بررسی تأثیر میواینوزیتول بر زیست‌توده و میزان متابولیت‌های ثانویه ریشه نابجا گل‌راعی (*Hypericum perforatum* L.)

امیرمرادی سراب‌شلی[۱]، سید کمال کاظمی‌تبار[۱]، مرتضی ابراهیمی*[۲]، غفار کیانی[۱] و مرتضی خان‌احمدی[۲]

[۱]گروه ژنتیک و به‌نژادی گیاهی، دانشکده علوم زراعی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران،

[۲] پژوهشکده بیوتکنولوژی منطقه مرکزی کشور، اصفهان، ایران

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۰۹/۰٤، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹۸/۱۰/۲۵)

چکیده

گل‌راعی یک گیاه دارویی سنتی است که برای درمان افسردگی و بهبود زخم استفاده می‌شود. وابستگی به منابع طبیعی و روش‌های کشت سنتی اغلب به ماه‌ها و سال‌ها زمان برای دست‌یابی به گیاهان دارویی نیاز دارد. ایجاد سیستم کشت سوسپانسیون ریشه نابجا می‌تواند تکثیر در مقیاس وسیع، بهبود نژاد و حفاظت از گونه را تسریع بخشد، اما بهینه‌سازی و تولید در مقیاس وسیع نیازمند افزایش زیست‌توده و متابولیت‌های ثانویه ریشه است. در این پژوهش تأثیر غلظت‌های مختلف میواینوزیتول (۵۰، ۷۵، ۱۰۰، ۱۲۵، ۱۵۰، ۱۷۵، ۲۰۰، ۲۲۵، ۲۵۰ و ۲۷۵ میلی‌گرم بر لیتر) بر روی زیست‌توده، فنل، فلاونوئید، درصد فعالیت آنتی‌اکسیدانی DPPH و مقادیر متابولیت‌های ثانویه ریشه نابجا گل‌راعی در پژوهشکده متابولیت‌های ثانویه منطقه مرکزی کشور در سال ۱۳۹۸ مورد ارزیابی قرار گرفتند. نتایج بدست آمده در بین تیمارهای اعمال شده نشان داد که تیمارهای ۱۲۵ و ۱۵۰ میلی‌گرم بر لیتر میواینوزیتول دارای بیشترین مقادیر وزن خشک، نرخ رشد و نسبت رشد بودند. غلظت‌های ۱۰۰ و ۲۵۰ میلی‌گرم بر لیتر میواینوزیتول به ترتیب دارای بیشترین و کمترین مقدار هایپریسین و سودوهایپریسین بودند. از نظر تولید مقدار هایپرفورین، تیمار ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر میواینوزیتول دارای بیشترین میزان بود و غلظت ۱۲۵ میلی‌گرم کمترین تأثیر را بر میزان هایپرفورین داشت. تفاوت معنی‌داری نیز بین تیمارها از نظر مقدار فنل و فلاونوئید وجود داشت بطوری‌که تیمارهای ۷۵ و ۲۲۵ میلی‌گرم بر لیتر میواینوزیتول دارای بیشترین مقدار فنل و تیمار ۷۵ میلی‌گرم بر لیتر میواینوزیتول دارای بیشترین مقدار فلاونوئید در بین تیمارهای اعمال شده بودند. روند تغییرات درصد فعالیت آنتی‌اکسیدانی DPPH در بین تیمارها متفاوت بود بطوری‌که مقدار ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر میواینوزیتول دارای کمترین درصد فعالیت آنتی‌اکسیدانی DPPH بود، ولی بیشترین درصد فعالیت آنتی‌اکسیدانی DPPH در تیمار ۷۵ میلی‌گرم بر لیتر میواینوزیتول مشاهده شد. از آنجایی که پتانسیل تحریک متابولیت ثانویه در میان انواع کشت‌ها، انواع الیسیتورها، شرایط اعمال تیمارهای مختلف و دیگر پارامترها متفاوت است، تحقیقات بیشتر برای بهینه‌سازی دستورالعمل‌های بهتر و کارآمدتر ضروری می‌باشد.

واژگان کلیدی: الیسیتور، فنل، فعالیت آنتی‌اکسیدانی، هایپریسین

مقدمه

گل‌راعی (*Hypericum perforatum* L.) با سابقه‌ای بیش از ۲۰۰۰ سال تحت عنوان یک گیاه دارویی مطرح بوده است (Zobaye *et al.*, 2005). عصاره گل‌راعی حاوی ترکیبات پیچیده‌ای از متابولیت‌های فعال است که عموماً شامل نفتودی‌انترون‌ها (هایپریسین و سودو هایپریسین)،

*نویسنده مسؤل، نشانی پست الکترونیکی: o_m_abrahimi@yahoo.com

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-11]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1399.9.36.29.2]

فلوروگلوسینول‌ها (هایپرفورین و ادهایپرفورین) و فلاونوئیدها با طیف گسترده‌ای از اثرات بیولوژیکی می‌باشد (Kirakosyan *et al.*, 2004; Silva *et al*. 2005; Butterweck 2003). هایپریسین و هایپرفورین دارای خواص مهمی مانند خاصیت ضد افسردگی، ضد ویروسی و ضد باکتریایی می‌باشند و در صنایع دارویی کاربرد فراوانی دارند (علی‌اکبری و کاظمی‌تبار، ۱۳۹۱ و قاضیان تفریشی و همکاران، ۱۳۹۳). امروزه گیاهان این گونه اساساً برای درمان اختلالات عصبی و افسردگی مورد استفاده قرار می‌گیرند (Tatsis *et al.*, 2007). وابستگی به منابع طبیعی و روش‌های کشت سنتی اغلب به ماه‌ها و سال‌ها زمان برای دست‌یابی به گیاهان دارویی نیاز دارد. همچنین کشت زراعی گیاهان دارویی معایب مختلفی از جمله عملکرد پائین و نوسان در غلظت‌های متابولیت‌های ثانویه به علت عوامل جغرافیایی، فصلی و محیطی و نیز آلودگی بوسیله ذرات آلوده و حمله پاتوژن‌ها دارد (زمانی و همکاران، ۱۳۹۷ و Murch and Saxena, 2006). از طرفی ارقامی که برای افزایش تجمع محصولات ثانویه استفاده می‌شوند اساساً مقاوم به بیماری نیستند (Mccoy and Camper, 2002). کشت سلول، بافت و اندام گیاهی یک سیستم موثر برای مطالعه اهمیت بیولوژیکی متابولیت‌های فعال زیستی تحت شرایط درون شیشه و همچنین تولید محصولات طبیعی برای کاربردهای پردازش زیستی هستند (Paek *et al.*, 2005; Saifullah *et al.*, 2008). کشت‌های ریشه مویین گل‌راعی بعد از تلقیح گیاهچه‌های جوانه‌زده با اگروباکتریوم بدست می‌آیند (Vinterhalter *et al.*, 2006; Pavlik *et al.*, 2007; bertoli *et al.*, 2008; Koperdakova *et al.*, 2009). کشت‌های ریشه تراریخت یک روش جایگزین امیدبخش برای کشت سلول هستند، اما معمولاً ریشه‌های مویین نوعی مواد شبه اوپین تولید می‌کنند که منجر به مرگ پستانداران می‌شود (Yoshikawa and Furuya, 1987). همچنین موجودات زنده دست‌ورزی شده ژنتیکی در بسیاری از کشورها مورد قبول عام نیستند. ایجاد سیستم کشت سوسپانسیون ریشه نابجا می‌تواند تکثیر در مقیاس وسیع، بهبود نژاد و حفاظت از گونه را تسریع بخشد (Holobiuc and Blindu, 2006)، اما بهینه‌سازی و تولید در مقیاس وسیع نیازمند افزایش زیست‌توده و متابولیت‌های ثانویه ریشه است (Lee *et al.*, 2006; Yu *et al.*, 2001; Choi *et al.*, 2000; Kim *et al.*, 2004b). اشکال حلقوی پلی‌اول‌ها از جمله میواینوزیتول به صورت گسترده در گیاهان وجود دارد (Noiraud *et al.*, 2001). این ماده یکی از اجزاء اصلی محیط کشت Murashige و Skoog (۱۹۶۲) می‌باشد که برای گونه‌های گیاهی زیادی استفاده می‌شود و بیان شده است که برای بسیاری از انواع کشت‌های بافت ضروری می‌باشد (Loewus and Dickinson, 1982). میواینوزیتول در انتقال ایندول-۳-استیک اسید و کنترل رشد و توسعه سلولی ناشی از ایندول-۳-استیک اسید نقش دارد (Loewus and Murthy, 2000). همچنین اینوزیتول در بیوژنز غشاء، انتقال پیام، فیزیولوژی کانال یونی و پویایی غشاء نقش دارد (Loewus and Murthy, 2000). در تحقیق که توسط Iqbal و همکاران (۲۰۰۲) انجام شد نتایج نشان داد که بیان ژن میواینوزیتول-۱-فسفات سنتاز (MIPS) در گیاهان سویا تحت شرایط تنش و نرمال به ترتیب افزایش و کاهش پیدا کرد. تحقیقات نشان داده است که ژن‌های درگیر در سنتز میواینوزیتول در مرگ سلولی ناشی از پراکسید هیدروژن پرکسی‌زومال نقش دارند و پیشنهاد شد که این ترکیبات یک عامل کلیدی در تعیین این موضوع است که آیا تنش اکسیداتیو می‌تواند پاسخ‌های دفاعی را القاء یا سرکوب کند (Chaouch and Noctor, 2010). همچنین بیان شده است که میواینوزیتول نقش مهمی در تحریک متابولیت‌های فعال زیستی دارد. در مطالعه‌ای که توسط El Sharabasy و همکاران (۲۰۱۹) انجام شد میواینوزیتول به مقدار ۲۵ میلی‌گرم بر لیتر بیشترین تأثیر را بر میزان آمینواسیدها و ایندول‌های گیاه خرما داشت. در کشت کالوس گیاه *Rheum ribes*، میواینوزیتول با غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر موجب افزایش محتوی آنتراکینون‌ها (Anthraquinones) شد (Sepehr and Ghorbanli, 2002). این تحقیق به منظور بررسی تأثیر میواینوزیتول بر زیست‌توده ریشه نابجا و نیز ترکیبات فنلی، فلاونوئیدی و درصد فعالیت آنتی‌اکسیدانی DPPH (1, 1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) و میزان متابولیت‌های ثانویه ریشه نابجا گل‌راعی انجام شد.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-11]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1399.9.36.29.2]

مواد و روش‌ها

به منظور استریل کردن بذور گل‌راعی، بذور ابتدا با آب مقطر آب‌شویی و سپس سه مرتبه با اتانول ۷۰ درصد و هر بار به مدت ۳۰ ثانیه شسته شدند. بعد از این مرحله مجدداً آب‌شویی با آب مقطر استریل انجام شد. سایر مراحل به منظور استریل کردن پوشش سطحی بذور در زیر هود لامینار صورت گرفت. بذور به مدت ۷-۵ دقیقه در هیپوکلریت سدیم ۱۰ درصد و مقداری توئین ۲۰ به منظور از بین بردن کشش سطحی شست‌وشو داده شدند. بعد از این مرحله، ٦-۵ بار آب‌شویی با آب مقطر استریل انجام گرفت و بعد از آخرین آبکشی بذور تا خشک شدن سطح آنها در زیر هود لامینار قرار گرفتند. کشت بذور در شیشه‌های مربا حاوی محیط MS با ۳ درصد ساکارز و ۷ گرم بر لیتر آگارز کشت شدند. به منظور تهیه ریشه نابجا، ریزنمونه‌های برگی بدست آمده از گیاهچه‌های چهار هفته‌ای به قطعات کوچک تقسیم شده و سپس به محیط MS (Murashige and Skoog, 1962) با اسیدیته ۵/۷ که با ۰/۵ میلی‌گرم بر لیتر ایندول ۳-استیک اسید (IAA) و ۳ درصد (وزنی/حجمی) ساکارز و ویتامین B_5 (Gambrog *et al.*, 1968) غنی شده بود، منتقل شدند. محیط‌ها به مدت سه هفته در شرایط تاریکی و دمای ۲±۲۵ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. پس از تولید ریشه، ریشه‌های نابجا به ارلن‌های ۲۵۰ میلی‌لیتری حاوی ۷۰ میلی‌لیتر محیط یک دوم MS با ۳ درصد (وزنی/حجمی) ساکارز و یک میلی‌گرم بر لیتر ایندول ۳-بوتریک اسید (IBA) منتقل شدند. ارلن‌ها در شیکر انکوباتور در شرایط تاریکی و سرعت ۱۰۰ دور بر دقیقه قرار گرفتند و هر سه هفته یکبار عملیات واکشت ریشه‌ها انجام شد. در تمام مراحل آزمایش، محیط‌ها و وسایل مورد نیاز در دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد و فشار یک بار به مدت ۲۰ دقیقه در دستگاه اتوکلاو (شرکت Tomy مدل SX-700 استریل شدند.

به منظور بررسی تأثیر میواینوزیتول بر زیست‌توده، فنل، فلاونوئید و درصد فعالیت آنتی‌اکسیدانی DPPH و متابولیت‌های ثانویه ریشه نابجا گیاه گل‌راعی، غلظت‌های ۵۰، ۷۵، ۱۰۰، ۱۲۵، ۱۵۰، ۱۷۵، ۲۰۰، ۲۲۵، ۲۵۰ و ۲۷۵ میلی‌گرم بر لیتر میواینوزیتول مورد مطالعه قرار گرفت. آزمایش در سه تکرار و در قالب طرح کاملاً تصادفی در پژوهشکده متابولیت‌های ثانویه منطقه مرکزی کشور انجام شد.

جهت تعیین وزن تازه و وزن خشک، ریشه‌ها را از محیط کشت جدا کرده و بعد از آب‌کشی ریشه‌ها با آب مقطر استریل و حذف آب سطحی، وزن تازه آن محاسبه گردید. سپس ریشه‌ها در آون با دمای ٦۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲٤ ساعت قرار داده و وزن خشک ریشه‌ها ثبت گردید. نسبت رشد، درصد وزن خشک و نرخ رشد بر اساس فرمول‌های زیر محاسبه گردید (Cui *et al.*, 2010):

رابطه ۱):

$$\text{نسبت رشد} = \frac{\text{وزن خشک اولیه (گرم)} - \text{وزن خشک نهایی (گرم)}}{\text{وزن خشک اولیه (گرم)}}$$

رابطه۲):

$$\text{درصد وزن خشک} = \frac{\text{وزن خشک برداشت شده (گرم)}}{\text{وزن تازه برداشت شده (گرم)}} \times 100$$

رابطه ۳)

$$\text{نرخ رشد} = \frac{\text{نسبت رشد}}{\text{کشت دوره (روز)}}$$

به منظور استخراج عصاره متانولی، مقدار ۱۰۰ میلی‌گرم مواد گیاهی پودر شده در ویال‌های دو میلی‌لیتری ریخته و مقدار ۵۰۰ میکرولیتر متانول به آن اضافه گردید. سپس ویال‌ها در اولتراسونیک (Bandelin Sonorex، آلمان) به مدت ٦۰ دقیقه قرار گرفتند و در این مدت دمای آب داخل اولتراسونیک با استفاده از قطعات یخ در زیر ٤۰ درجه سانتی‌گراد تنظیم شد. بعد از این مرحله ویال‌ها به مدت ۳۰ دقیقه در دستگاه ترموسایکلر (Eppendorf، آلمان) با دمای ۱±۲۵ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت و سپس به مدت ۱۰ دقیقه با دور ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ (Beckman Coulter، آمریکا) شدند. مایع رویی به ویال‌های جدید منتقل و به رسوبات باقیمانده مجدداً ۵۰۰ میکرولیتر متانول اضافه و به همان روش فوق پس از استقرار در ترموسایکلر با دمای ۱±۲۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ دقیقه و انجام سانتریفوژ، مایع رویی برداشته و به ویال‌های قبلی اضافه شدند.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-11]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1399.9.36.29.2]

برای قرائت هایپریسین، سودوهایپریسین و هایپرفورین، از دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارائی بالا (HPLC، مدل Sykam ساخت کشور آلمان)، شامل پمپ S5300 و فلورسنس مدل ۳۲۱۰ استفاده شد. فاز متحرک شامل اتیل استات (۳۹ میلی‌لیتر): بافر سدیم دی‌هیدروژن فسفات (٤١ میلی‌لیتر): متانول (١٦٠ میلی‌لیتر) بود. برای تهیه بافر مقدار ١٥/٦ گرم سدیم دی‌هیدروژن فسفات وزن و در یک لیتر آب دوبار تقطیر حل شد. سپس pH آن با استفاده از اسیدفسفریک یک نرمال بر روی ۲ تنظیم گردید. مقدار ۲۰ میکرولیتر نمونه به دستگاه تزریق شد و با سرعت جریان یک میلی‌لیتر بر دقیقه با استفاده از ستون C18 با قطر ذرات ۵ میکرون و ابعاد ٤/٦ × ۲۰۰ میلی‌متر عبور داده شدند. قرائت سودوهایپریسین و هایپریسین به ترتیب طی زمان ۳ و ٦ دقیقه و در طول موج ۵۹۰ نانومتر و قرائت هایپرفورین در طول موج ۲۷۰ نانومتر و زمان ۱۷ دقیقه انجام شد.

استاندارد هایپریسین (شماره شناسایی ۹-۰٤-٥٤٨) و هایپرفورین (شماره شناسایی ۱-٥۳-۱۱۰۷۹) از شرکت سیگما (Sigma, Aldrich) تهیه گردید. بررسی میزان هایپریسین و هایپرفورین با تهیه منحنی استاندارد و به صورت زیر انجام شد (شکل ۱).

برای اندازه‌گیری محتوی فنلی کل از عصاره متانولی ریشه‌ها توسط اسپکتروفتومتر مدل DU530 با روش تغییریافته Folin و Ciocalteu (۱۹۲۷) استفاده شد. مقدار ۰/۱ میلی‌لیتر عصاره متانولی به همراه ۱/٥۸ میلی‌لیتر آب مقطر و ۰/۱ میلی‌لیتر فولین-سیوکالتو ۲ نرمال (شرکت مرک آلمان) در تیوب ۲ میلی‌لیتری ریخته و به خوبی باهم مخلوط شدند. بعد از ۸ تا ۱۰ دقیقه مقدار ۰/۳ میلی‌لیتر سدیم کربنات ۷/٥ درصد به محلول اضافه و نمونه‌ها به مدت ۹۰ دقیقه در دمای اتاق قرار گرفتند. پس از این زمان میزان جذب در طول موج ۷٦۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد. برای تهیه نمونه خالی به جای عصاره متانولی در ترکیب فوق از متانول استفاده گردید. در این روش گالیک اسید به عنوان استاندارد و برای رسم منحنی کالیبراسیون مورد استفاده قرار گرفت. نتایج بر حسب میلی‌گرم بر گرم گالیک اسید در اکی‌والان بر گرم ماده خشک بیان شد.

مقدار فلاونوئید کل بر اساس روش Wu و همکاران (۲۰۰٦) سنجیده شد. برای این منظور مقدار ۰/۱٥ میلی‌لیتر عصاره متانولی ریشه به همراه ۱/۲٥ میلی‌لیتر آب مقطر و ۰/۰۷٥ میلی‌لیتر سدیم نیترات ٥ درصد در تیوب ۲ میلی‌لیتری به خوبی باهم مخلوط و سپس ۰/۱٥ میلی‌لیتر آلومینیوم کلرید ۱۰ درصد و ۰/٥ میلی‌لیتر هیدروکسید سدیم ۱ مولار به آن محلول اضافه شدند و میزان جذب در طول موج ٥۱۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت شد. برای تهیه نمونه خالی به جای عصاره متانولی در ترکیب فوق از متانول استفاده گردید. از ماده روتین (شرکت سیگما) به عنوان استاندارد و برای رسم منحنی کالیبراسیون استفاده شد. نتایج بر حسب میلی‌گرم روتین در اکی‌والان بر گرم ماده خشک بیان شدند.

خاصیت آنتی‌اکسیدانی با آزمون به دام‌اندازی رادیکال DPPH که بر پایه احیای محلول متانولی رادیکال آزاد DPPH توسط ترکیبات آنتی‌اکسیدانی از جمله ترکیبات فنلی استوار است، انجام شد. بر اساس روش Cui و همکاران (۲۰۱۰) فعالیت بازدارندگی رادیکال‌های آزاد توسط DPPH اندازه‌گیری شد. مقدار ۱/٦ میلی‌لیتر DPPH ۰/۲ میلی‌مولار به ۰/٤ میلی‌لیتر عصاره متانولی ریشه اضافه و بعد از گذشت ۳۰ دقیقه قرائت میزان جذب در طول موج٥۲۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر صورت گرفت. ضمنا ۱/٦ میلی‌لیتر DPPH ۰/۲ میلی‌مولار به همراه ۰/٤ میلی‌لیتر متانول به عنوان محلول شاهد در نظر گرفته شد (تمام مراحل کار در محیط تاریک انجام شد). میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی برحسب درصد DPPH با استفاده از فرمول زیر بیان شد.

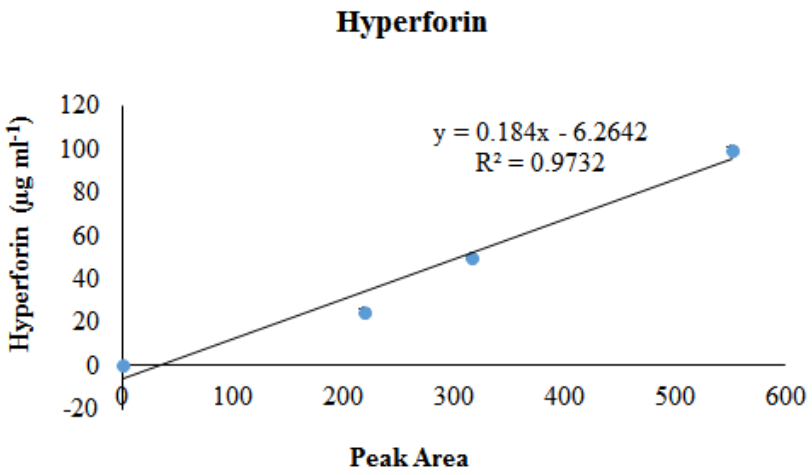
رابطه ٤):

(میزان جذب عصاره)]=میزان فعالیت آنتی اکسیدانتی
۱۰۰ × [(میزان جذب محلول شاهد)/(میزان جذب محلول شاهد)-

تجزیه و تحلیل آماری: سطح زیر پیک هر نمودار با استفاده از نرم‌افزار chromstar7 محاسبه و داده‌های بدست آمده با استفاده از نرم‌افزار Excel مرتب گردید. تجزیه واریانس

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-11]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1399.9.36.29.2]



شکل ۱- منحنی خط کالیبراسیون ترکیب هایپریسین و هایپرفورین

داده‌ها براساس طرح کاملاً تصادفی و مقایسه میانگین داده‌ها براساس آزمون دانکن (سطح احتمال ۵ درصد) با استفاده از نرم‌افزار RStudio انجام شد.

نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس داده‌های حاصل از آزمایش نشان داد که بین تیمارها از نظر صفات فنل، هایپریسین، سودوهایپریسین، هایپرفورین و DPPH اختلاف بسیار معنی‌داری وجود داشت (جدول ۱). از نظر میزان فلاونوئید، وزن خشک، نرخ رشد و نسبت رشد نیز بین تیمارها اختلاف معنی‌داری بدست آمد. نتایج تجزیه واریانس نشان داد که بین تیمارها از نظر میزان درصد وزن خشک اختلاف معنی‌داری وجود ندارد. به طور کلی در بین تیمارهای اعمال شده در این پژوهش، تیمارهای ۱۲۵ و ۱۵۰ میلی‌گرم بر لیتر میواینوزیتول دارای بیشترین مقادیر وزن خشک (به ترتیب ٦٨٨ و ٦٨٥ میلی‌گرم)، نرخ رشد (به ترتیب ۰/۸۸٤ و ۰/۸۸۰) و نسبت رشد (به ترتیب ۲٦/٥ و ۲٦/٤) بودند. از طرفی تیمار ۲۷۵ میلی‌گرم بر لیتر میواینوزیتول دارای کمترین مقدار از نظر صفات ذکر شده بود. می‌توان بیان داشت که افزایش میزان میواینوزیتول تا ۱۵۰ میلی‌گرم بر لیتر موجب افزایش وزن خشک ریشه نابجا گل‌راعی شد اما غلظت‌های بالاتر میواینوزیتول تأثیر منفی بر وزن خشک ریشه نابجا گل‌راعی داشت. بین تیمارهای مختلف میواینوزیتول از نظر صفت درصد وزن خشک تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد (شکل ۲).

مقایسه میانگین تیمارهای مورد بررسی در خصوص صفت هایپریسین نشان داد که غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر میواینوزیتول دارای بیشترین مقدار هایپریسین (۸۰/۸۰ میکروگرم بر گرم وزن خشک) بود. تیمار ۲۵۰ میلی‌گرم بر لیتر میواینوزیتول کمترین مقدار هایپریسین (۱۰/٤٥ میکروگرم بر گرم وزن خشک) را نسبت به سایر تیمارهای مورد استفاده داشت. در خصوص تیمار سودوهایپریسین، تیمار ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر دارای بیشترین مقدار (۷٤/۰۸ میکروگرم بر گرم وزن خشک) در بین تیمارهای اعمال شده بود. همچنین تیمار ۲۷۵ میلی‌گرم بر لیتر میواینوزیتول کمترین میزان سودوهایپریسین (۱۸/٦۳ میکروگرم بر گرم وزن خشک) را در بین تیمارهای اعمال شده داشت (شکل ۳). از نظر مقادیر هایپرفورین، تیمار ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر میواینوزیتول دارای بیشترین مقدار (۱٦٦٥/٦۷٥ میکروگرم بر گرم وزن خشک) و تیمار ۱۲۵ میلی‌گرم میواینوزیتول کمترین تأثیر را بر میزان هایپرفورین (٤۸۹/۳٤ میکروگرم بر گرم وزن خشک) داشت (شکل ٤).

مقایسه میانگین فنل نشان داد که تیمار ۷۵ میلی‌گرم بر لیتر میواینوزیتول بیشترین مقدار فنل (٤۳/۳۰ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک) را داشت و بین غلظت‌های ۷۵ و ۲۲۵ میلی‌گرم بر لیتر

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-11]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1399.9.36.29.2]

جدول ۱- نتایج تجزیه واریانس صفات هایپریسین، سودوهایپریسین، هایپرفورین، فنل، فلاونوئید و DPPH و خصوصیات رشدی ریشه نابجا گل‌راعی

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات				
		هایپریسین	سودوهایپریسین	هایپرفورین	فنل	فلاونوئید
تیمار	۹	۸٤۷/۸**	٤٤۸/٥**	۳۱٦۹٥۷**	٥۹/۳۸ **	۰/۷۱۷*
خطا	۱۰	۱۱/٤	۹	٤٦۳۷۹	۲۹/۷٦	۰/۱٥۳
ضریب تغییرات (٪)		۱٤/۲٦	۸/٤۹	۲٦/۲۷	۱٥/۳۳	۱۳/۹۳
منابع تغییرات	درجه آزادی	DPPH	وزن خشک	درصد وزن خشک	نرخ رشد	نسبت رشد
تیمار	۹	۱۰۷۳/۷۱**	۲۷۱۰/٦*	۰/۱۹۲ ^{ns}	۰/۰۰٤۸ *	٤/۳۳۷ *
خطا	۱۰	۳٦/۲٦	۷۰۹/۷	۰/٦٥۲	۰/۰۰۱۲	۱/۱۳٥
ضریب تغییرات (٪)		۱٥/٥٦	٤/۱۸	۲۰/۷۲	٤/۳٤	٤/۳٥

***، ** و ns به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد، یک درصد و عدم معنی‌داری.**

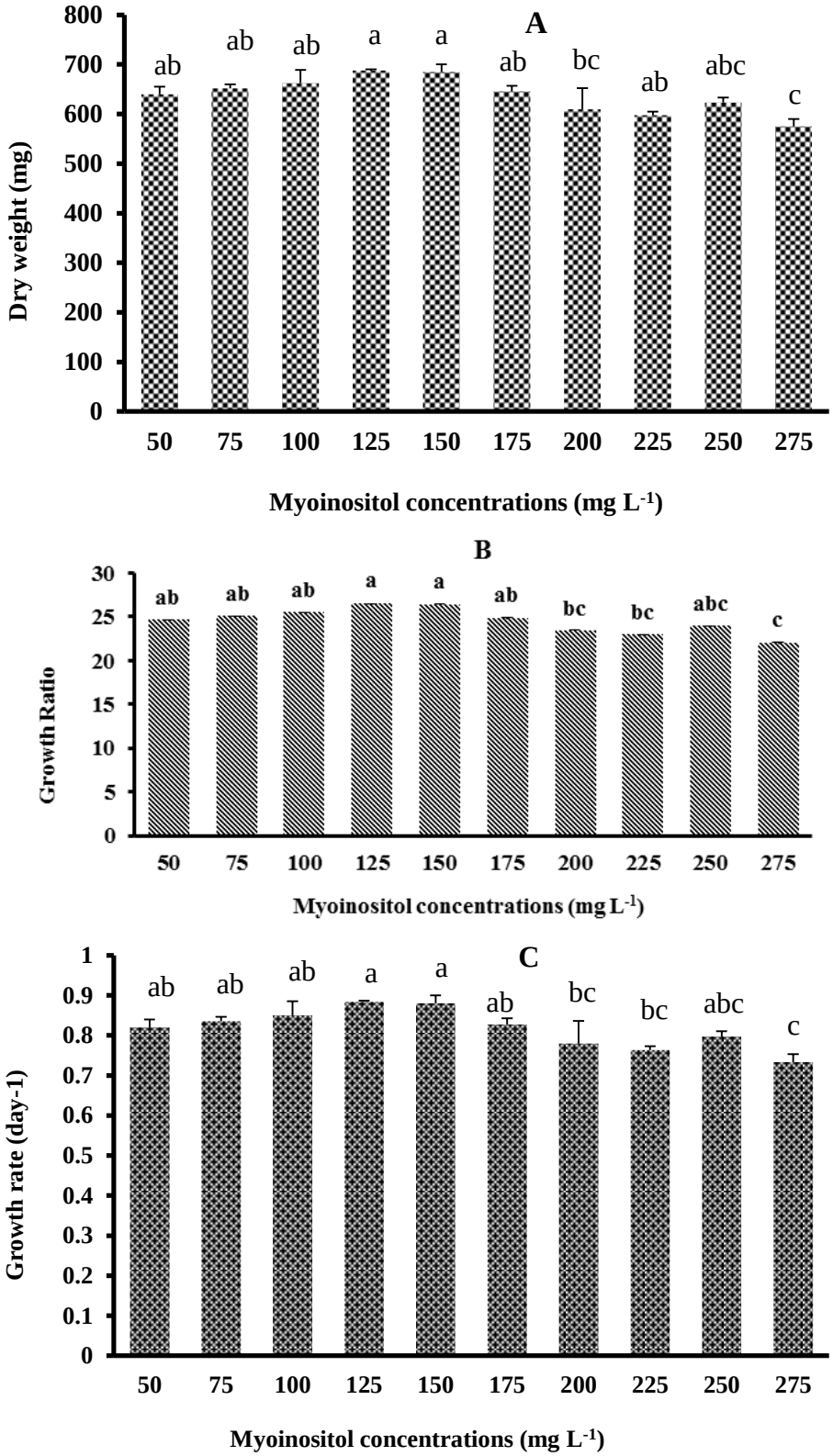
میواینوزیتول تفاوت معنی‌داری وجود نداشت. سایر غلظت‌های اعمال شده موجب کاهش میزان فنل شدند و کمترین مقدار (۲۷/۰۰ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک) در غلظت ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر میواینوزیتول بود (شکل ۵). مقایسه اثر غلظت‌های مختلف میواینوزیتول نشان داد که بین تیمارها از نظر مقدار فلاونوئید تفاوت معنی‌داری وجود داشت. تیمار ۷۵ میلی‌گرم بر لیتر میواینوزیتول دارای بیشترین مقدار فلاونوئید (۳/٥٤٤ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک) در بین تیمارهای اعمال شده بود. تیمار ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر میواینوزیتول نیز کمترین مقدار (۱/۳۹٤ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک) در بین سایر تیمارها را داشت (شکل ۵).

روند تغییر درصد فعالیت آنتی‌اکسیدانی DPPH در بین تیمارها متفاوت بود بطوریکه مقدار ۱۷۵ میلی‌گرم بر لیتر میواینوزیتول دارای کمترین درصد فعالیت آنتی‌اکسیدانی DPPH بود. تیمار ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر میواینوزیتول بیشترین مقدار درصد فعالیت آنتی‌اکسیدانی DPPH را داشت و با تیمار ۱۲۵ میلی‌گرم بر لیتر تفاوت معنی‌داری نشان نداد (شکل ٦).

میواینوزیتول نوعی قند شبیه کربوهیدرات است که در بیشتر گیاهان عالی تولید می‌شود. این ترکیب بخاطر تأثیر در فرآیندهای بیولوژیکی و فیزیولوژیکی از قبیل ذخیره فسفات، انتقال سیگنال، تشکیل دیواره سلولی، تولید مولکول‌های مرتبط با تنش و بسیاری از فرآیندهای دیگر، برای رشد و نمو طبیعی گیاهان ضروری است (Anderson, 2003; Stevenson-Paulik *et al.*, 2005; Zhai *et al.*, 2016). Staudt (۱۹۸٤) تأثیر میواینوزیتول بر رشد کالوس گیاه *Viti vinifera* را مطالعه کرده و عنوان نمود که غلظت ۲۵۰ میلی‌گرم بر لیتر میواینوزیتول بر رشد کالوس تأثیر مثبت دارد اما غلظت‌های بالاتر میواینوزیتول موجب کاهش رشد کالوس شد. Sarropoulou و همکاران (۲۰۱۳) در تحقیق خود بر روی پایه‌های آلبالو بیان داشتند که میواینوزیتول درصد ریشه‌زایی را در پایه‌های CAB-6P و Gisela 6 محدود کرد. آنها همچنین بیان داشتند که پایه‌های مختلف (نمونه‌های مختلف) پاسخ‌های متفاوتی به تیمارهای میواینوزیتول از خود نشان داده‌اند. محققان نشان دادند که غلظت‌های مختلف میواینوزیتول تأثیرات متفاوتی بر خصوصیات ریشه‌دهی و متابولیت‌های ثانویه گیاهان دارد (Sarropoulou *et al.*, 2013). برای مثال Donnelly (۱۹۷٦) اعلام کرد که میواینوزیتول موجب کاهش درصد ریشه‌زایی در گیاه تمشک می‌شود درحالیکه در گیاهان دیگر، میواینوزیتول موجب بهبود ریشه‌زایی شده است (Javis and Booth, 1981). در مطالعه انجام شده بوسیله Yildizli و همکاران (۲۰۱۸)

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-11]

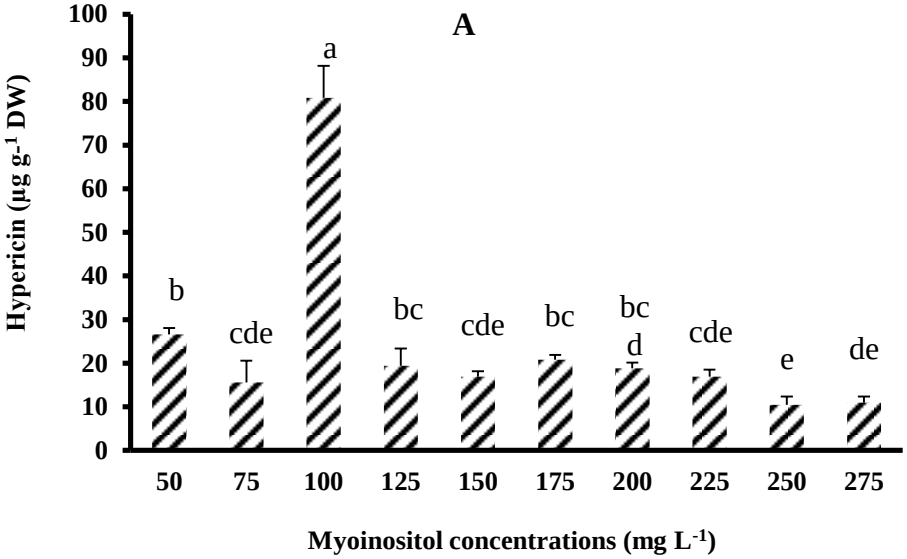
[DOR: 20.1001.1.23222727.1399.9.36.29.2]

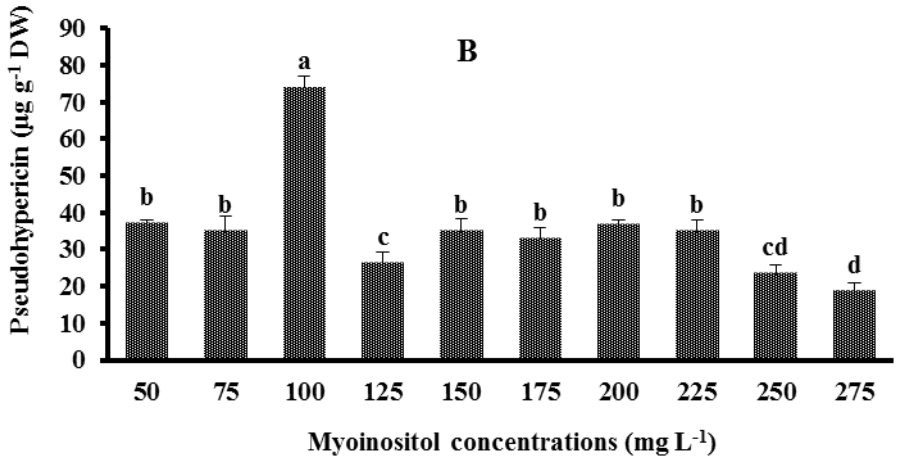


شکل ۲- تأثیر غلظت‌های مختلف میواینوزیتول بر صفات (A) وزن خشک، (B) نرخ رشد و (C) نسبت رشد ریشه نابجا گل‌راعی .هر ستون دارای حروف مشترک نشان دهنده عدم اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد براساس آزمون دانکن می‌باشند.

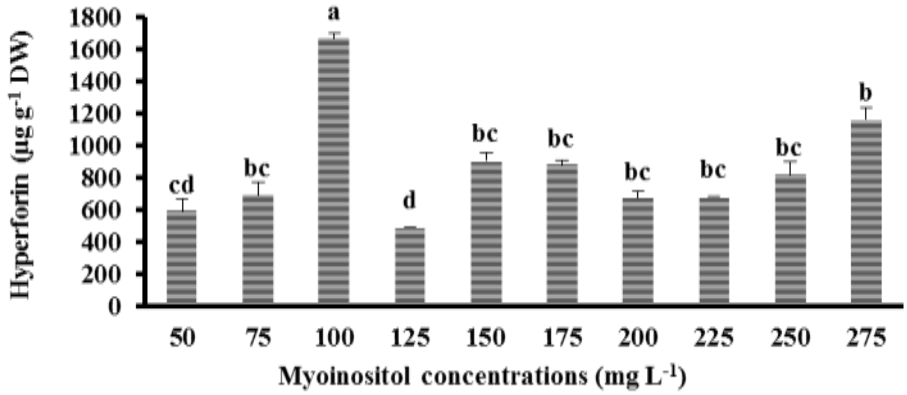
[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-11]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1399.9.36.29.2]





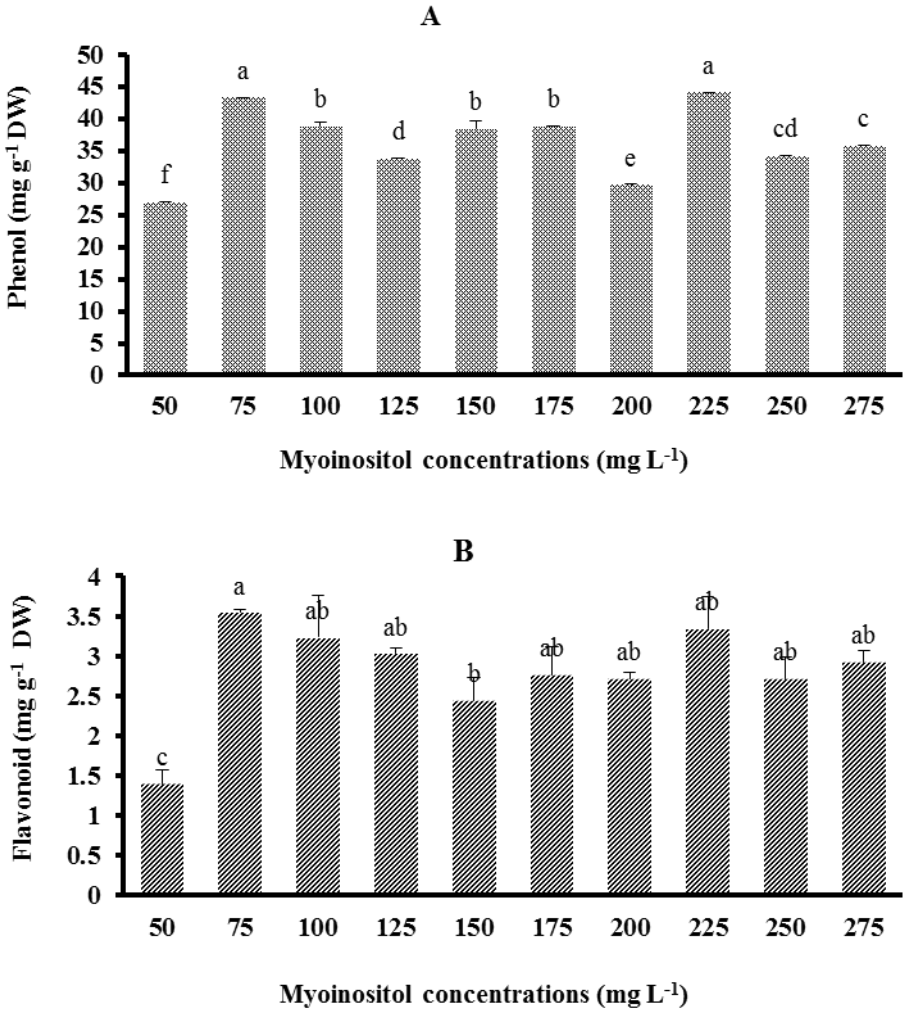
شکل ۳- تأثیر غلظت‌های مختلف میواینوزیتول بر مقدار (A) هایپریسین و (B) سودوهایپریسین در ریشه نابجا گل‌راعی. هر ستون دارای حروف مشترک نشان دهنده عدم اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد براساس آزمون دانکن می‌باشند.



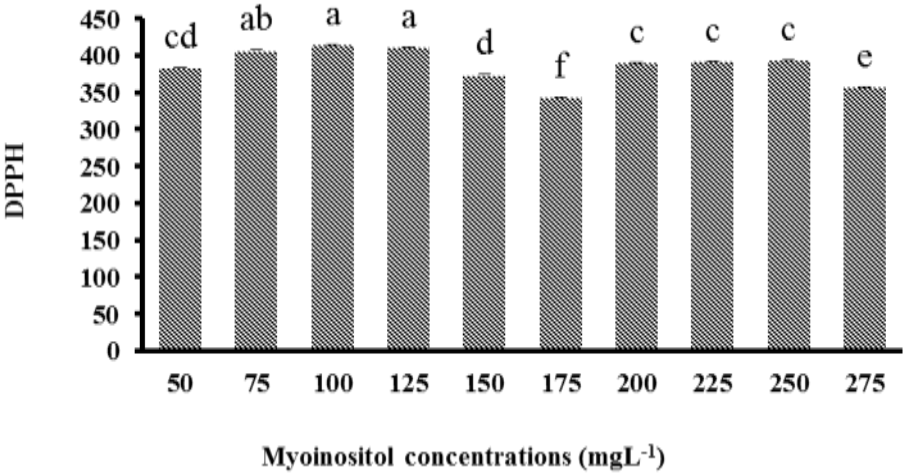
شکل ٤- تأثیر غلظت‌های مختلف میواینوزیتول بر مقدار هایپرفورین در ریشه نابجا گل‌راعی .هر ستون دارای حروف مشترک نشان دهنده عدم اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد براساس آزمون دانکن می‌باشند.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-11]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1399.9.36.29.2]



شکل ۵- تأثیرغلظت‌های مختلف میواینوزیتول بر میزان (A) فنل و (B) فلاونوئید در ریشه نابجا گل‌راعی. هر ستون دارای حروف مشترک نشان دهنده عدم اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد براساس آزمون دانکن می‌باشند.



شکل ٦- تأثیر غلظت‌های مختلف میواینوزیتول بر درصد فعالیت آنتی‌اکسیدانی DPPH در ریشه نابجا گیاه گل‌راعی. هر ستون دارای حروف مشترک نشان دهنده عدم اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد براساس آزمون دانکن می‌باشند.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-11]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1399.9.36.29.2]

مشخص شد که میواینوزیتول تأثیر مفیدی در کاهش اثرات منفی ناشی از تنش خشکی دارد. این محققان اعلام داشتند که میواینوزیتول مشابه با پرولین می‌تواند نقش مثبتی در انتقال سیگنال و تنظیم غلظت گونه‌های فعال اکسیژن و حفظ آماس سلولی داشته باشد. در تحقیق حاضر غلظت‌های مختلف میواینوزیتول تأثیرات متفاوتی بر خصوصیات رشدی ریشه گیاه گل‌راعی داشتند. به طور کلی در تیمار ۲۷۵ میلی‌گرم بر لیتر میواینوزیتول مقدار وزن خشک، نرخ رشد و نسبت رشد کاهش پیدا کرد. بنابراین می‌توان بیان داشت که غلظت‌های بیش از ۱۵۰ میلی‌گرم بر لیتر مینواینوزیتول دارای تأثیر منفی بر میزان خصوصیات رشدی ریشه نابجا گیاه گل‌راعی می‌باشند. از طرفی تفاوت معنی‌داری بین سایر غلظت‌ها مشاهده نشد بنابراین به‌نظر می‌رسد در شرایطی که فقط خصوصیات رشدی ریشه مدنظر باشد، از مقادیر کمتر میواینوزیتول می‌توان استفاده نمود.

بیشترین مقدار فنل در تیمارهای ۷۵ و ۲۲۵ میلی‌گرم بر لیتر و مقدار فلاونوئید در تیمار ۷۵ میلی‌گرم بر لیتر میواینوزیتول بدست آمد. ترکیبات فنلی از جمله متابولیت‌های ثانویه گیاهی هستند که از هسته‌های آروماتیک و یک یا چند گروه OH ساخته شده‌اند و به فنل‌های ساده، فنولیک اسیدها، کومارین‌ها، فلاونوئیدها، استیلبن‌ها، تانن‌های متراکم، لیگنان‌ها و لیگنین‌ها تقسیم می‌شوند (Karaman *et al.*, 2010). این ترکیبات به دلیل خصوصیات ردوکس خود می‌توانند به عنوان عامل کاهنده در پاکسازی اکسیژن یک‌تایی دخالت کرده و به دلیل ساختار شیمیایی متنوع، تفاوت‌هایی را در فعالیت آنتی‌اکسیدانی نشان دهند (Karaman *et al.*, 2010; Parikka, 2007; Tawaha *et al.*, 2007). فلاونوئیدها از ترکیبات پلی‌فنلی با وزن مولکولی کم و دارای اسکلت دی‌فنل پروپان، گروه بزرگی از این متابولیت‌های ثانویه هستند که تقریباً در همه گیاهان وجود دارند (Karaman *et al.*, 2010). Cui و همکاران (۲۰۱۰) در تحقیق خود در خصوص تأثیر ساکارز بر مقادیر متابولیت‌های ثانویه اعلام کردند که بیشترین میزان فلاونوئید و فنل در بین غلظت‌های مختلف آن (صفر، ۱، ۳، ۵، ۷ و ۹ درصد)، در غلظت ۵ درصد بدست آمد. این محققان افزایش میزان فنل و فلاونوئید را به دلیل تنش اسمزی ناشی از غلظت‌های ساکارز اعلام کردند.

گیاهان برای مقابله با تنش اکسیدانی از سیستم دفاعی مؤثری که شامل افزایش فعالیت آنزیم‌های اسکوربات پراکسیداز، کاتالاز، سوپراکسید دسموتاز، پراکسیداز، گلوتاتیون ردوکتاز، فعالیت مهار رادیکال DPPH، ترکیبات فنلی و تعداد دیگری از مواد آنتی اکسیدانی است، استفاده می‌کنند (Walker and Mckersie, 1993). غلظت این بیومولکول‌ها پس از مواجه گیاه با تنش به سرعت افزایش یافته و هزینه‌های پاسخ به تنش را در گیاه تعدیل می‌کنند (Iqbal and Ashraf, 2006 & 2007; Iqbal *et al.*, 2006). در تحقیق حاضر درصد فعالیت آنتی‌اکسیدانی DPPH در غلظت‌های ۱۰۰ و ۱۲۵ میلی‌گرم بر لیتر میواینوزیتول به بیشترین مقدار خود رسید. عشقی‌زاده و همکاران (۱۳۹۳) در تحقیق خود نشان دادند که بیشترین میزان درصد فعالیت آنتی‌اکسیدانی DPPH در غلظت ۱٤۰ میلی‌مولار NaCl بدست آمد. آنها اعلام کردند که کاهش محتوی آب برگ و افزایش پتانسیل اسمزی به همراه افزایش غلظت یون سدیم، پراکسیداسیون چربی‌ها و اختلال در کارکرد و ساختار غشاهای سلولی را در پی‌دارد (صالحی و همکاران، ۱۳۹٤ و Farooq and Azam, 2006). این وضعیت سبب افزایش تولید رادیکال‌های فعال اکسیژن در سلول‌ها شده و به دنبال آن فعالیت مهار رادیکال DPPH نیز افزوده می‌شود (Hernández *et al.*, 2001). کافی و همکاران (۱۳۸۹) نشان دادند که فعالیت مهار رادیکال DPPH با افزایش شوری در ژنوتیپ‌های نخود افزایش پیدا کرد البته در بعضی از ژنوتیپ‌ها با افزایش شوری در ابتدا افزایش فعالیت مهار رادیکال DPPH و در شوری شدید، کاهش فعالیت مهار رادیکال DPPH دیده شد. علت این امر می‌تواند به این دلیل باشد که تنش شوری بالا، اثر منفی روی ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی گیاهان داشته و باعث کاهش ترکیبات فنلی و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی می‌شود (Sidsel Fiskaa *et al.*, 2009).

تحریک به عنوان یک راهبرد موثر برای افزایش تولید

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-11]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1399.9.36.29.2]

متابولیت‌های ثانویه در گونه‌های گیاهی مانند گل‌راعی ذکر شده است، زیرا کاربرد ابزارهای مهندسی متابولیک یا زیست‌شناسی سنتزی به علت نبود روش‌های موفق تراریختی و اطلاعات ژنتیکی درباره مسیرهای بیوسنتزی، کار دشواری است (Hou *et al.*, 2016). Liu و همکاران (۲۰۰۷) گزارش نمودند که اضافه نمودن ال-فنیل‌آلانین (۷۵ تا ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر) موجب افزایش تولید هایپریسین در کشت‌های مایع اندام هوایی گل‌راعی می‌شود. افزودن ال-تریپتوفان (۵۰ میلی‌گرم بر لیتر) با متیل‌جاسمونات (۱۰۰ میکرومول) موجب تحریک معنی‌دار تولید هایپرفورین (۱/۸ برابر) و افزایش زیست‌توده شد. سینامیک اسید (۲۵ و ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر) و امودین (۱ تا ۱۰ میلی‌گرم بر لیتر) هر کدام موجب افزایش تجمع هایپرفورین در گل‌راعی شدند اما مقدار هایپریسین تحت تأثیر قرار نگرفت. نتایج مطالعه‌ای نشان داد که در کشت‌های تیمارشده گل‌راعی با ppb ۱۰۰ (در هر ۳۰ میلی‌لیتر محیط کشت) نانو اکسید روی افزایش در محتوی هایپریسین (۷/۸۷ میکروگرم بر گرم وزن خشک) و هایپرفورین (۲۱۷/٤٥ میکروگرم بر گرم وزن خشک) در مقایسه با شاهد مشاهده شد. افزایش در محتوی هایپریسین و هایپرفورین در کشت‌های تیمارشده با ppb ۱۰۰ نانو اکسید آهن نیز مشاهده گردید (Sharafi *et al.*, 2013). نتایج مطالعه Ebadollahi و همکاران (۲۰۱۹) بر کشت کالوس گل‌راعی در معرض نانوذرات پرلیت و نانوکامپوزیت‌های TiO_2/پرلیت نشان داد که نانوذرات پرلیت و نانوکامپوزیت‌های TiO_2/پرلیت به عنوان یک الیسیتور موثر برای تولید ترکیباتی مانند هایپریسین و سودوهایپریسین در کشت کالوس گل‌راعی می‌توانند مورد استفاده قرار بگیرند. در تحقیق حاضر غلظت‌های مختلف میواینوزیتول به عنوان الیسیتور برای تولید هایپریسین، سودوهایپریسین و هایپرفورین مورد بررسی قرار گرفتند. نتایج بدست آمده حاکی از این بود که غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر میواینوزیتول در مقایسه با دیگر غلظت‌های بکار رفته در این تحقیق توانست میزان این ترکیبات ثانویه را افزایش دهد. Asan و همکاران (۲۰۱۵) در تحقیق خود بر روی تأثیر BAP بر روی میزان هایپریسین اندام هوایی نتیجه‌گیری کردند که غلظت‌های مختلف BAP بر روی میزان هایپریسین تأثیری ندارد. Montazeri و همکاران (۲۰۱۸) با تولید ریشه‌های مویین توانستند در نهایت میزان ۰/۳ میلی‌گرم بر گرم هایپریسین تولید کنند.

نتیجه‌گیری کلی

با توجه به نتایج بدست آمده از این تحقیق می‌توان بیان داشت که میواینوزیتول به عنوان یکی از اجزاء اصلی محیط کشت درون شیشه‌ای می‌تواند نقش مثبتی در تولید ترکیبات زیستی فعال و نیز متابولیت‌های ثانویه داشته باشد. غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر میواینوزیتول بیشترین تأثیر را بر تولید متابولیت‌هایی همچون هایپریسین، سودوهایپریسین و هایپرفورین داشت. از طرفی غلظت ۷۵ میلی‌گرم بر لیتر میواینوزیتول توانست مقادیر فنل، فلاونوئید و درصد فعالیت آنتی‌اکسیدانی DPPH را افزایش دهد. از آنجایی که پتانسیل تحریک متابولیت ثانویه در میان انواع کشت‌ها، الیسیتورها، شرایط اعمال و دیگر پارامترها متفاوت است، تحقیقات بیشتری برای درک مسیرهای متابولیکی که منجر به تولید متابولیت‌های ثانویه خاص و تنظیم آنها می‌شوند با بهینه‌سازی دستورالعمل‌های موثر و کارآمدتر ضروری می‌باشد.

تشکر و قدردانی

این تحقیق با حمایت مالی پژوهشکده بیوتکنولوژی منطقه مرکزی کشور (اصفهان) انجام شد.

منابع

زمانی، م.، مرادی، ح.، چالوی، و. و کاظمی‌تبار، س.ک. (۱۳۹۷). اثیر سالسیلیک اسید و متیل جاسمونات بر تولید هایپریسین و هایپرفورین در کشت کالوس گل‌راعی (*Hypericum perforatum* L.) رقم توپاز. مجله علوم باغبانی ایران، ٤۹: ۹۲۳-۹۱۵.

صالحی، م.، عشقی‌زاده، ح.ر. و کافی، م. (۱۳۹٤). کشاورزی شورزیست: راهبردهای مدیریت گیاه، آب و خاک. انتشارات دانشگاه

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-11]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1399.9.36.29.2]

فردوسی مشهد، مشهد.

عشقی‌زاده، ح.ر.، کافی، م.، نظامی، ا. و خوشگفتارمنش، ا.ح. (۱۳۹۳) تأثیر شوری بر وضعیت آب برگ، غلظت پرولین، کل قندهای محلول و فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاه ارزن پادزهری. مجله علوم و فنون کشت‌های گلخانه‌ای. ۵: ۲۵-۱۱.

علی‌اکبری، ف. و کاظمی‌تبار، س.ک. (۱۳۹۱) انتخاب محیط کشت مناسب جهت کالوس‌زایی علف چای (*Hypericum perforatum* L.) با استفاده از نمونه‌های برگی و ساقه. سومین همایش ملی بیوتکنولوژی کشاورزی ایران (گیاهی، دامی و صنعتی).

قاضیان تفریشی، گ.، عزیزی، م. و فارسی، م. (۱۳۸۵) بررسی کشت درون شیشه‌ای گل‌راعی بومی ایران (*Hypericum perforatum* L.). فصلنامه علمی-پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران، ۲۲: ۱۷۹-۱۷۲.

کافی، م.، باقری، ع.ا.، نباتی، ج.، زارع مهرجردی، م. و معصومی، ع. (۱۳۸۹) بررسی تأثیر تنش شوری بر برخی متغیرهای فیزیولوژیک ۱۱ ژنوتیپ نخود در محیط هیدروپونیک. مجله علوم و فنون کشت‌های گلخانه‌ای، ۱: ۷۰-۵۵.

Andersen, C.P. (2003) Source–sink balance and carbon allocation below ground in plants exposed to ozone. *New Phytologist* 157: 213-228.

Asan, H. S., Ozen, H. C., Onay, A. and Asan, N. (2015) Effect of BAP on total hypericin production in shoot cultures of *Hypericum scabroides*: An endemic species in the Eastern Anatolia Region of Turkey. EurAsian Journal of BioSciences 9: 46-51.

Bertoli, A., Giovannini, A., Ruffoni, B., Guardo, A. D., Spinelli, G., Mazzetti, M. and Pistelli, L. (2008) Bioactive constituent production in St. John's wort *in vitro* hairy roots. Regenerated plant lines. Journal of Agriculture and Food Chemistry 56: 5078–5082.

Butterweck, V. (2003) Mechanism of action of St John's wort in depression. CNS drugs 17: 539-562.

Chaouch, S. and Noctor, G. (2010) Myo-inositol abolishes salicylic acid-dependent cell death and pathogen defence responses triggered by peroxisomal hydrogen peroxide. New Phytologist 188: 11-718.

Choi, S. M., Son, S. H., Yun, S. R. and Paek, K. Y. (2000) Pilot-scale culture of adventitious roots of ginseng in a bioreactor system. Plant Cell, Tissue and Organ Culture 62: 187–193.

Cui, X. H., Chakrabarty, D., Lee, E. J. and Paek, K. Y. (2010). Production of adventitious roots and secondary metabolites by *Hypericum perforatum* L. in a bioreactor. Bioresource Technology 101: 4708-4716.

Donnelly, D. J. (1976) *In vitro* Culture of four Rubus species. Thesis, Macdonald College. McGill University, Vancouver.

Ebadollahi, R., Jafarirad, S., Kosari-Nasab, M. and Mahjouri, S. (2019) Effect of explant source, perlite nanoparticles and TiO 2/perlite nanocomposites on phytochemical composition of metabolites in callus cultures of *Hypericum perforatum*. Scientific reports 9: pp.1-15.

El Sharabasy, S. F., Bosila, H. A., Abdel-Aal, W. B., Bayome, M. M. and Abdel-Monem, A. B. (2019) Effect of Vitamins (pyridoxine and nicotinic acid), Thiamine-Hcl and Myo-Inositol at Different Concentrations on Free Amino Acids and Indoles Content of Embryogeinic Callus of in vitro *Date Oalm* (Sakkoty and Bartamuda Cultivar). Materials Research Proceedings 11: 244-252.

Farooq, S. and Azam, F. (2006) The use of cell membrane stability (CMS) technique to screen for salt tolerant wheat varieties. Journal of Plant Physiology 163: 629-637.

Folin, O. and Ciocalteu, V. (1927) On tyrosine and tryptophane determination in proteins. Journal of Biology and Chemistry 27: 627-650.

Gamborg, O. L., Miller, R. and Ojima, K. (1968) Nutrient requirements of suspension cultures of soybean root cells. Experimental cell research 50: 151-158.

Hernández, J. A., Ferrer, M. A., Jiménez, A., Barceló, A. R. and Sevilla, F. (2001) Antioxidant systems and O_2/H_2O_2 production in the apoplast of pea leaves. Its relation with salt-induced necrotic lesions in minor veins. Plant Physiology 127: 817-831.

Holobiuc, I. and Blindu, R. (2006) *In vitro* culture introduction for ex situ conservation of some rare plant species. Romany Journal of Biology and Plant Biology 51: 13–23.

Hou, W., Shakya, P. and Franklin, G. (2016) A perspective on *Hypericum perforatum* genetic transformation. Frontiers in plant science, 7, p. 879.

Iqbal, M. and Ashraf, M. (2006) Wheat seed priming in relation to salt tolerance: Growth, yield and levels of free salicylic acid and polyamines. Annales Botanici Fennici 43: 250-259.

Iqbal, M. Ashraf, M. (2007) Seed preconditioning modulates growth, ionic relations, and photosynthetic capacity in adult plants of hexaploid wheat under salt stress. Journal of Plant Nature 30: 381-396.

Iqbal, M., Afzal, A., Yaegashi, S., Ruben, E., Triwitayakorn, K., Njiti, V., Ahsan, R., Wood, A. and Lightfoot, D.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-11]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1399.9.36.29.2]

(2002) A pyramid of loci for partial resistance to *Fusarium solani* f. sp. glycines maintains Myo-inositol-1-phosphate synthase expression in soybean roots. Theoretical and Applied Genetics 105: 1115-1123.

Iqbal, M., Ashraf, M., Rehman, S. and Rha, E.S. (2006) Does polyamine seed pretreatment modulate growth and levels of some plant growth regulators in hexaploid wheat (*Triticum aestivum* L.) plants under salt stress? Bot Stud 47: 239-250.

Jarvis, B. C. and Booth, A. (1981) Influence of indole-butyric acid, boron, myo-inositol, vitamin D2 and seedling age on adventitious root development in cuttings of *Phaseolus aureus*. Journal of Physiology Plant 53: 213-218.

Karaman, S., Tutem, E., Bas-Kan, K.S. and Apak, R. (2010) Comparison of total antioxidant capacity and phenolic composition of some apple juices with combined HPLC-CUPRAC assay. Food Chemistry 120: 1201-1209.

Kim, Y.S., Hahn, E.J., Murthy, H.N. and Paek, K.Y. (2004) Effect of polyploidy induction on biomass and ginsenoside accumulations in adventitious roots of ginseng. Journal of Plant Biology 147: 356–360.

Kirakosyan, A., Sirvent, T. M., Gibson, D. M. and Kaufman, P. B. (2004) The production of hypericins and hyperforin by in vitro cultures of St. John's wort (*Hypericum perforatum* L.). Biotechnology Apply Biochemistry 39: 71–81.

Koperdáková, J., Komarovská, H., Košuth, J., Giovannini, A. and Čellárová, E. (2009) Characterization of hairy root-phenotype in transgenic *Hypericum perforatum* L. clones. Acta physiologiae plantarum 31: 351-358.

Lee, E.J., Mobin, M.E., Hahn, E.J. and Paek, K.Y. (2006) Effects of sucrose, inoculums density, auxins and aerator volume on cell growth of *Gymmema sylvestre*. Journal of Plant Biology 49: 427–431.

Liu, X. N., Zhang, X. Q., Zhang, S. X. and Sun, J. S., (2007) Regulation of metabolite production by precursors and elicitors in liquid cultures of *Hypericum perforatum*. Plant Cell, Tissue and Organ Culture 9: 1-7.

Loewus, F.A. and Dickinson, D. B. (1982) Cylitols. - In: Encyclopedia of Plant Physiology (Ed. Loewus, F. A. and Tanner W.). New Series 13: 201-207.

Loewus, F. A. and Murthy, P. P. N. (2000) Myo-inositol metabolism in plants. Plant Science 150: 1-19.

McCoy, J. A. and Camper, N. D. (2002) Development of a micropropagation protocol for St. John's Wort (*Hypericum perforatum* L.). Horticulture Science 37: 978-980.

Montazeri, M., Azadbakht, M., Najafi Zarrini, H., Nematzadeh, G., Pakdin Parizi, A. and Davoodi, A. (2018) Hairy root cultures of *Hypericum perforatum* L.; A promising method for the high scale production of hypericin. Journal of Medicinal Plants 17: 55-67.

Murashige, T. and Skoog, F. (1962) A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. Physiology Plant 15: 473-497.

Murch, S. J. and Saxena, P. K. (2006) St. John's wort (*Hypericum perforatum* L.): challenges and strategies for production of chemically-consistent plants. Canadian Journal of Plant Science 86: 765-771.

Noiraud, N., Maurousset, L. and Lemoine, R. (2001) Transport of polyols in higher plants. Plant Physiology Biochemistry 39: 717-728.

Paek, K. Y., Chakrabarty, D. and Hahn, E. J. (2005) Application of bioreactor system for large scale production of horticultural and medicinal plants. Plant Cell, Tissue and Organ Culture 81: 287–300.

Parikka, K. (2007) Antioxidative long chain alkylresorcinols: synthesis and deuterium labeling of bioactive compounds present in whole grains. Academic dissertation. Thesis presented in Department of Chemistry, Faculty of Science, University of Helsinki, Finland.

Pavlik, M., Vacek, J., Klejdus, B. and Kubáň, V. (2007) Hypericin and hyperforin production in St. John's wort *in vitro* culture: influence of sucrose, polyethylene glycol, methyl jasmonate, and *Agrobacterium tumefaciens*. Journal of Agricultural and Food Chemistry 55: 6147-6153.

Saifullah, A., Hahn, E. J. and Paek, K. Y. (2008) Aeration volume and photosynthetic photon flux affect cell growth and secondary metabolite contents in bioreactor cultures of *Morinda citrifolia*. Journal of Plant Biology 51: 209–212.

Sepehr, M.F. and Ghorbanli, M. (2002) Effects of nutritional factors on the formation of anthraquinones in callus cultures of *Rheum ribes*. Plant cell, tissue and organ culture, 68(2): 171-175.

Sharafi, E., Khayam Nekoei, S. M., Fotokian, M. H., Davoodi, D., Hadavand Mirzaei, H. and Hasanloo, T. (2013) Improvement of hypericin and hyperforin production using zinc and iron nano-oxides as elicitors in cell suspension culture of St John's wort (*Hypericum perforatum* L.). Journal of Medicinal Plants and By-products 2: 177-184.

Sidsel Fiskaa, H., Grethe, I., Borge, A, Knut A. and Gunnar, B. (2009) Effect of cold storage and harvest data on bioactive compound in curly kale (*Brassica oleracea* L. var. acephala). Postharvest Biology and Technology 51: 36-42.

Silva, B.A., Ferreres, F., Malva, J.O. and Dias, A.C. (2005) Phytochemical and antioxidant characterization of *Hypericum perforatum* alcoholic extracts. Food Chemistry 90: 157-167.

Staudt, G. (1984) The effect of myo-inositol on the growth of callus tissue in *Vitis*. Journal of plant physiology 116(2): 161-166.

Stevenson-Paulik, J., Bastidas, R. J., Chiou, S. T., Frye, R. A. and York, J. D. (2005) Generation of phytate-free seeds in Arabidopsis through disruption of inositol polyphosphate kinases. Proceedings of the National Academy of

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-11]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1399.9.36.29.2]

Sciences 102: 12612-12617.
Tatsis, E. C., Boeren, S., Exarchou, V., Troganis, A. N., Vervoort, J. and Gerothanassis, I. P. (2007) Identification of the major constituents of *Hypericum perforatum* by LC/SPE/NMR and/or LC/MS. Phytochemistry 68: 383-393.
Tawaha, K., Alali, F. Q., Gharaibeh, M., Mohammad, M. and El-Elimat, T. (2007) Antioxidant activity and total phenolic content of selected Jordanian plant species. Food Chemistry 104: 1372-1378.
Vinterhalter, B., Ninković, S., Cingel, A. and Vinterhalter, D. (2006) Shoot and root culture of *Hypericum perforatum* L. transformed with *Agrobacterium rhizogenes* A4M70GUS. Biologia plantarum 50: 767-770.
Walker, M. A. and McKersie, B. D. (1993) Role of the ascorbate glutathione antioxidant system in chilling resistance of tomato. Journal of Plant Physiology 141: 234-239.
Wu, C. H., Dewir, Y. H., Hahn, E. J. and Paek, K.Y. (2006) Optimization of culturing conditions for the production of biomass and phenolics from adventitious roots of Echinacea angustifolia. Journal of Plant Biology 49: 193-199.
Yildizli, A., Çevik, S. and Ünyayar, S. (2018) Effects of exogenous myo-inositol on leaf water status and oxidative stress of *Capsicum annuum* under drought stress. Acta physiologiae plantarum 40: 122.
Yoshikawa, T. and Furuya, T. (1987) Saponin production by cultures of *Panax ginseng* transformed with *Agrobacterium rhizogenes*. Plant Cell Report 6: 449–453.
Yu, K. W., Gao, W. Y., Hahn, E. J. and Paek, K. Y. (2001) Effects of macro elements and nitrogen source on adventitious root growth and ginsenoside production in ginseng (*Panax ginseng* C.A. Meyer). Journal of Plant Biology 44: 179–184.
Zhai, H., Wang, F., Si, Z., Huo, J., Xing, L., An, Y., He, S. and Liu, Q. (2016) A myo-inositol-1-phosphate synthase gene, Ib MIPS 1, enhances salt and drought tolerance and stem nematode resistance in transgenic sweet potato. Plant biotechnology journal, 14(2): 592-602.
Zobayed, S. M. A., Afreen, F. and Kozai, T. (2005) Temperature stress can alter the photosynthetic efficiency and secondary metabolite concentrations in St. John's wort. Plant Physiology Biochemical 43: 977–984.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-11]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1399.9.36.29.2]

The study of effect of myo-inositol on biomass and secondary metabolites value in adventitious roots of st. John's wort (*Hypericum perforatum* L.)

Amir Moradi Sarabshelli[1], Sayed Kamal Kazemitabar[1], Morteza Ebrahimi[*2], Ghafar Kiani[1] and Morteza Khanahmadi[2]

[1]Department of Biotechnology and Plant Breeding, college of agricultural science, Sari agricultural sciences and natural resources university (SANRU), Sari, Iran
[2]Agricultural biotechnology research institute, central region of Iran, Isfahan, Iran, Email:, Tel: 09133291457
(Received: 25/11/2019, Accepted: 15/01/2020)

Abstract

St. John's wort is a traditional herbal medicine used to treat depression and wound healing. Natural resource dependency and traditional cultivation methods often require months and years of time to reach medicinal plants. Establishing a hairy root suspension culture system can accelerate proliferation on a large scale, improve breeding and protect the species, but optimization and production on a large scale require an increase in the biomass and secondary metabolites of the root. In this study, the effect of different concentrations of myo-inositol (50, 75, 100, 125, 150, 175, 200, 225, 250, and 275 mg / l) were evaluated on biomass, phenol, flavonoid, DPPH activity and secondary metabolites in St. John's wort adventitious root in Agricultural Biotechnology Research Institute-Central Region of Iran. The results showed that 125 and 150 mg L^{-1} myo-inositol concentration had the highest dry weight, growth rate and growth ratio. The concentrations of 100 and 250 mg L^{-1} myo-inositol showed the highest and lowest amount of hypericin and pseudohypercin, respectively. From the viewpoint of production of hyperforin, the treatment with 100 mg L^{-1} myo-inositol was highest and the concentration of 125 mg L^{-1} had the least effect on the level of hyperforin in St. John's wort adventitious root culture. There was a significant difference between treatments in terms of phenol and flavonoid content, so the concentration of 75 and 225 mg L^{-1} and 75 mg L^{-1} myo-inositol had the highest amount of phenol and flavonoids. The DPPH activity changes were different between treatments, and the 50 mg L^{-1} showed the lowest amount of DPPH activity. However, the DPPH activity was highest in treatment with 75 mg L^{-1} myo-inositol concentration. Since the potential for stimulating secondary metabolites varies among cultures, elicitors, conditions for applying different treatments and other parameters, further research is needed to optimize better and more efficient guidelines.

Keywords: Antioxidant activity, Elicitor, Hypericin, Phenol.

Corresponding author, Email: o_m_abrahimi@yahoo.com

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-11]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1399.9.36.29.2]