

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ



دانشکده‌ی علوم کشاورزی  
گروه آموزشی علوم باغبانی

پایان‌نامه برای دریافت درجه‌ی کارشناسی ارشد  
در رشته‌ی علوم باغبانی - گرایش گیاهان زینتی

### عنوان:

**تأثیر نانو ذرات روی و آهن، اسیدهیومیک و بنزیل آدنین بر متابولیت‌های ثانویه  
سوسن چلچراغ (*Lilium ledebourii* Bioss) در شرایط درون شیشه‌ای**

اساتید راهنما:

دکتر مهدی محب‌الدینی

دکتر اسماعیل چمنی

استاد (اساتید) مشاور:

دکتر منصور باقری

مهندس نورالدین ایزدی

پژوهشگر:

سکینه کریمی قلعه‌تکی

بهمن - ۱۳۹۲

## تعهدنامه‌ی اصالت اثر و رعایت حقوق دانشگاه

تمامی حقوق مادی و معنوی مرتبط بر نتایج، ابتکارات، اختراعات و نوآوری‌های ناشی از انجام این پژوهش، متعلق به **دانشگاه محقق اردبیلی** می‌باشد. نقل مطلب از این اثر، با رعایت مقررات مربوطه و با ذکر نام دانشگاه محقق اردبیلی، نام استاد راهنما و دانشجو بلامانع است.

اینجانب **سکینه کریمی قلعه‌تکی** دانش‌آموخته‌ی مقطع کارشناسی ارشد رشته‌ی علوم باغبانی گرایش گیاهان زینتی دانشکده‌ی علوم کشاورزی دانشگاه محقق اردبیلی به شماره‌ی دانشجویی ۹۰۳۳۲۱۳۱۱۴ که در تاریخ ۱۳۹۲/۱۱/۵ از پایان‌نامه‌ی تحصیلی خود تحت عنوان: **تأثیر نانو ذرات روی و آهن، اسیدهیومیک و بنزیل آدنین بر متابولیت‌های ثانویه سوسن چلچراغ (*Lilium ledebourii* Bioss) در شرایط درون شیشه‌ای** دفاع نموده‌ام، متعهد می‌شوم که:

۱) این پایان‌نامه را قبلاً برای دریافت هیچ‌گونه مدرک تحصیلی یا به عنوان هرگونه فعالیت پژوهشی در سایر دانشگاه‌ها و مؤسسات آموزشی و پژوهشی داخل و خارج از کشور ارائه ننموده‌ام.

۲) مسئولیت صحت و سقم تمامی مندرجات پایان‌نامه‌ی تحصیلی خود را بر عهده می‌گیرم.

۳) این پایان‌نامه، حاصل پژوهش انجام شده توسط اینجانب می‌باشد.

۴) در مواردی که از دستاوردهای علمی و پژوهشی دیگران استفاده نموده‌ام، مطابق ضوابط و مقررات مربوطه و با رعایت اصل امانتداری علمی، نام منبع مورد استفاده و سایر مشخصات آن را در متن و فهرست منابع و مأخذ ذکر نموده‌ام.

۵) چنانچه بعد از فراغت از تحصیل، قصد استفاده یا هر گونه بهره‌برداری اعم از نشر کتاب، ثبت اختراع و از این پایان‌نامه را داشته باشم، از حوزه‌ی معاونت پژوهشی و فناوری دانشگاه محقق اردبیلی، مجوزهای لازم را اخذ نمایم.

۶) در صورت ارائه‌ی مقاله‌ی مستخرج از این پایان‌نامه در همایش‌ها، کنفرانس‌ها، سمینارها، گردهمایی‌ها و انواع مجلات، نام دانشگاه محقق اردبیلی را در کنار نام نویسندگان (دانشجو و اساتید راهنما و مشاور) ذکر نمایم.

۷) چنانچه در هر مقطع زمانی، خلاف موارد فوق ثابت شود، عواقب ناشی از آن (منجمله ابطال مدرک تحصیلی، طرح شکایت توسط دانشگاه و ...) را می‌پذیرم و دانشگاه محقق اردبیلی را مجاز می‌دانم با اینجانب مطابق ضوابط و مقررات مربوطه رفتار نماید.

نام و نام خانوادگی دانشجو: سکینه کریمی قلعه‌تکی

امضا

تاریخ



دانشکده‌ی علوم کشاورزی  
گروه آموزشی علوم باغبانی

پایان‌نامه برای دریافت درجه‌ی کارشناسی ارشد  
در رشته‌ی علوم باغبانی - گرایش گیاهان زینتی

### عنوان:

**تأثیر نانو ذرات روی و آهن، اسیدهیومیک و بنزیل آدنین بر متابولیت‌های ثانویه**

**سوسن چلچراغ (*Lilium ledebourii* Bioss) در شرایط درون شیشه‌ای**

پژوهشگر:

سکینه کریمی قلعه تکی

ارزیابی و تصویب شده‌ی کمیته‌ی داوران پایان‌نامه با درجه‌ی عالی

| امضاء | سمت                                | مرتبه‌ی علمی  | نام و نام خانوادگی    |
|-------|------------------------------------|---------------|-----------------------|
|       | استاد راهنما و رئیس کمیته‌ی داوران | استادیار      | دکتر مهدی محب‌الدینی  |
|       | استاد راهنما                       | دانشیار       | دکتر اسماعیل چمنی     |
|       | استاد مشاور                        | دکتری حرفه‌ای | منصور باقری           |
|       | استاد مشاور                        | مهندس         | نورالدین ایزدی        |
|       | داور                               | استادیار      | دکتر علی اکبر شکوهیان |

**تقدیم به مهربانانی که :**



**لحظات ناب باور بودن، لذت و غرور دانستن، جسارت خواستن، عظمت رسیدن و تمام تجربه های یکتا و زیبای زندگیم، مدیون حضور سبز آنهاست.**

**مادر عزیزم :**

**یگانه تجلی بخش صداقت و رفاقت پاک زندگی**

**پدر بزرگوارم :**

**□ یگانه الگوی استقامت و صبوری در عصر ناشکیبی**

**□ و**

**استاد گرانقدرم (جناب آقای دکتر اسماعیل چمنی):**

**□ تنها فروغ صبح دانایی و انیس روز نادانسام**

## سپاسگزارى:

سپاس و ستايش خداى را جل و جلاله كه آثار قدرت او بر چهره روز روشن، تابان است و انوار حكمت او در دل شب تار، درخشان. آفريدگارى كه خويشتن را به ما شناساند و درهاى علم را بر ما گشود و عمرى و فرصتى عطا فرمود تا بدان، بنده ضعيف خويش را در طريق علم و معرفت بيازمايد.

در اين مجال بر خود لازم مى دانم از استاد راهنماى گرانقدرم جناب آقاى دكتور اسماعيل چمنى كه با تمام مشغله ها و دغدغه هاى فكرى، گلشن سراى علم و دانش را با راهنمايى هاى كارساز و ارزنده شان بارور ساختند و تلاش و همت را با محبت بى دريغشان را بر گستره اى از علم و ايمان، ره توشه ام ساختند و فرزانه زيستن را به من آموختند سپاسگزارى نمايم. همچنين از جناب آقاى دكتور مهدى محب الدينى كه با حسن خلق از هيچ كمكى در اين عرصه بر من دريغ ننمودند و زحمت راهنمايى اين پايان نامه را بر عهده گرفتند نهايت سپاس را دارم.

از آقاى مهندس ايزدى كه در به اتمام رساندن اين مهم اينجانب را كمك نمودند متشكرم. از استاد بزرگوارم جناب آقاى دكتور على اكبر شكوهيان كه زحمت بازخوانى و داورى پايان نامه را تقبل فرمودند و مرا از نظرات مفيد و ارزشمند خويش بهره مند ساختند سپاسگزارم.

همچنين از جناب آقاى دكتور مهدى بهناميان مدير گروه با اخلاق، كه با تلاش هاى مداوم و كوشش هاى مستمر و صبر و حوصله فراوان مرا در انجام هرچه بهتر پايان نامه كمك نمودند بى نهايت متشكرم.

همچنين از آقاى دكتور بهروز اسماعيل پور نماينده محترم تحصيلات تكميلي كه هميشه مشوق و كمك رسان بنده در اين مسير بوده اند، سپاسگزارم.

مراتب تشكر را از مسئول محترم آزمونگاه گروه علوم باغبانى سركار خانم مهندس سولماز فتح العلومى، كه لطفها و مهرباني هايشان هرگز از لوح زندگى ام محو نخواهد شد، دارم.

همچنين در كمال امتنان از جناب آقاى مهندس فتحى كه لطفشان فراموش شدى نيست، نيز سپاسگزارم. در نهايت از زحمات پدر و مادر عزيزم كه هيچ واژه اى توانايى وصف زحمات اين دو بزرگوار را ندارد و همچنين خواهر بزرگوارم كه وجودش شادى بخش و صفائش مايه آرامش من است و برادر عزيزتر از جانم، نهايت سپاس و تشكر را دارم.

|   |            |
|---|------------|
| نام خانوادگی دانشجو: کریمی قلعه تکی   | نام: سکینه |
| <p><b>عنوان پایان نامه:</b> تأثیر نانو ذرات روی و آهن، اسیدهیومیک و بنزیل آدنین بر متابولیت‌های ثانویه سوسن چلچراغ (<i>Lilium ledebourii</i> Bioss) در شرایط درون شیشه‌ای.</p>  |            |
| <p><b>اساتید راهنما:</b> دکتر مهدی محب‌الدینی، دکتر اسماعیل چمنی<br/> <b>اساتید مشاور:</b> دکتر منصور باقری، مهندس نورالدین ایزدی</p>   |            |
| <p><b>مقطع تحصیلی:</b> کارشناسی ارشد      <b>رشته:</b> علوم باغبانی      <b>گرایش:</b> گیاهان زینتی<br/> <b>دانشگاه:</b> محقق اردبیلی      <b>دانشکده:</b> علوم کشاورزی      <b>تاریخ دفاع:</b> ۱۳۹۲/۱۱/۵      <b>تعداد صفحات:</b> ۱۲۵</p>  |            |
| <p><b>چکیده:</b></p> <p>متابولیت‌های ثانویه ترکیباتی متنوعی می‌باشند که عملکردهای متفاوتی را در چرخه زندگی گیاه برعهده دارند. از مهم‌ترین نقش‌های متابولیت‌های ثانویه می‌توان به حافظت از گیاهان در برابر تنش‌های زیستی و غیر زیستی، اشاره داشت. از برخی راهبردها در راستای بهبود عملکرد متابولیت‌های ثانویه در گیاهان استفاده می‌شود، که می‌توان به محرک‌های مختلف زیستی و غیر زیستی اشاره داشت. بسیاری از این محرک‌ها باعث تسریع تولید انواع وسیعی از متابولیت‌های ثانویه در شرایط درون شیشه‌ای می‌گردند. امروزه محققان تلاش می‌کنند ترکیبات دارویی با ارزشی را از طریق کشت بافت تولید کنند. در همین راستا در پژوهش حاضر از محرک‌هایی مانند نانو ذرات فلزات سنگین و تنظیم کننده‌های رشد به منظور تولید متابولیت‌های ثانویه سوسن چلچراغ (<i>Lilium ledebourii</i> Bioss) در شرایط درون شیشه‌ای استفاده شد. در این آزمایش اثر غلظت‌های مختلف نانو ذرات روی و آهن (۰، ۱۰، ۲۵، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر)، هیومیک اسید (۰، ۵۰، ۱۰۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر) و بنزیل آدنین (۰، ۱، ۲، ۳ و ۴ میلی‌گرم بر لیتر) بر محتوای فنل، آنتوسیانین و فلاونوئید سوسن چلچراغ در شرایط درون شیشه‌ای مورد بررسی قرار گرفت. آزمایش براساس طرح فاکتوریل بر پایه کاملاً تصادفی و با چهار تکرار اجرا شد. نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد محتوای فنل و غلظت فلاونوئید در سطح احتمال ۱٪ و غلظت آنتوسیانین در سطح احتمال ۵٪ معنی‌دار گردید. همچنین نتایج حاصل از مقایسه میانگین داده‌ها در زمینه شاخص فنل نشان داد بیشترین محتوای فنل را، تیمار BA (بنزیل آدنین) با غلظت <math>1 \text{ mg l}^{-1}</math> به خود اختصاص داد. همچنین مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد، بیشترین غلظت آنتوسیانین از تیمار HA (هیومیک اسید) با غلظت <math>500 \text{ mg l}^{-1}</math> بدست آمد. براساس مقایسه میانگین داده‌ها بیشترین غلظت فلاونوئید در سه طول موج ۲۷۰، ۳۰۰ و ۳۳۰ نانومتر، به ترتیب تیمارهای کلات آهن با غلظت‌های <math>10 \text{ mg l}^{-1}</math> و <math>25 \text{ mg l}^{-1}</math>، نانوآکسید آهن در غلظت <math>100 \text{ mg l}^{-1}</math> و بنزیل آدنین در غلظت <math>1 \text{ mg l}^{-1}</math> به خود اختصاص دادند.</p> |            |
| <p><b>کلید واژه‌ها:</b> فنول، فلاونوئید، آنتوسیانین، تنظیم کننده رشد</p>  |            |

## فهرست مطالب

| شماره و عنوان مطالب   | صفحه |
|---|------|
| <b>فصل اول: کلیات پژوهش</b>   |      |
| ۱-۱- مقدمه.....   | ۲    |
| ۲-۱- گیاهان دارویی.....   | ۲    |
| ۱-۲-۱- گیاهان دارویی چه گیاهانی هستند؟.....                                   | ۲    |
| ۲-۲-۱- انواع متابولیت‌های گیاهی.....  | ۳    |
| ۳-۲-۱- اهمیت متابولیت‌های ثانویه.....   | ۴    |
| ۱-۳-۲-۱- اهمیت برای گیاه.....   | ۴    |
| ۲-۳-۲-۱- اهمیت برای انسان.....  | ۴    |
| ۴-۲-۱- انواع متابولیت‌های ثانویه.....   | ۵    |
| ۱-۴-۲-۱- آلکالوئیدها.....   | ۶    |
| ۲-۴-۲-۱- گلیکوزیدها.....  | ۶    |
| ۳-۴-۲-۱- تربین‌ها.....  | ۶    |
| ۴-۴-۲-۱- اسانس‌ها.....  | ۷    |
| ۵-۴-۲-۱- ساپونین‌ها.....  | ۷    |
| ۶-۴-۲-۱- فلاون‌ها و فلاونونوئیدها.....  | ۷    |
| ۱-۶-۴-۲-۱- ترکیبات آنتی‌اکسیدان چه ترکیباتی هستند؟.....                       | ۹    |
| ۳-۱- سوسن چلچراغ.....   | ۱۰   |
| ۱-۳-۱- گیاهشناسی سوسن چلچراغ.....   | ۱۰   |
| ۲-۳-۱- پراکش.....   | ۱۱   |
| ۳-۳-۱- شرایط محیطی.....   | ۱۱   |
| ۴-۳-۱- ترکیبات دارویی سوسن چلچراغ.....  | ۱۲   |
| ۵-۳-۱- ازدیاد سوسن چلچراغ.....  | ۱۳   |
| ۶-۳-۱- ریز ازدیادی سوسن چلچراغ.....   | ۱۴   |
| ۴-۱- روش‌های نوین در تولید متابولیت‌های سوسن چلچراغ.....                      | ۱۴   |
| ۵-۱- مزایای استفاده از کشت بافت گیاهی در تولید متابولیت‌های ثانویه گیاهی..... | ۱۶   |
| ۶-۱- مشکلات تولید متابولیت‌های ثانویه در شرایط درون شیشه‌ای.....              | ۱۷   |



- ۱۸-۷-۱- تأثیر محتوای غذایی محیط کشت برای تولید متابولیت‌های ثانویه سوسن چلچراغ.....
- ۱۸-۷-۱-۱- سطح ساکارز.....
- ۱۸-۷-۱-۲- سطح نیترات.....
- ۱۹-۷-۱-۳- سطح فسفات.....
- ۱۹-۷-۱-۴- تنظیم کننده‌های رشد.....
- ۲۰-۸-۱-۸- بهینه کردن شرایط محیطی.....
- ۲۰-۸-۱-۱- دما.....
- ۲۰-۸-۱-۲- نور.....
- ۲۰-۸-۱-۳- pH محیط کشت.....
- ۲۰-۸-۱-۴- تهویه کردن.....
- ۲۱-۸-۱-۵- محرک‌ها.....
- ۲۱-۹-۱-۹- نانو ذرات چه موادی هستند؟.....
- ۲۲-۱۰-۱-۱۰- گیاهان دارویی و نانو ذرات.....
- ۲۳-۱۱-۱-۱۱- مزایای استفاده از نانو ذرات در صنایع غذایی.....
- ۲۴-۱۲-۱-۱۲- سمیت نانو ذرات.....
- ۲۵-۱۳-۱-۱۳- نانو اکسید آهن.....
- ۲۵-۱۳-۱-۱-۱۳- جذب آهن توسط گیاه.....
- ۲۵-۱۳-۱-۱-۱-۱۳- راهبرد جذب آهن توسط گیاه.....
- ۲۵-۱۳-۱-۱-۱-۱۳- راهبرد کاهش.....
- ۲۶-۱۳-۱-۱-۱-۱۳- راهبرد کلاته کردن.....
- ۲۷-۱۳-۱-۲- انتقال آهن از ریشه تا کلروپلاست.....
- ۲۷-۱۳-۱-۳- نقش فیزیولوژیکی آهن در گیاه.....
- ۲۸-۱۴-۱-۱-۱۴- نقش فیزیولوژی روی در گیاه.....
- ۲۹-۱۴-۱-۲- اهمیت روی در گیاه.....
- ۲۹-۱۴-۱-۳- عوامل مؤثر در بروز کمبود روی در گیاه.....
- ۳۰-۱۴-۱-۴- علائم بروز کمبود روی در گیاه.....
- ۳۰-۱۴-۱-۵- علائم مسمومیت روی در گیاه.....
- ۳۱-۱۵-۱-۱-۱۵- تنظیم کننده‌های رشد.....
- ۳۱-۱۵-۱-۱-۱۵- سایتوکینین‌ها.....
- ۳۱-۱۵-۱-۲- اکسین‌ها.....

- ۱-۱۶-۱- اسیدهیومیک..... ۳۲
- ۱-۱۶-۲- ویژگی شیمیایی اسیدهیومیک..... ۳۳
- ۱-۱۶-۲-۱- نقش کلاتوری اسیدهیومیک..... ۳۴
- ۱-۱۶-۳- بررسی تأثیر اسیدهیومیک در گیاهان ..... ۳۴
- ۱-۱۶-۳-۱- اثر مستقیم..... ۳۵
- ۱-۱۶-۳-۲- اثر غیر مستقیم..... ۳۶
- ۱-۱۶-۳-۲-۱- تأثیر اسیدهیومیک بر رشد گیاهان ..... ۳۶
- ۱-۱۶-۳-۲-۲- نقش اسیدهیومیک در پیشگیری از مسمومیت گیاهی..... ۳۶
- ۱-۱۷- ضرورت و اهداف پژوهش..... ۳۷

### فصل دوم: مواد و روش‌ها

- ۱-۲- منبع گیاهی..... ۳۹
- ۲-۲- مواد شیمیایی..... ۳۹
- ۲-۳- تهیه محلول‌های غذایی پایه..... ۳۹
- ۲-۳-۱- تهیه محلول‌های پایه عناصر پر مصرف..... ۴۱
- ۲-۳-۲- تهیه محلول‌های پایه عناصر کم مصرف..... ۴۱
- ۲-۳-۳- تهیه محلول مادری آهن..... ۴۲
- ۲-۳-۴- تهیه محلول مادری ویتامین..... ۴۲
- ۲-۳-۵- تهیه محلول‌های مادری تنظیم کننده‌های رشد..... ۴۲
- ۲-۴- وسایل و تجهیزات مورد استفاده..... ۴۳
- ۲-۵- استریل کردن محلول‌ها و لوازم..... ۴۳
- ۲-۶- تیمارهای آزمایش..... ۴۳
- ۲-۶-۱- تیمارهای اصلی پژوهش..... ۴۳
- ۲-۶-۲- تیمارهای تکثیر ریز نمونه..... ۴۴
- ۲-۷- تهیه محیط کشت..... ۴۴
- ۲-۸- کشت ریزنمونه‌ها..... ۴۵
- ۲-۹- اندازه گیری صفات..... ۴۵
- ۲-۹-۱- وزن تر..... ۴۵
- ۲-۹-۲- تعداد ریشه، برگ، فلس و پیاز..... ۴۵
- ۲-۹-۳- سطح برگ..... ۴۶

|    |  |
|----|--|
| ۴۶ | ۲-۹-۴- طول ریشه، قطر پیاز و ارتفاع گیاهچه..... |
| ۴۶ | ۲-۹-۵- میزان کلروفیل.....                      |
| ۴۷ | ۲-۱۰-۱- اندازه گیری متابولیت‌های ثانویه.....   |
| ۴۷ | ۲-۱۰-۱- اندازه گیری میزان فنول.....            |
| ۴۷ | ۲-۱۰-۱- تهیه عصاره گیاهی.....                  |
| ۴۸ | ۲-۱۰-۲- اندازه گیری میزان تغییرات فنل کل.....  |
| ۴۸ | ۲-۱۰-۳- منحنی استاندارد و معادله رگرسیونی..... |
| ۴۹ | ۲-۱۰-۴- محتوای فنل کل.....                     |
| ۴۹ | ۲-۱۰-۲- اندازه گیری میزان فلاونوئید.....       |
| ۵۰ | ۲-۱۰-۳- اندازه گیری میزان آنتوسیانین.....      |
| ۵۲ | ۲-۱۱- طرح آزمایشی و تجزیه تحلیل آماری.....     |

### فصل سوم: نتایج

|    |   |
|----|---|
| ۵۴ | ۳-۱- نتایج مرحله تکثیر ریزنمونه.....                      |
| ۵۴ | ۳-۱-۱- طرح آزمایشی و تیمارهای اعمال شده.....              |
| ۶۱ | ۳-۱-۲- نتیجه گیری کلی.....                                |
| ۶۱ | ۳-۲- نتایج مرحله اصلی پژوهش.....                          |
| ۶۱ | ۳-۲-۱- نوع طرح و تیمارهای اعمال شده.....                  |
| ۶۲ | ۳-۲-۲- بررسی تأثیر تیمارها بر صفات مورفولوژیکی.....       |
| ۶۲ | ۳-۲-۲-۱- تأثیر نانو اکسیدروی بر صفات مورفولوژیکی.....     |
| ۶۷ | ۳-۲-۲-۲- تأثیر نانو اکسید آهن بر صفات مورفولوژیکی.....    |
| ۷۰ | ۳-۲-۲-۳- تأثیر نانو کلات آهن بر صفات مورفولوژیکی.....     |
| ۷۴ | ۳-۲-۲-۴- تأثیر اسید هیومیک بر صفات مورفولوژیکی.....       |
| ۷۸ | ۳-۲-۲-۵- تأثیر بنزیل آدنین بر صفات مورفولوژیکی.....       |
| ۸۲ | ۳-۲-۳- نتایج کلی تأثیر تیمارها بر صفات مورفولوژیکی.....   |
| ۸۶ | ۳-۳-۱- بررسی تأثیر تیمارها بر متابولیت‌های ثانویه.....    |
| ۸۶ | ۳-۳-۱-۱- تأثیر نانو اکسیدروی بر متابولیت‌های ثانویه.....  |
| ۸۷ | ۳-۳-۱-۲- تأثیر نانو اکسید آهن بر متابولیت‌های ثانویه..... |
| ۸۸ | ۳-۳-۱-۳- تأثیر نانو کلات آهن بر متابولیت‌های ثانویه.....  |
| ۹۰ | ۳-۳-۱-۴- تأثیر اسید هیومیک بر متابولیت‌های ثانویه.....    |

۳-۳-۱-۵- تأثیر بنزیل آدنین بر متابولیت‌های ثانویه.....۹۱

۳-۲-۳- نتایج کلی تأثیر تیمارها بر متابولیت‌های ثانویه.....۹۳

### فصل چهارم: نتایج و بحث

بحث نتایج.....۹۶

نتایج کلی.....۱۱۵

پیشنهادات.....۱۱۶

منابع.....۱۱۷

چکیده انگلیسی.....۱۲۶

## فهرست شکل ها

| شماره و عنوان شکل   | صفحه |
|---|------|
| <b>فصل دوم: مواد و روش ها</b>                             |      |
| شکل ۱-۲- پیازهای سوسن چلچراغ.....                         | ۳۹   |
| شکل ۲-۲- سوسن چلچراغ در رویشگاه طبیعی خود.....            | ۳۹   |
| شکل ۳-۲- محلول های مادری محیط کشت MS.....                 | ۴۱   |
| شکل ۴-۲- نانو ذرات و اسیدهیومیک.....                      | ۴۴   |
| شکل ۵-۲- سطح سنج.....                                     | ۴۶   |
| شکل ۶-۲- اندازه گیری سطح برگ.....                         | ۴۶   |
| شکل ۷-۲- اندازه گیری میزان کلروفیل.....                   | ۴۷   |
| شکل ۸-۲- منحنی استاندارد و معادله رگرسیونی اسیدگالیک..... | ۴۹   |
| شکل ۹-۲- وزن کردن نمونه گیاهی.....                        | ۵۱   |
| شکل ۱۰-۲- وزن کردن نمونه گیاهی.....                       | ۵۱   |
| شکل ۱۱-۲- سائیدن نمونه گیاهی.....                         | ۵۱   |
| شکل ۱۲-۲- نمونه های سائیده شده.....                       | ۵۱   |
| شکل ۱۳-۲- عبور دادن عصاره گیاهی از کاغذ صافی.....         | ۵۱   |
| شکل ۱۴-۲- سانتریفیوژ کردن عصاره های گیاهی.....            | ۵۱   |
| شکل ۱۵-۲- عصاره های سانتریفیوژ شده.....                   | ۵۲   |
| شکل ۱۶-۲- اسپکتروفتومتر عصاره های گیاهی.....              | ۵۲   |
| شکل ۱۸-۲- حلال های مورد استفاده.....                      | ۵۲   |

## فصل سوم: نتایج

|  |    |
|--|----|
| شکل ۱-۳- تأثیر نانو اکسید روی بر صفات مورفولوژیکی..... | ۶۶ |
| شکل ۲-۳- تأثیر نانو اکسید آهن بر صفات مورفولوژیکی..... | ۷۰ |
| شکل ۳-۳- تأثیر نانو کلات آهن بر صفات مورفولوژیکی.....  | ۷۴ |
| شکل ۴-۳- تأثیر اسیدهیومیک بر صفات مورفولوژیکی.....     | ۷۸ |
| شکل ۵-۳- تأثیر بنزیل آدنین بر صفات مورفولوژیکی.....    | ۸۲ |

## فهرست علائم اختصاری

| مفهوم یا توضیح     | علامت اختصاری                  |
|--------------------|--------------------------------|
| بنزیل آدنین        | BA                             |
| نفتالین استیک اسید | NAA                            |
| اکسیدروی           | ZnO                            |
| اکسید آهن          | Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> |
| کلات آهن           | EDTA                           |
| هیومیک اسید        | HA                             |

فصل اول:

کلیات پژوهش

## ۱-۱- مقدمه

گیاهان خاموش‌ترین و در عین حال گویاترین مظهر قدرت و عظمت آفرینش هستند. گیاهان نه تنها با اشکال بدیع و رنگ‌های متنوع سفره‌ی طبیعت را زینت می‌بخشند، بلکه آن‌را سرشار از نیروی حیات می‌کنند. بررسی تاریخ پیشینیان مبین این مطلب است که همواره گیاهان یکی از مهم‌ترین منابع غذایی و دارویی بشر به شمار می‌آمدند. سالیان متمادی داروهای گیاهی اساس و حتی در برخی موارد تنها طریق درمان محسوب می‌شدند و مواد اولیه موجود در آن‌ها در صنعت داروسازی مورد استفاده قرار می‌گرفت. در اوایل قرن حاضر پیشرفت در علم شیمی و کشف سیستم‌های پیچیده سنتز ترکیبات آلی، منجر به توسعه‌ی صنعت داروسازی گردید. بدین صورت علوم پزشکی مدرن توانست بسیاری از بیماری‌های لاعلاج و غالباً مرگ‌آور را درمان نماید. با وجود این، گیاهان دارویی و داروهایی که از آن‌ها تهیه می‌شدند به صورت کامل کنار گذاشته نشدند. ترکیبات دارویی حاصل از گیاهان همواره به عنوان مواد غیر قابل جایگزین مورد استفاده خواهند بود (ونیسری و همکاران<sup>۱</sup>، ۲۰۰۴). امروزه عواملی نظیر بروز حساسیت‌ها و مشکلات حادی مانند پدیده خود ایمنی و بروز عوارض جانبی، که بعضاً این عوارض از خود بیماری خطرناک‌تر هستند و پیدایش سویه‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک، اهمیت گیاهان دارویی را مجدداً مورد توجه قرار داده است. داروهای حاصل از گیاهان به دلیل ماهیت طبیعی آن‌ها، اغلب اثرات جانبی از خود بر جای نمی‌گذارند و این سبب برتری آن‌ها نسبت به داروهای شیمیایی شده است. تخمین زده می‌شود که یک سوم کلیه‌ی فرآورده‌های دارویی مورد مصرف در جوامع انسانی دارای منشأ گیاهی می‌باشند و یا این‌که براساس ترکیبات حاصل از گیاهان دارویی، مدل سازی شده‌اند (حبیبی‌خانسانی و همکاران، ۱۳۸۴).

---

<sup>1</sup> Vanisree & et al.



## ۱-۲- گیاهان دارویی

### ۱-۲-۱- گیاهان دارویی چه گیاهانی هستند؟

۱- کاشت، داشت و برداشت این دسته از گیاهان صرفاً به منظور استفاده از متابولیت‌های ثانویه آن -ها صورت می‌گیرد.

۲- در این گیاهان ترکیبات خاصی ساخته و ذخیره می‌شوند که در بدن موجودات زنده تأثیر فیزیولوژیکی دارند.

۳- این دسته از گیاهان در مقایسه با سایر گیاهان به صورت روزمره و عام استفاده نمی‌شوند و در موارد خاصی مورد استفاده قرار می‌گیرند (امید بیگی، ۱۳۸۴).

### ۱-۲-۲- انواع متابولیت‌های گیاهی

عمدتاً یکسری واکنش‌های شیمیایی که واسطه آنزیمی دارند در گیاه زنده به عنوان متابولیسم شناخته می‌شوند. این واکنش‌های شیمیایی با هم هماهنگ شده تا مسیرهای متابولیسم اولیه را که در نهایت منجر به سنتز متابولیت‌های اولیه می‌شود، راه اندازی کنند (حبیبی‌خانینانی و همکاران، ۱۳۸۴). متابولیت‌های اولیه ترکیباتی هستند که با استفاده از آب، موادمعدنی و  $CO_2$  طی فرآیند فتوسنتز تولید می‌شوند و شامل پروتئین‌ها، اسیدهای نوکلئیک، کربوهیدرات‌ها و اسیدهای چرب هستند. این ترکیبات برای رشد و نمو و ادامه حیات گیاه لازم و ضروری هستند (حبیبی‌خانینانی و همکاران، ۱۳۸۴؛ کلیننستین و آزبورن<sup>۱</sup>، ۲۰۱۲).

گیاهان با طبیعت و محیط اطراف خود سازش دارند و آگاهانه نسبت به محرک‌های محیطی پاسخ می‌دهند. از دیدگاه اکولوژیکی در زیستگاه‌های مختلف عوامل گوناگونی در تطابق گیاهان با محیط مؤثر می‌باشند که می‌توان به خاک و شرایط اقلیمی آن منطقه اشاره داشت (مهدوی‌میمند و میرتاج‌الدینی، ۱۳۸۵). گیاهان در طول مسیر رشد و نمو خود تحت تأثیر تنش‌های محیطی مختلفی قرار می‌گیرند و غالباً در برابر تنش‌های وارد شده مقاومت نشان می‌دهند زیرا تمایل دارند چرخه زندگی‌شان را با موفقیت به اتمام برسانند. اما زمانی که این تنش‌ها از حد آستانه تحمل گیاه فراتر رود، گیاه تسلیم تنش خواهد شد. تغییر یافتن شرایط محیطی به وسیله تنش منجر به فعال شدن آنزیم‌هایی می‌شود که تا قبل از این فعال نبودند. این آنزیم‌ها مسیرهای متابولیسمی خاصی را راه اندازی می‌کنند که متابولیسم ثانویه می‌نامند. آنزیم‌های فعال در متابولیسم ثانویه از محصولات حاصل از متابولیسم اولیه به عنوان پیش ماده

<sup>1</sup> Kliebenstein & Osbourn

برای سنتز متابولیت‌های ثانویه استفاده می‌کنند. متابولیت‌های ثانویه در پاسخ به تنش‌های زیستی (حشرات، پاتوژن‌ها، آلوپاتی و غیره) و غیرزیستی (کم‌بود و بیش‌بود مواد غذایی، نوسانات شدید رطوبتی و دمایی، اشعه فرابنفش و غیره) ایجاد می‌شوند و سبب برتری گیاه در واکنش به تغییرات اکوسیستم می‌گردند (بورگاند و همکاران<sup>۱</sup>، ۲۰۱۰). به عنوان مثال کاروتنوئیدها به عنوان رنگ‌دانه برای جذب نور عمل می‌کنند و توانایی جذب نور در دامنه ۴۵۰-۵۷۰ نانومتر را دارند و منجر به افزایش طیف نوری به منظور انجام فرآیند فتوسنتز می‌شوند. همچنین کاروتنوئیدها به عنوان محافظ نوری برای سیستم فتوسنتز محسوب می‌شوند و از تشکیل اکسیژن فعال ممانعت می‌کنند (بارت وال و همکاران<sup>۲</sup>، ۲۰۱۳).

### ۱-۲-۳- اهمیت متابولیت‌های ثانویه:

اهمیت متابولیت‌های ثانویه از دو جنبه قابل بررسی می‌باشد:

#### ۱-۲-۳-۱- اهمیت برای گیاه

با توجه به این که گیاهان فاقد توانایی تغییر موقعیت محیطی و ایجاد مصونیت (حالتی مانند واکنش) می‌باشند، بنابراین در مقابله با تنش‌ها، راهبرد دفاعی را جایگزین می‌کنند. بدین صورت که متابولیت‌های ثانویه را با تنوع بالایی به عنوان ابزاری برای مقابله با تنش تولید می‌کنند. این ترکیبات به گیاه کمک می‌کنند تا در شرایط تنش حیات خود را حفظ کند. همچنین این ترکیبات گیاه را در برابر گیاه‌خواران و عوامل بیماری‌زا محافظت می‌کنند و با ایجاد جاذبه، جذب حشرات گرده‌افشان را به منظور گرده‌افشانی گل‌ها، سبب می‌شود (بورگاند و همکاران، ۲۰۱۰).

#### ۱-۲-۳-۲- اهمیت برای انسان

با وجود این که متابولیت‌های ثانویه در مقایسه با مولکول‌های مهم موجود در گیاهان فراوانی کمتر از ۱ درصد کل کربن تشکیل دهنده اندام‌های گیاهی را به خود اختصاص داده‌اند، اما کاربرد آن‌ها به سرعت گسترش یافته است (بورگاند و همکاران، ۲۰۱۰). اهمیت این ترکیبات به اندازه‌ای است که محققین داروسازی، داروهای مورد نیاز قرن ۲۱ را، در گیاهان جست‌وجو می‌کنند. آن‌ها معتقد هستند حلال مشکلات پزشکی آینده، گیاهان می‌باشند. به صورتی که امروزه موفق‌ترین داروی ضد سرطان عرضه شده

<sup>1</sup> Bourgaund & et al.

<sup>2</sup> Bartwal & et al.

در بازار داروئی تحت عنوان تاکسول می باشد که از درخت سرخدار تهیه می شود. همچنین گیاهان داروئی به عنوان ابزار مناسبی در راستای کنترل بیماری مالاریا استفاده می شوند. از سوئی برخی از ترکیبات داروئی مانند آسپرین که مصرف زیادی دارند، تنها از منابع گیاهی به دست می آیند. گیاهان داروئی به دلیل داشتن ماهیت طبیعی و وجود ترکیبات همولوگ داروئی، با بدن سازگاری خوبی دارند و معمولاً فاقد عوارض ناخواسته ی داروهای شیمیایی هستند (حبیبی خانسانی و همکاران، ۱۳۸۴).

## ۱-۲-۴- انواع متابولیت های ثانویه

بیش از صدهزار متابولیت استخراجی از گیاهان تاکنون گزارش شده است. اغلب متابولیت های ثانویه از نظر ویژگی ترکیبی شان بسیار متفاوت هستند. به عنوان مثال از نظر ویژگی شیمیایی آروماتیک، آلیفاتیک، هیدروآروماتیک و هتروسیکلیک هستند. اسکلت کربنی منحصر به فرد و متفاوت این ترکیبات با یکدیگر باعث ایجاد گوناگونی در عملکرد این ترکیبات شده است. ترکیبات ثانویه عملکردهای مختلفی جهت محافظت از گیاهان بر عهده دارند، که می توان به مواردی همچون: فعالیت ضد میکروبی، حفاظت نوری، پایدار کردن ساختارهای سلولی و نیز تولید سیگنال در مواقع وارد شدن تنش، اشاره داشت. متابولیت های ثانویه براساس مسیر سنتزی و ساختار شیمیایی شان تقسیم بندی می شوند (بورگاند و همکاران، ۲۰۱۰، بارت وال و همکاران، ۲۰۱۳)، که شامل:

۱- ترکیبات حاوی نیتروژن: آلکالوئیدها (مورفین، کوکائین و کافئین) و گلیکوزیدها.

۲- تریپن ها و استروئیدها

۳- فنولیک ها: فلاونوئید، تانن و لیگنین (بورگاند و همکاران، ۲۰۱۰؛ بارت وال و همکاران، ۲۰۱۳).

۴- سایر متابولیت های ثانویه شامل ترکیباتی مانند مواد تلخ، موسیلاژها، ویتامین ها، تانن ها، و اسیدسالیسیلیک است که به دلیل گستردگی و ناهماهنگی ساختار شیمیایی شان در سه گروه قبلی جای نمی گیرند (بورگاند و همکاران، ۲۰۱۰).

## ۱-۲-۴-۱- آلکالوئیدها:

آلکالوئیدها موادی نیتروژنه با خاصیت قلیایی می باشند و در بدن انسان واکنش های فیزیولوژیکی قوی را همراه با اثرات خاص ایجاد می کنند، که سیستم عصبی را تحت تأثیر قرار می دهند. نقش واقعی این دسته از متابولیت های ثانویه در گیاهان تاکنون شناسایی نشده است. احتمالاً این ترکیبات به عنوان منبع ذخیره نیتروژن، ماده اولیه در تحریک تولید هورمون ها و غیره نقش دارند. همچنین دانشمندان

معتقد هستند حضور این ترکیبات در گیاهان به دلیل طعم تلخ آن‌ها نوعی ساز و کار دفاعی در راستای مقابله با علف‌خواران و یا حشرات می‌باشد و از این لحاظ در انتخاب گونه، طی تکامل اهمیت دارند. از جمله داروهایی که از این دسته ترکیبات حاصل می‌شوند می‌توان به مورفین و کدئین اشاره داشت (قناتی و همکاران، ۱۳۸۹).

#### ۱-۲-۴-۲- گلیکوزیدها

گلیکوزیدها دارای ساختار پیچیده و خاصی هستند که در مسیرهای متابولیسمی مخصوص، به شکل‌های گوناگونی ساخته می‌شوند. از مهم‌ترین ترکیبات گلیکوزیدی می‌توان به آمیگدالین، آنتراکینون و گلیکوزیدهای قلبی اشاره داشت (قناتی و همکاران، ۱۳۸۹).

#### ۱-۲-۴-۳- ترپن‌ها

ترپن‌ها ترکیباتی پنج کربنه و از خانواده‌ی هیدروکربن‌ها هستند و چندین فعالیت را در گیاهان بر عهده دارند که می‌توان به فعالیت دفاعی در برابر حشرات و علف‌های هرز، به عنوان تنظیم‌کننده رشد (جیبرلین) و غیره اشاره داشت (ابراهیم‌پور و عیدی‌زاده، ۱۳۸۸). همچنین این ترکیبات به صورت مستقیم و غیر مستقیم رشد و نمو گیاهان مجاور را نیز، تحت تأثیر قرار می‌دهند (خاصیت آلوپاتی). ترپن‌ها نقش مهمی را در تحمل نوسانات دمایی توسط گیاهان ایفا می‌کنند. به این صورت که تولید ایزوپرن‌ها باعث حفاظت از فتوسیستم II در برابر اکسیژن‌های فعال می‌گردد. این ترکیبات با ایجاد پیوند دوگانه با گونه‌های اکسیژن فعال، اتصال مستقیم ایجاد می‌کنند و آن‌ها را غیرفعال می‌کنند. از جمله ترکیبات ترپنی که جزء هورمون‌ها قرار می‌گیرند می‌توان به اسیدآبسیزیک اشاره داشت که یک ترپن پانزده کربنه است و از تجزیه پیش ماده کاروتنوئید حاصل می‌شود (قناتی و همکاران، ۱۳۸۹).

#### ۱-۲-۴-۴- اسانس‌ها

اسانس‌ها از نظر ساختار شیمیایی همگن نیستند بلکه به صورت ترکیبات مختلفی مشاهده می‌شوند. این دسته از ترکیبات که به روغن‌های فرار نیز معروف هستند، دارای عطر و طعم تندی می‌باشند و وزن مخصوص آن‌ها از آب کمتر است (به ندرت برخی از آن‌ها وزن مخصوص بیشتر از آب دارند). اسانس‌ها در سلول‌ها و کرک‌های ترش‌هی منفرد یا مجتمع، مجاری ترش‌هی سطحی یا درونی، اندام‌های مختلف مانند