Research in Ethnobiology and Conservation
Volume 1, Issue 3, pp. 32-41, 2024
homepage: http://ethnobiocons.qom.ac.ir/

The use of *Linum album Kotschy ex Bois* in traditional and modern medicine and increasing some of its medicinal compounds

JalehTahsili[1]| Mohsen Sharifi[2]✉

1. PhD, Plant Physiology, Department of Plant Sciences, Faculty of Biological Sciences, TarbiatModares University, Tehran, Iran. E-mail: Jaleh.tahsili@gmail.com
2. Corresponding Author, Department of Plant Biology, Faculty of Biological Sciences, TarbiatModares University, Tehran, Iran. E-mail: msharifi@modares.ac.ir

Article Info

Article type
Research Article

Article history
Received: 7 April 2024
Revised: 17 April 2024
Accepted: 18 April 2024
Published: 30 April 2024

Keywords:
Linum album
Podophyllotoxin
Phenol
Flavonoids
Flavonol
Fungal elicitor

ABSTRACT

Objective: In recent years, much attention has been paid to medicinal plants. In addition the use of medicinal plants is increasing in modern medicine. Many active compounds found in medicinal plants are used as primary molecules to make drugs. *Linum album* is a medicinal plant of Linaceae family and one of endemic species in Iran, has podophyllotoxin (PTOX) and phenolic compounds. PTOX is a lignan compound which occurs in a few plant species and has pharmacological importance for its anticancer activities. Also, phenolic compounds and flavonoids are antioxidant agents.Manipulation of cell culture media by elicitors is one of the main strategies for inducing secondary metabolism and production of valuable metabolites. Preliminary experiments showed that the cell extract of fungal could increase lignans production.

Methods: In this research, the filtered medium of Fusarium fungus (concentration of 1% by volume) was used as a stimulus in *Linum album*cell culture, then the amount of podophyllotoxin was measured by high pressure liquid chromatography (HPLC) and the amount of total phenol, flavonoid and flavonol were measured by spectrophotometer.

Results: The results showed that the amount of these compounds increased due to the use of stimulants.

Conclusion: Over time, this stimulus induced the defense responses of cells and led to more production of total phenol, flavonol, flavonoids and podophyllotoxin.

Cite this article: Tahsili, J., & Sharifi, M. (2024). The use of *Linum album*Kotschy ex Bois in traditional and modern medicine and increasing some of its medicinal compounds. *Research in Ethnobiology and Conservation*, 1(3), 32-41. https//doi.org/10.22091/ethc.2024.10588.1022

©The Author(s).Publisher: University of Qom
DOI:https//doi.org/10.22091/ethc.2024.10588.1022

پژوهش‌های زیست قوم‌شناختی و حفاظت

دوره ۱، شماره ۳، بهار ۱۴۰۳، صفحه ۴۱-۳۲

homepage: http://ethnobiocons.qom.ac.ir/

بررسی کاربرد دارویی کتان سفید (*Linum album Kotschy ex Bois*) در طب سنتی و طب جدید و افزایش برخی ترکیبات دارویی آن

ژاله تحصیلی[۱] | محسن شریفی[۲]✉

[۱] دکترا، فیزیولوژی گیاهی، گروه علوم گیاهی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران. رایانامه: jaleh.tahsili@gmail.com

[۲] نویسنده مسئول، استاد، گروه علوم گیاهی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران. رایانامه: msharifi@modares.ac.ir

اطلاعات مقاله

نوع مقاله

پژوهشی

تاریخچه

دریافت: ۱۴۰۳/۰۱/۱۹

بازنگری: ۱۴۰۳/۰۱/۲۹

پذیرش: ۱۴۰۳/۰۱/۳۰

انتشار: ۱۴۰۳/۰۲/۱۱

کلیدواژه‌ها

پودوفیلوتوکسین

فنل

فلاونوئید فلاونول

کتان سفید

محرک قارچی

چکیده

هدف: در سال‌های اخیر توجه زیادی به گیاهان دارویی شده است. علاوه بر طب سنتی، در پزشکی مدرن نیز استفاده از گیاهان دارویی روبه افزایش است. بسیاری از ترکیبات فعال موجود در گیاهان دارویی به عنوان مولکول‌های اولیه برای ساخت داروها مورد استفاده قرار می‌گیرند. کتان سفید (*LinumalbumKotschy ex Boiss.*) گیاهی علفی از تیره کتان و یکی از گونه‌های بومی ایران است که دارایپودوفیلوتوکسین و ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی می‌باشد. پودوفیلوتوکسین، لیگنانی است که در گونه‌های گیاهی معدودی حضور دارد و به دلیل خواص ضد سرطانی اهمیت دارویی زیادی پیدا کرده است. همچنین ترکیبات فنلی و فلاونوئیدها عوامل آنتی اکسیدانی قوی هستند. دست ورزی محیط‌های کشت سلولی با محرک‌های زیستی به ویژه استفاده از قارچ‌های مختلف و اجزای آن‌ها، یکی از راهکارهای مهم جهت القای متابولیسم ثانویه و تولید متابولیت‌های ارزشمند دارویی می‌باشد.

مواد و روش‌ها: در این تحقیق از محیط فیلترشده قارچ فوزاریوم (غلظت ۱ درصد حجمی) به عنوان محرک در کشت سلولی کتان سفید استفاده شد. سپس میزان پودوفیلوتوکسین با دستگاه کروماتوگرافی مایع با فشار زیاد (HPLC) و میزان فنل کل، فلاونوئید و فلاونول با اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد.

نتایج: نتایج نشان داد که میزان این ترکیبات در اثر استفاده از محرک افزایش یافته است.

نتیجه‌گیری: این محرک با گذشت زمان، پاسخ‌های دفاعی سلول را القا نموده و منجر به تولید بیشتر فنل کل، فلاونول، فلاونوئیدها و پودوفیلوتوکسین می‌شود.

استناد: تحصیلی، ژاله، و شریفی، محسن (۱۴۰۳). بررسی کاربرد دارویی کتان سفید (*Linum album Kotschy ex Bois*) در طب سنتی و طب جدید و افزایش برخی ترکیبات دارویی آن. *پژوهش‌های زیست قوم شناختی و حفاظت*، ۱(۳)، ۴۱-۳۲.

https//doi.org/10.22091/ethc.2024.10588.1022

ناشر: دانشگاه قم

© نویسندگان.

مقدمه

شناخت گیاهان دارویی و استفاده از ترکیبات آن‌ها از قدیم مورد توجه بوده است. گیاهان دارویی همواره از اهمیت زیادی در سلامتی انسان هم به لحاظ درمان و هم پیشگیری از بیماری‌ها برخوردار بودند. می‌توان گفت سابقه درمان بیماری‌ها با گیاهان دارویی، به قدمت تاریخ زیست انسان بر روی کره زمین است، انسان‌ها به حکم تجربه و دانش، به کمک گیاهان دارویی خود را مداوا می‌کردند. امروزه با استفاده از فناوری و امکانات جدید شناخت و افزایش این ترکیبات سرعت بیشتری پیدا کرده است (Ahmadian, 2013). سرده کتان از تیره کتان (Linaceae) می‌باشد که از نظر جغرافیایی در مناطق زیادی از جهان دارای پراکنش بوده و حدود ۳۰۰ گونه را شامل می‌شود. کشت این گیاه از سال‌ها قبل از میلاد در ایران انجام می‌شد و یکی از گونه‌های زراعی قدیمی کشور می‌باشد. در طب سنتی این گیاه کاربرد زیادی داشته و دانه‌های کتان، به صورت کامل یا کوبیده شده مصارف زیادی دارد، ازجمله برای درمان التهاب معده و روده، اختلالات دستگاه تنفسی، عفونت‌ها، سردرد، آنفلوآنزا، تب، روماتیسم و نقرس (Tahsili et al., 2014). تخم کتان منبعی از چربی‌های سالم، آنتی اکسیدان و فیبر است، امروزه تحقیقات زیادی نشان می‌دهند که استفاده از آن می‌تواند به کاهش خطر دیابت، سرطان و بیماری‌های قلبی کمک نماید (Akbari Asl et al., 2018; Fan et al., 2021). گونه‌هاییاز این سرده به صورت درختچه هستند و در نواحی گرمسیری رشد می‌کنند، درحالی‌که گونه‌های چند ساله و یک ساله در نواحی معتدل جهان شناسایی شدند (Diederichsen and Richards, 2003). سرده کتان بزرگ‌ترین سرده تیره کتان است و شامل گیاهانی چند ساله، دو ساله یا یک ساله، علفی یا در پایه اندکی چوبی، در ساقه فاقد بند و با پوست مقاوم همراه با الیاف می‌باشند. برگ‌ها متناوب، بدون کرک و غده بر روی ساقه قرار دارند. گل از ۵ خامه (جور یا ناجور خامه)، ۵ پرچم بارور و ۵ گلبرگ بلندتر از کاسبرگ تشکیل شده است. در نقاط مختلف ایران، این سرده با بیش از ۲۰ گونه با گل‌هایی به رنگ سفید، زرد، صورتی و آبی انتشار دارد و از چند گونه آن نیز به منظور تهیه روغن و استفاده از الیاف آن‌ها استفاده می‌شود. از مهم‌ترین گونه‌های این سرده که در ایران می‌روید و انحصاری ایران می‌باشد، گونه کتان سفید (*L.album*) است که از نظر دارویی حائز اهمیت می‌باشد (Tashackori et al., 2018). خواص دارویی این گیاه به دلیل ترکیبات مختلف از جمله ترکیبات فنولی و لیگنانی موجود در آن است که فعالیت‌های زیستی متنوعی از خود نشان می‌دهند (Suzuki andUmezawa, 2007). از هزار سال پیش در ژاپن و چین از گیاهانی که دارای ترکیبات لیگنانی هستند در درمان انواع مختلف بیماری‌ها استفاده شده است (Ayres and Loike, 1990). این ترکیبات همچنین به علت داشتن ویژگی‌های ضد قارچ و ضد میکروبی و ضد ویروسی در درمان بیماری‌ها دارای اهمیت هستند. یکی از مهم‌ترین لیگنان‌ها، پودوفیلوتوکسین از گروه آریل تترالین‌ها می‌باشد که مشتقات نیمه سنتزی آن در درمان انواع سرطان استفاده می‌شوند (Ardalani et al., 2017).

امروزه با توجه به اهمیت اقتصادی ترکیبات این گیاه و نیز محدود بودن گونه‌های گیاهی در رویشگاه‌های طبیعی آن‌ها، روش کشت سلول می‌تواند روش مناسبی برای تولید و شناسایی بیشتر این ترکیبات باشد (Erb and Kliebenstein, 2020; Fazili et al., 2022). همچنین در سال‌های اخیر از محرک‌های زیستی به خصوص انواع قارچ‌ها و اجزایآن‌ها در کشت‌های سلولی گیاهان برای افزایش ترکیبات دارویی استفاده شده است (Esmaeilzadeh et al., 2013). با توجه به اهمیت دارویی گیاه کتان در طب سنتی و طب مدرن و در دسترس بودن گیاه کتان سفید به عنوان یک گیاه بومی در کشور، بررسی ترکیبات دارویی آن و افزایش آن‌ها از اهمیت زیادی برخوردار است لذا در این تحقیق با توجه به مطالعات پیشین میزان برخی ترکیبات فنولی و لیگنانی که مسئول خواص مختلف دارویی این گیاه هستند را در کشت سلولی کتان سفید بررسی کردیم و تحت تأثیر محرک زیستی (محیط فیلترشده قارچ فوزاریوم) میزان این ترکیبات افزایش یافت.

مواد و روش‌ها

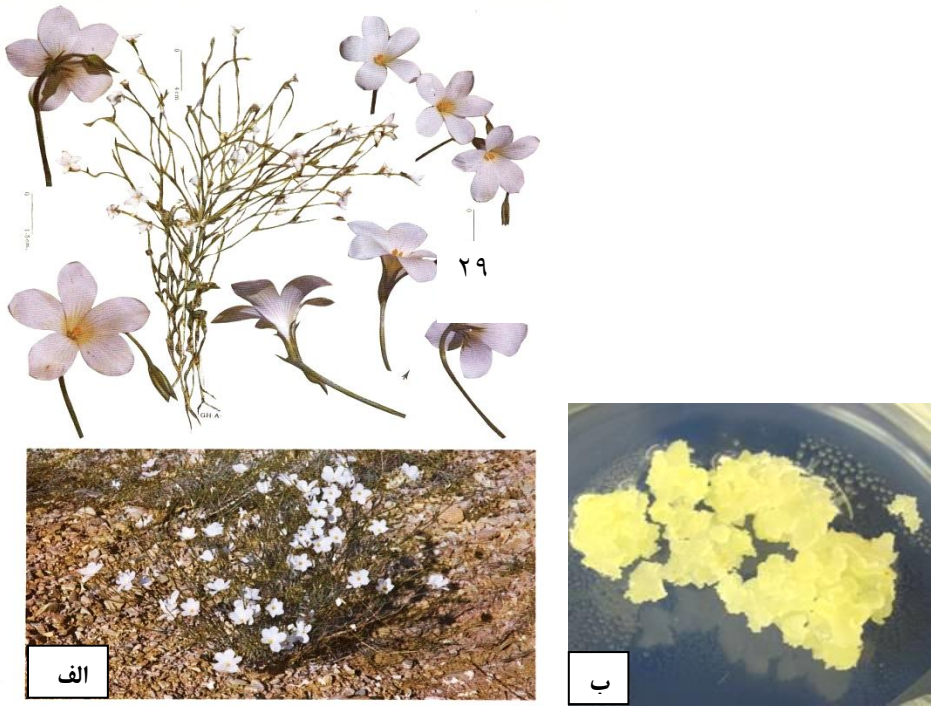
جمع‌آوریدانه‌ها و کشت سلولی کتان سفید

بذرهای کتان از منطقه سوهانک N ۱۹ ´۴۸ °۳۵، E ´۲۲ °۳۲ ۵۱ تهران جمع‌آوری شد (Fakhari, 2009). بذرها پس از شست و شو، یک ساعت در محلول ۰/۵ گرم در لیتر ژیبرلین سترون شده، قرار گرفتند و سپس در محیط پایه MS (Murashige and Skoog, 1962) کشت داده شدند. بذرها به مدت دوهفته در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد و دوره ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت

تاریکی قرار گرفتند و از گیاهچه‌های حاصل برای القای کالوس استفاده شد. بعد از گذشت دو تا سه هفته القاء کالوس‌ها شروع شد و سپس در محیط جامد هر دو هفته یک بار واکشت شدند. بعد از ۵–۶ بار واکشت کالوس‌ها در محیط جامد، قسمتی از آن‌ها به محیط تعلیقی MS با همان نسبت هورمونی منتقل و سلول‌ها هر هفته یک بار واکشت گردیدند (شکل ۱).

تیمار سلول‌های کتان سفید با محیط فیلتر شده قارچ فوزاریوم (*Fusarium graminearum*)

ابتدا قارچ *F. graminearum* در محیط کشت سیب زمینی دکستروز آگار (PDA) کشت شد و پس از پنج روز از حاشیه فعال کلونی آن یک یا چند پلاگ به محیط مایع سیب زمینی دکستروز بورات منتقل گردید و به مدت پنج روز بر روی شیکر با سرعت ۱۳۵ دور در دقیقه و دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. سپس میسلیوم‌های قارچی برداشت شده و با آب مقطر استریل شسته و سپس برای ادامه کار میسلیوم‌ها در نیتروژن مایع فریز شدند. از محیط کشت قارچ برای تیماردهی استفاده گردید، در ابتدا به منظور حذف ذرات معلق، محیط در (rpm)۶۰۰۰ دور به مدت ۲۵ دقیقه سانتریفوژ گردید. محلول حاصل با استفاده از فیلتر ۰/۲۲µm استریل گردید (دوبار)، از محلول (Filter-sterilizedculture) به دست آمده به عنوان محرک در کشت تعلیقی کتان سفید استفاده شد. ابتدا به منظور تعیین مناسب ترین غلظت از محرک، از سه غلظت درنسبت‌های حجمی ۰/۵، ۱ و ۲٪ (v/v) در کشت تعلیقی استفاده شد. با بررسی زنده مانی و شرایط رشد (وزن تر) غلظت ۱ درصد به عنوان غلظت بهینه استفاده گردید. سپس سلول‌ها در فواصل زمانی ۳ و ۵ و ۷ روز پس از تیمار به منظور مطالعه ترکیبات دارویی مهم برداشت شدند. به طوری‌که در هر نوبت، سه تکرار مستقل از نمونه‌های تیمار شده و بدون تیمار برداشت گردید.



شکل ۱. الف– گیاه کتان سفید (Ghahreman, 1979). ب– القای کالوس کتان سفید در محیط کشت MS.

اندازه‌گیری میزان پودوفیلوتوکسین

به منظور اندازه‌گیری میزان پودوفیلوتوکسین، استخراج این ترکیبات از سلول‌ها به روش متانول– دی کلرومتان انجام گرفت (Yousefzadi, 2009). ابتدا ۱ گرم از سلول‌ها در متانول ۸۰ درصد کاملاً ساییده و همگن شد. مخلوط حاصل در حمام اولتراسونیک قرار گرفت و در ادامه ۴ میلی‌لیتر دی کلرومتان و ۴ میلی‌لیتر آب به آن اضافه گردید و سپس با سرعت ۵۰۰۰ دور (rpm) در دمای ۱۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۰ دقیقه سانتریفوژ گردید. پس از آن، فاز دی کلرومتانی جمع‌آوری و به وسیله هوادهی خشک شد. در نهایت رسوب خشک شده در ۵۰۰ میکرولیتر متانول حل شد و برای بررسی لیگنان‌های موجود به دستگاه

HPLC تزریق گردید. بخش متحرک شامل استونیتریل و آب بدون یون بود. ستون مورد استفاده از نوع C18-ODS3 دارای طول ۲۵۰ میلی‌متر و قطر ۴/۶ میلی‌متر بود. جذب لیگنان‌ها در طول موج ۲۹۰ نانومتر بررسی شد. میزان پودوفیلوتوکسین بر اساس سطح زیر منحنی به دست آمده و با استفاده از منحنی استاندارد آن‌ها محاسبه گردید.

اندازه‌گیری میزان فنل کل

سنجش میزان فنل کل به روش فولین دنیسانجام شد. گالیک اسید نیز به عنوان استاندارد مورد استفاده قرار گرفت و میزان فنل کل بر اساس گالیک اسید سنجیده شد (Boonyuen et al., 2009). بدین ترتیب ۰/۵ گرم از سلول‌ها در هشت میلی‌لیتر متانول ۸۰ درصد همگن و به مدت ۱ ساعت در دمای اتاق گذاشته شد سپس با سرعت ۵۰۰۰ دور (rpm) به مدت ۲۰ دقیقه سانتریفوژ شد. عصاره متانولی از رسوب جدا گردید و از عصاره متانولی باقی‌مانده برای سنجش فنل کل، استفاده گردید. به منظور اندازه‌گیری فنل کل، به نیم میلی‌لیتر از عصاره متانولی، دو میلی‌لیتر معرف فولین دنیس ۱۰ درصد اضافه و به مخلوط حاصل بعد از پنج دقیقه دو میلی‌لیتر محلول سدیم کربنات هفت درصد اضافه گردید. یک ساعت بعد جذب مخلوط واکنش در طول موج ۷۶۵ نانومتر توسط اسپکتروفتومتر خوانده شد و در نهایت مقدار فنل کل، بر اساس منحنی استاندارد گالیک اسید محاسبه شد.

اندازه‌گیری میزان فلاونوئید

برای سنجش فلاونوئید کلبه ۰/۵ میلی‌لیتر از عصاره متانولی ۱۰۰ میکرولیتر از محلول کلرید آلومینیوم ۱۰ درصد، ۱۰۰ میکرولیتر پتاسیم استات ۱ مولار، ۱/۵ میلی‌لیتر متانول ۸۰ درصد و ۲/۸ میلی‌لیتر آب دیونیزه اضافه شد و پس از ۳۰ دقیقه، جذب نمونه‌ها در طول موج ۴۱۵ نانومتر خوانده شد. میزان فلاونوئیدها در نمونه‌ها بر اساس منحنی استاندارد روتین محاسبه گردید (Chang et al., 2002).

اندازه‌گیری میزان فلاونول

برای سنجش فلاونول کل به ۰/۵ میلی‌لیتر از عصاره متانولی ۱ میلی‌لیتر از محلول کلریدآلومینیوم دو درصد و ۱/۵میلی‌لیتر از محلول سدیم استات پنج درصد اضافه گردید و جذب نمونه‌ها در طول موج ۴۴۰ نانومتر خوانده شد (Akkol et al., 2008). همچنین میزان فلاونول بر اساس منحنی استاندارد روتین محاسبه گردید.

تجزیه و تحلیل آماری

کلیه آزمایش‌ها با سه تکرار مستقل انجام گرفت. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از نرم افزار SPSS و آزمون توکی جهت تعیین معنی‌دار بودن تفاوت‌ها در سطح $P\leq 0.05$ انجام شد.

نتایج

تأثیر غلظت بهینه محرک قارچی (محیط فیلترشده) بر میزان پودوفیلوتوکسین در زمان‌های مختلف

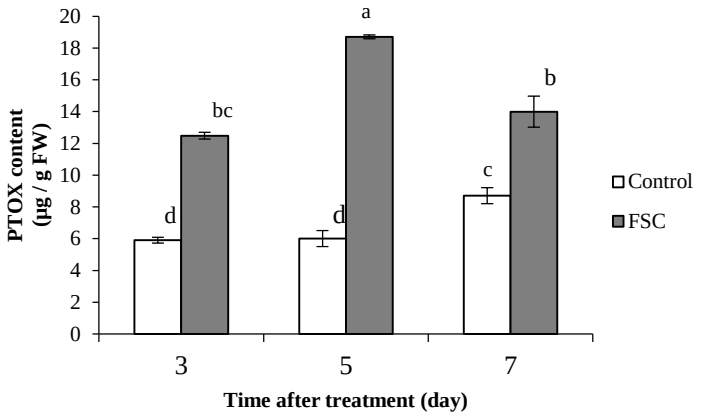
نتایج بررسی نشان داد که افزودن غلظت ۱ درصد (v/v) محیط فیلترشده قارچ فوزاریومدر روز هفتم، بعد از گذشت سه روز باعث افزایش معنی‌داری در میزان پودوفیلوتوکسین نسبت به نمونه‌های کنترل (در سطح آماری $p \leq 0.05$) می‌شود. همچنین پس از گذشت پنج روز سبب القای تولید بیشترین پودوفیلوتوکسین (۱۸/۷ میکروگرم بر گرم وزن تر)، به میزان ۴/۱ برابر نمونه‌های کنترلگردید. گرچه در سلول‌هایی که در روز هفتم بعد از تیمار برداشت شدند، میزان پودوفیلوتوکسین نسبت به سایر تیمارها کاهش نشان داد اما با این وجود به طور معنی‌داری بالاتر از مقدار آن در سلول‌های شاهد بود (شکل ۲).

تأثیر غلظت بهینه محرک قارچی (محیط فیلترشده) بر میزان فنل، فلاونوئید و فلاونول کل در زمان‌های مختلف

نتایج آنالیز واریانس میزان فنل کل نشان داد که محرک محیط فیلترشده قارچ فوزاریوم FSC با غلظت ۱ درصد (v/v)، پس از افزوده شدن در محیط کشت تعلیقی سلول‌های کتان، باعث افزایش معنادار میزان فنل کل نسبت به سلول‌های شاهد شد (در سطح آماری $p \leq 0.05$). بیشترین میزان فنل کل در سلول‌هایی اندازه‌گیری شد که در روز سوم و هفتم بعد از تیمار برداشت شدند (جدول ۱).

نتایج بررسی میزان فلاونوئیدها نشان داد، تیمار ۱ درصد (v/v) محیط فیلتر شده قارچ فوزاریوم سبب افزایش میزان فلاونوئید کل سلول‌ها در تمام زمان‌های بعد از برداشت، نسبت به سلول‌های کنترل شد (در سطح آماری $p \leq 0.05$). در این تیمار بیشترین میزان فلاونوئید در سلول‌هایی که در روز پنجم بعد از تیمار برداشت شدند، اندازه‌گیری گردید (جدول ۲).

بررسی میزان فلاونول کل نشان داد، تیمار ۱ درصد (v/v) محیط فیلتر شده قارچ فوزاریوم سبب افزایش میزان فلاونول سلول‌ها در تمام زمان‌های بعد از برداشت، نسبت به سلول‌های شاهد شد (در سطح آماری $p \leq 0.05$). در این تیمار بیشترین میزان فلاونول در سلول‌هایی که در روز سوم بعد از تیمار برداشت شدند، اندازه‌گیری گردید (جدول ۳). در روز پنجم میزان فلاونول نسبت به روز سوم و هفتم کاهش یافت، اما با این وجود به طور معنی‌داری بالاتر از مقدار آن در سلول‌های شاهد بود.



شکل ۲. تأثیر غلظت ۱ درصد (v/v) محیط فیلترشده قارچ فوزاریوم FSC بر میزان پودوفیلوتوکسین در سلول‌های کتان سفید در زمان‌های مختلف. محیط فیلترشده در روز هفتمدوره رشد به محیط کشتاضافه و سلول‌هادر زمان‌های ۳ – ۵ و ۷ روز بعد از تیمار برداشت شدند. مقادیر نشان داده شده میانگین ۳ تکرار و SE± (انحراف معیار) می‌باشد. حروف متفاوت نشان‌دهنده تفاوت آماری معنادار در سطح p≤ ۰۵/۰ می‌باشد.

جدول ۱. تأثیرغلظت بهینه محیط فیلتر شده قارچ فوزاریومدر زمان‌های مختلف بر میزان فنل کل در کشت تعلیقی کتان سفید.

میزان فنل کل (mg/g FW)		
زمان / تیمار	محیط فیلترشده قارچ فوزاریوم (FSC)	کنترل
روز سوم	۱/۳۶۸ ± ۰/۰۸۵ b	۰/۷۱۲ ± ۰/۰۸۶ e
روز پنجم	۱/۱۹۵ ±۰/۰۵۱ c	۰/۶۹۴ ± ۰/۰۴ e
روز هفتم	۱/۳۵۵ ± ۰/۰۴۱ b	۰/۸۸۲ ± ۰/۰۴ d

مقادیر نشان داده شده میانگین ۳ تکرار و SE± (انحراف معیار) می‌باشد حروف متفاوت نشان‌دهنده تفاوت آماری معنادار در سطح $p \leq$ ۰/۰۵ می‌باشد.

جدول۲. تأثیر غلظت بهینه محیط فیلتر شده قارچ فوزاریوم در زمان‌های مختلف بر میزان فلاونوئید کل در کشت تعلیقی کتان سفید.

میزان فلاونوئید کل (mg/g FW)		
زمان / تیمار	محیط فیلترشده قارچ فوزاریوم (FSC)	کنترل
روز سوم	۰/۰۷۹۸ ± ۰/۰۰۲ c	۰/۰۶۴۲ ± ۰/۰۰۳ e
روز پنجم	۰/۰۹۲۵ ±۰/۰۰۳ b	۰/۰۷۳۵ ± ۰/۰۰۴ d
روز هفتم	۰/۰۸۴۵ ± ۰/۰۰۲ c	۰/۰۶۷۱ ± ۰/۰۰۱ e

مقادیر نشان داده شده میانگین ۳ تکرار و SE± (انحراف معیار) می‌باشد حروف متفاوت نشان‌دهنده تفاوت آماری معنادار در سطح $p\leq$ ۰/۰۵ می‌باشد.

جدول۳. تأثیر غلظت بهینه محیط فیلتر شده قارچ فوزاریوم در زمان‌های مختلف بر میزان فلاونوئید کل در کشت تعلیقی کتان سفید.

میزان فلاونول کل (mg/g FW)		
زمان / تیمار	محیط فیلترشده قارچ فوزاریوم (FSC)	کنترل
روز سوم	۰/۰۸۱۸ ± ۰/۰۰۵ a	۰/۰۱۹۲ ± ۰/۰۰۶ e
روز پنجم	۰/۰۳۵۶ ±۰/۰۰۴ cd	۰/۰۱۹۵ ± ۰/۰۰۱ e
روز هفتم	۰/۰۷۱۲ ± ۰/۰۰۲ b	۰/۰۳۱۸ ± ۰/۰۰۸ d

مقادیر نشان داده شده میانگین ۳ تکرار و SE± (انحراف معیار) می‌باشد حروف متفاوت نشان‌دهنده تفاوت آماری معنادار در سطح $p\leq$ ۰/۰۵ می‌باشد.

بحث

هزاران سال است که انسان‌ها دریافتند گیاهان منابع بسیار خوبی برای درمان بیماری‌های مختلف هستند. در سال‌های اخیر پیشرفت‌های زیادی در زمینه شناسایی گیاهان دارویی و ترکیبات آن‌هاصورت گرفته که منجر به توسعه صنعت داروسازی مدرن شده است. همچنین پزشکان و داروسازان پیوسته در تلاش برای بررسی اثرات سودمند گیاهان و مواد مؤثر موجود در آن‌ها هستند (Bahraminejad et al., 2017). کتان سفید یکی از گیاهان دارویی بومی ایران حاوی ترکیبات دارویی مهم لیگنانی مانند پودوفیلوتوکسین و ترکیبات آنتی اکسیدانی فنلیمی باشد. پودوفیلوتوکسین به عنوان پیش ماده، برای سنتز داروهای ضدتوموری مهم استفاده می‌شود (Tashackori et al., 2021). از آنجایی که تولید و افزایش لیگنان‌ها مانند سایر متابولیت‌های ثانویه از طریق کشت سلولی و استفاده از محرک‌های مختلف در شرایط آزمایشگاهی بسیار کارآمدتر از استخراج این ترکیبات ازگیاه کامل می‌باشد، مطالعات مختلفی در زمینه بهینه‌سازی محیط کشت، ایجاد لاین‌های سلولی با سرعت رشد بالا و همچنین درک مکانیسم اثر محرک‌های مختلف بر سلول‌ها برای بالا بردن بازده تولید، انجام می‌شود (Shah et al., 2021). قابل ذکر است که مطالعات مختلفی نشان داده است اثر محرک‌های قارچی بر بیوسنتز متابولیت‌های ثانویه و به طور کلی در پاسخ‌های دفاعی گیاهان به محرک عوامل مختلفی تأثیرگذار هستند. نوع گونه قارچی و محیطی که در آن رشد می‌کند، روش آماده‌سازی محرک قارچی، غلظت آن و مدت زمانی که محیط در معرض محرک قرار می‌گیرد، از عوامل مؤثر بر شدت پاسخ گیاه می‌باشند (Vasconsuelo and Boland, 2007). در این تحقیق با توجه به مطالعات پیشین میزان برخی ترکیبات فنولی و لیگنانی که

مسئول خواص مختلف دارویی این گیاه هستند را در کشت سلولی کتان سفید بررسی کردیم و تحت تأثیر محرک محیط فیلترشده قارچ فوزاریوم میزان این ترکیبات افزایش یافت. در مطالعات گذشته از محرک‌های قارچی برای افزایش ترکیبات مهم دارویی گیاهان در کشت سلولی استفاده شده است. به طور مثال در تحقیقی مشاهده شد که عصاره سلولی قارچ *Hormonema*، که در دو محیط کشت متفاوت رشد کرده، روی تجمع هیوسیامین و آزاد کردن اسکوپولامین در کشت ریشه موئین *Brugmaisa* اثر افزایشی دارد (Alvarez et al., 2003; Satake et al., 2015). مطالعات نشان داده است که غلظت محرک نقش مهمی در فرآیند تحریک دارد و عامل مؤثری بر شدت پاسخ‌ها است. غلظت مؤثر محرک قارچی بر حسب گونه قارچی و گیاه مورد بررسی متفاوت است، به‌طوری‌که غلظتی از محرک که در یک گیاه اثر تحریکی دارد، ممکن است در گیاه دیگر اثر نداشته باشد. در این تحقیق نیز نتایج نشان می‌دهد، در بین غلظت‌های ۰/۵، ۱ و ۲ ٪ (v/v) محیط فیلترشده قارچ، به طور کلی غلظت ۱ ٪ (v/v) بیشترین تأثیر افزایشی را بر میزان پودوفیلوتوکسین و ترکیبات فنلی داشته است که از مهم‌ترین متابولیت‌های ثانویه بوده و مسئول خواص دارویی کتان سفید هستند.

اثرات خاص و متنوع محرک‌های قارچی، در ارتباط با برهمکنش ویژه هر قارچ با سلول گیاهی و مسیر ترارسانی علامت (سیگنالینگ) مربوطه است. از نخستین پاسخ‌های سلول‌ها به تنش که در بعد از گذشت چند دقیقه پس از القای محرک‌ها صورت می‌گیرد تولید و آزادسازی انواع Reactive oxygen species (ROS) می‌باشد که از عوامل مهم در تنش اکسیداتیو بوده و می‌توانند به‌طور قابل توجهی رشد سلول‌ها و متابولیسم ثانویه را تحت تأثیر قرار دهند (Banu et al., 2009; Reshi et al., 2023). مطالعات مختلفی در مورد ترکیبات فنلی و نقش‌های زیستی متنوع این ترکیبات در گیاهان مختلف انجام شده است. ترکیبات فنلی مهارکننده قوی برای تنش اکسایشی هستند و در همکاری با پراکسیدازها در جمع‌آوری یا حذف رادیکال‌های اکسیژن شرکت می‌کنند همچنین در گیاهان ترکیبات فنلی را در پاسخ به یک سری از ترکیبات پیام‌رسان آزاد می‌شوند و نقش مهمی در دفاع در مقابل عوامل بیماری‌زا دارند. فلاونوئیدها و فلاونول‌ها به عنوان زیر مجموعه‌ای از این ترکیبات، بخش مهمی از ترکیبات فنلی هستند که به عنوان آنتی اکسیدان‌های غیر آنزیمی عمل کرده و توانایی جذب رادیکال‌های آزاد را دارند (Zhang et al., 2011). مطالعات متعددی نشان داده است که این ترکیبات تحت تأثیر محرک‌های قارچی افزایش می‌یابند. به طور مثال افزایش ترکیبات فنلی تحت تأثیر محرک‌های قارچی در کشت سلول کتان زراعی مشاهده شد (Hano et al., 2006)

نتیجه‌گیری

تحقیق حاضر روی تأثیر محرک محیط قارچ فوزاریوم روی پدوفیلوتوکسین و ترکیبات فنلی بود. این محرک‌ها مورد توجه قرار گرفتند و تحقیقات بر روی آن‌ها صورت می‌گیرد. نتایج نشان می‌دهد این محرک به طور کارآمدی در افزایش تولید پدوفیلوتوکسین و ترکیبات فنلی مؤثر هستند. ترکیبات فعال قارچی، نقش مؤثری در القای پاسخ‌های دفاعی و در نتیجه افزایش تولید لیگنان‌ها و سایر ترکیبات فنلی دارند.

منابع

احمدیان، نجمه (۱۳۹۱). بیوسنتز لیگنان‌ها تحت تأثیر تیمارهای کونیفرآلدهید و متیل ژاسمونات در ریشه‌های موئین کتان سفید (*Linumalbum*). رساله دکتری. دانشگاه تربیت مدرس، دانشکدهٔ علوم زیستی.

فخاری، صفیه (۱۳۸۹). بررسی تغییرات میزان پودوفیلوتوکسین در پاسخ به تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی و متیل جاسمونات در کشت کالوس و گیاهچه *Linum album*. پایان نامهٔ کارشناسی ارشد. دانشگاه تربیت مدرس، دانشکدهٔ علوم زیستی.

قهرمان، احمد (۱۳۵۷). فلور ایران. جلد دوم. انتشارات سازمان حفاظت از محیط زیست.

یوسف زادی، مرتضی (۱۳۸۹). بررسی اثر تیروزین، تریپتوفان، نور و سالیسیلیک اسید بر میزان پودوفیلوتوکسین، فعالیت آنزیمی وبیان ژن برخی از آنزیم‌های مسیر بیوسنتزی پودوفیلوتوکسین در گیاه *Linum album*. رساله دکتری. دانشگاه تربیت مدرس، دانشکدهٔ علوم زیستی.

References

Ahmadian, N. (2013). Biosynthesis of lignans under coniferaldehyde and methyljasmonate treatments in hairy roots of *Linum album*. PhD thesis. Tarbiat Modares University, Faculty of Biological Sciences.

AkbariAsl, E., Fallah, Mehrabadi, J., Afshar, D., Noorbazargan, H., Tahmasebi, H., & Rahimi, A. (2018). Apoptotic effects of *Linum album* extracts on AGS human gastric adenocarcinoma cells and ZNF703 oncogene expression. *The Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 19(10), 2911-2916. https//doi.org/10.22034/APJCP.2018.19.10.2911

Akkol, E. K., Goger, F., Kosar, M., & Baser, K. H. (2008). Phenolic composition and biological activities of *Salvia halophila* and *Salvia virgata* from Turkey. *Food Chemistry*. 108, 942-949.

Alvarez, S. P., Marconi, P. L., & Giulietti, A. (2003). Comparison of the influence of different elicitors on the hyoscyamin and scopolamin content in hairy root cultures of *Brugmansia candida. In vitro Cellular & Developmental Biology-Plant*. 39, 640-644. http://www.jstor.org/stable/4293680

Ardalani, H., Avan, A., & Ghayour-Mobarhan, M. (2017). Podophyllotoxin: a novel potential natural anticancer agent. *Avicenna Journal of Phytomedicine*, 7(4), 285-294.

Ayres, D. C., & Loike, J. D. (1990). *Lignans: Chemical, biological and clinical properties*. Cambridge University Press. New York. 401.

Bahraminejad, S., Seifolahpour, B., & Amiri, R. (2017). Antifungal effects of some medicinal and aromatic plant essential oils against *Alternariasolani*. *Journal of Crop Protection*, 5(4):603-616.

Banu, N. A., Hoque, A., Watanabe-Sugimoto, M., Matsuoka, K., Nakamura, Y., Shimoishi, Y., & Murata, Y. (2009). Proline and glycinebetaine induce antioxidant defense gene expression and suppress cell death in cultured tobacco cells under salt stress. *Journal of Plant Physiology*, 166(2), 146-156. https://doi.org/10.1016/j.jplph.2008.03.002

Boonyuen, C., Wangkarn, S., Suntornwat, O., & Chaisuksant, R. (2009). Antioxidant capacity and phenolic content of Mimusops elengi fruit extract. *Kasetsart Journal: Natural Science*, 43(1), 21-27.

Chang, C. C., Yang, M. H., Wen, H. M., & Chern, J. C. (2002). Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colometric methods. *Journal of Food and Drug Analysis*, 10(3).

Diederichsen, A., & Richards, K. (2003). Cultivated flax and the genus *Linum* L. Taxonomy and germplasm conservation. In: Muir, A. D., Westcott, N. D. (eds.) Taylor and Francis Inc., London, UK and NY, USA, pp. 22-54.

EsmaeilzadehBahabadi, S., & Sharifi, M. (2013). Physiologic responses of suspension-cultured *Linum album Kotschy ex Boiss*.cell to fungal elicitors. *Iranian Journal of Plant Biology*, 5(17), 15-30.

Erb, M., & Kliebenstein, D. J. (2020). Plant Secondary Metabolites as Defenses, Regulators, and Primary Metabolites: The Blurred Functional Trichotomy. *Plant Physiology*, 184(1), 39-52. https://doi.org/10.1104/pp.20.00433

Fakhari, S. (2009). Investigating changes in podophyllotoxin levels in response to plant growth regulators and methyl jasmonate in Linum album callus and seedlings. MS. Thesis. Tarbiat Modares University, Faculty of Biological Sciences.

Fan, H. Y., Zhu, Z. L., Xian, H. C., Wang, H. F., Chen, B. J., Tang, Y. J., Tang, Y. L., & Liang, X. H. (2021). Insight in to the molecular mechanism of podophyllotoxin derivatives as anticancer drugs. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 9, 709075. https://doi.org/10.3389/fcell.2021.709075

Fazili, M. A., Bashir, I., Ahmad, M., Yaqoob, U., & Geelani, S. N. (2022). In vitro strategies for the enhancement of secondary metabolite production in plants: a review. *Bulletin of the National Research Centre*, 46(1), 35. https://doi.org/10.1186/s42269-022-00717-z

Hano, C., Addi, M., Bensaddek, L., Crônier, D., Baltora-Rosset, S., Doussot, J., Maury, S., Mesnard, F., Chabbert, B., Hawkins, S., Lainé, E., & Lamblin, F. (2006). Differential accumulation of monolignol-derived compounds in elicited flax (*Linumusitatissimum*) cell suspension cultures. *Planta*, 223(5), 975-989. https://doi.org/10.1007/s00425-005-0156-1.

Gahreman, A. (1979). Flora of Iran. The second volume. Publications of the Environmental Protection Organization.

Murashige, T., & Skoog, F. (1962). A revised medium for rapid growth and bioassay of tobacco tissue culture. *PhysiologiaPlantarum*. 15: 473-497.

Reshi, Z. A., Ahmad, W., Lukatkin, A. S., & Javed, S. B. (2023). From nature to lab: a review of secondary metabolite biosynthetic pathways, environmental influences, and in vitro approaches. *Metabolites*, 13(8), 895. https://doi.org/10.3390/metabo13080895.

Shah, Z., Gohar, U. F., Jamshed, I., Mushtaq, A., Mukhtar, H., Zia-Ui-Haq, M., Toma, S. I., Manea, R., Moga, M., & Popovici, B. (2021). Podophyllotoxin: History, Recent Advances and Future Prospects. *Biomolecules*, 11(4), 603.https://doi.org/10.3390/biom11040603

Satake, H., Koyama, T., Bahabadi, S. E., Matsumoto, E., Ono, E., & Murata, J. (2015). Essences in metabolic engineering of lignan biosynthesis. *Metabolites*, 5(2), 270-290. https://doi.org/10.3390/metabo5020270

Suzuki, S., & Umezawa, T. (2007). Biosynthesis of lignans and norilignans. *Journal of Wood Science*, 53: 273-284.

Tashackori, H., Sharifi, M., AhmadianChashmi, N., Behmanesh, M., Safaie, N., & Sagharyan, M. (2021). Physiological, biochemical, and molecular responses of *Linum album* to digested cell wall of *Piriformosporaindica*. *Physiology and molecular biology of plants: an International Journal of Functional Plant Biology*, 27(12), 2695–2708. https://doi.org/10.1007/s12298-021-01106-y

Tahsili, J., Sharifi, M., Safaie, N., Esmaeilzadeh-Bahabadi, S., & Behmanesh, M. (2014). Induction of lignans andphenolic compounds in cell culture of *Linum album* by culture filtrate of *Fusarium graminearum*. *Journal of Plant Interactions*, 9(1), 412-417. https://doi.org/10.1080/17429145.2013.846419

Tashackori, H., Sharifi, M., Chashmi, N. A., Behmanesh, M., & Safaie, N. (2018). Piriformosporaindica cell wall modulates gene expression and metabolite profile in Linum album hairy roots. *Planta*, 248(5), 1289-1306. https://doi.org/10.1007/s00425-018-2973-z

Vasconsuelo, A., & Boland, R. (2007). Molecular aspects of the early stages of elicitation of secondary metabolites in plants. *Plant Science*. 172: 861-875.

Zhang, L., Ravipati, A. S., Koyyalamudi, S. R., Jeong, S. C., Reddy, N., & Smith, P. T. (2011). Antioxidant and anti-inflammatory activities of selected medicinal plants containing phenolic and flavonoid compounds. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. 59(23), 12361-12367.

Yousefzadi, M. (2009). Investigating the effect of tyrosine, tryptophan, light and salicylic acid on the level of podophyllotoxin, enzyme activity and gene expression of some enzymes of podophyllotoxin biosynthesis pathway in Linum album plant. Ph.D. Thesis. Tarbiat Modares University, Faculty of Biological Sciences.