



دانشگاه الزهراء (س)

دانشکده علوم پایه

پایان نامه

جهت اخذ درجه کارشناسی ارشد

رشته زیست شناسی علوم گیاهی - گرایش فیزیولوژی

بررسی کمی و کیفی برخی ترکیبات فیتوشیمیایی در سه جمعیت براز مبل

(*Perovskia abrotanoides*)

استاد راهنما

دکتر عذرا صبورا

اساتید مشاور

دکتر پریچهر حناچی

دکتر غلامرضا رفیعی

دانشجو

محبوبه شکری

آذر ۹۱

عَلَّمَ الْقُرْآنَ

چکیده:

سرده *Perovskia* L. یکی از سرده های متعلق به تیره ی نعناعیان (Lamiaceae) است. این سرده دارای ۴ گونه می باشد که در مناطق آسیا، افغانستان، پاکستان، ایران، هیمالیا و تبت رویش دارد. گونه های این سرده دارای تری ترین های زیادی هستند که در عملکرد قلب، فعالیت آنتی اکسیدانی، خاصیت سمیت سلولی و مهار آنزیم آلدوز ردوکتاز نقش مهمی دارند. در این پژوهش، یکی از گونه های این سرده با نام علمی *P. abrotanoides* از سه منطقه مختلف ایران جمع آوری گردید و اندام های گل و برگ آن با سه روش مختلف در چندین سیستم حلالی عصاره گیری شد. سپس محتوای ترکیبات ساپونینی، فنلی، فلاونوئیدی، تانن، رزمارینیک اسید و آلکالوئید آن سنجیده شد. هم چنین فعالیت آنتی اکسیدانی اندام های گل و برگ با روش های مختلف شامل فعالیت آنتی اکسیدانی کل، مهار همولیز گلبول قرمز، قدرت احیاکنندگی (FRAP)، فعالیت جاروب کنندگی رادیکال نیتریک اکساید و آزمون مهار بی رنگ شدن بتاکاروتن مورد مطالعه قرار گرفت. نتایج نشان داد که میانگین های فعالیت آنتی اکسیدانی و محتوای ترکیبات شیمیایی فوق بسته به نوع حلال، روش استخراج، جمعیت مورد بررسی و هم چنین فصول مختلف سال تفاوت معنی داری داشتند. هم چنین نوع اندام نیز روی میانگین هر کدام از ترکیبات و خواص ذکرشده تاثیر گذار بود. روش کروماتوگرافی لایه نازک به منظور بررسی کیفی ترکیبات و هم چنین کروماتوگرافی ستونی با هدف جداسازی ترکیبات موجود در این گونه انجام شد که با کمک این روش، ۴ ترکیب ساپونینی از عصاره اتانلی و اترنفتی برگ جمعیت شاهرود تفکیک شد. در قسمت دیگر این پژوهش، اثر تیمارهای دمایی و هورمونی بر شکست خواب بذر این گونه بررسی شد که نتایج نشان دهنده نقش بارز سیتوکینین ها بر شکست خواب بذر بود. هم چنین تیمارهای هورمونی مختلف تفاوت معنی داری را در شاخص های رشدی (تعداد و طول) ریشه های نوپدید و نو شاخه ها و فعالیت آنتی اکسیدانی و محتوای رزمارینیک اسید آنها نشان داد، به طوری که تیمارهای مناسب شاخه زایی و ریشه زایی شناسایی شد. افزایش میزان رزمارینیک اسید و فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره اندام های حاصل از کشت بافت در پاسخ به برخی از تیمارهای هورمونی مشهود بود.

کلمات کلیدی: برازمل، *P. abrotanoides*، ساپونین، کروماتوگرافی ستونی، فعالیت آنتی اکسیدانی، تیمارهای هورمونی، شکست خواب بذر

مرحم زخم تمام یاسها

قطره ای احساس از دریای توست

تقدیم به ساحت مقدس بانوی آب و آینه حضرت زهرا(س)

ای معلم : ای روشنی بخش دلها . براستی که تو بعد از خداوند (علم الانسان ما لم يعلم) هستی. چگونه می توان تو را ستود و تو را سرود که تو خود سرود قافله ی تمدن هستی .

با سپاس از استاد درس و اخلاق:

سرکار خانم دکتر صبورا

به پاس مساعدت های ارزنده و بی شائبه ایشان در تمامی مراحل گردآوری و نگارش این پایان نامه

از اساتید مشاور گرانقدرم سرکار خانم دکتر حناچی و جناب آقای دکتر رفیعی به خاطر راهنمایی هایشان سپاسگذارم.

سپاس از پدر و مادر عزیزم؛

آنان که راستی قامت بر شکستگی قامتشان تجلی یافت.
در برابر وجود گرامیشان زانوی ادب بر زمین می زنم
و با دلی مملو از عشق و محبت و خضوع بر دستشان بوسه می زنم...
پیشکش بی قدری از قطره ای به دریایی

قدردانی از همسر عزیزم مهدی

به خاطر تمام مهربانی ها و صبوری هایش

با سپاس فراوان از خدیجه عزیزم که همواره کنارم بود

تشکر ویژه از دوستان عزیز و مهربانم

تمام بچه های آزمایشگاه فیزیولوژی گیاهی:

فاطمه پوربرات، خدیجه دادمهر، الهام احمدی، حنانه باقری کیا، سپیده مشایخی،
زهرا زاهد و دیگر عزیزان به پاس حمایت ها و مهربانی های خالصانه شان...

فهرست مطالب

۹	فصل اول: مقدمه
۲	۲-۱ معرفی تیره نعناعیان
۳	۱-۲-۱ معرفی گونه <i>P. abrotanoides</i>
۷	۳-۱ متابولیت های ثانویه
۸	۱-۳-۱ ترپنوئیدها
۸	۱-۱-۳-۱ طبقه بندی ترپنها
۹	۲-۱-۳-۱ بیوسنتز ترپنوئیدها
۱۰	۲-۳-۱ ساپونین ها
۱۱	۱-۲-۳-۱ منابع و ساختار ساپونین ها
۱۱	۲-۲-۳-۱ فعالیت زیستی ساپونین ها
۱۳	۳-۲-۳-۱ کاربردهای مختلف ساپونین ها
۱۵	۳-۳-۱ آلکالوئیدها
۱۶	۱-۳-۳-۱ کاربردهای آلکالوئید
۱۷	۴-۳-۱ تانن
۱۸	۱-۴-۳-۱ طبقه بندی تانن ها
۱۹	۲-۴-۳-۱ کاربرد تانن
۲۰	۴-۱ ترکیبات پاداکساینده
۲۲	۵-۱ اهمیت کاربرد روش های مختلف در بررسی فعالیت آنتی اکسیدانی
۲۴	۶-۱ مروری بر پیشینه پژوهشهای انجام شده
۲۶	۷-۱ هدف از پژوهش
۲	فصل دوم: مواد و روش ها
۲۸	۱-۲ تهیه نمونه
۲۸	۲-۲ استخراج ترکیبات موثره با سه روش مختلف عصاره گیری
۲۸	۱-۲-۲ عصاره گیری به روش امواج فراصوت (Ultrasonic method)
۲۹	۲-۲-۲ عصاره گیری به روش خیساندن
۲۹	۳-۲-۲ عصاره گیری به روش سوکسله

- ۲۹ ۳-۲ بررسی فعالیت پاداکسایشی در گیاه برازمبل
- ۲۹ ۱-۳-۲ اندازه گیری فعالیت پاداکسایشی کل (TAC)
- ۳۰ ۲-۳-۲ اندازه گیری فعالیت پاداکسایشی به روش احیا کنندگی یون آهن (FRAP)
- ۳۱ ۳-۳-۲ اندازه گیری میزان مهار همولیز گلبول قرمز
- ۳۱ ۱-۳-۳-۲ تهیه اریتروسیت های خون انسان
- ۳۱ ۲-۳-۳-۲ فعالیت همولیز گلبول قرمز
- ۳۲ ۴-۳-۲ اندازه گیری قدرت جاروب کنندگی رادیکال نیتریک اکساید
- ۳۳ ۵-۳-۲ اندازه گیری فعالیت پاداکسایشی به روش سیستم β -کاروتن-لینولئیک اسید
- ۳۳ ۴-۲ سنجش کمی ساپونین
- ۳۴ ۵-۲ اندازه گیری محتوای ترکیبات فنلی کل
- ۳۵ ۶-۲ اندازه گیری محتوای فلاونوئید کل
- ۳۶ ۷-۲ استخراج و اندازه گیری میزان تانن
- ۳۶ ۱-۷-۲ عصاره گیری تانن
- ۳۷ ۲-۷-۲ جداسازی تانن از عصاره ی خام
- ۳۷ ۸-۲ اندازه گیری محتوای رزمارینیک اسید
- ۳۸ ۹-۲ استخراج آلکالوئید ها و سنجش آلکالوئید تام
- ۴۰ ۱۰-۲ کروماتوگرافی
- ۴۰ ۱-۱۰-۲ کروماتوگرافی لایه نازک ترکیبات فنل و فلاونوئیدی
- ۴۱ ۲-۱۰-۲ آشکار کردن لکه های فنل و فلاونوئیدی
- ۴۱ ۳-۱۰-۲ کروماتوگرافی لایه نازک به منظور جداسازی ترکیبات ساپونینی
- ۴۲ ۴-۱۰-۲ آشکار سازی ترکیبات ساپونینی
- ۴۲ ۵-۱۰-۲ کروماتوگرافی لایه نازک دو بعدی به منظور بررسی ترکیبات ساپونینی
- ۴۲ ۶-۱۰-۲ کروماتوگرافی ستونی
- ۴۲ ۱-۱۰-۲ کروماتوگرافی ستونی عصاره اترنفتی برگ (ستون شماره ۱ و ۲)
- ۴۴ ۲-۱۰-۲ کروماتوگرافی ستونی عصاره اتانلی برگ (ستون شماره ۳)
- ۴۵ ۳-۱۰-۲ ستون مربوط به مخلوط فراکشن ۵ و ۶ (ستون شماره ۴)
- ۴۶ ۴-۱۰-۲ ستون مربوط به مخلوط فراکشن ۲ و ۳ (ستون شماره ۵)
- ۴۶ ۱۱-۲ مطالعه کشت بافتی گیاه برازمبل حاصل از بذرهای جمعیت شاهرود

۴۶	۱-۱۱-۲ مراحل استریل بذر
۴۶	۲-۱۱-۲ تهیه محیط کشت و تیمارهای هورمونی
۴۷	۳-۱۱-۲ اثر تیمارهای مختلف بر شکست خواب و جوانه زنی بذر گیاه برازمبل
۴۷	۱-۳-۱۱-۲ محاسبه درصد و سرعت جوانه زنی
۴۸	۴-۱۱-۲ اثر تیمارهای هورمونی بر شاخص های رشد و فعالیت آنٹی اکسیدانی اندام های حاصل از کشت بافت
۴۸	۱۲-۲ تجزیه و تحلیل آماری
۲۹	فصل سوم: نتایج
۵۱	۱-۳ بررسی اثر روش عصاره گیری در استخراج برخی ترکیبات شیمیایی <i>P. abrotanoides</i> در دو اندام گل و برگ
۵۱	۱-۱-۳ مقایسه محتوای ساپونینی
۵۲	۲-۱-۳ مقایسه محتوای ترکیبات فنلی
۵۲	۳-۱-۳ مقایسه محتوای ترکیبات فلاونوئیدی
۵۳	۴-۱-۳ مقایسه محتوای رزمارینیک اسید
۵۴	۲-۳ مقایسه فعالیت آنٹی اکسیدانی عصاره های برگ و گل طی سه روش عصاره گیری مختلف
۵۵	۱-۲-۳ فعالیت آنٹی اکسیدانی کل
۵۶	۲-۲-۳ مهار بی رنگ شدن بتا کاروتن
۵۶	۳-۲-۳ قدرت احیا کنندگی یون آهن
۵۷	۴-۲-۳ مهار همولیز گلبول قرمز
۵۷	۵-۲-۳ قدرت جاروب کنندگی رادیکال نیتریک اکساید
۵۹	۳-۳ بررسی اثر نوع حلال در استخراج برخی ترکیبات شیمیایی <i>P. abrotanoides</i>
۵۹	۱-۳-۳ مقایسه محتوای ساپونین استخراج شده توسط حلال های مختلف
۶۰	۲-۳-۳ مقایسه محتوای ترکیبات فنلی استخراج شده توسط حلال های مختلف
۶۰	۳-۳-۳ مقایسه محتوای فلاونوئیدی استخراج شده توسط حلال های مختلف
۶۰	۴-۳-۳ مقایسه محتوای رزمارینیک اسید استخراج شده توسط حلال های مختلف
۶۲	۴-۳ مقایسه فعالیت آنٹی اکسیدانی عصاره های استخراج شده با حلال های مختلف
۶۲	۱-۴-۳ فعالیت آنٹی اکسیدانی کل
۶۳	۲-۴-۳ مهار بی رنگ شدن بتا کاروتن
۶۳	۳-۴-۳ قدرت احیا کنندگی یون آهن
۶۴	۴-۴-۳ مهار همولیز گلبول قرمز

۶۶	۵-۳ مقایسه ترکیبات شیمیایی استخراج شده از سه جمعیت
۷۰	۶-۳ مقایسه فعالیت آنتی اکسیدانی در سه جمعیت
۷۵	۷-۳ مقایسه تغییرات ترکیبات موثره در فصول مختلف
۷۶	ب: تغییر محتوای ترکیبات فنلی
۷۶	ج: تغییر محتوای ترکیبات فلاونوئیدی
۷۷	د: تغییر محتوای رزمارینیک اسید
۷۷	ه: تغییر محتوای تانن
۷۷	و: تغییر محتوای آلکالوئیدها
۷۹	۸-۳ مقایسه فعالیت آنتی اکسیدانی در فصول مختلف
۸۶	۹-۳ نتایج حاصل از کروماتوگرافی لایه نازک عصاره های حاصل از دو اندام برگ و گل
۸۸	۱۰-۳ نتایج حاصل از کروماتوگرافی ستونی
۸۸	۱-۱۰-۳ نتایج حاصل از کروماتوگرافی ستون شماره ۱
۹۰	۲-۱۰-۳ نتایج حاصل از کروماتوگرافی ستون شماره ۲
۹۲	۳-۱۰-۳ نتایج حاصل از کروماتوگرافی ستون شماره ۳
۹۳	۴-۱۰-۳ نتایج حاصل از کروماتوگرافی ستون شماره ۴ (حاصل از تزریق مخلوط فراکشن ۵ و ۶ ستون VLC)
۹۵	۵-۱۰-۳ نتایج حاصل از کروماتوگرافی ستون شماره ۵ (حاصل از تزریق مخلوط فراکشن ۲ و ۳ ستون VLC)
۹۷	۱۱-۳ نتایج حاصل از تیمارهای به کار برده شده جهت شکست خواب بذرهای <i>P. abrotanoides</i> کشت داده شده از جمعیت شاهرود
۱۰۰	۱-۱۱-۳ مقایسه اثر تیمارهای مختلف شکست خواب بر شاخص های رشدی بذرهای جوانه زده
۱۰۳	۱۲-۳ نتایج حاصل از اثر متقابل تیمارهای اکسین و سیتوکینین بر شاخص های رشد و فعالیت آنتی اکسیدانی اندام های نوپدید
۱۰۳	۱-۱۲-۳ درصد جوانه زنی
۱۰۴	۲-۱۲-۳ القاء اندام زایی و کالوس زایی طی کشت بافت
۱۱۱	۳-۱۲-۳ مقایسه نتایج حاصل از بررسی فعالیت آنتی اکسیدانی اندامهای نوپدید
۱۱۲	فصل چهارم: بحث و نتیجه گیری
۱۱۴	۱-۴ ارزیابی روش های عصاره گیری جهت استخراج ترکیبات موثره و فعالیت آنتی اکسیدانی اندام هوایی <i>P. abrotanoides</i>
۱۱۷	۲-۴ انتخاب حلال عصاره گیری مناسب به منظور استخراج ترکیبات موثره موجود در گیاه <i>P. abrotanoides</i>
۱۲۰	۳-۴ بررسی تاثیر زمان و محل برداشت نمونه بر میزان ترکیبات موثره
۱۲۴	۴-۴ بررسی ساپونین های موجود در گیاه <i>P. abrotanoides</i> به روش کروماتوگرافی
۱۲۷	۵-۴ بررسی اثر تیمارهای مختلف هورمونی بر شکست خواب بذر و شاخص های رشد دانه رست های گیاه <i>P. abrotanoides</i>

۱۲۸	۶-۴ بررسی پاسخهای کشت بافت بذر <i>P. abrotanoides</i>
۱۳۱	۷-۴ بررسی اثر تیمارهای مختلف هورمونی بر فعالیت آنتی اکسیدانی و محتوای رزمارینیک اسید گیاه برازمبل در شرایط <i>in vitro</i>
۱۳۲	۸-۴ نتایج کلی
۱۳۴	فصل پنجم: منابع
۱۳۵	منابع

فهرست جداول

- جدول ۱-۱: بررسی ترکیبات شناخته شده در سرده *Perovskia* ۴
- جدول ۱-۲: مشخصات نمونه های جمع آوری شده از سه جمعیت مورد مطالعه *P. abrotanoides* ۲۸
- جدول ۲-۲: سیستم های حلالی فاز متحرک مورد استفاده در کروماتوگرافی لایه نازک یک بعدی برای ترکیبات فلاونوئیدی ۴۰
- جدول ۲-۳: سیستم های حلالی فاز متحرک مورد استفاده در کروماتوگرافی لایه نازک یک بعدی برای ترکیبات ساپونینی ۴۱
- جدول ۲-۴: نسبت حلال های به کار رفته در شستشوی ستون شماره ۱ حاصل از تزریق عصاره اترنفتی برگ ۴۳
- جدول ۲-۵: نسبت حلال های به کار رفته در شستشوی ستون شماره ۲ حاصل از تزریق عصاره اترنفتی برگ ۴۴
- جدول ۲-۶: نسبت حلال های به کار رفته در شستشوی ستون شماره ۳ حاصل از تزریق عصاره اتانلی برگ ۴۵
- جدول ۲-۷: نسبت حلال های به کار رفته در شستشوی ستون شماره ۵ حاصل از تزریق عصاره اتانلی برگ ۴۵
- جدول ۳-۱: نتایج حاصل از تجزیه واریانس دوطرفه اثر متقابل روش عصاره گیری و اندام در محتوای ترکیبات موثره ۵۱
- جدول ۳-۲: نتایج حاصل از تجزیه واریانس دوطرفه اثر متقابل روش عصاره گیری و اندام در میزان فعالیت آنتی اکسیدانی ۵۵
- جدول ۳-۳: نتایج حاصل از تجزیه واریانس دوطرفه اثر متقابل حلال و اندام مورد بررسی در محتوای ترکیبات موثره ۵۹
- جدول ۳-۴: نتایج حاصل از تجزیه واریانس دوطرفه اثر متقابل حلال و اندام در بررسی فعالیت آنتی اکسیدانی ۶۲
- جدول ۳-۵: نتایج حاصل از تجزیه واریانس دوطرفه اثر متقابل جمعیت و اندام در محتوای ترکیبات موثره ۶۶
- جدول ۳-۶: نتایج حاصل از تجزیه واریانس دوطرفه اثر متقابل جمعیت و اندام در محتوای فعالیت آنتی اکسیدانی ۷۰
- جدول ۳-۷: نتایج حاصل از تجزیه واریانس دوطرفه اثر متقابل فصل و اندام در محتوای ترکیبات موثره ۷۵
- جدول ۳-۸: نتایج حاصل از تجزیه واریانس دوطرفه اثر متقابل فصل و اندام در میزان فعالیت آنتی اکسیدانی ۸۰
- جدول ۳-۹: ضریب هم بستگی خطی بین محتوای ترکیبات موثره و فعالیت آنتی اکسیدانی و هم چنین بین روشهای مختلف ۸۴
- جدول ۳-۱۰: ویژگی های لکه های ساپونینی جدا شده توسط TLC یک بعدی حاصل از فراکشن های ستون شماره ۱ ۸۹
- جدول ۳-۱۱: ویژگی های لکه های ساپونینی جدا شده توسط TLC یک بعدی حاصل از فراکشن های ستون شماره ۲ ۹۱
- جدول ۳-۱۲: تجزیه واریانس یک طرفه درصد جوانه زنی، رانددمان جوانه زنی، طول ریشه و طول شاخه ۹۷

فهرست اشکال

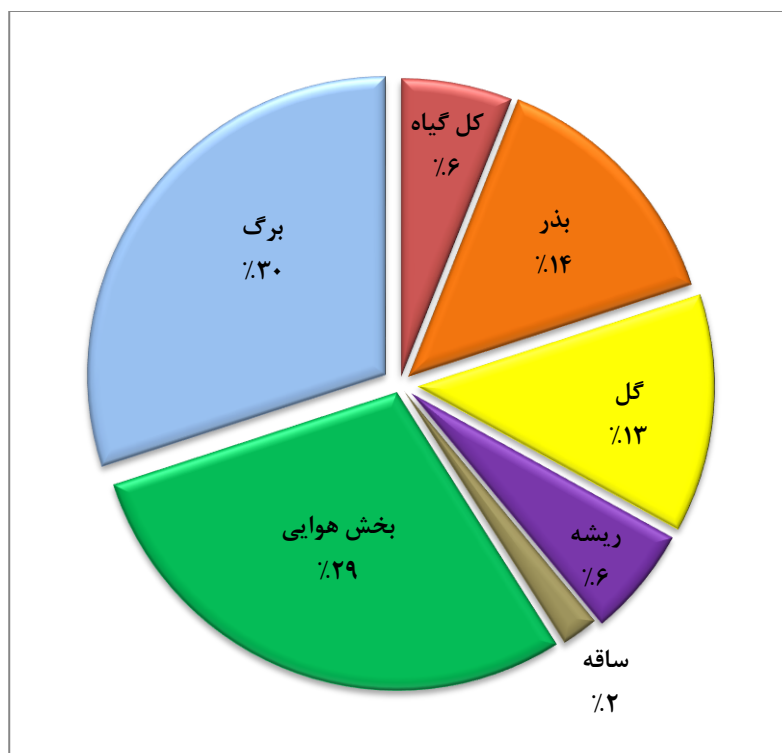
- شکل ۱-۱: مقایسه تعداد گونه های موجود در تیره نعنایان و درصد توزیع اندام های مختلف ۳
- شکل ۱-۲: ساختار هرباریومی گونه *P. abrotanoides* و تفاوت در ساختار برگ در گونه های مختلف سرده *Perovskia* ۶
- شکل ۱-۳: مسیر ایزوپرنوئید در گیاهان در دو جایگاه سیتوسول و پلاستید ۱۰
- شکل ۱-۴: طبقه بندی تانن ها ۱۹
- شکل ۲-۱: منحنی استاندارد به دست آمده از غلظت های مختلف آسکوربیک اسید ۳۰
- شکل ۲-۲: منحنی استاندارد به دست آمده با استفاده از غلظت های مختلف آسکوربیک اسید ۳۱
- شکل ۲-۳: منحنی استاندارد ساپونین با استفاده از غلظت های مختلف ساپونین تجاری ۳۴
- شکل ۲-۴: منحنی استاندارد فنل با استفاده از غلظت های مختلف گالیک اسید ۳۵
- شکل ۲-۵: منحنی استاندارد فلاونوئید با استفاده از غلظت های مختلف کوئرستین ۳۶
- شکل ۲-۶: منحنی استاندارد تانن با استفاده از غلظت های مختلف تانیک اسید ۳۷
- شکل ۲-۷: منحنی استاندارد حاصل از غلظت های مختلف رزمارینیک اسید استاندارد ۳۸
- شکل ۲-۸: منحنی استاندارد حاصل از غلظت های مختلف آتروپین سولفات استاندارد ۳۹
- شکل ۲-۹: مراحل حذف رنگیزه ها با استفاده از دی اتیل اتر در دو اندام برگ (۱) و گل (۲) ۳۹
- شکل ۳-۱: مقایسه محتوای ترکیبات موجود در گونه *P. abrotanoides* به سه روش عصاره گیری ۵۴
- شکل ۳-۲: مقایسه فعالیت آنتی اکسیدانی گونه *p. abrotanoides* با سه روش عصاره گیری مختلف به روش های مختلف ۵۸
- شکل ۳-۳: مقایسه محتوای ترکیبات مختلف در گونه *p. abrotanoides* تحت اثر حلال های مختلف ۶۱
- شکل ۳-۴: مقایسه فعالیت آنتی اکسیدانی گونه *p. abrotanoides* تحت اثر حلال های مختلف ۶۵
- شکل ۳-۵: مقایسه محتوای ترکیبات موجود در سه جمعیت مختلف گونه *p. abrotanoides* ۶۹
- شکل ۳-۶: مقایسه فعالیت آنتی اکسیدانی گونه *p. abrotanoides* در سه جمعیت شاهرود، کاشان و مشهد ۷۲
- شکل ۳-۷: مقایسه محتوای ترکیبات موجود در فصول مختلف گونه *p. abrotanoides* ۷۹
- شکل ۳-۸: مقایسه فعالیت آنتی اکسیدانی گونه *p. abrotanoides* در فصول مختلف ۸۲
- شکل ۳-۹: کروماتوگرام لایه نازک تحت نور UV (چپ) و نور مرئی (راست) برای ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی ۸۶
- شکل ۳-۱۰: کروماتوگرام لایه نازک یک بعدی ترکیبات ساپونینی (راست) کروماتوگرام خطی عصاره اتر نفتی برگ. ۸۷
- شکل ۳-۱۱: کروماتوگرافی دو بعدی ترکیبات ساپونینی با عصاره اتر نفتی برگ حاصل از روش سوکسله ۸۷
- شکل ۳-۱۲: کروماتوگرام عصاره اتانلی (راست) و اتر نفتی (چپ) برگ حاصل از روش سوکسله ۸۸
- شکل ۳-۱۳: کروماتوگرام حاصل فرکشن های ستون شماره ۱ حاصل از تزریق عصاره اتر نفتی برگ ۸۹
- شکل ۳-۱۴: طیف جذبی مربوط به فراکشن ۶، نوار صورتی رنگ و سبز کروماتوگرافی ستونی (ستون شماره ۲) ۹۰
- شکل ۳-۱۵: کروماتوگرام فراکشن های ستون شماره ۲ حاصل از تزریق عصاره اتر نفتی ۹۱
- شکل ۳-۱۶: کروماتوگرام یک بعدی از عصاره تغلیظ شده اتانلی (راست) - کروماتوگرام خطی رسوب عصاره تغلیظ شده اتانلی (چپ) ۹۲

- شکل ۳-۱۷ کروماتوگرام از شستشوی رسوبات (با استفاده از سیستم حلالی اشاره شده در جدول ۲-۶) عصاره اتانلی
- شکل ۳-۱۸ کروماتوگرام حاصل از تفکیک یک بعدی فراکشن های شسته شده از ستون سیلیکاژل (mesh ۲۳۰-۷۰)
- شکل ۳-۱۹ طیف جذبی حاصل از فراکشن های ۳۸ و ۳۹ شسته شده از روی ستون شماره ۴
- شکل ۳-۲۰ کریستالهای سوزنی تهیه شده از فراکشن های ۳۵ و ۳۸ ستون شماره ۴
- شکل ۳-۲۱ کروماتوگرام حاصل از تفکیک یک بعدی فراکشن های شسته شده از ستون سیلیکاژل (mesh ۲۳۰-۷۰)
- شکل ۳-۲۲ کروماتوگرام حاصل از TLC فراکشن ۷ شسته شده از روی ستون شماره ۵
- شکل ۳-۲۳ درصد جوانه زنی پایین در تیمار شاهد (راست) و پیش تیمار سرما (۴ درجه سانتی گراد).
- شکل ۳-۲۴. مقایسه تاثیر تیمارهای مختلف هورمونی و دمایی بر درصد جوانه زنی بذرهای گونه *P. abrotanoides*
- شکل ۳-۲۵. مقایسه تاثیر تیمارهای مختلف هورمونی و دمایی بر راندمان جوانه زنی بذرهای گونه *P. abrotanoides*
- شکل ۳-۲۶ مقایسه تاثیر هورمون های مختلف شکست خواب بر تعداد شاخه و ریشه دانه رست های *P. abrotanoides*
- شکل ۳-۲۷ مقایسه تاثیر هورمون های مختلف شکست خواب بر طول نوشاخه و ریشه دانه رست های *P. abrotanoides*
- شکل ۳-۲۸ مقایسه شاخه زایی در دو تیمار محتوی دو هورمون BAP و KIN
- شکل ۳-۲۹ اثر متقابل غلظت های مختلف دو تنظیم کننده سیتوکینینی و نفتالن استیک اسید روی درصد جوانه زنی
- شکل ۳-۳۰: اثر متقابل غلظت های مختلف دو تنظیم کننده سیتوکینینی و نفتالن استیک اسید روی میزان شاخه زایی
- شکل ۳-۳۱ پاسخ دانه رست های *P. abrotanoides* تحت تاثیر تیمارهای هورمونی مختلف به شاخه زایی
- شکل ۳-۳۲ اثر متقابل غلظت های مختلف دو تنظیم کننده سیتوکینینی و نفتالن استیک اسید روی طول نوشاخه
- شکل ۳-۳۳ اثر متقابل غلظت های مختلف دو تنظیم کننده سیتوکینینی و نفتالن استیک اسید روی سطح برگ
- شکل ۳-۳۴ اثر متقابل غلظت های مختلف دو تنظیم کننده سیتوکینینی و نفتالن استیک اسید روی طول ریشه
- شکل ۳-۳۵ پاسخ دانه رست های *P. abrotanoides* تحت تاثیر تیمارهای هورمونی مختلف به ریشه زایی
- شکل ۳-۳۶ اثر متقابل غلظت های مختلف دو تنظیم کننده سیتوکینینی و نفتالن استیک اسید روی درصد کالوس زایی
- شکل ۳-۳۷ پاسخ دانه رست های *P. abrotanoides* تحت تاثیر تیمارهای هورمونی مختلف به کالوس زایی
- شکل ۳-۳۸ اثر متقابل غلظت های مختلف دو تنظیم کننده سیتوکینینی و نفتالن استیک اسید روی محتوای رزمارینیک اسید
- شکل ۳-۳۹ اثر متقابل غلظت های مختلف دو تنظیم کننده سیتوکینینی و نفتالن استیک اسید روی فعالیت آنٹی اکسیدانی کل

فصل اول: مقدمه

۱-۲ معرفی تیره نناعیان

قرن هاست که تیره نناعیان به عنوان یکی از تیره های مهم گیاهی در زمینه دارو و پزشکی مورد استفاده قرار می گیرند. چاشنی هایی که در غذاها استفاده می شود و هم چنین اسانس های استخراج شده جهت استفاده در خمیردندان ها و پمادها از مصارف صنعتی این تیره به شمار می آید. سرده هایی مانند *Lavandula* ، *Ocimum* ، *Origanum* ، *Rosmarinus* و *Thymus* در این زمینه پیشتاز بوده اند. از میان ۲۳۶ سرده موجود در تیره نناعیان، ۵۰٪ از گونه های شناخته شده در ۱۰ سرده بزرگتر این تیره وجود دارند که در جدول زیر به همراه تعداد گونه های موجود در هر سرده مشاهده می شود (Naghibi et al, 2005).



شکل ۱-۱: مقایسه تعداد گونه های موجود در تیره نناعیان و درصد توزیع اندام های مختلف مورد استفاده از گونه های موجود (Naghibi et al, 2005).

تعداد گونه	نام
۹۰۰	<i>Salvia</i>
۵۰۰	<i>Clerodendrum</i>
۳۶۰	<i>Scutellaria</i>
۳۰۰	<i>Stachys</i>
۳۰۰	<i>Plectranthus</i>
۲۸۰	<i>Hypris</i>
۲۵۰	<i>Teucrium</i>
۲۵۰	<i>Vitex</i>
۲۲۰	<i>Thymus</i>
۲۰۰	<i>Premna</i>

از طرفی ۱۴۳ سرده با کمتر از ۱۰ گونه و هم چنین ۶۶ سرده که تنها دارای یک گونه هستند از اعضای این تیره به شمار می آیند. بیشتر اعضای این تیره دارای پراکنش جهانی بوده و برخی سرده های آن مانند *Phlomis* ، *Nepeta* ، *Salvia* و *Eremostachys* از پراکندگی و تنوع زیادی در مدیترانه، آسیای مرکزی و جنوب غربی برخوردار است.

بسیاری از گونه های نعناعیان در طب سنتی به عنوان ادویه و افزودنی در غذاها و هم چنین به عنوان گیاهان زینتی مورد استفاده قرار می گیرند. یکی دیگر از نکات مهم در این تیره وجود اسانس های فراوان در آن است که بسیاری از آنها فعالیت زیستی بسیار بالایی دارند. هم چنین وجود ترپنوئیدها در اعضای آن اثبات شده است (Hedge, 1999). بسیاری از سرده های این تیره در پزشکی مدرن و سنتی استفاده می شوند بطوری که تعدادی از گونه های آن در درمان بیماری های مرتبط با سیستم گوارشی مانند نفخ شکم و سوء هاضمه مورد استفاده قرار می گیرند. هم چنین درمان عفونت ها و هم چنین تقویت بدن از دیگر مصارف پزشکی این گروه به شمار می آید. (Naghbi et al, 2005).

۱-۲-۱ معرفی گونه *P. abrotanoides*

مشخصات تاکسونومیک سرده *Perovskia* به شرح زیر است:

زیرشاخه	Magnoliophyta
رده	Magnoliopsida
راسته	Lamiales
تیره	Lamiaceae
سرده	<i>Perovskia L.</i>

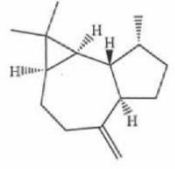
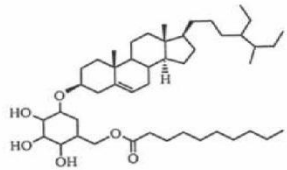
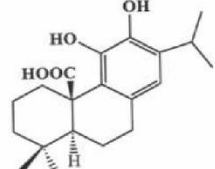
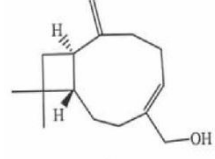
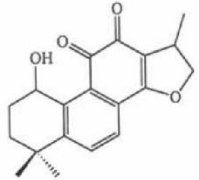
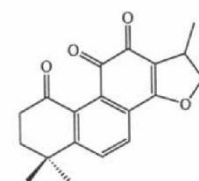
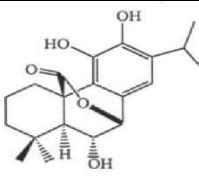
Perovskia متشکل از ۴ گونه می باشد که در مناطق آسیا، افغانستان، پاکستان، ایران، هیمالیا و تبت دیده می شود (Rechinger, 1982). تمام گونه های این سرده از نظر اندازه به طور تقریبی یکسان هستند. طول بوته در این سرده ۱ متر است. برگ ها به رنگ سبز تیره هستند و برگ های بالاتر و جوان تر کوچک تر و حالت برگچه مانند پیدا کرده اند. بر خلاف گل، در برگ های گونه های مختلف تفاوت زیادی از نظر ساختاری دیده می شود (شکل ۱-۲). کل گیاه حالت معطر دارد.

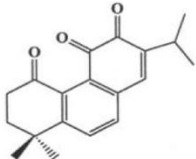
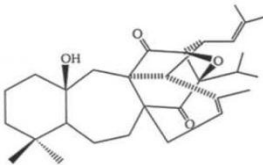
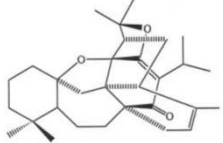
گیاه دارویی و زینتی *Perovskia abrotanoides* با نام فارسی برازمبل (نام محلی گل کبود) گیاهی است بوته ای یا نیمه درختچه ای به ارتفاع یک متر که توسط بذر تکثیر می یابد. ساقه های آن در قاعده چوبی و تماماً پوشیده از

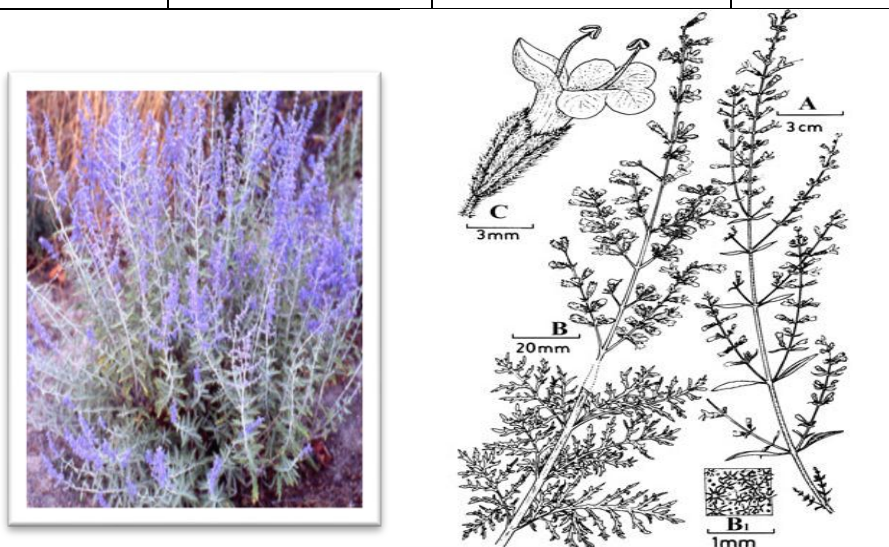
کرک‌های کوتاه و سفید است که چند سلولی ساده یا منشعب هستند. علاوه بر این، در سطح ساقه و به طور پراکنده غده‌هایی طلائی رنگ دیده می‌شود. برگ‌ها تخم‌مرغی کشیده، به طول ۴ تا ۷ سانتی‌متر و عرض ۲/۵ سانتی‌متر، دارای پهنکی چند قسمتی، بدون کرک یا گاهی دارای کرک‌های کوتاه و پراکنده و همراه با تعدادی غده طلائی رنگ می‌باشند. قطعات پهنک باریک و مستطیلی شکل به طول ۴ تا ۶ میلی‌متر و عرض ۰/۵ تا ۱/۴ میلی‌متر بوده و رأس آنها تا حدودی مدور است. برگ‌ها بر روی دمبرگ‌هایی به طول ۵ تا ۸ میلی‌متر مستقر هستند. گل‌ها متعدد و به صورت دسته‌هایی دو تا چهارتایی و گاهی تا شش گل به صورت مجتمع مشاهده می‌شوند. فاصله گل‌ها از یکدیگر تقریباً زیاد است و این موضوع موجب تشکیل گل‌آذین به شکل پانیکول و به طول ۲۷ تا ۴۰ سانتی‌متر می‌شود. کاسه گل استکانی - لوله‌ای شکل، به طول ۴ تا ۵ میلی‌متر، به رنگ بنفش و پوشیده از کرک‌های ساده، بلند و به رنگ سفید یا بنفش است. جام گل صورتی رنگ، به طول ۰/۹ تا ۱/۱ سانتی‌متر که سطح خارجی آن دارای کرک‌های کوتاه و پراکنده بوده و کمی از لوله کاسه گل خارج و دارای دو لوب است. لوب بالائی دارای چهار لوب تقریباً مدور بوده و لوب پائینی بیضی تا تخم‌مرغی شکل و حاشیه‌ای صاف دارد. گل‌ها بدون دمگل یا دارای دمگلی به طول ۰/۵ سانتی‌متر است. ماندگاری آنها بر روی سرشاخه‌ها زیاد است. میوه این گیاه فندقه، با سطحی صاف و تیره‌رنگ است (Ahmad, 1994). این گونه به علت دارا بودن ریشه‌های ضخیم و بهم فشردگی می‌تواند در حفاظت خاک بویژه در تثبیت حاشیه رودخانه‌ها نقش موثری ایفا کند. همچنین با توجه به مقاوم بودن این گیاه نسبت به خشکی و ماندگاری آن در فصول سال می‌توان از آن در فضای سبز اکثر مناطق کشور که با پدیده کم‌آبی مواجه می‌باشند استفاده کرد (صلاحی مقدم، ۱۳۷۲).

ترکیباتی که تاکنون در این سرده شناسایی شده اند در جدول ۱-۱ نشان داده شده است (Parveen, 2008).

جدول ۱-۱ بررسی ترکیبات شناخته شده در سرده *Perovskia* به همراه خصوصیات و ساختار شیمیایی آن ها (Parveen, 2008).

ترکیب	خصوصیات شیمیایی	گونه مورد بررسی	ساختار شیمیایی
Aromendendren	$C_{15}H_{24}$ MW= 204	<i>P. scrophularifolia</i>	
Atroside	$C_{15}H_{78}O_7$ MW= 204	<i>P. atriplicifolia</i>	
Carnosic acid	$C_{20}H_{28}O_4$ MW= 332	<i>P. abrotanoides</i>	
Betulenol	$C_{15}H_{24}O$ MW= 220	<i>P. spp.</i>	
Hydroxycryptotanshinone	$C_{19}H_{20}O_4$ MW= 312	<i>P. abrotanoides</i>	
Oxocryptotanshinone	$C_{19}H_{18}O_4$ MW= 310	<i>P. abrotanoides</i>	
Isorosmanol	$C_{20}H_{26}O_5$ MW= 346	<i>P. abrotanoides</i>	

Oxomiltiron	$C_{19}H_{20}O_3$ MW= 346	<i>P. abrotanoides</i>	
Peradione	$C_{30}H_{42}O_4$ MW= 346	<i>P. abrotanoides</i>	
Perovskone	$C_{30}H_{42}O_3$ MW= 346	<i>P. abrotanoides</i>	



P. atriplicifolia

P. scrophulariifolia

P. abrotanoides

شکل ۱-۲ ساختار ظاهری گونه *P. abrotanoides* و تفاوت در ساختار برگ در گونه های مختلف سرده *Perovskia*

(www.rhs.org.uk)