

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

فاطمه قلی‌زاده<sup>۱</sup>، خدیجه کیارستمی<sup>۲</sup>،

زهرا ناظم بکائی<sup>۳</sup>

تاریخ دریافت: ۸۹/۲/۲۲

تاریخ تصویب: ۸۹/۶/۶

### چکیده

گل محمدی<sup>۴</sup> 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، به دلیل عدم تشکیل ریشه‌های نابه‌جا به‌سختی انجام می‌شود. کشت درون‌شیشه‌ای روش جایگزینی برای تکثیر رویشی (غیرجنسی) پایه‌های اصلاح شده 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 موراشیک و اسکوگ (MS) و Lepoivre و Quoirin (QL) قرار گرفتند. در مرحله شاخه‌زایی، اثر هورمون‌های کیتین (Kin) و بنزیل آمینو پورین (BAP) بررسی شد. در این مرحله محیط کشت QL بر MS برتری داشت. بهترین ترکیب تنظیم‌کننده رشد، BAP با غلظت ۵ میلی‌گرم در لیتر و Kin با غلظت ۱/۵ میلی‌گرم در لیتر بود.

**واژه‌های کلیدی:** تنظیم‌کننده‌های رشد، ریزاریدی، شاخه‌زایی، گل محمدی.

۱. دانشجوی کارشناسی ارشد دانشگاه الزهراء، تهران، مسئول مکاتبه با مجله، fatimasaba100@yahoo.com

۲. دانشگاه الزهراء، گروه زیست‌شناسی

۳. دانشگاه الزهراء، گروه زیست‌شناسی

## مقدمه

گل محمدی یکی از مهم ترین رزهای معطر است. ارزش اقتصادی این گیاه به دلیل اسانس باارزش آن است که در گلبرگ های آن ساخته و ذخیره می شود (Komova, et al. 1994). این اسانس از نظر پزشکی خاصیت تقویت اعصاب دارد که برای درمان افسردگی و اضطراب به کار می رود (McCown, et al., 1982). عصاره محلول در آب و متانول اسانس گل محمدی کارکرد ضد ویروس HIV (ایدز) دارد و از فعالیت پروتئازهای ویروسی جلوگیری می کند.

در این گیاه دوره کوتاه گل دهی، بهره وری را کاهش می دهد. بسیاری از انواع رز، مانند گل محمدی با روش های غیرجنسی قلمه، پیوند و پاجوش تکثیر می شوند؛ اما این روش ها علاوه بر زمان ببری با مشکلاتی، همچون تشکیل تعداد کم ریشه های نابه جا در قلمه ها روبه رویند. امروزه روش های جدید، مانند ریزازدیادی جایگزین روش های تکثیر سنتی شده اند و بسیاری از گونه های زراعی، زینتی و دارویی از این راه تکثیر می شوند. در این روش گیاهان در مدت کوتاهی تکثیر می شوند و گیاهچه های جوان در هر موقع از سال در دسترس اند. ریزازدیادی روشی مناسب برای تکثیر گیاهان اصلاح شده است؛ زیرا از این راه صفات جدید ایجاد شده، دست نخورده و با اندکی تنوع به نسل بعد منتقل می شود (Mahmood, et al. 1996). با این روش احتمال ایجاد ژنوتیپ هایی از این گیاه هست که بتوانند زمان طولانی تری گل داشته باشند. جنبه های گوناگونی از سیستم های کشت بافت برای

گونه های رز شرح داده شده است. با این حال گزارش های کمی درباره گل محمدی در دسترس است. برخی از این گزارش ها عبارت اند از: اثر منابع مختلف نور و عامل ژل ساز، Kumar و همکاران، ۲۰۰۳؛ بررسی غلظت های مختلف BAP (بنزیل آمینو پورین) و IBA (اینسول بوتیریک اسید)، (Jabbarzadeh و Khsh-Khui، 2005)؛ بررسی غلظت های مختلف BAP در ژنوتیپ های آذربایجان شرقی و غربی (عباس قمری زارع و همکاران، ۱۳۸۵)؛ بررسی غلظت های 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 همه ژنوتیپ ها انجام نشده است. بیشتر نمونه های کشت شده پتانسیل شاخه زایی بالایی ندارند و شاخه های تشکیل شده در زمان کوتاهی زرد می شود و از بین می روند. به دلیل این که ریزازدیادی این گیاه در مرحله شاخه زایی با مشکلات زیادی همراه است، در این پژوهش اثر محیط های کشت پایه و تیمارهای هورمونی بر شاخه زایی گل محمدی بررسی شده است.

## مواد و روش ها

شاخه های دارنده جوانه جانبی از پایه های بالغ گل محمدی کاشته شده در محوطه دانشگاه الزهرا جمع آوری و به آزمایشگاه برده شد. پس از حذف خارها و برگ ها، ساقه ها به قطعه های ۱ سانتی متری حاوی

تیمارها در چهار تکرار و هر تکرار با ۵ ریزنمونه در قالب طرح پایه بلوک‌های کاملاً تصادفی انجام شد. تجزیه واریانس و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS و آزمون چنددامنه‌ای دانکن انجام شد.

### نتایج

تجزیه 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؛ ( $p < 0.05$ )، (جدول شماره ۱). مقایسه 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 به دست آمد. (جدول شماره 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 به دست 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 شماره ۲). با مقایسه دو محیط MS و QL مشخص شد که رشد طولی، ضریب ازدیاد، تعداد برگ و طول برگ در محیط QL بهتر است (جدول شماره ۲ و شکل‌های ۱ و ۲). بر اساس این نتایج، این محیط به همراه تیمار هورمونی ۵ میلی‌گرم در لیتر BAP و ۱/۵ میلی‌گرم در لیتر Kin برای ریزازدیادی گل محمدی توصیه می‌شود.

جوانه جانبی تقسیم شد و تحت تأثیر تیمارهای مختلف سترون‌سازی قرار گرفتند. شست‌وشوی اولیه نمونه‌ها با استفاده از آب و مایع ظرف‌شویی به مدت ۱۰ دقیقه انجام شد و سپس نمونه‌ها به مدت 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٪ استریل شده، سه تا چهار بار با آب مقطر استریل شست‌وشو داده شدند.

پنج قطعه جداگشت در ظروف کشت حاوی ۲۰ میلی‌لیتر از محیط‌های کشت MS (موراشیگ و اسکوگ) و QL (Quoirin و Lepoivre) 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.<sup>۱</sup> پس از سه هفته، شاخه‌ها به محیط‌های کشت با غلظت‌های متفاوت تنظیم‌کننده‌های رشد انتخاب شده، شامل BAP (۳ و ۵ میلی‌گرم در لیتر) و Kin (۱، ۱/۵ و ۲ میلی‌گرم در لیتر) به طور 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  $25 \pm 2$  درجه سانتی‌گراد و ۸ ساعت تاریکی با دمای  $19 \pm 2$  درجه 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

۱. به دلیل 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 جدا کشت گره با جوانه جانبی منتقل شده به محیط دارنده سیتوکینین

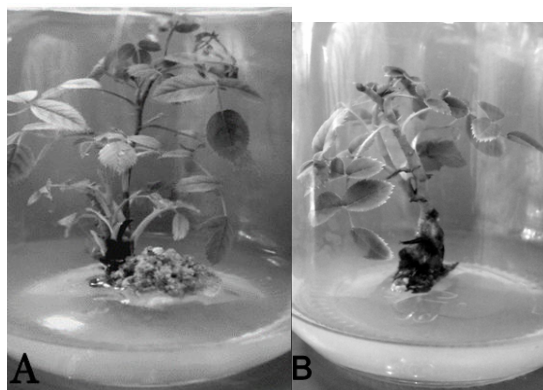
میانگین مربعات				درجه آزادی	منبع تغییرات
طول برگ (سانتی متر)	تعداد برگ	ضریب ازدیاد	رشد طولی (سانتی متر)		
۱۲/۲۲**	۶۳۰/۲۱**	۳۲/۰۳**	۱۳/۷۴**	۱	محیط کشت
۱/۲۱*	۲۶/۹۱ <sup>ns</sup>	۷/۱۶**	۶/۷۷**	۲	تیمار هورمونی
۰/۷۶ <sup>ns</sup>	۴۰۷/۳۱**	۱۹/۱۱**	۳/۸۹**	۲	تیمار هورمون × محیط کشت
۰/۲۷	۰/۳۴	۰/۳۰	۰/۲۲		ضریب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

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

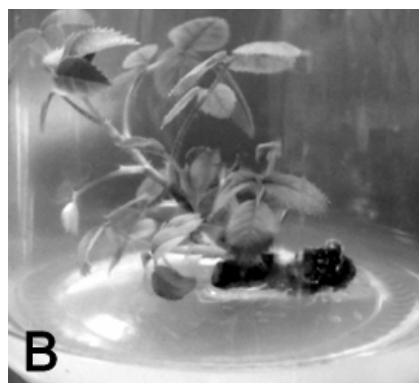
جدول شماره ۲. اثر محیط‌های کشت مختلف بر رشد طولی، ضریب ازدیاد، تعداد و طول برگ به دست آمده از قطعه‌های جدا کشت گره واجد جوانه جانبی (گروه بندی داده‌ها بر اساس آزمون دانکن ( $P < 0/05$ ) انجام شده است).

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

حروف مشابه در هر ستون بیانگر معنی دار نبودن اختلاف است.



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



شکل شماره 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

بالاتر از ۵/۸ میلی‌گرم در لیتر مقاوم‌اند (Damiano و همکاران، ۱۹۸۷).

Carelli و Echeurrigaray (۲۰۰۲) نتیجه گرفتند که BAP در مقایسه با سایر هورمون‌های سیتوکینینی، همچون *tip* 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 استفاده هم‌زمان از هورمون‌های سیتوکینینی BAP و *Kin* شاخه‌زایی گل محمدی را افزایش می‌دهد و شاخه‌های تشکیل‌شده شاداب‌ترند و دیرتر زرد می‌شوند. Podwyszynka و

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 Echeurrigaray (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 Echeurrigaray (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، نه تنها 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

- 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 Floricoltura Italy 18: 43- 55.
- Hasegava, P. M (1980). "Factor affecting 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.
- Olszewski (1995) نشان دادند که زرد شدن برگ و نکروزه شدن اندام‌های هوایی را می‌توان با دوبرابر کردن یون کلسیم کنترل کرد. با توجه به این که محیط کشت QL، میزان کلسیم بیشتری دارد، شاید دلیل سبز ماندن 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 مشککی زاده، س. (۱۳۸۲). بررسی اسانس گل محمدی (*Rosa damascena Mill.*) مناطق مرکزی و شمال غربی کشور. فصل‌نامه پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران، جلد ۱۹. شماره ۴. ۳۳۹-۳۴۶.
- قمیری 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. شماره ۳. ص ۱۶۲-۱۵۵.
- کافی، م. نیکبخت، ع. بابالار، م. و میرمعصومی، م. (۱۳۸۳). اثر تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی بر شاخص‌های رشدی گل محمدی در شرایط درون‌شیشه‌ای، مجله علوم و فنون باغبانی، جلد ۵. شماره ۳. ص ۱۶۶-۱۵۷.
- نراقی، ط. س. و ایزدپناه، م. (۱۳۷۹). تکثیر غیرجنسی صنوبر لرزان (*Populus tremula*) به روش کشت بافت. تحقیقات ژنتیک و اصلاح گیاهان مرتعی و جنگلی ایران. شماره 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.

- 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).