

دانشگاه علوم

گروه آموزش زیرت شانس

پایان نامه برای دریافت کارشناسی ارشد
رشته زیست‌شناسی گرایش فیزیولوژی گیاهی

بررسی اثرات دگرآسیبی تنوبرومین از دیدگاه فیزیولوژیک و بیوشیمیایی

پژوهشگر:

زهرا روحی

استاد راهنما:

دکتر سیدمهدی رضوی خسروشاهی

دکتر علیرضا قاسمیان

استاد مشاور:

دکتر کمال الدین حمیدی

بهمن ۱۳۹۷

استادان راهنما:

دکتر سیدمهدی رضوی خسروشاهی و دکتر علیرضا قاسمیان

استادان مشاور:

دکتر کمال الدین حمیدی

تاریخ دفاع:

۱۳۹۷/۱۱/۱

تعداد صفحات:

۹۵ ص.

شماره پایان نامه:

زیست‌شناسی /

چکیده:

هدف: با توجه به اهمیت دستیابی به علف‌کش‌های طبیعی جهت جایگزینی با انواع مصنوعی، این پژوهش با هدف بررسی اثرات ماده تثبوبرومین بروی گیاه کاهو (*Lactuca sativa* cv. siahoo) به عنوان یک گیاه مدلا انجام شد.

روش‌شناسی پژوهش: ابتدا تأثیر غلظت‌های مختلف این ماده (۰/۰۱ تا ۱ میلی گرم بر میلی لیتر) بر برخی پارامترهای رشد، از جمله جوانه زنی بذر، رشد ریشه‌چه و ساقه‌چه بررسی شد تا غلظت بهینه برای تداوم آزمایش تعیین گردد (غلظت ۰/۱ و ۰/۰۱ میلی گرم بر میلی لیتر به عنوان غلظت‌های بهینه انتخاب شد). در مرحله بعدی دانه‌رست‌های این گیاه در گلدان‌های حاوی پیت کشت داده شد و با محلول غذایی هوگلند واجد تثبوبرومین (غلظت ۰/۱ و ۰/۰۱ میلی گرم بر میلی لیتر) آبیاری شده و بعد از رشد گیاه، تأثیر تیمارهای مذکور بر روی جنبه‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه مورد بررسی قرار گرفت.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که جوانه‌زنی دانه و رشد ریشه‌چه و ساقه‌چه گیاه کاهو در غلظت‌های مختلف تثبوبرومین کاهش می‌یابد. در دانه رست‌های کشت شده در غلظت‌های فوق نیز وزن تر، وزن خشک و اندام هوایی ریشه محتوی کلروفیل، میزان کلروفیل a و b در گروه تیمار نسبت به گروه شاهد کاهش یافته و غلظت پروتئین کل، مقدار فلاونوئید و آنتوسیانین، میزانیپرولین و فعالیت آنزیم‌های پلی فنل اکسیداز، آسکوربات پراکسیداز و کاتالاز، کاروتنوئید، فنل کل، تانن، قندهای محلول، آمینواسیدهای آزاد، گلایسین بتائین، مالون دی‌آلدئید در گیاه تیمار شده نسبت به گروه شاهد افزایش یافت ولی تغییری در فلورسانس کلروفیل صورت نگرفت.

نتیجه‌گیری: این پژوهش نشان داد که ترکیب دگرآسیب تثبوبرومین باعث بروز برخی پاسخ‌های فیزیولوژیک و بیوشیمیایی در کاهو می‌شود که شباهت زیادی با پاسخ‌های القا شده تحت تنش‌های غیرزیستی دارد.

واژه‌های کلیدی: تثبوبرومین، کاهو، دگرآسیبی

۲-۱- تعریف آللوپاتیا دگر آسیمی

دگر آسیمی عبارت است از فرآیند ساخت و رهاسازی متابولیت‌های ثانویه توسط گیاهان، میکروارگانیسم‌ها، ویروس‌ها و قارچ‌ها که روی رشد و نمو سیستم‌های بیولوژیکی تاثیر می‌گذارد. اثرات دگر آسیمی ممکن است آن قدر شدید باشد که رقابت بر سر منابع نتواند آن را توضیح دهد. مواد شیمیایی با خاصیت آللوپاتی در واقع در تمام بافت‌های گیاهی، شامل برگ‌ها، ساقه‌ها، ریشه‌ها، ریزوم‌ها، گل‌ها، میوه‌ها و بذرها وجود دارند. مسئله حیاتی در مطالعات دگر آسیمی این است که این ترکیبات توسط گیاهان به مقداری رها شوند که باعث پاسخ قابل ملاحظه در گیاه مجاور شوند. مواد دگر آسیمی ممکن است از بافت‌های زنده گیاهی به روش‌های مختلفی آزاد شوند که شامل بخار شدن، ترشحات ریشه، آبشویی و تجزیه بقایای گیاهی است (Kobayashi, 2004). در تعریفی دیگر آللوپاتی به هر نوع تاثیر بازدارنده یا تحریک‌کننده مستقیم یا غیرمستقیم گیاهی بر گیاهان دیگر از طریق تولید ترکیبات شیمیایی وارد شده به محیط گفته می‌شود. علف‌های هرز در استفاده از این پدیده می‌توانند با تغییر شرایط محیطی به نفع رشد خود، سبب کاهش کمی و کیفی عملکرد دیگر گیاهان در اکوسیستم‌های زراعی، گیاهان به جای هم‌زیستی، بیشتر در تداخل با یکدیگر هستند. چنانچه در مراحل بحرانی رشد گیاه زراعی، تراکم علف‌های هرز به اندازه کافی بالا باشد معمولاً سبب کاهش رشد و عملکرد آن می‌شود (Kohli et al. 2001). حداقل دو مکانیسم برای تداخل گیاهان با یکدیگر وجود دارد: یکی رقابت برای جذب منابع و دیگری ورود مواد سمی به محیط توسط گیاه است که در اصطلاح آللوپاتی نامیده می‌شود (Duck et al. 2001). آللوپاتی به عنوان یک رفتار طبیعی در گیاهان در نظر گرفته می‌شود که آن‌ها را بر ضد دشمنان طبیعی و گیاهان رقیب محافظت می‌کند (Razavi, 2011). بنا بر نظر انجمن بین‌المللی آللوپاتی، هر فرآیندی که طی آن متابولیت‌های ثانویه توسط گیاه تولید شوند و بر رشد و نمو سیستم‌های بیولوژیک آن‌ها تاثیر گذار باشند، خواه اثرات آن منفی یا مثبت باشد، آللوپاتی نامیده می‌شود (Reigosa et al. 1999). از سالیان قبل اثرات متقابل بین

گیاهان مورد توجه بوده است. به طوری که تئوфраست^۱ تاثیر گیاه نخود را بر روی گیاهان دیگر گزارش کرده بود. در سال ۱۹۷۳ میلادی نیز، برای اولین بار یک گیاه‌شناس آلمانی به نام مولیچ، واژه آللوپاتی را برای ترشح اثر بیوشیمیایی مثبت یا منفی بین گیاهان و میکروب‌ها مطرح کرد. در اصل گیاهان با ترشح مواد بیوشیمیایی معروف به مواد آللوپاتی نوعی رقابت بیوشیمیایی بین گونه‌ای ایجاد می‌کنند (Vayvan, 2002).

۲-۲- ماهیت آللوکمیکال‌ها

آللوکمیکال‌ها به طور عمده به متابولیت‌های ثانویه که توسط گیاهان تولید و از محصولات فرعی متابولیت‌های اولیه هستند و اثر دگرآسیبی بر روی رشد و نمو گیاهان مشابه یا گیاهان مجاور دارند، اطلاق می‌گردد (Rice, 1984). آللوکمیکال‌ها شامل علف‌کش‌های زیستی، فیتوالکسین‌ها (بازدارنده‌های میکروبی) و بازدارنده‌های جوانه‌زنی هستند. همچنین تعداد زیادی از آللوکمیکال‌ها از ترکیبات مهم دفاعی و تعدادی دیگر از ترکیبات مضر هستند که به طور مستقیم در تهاجم علف‌های هرز، رقابت و تنظیم تراکم گیاهان نقش دارند. آللوکمیکال‌ها اثرات فیزیولوژیکی مختلفی بر فتوسنتز، تنفس، تقسیم سلول، فعالیت آنزیم‌ها و سنتز پروتئین بر جای می‌گذارند (Peng et al. 2004). این مواد جزئی از متابولیت‌های ثانویه گیاهی هستند که رشد و نمو سیستم‌های زیستی را سرکوب می‌کنند (Razavi, 2011).

آللوکمیکال‌ها به عنوان متابولیت‌های ثانویه از طریق تاثیر بر فرآیندهای فیزیولوژیکی، رشد و نمو گیاه را مختل می‌کنند. این ترکیبات موجب مهار یا کاهش جوانه‌زنی، کاهش رشد در مرحله گیاهچه‌ای، تقلیل سطح برگ، کاهش تولید ماده خشک، میزان رنگیزه‌ها، کربوهیدرات‌ها و پروتئین‌ها و در نتیجه توقف رشد و نمو می‌گردد (Turk & Tawaha, 2003; Pedrol et al. 2006). انتشار آللوکمیکال‌ها به روش‌های مختلفی مانند تبخیر از سطح برگ، آبرویی از شاخ و برگ، ترشح از ریشه و تجزیه بقایای گیاهی انجام می‌شود. تحقیقات نشان می‌دهد که مقدار مواد آللوپاتیک

¹Theophraste

بسته به گونه گیاهی، اندام گیاهی و مرحله رشد و نمو متفاوت است (Kobayashi, 2004). مکانیسم عمل مواد آللوکمیkal از طریق مهار تقسیم و طویل شدن سلول، مهار اثر اکسین و اسید جیبرلیک، کندی عمل فتوسنتز، مهار یا تحریک تنفس، مهار یا تحریک هدایت روزه‌ای، مهار سنتز پروتئین و متابولیسم اسیدهای آلی و تغییرات در تراوایی غشا و مهار فعالیت آنزیم‌های اختصاصی می‌باشد (Wang et al. 2006).

۲-۳- تاریخچه آللوپاتی

پدیده طبیعی آللوپاتی شامل تاثیرات مستقیم و یا غیرمستقیم با اثرات مفید و یا مضر توسط یک گیاه و میکروارگانیسم‌ها بر روی گیاه دیگر از طریق آزاد کردن ترکیبات شیمیایی به محیط اطراف تعریف می‌شود؛ و پدیده‌های برای روشن ساختن ارتباط بین گیاهان در جامعه گیاهی می‌باشد (Miller, 1996). بیش از ۲۰۰۰ سال است که آللوپاتی به تداخل بین گیاهان تعبیر شده است (اسفندیاری، ۱۳۸۹). اولین گزارشات در مورد خاصیت آللوپاتی گیاهان و علف‌های هرز توسط تئوفراست (پدر علم گیاه‌شناسی) بود؛ که کار او بحث در مورد خاصیت آللوپاتی گیاه نخود بود؛ بنابراین عقیده تداخل طبیعی بین گیاهان در طبیعت بسیار سریع در جامعه گسترش یافت ولییک فیزیولوژیست استرالیایی به نام هنس مولیش^۲ نام آللوپاتی را برای این تداخل بیان کرد و از آن زمان به بعد هنس مولیش به عنوان پدر آللوپاتی شناخته شد. معدودی از ترکیبات متابولیت‌های ثانوی تولید شده توسط گیاهان و میکروارگانیسم‌ها دارای توانایی آللوکمیkal می‌باشند که نقش به سزایی در شکل‌دهی انواع تداخلات بین گیاهان در طبیعت دارند. به علاوه علف‌های هرز نیز خاصیت آللوپاتی بر روی گیاهان دارند (Sinngh et al. 2001) در اکوسیستم‌های جنگل ترکیبات آللوکمیkal تولید شده توسط گیاهان مهاجم می‌توانند به صورت مستقیماً غیرمستقیم بر رشد دسته گیاهان مجاور و اطراف نقش داشته باشند (Ridenour and Callaway, 2001). به علاوه برخی از ترکیبات آللوکمیkalی توسط گیاهان به خاطر مقاومت خاص گیاه می‌باشد که در برابر گیاه مهاجم تولید می‌شود و یک امتیاز مثبت به گیاه اعطا می‌کند (Hariabai and Enwick, 1998).

²Hans Molish

۲-۴- طبقه‌بندی آلوکمیkal ها

براساس تنوع در ساختار این ترکیبات، آلوکمیkal ها به صورت زیر طبقه‌بندی شدند (Taiz and Zeiger, 2006)

- ۱- اسیدهای آلی محلول در آب
- ۲- الکل‌های راست زنجیر
- ۳- آلدئیدهای آلیفاتیک^۳
- ۴- کتون‌ها^۴
- ۵- لاکتون‌های ساده اشباع‌نشده
- ۶- اسیدهای چرب راست زنجیر
- ۷- پلی‌استیلن‌ها^۵
- ۸- کوئینون‌ها^۶ (بنزو کوئینون‌ها^۷، آنترو کوئینون‌ها^۸، کمپلکس کوئینون‌ها)
- ۹- فنولیک‌ها
- ۱۰- سینامیک اسید^۹ و مشتقات آن‌ها
- ۱۱- کومارین‌ها^{۱۰}
- ۱۲- فلاونوئیدها^{۱۱}
- ۱۳- تانن‌ها^{۱۲}

³ Aliphatic allegations

⁴ Ketones

⁵ Polyacetylenes

⁶ Quinones

⁷ Benzoquinones

⁸ Enteroquinones

⁹ Acid Cinematography

¹⁰ Coumarins

¹¹ Flavonoids

¹² Tannins

۱۴- استروئید^{۱۳} و ترپنوئیدها^{۱۴} (سزکوئیتترین لاکتون‌ها، دیترین‌ها، تریترین‌ها)

همان طور که گفته شد این ترکیبات می‌توانند به شکل گاز، آبشویی از اندام‌های هوایی، ترشحات ریشه‌ای و یا بر اثر تجزیه بقایای گیاهی در محیط آزاد شوند (Connik, 1987).

۲-۵- انواع متابولیت‌های گیاهی

متابولیسم به تمام واکنش‌های شیمیایی موجود در ماده زنده اطلاق می‌شود که توسط آنزیم‌ها تنظیم و کنترل می‌شوند. راه‌های متابولیسمی اولیه، متابولیت‌های اولیه را تولید می‌کند که تقریباً در همه جای طبیعت حضور دارند و برای تمام اشکال حیات ضروری هستند که شامل قندهای معمولی، آمینواسید، پورین‌ها، پیریمیدین‌ها، کلروفیل‌ها، کربوهیدرات‌ها، چربی‌ها، پروتئین‌ها، اسیدهای نوکلئیک و ترکیباتی هستند که واحدهای ساختاری ارگانسیم را تشکیل می‌دهند (Tolonen, A., 2003). متابولیت‌های اولیه نقش اساسی در فرایندهای فتوسنتز، تنفس، رشد و نمو دارند. ترکیبات شیمیایی دیگر که حاصل متابولیسم ثانویه گیاه هستند و برای تداوم حیات چندان ضروری نیستند را متابولیت‌های ثانویه می‌نامند (Briskin, 2000). به طور کلی مواد طبیعی گیاهی را به دو دسته مواد اولیه و مواد ثانویه تقسیم می‌کنند. مواد اولیه برای گیاه اساسی و ضروری هستند یعنی حیات گیاه بستگی به حضور این مواد در پیکر آنان دارد ولی حضور مواد ثانویه برای تداوم چندان به طور مطلق ضروری نیست (امیدبگی، ۱۳۷۴).

۲-۶- متابولیت‌های ثانویه

متابولیت‌های ثانویه گیاهان ترکیبات آلی زیاد با آرایش‌های متنوعی تولید می‌کنند که به نظر می‌رسد هیچ کارکرد مستقیمی در رشد و نمو گیاه ندارند. به این مواد در اصطلاح متابولیت‌های ثانویه، تولیدات ثانویه‌ها تولیدات طبیعی گفته می‌شود. در کل برای متابولیت‌های ثانویه هیچ نقش مستقیمی در فرایندهای فتوسنتز، تنفس، انتقال مواد محلول، نقل و انتقالات، ساخت پروتئین، آسیمیلاسیون ترکیبات غذایی، تمایز یا

¹³Steroids

¹⁴Terpenes

شکل‌گیری هیدرات‌های کربن، پروتئین‌ها و لیپیدها تشخیص داده نشده است. همچنین برخلاف متابولیت‌های اولیه (اسیدهای آمینه، نوکلئوتیدها، قندها، لیپیدهای آزاد)، متابولیت‌های ثانویه گسترش محدودی در سلسله گیاهان دارند. این به معنای آن است که یک متابولیت ثانویه خاص اغلب در یک گونه گیاهی یا گروه‌های خویشاوند گونه یافت می‌شود، در صورتی که متابولیت اولیه در سراسر سلسله گیاهان حضور دارند. این ترکیبات موجب محافظت از گیاهان در برابر خورده شدن توسط گیاه‌خواران و آلوده شدن آن‌ها به عوامل بیماری‌زای میکروبی می‌شوند؛ و همچنین این ترکیبات به عنوان ترکیبات جاذب (از نظر بو، رنگ و طعم) حشرات گرده‌افشان و حیوانات پراکنش دهنده بذور گیاهان عمل می‌کنند و گروهی از این ترکیبات به عنوان عوامل رقابت گیاه - گیاه ایفای نقش می‌کند که ترکیبات آلوکمیkal جز این گروه تقسیم‌بندی می‌شوند (Taiz and Zeiger, 2006). منظور از ترکیبات آلوکمیkal، ترکیباتی از متابولیت‌های ثانویه می‌باشند که می‌توانند اثر آلوپاتیک بر سایر گیاهان و ارگانیسم‌ها داشته باشند. این ترکیبات از متابولیسم کربوهیدرات‌ها، لیپیدها و آمینواسیدها از مسیر استات یا شیکیمات ناشی می‌شوند. آلوکمیkal‌ها از مواد بیوسنتزی و ذخیره‌ای در سلول‌های گیاهی محسوب می‌شوند و بر فعالیت سلولی گیاه هیچ تاثیری ندارند اما بعد از آزادسازی آن‌ها از سلول گیاهی شروع به تاثیر بر سایر ارگانیسم‌ها می‌کنند (گیاهان، پاتوژن‌ها و آفات). مواد آلوکمیkal تقریباً در تمام بافت‌های گیاهی از جمله در برگ، ریشه، ساقه، میوه، ریزوم، بذر، گل، دانه گرده و جوانه وجود دارند و البته غلظت آن‌ها بر حسب نوع اندام، متفاوت است (Maighany, 2003). سمیت ترکیبات آلوکمیkal تابع غلظت، سن و مرحله متابولیسمی گیاه، فصل، اقلیم و شرایط محیطی است. علاوه بر این، تولید آن‌ها نه تنها در طول سال، بلکه بر حسب سن، رقم و نوع اندام از نظر کمی و کیفی متغیر است (انتشاری و اهرابی، ۱۳۹۰). غلظت ترکیبات آلوکمیkal بر اثر تنش‌های زیستی و غیرزیستی افزایش می‌یابد (Taiz and Zeiger, 2006). حضور مواد آلوپاتیک در خاک اغلب وابسته به عواملی مانند تراکم برگ‌های ریخته شده، مقدار تجزیه این مواد، فاصله از دیگر گیاهان و میزان بارندگی می‌باشد (Jefferson and et al. 2003).

۲-۶-۱ انواع متابولیت‌های ثانویه

متابولیت‌های ثانویه در مقایسه با متابولیت‌های اولیه، در سلول‌های تخصص یافته‌تر و مراحل مختلف تمایز بیوسنتز می‌شوند و استخراج و خالص‌سازی آن‌ها مشکل‌تر از متابولیت‌های اولیه است (Waksundzaka-Hajnos, M., 2008). متابولیت‌های ثانویه به علت کاربردشان در تولید رنگ‌ها، الیاف، چسب‌ها، روغن‌ها، موم‌ها، طعم‌دهنده‌ها، داروها و عطرها مورد توجه هستند. امروزه متابولیت‌های ثانویه منابعی برای داروهای جدید، آنتی‌بیوتیک‌ها، حشره‌کش‌ها و علف‌کش‌ها هستند (Crozier et al., 2000). متابولیت‌های ثانویه را به چهار گروه تقسیم‌بندی می‌کنند:

۱. ترکیبات حاوی نیتروژن: که عمده‌ترین آن‌ها آلکالوئیدها هستند. از دیگر ترکیبات حاوی نیتروژن می‌توان به بنزوگزانوئیدها یا بنزوگزازینون‌ها، گلیکوزیدهای سیانوزن و گلوکوزینولات‌ها اشاره کرد.

۲. ترکیبات فنیل پروپانوئیدی: ترکیباتی هستند که عمدتاً از اسیدآمینه فنیل آلانین منشا می‌گیرند. فنول‌ها، فلاونوئیدها و کومارین‌ها جزو این ترکیبات‌اند.

۳. پلی‌کتیدها: ساختارهایی هستند که از واحدهای دو کربنی استیل کوآنزیم A و همچنین مالونیل کوآنزیم A مشتق می‌شوند.

۴. تریپنوئیدها: تحت عنوان ایزوپروپونوئیدها و تریپن‌ها هم شناخته می‌شوند و از واحدهای ایزوپرنی تشکیل شده‌اند. (Waksundzaka-Hajnos, M., 2008)

۲-۶-۲ اهمیت و کاربرد متابولیت‌های ثانویه

متابولیت‌های ثانویه گیاهی منابع مهم بسیاری از عناصر غذایی شامل چاشنی‌ها، رنگ‌دهنده، اسانس‌ها و شیرین‌کننده‌ها و آنتی‌اکسیدان‌ها هستند. رژیم‌های گیاهی غنی از متابولیت‌های ثانویه بوده و به درمان بیماری‌های عروقی و سرطان کمک می‌کند بعضی از متابولیت‌های ثانویه به صورت دارو یا مدل شیمیایی برای طراحی و سنتز داروهای جدید به کار می‌روند. این ترکیبات گوناگونی زیادی دارند. هر خانواده، جنس یا گونه

گیاهییک دسته از متابولیت‌های ثانویه را تولید می‌کنند و آن‌ها گاهی اوقات می‌توانند به عنوان صفات تاکسونومیک در طبقه‌بندی گیاهان استفاده شوند (Buchanan, 2000). متابولیت‌های ثانویه ترکیباتی هستند که نقش اساسی در متابولیسم نداشته و توزیع آن‌ها از ارگانسمی به ارگانسم دیگر متفاوت است و نسبت به متابولیت‌های اولیه وقوع محدودتری دارند. بعضی از آن‌ها یک عملکرد ثابت شده در ارگانسمندارند در حالی که بعضی دیگر نقش بسیار حیاتی را برای ارگانسم بازی می‌کنند تولید این مواد با شرایطی مانند محیط ارگانسمیا مواد غذایی می‌تواند متفاوت باشد (Crozier et Tolonen, 2003). (al., 2000). متابولیت‌های ثانویه شامل ترکیباتی نظیر آلکالوئیدها، گلیکوزیدها، روغن‌های فرار(اسانس) وسایر مواد موثره می‌باشند (امیدبگی، ۱۳۷۴).

۲-۷- مشخصات گیاهشناسی کاهو

نام علمی کاهو. *Lactuca sativa* L است که متعلق به تیره کلاپرک‌ها و یا Compositae می‌باشد. کاهو یک سبزییک‌ساله است که از یک نوع کاهوی وحشی خاردار به نام *L. scariola* و یا *L. serriola* که هر دو بومی آسیا می‌باشند، گرفته شده است. در بین سایر علف‌های هرز این جنس، گونه‌های *L. virosa* و *L. canadensis* می‌توانند در منشاء تولید کاهو موثر بوده باشند کاهوی اولیه که انسان مصرف می‌نموده است، همانند آنچه که امروز وجود دارد، نبوده بلکه برگ‌های آن از هم باز و حالت پیچ و فشردگی نداشته است. شکل کاهو که از گورهای مصریان به دست آمده، مؤید این عقیده است. رومی‌ها کاهویی را می‌کاشتند و مورد استفاده قرار می‌دادند که برگ‌های آن کاملاً پهن، بدون خار، دارای شیرابهیا لاتکس کم، حالت پیچ نداشته و نسبت به زود گل کردن مقاوم بوده است. در طبیعت انواع وحشی با نوع اصلاح شده تولید دورگه‌هایی می‌نمایند که باعث تنوع در این گیاه می‌گردد. کاهو دارای وارسته‌های گیاهشناسی فراوانی است که این وارسته‌ها در دسته‌های مشخص تقسیم‌بندی می‌شوند. یکی از این تقسیم‌بندی‌ها به شرح زیر می‌باشد(دانشور، ۱۳۷۹).

۲-۸- علت انتخاب گیاه کاهو

در پژوهش‌های مربوط به آلوپاتی، گیاه هدف و مدل گیاه کاهو می‌باشد یعنی کاهو به

عنوان یک گیاه استاندارد در پاسخ به آزمایشات مربوط به آللوپاتی مورد استفاده قرار می‌گیرد. گیاهی یک‌ساله از خانواده مرکبان و یکی از سبزی‌های برگ‌های فصل خنک است که در سال‌های اخیر توجه خاصی به کشت آن معطوف شده است. این گیاه بلافاصله پس از کاشت ریشه عمودی عمیقی تولید می‌کند و سپس ریشه‌های فرعی را توسعه می‌دهد که وظیفه جذب مواد غذایی را برعهده دارند.

بذرهای گیاه کاهو به دلیل قابل کشت بودن تقریباً در تمامی فصول سال و قدرت جوانه‌زنی خوب در طول مدت چند روز تحت شرایط مناسب آزمایشگاهی و محیط بیرون از آزمایشگاه مورد توجه محققان زیست‌شناسی قرار گرفته است؛ و نیز بهبود در سیستم ژنتیک منجر به افزایش توانایی بیان ژن‌های انتقال‌یافته در گیاه کاهو شد؛ بنابراین این تحقیقات ژنتیکی روی گیاه کاهو از سوی دیگر سبب شد گیاه کاهو در زمره سایر عاملان زیستی برای تولید پروتئین‌های دارویی قرار بگیرد که خود این امر ارزش غذایی خاصی به گیاه کاهو داده است.

۲-۹- تاریخچه گیاه کاهو

کاهو یکی از مهم‌ترین و قدیمی‌ترین سبزی‌های سالادی دنیاست. موطن اصلی کاهو آسیا و به احتمال زیاد ایران و ترکمنستان می‌باشد. بیش از ۲۵۰۰ سال است که کاهو به عنوان غذا و دارو کشت می‌شده و مورد استفاده بشر قرار می‌گرفته است. بعضی از نوشته‌ها نشان می‌دهد که در ۵۵۰ سال قبل از میلاد مسیح شاهان ایرانی دستور به کشت و پرورش آن دادند و آن را مصرف نمودند. در سال ۱۸۰۶ آقای مک ماهون^{۱۵} از ۱۶ رقم کاهو نام برده است. این رقم‌ها به وسیله کلمبوس برای اولین بار به آمریکا برده شد و از جمله گیاهانی است که بعد از کشف آمریکا کشت گردیده است. در سال ۱۸۸۰ بیش از ۲۰ رقم کاهو در آمریکا وجود داشت و در سال ۱۸۸۵ ایستگاه تحقیقاتی کشاورزی نیویورک ۸۷ رقم کاهو را لیست کرده که هر کدام از آن‌ها نام مشخصی و معینی داشته‌اند (دانشور، ۱۳۷۹). کاهو یکی از گیاهان تیره آفتابگردان، یک‌ساله و بومی

¹⁵Mr Mack Mahone

ناحیه مدیترانه می‌باشد این سبزی جز سبزیجات پرمصرف دنیا به شمار رفته و در تمام فصول سال مورد استفاده قرار می‌گیرد (حسنی زاده، ۱۳۸۳). عدم انجام آبیاری منظم، ایجاد محیط غرقابی با خشکی خاک در زمان برداشت موجب از دست رفتن کیفیت محصول کاهو می‌شود (پیوست و همکاران، ۱۳۸۸). به طور کلی، وجود تنش‌های زیستی غیرزیستی سبب کاهش کیفیت و کمیت محصول نهایی خواهد شد (حسنی زاده، ۱۳۸۳).

۲-۱۰-۱- انواع کاهو

۲-۱۰-۱-۱- کاهوی پیچ گرد

نام گیاه‌شناسی این نوع کاهو *Lactuca sativa* L.var.capitata می‌باشد. برگ‌های این نوع کاهو به طور نسبتاً فشرده روی هم قرار می‌گیرند. برگ‌های داخلی آن سفید و یا زرد رنگ است، ولی برگ‌های بیرونی آن سبزرنگ می‌باشد. این واریتهی گیاه‌شناسی دارای دو نوع کاملاً مشخص است. یک نوع آن که با تر هد^{۱۶} و یا بیت لتوس^{۱۷} می‌گویند، دارای برگ‌های نرم بوده که روی هم قرار گرفته‌اند و خیلی زود آسیب می‌بینند. نوع دیگر آن کریسپ هد می‌باشد که به آن آیس بورگ هم گفته می‌شود. برگ‌ها در این نوع کاهو بسیار شکننده و ترد بوده که ممکن است لبه برگ‌ها دندان‌دار و حالت پیچیدگی نیز داشته باشد. برگ‌ها تولیدیک کره بسیار فشرده و سخت می‌کنند. اشکال مربوط به انواع کاهوی پیچ گرد می‌باشد (دانشور، ۱۳۷۹).

۲-۱۰-۲- کاهوی پیچ معمولی

نام علمی این کاهو *Lactuca sativa*.v.longifolia می‌باشد. این نوع کاهو ایستاده است و شاید ارتفاع بوته آن به ۳۰ تا ۴۰ سانتی‌متر برسد. برگ‌های بیرونی آن سبز و نرم هستند، ولی برگ‌های داخلی آن سبز مایل به سفید بوده که بسیار ترد و شکننده می‌باشند. می‌توان گفت تردی و شکنندگی این نوع کاهو از نوع اول بیشتر است. این نوع کاهو در ایران موارد استفاده زیاد دارد و بیشتر کاهوهای در حال کشت از این قسم می‌باشند (دانشور، ۱۳۷۹).

^{۱۶}Butterhead

^{۱۷}Bitavia lettuce

۲-۱۰-۳- کاهوی پرک

کاهوی پرک یا کاهوی برگ در این نوع کاهو برگ‌ها روی همدیگر قرار نمی‌گیرند و از همدیگر جدا هستند. برگ‌ها حالت شکنندگی ندارند و لبه‌های آن‌ها حالت دندانه‌دار دارد. این نوع کاهو در ایران طرفدار چندانی ندارد و به آن کاهوی برگ نرم هم گفته می‌شود. رنگ برگ‌ها در آن ممکن است سبز روشن یا قرمز باشد. بعضی از انواع این نوع کاهو مخصوص کشت در گلدان در زمستان است (دانشور، ۱۳۷۹).

۲-۱۰-۴- کاهوی ساقه

به این نوع کاهو آسپاراگوس لتوس یا سلتوس تایپ می‌گویند. نام علمی آن *Lactuca sativa* L.var.asparagina است. تنها ساقه آن قابل استفاده است، ولی گاهی برگ‌های لطیف و کوچک آن هم مصرف می‌شود. این نوع کاهو در ایران مورد استفاده ندارد و اصولاً از کشورهای دنیا به این کاهو علاقه چندانی نشان نمی‌دهند. بیشتر در اروپا و آمریکا کشت می‌شود. در چین ساقه این نوع کاهو را می‌پزند و مصرف می‌کنند (دانشور، ۱۳۷۹).

۲-۱۱- ارزش غذایی و دارویی کاهو

کاهو دارای مقدار زیادی مواد کانی مانند کلسیم، فسفر، آهن، پتاسیم و سدیم است. همچنین دارای مقدار کمی منیزیم و گوگرد می‌باشد. کاهو از نظر انواع ویتامین‌های مختلف B و ویتامین C بسیار غنی است. کاهو از نظر دارا بودن سلولز در فعال کردن اعمال دودی روده و معده و در نتیجه دفع مواد آن‌ها نقش بسیار مهم و اساسی دارد. کاهو مقدار کمی کالری در بدن تولید می‌کند و از این نظر برای افراد مسن و کسانی که مبتلا به مرض چاقی و فشار خون هستند، بسیار مفید می‌باشد. در ۱۰۰ گرم کاهو مقدار ۹۴٪ آب، ۰/۲٪ کربوهیدرات، ۲/۱٪ پروتئین، ۳٪ چربی، ۰/۵٪ فیبر و ۱/۲٪ ترکیبات معدنی وجود دارد. در کاهو مقداری *Lactucarium* وجود دارد که از این رو یک داروی خواب‌آور محسوب می‌شود و آن در درمان بیماری‌های برونشیت و آسم تجویز می‌شود. در هندوستان از برگ‌های کاهو در درمان سوختگی و زخم استفاده می‌کنند و برگ‌های آن را روی زخم می‌گذارند و آن را می‌بندند تا زخم التیامیابد. همچنین آب کاهو تب بر است.

در ایران از کاهو به صورت‌های مختلف استفاده می‌شود. در خارج کاهو را به تنهایی به صورت تازه در سالاد یا همراه با سایر سبزی‌های سالادی مورد استفاده قرار می‌دهند. در بعضی از کشورهای اروپایی، آمریکایی و کشور چین ساقه کاهورا پخته، مصرف می‌کنند (دانشور، ۱۳۷۹). طی دو دهه اخیر تولید جهانی کاهو افزایش چشمگیری داشته است. توسعه منابع ژنی، تولید ارقام متحمل به انواع تنش‌های زیستی و غیرزیستی، ارزش تغذیه‌ای و اهمیت فعالیت آنتی‌اکسیدانی کاهو از عمده‌ترین دلایل افزایش سطح زیر کشت این محصول در دنیا به شمار می‌رود (دانشور، ۱۳۷۹).

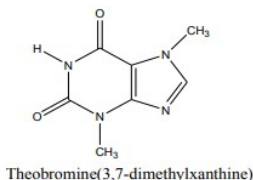
۲-۱۲- ماده تئوبرومین

۲-۱۲-۱- ترکیب‌های متیل زانتین

ترکیب‌های متیل زانتین دسته‌ای از آلکالوئیدهای پورینی هستند که از پرمصرف‌ترین عوامل فعال دارویی محسوب می‌شوند؛ بنابراین برای شناخت ترکیب‌های متیل زانتین ابتدا باید به بررسی آلکالوئیدها پرداخت. ترکیب‌های آلی که حداقل یک اتم نیتروژن در ناجور حلقه خود داشته باشند، آلکالوئید نامیده می‌شوند. به طور کلی آلکالوئیدها خصلت بازی دارند که به آن‌ها شبه قلیا نیز گفته می‌شود.

اغلب آلکالوئیدها ترکیب‌هایی متبلور و به صورت محلول بوده که با اسیدها ترکیب شده و نمک تولید می‌کنند. این گروه از ترکیب‌ها ممکن است در گیاهان به حالت آزاد و یا به صورت نمک و یا به شکل N-اکسیدها یافت شوند. از آلکالوئیدهایی که فاقد عنصر اکسیژن هستند می‌توان نیکوتین تنباکو را مثال زد. ترکیب‌های متیل زانتین از گیاهانمختلفی در سرزمین‌های مختلف به دست آمده‌اند؛ برای مثال دانه‌های قهوه در آفریقا، برگ‌های چای در آسیای شرقی و کاکائو در آمریکای جنوبی و غیره. اهمیت این ترکیب به دلیل نقش مهمی است که در فرایندهای زیست‌یافتا می‌کنند، به همین دلیل امروزه ترکیب‌های متیل زانتین و مشتق‌های آن به صورت گسترده در داروهای جدید مورد استفاده قرار گرفته‌اند. از معروف‌ترین ترکیب‌های متیل زانتین می‌توان به کافئین (۱، ۳، ۷- تری متیل زانتین) و تئوبرومین (۷، ۳- دی متیل زانتین) اشاره کرد که در

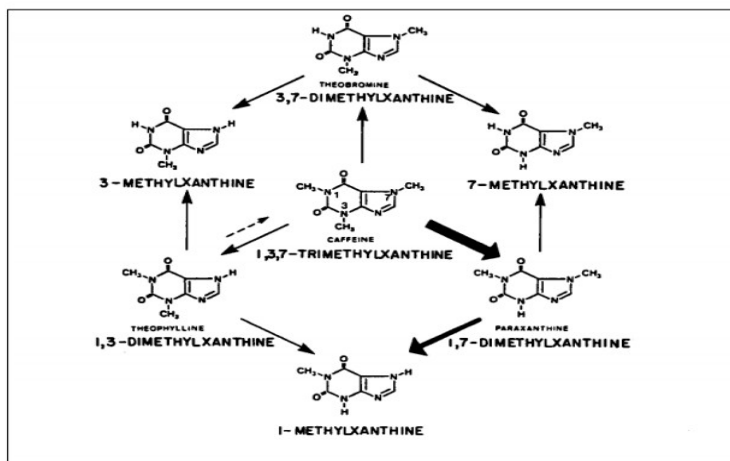
چای، قهوه، کاکائو و تعدادی از نوشیدنی‌های غیرالکلی حاصل از گیاهان وجود دارند.



شکل ۱-۲- سوخت‌وساز ترکیب‌های متیل زانتین

ترکیب‌های متیل زانتین و متیل اوریک اسیدهای طبیعی، حاصل سوخت‌وساز ثانویه گیاهان هستند که از نوکلئوتیدهای پورینی مشتق شده‌اند. ترکیب و توالی مسیر سنتز زیستی اصلی این ترکیب‌ها چنین است:

شکل زیر نحوه سنتز ترکیب‌های متیل زانتین را نشان می‌دهد که در این مسیر نقش اساسی کافئین (۱، ۳، ۷-تری متیل زانتین) در سنتز تئوبرومین (۷، ۳-دی متیل زانتین) آشکار است.

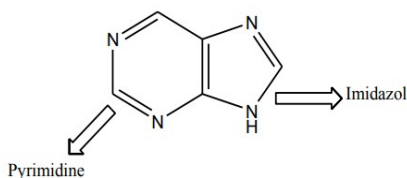


شکل ۲-۲- نحوه سنتز ترکیب‌های متیل زانتین

۲-۱۲-۲- تاریخچه تئوبرومین

در بین ترکیب‌های متیل زانتین تئوبرومین اولین بار در سال ۱۸۴۱ در دانه‌های کاکائو

توسط یک شیمیدان روسی کشف شد و اولین بار در سال ۱۸۸۲ از زانتین توسط هرمن فیشر^{۱۸} سنتز شده است. زانتین‌ها گروهی از آلکالوئیدها هستند که در بافت‌های بدن انسان حضور دارند و محصول مسیر تجزیه و تخریب پورین‌ها هستند. پورینیک سیستم حلقوی جوش خورده است که از پیریمیدین و حلقه ایمیدازول تشکیل شده است.



شکل ۲-۳- ساختار مولکولی پورین

نام تئوبرومین از گیاه کاکائو گرفته شده است شخصی به نام کارولاس لینائوس^{۱۹} نام علمی تئوبروما^{۲۰} را به این گیاه داد که به معنای غذای خدایان است زیرا در زمان‌های قدیم کاکائو غذای خدایان به شمار می‌آمد به همین دلیل، علی‌رغم این که در ساختار این ترکیب برم وجود ندارد این گونه نام‌گذاری شده است. به تئوبرومین، تئوبرومید نیز گفته می‌شود.

تئوبرومینیک آلکالوئید تلخ از گیاه کاکائو است که در مغز قهوه و یا مغز درخت کولا و برگ‌های گیاه چای یافت می‌شود. علاوه بر این در شکلات نیز وجود دارد اما منبع اصلی تئوبرومین دانه‌های کاکائو است

۲-۱۲-۳- خواص تئوبرومین

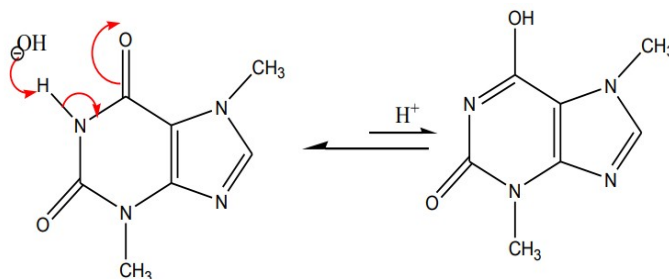
تئوبرومین به صورت پودری سفیدرنگ و تلخ‌مزه است و در آب بسیار کم حل می‌شود (۱ گرم تئوبرومین تقریباً در ۲۰۰۰ میلی‌لیتر آب و یا ۱۵۰ میلی‌لیتر آب جوش حل می‌شود) اما در بسیاری از اسیدها و بازها به صورت محلول است. برای تئوبرومین

¹⁸Herman Fisher

¹⁹Carolus Linnaeus

²⁰Theobroma

نقطه ذوب‌های متفاوتی گزارش شده است. برای مثال ۳۵۱_۳۴۵ و ۳۵۷ درجه سانتی-گراد. pH تئوبرومین حدود ۵/۵ تا ۷ و حداکثر جذب تئوبرومین در دستگاه فرابنفش مرئی ۲۷۳-۲۷۲ نانومتر است. تئوبرومین به دلیل خصلت توتومری که دارد اسید ضعیفی محسوب می‌شود.



شکل ۲-۴- خاصیت توتومری تئوبرومین

تئوبرومین در مقایسه با کافئین حلالیت پایین‌تری در بسیاری از حلال‌های آلی دارد در جدول زیر میزان حلالیت تئوبرومین در دو دما و در حلال‌های مختلف مشخص شده است.

جدول ۲-۱- میزان حلالیت تئوبرومین در حلال‌های گوناگون

حلالیت تئوبرومین (هر ۱ گرم در ۱۰۰ میلی لیتر حلال)		حلال
۱۰۰°C	۱۵°C	
۰/۰۰۳	۰/۰۰۳	اتر
۰/۰۱۰	۰/۰۰۵	بنزن
۰/۰۳	۰/۰۲	تری کلرواتیلن
۰/۰۷	۰/۰۶	کلروفرم
۰/۳۹	-	الکل
۰/۰۷	۰/۰۶	آب
۰/۸۷	۰/۰۹	تتراکلرواتان
۸/۰۰	۰/۶۵	آنیلین
حل ناشدنی	حل ناشدنی	پترولیم اتر

اگرچه در بیشتر کشورها کنترل شیمیایی علف‌های هرز در حال انجام است، ولی کاهش کیفیت گیاهان زراعی، هزینه بالای کنترل علف‌های هرز، خطرات زیست‌محیطی و از طرفی افزایش مقاومت علف‌های هرز به علف‌کش‌ها بیانگر ضرورت تجدیدنظر در روش‌های کنترل علف‌های هرز است. بنابراین در حال حاضر به علف‌کش‌های جدیدی نیاز داریم که جایگاه‌های متابولیسمی جدید را هدف‌گیری نمایند و برای محیط‌زیست بی‌خطر بوده و کارا تر هم باشند. همچنین در غلظت‌های پایین فعال بوده و گستره فعالیت وسیعی داشته باشند. در این راستا، مطالعات آللوپاتی گیاهان دارویی می‌تواند فرصت مناسبی برای پیدایش علف‌کش‌های طبیعی و نسل جدیدی از بازدارنده‌های رشد باشد (حجازی، ۱۳۷۹).

واژه آللوپاتی (دگرآسیبی) به برهمکنش گیاهان به وسیله متابولیت‌هایشان اشاره دارد (میقانی، ۱۳۸۲). ترکیب‌های آللوکمیkal فرایندهای فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی متعددی را نظیر بازدارندگی رشد و جوانه‌زنی، بازدارندگی تقسیم و رشد طولی سلول، بازدارندگی رشد القاء شده توسط ژیرلین یا اکسین، بازدارندگی تنفس و فتوسنتز، بازدارندگی روزنه، بازدارندگی سنتز پروتئین و هموگلوبین، تغییر تراوایی غشا و بازدارندگی فعالیت آنزیم‌ها را بر عهده دارند (Lee et al. 1997; Tauro & Narwal, 1996). آللوکمیkal‌هایی نظیر کومارین‌ها، فلاونوئیدها، تانن‌ها و مشتقات سینامیک و بنزوئیک اسید فرایندهای فیزیولوژیک متعددی را تحت تأثیر قرار می‌دهند و اثر چندگانه آن‌ها به اثبات رسیده است (میقانی، ۱۳۸۲).

قاسم^{۲۱} (۱۹۹۵) اثر آللوپاتیک بقایای بابونه (*Anthemis cotula*)، عصاره و بقایای *Ammi majus* ترشحات همیشه‌بهار (*Calendula officinalis*) و عصاره و بقایای بارهنگ سرنیزه ای (*Plantago lanceolata*) را روی گندم گزارش کرده است. اینام و حسین^{۲۲} (۱۹۹۸) اثر آللوپاتیک آبشویی، بخارات و بقایای شاهدانه (*Cannabis sativa*) را بر سورگوم، ماش،

²¹Qasem

²²Inam and Hussain

Title and Author:	Investigation on allelopathic effects of theobromine from physiological and biochemical aspects/ Zahra Roohi
Supervisor:	Seyed Mehdi Razavi (ph.D), Ali Reza Gasemian (ph.D)
Graduation date:	2019/1/21
Number of pages:	95

Abstract

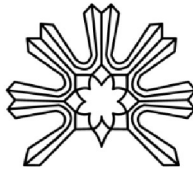
Research Aim: Regarding to the importance of obtaining natural herbicides to replace with artificial ones, the aim of the current study was conducted to evaluate allelopathic effects of theobromine on lettuce plant (*Lactuca Sativa* cv. Siahoo) as a model plant.

Research method: The effect of different concentrations (0.001 to 1 mg/ml) of this compound on some of growth parameters, including seed germination, radicle and primule growth were investigated to determine the optimum concentration for the continuation of our experiment. (The values of 0.1 and 0.01 mg/ml were selected as the optimal concentrations) Then, the lettuce seedlings were cultured in in pots containing peat and were irrigated with Hoagland nutrient solution containing .Theobromine (with the concentration of 0.1 and 0.01 mg/ml) and the effect of these treatments on physiological, biochemical aspects of the plant were examined following the plant growth.

Findings: The results showed that seed germination and radicle and primule growth of lettuce plant in different concentrations of the Theobromine are decreased. In the case of cultured seedlings in above concentrations, the wet weight and dry weight of shoots and rate chlorophyll, chlorophyll a and b in the treated group were decreased, total protein concentration, flavonoid and anthocyanin, proline content and the activity of polyphenol oxidase, ascorbate peroxidase and catalase, carotenoid, phenol, tannin, soluble sugar, free aminoacids, glycine betaine, MDA in treated plants were increased compared to the control group. However, there was no change in chlorophyll florescence.

Conclusion: This study showed that the theobromine allelechemistry causes some physiological and biochemical responses in the lettuce which are much similar to induced responses under abiotic stress.

Keywords: Allelopathy, Lettuce, Theobromine



University of Mohaghegh Ardabili
Faculty of Science
Department of Biology

Thesis submitted in partial fulfillment for the degree of
M.Sc.inPlant Physiology

Investigation on allelopathic effects of theobromine from physiological and biochemical aspects

By:
Zahra Roohi

Supervisor:
Seyed Mehdi Razavi (Ph. D)
Ali Reza Gasemian (ph.D)

Advisor:
Kamaladdin Hamidi (Ph.D)

January 2019