تاثیر شرایط رشد گیاه مادری و موقعیت ریزنمونه بر روی شاخساره در باززایی درون شیشه ای گیاه دارویی انار شیطان

سجاد مبشری (۱)، بهنام بهروزنام (۲)، رمضان رضازاده (۳)

۱- دانشجوی سابق کارشناسی ارشد باغبانی و عضو باشگاه پژوهشگران جوان دانشگاه آزاد اسلامی واحد جهرم، باشگاه پژوهشگران جوان ۲- استادیار بخش باغبانی دانشگاه آزاد اسلامی واحد جهرم، ۳- هیات علمی مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی هرمزگان

طی سال ها و قرون، آلودگی محیط زیست و دخالت انسان در اکوسیستم های طبیعی و زیست بوم ها به همراه بسی عوامل دیگر، زمینه ساز نابودی گونه های جانوری و گیاهی متعددی شده است. انار شیطان (*Tecomella undulata* Roxb.Seem) تنها جنس و گونه ی بومی تیره Bignoniaceae در ایران است که به شدت در معرض خطر انقراض قرار دارد. به منظور شاخه زایی سریع از ریز نمونه های انار شیطان، پژوهشی بر پایه آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی با ۵ تکرار انجام شد. فاکتورهای موردنظر شامل موقعیت ریزنمونه بر روی شاخساره (ریزنمونه ی مریستم انتهایی، قسمت بالایی، قسمت میانی و قسمت پایینی) و نیز شرایط رشد گیاه مادری که شامل گیاهان نگهداری شده در شرایط کنترل شده ی گلخانه و گیاهان رشد یافته در زیستگاه طبیعی بود، مورد استفاده قرار گرفت. ریزنمونه ها در محیط MS حاوی ۲ میلی گرم در لیتر BAP و ۰/۱ میلی گرم در لیتر IAA قرارداده شدند. نتایج بیانگر این بود که ریزنمونه های قسمت بالایی حاصل از گیاهان رشد کرده در شرایط گلخانه، بیش از ریزنمونه های مریستم انتهایی رشد کردند و بیشترین تعداد شاخساره در ریزنمونه و طول شاخساره نیز از ریزنمونه های قسمت بالایی گیاهان گلخانه ای مشاهده گردید. ریزنمونه ی قسمت پایینی گیاهان رشد گرده در زیستگاه طبیعی نیز چندان موفق نبوده و نتایج ضعیفی نشان داد.

کلمات کلیدی: انار شیطان، باززایی درون شیشه ای، گیاه مادری و موقعیت ریزنمونه

مقدمه:

هزاران سال است که گیاهان از مهم‌ترین منابع درمانی محسوب می شوند. حتی امروزه، سازمان بهداشت جهانی اعلام نموده که بیش از ۸۰ درصد از مردم دنیا هنوز در طب سنتی از گیاهان دارویی برای درمان استفاده می‌نمایند. یک چهارم داروهای تولید شده، حاوی عصاره‌های گیاهی یا ترکیب‌هایی هستند که از مواد گیاهی به دست آمده‌اند یا براساس ترکیب های گیاهی مدل‌سازی شده‌اند (۹). از طرفی نیاز بشر به فرآورده های طبیعی گیاهان روزافزون شده‌است، چرا که تولید آزمایشگاهی برخی از این فرآورده‌ها به علت پیچیدگی ساختمان‌شان بسیار مشکل است (۳). طی سال ها و قرون، آلودگی محیط زیست و دخالت انسان در اکوسیستم های طبیعی و زیست بوم ها به همراه بسی عوامل دیگر، زمینه ساز نابودی گونه های جانوری و گیاهی متعددی شده است. در سال‌های اخیر با بروز خشکسالی‌های متوالی بخش مهمی از تنوع گونه‌ای موجود در اقلیم کشور ما از دست رفته است. یکی از گونه‌های در معرض نابودی، گیاهی دارویی- زینتی به نام انار شیطان(*Tecomella undulata* Roxb. seem) می باشد. انار شیطان تنها جنس و گونه‌ی بومی تیره Bignoniaceae در ایران است که در مناطق جنوبی ایران گزارش شده است (۲). انار شیطان گیاهی است دو پایه به صورت درختچه‌ی کوچک یا بوته‌های چوبی که دارای شاخه-هایی به حالت گسترده و خمیده به پایین می روید. برگ هایی متقابل باریک و دراز با کناره صاف و گل های بدون بو به رنگ زرد- نارنجی یا قرمز اناری و مجتمع به صورت خوشه‌های کم گل دارد. میوه پوشینه باریک و دامنه پراکندگی آن ایران، هند و عربستان می‌باشد (۲).این درخت که در جامعه کارشناسی گیاهی کشور بسیار غریب و نا آشناست، در فارس، بوشهر، بندرعباس و کرمان به صورت پراکنده و تنک وجود دارد. قسمت‌های مختلف گیاه برای مداوای برخی از بیماری‌ها مثل سفلیس، رفع ترشحات زنانگی، درمان لکه‌های سفید رنگ در ناحیه گردن، اگزما و درمان بزرگ شدن طحال استفاده می‌شود (۲ و ٦). تاکنون پژوهش های محدودی بر روی ریزافزایی این گیاه دارویی انجام شده است (٦ و۷). هدف از این پژوهش

بررسی تاثیر شرایط رشد گیاه مادری و موقعیت ریزنمونه بر روی شاخساره در در باززایی شاخساره‌های گونه‌ی گیاهی انار شیطان در شرایط درون شیشه‌ای می باشد.

مواد و روش‌ها:

به منظور شاخه زایی سریع از ریز نمونه های گیاه دارویی انار شیطان، پژوهشی بر پایه آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کامل تصادفی با ۵ تکرار با استفاده از تک گره به عنوان ریزنمونه در آزمایشگاه کشت بافت دانشگاه آزاد اسلامی واحد جهرم انجام شد. فاکتورهای موردنظر شامل موقعیت ریزنمونه بر روی شاخساره (ریزنمونه‌ی مریستم انتهایی، قسمت بالایی، قسمت میانی و قسمت پایینی) و نیز شرایط رشد گیاه مادری که شامل گیاهان نگهداری‌شده در شرایط کنترل شده‌ی گلخانه و گیاهان رشد یافته در زیستگاه طبیعی بود، مورد استفاده قرار گرفت. به منظور ضد عفونی ریزنمونه های یک سانتی متری از کلراکس ۱۰٪ به مدت ۵ دقیقه استفاده شد و سپس ریزنمونه ها ۵-۳ مرتبه در زیر هود با آب مقطر استریل شستشو شدند. در این آزمایش ۲ نوع تنظیم‌کننده‌ی رشد گیاهی شامل بنزیل‌آمینوپورین (BAP) (۲ میلی‌گرم در لیتر) و ایندول استیک اسید (IAA) (۰/۱ میلی گرم در لیتر) پیش از اتوکلاو کردن به محیط کشت MS اضافه شدند. قبل از اتوکلاو کردن محیط کشت نیز pH آن با استفاده از محلول سود و اسید کلریدریک ۰/۵ نرمال بر روی ۵/۷ تنظیم گردید. به منظور فراهم کردن محیط جامد برای استقرار ریزنمونه ها از آگار به میزان ۷ گرم در لیتر و ساکارز نیز به منظور تامین کربوهیدرات به مقدار ۳٪ به محیط کشت اضافه گردید. ریز نمونه ها در اتاقک رشد با شرایط دمایی ٢٦ درجه سانتی گراد و روشنایی ١٦- ٨ ساعت روشنایی- تاریکی قرار داده شدند. ریز نمونه ها به فاصله یک هفته واکشت شدند و در نهایت پس از سه هفته صفاتی چون درصد رشد جوانه ، تعداد شاخساره در هر ریز نمونه و میانگین طول شاخساره به طور دقیق یادداشت گردیدند. در پایان آزمایش نیز داده ها با استفاده از نرم افزار MSTAT-C تجزیه و تحلیل شده و مقایسه میانگین ها با استفاده از آزمون چند دامنه ای دانکن انجام شد.

نتیجه‌گیری و بحث:

مقایسه میانگین‌ها نشان داد که شرایط رشد گیاه مادری تاثیر معنی‌داری بر روی درصد باززایی شاخساره و درصد پینه‌زایی انار شیطان دارد به گونه‌ای که گیاهان رشد یافته در گلخانه اختلاف زیادی با گیاهان رشد کرده در محیط طبیعی نشان دادند. در مورد تعداد شاخساره در ریزنمونه و میانگین طول شاخساره نیز برتری با ریزنمونه‌های حاصل از گیاهان رشد کرده در گلخانه بود. مطالعه‌ی موقعیت ریزنمونه روی شاخساره بر روی درصد رشد جوانه با استفاده از آزمون دانکن در سطح یک درصد تفاوت معنی‌داری نشان داد ولی بر روی درصد پینه‌زایی در سطح ۵ درصد آزمون چند دامنه‌ای دانکن معنی‌دار شد. بیشترین تعداد شاخساره در ریزنمونه های قسمت بالایی مشاهده گردید. کمترین تعداد شاخساره نیز در تیمار مریستم انتهایی حاصل شد. بیشترین طول شاخساره نیز در ریزنمونه های قسمت بالایی دیده شد. ریزنمونه‌های قسمت بالایی حاصل از گیاهان رشد کرده در شرایط گلخانه، بیش از ریزنمونه‌های مریستم انتهایی رشد کردند اگرچه اختلاف معنی داری با ریزنمونه‌های مریستم انتهایی نداشتند. کمترین باززایی شاخساره نیز در ریزنمونه‌های پایینی از گیاهان رشد کرده در محیط طبیعی به میزان مشاهده گردید (جدول ۱). نتایج با مشاهدات لیزوسکا و وایزوکینسکا (۲۰۰۰) بر روی گیاه *Catalpa ovata* و نیز سرمست و همکاران (۲۰۰۹) بر روی کاج مطبق همخوانی دارد (٤ و٨). ریزنمونه‌های قسمت پایینی گرفته شده از گیاهان رشد یافته در گلخانه بیشترین پینه‌زایی (۸۲/۵ درصد) و ریزنمونه‌ی مریستم انتهایی حاصل از گیاهان رشد کرده در محیط طبیعی نیز با ٦/٥ درصد، کمترین پینه زایی را نشان دادند. نتایج مختلفی در گیاهان چوبی و علفی از بررسی اثر نوع ریزنمونه بر روی پینه زایی وجود دارد که نشان می‌دهد نوع ریزنمونه می‌تواند بر روی درصد پینه‌زایی تاثیرگذار باشد (۵). نتایج این پژوهش از این نظر با تحقیق های انجام شده مطابقت دارد. ریزنمونه های قسمت بالای شاخساره که بافت جوان‌تری داشتند و در شرایط کنترل

شده‌ی گلخانه رشد کرده بودند، بیشترین میانگین تعداد شاخساره به میزان ۱/۸۵ شاخساره و کمترین تعداد شاخساره هم در ریزنمونه های قسمت پایینی گیاهان رشد کرده در شرایط طبیعی مشاهده گردید. بررسی نتایج نشان داد که برهمکنش تیمارهای مختلف، تفاوت معنی داری بر روی میانگین طول شاخساره در سطح یک درصد آزمون دانکن دارد، به گونه‌ای که بیشترین میانگین طول شاخساره در ریزنمونه‌های بالایی حاصل از گیاهان رشد کرده در گلخانه به میزان ١٩/٦ میلی‌متر مشاهده گردید. کمترین میانگین طول شاخساره نیز فارغ از موقعیت ریزنمونه بر روی شاخساره، به گیاهان رشد کرده در شرایط طبیعی تعلق داشت (جدول۲).

جدول ۱- تاثیر برهمکنش‌شرایط رشد گیاه‌مادری و موقعیت‌ریزنمونه‌روی‌شاخساره‌بر روی رشد جوانه و پینه‌زایی

	رشد جوانه (درصد)		پینه‌زایی (درصد)	
شرایط گیاه مادری	گلخانه	شرایط طبیعی	گلخانه	شرایط طبیعی
موقعیت ریزنمونه				
مریستم انتهایی	a١٠٠	bc٦٠	ab٥٧/٥	ab٦٥/٥
قسمت بالایی	a١٠٠	ab٨٠	ab٦٠	ab٤٥
قسمت میانی	a١٠٠	c٥٠	abv٧٢/٥	ab٦٠
قسمت پایینی	a١٠٠	c٤٥	c٨٢/٥	abv٧٥

در هر ستون میانگین های دارای حروف مشترک تفاوت معنی دار با استفاده از آزمون دانکن در سطح ۵ درصد ندارند.

جدول ۲- تاثیر شرایط رشد گیاه مادری و موقعیت ریزنمونه روی شاخساره بر روی تعداد شاخساره در ریزنمونه و میانگین طول شاخساره

	تعداد شاخساره در ریزنمونه		طول شاخساره (میلی‌متر)	
شرایط گیاه مادری	گلخانه	شرایط طبیعی	گلخانه	شرایط طبیعی
موقعیت ریزنمونه				
مریستم انتهایی	١/٣٥ abc	٠/٩ cd	١٥/٩ b	٣/٩ e
قسمت بالایی	١/٨٥a	١/٤٥ ab	١٩/٦ a	٤/٩٥ de
قسمت میانی	١/٣٥ abc	١/١ bcd	٨/٨ c	٣/٩ e
قسمت پایینی	١/٧٥ a	٠/٧ d	٦/٧ d	٣/٣٥ e

در هر ستون میانگین های دارای حروف مشترک تفاوت معنی دار با استفاده از آزمون دانکن در سطح یک درصد ندارند.

منابع:

١. زرگری، ع. ١٣٧٥. گیاهان دارویی، انتشارات دانشگاه علوم پزشکی تهران ، ج.سوم، ٩٢٦ صفحه.

٢. مظفریان. و. ١٣٧٥. فرهنگ نام های گیاهان ایران، موسسه فرهنگ معاصر، ٦١٠ صفحه.

3. Jablonski, J. R. and Skoog, F. 1954. Cell enlargment and cell division in excised tobacco pith tissue. Physiol plant. 7: 160-165.

4. Lisowska, K. and Wysokinska, H. 2000. *In vitro* propagation of *Catalpa ovata* G. Don , Plant Cell, Tiss. and Org. Cult. 60: 171–176.

5. Liu, C., Callow, P., Rowland, L. J., Hancock, J. F. and Song, G. 2010. Adventitious shoot regeneration from leaf explants of southern highbush blueberry cultivars, Plant Cell, Tiss. and Org. Cult. 103: 137-144.

6. Rathore, T. S., Singh, R. P., and Shekhavat, N. S. 1991. Clonal propagation of desert teak (*Tecomella undulata*) through tissue culture , Plant science, 79: 217-222.

7. Robinson, R., Bimlendra, K. and Beniwal, V. S. 2005. *In vitro* shoot multiplication of *Tecomella undulata* (SM.) seem: An endangered tree species , Indian Journal of Plant Physiol. 10(4) : 372-376.
8. Sarmast, M. K., Salehi H. and Khosh-Khui M. 2009. Using plagiotropic shoot explant in tissue culture of *Araucaria excelsa* R. Br. var. glauca. *Adv. Envi.* Biol. 3: 191-194.
9.Tripathi L., Tripathi J. N. 2003. Role of biotechnology in medicinal plants, *Tropical J. of Pharmaceutical Res*. 2: 243- 53.