

استفاده از نانوذرات نقره به عنوان محرک تولید ساپونین در سلول های جدا کشت (*Acanthophyllum squarrosum* L.)

سکینه شاکری*، فائزه قناتی، میترا جمشیدی



گروه علوم گیاهی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران

* sekineh.shakeri@modares.ac.ir

چکیده

نانوذرات نقره یکی از پرکاربردترین ذرات در حوزه ی فناوری نانو است که به دلیل خواص فیزیکی و شیمیایی خود در زمینه های الکترونیکی، دارویی و بهداشتی کاربرد فراوان دارد. یکی از راه های افزایش تولید متابولیت های ثانوی ارزشمند استفاده از محرک های مختلف است. در این مطالعه اثر نانو ذره نقره به عنوان محرک بر تولید و افزایش ساپونین در سوسپانسیون سلولی گیاه چوبک (*Acanthophyllum squarrosum* L.) بررسی شد. ساپونین ها خانواده بزرگی از گلیکوزیدهای آمفی فیلیک هستند که در دو نوع استروئیدی و ترپنوئیدی با اهداف دارویی و تجاری خاص از منابع گیاهی مختلف استخراج می شوند. چوبک که یکی از منابع گیاهی دارای ساپونین است بومی ایران و متعلق به خانواده میخک (*Caryophyllaceae*) است. در این تحقیق آزمایش های مختلف برای تعیین غلظت بهینه نانوذره نقره به منظور بررسی آثار آن بر روی رشد و زنده مانی سلول های چوبک و میزان تولید ساپونین آن انجام شد. پس از آزمایش های اولیه محدوده مناسبی از غلظت های مختلف (۰، ۵/۲، ۵ و ۱۰ ppm) نانو ذرات نقره در نظر گرفته شد و سلول های جدا کشت چوبک در روز هفتم واگشت (در فاز لگاریتمی رشد) با نانو ذرات نقره تیمار شده و ۷ روز بعد از تیمار برداشت شدند. فاکتورهای رشد، درصد زنده مانی، و تولید ساپونین در سلول های تحت تیمار و سلول های کنترل مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که غلظت ۲/۵ ppm با حداقل کاهش رشد و افزایش ۱/۴ برابر میزان ساپونین استروئیدی نسبت به کنترل مناسبترین غلظت جهت تحریک سلول های چوبک در راستای تولید و افزایش ساپونین برای استفاده در صنایع دارویی و یا صنایع دیگر می باشد.

کلمات کلیدی: نانوذرات نقره، سلولهای جدا کشت چوبک، ساپونین استروئیدی، ساپونین ترپنوئیدی

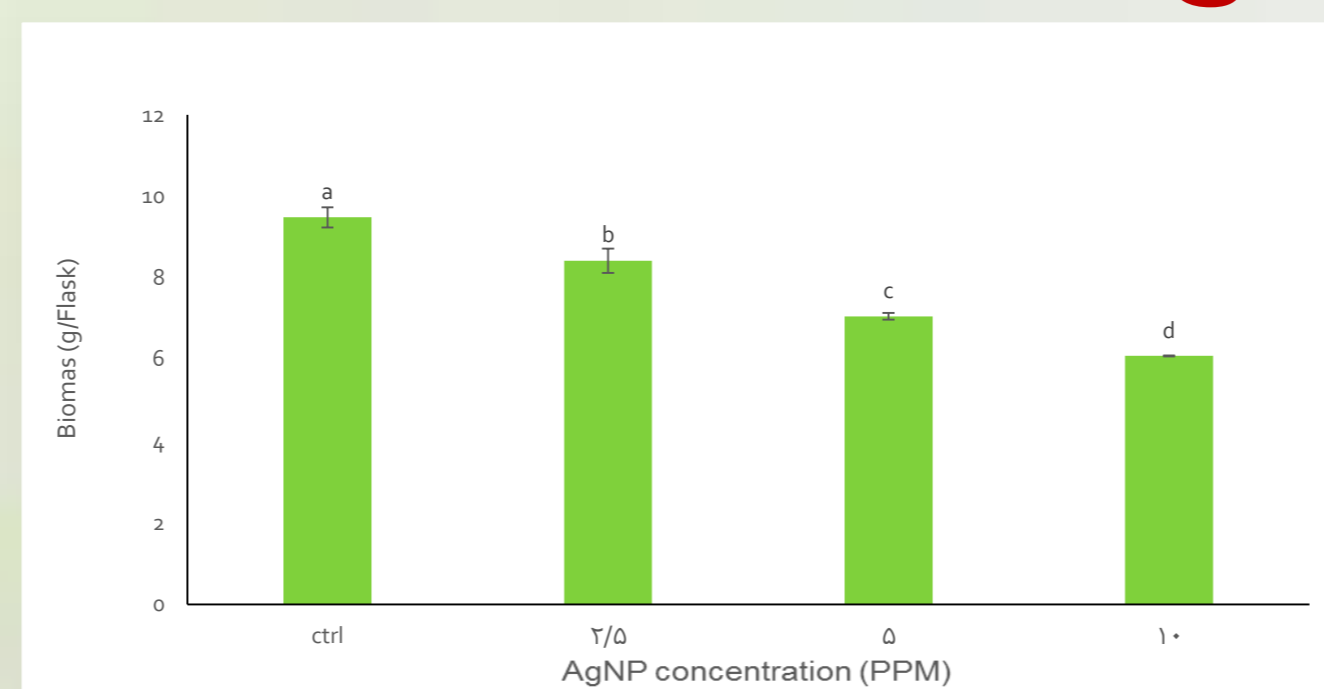
مقدمه

امروزه نانوذرات نقره به دلیل اندازه و شکل منحصر به فرد و خواص ضد باکتریایی کاربرد های فراوان دارد. نانو ذرات نقره به صورت یک الیستور عامل خارجی برفعال شدن مسیر های دفاعی در گیاه فعالیت می کند. تیمار گیاهان با الیستور ها سبب ایجاد مجموعه ای از واکنش های دفاعی از جمله تولید و تجمع طیف وسیعی از متابولیت های ثانویه دفاعی در گیاهان می گردد. متابولیت های ثانویه گیاهی منبع حیاتی ترکیبات مهم دارویی، غذایی و صنعتی می باشد (۱). ساپونین یکی از متابولیت های ثانویه مهم در گیاه چوبک (*Acanthophyllum squarrosum* L.) می باشد که در سیستم دفاعی گیاه، نقش ایفا می کند و همچنین دارای خواص همولیتیک، دارویی و ضد سرطانی هستند (۲). در این مطالعه اثر نانو ذره نقره به عنوان محرک بر تولید و افزایش ساپونین در سوسپانسیون سلولی گیاه چوبک بررسی شده است.

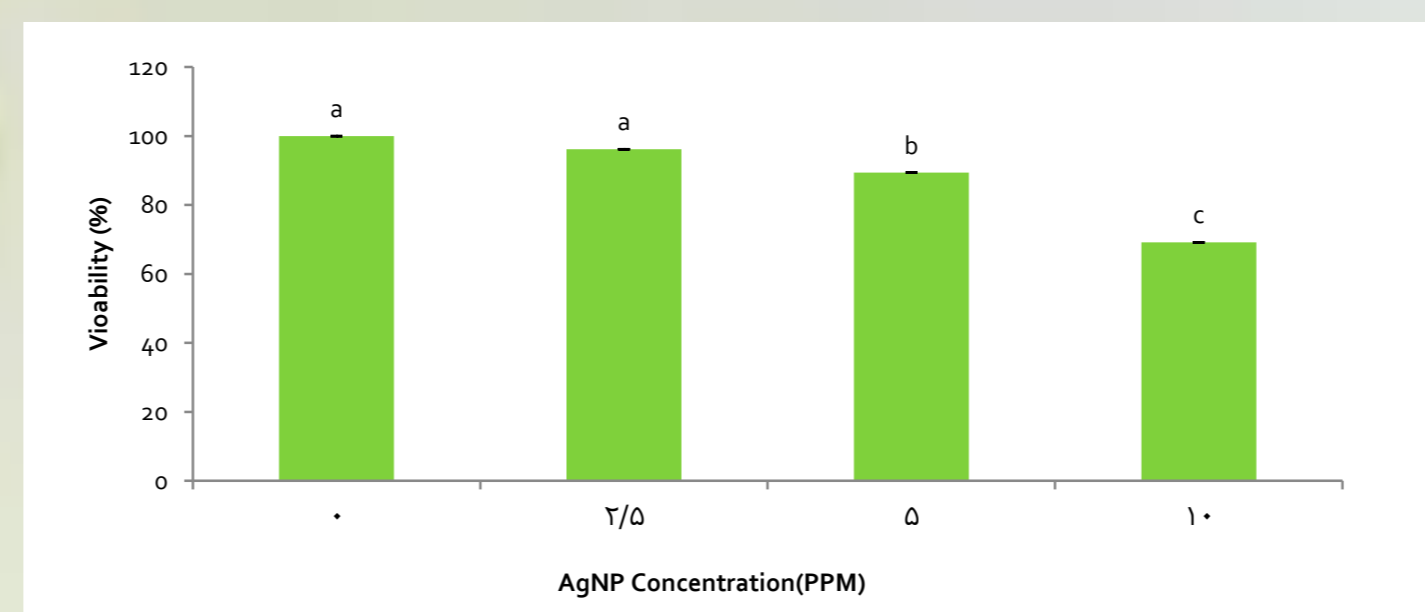
بحث و نتیجه گیری

بررسی تغییرات رشد (وزن تر) و درصد زنده بودن سلول های جدا کشت چوبک تحت تیمار نانو ذرات نقره روند کاهش را نشان داده است. اما با افزایش غلظت تیمار نانو ذرات نقره محتوای ساپونین استروئیدی در سلول های جدا کشت چوبک روند افزایشی را نشان داده است. بر اساس مطالعات گذشته محتوای بالای ساپونین در محیط کشت سلول منجر به آسیب سلول می شود زیرا ساپونین به علت خاصیت لیز کننده، غشا سلول را تخریب می کند. اینگونه میتوان نتیجه گرفت محتوای ساپونین استروئیدی در غلظت ۲/۵ ppm نسبت به سلول های کنترل افزایش ۱/۴ برابری داشته است و درصد زنده مانی و مقدار رشد سلول ها نسبت به کنترل کمترین کاهش داشته است. در نتیجه غلظت ۲/۵ ppm غلظت مطلوب بوده است.

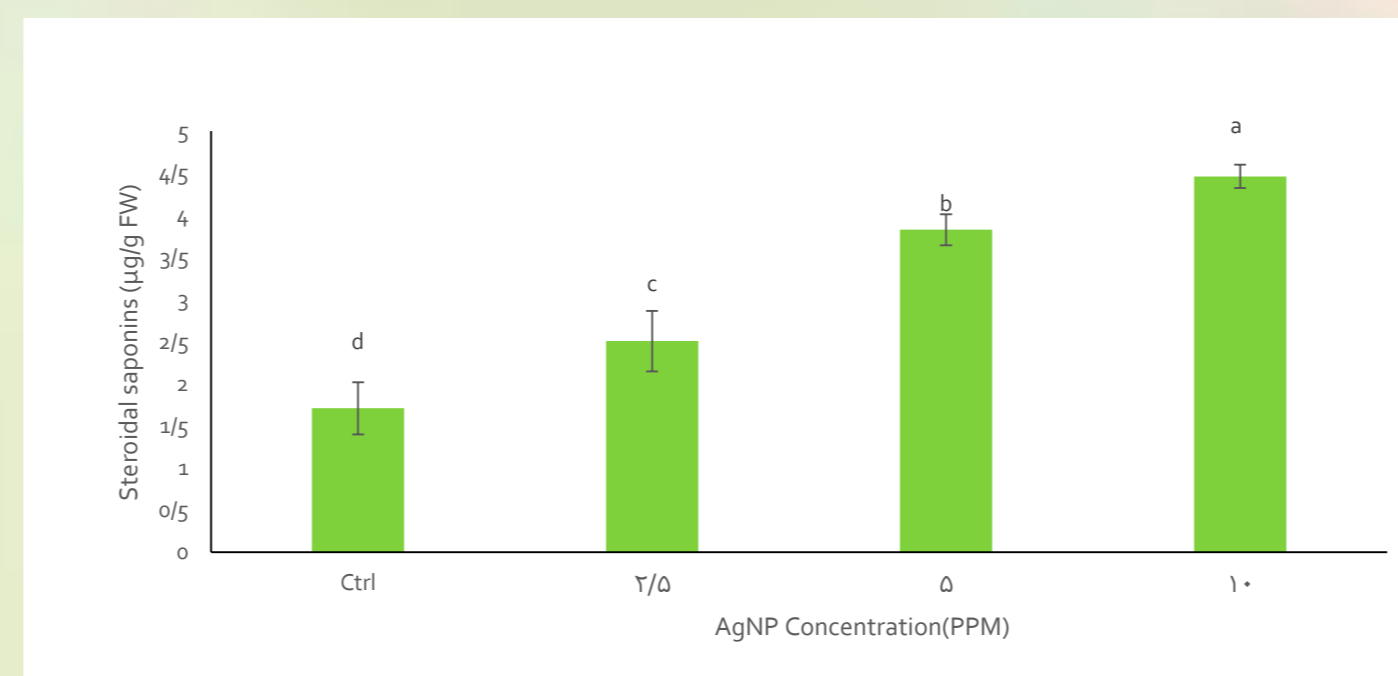
نتایج



تغییرات رشد سلول های جدا کشت چوبک (*Acanthophyllum squarrosum* L.) تحت تیمار با نانو ذرات نقره در غلظت های مختلف. مقادیر نشان داده شده میانگین ۳ تکرار \pm انحراف معیار است. حروف متفاوت نشان دهنده معنی دار بودن تفاوت ها در سطح $P \leq 0.05$ بر اساس آزمون دانکن است.



درصد زنده مانی سلول های جدا کشت چوبک (*Acanthophyllum squarrosum* L.) تحت تیمار با نانو ذرات نقره در غلظت های مختلف. مقادیر نشان داده شده میانگین ۳ تکرار \pm انحراف معیار است. حروف متفاوت نشان دهنده معنی دار بودن تفاوت ها در سطح $P \leq 0.05$ بر اساس آزمون دانکن است.



محتوای ساپونین استروئیدی سلول های جدا کشت چوبک (*Acanthophyllum squarrosum* L.) تحت تیمار با نانو ذرات نقره در غلظت های مختلف. مقادیر نشان داده شده میانگین ۳ تکرار \pm انحراف معیار است. حروف متفاوت نشان دهنده معنی دار بودن تفاوت ها در سطح $P \leq 0.05$ بر اساس آزمون دانکن است.

نتیجه گیری کلی

نتیجه این آزمایش نشان میدهد، میتوان با استفاده از نانوذرات نقره به عنوان محرک فعالیت سیستم دفاعی سلول های جدا کشت چوبک در جهت افزایش محتوای ساپونین استروئیدی استفاده کرد. زیرا گیاه چوبک یکی از گیاهان تولید کننده متابولیت ثانویه ساپونین می باشد که بسیار در صنعت داروسازی و دیگر صنایع حایز اهمیت می باشد. امروزه یکی از جدیدترین روش ها برای بیوسنتز بیشتر متابولیت های ثانوی استفاده از الیستورها می باشد. بنابراین، استفاده از تیمار نانو ذرات نقره می تواند یک روش امیدوار کننده برای پیشرفت های کشاورزی و بیوسنتز بیشتر ترکیبات دارویی توسط گیاهان باشد.

منابع

- 1- Jamshidi, M., Ghanati, F., Rezaei, A., & Bemani, E. (2016). Change of antioxidant enzymes activity of hazel (*Corylus avellana* L.) cells by AgNPs. *Cytootechnology*, 68(3), 525-530.
- 2- Aghel, N., Moghimipour, E., & Raies Dana, A. (2010). Formulation of a herbal shampoo using total saponins of *Acanthophyllum squarrosum*. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 167-172.
- 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- A rivalagan, M., Gangopadhyay, K.K. and Kumar, G., 2013. Determination of steroidal saponins and fixed oil content in fenugreek (*Trigonella foenum-graecum*) genotypes. *Indian journal of pharmaceutical sciences*, 75(1), p.110.

مواد و روش ها

- از وزن تر به عنوان معیاری برای تعیین رشد سلول ها استفاده شده است، سلول ها بر روی نایلون مش (۴۲ μm) و با استفاده از فشار منفی از محیط کشت جدا و سپس وزن شدند (۱).
- تعیین درصد زنده بودن سلول های جدا کشت چوبک تحت تیمار نانو ذرات نقره با روش Baker & Mock در سال ۱۹۹۴ انجام شده است (۳).
- سنجش میزان تولید ساپونین استروئیدی سلول های جدا کشت چوبک (*Acanthophyllum squarrosum* L.) تحت تیمار با نانو ذرات نقره در غلظت های مختلف با روش Arivalagan و همکاران در سال ۲۰۱۳ انجام شده است (۴).