ژنتیک نوین
دوره سیزدهم، شماره ٤، زمستان ۱۳۹۷
صفحه ٥٤٩ - ٥٤٣

بررسی اثر محرک زیستی و غیر زیستی بر بیان ژن *Hyp-1* در گل راعی

Investigating The Effect of Biological and non-Biological Elicitor on Expression of *Hyp-1* Gene in *Hypericum perforatum*

زهرا بابائی*[۱]، محمود سلوکی[۲]، بهمن فاضلی‌نسب[۳]

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه گیاهان دارویی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل
۲-دانشیار، گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل
۳- مربی، گروه پژوهشی زراعت و اصلاح نباتات، دانشگاه زابل

Babaei Z*[1], Solouki M[2], Fazeli-Nasab B[3]

1- MSc Student, Department of medicinal Plants, Faculty of Agriculture, University of Zabol
2- Associate Professor, Department of Plant Breeding and Biotechnology, Faculty of Agriculture, university of Zabol
3- Instructor, Research Department of Agronomy and Plant Breeding, University of Zabol

* نویسنده مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: z.babaei1992@gmail.com

(تاریخ دریافت: ۹٦/۸/۲۰ - تاریخ پذیرش: ۹۷/۱۲/۱۵)

چکیده

گل راعی از خانواده هیپریکاسه، دارای خواص متعدد دارویی نظیر ضدافسردگی، ضد باکتریایی، ضدویروسی و ضد توموری است؛ اما بیشترین تأثیر آن در درمان افسردگی گزارش شده که این فعالیت عمدتاً به ترکیبات فنلی هایپرفورین و هایپرسین نسبت داده شده‌است. هدف از تحقیق حاضر ارزیابی اثر کیتوزان (صفر، ۵۰، ۱۰۰ و ppm ۲۰۰) و نانو ذرات نقره (صفر، ۳۰، ٦۰ و ppm ۹۰) بر بیان هایپرسین (ژن *Hyp-1*) بود که بدین منظور آزمایشی بر اساس روش Real Time PCR به‌صورت فاکتوریل در قالب کاملاً تصادفی با سه تکرار در دو بازه زمانی ٤۸ و ۷۲ ساعته انجام شد. نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان داد که اثر متقابل نانو ذرات نقره و کیتوزان در بازه زمانی مختلف بر بیان ژن هایپرسین معنی‌دار بوده ($P<0.01$) به‌طوری‌که بیش‌ترین میزان بیان ژن *Hyp-1* حاصل از سطح ppm ۵۰ کیتوزان و صفر ppm نانو ذرات نقره در بازه زمانی ٤۸ ساعت بود. در کل نتایج این تحقیق نشان داد که نانو ذرات نقره اثر منفی بر بیان ژن *Hyp-1* داشته و با افزایش غلظت نانو ذرات نقره بیان ژن *Hyp-1* کم شده اما کیتوزان اثر مثبتی بر بیان ژن *Hyp-1* داشته ولی با افزایش غلظت تا سطح ppm ۲۰۰ نیز از میزان بیان ژن کاسته شد.

واژه‌های کلیدی

افسردگی
کیتوزان
نانو ذرات نقره
هایپرسین

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2026-01-08]

[DOR: 20.1001.1.20084439.1397.13.4.9.2]

مقدمه

گل راعی (*Hypericum perforatum L.*) متعلق به تیره کلازیاسه (Hazler Pilepic et al. 2008)، بومی اروپا، آسیا و شمال آفریقاست که در ایران در نواحی شمال، شمال شرق، شمال غرب و غرب و هم‌چنین در استان‌های فارس، کهکیلویه و دامنه کوه‌های البرز می‌روید (Barnes et al. 2018). این گیاه حاوی دامنه‌ی وسیعی از متابولیت‌های ثانویه همچون فلاونوئیدها، پروانتوسیانیدین‌ها، نفتودیانترون‌ها (هایپریسین و سودوهایپریسین)، آسیل فلوروگلوسینول‌ها (هایپرفورین و ادهایپرفورین) است (Glisic et al. 2006) که خواص درمانی زیادی چون کم‌کاری تیروئید، ضدالتهابی، ضدویروسی، آنتی‌اکسیدان، ضد تومور و ضد باکتری را دارد (Caraci et al. 2011) اما بیش‌ترین تأثیر و کاربرد آن تاکنون در درمان افسردگی گزارش شده‌است (Glisic et al. 2006).

هرچند درک ضعیفی از مسیرهایی ساخت هایپرفورین و هایپرسین وجود دارد اما هر دو گروه این ترکیب از طریق مسیر پلی کیتید سنتتاز (PKSS) ساخته می‌شوند که نقش آنزیم نیز دارد. به‌احتمال‌زیاد شروع ساخت هایپرفورین و هایپرسین با جمع شدن یک مولکول از استیل کو آنزیم آ (CoA) با ۷ مولکول مالونیل-کوآ (malonyl-CoA) و به شکل خطی اکتا کیتید زنجیره‌ای است که تحت cyclization خاص به شکل آمودین آنترون می‌شود (Michalska et al. 2010). این واکنش توسط III PKS با فعالیت اکتاکیتید (OKS) انجام شده و امودین آنترون نیز به امودین اکسید شده که احتمالاً توسط فعالیت امودین آنترون اکسیژناز صورت می‌گیرد (Karioti and Bilia 2010). تراکم آمودین آنترون و به دنبال آن کاهش آب که پس از آن اکسیداسیون فنلی است منجر به شکل‌گیری پروتوهایپرسین می‌شود (Zobayed et al. 2006). همه این واکنش‌ها توسط یک جفت پروتئین فنلی به نام *Hyp-1* کاتالیز می‌شود (Michalska et al. 2010).

در میان روش‌های زیادی که به‌منظور افزایش تولید مواد مؤثره گیاهان استفاده می‌شود، موادی ازجمله کیتوزان، جاسمونیک اسید، نانو ذرات نقره، تیتانیوم و غیره به شکل محرک که ترکیباتی با منشأ زیستی یا غیر زیستی هستند که با القای سامانه‌ی دفاعی باعث بیوسنتز و انباشت متابولیت‌های ثانویه می‌شود (Zhao et al. 2005).

کیتوزان (پلی ساکارید پلی کاتیونی)، به‌عنوان یکی از محرک‌های زیستی کارآمد، جهت بهبود بخشیدن تولید متابولیت‌های ثانویه در گیاهان دارویی اثبات شده‌است (Cheng et al. 2006). از موارد دیگری که به‌تازگی به‌عنوان محرک استفاده می‌شود، نانو ذرات هستند و ازآنجاکه نانو ذرات قادر به تحریک مکانیسم دفاعی در سلول و تولید متابولیت‌های ثانویه هستند نتایج قابل‌توجهی را می‌توان انتظار داشت (Bondarian et al. 2013).

در تحقیقی بیان ژن‌های *PAL*، *CAD*، *CCR* و *PLR* تحت تاثیر کیتوزان بررسی و مشخص شده بود که تا ۷۲ ساعت بعد از اعمال تیمار افزایش اما در ۱۲۰ ساعت بعد از اعمال تیمار کاهش یافته‌اند (Esmaeilzadeh Bahabadi and Sharifi 2013)؛ هم‌چنین کاهش بیان ژن‌های *DBR* و *SQS* در ٤٨ ساعت بعد از اعمال تیمار و افزایش بیان ژن *SQS* در ۸ ساعت بعد از اعمال تیمار گزارش شده‌است (Ghassemi et al. 2015). افزایش ٤ برابری بیان ژن *DBOX* در ٤٨ ساعت پس از اعمال محرک نانو ذرات نقره، کاهش بیان در ۷۲ ساعت پس از اعمال تیمار و نهایت عدم تاثیر معنی‌دار بر بیان در ١٦٨ ساعت بعد از اعمال تیمار نیز گزارش شده‌است (Khodayari et al. 2015a).

با توجه به اینکه تاکنون گزارشی مبنی بر تاثیر نانوذرات نقره و کیتوزان بر بیان ژن *Hyp-1* در گل راعی ذکر نشده و از طرفی نیز به‌علت اهمیت گل راعی به عنوان یک گیاه دارویی در درمان بسیاری از بیماری‌ها از جمله افسردگی (بر اثر وجود هایپرسین) و نهایت مؤثر بودن ژن *Hyp-1* در مسیر بیوسنتزی هایپرسین لذا در این تحقیق سعی شد تا میزان بیان ژن *Hyp-1* توسط کیتوزان و نانوذرات نقره مورد ارزیابی قرار گیرد.

بذرهای گل راعی (*Hypericum perforatum L.*) از بانک ژن تهیه و سپس در آزمایشگاه گیاه‌شناسی دانشگاه زابل تعیین گونه شد. بذور به مدت یک ماه (جهت شکستن خواب بذر) در فریز ۲۰- نگه‌داری شد، پس از شست و شوی سطحی بذرها با هیپوکلراید سدیم ۱ درصد با آب مقطر آبکشی و در بستر کشت (شامل: پرلیت، کوکو پیت، پیت ماس:۱:۱:۱) اتوکلاو شده در لیوان‌های پلاستیکی و در شرایط گلخانه‌ای کشت شدند.

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2026-01-08]

[DOR: 20.1001.1.20084439.1397.13.4.9.2]

این آزمایش به‌صورت فاکتوریل ۳ عاملی در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی با سه تکرار اجرا شد. فاکتور اول شامل: کیتوزان (صفر، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ppm)، فاکتور دوم نانو ذرات نقره (صفر، ۳۰، ۶۰ و ۹۰ppm) و فاکتور سوم زمان (۴۸ و ۷۲ ساعته) بود که در مرحله‌ی ٤ برگی گیاه‌چه‌ها (پس از اسپری کردن برگ‌ها با آب مقطر به‌منظور زدودن گرد و غبار) اعمال تیمار شدند.

در این پژوهش از آغازگرهای اختصاصی ژن *HpPR10.1* به‌همراه ژن خانه‌دار ۱۸s استفاده شد. طراحی این آغازگر (جدول ۱) بر اساس انتهای ´۳ به کمک داده‌های موجود در سایت NCBI (National Center for Biotechnology Information) و همچنین نرم‌افزار Primer Premier 5 انجام شد استخراج RNA کل با استفاده از کیت کیاژن (شرکت Qiagen، آلمان) انجام و برای حذف DNA ژنومی نیز از کیت DNase (شرکت Extragene، تایوان) استفاده شد. کمیت RNA استخراج شده در دستگاه نانودراپ (مدل VDC٢٤، شرکت Analytik jena AG، انگستان) و کیفیت آن با استفاده از ژل آگاروز یک درصد تعیین شد. مشاهده‌ی باندهای RNA ریبوزومی 18s و 28s به‌طور مشخص (Wieczorek et al. 2012) نشان‌دهنده‌ی کیفیت مناسب RNA استخراج‌شده در تحقیق حاضر بود (شکل ۱). سپس از RNA تیمار شده با Dnase برای ساخت cDNA استفاده شد. ضمنا در واکنش PCR بجای استفاده از cDNA از RNA به‌عنوان الگو (جهت انجام آزمایش کنترل منفی) استفاده شد.

بیان ژن با روش Real Time PCR و با استفاده از کیت EvaGreen (شرکت Solis BioDyne) و آغازگرهای مربوطه در دستگاه Real Time PCR (مدل Rotor-Gene 3000، شرکت Corbett Research، استرالیا) انجام شد.

مخلوط واکنش PCR برای هر نمونه با حجم نهایی ۲۰ میکرو لیتر شامل ٤ میکرولیتر مخلوط EvaGreen، ۲ میکرولیتر آغازگر (یک میکرولیتر به ازای هر کدام از آغازگرهای رفت و برگشت)، ١٤ میکرولیتر آغازگر دوبار تقطیر و ۱ میکرولیتر نمونه cDNA بود. واکنش RT-PCR با چرخه دمایی شامل یک چرخه مرحله واسرشته‌سازی اولیه در دمای ۹۵°C به مدت ۱۵ دقیقه و ٤۰ چرخه (مرحله‌ی واسرشته‌سازی، در دمای ۹۵°C به مدت ۲۰ ثانیه، مرحله‌ی اتصال در دمای ٦١°C به مدت ۲۰ ثانیه و مرحله‌ی طویل شدن در دمای °C ۷۲ به مدت ۲۰ ثانیه) انجام شد. منحنی ذوب نیز با افزایش دما از °C ۵۵ تا °C ۹۹، هر پنج ثانیه یک درجه بود. تمامی واکنش‌های PCR در سه تکرار انجام شد. میزان بیان ژن مورد مطالعه با استفاده از فرمول $2^{-\Delta\Delta CT}$ (Livak and Schmittgen 2001) محاسبه شد. در نهایت داده‌های حاصله با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS 9.1 مورد تجزیه قرار گرفت و مقایسه میانگین داده‌ها نیز در سطح احتمال پنج درصد با استفاده از آزمون چند دامنه دانکن ارزیابی شد.

ΔΔCt=(ΔCt نمونه آزمایشی – ΔCt نمونه کنترل)

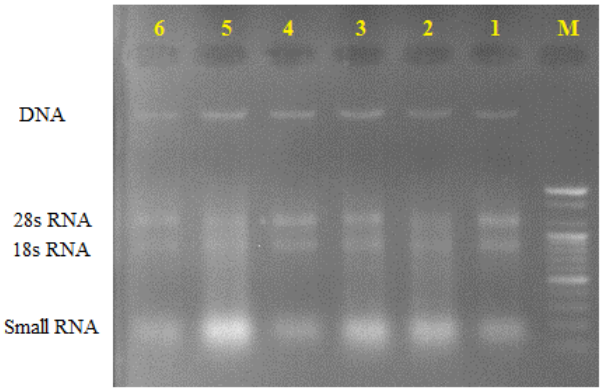
ΔCt=(ΔCt ژن هدف – ΔCt ژن خانه‌دار)

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثرات اصلی کیتوزان، نانو ذرات نقره، زمان، اثرات متقابل دوگانه و سه‌گانه بر بیان ژن *Hyp-1* در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شدند($P<0.05$). بیش‌ترین میزان بیان ژن در غلظت ppm ۵۰ از کیتوزان مشاهده شد. تأثیر محلول کیتوزان بر بیان ژن مذکور تا غلظت ppm ۲۰۰ نسبت به شاهد سیر صعودی داشت، اما با افزایش غلظت کیتوزان بیان ژن *Hyp-1* سیر نزولی داشته است (شکل ۲A).

جدول ۱- مشخصات آغازگرهای مورد استفاده در این تحقیق

ژن	پرایمر (´5→´3)	طول قطعه تکثیری	دمای اتصال	رفرنس و یا کد دسترسی به ژن در NCBI
Hyp-1	CAGGCTGTTTAAGGCATTGGTC(Forward) GGGATGTCCATCAACGAAAGTG(Reverse)	142	61	KU565780
18s rRNA	AAACGGCTACCACATCCAAG(forward) CAACCCAAAGTCCAACTACG(reverse)	247	59	(Karppinen & Hohtola 2008)

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2026-01-08]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1397.13.4.9.2]

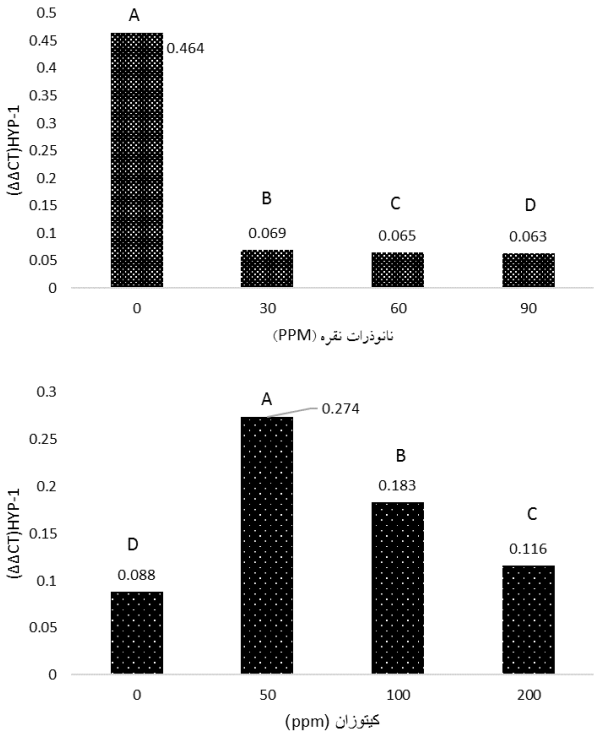


شکل ۱- کمیت و کیفیت RNA استخراج‌شده از گل راعی

اثر اصلی نانو ذرات نقره نیز بر بیان ژن *Hyp-1* موثر و با افزایش غلظت نانوذرات نقره بیان ژن نسبت به شاهد کاهش پیدا کرده و سیر نزولی داشته است (شکل ۲B). اثر زمان‌بر بیان ژن معنی‌دار و مشخص شد که هر چه مدت زمان تماس تیمارها (کیتوزان و نانو ذرات نقره) با نمونه‌ها افزایش یافته از میزان بیان ژن کاسته شده است به‌گونه‌ای که در بازه‌ی زمانی ٤٨ ساعت بیان ژن بیش‌تری نسبت به بازه‌ی زمانی ٧٢ ساعت مشاهده شد.

اثرات متقابل کیتوزان و نانو ذرات نقره و همچنین زمان اعمال تیمار بر بیان ژن *Hyp-1* موثر و مشخص شد که بیش‌ترین میزان بیان در تیمار کیتوزان (٥٠ppm)، نانوذرات نقره (صفر ppm) و زمان (٤٨ ساعته) به‌دست آمد (جدول ٢). در کل مشخص شد که نانوذرات نقره چه در قالب اثر ساده و چه در حالت اثر متقابل تاثیر مثبتی بر بیان ژن *Hyp-1* نداشته هر چند اثر ساده آن نیز منفی بوده است که به‌نظر می‌رسد سمیت نانو ذرات عامل منفی شدن اثر ان در بیان ژن *Hyp-1* است. اثر اصلی نانو ذرات نقره نیز بر بیان ژن *Hyp-1* موثر و با افزایش غلظت نانوذرات نقره بیان ژن نسبت به شاهد کاهش پیدا کرده و سیر نزولی داشته است (شکل ۲B). اثر زمان بر بیان ژن معنی‌دار و مشخص شد که هر چه مدت زمان تماس تیمارها (کیتوزان و نانو ذرات نقره) با نمونه‌ها افزایش یافته از میزان بیان ژن کاسته شده‌است به‌گونه‌ای که در بازه‌ی زمانی ٤٨ ساعت بیان ژن بیشتری نسبت به بازه‌ی زمانی ٧٢ ساعت مشاهده شد.

اثرات متقابل کیتوزان و نانو ذرات نقره و همچنین زمان اعمال تیمار بر بیان ژن *Hyp-1* مؤثر و مشخص شد که بیش‌ترین میزان بیان در تیمار کیتوزان (٥٠ppm)، نانوذرات نقره (صفر ppm) و زمان (٤٨ ساعته) به‌دست آمد (جدول ٢). در کل مشخص شد که نانوذرات نقره چه در قالب اثر ساده و چه در حالت اثر متقابل تاثیر مثبتی بر بیان ژن *Hyp-1* نداشته هر چند اثر ساده آن نیز منفی بوده است که به‌نظر می‌رسد سمیت نانو ذرات عامل منفی شدن اثر ان در بیان ژن *Hyp-1* است.



شکل ۲- اثر غلظت‌های مختلف کیتوزان و نانو ذرات نقره بر میزان بیان ژن نسبی *Hyp-1* در گل راعی. حروف مشترک نشان‌دهنده عدم اختلاف معنی‌دار است.

تاکنون پژوهش‌های زیادی در رابطه با تأثیر محرک‌ها بر بیان ژن‌های مختلف صورت گرفته است، در این پژوهش نمونه‌های تیمار شده با کیتوزان، بیش‌ترین میزان بیان ژن را نشان دادند که این امر برگرفته از تأثیر مثبت کیتوزان در جهت افزایش تولید متابولیت‌های ثانوی است (Tahsili et al. 2016).

Esmaeilzadeh Bahabadi and Sharifi (2013) با بررسی بیان ژن *PLR*، *CCR*، *CAD* و *PAL* اظهار داشتند که بیان این ژن‌ها تحت تأثیر کیتوزان، افزایش یافته است.

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2026-01-08]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1397.13.4.9.2]

جدول ۲- مقایسه میانگین کیتوزان و نانوذرات نقره بر بیان ژن *Hyp-1* گل راعی در دو بازه زمانی ٤٨ و ٧٢ ساعته

منابع تغییر		بازه زمانی	
کیتوزان	نانو ذرات نقره	٤٨ ساعته	٧٢ ساعته
0	0	0.63k	0.64k
	30	0.199i	0.007qrs
	60	0.162j	0.006qrs
	90	0.202i	0.003s
50	0	0.751a	0.628d
	30	0.243h	0.036l
	60	0.27g	0.012pqrs
	90	0.24h	0.016opq
100	0	0.714b	0.654c
	30	0.025mno	0.012pqrs
	60	0.02nop	0.015opqr
	90	0.19nop	0.004rs
200	0	0.31f	0.529e
	30	0.029lmn	0.004rs
	60	0.034lm	0.004s
	90	0.015opqr	0.005rs

حروف مشترک نشان‌دهنده عدم اختلاف معنی‌دار است.

Xool-Tamayo et al. (2017) با استفاده از کیتوزان میزان سنگوئینارین را در خشخاش به دو برابر افزایش دادند. بررسی‌ها نشان داده‌است که غلظت محرک نیز نقش مهمی در فرآیند تحریک داشته و بر شدت پاسخ مؤثر است (Trontin et al. 2016) به طوری‌که در تحقیق حاضر نیز بیشترین میزان بیان ژن *Hyp-1* در غلظت ٥٠ppm از کیتوزان دیده شد و با افزایش غلظت نیز بیان کاهش پیدا کرده و از طرفی نیز تاثیر نانوذرات نقره بر بیان ژن *Hyp-1* سیری نزولی داشته است.

به‌نظر می‌رسد علاوه بر غلظت محرک، مدت‌زمان قرارگیری در معرض محرک نیز بر بیان ژن مؤثر است (Trontin et al. 2016)، به طوری‌که در تحقیق حاضر نیز میزان بیان ژن *Hyp-1* در بازه‌ی ٤٨ ساعت بیش از بازه‌ی زمانی ٧٢ ساعت بود که این کاهش روند بیان ژن توسط Esmaeilzadeh Bahabadi and Sharifi (2013) نیز تایید شده‌است.

در تحقیق حاضر نانوذرات نقره تاثر کاهشی بر بیان ژن *Hyp-1* داشته و با افزایش زمان و غلظت نانو ذرات نقره، روند کاهشی بیان ژن به شکل شدیدتری آشکار شده‌است. در تحقیقی (Khodayari et al. 2015b) تأثیر بازه‌ی زمانی و اعمال نانو ذرات نقره در بیان تعدادی از ژن‌های گیاه پاپاور بررسی و اظهار داشته‌اند که تمام ژن‌های مورد مطالعه بیش‌ترین تغییرات بیانی را در ساعت‌های اولیه پس از تیمار با نانو محرک‌ها نشان داده و پس از گذشت زمان، بیان آن‌ها به‌طور معنی‌داری کاهش یافته است. به‌نظر می‌رسد می‌توان از نانو محرک‌ها برای افزایش بیان ژن‌های مؤثر در مسیر بیوسنتزی استفاده کرد اما باید به این نکته توجه داشت که از مدت‌زمان بهینه محرک استفاده کرد، زیرا وجود مستمر محرک خود باعث کاهش ژن‌های مطلوب مورد نظر شده (Khoshnodi et al. 2013; Khodayari et al. 2015b)؛ و از آنجایی‌که متابولیت‌های تولیدشده عمدتاً در واکنش‌های دفاعی سلول تولید می‌شوند، افزایش آن‌ها منجر به یک سری تغییرات سلولی، واکنش‌های فوق حساسیت و در نهایت مرگ سلولی می‌شود (Khodayari et al. 2015b).

Nair et al. (2010) معتقدند که در مطالعات بیان ژن، خصوصیات نانو ذرات، غلظت آن و بافت مورد استفاده بسیار حائز اهمیت‌اند، به‌دلیل اینکه اطلاعات زیادی از موارد استفاده‌ی نانو ذرات و اثرات آن‌ها بر گیاهان در دسترس نیست لذا تصمیم‌گیری در مورد عملکرد آن‌ها در سلول‌های گیاهی نیازمند مطالعات بیشتری در این زمینه است.

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2026-01-08]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1397.13.4.9.2]

به‌نظر می‌رسد نانوذرات نقره بسته به نوع اندازه می‌توانند به دیواره سلولی، حتی غشای پلاسمایی نفوذ کنند (Manios et al. 2003) البته مکانیسم عمل ذرات نانو نقره در میکروارگانیسم‌ها هنوز به‌روشنی مشخص نشده ولی پیشنهاد شده‌است که ذرات نانو نقره می‌تواند به آهستگی یون‌های نقره (Ag^+) را رها کنند و Ag^+ می‌تواند ساختار سلولی میکروارگانیسم‌ها را از بین ببرد (Lubick 2008). محققان نشان دادند که Ag^+ از طریق تولید گونه‌های فعال اکسیژن بر فسفولیپیدها اثر گذاشته و باعث پر اکسیداسیون آن‌ها شده و غشا سلولی میکروارگانیسم‌ها را تخریب می‌کند. ازین گذشته Ag^+ ممکن است با سولفورو در گروه‌های SH– غشا سلولی میکروارگانیسم‌ها جانشین شود و آن‌ها را تخریب کند (Dibrov et al. 2002).

استفاده از راهکار افزایش بیان توسط نانو الیسیتورها باید با احتیاط بیشتری صورت گیرد زیرا پس از گذشت زمان و حضور مداوم الیسیتور خود موجب کاهش بیان ژن‌های مطلوب ما خواهد شد (Khodayari et al. 2015b). به این دلیل که با کاهش اندازه‌ی ذرات نانو اثر بخشی آن‌ها افزایش یافته و بر سمیت نانو ذرات نقره افزوده می‌شود (Khoshnodi et al. 2013). ازآنجایی‌که تمامی نمونه‌های تحت تیمار نانوذره نقره، بیان ژن منفی را نشان دادند، به‌نظر می‌رسد که این موضوع را می‌توان با اثر سمیت نانو ذرات بر شاخص میتوزی و ژنومی مرتبط دانست (Castiglione et al. 2011).

در کل نتایج این تحقیق نشان داد که استفاده از نانو محرک نقره منجر به کاهش بیان ژن *Hyp-1* شده است اما استفاده از محرک زیستی کیتوزان بر بیان ژن *Hyp-1* مؤثر بوده و سبب افزایش بیان این ژن شده‌است اما بیش‌ترین میزان بیان ژن در غلظت ppm ۵۰ از کیتوزان و صفر ppm از نانو ذرات نقره و در بازه‌ی ٤٨ زمانی ساعت بوده است که نشان‌دهنده‌ی تأثیر معنی‌دار غلظت محرک و مدت‌زمان تماس آن با بافت گیاهی است.

منابع

Barnes J, Barber N, Wheatley D, Sharpe D, Williamson E (2018) A prospective, open, uncontrolled study of a standardised extract of St John's wort (*Hypericum perforatum*) as an aid in smoking cessation. Stroke 13: 57-68.

Bondarian F, Torabi S, Omidi M, Bahreini M (2013) Study of callus induction and regeneration of *Papaver somniferum* L. Current Opinion in Biotechnology 24: S28-S41.

Caraci F, Crupi R, Drago F, Spina E (2011) Metabolic drug interactions between antidepressants and anticancer drugs: focus on selective serotonin reuptake inhibitors and hypericum extract. Current Drug Metabolism 12: 570-577.

Castiglione MR, Giorgetti L, Geri C, Cremonini R (2011) The effects of nano-TiO2 on seed germination, development and mitosis of root tip cells of *Vicia narbonensis* L. and *Zea mays* L. Journal of Nanoparticle Research 13: 2443-2449.

Cheng X-Y, Zhou H-Y, Cui X, Ni W, Liu C-Z (2006) Improvement of phenylethanoid glycosides biosynthesis in Cistanche deserticola cell suspension cultures by chitosan elicitor. Journal of Biotechnology 121: 253-260.

Dibrov P, Dzioba J, Gosink KK, Häse CC (2002) Chemiosmotic mechanism of antimicrobial activity of Ag+ in Vibrio cholerae. Antimicrobial Agents and Chemotherapy 46: 2668-2670.

Esmaeilzadeh Bahabadi S, Sharifi M (2013) Increasing the Production of Plant Secondary Metabolites Using Biotic Elicitors. Journal of Cell & Tissue 4: 119-128.

Ghassemi B, Hosseini R, Dehghan nayeri F (2015) The Effect of Nano Cobalt and Nano Chitosan on Artemisinin production and expression of SQS and DBR2 genes in Artemisia annua. Genetic Engineering and Biosafety Journal 4: 25-39.

Glisic SB, Popadic SV, Skala DU (2006) St. John's Wort *Hypericum perforatum* L.: Supercritical extraction, antimicrobial and antidepressant activity of extract and some component. Hemijska Industrija 60: 61-71.

Hazler Pilepic K, Males Z, Plazibat M (2008) Genetic structure in *Hypericum perforatum* L. population. Periodicum Biologorum 110: 367-371.

Karioti A, Bilia AR (2010) Hypericins as potential leads for new therapeutics. International Journal of Molecular Sciences 11: 562-594.

Karppinen K, Hohtola A (2008) Molecular cloning and tissue-specific expression of two cDNAs encoding polyketide synthases from *Hypericum perforatum*. Journal of Plant Physiology 165: 1079-1086.

Khodayari M, Omidi M, Shah-Najat-Bushehri A, Shit M (2015a) Biological Elistor and Nano-Elistor Effect on Gene Expression of Some Populonic Alkaloids. Iranian Horticultural Science 45: 287-295.

Khodayari M, Omidi M, Shah Nejat Bushehri A, Yazdani D, Naqvi MR, Kadkhoda Z (2015b) Effect biological

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2026-01-08]

[DOR: 20.1001.1.20084439.1397.13.4.9.2]

elicitor and nano elicitor on increasing the production of alkaloids in opium poppy (*Papaver somniferum*). Iranian Horticultural Science 45: 287-295.

Khoshnodi S, Ghesemi hagh Z, Ghanbarpor P (2013) Investigating the stress of silver in two nano sizes on germination and growth of cauliflower seeds. In: Proceedings of the 2nd National Conference on Sustainable Agriculture and Environment. Conference Location. pp:8.

Livak KJ, Schmittgen TD (2001) Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta CT}$ method. Methods 25: 402-408.

Lubick N (2008) Nanosilver toxicity: ions, nanoparticles or both? Environ Science Technology 42: 8617-8617.

Manios T, Stentiford EI, Millner PA (2003) The effect of heavy metals accumulation on the chlorophyll concentration of *Typha latifolia* plants, growing in a substrate containing sewage sludge compost and watered with metaliferus water. Ecological Engineering 20: 65-74.

Michalska K, Fernandes H, Sikorski M, Jaskolski M (2010) Crystal structure of Hyp-1, a St. John's wort protein implicated in the biosynthesis of hypericin. Journal of Structural Biology 169: 161-171.

Nair R, Varghese SH, Nair BG, Maekawa T, Yoshida Y, Kumar DS (2010) Nanoparticulate material delivery to plants. Plant Science 179: 154-163.

Tahsili J, Sharifi M, Safaei N, Behmanesh M (2016) Effect of *Fusarium graminearum* cell wall on lignans and phenolic compounds in cell culture of Linum album. Applied Biology 29: 79-102.

Trontin J-F, Klimaszewska K, Morel A, Hargreaves C, Lelu-Walter M-A (2016) Molecular aspects of conifer zygotic and somatic embryo development: a review of genome-wide approaches and recent insights. In Vitro Embryogenesis in Higher Plants: 167-207.

Wieczorek D, Delauriere L, Schagat T (2012) Methods of RNA Quality Assessment. Promega Corporation Web site: 1-14.

Xool-Tamayo J, Serrano-Gamboa G, Monforte-González M, Mirón-López G, Vázquez-Flota F (2017) Development of newly sanguinarine biosynthetic capacity in in vitro rootless shoots of *Argemone mexicana* L. Mexican prickly poppy. Biotechnology Letters 39: 323-330.

Zhao J, Davis LC, Verpoorte R (2005) Elicitor signal transduction leading to production of plant secondary metabolites. Biotechnology Advances 23: 283-333.

Zobayed S, Afreen F, Goto E, Kozai T (2006) Plant–environment interactions: accumulation of hypericin in dark glands of *Hypericum perforatum*. Annals of Botany 98: 793-804.

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2026-01-08]

[DOR: 20.1001.1.20084439.1397.13.4.9.2]