

بررسی ریز ازدیادی گیاه دارویی مرزه خوزستانی *Satureia khuzistanica*

بهمن زاهدی (۱)، جواد هادیان (۲)، امیر صحرارو (۳)

۱- استادیار دانشکده کشاورزی دانشگاه لرستان، ۲- استادیار پژوهشکده گیاهان دارویی دانشگاه شهید بهشتی تهران، ۳- دانشجوی دکتری پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران

پس از ضد عفونی و کشت بذور، جوانه های جانبی گیاهان مرزه حاصله در محیط های کشت مختلف MS و B5 و نیز غلظت ها و ترکیب های مختلفی هورمون IBA و BA، کشت شدند. در محیط کشت B5 بیشترین تعداد شاخه (۲/۷) و طول ترین شاخه ها (۵/۳ cm)، بیشترین تعداد گره و درصد بقا، به دست آمد. بیشترین تعداد شاخه (۲/۵۵)، تعداد گره (۳/۶۶)، بلندترین شاخه ها (۵/۹۱ cm) و درصد بقای گیاهچه ها (۹۵/۷٪)، در غلظت BA ۱ mg/L، به دست آمد. بلندترین شاخه ها (۶/۴۲ cm)، بیشترین تعداد گره (۶/۲۰)، در محیط کشت MS با غلظت BA ۱ mg/L، مشاهده شد. شاخه های گره دار به دست آمده از گیاهچه های مرحله اول به خوبی در تمام ترکیبهای مختلف سیتوکینینها، رشد کردند. محیط کشت MS ۱/۴ بیشترین درصد ریشه دهی (۸۵/۲٪) را در مقایسه با محیط کشت MS ۱/۲ (۶۶/۶٪) و MS (۱۷/۶٪)، داشت. بیشترین تعداد (۱۲/۳) با طول تقریبی (۱/۵۵ cm)، در محیط کشت MS ۱/۲، به دست آمد. ولی بیشترین درصد ریشه زایی (۸۰/۰٪) و تعداد ریشه (۷/۷ و ۸/۴) به ترتیب در غلظت ۰/۲۵ و ۰/۵ mg/L IBA به دست آمد. سازگاری گیاهچه های تولید شده در محیط کشت کاملاً موفقیت آمیز بوده به طوری که ۸۰ درصد گیاهچه ها زنده باقی ماندند.

کلمات کلیدی: مرزه خوزستانی، ریزازدیادی، محیط کشت، ریز نمونه، هورمون

مقدمه:

کشت بافت ابزاری را جهت تکثیر سریع تعداد زیادی از گیاهان یکنواخت، در عین حفظ ژنوتیپ آنها فراهم کرده است (1). کاربرد کشت بافت در حفاظت خارج از محل، گونه های نادر و در خطر انقراض گیاهی، مشخص گردیده است (۲). ایران یکی از مهمترین مخازن ژرم پلاسما مرزه در دنیاست. ۱۴ گونه از این گیاه در ایران شناسایی شده اند که ۸ گونه از آنها اندمیک می باشند (5). گیاه دارویی مرزه خوزستانی (*Satureia khuzistanica*) گیاهی چند ساله از جمله گیاهان باارزش و انحصاری فلور ایران است که در مناطق خشک، آفتابی و خاکهای سنگلاخی-آهکی در استانهای لرستان و خوزستان رشد می کنند. برای تولید گیاهان سالم، یکدست و یکنواخت در مدت زمان کم، استفاده از روشهای کشت بافت لازم است با توجه به پتانسیل ضعیف گیاه در تولید بذر، کشت بافت گیاهی می تواند به طور موثر در تکثیر این گیاه مورد استفاده قرار گیرد.

مواد و روش ها:

بذور در محیط کشت MS نیم غلظت کشت گردیدند. مدت زمان هر دوره واكشت ۴۰-۳۰ روز و محیط کشت ها نیز MS کامل در نظر گرفته شد. به منظور ارزیابی محیط کشت مناسب، ۲ محیط کشت MS (۴)، و B5 (3) مورد مقایسه قرار گرفتند. پس از گذشت چهار هفته از استقرار ریز نمونه ها، پارامترهای لازم شامل تعداد شاخه، طول شاخه، تعداد گره در هر شاخه و نیز قابلیت زنده ماندن و بقای گیاهچه ها (برحسب درصد)، اندازه گیری شدند، درصد ریشه دهی، تعداد ریشه ها و طول آنها نیز ثبت شد. در این آزمایش اثر ۳ فاکتور اصلی شامل نوع محیط کشت و غلظت ۲ هورمون اکسین و سیتوکینین مورد بررسی قرار گرفت. تیمارها شامل ۲ نوع محیط کشت، ۲ غلظت مختلف از هورمون BA و ۲ غلظت از هورمون IBA بودند که در یک آزمایش فاکتوریل و در قالب یک طرح کامل تصادفی، با ۵ تکرار با استفاده از نرم افزار SAS. Ver. 2000، آنالیز و میانگین ها با استفاده از آزمون دانکن در سطح ۵ درصد مقایسه شدند. ریز نمونه ها در محیطهای کشت ۱/۴، ۱/۲ و غلظت کامل محیط کشت MS، حاوی هورمون IBA (۰/۲۵ و ۰/۵ میلی گرم در لیتر) و نیز محیط کشت فاقد هورمون (شاهد)، کشت شدند. چهار هفته پس از کاشت پارامترهای لازم از قبیل درصد ریشه زایی، تعداد ریشه ها و طول ریشه ها، ثبت شد.

تیمارها شامل ۳ نوع محیط کشت و ۳ غلظت مختلف هورمون IBA بودند که در یک آزمایش فاکتوریل در قالب یک طرح کامل تصادفی با ۵ تکرار مورد مقایسه قرار گرفتند.

نتایج و بحث:

اثر محیط های مختلف کاشت بر روی تعداد شاخه های تولید شده در جوانه های جانبی و نیز رشد و توسعه آنها، کاملاً معنی دار ($P \leq 0/05$) بود. محیط کشت B5، دارای بیشترین تعداد شاخه های تولید شده (۲/۵۵) و طولترین شاخه ها (۵/۹۱ cm) بود. بیشترین تعداد گره و درصد بقای گیاهچه ها در دو محیط کشت B5 مشاهده گردید. از طرف دیگر جوانه های جانبی کشت شده در محیط MS، کمترین تعداد شاخه، کمترین تعداد گره و کوتاهترین شاخه ها را تولید کرده و کمترین درصد بقای گیاهچه ها در این محیط کشت مشاهده گردید. بیشترین درصد ریشه زایی و تعداد ریشه در محیط کشت B5، بدست آمد. ریشه زایی و تعداد ریشه به طور معنی داری ($P \leq 0/05$)، در محیط کشت MS نسبت به محیط B5 کاهش یافت. برتری محیط کشت MS (محیط کشتی با میزان غلظت بالای نمک)، اما نتایج عکس حاصله در این تحقیق بیانگر این می باشد که گیاهچه های گونه مرزه خوزستانی، محیط های کشت با تجمع کمتر یونها را جهت استقرار و توسعه شاخه های خود ترجیح می دهند. بیشترین تعداد شاخه (۲/۳۰)، طولترین شاخه ها (۶/۳۰)، بیشترین تعداد گره (۳/۳۷) و بیشترین درصد بقای گیاهچه ها (۹۷/۷۷٪)، در غلظت ۱ mg/l، BA، بدست آمد. نتایج نشان داد که با افزایش غلظت BA از ۱ mg/l به ۱ mg/l، ارتفاع شاخه ها و تعداد گره ها به طور معنی داری ($P \leq 0/05$)، کاهش یافت. بیشترین تعداد شاخه و تعداد گره، طولترین شاخه ها و بیشترین درصد بقای گیاهچه ها، در عدم حضور هورمون IBA دیده شد. طولترین شاخه ها (۸/۴۲ سانتی متر) و بیشترین تعداد گره (۴/۲۴)، در محیط کشت MS با غلظت ۱ mg/l، BA، بدست آمد. کمترین تعداد شاخه و کوتاهترین آنها، کمترین تعداد گره و کمترین درصد بقای گیاهچه ها در محیط کشت MS با ۱ mg/l BA + ۰/۵ mg/l IBA، بدست آمد. بررسیها نشان داد که بیشترین درصد ریشه زایی (۸۴/۴۲٪) در محیط کشت MS با ۱/۴ غلظت نمک در مقایسه با محیط کشت MS با ۱/۲ غلظت نمک (۳۶/۶۶٪) و MS (۱۶/۶٪) بدست آمد. بیشترین تعداد ریشه (۹/۹۳) با طول ۱/۳۴ سانتی متر ریشه، در محیط کشت MS با ۱/۲ غلظت نمک، بدست آمد. بیشترین درصد ریشه زایی (۵۴/۴٪) و بیشترین تعداد ریشه (۸) و (۸/۳۴)، به ترتیب در غلظتهای ۰/۲۵ و ۰/۵ میلی گرم در لیتر IBA، بدست آمدند. در این آزمایش هیچگونه اثر متقابل معنی داری ($P \leq 0/05$)، بین ترکیب محیط کشت و غلظت اکسین دیده نشد. تکثیر گیاه دارویی مرزه خوزستانی از طریق کشت بافت موفقیت آمیز بوده و ۸۰ درصد گیاهچه های تولید شده در محیط کشت پس از انتقال به گلدان زنده مانده و به خوبی مستقر شدند.

منابع:

- 1 - Arikat N. A., F. M. Jawad, N. S. Karam and R. A. Shibli, 2004. Micropropagation and accumulation of essential oils in wild sage (*Salvia fruticosa* Mill.). Scientia Hort. 100: 193–202.
- 2 - Arora, R. and S.S., Bhjwarri.1989. In vitro propagation and low temperature storage of *Saussurea lappa* C.B. Clarke an endangered medicinal plant. Plant Cell Rep, 8:44.
- 3 - Gambert, O.L, R.A., Miller, and K., Ojima. 1968. Nutrient requirements of suspension cultures of soybean root cells. Exp.Cell Res 50:151-158.
- 4 - Murishage, T, and F., Skoog.1962. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. Physiol. Plant 15:473-497.
- 5 - Rechinger, K.H., 1982. Satureja. In Flora desiranischen hochlandes and der umrahmenden gebirge. Akademische druku verlags antalt graz Austria 150: 495–504.

The study micropropagation of *Satureia khuzistanica*.Zahedi, B¹. J, Hadian.² Amir sahraroo³

1 – Assistant professor, College of Agriculture, Lorestan University

2 - Assistant professor, College of medicinal research, Shahid-Beheshti University

3 – Student of PhD, Tehran University, Karaj Campus

Abstract

After seed culture, Nodal segments of derived seedlings *Saturia hortensis* were used as explants and induced on different media, MS (Murashige and Skoog), and B5 (Gamborg et al) with different concentrations and combinations of IBA and BA. B5 medium produced the highest number of shoots (2.7) and tallest shoots (5.3 cm). The highest number of nodes and viable plantlets were observed in B5 mediums. The highest number of shoots (2.55) and number of nodes (3.66), tallest shoots (5.91 cm) and viable plantlets (95.7 %) were obtained at concentration of 1mg/l BA. The tallest shoots (6.4cm) and number of nodes (6.2) were obtained in MS medium with 1mg/l BA. Nodal segments, excised from seedlings, grew successfully in all cytokinins and growth regulator combinations. Quarter salt strength MS basal media induced rich rooting response (85.2%), when compared with 1/2MS (46.6%) and MS (17.6%), mediums. Maximum of roots (12.3) (~ 1.55 cm), were induced in 1/2 MS media. In the free auxin medium (control), rooting was occurred, but the highest rooting percentage (80%) and number of roots (8.4 and 7.7) were obtained at 25 and 50mg/l IBA, respectively. The micro shoot was successful and a total of 80% survival rate was obtained.

Keyword: Explants, Hormone, Media, Micro propagation, *Saturia khuzestanica*.