بسم الله الرحمن الرحیم

دانشگاه تبریز

دانشکده علوم طبیعی

گروه علوم گیاهی

پایان نامه برای دریافت درجه کارشناسی ارشد

در رشته علوم گیاهی گرایش سلولی تکوینی

عنوان

تاثیر تنظیم کننده‌های رشد بر تولید متابولیت‌های ثانویه دکالوس گیاه مرزه سهندی

استادان راهنما

دکتر روح اله متفکر آزاد دکتر علی موافقی

استادان مشاور

مهندس مرتضی کوثری نسب

مهندس محسن سبزی نوجه ده

پژوهشگر

سمیه تاریقلی زاده

شهریور ۹۳

نام: سریه **نام خانوادگی:** تاریقلی‌زاده

عنوان پایان‌نامه: تاثیر تنظیم‌کننده‌های رشد در تولید متابولیت‌های ثانویه درکالوس گیاه مرزه سهندی

استادان راهنما: دکتر روح‌اله متفکرآزاد، دکتر علی موافقی

استادان مشاور: مهندس مرتضی کوثری‌نسب، مهندس محسن سبزی‌نوجه‌ده

مقطع تحصیلی: کارشناسی ارشد **رشته:** علوم گیاهی **گرایش:** زیست سلولی تکوینی

دانشگاه: تبریز **دانشکده:** علوم طبیعی **فارغ‌التحصیل:** شهریور ۹۳ **تعداد صفحه:** ۱۰۱

کلید واژه: کشت بافت گیاهی، متابولیت ثانویه، تنظیم‌کننده‌های رشد، ریزنمونه، مرزه سهندی

چکیده:

گیاه مرزه‌ی سهندی .*Satureja sahendica* Bornm، گیاهی معطر و دارویی و بومی ایران، از خانواده نعناعیان (Lamiaceae) می‌باشد که در صنایع غذایی، دارویی، بهداشتی و غیره بدلیل داشتن متابولیت‌های ثانویه‌ی باارزش، حائز اهمیت فراوان است. در این پژوهش کشت کالوس جهت بررسی تولید متابولیت‌های ثانویه انجام گردید. ریزنمونه‌های بخش گرهی گیاهچه‌های استریل به محیط کشت پایه MS محتوی دو گروه هورمونی NAA+TDZ و 2,4-D+Kin با سه غلظت مختلف ۰/۵، ۱ و ۲ میلی‌گرم بر لیتر، در حضور و عدم حضور PVP منتقل شدند (هورمون ها به‌صورت توأم و با غلظت‌های برابر به کار برده شدند). آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی و با سه تکرار برای هر تیمار انجام شد و بعد از کالوس‌دهی و انجام مرحله‌ی واکشت، نمونه‌ها جهت بررسی ویژگی‌های مورفولوژیکی، پارامترهای رشدی مختلف شامل وزن تر، وزن خشک، درصد کالوس‌زایی و رشد نسبی کالوس و نیز تعیین میزان رنگیزه‌ها و میزان متابولیت‌های ثانویه (فلاونوئید و فنول کل) مورد آزمایش قرار گرفتند. بر اساس نتایج، اختلاف معنی‌داری از نظر صفات مذکور در دو گروه هورمونی NAA+TDZ و 2,4-D+Kin و نیز بین غلظت‌های مختلف هر دو گروه وجود داشت. رشد کالوس شدیداً توسط بالاترین غلظت $2mgl^{-1}$2,4-D+$2mgl^{-1}$Kin مهار شد. در مقابل، این غلظت بالاترین میزان تولید فنول کل (۴/۳۰۳ میلی‌گرم پیروگالول برگرم وزن خشک) و فلاونوئیدها (۲۴/۹۰۳ میلی‌گرم کوئرسیتین بر گرم وزن خشک) را به خود اختصاص داد. به عبارت دیگر، در این پژوهش ارتباطی معکوس بین رشد کالوس و تولید محصولات ثانویه مشاهده گردید. به‌طور کلی، حضور PVP در محیط کشت‌ها، رشد کالوس و نیز تولید متابولیت‌های ثانویه را بهبود بخشید.

فهرست مطالب

مقدمه ۱

۱- بررسی منابع ۴

۱-۱- تعریف، اهمیت و تاریخچه‌ی گیاهان دارویی ۴

۱-۲- متابولیت‌های ثانویه ۶

۱-۲-۱- نقش متابولیت‌های ثانویه ۷

۱-۲-۲- ترکیبات ثانویه به سه گروه اصلی تقسیم می‌شوند ۸

۱-۲-۲-۱- ترپن‌ها ۸

۱-۲-۲-۲- فنول‌ها ۱۱

۱-۲-۲-۳- ترکیبات نیتروژن‌دار ۱۷

۱-۳- گیاه‌شناسی مرزه‌ی سهندی ۲۰

۱-۳-۱- تیره‌ی نعناع ۲۰

۱-۳-۲- جنس مرزه ۲۱

۱-۳-۳- گونه‌ی مرزه‌ی سهندی ۲۴

۱-۴- کشت بافت گیاهی ۲۶

۱-۴-۱- تاریخچه‌ی کشت بافت گیاهی ۲۶

۱-۴-۲- کشت بافت گیاهان دارویی ۲۸

۱-۴-۳- تکثیر درون شیشه‌ای ۲۸

۱-۴-۳-۱- ریزازدیادی ۲۹

۱-۴-۳-۲- اندام‌زایی از طریق کالوس ۲۹

۱-۴-۳-۳- باززایی از طریق جنین‌زایی سوماتیکی ۳۰

۱-۴-۴- تولید متابولیت‌های ثانویه از طریق کشت بافت ۳۰
۱-۵- تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی ۳۳
۱-۵-۱- اکسین‌ها ۳۴
۱-۵-۲- سیتوکینین‌ها ۳۵
۱-۶- مروری بر کشت بافت مرزه ۳۵
۱-۷- اهداف تحقیق ۳۷
۲- مواد و روش‌ها ۳۹
۲-۱- محل اجرای تحقیق ۳۹
۲-۲- مواد گیاهی ۳۹
۲-۳- ضدعفونی کردن ۳۹
۲-۳-۱- ضدعفونی کردن وسایل مورد نیاز ۳۹
۲-۳-۲- ضدعفونی کردن بذرها ۴۰
۲-۴- طرز تهیه‌ی محیط کشت ۴۰
۲-۴-۱- تهیه‌ی محیط کشت جهت جوانه‌زنی بذرها ۴۰
۲-۴-۲- تهیه‌ی محیط کشت جهت کشت ریزنمونه ۴۱
۲-۵- کشت بذر ۴۲
۲-۶- تهیه‌ی ریزنمونه جهت کالوس‌زایی ۴۳
۲-۷- تهیه‌ی عصاره‌های گیاهی برای اندازه‌گیری میزان رنگیزه‌ها ۴۴
۲-۸- تهیه‌ی عصاره‌های گیاهی برای اندازه‌گیری ترکیبات فنولی ۴۴
۲-۹- صفات مورد ارزیابی از کالوس‌های به‌دست آمده ۴۵
۲-۹-۱- درصد کالوس‌زایی ۴۵
۲-۹-۲- رشد نسبی کالوس ۴۵

۲-۹-۳- اندازه‌گیری میزان کلروفیل a، کلروفیل b و کاروتنوئیدها.....۴۵
۲-۹-۴- تعیین محتوای فنول تام ۴۶
۲-۹-۵- تعیین محتوای فلاونوئید کل ۴۷
۲-۱۰- محاسبات آماری ۴۸
۳- نتایج و بحث.....۵۰
۳-۱- جوانه‌زنی و برطرف کردن مشکل خواب بذرهای گیاه مرزه‌ی سهندی: ۵۰
۳-۲- مورفولوژی کالوس‌ها ۵۲
۳-۳- تأثیر تیمارهای هورمونی بر رشد کالوس‌ها در محیط کشت‌های محتوی PVP و بدون PVP.....۵۶
۳-۳-۱- وزن تر کالوس‌ها.....۵۶
۳-۳-۲- وزن خشک کالوس‌ها ۵۸
۳-۳-۳- رشد نسبی کالوس ۶۰
۳-۳-۴- درصد کالوس‌زایی ۶۱
۳-۴- تأثیر تیمارهای هورمونی بر تولید رنگیزه‌ها در کالوس‌های مرزه‌ی سهندی در محیط کشت‌های محتوی PVP و بدون PVP ۶۸
۳-۴-۱- کلروفیل a.....۶۸
۳-۴-۲- کلروفیل b.....۷۰
۳-۴-۳- کاروتنوئیدها ۷۲
۳-۵- تأثیر تیمارهای هورمونی بر تولید متابولیت‌های ثانویه در کالوس‌های مرزه‌ی سهندی در محیط کشت-های محتوی PVP و بدون PVP ۷۵
۳-۵-۱- فنول تام.....۷۵
۳-۵-۲- فلاونوئید.....۷۷
۴- نتیجه‌گیری و پیشنهادات.....۸۵

۴-۱- نتیجه‌گیری کلی ۸۵

۴-۲- پیشنهادات ۸۷

۵- منابع ۸۹

فهرست اشکال

شکل ۱-۱: ترپن‌های فرار معطر (اسانس) ۱۰

شکل ۱-۲: مسیرهای بیوسنتز فنول‌های گیاهی ۱۲

شکل ۱-۳: اسکلت کربنی پایه‌ای فلاونوئید. ۱۶

شکل ۱-۴: هیدرولیز آنزیمی گلوکوزیدهای سیانوژنی ۱۹

شکل ۱-۵: هیدرولیز گلوکوزینولات‌ها به مواد فرار با بوی خردل. ۲۰

شکل ۱-۶: A: مرزه‌ی سهندی در کشت مزرعه‌ای B: مرزه‌ی سهندی در زیستگاه طبیعی ۲۴

شکل ۲-۱: بذرهای مرزه‌ی سهندی ۴۰

شکل ۲-۲: اتاقک کشت مورد استفاده ۴۳

شکل ۲-۳: A– گیاهچه‌های استریل B- ریزنمونه‌های حاصل از گیاهچه‌های استریل ۴۴

شکل ۲-۴: دستگاه اسپکتروفتومتری ۴۷

شکل ۳-۱: ویژگی‌های مورفولوژیک کالوس: الف- گروه هورمونی NAA+TDZ با شاخساره‌زایی ب- گروه هورمونی 2,4-D+Kin فاقد شاخساره‌زایی. ۵۴

شکل ۳-۲: بیشترین میزان وزن تر مربوط به تیمار ۰/۵ میلی‌گرم بر لیتر NAA+TDZ در حضور PVP. ۵۸

شکل ۳-۳: مقایسه‌ی رشد کالوس در گروه هورمونی NAA+TDZ در حضور (ردیف بالا) و عدم حضور (ردیف پایین) PVP. A، B و C به‌ترتیب غلظت‌های ۰/۵، ۱ و ۲ میلی‌گرم بر لیتر از هر کدام از هورمون‌ها می‌باشند. ۶۳

شکل ۳-۴: مقایسه‌ی رشد کالوس در گروه هورمونی 2,4-D+Kin در حضور (ردیف بالا) و عدم حضور (ردیف پایین) PVP. D، E و F به‌ترتیب غلظت‌های ۰/۵، ۱ و ۲ میلی‌گرم بر لیتر از هر کدام از هورمون‌ها می‌باشند. ۶۳

فهرست جداول

جدول ۳-۱: تجزیه‌ی واریانس صفت وزن تر کالوس‌ها در محیط کشت حاوی PVP و بدون PVP. ۵۷

جدول ۳-۲: مقایسه‌ی میانگین اثر تیمارهای هورمونی بر وزن تر کالوس‌های مرزه‌ی سهندی. ۵۷

جدول ۳-۳: تجزیه‌ی واریانس صفت وزن خشک کالوس‌ها در محیط کشت حاوی PVP و بدون PVP. ۵۹

جدول ۳-۴: مقایسه‌ی میانگین اثر تیمارهای هورمونی بر وزن خشک کالوس‌های مرزه‌ی سهندی. ۵۹

جدول ۳-۵: تجزیه‌ی واریانس صفت رشد نسبی کالوس‌ها در محیط کشت حاوی PVP و بدون PVP. ۶۰

جدول ۳-۶: مقایسه‌ی میانگین اثر تیمارهای هورمونی بر رشد نسبی کالوس‌های مرزه‌ی سهندی. ۶۱

جدول ۳-۷: تجزیه‌ی واریانس درصد کالوس‌زایی ریزنمونه‌ها در محیط کشت حاوی PVP و بدون PVP. ۶۲

جدول ۳-۸: مقایسه‌ی میانگین اثر تیمارهای هورمونی بر درصد کالوس‌زایی مرزه‌ی سهندی. ۶۲

جدول ۳-۹: تجزیه‌ی واریانس شاخص کلروفیل a در محیط کشت حاوی PVP و بدون PVP. ۶۹

جدول ۳-۱۰: مقایسه‌ی میانگین اثر تیمارهای هورمونی بر میزان کلروفیل a کالوس‌های مرزه‌ی سهندی. ۶۹

جدول ۳-۱۱: تجزیه‌ی واریانس شاخص کلروفیل b کالوس‌ها در محیط کشت حاوی PVP و بدون PVP. ۷۱

جدول ۳-۱۲: مقایسه‌ی میانگین اثر تیمارهای هورمونی بر میزان کلروفیل b کالوس‌های مرزه‌ی سهندی. ۷۱

جدول ۳-۱۳: تجزیه‌ی واریانس شاخص کاروتنوئید کالوس‌ها در محیط کشت حاوی PVP و بدون PVP. ۷۳

جدول ۳-۱۴: مقایسه‌ی میانگین اثر تیمارهای هورمونی بر میزان کاروتنوئیدها در کالوس‌های مرزه‌ی سهندی. ..۷۳

جدول ۳-۱۵: تجزیه‌ی واریانس شاخص فنول تام کالوس‌ها در محیط کشت حاوی PVP و بدون PVP. ۷۶

جدول ۳-۱۶: مقایسه‌ی میانگین اثر تیمارهای هورمونی بر میزان فنول تام کالوس‌های مرزه‌ی سهندی. ۷۶

جدول ۳-۱۷: تجزیه‌ی واریانس شاخص فلاونوئید کالوس‌ها در محیط کشت حاوی PVP و بدون PVP. ۷۸

جدول ۳-۱۸: مقایسه‌ی میانگین اثر تیمارهای هورمونی بر میزان فلاونوئید کالوس‌های مرزه‌ی سهندی. ۷۸

فهرست نمودارها

نمودار ۳-۱: فنول تام کالوس‌ها تحت تأثیر تیمارهای هورمونی در حضور و غیاب PVP. ۷۷

نمودار ۳-۲: فلاونوئید کالوس‌ها تحت تأثیر تیمارهای هورمونی در حضور و غیاب PVP. ۷۹

مقدمه

گیاهان دارویی یکی از مهمترین منابع دارویی می‌باشند که از هزاران سال پیش کاربرد داشته‌اند. با مطالعه در تمدن اقوام قدیمی مصرف گیاهان دارویی به‌عنوان دارو، سم، مواد پاک‌کننده و رنگ ملاحظه می‌گردد. مقایسه‌ی مواد شیمیایی ساخته‌ی دست بشر با مواد شیمیایی موجود در گیاهان، قطره‌ای در مقابل اقیانوس است و شاید جواب این سؤال که چرا کبد انسان توانایی تبدیل مولکول‌های جدید به مواد قابل دفع را دارد، این باشد که کبد انسان از هزاران سال پیش به خاطر استفاده از گیاهان مختلف به‌عنوان دارو یا غذا با طیف وسیعی از ترکیبات شیمیایی موجود در آن‌ها آشنا شده است. برخی از ترکیبات شیمیایی موجود در گیاهان دارویی دارای ساختمان پیچیده‌ای می‌باشند که سنتز آن‌ها در آزمایشگاه یا غیرممکن و یا با صرف زمان و هزینه‌ی زیاد امکان‌پذیر است. محققان در قرن ۱۸ و اوایل قرن ۱۹ پیشرفت قابل توجهی در خالص‌سازی و شناسایی ترکیبات شیمیایی موجود در گیاهان داشته و موادی را به‌صورت فرآورده‌های دارویی برای مصرف عرضه کرده‌اند (زمان، ۱۳۸۷). تحقیقات گسترده بر روی گیاهان دارویی در سایه‌ی توجه به این گیاهان و نگاه ویژه به حوزه‌ی سلامت انجام گردیده است؛ مشکلات کشت طبیعی و بهره‌وری متابولیت‌های گیاهان دارویی، تحقیقات مستمر با تکیه بر تکنیک‌های کشت بافت را برای بهبود کارایی رشدی و تولید این گیاهان افزایش داده است. تولید متابولیت‌های ثانویه‌ی گیاهی با خصوصیات دارویی در شرایط آزمایشگاهی فواید زیادی در مقایسه با استخراج این ترکیبات از گیاهان تحت شرایط طبیعی دارد. کنترل دقیق پارامترهای مختلف سبب می‌شود که کیفیت مواد حاصل در طول زمان تغییر نکند.

گیاه مرزه‌ی سهندی یا *Satureja sahendica* Bornm. متعلق به تیره‌ی نعناعیان می‌باشد که چندساله، دارویی و بومی ایران بوده، در غرب و شمال غرب ایران پراکنش قابل توجهی دارد (مظفریان، ۱۳۸۳). بررسی نتایج حاصل از GC-MS نشان می‌دهد که ترکیبات مونوترپنی تیمول، کارواکرول، پارا-سیمن و گاما-ترپینن از متابولیت‌های اصلی موجود در روغن فرار این گیاه می‌باشند و نیز بررسی‌ها روی

فعالیت آنتی‌اکسیدانی نشان داده است که روغن ضروری بخش‌های هوایی این گیاه اثر آنتی‌اکسیدانی بالایی دارد و به علت میزان بالای تیمول، پارا-سیمن و سایر ترپنوئیدها در روغن آن می‌تواند با فعالیت-های ضدباکتریایی، ضدقارچی، ضدنفخ، ضدیبوست، خلط‌آور، مسکن و غیره جهت درمان بسیاری از بیماری‌ها مورد استفاده قرار گیرد (Tabatabaei-Raisi et al., 2008).

علی‌رغم خصوصیات بیولوژیکی منحصربه‌فرد مرزه‌ی سهندی و متابولیت‌های ثانویه‌ی آن، تاکنون مطالعات محدودی در زمینه‌ی کشت بافت در مورد این ترکیبات صورت گرفته است؛ لذا هدف این پژوهش، بررسی تأثیر ترکیبی تیمارهای هورمونی مختلف در تولید ترکیبات ثانویه و نیز افزایش کارایی رشدی نمونه‌های مورد مطالعه در کالوس این گیاه می‌باشد.

فصل اول

بررسی منابع

۱- بررسی منابع

۱-۱- تعریف، اهمیت و تاریخچه‌ی گیاهان دارویی

از آنجا که انسان جزئی از طبیعت است به‌طور حتم، طبیعت برای هر بیماری، گیاه مداوای آن را عرضه نموده است. لذا انسان هرچه جهت درمان بیماری‌های خود به طبیعت روی آورد و از نعمت‌های آن بیشتر بهره ببرد، سالم‌تر بوده، سریع‌تر، بهتر و مطمئن‌تر درمان می‌شود و بیشتر عمر می‌کند. ضمن اینکه انسان تنها با داروهای شیمیایی مداوا نمی‌شود بلکه، همه‌ی عوامل طبیعی نقش درمان و دارو و نیز نقش پیشگیری را در برابر بیماری‌ها دارند. در نتیجه، وجود گیاهان دارویی در طبیعت یکی از نعمت‌های بزرگ الهی است.

تاریخچه‌ی گیاهان دارویی به‌طور دقیق مشخص نیست و در طول تاریخ استفاده از گیاهان دارویی با خرافات و آداب خاصی همراه بوده است. مصری‌ها و چینی‌ها از اولین اقوامی هستند که از حدود ۲۷۰۰ سال پیش از میلاد مسیح از گیاهان به‌عنوان دارو استفاده می‌کردند. تئوفراست یکی از شاگردان ارسطو بنیانگذار مکتب درمان با گیاه است. دیوسکورید در قرن اول میلادی مجموعه‌ای را مشتمل بر خواص دارویی ۶۰۰ گیاه جمع‌آوری نمود که این اثر منشأ بسیاری از مطالعات در قرون بعد گردید. در قرن‌های هشتم تا دهم میلادی، بوعلی سینا و محمد زکریای رازی سبب توسعه‌ی دانش درمان با گیاه شدند و در قرن سیزدهم، ابن بیطار خصوصیات بیش از ۱۴۰۰ گیاه را در کتابی گردآوری نمود و در قرن نوزدهم داروهای شیمیایی به سرعت جایگزین بسیاری از داروهای گیاهی گردید. سپس در اواخر قرن بیستم عوارض جانبی و مضر داروهای شیمیایی سبب رویکرد دوباره‌ی دانشمندان به گیاهان دارویی شد، به‌طوری که این دوره را "رنسانس گیاهان دارویی" نامیدند. تا قرن نوزدهم گیاهان دارویی به شکل بسیار ابتدایی مورد مصرف قرار می‌گرفتند، تا اینکه استخراج مواد مؤثر گیاهی، از قرن نوزدهم آغاز گردید. دلایل استخراج مواد مؤثر گیاهی و خالص‌سازی و بکارگیری آن‌ها در فرمولاسیون‌های دارویی را می‌توان در موارد زیر خلاصه نمود:

- عدم امکان نگهداری گیاهان به مدت طولانی.
- عدم دسترسی سریع به منابع گیاهی.
- عدم داشتن معیار معینی به منظور مقدار مصرف و تجویز آن به بیمار.

نظر به کاربرد گیاهان دارویی در زمینه‌های مختلف، این گیاهان به‌طور سنتی در سه گروه اصلی گیاهان دارویی، گیاهان ادویه‌ای، گیاهان عطری طبقه‌بندی می‌شوند. اما به‌طور کلی، گیاه دارویی به گیاهی اطلاق می‌شود که در یک یا چند اندام خود حاوی مواد مؤثر بوده و کاشت، داشت و برداشت آن‌ها صرفاً به منظور استفاده از این مواد انجام گردد. بنابراین، با آن‌که اندام‌های برخی گیاهان نظیر برگ‌های گردو و کاکل ذرت و پوست میوه‌ی لوبیا حاوی مواد مؤثری هستند که کاربردهای دارویی نیز دارند، ولی از این نظر که کاشت، داشت و برداشت این گیاهان تنها به منظور استفاده از مواد مؤثر موجود در آن‌ها انجام نمی‌گیرد، گیاه دارویی محسوب نمی‌شوند (امیربیگی، ۱۳۷۴).

برآوردها حکایت از آن دارد که تا ۷۵۰۰۰۰ گیاه گل‌دار یا دانه‌دار در زمین یافت می‌شود. با این حال، تعدادی که تاکنون رسماً شناسایی و گزارش شده در حدود ۳۰۰۰۰۰ گیاه می‌باشد. همچنین تعداد گیاهان دارویی ۷۵۰۰۰-۳۰ مورد تخمین زده می‌شود. سازمان بهداشت جهانی (WHO[۱])، فهرستی بالغ بر ۲۰۰۰۰ گیاه دارویی را که در سراسر جهان استفاده می‌شوند، گردآوری نموده است. بنابر اعلام این سازمان، حدوداً ۴۰۰ گونه‌ی گیاهی دارویی در اروپا داد و ستد می‌شود و در حدود ۵۰۰۰-۴ داروی گیاهی نیز توسط صنایع دارویی گیاهی ساخته شده و به بازار عرضه شده است. با نگاهی سطحی بر ارقام فوق، به نظر می‌رسد که گیاهان دارویی از وضعیت چندان مناسبی برخوردار نبوده و بعضاً کم یا نایاب هستند. اما واقعیت این است که درک و شناخت بشر از این منابع بسیار محدود است. چرا که تنها حداکثر ۲۰٪ گونه‌های گیاهی دنیا شناسایی شده‌اند. به‌عنوان نمونه، هنوز ۹۹٪ طبیعت جنگل‌های

[۱] World Health Organization

آمازون در منطقه‌ی آمریکای جنوبی مطالعه نشده و این پتانسیل عظیم دارویی به‌صورت بالقوه باقی مانده است.

به‌طور کلی، در مطالعه‌ی گیاهان دارویی باید موارد زیر را مدنظر قرار داد:

۱- در پیکر این گیاهان مواد ویژه‌ای به‌عنوان مواد مؤثر یا متابولیت‌های ثانویه ساخته و ذخیره می‌شوند که برای درمان برخی از بیماری‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرند. مواد مذکور طی فرآیندهای ویژه و پیچیده بیوشیمیایی و به مقدار بسیار کم (به‌طور معمول کمتر از یک درصد وزن خشک گیاه)، ساخته می شوند.

۲- اغلب ممکن است اندام ویژه‌ای چون ریشه، برگ‌ها، ساقه، گل، میوه و غیره بیشترین مواد مؤثر را داشته باشند، بنابراین همیشه نمی‌توان کل اندام گیاه را منبع ماده‌ی دارویی ویژه‌ای دانست.

۳- اندام گیاهی برداشت شده، آماده‌سازی و فرآوری می‌شوند، یعنی تحت تأثیر عملیات ویژه‌ای مانند جداسازی، خرد شدن، خشک کردن، تخمیر و غیره قرار گرفته و سپس استفاده می شوند.

به‌طور معمول این اندام‌ها به‌صورت سنتی و فقط با خشک کردن به‌عنوان "کالای عطاری" عرضه می‌شوند (ترکاشوند و شادپرور، ۱۳۹۰).

۱-۲- متابولیت‌های ثانویه[۱]

علاوه بر ترکیبات اولیه از قبیل کربوهیدرات‌ها، اسیدهای آمینه، اسیدهای چرب، سیتوکروم‌ها، کلروفیل و مواد حدواسط مسیرهای بی‌هوازی و تجزیه‌ای، که در همه‌ی گیاهان یافت می‌گردد، گیاهان واجد ترکیبات دیگری نیز می‌باشند که ظاهراً به‌طور مستقیم در رشد و نمو دخالت نمی‌کنند و اصطلاحاً ترکیبات ثانویه نامیده می‌شوند. ترکیبات ثانویه مستقیماً در فرآیندهای فتوسنتز، تنفس، ترابری محلول‌ها، تراسپاری، سنتز پروتئین، جذب مواد غذایی، تمایز یا تشکیل کربوهیدرات‌ها اثر ندارند (Heldt &

[۱] Secondary metabolites

(Piechulla, 2010; Sathishkumar & Paulsamy, 2009) و در مقایسه با متابولیت‌های اولیه در مقادیر پایین‌تری در گیاهان انباشته می‌شوند (Karuppusamy, 2009; Sathishkumar & Paulsamy, 2009).

ترکیبات ثانویه برخلاف ترکیبات اولیه، پراکنش محدودی در سلسله‌ی گیاهان دارند. برخی ترکیبات ثانویه منحصراً در یک گونه‌ی گیاهی یا گروهی از گونه‌های خویشاوند یافت می‌شوند و واجد نقش اکولوژیکی خاصی شامل جذب حشرات گرده‌افشان و یا مصرف میوه توسط حیوانات جهت انتشار دانه و یا آفت‌کش در گونه‌های مذکور می‌باشند، در حالی‌که ترکیبات اولیه در کل سلسله‌ی گیاهان وجود دارند (Heldt & Piechulla, 2010; Wink et al., 2005).

۱-۲-۱- نقش متابولیت‌های ثانویه

برای سالیان طولانی، اهمیت سازشی اکثر ترکیبات ثانویه‌ی گیاهان ناشناخته بود. پیش‌تر به‌سادگی تصور می‌شد که به‌عنوان فرآورده‌های انتهایی فاقد عمل متابولیسمی یا ضایعات متابولیسمی می‌باشند. ولی در قرن نوزدهم و اوایل قرن بیستم، شیمیدان‌های شاخه‌ی شیمی آلی کشف کردند که این مواد به‌عنوان مواد دارویی، سمی، طعم‌دهنده و صنعتی اهمیت زیادی دارند.

اخیراً ترکیبات ثانویه‌ی متعددی معرفی شده‌اند که در گیاهان اعمال اکولوژیکی مهمی را انجام می‌دهند:

- گیاهان را در مقابل خورده شدن توسط گیاهخواران و در برابر آلوده شدن توسط عوامل بیماری‌زای میکروبی محافظت می‌کنند.
- موجب جلب حیوانات گرده‌افشان و پراکنده شدن بذر می‌شوند و همین‌طور به‌عنوان عوامل سازگاری گیاه-گیاه کاربرد دارند.

۱-۲-۲- ترکیبات ثانویه به سه گروه اصلی تقسیم می‌شوند

ترکیبات ثانویه‌ی گیاه را می‌توان به سه گروه شیمیایی مجزا تقسیم نمود: ترپن‌ها، فنول‌ها و ترکیبات نیتروژن‌دار.

۱-۲-۲-۱- ترپن‌ها

ترپن‌ها یا ترپنوئیدها بزرگترین گروه ترکیبات ثانویه را تشکیل می‌دهند. این ترکیبات در همه‌ی موجودات وجود داشته ولی در گیاهان از اهمیت خاصی برخوردارند. تا سال ۱۹۹۷ بیش از ۲۳۰۰۰ نوع ترپنوئید گیاهی شناسایی شده و اکتشاف نمونه‌های جدید تاکنون ادامه یافته است (Heldt & Piechulla, 2010).

- **نقش ترپن‌ها در رشد و نمو**

این مواد واجد فعالیت‌های مختلفی می‌باشند. به‌طوری که در متابولیسم اولیه به‌عنوان ترکیبات غشایی، رنگیزه‌های گیاهی، ناقلین انتقال الکترون، هورمون‌های گیاهی و فاکتورهای رشد عمل می‌نمایند (Heldt & Piechulla, 2010). به‌طور مثال، جیبرلین‌ها گروه مهمی از هورمون‌های گیاهی و از گروه دی-ترپن‌ها هستند. استرول‌ها مشتقات تری‌ترپنی می‌باشند که از اجزای اساسی غشاهای سلولی بوده و در نتیجه‌ی برهم‌کنش با فسفولیپیدها، آن‌ها را پایدار می‌نمایند. کاروتنوئیدهای زرد، قرمز و نارنجی از تتراترپن‌ها مشتق شده‌اند که به‌عنوان رنگیزه‌ی کمکی فتوسنتز و محافظ بافت‌های فتوسنتزی از اکسایش نوری[۱] عمل می‌کنند. هورمون آبسیزیک‌اسید یک پیش‌ساز ترپنی ۱۵ کربنی است که از تجزیه‌ی یک پیش‌ساز کاروتنوئیدی به‌دست می‌آید (Mazid et al., 2011).

[۱] Photooxidation

ترپن‌ها به‌عنوان ناقلین گلیکوزیل در واکنش‌های گلیکوزیلاسیون و در تنظیم رشد سلولی شرکت دارند؛ الکل‌های بلندزنجیر پلی‌ترپنی به‌نام دولیکول‌ها[۱] به‌عنوان ناقل‌های[۲] قندی در دیواره‌ی اسکلتی و در بیوسنتز گلیکوپروتئین‌ها عمل می‌کنند. زنجیرهای کناری مشتقات مانند زنجیر کناری فیتول کلروفیل به جای‌گیری و اتصال مولکول‌های خاص در غشاها کمک می‌کند. بنابراین، ترپن‌های گوناگون نقش‌های اولیه‌ی مهمی را در گیاهان ایفا می‌کنند، هرچند قسمت عمده‌ای از ساختمان‌های مختلف ترپنی تولید شده توسط گیاهان ترکیبات ثانویه هستند که به نظر می‌رسد در واکنش‌های دفاعی دخالت دارند (Mazid et al., 2011).

- **نقش دفاعی ترپن‌ها**

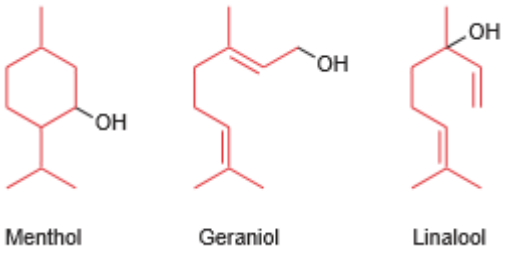
اغلب ترپنوئیدهای مختلف گیاهی در رزین‌ها، موم‌ها، شیرابه‌ها و روغن‌ها یافت می‌شوند و ترکیبات پیچیده و یا قامضی را جهت هضم در مقابل حشرات گیاه‌خوار و پستانداران ایجاد می‌نمایند (Heldt & Piechulla, 2010)، مثلاً استرهای مونوترپنی به‌نام پیرتروئیدها که در برگ‌ها و گل‌های گونه‌های داوودی (Chrysanthemum) یافت می‌شوند، فعالیت حشره‌کشی قابل‌توجهی نشان می‌دهند. تعداد زیادی از گیاهان محتوی مخلوطی از مونوترپن‌ها و سزکوئی‌ترپن‌های فرار به‌نام روغن‌های اسانسی می‌باشند که بوی خوشی را در برگ‌ها پدید می‌آورند (شکل ۱-۱) و دارای خاصیت دفع‌کنندگی حشرات هستند؛ منتول که یکی از ترکیبات روغن نعناع می‌باشد، ژرانیون یکی از ترکیبات روغن رز بوده است و لینالول یک ترکیب معطر در خانواده کامپوزیته‌ها می‌باشد (Cheng et al., 2007). در ذرت، توتون وحشی، پنبه و گونه‌های دیگر، بعضی از مونوترپن‌ها و سزکوئی‌ترپن‌ها تنها بعد از شروع تغذیه‌ی حشرات تولید و منتشر می‌گردند. این مواد، گیاه‌خواران تخم‌گذار را دفع و دشمنان طبیعی آن‌ها را جذب می‌کنند مانند حشرات انگلی و شکارچی که حشرات تغذیه کننده از گیاهان را می‌کشند (Kessler & Baldwin, 2001). بدین

---

[۱] Dolichols

[۲] Carriers

ترتیب، ترپن‌های گیاهی نه تنها خود از گیاه دفاع می‌کنند، بلکه زمینه‌ای را فراهم می‌سازند که از دیگر موجودات نیز برای دفاع کمک گرفته می‌شود. تری‌ترپنوئیدهایی که در مقابل گیاه‌خواران مهره‌دار فعال می‌باشند، عبارتند از: کاردنولیدها و ساپونین‌ها (Taiz & Zeiger, 2002; Zwenger & Basu, 2008).



شکل ۱-۱: ترپن‌های فرار معطر (اسانس)

برخی از ترپن‌ها تنها در پاسخ به آلودگی توسط باکتری‌ها یا قارچ‌ها شکل می‌گیرند. گیاهان برخی از ترپنوئیدها را جهت مهار جوانه‌زنی و رشد گیاهان دیگر در جوامع گیاهی و در رقابت میان آنان تولید می‌نمایند. دیگر ایزوپرنوئیدها نیز، در میوه‌ها و گل‌ها جهت جذب حشرات گرده‌افشان و یا انتشار دانه مورد استفاده قرار می‌گیرد (Islam et al., 2003; Murata et al., 2008; Zwenger & Basu, 2008).

- **اهمیت اقتصادی ایزوپرنوئیدهای گیاهی**

ایزوپرنوئیدها برای مثال، به‌عنوان عطر، خوش‌طعم‌کننده‌های غذا و یا مواد آرایشی، ویتامین‌ها (A,D,E)، آفت‌کش‌های طبیعی (به‌عنوان مثال پیرترین[۱]) و حلال (برای مثال تورپنتین[۲]) استفاده‌های متعددی دارند. ایزوپرنوئیدهای گیاهی به‌عنوان مواد طبیعی در داروسازی به‌صورت مستقیم و یا به‌عنوان مواد اولیه به‌کار می‌روند. مدت زمان طولانی است که گیاهان دارویی یا متابولیت‌های ثانویه‌ی آن‌ها نقش مهمی در جوامع بشری جهت مبارزه با بیماری‌ها ایفا می‌نماید (Wink et al., 2005). به‌عنوان مثال،

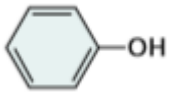
[۱] Pyrethrin

[۲] Turpentine

کاردنولیدها یا گلیکوزیدهای قلبی استخراج شده از برخی گیاهان مثلاً گل انگشتانه برای درمان بیماری-های قلبی تجویز می‌شود (Filippos et al., 2007). ساپونین‌ها، گلیکوزیدهای استروئیدی و تری‌ترپنی، که به‌علت خاصیت شبه صابونی آن‌ها نام‌گذاری شده‌اند، به‌عنوان خلط‌آور، و نیز جهت درمان صرع، میگرن، اگزما و برخی بیماری‌های پوستی، و برخی بیماری‌های قلبی مورد استفاده قرار می‌گیرند (Oakenfull & Sidhu, 1990). ساپونین‌ها که جزء سیستم ایمنی گیاه می‌باشند و به‌عنوان آنتی‌بیوتیک جهت حفاظت گیاه در مقابل میکروب‌ها و قارچ‌ها ایفای نقش می‌نمایند همچنین، بدون کشتن سلول‌های سالم، رشد سلول‌های سرطانی در جانوران به‌ویژه، سرطان ریه و خون را مهار می‌کنند (Chatterjee & Chakravorty, 1993).

۱-۲-۲-۲- فنول‌ها

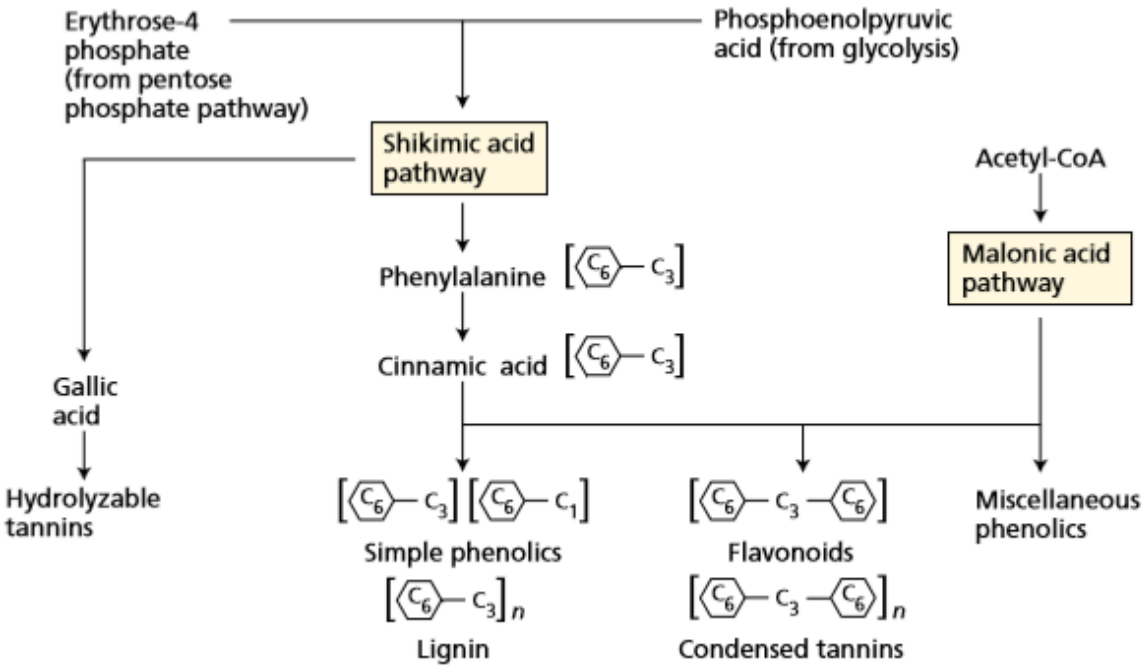
گیاهان گروه بزرگی از ترکیبات ثانویه‌ی واجد یک گروه فنولی را تولید می‌کنند که تحت عنوان فنول‌ها گروه‌بندی می‌شوند (Mazid et al., 2011).



این ترکیبات تنوع بالایی داشته و شامل ترکیبات فنولی ساده، فلاونوئیدها، استیلبرن‌ها، تانن‌ها، لیگنین‌ها و لیگنان‌ها می‌باشد. علاوه بر زنجیره کربوکسیلیک‌اسید، ترکیبات فنولی در ساختمان سوبرین و کیتین شرکت دارند. این ترکیبات نقش مهمی به‌عنوان آنتی‌بیوتیک، آفت‌کش‌های طبیعی، ترکیب پیام-رسان در ایجاد همزیستی با باکتری‌های تثبیت‌کننده‌ی نیتروژن، جاذب حشرات، محافظت در مقابل اشعه‌ی ماوراء بنفش، نفوذناپذیر نمودن دیواره به گازها و آب و تولید مواد ساختمانی جهت پایدار نمودن گیاه دارا می‌باشند (Brooker et al., 2007; Heldt & Piechulla, 2010). بعد از شرح مختصر بیوسنتز فنول‌ها، در ادامه به علت ارتباط موضوع، ترکیبات فنولی ساده و فلاونوئیدها بحث خواهد شد.

- **فنیل‌آلانین و تیروزین به‌عنوان حدواسط فنول‌های گیاهی**

از آنجا که ترکیبات فنولی از اسیدهای آمینه دارای حلقه‌ی فنولی با یک زنجیره‌ی سه کربنی به‌وجود آمده‌اند، در مجموع فنیل پروپانوئید نامیده می‌شوند (Heldt & Piechulla, 2010). دو مسیر اصلی بیوسنتز فنول‌ها عبارت است از: مسیر شیکیمیک‌اسید و مسیر موالونیک‌اسید (شکل ۱-۲). در گیاهان عالی اکثر ترکیبات فنولی حداقل تا اندازه‌ای از فنیل آلانین، یکی از فرآورده‌های مسیر شیکیمیک‌اسید، مشتق می‌شوند. فرمول‌های داخل کروشه آرایش پایه‌ای اسکلت‌های کربنی را نشان می‌دهد. نشان‌دهنده‌ی یک حلقه‌ی بنزنی و C_3 یک زنجیر سه کربنی است. برخلاف قارچ‌ها و باکتری‌ها، در گیاهان عالی، مسیر مالونیک‌اسید از اهمیت کمتری برخوردار است و عمده ترکیبات فنولی از مسیر شیکیمیک‌اسید سنتز می‌شوند.



شکل ۱-۲: مسیرهای بیوسنتز فنول‌های گیاهی

(Taiz and Zeiger, 2002)