# تاثیر ترکیبات هورمونی و نوع ریز نمونه بر القای کالوس در بابونه (*Matricaria aurea L.*) در شرایط درون-شیشه‌ای

**شیما وطندوست [۱]، علیرضا زبرجدی [۲*]**

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد بیوتکنولوژی، گروه زراعت و اصلاح نباتات، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه رازی، کرمانشاه ۲- دانشیار گروه زراعت و اصلاح نباتات، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه رازی، کرمانشاه

*نویسنده مسئول: zebarjadiali@yahoo.com

## چکیده

بابونه با نام علمی (*Matricaria aurea L.*) یک گیاه دارویی مهم و متعلق به خانواده کاسنی (Asteraceae) می‌باشد که به شکل گسترده‌ای در داروسازی، غذایی و آرایشی و بهداشتی مصرف می‌شود. با توجه به اهمیت این گیاه پژوهش حاضر با هدف بهینه‌سازی شرایط القای کالوس در بابونه اورآ اجرا گردید. بدین منظور آزمایش القای کالوس به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی با ۳ تکرار روی محیط کشت MS اجرا گردید. در این آزمایش سطوح مختلف تنظیم کننده‌های رشد گیاهی NAA و BAP و دو نوع ریزنمونه ساقه و برگ مورد مقایسه قرار گرفتند. نتایج نشان داد که در محیط کشت فاقد هورمون رشد (شاهد) القای کالوس مشاهده نشد. سطوح ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر NAA و ۱ میلی‌گرم در لیتر BAP و همچنین ۱ میلی‌گرم در لیتر NAA و ۱ میلی‌گرم در لیتر BAP بهترین ترکیب هورمونی جهت القای کالوس ریزنمونه‌های ساقه و برگ (۱۰۰٪) شناخته شد.

**کلمات کلیدی:** بابونه، کالوس، NAA، BAP

## مقدمه

بابونه یکی از مهم‌ترین گیاهان دارویی است که شامل چندین جنس می‌باشد که جنس *Matricaria* به دلیل کاربرد بسیار بیشتر مورد توجه محققین گیاهان دارویی قرار گرفته است و دارای گونه‌های متعددی می‌باشد (Ghanavati, 2007). یکی از گونه-ها بابونه اورآ یا بابونه اروپایی زرد با نام علمی *Matricaria aurea* و از تیره کاسنی یا مرکبان (Asterase) است، مهم‌ترین ترکیبات موجود در گل‌های بابونه عبارتند از: اسانس، فلاونوئید و کومارین (رحیمی کلامرودی، ۱۳۸۰). اسانس حاصل از گل‌های بابونه دارای خواص ضدعفونی‌کننده، آرام‌بخش، ضد اسپاسم، ضد آلرژی، ضد نفخ، ضد قارچ (Ayoughi et al., 2011) می‌باشد. اگرچه تقاضا برای گیاهان دارویی و مواد موثره آن‌ها زیاد شده است اما تولید آن‌ها در مقیاس زیاد از طریق روش‌های شیمیایی عمدتا مشکل می‌باشد .به همین دلیل توجه محققین به راهکارهایی مثل کشت سلول‌ها، اندام‌ها و بافت‌ها و مهندسی ژنتیک معطوف شده است (Kumar & Gupta, 2008). هدف این پژوهش بررسی تاثیر ریزنمونه و غلظت‌های مختلف تنظیم‌کننده‌های رشد در القای کالوس گیاه بابونه بود.

## مواد و روش‌ها

این پژوهش در آزمایشگاه کشت بافت گیاهان دارویی پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه رازی کرمانشاه انجام شد. بذور پس از ضدعفونی با الکل ۷۰٪ به مدت ۱ دقیقه و هیپوکلریت سدیم ۱/۵درصد به مدت ۱۵-۱۰ دقیقه و شستشو با آب مقطر استریل روی محیط کشت MS کشت شدند. پس از جوانه‌زنی و رشد مناسب گیاهچه‌ها، ریزنمونه‌های برگ و ساقه روی محیط MS پایه حاوی غلظت‌های مختلف تنظیم‌کننده رشد کشت شدند. تمامی تیمارها پس از ۱۴ روز در محیط‌های مشابه واکشت شدند. آزمایش به صورت فاکتوریل با سه فاکتور بر پایه طرح کاملاً تصادفی (CRD) در سه تکرار انجام شد. فاکتور اول ریزنمونه (ساقه وبرگ)، فاکتور دوم هورمون NAA (۰، ۰/۵، ۱ و ۲ میلی‌گرم در لیتر) و فاکتور سوم هورمون BAP (۰، ۰/۵، ۱ و ۱/۵ میلی-

گرم در لیتر) به کار رفت. صفات اندازه گیری شده عبارتند از: درصد القای کالوس (صفت درصد ۴ هفته بعد از کشت یادداشت برداری شد). تجزیه و تحلیل داده‌های آزمایش با استفاده از نرم‌افزارهای SAS و SPSS انجام شد.

## نتایج و بحث

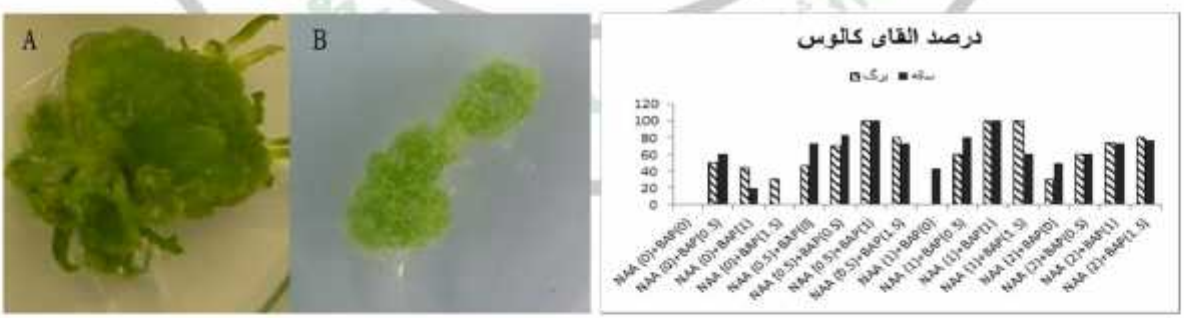
نتایج تجزیه واریانس صفات اندازه گیری شده در آزمایش کالوس‌دهی در (جدول ۱) نشان داده شده است. طبق این جدول اثر متقابل ریزنمونه×NAA×BAP برای صفت مورد بررسی در سطح ۱٪ معنی‌دار شده است.

جدول-۱- تجزیه واریانس صفت درصد القای کالوس در گیاه بابونه

| منابع تغییرات | درجه آزادی | میانگین مربعات |
|---|---|---|
| ریزنمونه (A) | ۱ | ۰/۰۰۸$^{ns}$ |
| (B) NAA | ۳ | ۱/۲۶۷$^{**}$ |
| (C) BAP | ۳ | ۰/۹۳۳$^{**}$ |
| A×B | ۳ | ۰/۰۴۴$^{**}$ |
| A×C | ۳ | ۰/۲۰۸$^{**}$ |
| B×C | ۹ | ۰/۱۳۳$^{**}$ |
| A×B×C | ۹ | ۰/۰۲۷$^{**}$ |
| خطا | ۶۴ | ۰/۳۴۰ |
| ضریب تغییرات (CV)% | | ۱۲/۴۲ |

$^{ns}$ و $^{**}$ به ترتیب نشان‌دهنده عدم اختلاف معنی‌دار و اختلاف معنی‌دار در سطح ۱٪

اثر متقابل NAA در BAP در ریزنمونه برای صفت درصد القای کالوس بابونه در (شکل ۱) آورده شده است. نمودار نشان می‌دهد که در ریزنمونه برگ ترکیب‌های هورمونی (0.5 mg/l NAA, 1 mg/l BAP)، (1 mg/l NAA, 1 mg/l BAP) و (1 mg/l NAA, 1.5 mg/l BAP) و در ریزنمونه ساقه نیز ترکیب‌های هورمونی (0.5 mg/l NAA, 1 mg/l BAP) و (1 mg/l NAA, 1 mg/l BAP) بالاترین درصد القای کالوس ۱۰۰ درصد را داشتند. کالوس حاصل از ریزنمونه‌های برگ و ساقه در (شکل ۱) آورده شده است.




شکل-۱- تاثیر غلظت‌های مختلف NAA و BAP بر روی صفت روز تا القای کالوس و درصد القای در ریزنمونه‌های برگ و ساقه. کالوس حاصل از ریزنمونه برگ (A)، کالوس حاصل از ریزنمونه ساقه (B).

میزان تولید کالوس بستگی به ترکیب هورمون‌های رشد به‌کار رفته و تعادل بین هورمون‌های اکسین و سیتوکینین دارد (Abbasi et al., 2007). از آنجا که نیاز گونه‌های گیاهی و بافت‌های مختلف به این مواد متفاوت بوده، انتخاب تنظیم‌کننده رشد مناسب و تعیین غلظت بهینه آن مهم می‌باشد (Chan et al., 2008). ۷ تا ۱۷ روز پس از کشت بسته به نوع هورمون مورد استفاده در

محیط کشت القای کالوس از نواحی برش خورده ریزنمونه‌ها آغاز شد و کالوس سبز رنگی تشکیل شد. در آزمایش مشاهده شد که در محیط کشت فاقد هورمون کالوس تولید نشد و برای تولید کالوس وجود هورمون‌ها ضروری است و القای کالوس در بابونه در تیمار هورمونی همزمان اکسین و سیتوکینین بسیار موثرتر از زمانی است که اکسین یا سیتوکینین به تنهایی استفاده می‌شوند. صیادی و همکاران (۲۰۱۴) در آزمایش خود نشان داد که افزایش هورمون NAA تا غلظت ۱ میلی‌گرم در لیتر باعث افزایش کال-زایی بابونه می‌شود اما استفاده از Kin با همان غلظت ۱ میلی‌گرم در لیتر میزان القای کالوس را چندین برابر می‌کند. تنوع در فراوانی تولید کالوس در پاسخ به سطوح مختلف هورمونی، می‌تواند به دلیل تمایز در بیان ژن‌های کنترل‌کننده تولید کالوس باشد. همچنین ممکن است که در بعضی از سطوح هورمونی مورد استفاده، برخی از ژن‌های مسئول در سنتز کالوس به طور کامل بیان نشوند (محمودی و همکاران، ۲۰۱۲).

## منابع


۱. رحیمی‌کلامرودی، ح. ۱۳۸۰. گیاه‌شناسی، کشت گونه‌های دیپلوییید و تتراپلوییید بابونه و بررسی ترکیب اسانس و مقایسه با نمونه‌های موجود در ایران. پایان‌نامه دکترای داروسازی. دانشکده علوم پزشکی دانشگاه اصفهان.

۲. محمودی، ب. ۱۳۸۱. آشنایی با اسانس‌های معطر گیاهی و اثرات شفابخش آن‌ها (آروماتراپی). تهران، انشارات نور دانش. ۱:۱-۶.

3. Abbasi, B., Saxena, P.K., Murch, S.J. and Liu, C.Z. 2007. *Echinacea* biotechnology: Challengesand opportunities. *In Vitro* Cell Development Biology- Plant. 43: 481-492.

4. Ayoughi, F., Barzegar, M., Sahari, M.A. and Naghdibadi H. 2011.Chemical compositions of essential oils of *Artemisia dracunculus* L. and endemic (*Matricaria chamomilla* L.) and an evaluation oftheir antioxidative effects. Journal Agricultural Science and Technology. 13: 79 – 88.

5. Chan, L.K., Koay, S.S., Low, P.H. and Boey, P.L. 2008. Effect of Plant Growth Regulators and Subculture Frequency on Callus Culture and the Establishment of Melastoma malabathricum Cell Suspension Cultures for the Production of Pigments. Biotechnology. 7: 678-685.

6. Ghanavati, M. 2007.Study of salinity effect on some growth characters of two *matricaria* spices. A Department of plant breeding, Shahrekord University. pp: 25 - 68.

7. Kumar, J. and Gupta, P. K. 2008. Molecular approaches for improvement of medicinal and aromatic plants. Plant Biotechnology Reports. 2: 93-112.

8. Sayadi, V., Mehrabi, A.A., Saidi, M. and Nourollahi, KH. 2014. In vitro culture and callus induction of chamomile (Matricaria chamomilla L. ) explants under different concentrations of plant growth regulators. International Journal of Biosciences. 4 (10): 206-211.

# Effect of explant type and hormonal compounds on callus induction in chamomile (*Matricaria aurea L.*) in *in vitro* conditions

**Sh. Vatandoost[1], A. R. Zebarjadi[2*]**

1- MSc of Biotechnology, Agronomy and Plant Breeding Dept, Campus of Agriculture and Natural Resources, Razi University, Kermanshah. 2- Associate Professor, Agronomy and Plant Breeding Dept, Campus of Agriculture and Natural Resources, Razi University, Kermanshah.

*Corresponding author: zebarjadiali@yahoo.com

## Abstract

*Matricaria aurea* is an important medicinal plant belonging to Asteraceae, the widely in the phrmacetical, food and cosmeticsused. According to the importance of this plant, current study was performed for optimization of callus induction in *Matricaria aurea*. For this aim an experiment was carried out in factorial arrangment based on completely randomized designs (CRD) with three replications on MS medium. In this experiment, levels of various of plant growth regulators (NAA and BAP) with two explants (stem and leaf) were compared. The results showed that in medium without hormones (control) callus induction was not observed. In both stem and leaf, 0.5 mg/l NAA plus 1 mg/l BAP) and (1 mg/l NAA plus 1 mg/l BAP) were the best with 100% callus induction.

**Key words:** *Matricaria aurea*, Callus, NAA, BAP