



University of Zanjan



Original Article

Optimizing MS (Murashige & Skoog) media for *Ferula.gummosa*

Arman Hagnazari ¹, Mohammad Reza Azimi ¹, Ali Ammarellou ²

1. Faculty of Agriculture, University of Zanjan, Zanjan, Iran.

2. Research Institute of Modern Biological Techniques, University of Zanjan, Zanjan, Iran.

ARTICLE INFO ABSTRACT

Article history

Submitted: 2022-6-2

Revised: 2022-6-10

Accepted: 2022-8-6

KEYWORDS

Galbanum,
Biotechnology,
Tissue culture

Ferula.gummosa is one of the important medicinal plants in Iran and world. Today this plant is endangered in nature. One of the reasons for the threat is the long dormancy of galbanum seeds and its very low germination power, along with its uncontrolled harvesting. In this research, which was conducted in a completely randomized design with 3 replications and 3 treatments at the Biotechnology Research Institute of Zanjan University of Medical Sciences, galbanum plant embryos from Fars province were separated from seeds and cultured to find the best concentration for growth in MS media with concentrations of 1/2-1/4 and complete MS media. After 30 days, traits such as seedling length, seedling weight, and percentage of germination in each medium were measured and compared. The results showed that the growth rate of this plant in MS1/4 media was higher than the two other concentrations. According to available published sources, the results of this study are reported for the first time on the effect of culture medium concentration on germination and seedling growth indices of *Ferula.gummosa* plant

* Corresponding author: **Arman Hagnazari**

✉ E-mail: arman.2423224@gmail.com

Journal homepage: jmpb.znu.ac.ir





بهبود سازی محیط کشت موراشیگ - اسکوک (MS) برای گیاه دارویی

باریجه (*Ferula.gummosa*)

آرمان حق نظری¹، محمدرضا عظیمی²، علی عمارلو³

۱. دانشجوی کارشناسی ارشد رشته ی مهندسی کشاورزی گرایش ژنتیک و به نژادی

۲. دانشیار دانشکده کشاورزی دانشگاه زنجان

۳. دانشیار پژوهشکده فناوریهای نوین زیستی دانشگاه زنجان

چکیده

اطلاعات مقاله

تاریخچه مقاله

دریافت: ۱۴۰۱-۳-۱۲

بازنگری: ۱۴۰۱-۳-۲۰

پذیرش: ۱۴۰۱-۵-۱۵

واژگان کلیدی

گیاهان دارویی، زیست فناوری، باریجه، ریزازدیادی.

گیاه دارویی باریجه با نام علمی *Ferula gummosa* یکی از گیاهان دارویی مهم ایران و از گیاهان رو به انقراض دنیا است. یکی از دلایل تهدید ژرم پلاسما باریجه خواب طولانی بذر و قوه نامیه بسیار پایین و برداشت بی رویه آن می باشد. در این تحقیق که در قالب طرح کاملا تصادفی با ۳ تکرار و ۳ تیمار در پژوهشکده فناوری های نوین زیستی دانشگاه زنجان انجام شد جنین های گیاه باریجه توده استان فارس از بذر ها استخراج شده و به منظور پیدا کردن بهترین غلظت محیط کشت بر میزان رشد در محیط های MS با غلظت های ۱/۲-۱/۴ و محیط MS کامل کشت شدند. پس از گذشت ۳۰ روز صفاتی از قبیل طول گیاهچه، وزن گیاهچه و درصد جوانی زنی در هر محیط اندازه گیری و باهم مقایسه شدند. نتایج نشان دادند که میزان رشد این گیاه در محیط های با غلظت یک چهارم از محیط موراشیگ و اسکوک بیشتر از دو غلظت مورد مطالعه است. با توجه به منابع در دسترس و منتشر شده، نتایج این تحقیق برای اولین بار در موضوع اثر غلظت محیط کشت بر روی شاخص های جوانه زنی و رشد گیاهچه ی باریجه گزارش میگردد.

*نویسنده مسئول: آرمان حق نظری

E-mail: arman.2423224@gmail.com

Journal homepage: jmpb.znu.ac.ir



مقدمه

گیاه باریجه (*Ferula.gummosa*) گیاهی دارویی از خانواده‌ی چتریان و جنس *Ferula* است که به آن قسنی یا بالانبو یا انگدون هم میگویند. این گیاه چند ساله با ارتفاع ۱-۲ متر است و در طول عمر خود تنها یک بار به گل مینشیند، گل آذین این گیاه چتر مرکب است و گل‌هایی به رنگ زرد و میوه‌ی بیضی شکل دارد. این گیاه ریشه‌ای ضخیم و گوشتدار برگ‌هایی با بریدگی‌های کم و بیش عمیق و میوه شیزوکارپ دارد که به هر فندقه آن مریکارپ می‌گویند (رضایی و همکاران ۱۳۸۱). جنس کما به علت داشتن ترکیبات شیمیایی مختلف مانند ترپنویید کومارین‌ها، مخلوط استرهای عطری، اسیدها و الکل‌های ترپنی و سزگوئی ترپن‌های لاکتونی کم و بیش مورد توجه بوده است. (رضایی و همکاران ۱۳۸۱) این گیاه بومی کشورهای ایران، افغانستان، ترکیه و ترکمنستان است و در کشور ما استان‌های فارس، اصفهان، خراسان، آذربایجان، زنجان، همدان و استان مرکزی مهم‌ترین رویشگاه‌های این گیاه اند. بهترین زمان برای کشت این گیاه

اوایل آذر و اوایل دی و اپتیموم دمای جوانه‌زنی آن ۱۴/۳ درجه سانتیگراد برآورد شده است (منتظری و همکاران ۱۳۸۹). همچنین مطالعات اکولوژیکی روی این گیاه نشان داده که بهترین زیستگاه‌ها برای باریجه شیب‌های شمالی با ارتفاع ۲۰۰۰-۴۰۰۰ متر و خاک‌های عمیق زهکشی شده و غنی از هوموس با مقداری آهک می‌باشد. همچنین عوامل اکولوژیکی علاوه بر رویش و پراکنش این گیاه بر روی رشد و محصول دهی آن هم بسیار موثراند به عنوان مثال تنش آبی می‌تواند باعث افزایش اسانس و با تاخیر در گلدهی گیاه موجب افزایش وزن غده‌ها در این گیاه گردد (رضایی و همکاران ۱۳۸۱).

اهمیت این گیاه به علت وجود صمغ آن است که به آن (گالبانوم) می‌گویند و در صنایع آرایشی و عطر سازی به عنوان پایه‌ی عطر، در صنعت جواهر سازی به عنوان چسب الماس و در طب سنتی به عنوان تسکین دهنده‌ی درد و ضد عفونی کننده زخم مورد استفاده قرار می‌گیرد (رضایی و همکاران ۱۳۸۱). از اثرات درمانی دیگر این گیاه تسکین سندروم محرومیت از مورفین می‌باشد (Ramezani et

اسید سولفوریک موجب افزایش نفوذ پذیری پوسته بذر شده و استفاده از آب گرم و سپس قرار دادن بذر درون آب به مدت هفت روز موجب خروج مواد بازدارنده رشد از گیاه شد و در ادامه استفاده از سرمادهی و اسید جیبرلیک موجب رفع خواب مورفوفیزیولوژیکی بذر گیاه باریجه گردید. (حسین آبادی و همکاران ۱۳۹۷)

کشور فرانسه یکی از عمده خریداران این گیاه از ایران است اما متأسفانه امروزه این گیاه به علت برداشت بی‌رویه و صادرات به کشورهای دیگر در معرض انقراض قرار گرفته (عسگرزاده ۱۳۷۹) لذا با توجه به ارزش دارویی و صنعتی این گیاه بومی و در حال انقراض استفاده از روش‌های کشت بافت، بیوتکنولوژی و مهندسی ژنتیک به منظور اصلاح، ازدیاد و افزایش تولید متابولیت‌های ثانویه این گیاه امری ضروری است و استفاده از روش‌های کشت بافت می‌تواند به تولید بهینه‌ی این گیاه و عدم تخریب زیستگاه‌های طبیعی این گیاه کمک کند. همچنین تولید انبوه گیاهچه‌های سترون با بنیه‌ی مناسب و در زمان کمتر گام موثری در زراعی سازی و اهلی سازی این گیاه

(al.,2001). همچنین فعالیت ضد صرع و ضد تشنج بذر این گیاه بر روی موش اثبات شده (Sayyah et al.,2002) . در صنعت نیز از آن به عنوان شوینده آنتی باکتریال استفاده می‌شود .

(Ghasemi et al.,2005) همانطور که اشاره شد مشکل اصلی در جوانه‌زنی و رشد این گیاه خواب عمیق بذرهای این گیاه بوده که تحقیقات نشان دادند خواب این گیاه از نوع مورفوفیزیولوژیک عمیق و پیچیده است (رستمی و همکاران ۱۳۹۲) و به منظور شکستن دوره‌ی این خواب تیمارهای شیمیایی و فیزیکی مختلفی معرفی شدند. تحقیقات نشان داده که استفاده از تیمارهای جیبرلیک اسید و نیترات پتاسیم و تلفیق آن‌ها با سرمادهی نتایج قابل قبولی بر کوتاه شدن دوره خواب این گیاه دارد (آهویی و همکاران ۱۳۹۴) همچنین بررسی‌ها نشان داده استفاده از بنزیل آمینو پورین در کنار تیمار سرمادهی هم می‌تواند بر شکستن خواب و بهبود جوانه زنی این گیاه موثر باشد (پارسا و همکاران ۱۳۹۴) در نتیجه سرمادهی یک عامل ضروری برای شکستن خواب این گیاه است. همچنین در تحقیق دیگری استفاده از

است. پژوهش ها نشان داده که کشت بافت روش مناسبی برای ازدیاد این گیاه بوده و امکان نگهداری ژرم پلاسما این گیاه برای مدت زمان طولانی در شرایط خاص و درون شیشه به ما امکان کاهش طول دوره رشد را در این گیاه فراهم میکند (هادی و همکاران ۱۳۸۹) و همچنین استفاده از روش کشت جنین در این گیاه باعث شکستن خواب و تسریع جوانه زنی این گیاه می شود (هادی و همکاران ۱۳۹۱). در این آزمایش جوانه زنی و رشد جنین های باریجه در غلظت های مختلف محیط کشت MS بررسی شد و اثر غلظت مواد غذایی بر سرعت رشد، درصد جوانه زنی و وزن گیاهچه پس از گذشت ۳۰ روز با هم مقایسه شدند.

مواد و روش ها:

این آزمایش با استفاده از بذور گیاه باریجه جمع آوری شده از شهرستان آبادی استان فارس و در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار و سه تیمار اجرا شد. در ابتدا به منظور شکستن دوره خواب، بذرها به مدت دو هفته در دمای ۴ درجه سانتیگراد در یخچال نگهداری شدند. سپس سه نوع محیط کشت شامل محیط MS کامل با ۳۰

گرم بر لیتر ساکارز، محیط MS1/2 با ۱۵ گرم بر لیتر ساکارز و محیط MS1/4 با ۷/۵ گرم بر لیتر ساکارز با PH=5.9 و ۸ گرم آگار در هر لیتر از محیط کشت تهیه شدند. سپس بذرها پس از اتمام دوره سرمادهی به منظور از بین رفتن آلودگی های ظاهری یکبار با مایع ظرفشویی و آب شسته شده و برای تسهیل فرایند استخراج جنین در آب به مدت ۲۴ ساعت خیسانده شدند. بذور به مدت ۲ دقیقه با محلول سدیم هیپوکلریت ۲/۵ درصد کلر فعال تیمار شده و پس از شستشو با آب مقطر استریل به مدت یک دقیقه در الکل اتانول ۷۰ درصد تیمار و سپس دوبار شسته شدند. به منظور جداسازی جنین ها زیر هود لامینار و در شرایط استریل پوسته بذرها برداشته و جنین ها برش داده شده و کشت شدند. در هر پتری دیش دو بذر کشت شد و پتری دیش ها با پارافیلیم مسدود شده و در قفسه ی نوری به مدت یک ماه با دمای ۲۰ درجه سانتیگراد نگهداری شدند. پس از یک ماه صفاتی مانند درصد جوانه زنی، وزن گیاهچه و طول گیاهچه اندازه گیری شد و نتایج با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۲۶ آنالیز شد.

نتایج و بحث:

بررسی‌ها و مشاهدات این تحقیق نشان داد که کشت جنین گیاه باریجه تا حدود زیادی بر کاهش دوره‌ی خواب در این گیاه تاثیر دارد به طوری که جوانه‌زنی جنین‌های باریجه در هر سه غلظت از محیط کشت بعد از گذشت پنج روز از کشت مشاهده شد. بررسی صفت درصد جوانه‌زنی بیانگر این بود که غلظت‌های مواد غذایی محیط کشت MS تفاوت چندانی بر درصد جوانه‌زنی

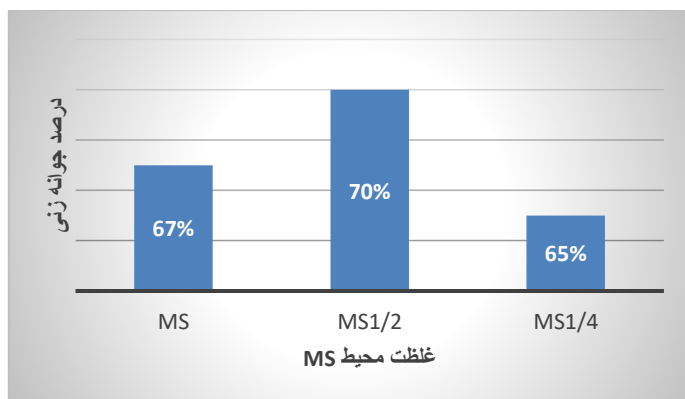
جنین‌های باریجه نداشتند. درصد جوانه‌زنی در محیط‌های MS، MS1/4، MS1/2 به ترتیب ۶۷، ۷۰، ۶۵ درصد برآورد شد اما غلظت مواد غذایی روی سرعت جوانه زنی جنین‌های کشت شده موثر بود و تجزیه واریانس صفت طول گیاهچه بعد از سی روز نشانگر معنی دار بودن این صفت با اطمینان ۹۹٪ و تجزیه واریانس صفت وزن گیاهچه بیانگر معنی دار بودن این صفت با اطمینان ۹۵٪ بود.



شکل ۱- A: جنین‌های برش خورده شده ی باریجه- B: گیاهچه های کشت شده در محیط MS1/4- C: گیاهچه های کشت شده در محیط MS1/2- D: گیاهچه های کشت شده در محیط MS کامل E: گیاهچه ی حاصل از محیط MS1/2

جدول ۱- تجزیه واریانس صفات طول و وزن گیاهچه

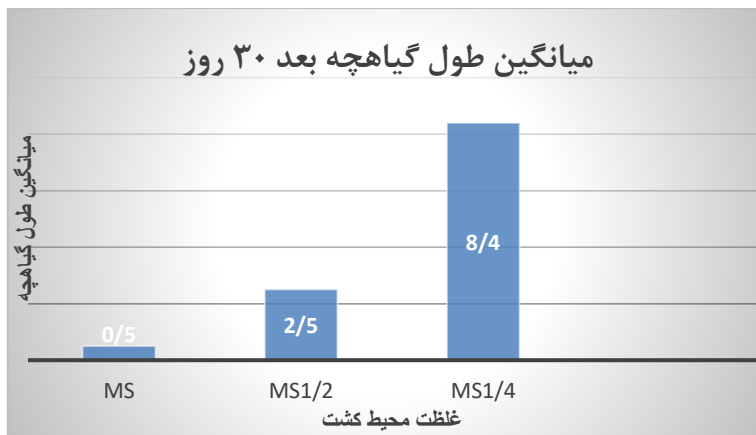
| منابع تغییر | درجه آزادی | میانگین مربعات طول گیاهچه | میانگین مربعات وزن گیاهچه |
|----------------|------------|---------------------------|---------------------------|
| محیط کشت | ۲ | ۲۹/۹۶*** | ۰/۲۰۱* |
| اشتباه آزمایشی | ۶ | ۲/۰۴ | ۰/۰۲۴ |



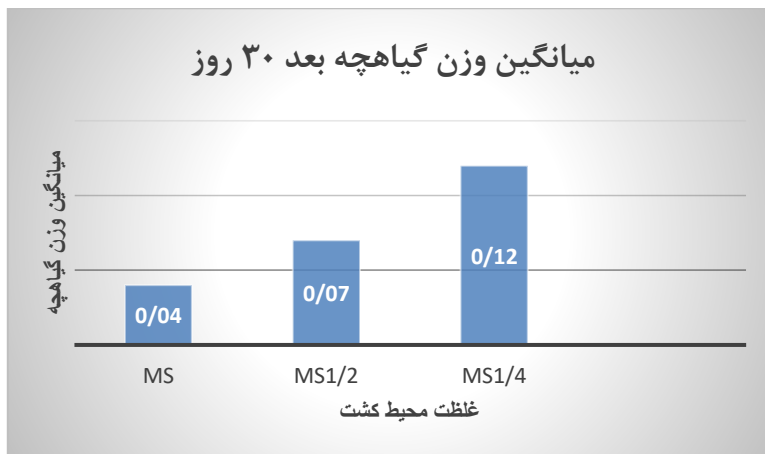
شکل ۲) نمودار درصد جوانه زنی در محیط های مختلف

حاصل از محیط $1/4$ حدود چهار برابر بیشتر از محیط $1/2$ و میانگین طول گیاهچه های کشت شده در محیط $1/2$ حدود سه برابر بیشتر از گیاهان کشت شده در محیط MS کامل بود و در نتیجه غلظت های کمتر از مواد غذایی در محیط MS می تواند بر روی سرعت رشد در گیاه باریجه اثر مثبتی ایجاد کند.

مشاهدات نشان داد که بذور باریجه در محیط های با غلظت کمتر مواد غذایی بیشتر به سمت ریشه دهی و در محیط های با غلظت بالاتر از مواد غذایی بیشتر به سمت تولید اندام هوایی می روند همچنین در محیط MS1/2 هم رشد ریشه و هم رشد برگ مشاهده شد. سرعت رشد جنین ها نیز در محیط حاوی مواد غذایی کمتر، بیشتر بود به طوری که میانگین طول گیاهچه های



شکل ۳) نمودار میانگین طول گیاهچه بعد از ۳۰ روز (طول به سانتیمتر)



شکل ۴) نمودار میانگین وزن گیاهچه ها بعد ۳۰ روز (وزن به گرم)

همچنین سرعت رشد بسیار پایین این گیاه در محیط MS کامل نیز با تحقیق هادی و همکاران که این محیط را با محیط کشت B5 برای رشد این گیاه مقایسه کرده بودند همخوانی داشت. و این محیط، محیط مناسبی برای کشت بذر گیاه باریجه نبود به طوری که طول

نتیجه گیری کلی این تحقیق توانایی رشد سریع تر و ایجاد ژرم پلاسما بیشتر بذر های باریجه در غلظت ۱/۴ از محیط کشت MS را نشان داد و در تحقیق های انجام شده نیز (منتظری و همکاران ۱۳۸۵) استفاده از این محیط با مقادیری از ذغال فعال نتایج مطلوبی نشان داده است.

گیاهچه های کشت شده در این محیط
بعد از گذشت یک ماه کمتر از یک
سانتیمتر بودند.

ساقه زایی گیاه باریجه، نهال و

بذر، جلد ۲۴، شماره ۴، ص ۷۶۳-۷۶۶

- عسگرزاده. م. ع. (۱۳۷۹). بررسی اثرات تخریبی بهره برداری در ادامه حیات و زاد آوری باریجه در استان خراسان. تحقیقات و امور دام خراسان

- لبافی حسین آبادی. م. ، مهرآفرین. ع. نقدی بادی. ح.، قربانی نهوجی. م. ، توکلی.

م (۱۳۹۷). بررسی اثر تیمارهای مختلف شیمیایی و غیرشیمیایی بر شکست خواب بذر گیاه دارویی *Ferula gummosa Boiss.* اکوفیتوشیمی گیاهان دارویی. سال اول. شماره

چهارم. ص ۸۰-۸۹

- ملتی، ف. ، پارسا، م. ، اللهگانی، ب. ۱۳۸۹، بررسی رفتار جوانه زنی و تاریخ کاشت مطلوب در کندل کما، آنغوزه و باریجه، پژوهش های زراعی ایران، جلد ۸، ص ۵۲۱-۵۳۰

- ملتی، ف. ، کوچکی، ع. ، نصیری، م. ، ۱۳۸۳، بررسی رفتار های جوانه زنی و تاریخ کاشت مطلوب گیاه باریجه. پژوهش های زراعی ایران. دوره ۳. شماره ۱. ص ۱۲۸-۱۲۳

منابع

- آهوئی. س.، سوهانی دربان. ع.، نبوی کلات م. (۱۳۹۴). بررسی اثر تیمارهای مختلف در شکست خواب بذر گیاه دارویی باریجه. مجله ی پژوهش های زراعی در حاشیه ی کویر. جلد ۱۳. شماره ۲. ص ۸۳-۹۳
- پارسا. س. احمدی. ک. گزانچیان. ع. محمودی. س. (۱۳۹۴). تأثیر بستر سرمادهی و تیمارهای شکست خواب بر جوانه زنی بذر باریجه. اکوفیزیولوژی بذر دوره ۱. شماره ۲. ص ۲۰۱-۲۱۵
- رستمی. م.، توکل افشاری. ر. (۱۳۹۲). تعیین نوع خواب بذر گیاه باریجه توده ی دماوند و نیاز های بذر برای شکست خواب. علوم گیاهان زراعی ایران. دوره ۴۵ شماره ۲. ص ۲۵۵-۲۶۳
- رضایی، م.، برنارد، ف. ، شفیع، ا. ، ۱۳۸۱، باریجه. مجله تحقیقات گیاهان دارویی ایران ۱۷. ۱-۷۳
- سرابادانی تفرشی، ر. ، امید، م. ، بی همتا، م. ، میرزایی، ر. ۱۳۸۷ اثر ریزنمونه و سطوح مختلف هورمونی در کال زایی و

- Ramezani, M., Hosseinzade, H. and Mojtahedi, K., 2001. Effects of *Ferula gummosa* Boiss. Fraction on morphine dependence in mice. Journal of Ethnopharmacology, 77(1): 71-75
- Sayyah, M., Mandgary, A. and Kamalinejad, M., 2002. Evaluation of the anticonvulsant activity of the seed acetone extract of *Ferula gummosa* against seizures induced by pentylenetetrazole and electroconvulsive shock in mice. Journal of Ethnopharmacology, 82(3): 105-109.
- منتظری، ف، امید، م، ایمانی، ن، ۱۳۸۹، مقایسه روش های مختلف کشت بذر و جنین و بررسی اثر ذغال فعال در بهینه سازی کشت درون شیشه ای باریجه. تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران. جلد ۲۶، شماره ۴، صص ۵۸۳-۵۹۵
- هادی، ن، امیدبیدی، ر، معینی، ا، ۱۳۹۱، بررسی جوانه زنی جنین زیگوتی باریجه در شرایط درون شیشه ای، گیاهان دارویی، دوره دوم، شماره ۹، صص ۴۸-۵۶
- هادی، ن، امیدبیدی، ر، معینی، ا، ۱۳۸۹، بررسی امکان نگه داری درون شیشه ای ژرم پلاسما گیاه باریجه و کالوس زایی آن. تحقیقات ژنتیک و اصلاح گیاهان مرتعی و جنگلی ایران. جلد ۱۹، شماره ۱، صص ۲۸-۳۸
- Ghasemi, Y., Faridi, P., Mehregan, I. and Mohagheghzadeh, a., 2005. *Ferula gummosa* Boiss. Fruits: An aromatic antimicrobial agent. Chemistry of natural compounds, 41(3): 311-314