فصلنامه (علمی – پژوهشی)

زیست شناسی تکوینی

سال نهم، شماره ۱، زمستان ۱۳۹۵

تاثیر میدان مغناطیسی، محیط‌کشت و تنظیم کننده‌های رشد بر جوانه‌زنی بذر گیاه پروانش (*Catharanthus roseus* L.)

مریم پیوندی*، سیده مریم سید طالبی، احمد مجد

گروه زیست شناسی دانشکده علوم زیستی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران- شمال، ایران، تهران

*Email: m_peyvandi@iau-tnb.ac.ir

تاریخ دریافت : ۹۵/۱۰/۲۷ تاریخ پذیرش: ۹۵/۱۱/۱۸

چکیده

پروانش با نام علمی(*Catharanthus roeus* L.) از جمله گیاهان مهم دارویی است که دارای آلکالوئیدهای با ارزش می باشد. در این تحقیق تاثیر شدت میدان مغناطیسی بلند مدت و کوتاه مدت، غلظت محیط کشت و تنظیم کننده های رشد بر درصد جوانه‌زنی بذر گیاه پروانش بررسی شد. بذرهای سترون روزانه پانزده دقیقه و به مدت یک هفته یا یک ماه در معرض شدت‌های مختلف میدان مغناطیسی (۰ ،۲ ،۴ mT) قرارگرفتند. بذرهای تیمارشده در محیط‌کشت MS یا 1/2 MS دارای ترکیب هورمونی مختلف کشت شدند. نتایج نشان داد هر دو شدت میدان اگر به مدت یک ماه اعمال شوند، موجب کاهش معنی‌دار جوانه‌زنی بذرها می‌گردند. در هر شدت میدان، درصد جوانه زنی، درمحیط‌کشت 1/2 MS بالاتر از محیط‌کشت MS بود. کشت بذرهای تیمار شده با شدت‌های مختلف میدان مغناطیسی در محیط‌های کشت دارای ترکیب هورمونی 2,4-D و کینتین نشان داد، درصد رویش در محیط کشت‌های دارای 2,4-D بیشتر است. اما تولید کالوس و سرعت رشد کالوس از دانه‌رست‌ها نیز در این محیط‌ها بالاتر است. در محیط کشت‌های دارای2iP یا کینتین، رویش دانه‌ها بدون تشکیل کالوس انجام شد و شاخه‌زائی در محیط‌کشت دارای کینتین از دانه رست‌ها بالا بود.

کلیدواژه‌ها: انسان، تنظیم کننده‌های رشد، گیاه پروانش، محیط‌کشت، میدان مغناطیسی

مقدمه

گیاه پروانش با نام علمی کاتارانتوس رزئوس (*Catharanthus roseus (L.*) متعلق به تیره آپوسیناسه، یک گیاه دارویی مشهور است [۱۶و۱۸]. از میان ۱۳۰ نوع ایندول آلکالوئیدهایی که در این گیاه شناسایی شده است، آلکالوئیدهای وین بلاستین و وین کریستین برای درمان لوکمیا، لیمفوما، و سرطان بیضه و... مورد استفاده قرار می‌گیرند [۱۰]. این آلکالوئیدها، عوامل بلوکه کننده چرخه سلولی در مرحله متافاز میتوز هستند. آنها به طور اختصاصی به b- توبولین‌ها متصل شده و اجازه پلیمریزه شدن آن با a- توبولین را نمی‌دهند. در نتیجه در نبود دوک تقسیم سالم،

کروموزوم‌های مضاعف شده نمی‌توانند در یک ردیف قرار بگیرند و تقسیم سلولی در مرحله متافاز متوقف می‌شود. سلول بلوکه شده در میتوز، مشمول آپوپتوز می‌شود و از بین می‌رود.

پروانش به طور سنتی توسط بذر تکثیر می‌شود [۲]. اما این روش کشت، سبب تفرق ژنتیکی و کاهش تولید یکنواخت آلکالوئیدهای دایمری آن می‌شود [۱۰]. به همین دلیل تلاش‌های زیادی برای تولید انبوه این گیاه از طریق کشت بافت انجام شده است. اولین مشاهدات در زمینه باززایی گونه کشت‌های آزمایشگاهی مربوط به تشکیل ریشه از بافت کالوس پروانش بود. پس از آن، تشکیل ساقه از بافت کالوس و باززایی گیاه از کالوس‌های هاپلوئید و دیپلوئید انجام گرفت[۲۹]. تحقیقات نشان می‌دهد سرعت تکثیر ریز قلمه‌ها، شاخه‌زائی و ریشه‌زایی تحت تاثیر نوع و غلظت ستوکینین‌ها و اکسین‌های محیط‌کشت است [۸ و۲۹].

میدان مغناطیسی جزئی از عوامل طبیعی است که سیستم زنده را تحت تاثیر قرار می‌دهد [۲۱]. میدان‌های دارای شدت زیاد به عنوان عامل تنش زا محسوب می‌گردند. این میدان‌ها می‌توانند بر تکثیر و تمایز سلولی اثر گذاشته و سرعت رشد را تغییر دهند [۲۳]. مکانیسم تأثیر میدان‌های مغناطیسی بر سلول‌های زنده هنوز بطور دقیق مشخص نشده است، ولی باید گفت که اثرات مهاری یا تحریکی میدان مغناطیسی بر رشد بافت‌ها، به عواملی نظیر گونه و اندام گیاهی، فرکانس و نوع میدان، مدت زمان تیمار و سایر عوامل تنش زا بستگی دارد [۱۵].

اثر میدان‌های الکترومغناطیس متناوب با شدت کم (در سطح نویز میدان مغناطیسی طبیعی زمین) و زیاد، بر جوانه‌زنی و رشد گیاهان مختلف نظیر ذرت [۹]، گوجه فرنگی [۲٤] و سویا [۳۲] نشان داده است برخی از شدت‌های میدان مغناطیسی موجب افزایش جوانه‌زنی و رشد می‌شود.

پژوهش حاضر با هدف تعیین بهترین شدت میدان مغناطیسی، ترکیب هورمونی و محیط‌کشت جهت رویش بذر و رشد دانه‌رست گیاه پروانش انجام گردید.

مواد و روش‌ها

آزمایش‌های تأثیر شدت و مدت زمان‌های مختلف میدان مغناطیسی، غلظت محیط‌کشت و ترکیب هورمونی بر صفات جوانه‌زنی بذر گیاه پروانش، در آزمایشگاه تحقیقات دانشکده علوم زیستی دانشگاه آزاد تهران شمال در سال ۱۳۹۵ انجام شد.

سترون نمودن و تیمار بذرها با شدت‌های مختلف میدان مغناطیسی: بذرها از شرکت سبز نمین خریداری شد و پس از انتقال به آزمایشگاه، با آب جاری شسته شده و در محلول هیپوکلریت سدیم ۰/۱٪ (۱۵ دقیقه) و شستشو با آب مقطر سترون(چهار بار) سترون گردیدند. سپس بذرها توسط دو آهن ربا به مدت یک هفته (تیمار کوتاه مدت) و یک ماه (تیمار بلند مدت)، روزانه به مدت پانزده دقیقه در میدان مغناطیسی های مختلف (۰، ۲، ٤ mT) قرار گرفتند. در طی این مدت بذرها در تاریکی و دمای ۲۵±۱°C نگهداری شدند و سپس به محیط کشت [MS۲٦] انتقال یافتند و در اتاق رشد در دوره روشنائی(۱۲ ساعت تاریکی/ ۱٦ ساعت روشنائی) و دمای ۲۵±۲ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

تاثیر شدت و مدت‌های مختلف میدان مغناطیسی و نوع محیط‌کشت: بذرهای تیمار شده با شدت و زمان‌های مختلف میدان، در محیط‌های کشت MS

یاMS 1/2 دارای هورمون 2iP (0.5, 1 mgl^{-1}) کشت شدند.

تاثیر شدت‌های مختلف میدان مغناطیسی و نوع هورمون: بذرهای تیمار شده با شدت‌های مختلف میدان، در محیط‌های‌کشت MS 1/2 دارای هورمون‌های (0 , 0.5 mgl^{-1}) 2,4-D و Kinetine کشت شدند.

تجزیه و تحلیل آماری

هر آزمایش دست کم با پنج پتری دیش و در هر پتری دیش ۳-٤ (بذر) قرار داده شد. آزمایش‌ها با بلوک‌های کاملا تصادفی طراحی شد. آزمون آماری با نرم‌افزار SPSS ver.16 انجام شد. آنالیز واریانس دو عاملی با برنامه ANOVA صورت گرفت. مقایسه میانگین‌ها با آزمون دانکن و سطح اعمال $P\leq0.05$ انجام شد.

نتایج

بررسی تاثیر شدت و مدت میدان مغناطیس و غلظت محیط کشت بر جوانه زنی بذرها:

بذرها پس از تیمار با میدان مغناطیسی، به محیط‌های کشت مختلف انتقال یافتند و در صد جوانه‌زنی یک هفته، دو هفته و یک ماه پس از تیمار بررسی شد.

جوانه زنی یک هفته پس از تیمار:

آنالیز واریانس میانگین درصد جوانه‌زنی نشان داد طول و شدت میدان، غلظت محیط‌کشت و هورمون تفاوت معنی‌داری را ایجاد می‌کند(جدول ۱). بالاترین میانگین درصد جوانه‌زنی در بذرهای تحت تیمار شدت چهار میلی تسلا کوتاه مدت و کشت شده در محیط‌کشت 1/2MS (٦٥٪) و کمترین میانگین در بذرهای تحت تیمار شدت چهار میلی تسلا بلند مدت و کشت شده در محیط کشت MS (٥٪) بدست آمد. نتایج رویش در هفته اول نشان داد هر دو شدت میدان اگر به مدت یک ماه اعمال شوند، موجب کاهش معنی دار جوانه‌زنی بذرها می‌گردند. در هر شدت میدان، درصد جوانه‌زنی درهر دو غلظت هورمون 2iP، در محیط‌کشت MS 1/2 بالاتر از محیط کشت MS بود (جدول‌های ۱ و ۲)(شکل ۱).

جوانه زنی دو هفته پس از تیمار:

نتایج مشابه نتایج هفته اول بود(جدول۲). بالاترین میانگین درصد جوانه‌زنی در بذرهای تحت تیمار شدت چهار میلی تسلا کوتاه مدت و کشت شده در محیط‌کشت 1/2MS (۹۰٪) و کمترین میانگین در بذرهای تحت تیمار شدت چهار میلی تسلا بلند مدت و کشت شده در محیط‌کشت MS ۱۲/٥٪) بدست آمد. در هر شدت میدان، درصد جوانه‌زنی در محیط‌کشت MS در غلظت بالاتر هورمون 2iP نسبتا بیشتر بود. در حالیکه درصد رویش در بذرهای تحت تیمارهای بلند مدت در تیمار MS 1/2 دارای غلظت کم 2iP بالاتر بود. نتایج نشان داد گرچه تیمارهای طولانی مدت بازدارنده رویش هستند، اما کشت این بذرها در محیط‌کشت MS 1/2 با غلظت کم هورمون 2iP درصد رویش را تا حدی افزایش می‌دهد (جدول‌های ۱ و ۲) (شکل ۱).

جوانه زنی یک ماه پس از تیمار:

بالاترین میانگین درصد جوانه‌زنی در بذرهای تحت تیمار شدت چهار میلی تسلا کوتاه مدت و کشت شده در محیط‌کشت 1/2MS (۹۷٪) و کمترین

میانگین در بذرهای تحت تیمار شدت چهار میلی تسلا بلند مدت و کشت شده در محیط‌کشت MS (۲۲٪) بدست آمد. گرچه تیمارهای طولانی مدت بازدارنده رویش بودند، اما کشت این بذرها در محیط کشت 1/2 MS با غلظت کم هرمون 2iP درصد رویش را تا حدی افزایش داد(جدول های ۱و۲) (شکل ۱).

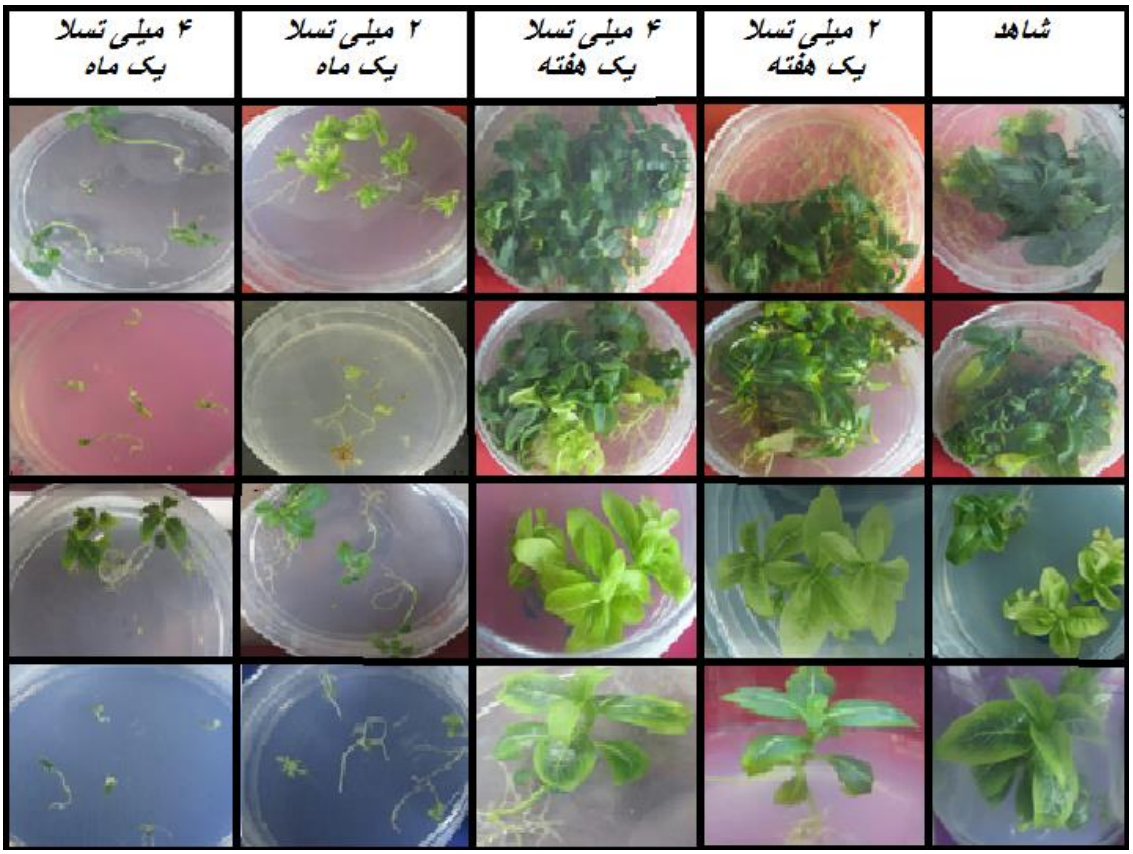
جدول ۱: مقایسه نتایج حاصل از تاثیر متقابل سه عامل شدت و مدت میدان مغناطیسی، غلظت هورمون 2iP ، غلظت محیط کشت بر میانگین درصد جوانه زنی یک هفته، دوهفته ویک ماه پس از کشت

		Mean Square		
Source	**df**	**One Week**	**Two Weeks**	**Four Weeks**
Magnetic Field(MF)	4	12067.187*	25348.437*	28831.250*
hormone	1	1378.125*	378.125ns	12.500ns
medium	1	14028.125*	2628.125*	1800.000*
MF * hormone	4	339.062ns	1667.187*	1512.500*
MF * medium	4	489.062ns	698.438*	1175.000*
hormone * medium	1	1128.125*	4278.125*	1800.000*
MF * hormone * medium	4	198.437ns	129.688ns	1081.250*
Error	180	265.625	316.319	368.750
Total	200			

* نشاندهنده تفاوت معنی دار وns معرف عدم تفاوت معنی‌دار در بین میانگین ها در سطح $p\leq0.05$ است.

جدول ۲: میانگین (±SE) درصد رویش بذرهای تحت تیمارهای کوتاه مدت و بلند مدت شدت‌های مختلف میدان مغناطیسی (۰، ۲، ٤ mT) یک هفته، دو هفته و یک ماه پس از کشت در محیط‌های کشت MS یا 1/2MS دارای هورمون (۰/۵و۱ mgl^{-1})2iP. گروه‌بندی با آزمون دانکن ($p\leq0.05$). حروف مشترک نشاندهنده معنی‌دار نبودن اختلاف بین میانگین هاست.

تیمار میدان (mT)	مدت میدان	محیط‌کشت	2iP (mgl^{-1})	هفته اول		هفته دوم		هفته چهارم	
۰	۰	MS	۱	۲۷/۵±۵/۸	(efg)	۶۰±۵/۵	(bc)	۸۵±۵/۵	(abc)
۰			۰/۵	۲۲±۶/۹	(fgh)	۵۰±۶/۵	(c)	۶۷±۶/۵	(cde)
۰		1/2MS	۱	٤۷±۵/۸	(bcd)	۶۲±۵/۶	(bc)	۸۰±۷/۳	(abcd)
۰			۰/۵	۵۷±۵/۳	(abc)	۶۰±۵/۵	(bc)	۷۵±۵/۳	(bcde)
۲	یک هفته	MS	۱	۳۵±۵/۲	(def)	۷۰±۰/۵۰	(b)	۸۵±۶/۶	(abc)
۲			۰/۵	۳۲±۵/۳	(def)	۵۵±۶/۲	(bc)	۸۰±۵/۰	(abcd)
۲		1/2MS	۱	٤۲/۵±۵/۳	(cde)	۵۵±۵/۰	(bc)	۸۷±۵/۶	(ab)
۲			۰/۵	٤۷±٤/۵	(bcd)	۵۷±۳/۸	(bc)	۶۵±۵/۵	(de)
۲	یک ماه	MS	۱	۷/۵±۳/۸	(hi)	۵۰±۰/۵۰	(c)	٤۰±۹/۳	(f)
۲			۰/۵	۱۵±۵/۵	(ghi)	۲۷±۵/۸	(d)	۳۲±۷/۵	(f)
۲		1/2MS	۱	۱۲/۵±٤/۲	(ghi)	۲۰±۰/۵۰	(d)	۳۵±۵/۵	(f)
۲			۰/۵	۳۵±۶/۵	(def)	٤۷±۹/۵	(c)	۶۲±۹/۳	(de)
٤	یک هفته	MS	۱	٤۲/۵±۵/۳	(cde)	۸۷±٤/۲	(a)	۹۷±۲/۵	(a)
٤			۰/۵	٤۵±۶/۲	(cd)	۷۲±۶/۲	(ab)	۹۵±۳/۳	(a)
٤		1/2MS	۱	۶۵±۵/۲	(a)	۸۷±٤/۲	(a)	۹۷±۲/٤	(a)
٤			۰/۵	۶۲±٤/۲	(ab)	۹۰±٤/۱	(a)	۹۷±۲/۵	(a)
٤	یک ماه	MS	۱	۵±۳/۳	(i)	۱۲/۵±۵/۶	(d)	۲۲±۷/۰	(f)
٤			۰/۵	۵±۳/۳	(i)	۱۵±۶/۵	(d)	۲۲±٤/۵	(f)
٤		1/2MS	۱	۱۰±٤/۱	(hi)	۱۵±٤/۱	(d)	۳۰±۳/۳	(f)
٤			۰/۵	۲۷±٤/۵	(efg)	٤۵±۷/۳	(c)	۵۷±۹/۲	(e)



شکل۱: بذر های رویش یافته تحت تیمارهای کوتاه مدت و بلند مدت شدت‌های مختلف میدان مغناطیسی (۰، ۲، ٤ mT) یک ماه پس از کشت در محیط‌های کشت MS یا 1/2MS دارای هورمون (mgl^{-1} ۱و۰/۵) 2iP. ردیف اول: بذرهای کشت شده در محیط‌کشت 1/2MS دارای هورمون (mgl^{-1} ۰/۵) 2iP. ردیف دوم: بذرهای کشت شده در محیط کشت 1/2MS دارای هورمون (mgl^{-1}۱) 2iP. ردیف سوم: بذرهای کشت شده در محیط‌کشت MS دارای هورمون (mgl^{-1} ۰/۵) 2iP. ردیف چهارم: بذر های کشت شده در محیط کشت MS دارای هورمون (mgl^{-1}۱)2iP

بررسی تاثیر شدت و مدت میدان مغناطیس و ترکیب هورمون‌های محیط‌کشت بر جوانه‌زنی بذرها:

بذرها پس از تیمار با میدان مغناطیسی، به محیط‌های کشت 1/2 MS دارای هورمون‌های (mgl^{-1} ۰/۵ و ۰) 2,4-D و Kinetine انتقال یافتند و در صد جوانه‌زنی یک هفته، دو هفته و یک ماه پس از تیمار بررسی شد.

جوانه‌زنی یک هفته پس از تیمار:

آنالیز واریانس میانگین درصد جوانه‌زنی نشان داد طول و شدت میدان، نوع هورمون هورمون تفاوت معنی‌داری را ایجاد می‌کند (جدول ۵). بالاترین میانگین درصد جوانه‌زنی در بذرهای تحت تیمار شدت چهار میلی تسلا کوتاه مدت و کشت شده در محیط‌کشت 1/2MS دارای هورمون Kin و 2,4-D د به دست آمد(٤۰٪) و کمترین میزان درصد جوانه‌زنی در بذرهای تحت تیمار میدان مغناطیسی بلند مدت که در محیط‌کشت دارای Kin کشت شده بودند مشاهده شد(۸/۳۳٪). نتایج رویش در هفته اول نشان داد هر دو شدت میدان اگر به مدت یک ماه اعمال شوند، موجب کاهش معنی‌دار جوانه زنی بذرها می‌گردند. در هر شدت میدان، درصد جوانه‌زنی در سه ترکیب هورمونی متفاوت، تفاوت معنی‌داری را نشان نداد (جدول‌های ۳ و ٤).

جوانه‌زنی دو هفته پس از تیمار:

بالا ترین میانگین درصد جوانه‌زنی در بذرهای تحت تیمار شدت چهار میلی تسلا کوتاه مدت و کشت شده در محیط‌کشت 1/2MS دارای هورمون Kin و 2,4-D د به دست آمد(۷۰٪) و کمترین میزان درصد جوانه‌زنی در بذرهای تحت تیمار میدان مغناطیسی بلند مدت که در محیط‌کشت دارای Kin کشت شده بودند مشاهده شد (۱۲/۵٪). نتایج رویش در هفته دوم مشابه مشاهدات هفته اول بود. اندام های مختلف(ریشه، ساقه و برگ) دانه‌رست‌ها در محیط کشت‌های دارای 2,4-D کالوس تولید کردند (جدول‌های ۳ و٤).

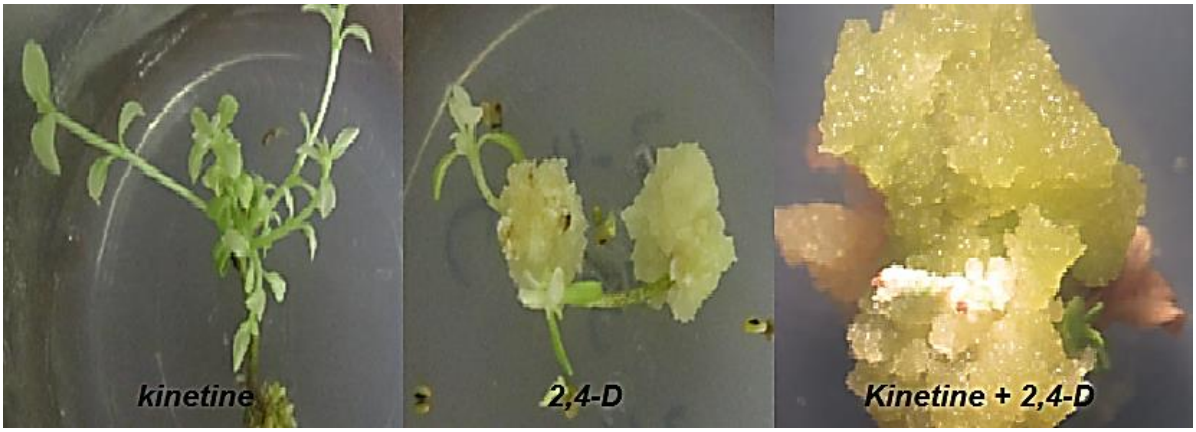
جوانه‌زنی یک ماه پس از تیمار:

بالاترین میانگین درصد جوانه‌زنی در بذرهای تحت تیمار شدت چهار میلی تسلا کوتاه مدت و کشت شده در محیط‌کشت 1/2MS دارای هورمون Kin و 2,4-D د به دست آمد(۹۵٪) و کمترین میزان درصد جوانه زنی در بذرهای تحت تیمار میدان مغناطیسی بلند مدت که در محیط کشت دارای کینتین کشت شده بودند مشاهده شد(۲۵٪) در هر شدت میدان، درصد جوانه‌زنی در محیط کشت‌های دارای دو هورمون نسبتا کمتر بود. در این محیط‌کشت کالوس‌ها رشد زیادی داشتند. در محیط‌کشت دارای کینتین به تنهایی، شاخه‌زایی بدون تشکیل کالوس مشاهده شد(جدول‌های ۳ و٤) (شکل ۲).

جدول ۳: جدول ۱: مقایسه نتایج حاصل از تاثیر متقابل دو عامل شدت و مدت میدان مغناطیسی، نوع وغلظت هورمون بر میانگین درصد جوانه زنی یک هفته، دوهفته ویک ماه پس از کشت

		Mean Square.		
Source	**df**	**One Week**	**Two Weeks**	**Four Weeks**
Magnetic Field (MF)	4	3222.869*	10669.492*	22719.037*
hormone	2	491.865ns	783.681*	2519.891*
MF * hormone	8	28.695ns	207.912ns	278.447ns
Error	125	279.222	399.333	410.611
Total	140			
Corrected Total	139			

* نشاندهنده تفاوت معنی‌دار وns معرف عدم تفاوت معنی‌دار در بین میانگین‌ها در سطح $p\leq 0.05$ است



شکل۲: بذر های رویش یافته تحت تیمارهای کوتاه مدت و بلند مدت شدت‌های مختلف میدان مغناطیسی (۰، ۲، ٤ mT) یک ماه پس از کشت در محیط های کشت 1/2MSدارای هورمون های (۰و ۰/۵ mgl^{-1}) 2,4-D, kinetine

جدول ٤: میانگین (±SE) درصد رویش بذرهای تحت تیمارهای کوتاه مدت و بلند مدت شدت‌های مختلف میدان مغناطیسی (mT ٤, ۲ ،۰) یک هفته، دو هفته و یک ماه پس از کشت در محیط‌های کشت 1/2MS دارای هورمون (mgl^{-1} ۰/۵و ۰)2,4-D, kinetine. گروه بندی با آزمون دانکن($p\leq0.05$). حروف مشترک نشاندهنده معنی‌دار نبودن اختلاف بین میانگین ها ست.

تیمار میدان (mT)	مدت میدان	kinetine (mgl^{-1})	2,4-D	هفته اول		هفته دوم		هفته چهارم	
۰	۰	۰/۵	۰	۱٦/٦±٥/۹	(bcd)	٤۱/٦±۸/۳	(cde)	٤۷/۲±۷/٥	(c)
		۰	۰/۵	۱۹/٤±٥/٥	(bcd)	٤۱/٦±۸/۳	(cde)	٦۹/٤±۸/۱	(b)
		۰/۵	۰/۵	۲۰±٦/۲	(bcd)	۳۲/٥±٥/۳	(defg)	۷۲/٥±۷/۳	(b)
۲	یک هفته	۰/۵	۰	۱۹/٤±٦/۲	(bcd)	٤۷/۲±۷/۷	(bcd)	۷٥±۱۰/۲	(ab)
		۰	۰/۵	۲۷/۸±٥/۰	(abc)	٥٥/٦±۷/۰	(abc)	۸۳/۳±٥/۹	(ab)
		۰/۵	۰/۵	۲۷/٥±٥/۰	(abc)	٤۷/٥±٥/۸	(bcd)	۹۰±٤/۱	(ab)
	یک ماه	۰/۵	۰	۸/۳±٤/۲	(d)	۱۹/٤±٥/٥	(fg)	۲٥±٤/۳	(de)
		۰	۰/۵	۱٦/۷±٤/۲	(bcd)	۳٦/۱±٦/۱	(cde)	۳۸/۹±٤/٥	(cde)
		۰/۵	۰/۵	۱۷/٥±٥/٥	(bcd)	۳۲/٥±٦/۱	(defg)	٤۲/٥±۸/۳	(cd)
٤	یک هفته	۰/۵	۰	۱٦/٦±٥/۹	(ab)	٦٦/۷±٥/۲	(ab)	۸٦/۱±٤/٤	(ab)
		۰	۰/۵	۳۸/۹±٥/۲	(a)	۷۲/۲±۷/۲	(a)	۸٦/۱±۷/٤	(ab)
		۰/۵	۰/۵	٤۰±۷/۲	(a)	۷۰±۷/۱	(a)	۹٥±۳/٥	(a)
	یک ماه	۰/۵	۰	۸/۳±٤/۲	(d)	۱۹/٤±٥/٥	(fg)	۱۹/٤±٥/٥	(e)
		۰	۰/۵	۱۱/۱±٤/۱	(cd)	۲٥±٥/۹	(efg)	۳۰/٦±٦/۹	(cde)
		۰/۵	۰/۵	۱۰±٤/۱	(cd)	۱۲٥/٥±٤/۳	(g)	۲۲/٥±٤/۲	(de)

بحث

رشد، تکثیر و تمایز وابسته به نیروهایی مثل جاذبه و میدان مغناطیسی خفیف که در زمین وجود دارد می‌باشد[٤]. میدان مغناطیسی (MF) یک عامل محیطی غیر قابل اجتناب برای گیاهان بر روی زمین است. بررسی رابطه بین میدان مغناطیسی و پاسخ‌های گیاهی، توانائی گیاهان را به درک و پاسخ سریع گیاهان به میدان مغناطیسی را ازا تغییر بیان ژن و فنوتیپ خود نشان می‌دهد [۲۱].

پژوهش حاضر نشان داد صرفنظر از غلظت محیط‌کشت و نوع هورمون استفاده شده، شدت میدان‌های بلند مدت موجب کاهش معنی‌دار و میدان‌های مغناطیسی کوتاه مدت موجب افزایش درصد جوانه‌زنی ورشد گیاه می‌شوند.

تاثیر میدان مغناطیسی در گیاهان مختلف نظیر ماش[۳]، سویا [۲]، جو [۲۲] آفتابگردان [۳٤] ، ذرت [۱٤ و ۳۱] و تربچه و نخود فرنگی [۷ ، ۳۰و۳٥] نشان می‌دهد میدان‌های مغناطیسی کوتاه مدت با شدت‌های بیشتر از میدان مغناطیسی زمین بر جوانه‌زنی بذر و رشد گیاهچه موثر است.

بررسی‌ها نشان می‌دهد در شدت‌های کم میدان، فشار اسمزی سلول‌ها نسبت به شاهد بیشتر است و همین امر موجب رشد بیشتر ساقه می‌شود [۲۷]. همچنین مشاهده شد که اثرات شدت‌های پایین MF بر فراساختار سلول‌های ریشه به علت اختلال در سیستم‌های مختلف سوخت و ساز بدن از جمله اثرات آن بر هوموستازی Ca^{2+} [۱۱ و ۱۲] می‌باشد. از طرف دیگر مشخص شده است شدت‌های مختلف

میدان‌های مغناطیسی و الکترومغناطیسی با تاثیر بر فعالیت اکسین اکسیداز، موجب تغییرات رشد ساقه و ریشه می شوند [۱۹ و ۲۸].

امروزه توجه خاصی به فیتوکروم‌ها به عنوان حسگر مغناطیس(magnetosensor) [٦و۳۳]شده است. در گیاهان بسیاری از پاسخ‌ها مانند مهار رشد محور زیر لپه [۲۰]، جوانه زنی، تجمع آنتوسیانین [۵] وگسترش برگ‌ها [۲۰]، تشکیل گل [۱۳] به کریپتوکروم مرتبط است. با آزمایش بر روی آرابیدوپسیس، پیشنهاد کرده‌اند که میدان مغناطیسی پاسخ‌های رشد وابسته به کریپتوکروم را تحت تاثیر قرار می‌دهد [٦]. اما برای اثبات این امر به تحقیقات بیشتری نیاز دارد.

تاثیر متقابل مدت و شدت میدان مغناطیسی با نوع هورمون‌های محیط کشت نشان داد، میدان‌های طولانی مدت موجب کاهش معنی‌دار رشد می‌شوند و تاثیر هورمون‌ها به ویژه در دو هفته اول معنی‌دار نیست. در هر شدت میدان، درصد جوانه‌زنی در محیط‌کشت‌های دارای دو هورمون نسبتا کمتر بود. در این محیط‌کشت کالوس‌ها رشد زیادی داشتند. در محیط‌کشت دارای کینتین به تنهایی، شاخه زایی بدون تشکیل کالوس مشاهده شد.

رشد و ریخت‌زایی گیاهان تحت شرایط درون شیشه‌ای به میزان زیادی تحت تأثیر انتخاب مناسب ریز نمونه، نوع محیط‌کشت، نوع و غلظت هورمون‌های محیط‌کشت قرار می‌گیرد [۱۷]. مطالعات نشان می‌دهد غلظت محیط کشت تاثیر معنی‌داری بر رویش بذر دارد. تحقیقات Mishra و همکاران (۲۰۱۳) نشان داد محیط‌کشت 1/2MS موجب افزایش درصد جوانه‌زنی بذرهای .Pterocarpus marsupium Roxb که با نتایج تحقیق حاضر همسو است.

معمولا نسبت بالای سیتوکینین به اکسین شاخه‌زایی را تحریک می‌کند. باززایی مستقیم گیاهچه‌های پروانش با کشت اندام‌های مختلف در محیط (MS) تیمار شده با ۱ میلی‌گرم در لیتر هورمون بنزیل آمینوپورین نشان داد که علاوه بر تولید شاخه‌هایی با برگ‌های کوچک، بافت‌های سازمان نیافته‌ای نیز در محیط‌کشت تولید می‌شوند [۲۹]. در کشت‌های آزمایشگاهی پروانش، به کارگیری ترکیب اکسین‌ها، سیتوکینین‌ها و شدت نور نشان داده است که افزودن ۷ میلی‌گرم در لیتر هورمون BAP و ۱ میلی‌گرم در لیتر هورمون نفتالن استیک اسید به محیط کشت، به طور مؤثری سبب القای تشکیل شاخه می شود، اما هورمون ۲و ٤ -دی کلروفنوکسی استیک اسید (2,4-D) از تمایز شاخه‌ها جلوگیری می‌کند که با نتایج حاضر همسو می‌باشد.

منابع

[۱] مجد ا.، فرض پور ماچیانی س.، درانیان د، ۱۳۸۹، بررسی اثر میدان‌های مغناطیسی بر جوانه‌زنی بذرها و تکوین دانه‌رست‌های ما(Vicia sativa L)، فیزیولوژی محیطی گیاهی (پژوهش‌های اکوفیزیولوژی گیاهی ایران)،۱: ۹-۵.

[۲] اربابیان، ص.، مجد ا.، سالاری پور س، ۱۳۸۹، تاثیر میدان‌های الکترومغناطیسی بر اندام‌های رویشی، تکوین دانه‌های گرده، رویش و رشد لوله‌های گرده گیاه سویاGlycine max L، *مجله علمی پژوهشی سلول و بافت ۱(۱): ٤۲-۳۵*.

[۳] غلامحسین پور ز.، همتی خ.، دورودیان ح.ر.، قاسم نژاد ع.، شرفی ع، ۱۳۹۳، تأثیر سطوح مختلف نیتروژن بر عملکرد و غلظت آلکالوییدهای وینبلاستین و وینکریستین در گیاه

پروانش (Cataranthus roseusus)، مجله پژوهش‌های گیاهی،(۲)۲۷: ۲۷۵-۲۶۹.

[4] Abe K., Fujii N., Mogi I., Motokawa M., Takahashi H، 1997, Effect of a high magnetic field on plant Biol. Sci. Space, 11: 240–247.

[5] Ahmad M., Lin C.T., Cashmore A. R. 1995, Mutations throughout an Arabidopsis blue-light photoreceptor impair blue-light-responsive anthocyanin accumulation and inhibition of hypocotyl elongation, Plant J, 8: 653–658.

[6] Ahmad M., Galland P., Ritz T., Wiltschko R., Wiltschko W. 2007, Magnetic intensity affects cryptochrome-dependent responses in *Arabidopsis thaliana*, Planta, 225: 615–624.

[7] Aladjadjiyan, A. 2010, Influence of stationary magnetic field on lentil seeds. International Agrophysics. 24: 321-324.

[8] Alen, K., S. Mohan-Jain S., Huhtikangas A. 1995, Micropropagation of Catharanthus roseus for Vinblastine and Vincristine production ،European Research Conferences on Plant Cell Biology and Biotechnological Applications, Dourdan, 14-19.

[9] Apasheva L. M., Lobanov A. V., Komissarov G.G. 2006, Effect of alternating electromagnetic field on early stages of plant development. Dokl Biochem Biophys, 406: 1 – 3.

[10] Aslam, J., Muji A., Nasim S.A., Sharm .M. P. 2009, Screening of Vincristine yield in ex vitro and in vitro somatic embryos derived plantlets of Catharanthus roseus (L.) G. Don. Sci. Hortic, 119: 325-329.

[11] Belyavskaya N. A. 2001, Ultrastructure and calcium balance in meristem cells of pea roots exposed to extremely low magnetic fields. Adv. space Res., 28:, 645–650 .

[12] Belyavskaya N. A. 2004, Biological effects due to weak magnetic field on plants، Adv. Space Res., 34: 1566–1574.

[13] El-Assal S. E. D., Onso-Blanco C., Peeters A. J. M., Wagemaker C., Weller J. L., Koornneef M. 2003, The role of cryptochrome 2 in flowering in Arabidopsis. Plant Physiol, 133, 1504–1516 10.1104/pp.103. 029819.

[14] Florez, M., Carbonell M.V., and Martinez, E. 2007, Exposure of maize seeds to stationary magnetic fields: Effects on germination and early growth، Environment. Experimental Botany, 59:68–75.

[15] Kato R., Kamada H, Asashma M. 1989, Effect of high and very low magnetic field on the growth of hairy roots of Daucus carotta and Atropa belladonna. Cell Physiology, 30: 605–608.

[16] Khan, A. M., Sharma M. P. 2010, Catharanthus roseus (L.) G. Don، An important drug: Its applications and production، Intl. J. Compreh. Pharm, 4 (12): 1-16.

[17] Kothari, S.L., Josh A., Kachhwaha S., Ochoa-Alejo N. 2010, Chilli peppers– A review on tissue culture and transgenesis. Biotechnol. Adv., 28: 35-48.

[18] Koul, M., Lakra, N. S., Chandra, R., Chandra, S. 2013, Catharanthus roseus and prospects of its endophytes: a new avenue for production of bioactive metabolites. International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research, 4(7): 2705-2716.

[19] Lashgari Moghaddam N., Peyvandi, M., Majd A. 2015, The effect of magnetic field on growth and activity of auxin oxidase enzyme and the quantity and quality of garlic essence (allium sativum l.). IJBPAS, 4(12): 1831-1840.

[20] Lin C. T. 2002, Blue light receptors and signal transduction، Plant Cell, 14: 207–225 .

[21] Martinez E., Carbonell M. V., Amaya, J. M. 2000, A static magnetic field of 125 mT stimulates the initial growth stages of barley (Hordenum vulgare L.). Electro and Magnet, 19(3): 271-277.

[22] Maffei M. E. 2014, Magnetic field effects on plant growth, development, and evolution, Front Plant Sci., 5: 445

[23] Mengxiang G., Zhang J., Feng H. 2011, Extremely Low Frequency Magnetic Field Effects on Metabolite of Aspergillus Niger، Bioelectromagnetics, 32:7378.

[24] Moon J.D., Chung H.S. 2000, Acceleration of germination of tomato seed by applying AC electric and magnetic fields. J Electrostatics, 48: 103–114.

[25] Mishra Y., Rawat R., Nema B., Shirin F. 2013, Effect of Seed Orientation and

Medium Strength on In vitro Germination of Pterocarpus marsupium Roxb.Not Sci Biol, 5(4):476-479

[26] Murashige T. Skoog F. 1962, A Revised Medium for Rapid Growth and Bio Assays with Tobacco Tissue Cultures. Physiologia Plantarum, 15 (3): 473–497.

[27] Negishi Y., Hashimoto A., Tsushima M., Dobrota C., Yamashita M., Nakamura T. 1999, Growth of pea epicotyl in low magnetic field implication for space research. Adv. Space Res., 23: 2029–2032.

[28] Peyvandi M., Kazemi Khaledi N., Arbabian, S. 2013, The effects of magnetic fields on growth and enzyme activities of Helianthus annuus L. seedlings. Iranian Journal of Plant Physiology, Vol (3), No (3): 717-724.

[29] Pietrosiuk A., Furmanowa M., Lata B. 2007, Catharanthus roseus: Micropropagation and in vitro techniques. Phytochem. Rev., 6: 459-473.

[30] Podesny J., Misiak L. E., Podesna A., Pietruzewski S. 2005, Concentration of radicals in pea seeds after pre-sowing treatment with magnetic field. Agrophysics, 19: 243-249.

[31] Racuciu M., Creanga D., Horga I. 2008, Plant growth under static magnetic field influence. Romania Journal Physics, 53: 353–359.

[32] Radhakrishnan R, Leelapriya T, Kumari B.D. 2012, Effects of pulsed magnetic field treatment of soybean seeds on calli growth, cell damage, and biochemical changes under salt stress، Bioelectromagnetics, 33(8):670-81.

[33] Ritz T., Yoshii T., Helfrich-Foester C., Ahmad M، 2010, Cryptochrome: a photoreceptor with the properties of a magnetoreceptor? Commun. Integr. Biol., 3: 24–27.

[34] Vashisth A., Nagarajan, S. 2010, Effect on germination and early growth characteristics in sunflower (Helianthus annuus) seeds exposed to static magnetic field. Journal Plant Physiology, 167: 149-156.

[35] Yano A., Hidaka E., Fujiwara K., Limoto, M, 2001, Induction of primary root curvature in radish seedlings in a static magnetic field، Biolelectromagnetics, 22: 194-199.