

## تأثیر هورمون استروئیدی پروژسترون بر رشد گیاهچه، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و کالوس‌زایی در گیاه بابونه آلمانی (*Matricaria chamomilla* L.)

الناز نوذری، رسول اصغری زکریا\*، سدابه جهانبخش و ناصر زارع

گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران  
(تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۱۱/۰۸، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹۶/۰۳/۳۰)

### چکیده

به منظور بررسی تأثیر هورمون استروئیدی پروژسترون بر رشد گیاهچه و میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و همچنین تأثیر آن بر کالوس‌زایی از ریزنمونه برگ در گیاه بابونه آلمانی *Matricaria chamomilla* L. آزمایشی در قالب طرح کاملاً تصادفی با استفاده از غلظت‌های مختلف هورمون پروژسترون (۰، ۰/۰۱، ۰/۱، ۱ و ۱۰ میلی‌گرم در لیتر) به تنهایی و یا به همراه غلظت ثابتی از فیتوهورمون‌های نفتالین استیک اسید (NAA) و بنزیل‌آمینوپورین (BAP) در محیط کشت MS در سه تکرار انجام گرفت. نتایج نشان داد که اثر غلظت هورمون پروژسترون بر تمامی صفات مورد بررسی در گیاهچه‌های ۴۰ روزه‌ی بابونه در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. این هورمون در غلظت پایین ۰/۰۱ میلی‌گرم در لیتر موجب افزایش طول گیاهچه، وزن گیاهچه و وزن ریشه و در غلظت‌های ۰/۱، ۱ و ۱۰ میلی‌گرم در لیتر موجب افزایش فعالیت آنزیم پراکسیداز و پلی‌فنل‌اکسیداز و در غلظت ۰/۱ و ۱ میلی‌گرم در لیتر موجب افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز گردید. علی‌رغم اینکه ریزنمونه‌های برگ کشت شده بعد از گذشت یک تا دو هفته در همگی محیط‌ها به القای کالوس پاسخ دادند ولی رشد آن‌ها بسته به وجود فیتوهورمون‌ها و غلظت هورمون پروژسترون متفاوت بود. بیشترین وزن تر کالوس از ریزنمونه برگ در غلظت ۰/۰۱ میلی‌گرم در لیتر این هورمون به همراه فیتوهورمون‌های NAA و BAP با اختلاف معنی‌دار از تیمار شاهد به دست آمد. این هورمون در غیاب فیتوهورمون‌هایی مانند BAP و NAA توانست کالوس‌زایی را در ریزنمونه برگ این گیاه القاء کند ولی میزان رشد کالوس به مراتب کمتر از زمانی بود که همراه با BAP و NAA در محیط کشت مورد استفاده قرار گرفت. نتایج این تحقیق نشان می‌دهد که این هورمون می‌تواند در بهینه کردن شرایط رشد گیاه در شرایط کشت درون شیشه‌ای مورد استفاده قرار گیرد.

واژه‌های کلیدی: آنزیم آنتی‌اکسیدان، بابونه آلمانی، پروژسترون، کالوس‌زایی

### مقدمه

(Petronilho et al., 2012). ترکیبات دارویی این گیاه در گل آذین، شاخ و برگ این گیاه انباشته شده است. در اسانس این گیاه نزدیک به ۴۰ نوع ترکیب مختلف شناسایی شده است (Petronilho et al., 2012). هورمون استروئیدی پروژسترون، یکی از هورمون‌های جنسی

گیاه بابونه آلمانی با نام علمی *Matricaria chamomilla* L. از خانواده کاسنی (Asteracea) یکی از قدیمی‌ترین گیاهان دارویی شناخته شده است که به شکل‌های مختلف در صنایع داروسازی، غذایی، عطرسازی و غیره استفاده می‌شود

کلروفیل و گلوکاتیون می‌شود و فعالیت آنزیم‌های سوپراکسیددیسموتاز، کاتالاز، پراکسیداز، آسکوربات پراکسیداز و نیترات ردوکتاز را افزایش می‌دهد (Erdal, 2012b). از سوی دیگر، سطح پراکسیداسیون لیپیدی و تولید پراکسید هیدروژن و محتوای سوپراکسید ناشی از تنش شوری تحت تأثیر تیمار پروژسترون کاهش می‌یابد (Erdal, 2012b). مطالعات انجام گرفته توسط Genisel و همکاران (۲۰۱۳) در مورد تأثیر این هورمون بر فعالیت سیستم آنتی‌اکسیدان گیاهی نخود تحت تنش سرما نیز نشان داد که گیاهان تیمار شده با پروژسترون دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالایی هستند. علاوه بر این، کاربرد این هورمون موجب بهبود محتوای نسبی آب برگ (RWC) و محتوای کلروفیل شد. مطالعات اندکی در مورد تأثیر هورمون‌های استروئیدی بر کشت بافت گیاهان و القای کالوس وجود دارد. به طور مثال، گزارش شده است که رشد *Daucus carota* L. در محیط کشت بافت حاوی ۱۷ بتا-استرادیول در غلظت (۳-۱۲ mg.dm<sup>3</sup>) به میزان صد در صد افزایش می‌یابد (به نقل از Janeczko, 2005 and Skoczowski). همچنین Janeczko و Szybka (۲۰۰۱) نشان دادند که همین هورمون موجب القا و ازدیاد کالوس در *Polygonatum verticillatum* L. می‌شود.

به دلیل عدم وجود پژوهش‌های کافی در مورد اثر این هورمون روی گیاهان دارویی، این پژوهش با هدف بررسی تأثیر تیمار پروژسترون بر رشد گیاهیچه، میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و کالوس‌زایی گیاه بابونه آلمانی *Matricaria chamomilla* L. در شرایط کشت درون شیشه‌ای انجام شد.

#### مواد و روش‌ها

بذور بابونه پس از شستشو با آب مقطر، به مدت ۱۰ دقیقه در هیپوکلریت سدیم ۲/۵ درصد قرار داده شدند و پس از آبکشی توسط آب مقطر استریل، به مدت ۳۰ ثانیه در الکل ۷۰ درصد غوطه‌ور شدند. سپس بذور بعد از سه بار آبکشی با آب مقطر استریل توسط دستمال کاغذی استریل خشک و در ظروف شیشه‌ای حاوی محیط کشت MS (Murashige, and Skoog, )

پستانداران، ترکیبات چربی‌دوست با وزن مولکولی بسیار کم می‌باشد. منشا این ترکیبات ایزوپرنوئیدها بوده که نقش کلیدی و مهمی در کنترل فرایند رشد و نمو و تولیدمثل داشته و همچنین در متابولیسم پروتئین و کنترل مواد معدنی نیز شرکت می‌کند (Kliwer et al., 1998). وجود هورمون پروژسترون در گیاهان برای اولین بار در سال ۱۹۶۰ توسط Gawienowski و Gibbs (۱۹۶۸) گزارش شد. مطالعات انجام گرفته توسط Simons و Grinwich (۱۹۸۹) نیز نشان داد که میزان پروژسترون نه تنها بین گونه‌های مختلف گیاهی، بلکه بین اندام‌های مختلف رویشی و زایشی آنها متفاوت است. اخیراً پژوهش‌های مختلفی جهت بررسی تأثیر کاربرد این هورمون بر گیاهان انجام گرفته و نشان داده است که این هورمون می‌تواند نقش بالقوه‌ای را در رشد گیاهان داشته باشد. به طور مثال، Bhattacharya و Gupta (۱۹۸۱) نشان دادند که اعمال هورمون پروژسترون در گیاهیچه‌ی آفتاب‌گردان در غلظت ۰/۲۵ میکرومولار در لیتر، موجب افزایش رشد ساقه شده اما از رشد ریشه جلوگیری می‌کند. با این حال، طول ریشه این گیاه به وسیله غلظت ۰/۱ میکرومولار آن افزایش می‌یابد. نتایج تحقیقات Erdal و Dumlupinar (۲۰۱۱a) نیز نشان داد که مصرف خارجی هورمون جنسی پروژسترون موجب افزایش چشمگیر رشد گیاه و افزایش میزان پروتئین و قند محلول و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان سوپراکسیددیسموتاز، پراکسیداز و کاتالاز و کاهش شدید H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> و پراکسید لیپید می‌شود. همچنین مطالعات Erdal (۲۰۱۲ a) نشان داد که تیمار گیاهیچه‌های ذرت با این هورمون در شرایط تنش شوری به طور قابل توجهی اثرات نامطلوب شوری را بر طول ریشه‌چه کاهش داده و موجب افزایش میزان پروتئین، قند محلول، محتوای پرولین و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان سوپراکسیددیسموتاز، کاتالاز و پراکسیداز شده و موجب کاهش تولید سوپراکسید و پراکسیداسیون لیپیدی می‌شود. علاوه بر این، بررسی تأثیر این هورمون روی گیاهیچه‌ی گندم در شرایط تنش شوری نشان داد که هورمون پروژسترون موجب بهبود وزن خشک و ترکیبات قند، پرولین، پروتئین،

میلی‌گرم در لیتر BAP بود و در آزمایش سوم، محیط کشت MS حاوی غلظت‌های مختلف هورمون استروئیدی پروژسترون بدون حضور NAA و BAP استفاده شد. مقادیر بهینه‌ی NAA و BAP بر اساس نتایج کوهی و همکاران (۱۳۹۳) انتخاب شدند. پنج هفته بعد از انتقال جداکشت‌ها، درصد کالوس‌زایی و وزن تر کالوس‌ها ثبت گردید.

هر آزمایش بر اساس طرح پایه کاملاً تصادفی در سه تکرار انجام شد. محاسبات آماری شامل آزمون نرمال بودن داده‌ها و تجزیه واریانس با استفاده از نرم‌افزارهای SPSS 16.0 و SAS انجام شد. مقایسه میانگین‌ها نیز با استفاده از آزمون توکی در سطح احتمال ۵ درصد انجام گرفت. نمودارها توسط نرم‌افزار Microsoft Office Excel رسم گردید.

### نتایج و بحث

رشد گیاهچه‌های بابونه در شرایط درون شیشه و کالوس‌های القاء شده در ریزنمونه‌های برگ آن تحت تأثیر هورمون پروژسترون در شکل ۱ نشان داده شده است. مطابق با جدول تجزیه واریانس (جدول ۱) اثر غلظت هورمون پروژسترون بر تمامی صفات مورد بررسی در گیاهچه‌های ۴۰ روزه‌ی بابونه در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. نتایج مقایسه میانگین نشان داد که هورمون پروژسترون در افزایش طول گیاهچه بابونه آلمانی موثر است. بیشترین طول گیاهچه در غلظت ۰/۰۱ میلی‌گرم در لیتر مشاهده شد. همچنین کمترین مقدار طول گیاهچه در غلظت ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر هورمون پروژسترون مشاهده شد که اختلاف معنی‌داری با مقدار آن در غلظت ۱۰ میلی‌گرم در لیتر نداشت (شکل ۲a). بیشترین وزن ریشه نیز در غلظت ۰/۰۱ میلی‌گرم در لیتر و کمترین آن در غلظت ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر این هورمون مشاهده شد (شکل ۲b). بیشترین وزن گیاهچه در غلظت ۰/۰۱ میلی‌گرم در لیتر و کمترین آن در غلظت ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر آن مشاهده شد که تفاوت آن با غلظت‌های بالاتر آن معنی‌دار بود (شکل ۲c).

مقایسه میانگین بین غلظت‌های مختلف هورمون پروژسترون از لحاظ فعالیت آنزیم پراکسیداز، پلی‌فنل‌اکسیداز و

(1962) نیمه جامد کشت شده و در اتاقک رشد با شرایط دمایی  $25 \pm 2$  درجه سانتی‌گراد و تناوب نوری ۸ ساعت تاریکی و ۱۶ ساعت روشنایی نگهداری شدند. گیاهچه‌های ۱۰ روزه‌ی رشد کرده به منظور مطالعه اثر هورمون استروئیدی پروژسترون (Sigma-Aldrich p0130) به ظروف کشت شیشه‌ای حاوی محیط MS با غلظت‌های مختلف این هورمون (در پنج سطح صفر، ۰/۰۱، ۰/۱، ۱ و ۱۰ میلی‌گرم در لیتر) منتقل شدند. در هر ظرف تعداد پنج گیاهچه کشت گردید. با توجه به نامحلول بودن این هورمون در آب، ابتدا این هورمون در چند قطره اتانول ۹۶ درصد حل و سپس آب مقطر لازم اضافه شد. لازم به ذکر است برای اغماض اثرات نامطلوب اتانول به تیمارهای شاهد نیز اتانول لازم اضافه گردید. بعد از ۴۰ روز از اعمال این هورمون، صفات طول گیاهچه، وزن ریشه، وزن گیاهچه از تمامی گیاهچه‌های رشد کرده مورد اندازه‌گیری قرار گرفت. همچنین بعد از استخراج عصاره آنزیمی به روش Sudhakar و همکاران (۲۰۰۱)، فعالیت آنزیم پلی‌فنل‌اکسیداز و پراکسیداز با روش Kar و Mishra (۱۹۷۶) و کاتالاز با روش Chance و Maehly (۱۹۵۵) بررسی شد.

برای مطالعه اثر این هورمون بر کالوس‌زایی از ریزنمونه برگ این گیاه استفاده شد. برای تهیه ریزنمونه برگ، برگ‌های تازه و خوب رشد کرده تحت شرایط استریل از گیاهان درون شیشه‌ای شاهد جدا شده و با استفاده از اسکالپل تیز و در داخل آب مقطر به قطعات کوچک بریده شدند و روی محیط کشت MS حاوی غلظت‌های مختلف هورمون استروئیدی پروژسترون (در پنج سطح صفر، ۰/۰۱، ۰/۱، ۱ و ۱۰ میلی‌گرم در لیتر) به تنهایی و یا به همراه غلظت ثابتی از فیتوهورمون‌های NAA و BAP در سه آزمایش جداگانه برای کالوس‌زایی کشت شدند. آزمایش اول شامل بررسی کالوس‌زایی در محیط کشت MS حاوی غلظت‌های مختلف هورمون استروئیدی پروژسترون در حضور ۱/۵ میلی‌گرم در لیتر NAA و ۳ میلی‌گرم در لیتر BAP بود. آزمایش دوم شامل بررسی کالوس‌زایی در محیط کشت MS حاوی غلظت‌های مختلف هورمون استروئیدی پروژسترون در حضور فقط ۳



شکل ۱- رشد گیاهچه‌های بابونه درون شیشه و کالوس‌های القاء شده در ریزنمونه‌های برگ آن تحت تأثیر هورمون پروژسترون

جدول ۱- نتایج تجزیه واریانس تأثیر غلظت‌های مختلف هورمون پروژسترون بر صفات گیاهچه‌ای و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان بابونه آلمانی

میانگین مربعات				وزن تر گیاهچه	طول گیاهچه	درجه آزادی	منابع تغییر
فعالیت آنزیم کاتالاز	فعالیت آنزیم پلی‌فنل اکسیداز	فعالیت آنزیم پراکسیداز	وزن تر ریشه				
۲۸۸۲۶/۵**	۱۷۶۶۱۰۴/۰۲**	۱۱۷۴۷۸۰۹/۹۶**	۱۳۴۵۹/۳۳**	۱۴۱۹۷/۹۳**	۲/۱۷**	۴	غلظت
۴۹۴/۹	۱۶۸۹۴۵/۳۱	۱۱۹۷۴۹۷/۱۵	۱۷۸/۴۶	۱۹۹/۸۶	۰/۰۲	۱۰	خطا
۱۱/۰۲	۱۲/۸۵	۱۴/۲	۱۳/۹۱	۶/۶۷	۳/۷۲		درصد ضریب تغییرات

\*\* و \* به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد

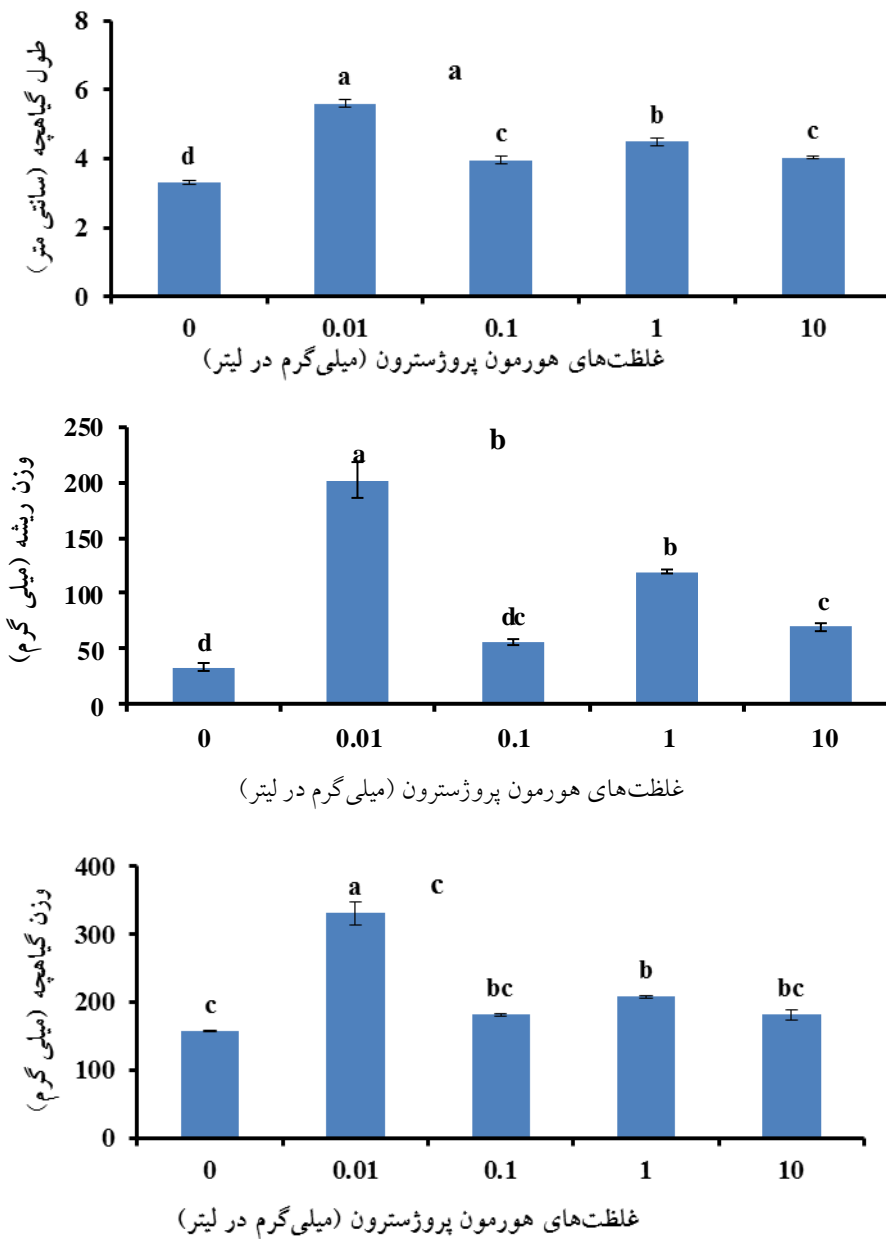
(جدول ۲) اثر غلظت هورمون پروژسترون بر وزن تر کالوس ریزنمونه برگ در محیط MS حاوی NAA و BAP و فاقد آن‌ها در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شد. نتایج مقایسه میانگین نشان داد که در محیط کشت MS حاوی ۱/۵ میلی‌گرم در لیتر NAA و ۳ میلی‌گرم در لیتر BAP، بیشترین وزن تر کالوس ریزنمونه برگ با اختلاف معنی‌دار از شاهد در غلظت ۰/۱ و ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر هورمون پروژسترون مشاهده شد. کمترین مقدار آن نیز در غلظت ۱ میلی‌گرم در لیتر آن به دست آمد که اختلاف معنی‌داری با شاهد نداشت. بیشترین وزن تر کالوس در محیط MS حاوی ۳ میلی‌گرم در لیتر BAP نیز در غلظت ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر هورمون پروژسترون مشاهده شد که اختلاف آن با شاهد معنی‌دار بود. همچنین در محیط کشت MS فاقد NAA و BAP بیشترین مقدار وزن تر کالوس در غلظت ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر آن و کمترین مقدار آن در غلظت ۱ و ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر مشاهده شد (شکل ۴ع).

نتایج حاصل از بررسی تأثیر هورمون پروژسترون بر رشد گیاهچه و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در بابونه آلمانی نشان

کاتالاز در گیاهچه‌های بابونه آلمانی نشان داد که هورمون پروژسترون در غلظت‌های بالاتر موجب افزایش فعالیت آنزیم پراکسیداز و پلی‌فنل‌اکسیداز شده است. حداکثر فعالیت آنزیم پراکسیداز و پلی‌فنل‌اکسیداز (بر حسب تغییرات جذب (Optical Density) در دقیقه در میلی‌گرم پروتئین) به ترتیب در غلظت‌های ۰/۱، ۱ و ۱۰ میلی‌گرم در لیتر آن و کمترین میزان فعالیت این آنزیم‌ها در غلظت ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر مشاهده شد. در مورد آنزیم کاتالاز بیشترین فعالیت این آنزیم به ترتیب در غلظت ۰/۱ و ۱ میلی‌گرم در لیتر و کمترین میزان فعالیت این آنزیم در غلظت ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر هورمون پروژسترون بود که اختلاف معنی‌داری با شاهد داشت (شکل ۳).

#### تأثیر هورمون پروژسترون بر القاء و رشد کالوس:

علی‌رغم اینکه ریزنمونه‌های برگ کشت شده بعد از گذشت یک تا دو هفته در همی محیط‌ها به القای کالوس پاسخ دادند ولی رشد آن‌ها بسته به وجود فیتوهورمون‌ها و غلظت هورمون پروژسترون متفاوت بود. با توجه به جدول تجزیه واریانس

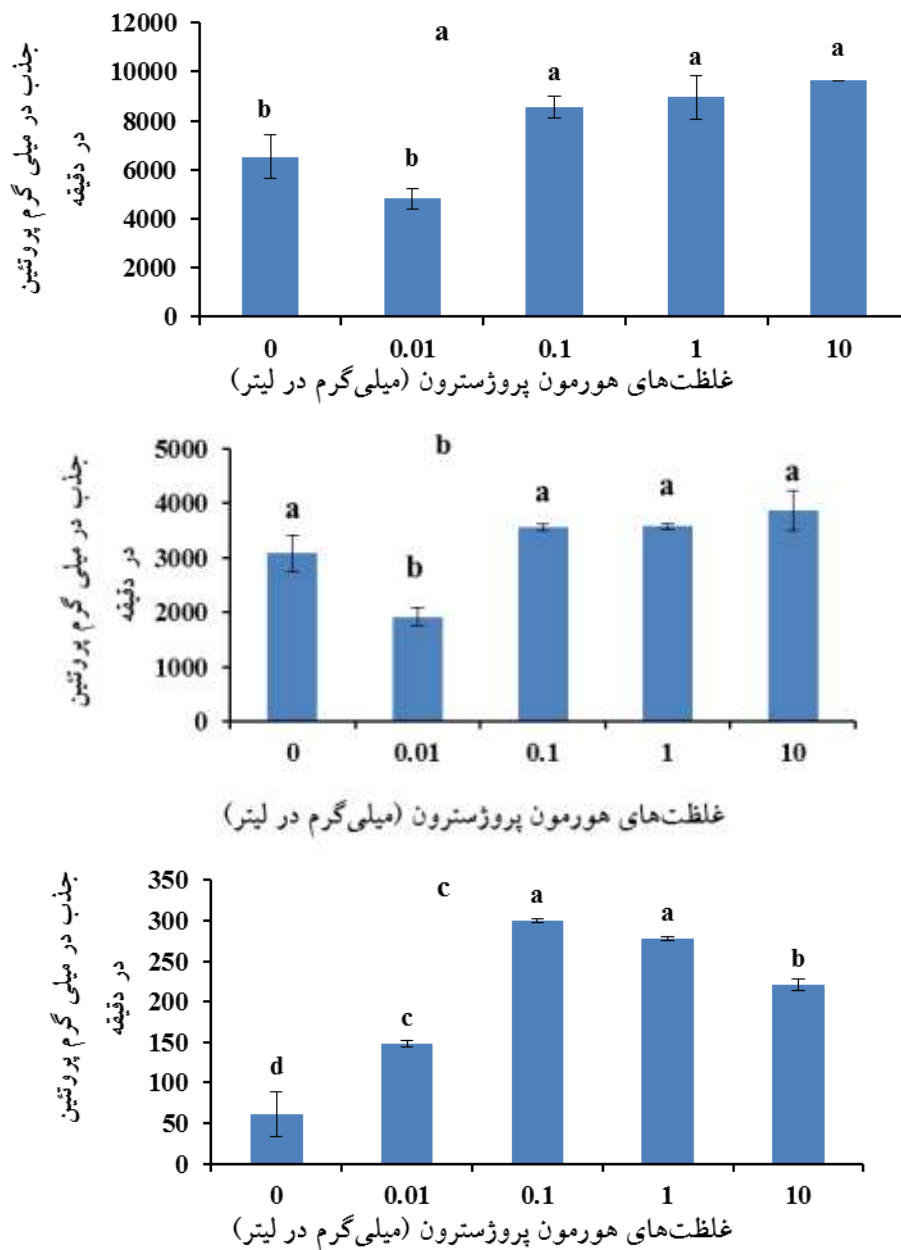


شکل ۲- اثر هورمون پروژسترون بر صفات رویشی گیاهچه‌های بابونه درون شیشه. تغییرات طول گیاهچه (a)، وزن ریشه (b) و وزن اندام هوایی گیاهچه (c) بابونه آلمانی. حروف غیرمشابه روی هر ستون نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد است.

جدول ۲- جدول تجزیه واریانس تأثیر غلظت‌های مختلف هورمون پروژسترون بر وزن تر کالوس بابونه آلمانی در محیط MS حاوی NAA و BAP و فاقد آنها

میانگین مربعات وزن تر کالوس در محیط MS			درجه آزادی	منابع تغییر
فاقد فیتوهورمون	حاوی BAP	حاوی NAA و BAP		
۱۹۷۵/۷۶**	۱۰۸۸۱/۷۷**	۲۰۵۲۳/۳۳**	۴	غلظت
۴۳/۳	۶۴۴/۶	۸۶۰	۱۰	خطا
۱۷/۲۳	۷/۴۷	۵/۳		درصد ضریب تغییرات

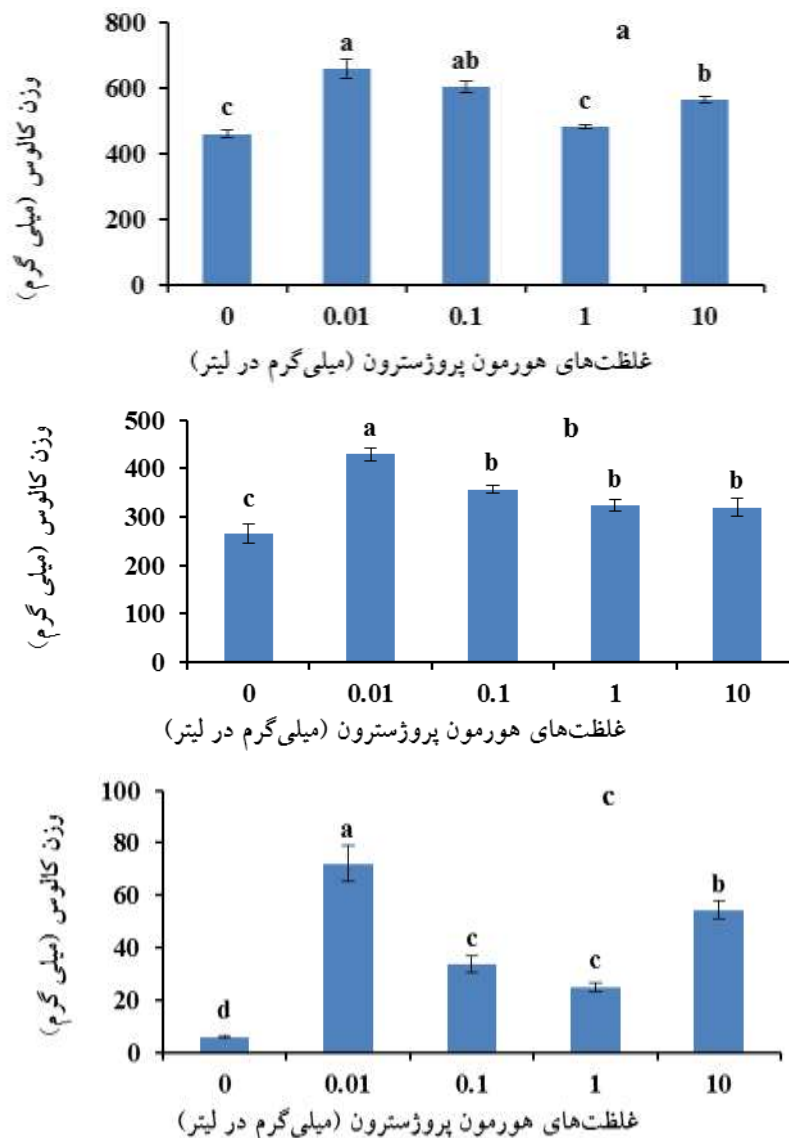
\*\* و \* به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد



شکل ۳- اثر هورمون پروژسترون بر میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز (a)، پلی فنل اکسیداز (b) و کاتالاز (c) در گیاهچه‌های بابونه آلمانی. حروف غیرمشابه روی هر ستون نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد است

انجام گرفته توسط Erdal (b و ۲۰۱۲a) و Erdal و Dumlupinar (۲۰۱۱a) نشان داد که کاربرد هورمون پروژسترون موجب افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان می‌شود. هر چند بیشترین تأثیر این هورمون بر صفات مورفولوژیکی در غلظت‌های پایین بدست آمده است ولی با توجه به حداکثر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در غلظت‌های بالا، به نظر می‌رسد این هورمون در غلظت‌های بالا اثرات

داد که این هورمون در غلظت پایین ۰/۰۱ میلی‌گرم در لیتر موجب افزایش طول گیاهچه، وزن گیاهچه، وزن ریشه و در غلظت‌های بالاتر موجب افزایش فعالیت‌های آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان شده است به طوری که در غلظت‌های بالاتر ۰/۱، ۱ و ۱۰ میلی‌گرم در لیتر موجب افزایش فعالیت آنزیم پراکسیداز و پلی‌فنل اکسیداز و در غلظت ۰/۱ و ۱ میلی‌گرم در لیتر موجب افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز گردید. تحقیقات



شکل ۴- اثر هورمون پروژسترون بر وزن تر کالوس در محیط MS حاوی BAP و NAA (a)، در محیط MS حاوی BAP (b) و در محیط MS فاقد فیتوهورمون (c) ریزنمونه برگ گیاه بابونه آلمانی. حروف غیرمشابه روی هر ستون نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد است

تنگاتنگ بین محتوای عناصر معدنی و میزان فعالیت مسیرهای متابولیک در تمام موجودات زنده بسیار مهم است. بنابراین، می‌توان چنین اظهار داشت که این هورمون در کنار افزایش مواد آلی و عناصر معدنی و افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان شرایط را برای رشد گیاهان بهبود می‌بخشد. نتایج بدست آمده از بررسی تأثیر هورمون جنسی پروژسترون بر وزن تر کالوس ریزنمونه برگ بابونه آلمانی نشان داد بیشترین وزن تر کالوس ریزنمونه برگ در غلظت پایین ۰/۰۱

سمی داشته و موجب افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان شده است (Erdal and Dumlupinar, 2011b). این آنزیم‌ها عمدتاً با پاک‌سازی گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) و کاهش اثرات تخریبی تنش به گیاهان امکان مقاومت و خوگیری به شرایط محیطی را می‌دهند (Erdal, 2012a). Erdal و Dumlupinar (۲۰۱۱b) گزارش دادند که این هورمون موجب افزایش غلظت‌های کلسیم، منیزیم، فسفر، گوگرد، مس، منگنز، آلومینیوم، روی، آهن، پتاسیم و کلر می‌شود. وجود یک ارتباط

*Polygonatum verticillatum* L. می‌شود. مطالعات انجام گرفته توسط Janeczko و همکاران (۲۰۰۲) نیز نشان داد که آندرواستروئید و آندروستنودیون به میزان یک میکرو مولار در لیتر موجب القا و ازدیاد بافت‌های کالوس از اسکوتلوم جنین‌های نابالغ گندم‌های زمستانه (*Triticum aestivum* L.) می‌شود نتایج بدست آمده از تحقیق حاضر نیز تاییدکننده‌ی نقش موثر هورمون پروژسترون در رشد و ازدیاد کالوس گیاه بابونه آلمانی است. نتایج تحقیقات حاضر اگرچه نقش موثر این هورمون را در زندگی گیاه مورد تایید قرار می‌دهد ولی به دلیل داشتن تنوع در غلظت موثر در صفات گوناگون نیازمند مطالعه و تحقیق بیشتر در گونه‌های گیاهی است.

#### نتیجه‌گیری کلی

نتایج نشان داد که هورمون پروژسترون در غلظت پایین ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر موجب افزایش طول گیاهچه، وزن گیاهچه و وزن ریشه و در غلظت‌های بالاتر ۰/۱، ۱ و ۱۰ میلی‌گرم در لیتر موجب افزایش فعالیت آنزیم پراکسیداز و پلی‌فنل‌اکسیداز و در غلظت ۰/۱ و ۱ میلی‌گرم در لیتر موجب افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز گردید. بیشترین وزن تر کالوس ریزنمونه برگ تحت تأثیر این هورمون به همراه فیتوهورمون‌های NAA و BAP در غلظت پایین ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر با اختلاف معنی‌دار از تیمار شاهد به دست آمد. این هورمون در غیاب فیتوهورمون‌هایی مانند BAP و NAA می‌تواند کالوس‌زایی را در ریزنمونه برگ این گیاه القا کند. نتایج این تحقیق نشان می‌دهد که این هورمون می‌تواند در بهینه کردن شرایط رشد گیاه در شرایط کشت درون شیشه‌ای مورد استفاده قرار گیرد.

میلی‌گرم در لیتر به دست آمد که اختلاف معنی‌داری با شاهد داشت. این امر بیانگر این است که می‌توان به کمک هورمون پروژسترون وزن تر کالوس را که به وسیله فیتوهورمون‌ها در غلظت ۱/۵ میلی‌گرم در لیتر NAA و ۳ میلی‌گرم در لیتر BAP (کوهی و همکاران، ۱۳۹۳) به دست آمده بود به صورت چشمگیر افزایش داد. علاوه بر این، افزایش وزن تر کالوس در محیط فاقد اکسین نیز بیانگر نقش موثر این هورمون در بهبود شرایط رشد کالوس در غیاب اکسین بود. به نظر می‌رسد القاء و رشد کالوس ریزنمونه برگ در محیط‌های فاقد NAA نیز به دلیل افزایش اکسین موجود در خود ریزنمونه، تحت تأثیر هورمون‌های استروئیدی بوده باشد. علاوه بر این، کالوس‌زایی ریزنمونه برگ در محیط MS فاقد فیتوهورمون نشان داد که این هورمون به تنهایی و در غیاب فیتوهورمون‌هایی مانند BAP و NAA می‌تواند کالوس‌زایی را در ریزنمونه برگ را القاء کند ولی رشد آن ضعیف است ولی در صورت القای کالوس موجب افزایش قابل توجه رشد آن می‌شود. نتایج حاصل از بررسی تأثیر هورمون پروژسترون بر رشد کالوس، نقش موثر این هورمون را در رشد و ازدیاد کالوس نشان داد که با نتایج پژوهش‌هایی که افزایش رشد کالوس را تحت تأثیر هورمون‌های ۱۷ بتا-استرادیول، آندرواستروئید و آندروستنودیون نشان داده بودند، مطابقت داشت (Janeczko *et al.*, 2002, 2001). گزارش شده است که ۱۷ بتا-استرادیول در غلظت (۳-۱۲ mg.dm<sup>-3</sup>) رشد *Daucus carota* L. را در محیط کشت بافت به میزان صد درصد افزایش می‌دهد (به نقل از Janeczko, 2005 and Skoczowski). همچنین Janeczko و Szybka (۲۰۰۱) نشان دادند که همین هورمون موجب القا و ازدیاد کالوس در

#### منابع:

کوهی، ل.، زارع، ن.، اصغری زکریا، ر. و شیخ‌زاده مصدق، پ. (۱۳۹۳) نقش تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی و جداکشت‌های مختلف بر پاسخ کشت بافتی و سوسپانسیون سلولی بابونه آلمانی (*Matricaria chamomilla* L.). نشریه علمی پژوهشی اکوفیزیولوژی گیاهان زراعی ۸: ۲۱۴-۲۰۳.

Bhattacharya, B. and Gupta, K. (1981) Steroid hormone effects on growth and apical dominance of sunflower. *Phytochemistry* 20:989-991.

Chance, B. and Maehly, A. C. (1955) Assay of catalases and peroxidases. *Method Enzymology* 11: 764-755.



- Erdal, S. and Dumlupinar, R. (2011a) Exogenously treated mammalian sex hormones affects inorganic constituents of plants. *Biological Trace Element Research* 143:500–50.
- Erdal, S. and Dumlupinar, R. (2011b) Mammalian sex hormones stimulate antioxidant system and enhance growth of chickpea plants. *Acta Physiologiae Plantarum* 33:1011–1017.
- Erdal, S. (2012a) Exogenous mammalian sex hormones mitigate inhibition in growth by enhancing antioxidant activity and synthesis reactions in germinating maize seeds under salt stress. *Science of Food and Agriculture* 92:839–843.
- Erdal, S. (2012b) Alleviation of salt stress in wheat seedlings by mammalian sex hormones. *Science of Food and Agriculture* 92:1411–1416.
- Gawienowski, A. M. and Gibbs, C. C. (1968) Identification of cholesterol and progesterone in apple seeds. *Steroids* 12:545–50.
- Genisel, M., Turk, H. and Erdal, S. (2013) Exogenous progesterone application protects chickpea seedlings against chilling-induced oxidative stress. *Acta Physiologiae Plantarum* 35:241–251.
- Janeczko, A. and Skoczowski, A. (2005) Mammalian sex hormones in plants. *Folia Histochemistry and Cytochemistry* 43:71–79.
- Janeczko, Z. and Szybka, P. (2001) Induction and proliferation of callus of *Polygonatum verticillatum* L (in Polish). Conference materials of the 18th Meeting of the Polish Pharmaceutical Society "Pharmacy in the 21st century", 19-22 September 2001, Poznan, Poland, p 536.
- Janeczko, A., Filek, W. and Skoczowski, A. (2002) Influence of human sex hormones on the growth response of winter wheat immature embryos and callus (in Polish). *Zeszyty Problemowe Postepow Nauk Rolniczych* 488: 667-673.
- Kar, M. and Mishra, D. (1976) Catalase, peroxidase, and polyphenol oxidase activities during rice leaf senescence. *Plant Physiology* 57: 315-319.
- Kliwer, S. A., Moore, J. T., Wade, L., Staudinger, J. L., Watson, M. A., Jones, S. A., McKee, D. D., Oliver, B. B., Willson, T. M., Zetterstrom, R. H., Perlmann, T. and Lehmann, M. (1998) An orphan nuclear receptor activated by pregnanes defines a novel steroid signaling pathway *Cell* 92: 73 – 82.
- Murashige, T. and Skoog, F. (1962) A revised method for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol Plant* 15:472–497
- steroids in plants. *Canadian Journal of Botany* 67:288–96.
- Petronilho, S., Maraschin, M., Coimbra, M. A. and Rocha, S. M. (2012) In vitro and in vivo studies of natural products: A challenge for their valuation. The case study of chamomile (*Matricaria recutita* L.). *Industrial Crops and Products* 40:1-12.
- Simons, R. G. and Grinwich, D. L. (1989) Immunoreactive detection of four mammalian steroids in plants. *Canadian Journal of Botany* 67:288–96
- Sudhakar, S., Li, Y., Katz, M. S. and Elango, N. (2001) Translational regulation is a control point in RUNX2/Cbfa1 gene expression. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 289: 616-22.