

①

الحمد لله

والمصطفى

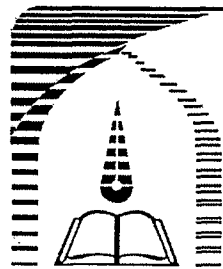
صلى الله عليه

وسلم

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

1992

۸۷۵۳ / ۸۶ / ۱
۸۸ - ۲ / ۵



دانشگاه تربیت مدرس
دانشکده علوم پایه

پایان نامه دوره کارشناسی ارشد زیست شناسی
(علوم گیاهی)

عنوان:

بررسی میزان تروپان آلکالوئیدها تحت تاثیر غلظت‌های مختلف نیترات،
فنیل آلانین و سالیسیلیک اسید در قطعات جداگشت و ریشه‌های موئینه

Atropa belladonna

نگارش:

نجمه احمدیان چاشمی

استاد راهنما:

دکتر مظفر شریفی

استاد مشاور:

دکتر فرح کریمی

شهریور ۸۷

۱۰۹۹۳۲

وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی
سازمان اسناد و کتابخانه ملی
کتابخانه مرکزی

۱۳۸۸ / ۱ / ۱۲



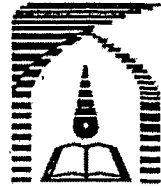
دانشگاه گیلان
دانشکده علوم پایه

بسمه تعالی

تاییدیه اعضای هیات داوران حاضر در جلسه دفاع از پایان نامه کارشناسی ارشد

اعضای هیئت داوران نسخه نهایی پایان نامه خانم نجمه احمدیان چاشمی رشته زیست شناسی (علوم گیاهی) تحت عنوان: «بررسی میزان تروپان آلکالوئیدها تحت تأثیر غلظت های مختلف تیترا، فنیل آلانین و اسید سالیسیلیک در قطعات جداگشت و ریشه های موئینه گیاه *Atropa Belladonna*» از نظر فرم و محتوا بررسی نموده و آنرا برای اخذ درجه کارشناسی ارشد مورد تأیید قرار دادند.

اعضای هیات داوران	نام و نام خانوادگی	رتبه علمی	امضاء
۱- استاد راهنما	دکتر مظفر شریفی	استادیار	
۲- استاد مشاور	دکتر فرح کریمی	استادیار	
۳- استاد ناظر داخلی	دکتر شاهرخ کاظم پوراوصالو	استادیاز	
۴- استاد ناظر خارجی	دکتر حسن رهنما	استادیار	
۵- نماینده شورای تحصیلات تکمیلی	دکتر شاهرخ کاظم پوراوصالو	استادیار	



"بسمه تعالی"

آیین‌نامه چاپ پایان‌نامه (رساله) های دانشجویان دانشگاه تربیت مدرس

نظر به اینکه چاپ و انتشار پایان نامه (رساله) های تحصیلی دانشجویان دانشگاه تربیت مدرس، مبتنی بخشی از فعالیتهای علمی-پژوهشی دانشگاه است بنابراین به منظور آگاهی و رعایت حقوق دانشگاه، دانش‌آموختگان این دانشگاه نسبت به رعایت موارد ذیل متعهد می شوند:

ماده ۱ در صورت اقدام به چاپ پایان نامه (رساله)ی خود، مراتب را قبلاً به طور کتبی به دفتر نشر آثار علمی دانشگاه اطلاع دهد.

ماده ۲ در صفحه سوم کتاب (پس از برگ شناسنامه)، عبارت ذیل را چاپ کند:
" کتاب حاضر، حاصل پایان‌نگارنده در رشته زیست‌شناسی گیاهی است که در سال ۱۳۸۷ در دانشکده علوم پایه دانشگاه تربیت مدرس به راهنمایی جناب آقای دکتر مظفر شریفی، مشاوره سرکار خانم دکتر فرح کریمی از آن دفاع شده است"

ماده ۳ به منظور جبران بخشی از هزینه‌های انتشارات دانشگاه، تعداد یک درصد شمارگان کتاب (در هر نوبت چاپ) را به دفتر نشر آثار علمی دانشگاه اهدا کند. دانشگاه می تواند مازاد نیاز خود را به نفع مرکز نشر در معرض فروش قرار دهد.

ماده ۴ در صورت عدم رعایت ماده ۳، ۵۰٪ بهای شمارگان چاپ شده را به عنوان خسارت به دانشگاه تربیت مدرس، تأدیه کند.

ماده ۵ دانشجو تعهد و قبول می کند در صورت خودداری از پرداخت بهای خسارت، دانشگاه می تواند خسارت مذکور را از طریق مراجع قضایی مطالبه و وصول کند، به علاوه به دانشگاه حق می دهد به منظور استیفای حقوق خود، از طریق دادگاه، معادل وجه مذکور در ماده ۴ را از محل توقیف کتابهای عرضه شده نگارنده برای فروش، تأمین نماید.

ماده ۶ اینجانب نجمه احمدیان چاشمی دانشجوی رشته زیست شناسی گیاهی مقطع کارشناسی ارشد تعهد فوق و ضمانت اجرایی آن را قبول کرده، به آن ملتزم می شوم.

نام و نام خانوادگی: نجمه احمدیان چاشمی

تاریخ و امضاء

۸۷/۱۱/۱۲

آیین‌نامه حق مالکیت مادی و معنوی در مورد نتایج پژوهشهای علمی

دانشگاه تربیت مدرس

مقدمه:

با عنایت به سیاست‌های پژوهشی و فناوری دانشگاه در راستای تحقق عدالت و کرامت انسانها که لازمه شکوفایی علمی و فنی است. و رعایت حقوق مادی و معنوی دانشگاه و پژوهشگران، لازم است اعضای هیأت علمی، دانشجویان، دانش‌آموختگان و دیگر همکاران طرح، در مورد نتایج پژوهشهای علمی که تحت عنوان پایان‌نامه، رساله و طرحهای تحقیقاتی با هماهنگی دانشگاه انجام شده است، موارد زیر را رعایت نمایند:

ماده ۱- حق نشر و تکثیر پایان‌نامه/رساله و درآمدهای حاصل از آنها متعلق به دانشگاه می‌باشد ولی حقوق معنوی پدیدآورندگان محفوظ خواهد بود.

ماده ۲- انتشار مقاله یا مقالات مستخرج از پایان‌نامه / رساله به صورت چاپ در نشریات علمی و یا ارائه در مجامع علمی باید به نام دانشگاه بوده و با تایید استاد راهنمای اصلی، یکی از اساتید راهنما، مشاور و یا دانشجوی مسئول مکاتبات مقاله باشد. ولی مسئولیت علمی مقاله مستخرج از پایان‌نامه و رساله به عهده اساتید راهنما و دانشجو می‌باشد.

تبصره: در مقالاتی که پس از دانش‌آموختگی بصورت ترکیبی از اطلاعات جدید و نتایج حاصل از پایان‌نامه/رساله نیز منتشر می‌شود نیز باید نام دانشگاه درج شود.

ماده ۳- انتشار کتاب و یا نرم‌افزار و یا آثار ویژه حاصل از نتایج پایان‌نامه / رساله و تمامی طرحهای تحقیقاتی کلیه واحدهای دانشگاه اعم از دانشکده‌ها، مراکز تحقیقاتی، پژوهشکده‌ها، پارک علم و فناوری و دیگر واحدها باید با مجوز کتبی صادره از معاونت پژوهشی دانشگاه و براساس آئین‌نامه‌های مصوب انجام شود.

ماده ۴- ثبت اختراع و تدوین دانش فنی و یا ارائه یافته‌ها در جشنواره‌های ملی، منطقه‌ای و بین‌المللی که حاصل نتایج مستخرج از پایان‌نامه/رساله و تمامی طرحهای تحقیقاتی دانشگاه باید با هماهنگی استاد راهنما یا مجری طرح از طریق معاونت پژوهشی دانشگاه انجام گیرد.

ماده ۵- این آیین‌نامه در ۵ ماده و یک تبصره در تاریخ ۸۷/۴/۱ در شورای پژوهشی و در تاریخ ۸۷/۴/۲۳ در هیأت‌رئیس دانشگاه به تایید رسید و در جلسه مورخ ۸۷/۷/۱۵ شورای دانشگاه به تصویب رسیده و از تاریخ تصویب در شورای دانشگاه لازم‌الاجرا است.

تقدیم ہے:

ہمیشہ یاور زندگی ام، پدر

کوہ صبر و فداکاری، مادرم

برادران عزیز و خواہران مہربانم

و تمام کسانی کہ دوستان دارم.

تشکر و قدردانی

"من لم یشکر المخلوق و لم یشکر الخالق"

و سپاس بی‌کران بر همه عزیزانی که در مسیر تعالی انسانها، مخلصانه و عاشقانه گام می‌نهند، آموزگاران و معلمین ارجمندی که قطره‌قطره وجود خویش را در قالب علم و دانش به من آموختند، خاصه استادان عزیزی که در راه انجام این تحقیق مرا یاری رساندند: استاد راهنمای گرامی، جناب آقای دکتر مظفر شریفی و استاد مشاور عزیز، سرکار خانم دکتر فرح کریمی که با تواضع، هدایت انجام تحقیق و دفاعم را به عهده گرفتند. از زحمات ارزنده اساتید ارجمند جناب آقای دکتر رهنما و جناب آقای دکتر کاظم‌پور به پاس داوری و پشتیبانی در امور پایان‌نامه با نهایت احترام سپاسگزاری می‌نمایم. از سایر اساتید محترم گروه علوم گیاهی، خانمها: دکتر قناتی و دکتر زرین‌کمر و آقای دکتر زارع مایوان که افتخار شاگردی آنها را دارم، به پاس زحمتهای بی‌دریغشان نهایت سپاس و تشکر را دارم. همچنین از همکاری جناب آقای دکتر خواجه با نهایت احترام کمال تشکر را دارم.

از دوستان خوبم در گروه علوم گیاهی و بیوشیمی و همچنین از کارشناسان محترم آزمایشگاه‌های علوم گیاهی و بیوشیمی؛ خانم خرمی‌شاد و خانم زرنندی که در مسیر انجام این تحقیق مرا یاری نموده‌اند صمیمانه قدردانی می‌نمایم.

از بخشهای مختلف دانشگاه تربیت‌مدرس و سایر عزیزانی که نامشان از قلم افتاده است، تشکر و قدردانی می‌نمایم و در پایان از خانواده عزیزم به پاس محبت‌های بی‌دریغشان نهایت سپاس و تشکر را دارم.

چکیده

شابیزک (*Atropa belladonna*) گیاهی پایا و متعلق به خانواده سیبزمینی (*Solanaceae*) می‌باشد که در گیلان و مازندران می‌روید. این گیاه به دلیل داشتن آلکالوئیدها به ویژه آتروپین و اسکوپولامین، که ارزش دارویی وسیعی دارند، در زمره گیاهان دارویی قرار می‌گیرد. با وجود اینکه فنون کشت سلول، بافت و اندام‌های گیاهی برای تولید متابولیت‌های ثانویه استفاده می‌شوند، اما سلول‌های تمایز نیافته نمی‌توانند این ترکیبات (آتروپین و اسکوپولامین) را به مقدار کافی تولید کنند زیرا سنتز آنها به حضور اندام تمایز یافته ریشه مربوط است. لذا این تحقیق بر اساس دو نوع کشت شامل گیاهچه-های حاصل از قطعات جداکشت و ریشه‌های موئینه ایجاد شده به وسیله آگروباکتریوم ریزوژنز طرح شد و از سه تیمار نیترات، فنیل‌آلانین و سالیسیلیک اسید به عنوان محرک‌های احتمالی مسیر بیوسنتزی تروپان آلکالوئیدها استفاده گردید. در نهایت میزان تولید این ترکیبات در ریشه‌های موئینه و بخش‌های مختلف گیاهان بررسی و مقایسه شد.

محیط مناسب برای تشکیل گیاهچه‌ها از قطعات جداکشت و ریشه‌زایی آنها، محیط MS دارای ۰/۲ میلی‌گرم بر لیتر اکسین انتخاب شد. در این محیط گیاهچه‌های حاصل تحت تاثیر تیمارهای انتخاب شده قرار گرفتند، ریشه و بخش‌های هوایی این گیاهان از نظر بعضی از خصوصیات ظاهری و محتوای تروپان آلکالوئیدی با هم مقایسه شدند. تفاوت بین این گیاهان نوپدید هم از نظر ظاهری و هم از نظر محتوای آلکالوئیدی مشهود بود. در مجموع مقدار کلروفیل و آنتوسیانین در گیاهچه‌های گرمستان و همچنین محتوای آلکالوئیدی موجود در ریشه این گیاهچه‌ها بسیار بیشتر از گیاهچه‌های واز بود. از طرفی در هر دو نمونه مقدار آلکالوئید اسکوپولامین در ریشه بیشتر از اندام‌هوایی بود.

به‌طور کلی مقدار آلکالوئیدهای حاصل از ریشه‌های موئینه بیشتر از اندام‌های گیاهچه‌های مورد مطالعه بود. سطح آتروپین تولید شده در ریشه‌های موئینه در تیمار نیترات ۳/۵ تا ۲۰ برابر و تحت تاثیر دو

تیمار فنیل آلانین و سالیسیلیک اسید ۵ تا ۳۰ برابر بیشتر از بخش‌های مختلف گیاهی بود. مقدار اسکوپولامین تولید شده نیز در ریشه‌های موئینه تا ۱۰ برابر مقدار آن در گیاهان بود. در ریشه‌های موئینه، آتروپین تولید شده بالاتر از مقدار اسکوپولامین بوده اما در گیاهان محتوای اسکوپولامین بیشتر از آتروپین بوده است. بطور کلی تیمارهای نیترات، فنیل آلانین و سالیسیلیک اسید موجب افزایش تولید آلکالوئیدهای مذکور در ریشه‌های موئینه گردید. از بین تیمارهای انتخابی بر گیاهان نیز، تیمار نیترات بهتر از سایر تیمارها بود که بیشترین تاثیر آن، افزایش اسکوپولامین در ریشه‌های گیاهچه‌های گرمستان در تیمار ۳۵ میلی مولار بوده است. بطور کلی گیاهان گرمستان نسبت به تولید این ترکیبات بهتر از گیاهان واز بوده‌اند و علت این امر می‌تواند به خصوصیات خود بذرها برگردد که احتمالاً به ویژگی‌های گیاه پایه مادری و تاثیر اقلیم دو منطقه بر گیاهان و سازگاریهایی که آنها با محیط خود پیدا کرده‌اند، مرتبط می‌باشد. در پایان؛ استفاده از ریشه‌های موئینه و کشت آنها به‌جای گیاهان، به منظور مطالعات بیشتر و تولید این ترکیبات مهم در مقیاس تجاری - اقتصادی پیشنهاد می‌شود.

کلمات کلیدی: شایبک (*Atropa belladonna*)، *Agrobacterium rhizogenes*، ترופן آلکالوئیدها،

ریشه‌های موئینه، واز، گرمستان، کشت بافت

"فهرست مطالب"

صفحه

عنوان

فصل اول: مقدمه

- ۱-۱ کلیاتی در مورد گیاه ----- ۲
- ۲-۱ اهمیت دارویی شابیزک ----- ۳
- ۳-۱ آلکالوئیدها ----- ۵
- ۱-۳-۱ بیوسنتز تروپان آلکالوئیدها ----- ۶
- ۲-۳-۱ آتروپین و اسکوپولامین ----- ۹
- ۴-۱ کشت بافت و استفاده آن در بررسی متابولیت‌های گیاهی ----- ۹
- ۵-۱ تولید ریشه‌های موئینه به منظور بررسی متابولیت‌های ثانویه ----- ۱۰
- ۱-۵-۱ استفاده از آگروباکتریوم ----- ۱۱
- ۲-۵-۱ سیستم بیماری‌زایی باکتری (Vir genes) ----- ۱۳
- ۳-۵-۱ چگونگی انتقال T-DNA به ژنوم گیاهان ----- ۱۳
- ۴-۵-۱ مزایا و معایب استفاده از آگروباکتریوم برای انتقال ژن ----- ۱۴
- ۵-۵-۱ بهینه‌سازی سیستم انتقال ژن با استفاده از ژنهای گزارشگر ----- ۱۵
- ۶-۱ نقش محرک‌های زیستی و غیرزیستی در افزایش متابولیت‌های گیاهی ----- ۱۵
- ۷-۱ مروری بر مطالعات انجام شده ----- ۱۷
- ۸-۱ اهداف ----- ۲۱

فصل دوم: مواد و روشها

- ۱-۲ تهیه نمونه گیاهی ----- ۲۳
- ۲-۲ بررسی جوانه‌زنی ----- ۲۳
- ۳-۲ کشت بافت و تهیه محیط کشت ----- ۲۳
- ۱-۳-۲ استریل کردن ظروف و لوازم آزمایشگاهی و محیط کشت‌های مورد استفاده ----- ۲۴
- ۲-۳-۲ کشت بذرها ----- ۲۵
- ۳-۳-۲ تکثیر گیاه ----- ۲۵
- ۴-۳-۲ القای تشکیل ریشه (ریشه‌زایی) و رشد گیاهچه‌ها ----- ۲۵
- ۴-۲ تشکیل ریشه‌های موئینه ----- ۲۶
- ۱-۴-۲ محیط کشت باکتری ----- ۲۶
- ۲-۴-۲ کشت باکتری آگروباکتریوم ریزوژنز ----- ۲۷

- ۲۷-----۳-۴-۲ تلقیح قطعات گیاهی با روش شیکینگ
- ۲۸-----۴-۴-۲ محیط کشت جامد برای قطعات تلقیح شده
- ۲۸-----۵-۴-۲ مشاهده و تعیین درصد تشکیل ریشه‌های موئینه
- ۲۹-----۵-۵-۲ اثبات تراریخته بودن ریشه‌های حاصل
- ۲۹-----۱-۵-۲ مطالعات هیستوشیمیایی
- ۲۹-----۲-۵-۲ مطالعات مولکولی
- ۳۱-----۶-۲ رشد و تکثیر ریشه‌های موئینه
- ۳۱-----۱-۶-۲ تعیین سرعت رشد نسبی ریشه‌های موئینه
- ۳۱-----۲-۶-۲ تکثیر ریشه‌های موئینه
- ۳۱-----۷-۲ انتخاب تیمارها و تاثیر آنها
- ۳۱-----۱-۷-۲ تاثیر تیمارها بر قطعات جداکشت
- ۳۲-----۲-۷-۲ تاثیر تیمارها بر ریشه‌های موئینه
- ۳۳-----۸-۲ اندازه‌گیری‌های بیوشیمیایی
- ۳۳-----۱-۸-۲ سنجش و اندازه‌گیری کلروفیل برگ در تیمارهای مختلف گیاهچه‌ها
- ۳۳-----۲-۸-۲ سنجش و اندازه‌گیری آنتوسیانین کل
- ۳۴-----۳-۸-۲ استخراج آلکالوئیدها
- ۳۵-----۴-۸-۲ سنجش آلکالوئیدها به وسیله HPLC
- ۳۵-----۵-۸-۲ استخراج و اندازه‌گیری مقدار پروتئینهای محلول
- ۳۷-----۶-۸-۲ الکتروفورز ژل پلی‌اکریل‌آمید در حضور سدیم‌دودسیل‌سولفات پروتئینها
- ۴۰-----۹-۲ تجزیه و تحلیل آماری

فصل سوم: نتایج

- ۴۲-----۱-۳ جوانه‌زنی بذرها
- ۴۳-----۲-۳ انتخاب محیط مناسب برای ریشه‌زایی و رشد گیاهچه‌ها
- ۴۵-----۳-۳ تعیین درصد تشکیل ریشه‌های موئینه
- ۴۶-----۴-۳ اثبات خصوصیت تراریخته بودن ریشه‌های حاصل
- ۴۶-----۱-۴-۳ مطالعات میکروسکوپی
- ۴۶-----۲-۴-۳ مطالعات مولکولی
- ۴۷-----۵-۳ اندازه‌گیری سرعت رشد نسبی ریشه‌های موئینه
- ۴۸-----۶-۳ تاثیر تیمارها بر روی بعضی از پارامترهای رشد گیاهچه‌ها
- ۴۸-----۱-۶-۳ تاثیر تیمار نیترا بر رشد گیاهچه‌ها
- ۴۹-----۲-۶-۳ تاثیر تیمار فنیل‌آلانین بر رشد گیاهچه‌ها

- ۵۱-----۳-۶-۳ تاثیر تیمار سالیسیلیک اسید بر رشد گیاهچه‌ها
- ۵۲-----۴-۶-۳ تاثیر تیمارها بر کلروفیل a و b گیاهچه‌ها
- ۵۲-----۵-۶-۳ تاثیر تیمارها بر مقدار آنتوسیانین کل گیاهچه‌ها
- ۵۳-----۷-۳ تاثیر تیمارها بر رشد ریشه‌های موئینه
- ۵۴-----۸-۳ تولید آلکالوئیدها در ریشه‌های موئینه و اندامهای گیاهچه‌های نوپدید واز و گرمستان
- ۵۵-----۱-۸-۳ تیمار نیترا
- ۵۷-----۲-۸-۳ تیمار فنیل آلانین
- ۵۹-----۳-۸-۳ تیمار سالیسیلیک اسید
- ۶۲-----۹-۳ سنجش پروتئینهای محلول کل و الکتروفورز آنها
- ۶۲-----۱-۹-۳ بررسی پروتئینها
- ۶۳-----۲-۹-۳ الکتروفورز پروتئینها

فصل چهارم: بحث

- ۶۹-----۱-۴ جوانه‌زنی بذرها
- ۶۹-----۲-۴ محیط مناسب برای ریشه‌زایی و رشد بهتر قطعات جداگشت
- ۷۰-----۳-۴ تولید ریشه‌های موئینه
- ۷۱-----۴-۴ بررسی اثر تیمارها بر بعضی از پارامترهای رشد گیاهچه‌ها
- ۷۱-----۱-۴-۴ تاثیر نیترا بر رشد گیاهچه‌ها
- ۷۲-----۲-۴-۴ تاثیر فنیل آلانین بر رشد گیاهچه‌ها
- ۷۲-----۳-۴-۴ تاثیر سالیسیلیک اسید بر رشد گیاهچه‌ها
- ۷۳-----۴-۴-۴ سنجش کلروفیل a و b و آنتوسیانین کل
- ۷۵-----۵-۴ تأثیر تیمارها بر رشد ریشه‌های موئینه
- ۷۵-----۱-۵-۴ تیمار نیترا
- ۷۵-----۲-۵-۴ تیمار فنیل آلانین
- ۷۶-----۳-۵-۴ تیمار سالیسیلیک اسید
- ۷۶-----۶-۴ مقایسه آلکالوئیدهای تولید شده در نمونه‌های مورد بررسی تحت تاثیر تیمارهای مختلف
- ۷۶-----۱-۶-۴ تیمار نیترا
- ۷۹-----۲-۶-۴ تیمار فنیل آلانین
- ۸۰-----۳-۶-۴ تیمار سالیسیلیک اسید
- ۸۱-----۷-۴ تاثیر تیمارها بر پروتئینهای محلول کل
- ۸۵-----۸-۴ پیشنهادات

منابع و پیوست‌ها

۸۷	فهرست منابع
۹۴-۹۹	پیوست‌ها

"فهرست جدول‌ها"

صفحه

عنوان

- جدول ۱-۲: مشخصات دو منطقه ۲۳
- جدول ۲-۲: محلول مادری برای تهیه محیط کشت MS ۲۴
- جدول ۳-۲: هورمون‌های استفاده شده در کشت‌های مختلف ۲۴
- جدول ۴-۲: محیط و غلظت‌های هورمونی مطالعه شده ۲۶
- جدول ۵-۲: محیط کشت LB باکتری ۲۶
- جدول ۶-۲: آنتی‌بیوتیک‌های استفاده شده در محیط کشت باکتری ۲۷
- جدول ۷-۲: تهیه ژل تحتانی و فوقانی ۳۹
- جدول ۱-۳: تغییرات رشد ریشه و اندام‌هوایی گیاهچه‌های حاصل از قطعات جداکشت در محیط‌های کشت مختلف ۴۴
- جدول ۲-۳: مقایسه میانگین طول اندام‌هوایی و ریشه، وزن‌تر اندام‌هوایی و ریشه، کلروفیل a, b و آنتوسیانین کل در گیاهچه‌های واز و گرمستان تحت تاثیر غلظت‌های مختلف نترات پتاسیم ۴۸
- جدول ۳-۳: مقایسه میانگین طول اندام‌هوایی و ریشه، وزن‌تر اندام‌هوایی و ریشه، کلروفیل a, b و آنتوسیانین کل در گیاهچه‌های واز و گرمستان تحت تاثیر غلظت‌های مختلف فنیل‌آلانین ۵۰
- جدول ۴-۳: مقایسه طول اندام‌هوایی و ریشه، وزن‌تر اندام‌هوایی و ریشه، کلروفیل a, b و آنتوسیانین کل در گیاهچه‌های واز و گرمستان تحت تاثیر غلظت‌های مختلف سالیسیلیک‌اسید ۵۱
- جدول ۵-۳: مقایسه مقدار پروتئین محلول کل در ریشه‌های موئینه و بخش‌های مختلف گیاهچه‌های واز و گرمستان تحت تاثیر تیمارهای مختلف ۶۴

"فهرست شکل‌ها"

صفحه

عنوان

- شکل ۱-۱: الف) ریشه و برگ (ب) میوه (ج) دانه ۲
- شکل ۱-۲: مسیر بیوسنتز تروپان‌آلکالوئیدها ۸
- شکل ۱-۳: مسیر فعالیت هیوسیامین ۶-بتاهیدروکسیلاز ۸
- شکل ۱-۴: چگونگی انتقال T-DNA به ژنوم گیاهان ۱۴
- شکل ۳-۱: درصد جوانه‌زنی بذرهای مناطق گرمستان و واز بر روی کاغذ صافی ۴۲
- شکل ۳-۲: دانه‌رست‌های گیاهان گرمستان و واز در پلیت و محیط کشت ۴۲
- شکل ۳-۳: گیاهچه‌های واز و گرمستان مربوط به محیط $MS + 0.2 \text{ mg L}^{-1} \text{ IAA}$ ۴۵
- شکل ۳-۴: درصد تشکیل ریشه‌های موئینه ۴۵
- شکل ۳-۵: رنگ‌آمیزی اختصاصی gus با بافر X-glu ۴۶
- شکل ۳-۶: الف) نتیجه آزمون PCR برای ژن *rolB* در ریشه‌های موئینه فاقد pBI121 و (ب) نتیجه آزمون PCR برای ژن gus در ریشه‌های موئینه حاصل از باکتری واجد pBI121 ۴۷
- شکل ۳-۷: الف) ریشه موئینه و (ب) ریشه کنترل (جداشده از گیاهچه)، ۷ روز بعد از انتقال به محیط کشت مایع MS ۴۷
- شکل ۳-۸: مقایسه طول اندام‌هوایی و ریشه گیاهچه‌های: الف) واز و (ب) گرمستان، تحت تاثیر غلظت‌های مختلف نیتрат پتاسیم ۴۹
- شکل ۳-۹: مقایسه طول اندام‌هوایی و ریشه گیاهچه‌های: الف) واز و (ب) گرمستان تحت تاثیر غلظت‌های مختلف فنیل‌آلانین ۵۰
- شکل ۳-۱۰: مقایسه طول اندام‌هوایی و ریشه گیاهچه‌های: الف) واز و (ب) گرمستان تحت تاثیر غلظت‌های مختلف سالیسیلیک‌اسید ۵۱
- شکل ۳-۱۱: تاثیر تیمارهای الف) نیترات، ب) فنیل‌آلانین و ج) سالیسیلیک‌اسید بر رشد ریشه‌های موئینه ۵۴
- شکل ۳-۱۲: مقایسه میزان آتروپین در اندام‌هوایی و ریشه گیاهان واز و گرمستان و ریشه‌های موئینه تحت تاثیر تیمار نیترات ۵۷
- شکل ۳-۱۳: مقایسه میزان اسکوپولامین در اندام‌هوایی و ریشه گیاهان واز و گرمستان و ریشه‌های موئینه تحت تاثیر تیمار نیترات ۵۷
- شکل ۳-۱۴: مقایسه میزان آتروپین در اندام‌هوایی و ریشه گیاهان واز و گرمستان و ریشه‌های موئینه تحت تاثیر تیمار فنیل‌آلانین ۵۹

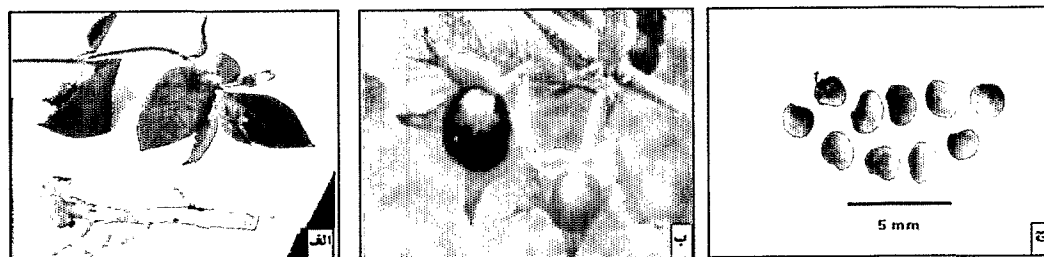
- شکل ۳-۱۵: مقایسه میزان اسکوپولامین در اندام‌هوایی و ریشه گیاهان واز و گرمستان و ریشه‌های موئینه تحت تاثیر تیمار فنیل‌آلانین ۵۹
- شکل ۳-۱۶: مقایسه میزان آتروپین در اندام‌هوایی و ریشه گیاهان واز و گرمستان و ریشه‌های موئینه تحت تاثیر تیمار سالیسیلیک‌اسید ۶۱
- شکل ۳-۱۷: مقایسه میزان اسکوپولامین در اندام‌هوایی و ریشه گیاهان واز و گرمستان و ریشه‌های موئینه تحت تاثیر تیمار سالیسیلیک‌اسید ۶۱
- شکل ۳-۱۸: نتیجه ژل SDS-PAGE پروتئین‌های محلول در؛ الف) ریشه‌های موئینه، اندام‌هوایی و ریشه گیاهان واز، ب) اندام‌هوایی و ریشه گیاهان گرمستان تحت تاثیر تیمار نیترات براساس مقدار مساوی پروتئین ۶۵
- شکل ۳-۱۹: نتیجه ژل SDS-PAGE پروتئین‌های محلول در؛ الف) ریشه‌های موئینه، اندام‌هوایی و ریشه گیاهان واز، ب) اندام‌هوایی و ریشه گیاهان گرمستان تحت تاثیر تیمار فنیل‌آلانین براساس مقدار مساوی پروتئین ۶۶
- شکل ۳-۲۰: نتیجه ژل SDS-PAGE پروتئین‌های محلول در؛ الف) ریشه‌های موئینه، اندام‌هوایی و ریشه گیاهان واز، ب) اندام‌هوایی و ریشه گیاهان گرمستان تحت تاثیر تیمار سالیسیلیک‌اسید بر اساس مقدار مساوی پروتئین ۶۷

فصل اول

مقدمه

۱-۱ کلیاتی در مورد گیاه

تیره سیب زمینی (*Solanaceae*) دارای جنس‌های زیادی است که در ایران ۱۳ جنس آن وجود دارد (قهرمان، ۱۳۷۳). تعدادی از گیاهان این خانواده مانند *Scopolia Duboisia*, *Atropa* و *Hyoscyamus* ... به دلیل تولید آلکالوئیدهای مهم در طب گیاهی به عنوان داروهای گیاهی استفاده می‌شوند (Zhang et al. 2004). شایبک (*Atropa belladonna*) گیاهی از خانواده سیب زمینی و جنس *Atropa* است که علفی، چندساله، با ریشه‌هایی ضخیم، ساقه‌ای منشعب، پرشاخه و برگ‌های متناوب و بیضی شکل می‌باشد. گل‌ها از بغل برگ‌ها ظاهر شده و پس از تلقیح تبدیل به میوه‌های سبزه رنگی می‌شوند (شکل ۱-۱). زمان گلدهی این گیاه بهار و زمان میوه‌دهی آن تابستان و اوایل پاییز می‌باشد. این گیاه متعلق به منطقه خزری و در حاشیه جنگل‌ها، زیر درختان و در محل‌های رها شده، در جاهای مرطوب و دارای آب فراوان می‌روید (زمان، ۱۳۷۰ و زرگری، ۱۳۷۵) و در هوای خشک به کندی رشد می‌کند و عملکرد آن کاهش می‌یابد. این گیاه در طی دوره رشد، ریشه زیاد تولید می‌کند (به طول ۴۰-۶۰ سانتی متر). ارتفاع گیاه به یک متر هم می‌رسد و در بسیاری از نقاط دنیا کشت می‌شود (Leung, 1996). گرما و نور فراوان باعث افزایش آلکالوئیدهای آن می‌شود و نور یکی از عوامل موثر بر پراکنش این گیاه می‌باشد (کریمی و همکاران، ۱۳۸۳).



شکل ۱-۱: الف) ریشه و برگ (ب) میوه (ج) دانه.

رویش دانه‌های شابیزک، به علت ماهیت خیلی ضخیم، محکم، چوبی و موجی بودن پوسته آن، که همراه با یک غشاء داخلی جنین را احاطه می‌کند، ضعیف و نامنظم است (Genova et al. 1997) و امیرجانی، (۱۳۷۲). ایجاد شوک سرمایی قبل از کاشت روی رویش آن موثر است. خاک‌های شنی غنی از کلسیم و ترکیبات هوموس و pH بین ۴/۵-۷/۴ برای کشت آن مناسب می‌باشد (کریمی و همکاران، ۱۳۸۳). در سال ۱۹۹۷، Genova و همکارانش جوانه‌زنی دانه‌های شابیزک را تحت تاثیر بعضی عوامل شیمیایی و مکانیکی (تنظیم‌کننده‌های رشد از جمله؛ جیبرلین و تغییر شرایط دمایی) مورد بررسی قرار دادند و به این نتیجه رسیدند که تیمار ۲۴ ساعته جیبرلین به غلظت یک میلی‌گرم بر لیتر، تاثیر مثبتی بر جوانه‌زنی بذرها داشته است. کریمی و همکاران نیز در سال ۱۳۸۳ درصد جوانه‌زنی بذرها شابیزک را (که در دو فصل تابستان و پاییز جمع‌آوری شدند) تحت تاثیر تیمارهای مختلف: روشنایی، تاریکی، سرما و انتقال از سرما به تاریکی و سپس انتقال از تاریکی به روشنایی مورد بررسی قرار دادند. نتایج آنها نشان داد که: بذرهاى تابستان اصلاً قدرت جوانه‌زنی ندارند و بیشترین درصد جوانه‌زنی بذرهاى پاییز نیز، مربوط به تیمار سرما-تاریکی و سپس انتقال به روشنایی بوده است. بطور کلی جوانه‌زنی این بذرها کند، نامنظم و زمان‌بر می‌باشد.

۱-۲ اهمیت دارویی شابیزک

گروهی از گیاهان تیره سیب زمینی به علت دارا بودن مواد سمی، اثر کشنده دارند. بعضی از آنها مانند سیب‌زمینی، گوجه‌فرنگی و بادمجان مصرف خوراکی دارند. در بین آنها گونه‌هایی دارای ترکیبات دارویی با ارزش درمانی زیاد نیز یافت می‌شود که تعدادی از آنها در ایران به حالت وحشی می‌رویند. از این نوع گیاهان می‌توان شابیزک (*Atropa belladonna*)، تاتوره (*Datura stramonium*)، بنگ-دانه (*Hyoscyamus niger*)، مهرگیاه (*Mandragora officinarum*) و *Duboisia* را نام برد (زرگری، ۱۳۷۵).

گیاهان شابیزک، تاتوره علفی و بنگ دانه هر سه در یک ردیف به عنوان ضداسپاسم در طب سنتی بکار می‌روند. از بین گیاهان فوق، گیاه شابیزک آلکالوئید بیشتری دارد و تاثیر ضداسپاسم آن نیز خیلی قوی‌تر است (کریمی و همکاران، ۱۳۸۳).

در زبان یونانی کلمه آتروپوس (*Atropos*) به معنای غیرقابل اجتناب است. رومی‌ها شیره میوه *Atropa belladonna* را برای گشاد نمودن مردمک چشم بکار می‌بردند و از همان زمان نام بلا-دونا یعنی بانوی زیبا به این گیاه داده شد (زمان، ۱۳۷۰).

شابیزک خواص درمانی بسیار مهمی دارد به همین دلیل در درمان بیماری‌های مختلف مورد استفاده قرار می‌گیرد. این خاصیت به آلکالوئیدهای موجود در آن برمی‌گردد. قسمت‌های فعال آن دارای یک درصد آلکالوئیدهای مشتق از تروپان (هیوسیامین و اسکوپولامین)، آتروپیک اسید (*Atropique*) و بلادونین هستند (زمان، ۱۳۷۰)، بعلاوه این گیاه دارای آتروپامین، اسکوپوله‌تین، مواد رزینی، پکتینی و کولین نیز می‌باشد. شابیزک در طب سنتی به مصارف داخلی و خارجی می‌رسد و به مقدار مجاز با نظر پزشک تجویز می‌شود، در دفع و تسکین سیاه سرفه و برای رفع انقباض‌های تشنجی بعضی اعضاء مانند گردن رحم و مجرای ادرار و همچنین برای بهبودی بسیاری از دمل‌ها استعمال می‌شود (زرگری، ۱۳۷۵). مواد آلی تهیه شده از طریق صنایع داروسازی و همچنین آلکالوئیدهای بدست آمده از آن، عضلات صاف را آزاد و شل می‌کند بخصوص وقتی لازم باشد که ترشحات گوارشی و ریوی به حداقل برسند (زمان، ۱۳۷۰).

به‌طور کلی اثرات مهم این گیاه؛ ضداسپاسم عضلات صاف، تخدیرکننده، کاهش عرق و مسکن است. در طب سنتی به عنوان آرام‌بخش اعضاء متورم بخصوص معده و روده، در بیماری پارکینسون برای کاهش لرزش و سختی اعضاء و افزایش قدرت تکلم و حرکت، همچنین به عنوان داروی بیهوشی تجویز می‌شود (زرگری، ۱۳۷۵ و Gattner, 1997).