بهینه سازی شرایط کشت به منظور ریزازدیادی گیاه ناگرد (*Cymbopogon Olivieri* L.)

منصوره شمیلی [1*]، شیوا قاسمی [2]، خدیجه عباس زاده [3]
1، 2، 3- اعضای هیات علمی گروه باغبانی دانشکده کشاورزی دانشگاه هرمزگان.

چکیده

ناگردگیاه دارویی باارزشی است که کاربرد زیادی در جلوگیری از فرسایش خاک دارد. تکثیر ناگرد به روش ازدیاد جنسی به سختی صورت میگیرد که دلیل آن رکود فیزیولوژیک بذرهای آن میباشد. با استفاده از تکنیک کشت درون شیشه‌ای می‌توان نسبت به تولید انبوه ناگرد اقدام نمود. بدین منظور آزمایشی جهت بررسی امکان ریزازدیادی این گیاه با استفاده از ریزنمونه های رولپه، لپه، زیرلپه و برگچه های حقیقی انجام شد. پس از تعیین بهترین ریزنمونه و مناسب ترین روش گندزدایی، باززایی و پرآوری شاخساره بر روی محیط کشت پایه MS در دو تیمار هورمونی شامل بنزیل آمینو پورین (0، 1/5، 2 میلی گرم در لیتر) و تیدیازورون (0، 2، 4 میلی گرم در لیتر) مور مقایسه قرارگرفت. شاخساره‌های تولید شده بازکشت شده و سپس به محیط ریشه زایی منتقل شدند. متغیرهای میزان پرآوری، تعداد شاخه و طول آن، تعداد ریشه و طول آن ارزیابی شدند. بر اساس نتایج بدست آمده، بکارگیری محیط کشت حاوی تیدیازورون (حاوی 2 میلی گرم در لیتر)، بدون بنزیل آمینو پورین جهت حداکثر پرآوری ناگرد توصیه می‌شود.

کلمات کلیدی : بنزیل آمینو پورین، بهینه سازی، پرآوری، تیدیازورون، ناگرد

مقدمه

جایگاه گیاهان دارویی در سلامت جامعه به طور عام و ارزش گیاهان دارویی و معطر در ایران به طور خاص بر کسی پوشیده نیست. تنوع شرایط آب و هوایی ایران و قدمت استفاده از گیاهان دارویی و معطر در فرهنگ مردم کشورمان توجه محققان و مراکز تحقیقاتی زیادی را به سوی توسطه دانش و تحقیق در این زمینه جلب نموده است. گونه ناگرد .cymbopogon olivieri L یکی ازگیاهان مهم دارویی استان هرمزگان است که دارای سطح پراکنشی حدود2921547 هکتارمی باشد. این گونه گیاهی از ارتفاع 20 متر در بندر خمیر تا 2900 متر در کوه بخون واقع در شهرستان حاجی آباد، از مناطق کوهستانی گرفته تا دشتهای دامنه رودخانه های فصلی دیده می شود. این جنس در ایران دو گونه گیاه گندمی چندساله به نامهای C.olivieri و C.parkeri دارد که در مناطق گرمسیری ایران و در جنوب استانهای فاس، کرمان و در استانهای بوشهر، خوزستان، هرمزگان و بلوچستان میروید. قوه نامیه بذر این گونه به طور متوسط 39 درصد است. کارایی تکثیر غیر جنسی گونه ی مورد نظر با استفاده از تقسیم ریشه در منطقه سرچاهان 26 درصد بوده است (اسدپور و سلطانی پور، 1388؛ رضایی و جایمند، 1384؛ حیدری قرایی و همکاران،1390؛ سنبلی و همکاران 2006). کشت بافت یکی از تکنیک های مهم در تکثیر بسیاری از گونه های گیاهی میباشد که میتواند در زمانی کوتاه تعداد بی شماری گیاه از یک پایه تولید نماید (موراشی و اسکوگ، 1962). تحقیق حاضر به منظور بهینه سازی شرایط کشت و استقرار ریزشاخساره عاری از عوامل بیماری زا در گیاه ناگرد انجام شد.

مواد و روش ها: تحقیق مورد نظر در سال 1391 در آزمایشگاه کشت بافت گروه باغبانی دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه هرمزگان صورت گرفت. بذر ناگرد از مرکز تحقیقات کشاورزی بندرعباس تهیه و پس از اعمال تیمارهای جوانه زنی (سولفات روی 150 پی پی ام)، قطعات رولپه، زیرلپه، لپه ها و برگچه اولیه به عنوان ریز نمونه مورد استفاده قرار گرفت. سپس تحت چهار روش استریل در چهار تکرار (هر تکرار 4 مشاهده) قرار گرفتند.

تیمار 1: قطعات رولپه به مدت 30 ثانیه در پتری دیش حاوی هیپوکلریت سدیم (7/5%) قرار داده شد. با آب مقطر استریل 3 بار به مدت 30 ثانیه آبشویی و بعد ریزنمونه ها به مدت 30 ثانیه در اتانول 70% (با دمای 55 درجه سانتی گراد) قرار داده شد.
تیمار 2: قطعات زیرلپه به مدت 60 ثانیه در پتری دیش حاوی هیپوکلریت سدیم (5/5%) قرار داده شد. با آب مقطر استریل 3 بار به مدت 30 ثانیه آبشویی و بعد ریزنمونه ها به مدت 30 ثانیه در اتانول 70% (با دمای 50 درجه سانتی گراد) قرار داده شد.
تیمار 3: قطعات لپه به مدت 30 ثانیه در پتری دیش حاوی هیپوکلریت سدیم (7/5%) قرار داده شد. با آب مقطر استریل 3 بار به مدت 30 ثانیه آبشویی و بعد ریزنمونه ها به مدت 60 ثانیه در اتانول 70% (با دمای 55 درجه سانتی گراد) قرار داده شد.
تیمار 4: قطعات برگ اولیه به مدت 60 ثانیه در پتری دیش حاوی هیپوکلریت سدیم (5/5%) قرار داده شد. با آب مقطر استریل 3 بار به مدت 30 ثانیه آبشویی و بعد ریزنمونه ها به مدت 60 ثانیه در اتانول 70% (با دمای 50 درجه سانتی گراد) قرار داده شد.
صفاتی از قبیل تعداد نمونه های سالم، تعداد نمونه های سیاه شده، تعداد نمونه های خشک شده، تعداد نمونه های پلاسیده، تعداد نمونه هایی که ترشح دارند و نمونه های آلوده به قارچ به مدت 11 هفته مشاهده و شمارش گردید.
پس از ارزیابی واکنش ریزنمونه ها به روش استریل و تعیین بهترین روش، ریزنمونه مناسب انتخاب و بر روی محیط کشت پایه MS در دو تیمار هورمونی شامل بنزیل آمینو پورین (0، 1/5، 2 میلی گرم در لیتر) و تیدیازورون (0، 2، 4 میلی گرم در لیتر) و به صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی در چهار تکرار کشت گردید. سپس کشت‌ها در دمای 1 ±26 درجه سانتیگراد و 16 ساعت روشنایی (2000 لوکس) و 8 ساعت تاریکی، در انکوباتور قرار گرفت. صفاتی نظیر میزان پرآوری نمونه ها، تعداد شاخساره، تعداد پاجوش، طول پاجوش، تعداد ریشه، طول ریشه به طور هفتگی و به مدت 12 هفته یادداشت برداری و مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.
شاخساره‌های حاصل از مرحله پرآوری، در محیط MS حاوی 1 میلی‌گرم در لیتر IBA و IAA کشت شد. بعد از گذشت 4 هفته، بلندترین طول ریشه، تعداد ریشه جانبی، زمان ظهور ریشه، تعداد گیاهان باقی مانده تا مرحله انتقال ثبت گردید. داده ها بوسیله نرم افزار SAS آنالیز و میانگین ها به روش دانکن انجام شد.

نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس داده ها در ارتباط با صفات مورد بررسی در جدول 1 و 2 آمده است. در مرحله بهینه سازی روش استریل و ریزنمونه، تاثیر زمان بر کلیه صفتها معنی دار بود. تیمارهای استریل کردن نیز بر کلیه صفات به جز تعداد نمونه حاوی مواد ترشحی معنی دار بود. اثر متقابل تیمارها نیز بر تعداد نمونه سالم و تعداد نمونه سیاه شده معنی دار بود. از نظر آماری روش سوم (قرار دادن قطعات لپه به مدت 30 ثانیه در هیپوکلریت سدیم (7/5%)،سپس 60 ثانیه در اتانول 70% (با دمای 55 درجه سانتی گراد) به عنوان بهترین تیمار شناخته شد. هر دو نوع سایتوکنین مورد استفاده در آزمایش در پرآوری تاثیر معنی دار داشتند. بالاترین میزان پرآوری در محیط کشت تیدیازورون در غلظت 2 میلی گرم در لیتر (با متوسط 19 گیاهچه به ازاء هر ریزنمونه) و کمترین در تیمار شاهد (با 9 گیاهچه به ازائ هر ریزنمونه) بدست آمد. گیاهچه‌های 3-2 سانتیمتری به محیط ریشه‌زایی منتقل شدند و با بازدهی نزدیک به 100% به شرایط برون‌شیشه‌ای سازگاری یافتند. در صفت طول ریشه کاربرد توام دو سایتوکنین در غلظت 2 بیشترین طول (1/8 سانتی متر) و تیمارهای بنزیل آمینوپورین پس از آن قرار داشتند.

منابع

اسدپور، ر و سلطانی پور، م. 1388. بررسی برخی ازویژگیهای اکولوژیک گونه ناگرددراستان هرمزگان،پژوهش وسازندگی،82 : 59-64

رضایی،م، جایمند،ک، 1384، بررسی ترکیبهای شیمیایی اسانس ناگرد، فصلنامه علمی-پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران، 2 : 75

حیدری قرایی، ح، باقری، ر، برومند، ن، سلیمانی ساردو، ف،1390، بررسی اثر آللوپاتی ناگرد بر جوانه زنی و رشد ارزن، پنجمین کنفرانس سراسری آبخیزداری و مدیریت منابع آب و خاک کشور

Hadjiakhoondi Abbas, Hassan Vatandoost, Amirhossein Jamshidi and Ebrahim Bagheri Amiri. 2003. Chemical Constituents and efficacy of Cymbopogon olivieri (Boiss.) Bor. essential oil against malaria vector, Anopheles stepensi. Daru:11(3).

Murashige, T. and Skoog, F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tabacco tissue cultures. Physiol. Plant, 115: 493-497.

-Sonboli Ali, Mohammad Hossein Mirjalili and Morteza Yousefzadi. 2006. Antimicrobial Activity and Composition of the Essential Oil of Cymbopogon Olivieri (Boiss.) Bor. from Iran. Iranian Journal of Pharmaceutical Research.1: 65-68.

Optimizing of culture condition to micro propagation of Cymbopogon Olivieri L.

M. Shamili1* and Sh. Ghasemi 2

Dept. of Horticultural Sciences, Hormozgan University, Hormizgan- Iran.

Abstract

Cymbopogon Olivieri L. is a valuable medicinal plant that is uses to prevent soil erosion. Seed physiological dormancy made it Sexual propagation hardly. Cymbopogon Olivieri L. can be propagated massively using in vitro culture techniques. So an experiment was conducted to investigate the possibility of micro propagation of this plant by epicotyl, hypocotyl, cotyledon and leaflet explants. Shoot regeneration and proliferation on MS stock media with 2 hormonal treatments: Benzyl amino purine (0, 1,5, 2 Mg/l) and Tidiazorone (0, 2, 4 Mg/l) were caparisoned after optimizing best explant and suitable sterilization method. Prollifered shoots were sub-cultured and transferred to rooting media. Characteristics like proliferation rate, shoot number and length, root number and length were evaluated. Based on results using media containing Tidiazoron (2 mg/L) without benzyl amino purine, to proliferation, is recommended.

Keywords: Benzyl amino purine, Cymbopogon Olivieri L., Optimizing, Proliferation, Tidiazoron

جدول 1- تجزیه واریانس داده ها در رابطه با صفات مورد بررسی در مرحله بهینه سازی شرایط استریل

منابع تغییر	درجات آزادی	میانگین مربعات					
		تعداد نمونه سالم	تعداد نمونه سیاه شده	تعداد نمونه خشک شده	تعداد نمونه پلاسیده	تعداد نمونه حاوی مواد ترشحی	تعداد نمونه حاوی کپک قارچ
زمان (A)	10	4/11**	0/24**	0/29**	0/43*	0/27**	0/37**
تیمار (B)	3	8/18**	1/16**	1/94**	1/02**	0/10ns	0/20*
اثرمتقابل AB	30	0/48**	0/15**	0/12ns	0/06ns	0/05ns	0/06ns
خطا	132	0/21	0/07	0/11	0/21	0/04	0/07
ضریب تغییرات (%)		13/8	208/9	194/4	152/0	342/5	274/1

جدول 2- تجزیه واریانس داده ها در رابطه با صفات مورد بررسی در مرحله پرآوری و ریشه زایی

منابع تغییر	درجات آزادی	میانگین مربعات (MS)					
		میزان پرآوری	تعداد شاخساره	طول شاخساره	تعداد پاجوش	طول پاجوش	تعداد ریشه	طول ریشه
تیدیازورون (A)	2	3/0*	36/3**	12/23**	48/1**	10/7**	4/9ns	0/013ns
بنزیل آمینو پورین (B)	2	1/0ns	44/3**	3/23**	39/1**	19/2**	324/6**	0/023ns
اثرمتقابل AB	4	1/0ns	37/8**	7/21**	76/3**	10/8**	20/8**	0/258ns
خطا	18	0/6	3/4	0/29	1/6	0/5	1/6	0/117
ضریب تغییرات (%)		37/3	14/9	16/8	23/4	28/1	23/1	26/5

ns :غیرمعنی دار، * و ** به ترتیب معنی دار در سطح 5 و 1%