بررسی اثر محیط کشت پایه و تیمار هورمونی بر شاخه‌زایی گل محمدی

فاطمه قلی‌زاده[۱]، خدیجه کیارستمی[۲]،
زهرا ناظم بکائی[۳]

تاریخ دریافت: ۸۹/۲/۲۲
تاریخ تصویب: ۸۹/۶/۶

چکیده

گل محمدی[۴] از نظر اقتصادی یکی از مهم‌ترین گیاهان دارویی و معطر در ایران است. این گیاه به‌طور معمول با روش غیرجنسی (جوانه‌زدن، بذرافشانی، قلمه‌زدن، بن شاخه و ...) تکثیر می‌شود. تکثیر گل محمدی به‌طور معمول، به‌دلیل عدم تشکیل ریشه‌های نابه‌جا به‌سختی انجام می‌شود. کشت درون‌شیشه‌ای روش جایگزینی برای تکثیر رویشی (غیرجنسی) پایه‌های اصلاح شدهٔ این گیاه است. برای این کار، قطعات تک‌گره شاخه‌های جوانه‌دار جانبی از بوته‌ها جدا شدند.

جداکشت‌های تک‌گره به‌طور سطحی با هیپوکلریت سدیم ۱/۲٪ ، به مدت ۱۵ دقیقه سترون شدند و بر محیط‌های کشت موراشیگ و اسکوگ (MS) و Lepoivre و Quoirin (QL) قرار گرفتند. در مرحلهٔ شاخه‌زایی، اثر هورمون‌های کینتین (Kin) و بنزیل آمینو پورین (BAP) بررسی شد. در این مرحله محیط کشت QL بر MS برتری داشت. بهترین ترکیب تنظیم‌کنندهٔ رشد، BAP با غلظت ۵ میلی‌گرم در لیتر و Kin با غلظت ۱/۵ میلی‌گرم در لیتر بود.

واژه های کلیدی: *تنظیم‌کننده‌های رشد، ریزازدیادی، شاخه‌زایی، گل محمدی.*

---

۱. دانشجوی کارشناسی ارشد دانشگاه الزهرا، تهران، مسئول مکاتبه با مجله، fatimasaba100@yahoo.com
۲.دانشگاه الزهرا، گروه زیست شناسی
۳. دانشگاه الزهرا، گروه زیست‌شناسی

4 . Rosa damascene Mill

مقدمه

گل محمدی یکی از مهم‌ترین رزهای معطر است. ارزش اقتصادی این گیاه به دلیل اسانس باارزش آن است که در گلبرگ‌های آن ساخته و ذخیره می‌شود (Komova, et al. 1994). این اسانس از نظر پزشکی خاصیت تقویت اعصاب دارد که برای درمان افسردگی و اضطراب به‌کار می‌رود (McCown, et al., 1982). عصارهٔ محلول در آب و متانول اسانس گل محمدی کارکرد ضدّ ویروس HIV (ایدز) دارد و از فعالیت پروتئازهای ویروسی جلوگیری می‌کند.

در این گیاه دورهٔ کوتاه گل‌دهی، بهره‌وری را کاهش می‌دهد. بسیاری از انواع رز، مانند گل محمدی با روش‌های غیرجنسی قلمه، پیوند و پاجوش تکثیر می‌شوند؛ اما این روش‌ها علاوه بر زمان‌بری با مشکلاتی، همچون تشکیل تعداد کم ریشه‌های نابه‌جا در قلمه‌ها روبه‌رویند. امروزه روش‌های جدید، مانند ریزازدیادی جایگزین روش‌های تکثیر سنّتی شده‌اند و بسیاری از گونه‌های زراعی، زینتی و دارویی از این راه تکثیر می‌شوند. در این روش گیاهان در مدت کوتاهی تکثیر می‌شوند و گیاهچه‌های جوان در هر موقع از سال در دسترس‌اند. ریزازدیادی روشی مناسب برای تکثیر گیاهان اصلاح‌شده است؛ زیرا از این راه صفات جدید ایجادشده، دست نخورده و با اندکی تنوع به نسل بعد منتقل می‌شود (Mahmood, et al. 1996). با این روش احتمال ایجاد ژنوتیپ‌هایی از این گیاه هست که بتوانند زمان طولانی‌تری گل داشته باشند. جنبه‌های گوناگونی از سیستم‌های کشت بافت برای گونه‌های رز شرح داده شده است. با این‌حال گزارش‌های کمی دربارهٔ گل محمدی در دسترس است. برخی از این گزارش‌ها عبارت‌اند از: *اثر منابع مختلف نور و عامل ژل‌ساز*، Kumar و همکاران، ۲۰۰۳؛ *بررسی غلظت‌های مختلف BAP (بنزیل آمینو پورین) و IBA (ایندول بوتیریک اسید)*، (Jabbarzadeh و Khsh-Khui، 2005)؛ *بررسی غلظت‌های مختلف BAP در ژنوتیپ‌های آذربایجان شرقی و غربی* (عباس قمری زارع و همکاران، ۱۳۸۵)؛ *بررسی غلظت‌های مختلف BAP، NAA (نفتالن استیک اسید) و GA3 (جیبرلیک اسید) در کولتیوارهای قمصر و آذران* (کافی و همکاران، ۱۳۸۳).

با وجود این تحقیقات هنوز درصد موفقیت پایین است و تکثیر در همهٔ ژنوتیپ‌ها انجام نشده است. بیشتر نمونه‌های کشت‌شده پتانسیل شاخه‌زایی بالایی ندارند و شاخه‌های تشکیل‌شده در زمان کوتاهی زرد می‌شود و از بین می‌روند. به دلیل این‌که ریزازدیادی این گیاه در مرحلهٔ شاخه‌زایی با مشکلات زیادی همراه است، در این پژوهش اثر محیط‌های کشت پایه و تیمارهای هورمونی بر شاخه‌زایی گل محمدی بررسی شده است.

مواد و روش‌ها

شاخه‌های دارندهٔ جوانهٔ جانبی از پایه‌های بالغ گل محمدی کاشته‌شده در محوطهٔ دانشگاه الزهرا جمع‌آوری و به آزمایشگاه برده شد. پس از حذف خارها و برگ‌ها، ساقه‌ها به قطعه‌های ۱ سانتی‌متری حاوی

جوانهٔ جانبی تقسیم شد و تحت تأثیر تیمارهای مختلف سترون‌سازی قرار گرفتند. شست‌وشوی اولیهٔ نمونه‌ها با استفاده از آب و مایع ظرف‌شویی به مدت ۱۰ دقیقه انجام شد و سپس نمونه‌ها به‌مدت ۲۰ دقیقه زیر آب جاری قرار گرفتند. نمونه‌ها پس از شست‌وشو، به مدت ۳۰ ثانیه در اتانول ۷۰٪ قرار گرفتند و پس از قرارگیری به مدت ۱۵ دقیقه در هیپوکلریت سدیم ۱/۲٪ استریل‌شده، سه تا چهار بار با آب مقطر استریل شست‌وشو داده شدند.

پنج قطعهٔ جداکشت در ظروف کشت حاوی ۲۰ میلی‌لیتر از محیط‌های کشت MS (موراشیگ و اسکوگ) و QL (Lepoivre و Quoirin) بدون هورمون قرار گرفتند. پس از بررسی برهم‌کنش غلظت‌های مختلف تنظیم‌کننده‌های رشد با شاخص‌های مورد نظر، بهترین ترکیب تنظیم‌کننده‌های رشد برای ادامه کار انتخاب شد.[1] پس از سه هفته، شاخه‌ها به محیط‌های کشت با غلظت‌های متفاوت تنظیم‌کننده‌های رشد انتخاب‌شده، شامل BAP (۳ و ۵ میلی‌گرم در لیتر) و Kin (۱، ۱/۵ و ۲ میلی‌گرم در لیتر) به‌طور توأم منتقل شد و طول شاخه، ضریب ازدیاد (تعداد شاخه تقسیم بر تعداد ریزنمونه)، تعداد برگ و طول آن بررسی شد.

نمونه‌ها در اتاق رشد و فتوپریود ۱۶ ساعت روشنایی با دمای ۲±۲۵ درجهٔ سانتی‌گراد و ۸ ساعت تاریکی با دمای ۲±۱۹ درجهٔ سانتی‌گراد با شدت نور ۴۰۰۰ لوکس نگه‌داری شدند. واکشت نمونه‌ها هر چهار هفته یک‌بار انجام شد. پس از سه مرحله واکشت، نتایج نهایی از نظر آماری بررسی شد. تمام تیمارها در چهار تکرار و هر تکرار با ۵ ریزنمونه در قالب طرح پایهٔ بلوک‌های کاملاً تصادفی انجام شد. تجزیهٔ واریانس و مقایسهٔ میانگین‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS و آزمون چنددامنه‌ای دانکن انجام شد.

نتایج

تجزیهٔ واریانس صفات موضوع مطالعه نشان داد که از نظر رشد طولی، ضریب ازدیاد، تعداد برگ و طول برگ تفاوت معنی‌داری بین دو محیط کشت QL و MS مشاهده می‌شود؛ ($p < ۰/۰۵$)، (جدول شمارهٔ ۱). مقایسهٔ میانگین صفات موضوع مطالعه نشان می‌دهد که بیشترین ضریب ازدیاد، رشد طولی، تعداد برگ و طول برگ در تیمار ۵ میلی‌گرم در لیتر BAP و ۱/۵ میلی‌گرم در لیتر Kin در محیط کشت QL به‌دست آمد. (جدول شمارهٔ ۲ و اشکال ۱ و ۲). در محیط کشت MS نیز بیشترین رشد طولی، ضریب ازدیاد و همچنین تعداد برگ در تیمار، ۵ میلی‌گرم در لیتر BAP و ۱/۵ میلی‌گرم در لیتر Kin به‌دست آمد و این نتیجه، نشان داد که این تیمار هورمونی در هر دو محیط کشت MS و QL، تیمار مناسبی در تکثیر شاخه در گل محمدی است (جدول شمارهٔ ۲). با مقایسهٔ دو محیط MS و QL مشخص شد که رشد طولی، ضریب ازدیاد، تعداد برگ و طول برگ در محیط QL بهتر است (جدول شمارهٔ ۲ و شکل‌های ۱و۲). بر اساس این نتایج، این محیط به‌همراه تیمار هورمونی ۵ میلی‌گرم در لیتر BAP و ۱/۵ میلی‌گرم در لیتر Kin برای ریزازدیادی گل محمدی توصیه می‌شود.

---

۱. به‌دلیل زیادبودن داده‌ها از آوردن آن‌ها در مقاله خودداری شد.

جدول شماره ۱. آنالیز واریانس اثر متقابل نوع محیط کشت و غلظت هورمون بر صفات موضوع مطالعه در قطعه‌های جداکشت گره با جوانهٔ جانبی منتقل‌شده به محیط دارندهٔ سیتوکینین

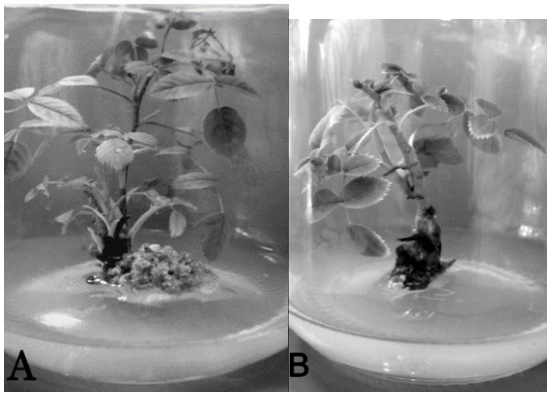
منبع تغییرات	درجهٔ آزادی	میانگین مربعات			
		رشد طولی (سانتی‌متر)	ضریب ازدیاد	تعداد برگ	طول برگ (سانتی‌متر)
محیط کشت	۱	۱۳/۷۴**	۳۲/۰۳**	۶۳۰/۲۱**	۱۲/۲۲**
تیمار هورمونی	۲	۶/۷۷**	۷/۱۶**	۲۶/۹۱ns	۱/۲۱*
تیمار هورمون× محیط کشت	۲	۳/۸۹**	۱۹/۱۱**	۴۰۷/۳۱**	۰/۷۶ns
ضریب تغییرات (%CV)		۰/۲۲	۰/۳۰	۰/۳۴	۰/۲۷

**، * و ns، به ترتیب بیانگر معنی‌دار بودن در سطح ۱٪ ، ۵٪ و معنی‌دار نبودن است.

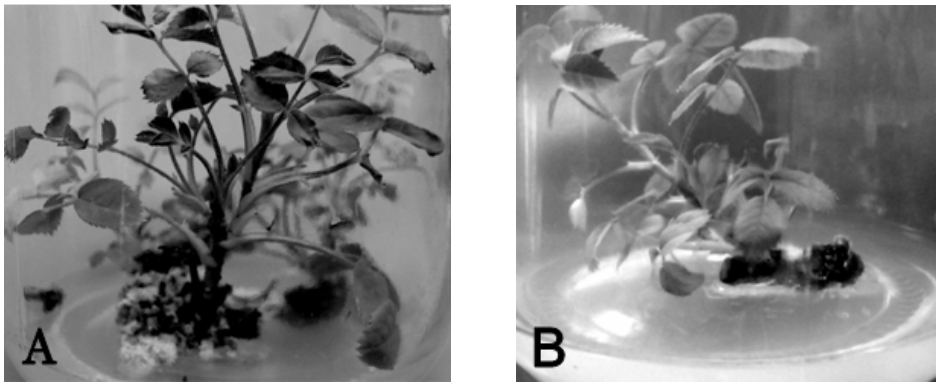
جدول شمارهٔ ۲. اثر محیط‌های کشت مختلف بر رشد طولی، ضریب ازدیاد، تعداد و طول برگ به‌دست آمده از قطعه‌های جداکشت گره واجد جوانهٔ جانبی (گروه‌بندی داده‌ها بر اساس آزمون دانکن (P<0/05) انجام شده است.)

محیط کشت	تیمار هورمونی (میلی‌گرم بر لیتر)	رشد طولی (سانتی‌متر)	ضریب ازدیاد	تعداد برگ	طول برگ (سانتی‌متر)
MS	BAP۵.Kin۱	۳/۱۵ c	۲/۹۵ c	۱۱/۱ b	۱/۷ d
	BAP۵.Kin۱/۵	۳/۸۸ b	۲/۵ cd	۷/۷۵ c	۱/۸۳ d
	BAP۳.Kin۲	۳/۸۵ b	۲/۱۰d	۶/۵۰ c	۲/۰۰ cd
QL	BAP۵.Kin۱	۴/۱۲ b	۲/۴ cd	۸/۵ c	۲/۲۴ ab
	BAP۵.Kin۱/۵	۴/۹۸a	۴/۵ a	۱۴/۵ a	۲/۷۸ a
	BAP۳.Kin۲	۳/۸۱ b	۳/۷۵ b	۱۶/۱ a	۲/۴۵ ab

حروف مشابه در هر ستون بیانگر معنی‌دار نبودن اختلاف است.



شکل شمارهٔ ۱. A: پرآوری شاخه در محیط کشت QL حاوی ۵ میلی‌گرم در لیتر BAP و ۱/۵ میلی‌گرم در لیتر Kin
B: پرآوری شاخه در محیط کشت MS حاوی ۵ میلی‌گرم در لیتر BAP و ۱/۵ میلی‌گرم در لیتر Kin.



شکل شمارهٔ ۲. A: برگ‌زایی در محیط کشت QL حاوی ۵ میلی‌گرم در لیتر BAP و ۱/۵ میلی‌گرم در لیتر Kin.
B: برگ‌زایی در محیط کشت MS حاوی ۵ میلی‌گرم در لیتر BAP و ۱/۵ میلی‌گرم در لیتر Kin.

بحث و نتیجه‌گیری

در این پژوهش، غلظت ۵ میلی‌گرم در لیتر BAP همراه با ۱/۵ میلی‌گرم در لیتر Kin، مناسب‌ترین محیط برای تکثیر گل محمدی در شیشه شناخته شد. Carelli و Echeuerrigaray (2002) نشان دادند که تعداد شاخه با افزودن غلظت BAP در محیط کشت افزایش می‌یابد که نتایج حاصل از این تحقیق را تأیید می‌کند. Carelli و Echeuerrigaray (2002) آن‌ها همچنین نشان دادند که اگرچه در غلظت ۵ میلی‌گرم در لیتر BAP میزان تکثیر شاخه افزایش یافت؛ طول گیاه به‌طور معنی‌داری کاهش یافت که با نتایج تحقیق ما مغایر بود. در این تحقیق، نه‌تنها در غلظت ۵ میلی‌گرم در لیتر طول گیاه کاهش نیافت؛ این غلظت از BAP موجب افزایش طول گیاه شد.

Huetteman و preece (1999) اعلام کردند که ترکیب سیتوکینین‌های مختلف موجب بهبود تکثیر شاخه می‌شود. بعضی از گونه‌های رز به غلظت بالای BAP در محیط کشت مقاوم‌ترند؛ مثل برخی از رزهای پیوندی که در غلظت‌های بالاتر از ۵/۸ میلی‌گرم در لیتر مقاوم‌اند (Damiano و همکاران، ۱۹۸۷).

Carelli و Echeuerrigaray (۲۰۰۲) نتیجه گرفتند که BAP در مقایسه با سایر هورمون‌های سیتوکینینی، همچون ۲ip و Kin موجب تحریک شاخه‌زایی بهتر می‌شود. Kumar و همکاران (۲۰۰۰) گزارش دادند که بهترین غلظت BAP برای ریزازدیادی گل محمدی، ۱/۲۵ میلی‌گرم در لیتر است. مطالعات انجام‌شده نشان می‌دهد که ریزازدیادی گل محمدی بیشتر بر محیط MS انجام شده و کشت روی محیط‌های کشت دیگر به‌ندرت انجام شده است. در این تحقیق، علاوه بر استفاده از محیط کشت MS، از محیط کشت QL نیز در ریزازدیادی گل محمدی استفاده شده است. نتایج این تحقیق نشان می‌دهد که استفاده از محیط کشت QL به همراه استفادهٔ هم‌زمان از هورمون‌های سیتوکینینی BAP و Kin شاخه‌زایی گل محمدی را افزایش می‌دهد و شاخه‌های تشکیل‌شده شاداب‌ترند و دیرتر زرد می‌شوند. Podwyszynka و

Olszewski(1995) نشان دادند که زردشدن برگ و نکروزه شدن اندام‌های هوایی را می‌توان با دوبرابرکردن یون کلسیم کنترل کرد. با توجه به این‌که محیط کشت QL، میزان کلسیم بیشتری دارد، شاید دلیل سبزماندن برگ‌ها، وجود کلسیم در این محیط کشت باشد؛ بنابراین این محیط کشت، محیط مناسبی برای کشت گل محمدی توصیه می‌شود.

منابع

رضایی، م. ب، جایمند، ک، طبایی عقدایی، ر، برازنده، م. و مشکی زاده، س. (۱۳۸۲). بررسی اسانس گل محمدی (*Rosa damascena Mill*). مناطق مرکزی و شمال غربی کشور. فصل‌نامهٔ پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران، جلد ۱۹. شمارهٔ ۴ . ۳۳۹- ۳۴۶.

قمری زارع، ع. عصاره، م. قربانلی، م. شهرزاد، ش. و ممقانی، ب. (۱۳۸۵). کشت درون‌شیشه‌ای گل محمدی (*Rosa damascena* Mill.). ژنوتیپ‌های استان‌های آذربایجان شرقی و غربی. فصل‌نامه‌ی پژوهشی تحقیقات ژنتیک و اصلاح گیاهان مرتعی و جنگلی ایران. جلد ۱۴. شماره۳. ص ۱۶۲-۱۵۵.

کافی، م. نیکبخت، ع. بابالار، م. و میرمعصومی، م. (۱۳۸۳). اثر تنظیم کننده‌های رشد گیاهی بر شاخص‌های رشدی گل محمدی در شرایط درون شیشه‌ای، مجله علوم و فنون باغبانی، جلد ۵. شمارهٔ ۳. ص ۱۶۶-۱۵۷.

نراقی، ط. س. و ایزدپناه، م. (۱۳۷۹). تکثیر غیرجنسی صنوبر لرزان (*P*opulus tremula) به روش کشت بافت. تحقیقات ژنتیک و اصلاح گیاهان مرتعی و جنگلی ایران. شمارهٔ ۳. ۱۰۷-۸۷.

Carelli, B. P., Echeuerrigaray, S (2002). "An improvement system for the in vitro propagation of rose cultivar'' Scientia Horticulture 92: 69- 74.

Carins, T (2003). "Horticultural classification Schemes'', In: Robertes A.V., Debener T. and Gudin S. (Eds.). Encyclopedia of Rosa Science. Elsevier Academic press 117-124.

Damiano, C., Ruffoni, B., Costantino, C., Bregliano, R (1978). "In vitro propagation of seven rose cultivars'' Annali dell Sperimentale Per la Floricultura Italy 18: 43- 55.

Hasegava, P. M (1980). "Factor affectting shoot and root initiation from culture rose shoot tip'' Journal of American Society for Horticultural Science 115: 216- 220.

Huetteman, C.A., Preece, J.E (1993). "Thidiazuron: A potent cytokinin for woody plant tissue culture'' Plant Cell Tissue and Organ Culture 33: 105- 119.

Jabbarzadeh, Z., Khush-Khui, M (2005). "Factor affecting tissue culture of damask rose (*Rosa damascene Mill*.)'' Scientia Horticulturae. 105: 475- 482.

Komova, K.M., Michailova, J (1994). "Study of in vitro Rooting of Kazanlak oil- bearing (*Rosa damascene Mill*.)'' Journal of Essential Oil Research 6: 485-492.

Kumar, A., Sood, A., Palni, L. M. S., Palni, U. T., Gupta, A. K (2000). "In vitro propagation of Bulgarian rose from selected mature bushes'' Journal Medicinal and Aromatic Plant Sciences., 22: 593- 602.

Mahmood, N., Piacente, S., Pizza, C., Burke A. I., Hay A. J (1996). "The anti-HIV activity and mechanisms of action of pure compounds isolated from *Rosa damascene Mill*.'' Biochemistry and Biophysics Research Communication 229 (1): 73-79.

Podwyszynka, M., Olszewski, T (1995). "Influence of gelling agents on shoot multiplication and the uptake of macro elements by in vitro culture of rose'' Scientia Horticulturae 64: 77-84.

Smittinan, T (2001). "Flora of Thailand (in Thai)'' (Thailand: Royal Forestry Department).