



(مروری بر صفات زایشی گیاه اسطوخودوس راست (*Lavendula stricta* Del.) و بهینه سازی کشت گیاه در شرایط درون شیشه ای)



لیلا بقازاده دریایی^{*}، داود صمصام پور^۲

۱- دانشجوی دکتری، بیوتکنولوژی و ژنتیک مولکولی محصولات باغبانی، دانشگاه هرمزگان

۲- هیئت علمی گروه باغبانی دانشگاه هرمزگان

*- ایمیل نویسنده مسئول: baghazadeh0761@yahoo.com

چکیده

گیاه دارویی اسطوخودوس راست (*Lavendula stricta* Del.) یکی از گیاهان دارویی و اسانس دار مناطق جنوبی ایران می باشد. این گیاه از قدیم برای درمان درد مفاصل، دلپیچه و زکام استفاده می شده است. در این تحقیق، بوته های کامل گیاه اسطوخودوس راست از منطقه حفاظت شده گنو واقع در استان هرمزگان جمع آوری شدند و درصد پوکی بذر، وزن ۱۰۰۰ دانه و میزان جوانه زنی آن ها مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان دادند، بذور گیاه بسیار ریز و از درصد جوانه زنی اندکی (۵/۶۶ درصد) برخوردار بوده و اکثر بذور پوک (۹۱/۳۳ درصد) بودند. نتایج کشت درون شیشه ای نشان دادند، ترکیب بنزیل آدنین ۵/۰ میلی گرم در لیتر با نفتالین استیک اسید ۵/۰ میلی گرم در لیتر بهترین نتیجه را در کالوس زایی داشته باشند و تیمارهایی که در آن ها از هورمون های بنزیل آدنین ۱ و ۲ میلی گرم در لیتر و کاینیتین ۲ میلی گرم در لیتر استفاده شده بود توانسته بودند گیاهچه های سالمی تولید نمایند.)

مقدمه

استفاده از گیاهان دارویی به منظور درمان بیماری ها با تاریخ زندگانی انسان هم زمان بوده است. بر اساس سازمان سلامت جهانی (WHO) در حال حاضر حدود سه چهارم جمعیت جهان از گیاهان و یا دیگر اشکال داروهای سنتی برای درمان بیماری های خود استفاده می کنند (Edzard, 2009). در استان هرمزگان بیش از ۹۳۵ گونه گیاهی پراکنش دارد که تعداد ۲۹۲ گونه دارویی هستند (Soltanipour, 2005). اسطوخودوس راست (*Lavandula stricta* Del.)، گیاهی از خانواده نعنائیان که به نام های اسطوخودوس شاهی و یا اسطوخودوس فلس دار نیز معروف بوده و بومی جنوب ایران می باشد (Mozaffarian, 1996). این گونه، در اقلیم گرم و خشک بیابانی پراکنش دارد، از برگ، ساقه و گل این گیاه برای درمان درد مفاصل، دل پیچه و زکام استفاده می شود (Soltanipour, 2005). ترکیبات اصلی عصاره اسطوخودوس، لینالول (۳۲/۸ درصد)، لینالیل استات (۱۷/۶ درصد)، لاوندولیل استات (۱۵/۹ درصد)، α-ترپینئول (۶/۷ درصد) و ژرانیل استات (۵ درصد) می باشد. یکی از روش هایی که امروزه بیش از هر موضوع دیگر در زمینه بررسی متابولیت های گیاهی مورد توجه قرار گرفته است، استفاده از تکنیک کشت اندام، بافت و سلول گیاهی است. در این تحقیق برخی از صفات زایشی گیاه اسطوخودوس راست از جمله درصد جوانه زنی و پوکی بذر مورد بررسی قرار گرفتند و همچنین از تکنیک کشت بافت برای تکثیر و ازدیاد این گیاه دارویی بالارزش استفاده و بهینه سازی شده است.)

مواد و روش ها

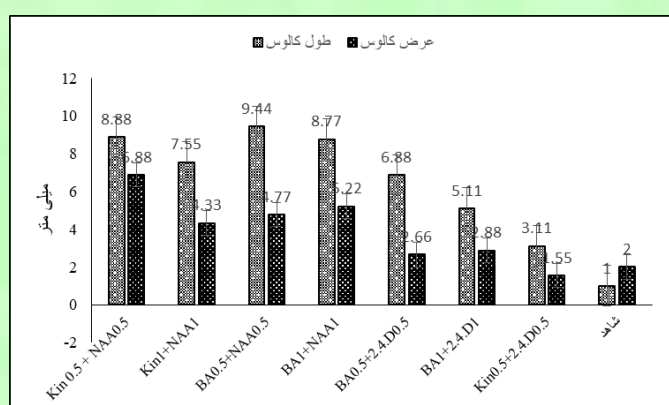
تحقیق حاضر در آزمایشگاه کشت بافت دانشکده علوم کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه هرمزگان در بهار و تابستان سال ۱۳۹۷ انجام گرفت. نمونه های مورد مطالعه از ارتفاع ۳۰۰ متری از سطح دریا از منطقه حفاظت شده گنو واقع در شمال بندرعباس با میانگین بارش سالیانه ۲۰۰-۱۵۰ میلی متر مربع و متوسط دمای سالانه ۲۷/۵-۲۵ درجه سانتی گراد با آب و هوای گرم و خشک و بیابانی، جمع آوری شد. نمونه برداری در فروردین ماه و در مرحله گلدهی کامل انجام شد. وزن خالص ۱۰۰ دانه محاسبه شد. این شمارش سه بار تکرار و میانگین آن ها محاسبه شد. عدد به دست آمده در عدد ۱۰ ضرب شد تا وزن تقریبی ۱۰۰۰ دانه بذور محاسبه شود. برای محاسبه درصد پوکی بذور، شمارش بذور در سه تکرار صورت گرفت (سه گروه صدتایی گل) و میانگین تعداد بذور پوک محاسبه گردید. درصد جوانه زنی با تقسیم تعداد بذرهای جوانه زده بر تعداد کل بذرهای ضربه در ۱۰۰ محاسبه شد. برای کشت بذور، از محیط MS یک دوم بدون هورمون، استفاده شد. در هر پتری ۱۰ بذر استریل شده کشت شدند. برای استریل کردن بذرهای از الکل ۷۰ درصد و سدیم کلراید ۳ درصد استفاده شد، به این صورت که ابتدا بذرهای درون یک گاز استریل قرار داده، سپس به مدت یک دقیقه در الکل ۷۰ درصد قرار داده شد، سپس به مدت ۱۵ دقیقه در سدیم کلراید ۳ درصد و در نهایت سه بار با آب مقطر استریل شستشو داده شدند. پس از خشک شدن بذرهای، کشت انجام گرفت. برای کشت بافت ابتدا بذور در محیط کشت MS یک دوم بدون هورمون کشت شدند، سپس از گیاهچه حاصل برای کشت بافت استفاده گردید. یکی از دلایلی از این روش استفاده شد، وجود میزان بالای فنول در نمونه گیاهی اسطوخودوس می باشد. از گیاهچه های حاصل از جوانه زنی درون شیشه ای بذرهای درون محیط کشت MS یک دوم، به عنوان ریزنمونه استفاده شد. در این تحقیق، از قسمت های برگ های لپه ای، ساقه چه و ریشه چه برای کشت استفاده شد. جهت القای کالوس از تیمارهای هورمونی که شامل: Kin+NAA، BA+NAA، Kin+2.4.D و 2.4.D+BA، هر کدام در غلظت های ۵/۰ و ۱ میلی گرم در لیتر و تیمار شاهد بدون هورمون (۹ تیمار در سه تکرار) بودند، استفاده شد. آزمایش به صورت کاملاً تصادفی در سه تکرار انجام شد. از محیط بدون هورمون به عنوان نمونه های شاهد استفاده شد. از کالوس های سالم برای آزمایش دوم (القای اندام زایی) استفاده شد. در این آزمون، از هورمون های Kin و BA در سه غلظت ۵/۰، ۱ و ۲ میلی گرم در لیتر و تیمار بدون هورمون به عنوان شاهد (۷ تیمار در سه تکرار) استفاده شد.)

نتایج و بحث

گونه های وحشی گیاهان و از جمله گیاهان دارویی، برای بقای خود در طبیعت دارای سازگاری اکولوژی از جمله خواب بذر هستند (سنگین آبادی و همکاران، ۱۳۹۵). در گیاه دارویی اسطوخودوس، علاوه بر وجود سازگاری های اکولوژیکی که باعث کاهش جوانه زنی بذر می شود؛ درصد بالای پوکی بذر نیز می تواند باعث کاهش بیشتر بنیه و جوانه زنی بذر شود. جوانه زنی عبارت است از، توانایی بذر برای تولید یک گیاه کامل و طبیعی در شرایط مساعد (Gonzalez et al., 2004). نتایج حاصل از بررسی وزن ۱۰۰۰ دانه بذور اسطوخودوس راست نشان داد، بذور از وزن اندکی برخوردار بوده و بسیار سبک بودند. نتیجه این بررسی نشان داد وزن ۱۰۰۰ دانه بذور برابر ۲۹/۰ گرم بود. میانگین به دست آمده از محاسبه درصد پوکی بذور نشان داد، ۹۱/۳۳ درصد از بذور پوک بودند که درصد بالایی را شامل می شد. درصد جوانه بذر در گیاه اسطوخودوس ۵/۶۶ درصد محاسبه شد. این نتیجه نشان دهنده وجود درصد جوانه زنی بسیار اندک در گیاه اسطوخودوس راست می باشد. همان طور که نتایج بررسی درصد جوانه زنی بذرهای نشان دادند، بذور اسطوخودوس راست از قدرت جوانه زنی اندکی برخوردار بودند. با توجه به وجود مشکل پوکی بالای بذرهای و جوانه زنی اندک آن ها، استفاده از تکنیک های بیوتکنولوژی و ریز ازدیادی جهت تکثیر غیر جنسی این گیاه دارویی با ارزش، امری ضروری است. از آنجاییکه این گیاه جایگاه ویژه ای در بین گیاهان منطقه دارد، برای اهلی سازی و تکثیر آن باید از روش های مناسب ازدیاد استفاده نمود تا هم از انقراض آن ها جلوگیری شود و هم بتوان از خواص ارزنده گیاه بهره مند شد. یکی از روش های مناسب برای ازدیاد گیاهان دارویی در مقیاس بالا، استفاده از تکنیک ریزازدیادی می باشد. در این روش تکثیر، یکی از مشکلات استفاده از اندام گیاه مادر به عنوان ریز نمونه، وجود مواد فنی بالا در گیاه است که باعث اکسید شدن ریز نمونه و قهوه ای شدن آن می شود. برای کاهش این مشکل از گیاهچه های حاصل از کشت بذر در شرایط درون شیشه ای و در محیط MS یک دوم استفاده شد. نتایج کالوس زایی نشان داد محیط MS حاوی هورمون های نفتالین استیک اسید و کاینیتین ۵/۰ میلی گرم در لیتر بهترین نتیجه را داشتند و تیمارهایی که از اکسین به شکل 2.4.D استفاده شده بود، کالوس ها شکل ظاهری خوبی نداشتند و به رنگ زرد تیره تا قهوه ای بودند (شکل ۱). از سه ریزنمونه برای هدف کالوس زایی استفاده شده (برگ های لپه ای، ساقه چه و ریشه چه) که بهترین نتیجه در ریزنمونه های برگ های لپه ای مشاهده شد. از ریزنمونه ریشه چه، هیچ گونه کالوسی حاصل نشد. اولین کالوس ها در اوایل هفته دوم ظاهر شدند و کالوس های برگ های لپه ای از رشد سریعتر و بهتری برخوردار و بهترین گزینه برای استفاده به عنوان ریز نمونه بودند. در تیمار هورمونی نفتالین استیک اسید در ترکیب با هورمون بنزیل آدنین، کالوس های سالم و سبز رنگ تشکیل شدند که از رشد بالایی برخوردار بودند. همچنین در ترکیب با تیمار هورمونی کاینیتین نیز نتایج خوبی از خود نشان داد که با تحقیقات پیشین مطابقت داشت (George et al., 2008). در مطالعه حاضر مشاهده شد، تیمارهایی که در آن ها از هورمون های بنزیل آدنین ۱ و ۲ میلی گرم در لیتر و کاینیتین ۲ میلی گرم در لیتر استفاده شده بود، نتایج بهتری را در تولید گیاهچه های باززایی شده از خود نشان دادند (شکل ۲). در عوض، تیمارهایی که در آن ها از کاینیتین ۵/۰ و ۱ میلی گرم در لیتر و بنزیل آدنین ۵/۰ میلی گرم در لیتر استفاده شده بود هیچ گونه گیاهچه ای تشکیل نشد. نتیجه جالبی که از این تحقیق حاصل شد، رشد گیاهچه ها از تیمارهای بدون هورمون بود. در تکرارهایی که برای تیمارهای شاهد در نظر گرفته شده بود (محیط MS بدون هورمون) نیز گیاهچه های قوی رشد کردند. طبق نتایج حاصل، محیط MS، محیط مناسبی برای تولید و باززایی گیاه اسطوخودوس راست بوده است (George et al., 2008). در این تحقیق، تا مرحله ایجاد گیاهچه از کالوس ها پیش رفت. امید است که بتوان در مرحله بعدی کار، علاوه بر اعمال مراحل ریشه زایی در گیاهچه های باززایی شده، مرحله مقاوم سازی آن ها در شرایط آزمایشگاهی و گلخانه ای انجام گیرد و به تولید تجاری گیاه بیانجامد. همچنین، با کشت سوسپانسیون سلول های گیاهی بتوان اقدام به استخراج متابولیت های ارزنده این گیاه از جمله لینالول نمود.



شکل ۲- باززایی گیاهچه ها از کالوس های نسل دوم.



شکل ۱- مقایسه میانگین هورمون های مختلف در تولید کالوس

منابع

حسینی، ا.، امیری قدری، ر.، پورکاربزی، ع.ر. و آذرکیش، پ. ۱۳۹۲. نقش کشت بافت در بهبود تکثیر گیاهان دارویی. همایش ملی کاربرد گیاهان دارویی در سبک زندگی و طب سنتی، تربت حیدریه. <https://civilica.com/doc/245077>

سنگین آبادی، م. و خراسانی نژاد، س. ۱۳۹۵. اثر تنش خشکی، شوری و پیش تیمار اسیدسالیسیلیک بر خصوصیات جوانه زنی بذر اسطوخودوس راست بومی ایران (*Lavandula L.*). نشریه علوم باغبانی دانشگاه فردوسی مشهد. ۳۰ (۳): ۴۲۰-۴۲۳.

Edzard, E. 2009. The efficacy of herbal medicine an overview. Fundamental & Clinical Pharmacology, 19(4): 405-409.

George, E.F., Hall, M.A., Klerk, G.J.D. 2008. Plant propagation by tissue culture, volume 1. Springer, Netherlands