بررسی امکان نگهداری درون شیشه ای ژرم پلاسم گیاه باریجه وکالوس زایی در آن

نجمه هادی (١)، رضا امیدبیگی (٢)، احمد معینی (٣)

١و٢و٣- کارشناس ارشد (گیاهان دارویی)، استاد مرحوم و دانشیار دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس

گیاه باریجه، از گیاهان ارزشمند دارویی- مرتعی بومی کشور است که به دلیل برداشت های بی رویه و نامناسب از عرصه های طبیعی و داشتن مشکل تکثیری در حال انقراض می باشد. نتایج این پژوهش نشان داد کـه جوانـه انتهـایی حاصـل از گیاهـان باریجه را می توان در محیط کشت MS حاوی BA (٢ $mg\ L^{-1}$) در دمای ٢ ± ٢٥ $\dot{C}$ و تحت فتوپریود ١٦ ساعته بـه مـدت تقریبا ٥ ماه و از طریق ٤ زیرکشت به صورت فعال (دارای قابلیت تولید برگ) نگهداری کرد. دمبرگ هـای حاصـل از جوانـه انتهایی گیاهان مزرعه ای کشت شده در شرایط درون شیشه ای، ریزنمونه های بسیار مستعدی برای کـالوس زایـی بـوده و در محیط کشت B5 حاوی ٢ $mg\ L^{-1}$ BA +١٠ $mg\ L^{-1}$ NAA بهترین کالوس زایی را از نظر کمی و کیفی داشتند.

کلمات کلیدی: باریجه، کشت درون شیشه‌ای، حفظ ژرم پلاسم، کالوس‌زایی

مقدمه:

باریجه با نام علمی *Ferula gummosa* Boiss. گیاهی چندساله و مونوکارپ از خانواده چتریان است (امیدبیگی، ١٣٨٦). باریجه از گیاهان ارزشمند بومی ایران است و شیرابه آن از اقلام مهم صادراتی کشور بحساب می‌آید. با توجه به اهمیت گیاه باریجه و موارد بی‌شمار استفاده‌های دارویی- صنعتی از آن و اینکه این گیاه به دلیل برداشت‌های بی‌رویه و نامناسب از عرصه-های طبیعی کشور در حال انقراض است، اهمیت تکثیر این گیاه مشخص می‌شود (سفیدکن، ١٣٨٧). هدف از تحقیق حاضر بررسی امکان نگهداری درون شیشه‌ای ژرم پلاسم باریجه و کالوس‌زایی در آن بود.

مواد و روش‌ها:

دو گیاه باریجه از باغ تحقیقاتی شرکت دارویی زردبند واقع در شمال شرق تهران تهیه شدند. ابتدا یکی از گیاهان وارد مسیر آزمایش شد و گیاه دیگر بعد از شستن ریشه‌ها با آب داخل پارچه نخی مرطوب داخل یخچال (^0C ٥ - ٤) نگهداری شد. جوانه انتهایی گیاه اول بعد از ضدعفونی، در محیط کشت MS حاوی ١ $mg\ l^{-1}$ از BA کشت شد و داخل اتاق رشد با دمای ^0C ٢ ± ٢٥ و فتوپریود ١٦ ساعته قرار داده شد. دو هفته بعد، جوانه کشت شده به محیط کشت MS حاوی ٢ $mg\ l^{-1}$ از BA منتقل شد. در این زمان، جوانه انتهایی گیاه دوم نیز در محیط کشت MS حاوی ٢ $mg\ l^{-1}$ از BA کشت شد و در همان شرایط محیطی مشابه گیاه اول قرار گرفت.

برای بررسی کالوس‌زایی دمبرگ برگ‌های حاصل از کشت جوانه انتهایی در شرایط درون شیشه‌ای، آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح پایه کاملا تصادفی با سه تکرار انجام شد. فاکتورها و سطوح آنها شامل، نوع محیط کشت (MS و B5)، تیمار هورمونی (١ Kin+ ٢ ،2, 4-D ١ Kin+ ٤ ،2, 4-D ١٠ NAA+ ٢ BA، ١ Kin+ ١ NAA+ ١ ،2, 4-D ١ Kin+ ٢ NAA+ ٢ ،2, 4-D ١ Kin+ ٤ NAA+ ٤ 2, 4-D ($mg\ l^{-1}$)) و وضعیت نوری کشت‌ها (تاریکی مطلق و فتوپریود ١٦ ساعته به صورت ١٦ ساعت روشنایی و ٨ ساعت تاریکی) مورد بررسی قرار گرفتند. کشت‌ها در اتاق رشد در دمای ^0C ٢ ± ٢٥ قرار گرفتند. صفات درصد ریزنمونه‌های کالوس‌زا و میانگین حجم کالوس تولید شده اندازه‌گیری شدند.

نتایج و بحث:

نتایج نشان داد که گیاه باریجه را می‌توان در شرایط درون شیشه‌ای در شرایط آزمایشی به کار رفته در این تحقیق به مدت تقریبا پنج ماه به صورت فعال (دارای قابلیت تولید برگ) نگهداری کرد و از برگ‌های تولید شده به عنوان ریزنمونه مناسب در کشت بافت به منظور تولید کالوس استفاده کرد. نتایج، تأثیر منفی دو هفته قرارگیری گیاه در یخچال را روی کشت جوانه انتهایی باریجه نشان داد. اثر دو هفته قرارگیری گیاه در یخچال یا سرما می‌تواند به خاطر القای خواب یا رکود در جوانه اصلی (فعالیت آنزیم‌ها و هورمون‌ها و غیره) باشد که در این زمینه مطالعات بیشتر پیشنهاد می‌گردد.

در زمینه کالوس‌زایی از دمبرگ‌ها، اثر فاکتورهای نوع محیط کشت و تیمار هورمونی در سطح ۱ درصد، در مورد صفت حجم کالوس، معنی‌دار شد. محیط کشت B5 و تیمار هورمونی ۲ $mg\ l^{-1}$ BA +۱۰ $mg\ l^{-1}$ NAA منجر به بیشترین حجم کالوس تولیدی شدند. اثر فاکتور وضعیت نوری محل قرارگیری کشت‌ها معنی‌دار نشد ولی لازم به ذکر است که کالوس‌هایی که در وضعیت تاریکی تولید شدند، زرد رنگ (قهوه‌ای کمرنگ) بودند، درحالیکه کالوس‌هایی که در وضعیت فتوپریودی ١٦ ساعته تولید شدند، سبز رنگ و گاهی همراه با سطوح برفکی سفید رنگ بودند که این موضوع می‌تواند در استفاده‌های بعدی از کالوس به منظور باززایی، جنین‌زایی سوماتیکی و غیره تأثیرگذار باشد. به طور مثال گزارش شده است که کالوس‌های فشرده و سبز به عنوان بهترین کاندید برای القای باززایی شاخه در مورد گونه‌های گل استکانی هستند (Guzzo *et al*., 2004).

منابع:

- امیدبیگی، ر., ١٣٨٦. تولید و فرآوری گیاهان دارویی. چاپ چهارم، ج ۲. انتشارات آستان قدس رضوی, ٤٣٨ صفحه.
- سفیدکن، ف.، ١٣٨٧. برنامه راهبردی تحقیقات گیاهان دارویی. وزارت جهاد کشاورزی، سازمان ترویج، آموزش و تحقیقات کشاورزی، مؤسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور، ٤٠ صفحه.
- Guzzo, F., Ceoldo, S., Andreetta, F. and Levi, M., 2004. *In vitro* culture from mature seeds of *Passiflora* species. Science Agriculture (Piracicaba, Braz.), 61 (1): 108-113.

In vitro conservation of *Ferula gummosa* germplasm and its callus induction

Abstract

Galbanum (*Ferula gummosa*) is one of the native valuable pasturage-medicinal plants of Iran that is extincting because of irregular and unsuitable harvesting from natural habitats and its propagation problems. The results showed a possible conservation of galbanum germplasm under *in vitro* culture conditions on MS medium supplemented with 2 $mg\ l^{-1}$ BA at 25 ± 2 ^{0}C under a 16-h photoperiod for about 5 months. The obtained petiols of cultured *in vivo* plants under *in vitro* conditions are capable explants for callus production and they produced callus with high quality and quantity on B5 medium supplemented with 2 $mg\ l^{-1}$ BA and 10 $mg\ l^{-1}$ NAA.

Keywords: *Ferula gummosa*, *In vitro* culture, Germplasm conservation, Callus production