اثر منفی نانو نقره بر میزان باززایی پینه چایر و بررسی مکانیسم آن در گیاه مدل توتون

مصطفی خوشحال سرمست، حسن صالحی، محمد امین قنبری جهرمی *

دانشجوی دوره دکتری، دانشیار و دانشجوی دوره کارشناسی ارشد بخش علوم باغبانی، مرکز کشت بافت و بیوتکنولوژی گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران

چکیده

این مطالعه در راستای بررسی اثر نانو ذرات نقره در رشد پینه های چایر انجام شد. بذر های چایر پس از تیمار اسید سولفوریک 50% در محیط MS حاوی 50 میکرو مولار تنظیم کننده رشد تو فور دی و غلظت های صفر تا 160 میکروگرم در میلی لیتر نانو نقره دارای سه تکرار و هر تکرار دارای 70 عدد بذر کشت و پس از حدود 80 روز داده برداری از پینه انجام شد. به طور چشمگیری تیمار شاهد بهترین پینه را تولید نمود ولی به تدریج با افزایش غلظت نقره در محیط میزان پینه کاهش و رنگ ریز نمونه ها نسبت به شاهد تیره تر به نظر می رسید. با افزایش غلظت نانو نقره در محیط درصد تشکیل پینه در بذور از 40% به 17% کاهش یافت. بررسی های که به دنبال این آزمایش بر روی گیاه توتون با استفاده از آنالیز inductively coupled plasma (ICP) انجام شد حضور یون نقره را در برگ های این گیاه تایید نمود که به روشنی نشان می دهد که یون های نقره به سهولت از محیط کشت جذب و قابلیت انتقال به اندام های هوایی یعنی جایی که اتیلن بیشتر فعالیت می کند را دارند. به نظر می رسد که غلظت های پایین نقره برای بافت های پینه چایر مضر بوده و منجر به آسیب بافت آن می گردد. برای فهم بیشتر جلوگیری از انتقال پیام ناشی از اتیلن، سطح بیان دو ژن کلیدی تنظیمی دارای دومین هیستیدین کیناز گیرنده نقره واقع در شبکه آندوپلاسمی- ETR1 و ERS1 - با استفاده real time PCR مورد مطالعه قرار گرفت. به نظر می رسد که در این مسیر سیگنال دهی یون های نقره که به وسیله گیرنده های ویژه اتیلن دریافت می شود به شکل پیچیده ای مانع از عمل فاکتور های رونویسی روی پروموتر ژنهای کلیدی بیوسنتز اتیلن می شوند. و بالا بودن بیش از حد نقره منجر به تخریب کلی دیواره و غشا و کاهش سطح بیان ژن های درگیر در این مسیر می گردد.

مقدمه

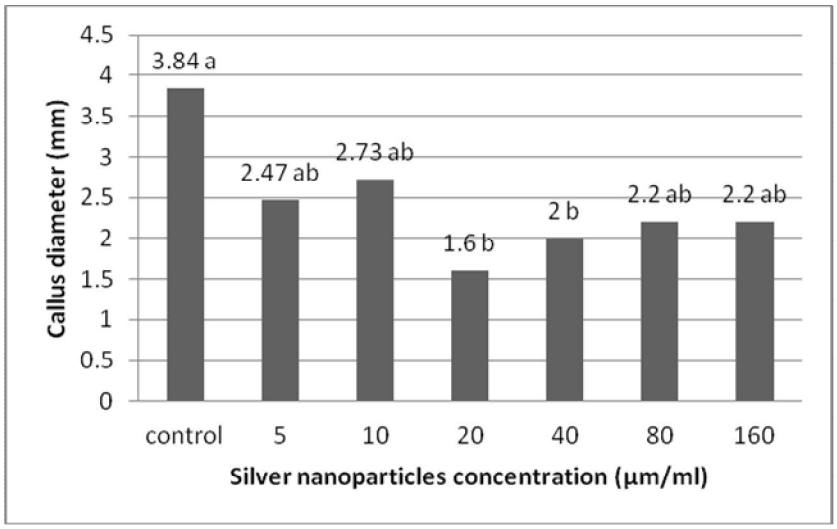
اثر مثبت نانو ذرات مانند آلومینیوم، آهن، روی، سیلیکون، نانو تیوب، و نانو نقره بر رشد و جوانه زنی بذور برخی از گیاهان در سال های اخیر آشکار شده است. اثر نانو نقره در جهت کنترل آلودگی های درون شیشه ای و همچنین رشد و باززایی برخی از گونه های چوبی و علفی به صورت محدود گزارش شده است. در برخی از پژوهش ها اثر مثبت نقره بر رشد گیاه را مربوط به کنترل آلودگی و در برخی به صورت فرضیه مربوط به اثر آن روی هورمون اتیلن میدانند. در این پژوهش اثر ننوو نقره در شرایط درون شیشه ای بر بذر و میزان تولید و باززایی پینه چایر مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش ها

بذر های چایر ابتدا برای گندزدایی با اسید سولفوریک 50% سرد به مدت نیم ساعت تیمار و سپس برای چند سعت زیر آب جاری قرار گرفتند. بذر ها شش با کلراکس کند زدایی و در محیط موراشیگی و اسگوگ دارای توفوردی و غلظت های مختلف نلنونقره کست شدند. نانو نقره پس از اتو کلاو و سرد شدن محیط به آن اضافه شد. پس از دو زیر کش میزان باززایی و رشد پینه ها مورد ارزیابی قرار گرفت.

نتایج و بحث

به طور چشمگیری تیمار شاهد بهترین پینه را تولید نمود ولی به تدریج با افزایش غلظت نقره در محیط میزان پینه کاهش و رنگ ریز نمونه ها نسبت به شاهد تیره تر به نظر می رسید. با افزایش غلظت نانو نقره در محیط درصد تشکیل پینه در بذور از 40% به 17% کاهش یافت. بررسی های که به دنبال این آزمایش بر روی گیاه توتون با استفاده از آنالیز inductively coupled plasma (ICP) انجام شد حضور یون نقره را در برگ های این گیاه تایید نمود که به روشنی نشان می دهد که یون های نقره به سهولت از محیط کشت جذب و قابلیت انتقال به اندام های هوایی یعنی جایی که اتیلن بیشتر فعالیت می کند را دارند. به نظر می رسد که غلظت های پایین نقره برای بافت های پینه چایر مضر بوده و منجر به آسیب بافت آن می گردد. برای فهم بیشتر جلوگیری از انتقال پیام ناشی از اتیلن، سطح بیان دو ژن کلیدی تنظیمی دارای دومین هیستیدین کیناز گیرنده نقره واقع در شبکه آندوپلاسمی- ETR1 و ERS1 - با استفاده real time PCR مورد مطالعه قرار گرفت. به نظر می رسد که در این مسیر سیگنال دهی یون های نقره که به وسیله گیرنده های ویژه اتیلن دریافت می شود به شکل پیچیده ای مانع از عمل فاکتور های رونویسی روی پروموتر ژنهای کلیدی بیوسنتز اتیلن می شوند. و بالا بودن بیش از حد نقره منجر به تخریب کلی دیواره و غشا و کاهش سطح بیان ژن های درگیر در این مسیر می گردد.



شکل بالا بیانگر این است که با افزایش غلظت نانو نقره از قطر پینه کاسته می شود.

The negative effects of silver nanoparticles on callus regeneration of Cynodon dactylon L. and evaluation of its mechanism in Tobacco plant

M.K. Sarmast and H. Salehi
Department of Horticultural Science, Plant Tissue Culture and Biotechnology Center, College of Agriculture, Shiraz University, Shiraz, Iran

Abstract
We conduct this research to shed light the silver nanoparticles (SNPs) negative effects on Bermudagrass callus regeneration. Bermudagrass seeds after H2SO4 (50%) treatment were cultured in MS medium supplemented with 50

µM 2, 4-D. Zero to 80 µg/ml SNP added to this medium too. Each treatment has 3 replication and 70 seed used for each replication. The control plant produce more callus than other treatment and increasing the SNP concentration, has had adverse effect on callus production and the calli color got dark in higher concentration. Increasing SNPs concentration leads to decrease callus percentage in seeds from 40% to 17%. The continuing experiments on tobacco plant by inductively coupled plasma (ICP) pave the way for more detail that silver ion can collect in tobacco leaf. This finding can lead us to give this hypothesis that ion silver can simply absorb by media and move up to the shoots where the ethylene has a high activity. For more understanding of it, the ETR1 and ERS1 gene expression-two key gene containing a histidine kinase domain - were measured using RT-PCR. It seems that the ethylene receptors that affected by silver ion, can impeded TF action on ACS promoters. And the high level of silver can cause cell wall or membrane destruction that lead to the low level of key gene expression.
Keyword: Silver nanoparticles, callus, Cynodon, gene experission