مقاله پژوهشی، صفحات: ۳۰۶-۲۹۰

تاثیر زغال فعال و تنظیم کننده‌های رشد بر ریزازدیادی و متابولیت‌های ثانویه گیاه دارویی گوجی‌بری قرمز (*Lycium barbarum* L.)

مطهره امیدی پور و فاطمه جمال امیدی*

ایران، رشت، دانشگاه گیلان، دانشکده علوم پایه، گروه زیست شناسی

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۶/۱۸ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۹/۲۳

چکیده

گوجی‌بری قرمز یکی از مهم‌ترین گیاهان دارویی بشمار می‌رود و به دلیل اثرات درمانی بالا، به عنوان غذای فوق‌العاده (Super food) و یا میوه فوق العاده (Super fruit) نامیده شده است. با توجه به اهمیت دارویی و خوراکی این گونه، تکثیر آن از طریق کشت بافت با هزینه کم در سطح زیاد ضروری بنظر می‌رسد. بدین منظور آزمایشی در قالب طرح کاملا تصادفی با سه تکرار اجرا شد. ابتدا بذور ضدعفونی و در محیط MS ۱/۲ کاشته شدند، سپس به محیط کشت MS کامل، حاوی غلظت‌های مختلف هورمون جهت شاخه‌زایی ((۲،۳، ۰) BA، (۰، ۰/۵) IBA) میلی‌گرم در لیتر و جهت کالوس‌زایی با نسبت‌های هورمونی ((۰/۵، ۰) BA ، (۲، ۰) 2,4.D) میلی‌گرم در لیتر بصورت منفرد و ترکیبی انتقال داده شد. هر یک از شاخساره‌های تولید شده به محیط هورمون‌دار ((0،2) BA، (۰، ۰/۵) NAA) همراه و بدون زغال فعال جهت بررسی قدرت ریشه‌زایی انتقال داده شد. براساس نتایج به دست آمده، محیط کشت هورمون‌دار (BAP:IBA) با نسبت (۰/۵:۳) بالاترین میانگین تعداد شاخه با میانگین ۲/۹۹ را دارد. استفاده از زغال فعال در نسبت هورمونی (۰/۵:۰) در عدم وجود هورمون BA، باعث تحریک بالقوه در رشد ریشه شده است. بررسی متابولیت‌های ثانویه فنل و فلاونوئید و فلاوون نشان دادکه ریزنمونه‌های ریشه، ساقه، برگ و کالوس در نسبت‌های مختلف تنظیم کننده‌های رشد پاسخ‌های متفاوتی دارند.

واژه های کلیدی: گوجی‌بری قرمز،کالوس‌زایی، ریشه‌زایی، زغال فعال، متابولیت ثانویه

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۹۱۱۱۴۴۹۵۴۴ ، پست الکترونیکی: fjamalomidi@guilan.ac.ir

مقدمه

گوجی‌بری (Goji berry) یا ولف‌بری (Wolfberry) گیاهی از جنس *Lycium* متعلق به خانواده سیب‌زمینی یا سولاناسه (Solanaceae) است (۷) که از گونه‌های مهم آن می‌توان به *Lycium barbarum* L. و *Lycium chinense* Mill. و *Lycium ruthenicum* Murr. اشاره کرد. گونه *Lycium barbarum* L. که بنام گوجی‌بری قرمز شناخته می‌شود (۳۱) به اشکال مختلف (مانند نوشیدنی، سوپ، کپسول، عصاره و ...) در سراسر جهان به عنوان یکی از غذاهای محبوب مورد استفاده قرار می گیرد؛ به طوریکه این میوه به دلیل داشتن ترکیبات بالقوه برای ارتقاء سلامتی، به‌عنوان یک "سوپر میوه" در اروپا و آمریکای شمالی محبوبیت روزافزونی یافته است (۶۶). با توجه به اهمیت گیاه گوجی‌بری، سریع‌ترین راه برای دستیابی به گیاه گوجی‌بری و استفاده از متابولیت‌های ثانویه آن، کشت بافت گیاهی است. ریزنمونه‌های گوجی‌بری در محیط کشت بافت گیاهی حاوی تنظیم کننده‌های مناسب رشد و با بدست آوردن روش کار مناسب، توانایی تبدیل شدن به شاخساره و کالوس را دارند؛ ظرفیت باززایی گیاه و ایجاد کالوس به ژنوتیپ گیاه و تنظیم‌کننده‌های رشد و سایر مواد آلی بستگی دارد

Proof Article

مقاله پژوهشی، صفحات: ۳۰۶-۲۹۰

(۲۴). با تغییر محیط کشت، ترکیب تنظیم کننده‌های رشد، (۲۴، ۱۲)، اشعه UV، کم آبی و پاتوژن‌های زیستی، انواع متابولیت‌های ثانویه را در ریزنمونه‌ها می توان افزایش داد (۲۲،۲۶) ترکیبات فنولیک، که به عنوان یکی از مهم‌ترین ترکیبات زیستی در میوه‌ها و سبزیجات یافت می‌شود و همچنین اسید اسکوربیک یا ویتامین C که به عنوان یکی از مهم‌ترین گروه ترکیبات آنتی‌اکسیدانی شناخته می‌شود، به فراوانی در این میوه وجود دارند. بدلیل وجود موادمغذی و دارویی خاص در این گیاه، کشت گوجی‌بری رو به فزونی دارد (۱۴، ۲۸، ۲۹). مواد معدنی مختلفی مانند سدیم، کلسیم، پتاسیم و آهن و همچنین پلی ساکاریدها، در گوجی‌بری‌ها به فراوانی یافت می‌شوند (۱۹،۳۲،۵۴،۶۵،۶۷). مطالعات اخیر نشان می‌دهد که عصاره‌های گوجی‌بری دارای طیف وسیعی از فعالیت‌های بیولوژیکی از جمله آنتی‌اکسیدان (۸،۳۹،۶۱) ضد پیری و ضد دیابت (۲۱) و بهبود نورولوژیک/ عملکرد روانشناختی و عملکردهای دستگاه گوارش (۸) هستند. طی پژوهشی Fira و همکاران در سال ۲۰۱۶ باززایی از طریق برگ گوجی‌بری را بصورت موفقیت‌آمیز گزارش نمودند. همچنین Maseda و همکاران پژوهشی که در سال ۲۰۰۴ انجام دادند، باززایی از طریق شاخه را بسیار پایین اعلام کردند. Carman (1990) نیز باززایی از طریق جنین زایی سوماتیک را پیشنهاد داده است. در این میان بسیاری از محققین، همزمان با باززایی، افزایش متابولیت‌های ثانویه را مورد بررسی قرار دادند (۲۸) بررسی‌ها در گیاه *Hypericum triquetrifolium* نشان داد که با بکارگیری مناسب از تنظیم کننده‌های رشد(IAA:BA) در محیط کشت کالوس، می‌توان متابولیت‌های ثانویه آن را افزایش داد (۹). استفاده از زغال فعال، جهت رشد مطلوب ریشه در بسیاری از منابع پیشنهاد شده است. زغال فعال ماده‌ای بی مزه، نافذ و دارای سیستم بسیار مناسبی از منافذ با سطح داخلی زیاد است که باعث از بین بردن تمام ناخالصی‌های غیر کربن می‌شود. در ریزازدیادی خرما غلظت g/l ۱/۵ زغال فعال به صورت قابل توجهی از قهوه‌ای شدن ریزنمونه‌ها جلوگیری کرده و سبب افزایش رشد آن‌ها گردید (۱۲). در ریشه‌های تراریخت شیرین بیان (*Glycyrrhiza glabra*) تأثیر مثبت زغال فعال ۱٪ در محیط کشت MS مایع را گزارش کردند. زغال فعال، برای جذب ترکیبات فنولی و جلوگیری از قهوه‌ای شدن ریزنمونه‌ها و محیط کشت کاربرد دارد (۶۳). عوامل متعددی بر ظرفیت جذب زغال فعال مانند چگالی، خلوص تاثیر می‌گذارد (۲۳)، از طرفی رشد ریشه در ریزنمونه‌ها از جمله مشکلاتی است که بکارگیری زغال فعال سبب رفع آن شده و با ایجاد محیط تاریک، بستر مناسبی برای رشد ریشه بوجود می‌آورد.

با توجه به اهمیت گوجی‌بری از نظر ارزش غذایی و دارویی، این پژوهش با هدف دستیابی به روشی بهینه برای رشد درون شیشه‌ای گیاه دارویی گوجی‌بری قرمز از ریزنمونه‌ها، ایجاد شاخساره و بکارگیری زغال فعال برای افزایش ریشه‌زایی ریزنمونه برنامه‌ریزی شده است و همچنین اثرات تنظیم کننده‌های رشد را بر روی انواع متابولیت‌های ثانویه مورد بررسی قرار می‌دهد.

مواد و روشها

بررسی جوانه زنی بذر گیاه گوجی‌بری

بذر گیاه گوجی بری پس از تهیه از مرکز پاکان بذر اصفهان و شست‌وشوی سطحی جهت ضد عفونی آماده شد. بدین صورت ابتدا بذور به مدت ۵ دقیقه با آب مقطر (طی دو شست‌وشو) در زیر هود لامینار شست‌وشو شد. پس از آن، بذرها به مدت ۶۰ ثانیه با اتانول ۷۰٪ ضدعفونی و در مرحله بعدی با آب مقطر استریل آبکشی شدند. بلافاصله پس از این مرحله، بذرها در محلول سفیدکننده ACE 20% (مخلوط هیپوکلریت سدیم ۵٪ ماده فعال و آب دیونیزه) به مدت ۷ دقیقه استریل شد. سپس با آب مقطر دیونیزه (۵ شست‌وشو) آبکشی شد. پس از ضدعفونی، بذور در محیط کشت MS ۱/۲ (۴۰) کشت شدند. محیط

Preproof Article

مقاله پژوهشی، صفحات: ۳۰۶-۲۹۰

با ۵/۵ گرم آگار برای رطوبت بیشتر و ۳۰ گرم ساکارز به عنوان منبع کربن ساخته شد. pH محیط قبل از افزودن عامل ژله‌کننده به ۵/۷ تنظیم و به مدت ۲۰ دقیقه اتوکلاو شد. سپس در هر پلیت شیشه‌ای که حاوی ۲۰ میلی‌لیتر محیط کشت بود، به تعداد ۲۰ بذر کاشته شد. بذور به مدت ۱۵ روز در شرایط تاریکی نگهداری شدند. نخستین شمارش بذرهای جوانه زده، ۶ روز بعد از آغاز آزمایش و آخرین شمارش در روز دهم انجام شد. سرعت و درصد جوانه‌زنی بذرها با استفاده از فرمول‌های زیر محاسبه شد.

۱) سرعت جوانه زنی: (تعداد بذر جوانه زده در روز دوم/۲) + (تعداد بذر جوانه زده در روز n/ام n)

۲) درصد جوانه زنی: (تعداد بذر جوانه زده/ تعداد کل بذر آزمایش شده در هر تیمار) × ۱۰۰

واکشت نمودن ریزنمونه

به منظور یکنواخت‌کردن کشت‌ها، بهترین گیاهچه‌های حاصل از بذر، انتخاب و واکشت بر روی آن‌ها انجام گرفت. پس از بدست آوردن تعداد کافی ریزنمونه در محیط MS کامل، مراحل بعدی ریزازدیادی شروع شد.

بررسی شاخه‌زایی و ایجاد کالوس در ریزنمونه گوجی‌بری

به منظور بررسی اثر سطوح مختلف هورمون‌های سیتوکینین و اکسین، شاخه‌های تشکیل‌شده در مرحله قبل به قطعاتی دارای ۲ گره برش داده شدند و سپس به محیط کشت MS کامل، با غلظت‌های مختلف هورمون جهت شاخه‌زایی (۳، ۲، ۰) BA، (۰، ۰/۵)IBA میلی‌گرم در لیتر و دو میان‌گره جهت کالوس‌زایی با نسبت‌های هورمونی (۰/۵، ۰) BA، ، (۰، ۲) 2, 4 -D میلی‌گرم در لیتر بصورت منفرد و ترکیبی انتقال داده شد.

بررسی شاخه‌زایی و ریشه‌زایی ریزنمونه گوجی‌بری

به‌منظور بررسی اثر زغال فعال بر روی ریشه‌زایی ریزنمونه‌های ایجاد شده، هر یک از شاخساره‌های تولید شده در محیط هورموندار (۲،۳، ۰) BA، (۰،۰/۵) IBA به محیط هورموندار (۰،۲) BA، (۰،۰/۵) NAA همراه و بدون زغال فعال انتقال داده شد. در هر تکرار ۳ نمونه کاشت و بررسی شد. کشت‌های درون شیشه‌ای در اتاق رشد در ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی و شدت نور 1500 LUX، دمای ۲۴±۳ درجه سانتی‌گراد و رطوبت ۵۰±۲٪ قرار داده شد. ۳۰ روز پس از کشت در محیط ریشه‌زا پارامترهای لازم در رابطه با وزن نمونه، طول نمونه، تعداد شاخه، طول ریشه، وزن ریشه، تعداد میان‌گره، وزن ساقه و وزن برگ ثبت شد و نیز متابولیت‌های ثانویه اندازه‌گیری شد.

سازگاری نمونه‌ها

تعدادی از ریزنمونه‌های ریشه‌دار شده، جهت سازگاری به خاک منتقل شد. بدین منظور ریزنمونه به آرامی با پنس خارج و آگار ریشه‌ها با آب شست‌وشو داده شد و به ظرف پلاستیکی حاوی خاک (پیت) با دمای ۲۶ درجه سانتی‌گراد و رطوبت ۶۰٪ منتقل شد و در هفته اول یک سوراخ کوچک روی ظرف ایجاد شد و پس از آن در طی ۳۰ روز ۷ سوراخ ایجاد و سپس درپوش پلاستیکی به صورت کامل برداشته شد. آبیاری نیز بصورت روزانه صورت پذیرفت.

اندازه‌گیری متابولیت‌های ثانویه (فنل، فلاونوئید، فلاونول)

استخراج عصاره گیاهی جهت سنجش، فنل، فلاونوئید و فلاونول

Preproof

مقاله پژوهشی، صفحات: ۳۰۶-۲۹۰

به منظور تهیه عصاره گیاهی برای سنجش متابولیت‌های ثانویه، مقدار ۰/۱ گرم از ریزنمونه را در ۲ میلی‌لیتر متانول ۸۰ درصد به مدت ۲ دقیقه ساییده و محلول به دست آمده با دور (g ۱۰۰۰۰) سانتریفوژ شد (۴۲).

تعیین محتوای فنل تام

جهت تعیین محتوای فنل تام از ریزنمونه‌های کالوس، از یک معرف به نام (Folin-Ciocalteu's phenol reagent) استفاده شد. بطور خلاصه، از هر تیمار هورمونی ۱۰۰ میکرولیتر عصاره متانولی برداشته و به آن ۲/۸ میلی لیتر آب دیونیزه، ۲ سی سی کربنات سدیم ۲ درصد و ۱۰۰ میکرولیتر معرف فولین اضافه گردید، محلول ۳۰ دقیقه در تاریکی نگه داشته شد. جذب ترکیبات واکنش در ۷۲۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد. منحنی استاندارد توسط غلظت‌های مختلفی از اسید گالیک در متانول تهیه و منحنی با نرم‌افزار Excel رسم شد (۲۵).

تعیین محتوای فلاونوئید کل

از هر نمونه مقدار ۵۰۰ میکرولیتر از عصاره متانولی برداشته شد و به آن ۲/۸ میلی‌لیتر آب دیونیزه، ۱۰۰ میکرولیتر کلرید آلومنیوم، ۱۰۰ میکرولیتر استات پتاسیم اضافه شد، پس از ورتکس ۴۰ دقیقه در تاریکی نگه داشته شد، سپس، جذب محلول در طول موج ۴۵۳ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد (۲۷).

تعیین محتوای فلاونول کل

میزان فلاونول کل به روش رنگ‌سنجی کلرید آلومینیوم و بر حسب استاندارد روتین اندازه‌گیری شد. به ۱ میلی‌لیتر از عصاره استخراج شده ۲ میلی‌لیتر محلول کلرید آلومینیوم ۲ ٪، ۶ میلی‌لیتر محلول استات سدیم و ۱ میلی‌لیتر محلول متانول۸۰ درصد اضافه شد و بعد از ۲/۵ ساعت در طول موج ۴۴۰ nm جذب محلول به وسیله دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد (۳۷).

تعیین فعالیت آنتی اکسیدانی

۹۵۰ میلی لیتر از محلول متانولی DPPH با غلظت۰/۱ میلی مولاربه ۵۰ میلی مولار از عصاره نمونه گیاهی افزوده و مخلوط حاصل به شدن هم زده شد. لوله های آزمایش به مدت ۳۰ دقیقه در محل تاریک قرار گفت. بعد از این مدت جذب در طول موج ۵۱۷ نانومتر خوانده شد. لازم به ذکر است در نمونه کنترلDPPH با ۹۵۰ میلی مولار متانول جایگزین شد. در نهایت درصد مهار رادیکال های DPPH توسط عصاره با این فرمول محاسبه شد (۶۴).

درصد مهار رادیکال آزاد = $(A_c-A_s)/A_c*100$

AC: کنترل AS: عصاره

مطالعه گیاه گوجی‌بری و بررسی تمام مراحل شاخه‌زایی و تولید کالوس و ایجاد ریشه، با استفاده از آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار پی‌ریزی شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم افزار SPSS 22 و آزمون دانکن، رسم نمودارها نیز با ۲۰۱۶ Excell انجام پذیرفت.

نتایج

نتایج جوانه زنی بذر

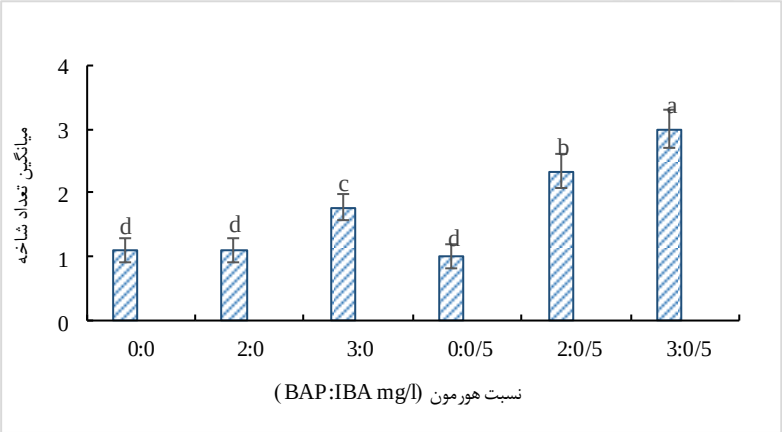
Preproof Article

مقاله پژوهشی، صفحات: ۳۰۶-۲۹۰

جوانه‌زنی بذرها در داخل پلیت‌ها بطور روزانه مورد بررسی قرار گرفتند. از روز دهم به بعد، با شمارش بذرها در چند روز متوالی، تغییری در جوانه‌زدن مشاهده نشد. براساس نتایج به دست آمده، ۸۷/۲ درصد بذور با سرعت ۵۷ طی ده روز بعد از کشت در محیط MS ۱/۲ با ۵/۵ گرم آگار در یک لیتر محیط کشت با pH ۵/۷ جوانه زدند. این درحالی است که طی تحقیقات پیشین، ۵۹/۵ درصد بذور طی ده روز بعد از کشت در محیط MS ۱/۲ با مقدار ۶ گرم آگار در یک لیتر و pH ۵/۸ جوانه زدند.

نتایج شاخه زایی

نتایج محیط کشت با ترکیب هورمونی IBA:BA با غلظت به نسبت ۰/۵:۳ جهت شاخه‌زایی، بالاترین میانگین تعداد شاخه را ۲/۹۹ نشان می‌دهد، که تعداد میانگره آن ۷/۲ عدد می‌باشد (نمودار۱ و جدول۱). محیط هورمونی ۲: ۰/۵ با میانگین تعداد شاخه ۲/۳۳ و میانگین تعداد میانگره ۶ می‌باشد و در محیط هورمونی۳:۰ با تعداد شاخه ۱/۷ میانگین تعداد میانگره ۳ عدد به دست آمد.



نمودار ۱- ساقه‌زایی نمونه‌های گوجی‌بری قرمز در محیط کشت حاوی غلظت‌های مختلف BAP:IBA را نشان می‌دهد. مقادیر، میانگین ۳ تکرار ±SE است. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار با استفاده از آزمون دانکن در سطح احتمال P ≤۰/۰۵ است.

جدول ۱- بررسی میانگین اثر ترکیب‌های مختلف هورمون‌های رشدی (IBA:BA) بر شاخه زایی گیاه گوجی‌بری

ترکیب هورمونی		تعداد شاخه نعداد میانگره	
IBA(mg/l)	BA(mg/l)		
۰	۰	۱.۱۱d	۲d
۰/۵	۰	۱.۱۱d	۳d
۰	۲	۱.۱۱d	۴.۲c
۰/۵	۲	۲.۳۳b	۶b
۰	۳	۱.۷c	۳d
۰/۵	۳	۲.۹a	۷.۲a

مقاله پژوهشی، صفحات: ۳۰۶-۲۹۰

همچنین وجود یا عدم تولید کالوس در محیط کشت 2.4-D:BA ثبت شد. نتایج حاصل از انتقال دو میان‌گره گوجی‌بری قرمز به محیط 2.4-D:BA که در محیط کشت با نسبت هورمونی (۲:۰) و (۲:۰/۵) کالوس رشد مناسبی نسبت به سایر غلظت‌ها نشان داد. در حالی‌که محیط کشت با نسبت هورمونی (۰:۰) و (۰:۰/۵) موجب رشد جانبی ساقه شد. عملکرد رویشی گیاه گوجی‌بری قرمز در محیط کشت هورمون‌دار 2,4-D: BA و در جدول ۲ نشان داده شده است.

جدول ۲- بررسی کالوس‌زایی ریزنمونه‌های گوجی‌بری در غلظت‌های هورمونی (۰/۵، ۰) BA، (۰،۲) 2, 4 -D

تنظیم کننده رشد 2,4-D:BA	کالوس دهی	شاخه زایی
D1B1		شاخه زایی
D2B1	کالوس زا	
D1B2		شاخه زایی
D2B2	کالوس زا	

شکل ۱- گیاه گوجی‌بری قرمز در محیط کشت هورمون‌دار A) کالوس‌دهی در محیط (2,4-D: BA) B,C) نمونه کشت شده با ۶ میان‌گره در محیط هورمون‌دار (BAP:IBA) D) انتخاب گیاهچه جهت قطع از یقه و انتقال به محیط کشت هورمون‌دار (NAA:BA).

نتایج شاخه‌زایی و ریشه‌زایی در دو محیط با زغال فعال و بدون زغال فعال

مقایسه داده‌ها در دو ترکیب هورمونی NAA: BA در دو محیط بدون زغال فعال و با زغال فعال در جدول ۳ به طور خلاصه نشان می‌دهد که تیمار هورمونی (۲، ۰/۵) و (۰،۲) NAA: BA همراه با زغال فعال و (۰،۰) و (۲، ۰/۵) NAA: BA بدون زغال فعال، بالاترین طول شاخه و تیمار هورمونی (۰،۲) و (۲، ۰/۵) NAA: BA بدون زغال فعال بیشترین تعداد شاخه را نشان داده است. تعداد میان‌گره‌ها در ترکیب هورمونی (۰، ۰/۵) همراه زغال فعال به طور قابل ملاحظه‌ای بالا بود.

نتایج حاصل از ریشه‌زایی در دو محیط با زغال فعال و فاقد زغال فعال با ترکیب هورمونی NAA: BA نشان داد که ترکیب هورمونی (۰، ۰/۵) NAA: BA در محیط دارای زغال فعال دارای بیشترین طول ریشه می باشد و کمترین طول ریشه در محیط بدون هورمون (MS) و(۲، ۰) ترکیب هورمونی NAA: BA و فاقد زغال فعال دیده شد (جدول ۳). عملکرد ریشه‌دهی و رشد بخش هوایی گیاه گوجی‌بری قرمز در محیط کشت هورمون‌دار (NAA:BA) همراه زغال فعال (محیط کشت تیره رنگ) و بدون زغال فعال در شکل ۲ و ۳ نشان داده شده است.

Preprint Article

مقاله پژوهشی، صفحات: ۳۰۶-۲۹۰

جدول ۳- بررسی میانگین اثر ترکیب‌های مختلف هورمون‌های رشدی (NAA:BA) بر صفات رویشی در گونهٔ گوجی‌بری قرمز در دو وضعیت با زغال فعال و بدون زغال فعال

ترکیب هورمونی		وزن نمونه (g)	طول شاخه (cm)	تعداد شاخه	طول ریشه (cm)	تعداد میانگره	وزن کالوس (g)	وزن ساقه (g)	وزن برگ (g)
BAP (mg/l)	NAA (mg/l)								
همراه زغال فعال									
۰	۰	۰/۲۲^{ab}	۱/۷۳^{c}	۱/۶۶^{c}	۲/۸^{b}	۳/۳۳^{c}	۰/۰۳^{a}	۰/۰۸^{a}	۰/۱۱^{b}
۲	۰	۰/۲۵^{a}	۲/۸۷^{a}	۱/۵^{c}	۲/۷۳^{b}	۶^{b}	۰/۰۲^{a}	۰/۱۲^{a}	۰/۱۱^{b}
۰	۰/۵	۰/۲۹^{a}	۲/۳۷^{ab}	۲/۸۳^{b}	۴/۸۳^{a}	۸/۵^{a}	۰/۰۶^{a}	۰/۱۱^{a}	۰/۱۳^{b}
۲	۰/۵	۰/۳۴^{a}	۲/۶۱^{a}	۲/۷^{b}	۲/۶۱^{b}	۴/۱۱^{bc}	۰/۰۷^{a}	۰/۰۹^{a}	۰/۱۸^{a}
بدون زغال فعال									
۰	۰	۰/۱۹^{b}	۲/۷۶^{a}	۲/۲۲^{bc}	۰/۳^{c}	۶/۳۳^{b}	۰/۰۵^{a}	۰/۰۷^{a}	۰/۰۷^{b}
۲	۰	۰/۳۷^{a}	۲/۵^{ab}	۳/۶^{a}	۰/۳۵^{c}	۶/۳^{b}	۰/۱^{a}	۰/۱۱^{a}	۰/۱۶^{a}
۰	۰/۵	۰/۳۲^{a}	۱/۲۳^{c}	۲/۶^{b}	۰/۶۶^{c}	۳^{c}	۰/۱۷^{a}	۰/۱۲^{a}	۰/۰۹^{b}
۲	۰/۵	۰/۴۱^{a}	۳/۱^{a}	۳/۶۶^{a}	۰/۷۴^{c}	۵/۳۳^{ab}	۰/۲۱^{a}	۰/۰۸^{a}	۰/۱۲^{b}

شکل ۲- عملکرد ریشه دهی و رشد بخش هوایی گیاه گوجی‌بری قرمز در محیط کشت هورموندار (B, A) محیط کشت هورموندار (NAA:BA) همراه زغال فعال (محیط کشت تیره رنگ) و بدون زغال فعال.

Pre Article

مقاله پژوهشی، صفحات: ۳۰۶-۲۹۰

شکل ۳- عملکرد ریشه‌دهی و رشد بخش هوایی گیاه گوجی‌بری قرمز در محیط کشت هورمون‌دار (NAA:BA). گیاه کشت شده در A) محیط هورمون‌دار (۰،۰) بدون زغال، B) محیط کشت هورمون‌دار (۰،۰) همراه با زغال، C) محیط هورمون‌دار (۰،۲) بدون زغال، D) محیط هورمون‌دار (۰،۲) همراه با زغال، E,F) محیط هورمون‌دار (۲،۰) همراه زغال، G) محیط هورمون‌دار (۰/۵،۲) بدون زغال، H,I) گیاهچه‌های سازگار شده.

بررسی متابولیت‌های ثانویه از ریزنمونه‌های ریشه، ساقه، برگ و کالوس موجود در دو محیط دارای زغال فعال (C) و فاقد زغال فعال (NC) با استفاده از تنظیم کننده‌های رشد

تاثیر زغال فعال و تنظیم‌کننده‌های رشد بر فنل کل

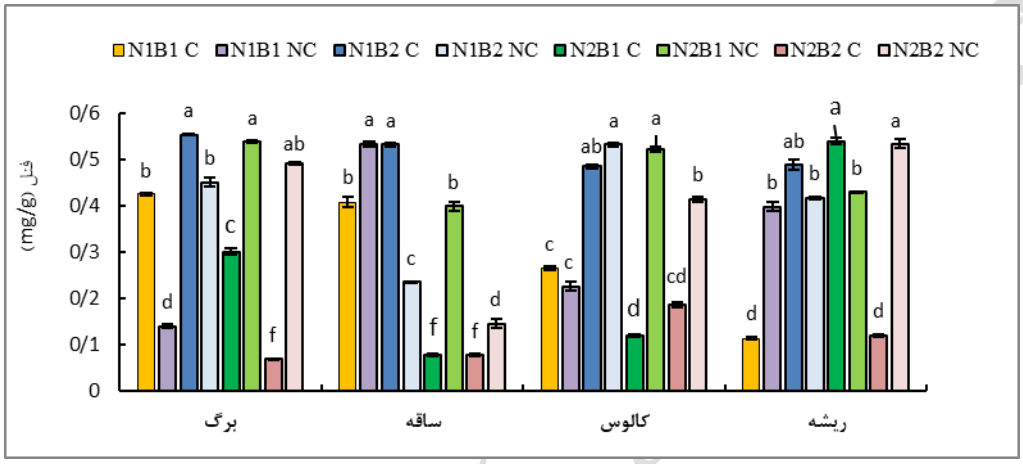
نتایج حاصل از بررسی ترکیبات فنولی در محیط کشت هورمون‌دار NAA:BA بدون زغال فعال و دارای زغال فعال با غلظت‌های مختلف نشان داد که تفاوت معنی‌داری در مقدار فنول موجود در ریزنمونه برگ، ساقه، کالوس و ریشه وجود دارد. در ریزنمونه برگ، مقدار فنل در ترکیب هورمونی N1B1 و N1B2، درمحیط دارای زغال فعال بالاتر از محیط فاقد زغال فعال است ولی در ترکیب هورمونی N2B1 و N2B2 مقدار فنل در محیط فاقد زغال فعال بیشتر است. در ریزنمونه ساقه مقدار فنل در محیط کشت با ترکیب هورمونی N1B1 و N2B1 و N2B2 فاقد زغال فعال بیشتر است و در محیط کشت با ترکیب هورمونی N1B2 مقدار فنل در محیط دارای زغال فعال بیشتر است. در ریزنمونه کالوس به استثناء N1B1 در بقیه ترکیبات هورمونی، مقدار فنل در محیط فاقد زغال فعال بیشتر است. در ریزنمونه ریشه در محیط کشت‌های N1B1 و N2B2 بدون

Preproof

مقاله پژوهشی، صفحات: ۳۰۶-۲۹۰

زغال فعال در مقایسه با ریزنمونه همراه با زغال فعال مقدار فنل بیشتر است و این درحالی است که در ریزنمونه N1B2 و N2B1 همراه زغال فعال در مقایسه با ریزنمونه بدون زغال فعال، مقدار فنل بیشتر است.

در مقایسه مقدار فنل موجود در ریشه، کالوس، ساقه و برگ، در محیط N1B1 C، کمترین مقدار فنول (۰/۱۱ میلی‌گرم بر گرم) در ریشه بدست آمد. در محیط N1B1 NC، بالاترین مقدار فنول (۰/۵۴ میلی‌گرم بر گرم) برای ساقه بدست آمد. در محیط N1B2 C، تفاوت معنی‌داری در مقدار فنول برای ریشه، کالوس، ساقه و برگ بدست نیامد. این درحالی است که در محیط N1B2 NC،



بالاترین مقدار فنول با عدد ۰/۵۳ میلی‌گرم بر گرم برای کالوس بدست آمد.

نمودار ۲- ترکیبات فنل موجود در ریشه، کالوس، ساقه و برگ گوجی‌بری قرمز در محیط‌کشت حاوی غلظت‌های مختلف (۰،۰/۲) BA ,(۰،۰/۵) NAAدارای زغال فعال (C) و بدون زغال فعال (NC) را نشان می‌دهد. مقادیر، میانگین ۳ تکرار ±SE است. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار با استفاده از آزمون دانکن در سطح احتمال P≤۰/۰۵ است.

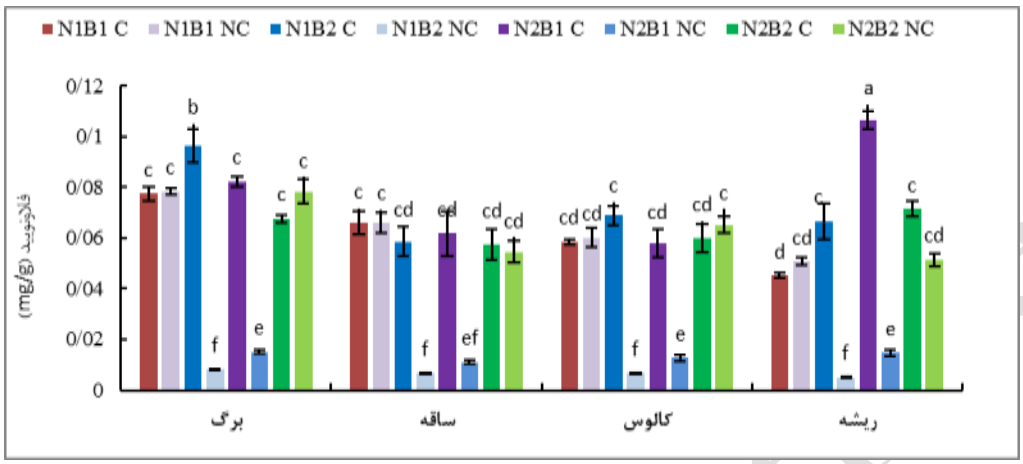
تاثیر زغال فعال و تنظیم کننده های رشد بر فلاونوئید

با توجه به نمودار ۳، در محیط دارای زغال فعال، بالاترین مقدار فلاونویید برگ مربوط به ترکیب هورمونی N1B2، در ریشه مربوط به N2B1 می باشد. مقدار فلاونویید در محیط دارای زغال فعال در کالوس و ریشه، تفاوت معنی‌داری در هیچ یک از

Preproof

مقاله پژوهشی، صفحات: ۳۰۶-۲۹۰

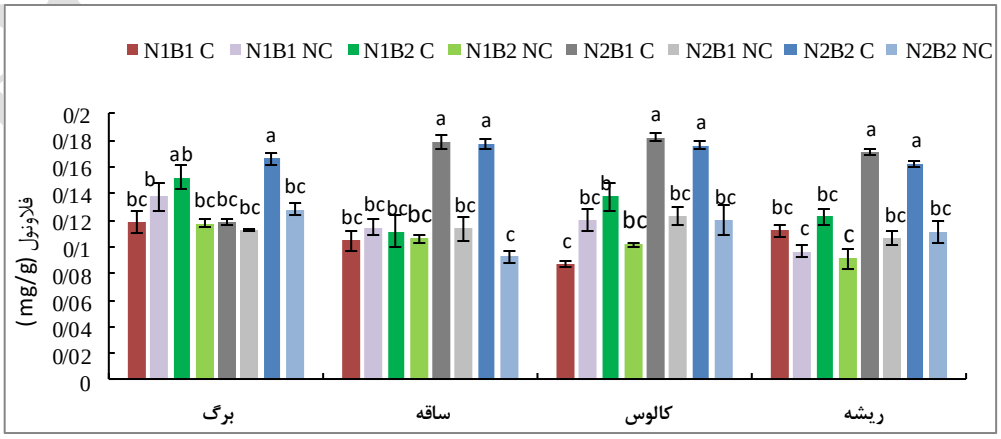
ترکیبات هورمونی وجود ندارد. در محیط بدون زغال فعال بالاترین مقدار فلاونویید برگ مربوط به ترکیب هورمونی N2B2 بدست آمد. در هر چهار نمونه در محیط بدون زغال فعال، کمترین مقدار فلاونویید برای ترکیب هورمونی N1B2 بدست آمد.



نمودار ۳- ترکیبات فلاونویید موجود در ریشه، کالوس، ساقه و برگ گوجی‌بری قرمز در محیط‌کشت حاوی غلظت‌های مختلف ((B2)۲، (B1)۰) , NAA (۰ (N1)۰,/(N۵)BA دارای زغال فعال (C) و بدون زغال فعال (NC) را نشان می‌دهد. مقادیر، میانگین ۳ تکرار SE± است. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار با استفاده از آزمون دانکن در سطح احتمال P≤۰/۰۵ است.

تاثیر زغال فعال و تنظیم کننده‌های رشد بر فلاونول

باتوجه به نمودار۴، مقایسه فلاونول موجود در برگ، ساقه، کالوس و ریشه نشان داد که در محیط دارای زغال فعال، کمترین مقدار فلاونول در محیط با ترکیب هورمونی N1B1 و N2B1 به ترتیب در کالوس و ساقه وجود دارد. مقدار فلاونول برگ در محیط دارای زغال فعال محیط دارای ترکیب هورمونی N2B2 تفاوت معنی‌داری با محیط دارای ترکیب هورمونی N1B2 ندارد این درحالی است که تفاوت معنی‌داری را با محیط دارای ترکیب هورمونی N1B1 و N2B1 نشان داد. همچنین بالاترین مقدار فلاونول در محیط بدون زغال فعال، برای ترکیب هورمونی N1B1 در برگ بدست آمد که تفاوت معنی‌داری با سه ترکیب هورمونی دیگر دارد. بالاترین مقدار فلاونول موجود در ساقه، کالوس و ریشه در محیط دارای زغال فعال، برای محیط با ترکیب هورمونی N2B1 و N2B2 بدست آمد.



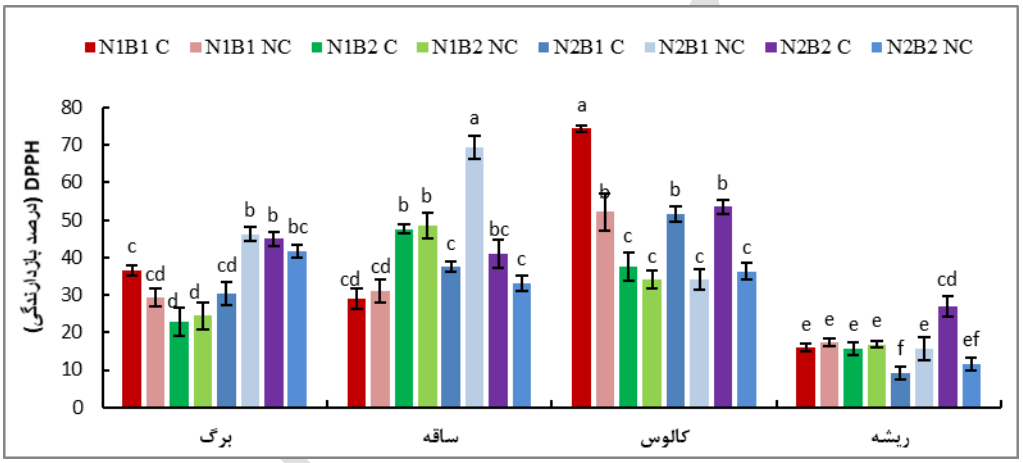
Preproof Article

مقاله پژوهشی، صفحات: ۳۰۶-۲۹۰

نمودار ۴- فلاونول موجود در ریشه، کالوس، ساقه و برگ گوجی‌بری قرمز در محیط‌کشت حاوی غلظت‌های مختلف (۰،۲) NAA (۰،۰/۵), BA دارای زغال فعال (C) و بدون زغال فعال (NC) را نشان می‌دهد. مقادیر، میانگین ۳ تکرار ±SE است. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار با استفاده از آزمون دانکن در سطح احتمال P≤۰/۰۵ است.

تاثیر زغال فعال و تنظیم کننده های رشد بر هیدروکسیداسیون لیپیدی (DPPH)

با توجه به نمودار ۵، در محیط دارای زغال فعال، بالاترین و کمترین مقدار DPPH در برگ به ترتیب برای ترکیب هورمونی N2B2 و N1B2 بدست آمد. در محیط بدون زغال فعال تفاوت معنی‌داری در محیط کشت با ترکیب هورمونی N2B2 و N2B1 مشاهده نشد. در نمونه ساقه، بالاترین مقدار DPPH در محیط بدون زغال فعال، برای ترکیب هورمونی N2B1 بدست آمد که تفاوت معنی‌داری با سه نمونه‌ی دیگر دارد. این درحالی است که بالاترین مقدار DPPH برای محیط زغال‌دار در کالوس و ریشه به ترتیب مختص به ترکیب هورمونی N1B1 و N2B2 بدست آمد.



نمودار ۵- ترکیب DPPH موجود در ریشه، کالوس، ساقه و برگ گوجی‌بری قرمز در محیط‌کشت حاوی غلظت‌های مختلف (۰،۲) BA (۰،۰/۵), NAA دارای زغال فعال (C) و بدون زغال فعال (NC) را نشان می‌دهد. مقادیر، میانگین ۳ تکرار ±SE است. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار با استفاده از آزمون دانکن در سطح احتمال P≤۰/۰۵ است.

بحث

رشد و تکوین گیاهان تحت شرایط درون شیشه‌ای به میزان زیادی تحت تاثیر انتخاب مناسب ریزنمونه گیاهی و نوع و ترکیب محیط کشت و همچنین انتخاب غلظت‌های مناسب هورمون‌های محیط کشت دارد. مطالعات نشان می‌دهد غلظت محیط کشت تاثیر معنی‌داری بر روی رویش بذر دارد. در پژوهش حاضر درصد جوانه‌زنی بعد از چندین تکرار و حذف شرایط نامساعد، ۸۷/۲ درصد مشخص شد، در حالیکه در مراحل ابتدایی این مقدار ۵۹/۹ درصد بود،که نشان می‌دهد کاهش غلظت نمک‌ها مخصوصا عناصر ماکرو و ساکارز تاثیر مستقیمی بر روی جوانه‌زنی بذر گوجی‌بری داشته است. تحقیقات بر روی ریزنمونه‌های مختلف نشان دادند که محیط کشت MS ۱/۲ در افزایش درصد جوانه‌زنی در گیاهان بسیار موثر است (۱۲،۳۷،۴۹).

مقاله پژوهشی، صفحات: ۳۰۶-۲۹۰

تنظیم کننده‌هایی رشد گیاهی مانند سیتوکنین و اکسین‌ها اصلی‌ترین تنظیم کننده‌های موثر در برگشت تمایز و تمایزیابی سلول‌های گیاهی هستند و در این میان سیتوکنین‌ها به دلیل تاثیر بسیاری که در روند تقسیم سلولی و اندام‌زایی و تعداد شاخساره تولید شده دارد، جهت بررسی روند تاثیر، با غلظت‌های موثر مورد بررسی قرار می‌گیرد (۵). انتخاب نوع سیتوکنین مورد استفاده در ریزازدیادی گیاهان با توجه به کارایی آن‌ها در تشکیل و تکثیر شاخه‌های سالم و تحریک سازگاری آن‌ها تعیین می‌شود (۱۰). در این تحقیق بررسی عملکرد شاخه‌زایی در تیمارهای هورمونی IBA:BAP نشان می‌دهد که بالاترین تعداد شاخه مربوط به غلظت هورمونی (۳: ۰/۵) می‌باشد که تاثیر مثبت هورمون سیتوکنین در شاخه‌زایی را نشان می‌دهد. معمولا نسبت بالای سیتوکنین به اکسین شاخه‌زایی را تحریک می‌کند. که در این میان هورمون BAP با غلظت ۳ میلی‌گرم بر لیتر، حدود ۲ تا ۳ شاخه با حدود میان گره ۷ عدد، نشان‌گر تاثیر بالای این هورمون است به طوریکه در سه غلظت متفاوت سیتوکنین بالاترین شاخه‌زایی دیده شده، اما تنظیم‌کننده اکسین حتی با غلظت کم باعث تاثیر مثبت در شاخه‌زایی شده است. ساقه‌های دارای گره به دلیل وجود سلول‌های مریستمی می‌توانند به شاخه‌هایی تبدیل شوند و یک ریزنمونه مناسب برای تکثیر در شرایط آزمایشگاهی باشند (۱۷). Silvestri و همکاران (۲۰۱۸) از غلظت‌های مختلف BAP، ZR و iP-۲ برای القای تکثیر ساقه گوجی‌بری استفاده نمودند و استفاده از BAP در غلظت‌های مختلف، بهترین نتایج را در بین تیمارهای مورد استفاده ایجاد کرد. غلظت‌های ۰/۱ و ۲ میلی‌گرم بر لیتر تعداد شاخه بین ۲/۵۸ تا ۸/۵۸ را نشان داد که بالاتر از سایر محیط‌ها بود. ZR و iP-۲ قادر به القای تشکیل چند شاخه نبودند و در هر دو مورد، تعداد شاخساره در هر ریزنمونه کمتر از شاهد (محیط بدون هورمون) بود. نتایج مورد مطالعه ما نیز نشان می دهد که سیتوکینین BAP مؤثر برای تکثیر شاخه‌های درون شیشه‌ای گوجی‌بری بسیار مناسب است (۱۸). تغییرات در نوع و غلظت سیتوکینین اعمال‌شده می‌تواند به شدت بر تکثیر اندام هوایی تأثیر بگذارد. در این پژوهش پدیده‌ی شیشه‌ای شدن درهیچ‌کدام از نمونه‌ها مشاهده نشد. بهینه‌سازی شرایط کشت در شرایط آزمایشگاهی از طریق مطالعه نمک‌های پایه و تنظیم‌کننده‌های رشد تأثیر مهمی بر فرآیندهای ریشه‌زایی و سازگاری دارد، پژوهش‌های قبلی اثر محیط MS را مثبت ارزیابی نموده است (۱۸)، در این آزمایش نیز، استفاده از این نمک‌های پایه، نتایج خوبی از نظر رشد گیاه به‌دست آورد. اثربخشی آن در القا و رشد اندام هوایی می‌تواند به ترکیب مواد معدنی و غلظت آن‌ها مربوط باشد. برخی بررسی‌ها تاثیر محیط DKW را مناسب ارزیابی نمودند، در این بررسی در محیط MS نمونه‌ها به سمت شیشه‌ای شدن تمایل داشتند (۶۰). اما در بررسی های مکرر ما به علت استفاده از مقدار گرم آگار مناسب و واکشت به موقع نمونه‌ها، شیشه‌ای شدن القا نشد و تمامی نمونه‌ها با ایجاد شاخه و گره‌های مناسب، رشد مطلوبی را نشان دادند.

بررسی عملکرد کالوس‌زایی در تیمار هورمونی 2,4-D:BA نشان داد که هورمون 2,4-D با غلظت ۲ میلی‌گرم بر لیتر به تنهایی و همچنین همراه با غلظت ۰/۵میلی‌گرم بر لیتر BA کالوس‌زا بوده است. اکسین‌ها بخصوص 2,4-D تشکیل جنین‌های سوماتیکی را القا کرده و تقسیم سلولی را باعث می‌شوند و از رشد جوانه‌های جانبی و ریشه جلوگیری می‌کنند. رشید و همکاران دریافتند که القای کالوس، رشد کالوس و آغاز جوانه‌ی سبز می تواند با اضافه کردن سیتوکنین‌ها و اکسین‌ها به محیط‌های کالوس‌زایی و باززایی، افزایش یابد (۵۱). معمولا محیط کشتی که تنها حاوی 2,4-D باشد، برای کالوس‌زایی مناسب نیست. بهترین کالوس‌زایی وقتی دیده می‌شود که 2,4-D همراه یک سیتوکنین با غلظت کم همراه باشد (۵۵). در بعضی گیاهان مانند گل داوودی افزایش تراکم KIN و 2,4-D به مقدار ۱ میلی‌گرم در لیتر تولید کالوس را افزایش داده است. در گیاه استویا افزودن BA به محیط کشت حاوی هورمون اکسین تولید کالوس را افزایش می دهد (۵۹). کالوس‌های تحت تیمار تاریکی دارای طیف رنگی سفید تا کرم رنگ بودند که میزان آنتوسیانین در این کالوس‌ها بسیار کم بود اما

Preproof Article

مقاله پژوهشی، صفحات: ۳۰۶-۲۹۰

قرارگیری در معرض نور میزان رنگدانه‌های رنگی را افزایش داد (۳). بررسی عملکرد ریشه‌دهی و رشد بخش هوایی گیاه گوجی‌بری قرمز در محیط کشت هورمون‌دار (NAA:BA) نشان داد در همه تیمارهای هورمونی در محیط دارای زغال فعال طول ریشه و طول ساقه و تعداد میان‌گره در مقایسه با محیط فاقد زغال فعال بیشتر است. اما تعداد شاخه در محیط فاقد زغال فعال بیشتر است. به طور مثال طول شاخه و ریشه و تعداد میان‌گره در مقدار۰:۵/ از ترکیب هورمونی NAA:BA همراه با زغال فعال، به ترتیب ۲/۳۷، ۴/۸۳ و ۸/۵ بوده که بیشتر از از همین ترکیب هورمونی در محیط بدون زغال فعال است(۱/۲۳، ۰/۶۶ ، ۳). که نشان می‌دهد که در این ترکیب هورمونی با وجود زغال فعال به عنوان محرک ریشه‌زایی، گیاه به سمت ریشه دهی پیش‌رفته و انرژی کمتری را برای رشد شاخساره صرف کرده است و تعداد شاخه جانبی کمتری تولید کرده است. اما در محیط فاقد زغال فعال تعداد شاخه زایی بیشتر بوده و گیاه به جای تولید ریشه‌های بلند، انرژی خود را صرف تولید شاخساره نموده است. در تمام ترکیبات هورمونی تفاوت معنی‌داری در وزن نمونه در محیط کشت همراه با زغال و بدون زغال فعال مشاهده نشد، به طور کلی زغال فعال سبب تعیین رشد ریزنمونه به سمت ریشه‌دهی و کمتر تولید متعدد شاخساره نموده است. این همبستگی به علت فراهم بودن منابع کافی غذایی و جذب آن از طریق ریشه برای رشد، تقسیم سلولی و بیوسنتز مواد است که باعث شده در نهایت وزن نمونه نیز افزایش یابد. کاهش رشد ریزنمونه در دراز مدت در محیط دارای زغال فعال ممکن است به این دلیل باشد که زغال علاوه بر محصولات اکسیداسیونی فنلی باعث جذب بعضی از ترکیبات مانند تنظیم‌کننده‌های رشد که برای رشد ضروری می باشند نیز می‌گردد که نکته ای منفی برای آن به شمار می آید (۴،۳۴). اطراشی و همکاران در سال ۱۳۸۹ نشان دادند زغال فعال اثر قابل ملاحظه‌ای در رشد ریزنمونه‌ها و القای تولید ریشه در آن‌ها داشت، ضمن این که مانع تولید کالوس در قاعده ریزنمونه‌های کشت شده در محیط شدند. زغال فعال به عنوان ماده غیرسمی در کشت درون شیشه‌ای استفاده می‌شودکه دارای مزیت‌هایی مانند جذب مواد سمی می‌باشد (۱۵)، Ruzic و همکاران در سال ۲۰۰۶ برای ریشه‌دهی بهتر رازبری‌ها (***Raspberry***) از محیط کشت تغیریافته MS همراه با تنظیم‌کننده BA و GA3 همراه با زغال فعال استفاده نمودند. در تمام ترکیبات هورمونی تفاوت معنی‌داری در وزن نمونه در محیط کشت همراه با زغال و بدون زغال فعال مشاهده نشد. در پژوهش حاضر تعداد گیاهچه‌ها ۳۶ عدد بود که با درصد بقا ۹۵ با محیط سازگار شدند. در گزارشی میزان بقای گیاهان گوجی‌بری در محیط ۹۰ تا ۹۸ درصد گزارش شده است (۱۴). همچنین در این پژوهش از آگار به عنوان محیط ژله‌کننده استفاده شد این درحالی است Amagase و Farnsworth (۲۰۱۱) که برای ریشه‌زایی گوجی‌بری در محیط آزمایشگاهی MS بدون هورمون ژل شده با نشاسته گندم گزارش شد. واکنش هر گیاه به تنظیم‌کننده‌های رشد گیاه ممکن است بر حسب گونه، سن گیاه، شرایط محیطی، مرحله رشد، شرایط فیزیولوژیکی و تغذیه ای متفاوت باشد (۶،۴۳،۴۴،۴۵) مطالعات زیادی در مورد انواع گیاهان انجام شده و اثرات تنظیم‌کننده رشد گیاهی را بر روی متابولیت ثانویه مورد بررسی قرار داده است (۵۸). مطالعات نشان داده که ترکیبات و متابولیت‌ها از طریق بهینه‌کردن شرایط محیط کشت با استفاده از تنظیم‌کننده‌ها افزایش می‌یابد (۹).

در مطالعه‌ای که ما بر روی متابولیت‌های ثانویه در گیاه گوجی‌بری تحت تاثیر تنظیم‌کننده‌های متفاوت انجام دادیم، نشان داد که هر ریزنمونه پاسخ متفاوتی به تنظیم‌کننده‌های رشد دارد، به طوریکه در برگ، سنجش فنل نشان می‌دهد ترکیب هورمونی N1B1 و N1B2 مقدار فنل اندازه‌گیری شده از محیطی که زغال فعال در ترکیب آن نیست، بیشتر است یا در ریزنمونه ساقه، فقط در محیط دارای هورمون N1B2 همراه با زغال فعال، مقدار فنل بیشتر است. در این پژوهش، بالاترین

Proof Article

مقاله پژوهشی، صفحات: ۳۰۶-۲۹۰

محتوای فلاونوئید در ریزنمونه ریشه ۰/۱۱ میلی‌گرم در گرم وزن تر برای تیمار هورمونی N2B1 C و در ریزنمونه برگ مقدار ۰/۰۹ میلی گرم بر گرم وزن تر در تیمار هورمونی N1B2 C بدست آمد. مطالعه ما روی آنتی‌اکسیدان فلاونول نشان داد که زغال فعال تاثیر چندانی بر روی این ماده ندارد و بیشترین مقادیر این آنتی‌اکسیدان در شرایط با زغال فعال دیده شده است. محتوای فلاونوئید برگ‌های گوجی‌بری پرورشی در مطالعه‌ای که توسط Dong و همکاران (۲۰۰۹) انجام شد، بین ۱۶/۰۳ تا ۱۶/۳۳ میلی‌گرم بر گرم است که توسط کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC-UV-MS) بدست آمد. ساکاکیبارا و همکاران (۲۰۰۶) مشاهده کردند که سیتوکینین ها از یک طرف به طور قابل توجهی مانع انتقال برخی از ماکرومولکول‌ها مانند نیترات، سولفات، آمونیوم و فسفات شده و از طرف دیگر نیترات سبب بیان ژن های دخیل در مسیرهای متابولیت ثانویه می‌شود. مطالعات انجام شده نشان می‌دهد که BAP هم در باززایی و هم در افزایش متابولیت ثانویه درگیاه *Aconitum violaceum* در مقایسه با تنظیم کننده TDZ نقش موثرتری دارد (۵۲) Duangporn and Siripong (۲۰۰۹). عنوان کردند که NAA و BA تجمع متابولیت ثانویه را درکالوس گیاه ***Phyllanthus acidus*** افزایش دادند. بررسی‌ها نشان داده است که برگ‌های گیاه لیسیوم حاوی مواد آنتی‌اکسیدانی، فلاونوئیدی و فنلی بالا می‌باشد و این گیاه در درمان دیابت، فشار خون بالا و مشکلات کلیه مؤثر است (۲۰،۶۲). گیاه گوجی‌بری بسیار غنی از پلی ساکاریدها است که دارای خواص آنتی‌اکسیدانی هستند و تعداد زیادی فلاونوئیدها و اسیدهای فنولیک در میوه آن یافت می‌شود (۷،۳۲،۴۶،۶۵). فعالیت آنتی‌اکسیدانی گوجی‌بری در شرایط آزمایشگاهی با تکنیک‌های FRAP، ABTS و DPPH مورد بررسی قرار گرفت. بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی با استفاده از روش FRAP در عصاره متانول ۷۰ درصد مشاهده شد که دارای محتوای بالاتری از ترکیبات فنلی نیز بود. این نشان می‌دهد که حلال متانولی برای استخراج مواد شیمیایی گیاهی موجود در گوجی‌بری آلی بهتر است. حلال های الکلی می توانند طیف وسیعی از ترکیبات فنلی گلیکوزیله (فلاونوئیدها) و غیر گلیکوزیله را استخراج کنند که به افزایش فعالیت آنتی اکسیدانی کمک می کند(۵۰). ساختار فلاونوئیدها مقدار زیادی از گروه‌های هیدروکسیل، عمدتاً ساختار o-دی هیدروکسی در حلقه B، در موقعیت‌های مطلوب برای جابجایی الکترونیکی نشان می‌دهد، که به تأثیر برجسته بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی کمک می‌کند. بنابراین، قطبیت حلال بر استخراج ترکیبات با تعداد و نوع گروه های عاملی متفاوت در حلقه آروماتیک تأثیر می‌گذارد و بر انتقال الکترون‌ها و اتم‌های هیدروژن تأثیر می‌گذارد (۵۳). روش های استخراج با استفاده از اتانول از دیدگاه بهداشت عمومی و صنعتی مطلوب است و برای فرآوری مواد غذایی ایمن در نظر گرفته می‌شود، زیرا به اندازه متانول سمی نیست (۴۷).

در این آزمایش برای سنجش DPPH بالاترین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی در محیط N1B1 C برای کالوس با مقدار ۷۴/۳۷درصد بدست آمد. در محیط بدون زغال فعال، محیط N2B1 ساقه، بالاترین فعالیت آنتی اکسیدانی ۶۹/۳۸ درصد را نشان داد. براساس تجزیه و تحلیل فعلی، نتیجه‌گیری شد که ***L. barbarum*** فعالیت مهاری در برابر رادیکال‌های آزاد (آنیون سوپراکسید، رادیکال‌های هیدروکسیل) را نشان می‌دهد. فعالیت آنتی‌اکسیدانی گوجی عمدتاً به رنگدانه‌های کاروتنوئید، فلاونوئیدها، بخش پلی ساکارید و آنالوگ ویتامین - اسید اسکوربیک O-2-C-(بتا-D-glucopyranosyl) نسبت داده می‌شود (۲۲،۳۲،۶۵،۶۹). یکی از مهمترین دلایل افزایش محبوبیت گوجی‌بری این است که حاوی آنتی اکسیدانی به نام زآگزانتین است. مطالعات گزارش کرده اند که رژیم غذایی حاوی گوجی‌بری می تواند سطح زآگزانتین فرد را تا ۲۶ درصد افزایش دهد (۶۸). همچنین، گوجی‌بری غنی از اسید اسکوربیک است و حاوی مقادیری از اسیدهای آلی دیگر است (۳۶).

نتیجه گیری

Preproof Article

مقاله پژوهشی، صفحات: ۳۰۶-۲۹۰

در این آزمایش محیط کشت هورمون‌دار (BAP:IBA) با نسبت (۰/۵:۳) بالاترین میانگین تعداد شاخه با میانگین ۲/۹۹ را نشان داد. همچنین انتقال گیاهچه‌ها به محیط کشت هورمون‌دار (NAA:BA) همراه و بدون زغال فعال نشان داد که استفاده از ترکیب هورمونی با مقدار (۲: ۰/۵) همراه با زغال فعال دارای وزن نمونه بالاتری نسبت به مقادیر دیگر هورمونی همراه با زغال فعال است. محیط زمانی که با غلظت کم اکسین ترکیب شود، با تقویت فعالیت گیاه، می‌تواند در ریزنمونه‌هایی که جوانه های آن‌ها با دوزهای بالا مهار می‌شود، بسیار مفید باشد. اکسین، تأثیر منفی بر جوانه‌شکنی دارد. با این حال، ریشه‌زایی در شرایط آزمایشگاهی بسیار مؤثر است و نه تنها ریشه‌زایی را بهبود می‌بخشد، بلکه سازگاری گیاهچه‌ها را نیز بهبود می‌بخشد. این روش، همراه با محیط تکثیر بالا و کیفیت بالای شاخه‌های بازیابی شده، این پروتکل را بسیار مؤثر می‌کند و می‌تواند از رشد سریع در تکثیر تجاری گونه‌های گوجی‌بری پشتیبانی کند.

سپاسگزاری

نویسندگان از آزمایشگاه فیزیولوژی دانشکده علوم دانشگاه گیلان که همه کارهای پژوهشی فوق در آن انجام شد، تشکر می‌نمایند.

منابع

منابع[1] فارسی:

۱ – اطرشی. محمود.، مرادی. کوثر.، خیام نکوئی. مجتبی. ۱۳۸۹. ریزازدیادی گیاه فلفل دلمه‌ای در شرایط کشت درون شیشه. نشریه زیست‌شناسی گیاهی ایران.۲(۳)۱-۱۲.

۲- پیوندی. مریم. سید طالبی. سیده مریم. مجد. احمد. ۱۳۹۵. تاثیر میدان مغناطیسی، محیط کشت و تنظیم کننده های رشد بر جوانه زنی بذر گیاه پروانش (Catharanthus roseus L.). زیست شناسی تکوینی. ۹(۱)۶۹-۷۸ .

۳-رضا نژاد. فرخنده. طراحی. روشنک. ۱۳۹۲. اثر نور و تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی بر کالوس‌زایی و تجمع آنتوسیانین در کالوسهای حاصل از جداکشتهای مختلف در رز گالیکا (*Rosa gallica* L.) . مجله پژوهشهای گیاهی.۲۶(۲).۱۹۵-۱۸۴.

۴-زارعی. محمد. غلیزاده. مهدی.خراسانی نژاد. سارا، خوشحال سرمست. مصطفی. ۱۴۰۲. کاربرد زغال فعال و نانولوله‌های کربنی در حذف مواد فنولی از محیط کشت بافت گیاهان انگور و پالونیا. مجله پژوهشهای گیاهی. ۳۶(۱). ۴۶-۶۱.

5- Abd Aziz, A. N., Tan, B. C., Othman, R. Y., Khalid, N. 2018. Efficient micropropagation protocol and genome size estimation of an important cover crop, *Mucuna bracteata* DC. ex Kurz. Plant Cell Tissue and Organ Culture. 132: 267-278.

6- Aftab, T., Khan, M.M., Idrees, M., Naeem, M., Singh, M., Ram, M. 2010. Stimulation of crop productivity, photosynthesis and artemisinin production in *Artemisia annua* L. by triacontanol and gibberellic acid application. Journal of Plant Interactions. 1, 273–281.

7- Amagase, H., Farnsworth, N. R. 2011. A review of botanical characteristics, phytochemistry, clinical relevance in efficacy and safety of *Lycium barbarum* L. fruit (Goji). Food research international. 44(7), 1702-1717.

8- Amagase, H., Nance, D. M. 2008. A randomized, double-blind, placebo-controlled, clinical study of the general effects of a

Proof Article

standardized *Lycium barbarum* (Goji) juice, GoChi. Journal of Alternative and Complementary Medicine. 14(4), 403–412.

9- Azeez, H.A., Ibrahim, K.M. 2014. Hypericum Triquetrifolium callus cultures a potential source of phenolics and flavonoids. Journal of Zankoy Sulaimani- Part A. 16, 381–388.

10- Bairu, M. W., Stirk, W. A., Dolezal, K., Van-Staden, J. 2007. Optimizing the micropropagation protocol for the endangered *Aloe polyphylla*: Can meta-topolin and its derivatives serve as replacement for benzyladenine and zeatin. Plant Cell, Tissue and Organ Culture. 90: 15-23.

11- Carman, J. G. 1990. Embryogenic cells in plant tissue cultures: occurrence and behavior. In Vitro Cellular and Developmental Biology. 26(8), 746-753.

12- Chiou, A., Panagopoulou, E. A., Gatzali, F., De Marchi, S., Karathanos, V. T. 2014. Anthocyanins content and antioxidant capacity of Corinthian currants (*Vitis vinifera* L., var. Apyrena). Food chemistry, 146, 157-165.

13- Cingöz, G., Karakaş, F. P. 2016 "The effects of nutrient and macronutrient stress on certain secondary metabolite accumulations and redox regulation in callus cultures of *Bellis perennis* L.," Turkish Journal of Biology: Vol. 40: No. 6, Article 23.

14- Danaila-Guidea, S. M., Dobrinoiu, R. V., Viºan, L., Toma, R. C. 2015. Protocol for efficient in vitro multiplication of *Lycium barbarum* L. (goji) by direct organogenesis. Scientific Bulletin Series F. Biotechnologies. XIX, 34–38.

15- Dastan, S., Siavoshi, M., Zakavi, D., Ghanbaria-malidarreh, A., Yadi, R., Ghorbannia Delavar, E., Nasiri AR .2012. Application of nitrogen and silicon rates on morphological and chemical lodging related characteristics in rice (*Oryza sativ*a L.) at North of Iran. Journal of Agriculture Science, 4:12-18.

16- Dong, J. Z., Lu, D. Y., Wang, Y. 2009. Analysis of flavonoids from leaves of cultivated *Lycium barbarum* L. Plant Foods for Human Nutrition. 64, 199–204.

17- Frabetti, M., Gutiérrez-Pesce, P., Mendoza-de Gyves, E., & Rugini, E. 2009. Micropropagation of Teucrium fruticans L., an ornamental and medicinal plant. In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant, 45, 129-134.

18- Fira, A., Joshee, N., Cristea, V., Simu, M., Hârța, M., Pamfil, D., Clapa, D. 2016. Optimization of Micropropagation Protocol for Goji Berry (*Lycium barbarum* L.). Bulletin of the University of Agricultural Sciences & Veterinary Medicine Cluj-Napoca. Horticulture. 73(2).

19- Gan, L., Zhang, S. H., Yang, X. L., & Xu, H. B. 2004. Immunomodulation and antitumor activity by a polysaccharide–protein complex from *Lycium barbarum*. International immunopharmacology, 4(4), 563-569.

20- Ghasemi, P. A., Momeni, M., Bahmani, M. 2013. Ethnobotanical study of medicinal plants used by Kurd tribe in Dehloran and Abdanan districts, Ilam province, Iran. African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines, 10(2), 368-385.

21- Gong, X., Rubin, L. P. 2015. Role of macular xanthophylls in prevention of common neovascular retinopathies: retinopathy of prematurity and diabetic retinopathy. Archives of Biochemistry and Biophysics, 572, 40-48.

22- Guo D.J., Cheng H.L., Chan S.W., Yu P.H.F. 2008. Antioxidative activities and the total phenolic contents of tonic Chinese medicinal herbsInfl ammopharmacology, 16, 201–207.

23- Huang, Y., Li, N., Ma, Y., Du, F., Li, F., He, X., Lin, X., Gao, H., Chen, Y. 2007. The influence of single-walled carbon nanotube structure on the electromagnetic interference shielding efficiency of its epoxy composites. Carbon, 45 (8), PP: 1614-1621.

24- Karakas, FP. Turker, AU .2016. Improvement of shoot proliferation and comparison of secondary metabolites in shoot and callus cultures of Phlomis armeniaca by LC-ESI-MS/MS analysis. In Vitro Cellular & Developmental Biology Plant .52:608–618. 34- Marks, T., Simpson, S. 1990. Reduced phenolic oxidation at culture initiation in vitro following the exposure of field-grown stockplants to darkness or low levels of irradiance. Journal of Horticultural Sciences. 65: 103-111.

25- Kaur, C. Kapoor, H.C. 2002. Antioxidant 35- Maseda, P. H., Lemcoff, J. H., Murúa,

Preproof Article

M., Frayssinet, N., Carceller, M. S. 2004. Microcutting culture and morpho-physiological changes during acclimation in two Lycium chilense cytotypes. Biocell, 28(3), 271-277.and total phenolic contents of some Asian vegetables. International Journal Food Science & Technology. 37: 153.

26- Kefeli, V., Kalevitch, M., Borsari, B. 2003. Phenolic cycle in plants and environment 37- Miliauskas, G., Venskutonis, P.R., Van Beek, T.A. 2003. Screening of radical scavenging activity of some medicinal and Masukasu, H., Karin, O. and Kyoto, H. Enhancement of anthocyanin biosynthesis by sugar in radish (*Raphanus sativus*) hypocotyls. Plant Science. 164(2): 259-265.

27- Kim, D. O., Jong, S., W, lee., C.Y. 2003. Antioxidant capacity of phenolic phytochemicals from various cultivars of plums. Food Chemistry 81(3):321-326.

28- Kruczek, A. & Ochmian, I. 2016. The influence of shrubs cutting method on yielding and quality of the goji berries (*Lycium barbarum* L.). Folia Pomer. Univ. Technol. Stetin., Agric., Aliment., Pisc. Zootech., 40(4 (330)), 131-138.

29- Kruczek, A., Krupa-MaŁKiewicz, M., Ochmian, I. 2021. Micropropagation, rooting, and acclimatization of two cultivars of goji (*Lycium chinense*). Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca, 49(2), 12271-12271.

30- Kulczyński, B., Groszczyk, B., Cerba, A., Gramza-Michałowska A. 2014. Goya (*Lycium barbarum*) fruits as bioactive components source in food. Nauka Przyroda Technologie. 8(2).

31- Kulczyński, B., Gramza-Michałowska, A. 2016. Goji berry (Lycium barbarum): composition and health effects–a review. Polish Journal of Food and Nutrition Sciences. 66(2), 67-76.

32- Lin C., Wang C., Chang S. 2009. Antioxidative activity of polysaccharide fractions isolated from Lycium barbarum Linnaeus. International Journal of Biological Macromolecules. 45, 146–151.

33- Manikandan, R., Anand, A. V. 2016. Evaluation of antioxidant activity of Psidium guajava Linn. in streptozotocin–induced diabetic rats. Free Radicals and Antioxidants. 6(1), 72- 76.

34- Marks, T., Simpson, S. 1990. Reduced phenolic oxidation at culture initiation in vitro following the exposure of field-grown stockplants to darkness or low levels of irradiance. Journal of Horticultural Sciences. 65: 103-111.

35- Maseda, P. H., Lemcoff, J. H., Murúa, M., Frayssinet, N., Carceller, M. S. 2004. Microcutting culture and morpho-physiological changes during acclimation in two Lycium chilense cytotypes. Biocell, 28(3), 271-277.

36- Mikulic-Petkovsek, M., Schmitzer, V., Slatnar, A., Stampar, F., Veberic, R. 2012. Composition of sugars, organic acids, and total phenolics in 25 wild or cultivated berry species. Journal of Food Science. 77 (10), C1064–C1070.

37- Miliauskas, G., Venskutonis, P.R., Van Beek, T.A. 2003. Screening of radical scavenging activity of some medicinal and Masukasu, H., Karin, O. and Kyoto, H. Enhancement of anthocyanin biosynthesis by sugar in radish (*Raphanus sativus*) hypocotyls. Plant Science. 164(2): 259-265.

38- Mishra Y., Rawat R., Nema B., Shirin F. 2013. Effect of Seed Orientation and Medium trength on in vitro Germination of Pterocarpus marsupium Roxb. Notulae Scientia Biologicae, 5(4):476-479.

39- Mocan A., Vlase L., Vodnar D.C., Bischin C., Hanganu D., Gheldiu A., Operan R., Silaghi-Dumitrescu R., Crisan G. 2014. Polyphenolic content, antioxidant and antimicrobial activities of *Lycium barbarum* L. and *Lycium chinense* Mill. Leaves. Molecules. 19, 10056–10073.

40- Murashige, T., Skoog, F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. Physiologia Plantarum. 15:473-497.

41- Mocan, A., Vlase, L., Vodnar, D. C., Bischin, C., Hanganu, D., Gheldiu, A. M., Crișan, G. 2014. Polyphenolic content,

Proof of Article

antioxidant and antimicrobial activities of *Lycium barbarum* L. and *Lycium chinense* Mill. leaves. Molecules, 19(7), 10056-10073.

42- Nadernejad, N., Ahmadimoghadam, A., Hossyinifard, J., & Poorseyedi, S. 2013. Effect of different rootstocks on PAL activity and phenolic compounds in flowers, leaves, hulls and kernels of three pistachio (*Pistacia vera* L.) cultivars. Trees, 27, 1681-1689.

43- Naeem, M., Idrees, M., Aftab, T., Khan, M.M., Moinuddin, M.H. 2010. Changes in photosynthesis, enzyme activities and production of anthraquinone and sennoside content of coffee senna (*Senna occidentalis* L.) by triacontanol. International Journal of Plant Developmental Biology. 4, 53–59.

44- Naeem, M., Khan, M.M.A., Idrees, M., Aftab, T. 2011. Triacontanol-mediated regulation of growth yield, physiological activities and active constituents of *Mentha arvensis* L. Plant Growth Regulation. 65, 195–206.

45- Naeem, M., Khan, M.M., Siddiqui, M.H. 2009. Triacontanol stimulates nitrogen-fixation, enzyme activities, photosynthesis, crop productivity and quality of hyacinth bean (Lablab purpureus L.). Scientia Horticulturae. 121 (4), 389–396.

46- Oguz, Y., Deðirmenci, Y., Kafkas, E. 2019. Determination of the total phenolic and anthocyanin contents, as well as the total antioxidant capacity, of black wolfberry (*Lycium ruthenicum*) fruits. Journal on Processing and Energy in Agriculture. 23 (4), 158–161.

47- Pedro, A.C., Granato, D., Rosso, N.D. 2016. Extraction of anthocyanins and polyphenols from black rice (*Oryza sativa* L.) by modeling and assessing their reversibility and stability. Food Chemistry. 191, 12–20.

48- Peng Y., Ma C., Li Y., Leung K.S.Y., Jiang Z.H., Zhao Z. 2005. Quantifi cation of zeaxanthin dipalmitate and total carotenoids in Lycium fruits (Fructus Lycii). Plant Foods for Human Nutrition, 60, 161–164.

49- Peyvandi M., Kazemi Khaledi N., Arbabian, S. 2013. The effects of magnetic fields on growth and enzyme activities of *Helianthus annuus* L. seedlings. Iranian Journal of Plant Physiology. 3 (3): 717-724.

50- Philip, S., Christina, A. 2000. Organic Chemistry. Prentice Hall, CaliforniPotterat, O. 2010. Goji (Lycium barbarum and L. chinense) Phytochemistry, pharmacology and safety in the perspective of traditional uses and recent popularity. Planta Med. 76 (1). 7–19.

51- Rashid, H., F. MohammadAbbasi., A. Quraishi. 2003. Plant regeneration from seed derived callus of three varieties of Basmati rice. Plant tissue culture. 13(1): 75-79.

52- Rawat, J.M., Rawat, B., Chandra, A., Nautiyal, S. 2013. Influence of plant growth regulators on indirect shoot organogenesis and secondary metabolite production in Aconitum violaceum Jacq. African Journal of Biotechnology 12 (44), 6287–6293.

53- Rezaiea, M., Farhoosh, R., Iranshahi, M., Sharif, A., Golmohamadzadeh, S. 2015. Ultrasonic-assisted extraction of antioxidative compounds from Bene (Pistacia atlantica subsp. mutica) hull using various solvents of different physicochemical properties. Food Chemistry. 173, 577–583.

54- Rodrigues, C., Boldori, J. R., Soares, M. V., Somacal, S., Emanuelli, T., Izaguirry, A., Denardin, C. C. 2021. Goji berry (*Lycium barbarum* L.) juice reduces lifespan and premature aging of Caenorhabditis elegans: Is it safe to consume it? Food Research International, 144, 110297.

55- Roy, A., Ghosh, S., Chaudhuri, M., Saha, PK. 2008. Effect of different plant hormones on callus induction in *Gymnema sylvestris* R.BR. (Asclepiadaceae). African Journal of Biotechnology. 7(13) 2209-2211.

56-Ružić, D., Lazić, T. 2006. Micropropagation as means of rapid multiplication of newly developed blackberry and black currant cultivars. Agriculturae Conspectus Scientificus, 71(4), 149-153.

57- Sakakibara, H. 2006. Cytokinins: activity, biosynthesis, and translocation. Annual Review of Plant Biology., 57, 431-449.

Proof of Article

مقاله پژوهشی، صفحات: ۳۰۶-۲۹۰

58- Shilpashree, H. P., & Rai, R. 2009. In vitro plant regeneration and accumulation of flavonoids in Hypericum mysorense. International Journal of Integrative Biology, 8(1), 43-49.

59- Shinoyama, H., Nomura, Y., Tsuchiya, T., Kazuma, T. 2004. A simple and efficient method for somatic embryogenesis and plant regeneration from leaves of *Chrysanthemum* (dendranthema× grandiflorum (Ramat.) Kitamura).). Plant Biotechnology Journal. 21(1):25-33.

60- Silvestri, C., Sabbatini, G., Marangelli, F., Rugini, E., Cristofori, V. 2018. Micropropagation and ex vitro rooting of wolfberry. HortScience, 53(10), 1494-1499.

61- 61- Souza, V., Pereira, P.A.P., Lima, T.L.T., Pio, R., Queiroz, F. 2014. Determination of the bioactive compounds, antioxidant activity and chemical composition of Brazilian blackberry red raspberry, strawberry, blueberry and sweet cherry fruits. Food Chemistry. 156, 362–368.

62- Tabaraki. R., Nateghi. A., Ahmady-Asbchin, S. 2013. In vitro assessment of antioxidant and antibacterial activities of six edible plants from Iran. Journal of Acupuncture and Meridian Studies, 6(3), 159-162fruits. Food Chemistry. 156, 362–368.

63- Torregrosa, L., Bouquet, A. 1995. In vitro propagation of Vitis × Muscadinia hybrids by microcuttings or axillary budding. Vitis, 34: 237-8.

64-Wagner, G. J. 1979. Content and vacuole/extravacuole distribution of neutral sugars, free amino acids, and anthocyanin in protoplasts. Plant physiology, 64(1), 88-93.

65- Wang, C. C., Chang, S. C., Inbaraj, B. S., Chen, B. H. 2010. Isolation of carotenoids, flavonoids and polysaccharides from *Lycium barbarum* L. and evaluation of antioxidant activity. Food chemistry, 120(1), 184-192.

66- Wenli, S., Shahrajabian, M. H., Qi, C. 2021. Health benefits of wolfberry (Gou Qi Zi, *Fructus barbarum* L.) on the basis of ancient Chineseherbalism and Western modern medicine. Avicenna Journal of Phytomedicine, 11(2), 109.

67- Yu, K. S. H., Wong, A. H. Y., Yau, K. W. Y., Wong, Y. S., & Tam, N. F. Y. 2005. Natural attenuation, biostimulation and bioaugmentation on biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in mangrove sediments. Marine pollution bulletin, 51(8-12), 1071-107.

68- Zhang, L., Gu, J., Chen, Y. 2013. A study on four antioxidation effects of *lycium barbarum* L. polysaccharides in vitro. African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines, 10(6), 494-498.

69- Zhang Z., Liu X., Wu T., Liu J., Zhang X., Yang X., Wang Y. 2011. Selective suppression of cervical cancer Hela cells by 2-O-β-Dglucopyranosyl-L-ascorbic acid isolated from the fruit of *Lycium barbarum* L. Cell Biology and Toxicology. 27, 107–121.

Preproof Article

مقاله پژوهشی، صفحات: ۳۰۶-۲۹۰

The effect of active coal and growth regulators on microproliferation and secondary metabolites of the medicinal plant red gojiberry (*Lycium barbarum* L.)

Motahare Omidipou, Fatemeh Jamalomidi*
Department of Biology, Faculty of Sciences, University of Guilan, Rasht, Iran

abstract

Gojiberry is considered one of the most important medicinal plants and has been called a super food or super fruit due to its high therapeutic effects. Considering the medicinal and edible importance of this species, its reproduction through tissue culture at a low cost over a large area is necessary. For this purpose, an experiment was conducted in the form of a completely randomized design with three replicates. First, the seeds were disinfected and planted in 1.2 MS medium, then in full MS culture medium containing different concentrations of hormones for branching ((2,3,0) BA, (0,5) IBA) mg/L, and callus formation was transferred with hormonal ratios (BA (0,0.5) 2,4. D (0,2) mg/L individually and in combination. Each of the produced shoots was transferred to a medium containing hormones ((2,0) BA, (0,0.5) NAA) with and without activated charcoal to check the rooting power. According to the obtained results, the medium containing hormones (BAP: IBA) at a ratio of (0.5:3) has the highest average number of branches with an average of 2.99. The use of activated charcoal in the hormonal ratio (0:0.5) in the absence of BA caused potential stimulation of root growth. The investigation of secondary metabolites of phenol, flavonoid, and flavone showed that root, stem, leaf, and callus samples had different responses to different ratios of growth regulators.

Key words: Goji berry, callus formation, root formation, activated charcoal, secondary metabolite.

Preproof