مطالعه اثر میدان مغناطیسی ایستا بر روی درصد ایجاد کالوس حاصل از جنین های بذری درخت جینکو در شرایط آزمایشگاهی

سیدمحمد شتاب بوشهری[1*]، سید علی قائم مقامی[2] و روزبه عباس زاده[3]

۱- کارشناس ارشد پژوهشی گروه تولیدات گیاهی، سازمان پژوهشهای علمی و صنعتی ایران، تهران. ۲- مربی گروه تولیدات گیاهی، سازمان پژوهشهای علمی و صنعتی ایران، تهران. ۳- استادیار گروه فناوری های پس از تولید، سازمان پژوهشهای علمی و صنعتی ایران، تهران.

*نویسنده مسئول:shetab8@yahoo.com

چکیده

جینکو درختی است که از نظر زینتی و تولیدات دارویی دارای اهمیت فراوان می باشد. تحقیقات وسیعی بر روی کالوس زایی، تولید کالوسهای جنین زا و ریشه زایی به دلیل اهمیت فراوان ماده موثره ژینکولوئید آن تا کنون انجام شده است. در این تحقیق اثر میدان مغناطیسی ثابت یا ایستا روی درصد ایجاد کالوسهای حاصل از جنین های بذری درخت جینکو در شرایط In vitro مورد بررسی قرار گرفت. جنین و لپه های بذری جینکو پس از ضد عفونی کردن بذر ودر شرایط استریل روی محیط کشت تغییر یافته B_5بدون هورمون و با هورمون BA mg/l ۰/۰۵ کشت شده و در مجاورت میدان مغناطیسی ثابت با شدت میدان ۵۰ میلی تسلا به مدت دو هفته در تاریکی تیمار شدند. تیمارهای بدون میدان مغناطیسی نیز درنظر گرفته شدند. یادداشت برداری از کالوس ها پس از یکماه انجام شد. نتایج نشان داد میدان مغناطیسی روی درصد ایجاد کالوس ها تاثیر معنی دار داشته و بین محیط کشت بدون هورمون و با هورمون BA mg/l ۰/۰۵ از نظر افزایش درصد کالوس زایی تاثیری مشاهده نگردید. کاربرد مغناطیسی می تواند رویکرد جدیدی در تحقیقات بر روی افزایش رشدکالوس باشد.

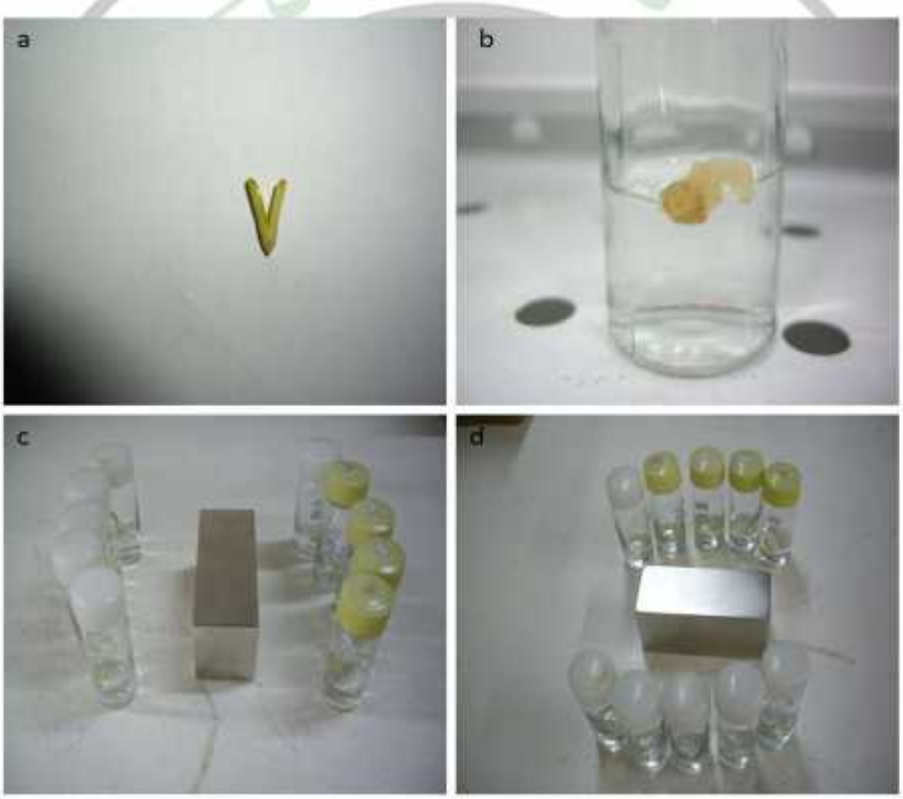
واژه های کلیدی: جینکو، کالوس زایی، میدان مغناطیسی، جنین.

مقدمه

جینکو درختی است از بازدانگان اولیه با نام علمی (*Ginkgo biloba* L.) از تیره Ginkgoaceae که به لحاظ زینتی و تولیدات دارویی از جمله ژینکولوئید و فلاونوئید اهمیت دارد (قائم مقامی و لبافی ۱۳۸۴). کشت بافت این گیاه به دلیل اهمیت فراوان آن از سالهای ۱۹۳۴ در جهت کالوس زایی، تولید کالوسهای جنین زا و ریشه زایی آغاز شده است (Tulecke, 1997). مطالعات زیادی نشان داده‌اند که میدان مغناطیسی می‌تواند روی موجودات زنده تأثیر بگذارد. اعمال میدان مغناطیسی ۲/۹ تا ۴/۶ میلی تسلا در زمان های ۲/۲، ۶/۶ و ۱۹/۸ ثانیه به منظور تحریک باززایی در کشت بافت سویا موجب افزایش در تشکیل ریشه چه و ساقه چه، وزن تازه و مقادیر کلروفیل شد (Atak, et al., 2003). رشد سریعتر بذر گندم نیز با استفاده از میدان مغناطیس ثابت (ایستا) ۷mT مشاهده و اثرات مثبت میدان مغناطیسی در بیوسنتز پروتئین ها، تکثیر سلول، فعالیتهای بیوشیمیایی، میزان تنفس، فعالیت آنزیم ها، میزان اسیدنوکلئیک و دوره رشد و نمو نشان داده شد (Cakmak, 2009). البته سازوکار دقیق این تأثیرها هنوز نامشخص است اما یک توصیف ممکن برای اثرات متعدد میدان مغناطیسی روی موجودات زنده، تنش اکسیداتیو ناشی از افزایش تولید گونه‌های فعال اکسیژن است که با میانجی‌گری آهن انجام می‌گیرد (پایز و همکاران ۱۳۹۲). در این تحقیق اثرات میدان مغناطیسی ثابت یا ایستا (DC) روی رشد و ایجاد کالوس های حاصل از جنین های بذری درخت جینکو مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

میوه رسیده جینکو پس از حذف گوشت میوه و پوسته بذر و شستشوی اولیه در زیر شیر آب، در شرایط استریل در زیر لامینار ایر فلو با محلول هیپوکلریت سدیم ۱۵٪ (تهیه شده از محلول تجاری وایتکس با ۵٪ کلر فعال) ضد عفونی سطحی شده و سه بار با آب مقطر استریل آبکشی شدند. سپس آندوسپرم و نقاط مریستمی جنین حذف گردید. ریزنمونه ها روی محیط کشت B_5 (Gamborg 1968) با نصف غلظت نمکها و ویتامین ها و بدون هورمون (محیط A) و با هورمون بنزیل آمینو پورین (BA) mg/l ۰/۰۵ (محیط B) کشت شده و در مجاورت مگنت فلزی مغناطیسی (DC) با شدت میدان ۵۰ میلی تسلا و تحت شرایط تاریکی و دمای ۲۵ درجه سانتیگراد نگهداشته شدند. به عنوان شاهد نمونه هایی نیز به دور از میدان مغناطیسی و روی هر دو محیط A و B نگهداری شدند (شکل ۱). پس از دو هفته میدان مغناطیس را برداشته و پس از یکماه درصد کالوسهای ایجاد شده یادداشت برداری شد. تعداد تکرارها برای هر تیمار ۱۰ عدد بوده وداده ها توسط برنامه‌ی SPSS در قالب طرح کاملا تصادفی آنالیز شد و در نهایت تجزیه واریانس و مقایسه میانگین به روش دانکن در سطح ۵٪ برای نتایج آزمایش ها انجام گرفت.



شکل ۱ - a – جنین بذری جینکو. b – کالوس ایجاد شده. c و d – محل نگهداری نمونه ها در مجاورت مغناطیس (آهن ربا) در فاصله تنظیم شده برای شدت میدان ۵۰ میلی تسلا (نگهداری در شرایط تاریکی)

شکل ۲ - مقایسه میانگین ها برای بررسی اثر مغناطیس بر درصد ایجاد کالوس

جدول ۱ - تجزیه واریانس درصد ایجاد کالوس در میدان مغناطیسی ۵۰ mT

منبع تغییر	درجه آزادی	مجموع مربعات	میانگین مربعات	Fs
مغناطیس	۱	۳۸۶۷/۳۹	۳۸۶۷/۳۹	* ۴/۳۸
محیط	۱	۳۳۳۷/۱۵	۳۳۳۷/۱۵	ns ۳/۷۸
مغناطیس × محیط	۱	۱۸۵۳/۶۰	۱۸۵۳/۶۰	ns ۲/۱۰
خطای آزمایشی	۳۷	۳۲۶۶۶/۹۴	۸۸۲/۸۹	
کل	۴۰			

*: اختلاف در سطح ۵ درصد معنی دار شد.

ns: اختلاف در سطح ۵ درصد معنی دار نشد.

نتایج و بحث

با توجه به شکل ۲ تفاوت معنی دار در درصد ایجاد کالوس زایی حدود دو برابر بین نمونه های تحت شرایط میدان مغناطیس و شاهد (بدون میدان مغناطیسی) دیده می شود. در همین ارتباط، افزایش وزن کالوس و مقدار قند، پروتئین و فنول در بذر سویا تحت تنش شوری و تیمار میدان مغناطیسی پالس شده دیده شد (Radhakrishnan, 2012). البته در تحقیقی دیگر کاهش زنده مانی کالوسهای سوسپانسیونی جو تحت تیمار میدان مغناطیسی با ۸ میلی تسلا مشاهده گردید (Galland & Pazur, 2005). لذا نمی توان گفت میدان مغناطیسی همواره اثرات مثبتی روی کشتهای درون شیشه ایی دارد. با توجه به جدول ۱ بین دو محیط کشت A و B تفاوت معنی دار وجود نداشت و احتمالا کالوس زایی در اثر هورمون های داخلی و یا میدان مغناطیسی تحریک و ایجاد شده اند. در تحقیق تولیت و همکاران مقدار دوز مناسب BA برای تولید کالوس از بافتهای رویشی جینکو ۰/۵ mg/l به همراه NAA ۱ mg/l بود (تولیت و همکاران ۱۳۸۷). در صورت افزایش کمی مقدار کالوس، ماده موثره جینکولوئید نیزجهت استخراج افزایش می یابد و از طرف دیگر، چنانچه القا جنین زایی بر روی کالوسها انجام شود می تواند در برنامه های ریزازدیادی آینده این تکنیک مورد استفاده قرار گیرد. در مجموع می توان گفت که میدان مغناطیسی در برخی از کشت ها و یا بافتها ممکن است اثرات محرک و یا بازدارنده ای داشته باشد که در حالت افزایش رشد جایگزینی مناسب برای هورمون های گیاهی خواهد بود.

منابع

۱. پایز، ع.، قناتی، ف.، بهمنش، م.، عبدالمالکی، پ. وقهرمانی‌نژاد، م. ۱۳۹۲. حفظ تمامیت غشا و تحریک سامانه آنتی اکسیدان گیاه گندم تحت تأثیر میدان مغناطیسی ایستا و متناوب در فاز رویشی. ۲ (۱) : ۱۰-۱.

۲. تولیت، س.، عبدلی، م.، قربانی مشگین، م.، خلیقی سیگارودی، ف.، امیدی، م. ۱۳۸۷. بررسی کشت درون شیشه‌ای گیاه ژینکو بیلوبا (*Ginkgo biloba* L.) از طریق کشت بافت ریزنمونه‌های مختلف. فصلنامه گیاهان دارویی. ۴ (۲۹) :۱۵۶-۱۶۳.

۳. قائم مقامی، س.، لبافی، ی. ۱۳۸۴. تعیین غلظت و ترکیب هورمونی مناسب برای کشت درون شیشه ای ریزنمونه درخت بالغ ژینکو *Ginkgo biloba*. مجله علوم کشاورزی و منابع طبیعی. شماره۱: ۱۳۷-۱۴۶.

4. Atak, Ç., Emiroglu, Ö., Alikamanoglu, S., and Rzakoulieva, A. 2003. Stimulation of regeneration by magnetic field in soybean (Glycine max L. Merrill) tissue cultures. Journal of Cell and Molecular Biology. 2: 113-119.
5. Cakmak, T., Dumlupinar, R. and Erdal, S. 2009. Acceleration of germination and early growth of wheat and bean seedlings grown under various magnetic field and osmotic conditions. Bioelectromagnetics. vol. 31, No. 2: 120-129.
6. Galland, P., Pazur , A. 2005. Magnetoreception in plants. Journal of Plant Research. Volume 118, Issue 6: 371-389.
7. Gamborg, O.L., Miller, R.A., Ojman, K., 1968. Plant cell cultures: nutrient requirements of suspension cultures of soybean root cells. Exp. Cell Res. 50, 151–158.
8. Radhakrishnan, R., Leelapriya, T., Kumari, BD. 2012. Effects of pulsed magnetic field treatment of soybean seeds on calli growth, cell damage, and biochemical changes under salt stress. Bioelectromagnetics. Dec, 33(8): 670-81.
9. Tulecke, W. 1997. Tissue Culture Studies on Ginkgo biloba. In: T. Hori et al. (eds.), Ginkgo Biloba A Global Treasure © Springer-Verlag Tokyo. 141-156.
10.

Effects of static magnetic field on the percentage of callus induction from Ginkgo tree seed embryos in vitro

S. M. Shetab Boushehri[1]*, S. A. Ghaemmaghami[2], R. Abbaszadeh[3]

1- M. Sc. of Horticultural Science, Dept. of Plant production & sustainable Agriculture, Iranian Research Organization for Science &Technology (IROST), Tehran, Iran. 2- Scientific Research, Dept. of Plant production & sustainable Agriculture, Iranian Research Organization for Science &Technology (IROST), Tehran, Iran. 3- Assistant Professor, Dept. of Biosystems Engineering, Iranian Research Organization for Science &Technology (IROST), Tehran, Iran.
*Corresponding author: shetab8@yahoo.com

Abstract

Ginkgo tree in terms of ornamental and medicinal products is of paramount importance. Several studies have conducted on the callus, embryogenic callus production and rooting because of the importance of active ingredient it's Ginkgolide. In this research the effect of a static magnetic field on percentage of callus formation from ginkgo tree seed embryos in vitro were studied. After disinfection of ginkgo seed embryos, embryo and cotyledons were cultured in sterile conditions on changed B5 medium without hormones and with 0.05 mg/l BA hormone. Samples were treated on the presence of a magnetic field with magnetic flux density of 50 mT for two weeks in the darkness. There is also treatment without magnetic field. Recording for callus was performed after one month. The results showed magnetic field had a significant effect on the percentage of callus induction and there was no difference between effect of the mediums (without hormones and with hormone 0.05 mg/l BA) on the percentage of callus. Application of magnetic can be new approach in callus formation investigations.

Key words: Ginkgo, Embryo, Callus, Magnetic Field