جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

تحسین کنفرانس ملی توسعه کشاورزی، زمین سالم
Agriculture Development, Healthy Earth
۳۰ دی ماه ۱۳۹۴
سازمان نظام مهندسین کشاورزی و منابع طبیعی استان البرز

کد مقاله: Heca15-02850293

بررسی اثر نوع ریزنمونه و هورمون BA , 2,4-D بر روی وزن تر و خشک کالوس گیاه داروئی خربزه تلخ (*Momordica charantia L.*)

رقیه اصغرزاده[1*]، حسین مرادی[2] و قربانعلی نعمت‌زاده[3]

۱-*دانشجوی کارشناسی ارشد علوم باغبانی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری و کارشناس پژوهشکده ژنتیک و زیست فناوری کشاورزی طبرستان. ۲- استادیار گروه علوم باغبانی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری ۳- استاد، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری و پژوهشکده ژنتیک و زیست فناوری کشاورزی طبرستان

*r.asgharzadeh@yahoo.com

چکیده

تکنیکهای کشت درون‌شیشه ابزار مهمی برای تولید انبوه انواع گونه‌های داروئی می‌باشد.. از جمله این گیاهان گیاه داروئی خربزه تلخ می‌باشد. بر همین اساس آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی در ۳ تکرار و با دو فاکتور هورمون اکسین در ۳ سطح و سیتوکنین در ۳ سطح انجام شد. پس از گذشت سه ماه وزن تر و وزن خشک کالوس اندازه‌گیری شدند. و نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان داد تجزیه واریانس صفات نشان داد اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد بین محیط‌های کشت مختلف از لحاظ صفات مورد اندازه‌گیری وجود دارد. بیشترین وزن تر کالوس در تیمار ترکیبی یک میلی‌گرم در لیتر هورمون BA با ۰/۲۵ میلی‌گرم در لیتر هورمون 2,4-D و بیشترین وزن خشک کالوس به تیمار ترکیبی BA (یک میلی‌گرم در لیتر) بعلاوه هورمون 2,4-D (۰/۲۵ میلی‌گرم در لیتر) مربوط می‌باشد.

کلمات کلیدی: خربزه تلخ، اکسین، سیتوکنین، کالوس، درون شیشه‌ای

مقدمه

گیاه داروئی خربزه تلخ از خانواده کدوئیان و حاوی پتاسیم، فسفر، آهن، ویتامین A و C است که دارای خاصیت ضد تومور بوده و برای درمان بسیاری از سرطان‌ها به کار می‌روند. درمان ورم مفاصل، بالا بردن جریان شیر، تمیز کننده خون، رفع کننده مسمومیت، خارج کننده کرمها و انگلهای داخلی، متعادل کننده هورمونها، بالا بردن ایمنی بدن، ضد یبوست و ملین از خواص دیگر گیاه داروئی خربزه تلخ است [۷و۸]. خربزه تلخ یک گیاه رایج گرمسیری با عطر، طعم و کیفیت خاص است که به عنوان دارو، در درمان بیماری‌ها از جمله درمان دیابت و اختلالات از زمان باستان تا حال حاضر در طب سنتی آسیا استفاده می‌شود. [۹]. عملکرد اصلی آن کاهنده قند خون، محرک گوارش، ضد سرطان، آنتی باکتریال، ضد نفخ، آنتی میکروبیال، ضد ویروس و ضد باکتری می‌باشد [۳]. به همین دلیل، تا کنون تحقیقات زیادی در زمینه تولید این داروها از طریق کشت بافت گیاهی صورت گرفته است. در این راستا تاثیر هورمون NAA و 2,4-D بر کالوس‌زایی هندوانه توسط قانعی و همکاران (۱۳۹۲) [۱] بررسی شد که در این آزمایش هورمون NAA و 2,4-D در غلظت‌های (0, 0.5 , 1 , 1.5) استفاده شد و اعلام گردید که درصد کالوس‌زایی، وزن تر و وزن خشک کالوس تحت تاثیر هر دو تیمار افزایش یافت. رنگ کالوس نیز تحت تاثیر هر دو تیمار قرار گرفت. همچنین مالیک و همکاران (۲۰۰۷) [۴] اثر تنظیم کننده‌های رشد گیاهی را در خربزه تلخ بررسی کردند و گزارش دادند بهترین پاسخ کالزائی در هر سه نوع ریزنمونه (برگ، ساقه, لپه) در محیط کشت MS در ترکیب با BAP با غلظت ۱ و

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

۱/۵ میلی‌گرم در لیتر و NAA با غلظت ۱/۵ میلی‌گرم در لیتر و 2,4-D با غلظت ۱ میلی‌گرم در لیتر مشاهده شد. 2,4-D تنها تنظیم کننده رشد است که پاسخ حداکثری در تولید کالوس در هر سه ریزنمونه داشت.

در این پژوهش، با هدف تعیین بهترین ترکیب هورمونی در محیط کشت آزمایشگاهی برای تولید کالوس از ریزنمونه برگ، میانگره، گره + میانگره و دو تیمارهورمونی BAP , 2,4-D برای کالوس‌ها در نظر گرفته شد.

مواد و روش‌ها

از گیاهچه‌های استریل موجود در آزمایشگاه کشت بافت پژوهشکده ژنتیک و زیست فناوری کشاورزی طبرستان استفاده گردیده و از آنها ریز نمونه برگ، میانگره، گره + میانگره تهیه و در محیط کشت MS به همراه 2,4-D با غلظتهای ۰ و ۰/۲۵ و ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر و هورمون BA با غلظتهای ۰/۲۵ و ۰/۵ و ۱ میلی‌گرم در لیتر با سه تکرار و در هر تکرار سه ریزنمونه کشت گردید و در اتاقک رشد با دمای ۲±۲۵ درجه سانتیگراد تحت فتوپریود ۱۶/۸ ساعت تاریکی/روشنائی قرار گرفت، آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی بوده و پس از گذشت ۳ ماه ارزیابی رشد صورت گرفت، برای اندازه‌گیری وزن تر، کالوس از ریزنمونه جدا شده و بر روی یک ورقه آلومینیومی که قبلا وزن شده است، قرار داده می‌شود. سپس، وزن کالوس از تفاضل وزن ورقه آلومینیومی و وزن ورقه همراه با کالوس به دست می‌آید. توزین سریع کالوس بسیار مهم است زیرا کالوس به سرعت آب خود را در فضای باز از دست می‌دهد. پس از اندازه‌گیری وزن تر، کالوس در ظرف آن به مدت ۲۴ ساعت درون اون (۶۰ درجه سانتیگراد) قرار می‌گیرد و دوباره توزین می‌شود تا درصد وزن خشک آن به دست آید. جهت تجزیه و تحلیل داده‌ها از نرم‌افزار SPSS و اکسل استفاده گردید و با روش آزمون چند دامنه‌ای دانکن مقایسه شدند. فاکتورهای اندازه‌گیری شده شامل وزن تر و وزن خشک کالوس‌زایی بوده است.

نتیجه و بحث

تجزیه واریانس اثرات متقابل غلظت هورمونی و قطعات جداکشت بر وزن تر کالوس اختلاف بسیار معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد را نشان دادند (جدول ۱).

مقایسه میانگین‌های بدست آمده از هر تیمار در سطح احتمال ۵ درصد با استفاده از روش چند دامنه‌ای دانکن صورت گرفت. بر اساس یافته‌های بدست آمده از جدول مقایسه میانگین اثرات متقابل (جدول ۲) بهترین نتیجه در وزن تر کالوس در تیمار ترکیبی یک میلی‌گرم در لیتر هورمون BAP با ۰/۲۵ میلی‌گرم در لیتر 2,4-D بدست آمد. و کمترین اثر هم در تیمار ترکیبی ۰/۲۵ میلی‌گرم در لیتر هورمون BAP با صفر میلی‌گرم در لیتر 2,4-D مشاهده شد. که با نتایج یاسمین و همکاران[۱۰] که اذعان داشتند در تیمار یک میلی‌گرم در لیتر 2,4-D بالاترین وزن کالوس تولید شده است مطابقت داشت.

جدول۱- تجزیه واریانس صفات مورد مطالعه.

منبع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات (MS)	
		وزن تر کالوس	وزن خشک
(explant) a	۲	۰/۳۷ **	۰/۰۳ **
(BA) b	۲	۰/۲۷ **	۰/۰۲ **
(2-4-D) c	۲	۰/۸۵ **	۰/۱۱ **
a.b	۴	۰/۱۵ **	۰/۰۱ **
a.c	۴	۰/۲۸ **	۰/۰۴ **
b.c	۴	۰/۱۰ **	۰/۰۰۶

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

a.b.c	۸	۰/۰۴ **	۰/۰۰۵
خطا	۵۴	۰/۰۲	۰/۰۰۳
CV (٪)	-	۱۵/۲۰	۱۵/۵۷

*، ** : به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و یک درصد.

جدول ۲- مقایسه میانگین اثرات متقابل دو گانه برای صفات مورد مطالعه.

اثرمتقابل دوگانه		وزن تر کالوس	وزن خشک
a.b			
a_1	b_1	0.78 DE	0.10 A
	b_2	1.01 BCD	0.12 A
	b_3	0.96 CD	0.12 A
a_2	b_1	0.66 E	0.08 A
	b_2	0.57 E	0.08 A
	b_3	1.21 AB	0.14 A
a_3	b_1	0.94 CD	0.10 A
	b_2	1.19 ABC	0.13 A
	b_3	1.27 A	0.15 A
a.c			
a_1	c_1	0.71 B	0.08 AB
	c_2	1.020 A	0.13 AB
	c_3	1.03 A	0.12 AB
a_2	c_1	0.24 C	0.03 B
	c_2	1.13 A	0.15 A
	c_3	1.080 A	0.12 AB
a_3	c_1	1.030 A	0.12 AB
	c_2	1.130 A	0.13 AB
	c_3	1.230 A	0.13 AB
b.c			
b_1	c_1	0.41 F	0.05 B
	c_2	0.86 CDE	0.12 AB
	c_3	1.11 BC	0.11 AB
b_2	c_1	0.7200 E	0.08 AB
	c_2	0.89 CDE	0.12 AB
	c_3	1.17 B	0.14 AB
b_3	c_1	0.84 DE	0.10 AB
	c_2	1.53 A	0.17 A
	c_3	1.06 BCD	0.130 AB

حروف مشابه در هر ستون نشان دهنده عدم وجود اختلاف معنی دار بر اساس آزمون چند دامنه ای دانکن می باشد.

نتایج حاصل از جدول آنالیز واریانس اثر متقابل قطعات جداکشت برگ، میانبرگ و گره + میانگره در ترکیب با دو هورمون BAP 2,4-D , مربوط به وزن خشک کالوس‌های بدست آمده نشان داد که وزن خشک کالوس‌های حاصله نسبت به هم از نظر آماری در سطح یک درصد معنی‌دار شد (جدول ۱).

بیشترین وزن خشک طبق نتایج این تحقیق مربوط می‌شد به تیمار ترکیبی BAP با غلظت یک میلی‌گرم در لیتر و 2,4-D با غلظت ۰/۲۵ میلی‌گرم در لیتر که ۰/۱۷ گرم وزن خشک کالوس بوده است که در مقایسه با کمترین وزن خشک (۰/۳ گرم) که در اثر متقابل ریزنمونه گره + میانگره در محیط بدون هورمون 2,4-D بدست آمده است چشمگیر می‌باشد (جدول ۲).

اکسین و سیتوکنین به عنوان تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی، فاکتورهای کلیدی برای کنترل تقسیم سلولی در شرایط کشت بافت می‌باشند. از این بین استفاده از 2,4-D (به عنوان اکسین) و BA (به عنوان سیتوکنین) به منظور تولید کالوس در کشت بافت گیاهان زیادی گزارش شده است [۵و۸]. به علاوه گزارش شده است که غلظتهای خیلی زیاد هورمون 2,4-D ممکن است برای بیان ژنهای درگیر در تقسیم سلولی و تمایززدایی بافت، مهار کننده باشد [۹]. که با نتایج تحقیق حاضر مطابقت دارد.

نتیجه‌گیری نهائی

در نهایت میتوان بهترین ترکیب‌های تیماری تحقیق حاضر را به این صورت بیان کرد که بیشترین وزن تر و وزن خشک کالوس در تیمار ترکیبی (۱ mg/l) BA به همراه (۰/۲۵ mg/l) 2,4-D و کمترین وزن تر کالوس در تیمار ترکیبی BA (۰/۲۵ mg/l) و 2,4-D (۰ mg/l) مربوط می‌شد و در پایان هم کمترین وزن خشک در ریزنمونه گره با میانگره در محیط بدون هورمون 2,4-D حاصل شد.

سپاسگزاری

اجرای این پروژه به خاطر حمایت‌های مادی و معنوی پژوهشکده ژنتیک و زیست‌فناوری طبرستان امکان‌پذیر شد که ضروری است از مدیریت و کارکنان آن تشکر و قدردانی گردد.

منابع

۱. قانعی، ر، طاهری، ق، رسولی نامقی، م، ۱۳۹۲، تاثیر هورمون NAA **و** 2.4-D بر کالوس‌زایی هندوانه، اولین همایش ملی علوم کشاورزی، دانشگاه پیام نور، استان آذربایجان غربی، مرکز نقده. ۲. شرفی، ع، هاشمی سهی، ه، جورابچی، ع، ۱۳۸۷، بهینه‌سازی شرایط باززایی گیاه دارویی **Artemisia annua,** مجله زیست شناسی ایران، جلد ۲۱، ۵۷۳-۵۶۵.

3. Agarwal M. 2015, Tissue culture of Momordica charantia L.: A review, Journal of Plant Sciences, 3(1-1): 24-32
4. Malik S. Zia M. Rehman R. and Chaudhary F. " In vitro plant regeneration from direct and indirect organogenesis of Momordica charantia," Pak. J. Biol. Sci., Vol 10pp 4118-4122,2007.
5. Devendra N.K. Subhash B. Seetharam Y.N."Callus growth and plant regeneration in Momordica dioica (Roxb.) Wild. Cucurbitaceae," Am. Eurasian J. Sustain Agric., Vol 3,pp 743-748,2009.
6. Selvaraj N. Vasudevan A. Manickavasagam M. and, Ganapathi A. "In vitro organogenesis and plant formation in cucumber. Biol. Plant. Vol 50,pp 123-126,2006.
7. Han C, Hui Q, Wang Y. 2008. Hypoglycaemic activity of saponin fraction extracted from Momordica charantia in PEG/salt aqueous two-phase systems. Nat Prod Res; 22: 1112-
8. No author listed. Momordica charantia (bitter melon), Monograph. Altern Med Rev 2007; 12: 360-3.
9. Kumar, D., Sharathnath, K., Yogeswaran, P., Harani, A., Sudhakar, K., Sudha, P and Banji, David. 2010. A Medicinal Potency of Momordica Charantia. 1, 2, Article 018.95-100
10. Yasmin, S., Nasiruddin, K. M., Begum, R., Talukder, S. K., (2003).Regeneration and etablishment of potato plantletsthrough callus formation with BAP and NAA. Asian Journal of Plant Sciences, 2: 936-940.S.