بررسی سازگاری رشد و عملکرد گیاهان دارویی آرنیکای چامیسو و آرنیکای کوهی در ایران

مژده اسدی[۱]، جواد هادیان*[۲]، قاسم کریم‌زاده[۳]، صمد نژاد ابراهیمی[۴]

[۱] دانشجوی کارشناسی ارشد فیزیولوژی و اصلاح گیاهان دارویی، پژوهشکده گیاهان و مواد اولیه دارویی، دانشگاه شهید بهشتی تهران

[۲*] نویسنده مسئول، دانشیار، پژوهشکده گیاهان و مواد اولیه دارویی، دانشگاه شهید بهشتی تهران

[۳] دانشیار، دانشگاه تربیت مدرس، دانشکده کشاورزی،گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی

[۴] استادیار، پژوهشکده گیاهان و مواد اولیه دارویی، دانشگاه شهید بهشتی تهران

*نویسنده مسئول: J_hadian@sbu.ac.ir

چکیده

آرنیکای چامیسو (*Arnica chamissonis* Less. ssp. *foliosa*) و آرنیکای کوهی (*A.montana L.*) گیاهانی چندساله، ریزوم‌دار از خانواده کاسنی و دارای کاربرد گسترده در صنایع دارویی هستند.گل‌های این گیاه به دلیل وجود سزکوئی‌ترپن لاکتون‌ها، فلاونوئیدها و فنولیک اسیدها مصارف دارویی و آرایشی – بهداشتی دارند. در این تحقیق کشت گیاهان آرنیکا چامیسو و آرنیکای کوهی در شرایط اقلیمی کوهستانی و سرد (مریوان) و معتدل (تهران) مورد بررسی قرار گرفت. جهت تهیه نشا برای دو منطقه‌ی تهران و مریوان، کشت بذرها در اسفندماه ۱۳۹۳ در شرایط گلخانه با بستری متشکل از پیت‌ماس، کوکوپیت و ماسه به نسبت ۱:۱:۲ انجام گرفت. آماده‌سازی زمین، نحوه‌ی انتقال گیاهان به زمین اصلی، آبیاری و کوددهی گیاهان در تهران و مریوان با شرایط کاملاً یکسان صورت گرفت. صفات مورفولوژیک و عملکردی و همچنین محتوای فنل و فلاونوئید تام و مقادیر روتین، لوتئولین و آپی‌جِنین در عصاره گل‌های آرنیکا چامیسو اندازه‌گیری شد. بررسی سازگاری و کشت آرنیکا چامیسو در دو منطقه اقلیمی نشان داد که در اکثر صفات مورد بررسی، گیاهان کشت شده در مریوان برتری بارزی نسبت به گیاهان کشت شده در تهران دارند.گیاهان آرنیکای کوهی کشت شده در تهران و مریوان مرحله هشت برگی را پشت سر نگذاشتند و با شروع فصل گرما از بین رفتند.

***کلمات کلیدی*: گیاهان دارویی، متابولیت ثانویه، نیازهای اکولوژیک، خاک اسیدی، بوته میری.**

مقدمه

آرنیکا چامیسو با نام علمی *A. chamissonis*Less. ssp. *foliosa* گیاهی دارویی چندساله، ریزوم‌دار و بومی آمریکای شمالی است (Douglas *et al*., 2004). آرنیکای کوهی با نام علمی *Arnica montana* L. یکی از گیاهان دارویی گل‌دار بومی مناطق مرتفع اروپا است (Smallfieldand Douglas, 2008). بیش از ۱۵۰ ماده‌ی فعال بیولوژیک از آرنیکا جداسازی و شناسایی شده است که مهم‌ترین آن‌ها سزکوئی‌ترپن لاکتون‌ها، فلاونوئیدها و فنولیک اسیدها هستند. هر دو گونه، در ساخت بسیاری از محصولات دارویی (۳۰۰ مورد در اروپا و حدود ۲۰ محصول در کانادا) مورد استفاده قرار می‌گیرند. گل‌های انتهایی آرنیکا چامیسو و آرنیکای کوهی به‌طور گسترده برای درمان موضعی کبودی و رگ به رگ شدن، دردهای عضلانی، بهبود زخم، درد مفاصل، التهاب ناشی از گزش حشرات و تورم ناشی از شکستگی استخوان استفاده می‌شود (Merfort, 2010). ازآنجایی‌که تقاضای جهانی برای دارو و صنایع آرایشی گل‌های آرنیکا در حال افزایش و منابع طبیعی این گیاه در معرض انقراض است، کشت این گیاه تنها راه پایدار ارائه مواد خام برای بازار به‌حساب می‌آید، زیرا فراهم کردن آرنیکا هنوز وابسته به جمع‌آوری گیاهان وحشی از رویشگاه‌های طبیعی است. با

اینکه کشت و کار آرنیکا ضروری به نظر می‌رسد اما بااین‌حال هنوز کشت گسترده‌ای ندارد چون گیاه به دلیل نیازهای اکولوژیک خاص، مستعد کلروز است و به شرایط محل کشت حساسیت ویژه دارد (Smallfield& Douglas, 2008). تاکنون مطالعات مختلفی در زمینه کشت و تولید آرنیکا انجام شده است. سوگیر (۲۰۰۸) در پژوهشی کشت و سازگاری *A.montana* و *A.chamissonis* را در لهستان مورد مطالعه قرار داد. عملکرد گل خشک هر دو گونه در خاک های اسیدی مناطق کم ارتفاع یا مناطق کوهستانی با اسیدیته‌ی ۴/۸-۵/۵ بیشتر بود. اسمالفیلد و همکاران (۲۰۰۸) کشت آرنیکا مونتانا را در نیوزیلند را بررسی نموده و بیان کردند که نیازهای محیطی رشد آرنیکا در نیوزیلند هنوز به‌طور واضح شناخته‌نشده است. اطلاعات به‌دست‌آمده مشخص کرد که اکثر گیاهان برای تولید گل در طول سه فصل پی‌درپی با شکست مواجه شدند که فقدان گلدهی به عدم دریافت نیاز سرمایی مورد نیاز گیاهان نسبت داده شد. همچنین عدم همزمانی جوانه‌زنی بذور، درصد پایین جوانه‌زنی، حساسیت به شوری، خشکی و از همه مهم‌تر pH خاک از مشکلات اصلی کشت این گیاه بیان شد. بررسی سازگاری و نحوه‌ی پاسخ گونه‌ی چامیسونیس و مونتانا به شرایط اقلیمی ایران از نظر ویژگی‌های دارویی و عملکردی امری ضروریست. به همین دلیل برای اولین بار در ایران به‌منظور دستیابی به منطقه‌ای مناسب جهت کشت آرنیکا تحقیقی به‌منظور مقایسه‌ی کشت این گیاهان در شرایط اقلیمی سرد و کوهستانی (مریوان) و معتدل (تهران) انجام شد.

مواد و روش‌ها

بذرهای آرنیکای چامیسو و آرنیکای کوهی واریته‌ی آربو از شرکت ژلیتو آلمان[1] تهیه شد. خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک محل آزمایش در مزرعه‌ی مریوان (روستای رشه‌ده) و تهران (کلکسیون گیاهان دارویی دانشگاه شهید بهشتی) در جدول یک آورده شده است.

جدول یک: خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک در مزرعه‌ی تهران و مریوان (عمق ۳۰-۰ سانتی‌متر)

نمونه	بافت خاک	pH	هدایت الکتریکی dS/ms	درصد مواد آلی	فسفر mg/kg	پتاسیم mg/kg	مس mg/kg	آهن mg/kg	منگنز mg/kg	روی mg/kg
تهران	لوم شنی	۷/۳۸	۱/۵۴	۰/۳۸	۵۹/۴	۳۳۴/۹	۰/۸	۲/۰۷	۲۰/۹۴	۲/۳
مریوان	لوم رسی شنی	۶/۷۶	۰/۷۳	۳/۰۹۲	۶۴/۸	۷۴۳	۰/۵	۲/۶۵	۲۴/ ۲	۳/۳

جهت تهیه نشا برای دو منطقه‌ی تهران و مریوان، کشت بذرهای آرنیکای چامیسو و آرنیکای کوهی در اسفندماه ۱۳۹۳ در شرایط گلخانه با بستری متشکل از پیت‌ماس، کوکوپیت و ماسه به نسبت ۱:۱:۲ انجام گرفت. آماده‌سازی زمین، نحوه‌ی انتقال گیاهان به زمین اصلی و آبیاری و کوددهی در تهران و مریوان با شرایط کاملاً یکسان صورت گرفت. انتقال نشا، پس از رسیدن به مرحله‌ی ۴ برگی در فروردین‌ماه (۶۲ روز پس از کشت بذر) با تراکم ۴ بوته در مترمربع برای آرنیکای چامیسو و ۱۲ بوته در مترمربع برای آرنیکای کوهی صورت گرفت. پس از رسیدن گیاهان به مرحله گلدهی، صفات کمی و وزنی برای گیاهان دو منطقه اندازه‌گیری شد. به‌منظور اندازه‌گیری فنل و فلاونوئید تام عصاره‌ی متانولی نمونه‌ها از پروتکل صالحی و همکاران (۲۰۱۳) استفاده و جذب محلول‌ها توسط دستگاه پاورویو اچتی میکروپلیت اسپکتوفوتومتر[2] خوانده شد.همچنین تکنیک مورد استفاده جهت جداسازی و تعیین مقادیر روتین، آپی جِنین و لوتئولین روش کروماتوگرافی مایع باکارکرد بالا بود. دستگاه اِچ‌پی‌ال‌سی به کار گرفته شده مدل Waters 2695 ساخت آمریکا، مجهز به دتکتور Uv 2487 Dual λ Absorbance Detector و ستون c18، با ابعاد ۴/۶ در ۱۵۰ میلی‌متر و ۳/۵ میکرومتر و نرم‌افزار Millennium32 بوده است. نتایج این پژوهش به‌وسیله‌ی آزمون T-test بررسی شد.

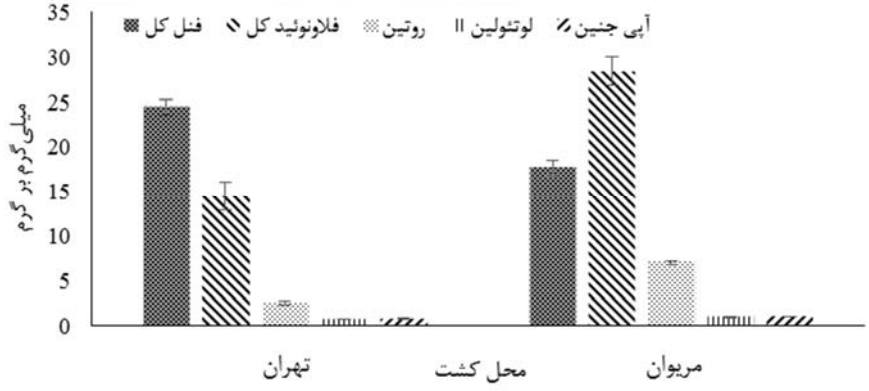
[1] Jelitto
[2] Power Wave HT micro plate Spectrophotometer

نتایج و بحث

بررسی سازگاری و کشت آرنیکا چامیسو در دو منطقه اقلیمی نشان داد که در اکثر صفات مورد بررسی، گیاهان کشت شده در مریوان برتری بارزی نسبت به گیاهان کشت شده در تهران دارند. pH خاک در مزرعه مریوان اسیدی (۶/۷) و هدایت الکتریکی خاک (۰/۷۳ دسی زیمنس بر متر) کمتر از مزرعه‌ی تهران اندازه‌گیری شد.

نتایج مقایسه میانگین صفات نشان داد که بیشترین ارتفاع بوته (۱/۱۶±۴۰/۳۳ سانتی‌متر)، سطح مقطع بوته (۲/۴۱±۴۳/۲۲ سانتی‌متر) و قطر ساقه (۰/۱۰±۶/۲۲ میلی‌متر) برای گیاهان کشت شده در مریوان اندازه‌گیری شد که اختلاف معناداری با گیاهان کشت شده در تهران نشان دادند. طول دوره‌ی گلدهی در تهران ۲/۸۳±۲۵ روز و در مریوان۱/۵۲±۳۲/۶۶ روز بود. تعداد ساقه‌ی گل دهنده در مریوان ۰/۵۷±۱۳/۶۶ عدد و در تهران ۱/۱۱±۹ عدد ثبت شد. در مریوان تعداد کل گل در بوته ۳/۰۵±۹۸/۶ عدد و در تهران ۱/۴۹±۶۱ عدد اندازه‌گیری شد. قطر گل در مریوان۱/۵۴±۳۲/۵میلی‌متر و در تهران ۱/۵۷±۲۲/۵۳ میلی‌متر مشاهده شد. گل‌های آرنیکا در مریوان قطر نهنج، عرض و طول گل شعاعی (به ترتیب ۰/۱±۱۳/۱۰ - ۰/۴±۴/۵۸ و ۱/۵۵±۲۰/۹ میلی‌متر) بزرگ‌تری نسبت به تهران داشتند. وزن تر تک‌گل در مریوان ۰/۰۳±۰/۳۸ گرم و در تهران ۰/۰۲±۰/۲۶ گرم مشاهده شد. بیشترین وزن تر و خشک گل در بوته در مریوان (به ترتیب ۲/۰۴±۳۷/۸ گرم و ۰/۶±۶/۲ گرم) اندازه‌گیری شد. عملکرد گل تر در مریوان ۲/۱±۱۵۱/۲ گرم در مترمربع و در تهران ۲/۵±۳۷/۱۳ گرم در مترمربع، عملکرد گل خشک در مریوان ۲/۵۶±۲۴/۹ و در تهران ۱/۹±۹/۴۶ گرم در مترمربع اندازه‌گیری شد.

از نظر آنالیز فیتوشیمیایی بیشترین مقدار فنل کل در نمونه تهران (۰/۶۳±۲۴/۶ میلی‌گرم بر گرم) و بیشترین مقادیر فلاونوئید کل، روتین، لوتئولین و آپی‌جِنین در نمونه‌ی مریوان (به ترتیب۱/۵۱±۴/۳۵-۰/۲۸±۷/۱۳- ۰/۰۶±۰۲/۹۶-۰/۰±۰/۹۹ میلی‌گرم بر گرم) اندازه‌گیری شد. روند سازگاری در شرایط اکولوژی (اقلیمی، ادافیکی) مختلف منجر به تغییر در متابولیت‌های گیاهان می‌شود، لذا گونه‌های یکسان گیاهان در شرایط اقلیمی و اکولوژی خاص از نظر کمیت و کیفیت مواد مؤثره، تیپ‌های متفاوت و متنوعی را تشکیل می‌دهند(Bernath, 2008).



مقایسه مواد مؤثره‌ی آرنیکا چامیسو کشت شده در تهران و مریوان

عملکرد گیاهان از منطقه‌ای به منطقه دیگر تغییر می‌کند و این نشان‌دهنده اثر متقابل ژنوتیپ با مناطق و محیط است. از میان فاکتورهای محیطی بارندگی و درجه حرارت به‌عنوان مهم‌ترین عوامل در توزیع اثر متقابل ژنوتیپ در محیط مطرح هستند (Saeed and Francis, 1983). میانگین دمای سالیانه مریوان ۱۲/۴ درجه‌ی سانتی‌گراد و در تهران ۱۵/۶ درجه‌ی سانتی‌گراد و متوسط بارندگی در مریوان ۹۳۱/۱ میلی‌متر و در تهران ۴۲۰/۵ میلی‌متر گزارش شده است. آرنیکا چامیسو طالب آب و هوای خنک و مرطوب است، خاک‌هایی با زهکشی مناسب و مخلوطی از شن، لوم و پیت را ترجیح می‌دهد و حساسیت بالایی به خشکی و شوری دارد(Smallfield and Douglas, 2008). با توجه به

شرایط اقلیمی و خاکی مساعد در مریوان، آرنیکای چامیسو سازگاری عمومی بهتری با شرایط این منطقه داشت و عملکرد بیشتری در آن مشاهده شد.

در بررسی سازگاری و کشت آرنیکای کوهی، نشاها پس از رسیدن به مرحله ۴ تا ۶ برگی در گلخانه دچار کلروز شده و در نهایت خشک شدند. به دلیل مشکوک بودن احتمال بروز بیماری‌های قارچی و به‌منظور تشخیص عامل این پیشامد، نمونه‌های ریشه گیاهان دارای علائم آلودگی در محیط کشت اختصاصی به نام CMA-PARPḢ کشت شدند (Singleton *et al.*, 1992). پس از تهیه نمونه میکروسکوپی، با کمک کلید تشخیص، عامل بوته‌میری گیاهان، قارچ فیتوفتورا تشخیص داده شد. در نهایت گیاهان ۴ تا ۶ برگی فاقد نشانه‌های پژمردگی برای کشت در مریوان و تهران آماده و در زمین کشت شدند. فرایند پژمردگی در این گیاهان ادامه یافت و هیچ‌کدام از آن‌ها مرحله ۸ برگی را پشت سر نگذاشتند. به نظر می‌رسد کلروز در شرایطی رخ می‌دهد که مقدار فسفات در خاک زیاد باشد، اما علت پژمردگی آرنیکا هنوز مشخص نیست (Delabays and Mange,1991).

از بین این دو ژنوتیپ، آرنیکای چامیسو با مناطق مورد پژوهش سازگاری داشت و می‌توان آن را در اقلیم‌های مشابه، در مقیاس وسیع کشت کرد و نیاز صنایع داروسازی داخل کشور را برطرف نمود.

منابع

Bernath, J. 2008. Production ecology of secondary plant products. In LE Craker and JE Simon (eds.) Herbs, spices, and medicinal plants: Recent advances in botany, horticulture and pharmacology. Vol. I. Oryx Press, Phoenix, Arizona

Delabays, N., & Mange, N. 1991. La culture *d'Arnicamontana* L: aspects agronomiques et phytosanitaires. Revue suisse de viticulture, arboriculture, horticulture.

Douglas JA, Smallfield BM, Burgess EJ, Perry NB, Anderson RE, Douglas MH, Glennie VL. 2004. Sesquiterpene lactones in *Arnicamontana*: a rapid analytical method and the effects of flower maturity and simulated mechanical harvesting on quality and yield. Planta Med 70:166–170.

Merfort, I. 2010.*Arnica*: current state of efficacy, pharmacokinetics and side effects. ZeitschriftfürPhytotherapie, 31(4), 188-192.

Saeed, M., & Francis, C. A. 1983. Yield stability in relation to maturity in grain sorghum. Crop science, 23(4), 683-687.

Salehi, P., Asghari, B., Esmaeili, M. A., Dehghan, H., & Ghazi, I. 2013. α-Glucosidase and α-amylase inhibitory effect and antioxidant activity of ten plant extracts traditionally used in Iran for diabetes. Journal of Medicinal Plants Research, 7(6), 257-266.

Singleton, L. L., Mihail, J. D., & Rush, C. M. 1992. Methods for research on soilbornephytopathogenic fungi.

Smallfield, B., & Douglas, M. 2008.*Arnicamontana* a grower's guide for commercial production in New Zealand. A Report Prepared for New Zealand Arnica Growers' Group, New Zealand Institute for Crop and Food Research Limited, Christchurch, New Zealand, December, 2 .

Sugier, D. 2007. The flowering pattern of *Arnica montana* L. and *A. chamissonis* Less. Under field cultivation conditions with successive flower head collection. Actaagrobotanica, 60(2).

Ḃorn Meal Agar PARPH

مقایسه صفات مورفولوژیک و عملکردی آرنیکا چامیسو در دو منطقه اقلیمی تهران و مریوان

شهر	ارتفاع بوته cm	سطح مقطع بوته cm	نسبت ارتفاع به عرض	قطر ساقه mm	تعداد ساقه‌ی گل دهنده	طول دوره‌ی گلدهی	قطر گل mm	قطر نهنج mm	عرض گل شعاعی mm
تهران	۳۰/۷۴±۱/۶۳	۳۱/۱۶±۱/۱۲	۰/۹۹±۰/۰۸	۳/۶۵±۰/۱۱	۹±۱/۱۱	۲۵±۲/۸۳	۲۲/۵۳±۱/۵۷	۱۰/۱۴±۰/۱۲	۴/۱۱±۰/۱
مریوان	۴۰/۳۳±۱/۱۶	۴۳/۲۲±۲/۴۱	۰/۹۴±۰/۰۶	۶/۲۲±۰/۱۰	۱۳/۶۶±۰/۵۷	۳۲/۶۶±۱/۵۲	۳۲/۵±۱/۵۴	۱۳/۱۰±۰/۱	۴/۵۸±۰/۴

ادامه جدول

شهر	طول گل شعاعی mm	تعداد گل شعاعی	وزن تر تک‌گل	تعداد کل گل بوته	وزن گل تر در بوته g	وزن گل خشک در بوته g	نسبت وزن تر به خشک	عملکرد گل تر g/m^2	عملکردگل خشک g/m^2
تهران	۱۶/۲۴±۰/۶	۱۵/۶۶±۱/۵۲	۰/۲۶±۰/۰۲	۶۱±۱/۴۹	۱۶/۰۳±۰/۹۶	۲/۵۱±۰/۰۴	۶/۳۹±۰/۲۹	۳۷/۱۳±۲/۵	۹/۴۶±۱/۹
مریوان	۲۰/۹±۱/۵۵	۱۷/۶۶±۰/۵۷	۰/۳۸±۰/۰۳	۹۸/۶±۳/۰۵	۳۷/۸±۲/۰۴	۶/۲±۰/۶	۶/۰۷±۰/۲۳	۱۵۱/۲±۲/۱	۲۴/۹±۲/۵۶

Adaptation and Yield Study of Chamisso's Arnica and Mountain Arnica in Iran

Mojdeh Asadi[1], Javad Hadian[2*], Ghasem Karimzadeh[3], Samad Nejad Ebrahimi[4]

[1] M. Sc. Undergraduate of Physiology and Breeding of Medicinal Plants, Medicinal Plants and Drug Research Institute, ShahidBeheshti University of Tehran

[2] Corresponding Author, Associate Professor, Medicinal Plants and Drug Research Institute, ShahidBeheshti University of Tehran

[3] Associate Professor, TarbiatModarres University, Faculty of Agriculture, Department of Plant Breeding and Biotechnology

[4] Assistant Professor, Medicinal Plants and Drug Research Institute, ShahidBeheshti University of Tehran

[*]Corresponding Author: J_hadian@sbu.ac.ir

Abstract

***Arnica chamissonis* ssp. *foliosa* Less and *A. montana* L. are rhizomatous herbaceous perennial from the daisy family (Asteraceae) and have many uses in cosmetics and pharmacology. Sesquiterpene lactones, flavonoids and phenolic acids found in the flower heads have many medicinal uses and are used to cure bruises, muscle and joint pain, cuts, insect bites and edema. Since these plants need a cool climate and low-pH soil, studying compatibility and response to Iran's climate was tested by planting seedlings of *A. chamissonis* and *A. montana* were planted in cool (Marivan) and temperate (Tehran) climates.Seeds were planted in March 2014 in greenhouse on a substrate consisting of 2 parts peat and equal parts coir and sand. Field preparation, transplanting, irrigation and fertilization was carried on equally in Tehran and Marivan. Morphological and yield characteristics, total phenol and flavonoid, rutin, luteolin, and apigenin were measured in plant extracts. Compatibility tests showed that *A. chamissonis* plants planted in Marivan have an advantage over the seedlings planted in Tehran. *A. montana* seedlings planted in both Tehran and Marivan died at the 8-leaved stage and the start of the heating season were destroyed.**

***Keywords*: Medicinal plants, Secondary metabolites, Ecological requirements, Acidic soil, Damping off.**