بررسی ریزازدیادی و خواص آنتی‌اکسیدانی و ضدباکتریایی گیاه لوگان‌بری در گلخانه و مزرعه

سعیده اکباتان همدانی
دانشجوی دکتری زیست‌شناسی گیاهی، گرایش فیزیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم تحقیقات

حسین لاری یزدی
دانشیار گروه زیست‌شناسی دانشگاه آزاد اسلامی، واحد بروجرد، بروجرد

محمدحسن عصاره
استاد مؤسسهٔ تحقیقات ثبت و گواهی بذر و نهال، کرج

سارا اسعادتمند
دانشیار گروه زیست‌شناسی دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم تحقیقات، تهران

اشاره

کشت بافت گیاهی یکی از روش‌های جدید و رو به گسترش سریع برای تولید و تکثیر گیاهان دلخواه است. در این روش، بخشی از گیاه مورد نظر را جدا و پس از سترون‌کردن به آزمایشگاه منتقل می‌کنند و سپس با فراهم کردن مواد و عوامل لازم برای رشد آن، باعث رشد و سپس تکثیر آن می‌شوند. امروزه، می‌توان با استفاده از لوازم ساده که در دسترس همگان قرار دارند و با رعایت شرایط سترون، عملیات کشت بافت را در مدارس و منازل نیز انجام داد. در این نوشته پژوهشی دانشگاهی در خصوص کاشت و تحلیل ترکیبات موجود در یکی از گیاهان مفید و کمیاب شرح داده شده است.

لوگان‌بری گیاهی هیبرید هگزاپلوییدِ با نام علمی *Rubusloganobaccus* است. نام آن از شخصی به نام جیمز هاروی لوگان،[1] قاضی و باغبان آمریکایی گرفته شده است که در سال ۱۸۸۱ آن را به‌طور تصادفی از آمیزش دو گیاه تمشک سیاه (*Rubus ursinus*) و تمشک قرمز (*Rubus idaeus*) تولید کرد. بنابراین، میوهٔ آن ظاهراً به تمشکِ سیاه شباهت دارد، اما مانند تمشکِ قرمز، سرخ‌رنگ است.

چکیده

لوگان‌بری[۲] هیبریدی با میوه‌هایی بسیار جالب توجه و شناخته‌شده است و به‌رغم اهمیت تجاری و تغذیه‌ای آن، هنوز تحقیقات جامعی در زمینهٔ استفاده از روش‌های کشت بافت و ارزیابی ترکیبات ثانویه دربارهٔ آن انجام نشده است. این مقاله به معرفی پژوهشی جامع دربارهٔ این گیاه می‌پردازد که در آن، برای اولین بار پروتوکلی تجاری برای ریزازدیادی[۳] درون شیشه مطرح شده و همچنین گیاهچه‌های حاصل از نظر تولید متابولیت‌های ثانویه، فعالیت آنتی‌اکسیدانی و آنتی‌باکتریایی در محیط‌های مزرعه و گلخانه مقایسه شده‌اند.

کلیدواژه‌ها: ریزازدیادی، لوگان‌بری، *Rubus loganobaccus L.*، ضدباکتریایی، آنتی‌اکسیدان.

مقدمه

هزاران سال است که گیاهان غذا، دارو، عطر، رنگ و بسیاری دیگر از نیازهای آدمی را برآورده کرده‌اند. شناخت دقیق خواص درمانی، سمی و کاربردهای صنعتی انواع مختلف گیاهان دارویی همواره از اهمیت بسیاری برخوردار بوده و لذا، شناسایی و تکثیر این گیاهان موضوعی بسیار مهم است.

یکی از روش‌های مدرن برای این کار، استفاده از فناوری کشت سلول و بافت‌های گیاهی است که از طریق آن می‌توان نسبت به تکثیر گیاهان مختلف اعم از صنعتی، دارویی، مرتعی و کشاورزی اقدام کرد. از طرف دیگر، کشت بافت گیاهی بستر مناسبی برای حفظ و نگهداری گونه‌ها و ژنوتیپ‌های مادر، یا در حال انقراض به‌عنوان منابع باارزش ژرم‌پلاسم محسوب می‌شود. علاوه بر این، فناوری کشت سلول و بافت‌های گیاهی در سال‌های اخیر به‌گونه‌ای توسعه یافته است که هم اکنون برای انتقال ژن‌های مطلوب، به‌ویژه ژن‌های ایجادکنندهٔ مقاومت نسبت به آفات و بیماری‌های گیاهی که هر ساله بخش عظیمی از تولیدات گیاهی را نابود می‌کنند، از این روش در سطح گسترده استفاده می‌شود. اصلاح گیاهان به روش‌های سنتی، علاوه بر وقت‌گیر بودن، در بسیاری از موارد امکان‌پذیر نیست، این در حالی است که فناوری جدید کشت سلول و بافت گیاهی این راه را به‌خوبی هموار کرده و به پیش می‌برد (خوشخوی، ۱۳۷۷؛ شیرازی، ۱۳۹۳).

در طب سنتی، گیاهان دارویی برای درمان بیماری‌های مختلفی به کار می‌روند. با توجه به مصرف بی‌رویهٔ آنتی‌بیوتیک‌ها، گران بودن آن‌ها و با توجه به افزایش مقاومت باکتری‌ها نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها و عوارض جانبی آن‌ها استفاده از گیاهان دارویی و عصاره‌های گیاهی مورد توجه زیادی قرار گرفته است. در این پژوهش اثرهای ضدباکتریایی و آنتی‌اکسیدان عصارهٔ متانولی گیاه لوگان بری بررسی شد. بیماری‌های مختلف مانند دیابت، بیماری‌های قلب و عروق، انواع سرطان‌ها و ... در ارتباط مستقیم با افزایش رادیکال‌های آزاد و استرس اکسیداتیو است. مواد آنتی‌اکسیدانی موجود در عصاره می‌توانند مانع از ایجاد استرس اکسیداتیو و پراکسیداسیون چربی‌ها شوند. با کمک خاصیت ضدباکتریایی عصارهٔ گیاهی می‌توان برای جلوگیری از رشد باکتری‌ها در مواد غذایی به‌عنوان افزودنی طبیعی در مقیاس صنعتی استفاده کرد. شناسایی و بررسی ترکیبات آنتی‌اکسیدانی موجود در عصارهٔ گیاه لوگان بری، یکی از اهداف این تحقیق است.

گیاه لوگان بری

خواص دارویی و گیاه‌شناختی لوگان‌بری

این گیاه، هیبریدِ *Rubus idaeus* (تمشک قرمز) و *Rubus ursinus* (نوعی تمشک سیاه) است. جنس *Rubus* یازده تا سیزده گونه به نام‌های مختلف محلی دارد که معمول‌ترین و شایع‌ترین آن‌ها تمشک است. تمشک بیشتر در دامنه‌های البرز، به‌ویژه درهٔ چالوس و سواحل شمالی از گیلان تا مازندران و گرگان و بندر گز به‌طور وسیع انتشار دارد و در شمال شرقی کشور، به‌ویژه در خراسان و همچنین در فارس و آذربایجان و برخی مناطق به فراوانی می‌روید (قهرمان، ۱۳۷۳، ج ۲، ص ۵۵٦).

نزدیک دره‌ای در اورگان آمریکا، بقایای غذای حاصل از تمشک یافت شده است که مربوط به هشت‌هزار سال پیش از میلاد مسیح است. فرهنگ شفاهی سرخ‌پوستان آمریکا از قدمتی دیرین در استفاده از تمشک قرمز و سیاه و میوه‌های مشابه به‌منظور بهره‌بردن از خصوصیات دارویی و همچنین تغذیه‌ای آن‌ها برخوردار است. مصرف تمشک (Rubus sp.) در بیست سال گذشته افزایش یافته است. عمدتاً در سال ۱۹۹۰، سطح تولید آمریکای شمالی ٤۳۸۵ هکتار بود که حدود ۷۵ درصد آن مربوط به شمال غربی اقیانوس آرام می‌شد و نزدیک به ۹۰ درصد محصول تولیدی شمال غربی اقیانوس آرام، در صنایع فراوری مصرف می‌شد (جانیک و هومر، ۲۰۰۷). تحقیقات جدید نشان می‌دهند که عصارهٔ آبی برگ تمشک باعث انبساط و شل‌شدگی ماهیچه‌های رحمی می‌شود (پلاگو و همکاران، ۲۰۰۳). در بررسی دیگری گرویا و همکاران (۲۰۰۸) با بررسی عصارهٔ آبی *Lnicera caeruleaberry* نشان دادند که این گیاه در کاهش حجم تومور مؤثر است (لولیانا و همکاران، ۲۰۰۸). از ترکیبات بسیار مهم موجود در این جنس الاجیتانن‌ها هستند که عامل ضد انعقاد تلقی می‌شوند (ویتسان و همکاران، ۲۰۰۹). مونومرهای فنلی بسیار مهمی مانند الاجین اسید و فرولیک اسید در تمشک سیاه و تمشک قرمز وجود دارند (لی و همکاران، ۲۰۱۲).

در بررسی کروماتوگرافی گازی ۲۷ ترکیب در این گیاه تشخیص داده شد که از جمله به α و β ionone می‌توان اشاره کرد (مهه و همکاران، ۲۰۱۵). ترکیبات زیستی موجود در بری‌ها دارای اثراتی مثل جلوگیری از اختلالات التهابی، و یا اثرات محافظتی برای کاهش خطر ابتلا به سرطان‌هاست (اسکرووانکووا، ۲۰۱۵).

شاخه‌های جوان *Rubus idaeus* در طب سنتی به‌عنوان درمان گیاهی در بیماری‌های سرماخوردگی، تب و آنفلوانزا مورد استفاده قرار می‌گیرند (برانووسکا، ۲۰۱٤). همچنین زیا و همکاران (۲۰۱٤)، فعالیت‌های زیستی و کاربردی مرتبط با سلامت در *Rubus fruticosus* را مورد بررسی قرار دادند. عصارهٔ هیدروالکلی میوه تمشک موجب بهبود علائم در حافظهٔ کوتاه‌مدت شد (محمدی و همکاران، ۱۳۹٦). به‌طور سنتی، در الجزایر از گیاه *Rubus fruticosus* برای التیام عفونت‌های تنفسی استفاده می‌شود (تانینا و همکاران، ۲۰۱۵). عصارهٔ گیاه تمشک سیاه خواص ضدالتهابی و ضدویروسی دارد و به‌عنوان مکمل برای پیشگیری از عفونت‌های دهانی یا درمان مکمل آن مناسب است (اوکتاویو و همکاران، ۲۰۱٤).

روش کار

الف) کشت بافت و ریزازدیادی

این پژوهش در آزمایشگاه پژوهشی کشت بافت واقع در دانشگاه کشاورزی پردیس کرج در سال‌های ۱۳۹٦- ۱۳۹۵ انجام شد. قطعات حاوی جوانه‌ها را با کمک پنس و تیغ جراحی جدا کردیم و پس از ضدعفونی در ویال‌هایی با حجم ۲ میلی‌لیتر قرار دادیم. در حدود ۲ تا ۳ هفته بعد، جوانه‌های مورد نظر در قطعات جدا شدند و به صورت یک رزت برگچه‌ای تکامل یافتند.

در این پژوهش اثرهای ضدباکتریایی و آنتی‌اکسیدان عصارهٔ متانولی گیاه لوگان‌بری مورد بررسی قرار گرفت

اتاق رشد و ظرف حاوی محیط رشد و گیاهچه

جوانه‌های حاوی گره را در محیط‌های کشت AN (اندرسون) و MS (موراشیگی و اسکوگ، ۱۹۶۲) واجد دوازده ترکیب متشکل از انواع مختلف هورمون‌های BA، IBA، 2ip و GA_3 کاشتیم. اسیدیته همهٔ محیط‌های تهیه‌شده در این تحقیق ۵/۷ تا ۵/۸ بود. گیاهچه‌های تولیدی را به‌منظور ریشه‌دار شدن تحت تأثیر ٦ نوع تیمار ریشه‌زایی قرار دادیم و به اتاق رشد منتقل کردیم. ریشه‌ها را پس از گذشت سه هفته برای صفاتی چون تعداد ریشه و میانگین طول ریشه مورد ارزیابی قرار دادیم. پس از رشد کافی گیاهان مورد نظر، هر تیمار را با پنس از ظروف استریل خارج کردیم. در این مرحله، گیاهان را با کمک پنس از درون تیمارهای مورد نظر (ژله‌ای) خارج و پس از شست‌وشوی ریشه‌های آن‌ها با کمک آب و جدا کردن ژله‌های چسبیده به آن‌ها (برای اینکه آلودگی درون گلدان‌ها ایجاد نشود)، به گلدان‌های پلاستیکی با قطر هفت سانتی‌متر حاوی مخلوطی از پیت ماس و پرلیت و خاک منتقل کردیم و در گلخانه قرار دادیم و از ترکیب پیت‌ماس و پرلیت به نسبت ۱:۱ استفاده کردیم.

لوگان‌بری گیاهی هیبریدِ بین تمشک قرمز و نوعی تمشک سیاه است

برگ‌های گیاه R. loganobaccus کشت‌داده‌شده در گلخانه و در مزرعه جداگانه جمع‌آوری و عصارهٔ متانولی تهیه شد.

ب) اندازه‌گیری میزان متابولیت‌های ثانویه و ظرفیت آنتی‌اکسیدان

برای ترکیبات فنلی کل از روش فولین سیوکالچو و بر اساس روش سینگلتون و همکاران (۱۹۹۹) اندازه‌گیری کردیم. مقدار ترکیبات فلاونوییدی را با استفاده از روش نورسنجی کلرید آلومینیوم تعیین کردیم (هالیول و همکاران، ۲۰۰۵). برای اندازه‌گیری آنتی‌اکسیدان تام از روش سنجش (Oyaizu M) (۱۹۸٦.PMB) و برای تعیین توانایی خنثی‌سازی رادیکال‌های آزاد از روش خنثی‌سازی DPPH استفاده کردیم.

ج) اندازه‌گیری اثرات ضدباکتریایی عصارهٔ متانولی لوگان‌بری

برای اندازه‌گیری اثرات ضدباکتریایی از روش آزمون MIC و MBC استفاده کردیم. باکتری‌های گرم مثبت و منفی حائز اهمیت در ایجاد عفونت و مسمومیت‌های غذایی از قبیل *Pseudomonas aeruginosa*، *Staphylococcus epidermis*، *Escherichia coli*، *Bacillus cereus* و *Staphylococcus* و یک گونه قارچ *Candida albicans* را در این پژوهش مورد استفاده قرار دادیم.

نتایج

الف) نتایج ریزازدیادی گیاه لوگان‌بری

بهترین سطح «پرآوری»[4] در ریزنمونه‌ها (۸/۷۳ از هر ریزنمونه) در تیمار ($0/1\ mg\ L^{-1}$) IBA به همراه ($1\ mg\ L^{-1}$) BA در محیط کشت MS حاصل گردید. همین تیمار در محیط اندرسون موجب تولید گیاهچه‌هایی با بیشترین ارتفاع (۵/۲۲ سانتی‌متر) شد. گیاهچه‌های تولیدشده را به‌منظور ریشه‌دار شدن تحت تأثیر شش نوع تیمار ریشه‌زایی قرار دادیم که بالاترین درصد ریشه‌زایی (۹٦/٦٦) در تیمارهای MS + ½ HNO_3 و در ترکیب با ($1\ mg\ L^{-1}$) IBA حاصل شد. بیشترین میانگین طول ریشه‌ها را (۵/۲۲ سانتی‌متر) نیز در همین تیمار مشاهده کردیم.

ب) نتایج متابولیت‌های ثانویه و ظرفیت آنتی‌اکسیدان عصارهٔ متانولی گیاه لوگان‌بری

میزان ترکیبات فنلی را در گیاه مزرعه ۱/۳۱+٦٦/٦۳ میلی‌گرم گالیک بر گرم وزن خشک (mg GAE/g DW) و در گیاه گلخانه‌ای ۲/۵٦±٦۵/۳۰ اندازه‌گیری کردیم.

میزان فلاونوئید در گیاه مزرعه و گلخانه به ترتیب ۳/۱۸±۲۹/۳۵ و ۳/۳۲±۲۲/٤٤ میلی‌گرم کوئرستین در گرم مادهٔ خشک (mg QE/g DW)

در اغلب موارد اضافه کردن دو یا سه تنظیم‌کنندهٔ رشد بر بهبود نرخ پرآوری بیشتر مؤثر بوده است

بود.

میزان آنتی‌اکسیدان تام به‌دست‌آمده به ترتیب ۰/۳٤±۲/٤۱ و ۰/٥٦±۲/۸۲ میکرومول معادل ترولاکس بر گرم ماده خشک به ترتیب در گیاه مزرعه و گلخانه بود.

در روش سنجش DPPH عصارهٔ برگ گیاه در مزرعه (۱/۰±۰۸/۷٥ µg/mL) خاصیت خنثی‌سازی بیشتری نسبت به عصارهٔ برگ گیاه گلخانه (۰/٦٦±۱/٤٦) دارد.

ج) نتایج خاصیت ضدباکتریایی عصارهٔ متانولی گیاه لوگان‌بری

در گیاه مزرعه بیشترین میزان حساسیت در باکتری‌ها را نسبت به *Bacillus cereus* (٥ mg/mL) و در *Pseudomonas aeruginosa* (٥ mg/mL) مشاهده کردیم. همچنین، بر اساس همان آزمون‌ها، بیشترین میزان استفاده را در عصارهٔ گیاه مزرعه و گلخانه علیه گونهٔ قارچ *Candida albicans* مشاهده کردیم که به ترتیب ۸۰ mg/mL و ۱٦۰ بود.

بحث

عوامل مختلفی بر چگونگی پاسخ‌دهی ریزنمونه‌های کشت‌شده تأثیرگذارند که از جمله آن‌ها می‌توان به ژنوتیپ گیاه مادری، شرایط رشد، زمان انتخاب ریزنمونه، محیط کشت و شرایط کشت اشاره کرد (امیدی، ۱۳۹۳). با بررسی و مشاهدهٔ عوامل مؤثر در ریزازدیادی لوگان‌بری معلوم شده است که در اغلب موارد اضافه کردن دو یا سه تنظیم‌کنندهٔ رشد بر بهبود نرخ پرآوری بیشتر مؤثر بوده است. با در نظر گرفتن نقش شناخته‌شدهٔ اکسین‌ها و سایتوکنین‌ها و نتایج کاربرد تیماری‌های هورمونی که از طریق تأثیرگذاری بر تنظیم‌کننده‌های رشد درونی نقش خود را ایفا می‌کنند (گاسپر و همکاران، ۱۹۹٦؛ ۲۰۰۳) می‌توان گفت که غلظت هورمون‌های به‌کارگرفته‌شده بیشترین تأثیرگذاری را بر چگونگی عملکرد و واکنش هورمون‌های درونی دارد. در تحقیقی که ووی (۱۹۹۲) روی چندین گونه از جنس Rubus انجام داد، به این نتیجه رسید که غلظت BA باید بین $٤\ mg\ L^{-1}$ تا $٤\ mg\ L^{-1}$ باشد تا بتواند موجب پرآوری جوانه‌های جانبی شود. از سوی دیگر، استفاده از GA_3 ضروری بود که تأثیرات مهمی روی سیستم هورمونی مورد اشاره داشت و مشخص شد که GA_3 می‌تواند به‌صورت هم‌زمان با اُکسین‌ها عمل کند. از دلایل محتمل برای تأثیر هورمون، داشتن جایگاه فعال برای آنزیم سیتوکینین اکسیداز است که موجب پایین بودن قابلیت شاخه‌زایی آن می‌شود (بلاکسلی و لنتون، ۱۹۸۷).

به‌طور کلی نتایج این تحقیق به نحوی در توافق با نتایج پژوهش ژو و همکاران (۲۰۱۰) است که نشان دادند ژن‌های تنظیم‌کنندهٔ A-type Arabidopsis (Responsive Regulator) که در مریستم انتهایی قرار دارند از ترارسانی نقش سایتوکنین ممانعت می‌کنند. از طرفی، اثر بازدارندگی اکسین بر بازدارندگی از ARRها ثابت شده است. پس با این تفاسیر می‌توان گفت اکسین بر نقش سایتوکنین اثر تقویت‌کنندگی دارد، البته با توجه به نوع سایتوکنین تأثیرات ممکن است تغییر کنند و از طرفی، عموماً سایتوکنین‌ها را عامل اصلی تقسیم سلولی می‌دانند

و با تأثیر بر جوانهٔ انتهایی و غلبه بر اکسین باعث از بین رفتن چیرگی انتهایی و با تجمع در جوانه‌های جانبی باعث رشد جوانهٔ جانبی می‌شوند (تایز و زایگر، ۲۰۰۲). سیتوکنین‌ها سبب تحریک تولید ساقه‌های نابه‌جا می‌شوند و غالبیت انتهایی را حذف می‌کنند. البته کاربرد مقادیر بالای آن سبب ایجاد ناهنجاری‌های ژنتیکی در بافت‌ها می‌شود. اگر توازن بین سیتوکنین و اکسین تغییر کند، نتیجهٔ متفاوتی در شرایط کشت بافت ایجاد می‌کند.

سیتوکینین‌ها نقش‌های متعددی در کنترل نمو گیاه ایفا می‌کنند و در تحریک مستقیم یا غیرمستقیم ابتدای شاخه بسیار مؤثر هستند. مکانیسم عمل آن‌ها در سطح مولکولی مشخص نیست. در اغلب شرایط سنتز RNA را فعال و سنتز پروتئین‌ها را تحریک و اغلب آنزیم‌ها را فعال می‌کنند. سیتوکینین‌ها همراه با اکسین‌ها در تنظیم چرخهٔ سلولی در سلول‌های گیاهان شرکت می‌کنند. با توجه به نتایج به‌دست‌آمده به نظر می‌رسد استفاده از اکسین در غلظت کم و متوسط به‌عنوان القاکنندهٔ ریشه به‌خصوص در افزایش کیفیت ریشه‌ها نقش بسزایی دارد و این بررسی‌ها نتایج به‌دست‌آمده را تأیید می‌کنند. اثر مثبت اکسین بر ریشه‌زایی احتمالاً به این خاطر است که اکسین با حمل کربوهیدرات‌ها و سایر مواد مغذی به منطقهٔ ریشه و به طبع تحریک تقسیم و طویل شدن سلول‌های این منطقه سبب تولید و تحریک تراکم ریشه‌زایی می‌شود (میلتون و همکاران، ۱۹۸۰).

گیاهچه‌های به‌دست‌آمده از کشت بافت دارای کوتیکول ابتدایی و ناقص و اغلب دارای سیستم ریشه‌ای نامناسب هستند. زمانی که این گیاهچه‌ها به خاک منتقل می‌شوند، دچار کمبود سریع آب، عقب‌ماندگی رشد و حتی مرگ می‌شوند. برای رفع این مشکل، ایجاد ریشه‌های مناسب و سازگاری با شرایط خاک ضروری است. در اغلب موارد ریشه‌زایی در شرایط آزمایشگاهی انجام می‌شود؛ ولی ریشه‌زایی در خاک استریل یا نیمه‌استریل نیز متداول است.

در این مطالعه نیز ارتباط بین تیمارهای ریشه‌زایی با میزان سازگاری گیاهچه‌های ریشه‌دارشده بررسی شده است. نتایج حاکی از رابطهٔ تا حدی مستقیم بین درصد ریشه‌زایی ریزنمونه‌ها و فراوانی سازگاری آن‌هاست. ویژگی‌های فیزیولوژیکی و آناتومیکی برای گیاهچه‌های ریزازدیادی‌شده لازم برای سازگارهای تدریجی آن‌ها در شرایط گلخانه و مزرعه به‌خصوص از حیث سیستم ریشه‌ای توسط تیمارهای هورمونی در مرحله ریشه‌زایی صورت می‌گیرد (هازاریکا، ۲۰۰۳).

بری‌ها اهمیت غذایی و دارویی بسیار بالایی دارند. برگ‌ها و میوه‌های آن‌ها سرشار از ترکیبات بسیار مفید شیمیایی نظیر ویتامین ث، الاجیتانین، آنتوسیانین، کارتنوئید و روغن فرار هستند. از این رو در این بررسی سعی شده است میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی برگ گیاهان لونگان‌بری در گیاهان از دو منبع مزرعه و گلخانه مورد ارزیابی و مقایسه قرار گیرد.

ساریبورن و همکاران (۲۰۱۰) در تحقیقی که روی چند رقم زراعی تمشک قرمز و تمشک سیاه و اندازه‌گیری میزان فنلیک و فعالیت آنتی‌اکسیدانی آن‌ها انجام دادند گزارش دادند که تمشک قرمز و تمشک سیاه بالاترین مجموع فنل و میزان فلاونوئید را در عصاره‌های متانولی دارند. فعالیت آنتی‌اکسیدانی تمشک قرمز و تمشک سیاه مستقیماً به کل مقدار ترکیبات فنلی کشف‌شده در این دو گیاه مربوط است. آنچه روشن است، تأثیرپذیری شدید ترکیبات ثانویهٔ گیاهی از شرایط محیطی است، پس با در نظر داشتن

اگر توازن بین سیتوکنین و اکسین تغییر کند، نتیجهٔ متفاوتی در شرایط کشت بافت ایجاد می‌کند

میزان ترکیبات فنل برگ و میوه در بری‌ها وابسته به مرحلهٔ رشد گیاه است، به‌گونه‌ای که میوه‌های کوچک‌تر مقدار فنل بیشتری دارند

این عامل مهم، گیاه رشدیافته در شرایط طبیعی یا مزرعه می‌تواند از لحاظ کمیت و کیفیت ترکیبات ثانویه با گیاه گلخانه بسیار متفاوت باشد. در همین زمینه ژانگ در سال ۲۰۰۱ گزارش داد که شرایط آب و هوایی و محل رشد میوه‌ها بر محتوای ویتامین و ترکیبات فنلی اثرگذار است. از سوی دیگر، موقعیت جغرافیایی نیز می‌تواند روی کیفیت مؤثر باشد.

بعضاً میزان ترکیبات فنل برگ و میوه در بری‌ها وابسته به مرحلهٔ رشد گیاه است، به‌گونه‌ای که میوه‌های کوچک‌تر مقدار فنل بیشتری دارند و حدود ۱۰ تا ۲۵ درصد میزان فنل تا هنگام رسیدن میوه افزایش می‌یابد (آنتونن و کارجالاینن، ۲۰۰۹). ژنوتیپ گیاه تأثیر زیادی بر ترکیب غلظت مواد شیمیایی گیاه دارد. عصارهٔ متانولی یازده رقم از دسته تمشک‌های قرمز در تحقیقی توسط وسکلیس و همکاران (۲۰۱۲) بررسی و محتوای کل ترکیبات فنلی آن‌ها اندازه‌گیری شد. کمترین مقدار فنل کلی مربوط به رقم *Poranna rosa* و بالاترین میزان فنل کلی مربوط به رقم بریستول بود. نتایج MIC و MBC نشان دادند که سویهٔ *Candida albicans* و سویه‌های گرم منفی نسبت به عصارهٔ متانولی حساس‌تر بودند، که این موضوع را می‌توان به نازک‌تر بودن دیوارهٔ آن‌ها نسبت داد. همچنین سویهٔ *Staphylococcus epidermis* نسبت به بقیه سویه‌ها مقاوم‌تر است.

عصاره‌های هیدروالکلی از Rubus idaeus و Rubus occidentalis دارای فعالیت ضدمیکروبی هستند. فعالیت ضدمیکروبی عصاره‌ها متفاوت است و بستگی به سویهٔ مورد تجزیه و تنوع رقم و نژاد آن دارد (باراناوسکی و همکار). به‌طور کلی، تأثیر عوامل محیطی بر کمیت و کیفیت متابولیت‌های ثانویه و ویژگی‌های آن‌ها، یعنی فعالیت آنتی‌اکسیدانی و آنتی‌باکتریایی آن‌ها به‌خوبی شناخته شده است. از این رو تفاوت کم یا گاه قابل توجه بین عصارهٔ برگ گیاه گلخانه‌ای و مزرعه‌ای از نظر میزان ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی و یا آنتی‌اکسیدانی و آنتی‌باکتریایی با توجه به یکسان بودن دو گیاه از لحاظ گونه و تفاوت اصلی در شرایط رشدی و عوامل محیطی تأثیرگذار، می‌توان به این مهم پی برد که فاکتور اصلی تأثیرگذار در تفاوت بین این دو منبع شرایط محیطی است. گیاهان در شرایط مزرعه به شکلی پیوسته در معرض تنش‌های زیستی و غیرزیستی قرار دارند، از طرفی گیاهان در شرایط گلخانه در اتمسفری تقریباً کنترل‌شده رشد می‌کنند که تنش‌های محیطی را به حداقل می‌رساند. با نبودن یا کم بودن تنش، احساس نیاز گیاه به تقویت سیستم‌های دفاعی کاهش می‌یابد، زیرا ترکیبات فنلیکی از سیستم‌های اولیه و بنیانی دفاع از گیاه و کاهش اثر استرس‌اند. پس با وجود تنش کمیت این ترکیبات نیز افزایش می‌یابد.

گیاه R. loganobaccus از منابع بسیار باارزش غذایی محسوب می‌شود که دارای خواص دارویی بسیار حائز اهمیتی است. با توجه به اهمیت این منبع غذایی و معروف بودن میوه‌ها به‌عنوان جزئی از رژیم غذایی روزانهٔ مردم بسیاری در سراسر جهان، طراحی و توسعهٔ استراتژی برای جست‌وجو و کاربرد فواید کامل این هیبرید اقدامی ضروری به نظر می‌رسد.

پی‌نوشت‌ها

1. James Harvey Logan
2. Rubus loganobaccus L.
3. Micropropagation
4. Proliferation

منابع

۱. امیدی، م. (۱۳۹۳). مباحث نوین در کشت بافت گیاهی. انتشارات دانشگاه تهران.

۲. تایز، ل. و زایگر، ا. ۱۹۹۱. فیزیولوژی گیاهی. (ترجمه: محمد کافی، اسکندر زند، بهنام کامکار، حمیدرضا شریفی و مرتضی گلدانی، ۱۳۷۹)، جلد دوم. انتشارات جهاد دانشگاهی مشهد.

۳. خوشخوی، م. (۱۳۷۷). فنون کشت بافت گیاهی برای گیاهان باغبانی (بوستانداری). ترجمه انتشارات دانشگاه شیراز.

٤. فهرمان ، ا. (۱۳۷۳) . کورموفیت‌های ایران جلد ۲. مرکز نشر دانشگاهی تهران ، صفحهٔ ٥٥٦.

5. Hummer, K.E. and Janick, J. Rubus iconology: Antiquity to the renaissance. Acta Horticultureae, (2007); 759, 89-106

6. Zia-UI-Hag, M., Ali, H. and Mohammad, K. Rubus Fruticosus L.: Constituents, Biological Activities and Health Related Uses, Molecules, (2014); 19, 10998-1102.