مجله زیست فناوری گیاهان دارویی
سال چهارم، شماره اول، بهار و تابستان ۱۳۹۷

تأثیر ویتامین محیط کشت‌های مختلف و غلظت‌های مختلف بنزیل آمینوپیورین بر پرآوری درون شیشه‌ای نسترن وحشی (*Rosa canina* L.)

ندا غفاری طاری[۱]، روح‌انگیز نادری[۱]*و محمدرضا فتاحی‌مقدم[۱]

چکیده

نسترن وحشی (*Rosa canina* L.) یک گیاه دارویی است که میوه‌های آن خواص دارویی زیادی دارد که برای بسیاری از مردم به ویژه در ایران ناشناخته است. تکثیر درون شیشه‌ای نسترن وحشی نقش بسیار مهمی در تکثیر سریع گونه‌هایی با خصوصیات مطلوب و تولید گیاهان سالم و عاری از بیماری دارد. ویتامین‌های بکار برده شده در محیط کشت و نوع تنظیم کننده رشد گیاهی از مهمترین عوامل در ریزازدیادی گیاهان هستند. بنابراین، پژوهش حاضر به منظور بررسی تأثیر غلظت‌های مختلف بنزیل آمینو پیورین (BAP) و ویتامین‌های محیط کشت‌های مختلف (MS و LS) بر پرآوری ریزنمونه گره نسترن وحشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی انجام شد. نتایج این پژوهش نشان داد که بیشترین درصد پرآوری (۹۰%) و همچنین بیشترین تعداد نوساقه (۴/۵۷) در تیمار ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر BAP در ویتامین محیط کشت MS مشاهده شد، در حالی‌که بالاترین تعداد گره با میانگین ۴/۲۶ گره در تیمار ۱ میلی‌گرم درلیتر BAP در ویتامین محیط کشت MS بدست آمد. به عنوان یک نتیجه گیری کلی، نتایج این پژوهش نشان داد که ویتامین محیط کشت MS نسبت به محیط کشت LS تأثیر بهتری در پرآوری ریزنمونه گره نسترن وحشی دارد.

واژه‌های کلیدی: پرآوری، تنظیم کننده رشد گیاهی، محیط کشت، نسترن وحشی

[۱] گروه مهندسی علوم باغبانی و فضای سبز، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران. * نویسنده مسئول، ایمیل: rnaderi@ut.ac.ir

مقدمه

جنس *Rosa* متعلق به خانواده گل سرخیان و زیر خانواده Rosoideae دارای بیش از ۲۰۰ گونه و ۱۸۰۰۰ رقم، یکی از معروف‌ترین گیاهان زینتی است (Samiei et al., 2010). اکثر گونه‌های رز به صورت درختچه هستند و معمولاً در نواحی معتدل نیمکره شمالی پراکنده شده‌اند (Samiei et al., 2010).

نسترن وحشی با نام علمی *Rosa canina* L. از شاخه گیاهان گلدار، زیر شاخه نهاندانگان، رده دولپه‌ای‌ها، زیر رده Rosidea، راسته Rosalea، خانواده Rosaceae، زیر خانواده Rosoideae، جنس *Rosa* و گونه *Canina* می‌باشد. این گیاه به شکل درختچه‌ای راست یا افشان به ندرت پیچان یا بالارونده، به ارتفاع ۱-۴ متر است که دارای شاخچه‌های گلدار گاهی بدون خار با برگچه‌های ۵-۷ تایی به شکل بیضوی با راس نوک تیز می‌باشد و به ندرت معطر است (Malik et al., 2017). گلها صورتی تا سفید به صورت منفرد یا دیهیم در نوک شاخه‌ها دیده می‌شوند که پراکنش وسیعی داشته و در اکثر نقاط ایران یافت می‌شوند (Samiei et al., 2010).

Rosa canina L. دارای خواص دارویی فراوانی می‌باشد که از اهمیت زیادی در جهان برخوردار است. میوه *R. canina* منبع خوبی از ترکیبات ارزشمند مانند کاروتنوئید، پلی فنول، ویتامین C و آنتی اکسیدان است و عوامل محیطی از جمله نور، دما، بارندگی، طول روز، ویژگی‌های خاک و تغذیه بر میزان و کیفیت اسانس آن‌ها تأثیر می‌گذارد (Pahnekolayi et al., 2015). غلظت بالای ویتامین C میوه این گیاه (۳۰۰-۴۰۰ میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم) نسبت به سایر میوه گیاهان، نظر بسیاری از محققین را به خود جلب کرده است (Czyzowska et al., 2015). همچنین دارای مقدار قابل توجهی از ترکیبات فلاونوئید در میوه است که باعث افزایش فعالیت آنتی اکسیدانی می‌گردد. مشخص شده است که فلاونوئید موجود در گونه وحشی بومی ایران ۲۳/۶ میلی‌گرم اسید گالیک در هر گرم میوه آن می‌باشد (Montazeri et al., 2011). این گیاه به دلیل داشتن متابولیت‌های ثانویه در درمان آرتروز، رماتیسم، نقرس، تقویت سیستم دفاعی بدن، التهاب‌ها، اسهال و مهار سرطان کاربرد دارد (Czyzowska et al., 2015).

اگرچه روش‌های تکثیر سنتی نسترن وحشی همچون بذر، قلمه و خوابانیدن توسط بسیاری از پرورش‌دهندگان مورد استفاده قرار می‌گیرد، اما این روش‌ها زمان‌بر بوده و با مشکلات زیادی همراه است. روش‌های کشت بافت، به عنوان جایگزینی برای تکثیر سنتی گیاهان بوده و به صورت تجاری برای گیاهان با ارزش مورد استفاده قرار می‌گیرد (Pahnekolayi et al., 2015; Shirdel et al., 2017; Moallem et al., 2012).

چندین عامل در تکثیر درون شیشه‌ای گیاهان موثر هستند. از مهمترین عوامل می‌توان به محیط کشت پایه، ویتامین‌ها و نمک‌های بکار برده شده در محیط کشت، تنظیم کننده‌های رشد گیاهی، نوع ریزنمونه، فصل نمونه گیری اشاره کرد (Hesami and Daneshvar, 2018; Pahnekolayi et al., 2015; Shirdel et al., 2017). بنابراین پژوهش حاضر به منظور بررسی تأثیر غلظت‌های مختلف بنزیل آمینو پیورین (BAP) و ویتامین‌های محیط کشت‌های مختلف (MS و LS) بر پرآوری ریزنمونه گره نسترن وحشی انجام شد.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در آزمایشگاه کشت بافت گروه علوم و مهندسی باغبانی دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی تهران انجام گردید.

ریزنمونه‌های گره برای کشت در شرایط درون شیشه‌ای از گلدان مورد نظر تهیه شد. گیاهان در گلدان‌های جدا از هم قرار داشتند که هر هفته سه بار آبیاری و هر دو ماه یک‌بار تغذیه می‌شدند. هرس گیاهان در اواخر فصل زمستان انجام گرفت. ارتفاع گیاهان موجود در حدود یک متر بوده و هر گیاه دارای ۵ تا ۸ شاخه بود. هر شاخه حداقل ۱۰ تا ۱۵ جوانه جانبی را شامل می‌شد. در ابتدا برای از بین بردن آلودگی‌های سطحی، ریزنمونه‌ها به

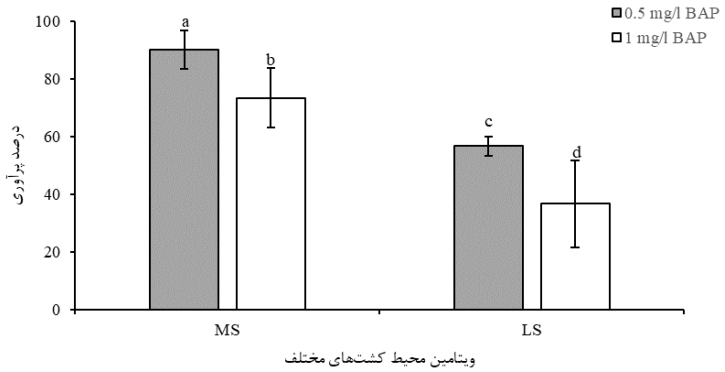
مدت ۳۰ دقیقه زیر آب جاری قرار داده شدند. سپس در اتاق کشت و زیر دستگاه لامینار ایر فلو ریزنمونه‌ها به مدت ۲۰ ثانیه در الکل اتیلیک ۷۰% و سپس به مدت ۵ دقیقه در محلول هیپوکلریت سدیم ۵% قرار داده شدند. سپس ریزنمونه‌ها ۳ مرتبه و هر بار به مدت ۵-۳ دقیقه در آب مقطر استریل شست و شو داده شدند و آماده کشت گردیدند.

به منظور بررسی تأثیر ویتامین محیط کشت‌های مختلف (MS و LS) و غلظت‌های مختلف BAP (۰/۵ و ۱/۰ میلی‌گرم در لیتر) بر پرآوری آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی و با ۳ تکرار (هر تکرار ۱۰ ریزنمونه) انجام گرفت. پس از گذشت ۴۵ روز از تاریخ کشت، فاکتورهای درصد پرآوری، تعداد نوساقه‌ها و تعداد گره مورد ارزیابی قرار گرفت. در محیط کشت‌های یاد شده ۳۰ گرم در لیتر ساکارز به عنوان منبع کربوهیدرات و ۷ گرم در لیتر آگار برای جامد کردن محیط کشت به کار برده شد. قبل از افزودن آگار pH محیط کشت برابر با ۵/۷ با استفاده از pH متر تنظیم گردید. شیشه‌های حاوی محیط کشت با استفاده از اتوکلاو تمام اتوماتیک برقی در دمای ۱۲۱/۵ درجه سانتی‌گراد و فشار ۱/۵ اتمسفر به مدت ۲۰ دقیقه، گندزدایی شدند. پس از استقرار ریزنمونه‌ها در محیط کشت، ظروف کشت در اتاق رشد با دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی و شدت نور ۱۲۰۰-۱۰۰۰ لوکس قرار داده شدند. تجزیه و تحلیل آماری با استفاده از نرم افزار SAS و مقایسه میانگین داده‌ها با آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵% انجام شد و همچنین از نرم افزار اکسل جهت رسم نمودارها استفاده گردید.

نتایج و بحث

این آزمایش به منظور بررسی اثر ویتامین محیط کشت‌های مختلف (MS و LS) و غلظت‌های مختلف BAP (۰/۵ و ۱/۰ میلی‌گرم بر لیتر) بر درصد پرآوری، تعداد نوساقه‌ها و تعداد گره با استفاده از ریزنمونه گره انجام شد.

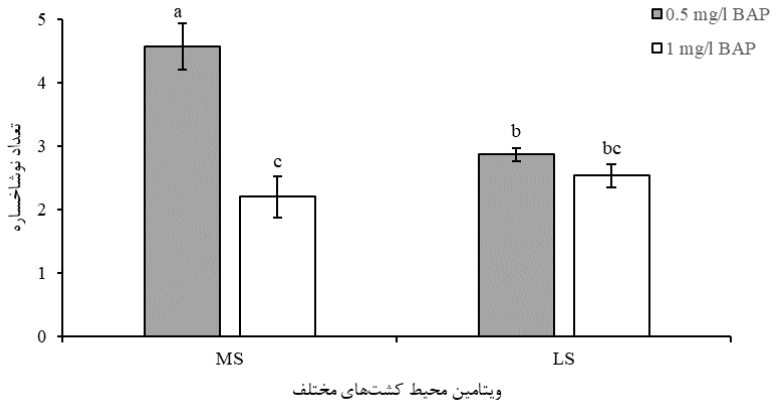
نتایج اثر برهمکنش ویتامین محیط کشت‌های مختلف و غلظت‌های مختلف BAP بر درصد پرآوری نشان داد (شکل ۱)، بالاترین درصد پرآوری با میانگین ۹۰ درصد در تیمار ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر BAP در ویتامین محیط کشت MS بدست آمد که با سایر تیمارها در سطح احتمال ۵% تفاوت معنی‌دار داشت. همچنین کمترین درصد پرآوری با میانگین ۳۶/۶۷ درصد در تیمار ۱ میلی‌گرم در لیتر BAP در ویتامین محیط کشت MS مشاهده شد.



شکل ۱- اثر برهمکنش ویتامین محیط کشت‌های مختلف و غلظت‌های مختلف BAP بر درصد پرآوری

* بر اساس آزمون مقایسه میانگین دانکن در سطح احتمال ۵% ستون‌هایی که حروف متفاوت دارند از لحاظ آماری معنی‌دار می‌باشند و ستون‌های دارای حروف مشابه معنی‌دار نمی‌باشند.

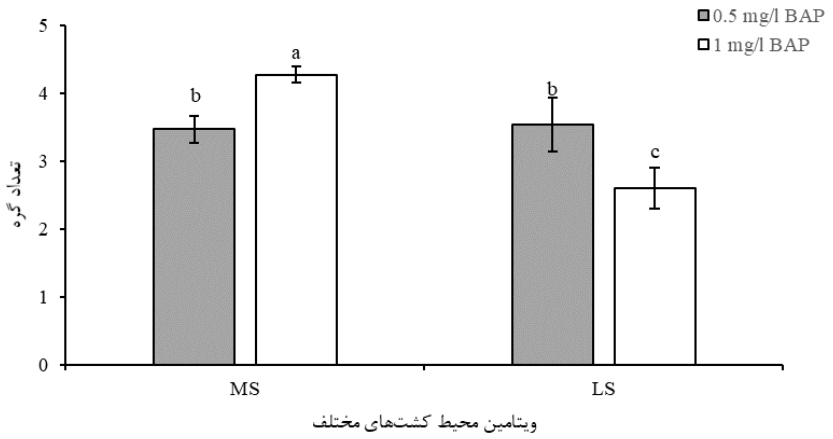
نتایج اثر برهمکنش ویتامین محیط کشت‌های مختلف و غلظت‌های مختلف BAP بر تعداد شاخساره نشان داد (شکل ۲)، بالاترین تعداد شاخساره با میانگین ۴/۵۷ شاخساره در تیمار ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر BAP در ویتامین محیط کشت MS بدست آمد که با سایر تیمارها در سطح احتمال ۵% تفاوت معنی‌دار داشت. همچنین کمترین تعداد شاخساره با میانگین ۲/۲ شاخساره در تیمار ۱ میلی‌گرم در لیتر BAP در ویتامین محیط کشت MS مشاهده شد.



شکل ۲- اثر برهمکنش ویتامین محیط کشت‌های مختلف و غلظت‌های مختلف BAP بر تعداد شاخساره

* بر اساس آزمون مقایسه میانگین دانکن در سطح احتمال ۵% ستون‌هایی که حروف متفاوت دارند از لحاظ آماری معنی‌دار می‌باشند و ستون‌های دارای حروف مشابه معنی‌دار نمی‌باشند.

نتایج اثر برهمکنش ویتامین محیط کشت‌های مختلف و غلظت‌های مختلف BAP بر تعداد گره نشان داد (شکل ۳)، بالاترین تعداد گره با میانگین ۴/۲۶ گره در تیمار ۱ میلی‌گرم درلیتر BAP در ویتامین محیط کشت MS بدست آمد که با سایر تیمارها در سطح احتمال ۵% تفاوت معنی‌دار داشت. همچنین کمترین تعداد گره با میانگین ۲/۶ گره در تیمار ۱ میلی‌گرم در لیتر BAP در ویتامین محیط کشت LS مشاهده شد.



شکل ۳- اثر برهمکنش ویتامین محیط کشت‌های مختلف و غلظت‌های مختلف BAP بر تعداد گره

* بر اساس آزمون مقایسه میانگین دانکن در سطح احتمال ۵% ستون‌هایی که حروف متفاوت دارند از لحاظ آماری معنی‌دار می‌باشند و ستون‌های دارای حروف مشابه معنی‌دار نمی‌باشند.

ترکیب محیط کشت (نمک‌ها و ویتامین‌ها)، تنظیم کننده‌های رشد گیاهی، نوع ریزنمونه و شرایط گیاه مادری از مهمترین عوامل در ریزازدیادی گیاهان هستند (Hesami and Daneshvar, 2018; Arab et al., 2014). پژوهش‌های مختلف بر ریزازدیادی نسترن وحشی نشان داده‌اند که ریزنمونه گره پتانسیل بسیار بالایی در ریزازدیادی این گیاه دارد (Pahnekolayi et al., 2015; Shirdel et al., 2017; Moallem et al., 2012).

مطالعات قبلی بر ریزازدیادی نسترن وحشی نشان داده‌اند که BAP به عنوان بهترین سایتوکینین در ریزازدیادی این گیاه می‌تواند مورد استفاده قرار گیرد (Pahnekolayi et al., 2014; shirdel et al., 2013). نتایج این پژوهش نشان داد که بیشترین درصد پرآوری و تعداد شاخساره در محیط کشت MS حاوی ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر BAP بدست آمد، در حالی‌که Pahnekolayi و همکاران (۲۰۱۴) گزارش دادند که بهترین غلظت BAP برای پرآوری ریزنمونه جوانه انتهایی نسترن وحشی، ۲ میلی‌گرم در لیتر در محیط کشت VS است. از طرفی shirdel و همکاران (۲۰۱۳) گزارش دادند که بیشترین تعداد شاخساره از ریزنمونه گره نسترن وحشی در محیط کشت MS حاوی ۶ میلی‌گرم در لیتر BAP بدست آمد. اختلاف در نتایج بدست آمده در پژوهش‌های مختلف ممکن است به دلیل تفاوت در شرایط گیاه مادری، نوع ریزنمونه و یا محیط کشت بکار برده شده باشد. پژوهش‌ها بر سایر گیاهان نشان داده است که شرایط گیاه مادری و تعادل هورمون‌های داخلی در ریزازدیادی و توسعه دستورالعمل‌های ریزازدیادی نقش بسزایی دارد (Hesami and Daneshvar, 2018; Arab et al., 2014).

پژوهش‌های مختلف بر ریزازدیادی نسترن وحشی نشان داده‌اند که محیط کشت MS پتانسیل بسیار بالایی در ریزازدیادی این گیاه دارد (Pahnekolayi et al., 2015; Shirdel et al., 2017; Moallem et al., 2012). نتایج این پژوهش نیز نشان داد که کاربرد ویتامین‌های محیط کشت MS تأثیر بیشتری در پرآوری ریزنمونه گره نسترن وحشی نسبت به ویتامین محیط کشت LS دارد.

منابع

Arab, M.M., Yadollahi, A., Shojaeiyan, A., Shokri, S. and Ghojah, S.M. (2014). Effects of nutrient media, different cytokinin types and their concentrations on in vitro multiplication of G× N15 (hybrid of almond× peach) vegetative rootstock. Journal of Genetic Engineering and Biotechnology, 12(2), 81-87.

Czyzowska, A., Klewicka, E., Pogorzelski, E. and Nowak, A. (2015). Polyphenols, vitamin C and antioxidant activity in wines from *Rosa canina* L. and *Rosa rugosa* Thunb. Journal of Food Composition and Analysis, 39, 62-68.

Hesami, M. and Daneshvar, M.H. (2018). In vitro adventitious shoot regeneration through direct and indirect organogenesis from seedling-derived hypocotyl segments of *Ficus religiosa* L.: An important medicinal plant. HortScience, 53(1), 55-61.

Malik, M., Warchoł, M. and Pawłowska, B. (2017). Liquid culture systems affect morphological and biochemical parameters during rosa canina plantlets in vitro production. Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca, 46(1), 58-64.

Moallem, S., Behbahani, M., Mousavi, E. and Karimi, N. (2012). Direct regeneration of *Rosa canina* through tissue culture. Trakia Journal of Sciences, 10, 23-25.

Montazeri, N., Baher, E., Mirzajani, F., Barami, Z. and Yousefian, S. (2011). Phytochemical contents and biological activities of *Rosa canina* fruit from Iran. Journal of Medicinal Plants Research, 5(18), 4584-4589.

Pahnekolayi, M.D., Samiei, L., Tehranifar, A. and Shoor, M. (2015). The effect of medium and plant growth regulators on micropropagation of Dog rose (*Rosa canina* L.). Journal of Plant Molecular Breeding, 4(1), 61-71.

Pahnekolayi, M.D., Tehranifar, A., Samiei, L. and Shoor, M. (2014). Micropropagation of Rosa canina through axillary shoot proliferation. Journal of Ornamental and Horticultural Plants, 4(1), 45-51.

Samiei, L., Naderi, R., Khalighi, A., Shahnejat-Bushehri, A.A., Mozaffarian, V., Esselink, G.D., Osaloo, K. and Smulders, M.J. (2010). Genetic

Shirdel, M., Motallebi-Azar, A.R., Matloobi, M., Mokhtarzadeh, S. and Ozdemir, F.A. (2017). In vitro establishment procedures of Dog Rose (*Rosa canina*). Journal of Applied Biological Sciences, 11(2), 6-9.

diversity and genetic similarities between Iranian rose species. The Journal of Horticultural Science and Biotechnology, 85(3), 231-237.

Shirdel, M., Motallebiazar, A., Matloobi, M. and Zaare, N.F. (2013). Effects of nodal position and growth regulators on in vitro growth of dog rose (*Rosa canina*). Journal of Ornamental and Horticultural plants, 3 (1), 9-17.

Journal of Medicinal Plants Biotechnology
Vol 4, No 1, Spring & Summer 2018

Effects of different media vitamins and various concentrations of 6-Benzylaminopurine on *in vitro* proliferation of *Rosa canina*

Neda Ghafari Tari[1], Roohangiz Naderi[1*] and Mohammadreza Fattahi Moghadam[1]

Abstract

Dog rose (*Rosa canina* L.) is a medicinal plant. The fruits of this plant have many medicinal properties that are unknown to many people, especially in Iran. *In vitro* propagation of rose has a very important role in rapid multiplication of species with desirable traits and production of healthy and disease-free plants. Vitamins of media and plant growth regulators are one of the most important factors in the plant micro-propagation. The aim of this study was to investigate the effects of various concentrations of 6-Benzylaminopurine (BAP) and vitamins of media (MS and LS) on the proliferation of nodal segments of *Rosa canina*. This experiment was performed as completely randomized design (CRD) with factorial arrangement. The results of this study showed that the highest percentage of proliferation (90%) and number of shoots (4.7) were observed in 0.5 mg/l BAP in MS medium vitamins. While the highest number of nodes (4.24) was obtained in 1 mg/l BAP in MS medium vitamins. As a general conclusion, the results of this study showed that MS medium vitamins have a better effect on proliferation of nodal segments of *Rosa canina* than LS medium vitamins.

Keywords: Proliferation; Plant growth regulators; Medium, Dog rose

[1] Department of Horticultural Sciences, University of Tehran, Karaj, Iran. *Corresponding author, Email: rnaderi@ut.ac.ir