مجله علمی ترویجی گل و گیاهان زینتی (۱۳۹۵)، ۱(۲): ۳٤- ٤۳

اندام‌زایی غیر مستقیم گل جعفری (*Tagetes erecta* L.) با استفاده از ریزنمونه هیپوکوتیل

جعفری مرضیه، دانشور محمد حسین*

گروه علوم باغبانی دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان

* mhdaneshvar2004@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۱۳۹٤/۸/۲۹، تاریخ بررسی مجدد: ۱۳۹٤/۱۲/۱۱، تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۲/۲۵

چکیده

گل جعفری (*Tagetes erecta*) از گل‌های یکساله حساس به سرما می‌باشد. گل‌های فصلی با توجه به تنوع رنگ فوق العاده خود، از عناصر بسیار مهم فضای سبز محسوب می‌شوند. به منظور تکثیر انبوه گل جعفری، روش کشت بافت جایگزین روش سنتی تکثیر از طریق بذر شده است. در این پژوهش، چهار آزمایش شامل جوانه‌زنی بذر در غلظت‌های مختلف محیط کشت MS و شرایط روشنایی و تاریکی، القاء کالوس، باززایی از کالوس و ریشه‌زایی به صورت طرح کاملا تصادفی در ۳ تکرار (۱۰ نمونه) انجام گرفت. نتایج نشان داد که بیشترین درصد جوانه‌زنی (۹۰٪) در محیط کشت MS کامل و شرایط روشنایی بود. همچنین درصد جوانه‌زنی به طور معنی‌داری در شرایط روشنایی بیشتر از شرایط تاریکی بود. بیشترین وزن کالوس (۱/۸ گرم) از ریزنمونه هیپوکوتیل در محیط کشت MS همراه با ۱ میلی‌گرم در لیتر NAA و ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر BAP بدست آمد. بیشترین درصد باززایی (۹۳/۳٪) و همچنین بیشترین تعداد شاخساره (٦/۳) و طول شاخساره (۱/۹سانتی‌متر) در محیط کشت MS با ۳ میلی‌گرم در لیتر BAP + ۰/۳ میلی‌گرم در لیتر IBA مشاهده شد. ۹۳/۳ درصد از شاخساره‌های تولید شده در محیط کشت MS حاوی ۱/۵ میلی‌گرم در لیتر NAA ریشه‌دار شدند. با توجه به نتایج تحقیقات جاری، می‌توان از ریزنمونه‌ی هیپوکوتیل برای دست‌یابی به یک دستور العمل بهینه‌ی ریزازدیادی گل جعفری بهره جست.

کلمات کلیدی: القاء کالوس، باززایی، جوانه‌زنی در شرایط درون شیشه‌ای، ریشه‌زایی، گل جعفری.

مقدمه

گل جعفری با نام علمی *Tagetes erecta* L. از تیره Asteraceae می‌باشد که با بیش از ۲۰۰۰۰ گونه با پراکنش جهانی در مناطق معتدله و حاره‌ای، یکی از بزرگ‌ترین تیره-های گیاهی است (Kotilainen *et al.* 1999). گل جعفری گیاهی است که از نظر صنعتی، زینتی و دارویی حائز اهمیت است. این گیاه بومی آمریکای مرکزی و جنوبی به ویژه مکزیک است (Funk *et al.* 2007). همچنین یکساله و دارای برگ‌های مرکب است و گل‌های آن به رنگ زرد لیمویی، کرم، طلایی و نارنجی قهوه‌ای دیده می‌شود (Deka

[Downloaded from flowerjournal.ir at 23:34 +0330 on Tuesday December 15th 2020]
[DOR: 20.1001.1.26765993.1395.1.2.3.8]

[Downloaded from flowerjournal.ir at 23:34 +0330 on Tuesday December 15th 2020]

[DOR: 20.1001.1.26765993.1395.1.2.3.8]

& Arjuna 2014). این گل‌ها پر رشد بوده و ارتفاع آن‌ها تا ۹۰ سانتی‌متر می‌رسد. گل جعفری دارای گل‌های پرپر کروی بزرگ با قطر ۱۲ سانتی‌متر است. انواع پاکوتاه و پابلند آن وجود دارد که انواع پابلند آن به عنوان گل بریدنی استفاده می‌شود (Randhawa & Mukhopadhyay 1996). به علت شکل و فرم زیبای گل می‌تواند برای تجمع رنگ در مرزبندی ظروف کشت به عنوان یک گیاه نمونه در فضای سبز استفاده شود. به صورت مستقیم رشد کرده تا اینکه جوانه گل انتهایی تشکیل شود، پس از آن انشعابات جانبی را تشکیل می‌دهد (Kadam *et al.* 2003). این گیاه مقاوم به گرما و کم‌آبی است و بیشتر از آن به عنوان یک گیاه زینتی در پارک‌ها، چمن‌کاری‌ها و میادین داخل شهر استفاده می‌شود (Singh 2006). گل جعفری به دلیل عطر و بوی تند آن به عنوان یک گیاه پوششی برای سرکوب نماتد قبل از کاشت یک محصول حساس مانند گوجه فرنگی و بادمجان کشت می‌گردد. همچنین به عنوان گل خشک نیز استفاده می‌شود (Kapil 2011). برگ‌های جعفری بوی خوبی ندارد و امروزه در بهنژادی این گل گزینش برای رقم‌هایی صورت می‌گیرد که برگ‌های آن بو نداشته باشد. امروزه گل جعفری به صورت تجاری برای استخراج رنگیزه‌های کاروتن و به ویژه گزانتوفیل پرورش داده می‌شود (Del Villar-Martínez *et al.* 2010). در طب سنتی مکزیک از عصاره گل جعفری به عنوان داروی ضد انگل و ضد اسپاسم استفاده می‌شود (Guzman & lopez 1998). گل آن دارای سطوح بالای کارتنوئید، کوئرستین، روغن‌های فرار، ساپونین و موسیلاژ است (Osman *et al.* 2012). توسعه روش‌های نوین از جمله کشت بافت گیاهی در سال‌های اخیر پیشرفت‌های زیادی را در زمینه کشاورزی موجب شده است. روش‌های متداول اصلاح نباتات (تلاقی و انتخاب) با بسیاری از مشکلات و موانع مواجه است، به کارگیری روش‌های نوین کشت بافت به عنوان مکمل روش‌های مرسوم در این راستا نوید بخش بوده است، به گونه‌ای که امروزه علاقمندی به تکنیک‌های کشت بافت و توانایی آن در اصلاح و بهبودی گیاهان به صورت یک موضوع جهانی در آمده است (باقری و همکاران ۱۳۸۶). اندام‌زایی غیرمستقیم از طریق تولید کالوس برای مطالعه مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی گیاهان، تولید متابولیت‌های ثانویه، تنوع سوموکلونال و انتقال ژن کاربرد دارد (Hesami & Daneshvar 2016a). با توجه به قابلیت زنده‌مانی کم و جوانه‌زنی ضعیف بذرهای گل جعفری، کشت بافت به عنوان یک جایگزین برای تکثیر این گیاه در مقیاس تجاری انتخاب شده است (Mishra & Datta 2000). هدف از این پژوهش بررسی جوانه زنی بذر گیاه جعفری در شرایط *in vitro* و توسعه دستورالعملی کارآمد برای تکثیر با استفاده از ریز نمونه هیپوکوتیل برای مطالعات بعدی در زمینه متابولیت‌های ثانویه می‌باشد.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در پاییز سال ۱۳۹۳ بر روی گل جعفری در آزمایشگاه کشت بافت گروه باغبانی دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان انجام گردید. بذرهای گل جعفری (*Tagetes erecta* L.) پس از ۳۰ دقیقه شست و شو با آب جاری، به مدت ۵۰ ثانیه در الکل اتیلیک ۷۰٪ و ۱۰ دقیقه در هیپوکلریت سدیم ۱۰٪ ضد عفونی شدند. پس از ۳ بار شست و شو با آب مقطر استریل به محیط کشت MS (Murashige & Skoog 1962) با غلظت‌های مختلف (MS کامل، غلظت MS ۱/۲ و غلظت ۱/۱۰ MS)، ساکارز ۳٪ و آگار ۰/۶٪ منتقل شدند. کلیه مواد، ظروف و محیط‌های کشت در دمای ۱۲۱/۵ درجه سانتی گراد و فشار ۱/۲ اتمسفر به مدت ۲۰ دقیقه اتوکلاو شدند. بذرها پس از کشت در دو شرایط تاریکی (شرایط کاملاً تاریکی با استفاده از پلاستیک‌های مشکی) و روشنایی (دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی و شدت نور

۱۲۰۰-۱۰۰۰ لوکس) و دمای ۲±۲۵ درجه سانتی گراد در اتاق رشد برای مدت ۱۰ روز نگهداری شدند. در این پژوهش آزمایش جوانه‌زنی (با ۲ فاکتور غلظت‌های مختلف محیط کشت MS و شرایط نوری) به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در ۳ تکرار (۱۰ نمونه) بر روی شاخص درصد جوانه‌زنی بذر مورد بررسی قرار گرفت. سپس از ریزنمونه هیپوکوتیل دانهال ۱۵ روزه تولید شده در شرایط درون شیشه‌ای به منظور تولید کالوس استفاده شد (شکل ۱).



شکل ۱- دانهال گل جعفری تولید شده در شرایط درون شیشه‌ای

همچنین ریزنمونه‌های کشت شده در محیط کشت‌هایی با غلظت‌های مختلف از تنظیم کننده‌های رشد به منظور کالوس‌زایی در شرایط کاملاً تاریکی برای مدت ۳۰ روز قرار داده شدند. در این پژوهش آزمایش کالوس‌زایی به صورت طرح کاملاً تصادفی در ۳ تکرار (۱۰ نمونه) بر روی شاخص‌های درصد القاء کالوس و وزن کالوس مورد بررسی قرار گرفت. پس از تولید کالوس در محیط کشت MS با ۱ میلی‌گرم در لیتر NAA و ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر BAP (شکل ۲)، کالوس‌ها به محیط کشت اندام‌زایی MS همراه با انواع تنظیم کننده‌های رشد گیاهی منتقل شدند. آزمایش اندام‌زایی در قالب طرح کاملاً تصادفی در ۳ تکرار (هر تکرار شامل ۱۰ کالوس) بر روی شاخص‌های درصد باززایی، تعداد و طول شاخساره مورد بررسی قرار گرفت. سپس به منظور ریشه‌دار کردن شاخساره‌های تولید شده از غلظت‌های مختلف IBA و NAA استفاده شد. آزمایش ریشه‌زایی در قالب طرح کاملاً تصادفی در ۳ تکرار (هر تکرار شامل ۱۰ شاخساره) بر روی شاخص‌های درصد ریشه‌زایی، تعداد و طول ریشه مورد بررسی قرار گرفت.



شکل ۲- کالوس تولید شده از ریزنمونه هیپوکوتیل گل جعفری در محیط کشت MS با ۱ میلی‌گرم در لیتر NAA و ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر BAP پس از ٤ هفته در شرایط تاریکی

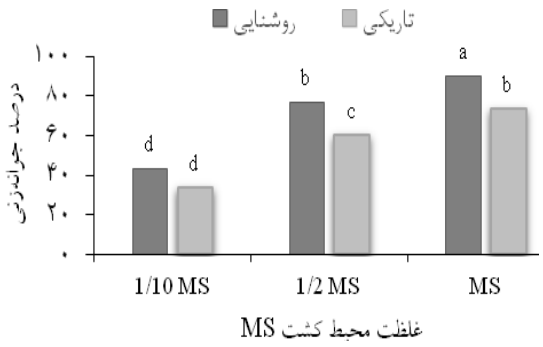
داده‌های بدست آمده با استفاده از نرم افزار آماری (۹/۳) SAS تجزیه و تحلیل شد و نمودارهای مربوطه با استفاده از نرم افزار (۲۰۱۳) Excel رسم گردید. مقایسه میانگین‌ها در سطح احتمال ۵٪ با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن انجام شد.

نتایج و بحث

اولین آزمایش به منظور بررسی جوانه‌زنی بذر گیاه جعفری در شرایط *in vitro* صورت پذیرفت. نتایج آزمایش جوانه‌زنی بذر نشان داد که بهترین تیمار به منظور جوانه‌زنی بذر گل جعفری مربوط به تیمار محیط کشت MS کامل در شرایط روشنایی با میانگین ۹۰ درصد جوانه‌زنی بود که با سایر تیمارها در سطح احتمال ۵٪ تفاوت معنی‌دار داشت. همچنین نتایج این آزمایش نشان داد که بذرهای گل جعفری در تیمار محیط کشت غلظت MS ۱/۱۰ در شرایط تاریکی با میانگین ۳۳/۳ درصد جوانه‌زنی، کم‌ترین میزان جوانه‌زنی را داشتند (شکل ۳).

[Downloaded from flowerjournal.ir at 23:34 +0330 on Tuesday December 15th 2020]

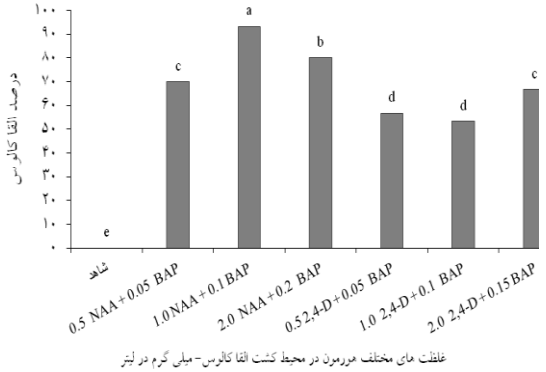
[DOR: 20.1001.1.26765993.1395.1.2.3.8]



شکل ۳- اثر برهمکنش شرایط نوری و غلظت‌های مختلف محیط کشت MS بر درصد جوانه‌زنی بذر گیاه گل جعفری

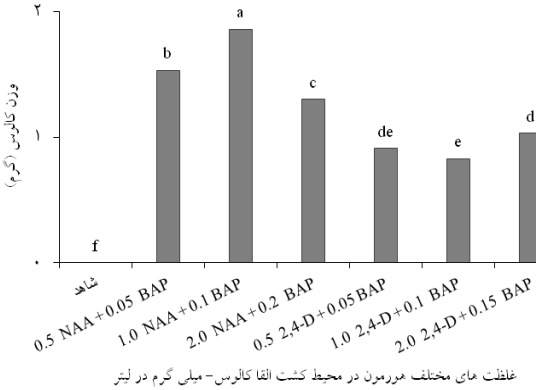
حروف غیر مشابه نشان‌دهنده اختلاف آماری معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ با آزمون دانکن می‌باشد.

چندین فاکتور در جوانه‌زنی بذر دخالت دارد که می‌توان به دما، میزان نمک‌های موجود در بستر کشت، نور و گونه گیاهی اشاره کرد (Hesami & Daneshvar 2016a). نتایج این پژوهش با نتایج گوپتا و رحمان[1] (۲۰۱٤) بر روی گیاه گل جعفری مطابقت دارد. آن‌ها نیز گزارش دادند که بیشترین درصد جوانه زنی بذر گل جعفری در محیط کشت MS کامل و شرایط روشنایی صورت پذیرفت. نتایج اثر تنظیم کننده‌های رشد گیاهی مختلف بر درصد القا کالوس نشان داد، بیشترین درصد القا کالوس با میانگین ۹۳/۳ درصد در محیط کشت MS با ۱ میلی‌گرم در لیتر NAA و ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر BAP مشاهده گردید که از لحاظ آماری در سطح احتمال ۵٪ با سایر تیمارها تفاوت معنی‌دار داشت. کم‌ترین درصد القا کالوس با میانگین صفر درصد مربوط به محیط کشت شاهد بود (شکل ٤). بیشترین وزن کالوس با میانگین ۱/۸ گرم در محیط کشت MS با ۱ میلی‌گرم در لیتر NAA و ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر BAP مشاهده گردید که از لحاظ آماری در سطح احتمال ۵٪ با سایر محیط‌های کشت تفاوت معنی‌دار داشت (شکل ۵). به طور کلی مهم‌ترین عوامل برای تولید کالوس با کیفیت بالا، به ترکیب هورمونی محیط کشت و غلظت آن، نسبت آن‌ها و نوع ریزنمونه بستگی دارد.



شکل ٤- اثر تنظیم کننده‌های رشد گیاهی مختلف در محیط کشت MS بر درصد القاء کالوس از ریزنمونه هیپوکوتیل گل جعفری پس از ۳۰ روز

حروف غیر مشابه نشان‌دهنده اختلاف آماری معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ با آزمون دانکن می‌باشد.



شکل ۵- اثر تنظیم کننده‌های رشد گیاهی مختلف در محیط کشت MS بر وزن کالوس از ریزنمونه هیپوکوتیل گل جعفری پس از ۳۰ روز

حروف غیر مشابه نشان‌دهنده اختلاف آماری معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ با آزمون دانکن می‌باشد.

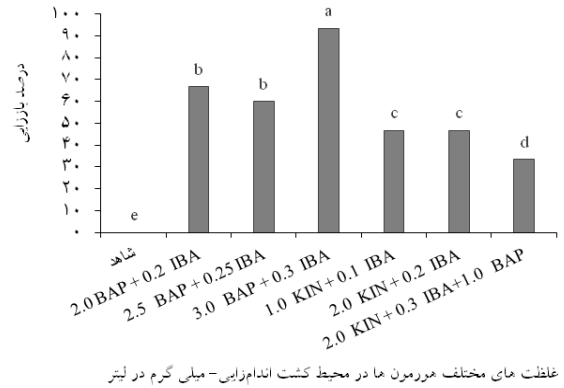
در این زمینه اکسین‌ها و غلظت‌های مختلف آن بیشترین نقش را دارند (Pierik 1987). همچنین طبق گزارش‌های دانشور (۱۹۹۲) و پیری و نظریان فیروزآبادی (۱۳۸۵) برای القاء کالوس از ریزنمونه‌های مختلف، افزودن تنظیم کننده‌های رشد گیاهی (نوع، غلظت و نسبت اکسین به

[1] Gupta & Rahman

[Downloaded from flowerjournal.ir at 23:34 +0330 on Tuesday December 15th 2020]
[DOR: 20.1001.1.26765993.1395.1.2.3.8]

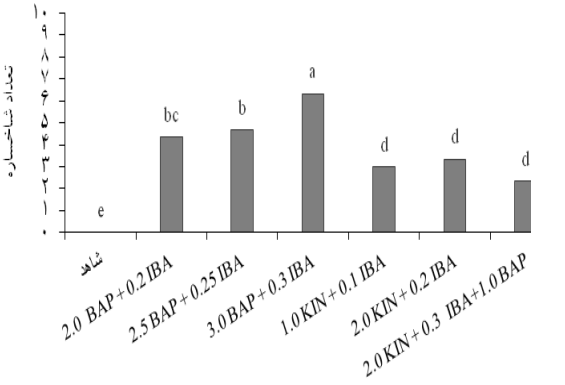
سیتوکینین) تا حد زیادی به ژنوتیپ و مقدار هورمون‌های موجود در محیط کشت بستگی دارد. عثمان و همکاران[۲] (۲۰۱۲) با استفاده از ریزنمونه برگ گل جعفری در محیط کشت MS حاوی ۷ میلی‌گرم در لیتر NAA به همراه ۱۰ میلی‌گرم در لیتر BAP کالوس تولید کردند. حسین و لطیف[۳] (۲۰۱۲) گزارش دادند که ریزنمونه برگ گیاه گل جعفری در محیط کشت MS همراه با ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر NAA کالوسی با بافت شکننده تولید کرد. نیکام و شاهانا[۴] (۲۰۱٤) با استفاده از غلظت‌های مختلف 2,4-D[۵]، نفتالن استیک اسید و کینتین به القاء و تولید کالوس گل جعفری (*Tagetes erecta* L.) پرداختند. آن‌ها گزارش دادند که بیشترین درصد القاء کالوس، مربوط به تیمار ۲ میلی‌گرم در لیتر 2,4-D از ریزنمونه گلچه‌های شعاعی در شرایط تاریکی بود.

نتایج اثر محیط‌های کشت مختلف اندام‌زایی پس از ۸ هفته بر درصد باززایی نشان داد، بیشترین درصد باززایی با میانگین ۹۳/۳ درصد (شکل ٦)، بیشترین تعداد شاخساره با میانگین ٦/۳ عدد (شکل ۷ و ۸) و بلندترین طول شاخساره با میانگین ۱/۹ سانتی‌متر (شکل ۹) در محیط کشت MS حاوی ۳ میلی‌گرم در لیتر BAP و ۰/۳ میلی‌گرم در لیتر IBA مشاهده گردید که از لحاظ آماری در سطح احتمال ۵٪ با سایر محیط‌های کشت تفاوت معنی‌دار داشت و عدم باززایی در محیط کشت شاهد مشاهده شد. ینگچون و همکاران[٦] (۲۰۱۳) با استفاده از قطعات بساک به عنوان ریزنمونه به ازدیاد گل جعفری در شرایط درون شیشه‌ای پرداختند. آن‌ها گزارش دادند که بیشترین تعداد شاخساره در محیط کشت MS حاوی ۲/۲ میکرومولار BAP همراه با ۱/۸۲ میکرومولار NAA پس از ٦ هفته بدست آمد. گوپتا و رحمان (۲۰۱٤) با استفاده از غلظت‌های مختلف BAP به اندام‌زایی غیرمستقیم گل جعفری پرداختند. آن‌ها گزارش دادند که بیشترین درصد باززایی از کالوس مشتق شده از ریزنمونه هیپوکوتیل در محیط حاوی ۳ میلی‌گرم در لیتر BAP بدست آمد.



شکل ٦- اثر تنظیم کننده‌های رشد گیاهی مختلف در محیط کشت MS بر درصد باززایی کالوس حاصل از ریزنمونه هیپوکوتیل گل جعفری پس از ۸ هفته

حروف غیر مشابه نشان‌دهنده اختلاف آماری معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ با آزمون دانکن می‌باشد.



شکل ۷- اثر تنظیم کننده‌های رشد گیاهی مختلف در محیط کشت MS بر تعداد شاخساره کالوس حاصل از ریزنمونه هیپوکوتیل گل جعفری پس از ۸ هفته.

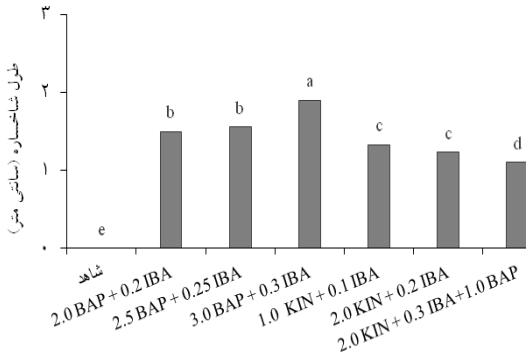
حروف غیر مشابه نشان‌دهنده اختلاف آماری معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ با آزمون دانکن می‌باشد.

[2] Osman *et al.*
[3] Hussain & Latif
[4] Nikam & Shahana
[5] 2,4 – dichlorophenoxy acetic acid (2,4-D)
[6] Yingchun *et al.*

[Downloaded from flowerjournal.ir at 23:34 +0330 on Tuesday December 15th 2020]
[DOR: 20.1001.1.26765993.1395.1.2.3.8]



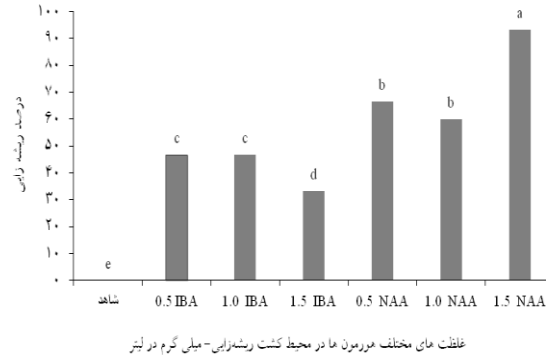
شکل ۸- شاخساره‌های تولید شده گل جعفری در محیط کشت MS با ۳ میلی‌گرم در لیتر BAP و ۰/۳ میلی‌گرم در لیتر IBA پس از ۸ هفته در شرایط روشنایی



شکل ۹- اثر تنظیم کننده‌های رشد گیاهی مختلف در محیط کشت MS بر طول شاخساره حاصل از ریزنمونه هیپوکوتیل گل جعفری پس از ۸ هفته

حروف غیر مشابه نشان‌دهنده اختلاف آماری معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ با آزمون دانکن می‌باشد.

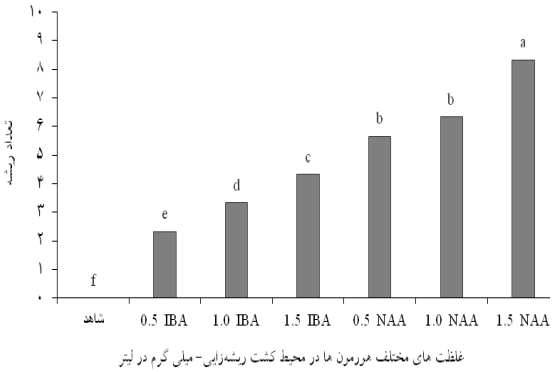
سایتوکینین‌ها نقش اساسی در تقسیم سلولی داشته و از طریق کاهش خاصیت غالبیت انتهایی باعث القا و رشد شاخساره می‌شوند. آن‌ها تقسیم سلول را از طریق تاثیر بر عواملی که عبور سلول از چرخه تقسیم سلولی را مهار می کنند، کنترل می‌نماید. آن‌ها تقسیم سلول را از طریق تاثیر بر عواملی که عبور سلول از چرخه تقسیم سلولی را مهار می کنند، کنترل می‌نماید. این هورمون علاوه بر آن که سرعت تقسیم را تنظیم می‌کند، رشد جوانه‌های جانبی را نیز تحریک می‌نماید. نوع و غلظت سایتوکینین‌ها فاکتور مهمی در موفقیت در پرآوری درون شیشه‌ای است (Grattapaglia & Machado 1998). نتایج اثر محیط‌های کشت مختلف ریشه‌زایی بر درصد ریشه‌زایی نشان داد، بیشترین درصد ریشه‌زایی با میانگین ۹۳/۳ درصد (شکل ۱۰) و بیشترین تعداد ریشه با میانگین ۸/۳ عدد در محیط کشت MS با ۱/۵ میلی‌گرم در لیتر NAA مشاهده گردید (شکل ۱۱) که در سطح احتمال ۵٪ با سایر محیط‌های کشت تفاوت معنی‌دار داشت.



شکل ۱۰- اثر تنظیم کننده‌های رشد گیاهی مختلف در محیط کشت MS بر درصد ریشه‌زایی گل جعفری

حروف غیر مشابه نشان‌دهنده اختلاف آماری معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ با آزمون دانکن می‌باشد.

همچنین بلندترین طول ریشه با میانگین ۱/۸ سانتی‌متر نیز در محیط کشت MS با ۱/۵ میلی‌گرم در لیتر NAA مشاهده گردید که در سطح احتمال ۵٪ با سایر محیط‌های کشت تفاوت معنی‌دار داشت (شکل ۱۳).



شکل ۱۱- اثر تنظیم کننده‌های رشد گیاهی مختلف در محیط کشت MS بر تعداد ریشه گل جعفری

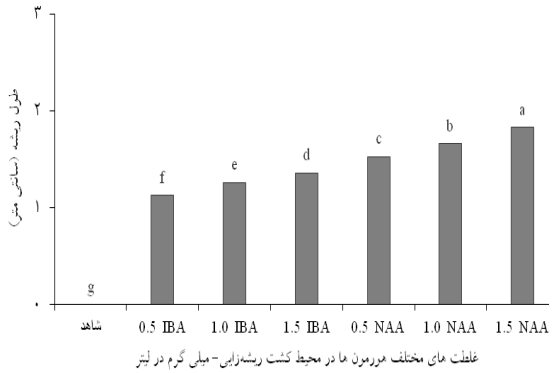
حروف غیر مشابه نشان‌دهنده اختلاف آماری معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ با آزمون دانکن می‌باشد.

[Downloaded from flowerjournal.ir at 23:34 +0330 on Tuesday December 15th 2020]
[DOR: 20.1001.1.26765993.1395.1.2.3.8]

ویکتوریا و همکاران[7](۲۰۱۲) با استفاده از تنظیم کننده‌های رشد IAA، IBA و NAA در ۳ غلظت ۰/۱، ۰/۳ و ۱ میلی گرم در لیتر به ریشه‌زایی *Calendula officinalis* پرداختند. نتایج نشان داد بیشترین درصد ریشه‌زایی پس از ۱۵ روز در تیمار ۱ میلی‌گرم در لیتر IAA با میانگین ۸۰٪ مشاهده شد که با تمام تیمارها اختلاف معنی‌داری نشان داد. ولی در شاخص درصد ریشه‌زایی بین مدت ۱۵ و ٤٥ روز اختلاف معنی‌داری وجود نداشت. همچنین نتایج نشان داد، با افزایش غلظت تنظیم کننده‌های رشد IAA و NAA درصد ریشه‌زایی به طور قابل توجهی افزایش یافت که با نتایج آزمایش حاضر مطابقت دارد. همچنین حسامی و دانشور (۲۰۱٦b) گزارش دادند که بیشترین درصد ریشه زایی در گیاه گل میمون (*Antirrhinum majus*) در محیط کشت MS همراه با ۲ میلی‌گرم در لیتر NAA بدست آمد که با نتایج این پژوهش مطابقت دارد. همچنین در آزمایشی دیگر شیلاجا[8] (۲۰۰۲) گزارش داد، تیمار ۲ میلی‌گرم در لیتر NAA با ۱۰۰٪ ریشه‌زایی بهترین تیمار در گل ژربرا معرفی گردید که با نتایج این آزمایش مطابقت دارد.



شکل ۱۲- تشکیل ریشه در گیاهک گل جعفری در محیط کشت MS با ۱/۵ میلی‌گرم در لیتر NAA پس از ٤ هفته



شکل ۱۳- اثر تنظیم کننده‌های رشد گیاهی مختلف در محیط کشت MS بر طول ریشه گل جعفری

حروف غیر مشابه نشان‌دهنده اختلاف آماری معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ با آزمون دانکن می‌باشد.

دستورالعمل ترویجی

جهت اندام‌زایی غیرمستقیم گیاه گل جعفری با استفاده از ریزنمونه هیپوکوتیل موارد ذیل پیشنهاد می‌گردد:

۱) استفاده از محیط کشت MS تمام غلظت در شرایط ۱٦ ساعت روشنایی برای جوانه‌زنی بذر این گیاه

۲) محیط کشت MS همراه با ۱ میلی‌گرم در لیتر NAA و ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر BAP جهت تولید کالوس

۳) محیط کشت MS با ۳ میلی‌گرم در لیتر BAP و ۰/۳ میلی‌گرم در لیتر IBA جهت تولید شاخساره

٤) محیط کشت MS با ۱/۵ میلی‌گرم در لیتر NAA جهت ریشه‌زایی

[7] Victoria *et al.*
[8] Shilaja

[Downloaded from flowerjournal.ir at 23:34 +0330 on Tuesday December 15th 2020]
[DOR: 20.1001.1.26765993.1395.1.2.3.8]

منابع

باقری ع ر، مشتاقی ن و شریفی الف (۱۳۸٦). بیوتکنولوژی گیاهی. انتشارات جهاد دانشگاهی مشهد، ۲۳۵ ص.

پیری خ و نظریان فیروز آبادی ف (۱۳۸۵). راهنمای کشت بافت گیاهان. انتشارات دانشگاه بوعلی سینا، ۲۱٤ ص.

Del Villar-Martínez AA, Vanegas-Espinoza PE, Paredes-López O (2010). Marigold regeneration and molecular analysis of carotenogenic genes. In: Protocols for *in vitro* propagation of ornamental plants, Humana Press, pp 213-221.

Daneshvar MH (1992). Callus induction and organogenesis in cultivar of peach (*Prunus persica*). PhD thesis, University of Nottingham Sutton Bonington, UK.

Deka B, Arjuna A (2014). Effects of plant growth regolators on *in vitro* propagation of *Tagetes erecta*. Ind J of Bas Appl Med Res. 5(2): 15-23.

Funk VA, Chan R, Holland A (2007). Cymbonotus (Compositae: Arctotideae, Arctotidinae): an endemic Australian genus embedded in a southern African clade. Bot J Linn Soc. 153: 1-8.

Grattapaglia D, Machado MA (1998). Micropropagation. In: Cultura de tecidos e transformacao genetica de plantas. Embrapa-cnph Brasilia. 8(1): 183-247.

Gupta V, Rahman L (2014). An efficient plant regeneration and *Agrobacterium*-mediated genetic transformation of *Tagetes erecta*. Protoplasma. doi: 10.1007/s00709-014-0740-y

Hesami M, Daneshvar MH (2016a). Development of a regeneration protocol through indirect organogenesis in *Chenopodium quinoa* willd. Indo-Am J Agric Vet Sci. 4(1): 25-32.

Hesami M, Daneshvar MH (2016b). Regeneration from callus which is produced from cotyledon of *Antirrhinum majus*. Indo-Am J Agric Vet Sci. 4(1): 20-24.

Hussain A, Latif M (2012). *In vitro* studies in *Tagetes erecta* (marigold) under auxins (IAA, NAA) and cytokinins (BAP, Kinetin) effect for callus formation by different explants. Biologia. 58 (1 & 2): 41-46.

Kadam PV, Bhingare CL, Sumbe RB, Nikam R, Patil MJ (2003). Pharmacognostic, Physiochemcial and phytochemcial investigation of *Tagetes erecta* L. Flowers (Asteraceae). J Bio Scien Opn. 1(1): 21 – 24.

Kapil VP (2011). Stability analysis in Marigold (*Tagetes erecta* L.) for flower yield and quality parameters. Res J of Agri Sci. 2(2): 237-240.

Kotilainen M, Helariutta Y, Mehto M (1999). GEG participates in the regulation of cell and organ shape during corolla and carpel development in Gerbera hybrida. Plant Cell Rep. 11 (6): 1093-1104.

Mishra P, Datta SK (2000). Direct differentiation of shoot buds in leaf segments of *T. erecta*. *In vitro* Cell Dev Biol Plant. 37(4), 466-470.

Murashige T, Skoog F (1962). A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. Physiol Plant. 15: 473- 497.

Nikam S, Shahana L (2014). Callus induction and organogenesis from ray florets of *Tagetes erecta*. Int J Pharm Biosci. 5(4): 648-653.

Osman HA, El-Gindi AY, Taha HS, El-Kazzaz AA, Youssef MMA, Ameen HH, Lashein AM (2012). Establishment of *T. erecta* and *T. patula* suspension cultures. Aust J Bas Appl Scien. 6(6): 436-441.

Pierik RL (1987). Preparation and composition of nutrient media, *in vitro* culture of higher plants. Martinus Nijhoff

[Downloaded from flowerjournal.ir at 23:34 +0330 on Tuesday December 15th 2020]

[DOR: 20.1001.1.26765993.1395.1.2.3.8]

Publishers, Dordrecht, the Netherlands.

Randhawa GS, Mukhopadhyay A (1996). Floriculture in India. Allied publishers limited, New Delhi.

Singh AK (2006). Flower Crop, Cultivation and management. New India publishing Agenc, New Dehli.

Shilaja VP (2002). Studies on *in vitro* propagation of *Gerbera jamesonii* "Bolus". M.Sc. thesis, University of Agricultural Sciences, India.

Stiekema WJ, Heidekamp F, Louwerse J, Verhoeven H, Dijkhuis P (1988). Introduction of foreign genes into potato cultivars Bintje and Desiree using an *Agrobactrium tumifacience* binary vector. Plant Cell Rep. 7: 47-50.

Victoria CP, Lage CLS, Sato A (2012). Tissue culture techniques in the proliferation of shoots and roots of *Calendula officinalis.* Rev Cien Agro. 43: 539-545.

Yingchun Q, Ye Y, Bao M (2013). Establishment of plant regeneration system from anther culture of *Tagetes patula*. African J Biotech. 10(75): 17332-17338.

Indirect Organogenesis of *Tagetes erecta* L. via Hypocotyl Explant

Jafari Marziyeh, Daneshvar Mohammad Hossein*

Department of Horticulture Science, Ramin University of Agriculture and Natural Resources, Khoozestan
*mhdaneshvar2004@yahoo.com

Abstract

Mexican marigold (*Tagetes erecta* L.) is an annual flower that is sensitive to cold. Seasonal flowers due to their numerous varieties of colors are very important in the landscape design. In order to mass propagate this species, the techniques of plant tissue culture was applied. In this study, four experiments including seed germination at different concentrations of MS medium in the dark and light conditions, callus induction of hypocotyl, regeneration from callus and root formation in different concentrations of plant growth regulators were carried out in a complete randomized design with 3 replications (10 samples). The results showed that the highest percent of seed germination occurred in full strength of MS medium in the light condition (90.00%). The seed germination was significantly higher in the light compared to the dark condition. Hypocotyl explant in MS medium in combination with 1.0 $mg.L^{-1}$ NAA + 0.1 $mg.L^{-1}$ BAP produced the highest bulk of callus (1.86 g). The highest regeneration frequency (93.33 %), themaximum number of multiple shoots (6.33) and the maximum shoot length (1.90 cm) was obtained on MS medium supplemented with 3.0 $mg.L^{-1}$ BAP in combination with 0.3 $mg.L^{-1}$ IBA. 933.3% of the micro-shoots were rooted on MS medium supplemented with 1.5 $mg.L^{-1}$ NAA. In conclusion, the hypocotyl explant could be used to achieve an optimal micropropagation protocol for *Tagetes erecta*.

Key words: Callus induction, *In vitro* seed germination, Mexican marigold, Regeneration, Rooting.

[Downloaded from flowerjournal.ir at 23:34 +0330 on Tuesday December 15th 2020]

[DOR: 20.1001.1.26765993.1395.1.2.3.8]