# بررسی اثر غلظت‌های مختلف فسفر و پتاسیم بر کشت بافت گیاه تره‌تیزک (*Lepidium sativum*) در شرایط درون شیشه‌ای

**فاطمه زهرا امیرمحمدی*[۱]**
*[۱]مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی کرمان
*نویسنده مسئول: fz.amirmohamadi@gmail.com

**چکیده**

**گیاه دارویی ترتیزک یا شاهی با نام علمی (*Lepidium sativumlinn*) گیاهی یک‌ساله از خانواده چلیپاییان است که به‌صورت سبزی خوردن به مصرف تغذیه انسان می‌رسد. این گیاه سرشار از املاح معدنی و انواع ویتامین‌های A-B-C است که مانع از رشد سلول‌های سرطانی می‌شود. امروزه فن‌آوری کشت درون شیشه‌ای با تکمیل کردن روش اصلاح سنتی به‌منظور دست ورزی و بهبود صفات رشدی گیاهان بسیار استقبال شده است. هدف این پژوهش بررسی تأثیر غلظت‌های مختلف عناصر فسفر و پتاسیم بر ریز ازدیادی گیاه ترتیزک می‌باشد. در این پژوهش جهت ریز ازدیادی گیاه ترتیزک غلظت‌های (0/62,1/25,1/88, 2/5) میلی مول بر لیتر عنصر فسفر و غلظت‌های (0,9,18,28) میلی مول بر لیتر عنصر پتاسیم بررسی شدند. در این آزمایش مطابق نتایج غلظت‌های (2/5) و (۱/۸۸) میلی مول بر لیتر از عنصر فسفر و غلظت‌های (۲۸) و (۱۸) میلی مول بر لیتر از عنصر پتاسیم بهترین محیط‌ها جهت باززایی گیاه دارویی ترتیزک معرفی شدند.**

***کلمات کلیدی:* تره‌تیزک، باززایی، گیاه دارویی**

## مقدمه

شاهی یا تره تیزک یک نوع سبزی خوردن متعلق به تیره شب بو(cruciferae) با نام لاتین *Lepidum satiruml* است. گیاهی یکساله که برگ، بذر و ریشه آن به مصرف تغذیه انسان می‌رسد. طول بوته شاهی شاید به ۳۰ تا ۵۰ سانتی‌متر می‌رسد. برگ و ساقه آن رنگ سبز روشن دارد. گل‌هایش صورتی روشن یا سفید است. میوه‌اش بیضوی مدور به طول ۵ تا ۶ میلی‌متر و به عرض ۳ تا ۴ میلی‌متر و به‌طور محسوس بال‌دار است. برگ و ساقه جوان آن در حالت تازه طعم تند و مطبوع شبیه بولاغاوتی دارد. شاهی سرشار از املاح معدنی و مانع از رشد سلول‌های سرطانی است. شاهی علاوه بر ویتامین«ث» دارای مقدار زیادی ویتامین‌های B2-B-A است. مصرف تره تیزک علاوه بر معالجه امراض دستگاه تنفسی، برونشیت و کرم‌کش نیز است (Omidbeygi, 2008).

رویکرد جهانی به استفاده از گیاهان دارویی و ترکیب‌های طبیعی در صنایع دارویی، آرایشی، بهداشتی و غذایی و به دنبال آن توجه مردم، مسئولین و صنایع داخلی به استفاده از گیاهان دارویی و معطر نیاز مبرم به تحقیقات پایه‌ای و کاربردی وسیع را در این زمینه نمایان می‌سازد. تکثیر گیاهان در شرایط آزمایشگاهی، روشی بسیار مفید جهت تولید داروهای با کیفیت است. روش‌های مختلفی برای تکثیر گیاهان در آزمایشگاه وجود دارد که از جمله آن‌ها تکنیک کشت بافت می‌باشد.کشت بافت یا همان ریزازدیادی یکی از مهم‌ترین تکنیک‌ها در راستای تکثیر گیاهان دارویی، تولید صنعتی مواد مؤثره دارویی و متابولیت‌های ثانویه می‌باشد. به علت اینکه پتانسیل تولید این مواد در شرایط طبیعی بسیار محدود است همچنین این روش فواید زیادی نسبت به روش سنتی دارد. با این روش می‌توان نرخ تکثیر را بالا برد و حداکثر تولید از یک گیاه در یک زمان معین در عین حال گیاهانی با خصوصیات ژنتیکی یکسان و با صفات کمی و کیفی تولید کرد (Brown and Thrope, 1995).

هرچه نسبت و غلظت مواد در محیط کشت به حد بهینه مورد نیاز برای رشد و یا تمایز سلول‌ها و بافت‌های نزدیک‌تر باشد، احتمال موفقیت کشت افزایش می‌یابد (George et al., 2008) .

در موفقیت این تکنیک فاکتورهای متعددی از جمله نوع مواد گیاهی، نوع و سن ریزنمونه، ترکیبات محیط پایه، غلظت و نوع هورمون‌ها و همچنین شرایط مختلف محیطی مؤثر می‌باشد (Van Eck and Kitto,2003).

برای رشد بافت‌های گیاهی کشت شده تأمین مداوم برخی از ترکیبات شیمیایی معدنی در محیط کشت ضروری می‌باشد.کربن، نیتروژن، فسفر، پتاسیم، کلسیم، منیزیم به مقادیر نسبتاً زیادی برای رشد بافت‌های گیاهی لازم می باشد. هریک از این عناصر نقش مهمی را در گیاه ایفا می‌کنند (Shabanzade2012).

Pande و همکاران (۲۰۰۲) برای اولین بار پروتکل سریعی برای ریزازدیادی گیاه تره‌تیزک با استفاده از محیط کشت پایه همراه با ترکیب NAA و BA و CH در جهت افزایش تولید لیپیدین انجام دادند و نتایج نشان داد بیشترین مقدار لیپیدین در هفته هشتم و از کالوس‌های هیپوکوتیل بدست آمد. Eltayb و همکاران (۲۰۱۰) در تحقیقی کالوس زایی و ریزازدیادی ریزنمونه‌های مختلف تره تیزک (برگ، هیپوکوتیل و ریشه) را در شرایط آزمایشگاهی بررسی کردند و نتایج نشان داد ریزنمونه‌های برگی در محیط کشت پایه MS دارای (0/2mg/L) 2,4,D، همراه با (3/0mg/L) BAبیشترین کالوس زایی را به دنبال داشتند. Smrati و همکاران( ۲۰۱۵) تأثیر تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی را بر کالوس‌زایی تره تیزک بررسی کردند و نتایج نشان داد محیط کشت پایه حاوی (2/0mg/L) kin+(4/0,6/0mg/L) 2,4,D مؤثرترین ترکیب در تشکیل کالوس می‌باشند. در سال ۲۰۱۶ ریزازدیادی گیاه تره تیزک توسط Moghe و همکاران در محیط کشت پایه MS همراه با ترکیب‌های مختلف هورمون‌های گیاهی مثل BAP +kin و2,4,D+kin صورت گرفت و نتایج نشان داد ریزنمونه حاصل از نوک شاخه در محیط کشت پایه حاویBAP+ kin شروع به تولید شاخه‌های متعدد با رشد منظم داشتند. اما القاء کالوس در محیط کشت پایه حاوی 2,4,D+kin مشاهده شد و ۱۰۰ درصد شاخه زایی در محیط کشت پایه حاوی BAP+ kin به نسبت (mg/L۰,۴) و (mg/L۲) و ۱۰۰ درصد القاء کالوس در محیط کشت پایه حاوی 2,4,D+kin به نسبت (mg/L۰,۳) انجام گرفت.

در سال‌های اخیر بیشترین تلاش کاربرد تکنیک کشت بافت در گیاهان دارویی معرفی شده است .با این وجود اطلاعات جامعی چندانی در ارتباط با جزئیات مراحل و روش‌های تکثیر و انبوه‌سازی و محیط کشت بهینه در سیستم کشت بافت موجود نمی‌باشد. بنابراین ارائه یک روش مناسب برای ریز ازدیادی ترتیزک با تغییر ترکیبات محیط کشت و بهینه‌سازی آن ضرورت می‌یابد. هدف پژوهش حاضر بررسی اثر غلظت‌های مختلف عناصر فسفر و پتاسیم بر روی خصوصیات گیاه دارویی ترتیزک در شرایط کشت بافت می‌باشد. بطوریکه با استفاده از غلظت‌های مناسب این دو عنصر در محیط رشد بتوان تولید مواد دارویی و خصوصیات کمی و کیفی گیاه را اصلاح نمود.

## مواد و روش‌ها

در این آزمایش برای بررسی اثر غلظت‌های مختلف فسفر و پتاسیم در شرایط کشت بافت، از یک نوع ریزنمونه از گیاهچه‌های استریل، رشد یافته درون شیشه ترتیزک و محیط کشت پایه MS بهینه شده با ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر میواینوزیتول، ۲ میلی‌گرم بر لیتر گلایسین، ۱ میلی‌گرم بر لیتر نیکوتینیک اسید، ۰/۱ میلی‌گرم بر لیتر تیامین، ۰/۵ میلی‌گرم بر لیتر پیریدوکسین، ۳۰ گرم بر لیتر ساکارزها و ۸گرم آگار استفاده شد.

پس از شستشو، بذور را با الکل ۷۰٪ به مدت ۳۰ ثانیه تا ۲ دقیقه ضدعفونی، و الکل باقی‌مانده دور ریخته شد. سپس بذور با محلول ۴۰-۲۰ درصد هیپوکلریت سدیم ( محتوی ۳-۲ قطره توون (۸۰) به مدت ۱۰ دقیقه همراه با تکان دادن، ضدعفونی شدند. در زیر هود استریل(لامینار ایرفلور) مواد شیمیایی دور ریخته و بذور ۳بار و هر بار به مدت ۵ دقیقه با آب مقطر استریل شستشو داده شدند. به مدت ۴ هفته پس از کشت، از گیاهچه‌های درون شیشه ریزنمونه تهیه و به محیط‌های تیماری منتقل شدند. محیط‌های تیماری شامل غلظت‌های مختلف فسفر و پتاسیم بودند.

داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS در قالب طرح کاملاً تصادفی مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. مقایسه میانگین‌ها با کمک آزمون چند دامنه‌ی دانکن در سطح آماری پنج درصد انجام شد.

## بحث و نتایج

نتایج جدول تجزیه واریانس نشان داد که بین غلظت‌های مختلف عناصر فسفر و پتاسیم در محیط کشت بافت در صفات درصد برگ سبز، درصد برگ زرد، طول گیاهچه و تعداد برگ، تفاوت بسیار معنی‌داری در سطح ۱٪ و در صفات درصد برگ نکروزه، درصد ریشه‌زایی و طول ساقه تفاوت معنی‌داری در سطح ۵٪ مشاهده شد (جدول ۱-۱).

جدول ۱-۱- تجزیه واریانس غلظت‌های مختلف عناصر فسفر و پتاسیم بر ریز ازدیادی گیاه ترتیزک در محیط کشت بافت

| | | میانگین مجموع مربعات | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| منابع تغییر | درجه آزادی | درصد برگ نکروزه | درصد برگ سبز | درصد برگ زرد | درصد ریشه‌زایی | طول ساقه | طول گیاهچه | تعداد برگ |
| تیمار | ۷ | 55/7125* | 289/0206** | 108/7505** | 7/0311* | 7/9867* | 5/0374** | 7/3638** |
| خطا | 16 | 1/6257 | 4/1653 | 2/3974 | 0/0294 | 0/0243 | 0/0116 | 0/0254 |
| ضریب تغییرات (C.V) | | ۳۴/۴۲۱۷ | ۲/۵۹۸۱ | ۸/۷۲۶۹ | ۴/۲۷۳۴ | ۳/۸۸۳۷ | ۲/۴۰۹۳ | ۲/۶۴۸۸ |

n.s،*،** به ترتیب معنی‌دار در سطح ۱٪ ، ۵٪ و عدم اختلاف معنی‌دار

در تحقیق انجام شده بر روی باززایی و ریز ازدیادی گیاه ترتیزک مطابق نتایج مشاهده شد که در همه صفات، افزایش غلظت‌های عناصر فسفر و پتاسیم سبب افزایش چشمگیر درصد برگ سبز، طول ساقه، درصد ریشه‌زایی، تعداد برگ، ضریب ازدیاد طول شاخه، طول گیاهچه تعداد گیاهچه، شده است، به‌طوری‌که غلظت‌های بالای (۲/۵) و (۱/۸۸) میلی مول بر لیتر عنصر فسفر بهترین محیط‌ها شناخته شدند. افزایش غلظت‌های عنصر پتاسیم به (۲۸) و (۱۸)میلی مول بر لیتر، افزایش باززایی و ریز ازدیادی گیاه ترتیزک را در پی داشته است. به عبارتی می‌توان گفت، غلظت‌های بالای عناصر فسفر و پتاسیم میزان درصد باززایی گیاه ترتیزک در محیط کشت را بالا برده به‌طوری‌که کاهش غلظت‌های این عناصر سبب کاهش چشمگیر باززایی در گیاه ترتیزک شده است.

طبق نتایج بدست آمده از جدول تجزیه واریانس مشاهده شد که افزایش غلظت‌های عناصر فسفر و پتاسیم سبب کاهش درصد برگ نکروزه و زرد شده است. به عبارتی غلظت‌های پایین عناصر فسفر و پتاسیم سبب افزایش درصد برگ نکروزه و درصد برگ زرد شده است. و محیط‌های (۱/۲۵) و (۰/۶۲) میلی مول بر لیتر از عنصر فسفر و محیط‌های شاهد و محیط (۹) میلی مول بر لیتر عنصر پتاسیم بیشترین درصد برگ نکروزه و زرد را نشان دادند.

## منابع

**Brown D. C. W., and Thrope T. A., (1995).** "Crop improvement through tissue culture." World Journal of Microbiology and Biotechnology, 11: 409-415.

**Eltayb A., Ilham A. G. H., Sayeda O. E., and Mutasim M. K. (2010).** In vitro callogenesis and proliferation from different explants of Garden cress (Lepidium sativum L. ). Inter. J. Cur. Res. 4: 091-093.

**Moghe S., Laud D., Bawankar M., Moghe R., Joshi S., Ade G., Bansod I., Hadke A., (2016).** Micropropogation of Lepidium Sativum. Int. J. of Life Sciences, A6: 141-144.

**OmidBeygi.R.(2008)**. production and processing of medicinal plant vol.(1995)Responses of maize plant to copper stress.Enviromental and experimental botany .35(2):167-176.

**Pandeh,D.,Purhit,M.,Srivastava,P.S.** Variation in xanthotoxin content in Ammi majussss culture during in vitro flowering and fruting .plant Sci. 162:583-578:2002.

**Shabanzadeh,sh., Ramroudi,M .and Galavi,M. (2012).**Influence of micronutrients foliar Application on seed yield and quality Traits of Black camin in different Irrgation Regimes.Jornal of crop production and processing 1(2): 79-89.

**Smrati S., Singh A. K., Mukesh R., P.S., Singh K., Singh P. and Mohapatra C., (2015).** Effects of plant growth regulator on in vitro callogenesis of Garden Cress (*Lepidium sativum* L.). The Biosean, 10(1): 167-171.

**Van Eck J.M., and Kitto S.L. (2003).** Regeneration of peppermint and orange mint from leaf disks. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 30: 41-49.

# The Effect of Different Concentrations of Phosphorus and Potassium on the Cress Plant Tissue Culture (*Lepidium sativum*)

**Fateme Zahra Amirmohamadi***
Kerman agricultural and natural research and education center
**Corresponding Author:* fz.amirmohamadi@gmail.com

## Abstract

**Cress medicinal plant (Lepidium sativumlinn) belonging to the cruciferous family, an annual plant that is used as humans feeding, Rich in minerals and vitamins of A-B-C inhibits the growth of cancer cells. Today tissue culture technique were focused to complement traditional modified methods to manipulation and improving plant growth traits. The aim of this study was investigate the effect of different concentrations of phosphorus and potassium on the garden cress plant micropropagation. This research used concentrations (0 / 62,1 / 25,1 / 88, 2.5) mmol of phosphorus and (0,9,18,28) mmol of potassium concentrations . According to the results were introduced the test concentrations of medium, Respectively: (2.5) and (88/1) mmol of phosphorus (28) and (18) mmol of potassium.**

***Keywords:*** **garden cress, (*Lepidium sativumlinn*), regeneration, pharmaceutical crops.**