

## القاء اتوتتراپلوئیدی در گیاه دارویی بادرشبی (*Dracocephalum moldavica* L. 'SZK-1') با استفاده از تیمار کلشیسین

صبا یآوری (۱)، رضا امید بیگی (۱)، محمد اسماعیل حسنی (۲)

۱- به ترتیب کارشناس ارشد و عضو هیأت علمی گروه باغبانی دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس،

۲- عضو هیأت علمی گروه باغبانی دانشکده کشاورزی دانشگاه تهران

### چکیده

کلشیسین به عنوان یک ماده جهش زا به منظور تولید گیاهان تتراپلوئید در بادرشبی (*Dracocephalum moldavica* L.) به کار برده شد. تیمار مریستم انتهایی گیاهچه ها به روش قطره چکان در دو مرحله شامل مرحله ظهور برگ های لپه ای و مرحله ظهور دو برگ حقیقی انجام شد. شش سطح غلظت کلشیسین شامل ۰، ۰/۰۵، ۰/۱، ۰/۲، ۰/۵ و ۰/۷۵ درصد در هر یک از این مراحل به کار برده شد. گیاهان تتراپلوئید با استفاده از بررسی های مورفولوژیکی اولیه، مطالعه ویژگی های روزنه ای، شمارش کلروپلاست های سلول های نگهبان روزنه و در نهایت استفاده از روش تجزیه فلوسایتومتری شناسایی شدند. شمارش کروموزوم های سلول های نوک ریشه گیاهان، تغییر سطح پلوئیدی گیاه بادرشبی را از سطح دیپلوئیدی ( $2n=2x=10$ ) به تتراپلوئیدی ( $4n=4x=20$ ) اثبات کرد. طبق نتایج، تیمار گیاهچه ها در مرحله ظهور دو برگ حقیقی با ۰/۱ درصد کلشیسین به عنوان مؤثرترین تیمار در تولید گیاهان اتو تتراپلوئیدی شناخته شد. نتایج حاصل از مقایسه ویژگی های گیاهان تتراپلوئید با انواع دیپلوئید نشان داد که افزایش سطح پلوئیدی در گیاه بادرشبی سبب تغییراتی در برخی ویژگی های مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی و ترکیبات شیمیایی آن شد.

### مقدمه

بادرشبی (*Dracocephalum moldavica* L.) گیاهی است علفی، یک ساله و متعلق به تیره نعناع با عدد کروموزومی  $2n=10$ . مواد مؤثره پیکر رویشی این گیاه آرام بخش و اشتها آور است. اساس آن خاصیت ضد عفونی کننده و ضد باکتری دارد. هم زمان با افزایش نیاز به اثربخشی و دوام تولیدات حاصل از گیاهان دارویی، نیاز به کیفیت بالای این تولیدات نیز در حال افزایش است. این امر با استفاده از روش های اصلاحی انجام شده بر روی این گیاهان تحقق یافته است. اخیراً نتایج قابل ملاحظه ای با استفاده از کاربرد روش های اصلاحی پلی پلوئیدی در گیاهان دارویی گزارش شده است. مؤثرترین ماده ای که به منظور تحریک پلی پلوئیدی شناخته شده است، کلشیسین می باشد. انگیزش پلی پلوئیدی در گیاهان دارویی با تأثیر بر ویژگی های مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی آنها در بسیاری از موارد سبب بهبود محصول می شود. هدف از انجام این تحقیق بررسی تأثیر تیمارهای مختلف کلشیسین بر سطوح پلوئیدی گیاه بادرشبی بود تا بتوان از این طریق گامی در جهت اصلاح آن برداشت.

### مواد و روش ها

بذور بادرشبی رقم 'SZK-1' مورداستفاده در این آزمایش از دانشگاه کورونیوس بوداپست، دپارتمان تولید و فرآوری گیاهان دارویی تهیه شد. انجام این تحقیق در گلخانه آموزشی- پژوهشی و مزرعه دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس صورت گرفت. تیمار مریستم انتهایی گیاهچه ها با کلشیسین به روش قطره چکان و طی دو آزمایش جداگانه شامل آزمایش تیمار

گیاهچه ها در مرحله ظهور برگ های لپه ای و در مرحله ظهور دو برگ حقیقی انجام شد. تیمار گیاهچه ها یک بار در روز و طی سه روز متوالی انجام شد. هر یک از آزمایشات در شش سطح کلشیسین شامل غلظت های ۰، ۰/۰۵، ۰/۱، ۰/۲، ۰/۵ و ۰/۷۵ درصد با به کارگیری سه تکرار برای هر تیمار انجام شد. هر دو آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در گلخانه به اجرا درآمدند. مرحله اول تعیین سطح پلوئیدی گیاهان حاصل از تیمار شامل شناسایی گیاهانی بود که در مراحل اولیه رشد و نمو از نظر صفات مورفولوژیکی با گیاهان شاهد تفاوت داشتند. مرحله دوم شامل تعیین سطح پلوئیدی این گیاهان با استفاده از روش های سیتولوژیکی (ارزیابی طول و عرض روزنه و سلول های محافظ روزنه، تراکم روزنه ها و محاسبه تعداد کلروپلاست های سلول های محافظ روزنه) بود. پس از آن جهت اثبات نتایج فوق، سطح پلوئیدی گیاهان مذکور با استفاده از دستگاه فلوسایتومتری و شمارش کروموزومی تعیین شد در نهایت گیاهان دیپلوئید با گیاهان تتراپلوئید حاصله از نظر برخی صفات با یکدیگر مقایسه شدند.

### نتایج و بحث

نتایج نشان داد که گیاهچه های بادرشبی در مرحله ظهور دو برگ لپه ای نسبت به تیمار با کلشیسین بسیار حساس بودند و در اثر اعمال این تیمار مرگ گیاهچه ها اتفاق افتاد. اما تیمار در مرحله ظهور دو برگ حقیقی نتایج مطلوبی به دنبال داشت. با بررسی های مورفولوژیکی، سیتولوژیکی و فلوسایتومتری مشخص شد که درصدی از گیاهان تیمار شده از نظر کروموزومی دو برابر شدند. در این میان غلظت ۰/۱ درصد کلشیسین به دلیل این که نسبت به سایر غلظت ها درصد مرگ و میر بالایی نداشت و در عین حال بیشترین درصد (۱۶٪) گیاهان تتراپلوئید را تولید کرد به عنوان بهترین تیمار جهت انگیزش تتراپلوئیدی در گیاه بادرشبی شناخته شد. با مقایسه ویژگی های گیاهان تتراپلوئید با انواع دیپلوئید مشخص شد که افزایش سطح پلوئیدی در گیاه بادرشبی سبب کاهش ارتفاع گیاهان، افزایش مساحت و ضخامت برگ ها، افزایش اندازه بذور و وزن هزار دانه آنها و همچنین کاهش درصد جوانه زنی بذور شد. از طرفی نشان داده شد که تتراپلوئیدی در گیاه بادرشبی افزایش ۲۷/۵ درصدی میزان اسانس را به دنبال داشت. همچنین درصد برخی ترکیبات موجود در اسانس تحت تأثیر سطح پلوئیدی قرار گرفت و طی آن میزان برخی از ترکیبات اسانس افزایش و درصد برخی دیگر کاهش یافت.

### منابع

- Gonzalez, L. D. J. and Weathers, P. J. (2003). Tetraploid *Artemisia annua* hairy roots produce more artemisinin than diploids. *Plant Cell Reports*, 21: 809-813.
- Gu, X. F., Yang, A. F., Meng, H. and Zhang, J. R. (2005). *In-vitro* induction of tetraploid plants from diploid *Zizyphus jujuba* Mill. Cv. Zhanhua. *Plant Cell Reports*, 24: 671-676.
- Quan, K., Guolu, L., Qigao, G. and Xiaolin, L. (2004). Polyploid induction of *Arctium lappa* by colchicines. *Plant physiology communication*, 40: 157-158.
- Roy, A. T., Leggett, G. and Koutoulis, A. (2001). *In-vitro* tetraploid induction and generation of tetraploids from mixoploids in hop (*Humulus lupulus* L.). *Plant Cell Reports*, 20: 489-495.

### Induction of Autotetraploidy in Dragonhead (*Dracocephalum moldavica* L. 'SZK-1') by Colchicine Treatment

Saba Yavari<sup>1</sup>, Reza Omidbaigi<sup>1</sup> and Mohammad Esmaeil Hassani<sup>2</sup>

1- Department of Horticulture, College of Agriculture, Tarbiat Modarres University

2- Department of Horticulture, College of Agriculture, Tehran University

### Abstract

The genome doubling agent colchicine was used effectively to obtain tetraploid plants in dragonhead (*Dracocephalum moldavica* L.). Treatment of seedlings apical meristem was carried out by applying dropping method in two stages consisted of the emergence of cotyledon leaves and the emergence of two true leaves. Six levels of colchicine concentrations including 0, 0.05, 0.1, 0.2, 0.5, and 0.75% were applied in each of these stages. Tetraploid plants were identified by primary morphological selection, studding stomata characteristics, numbering of chloroplasts in the stomatal guard cells and finally using flow cytometric analyses. Ploidy conversions from diploid ( $2n=2x=10$ ) to tetraploid ( $2n=4x=20$ ) were confirmed by chromosome counting root tips. Seedlings treatment in the stage of emergence of two true leaves with 0.1% proved to be the most effective in producing autotetraploids. Comparison of characteristics of tetraploid plants with diploid indicated that the higher level of ploidy in dragonhead was caused changes in some morphological and physiological traits and active substances.