دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
پژوهشنامه اصلاح گیاهان زراعی

تاثیر فاکتورهای مختلف محیط کشت بر پرآوری درون شیشه‌ای گل راعی (*Hypericum perforatum*)

زینب پارسامنش[۱]، محمد هدایت [۲]و فرشته بیات[۳]

۱ و ۳- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، استادیار، دانشگاه خلیج فارس ،بوشهر
۲- استادیار دانشگاه خلیج فارس، بوشهر، (نویسنده مسوول: m.hedayat@pgu.ac.ir)
تاریخ دریافت: ۹۵/۱۲/۲۲ تاریخ پذیرش: ۹۶/۸/۱۷

چکیده

گل‌راعی از گیاهان دارویی مهم بوده که از قدیم در درمان بیماری‌های عصبی و روانی مورد استفاده قرار می‌گرفت. این پژوهش جهت بهینه نمودن محیط کشت و انتخاب ریزنمونه مناسب جهت تسریع ریشه زایی و باززایی گیاه صورت گرفت. جهت باززایی و پرآوری از دو ریزنمونه شامل شاخساره با یک و دو گره در محیط کشت MS شامل سه سطح MS کامل، $\frac{3}{4}$MS و $\frac{2}{3}$MS با غلظت‌های ۳۰ و ٤٥ گرم بر لیتر ساکاروز و تنظیم‌کننده رشد BA با غلظت‌های ۰/۰۵، ۰/۱، ۰/۲ میلی‌گرم بر لیتر استفاده شد. بهترین محیط کشت پرآوری گل راعی در ریزنمونه یک گره با محیط کشت $\frac{2}{3}$MS حاوی ۳۰ گرم در لیتر ساکاروز به همراه ۰/۱ میلی‌گرم بر لیتر BA به‌دست آمد. هم‌چنین کاهش غلظت محیط کشت MS و ساکاروز با میزان متوسط غلظت BA موجب افزایش تعداد شاخساره‌ها گردید. به منظور تولید ریشه از سطوح مختلف تنظیم‌کننده رشد IBA با غلظت‌های صفر، ۰/۲، ۰/٤، ۰/٦، ۰/۸ و ۱ میلی‌گرم بر لیتر استفاده شد. نتایج نشان داد ریزنمونه‌ها در گیاه گل راعی برای تولید ریشه نیازی به تنظیم کننده‌های رشد بیرونی ندارند، اما افزودن IBA و افزایش غلظت آن موجب افزایش طول و تعداد ریشه‌ها شد.

واژه‌های کلیدی: بنزیل آدنین، پرآوری، ریزنمونه، ساکاروز، گل راعی

مقدمه

گل‌راعی با نام علمی *Hypericum perforatum*، متعلق به تیره Hypericaceae یکی از گیاهان مهم دارویی شناخته شده می‌باشد (۲۴). در سال‌های اخیر، تمایل به استفاده از گیاهان دارویی و ترکیبات حاصل از آن‌ها رو به افزایش است و در حال حاضر بیش از ۴۰ درصد داروهای مصرفی در کشورهای پیشرفته، دارای منشأ گیاهی هستند (۱۱،۱۸). بنابر این گرایش به استفاده از گیاهان دارویی برای تولید دارو در اکثر کشورها در حال افزایش است و ایران نیز از این قاعده مستثنی نیست. ایران با شرایط آب و هوایی ویژه خود از منابع عظیم گیاهان دارویی به‌شمار می‌آید و در این زمینه به عنوان منطقه‌ای با پتانسیل‌های فراوان می‌تواند از این گیاهان بهرمند شود (۲۱). گل راعی جزو گیاهانی است که در صنایع دارویی کاربرد فراوان دارند و حاوی دامنه وسیعی از متابولیت‌های ثانویه هم چون فلاونوئیدها، پروانتوسیانیدین‌ها، نفتودیانترون‌ها، آسیلفلوروگلوسینول‌ها است (۱۹). مواد موثره اصلی این گیاه شامل هیپرفورین و هیپریسین می‌باشد (۱۹،۵). مواد موثره هیپریسین و هیپرفورین دارای خاصیت ضد افسردگی، بیمارهای عصبی، ضد ویروس و باکتری هستند (۳۱،۲۲). از طرفی برداشت بی‌رویه گیاهان دارویی از طبیعت، سبب نابودی ذخایر ژنتیکی شده است. در ضمن امروزه صنایع داروسازی، متقاضی گیاهان دارویی یک‌دست و استاندارد با مواد موثره یکنواخت و معین می‌باشند. این ویژگی‌ها در گیاهان خودرو به جهت وجود تنوع ژنتیکی و تفاوت شرایط محیطی و زمانی وجود ندارد. لذا لازم است راه‌کارهای فن‌آوری زیستی در جهت تولید گیاهان دارویی با مواد موثره یکنواخت مورد توجه قرار گیرد (۳۲،۱۳،۱۱). با توجه به این که تکثیر بذری به طور عمده از لحاظ ژنتیکی یکنواخت نبوده و گیاه حاصله خواص گیاه مادری را ندارد، به همین جهت تکثیر غیرجنسی به تکثیر جنسی ترجیح داده می‌شود. روش‌های سنتی تکثیر غیرجنسی با مشکلات متعددی از جمله محدودیت گیاه مادری و بازدهی پایین مواجه است (۲۹،۲۷). اما کشت درون شیشه‌ای امکان تکثیر انبوه و سریع گیاهان و حتی تولید متابولیت‌های ثانویه را فراهم می‌سازد (۷). در این راستا کارهای متعددی روی گل راعی صورت گرفته است. به عنوان نمونه، در پژوهش کارولینا و همکاران (۸) به منظور باززایی مستقیم گل راعی با تیمار حاوی ۰/۰۱ میلی‌گرم بر لیتر اسید نفتالین استیک (NAA) به همراه یک میلی‌گرم بر لیتر بنزیل‌آدنین (BA) و یا کینتین در محیط کشت موراشیگ و اسکوگ (MS) به ترتیب میانگین ۵/۸ و ۵/۳ شاخساره از ریزنمونه‌ها به‌دست آمد. گوئل و همکاران (۱۵) نشان دادند بیش‌ترین تعداد شاخساره گل راعی در باززایی مستقیم، در محیط کشت $\frac{1}{2}$MS حاوی ۰/۸۸ میکرومول BA حاصل می‌شود. اما انتخاب بهینه محیط کشت و یا ریزنمونه موجب افزایش تعداد گیاهچه، تسریع در رشد و هم‌چنین کاهش هزینه‌های مورد نیاز گردد. از طرفی بهینه نمودن روش‌ها به عنوان ابزاری مهم جهت مطالعات بعدی مربوط به عوامل موثر در بیوسنتز متابولیت‌های ثانویه و کاربرد آن‌ها در اصلاح گیاه دارویی مورد استفاده قرار گیرد. آیان و همکاران (۳) گزارش کردند که بیش‌ترین شاخه‌زایی از کالوس در محیط کشت MS حاوی ۱ میلی‌گرم بر لیتر BA به‌دست آمد. بانرجی و همکاران (۴) نشان دادند با کاربرد تیدیازرون

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-06-02]
[DOI: 10.29252/jcb.10.27.75]

(TDZ) شاخه‌زایی تسریع شد. سیراک و همکاران (۹) با کاربرد BA روی گونه‌ای از گل راعی توانستند مستقیم و غیر مستقیم از روی ریزنمونه برگ، گره و پینه، تولید شاخساره نمایند. باززایی سریع شاخساره از پینه‌های رویان‌زا توسط اولاک و همکاران (۲۵) در گونه‌ای از گل راعی در محیط کشت MS به‌دست آمد. اگر چه تحقیقات روی گونه و رقم‌های گل راعی انجام شده، اما هدف این پژوهش بهینه‌سازی و بهبود مراحل باززایی و پرآوری گل راعی است. در این تحقیق با بررسی عوامل تاثیر گذار بر پرآوری نظیر ریزنمونه، غلظت محیط کشت، ساکارز و تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی، روش پر بازده و سریع دست‌یابی به گیاه مد نظر است.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه خلیج فارس انجام شد. در این تحقیق به منظور دستیابی به بهترین شرایط باززایی مستقیم از تیمارهایی با غلظت‌های مختلف محیط کشت MS، ساکاروز و تنظیم‌کننده رشد BA و نوع ریزنمونه استفاده گردید. تیمار محیط کشت MS، ساخته شرکت "های مدیا" هند، در سه سطح MS کامل، $\frac{3}{4}$ و $\frac{2}{3}$ تهیه و ساکاروز با غلظت‌های ۳۰ و ۴۵ گرم بر لیتر استفاده شد. هم‌چنین تنظیم‌کننده رشد BA با غلظت‌های ۰/۰۵، ۰/۱ و ۰/۲ میلی‌گرم بر لیتر به محیط کشت‌ها افزوده شد. سپس محیط کشت‌های آماده شده، پس از افزودن ۸ گرم در لیتر آگار، در ظروف کشت توزیع و جهت سترون نمودن در دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد و فشار ۱/۲ اتمسفر به مدت ۱۵ دقیقه اتوکلاو گردید. پس از خنک شدن محیط کشت‌ها در دستگاه جریان هوای لامینار، شاخساره‌هایی از محیط کشت پرآوری غیرمستقیم به عنوان ریزنمونه به طول ۱- ۱/۵ و ۲- ۲/۵ سانتی‌متر به ترتیب همراه با یک و دو گره بریده و در ظروف کشت قرار گرفته و به اتاق رشد منتقل شدند. اتاق رشد با دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد و شرایط نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی بود. پس از چهار هفته با شروع پرآوری، شاخسارهای رشد یافته بزرگتر از ۰/۵ سانتی‌متر شمارش شدند. آزمایش به صورت فاکتوریل با طرح کاملا تصادفی با سه تکرار اجرا شد. تجزیه داده‌ها به کمک نرم‌افزار SAS (9.1) صورت گرفت و مقایسه میانگین‌ها به‌وسیله آزمون چند دامنه‌ای جدید دانکن ($p\leq$۰/۰۵) با نرم‌افزار MSTAT-C انجام شد.

به منظور ریشه‌زایی گل راعی، از محیط کشت MS "های مدیا" به همراه IBA ساخت شرکت "سیگما" با غلظت‌های صفر، ۰/۲، ۰/۴، ۰/۶، ۰/۸ و ۱ میلی‌گرم بر لیتر استفاده شد. شاخسارها به طول ۳-۲ سانتی‌متر در محیط ریشه‌زایی قرار گرفتند. پس از ۴ هفته ریشه‌های بلندتر از ۰/۵ سانتی‌متر اندازه‌گیری و به همراه تعداد آن‌ها یادداشت برداری گردید. آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۶ تیمار و ۳ تکرار به اجرا در آمد. پس از اندازه‌گیری تعداد و طول ریشه‌ها برای تجزیه داده‌ها از نرم‌افزار SAS (9.1) استفاده شد. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای جدید دانکن با نرم‌افزار MSTAT-C صورت پذیرفت.

برای سازگاری گیاهچه‌های ریشه‌دار شده، پس از خروج گیاهچه‌ها از محیط کشت با آب ولرم جهت جدا نمودن محیط کشت شست و شو شدند. سپس گیاهچه‌ها به گلدان حاوی بستر کشت استریل شامل ترکیب مساوی پرلایت و کوکوپیت انتقال یافتند. از یک در پوش پلاستیکی جهت حفظ رطوبت روی گیاهچه‌ها استفاده شد و به تدریج در پوش برداشته تا سازگاری گیاهچه با هوای آزاد به‌دست آمد. هم‌چنین در روزهای اول از محلول نیم‌غلظت MS جهت آبیاری گیاهچه‌ها استفاده شد و به مرور غلظت کاهش یافت، تا آبیاری با آب صورت پذیرد. پس از گذشت ۳ هفته گیاهان به طور کامل سازگار شدند.

نتایج و بحث

پرآوری

نتایج تجزیه واریانس نشان داد غلظت‌های مختلف محیط کشت MS و ساکاروز در پرآوری گل راعی در سطح یک درصد معنی‌دار شدند، اما نوع ریزنمونه و تنظیم‌کننده رشد BA تاثیر معنی‌داری نداشتند. تجزیه واریانس اثرات متقابل دو طرفه، سه طرفه و چهار طرفه تیمارها در سطح یک درصد معنی‌دار شدند، به‌جز اثر متقابل ساکاروز و ریزنمونه با محیط کشت و ریزنمونه با تنظیم‌کننده رشد تاثیر معنی‌داری نشان ندادند (جدول ۱).

نتایج مقایسه میانگین برهم‌کنش غلظت تنظیم‌کننده رشد BA، غلظت محیط کشت MS و نوع ریزنمونه بر پرآوری گل راعی نشان داد، محیط کشت حاوی $\frac{2}{3}$MS در ریزنمونه یک گره در تمامی غلظت‌های BA بیش‌ترین نقش را در پرآوری داشته است، به‌گونه‌ای که با سایر تیمارها در سطح پنج درصد اختلاف معنی‌داری به‌دست آمد (جدول ۲). هم‌چنین نتایج نشان می‌دهد در بیشتر موارد با کاهش غلظت محیط کشت MS و افزایش میزان غلظت BA به ویژه در ریزنمونه‌های یک گره سبب افزایش تعداد شاخساره گردید. به‌نظر می‌رسد کاهش میزان نمک‌های معدنی محیط کشت، بر روابط اسمزی گیاه جهت جذب آب به همراه مواد مغذی و هم‌چنین افزایش غلظت BA جهت تحریک بیشتر شاخه‌زایی توانسته روند پرآوری بهتری را ایجاد نماید.

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-06-02]

[DOI: 10.29252/jcb.10.27.75]

جدول ۱- تجزیه واریانس اثر ریزنمونه، تنظیم‌کننده رشد BA، غلظت محیط کشت و ساکاروز بر تعداد شاخساره پرآوری گل‌راعی
Table 1. Analysis of variance for the explant type, plan growth regulator (BA), culture media and sucrose concentrations effect on shoots proliferation rate of St. John's wort

منابع تغییرات	درجه آزادی	پرآوری شاخساره
ریزنمونه (E)	۱	۰/۰۰۹^{ns}
تنظیم‌کننده‌های رشد (B)	۲	۰/۹^{ns}
محیط کشت (M)	۲	۷/۸**
ساکاروز (S)	۱	۱۲/۶**
E × B	۲	۰/۳۹^{ns}
B × M	۴	۳/۵**
B × S	۲	۷/۸**
E × M	۲	۰/۷^{ns}
E × S	۱	۴/۸**
M × S	۲	۰/۷^{ns}
E × B × M	۴	۶**
E × B × S	۲	۷/۳**
B × M × S	۴	۲/۷**
E × M × S	۲	۱/۴**
E × B × M × S	۴	۲/۸**
خطا	۷۶	۰/۴۵
کل	۱۰۷	۳/۲
ضریب تغییرات		۲۰/۶

**: معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد، ns: عدم وجود اختلاف معنی‌دار

جدول ۲- مقایسه میانگین پرآوری گل راعی در نوع ریزنمونه، غلظت‌های مختلف MS و BA
Table 2. Mean comparison St. John's wort proliferation in the type of explants, different levels of MS and BA

تنظیم‌کننده رشد BA (mg/l)	ریزنمونه	محیط کشت MS			میانگین
		$^2/_3$	$^3/_4$	کامل	
۰/۰۵	یک گره	۴/۰^{ab}	۲/۳^{gh}	۲/۰^{gh}	۲/۸^{B}
	دو گره	۳/۵^{cde}	۲/۵^{gh}	۲/۸^{efg}	۳/۰^{AB}
۰/۱	یک گره	۴/۵^{a}	۲/۸^{efg}	۳/۰^{def}	۳/۴^{A}
	دو گره	۳/۶^{bcd}	۳/۵^{cde}	۳/۳^{cde}	۳/۵^{A}
۰/۲	یک گره	۴/۵^{a}	۳/۵^{cde}	۳/۵^{cde}	۳/۸^{A}
	دو گره	۲/۵^{gh}	۳/۵^{cde}	۳/۵^{cde}	۳/۲^{AB}
میانگین		۳/۸^{A}	۳/۰^{B}	۲/۹^{B}	

حروف مشابه نشانگر تفاوت معنی‌دار در سطح ۵ درصد توسط آزمون دانکن

میانگین اثر مستقل غلظت‌های مختلف محیط کشت MS در جدول ۲ نشان می‌دهد غلظت محیط کشت $^2/_3$MS از نظر آماری اختلاف معنی‌داری با سایر محیط کشت داشت. پژوهش‌های متعددی توسط سایر پژوهشگران، مشخص نموده غلظت‌های کامل و یا بالای نمک‌های معدنی در محیط کشت MS موجب افزایش بیشتر پرآوری نمی‌گردد. پاسکوال و هوشیگا (۲۶) ثابت کردند پرآوری ریزنمونه‌های سرخس در محیط کشت دارای یک چهارم غلظت نمک‌های MS بهتر از غلظت‌های بالاتر آن است. بیدریغ و آذرپور (۶) با کاهش غلظت محیط کشت MS به میزان یک سوم باعث افزایش ریشه‌زایی در بنت قنسول گردید. طاهری و همکاران (۳۰) بیش‌ترین درصد تندش بذر همیشه بهار را در غلظت ۰/۱ MS با شرایط تاریکی به‌دست آوردند. نتایج فوق با پژوهش حاضر در کاهش غلظت نمک‌های محیط کشت مطابقت داشت. احتمال دارد افزایش غلظت، موجب افزایش پتانسیل اسمزی محیط کشت شده، در نتیجه موجب کاهش سرعت جذب آب و به همراه آن جذب مواد غذایی و محرک رشد جهت کاهش در پرآوری شده است. نتایج این پژوهش با گزارش ارائه شده توسط کاظمیانی و همکاران (۱۷) مبنی بر این که بیش‌ترین تعداد گره در ساقه سیب زمینی در محیط MS کامل به‌دست آمد و هم‌چنین کاهش میزان نمک‌های معدنی MS موجب کاهش شاخه‌زایی و پرآوری در گیاه کوله‌خاس در گزارش ابودهب و همکاران (۱) گردید، در یک راستا قرار ندارد. به نظر می‌رسد تفاوت در نوع گیاه می‌تواند تاثیر در واکنش به غلظت محیط کشت برای پرآوری داشته باشد.

میانگین اثر متقابل تنظیم‌کننده رشد BA و ریزنمونه در پرآوری گل راعی نشان می‌دهد اختلاف معنی‌داری بین تیمارها به‌جز در کم‌ترین غلظت BA در ریزنمونه یک گره، مشاهده نشد (جدول ۲). با توجه به افزایش غلظت BA میزان

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-06-02]
[DOI: 10.29252/jcb.10.27.75]

پرآوری افزایش یافت، اما تاثیر معنی‌داری مشاهده نشد. به نظر می‌رسد در این شرایط وجود تنظیم‌کننده رشد سیتوکینینی برای حداکثر پرآوری لازم باشد. گول و همکاران (۱۵) نیز نشان دادند در محیط کشت مایع، کینتین بیش‌ترین میزان شاخه‌زایی در گل راعی داشت.

نتایج مقایسه میانگین ترکیب تنظیم‌کننده رشد BA، ساکاروز و نوع ریزنمونه نشان داد بهترین محیط کشت پرآوری گل راعی شامل ریزنمونه یک گره به همراه ۰/۱ میلی‌گرم بر لیتر BA و ریزنمونه دو گره به همراه ۰/۲ میلی‌گرم بر لیتر BA در محیط کشت حاوی ۳۰ گرم در لیتر ساکاروز به‌دست آمد که با سایر تیمارها دارای اختلاف معنی‌داری است (جدول ۳).

جدول ۳- مقایسه میانگین پرآوری گل راعی در نوع ریزنمونه، غلظت‌های مختلف ساکاروز و BA

Table 3. Mean comparison St. John's wort proliferation in the type of explants, different levels of sucrose and BA

ساکاروز (g/l)	ریزنمونه	BA (mg/l) ۰/۰۵	۰/۱	۰/۲	میانگین
۳۰	یک گره	$۳/۴^{cd}$	$۴/۵^{a}$	$۳/۸^{bc}$	$۳/۸^{A}$
	دو گره	$۲/۵^{ef}$	$۳/۴^{cd}$	$۴/۲^{ab}$	$۳/۴^{B}$
۴۵	یک گره	$۲/۷^{ef}$	$۲/۳^{f}$	$۳/۱^{de}$	$۲/۷^{C}$
	دو گره	$۳/۵^{cd}$	$۳/۵^{cd}$	$۲/۳^{f}$	$۳/۱^{B}$
	میانگین	$۳/۰^{B}$	$۳/۴^{A}$	$۳/۳^{A}$	

حروف مشابه نشانگر تفاوت معنی‌دار در سطح ۵ درصد توسط آزمون دانکن

از آن‌جایی که گزارشی در برهم‌کنش سه عامل فوق مشاهده نگردید، ایان و همکاران (۳) در باززایی مستقیم گل راعی تیمار شده با ۰/۵ میلی‌گرم بر لیتر 2,4-D به همراه یک میلی‌گرم بر لیتر کینتین در ریزنمونه برگی با محیط کشت حاوی ۳۰ گرم در لیتر ساکاروز بیش‌ترین تعداد شاخساره را به‌دست آورد. قاضیان تفریشی و همکاران (۱۴) نیز بیان کردند که بیش‌ترین تعداد شاخساره در باززایی مستقیم، یک میلی‌گرم بر لیتر NAA به همراه یک میلی‌گرم بر لیتر کینتین در محیط کشت حاوی ۳۰ گرم در لیتر ساکاروز به‌دست آمد. به نظر می‌رسد هر کدام از عوامل متغیر، تاثیر مستقیمی بر پرآوری گل راعی دارند و شرایط و روش ریزازدیادی نیز می‌تواند در افزایش شاخه‌زایی نقش موثر داشته باشد. فرانکلین و دیاس (۱۲) گزارش کردند که کاربرد منابع مختلف ریزنمونه از هر ژنوتیپ در پاسخ به محیط کشت، اثر متفاوتی دارند. اثر متقابل مقایسه میانگین ساکاروز به غلظت ۳۰ و ۴۵ گرم در لیتر به همراه نوع ریزنمونه شامل شاخساره با یک گره و دو گره در جدول ۳ مشخص شد محیط کشت حاوی ۳۰ گرم در لیتر ساکارز در ریزنمونه‌ی شاخساره با یک گره، بیش‌ترین تعداد شاخه‌زایی حاصل شده که با سایر تیمارها اختلاف معنی‌داری در سطح ۵ درصد داشت. کیراک و همکاران (۹) نشان دادند ریزنمونه‌هایی از میان‌گره به طور معنی‌دار نسبت به ریزنمونه‌هایی از برگ، پرآوری داشتند. ایان و همکاران (۳) گزارش نمودند که افزایش ساکاروز موجب کاهش شاخه‌زایی گل راعی می‌گردد. این گزارشات با نتیجه به‌دست آمده هم‌سو است. ممکن است افزایش ساکاروز موجب افزایش پتانسیل اسمزی محیط کشت گردیده، در نتیجه جذب مواد مغذی را مختل نموده و موجب کاهش پرآوری شده است.

شکل ۱- پرآوری گل راعی (الف): شاخساره‌های حاصله از ریزنمونه تک گره (ب): شاخساره‌های حاصله از ریزنمونه دو گره

Figure 1. The proliferation of St. John's wort (a): shoots obtained from single node explants (b): shoots explants derived from two nodes

میانگین مستقل غلظت‌های مختلف تنظیم‌کننده رشد BA در پرآوری گل راعی اختلاف به‌جز کم‌ترین غلظت، ایجاد نکردند (جدول ۳). گزارش زمانی‌فرد و همکاران (۳۳) و صادقیان و همکاران (۲۹) بر تاثیر بهتر BA روی شاخه‌زایی زیرنمونه‌های چغندرقند و ریحان، این نتیجه را تایید می‌کند. اما گزارش ارائه شده توسط کارولینا و همکاران (۸) که در باززایی مستقیم گل راعی، تیمار حاوی ۰/۰۱ میلی‌گرم بر لیتر NAA به همراه یک میلی‌گرم بر لیتر BA یا یک

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-06-02]

[DOI: 10.29252/jcb.10.27.75]

میلی‌گرم بر لیتر کینتین را بهترین تیمار معرفی کردند، در یک راستا قرار ندارند. به نظر می‌رسد در پژوهش حاضر عوامل تاثیر گذار دیگری بر پرآوری توانسته تاثیر تنظیم‌کننده رشد را کاهش دهد. مایر و همکاران (۲۳) نشان داد پایین‌ترین سطح تنظیم کننده رشد BA به میزان ۵ میکرومول بیش‌ترین شاخه‌زایی را داشت. هم‌چنین با افزایش غلظت به صورت خطی با شیب ملایم پرآوری کاهش یافت. با توجه به کم‌ترین غلظت بکار رفته در این گزارش از بالاترین غلظت پژوهش حاضر بیشتر است، در مجموع به نظر می‌رسد این گیاه از سطوح بالای متابولیت ثانویه و تنظیم‌کننده رشد داخلی به ویژه سیتوکنین برخوردار است و احتمال بالا بودن سیتوکنین داخلی در این گیاه، موجب شده که سطوح بالای تنظیم‌کننده رشد BA در باززایی گل راعی تفاوت چندانی ایجاد نکند. میانگین اثر سه گانه غلظت‌های مختلف BA، ساکاروز و محیط کشت MS بر پرآوری گل راعی مشخص گردید محیط کشت حاوی $\frac{2}{3}$MS و ۳۰ گرم بر لیتر ساکارز به همراه ۰/۱ میلی‌گرم بر لیتر BA بیش‌ترین نقش در پرآوری گل راعی داشته که با تیمارهای دیگر به‌جز غلظت‌های MS کامل و $\frac{3}{4}$ با BA ۰/۰۵ میلی‌گرم در لیتر به همراه ساکاروز ۳۰ و ۴۵ گرم در لیتر، غلظت‌های MS کامل و $\frac{3}{4}$ با BA ۱ میلی‌گرم در لیتر به همراه ساکاروز ۴۵ گرم در لیتر و غلظت $\frac{3}{4}$MS و $\frac{2}{3}$ با BA ۰/۲ میلی‌گرم در لیتر به همراه ساکاروز ۴۵ گرم در لیتر، اختلاف معنی‌داری نشان نداد (جدول ۴). احتمال دارد افزایش میزان BA به همراه کاهش غلظت ساکاروز و MS محیط کشت می‌تواند سرعت رشد را با افزایش سرعت جذب مواد افزوده و موجب پرآوری بهتر گل راعی گردد.

جدول ۴- مقایسه میانگین پرآوری گل راعی در غلظت‌های مختلف MS، ساکاروز و تنظیم‌کننده رشد BA

Table 4. Mean comparison St. John's wort proliferation in the different levels of MS, sucrose and BA growth regulator

BA (mg/l)	محیط کشت MS	ساکاروز (g/l)		میانگین
		۳۰	۴۵	
۰/۰۵	کامل	$۲/۶^{bcd}$	$۲/۱^{cd}$	$۲/۴^{C}$
	$\frac{3}{4}$	$۲/۰^{d}$	$۲/۸^{bcd}$	$۲/۴^{C}$
	$\frac{2}{3}$	$۳/۶^{ab}$	$۴/۵^{a}$	$۴/۰^{A}$
۰/۱	کامل	$۴/۱^{a}$	$۲/۱^{cd}$	$۳/۱^{B}$
	$\frac{3}{4}$	$۳/۳^{abc}$	$۲/۸^{bcd}$	$۳/۰^{B}$
	$\frac{2}{3}$	$۴/۵^{a}$	$۳/۶^{ab}$	$۴/۰^{A}$
۰/۲	کامل	$۳/۶^{ab}$	$۳/۲^{abc}$	$۳/۵^{B}$
	$\frac{3}{4}$	$۴/۱^{a}$	$۲/۶^{bcd}$	$۳/۴^{B}$
	$\frac{2}{3}$	$۴/۳^{a}$	$۲/۱^{cd}$	$۳/۲^{B}$
میانگین		$۳/۶^{A}$	$۲/۹^{B}$	

حروف مشابه نشانگر تفاوت معنی‌دار در سطح ۵ درصد توسط آزمون دانکن

مقایسه میانگین اثر متقابل غلظت‌های مختلف MS و BA بدون در نظر گرفتن میزان ساکاروز و نوع ریزنمونه نشان داد که غلظت $\frac{2}{3}$MS به همراه ۰/۰۵ یا ۰/۱ میلی‌گرم بر لیتر BA بیش‌ترین میزان پرآوری را داشته که با سایر تیمارها در سطح پنج درصد دارای اختلاف معنی‌داری بود (جدول ۴). ابراهیمی (۱۰) نشان داد که در مجموع کاهش غلظت MS به نصف و حد متوسطی از تیمار IBA به میزان یک میلی گرم بر لیتر، بیش‌ترین تعداد ریشه در نسترن زرد به‌دست آمد. گرول و همکاران (۱۶) با کاربرد غلظت نصف و کامل MS نسبت به غلظت یک چهارم و دو برابر MS توانستند رویان‌زایی را تا سه برابر افزایش دهند. به نظر می‌رسد افزایش غلظت MS موجب افزایش پتانسیل اسمزی محیط کشت شده، در نتیجه جذب آب کاهش یافته و به همراه آن جذب مواد غذایی و محرک رشد موجب کاهش در پرآوری می‌شود.

مقایسه میانگین غلظت‌های مختلف ساکاروز بدون در نظر گرفتن سایر عامل‌ها نشان داد غلظت ۳۰ گرم بر لیتر ساکاروز دارای اختلاف معنی‌داری با غلظت ۴۵ گرم در لیتر است (جدول ۴). افزایش غلظت از ۳۰ به ۴۵ گرم در لیتر موجب کاهش شاخساره‌ها شد. با توجه به گزارش مجد و همکاران (۲۰) مقدار زیاد ساکاروز می‌تواند با تغییر فشار اسمزی محیط کشت و سلول‌ها موجب تغییر مقدار جذب آب و مواد محلول موجود در محیط شده و در نهایت موجب کاهش تعداد شاخساره گردد. آکباس و همکاران (۲) در باززایی مستقیم گل راعی، بهترین غلظت ساکاروز برای باززایی مستقیم را میزان ۲۰ گرم در لیتر معرفی کردند. ایان و همکاران (۳) گزارش نمودند که افزایش ساکاروز موجب کاهش شاخه‌زایی گل راعی می‌گردد. پیری زیرکوهی و همکاران (۲۸) نیز جهت جنین‌زایی رویشی گوجه‌فرنگی غلظت‌های پایین هیدرات‌کربن در محیط کشت را مناسب‌تر تشخیص دادند. کاظمیان و همکاران (۱۷) گزارش کردند که متوسط تعداد گره شاخساره اصلی سیب زمینی در غلظت‌های پایین ساکاروز امکان‌پذیر است. این نتایج با گزارش حاضر در خصوص تاثیر بهتر کاهش غلظت ساکاروز مطابقت دارد. ممکن است تغییر فشار اسمزی محیط کشت و سلول‌ها موجب تغییر پرآوری گردد.

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-06-02]

[DOI: 10.29252/jcb.10.27.75]

ریشه‌زایی

نتایج تجزیه واریانس ریشه‌زایی شاخساره گل راعی نشان می‌دهد که اثر تنظیم‌کننده رشد IBA بر تعداد ریشه تولید شده معنی‌دار نبود، اما بر طول ریشه در سطح یک درصد معنی‌دار شد (جدول ۵).

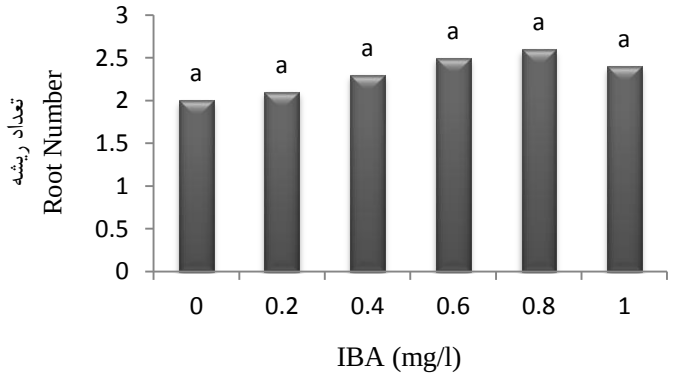
جدول ۵- تجزیه واریانس اثر غلظت‌های مختلف تنظیم کننده رشد IBA بر ریشه‌زایی شاخساره گل راعی

Table 5. Analysis of variance for different levels of growth regulator IBA effect on Rooting St. John's wort

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات	
		تعداد ریشه	طول ریشه
تنظیم‌کننده رشد	۴	۰/۵۶^{ns}	۰/۳۹**
خط	۱۰	۰/۳۳	۰/۰۱
کل	۱۴	۰/۵۷	۰/۱۳
ضریب تغییرات		۱۵	۱۲

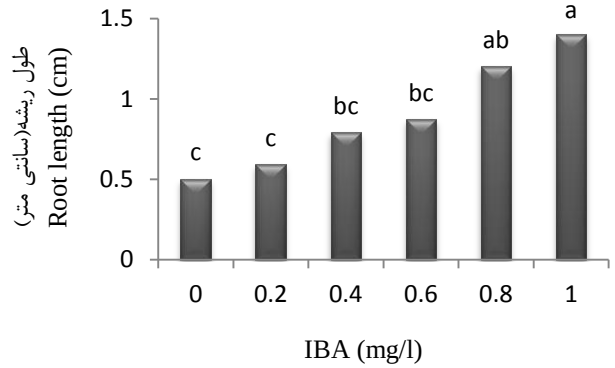
حروف مشابه نشانگر تفاوت معنی‌دار در سطح ۵ درصد توسط آزمون دانکن

نتایج مقایسه میانگین اثر محیط کشت با غلظت‌های مختلف تنظیم‌کننده رشد IBA، نشان داد که غلظت‌های متفاوت تنظیم‌کننده رشد IBA تاثیری بر تعداد ریشه به طور معنی‌دار نداشتند (شکل ۳). اما اثر غلظت‌های مختلف تنظیم‌کننده رشد بر طول ریشه نشان داد که بیش‌ترین طول در غلظت یک میلی‌گرم بر لیتر IBA به‌دست آمد که با غلظت ۰/۸ میلی‌گرم بر لیتر تفاوت معنی‌داری در سطح پنج درصد نشان نداد، ولی با سایر تیمارها دارای اختلاف معنی‌داری بود (شکل ۴). هم‌چنین رابطه مستقیمی بین افزایش طول ریشه با غلظت تنظیم‌کننده رشد IBA مشاهده شد، بدین صورت که با افزایش غلظت تنظیم‌کننده رشد، طول ریشه نیز افزایش یافت.



شکل ۳- اثر غلظت‌های مختلف تنظیم‌کننده رشد بر تعداد ریشه

Figure 3. Effect of growth regulator IBA concentration on root number per explants



شکل ۴- اثر غلظت‌های مختلف تنظیم‌کننده رشد IBA بر طول ریشه

Figure 4. Effect of plant growth regulator IBA concentrations on root length per explants

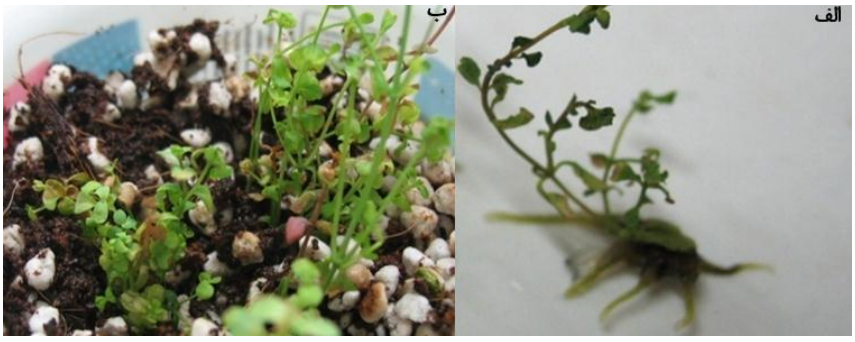
[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-06-02]

[DOI: 10.29252/jcb.10.27.75]

از آن‌جایی که به‌طور معمول تنظیم‌کننده‌های رشد اکسینی تاثیر در تولید سرآغازه‌های ریشه‌زایی دارند (شکل ۵- الف). به نظر می‌رسد که کاربرد IBA توانایی افزایش سرآغازه ریشه‌زایی را ندارد، به گونه‌ای که در بالاترین غلظت، موجب کاهش تولید ریشه‌های جدید می‌شود. اما با افزایش غلظت IBA، افزایش طول ریشه مشاهده شد که احتمال دارد، در برهم‌کنش با هورمون‌های داخلی توانسته تاثیر در افزایش طول ریشه داشته باشد. این پژوهش نشان می‌دهد که شاخه‌های گل راعی بدون حضور اکسین به راحتی قادر به تولید ریشه بوده و برای تولید ریشه نیازی به تنظیم‌کننده‌های رشد بیرونی ندارند. نتایج بدست آمده در پژوهش حاضر با نتایج آزمایش‌هایی بسیاری از پژوهشگران مطابقت داشت. به‌عنوان مثال در تحقیقی توسط کارولینا و همکاران (۸) انجام گرفت، جوانه‌های به‌دست آمده از باززایی گل راعی را در محیط کشت 1/2MS بدون تنظیم‌کننده رشد ریشه‌دار شدند. پرتتو و سانتارم (۲۷) بیان کردند که تولید ریشه از شاخه‌های گل راعی، در محیط کشت MS و 1/ 2MS در حضور و عدم حضور IBA یکسان بود.

سازگاری

گیاهچه‌های ریشه‌دار شده پس از انتقال به محیط سازگاری حاوی پرلایت و کوکوپیت، بعد از گذشت چهار هفته به تدریج سازگار شدند و به طور کامل زنده ماندند (شکل ۵- ب).



شکل ۵- (الف) ریشه‌زایی شاخساره گل راعی و (ب) گیاهان منتقل شده به محیط سازگاری پس از گذشت چهار هفته
Figure 5. (a) Rooting St. John's wort and (b) Plants transferred to the environmental adaptability after four weeks

منابع

1. Abou Dahab, A.M., M.A. Afaf, Y.A. HabibHosni and A.M.M. Gabr. 2005. Effect of MS-salt strength, sucrose and IBA concentration and acclimatization media on *Ruscus hypoglossum* L. micropropagation. Arab Journal of Biotechnology, 8(1): 141-154.
2. Akbas, F., C. Isikalan, S. Namli, P. Karakus and D. Basaran. 2011. Direct plant regeneration from *in vitro* derived leaf explants of *Hypericum spectabile*, a medicinal plant. Journal of Medicinal Plants Research, 5(11): 2175-2181.
3. Ayan, A.K., C. Cirak, K. Kevserolu and A. Sokmen. 2005. Effects of expellant types and different concentrations of sucrose and phytoharmones on plant regeneration and hypericin content in *Hypericum perforatum* L. Turkish Journal of Agriculture, 29: 197-204.
4. Banerjee, A., S. Bandyopadhyay and S.S. Raychaudhuri. 2012. *In vitro* regeneration of *Hypericum perforatum* L. using thidiazuron and analysis of genetic stability of regenerates. Indian Journal of Biotechnology, 11: 92-98.
5. Barnes, J., A. Anderson and D. Phillipson. 2001. St. John's wort (*Hypericum perforatum* L.): A review of its chemistry, pharmacology and clinical properties. Journal of pharmacy and pharmacology, 53: 583-600.
6. Bidarigh, S. and E. Azarpour. 2013. Study effect of MS medium and shoot tip length levels on rooting in micro cuttings of poinsettia. Intl. Journal of Agricultural Crop Science, 5(8): 857-860.
7. Bourgaud, F., A. Gravot and E. Goniter. 2002. Production of plant secondary metabolites. Plant Science, 161: 839-851.
8. Carolina, A., L.V. Astarita and E.R. Santarem. 2001. Organogenese in *Hypericum perforatum* L. IV Encontro Latino-Americano de Biotechnologia Vegetal, Goiania, Resumos, 81 pp.
9. Cirak, C., A.K. Ayan and K. Kevseroglu. 2007. Direct and indirect regeneration of plants from inter nodal and leaf explants of *Hypencum bupleuroides* Gris. Journal of Plant Biology, 50(1): 24-27.
10. Ebrahimi, F. 2010. Effect of different hormonal concentrations and culture medium on eglantine (*Rosa foetida*) propagation in tissue culture medium**.** Plant Ecophysiology, 2: 145-149.
11. Elyasi, L., A.A. Mehrabi, M. Seyedi and Z. Safari. 2016. Optimization of Callus Culture of *Satureja Bachtiarica* L. using Different Explants and Concentrations of Growth Regulators. Journal of Crop Breeding. 8(20): 124-132 (In Persian).
12. Franklin G. and A.C.P. Dias. 2006. Organogenesis and embryogenesis in several *Hypericum Perforatum* genotypes. *In Vitro* Cellular and Development Biology- Plant, 42: 324-330.

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-06-02]

[DOI: 10.29252/jcb.10.27.75]

13. Franz, C.H. 1983. Nutrient and water management for medicinal and aromatic plant. Acta Horticulture, 132: 203-215.
14. Ghazian Tafrishi, G., M. Azizi and M. Farsi. 2006. Investigation of *in vitro* Culture of Iranian St. John's Wort (*Hypericum perforatum* L.). Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants, 22(3): 172-179 (In Persian).
15. Goel, M.K., A.K. Kukreja and N.S. Bisht. 2009. *In vitro* manipulations in St. John's wort (*Hypericum perforatum* L.) for incessant and scale up micropropagation using adventitious roots in liquid medium and assessment of clonal fidelity using RAPD analysis. Plant Cell Tissue and Organ Culture, 96: 1-9.
16. Groll, J., D.J. Mycock and V.M. Gray. 2002. Effect of medium salt concentration on differentiation and maturation of somatic embryos of cassava (*Manihot esculenta* Crantz). Annals of Botany, 89(5): 645-648.
17. Kazemiani, S., A. Motallebi-Azar, N. Mohaddes, F. Kiomarsy, F. Yarmohammdi and F. Etedali. 2012. Effect of different concentrations of sucrose and BAP on shoot proliferation on MS strength basal media in potato cv. Agria. South Western Journal of Horticulture, Biology and Environment, 1(3): 63-72.
18. Khosh-Khui, M., A. Shekafandeh and H. Azarakhsh. 1984. Micropropagation of myrtle. Scientia Horticulturae, 22: 139-146.
19. Kubin, A., F. Wierrani, U. Burner, G. Alth and W. Grunberger. 2005. Hypericin the facts about a controversial agent. Current Pharmaceutical Design, 11: 233-253.
20. Majd, A., F. Chamandoosti, S. Mehrabian and M. Shedai. 2006. Somatic embryogenesis and plant regeneration in Canola (*Brassica napus* L.) .Iranian Journal of Biology, 20(4): 344-352.
21. Mantell, S. and S. Hugo. 1989. Effects of photoperiod, mineral medium strength, inorganic ammonium, sucrose and cytokinin on root, shoot and microtuber development in shoot cultures of *Dioscorea alata* L. and *D. bulbifera* L. yams. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 16: 23-37.
22. McCoy, J.A. and N.D. Camper. 2002. Development of a Micropropagation Protocol for St. John's Wort (*Hypericum perforatum* L.). HortScience, 37(6): 978-980.
23. Meyer, E.M., D.H. Touchell and T.G. Ranney. 2009. *In Vitro* Shoot Regeneration and Polyploid Induction from Leaves of Hypericum Species. HortScience, 44(7): 1957-1961.
24. Morshedloo, M.R., E. Ebadi, M.R. Fatahi Moghdam and D. Yazdani. 2012. Explore the components of the oils three plant species Hypericum (*Hypericum spp*.) In Iran. Journal of Medicinal Plants, 2(9): 23-31 (In Persian).
25. Oluk, E.A., S. Orhan, O. Karaka, A. Cakır and A. Gonuz. 2010. High efficiency indirect shoot regeneration and hypericin content in embryogenic callus of *Hypericum triquetrifolium* Turra. African Journal of Biotechnology, 9(15): 2229-2233.
26. Pasqual, M., E. Hoshika and J. Susumu Ishida. 1994. Effects of different sucrose and mineral salt concentrations on *in vitro* propagation of *Nephrolepis exaltata*: An ornamental fern, Pesquisa Agropecuaria Brasileira, 29(11): 1681-1684.
27. Pretto, R.F. and R.E. Santarem. 2000. Callus formation and plant regeneration from *Hypericum perforatum* leaves. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 62(2): 107-113.
28. Piri Zirkouhi, M., K. Mashayekhi, B. Kamkar, Kh. Hemmati and F. Vahdatpour. 2009. Embryogenesis of a commercial and a native tomato cultivar using different culture media. Journal of Plant Production, 16(1): 101-114 (In Persian).
29. Sadeghian, S., G.A. Ranjbar and S.K. Kazemitabar. 2014. Consideration and selection of suitable hormonal composition for in vitro shoot regeneration and propagation of *Ocimum basilicum* L. Journal of Crop Breeding, 6(13): 40-48 (In Persian).
30. Taheri, S.M., H. Daneshvar, M.R. Salehi Salimi and S. Jafari. 2014. The effect of different concentrations of MS medium and growth regulators on seed germination and callus marigold (*Calendula officinalis* L.) *in vitro*. First National Congress Iran flowers and ornamental plants. Karaj. National Institute Iran flowers and ornamental plants.
31. Trigiano, R.N. and D.J. Gary. 2005. Plant development and biotechnology. CRC press, Taylor and Francis Group, 376 pp.
32. Tripathi, L. and J.N. Tripathi. 2003. Role of biotechnology in medicinal plants. Tropical Journal of Pharmaceutical Research, 2: 243-253.
33. Zamanifar, M., F. Nazarian Firouzabadi and A. Ismaili. 2016. Comparative Study of two Different Cytokinins on Direct Regeneration of Different Sugar beet Explants in Tissue Culture Condition. Journal of Crop Breeding, 8(19): 203-208 (In Persian).

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-06-02]

[DOI: 10.29252/jcb.10.27.75]

Effects of Different Media Factors on *In Vitro* Proliferation of St. John's Wort (*Hypericum perforatum*)

Zeynab Parsamanesh[1], Mohammad Hedayat[2] and Fershteh Bayat[3]

1 and 3- Gradated M.Sc. and Assistant Professor, Persian Gulf University
2- Assistant Professor, Persian Gulf University (Corresponding author: m.hedayat@pgu.ac.ir)
Received: March 12, 2017 Accepted: November 8, 2017

Abstract

St. John's wort is a traditional medicinal plant that has been used from ancient time for the treatment of neurological and psychiatric diseases. A successful in vitro propagation system for the St. John's wort was optimized. Different explant type (single node and stem cutting with two nodes) were used in Murashige and Skoog (MS) medium in different concentrations (MS full, 3/4 MS and 2/3 MS) supplemented with BA (0.05, 1.0, 2.0 mgl^{-1}) and sucrose (30 and 45 gl^{-1}). The optimum proliferation rate of St. John's wort was obtained in 2/3 MS medium containing 30 gl^{-1} of sucrose and 0.1mgl^{-1} BA with single node explant. Also, evaluation of results revealed that the number of proliferated shoots will increased in MS media supplemented with BA along with reduced concentrations of sucrose. The *in vitro* generated shoots were cultured on half-strength MS medium containing 0, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 and 1 mgl^{-1} butyric acid (IBA). The results showed that all proliferated shoot were rooted in plant growth regulators free medium. But, using and increasing the concentration IBA in rooting media can increases the number of roots and average of root length per each explant.

Keywords: BA, *Hypericum perforatum*, Explant, Proliferation, Sucrose, St. John's wort

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-06-02]

[DOI: 10.29252/jcb.10.27.75]