مطالعه ریز ازدیادی شیرین بیان ایرانی (*Glycyrrhiza glabara* var. Violacea) در استان فارس

مهدی شهریاری [1]، هدایت زکی زاده [2*]، سید مجید فلاحت پیشه [3]

1و3- دانشجویان کارشناسی ارشد، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه گیلان. 2- استادیار گروه علوم باغبانی، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه گیلان.

*نویسنده مسئول(zakizadeh55@ yahoo.com)

چکیده

ریزازدیادی روش مؤثری برای ازدیاد سریع گیاهانی که ازدیاد آن‌ها با مشکل مواجه است و نیز روش مؤثری برای جلوگیری از انقراض گونه‌های گیاهی است. در پژوهش حاضر به منظور ریزازدیادی شیرین بیان ایرانی از ریزنمونه جوانه انتهائی استفاده شد. جهت بررسی ریز ازدیادی، ریزنمونه جوانه انتهائی روی 12 محیط کشت پایه MS حاوی غلظت‌های مختلف تنظیم کننده رشد تیدیازورون (TDZ) (0، 2، 4 و6 میکرومولار) و جیبرلیک اسید (GA3) (0، 1و3 میکرومولار) به صورت مجزا یا در ترکیب با همدیگر کشت شدند. نتایج نشان داد بالاترین تعداد شاخساره و برگ به ترتیب با میانگین4/3 و12/3 عدد در هر ریزنمونه در محیط کشت حاوی 4 میکرو مولار TDZ + 3 میکرو مولار GA3 به دست آمد. همچنین نتایج نشان داد که در مورد شاخص بلندترین ارتفاع شاخساره بین تیمارها نسبت به شاهد اختلاف معنی داری وجود دارد. بلندترین ارتفاع شاخساره با میانگین 2/5 سانتی متر در تیمار 4 میکرومولار TDZ + 3 میکرو مولار GA3 به دست آمد.

کلمات کلیدی: تیدیازورون، جوانه انتهائی، جیبرلیک اسید، ریزازدیادی، شیرین بیان

مقدمه

شیرین بیان با نام علمی Glycyrrhiza glabara گیاهی است پایا از خانواده بقولات (Fabacea) و زیر خانواده پروانه آسا است و به عنوان یک گیاه داروئی مورد توجه صنایع داروئی، غذائی وحتی دخانیات قرار گرفته است [Amani et al., 2005]. معروف ترین گونه آن Glycyrrhiza glabra var. violacea به شیرین بیان ایران معروف است [AOAC, 2002]. روش مرسوم ازدیاد شیرین بیان به وسیله بذر و ریزوم می‌باشد . جوانه زنی ضعیف بذر عامل بازدارنده تکثیر بالای این گیاه است [Vispute and Khopade, 2011] ازدیاد شیرین بیان به وسیله ریزوم کند بوده و نیاز به زمان زیادی دارد [Gupta et al., 1997]. در استان فارس شیرین بیان به علت برداشت بی رویه جهت استحصال مواد داروئی از ریشه‌های آن در معرض انقراض قرار دارد [Ghadiri, 2000]. ریزازدیادی روش مؤثری برای ازدیاد سریع گیاهانی می‌باشد که ازدیاد آن‌ها با مشکل مواجه است و روش مؤثری برای جلوگیری از انقراض گونه‌های گیاهی است [Sudha and Seemi, 1994]. موفقیت در ریز ازدیادی گیاهان بستگی به عواملی مختلفی از قبیل وضعیت گیاه مادری، نوع ریزنمونه، تنظیم کننده‌های رشد و زمان گرفتن ریزنمونه دارد [Senapati., 2008]. اولین ریزازدیادی شیرین بیان بوسیله ریزنمونه گره و با استفاده از غلظت پائین تنظیم کننده رشد بنزیل آدنین و بدون استفاده از اکسین انجام گرفت [Kulkarni et al., 1998]. شاخساره انتهایی با 95% تولید گیاهچه، منبع مناسبی به عنوان ریزنمونه در محیط حاوی غلظت‌های مختلف تنظیم کننده رشد کاینتین و بنزیل آدنین گزارش گردید [Sawaengsak et al., 2011]. هدف از انجام پژوهش حاضر، تعیین پروتکل مناسبی برای ریزازدیادی شیرین بیان بومی ایران به منظور جلوگیری از انقراض این گیاه در استان فارس می‌باشد.

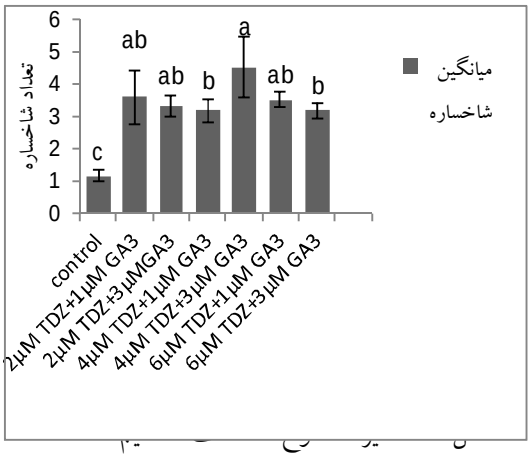
مواد و روش‌ها

بذور شیرین بیان از منطقه درودزن استان فارس جمع آوری و به منظور انجام آزمایشات به آزمایشگاه کشت بافت گروه علوم باغبانی دانشگاه گیلان منتقل شد. بذور شیرین بیان با استفاده از هیپوکلریت سدیم 5% به مدت 20 دقیقه گندزدایی شد و سپس به

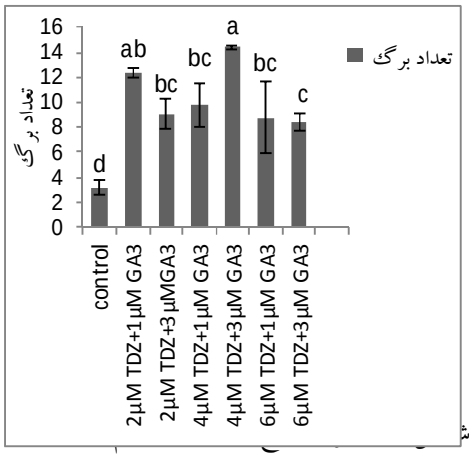
منظور از بین بردن رکود بذر از سولفوریک اسید 50% به مدت 30 دقیقه استفاده گردید. در نهایت بذور با استفاده از آب مقطر استریل آبشوئی گردیدند. بذور گندزدائی شده در محیط کشت پایه موراشیگ و اسکوگ (MS) کشت گردیدند و سپس از گیاهان حاصل ریزنمونه جوانه انتهایی تهیه و به منظور پرآوری در محیط‌کشت‌های دارای تظیم کننده‌های رشد قرار گرفتند. برای بررسی پرآوری جوانه انتهایی در محیط کشت دارای غلظت های مختلف تنظیم کننده رشد تیدیازورون (0، 2، 4و6 میکرومولار) و جیبرلیک اسید (0، 1و 3 میکرومولار) به تنهایی و در ترکیب با همدیگر قرار گرفتند.

شرایط محیطی و آنالیز داده ها

دمای اتاقک رشد در تمام مراحل پژوهش 24 درجه و نور اتاقک رشد 32 میکرومول در متر مربع در ثانیه بود. در این پژوهش آزمایش ها به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی با 3 تکرارانجام شدکه هر تکرارشامل 3 ریزنمونه بود. عمل تجزیه واریانس با استفاده از نرم افزار SAS و رسم نمودار ها و شکل با استفاده از نرم افزار EXCEL انجام گردید. مقایسه میانگین داده ها با استفاده از آزمون LSD و در سطح احتمال 5% انجام گرفت.



رشد GA_3 +TDZ بر تعداد شاخساره



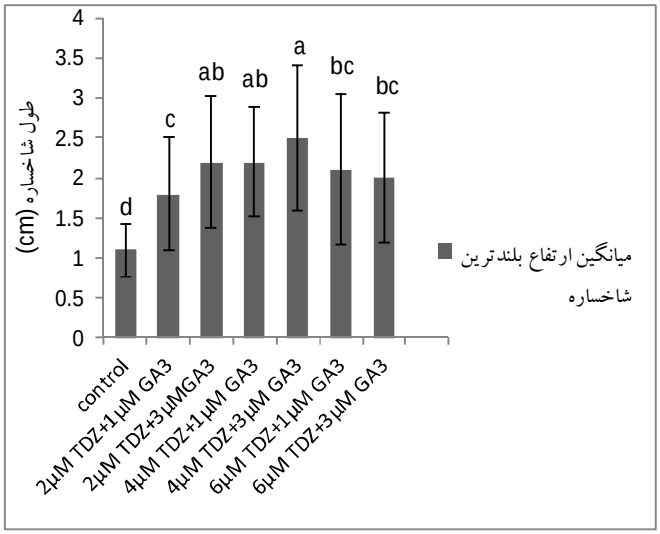
رشد GA_3 + TDZبر تعداد برگ

میانگین های دارای حروف مشترک بر اساس آزمون LSD در سطح 5% غیر معنی دار است.

نتایج و بحث

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که بر همکنش TDZ و GA3 روی تعداد شاخساره و تعداد برگ و ارتفاع شاخساره در سطح 5% معنی دار شده است. با توجه به مقایسه میانگین‌ها محیط کشت حاوی 4 میکرومولار TDZ + 3 میکرومولار GA3 با میانگین 4/3 شاخساره در هر ریزنمونه، بیشترین تأثیر را بر پرآوری شیرین بیان داشت (شکل1).کمترین تعداد شاخساره در محیط کشت شاهد (بدون تنظیم کننده‌های رشد) به دست آمد. سایتوکینین تقسیم یاخته‌ای را تحریک وا فزودن آن به محیط کشت شاخه زائی را موجب می‌شود. سطوح بالای سایتوکنین باعث تولید تعداد زیادی شاخه می‌شود که به خوبی طویل نمی‌شود. از طرفی استفاده از تنظیم کننده رشد GA3 باعث افزایش رشد و پرآوری شاخه‌ها می‌گردد [Georg et al., 2007]. بیشترین تعداد برگ با میانگین 12/3 عدد در محیط کشت حاوی 4 میکرومولار TDZ + 3 میکرومولار GA3 و کمترین تعداد برگ در محیط کشت شاهد بود. بیشترین تعداد برگ در محیطی تولید شد که بیشترین شاخساره نیز به وجود آمده بود (شکل2). سایتوکنین‌ها علاوه بر اثری که در جلوگیری از پیری برگ دارند، موجب رشد و توسعه برگ نیز می‌شوند [حسندخت و ابراهیمی، 1385]. TDZباعث

تشکیل کالوس در بخش پائینی ریزنمونه‌های پرآوری شده در تیمار 4 و 6 میکرومولار گردید . هنگامی که از TDZ در ترکیب با GA3استفاده گردید هیچ گونه کالوسی تشکیل نگردید. نتایج نشان داد اختلاف معنی داری بین تیمارها نسبت به شاهد روی شاخص بلندترین ارتفاع شاخساره وجود داشت. محیط کشت حاوی 4 میکرومولار TDZ + 3 میکرومولار GA3 با میانگین 2/5 سانتی متر بیشترین تأثیر را در ارتفاع شاخساره داشت. بلندتر بودن شاخساره در این تیمار را می‌توان به حضور GA3 نسبت داد (شکل3).



شکل3- تأثیر سطوح مختلف تنظیم کننده رشد TDZ + GA_3 بر ارتفاع بلندترین شاخساره

میانگین‌های دارای حروف مشترک بر اساس آزمون LSD در سطح 5% غیر معنی دار است.

منابع

حسندخت، م. ر. و ر. ابراهیمی. 1385. مبانی کشت بافت گیاهی. انتشارات مرز دانش.

AOAC. 2002. Association of official analytical chemists, official method 982,19

Amani, M., R. Mostaoufi, and H. Kashani. 2005. Optimal extraction of Glycyrrhetinic Acid From licorice root. J. of Technology.3: 376-580.

George, e., M. Hall, and G .J. Klerk. 2007. Plant propagation by tissue culture. Springer Netherlands Publishers, The Netherlands.

Ghadiri, H., and N. Bagherani. 2000. Effects of scarification and temperature on germination of licorice (Glycyrrhiza glabra) seeds. J. Agr. Sci. Tech.2: 257-262.

Gupta, V., A. Kak, and B. Singh. 1997. Study of germination and seedling vigor in licorice (Glycyrrhiza glabra). Jourrnal of Medicinal and Aromatic Plant Sciences, 2:412-413.

Kulkarni, k., V. Krishnamurthy, and R. Thengane. 1998. Micropropagation of licorice (Glycyrrhiza glabra) through shoot tipe and nodal cultures. In Vitro cell.Dev. Bio. 34: 331-334

Sudha, C., and.G. Seeni .1994. In vitro multiplication and field establishment of Adhatoda beddomei. Clarke, a rare medicinal plant. Plant Cell Rep. 13: 203-207.

Senapati, SK. 2008. Study of culture conditions for improved micropropagation of hybrid rose. Hort Sci. 35: 27-34.

Sawaengsak. W., T. Saisavoey, P. Chuntaratin,and A. Karnchanatat .2011.Micropropagation of the medicinal herb Glycyrrhiza glabra L., through shoot tipe explant culture and glycyrrhizin detection. Int Res J Plant Sci. 2: 129-136.

Vispute, S., and A. Khopade . 2011. Glycyrrhiza glabra Linn. -"Klitaka": a review. Int J Pharma Bio Sci. 2: 42-50.

Study on Micropropagation of Iranian Licorice (Glycyrrhiza glabara var. Violacea) in Fars Province

M. Shahriari1, H. Zaki zadeh2*, S. M. Falahat pishe3

1 and 3-Msc students, Dept. of Horticultural Sciences, University of Guilan, Rasht,-Iran.

2-Assistant prof, Dept. of Horticultural Sciences, University of Guilan, Rasht,-Iran.

*Corresponding author (zakizadeh55@ yahoo.com)

Abstract

Micropropagation is an effective method for rapid propagation of plants that their propagation is difficult, Furthermore it is an effective method for preventing extinction of plant species. In the present study we used shoot tipe explant for micropropagation of an Iranian licorice. In order to investigate the licorice micropropagation, shoot tipe explants were cultured on twelve MS media containing different concentrations of Thidiazuron (TDZ) (0, 2, 4 and 6 µM) and gibberlic acid (GA3) (0 , 1and 3 µM) separatly or in combination. Maximum number of shoots and leaves were obtained from each explant with an average of 4,3 and 12,3, respectively, in media which contains 4 µM TDZ + 3 µM GA3. In the case of highest shoot, there is a significant difference between treatments in compared to the control. The highest shoot with an average of 2,5 cm was obtained in the treatment of 4 µM TDZ + 3 µM GA3.

Keyword: Thidiazuron, Licorice, Micropropagation, Shoot tipe, Gibberlic acid