بررسی باززائی شاخساره از کالوس ماریتیغال *Silybum marianum* L. تحت تاثیر تنظیم کننده‌های رشد گیاهی در شرایط درون شیشه‌ای

ماهرخ سپهوند [1]، محمد حسین دانشور [2]

1- دانشجوی کارشناسی ارشد علوم باغبانی، دانشگاه کشاورزی رامین اهواز. 2- دانشیار گروه باغبانی دانشگاه کشاورزی رامین اهواز.

چکیده

ماریتیغال یکی از گیاهان داروئی است. این گیاه جهت درمان بیماری‌های کلیوی به خاطر ترکیبات سیلیمارین، تاکسی‌فولین و ایزوسیلیبین استفاده می‌شود. این مطالعه جهت بررسی اثر تنظیم کننده‌های گیاهی (BAP و Kin.) بر باززائی شاخساره از کالوس تشکیل شده از ریزنمونه‌های مختلف انجام شده است. آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی با 12 تیمار و 3 تکرار انجام شد. تیمارها شامل کالوس تشکیل شده از ریز نمونه‌های هیپوکوتیل، کوتیلدون و ریشه و محیط کشت باززائی حاوی BAP (0/5 و 1) میلی‌گرم در لیتر و Kin. (0/5 و 0/25) میلی‌گرم در لیتر بودند. نتایج نشان داد که اثر نوع محیط کشت، نوع کالوس و اثر متقابل بین این دو فاکتور تأثیر معنی داری بر باززائی تعداد شاخساره ماریتیغال داشت. بیشترین تعداد شاخساره در محیط کشت حاوی 0/5 میلی‌گرم در لیتر BAP + 0/5 میلی‌گرم در لیتر Kin. و از ریز نمونه هیپوکوتیل (7/17 عدد) به دست آمد. بیشترین و کمترین طول شاخساره، در محیط کشت حاوی 0/5 میلی گرم در لیتر BAP + 0/5 میلی گرم در لیتر Kin. از کالوس حاصل از ریز نمونه کوتیلدون، (6/99 سانتی‌متر) و 1 میلی گرم BAP + 0/25 میلی گرم در لیتر Kin. از کالوس حاصل از ریز نمونه ریشه (1/85 سانتی‌متر) بدست آمد. بررسی حاضر نشان داد که تغییرات معنی‌داری در تعداد شاخساره و طول شاخساره با استفاده از کالوس حاصل از ریزنمونه‌های مختلف گیاه ریحان و غلظت‌های مختلف هورمون‌های BAP و Kin. ایجاد شد.

کلمات کلیدی: ریز نمونه، ماریتیغال، تنظیم‌کننده‌های رشدگیاهی و باززائی

مقدمه

خارمریم یا ماریتیغال (Silybum marianum L.) milk thistle یکی ازاعضاء خانواده Asteracea (گل ستاره ایها، یا کاسنی) است .گیاهی است علفی که بیش از 2000 سال است میوه آن به صورت داروئی استفاده می شود. بومی نواحی مدیترانه ای است که بیشتر در نواحی مرکزی اروپا، شمال و جنوب آمریکا و جنوب استرالیا متمرکز شده است (کامیه و همکاران، 2003). در ایران در مناطق گنبد کاووس، دره هزار، دشت مغان، ملاثانی در اهواز، شوش، حمیدیه، رامهرمز، ایذه و کازرون پراکندگی دارد (رجبیان و همکاران، 1363). متابولیت‌های ثانویه گیاهی، نقش مهمی در سلامت و تغذیه انسان ایفا میکند. ماریتیغال یا خار مریم از گیاهان داروئی مهم است که جایگاه خاصی در صنایع داروئی پیدا کرده است. مجموع مواد موثره فلاونوئیدی این گیاه سیلیمارین نام دارد و مهمترین جزء آن سیلی بین است.کشت بافت گیاهی یکی از تکنیک‌های مهم در راستای تولید صنعتی متابولیت‌های ثانویه است (پورجبار و محمدی، 1388). بررسی حاضر جهت تشخیص بهترین محیط کشت و بهترین کالوس جهت باززائی انجام شده است.

مواد و روش‌ها

جهت باززائی شاخساره از کالوس تشکیل شده از ریزنمونه‌های کوتیلدون، هیپوکوتیل و ریشه ریحان آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی با 3 تکرار انجام شد. فاکتور اول، 4 نوع محیط کشت باززائی شامل:

1- محیط کشت MS + 1 میلی‌گرم در لیتر BAP + 0/5 میلی‌گرم در لیتر Kin.

2- محیط کشت MS + 1 میلی‌گرم در لیتر BAP + 0/25 میلی‌گرم در لیتر Kin.

3- محیط کشت MS + 0/5 میلی‌گرم در لیتر BAP + 0/5 میلی‌گرم در لیتر .Kin

4- محیط کشت MS + 0/5 میلی‌گرم در لیتر BAP + 0/25 میلی‌گرم در لیتر .Kin

و فاکتور دوم، شامل 3 نوع کالوس حاصل از ریزنمونه‌های کوتیلدون، هیپوکوتیل و ریشه بود.

تجزیه داده ها با استفاده از نرم افزار SAS و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون دانکن در سطح 1 درصد و رسم نمودارها با استفاده از نرم افزار Excel صورت گرفت.

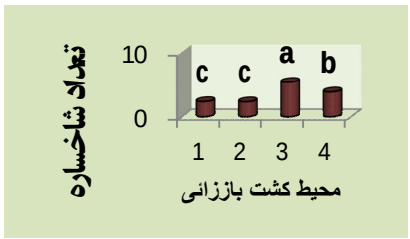
نتایج و بحث

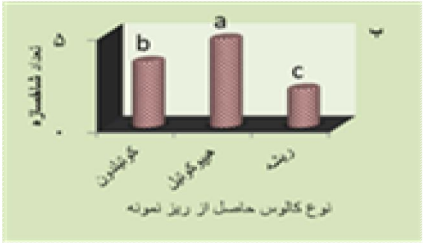
جدول 1- تجزیه واریانس صفات طول بلندترین شاخساره و تعداد شاخساره باززائی شده از کالوس مارتیغال

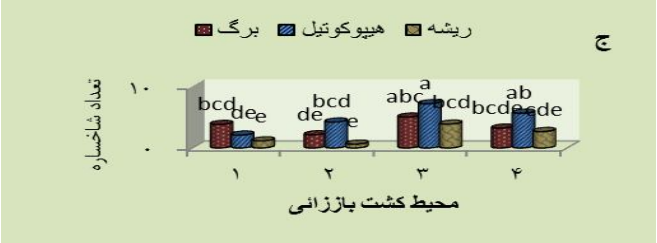
منابع تغییرات	درجه آزادی	طول بلندترین شاخساره	تعداد شاخساره
نوع محیط کشت باززائی	3	**16/202	** 18/782
نوع کالوس	2	**10/114	**22/015
نوع محیط کشت باززائی xبرهمکنش نوع کالوس	6	**2/130	**3/062
خطای آزمایش	24	0/016	0/282
ضریب تغییرات	-	3/07	15/31

**: بیانگر تفاوت معنی دار در سطح احتمال 1 درصد

نتایج نشان داد که نوع محیط کشت، نوع کالوس حاصل از ریز نمونه‌ها و اثر متقابل بین این دو فاکتور تأثیر معنی‌داری بر تعداد شاخساره ریحان داشت (جدول-1). در خصوص برهمکنش نوع محیط کشت و نوع کالوس حاصل از ریز نمونه‌ها بر صفت تعداد شاخساره، کمترین مقدار در تمام محیط‌های کشت، از ریز نمونه ریشه بدست آمد. بیشترین و کمترین تعداد شاخساره به ترتیب در محیط کشت 0/5 میلی‌گرم در لیتر BAP + 0/5 میلی‌گرم در لیتر NAA، از ریز نمونه هیپوکوتیل (7/17 عدد) و در محیط کشت 1 میلی‌گرم در لیتر BAP + 0/25 میلی‌گرم در لیتر .Kin، از ریز نمونه ریشه (0/61 عدد) بدست آمد. (نمودار 1) که این نشان از تاثیر ریزنمونه و نوع هورمون بر باززائی از کالوس دارد چنانچه در یک بررسی از کالوس حاصل از برگ در محیط حاوی 2 میلی¬گرم در لیتر NAA و 1/5 میلی¬گرم در لیتر BAP، 100% شاخساره تشکیل شد (احمد و کاپرنکولان، 2012) و نیز وقتی کالوس¬های ایجاد شده از ریزنمونه گلبرگ در گیاه ژربرا به محیط باززائی حاوی 2 میلی¬گرم در لیتر BA و 0/5 میلی¬گرم در لیتر IAA انتقال داده شد، 35% کالوس¬ها شاخه زائی کرده و از هر کالوس به طور متوسط 5 شاخساره باززائی شد (کومار و کانوار، 2006). عباسی و همکاران، (2010) نیز وقتی کالوس تشکیل شده را جهت باززائی، به محیط MS حاوی 2 میلی‌گرم در لیتر GA3 و 1 میلی گرم در لیتر NAA انتقال داد. بعد از 30 روز از کشت، 2±25/5 شاخساره در هر شیشه کشت تشکیل شد.



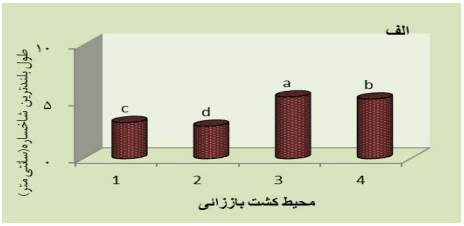


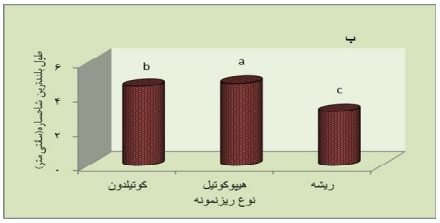


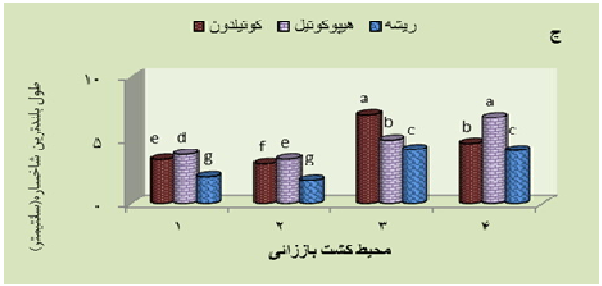
نمودار 1- الف اثر نوع محیط کشت باززائی ب اثر نوع ریزنمونه ج اثر متقابل محیط کشت باززائی و نوع ریزنمونه بر تعداد شاخساره باززائی شده از کالوس

* میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک در سطح احتمال 1% آزمون دانکن تفاوت معنی‌داری ندارند.

تصویر 1 باززائی شاخساره از کالوس ماریتیغال







نمودار 2- الف اثر نوع محیط کشت باززائی ب اثر نوع کالوس ج اثر متقابل نوع کالوس و نوع محیط کشت باززائی بر طول شاخساره

* میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک در سطح احتمال 1% آزمون دانکن تفاوت معنی‌داری ندارند.

بررسی حاضر نشان داد که نوع محیط کشت، نوع کالوس حاصل از ریزنمونه‌ها و اثر متقابل بین این دو فاکتور تأثیر معنی‌داری بر طول شاخه ماریتیغال داشت. در تمام محیط‌های کشت، کمترین مقدار طول شاخساره ازکالوس حاصل از ریزنمونه ریشه بدست آمد. بیشترین و کمترین طول شاخساره در محیط کشت حاوی 0/5 میلی‌گرم در لیتر هورمون BAP + 0/5 میلی‌گرم در لیتر

هورمون .Kin) از کالوس حاصل از ریزنمونه کوتیلدون (6/99 سانتیمتر) و در محیط کشت حاوی 1 میلی‌گرم در لیتر هورمون BAP+ 0/25 میلی‌گرم در لیتر هورمون .Kin) و از کالوس حاصل از ریزنمونه ریشه (1/85 سانتی‌متر) بدست آمد.(نمودار2). در حال‌که عباسی وهمکاران،(2010) بلندترین شاخساره را، بعد از انتقال شاخساره های باززائی شده به محیط کشت پایه حاوی 0/5 میلی‌گرم در لیتر BAP و 1 میلی‌گرم در لیتر NAA به دست آوردند.

منابع

پورجبار، ع.، محمدی، س. ا.، خسرو شاهی، م.، مطلبی آذر، ع و ضیائی، ع. 1388. بهینه سازی شرایط کشت درون شیشه ای گیاه داروئی ماریتیغال (Silybum marianum) و بررسی تنوع سوماکلونال حاصل با استفاده از نشانگرهای RAPD مجله دانش کشاورزی. جلد 19. شماره 2.

رجبیان، ط. فلاح حسینی، ح، کرمی، م، زرپاک، ب و رسولی، ا. 1383. بررسی اثر سیلیمارین حاصل از بذر گیاه بومی و اصلاح شده ماریتیغال بر میزان چربی خون و پلاک آترواسکلروز در آئورت خرگوش هایپرکلسترولمی. فصلنامه گیاهان داروئی، 4: 33-41.

Abbasi, B. H., M. A. Khan, T. Mahmood, M. Ahmad, M., Fayyaz, and M. A. Khan. 2010. Shoot regeneration and free-redical scavenging activity in silybum marrianum L. Plant cell tiss organ cult. 101: 371-376.

Cammie, A., B. B. A. Burgess, and D. Pharm. 2003. "Silybum marianum (Milk Thistle)", J. Pharmacy Society Wisconsion. 2: 38-40.

Kumar, S, and J. K. Kanwar. 2006. Regeneration ability of petiole, leaf and petal explants in gerbera cut flower cultures in vitro. Folia Horticulturae, 18: 57-64.

Pourjabar, A.; S. A. Mohammadi,R. Ghahramanzadeh, and Gh. Salimi. 2012. Effect of Genotype,Explant Type and Growth Regulators on The Accumulation of Flavonoides of (Silybum marianum L.) in In vitro Culture.World Academi of Science, engineering and Technology. 67. 212-1214.

The study of shoot regeneration from callus Silybum marianum L. effected the Plant Growth Regulators An in vitro condition

M. sepahvand1, M. H. Daneshvar1

Department of Horticulture, Ramin University of Agriculture and Natural Resources, Mollasani, Khoozestan, Iran

Email: Mahrokh_Sepahvand@yahoo.com

Abstract

Milk thistle (Silybum marianum L.) is a medicinal plant. This plant has been used to liver disorders because of plant of silymarin, taxifolin and isosilybin compounds. This study was to investigate the effect of plant growth regulators (BAP and kinetin) on regeneration of callus. A factorial experiment in the form of randomized completely design with 12 treatments and 3 replications were carried out. The treatments consisted of callus produced by Hypocotile, Cotyledone and root explants and Murashig and Skoog (MS) media containing of (0,5, 1 mg/l) BAP, (0,5, 0.25 mg/l) Kin. The results showed that effect of explant on callus formation, culture media and the intraction of explant and media, on the number of shoots were significant ($P \leq 0,01$). Most shoot (7,17) were obtained using Hypocotyle explant in media containing 0,5 mg/l BAP+0.5 mg/l Kin. The most and the lowest length of shoot were obtained in media containing 0,5 mg/l BAP+0.5 mg/l Kin. and from callus produced

by of Cotyledon explant (6.99 cm) and from culture media containing 1.0 mg/l BAP + 0,25 mg/l Kin. and from callus of root explant (1.85 cm). the reasults showed that significant changes in number and length of shoot were occurred using callus of different explants of Milk thistle and different concentrations of BAP, Kin.
Key word: Explant, Ocimum Basilicum L, Plant growth regulatores, regeneration.