تأثیر هورمون‌های اکسین و نوع ریز نمونه بر القای ریشه نابجا گیاه دارویی سرخارگل(*Echinacea purpurea* L.) در شرایط درون شیشه‌ای

۱- سیده محدثه حسینی ۲- سید علی اندی ۳- امیر صحرارو ٤- محمدباقر فرهنگی

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد علوم و مهندسی باغبانی گرایش گیاهان دارویی، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه گیلان، رشت، ایران

۲- استادیار گروه علوم کشاورزی مرتبط، دانشکده گیاهان دارویی، دانشگاه تخصصی فناوری های نوین آمل، آمل، ایران

۳- استادیار گروه علوم و مهندسی باغبانی، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه گیلان، رشت، ایران

٤- استادیار گروه علوم خاک، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه گیلان، رشت، ایران

Email: m.hosseini51677@gmail.com [۱]

Email: A.andi@ausmt.ac.ir [۲]

Email: asahraroo@Guilan.ac.ir [۳]

Email: m.farhangi@Guilan.ac.ir [٤]

چکیده

گیاه سرخارگل .*Echinacea purpurea* L یکی از پرکاربردترین گیاهان دارویی مورد استفاده در فرمولاسیون داروهای گیاهی می‌باشد. متابولیت‌های تخصصی[1] موجود در ریشه گیاه خصوصاً مشتقات کافئیک اسید نقش مهمی را در درمان و پیشگیری بیماری-های متعدد از جمله آلودگی‌های دستگاه تنفسی فوقانی و حتی تحتانی ایفا می‌کنند. بنابراین در این پژوهش منظور بهینه کردن شرایط القای ریشه نابجا در گیاه سرخارگل، اثر غلظت‌های مختلف هومون‌های IBA و NAA (۰، ۰/۵، ۱، ۱/۵ و ۲ میلی‌گرم در لیتر) به صورت جداگانه و ریزنمونه های برگ، دم برگ و ریشه در محیط کشت MS به‌صورت آزمایش فاکتوریل با طرح پایه کاملاً تصادفی بررسی شد. پس از پنج هفته، صفات تعداد ریشه نابجا و زمان ریشه‌دهی یادداشت شدند. نتایج تجزیه واریانس نشان داد

[1] Specialized metabolites

که صفات بررسی شده به طور معنی‌داری تحت تأثیر نوع ریزنمونه و غلظت‌های مختلف هورمون قرار گرفتند. با توجه به نتایج مقایسه میانگین تیمارها، غلظت ۱ میلی‌گرم در لیتر IBA و ریزنمونه برگ بهترین پاسخ دهی را برای القای ریشه نابجا نشان دادند.

کلمات کلیدی: **هورمون‌های اکسین، ریزنمونه، ریشه نابجا[2]، گیاه دارویی سرخارگل، مشتقات کافئیک اسید**

۱– مقدمه

گیاه سرخارگل با نام علمی *Echinacea purpurea* L.، گیاهی علفی و چند ساله متعلق به خانواده Asteraceae می‌باشد [۱۵] . در حال حاضر این گیاه به طور گسترده ای در بسیاری از کشورها و از جمله منطقه شمال آمریکا که خاستگاه آن می‌باشد برای استفاده‌های دارویی کشت می‌شود. گیاه از نظر موارد مصرف در ایالات متحده آمریکا و اروپا دومین رتبه را در بین گیاهان دارویی داشته [۵] و حدود ۱۰٪ از تجارت مکمل‌های دارویی را به خود اختصاص داده است [۲].

سرخارگل دارای ریشه مستقیم و کم و بیش منشعب است که رنگ آن‌ها از قهوه ای تیره تا سفید مات متغیر می‌باشد. ساقه این گیاه قائم و استوانه ای شکل و کرکی بوده و رنگ آن به دلیل وجود آنتوسیانین سبز روشن و یا حتی قرمز رنگ می‌باشد. برگ‌های گیاه به شکل پهن و بیضوی است و گل‌های مخروطی شکل آن در انتهای ساقه‌های اصلی و فرعی پدیدار می‌شوند. گیاه سرخارگل بیشتر در مکان‌های مرطوب و پر نور و خاک‌هایی با بافت متوسط رشد می‌کنند [۱].

از مهم‌ترین خواص دارویی این گیاه افزایش قدرت سیستم ایمنی بدن در مقابل عوامل بیماری‌زا می‌باشد که سبب می‌شود این گیاه به عنوان یک داروی مؤثر در پیشگیری و درمان بسیاری از بیماری‌ها همچون سرماخوردگی، آنفلوآنزا و عفونت‌ها خصوصاً عفونت‌های مربوط به دستگاه تنفسی استفاده شود [۱۱]. در گذشته این گیاه را برای درمان مارگزیدگی، بیماری‌های لثه و دهان، سرماخوردگی، سرفه و گلودرد استفاده می‌کردند. فرآورده‌های سرخارگل هم‌اکنون به‌عنوان تصفیه‌کنندهٔ خون، ضدعفونی‌کننده و آرامبخش معرفی می‌شوند [۸].

اندام‌های مختلف گیاه دارویی سرخارگل اعم از ریشه و پیکر رویشی حاوی مواد مؤثره ارزشمندی از قبیل پلی‌فنول‌ها به‌ویژه مشتقات کافئیک اسید و فلاونوئیدهایی مانند کوئرستین و کامفرول می‌باشد [۱۶]. مهم‌ترین ترکیبات مشتق شده از کافئیک اسید در این گیاه عبارت از: کافئیک اسید[3]، کلروژنیک اسید[4]، اکیناکوزاید[5]، شیکوریک اسید[6] و سینارین[7] می‌باشند که بخش‌های مختلف گیاه، مقادیر متفاوتی از آن‌ها را نشان می‌دهند. اسید شیکوریک از مهم‌ترین متابولیت‌های تخصصی گیاه سرخارگل است [۴].

---

[2] Adventitious root culture
[3] Caftaric acid
[4] Chlorogenic acid
[5] Echinacoside
[6] Cichoric acid
[7] Cynarin

از آنجاییکه تقاضا برای این گیاه از طرف طب گیاهی رو به افزایش است، بنابراین جست و جو برای دستیابی به یک روش مناسب تولید اندام‌های مؤثره گیاه خصوصاً ریشه بدون وابستگی به تغییرات محیطی و تغییرات رشدی گیاه که به طور قابل توجهی بر کمیت و کیفیت متابولیت‌های تخصصی تأثیرگذار هستند، لازم و ضروری به نظر می‌رسد. کشت بافت و سلول گیاهی به طور گسترده‌ای در راستای رفع این چالش برای بسیاری از گیاهان مهم صنعتی و گیاهان دارویی ارزشمند و در معرض خطر انقراض در حال استفاده می‌باشد [۹].

از جمله تکنیک‌های کشت بافت گیاهی، کشت ریشه‌های نابجا می‌باشد که به دلیل رشد سریع، پایداری ژنتیکی بالا، و ایمن بودن فرآورده‌های حاصله می‌تواند به عنوان یک منبع مناسب برای تولید متابولیت‌های تخصصی ارزشمند در شرایط درون شیشه‌ای محسوب شود [۱۰ و ۶].

با توجه به اهمیت زیاد این گیاه در صنایع دارویی، امروزه تحقیقات زیادی در زمینه تولید ریشه‌های نابجا این گیاه به روش درون شیشه‌ای و متعاقباً تولید متابولیت‌های تخصصی ارزشمند آن صورت نگرفته است. . بدین منظور در این پژوهش، اثر غلظت‌های مختلف هورمون‌های اکسین و ریزنمونه‌های مختلف بر القای بهینه ریشه‌های نابجا گیاه دارویی سرخارگل مورد بررسی قرار گرفتند.

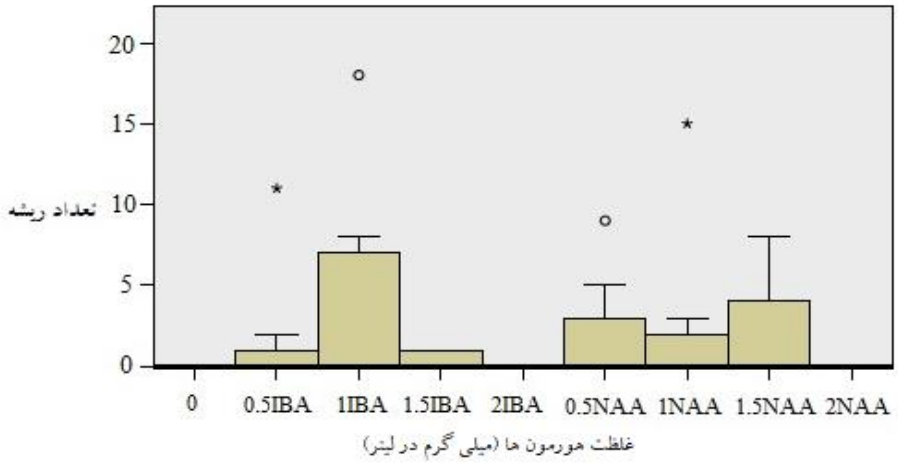
۲– مواد و روش ها

بذر گیاه سرخارگل از شرکت پاکان بذر اصفهان خریداری شد. برای ضدعفونی، ابتدا بذرها به مدت ۲۰ دقیقه با آب شهری شست و شو داده شدند سپس به مدت ۳۰ ثانیه در محلول اتانول ۷۰ درصد حجمی به حجمی به آرامی تکان داده شدند و در ادامه ۳ مرتبه و هر بار به مدت ۵ دقیقه توسط آب مقطر استریل شست و شو قرار گرفتند. پس از این مراحل، بذرها به مدت ۱۰ دقیقه در محلول هیپوکلرید سدیم ۵ درصد حجمی به حجمی غوطه‌ور شدند و برای شست و شو نهایی جهت کشت ۳ مرتبه و هر بار به مدت ۵ دقیقه از آب مقطر استریل استفاده شد. برای کشت از محیط کشت MS بدون هورمون با ۳۰ گرم در لیتر ساکارز و ۷ گرم در لیتر آگار استفاده شد و نمونه‌ها در شرایط تاریکی و دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد در دستگاه انکوباتور تا زمان جوانه زنی نگهداری شدند. از برگ، دم برگ و ریشه دانهال‌های ۵ هفته‌ای به عنوان ریزنمونه استفاده شد. در این پژوهش از دو منبع هورمون ریشه‌زایی اکسین IBA و NAA هر کدام در ۵ غلظت ۰، ۰/۵، ۱، ۱/۵ و ۲ میلی‌گرم در لیتر به صورت جداگانه استفاده شد. جهت انجام آزمایش ریشه‌زایی، ۴ قطعه یک سانتی‌متری از ریزنمونه‌های مورد مطالعه در شیشه‌های کشت حاوی ۳۰ میلی‌لیتر محیط کشت نیمه جامد MS قرار داده شدند و صفات تعداد ریشه‌های نابجا و زمان ریشه‌دهی در فاصله زمانی ۴۰ روزه مورد ارزیابی قرار گرفتند. آزمایش در قالب فاکتوریل و بر پایه طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد و آنالیز داده‌ها توسط نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۲ صورت پذیرفت.

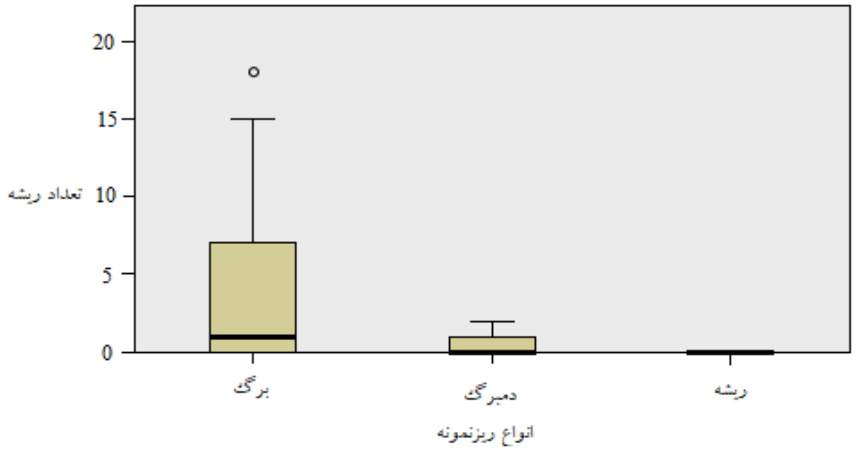
۳- نتایج و بحث

از آنجاییکه داده‌های استخراج شده از متغیرهای مورد مطالعه از توزیع نرمال پیروی نمی‌کردند و با روش‌های مختلف آماری نیز داده‌ها از توزیع نرمال برخوردار نشدند، از آزمون ناپارامتری کروسکال–والیس (Kruskal-Wallis) برای آنالیز داده‌ها استفاده شد. نتایج نشان داد که نوع و غلظت‌های مختلف هورمون‌های مورد استفاده ایندول بوتیریک اسید (IBA) و نفتالن استیک اسید (NAA) و همچنین نوع ریزنمونه (برگ، دمبرگ و ریشه) اثر معنی‌داری به ترتیب در سطوح ۵ درصد و ۱ درصد بر تعداد ریشه‌های نابجا و زمان مورد نیاز ریشه‌زایی در کشت ریشه‌های نابجا گیاه دارویی سرخارگل داشتند. مقایسه میانگین تیمارهای هورمونی و نوع ریزنمونه بر تعداد ریشه‌های نابجا نشان داد که غلظت ۱ میلی‌گرم در لیتر IBA و ریزنمونه برگ بیشترین تعداد ریشه نابجا را به خود اختصاص دادند (شکل‌های ۱ و ۲) که این دستاورد می‌تواند گام مهمی به منظور انجام مطالعات بیشتر در زمینه کشت ریشه‌های نابجا این گیاه دارویی ارزشمند باشد. همانگونه که در شکل ۱ نشان داده شده است، کمترین تعداد ریشه‌های نابجا در غلظت‌های بالاتر از هورمون‌ها (۲ میلی‌گرم در لیتر) حاصل شده است که می‌تواند بر تأثیر معکوس غلظت‌های بالاتر از هورمون‌های ریشه‌زایی اکسینی بر القای ریشه‌های نابجا دلالت داشته باشد. در کشت‌های درون شیشه‌ای ریشه‌های نابجا عوامل متعددی بر میزان زیست-توده تأثیرگذار می‌باشند که یکی از مهمترین آن‌ها تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی هستند. اکسین‌ها از دسته هورمون‌های گیاهی می‌باشند که نقش مهمی را در هماهنگی بسیاری از فرآیندهای رشدی و رفتاری چرخه زندگی گیاه ایفا می‌کنند [۱۴].

در پژوهشی که بر روی گیاه سنبل‌الطیب (*Valeriana officinalis*) صورت گرفت، از تنظیم کننده‌های رشد گیاهی IBA و NAA برای القای ریشه‌های نابجا دو ریزنمونه برگ و دمبرگ استفاده شد. نتایج نشان داد که بیشترین درصد ریشه‌زایی هر دو ریزنمونه مربوط به غلظت ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر هورمون IBA بود [۳]. یافته‌های مشابه دیگر نیز حاکی از تأثیر بهتر هورمون‌های ریشه‌زایی در غلظت‌های کمتر بر القای ریشه‌های نابجا در گیاهان مختلف می‌باشند [۷]. علاوه بر این، در پژوهشی دیگر که تأثیر ترکیبات هورمونی و نوع ریزنمونه را بر تولید ریشه نابجا گیاه سرخارگل مورد بررسی قرار داده است، مشخص شد که بیشترین میزان ریشه نابجا مربوط به ریزنمونه برگی بوده است [۱۳]. همچنین گزارش شده است که در گیاه دارویی شاهدانه ریزنمونه برگ از میان ریزنمونه‌های مورد مطالعه حاوی بیشترین میزان کالوس می‌باشد [۱۲]. بنابراین، با انجام این مطالعه غلظت ۱ میلی‌گرم در لیتر هورمون IBA و ریزنمونه برگ از گیاه دارویی سرخارگل برای انجام مطالعات بیشتر درون شیشه‌ای در زمینه کشت ریشه‌های نابجا این گیاه معرفی می‌گردد.



شکل ۱: مقایسه میانگین تیمارهای هورمونی بر تعداد ریشه‌های نابجا



شکل ۲- مقایسه میانگین نوع ریزنمونه بر تعداد ریشه‌های نابجا

۴- منابع

[۱]. امید بیگی، ر. (۱۳۸۱). بررسی کشت و سازگاری سرخارگل (Echinaceae purpurea L.) در شمال تهران، نشریه ۲۱۳-کشاورزی و منابع طبیعی، جلد۶، شماره۲، صفحات ۲۴۰-۲۳۱.

[۲]. رضایی، ن، ۱۳۹۷. القای ریشه نابجا و موئین در گیاه سرخارگل (Echinaceae purpurea L.)، پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه ملایر، ۵ ص.

[۳]. سلطانی، ن.، زارع، ن.، دژستان، س.، شیخ زاده، پ. ۱۳۹۳. تاثیر تنظیم کننده های رشد گیاهی بر تولید ریشه های نابجا از ریزنمونه های مختلف سنبل الطیب (Valeriana officinalis L.) در شرایط درون شیشه ای، سومین کنگره ملی کشاورزی ارگانیک و مرسوم، ۹۲۶۹۵۹.

[4]. Barnes, J., Anderson, L. A., Gibbons, S., & Phillipson, J. D. (2005). Echinacea species (*Echinacea angustifolia* (DC.) Hell., *Echinacea pallida* (Nutt.) Nutt., *Echinacea purpurea* (L.) Moench): a review of their chemistry, pharmacology and clinical properties. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, *57*(8), 929-954.

[5]. Chen, R., Yang, Y., Wu, H. (2016). A comparative study on rooting of in vitro regenerated shoots in haploid diploid and tetraploid purple coneflower (Echinacea purpur L.). Biotechnology & Biotechnological Equipment., 30(1): 44-48

[6]. Cui, X.-H., Murthy, H. N., Wu, C.-H. and Paek, K.-Y. (2010). Adventitious root suspension cultures of *Hypericum perforatum*: effect of nitrogen source on production of biomass and secondary metabolites. *In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant*, 46: 437-444.

[7]. Ghimire, BK., Kim, HY., Seong, ES. et al. (2018) Establishment of culturing conditions and assessment of antioxidant activity and somaclonal variation in the adventitious root suspension cultures of Oplopanax elatus Nakai, Acta Physiol Plant 40, 51.

[8]. Gladisheva, O.N. (1995). Experimental studies on production and processing technology, and establishment of raw material uses and seed plantation of *Ecinacea Purpurea* under samara region. *Russian Academy of Agricultural Sciences*, 213-214.

[9]. Hwang, S.J., 2005. Growth characteristics and catalpol production in Chinese foxglove (*Rehmannia glutinosa* Libosch.) hairy roots transformed with *Agrobacterium rhizogenes* ATCC15834. J. Plant Biol. 48, 380–386.

[10]. Kim, Y. D., Kim, H. G., Kim, J. C., Sim, S. J., Min, J. Y., Hwang, J. G., ... & Choi, M. S. (2013). Effects of culture media on catechins and caffeine production in adventitious roots of tea tree (*Camellia sinensis* L.). *J Agric Life Sci*, *47(1)*, *11-20*.

[11]. Li, Th. S. C. (1998). Echinacea: Cultivation and medicinal value. *Hort Technology*, 8(2), 122-129.

[12]. Movahedi, M. Ghasemiomran, V. Torabi, S. (2016). In vitro callus induction and regeneration of medicinal plant Cannabis sativa L. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants, 32(5),758-768.

[13]. Murthy, H., Wu, Ch., Cui, Y., Paek, K. (2014). Production of Caffeic Acid Derivatives from Adventitious Root Cultures of *Echinacea purpurea* (L.) Moench. *American Chemical Society***,** 54(22), 8456–8460.

[14]. .Omar, T. j., Khudhur, S. A. (2015). Effect of NAA and IAA on Stem Cuttings of Dalbergia Sissoo (Roxb). Journal of Biology And Life Science., 6(2): 208- 220.

[15]. Omidbeigi, R. (1997). *Approaches to production and processing of medicinal plants*. Tarrahan e Nashr Publication. Tehran. Iran. (Vol. two). 423 pp.

[16]. Wu, L., Bae, J., Kraus, G. & Wurtele, E. S. (2004). Diacetylenic isobutylamides of Echinacea: synthesis and natural distribution.*Phytochemistry*, 65(17), 2477-2484.