

تاثیر تنظیم کننده های رشد بر کالوس زایی در بارهنگ کبیرکاملیا بهزاد^۱، سید مهدی میری^۲، سید رضا طبائی عقدائی^۳

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد علوم باغبانی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد کرج. ۲- عضو هیات علمی گروه علوم باغبانی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد کرج. ۳- عضو هیات علمی مؤسسه تحقیقات جنگل ها و مراتع کشور، تهران.

چکیده

بارهنگ کبیر یکی از گیاهان مهم دارویی بشمار می رود که مورد توجه قرار گرفته است. هدف از این مطالعه به دست آوردن هورمون های مناسب جهت کالوس زایی بارهنگ کبیر، می باشد. کالوس زایی از ریزنمونه های برگ و ریشه در محیط کشت انجام شد. نتایج تجزیه واریانس نشان داد که نوع و غلظت هورمون BA و ۲,۴-D، IBA، NAA حاوی هورمونهای MS (۹۰) برای برگها و ۱ میکرومولار (NAA) کالوس زایی تاثیر معنی داری دارد و بهترین نتیجه کالوس زایی با ۱ میکرومولار (۷۸.۳۳۳۳) بدست آمد. BAP) با ۰.۵ میکرومولار NAA کلمات کلیدی: بارهنگ کبیر، کالوس زایی، ریشه، برگ

مقدمه

بارهنگ کبیر با نام علمی *Plantago major* گونه ای بارهنگ از خانواده Plantaginaceae و بومی اروپا می باشد که یکی از مهم ترین گیاهان دارویی بشمار می رود و در اکثر فارماکوپه های معتبر از دانه، برگ و ریشه آن بعنوان دارو یاد می شود. این گیاه بومی اروپاست و وضع پراکنده ای در نقاط مختلف کره زمین دارد و تقریباً در تمام نقاط رشد می کند. برگ، ریشه و دانه آن دارای موسیلاژ و گلوکوزیدی بنام اوکوبین، دیاستاز، انوریتین، هتروزید، ساکارز، پکتین، اسید سیتریک و ساپوزید می باشد و در خاکستر آن املاح مختلف سدیم، منیزیم و پتاسیم بطور فراوان وجود دارد. مصرف خارجی ضماد تهیه شده از برگ های تازه ی بارهنگ، یک شیوه ی درمانی سنتی برای بهبودی زخم، جراحی پوست و گزیدگی ها می باشد. بارهنگ کبیر دارای خواص قابض، تب بر، تونیک، نرم کننده، تصفیه کننده خون، ضد اسهال، محرک، معرق، مدر، ضد رماتیسم و ضد اسهال خونی، ضد التهاب کلیه و مثانه، و ضد باکتری است. بارهنگ کبیر در موارد خونریزیهای ریوی، وجود خون در اخلاط، عفونتهای مجاری تنفسی، التهابات چشمی، بیماریهای کبدی، زردی، استفراغ، درد دندان، کولیک، مالاریا، سوزاک، احساس سوزش در لوله مری، نزله مجاری ادرار و دستگاه هضم، رفع تحریکات در نزله های مزمن برونشها و در معالجه جوشهای صورت، جوش غرور، جوش ناحیه بینی، زرخدان و گونه ها و زخم های جلدی استفاده می گردد. روش های زیست فن آوری مانند کشت بافت قابلیت بسیار خوبی برای تکثیر گیاهان دارد. با استفاده از کشت بافت می توان در مدت زمان خیلی کم تعداد بسیار زیادی از یک گیاه را تکثیر کرد. ابراهیم زاده و همکاران (۱۹۹۷) به منظور تولید موسیلاژ در قطعات جدا کشت برگ و ریشه در کشت بافت چهار گونه بارهنگ از جمله بارهنگ کبیر، کالوس تهیه کردند. تحقیق حاضر به منظور بررسی تاثیر تنظیم کننده های رشد بر کالوس زایی بارهنگ کبیر صورت پذیرفت.

مواد و روش ها

این تحقیق در آزمایشگاه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه آزاد واحد کرج انجام شد. بذور بارهنگ کبیر پس از شستشو، با هیپوکلریت سدیم ۲٪ و ۵٪ به مدت ۱۰ و ۲۰ دقیقه استریل شدند. پس از هر مرحله با آب مقطر استریل سه بار آبکشی انجام گردید.

کشت گردید. پس از جوانه زنی بذور برای تهیه ریزنمونه از گیاهچه های ۳۰ MS بذور ضد عفونی شده در داخل محیط کشت پایه تکمیل شده با ۲٪ ساکارز و ۰.۷٪ آگار با ترکیبات هورمونی MS روزه گیاه بارهنگ کبیر استفاده شد و برای کالوس زایی به محیط منتقل گردید. برای هر تیمار ۳ پتری و در هر پتری ۳ (ریشه) و ۴ (برگ) به عموان ریزنمونه در نظر گرفته شد. ترکیبات هورمونی با غلظت های BAP با غلظت های ۰.۵ و ۱ میکرومولار در ترکیب با IBA و NAA با غلظت های ۰.۱ و ۰.۵ میکرومول، ۲,۴-D شامل ۰.۱، ۰.۵ و ۱ بود. ریزنمونه ها شامل قطعات جدا کشت ریشه و برگ به طول یک سانتیمتر در قالب طرح آماری کاملاً تصادفی کشت گردیدند. کشت ها به اتاقک رشد با دمای ۲۵ درجه سانتیگراد و شدت روشنایی ۲۵۰۰ لوکس با ۱۶ ساعت روشنایی در روز منتقل شدند. پس از حدود شش هفته، درصد کالوس زایی، وزن تر، حالت فیزیکی، تعداد ریشه و درصد ریشه زایی یادداشت برداری شدند.

و مقایسه میانگین ها براساس آزمون چند دامنه ای دانکن در سطح ۵ درصد صورت SPSS ۱۶.۰ تجزیه آماری با استفاده از نرم افزار گرفت.

نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس داده های حاصل از وزن تر کالوس های ایجاد شده نشان داد که اثر هورمون در سطح ۵ درصد معنی دار می باشد. IBA بر روی کالوس زایی در ریزنمونه های برگ بیشتر از سایر هورمونها بوده و با تیمارهای BAP در ترکیب با NAA باشد. تاثیر می باشد. همچنین در محیط کشت بدون اکسین IBA نسبت به NAA کالوس بسیار کمی بوجود آمد که ناشی از فعال تر بودن اکسین (۰.۵۸۲۷) که اختلاف معنی داری با سایر تیمارها داشت مربوط به تیمار ۰.۱a هیچگونه کالوسی تشکیل نشد. بالاترین وزن تر کالوس (۰.۵) (۳ NAA) میکرومول بود. از نظر حالت فیزیکی بهترین تیمارها (NAA در ترکیب با ۰.۵ میکرومول BAP میکرومول با غلظت ۱ میکرومول BAP، ۰.۵ میکرومول ۲,۴-D با ۰.۵ میکرومول BAP، ۰.۵ میکرومول NAA با ۱ میکرومول BAP میکرومول با غلظت ۱ میکرومول NAA، بود. IBA با ۱ میکرومول BAP و ۱ میکرومول IBA با ۱ میکرومول BAP، ۰.۵ میکرومول IBA بالاترین درصد کالوس را شامل می شد. کالوس های بدست آمده به رنگ های سبز و زرد و بنفش مایل به قهوه ای و به صورت ترد یا BAP قرار داشتند، تولید ریشه نابجا کردند. تیمار ترکیبی IBA سخت بودند. همچنین اکثر کالوس هایی که در محیط کشت حاوی (۷.۶۶۶۷). بیشترین درصد ریشه هم با ۰.۵ میکرومول BAP با غلظت هر کدام ۰.۵ میکرومول بالاترین تعداد ریشه را تشکیل داد (IBA با مربوط بود. (۳۶.۶۶۶۷) IBA همراه با ۱ میکرومول BAP با غلظت ۱ میکرومول NAA با BAP نتایج آزمایش کالوس زایی از ریشه نشان داد که بیشترین میزان وزن تر کالوس در تیمار ۷۸.۳۳۳۳a (به ترتیب با ۱ و ۰.۵ میکرومول) به میزان BAP و NAA (۰.۶۵۷۷) مشاهده شد. بالاترین درصد کالوس زایی در a (۳) داشت. بالاترین تعداد a (با غلظت ۰.۱ و ۱ میکرومول) بهترین حالت ظاهری را (BAP با ۲,۴-D گزارش شد. همچنین تیمار با غلظت ۱ میکرومولار نمایان گردید. ابراهیم زاده و BAP و IBA (۵۵) در ترکیب (۱۹.۶۶۶۷a) و درصد ریشه زایی (ریشه همکاران (۱۹۹۷) برای کالوس زایی بارهنگ کبیر تاثیر چندین اکسین را بررسی کرده و بالاترین درصد را در ۳+۱ میلی گرم بر لیتر NAA بدست آوردند. لی پی و همکاران (۲۰۰۵) برای کالوس زایی در بارهنگ کبیر از ۱ میلی گرم بر لیتر BAP+NAA استفاده کردند. که با نتایج بدست آمده مطابقت دارد و اکسین ها موجب تقسیم سلولی و تشکیل سلول می شوند. و یکبار هم با ۰.۵ میلی گرم ۲,۴-D را یکبار با ۲ میلی گرم در لیتر KIN در سال ۱۹۹۸ نیز ساکر و همکارش ۱ میلی گرم بر لیتر بکار بردند. IBA در لیتر

منابع

۱. ابراهیم زاده، حسن، میر معصومی، مسعود، فخر طباطبائی، سید محمد، تشکیل کالوس و تولید موسیلاژ در قطعات جداگشت برگ و ریشه چهار گونه بارهنگ، مجله علوم کشاورزی ایران، ۱۳۷۶، جلد ۲۸، شماره ۳، ۸۷-۹۷.
۲. Andrzejewska, E., Makowczynska, J. ۲۰۰۸. Micropropagation of *Plantago camtschatica* link, *Acta societatis botanicorum poloniae*. Vol. ۷۷, No. ۴: ۲۶۹-۲۷۳.
۳. Das (pal), M., sen r, Sarmistha. ۲۰۰۱. enhanced development of somatic embryos of *Plantago ovate* FORSK. By additives. In *Vitro Cell. Dev. Biol.- Plant.* ۳۷: ۵۶۸-۵۷۱.
۴. Goncalves, S., Martins, N., Romano, A. ۲۰۰۹. Micropropagation and conservation of endangered species *Plantago algarbiensis* and *P. almogravensis*, *Biologia plantarum*. ۵۳(۴): ۷۷۴-۷۷۸.
۵. Makowczynska, J., Andrzejewska, E. ۲۰۰۳. Micropropagation of *Plantago asiatica* L. through culture of shoot-tips. Vol. ۷۲. No. ۳: ۱۹۱-۱۹۴.
۶. Wakhlu, A.K., Barna, K.S. ۱۹۸۹ Callus initiation, growth and plant regeneration in *Plantago ovate* Forsk. Cv. GI-۲. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture.* ۱۷: ۲۳۵-۲۴۱.

Effect of plant growth regulators on tissue culture of greater plantain (*Plantago major* L.)Behzad, K^{1*}, Miri, S.M²., S.R. Tabayi aghdayi,³

^۱-Student Dept. of Horticulture, Islamic Azad University, Karaj Branch-Iran. ^۲- Member of Scientific Board, Dept. of Horticulture, Islamic Azad University, Karaj Branch-Iran. ^۳- Member of Scientific Board, Institution of Forests, Tehran-Iran.

*Corresponding author

Abstract

Plantago major is one of the medicinal important plants that has been demanded. This study focused on callus formation and the best kind of hormone in the most suitable concentration was selected. Callus formation was done from leaf and root explants on MS medium containing BA, ۲,۴-D, IBA and NAA. The result of analysis variance indicated that type and concentration of hormones had significant effect on callus formation. The best results were obtained with ۱ μM NAA (۹۰a) for leaves and ۱ μM NAA with ۰.۵ μM BAP (۷۸.۳۳۳۳ a) for roots.

Keywords: *Plantago major*, Callus formation, root, leaf