تأثير الشروط البيئية في تركيز القلويدات لنبات الداتوراسترامونيوم

عصام الشماع*

الملخص

خلفية البحث وهدفه: تؤثر العوامل البيئية في نسبة المواد الفعالة في النباتات، إذْ إن أحد هذه العوامل وهي الملوحة تؤثر من خلال تركيز أيون الكالسيوم الذي يقوم بعملية تنافسية مع أيون Na^+ التي تؤثر بدورها في عملية اصطناع القلويدات الموجودة في نبات الداتورا سترامونيوم Datura stramunium.

مواد البحث وطرائقه: استنبتت براعم نباتات الداتورا سترامونيوم Datura stramunium بإضافة محلول كلور الصوديوم NaCl باستخدام ثلاثة تراكيز مختلفة، وهي على التوالي 20mM, 40, 80 خلال مدة زمنية بحدود 20 أسبوعاً، مما أدى إلى ارتفاع نسبة أيون K^+، ومحتوى أقل من Ca^{2+} في أوراق النباتات الخاضعة للملوحة فضلاً عن ارتفاع النسبة المئوية للقلويدات، وذلك مقارنة بنباتات الشاهد Control.

النتائج: أدى انخفاض النسبة الأيونية K^+/Na^- في أوراق النباتات الخاضعة للملوحة أقل من الواحد، أي انخفاض تراكيز K^+ أدى إلى زيادة النسبة المئوية للقلوية في أوراق بعض النباتات الخاضعة للملوحة بنسبة محددة؛ وذلك في التركيز mM20.

كلما ازداد تركيز الملوحة انخفضت تراكيز أيونات الكالسيوم Ca^{2+}، كما أن النسبة الأيونية Na^+/K^+ في الجذور ذات مستوى منخفض بسبب التموت النسيجي وضياع الأجزاء الفتية للجذور.

الاستنتاج: تؤدي الملوحة في درجة منخفضة 20mM إلى زيادة الاستقلاب الحيوي والاصطناع الحيوي للقلويدات في أوراق نباتات الداتورا سترامونيوم Datura stramunium، وذلك على الرغم من التراجع الضئيل للاستقلاب الأولي للنبات.

الكلمات المفتاحية: جوز ماثل Datura stramunium، الملوحة؛ اختلال التوازن، الأيونات، أتروبين، هيوسيامين، هيوسين.

* أستاذ مساعد - كلية الصيدلة – جامعة دمشق.

The Influence of Environmental Factors on the Contents of Alkaloids in Datura stramunium

Issam Al-Shama'a *

Abstract

Background & Objective: The environmental factors may have an effect on the contents of the active materials in plants. Salinity is one of these factors that can have an influence through the calcium ion which competes with the Na^+, which in turn, affects the manufacture of alkaloids present in the *Datura stramunium*.

Methods & Materials: The buds of Datura stramunium have been cultured through addition of NaCl by using three successively different concentrations of 25, 50, and 100mM during a specific period of time of about 20 weeks. This has led to a rise in the content of K^+ and a smaller content of Ca^{2+} in the leaves of plants subjected to salinity as well as a rise in the percentage of alkaloids in comparison with the control plants.

Results: The decrease in the ionic rate of K^+/Na^+ in the leaves of the plants subjected to salinity of less than one, namely, the decrease in the concentrations of K^+ has led to an increase in the percentage of the alkaloid in the leaves of the plants subjected to the salinity in a specific rate in the concentration of 25mM. The more high concentration of salinity the more low calcium ions of Ca^{2+}, and the ionic rate of Na^+/K^+ in the roots is lowest level due to the histological dying and loss of the young parts of the roots.

Conclusion: The salinity in a low rate of 25mM can lead to an increase in the biologic metabolism and biologic manufacture of alkaloids in the leaves of the Datura stramunium in spite of the small decrease of the initial metabolism in the plants.

Key Words: Datura stramunium, salinity, ionic imbalance, ions, atropine, hyoscyamine, scopolamine, hyoscine.

* Associated prof. Faculty of Pharmacy, University of Damascus.

مقدمة:

ينمو نبات الداتورا (جوز ماتل) *Datura stramonium* في مناطق مختلفة من سورية وخاصة في المناطق المحيطة في دمشق، وهو نبات شجيري ينتمي إلى الفصيلة الباذنجانية Solanaceae يحتوي على قلويدات تشتق من حمض الأورنيتين Ornetine، تتألف من نواة التروبان Tropane وأهمها قلويد الهيوسيامين والسكوبولامين.

يستعمل هذا النبات بوصفه مضاداً للتشنج Antispasmodic ومعالجة داء باركنسون [1].

هدف هذا البحث إلى دراسة تأثير العوامل البيئية في التربة، ومن ضمنها تأثير الملوحة في إنتاج القلويدات في نبات الداتورا.

تؤثر الملوحة في انخفاض إنتاج النباتات في الأراضي البور أو شبه الجافة وغير الصالحة للزراعة [3,2] إذْ تتأثر فعالية العديد من الإنزيمات عند إضافة الأملاح في أثناء التجربة [5,4]، وأظهرت بعض الإنزيمات وجوداً ملحوظاً من قبل التركيز أيوني غير عضوي يزيد على 80mM [6].

استنادا إلى [8,7] فإن أيون الكالسيوم يحافظ على سلامة بنية الغشاء الهيولي، كما أن امتصاص أيون الصوديوم يجري بطريقة تنافسية بحيث يستبدل امتصاص أيون الصوديوم بدلاً من أيون الكالسيوم في درجات الملوحة العالية [10,9]

يمكن القول: إنَّ تركيز الملح يقلل من نمو النباتات من خلال العوامل الآتية: نقص الماء، الخلل التوازن الأيوني، كما يؤدي دوراً مهماً في زيادة الانتباج Turgor والنفوذية Permeability والنشاط الإنزيمي Enzimatic activity والتوازن المتجانس [12,11]

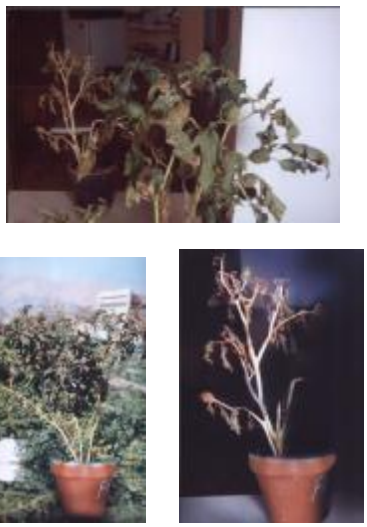
تؤدي هذه العوامل جميعها إلى انخفاض في عمليات الاستقلاب الأولي للنبات Primary metabolism synthesis ، إلا أنها تؤدي في الوقت نفسه إلى تنشيط في عمليات الاستقلاب الثانوي secondary metabolism synthesis (عمليات الاصطناع الحيوي للمواد الفعالة).

أظهرت النتائج التي أجرتها [14,13] في مخبر الفيزيولوجيا النباتية في كلية الصيدلة في جامعة برشلونة أن إضافة ملح كلوريد الصوديوم إلى مستنبتات الحاوية على نباتات التبغ *Nicotiana Rustica* يؤدي إلى زيادة في إنتاج قلويد النيكوتين، درس في هذه المقالة تأثير أحد العوامل البيئية في الأوساط الزرعية وخصوصاً الملوحة في عمليات اصطناع القلويدات في نبات جوز ماتل *Datura stramunium*.

المواد والطرائق:

شروط الزراعة Culture condition

جرى الحصول على بذور نباتات جوز ماتل من منطقة بساتين أبو جرش في منطقة العدوي في مدينة دمشق، أجريت التجربة من الشهر السادس حتى نهاية الشهر العاشر، وذلك من خلال زراعة البذور في أوعية خاصة (أصص للزرع متساوية الحجم) تحتوي على الرمل الناعم ومادة معدنية تستخدم في زراعة النباتات (عازل) Vermiculit، ثم رطبت النباتات بواسطة محلول أرنون Arnon solution وتكون بمنزلة محلول شاهد Control.



الشكل رقم (1) نبات الداتورا *Datura stramunium*

بعد عملية الانتاش وظهور البوادر النباتية عزلت النباتات إلى أربع مجموعات أساسية تحتوي كل مجموعة على

عشرة أصص للزراعة، سقيت المجموعة الأولى بالمحلول المغذي دون إضافة أية محاليل ملحية أخرى، واستخدمت بمنزلة شاهد Control ، في حين رويت المجموعات الثلاث على التوالي بمحلول أرنون وهوغلاند مضاف إليه نسبة من ملح كلوريد الصوديوم بتراكيز mM20,40,80 على التوالي.

أخذت العينات من الأوراق والجذور بشكل منفصل خلال الأسابيع التالية 22و21 و20 و18 و16 و14 من بدء التجربة.

المقايسة Assay

حساب الأيونات Na^+, K^+, Ca^{2+} :

خربت المادة العضوية، وذلك بعد تجفيف النباتات، ثم طحنت وسخينت بوجود حمض الآزوت الكثيف وباستخدام حمض السلفوريك الكثيف بدرجة حرارة 60مْ حتى ثبات الوزن، ثم حسب تركيز الأيونات بتحرير المنظار الطيفي للبلازما Emission spectroscopy for plasma icp في مقياس طيف مازج متعدد القنوات Mixture spectrophotometer multi channel sequential ICPJ 70 plus.

حساب القلويدات:

تحضير العينة: غسلت النباتات من الرمل، ثم فصلت الأجزاء الهوائية عن الجذور، وبعدها جففت في الظل في المحم بدرجة حرارة 60مْ مدة ساعتين حتى الحصول على وزن ثابت.

تحديد القلويدات الرئيسية للهيوسيامين والسكوبولامين باستخدام تقانة الاستشراب الغازية الشعرية GC

طريقة الاستخلاص: استخلصت القلويدات من الأوراق باستخدام طريقة التعطين Maceration باستخدام حمض السلفوريك 0.4 Sulfuric acid نظامي، واستخدم مذيب عضوي هو ثنائي كلور الميتان، واستخدم محلول هيدروكسيد الأمونيوم 25% لتحرير القلويدات من أملاحها. حلّت الخلاصة النباتية النهائية في الميتانول من النقاوة الكروماتوغرافية. وحقن 2 ميكرولتر من الخلاصة النباتية المنحلة في الميتانول في جهاز الكروماتوغرافيا الغازية الشعرية GC.

أحضرت المواد العيارية للقلويدات الرئيسية في نبات الداتورا (الهيوسيامين والسكوبولامين) من شركة سيغما Segma، لأنَّ الهيوسيامين يكون بشكل أساس حر والسكوبولامين بشكل ملح هيدروكلوريدي Scopolamine hydrochloride. أذيب هذان القلويدان في الميتانول بعد تحرير السكوبولامين من ملحه، وحقنت العينات في جهاز الكروماتوغرافيا الغازية الشعرية. كُشف عن قلويدات التروبان باستخدام كاشف دراجيندورف وكاشف ماير.

شروط التحليل:

درجة حرارة الحاقن:	270oC
درجة حرارة الكاشف:	270 oC
درجة حرارة العمود:	250 oC
حجم الحقنة:	2 L
قمة المحل الميتانول:	Rt = 6.35
سكوبولامين:	Rt = 8.5
هيوسيامين:	Rt = 14

مواصفات العمود

الطول:	30m
قطره:	0.25mm
سماكة الفلم:	0.25 m
اسم العمود:	TRB5
شركة:	Teknokroma (اسبانية)

حدد مقدار القلويدين الرئيسيين الهيوسيامين والسكوبولامين باستخدام تقانة الكروماتوغرافيا الغازية الشعرية GC : ويظهر الشكل (10) مخطط كروموتوغرافيا هذين القلويدين.

الطرائق الإحصائية:

اعتمدنا في دراسة التغير الكيميائي على تحديد النسبة المئوية لتركيز القلويدين الرئيسيين في الداتورا ستراموניوم *Datura stramunium*، وهي الهيوسيامين والسكوبولامين في أوراق نبات جوز ماثل *Datura stramunium* وجذوره.

النتائج:

حساب محتوى الأيونات Univalent ions content

حافظ محتوى أيونات البوتاسيوم +K في جذور النبات الشاهد وأوراقه على قيمة ثابتة نسبياً انخفضت في نهاية التجربة. احتوت جذور وأوراق النبات الشاهد على محتوى منخفض جداً من أيونات الصوديوم +Na ومحتويات المجموع +Na و +K. الجدول (2,1)

احتوت جذور النباتات المعرضة لتراكيز مختلفة من الملوحة على محتويات +K أقل، وذلك كلما كانت ظروف الملوحة للنمو أعلى. تزايدت محتويات +Na لجذور النباتات ذات تركيز الملوحة الـ 25mM في أثناء التجربة، في حين ازدادت محتويات +Na لجذور نباتات الـ 40mM.

يثبط المحتوى العالي من +Na من نمو الجذور ويقود إلى نخر وضياع للأنسجة الفتية للجذور في النباتات التي لا تحتوي على ملح [16,15].

كانت محتويات أيون البوتاسيوم +K في أوراق النباتات المركزة أعلى بشكل طفيف منها في أوراق النبات الشاهد، وخاصة في أوراق نباتات الـ 50mM.

توافقت هذه النتائج مع النتائج التي حصل عليها [18,17] والتي أظهرت زيادة في محتويات أيونات +K و +Na في أوراق النباتات الحساسة للملح.

المناقشة:

أظهرت النتائج التي حصل عليها Weimberg R. (1984) [19] أن الشيخوخة تبدأ عندما تكون قيمة العلاقة الأيونية 1 > K+ / Na+ أقل من الواحد (الجدول) (الشكلان 3 و4). وأظهرت نتائجنا أن قيمة العلاقة الأيونية +K+/Na في أوراق نباتات 80mM, 40mM, 20mM كانت أقل من 1 في الأسابيع 17,16,14.

ازداد محتوى أيونات +Ca2 في جذور نبات الشاهد حتى الأسبوع 18، ومن ثم انخفض حتى نهاية التجربة، من المحتمل أن يعزى ذلك إلى النخر وفقدان الأجزاء الفتية من الجذور (الجدول3) (الشكلان 5 و6).

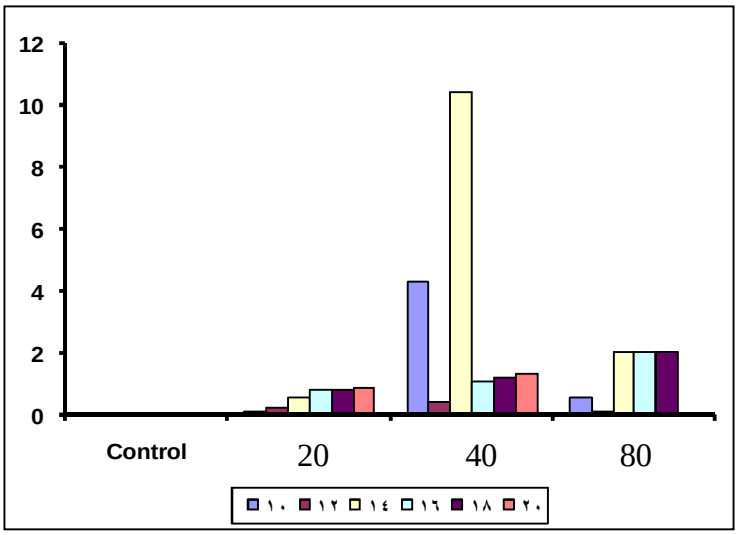
كانت قيمة العلاقة الأيونية +Na+/Ca2 (الجدول4)(الشكلان7 و8) منخفضة وثابتة بشكل نسبي.

عدَّ Weimberg R. (1984) و Gloria I. Ayala-Astorga; Lilia Alcaraz-Melendez (2010) [20,19] بأن معدلات عالية لـ +Na+/Ca2 تؤدي النفوذية شبه الدائمة "الجزئية" وتسمح لأيونات +K و +Na بالارتفاع، لكن معدلات أقل لـ +Na+/Ca2 تحافظ على النفوذية شبه الدائمة.

كان معدل +Na+/Ca2 منخفضاً في أوراق النبات الشاهد، ولكنه كان مرتفعاً في أوراق النباتات المعرضة للملوحة المركزة، مظهرة الضرر في الأخيرة.

الجدول (1) محتوى أيون الـ K^+ و Na^+ والمجموع الأيوني لـ $K^+ + Na^+$ في جذور النباتات المعالجة والشاهد معبراً عنها بالنسبة eq/g

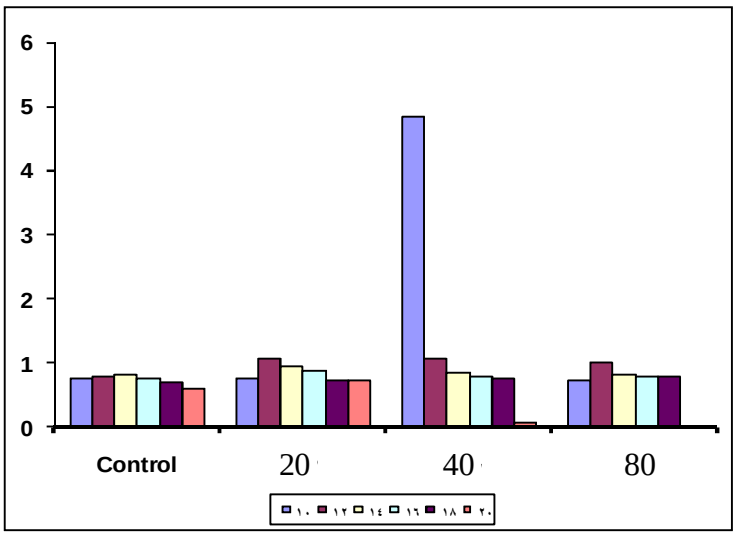
80	40	20	Control	10
0.583±0.020	4.31±0.0003	0.093±0.003	0.035±0.0002	10
0.111±0.077	0.433±0.0013	0.233±0.025	0.021±0.0001	12
2.008±0.209	10.47±0.0690	0.531±0.036	0.031±0.005	14
2.043±0.115	1.048±0.095	0.811±0.065	0.042±0.021	16
2.071±0.122	1.227±0.099	0.821±0.095	0.048±0.039	18
0	1.375±0.085	0.901±0.088	0.051±0.021	20



الشكل (1)

الجدول (2) محتوى أيون البوتاسيوم K^+

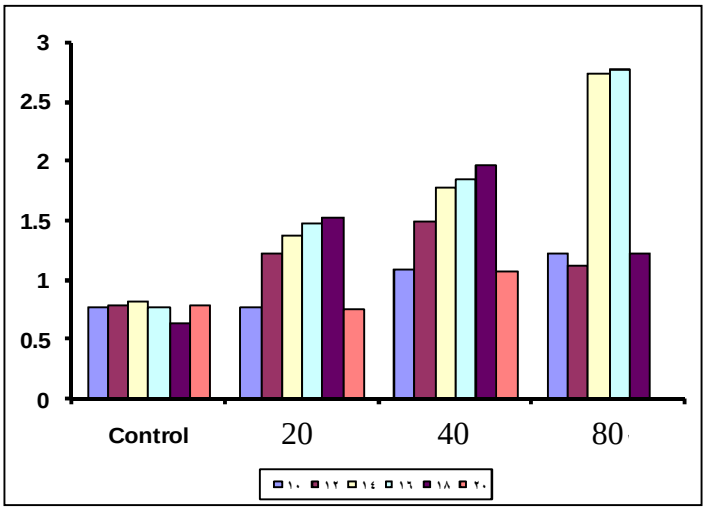
80	40	20	Control	10
0.731±0.051	4.851±0.068	0.759±0.051	0.763±0.0057	10
1.011±0.088	1.052±0.088	1.061±0.098	0.771±0.041	12
0.821±0.073	0.845±0.041	0.943±0.072	0.799±0.069	14
0.791±0.074	0.792±0.059	0.882±0.073	0.741±0.067	16
0.772±0.088	0.744±0.048	0.715±0.041	0.681±0.049	18
0	0.0773±0.063	0.712±0.052	0.599±0.045	20



الشكل (2)

الجدول (3) محتوى أيون البوتاسيوم + أيون الصوديوم $Na^+ + K^+$ في الأوراق

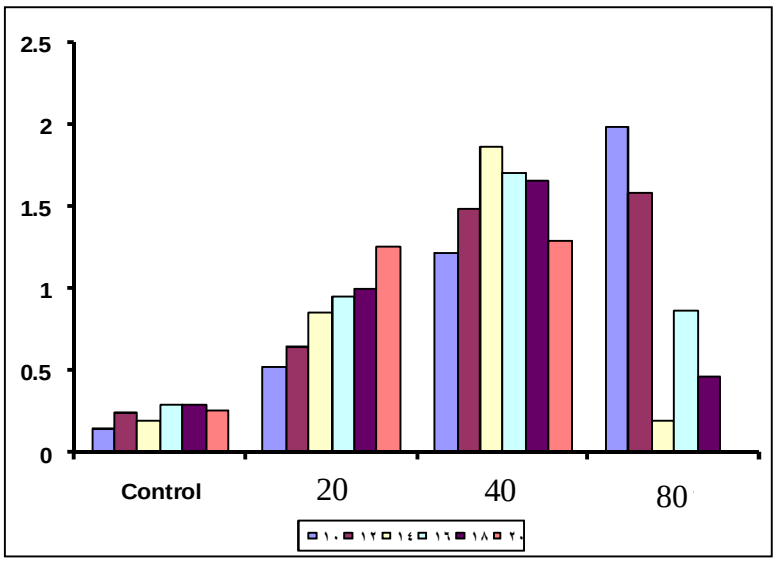
80	40	20	Control	10
1.231±0.099	1.082±0.069	0.771±0.081	0.779±0.061	10
1.116±0.281	1.491±0.094	1.221±0.114	0.789±0.041	12
2.734±0.075	1.782±0.122	1.369±0.132	0.822±0.071	14
2.762±0.189	1.841±0.151	1.482±0.149	0.769±0.063	16
1.229±0.097	1.964±0.193	1.521±0.112	0.635±0.079	18
	1.079±0.066	0.761±0.079	0.781±0.059	20



الشكل (3)

الجدول (4) محتوى الأيون في أوراق Na^+

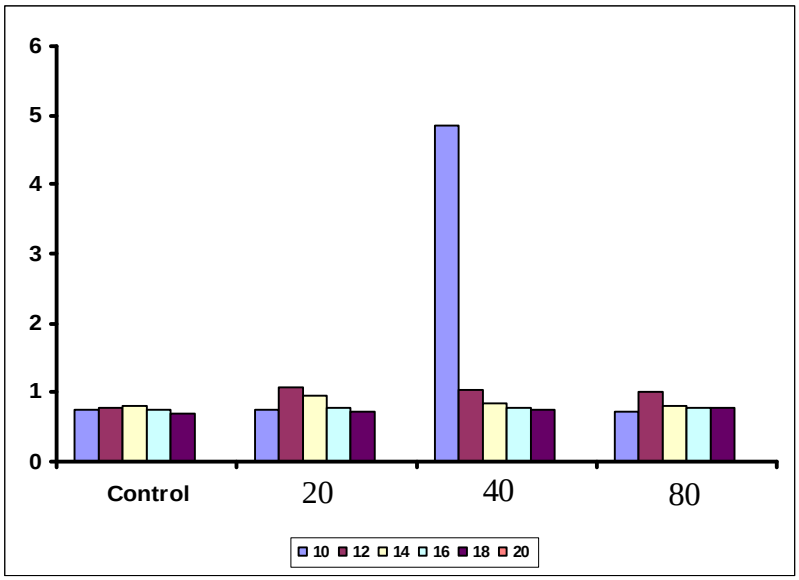
80	40	20	Control	10
1.989±0.182	1.224±0.109	0.521±0.069	0.141±0.021	10
1.583±0.161	1.491±0.121	0.651±0.082	0.249±0.331	12
0.199±0.211	1.862±0.169	0.851±0.081	0.199±0.011	14
0.869±0.091	1.711±0.161	0.951±0.041	0.298±0.051	16
0.459±0.061	1.659±0.152	0.999±0.091	0.291±0.045	18
0	1.291±0.108	1.261±0.099	0.262±0.029	20



الشكل (4)

الجدول (5) محتوى أيون البوتاسيوم في الجذور $K+$

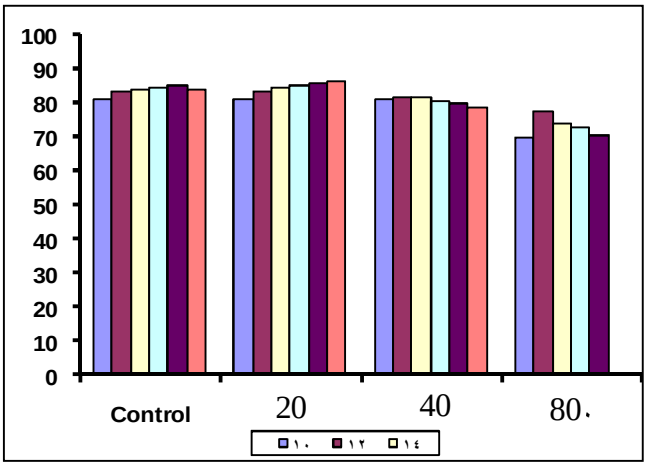
80	40	20	Control	10
0.731±0.051	4.849±0.069	0.758±0.051	0.761±0.059	10
1.011±0.089	1.051±0.091	1.063±0.111	0.771±0.043	12
0.815±0.073	0.848±0.041	0.943±0.071	0.799±0.070	14
0.789±0.072	0.792±0.061	0.781±0.071	0.741±0.069	16
0.775±0.089	0.741±0.051	0.712±0.043	0.681±0.049	18
0				20



الشكل (5)

الجدول (6) متوسط النسبة المئوية للهيوسيامين في الجذور

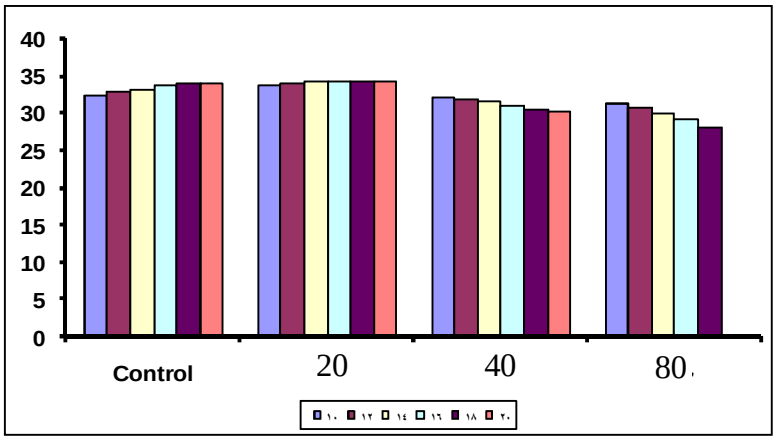
80mM	40mM	20mM	Control	10
70.13	81.12	81.31	81.43	10
77.63	81.71	83.45	83.52	12
74.31	81.63	84.62	84.23	14
72.73	80.47	85.46	84.89	16
70.63	79.86	85.91	85.37	18
0	78.82	86.26	84.13	20



الشكل (6)

الجدول (7) متوسط النسبة المئوية للسكوبولامين في الجذور

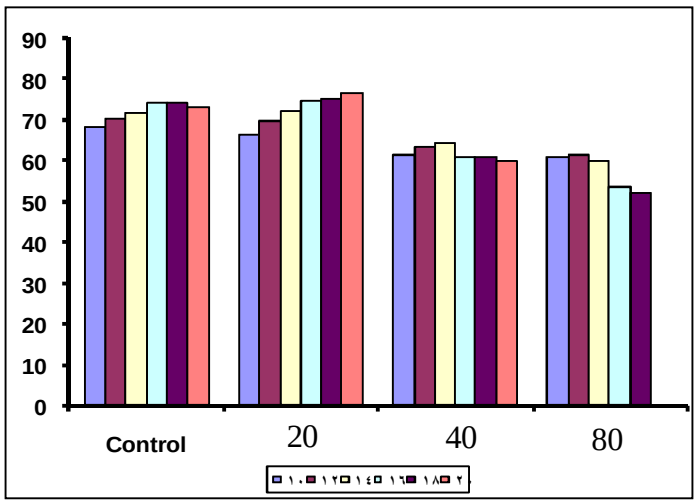
80mM	40mM	20mM	Control	10
31.23	32.10	33.72	32.33	10
30.82	31.9	33.93	32.91	12
30.11	31.53	34.27	33.27	14
29.12	31.13	34.33	33.89	16
28.00	30.63	34.35	34.1	18
0	30.24	34.26	33.92	20



الشكل (7)

الجدول (8) متوسط النسبة المئوية للهيوسيامين في الأوراق

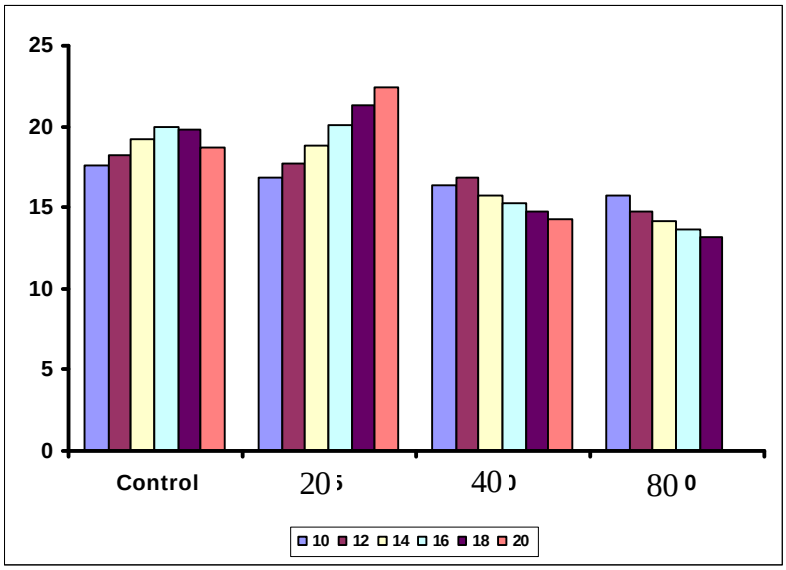
80mM	40mM	20mM	Control	10
60.82	61.35	66.35	68.48	10
61.42	63.47	69.81	70.33	12
59.81	64.37	72.34	71.62	14
53.73	61.22	74.62	74.48	16
52.31	60.93	75.25	74.38	18
-	60.1	76.51	73.52	20



الشكل (8)

الجدول (9) متوسط النسبة المئوية للسكوبولامين في الأوراق

80mM	40mM	20mM	Control	10
15.72	16.32	16.91	17.63	10
14.83	16.83	17.74	18.18	12
14.11	15.75	18.85	19.25	14
13.72	15.31	20.11	19.94	16
13.23	14.81	21.31	19.83	18
-	14.23	22.41	18.71	20

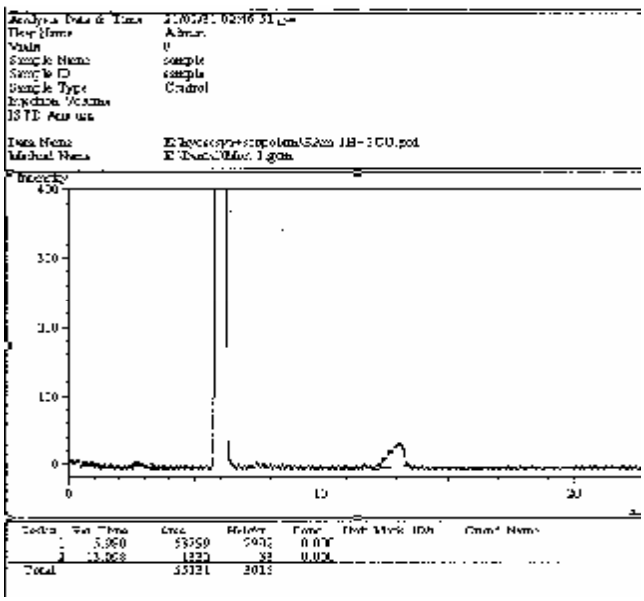


الشكل (9)

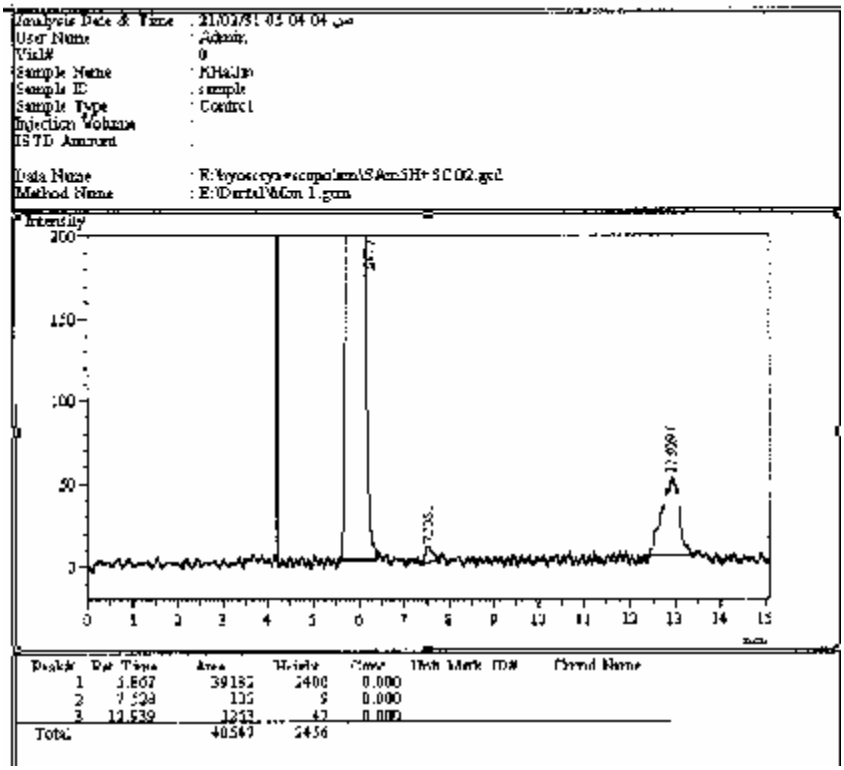
محتوى القلويدات في الأوراق والجذور:

تزايدت محتويات القلويدات (الهيوسيامين والسكوبولامين) في أوراق في النباتات الخاضعة للملوحة وجذورها، وكذلك نباتات الشاهد في بداية التجربة، ثم انخفضت خلال مدة التجربة.

ازدادت نسبة القلويدات في النباتات المعرضة للملوحة القليلة من 25mM ولم تزدد بشكل ملحوظ في النباتات الخاضعة للملوحة المركزة. لأن الملوحة تؤدي إلى زيادة الاصطناع الحيوي للقلويدات لدرجة محددة، وذلك لضياع وتنخر الأنسجة النباتية.

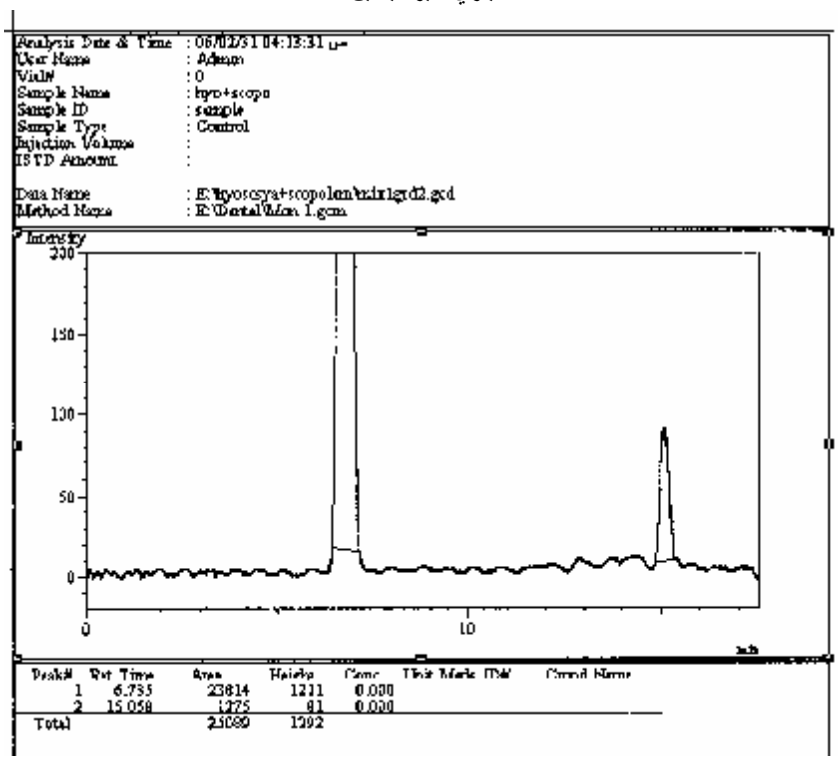


الشكل (10) عياري هيوسيامين

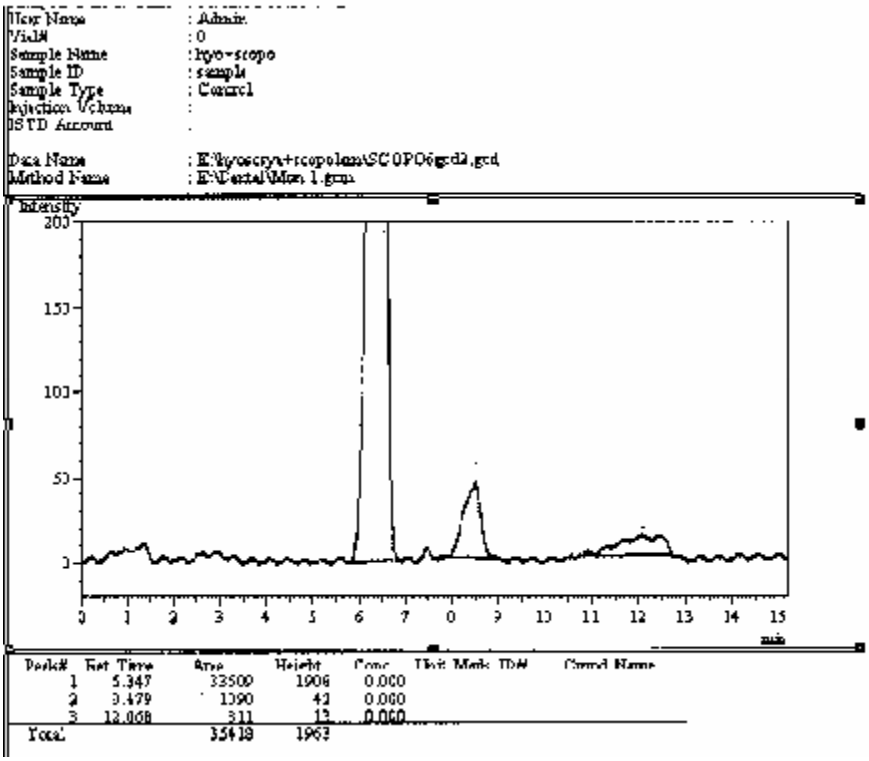


تابع الشكل (10)

عياري هيوسيامين



الشكل (11) عياري سكوبولامين



تابع الشكل (11)

عياري سكوبولامين

الاستنتاج:

ارتفع المحتوى الأيوني +K++Na في الأوراق، وذلك بمنزلة آلية لصد ارتفاع شاردة الصوديوم +Na وكانت قيمة العلاقة الأيونية +Na+/K، أقل في أوراق النبات الشاهد منه في أوراق النباتات المعرضة للملوحة المركزة بسبب ضياع لأوراق هرمة.

ازدادت النسبة المئوية للقلويدات (الهيوسيامين والسكوبولامين) بدرجة ملوحة 25mM في حين لم يطرأ تبدل واضح على النسبة المئوية للقلويدات في درجات الملوحة الأعلى 100,50mM وذلك بسبب تراجع الاستقلاب الأولي والنمو وحدوث النخر والتموت الموضعي للأنسجة.

References

1. Kurt A. Jellinger. Neuropathological Aspects of Alzheimer Disease, Parkinson Disease and Frontotemporal Dementia. Neurodegenerative; 2008, 5:118-121 (DOI: 10.1159/000113679)
2. Cheesman J.M. Mechanisms of salinity tolerance in plants. Plant physiol. 1988; (87-547).
3. Rana M; Mark T. Mechanisms of Salinity tolerance. Annual review of plant biology. 2008. Vol. 59: 651-681.
4. Storey R.; Wyn J. R.G. Quaternary ammonium compounds in plants in relation to salt resistance. Phytochemistry. 1977. (16), 447-453p.
5. Stpreu' R.G. Wyn J. 2001. Quaternary ammonium compounds in plants in relation to salt resistance. University college of North Wales. 2001.
6. Greenway, H.; OSMOND, C.P. Salt responses of enzymes from species differing in salt tolerance. Plant physiol. 1972. (49). 256-259.
7. Gramer, G.R.; Lauchli, A.; Politus, D. Displacement of Ca^{2+} by Na^{+} from the plasma lemma of root cells. Plant physiol. 1985. (79). 791-797.
8. Munns R. Comparative physiology of salt and water stress. Plant, cell and environment. 2002. vol. 25, issue2, p.239-250.

9. Schachtman, D.; P.; TYERMAN, S.; D.; TERRY, B.; R. The K+/Na+ Selectivity of a acation channel in the plasma membrane of root cells does not differ in salt tolerant and salt sensitive wheat species. Plant physiol. 1991. (97). 151-163.
10. Fernandez E. A.J.; Rossini O. S., March. The composition and reiationsnips between trace element levels in inhatabie atmospheric (PM 10) and in leaves of Hyoscimus aureus L. and Lantuna camara L. Chemosphere.; (62), Issue 10, 2006. pages 1665-1672.
11. Cramer, G.R.; Lauchi, A.; Epstein, E. Effects of NaCl and CaCl2 on ion activities in complex nutrient solutions and root growth of cotton. Plant physiol. 1986; (81), 792-797.
12. Banon S. J. Ochoa, J. A. Franco, J.J. Alarcon; M.J. Sanchez – Blanco. Hardening of leander seedlings by deficit irrigation and low aire humidity, Environmental and experimental botany. 2006.; (56), Issue 1, pages 36-43.
13. Cusido R.M.; Palazon, J.; Altabella, T; morales, C. Plant and soil. 1987; (102), 55-60.
14. Vindel, C.; P. Espectroscopia de emission pro plasma ICP. Quimica E industria. 1985; (3). 2-5p.
15. Greenway, H.; Gunn, A.; Thomas. D.A. Aust. J.B. Biol. Sci. (1966).; (19), 741-756.
16. Jeschke, N. D. In recent advances in the biochemistry of cereals. Laidmond DL+Wyn Jones R.G. 1979; (4ed) 37-61.London New York San Francisco Academy.
17. Whittington J.; Smith F, A. Calcium – salinity interaction affect ion transport in chara coralline. Plant cell and environment. 1992; (15), 727-733p.
18. Amar K.; Mark T.; Teressa A.; Antonio F. Tiburcio. Recent advances in polyamine research. Trends in plant sciene. 1997; Vol. 2, issue4, p.124-130.
19. Weimberg R. Changes in growth and water – soluble concentrations in sorghum bicolor stressed with sodium and potassium salts. Physiol plant. (62), 1984. 472-480p.
20. Gloria I. Ayala-Astorga; Lilia Alcaraz-Melendez. Salinity effects on protein content, lipid proxidation, pigments, and praline in paulownia imperiali s(Siebold and Zuccarini) and Paulownia fortunei (seemann and Hemsley) grown in vitro. 2010. DOI: 10.2225/vol13-issue5-fulltext-13.

تاريخ ورود البحث إلى مجلة جامعة دمشق 2011/2/13.

تاريخ قبوله للنشر 2011/7/28.