[DOI: 10.29252/jcb.8.18.153]
Downloaded from jcb.sanru.ac.ir at 14:04 +0330 on Friday February 22nd 2019

دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
پژوهشنامه اصلاح گیاهان زراعی

ارزیابی خصوصیات مورفولوژیکی و فیزیولوژی شنبلیله (*Trigonellafoenum graecum*) توده بومی سیستان تحت تیمارکلشی‌سین

ارسلان بیرامی[۱]، لیلا فهمیده[۲] و مهرناز ریاست[۳]

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، دانشگاه زابل
۲- استادیار، دانشگاه زابل، (نویسنده مسوول: l.fahmideh@uoz.ac.ir)
۳- مربی، مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی شیراز
تاریخ دریافت: ۹۳/۸/۱۹ تاریخ پذیرش: ۹۳/۱۰/۱

چکیده

امروزه القاء پلی‌پلوئیدی با استفاده از مواد شیمیایی جهش‌زا به منظور افزایش قابلیت تولید متابولیت‌های ثانویه، یکی از روش‌های اصلاح گیاهان دارویی است که مورد استفاده قرار می‌گیرد. آزمایشی به صورت فاکتوریل بر مبنای طرح پایه کاملا تصادفی با ۳ تکرار روی گیاه دارویی شنبلیله توده بومی سیستان انجام شد. تیمارهای آزمایش شامل غلظت کلشی‌سین در چهار سطح (۰/۲، ۰/۵، ۰/۷۵ و ۱ گرم در لیتر) و مدت زمان تیمار با سه سطح (٦، ۱۲ و ۱۸ ساعت) روی ریشه‌چه شنبلیله انجام شد. نتایج نشان داد که غلظت و مدت زمان تیمار کلشی‌سین و اثر متقابل آنها به صورت معنی‌داری بر اتوتتراپلوئید شدن شنبلیله تأثیر داشت وغلظت ۰/۵ گرم در لیتر با مدت تیمار ۱۲ ساعت بهترین نتیجه را داشت. لذا پس از اعمال تیمار فوق (۰/۵ گرم در لیتر با مدت تیمار ۱۲ ساعت)، بذرهای تیمار شده شنبلیله به صورت طرح بلوک کامل تصادفی با سه تکرار در شاسی کشت شدند و ۱۹ صفت مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی (ارتفاع گیاه، تعداد برگ، طول و عرض برگ، وزن تر و خشک، کلروفیل a، کلروفیل b، کلرفیل کل و کارتنوئید) اندازه‌گیری شد. نتایج نشان داد که تغییر سطح پلوئیدی با کلشی‌سین از دیپلوئیدی به تتراپلوئیدی به صورت معنی‌داری بر کلیه صفات مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی شنبلیله (به‌جز وزن تر و خشک گیاه) اثر داشت.

واژه‌های کلیدی: شنبلیله، کلشی‌سین، اتوتتراپلوئیدی، خصوصیات مورفولوژیک و فیزیولوژیک

مقدمه

شنبلیله یک گیاه شناخته شده و معروف است که اثرات بیولوژیکی متنوعی دارد. اندام هوایی این گیاه برای درمان دیابت، کلسترول بالا، التهاب و مشکلات گوارشی مصرف می‌گردد (۲۳). جنس شنبلیله (*Trigonella*) از خانواده لگومینوز (*Fabaceae*) می‌باشد که بر اساس فلور ایرانیکا، ۳۲ گونه آن در نقاط مختلف ایران پراکنش دارد. آلکالوئید و فلاونوئید محتوای دانه شنبلیله می‌تواند به ترتیب مسئول اثرات ضد دردی و ضد التهابی باشد (۱۶). نتایج مطالعات سیتوژنتیکی انجام شده روی برخی گونه‌های شنبلیله نشان داد که در کلیه گونه‌ها 2n= 2x=16 می‌باشد (۲۰). تیمار کلشی‌سین یکی از رایج‌ترین روش‌هایی است که اغلب برای القاء پلی‌پلوئیدی در گیاهان از آن استفاده می‌شود و نسبت به مواد جهش‌زای دیگر تغییرات مورفولوژیکی بیشتر و کثرت موتاسیون بالاتری ایجاد می‌کند (۱۸). روش دو برابر کردن کروموزوم با استفاده از کلشی‌سین، به طور وسیعی در برنامه‌های اصلاحی گیاهان مورد استفاده قرار گرفته است و در گیاهان پلی‌پلوئید اغلب اندازه گل‌ها، برگ‌ها، میوه و بذر افزایش می‌یابند (۱۱). در گیاه دارویی اسطوخودوس، گیاهان اتوتتراپلوئید دارای گل‌ها و برگ‌های بزرگ تر، دمگل ضخیم‌تر و پرزهای سپرس بزرگ تر بر روی برگ، نسبت به همتای دیپلوئید خود بودند (۲۵). به منظور تعیین سطح پلوئیدی از روش‌های مستقیم (شمارش کروموزوم و فلوسایتومتری) و هم چنین از روش‌های غیرمستقیم (اندازه‌گیری طول و عرض سلول‌های روزنه، تعداد کلروپلاست سلول‌های محافظ روزنه و مشاهدات مورفولوژیکی) استفاده می‌گردد (۲۲). تعیین میزان کلروفیل نیز ابزاری برای تشخیص سطوح پلوئیدی در گونه‌های مختلف با میزان موفقیت‌هایی همراه بوده است (۱۷). میزان کلروفیل در گیاهان تتراپلوئید نوعی آکاسیا ۴۰ درصد بیشتر از میزان کلروفیل‌های همتای دیپلوئید آن‌ها گزارش گردید (۱۷). به دلیل افزایش مستقیم میزان ترکیبات ثانویه در بافت و همچنین افزایش بیوماس در گیاهان دارویی تتراپلوئید که از اندام‌های رویشی (ساقه، برگ، گل)، برای استحصال متابولیت‌های ثانویه استفاده می‌گردد. دوبرابر کردن تعداد کروموزوم در این گیاهان باعث افزایش عملکرد متابولیت‌های ثانویه می‌شود (۱۰). دست ورزی سطح پلوئیدی، ابزار توانمندی در اصلاح ژنتیکی بسیاری از گیاهان است (۱۵). القاء پلی‌پلوئیدی درگیاهان اغلب موجب تولید واریانت‌هایی جدید با کیفیت متمایز می‌شود و از سوی دیگر، از طریق دو برابر شدن سطح کروموزومی، افزایش تعداد نسخه‌های ژنی بیان کننده ترکیبات مواد مؤثره و افزایش جثه گیاه، موجب بیشتر شدن ترکیبات ثانویه و دارویی آن می‌شود (۲۴). در گونه‌ای علف لیمو افزایش سطح پلوئیدی موجب افزایش مواد مؤثره گردید (۱۴). البته همیشه سطح پلوئیدی باعث افزایش مواد مؤثره نمی‌شود و در برخی موارد حتی کاهش مواد مؤثره را به دنبال دارد که علت آن سرکوبی برخی ژن‌های موجود در گیاهان دیپلوئیدی در اثر پلی‌پلوئید شدن است. این امر در مکانیسم‌های متابولیکی که بیوسنتز مواد مؤثره را تنظیم می‌کنند، اختلال ایجاد می‌کند. در یک گونه پونه دشتی (*Menthaarvensis*) در مقایسه با والدین دیپلوئید ۳۰ درصد افزایش اسانس داشته ولی درگونه (*M.spicata*) میزان

[DOI: 10.29252/jcb.8.18.153]
Downloaded from jcb.sanru.ac.ir at 14:04 +0330 on Friday February 22nd 2019

اسانس کاهش یافته است. همچنین در گل انگشتانه ارغوانی، مواد گلیکوزیدی آن تا حدی کاهش یافته است (۷). در مقایسه تعداد زیادی از گیاهان پلی‌پلوئیدی با همتای دیپلوئیدشان، افزایش در تولید ترکیبات شیمیایی و متابولیت‌های ثانویه مشاهده شده است، گزارش شده است که تتراپلوئیدهای دو گیاه دارویی بابونه و مریم‌گلی، فلاونوئیدها و ترپنوئیدهای بیشتری نسبت به حالت دیپلوئید تولید می‌کنند، همچنین میزان آرتمیزین در درمنه تتراپلوئید، ۲۰ درصد بیشتر از دیپلوئید آن گزارش شده است (۱۲،۱۳). اموزون و همکاران (۱۹) در آزمایشی به منظور بررسی پتانسیل‌های سلولی و با هدف چند برابر کردن کروموزوم های گیاه شنبلیله (2n=16)، با تیمار خیساندن بذر در محلول کلشی‌سین ۰/۰۵ درصد، گزارش کردند که القاء پلی پلوئیدی یک روش مؤثر برای افزایش عملکرد گیاه می‌باشد. هدف از این مطالعه، بررسی تأثیر تیمار کلشی‌سین بر اتوتتراپلوئیدی و برخی خصوصیات مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی توده بومی گیاه شنبلیله سیستان می‌باشد.

مواد و روش‌ها

بذرهای مورد استفاده در این مطالعه از مرکز تحقیقات و منابع طبیعی شهرستان زابل تهیه و سپس برای انجام مطالعات روی آن ها به مرکز تحقیقات و منابع طبیعی استان فارس منتقل شد.

۱- کشت و آماده سازی بذرها

برای انجام آزمایش ابتدا بذرها پس از ضدعفونی روی کاغذ صافی مرطوب در پتری‌دیش کشت شد و سپس به انکوباتور منتقل گردید، بعد از گذشت ۲ روز بذور جوانه زده با طول ۱/۵ تا ۲ سانتی‌متر که آماده تیمار شدن بودند، انتخاب و برای تیمار کردن آن ها از محلول کلشی‌سین با غلظت‌های ۰/۲، ۰/۵، ۰/۷۵ و ۱ گرم در لیتر در سه زمان ۶، ۱۲ و ۱۸ ساعت استفاده شد.

۲- شمارش کروموزوم‌ها به روش اسکواش

برای انجام شمارش کروموزوم به روش اسکواش و عکس‌برداری مراحلی مورد نیاز است. به این منظور به ترتیب ابتدا از محلول ۱ درصد آلفا برومونفتالین –که پیش تیمار محسوب می شود–، به مدت ۴ ساعت (شروع اعمال پیش تیمار از ۹ تا ۹/۳۰ صبح)، برای تثبیت از محلول لویتسکی (chromiumtrioxide و formaldehyde) ۴۰٪ با نسبت ۲:۲) و به مدت ۱۶ تا ۲۰ ساعت در یخچال، برای هیدرولیز از محلول ۱ نرمال NaoH در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۷ تا ۱۹ دقیقه در آون، برای رنگ‌آمیزی از ماده شیمیایی هماتوکسیلین با مدت زمان ۳ تا ۴ ساعت استفاده شد. برای تهیه نمونه میکروسکوپی ریشه‌های رنگ‌آمیزی شده روی لام گذاشته شدند و قسمت انتهایی نوک ریشه (منطقه مریستمی) با استفاده از تیغ مخصوص برش داده شدند. سپس یک قطره محلول حاوی اسید لاکتیک و اسید استیک ۴۵ درصد روی نمونه ریخته و لامل روی آن گذاشته و ضربات آهسته از طریق ته خودکار یا جسم مشابه روی لامل وارد شد (به طوری که لامی حرکت نکند) و برای جلوگیری از نفوذ هوا در زیر لامل، پوششی از لاک در اطراف آن ایجاد شد. برای عکس برداری و شمارش کروموزوم از سیستم مانیتورینگ استفاده شد، به طوری که تصاویر کروموزومی از طریق Color video camera که روی میکروسکوپ نوری نصب شده بود به مانیتور منتقل شده و ضبط گردید.

۳- اندازه‌گیری صفات مورفولوژیک و فیزیولوژیک گیاهان تتراپلوئید و دیپلوئید

بعد از تعیین بهترین دز کلشی‌سین برای القاء پلی‌پلوئیدی در شنبلیله توده بومی سیستان، بذور پس از ضدعفونی با هیپوکلریت‌سدیم ۱۵٪ در پتری دیش حاوی (۰/۵ گرم کلشی‌سین در لیتر) روی کاغذ صافی به مدت ۱۲ ساعت قرار گرفتند و پس از شست و شو، زیر شاسی در زمین اصلیبه صورت طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار کشت شدند.

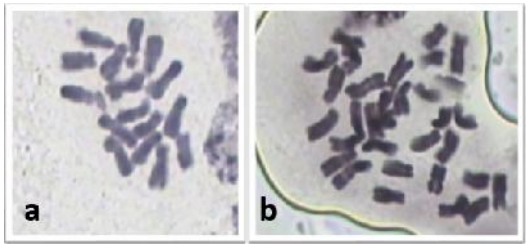
پس از کشت بذرها برخی صفات مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی اندازه‌گیری شدند که شامل: درصد جوانه‌زنی (تعداد بذر سبز شده بعد از گذشت حدود دو هفته)، سرعت جوانه‌زنی، ارتفاع گیاه (سانتی‌متر)، طول و عرض برگ (سانتی‌متر)، قطر ریشه، قطر ساقه اصلی و فرعی (میلی‌متر)، تعداد شاخه جانبی، تعداد برگ، تعداد گل و نیام در بوته، وزن تر و خشک گیاه (گرم)، شاخص اسپد (با استفاده از دستگاه کلروفیل‌سنج (Hansatech-Model-cl-01)، کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل و کارتنوئید بودند. داده‌های به‌دست آمده از اندازه‌گیری صفات با استفاده از نرم افزارهای کامپیوتری EXCEL و SAS مورد تجزیه‌های آماری قرار گرفتند. تجزیه واریانس برای بررسی پلی‌پلوئیدی بر مبنای طرح فاکتوریل با دو فاکتور غلظت کلشی‌سین (در ۴ سطح) و مدت زمان تیمار (در ۳ سطح) و همچنین برای بررسی صفات مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی به‌صورت طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرارصورت گرفت و مقایسه میانگین نیز به روش دانکن انجام گردید.

نتایج و بحث

پس از مطالعه و عکس‌برداری از اسلاید نمونه شاهد، عدد کروموزومی در شنبلیله توده بومی سیستان 2n=16 به دست آمد. که در مطالعات گذشته نیز مشابه نتیجه این تحقیق عدد کروموزومی پایه در شنبلیله 2n=16 به دست آمده بود (۲۰،۱۹). با اعمال تیمار کلشی‌سین تعداد کروموزوم‌ها در اغلب سلول‌های مریستمی ریشه مورد مطالعه از سطح دیپلوئیدی بیشتر و اغلب تتراپلوئید شدند (شکل ۱).

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که مدت زمان تیمار، غلظت تیمار و اثر متقابل آن‌ها بر پلی‌پلوئیدی شدن سلول مریستم ریشه شنبلیله مورد مطالعه در سطح احتمال ۱ ٪ معنی‌دار نشان داد (جدول ۱). در این مطالعه بیشترین درصد القاء پلی‌پلوئیدی برای تیمار ریشه‌چه بذری شنبلیله با کلشی‌سین، با غلظت ۰/۵ گرم بر لیتر و در مدت زمان ۱۲ ساعت به‌دست آمد (شکل ۲).

[DOI: 10.29252/jcb.8.18.153]
Downloaded from jcb.sanru.ac.ir at 14:04 +0330 on Friday February 22nd 2019

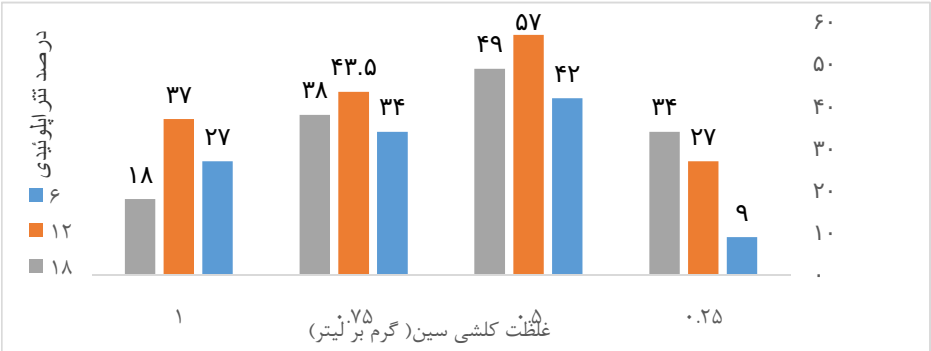


شکل ۱– a: تصویر کروموزومی مرحله متافاز نمونه شاهد در شنبلیله توده بومی سیستان
b: تصویرکروموزومی مرحله متافاز پس از تیمارکلشی‌سین (تتراپلوئید) در شنبلیله توده سیستان
Figure 1. a. The Metaphase chromosome image of control sample in Sistan's Native Fenugreek
b: Metaphase chromosome image after treating with colchicine (tetra ploid) in Sistan's Native Fenugreek

جدول ۱– نتایج تجزیه واریانس القاء پلی‌پلوئیدی پس از تیمار با کلشی‌سین
Table 1. The results of analysis of variance for polyploidy induction after treating with colchicine

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات پلی‌پلوئیدی (٪)
زمان	۲	۱۰۳۳/۸۷**
غلظت	۳	۲۴۷۲/۱۲**
زمان×غلظت	۶	۳۲۶/۸۷**
خطا	۵۸	۱/۷۰
ضریب تغییرات (٪)		۳/۷۷

**: معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد



شکل ۲– اثر متقابل غلظت و مدت زمان تیمار کلشی‌سین
Figure 2. Interaction effect of concentration and period of colchicines' treatment

کلروفیل و کارتنوئید

نتایج تجزیه واریانس و مقایسه میانگین‌های میزان کلروفیل و کارتنوئید در گیاهان دیپلوئید (شاهد) و گیاهان تتراپلوئید نشان داد که میزان کلروفیل و کارتنوئید در گیاهان تتراپلوئید شنبلیله نسبت به گیاهان دیپلوئید در سطح احتمال ۵ درصد افزایش داشت (جدول ۲). اسماعیل‌حسنی و همکاران (۹) گزارش کردند که با افزایش سطح پلوئیدی در گیاه ریحان میزان کلروفیل a، b و کل به طور معنی‌داری افزایش می‌یابد. همچنین طبق گزارش اسماعیل‌حسنی و همکاران (۹) گیاهان ریحان تیمار شده با کلشی‌سین میزان کارتنوئید بیشتری نسبت به گیاهان شاهد (دیپلوئید) داشتند. البته در پژوهشی که روی گیاه (*urgeniaindica*) انجام شد، نشان داد که میزان کلروفیل در گیاه تتراپلوئید و دیپلوئید تغییر معنی‌داری نمی‌کند، لذا چنین استنباط می‌شود که سطوح متفاوت پلوئیدی بسته به نوع گیاه مورد مطالعه می‌تواند در میزان کلروفیل تأثیر داشته باشد (۵).

جدول ۲– نتایج تجزیه واریانس صفات فیزیولوژیکی پس از تیمار با کلشی‌سین
Table 2. The results of analysis of variance for physiologic traits after treating with colchicine

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات کلروفیلa	کلروفیلb	کلروفیل کل	کاتنوئید
تکرار	۲	۰/۰۰۰۱۵ns	۰/۰۰۳۲۸ns	۰/۰۰۳۴۵ns	۰/۰۰۰۰۰۸ns
تیمار	۱	۰/۱۳۲۰۱*	۰/۲۰۳۵۰*	۰/۶۶۶۰۰*	۰/۰۰۰۹۶۲*
خطا کل	۲	۰/۰۰۶۳۱	۰/۰۰۴۸۳	۰/۰۲۱۹۵	۰/۰۰۰۰۲۴
ضریب تغییرات		۳/۳۰	۵/۶۸	۴/۰۸	۳/۱۱

ns، * و **: به ترتیب عدم معنی‌داری، معنی‌دار در احتمال ۵ و ۱ درصد

[DOI: 10.29252/jcb.8.18.153]
Downloaded from jcb.sanru.ac.ir at 14:04 +0330 on Friday February 22nd 2019

جدول۳- مقایسه میانگین صفات فیزیولوژیکی

Table 3. Mean comparison of physiologic traits

سطح پلوئیدی	کلروفیل a	کلروفیل b	کلروفیل کل	کارتنوئید
دیپلوئید	۲/۲۵[b]	۱/۰۳[b]	۳/۲۹[b]	۰/۱۴۶[b]
تتراپلوئید	۲/۵۵[a]	۱/۴۰[a]	۳/۹۶[a]	۰/۱۷۲[a]

ns و * به ترتیب عدم معنی‌داری، معنی‌دار در احتمال ۵٪

ارتفاع

بر اساس نتایج جدول تجزیه واریانس و مقایسه میانگین داده‌ها، تیمار کلشی‌سین بر ارتفاع گیاه شنبلیله تأثیر داشت، به طوری که باعث افزایش ارتفاع بوته شنبلیله نسبت به گیاه شاهد گردید (جداول ۳ و ۴). گزارشی مطابق با نتیجه فوق مبنی بر افزایش ارتفاع بوته از راهِ تیمار کلشی‌سین یافت نشد، و با گزارش سحرخیز (۲۱) مبنی بر کاهش ارتفاع گیاه بابونه کبیر با افزایش غلظت کلشی‌سین مغایر بود.

طول و عرض برگ

نتایج جدول تجزیه واریانس و مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد، تیمار کلشی‌سین بر طول و عرض برگ گیاه شنبلیله تأثیر داشت (جداول ۳ و ۴) و باعث افزایش طول و کاهش عرض برگ گردید. به عبارتی باعث طویل شدن برگ گیاه تتراپلوئید نسبت به گیاه دیپلوئید شد که با نتیجه گزارش افشارمحمدیان و همکاران(۳) مطابقت داشت.

تعدادگل، نیام، برگ و وزن تر و خشک

نتایج جدول تجزیه واریانس داده‌ها و مقایسه میانگین آزمون دانکن (سطح احتمال ۵ درصد)، بین گیاهان دیپلوئید و تتراپلوئید نشان داد که افزایش سطح پلوئیدی باعث کاهش تعداد برگ، تعداد گل، تعداد نیام در گیاهان تتراپلوئید نسبت به گیاهان دیپلوئید شد که علت این کاهش می‌تواند به هنگام اعمال تیمار با کلشی‌سین و سمیت حاصل از کلشی‌سین برای سلول‌های مریستمی باشد زیرا کلشی‌سین یک ماده جهش‌زا و در عین حال سمی برای گیاه محسوب می‌شود که حتی غلظت‌های بسیار پایین آن نیز می‌تواند سبب گیاه‌سوزی و حتی مرگ گیاه گردد. همچنین نتایج مقایسه میانگین و جدول تجزیه واریانس داده‌ها بین گیاهان دیپلوئید و تتراپلوئید نشان داد که افزایش سطح پلوئیدی تأثیر معنی‌داری بر وزن تر و خشک گیاه نداشت (جداول ۲ و ۳).

درصد جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی، قطر ریشه و شاخص اسپد

با توجه به نتایج مقایسه میانگین در این تحقیق مشاهده شد که با افزایش سطح پلوئیدی درصد و سرعت جوانه‌زنی و قطر ریشه به طور معنی‌داری (در سطح احتمال ۵ درصد) کاهش یافت (جدول ۴)، که با گزارش حسینی و همکاران (۱۲) بر روی پروانش مشابه بود. کاهش میانگین قطر ریشه در گیاهان تتراپلوئید شنبلیله نسبت به گیاهان دیپلوئید می‌تواند به دلیل منشعب شدن (افزایش ریشه جانبی) ریشه‌ها در گیاهان تتراپلوئید باشد. همچنین تجزیه واریانس داده‌ها و مقایسه میانگین در سطح احتمال ۵ درصد افزایش شاخص اسپد در گیاهان تتراپلوئید نسبت به دیپلوئید را نشان داد (جداول ۳ و ۴).

به طور کلی نتایج این تحقیق نشان داد که در بررسی و مقایسه ویژگی‌های کمی از قبیل: ارتفاع، طول برگ، انشعاب ریشه، شاخص اسپد، کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل و کارتنوئید، گیاهان تتراپلوئید نسبت به دیپلوئید برتر بودند. از طرفی در برخی از صفات کمی ارزیابی شده مانند: درصد جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی، تعداد گل، تعداد برگ، تعداد نیام، عرض برگ، قطر ریشه، قطر ساقه اصلی و فرعی و شاخه جانبی، گیاهان دیپلوئید نسبت به گیاهان تتراپلوئید دارای برتری بودند. نتایج حاصل از مقایسه میانگین برخی صفات کمی نظیر وزن تر و وزن خشک در بین گیاهان هر سطح پلوئیدی (تتراپلوئید و دیپلوئید) مورد بررسی تفاوت معنی داری را در سطح احتمال ۵ درصد نشان ندادند.

نتایج این آزمایش مشابه نتایج آزمایشات دیگر محققان (۱۸)، کلشی‌سین از جمله عامل شیمیایی مؤثر در پلی‌پلوئید کردن گیاهان بود و غلظت ۰/۵ گرم بر لیتر تیمار بذری کلشی‌سین در جنس شنبلیله طبق اعلام گزارش آموزون و همکاران (۱۹) مطابقت داشت. به علاوه مطابق گزارشات سایر محققین، هر یک از عوامل غلظت، مدت زمان تیمار و اثر متقابل بین آنها نیز در القاء پلی‌پلوئیدی در سطح احتمال ۱ ٪ معنی‌دار بود (۲). این نتیجه با دستاوردهای عالیشاه و باقریه‌نجار (۴) مربوط به القاء پلی‌پلوئیدی در پنبه به وسیله کلشی‌سین –که اظهار داشتند، غلظت و مدت زمان القاء و اثرات متقابل آن‌ها بر میزان پلی‌پلوئیدی تأثیر معنی‌داری دارد–، مطابقت داشت. پلی‌پلوئیدی اثرات قابل توجهی بر تغییر نحوه بیان ژن‌ها دارد که ممکن است شامل خاموش شدن و فعال شدن برخی از ژن‌هایی شود که دو برابر شده‌اند و الگوی تغییر بیان ژن در سلول‌ها و اندام‌های مختلف بسته به ژنوتیپ اولیه می‌تواند متفاوت باشد. اثرات پلی‌پلوئیدی به ژنوتیپ اولیه‌ای –که کروموزوم‌های آن دو برابر می‌شود–، بستگی دارد (۱). در نتیجه این باوری که پلی‌پلوئیدی، افراد غول پیکر تولید می‌نماید، فقط در موارد خاصی صحت دارد. اگر ژنوتیپ خیلی هتروزایگوس باشد، مانند (*Oenotheralamarkiana*) تتراپلوئید حاصله غول پیکر خواهد بود. با این حال عمومی‌ترین اثر پلی‌پلوئیدی افزایش اندازه هسته و سلول می‌باشد. از آن جا که اندازه موجود و اندام‌ها به حجم سلول و تعداد سلول‌ها بستگی دارد، افزایش در اندازه اولیه سلول ممکن است همواره عامل اصلی در افزایش اندازه موجود نباشد، زیرا تعداد تقسیمات سلولی در واحد زمان در پلی‌پلوئیدها کاهش پیدا می‌کند. اثرات غول پیکری خصوصا در اندام‌هایی مشاهده می‌شود که دارای رشد محدود می‌باشند، مثل کاسبرگ‌ها، گلبرگ‌ها، بساک‌ها، بذرها و ... اما در بسیاری از موارد دیگر، مانند گوجه فرنگی و تعدادی از میوه‌های بذری دیگر، کاهش در اندازه میوه و خود گیاه مشاهده می‌شود (۸).

Downloaded from jcb.sanru.ac.ir at 14:04 +0330 on Friday February 22nd 2019

[DOI: 10.29252/jcb.8.18.153]

جدول ۴- نتایج تجزیه واریانس صفات مورفولوژیکی شنبلیله پس از تیمار با کلشی‌سین

Table 4. The results of analysis of variance for morphologic traits of fenugreek after treating with colchicine

منابع تغییرات	درجه آزادی	ارتفاع	طول برگ	عرض برگ	شاخه جانبی	قطر ساقه اصلی	قطر ساقه فرعی	تعداد گل در بوته	تعداد نیام در بوته	تعداد برگ	قطر ریشه	وزن تر	وزن خشک	درصد جوانه‌زنی	سرعت جوانه‌زنی	شاخص اسپد
تکرار	۲	۲/۳۷۵۰^{ns}	۰/۰۰۸۷^{ns}	۰/۰۰۳۹^{ns}	۱/۱۶۶۶^{ns}	۰/۱۱۹۱^{ns}	۰/۰۰۰۶^{ns}	۰/۱۶۶۶^{ns}	۰/۵۰۰^{ns}	/۵۰۰۰^{ns} ۲۸	۰/۰۱۵۰^{ns}	۲/۳۷۵۰^{ns}	۲۳۱۶^{ns} ۰/	۲/۶۵۱^{ns}	۰/۷۶۱۶*	۰/۰۵۱۶^{ns}
تیمار	۱	۲۶/۰۴۱۶*	۰/۲۲۸۱*	۰/۳۳۶۰*	۴/۱۶۶۶*	۲/۹۶۸۰*	۱/۴۲۱۰**	۳۷/۵۰*	۲۰/۱۶۶**	/۶۶** ۶۴۰۲	۱/۵۰۰**	۸/۱۶۶^{ns}	۸۸۱۶^{ns} ۰/	۱۳۴/۴۲۶**	۱۳/۵۰۰**	/۰۴۱۶** ۲۶
خطا کل	۲	۰/۲۹۱۶	۰/۰۰۵۵	۰/۰۰۸۷	۰/۱۶۶۶	۰/۱۰۲۳	۰/۰۰۰۲	۰/۵۰۰	۰/۱۶۶۶	۲/۱۶۶۶	۰/۰۰۵۰	۱/۷۹۱۶	/۰۷۱۶ ۰	۲/۵۰۱	۰/۰۴۵۰	۰/۰۲۱۶
ضریب تغییرات		۱/۳۵	۲/۳۴	۵/۲۹	۱۰/۶۴	۱۱/۳۴	۰/۸۳	۷/۷۱	۴/۸۰	۰/۹۸	۲/۴۳	۱۳/۳۸	۱۷/۶۵	۱/۶۶	۴/۷۴	۳/۲۸

ns، * و**: به ترتیب غیرمعنی دار، معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد و ۱ درصد

جدول ۵- مقایسه میانگین صفات مورفولوژیکی شنبلیله قبل و پس از تیمار با کلشی‌سین

Table 5. Mean comparison of morphologic traits of fenugreek before and after treating with colchicine

سطح پلوئیدی	ارتفاع	طول برگ	عرض برگ	شاخه جانبی	قطر ساقه اصلی	قطر ساقه فرعی	تعداد گل در بوته	تعداد نیام در بوته	تعداد برگ	قطر ریشه	وزن تر	وزن خشک	درصد جوانه‌زنی	سرعت جوانه‌زنی	شاخص اسپد
دیپلوئید	۳۷/۶۶^{b}	۲/۹۸^{b}	۱/۹۰^{a}	۴/۶۶^{a}	۳/۵۲^{a}	۲/۲۴^{a}	۱۱/۶۶^{a}	۱۰/۳۳^{a}	۱۸۱/۶۶^{a}	۳/۴^{a}	۱۱/۱۶۷^{a}	۱/۹۰^{a}	۹۹/۸۰^{a}	۵/۹۶^{a}	۲/۳۹^{b}
تتراپلوئید	۴۱/۸۳^{a}	۳/۳۷^{a}	۱/۴۳^{b}	۳^{b}	۲/۱۱^{b}	۱/۲۷^{b}	۶/۶۶^{b}	۶/۶۶^{b}	۱۱۶/۳۳^{b}	۲/۴^{b}	۸/۸۳^{a}	۱/۱۱^{a}	۹۰/۳۳^{b}	۲/۹۷^{b}	۶/۵۸^{a}

حروف مشابه نشان‌دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌هاست

[DOI: 10.29252/jcb.8.18.153]
Downloaded from jcb.sanru.ac.ir at 14:04 +0330 on Friday February 22nd 2019

منابع

1. Adams, K.L. and J.F. Wendel. 2005. Polyploidy and genome evolution in plants. CurrOpin Plant Biology, 8: 135-141.
2. Afshari, E., GH. Ranjbar, K. kazemitabar, M. riasat and H. kazemiposhtmasari. 2013. Effect of colchicine and trifluralin on root meristematic cells and cytogenetic characteristics of fenugreek (*Trigonella foenum _graecum*). Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research, 29: 936-951 (In Persian).
3. Afsharmohammadian, M., R. por akbarikamsaii, Z. omidi, F. ghanati and A. torang. 2012. Morphological and physiological effects induced polyploidy in plant lemon. Journal of Plant Biology, 4: 13-24 (In Persian).
4. Alishah, O. and M. Baghrrieh_najjar. 2008. Poly pioidization effect in two diploid cotton (*Gossypium herbaceum* and *G. arboretum*) species by colchicine treatments. African Journal of Biotechnology, 7: 102-108.
5. Andersson, S.C. 2009. Carotenoids tocochromanols and chlorophylls in sea buckthorn berries (Hippophaerhamnoides) and rose hips (*Rosa sp.*). Ph.D. Thesis, Swedish University of Agricultural Sciences Alnarp, Sweden, 128 pp.
6. Behradmanesh, M., M. ahmadi and M. rafiyankopayi. 2012. Investigate the effect of glucose tablets Glycogol on type 2 diabetes. Iranian Journal of Endocrinology and Metabolism. Martyr Beheshti University of Medical Sciences and Health Services. 2: 163-168 (In Persian).
7. Dhawan, O.P. and U.C. Lavania. 1996. Enhancing the productivity of secondary metabolites via induced polyploidy. A review Euphytica, 87: 81-89.
8. Ehdayi, B. 1994. Plant Breeding.Tehran University Press, 589 pp (In Persian).
9. Esmailhasani, M., M. mirzaii, R. omidbeygi and M. fathigharehbaba. 2010. Autotetraploidy Effect on quantitative and qualitative properties of essential oils and herb basil. Iranian Journal of Horticultural Science, 41: 111-118 (In Persian).
10. Gonzalez, L.D.J. and P.J. Weathers. 2003. Tetraploid (*Artemisia annua*) hairy roots produce more artemisinin than diploids. Plant Cell Reports, 21: 809-811.
11. Hartwell, L.H., L. Hood, M.L. Goldberg, A. E. Reynolds, L.M. Silver and R.C. Veres. 2004. Genetics from genes to genomes, (2nd ed.). McGraw Hill, Boston, 324 pp.
12. Hoseini, H, M. chehrazi, D. nabatiahmadi and M. mahmodisarvestani. 2012. Induction PolyPloidy in Vinca plants and changes in phenotypic properties. First National Conference Playbooks achieving sustainable development, 5 pp (In Persian).
13. Jesus, L.D. 2003. Effect of artificial poly ploidy in transformed roots of (*Artemisia annua* L.) Plant Cell Reports, 21: 809-813.
14. Lavania, U.C. 1998. Enhanced productivity of the essential oil in the artificalautotertraploid of Vetiver (*Vetiveria zizanioides* L. Nash).Euphytica, 38: 271-276.
15. Madon, M., M.M. Clyde, H. Hashim, Y. Mohdyusuf, H. Mat and S. Saratha. 2005. Polyploidy induction of oil palm through Colchicine and oryzalin treatments. Journal of Oil Palm Research, 17: 110-123.
16. Mandegari, A., M. Pournamdari, F. Sharififar, Sh. Pournourmohammadi, R. Fardiar and S. Sholi. 2012. Alkaloid and flavonoid rich fractions of fenugreek seeds (*Trigonellafoenum-graecum* L.) with antinociceptive and anti- inflammatory effects. Food and Chemical Toxicology, 50: 2503-2507.
17. Mathura, S., A. Fossey and S. Beck. 2006. Comperative study of chlorophyll content in diploid and tetraploid black Wattle (*Acacia mearnsii*). Journal Forestry, 79: 381-388.
18. Mensha, J.K., B.O. Obadoni, P.A. Akomeah, B. Ikhajiagbe and J. Ajibolu. 2007. The effects of sodium azide and colchicine treatments on morphological and yield traits of sesame seed (*Sesame indicum* L.). African Journal of Biotechnology, 6: 534-538.
19. Omezzin, F., A. Ladhari, F. Nefzi, R. Harrath, M. Aouni and R. Haouala. 2012. Induction and flow cytometry identification of mixoploidy through colchicine treatment of (*Trigonellafoenum graecum* L.).African Journal of Biotechnology, 11: 16434-16442.
20. Riasat, M., Zh. Karaptyan and A. nasirzadeh. 2003. Study of karyotype of some species of the genus Trigonella fars Province. Iranian Journal of Rangelands and Forests Plant Breeding and Genetic Research. 11: 127-145 (In Persian).
21. Saharkhiz, M.J. 2006. Effect of climatic factors and ploidy level on morphological and physiological characteristics and ornamental herb chamomile Great. PhD thesis, Tarbiat Modarres University, Tehran. 173 pp (In Persian).
22. Sari, N., K. Abak and M. Pitrat. 1999. Comparison of ploidy level screening methods in Watermelon.ScientiaHorticulturae, 82: 265-277.
23. Sharma, R.D., A. Sarkar, D.K. Hazra, B. Mishra, J.B. Singh, S.K. Sharma, B.B. Maheshwari and P.K. Maheshwari. 1996. Use of fenugreek seed powder in the management of noninsulin dependent diabetes mellitus. Nutrition Research, 16: 1331-1339.
24. Thao, N.T.P., K. Ureshino, I. Miyajima, Y. Ozaki and H. Okubo. 2003. Induction of tetraploids in ornamental Alocasia through colchicine and oryzalin treatments. Plant cell, Tissue and Organ Culture, 72: 19-25.
25. Urwin, N.A.R., J. Horsnell and T. Moon. 2007. Generation and characterization of colchicine-induced autotetraploid. (*Lavandula angustifolia*). Euphytica, 156: 257-266.

[DOI: 10.29252/jcb.8.18.153]

Downloaded from jcb.sanru.ac.ir at 14:04 +0330 on Friday February 22nd 2019

Evaluation of Morphologic and Physiologic Traits of Sistan's Native Fenugreek (*Trigonellafoenum graecum*) under Colchicine Treatments

Arsalan Birami kohi[1], Leila Fahmideh[2] and Mehrnaz Riasat[3]

1- M.Sc. Student, Zabol University
2- Assistant Professor, Zabol University
(Corresponding author: l.fahmideh@uoz.ac.ir)
3- Instructor Research center for Agriculture and Natural Resources of Fars
Received: November 10, 2014 Accepted: December 22, 2014

Abstract

Nowadays induction of polyploidy using mutagenic chemicals to increase secondary metabolic production as a modification method of pharmaceutical plants is very usual. A factorial experiment based on completely randomized design with three replications was carried out on Sistan's native fenugreek (*Trigonellafoenum_graecum*). Colchicine concentration in four levels (0.2, 0.5, 0.75 and 1 gl^{-1}) and the period of treatment in three levels (6, 12 and 18 hours) were the two factors. The results showed that the concentration and period of colchicines' treatment and their interaction effects had significant role on auto tetra polyploidy levels. The highest level of polyploidy induction achieved by plunging seedling in concentration 0.5 gl-1 of colchicine for 12 hours. Then, seeds were planted based on completely randomized block design with three replications and nineteen of morphological and physiological traits including plant height, number of leaf, length and wide of leaf, fresh and dry weight plant, chlorophyll a, chlorophyll b, total chlorophyll and chlorophyll c concentration were measured. The results showed that changed of ploidy levels from diploidy to tetraploidy by colchicine had significant effect for all morphological and physiological traits except fresh and dry weight plant.

Keywords: Auto tetra polyploidy, Colchicine, Fenugreek, Morphologic and physiologic trait