بررسی اثر Pb^{2+} بر میزان تولید سیلی بین در کشت سوسپانسیون سلولی گیاه خار مریم (*Silybum marianum*)

سمیرا رحیمی آشتیانی (۱،۲و۳) ، طاهره حسنلو (۱) و محمد رضا بی همتا (۴)

۱-بخش فیزیولوژی و پروتئومیکس، پژوهشکده بیوتکنولوژی کشاورزی ایران، کرج، ایران.۲ - دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج، کرج، ایران. ۳ - باشگاه پژوهشگران جوان، دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج، کرج، ایران.۴-گروه بیوتکنولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تهران، کرج، ایران.

چکیده

سیلی مارین یک ماده پلی فنولیک ضد هپاتوتوکسیک است که از دانه های گیاه خارمریم (*Silybum marianum*) استخراج می شود. سیلی مارین به ترکیب سه فلاونولیگنان مختلف اطلاق می شود. سیلی بین بیشترین فعالیت زیستی و ترکیب اصلی سیلی مارین هم از نظر کمی و هم از نظر کیفی و خواص دارویی می باشد. از آنجایی که پتانسیل و سرعت تولید این مواد در شرایط طبیعی بسیار محدود می باشد، از طریق کشت سلول های گیاهی به روش‌های مختلفی از جمله استفاده از تکنیک انگیزش با استفاده از محرک ها می توان میزان تولید متابولیت‌های ثانویه را افزایش داد. در این تحقیق PbNO3 با غلظت های مختلف (۰/۲، ۰/٤، ۰/۸، ۱ و ۲ میلی مولار) به عنوان محرک به منظور افزایش تولید سیلی مارین و بررسی میزان سیلی بین تولید شده در کشت سوسپانسیون سلولی گیاه خار مریم استفاده شد و نمونه برداری در ٦ زمان مختلف (۱۲، ۲٤، ٤۸، ۷۲، ۱٤٤ و ۲۱٦ ساعت) انجام شد. نتایج این پژوهش نشان داد که PbNO3 باعث افزایش ۵ برابری میزان سیلی بین نسبت به گروه شاهد، در محیط های تیمار شده با ۱ میلی مولار PbNO3 در پایان ۷۲ ساعت، شد.

مقدمه

سیلی مارین یک گروه از فلاونولیگنان هاست که شامل سیلی بین، ایزوسیلی بین، سیلی دیانین و سیلی کریستین می باشد. تحقیقات نشان داده که سیلی مارین یک ضد اکسیدان است و مهمترین کاربرد بالینی این گیاه به دلیل خصوصیت محافظت کبدی آن می باشد (۲). سیلی بین ترکیب اصلی سیلی مارین بوده و عصاره های استخراج شده از خار مریم معمولا برای دارا بودن ۸۰-۷۰ درصد سیلی بین استاندارد می شوند (۱). کشت سوسپانسیون سلولی گیاه خار مریم قادر به تولید سیلی مارین می باشد(٤). در کشت سلولی به کار گیری محرک ها یک استراتژی مهم به منظور بهبود تولید متابولیت های ثانویه می باشد (۳). این تحقیق به منظور افزایش میزان سیلی مارین گیاه خار مریم و شناسایی و بررسی میزان سیلی بین تولید شده در اثر به کار گیری $PbNO_3$ به عنوان محرک در کشت سوسپانسیون سلولی گیاه خارمریم انجام شد.

مواد و روش‌ها

در این پژوهش از کالوس های سه ماهه که از برگ های کوتیلدونی بذرهای گیاه خار مریم با منشا مجاری که از پژوهشکده گیاهان دارویی تهیه شده بودند کشت های سوسپانسیون سلولی تهیه شد و تاثیر غلظت های مختلف $PbNO_3$ (۰/۲، ۰/٤، ۰/۸، ۱ و ۲ میلی مولار) بر میزان تولید فلاونولیگنان ها با استفاده از کروماتوگرافی مایع با کار آیی بالا مورد بررسی قرار گرفت. نمونه برداری در ٦ زمان مختلف (۱۲، ۲٤، ٤۸، ۷۲، ۱٤٤ و ۲۱٦ ساعت) پس از اعمال تیمار انجام گردید. این آزمایش در

قالب آزمایش پایه فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی در سه تکرار انجام شد و داده‌های حاصل از اندازه‌گیری به وسیله نرم افزارهای کامپیوتری MSTATC، SAS.9.1 و MINITAB.15 تجزیه و تحلیل شدند.

نتایج و بحث

نتایج نشان داد که حداکثر تولید سیلی بین در محیط تیمار شده با ۱ میلی مولار $PbNO_3$ در پایان ۷۲ ساعت بود (۱/۹۵ میکروگرم بر گرم وزن خشک)،در حالیکه میزان آن در گروه شاهد در همین زمان ۰/۲ میکروگرم بر گرم وزن خشک بود. این مطالعه نشان داد که کشت سوسپانسیون سلولی گیاه خارمریم بسیار مستعد تحریک با محرک $PbNO_3$ می باشد. محرک ها منجر به افزایش سرعت تولید فلاونولیگنان ها با تاثیر بر فعالیت آنزیم های کلیدی در مسیر بیوسنتز متابولیت های ثانویه می گردند. نتایج به دست آمده از این تحقیق برای افزایش قابلیت تولید فلاونولیگنان ها از طریق کشت سوسپانسیون سلولی گیاه خار مریم در مقادیر بالا بسیار سودمند می باشد.

منابع

1- Schnfeld JV, Weisbrod B. and Muller MK. Silibinin, a plant extract with antioxidant and membrane stabilizing properties protects exocrine pancreas from cyclosporine A toxicity. *Cellular and molecular life sciences*. 1997; 53: 917-920.

2- Sonnebbichler, J.; Scaleram F.; Sonnebichler, I. and Weyhenmeyer, R. (1999). Stimulatory effects of silibinin and silichristin form the Milk thistle silybum marianuna on kidney cells. The journal of pharmacology and Exp"erimental Therapeutics. 290 (3): 1375-1383.

3- Ramachandra Rao, S. and Ravishankar, G.A. (2002). Plant cell culture: Chemical factories of secondary metabolites. Biotechnology advances. 20: 101-153".

4- Tumova, L.; Gallova, K. and Rimakova, J. (2004). *Silybum marianum*. In vitro. Ceska slov farm., 53(3): 135-40.