ششمین کنگره سراسری عناصر کمیاب ایران
تهران، دانشگاه تهران، ۶ الی ۸ اسفند ۱۳۹۸

انجمن عناصر کمیاب ایران

تاثیر الیسیتوری سلنیوم بر تولید متابولیت های ثانویه در سلول های جدا کشت گون(*Astragalus verus*)

نگار معصومی*[۱]، فائزه قناتی[۱]،حسن احمدی گاولیقی[۲]، حسن زارع مایوان[۱]

۱- گروه علوم گیاهی، دانشکده علوم‌زیستی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران
۲- استادیار، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران

چکیده

عناصری که رشد گیاه را تحریک می کنند عناصر مفید تعریف می شوند. سلنیوم به عنوان عنصر غذایی مفید برای انسان، حیوان، گیاه و بسیاری از باکتری ها عمل می کند و نقش مهمی را در سیستم های آنتی اکسیدانی وتولید آنتی اکسیدان ها ایفا می کند. در میان گیاهان عالی، بیشترین تاثیرات مفید سلنیوم بر رشد در گیاهان بیش انباشتگر مشاهده شده است و پیشنهاد شده است که سلنیوم برای این گونه ها ضروری می باشد زیرا سلنیوم عنصر فراوانی در خاک نمی باشد. جنس گون (*Astragalus*) بزرگترین جنس گیاهان گلدار و متعلق به خانواده *Leguminose (Fabaceae)* است که حدود ۲۵۰۰ تا ۳۰۰۰ گونه در جهان دارد که برخی از این گونه ها بیش انباشتگر سلنیوم می باشند. این گیاه به طور گسترده ای در صنایع غذایی و پزشکی مورد استفاده قرار می گیرد. در این تحقیق، سلول های جدا کشت گون (*Astragalus verus*) در محیط تعلیقی تحت تیمار غلظت های مختلف سلنیوم (سلنات سدیم: ۰/۵، ۲/۵، ۱۲/۵، ۶۲/۵ و ۳۱۲/۵ میکرومولار) قرار گرفتند. سلنیوم روز هشتم بعد از واکشت به محیط کشت اضافه شد و سلول های تیمار داده شده در روز پانزدهم جمع آوری شدند. نتایج نشان داد که با افزایش غلظت سلنیوم رشد و زنده مانی سلولی کاهش یافت اما مقدار پراکسیداسیون لیپیدهای غشایی، پراکسید هیدروژن و فعالیت تعدادی از آنزیم های آنتی اکسیدانی افزایش یافت . بررسی پتانسیل تولید برخی متابولیت های ثانویه بیانگر افزایش ۱/۳۲، ۱/۸ ، ۱/۸، ۱/۳۷ برابری ترکیبات فنلی، آلکالوئید و ساپونین های ترپنوئیدی و استروئیدی در غلظت ۵/۶۲ میکرومولار سلنیوم نسبت به نمونه ی شاهد شد.

کلمات کلیدی: سلنیوم، گون، فنل، آلکالوئید، ساپونین

* نگار معصومی، آدرس ایمیل:*m.negar@modares.ac.ir*

مقدمه

سلنیوم (*Se*) متالوئیدی است از عناصر گروه ۱۶ جدول تناوبی است که برای اولین بار در سال ۱۹۵۷ توسط *Schwarz and Foltz* گزارش شد.این عنصر از میکرونوترینت های مفید برای انسان، حیوان و گیاه می باشد که در انسان و جانوران در پاسخ ایمنی، تولید مثل و متابولیسم هورمون تیروئید موثر است و نیز نقش آنتی اکسیدانی و ضد سرطانی ایفا می کند(۱). جنس گون *Astragalus* بزرگترین جنس گیاهان گلدار و متعلق به خانواده *Leguminose (Fabaceae)* است که حدود ۲۵۰۰ تا ۳۰۰۰ گونه در جهان دارد. سه گروه عمده از ترکیبات موجود در این گونه ها شامل کربوهیدرات ها، ساپونین ها و فلاونوئیدها می باشد. این گیاه به طور گسترده ای در صنایع غذایی و پزشکی مورد استفاده قرار می گیرد. تاکنون فعالیت های زیستی مختلفی از قبیل خواص آنتی اکسیدانی، ضد فشار خون، ضد ویروس، ضد سرطان، ضد التهاب، و ضد دیابت در عصاره این گیاه گزارش شده است(۲). در این تحقیق با توجه به خواص دارویی و آنتی اکسیدانی گون بر آن شدیم تا با بنیان گذاری لاین سلولی و تیمار آن با سلنیوم به عنوان محرک تولید و افزایش محتوای فنل کل و محتوای ساپونینها و آلکالویید در سوسپانسیون سلولی گیاه گون بررسی انجام شده است.

مواد و روش ها

سلول های جدا کشت گون (*Astragalus verus*) در محیط تعلیقی تحت تیمار غلظت های مختلف سلنیوم (سلنات سدیم: ۰/۵، ۲/۵، ۱۲/۵، ۶۲/۵ و ۳۱۲/۵ میکرومولار) قرار گرفتند. سلنیوم روز هشتم بعد از واکشت به محیط کشت اضافه شد و سلول های تیمار داده شده در روز پانزدهم جمع آوری شدند.

بررسی رشد و زنده مانی به روش *Baker* و *Mock* در سال ۱۹۹۴انجام شد(۳).

برای سنجش محتوای پراکسیداسیون لیپیدهای غشا بر اساس روش *De Vos* و همکاران در سال ۱۹۹۲انجام شد(۴).

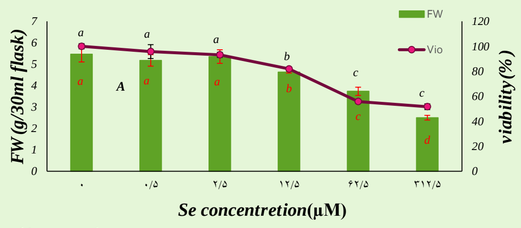
جهت سنجش محتوای فنل کل از روش *Chua* و همکاران در سال ۲۰۰۷انجام شد(۵).

سنجش فلاونوئید کل به روش *Akkol* و همکاران در سال ۲۰۰۸ انجام شد(۶).

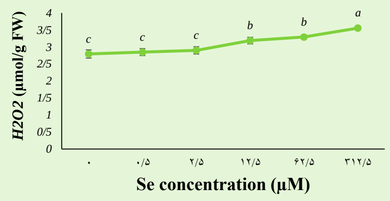
سنجش آلکالوئید ها به روش *Martin* و همکاران در سال ۱۹۹۷انجام شد(۷).

به منظور استخراج محتوای ساپونین نمونه ها از روش *Singh* و همکاران در سال ۲۰۱۵استفاده شد(۸).

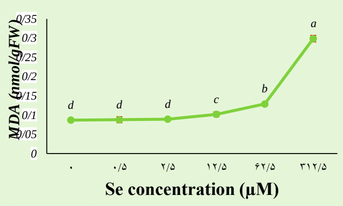
نتایج



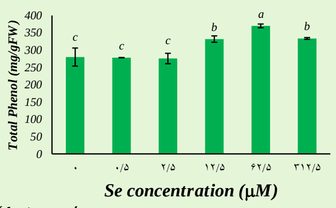
درصد زنده بودن و تغییرات رشد سلول های جدا کشت گون (*Astragalus verus*) تحت تیمار با سلنیوم در غلظت های مختلف. مقادیر نشان داده شده میانگین ۳ تکرار ± انحراف معیار است. حروف متفاوت نشان دهنده معنی دار بودن تفاوت ها در سطح $P\leq$ ۰/۰۵ بر اساس آزمون دانکن است.



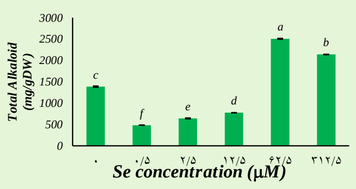
محتوای *H2O2* سلول های جدا کشت گون (*Astragalus verus*) تحت تیمار با سلنیوم در غلظت های مختلف. مقادیر نشان داده شده میانگین ۳ تکرار ± انحراف معیار است. حروف متفاوت نشان دهنده معنی دار بودن تفاوت ها در سطح $P\leq$ ۰/۰۵ بر اساس آزمون دانکن است.



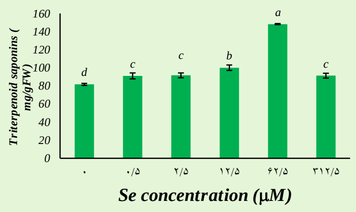
محتوای *MDA* سلول های جدا کشت گون (*Astragalus verus*) تحت تیمار با سلنیوم در غلظت های مختلف. مقادیر نشان داده شده میانگین ۳ تکرار ± انحراف معیار است. حروف متفاوت نشان دهنده معنی دار بودن تفاوت ها در سطح $P\leq$ ۰/۰۵ بر اساس آزمون دانکن است.



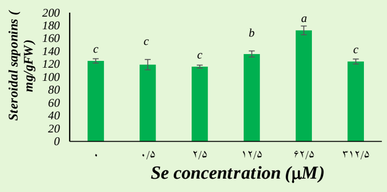
محتوای فنل کل سلول های جدا کشت گون (*Astragalus verus*) تحت تیمار با سلنیوم در غلظت های مختلف. مقادیر نشان داده شده میانگین ۳ تکرار ± انحراف معیار است. حروف متفاوت نشان دهنده معنی دار بودن تفاوت ها در سطح $P\leq$ ۰/۰۵ بر اساس آزمون دانکن است.



محتوای آلکالویید سلول های جدا کشت گون (*Astragalus verus*) تحت تیمار با سلنیوم در غلظت های مختلف. مقادیر نشان داده شده میانگین ۳ تکرار ± انحراف معیار است. حروف متفاوت نشان دهنده معنی دار بودن تفاوت ها در سطح $P\leq$ ۰/۰۵ بر اساس آزمون دانکن است.



محتوای ساپونین ترپنوییدی کل سلول های جدا کشت گون (*Astragalus verus*) تحت تیمار با سلنیوم در غلظت های مختلف. مقادیر نشان داده شده میانگین ۳ تکرار ± انحراف معیار است. حروف متفاوت نشان دهنده معنی دار بودن تفاوت ها در سطح $P\leq$ ۰/۰۵ بر اساس آزمون دانکن است.



محتوای ساپونین استروییدی کل سلول های جدا کشت گون (*Astragalus verus*) تحت تیمار با سلنیوم در غلظت های مختلف. مقادیر نشان داده شده میانگین ۳ تکرار ± انحراف معیار است. حروف متفاوت نشان دهنده معنی دار بودن تفاوت ها در سطح $P\leq$ ۰/۰۵ بر اساس آزمون دانکن است.

بحث و نتیجه گیری

با توجه به بررسی های انجام شده درصد زنده مانی و تغییرات رشد سلول های جداکشت گون تحت تیمار سلنیوم روند کاهشی را نشان داده است. باتوجه به محتوای مالون دی آلدهید و محتوای هیدروژن پراکسید در اثر افزایش غلظت تیمار سلنیوم روند افزایشی را نشان داده است. در انتها بر اساس نتایج حاصل با افزایش غلظت سلنیوم در محیط کشت سلولی , بررسی پتانسیل تولید برخی متابولیت های ثانویه بیانگر افزایش ۱/۳۲، ۱/۸ ، ۱/۸، ۱/۳۷ برابری ترکیبات فنلی، آلکالوئید و ساپونین های ترپنوئیدی و استروئیدی در غلظت ۵/۶۲ میکرومولار سلنیوم نسبت به نمونه ی شاهد شد.

نتیجه گیری کلی

از مجموع نتایج چنین استنباط می شود که حضور سلنیوم در محیط کشت سلول های گون (*Astragalus verus*) باعث تولید گونه های فعال اکسیژن شده است. بدین صورت که گیاه با افزایش فعالیت سیستم آنتی اکسیدانی سعی در کاهش تنش های حاصل دارد. متابولیت های ثانوی گروه متنوعی از مولکول هایی هستند که به سازگار شدن گیاهان بخصوص در شرایط تنش های محیطی کمک می کند. وجود الیسیتور سلنیوم در محیط کشت سلول به عنوان یک عامل تنش زا برای سلول های گون عمل کرده است و در نتیجه باعث تحریک سیستم دفاعی و منجر به افزایش تولید محتوای فنل کل و محتوای ساپونین ها و آلکالویید ها شده است. درنتیجه میتوان با استفاده تیمار سلنیوم از ترکیبات دارویی بیشتر, سلول های گون بهرمند شد.

منابع

1. *Schwarz, K., & Foltz, C. M. (1957). Selenium as an integral part of factor 3 against dietary necrotic liver degeneration. Journal of the American Chemical Society, 79(12), 3292-3293.*
2. *Nartop, P., Gurel, A., Akgun, I. H., & Bedir, E. (2015). Astragaloside IV and cycloastragenol production capacity of Astragalus trojanus calli. Records of Natural Products, 9(1), 49.*
3. *Baker, C.J. and Mock, N.M., 1994. An improved method for monitoring cell death in cell suspension and leaf disc assays using Evans blue. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 39(1), pp.7-12.*
4. *De Vos, A. M., Ultsch, M., & Kossiakoff, A. A. (1992). Human growth hormone and extracellular domain of its receptor: crystal structure of the complex. Science, 255(5042), 306-312.*
5. *Chua, M.T., Tung, Y.T. and Chang, S.T., 2007, Antioxidant activities of ethanolic extracts from the twigs of Cinnamum osmophloeum, Bioresource Technol 99:1918-1925.*
6. *Akkol, E.K., Göger, F., Kosar, M. and Baser, K.H., 2008, Phenolic composition and biological activities of Salvia halophile and Salvia virgata from Turkey, Food Chem. 108 (3): 942–949.*
7. *Martin, C., Berridge, G., Higgins, C. F., & Callaghan, R. (1997). The multi-drug resistance reversal agent SR33557 and modulation of vinca alkaloid binding to P-glycoprotein by an allosteric interaction. British journal of pharmacology, 122(4), 765.*
8. *Singh, J., Sangwan, R. S., Gupta, S., Saxena, S., & Sangwan, N. S. (2015). Profiling of triterpenoid saponin content variation in different chemotypic accessions of Centella asiatica L. Plant Genetic Resources, 13(2), 176.*