

بررسی کیفیت نور بر برخی شاخص های کالوس مرزه خوزستانی (*Satureja khuzestanica* L.)

شهیده رباطی^{۱*}، حسن ساری خانی^۲ و محمد حسین میر جلیلی^۳

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد گیاهان دارویی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان. ۲- دانشیار گروه علوم باغبانی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان. ۳- استادیار گروه مهندسی کشاورزی، دانشگاه شهید بهشتی، تهران.
*نویسنده مسئول: shrohati89@gmail.com

چکیده

مرزه خوزستانی با نام علمی *Satureja khuzestanica* L. گیاهی چند ساله با ارزش دارویی است. این گیاه منبع غنی از ترکیبات فنلی مانند رزمارینیک می باشد که از اهمیت روزافزون در صنایع غذایی و دارویی برخوردار است. در پژوهش حاضر تاثیر کیفیت نور در اتاقک رشد بر شاخص های رشدی و ویژگی های آنتی اکسیدانی کالوس این گیاه مورد بررسی قرار گرفت. کالوس های تازه کشت شده این گیاه در محیط کشت MS در تیمارهای نور فلورسنت (به عنوان شاهد)، نور قرمز، نور آبی و ترکیب برابر آبی و قرمز با شدت حدود ۴۰ میکرومول بر متر مربع در ثانیه قرار گرفتند و پس از یک ماه، رشد کالوس و تولید ترکیبات آنتی اکسیدانی مورد ارزیابی قرار گرفتند. نتایج نشان داد که بیشترین شاخص رشد کالوس در نور آبی و کمترین آن در نور قرمز مشاهده شد. بیشترین مقدار ترکیبات فنلی در کالوس های رشد یافته در نور آبی مشاهده شد. در مقابل در نور ترکیبی آبی و قرمز محتوای ترکیبات فنلی در پایین ترین سطح قرار داشت. در تیمار نور قرمز بیشترین درصد وزن خشک و کمترین میزان فعالیت آنتی اکسیدانی مشاهده شد. کمترین درصد وزن خشک در نور سفید دیده شد. حداکثر فعالیت آنتی اکسیدانی در کالوس های تیمار شده با نور آبی مشاهده شد.

کلمات کلیدی: نور، مرزه خوزستانی، کالوس، ظرفیت آنتی اکسیدانی.

مقدمه

مرزه خوزستانی با نام علمی *Satureja khuzestanica* L. گیاهی چند ساله با ارزش دارویی از خانواده *Lamiaceae* است. این گیاه متعلق به نواحی گرم و معتدل زاگرس و بومی ایران است که ارزش فوق العاده دارویی دارد و ترکیبات معطر آن در صنایع دارویی، غذایی و عطرسازی کاربرد فراوان دارند (معلم و همکاران، ۱۳۹۰). مرزه خوزستانی منبع غنی کارواکرویل و رزمارینیک می باشد که از اهمیت روزافزون در صنایع غذایی و دارویی برخوردار است (هادیان و همکاران، ۱۳۸۹). مهمترین ترکیبات شیمیایی اسانس مرزه خوزستانی شامل کارواکرویل بیش از ۹۰ درصد، پاراسیمن، گاما ترپینن، لیمونن، ۱ و ۸ سیننول، اوژنول، میرسن و آلفاتوژن می باشد (نوش کام و همکاران، ۱۳۹۳). رزمارینیک اسید موجود در این گیاه دارای خواص ضد میکروبی است و از توسعه بیماری آلزایمر جلوگیری می کند (Sahrarou et al., 2014). از چای و عصاره و اسانس این گیاه به عنوان آرام بخش، ضد درد و ضد اسپاسم استفاده می شود (مظفریان، ۱۳۹۱). سیستم باززایی درون شیشه ای برای تولید داروهای گیاهی بسیار مناسب است، زیرا کشت مرسوم گیاهان آنها را در معرض انواع آفات، آب و هوا و فزایمی زمین قرار می دهد که اثر نامطلوبی بر کیفیت دارویی گیاهان برداشت شده می گذارد. بعلاوه، مطالعات تشکیل کالوس برای دانستن مسیرهای متابولیکی متابولیت های ثانویه و جنین زایی سوماتیکی مفید است (Tariq et al., 2014). تولید متابولیت های ثانویه در گیاهان دارویی علاوه بر ژنتیک، تحت تاثیر عوامل محیطی می باشد. از جمله این عوامل می توان به تاثیر نور اشاره نمود، که ارتباطی تنگاتنگ بین ویژگی های نور و تولید متابولیت های ثانویه در گیاهان دارویی وجود دارد. فعالیت گیاهان در سنتز متابولیت های دارویی، تحت تاثیر وضعیت های مختلف نوری تغییر می کند (امیدیگی، ۱۳۹۲). در کشت کالوس گیاه آرتمیزین مشاهده شد که کالوس رشد یافته در شرایط ۱۶ ساعت

نور و ۸ ساعت تاریکی سبز رنگ و شاداب بوده و رشد بهتری نسبت به کالوس نگهداری شده در تاریکی داشت. کالوس نگهداری شده در ۲۴ ساعت تاریکی کرم رنگ بود (اصغری و همکاران، ۱۳۹۲). از بررسی اثر شرایط نوری بر کشت کالوس گیاه توس مشخص شد که نور فاکتور موثری در کالوس زایی می باشد. شرایط نوری بر میزان قهوه ای شدن ریزنمونه ها نیز موثر بود، به طوری که تیمار تاریکی درصد بالای قهوه ای شدن ریزنمونه ها را باعث شد (مهری راد و همکاران، ۱۳۹۴). درصد تشکیل کالوس در گیاه افسنتین تحت تیمار نور سفید بیشتر از نورهای دیگر بود. بیشترین میزان پروتئین و فعالیت پروتئاز و پراکسیداز کالوس ها در تیمار نوری قرمز مشاهده شد. بیشترین محتوای کلروفیل کل، بیشترین میزان فنل کل و فعالیت آنتی اکسیدانی در تیمار نور سبز کالوس ها مشاهده شد (Tariq et al., 2014). در گیاه رز گالیکا جداکشت ساقه درصد کالوس زایی بالاتری را نسبت به سایر بخش ها نشان داد. قرار گرفتن در معرض نور سبب ایجاد رنگ قرمز در کالوس ها و افزایش معنی دار آنتوسیانین آنها شد که بیشترین میزان آنتوسیانین در کالوس هایی دیده شد که طی ۶۰ روز تحت تیمار نوری ۲۰۰۰ لوکس بودند. بیشترین میزان آنتوسیانین در کالوس القا شده از برگ بدست آمد (رضانژاد و طراحی، ۱۳۹۲). با توجه به اهمیت کشت درون شیشه ای گیاهان و استخراج متابولیت های ثانویه از آنها، پژوهش حاضر به بررسی تاثیر کیفیت نور بر کشت درون شیشه ای کالوس مرزه خوزستانی می پردازد.

مواد و روش ها

این آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. ابتدا برای تولید کالوس، ریز نمونه ها در محیط MS حاوی غلظت های مختلف تو فور دی کشت شدند. پس از تولید کالوس کافی، محیط کشت گامبورگ (B5) حاوی ۵ میلی گرم در لیتر هورمون بنزیل آدنین (BA)، ۱ میلی گرم در لیتر ایندول بوتریک اسید (IBA)، ۲ گرم در لیتر پلی وینیل پیرولیدین (PVP) و ۱۰۰ میلی گرم در لیتر کازئین تهیه شد و حدود ۱ گرم از کالوس حاصل از نمونه برگی گیاه مرزه خوزستانی در محیط های مورد نظر کشت شدند و به مدت یک ماه در اتاقک رشد تحت تیمارهای نوری با فتوپریود ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی با شدت نور حدود ۴۰ میکرومول بر متر مربع در ثانیه در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد قرار داده شدند. تیمارهای نوری شامل نور قرمز، نور آبی، نور سفید فلورسنت و ترکیبی از نور قرمز و آبی بودند. پس از پایان دوره رشد یک ماهه، کالوس ها جهت اندازه گیری وزن تر و خشک، میزان فنل کل و ظرفیت آنتی اکسیدانی به آزمایشگاه منتقل شدند. برای اندازه گیری وزن تر، کالوس ها از محیط کشت خارج و پس از سه بار شست و شو با آب مقطر به وسیله کاغذ خشک کن آبیگری شده و وزن شدند. کالوس های توزین شده به مدت ۴۸ ساعت در آون ۷۰ درجه سانتی گراد قرار گرفتند و سپس وزن خشک آنها اندازه گیری شد. شاخص رشد و درصد وزن خشک با استفاده از فرمول های زیر محاسبه گردید:

$$GI = (W_1 - W_0) / W_0$$

$$DW\% = W_d / W_f * 100$$

در فرمول ها W_1 وزن کالوس پس از تیمار، W_0 وزن کالوس قبل از تیمار، W_d وزن خشک کالوس و W_f وزن تر کالوس می باشد.

جهت اندازه گیری فنل کل و ظرفیت آنتی اکسیدانی ابتدا عصاره متانولی از کالوس ها تهیه شد. بدین منظور ۱ گرم از کالوس ها وزن شد و با متانول ۷۰٪ کوئیده و ۵ دقیقه سانتریفیوژ گشت. طبق روش لی و همکاران و با استفاده از فولین سیوکالتو فنل کل و طبق روش کامپتون و همکاران با استفاده از DPPH ظرفیت آنتی اکسیدانی اندازه گیری شد. جذب نمونه های فنل کل در ۷۶۰ نانومتر و آنتی اکسیدانی در طول موج ۵۱۷ نانومتر بررسی شد. تجزیه و تحلیل داده ها با استفاده از نرم افزار SAS و مقایسه میانگین با آزمون چند دامنه ای دانکن صورت گرفت.

نتایج و بحث

نتایج نشان داد که بیشترین شاخص رشد کالوس در نور آبی و کمترین آن در نور قرمز مشاهده شد (جدول ۱) همچنین بیشترین مقدار ترکیبات فنلی در کالوس های رشد یافته در نور آبی مشاهده شد. در مقابل در نور ترکیبی آبی و قرمز محتوای ترکیبات فنلی در پایین ترین سطح قرار داشت. در تیمار نور قرمز بیشترین درصد وزن خشک و کمترین میزان فعالیت آنتی اکسیدانی مشاهده شد. کمترین درصد وزن خشک در نور سفید دیده شد. حداکثر فعالیت آنتی اکسیدانی در کالوس های تیمار شده با نور آبی مشاهده شد. نتایج پژوهش حاضر نشان داد که کیفیت نور بر تولید ترکیبات مختلف شامل ترکیبات فنلی و مواد موثره در ایجاد ظرفیت آنتی اکسیدانی این گیاه موثر است. تاثیر کیفیت نور بر ترکیبات و متابولیت های اولیه و ثانویه در پژوهش وو و همکاران (۲۰۰۷) و ایوای و همکاران (۲۰۱۰) نیز گزارش شده است. پژوهش های زیادی در ارتباط با سنتز پلی فنل ها در حضور نور صورت گرفته است، اما تاثیر طول موج خاصی از نور بر تجمع یا عدم تجمع آنها به درستی مشخص نیست (ایوای و همکاران، ۲۰۱۰). همچنین به دلیل تنوع بسیار زیاد ترکیبات فنلی به نظر می رسد سنتز هر کدام از آنها در شرایط خاصی صورت می گیرد. از طرف دیگر ثابت شده است که عوامل تنش زا نیز به عنوان تحریک کننده تولید متابولیت های ثانویه و به ویژه ترکیبات فنلی در گیاهان دارویی هستند (امیدبیگی، ۱۳۸۶). احتمال آن وجود دارد که کیفیت نور نیز به عنوان عاملی تنش زا، باعث ایجاد تنش در گیاهان شود و از این طریق باعث تولید متابولیت های خاص گیاهی شود که این موضوع برای اثبات نیاز به مطالعات بیشتر دارد.

جدول ۱. نتایج مقایسه میانگین صفات اندازه گیری شده در کالوس مرزه خوزستانی

کیفیت نور	شاخص رشد	وزن خشک (درصد)	فنل کل (mgGAE/g)	ظرفیت آنتی اکسیدانی (درصد)
نور سفید (فلورسنت)	۳/۸	۵/۱	۹/۲	۸۷/۳
نور قرمز	۳/۶	۵/۵	۸/۹	۸۵/۴
نور آبی	۴/۳	۵/۴	۱۰/۱	۸۷/۴
نور قرمز آبی	۴/۲	۵/۵	۷/۳	۸۶/۶

منابع

- اصغری، غ.، دوازده امامی، س.، حجتی، م.، شکوری، ع.، ولیان، ز. و اصغری، م. ۱۳۹۲. بررسی تولید آرتیمیزیین در گیاه، کشت کالوس و کشت سوسپانسیون سلولی درمنه کوهی (*Artemisia aucheri* Boiss). مجله سلول و بافت. جلد ۴، شماره ۳: ۲۴۳-۲۵۰.
- امید بیگی، ر. ۱۳۹۲. تولید و فرآوری گیاهان دارویی. جلد اول. موسسه چاپ و انتشارات آستان قدس رضوی. ۳۴۸.
- رضا نژاد، ف. و طراحی، ر. ۱۳۹۲. اثر نور و تنظیم کننده های رشد گیاهی بر کالوس زایی و تجمع آنتوسیانین در کالوس های حاصل از جدا کشت های مختلف در رز گالیکا (*Rosa gallica* L.). مجله پژوهش های گیاهی. جلد ۲۶، شماره ۲: ۱۸۴-۱۹۵.
- مظفریان، و. ۱۳۹۱. شناخت گیاهان دارویی و معطر ایران. تهران: فرهنگ معاصر. ۵۶۱-۵۶۲.
- معلم، ا.، قاسمی پیربلوطی، ع. و یوسف نعایی، ص. ۱۳۹۰. مطالعه میکروسکوپی میوه و دانه گرده مرزه خوزستانی. فصل نامه داروهای گیاهی. سال دوم، شماره ۳: ۱۹۳-۲۰۱.
- مهری راد، ن.، پیام نور، و. و نظری، ج. ۱۳۹۴. اثر سن پایه و نور بر کالزایی توس (*Betula litwinowii*) و بتولین القا شده در شرایط درون شیشه ای. دوفصلنامه علمی-پژوهشی تحقیقات ژنتیک و اصلاح گیاهان مرتعی و جنگلی ایران. جلد ۲۳، شماره ۱: ۹۳-۱۰۲.

۷. نوش کام، ا.، مجنون حسینی، ن.، هادیان، ج.، جهانسوز، م. و خاوازی، ک. ۱۳۹۳. تاثیر شرایط فاریاب و دیم بر عملکرد پیکر رویشی و عملکرد اسانس دو گونه دارویی مرزه خوزستانی (*Satureja khuzistanica Jamzad*) و مرزه رشینگری (*S. rechingeri Jamzad*) در شمال خوزستان. نشریه تولید گیاهان زراعی. جلد ۷، شماره ۲: ۶۱-۷۵.
۸. هادیان، ج.، نجفی، ف.، میرجلیلی، م. و صالح نیا، ع. ۱۳۸۹. گزارشی از پروژه اهلی کردن و اصلاح مرزه خوزستانی و رشینگری. همایش ملی گیاهان دارویی، ساری، جهاد دانشگاهی واحد مازندران.
9. Iwai M., Ohta, M. Tsuchiya, H. and Suzuki, T. (2010) "Enhanced accumulation of caffeic acid, rosmarinic acid and luteolin-glucoside in red perilla cultivated under red diode laser and blue LED illumination followed by UV-A irradiation". J. Functional Foods, 2: 66-70.
10. Sahraroo, A., Babalar, M., Mirjalili, M.H., Fattahi Moghaddam, M.R. and Nejad Ebrahimi, S. 2014. *In-vitro* Callus Induction and Rosmarinic Acid Quantification in Callus Culture of *Satureja khuzistanica Jamzad* (Lamiaceae). Iranian Journal of Pharmaceutical Research. 13 (4): 1447-1456.
11. Tariq, U., Ali, M. and Abbasi, B. 2014. Morphogenic and biochemical variations under different spectral lights in callus cultures of *Artemisia absinthium L.* Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology. 130: 264-271.
12. Wu M., Hou, C. Jiang, C. Wang, Y. Wang, C. Chen, H. and Chang, H. (2007) "A novel approach of LED light radiation improves the antioxidant activity of pea seedlings". Food Chemistry 101: 1753-1758.

Investigation of light quality on some indices of *Satureja khuzestanica* callus

Sh.Robati^{1*}, H.Sarikhani², M.H. Mirjalili³

1-M. Sc of Horticultural Science, Bu-Ali Sina University of Hamedan. 2- Associate Professor, Dep. of Horticultural Science, Bu-Ali Sina University of Hamedan. 3- Assistant Professor, Dep. of Agricultural Science, Shahid Beheshti University of Tehran.

*Corresponding author: shroboti89@gmail.com

Abstract

Satureja khuzestanica is a perennial plant with medicinal value. It is a rich source of phenolic compounds such as rosmarinic which is increasingly important in the food and pharmaceutical industries. In this study the effects of light quality in the growth chamber are evaluated on growth indices and the antioxidant properties of this plant callus. New callus cultured of this plant were put on MS medium under treatments of fluorescent light (as control), red light, blue light and the equal combination of blue and red light with the intensity of 40 micromoles per square meter per second and after a month, callus growth and production of antioxidant compounds were evaluated. The results showed that highest callus growth index was observed in blue light and its lowest was in the red light. The highest amount of phenolic compounds was observed in callus was grown in blue light. In contrast, phenolic compound content was at the lowest level in the combination of blue and red light. In the red light treatment was observed the most percentage of dry weight and the lowest antioxidant activity. The lowest percentage of dry matter was observed in white light. Maximum antioxidant activity was observed in callus treated with blue light.

Key word: light, *Satureja khuzestanica*, callus, antioxidant activity.