

بررسی اثرات پلی‌پلوئیدی بر برخی صفات مورفولوژیکی و تغییرات شیمیایی اسانس در گیاه دارویی بادرنجبویه (*Melissa officinalis* L.)

سیده فاطمه برقی (۱)، حسن ساری‌خانی (۲)، مهرداد چایی‌چی (۳)، محمدحسین میرجلیلی (۴)

۱- دانشجوی سابق کارشناسی ارشد، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد کرج ۲- استادیار، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان ۳- مربی پژوهشی، مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان همدان ۴- استادیار، گروه مهندسی کشاورزی، پژوهشکده گیاهان دارویی و مواد اولیه دانشگاه شهید بهشتی

افزایش و تغییر در محتوا و میزان ترکیبات ثانویه، در مورد آن دسته از گیاهان دارویی که در صنایع دارویی، آرایشی و بهداشتی دارای ارزش هستند حائز اهمیت می‌باشد. امروزه به‌منظور افزایش در مقدار و نوع مواد شیمیایی گیاهی، از روش‌های اصلاحی بر پایه القاء پلوئیدی بهره گرفته می‌شود. بادرنبویه با نام علمی (*Melissa officinalis* L.) گیاهی علفی، پایا و متعلق به خانواده نعناعیان است. در این پژوهش بررسی و ارزیابی تغییرات ایجاد شده در صفات مورفولوژیکی و تغییرات شیمیایی در متابولیت‌های ثانویه، با کاشت گیاهان دیپلوئید و تتراپلوئید تولید شده در شرایط درون‌شیشه‌ای در گلخانه انجام گردید. در مطالعات صورت گرفته مشخص گردید که القاء پلی‌پلوئیدی در گیاه بادرنبویه، به‌طور معنی‌داری بر صفات مورفولوژیکی و ترکیبات شیمیایی اثر داشته است. از لحاظ مورفولوژی پلی‌پلوئیدی منجر به افزایش طول و عرض برگ‌ها به ترتیب به‌میزان ۴/۹۰ و ۳/۸۳ سانتی‌متر در گیاهان تتراپلوئید در مقایسه با مقادیر ۳/۰۹ و ۲/۴۶ سانتی‌متر در گیاهان دیپلوئید گردید. همچنین افزایش ضخامت برگ در گیاهان تتراپلوئید در مقایسه با گیاهان دیپلوئید از ۰/۱۹۴ تا ۰/۴۶۶ میلی‌متر مشاهده شد. از نظر ترکیبات شیمیایی نیز نتایج تجزیه اسانس بیانگر تأثیر پلی‌پلوئیدی بر افزایش درصد تعدادی از مواد مؤثره در این اسانس گیاه بود. در این بررسی درصد ترکیبات نرال، ژرانیال، هیدروکسی‌سیترونال و نرال‌استات در گیاهان پلی‌پلوئید در مقایسه با گیاهان شاهد افزایش نشان داد.

کلمات کلیدی: بادرنبویه (*Melissa officinalis* L.)، پلی‌پلوئیدی، خصوصیات مورفولوژی، ترکیبات ثانویه

مقدمه:

روش القاء پلی‌پلوئیدی درون شیشه‌ای توسط کلشی‌سین، به‌منظور تولید گیاهان پلی‌پلوئید در برنامه‌های اصلاحی دارای کاربرد وسیعی می‌باشد. پلی‌پلوئیدی مصنوعی منجر به افزایش رشد بخش‌های مشخصی از گیاه می‌شود و در مواردی که اندام‌های هوایی و رویشی گیاهان دارویی محصول اقتصادی گیاه را تشکیل می‌دهند از کاربرد وسیعی برخوردار است (دهاوان و لاوانیا، ۱۹۹۶). از اثرات پلی‌پلوئیدی در گیاهان می‌توان به افزایش اندازه بخش‌های رویشی و زایشی گیاهان اشاره نمود که گیاهان پلی‌پلوئید را پررشدتر و فشرده‌تر از گیاهان دیپلوئید می‌سازد. پلی‌پلوئیدی معمولاً منجر به افزایش اندازه سلول و در نتیجه بزرگ شدن تمام بخش‌های اندام گیاهی می‌گردد (ناتولی و زوبولو، ۲۰۰۸). دو برابر کردن کروموزوم‌ها به‌عنوان یکی از روش‌های جایگزین، ممکن است منجر به افزایش و تغییر در قابلیت تولید متابولیت‌های ثانویه در گونه‌های گیاهی گردد (جسیس، ۲۰۰۳). بهبود گونه‌های گیاهی از طریق القاء پلی‌پلوئیدی در صنایع وابسته به داروسازی، غذایی و مواد شیمیایی معطر به‌عنوان ابزاری سریع جهت دستیابی به تولید وسیع متابولیت‌های ثانویه و بهبود کیفیت آنها می‌باشد (دهاوان و لاوانیا، ۱۹۹۶؛ ناتولی و زوبولو، ۲۰۰۸). به‌عنوان مثال درصد اسانس تولیدی در ریشه‌های تازه برداشت شده گیاه دارویی خس (*Vetiveria zizanioides* L.) از ۰/۹۸٪ در گیاهان شاهد تا ۱/۴٪ در گیاهان تتراپلوئید افزایش یافته است (لاوانیا، ۱۹۸۸). همچنین در گیاه نعناع فلفلی پلی‌پلوئیدی منجر به افزایش ۳ برابری، در محتوی اسانس آن گردیده است (چاوادج و بکر،

(۱۹۸۴). هدف از پژوهش حاضر، بررسی اثر القاء پلی‌پلوئیدی به‌عنوان یکی از روش‌های اصلاحی بر تغییرات ایجاد شده بر صفات مورفولوژیکی و تغییرات شیمیایی متابولیت‌های ثانویه در گیاه بادرنجبویه بود.

مواد و روش‌ها:

به‌منظور بررسی اثرات القاء پلی‌پلوئیدی بر صفات مورفولوژیکی و تغییرات شیمیایی ایجاد شده در گیاه بادرنجبویه (*Melissa officinalis* L.)، کاشت گیاهان دیپلوئید و تتراپلوئید تولید شده در شرایط درون‌شیشه‌ای در گلخانه انجام شد. پس از طی مراحل رشدی ویژگی‌های مورفولوژیکی نظیر وضعیت رشد، ضخامت برگ، طول و عرض برگ و تعداد روزنه در دو سطح برگ در هر دو گروه از گیاهان مورد بررسی قرار گرفت. در مرحله بعد پیکر رویشی گیاهان تتراپلوئید و شاهد بادرنجبویه پس از جداسازی از گیاهان مادری به‌منظور استخراج اسانس آماده شدند. پیکر رویشی گیاهان شاهد و تتراپلوئید با استفاده از دستگاه کلونجر و روش تقطیر با آب اسانس‌گیری شدند. پس از این مرحله اسانس استخراج شده تا زمان تریق در دستگاه گاز کروماتوگرافی در داخل یخچال با دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. در این تحقیق به‌منظور شناسایی ترکیب‌های اسانس‌های استخراج شده، از دستگاه گاز کروماتوگراف (GC/MS) استفاده گردید.

نتایج و بحث:

در بررسی طول، عرض و ضخامت برگ گیاهان دیپلوئید و پلی‌پلوئید بادرنجبویه از نظر آماری اختلاف معنی‌دار مشاهده گردید. به‌طوری‌که افزایش سطح پلوئیدی باعث افزایش طول، عرض و ضخامت برگ گیاهان پلی‌پلوئید نسبت به گیاهان دیپلوئید شد. نتایج بدست آمده در این تحقیق با سایر بررسی‌های انجام شده روی زنجبیل (آدانیا و شیرای، ۲۰۰۱) و بادرشبی (یاوری و همکاران، ۱۳۸۸) مطابقت داشت. به‌طور کلی گیاهان پلی‌پلوئید بادرنجبویه در مقایسه با گیاهان دیپلوئید دارای برتری بوده و از تراکم بیشتر شاخساره، ضخامت بیشتر و همچنین اندازه بزرگتر برگ برخوردار بودند. در این تحقیق اسانس گیاهان پلی‌پلوئید توسط تقطیر با آب بدست آمد و دارای رنگ زرد شفاف بود. میزان اسانس در گیاهان پلی‌پلوئید بادرنجبویه در مقایسه با اسانس تولیدی در گیاهان دیپلوئید به‌طور معنی‌داری اختلاف نشان نداد. همچنین در این بررسی مشخص شد که درصد تعدادی از ترکیبات موجود در اسانس گیاهان پلی‌پلوئید در اثر افزایش سطح پلوئیدی تغییر یافته، به‌طوری‌که در برخی از آن ترکیبات افزایش و در برخی از آن‌ها کاهش مشاهده گردید. القاء پلی‌پلوئیدی در این گیاه باعث افزایش درصد ماده موثره نرال به میزان ۳۲/۰٪ در گیاهان پلی‌پلوئید در مقیاسه با میزان ۲۹/۱٪ در گیاهان شاهد گردید. استفاده از این روش به‌منظور افزایش در بازده تولید و تجمع متابولیت‌های ثانویه در گیاه دارویی *Artemisia annua* L. نیز گزارش شده است (جسیس، ۲۰۰۳).

منابع

یاوری، ص. ر. امیدبگی و م. ا.، حسنی. ۱۳۸۸. القاء اتوتتراپلوئیدی در گیاه دارویی بادرشبی (*Dracocephalum moldavica* L.) با استفاده از تیمار کلشی‌سین. خلاصه مقالات ششمین کنگره علوم باغبانی. ۲۲ تا ۲۵ تیر. دانشگاه گیلان.

Chavadej, S. and H., Becker. (1984). Influence of colchicine treatment on chromosome number and growth rate of tissue cultures of *Valeriana wallichii* DC. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. 3(3): 265-272.

Dhawan, O.P. and U.C., Lavania. (1996). Enhancing the productivity of secondary metabolites via induced polyploidy. *Euphytica*, 87: 81-89.

Jesus, D.L. (2003). Effect of artificial polyploidy in transformed roots of *Artemisia annua* L. A Thesis Submitted to the Faculty of Worcester Polytechnic Institute, for the Degree of Master of Science In Biotechnology. 111p.

Lavana U.C. (1988). Enhanced productivity of the essential oil in artificial autopolyploid of Vetiver (*Vetiveria zizanioides* L.). *Euphytica*. 38: 271-276.

Ntuli, N.R. and A.M., Zobolo. (2008). Effect of water stress on growth of colchicine induced polyploidy *Coccinia palmate* and *Lagenaria sphaerica* plants. *African J. Biotechnology*. 7: 3548-3652.

Study of Polyploidy Effects on Some Morphological Traits and Essential Oils Changes in *Melissa officinalis* L.

Borgheei, S.F.¹, Sarikhani, H.², Chaichi, M.³ and Mirjalili, M.H.⁴

1) Islamic Azad Univesrity, Karaj Branch,

2) Department of Horticultural Science, Bu- Ali Sina University, Hamedan,

3) Research Center of Agriculture and Natural Resources, Hamedan,

4) Medicinal Plants and Drugs Research Institute, Shahid Beheshti University

Abstract

Increasing and changes in content of secondary metabolites, is important in medicinal plants with pharmaceutical and cosmetic industries value. Today, breeding programmes based on colchicine polyploidy induction was done in order to increase in content and type of plants chemical constituents. Lemon balm (*Melissa officinalis* L.) is an herbaceous and permanent plant belongs to lamiaceae family. In this study morphological and chemical changes were evaluated with diploid and *in vitro* produced tetraploid plants in greenhouse. The results demonstrate the effects of polyploidy on morphological and secondary metabolites characteristics. In terms of morphology, polyploidy leads to increased leaf length and width, from 4.90 and 3.83 cm in tetraploid compare with 3.09 and 2.46 cm in diploid plants respectively. Furthermore the leaf thickness of diploid plants compared with tetraploid plants was increased from 0.194 to 0.466 mm. In respects of chemical components, essential oils analysis also indicates the polyploidy effects on increasing of some active substances. The result shows that the amount of Neral, Geranial, Hydroxyl citronellal and Neryl acetate is higher in tetraploid plants in comparison to diploid plants.

Key words: Lemon balm (*Melissa officinalis* L.), Polyploidy, Morphological characteristics, Secondary metabolites