوکینین تا سطح ۱ میلی گرم در لیتر میزان ریشه زایی افزایش و پس از آن کاهش یافت که این غلظت از سیتوکینین را می توان غلظت بهینه آن برای ریشه زایی دانست. در بررسی Saez و همکاران روی گیاه *Thymus piperella* بیشترین باززایی وقتی حاصل شد که محیط کشت شامل ۲/۸ میکرومول IAA و ۶/۶ میکرومول BA بود (۶). در این پژوهش، تیمار ۱/۵ میلی گرم در لیتر BAP بدون حضور IAA، بهترین غلظت برای رسیدن به بالاترین پرآوری به دست آمد اما بهترین ریشه در محیط کشت حاوی ۱ میلی گرم در لیتر BAP تولید شد.

منابع

- ۱- امید بیگی، ر. ۱۳۷۹. رهیافت های تولید و فرآوری گیاهان دارویی. ج دوم. طراحان نشر تهران.
- ۲- اورمزدی، پ. و ف. چلبیان. ۱۳۸۵. مطالعه کشت بافت و اندام زایی در *Salvia nemorosa*. فصلنامه پژوهشی تحقیقات ژنتیک و اصلاح گیاهان مرتعی و جنگلی ایران. ۱۴(۲): ۶۹-۷۶.
- ۳- قهرمان، ع. ۱۳۶۵. فلور رنگی ایران. انتشارات موسسه تحقیقات جنگل ها و مراتع. شماره ۱۵۹۹.



4- Bolta,I., E.Dea Bari., B.Bohanec and S.Zndrenek. 2000. Apreliminary investigation of ursolic acid (UA) in cell suspection culture of *Salvia officinalis* L. Plant Cell,Tissue and Organ Culture Journal.62(1):57-63.

5- Dronne,s., F.Jullien., J.C.Caissard and O.Faure. 1999. A simple and efficient method for *in vitro* shoot regeneration from leaves of lavandin. Plant Cell Reports. 18:429-433.

6-Saez,F., P.Sanchez. and A.Piqueras.1994. Micropropagation of *Thymus piperella*. Plant Cell,Tissue and Organ Culture.3:269-272.

Micropropagation of *Salvia virgata* L.

S.Izadghabool¹, B. Behrooznam², H.Sadeghi²

1-M.Sc. student of hort. Jahrom Azad university. Gmail: izadghabool.s@gmail.com

2-Assist. Prof. of Hort. Jahrom azad university. Email: bbehrooznam@yahoo.com

Abstract

Salvia virgata L. as a member of Lamiaceae family, and it has aromatic and medicinal uses. In order to achieve optimum concentration of plant growth regulators on *invitro* propagation of this species, different experiments were carried out using BAP,IAA on single node explants of *Salvia virgata* seedlings, in a complete randomized design with factorial arrangement with 10 replications and regeneration were invstigated using different combinations of BAP and IAA on Murashige and Skooge (MS) medium. the results showed that the maximum shoot lengths observed by using 0.5 mg/L BAP+1.5mg/L IAA and maximum number of lateral shoots by



ششمین همایش ملی ایده های نو در کشاورزی



همایش ملی
ایده های نو در کشاورزی

۱۱ و ۱۲ اسفندماه ۱۳۹۰ دانشگاه آزاد اسلامی خوراسگان دانشکده کشاورزی

using medium concentration of BAP + 0 mg/l IAA ,but 1.5 mg/l BAP with out the presence of IAA was known the best media for proliferation .thus maximum root length and rooting percentage were observed in 1mg/l BAP. plantlets were acclimatization best in greenhouse.

Key words: Growth regulators, organogenesis, *Salvia virgata*.