

تأثیر غلظت‌های مختلف تیدیازورون (TDZ) و تیوسولفات نقره (STS) بر ویژگی‌های مورفولوژیکی و فیتوشیمیایی گل مغربی در شرایط درون شیشه‌ای

رقیه اله بخش، اسماعیل چمنی، علیرضا قنبری و اصغر استاجی*

گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۱۲/۲۱، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹۸/۰۸/۱۱)

چکیده

گل مغربی (*Oenothera spp.*) یک گیاه زینتی بوده که جدای از زینتی بودن از لحاظ خواص دارویی نیز اهمیت دارد. متابولیت‌های ثانویه از جمله ترکیبات فنولی در این گیاه اهمیت دارویی دارند. برگ این گیاه دارای ترکیبات فنولی متعددی بوده که خاصیت آنتی‌اکسیدانی دارند. افزودن برخی ترکیبات به محیط کشت باعث افزایش تولید متابولیت‌های ثانویه می‌شود، که از آن جمله می‌توان به تیدیازورون (TDZ) و تیوسولفات نقره (STS) اشاره کرد. در این پژوهش تأثیر تیمارهای تیدیازورون (۰، ۵، ۱۰، ۱۵ و ۲۰ میکرو مولار) و تیوسولفات نقره (۰، ۵، ۱۰، ۱۵ و ۲۰ میکرو مولار) بر ویژگی‌های مورفولوژیکی و فیتوشیمیایی (میزان کلروفیل و کارتنوئیدها، فلاونوئید، فنول و آنتوسیانین کل) گل مغربی بررسی شدند. نتایج بدست آمده نشان داد تیمار تیدیازورون بر روی صفات مورفولوژیکی مانند صفات تعداد برگ، وزن گیاه، وزن ساقه، وزن ریشه، اندازه ساقه، وزن خشک کل، وزن خشک برگ و ساقه در سطح ۱٪ معنی‌دار بوده است. همچنین غلظت‌های مختلف تیمار تیوسولفات نقره نیز بر برخی پارامترها مانند: وزن ریشه، اندازه ساقه، سطح، طول و عرض برگ، وزن خشک ساقه و وزن خشک ریشه در سطح ۱٪ تأثیر معنی‌داری داشت. نتایج داده‌های بیوشیمیایی نشان داد که تیمارهای تیدیازورون و تیوسولفات نقره به ترتیب بیشترین تأثیر را بر میزان فنول و مقدار کلروفیل a داشتند. بیشترین میزان فنول کل در تیمار ۲۰ میکرومولار تیدیازورون (۱۴/۹۳ میکرو گرم بر گرم وزن تازه) بدست آمد. همچنین نتایج نشان داد که در تیمار تیدیازورون با افزایش غلظت، میزان فنول کل افزایش یافته است. بیشترین میزان کلروفیل a در تیمار ۲۰ میکرومولار تیوسولفات نقره (۱۰/۴۳ میلی گرم در گرم وزن تازه) مشاهده گردید. در نهایت نتایج نشان دهنده تأثیر مطلوب تیمار تیدیازورون و تیمار تیوسولفات نقره در افزایش فنول کل شده بود.

واژه‌های کلیدی: تیدیازورون، تیوسولفات نقره، صفات فیتوشیمیایی، کشت بافت، گل مغربی، فنول‌ها

مقدمه:

شکل فنجانی یا شیپوری مانند هستند (قهساره و کافی، ۱۳۸۴). گل مغربی از آمریکای شمالی منشأ گرفته است و امروزه در همه جای اروپا، آسیا، نیوزلند و استرالیا گسترش یافته است (David et al., 2009). این گیاه در کنار اینکه به عنوان گل زینتی کاشته می‌شود، از لحاظ خواص دارویی نیز مهم است،

گل مغربی (*Oenothera spp.*) از خانواده اُناگراسه (Onagraceae) بوده که دارای ۱۲۵ گونه یکساله، دوساله و چند ساله می‌باشد. برگ‌های آن نیزه‌ای شکل و گل‌ها معطر و به رنگ سفید، زرد یا صورتی می‌باشند و همچنین گل‌ها به

* نویسنده مسؤل، نشانی پست الکترونیکی: a_estaji@ut.ac.ir

بطوری که برگ گیاه گل مغربی دارای ترکیبات فنولی متعددی بوده که خاصیت آنتی‌اکسیدانی دارند. همچنین دم کرده این گیاه برای درمان سرفه، اختلالات معده و روده، سیاه سرفه و برای کاهش درد استفاده می‌شود. عصاره گل مغربی دارای اسید گالیک است که فعالیت ضد سرطانی دارد (قهفرخی و همکاران، ۱۳۹۰). این گیاه به عنوان پادزهر عالی برای بیماری‌های پوستی، کبدی، التهابی و ... شناخته شده است (محمدی و چمنی، ۱۳۹۱). شکنندگی بذر و جوانه زنی غیر یکنواخت، کشت تجاری این گیاه را محدود کرده است، براساس تحقیقات انجام شده کاربرد تکنیک‌هایی از قبیل کشت درون شیشه‌ای، فرایند اصلاح را در این گیاه تسریع می‌کند (قاسم نژاد و همکاران، ۲۰۱۱). با توجه به مشکلاتی از جمله فصل رویش و مناطق خاص جغرافیایی، در معرض انقراض بودن نسل‌های گیاهی، متغیر بودن میزان مواد موثر و حساسیت به پاتوژن در کشت‌های زراعی در سطح وسیع و بسیاری مشکلات دیگر، تهیه فرآورده‌های دارویی از کشت بافت گیاهی رایج شده است (Parasad, 2004). از سوی دیگر در طبیعت سرعت تولید متابولیت‌های ثانویه کند بوده و زمان طولانی برای تولید آن لازم است، لذا میزان تولید اقتصادی نبوده و ضروری به نظر می‌رسد که برای تولید سریع و انبوه متابولیت‌های ثانویه و مواد دارویی گیاهی از روش کشت درون شیشه‌ای گیاهی استفاده گردد (Ramachandra et al., 2000). افزودن برخی ترکیبات هورمونی به محیط کشت در افزایش تولید متابولیت‌های ثانویه مؤثر است (محمدی و همکاران، ۱۳۹۱).

تیدیازورون ماده‌ای است که اثراتی شبیه به سایتوکینین‌ها دارد. اگرچه از لحاظ شیمیایی تفاوت‌هایی با سایتوکینین‌های رایج دارد. در اصل تیدیازورون به عنوان ترکیبی با فعالیت شبه سایتوکینین دسته‌بندی می‌شود و در بسیاری از پاسخ‌ها در کشت بافت شبیه سایتوکینین‌ها است (Dalla Pellegrina et al., 2005). محققین بیان کردند که تیدیازورون در کشت درون شیشه‌ای جایگزین مناسبی برای بنزیل‌آمینو پورین، زآتین و دیگر سایتوکینین‌ها می‌باشد (Genkov and Iordanka, 1995) همچنین این ماده بصورت اسپری پاشی در برگ‌های گل‌های بریده مانع

کاهش میزان کلروفیل می‌شود (Ferrante et al., 2001).

تیوسولفات نقره نیز یکی از مهم‌ترین و شناخته شده ترین مواد شیمیایی ضد میکروبی است و اثر سمیت نقره بر دامنه وسیعی از میکروارگانیسم‌ها از مدت‌ها پیش شناخته شده است و همچنین یون نقره اثر بازدارندگی قوی بر اتیلن دارد. اخیراً از ترکیبات نقره در کشاورزی برای افزایش میزان آسکوربات، سنتز کلروفیل و میزان فیبر برگ‌ها، جلوگیری از ریزش بذر در گیاه گاوزبان و تأثیر بر متابولیت‌های ثانویه گیاهان دارویی استفاده شده است (Rostami et al., 2012). با توجه به اثرات این مواد بر رشد و فیزیولوژی رشد گیاهان، به نظر می‌رسد که یون‌های نقره بتوانند بر تولید متابولیت‌های ثانویه و باززایی گیاهان موثر باشند. همچنین یون‌های نقره اثر بازدارندگی قوی بر اتیلن دارند (Balestra et al., 2006). یون نقره (Ag^+) در تیوسولفات نقره [$Ag(S_2O_3)_2^{3-}$] با جایگزینی یون مس (Cu^+) در گیرنده اتیلن، از تأثیر اتیلن جلوگیری می‌کند (Beyer et al., 1979). Rostami و Ehsanpour (۲۰۱۰) با بررسی تأثیر تیوسولفات نقره بر میزان کلروفیل و محتوای آنتی‌اکسیدانتی در گیاه سیب زمینی بیان کردند که، تیوسولفات نقره سبب افزایش محتوای کلروفیل می‌شود که در بین غلظت‌های صفر، ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میکرومولار تیوسولفات نقره غلظت ۱۰۰ میکرومولار بیشترین افزایش را در محتوای کلروفیلی گیاه داشته است. با توجه به اهمیت متابولیت‌های ثانویه در گل مغربی و نقش عوامل محرک در افزایش این متابولیت‌ها در این تحقیق تأثیر غلظت‌های مختلف تیدیازورون و تیوسولفات نقره بر پارامترهای فیتوشیمیایی مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

در این پژوهش تأثیر غلظت‌های مختلف تیمار تیدیازورون و تیوسولفات نقره بر ویژگی‌های فیتوشیمیایی گل مغربی در آزمایشگاه کشت بافت گروه علوم باغبانی دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه محقق اردبیلی مورد بررسی قرار گرفت. بعد از تهیه بذرهای گل مغربی، بذرها استریل شدند. برای این

نتایج و بحث

تأثیر تیديازورون بر ویژگی‌های مورفولوژیکی: با توجه به نتایج جدول تجزیه واریانس داده‌های مورفولوژیکی (جدول ۱)، صفات تعداد برگ، وزن گیاه، وزن ساقه، وزن ریشه، وزن خشک کل، وزن خشک برگ در سطح ۱٪ و همچنین صفات وزن خشک و اندازه ساقه، وزن خشک ریشه و وزن برگ نیز در سطح ۵٪ معنی‌دار بوده است. با توجه به نتایج جدول مقایسه میانگین‌ها (جدول ۲)، در بیشتر غلظت‌ها تیمار شاهد مقادیری بالاتری داشت. همچنین بعد از تیمار شاهد تیمار تیديازورون ۵ میلی‌گرم در لیتر نیز در صفات وزن گیاه، وزن برگ، وزن ریشه، اندازه ریشه، سطح، عرض و تعداد برگ، وزن خشک کل، برگ، ساقه و ریشه دارای مقادیر بالایی بود. Huettman و همکاران (۱۹۹۳) بیان کردند که تیديازورون در غلظت‌های بالا (۱۰-۱ میکرومولار) سبب تشکیل کالوس زیاد و جلوگیری از رشد شاخه می‌شود که با نتایج این تحقیق مطابقت داشت (شکل ۱). بطوری که مشاهده شد تیمارهای تیديازورون نیز سبب کاهش رشد ساقه‌ها گردیده بود. Fasolo و همکاران (۱۹۸۹) بیان کردند که برای رفع مشکل جلوگیری از طویل شدن شاخساره در محیط کشت حاوی تیديازورون می‌توان نمونه‌ها را واگشت نمود و به محیط کشت جدید و با تعادل هورمونی متفاوت منتقل کرد. همچنین آنها غلظت بالای تیديازورون (۵۰ میکرومولار) را مانع شاخه‌زایی ریزنمونه‌های سیب بیان کردند. در پژوهش ذکر شده شاخه‌هایی که با تحریک تیديازورون تولید شده بودند، شاخه‌هایی متراکم و با میانگره‌های کوتاه بودند که این عادت رشدی حتی بعد از چند مرحله واگشت هنوز باقی مانده بود. این نتایج با مشاهدات ما نیز مطابقت داشت. همچنین Victório و همکاران (۲۰۱۲) با مقایسه تیمارهای BAP و تیديازورون بر رشد شاخساره در کشت درون شیشه‌ای گل همیشه بهار (*Calendula officinalis*) بیان کردند که BAP تأثیر مطلوب‌تری نسبت به تیديازورون بر رشد شاخه‌ها داشته و تیديازورون مانع طویل شدن شاخه‌ها و رشد ریشه‌ها شده بود. همچنین گزارش شده است که تبدیل شاخه‌های القا شده به گیاه کامل توسط

منظور بذرها در داخل بشر حاوی توری قرار داده شدند و همراه با چند قطره مایع ظرف‌شویی به مدت ۲۰ دقیقه زیر آب جاری قرار گرفت. سپس جهت از بین بردن آلودگی‌های میکروارگانیسمی (قارچ‌ها و باکتری‌ها) و ضدعفونی سطحی از هیپوکلرید سدیم ۳٪ به مدت ۱۵ دقیقه استفاده شد. کشت بذرها در زیر هود لامینار و در شرایط کاملاً استریل درون لوله‌های آزمایش استریل حاوی محیط کشت MS به همراه غلظت‌های مختلف تیديازورون (۰، ۵، ۱۰، ۱۵، ۲۰ میکرومولار) و تیوسولفات نقره (۰، ۵، ۱۰، ۱۵، ۲۰ میکرومولار) صورت گرفت. برای هر نمونه سه تکرار وجود داشت و داخل هر لوله آزمایش نیز سه بذر قرار گرفته بود. پس از استقرار ریزنمونه‌ها در محیط کشت، ریزنمونه‌ها در یک اتاقک رشد با ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی در روز با شدت نور ۲۰۰۰ لوکس و دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. پس از انتقال ریزنمونه‌های کشت شده به اتاقک رشد و ژرمیناتور، کنترل روزانه به منظور بررسی تغییرات در رشد و نمو نمونه‌ها و همچنین حذف کشت‌های آلوده انجام گرفت. پس از حدود ۴۰ روز از رشد بذرها و رسیدن برگ‌های نمونه‌های گیاهی به انتهای لوله کشت، نمونه‌برداری صورت گرفت. در نهایت شاخص‌های مورفولوژیکی مانند وزن تر گیاه، ساقه، برگ و ریشه (با ترازوی دیجیتال) سطح برگ (با دستگاه سطح سنج مدل Bioscientific Ltd Area meter AM 300) اندازه ساقه و کل گیاه (با خط‌کش میلی‌متری) و وزن خشک ساقه، ریشه و برگ (خشک شدن به مدت ۴۸ ساعت در آون با دمای ۴۷ درجه سانتی‌گراد) و پارامترهای فیتوشیمیایی از جمله میزان کلروفیل‌ها، کارتنوئیدها (Lichtenthder, 1987)، فلاونوئیدها (Singleton and Rossi, 1965)، فنول (Krzek et al., 1998)، و آنتوسیانین (Wagner, 1979) اندازه‌گیری شدند. آزمایش در قابل طرح کاملاً تصادفی و با سه تکرار انجام شد. پس از جمع‌آوری داده‌ها، نرمال‌سازی داده‌ها به روش جذری صورت گرفت. تجزیه واریانس با استفاده از نرم افزار SPSS و مقایسه میانگین‌ها داده‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن انجام شد.

جدول ۱- تجزیه واریانس تاثیر غلظت‌های مختلف تیمار تیديازورون بر شاخص‌های مورفولوژیکی اندازه‌گیری شده

میانگین مربعات								
منابع تغییرات	درجه آزادی	وزن گیاه	وزن ساقه	وزن برگ	وزن ریشه	اندازه ساقه	سطح برگ	عرض برگ
تیمار		۰/۰۱۳**	۰/۰۰۶**	۰/۰۰۰۵*	۰/۰۱**	۶/۱*	۴/۷	۰/۰۵
خطا	۱۰	۰/۰۰۱	۰	۰	۰	۰/۳۱۷	۱/۵۲	۰/۱۲
کل	۱۴							
ضریب تغییرات (%)		۲۷	۳	۱۳	۲۹	۱۷	۲۴	۱۴
منابع تغییرات	درجه آزادی	طول برگ	تعداد برگ	اندازه کل	وزن خشک کل	وزن خشک برگ	وزن خشک ساقه	وزن خشک ریشه
تیمار	۴	۱/۱۰	۰/۵۹**	۵/۲	۰/۰۰۳**	۰/۰۰۱**	۰/۰۰۲*	۰/۰۴۷*
خطا	۱۰	۰/۴۱	۰/۰۶	۲/۱۳	۰	۰	۰	۰/۰۳۷
کل	۱۴							
ضریب تغییرات (%)		۱۷	۱۷	۱۷	۱۹	۲۱	۱۸	۱۷

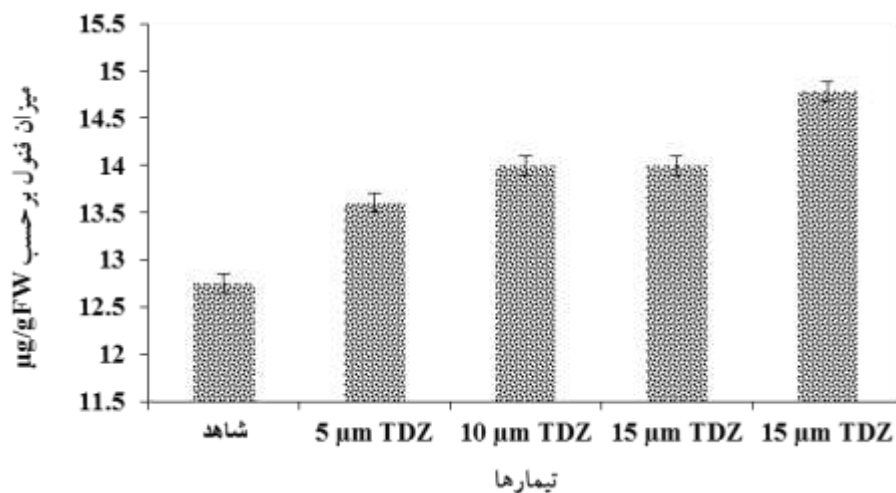
** و * نشان دهنده معنی‌داری در سطح ۱٪ و ۵٪ می‌باشد.

جدول ۲- مقایسه میانگین صفات مورفولوژیکی گل مغربی در تیمار با غلظت‌های مختلف تیديازورون در شرایط درون شیشه‌ای

تیمارها	وزن گیاه	وزن ساقه	وزن برگ	وزن ریشه	اندازه ساقه	اندازه ریشه	عرض برگ	سطح برگ
	(g)	(g)	(g)	(g)	(mm)	(mm)	(mm)	(mm ²)
شاهد	۰/۴۰ ^a	۰/۲۳ ^a	۰/۰۶ ^b	۰/۲۴ ^a	۹/۹۳ ^a	۷/۵۲ ^a	۲/۲۷ ^a	۸/۳ ^a
TDZ 5 μm	۰/۳۳ ^b	۰/۱۶ ^b	۰/۰۹ ^a	۰/۱۸ ^b	۶/۶۲ ^b	۶/۳۵ ^{ab}	۲/۳۳ ^a	۵/۶ ^b
TDZ 10 μm	۰/۲۹ ^{bc}	۰/۱۶ ^b	۰/۰۶ ^b	۰/۱۳ ^c	۷/۵۷ ^c	۶/۱۰ ^{ab}	۲/۱۲ ^a	۶/۵ ^{ab}
TDZ 15 μm	۰/۲۴ ^c	۰/۱۱ ^b	۰/۰۷ ^b	۰/۱۱ ^c	۶/۸۴ ^c	۷/۵۰ ^a	۲/۰۱ ^a	۵/۳ ^b
TDZ 20 μm	۰/۲۵ ^c	۰/۱۱ ^b	۰/۰۷ ^b	۰/۱۱ ^c	۸/۹۸ ^b	۵/۱۹ ^b	۲/۳۱ ^a	۵/۵ ^a
طول برگ	تعداد برگ	اندازه کل	وزن خشک کل	وزن خشک برگ	وزن خشک ساقه	وزن خشک ریشه		
(mm)	(g)	(mm)	(g)	(g)	(g)	(g)		
شاهد	۳/۲ ^a	۱۲/۷۱ ^a	۰/۲۰ ^a	۰/۰۲۴ ^c	۰/۱۳۱ ^a	۰/۱۲۱ ^a		
TDZ 5 μm	۲/۴۴ ^b	۹/۱۸ ^b	۰/۱۷۷ ^b	۰/۰۵۶ ^a	۰/۱۰۸ ^{ab}	۰/۳۴۶ ^a		
TDZ 10 μm	۳/۰ ^a	۹/۷۲ ^b	۰/۱۵۵ ^c	۰/۰۳۴ ^b	۰/۱۰۲ ^{ab}	۰/۰۵۰ ^a		
TDZ 15 μm	۲/۵ ^b	۱۰/۲۲ ^{ab}	۰/۱۱۲ ^d	۰/۰۳۶ ^b	۰/۰۵۹ ^c	۰/۰۵۹ ^a		
TDZ 20 μm	۲/۱ ^b	۸/۸۸ ^b	۰/۱۵۹ ^{bc}	۰/۰۵۱ ^b	۰/۰۸۰ ^{bc}	۰/۰۶۷ ^a		

میانگین‌هایی با حروف مشترک در یک ستون از لحاظ آماری اختلاف معنی‌داری با یکدیگر ندارند.

تیديازورون با مشکلاتی از قبیل طولیل شدن ضعیف شاخه و ریشه‌زایی ناکافی همراه است (Lu, 1993)، نتایج تحقیق ما نیز



شکل ۲- تأثیر غلظت‌های مختلف تیمار تیديازورون بر میزان فنول (میکروگرم در گرم وزن تازه) در برگ‌های گیاه گل مغربی

وزن برگ، وزن خشک برگ و وزن خشک کل گیاه بین تیمارهای مختلف و شاهد اختلاف معنی داری وجود ندارد. ولی در صفات وزن ریشه (۰/۱۱۵ گرم)، سطح برگ (۵/۳ میلی متر)، عرض برگ (۲/۰۱ میلی متر)، طول برگ (۴/۱۵ میلی متر) تعداد برگ (۲/۵ عدد) و وزن خشک ریشه (۰/۰۵۹ گرم) تیمار ۱۵ میلی گرم در لیتر تیوسولفات نقره بیشترین مقادیر را دارا بوده است. یون نقره وقتی بصورت تیوسولفات نقره $(Ag(S_2O_3)_2^{-3})$ استفاده می‌شود خیلی سریعتر منتقل می‌شود و سمیت کمتری هم نسبت به نترات نقره $(AgNO_3)$ برای بافت دارد (Van & Bovy, 1995). Mollers و همکاران (۱۹۹۲)، با بررسی تأثیر تیوسولفات نقره بر کشت پروتوپلاست سیب-زمینی بیان کردند که تیمار تیوسولفات نقره در گیاهان کشت شده سبب افزایش تعداد و وزن برگ‌ها شد، که البته این افزایش در ژنوتیپ‌های مختلف متفاوت بوده است، ولی حدود دو برابر تعداد برگ‌ها را افزایش داده بود. هرچند در برخی ژنوتیپ‌ها اثر سمی تیوسولفات نقره سبب کاهش ارتفاع گیاه و افزایش میزان آنتوسیانین‌ها شد. همچنین تیوسولفات نقره باززایی شاخساره از کالوس را افزایش داده بود و با افزایش غلظت تیوسولفات میزان باززایی نیز بیشتر شده بود. Perl و همکاران (۱۹۸۸) بیان کردند که تعداد و ارتفاع شاخه‌ها را در محیط کشت حاوی دو میلی‌گرم در لیتر تیوسولفات نقره

نشان داد که تیمار تیديازورون تأثیر منفی بر رشد ریشه‌ها داشته است بطوری که وزن ریشه‌ها در تیمار شاهد ۰/۲۴ گرم و در تیمار ۲۰ میلی‌گرم در لیتر تیديازورون ۰/۱۱ گرم بوده است. همچنین در تحقیقاتی دیگر بیان شده است که تیديازورون از تشکیل و رشد ریشه‌های جانبی در شرایط کشت بافت گیاه خزرهره (*Rhododendron*) (Preece and Imel, 1991) و انگور موسکادین (*Vitis rotundifolia*) (Gray and Benton, 1991) جلوگیری می‌کند. هر چند در موارد دیگر بیان شده که تیديازورون تأثیر منفی بر روی رشد و ریشه‌زایی در شرایط کشت بافت ندارد (Yusnita et al., 1990). Youmbi و همکاران (۲۰۰۶) بیان کردند تأثیر تیديازورون مرتبط با نوع گونه‌ی گیاهی یا رقم و غلظت متفاوت است. بطور کلی نتایج نشان داد که تیمار تیديازورون تأثیر مثبتی بر ویژگی‌های ظاهری گل مغربی نداشته است.

تأثیر تیوسولفات نقره بر ویژگی‌های مورفولوژیکی: نتایج جدول تجزیه واریانس (جدول ۳) نشان می‌دهد که غلظت‌های مختلف تیوسولفات نقره بر برخی پارامترها مانند: وزن ریشه، اندازه ساقه، سطح و طول برگ، وزن خشک ساقه و وزن خشک ریشه در سطح ۱٪ و عرض برگ در سطح ۵٪ تأثیر معنی‌داری داشته است. همچنین با توجه به نتایج جدول مقایسه میانگین‌ها (جدول ۴) در صفات وزن گیاه، وزن ساقه،

جدول ۳- تجزیه واریانس تاثیر غلظت‌های مختلف تیمار تیوسولفات نقره بر شاخص‌های مورفولوژیکی اندازه‌گیری شده

میانگین مربعات								
منابع تغییرات	درجه آزادی	وزن گیاه	وزن ساقه	وزن برگ	وزن ریشه	اندازه ساقه	سطح برگ	عرض برگ
تیمار	۴	۰/۰۰۵	۰/۰۰۳	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۳**	۲/۴۴**	۳۳/۲۵**	۰/۳۸۱*
خطا	۱۰	۰/۰۰۳	۰/۰۰۱	۰	۰	۰/۳۴	۲/۹۷	۰/۰۹۱
کل	۱۴							
ضریب تغییرات (%)		۱۲	۱۱	۱۲	۲۹	۲۲	۲۷	۱۵
منابع تغییرات	درجه آزادی	طول برگ	تعداد برگ	اندازه کل	وزن خشک کل	وزن خشک برگ	وزن خشک ساقه	وزن خشک ریشه
تیمار	۴	۴/۶۸**	۰/۴۱*	۰/۰۰۱	۰/۰۰۴	۰/۰۰۳**	۰/۰۰۳**	۴/۶۸**
خطا	۱۰	۰/۷۲	۰/۰۹۱	۰	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱	۰/۷۲
کل	۱۴							
ضریب تغییرات (%)		۲۷	۱۲	۹	۳۲	۱۸	۲۰	۲۷

** و * نشان دهنده معنی داری در سطح ۱٪ و ۵٪ می باشد

جدول ۴- مقایسه میانگین صفات مورفولوژیکی گل مغربی در تیمار با غلظت‌های مختلف تیوسولفات نقره در شرایط درون شیشه‌ای

تیمارها	وزن گیاه	وزن ساقه	وزن برگ	وزن ریشه	اندازه ساقه	اندازه ریشه	سطح برگ
	(g)	(g)	(g)	(g)	(mm)	(mm)	(mm ²)
شاهد	۰/۴۷۵ ^a	۰/۲۰۰ ^{ab}	۰/۱۰۰ ^a	۰/۰۴۹ ^c	۷/۱۷ ^c	۹/۰۱ ^c	۲/۳ ^c
STS 5 μm	۰/۵۲۴ ^a	۰/۲۴۶ ^a	۰/۱۰۵ ^a	۰/۰۷۲ ^b	۸/۴۵ ^b	۱۰/۴۹ ^{bc}	۲/۵۲ ^{bc}
STS 10 μm	۰/۴۶۹ ^a	۰/۲۴۳ ^a	۰/۱۰۷ ^a	۰/۰۳۵ ^c	۸/۷۴ ^{ab}	۱۱/۱۸ ^{bc}	۲/۴۵ ^{bc}
STS 15 μm	۰/۵۶۹ ^a	۰/۱۷۵ ^b	۰/۱۱۶ ^a	۰/۱۱۵ ^a	۹/۶۹ ^a	۱۷/۴۶ ^a	۳/۱۵ ^a
STS 20 μm	۰/۴۸۳ ^a	۰/۲۴۰ ^a	۰/۱۰۲ ^a	۰/۰۵۴ ^{bc}	۸/۴۹ ^b	۱۳/۸۶ ^b	۲/۹۲ ^{ab}
عرض برگ	طول برگ	تعداد برگ	وزن خشک کل	وزن خشک برگ	وزن خشک ساقه	وزن خشک ریشه	
(mm)	(mm)	(g)	(g)	(g)	(g)	(g)	
شاهد	۲/۳ ^c	۳/۸۵ ^b	۳/۱۰ ^b	۰/۲۴۲ ^a	۰/۱۶۸ ^a	۰/۱۳۶ ^b	۰/۱۳۹ ^b
TDZ 5 μm	۲/۵۲ ^{bc}	۴/۲۳ ^b	۳/۶۹ ^{ab}	۰/۲۵۷ ^a	۰/۰۵۱ ^b	۰/۲۰۸ ^a	۰/۱۴۱ ^b
TDZ 10 μm	۲/۴۵ ^{bc}	۴/۹۴ ^b	۳/۲۵ ^b	۰/۲۴۵ ^a	۰/۰۵۸ ^b	۰/۲۰۳ ^a	۰/۱۲۵ ^b
TDZ 15 μm	۳/۱۵ ^a	۷/۰۸ ^a	۴ ^a	۰/۲۶۲ ^a	۰/۰۶۰ ^b	۰/۱۵۸ ^b	۰/۱۹۱ ^a
TDZ 20 μm	۲/۹۲ ^{ab}	۵ ^b	۳/۰۶ ^b	۰/۲۴۷ ^a	۰/۰۵۵ ^b	۰/۲۰۲ ^a	۰/۱۲۸ ^b

میانگین‌هایی با حروف مشترک در یک ستون از لحاظ آماری اختلاف معنی داری با یکدیگر ندارند.

داشته است و سبب افزایش سطح، تعداد، طول و عرض برگ (شکل ۱) در گیاه گل مغربی شده است. احسان پور و حسن زاده (۲۰۰۰) بیان کردند که اتیلن سبب کاهش سطح برگ، وزن

افزایش یافته بود، که نتایج بدست آمده از این تحقیق هم نشان می‌دهد که تیمار تیوسولفات نقره بر روی پارامترهای مورفولوژیکی گیاه بویژه صفات مربوط به برگ تأثیر معنی داری

با مقدار ۱۴/۹۳ میکروگرم بر گرم وزن تازه بوده است. همچنین نتایج نشان می‌دهد که با افزایش میزان غلظت تیديازورون، میزان فنول‌ها نیز افزایش نشان داده است، بطوری که تیمار شاهد با مقدار ۱۲/۷۴ میکروگرم بر گرم وزن تازه کمترین میزان فنول را دارا بوده است (شکل ۲). فنل‌های گیاهی بدلیل ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی بسیار مورد توجه می‌باشند (Pattanayak *et al.*, 2011). بطوری که برگ گیاه گل مغربی دارای ترکیبات فنولی متعددی بوده که خاصیت آنتی‌اکسیدانی دارند. فنل‌ها بطور وسیعی در سلسله گیاهی توزیع شده اند و فراوانترین متابولیت ثانویه در گیاهان می‌باشند (محمدی و چمنی، ۱۳۹۱). تیمار تیديازورون بر سایر پارامترها همانند میزان کارتنوئید، آنتوسیانین، فلاونوئیدها در طول موج-های ۳۰۰ و ۳۳۰ بی‌تأثیر بوده است. تیديازورون ماده‌ای است که اثراتی شبیه به سایتوکینین نشان داده است و سایتوکینین‌ها سبب تحریک تولید متابولیت‌های ثانویه می‌شوند (Gupta *et al.*, 2011). براساس مطالعات صورت گرفته تیديازورون می‌تواند بیوستتز و یا متابولیسم سایتوکینین‌های درون‌زا را تنظیم کند (Mok *et al.*, 2000). Sakakibara و همکاران (۲۰۰۶) گزارش دادند که بیان ژن‌های درگیر در مسیر متابولیت‌های ثانویه مانند مسیر شیکیمات و فلاونوئید می‌تواند توسط نیترات متوقف می‌شود، در حالی که انتقال برخی عناصر ماکرو مانند نیترات، آمونیوم، سولفات و فسفات می‌تواند بطور معنی‌داری توسط سایتوکینین‌ها جلوگیری شود. این تأثیر سایتوکینین‌ها می‌تواند سبب تحریک تولید متابولیت‌های ثانویه شود (Wade *et al.*, 2003). بنابراین تیديازورون می‌تواند با جلوگیری از انتقال نیترات از طریق تحریک بیوستتز و یا متابولیسم درونی سایتوکینین‌ها، سبب تحریک تولید متابولیت‌های ثانویه شود (Sakakibara *et al.*, 2006).

تیوسولفات نقره: همانطور که در جدول تجزیه واریانس (جدول ۷) مشاهده می‌شود، غلظت‌های مختلف تیوسولفات نقره بر برخی پارامترهایی مانند مقدار فلاونوئیدها، کلروفیل a، b و کلروفیل کل، کارتنوئیدها، فنول و آنتوسیانین معنی‌دار بوده است. همچنین مطابق جدول ۸، میزان کلروفیل a در تیمار

خشک و افزایش تشکیل ریشه در شرایط درون شیشه‌ای می‌شود و از طرفی تیوسولفات نقره به عنوان بازدارنده عمل اتیلن، افزایش دهنده تقسیم سلولی و موثر بر سنتز جیبرلین، سبب افزایش سطح برگ، وزن خشک و کلروفیل کل در گیاه سیب زمینی در شرایط درون شیشه‌ای شده بود که این با نتایج بدست آمده از تحقیق ما مطابقت دارد. Panathula و همکاران (۲۰۱۴) با بررسی تأثیر غلظت‌های مختلف تیوسولفات نقره بر باززایی درون شیشه‌ای گیاه آب قاشق (*Centella asiatica*) بیان کردند که تیوسولفات نقره تأثیر مثبتی بر باززایی شاخساره‌ها و افزایش طول شاخه‌ها داشته است که این بویژه در غلظت‌های پایین مشهودتر بوده است. آنها بیان کردند اتیلن در طی تقسیم و طویل شدن سلولی در شرایط درون شیشه‌ای تولید می‌شود و از ریخت‌زایی شاخساره و تشکیل شاخه جلوگیری می‌کند، که به این ترتیب تأثیر منفی بر رشد شاخساره دارد و در مقابل استفاده از یون‌های نقره به عنوان بازدارنده عمل اتیلن در طی تقسیم سلولی سبب افزایش باززایی شاخساره و رشد آنها می‌شوند. در پژوهش ما نیز مشاهده شد که استفاده از تیوسولفات نقره سبب افزایش اندازه ساقه شده بود و این پارامتر در سطح ۱٪ معنی‌دار شده بود.

تأثیر تیديازورون بر پارامترهای بوشیمیایی: با توجه نتایج جدول تجزیه واریانس (جدول ۵) نشان داد که غلظت‌های مختلف تیديازورون بر برخی پارامترها مانند شدت جذب فلاونوئیدها، کلروفیل a، b و کلروفیل کل، کارتنوئیدها، فنول و آنتوسیانین معنی‌دار بوده است. استفاده از سایتوکینین‌های فنیل اوره آ (تیديازورون) سبب افزایش نسبت کلروفیل a و b می‌شود (Genkovet *et al.*, 1997) که با نتایج این تحقیق نیز مطابقت داشت. نتایج جدول مقایسه میانگین‌ها (جدول ۶) نشان داد تیمار تیديازورون سبب افزایش غلظت آنتوسیانین‌ها شده است که در این بین تیمار تیديازورون ۱۰ میکرومولار بیشترین میزان آنتوسیانین را دارا بوده است. مقدار فنول‌ها نیز تحت تأثیر تیمار تیديازورون قرار گرفته و تفاوت این پارامتر بین غلظت‌های بکار رفته نیز در سطح ۱٪ معنی‌دار بوده است. با توجه به نتایج، بیشترین میزان فنول در تیمار ۲۰ میکرومولار تیديازورون

جدول ۵- تجزیه واریانس صفات فیتوشیمایی گل مغربی در تیمار با غلظت‌های مختلف تیدیا زورون در شرایط درون شیشه‌ای

میانگین مربعات						منابع تغییرات
کروفیل a	کروفیل b	فلاونوئید ۳۳۰	فلاونوئید ۳۰۰	فلاونوئید ۲۷۰	درجه آزادی	
۳۶/۸۲ **	۲۲/۵۲ **	۰/۰۰۱ **	۰/۰۱۳ **	۰/۰۰۱ *	۴	تیمار
۱/۱۸	۲/۰۱	۰	۰/۰۰۱	۰	۱۰	خطا
					۱۴	کل
۲۶	۲۴	۱۲	۱۶	۱۳		ضریب تغییرات (%)

میانگین مربعات						منابع تغییرات
آنتوسیانین	فنول	کارتونوئید	نسبت کروفیل a/b	کروفیل کل	درجه آزادی	
۰/۰۰۰۴ *	۱/۸۵ **	۰/۲۲۸ *	۰/۳۶۲	۵۴/۷۰ *	۴	تیمار
۰	۰/۷۱۹	۰/۱۳۰	۰/۱۳۰	۱/۷۹	۱۰	خطا
					۱۴	کل
۱۶	۷	۲۶	۲۵	۲۸		ضریب تغییرات (%)

** و * نشان دهنده معنی داری در سطح ۱٪ و ۵٪ می باشد

جدول ۶- مقایسه میانگین صفات فیتوشیمایی گل مغربی در تیمار با غلظت‌های مختلف تیدیا زورون در شرایط درون شیشه‌ای

میانگین مربعات					تیمارها
کروفیل a	کروفیل b	فلاونوئید ۳۳۰	فلاونوئید ۳۰۰	فلاونوئید ۲۷۰	تیمارها
mg/gFW		(nm)			
۱۸/۱۵ a	۱۲/۴۱ c	۰/۱۰۶ b	۰/۳۰۲ c	۰/۱۰۴ b	شاهد
۸/۹۰ c	۶/۸۷ c	۰/۱۱۴ b	۰/۳۳۳ c	۰/۱۲۴ ab	TDZ 5 μm
۱۲/۲۱ b	۷/۳۷ a	۰/۱۳۹ a	۰/۳۸۵ b	۰/۱۳۹ a	TDZ 10 μm
۱۲/۴۸ b	۵/۶۹ ab	۰/۱۳۴ a	۰/۳۹۶ b	۰/۱۳۷ a	TDZ 15 μm

آنتوسیانین	فنول	کارتونوئید	نسبت کروفیل a/b	کروفیل کل	
μmol/gFW	μg/gFW				
۰/۰۲۲ c	۱۲/۷۴ b	۱/۳۶ a	۱/۲۸ b	۲۲/۰۲ a	شاهد
۰/۰۲۳ c	۱۳/۸۲ ab	۰/۶۱۵ c	۱/۳۲ b	۱۱/۲۹ c	TDZ 5 μm
۰/۰۳۲ a	۱۴/۰۷ ab	۱/۰۴۸ b	۱/۴۸ ab	۱۴/۲۷ b	TDZ 10 μm
۰/۰۲۵ bc	۱۴/۱۲ ab	۱/۰۴ b	۲/۲۱ a	۱۳/۷۲ bc	TDZ 15 μm
۰/۰۲۸ ab	۱۴/۹۳ a	۰/۸۶۰ b	۱/۸۶ ab	۱۲/۱۵ bc	TDZ 20 μm

میانگین‌هایی با حروف مشترک در یک ستون از لحاظ آماری اختلاف معنی‌داری با یکدیگر ندارند.

تیمار مربوطه روند افزایشی را نشان داده است. بیوستز و شکست کروفیل در گیاهان دارای مسیر پیچیده ای است که تحت تأثیر فاکتورهای مختلفی است ولی بیان شده که اتیلن تأثیر منفی بر این فرآیند دارد (Jona et al., 1997). یون‌های

شاهد ۱۸/۱۵ و در تیمار ۲۰ میلی‌گرم در لیتر تیوسولفات نقره ۱۰/۴۸ میلی‌گرم در گرم وزن تازه بوده است که نشان از افزایش میزان کروفیل a با افزایش مقدار تیوسولفات نقره دارد. همچنین میزان کروفیل b و کروفیل کل نیز با افزایش غلظت

جدول ۷- تجزیه واریانس صفات فیتوشیمایی گل مغربی در شرایط کشت بافت و تیمار تیوسولفات نقره

میانگین مربعات						
منابع تغییرات	درجه آزادی	فلاونوئید ۲۷۰	فلاونوئید ۳۰۰	فلاونوئید ۳۳۰	کلروفیل b	کلروفیل a
تیمار	۴	۰/۰۰۶**	۰/۱۰۶**	۰/۰۰۶**	۱/۱۱	۱/۰۶**
خطا	۱۰	۰/۰۰۲	۰/۰۰۵	۰/۰۰۱	۰/۵۶	۰/۱۴۰
کل	۱۴					
ضریب تغییرات (%)		۱۴	۱۷	۱۲	۸/۶	۶/۴
منابع تغییرات	درجه آزادی	کلروفیل کل	نسبت کلروفیل a/b	کارتنوئید	فنول	آنتوسیانین
تیمار	۴	۲/۰۴*	۰/۲۷۲*	۰/۳۲۴	۱/۶۷	۰/۰۰۰۴
خطا	۱۰	۰/۴۹	۰/۰۴۵	۰/۲۲۳	۲/۶۱	۰
کل	۱۴					
ضریب تغییرات (%)		۶/۹	۲۵	۲۶	۱۱	۱۲

** و * نشان دهنده معنی داری در سطح ۱٪ و ۵٪ می باشد

جدول ۸- مقایسه میانگین صفات فیتوشیمایی گل مغربی در شرایط کشت بافت و تیمار تیوسولفات نقره

میانگین مربعات					تیمارها
کلروفیل a	کلروفیل b	فلاونوئید ۳۳۰	فلاونوئید ۳۰۰	فلاونوئید ۲۷۰	
mg/gFW		(nm)			
۹/۰۹ ^c	۸/۹۰ ^c	۰/۳۰۴ ^b	۰/۸۶ ^c	۰/۲۹ ^b	شاهد
۹/۴۱ ^{bc}	۹/۶۵ ^b	۰/۳۲۶ ^b	۰/۹۴ ^c	۰/۳۵ ^{ab}	STS 5 μm
۱۰/۳۹ ^a	۱۰/۴۲ ^{ab}	۰/۳۹۷ ^a	۱/۰۹ ^b	۰/۳۹ ^a	STS 10 μm
۱۰/۰۲ ^{ab}	۱۰/۳۱ ^a	۳۸۲ ^a	۱/۱۲ ^b	۰/۳۹ ^a	STS 15 μm
آنتوسیانین	فنول	کارتنوئید	نسبت کلروفیل a/b	کلروفیل کل	
μmol/gFW	μg/gFW	mg/gFW			
۰/۰۱۳ ^a	۱۲/۴۴ ^a	۱/۸۳ ^a	۱/۱۷ ^a	۱۲/۷۳ ^c	شاهد
۰/۰۱۱ ^a	۱۲/۹۸ ^a	۱/۱۱ ^{ab}	۱/۱۵ ^a	۱۳/۴۸ ^{ab}	STS 5 μm
۰/۰۱۱ ^a	۱۳/۳۱ ^a	۱/۲۵ ^{ab}	۰/۹۳ ^b	۱۴/۷۲ ^a	STS 10 μm
۰/۰۱۲ ^a	۱۴/۰۲ ^a	۱/۰۰ ^b	۰/۹۵ ^b	۱۴/۳۸ ^a	STS 15 μm
۰/۰۱۱ ^a	۱۴/۲۶ ^a	۱/۱۵ ^{ab}	۱/۲۴ ^a	۱۴/۴۴ ^a	TDZ 20 μm

میانگین‌هایی با حروف مشترک در یک ستون از لحاظ آماری اختلاف معنی داری با یکدیگر ندارند.

همچنین یون نقره فرآیندهایی نظیر پیری و تجزیه کلروفیل‌ها را متوقف می‌کند (Ichimura et al., 2008). برای مثال Jakob-Will و همکاران (۱۹۹۹) بیان کردند که اتیلن بیان ژن‌های کلروفیل‌ها را القا می‌کند، اما جلوگیری از تأثیر اتیلن توسط

نقره سبب جلوگیری از تولید اتیلن می‌شود و از تجزیه کلروفیل جلوگیری می‌کند (Balestra et al., 2006). یون‌های نقره موجود در تیوسولفات نقره به گیرنده‌های اتیلن متصل و مانع فعالیت و عمل آن می‌شود (Macnish et al., 2004).

نتایج ما نیز مطابقت داشت و نتایج نشان داد که تیوسولفات نقره سبب جلوگیری از تجزیه کلروفیل شده است

نتیجه گیری

نتایج این تحقیق نشان داد که تیمارهای تیدیازورون و تیوسولفات نقره بر روی صفات مورفولوژیکی تأثیرگذار بوده است، هر چند که این تأثیر بویژه در تیمار تیدیازورون بصورت کاهش بوده است و در تیمار تیوسولفات نقره نیز تیمارها در حد ارزش شاهد بودند. ولی در مورد پارامترهای بیوشیمیایی نتایج متفاوتی بدست آمد بطوری که، تیمار تیدیازورون سبب افزایش پارامترهای فیتوشیمیایی همانند: شدت جذب فلاونوئیدها، میزان آنتوسیانین‌ها و میزان فنول شده بود. تیمار تیوسولفات نقره نیز سبب افزایش تمام پارامترهای بیوشیمیایی شده است. و همچنین مقدار کلروفیل a و b و کلروفیل کل، میزان جذب فلاونوئیدها و میزان کارتنوئیدها، آنتوسیانین و فنول در سطح معنی دار بوده است. نتایج کلی حاکی از آن است که این تیمارهای هورمونی در مورد رشد ظاهری گیاه تأثیر مناسبی نداشته‌اند ولی با تأثیر مثبت بر پارامترهای بیوشیمیایی سبب افزایش ارزش دارویی گیاه خواهند شد.

تیوسولفات نقره محتوای کلروفیلی را افزایش می‌دهد (Ehsanpour and Jones, 2001). همچنین استفاده از غلظت بالای تیوسولفات نقره سبب کاهش برگ‌های سبز می‌شود (Gallo et al., 2010). شواهد نشان می‌دهد که در شرایط درون شیشه‌ای تولید اتیلن درون شیشه‌های دربسته صورت می‌گیرد (Chi et al., 1991)، این اتیلن بر رشد و نمو گیاه تأثیر منفی دارد و می‌تواند رشد گیاه را با مشکل مواجه کند بویژه بر محتوای کلروفیلی گیاه تأثیر بیشتری دارد (Pua and Chi, 1993) همچنین تأثیر اتیلن بر پیشرفت پیری در گیاه مشخص شده است (Jona et al., 1997) از دیگر نظر، اتیلن بیان ژن‌های کلروفیل‌از را افزایش می‌دهد و سبب کاهش میزان کلروفیل a و b می‌گردد. همچنین تیوسولفات نقره با کاهش میزان تنفس در گیاه مانع از دست رفتن کربوهیدرات در گیاه می‌شود (Son et al., 2003) با توجه به این یافته‌ها بیان شده است که بازدارنده‌های تولید اتیلن از جمله یون نقره مانع عمل اتیلن می‌شوند که می‌تواند سبب افزایش محتوای کلروفیلی گیاه گردد. کمپلکس آنیونی تیوسولفات نقره یکی از مهارکننده‌های فعالیت اتیلن است که یون نقره را در ساختار خود دارد و استفاده از آن در غلظت‌های مناسب در محیط کشت سبب بهبود رشد و نمو گیاه و عدم ظهور اثرات زیان‌بار و ناهنجاری‌های ناشی از تجمع اتیلن می‌گردد (Sarkar et al., 2002). که این یافته‌ها با

منابع

- قهساره، م. و کافی، م. (۱۳۸۴). گلکاری علمی و عملی. انتشارات گلبن، ص ۶۴
- قهفرخی، م.، مهران اعلمی، عربشاهی دلویی، س. و صادقی ماهونک، ع. ۱۳۹۰، ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره برگ گل مغربی (*Oenothera biennis*) و تأثیر آن بر پایداری اکسیداتیو روغن سویا، بیستمین کنگره ملی علوم و صنایع غذایی، تهران، دانشگاه صنعتی شریف.
- کریمیانی، ز.، باقری، ع.، جعفرخانی کرمانی، م. و داوری نژاد، غ. (۱۳۸۹). بررسی اثر غلظت‌های متفاوت تیدیازورون و کیتین بر باززایی و پرآوری ژیربا (*Gerbera jamesonii*) رقم رداکسپلوژن. نشریه علوم باغبانی (علوم و صنایع کشاورزی). جلد ۲۴، شماره ۲، ص. ۱۷۴-۱۷۰.
- محمدی، ر. و چمنی، ا. (۱۳۹۱). تولید متابولیت‌های ثانویه گیاه گل مغربی تحت شرایط درون شیشه‌ای، پایان‌نامه. وزارت علوم، تحقیقات و فناوری - دانشگاه محقق اردبیلی - دانشکده کشاورزی.
- Balestra, G.M. Agostini, R. Bellicontro, A. Mencarelli, F. and Varvaro, L. (2005) Bacterial populations related to gerbera *Gerbera jamesonii* L. stem break. *Phytopathological Medit erranean* 44: 291-299.

- Dalla Pellegrina, C. Padovani, G. Mainente, F. Zoccatelli, G. Bissoli, G. Mosconi, S. Veneri, G. Peruffo, A. Andrighetto, G. Rizzi, C. and Chignola, R. (2005) Anti-tumour potential of a gallic acid-containing phenolic fraction from *Oenothera biennis*. *Cancer Letters* 226, 17-25.
- David, G. Nita, S. and Borcean, A. (2009) *Oenothera biennis* L. In south-western banat. *Research Journal of Agricultural Science* 41 (2):234-245.
- Dennis, J. Gray, C. and Benton, M. (1991). In vitro micropropagation and plant establishment of muscadine grape cultivars (*Vitis rotundifolia*). *Plant Cell Tissue and Organ Culture* 27(1):7-14.
- Ehsanpour A. A. and Hasan zadeh M. (2000). Effect of silver thiosulfate (STS) on growth and development of potato in invitro culture. *Journal of science* 13 (2): 13 -27.
- Fasolo, F. Zimmerman, R. H. and Fordham, I. (1089). Adventitious shoot formation on excised leaves of in vitro grown shoots of apple cultivars. *Plant Cell Tissue Organ Culture* 16:75 -87; 1989.
- Ferrante A. Donald A. Hunter B. Wesley P. Hackett B. and Michael S. (2001) Thidiazuron—a potent inhibitor of leaf senescence in *Alstroemeria*. *Postharvest Biology and Technology* 25: 333–338.
- Genkov, T. and Iordanka, I. (1995) Effect of cytokinin-active phenylurea derivatives on shoot multiplication peroxidase and superoxide dismutase activities of in vitro cultured carnation. *Bulg Journal of Plant Physiology* 21, 73–83.
- Genkov, T. Tsoneva, P. and Ivanova, I. (1997) Effect of cytokinins on photosynthetic pigments and chlorophyllase activity in in vitro cultures of axillary buds of *Dianthus caryophyllus* L. *Journal of Plant Growth Regulators* 16(3):169–172.
- Gupta, S.K. Liu, R.B. Liaw, S.Y. Chan, H.S. and Tsay, H.S. (2011) Enhanced tanshinone production in hairy roots of *Salvia miltiorrhiza* Bunge under the influence of plant growth regulators in liquid culture. *Botany study* 52:435–443.
- Huetteman, C. A. and Preece, J. E. (1993). Thidiazuron: a potent cytokinin for woody plant tissue culture. *Plant Cell Tissue Organ Culture* 33:105–119.
- Jakob-Will, D. Holland, D. Goldschmidt, E. E. Riov, J. and Eyal, Y. (1999) Chlorophyll breakdown by chlorophyllase: isolation and functional expression of the Chlase 1 gene from ethylene-treated Citrus fruit and its regulation during development. *Plant Journal* 20: 653-661.
- John, E. Preece, M. and Imel, R. (1991). Plant regeneration from leaf explants of *Rhododendron* 'P.J.M. Hybrids'. *Scientia Horticulturae* 48(1-2):159-170
- Jona, R. Cattro, A. and Travaglio, D. (1997) Chlorophyll content as index of ethylene inside culture vessels. *Acta Horticulturae* 447: 229-230.
- Krizek, D. T. Antonjuk, V. P. and Mirecki, R. M. (1988) Inhibitory effects of ambient levels of solar UV-A and UV-B radiation on growth of cv. new red fire lettuce. *Physiologia Plantarum* 103: 1-7.
- Lichtenthder, H.K. (1987) Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic bio membranes. *Methods in Enzymeology* 148: 350-382.
- Lu, C. Y. (1993). The use of Thidiazuron in tissue culture. *In Vitro Cellular & Developmental Biology* 29:92 – 96.
- Mok, M.C. Martin, R.C. and Mok, D.W.S. (2000) Cytokinins: biosynthesis metabolism and perception. *Vitro Cell Development and Biology Plant* 36(2):102–107.
- Mollers, C. Zhangm, S. and Wenzel, G. (1992) . The Influence of Silver Thiosulfate on Potato Protoplast Cultures. *Plant Breeding* 108(1):12-18
- Panathula, C. Sekhar, M. D. and Charvinia, N. (2014). Silver thiosulphate enhance in vitro regeneration of *Centella asiatica*. an important anti-jaundice medicinal plant. *12(3):401-412*
- Parasad, S. (2004) Impact of plant biotechnology on shyam press. Jodhpur, India. 495.
- Park, S.H. Oh, S.J. and Mun, S.S. (2005) Effect of silver nanoparticles on the fluidity of bila
- Pattanayak, S.P. Mazumder, P.M. and Sunita, P. (2011) Total phenolic content flavonoid content and in-vitro antioxidant activities of *Dendrophthoe falcate* Ettingsh. *International Journal of Pharm technology Research* 3(3): 1392-1406.
- Perl, A. Aviv, D. and Galun, E. (1988) Ethylene and in vitro culture of potato: suppression of ethylene generation vastly improves protoplast yield, plating efficiency and transient expression of an alien gene. *Plant Cell Reports* 7(6): 403-406.
- Ramachandra, R.S. and Ravishankar, G.A. (2000) Plant cell cultures: chemical factories of secondary metabolites. *Biotechnology Advances*, 20: 101-153.
- Reddy, S.H. Chakravarthi, M. Chandrashekara, K.N. Challagundla, V. N. Gupta, S.K. Liu, R.B. Liaw, S.Y. Chan, H.S. and Tsay, H.S. (2011) Enhanced tanshinone production in hairy roots of *Salvia miltiorrhiza* Bunge under the influence of plant growth regulators in liquid culture. *Botany study* 52:435–443.

- Rostami, F. and Ehsanpour, A.A. (2012) The effect of silver thiosulfate (STS) on chlorophyll content and the antioxidant enzymes activity of potato (*Solanum tuberosum* L.). *Journal of Cell and Molecular Research* 2 (1), 29-34.
- Sakakibara, H. Takei, K. and Hirose, N. (2006) Interactions between nitrogen and cytokinin in the regulation of metabolism and development. *Trends Plant Science* 11(9):440-448.
- Singleton, V.L. and Rossi, J.A. (1965) Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology Viticulture* 16: 144-153.
- Van, A. C. Arnaud A, and Bovy, G. (1995). The role of ethylene in the senescence of carnation flowers, a review. *Plant Growth Regulation* 16(1):43-53
- Victorio, C.P. Lage, C.L.S. and Sato. A. (2012). Tissue culture techniques in the proliferation of shoots and roots of *Calendula officinalis*. *The Revista Ciência Agronômica* 43: 539-545.
- Wade, H.K. Sohal, A.K. and Jenkins, G.I. (2003) Arabidopsis ICX1 is a negative regulator of several pathways regulating flavonoid biosynthesis genes. *Plant Physiology* 131(2):707-715.
- Wagner, G.J. (1979) Content and vacuole/extra vacuole distribution of neutral sugars, free amino acids, and anthocyanins in protoplast. *Journal of Plant Physiology* 64: 88-93.
- Youmbi, E. and Blaise, E. (2006). Effect of Thidiazuron on in vitro proliferation capacities of some banana (*Musa* spp.) cultivars with weak multiplication potential. *Akdeniz Universitesi Ziraat Fakultesi Dergisi* 19(2):255-259.
- Youmbi, E. Blaise, E. and Tomekpe, K. (2006). Effect of Thidiazuron on in vitro proliferation capacities of some banana (*Musa* spp.) cultivars with weak multiplication potential. *Akdeniz Universitesi Ziraat Fakultesi Dergisi* 19(2), 255-259.
- Yusnita, S. Genera, R.L. and Kester, S.T. (1990). Micropropagation of white flowering eastern red bud (*Cercis Canadensis* var *alba*). *Journal of Environmental Horticulture* 8, 177-179.

The influence of Thidiazuron (TDZ) and Silver Thiosulfate (STS) on morphological and phytochemical characteristics under in-vitro condition in evening primrose

Roghayeh Allahbakhsh, Esmail Chamani, Alireza Ghanbari and Asghr Estaji

Department of Horticulture Science, Faculty of Agriculture, Mohagheh Ardabili University
(Received: 12/03/2019, Accepted: 02/11/2020)

Abstract

Evening primrose (*Oenothera spp*) is an ornamental plant from Onagraceae family. And has also medicinal properties. Secondary metabolites, including phenolic compounds, are important in this plant. Therefore, leaves of evening Primrose has numerous phenolic compounds and antioxidant properties. Adding some of the compounds to the culture medium increases the production of secondary metabolites, including Thidiazuron (TDZ) with cytokine activity and Silver Thiosulfate (STS) with strong ethylene and antibacterial properties. In this experiment, the effect of TDZ treatments and STS in five levels (0, 5, 10, 15 and 20 μm) on morphological and phytochemical characteristics (chlorophylls and carotenoids, flavonoids, phenols and anthocyanins) were measured. The results showed that TDZ treatment was significant on morphological traits such as number of leaves, plant, stem and root weight, stem size, total dry weight, leaf and stem dry weight at 1% level. Also, different concentrations of STS treatment had a significant effect on some parameters such as root weight, stem size, leaf area and width and length of leaf, stem dry weight and root dry weight at 1% level. The results shown that, TDZ and STS had the greatest effect on the amount of phenol and chlorophyll content, which was also significant at 1% level. According to the results, TDZ 20 μm had the greatest amount of phenol (14.93 $\mu\text{g/gFW}$). The results showed that with increasing concentration TDZ, the amount of phenols increased and it enhanced antioxidant properties. Also, the highest chlorophyll a was observed in 20 μm STS (10.43 mg/gFW). Finally, the results shown that TDZ and STS treatments had good effect on increasing total phenol.

Keywords: Thidiazuron, Silver Thiosulfate, phytochemical characteristics, Tissue culture, Evening primrose, Phenols.

Corresponding author, Email: a_estaji@ut.ac.ir