

## شاخه زایی درون شیشه ای شاه پسند درختی

احسان نادری سامانی<sup>1</sup>، زهره جبارزاده<sup>2\*</sup>، سیروس قبادی<sup>3</sup>

1- دانشجوی کارشناسی ارشد علوم باغبانی، گیاهان دارویی، دانشگاه ارومیه، ارومیه. 2- استادیار گروه علوم باغبانی، دانشگاه ارومیه، ارومیه. 3- استادیار گروه علوم باغبانی، دانشگاه صنعتی اصفهان، اصفهان.

## چکیده

شاه پسند درختی (*Lantana camara* L.) گیاهی دارویی و زینتی از خانواده Verbenaceae می باشد که تاکنون کشت بافت این گیاه در ایران انجام نگرفته است. این مطالعه با هدف بررسی فاکتورهای موثر بر شاخه زایی درون شیشه ای این گیاه طراحی و اجرا گردید. در این مطالعه، از قطعات گره ای شاه پسند درختی به عنوان ریز نمونه و محیط موراشیگک و اسکوگ (MS) به عنوان محیط کشت استفاده شد. ریز نمونه ها بر روی محیط کشت MS حاوی غلظت های مختلف BAP و TDZ قرار گرفتند. پس از 4 هفته، شاخه زایی ریز نمونه ها مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که بیشترین طول شاخه و طول میانگره در غلظت 2 میلی گرم در لیتر TDZ، بیشترین تعداد شاخه در هر ریز نمونه در محیط کشت MS حاوی BAP با غلظت 8 میلی گرم در لیتر و بیشترین وزن خشک شاخه در محیط کشت فاقد هورمون مشاهده شد؛ اما اختلاف بین تیمارهای مختلف در افزایش طول شاخه، طول میانگره و وزن خشک شاخه معنی دار نبود ( $P < 0,05$ ). هورمون BAP نسبت به هورمون TDZ شاخه زایی (تعداد شاخه) را به طور موثرتری افزایش داد ( $P < 0,05$ ). نتایج این پژوهش نشان داد که، شاخه زایی در شاه پسند درختی در شرایط آزمایشگاهی و با استفاده از هورمون BAP امکان پذیر است و می توان با تعیین شرایط بهینه، شاه پسند درختی را به صورت انبوه تولید نمود. کلمات کلیدی: شاه پسند درختی، پرآوری، کشت درون شیشه ای، ریزنمونه، تنظیم کننده های رشد گیاهی.

## مقدمه

شاه پسند درختی *Lantana camara* L. گیاهی دارویی و زینتی از خانواده Verbenaceae می باشد. این گیاه درختچه ای همیشه سبز با برگ های قلبی شکل دارای سطحی خشن و لبه های برگ دندانه دار می باشد. گل ها به حالت فنجان می مدور بوده و از محور برگ خارج می شوند. ارتفاع بوته در شرایط مناسب به بیش از 2 متر هم می رسد (حکمتی، 1388). گرچه *L. camara* برای پستانداران سمی است اما به عنوان یک گیاه دارویی سنتی در برخی از نقاط دنیا برای درمان تب، آنفلوآنزا، آسم، برونشیت و برخی دیگر از بیماری ها به کار می رود. مطالعه ترکیبات شیمیایی متابولیت های ثانویه این گیاه ترکیبات مختلفی از جمله سزکویی ترین ها، میرسن، آلفا کاپائین، آلفا فلائدرن، ترانس کاریوفیلین، بتا گورژونن را نشان داده است. متابولیت های ثانویه *L. camara* فعالیت ضد قارچی و ضد باکتریایی نشان داده به علاوه این مواد موثره اثر حشره کشی روی حشره *Sitophilus zeamais* از خانواده Coleoptera دارد (Affonso et al., 2000). خاصیت ضد سرطانی این گیاه توسط Srivastava و همکارانش به اثبات رسیده است.

تحقیقاتی که Affonso و همکارانش (2007) روی گیاه *L. camara* انجام دادند گزارش کردند اضافه کردن 4/4 میکرومول بر لیتر BA و 0/44 میکرومول بر لیتر TDZ به محیط کشت MS باعث کاهش معنی داری در طول شاخه ها و شکل گرفتن ریشه می شود. گرچه اضافه کردن 4/4 میکرومول بر لیتر BA به تنهایی باعث افزایش تعداد شاخه به ازاء هر ریزنمونه می گردد و همچنین باعث افزایش تعداد گره های هر ریزنمونه نیز می شود. همچنین با مقایسه ترکیبات فرار ریزنمونه های کشت شده در MS0 (بدون تنظیم کننده های رشد گیاهی) و MS حاوی تنظیم کننده های رشد گیاهی با غلظت ها و انواع مختلف در گیاه *L. camara* گزارش کردند اضافه کردن 0/44

میکرومول بر لیتر IAA باعث افزایش آلفا پینن به میزان 148 درصد و بتاپینن به میزان 94 درصد می شود. گرچه استفاده از 0/44 میکرومول بر لیتر TDZ باعث افزایش ترانس کاریوفیلین به میزان 54 درصد می شود. همچنین استفاده از 0/44 میکرومول بر لیتر BA باعث افزایش میراسن به میزان 80 درصد و آلفا پینن به میزان 15 درصد می شود و استفاده از 4/4 میکرومول بر لیتر BA باعث افزایش آلفا پینن و بتا پینن به ترتیب به میزان 120 و 75 درصد می شود.

با توجه به اهمیت زینتی و دارویی این گیاه و با توجه به اینکه فن کشت بافت تکثیر این گیاه در سطح وسیع را امکان پذیر می کند، در این مطالعه، فاکتورهای موثر بر شاخه زایی درون شیشه ای این گیاه مورد بررسی قرار گرفت.

### مواد و روش ها

مواد گیاهی مورد نیاز به صورت ریزنمونه های 5 میلی متری از شاخه های سال جاری گیاهان مادری واقع در گلخانه شهر گلپای اصفهان تهیه شدند. ریزنمونه ها پس از شستشو با مایع ظرفشویی به مدت چهار ساعت زیر آب روان قرار گرفتند. گندزدایی مواد گیاهی با استفاده از هیپوکلریت سدیم 20٪ به مدت بیست دقیقه و الکل 70٪ به مدت یک دقیقه صورت گرفت و برای برطرف کردن بقایای ماده گندزدایی کننده آبکشی آنها با استفاده از آب مقطر استریل در سه نوبت شش دقیقه ای انجام شد. پس از قطع قسمت های آسیب دیده ناشی از محلول های گندزدایی بوسیله اسکالپل استریل ریز نمونه ها به صورت تک جوانه ای در محیط کشت قرار گرفت. لازم به ذکر است که برای استریل کردن محیط کشت و وسایل قابل اتوکلاو از دمای 121 و فشار 1/2 اتمسفر به مدت 20 دقیقه استفاده شد و برای استریل کردن تنظیم کننده های رشد گیاهی از فیلتر 0/22 میکرون استفاده شد. به منظور شناسایی و یافتن بهترین تیمار هورمونی محیط کشت MS حاوی غلظت های مختلف (0 2 4 8 میلی گرم در لیتر) از هورمون های TDZ و BAP هر کدام در سه تکرار آماده و ریز نمونه ها در شیشه های حاوی 30 میلی لیتر از محیط های ذکر شده کشت شد. کشت ها به مدت سی روز در دمای 24 درجه سانتی گراد و نور 1600 لوکس قرار گرفتند. برای ارزیابی پرآوری گیاه در تیمارهای مختلف تعداد شاخه طول شاخه طول میانگره و وزن خشک شاخه ها در پایان دوره اندازه گیری شد. در این پژوهش که به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شد؛ تجزیه و تحلیل آماری داده های آزمایش به کمک نرم افزار SPSS با آزمون چند دامنه ای دانکن در سطح 5 درصد انجام گرفت.

### نتایج

بر اساس نتایج مشاهده شده بیشترین طول شاخه و طول میانگره در غلظت 2 میلی گرم در لیتر TDZ، بیشترین تعداد شاخه در هر ریز نمونه در محیط کشت MS حاوی BAP با غلظت 8 میلی گرم در لیتر و بیشترین وزن خشک شاخه در محیط کشت فاقد هورمون مشاهده شد؛ اما اختلاف بین تیمارهای مختلف در افزایش طول شاخه، طول میانگره و وزن خشک شاخه معنی دار نبود ( $P > 0,05$ ). هورمون BAP نسبت به شاهد و هورمون TDZ شاخه زایی (تعداد شاخه) را به طور موثرتری افزایش داد ( $P < 0,05$ ) (نمودار 1). با افزایش غلظت هورمون BAP طول شاخه، طول میانگره و وزن خشک شاخه کاهش نشان داد. بیشترین طول شاخه و طول میانگره در غلظت 2 میلی گرم در لیتر هورمون TDZ مشاهده شد (نمودار 2).

### بحث

با توجه به اینکه این مطالعه با هدف بررسی شاخه زایی گیاه شاه پسند درختی از طریق کشت بافت انجام گرفت، بیشترین تعداد شاخه در محیط کشت MS حاوی BAP با غلظت 8 میلی گرم در لیتر مشاهده شد. در تحقیقی که آفونسو و همکاران در سال 2007 روی گیاه L.

camara انجام دادند، بیشترین تعداد شاخه در هر ریز نمونه مربوط به هورمون BAP با غلظت 4/4 میلی گرم در لیتر و بیشترین طول شاخه مربوط به IAA با غلظت 0/44 مشاهده شد و میانگین تعداد شاخه و طول شاخه به ترتیب 4/61 و 8/55 گزارش گردید. با این حال در مطالعه حاضر در تیمار BAP با غلظت 8 میلی گرم در لیتر میانگین تعداد شاخه 8/66 بود که اثر بهتر این هورمون را در غلظت بالاتر نشان می دهد ولی میانگین طول شاخه در بهترین حالت (TDZ با غلظت 2 میلی گرم در لیتر) 2/44 بدست آمد. Echeuerrigaray و Carelli نیز نشان دادند که تعداد شاخه با افزودن غلظت BAP در محیط کشت افزایش می یابد. همچنین هیچگونه آثاری از شیشه ای شدن و بد شکلی با افزایش میزان BAP در نمونه های مورد مطالعه مشاهده نشد که با نتایج مطالعه Arnold و همکاران (1992) مطابقت دارد. نتایج به دست آمده از این مطالعه نشان می دهد که نوع و غلظت تنظیم کننده های رشد گیاهی می تواند روی سرعت و مقدار شاخه زایی قطعات گره ای *Lantana camara L.* در شرایط *in vitro* تاثیر مثبت داشته باشد.

### منابع

- 1- حکمتی، ج. (1388). گلها و گیاهان زینتی آپارتمانی ازدیاد، پرورش و نگهداری. نشر علم کشاورزی ایران، 397 صفحه.
- 2- Affonso, V.R., Bizzo, H.R., Lima, S.S., Esquibela, M.A. and Sato, A. (2007). Solid phase microextraction (SPME) analysis of volatile compounds produced by *in vitro* shoots of *Lantana camara L.* under the influence of auxins and cytokinins. *Journal of the Brazilian Chemical Society*. 18(8): 1504-1508.
- 3-Arnold, N.P., Binns, M.R., Barthakur, N. and Clouter D. C. 1992; A study of growth regulator and time of plantlet harvest on the *in vitro* multiplication rate of hardy and hybrid tea Rose. *Journal of Horticultural Science*. 67 (6): 727-735.
- 4- Carelli, B.P. and Echeuerrigaray, S. 2002; An improvement system for the *in vitro* propagation of rose cultivar. *Science of Horticulture*. 92: 69-74
- 5- Srivastava, P., Sisodia, V. and Chaturvedi, R. (2009). Effect of culture conditions on synthesis of triterpenoids in suspension cultures of *Lantana camara L.* *Bioprocess and Biosystems Engineering*. 34: 75-80.

### In vitro proliferation of *Lantana*

E. Naderi Samani<sup>1</sup>, Z. Jabarzadeh<sup>2\*</sup> and S. Ghobadi<sup>3</sup>

1- Dept. of Horticultural Sciences, Urmia University, Urmia - Iran. 2- Dept. of Horticultural Sciences, Urmia University, Urmia - Iran. 3- Dept. of Horticultural Sciences, Isfahan University of Technology, Isfahan - Iran.

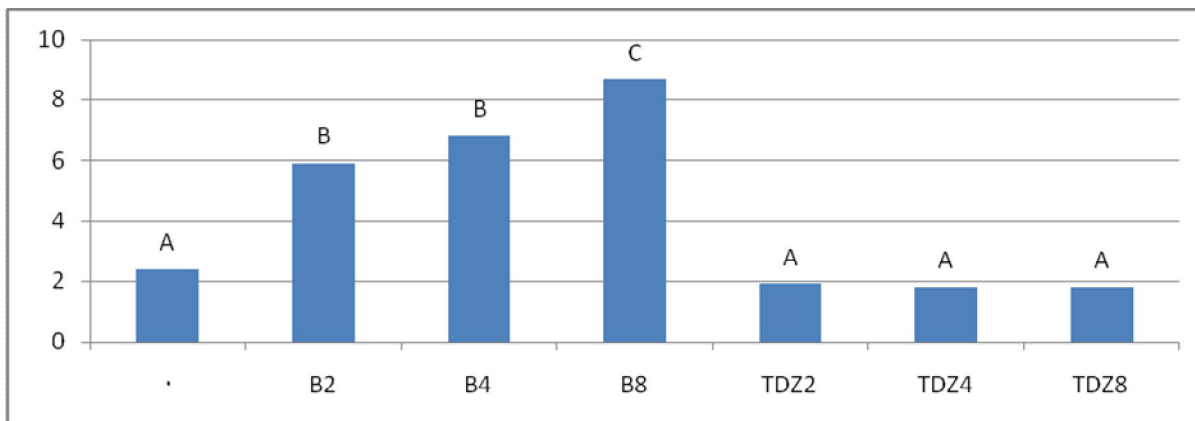
\*Corresponding author

### Abstract

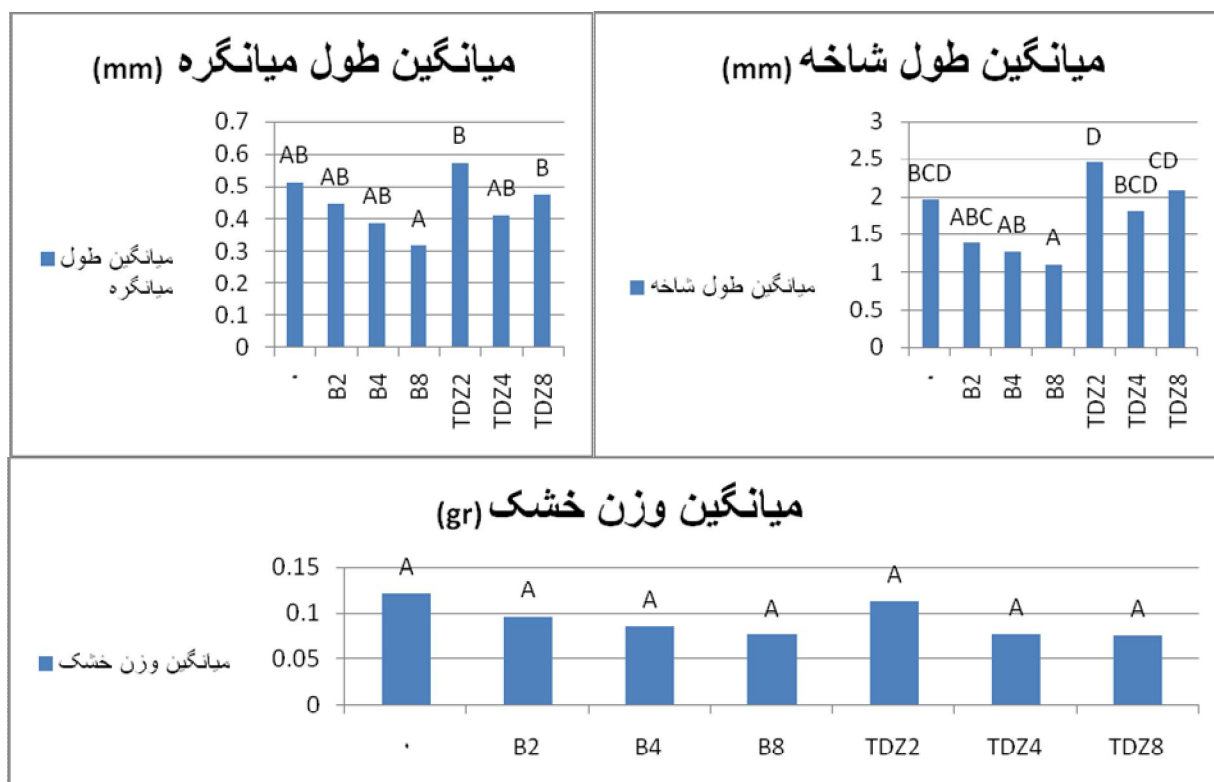
*Lantana (Lantana camara L.)* is a medicinal and ornamental plant belonging to Verbenaceae family which no research about *in vitro* multiplication of this plant has been reported in Iran. The purpose of this research is investigation of factors affecting *in vitro* proliferation of this plant. In this study, for micropropagation, single-node explants of *Lantana* were used in MS medium. The explants were cultured on MS media supplemented with different concentrations of BAP and TDZ separately. After four weeks, proliferation of explants was evaluated. The results showed that the highest shoot and internode length achieved on the medium with 2 mg/l TDZ, the highest number of shoots per explant were observed on MS medium with 8 mg/l BAP and the highest dry weight of shoots were shown in MS free medium, but there isn't any significant difference between various treatments in increasing shoot and

internode length and dry weight ( $p < 0,05$ ). The results indicated that in vitro proliferation of Lantana with BAP is satisfactory and it is possible to determine optimum conditions for large scale production of Lantana.

Keywords: Lantana, Proliferation, in vitro culture, explant, plant growth regulators.



نمودار 1: اثر تیمارهای مختلف هورمونی بر تعداد شاخه در گیاه شاه پسند درختی. (ستونهای همنام دارای اختلاف معنی دار نیستند).



نمودار شماره 2: اثر تیمارهای مختلف هورمونی بر میانگین طول شاخه، طول میانگره و وزن خشک شاخه. (ستونهای همنام دارای اختلاف معنی دار نیستند).