دو فصلنامه علمی-پژوهشی تحقیقات ژنتیک و اصلاح گیاهان مرتعی و جنگلی ایران شناسه دیجیتال (DOI): 10.22092/ijrfpbgr.2017.107983.1222
جلد ۲۶، شماره ۱، صفحه ۵۲-۴۴ (۱۳۹۷)

اثر محیط کشت و تنظیم‌کننده‌های رشد بر تکثیر درون‌شیشه‌ای گیاه دارویی گزنه

منصوره صداقتی[1*]، محمدحسن عصاره[2]، محمدعلی ابراهیمی[3]، سید محسن حسام‌زاده[4]و حمید سبحانیان[5]

۱*- مسئول مکاتبات، دانشجوی دکترای فیزیولوژی گیاهی، دانشکده علوم، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران

پست الکترونیک: sedaghati@rifr-ac.ir

۲- استاد، مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران

۳- دانشیار، دانشکده بیوتکنولوژی و کشاورزی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران

۴- دانشیار، مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران

۵- استادیار، دانشکده علوم، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۰۷/۲۴ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۰۲/۱۱

چکیده

گزنه (*Urtica dioica* L.) گیاهی دوپایه و دگرگشن با ترکیبات مؤثره و خواص دارویی ویژه که ارزش اقتصادی بسیاری دارد. از آنجا که این گونه دارای هتروزیگوتی بالایی است، امکان تولید گیاهان منتخب از نظر مواد مؤثره و فیبر یکدست از طریق بذر را نداشته، به‌همین دلیل برای تولید و حفظ پایه‌های منتخب می‌توان از طریق تکثیر غیرجنسی و کشت بافت اقدام نمود. برای ریزازدیادی، از جوانه‌های رأسی سرشاخه‌های گزنه به‌عنوان ریزنمونه استفاده شد. بعد از سترون نمودن ریزنمونه‌ها به محیط کشت MS (Murashige and Skoog, 1962) حاوی BAP (6-benzyl-aminopurine)، 2iP (N6-(2-Isopentenyl)adenine) و IBA (Indole-3-butyric acid) منتقل شدند. برای ارزیابی محیط کشت‌ها، ریزنمونه‌ها بعد از یک ماه به تیمارهای شاخه‌زایی شامل محیط‌های کشت (MS, DKW (Driver and Kuniyuki, 1984), WPM (Lloyd and McCown, 1981)) با غلظت‌های متفاوت تنظیم‌کننده‌های رشد IBA, 2,4-D, BAP, KIN (6-Furfurylaminopurine), 2iP, TDZ (Thidiazuron) منتقل شدند. آزمایش به‌صورت آزمون فاکتوریل در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی در سه تکرار بررسی و با برنامه نرم‌افزار آماری SAS (۲۰۰۶) تجزیه‌وتحلیل شد. از نظر آماری، بهترین محیط کشت پایه در شاخه‌زایی، محیط کشت WPM بود. بین تیمارهای ریشه‌زایی، تعداد ریشه اصلی در محیط حاوی KIN (۰/۵mgl-1) + IBA (۰/۵ mgl-1) و تعداد ریشه فرعی ترکیب BAP (۰/۵mgl-1) + IBA (۰/۵ mgl-1) بیشترین مقدار را نشان داد. بعد از ریشه‌زایی، گیاهچه‌های ریشه‌دار شده به گلخانه منتقل شده و با موفقیت (۵۵/۵ درصد) سازگار شدند.

واژه‌های کلیدی: تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی، گزنه، ریزازدیادی

مقدمه

گزنه (*Urtica dioica*) گیاهی پایا، علفی و دوپایه متعلق به خانواده Urticacea است که بومی مناطق آسیا، اروپا و آمریکای شمالی است (Haghpanah *et al*., , 2014;Hegi, 1981). از طریق بذر و بخش رویشی تکثیر می‌شود (Luna, 2001). این گیاه دارای مواد با ارزشی ازجمله مواد معدنی،

فیتواسترول‌ها، گلیکوزیدها و پروتئین است (Szewczuk & Mazur, 2004). در کشاورزی سنتی، گزنه به‌عنوان علف هرز محسوب شده ولی در کشاورزی مدرن برای تولید فیبر ارگانیک و ترکیبات دارویی خاص (تولید داروهایی مانند اوروتان، پروستاتان و اورتیدین) استفاده می‌شود (Gatti *et al.*, 2008)، همچنین برای درمان دیابت، رفع کمبود آهن، درمان کم‌خونی، کنترل سلول‌های سرطانی، خوراک دام و ماکیان تولید فیبر در صنعت غذایی و نساجی مصرف می‌شود (Gatti *et al.*, 2008).

در ارتباط با گزنه پژوهش‌های مختلفی انجام شده است، به‌عنوان مثال: خاک مزرعه، شن، شن سبک و آب برای ریشه‌زایی گزنه (*Urtica dioica*) بر روی قطعات ساقه استفاده شد که خاک مزرعه بهترین تیمار بود (Ammarellou *et al.*, 2012). همچنین Gatti و همکاران (۲۰۰۸) برای ریزازدیادی گزنه، محیط MS (Murashige and Skoog, 1962) به‌همراه ۰/۷ میلی‌گرم بر لیتر BAP و ۰/۱ میلی‌گرم بر لیتر IBA را برای شاخه‌زایی و ۰/۳ میلی‌گرم بر لیتر IBA را برای ریشه‌زایی اعلام کردند.

با توجه به اینکه ارزش اقتصادی گزنه به تولید محصولات نهایی با کیفیت بالا و با ثبات است، متأسفانه این گیاه دارای هتروزیگوتی بالایی بوده و امکان تولید گیاهان منتخب (از نظر مواد مؤثره و فیبر یکدست) از طریق بذر را ندارد (Di Virgilio *et al.*, 2015). به این ترتیب به‌دلیل تنوع ژنتیکی بالا و نیاز دارویی و صنعتی به این گونه، تکثیر از طریق کشت بافت آن ضروری به‌نظر می‌رسد. در این مطالعه به بررسی محیط کشت‌های مختلف حاوی تنظیم‌کننده‌های مختلف رشد بر تکثیر و ریشه‌زایی گزنه پرداخته شده است.

مواد و روش‌ها

سرشاخه‌های سالم گزنه از کلکسیون پژوهشکده فناوری‌های نوین زیستی دانشگاه زنجان تهیه شد. بعد از انتقال به آزمایشگاه، ۲ ساعت در زیر آب جاری قرار داده شده و بعد مراحل پیش سترون‌سازی شامل برس‌کشی با مایع ظرفشویی و محلول اتانل ۷۰ درصد انجام شد. برای سترون نمودن سرشاخه‌ها از محلول هیپوکلریت سدیم ۱/۵ درصد به‌مدت ۵ دقیقه استفاده شد، سپس سرشاخه‌های حاوی جوانه رأسی به‌طول تقریبی یک و نیم سانتی‌متر به‌عنوان ریزنمونه به محیط پایه MS حاوی (۰/۳mgl^{-1}) BAP، (۰/۳mgl^{-1})2iP و (mgl^{-1} ۰/۰۱) IBA برای استقرار منتقل شدند. یک ماه بعد از کنترل آلودگی، ریزنمونه‌ها به تیمارهای شاخه‌زایی انتقال یافتند (جدول ۱). هر تیمار شامل سه تکرار که هریک حاوی چهار ریزنمونه بودند، سپس ظروف حاوی ریزنمونه‌ها، به اتاق رشد با دمای ۲۵ $^{\circ}C$ در روز و ۱۹ $^{\circ}C$ در شب با دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی منتقل شدند. آزمایش‌ها به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شده و پس از یک ماه پارامترهای رشد (طول شاخه، تعداد شاخه، تعداد جوانه و سبزینگی (با کدهای صفر: خشک و نکروزگی پهنک برگ، تا چهار: پهنک برگ سبز تیره)) اندازه‌گیری و ثبت شد.

برای ریشه‌زایی نیز شاخه‌های دو سانتی‌متری حاصل از مرحله تکثیر که ۲ هفته در محیط پایه بدون هورمون بودند، انتخاب شدند و به تیمارهای ریشه‌زایی منتقل گردیدند (جدول ۲). سپس نمونه‌های حاصل از تیمارهای ریشه‌زایی به گلخانه منتقل شدند و برای حفظ رطوبت از روکش نایلونی استفاده شد، بعد از ۱۰ روز منافذ کوچکی در روکش‌ها ایجاد شده و به‌تدریج حذف شدند. گیاهچه‌ها پس از گذشت سه ماه از نظر سازگاری با یکدیگر مورد مقایسه قرار گرفتند. پس از طی یک ماه استقرار در اتاق رشد با شرایط مذکور، پارامترهای مورد نظر (طول ریشه اصلی، تعداد ریشه اصلی، تعداد ریشه فرعی، وزن تر و خشک) اندازه‌گیری و ثبت شدند. آزمایش‌ها در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار و هر تکرار حاوی سه ریزنمونه اجرا شد. تجزیه‌وتحلیل داده‌ها در نرم‌افزار SAS (۲۰۰۶) و مقایسه میانگین‌ها به‌روش دانکن در سطح ۵ درصد انجام شد.

جدول۱- تیمارهای تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی و محیط کشت‌های مختلف در شاخه‌زایی *Urtica dioica*

تنظیم‌کننده رشد / تیمارها	اکسین		سیتوکینین				اسید جیبرلیک
	2,4-D	IBA	TDZ	2ip	Kin	BAP	GA
MS1 (MS کامل)	-	-	۰/۱	-	-	-	۱
MS2 (۲ برابر ارگانیک)	-	۰/۱	-	۰/۳	-	۰/۵	-
MS3 (۳ برابر ارگانیک)	۱	-	-	-	۰/۲	-	-
MS1/2 (۱/۲ نیترات)	-	-	۰/۱	-	-	-	۱
MS2/2 (۱/۲ نیترات+۲ برابر ارگانیک)	–	۰/۱	-	۰/۳	-	۰/۵	-
MS3/2 (۱/۲ نیترات+۳ برابر ارگانیک)	۱	-	-	-	۰/۲	-	-
WPM 1 (WPM کامل)	-	-	۰/۱	-	-	-	۱
WPM 2 (۲ برابر ارگانیک)	-	۰/۱	-	۰/۳	-	۰/۵	-
WPM 3 (۳ برابر ارگانیک)	۱	-	-	-	۰/۲	-	-
DKW 1 (DKW کامل)	-	-	۰/۱	-	-	-	۱
DKW 2 (۲ برابر ارگانیک)	-	۰ /۱	-	۰/۳	-	۰/۵	-
DKW 3 (۳ برابر ارگانیک)	۱	-	-	-	۰/۲	-	-

- MS: محیط پایه (Murashige & Skoog,1962)، - WPM: محیط پایه (Lloyd & McCown, 1981)، - DKW: محیط پایه (Driver Kuniyuki,1984)

جدول ۲- تیمارهای تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی در محیط پایه MS برای ریشه‌زایی *Urtica dioica*

تنظم‌کننده رشد / تیمار	اکسین		سیتوکینین	
	NAA	IBA	Kin	BAP
تیمار ۱ (R1)	-	۰/۵	-	۰/۵
تیمار ۲ (R2)	-	۱	-	۰/۵
تیمار ۳ (R3)	-	۱/۵	-	۰/۵
تیمار ۴ (R4)	۰/۱	-	-	۰/۵
تیمار ۵ (R5)	۰/۳	-	-	۰/۳
تیمار ۶ (R6)	۰/۳	۰/۵	-	-
تیمار ۷ (R7)	-	۰/۵	۰/۵	-
تیمار ۸ (R8)	-	۱	۰/۵	-
تیمار ۹ (R9)	-	۱/۵	۰/۵	-

نتایج

با توجه به بررسی‌های آماری، اثر متقابل محیط پایه و تنظیم‌کننده‌های رشد معنی‌دار بود (P<۰/۰۱) (جدول ۳). به این ترتیب که طول شاخه در محیط کشت WPM و DKW حاوی (۱ mg l^{-1})GA + (۰/۱mg l^{-1})TDZ (به‌ترتیب با میانگین ۷ و ۶/۳ سانتی‌متر) نسبت به سایر تیمارها اختلاف معنی‌دار داشت. در تعداد شاخه (با میانگین ۵/۶) و تعداد جوانه (با میانگین ۲۵)، محیط کشت MS (۱/۲ غلظت نیترات) با تنظیم‌کننده‌های رشد (۰/۲ mg l^{-1}) KIN + (۱ mg l^{-1}) 2,4-D نسبت به سایر تیمارها اختلاف معنی‌دار

نشان داد (جدول ۳). نتایج حاصل از ریشه‌زایی نیز اثر معنی‌دار تنظیم‌کننده‌های رشد بر تعداد ریشه اصلی (با میانگین ۸/۳) و تعداد ریشه فرعی (با میانگین ۲) را نشان داد ($P<۰/۰۵$)، البته در پارامترهای دیگر رشد ازجمله طول ریشه اصلی با میانگین ۹/۳ سانتی‌متر، وزن تر با میانگین ۰/۵ گرم و وزن خشک با میانگین ۰/۰۵ گرم اختلاف آماری بین تیمارها مشاهده نشد. از نظر تعداد ریشه، تیمارهای حاوی KIN ($۰/۵ mgl^{-1}$) به‌همراه ($۱/۵ mgl^{-1}$)، ۱ و ۰/۵ IBA (جدول ۴؛ شکل ۱) با سایر تیمارها اختلاف معنی‌داری داشتند.

جدول ۳- مقایسه میانگین‌های اثر متقابل محیط کشت و تنظیم‌کننده‌های رشد بر شاخه‌زایی *U. dioica*

محیط کشت	منابع تغییرات: تنظیم‌کننده‌های رشد (برحسب میلی‌گرم بر لیتر) KIN	2iP	TDZ	BAP	2,4-D	IBA	GA	طول شاخه (سانتی‌متر)	تعداد شاخه	تعداد جوانه	سبزینگی
MS	–	–	۰/۱	–	–	–	۱	۰^{d}	۰^{f}	۰^{g}	۰^{e}
"	–	۰/۳	–	۰/۵	–	۰/۱	–	۱/۸^{cd}	۲/۰۸^{cd}	۱۰/۵^{de}	۲^{ab}
"	۰/۲	–	–	–	۱	–	–	۰/۸^{d}	۰/۶۳^{ef}	۱/۸^{g}	۰/۷^{de}
۱/۲MS نیترات	–	–	۰/۱	–	–	–	۱	۰/۳۳^{d}	۰/۲^{f}	۰/۷^{g}	۰^{e}
"	–	۰/۳	–	۰/۵	–	۰/۱	–	۲/۲^{cd}	۲/۴^{bcd}	۹/۲^{ef}	۰/۹^{cde}
"	۰/۲	–	–	–	۱	–	–	۵/۶^{ab}	۵/۶^{a}	۲۵^{a}	۲^{ab}
DKW	–	–	۰/۱	–	–	–	۱	۷^{a}	۲/۸^{bcd}	۱۸^{bc}	۲/۸^{a}
"	–	۰/۳	–	۰/۵	–	۰/۱	–	۳/۴^{bc}	۲/۲^{bcd}	۱۳/۲^{cde}	۱/۹^{abc}
"	۰/۲	–	–	–	۱	–	–	۰/۹۸^{cd}	۰/۴۲^{ef}	۳^{fg}	۰/۳^{e}
WPM	–	–	۰/۱	–	–	–	۱	۶/۳^{a}	۳/۶^{b}	۲۱^{ab}	۳^{a}
"	–	۰/۳	–	۰/۵	–	۰/۱	–	۵/۸^{ab}	۳/۴^{bc}	۲۰^{abc}	۲/۸^{a}
"	۰/۲	–	–	–	۱	–	–	۲/۸^{cd}	۱/۷^{de}	۱۶/۷^{bcd}	۱/۵^{bcd}

جدول ۴- مقایسه میانگین‌های اثر تنظیم‌کننده‌های رشد بر ریشه‌زایی *U. dioica* در محیط کشت MS

منابع متغیر	طول ریشه اصلی (سانتی‌متر)	تعداد ریشه اصلی	تعداد ریشه فرعی	وزن تر (گرم)	وزن خشک (گرم)
BAP($۰/۵ mg l^{-1}$) + IBA ($۰/۵ mg l^{-1}$)	۲/۲^{a}	۱/۷^{b}	۲^{a}	۰/۲۵^{a}	۰/۰۳^{a}
BAP ($۰/۵ mg l^{-1}$) + IBA($۱ mg l^{-1}$)	۰/۴^{a}	۰/۲۳^{b}	۰^{b}	۰/۳^{a}	۰/۰۴^{a}
BAP ($۰/۵ mg l^{-1}$) + IBA($۱/۵ mg l^{-1}$)	۰/۱^{a}	۰/۲۳^{b}	۰^{b}	۰/۲۸^{a}	۰/۰۳۶^{a}
BAP ($۰/۵ mg l^{-1}$) + NAA($۰/۱ mg l^{-1}$)	۹/۳^{a}	۰/۶۷^{b}	۰^{b}	۰/۴۱^{a}	۰/۰۴۶^{a}
BAP ($۰/۳ mg l^{-1}$) + NAA($۰/۳ mg l^{-1}$)	۰/۰۲^{a}	۰/۱^{b}	۰^{b}	۰/۳۴^{a}	۰/۰۴^{a}
NAA ($۰/۳ mg l^{-1}$) + IBA($۰/۵ mg l^{-1}$)	۰/۱۱^{a}	۰/۷۷^{b}	۰^{b}	۰/۴۵^{a}	۰/۰۵^{a}
KIN ($۰/۵ mg l^{-1}$) + IBA($۰/۵ mg l^{-1}$)	۳/۹^{a}	۸/۳^{a}	۰/۳۳^{b}	۰/۵^{a}	۰/۰۴۳^{a}
KIN ($۰/۵ mg l^{-1}$) + IBA($۱ mg l^{-1}$)	۳/۳^{a}	۵/۸^{a}	۰^{b}	۰/۴۳^{a}	۰/۰۴۳^{a}
KIN ($۰/۵ mg l^{-1}$) + IBA($۱/۵ mg l^{-1}$)	۲/۶^{a}	۷/۸^{a}	۰^{b}	۰/۴۹^{a}	۰/۰۴۶^{a}

شکل ۱- اثر تنظیم‌کننده‌های رشد بر ریشه‌زایی *U. dioica* در محیط کشت MS (جدول ۲)

جدول ۵- سازگاری گیاهچه‌های منتقل شده به گلخانه تحت تأثیر تیمارهای نوع و غلظت تنظیم‌کننده‌های رشد

تیمار	تنظیم‌کننده‌های رشد (میلی‌گرم در لیتر)				سازگاری (درصد)
	KIN	BAP	IBA	NAA	
تیمار ۱	–	۰/۵	۰/۵	–	۴۴
تیمار ۲	–	۰/۵	۱	–	۲۲
تیمار ۳	–	۰/۵	۱/۵	–	۱۱
تیمار ۴	–	۰/۵	–	۰/۱	۲۲
تیمار ۵	–	۰/۳	–	۰/۳	۰
تیمار ۶	–	–	۰/۵	۰/۳	۰
تیمار ۷	۰/۵	–	۰/۵	–	۵۵/۵
تیمار ۸	۰/۵	–	۱	–	۵۵/۵
تیمار ۹	۰/۵	–	۱/۵	–	۰

شکل ۲- انتقال و سازگاری گیاهچه‌های *U. dioica* در گلخانه

بعد از انتقال گیاهچه‌های ریشه‌دار شده به گلخانه، گیاهان حاصل از تیمارهای (۰/۵mgl^{-1}) KIN + (۰/۵mgl^{-1}) IBA و (۰/۵mgl^{-1}) KIN + IBA(۱mgl^{-1}) با ۵۵/۵ درصد سازگاری بهتری نشان دادند (جدول ۵؛ شکل ۲).

بحث

در این مطالعه با بررسی مقایسه میانگین‌های اثر محیط کشت بر شاخه‌زایی، محیط WPM عملکرد بهتری نشان داد و از نظر شادابی و سبزینگی نیز بهتر از سایر تیمارها بود. برای نتیجه‌گیری بهتر لازم است ترکیبات این محیط‌ها را بررسی کرد. به‌طور کلی، اختلاف عمده محیط‌های کشت MS، DKW و WPM در میزان یون‌های آمونیوم، نیترات و غلظت کل یون‌هاست. محیط MS دارای مقدار بیشتری نیترات آمونیوم و کلر است و محیط WPM از نظر میزان نیترات، آمونیوم، کلر و سوکرز از هر دو محیط (MS و DKW) کمتر بوده ولی در بقیه مواد تقریباً مشابه محیط MS است (Saadat *et al.*, 2012). همین موضوع ممکن است دلیل گروه‌بندی جداگانه WPM، از دو محیط MS و DKW باشد. محیط DKW دارای نیترات کلسیم به‌عنوان منبع نیتروژن است و از نظر یون کلسیم نیز غنی می‌باشد (Saadat *et al.*, 2012)، از سوی دیگر با توجه به مواد استخراج شده از گزنه ترکیباتی مانند نیترات پتاسیم و کلسیم در آن یافت شده (Zargari, 2007) که می‌توان چنین نتیجه گرفت که گزنه با توجه به اینکه دارای یون‌های نیترات، پتاسیم و کلسیم بالایی در سطح درونی خود می‌باشد، وجود مقادیر بالای این ترکیبات در محیط کشت DKW و MS باعث ممانعت رشد آن شده است، در حالی‌که این ترکیبات در WPM مقادیر پایین‌تری دارد. در بررسی سایر مطالعات مشاهده شد که شاخص‌های شاخه‌زایی *Satureja edmondi* در محیط DKW بیشتر از MS بود و اختلاف معنی‌داری داشت (Omrani Sabbaghi *et al.*, 2016) که با نتایج این مطالعه مغایرت داشت. در ضمن Darroudi و همکاران (۲۰۱۵) هم با مطالعه *Ribes khorasanicum* نشان دادند که بین محیط کشت‌های MS، DKW و QL، محیط کشت MS بهتر بود. این اختلاف می‌تواند به گونه گیاهی، شکل دسترسی و میزان جذب نیتروژن و مواد مختلف توسط گیاهان مرتبط باشد.

از سوی دیگر، اثر غلظت‌های مختلف سیتوکینین‌ها و اکسین‌ها نیز روی تکثیر اندام هوایی و ریشه‌زایی در این پژوهش بررسی شد که از نظر اثر تنظیم‌کننده‌های رشد بر شاخص‌های رشدی تلفیق دو سیتوکینین (2iP و BAP) به‌همراه IBA بهتر از سایر تیمارها بود. در حالی‌که Gatii و همکاران (۲۰۰۸)، شاخه‌زایی این گونه (*Urtica dioica*) را در محیط MS حاوی (۰/۷ mgl^{-1}) BAP و (۰/۱ mgl^{-1}) IBA گزارش کردند و گونه *Pilea cadieri* از Urticaceae بالاترین تعداد جوانه و تعداد شاخه را در محیط پایه MS دارای (۱/۵ mgl^{-1}) BAP نشان داد (Layous, 2013). در *Ribes khorasanicum* نیز (۱ mgl^{-1}) BAP شاخه‌زایی بهتری داشته است (Darroudi *et al.*, 2015) که همگی با نتایج به‌دست آمده در این مطالعه مغایرت دارد. علت این اختلاف می‌تواند گونه گیاهی، منطقه رشد و نوع ماده مورد استفاده در آزمایشگاه باشد.

در بررسی اثر متقابل تنظیم‌کننده‌های رشد با محیط کشت، DKW حاوی (۰/۱mg l^{-1}) TDZ + GA (۱ mg l^{-1}) در تولید شاخه‌هایی با طول بیشتر و شادابی و سبزینگی بهتر بود. اما از نظر تولید شاخه و تعداد جوانه محیط کشت MS (۱/۲ نیترات) حاوی (۰/۲ mg l^{-1}) KIN + (۱ mg l^{-1}) 2,4-D مناسب بود. در بررسی اثر متقابل محیط کشت و تنظیم‌کننده‌های رشد در *Satureja edmondi*، محیط DKW حاوی (۰/۵ mgl^{-1}) BAP بهتر بود (Omrani Sabbaghi *et al.*, 2016). مطالعه *Tanacetum cinerariaefolium* نیز نشان داد که تعداد شاخه در محیط کشت MS حاوی (۱/۵ mgl^{-1}) BAP و (۲ mgl^{-1}) NAA بالاتر بوده و بیشترین طول شاخه در هر سه محیط MS، B5 و SH بدون BAP به‌دست آمد (Hedaiat & Khoshkhoii, 2008).

در بررسی ریشه‌زایی، حضور KIN (۰/۵ mgl^{-1}) با سه غلظت مختلف IBA (۱/۵ mgl^{-1}، ۱، ۰/۵) در تولید ریشه اصلی مناسب بود ولی در ایجاد ریشه فرعی وجود (mgl^{-}

BAP (۰/۵[1]) و IBA (۰/۵mgl^{-1}) بهتر بود. در حالی‌که بهترین ریشه‌زایی *Pilea cadieri* از Urticaceae در محیط حاوی IBA (۱ mgl^{-1}) به‌دست آمد (Layous, 2013). گونه *Satureja edmondi* در محیط DKW حاوی (۰/۵ mgl^{-1}) IBA ریشه‌زایی بهتری نشان داد (Omrani Sabbaghi *et al.*, 2016)، همچنین Moghimi و Safar nejhad (۲۰۱۴) بهترین ریشه‌زایی در *Crataegus sp.* را در محیط MS حاوی (۱ mgl^{-1}) IBA بیان کردند. گونه *Satureja viridis* در محیط MS حاوی (۱/۵ mgl^{-1}) IAA ریشه‌زایی بهتری داشت (Rahman *et al.*, 2013). با توجه به مطالب ذکر شده، می‌توان نتیجه گرفت که در ریشه‌زایی، برای تولید تعداد ریشه بیشتر در گزنه، بهتر است از ترکیب هورمونی KIN و IBA استفاده شود. درحالی‌که استفاده از IBA یا NAA با BAP ترکیب مناسبی نبود، البته با توجه به گونه و نوع محیط کشت، این نتایج متفاوت خواهد بود. بنابراین در پایان پیشنهاد می‌شود که برای بهینه کردن ریزازدیادی، از تنظیم‌کننده‌های رشد دیگری با غلظت‌های مختلف بررسی بیشتری انجام شود.

سپاسگزاری

از همکاران محترم مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور به‌ویژه گروه تحقیقات زیست فناوری منابع طبیعی و دانشگاه پیام نور که ما را در انجام این تحقیق یاری کردند (به‌ویژه از سرکار خانم مهندس فرشته اسدی کرم) سپاسگزاریم.

منابع مورد استفاده

– Ammarellou, A., Kazemeitabar, K., Najafei, H. Z., Mortazavei, N., Ammarellou, N., 2012. Effects of different culture media on rooting of *Urtica dioica* L. stem cuttings, Journal of Soil Science and Environmental Management, 3(7): 172-175.
– Darroudi, H., Akbarinia, M., Safarnejad, A., Hosseini, S.M. and Hajian Shahri, M., 2015. Micropropagation of *Ribes khorasanicum* species by tissue culture. Iranian Journal of Rangelands and Forests Plant Breeding and Genetic Research (in Persian), 23(1):65 -76
– Driver, J.A. and Kuniyuki, A.H., 1984. *In vitro* propagation of Paradox walnut (*Juglans hindsii* × *Juglans regia*) rootstock. Hort. Science, 19: 507-509.
– Di Virgilio, N., G.Papazoglou, E., Jankauskiene, Z., Di Lonardo, S., Praczyk, M., Wielgusz, K., 2015. The potential of stinging nettle (*Urtica dioica* L.) as a crop with multiple uses Industrial Crops and Products, 68: 42-49
– Gatti, E., Di Virgilio, N., Baronti, S., Bacci, L., 2008. Development of *Urtica dioica* L. Propagation Methods for Organic Production of Fiber, 16th IFOAM Organic World Congress, Modena, Italy, June 16-20. Archived at http://orgprints.org/view/projects/conference.html
– Haghpanah, M., Kazemitabar, S. K., Hashemi, S.H.R. and Alavi, S.M. 2014. Evaluation of Mazandaran nettle (*Urtica Dioica*) population structure and genetic diversity by AFLP markers, Iranian Journal of Rangelands and Forests Plant Breeding and Genetic Research Vol. 22, No. 2
– Hedaiat, M. and Khoshkhoii, M., 2008. Effects of media and growth regulators on micropropagation of Pyrethrum, Iranian Society for Horticultural Science, 6:4:171-182
– Hegi, G., 1981. Illustrierte Flora von Mitteleuropa. III, part 1. 3rd ed. Hamburg: Paul Parey. Journal of Soil Science and Environmental Management Vol. 3(7), pp. 172-175
– Layous, L., 2013. Response of Pilea Plant *Pilea cadieri* for Micropropagation using tissue culture techniques, Journal Ordoni in Agriculture Sciences, 9: 619-629.
– Lloyd, G. and McCown, B., 1981. Commercially feasible micropropagation of mountain laurel, Kalmia latifolia, by the use of shoot tip culture. Proceeding of Plant Propagation society, 30: 421-427.
– Luna,T., 2001. Propagation Protocol for Stinging Nettle, NATIVE PLANTS JOURNAL, 2:2:109-111.
– Moghimi, Z. and Safarvejad, A., 2014. Assessment of micropropagation and flavonoid content of hawthorn through tissue culture, Iranian Journal of Rangelands and Forests Plant Breeding and Genetic Research (in Persian), 22: 182-191.
– Murashige, T. and Skoog, F., 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tissue cultures. Physiology Plantarum, 15: 473–497.
– Omrani Sabbaghi, O., Tabaei Aghdaie, S.R., Emam, M. and Bakhshi Khaniki, G.R., 2016. Micropropagation of rare endemic *Satureja edmondi*, Iranian Journal of Rangelands and Forests Plant Breeding and Genetic Research, 24(1):134-146.
– Rahman, M.M., Ankhi, U.R. and Biswas, A., 2013. Micropropagation of *Mentha viridis* L.: An aromatic medicinal plant, International Journal Of Pharmacy and Life Sciences, 4(9):2926-2930.
– Saadat, Y.A., Rasti, O. and Zamani, J., 2012. Effects of

different growth regulators, nutrient media, gelling agents and carbohydrate sources on shoot multiplication of *Pyrus glabra* Boiss. Iranian Journal of Rangelands and Forests Plant Breeding and Genetic Research, 20: 84-96.
– Saeedi Heidari, A. and Safarnejad, A., 2015. Micropropagation of *Acer monospessulanum* through tissue culture, Iranian Journal of Rangelands and Forests Plant Breeding and Genetic Research (in Persian), 23(2): 237-246
– Szewczuk, M. and Mazur, C., 2004. Effect of different rates of nitrogen fertiliser on chemical composition of Stinging nettle (*Urtica dioica* L.) Plants Harvested at Three Development Stages Parts I. Contents of Organic Substances, Acta Sci. Pol. Agric. 3(1): 229–237.
– Zargari A., 1997. Medicinal Plants. Vol. 4, 6st ed., Tehran University Publication, Tehran, P: 103.

Effect of culture media and growth regulators on micropropagation of medicinal plant *Urtica dioica* L.

M. Sedaghati [1]*, M.H. Assareh[2], M.A. Ebrahimi [3], S.M. Hesamzadeh-Hejazi[4], H. Sobhanian[5]

1*- Corresponding author, Ph.D. Student, Department of Biology, Payame Noor University, Tehran, I.R. Iran
E-mail: sedaghati@rifr-ac.ir
2- Prof., Research Institute of Forests and Rangelands, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, I.R. Iran
3- Assoc. Prof. Department of Agricultural Biotechnology, Payame Noor University, Tehran, I.R. Iran
4- Assoc. Prof., Research Institute of Forests and Rangelands, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, I.R. Iran
5- Assis. Prof. Department of Biology, Payame Noor University, Tehran, I.R. Iran

Received: 16.10.2016 Accepted: 01.05.2017

Abstract

Urtica dioica L. is dioecious plant and cross pollination with active components and special medicinal properties with economic values. Due to high level of heterozygosity of the species, homogeneity in fiber production and harvesting of selected plants is not guaranteed by seed propagation. For this reason micropropagation and asexual proliferation is suggested for production of selected plants. For micropropagation of the species, apical buds of Nettle shoots were used as explant. After sterilization, the explants were transferred into MS medium containing BAP, 2iP and IBA. Then, to evaluate the culture conditions, the explants were located on culturing mediums (MS, DKW, WPM) with different concentrations of growth regulators (IBA, 2,4-D, BAP, KIN, 2iP , TDZ) in a factorial experimental model based on a completely randomized design with three replications. The best medium for shooting initiation was WPM culture. Between rooting treatments, the best root number and secondary roots belonged to KIN (0.5 mgl^{-1}) + IBA (0.5 and 1 mgl^{-1}) and BAP (0.5 mgl^{-1}) + IBA (0.5 mgl^{-1}) treatments, respectively. Then rooted plantlets transferred to the greenhouse and successfully were acclimatized (55.5%).

Keywords: Micropropagation, plant growth regulator, *Urtica dioica*.