نهمین کنفرانس ملی و اولین کنفرانس بین‌المللی فیزیولوژی گیاهی
9th National and 1st International Conference of Plant Physiology
۱۳-۱۱ بهمن ۱۴۰۴، دانشگاه گیلان

تأثیر محرک‌های زیستی و نیترات‌نقره بر ترکیبات بیوشیمیایی و محتوای سیلیمارین در بذر خارمریم (*Silybum marianum*)

الهام امجدی[۱]، **علی گنجعلی**[۱]*
۱ گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران.

چکیده

این پژوهش با هدف بررسی اثر محرک‌های زیستی شامل باکتری *Pseudomonas putida*، مخمر *Yarrowia lipolytica*، قارچ *Aspergillus niger* و محرک $AgNO_3$ بر سنتز ترکیبات فنلی و سیلیمارین و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی در دو جمعیت خارمریم (*Silybum marianum*) گرگان و اردبیل با پتانسیل تولید سیلی‌بین A + B به ترتیب بالا و پایین انجام شد. نتایج نشان داد محرک مخمر در دو جمعیت مورد نظر سبب افزایش محتوای فنل، فلاوونوئید و اسید فنلی و کاهش مقدار IC_{50} شد و از حیث افزایش محتوای سیلیمارین در رتبه دوم بود. ظاهرا مخمر با تولید اسیدسیتریک و مصرف اسیدآمینه تیروزین، محرک تولید و تجمع ترکیبات فنلی و افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی است.

مقدمه

ترکیبات فلاوونولیگنانی نظیر سیلیمارین در گیاه خارمریم به‌عنوان آنتی‌اکسیدان قوی، جذب و خنثی‌سازی رادیکال‌های آزاد را در شرایط تنش به‌عهده دارند (Zhang *et al.*, 2022) که شامل سیلی‌بین A و B، ایزوسیلی‌بین‌ها، سیلی‌دیانین، سیلی‌کریستین و تاکسی‌فولین می‌باشد و با تحریک DNA پلیمراز و افزایش سنتز RNA و پروتئین، پایداری غشای کبد را سبب می‌شوند (Bijak, 2017).

محرک‌های زیستی مانند ترکیبات قارچی و باکتریایی و عوامل غیرزیستی نظیر یون‌های فلزی، واکنش‌های دفاعی را افزایش می‌دهند (Hasanloo *et al.*, 2015) که با اتصال به گیرنده غشایی، افزایش کلسیم و فعال شدن مسیر MAPK موجب تحریک رونویسی، ترجمه، تولید آنزیم‌ها و متابولیت‌های ثانویه می‌شوند (Humbal and Pathak, 2023). با توجه به اهمیت درمانی خارمریم امکان القای تولید متابولیت‌های ثانویه دارویی با به کارگیری ریزجانداران همراه با $AgNO_3$ به‌عنوان محرک غیرزیستی مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

گیاهچه بذر دو جمعیت خارمریم گرگان و اردبیل به ترتیب با پتاسیل بالا و پایین تولید سیلی بین A و B (Amjadi *et al.*, 2025) در گلخانه تحقیقاتی دانشکده علوم دانشگاه فردوسی مشهد کاشته شد. باکتری و مخمر با غلظت نیم مک‌فارلند (Simpson *et al.*, 2014) و قارچ به تعداد $۲/۱ \times ۱۰^{۷}$ spores ml^{-1} (Medina *et al.*, 2010) به ریشه هر گیاه اضافه شد. اسپری محلول نیترات‌نقره با غلظت ۱۰۰ppm به برگ‌های گیاه در دو مرحله رشد رویشی و زایشی انجام شد.

سنجش محتوای فنل کل به روش فولین–سیوکالتئو (Velioglu *et al.*, 1998)، فلاوونوئید کل با بهره‌مندی از روش رنگ‌سنجی کلریدآلومینیوم (Chang *et al.*, 2002)، اسید فنلی با استفاده از معرف آرنو (Matkowski *et al.*, 2008) و فعالیت آنتی‌اکسیدانی به‌روش DPPH بررسی شد (Akowuah *et al.*, 2005). جهت سنجش سیلیمارین به‌وسیله HPLC از عصاره استونی بذر چربی‌زدایی‌شده در طول موج ۲۸۸ نانومتر استفاده شد (Wen *et al.*, 2008).

نتایج و بحث

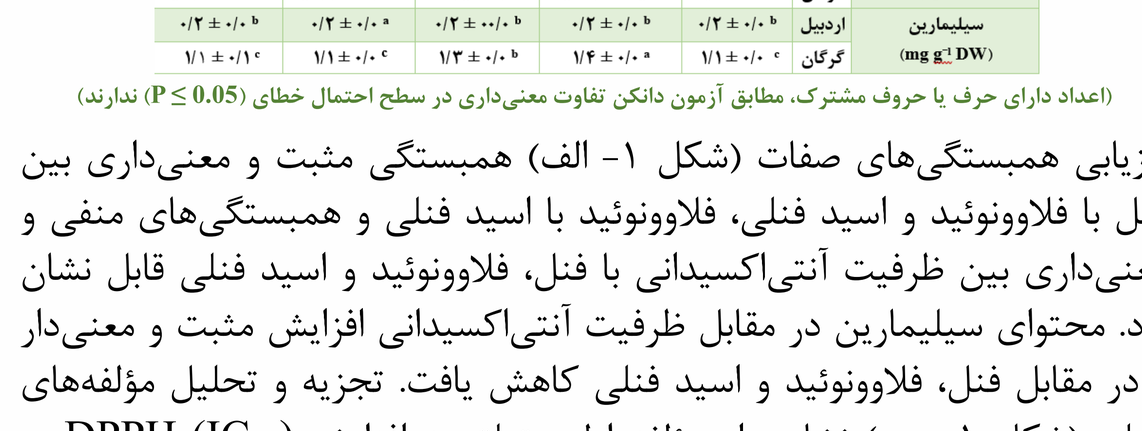
در دو جمعیت مورد بررسی محرک مخمر سبب افزایش محتوای ترکیبات فنلی، سیلیمارین و ظرفیت آنتی اکسیدانی نسبت به شاهد شد که احتمالا مخمر با اتصال به گیرنده و تحریک فعالیت H^{+}- ATPase به اسیدی شدن سیتوپلاسم، افزایش ROS و نهایتا بیش بیان ژن متابولیت‌های ثانویه ختم می‌شود. همچنین اسیدی شدن سیتوپلاسم به فعال شدن آنزیم PAL و مسیر فنیل‌پروپانوئید و افزایش سنتز سیلیمارین ختم می شود (Humbal and Pathak, 2023).

جدول ۱ - میانگین محتوای ترکیبات فنلی، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و سیلیمارین بذر دو جمعیت

	جمعیت	شاهد	باکتری سودوموناس پوتیدا	مخمر یاروویالیپولیتیکا	قارچ آسپرژیلوس نایجر	نیترات نقره
فنل کل (mg GA g^{-1} DW)	اردبیل	۲/۳ ± ۰/۱ c	۱۶/۸ ± ۰/۳ d	۲۶/۸ ± ۰/۵ a	۲۳/۲ ± ۰/۳ b	۱۵/۴ ± ۰/۰ e
	گرگان	۱/۹ ± ۰/۲ a	۹/۸ ± ۰/۱ b	۱۲/۹ ± ۰/۳ a	۱۰/۲۹ ± ۰/۳ a	۹/۶ ± ۰/۴ b
فلاوونوئید کل (mg QE g^{-1} DW)	اردبیل	۳/۳ ± ۰/۱ b	۲/۵ ± ۰/۱ d	۳/۷ ± ۰/۶ a	۲/۹ ± ۰/۰ c	۱/۳ ± ۰/۱ e
	گرگان	۲/۲ ± ۰/۲ c	۱/ ۹ ± ۰/۰ c	۳/۴ ± ۰/۱ a	۱/۹ ± ۰/۰ c	۲/۸ ± ۰/۳ b
اسید فنلی (mg CAE g^{-1} DW)	اردبیل	۴/۶ ± ۰/۲ b	۳/۵ ± ۰/۰ c d	۵/۵ ± ۰/۴ a	۳/۷ ± ۰/۲ c	۳/۱ ± ۰/۰ d
	گرگان	۳/۹ ± ۰/۳ b	۳/۲ ± ۰/۱ b	۵/۳ ± ۰/۴ a	۳/۳ ± ۰/۰ b	۳/۴ ± ۰/۴ b
ظرفیت آنتی اکسیدانی (µg /ml)	اردبیل	۳۲/۲ ± ۰/۴ c	۴۶/۴ ± ۰/۲ a	۲۷/۶ ± ۰/۶ d	۴۱/۷ ± ۱/۱ a	۳۷/۶ ± ۱/۲ b
	گرگان	۷۱/۸ ± ۰/۸ a	۵۸/۴ ± ۰/۵ b	۳۷/۵ ± ۰/۱ d	۵۴/۳ ± ۰/۳ c	۵۸/۲ ± ۰/۳ b
سیلیمارین (mg g^{-1} DW)	اردبیل	۰/۲ ± ۰/۰ b	۰/۲ ± ۰/۰ b	۰/۲ ± ۰۰/۰ b	۰/۲ ± ۰/۰ a	۰/۲ ± ۰/۰ b
	گرگان	۱/۱ ± ۰/۰ c	۱/۴ ± ۰/۰ a	۱/۳ ± ۰/۰ b	۱/۱ ± ۰/۰ c	۱/۱ ± ۰/۱ c

(اعداد دارای حرف یا حروف مشترک، مطابق آزمون دانکن تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال خطای ($P \leq 0.05$) ندارند)

ارزیابی همبستگی‌های صفات (شکل ۱- الف) همبستگی مثبت و معنی‌داری بین فنل با فلاوونوئید و اسید فنلی، فلاوونوئید با اسید فنلی و همبستگی‌های منفی و معنی‌داری بین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی با فنل، فلاوونوئید و اسید فنلی قابل نشان داد. محتوای سیلیمارین در مقابل ظرفیت آنتی‌اکسیدانی افزایش مثبت و معنی‌دار و در مقابل فنل، فلاوونوئید و اسید فنلی کاهش یافت. تجزیه و تحلیل مؤلفه‌های اصلی (شکل ۱- ب) نشان داد مؤلفه اول متعلق به افزایش DPPH (IC_{50}) و کاهش محتوای ترکیبات فنلی است که بیانگر نیاز عصاره بیشتر جهت حذف رادیکال‌های آزاد است. مؤلفه دوم به محتوای ترکیب فنل کل و DPPH (IC_{50}) تعلق دارد که موئد همبستگی منفی و معنی‌داری محتوای ترکیبات فنلی با ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و همبستگی مثبت ظرفیت آنتی‌اکسیدانی با سیلیمارین است. ظاهرا حضور کلیه اجزای فلاوونولیگنانی تشکیل دهنده سیلیمارین اثر هم‌افزایی بر ظرفیت آنتی‌اکسیدانی دارد (Drouet *et al.*, 2018).



الف ب

شکل ۱- الف) نقشه حرارتی ضریب همبستگی پیرسون بین محتوای ترکیبات فنلی و سلیمارین در بذر گیاه خارمریم. ب) تجزیه و تحلیل مؤلفه‌های اصلی (PCA) بر اساس ماتریس کوواریانس

منابع

Bodakowska-Boczniewicz, J., and Garncarek, Z. (2022). Naringinase Biosynthesis by *Aspergillus niger* on an Optimized Medium Containing Red Grapefruit Albedo. Molecules 27. https://doi.org/10.3390/molecules27248763