

بررسی جوانه‌زنی جنین زیگوتیکی باریجه در شرایط درون شیشه‌ای

نجمه هادی^{۱*}، رضا امیدبیگی^۲، احمد معینی^۳

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس، تهران

۲- استاد، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران

۳- دانشیار، گروه بیوتکنولوژی و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران

*آدرس مکاتبه: تهران، پل نصر، خیابان جلال آل‌احمد، دانشگاه تربیت مدرس، دانشکده کشاورزی، گروه علوم

باغبانی، کدپستی: ۱۳۱۱۱ - ۱۴۹۷۷، تلفن: ۰۹۳۵۴۸۲۵۷۲۴

پست الکترونیک: n_hadi1984@yahoo.com

تاریخ تصویب: ۹۰/۳/۴

تاریخ دریافت: ۸۹/۱/۲۰

چکیده

مقدمه: باریجه از گیاهان دارویی - صنعتی بومی کشور است که به دلیل برداشت‌های بی‌رویه از عرصه‌های طبیعی و داشتن مشکل تکثیر در حال انقراض است.

هدف: در این مطالعه، جوانه‌زنی درون شیشه‌ای جنین زیگوتیکی باریجه (با منشأ اصفهان) مورد بررسی قرار گرفت.

روش بررسی: اثر فاکتورهای نوع محیط کشت (B5 و MS ¼)، تیمار هورمونی (صفر و GA_3 $mg\ l^{-1}$ ۰/۵)، میزان سرمادهی جنین (صفر و ۶ روز) و وضعیت نوری کشت‌ها (هفته اول در تاریکی و بعد انتقال به فتوپریود ۱۶ ساعته و یا از همان ابتدا تحت فتوپریود ۱۶ ساعته) بر جوانه‌زنی جنین و خصوصیات گیاهچه‌های حاصل از آنها مورد بررسی قرار گرفتند.

نتایج: بیشترین جوانه‌زنی جنین (۱۰۰ درصد) انجام شد. GA_3 ارتفاع بخش هوایی بیشتر و قطر طوقه کمتری را برای گیاهچه‌های حاصله ایجاد کرد. تولید برگ اصلی در گیاهچه‌ها، بیشتر در محیط کشت MS ¼ و تولید ریشه فرعی در هر دو نوع محیط کشت مشاهده شد. سرمادهی جنین بر تولید برگ اصلی و ریشه فرعی در گیاهچه‌ها تأثیر منفی داشت. تولید برگ اصلی از گیاهچه‌های حاصل از جنین‌های ۶ روز سرمادهی شده، در محیط کشت فاقد هورمون در حالتی که در وضعیت نوری یک هفته اول در تاریکی و بعد انتقال به فتوپریود ۱۶ ساعته قرار گرفتند و نیز در محیط کشت حاوی GA_3 در حالتی که از ابتدا تحت فتوپریود ۱۶ ساعته قرار گرفتند، مشاهده شد. همچنین، تولید ریشه فرعی، در کشت‌هایی که از ابتدا تحت فتوپریود ۱۶ ساعته قرار گرفتند مشاهده شد.

نتیجه‌گیری: کشت جنین باریجه ابزار مفیدی برای غلبه بر خواب بذر و بهبود جوانه‌زنی می‌باشد.

کل واژگان: جوانه‌زنی درون شیشه‌ای، جنین زیگوتیکی، سرمادهی، وضعیت نوری، باریجه



مقدمه

باریجه (*Ferula gummosa* Boiss.) گیاهی چندساله و مونوکاریپیک از خانواده چتریان (Apiaceae) است [۱]. پراکندگی جغرافیایی باریجه به تعدادی از کشورهای خاورمیانه (افغانستان، ایران، پاکستان، ترکمنستان، ترکیه) محدود می‌شود. باریجه در مناطق کوهستانی با ارتفاع بالا و در شرایط محیطی خیلی خاص رشد می‌کند [۲]. شیرابه باریجه (الثوگم رزین) دارای ۵ تا ۳۰ درصد اسانس، ۵۰ تا ۷۰ درصد رزین، ۲۰ تا ۴۰ درصد مواد صمغی و ۱ تا ۱۰ درصد رطوبت و مواد معدنی می‌باشد [۳]. امیدبگی و همکاران (۲۰۰۸) گزارش کردند که، روش استخراج اسانس از شیرابه باریجه بر محتوا و ترکیب اسانس حاصله تأثیرگذار می‌باشد. بر طبق گزارش آنها، روش تقطیر با آب منجر به استخراج اسانس به مقدار ۳۳ درصد با ۱۱ جزء تشکیل‌دهنده و روش شیمیایی با کمک هگزان منجر به استخراج اسانس به مقدار ۳۶ درصد با ۱۲ جزء تشکیل‌دهنده شد. باریجه دارای اثرات نیرودهندگی، ضدتشنج، رفع درد معده، مقوی معده و ترمیم‌کننده زخم‌های سطحی است. در آلمان سابقاً به عنوان قاعده‌آور و رفع بیماری‌های رحمی مصرف داشته است. همچنین از باریجه نوعی چسب نامرئی مخصوص، جهت چسباندن سنگ‌های قیمتی مانند الماس تهیه می‌شود که در جواهرسازی مصرف دارد [۵]. امروزه باریجه بیشتر به عنوان طعم‌دهنده در محصولات غذایی مانند نوشابه‌ها و فرآورده‌های گوشتی و یا معطرکننده و تثبیت‌کننده عطرها در فرآورده‌های آرایشی مورد مصرف قرار می‌گیرد [۳].

باریجه از گیاهان ارزشمند بومی کشورمان است و شیرابه آن از اقلام مهم صادراتی کشور به حساب می‌آید. با توجه به اهمیت گیاه باریجه و موارد بی‌شمار استفاده‌های دارویی-صنعتی از آن و اینکه این گیاه به دلیل برداشت‌های بی‌رویه و نامناسب از عرصه‌های طبیعی کشور در حال انقراض است، اهمیت تکثیر این گیاه معلوم می‌شود [۶].

در رابطه با بذر باریجه و جوانه‌زنی آن اطلاعات محدود و ضد و نقیضی وجود دارد، اما در کل می‌توان گفت که تکثیر

گیاه با بذر مشکل است. نجفی و همکاران (۲۰۰۶) گزارش کردند که افزایش غلظت اسید جیبرلیک بالای ۵۰۰ پی‌پی‌ام و افزایش مدت خیساندن بذر در محلول از ۴۸ تا ۷۲ ساعت باعث بهبود جوانه‌زنی بذر باریجه می‌شود. همچنین بر طبق گزارش آنها بذر باریجه در دمای ۵ درجه سانتی‌گراد و تحت شرایط شستشو بیشترین درصد جوانه‌زنی را دارد. بر طبق گزارش رهنما قهفرخی و توکل افشاری (۲۰۰۷) خیساندن بذور باریجه در محلول ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام اسید جیبرلیک به مدت ۷۲ ساعت منجر به ۴۱ درصد جوانه‌زنی خواهد شد. همچنین آنها گزارش کردند که ۴۰ روز سرمادهی مرطوب بذور منجر به ۶۹ درصد جوانه زنی می‌شود. نتایج آزمایشی نشان داد که درصد جوانه‌زنی بذور باریجه بعد از یک ماه تیمار سرمایی در یخچال، فریزر و سرمای طبیعی به ترتیب، ۴/۵، ۲۱/۲۵ و ۷۸/۷۵ درصد بوده است. در این آزمایش همچنین برف عامل بسیار مؤثری در جوانه‌زنی بذور باریجه گزارش شده است [۹]. کشت جنین ابزار مفیدی برای تکثیر گیاهانی است که با محدودیت در جوانه‌زنی مواجه هستند. تکثیر گیاه از طریق کشت جنین، روش مفیدی برای غلبه بر خواب بذور و کوتاه کردن زمان اصلاح گیاه است [۱۰].

از مهم‌ترین برنامه‌های تحقیقاتی کشور، کشت، اهلی کردن و تولید انبوه گیاهان دارویی به منظور جلوگیری از برداشت گیاهان از عرصه منابع طبیعی است [۶]. هدف از تحقیق حاضر، بررسی جوانه‌زنی جنین زیگوتیکی باریجه با منشأ اصفهان در شرایط درون شیشه‌ای می‌باشد.

مواد و روش‌ها

در این تحقیق از بذورهای باریجه با منشأ اصفهان استفاده شد.

جوانه‌زنی بذر

۱۰۰ بذر به مدت یک روز تحت آب جاری قرار گرفتند. سپس، ۵۰ بذر با پوسته بیرونی و ۵۰ بذر بدون پوسته (لایه



روی آندوسپرم) جداگانه لای پارچه مرطوب داخل مشما فریزر قرار گرفته و در دمای ۵ - ۴ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. هر سه روز در میان، پارچه محتوی بذرها با آب معمولی آبکشی می‌شد و بعد از بررسی بذرها، دوباره در یخچال قرار داده می‌شد. این آزمایش مقدماتی به منظور بررسی تأثیر نوع بذر (با پوسته و بدون پوسته بیرونی) و تعیین مدت زمان لازم برای سرمادهی بذر به منظور برطرف شدن خواب آن انجام شد.

جوانه‌زنی درون شیشه‌ای جنین زیگوتیکی

ابتدا بذرها به مدت یک روز تحت آب جاری قرار گرفتند تا بذرها به منظور استخراج راحت جنین متورم شوند (نرم شدن آندوسپرم). به منظور ضدعفونی بذر، ابتدا بذرها با آب معمولی و چند قطره مایع ظرفشویی حدود ۵ دقیقه شسته شده و بعد از آبکشی به داخل دستگاه لامینار ایر فلو (شرایط استریل) برده شدند و یک دقیقه با اتانول ۷۰ درصد تیمار شده و بعد از آبکشی با آب مقطر استریل، به مدت ۲۰ دقیقه با محلول هیپوکلریت سدیم ۲ درصد تیمار شدند. سپس بذرها سه بار به ترتیب به مدت ۲، ۵ و ۱۵ دقیقه، آبکشی شدند. جنین‌ها به محض خروج از بذر به صورت افقی بر روی محیط کشت قرار گرفتند و با پنس نوک ریشه‌چه به آرامی به سمت محیط کشت متمایل شد.

آزمایش در سه بخش مجزا، به صورت فاکتوریل در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. ظرف شیشه‌ای به حجم ۲۹۰ ml (۹/۵ × ۶ cm) با ۵۰ ml محیط کشت حاوی ۳ جنین کامل یک تکرار را تشکیل داد. در بخش اول، فاکتور اول، نوع محیط کشت بود که در دو سطح B5 و ¼ MS (از نظر نمک‌های ماکرو و میکرو) مورد بررسی قرار گرفت. فاکتور دوم، تیمار هورمونی محیط کشت بود که در دو سطح صفر (شاهد) و GA_3 ۰/۵ mg l⁻¹ مورد بررسی قرار گرفت. فاکتور سوم هم میزان سرمادهی جنین کشت شده (۵ - ۴ درجه سانتی‌گراد) بود که در دو سطح صفر (شاهد) و ۶ روز مورد بررسی قرار گرفت. کشت‌ها بعد از اعمال سطوح تیمار

سرمادهی، یک هفته در تاریکی قرار گرفتند و سپس به شرایط فتوپریودی ۱۶ ساعته (۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی) منتقل شدند. در بخش دوم، آزمایش تکرار شد با این تفاوت که از جنین‌های شش روز سرمادهی شده استفاده شد و کشت‌ها از همان ابتدا تحت فتوپریود ۱۶ ساعته قرار گرفتند. در بخش سوم، آزمایش باز هم تکرار شد با این تفاوت که از جنین‌های شش روز سرمادهی شده استفاده شد و فاکتور وضعیت نوری کشت‌ها در دو سطح هفته اول در تاریکی و بعد انتقال به فتوپریود ۱۶ ساعته و از همان ابتدا تحت فتوپریود ۱۶ ساعته، به فاکتورهای دیگر اضافه شد. لازم به ذکر است که دو محیط کشت مورد استفاده در این تحقیق، از بین تعدادی محیط‌های کشت، که MS هم شامل آنها می‌شد، طی آزمایش‌های اولیه انتخاب شدند.

pH محیط‌های کشت قبل از اتوکلاو کردن با استفاده از HCl و KOH نرمال روی ۵/۸ - ۵/۷ تنظیم شد و بعد از اضافه کردن آگار به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد اتوکلاو شدند. هورمون GA_3 ، بعد از اتوکلاو شدن محیط کشت و کمی خنک شدن، به صورت فیلتراسیون در شرایط استریل به محیط کشت اضافه شد. کشت‌ها در داخل دستگاه اینکوباتور (مدل JG600L؛ ۴ لامپ فلورسنت مهتابی ۴۰ وات به همراه ۴ لامپ فلورسنت آفتابی ۴۰ وات با دمای 25 ± 2 درجه سانتی‌گراد) قرار گرفتند.

سه هفته بعد از کشت، کشت‌ها مورد بررسی قرار گرفتند و داده برداری از صفات درصد جوانه‌زنی جنین، درصد تولید برگ اصلی و ریشه فرعی در گیاهچه‌های حاصله، طول ریشه اصلی و بخش هوایی (از طوقه تا انتهای برگ‌های لپه‌ای و یا از طوقه تا انتهای برگ‌های اصلی) و قطر طوقه (محل اتصال ریشه و بخش هوایی) در گیاهچه‌های حاصله در آنها صورت گرفت. تجزیه آماری داده‌ها و مقایسه میانگین‌ها توسط نرم‌افزارهای آماری (Minitab (Version 14) و MSTAT.C (آزمون LSD) انجام شد.



نتایج

جوانه‌زنی بذر

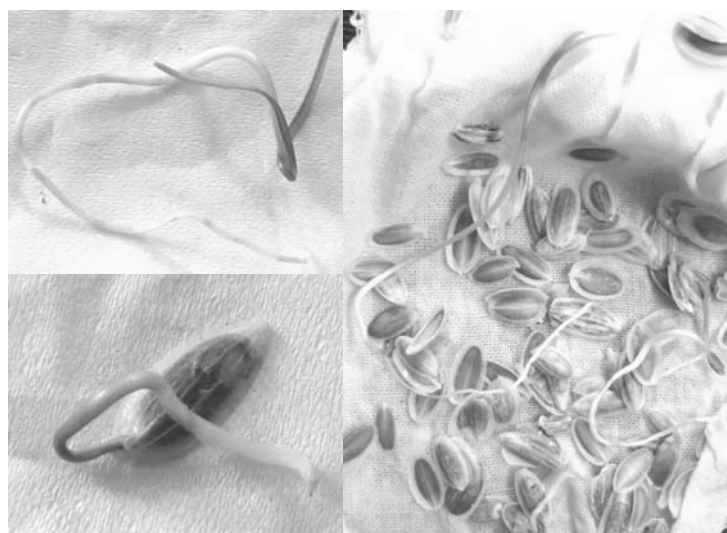
در این تحقیق، نتایج نشان داد که ۵۰ بذر با پوسته و ۵۰ بذر بدون پوسته بیرونی بعد از ۳/۵ ماه سرمادهی مرطوب در شرایط یخچال و لای پارچه مرطوب، به ترتیب ۵۴ و ۴۴ درصد جوانه‌زنی داشتند. شکل شماره ۱، بذور باریجه با منشأ اصفهان و نمونه‌ای از دانهال حاصل از آنها بعد از ۳/۵ ماه سرمادهی مرطوب را نشان می‌دهد.

جوانه‌زنی درون شیشه‌ای جنین زیگوتیکی

نتایج تجزیه داده‌ها برای بررسی اثر نوع محیط کشت، نوع تیمار هورمونی و میزان سرمادهی جنین کشت شده بر جوانه‌زنی درون شیشه‌ای جنین زیگوتیکی باریجه، در جدول شماره ۱ و نتایج حاصل از مقایسه میانگین‌ها، در شکل شماره

۲ نشان داده شده است. از آنجا که درصد جوانه‌زنی جنین‌ها در همه تیمارها، ۱۰۰ درصد به دست آمد، لذا این صفت مورد تجزیه آماری قرار نگرفت. همچنین، به دلیل ناچیز بودن ظهور صفات درصد تولید برگ اصلی و درصد تولید ریشه فرعی در گیاهچه‌ها، تجزیه آماری در مورد آنها صورت نگرفت و نتایج آن در متن گزارش شده است.

همان‌طور که در جدول شماره ۱ نشان داده شده است، فقط اثر تیمار هورمونی در سطح ۵ درصد، در مورد صفات طول بخش هوایی و قطر طوقه گیاهچه، معنی‌دار شد. گیاهچه‌ها در محیط کشت حاوی $GA_3 \ 0.5 \ mg \ l^{-1}$ دارای ظاهری عادی و مطلوب‌تر و همچنین دارای طول بخش هوایی بیشتر و قطر طوقه کمتری نسبت به محیط کشت فاقد هورمون بودند (شکل شماره ۲).



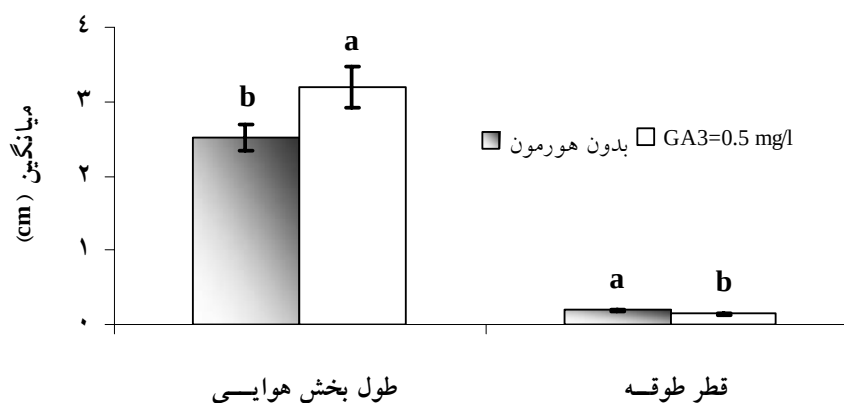
شکل شماره ۱- بذور باریجه (منشأ اصفهان) و نمونه‌ای از دانهال حاصل از آن در تیمار سرمادهی مرطوب



جدول شماره ۱- تأثیر محیط کشت (M)، تیمار هورمونی (T) و میزان سرمادهی جنین (C) بر خصوصیات گیاهچه حاصل از جوانه‌زنی درون شیشه‌ای جنین زیگوتیکی باریجه

منبع تغییر (S. O. V.)	درجه آزادی (df)	طول بخش هوایی گیاهچه (cm) (MS)	قطر طوقه گیاهچه (cm) (MS)
T	۱	۲/۸۲*	۰/۰۱*
M	۱	۱/۰۶ ^{ns}	۰/۰۱ ^{ns}
C	۱	۱/۳۵ ^{ns}	۰/۰۰ ^{ns}
T × M	۱	۰/۰۸ ^{ns}	۰/۰۰ ^{ns}
T × C	۱	۲/۰۷ ^{ns}	۰/۰۰ ^{ns}
M × C	۱	۰/۰۷ ^{ns}	۰/۰۰ ^{ns}
T × M × C	۱	۰/۱۱ ^{ns}	۰/۰۰ ^{ns}
خطای آزمایشی	۱۶	۰/۵۳	۰/۰۰
کل	۲۳		

*: به ترتیب عدم تفاوت معنی‌دار و تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد



صفات مورد بررسی در گیاهچه‌ها

شکل شماره ۲- مقایسه میانگین ($\pm$ خطای استاندارد) تأثیر تیمار هورمونی محیط کشت در کشت درون شیشه‌ای جنین زیگوتیکی باریجه بر طول بخش هوایی و قطر طوقه گیاهچه؛ در هر گروه، ستون‌هایی که دارای حداقل یک حرف مشترک هستند در یک گروه آماری قرار می‌گیرند.

جدول شماره ۲- تأثیر محیط کشت (M)، تیمار هورمونی (T) و وضعیت نوری جنین‌های کشت شده (۶ روز سرمادهی شده) (D) بر خصوصیات گیاهچه حاصل از جوانه‌زنی درون شیشه‌ای جنین زیگوتیکی باریجه

منبع تغییر (S. O. V.)	درجه آزادی (df)	طول بخش هوایی گیاهچه (cm) میانگین مربعات (MS)
T	۱	۶/۵۷*
M	۱	۲/۳۸ ^{ns}
D	۱	۰/۲۴ ^{ns}
T × M	۱	۰/۹۰ ^{ns}
T × D	۱	۰/۳۰ ^{ns}
M × D	۱	۰/۰۷ ^{ns}
T × M × D	۱	۰/۸۰ ^{ns}
خطای آزمایشی	۱۶	۱/۱۸
کل	۲۳	

ns و *؛ به ترتیب عدم تفاوت معنی‌دار و تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد

نتایج تجزیه داده‌ها برای بررسی اثر نوع محیط کشت، نوع تیمار هورمونی و وضعیت نوری کشت‌ها بر جوانه‌زنی درون شیشه‌ای جنین باریجه (جنین‌های ۶ روز سرمادهی شده)، در جدول شماره ۲ و نتایج حاصل از مقایسه میانگین‌ها، در شکل شماره ۳ نشان داده شده است. به دلیل ناچیز بودن ظهور صفات درصد تولید برگ اصلی و درصد تولید ریشه فرعی در گیاهچه‌ها، تجزیه آماری در مورد آنها صورت نگرفت و نتایج آن در متن گزارش شده است.

در این بخش هم اثر تیمار هورمونی در سطح ۵ درصد، در مورد صفت طول بخش هوایی گیاهچه‌ها، معنی‌دار شد (جدول شماره ۲). همانطور که در شکل شماره ۳ نشان داده شده، طول بخش هوایی گیاهچه‌ها در محیط کشت حاوی GA₃ نسبت به محیط‌های کشت فاقد هورمون بیشتر به دست آمد.

همان‌طور که در بالا ذکر شد به دلیل ناچیز بودن ظهور صفات درصد تولید برگ اصلی و درصد تولید ریشه فرعی در گیاهچه‌ها، تجزیه آماری در مورد آنها صورت نگرفت، ولی نتایج مشاهده شده به صورت زیر گزارش می‌شود.

در این بخش، صفت تولید برگ اصلی در گیاهچه‌ها، در هر دو محیط کشت MS ¼ حاوی GA₃ و B5 در هر دو حالت

همان‌طور که در بالا ذکر شد به دلیل ناچیز بودن ظهور صفات درصد تولید برگ اصلی و درصد تولید ریشه فرعی در گیاهچه‌ها، تجزیه آماری در مورد آنها صورت نگرفت، ولی نتایج مشاهده شده به صورت زیر گزارش می‌شود.

تولید برگ اصلی در گیاهچه‌ها، در محیط کشت MS ¼ فاقد هورمون بیشتر از B5 فاقد هورمون مشاهده شد. درصد این صفت در محیط‌های کشت دارای هورمون GA₃، صفر به دست آمد. همچنین درصد ظهور این صفت در گیاهچه‌های حاصل از جنین‌هایی که سرمادهی نشدند نسبت به آنهایی که به مدت ۶ روز سرمادهی شدند، بیشتر مشاهده شد.

تولید ریشه فرعی در مورد گیاهچه‌های حاصل از جنین‌هایی که سرمادهی نشدند، در محیط کشت B5 حاوی GA₃ و در محیط کشت MS ¼ در هر دو حالت فاقد هورمون و حاوی GA₃، مشاهده شد.

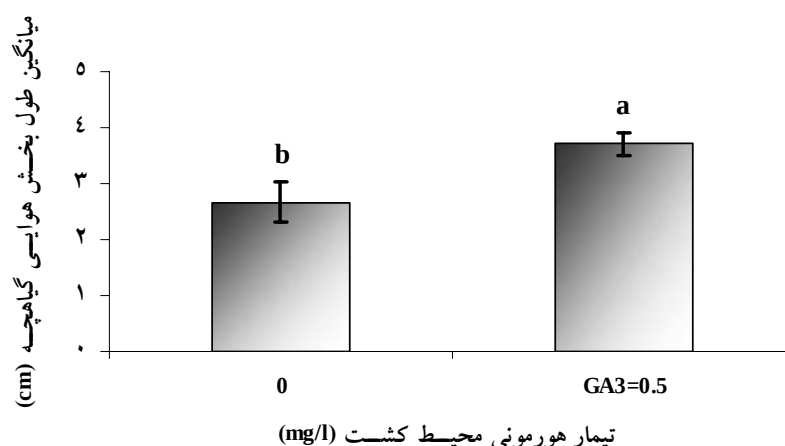
تجزیه داده‌ها برای بررسی اثر نوع محیط کشت و نوع تیمار هورمونی بر جوانه‌زنی درون شیشه‌ای جنین باریجه (۶ روز سرمادهی شده)، که از همان ابتدا در معرض فتوپریود ۱۶ ساعته قرار گرفتند، حاکی از عدم تفاوت معنی‌دار تیمارها بر روی صفات می‌باشد.



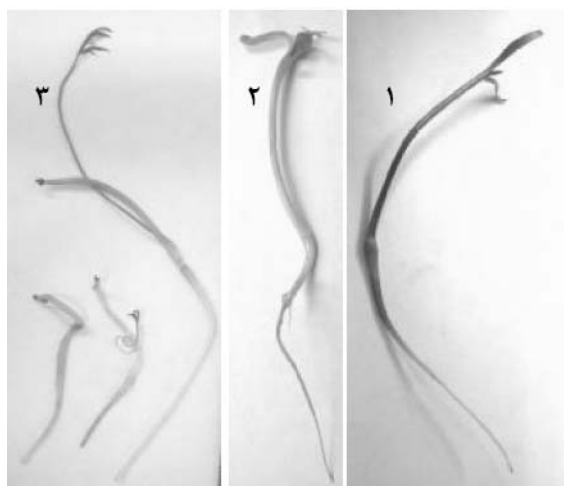
فاقد هورمون و حاوی GA_3 ، مشاهده شد. باید به این نکته توجه داشت که، محیط‌های کشت فاقد هورمون در حالتی که در وضعیت نوری یک هفته اول در تاریکی و بعد انتقال به فتوپریود ۱۶ ساعته قرار گرفتند و محیط‌های کشت حاوی GA_3 در حالتی که در وضعیت نوری از ابتدا تحت فتوپریود ۱۶ ساعته قرار گرفتند، صفت موردنظر را نشان دادند. همچنین، صفت تولید ریشه فرعی در گیاهچه‌ها، در هر دو محیط کشت

۱/۴ MS حاوی GA_3 و B_5 در هر دو حالت فاقد هورمون و حاوی GA_3 (در محیط کشت B_5 کمی بیشتر از محیط کشت دیگر) و در حالتی که در وضعیت نوری از ابتدا تحت فتوپریود ۱۶ ساعته قرار گرفتند، مشاهده شد.

نمونه‌ای از گیاهچه‌های حاصل از جنین‌های زیگوتیکی باریجه در آزمایش‌های صورت گرفته در این تحقیق در شکل شماره ۴ نشان داده شده است.



شکل شماره ۳- مقایسه میانگین ($\pm$ خطای استاندارد) تأثیر تیمار هورمونی محیط کشت در کشت درون شیشه‌ای جنین زیگوتیکی ۶ روز سرمادهی شده باریجه بر طول بخش هوایی گیاهچه؛ ستون‌هایی که دارای حداقل یک حرف مشترک هستند در یک گروه آماری قرار می‌گیرند.



شکل شماره ۴- نمونه‌ای از گیاهچه‌های حاصل از جنین‌های زیگوتیکی باریجه در شرایط درون شیشه‌ای؛ ۱: گیاهچه حاصل از جنین سرمادهی نشده در محیط کشت B_5 فاقد هورمون، ۲: گیاهچه حاصل از جنین ۶ روز سرمادهی شده در محیط کشت B_5 حاوی GA_3 0.5 mg l^{-1} و ۳: گیاهچه حاصل از جنین سرمادهی نشده در محیط کشت ۱/۴ MS (از نظر نمک‌های ماکرو و میکرو) فاقد هورمون

بحث

در این مطالعه، کشت جنین زیگوتیکی باریجه (با منشأ اصفهان) منجر به جوانه‌زنی سریع (ظرف ۲ - ۱ روز) و مطلوب (۱۰۰ درصد) برای آن شد، در حالی که ۳/۵ ماه سرمادهی مرطوب بذور منجر به ۵۴ درصد جوانه‌زنی شد.

در این تحقیق، اگرچه اثر فاکتورهای نوع محیط کشت، تیمار هورمونی، سرمادهی جنین و وضعیت نوری محل قرارگیری کشت‌ها بر درصد جوانه‌زنی جنین‌ها اثر نداشتند ولی بر خصوصیات گیاهچه‌های به دست آمده از آنها اثرگذار بودند به طوری که در مورد فاکتور تیمار هورمونی این اثر معنی‌دار شد. بررسی منابع نشان می‌دهد که، وضعیت نوری محل قرارگیری کشت‌ها می‌تواند بر جوانه‌زنی درون شیشه‌ای جنین‌ها و یا بر خصوصیات گیاهچه‌های حاصل از آنها اثرگذار باشد. بر طبق گزارش بیلدیریم و همکاران (۲۰۰۷)، در رابطه با طول شاخه حاصل از جنین‌های زیگوتیک کشت شده *Prunus armeniaca*، تیمار تاریکی طول شاخه بیشتری را نسبت به تیمار روشنایی موجب شد. بر طبق گزارش مدرس و همکاران (۱۳۸۶)، قرارگیری جنین‌های زیگوتیک کشت شده گونه‌ای مریم‌گلی (*Salvia leriifolia*) یک هفته در تاریکی و بعد به مدت سه هفته تحت نور به مدت ۱۲ ساعت، بهترین نتیجه را برای رشد جنین‌ها موجب شد. آسیف و همکاران (۲۰۰۱) گزارش کردند که، تیمار تاریکی و نور (دو هفته در تاریکی و سپس انتقال به نور به مدت ۱۶ ساعت) بر روی صفات مختلف گیاهچه‌های حاصل از جنین زیگوتیک *Musa acuminata ssp. malaccensis* اثرات معنی‌دار دارد، به طوری که تاریکی ظهور شاخه را به تأخیر انداخت و موجب ظهور زودتر ریشه شد. بر طبق گزارش آنها، جنین‌های رشد یافته در تاریکی، شاخه‌ها و ریشه‌های طولی‌تر تولید کردند. همچنین، تعداد ریشه‌های تولیدی در جنین‌های رشد یافته در تاریکی بیشتر بود.

نتایج به دست آمده از بخش اول آزمایش را می‌توان این گونه توضیح داد که، GA_3 به واسطه نقشی که در افزایش طول ساقه (بخش هوایی) دارد موجب کاهش قطر طوقه گیاهچه شده است. در این بخش از آزمایش، اگرچه اثر فاکتور نوع محیط کشت معنی‌دار نشد ولی مشاهدات حاکی از این است که گیاهچه‌های حاصله در محیط کشت $MS \frac{1}{4}$ نسبت به B5 ظاهری عادی و مطلوب‌تر دارند. در واقع نتایج نشان‌دهنده عکس‌العمل بهتر جنین‌های کشت شده با غلظت کاهش یافته عناصر ماکرو و میکرو در محیط کشت است.

همچنین مشاهدات حاکی از تأثیر مثبت غلظت کاهش یافته عناصر ماکرو و میکرو بر تولید برگ اصلی در گیاهچه‌ها می‌باشد. در خصوص تأثیر منفی هورمون GA_3 بر تولید برگ اصلی در گیاهچه‌ها می‌توان اینچنین توضیح داد که، نقش GA_3 در افزایش طول ساقه، اجازه نمو مطلوب برگ‌های اصلی را در گیاهچه‌های حاصله نمی‌دهد. همچنین، تأثیر منفی سرمادهی جنین بر تولید برگ اصلی در گیاهچه‌های حاصله می‌تواند به دلیل تأثیر سرمادهی بر افزایش سطح GA_3 درونی جنین باشد. لذا می‌توان اینگونه نتیجه‌گیری کرد که تأثیر منفی سرمادهی به صورت غیرمستقیم به واسطه GA_3 تولید شده در جنین خواهد بود.

خصوصیات گیاهچه‌های به دست آمده از نظر طول بخش هوایی، قطر طوقه، تولید برگ اصلی و ریشه فرعی در آنها می‌توانند فاکتورهای مناسبی برای ارزیابی کیفیت گیاهچه‌های به دست آمده باشند. همچنین این خصوصیات می‌توانند بر موفقیت گیاهچه‌ها در مراحل بعدی در کشت برون شیشه‌ای تأثیرگذار باشند.

با توجه به نتایج به دست آمده از این تحقیق می‌توان از کشت جنین به عنوان ابزاری مفید برای غلبه بر خواب و موانع جوانه‌زنی دیگر بذر باریجه استفاده کرد. این نتیجه می‌تواند در کارهای کشت و کار و تکثیری و اصلاحی در خصوص باریجه مورد توجه قرار گیرد.



منابع

1. Omidbaigi R. Production and processing of medicinal plants. 4th ed. Vol. 2. Astan Quds Razavi Press. 2007, 438 p.
2. Bernard F, Shaker Bazarnov H, Javadi Khatab L, Shafiei Darabi A and Sheidai M. *Ferula gummosa* Boiss. embryogenic culture and karyological changes. *Pakistan Journal of Biological Sci.* 2007; 10 (12): 1977 - 83.
3. Codification committee of plant pharmacopea of Iran. Plant pharmacopea of Iran. 1th ed. Vol. 1. Vezarat Behdasht, Darman & Amuzesh Pezeshki Press. 2002, 396 p.
4. Omidbaigi R, Kabudan M and Rauffard F. Chemical composition of *Ferula gumosa* volatile oil extracted by hydro-distillation and hexane. *Euro Cosmetics* 2008; 16: 24 - 26.
5. Zargari A. Medicinal plants. Vol. 2. Tehran Univ. Press. 1989, 942 p.
6. Sefidkon F. Guidline programme of medicinal plant researches. Ministry of Jihad-e- Agriculture. Agricultural Research, Education and Extension Organization. Research Institute of Forests and Rangelands. 2008, 40 p.
7. Nadjafi F, Bannayan M, Tabrizi L and Rastgoo M. Seed germination and dormancy breaking techniques for *Ferula gummosa* and *Teucrium polium*. *Journal of Arid Environments* 2006; 64: 542 - 7.
8. Rahnama-Ghahfarokhi A and Tavakkol-Afshari R. Methods for dormancy breaking and germination of galbanum seeds (*Ferula gummosa*). *Asian Journal of Plant Sci.* 2007, 6 (4): 611 - 6.
9. Salar N, Ezoddin H and Taherian K. Investigation of cultivation and propagation methods of *Ferula gummosa*. *Pajouhesh & Sazandegi* 2001, 14 (4, 35): 90 - 7.
10. Modares M, Abrishamchi P, Ejtehad H and Ramezani A. Propagation of *Salvia leriifolia* Benth. by embryo culture. *Iranian Journal of Rangelands and Forests Plant Breeding and Genetic Res.* 2007; 15 (2): 129 - 41.
11. Yildirim H, Tilkat E, Onay A and Ozen HC. *In vitro* embryo culture of apricot, *Prunus armeniaca* L. cv. Hacıhaliloglu. *International Journal of Science & Technol.* 2007; 2 (2): 99 - 104.
12. Asif MJ, Mak C and Othman RY. *In vitro* zygotic embryo culture of wild *Musa acuminata* ssp. *malaccensis* and factors affecting germination and seedling growth. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture.* 2001, 67: 267 - 70.