Archive of SID

دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
پژوهشنامه اصلاح گیاهان زراعی

تاثیر هورمون استروئیدی تستوسترون بر رشد گیاهچه، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و کالوس‌زایی گیاه بابونه آلمانی *Matricaria chamomilla* L.

الناز نوذری[۱]، رسول اصغری زکریا[۲]، سدابه جهانبخش[۳] و ناصر زارع[۳]

۱ و ۳- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد و دانشیار، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی
۲- استاد، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه محقق اردبیلی (نویسنده مسوول: r-asghari@uma.ac.ir)
تاریخ دریافت: ۹۵/۱۱/۱۱ تاریخ پذیرش: ۹۶/۹/۲۱

چکیده

به‌منظور بررسی تأثیر هورمون استروئیدی تستوسترون بر رشد گیاهچه و میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان آن در شرایط کشت درون شیشه‌ای 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 تستوسترون (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 محیط کشت MS در سه تکرار انجام گرفت. نتایج نشان داد که این هورمون در غلظت ۱۰ میلی‌گرم در لیتر موجب افزایش طول گیاهچه، وزن تر ریشه و وزن تر گیاهچه و در غلظت‌های ۱ و ۱۰ میلی‌گرم در لیتر موجب افزایش فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز و پلی‌فنل‌اکسیداز و در غلظت ۰/۱ و ۱ میلی‌گرم در لیتر موجب افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز می‌شود. علی‌رغم اینکه ریزنمونه‌های برگ کشت شده بعد از گذشت یک تا دو هفته در همه‌ی محیط‌ها به القای کالوس پاسخ دادند ولی رشد آن‌ها بسته به وجود فیتوهورمون‌ها و غلظت هورمون تستوسترون متفاوت بود. بیشترین وزن تر کالوس ریزنمونه‌ی برگ در غلظت ۰/۰۱ میلی‌گرم در لیتر هورمون استروئیدی تستوسترون به تنهایی و یا به همراه فیتوهورمون‌های NAA و BAP به دست آمد که اختلاف معنی‌داری با شاهد داشت. نتایج این تحقیق نشان می‌دهد که این هورمون می‌تواند در بهینه کردن شرایط رشد گیاه و بهبود رشد کالوس نقش مهمی داشته باشد که این امر نیازمند تحقیق و مطالعه بیشتری است.

واژه‌های کلیدی: پراکسیداز، پلی‌فنل‌اکسیداز، کاتالاز، کالوس‌زایی، هورمون استروئیدی تستوسترون

مقدمه

هورمون استروئیدی تستوسترون که یکی از هورمون‌های جنسی پستانداران محسوب می‌شود، مولکول‌های چربی دوست با وزن مولکولی کم می‌باشد (۱۵،۱۱). برخی از محققین به مطالعه اثرات آندروسترون (پیش‌ساز تستوسترون) و تستوسترون در گیاهان پرداخته و نقش موثر این هورمون‌ها را بر رشد گیاهان در شرایط درون شیشه‌ای نشان داده‌اند. به عنوان مثال، اردال و دوملوپینار (۹) اثر آندروسترون را روی رشد ریشه و ساقه و پارامترهای بیوشیمیایی (ترکیبات پروتئینی، قند و نیز فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، پراکسید لیپید و میزان H_2O_2) گیاه نخود *Cicer arietinum* L. در شرایط رشدی کنترل شده، بررسی و مشاهده کردند که این هورمون موجب افزایش چشمگیر رشد گیاه و افزایش میزان پروتئین و قند محلول و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان سوپراکسیددیسموتاز، پراکسیداز، کاتالاز و کاهش شدید H_2O_2 و پراکسیداسیون لیپیدی می‌شود. همچنین دوملوپینار و همکاران (۲) اثر هورمون آندروسترون را بر محتوای عناصر معدنی برگ در جو بررسی و نشان دادند که کاربرد این هورمون موجب افزایش غلظت کلسیم، منیزیم، فسفر، گوگرد، مس، منگنز، آلومینیوم، روی، آهن، پتاسیم و کلر و کاهش غلظت سدیم در برگ‌های جو می‌شود. اردال و دوملوپینار (۹) نیز با بررسی اثر این هورمون‌جنسی بر محتوای عناصر معدنی برگ‌های نخود نشان دادند که این هورمون موجب افزایش غلظت سدیم، پتاسیم، کلسیم، منیزیم، فسفر، گوگرد، مس، آلومینیوم، روی، آهن و نیکل می‌شود و تنها غلظت عناصر منگنز و کلر را در برگ‌های آن کاهش می‌دهد. اردال (۷) اثر این هورمون را روی رشد، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و واکنش‌های سنتزی در ذرت در شرایط تنش شوری بررسی کرد. نتایج آنها نشان داد که تیمار گیاهچه‌ها با آندروسترون به طور قابل توجهی عوارض سوء شوری را بر طول ریشه و گیاهچه بهبود می‌بخشد و موجب افزایش پروتئین، قند محلول، محتوای پرولین و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان سوپراکسیددیسموتاز، کاتالاز و پراکسیداز شده در حالی که تولید سوپراکسید و پراکسیداسیون لیپیدی را کاهش می‌دهد. همچنین اردال (۵) با بررسی اثر آندروسترون روی گیاهچه گندم در شرایط تنش شوری نشان داد که آندروسترون موجب بهبود وزن خشک و ترکیبات قند، پرولین، پروتئین، کلروفیل و گلوتاتیون می‌شود. علاوه بر این، فعالیت آنزیم‌های سوپراکسیددیسموتاز، کاتالاز، پراکسیداز، آسکوربات پراکسیداز و نیترات ردوکتاز به وسیله این هورمون افزایش می‌یابد. از سوی دیگر افزایش سطح پراکسیداسیون لیپیدی و تولید پراکسید هیدروژن و محتوای سوپراکسید ناشی از تنش شوری تحت تأثیر تیمار با آندروسترون کاهش می‌یابد. اردال (۶) با مطالعه اثر هورمون استروئیدی آندروسترون بر ترکیبات آنتی‌اکسیدانی گیاهچه‌ی ذرت تحت شرایط تنش سرما نشان داد که کاربرد آندروسترون موجب افزایش فعالیت سوپراکسیددیسموتاز، کاتالاز، گایاکول پراکسیداز، آسکوربات پراکسیداز، گلوتاتیون ریدوکتاز و ترکیبات آنتی‌اکسیدانی مانند آسکوربیک اسید، گلوتاتیون، پرولین و کارتنوئید می‌شود. در پستانداران، این هورمون 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 (۱۵). گیاه

Downloaded from jcb.sanru.ac.ir at 8:54 +0330 on Monday December 17th 2018

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from jcb.sanru.ac.ir at 8:54 +0330 on Monday December 17th 2018

بابونه آلمانی با نام علمی.*Matricaria chamomilla* L گیاهی است یک ساله علفی، متعلق به خانواده کاسنی (Asteracea) و یکی از قدیمی‌ترین گیاهان دارویی شناخته شده است که ترکیبات دارویی این گیاه در گل آذین، شاخ و برگ این گیاه انباشته شده است. بسیاری از مواد دارویی آن در اسانس آبی رنگ آن نهفته است. در اسانس این گیاه نزدیک به ۴۰ نوع ترکیب مختلف شناسایی شده است (۲۰).

اگرچه حضور هورمون‌های استروئیدی در گیاهان به اثبات رسیده است (۲۴،۲۵،۱۱،۱۳،۱۴،۱۵) اما اطلاعات اندکی در مورد نقش اصلی و اثرات این هورمون‌ها در گیاهان وجود دارد. بر این اساس، هدف از این تحقیق، مطالعه اثر هورمون استروئیدی تستوسترون بر رشد گیاهچه، میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و کالوس‌زایی گیاه بابونه آلمانی *Matricaria chamomilla* L. در شرایط کشت درون شیشه‌ای است.

مواد و روش‌ها

این آزمایش طی سال‌های ۹۳ و ۹۴ در آزمایشگاه بیوتکنولوژی گیاهی دانشکده‌ی علوم کشاورزی دانشگاه محقق اردبیلی انجام شد. 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 (۲۲) نیمه جامد کشت شده و در اتاقک رشد با شرایط دمای ۲± ۲۵ درجه سانتی‌گراد و تناوب نوری ۸ ساعت تاریکی و ۱۶ ساعت روشنایی نگهداری شدند. گیاهچه‌های ۱۰ روزه‌ی رشد یافته، به محیط MS حاوی غلظت‌های مختلف هورمون استروئیدی تستوسترون (Sigma-Aldrich T1500) (در پنج سطح صفر، ۰/۰۱، ۰/۱، ۱ و ۱۰ میلی‌گرم در لیتر) منتقل شدند. با توجه به نامحلول بودن این هورمون در آب، ابتدا در چند قطره اتانول ۹۶ درصد حل شده و سپس آب مقطر لازم اضافه شد. لازم به ذکر است برای حذف 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 مورد اندازه‌گیری قرار گرفت. همچنین بعد از استخراج عصاره آنزیمی به روش سودهاکر و همکاران (۲۸)، فعالیت آنزیم پلی‌فنل‌اکسیداز، کاتالاز و پراکسیداز بررسی شد. بدین منظور، ۱ گرم بافت تر در یک هاون چینی محتوای ۵ میلی‌لیتر بافر تریس- HCl ۰/۰۵ مولار با pH=۷/۵ خوب سائیده شده سپس به مدت ۲۰ دقیقه در ۱۳۰۰۰ دور و دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ گردید. محلول روئی (حاوی عصاره پروتئینی) جهت بررسی فعالیت پلی‌فنل‌اکسیداز، کاتالاز و پراکسیداز مورد استفاده قرار گرفت. فعالیت آنزیم پلی‌فنل اکسیداز با روش کار و میشرا (۱۸) بررسی شد. برای این منظور ۱/۵ میلی‌لیتر بافر تریس با ۰/۴ میلی‌لیتر پیروگالل و ۱۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی خوب مخلوط و به مدت ۵ دقیقه در بن‌ماری ۲۵ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت، میزان تغییرات جذب در طول موج ۴۲۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت شد. فعالیت آنزیم کاتالاز نیز با استفاده از روش چنس و مهلی (۱) سنجیده شد. برای این منظور ۲/۵ میلی‌لیتر بافر تریس به همراه ۰/۳ میلی‌لیتر آب اکسیژنه در حمام یخ با ۶۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی مخلوط شد. میزان تغییرات جذب در طول موج ۲۴۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت شد. برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم پراکسیداز به روش کار و میشرا (۱۸)، ابتدا محلول‌های بافر تریس ۱ مولار، آب اکسیژنه ۵۰ میلی‌مولار، پیروگالل ۱۰۰ میلی‌مولار تهیه شد. از هر کدام از مواد ذکر شده، ۱۰ میلی‌لیتر برداشته و محلول حاصل به حجم ۱۰۰ میلی‌لیتر رسانده شد. در نهایت ۲/۵ میلی‌لیتر از محلول فوق با ۵۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی مخلوط و میزان تغییرات جذب در طول موج ۴۲۵ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شد.

در آزمایش دیگر اثر این هورمون بر کالوس‌زایی این گیاه از ریزنمونه‌های برگی آن بررسی 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 تستوسترون (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 تستوسترون در حضور ۱/۵ میلی‌گرم در لیتر NAA و ۳ میلی‌گرم در لیتر BAP بود. در آزمایش دوم، کالوس‌زایی این گیاه در محیط کشت MS حاوی غلظت‌های مختلف هورمون استروئیدی تستوسترون در حضور فقط ۳ میلی‌گرم در لیتر BAP بررسی شد و آزمایش سوم، شامل محیط کشت MS حاوی غلظت‌های مختلف هورمون استروئیدی تستوسترون بدون حضور NAA و BAP بود. مقادیر بهینه‌ی NAA و BAP بر اساس نتایج کوهی و همکاران (۱۹) انتخاب شدند. پنج هفته بعد از انتقال جداکشت‌ها، درصد کالوس‌زایی و وزن تر کالوس‌ها با استفاده از ترازوی دیجیتال ثبت گردید. این آزمایش‌ها در قالب طرح پایه کاملا تصادفی در سه تکرار انجام شد. 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 و نمودارها توسط نرم‌افزار Microsoft Office Excel رسم شدند.

نتایج و بحث

مطابق با جدول تجزیه واریانس (جدول ۱) اثر غلظت هورمون تستوسترون بر تمامی صفات مورد بررسی در گیاهچه‌های ۴۰ روزه بابونه در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. نتایج مقایسه میانگین نشان داد که هورمون

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from jcb.sanru.ac.ir at 8:54 +0330 on Monday December 17th 2018

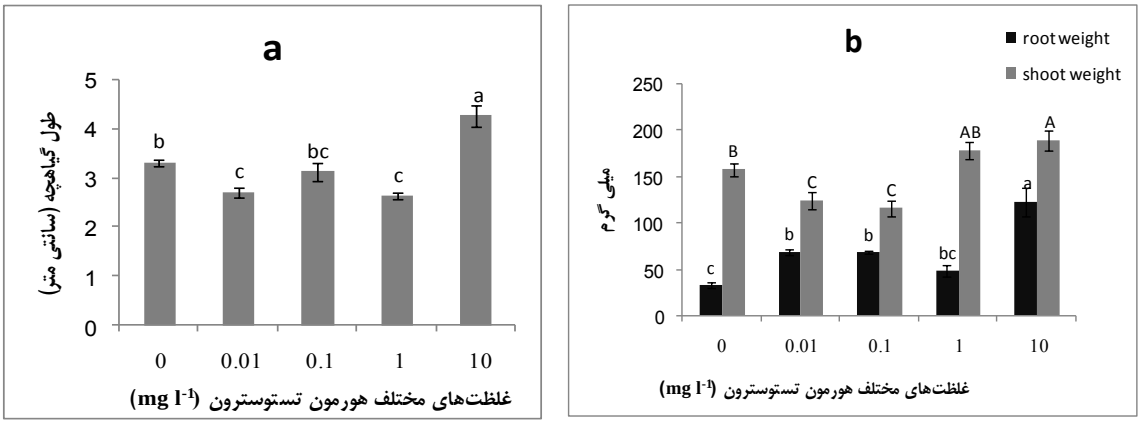
تستوسترون در افزایش طول گیاهچه، وزن تر ریشه و گیاهچه بابونه آلمانی موثر است. بیشترین طول گیاهچه در غلظت ۱۰ میلی‌گرم در لیتر و کمترین آن در غلظت ۱ و ۰/۰۱ میلی‌گرم در لیتر هورمون تستوسترون مشاهده شد. بیشترین وزن تر ریشه نیز در غلظت ۱۰ میلی‌گرم در لیتر و کمترین آن در غلظت ۱ میلی‌گرم در لیتر به دست آمد که اختلاف معنی‌داری با مقدار آن در غلظت ۱/ ۰و ۰/۰۱ میلی‌گرم در لیتر و نیز شاهد نداشت (شکل ۱a). همچنین بیشترین وزن گیاهچه در غلظت ۱ و ۱۰ میلی‌گرم در لیتر و کمترین آن در غلظت ۰/۱ و ۰/۰۱ میلی‌گرم در لیتر به دست آمد که تفاوت آن‌ها با تیمار شاهد معنی‌دار بود (شکل ۱b).

جدول ۱- تجزیه واریانس صفات گیاهچه‌ای و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان بابونه آلمانی تحت تاثیر غلظت‌های مختلف هورمون تستوسترون

Table1. Analysis of variance of seedling traits and antioxidant enazmys activities in German chamomile affected by different concentrations of testosterone hormone

منابع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات				
		طول گیاهچه	وزن تر گیاهچه	وزن تر ریشه	فعالیت آنزیم پراکسیداز	فعالیت آنزیم پلی‌فنل اکسیداز	فعالیت آنزیم کاتالاز
غلظت	۴	۱/۲۶	۳۱۳۰/۴	۳۵۰۵/۱۶	۲۸۸۹۷۴۳۱/۱	۳۹۹۰۸۰۸/۵۶	۲۵۶۱۰/۲۷
خطا	۱۰	۰/۰۶	۱۶۶/۷	۱۸۰/۲۶	۸۴۸۳۰۶/۵	۲۱۲۰۱۶/۴۹	۶۰۸/۱۳
درصد ضریب تغییرات		۷/۹	۸/۴۲	۱۹/۶۴	۹/۸۱	۱۲/۰۷	۱۱/۸۳

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



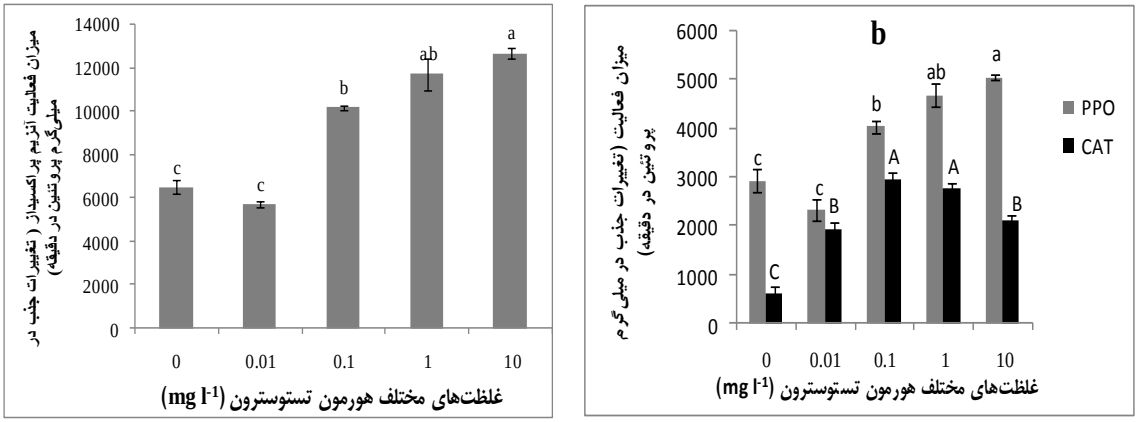
شکل ۱- تاثیر غلظت‌های مختلف هورمون تستوسترون بر طول گیاهچه (a)، وزن تر ریشه و گیاهچه (b) بابونه آلمانی. حروف غیرمشابه روی هر ستون نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد در آزمون توکی است.

Figure 1. Effect of different concentrations of testosterone hormone on seedling length (a), root and shoot fresh weight (b) of German chamomile. Means with different letters show significant differnecs by Tukey's test at 5% probability level

همچنین هورمون تستوسترون در غلظت‌های بالاتر موجب افزایش فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز و پلی‌فنل‌اکسیداز شد. حداکثر فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز و پلی‌فنل‌اکسیداز برحسب میزان جذب در میلی‌گرم پروتئین در دقیقه در غلظت ۱ و ۱۰ میلی‌گرم در لیتر آن و کمترین میزان فعالیت این آنزیم در غلظت ۰/۰۱ میلی‌گرم در لیتر بدست آمد (شکل a, ۱b). در مورد آنزیم کاتالاز بیشترین فعالیت این آنزیم در غلظت ۰/۱ و ۱ میلی‌گرم در لیتر و کمترین میزان فعالیت این آنزیم در غلظت ۰/۰۱ و ۱۰ میلی‌گرم در لیتر هورمون تستوسترون بدست آمد که اختلاف معنی‌داری با شاهد داشت (شکل ۲b).

www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۲- تاثیر غلظت‌های مختلف هورمون تستوسترون بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان پراکسیداز (a)، پلی‌فنل‌اکسیداز و کاتالاز (b) گیاهچه‌های بابونه آلمانی. حروف غیرمشابه روی هر ستون نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد در آزمون توکی است.

Figure 2. Effect of different concentrations of testosterone on antioxidant enazmys activities of peroxidase (a), poly phenol oxidase and catalase (b) of German chamomile seedlings. Means with different letters show significant differnecs by Tukey's test at 5% probability level

تاثیر هورمون تستوسترون بر القاء و رشد کالوس

علی‌رغم اینکه ریزنمونه‌های برگ کشت شده بعد از گذشت یک تا دو هفته در همه‌ی محیط‌ها به القای کالوس پاسخ دادند ولی رشد آن‌ها بسته به وجود فیتوهورمون‌ها و غلظت هورمون تستوسترون متفاوت بود. با توجه به جدول تجزیه واریانس (جدول ۲) اثر غلظت هورمون تستوسترون بر وزن تر کالوس ریزنمونه برگ در محیط MS حاوی NAA و BAP و فاقد آن‌ها در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. نتایج مقایسه میانگین نشان داد که بیشترین وزن تر کالوس ریزنمونه برگ تحت تاثیر هورمون تستوسترون در هر سه محیط مورد مطالعه در غلظت ۰/۰۱ میلی‌گرم در لیتر بدست آمد. به طوری که بیشترین وزن تر کالوس ریزنمونه برگ در محیط کشت MS حاوی NAA و BAP در غلظت ۰/۰۱ میلی‌گرم در لیتر هورمون تستوسترون، و کمترین مقدار آن در غلظت ۱ میلی‌گرم در لیتر آن مشاهده شد. بیشترین وزن تر کالوس ریزنمونه برگ در محیط MS حاوی فقط BAP نیز در غلظت ۰/۰۱ میلی‌گرم در لیتر هورمون تستوسترون و کمترین آن در غلظت ۰/۱ آن به دست آمد که اختلاف معنی‌داری با شاهد داشت (شکل ۳a). همچنین در محیط کشت MS فاقد NAA و BAP بیشترین مقدار وزن تر کالوس در غلظت ۰/۰۱ میلی‌گرم در لیتر آن و کمترین مقدار آن در غلظت ۱ میلی‌گرم در لیتر بدست آمد که اختلاف معنی‌داری با شاهد داشت (شکل ۳b).

جدول ۲- تجزیه واریانس وزن تر کالوس بابونه آلمانی تحت تاثیر غلظت‌های مختلف هورمون تستوسترون در محیط MS حاوی NAA و BAP و فاقد آنها

Table 2. Analysis of variance of callus fresh weight in German chamomile affected by different concentrations of testosterone hormone in MS medium alone or supplemented with NAA and BAP

منابع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات در محیط کشت		
		حاوی NAA و BAP	حاویBAP	فاقد فیتوهورمون
غلظت	۴	۱۰۷۷۴۳/۳	۳۱۲۶۰/۴	۲۶۵۰/۷۶
خطا	۱۰	۷۰۰	۹۰۹/۲	۶۵/۴۶
درصد ضریب تغییرات		۳/۹۷	۷/۶	۱۶/۴۶

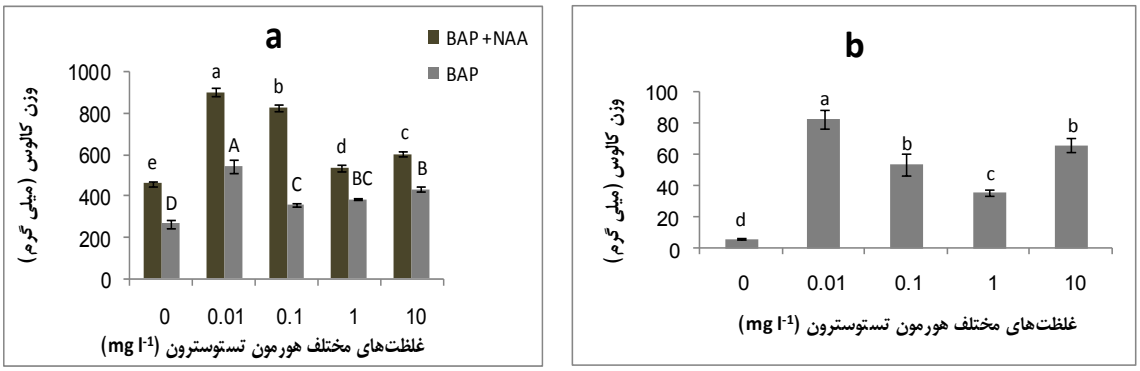
** و *: به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد

Downloaded from jcb.sanru.ac.ir at 8:54 +0330 on Monday December 17th 2018

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from jcb.sanru.ac.ir at 8:54 +0330 on Monday December 17th 2018



شکل ۳- تاثیر غلظت‌های مختلف هورمون تستوسترون بر وزن تر کالوس ریزنمونه برگ گیاه بابونه آلمانی در محیط MS حاوی NAA و BAP و محیط MS حاوی فقط BAP (a) و در محیط MS فاقد فیتوهورمون (b)

Figure 3. Effect of different concentrations of testosterone on callus fresh weight of German chamomile leaf explants in MS medium supplemented with NAA and BAP and MS medium supplemented with BAP only (a), and MS medium without NAA and BAP (b). Means with different letters show significant differnecs by Tukey's test at 5% probability level

نتایج بدست آمده از بررسی تاثیر هورمون جنسی تستوسترون بر رشد گیاهچه بابونه آلمانی نشان داد که این هورمون در غلظت‌های بالا (۱۰ میلی‌گرم در لیتر) موجب افزایش طول گیاهچه، وزن تر ریشه و گیاهچه می‌شود. گیاهان مجموعه‌ای از ساز و کارهای تنظیمی را برای سازگاری در برابر تنش‌های مختلف محیطی به کار می‌گیرند (۱۲). شرایط تنش‌زا موجب افزایش بیش از حد گونه‌های اکسیژن فعال (ROS) می‌شود که این ترکیبات می‌توانند به لیپیدهای غشا آسیب وارد کنند (۲۲). فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و ترکیبات با وزن مولکولی پایین این توانایی را دارد که بدون آن‌که خود مورد تغییر قرار گرفته و به مواد مخرب رادیکال تبدیل شود، ROS را مهار کند (۲۱). گیاهان برای مهار ROS دارای دو نوع ساز و کار آنتی‌اکسیدانی بوده که شامل سیستم آنتی‌اکسیدانی غیرآنزیمی و آنزیمی می‌باشد (۲۶). افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان (پراکسیداز، پلی‌فنل اکسیداز و کاتالاز) عمدتا با پاکسازی ROS و کاهش اثرات تخریبی تنش اکسیداتیو در ارتباط است (۲۷،۲۶). مطالعه بسیار کمی در مورد تاثیر هورمون استروئیدی تستوسترون بر گیاهان تحت شرایط درون شیشه‌ای وجود دارد (۱۷). نتایج این تحقیق نشان داد که این هورمون تاثیر مهمی بر روی فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان دارد به‌طوری‌که تحت تاثیر این هورمون فعالیت این آنزیم‌ها افزایش می‌یابد. بیشترین فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز و پلی‌فنل‌اکسیداز در غلظت ۱ و ۱۰ میلی‌گرم در لیتر و بیشترین فعالیت آنزیم کاتالاز در غلظت ۰/۱ و ۱ میلی‌گرم در لیتر به دست آمده است. بنابراین به نظر می‌رسد که کاربرد هورمون تستوسترون ممکن است به وسیله تنظیم فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان به پاکسازی ROS و کاهش اثرات تخریبی آن کمک کند. اردال و دوملوپینار (۹) و اردال (۵، ۶، ۷) نشان دادند که کاربرد هورمون جنسی آندروسترون در گیاهان مختلف موجب افزایش چشمگیر رشد و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان می‌شود. جنسیل و همکاران (۱۰) نیز اثر هورمون پروژسترون را بر فعالیت سیستم آنتی‌اکسیدان گیاهچه نخود تحت شرایط تنش سرما مورد مطالعه قرار دادند و نشان دادند که فعالیت ایزوفرم‌های مختلف آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان (سوپراکسید دیسموتاز، پراکسیداز و اسکوربات پراکسیداز) تحت شرایط تنش سرما به تنهایی و به همراه تیمار گیاهچه‌ها با پروژسترون تغییر می‌یابد. آن‌ها اعلام کرده‌اند که این ممکن است به علت تغییر در تولید ایزوفرم‌های جدید از آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان تحت شرایط تنش باشد که قبلا توسط ادوارد و همکاران (۳) و لی و لی (۲۰) گزارش شده بود. همچنین اردال و دیوملوپینار (۸) گزارش کردند که این هورمون موجب افزایش غلظت‌های کلسیم، منیزیم، فسفر، گوگرد، مس، منگنز، آلومینیوم، روی، آهن، پتاسیم و کلر در گیاه می‌شود. عناصر معدنی نقش مهمی را در تشکیل ترکیبات آلی دارند. بنابراین، می‌توان گفت که این هورمون با افزایش مواد آلی و عناصر معدنی و افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان شرایط را برای رشد گیاهان بهبود می‌بخشد. با توجه به اینکه افزایش رشد گیاهچه و آنزیم‌های آنتی اکسیدان در غلظت‌های بالا بدست آمده است به نظر می‌رسد این هورمون در غلظت‌های بالاتر با افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان موجب بهبود شرایط رشد گیاهچه شده و امکان مقاومت و خوگیری به شرایط محیطی را فراهم کرده است. جانکزو و همکاران (۱۷) نشان دادند که هورمون استروئیدی اندروستوندیون (پیش‌ساز تستوسترون) باعث افزایش فعالیت سیستم فتوسنتزی سویا تحت شرایط تنش خشکی می‌شود که احتمالا این افزایش به دلیل فعالیت ترکیبات آکوپورینی و افزایش پایداری غشاهای سیتوپلاسمی می‌باشد. ترکیبات آکوپورینی پروتئین‌های غشایی هستند که در پایداری غشاهای سلولی و حرکت آب در داخل سلول و فضاهای بین سلولی دخالت دارند (۴). همچنین بررسی تاثیر هورمون تستوسترون بر وزن تر کالوس ریزنمونه برگ بابونه آلمانی نشان داد که بیشترین وزن تر کالوس ریزنمونه برگ در غلظت‌های پایین ۰/۰۱ میلی‌گرم در لیتر آن به دست آمد که

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from jcb.sanru.ac.ir at 8:54 +0330 on Monday December 17th 2018

اختلاف آن با شاهد معنی‌دار بود. این امر بیانگر این است که می‌توان به کمک هورمون تستوسترون وزن تر کالوس را که به وسیله فیتوهورمون‌ها در حضور NAA و BAP به دست می‌آید (۱۹) را به طور چشمگیر افزایش داد. علاوه بر این، افزایش وزن تر کالوس در محیط فاقد اکسین (محیط حاوی فقط BAP) نیز بیانگر نقش موثر این هورمون در بهبود شرایط رشد کالوس در غیاب اکسین است. به نظر می‌رسد القاء و رشد کالوس ریزنمونه برگ در محیط کشت فاقد NAA به دلیل افزایش اکسین موجود در ریزنمونه، تحت تاثیر این هورمون استروئیدی باشد. علاوه بر این، کالوس‌زایی ریزنمونه برگ در محیط MS فاقد فیتوهورمون‌ها نیز نشان داد که این هورمون به تنهایی و در غیاب فیتوهورمون‌هایی مانند BAP و NAA می‌تواند کالوس‌زایی را در ریزنمونه برگ القاء کند هرچند میزان رشد کالوس در مقایسه با زمانی که این هورمون همراه با فیتوهورمون‌های BAP و NAA استفاده می‌شود کمتر است. جانکزکو و همکاران (۱۶) نیز نشان دادند که آندرواستروئید و آندروستنودیون به میزان یک میکرومولار در لیتر موجب القا و ازدیاد بافت‌های کالوس از اسکوتلوم جنین‌های نابالغ گندم (*Triticum aestivum* L.) می‌شود. نتایج بدست آمده از تحقیق حاضر نیز تاییدکننده‌ی نقش موثر هورمون تستوسترون در رشد و ازدیاد کالوس گیاه بابونه آلمانی است. القای کالوس‌زایی در واریته‌های مختلف گیاهان، تنوع زیادی نشان داده و بر اساس پژوهش‌های انجام شده، به نظر می‌رسد که غلظت‌های هورمونی مناسب برای القای کالوس، تا حد زیادی وابسته به ژنوتیپ هستند (۲۳).

در کل، اگرچه این تحقیق وجود اثرات موثر این هورمون را در بهبود صفات مورفولوژیکی، آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و القاء و رشد کالوس گیاه بابونه آلمانی نشان داد اما به دلیل وجود تنوع در غلظت بهینه که این هورمون در رشد گیاه بابونه آلمانی دارد نیازمند تحقیق و مطالعه بیشتر در گونه‌های دیگر گیاهی است.

منابع

1. Chance, B. and A.C. Maehly. 1955. Assay of catalases and peroxidases. Method Enzymology, 11: 764-755.
2. Dumlupinar, R., M. Genisel, S. Erdal, T. Korkut, M.S. Taspinar and M. Taskin. 2011. Effects of progesterone, b-estradiol and androsterone on the changes of inorganic element content in barley leaves. Biological Trace Element Research, 143:1740-1745.
3. Edwards, EA., C. Enard, GP. Creissen and P.M. Mullineaux. 1994. Synthesis and properties of glutathione reductase in stressed peas. Planta, 192:137–143.
4. Eisenbarth, D.A. and A.R. Weig. 2005. Dynamics of aquaporins and water relations during hypocotyl elongation in *Ricinus communis* L. seedlings, Journal of Experimental. Botany, 56: 1831–1842
5. Erdal, S. 2012. Alleviation of salt stress in wheat seedlings by mammalian sex hormones.Science of Food and Agriculture, 92:1411-1416.
6. Erdal, S. 2012. Androsterone-induced molecular and physiological changes in maize seedlings in response to chilling stress. Plant Physiology and Biochemistry, 57: 1-7
7. Erdal, S. 2012. 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.
8. Erdal, S. and R. Dumlupinar. 2011. Exogenously treated mammalian sex hormones affects inorganic constituents of plants. Biological Trace Element Research, 143: 500-50.
9. Erdal, S. and R. Dumlupinar. 2011. Mammalian sex hormones stimulate antioxidant system and enhance growth of chickpea plants. Acta Physiologiae Plantarum, 33: 1011-1017.
10. Genisel, M., H. Turk and S. Erdal. 2013. Exogenous progesterone application protects chickpea seedlings against chilling-induced oxidative stress. Acta Physiol Plantarum, 35(1): 241-251.`
11. Geuns, J.M.C. 1978 .Steroid hormones and plant growth and development, Phytochemistry, 17: 1-14.
12. Hung, Sh.H., Ch.W. Yu and Ch.H. Lin. 2005. Hydrogen peroxide functions as a steress signal in plants. Botanical Bulletin of Academia Sinica, 46: 1-10.
13. Iino, M., N. Nomura, Y. Tamaki, Y. Yamada, K. Yoneyama and Y. Takeuchi. 2007. Progesterone: its occurrence in plants and involvement in plant growth, Phytochemistry, 68: 1664-1673.
14. Janeczko, A. 2012. The presence and activity of progesterone in the plant kingdom. Steroids, 77: 169-173.
15. Janeczko, A. and A. Skoczowski. 2005. Mammalian sex hormones in plants. Folia Histochemistry and Cytochemistry, 43: 71-79.
16. Janeczko, A., W. Filek and A. Skoczowski. 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.
17. Janeczko, A., M. Kocurek and I. Marcińska. 2012. Mammalian androgen stimulates photosynthesis in drought-stressed soybean. Central European Journal of Biology, 7: 902-909.
18. Kar, M. and D. Mishra. 1976. Catalase, peroxidase, and polyphenol oxidase activities during rice leaf senescence. Plant Physiology, 57: 315-319.
19. Koohi, L., N. Zare, R. Asghari Zakaria and P. SheikhZadeh-Mosaddegh. 2014. Effect of plant growth regulators and different explants on tissue culture response and suspension cell cultures of German chamomilla (*Matricaria chamomilla* L.). Journal of Crop Ecophysiology, 8(2):203-214 (In Persian).
20. Lee, D.H. and C.B. Lee. 2000. Chilling stress-induced changes of antioxidant enzymes in the leaves of cucumber: in gel enzyme activity assays. Plant Science, 159: 75-85.

www.SID.ir

Archive of SID

21. Mittler, R., S. Vanderauwera, M. Gollery and F. Van Breusegem. 2004. Reactive oxygen gene network of plants. Trends in Plant Science, 9(10): 490-498.
22. Murashige, T. and F. Skoog. 1962. A revised method for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. Physiologia Plantarum, 15: 472-497.
23. Petronilho, S., M. Maraschin, M.A. Coimbra and S.M. Rocha. 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.
24. Simerský, R., O. Novak, D.A. Morris, V. Pouzar and M. Strnad. 2009. Identification and quantification of several mammalian steroid hormones in plants by UPLC-MS/MS. Journal of Plant Growth Regulation, 28: 125-136.
25. Simons, R.G. and D.L. Grinwich. 1989. Immunoreactive detection of four mammalian steroids in plants, Canadian Journal of Botany, 67: 288-96.
26. Singh Gill, S. and N. Tuteja. 2010. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. Plant Physiology and Biochemistery, 48: 909-930.
27. Smirnoff, N. 1993. The role of active oxygen in the response of plants to water deficit and desiccation. New Phytologist, 125: 27-58.
28. Sudhakar, S., Y. Li, M.S. Katz and N. Elango. 2001. Translational regulation is a control point in RUNX2/Cbfa1 gene expression. Biochemical and Biophysical Research Communications, 289: 616-622.

Downloaded from jcb.sanru.ac.ir at 8:54 +0330 on Monday December 17th 2018

www.SID.ir

Archive of SID

The Effect of Steroidal Testosterone Hormone on Seedling Growth, Antioxidant Enzymes Activity and Callus Induction in German Chamomile (*Matricaria chamomilla* L.)

Elnaz Nozari[1], Rasool Asghari-Zakaria[2], Sodabeh Jahanbakhsh[3] and Nasser Zare[3]

1 and 3- Graduted M.Sc. Student and Accosiate Professor, Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili
2- Professor, Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili, (Corresponding author: r-asghari@uma.ac.ir)
Received: January 30, 2017 Accepted: December 12, 2017

Abstract

In order to study the effects of steroidal testosterone hormone on seedling growth, antioxidant enzyme activity and also on callus induction from leaf explants of German Chamomile (*Matricaria chamomilla* L.) under *in vitro* culture, an experiment was conducted based on completely randomized design with three replications using MS medium containing different concentrations of testosterone (0, 0.01, 0.1, 1, and 10 mg l^{-1}) alone or in combination with a steady concentration of 1-naphthalene acetic acid (NAA) and Benzylaminopurine (BAP). The results showed that this hormone at concentration of 10 mg l^{-1} increased seedling length, seedling fresh weight, and root fresh weight. Peroxidase and polyphenol oxidase activities were increased at concentrations of 1 and 10 mg l^{-1} of this hormone. Also, catalase activity was increased at concentrations of 0.1 and 1 mg l^{-1}. Although the callus induction from leaf explants were observed after one to two weeks in all media, its growth depending on the presence of phytohormones and concentration of testosterone hormone were different. The most callus fresh weight of leaf explants alone and in combination with NAA and BAP was achieved at low concentration (0.01 mg l^{-1}) of testosterone hormone that was significantly different from the control. Results of this study showed that this hormone can play an important role in optimizing the growth of plants and improvement of callus growth.

Keywords: Callus induction, Catalase, Peroxidase, Polyphenol oxidase, Steroidal testosterone hormone

Downloaded from jcb.sanru.ac.ir at 8:54 +0330 on Monday December 17th 2018

www.SID.ir