



کد مقاله: Heca15-02850294

ارزیابی رنگ کالوس گیاه داروئی خربزه تلخ (*Momordica charantia L.*) تحت تاثیر هورمون اکسین و سیتوکنین

رقیه اصغرزاده^{۱*}، حسین مرادی^۲ و قربانعلی نعمتزاده^۳

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

گیاه داروئی خربزه تلخ از خانواده کدوئیان و دارای ارزش اقتصادی و داروئی بالائی می باشد. به دلیل ارزش اقتصادی این گونه و به منظور تسریع برنامه های اصلاحی آن یک روش آسان و سریع نیازمند بوده تا بتوان ارقام جدید را به تقاضاهای بازار برساند. بر همین اساس آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار طراحی گردید. ریز نمونه ها (برگ، میانگره، گره + میانگره) در محیط کشت MS به همراه 2-4-D با غلظتهای ۰، ۰/۲۵ و ۰/۵ میلی گرم در لیتر و هورمون BA با غلظتهای ۰/۲۵ و ۰/۵ و ۱ میلی گرم در لیتر و در هر تکرار سه ریزنمونه کشت گردید. پس از گذشت سه ماه رنگ کالوس مورد بررسی قرار گرفت. و نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان داد بیشترین رنگ کالوس سبز زرد بوده و کمترین آن هم مربوط به رنگ سبز است.

کلمات کلیدی: خربزه تلخ، اکسین، سیتوکنین، رنگ کالوس، درون شیشه ای

مقدمه

امروزه تکنیک های کشت بافت گیاهی از تحول چشمگیری برخوردار بوده و نقش تعیین کننده ای در ازدیاد انواع گیاهان داروئی دارند. مزایایی از قبیل سهولت تکثیر، حفظ ثبات ژنتیکی، عدم محدودیت زمان و مکان و غیره باعث شده است، این گرایش از بیوتکنولوژی اهمیت ویژه ای داشته باشد. از جمله گیاهانی که ارزش بسیار زیادی دارد و میتوان روی آن سرمایه گذاری کرد گیاه داروئی خربزه تلخ از خانواده کدوئیان است. گیاهی چند ساله که هنگام برداشت میوه های خوراکی آن سبز و طعم آن تلخ است. برگها، میوه ها و ساقه های خربزه تلخ غنی از آهن، فسفر، و ویتامین های ث و آ می باشد. عملکرد اصلی آن کاهنده قند خون، محرک گوارش، ضد سرطان، آنتی باکتریال، ضد نفخ، آنتی میکروبیال، ضد ویروس و ضد باکتری می باشد [۳]. از آنجایی که خربزه تلخ بومی مناطق گرمسیری می باشد نیازهای آب و هوایی این گیاه باعث محدود شدن مناطق کشت آن می شود بنابراین می توان با روش های افزایش انبوه به روش کشت بافت به تقاضای زیاد برای این محصول پاسخ داد. از جمله روشهای باززایی روش ریزازدیادی از طریق کالوس می باشد. کالوس ها از نظر رنگ به دو دسته تقسیم می شوند: کالوس های تیره که دارای سایه های کرم، زرد، قهوه ای و غیره می باشند و کالوس های روشن که اغلب به رنگ سفید و گاهی اوقات (نه همیشه) به دلیل وجود کلروفیل به رنگ سبز هستند علاوه بر این کالوس ها را به انواع جنین زا و غیر جنین زا تقسیم می کنند. کالوس های جنین زا کالوس هایی هستند که رشد آنها آهسته تر و تردی آنها کمتر است، دارای ساختار سازمان یافته ظاهری صاف و رنگ سفید بوده و واکنش



Agriculture Development, Healthy Earth

۳۰ دی ماه ۱۳۹۴

زیادی به باززایی نشان می‌دهند. این نوع کالوس‌ها تولید ایجاد جنین به طور خود به خود یا تحت شرایط مناسب را دارند. از طرفی دیگر کالوس‌های غیر جنین‌زا دارای رشد سریع‌تر، تردی بیشتر، ظاهری بلوری و زرد تا قهوه‌ای رنگ هستند و قادر به ایجاد جنین رویشی نمی‌باشند. معمولاً کالوس‌های غیر جنین‌زا به علت رشد بیشتر، کالوس‌های جنین‌زا را می‌پوشانند. با توجه به نوع گونه و سرعت رشد کالوس می‌توان هر ۳-۶ هفته اقدام به واگشت کرده و کالوس کشت شده را برای چندین سال نگهداری نمود. در بیشتر موارد با نگهداری کشت‌های کالوس در شرایط رشد کم، از آنها برای ذخایر ژنتیکی استفاده می‌شود [۱]. در همین راستا تحقیقاتی هم صورت پذیرفت که می‌توان به تحقیق مانی و همکاران (۲۰۰۴) [۵] که به سه نوع کالوس به رنگهای سبز، زرد سبز و زرد ملایم از خربزه تلخ تولید کردند اشاره کرد. مالیک و همکاران (۲۰۰۷) [۴] نیز در بررسی خود اعلام کردند کالوس‌های تولیدی از خربزه تلخ در تمامی غلظت‌های توفوردی قهوه‌ای تا سبز مایل به زرد بوده‌اند. در این تحقیق با بررسی رنگ کالوس‌های تولیدی و در آزمایشات بعدی بررسی قدرت باززایی این کالوس‌ها میتوان به هدف باززایی این گیاه دارویی کمک کرد. در تحقیق حاضر سعی بر آن است که بهینه‌سازی کالوس در ریزنمونه‌های گیاه دارویی خربزه تلخ تحت تاثیر هورمون اکسین و سیتوکنین مورد ارزیابی قرار گیرد.

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. کشت‌های کالوس در دمای حدود ۲۲-۲۵ درجه سانتی‌گراد، شدت کم نور فلورسنت و تناوب ۸ ساعت تاریکی و ۱۶ ساعت روشنایی نگهداری و با توجه به نوع گونه و سرعت رشد کالوس هر ۳-۶ هفته واگشت شدند و پس از گذشت ۳ ماه ارزیابی رنگ کالوس صورت گرفت و از آنها درصد گرفته شد. جهت تجزیه و تحلیل داده‌ها از نرم‌افزار اکسل استفاده گردید.

نتیجه و بحث

مطابق نمودار ۱ بیشترین کالوس تولید شده به رنگ سبز زرد بوده و کمترین آن هم مربوط به رنگ سبز می‌باشد. که با تحقیقات مالیک و همکاران (۲۰۰۷) [۴] که ادعان داشتند کالوس‌های تولیدی در تمامی غلظت‌های 2,4-D به رنگ قهوه‌ای تا سبز زرد، محکم و سخت بودند مطابقت داشت. که نتایج این تحقیق را نیز تأیید میکند. در گزارش سلوارج و همکاران (۲۰۰۶) [۶] تمامی کالوس‌های بدست آمده در حضور 2,4-D و BA به رنگ سبز بوده‌اند که علت تفاوت در این گزارش با تحقیق حاضر می‌تواند مربوط به نوع ریزنمونه (که در تحقیق آنها محور زیر لپه بود) به کار گرفته شده باشد. همچنین در تحقیقات نابی و همکاران (۲۰۰۲) [۷] در محیط ترکیبی BA (یک میلی‌گرم در لیتر) بعلاوه هورمون NAA (۰/۱ میلی‌گرم در لیتر) کالوس‌های نرم به رنگ سبز روشن تولید شد.

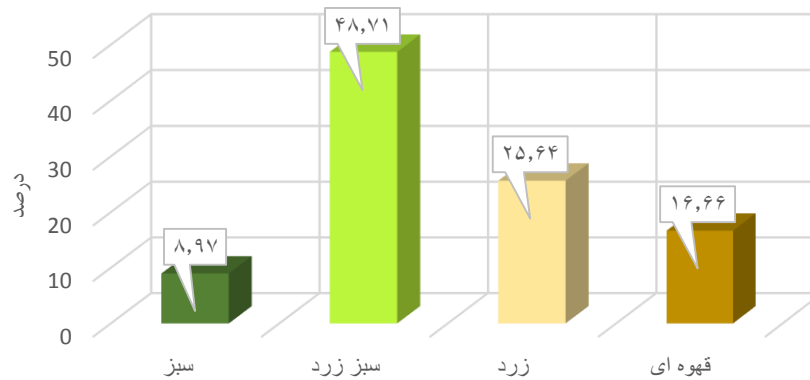
رنگ، ساختار و قدرت باززایی کالوس‌ها تحت تاثیر ژنوتیپ و شرایط کشت (محیط کشت و شرایط نگهداری کشت‌ها) است. (۲)



Agriculture Development, Healthy Earth

۳۰ دی ماه ۱۳۹۴

رنگ کالوس



نمودار ۱: رنگ کالوس های تولیدی

نتیجه گیری نهائی

بیشترین کالوس تولیدی در این تحقیق به رنگ سبز زرد بوده است که این نوع کالوسها توانایی تولید و ایجاد جنین به طور خود به خود یا تحت شرایط مناسب را دارند. و کالوسهای به رنگ سبز کمتر تولید شده بود.

سپاسگزاری

اجرای این پروژه به خاطر حمایت های مادی و معنوی پژوهشکده ژنتیک و زیست فناوری طبرستان امکان پذیر شد که ضروری است از مدیریت و کارکنان آن تشکر و قدردانی گردد.

منابع

۱. اثنی عشری م، زکائی خسروشاهی م، ر، ۱۳۹۲، راهنمای جامع کشت بافت گیاهی، دانشگاه بوعلی سینا.
۲. فارسی، م. و ج. ذوالعلی. ۱۳۸۲. اصول بیوتکنولوژی گیاهی ترجمه. انتشارات دانشگاه فردوسی مشهد.
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. Manye Y. Zhao M. Lan L. Chen F. "Establishment of in vitro regeneration system of bitter melon(*Momordica charantia* L.), Vol(10)pp44-48,2004.
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. Nabi ARashid. M.M, Al-Amin M. Rasul M.G. "Organogenesis in teasle gourd (*Momordica dioica* Roxb.),". *Plant Tissue Cult.*, Vol 12 pp 173-180,2002.