دوماهنامه علمی- پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران
جلد ۳۲، شماره ۳، صفحه ۳۹۷- ۳۸۹ (۱۳۹۵)

تأثیر اکسین‌ها بر القای رشد ریشه‌های نابجا و موئین در گیاه دارویی کاسنی (*Cichorium intybus* L.)

حمیرا هادیزاده[۱]، مهدی محب‌الدینی[۲*] و بهروز اسماعیل‌پور[۳]

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه علوم باغبانی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران

۲*- نویسنده مسئول، استادیار، گروه علوم باغبانی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران، پست الکترونیک: Mohebodini@uma.ac.ir

۳- دانشیار، گروه علوم باغبانی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران

تاریخ دریافت: دی ۱۳۹۳ تاریخ اصلاح نهایی: اردیبهشت ۱۳۹۴ تاریخ پذیرش: مرداد ۱۳۹۴

چکیده

ریشه‌های موئین از قابلیت سنتز و تجمع متابولیت‌های ثانویه گیاهی برخوردار هستند. در دهه‌های اخیر توجه قابل‌ملاحظه‌ای به سنتز ترکیب‌های ثانویه ارزشمند در ریشه‌های موئین معطوف شده‌است. این تحقیق به‌منظور بهینه‌سازی القاء و شرایط کشت ریشه معمولی و ریشه موئین گیاه کاسنی (*Cichorium intybus* L.) با استفاده از اکسین‌های IAA، IBA و NAA انجام شد. این تحقیق طی دو مرحله مورد مطالعه قرار گرفت. در مرحله اول به‌منظور ریشه‌زایی ریزنمونه‌های برگ از اکسین‌های IAA و NAA در محیط کشت MS نیمه جامد با غلظت‌های مختلف ۰، ۰/۳، ۰/۶ و ۱ میلی‌گرم در لیتر استفاده گردید. آنگاه بیشترین میزان القای ریشه (۱۰۰٪) و بیشترین میانگین تعداد ریشه در غلظت ۱ میلی‌گرم در لیتر NAA بدست آمد. در مرحله دوم، القای رشد و تکثیر ریشه‌های نابجا و موئین بدست‌آمده از ریزنمونه برگ، در محیط کشت MS مایع با استفاده از اکسین‌های IAA، IBA و NAA در غلظت‌های ۰، ۰/۵، ۱ و ۱/۵ میلی‌گرم در لیتر مورد بررسی قرار گرفت و با توجه به نتایج بدست‌آمده مشخص شد که بیشترین وزن تر و بیشترین وزن خشک ریشه در محیط کشت MS مایع حاوی ۰/۳ میلی گرم در لیتر NAA و ۱/۵ میلی‌گرم در لیتر IBA حاصل شد و در تیمارهایی که حاوی NAA بودند ریشه موئین تشکیل شد.

واژه‌های کلیدی: محیط کشت، وزن تر، وزن خشک، ایندول استیک اسید، ایندول بوتیریک اسید، نفتالین استیک اسید.

مقدمه

هزاران سال است که گیاهان از مهمترین منابع درمانی محسوب می‌شوند. حتی امروزه، سازمان بهداشت جهانی اعلام کرده‌است که بیش از ۸۰٪ از مردم دنیا در طب سنتی هنوز از گیاهان دارویی برای درمان استفاده می‌کنند. گیاهان همچنین منبع بسیاری از درمان‌های جدید نیز می‌باشند. تقریباً یک چهارم داروهای تولید شده حاوی عصاره‌های گیاهی یا ترکیب‌هایی هستند که از مواد گیاهی بدست آمده‌اند یا براساس ترکیب‌های گیاهی مدل‌سازی شده‌اند. البته تولید ترکیب‌های گیاهی با متابولیت‌های ثانویه در شرایط درون شیشه از طریق کشت بافت‌های گیاهی امکان‌پذیر است (Tripathi & Tripathi, 2003). با توجه به اینکه در طبیعت سرعت تولید متابولیت‌های ثانویه آهسته بوده و مدت زمان طولانی برای تولید آنها لازم است،

Archive of SID

www.SID.ir

بنابراین این روش تولید اقتصادی نبوده و ضروری به نظر می‌رسد که برای تولید سریع و انبوه متابولیت‌های ثانویه و مواد دارویی، از فنون کشت بافت گیاهی به‌طور بهینه استفاده شود. کشت بافت گیاهی یکی از مهمترین تکنیک‌ها در راستای تولید صنعتی متابولیت‌های ثانویه در گیاهان دارویی است، زیرا قابلیت این مواد در شرایط طبیعی بسیار محدود می‌باشد. برخی مزیت‌های تولید متابولیت‌های ثانویه از طریق کشت بافت شامل کنترل بهینه شرایط کشت، افزودن پیش‌سازهای مورد نیاز برای افزایش بازده و تولید متابولیت‌های ثانویه خاص می‌باشد (Xing *et al*., 1998). کاسنی با نام علمی *Cichorium intybus* L. از تیره Asteraceae می‌باشد. گیاهی علفی، پایا با ریشه مخروطی شکل و دراز (۱–۰/۵ متر) به رنگ قهوه‌ای، ساقه راست و شاخه‌دار، برگها زمینی که به‌صورت متناوب و سرنیزه‌ای بدون دمبرگ و گلها به رنگ آبی بوده و ارتفاع گیاه بین ۱–۰/۵ متر است (Zargari, 1989). کاسنی پراکندگی وسیعی در نواحی مختلف ایران به‌ویژه شمال ایران، آذربایجان و مناطق کوهستانی خراسان دارد (Karimi, 1995). ریشه، برگ و بذر آن دارای تعداد زیادی ترکیب‌های دارویی از قبیل اینولین، سزکویی‌ترپن، لاکتون، کومارین، فلاونوئیدها و ویتامین می‌باشد که به‌عنوان ضدهپاتیت، ضدسرطان، اشتهاآور، ضدنفخ و ضدالتهاب استفاده می‌شود، البته خواص ضدباکتریایی نیز برای عصاره ریشه کاسنی گزارش شده‌است (Nandagopal & Ranjitha Kumari, 2006). بررسی اثرات ضدباکتری و ضدقارچی ریشه کاسنی خواص ضدقارچی را برای عصاره ریشه کاسنی نشان داد و پیشنهاد شده‌است که از آن به‌عنوان نگهدارنده طبیعی مواد غذایی استفاده شود (Nishimura & Satoh, 2006). همچنین از ریشه این گیاه در درمان بیماری‌های کبدی و محل زخم و همچنین به‌عنوان هاضم، مسهل صفرا، تصفیه‌کننده، مدر، تنظیم‌کننده قاعدگی و تب‌بر استفاده می‌شود. بهینه‌سازی شرایط القاء و کشت ریشه‌های موئین در این گیاه، از نظر بررسی قابلیت‌های بیوسنتزی ریشه‌های موئین آن حائز اهمیت است. از آنجایی که ریشه گیاه کاسنی دارای ترکیب‌های دارویی مهمی می‌باشد، بهینه‌سازی سیستم کشتی که بتواند قابلیت تولید صنعتی این ترکیب‌ها را فراهم کرده و امکان کشت آنها را در بیوراکتورها ایجاد کند بسیار حائز اهمیت می‌باشد.

تحقیقی توسط Nandagopal و Ranjitha Kumari (۲۰۰۷) برای ریشه‌زایی ریزنمونه‌های برگ و هیپوکوتیل گیاه *Cichorium intybus* L. با اکسین‌های NAA، IBA و IAA مورد مطالعه قرار گرفت. طبق گزارش آنان بیشترین درصد ریشه‌زایی در ترکیب هورمونی ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر NAA در ترکیب با ۱ میلی‌گرم در لیتر IBA و ترکیب هورمونی ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر NAA در ترکیب با ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر IBA بدست آمد. سپس ریشه‌های بدست‌آمده از ریزنمونه‌های مذکور برای رشد و القای ریشه‌های نابجا و ریشه‌های موئین در غلظت‌های مختلف اکسین‌های NAA، IBA و IAA را مورد بررسی قرار دادند و بیشترین وزن تر در ترکیب هورمونی ۰/۲ میلی‌گرم در لیتر NAA را در ترکیب با ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر IBA گزارش کردند. مطالعه‌ای توسط Bais و همکاران (۲۰۰۱) با استفاده از تنظیم‌کننده‌های رشد IAA، NAA، 2-4-D، KIN و Gibberellic acid برای رشد و تولید متابولیت‌های ثانویه ریشه‌های موئین گیاه *Cichorium intybus* L. cv. Lucknow Local انجام شد که جیبرلین را در غلظت ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر بهترین تنظیم‌کننده برای افزایش رشد ریشه‌ها و متابولیت ثانویه گزارش کردند. تأثیر اکسین‌های NAA، IBA و IAA در غلظت‌های مختلف برای رشد ریشه‌های موئین گیاه *Nepeta cataria* L. توسط Yang و همکاران (۲۰۱۰) مورد مطالعه قرار گرفت و بیشترین میزان رشد و بیشترین وزن تر و بیشترین وزن خشک ریشه‌های موئین در غلظت ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر IBA بدست آمد. همچنین کالوس‌زایی و باززایی گیاه کاسنی با استفاده از ریزنمونه‌ها و تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی مختلف توسط محققان بررسی شده‌است (Rehman *et al*., 2003؛ Yucesan *et al*., 2007؛ Choi *et al*., 2009؛ Maroufi *et al*., 2012).

یکی از روش‌هایی که امروزه برای افزایش ترکیب‌های دارویی در گیاهان دارویی بسیار مورد توجه قرار گرفته

Archive of SID
www.SID.ir

است، استفاده از کشت بافت ریشه‌های موئین می‌باشد. با توجه به اینکه تحقیقات محدودی مبنی بر القای ریشه‌های موئین در گیاه دارویی کاسنی انجام شده‌است، در این تحقیق بررسی تأثیر اکسین‌ها بر القای رشد ریشه‌های معمولی و موئین در گیاه دارویی کاسنی در محیط کشت مایع و شرایط درون شیشه‌ای مورد مطالعه قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

آزمایش اول: تهیه و کشت ریزنمونه برگ برای ریشه‌زایی

تهیه و استریل بذرهای کاسنی

بذر گیاه کاسنی از شرکت پاکان بذر اصفهان تهیه گردید. برای ضدعفونی، بذرها ابتدا به مدت ۳۰ دقیقه زیر آب جاری شستشو داده شدند. سپس زیر هود لامینار ابتدا در الکل اتانول ۷۰٪ به مدت ۹۰ ثانیه غوطه‌ور شدند و بعد با محلول هیپوکلریت سدیم ۵٪ به مدت ۲۵ دقیقه ضدعفونی گردیدند. در نهایت ۳ بار با آب مقطر استریل به مدت ۱، ۵ و ۱۵ دقیقه شستشو داده شدند.

کشت بذرها

بذرهای ضدعفونی شده در محیط کشت MS نیمه جامد (Murashige & Skoog, 1962) کشت شدند. داخل هر پتری‌دیش ۲۰ عدد بذر قرار گرفت. بذرها برای جوانه‌زنی به مدت ۴۸ ساعت در تاریکی قرار گرفتند. بعد از جوانه‌زنی کشت‌ها برای رشد و نمو در اتاقک رشد با دمای ۲۵±۲ درجه سانتی‌گراد و تناوب نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی نگهداری شدند.

تهیه ریزنمونه

چهار هفته بعد از رشد گیاهچه‌ها از آنها ریزنمونه برگ تهیه شد. ریزنمونه‌های برگ به طول ۰/۵ سانتی‌متر برش داده شدند و در محیط کشت MS نیمه جامد حاوی غلظت‌های مختلف (۰، ۰/۳، ۰/۶ و ۱ میلی‌گرم در لیتر) اکسین‌های IAA و NAA در چهار تکرار کشت گردیدند. در هر تکرار ۸ ریزنمونه کشت شد. بعد از قرار دادن ریزنمونه‌ها در محیط کشت، اطراف پتری‌دیش‌ها با پارافیلم بسته شد و در دمای ۲۵±۲ درجه سانتی‌گراد و شرایط ۱۶ ساعت روشنایی (شدت نور ۲۰۰۰ لوکس) و ۸ ساعت تاریکی قرار داده شدند. این آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شد. بعد از چهار هفته صفاتی مانند درصد ریشه‌زایی و میانگین تعداد ریشه یادداشت‌برداری شد.

آزمایش دوم: کشت ریشه‌ها در محیط کشت MS مایع

این آزمایش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شد. در این آزمایش ریشه‌های بدست آمده از ریزنمونه‌های برگ در آزمایش اول تقریباً به طول ۱ سانتی‌متر برش داده شدند و به ظروف شیشه مربا حاوی ۵۰ میلی‌لیتر محیط کشت MS مایع در چهار تکرار انتقال یافتند. در هر تکرار ۰/۲۵ گرم ریشه کشت گردید. اکسین NAA در دو غلظت (۰ و ۰/۳ میلی‌گرم در لیتر) و اکسین‌های IAA و IBA در چهار غلظت (۰، ۰/۵، ۱ و ۱/۵ میلی‌گرم در لیتر) به تنهایی یا به‌صورت ترکیب مورد استفاده قرار گرفت. بعد از کشت، ریشه‌ها در دمای ۲۵±۲ درجه سانتی‌گراد و در شرایط تاریکی قرار داده شدند. بعد از ۹ هفته رشد، ریشه‌ها از شیشه مربا بیرون آورده شدند و وزن تر آنها با ترازوی حساس با دقت ۰/۰۱ گرم اندازه‌گیری شد. پس از خشک کردن ریشه‌ها در آون در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت، وزن خشک آن یادداشت‌برداری شد. برای بررسی تأثیر قرار گرفتن محیط کشت بر روی شیکر و در محیط ثابت بر میزان رشد و تکثیر ریشه‌ها، آزمایش دیگری انجام گردید. در این آزمایش ریشه‌های کشت شده بر روی شیکر چرخشی با سرعت ۵۰rpm و همچنین در جای ثابتی نگهداری شدند.

تجزیه و تحلیل آماری

داده‌ها توسط نرم‌افزار SPSS16 مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. قبل از انجام تجزیه واریانس نرمال بودن داده‌ها مورد بررسی قرار گرفت و مقایسه میانگین‌ها براساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵٪ انجام شد.

Archive of SID

www.SID.ir

نتایج

نتایج ریشه‌زایی ریزنمونه‌های برگ در محیط کشت MS نیمه جامد

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر هورمون‌های IAA و NAA بر درصد ریشه‌زایی و میانگین تعداد ریشه در ریزنمونه برگ در سطح احتمال ۱٪ معنی‌دار شد (جدول ۱). نتایج نشان داد که هورمون‌های IAA و NAA تأثیر قابل توجهی بر ریشه‌زایی ریزنمونه برگ گیاه کاسنی داشتند. نتایج حاصل از مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که غلظت ۱ میلی‌گرم در لیتر NAA با ۱۰۰٪ ریشه‌زایی و غلظت ۰/۳ میلی‌گرم در لیتر IAA با ۹۳/۷۵٪ بیشترین ریشه‌زایی را داشتند و کمترین ریشه‌زایی ۷۵٪ در غلظت‌های ۱ میلی‌گرم در لیتر IAA و ۰/۳ میلی‌گرم در لیتر NAA مشاهده شد و در محیط کشت MS شاهد (بدون هورمون) ریشه‌زایی انجام نشد. بیشترین میانگین تعداد ریشه نیز ۹ عدد در غلظت ۱ میلی‌گرم در لیتر NAA و کمترین میانگین تعداد ریشه ۲/۷ عدد در غلظت ۰/۳ میلی‌گرم در لیتر IAA بدست آمد (جدول ۳). نتایج آزمایش ریشه‌زایی ریزنمونه برگ با دو اکسین IAA و NAA نشان داد که ریشه‌های تشکیل شده در محیط کشت MS حاوی اکسین NAA ضخیم‌تر و طویل‌تر از اکسین IAA بودند. به‌طور کلی در این تحقیق مشخص شد که برای ریشه‌زایی، ریزنمونه برگ NAA بهتر از IAA بود (شکل ۱).

رشد ریشه‌ها در محیط کشت MS مایع

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر متقابل هورمون NAA با IBA و IAA بر وزن تر ریشه‌ها در سطح احتمال ۱٪ معنی‌دار شد. همچنین نتیجه تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر متقابل هورمون NAA با IBA و IAA بر وزن خشک ریشه‌ها معنی‌دار نبوده ولی اثر اصلی هورمون‌های NAA، IBA و IAA بر وزن خشک در سطح احتمال ۱٪ معنی‌دار شد (جدول ۲). جدول مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که بیشترین وزن تر در محیط کشت MS حاوی ۰/۳ میلی‌گرم در لیتر NAA و ۱/۵ میلی‌گرم در لیتر IBA، ۴/۱ گرم و کمترین وزن تر در محیط کشت MS شاهد (بدون هورمون)، ۱/۴۳ گرم بدست آمد (جدول ۴). نتایج مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که بیشترین وزن خشک در غلظت ۱/۵ میلی‌گرم در لیتر IBA، ۰/۹۹۶ گرم و کمترین وزن خشک در محیط کشت MS شاهد (بدون هورمون)، ۰/۰۴۳۲ گرم مشاهده شد (جدول ۵). ریشه‌های کشت شده در محیط‌های کشت مایع حاوی اکسین‌های NAA، IBA و IAA به تنهایی یا به‌صورت ترکیب هورمونی نشان دادند در کشتی که حاوی NAA بودند ریشه‌های موئین تشکیل گردید و در محیط‌های کشت فاقد NAA و در محیط‌های کشت IBA و IAA به تنهایی هیچگونه ریشه موئینی تشکیل نشد (شکل ۲). این آزمایش‌ها به دو روش مورد بررسی قرار گرفتند. در حالت اول ریشه‌های کشت شده، بر روی شیکر چرخشی با سرعت ۵۰rpm قرار داده شدند و در حالت دوم ریشه‌های کشت شده در جای ثابتی نگهداری شدند. نتیجه آزمایش‌ها نشان داد ریشه‌هایی که در جای ثابتی قرار گرفته بودند رشد قابل توجهی نسبت به ریشه‌هایی که بر روی شیکر قرار گرفته بودند از خود نشان دادند. از این‌رو در این تحقیق ریشه‌ها برای رشد در جای ثابت نگهداری شدند.

جدول ۱- تجزیه واریانس تأثیر NAA و IAA بر درصد ریشه‌زایی و میانگین تعداد ریشه در ریزنمونه برگ

منابع تغییرات	df	میانگین مربعات	
		درصد ریشه‌زایی	میانگین تعداد ریشه
هورمون	۶	۴۴۷۱/۷ **	۱۶/۵ **
اشتباه آزمایشی	۲۱	۵۹/۵	۰/۷۲۳
ضریب تغییرات (٪)	–	۱۰/۸	۲۳/۵

**: معنی‌دار در سطح احتمال ۱٪

Archive of SID
www.SID.ir

جدول ۲- تجزیه واریانس تأثیر NAA، IAA و IBA بر وزن تر و وزن خشک ریشه‌ها

منابع تغییرات	df	میانگین مربعات	
		وزن تر	وزن خشک
NAA	۱	۸/۲۹ **	۰/۰۲۳ **
IAA و IBA	۶	۲/۶۸ **	۰/۰۲۴ **
اثر متقابل NAA با (IAA و IBA)	۶	۱/۷۵ **	۰/۰۰۴ ns
اشتباه آزمایشی	۴۲	۰/۳۳	۰/۰۰۴
ضریب تغییرات (٪)	–	۲۴/۸	۱۴

ns، **: به‌ترتیب غیرمعنی‌داری و معنی‌دار در سطح احتمال ۱٪

جدول ۳- مقایسه میانگین تأثیر NAA و IAA بر درصد ریشه‌زایی و میانگین تعداد ریشه در ریزنمونه برگ

هورمون ($mg\ l^{-1}$)	درصد ریشه‌زایی	میانگین تعداد ریشه
شاهد	۰ D	۰ D
۰/۳ IAA	۹۳/۷۵ AB	۵/۱ B
۰/۶ IAA	۶۸/۷۵ C	۳/۵ BC
۱ IAA	۷۵ C	۲/۷۵ C
۰/۳ NAA	۷۵ C	۴ BC
۰/۶ NAA	۸۷/۵ B	۶/۷۵ B
۱ NAA	۱۰۰ A	۹ A

میانگین‌های با حروف مشترک اختلاف معنی‌داری از لحاظ آماری ندارند.

جدول ۴- مقایسه میانگین تأثیر NAA با IAA و IBA بر وزن تر ریشه‌ها

هورمون ($mg\ l^{-1}$)	وزن تر	هورمون ($mg\ l^{-1}$)	وزن تر
شاهد	۱/۴۳ D	۰/۳ NAA	۲/۲۴ CD
۰ NAA+۰/۵IBA	۲/۶۵ BC	۰/۳NAA+۰/۵IBA	۲/۱۶ CD
۰ NAA+۱IBA	۲/۰۵ CD	۰/۳NAA+۱IBA	۳/۳ AB
۰ NAA+۱/۵IBA	۲/۷۲ BC	۰/۳NAA+۱/۵IBA	۴/۱ A
۰ NAA+۰/۵IAA	۱/۵۰ D	۰/۳NAA+۰/۵IAA	۳/۴ AB
۱IAA+۰NAA	۱/۶۱ D	۰/۳NAA+۱IAA	۲/۰۸ CD
۰ NAA+۱/۵IAA	۱/۶۸ D	۰/۳NAA+۱/۵IAA	۲/۱۵ CD

میانگین‌های با حروف مشترک اختلاف معنی‌داری از لحاظ آماری ندارند.

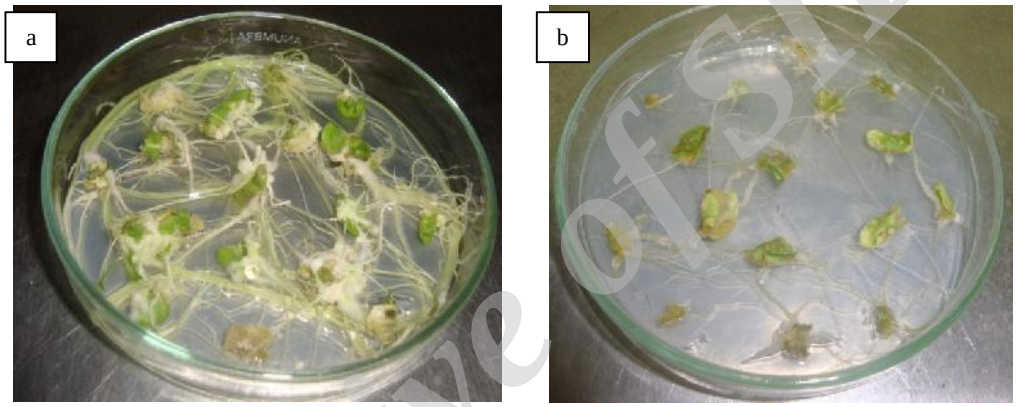
Archive of SID

www.SID.ir

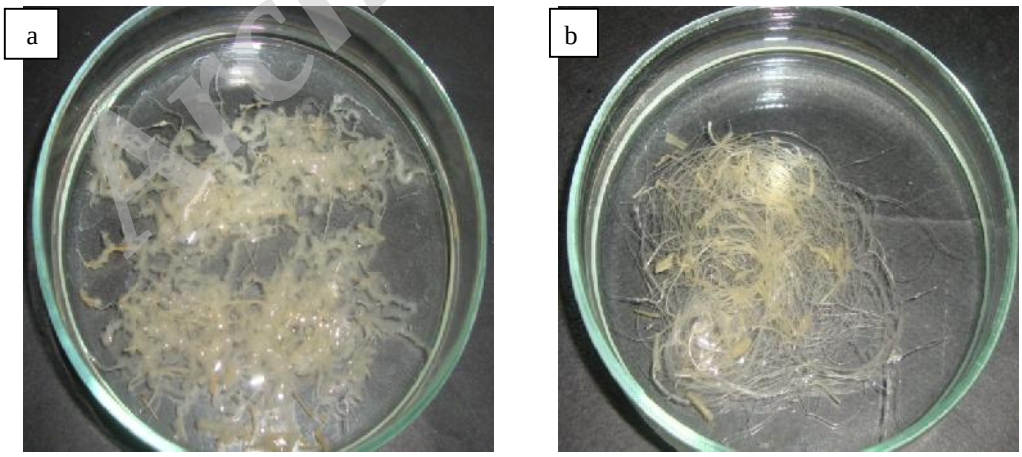
جدول ۵- مقایسه میانگین تأثیر IAA و IBA بر وزن خشک ریشه‌ها

هورمون ($mg\ l^{-1}$)	وزن خشک
شاهد	۰/۰۴۳۲ D
۰/۵IBA	۰/۰۸۱۱ AB
۱IBA	۰/۰۸۲۶ AB
۱/۵IBA	۰/۰۹۹۶ A
۰/۵IAA	۰/۰۶۹۶ BC
۱IAA	۰/۰۵۳۵ CD
۱/۵IAA	۰/۰۴۳۹ D

میانگین‌های با حروف مشترک اختلاف معنی‌داری از لحاظ آماری ندارند.



شکل ۱- a: تأثیر هورمون NAA بر ریشه‌زایی ریزنمونه برگ، b: تأثیر هورمون IAA بر ریشه‌زایی ریزنمونه برگ



شکل ۲- a: تأثیر حضور NAA بر القای ریشه‌های موئین، b: عدم تشکیل ریشه موئین در عدم حضور NAA

Archive of SID
www.SID.ir

بحث

از بین دو اکسین NAA و IAA بکار رفته برای ریشه‌زایی ریزنمونه برگ، ریشه‌های تشکیل شده با NAA ضخیم‌تر و طویل‌تر بودند، بعکس در IAA ریشه‌های ظریف‌تر و کوتاه‌تری بدست آمد. علاوه‌بر اینکه نوع اکسین بر القاء و رشد ریشه مؤثر است، تأثیر اکسین بر القاء و طویل شدن ریشه‌ها به نوع گیاه نیز وابسته است. برخلاف نتیجه بدست‌آمده در این آزمایش در ریشه‌زایی گردو در شرایط درون شیشه‌ای IAA نسبت به NAA مؤثرتر بود و NAA بشدت از رشد ریشه جلوگیری کرد (De Klerk *et al*., 1997). مطالعات محدودی در رابطه با اثر اکسین‌ها بر ریشه‌زایی ریزنمونه‌های گیاه کاسنی انجام شده است. تنها Nandagopal و Ranjitha Kumari (۲۰۰۷) ریشه‌زایی ریزنمونه‌های برگ و هیپوکوتیل گیاه کاسنی در ترکیب‌های هورمونی NAA با IBA و NAA با IAA را مورد مطالعه قرار دادند که بیشترین درصد ریشه‌زایی را در ریزنمونه برگ ۹۴٪ و در ریزنمونه هیپوکوتیل ۸۹٪ در تیمار ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر NAA در ترکیب با ۱ میلی‌گرم در لیتر IBA، و بیشترین میانگین تعداد ریشه را در ریزنمونه برگ ۱۱/۳ عدد و در ریزنمونه هیپوکوتیل ۵/۲۳ عدد در تیمار ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر NAA در ترکیب با ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر IBA گزارش کردند. طبق نتایج بدست‌آمده در تیمارهای فاقد IAA و IBA که NAA به تنهایی استفاده شده بود و تیمارهای فاقد NAA که IAA و IBA به تنهایی مورد استفاده قرار گرفته بود رشد ریشه‌ها کمتر از تیمارهایی بود که NAA، به‌صورت ترکیب با هریک از IAA و IBA مورد استفاده قرار گرفته بود. حضور NAA در محیط کشت مایع باعث افزایش و سرعت بخشیدن به تشکیل انشعابات جانبی در ریشه‌های گیاه کاسنی می‌شود (Nandagopal & Ranjitha Kumari, 2007). همچنین ریشه‌ها در ترکیب IBA با NAA نسبت به ترکیب IAA با NAA از رشد بیشتر و بهتری برخوردار بودند. Nandagopal و Ranjitha Kumari (۲۰۰۷) نیز NAA را در ترکیب با IAA و IBA برای رشد ریشه در محیط کشت MS مایع مورد استفاده قرار دادند که بیشترین وزن تر را در تیمار ۰/۲ میلی‌گرم در لیتر NAA در ترکیب با ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر IBA گزارش کردند. بنابراین به نظر می‌رسد IBA برای رشد ریشه‌های کاسنی اکسین بهتری باشد. همچنین در حضور NAA ریشه‌های موئین تشکیل شد، در حالیکه در تیمارهایی که NAA استفاده نشده بود ریشه‌های موئین مشاهده نشد.

ریشه‌های موئین دارای ویژگی‌هایی مانند رشد سریع، دست‌ورزی ژنتیکی آسان، توان بالای تولید متابولیت‌های ثانویه و قابلیت رشد در بیوراکتور می‌باشند. این ویژگی‌ها آنها را به یک منبع دائمی برای تولید متابولیت‌های ثانویه مهم مانند متابولیت‌های ثانویه با ارزش دارویی، که از نظر اقتصادی قابلیت تجاری شدن را دارند، تبدیل کرده‌است. امروزه استفاده از کشت ریشه‌های موئین به‌منظور تولید بیشتر متابولیت‌های ثانویه باارزش از گیاهان دارویی بسیار گسترش یافته است (Giri & Narasu, 2000).

با توجه به اینکه تشکیل ریشه‌های موئین در گیاهان با استفاده از تلقیح باکتری آگروباکتریوم رایزوژنز تحریک می‌شود (Dhakulkar *et al*., 2005)، در این تحقیق بدون استفاده از باکتری آگروباکتریوم رایزوژنز و با استفاده از هورمون NAA ریشه‌های موئین تشکیل شد. با توجه به اینکه القای ریشه‌های موئین با استفاده از باکتری آگروباکتریوم رایزوژنز هزینه و وقت زیادتری نیاز دارد استفاده از هورمون برای القای ریشه‌های موئین در گیاه کاسنی و استفاده از آنها برای اهداف مختلف توصیه می‌شود.

سپاسگزاری

بدین‌وسیله از خانم مهندس فتح‌العلومی به‌دلیل همکاری‌هایی که در انجام این پژوهش داشتند تشکر و قدردانی می‌شود.

منابع مورد استفاده

- Bais, H.P., Sudha, G., George, J. and Ravishankar, G.A., 2001. Influence of Exogenous hormones on growth and secondary metabolite production in hairy root cultures of *Cichorium intybus* L. cv. lucknow

Archive of SID
www.SID.ir

Cichorium intybus L. cv. Focus: a potent medicinal plant. Acta Agriculturae Slovenica, 87(2): 415-425.
- Nandagopal, S. and Ranjitha Kumari, B.D., 2007. Effectiveness of auxin induced *in vitro* root culture in chicory. Journal of Central European Agriculture, 8(1):73-80.
- Nishimura, H. and Satoh, A., 2006. Antimicrobial and nematicidal substances from the root of chicory (*Cichorium intybus* L.). Biomedical and Life Sciences, 2: 177-180.
- Rehman, R.U., Israr, M., Srivastava, P.S., Bansal, K.C. and Abdin, M.Z., 2003. *In vitro* regeneration of witloof chicory (*Cichorium intybus* L.) from leaf explant and accumulation of esculin. *In Vitro* Cellular and Developmental Biology-Plant, 39(2): 142-146.
- Tripathi, L. and Tripathi, J.N., 2003. Role of biotechnology in medicinal plants. Tropical Journal of Pharmaceutical Research, 2(2): 243-253.
- Xing, J.M., Zhao, D.X., Li, M.Y., Ye, H.Ch., Li, G.F. and Li, Z.H., 1998. Cell growth and flavonoids production in suspension culture of *Saussurea medusa*. Acta Botanica Sinica, 40(9): 836-841.
- Yang, K.Y., Lee, S.Y., Park, W.T., Park, N.I. and Park, S.U., 2010. Exogenous auxins and polyamines enhance growth and rosmarinic acid production in hairy root cultures of *Nepeta cataria* L. Plant Omics Journal, 3(6): 190-193.
- Yucesan, B., Turker, A.U. and Gurel, E., 2007. TDZ-induced high frequency plant regeneration through multiple shoot formation in witloof chicory (*Cichorium intybus* L.). Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 91(3): 243-250.
- Zargari, A., 1989. Medicinal Plants (Vol 2). Tehran University Press, Tehran, 212p.

local. *In vitro* Cellular and Developmental Biology-Plant, 37(2): 293-299.
- Choi, G.W., Kim, D.S., Hwang, H.J., Chae, W.B. and Lee, Y.H., 2009. Plant regeneration from cotyledon explants in leaf chicory (*Cichorium intybus* L. var. *foliosum*). Horticulture, Environment and Biotechnolgy, 50(1): 40-44.
- Dhakulkar, S., Bhargava, S., Ganapathi, T.R. and Bapat, V.A., 2005. Induction of Hairy root in *Gmelina arborea* Roxb. using *Agrobacterium rhizogenes*. BARC Newsletter (Founder's Day Special Issue), 261: 100-106.
- De Klerk, G.J., Brugge, J.T. and Marinova, S., 1997. Effectiveness of indoleacetic acid, Indolebutyric acid, napthalenacetic acid during adventitious root formation in vitro in Malus 'Jork 9'. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 49: 39-44.
- Giri, A. and Narasu, M.L., 2000. Transgenic hairy root: recent trends and applications. Biotechnology Advances, 18: 1-22.
- Karimi, H., 1995. Names Persian and English, Scientific: Iran of Plants. Academic Press, Iran, 772p.
- Maroufi, A., Karimi, M., Mehdikhanlou, K., Bockstaele, E.V. and Loose, M.D., 2012. Regeneration ability and genetic transformation of root type chicory (*Cichorium intybus* var. *sativum*). African Journal of Biotechnology, 11(56): 11874-11886.
- Murashige, T. and Skoog, F., 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with Tobacco tissue cultures. Physiologia Plantarum, 15(3): 473-497.
- Nandagopal, S. and Ranjitha Kumari, B.D., 2006. Adenine sulphate induced high frequency shoot organogenesis in callus and *in vitro* flowering of

Archive of SID

www.SID.ir

Effects of auxins on induction and establishment of adventitious and hairy roots culture of the medicinal plant chicory (*Cichorium intybus* L.)

H. Hadizadeh[1], M. Mohebodini[2*] and Esmaeilpoor[3]

1- MSc. Student, Department of Horticultural Sciences, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran
2*- Corresponding author, Department of Horticultural Sciences, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran
E-mail: Mohebodini@uma.ac.ir
3- Department of Horticultual Sciences, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran

Received: December 2014 Revised: April 2015 Accepted: July 2015

Abstract

Roots are the site for biosynthesis or accumulation of major plant secondary metabolites. In recent decades, many researchers have focused on the biosynthesis of valuable secondary metabolites in hairy roots. This study was conducted to optimize the induction and the culture conditions of adventitious and hairy roots of chicory (*Cichorium intybus* L.) using auxins IAA, IBA and NAA. This study was performed in two steps. In the first step, the leaf explant was cultured on MS solid medium for root induction with different concentrations of IAA and NAA (0, 0.3, 0.6 and 1 mg 1^{-1}). The highest root induction (100 %) and the highest mean number of roots were obtained at concentration of 1 mg 1^{-1} NAA. In the second step, the adventitious and hairy roots obtained from leaf explants were cultured in MS liquid medium with different concentrations of IAA, IBA and NAA (0, 0.5, 1 and 1.5 mg 1^{-1}). According to the results, the highest fresh and dry weight was obtained in MS liquid medium containing 0.3 mg 1^{-1} NAA and 1.5 mg 1^{-1} IBA and hairy roots were only established in treatments containing NAA hormone.

Keywords: Medium, fresh weight, dry weight, Indole-3-acetic acid, Indole-3-butyric acid, Naphthalene acetic acid.

Archive of SID

www.SID.ir