

وزارت علوم، تحقیقات و فناوری

دانشگاه امام خمینی



IMAM KHOMEINI
INTERNATIONAL UNIVERSITY

دانشکده فنی و مهندسی

بررسی میزان تولید آزادیراختین در بافت تمایز نیافته گیاه چریش ایرانی (*Azadirachta indica* ADR. juss) در شرایط

درون شیشه

پایان نامه جهت دریافت درجه کارشناسی ارشد

در رشته بیوتکنولوژی کشاورزی

نگارش:

بنفشه غلامی

استاد راهنما:

دکتر قاسمعلی گروسی

شهریور ماه ۱۳۹۰

وزارت علوم، تحقیقات و فناوری

دانشگاه امام خمینی



IMAM KHOMEINI
INTERNATIONAL UNIVERSITY

دانشکده فنی و مهندسی

گروه بیوتکنولوژی کشاورزی

**بررسی میزان تولید آزادیراختین در بافت تمایز نیافته گیاه
چریش ایرانی (*Azadirachta indica ADR.juss*) در شرایط
درون شیشه**

پایان نامه جهت دریافت درجه کارشناسی ارشد
در رشته بیوتکنولوژی کشاورزی

نگارش:
بنفشه غلامی

استاد راهنمای:
دکتر قاسمعلی گروسی

اساتید مشاور:
دکتر رامین حسینی - دکتر امیرحسین بیکی بندرآبادی

شهریور ماه ۱۳۹۰

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

تقدیم به

مِدْرَبْزِرْ كُوارْ و مَادْرَ عَزْرِم

که پس از پروردگار هرچه دارم از آنها است و هرگز از
عهده سپاس شان بر نخواهم آمد

قدردانی

سپاس خدای را که پس از قدرت خلقت و فضیلت، کرامت هیچ منزلتی را برتر از تعلیم برای خود قرار نداد و رحمت واسعه اش فرصتی مغتنم داد تا به اقتضای توان و وسع خود از محضر استادانی گرانقدر بهره جویم و ره توشه ای از بار علمی آنها بر گیرم. لذا وظیفه خود می دانم مراتب تشکر و قدردانی خود را نسبت به این عزیزان ابراز دارم.

از استاد گرانقدر و بزرگوارم جناب آقای دکتر قاسمعلی گروسی که همواره در طول تحصیل با راهنمایی های ارزشمند و گرانبهای علمی و اخلاقی خود را در انجام مراحل مختلف این تحقیق هدایت نمودند و دشواری راه را بر من تسهیل نمودند، کمال تشکر را دارم.

از استادان گرانقدر و ارجمندم جناب آقای دکتر رامین حسینی و جناب آقای دکتر امیر حسین بیکی بندرآبادی که مشاورت این پایان نامه را بر عهده داشتند و در مراحل مختلف پایان نامه مرا یاری نمودند، نهایت سپاس و تشکر را دارم.

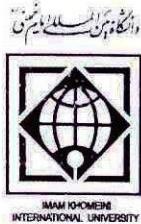
از مساعدت، عنایت و راهنمایی های جناب آقای دکتر مجید قهرمان افشار، که در امر آنالیز نمونه ها به روش HPLC مرا یاری نمودند، کمال تشکر را دارم.

از زحمات جناب آقای جمالی که در جمع آوری نمونه ها گیاهی از بندرعباس مرا یاری نمودند، تشکر و قدردانی می نمایم.

از پدر و مادر دلسوز و مهربان، خواهران خوب و برادر عزیزم که در مراحل زندگی و تحصیل همواره مشوق و پشتیبان من بوده اند و در سختی ها به من امید و دلگرمی می دادند، خاضعانه و خالصانه تشکر و قدر دانی می نمایم و سعادت ایشان را از درگاه حضرت دوست خواستارم.

از مسئول محترم آزمایشگاه کشت بافت خانم دکتر قنادنیا و مسئول محترم آزمایشگاه بیوتکنولوژی مولکولی آقای مهندس سلیمانی و همچنین آقای مهندس نظامی سپاسگزارم.

از دوستان و همکلاسی های عزیزم خانم ها مهندس عصمت عالم زاده، مونا مقدمی، فرزانه زندی، الهام سلمانی و فاطمه بیگلری و آقایان مهندس مجید مردمی و شاهرخ اشرفی بسیار سپاسگزارم.



دانشگاه بین المللی امام خمینی (ره)

معاونت آموزشی - مدیریت تحصیلات تکمیلی

فرم تاییدیه‌ی هیأت داوران جلسه‌ی دفاع از پایان‌نامه/رساله

بدین وسیله گواهی می‌شود جلسه دفاعیه از پایان نامه کارشناسی ارشد بنفشه غلامی دانشجوی رشته بیوتکنولوژی کشاورزی تحت عنوان بورسی میزان تولید آزادیراختین در بافت تمایز نیافته گیاه چریش ایرانی (*Azadirachita indica* ADR.juss) گردید و این پایان نامه با نمره ۱۹/۳ درجه عالی مورد تایید هیئت داوران قرار گرفت.

ردیف	سمت	نام و نام خانوادگی	مرتبه‌ی دانشگاهی	دانشگاه یا موسسه	امضا
۱	استاد راهنمای	دکتر قاسمعلی گروسی	استادیار	دانشگاه بین المللی امام خمینی (ره)	دکتر حسن
۲	استاد مشاور	دکتر رامین حسینی	استادیار	دانشگاه بین المللی امام خمینی (ره)	دکتر حسن
۳	استاد مشاور	دکتر امیرحسین بیکی بندرآبادی	استادیار	دانشگاه قم	دکتر حسن
۴	داور خارج	دکتر احمد معینی	دانشیار	دانشگاه تربیت مدرس	دکتر حسن
۵	داور داخل	دکتر رحیم حداد	استادیار	دانشگاه بین المللی امام خمینی (ره)	دکتر حسن
۹۰/۷/۱		دکتر مسعود رجبی			نماینده تحصیلات تکمیلی

بسمه تعالى

دانشگاه بین المللی امام خمینی



دانشگاه بین المللی امام خمینی(ره)
تعاونت آموزشی دانشگاه - مدیریت تحصیلات تكمیلی
(فرم شماره ۲۶)

تعهد نامه اصالت پایان نامه

اینجانب دانشجوی رشته مقطع تحصیلی
بدین وسیله اصالت کلیه مطالب موجود در مباحث مطروحة در پایان نامه / رساله تحصیلی خود، با
عنوان آنرا تأیید کرده است. این مطالعه در صورت اثبات عدم اصالت آن و یا احراز عدم
تدوین خودم بوده و به هیچ وجه رونویسی از پایان نامه و یا هیچ اثر یا منبع دیگری، اعم از داخلی،
خارجی و یا بین المللی، نبوده و تعهد می نمایم که تمامی محتوی آن حاصل مطالعه، پژوهش و
صحت مفاد و یا لوازم این تعهد نامه در هر مرحله از مراحل منتهی به فارغ التحصیلی و یا پس از
آن و یا تحصیل در مقاطع دیگر و یا اشتغال و ... دانشگاه حق دارد ضمن رد پایان نامه نسبت به لغو
و ابطال مدرک تحصیلی مربوطه اقدام نماید. مضافاً اینکه کلیه مسئولیت ها و پیامدهای قانونی و یا
خسارت واردہ از هر حیث متوجه اینجانب می باشد.

نام و نام خانوادگی دانشجو

امضاء و تاریخ

۱۳۹۰/۰۸/۳۱

چکیده

امروزه به دلیل مشکلات متعدد ناشی از آفت کش ها برمبنای مواد مؤثره مصنوعی، تلاش براین است تا آفت کش های بیولوژیک و طبیعی جایگزین آنها گردد. از جمله گیاهانی که تاکنون ماده مؤثره آن در برخی موارد توانسته در مقیاس جهانی جایگزین برخی از سموم مصنوعی شیمیایی شود، نیم یا چریش *Azadirachta indica* ADR. Juss بوده است. مهم ترین ماده مؤثره آن آزادیراختین است که ۹۰ درصد خواص آفت کشی چریش مربوط به آن می باشد. با توجه به اهمیت آزادیراختین این پژوهش در صدد آن است که تولید این ماده ارزشمند را در کشت سوسپانسیون سلولی چریش با استفاده از تیمارهای الیسیتوری غیر زنده مورد مطالعه قرار دهد. در این پژوهش کالوس زایی از ریزنمونه های برگ درون شیشه، دمیرگ درون شیشه و برگ برون شیشه در محیط MS حاوی غلظت های متفاوتی از BAP، 2,4-D و IBA مطالعه گردید. به منظور تهیه سوسپانسیون سلولی از بهترین کالوس ها استفاده شد. برای تحریک تولید ماده مؤثره، سوسپانسیون سلولی پس از شش واکشت با غلظت های متفاوتی از اسید سالیسیلیک، اسید جاسمونیک، کلرید کادمیوم و کلرید سدیم تیمار شد. سپس مقدار ماده خشک سلولی و میزان آزادیراختین تیمارها در چهار زمان به فاصله سه روز اندازه گیری شد. آنالیز کمی و کیفی، جهت تعیین میزان آزادیراختین تولید شده در سلول های خشک، با استفاده از روش کارماتوگرافی مایع با کارآیی بالا (HPLC) انجام گرفت. ریزنمونه برگ برون شیشه در ترکیب هورمونی ۲ میلی گرم در لیتر BAP + ۶ میلی گرم در لیتر IBA بهترین واکنش کالوس زایی را نشان داد. میزان آزادیراختین در غلظت های مختلف تیمارهای الیسیتوری افزایش معنی داری نسبت به تیمار شاهد داشت ولی بیشترین میزان آزادیراختین در سوسپانسیون حاوی ۰/۷۵ میلی مولار اسید سالیسیلیک پس از شش روز تحریک سازی مشاهده گردید. مقدار ماده خشک در تیمار الیسیتوری کلرید کادمیوم افزایش معنی داری را نسبت به تیمار شاهد نشان داد. بیشترین مقدار ماده خشک در تیمار حاوی ۱/۰ میلی مولار کلرید کادمیوم پس از روز دوازدهم تحریک سازی مشاهده شد.

کلمات کلیدی: چریش، آزادیراختین، سوسپانسیون سلولی، HPLC

فهرست مطالب

عنوان

صفحه

فصل اول: مقدمه

۲	۱-۱ مقدمه
۴	۲-۱ مشخصات گیاهشناسی
۴	۱-۲-۱ بررسی سیستماتیکی گیاه
۵	۲-۲-۱ مشخصات تیره
۵	۳-۲-۱ چریش جنوب
۶	۴-۲-۱ پراکنش جغرافیایی
۶	۵-۲-۱ پراکندگی در ایران
۸	۳-۱ ترکیبات اصلی چریش
۸	۱-۳-۱ آزادیراختین
۹	۴-۱ متابولیت ثانویه
۱۰	۱-۴-۱ ترپن ها
۱۲	۱-۵ کشت بافت
۱۲	۱-۵-۱ تاریخچه
۱۲	۲-۵-۱ انواع کشت بافت
۱۳	۶-۱ کاللوس
۱۴	۷-۱ سوسپانسیون سلولی
۱۵	۱-۷-۱ انواع سیستم کشت سوسپانسیونی
۱۵	۱-۱-۷-۱ کشت بسته
۱۶	۲-۱-۷-۱ کشت نیمه پیوسته
۱۶	۳-۱-۷-۱ کشت پیوسته

۱۶	۱-۸ اجزای تشکیل دهنده محیط کشت و اثرات این عوامل بر تولید متابولیت ثانویه
۱۷	۱-۸-۱ عناصر غذایی معدنی
۱۸	۲-۸-۱ ویتامین ها
۱۸	۳-۸-۱ آگار
۱۹	۴-۸-۱ ساکارز
۱۹	۵-۸-۱ تنظیم کننده های رشد گیاهی
۲۱	۱-۵-۸-۱ اسید سالیسیلیک
۲۱	۲-۵-۸-۱ اسید جاسمونیک
۲۲	۹-۱ شرایط محیط کشت و تولید متابولیت ثانویه
۲۲	۱-۹-۱ اسیدیته (pH)
۲۳	۲-۹-۱ نور
۲۳	۳-۹-۱ دما
۲۴	۴-۹-۱ تهویه محیط کشت
۲۴	۱۰-۱ برخی روش های جهت افزایش تولید متابولیت های ثانویه در شرایط کشت سلولی
۲۴	۱-۱۰-۱ پیش ماده
۲۵	۲-۱۰-۱ ترکیبات محرک
۲۵	۳-۱۰-۱ انتقال محصولات در شرایط <i>In situ</i>
۲۶	۴-۱۰-۱ نفوذ پذیر کردن سلول
۲۷	۱۱-۱ کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا

فصل دوم: بررسی منابع

۳۰	۱-۲ مروری بر تحقیقات انجام شده
۳۳	۲-۲ هدف از پژوهش

فصل سوم: مواد و روش ها

۳۶	۱-۳ مواد گیاهی
----	----------------

۳۶	۱-۱-۳ ضد عفونی جوانه های جانبی
۳۶	۲-۱-۳ ضد عفونی برگ
۳۷	۲-۳ استریل کردن آب و وسایل
۳۷	۳-۳ ریزنمونه مورد استفاده
۳۷	۴-۳ تهیه هورمون های تنظیم کننده رشد گیاهی
۳۸	۵-۳ تهیه محیط کشت
۳۸	۶-۳ نحوه کشت ریزنمونه ها برای کالوس زایی
۳۸	۷-۳ تیمارهای هورمونی برای کالوس زایی
۳۹	۸-۳ یادداشت برداری
۴۱	۹-۳ تحریک سازی سوسپانسیون سلولی
۴۱	۱-۹-۳ محیط کشت سوسپانسیون سلولی
۴۱	۲-۹-۳ مواد گیاهی
۴۲	۳-۹-۳ تیمارهای الیسیتوری برای تحریک سازی سوسپانسیون
۴۲	۱۰-۳ اندازه گیری وزن خشک
۴۳	۱۱-۳ اندازه گیری میزان آزادیرختین به روش HPLC
۴۳	۱۲-۳ تهیه استاندارد
۴۴	۱۳-۳ تجزیه و تحلیل آماری

فصل چهارم: نتایج و بحث

۴۶	۱-۴ بررسی اثر تیمارهای متفاوت هورمونی بر کالوس زایی
۴۶	۲-۴ تیمار های هورمونی BAP و 2,4-D بر کالوس زایی
۴۶	۲-۲-۴ تجزیه واریانس صفت کالوس زایی
۴۷	۲-۲-۴ مقایسه تیمارهای هورمونی BAP و 2,4-D از لحظه کالوس زایی
۴۹	۳-۲-۴ مقایسه میانگین ریزنمونه ها از لحظه کالوس زایی
۵۰	۳-۴ تیمار های هورمونی BAP و IBA بر کالوس زایی
۵۰	۱-۳-۴ تجزیه واریانس صفت کالوس زایی
۵۱	۲-۳-۴ مقایسه تیمارهای هورمونی BAP و IBA از لحظه کالوس زایی

۵۳	۳-۳-۴ مقایسه ریزنمونه ها از لحاظ کالوس زایی
۴-۴ اثر غلظت های مختلف اسید سالیسیلیک بر مقدار ماده خشک سلول در سوسپانسیون	
۵۵	سلولی چریش
۴-۵ اثر غلظت های مختلف اسید سالیسیلیک بر تولید آزادیراختین در سوسپانسیون سلولی	
۵۸	چریش
۴-۶ اثر غلظت های مختلف اسید جاسمونیک بر مقدار ماده خشک سلول در سوسپانسیون	
۶۲	سلولی چریش
۴-۷ اثر غلظت های مختلف اسید جاسمونیک بر مقدار میزان آزادیراختین در سوسپانسیون	
۶۵	سلولی چریش
۴-۸ اثر غلظت های مختلف کلرید کادمیوم بر مقدار ماده خشک سلول در سوسپانسیون	
۶۹	سلولی چریش
۴-۹ اثر غلظت های مختلف کلرید کادمیوم بر میزان آزادیراختین در سوسپانسیون سلولی	
۷۲	چریش
۴-۱۰ اثر غلظت های مختلف کلرید سدیم بر مقدار ماده خشک سلول در سوسپانسیون	
۷۶	سلولی چریش
۴-۱۱ اثر غلظت های مختلف کلرید سدیم بر میزان آزادیراختین در سوسپانسیون سلولی	
۷۹	چریش
۸۳	۱۲-۴ بحث
۸۳	۱-۱۲-۴ بررسی القاء کالوس تحت تاثیر تیمارهای هورمونی BAP و 2,4-D
۸۴	۲-۱۲-۴ بررسی القاء کالوس تحت تاثیر تیمارهای هورمونی BAP و IBA
۴-۱۲-۳ بررسی تاثیر غلظت های مختلف اسید سالیسیلیک بر مقدار ماده خشک و میزان آزادیراختین در سوسپانسیون سلولی	
۸۵	
۴-۱۲-۴ بررسی تاثیر غلظت های مختلف اسید جاسمونیک بر مقدار ماده خشک و میزان آزادیراختین در سوسپانسیون سلولی	
۸۶	
۴-۱۲-۵ بررسی تاثیر غلظت های مختلف کلرید کادمیوم بر مقدار ماده خشک و میزان آزادیراختین در سوسپانسیون سلولی	
۸۸	

۴-۱۲-۶ بررسی تاثیر غلظت های مختلف کلرید سدیم بر مقدار ماده خشک و میزان

۸۹

آزادیراختین در سوسپانسیون سلولی

۹۰

جمع بندی نهایی

۹۱

پیشنهادات

۹۲

منابع

فهرست جدول ها

صفحه

عنوان

٤٠	جدول (٣-١) تیمارهای هورمونی تر کیب BAP با 2,4-D برای کالوس زایی
٤٠	جدول (٣-٢) تیمارهای هورمونی ترکیب BAP با IBA برای کالوس زایی
٤٧	جدول (٤-١) تجزیه واریانس صفت کالوس زایی برای ریزنمونه ها و تیمارهای هورمونی 2,4-D و BAP
٤٨	جدول (٤-٢) اثر هورمون های 2,4-D روی وزن تر، رنگ و شکل ظاهری کالوس های چریش پس از ٨ هفته
٥١	جدول (٤-٣) تجزیه واریانس میزان کالوس زایی برای ریزنمونه ها و تیمارهای هورمونی IBA و BAP
٥٢	جدول (٤-٤) اثر هورمون های IBA و BAP روی وزن تر، رنگ و شکل ظاهری کالوس های چریش پس از ٨ هفته
٥٥	جدول (٤-٥) تجزیه واریانس مقدار ماده خشک سلول برای اسید سالیسیلیک و مدت زمان کشت سوسپانسیون
٥٦	جدول (٤-٦) تاثیر تیمارهای تعداد روز کشت و القاء و غلظت های مختلف اسید سالیسیلیک بر مقدار ماده خشک سلولی
٥٧	جدول (٤-٧) تجزیه واریانس میزان آزادیراختین برای اسید سالیسیلیک و مدت زمان کشت سوسپانسیون
٥٩	جدول (٤-٨) تاثیر تیمارهای تعداد روز کشت و القاء و غلظت های مختلف اسید سالیسیلیک بر میزان آزادیراختین
٦٢	جدول (٤-٩) تجزیه واریانس مقدار ماده خشک سلول برای اسید جاسمونیک و مدت زمان کشت سوسپانسیون
٦٣	جدول (٤-١٠) تاثیر تیمارهای تعداد روز کشت و القاء و غلظت های مختلف جاسمونیک بر مقدار ماده خشک
٦٥	جدول (٤-١١) تجزیه واریانس میزان آزادیراختین سلول برای اسید جاسمونیک و مدت زمان کشت سوسپانسیون
٦٦	جدول (٤-١٢) تاثیر تیمارهای تعداد روز کشت و القاء و غلظت های مختلف اسید جاسمونیک بر میزان آزادیراختین

جدول (۱۳-۴) تجزیه واریانس مقدار ماده خشک برای کلرید کادمیوم و مدت زمان کشت

۶۹

سوسپانسیون

جدول (۱۴-۴) تاثیر تیمارهای تعداد روز کشت و القاء و غلظت های مختلف کلرید کادمیوم

۷۰

بر مقدار ماده خشک

جدول (۱۵-۴) تجزیه واریانس میزان آزادیراختین برای کلرید کادمیوم و مدت زمان کشت

۷۲

سوسپانسیون

جدول (۱۶-۴) تاثیر تیمارهای تعداد روز کشت و القاء و غلظت های مختلف کلرید کادمیوم

۷۳

بر میزان آزادیراختین

جدول (۱۷-۴) تجزیه واریانس مقدار ماده خشک برای کلرید سدیم و مدت زمان کشت

۷۶

سوسپانسیون

جدول (۱۸-۴) تاثیر تیمارهای تعداد روز کشت و القاء و غلظت های مختلف کلرید سدیم بر

۷۷

مقدار ماده خشک

جدول (۱۹-۴) تجزیه واریانس میزان آزادیراختین برای کلرید سدیم و مدت زمان کشت

۷۹

سوسپانسیون

جدول (۲۰-۴) تاثیر تیمارهای تعداد روز کشت و القاء و غلظت های مختلف کلرید سدیم بر

۸۰

میزان آزادیراختین

فهرست شکل ها

صفحة	عنوان
٧	شکل (١-١) گیاه چریش <i>Azadirachta indica</i> ADR. Juss
٩	شکل (٢-١) ساختار مولکولی آزادیراختین
٤٤	شکل (١-٣) کروماتوگرام جداسازی در HPLC نمونه استاندارد آزادیراختین
٤٨	شکل (١-٤) مقایسه میانگین ترکیب های هورمونی BAP و 2,4-D از لحاظ کالوس زایی
٤٩	شکل (٢-٤) مقایسه ریز نمونه ها از لحاظ میزان تولید کالوس
٤٩	شکل (٣-٤) کالوس زایی در ریزنمونه های کشت شده در ترکیب هورمونی BAP با 2,4-D
٥٣	شکل (٤-٤) مقایسه میانگین ترکیب های هورمونی BAP و IBA از لحاظ کالوس زایی
٥٣	شکل (٥-٤) مقایسه ریز نمونه ها از لحاظ میزان تولید کالوس
٥٤	شکل (٦-٤) کالوس زایی در ریزنمونه های کشت شده در ترکیب هورمونی BAP با IBA
٥٧	شکل (٧-٤) تاثیر تیمار اسید سالیسیلیک بر مقدار ماده خشک در مدت زمان های مختلف کشت والقای سوسپانسیون سلولی
٦٠	شکل (٨-٤) تاثیر تیمار اسید سالیسیلیک بر میزان آزادیراختین در مدت زمان های مختلف کشت والقاء سوسپانسیون سلولی
٦١	شکل (٩-٤) نمونه کروماتوگرام HPLC آزادیراختین تحت تاثیر تیمار حاوی ٧٥٪ میلی مولار اسید سالیسیلیک
٦٤	شکل (١٠-٤) تاثیر تیمار اسید جاسمونیک بر مقدار ماده خشک در مدت زمان های مختلف کشت والقاء سوسپانسیون سلولی
٦٧	شکل (١١-٤) تاثیر تیمار اسید جاسمونیک بر میزان آزادیراختین در مدت زمان های مختلف کشت والقاء سوسپانسیون سلولی
٦٨	شکل (١٢-٤) نمونه کروماتوگرام HPLC آزادیراختین تحت تاثیر تیمار حاوی ٥٪ میلی مولار اسید جاسمونیک
٧١	شکل (١٣-٤) تاثیر تیمار کلرید کادمیوم بر مقدار ماده خشک در مدت زمان های مختلف کشت والقاء سوسپانسیون سلولی
	شکل (١٤-٤) تاثیر تیمار کلرید کادمیوم بر میزان آزادیراختین در مدت زمان های

- ۷۴ مختلف کشت والقاء سوسپانسیون سلولی
شکل (۱۵-۴) نمونه کروماتوگرام HPLC آزادیراختین تحت تاثیر تیمار حاوی ۰/۱ میلی
- ۷۵ مولار کلرید کادمیوم
شکل (۱۶-۴) تاثیر تیمار کلرید سدیم بر مقدار ماده خشک در مدت زمان های
- ۷۸ مختلف کشت والقاء سوسپانسیون سلولی
شکل (۱۷-۴) تاثیر تیمار کلرید سدیم بر میزان آزادیراختین در مدت زمان های
- ۸۱ مختلف کشت والقاء سوسپانسیون سلولی
شکل (۱۸-۴) نمونه کروماتوگرام HPLC آزادیراختین تحت تاثیر تیمار حاوی ۱۰۰
- ۸۲ میلی مولار کلرید سدیم

اختصارات

2,4-D	2,4-Dichlorophenoxyacetic acid
BAP	6-Benzylaminopurine
Kin	Kinetin
IBA	Indole-3-butyric acid
SA	Salicylic acid
JA	Jasmonic acid
MS medium	Murashig and Skoog medium
HPLC	High performance liquid chromatography

فصل اول

مقدمه

۱- مقدمه

گیاهان یک دوران تکاملی ۴۰۰ میلیون ساله را پشت سرگذاشته اند و در طی این مدت مکانیزم هایی همانند تولید مواد دور کننده و حشره کش در آنان تکامل یافته تا بتوانند خود را در برابر حشراتی که به آن ها حمله می کنند حفظ نمایند. بنابراین تعداد زیادی از گونه های گیاهی دارای مواد طبیعی حشره کش هستند. بعضی از این مواد از زمان های قدیم توسط انسان مورد استفاده قرار گرفته اند ولی بسیاری از این ترکیبات قابل استخراج نیستند (طالبی جهرمی، ۱۳۸۶).

اکثر تولیدات طبیعی گیاهان ترکیباتی هستند که از متابولیت های اولیه نظری: آمینواسیدها، کربوهیدرات ها و اسیدهای چرب مشتق شده اند و در گروه متابولیت های ثانویه قرار می گیرند. این متابولیت های ثانویه منبع اصلی افروزدنی های غذایی، عطرها و حشره کش ها هستند (راماوات^۱ و مریلون^۲، ۱۹۹۹).

اثرات مخرب ناشی از مصرف سموم مصنوعی شیمیایی به عنوان آفت کش یا روی محیط زیست در دنیا به اثبات رسیده است. میزان مصرف سموم مصنوعی شیمیایی علیه آفات نباتی همه ساله رو به افزایش است در حالی که آفات همچنان تاحد اعلام خطر به محصولات کشاورزی آسیب رسانده و سبب نابودی آفات طبیعی می شوند. حشره کش های گیاهی بر روی طیف وسیعی از حشراتی که به وسیله حشره کش های مصنوعی کنترل نمی شوند موثر هستند.

با وجود تنوع وسیع گیاهان آفت کش و تحقیقات بسیاری که روی آنها انجام شده، تنها گیاهی که تاکنون ماده موثره آن در برخی موارد توانسته در مقیاس جهانی جایگزین برخی از سموم مصنوعی شیمیایی شود و فرمولاسیون های تجاری ماده موثره آن نیز عرضه شود، نیم یا چریش بوده است. درخت چریش، درخت همیشه سبز و سریع الرشد متعلق به خانواده ملیاسه است. این درخت بومی شبه قاره هند است و همیشه برگ دارد و به همین دلیل از لحاظ سایه گسترشی و زینت در مناطق شهری ترجیح داده می شود. این گیاه نقش مهمی در احداث جنگل ها و فضای سبز شهری دارا می باشد و به خاطر داشتن چوب سخت، بادوام، سنگین، درخشان و مقاوم به حشرات و قارچ ها در صنایع تولید مبلمان و وسایل چوبی استفاده می شود و پوست درخت از نظر پزشکی به عنوان درمان تب و گوشت میوه آن به عنوان داروی تقویتی استفاده می شود. هسته

1- Ramawat

2- Merillon