Archive of SID

فصلنامه علوم زیستی دانشگاه آزاد اسلامی واحد زنجان
شماره پیاپی ۱۰، جلد ۳، شماره ۳، تابستان ۸۹، صفحه ۱۰۷ تا صفحه ۱۱۴

بررسی تاثیر غلظت‌های هورمون ۲،۴-D و شرایط نوری بر نرخ کال‌زایی گیاه شنبلیله (*Trigonella foenum-graecum L.*) درشیشه (In vitro)

شراره رضائیان[۱]، **مهرداد لاهوتی**[۲]، هما محمودزاده آخرت[۳]

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد فیزیولوژی گیاهی، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه آزاد اسلامی واحد مشهد.
۲- استاد فیزیولوژی گیاهی، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه فردوسی مشهد. **M.lahoty@yahoo.com**
۳- استادیار فیزیولوژی گیاهی، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه آزاد اسلامی واحد مشهد.

تاریخ دریافت: ۸۹/٤/٤ تاریخ پذیرش: ۸۹/٦/١٦

چکیده

شَنبَلیله یا شنبلید با نام علمی (*Trigonella foenum-graecum L.*) گیاهی علفی از خانواده Fabaceae است. برگ، ریشه، ساقه و دانه این گیاه دارای خواص داروئی متنوعی است و از لحاظ میزان متابولیت های ثانویه بسیار غنی است. در این تحقیق کشت درون شیشه ای ریز نمونه های بافت های مختلف گیاه شنبلیله شامل مریستم انتهای ریشه، مریستم انتهایی ساقه و برگ در محیط کشت جامد MS واجد غلظت‌های ۰، ۰/۵، ۱ و ۱/۵ میلی‌گرم در لیتر هورمون D-٤، ۲ در شرایط تاریکی و فتوپریود ١٦ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی به هدف تعیین بهترین غلظت هورمونی و بهترین ریز نمونه برای ایجاد ماکزیمم کال زایی انجام شد . نتایج آماری حاصل از تحقیق نشان داد بهترین کال زایی ریز نمونه ها در محیط MS با غلظت ۱ میلی گرم در لیتر هورمون D-٤، ۲ انجام شد. بهترین ریز نمونه برای تشکیل کالوس مریستم انتهای ساقه بود و شرایط بهینه برای کال زایی، قرار گرفتن کال ها در تاریکی بود.

کلید واژه: شنبلیله، کشت کالوس، نرخ کال زایی، هورمون D-۴، ۲.

مقدمه

شَنبَلیله یا شنبلید با نام علمی (*Trigonella foenum-graecum L.*) از خانواده Fabaceae، گیاهی علفی، یک ساله، به طول ۱۰ تا ۵۰ سانتی‌متر، برگ‌های آن متناوب و مرکب از سه برگچه است(۱،۷). گل‌هایی منفرد به رنگ زرد روشن، بنفش یا مایل به سفید به بزرگی ۰/۸ تا ۱/۸ سانتی متر دارد. میوه آن نیام، خمیده، به طول ۳ تا ۱۱ سانتی متر و محتوی ۵ تا ۲۰ دانه زاویه دار به طول ۴ تا ۶ میلی متر و به عرض ۲ تا ۳ میلی متر است(۳). رنگ آن از زرد حنایی تا قهوه‌ای تغییر می‌نماید. این گیاه دارای طعم و اسانس معطر می‌باشد. به حالت خودرو در آذربایجان، اصفهان، فارس، خراسان (نزدیک بجنورد)، سمنان و دامغان می‌روید(۲).شنبلیله یک گیاه دارویی است. عصاره برگ، ریشه و ساقه آن دارای خواص دارویی متنوعی است که برای درمان دیابت، کلسترول، سل استخوانی اطفال و سوء هاضمه مفید می‌باشد. ریشه، دانه و اندام هوایی شنبلیله از لحاظ میزان متابولیت‌های ثانویه بسیار غنی است و دارای ساپونین‌های استروئیدی مختلف مانند دیوزژنین یا موژنین، تیکوژنین، نئوتیکوژنین و غیره است(۲۱). بررسی کالوس گیاه شنبلیله در محیط‌های کشت مختلف نشان داد، محیط MS بهترین محیط برای کال زایی است(۱۷).

www.SID.ir

Archive of SID

در تحقیقی اثر نمک طعام (NaCl) بر رشد کالوس شنبلیله، مورد بررسی قرار گرفت و بیان شد که با افزایش غلظت NaCl در محیط کشت، رشد کالوس کاهش می‌یابد (۱۶). در تحقیق دیگری، اثر پتانسیل الکتریکی بر رشد کالوس شنبلیله مورد بررسی قرار گرفت و اثر مثبت پتانسیل الکتریکی بر رشد کالوس شنبلیله ثابت شد. یکی از روش‌های تولید متابولیت‌های ثانویه به روش invitro در گیاهان از طریق کال زایی است. فاکتورهای زیادی در تشکیل کالوس و افزایش در میزان کالوس در شرایط درون شیشه‌ای موثرند که نوع ریز نمونه، نوع محیط کشت و عوامل محیطی از موارد بسیار مهم می‌باشند.

مواد و روش‌ها

در این تحقیق از بذر گیاه شنبلیله (*Trigonella foenum- graecum L.*) که از منطقه بجنورد تهیه و شناسایی تاگزونومیکی آن در مرکز پژوهش‌های کشاورزی طرق انجام شده بود، استفاده گردید. برای هر بار کشت دادن، ابتدا مقداری بذر شنبلیله به وسیله آب جاری به منظور حذف هر گونه بقایای خاک، شسته شدند. سپس بذرها به بشری که محتوی الکل ۷۰٪ بود، به مدت ۳۰ ثانیه منتقل شدند. سپس برای از بین بردن اثر الکل بذرها به مدت ۲، ۵ و ۱۵ دقیقه با آب مقطر استریل شستشو داده شدند. بعد از این مرحله بذرها در بشر محتوی هیپوکلریت سدیم ۲٪ به مدت ۳ دقیقه قرار گرفتند و مجدداً ۳ مرتبه با آب مقطر استریل زیر هود شسته شدند. برای کاهش میزان آلودگی، بذرهای استریل در محیط آب آگار استریل تبدیل به گیاهچه شدند و سپس از این گیاهچه‌های استریل برای پژوهش‌های بعدی استفاده شد. برای آزمایش‌ها ازمحیط کشت موراشیک- اسکوگ(MS) حاوی ۴ غلظت ۰، ۰/۵، ۱، ۱/۵ میلی گرم در لیتر هورمون 2,4-D، استفاده شد. pH محیط کشت، ۵/۸ تنظیم گردید. کلیه مواد، ظروف و محیط‌های کشت در دمای ۱۲۰ درجه سانتی گراد به مدت ۲۰ دقیقه اتوکلاو شد. پس از سرد شدن محیط‌های کشت در زیر هود تحت شرایط استریل، گیاهچه‌های استریل از ظروف شیشه‌ای خارج و پس از شستشوی ریشه آن‌ها به منظور حذف هر گونه آگار، گیاهچه‌ها در پتری دیش‌های استریل قرار گرفته و با اسکالپل مریستم انتهای ریشه، مریستم انتهای ساقه و قسمتی از برگ برش خورده و بر روی محیط کشت‌ها قرارگرفتند. ۱۰ تکرار برای هر یک از غلظت‌های هورمون 2,4-D، ۲ در نظر گرفته شد و در هر شیشه محتوی محیط کشت ۲ تا ۳ قطعه جداکشت قرار داده شد. نیمی از این شیشه‌ها به اتاق رشد با فتوپریود ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی و دمای ۲۵ درجه سانتی گراد منتقل شدند و تعدادی از ویال‌ها در شرایط تاریکی و دمای ۲۵ درجه سانتی گراد قرار گرفتند. هر ۱۵ روز به دلیل کاهش عناصر غذایی محیط کشت و تامین اکسیژن بیشتر برای رشد کالوس‌ها و به دلیل ممانعت از تغییرات pH عملیات واکشت روی نمونه‌ها و انتقال به محیط کشت جدید و در روزهای ۳۰ و ۴۵ نیز انجام و هر ۱۵ روز یک بار وزن تر ۳ کالوس از هر یک از نمونه‌های جدا کشت به کار رفته، اندازه‌گیری، سپس کالوس‌ها داخل فویل آلومنیومی به مدت ۳ روز درون آون ۷۵ درجه سانتی گراد قرار داده شدند و وزن خشک آن‌ها محاسبه گردید به این ترتیب نرخ کال زایی قسمت‌های مختلف گیاه شنبلیله در محیط MS در فتوپریود ۱۶ ساعت نور و ۸ ساعت تاریکی و تاریکی مطلق محاسبه گردید.

تحلیل آماری

نتایج بدست آمده با استفاده از نرم افزار SPSS و روش ANOVA داده‌ها تحلیل و معنی‌دار بودن تفاوت میانگین‌ها با انجام تست دانکن در سطح کمتر از ۰/۰۵ مورد بررسی قرار گرفت. نمودارها به کمک برنامه Excel رسم گردید.

نتایج

تحلیل آماری داده‌ها نشان داد که از لحاظ آماری در سطح معنی دار ۰/۰۵ ($P\leq ۰/۰۵$)، هورمون 2,4-D، ۲ در تغییرات وزن تر، وزن خشک و نرخ کال زایی اثر مشخص

www.SID.ir

Archive of SID

داشت.نتایج حاصل از بررسی اوزان تر و خشک نشان داد که با افزایش غلظت هورمون D-۴، ۲ از صفر به ۰/۵ میلی گرم در لیتر، افزایش چشم گیر و معنی داری در وزن تر و خشک دیده شد که نشان دهنده اثر مشخص هورمون بر وزن تر و خشک بود. بیشترین میزان وزن تر و خشک در هورمون ۱ میلی گرم بر لیتر و کمترین میزان در شاهد است. بنابراین می توان نتیجه گرفت حضور هورمون منجر به افزایش معنی داری در میزان وزن تر و خشک می شود. به طوری که با افزایش درصد هورمون تا سطح ۱ میلی گرم بر لیتر افزایش را در وزن تر و خشک خواهیم داشت. اما با بیشتر شدن درصد هورمون یعنی ۱/۵ میلی گرم مقداری افت در میزان وزن تر و خشک را شاهد بودیم به علاوه وزن تر و خشک در هر یک از سه ریزنمونه ساقه، ریشه، برگ، دارای تفاوت چشم گیری از نظر آماری است. میانگین وزن تر در روزهای مختلف نیز دارای تفاوت‌های معنی داری در سطح ۵ درصد از هم می باشند و بیشترین میزان کال زایی در مریستم انتهای ساقه دیده می‌شود. در مقایسه روزها، میزان وزن تر و وزن خشک در دو روز ۶۰ و ۴۵ به طور معنی داری از دو روز ۳۰ و ۱۵ بیشتر می باشد به عبارت دیگر با افزایش روز بر میزان وزن تر و خشک

جدول ۱- اثر غلظت های مختلف هورمون D-٤، ۲ بر وزن تر و خشک ریز نمونه های مختلف در فتوپریود ١٦ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی در محیط MS

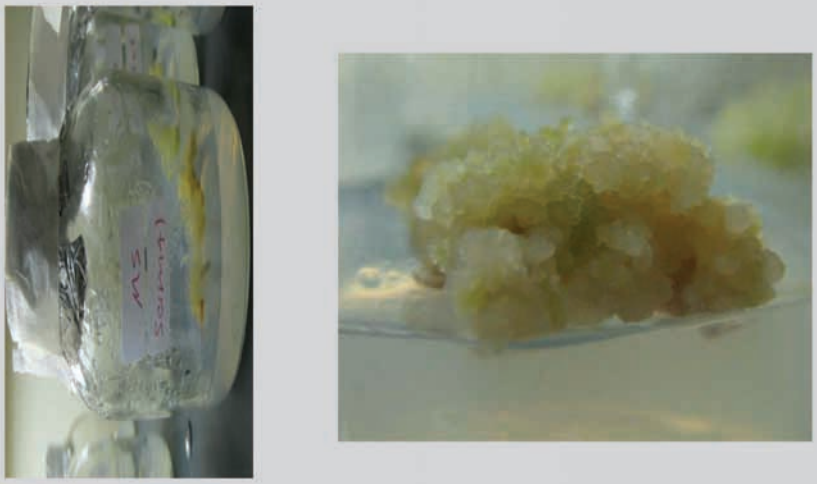
ریز نمونه	هورمون (میلی‌گرم بر لیتر)	وزن تر			
		روز ۱۵	روز ۳۰	روز ٤٥	روز ٦٠
ساقه	شاهد	۰/۲۷۴ + ۰/۰۲۰ a	۱/۱۳۶ + ۰/۰۸۶ cd	۷/۱۰۸ + ۰/۱۰۸ g	۷/۰۷۱۶ + ۰/۰۶۹ gi
	۰/۵	۰/۷۴۲ + ۰/۱۴۹ bc	۳/۹۱۲ + ۰/۰۵۳ e	۱۱/۶۱۴ + ۰/۲۶۴ h	۱۱/۷۶۳ + ۰/۳۷۴ jh
	۱	۱/۰۵۶ + ۰/۱۶۱ c	۴/۷۳۸ + ۰/۳۸۱ f	۱۳/۳۷۴ + ۱/۵۴۱ h	۱۴/۶۸۱ + ۰/۲۸۱ k
	۱/۵	۰/۵۲۵ + ۰/۰۲۶ ab	۳/۳۱۲ + ۰/۱۹۴ e	۱۰/۸۸۳ + ۰/۰۸۲ h	۱۱/۰۵۳ + ۰/۱۳۲ jh
ریشه	شاهد	۰/۵۷۲ + ۰/۰۳۳ a	۱/۴۳۷ + ۰/۱۲۱ bd	۲/۶۵۶ + ۰/۲۸۳ g	۲/۶۵۸ + ۰/۱۸۵ gk
	۰/۵	۱/۹۱۶ + ۰/۱۰۹ bc	۳/۹۸۱ + ۰/۰۹۵ e	۶/۵۸۴ + ۰/۳۲۷ i	۷/۰۵۱ + ۰/۰۴۶ im
	۱	۲/۳۵۳ + ۰/۲۸۷ c	۵/۷۴۶ + ۰/۳۱۰ f	۸/۱۰۶ + ۰/۰۵۶ j	۵/۷۳۵ + ۰/۱۰۹ jn
	۱/۵	۱/۴۰۹ + ۰/۱۰۳ b	۳/۴۷۲ + ۰/۳۳۶ e	۵/۶۵۹ + ۰/۱۸۶ h	۵/۷۳۵ + ۰/۲۹۸ hi
برگ	شاهد	۰/۲۱۴ + ۰/۰۱۲۷ a	۱/۰۰۹ + ۰/۰۴۴ cd	۴/۱۲۳ + ۰/۱۳۹ fg	۴/۰۴۱ + ۰/۰۳۴ gk
	۰/۵	۰/۵۴۱ + ۰/۰۲۹۳ b	۳/۱۳۱ + ۰/۱۲۰ e	۱۰/۰۱۸۶ + ۰/۴۰۹ i	jn ۱۰/۰۴۱+ ۰/۱۴۵ im
	۱	۰/۹۱۸ + ۰/۰۱۷ c	۴/۱۸۱ + ۰/۲۷۲ f	۱۲/۱۴۶ + ۰/۵۷۰ j	۱۲/۰۳۲ + ۰/۲۱۸
	۱/۵	۰/۴۸۱ + ۰/۰۱۷ b	۲/۷۱۸ + ۰/۲۷۲ e	۸/۵۸۳ + ۰/۵۷۰ h	۸/۲۳۰ + ۰/۲۱۸ hi
ریز نمونه	هورمون (میلی‌گرم بر لیتر)	وزن خشک			
		روز ۱۵	روز ۳۰	روز ٤٥	روز ٦٠
ساقه	شاهد	۰/۰۲۶۶ + ۰/۰۰۲۴ a	۰/۰۷۷ + ۰/۰۰۲۳ ce	۰/۴۵۹ + ۰/۰۰۵ h	۰/۴۴۶ + ۰/۰۰۳۸ hk
	۰/۵	۰/۰۷۵۳ + ۰/۰۰۴۶ c	۰/۲۷۳ + ۰/۰۰۳۸ f	۰/۷۳۷ + ۰/۰۲۵۴ i	۰/۷۴۵ + ۰/۰۲۹۱ ik
	۱	۰/۱۰۹۳ + ۰/۰۱۳۰ d	۰/۳۲۹۳ + ۰/۰۱۸۸ g	۰/۸۶۷ + ۰/۰۶۹ j	۰/۹۲ + ۰/۰۰۹۵ m
	۱/۵	۰/۰۵۱ + ۰/۰۰۳۲ b	۰/۲۲۹ + ۰/۰۲۵۵ f	۰/۷۰۴ + ۰/۰۰۷۸ i	۰/۷۰۸ + ۰/۰۰۸۲ i
ریشه	شاهد	۰/۰۳۵ + ۰/۰۰۳۴ a	۰/۱۰۳ + ۰/۰۰۶۶ ce	۰/۱۶۷ + ۰/۰۰۹۲ i	۰/۱۷۵ + ۰/۰۰۲۹ im
	۰/۵	۰/۱۱۹ + ۰/۰۰۳۷ c	۰/۲۸۳ + ۰/۰۰۵۴ g	۰/۴۳۴ + ۰/۰۲۶ k	۰/۴۷۲ + ۰/۰۰۳۷ o
	۱	۰/۱۴۸ + ۰/۰۱۳۵ d	۰/۴۱۶ + ۰/۰۱۳۴ h	۰/۵۱۱ + ۰/۰۰۶۳ i	۰/۵۳۶ + ۰/۰۲۲۸ p
	۱/۵	۰/۰۷۸ + ۰/۰۰۶۳ b	۰/۲۴۹ + ۰/۰۱۲۳ f	۰/۳۵۸ + ۰/۰۱۰ j	۰/۳۶۲ + ۰/۰۲۱۱ jn
برگ	شاهد	۰/۰۱۸۳ + ۰/۰۰۴۰ a	۰/۰۴۹ + ۰/۰۰۴۹ be	۰/۲۷۲ + ۰/۰۰۴۰ hi	۰/۲۷۰ + ۰/۰۰۰۸ im
	۰/۵	۰/۱۱۹۶ + ۰/۰۰۳۷ d	۰/۲۸۳ + ۰/۰۰۵۴ h	۰/۲۷۲ + ۰/۰۲۶ j	۰/۴۷۲ + ۰/۰۰۲۷ jn
	۱	۰/۰۸ + ۰/۰۰۹۵ c	۰/۲۰۷ + ۰/۰۰۸۰ g	۰/۴۳۴ + ۰/۰۱۲۲ i	۰/۸۰۳ + ۰/۰۱۵۱ ip
	۱/۵	۰/۰۴۲ + ۰/۰۰۴۲ b	۰/۱۳۴ + ۰/۰۰۷۷ fd	۰/۵۶ + ۰/۵۱۵ k	۰/۵۲۹ + ۰/۰۲۸۰ ko

www.SID.ir

Archive of SID

به طور معنی داری افزوده شده است. نکته لازم به ذکر آن است که دو روز ۶۰ و۴۵ با هم همگن بوده و در یک دسته قرار گرفته اند بنابراین از نظر آماری میزان وزن تر و خشک در این دو گروه یکسان می باشد و یک نتیجه را حاصل می کنند.در سطح معنی دار $p<۰/۰۵$ اختلاف معنی داری بین اثر متقابل سه عاملی محیط×هورمون×روز وجود دارد(در یک سطح از محیط و هورمون اثر روز بر وزن تر با اثر آن در سطوح دیگر محیط و هورمون). از آن جایی که همه مقادیر $p<۰/۰۵$ است، نتیجه می گیریم کلیه عوامل مورد نظر در این تحقیق در سطح ۵ درصد به طور معنی داری بر میانگین وزن خشک و تر اثر گذارند و همه نتایج مربوط به وزن تر برای وزن خشک نیز صادق هستند(جدول ۱و شکل۱و۲).

پس از انتخاب بهترین ریز نمونه و بهترین غلظت هورمونی در روند کال زایی، به منظور مشخص ساختن تاثیر عامل فیزیکی نور، ویال‌های حاوی ۱ میلی گرم در لیترهورمون D-۴، ۲ به شرایط تاریکی و شرایط فتوپریود ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی منتقل گردید. به عنوان یک نتیجه کلی مشخص گردید که کالوس‌هایی که در شرایط تاریکی قرار داشتند، سفید رنگ بودند و رشد خوبی هم داشتند. کالوس‌هایی که در روشنایی رشد کردند، بعد از مدتی سبز رنگ شدند و میزان رشد آن‌ها کمتر از شرایط معمولی بود. در صورتی که کالوس‌هایی که در تاریکی رشد کردند، سرعت رشد بهتری نسبت به شرایط معمولی داشتند. در سطح معنی $p<۰/۰۵$ اختلاف معنی داری ما بین اثر متقابل سه عاملی نور×ریزنمونه ×روز



شکل ۱- کالوس۳۰ روزه ساقه در غلظت ۱ میلی‌گرم در لیتر هورمون D-٤، ۲

شکل ۲- کالوس٦۰ روزه برگ در غلظت ۱ میلی گرم در لیتر هورمون D-٤، ۲

www.SID.ir

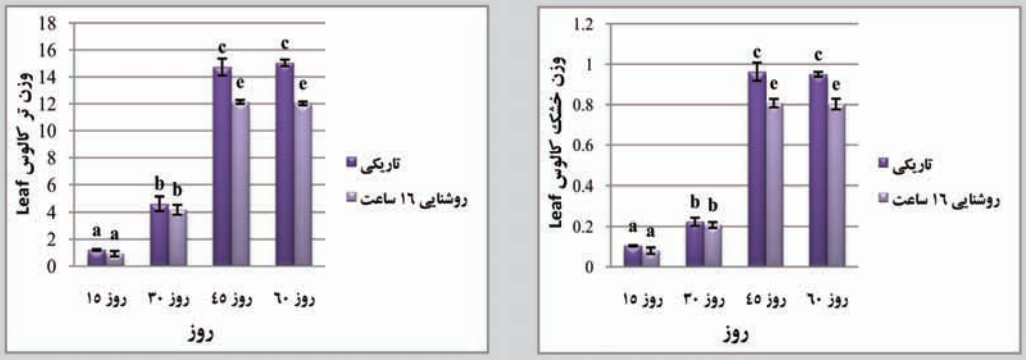
Archive of SID

وجود دارد(در یک سطح از روز و ریز نمونه اثر فتوپریود نوری و تاریکی بر وزن ترو خشک با اثر آن در سطوح دیگر روز و ریزنمونه) (نمودار۳، ۲، ۱).

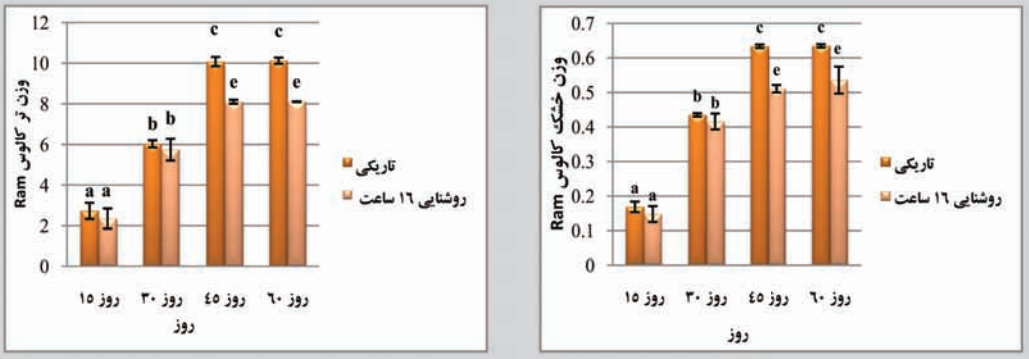
بحث و نتیجه‌گیری

رشد کالوس دارای یک الگوی لگاریتمی است. رشد کالوس در ابتدا کند بوده که در این مرحله برای القاء بهتر کالوس، حضور اکسین الزامی است. سپس سلول‌های کالوس وارد فاز تقسیم سلولی سریع شده که در این مرحله نیازمند سنتز فعال RNA، DNA و پروتئین است. در مرحله آخر سلول‌ها رشدشان متوقف شده و توده کالوس به سمت تمایز پیش می‌رود (۱۰). دربین هورمون‌های مختلفی که برای القاء و رشد کالوس استفاده می‌شود، اکسین را جزء

نمودار ۱- مقایسه تغییرات میانگین وزن تر و خشک کالوس مریستم انتهای ساقه در محیط MS واجد غلظت ۱ میلی‌گرم در لیتر هورمون D-٤، ۲ در فتوپریود ۱٦ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی و تاریکی کامل



نمودار ۲- مقایسه تغییرات میانگین وزن تر و خشک کالوس برگ در محیط MS واجد غلظت ۱ میلی‌گرم در لیتر هورمون ۲,٤-D در فتوپریود ۱٦ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی و تاریکی کامل



نمودار ۳- مقایسه تغییرات میانگین وزن تر و خشک کالوس مریستم انتهایی ریشه در محیط MS واجد غلظت ۱ میلی‌گرم در لیتر هورمون ۲,٤-D در فتوپریود ۱٦ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی و تاریکی کامل.

www.SID.ir

Archive of SID

بهترین هورمون‌ها دانسته واثبات کردند در بین اکسین‌های متفاوت، D-۲،۴ بهترین نتیجه را برای القاء و تکثیر کالوس دارد (۲۰). نتایج تحقیق حاضر نشان داد که حداکثر کال زایی در غلظت ۱ میلی گرم در لیتر هورمون D-۲،۴ انجام می‌شود (جدول ۱). هورمون‌هایی که باعث القاء و رشد کالوس می‌شوند، از طریق فاکتورهای مخصوصی، باعث رشد قطعات جدا کشت تحت الگوی منظمی می‌شوند. بنابر این بافت‌های گیاهی دارای رسپتورهای مخصوص در غشاء و یا درون سیتوپلاسم برای هورمون هستند. هورمون‌ها با این جایگاه‌ها بر هم کنش کرده و غلظت رسپتور در سطح بافت هدف، نوع پاسخ را تعیین می کند (۱۴). جایگاه‌های ویژه اتصال اکسین شناسایی شدند (۱۲). پروتئین‌هایی به نام، پروتئین‌های گسترش دهنده دیواره قادرند پیوند هیدروژنی بین ترکیبات پلی ساکاریدی دیواره سلول را بشکنند (۸). کاهش سطح pH سلولی، باعث افزایش سطح کلسیم داخل سلولی می‌شود(۱۸). این تغییر pH سیتوپلاسمی و یون‌های کلسیم به عنوان پیام رسان‌های ثانویه در عمل اکسین عمل می کنند. (۲۲). یون‌های کلسیمی در طی پیوند با کالمودولین باعث فعال شدن پروتئین کینازهای ویژه شده و در نتیجه فاکتورها ی بیان ژن‌های پاسخ دهنده به اکسین تنظیم می‌شوند و این باعث فعال شدن چرخه سلولی و تحریک تقسیم سلولی کالوس می‌شود(۱۱). قطعات جداکشت متفاوت تحت تاثیر هورمون، میزان متفاوتی کالوس تشکیل می‌دهد. تشکیل کالوس در تحقیق حاضر به خاطر تمایز زدایی راحت تر از مریستم انتهای ریشه استفاده شده است(۹). نتایج تحقیق حاضر نشان داد کال زایی در شرایط تاریکی بهتر از فتوپریود ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی انجام می‌گیرد. این یافته‌ها با پژوهش‌هایی که روی سویا انجام شد، هم خوانی دارد و میزان تشکیل کال در شرایط نوری در این گیاه کمتر از شرایط تاریکی است و نور، عاملی برای نکروزه شدن جدا کشت‌ها و کاهش رشد آن‌ها است(۱۹). در تحقیق دیگری که بر روی میزان تشکیل کال در گیاه *Varthemia persica* انجام شده بود، مشخص شد که میزان کال در شرایط تاریکی بیشتر از شرایط روشنایی است. بررسی نرخ کال زایی گیاه *Taxus baccata L.* در شرایط نور و تاریکی، مشخص کرد که شرایط نور و تاریکی در کال زایی و رشد کالوس این گیاه اثر معنی داری نشان نمی‌دهد(۴). طی تحقیقی بر روی *Saccharum officinarum* مشخص شد بهترین غلظت هورمون D-۲،۴ برای کال زایی ۳ میلی گرم در لیتر است. هم چنین مقایسه‌ای بین میزان کال زایی در شرایط نوری و تاریکی انجام و مشخص شد که تشکیل کال دراین گیاه در تاریکی زودتر از روشنایی است و وزن تر و خشک کال‌ها در تاریکی بیشتر و رنگ کال‌های تشکیل شده در تاریکی زرد براق و در روشنایی قهوه‌ای رو به طلایی می‌باشد(۵). طی تحقیقی بر روی توت فرنگی بهترین میزان هورمون D-۲،۴ برای کال زایی ۱ میلی گرم در لیترتعیین و بعد از آن میزان ۰/۵ میلی گرم در لیتر از سایر غلظت‌های هورمونی برای کال زایی بهتر است که این نتیجه با یافته‌های به دست آمده در این تحقیق هم خوانی دارد(۶). بهترین شرایط هورمونی برای کال زایی *Brassica napus* غلظت ۲ میلی گرم در لیتر هورمون D-۲،۴ است(۱۳). غلظت ۱ میلی گرم در لیتر هورمون D-۲،۴ بهترین کال زایی در گیاه *Gossypium hirsatm L.* را سبب می‌شود(۲۳). بیشترین کال زایی در T*anacetum balsamita L.* در میزان ۱ میلی گرم در لیتر هورمون D-۴، ۲ انجام پذیر است و بعد از این غلظت، غلظت ۰/۵ اثر بهتر ی بر میزان کال زایی نسبت به سطوح دیگر هورمون دارا است(۱۵).

منابع

۱-زارع بوانی، بهرام. ۱۳۷۳. بررسی اثر عصاره‌های آلی غیرقطبی و قطبی بذر شنبلیله بر روی قند خون در موش سفید کوچک (سوری). پایان نامه دکتری داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی اهواز، ۹۸-۱۰۰.

۲- زاهدی اصل، صدرالدین. ۱۳۸۴. اثر تجویز دهانی عصاره تراکلرورکربنی بذر شنبلیله در موش صحرایی دیابتی شده با

www.SID.ir

Archive of SID

استرپتوزوسین. مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی همدان. دوره ۱۲. شماره۳.

۳-معطر، فریبا.، شمس اردکانی، محمد.۱۳۷۸. راهنمای گیاه درمانی. چاپ اول. انتشارات فرهنگستان علوم پزشکی ایران، صفحه ۸۷

٤-یاری خسروشاهی، احمد.، ولی زاده، مصطفی.، قاسم پور، علیرضا.، خسروشاهلی، محمود.، نقدی بادی، حسن علی. ۱۳۸۵.اثر محیط کشت، ریز نمونه و تنظیم کننده‌های رشد در کال زایی و تولید تاکسول در سرخدار، Taxus baccata L. مجله علوم کشاورزی ایران ۳۷-۱، ۱(ویژه زراعت، اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی زراعی)):۶۹-۷۶.

5.Aamir, A., Shagufta, N., Fayyaz A. S., Iqbal ,J.(2008). Rapid clonal multiplication of Sugarcane *(Saccharum officinarum)* Through callogenesis and organogenesis. Pak. J. Bot,40(1);123-138.

6.Anca nicoleta, S., Aurel P., Isac, V.(2010). In vitro culture medium and explant type effect on callogenesis and shoot regeneration in two genotypes of ornamental strawberry. Romanian Biotechnological Letters, 15(2);20-21.

7.Basch, E., Ulbricht, C., Kuo, G., Szapary, P .,Smith, M. (2003). Therapeutic applications of Fenugreek. Journal of Alternative Medicine Review,8 (1);20-27.

8.Cosgrove.(2001). Wall structure and wall loosening. A look backwards and forwards. Plant Physiol, 125; 131-134.

9.Fitch, M., Moore, P.H. (1993). Long-term culture of embryogenic sugarcane cells. Plant Cell Tiss. and Org. Cul,32(3); 335-343.

10. Harinarain, R.P., Guzhov ,Y.L., Dolgikh ,Y. (1996).Prespective of application of biotechnological methods in selection of the sugarcane *Saccharun officinarum* L., for resistance to Hypoxia. Biology Bulletin of the Russia Academy of Science, 23(4); 336-345.

11.Johri, M.M ., Mitra, D. (2001). Action of plant hormones. Curr. Sci, 80(2);199-205.

12. Kim ,Y., Lee, H., Ko, M., Song, C ., Bae, C ., Lee ,Y. (2001) .Inhibition of fungal appressorium formation by pepper *(Capsicum annum)* esterase. Mol. Plant-Microbe Interactions, 14(1);80-85.

13. Lesak, H. S.,´ Popielarska, M., Góralski, G. (2005). Morphological and orphological and histological aspects of 2,4-D effects on rape explants (*Brassica napus* l. cv. Kana) cultured in vitro. Acta billogica cracoviensia Series Botanica, 47/1; 219–226.

14. Mockeviciute ,R., Anisimoviene ,N. (1999). Indole-3-acetic acid receptors in the cytosol. Biologija, 4;90-93.

15. Mohajjel Shoja , A., Hassanpouraghdam, M.B, Khosrowshahli, M., Movafeghi, A.(2010). Callogenesis capability and calli somaclonal variation of costmary (*Tanacetum balsamita L.*). Romanian Biotechnological Letters, 15(2).

16. Motyca, V., Faiss, M., Strand, M., Kaminek, M., Schmulling, T. (1996). Changes in cytokinin content and cytokinin oxidase activity in response to derepression of ipt gene transcription in transgenic *tobacco* calli and plants. Plant physiol,112;1035- 1043.

17. Oncina, R., DelRio, J. A, Gomez, P., Ortuno, A. (2000). Bioproduction of diosgenin in callus cultures of *Trigonella foenum-graecum* L. Journal of food Chemistry,70 (4);489-492.

18. Shishova, M.F., Lindberg, S., Polevoi, V.V. (1999). Auxin activation of Ca2+ transport across the plasmalemma of plant cells. Russian J. of Plant Physiol,46(5); 626-633.

19. Vaziri1, R., Ahmadi ,H., Fahimi F. B., Hossain, Sh.(2004). The effect of different concentrations of nacl on the callus induction and lipids of Soybean.J Plant Tissue Cult,14(21) ;75-77.

20. Wen, F.S., Barnett, F.L., Liang, G.H.(

www.SID.ir

Archive of SID

1991). Callus induction and plant regeneration from anther and inflorescence culture of Sorghum. Euphytica,52: ;177-181.

21. Xue, WL., Li, XS., Zhang, J., Liu, Y.H., Wang, Z.L ., Zhang, R.J. (2007). Effect of *Trigonella foenum-graecum* (fenugreek) extract on blood glucose ,blood lipid and hemorheological properties in streptozocin-induced diabetic rats. Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition, 16 (1); 422-426.

22. Zhang , L., Lu, Y.T.(2003). Calmodulin-binding protein kinases in plants. Trends Plant Sci,8;123-127.

23. Zouzou ,M., Kouakou, T. H., Koné, M., Amani, N. G., Kouadio, Y. J.(2008). Effect of genotype, explants, growth regulators and sugars on callus induction in Cotton(*Gossypium hirsutum* L.) Australian Journal of Crop Science,2(1); 1-9.

www.SID.ir