بهینه سازی ریزازدیادی گیاه دارویی آلوئه (*Aloe littoralis*) بومی ایران

آتنا بیانی[1]، فرح فراهانی [2]، زهرا نورمحمدی [1]، طاهر نژاد ستاری[1]

۱ گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات، تهران، ایران.

۲ گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد قم، قم، ایران

چکیده

آلوئه (***Aloe littoralis***) از نظر اقتصادی و دارویی اهمیت دارد. این گیاه بومی ایران تکثیر طبیعی و سنتی بسیار کند دارد. بنابراین، نمی تواند نیاز صنعت دارویی کشور را تامین کند. برای تکثیر سریع گیاه آلوئه (*A.littoralis*) می توان از روش ریزازدیادی استفاده نمود. هدف پروژه ریزازدیادی گیاه آلوئه بومی ایران (*A. littoralis*) است. در این تحقیق ریزنمونه جوانه انتهایی و جوانه جانبی برروی محیط کشت پایه MS حاوی هورمون BAP با مقادیر (0/5, 1,2 میلی گرم بر لیتر) و هورمون IAA با مقادیر (0/5, 1 میلی گرم بر لیتر) کشت شدند. بیشترین میانگین تعداد ساقه (۱,۲۵) و بلندترین طول ساقه نوپدید (۱,۱۳ سانتی متر) در محیط کشت دارای BAP (2 mg/l) و IAA (0/5 mg/l) بوجود آمدند، همچنین بیشترین میانگین تعداد برگ (۳,۷) و تعداد ریشه (۲,۳۲) و بلندترین طول ریشه (۴,۶۶ سانتی متر) در محیط کشت دارای BAP (0/5 mg/l) و IAA (0/5 mg/l) تولید شدند، در ریزازدیادی گیاه آلوئه (*A.littoralis*) مصرف هورمون ها کم است، پایه بومی و در مناطق جنوب ایران قابل دسترس است، خواص دارویی مشابه با گیاه آلوئه ورا (*Aloe barbedensis*) دارد، در نتیجه هزینه تولید پایین است و از نظر اقتصادی مقرون به صرفه تر می باشد.

کلمات کلیدی

آلوئه، محیط کشت، ریزازدیادی

مقدمه

آلوئه یک گیاه دارویی با ارزش در دنیا است که به خانواده Aloeacea تعلق دارد. جنس آلوئه شامل 380-200 گونه است، با این وجود امروزه تنها دو گونه *Aloe barbadensis* miller و *Aloe littoralis* بصورت تجاری رشد می کنند، هر دو گونه با داشتن ژل در برگها خاصیت دارویی دارند (Vij et al., 1980). تنها گونه ی بومی موجود در ایران گونه *A.littoralis* می باشد

که در نواحی جنوب ایران در استان هرمزگان بویژه در بندر لنگه، بندر خمیر، بندر سیریک، ارتفاعات بشاگرد، قشم و در بوشهر و سیستان و بلوچستان می روید.

بیشتر از 160 متابولیت ثانویه در برگهای این گیاه یافت می شود که مهمترین آنها باربالوئین وآلوئین می باشد. گیاه آلوئه بطورگسترده در صنایع داروسازی، تولید مواد غذایی وآرایشی مورد استفاده قرار می گیرد. تولید مثل جنسی گونه ازطریق بذر انجام می شود که به دلیل نر عقیمی، تولید بذر بسیار اندک است و یا اصولاً بذری تشکیل نمی گردد . حتی درصورت استفاده از بذر نیز به دلیل تفرق ژنتیکی، گیاهان حاصل شبیه گیاه مادری نخواهند بود (Brandham et al., 1998). تکثیر طبیعی آلوئه از طریق پاجوش است که البته این روش دارای سرعتی بسیار کند بوده و بسیار وقتگیر است. درشرایط طبیعی 3 تا 4 پاجوش از گیاه مادری در هر سال تولید می شود که نمی تواند نیاز صنعت داروسازی و تولید مواد غذایی را تامین کند. از آنجاییکه در شرایط درون شیشه تعداد بیشتر ریزنمونه با اندازه کوچک تولید می شود، این بررسی می تواند روشی مناسب جهت تولید ریزنمونه های آلوئه باشد.

مواد و روش ها

گیاهان آلوئه گونه (*Aloe littoralis*) ازگلخانه پژوهشکده بیوتکنولوژی خلیج فارس (مرکز منطقه آزاد قشم) تأمین شدند . گیاهان مورد استفاده در این آزمایش دارای رشد طبیعی بوده و علائم آلودگی و بیماری در آنها مشاهده نشد. قطعات حاوی جوانه های انتهایی و جانبی جهت ضدعفونی سطحی بافتهای گیاهی در محلول هیپوکلریت سدیم به همراه 5 تا 6 قطره توئین 20 قرار داده شدند. سپس به منظور حذف اثرات هیپوکلریت سدیم 3 مرتبه با آب مقطر استریل شستشو شدند.

محیط های کشت دارای محیط پایه MS (Murashige and Skoog, 1962) حاوی هورمون های BAP (0/5, 1, 2 mg/l) و IAA (0/5 , 1 mg/l) با pH= 5/7 آماده شدند و ریزنمونه های استریل پس از کشت در اتاق رشد تحت دمای 25 درجه سانتیگراد و فتوپریود 16/8 نگهداری شدند. تیمارها در سه واکشت با فواصل زمانی 45 روز تکرار شدند. صفات مورفولوژیک تعداد ساقه، ریشه نوپدید و طول ساقه، ریشه و برگ اندازه گیری شدند و تجزیه وتحلیل داده ها با استفاده از نرم افزار SPSS انجام شدند.

نتایج و بحث

با انجام آزمایشهای کشت در شیشه گیاه آلوئه (*Aloe littoralis*) پس از مدت 15-20 روز ساقه های نوپدید بر روی ریزنمونه ها آشکار شدند. تیمارها طی سه واکشت تکرار شدند و نتایج مورفولوژیک نشان دادند بیشترین میانگین طول ساقه های نوپدید 1/13سانتی متر و بالاترین میانگین تعداد ساقه نوپدید در محیط کشت های دارای هورمون هایBAP (2 mg/l) و IAA (0/5 mg/l) بودند و میانگین طول ساقه و تعداد ساقه در سایر تیمارها طبق گروه بندی دانکن در سطح احتمال 0/05 معنی دار بودند و در محیط کشت های با هورمون های BAP (0/5 mg/l) و IAA (mg/l1، 0/5) تفاوتها معنی دار نبودند.

بیشترین میانگین طول ریشه های نوپدید 4/6 سانتی متر و بالاترین میانگین تعداد ریشه در محیط کشت دارای هورمون های BAP (2 mg/l) و IAA (0/5 mg/l) بودند و میانگین طول ریشه و تعداد ریشه در سایر تیمارها در سه گروه (طبق گروه بندی دانکن) با سطح احتمال 0/05 معنی دار بودند. صفات طول و تعداد ریشه در محیط کشت های با هورمون هایBAP (1 mg/l، 0/5) و IAA (mg/l1، 0/5) و تفاوت ها از نظر آماری معنی دار نبودند.

بالاترین میانگین طول برگ 3/75 سانتی متر در محیط کشت دارای هورمون هایBAP (2 mg/l) و IAA (0/5 mg/l) بودند میانگین طول برگ در سایر تیمارها در یک گروه (طبق گروه بندی دانکن) با سطح احتمال 0/05قرار داشتند و تفاوتها از نظر آماری معنی دار نبودند.

اثر محیط های مختلف بر روی میزان رشد ساقه ها در سطح 0/05 تفاوت معنی داری داشت. حمید اوغلی و همکارانش (1384) با ریزازدیادی آلوئه ورا (*Aloe barbadensis*) گزارش کردند ساقه های کشت شده در محیط کشت با BAP (1 mg/l) و IAA (1 mg/l) از بیشترین رشد طولی برخوردار بودند. نسبت بالای سیتوکینینها به اکسین در محیط رشد، رشد طولی ساقه ها را به دنبال داشت . همچنین تعداد برگ در این محیط نیز نسبت به سایر تیمارهای دیگر محیط کشت از میزان بیشتری برخوردار بود.

طبق نتایج تحقیق توسط Supe و همکارانش (2007) میانگین تعداد ساقه نوپدید از IAA (1 mg/l) و BAP (4 mg/l) پس از 4 هفته 9/4 گزارش شد. طبق گزارش Mayer , Staden (1991) بیشترین تعداد ساقه نوپدید از گیاه آلوئه ورا در محیط کشت حاوی IAA(0/18 mg/l) و BAP (2/25 mg/l) بدست آمد.

شکل 1- ریزازدیادی و رشد گیاه آلوئه بومی ایران

Bhandari و همکارانش (2010) گزارش کردند مقدار BAP (1 mg/l) بیشترین تعداد ساقه را در گیاه آلوئه ورا تولید کردند. بسیاری از تحقیقات انجام شده بر روی ریشه زایی گیاهچه های تکثیر شده آلوئه ورا از هورمون IBA با مقادیر متفاوت استفاده کردند و از 0/2 -0 میلی گرم بر لیتر بیشترین ریشه زایی را مشاهده کردند و در گونه *A. littoralis* هورمون IAA با مقدار 0/5 میلی گرم بر لیتر بیشترین تعداد و طول ریشه را آشکار کردند. براساس نتایج بدست آمده در این تحقیق می توان گفت بیشترین تاثیر را در تولید نوساقه از ریزنمونه ها BAP در بین هورمونهای سیتوکنین دارد وسبب تحریک بیشتر سلولهای مریستمی به سمت تولید نوساقه می شود (De Oliveria et al., 2009).

Das و همکارانش (2010) برای ریزازدیادی گیاه آلوئه ورا از هورمون های BAP و IAA استفاده کردند و نتایج آنها با ریشه زایی آلوئه (*Aloe littoralis*) همخوانی داشت.

در ریزازدیادی گیاه دارویی آلوئه علاوه بر بررسی میزان پرآوری، بررسی متغیرهای میزان رشد گیاهچه ها از اهمیت قابل توجه ای برخوردار است زیرا درمحیطی که از پرآوری بالایی برخورداراست اگر همزمان رشد گیاهچه ها نیز مطلوب باشد، گیاهچه ها زودتر به محیط ریشه زایی انتقال می یابند.

جدول 1– میانگین صفات مورفولوژیک در تیمارهای متفاوت هورمونی (طبق گروه بندی دانکن)

(1: BAP 0/5 mg/l, IAA 0/5 mg/l) و (2 : BAP 1 mg/l , IAA 0/5 mg/l)

(3 : BAP 2 mg/l , IAA 0/5 mg/l) و (4 : BAP 0/5 mg/l , IAA 1 mg/l)

تیمار	میانگین طول برگ	تیمار	میانگین طول ریشه	تیمار	میانگین تعداد ریشه	تیمار	میانگین تعداد ساقه	تیمار	میانگین طول ساقه
2.00	3.4362a	3.00	4.66a	3.00	2.32a	2	0.76a	2	0.64a
1.00	3.5921a	4.00	0.78b	4.00	0.62b	1	0.81a	1	0.73a
4.00	3.7143a	2.00	1.28b	2.00	0.91b	4	1.25a	4	0.74a
3.00	3.7558a	1.00	2.41c	1.00	1.78c	3	3.00b	3	1.13b

میانگین تغییرات در سطح احتمال 0/05 معنی دار است. (تفاوتها با حروف مشترک معنی دار نیستند)

منابع

Bhandari, A.K., Negi, J.S., Bisht, V.K., Bharti, M.K., 2010.*In vitro* propagation of *Aloe vera*-A Plant with Medicinal Properties, Nature and Science, 8: 174-176.

Brandham, P.E., Doherty, M.J.,1998. Genome size variation in the Aloeacea an angiosperm family displaying karyotypicOrthoselection, Annals of Botany, 82: 67-73.

Das, A., Mukherjee, P., BaranJha, T., 2010. High Frequency Micropropagation of *Aloe vera* as a Low Cost Option Towards Commercialization , Plant Tissue Cult. & Biotech,. 20: 29-35.

De Oliveria, E.T., Crocomo, O.J., Farinha, T.B., Gallo, L.A.,2009. Large –scale micropropagation of Aloe vera , Hortscience ,44: 1675-1678.

Hamidoghli, Y., Fatahi Moghadam, G., Fotohi Ghazvini, R., 1384. *In vitro* proliferation of Aloe vera (Aloe barbadensis Mill), Journal of Agriculture Science of Iran, 36: 903-909.

Mayer, H.J., Staden,, J.V., 1991. Rapid *in vitro* propagation ofAloebarbadensis Mill. Plant Cell Tissue and Organ Culture. 26: 167-171.

Murashig, T., Skoog, F., 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. Physiol. Plant, 15: 473-497.

Supe, U., 2007. *In vitro* Regeneration of Aloe verabarbadensis.Biotechnology. 6: 601-603.

Vij, SP., Sharma, M., Toor, IS., 1980. Cytogenetical investigation in to some garden ornamentals II.The genus Aloe L., Cytologia, 515-532.

Optimization micropropagation of Aloe (*Aloe littoralis*) medicinal plant native in Iran

Abstract

Aloe (*Aloe littoralis*) is important clinically and economically. This plant is native in Iran and natural and traditional of proliferation is very slow, in the result, needs of medicinal industry do not prepare. Aloe (*A. littoralis*) can proliferate from micropropagation technique rapidly. The subject of project is micropropagation of Aloe (*A. littoralis*) native in Iran. The terminal and axillary buds of explants cultured on media culture, MS with BAP (۰,۵ , ۱, ۲ mg/l) and IAA (۰,۵ , ۱ mg/l). The largest number of shoot (1.25) and the highest length of shoot (1.13 cm) produced on MS medium culture with BAP (2 mg/l) and IAA (0.5 mg/l), the largest number of leaves (1.25) and root (2.32) and the highest length of root (4.66 cm) produced on MS medium culture with BAP (0.5 mg/l) and IAA (0.5 mg/l). Aloe micropropagation used low concentration of hormones, mother plants are native in south of Iran region, medicinal properties are common with aloe vera (*Aloe barbedensis*). In the results, cost of production is low and is better economically.