بسم الله الرحمن الرحیم

بسمه تعالی

دانشگاه تربیت مدرس

دانشکده علوم زیستی

تاییدیه اعضای هیات داوران حاضر در جلسه دفاع از پایان‌نامه کارشناسی‌ارشد

اعضای هیئت داوران نسخهٔ نهایی پایان‌نامه **خانم معصومه صفری** رشته علوم گیاهی به شماره دانشجویی **۸۸۵۱۱۰۱۰۰۹** تحت عنوان: « **بررسی تاثیر امواج فراصوت با انرژی پایین بر تعدادی پارامترهای فیزیولوژیک و تولید متابولیت های ثانویه سلول های جداکشت فندق (Corylus avellana)** » از نظر فرم و محتوا بررسی نموده و آنرا برای اخذ درجهٔ کارشناسی‌ارشد مورد تائید قرار دادند.

اعضای هیأت داوران	نام و نام خانوادگی	رتبه علمی	امضاء
۱- استاد راهنما	دکتر فائزه قناتی	دانشیار	
۲- استاد مشاور	دکتر پرویز عبدالمالکی	دانشیار	
۳- استاد ناظر داخلی	دکتر شاهرخ کاظم پور اوصالو	دانشیار	
٤- استاد ناظر خارجی	دکتر احمد مجد	استاد	
٥- نماینده تحصیلات تکمیلی	دکتر شاهرخ کاظم پور اوصالو	دانشیار	

آیین نامه چاپ پایان‌نامه (رساله)های دانشجویان دانشگاه تربیت مدرس

نظر به اینکه چاپ و انتشار پایان نامه (رساله)های تحصیلی دانشجویان دانشگاه تربیت مدرس، مبین‌بخشی از فعالیتهای علمی - پژوهشی دانشگاه است بنابراین به منظور آگاهی و رعایت حقوق دانشگاه،دانش آموختگان این دانشگاه نسبت به رعایت موارد ذیل متعهد می‌شوند:

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

ماده ۲: در صفحه سوم کتاب (پس از برگ شناسنامه) عبارت ذیل را چاپ کند:

«کتاب حاضر، حاصل پایان نامه کارشناسی ارشد/رساله دکتری نگارنده دررشته‌علوم گیاهی است که در سال۱۳۹۰در دانشکده‌علوم زیستیدانشگاه تربیت مدرس به راهنمایی سرکار خانم/جناب‌آقای دکترفائزه قناتی، مشاوره سرکار خانم/جناب آقای دکتر پرویز عبدالمالکی و مشاوره‌سرکار خانم/جناب آقای دکتر از آن دفاع شده است.»

ماده ۳: به منظور جبران بخشی از هزینه‌های انتشارات دانشگاه، تعداد یک درصد شمارگان کتاب (در هر نوبت‌چاپ) را به «دفتر نشر آثارعلمی» دانشگاه اهدا کند. دانشگاه می‌تواند مازاد نیاز خود را به نفع مرکز نشر درمعرض فروش قرار دهد.

ماده ۴: در صورت عدم رعایت ماده ۳، ۵۰٪ بهای شمارگان چاپ شده رابه عنوان خسارت به دانشگاه تربیت‌مدرس، تأدیه کند.

ماده ۵: دانشجو تعهد و قبول می کند در صورت خودداری از پرداخت بهای خسارت، دانشگاه می‌تواندخسارت مذکور را از طریق مراجع قضایی مطالبه و وصول کند؛ به علاوه به دانشگاه حق می‌دهد به منظوراستیفای حقوق خود، از طریق دادگاه، معادل وجه مذکور در ماده ۴ را از محل توقیف کتابهای عرضه شده‌نگارنده برای فروش، تامین نماید.

ماده ۶: اینجانب معصومه صفری دانشجوی رشته فیزیولوژی گیاهی مقطع کارشناسی ارشد

تعهد فوق وضمانت اجرایی آن را قبول کرده، به آن ملتزم می شوم.

نام و نام خانوادگی: معصومه صفری

تاریخ و امضا: ۹۱/۳/۷

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 عناوین پایان‌نامه، رساله و طرحهای تحقیقاتی با هماهنگی دانشگاه انجام شده است، موارد زیر را رعایت نمایند:**

ماده ۱- حق نشر و تکثیر پایان نامه/ رساله و درآمدهای حاصل از آنها متعلق به دانشگاه می باشد ولی حقوق معنوی پدید آورندگان 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 دانشجو مسئول مکاتبات مقاله باشد. ولی مسئولیت علمی مقاله مستخرج از پایان نامه و رساله به عهده اساتید راهنما و دانشجو می باشد.

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، نرم افزار و یا آثار ویژه (اثری هنری مانند فیلم، عکس، نقاشی و نمایشنامه) حاصل از نتایج پایان‌نامه/ رساله و تمامی طرحهای تحقیقاتی کلیه واحدهای دانشگاه اعم از دانشکده ها، مراکز تحقیقاتی، پژوهشکده ها، پارک علم و فناوری و دیگر واحدها باید با مجوز کتبی صادره از معاونت پژوهشی دانشگاه و براساس آئین نامه های مصوب انجام شود.

ماده ۴- ثبت اختراع و تدوین دانش فنی و یا ارائه یافته ها 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 تاریخ۸۷/۴/۱ در شورای پژوهشی و در تاریخ ۸۷/۴/۲۳ در هیأت رئیسه 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.

«اینجانب معصومه صفری دانشجوی رشته فیزیولوژی گیاهی ورودی سال تحصیلی ۸۸-۸۹ مقطع کارشناسی ارشد دانشکده علوم زیستی متعهد می شوم کلِیه نکات مندرج در آئین نامه حق مالکیت مادی و معنوی در مورد نتایج پژوهش های علمی دانشگاه تربیت مدرس را در انتشار یافته های علمی مستخرج از پایان نامه / رساله تحصیلی خود رعایت نمایم. در صورت تخلف از مفاد آئین نامه فوق الاشعار به دانشگاه وکالت و نمایندگی می دهم که از طرف اینجانب نسبت به لغو امتیاز اختراع بنام بنده و یا هر گونه امتیاز دیگر و تغییر آن به نام دانشگاه اقدام نماید. ضمناً نسبت به جبران فوری ضرر و زیان حاصله بر اساس برآورد دانشگاه اقدام خواهم نمود و بدینوسیله حق هر گونه اعتراض را از خود سلب نمودم»

امضا: معصومه صفری

تاریخ: ۹۱/۳/۷

دانشکده علوم زیستی

پایان نامه دوره کارشناسي ارشدعلوم گیاهي

عنوان: تاثیر امواج فراصوت با انرژی پایین بر تعدادی پارامترهای فیزیولوژیک و تولید متابولیت های ثانویه سلول‌های جداکشت فندق (***Corylus avellana***)

معصومه صفری

استاد راهنما: دکتر فائزه قناتی

استاد مشاور: دکتر پرویز عبدالمالکی

دی ۱۳۹۰

تقدیم به :

همسرم:

زندگیم، پناه خستگیم و امید بودنم

پدر و مادر عزیزم

آنان که فروغ نگاه شان و روشنی روی شان سرمایه های جاودانی زندگی ام هستند، آنان که راستی قامتم در شکستگی قامت شان تجلی یافت.

همراهان همیشگی زندگیم...

خواهران و برادرعزیزم

و

علی عزیزتر از جانم

تقدیر و تشکر

سپاس و ستایش مر خدای را جل و جلاله که آثار قدرت او بر چهره روز روشن، تابان است و انوار حکمت او در دل شب تار، درفشان. آفریدگاری که خویشتن را به ما شناساند و درهای علم را بر ما گشود و عمری و فرصتی عطا فرمود تا بدان، بنده ضعیف خویش را در طریق علم و معرفت بیازماید.

برخودلازممیدانم مراتب قدردانی واحترام قلبی خودرا نسبت به استاد راهنمای گرامیم ، سرکار خانم دکتر فائزه قناتی و مشاور گرامی جناب آقای دکتر پرویز عبدالمالکی ، که علاوه بر علم، اخلاق و ادب را در محضر ایشان آموختم اعلام نمایم و از خداوند مهربان برای ایشان سلامتی و موفقیت روزافزون خواستارم،

از دیگر اساتید محترم گروه علوم گیاهی ، آقایان دکتر مظفر شریفی، دکتر شاهرخ کاظم پور ، دکتر حسن زارع مایوان و خا نم دکتر فاطمه زرین کمر ، که در این دوره از محضرایشان استفاده کردم کمال تشکر و قدردانی را دارم،

از مسئولین محترم آزمایشگاه، خانم خرمی شاد و خانم مرضیه فدائی ، همچنین از دوستان عزیز و گرانقدرم، بهاره ناهیدیان، میترا جمشیدی، لاله یوسف زاده ، مینا قهرمانی نژاد، عاطفه پایز، فائزه خاتمی، سوده فرزادفر، سحر باقری، شکوه اسماعیل بگی ، الهام رجب بیگی، فریده محرک، نرگس درخشانی ، سارا احمدیانی، نجمه احمدیان، فاطمه ری پور، که در مراحل مختلف، وجودشان مایه شادی و امیدواری من بود متشکرم.

چکیده

امواج فراصوت با انرژی پایین به عنوان یک ابزار فیزیکی برای تحریک سیستم‌های زنده در پزشکی و بیوتکنولوژی کاربرد بسیاری دارد. امواج فراصوت می‌توانند اثرات گوناگونی برسیستم های زنده بر جای گذارد. از مهمترین این اثرات افزایش تولید متابولیت‌های ثانویه دارویی در سیستم‌های کشت سلولی می‌باشد. علل افزایش متابولیت‌های ثانویه افزایش نفوذپذیری غشای سلول و افزایش خروج این ترکیبات به محیط کشت ذکر شده است. اما مکانیسم اثر امواج فراصوت بر این سیستم‌ها نیاز به مطالعات بیشتر دارد. در این مطالعه اثر امواج فراصوت بر برخی پارامترهای فیزیولوژیکی گیاه فندق و تولید تاکسان‌های مهم بررسی شده است. در این تحقیق سلول‌های جداکشت فندق در معرض امواج با دو توان خروجی ۳/۹۲ mW/cm^2 و mW/cm^2 ۴۵۵/۲ با فرکانس ثابت ۲۹/۴۴ kHz در زمان‌های متفاوت ۲۰،۸،۴و۴۰ دقیقه قرار گرفتند. بر اساس نتایج بدست آمده امواج فراصوت با انرژی پایین در زمان‌های کوتاه تابش، با حفظ تمامیت غشا باعث افزایش زیتوده و تاکسان‌های مورد مطالعه (تاکسول، باکاتین و ۱۰- داستیل باکاتین III) گردید. افزایش آنتی اکسیدان های آنزیمی و غیر آنزیمی از دیگر نتایج بدست آمده می باشد. با توجه به افزایش قابل توجه میزان تاکسان-های درون سلولی می توان گفت که امواج فراصوت اثر قابل توجهی بر بیوسنتز تاکسان‌ها داشته است و بیشتر از اینکه باعث افزایش خروج تاکسان‌ها به محیط کشت شود با القای مسیرهای بیوسنتزی آنها باعث افزایش سنتز این ترکیبات در سلول‌های فندق گردیده است. افزایش میزان بیان ژن‌های کاتالاز، فنیل آمونیالیاز و ۱-دئوکسی -D- زایلولوز-۵- فسفات ردوکتو ایزومراز (ژنهای مرتبط با بیوسنتز تاکسانها) را تحت تاثیر امواج فراصوت نشان می دهد موید این فرض می باشد.

کلمات کلیدی: امواج فراصوت، باکاتین **III**، تاکسول، تمامیت غشا، ۱۰ داستیل باکاتین **III**، فندق.

فهرست مطالب

عنوان **صفحه**

فصل اول: مقدمه ۱

۱ -۱ امواج فراصوت و اثرات آن بر سیستمهای زنده ۱

۱-۱-۱ معرفی امواج فراصوت ۱

۱-۱-۲ تاثیر امواج فراصوت بر سیستمهای زنده ۲

۱-۲ امواج فراصوت و سیستم آنتی اکسیدان در گیاهان ۳

۱-۳ متابولیتهای ثانویه و مکانیسمهای افزایش این ترکیبات در گیاهان..... ۵

۱-۴ تاکسانها..... ۸

۱-۵ اهداف ۱۰

فصل دوم : مواد و روش ها ۱۱

۲-۱ انتخاب محیط بهینه برای رشد و نگهداری لاین سلولی موجود و پایه گذاری کشت تعلیقی..... ۱۱

۲-۲ دستگاه تابش امواج فراصوت..... ۱۳

۲-۲-۱ کالیبراسیون سیستم مولد امواج فراصوت..... ۱۴

۲-۲-۲ تیمار سلولها با امواج فراصوت..... ۱۴

۲-۳ اندازه گیری رشد سلولی، مشاهدات میکروسکوپی و تعیین درصد زنده بودن سلول ها..... ۱۵

۲-۴ آنالیزهای بیوشیمیایی..... ۱۵

۲-۴-۱ تعیین مقدار هیدروژن پراکسید (H_2O_2) ۱۵

۲-۴-۲ بررسی تمامیت غشا..... ۱۵

۲-۴-۳ میزان پرولین آزاد در سلول..... ۱۶

۲-۴-۴ میزان فروکتان..... ۱۷

۲-۴-۵ استخراج و اندازه گیری فعالیت پراکسیداز (PO)..... ۱۷

۲-۴-۶ استخراج و اندازه گیری فعالیت آنزیم کاتالاز(CAT)..... ۱۸

۲-۴-۷ استخراج و اندازه گیری فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (SOD)..... ۱۸

۲-۴-۸ استخراج و سنجش فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز (APX)..... ۱۹

۲-۴-۹ استخراج و سنجش فعالیت آنزیم لیپو اکسیژناز (LOX)..... ۱۹

۲-۴-۱۰ ظرفیت جاروب کنندگی رادیکالهای آزاد (RSA (Radical Scavengering Activity..... ۲۰

۲- ۴-۱۱ استخراج تایید ساختار، و اندازه گیری تاکسانها (تاکسول،باکاتین و ۱۰- داستیل باکاتین III).. ۲۰

۲- ۵ بررسیهای مولکولی..... ۲۱

۲- ۵-۱ محلول ها و بافر.ها ۲۱

۲-۵-۱-۱ آب دیونیزه تیمار شده با (Diethylpyrocarbonate) DEPC ۲۱

۲-۵-۱-۲.بافر الکتروفورز (X10) TBE ۲۲

۲-۵-۱-۳ تهیه محلول اتیدیوم برماید (mg/ml10) ۲۲

۲-۵-۱-۴ تهیه بافر سنگین کننده (Stock Solution). ۲۲

۲-۵-۲ استخراج RNA کل ازسلولهای جداکشت فندق ۲۳

۲-۵-۳ الکتروفورز ژل آگارز ۲۳

۲-۵-۴ واکنش رونویسی معکوس وسنتز cDNA از mRNA (Sambrook et al. 1989) ۲۴

۲-۵-۵ طراحی پرایمرها ۲۵

۲-۵-۶ واکنش های RT-PCR برای بررسی بیان ژن های *DXR,CAT,PAL* ۲۶

۲-۶ تجزیه و تحلیل آماری ۲۷

فصل سوم: نتایج ۲۸

۳-۱ رشد سلولهای فندق در محیطهای مختلف کشت ۲۸

۳-۲ اثر امواج فراصوت بر رشد و زنده بودن سلولهای جداکشت فندق (*Corylus avellana L*) ۲۹

۳-۳ تاثیر امواج فرا صوت بر تمامیت غشا سلولها ۳۳

۳-۴ تاثیر امواج فراصوت بر میزان پرولین آزاد و فروکتانهای سلول..... ۳۴

۳-۵ تاثیر امواج فراصوت بر میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز (PO)..... ۳۶

۳-۶ تاثیر امواج فراصوت بر میزان فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز(SOD)..... ۳۷

۳- ۷ تاثیر امواج فراصوت بر میزان فعالیت آنزیم کاتالاز(CAT)..... ۳۸

۳-۸ تاثیر امواج فراصوت بر میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز(APX)..... ۳۹

۳-۹ تاثیر امواج فراصوت بر میزان ظرفیت جاروب کنندگی رادیکالهای آزاد RSA (Radical Scavengering Activity)..... ۴۱

۵-۱۰ تاثیر امواج فراصوت بر میزان تولید هیدروژن پراکسید H_2O_2..... ۴۲

۳-۱۱ تاثیر امواج فراصوت بر میزان فعالیت آنزیم لیپواکسیژناز(LOX)..... ۴۳

۳-۱۲ میزان تولید تاکسانها (تاکسول،داستیل باکاتین و باکاتین III) تحت تاثیر امواج فراصوت..... ۴۴

۳- ۱۳ نتایج حاصل از بررسی های مولکولی در سلولهای جداکشت فندق..... ۴۹

۳-۱۳-۱ بررسی کیفیت RNA استخراج شده و سنتز cDNA..... ۴۹

۳-۱۳-۲ تعیین دمای مناسب Annealing برای ژن های *DXR CAT* و *PAL*..... ۵۱

۳-۱۳-۳ بیان ژن ها تحت اثر امواج فراصوت در سلولهای جداکشت فندق..... ۵۱

۳-۱۳-۳-۱ بررسی بیان ژن ۱- دئوکسی-D-زایلولوز -۵- فسفات ردوکتوایزومراز(DXR..... ۵۱

۳-۱۳-۳ -۲ بررسی بیان ژن فنیل آلانین آمونیالیاز (PAL)..... ۵۴

۳-۱۳-۳-۳ بررسی بیان ژن کاتالاز (*CAT*)..... ۵۶

فصل چهارم ۵۸
۴-۱ بحث ۵۸
۴-۲ پیشنهادها ۶۰

فهرست جدولها

عنوان صفحه

جدول ۲-۱: محیطهای کشت LS و B5 بکار گرفته شده با غلظتهای متفاوت هورمونی..... ۱۲

جدول ۲-۲: مواد بافر TBE..... ۲۲

جدول ۲-۳: موادبافرسنگین کننده..... ۲۲

جدول ۲-۴: توالی پرایمرهای اکتین،کاتالاز، DXR و PAL..... ۲۶

جدول ۳-۱: تغییر درمیزان تاکسول درون سلولی و برون سلولی و درصدآزاد سازی تاکسول به محیط کشت تحت تاثیر امواج فراصوت در سلولهای جداکشت فندق (*Corylus avellana L*)..... ۴۶

جدول ۳- ۲: تغییر درمیزان داستیل باکاتین(DAB) III درون و برون سلولی و درصدآزاد سازی به محیط کشت تحت تاثیر امواج فراصوت در سلولهای جداکشت فندق(*Corylus avellana L*)..... ۴۷

جدول ۳ – ۳: تغییر درمیزان باکاتین III درون و برون سلولی و درصدآزاد سازی باکاتین به محیط کشت تحت تاثیر امواج فراصوت در سلولهای جداکشت فندق(*Corylus avellana L*)..... ۴۸

فهرست شکل ها

عنوان صفحه

شکل ۱- ۱: برخی از وظایف متابولیتهای ثانویه در گیاهان ۶

شکل۲-۱: منحنی رشد سلول های فندق در محیط کشت تعلیقی ۱۲

شکل۲-۲: د ستگاه مولد امواج فراصوت ۱۳

شکل ۳-۱: اثر غلظت و ترکیب هورمونهای مختلف بر رشد کالوسهای فندق ۲۹

شکل ۳-۲: سلولهای جداکشت فندق تیمار شده با یا بدون امواج فراصوت در زمانهای مختلف ۳۱

شکل ۳-۳: تاثیر امواج فراصوت با دو توان متفاوت در زمانهای مختلف برمیزان رشد و زنده بودن سلول... ۳۲

شکل ۳-۴: تاثیر امواج فراصوت با دو توان متفاوت و زمانهای مختلف بر میزان پراکسیداسیون لیپیدهای غشا و هدایت الکتریکی در سلولهای جداکشت فندق ۳۳

شکل ۳-۵: امواج فراصوت با دو توان متفاوت و زمانهای مختلف تابش برمیزان تولید (الف) فروکتانها و (ب) پرولین..آزاد ۳۵

شکل ۳-۶ : تغییر فعالیت آنزیم پراکسیداز تحت تاثیرامواج فراصوت در سلولهای جدا کشت فندق ۳۶

شکل ۳-۷: تغییر فعالیت سوپراکسید دیسموتاز(SOD) تحت تاثیرامواج فراصوت در سلولهای جدا کشت فندق ۳۸

شکل ۳-۸: تغییرات میزان فعالیت کاتالاز (CAT) تحت تاثیر امواج فراصوت با توان ۳/۹۲mW و با سه زمان متفاوت تابش ،در طول زمانهای مختلف بعد از تیمار سلولهای جدا کشت فندق..... ۳۹

شکل ۳-۹: تغییرات میزان فعالیت آسکوربات پراکسیداز (APX) تحت تاثیرامواج فراصوت در سلولهای جدا کشت فندق..... ۴۰

شکل ۳-۱۰: جاروب کنندگی رادیکالهای آزاد (Radical Scavengering Activity) RSA تحت تاثیرامواج فراصوت در سلولهای جدا کشت فندق..... ۴۱

شکل۳-۱۱: تغییرات میزان هیدروژن پراکسید (H_2O_2) تحت تاثیرامواج فراصوت در سلولهای جدا کشت فندق..... ۴۲

شکل ۳-۱۲: تغییر فعالیت لیپو اکسیژناز (LOX) تحت تاثیرامواج فراصوت با توان ۳/۹۲mW و با سه زمان متفاوت تابش ،در طول زمانهای مختلف بعد از تیمار سلولهای جدا کشت فندق..... ۴۴

شکل ۳-۱۳: طرح الکتروفورز برای RNA کل (الف) یکسان سازی غلظت cDNA (ب) سلولها در زمانهای مختلف..... ۵۰

شکل ۳-۱۴: تغییرات بیان ژن (DXR1- دئوکسی-D-زایلولوز -۵- فسفات ردوکتوایزومراز) در سلولهای شاهد و تیمار شده با امواج فراصوت با توان ۳/۹۲mWو زمانهای ۸ الی ۴۰ دقیقه در کشت سلولی فندق..... ۵۳

شکل ۳-۱۵: تغییرات بیان ژن فنیل آلانین آمونیالیاز (PAL) در سلولهای شاهد و تیمار شده با امواج فراصوت با توان ۳/۹۲mW و زمانهای ۸ الی ۴۰ دقیقه در کشت سلولی فندق..... ۵۵

شکل ۳-۱۶: تغییرات بیان ژن کاتالاز (CAT) در سلولهای شاهد و تیمار شده با امواج فراصوت با توان ۳/۹۲mW و زمانهای ۸ الی ۴۰ دقیقه در کشت سلولی فندق..... ۵۷

شکل ۴-۱: ارتباط افزایش میزان پرولین و القا مسیر فنیل پروپانوئیدی..... ۶۲

فصل اول

۱- مقدمه

۱-۱ امواج فراصوت و اثرات آن بر سیستم‌های زنده

۱-۱-۱ معرفی امواج فراصوت

امروزه مطالعه در مورد تاثیر عوامل فیزیکی بر سیستم‌های زنده گسترش یافته است. یکی از این عوامل امواج فراصوت (Ultrasound) می باشد. امواج فراصوت به شکلی از انرژی از امواج مکانیکی گفته می‌شود که فرکانس آن‌ها بالاتر از حد شنوایی انسان باشد. گوش انسان قادر است امواج بین ۲۰ هرتز تا ۲۰۰۰۰ هرتز را بشنود.

یکی از روش‌های تولید امواج فراصوت به روش پیزو الکتریک می باشد. تاثیر متقابل فشار مکانیکی و نیروی الکتریکی را در یک محیط، اثر پیزو الکتریک می‌گویند. بلورهایی وجود دارند که در اثر فشار مکانیکی، نیروی الکتریکی تولید می‌کنند و برعکس، ایجاد اختلاف پتانسیل در دو سوی همین بلور و در همین راستا باعث فشردگی و انبساط آن‌ها می‌شود که ادامه دادن به این فشردگی و انبساط باعث نوسان و تولید امواج می‌گردد. مواد (بلورهای) دارای این ویژگی را مواد پیزو الکتریک می‌گویند بلور کوارتز اولین ماده‌ای بود که برای ایجاد امواج فراصوت استفاده گردید.

امروزه برای تولید امواج فراصوت در پزشکی از کریستال‌هایی استفاده می‌شود که سرامیکی بوده و بطور مصنوعی تهیه می‌گردند. از نمونه این نوع کریستال‌ها ، مخلوطی از زیرکونیت و تیتانیت سرب (Lead

Lead titanat & zirconat) است که به شدت دارای خاصیت پیزوالکتریک می‌باشند (Mason & Lorimer 1988). به این مواد که واسطه‌ای برای تبدیل انرژی الکتریکی به انرژی مکانیکی و بالعکس هستند،

مبدل یا ترانسدیوسر (transuscer) می‌گویند. امروزه از امواج فراصوت به شکل گسترده ای در درمان و تشخیص بیماری‌ها استفاده می شود به همین علت اثراتی که این امواج می‌توانند روی سیستم-های زیستی داشته باشند بسیار مورد توجه قرار گرفته است .

۱-۱-۲ تاثیر امواج فراصوت بر سیستم‌های زنده

مدت کوتاهی پس از کشف امواج فراصوت مطالعات گسترده ای در مورد اثرات فیزیکی و شیمیایی و زیستی این امواج انجام گرفت. نتایج به دست آمده نشان می دهند این امواج می‌توانند باعث تغییر ساختارها و چرخه های مختلف شوند.

در سال ۱۹۲۷ بویل گزارش کرد که استفاده از امواج فراصوت با فرکانس ۱۷۰ kHz در یک ستون عمودی پر از مایع باعث ایجاد حباب‌های گاز می شود. این فرایند ''cavitation,'' نام گرفت و یکی از عوامل موثر بر سیستم‌های مختلف ذکر می شود. البته تابش امواج فراصوت با انرژی بالا می تواند در محیط باعث افزایش دما شود و از طرفی باعث حرکت و تجمع اجزای موجود در محیط گردد که هر کدام از این عوامل به تنهایی و یا با هم می‌توانند باعث القای تغییر در سیستم‌هایی شوند که تحت تاثیر این امواج قرار می گیرند (Sundaram et al. 2003).

استفاده از امواج فراصوت با انرژی بالا می‌تواند اثرات مخربی داشته باشد ازجمله تخریب غشا های سلول و مولکول‌های مهم زیستی مانند آنزیم‌ها و مولکول DNA. امروزه استفاده از این امواج با انرژی پایین در بیوتکنولوژی بسیار مورد توجه قرار گرفته است و در موارد مختلف مورد استفاده قرار می‌گیرد. به

عنوان مثال با کمک این امواج منافذی در غشا ایجاد شده و انتقال ژن و دارو به درون سلول انجام می-گیرد. استفاده از این امواج با انرژی پایین باعث افزایش نفوذپذیری غشا شده و خروج متابولیت‌های ثانویه را از سلول افزایش می دهد. بنابراین این امواج با شدت و انرژی پایین می‌تواند خروج و آزادسازی فراورده-ها را از سلول‌های زنده بدون ایجاد اختلال در فرایندهای کشت القا نماید و علاوه بر این زمینه را برای استفاده مستمر از ظرفیت بیوسنتزی سلول‌ها فراهم سازد (Lin et al. 2001).

مطالعات نشان می‌دهند که استفاده از این امواج با انرژی پایین با تحریک سیستم‌های زیستی می‌توانند اثرات مفیدی نیز در این سیستم‌ها بر جای گذارند. مثال‌هایی از اثرات مفید امواج فراصوت به شرح زیر می باشد. استفاده از امواج با توان‌های کمتر از mW/cm^2 ۱۰۰می تواند باعث افزایش سرعت ترمیم استخوان آسیب دیده شود که با تحریک فرایند استخوان‌سازی این عمل اتفاق می افتد (Ikeda et al.2006).

در سیستم‌های کشت سلولی گیاهی نیز افزایش رشد کالوس و همچنین افزایش رشد سلول‌ها در سیستم کشت تعلیقی در برنج و هویج گزارش شده است (Bochu et al.1998; Liu et al 2003) . بر اساس این مطالعات می توان گفت اثرات امواج فراصوت بر سیستم‌های زنده از یک سو به نوع سلول و پاسخ آن به این محرک فیزیکی و از سوی دیگر به انرژی این امواج بستگی دارد.

۱-۲ امواج فراصوت و سیستم آنتی اکسیدان در گیاهان

گونه های فعال اکسیژن (Reactive Oxygen Species) درطی متابولیسم طبیعی سلول‌ها و یا در اثر تحریک گیاهان با محرک‌های مختلف غیر زیستی مانند محرک‌های فیزیکی و شیمیایی و همچنین محرک‌های زیستی مانند باکتری‌ها و ویروس‌ها و قارچ‌ها ایجاد می شود.