تاریخ چاپ: تابستان ۱۳۹۰

تأثیر شرایط نوری و فاکتور pH در بهینه‌سازی کشت ریشه‌های گیاه گلرنگ[۱]

ژیلا قلی‌زاده، فرانسواز برنارد: دانشگاه شهید بهشتی، دانشکده علوم زیستی

چکیده

هدف از انجام این بررسی و تحقیق تعیین شرایط بهینه‌سازی کشت ریشه گیاه گلرنگ به‌منظور دست‌یابی به مقادیر بیش‌تر ریشه است که امکان دارد توانایی چشم‌گیری درتولید ترکیبات متابولیت ثانویه با کاربری‌های مختلف داشته باشند. از آنجاکه گلرنگ گیاهی با فواید شناخته شده در زمینه‌های صنعتی، خوراکی و دارویست لذا بهینه‌سازی شرایط کشت ریشهٔ آن امری ضروری و حائز اهمیت به نظر می‌رسد. از جمله شرایطی که بدین منظور مورد تحقیق قرار گرفته شرایط نوری است که در این مقاله به صورت تیمار نور و تاریکی اعمال شده و در گام بعدی فاکتور pH بررسی شده است. در روش به‌کار گرفته شده ریشه‌های حاصل از ساقه‌های جوان بذرهای رشد کرده در محیط جامد MS[۲]، به محیط مایع انتقال داده شده و پس از ریشه‌زایی بیش‌تر و واکشت‌های مختلف تحت تیمار نور و تاریکی و فاکتور pH قرار گرفتند. پس از ۲۱ روز، وزن تر و خشک، مقادیر رنگدانه‌های فتوسنتزی (کلروفیل a، b، محتوی کل کلروفیل و کارتنویید) و مقادیر رنگدانه‌های مختص گیاه (رنگدانه قرمز در طول موج ۵۱۷ نانومتر، رنگدانه‌های زرد در طول موج‌های ۳۲۱ و ۴۰۳ نانومتر) در نمونه‌های تحت تیمار محاسبه شد. مهم‌ترین دستاورد پژوهش انجام شده دست‌یابی به مقادیر چشم‌گیری از رنگدانه‌های مختص گیاه گلرنگ و رنگیزه‌های فتوسنتزی در ریشهٔ این گیاه است که پیش‌تر تنها در اندام‌های هوایی و گل گزارش شده بود. علاوه بر آن نتایج به‌دست آمده حاکی از آن است که تیمار نور به نسبت تاریکی تأثیر بهینه‌تری در خصوص میانگین رشد، تولید ترکیبات مهم فتوسنتزی و رنگدانه‌های مختص گیاه داشته است و در مورد تیمار دوم یعنی فاکتورpH گیاه گلرنگ نسبت به تمامی گستره‌های مورد استفاده در راستای افزایش رشد و تولید ترکیبات سازگار بوده است.

مقدمه

گیاه گلرنگ با نام علمی کارتاموس تینکتورس[۳] و نام رایج سافلور[۴] متعلق به خانواده کاسنیان[۵] و جزء لوله گل‌ها[۶] است که از ۴۰۰۰ سال قبل به دلیل استفاده از گلچه‌های آن در مصر کشت می‌شده است. بعدها با پی بردن به درصد بالای روغن آن، که از کیفیت مطلوبی برخوردار بود، کشت و کار آن برای استخراج روغن از دانه‌ها

واژه‌های کلیدی: کشت ریشه، نور و تاریکی، فاکتور pH، وزن تر و خشک، رنگدانه‌های گیاه، رنگیزه‌های فتوسنتزی

دریافت ۸۷/٤/۱۹ پذیرش۸۹/۵/۲۵

۱. *Carthamus tinctorius* L. ۲. Murashige & Skoog ۳. Safflower ۴. *Asteraceae*
۵. Tubuliflorae

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2026-11-07]

رواج یافت. این گیاه به‌طور طبیعی در نواحی مدیترانه، شمال شرقی آفریقا، جنوب غربی آسیا تا هند می‌روید [٤]، [١٣]. روغن دانه‌های این گیاه به دلیل فراوانی اسیدهای چرب ضروری غیراشباع و پایین بودن سطوح اسیدهای اشباع به نسبت سایر گیاهان مصارف خوراکی گسترده‌ای دارد. برگ‌ها و ساقه‌های آن می‌توانند به صورت خام یا پخته مورد استفاده قرارگرفته و به‌علت مزه و بوی مطبوع و شیرین جای‌گزین اسفناج گردند. رنگ زرد حاصل از گل‌ها نیز به‌عنوان جانشین زعفران به‌کار می‌رود. این گیاه خواص دارویی قابل توجهی دارد که شامل: کاهش بیماری‌های مربوط به انسداد شریان‌های قلب، کاهش سطح کلسترول، آنتی‌باکتریال، ضدالتهاب، درمان ورم‌های دهان و لثه، محلل، محرک سلسله اعصاب و...است. شایان ذکر است که از رنگ‌دانه‌های طبیعی (زرد و قرمز) این گیاه در صنعت استفاده زیادی می‌شود [٢٢]، [٣٤]، [٤١]. گلرنگ تقریباً در ۶۰ کشور جهان کشت می‌شود و سطح زیر کشت آن در دنیا در سال ۲۰۰۵ برابر با یک میلیون و سیزده هزار هکتار بوده است [١٧]. ایران نیز یکی از مراکز کشت گلرنگ در دنیای قدیم بوده و عمدتاً به‌عنوان منبع تأمین رنگ در قالی بافی و صنعت پارچه در اغلب نقاط مخصوصاً خراسان آذربایجان، زنجان و اصفهان کشت می‌شده است [٢]. امروزه گیاهان برای تولید بسیاری ازترکیبات متابولیت ثانویه که ساخت آن‌ها از طریق سنتزهای شیمیایی بسیار مشکل و پرهزینه است به کار می‌روند. کشت‌های قراردادی و مرسوم گیاهان نیز تحت تأثیر شرایط متفاوتی مانند شرایط آب و هوایی، آفت‌ها و در دسترس بودن زمین برای کشاورزی است. بنا بر این تمایل به کشت‌های بسیارکنترل شده سلول و بافت و اندام‌های گیاهی به‌عنوان روشی برای تولید ترکیبات مورد نیاز مختلف مدنظر قرارگرفته است [٣٣]. کشت‌های سلول، بافت و اندام گیاهی به‌عنوان منبعی برای تولید ترکیبات معطر، سوخت‌های زیستی، پلاستیک، حفاظت کننده، آرایشی، رنگ‌دانه‌های طبیعی و ترکیبات زیستی فعال هستند. گروه‌های اصلی متابولیت ثانویه شامل ترپن‌ها، فنول‌ها و ترکیبات ازت‌دار هستند [٣٧]. گلبرگ‌های گلرنگ تولید پیگمان‌های زرد و قرمز می‌کند. پیگمان قرمز کارتامین نام دارد و پیگمان زرد شامل: پیش‌ساز کارتامین پرکارتامین[١]، سافلومین A[٢]، سافلور زرد B[٣]، هیدروکسی‌سافلور A[٤] است که به کارتامیدین نیز مشهورند . همه این ترکیبات ساختار-S *C*-β-D-گلوکوپیرانوزیل کوئینوشالکون دارند [٣٨]. تا به حال کشت بافت گیاه گلرنگ توسط محققان زیادی صورت گرفته و اغلب از نظر استرس محیطی و مواد مورد نیاز مغذی مورد بررسی بوده است [٧]، [٢٧]. پژوهش‌هایی نیز در خصوص کشت سلول و کالوس گلرنگ به منظور تولید رنگ‌دانه‌های قرمز و زرد انجام شده است [١٨]، [١٩]، [٢٠]، [٤٠]. در این مقاله به منظور دست‌یابی به شرایط بهینه کشت ریشه گیاه گلرنگ و تولید ترکیبات مهم متابولیت ثانویه آن ریشه‌های حاصل ازساقه‌های جوان بذرهای رشد کرده در محیط جامد MS[٥] به محیط مایع فاقد هورمون (که از دیگر مزیت‌های قابل ذکر این نوع کشت است) انتقال یافته و پس از رشد و ریشه‌زایی ببیش‌تر در این محیط ، مورد تیمارهای نور

١. Precarthamin ٢. SafflominA ٣. Safflower yellowB ٤. HydroxysafflorA
٥. Murashige&Skoog

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2026-11-07]

و تاریکی و فاکتور pH قرار گرفتند، تا شرایط مختلف موجود در زمینه افزایش میزان وزن تر و خشک و تولید بیش‌تر ترکیبات مهمی چون رنگدادنه‌های فتوسنتزی (کلروفیل a، کلروفیل b و کارتنوییدها) و رنگدانه‌های غیرفتوسنتزی مختص گیاه مانند کارتامین (رنگدانه زرد در طول موج ۵۱۷ نانومتر)، هیدروکسی‌سافلور A (رنگدانه زرد در طول موج ۳۲۱ نانومتر)، سافلور زرد B (رنگدانه زرد در طول موج ۴۰۳ نانومتر) بررسی شود. داده‌های حاصل از آنالیزهای مختلف انجام گرفته در این خصوص جمع‌آوری شده و تحت آنالیزهای آماری قرارگرفتند که نتایج به‌دست آمده به تفضیل مورد بحث و بررسی قرار خواهند گرفت.

مواد و روش‌ها

کشت بافت

این مرحله شامل ۵ بخش تهیه بذر گیاه، استریل کردن، کشت بذرها، انتقال قطعات جداکشت به محیط جامد و انتقال ریشه‌های حاصل از آن‌ها به محیط مایع است. بذر گیاه گلرنگ (رقم بهاره اصفهان) از موسسه اصلاح و تهیه نهال و بذر وزارت جهاد کشاورزی تهیه و برای تحقیق استفادهٔ شد. برای استریل کردن بذرها از ظروفی که با دمای ۱۱۵ درجهٔ سانتی‌گراد به مدت ۳۰ دقیقه اتوکلاو شدند، استفاده شد. ابتدا بذرها با کلرید جیوه ($HgCl_2$) ۰/۱ درصد به مدت ۱۰- ۸ دقیقه ضدعفونی شدند، سپس با آب مقطر استریل ۳ بار شست‌شو گردیدند و برای کشت آماده شدند [۲۷]. بذرهای استریل شده در محیط کشت MS [۲۸] جامد حاوی $30 g.l^{-1}$ ساکاروز و آگار ۰/۸ درصد به تعداد ۵ عدد با فاصله از یک‌دیگر کشت گردیدند و بعد از بستن درب شیشه‌ها با سلفون در اتاق کشت تحت شرایط نوری ۱۶ ساعت روشنائی و ۸ ساعت تاریکی، شدت نوری ۱۵۰۰ لوکس و دمای ۲± ۲۵ درجهٔ سانتی‌گراد به مدت ۱۰ روز نگه‌داری شدند. از ساقه‌های جوان ایجاد شده به‌عنوان منبع جداکشت استفاده شد. در گام بعدی ساقه‌های جوان به‌منظور تولید ریشه به محیط جامد با خصوصیات مشابه ذکر شده انتقال یافتند و پس از ۳ هفته ریشه‌های حاصل از آن‌ها در محیط مایع MS و بدون هورمون قرار گرفتند. ریشه‌ها در این محیط شروع به ایجاد انشعابات متعدد و ریشه‌زایی بیش‌تر کردند و پس از واکشت‌های انجام شده تحت تیمارهای نور و تاریکی و فاکتور pH واقع شدند.

تیمارهای اعمال شده

به‌منظور بررسی تأثیر شرایط مختلف برروی بهینه‌سازی کشت ریشه گیاه گلرنگ برای دست‌یابی به مقادیر بیش‌تر متابولیت ثانویه از جمله رنگدانه‌های گیاه که شامل کارتامین (رنگدانه قرمز در طول موج ۵۱۷ نانومتر)، هیدروکسی‌سافلورA (رنگدانه زرد در طول موج ۳۲۱ نانومتر)، سافلور زردB (رنگدانه زرد در طول موج ۴۰۳ نانومتر) هستند و همچنین مقادیر کلروفیل‌های گیاهی و کارتنوییدها، ریشه‌های به‌دست آمده تحت تأثیر تیمار نور و تاریکی و pH واقع شدند. تعداد تکرار در خصوص هر دو تیمار ۴ بار بوده است.

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2026-11-07]

۱. تیمار نور و تاریکی: در این تیمار ریشه‌ها با وزن اولیه ۰/۵ گرم در شیشه‌هایی که حاوی مقدارمشابه 4cc محیط مایع MS بودند، قرارگرفتند که گروهی ازشیشه‌ها در مجاورت نور با فتوپریود ۱۶ ساعت روشنایی و با شدت نوری ۲۳۰۰ لوکس واقع شده و گروهی دیگربه طورکامل با فویل پوشیده شده بودند.

۲. تیمار pH: در این تیمار از۷ گستره pH که شامل ۳ گسترهٔ اسیدی (۳/۵، ۴ ، ۴/۵)، ۳ گسترهٔ بازی (۶/۵، ۷/۵ ، ۸/۵) و pH خنثی(۵/۷) بود استفاده شد. ریشه‌ها با وزن اولیه۰/۵ گرم درشیشه‌هایی با مقدار مشابه 4cc محیط مایع MS که pH آن‌ها پیش از اتوکلاو تنظیم شده بود، قرار گرفتند. شایان ذکر است که با تغییر مقادیر pH رسوب محیط دیده نشد. پس از سه هفته داده‌های به‌دست آمده از تیمارهای اعمال شده مورد بحث و بررسی واقع شدند.

بررسی‌های بیوشیمیایی

۱. اندازه‌گیری وزن تر و خشک: ریشه‌های موجود در هر شیشه به دقت با ترازو وزن شده ابتدا وزن تر آن‌ها محاسبه شد و سپس با ترازوی خشک‌کن سارتوریس[۱] مدلMA40 وزن خشک آن‌ها نیز محاسبه شد.

۲. اندازه‌گیری میزان رنگدانه‌ها (کارتامین، سافلورزرد B، هیدروکسی‌سافلورA: استانداردهای کارتامین، سافلورزرد B، هیدروکسی‌سافلور A برای آنالیز اسپکتروفتومتری از شرکت انیستیتو رنگدانه سافلور تیانجین چین[۲] خریداری شد [۳۵].

۲-۱. روش استخراج: رنگدانه‌ها در حلال متانول استخراج شدند. ۰/۱ گرم از ریشه مربوط به هر تیمار در لوله اپندروف ریخته شده و ۲ میلی‌لیتر متانول به آن اضافه شد و با دستگاه هموژنیزاتور مدل PT1200C به مدت۵ دقیقه در دورهای 2x و 3x بر روی یخ هموژن شدند.

۲-۲. روش سنجش: عصاره‌های حاصل به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۴ درجهٔ سانتی‌گراد نگه‌داری شدند و سپس با دور rpm ۱۰۰۰۰ به مدت ۲۰ دقیقه سانتریفیوژ گردیدند. روشناور حاصل به دقت جدا شده و بر اساس نوع رنگدانه جذب آن در طول موج خاص خوانده شد و در نهایت غلظت آن‌ها با توجه به منحنی استاندارد به‌دست آمد (منحنی استاندارد از طریق تهیه محلول‌هایی با غلظت‌های ۵، ۵۰، ۷۵، ۱۰۰، ۱۲۵، ۱۵۰ میلی‌گرم بر لیتر از استانداردهای خریداری شده از شرکت شرکت انیستیتو رنگدانه سافلور تیانجین چین در متانول و محاسبه جذب محلول‌ها در طول موج‌های مربوط به هر رنگدانه، حاصل شد). جذب رنگدانه کارتأمین در طول موج nm ۵۱۷، سافلور زرد B در طول موج nm ۴۰۳ و رنگدانه هیدروکسی‌سافلور A در طول موج nm ۳۲۱ خوانده شد.

۱. Sartorius ۲. Safflower Pigment Institute of Tianjin,China

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2026-11-07]

۳. اندازه‌گیری میزان رنگدانه‌های فتوسنتزی (کلروفیل a، b، کل کلروفیل) و کارتنوییدها: اندازه‌گیری مقادیر رنگدانه‌های فتوسنتزی و کارتنوییدها با روش لی‌چتن‌تر[۱] [۲۶] انجام شد.

۳-۱. روش استخراج: برای استخراج رنگدانه‌های فتوسنتزی از حلال استون ۸۰% استفاده شد. ۰/۱ گرم از ریشه مربوط به هر تیمار در لوله اپندروف ریخته شده و ۲ میلی لیتر استون به آن افزوده و هموژن گردید.

۳-۲. روش سنجش: عصاره‌های به‌دست آمده به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۴ درجهٔ سانتی‌گراد نگه‌داری شده و سپس با دور rpm ۴۰۰۰ به‌مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شدند. از محلول رویی برای اندازه‌گیری میزان رنگدانه‌های فتوسنتزی استفاده شد. میزان جذب عصاره استخراج شده با دستگاه اسپکتروفتومتر شیمادز[۲] مدل uv-1601-pc در طول موج‌های ۶۶۳/۲، ۶۴۶/۸، ۴۷۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. مقادیر هریک از رنگیزه‌ها برحسب $mg.g^{-1}fw$ با استفاده از فرمول‌های زیر محاسبه شد.

$Chla = 12/25*A_{663/2} - 2/798*A_{646/8}$

$Chlb = 21/21*A_{646/8} - 5/01*A_{663/2}$

ChlT=Chla+Chlb (کاروتن+گزانتوفیل)=1000*A470–1/82*chla–85/02*

chlb/198

۴. آنالیزهای آماری: آزمایش‌های در قالب طرح‌های کاملا تصادفی (CRD) انجام شد. تعداد تکرارها صورت گرفته ۴ بار بود. برای مقایسه کلی نتایج حاصل، از آنالیز واریانس (ANOVA) و برای مقایسه دو به دو آن‌ها، از آزمون LSD استفاده شد.آنالیز آماری به کمک نرم افزارSPSS۱۶ و با اطمینان 95% صورت گرفت و نمودارها با استفاده از نرم افزار اکسل[۳] رسم شد.

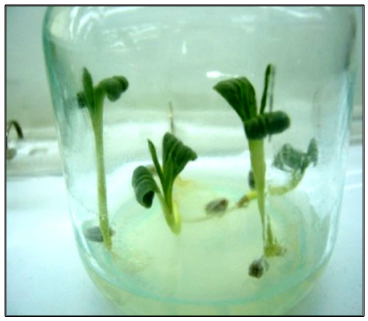
نتایج

دست‌یابی به کشت ریشه گیاه گلرنگ:

بذرهای گیاه گلرنگ که با کلرید جیوه ضد عفونی شدند، به مدت ۱۰روز درمحیط پایه MS قرار گرفتند. حدود ۹۰ درصد بذرها جوانه زدند. از ساقه‌های حاصل ازجوانه‌زنی بذر برای ریشه‌زایی استفاده شد. بدین گونه که ساقه‌ها در محیط MS جامد و بدون هورمون و در شرایط کنترل شده به مدت ۲ هفته واقع شدند (شکل‌های ۱ و ۲).

۱. Lichtenther ۲. Shimadzu ۳. Excel

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2026-11-07]



شکل۱. جوانه‌زنی بذرهای گیاه گلرنگ



شکل۲. ریشه‌زایی ساقه‌های حاصل از جوانه‌زنی

شرایط قابل توجه کشت ریشه: کشت ریشه گیاه گلرنگ در محیط مایع MS با حجم بسیار کم ml ۴ و شرایط کاملاً ثابت و پایا[۱] و بدون استفاده از دستگاه‌های شیکر و همچنین بدون هیچگونه هورمونی صورت گرفت .

بررسی تیمارهای مؤثر بر وزن تر و خشک ریشه‌های گیاه گلرنگ

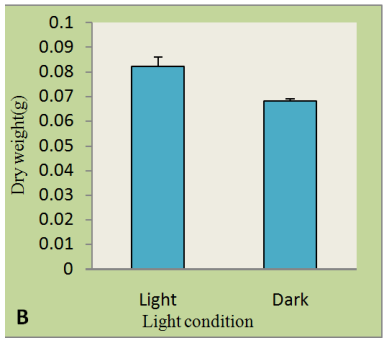
۱. اثر شرایط نور و تاریکی بر وزن تر و خشک ریشه‌ها : نتایج به‌دست آمده در خصوص آنالیز وزن تر و خشک ریشه‌ها تحت تأثیر تیمار نور (۲۳۰۰Lux و فتوپریود ۱۶ساعت روشنایی) و تاریکی بعد از ۲۱ روز در جدول ۱ آمده است.

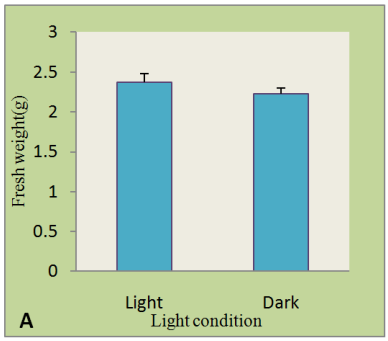
جدول۱. نتایج حاصل از تیمار نور و تاریکی بر رشد ریشه‌های گیاه گلرنگ پس از ۲۱ روز

Treatment	N	Fw(g) mean ± SE	Dw(g) mean ± SE
نور (2300Lux و فتوپریود ۱۶ساعت روشنایی)	۴	۲.۳۷ ± ۰.۱۱	۰.۰۸۱ ± ۰.۰۰۴
تاریکی (به طور کامل با فویل پوشیده)	۴	۲.۲۳ ± ۰.۰۷	۰.۰۶۸ ± ۰.۰۰۱

variable	ANOVA				
Dry Weight	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	۰.۰۰۰	۱	۰.۰۰۰	۸.۷۹۳	۰.۰۲۵
Within Groups	۰.۰۰۰	٦	۰.۰۰۰		
Total	۰.۰۰۱	۷			

variable	ANOVA				
Fresh Weight	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	۰.۰۴۴	۱	۰.۰۴۴	۱.۱۴۲	۰.۳۲٦
Within Groups	۰.۲۲۹	٦	۰.۰۳۸		
Total	۰.۲۷۲	۷			



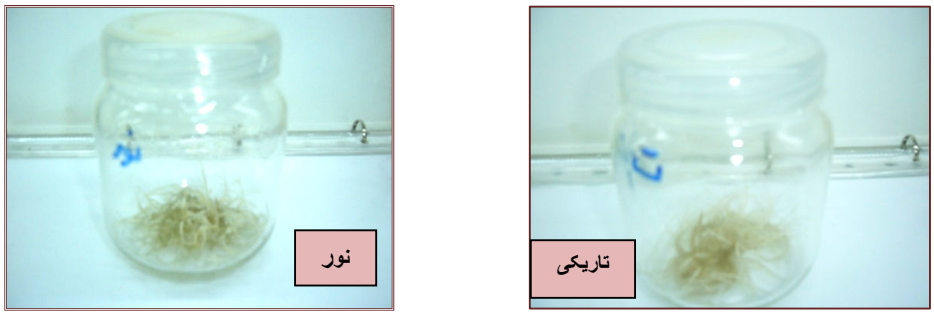


نمودار۱.A) تأثیر تیمار نور و تاریکی بر وزن تر ریشه‌ها. هر تیمار ٤ بار تکرار شده و اختلاف موجود بین تیمارها با توجه به جدول آنالیز واریانس ارائه شده معنی‌دار نیست (p>۰.۰۵)

B) تأثیر تیمار نور و تاریکی بر وزن خشک ریشه‌ها. هر تیمار ۴ بار تکرار شده و اختلاف موجود بین تیمارها با توجه به جدول آنالیز واریانس ارائه شده معنی‌دار است (p>۰.۰۵)

۱. Static

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2026-11-07]



شکل ۳. رشد ریشه در تیمار نور و تاریکی پس از ۲۱ روز شرایط نوری(Lux ۲۳۰۰ و فتوپریود ۱۶ساعت روشنایی) و تاریکی (ظروف کشت به طور کامل با فویل پوشیده) است

چنان‌چه مشاهده می‌شود بیش‌ترین میزان رشد و نیز وزن تر و خشک ریشه‌های گیاه گلرنگ مربوط به شرایط نوری بوده است. که میانگین وزن تری معادل ۲.۳۷ گرم و میانگین وزن خشکی معادل ۰.۰۸۱ گرم را حاصل کرده است درحالی‌که در شرایط تاریکی میانگین وزن تر و خشک به ترتیب ۲.۲۳ و ۰.۰۶ گرم است و به لحاظ آماری اختلاف میانگین موجود در وزن خشک نمونه‌های واقع در شرایط نوری معنی‌داراست ($p>0.05$). درنتیجه شرایط نوری منجر به افزایش بیومس محصول شده و شرایط بهتری را ارائه می‌دهد.

۲. اثر فاکتور pH بر وزن تر و خشک ریشه: برای تعیین تأثیر فاکتورpH بر مقدار رشد ریشه از۷ گستره pH که شامل ۳ گسترهٔ اسیدی (۳.۵، ۴، ۴.۵) ۳ گسترهٔ بازی (۶.۵، ۷.۵، ۸.۵) و pH خنثی (۵.۷) بود استفاده شد. تعداد تکرار در هر گستره ۴ بار بوده است. نتایج حاصل ازآنالیز وزن تر و خشک ریشه در مقادیر مختلف pH در جدول ۲ آمده است.

جدول ۲. تأثیر تیمارpH بر رشد ریشه‌های گیاه گلرنگ پس از۲۱ روز

Treatment	N	Fw(g) mean ± SE	Dw(g) mean ± SE
۳/۵	۴	۲.۱۴ ± ۰.۰۹	۰.۰۷۵ ± ۰.۰۰۲
۴	۴	۲.۱۶ ± ۰.۰۶	۰.۰۷۵۲ ± ۰.۰۰۳
۴/۵	۴	۲.۱۷ ± ۰.۲	۰.۰۷۵۵ ± ۰.۰۰۶
۵/۷	۴	۲.۲۱ ± ۰.۰۷	۰.۰۷۷ ± ۰.۰۰۲
۶/۵	۴	۲.۱۹ ± ۰.۱	۰.۰۷۵۷ ± ۰.۰۰۳
۷/۵	۴	۲.۱۸ ± ۰.۰۹	۰.۰۷۵۵ ± ۰.۰۰۳
۸/۵	۴	۲.۱۶ ± ۰.۰۳	۰.۰۷۵ ± ۰.۰۰۲

چنان‌چه در جدول ۲ مشاهده می‌شود ۰.۰۵ گرم اولیه ریشه‌ها در تمامی گستره‌های pH مورد استفاده رشد چشم‌گیری داشتند. میانگین وزن تر ریشه در pHهای ۳.۵، ۴، ۴.۵، ۵.۷، ۶.۵، ۷.۵، ۸.۵ به‌ترتیب ۲.۱۴، ۲.۱۶، ۲.۱۷، ۲.۲۱، ۲.۱۹، ۲.۱۸، ۲.۱۶ گرم و میانگین وزن خشک آن‌ها به‌ترتیب ۰.۰۷۵، ۰.۰۷۵۲، ۰.۰۷۵۵، ۰.۰۷۷، ۰.۰۷۵۷، ۰.۷۵۵، ۰.۰۷۵ است. چنان‌چه مشاهده می‌شود رشد در تمامی pHها صورت گرفته است و در pH=5.7 بیش‌ترین مقدار را داشته است اما با توجه به جدول‌های آنالیز واریانس ارائه شده تفاوت معنی‌داری دیده نمی‌شود ($p>0.05$).

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2026-11-07]

بررسی تیمارهای مؤثر بر میزان تولید رنگدانه‌های گیاه گلرنگ:

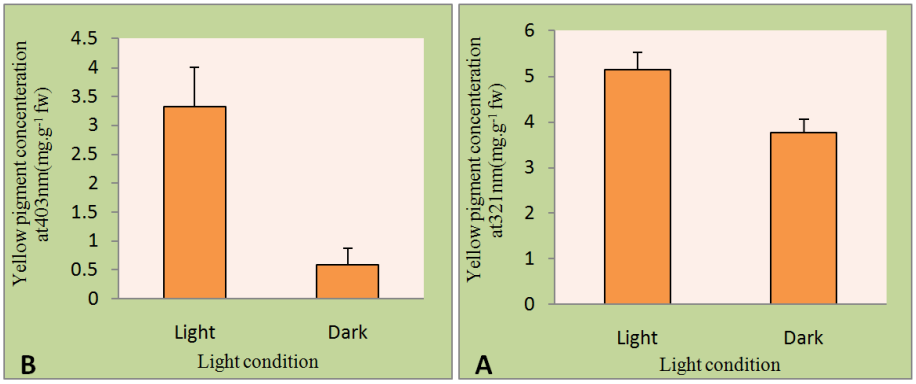
۱. اثر تیمار نور و تاریکی بر تولید رنگدانه‌های گیاه: نتایج به‌دست آمده در خصوص آنالیز رنگدانه‌های گیاه گلرنگ تحت تأثیر تیمار نور(Lux۲۳۰۰ و فتوپریود ۱۶ ساعت روشنایی) و تاریکی (ظروف کشت به طور کامل با فویل پوشیده) در جدول ۳ آمده است.

جدول۳. نتایج حاصل از تیمار نور (Lux ۲۳۰۰ و فتوپریود ۱۶ساعت روشنایی) و تاریکی (به طور کامل با فویل پوشیده) برمیزان تولید رنگدانه‌ها درکشت درون شیشه ریشه گیاه گلرنگ پس از ۲۱ روز

Treatment	N	رنگدانه قرمز در طول موج 517nm (mean ± SE) ($mg.g^{-1}$ fw)	رنگدانه زرد در طول موج 403nm (mean± SE) ($mg.g^{-1}$ fw)	رنگدانه زرد در طول موج 321nm (mean± SE) ($mg.g^{-1}$ fw)
نور	۴	۰.۱۵۷±۰.۰۰۳	۳.۳۳۴±۰.۶۶	۵.۱۵۱±۰.۳۶
تاریکی	۴	۰.۱۵۱±۰.۰۰۱	۰.۵۸۹±۰.۲۹	۳.۷۷۲±۰.۲۸

variable	ANOVA				
Yellow pigment concentration at 403	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	۱۵.۱۳۱	۱	۱۵.۱۳۱	۱۴.۳۳۷	۰.۰۰۹
Within Groups	۶.۳۳۲	۶	۱.۰۵۵		
Total	۲۱.۴۶۲	۷			

variable	ANOVA				
Yellow pigment concentration at A321	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	۳.۷۹۹	۱	۳.۷۹۹	۹.۰۴۸	۰.۰۲۴
Within Groups	۲.۵۱۹	۶	۰.۴۲۰		
Total	۶.۳۱۹	۷			

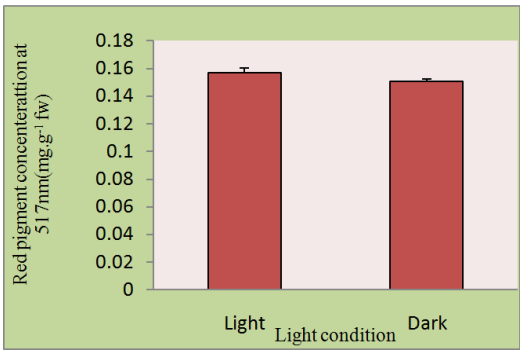


نمودار۲. میزان رنگدانه زرد در طول موج‌های ۳۲۱ (A) و ۴۰۳(B) نانومتر درکشت درون شیشه ریشه گیاه گلرنگ تحت تیمار نور (Lux ۲۳۰۰ و فتوپریود ۱۶ ساعت روشنایی) و تاریکی (به طور کامل با فویل پوشیده) پس از ۲۱ روز. هر تیمار ۴ بار تکرار شده و نتایج به‌دست آمده با توجه به جداول آنالیز واریانس معنی‌دار است (p>۰.۰۵)

چنان‌که از نتایج موجود در جدول ۳ و نمودارهای مرتبط با آن برمی آید ، میانگین تولید رنگدانه زرد در طول موج‌های ۴۰۳ و ۳۲۱ نانومتر و رنگدانه قرمز در طول موج ۵۱۷ نانومتر در شرایط نوری به ترتیب ۳.۳۳۴، ۵.۱۵۱، ۰.۱۵۷ بوده و در شرایط تاریکی ۰.۵۸۹، ۳.۷۷۲، ۰.۱۵۱ بوده است که اختلاف میانگین موجود بین دو شرایط مورد بحث در خصوص تولید رنگدانه زرد در طول موج‌های ۴۰۳ و ۳۲۱ نانومتر به لحاظ آماری معنی‌دار است (p>۰.۰۵).

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2026-11-07]

variable	ANOVA				
Red pigment concentration at 517nm	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	۰.۰۰۰	۱	۰.۰۰۰	۲.٤٨٤	۰.۱٦٦
Within Groups	۰.۰۰۰	٦	۰.۰۰۰		
Total	۰.۰۰۰	۷			



نمودار۳. میزان رنگدانه قرمز در طول موج ۵۱۷ نانومتر درکشت درون شیشه ریشه گیاه گلرنگ تحت تیمار نور (Lux ۲۳۰۰ و فتوپریود ۱۶ساعت روشنایی) و تاریکی (به طور کامل با فویل پوشیده) پس از ۲۱روز. هر تیمار ۴ بار تکرار شده و نتایج به‌دست آمده از لحاظ آماری معنی‌دار نیست (p>۰.۰۵).

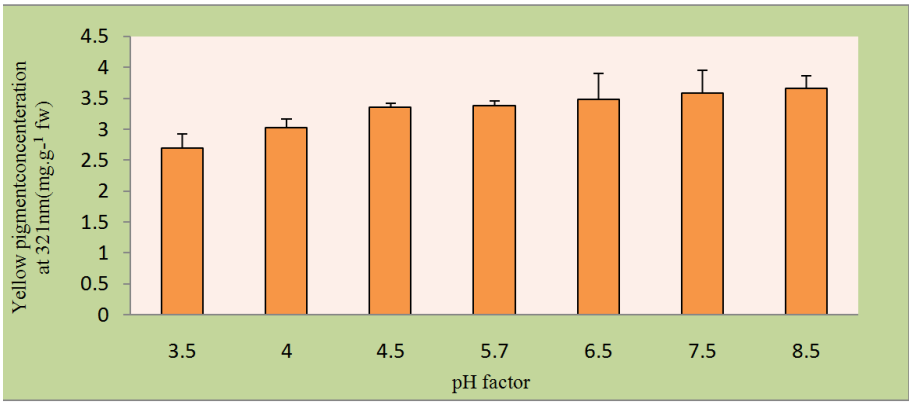
۲. **اثر فاکتورpH بر تولید رنگدانه‌های گیاه :** برای تعیین تأثیر فاکتورpH بر تولید ترکیبات رنگی گیاه از۷ گسترهٔ pH (۳.۵، ۴، ۴.۵، ۵.۷ ، ۶.۵، ۷.۵، ۸.۵) استفاده شد. هر تیمار ۳ بار تکرار شده است. نتایج حاصل از آنالیز رنگدانه‌های گیاه گلرنگ در مقادیر مختلفpH در جدول ۴ آمده است.

جدول۴. نتایج حاصل از تیمار pH برمیزان تولید رنگدانه‌ها در کشت درون شیشه ریشه گیاه گلرنگ پس از ۲۱ روز

Treatment	N	رنگدانه قرمز در طول موج (SE 517nm(mean ± (mg.g^{-1} fw)	رنگدانه زرد در طول موج 403nm (mean ± SE) (mg.g^{-1} fw)	رنگدانه زرد در طول موج 321nm (mean ± SE) (mg.g^{-1} fw)
3/5	۳	۰.۱۴۸±۰.۰۰۲	۱.۴۷۴±۰.۳۲	۲.۶۹۳±۰.۲۳
4	۳	۰.۱۴۹±۰.۰۰۲	۱.۸۴۵±۰.۴۱	۳.۰۳±۰.۱۳
4/5	۳	۰.۱۵۰±۰.۰۰۱	۱.۸۵۵±۰.۴۲	۳.۳۵۶±۰.۰۶
5/7	۳	۰.۱۵۲±۰.۰۰۱	۲.۰۲±۰.۲۳	۳.۳۷۷±۰.۰۸
6/5	۳	۰.۱۴۹±۰.۰۰۲	۱.۴۶±۰.۲	۳.۴۸±۰.۴۲
7/5	۳	۰.۱۵۰±۰.۰۰۱	۱.۴۵۸±۰.۲۱	۳.۳۵۸±۰.۳۷
8/5	۳	۰.۱۴۸±۰.۰۰۱	۱.۳۷۸±۰.۰۸	۳.۳۶۵±۰.۲

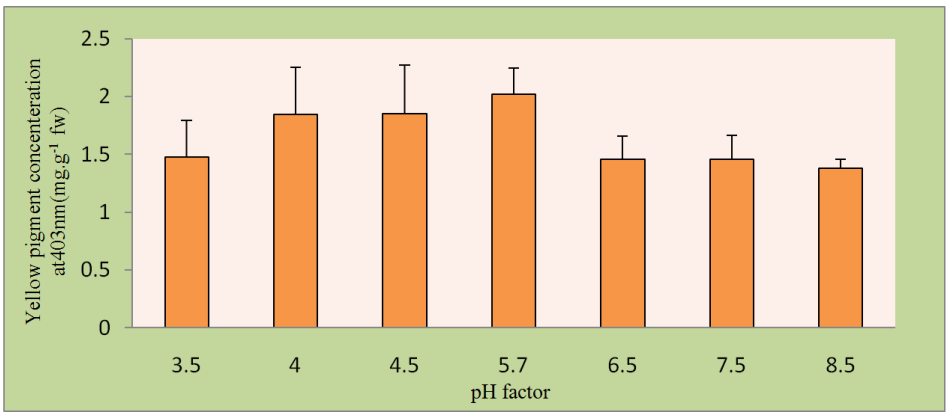
[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2026-11-07]

variable	ANOVA				
Yellow pigment concentration at 321nm	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	۲.۰٦٥	٦	۰.۳٤٤	۱.۲۳٤	۰.۳٤۷
Within Groups	۳.۹۰٥	۱٤	۰.۲۷۹		
Total	٥.۹۷۰	۲۰			



نمودار۴. میزان رنگدانه زرد در طول موج ۳۲۱ نانومتر در کشت درون شیشه ریشه گیاه گلرنگ. تعداد تکرار ۳ بار بوده و اختلاف میانگین موجود با توجه به جدول آنالیز واریانس ارائه شده معنی‌دار نیست (p>۰.۰٥)

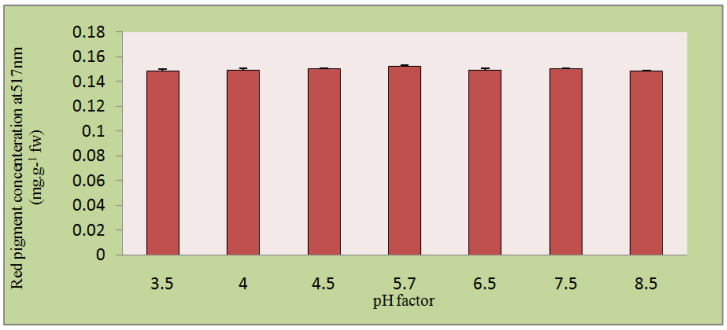
variable	ANOVA				
Yellow pigment concentration at 403nm	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	۱.۰۷۰	٦	۰.۱۷۸	۰.٦۸۳	۰.٦٦۷
Within Groups	۳.٦٥٦	۱٤	۰.۲٦۱		
Total	٤.۷۲٦	۲۰			



نمودار۵. میزان رنگدانه زرد در طول موج ۴۰۳ نانومتر در کشت درون شیشه ریشه گیاه گلرنگ . تعداد تکرار ۳ بار بوده و اختلاف میانگین موجود با توجه به جدول آنالیز واریانس ارائه شده معنی‌دار نیست (p>۰.۰٥).

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2026-11-07]

variable	ANOVA				
Red pigment concentration at 517nm	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	۰.۰۰۰	٦	۰.۰۰۰	۰.٥٤٣	۰.٧٦٨
Within Groups	۰.۰۰۰	١٤	۰.۰۰۰		
Total	۰.۰۰۰	٢٠			



نمودار۶. میزان رنگدانه قرمز در طول موج ۵۱۷ نانومتر درکشت درون شیشه ریشه گیاه گلرنگ . تعداد تکرار ۳ بار بوده و اختلاف میانگین موجود معنی‌دار نیست (p>۰.۰۵).

چنان‌چه در جدول ۴ و نمودارهای مربوط به آن دیده می‌شود تولید رنگدانه‌های گیاه گلرنگ در تمامی گستره‌های pH بررسی شده صورت می‌گیرد. با وجود آن‌که در مورد تولید رنگدانه زرد در طول موج ۴۰۳ نانومتر pHهای گسترهٔ اسیدی و در تولید رنگدانه زرد در طول موج ۳۲۱ نانومتر pHهای گسترهٔ بازی موفق‌تر بوده‌اند اما آنالیزهای آماری درکل تفاوت معنی‌داری را نشان نمی‌دهد (p>۰.۰۵).

بررسی تیمارهای مؤثر بر تولید رنگیزه‌های فتوسنتزی گیاه گلرنگ

۱. اثر تیمار نور و تاریکی برتولید رنگیزه‌های فتوسنتزی: نتایج حاصل از تأثیر فاکتور نور (۲۳۰۰ Lux و فتوپریود ۱۶ساعت روشنایی) و تاریکی (به‌طور کامل با فویل پوشیده) بر مقادیر تولید رنگیزه‌های فتوسنتزی (Chla، Chlb، محتوی کل کلروفیل و کارتنوییدها) درجدول ۵ آمده است.

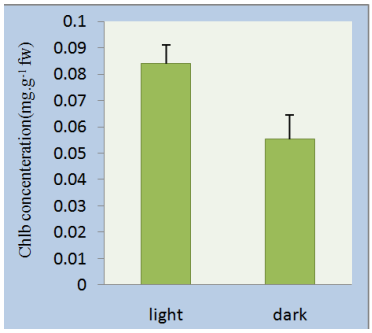
جدول ۵. نتایج حاصل از تیمار نور (2300Lux و فتوپریود ۱۶ساعت روشنایی) و تاریکی (به طور کامل با فویل پوشیده) برمیزان تولید رنگیزه‌های فتوسنتزی درکشت درون شیشه ریشه گیاه گلرنگ پس از ۲۱ روز

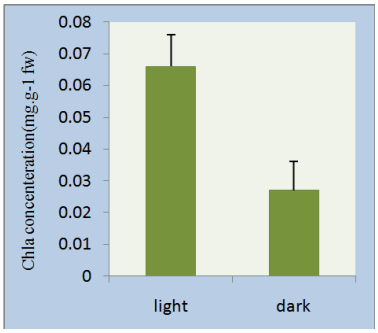
Treatment	N	Chla (mean ± SE) ($mg.g^{-1}$ fw)	Chlb (mean ± SE) ($mg.g^{-1}$ fw)	Total Chl (mean ± SE) ($mg.g^{-1}$ fw)	کارتنوییدها (mean ± SE) ($mg.g^{-1}$ fw)
نور	۴	۰.۰۶۵ ±۰.۰۱	۰.۰۸۴۱ ±۰.۰۰۷	۰.۱۴۹ ± ۰.۰۰۶	۷.۶۷ ± ۰.۸
تاریکی	۴	۰.۰۲۷ ±۰.۰۰۹	۰.۰۵۵ ±۰.۰۰۹	۰.۰۸۴۳ ± ۰.۰۰۵	۶.۶۷ ± ۰.۰۳

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2026-11-07]

variable	ANOVA				
مقدار کلروفیل b	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	۰.۰۰۲	۱	۰.۰۰۲	٦.۲۳	۰.۰٤۷
Within Groups	۰.۰۰۲	٦	۰.۰۰۰		
Total	۰.۰۰۳	۷			

variable	ANOVA				
مقدار کلروفیل a	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	۰.۰۰۳	۱	۰.۰۰۳	۷.۸۳۱	۰.۰۳۱
Within Groups	۰.۰۰۲	٦	۰.۰۰۰		
Total	۰.۰۰۵	۷			

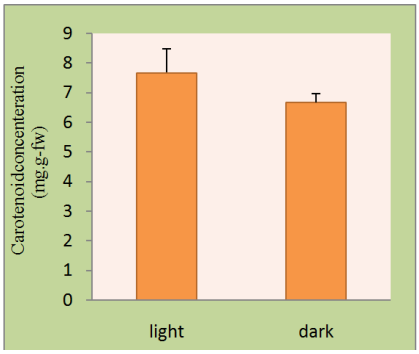


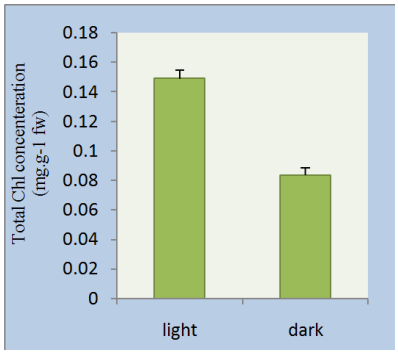


نمودار۸. مقادیر کلروفیل a و کلروفیل b درکشت درون شیشه ریشه گیاه گلرنگ در تیمار نور و تاریکی . تعداد تکرار ۴ بار بوده و نتایج با توجه به جداول آنالیز واریانس در خصوص مقدار کلروفیل a معنی‌دار($p<0.05$) بوده و در خصوص مقدار کلروفیل b معنی‌دار نیست ($p>۰.۰۵$)

variable	ANOVA				
مقدار کارتنویید	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	۱.۹۸۷	۱	۱.۹۸۷	۱.٤۸۸	۰.۲٦۸
Within Groups	۸.۰۱۳	٦	۱.۳۳٦		
Total	۱۰.۰۰۰	۷			

variable	ANOVA				
محتوی کل کلروفیل	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	۰.۰۰۹	۱	۰.۰۰۹	۵۹.۸۳۷	۰.۰۰۰
Within Groups	۰.۰۰۱	٦	۰.۰۰۰		
Total	۰.۰۱۰	۷			





نمودار۹. محتوی کل کلروفیل و میزان کارتنوییدها درکشت درون شیشه ریشه گیاه گلرنگ تحت تیمار نور و تاریکی تعداد تکرار٤ بار بوده و نتایج درمورد مقادیر محتوی کل کلروفیل معنی‌دار ($p>۰.۰۵$) بوده و در مورد کارتنوییدها معنی‌دار نیست ($p>۰.۰۵$)

چنان‌که در جدول ۵ و نمودارهای مرتبط با آن دیده می‌شود، میانگین تولید ترکیبات در شرایط نوری به ترتیب ۰.۰۶۲، ۰.۰۶۷، ۰.۱۲۹، ۷.۶۷ بوده و میانگین مقدار همین ترکیبات در شرایط تاریکی ۰.۰۳۲، ۰.۰۵۴، ۰.۰۸۶، ۶.۶۷ بوده است. که اختلاف میانگین موجود بین دو شرایط مورد بحث در خصوص تولید

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2026-11-07]

کلروفیل a، محتوی کل کلروفیل معنی‌دار بوده (p>۰.۰۵) اما مقادیر کارتنوییدی با اینکه بیش‌تر از نمونه‌های تیمار تاریکی است ولی تفاوت معنی‌داری را نشان نمی‌دهد.

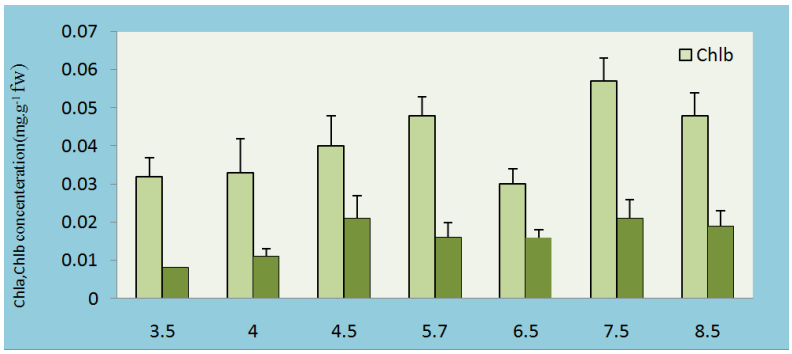
۲. اثر فاکتورpH برتولید رنگیزه‌های فتوسنتزی: نتایج حاصل از تأثیر فاکتور pH (۳.۵، ۴، ۴.۵، ۵.۷، ۶.۵، ۷.۵، ۸.۵) بر تولید رنگیزه‌های فتوسنتزی (Chla، Chlb، محتوی کل کلروفیل و کارتنوییدها) در جدول ۶ آمده است.

جدول٦. نتایج حاصل از تیمار فاکتورpH بر تولید رنگیزه‌های فتوسنتزی در کشت درون شیشه ریشه گیاه گلرنگ. تعداد تکرار در خصوص هر گستره ۴ بار بوده است.

Treatment	N	Chla (mean ± SE) ($mg.g^{-1}$ fw)	Chlb (mean ± SE) ($mg.g^{-1}$ fw)	Total Chl (mean± SE) ($mg.g^{-1}$ fw)	کارتنوییدها (mean ± SE) ($mg.g^{-1}$ fw)
۳.۵	۴	۰.۰۰۸ ± ۰.۰	۰.۰۳۲ ±۰.۰۰۵	۰.۰۴ ±۰.۰۰۵	۳.۱۴۵ ± ۰.۰۹
۴	۴	۰.۰۱۱ ±۰.۰۰۲	۰.۰۳۳ ±۰.۰۰۹	۰.۰۴۵ ±۰.۰۱۱	۳.۲۴۲ ± ۰.۴
۴.۵	۴	۰.۰۲۱ ±۰.۰۰۶	۰.۰۴ ±۰.۰۰۸	۰.۰۶۱ ±۰.۰۱۲	۳.۸۸ ± ۰.۵۷
۵.۷	۴	۰.۰۱۶ ±۰.۰۰۴	۰.۰۴۸ ±۰.۰۰۵	۰.۰۶۵ ±۰.۰۰۲	۳.۲۱۲ ± ۰.۲۷
۶.۵	۴	۰.۰۱۶ ±۰.۰۰۲	۰.۰۳ ±۰.۰۰۴	۰.۰۴۷ ±۰.۰۰۷	۲.۸۶ ± ۰.۵۳
۷.۵	۴	۰.۰۲۱ ±۰.۰۰۵	۰.۰۵۷ ±۰.۰۰۶	۰.۰۷۸ ±۰.۰۰۵	۳.۲۳ ± ۰.۴۷
۸.۵	۴	۰.۰۱۹ ±۰.۰۰۴	۰.۰۴۸ ±۰.۰۰۶	۰.۰۶۸ ±۰.۰۱	۳.۳۹ ± ۰.۵۵

variable	ANOVA				
مقدار کلروفیل b	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	۰.۰۰۲	٦	۰.۰۰۰	۲.۱٤	۰.۰۹۱
Within Groups	0.004	۲۱	۰.۰۰۰		
Total	0.006	۲۷			

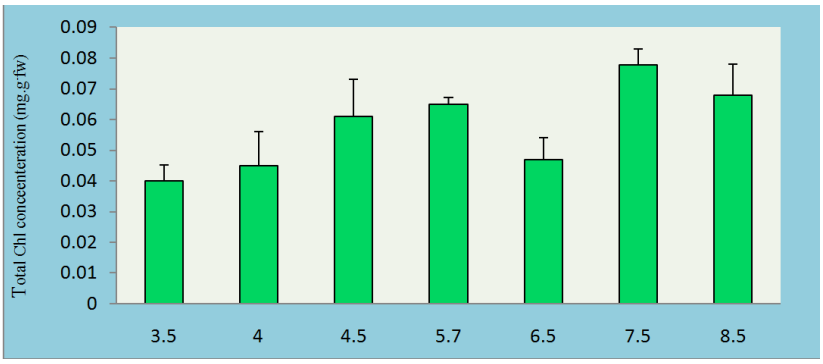
variable	ANOVA				
مقدار کلروفیل a	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	۰.۰۰۱	٦	۰.۰۰۰	۱.۵۵	۰.۲۱۰
Within Groups	۰.۰۰۱	۲۱	۰.۰۰۰		
Total	۰.۰۰۲	۲۷			



نمودار ۱۰. مقادیر کلروفیل a و کلروفیل b در کشت درون شیشه ریشه گیاه گلرنگ تحت تیمار فاکتور pH. تعداد تکرارها ۴ بار بوده و اختلاف میانگین موجود با توجه به جدول آنالیز واریانس مربوط معنی‌دار نیست (p>۰.۰۵).

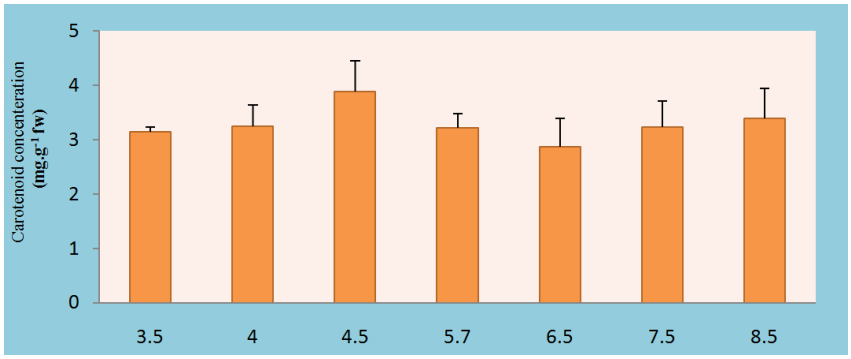
[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2026-11-07]

variable	ANOVA				
محتوی کل کلروفیل	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	۰.۰۰۵	٦	۰.۰۰۱	۲.٦٤۲	۰.۰٤٥
Within Groups	۰.۰۰٦	۲۱	۰.۰۰۰		
Total	۰.۰۱۱	۲۷			



نمودار ۱۱. مقادیر محتوی کل کلروفیلی در کشت درون شیشه ریشه گیاه گلرنگ تحت تیمار فاکتورpH. تعداد تکرار ۴ بار بوده و اختلاف میانگین موجود با توجه به جدول آنالیز واریانس مربوط معنی دار است (p<۰.۰۵).

variable	ANOVA				
مقدار کارتنویید	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	۲.۳۰٤	٦	۰.۳۸٤	۰.۸۷۷	۰.۸۱۸
Within Groups	۱٦.۹۰٤	۲۱	۰.۸۰٥		
Total	۱۹.۲۰۸	۲۷			



نمودار ۱۲. مقادیر کارتنوییدها درکشت درون شیشه ریشه گیاه گلرنگ تحت تیمار فاکتورpH. تعداد تکرار ۴ بار بوده و اختلاف میانگین موجود با توجه به جدول آنالیز واریانس مربوطه معنی‌دار نیست (p>۰.۰۵).

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2026-11-07]

نتایج مشاهده شده درجدول ۶ و نمودارهای مربوط با آن نشان می‌دهد که تولید ترکیبات رنگیزه‌های فتوسنتزی در تمام گستره‌های PH تحت تیمار صورت می‌گیرد. بررسی‌های آماری حاکی از آن است که تنها در اختلاف میانگین محتوی کل کلروفیلی تفاوت معنی‌داری دیده می‌شود($p<۰.۰۵$) که بیش‌ترین مقدار را در pH= 7.5 و به میزان ۰.۰۷۸ $mg.g^{-1}$ fw داشته است.

بحث و نتیجه‌گیری

بهینه‌سازی کشت ریشه گیاه گلرنگ

کشت اندام گیاهی شامل کشت‌های استریل جنین، بساک، جوانه، گل، ریشه و سایر اندام‌های گیاه در محیطی است، که معمولاً حاوی هورمون‌های گیاهی اکسین و سیتوکینین بوده و گاهی اوقات عاری از آن‌هاست [٦]. از اواخر دهه ۶۰ میلادی، تکنولوژی کشت بافت به‌عنوان ابزاری برای مطالعه و تولید متابولیت ثانویه گیاهی معرفی شد. علاوه بر آن توسعه روش‌های بیوتکنولوژی مانند ریزازدیادی، کشت سلول، ریشه و ریشه‌های مویی یکی از مهم‌ترین شیوه‌های حل مشکلات مربوط به اثرات مخرب برداشت محصولات گیاهی با خصوصیات غذایی، صنعتی و دارویی است. دراین راستا توسعهٔ سیستم‌های سریع کشت و تکثیر ریشه فرصتی بی‌نظیر برای تولید محصولات مختلف متابولیت ثانویه در آزمایشگاه و بدون نیاز به زمین‌های قابل کشت خواهد بود [۲۹]. در این پژوهش نیز کشت ریشه گیاه گلرنگ و بهینه‌سازی شرایط آن تحت فاکتورهای نور و تاریکی و فاکتور pH انجام گرفت. بررسی در خصوص تحقیقات انجام شده در مورد کشت ریشه گیاهان مختلف حاکی از آن است که اغلب این فرایند درون ظروف شیشه‌ای ارلن با مقادیر چشمگیری از محیط کشت جامد و مایع و دستگاه‌های شیکر و سیستم‌های چرخشی و یا حتی بایوراکتورها صورت می‌گیرد که نیازمند صرف مقادیر چشمگیری از ماده و انرژی در اشکال مختلف است [۸]، [۱۲]، [۲۱]. اما در تحقیق صورت گرفته حاضر ما از ظروف شیشه‌ای بسیار ساده (Jar) و مقدار بسیار کم محیط مایع (۴ml)، بدون نیاز به آگار برای محیط جامد و شرایط کاملاً استاتیک و ثابت که نیازمند دستگاه‌های پرهزینه شیکر نیست به کشت ریشه گیاه گلرنگ دست یافتیم که این روند تلاشی قابل توجه در صرفه جویی هزینه، مواد و انرژی است. شایان ذکر است که در تحقیقات انجام شده پیشین استفاده از هورمون‌های مختلف اکسین و سیتوکنین برای القا و رشد ریشه استفاده شده بود[۲۹]، [۳٦]. اما در پژوهش انجام شدهٔ حاضر دست‌یابی به مقادیر چشمگیر کشت ریشه بدون استفاده از هیچ‌گونه هورمونی صورت گرفته و در نتیجه گامی دیگر درجهت کاهش هزینه‌های مرتبط است.

۱. **بهینه سازی کشت ریشه گیاه گلرنگ تحت تیمار نور و تاریکی:** نور به‌عنوان یک فاکتور محیطی مهم نقش ویژه‌ای درتنظیم فرایند نمو گیاهی و پارامترهای مورفولوژیکی داراست. مثلاً نور منجر به افزایش وزن خشک

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2026-11-07]

ریشه و ساقه گیاهان گوجه فرنگی[۱] و کلم[۲] می‌گردد. البته باید این نکته را اذعان داشت که رشد ریشه‌های گیاهان مختلف تحت شرایط نور و تاریکی متفاوت است . برای نمونه در خصوص گیاه برنج رشد ریشه‌ها در تاریکی به مراتب بیش‌تر از رشد آن‌ها در شرایط نوری است [۲۵]. در این پژوهش نیز بیش‌ترین میزان کشت و نیز وزن تر و خشک ریشه‌های گیاه گلرنگ مربوط به شرایط نوری (شدت نوری ۲۳۰۰ لوکس به همراه فتوپریود ۱۶ ساعت) بوده است و ریشه‌هایی که به طور کامل با فویل پوشیده شده بودند میانگین رشد کم‌تری را نشان دادند که اختلاف موجود در خصوص وزن خشک ریشه‌های کشت شده معنی‌دار بوده و می‌توان چنین نتیجه‌گیری کرد که شرایط نوری منجر به افزایش بیومس و ماده‌سازی در ریشه‌های گیاه گلرنگ شده است.

۲. **بهینه‌سازی کشت ریشه گیاه گلرنگ تحت فاکتور pH:** pH محیط فاکتور مهمی دیگریست که فرایند رشد و نمو گیاهان را تحت تأثیر قرارمی‌دهد. برطبق " فرضیه رشد اسیدی" تنظیم انبساط سلول‌ها از طریق اصلاح pH پیرامون دیوارهٔ سلولی صورت می‌گیرد، درنتیجه انبساط یافتگی سلول‌ها تحت pHهای پایین افزایش می‌یابد [۱۱]. شواهد فراوانی این فرضیه را در خصوص کلئوپتیل‌های ساقه یا انبساط برگ‌ها تأیید می‌کند [۲٤]، [۳۲]، [۳۹]. با این وجود نتایج در خصوص ریشهٔ گیاهان چندان قطعی نیست. پایین بودن pH محیط ممکن است حتی طویل شدن ریشه‌ها را نیز در پی داشته باشد [۱٤]، [۱۵] و یا اینکه اثر چندانی روی آن نگذارد [۹]، [۳۲]. اگرچه " فرضیه رشد اسیدی " در خصوص ریشه شناخته شده است اما آزمایش‌های تجربی اندکی در این باره وجود دارد. در تحقیقی که کیونگ لینگ[۳] و همکاران در خصوص اثر pH (با گستره‌های ٤، ۵، ۵.۸، ٦ و۷) بر روی القا ریشه‌های نابه‌جای حاصل از قطعه جداکشت برگی گیاه اورتوسیفون استامینوس[۴] انجام دادند گرفت، pH = ٦.۵ به‌عنوان pH بهینه رشد معرفی شده است [۲۳]، اما از آن‌جاکه دست‌یابی به مواد مغذی ضروی در گیاهان مختلف در pHهای متفاوتی صورت می‌گیرد، بنا بر این مقدار pH بهینه در گیاهان متفاوت خواهد بود. در این پژوهش برای بررسی تأثیر فاکتورpH بر روند رشد ریشه از۷ گستره pH که شامل ۳ گسترهٔ اسیدی (۳/۵، ۴ ، ۴/۵)، ۳ گسترهٔ بازی (۶/۵، ۷/۵، ۸/۵) و pH خنثی (۵/۷) بود استفاده شد. رشد ریشه در تمامی pHها صورت گرفته و در pH= ۵.۷ بیش‌ترین مقدار را داشته است اما درکل تفاوت معنی‌داری دیده نشد ($p>۰.۰۵$).

تولید رنگدانه‌های گیاه گلرنگ در کشت ریشه آن

بررسی پژوهش‌های انجام شده در مورد تولید رنگدانه‌های مختص گیاه گلرنگ حاکی از آن است که تولید رنگدانه‌های کارتأمین و سافلور زرد درگل‌های کوچک [۱۶]، گلبرگ‌ها [۱۰] و کشت‌های سلولی این گیاه [۱۸] صورت گرفته است اما هیچ گزارشی در خصوص تولید این ترکیبات در کشت ریشه این گیاه وجود ندارد. در پژوهشی که چاوو و همکاران (۲۰۰۰) انجام دادند تبدیل آنزیمی پرکارتامین[۶] به کارتأمین از طریق آنزیم

۱. lycopersicon esculentum ۲. Brassica oleacera L. ۳. Kiong Ling
۴. Orthosiphon stamineus ۵. Cho,M.H ۶. Precarthamin

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2026-11-07]

خالص‌سازی شده از گلبرگ‌های زرد گیاه گلرنگ بررسی شد [۱۰]. فتاحی و همکاران به سال ۲۰۰۹ اثر فاکتورهای خارجی مختلف مانند نور، دما و pH را بر حفظ ماهیت شیمیایی رنگدانه‌های گلچه‌های گلرنک بررسی کردند [۱۶]. در تحقیق حاضر نیز دست‌یابی به ترکیبات رنگدانه‌ای گیاه گلرنگ (رنگدانه قرمز در طول موج ۵۱۷ نانومتر و رنگدانه زرد در طول موج‌های ۴۰۳ و ۳۲۱ نانومتر) در کشت ریشه آن انجام شده است. نکته قابل توجه دیگر این است که ریشه‌هایی که حاوی این ترکیبات بوده‌اند به‌طور کاملاً مستقل کشت شده‌اند و هیچ‌گونه ارتباط و وابستگی به بخش‌هایی هوایی گیاه نداشته‌اند.

۱. **تولید رنگدانه‌های گیاه گلرنگ تحت تأثیر تیمار نور و تاریکی:** نور از جمله مؤثر بر فعایت آنزیم‌های بیوسنتزی در مسیر تولید ترکیبات ثانویه، مقدار لیگنین و ترکیبات فنلیک است. برای مثال نشان داده شده است که تولید ترکیب ثانویه آنتوسیانین در گیاه رافانوس ساتیوس[۱] تحت تأثیرشرایط نوری صورت گرفته و به نسبت شرایط تاریکی چشم‌گیرتر بوده است و چنین تصور می‌شود که تشکیل رنگدانه تحت شرایط نوری تنظیم شده است [۸].در این پژوهش نیز تولید ترکیبات رنگدانه‌ای مختص گیاه (رنگدانه قرمز در طول موج ۵۱۷ نانومتر و رنگدانه زرد در طول موج‌های ۴۰۳ و۳۲۱ نانومتر) تحت شرایط نوری صورت گرفته و در قیاس با شرایط تاریکی تفاوت قابل توجهی داشته است. به‌گونه‌ای که میانگین تولید رنگدانه‌ها در حضور نور بیش‌تر بوده و اختلاف موجود بین آن‌ها در مورد تولید رنگدانه زرد در طول موج‌های ۴۰۳ و ۳۲۱ نانومتر از لحاظ آماری معنی‌دار است ($p<۰.۰۵$). چنان‌که عنوان شد تصور می‌شود که نور منجر به فعال‌سازی آنزیم‌های مؤثر در مسیر بیوسنتزی تولید رنگدانه‌های مختص گیاه شده است. معرفی نوع آنزیمی‌های مربوطه و چگونگی سنتز آن‌ها در مسیرهای بیوسنتزی نیازمند انجام تحقیقات تخصصی بیش‌تر در این زمینه است.

۲. **تولید رنگدانه‌های گیاه گلرنگ تحت تأثیر فاکتورpH:** فتاحی، کاراپتین و حیدری به سال ۲۰۰۹ در پژوهشی در خصوص تأثیر فاکتور pH بر پایداری رنگدانه‌های کارتأمین و سافلور زرد در گلچه‌های گیاه گلرنگ چنین عنوان کردند: pHهای اسیدی به نسبت pHهای بازی در روند تجزیه کارتأمین مؤثرتر عمل می‌کنند. اما سافلور زرد در pHهای اسیدی ثبات و پایداری بیش‌تری دارد [۱۶]. در تحقیق حاضر تولید رنگدانه‌های گیاه گلرنگ در تمامی گستره‌های pH مورد بررسی صورت می‌گیرد.اگر چه در مورد تولید رنگدانه زرد در طول موج ۴۰۳ نانومتر، pHهای گسترهٔ اسیدی و در تولید رنگدانه زرد در طول موج ۳۲۱ نانومتر، pHهای گسترهٔ بازی موفق‌تر بوده‌اند اما آنالیزهای آماری درکل تفاوت معنی‌داری را نشان نمی‌دهد ($p>۰.۰۵$). در خصوص رنگدانه قرمز در طول موج ۵۱۷ نانومتر نیز تولید آن در تمامی دامنه‌های pH بدون اختلاف میانگین معنی‌داری صورت می‌گیرد و از آن‌جاکه فاکتور pH عامل بسیار مهمی در اغلب مسیرهای متابولیسمی موجود در گیاه است سازگاری گیاه به گستره‌های مختلف آن امری قابل توجه و حائز اهمیت است

۱. *Raphanus sativus* L.

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2026-11-07]

و تولید ترکیبات رنگـدانه‌ای گیاه گلرنگ در ریشه آن نیز این مشخصه را داراست.

تولید رنگیزه‌های فتوسنتزی در کشت ریشه تحت تأثیر تیمار نور و تاریکی

نور از جمله عوامل بسیار مهم انجام فعالیت‌های فتوسنتزی در گیاهان است. کیفیت، کمیت و مدت زمان قرارگیری نمونه‌ها در مقابل نور از جمله فاکتورهای دیگری است که روند فتوسنتز را تحت تأثیر دارد. در پژوهشی که در خصوص اثر طول موج نوری بر محتوی رنگـدانه‌ای بافت‌های گیاه کاتلا اینترمدیا[1] صورت گرفته، از ۳ طول موج نوری قرمز، آبی و سفید استفاده شده که محتوی کل کلروفیل و کارتنوییدها در کشت‌هایی که در مجاورت نور سفید بودند بیش‌ترین مقدار را داشته و از نور آبی به قرمز و قرمز دور به تدریج روند کاهشی دیده شده است [۱۲]. در این پژوهش نیز تولید رنگیزه‌های فتوسنتزی (Chla، Chlb، محتوی کل کلروفیل و کارتنوییدها) تحت شرایط نوری صورت گرفته و در قیاس با شرایط تاریکی تفاوت چشم‌گیری داشته است. به گونه‌ای که میانگین تولید ترکیبات در شرایط نوری بیش‌تر از تاریکی بوده و اختلاف میانگین موجود در خصوص تولید کلروفیل a و محتوی کل کلروفیل معنی‌دار بوده ($p<0/05$) اما مقادیر کارتنوییدی با این‌که بیش‌تر از نمونه‌های تیمار تاریکی است ولی تفاوت معنی‌داری را نشان نداده‌اند. بنا بر این می‌توان چنین نتیجه‌گیری که شرایط نوری اگرچه سبزشدگی ریشه‌ها را در برنداشته اما عاملی برای تولید بیش‌تر ترکیبات رنگـدانه‌های فتوسنتزی بوده است.

تولید رنگیزه‌های فتوسنتزی در کشت ریشه تحت تأثیر فاکتورpH

چنان که می‌دانیم pH فاکتور بسیار مهمی است که در بسیاری از مسیرهای متابولیکی مانند نقل و انتقال الکترون، فرایند تنفس و جذب آب نقش دارد و ریشه‌های کشت شده باید توانایی چشم‌گیری در زمینهٔ سازگاری با آن و یا تنظیم محدوده‌های مختلف آن را داشته باشند [۴۳]. در پژوهش حاضر نیز تولید رنگیزه‌های فتوسنتزی در تمامی گستره‌های pH (۳.۵، ۴، ۴.۵، ۵.۷، ۶.۵، ۷.۵، ۸.۵) بررسی شده است. بررسی‌های آماری حاکی از آن است که تنها در اختلاف میانگین محتوی کل کلروفیلی (ChlT) تفاوت معنی‌داری دیده می‌شود ($P<۰.۰۵$) که بیش‌ترین مقدار در pH= ۷.۵ و به میزان ۰.۰۷۸ $mg.g^{-}$ fw بوده است.

منابع

۱. توکلی، افشین، *بررسی اثر قطع آبیاری در مراحل مختلف رشد بر عملکرد، اجزاء عملکرد و عملکرد روغن گلرنگ*. پایان نامه کارشناسی ارشد. دانشکده کشاورزی . دانشگاه تهران (۱۳۸۱).

۲. لاجوردی، ناصر؛ *دانه‌های روغنی*. انتشارات دانشگاه تهران (۱۳۵۹).

۱. *Cattleya intremedia * C.auranttaca*

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2026-11-07]

3. A. Anju, H. S. Chawla, "Organogenic plant regeneration via callus induction in chickpea (Cicer arietinum L.) Role of genotypes", growth regulators and explants. Indian J. Biotechnol, 4 (2005) 251-256.

4. Anoymous, Cartamus tinctorius L. In Wealth of India, Indian row materials. CSIR, Indian 2 (1950) 83-88.

5. D. Ba-alma, S. Uranbey, S. Mirici, O. kolsarici, "TDZ x IBA induced shoot regeneration from cotyledonary leaves and in vitro multiplication in safflower (Carthamus tinctorius L.)" African Journal of Biotechnology 17 (1998) 960-966.

6. Y.P.S. Bajaj, "Wide hybridization in legumes and oilseed crops through embryo", ovule and ovary culture. In: Biotechnology in Agriculture and Forestry- Legumes and Oilseed Crops I, 10 (1990) 4-37.

7. C. M. Baker, W. E. Dyer, "Improvements in rooting regenerated safflower (Carthamus tinctorius L.) shoots", Plant Cell Rep.16 (1) (1997) 106-110.

8. F. Betsui, N. Tanaka-Nishikawa, K. Shimomura, "Anthocyanin production in adventitious root cultures of Raphanus sativus L. cv. Peking Koushin", Plant Biotechnology 21(5) (2004) 387-391.

9. K. Buntemeyer, H. Luthen, M. Bottger, "Auxin-induced changes in cell wall extensibility of maize roots", Planta, 204 (1998) 515-519.

10. M.H. Cho, Y.S. Paik, T.R. Hahn, "Enzymatic Conversion of Precarthamin to Carthamin by a Purified Enzyme from the Yellow Petals of Safflower", J. Agric. Food Chem**,** 48 (2000) 3917-3921.

11. D. J. Cosgrove, "Enzymes and other agents that enhance cell wall extensibility", Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology, 50 (1999) 391-417.

12. T. Cybularz-Urban, E. Hanus-Fajerska, A. Widerski, "Effect Of Light Wavelength On in Vitro Organogenesis Of A Cattleya hybrid", Acta Biological Cracoviensia Series Botanica 49/1(2007)113-118.

13. L. Daju, M. Mundel, Safflower. IPGRI Publishing (1997).

14. K.L. Edwards, T.K. Scott, "Rapid growth responses of corn root segments: effect of pH on elongation", Planta, 119 (1974) 27-37.

15. M.L. Evans, "A new sensitive root auxanometer", Plant Physiology, 58 (1976) 599-601.

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2026-11-07]

16. N. Fatahi, J. Carapetian, R. Heydari, "Comparing Stability of Carthanim and Safflower Yellow Pigments at Temperature, PH and Light, from Safflower (Carthamus tinctorius L.) Florets", Research Journal of Biological Science 4(3) (2009) 250-253.
17. "Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO)", FAOSTAT Statistics Database (2006). available at: http://faostat.fao.org/.
18. W. Y. L. Gao, K. Y. Fan, Yellow and red pigment production by cell caltures of carthamus tinctorius in bioreactor, Reserch center for the Advanced Horticultural technology, Chungbuk National university, Cheongju (2000) 316-763.
19. N. Hanagata, H. Uehara, "Behavior of cell aggregate of Carthamus tinctorius L. cultured cells and correlation with red pigment formation", J. Biotechnology 30 (1993) 259-269.
20. N. Hanagata, I. Karube, "Red pigment production by cartamin tinctorius L. cell in a two-stage culture systems", J.Biotechnology, 31 (1994) 59-65.
21. M. I. Islam, H. Zubair, N. Imtlaz, M. F. Chauadhary, "Effect of Different Plant Growth Regulators for the Economical Production of in vitro Root Cultures of Cicer arietinum L**.** " International Journal Of Agriculture &Biology (2005) 4-621-626.
22. A. James, Duke; Handbook of Energy Crops (1983).
23. A. Kiong Ling, K. Ming Kok, H. Sobri, "Adventitious Rooting of Orthosiphon stamineus in Response to Sucrose Concentrations and Medium pH.", American-Eurasian Journal of Sustainable Agriculture, 3(1) (2009) 93-100.
24. T. N. Kotake, K. Nakagawa, N. Takeda, Sakurai, "Auxin-induced elongation growth and expressions of cell wall-bound exo-and endo-beta-glucanases in barley coleoptiles", Plant and Cell Physiology, 41 (2000) 1272-1278.
25. L. Kwan-Long, Hou. Chin-Ri, "Effects of Light on The Cultured Rice Roots", Bot. Bull. Academia Sinica 16 (1975) 45-54.
26. H. K. Lichtenther, "Chlorophylls and carotenoides pigments of photosynthesis", Methods in Enzymology, INRA, EDPSci, 57 (1987) 245-250.
27. A. K. A. Mandal, A. K. Chattererji, S. Gupta, "Direct somatic emberyogenesis and plantlet regeneration from cotylodonary leaves of safflower", Plant cell Tissue and organ culture, 43 (1995) 287-289.

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2026-11-07]

28. T. Murashige, F. Skoog, "A revived medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture", Plant Physiology, 15 (1962) 473-49.

29. S. Nandagopal, B.D. Ranjitha Kumari, Effectiveness of Auxin Induced InVitro Root Culture In Chicory Journal Central European Agriculture (2007) 73-80.

30. T. D. Nikam, M. G. Shitole, "In vitro culture of safflower: initiation, growth optimization and organogenesis" (2004) 15-22.

31. R. Oommen, "Production of blue pigments from the callus culture of Lavandula agustifolia andred pigments from the hairy root culture of Beta vulgaris", A thesis presented in partial fulfillment of the requirements for degree of master of technology in biotechnology, New Zealand (2009).

32. W. S. Peters, H. Luethen, M. Boettger, H. Felle, "The temporal correlation of changes in apoplast pH and growth rate in maize coleoptile segments", Australian Journal of Plant Physiology, 25 (1998) 21-25.

33. L.G. Ramawat, J.M. Merillon, "Biotechnology Secondary Metabolites", Science puplishers, Inc. (1999) 63-66.

34. G. R. Routa, S. Sammantary, P. Dasa, "Invitro manipulation and propagation of medicinal plants", Bio. Adu, 18 (2002) 91-120.

35. "Safflower Pigment Institute of Tianjin", China company.

36. E. Sobrino, "In vitro root induction in hypocotyl and plumule explants of Helianthus annuus. Environmental and Experimental Botany" (1998) 271-277.

37. L. Taizo, E. Zeiger, "Plant physiology", second edition, Siaauer Associates, Inc., publishers (1998).

38. N. Toshikatsu, S. Shingo, "Studies on the synthesis of safflomin-A, a yellow pigment in safflower petals: oxidation of 3-c-β-d- glucopyranosyl-5- methylphloroacetophenone", Department of Chemistry and Chemical Engineering, Faculty of Engineering, Yamaguta University, 4-3-16 Jonan, Yonezawa-Shia, Yamagata (2005) 851-992, Japan.

39. E. VanVolkenburgh, "Leaf expansion an integrating plant behavior", Plant, Cell and Environ-ment, 22 (1999) 1463-1473.

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2026-11-07]

40. S. Wakayama, K. Kusada, T. Kanchira, Y. Yamada, K. Kawazu, A. Kobayashi, A. Kinobeon, "A novel red pigment produced in safflower tissue culture systems", Z Naturforsch C 49 (1994) 1-5.
41. Gi. Wenxuan, Zi Yaunxia, W. Daowu, "Effects of safflower yellow pigment on the blood fat and liver function of rabbits (in Chinese)" J. Lanzhow coll. of Medical Sci. 3 (1987) 57-60.
42. P. R. White, "Potentially unlimited growth of excised tomato root trip in liquid medium". Plant physiol, 9 (1934) 585-600.
43. W.u Xiaojun, "Establishment and Chemical Analysis of Hairy Roots of Eucommia Ulmoides." M. S., Shanghai University of TCM, Shanghai, P.R. China (2007).

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2026-11-07]