تاثیر نیترات نقره بر وزن تر و خشک و برخی خصوصیات بیوشیمیایی ریزنمونه‌های گیاه دارویی سنا در شرایط درون شیشه‌ای

فرحناز عزیزی[۱]، محمد مقدم*[۲]، لیلا سمیعی[۳]
[۱ و ۲] گروه علوم باغبانی و مهندسی فضای سبز، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد
[۳] پژوهشکده علوم گیاهی، گروه گیاهان زینتی، دانشگاه فردوسی مشهد
*محمد مقدم: m.moghadam@um.ac.ir; moghaddam75@yahoo.com

چکیده

به‌منظور بررسی اثر نیترات نقره بر وزن تر و خشک و برخی خصوصیات بیوشیمیایی ریزنمونه‌های گیاه دارویی سنا در شرایط درون شیشه‌ای، تحقیقی آزمایشگاهی بر پایه طرح کاملا تصادفی در پژوهشکده علوم گیاهی دانشگاه فردوسی مشهد در سال ۱۳۹۷ انجام شد. نیترات نقره در ۵ سطح (۰، ۱۰، ۲۰، ۴۰ و ۶۰ میلی‌گرم بر لیتر) به عنوان تیمار آزمایش در نظر گرفته شد. صفات مورد مطالعه شامل وزن تر و خشک ریزنمونه، رنگیزه‌های فتوسنتزی (کلروفیل a، b، کارتنوئید و کلروفیل کل)، فعالیت آنتی‌اکسیدانی، فنل کل، کربوهیدرات محلول و محتوی پرولین بودند. نتایج نشان داد که کاربرد نیترات نقره تا سطح ۴۰ میلی‌گرم بر لیتر سبب افزایش رنگیزه‌های فتوسنتزی شد و در سطح ۶۰ میلی‌گرم بر لیتر، نیترات نقره تا حدودی اثر سمیت داشت و این صفات را کاهش داد. در مقابل بیشترین میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانتی (۹۴/۲۰ درصد)، فنل کل (۴۰/۸۵ میلی‌گرم در گرم وزن تر برگ، قند محلول (۱۲۸/۷۳ میلی‌گرم در گرم وزن تر برگ) و محتوی پرولین (۰/۰۸ میکرومول در گرم وزن خشک برگ) به‌علت وارد شدن تنش، در سطح ۶۰ میلی‌گرم بر لیتر نیترات نقره حاصل شد. با توجه به نتایج حاصل از این تحقیق جهت تسریع رشد ریزنمونه‌های سنا در شرایط کشت درون شیشه‌ای کاربرد نیترات نقره تا سطح ۴۰ میلی‌گرم بر لیتر توصیه می‌شود و در سطح ۶۰ میلی‌گرم بر لیتر اثر تنش‌زا بر گیاه داشته و اثرات سوء ایجاد می‌کند.

کلمات کلیدی: الیسیتور، رنگیزه‌های فتوسنتزی، فعالیت آنتی‌اکسیدانتی، محتوای پرولین

مقدمه

گیاه دارویی سنا با نام علمی (*Cassia angustifulia* Vahl.) گیاهی است چندساله متعلق به خانواده ارغوان (Caesalpinaceae) که به شکل درختچه‌ای کوتاه و با ارتفاع ۸۰ تا ۱۲۰ سانتی‌متر می‌باشد. در سیستم‌های گوناگون طب سنتی، از برگ‌های سنا برای درمان یبوست، کاهش اشتها، بزرگی کبد، بزرگی طحال، سوءهاضمه، مالاریا، زردی، کم‌خونی و غیره استفاده شده است و همچنین عصاره برگ‌های آن در درمان سرطان و تومور نیز به کار می‌رود؛ علاوه بر این در هندوستان از ریشه گیاه سنای هندی، به عنوان دارویی برای درمان روماتیسم استفاده می‌شود (Duck, 2000). کشت گیاهان دارویی در زمین‌های زراعی و رسیدن آن‌ها به زمانی که رشد خود را کامل کرده و به مرحله‌ای از رشد برسند که بتوان از مواد موثره آن‌ها به منظور تهیه فرآورده‌های گیاهی استفاده نمود مستلزم صرف زمان زیادی می‌باشد و لذا ممکن است صرفه اقتصادی نداشته باشد؛ یکی از راهکارهای موثر در افزایش سرعت رشد گیاهان استفاده از محرک‌های (الیسیتورها) زیستی و غیرزیستی در شرایط کشت درون شیشه‌ای می‌باشد (Mulabagal and Tsay, 2004). نیترات نقره یکی از الیسیتورهای غیرزیستی است که ترکیبی بی‌رنگ، بسیار محلول و سمی می‌باشد و به‌راحتی به یون نقره تبدیل می‌شود و استفاده از آن در مقادیر پایین به علت خصوصیت حلالیت بالای آن و دسترسی آسان، این ماده را برای کاربرد در تنظیم خارجی رشد گیاه مناسب کرده است و همچنین ثابت شده است که این ترکیب بازدارنده قوی فعالیت اتیلن بوده و به‌طور وسیعی در کشت بافت مورد استفاده قرار می‌گیرد (اصغری و همکاران، ۱۳۹۰). تاکنون

IrHC2019

تحقیقی مبنی بر بررسی اثر نیترات نقره بر خصوصیات رشدی و بیوشیمیایی گیاه دارویی سنا در شرایط کشت درون شیشه‌ای انجام نشده است. بنابراین هدف از این تحقیق بررسی اثر نیترات نقره بر وزن تر و خشک و برخی خصوصیات بیوشیمیایی ریزنمونه‌های گیاه دارویی سنا در شرایط کشت درون شیشه‌ای می‌باشد.

مواد و روش‌ها

به منظور بررسی اثر نیترات نقره بر وزن تر و خشک و برخی خصوصیات بیوشیمیایی ریزنمونه‌های گیاه دارویی سنا در شرایط کشت درون شیشه‌ای، تحقیقی آزمایشگاهی بر پایه طرح کاملا تصادفی در پژوهشکده علوم گیاهی دانشگاه فردوسی مشهد در سال ۱۳۹۷ انجام شد. نیترات نقره در ۵ سطح (۰، ۱۰، ۲۰، ۴۰ و ۶۰ میلی‌گرم بر لیتر) به عنوان تیمار آزمایش در نظر گرفته شد. بذرها از شرکت گیاهان دارویی زربند تهیه شدند. به منظور ضد عفونی کردن، ابتدا در زیر آب روان قرار داده شد و سپس به ترتیب با اتانول ۷۰ درصد، آب مقطر، هیپوکلرید سدیم ۱/۵ درصد و آب مقطر استریل شستشو داده شدند. بذرهای ضدعفونی شده در محیط کشت موراشیک و اسکوگ (۵۰ درصد) با pH ۵/۷ و بدون هورمون کشت شدند تا جوانه‌زده و گیاهچه‌ها تولید شوند. گیاهچه‌ها در چند نوبت به صورت ریزقلمه مجدد کشت شدند و سپس نمونه‌ها از قسمت گره جانبی جدا و در محیط پایه (MS) با غلظت‌های مختلف نیترات نقره و در ده تکرار کشت شدند. پس از گذشت سه هفته از اعمال تیمار، ریزنمونه‌ها از محیط کشت جدا و جهت حذف محیط کشت با آب مقطر شستشو داده شدند و صفات مورد نظر اندازه‌گیری شد. صفات مورد ارزیابی شامل وزن تر و خشک ریزنمونه، رنگیزه‌های فتوسنتزی، فعالیت آنتی‌اکسیدانتی، فنل کل، کربوهیدرات محلول و پرولین بودند.

جهت تهیه عصاره متانولی به منظور اندازه‌گیری صفات ۰/۵ گرم نمونه تازه گیاهی به همراه ۵ میلی‌لیتر متانول عصاره‌گیری شدند و از این عصاره جهت اندازه‌گیری رنگیزه‌های فتوسنتزی (Wellburn, 1994)، فعالیت آنتی‌اکسیدانتی (Moon and Terao, 1998)، فنل کل (Singleton and Rossi, 1965)، کربوهیدرات محلول (Sadasivam and Manickam, 1992) و پرولین (Bates *et al.*, 1973) استفاده شد. داده‌ها توسط نرم افزار Minitab 17 مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون Bonnferroni در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد. نمودارها با نرم افزار Excel 2016 رسم شدند.

نتایج و بحث

نتایج آنالیز واریانس داده‌ها نشان داد که اثر سطوح مختلف نیترات نقره بر کلروفیل a، b، فعالیت آنتی‌اکسیدانتی، فنل کل، کربوهیدرات محلول و پرولین ریزنمونه‌ها در سطح احتمال یک درصد و بر کلروفیل کل و وزن تر برگ در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار شد؛ اما بر وزن خشک ریزنمونه‌ها و کارتنوئید اثر معنی‌داری نداشت (جدول۱).

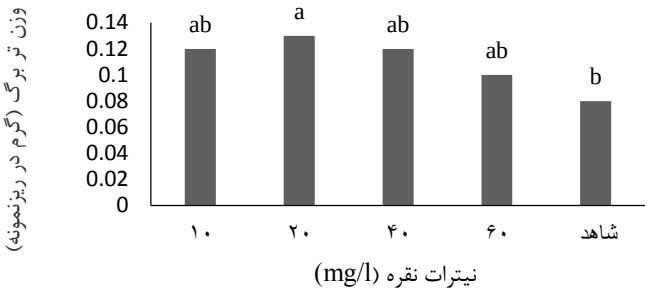
جدول۱- آنالیز واریانس اثر نیترات نقره بر صفات مورد مطالعه در ریزنمونه‌های سنا

منابع تغییرات	درجه ازادی	وزن تر ریزنمونه	وزن خشک ریزنمونه	کلروفیل a	کلروفیل b	کارتنوئید	کلروفیل کل	فعالیت آنتی‌اکسیدانتی	فنل کل	قند محلول	پرولین
تیمار	۴	۰/۰۰۱۵*	۰/۰۰۰۰۲^{ns}	۳/۰۶**	۳/۲۲**	۰/۱۴^{ns}	۲/۶۹*	۴۵/۸۷**	۹۶/۵۹**	۱۹۸۸/۶۰**	۰/۰۰۰۷۰**
خطا	۱۰	۰/۰۰۰۳	۰/۰۰۰۰۲	۰/۲۳	۰/۴۹	۰/۰۸	۰/۷۶	۵/۷۶	۱۰/۸۸	۲۱/۰۷	۰/۰۰۰۰۲

ns، * و** نشان دهنده معنی دارنبودن ، معنی دار بودن در سطح ۵٪ و ۱٪ است

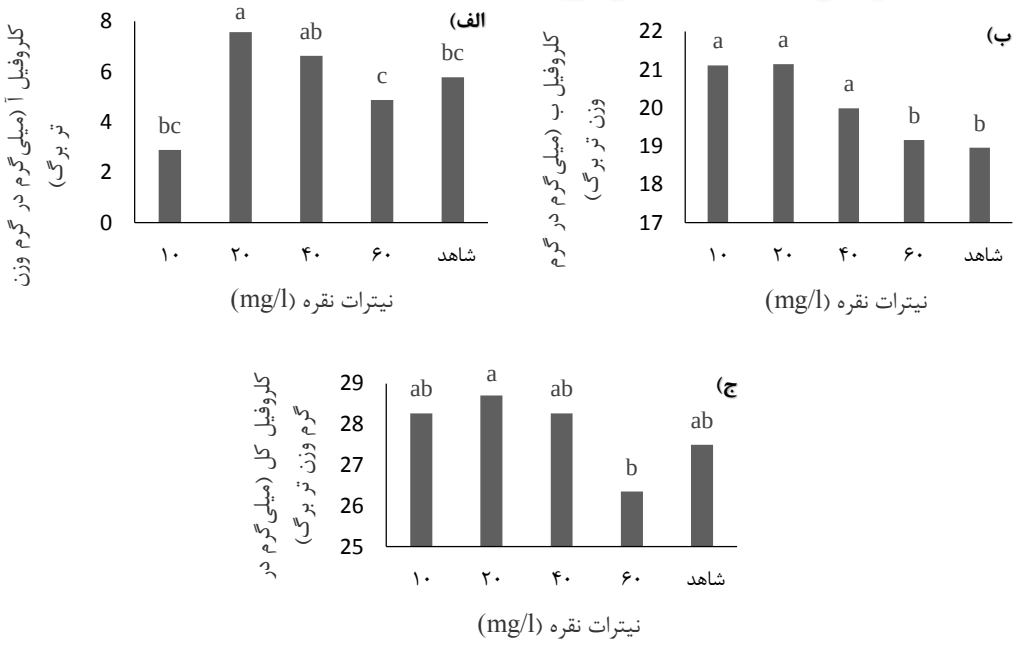
بر اساس مقایسه میانگین اثر نیترات نقره بر ریزنمونه سنا نشان داده شد که بیشترین وزن تر برگ در تیمار ۲۰ میلی‌گرم بر لیتر نیترات نقره بدست آمد (شکل۱). همچنین مقایسه میانگین داده‌ها حاکی از افزایش رنگیزه‌های فتوسنتزی به جز کارتنوئید تا سطح ۴۰ میلی‌گرم بر لیتر بود به طوریکه کاربرد نیترات نقره در سطح ۲۰ میلی‌گرم بر

لیتر میزان کلروفیل a، b و کلروفیل کل را به ترتیب نسبت به شاهد ۳۰/۹۶، ۱۱/۴۹ و ۴/۴ درصد افزایش داد (شکل‌های ۲ الف، ب و ج).



شکل ۱- اثر سطوح مختلف نیترات نقره بر وزن تر برگ ریزنمونه‌های سنا

بیشترین میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانتی (۹۴/۲۰ درصد) (شکل ۳- الف)، فنل کل (۴۰/۸۵ میلی‌گرم در گرم وزن تر برگ) (شکل ۳- ب)، کربوهیدرات محلول (۱۲۸/۷۳ میلی‌گرم در گرم وزن تر برگ) (شکل ۴- الف) و پرولین (۰/۰۸ میکرومول در گرم وزن خشک برگ) (شکل ۴- ب) در تیمار ۶۰ میلی‌گرم در لیتر نیترات نقره مشاهده شد. نتایج نشان داد که این صفات در کاربرد ۱۰ میلی‌گرم بر لیتر نیترات نقره نسبت به سطح ۶۰ میلی‌گرم بر لیتر به ترتیب ۸/۶۴، ۷۹/۱۱، ۵۰/۴۲، ۵۰، ۳۳/۳۳ و ۵۰ درصد کمتر بودند (شکل‌های ۵ تا ۱۰) که نشان از این امر دارد که نیترات نقره در سطح ۶۰ میلی‌گرم بر لیتر موجب وارد شدن تنش به گیاهچه می‌شود.



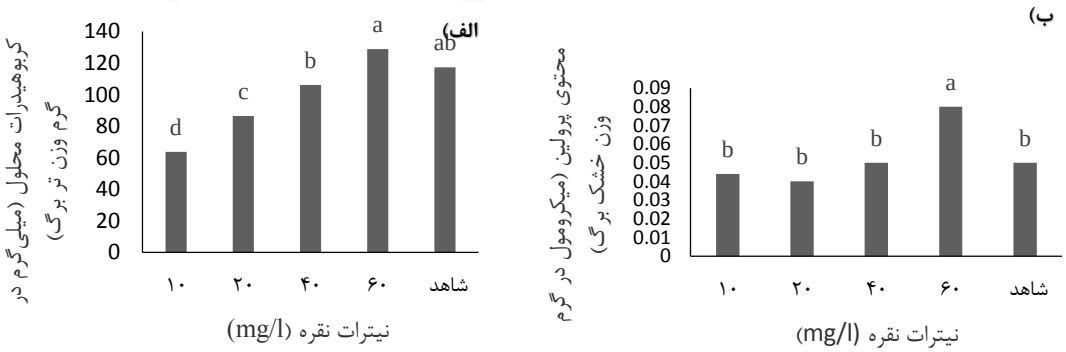
شکل ۲- اثر سطوح مختلف نیترات نقره بر کلروفیل آ (الف)، ب (ب) و کلروفیل کل (ج) در ریزنمونه‌های سنا

نتایج این تحقیق با نتایج حاصل از تحقیق شبانی و صغیرزاده (۱۳۹۶) که بر روی گیاه دارویی درمنه کار کرده بودند مطابقت داشت که می‌توان این چنین گفت که نیترات نقره در سطوح بالا باعث وارد کردن تنش عناصر سنگین به

IrHC2019

گیاه شده و به‌دنبال آن تنش اکسیداتیو در گیاه ایجاد می‌شود و رادیکال‌های آزاد تولید شده در طی آن موجب وارد شدن خسارت به رنگیزه‌های فتوسنتزی و تخریب آن‌ها می‌گردد که تخریب آن‌ها کاهش رشد گیاه را نیز در بر دارد (Marchiol *et al.*, 2004). این موارد می‌تواند تا حدودی کاهش رنگیزه‌های فتوسنتزی و وزن تر ریزنمونه‌های سنا تحت کاربرد غلظت بالای نیترات نقره (۶۰ میلی‌گرم بر لیتر) را اثبات کند. علاوه بر این، نتایج این تحقیق با نتایج حاصل از تحقیق علیرضایی و همکاران (۱۳۹۶) بر روی گیاه دارویی اسطوخودوس (*Lavandula angostifolia* Mill) مطابقت دارد. کاربرد نیترات نقره در سطوح بالا موجب ایجاد سمیت در نمونه‌های گیاهی شده و گیاه در پاسخ به این تغییرات و به‌منظور بیرون راندن این ترکیبات سمی و کاهش خسارت وارده، میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانتی، فنل کل و محتوی پرولین خود را افزایش می‌دهد (Jiravova *et al.*, 2016) که در این تحقیق نیز این امر به‌خوبی مشهود است.

شکل ۳- اثر سطوح مختلف نیترات نقره بر فعالیت آنتی‌اکسیدانتی (الف) و فنل کل (ب) ریزنمونه‌های سنا



شکل۴- اثر سطوح مختلف نیترات نقره بر کربوهیدرات محلول (الف) و محتوی پرولین (ب) ریزنمونه‌های سنا

در نهایت با توجه به نتایج حاصل از این تحقیق کاربرد نیترات نقره در شرایط کشت درون شیشه‌ای تا سطح حداکثر ۴۰ میلی‌گرم بر لیتر توصیه می‌شود و سطوح بالاتر از این مقدار اثرسمیت بر گیاه داشته و رشد آن را با اشکال مواجه می‌سازند.

IrHC2019

منابع

اصغری، غ.، مستاجران، ا. و نخعی، ا. ۱۳۹۰. تاثیر نیترات نقره و سالیسیلیک اسید بر تولید تاکسول در گیاه *Taxus baccata* L.. فصلنامه گیاهان دارویی، ۸: ۷۴-۸۲.

شبانی، ل. و صغیرزاده، ب. ۱۳۹۶. بررسی پاسخ‌های دفاع آنتی‌اکسیدانی در کشت ساقه (*Artemisia annua* L.) تحت تنش نیترات نقره. مجله پژوهش‌های گیاهی (زیست شناسی ایران)، ۳۰(۱): ۷۶-۸۸.

علیرضایی، ف.، کیارستمی، خ. و حسین زاده نمین، م. ۱۳۹۶. بررسی اثر نیترات نقره بر ترکیبات و فعالیت آنتی اکسیدانی کالوس‌های حاصل از جدا کشت برگ گیاه اسطوخودوس (*Lavandula ongustifolia* Mill.). مجله زیست شناسی کاربردی، ۳۰(۱): ۱۳۷-۱۵۷.

Bates, L.S., Waldren, R.P. and Teare, I.D. 1973. Rapid determination of free proline for water-stress studies. Plant and Soil, 39(1): 205-207.

Duck, J.A. 2000. Hand Book of Medicinal Herbs. CRC Press. USA. pp: 102.

Jiravova, J., Tomankova, K.B., Harvanova, M., Malina, L., Malohlava, B., Luhova, L., Panacek, A., Manisova, B. and Kolarova, H. 2016. The effect of silver nanoparticles and silver ions on mammalian and plant cells in vitro. Food and Chemical Toxicology, 96:50-61.

Moon, J.H. and Terao, J. 1998. Antioxidant activity of caffeic acid and dihydrocaffeic acid in lard and human low-density lipoprotein. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 46(12): 5062-5065.

Mulabagal. V. and Tsay, H.S. 2004. Plant cell cultures, an alternative and efficient source for the production of biologically important secondary metabolites. International Journal of Applied Science and Engineering, 2(1): 29-48.

Sadasivam, S., and Manickam, A. 1992. Biochemical methods for agricultural sciences. Wiley Eastern Limited.

Singleton, V.L. and Rossi, J.A. 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. American Journal of Enology and Viticulture, 16(3): 144-158.

Wellburn, A.R. 1994. The spectral determination of chlorophylls and b as well as total carotenoids, using various solvents with spectrophotometers of different resolution. Journal of Plant Physiology, 144: 307-313.

The effect of silver nitrate on fresh and dry weight and some biochemical characteristics of Senna medicinal plant explants under in vitro conditions

Farahnaz Azizi[1], Mohammad Moghaddam[1*], Leila Samiei[3]

[1] Department of Horticulture Science and Landscape Engineering, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad

[2] Institute of Plant Sciences, Department of Ornamental Plant, Ferdowsi University of Mashhad

[*]*Corresponding Author: m.moghadam@um.ac.ir*

Abstract

In order to study the effect of silver nitrate on fresh and dry weight and biochemical characteristics of Senna medicinal plant explants under in vitro conditions, an experiment based on completely randomized design with five levels of silver nitrate (0, 10, 20, 40 and 60 mg/L) in ten replications was performed. The studied characteristics included fresh and dry weight, photosynthetic pigments (chlorophyll a, b, carotenoid and total chlorophyll), antioxidant activity, total phenolic, soluble carbohydrates and proline contents. The results showed that the use of silver nitrate up to 40 mg/L caused to increase photosynthetic pigments and at the level of 60 mg/L had toxicity effect and reduced these traits. The highest amount of antioxidant activity (94.20 %), total phenol (40.85 mg g^{-1}FW), soluble carbohydrates (128.73 mg g^{-1}FW) and proline content (0.08 µM pro/g DW) were observed on 60 mg/L silver nitrate. According to the results of this study, in order to accelerate the growth of the Senna explant under in vitro conditions, the use of silver nitrate up to 40 mg/L is recommended but 60 mg/L cause damage.

***Keywords*:** Antioxidant activity, Elicitor, Photosynthetic pigments, Proline content

IrHC2019