مجله پژوهش‌های تولید گیاهی
جلد بیستم، شماره اول، ۱۳۹۲
http://jopp.gau.ac.ir

نقش تیمارهای هورمونی در باززایی گیاهان کامل از ریز نمونه‌های گیاه جاشیر در شرایط درون شیشه‌ای

زهرا ضیائی‌فرد[۱]، *منیژه میان‌آبادی[۲] و مهناز اقدسی[۲]

[۱]کارشناسی ارشد فیزیولوژی گیاهی، گروه زیست‌شناسی، دانشگاه گلستان،
[۲]استادیاران گروه زیست‌شناسی، دانشگاه گلستان

تاریخ دریافت: ۹۱/۳/۸ ؛ تاریخ پذیرش: ۹۲/۱۲/۱۶

چکیده

جاشیر (*Prangos ferulacea*) یک گیاه پایا و معطر از خانواده چتریان است که در بعضی از مناطق ایران به‌صورت وحشی رشد می‌کند. هیچ گزارشی در مورد باززایی این گیاه در شرایط درون شیشه‌ای وجود ندارد. در این مطالعه، اثر هورمون‌های 2,4-D، کینتین، نفتالن استیک اسید و بنزیل آمینو پورین روی باززایی ساقه و تولید گیاه کامل از قطعات جداکشت ریشه‌چه، محور زیر لپه، محل اتصال محور زیر لپه به ریشه‌چه (یقه) و برگ لپه‌ای دانه‌رست‌های جاشیر در یک طرح کاملا تصادفی با ۲۰ تیمار هورمونی و ۳ تکرار در هر تیمار انجام شد. بهترین نتایج ساقه‌زایی مربوط به قطعات جداکشت یقه تحت تیمارهای ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر 2,4-D همراه با ۱ میلی‌گرم در لیتر کینتین و ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر 2,4-D همراه با ۱/۵ میلی‌گرم در لیتر کینتین (٦٧ درصد در هر تیمار) بود. ساقه‌های باززایی شده، در محیط کشت MS پایه فاقد هورمون ریشه‌زایی نمودند.

واژه‌های کلیدی: *Prangos ferulacea*، ساقه نوپدید درون شیشه‌ای، محیط پایه، 2,4-D، کینتین.

* مسئول مکاتبه: m.mianabadi@gu.ac.ir

مقدمه

گیاه جاشیر با نام علمی *Prangos ferulacea* متعلق به خانواده چتریان (Apiaceae) است. جنس جاشیر ۳۰ گونه دارد که در ایران ١٦ گونه آن از رویشگاه‌های تهران، آذربایجان، شیراز، مازندران، اراک، کردستان، همدان، سمنان، لرستان و اصفهان جمع‌آوری و شناسایی شده است (حسنی و شامرادی؛ ۲۰۰۷). *P. ferulacea* گیاهی بوته‌ای، پایا و یک پایه است. این گیاه بسیار مقوی و با ارزش می‌باشد و وجه تسمیه آن به کیفیت بالای غذایی آن در مقایسه با شیر اشاره دارد. اسانس جاشیر دارای متابولیت‌های ثانویه‌ای است که به‌طور وسیعی در صنایع غذایی، دارویی، بهداشتی و به‌عنوان ترکیباتی با خاصیت ضد میکروبی مورد استفاده قرار می‌گیرد (امیری، ۲۰۰۵). در شرق آناتولی از جاشیر به‌عنوان ماده غذایی استفاده می‌شود (کورو و همکاران، ۲۰۰۷) و در بعضی از مناطق، سرشاخه‌های آن به‌عنوان سبزی خوراکی مصرف می‌گردند.

قرن‌های متمادی است که در ترکیه جاشیر را به‌دلیل عطر و طعم آن به‌صورت سنتی برای تولید پنیر به‌کار می‌برند (دورماز و همکاران، ٢٠٠٦). در قفقاز از برگ آن در تهیه سالاد و درمان بعضی از اختلالات گوارشی (کورو و همکاران، ۲۰۰۷). در ترکیه در درمان زخم‌های روده‌ای و توقف خونریزی های خارجی مورد استفاده قرار می‌گیرد. در صربستان و نواحی اطراف آن، از ریشه گیاه برای تهیه مواد درمان کننده زخم‌های روده‌ای و به‌خصوص هموروئید استفاده می‌شود (دجان و همکاران، ٢٠٠٤). در طب سنتی ایران، ترکیه، هند و مناطق مختلف قفقاز و آسیای مرکزی عصاره ریشه و میوه این گیاه برای درمان اختلالات معده، التیام سوختگی و توقف خونریزی استفاده می‌گردد (رضوی و حاجی‌بلند، ۲۰۰۹؛ تادا و همکاران، ۲۰۰۲). این گیاه ادرار آور و باز کننده مجاری ادراری است و برای درمان بیماری‌های کلیوی بکار برده می‌شود. از کوبیده برگ و عصاره آن برای درمان درد و از عصاره ریشه آن برای تهیه مواد آرایشی و همچنین به‌عنوان مسکن استفاده می‌شود (کوزنتسووا و همکاران، ١٩٦٦).

یکی از ترکیبات شناخته شده فلاونوئیدی در این گیاه کوئرستین ۳-O- گلیکوزید[1] است که ویژگی‌های آنتی‌هیستامینی، ضد التهابی و ضد سرطان‌زایی را نشان می‌دهد. ضمن این‌که ممکن است به کاهش علائم خستگی، افسردگی، اضطراب، امراض کرونر و سرطان کمک کند (رضوی و همکاران، ۲۰۰۹). در بسیاری از مناطق ایران جاشیر یکی از گیاهان مهم در تهیه علوفه زمستانی دام‌ها محسوب

1- Quercetin- 3- O- glycoside(Q3G)

می‌شود و مردم آن را برای تغذیه دام بهتر از یونجه می‌دانند (سفیدکن و همکاران، ۲۰۰۱؛ رضوی و حاجی‌بلند، ۲۰۰۹) به‌علت تغییر شرایط محیطی در دهه‌های گذشته و برداشت بیش از حد گیاهان وحشی از مزارع بومی به‌وسیله گیاه‌شناسان و کشاورزان و همچنین شرایط بد اقلیمی (خشکسالی) باعث گردیده است تا جمعیت گیاه وحشی به‌سرعت رو به کاهش رود. لذا، جهت پیشگیری از فقدان گیاهان بومی در آینده، کشت و تکثیر آن‌ها به‌صورت زراعی ضروری می‌باشد (رضوی و حاجی‌بلند، ۲۰۰۹) طبیعتا تکنیک کشت بافت نیز در این راستا می‌تواند کمک مؤثری باشد. کشت بافت ابزاری مهم در مطالعات پایه و کاربردی است و از این طریق می‌توان به تکثیر گیاهان مختلف یک‌دست از لحاظ ژنتیکی از جمله گیاهان دارویی، زینتی و غیره به شکل عاری از آفت اقدام نمود (احسان‌پور و امینی، ۲۰۰۲) کشت ریز نمونه‌های دمبرگ، دمبرگچه و برگچه *Thapsia garganica* روی محیط کشت دارای ۲ میلی‌گرم در لیتر کینتین و محیط دارای ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر نفتالن استیک اسید (NAA) و ۱/۵ میلی‌گرم در لیتر بنزیل آمینوپورین، بعد از ٤ هفته قادر به باززایی مستقیم شاخه (بدون تولید کالوس) بودند. شاخه‌های تولید شده در محیط دارای ۰/۵ میلی‌گرم در لیترنفتالن استیک اسید و ۱/۵ میلی‌گرم در لیتر بنزیل آمینوپورین، پس از ٤ هفته در محیط مشابه کالوس‌زایی نمودند و کالوس‌ها سپس شاخه‌زایی داشتند (نوکواندا و همکاران، ۲۰۰۵) در زیره سبز[1] بهترین پاسخ شاخه‌زایی روی قطعات میان گرهی ساقه در محیط کشت موراشیگ و اسکوگ (MS) دارای ۲/۵ میکرومول بنزیل آدنین مشاهده شد (آزا و همکاران، ۲۰۰۱). در گیاه رازیانه[2]، ریز نمونه‌های هیپوکوتیل در محیط کشت دارای ۰/۸۸ میکرومولار 2,4-D و محیط دارای ۲/٦ میکرومولار NAA و ۲/۳ میکرومولار کینتین ۱۰۰ درصد، کالوس ایجاد کرد. کالوس‌های رشد یافته در محیط دارای نفتالن استیک اسید و کینتین، بعد از ۸ تا ۱۱ ماه شروع به شاخه‌زایی نمودند ولی کالوس‌های رشد یافته در محیط دارای 2,4-D رفتار اندام‌زایی را نشان ندادند. پس از انتقال شاخه‌های باززایی شده به محیط 1/2MS مایع فاقد هورمون، گیاه کامل باززایی شد. در این گیاه حضور BAP همراه با NAA به‌جای کینتین شاخه‌زایی را کاهش ولی کالوس‌زایی را افزایش داد (آنزیدی و همکاران، ۱۹۹٦) تاکنون هیچ گزارشی در خصوص کشت بافت گیاه جاشیر ارائه نشده است. بنابراین در این پژوهش، کالوس‌زایی، ریشه‌زایی و ساقه‌زایی ریز نمونه‌های گیاه جاشیر در شیشه و سپس باززایی گیاه کامل مورد بررسی قرار گرفت.

1- *Cuminum cyminum*
2- *Foeniculum vulgare*

مواد و روش‌ها

تهیه گیاهچه استریل و القای کالوس‌زایی: بذور گیاه *P. ferulacea* از اطراف یاسوج منطقه گرگو، طول جغرافیایی ″۵۱-′۴۲-°۵۱ و عرض جغرافیایی ″۵۴-′۳۲-°۳۰ شمالی و ارتفاع ۱۷۰۰-۱۴۰۰ متر از سطح دریا در تابستان ۱۳۸۸ جمع‌آوری شدند. بذور ابتدا در آب شسته شده، سپس به‌مدت ۵ دقیقه در اتانول ۷۰ درصد و ۱۵ دقیقه در آب ژاول ۱ درصد قرار گرفتند. سپس با آب مقطر استریل چند بار شستشو شدند.

با توجه به این‌که بذور گیاه جاشیر دارای خواب بودند، به‌منظور شکستن خواب بذر تیمار سرمادهی همراه با غلظت ppm ۱۰۰ محلول جیبرلیک اسید به‌مدت ۴۸ ساعت استفاده شد (ضیایی‌فرد، ۲۰۱۱) گیاهچه‌های با طول تقریبی ۷ سانتی‌متر با آب ژاول ۰/۲۵ درصد به‌مدت ۵ دقیقه ضدعفونی شده و چندین بار با آب مقطر استریل شستشو گردیدند.

به‌منظور القای کالوس‌زایی، ریز نمونه ریشه‌چه، محور زیر لپه، محل اتصال محور زیر لپه به ریشه‌چه (یقه) و برگ‌های لپه‌ای به محیط کشت MS دارای ترکیبی از غلظت‌های مختلف تنظیم کننده‌های رشد شامل کینتین به‌تنهایی (با غلظت‌های ۲ و ۱/۵، ۱، ۰/۵، ۰ میلی‌گرم بر لیتر)، کینتین همراه با 2,4-D (کینتین با غلظت‌های ۲ و ۱/۵، ۱، ۰/۵، ۰ میلی‌گرم بر لیتر و هر کدام دارای ۰/۵ میلی‌گرم بر لیتر 2,4-D) و همچنین BAP و NAA به‌تنهایی (هر کدام در غلظت‌های ۲ و ۱/۵، ۱، ۰/۵، ۰ میلی‌گرم بر لیتر) و دو غلظت ترکیبی از BAP و NAA (۱ میلی‌گرم بر لیتر BAP به‌علاوه ۰/۸ میلی‌گرم بر لیتر NAA و غلظت ۰/۲ میلی‌گرم بر لیتر BAP به‌علاوه ۱ میلی‌گرم بر لیتر NAA) منتقل شدند. سپس پتری‌ها در اتاق رشد با شرایط ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی و دمای حدود ۲±۲۵ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. هر پتری دارای ۵ قطعه جداکشت بود و برای هر تیمار هورمونی سه بار تکرار در نظر گرفته‌شد. آزمایشات سه بار تکرارگردیدند. هر ۲ هفته یکبار نمونه‌ها واکشت شدند. بعد از گذشت مدت ۲۰ روز درصد کالوس‌زایی بررسی‌گردید.

القای ساقه و ریشه: به‌منظور القای ساقه و ریشه، ریز نمونه‌ها در محیط کشت MS دارای ترکیبی از غلظت‌های مختلف هورمونی که در بالا ذکر شد، قرار گرفتند. بعد از ۲۰ روز بهترین محیط جهت القای ساقه و ریشه براساس فاکتورهای اندازه‌گیری شده زیر تعیین‌گردید.

- درصد ساقه‌زایی در هر تیمار
- متوسط طول ساقه‌ها و ماکزیمم طول ساقه ایجاد شده در هر تیمار

با توجه به این مسئله که در هیچ‌کدام از تیمارهای هورمونی مورد استفاده در این پژوهش ریشه‌زایی صورت نگرفت، ساقه‌های باززایی شده به محیط کشت MS پایه فاقد هورمون منتقل گردیدند. سپس، ریشه‌زایی و ایجاد گیاهچه کامل مورد بررسی قرار گرفت (ولی‌زاده و کاظمی‌تبار، ۲۰۰۹).

سازگار کردن گیاهان باززایی شده: جهت انتقال گیاهچه‌های باززایی شده به خاک و سازگار کردن آن‌ها، مخلوطی از سه ماده کوکومیت- پرلیت و ماسه به نسبت ۱: ۱: ۲ به درون لیوان‌های یکبار مصرفی که در کف آن‌ها سوراخ‌هایی جهت زهکشی ایجاد شده‌بود، اضافه‌گردید. گیاهچه‌های باززایی شده از محیط کشت خارج شده و ریشه‌های آن با آب کاملا شسته شدند. به‌طوری که بقایای محیط کشت از آن‌ها زدوده‌گردد و سپس به لیوان‌های موردنظر انتقال یافتند. برای حفظ رطوبت نسبی، لیوان‌های یکبار مصرف شفاف به‌صورت واژگون روی گلدان‌های دارای گیاهچه‌ها قرار گرفته و توسط پارافیلم محکم شدند. در مرحله بعد، لیوان‌های دارای گیاهچه به اتاق رشد با دمای ۲±۲۵ درجه سانتی‌گراد و دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی و رطوبت ٤٥ درصد منتقل گردیدند. آبیاری از ناحیه زیر لیوان‌ها و توسط محلول هوگلند انجام گرفت. به‌منظور سازگار شدن گیاهچه‌ها با محیط اطراف، هر روز یک سوراخ روی لیوان پوشاننده گیاهچه‌ها ایجاد می‌شد (پیرهادی، ۲۰۰۷).

تجزیه و تحلیل آماری

داده‌های به‌دست آمده با استفاده از نرم‌افزار SAS مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند و داده‌ها بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح ۱ درصد و ۵ درصد مقایسه شدند. برای رسم نمودارها از نرم‌افزار Excel استفاده‌گردید.

نتایج

قطعات جداکشت برگ لپه‌ای حاصل از گیاهچه‌های *P. ferulacea* به هیچ یک از بررسی‌های انجام شده جهت کالوس‌زایی و ساقه‌زایی پاسخ ندادند. فقط تحت تأثیر بعضی از تیمارهای اعمال شده، اندازه آن‌ها بزرگ‌تر شد. بنابراین، در تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها از آن‌ها صرف نظر گردید. قطعات جداکشت محور زیر لپه و یقه نیز به تیمارهای کالوس‌زایی واکنشی نشان ندادند. قطعات جداکشت ریشه‌چه در بین تیمارهای هورمونی به‌کار رفته، فقط در دو غلظت ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر

2,4-D و ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر 2,4-D همراه با ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر کینتین کالوس‌زایی را نشان دادند. کالوس‌زایی بعد از یک هفته با درصد بالایی آغاز شد ولی حجم کالوس‌های ایجاد شده کم بود. کالوس‌ها به رنگ کرم و شفاف بودند (شکل ۱- الف و ب) . در غلظت ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر 2,4-D، ۹۳ درصد قطعات جداکشت ریشه‌چه و در غلظت ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر 2,4-D همراه با ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر کینتین ۸۷ درصد قطعات جداکشت ریشه‌چه کالوس‌زایی داشتند. در این دو غلظت تفاوت معنی‌داری از نظر کالوس‌زایی مشاهده نشد. بعد از دو هفته، کالوس‌ها در محیط مشابه واکشت شدند ولی حتی پس از گذشت یک ماه تغییر چشمگیری در حجم آن‌ها ایجاد نشد. به‌دلیل نرمی بیش از حد کالوس‌ها انتقال آن‌ها به محیط‌های جدید با مشکلاتی مواجه بود و به‌دلیل حجم کم آن‌ها، از انجام آزمایشات بعدی روی آن‌ها صرف‌نظر شد. نتایج آنالیز واریانس دو غلظت ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر 2,4-D و ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر 2,4-D همراه با ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر کینتین مشخص نمود که نوع قطعه جداکشت در درصد کالوس‌زایی تفاوت معنی‌داری در سطح ۱ درصد را نشان می‌دهد. ولی غلظت‌های مختلف هورمون و اثر متقابل غلظت هورمون و قطعه جداکشت تفاوت معنی‌داری را نشان نداد (جدول ۱).

بین تیمارهای هورمونی به‌کار رفته بعد از ۵ روز، فقط در ٤ تیمار پاسخ ساقه‌زایی مشاهده گردید. در شکل ۲- الف ساقه‌زایی قطعات جداکشت محور زیر لپه نشان داده شده است. مقایسه ساقه‌زایی قطعات جداکشت یقه با سایر قطعات جداکشت نشان‌داد که قطعات جداکشت یقه بیشترین درصد ساقه‌زایی (٦٧ درصد) را در غلظت‌های ۱ میلی‌گرم در لیتر کینتین همراه با ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر 2,4-D و غلظت ۱/۵ میلی‌گرم در لیتر کینتین همراه با ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر 2,4-D داشتند. قطعات جداکشت محور زیر لپه بیشترین درصد ساقه‌زایی را در غلظت ۱/۵ میلی‌گرم در لیتر NAA و در تیمار ۱ میلی‌گرم در لیتر کینتین همراه با ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر 2,4-D (به‌ترتیب ۲۷ درصد و۲۰ درصد) نشان دادند. قطعات جداکشت ریشه‌چه فقط در تیمار ۱ میلی‌گرم در لیتر کینتین همراه با ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر 2,4-D، ۲۷ درصد ساقه‌زایی را بروز دادند (جدول ۲). نتایج آنالیز واریانس ساقه‌زایی، مشخص نمود که غلظت‌های مختلف هورمون‌ها و نوع قطعه جداکشت در ساقه‌زایی تفاوت معنی‌دار در سطح ۱ درصد داشته‌اند. اثر متقابل قطعه جداکشت و غلظت‌های هورمونی نیز تفاوت معنی‌داری را در سطح ۱ درصد نشان دادند (جدول ۱).

در بین قطعات جداکشت مورد استفاده، قطعات یقه بیشترین میانگین طول ساقه را در غلظت‌های ۰/۸ میلی‌گرم در لیتر NAA همراه با ۱ میلی‌گرم در لیتر BAP (۱۹/۳ میلی‌متر) و غلظت‌های ۱/۵ میلی‌گرم در لیتر کینتین همراه با ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر 2,4-D (۱۵/٤ میلی‌متر) ایجاد نمودند (جدول ۲). اما ماکزیمم طول ساقه ایجاد شده نیز مربوط به قطعات جداکشت یقه و در غلظت‌های ۰/۸ میلی‌گرم در لیتر NAA همراه با ۱ میلی‌گرم در لیتر BAP و غلظت‌های ۱/۵ میلی‌گرم در لیتر کینتین همراه با ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر 2,4-D و ۱ میلی‌گرم در لیتر کینتین همراه با ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر 2,4-D به‌ترتیب ۲۷/۳، ۱۷ و ۱۳/٦ میلی‌متر بود.

بعد از گذشت ۵ روز از انتقال ساقه‌های باززایی شده به محیط کشت MS فاقد هورمون، ساقه‌ها ریشه‌دار شدند. بعد از یک هفته واکشت انجام شد و گیاهچه‌های ایجاد شده ساقه‌های جدید هم تولید نمودند. گیاهچه‌های باززایی‌شده پس از انتقال به محیط خاک، در شرایط اتاق رشد با دمای حدود ۲۵±۲ درجه سانتی‌گراد و رطوبت ٤۵ درصد تا ۳ هفته زنده ماندند و رشد اندکی را نشان دادند (شکل ۲ ب). در پژوهش از عشایر محلی رویشگاه جاشیر نیز مشخص شده بود که این گیاهان در طبیعت در سال اول رشد محدودی دارند و ارتفاع آن‌ها به حدود بیشتر از ۱۰ الی ۱۵ سانتی‌متر نمی‌رسد.

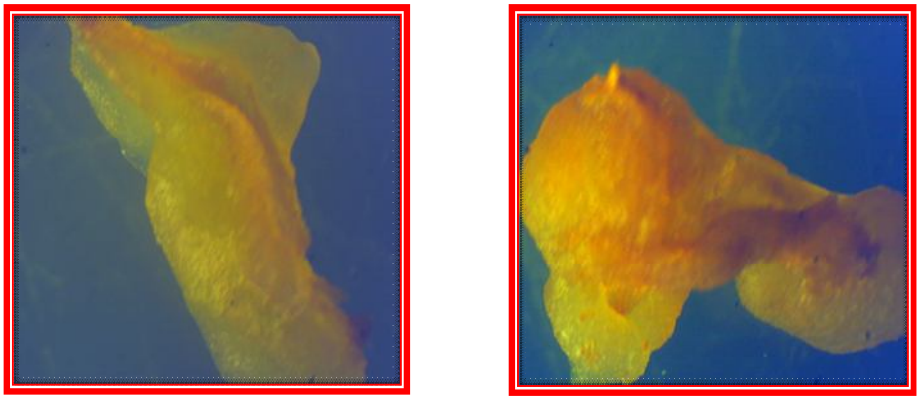
جدول ۱- تجزیه واریانس درصد کالوس‌زایی و درصد ساقه‌زایی قطعات جداکشت *P. ferulacea* پس از تبدیل داده‌ها به روش 2ArcSin√Y.

منبع تغییرات	درجه آزادی (درصد کالوس‌زایی)	میانگین مربعات (درصد کالوس‌زایی)	درجه آزادی (درصد ساقه زایی)	میانگین مریعات (درصد ساقه‌زایی)
نوع قطعه جداکشت	۲	۱۵/۲۲**	۲	۳/۵**
غلظت هورمون	۱	۰/۰۱	۳	۱/٦۵**
نوع قطعه جدا کشت × غلظت هورمون	۲	۰/۰۱	٦	۱/۳٤**
خطا	۱۱	۰/۱۵	۲۳	۰/۰٤
کل	۱٦	___	۳٤	___

** در سطح کمتر از ۱ درصد ($p<۰/۱$) معنی‌دار است.

الف **ب**

الف ب



شکل۱- الف و ب- تصاویر کالوس‌های ایجاد شده از قطعات جداکشت ریشه‌چه در محیط کشت MS دارای ۰/۵ mg/L 2,4-D همراه با کینتین ۰/۵ mg/L.

الف ب

شکل ۲ الف- ساقه‌زایی قطعه جداکشت محور زیر لپه در تیمار هورمونی ۱mg/L کینتین همراه ۰/۵ mg/L 2,4-D. ب- انتقال ساقه ریشه‌دار به خاک.

جدول ۲- مقایسه ماکزیمم طول ساقه، درصد و میانگین ساقه‌زایی قطعات جداکشت یقه، محور زیر لپه و ریشه‌چه گیاه *P. ferulacea* در تیمارهای مختلف هورمونی.

ریز نمونه	تیمارهای هورمونی (mg/L)	درصد ساقه‌زایی (درصد)	میانگین طول ساقه (mm)	ماکزیمم طول ساقه (mm)
یقه	کینتین ۰/۵ 2,4-D+۱	٦٧ ±۱٥/٦ a	۱۲/۰٤ ±۲/۰٤ b	۱۳/٦ ±۲/۷ ab
	کینتین ۰/۵ 2,4-D+۱/۵	٦٧ ±۱٥/٦ a	۱٥/٤٤ ±۲/۰٤ a	۱۷ ±٤/۷ ab
	۰/۸ NAA+۱ BAP	٤۰ ±۱٦/۳ b	۱۹/ ۳ ±۲/٦ a	۲۷/ ۳ ±٤/۷ a
	۱/۵ NAA	۰ c	۰ c	۰ c
محور زیر لپه	کینتین ۰/۵ 2,4-D+۱	۲۰ ±۱۳/۳ c	۱۲/۲۳ ±۳/۷ b	۱۲/٦٦ ±۲/۹ b
	کینتین ۰/۵ 2,4-D+۱/۵	۰ d	۰ c	۰ c
	۰/۸ NAA+۱ BAP	۰ d	۰ c	۰ c
	۱/۵ NAA	۲۷ ±۱٤/۷ c	۱۱/٤۱ ±۳/۲ b	۱۲ ±٤/۷ b
ریشه چه	کینتین ۰/۵ 2,4-D+۱	۲۷ ±۱٤/۷ c	۱۲/۹۱ ±۳/۲ b	۱۳/۳ ±۲/٦ ab
	کینتین ۰/۵ 2,4-D+۱/۵	۰ d	۰ c	۰ c
	۰/۸ NAA+۱ BAP	۰ d	۰ c	۰ c
	۱/۵ NAA	۰ d	۰ c	۰ c

حروف کوچک روی اعداد نشانگر تفاوت معنی‌دار در سطح ۵ درصد می‌باشند.

بحث

کالوس‌زایی قطعات جداکشت *P. ferulacea* فقط در دو غلظت ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر کینتین با ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر 2,4-D و غلظت ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر 2,4-D مشاهده شد و فقط قطعات جداکشت ریشه‌چه کالوس‌زایی نمودند. (ولی زاده و کاظمی‌تبار، ۲۰۰۹) نیز گزارش کردند که بیشترین کالوس‌زایی زیره سیاه در تیمار با 2,4-D به تنهایی و یا در ترکیب با کینتین به‌دست آمد (ولی‌زاده و کاظمی‌تبار، ۲۰۰۹) انتخاب قطعه جداکشت مناسب، نقش مهمی در موفقیت کشت بافت دارد. شرایط فیزیولوژیکی قطعه جداکشت و میزان هورمون‌های درون‌زاد اکسین و سیتوکینین می‌تواند از عوامل مؤثر در پاسخ متفاوت نوع قطعه جداکشت به تیمار هورمونی باشد. همچنین، سطح بیان ژن‌های مؤثر در کالوس‌زایی قطعات جداکشت مختلف می‌تواند متفاوت باشد (سفیدکن و نجف‌پور نوایی، ۲۰۱۰). ساقه‌زایی در قطعات جداکشت *P. ferulacea* در ٤ تیمار هورمونی مشاهده شد. غلظت ۱ میلی‌گرم در لیتر کینتین با ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر 2,4-D بیشترین درصد ساقه‌زایی را نشان دادند. بیشترین درصد

ساقه‌زایی در قطعات جداکشت یقه مشاهده شد. قطعات جداکشت یقه، در محل اتصال محور زیر لپه به ریشه‌چه یک گره دارند. بنابراین، احتمالا به‌دلیل وجود یک منطقه مریستمی در این ناحیه این قطعات جهت ساقه‌زایی مناسب‌تر بودند. (پنت و منندار، ۲۰۰۷). همچنین از قطعات گرهی[1] ساقه جهت باززایی گیاه هویج استفاده نمودند(پنت و منندار، ۲۰۰۷).

بیشتر تیمارهای هورمونی به‌کار رفته در این پژوهش منجربه تغییر اندازه قطعات جداکشت، بدون ساقه‌زایی و کالوس‌زایی شد. از این مطلب می‌توان نتیجه گرفت که احتمالا غلظت جیبرلین درون زاد بافت گیاه بالا است که منجربه بزرگ شدن ابعاد قطعات جداکشت می‌شود. نوکواندا و همکاران، (۲۰۰۵) نیز در باززایی ***Thapsia garganica*** تغییر اندازه قطعات جداکشت را گزارش نمودند.

قطعات جداکشت گیاه در هیچ یک از تیمارهای هورمونی مورد استفاده ریشه‌زایی ننمودند. در صورتی‌که، ساقه‌های باززایی شده پس از انتقال به محیط کشت MS فاقد هورمون ریشه‌زایی نمودند. ولی‌زاده و کاظمی تبار (۲۰۰۹) نیز در مطالعه بر روی زیره سیاه، ساقه‌های باززایی شده را به محیط کشت MS فاقد هورمون جهت ریشه‌زایی منتقل نمودند. در بررسی‌های ابراهیمی و همکاران، (۲۰۰۳) نیز ریشه‌زایی ساقه‌های باززایی شده زیره سبز در محیط کشت MS فاقد هورمون انجام گرفت. بنابراین، می‌توان نتیجه گرفت که در بعضی از گونه‌ها نقش هورمون‌های ریشه‌زای خارجی برای ریشه‌دار کردن ساقه‌های باززایی شده چندان ضروری نمی‌باشد. احتمالا در ساقه‌های باززایی شده این گونه‌ها میزان هورمون‌های اکسینی درون زاد جهت ریشه‌زایی کافی می‌باشد.

یکی از پیچیدگی‌های کشت بافت گیاهان خانواده چتریان استقرار ضعیف آن‌ها در خاک بعد از کشت در شیشه، به‌دلیل آمادگی آن‌ها برای پوسیدگی‌های قارچی و زرد شدن است. همان‌گونه که گیاهچه‌های باززایی شده زیره سبز، گیاه خلال دندان (***Ammi visgana***) و ***Thapsia garganica*** پس از ۲ هفته انتقال به خاک زرد شدند (ماکونگا و همکاران، ۲۰۰۳؛ نوکواندا و همکاران، ۲۰۰۵؛ تافیک و نوگا، ۲۰۰۱). گیاهچه‌های باززایی شده ***P. ferulacea*** نیز پس از انتقال به خاک رشد مطلوبی را نشان ندادند. بنابراین، مطالعه و بررسی دقیق‌تر چگونگی سازگار نمودن گیاهان باززایی شده حاصل از کشت بافت خانواده چتریان در خاک، در پژوهش‌های بعدی ضروری به‌نظر می‌رسد.

1- Nodal explants

منابع

1.Amiri, H. 2005. Chemical composition and antibacterial activity of essential oil of *Prangos ferulacea* (L.) Lindl. Medicinal Plants. 21: 36-41.

2.Anzidei, M., Vivona, L., Schiff, S. and Bennici, A. 1996. In vitro culture of *Foeniculum vulgare*: callus characteristics in relation to morphogenesis. Plant Cell Tissue. Organ Culture. 45: 263-268.

3.Azza, A., Tawfic, A.A. and Noga, G. 2001. Adventitious shoot proliferation from hypocotyl and intermodal stem explants of cumin. Plant Cell Tissue. Organ Culture. 66: 141-147.

4.Coruh, N., Sagdicoglu, C., and Ozgokco, F. 2007. Antioxidant properties of *Prangos ferylacea* (L). *Chaerophllum macropodum* Boiss. and *Heracleum persicum* Deasf. From Apiaceae family used as food in eastern Anatolia and their inhibitory effects on gluthione- s- transferase. Food Chem. 100: 1237-1242.

5.Dejan, D., Vanja, M., Milena, V. and Nada, N. 2004. 3,5- Nonadiyne Isolated from the risom of *Cachris ferulacea* inhibits endogenous nitric oxide release by rat peritoneal macrophages. Chemistry pharmacological Bulleten. 52: 853- 854.

6.Durmaz, H., Sagun, E., Tarakci, Z. and Ozgokce, F. 2006. Antibacterial activities of *Allium vineale, Chaerophyllum macropodium* and *Prangos ferulacea.* Afr J. Biotechnol. 5: 1795-1798.

7.Ebrahimie, e., Habashi, A.A., Ghareyazie, B., Ghannadha, M., Mohammadie, M. 2003. A rapid and efficient method for regeneration of plantlets from embryo explant, of cumin (*Cuminum cyminum*). Plant Cell Tissue. Organ Culture. 75: 9-25.

8.Ehsanpour, A. and Amini, F. 2002. Plant Tissue and cell culture. Jahad Daneshgahi Isfehan Press, Isfehan. 11p.

9.Hasani, J. and Shamoradi, A. 2007. Autecology of *Prangos ferulacea* in kurdistan province. Iran J. Range. Desert Res. 14: 171-184.

10.Kuznetsova, G., Milova, N. and Nazerenkon, M. 1966. Antibacterial activity of some natural lactones rastitelyne resursy. Plant Cell Tissue. Organ Culture. 2: 216- 217.

11.Makunga, N.P., Jager, A.K. and Staden, J. 2003. Micropropagation of *Thapsia garganica* a medicinal plant. Plant Cell Reports. 21: 967- 973.

12.Nokwanda, P., Makunga, Anna, K., Jager. and Johannes, V.S. 2005. An improved system for the in vitro regeneration of *Thapsia garganica* via direct organogenesis– influence of auxins and cytokinins. Plant Cell Tissue. Organ Culture. 82: 271- 280.

13.Pant, B. and Manandhar, S. 2007. In vitro propagation of Carrot (*Daucus carota)* L. Sci world. 5: 51- 53.

14.Pirhadi, F. 2007. Micropropagation and Optimization of *Teucrium polium in vitro* culture. MSc Thesis. Golestan University.

15. Razavi, S.M., Hajiboland, R. 2009. Dormancy breaking and germination of *Prangos ferulacea* seed. Eur J. BioSci. 3: 78-83.
16. Razavi, S.M., Zahri, S., Zarrini, G., Nazemiyeh, H. and Mohammadi, S. 2009. Biological activity of quercetin- 3-o- glucosid, a know plant flavonoid. Bioorganic Chem. 35: 376- 378.
17. Sefidkon, F. and Najafpour Navaii, M. 2001. Chemical Composition of the oil of *Prangos uloptera* DC. J. Essential Oil Res. 13: 84-85.
18. Tada, Y., Shikishima, Y., Takaishi, Y. and Shibata, H. 2002. Coumarins and gamma pyrone derivatives from *Prangos pabularia*. Phytochem. 59: 649-654.
19. Tawfic, A.A. and Noga, G. 2001. Adventitious shoot proliferation from hypocotyls and internodal stem explants of cumin. Plant Cell Tissue. Organ Culture. 66: 141- 147.
20. Valizadeh, M. and Kazemi Tabar, S.K. 2009. Investigation of plant growth regulators effects on callus induction and shoot regeneration of *Bunium persicum* (Boiss). Agriculture Sci Technol. 11: 481- 486.
21. Ziaee Fard, Z. 2011. Micropropagation and optimization of conditions for the *in vitro* culture of two medicinally Prangos (*P. ferulacea* & *P. uloptera*) species. MSc Thesis. Golestan University.

Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources
J. of Plant Production, Vol. 20 (1), 2013
http://jopp.gau.ac.ir

The role of hormone treatment on complete Regeneration of Jashir (*Prangos ferulacea* Lindl) *in vitro*

Z. Ziaee Fard[1], *M. Mianabadi[2] and M. Aghdasi[2]
[1]M.Sc. in Plant Physiology, Faculty of Science, Golestan University, Gorgan, Iran,
[2]Assistant Prof., Dept. of Biology, Faculty of Science, Golestan University, Gorgan, Iran

Abstract

Prangos ferulacea (L.) Lindl (Apiaceae) is a permanent and aromatic plant grows wild in some regions of Iran. There are not any reports about plant regeneration of *P. ferulacea in vitro*. In the present study, the effect of various concentrations of 2, 4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) with kinetin and naphthalene acetic acid (NAA) with Benzyl amino purine (BAP) on shoot and plant regeneration of *P. ferulacea* radicle, hypocotyl, crown, and cotyledon explants were investigated. The study was designed as a completely randomized design with 20 treatments and 3 replications. The best results of shoot regeneration was recorded case of crown explants in MS medium comprising 0.5 mg/L 2,4-D with 1mg/L Kin and 0.5 mg/L 2,4-D with 1.5 mg/L Kin treatments (67%, in each cases). The regenerated shoots were rooted on basal MS medium without any hormonal treatment.

Keywords: *Prangos ferulacea*; In vitro shoot regeneration; 2,4-D; Kinetin.

*Corresponding Author; Email: m.mianabadi@gu.ac.ir