



شرایط هورمونی لازم برای پینه زایی و پرآوری قطعات جداکشت مریم گلی

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

سالویا یکی از بزرگترین جنس های خانواده نعنائیان است که دارای گونه های متعدد معطر و دارویی می باشد. ریزنمونه های تک گره از گیاهچه های استریل *Salvia virgata L.* تهیه و به محیط کشت های حاوی مقادیر مختلف تنظیم کننده های رشد انتقال یافتند. کالوس زایی و شاخه زایی با استفاده از ترکیب های مختلف BAP و 2,4-D روی محیط کشت موراشیگی و اسکوک (MS) مورد بررسی قرار گرفتند. طبق نتایج به دست آمده بیشترین وزن پینه مربوط به تیمار ۲ میلی گرم در لیتر BAP به همراه ۰/۱ میلی گرم در لیتر 2,4-D بوده، بیشترین طول شاخساره در استفاده از غلظت ۲ میلی گرم در لیتر BAP و ۱ میلی گرم در لیتر 2,4-D و بیشترین تعداد شاخه های جانبی در زمان استفاده از غلظت ۰/۵ تا ۱/۵ میلی گرم در لیتر BAP بدون حضور 2,4-D مشاهده شد؛ اما تیمار ۱ میلی گرم در لیتر BAP مناسب ترین تیمار برای پرآوری این گیاه، شناخته شد.

واژگان کلیدی: تنظیم کننده های رشد، پینه زایی ، پرآوری ،

Salvia virgata

مقدمه

طی سی سال اخیر توجه بسیاری از دانشمندان به روش های کشت بافت جهت تولید فراورده های با ارزش گیاهی جلب شده است. این روش ها می تواند بر بسیاری از مشکلات ناشی از تولید صنعتی این مواد که به روش استخراج از گیاهان انجام می گیرد غلبه کند. با استفاده از این کشت ها می توان در طول سال بدون توجه به فصل رویش گیاه فراورده مورد نظر را تولید کرد. همچنین خطر از بین رفتن محصول به علت عوامل طبیعی و یا خطر از بین رفتن گونه گیاهی به علت استحصال بیش از حد از عرصه های طبیعی کاهش می یابد. کشت بافت نه تنها جهت تولید محصولات طبیعی کاربرد دارد بلکه فرایندی برای تبدیل ترکیب های بی



ارزش به ترکیب های ارزشمند نیز محسوب می شود. علاوه بر این، بسیاری از ترکیب های جدید که در کشت بافت ایجاد می شوند به طور طبیعی در گیاهان تولید نمی شوند.

Salvia virgata در بیشتر نقاط ایران یافت می شود و به دلیل دارا بودن اسانس و ترکیب های فنلی در صنایع عطرسازی، غذایی و آرایشی - بهداشتی کاربرد دارد (۱). در این پژوهش با استفاده از تنظیم کننده های رشد گیاهی در محیط کشت پایه MS، شرایط بهینه برای پینه زایی و اندام زایی این گونه مریم گلی مورد بررسی قرار گرفته است.

مواد و روش ها

برای تهیه ریزنمونه از دانهال های ۴۰ روزه رشد یافته در شرایط این ویترو استفاده شد. برای ضد عفونی، بذرها پس از شستشو به مدت ۳-۲ دقیقه در اتانول ۷۰٪ و سپس به مدت ۱۵ دقیقه در هیپوکلریت سدیم ۱٪ غوطه ور شدند. در نهایت ۳ مرتبه با آب مقطر استریل شستشو داده شدند. بذرها ضد عفونی شده در زیر هود در شیشه های حاوی محیط کشت MS پایه کشت شده، در اتاق رشد با شرایط ۱۶ ساعت روشنایی، ۸ ساعت تاریکی و دمای ۲۳-۲۵ درجه سانتی گراد نگهداری شدند. پس از رشد کافی دانهال ها قطعات تک گرهی ساقه دانهال ها (۸-۱۰ میلی متر) به عنوان ریزنمونه، در ظروف کشت محتوی ۵۰ میلی لیتر محیط پایه MS حاوی تنظیم کننده های رشد گیاهی BAP و 2,4-D هر یک در ۵ غلظت مختلف کشت شدند. هر تیمار دارای ۱۰ تکرار و هر تکرار شامل ۴ ریز نمونه بود. علاوه بر تنظیم کننده های رشد یاد شده، همه محیط های کشت دارای ۰/۳٪ ساکارز، ۰/۷۵٪ آگار و ۱۰ میلی گرم در لیتر اسکوربیک اسید بودند، قبل از اضافه کردن آگار 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. این محیط ها به مدت ۷ هفته در اتاق رشد نگهداری شده، در نهایت وزن تر پینه، طول شاخساره، تعداد شاخه های جانبی و درصد شاخه زایی در آن ها اندازه گیری شد. داده های به دست آمده با استفاده از نرم افزار MSTAT-C مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند و مقایسه میانگینها 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 ۲ میلی گرم در لیتر مشاهده شد و با افزایش غلظت سایتوکینین، طول شاخساره و تعداد شاخه های جانبی افزایش یافت. همچنین با توجه به نتایج این جدول بیشترین درصد شاخه زایی در تیمار شاهد به دست آمده است. بالاترین میزان وزن تر پینه در غلظت ۲ میلی گرم در لیتر BAP به میزان ۳/۳۸۴ گرم به دست آمد و با افزایش غلظت BAP وزن تر پینه هم به طور معنی داری افزایش یافته و به بالاترین سطح خود رسید (جدول ۱).

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

سطوح BAP	وزن تر پینه (g)	طول شاخساره (cm)	تعداد شاخه های جانبی	درصد شاخه زایی
۰	^e ۰/۲۹۴	^c ۱/۸	^{ab} ۱/۴	^a ۴۵/۵
۰/۵	^d ۰/۴۵۰	^d ۱/۲	^b ۱/۲	^b ۴۲/۰
۱	^c ۱/۶۲۵	^d ۱/۲	^b ۱/۲	^d ۳۵/۲
۱/۵	^b ۲/۶۹۸	^b ۲/۱	^a ۱/۶	^c ۳۸/۲
۲	^a ۳/۳۸۴	^a ۲/۵	^a ۱/۶	^b ۴۰/۶

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

مقایسه اثر غلظت های مختلف 2,4-D، نشان داد که بیشترین میزان وزن تر پینه و پرآوری در تیمار شاهد مشاهده شد. با افزایش سطوح اکسین تعداد شاخه های جانبی و درصد شاخه زایی به طور معنا داری کاهش یافته است. بالاترین میزان وزن تر پینه نیز در غلظت ۰/۱ میلی گرم در لیتر 2,4-D به میزان ۳/۵۳۳ گرم به دست آمد. افزایش غلظت 2,4-D تا حد ۰/۱ میلی گرم در لیتر، به طور معنی داری باعث افزایش رشد پینه و در نتیجه افزایش وزن تر پینه شده است که آن را می توان غلظت موثر 2,4-D در رشد پینه دانست و بالاتر از آن باعث کاهش رشد و کاهش وزن تر پینه گردید (جدول ۲).

۱۱ و ۱۲ اسفندماه ۱۳۹۰ دانشگاه آزاد اسلامی خوراسگان دانشکده کشاورزی

جدول ۲- مقایسه اثر سطوح مختلف 2,4-D بر ویژگی های مورد بررسی

سطوح 2,4-D	وزن تر پینه (g)	طول شاخساره (cm)	تعداد شاخه های جانبی	درصد شاخه زایی
۰	۰/۹۶۲ ^c	۳/۴ ^a	۳/۶ ^a	۹۸/۴ ^a
۰/۱	۳/۵۳۳ ^a	۲/۱ ^b	۲/۰ ^b	۶۷/۱ ^b
۰/۵	۲/۷۴۳ ^b	۱/۳ ^c	۱/۶ ^c	۲۵/۸ ^c
۱	۰/۹۹۸ ^c	۱/۳ ^c	۰/۷ ^c	۳/۸ ^e
۱/۵	۰/۲۱۵ ^d	۰/۶ ^d	۰/۰ ^d	۶/۴ ^d

(میلی گرم در لیتر)

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

مقایسه برهمکنش BAP و 2,4-D نیز نشان داد که بیشترین طول شاخساره در استفاده از غلظت ۲ میلی گرم در لیتر BAP و ۱ میلی گرم در لیتر 2,4-D مشاهده شد (جدول ۳).

جدول ۳: اثر تنظیم کننده های رشد گیاهی BAP و 2,4-D بر فراسنجه های مورد آزمایش

وزن تر پینه (gr)	درصد شاخه زایی	طول شاخساره (cm)	تعداد شاخساره جانبی	BAP (mg.L ⁻¹)	2,4-D (mg.L ⁻¹)
۰/۲۰۸ ^j	۱۰۰ ^a	۳/۴ ^c	۴/۰ ^a	۰	۰
۰/۵۸۷ ^{hi}	۱۰۰ ^a	۳/۲ ^{cd}	۴/۰ ^a	۰/۵	۰
۱/۵۶۷ ^f	۱۰۰ ^a	۲/۹ ^{de}	۴/۰ ^a	۱	۰
۱/۲۵۸ ^{fg}	۹۷ ^{ab}	۵/۲ ^b	۴/۰ ^a	۱/۵	۰
۱/۱۹۲ ^g	۹۵ ^{bc}	۲/۴ ^{fg}	۲/۰ ^c	۲	۰



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

۰/۳۵۴ ^{hij}	۷۸/۵ ^c	۲/۰ ^{gh}	۱/۸ ^b	۰	۰/۱
۰/۶۰۶ ^h	۵۳/۰ ^f	۰/۹۸ ^l	۲/۰ ^b	۰/۵	۰/۱
۴/۶۴۱ ^{cd}	۵۸/۰ ^e	۲/۵ ^{ef}	۲/۰ ^b	۱	۰/۱
۴/۴۴ ^d	۷۴/۰ ^d	۲/۸ ^{def}	۲/۰ ^b	۱/۵	۰/۱
۷/۶۲۳ ^a	۷۲/۰ ^d	۲/۰ ^{gh}	۲/۲ ^b	۲	۰/۱
۰/۳۴ ^{hij}	۴۰/۰ ^g	۱/۵ ^{ij}	۱/۰ ^c	۰	۰/۵
۰/۴۴ ^{hij}	۳۹/۰ ^g	۱/۰ ^{kl}	۰/۰ ^d	۰/۵	۰/۵
۱/۵۳۸ ^f	۱۸/۰ ^h	۰/۶۵ ^{lm}	۰/۰ ^d	۱	۰/۵
۴/۸۳۱ ^c	۱۳/۰ ⁱ	۱/۴ ^{jk}	۱/۸ ^b	۱/۵	۰/۵
۶/۵۶۳ ^b	۱۹/۰ ^h	۱/۹ ^{hi}	۰/۰ ^d	۲	۰/۵
۰/۳۳ ^{hij}	۰/۰ ^l	۰/۰ ⁿ	۰/۰ ^d	۰	۱
۰/۴۴ ^{hij}	۰/۰ ^l	۰/۰ ⁿ	۰/۰ ^d	۰/۵	۱
۰/۲۳۴ ^j	۰/۰ ^l	۰/۰ ⁿ	۰/۰ ^d	۱	۱
۲/۷۰۴ ^e	۲/۰ ^{kl}	۰/۵ ^m	۰/۰ ^d	۱/۵	۱
۱/۲۸۲ ^{fg}	۱۷/۰ ^h	۶/۰ ^a	۳/۵ ^a	۲	۱
۰/۲۳۹ ^j	۹/۰ ^j	۲/۰ ^{gh}	۰/۰ ^d	۰	۱/۵
۰/۱۷۶ ^j	۱۸/۰ ^h	۰/۶ ^{lm}	۰/۰ ^d	۰/۵	۱/۵
۰/۱۴۶ ^j	۰/۰ ^l	۰/۰ ⁿ	۰/۰ ^d	۱	۱/۵

۰/۲۵۶ ^{ij}	۵/۰ ^k	۰/۴ ^{mn}	۰/۰ ^d	۱/۵	۱/۵
۰/۲۵۹ ^{ij}	۰/۰ ^l	۰/۰ ⁿ	۰/۰ ^d	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 تیمار شاهد و غلظت های ۰/۵ تا ۱/۵ میلی گرم در لیتر BAP بدون حضور 2,4-D به دست آمد و تا سطح ۱/۵ میلی گرم در لیتر BAP با افزایش سطوح مختلف اکسین تعداد شاخه های جانبی نیز کاهش یافت. مقایسه میانگین ها نشان داد که تیمار شاهد و ترکیب های هورمونی ۰/۵ و ۱ میلی گرم در لیتر BAP و صفر میلی گرم در لیتر 2,4-D با میانگین ۱۰۰٪، بیشترین درصد شاخه زایی را داشتند (جدول ۳). معمار و همکاران نیز در پژوهش خود روی کشت درون شیشه ای لیلیوم بالاترین درصد شاخه زایی را در تیمار شاهد به دست آوردند (۶). بالاترین میزان وزن تر پینه در غلظت ۲ میلی گرم در لیتر BAP و ۰/۱ میلی گرم در لیتر 2,4-D به میزان ۷/۶۲۳ گرم به دست آمد. در این رابطه بین این تیمار با بقیه تیمارها تفاوت معنی داری در سطح یک درصد آزمون دانکن وجود داشت (جدول ۳)؛ همچنین مشاهده شد که در تمام سطوح BAP در غلظت ۰/۱ میلی گرم در لیتر 2,4-D وزن تر کالوس بیش تری از تیمار شاهد به دست آمد. با توجه به این نکته که غلظت بالای اکسین به سایتوکینین برای تولید پینه ضروری است، می توان نتیجه گرفت که میزان تنظیم کننده های درونی این گیاه بالا می باشد و یا این که در بعضی موارد ریزنمونه ها از قسمت ها و یا در زمان هایی تهیه شده اند که میزان این تنظیم کننده های درونی زیاد بوده است. بهترین محیط کالوس زایی در مریم گلی نیز، محیط MS دارای ۱۰/۴۷ میکرومول NAA و ۴/۵ میکرومول BA می باشد (۳). در اسطوخودوس نیز محیط MS محتوی ۴/۵ میکرومول NAA به علاوه ۹ میکرومول BA به عنوان بهترین محیط کالوس زایی تعیین گردیده است (۴). غلظت مناسب سایتوکینین بسته به گونه گیاهی، رقم خاص و حتی نوع ریزنمونه متفاوت گزارش شده است. در مطالعه ریز ازدیادی گونه ای از گیاه مریم گلی (*Salvia leucanthe*) عنوان شده است که در محیط کشت حاوی ۱ میلی گرم در لیتر BAP بیشترین تعداد و طول شاخساره تولید می گردد (۵). در این پژوهش، تیمار ۱ میلی گرم در لیتر BAP بدون حضور 2,4-D، مناسب ترین غلظت برای پرآوری این گیاه به دست آمد. پریک و همکاران اظهار داشتند که تولید تعداد شاخساره بیشتر در غلظت های بالای BAP به دلیل تأثیر سایتوکینین در غلبه بر چیرگی انتهایی و تحریک نمو جوانه های جانبی می باشد (۷).

منابع

۱- 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.

۲- قهرمان، ع. ۱۳۶۵. فلور رنگی ایران. انتشارات موسسه تحقیقات جنگل ها و مراتع. شماره ۱۵۹۹،



- 3- Bolta, I., E. Dea Bari., B. Bohanec and S. Zndrenek. 2000. Apreliminary investigation of ursolic acid (UA) in cell suspension culture of *Salvia officinalis* L. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture Journal*. 62(1):57-63.
- 4- 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.
- 5- Mederos-Molina, S. 2006. Micropropagation of *Salvia broussonetii* Benth- A medicinal plant species. *Plant Tissue Culture & Biotechnology*. 6:19-23.
- 6- Memar Moshrefi, M., Moine, A. and Tavassolian, I., 2002, *Effects of plant growth regulators NAA, BAP, different explants scale and photoperiod on tissue culture of lilium ledebourii* Boiss., *Iranian journal of crop sciences*, 4(4):253-264.
- 7- Pierik, R. L. M. 1987. *In vitro* culture of higher plants. Mortinus Nijhoff, Dordrecht. The Netherlands.

Hormonal conditions for Callus induction and proliferation in *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 is the biggest genus that belongs to the lamiaceae family, and it has aromatic and medicinal uses. Explants of nodal of sterilized seedling of *Salvia virgata* L. were transferred to media with different



concentrations of the growth regulators. Collogenesis and shoot induction were investigated using different combinations of 6-Benzyl Amino Purine (BAP) and 2,4-Dichloro phenoxy acetic Acid (2,4-D) on Murashige and Skooge (MS) medium. The results showed that the most callus weight was belong to 2 mg/l BAP+ 0.1 mg/l 2,4-D. maximum shoot lengths observed by using 2 mg/l BAP+ 1mg/l 2,4-D and maximum number of lateral shoots by using concentration of 0.5 to 1.5 mg/l BAP + 0 mg/l 2,4-D, but 1.5 mg/l BAP with out the presence of auxin was known the best media for proliferation.

Key words: Growth regulators, Callogenesis, Shoot induction, *Salvia virgata*.