مجله ایمنی زیستی

دوره ۱۶، شماره ۱، بهار ۱۴۰۲

ISSN 2716-9804 الکترونیکی، ISSN 2717-0632 چاپی

بهینه‌سازی پرآوری، کالوس‌زایی و اندام‌زایی غیرمستقیم گیاه *Moringa peregrina*

نوع مقاله: پژوهشی

فرزاد بنایی اصل[1*]، حامد صالحیان[2]

۱-استادیار بخش تحقیقات زیست‌فناوری منابع طبیعی، موسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران

۲- پژوهشگر پژوهشگاه بیوتکنولوژی کشاورزی ایران، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، البرز، ایران

f.banaei@rifr-ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۷/۰۴، تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۷/۱۳

صفحه ۷۲-۶۱

چکیده

مورینگا (*Moringa peregrina*) از گیاهان ناحیه جنگلی صحارا-سندی ایران است که به دلیل خواص تغذیه‌ای و دارویی گیاهی بسیار ارزشمند محسوب می‌شود. به دلیل ارزش بالای اقتصادی و زیست‌محیطی این گیاه و زادآوری مشکل آن به دلایل خشکسالی و تخریب زیستگاه، بهینه‌سازی فرآیند کشت بافت برای تسهیل و تسریع تکثیر انبوه این گیاه ضروری است. پس از کشت بذرها و تهیه ریزنمونه‌ها، ریزنمونه‌های حاوی گره با تیمارهای شاخساره‌زایی تلقیح شدند و ریزنمونه‌های بدون گره برای کالوس‌زایی و سپس باززایی غیرمستقیم از کالوس استفاده شدند. برای اندام‌زایی از گره ساقه، ترکیب تنظیم‌کننده‌های رشدی BAP و NAA به ترتیب در غلظت‌های ۰/۵ تا ۱/۰ و ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر در محیط کشت پایه MS باعث تولید حداکثر تعداد شاخه (۸۰٪) شد. برای القای کالوس‌زایی ترکیب ۲،۴ –D و NAA و kin به ترتیب با غلظت ۰/۵، ۰/۲ و ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر منجر به القای کالوس‌زایی شد. ترکیب BAP، TDZ و NAA به ترتیب با غلظت ۳/۰، ۰/۵ و ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر باعث اندام‌زایی غیرمستقیم (۱۴٪) شد. یافته‌های این مطالعه برای پژوهشگران، سازمان حفاظت از محیط زیست و افراد علاقه‌مند به کشت و تکثیر *مورینگا* جهت بهره‌برداری از مزایای متعدد آن، مفید خواهد بود.

واژه‌های کلیدی: تکثیر، درون‌شیشه‌ای، کشت بافت، گز روغنی، *مورینگا*.

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2025-04-04]

مقدمه

جنس *مورینگا* متعلق به خانواده *Moringaceae* شامل ۱۳ گونه است که در مناطق گرمسیری و نیمه‌گرمسیری جهان مانند جنوب غربی آسیا، جنوب غربی آفریقا، شمال شرق آفریقا و ماداگاسکار پراکنده شده‌اند (Abd Rani et al. 2018). از میان این گونه‌ها، *Moringa peregrina* یکی از گونه‌هایی است که ارزش‌های سنتی، تغذیه‌ای، صنعتی و دارویی گسترده‌ای دارد (Senthilkumar et al. 2018). این گونه در مناطق خشک و نیمه‌خشک با تبخیر و تعرق بیش از ۲۰۰۰ میلی‌متر در سال و مناطق با ارتفاع ۵۰۰ تا ۲۰۰۰ متر بالاتر از سطح دریا رویش دارد (Gebauer et al. 2007).

گونه *M. peregrina* درختی برگ‌ریز است و سرعت رشد نسبتا بالایی در میان سایر گونه‌های *مورینگا* دارد (Senthilkumar et al. 2018). این درخت تا ارتفاع ۳ تا ۱۰ متری رشد می‌کند. این گونه که سازگاری زیادی با خشکی دارد، دارای پوستی سبز مایل به خاکستری است. برگ‌ها به طول ۳۰ تا ۴۰ سانتی‌متر، متناوب و بیضی شکل هستند. یکی از ویژگی‌های منحصر به فرد *M. peregrina* افتادن برگچه‌های آن هنگام بالغ شدن برگ‌ها و برهنه ماندن راشیز برگ است (Robiansyah et al. 2014; Olson et al. 2016). این گیاه دارای گل آذین جانبی با خوشه بسیار منشعب (طول ۱۸ تا ۳۰ سانتی‌متر) است. گل‌ها به طول ۱۰ تا ۱۵ میلی‌متر، دو جنسه، متقارن، پنج وجهی و به رنگ سفید مایل به صورتی با کاسبرگ‌های سفید هستند. یک درخت *M. peregrina* ممکن است تا ۱۰۰۰ غلاف در سال تولید کند و طول غلاف‌ها از ۲۰ تا ۴۰ سانتی متر متغیر است. هر غلاف حاوی ۸ تا ۱۵ دانه تخم مرغی، بدون بال و مثلثی شکل است (Keneshloo, 2015). گونه *Moringa peregrina* در ایران با نام‌های محلی گازرخ، گز روغنی یا گزروغن شناخته می‌شود (Keneshloo et al. 2015). گسترش *مورینگا* در ایران محدود به استان‌های هرمزگان و سیستان و بلوچستان شده و بصورت یک نوار باریک در محدوده شهرهای بشاگرد در هرمزگان و پیشین در مرز پاکستان بین دو حد ارتفاعی ۱۰۰ تا ۱۵۰۰ متر گسترش دارد (شکل ۱ الف). عمده رویشگاه‌های *مورینگا* روی دامنه‌های سنگی و صخره‌های شکافدار مناطق کوهستانی (شیب ۴۰ تا ۶۰ درجه)، پای دامنه‌های پوشیده از واریزه‌ها و تخته سنگ‌ها و مخروط افکنه‌های درشت‌دانه قرار داشته و در ته دره‌ها و نقاط پست و گود دیده نمی‌شود. *مورینگا* یک درخت یا درختچه همیشه سبز در نواحی نیمه‌گرمسیری ایران است (شکل ۱ ب). با توجه به اقلیم خاص رویشگاه این گونه، درختچه‌های گازرخ از اواخر بهمن ماه شروع به رشد زایشی

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2025-04-04]

می‌کنند و در اوایل اسفند گلدهی در انتهای شاخه‌ها آغاز می‌شود. ظهور گل‌های با رنگ صورتی تا سفید تا فروردین ماه ادامه می‌یابد و در اواسط فروردین نیام‌های سبز رنگ شروع به رشد می‌کنند. رسیدن میوه‌ها با تغییر رنگ نیام‌ها در اوایل خرداد مشخص می‌شود و از نیمه خرداد غلاف‌ها شکافته شده و بذور آزاد می‌شوند. با افزایش دما و شدت یافتن خشکی، محورهای برگ شروع به ریزش می‌کند و درخت وارد دوره رکود تابستانی می‌شود. با کاهش دما و شروع بارش‌های پاییزی رشد رویشی مجدد این گونه با ظهور برگ‌های جوان آغاز می‌شود و رشد زایشی بعدی در زمستان ادامه دارد (Keneshloo. 2015).

این گونه از نظر اقتصادی و دارویی اهمیت زیادی دارد. دانه‌های این درخت سرشار از روغن (ben oil) هستند که استفاده خوراکی، صنعتی و دارویی دارد. برگ‌ها، گل آذین و شاخه‌های جوان برای تغذیه دام استفاده می‌شود. مردم محلی از دانه‌های این درخت به عنوان آجیل و از تنه درخت به‌عنوان هیزم یا سوخت روستایی استفاده می‌کنند. به دلیل خشکسالی‌های شدید و بهره برداری بیش از حد از بذرها و قطع درختان برای هیزم، این گونه در معرض تهدید است (Hegazy et al. 2008).

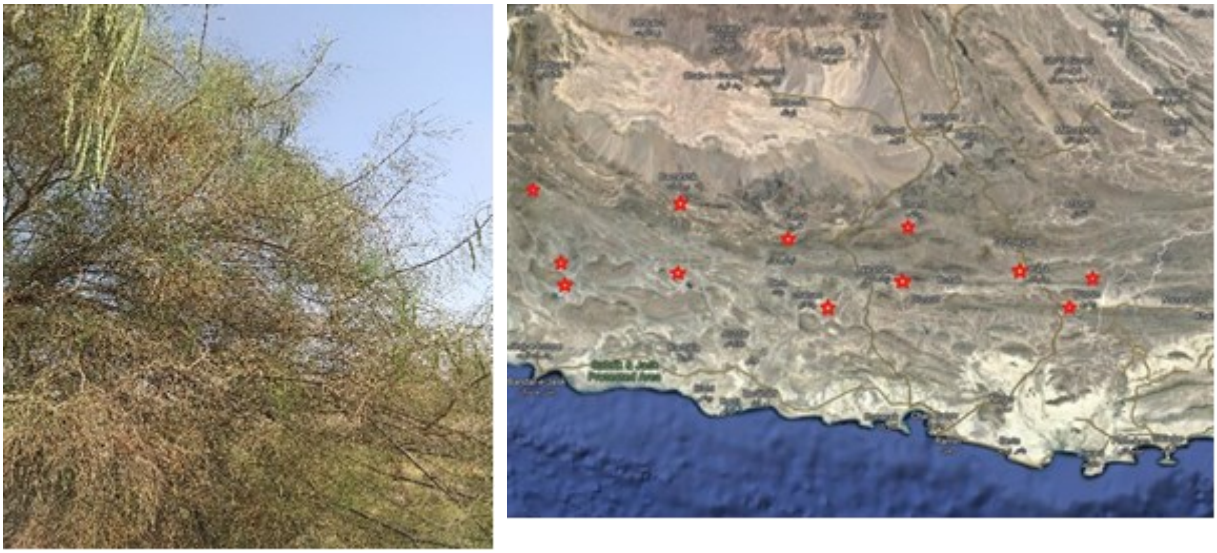
گونه‌های *مورینگا* حاوی ترکیبات گیاهی مختلفی مانند آلکالوئیدها، ساپونین‌ها، تانن‌ها، استروئیدها، اسیدهای فنولیک، گلوکوزینولات‌ها، فلاونوئیدها و ترپن‌ها هستند. تنوع این مواد شیمیایی گیاهی در این جنس به کاربردهای دارویی متعدد آن کمک می‌کند (Abd Rani et al. 2018). *مورینگا* علاوه بر استفاده‌های متعدد در طب سنتی، دارای خواص دارویی شناخته شده از قبیل فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی، ضد میکروبی، ضد التهابی، ضد سرطانی و ضد هیپرگلیسمی است (Senthilkumar et al. 2018).

رویشگاه‌های طبیعی *مورینگا* در ایران رو به زوال بوده و همه ساله از وسعت آن‌ها کاسته می‌شود. از دلایل مهم تخریب این رویشگاه‌ها، تغییرات اقلیمی و نیز عدم زادآوری طبیعی این گونه است (Keneshloo et al. 2015). وضعیت اسف بار معیشتی ساکنان مناطق رویشی این گیاه باعث شده تقریبا تمامی میوه‌های این درختان برای مصارف خوراکی چیده شود. از طرفی بذر این گونه توسط افراد محلی جمع‌آوری و به کشورهای حاشیه خلیج فارس ارسال می‌شود. دلایل دیگر همچون از بین رفتن پرندگان منطقه که عامل پراکنش بذور این گیاه هستند، فاصله زیاد درختان *مورینگا* از هم و کاهش گرده افشانی، و عدم امکان نگه‌داری طولانی مدت بذرها به خاطر محتوای روغن زیاد، باعث شده این گیاه ارزشمند به شدت در معرض خطر انقراض قرار گیرد (Asadicorom et al. 2010). به همین دلیل یافتن

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2025-04-04]

راهکاری مناسب برای تکثیر و احیای این گونه بسیار ارزشمند خواهد بود. این پژوهش با هدف شکستن خواب بذر و بهینه‌سازی شرایط کشت بافت گونه *M. peregrina* اجرا شد. نتایج این پژوهش می‌تواند در تکثیر انبوه این گونه به صورت درون شیشه‌ای، تولید متابولیت‌های ثانویه ارزشمند گیاهی با رویکرد کشت بافت، اندام یا القای ریشه مویین، و نیز ایجاد زیرساخت سلولی با هدف حفظ ذخایر ژنتیکی در شرایط فراسرد مورد استفاده قرار گیرد.

الف ب



شکل ۱- الف: پراکندگی جغرافیایی رویشگاه‌های اصلی *M. peregrina* در جنوب ایران (Keneshloo. 2015)، ب: تصویر درخت بالغ *M. peregrina* (تصویر از پژوهشگران)

مواد و روش‌ها

بذر مورینگا از درختان بالغ منطقه فنوج استان سیستان و بلوچستان جمع‌آوری شد. بذرهای جمع‌آوری شده در آزمایشگاه با آب مقطر شسته و سپس در محلول هیپوکلریت سدیم ۱ درصد به مدت ۱۰ دقیقه خیسانده شدند تا سطح بذرها استریل شود. پس از آن، دانه‌ها با آب مقطر شسته شده و روی یک کاغذی صافی خشک و روی محیط کشت پایه MS کشت شدند. همچنین در روش دوم، دانه‌ها با سوراخ کردن پوسته دانه با چاقوی جراحی یا کاغذ سنباده برای شکستن خواب بذر، پوسته پوسته شدند.

بذرهای خراشیده شده روی یک حوله کاغذی مرطوب در پتری‌دیش قرار داده و در دمای ۲۵ درجه سلسیوس در تاریکی انکوبه شدند. دستمال کاغذی با اضافه کردن آب مقطر در صورت نیاز مرطوب نگه داشته شد. سرعت جوانه‌زنی پس از ۷ روز ثبت شد.

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2025-04-04]

قسمت هوایی گیاهچه های رشد کرده در گلدان، با آب مقطر شسته و سپس با اتانول ۷۰ درصد به مدت ۳۰ ثانیه و پس از آن محلول هیپوکلریت سدیم ۱ درصد (شرکت گلرنگ) به مدت ۱۰ دقیقه استریل شدند. پس از آن، نمونه‌ها ۳ بار با آب مقطر استریل شسته شده و روی یک کاغذ واتمن استریل خشک شدند. نمونه‌های استریل شده با استفاده از چاقوی جراحی استریل به قطعات کوچک حاوی یک گره و بدون گره (میانگره) به اندازه‌های ۰/۵ تا ۱/۰ سانتی‌متری بریده شدند و در پتری دیش استریل حاوی محیط کشت پایه MS حاوی ویتامین‌ها همراه با ۰/۸ درصد آگار و ۳ درصد ساکارز قرار داده شدند.

ریزنمونه‌های حاوی گره با تیمارهای شاخساره‌زایی تلقیح شدند و ریزنمونه‌های بدون گره برای کالوس‌زایی و سپس باززایی غیرمستقیم از کالوس استفاده شدند. از شیشه‌های مربایی برای شاخساره‌زایی و از ظروف پتری‌دیش برای کالوس‌زایی و باززایی استفاده شد. پس از کشت، ظروف با پارافیلم بسته شدند و در انکوباتور با دمای ۱±۲۴ درجه سلسیوس و دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی ۸ ساعت تاریکی قرار داده شدند. در نمونه‌های مربوط به تکثیر مستقیم، تعداد و طول شاخساره پس از دو هفته یادداشت برداری شد. درصد کالوس‌زایی ۲ هفته پس از تلقیح در محیط مربوط و درصد باززایی و تعداد شاخه باززا شده پس از ۴ هفته، یادداشت شد. نمونه‌های کشت شده در محیط باززایی هر هفته یکبار در محیط مشابه واکشت شدند.

گیاهچه‌های تکثیر شده از تیمارهای شاخساره‌زایی، جهت ریشه‌زایی به محیط کشت MS و 1/2MS حاوی ۰/۸ درصد آگار، ۳ درصد ساکارز و ترکیب دو تنظیم‌کننده رشدی IBA و NAA منتقل شدند. گیاهچه‌ها پس از ریشه‌زایی، به خاک استریل منتقل شدند و فرآیند سازگارسازی انجام شد.

نتایج و بحث

جوانه‌زنی

جوانه‌زنی درون شیشه‌ای بذور استریل شده روی محیط کشت پایه MS حاوی ویتامین‌ها موفقیت‌آمیز نبود. از این رو برای جوانه‌دار کردن بذور این گونه، بر اساس روش کنشلو و همکاران (۲۰۱۵) عمل شد. در این روش پس از خراش دادن پوسته بذور و تیمار خیساندن آنها به مدت ۴۸ ساعت، بذور بین دو کاغذ صافی در پتری‌دیش قرار داده شد و پس از مرطوب کردن کاغذ صافی در دمای ۲۵ درجه سلسیوس انکوبه گردید. پس از

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2025-04-04]

گذشت ۳ الی ۴ روز جوانه‌زنی بذور آغاز شد و در کمتر از یک هفته، بیش از ۹۵ درصد بذور جوانه زدند.

پرآوری

نتایج تجزیه واریانس نشان داد نوع محیط کشت و نیز تیمارهای تنظیم‌کننده رشدی بر تعداد و طول شاخه‌های پرآوری شده در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار بود (جدول ۱). بیشترین درصد شاخه‌زایی (۸۰ درصد) در تیمار ۱/۰ میلی‌گرم بر لیتر BAP و ۰/۱ میلی‌گرم بر لیتر NAA و بیشترین تعداد شاخه به دست آمده با میانگین ۷/۵ شاخه در گره در تیمار ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر BAP و ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر NAA تولید شد (شکل ۳ الف). همچنین نتایج نشان داد در غلظت مشابه، تنظیم کننده رشدی BAP اثر بهتری نسبت به TDZ داشت. افزایش غلظت TDZ باعث کاهش معنی‌دار در درصد شاخساره‌زایی نمونه‌ها شد. در پژوهش Saini و همکاران (۲۰۱۲) روی *M. oleifera* نیز اثر BA بر تولید شاخساره بهتر از triacontanol ارزیابی شد.

در بررسی دیگری افزودن ۱/۰ میلی‌گرم در لیتر BA به محیط کشت MS باعث تولید ۶/۵ شاخه به ازای هر ریزنمونه شد و درصد تولید شاخساره به ۱۰۰ درصد افزایش یافت. به نظر می‌رسد BA سیتوکینین مناسبی برای القای تکثیر اندام هوایی در *M. oleifera* باشد و اثر مشابهی در *M. peregrina* داشته باشد (Al Khateeb et al. 2013). نتایج مطالعات Ridzuan و همکاران (۲۰۲۰) روی *M. oleifera* نیز نشان داد که میانگین تعداد شاخساره در هر ریزنمونه در غلظت‌های ۰/۵ و ۱/۰ میلی‌گرم در لیتر BAP به ترتیب به ۳/۱ و ۳/۵ شاخه بود. در مقابل، همه ریزنمونه‌ها روی محیط کشت‌های حاوی TDZ کالوس تولید کردند.

جدول ۱- - اثر تنظیم‌کننده‌های رشد بر شاخساره‌زایی مستقیم گیاه *M. peregrina*

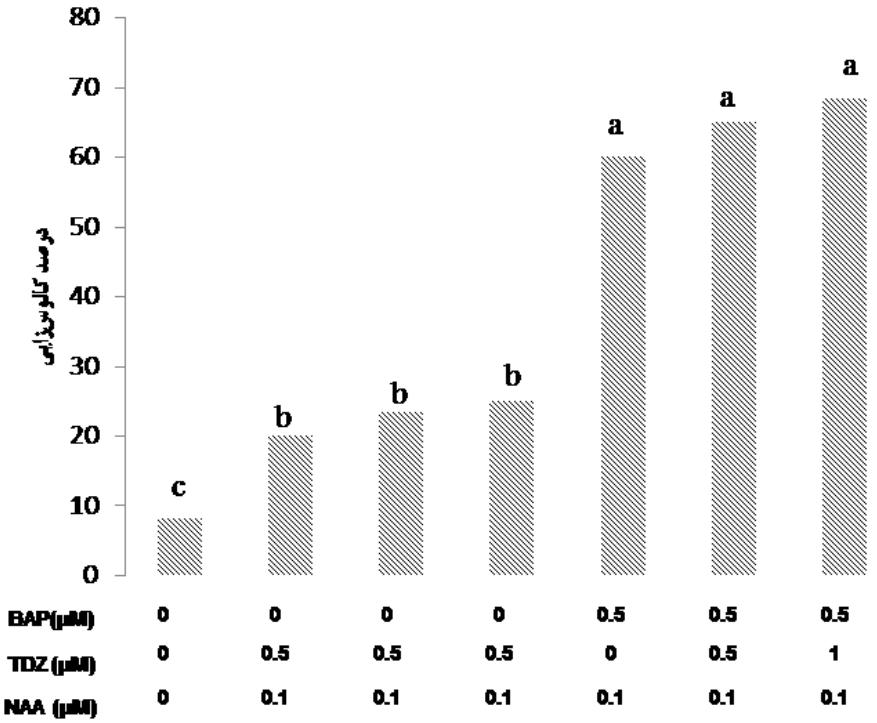
BAP (mg/l)	TDZ (mg/l)	NAA (mg/l)	Percentage of response		No. of shoots per node		Shoot length (cm)*	
0	0	0	48.3±1.53	cd	1.3±0.35	c	2.5±0.34	d
0.1	0	0.1	43.6±2.52	d	3.5±0.18	b	3.7±0.62	c
0.5	0	0.1	61.6±4.16	b	7.5±0.32	a	5.5±0.11	a
1.0	0	0.1	80.0±7.21	a	6.7±0.53	a	5.1±0.11	ab
0	0.1	0.1	55.0±3.46	bc	3.3±0.89	b	4.4±0.31	bc
0	0.5	0.1	44.0±3.46	d	3±0.72	b	4.2±0.61	bc
0	1.0	0.1	45.0±2.00	d	3.1±1.17	b	4.3±1.00	bc

در صفات مورد بررسی میانگین‌ها با حروف مشابه، بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵٪ دارای اختلاف معنی‌دار نیست.

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2025-04-04]

کالوس‌زایی و اندام‌زایی غیرمستقیم

نتایج نشان داد اثر تیمارهای کالوس‌زایی در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود. بیشترین میزان کالوس‌زایی در تیمار تنظیم‌کننده رشدی ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر 2,4-D و فارغ از تاثیر NAA به دست آمد (شکل ۲). تیمار حاوی ۰/۲ میلی‌گرم در لیتر 2,4-D نیز بدون در نظر گرفتن NAA قادر به القای کالوس بود ولی به نظر می‌رسد غلظت کم این اکسین باعث شد تعداد کالوس‌های تولید شده کمتر از تیمار قبلی باشد. در برخی از نمونه‌های کشت شده در محیط بدون تنظیم‌کننده رشدی (شاهد) نیز تعداد اندکی (حدود ۹ درصد) کالوس‌زایی مشاهده شد، هرچند اندازه کالوس تشکیل شده کوچک بود و از ادامه رشد بازماند، اما این پدیده می‌تواند ناشی از هورمون‌های داخلی گیاه باشد. در یک مطالعه Hesami و Daneshvar (۲۰۱۸) برای القای کالوس‌زایی در گیاه چوبی فیکوس از ۳ تنظیم‌کننده رشدی اکسین به‌طور جداگانه در ترکیب با یک سیتوکینین استفاده کردند. نتایج این محققین نشان داد ترکیب ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر 2,4-D و ۰/۰۵ میلی‌گرم در لیتر BAP یا ترکیب ۱/۵ میلی‌گرم NAA و ۰/۱۵ میلی‌گرم در لیتر BAP به خوبی قادر به القای کالوس‌زایی در این گیاه چوبی بود.



شکل ۲- اثر تنظیم‌کننده‌های رشد بر کالوس‌زایی *M. peregrina*. در هر نمودار، ستون‌های با حروف مشابه، بر اساس آزمون مقایسه میانگین دانکن در سطح احتمال خطای ۵٪ تفاوت معنی‌داری با هم ندارند.

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2025-04-04]

اثر تیمارهای باززایی بر شاخص‌های درصد باززایی و طول شاخساره تشکیل شده، در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار بود (جدول ۲). نتایج نشان داد تعدادی از تیمارها برای القای باززایی در کالوس‌های گیاه گز روغنی نامناسب بودند و هیچ باززایی در این محیط‌ها مشاهده نشد. بیشترین میزان باززایی (۱۴ درصد) در تیمار حاوی ۳/۰ میلی‌گرم در لیتر BAP، ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر TDZ و ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر NAA مشاهده شد (شکل ۳ ب).

در مطالعه Avila-Trevino و همکاران (۲۰۱۷) استفاده از ترکیب تنظیم‌کننده‌های رشدی ۱/۰ میلی‌گرم در لیتر BAP و ۰/۲ میلی‌گرم در لیتر IAA منجر به بیشترین میانگین شاخساره باززا شده (۱/۹ شاخساره)، بیشترین تعداد جوانه در هر نمونه (۱۴ جوانه) و بیشترین طول شاخساره (۳/۵ سانتی‌متر) در گیاه *M. oleifera* شد.

در پژوهش Mathur و همکاران (۲۰۱۴) نیز از ترکیبات متعدد تنظیم‌کننده‌های رشدی برای القای شاخساره‌زایی در گیاه *M. oleifera* استفاده شد و ترکیب ۲/۰ میلی‌گرم در لیتر BAP و ۰/۲ میلی‌گرم در لیتر kin در محیط کشت پایه MS به عنوان بهترین ترکیب برای القای رشد شاخساره از کالوس معرفی شد.

جدول ۲- اثر تنظیم‌کننده‌های رشد بر باززایی غیرمستقیم شاخساره در گیاه *M. peregrina*

BAP (mg/l)	TDZ (mg/l)	NAA (mg/l)	Percentage of response		No. of shoots per shoot	
0	0	0	0	c	0	c
0.1	0.5	0.1	0	c	0	c
0.1	1.0	0.1	0	c	0	c
0.5	0.5	0.1	0	c	0	c
0.5	1.0	0.1	0	c	0	c
1.0	0.5	0.1	1.67±1.53	c	1±1.00	ab
1.0	1.0	0.1	6.67±11.55	b	1.33±0.58	ab
3.0	0.5	0.1	14.00±5.29	a	1.67±0.58	a
3.0	1.0	0.1	1.33±1.15	c	0.67±0.58	bc

در صفات مورد بررسی میانگین‌ها با حروف مشابه، بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵٪ دارای اختلاف معنی‌دار نیست.

ریشه‌زایی و سازگاری

برای آزمایش ریشه‌زایی، شاخه‌های به‌دست‌آمده از آزمایش تکثیر شاخساره، بر روی محیط کشت MS بدون هورمون (شاهد) و همچنین حاوی ترکیب سطوح مختلف (۰/۵، ۱/۰ و ۱/۵ میلی‌گرم در لیتر) از دو تنظیم‌کننده رشدی NAA یا IBA کشت شدند. همه ریزشاخه‌های تلقیح‌شده، از جمله نمونه‌هایی که روی محیط شاهد کشت شده بودند ریشه ایجاد کردند. اما تعداد ریشه و سرعت القای ریشه، در تیمارهای مختلف متفاوت بود.

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2025-04-04]

افزودن ۰/۵ یا ۱/۰ میلی‌گرم در لیتر IBA به محیط کشت به‌طور قابل توجهی بر تعداد ریشه و طول ریشه تأثیر گذاشت. در مقابل، تنها بالاترین غلظت NAA (۱/۵ میلی‌گرم در لیتر) به‌طور قابل توجهی تعداد ریشه‌ها را افزایش داد. اما بر طول ریشه نسبت به شاهد کاهش تاثیری معنی‌داری نداشت (جدول ۳).

بیشترین میانگین تعداد ریشه (۴/۴ ریشه) روی شاخه‌ی تیمار شده در محیط کشت MS حاوی ۱/۰ میلی‌گرم در لیتر IBA مشاهده شد. از سوی دیگر، حداکثر طول ریشه روی شاخه‌های تیمار شده در محیط کشت حاوی ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر IBA مشاهده شد. داده‌ها نشان داد که استفاده از سطوح پایین‌تر اکسین (اعم از NAA یا IBA) به‌طور قابل توجهی بهتر از سطوح بالاتر برای ازدیاد طول ریشه است. علاوه بر این، پس از مشخص شدن سطح بهینه عامل تنظیم‌کننده رشدی، اثر دو غلظت محیط کشت (MS و 1/2MS) بر ازدیاد طول ریشه و تعداد ریشه‌ها آزمایش بررسی شد. نتایج این آزمایش نشان داد که محیط MS کامل بر 1/2MS برتری داشت.

Saini و همکاران (۲۰۱۲) در مطالعه خود برای ریشه‌دار کردن گیاهچه‌های *M. oleifera* از ترکیب دو تنظیم‌کننده رشدی IAA و IBA (به ترتیب ۰/۵ و ۱/۰ میلی‌گرم در لیتر) استفاده کردند و پس از ۷ روز به تعداد ۱۵ ریشه در هر شاخساره دست یافتند. آن‌ها اعلام کردند کاربرد فقط یکی از این عوامل حتی در غلظت برابر، اثر کمتری داشت و از بین این دو عامل نیز IAA ضعیف‌تر از IBA عمل کرد (Saini et al. 2012). در تحقیقی دیگر، Ridzuan و همکاران (۲۰۲۰) با افزودن ۱/۰ میلی‌گرم در لیتر IBA به بیشترین درصد ریشه‌زایی در گیاه *M. oleifera* دست یافتند و اعلام کردند بیشترین طول ریشه با ۲/۲ سانتی‌متر طول در تیمار بدون تنظیم‌کننده رشدی به دست آمد.

جدول ۳- اثر تنظیم‌کننده‌های رشد بر ریشه‌زایی گیاه *M. peregrina*

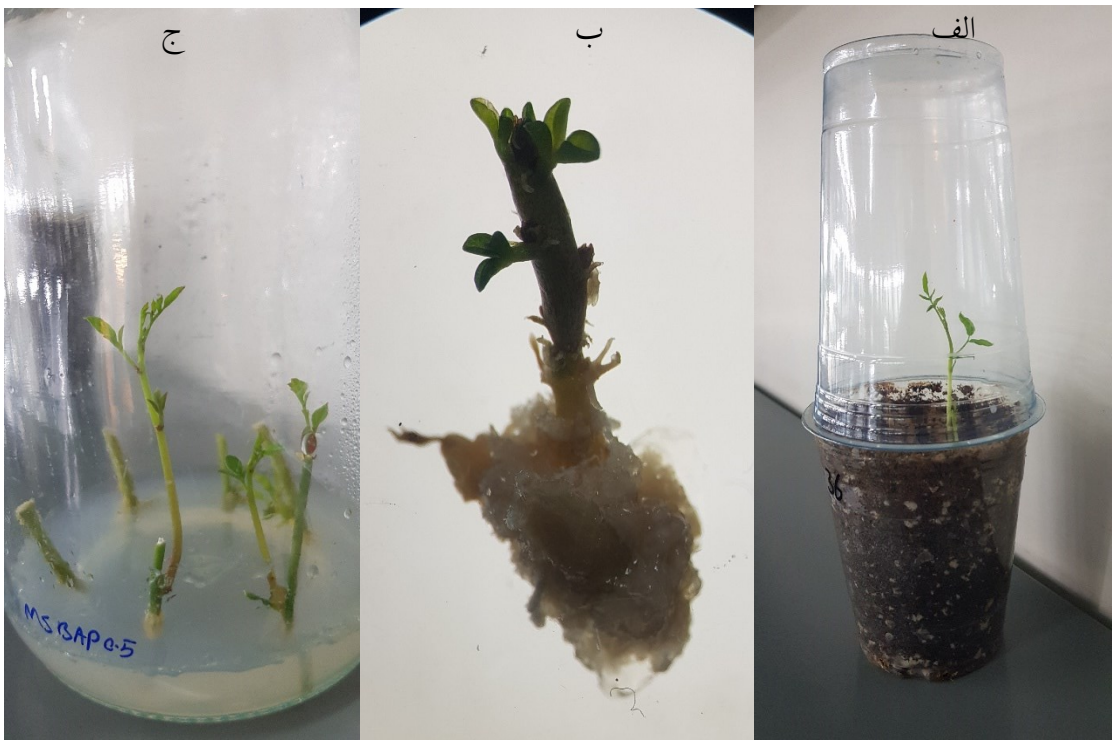
IBA (mg/l)	NAA (mg/l)	Percentage of response		No. of roots		Shoot length (cm)	
0	0	42.33±1.52	de	3.33±0.57	g	2.87±0.60	g
0	1	47.66±4.16	d	6.33±0.87	cd	3.50±0.72	fg
0	2	36.00±3.46	ef	3.66±0.55	g	3.67±0.81	fg
0	3	34.00±3.46	ef	5.66±1.53	cdef	3.97±0.76	ef
1	0	33.00±3.60	f	4.33±0.57	efg	4.07±0.62	def
1	1	73.66±4.16	b	6.00±1.00	cde	4.3±0.46	def
1	2	90.00±10	a	12.66±1.15	a	4.9±0.61	cde
1	3	36.00±3.46	ef	6.66±1.52	c	5.07±0.49	cd
2	0	39.00±2.00	ef	4.00±1.00	fg	5.47±0.44	bc

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2025-04-04]

2	1	63.00±2.00	c	8.33±0.57	b	5.47±0.63	bc
2	2	39.33±6.66	def	4.66±0.57	defg	6.47±0.40	b
2	3	47.66±4.16	d	6.00±1.00	cde	8.97±0.80	a

در صفات مورد بررسی میانگین‌ها با حروف مشابه، بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵٪ دارای اختلاف معنی‌دار نیست.

برای سازگاری گیاهچه‌های ریشه‌دار شده، ۲۵ بوته با ریشه‌های توسعه یافته (از آزمایش ریشه‌زایی) پس از شستشوی کامل با آب مقطر استریل، به گلدان حاوی خاک استریل منتقل شدند. سازگار سازی گیاهچه‌ها با برداشتن تدریجی عایق روی آنها انجام شد و در نهایت نرخ بقای بالایی (۹۰ درصد) ثبت شد (شکل ۳ ج).



شکل ۳) الف. باززایی مستقیم گیاهچه از گره ساقه، ب. باززایی غیرمستقیم شاخساره از کالوس، ج. سازگارسازی گیاه باززا شده در شرایط اتاقک رشد، گیاه *M. peregrina*.

نتیجه‌گیری

استفاده از هیپوکلرید سدیم با یک درصد ماده موثره به مدت ۱۰ دقیقه برای کاهش میزان آلودگی بذرها کافی بود. جوانه‌زنی بذور استریل شده در محیط درون شیشه‌ای نتایج خوبی در بر نداشت. از این رو روش خیساندن بذر و شکستن پوسته‌ی آن که بدون تأثیر منفی بر توانایی جوانه‌زنی بذرها بود، استفاده شد. تکثیر *M. peregrina* یا گز روغنی را می‌توان از طریق باززایی غیرمستقیم در شرایط درون شیشه‌ای انجام داد و با استفاده از

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2025-04-04]

تنظیم‌کننده رشدی BAP می‌توان تولید شاخه‌های متعدد را القا کرد. هورمون BAP در غلظت‌های ۰/۵ تا ۱/۰ میلی‌گرم در لیتر باعث تولید حداکثر تعداد شاخه شد و این قابل مقایسه و انطباق با مطالعات قبلی صورت گرفته در سایر جنس‌های مورینگا است. برای القای کالوس‌زایی غلبه مقدار اکسین بر سیتوکینین در محیط کشت منجر به القای کالوس‌زایی شد. اما ترکیبات تنظیم‌کننده‌های رشدی استفاده شده در این پژوهش، برای القای بازایی شاخساره از کالوس‌ها، نتایج رضایت‌بخشی نداشت. برای بهبود بازایی غیر مستقیم گیاهچه از کالوس در این گونه گیاهی باید کارهای بیشتری انجام شود. با توجه به عدم وجود پژوهش‌های جامع در زمینه تکثیر مستقیم و غیرمستقیم این گیاه ارزشمند، نتایج به دست آمده از این پژوهش می‌تواند برای تکثیر سریع این گونه در معرض خطر به کار رود.

فهرست منابع

References

Abd Rani NZ, Husain K, Kumolosasi E. 2018. Moringa genus: a review of phytochemistry and pharmacology. Frontiers in Pharmacology. 9: 108. doi: 10.3389/fphar.2018.00108

Al Khateeb W, Bahar E, Lahham J, Schroeder D, Hussein E. 2013. Regeneration and assessment of genetic fidelity of the endangered tree *Moringa peregrina* (Forsk.) Fiori using Inter Simple Sequence Repeat (ISSR). Physiol Mol Biol Plants. 19(1): 157–164.

Asadicorom F, Mirzaei-Nodoushan H, Emam M, Bakhshi-Khaniki GR, Keneshloo H, Achak MU, 2010. Investigation of within and between pppulation variations in drumstick (*Moringa peregrina* (Forssk.) Fiori) in immature seed growth. Iranian Journal of Medicinal Aromatic Plants. 26(2): 168-184. (In Farsi with English abstract)

Avila-Trevino JA, Munoz-Aleman JM, Perez-Molphe-Balch E, Rodriguez-Sahagun A, Morales-Dominguez JF. 2017. In vitro propagation from bud and apex explants of *Moringa oleifera* and evaluation of the genetic stability with RAMP marker. South African Journal of Botany. 108: 149–156.

Gebauer J, Luedeling E, Hammer K, Nagieb M, Buerkert A. 2007. Mountain oases in northern Oman: an environment for evolution and in situ conservation of plant genetic resources. Genet Resour Crop Evol. 54: 465–481.

Hegazy AK, Hammouda O, Lovett-Doust J, Gomaa NH. 2008. Population dynamics of *Moringa peregrina* along altitudinal gradient in the northwestern sector of the Red Sea. Journal of Arid Environments. 72: 1537-1551.

Hesami M and Daneshvar MH. 2018. Indirect organogenesis through seedling-derived leaf segments of *Ficus religiosa* – a multipurpose woody medicinal plant. J. Crop Sci. Biotech. 21(2): 129-136.

Keneshloo H. 2015. Why *Moringa peregrina* (Forssk.) Fiori is distributed at South of Iran. Journal of Plant Research (Iranian Journal of Biology). 29(1): 180-190. (In Farsi with English abstract)

Keneshloo H, Achak MY, Damizadeh GR. 2015. A study on phenology of *Moringa peregrina* (Forssk.) Fiori. In the southeast of Iran. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants. 31(2): 235-247. (in Farsi with English abstract)

Mathur M, Yadav S, Katariya PK, Kamal R. 2014. In vitro propagation and biosynthesis of steroidal sapogenins from various morphogenetic stages of *Moringa oleifera* Lam., and their antioxidant potential. Acta Physiol Plant. 36: 1749–1762.

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2025-04-04]

Olson ME, Sankaran RP, Fahey JW, Grusak MA, Odee D, Nouman W. 2016. Leaf protein and mineral concentrations across the "Miracle Tree" genus Moringa. PloS one. 11(7): p.e0159782.
Ridzuan NI, Abdullah N, Vun YL, Supramaniam CV. 2020. Micropropagation and defence enzymes assessment of *Moringa oleifera* L. plantlets using nodal segments as explant. South African Journal of Botany. 129: 56-61.
Robiansyah I, Hajar AS, Al-kordy MA, Ramadan A. 2014. Current status of economically important plant *Moringa peregrina* (Forrsk.) Fiori in Saudi Arabia: a review. International Journal of Theoretical and Applied Sciences. 6: 79.
Saini RK, Shetty NP, Giridhar P, Ravishankar GA. 2012. Rapid in vitro regeneration method for *Moringa oleifera* and performance evaluation of field grown nutritionally enriched tissue cultured plants. 3 Biotech. 2: 187-192.
Senthilkumar A, Karuvantevida N, Rastrelli L, Kurup SS, Cheruth AJ. 2018. Traditional uses, pharmacological efficacy, and phytochemistry of *Moringa peregrina* (Forssk.) Fiori.-a review. Frontiers in Pharmacology. 9: 465.

Optimization of Proliferation, Callus Formation and Indirect Organogenesis of *Moringa peregrina*

Farzad Banaei-Asl[1*] and Hamed Salehian[2]

1- Assistant Professor, Biotechnology Research Department, Research Institute of Forests and Rangelands, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, Iran.

2- Researcher, Agricultural Biotechnology Research Institute of Iran (ABRII), Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Karaj, Alborz, Iran.

f.banaei@rifr-ac.ir

Abstract

Moringa peregrina, commonly known as Gazrokh, is one of the forest elements in the southern and southeastern regions of Iran. Due to its valuable nutritional and medicinal properties, this plant is considered highly valuable. The leaves, seeds, and roots of this plant contain vitamins, minerals, essential antioxidants, and various secondary metabolites. Despite its high economic, environmental, nutritional, and medicinal values, the propagation of this plant has faced challenges due to drought, habitat destruction, and consumption of its seeds as food and feed. Therefore, optimizing the tissue culture process is essential to facilitate and accelerate the proliferation of this plant. After collecting the seeds, they were cultivated under sterile conditions. The sterilized samples were cut into small pieces containing one nodule and no nodule (internode) (0.5 to 0.1 cm), and the explants were used for callus formation and indirect regeneration of callus the traits were measured. A combination of two growth regulators, BAP (0.5 to 1.0 mg/L) and NAA (0.1 mg/L), in MS basal medium, resulted in the maximum branch production from stem nodes. A combination of 2,4-D, NAA, and kin at concentrations of 0.5, 0.2, and 0.1 mg/L respectively induced callus formation. A combination of BAP, TDZ, and NAA at concentrations of 3.0, 0.5, and 0.1 mg/L respectively led to indirect organogenesis. The findings of this study will be useful for researchers, environmental conservation organizations, and individuals interested in cultivating and propagating *M. peregrina* for its numerous benefits.

Keywords: Proliferation, *In vitro*, Tissue culture, Gazrokh, *Moringa*.

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2025-04-04]