" نهال و بذر"
جلد ۲٤ ، شماره ٤، سال ۱۳۸۷

«مقاله کوتاه علمی»

اثر ریز نمونه و سطوح مختلف هورمونی در کال‌زائی و ساقه زائی گیاه باریجه (*Ferula gommosa* B.)

Effects of Explant and Different Hormones Concentration on Callus Induction and Shoot Regeneration of Galbanum (*Ferula gummosa* B.)

راضیه سرابادانی تفرشی[۱]، منصور امیدی[۲]، محمدرضا بی‌همتا[۲] و رضا میرزایی[۳]

۱- دانشجوی سابق کارشناسی ارشد اصلاح نباتات، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج
۲- به ترتیب دانشیار و استاد، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج
۳- مربی، سازمان محیط زیست، اراک

تاریخ دریافت: ۱۳۸٦/۱۲/۱٦ تاریخ پذیرش: ۱۳۸۷/٤/٦

سرابادانی تفرشی، ر.، امیدی، م.، بی‌همتا، م. ر.، و میرزایی، ر. ۱۳۸۷. **اثر ریز نمونه و سطوح مختلف هورمونی در کال‌زائی و ساقه زائی گیاه باریجه (*Ferula gommosa* B.)**. نهال و بذر ۲۴: ۷۶۶ - ۷۶۳ .

باریجه *Ferula gummosa* B.، با نام انگلیسی Galbanum، گیاهی ارزشمند از نظر دارویی و صنعتی از خانواده چتریان ، بومی ایران است. این گیاه چندساله و منوکارپیک است (در طول عمر خود تنها یک بار گل می‌دهد) ودر چند سال اول رویش(۷-۵ سال) برگ‌های طوقه‌ای تولید می‌کند، درسال آخر رویش به ساقه می‌رود و گل و میوه نیز روی آن تشکیل می‌شود، سپس ریشه گیاه می‌پوسد و گیاه از بین می‌رود (Zargari, 1989).

تولید این گیاه به علت دوره طولانی خواب بذر و همین طور منوکارپیک بودن آن، دارای محدودیت است. تحقیقات بر روی شکستن خواب بذر و جوانه‌زنی این گیاه نشان داده است که حداقل زمان لازم برای انجام آن، با استفاده از پیش تیمارهای مختلف، ۴۰ روز است (Nadjafi *et al.* ,2005) ضمن این که در بررسی مجلات علمی و انتشارات معتبر، گزارشی مبتنی بر به کارگیری روش‌های کشت بافت بر روی این گیاه یافت نشده است. در بررسی حاضر، تلاش شده است تا با استفاده از کشت جنین در محیط درون شیشه‌ای (*In vitro*)، زمان لازم برای شکستن خواب و جوانه‌زنی بذر این گیاه به حداقل رسانده شده و

نویسنده مسئول: sarabadani@gmail.com

با تهیه ریز نمونه‌های مناسب برای القاء کالوس و به کارگیری سطوح هورمونی و ریز نمونه مختلف، کال‌زایی و ساقه‌زایی این گیاه برای تولید انبوه آن، بهینه شود.

بذر گیاه باریجه از ارتفاعات استان مرکزی جمع‌آوری شد. محورهای جنینی پس از ضدعفونی سطحی، به وسیله اتانول ۷۰٪ به مدت یک دقیقه و هیپوکلریت سدیم (۲/۵ درصد) به مدت ۲۵ دقیقه، در محیط پایه MS (با یک چهارم از عناصر ماکرو ومیکرو) کشت شدند وبه اتاقک کشت با دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد و شدت نور ۳۰۰۰ لوکس برای ۱۶ ساعت دوره روشنایی انتقال داده شدند. پس از گذشت بیست روز، از گیاهچه های با بنیه مناسب ریز نمونه‌های ریشه، هیپوکوتیل، کوتیلدون، برگ اصلی، جنین کامل وجنین برش یافته تهیه شد تا درمرحله کال‌زائی مورد استفاده قرار گیرند.

برای القاء کالوس سطوح مختلف کنترل کننده‌های رشد شامل ۶، ۴ و ۲ میلی‌گرم در لیتر 2,4-D به همراه ۰/۵و ۱ میلی‌گرم در لیتر Kinetin و ۵ و ۱۰ میلی‌گرم در لیتر NAA به همراه ۱ و۲ میلی‌گرم در لیتر BAP استفاده شدند. درصد کال‌زایی، سطح کال و وزن کال‌ها به عنوان پارامترهای رشد کالوس، ۳۰ روز پس از قرار گرفتن ریز نمونه‌ها در محیط کشت کال‌زایی اندازه‌گیری شدند.

کالوس‌های مناسب (۳۵-۳۰روزه) با منشاء ریشه، هیپوکوتیل و جنین برش یافته به محیط‌های باززایی شامل محیط کشت پایه B5 با ۲۰ گرم در لیتر ساکارز و ۷ گرم در لیتر آگار، به همراه سطوح مختلف هورمونی شامل ۱/۵ میلی‌گرم در لیتر BAP و ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر ADS (آدنین سولفات) به تنهایی یا همراه با هم و یا هر کدام به تنهایی در ترکیب با ۱۰ میلی‌گرم در لیتر ABA و یا هر دوی آن‌ها (BAP ,ADS) به همراه ABA منتقل شدند. درصد ساقه‌زایی، تعداد ساقه و طول ساقه، ۳۰ روز پس از قرار گرفتن کال‌ها در محیط ساقه‌زایی اندازه‌گیری شدند. در فاز کال‌زایی، آزمایش به صورت فاکتوریل (۲ فاکتوره) در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. در فاز ساقه‌زایی، به دلیل پاسخ مثبت تنها در یکی از تیمارهای هورمونی به کار برده شده، به تجزیه واریانس در ارتباط با منشاء کالوس بسنده شد وبرای این منظور از طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار استفاده شد.

دو تا سه روز پس از قرارگرفتن جنین‌ها در محیط کشت، جوانه‌زنی انجام شد که در مقایسه با روش کشت بذر تیمار شده با سرما (Nadjafi *et al.*,2005) که حداقل زمان لازم برای شکست خواب بذر را ۴۰ روز نشان می‌دهد، سرعت قابل توجهی داشت. گیاهچه‌های کامل و با بنیه مناسب، ۳۰-۲۰ روز پس از کشت جنین ایجاد شدند.

بر اساس جدول تجزیه واریانس مربوط به بخش کال‌زایی، برای تمامی صفات اندازه‌گیری شده (درصد کال‌زایی، سطح کالوس و وزن کال‌ها) در سطح ۱٪، هم اثر نوع ریز نمونه و

جدول۱- تجزیه واریانس درصد کال‌زایی، سطح کالوس و وزن کالوس در تیمارهای هورمونی و ریزنمونه

Table 1. Analysis of variance for callus percentage, callus surface and callus weight in ten hormone and explants treatments

S.O.V	درجه آزادی Df.	درصد کال‌زایی Callus percentage		سطح کالوس Callus surface		وزن کالوس Callus weight	
		MS	F	MS	F	MS	F
Explants (E)		1.110	78.720**	65.09	27.90**	0.117	33.597**
Hormones (H)	9	0.320	22.600**	126.80	54.36**	0.115	32.940*
E x H	27	0.030	2.115*	9.11	3.90**	0.045	12.840**
Error	80	0.014		2.33		0.003	

**: Significant difference at 1% probability level.

**: معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد.

هم اثر نوع تیمارهای هورمونی به کار برده شده معنی‌دار تشخیص داده شد (جدول ۱).

از میان ریز نمونه‌های استفاده شده، ریشه، جنین برش یافته، هیپوکوتیل و کوتیلدون‌ها، در تمامی تیمارهای هورمونی کالوس تولید کردند. در حالی که ریز نمونه‌های جنین کامل و برگ اصلی در هیچ کدام از تیمارهای هورمونی پاسخی در جهت القاء کالوس نشان ندادند. مقایسه میانگین‌های انجام شده توسط آزمون توکی نشان داد که از میان ریز نمونه‌های القاءکننده کالوس، ریز نمونه جنین برش یافته بالاترین درصد کال‌زایی، ریز نمونه جنین برش یافته و ریشه بالاترین سطح کالوس و ریز نمونه ریشه سنگین‌ترین کالوس را داشتند. بر اساس مقایسه میانگین‌ها، از میان سطوح هورمونی مختلف به کار برده شده، ترکیب ۱۰ میلی‌گرم در لیتر NAA به همراه ۲ میلی‌گرم در لیتر BAP هورمونی ۱/۵ میلی‌گرم در لیتر BAP به همراه ۰/۵ بهترین نتیجه را از نظر وزن کالوس داشت، در حالی که ترکیبات هورمونی ۱۰ میلی‌گرم در لیتر NAA به همراه ۱و۲ میلی‌گرم در لیتر هورمون BAP بالاترین سطح کالوس را ایجاد کردند. از نظر صفت در صد کال‌زایی ، اکثر سطوح هورمونی شامل NAA و BAP درصد کال‌زایی بالائی داشتند که با نتایج تحقیقات درونه و همکاران (Dronne *et al.*, 1999) بر روی گیاه *Lavandula vera* همخوانی دارد. در بررسی انجام شده توسط ابراهیمی و همکاران (Ebrahimi *et al.*, 2003) هورمون‌های استفاده شده ترکیبی از NAA، BAPو IAA بودند که نتایج خوبی را در باززایی گیاه *Cuminum cyminum L.* داشت.

در فاز ساقه‌زایی، از میان تیمارهای مختلف هورمونی به کار برده شده تنها ترکیب میلی‌گرم در لیتر از هورمون ADS توانست

باعث ایجاد ساقه بر روی کالوس‌ها شود که مشابه این نتیجه در بررسی باززایی گیاه *Cichorium intybus* L.، مبنی بر سودمندی استفاده از ADS به همراه BAP در ایجاد ساقه به دست آمده است (Nandagopal *et al.*, 2006). Martin. (2003) در بررسی‌های خود بر روی گیاه *Anacardium occidentale*، با استفاده از ADS به همراه BAP توانست نتایج خوبی را در باززایی این گیاه به دست آورد. در بررسی تجزیه واریانس منبع تغییر دیگر (منشاء کالوس)، نتایج نشان داد که تفاوت بین سه منشاء کالوس (ریشه، هیپوکوتیل و جنین برش یافته) فقط برای درصد ساقه‌زایی معنی‌دار شد. آزمون توکی، کالوس با منشاء ریشه را مناسب‌ترین کالوس به منظور درصد ساقه‌زایی بیشتر معرفی کرد.

واژه‌های کلیدی: باریجه، گیاهچه، ریزنمونه، کال‌زائی، غلظت هورمونی.

References

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

Ebrahimi, E., Habashi, A.A., Ghareyazi, B., Ghannadha, M.R., and Mohammadi, M. 2003. A rapid and efficient method for regeneration of plantlets from embryo explants of Cumin. Plant Cell, Tissue and Organ Cultur 75:19-25.

Nadjafi, F., Bannayan, M., Tabrizi, L., and Rastgoo, M. 2005. Seed germination and dormancy breaking techniques for *Ferula gummosa* and *Teucrium polium*. Journal of Arid Environment 64: 542-547.

Nandagopal, S., and Ranjitha Kumari, B. D. 2006. Adenine sulphate induced high frequency shoot organogenesis in callus and *in vitro* flowering of *Cichorium intybus* L. cv. Focus- apotent medicinal plant.Acta Agriculturae Slovanica 87:415-425.

Martin, K, P. 2003. Plant regeneration through direct somatic embryogenesis on seed cout explant of Cashew (*Anacardium occidentale* L.). Scientia Horticulturae 98: 299-304.

Zargari, A. 1991. Medicinal Plants, Vol. 2. Tehran University Publications. Tehran, Iran. 442 pp.