



کالوسزایی و باززایی درونشیشهای بابونه آلمانی در پاسخ به ترکیبات هورمونی مختلف

لیلا کوهی^{۱*}، ناصر زارع^۲، رسول اصغری زکریا^۱، پریسا شیخزاده مصدق^۲، پریسا دریانی^۳

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد اصلاح نباتات، دانشگاه محقق اردبیلی، koohileila@gmail.com

۲- عضو هیات علمی دانشگاه محقق اردبیلی

۳- دانشجوی کارشناسی ارشد بیوتکنولوژی، دانشگاه محقق اردبیلی

چکیده

بابونه آلمانی با نام علمی *Matricaria chamomilla* L. یکی از مهمترین گیاهان دارویی اسانسدار است که در صنایع مختلف داروسازی و آرایشی-بهداشتی استفاده فراوانی دارد. با توجه به خصوصیات دارویی و ترکیبات اسانس آن، مطالعات بیوتکنولوژیکی مخصوصاً کشت درون شیشهای این گیاه میتواند حائز اهمیت باشد. در این مطالعه تاثیر هورمونهای گیاهی NAA و BAP بر القاء کالوس و باززایی غیرمستقیم ریزنمونهای برگ و هیپوکوتیل بابونه آلمانی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی مورد مطالعه قرار گرفته است. نتایج نشان داد که هر دو ریزنمونه در تمامی ترکیبات هورمونی به غیر از ریزنمونه برگ در محیط کشت MS فاقد هورمون کالوسزایی نشان دادند. بالاترین وزن تر کالوس با ریزنمونه برگ (614 mg) در محیط کشت MS حاوی 1/5 mg/l و NAA 3 mg/l و کمترین وزن تر کالوس با ریزنمونه هیپوکوتیل (44/74 mg) در محیط کشت MS فاقد هورمون به دست آمد. بیشترین وزن تر کالوس مربوط به محیطهای حاوی هر دو نوع تنظیمکننده رشد گیاهی در ریزنمونه برگ بودند. همچنین بیشترین میزان باززایی ساقه نابجا در ریزنمونه برگ (44/44٪) در محیط کشت MS حاوی 1/5 mg/l NAA و 3 mg/l BAP و کمترین میزان باززایی در ریزنمونه هیپوکوتیل (3/05٪) در محیط کشت حاوی 4 mg/l NAA و 3 mg/l BAP به دست آمد.

کلمات کلیدی: بابونه آلمانی، باززایی درون شیشهای، کالوسزایی، گیاه دارویی



مقدمه:

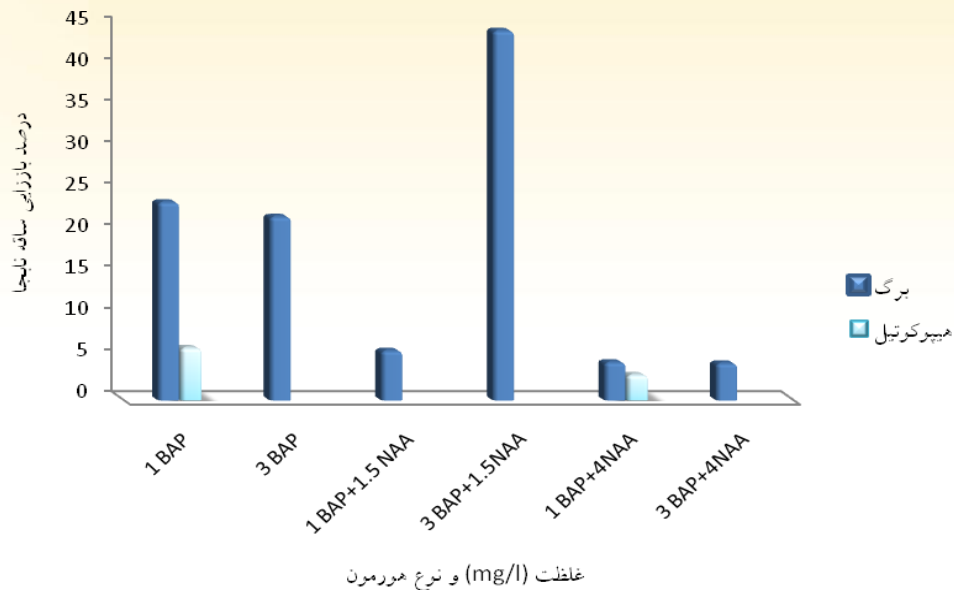
بابونه‌ها گیاهانی شامل چندین جنس و گونه از تیره کاسنی و زیرتیره آنتمیده هستند. آنتمیده شامل ۱۲ جنس و ۱۳۴ گونه در ایران است (۳). بابونه آلمانی با نام علمی *Matricaria chamomilla* L. از خانواده Asteraceae یکی از گیاهان دارویی مهم می‌باشد که به طور مرسوم برای درمان التهاب درونی و خارجی و بیماری‌های باکتریایی استفاده می‌شود (۲). اسانس حاصل از گل‌های بابونه دارای خواص ضد عفونی کننده، آرام بخش، ضد اسپاسم، ضد آلرژی و ضد نفخ می‌باشد. همچنین گل‌های آن به دلیل داشتن فلاونوئیدها دارای اثر مرطوب کنندگی و لطیف کنندگی بوده و به همین دلیل در صنایع بهداشتی و آرایشی به صورت گسترده‌ای استفاده می‌شوند. فنون کشت بافت گیاهی به ابزار قدرتمندی در بیولوژی گیاهی تبدیل شده است. این تکنیک در گیاهان دارویی به طرف تولید متابولیت‌های ثانویه ویژه، انتقال ژن، حفاظت ژرمپلاسم یا توسعه اصول ریزازدیادی گیاه سوق داده می‌شود (۴). یکی از روش‌های باززایی گیاه، القا توده کالوس و شاخه‌زایی به طور غیرمستقیم می‌باشد که از حیث مطالعات زیست‌شناسی مولکولی و مهندسی ژنتیک می‌تواند بسیار حائز اهمیت باشد. هدف از این پژوهش، بررسی اثر دو نوع تنظیم کننده رشد گیاهی (NAA و BAP) در القاء کالوس و بهینه‌سازی پروتکل مناسب برای باززایی گیاه بابونه آلمانی از طریق ریزنمونه برگ و هیپوکوتیل می‌باشد.

مواد و روشها:

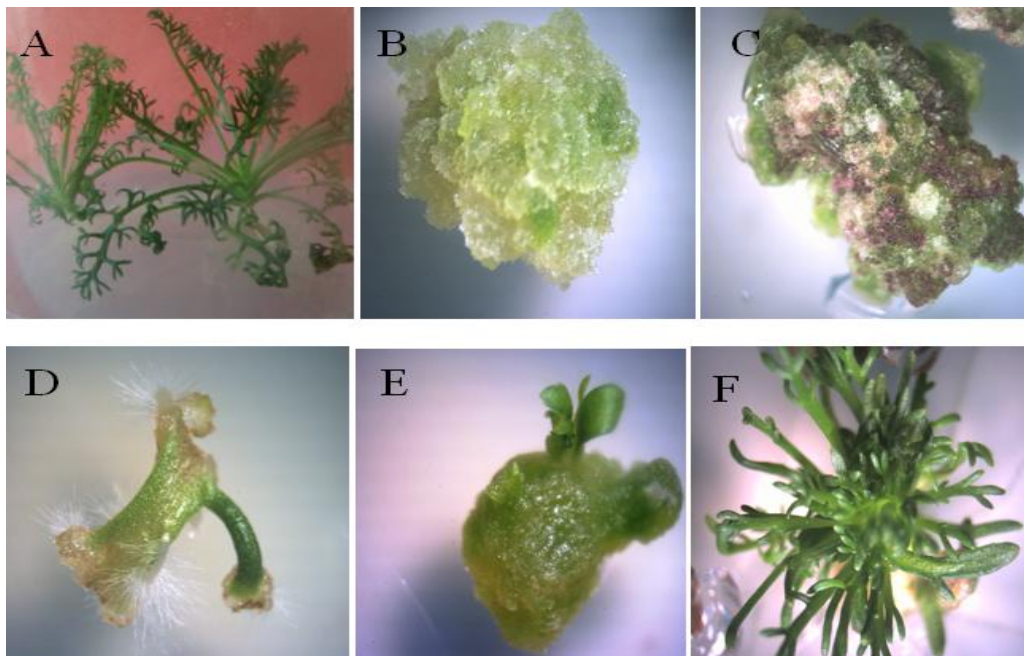
این پژوهش در آزمایشگاه کشت بافت گروه اصلاح نباتات دانشگاه محقق اردبیلی انجام شد. بذور پس از ضد عفونی سطحی توسط الکل ۷۰٪ به مدت یک دقیقه و هیپوکلریت سدیم به مدت ۱۲ دقیقه روی محیط کشت پایه MS (۱) کشت شده و در اتاقک رشد با شرایط دمای 25 ± 3 درجه سانتی‌گراد و دوره نوری ۱۶ ساعت نور و ۸ ساعت تاریکی نگهداری شدند. بعد از جوانه‌زنی بذور و رشد مناسب گیاهچه‌ها، ریزنمون‌های برگ و هیپوکوتیل تهیه و در محیط کشت MS حاوی سطوح مختلف NAA (۰، ۱/۵، ۳ mg/l) و BAP (۰، ۱، ۳ mg/l) در داخل پتری‌دیش کشت شدند. زیرکشت ریزنمون‌ها و کالوس‌های حاصل هر ۴ هفته یکبار انجام گرفت. آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی با شش تکرار انجام گرفت. صفات درصد ریزنمونه کالوس داده، وزن تر کالوس و تعداد شاخسارهای باززا شده یادداشت شدند. تجزیه و تحلیل آماری با استفاده از نرم‌افزارهای SPSS16.0 و MSTATC صورت گرفت.

نتایج و بحث:

ریزنمون‌های برگ و هیپوکوتیل کشت شده در اکثر محیط‌های کشت پس از گذشت ۲-۳ هفته متورم شده و تولید کالوس نمودند. براساس نتایج حاصل از تجزیه واریانس، بین ترکیبات هورمونی مورد استفاده و نوع ریزنمونه تفاوت معنی‌داری از نظر درصد کالوس زایی و وزن تر کالوس در سطح احتمال ۱٪ وجود داشت. هر دو ریزنمونه در تمامی ترکیبات هورمونی به غیر از ریزنمونه برگ در محیط کشت MS فاقد هورمون کالوس‌زایی نشان دادند. میزان کالوس‌دهی ریزنمونه هیپوکوتیل در محیط کشت MS بدون تنظیم‌کننده رشد ۸۱/۸۲٪ بود (جدول ۲). بالاترین وزن تر کالوس در ریزنمونه برگ (۶۱۴ mg) در محیط کشت MS حاوی ۱/۵ mg/l NAA و



نمودار ۱: باززایی شاخساره از ریزنمونه‌های برگ و هیپوکوتیل بایونه آلمانی در تیمارهای مختلف هورمونی



شکل ۱- A: گیاهچه‌های بایونه آلمانی حاصل از بذر کشت شده در محیط کشت پایه MS. B: القاء کالوس از ریز نمونه هیپوکوتیل. C: القاء کالوس از ریز نمونه برگ، D: ریشه‌زایی مستقیم از ریز نمونه برگ. E: ساقه نابجا باززا شده از کالوس هیپوکوتیل. F: ساقه نابجا باززا شده از کالوس برگ بایونه آلمانی



- 1) **Murashige, T., Skoog, F., 1962.** A revised method for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol Plant* 15:472–497
- 2) **Podlech, D., 1996.** Herbs and medicinal plants of Britain and Europe Harper Collins Publ. London
- 3) **Rechinger, K.H., 1986.** Flora Iranica. No. 158. Akademische Druck-u. Verlagsanstalt. Graz.
- 4) **Rout, G.R., Samantarary, S., Das, P., 2000.** In vitro manipulation and propagation of medicinal plants. *Biotech.Adv.* 18: 91-120.

In vitro callus induction and regeneration of German Chamomile in response to different hormones

Leila Koohi^{*1}, Nasser Zare², Rasool Asghari-Zakaria², Parisa SheikhZadeh Mosaddegh², Parisa Daryani³

1- M.Sc. Student of Plant Breeding, University of Mohaghegh Ardabili.

2- Department of Agronomy and Plant Breeding, University of Mohaghegh Ardabili.

3- M.Sc. Student of Biotechnology, University of Mohaghegh Ardabili.

Abstract

German chamomile (*Matricaria chamomilla* L.) is one of the most important essential oil bearing plants that its essential oil is used in different medicinal industries. Because of its significant medicinal properties, biotechnological studies especially *in vitro* culture of this plant would be important. In this study, the effect of NAA and BAP on induction of callus and regeneration from leaf and hypocotyle explants of German chamomilla was investigated. The highest callus weight from leaf (614 mg) was obtained in MS medium supplemented with 1.5 mg/l NAA and 3 mg/l BAP and the lowest callus weight was obtained from hypocotyl (44.74mg) in hormone free MS medium. The highest percentage of regenerated shoots (%44.74) was obtained from leaf explant in MS medium supplemented with 1.5 mg/l NAA and 3 mg/l BAP.

Key Words: Callusing, In Vitro Regeneration, German Chamomile, Medicinal Plant