

پایان نامه برای دریافت کارشناسی ارشد
رشته زیست‌شناسی گرایش فیزیولوژی گیاهی

بررسی فعالیت دگر آسیدی ترکیب شالکون و مشتق نانوذره آن

پژوهشگر:

مینا تشویقی نژاد

استاد راهنما:

دکتر سید مهدی رضوی

دکتر علیرضا قاسمیان

استاد مشاور:

دکتر اسداله اسدی

پریسا نصراللهی

بهمن ۱۳۹۷

عنوان و نام پدیدآور:	بررسی فعالیت دگرآسیبی ترکیب شالکون و مشتق نانوذره آن / مینا تشویقی نژاد
استادان راهنما:	دکتر سیدمهدی رضوی و دکتر علیرضا قاسمیان
استادان مشاور:	دکتر اسداله اسدی و پریسا نصرالهی
تاریخ دفاع:	۱۳۹۷/۱۱/۱
تعداد صفحات:	۹۵ ص.
شماره پایان نامه:	زیست شناسی

چکیده:

هدف: هدف از این پژوهش بررسی امکان استفاده بهینه و بدون ضرر زیست محیطی از شالکون و مشتق نانوذره شالکون برای مبارزه با آفات گیاهی و علف‌های هرز است.

روش شناسی پژوهش: در این پژوهش با استفاده از پلیمر PLGA نانوذره پلیمری شالکون سنتز شد و اثرات مهارتی شالکون و مشتق نانوذره پلیمری شالکون بر روی برخی قارچ‌های بیماری‌زای گیاهی همچون *Aspergillus fumigatus*، *Sclerotinia sclerotiorum*، *Fusarium graminearum*، *Erwinia*، *Bacillus cereus*، *Xanthomonas campestris*، *Coratova* با روش انتشار دیسک و تعیین MIC مورد ارزیابی قرار گرفت. همچنین اثرات مهارتی این ترکیبات بر روی جوانه‌زنی و رشد علف‌های هرز متداول همچون تاج خروس، خرفه، شبدر برسیم و یونجه مورد ارزیابی قرار گرفت. آزمایش‌ها برای بذرهای ۱، ۰/۱، ۰/۰۱، ۰/۰۰۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و برای قارچ‌ها با تهیه غلظت‌های ۱، ۰/۵، ۰/۱، ۰/۰۵، ۰/۰۰۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و برای باکتری‌ها با تهیه غلظت‌های ۰/۴۰، ۰/۳۰، ۰/۲۰، ۰/۱۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر از شالکون و نانوذره پلیمری شالکون و تاثیر آن‌ها بر روی نمونه‌های تیمار داخل پلیت انجام شد. داده‌ها به کمک نرم‌افزار SPSS 21 بررسی شدند.

یافته‌ها: نتایج به دست آمده نشان داد که اثر کاهشی شالکون بر میزان جوانه‌زنی، رشد ریشه‌چه و رشد ساقه‌چه در تمامی غلظت‌ها در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار بوده است و همچنین افزایش غلظت شالکون اثر کاهنده بر رشد قارچ‌ها دارد ولی با افزایش غلظت شالکون اثر کاهشی قابل توجهی در مورد باکتری‌ها به خصوص باکتری‌های گرم منفی دیده نشد. همچنین نتایج نشان داد که مشتق نانوذره پلیمری شالکون نسبت به شالکون اثر کاهشی بیشتری بر روی رشد علف‌های هرز دارد به طوری که در مورد بذر تاج خروس در غلظت یک میلی‌گرم بر میلی‌لیتر اثر کاهشی ۱۰۰٪ را می‌توان مشاهده نمود. در مورد تاثیر غلظت مشتق نانوذره پلیمری شالکون بر روی رشد قارچ‌ها نیز اثر کاهشی بیشتری نسبت به شالکون مشاهده شد به طوری که در تمامی قارچ‌های مورد آزمایش کاهش رشدی ۳۰٪ قابل مشاهده است ولی در مورد باکتری‌ها چنین نتایجی به دست نیامد.

نتیجه‌گیری: براساس نتایج به دست آمده می‌توان پیشنهاد نمود که از شالکون و مشتق نانوذره پلیمری شالکون به عنوان جایگزین مواد شیمیایی مضر، در مبارزه با آفات و علف‌های هرز استفاده شود. نتایج بیانگر تاثیر بیشتر نانو ذره پلیمری شالکون می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: آفات، شالکون، ضد قارچ، ضد باکتری، علف هرز، مشتق نانو ذره پلیمری شالکون.

۱-۱- مقدمه

آللوپاتی به هر نوع تاثیر بازدارنده یا تحریک کننده مستقیم یا غیرمستقیم گیاهی بر گیاهان دیگر از طریق تولید ترکیبات شیمیایی وارد شده به محیط گفته می شود (Narwal et al., 1996). آللوپاتی به عنوان یک رفتار طبیعی در گیاهان در نظر گرفته می شود که آن ها را بر ضد دشمنان طبیعی و گیاهان رقیب محافظت می کند (Razavi, 2011).

بنا بر نظر انجمن بین المللی آللوپاتی، هر فرآیندی که طی آن متابولیت های ثانویه توسط گیاه تولید شوند و بر رشد و نمو سیستم های بیولوژیک آن ها تاثیر گذار باشند، خواه اثرات آن منفی یا مثبت باشد، آللوپاتی نامیده می شود (Reigosa et al., 1999).

علف های هرز در استفاده از این پدیده می توانند با تغییر شرایط محیطی به نفع رشد خود، سبب کاهش کمی و کیفی عملکرد گیاهان دیگر شوند (Kohli et al, 2001). در اکوسیستم های زراعی، گیاهان به جای همزیستی، بیشتر در تداخل با یکدیگر هستند. چنانچه در مراحل بحرانی رشد گیاهان زراعی، تراکم علف های هرز به اندازه کافی بالا باشد معمولاً سبب کاهش رشد و عملکرد آن می شود. 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 می شود (Duck et al., 2001).

کنترل بیولوژیک آفات بیماری های گیاهی شاخص مهمی در تولید محصولات کشاورزی سالم می باشند با توجه اهمیت بهداشت محیط زیست و سلامت انسان تحقیقات زیادی در جهت کاهش استفاده از سموم و افزایش مبارزه بیولوژیک انجام شده است، البته به علت محدودیتهای تحقیقاتی، اقتصادی، و اجتماعی در جهان سوم و کشور ایران این روش توسعه زیادی نداشته است (سید اصلی و همکاران، ۱۳۸۳).

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 گیاه شناس آلمانی به نام مولیچ^۲، واژه آللوپاتی را برای تشریح اثر بیوشیمیایی مثبت یا منفی بین گیاهان و میکروارگانیسمها مطرح کرد. در اصل

¹Teofrast

²Mulich

گیاهان با ترشح مواد بیوشیمیایی معروف به مواد آلوپاتی نوعی رقابت بیوشیمیایی گونه‌ای ایجاد می‌کنند (Vayvan, 2002).

۱-۲- هدف

هدف اصلی پژوهش‌های آلوپاتی، ارائه‌ی تئوری برای تداوم مواد شیمیایی در شرایط طبیعی و معرفی ترکیبات آلو شیمیایی است که از رشد گیاهان دیگر و میکروارگانیسم‌ها در اکوسیستم‌های طبیعی با زراعی جلوگیری می‌کنند. هدف دیگر این‌علم، جداسازی و شناسایی ترکیبات آلو شیمیایی گیاهانیا

میکروارگانیسم‌ها یا ترکیبات موجود در محیط و آثار تحریر آن‌ها است که هررسی محدود و بیرونی آن‌ها صورت‌گرفته‌است (میقانی، ۱۳۸۲). در این پژوهش نیز هدف، بررسی اثرات آلوپاتی که ماده‌ی شالکون و مشتق نانوذره آن بر روی قارچ‌های اسکروتینا، اسپرژیلوس فلاوس، اسپرژیلوس فومیگاتوس و فوزاریوم و همچنین باکتری‌های اروینیا، زانتوموناس و باسیلوسرئوس و همین

علف‌های هرز تاج‌خروس، خرفه، شبدر برسیم و یونجه می‌باشد؛ یعنی هدف مشاهده میزان تغییرات رشد، بعد از تاثیر ماده شالکون و مشتق نانوذره آن بر روی این موارد می‌باشد.

۲- مبانی و پیشینه تحقیق

۲-۱- اهمیت و کاربرد آللوپاتی

علف‌های هرز تهدیدی جدی برای کشاورزی محسوب می‌شوند زیرا برای دستیابی به آب، نور و مواد غذایی با گیاهان زراعی رقابت کرده و باعث کاهش کمی و کیفی محصولات زراعی می‌شوند به طوری که خسارت ناشی از علف‌های هرز گاهی به ۷۰-۸۰ درصد می‌رسد (Iqbal and Wright, 1999).

روش‌های کنترل علف‌های هرز عبارتند از: فیزیکی، مکانیکی، بیولوژیکی، زراعی و شیمیایی که در این میان مبارزه شیمیایی به عنوان یک روش بسیار مؤثر رواج زیادی دارد. امروزه به دلیل افزایش مقاومت علف‌های هرز به علف‌کش، عوارض زیست‌محیطی و آلودگی آب‌های سطحی و زیرزمینی، استفاده از آن سموم دچار محدودیت شده است. به همین منظور متخصصان به دنبال روش‌های جایگزین برای کنترل علف‌های هرز و کاربرد محدودتر و معقولانه‌تر علف‌کش‌ها می‌باشند (Vayvan, 2002).

کنترل بیولوژیک آفات بیماری‌های گیاهی شاخص مهمی در تولید محصولات کشاورزی سالم می‌باشند با توجه اهمیت بهداشت محیط زیست و سلامت انسان تحقیقات زیادی در جهت کاهش استفاده از سموم و افزایش مبارزه بیولوژیک انجام شده است (سید اصلی و همکاران ۱۳۸۳).

در این راستا استفاده از ویژگی آللوپاتی گیاهان دگرآسیب می‌توانند نقش مهمی در مدیریت و کنترل علف‌های هرز ایفا کند. این گیاهان از طریق تولید متابولیت‌های ثانویه که به محیط اطراف خود رها می‌کنند، تاثیر منفی بر جوانه‌زنی و رشد گیاهان هرز مجاور گذاشته و از این طریق رشد و تراکم آن‌ها را محدود می‌کنند، لذا استفاده از این نوع گیاهان و بقایای آن‌ها می‌تواند موجب کاهش مصرف علف‌کش‌ها شود (راشد محصل و همکاران، ۱۳۸۵).

۲-۲- متابولیت‌های ثانویه^۳

گیاهان ترکیبات آلی زیادی با آرایش‌های متنوع تولید می‌کنند که به نظر می‌رسد هیچ کارکرد مستقیمی در رشد و نمو گیاه ندارند به این مواد در اصطلاح متابولیت‌های ثانویه، تولیدات ثانویه یا تولیدات طبیعی گفته می‌شود. در کل برای متابولیت‌های ثانویه هیچ نقش مستقیمی در فرآیندهای فتوسنتز، تنفس، انتقال مواد محلول، نقل و انتقالات، ساخت پروتئین، آسیمیلایسیون ترکیبات غذایی، تمایز یا 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 متابولیت‌های اولیه در سراسر سلسله گیاهان حضور دارند (تایزوزایگر، ۲۰۰۶).

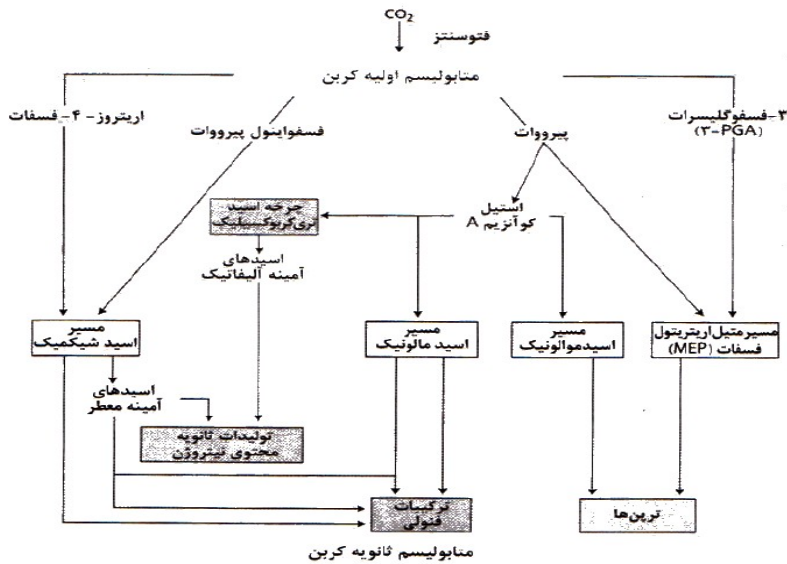
۲-۲-۱- کارکردهای اکولوژیکی متابولیت‌های ثانویه

این ترکیبات موجب محافظت از گیاهان در برابر خورده شدن توسط گیاه‌خواران و آلوده شدن آن‌ها به عوامل بیماری‌زای میکروبی می‌شوند؛ به عنوان ترکیبات جاذب (از نظر بو، رنگ و طعم) حشرات گرده‌افشان و حیوانات پراکنش دهنده بذور گیاهان عمل می‌کنند؛ همچنین این ترکیبات به عنوان عوامل (معرف‌های) رقابت گیاه-گیاه و روابط همزیست گیاه-میکروب ایفای نقش می‌کنند (تایزوزایگر، ۲۰۰۶).

۲-۲-۲- انواع متابولیت‌ها ثانویه

متابولیت‌های ثانویه بر اساس منشأ بیوسنتزی‌شان در سه گروه طبقه‌بندی می‌شوند. این گروه‌ها شامل: ترپن‌ها، فنولیک‌ها و ترکیبات نیتروژن‌دار هستند. شکل ۱-۲ یک مسیر زیست‌ساختی از انواع متابولیت‌های ثانویه را نشان می‌دهد (تایزوزایگر، ۲۰۰۶). از بین متابولیت‌های ثانویه، این تحقیق بر روی شالکون که یک فنول می‌باشد انجام گرفته است.

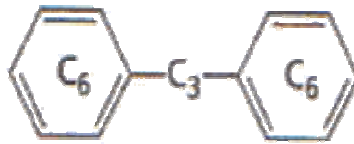
³Secondary metabolites



شکل ۱-۲ یک تصویر ساده از مسیرهای زیست ساختی متابولیت‌های ثانویه و ارتباطات داخلی آن‌ها با متابولیسم اولیه (تایز و زایگر، ۲۰۰۶)

۳-۲-۲-۴ فلاونوئیدها

فلاونوئیدها یکی از بزرگ‌ترین گروه‌ها از مجموع فنول‌های گیاهی است. اسکلت کربنی پایه‌ی یک فلاونوئید، دارای ۱۵ کربن می‌باشد که در دو حلقه‌ی آروماتیک متصل شده و توسط پل سه کربنی مطابق شکل ۲-۲ آرایش یافته‌اند. انواع مختلف فلاونوئیدها، کار کرده‌ای متنوع‌یرادر گیاهانبروزمی‌دهند کههرنگیزه‌دار شدندودفاعازجمله‌اینکار کرده‌ابهشمارمی‌روند. انواعفلاونوئیدها: آنتوسیانین‌ها، فلاون‌ها، فلاونول‌هاوایزوفلاونوئیدهامی‌باشند (تایزوزایگر، ۲۰۰۶).



شکل ۲-۲ اسکلت کربنی پایه فلاونوئید.

⁴Flavonoids

۲-۳- آللوکمیkal ها

آللوکمیkal ها 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).

آللوکمیkal ها شامل علف‌کش‌های زیستی، فیتوالکسین‌ها (بازدارنده‌های میکروبی) و بازدارنده‌های جوانه‌زنی هستند. همچنین تعداد زیادی از آللوکمیkal ها 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. آللوکمیkal ها 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).

رایس مواد آللوشیمیایی تولید شده توسط گیاهان عالی و میکروارگانیسم‌ها را در ۱۳ گروه اصلی به صورت زیر طبقه‌بندی می‌کند:

۱- اسیدهای آلی ساده محلول در آب، الکل‌های با زنجیره خطی، کتون‌ها و آلدئیدهای چربی‌دار.

۲- نفتوکوئینون، آنتروکوئینون‌ها و کوئینون‌های کمپلکس شده.

۳- فنل‌های ساده، اسید بنزوئیک و مشتقات آن‌ها.

۴- لاکتون‌های اشباع‌نشده ساده.

۵- پلی‌اتیلن‌ها و اسیدهای چرب زنجیره بلند.

۶- اسید سینامیک و مشتقات آن‌ها.

۷- آمینواسیدها و پلی‌پپتیدها.

۸- فلاونوئیدها.

۹- تانن‌ها.

۱۰- ترپنوئیدها و استروئیدها.

۱۱- آلکالوئیدها و سیانوهیدرین‌ها.

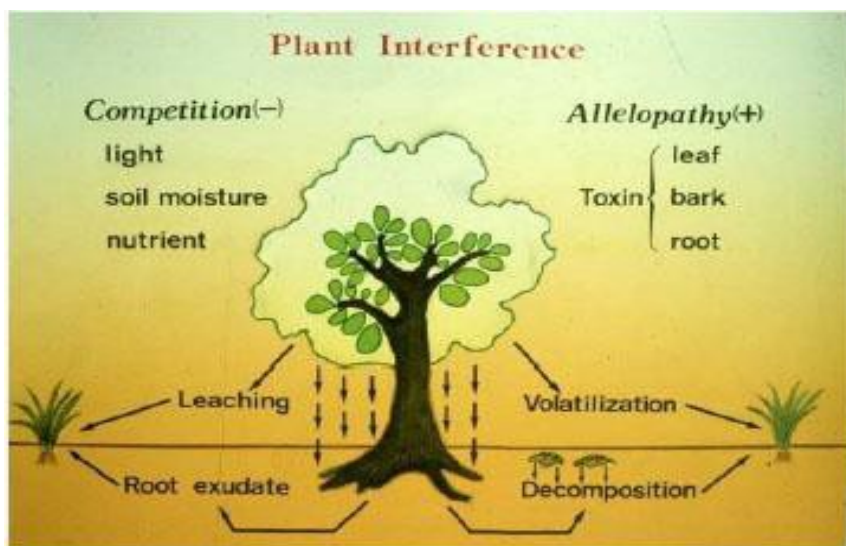
۱۲- سولفیدها و گلوکوزیدها.

۱۳- پورین‌ها و نوکلئوتیدها (Rice, 1984).

۱-۳-۲- روش‌های آزادشدن مواد آلوکمیkal

ترکیبات آلوپاتیک شامل گرومها و متابولیت‌های ثانویه گیاهی از طریق چهار فرآیند اکولوژیکی که در شکل ۲-۳ آورده شده است به محیط اطراف آزادی می‌شوند: عملتبخیر، آبشویی، تجزیه باکتریایی و تراوش ریشه. (Mullre, 1996).

تحت شرایط مناسب، متابولیت‌های گیاهی در مقادیر محدود کننده جانورانه - زنیعلفهرز در حالت توسعه منتشر می‌شوند (Wu et al., 2002).



شکل ۲-۳- روش‌های مختلف آزادشدن ترکیبات آلوپاتیک در گیاهان. (تایز و زایگر، ۲۰۰۶)

۲-۳-۲- مکانیسم عمل مواد آلوکمیkal

۱- مهار تقسیم و طویل شدن سلول.

۲- مهار اثر اکسین^۵ یا اسید جیبرلیک^۶.

⁵Oxine

⁶Giberlic acid

۳- کندی عمل فتوستنز.

۴- مهار یا تحریک تنفس.

۵- مهار یا تحریک هدایت روزنه‌ای.

۶- مهار سنتز پروتئین و متابولیسم اسیدهای آلی.

۷- تغییرات در تراوایی غشا.

۸- مهار فعالیت آنزیم‌های اختصاصی (Wang, 2006).

۲-۳-۳- اثرات آللوکمیkal ها بر روی جوانه‌زنی

به نظر می‌رسد وجود ترکیبات نیتری آلفا-پینین عامل بازدارندگی رشد دانه رست‌ها و مهار جوانه‌زنی باشد. در واقع در زمان جوانه‌زنی، تغییرات متابولیک و لیپیدیک پیچیده‌ای رخ می‌دهد، آنزیم‌های هیپودرولیتیک مثل آلفا - آمیلاز و پروتئاز را افزایش می‌دهد. آلفا - آمیلاز یک آنزیم مهم تجزیه‌کننده نشاسته است که در آندوسپرم دانه‌ها وجود دارد. محصولات آن نشانی آنزیم، سوبسترا و منبع انرژی را را برای جنین در زمان جوانه‌زنی ایجاد می‌کنند (Ayyaz Khan et al., 2008). به نظر می‌رسد جلوگیری از جوانه‌زنی گیاهان به علت مهار در فعالیت آنزیم‌های نیتری آلفا-آمیلاز است که در جوانه‌زنی نقش دارند (Alam and Islam, 2002).

آلوپاتی خود را بیشتر در زمان جوانه‌زنی و رشد اولیه نشان می‌دهد و با افزایش غلظت آللوکمیkal ها اثر بازدارندگی آن‌ها بیشتر می‌شود (عزیزی و همکاران، ۱۳۸۵).

گزارش شده که اسانس زیره سیاه سرعت جوانه‌زنی را در سه گیاه علف هرز به اسامی علف پشمکی، گل گندم و خاک شیر به صفر رسانده که علت آن وجود مواد آللوکمیkal در اسانس زیره سیاه می‌باشد (عزیزی و همکاران، ۱۳۸۵).

دودای^۷ و همکاران در سال ۲۰۰۴ با کاربرد اسانس‌های گیاهی بر روی بذرها و گندم نشان دادند که ترکیبات آللوکمیkal از جوانه‌زنی بذرها جلوگیری می‌نماید. آن‌ها با بررسی‌های دقیق نشان دادند که اسانس پس از بکاربردن بر روی بذر، به درون جنین نفوذ کرده و از جوانه‌زنی بذر جلوگیری می‌کند (Dudai et al., 2004).

⁷Dudai

۲-۳-۴- اثر آللوکمیkal ها بر رشد

اثر مواد دگرآسیبی روی رشد گیاهان مختلف زراعی و علف‌های هرز بررسی شده است. بسیاری از این مواد، رشد ریشه و اندام هوایی و توسعه برگ را کاهش می‌دهند و باعث پژمردگی در گیاهان می‌شوند. تقسیم سلولی و طول شدن آن فازهای ضروری رشد و توسعه گیاه هستند که دگرگونی در این پروسه‌ها به طور مستقیم رشد گیاه را تحت تاثیر قرار می‌دهد. ترکیبات دگر آسیب با کاهش تقسیم سلولی و رشد سلول‌ها توسعه بخش‌های مختلف از جمله برگ‌ها را محدود می‌کنند (El-Khatib et al., 2004).

صمدانی و باغستانی در سال ۱۳۸۴ گزارش کردند که مواد دگر آسیب موجود در گونه‌های درمنه باعث کاهش جوانه‌زنی و رشد گیاهچه یولاف وحشی شده است (صمدانی و باغستانی، ۱۳۸۴).

۲-۳-۵- مواد آللوکمیkal و تولید رادیکال‌های آزاد

یکی از دلایل عدم رشد گیاهان در حضور ترکیبات دگر آسیب، تولید انواع رادیکال‌های آزاد اکسیژن در گیاهان هدف تحت تاثیر سمیت ترکیبات دگر آسیب است. رادیکال‌های آزاد اکسیژن از انتقال الکترون تهییج شده به اکسیژن معمولی تولید می‌شوند و شامل انواع مختلفی مانند سوپر اکسید رادیکال هیدروکسیل، رادیکال پراکسید و اکسیژن منفرد می‌باشند. رادیکال‌های اکسیژن قادرند با حمله به لیپیدهای غشا، پروتئین‌ها و ماده وراثتی سلول سبب تخریب آن‌ها شوند. ترکیبات آنتی‌اکسیدان مجموعه‌ای از ترکیبات آنزیمی نظیر سوپر اکسید دیسموتاز، کاتالاز و اسکوربات پراکسیداز و یاترکیبات غیر آنزیمی نظیر اسکوربیک اسید، آلفا توکفرول و کارتنوئید هستند که قادرند محیط سلول و غشا سلولی را از آسیب رادیکال‌های آزاد اکسیژن مصون دارند (Yu et al., 2003).

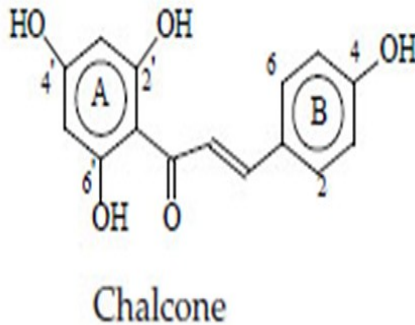
۲-۴- شالکون

شالکون‌ها^۸ (1,3-diaryl-2-propen-1-ones) از گروه فلاونوئیدها محسوب می‌شوند که در بسیاری از میوه‌جات و سبزیجات یافت شده و دارای خاصیت درمانی بسیاری می‌باشند. حلقه‌ی آروماتیک شالکون‌ها دارای گروه‌های هیدروکسیل هستند. شالکون‌ها ترکیباتی از پیگمانت‌ها هستند که منجر به تغییر رنگ اندام‌های گیاهی از رنگ زرد به

^۸Chalcones

رنگ نارنجی می‌شوند. این ترکیبات نه تنها در گل بلکه در سایر اندام‌های گیاهی یافت می‌شوند. امروزه گیاهان حاوی ماده شالکون از نظر دارا بودن خاصیت حذف‌کننده رادیکال‌های نابودگر حائز اهمیت هستند (Opletalova et al., 2000).

شالکون‌ها ترکیباتی حد واسط در مسیر سنتز ترکیبات ثانویه فلاونوئیدها می‌باشند. در شالکون‌ها دو حلقه آروماتیک از طریق یک زنجیره سه کربنه آلیفاتیک به جای حلقه C در گروه فلاونوئیدها به هم متصل می‌شوند (شکل ۲-۴). شالکون‌ها حلقه‌های اشباع نشده A و B دارند که شامل گروه کتوتایلینیک^۹ $\text{CH}=\text{CH}-\text{CO}$ هستند؛ که این ترکیبات به دلیل حضور کروموفور $\text{CO}-\text{CH}=\text{CH}$ ترکیباتی رنگی می‌باشند (Nowakowska, 2007).

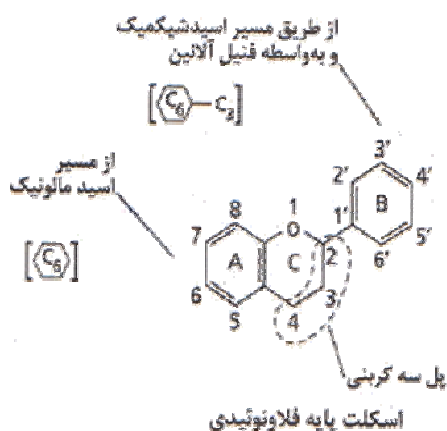


شکل ۲-۴- ساختار شیمیایی شالکون.

۲-۴-۱- مسیر بیوسنتز شالکون

شالکون‌ها ترکیبات حد واسط در مسیر بیوسنتز انواع فلاونوئیدها می‌باشند. فلاونوئیدها در مرحله‌ی اول بر اساس درجه اکسیداسیون پل سه کربنه‌ای که دارند، به گروه‌های مختلفی دسته بندی می‌شوند. شکل ۲-۵ اسکلت کربنی پایه در فلاونوئیدها را نشان می‌دهد.

^۹Keto ethilinic

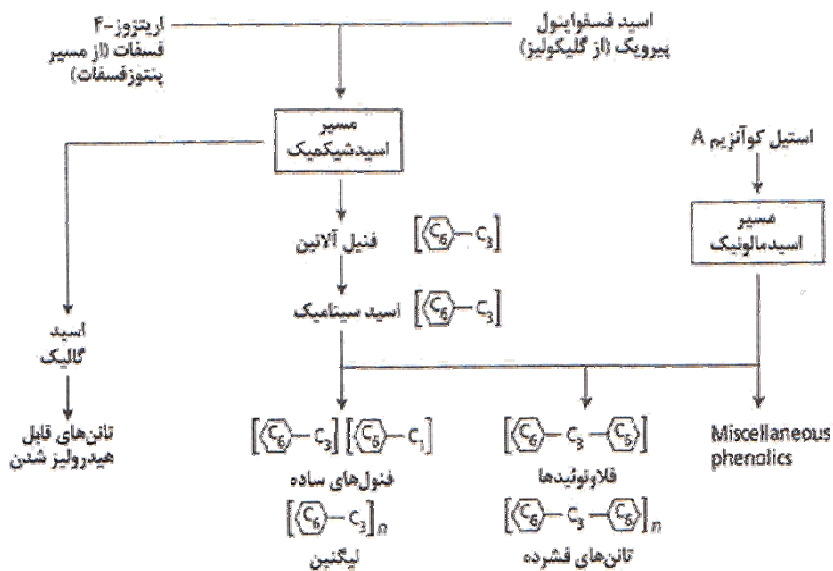


شکل ۲-۵- مسیر سنتز اسکلت کربنی پایه در فلاونوئیدها. فلاونوئیدها از فرآورده‌های دو مسیر اسید شیکمیک و اسید مالونیک ساخته می‌شوند. موقعیت‌ها روی سیستم حلقه فلاونوئید همان طور که مشاهده می‌کنید، عددگذاری شده‌اند.

اسکلت کربنی پایه در فلاونوئیدها ممکن است متشکل از تعداد زیادی از ترکیبات باشد. گروه‌های هیدروکسیل معمولاً در موقعیت ۷،۵،۴ قرار دارند، اما ممکن است در سایر موقعیت‌ها نیز یافت شوند. حضور قندها در ترکیب اسکلت کربنی نیز معمول است و در واقع عمده فلاونوئیدها به شکل طبیعی قالب گلیکوزیدی دارند. در حالی که هم گروه‌های کربوکسیل و هم قندها حلالیت فلاونوئیدها در آب را افزایش می‌دهند، سایر استخلاف‌ها نظیر متیل اترها یا واحدهای تغییر شکل یافته ایزوپنتیل، فلاونوئیدها را به ترکیباتی چربی دوست تبدیل می‌نمایند. دو مسیر پایه برای سنتز انواع فنول‌های گیاهی وجود دارد: ۱- مسیر اسید شیکمیک^{۱۰} و ۲- مسیر اسید مالونیک^{۱۱} که در شکل ۲-۶ آورده شده است (تایزویاگر، ۲۰۰۶).

¹⁰Shikimate pathway

¹¹Malonic acid pathway



شکل ۲-۶- مسیر سنتز فنول‌های گیاهی در گیاهان عالی. اغلب فنول‌ها حداقل تا حدودی از فنیل آلانین (یک فرآورده از مسیر اسید شیکمیک) مشتق می‌شوند. فرمول‌هایی که داخل پرانتز واقع شده‌اند نشان دهنده آرایش پایه اسکلت کربنی می‌باشند. (تایز و زایگر، ۲۰۰۶)

مسیر اسید شیکمیک در زیست ساختی اغلب فنول‌های گیاهی دخیل است. مسیر اسید مالونیک نیز اگر چه منبع مهمی برای تولیدات ثانویه فنولی در باکتری‌ها و قارچ‌ها به شمار می‌رود، اما اهمیت آن در گیاهان عالی کمتر می‌باشد. مسیر اسید شیکمیک پیش ماده کربوهیدرات‌های ساده‌ای که از مسیر گلیکولیز و مسیر پنتوز فسفات مشتق شده‌اند را به اسید آمینه‌های آروماتیک تبدیل می‌کند. اسید شیکمیک یکی از ترکیبات حد واسطه مسیر است که نام خود را از توالی کل واکنش‌های این مسیر گرفته است. مسیر اسید شیکمیک در حیوانات دیده نمی‌شود، زیرا حیوانات هیچ راهی برای ساخت سه اسید آمینه آروماتیک فنیل آلانین، تیروزین و تریپتوفان که از ترکیبات غذایی ضروری در جیره غذایی دام‌ها به شمار می‌روند ندارند. فراوانترین گروه ترکیبات فنولی ثانویه در گیاهان از فنیل آلانین مشتق می‌شود. همان طوری که در شکل ۲-۷ دیده می‌شود این کار با حذف یک مولکول آمونیاک از فنیل آلانین و تشکیل اسید سینامیک انجام می‌شود (تایز و زایگر، ۲۰۰۶).

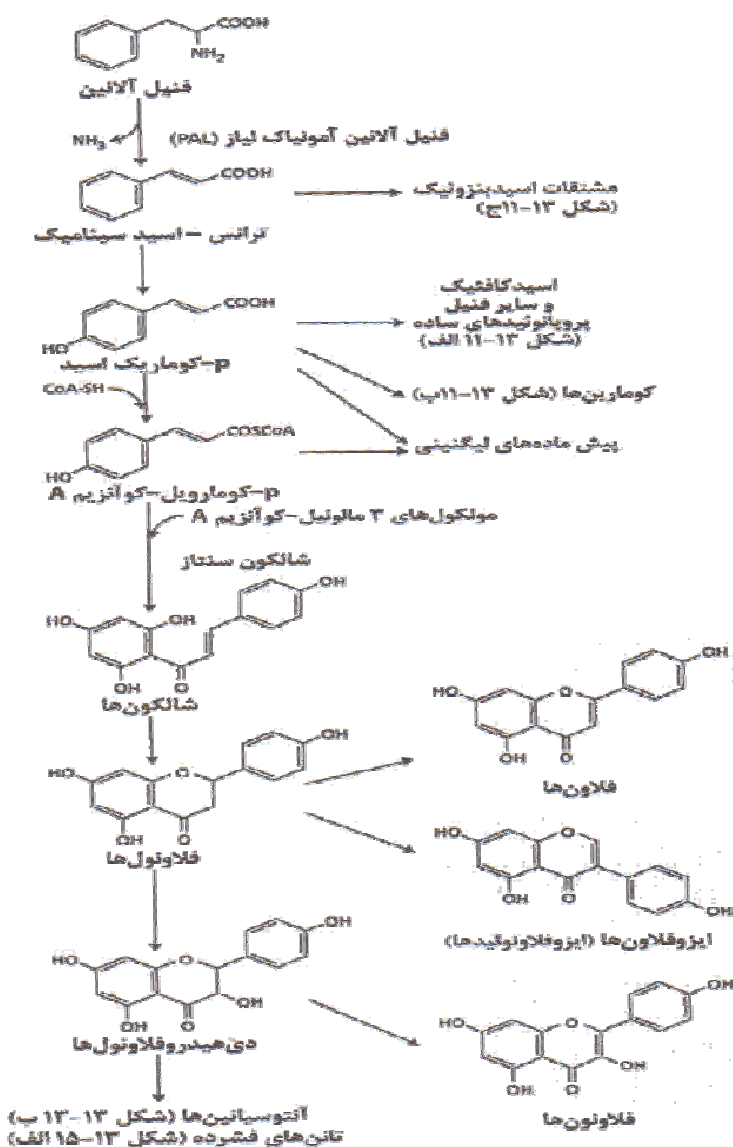
این واکنش به واسطه‌ی فنیل آلانین آمونیلیاز کاتالیز می‌شود، فعالیت این آنزیم تحت

تأثیر عوامل محیطی نظیر مقادیر کم مواد غذایی، نور (از طریق تاثیر آن بر فیتوکروم) و آلودگی قارچی افزایش می‌یابد. به نظر می‌رسد که آغاز نسخه برداری، نقطه‌ی کنترل باشد. واکنش‌هایی که متعاقباً به واسطه‌ی PAL^{۱۲} کاتالیز می‌شوند، منجر به اضافه شدن گروه‌های هیدروکسیل بیشتر و سایر ترکیبات می‌شوند. ترانس-سینامیک اسید، P-کوماریک اسید و مشتقات آن‌ها ترکیبات فنولی ساده هستند که به آن‌ها فنیل پروپانویدها گفته می‌شود، چرا که این ترکیبات دارای یک حلقه‌ی بنزنی و یک زنجیره جانبی سه کربنه می‌باشند. گروه P-کوماریک اسید با اتصال به گروه COA-SH تبدیل به P-کوماریل-کوآنزیم A^{۱۳} می‌شود که این ترکیب با استفاده از مولکول‌های مالونیل-کوآنزیم A و آنزیم شالکون سنتاز^{۱۴} تبدیل به شالکون می‌شود که با سایر تغییرات ساختاری انواع گروه‌های فلاونوئیدی سنتز می‌شود (تایزویاگر، ۲۰۰۶).

¹²Poly phenol ammoniya lyase

¹³P-coumaryl-coenzyme A

¹⁴Chalcone synthase



شکل ۲-۷- نمایش فهرست وار زیست ساختی فنول از فنیل آلانین. تشکیل برخی از فنول‌های گیاهی، شامل فنیل پروپانویدهای ساده، کومارین‌ها، مشتقات اسید بنزویک، لیگنین، آنتوسیانین‌ها، ایزوفلاون‌ها، تانن‌های فشرده و سایر فلاونوئیدها با فنیل آلانین آغاز می‌شود. (تایز و زایگر، ۲۰۰۶)

۲-۴-۲- ویژگی‌های درمانی ماده شالکون

فعالیت‌های بیولوژیکی برای ماده شالکون از جمله فعالیت حشره‌کشی، ضد سرطانی،

ضد باکتری، ضد قارچی، ضد ویروسی، ضد تومور، ضد مالاریا، ضد زخم و ... گزارش شده است (Hijova, 2006; Arora et al., 2012).

۲-۴-۳- منابع ماده شالکون

ماده شالکون در انواع بسیاری از سبزیجات و میوه‌جات از جمله: سیب، گلابی، توت فرنگی، سیب‌زمینی، گندم و محصولات گندم یافت می‌شود. اشکال ماده شالکون در میوه‌جات و سبزیجات به صورت Phloretin, Chalconaringenin, Arbutin, Phloridzin می‌باشد (Robard et al., 1999).

۲-۵- مشخصات علف هرز یونجه (*Medicago sativa* L.)

یونجه مهم‌ترین گیاه علوفه‌ای در جهان از خانواده *Fabaceae* است که به علت دارا بودن مواد غذایی فراوان شامل پروتئین، مواد معدنی، ویتامین‌ها به ویژه ویتامین A و C و غنی بودن از نظر کلسیم، پایین بودن درصد سلولز، بالا بودن عملکرد و خوش خوراکی بالای آن برتری ویژه‌ای نسبت به گیاهان علوفه‌ای دیگر دارد و به همین دلیل آن را طلای سبز و ملکه گیاهان علوفه‌ای یا لوسرن نامیده‌اند. یونجه گیاهی چند ساله از تیره نیام داران است که در شرایط بدون علف هرز، تراکم مطلوب خود را طی چندین سال پی‌درپی حفظ می‌کند، ولی در صورت ظهور علف‌های هرز به ویژه چند ساله‌های تیره گندمیان، از تراکم مطلوب یونجه به تدریج کاسته می‌شود (کریمی، ۱۳۸۶).

۲-۶- مشخصات علف هرز خرفه (*Portulaca oleraceae*)

گیاه خرفه از خانواده *Portulacaceae* است. این گیاه یک ساله، گرما دوست و چهار کربنه، دارای بوته‌های علفی، خوابیده و گوشتی بوده و هر بوته رشد یافته آن، فضایی به قطر ۶۰ سانتی‌متر را اشغال می‌کند. بذرها از این علف هرز در فروردین تا اردیبهشت ماه جوانه زده و در تیر تا شهریور ماه گل می‌دهد و از جمله گیاهانی است که در همان سال به طریق رویشی نیز زیاد شده و گسترش می‌یابد (پور طوسی و همکاران، ۱۳۸۷).

۲-۷- مشخصات علف هرز شبدر برسیم یا مصری (*Trifolium alexandrinum* L.)

شبدر برسیم از خانواده *Leguminous* است. گونه‌هایی از این گیاه می‌توانند نقش گیاه پوششی را در بعضی محصولات بازی کنند (Mohammadi et al., 2012). شبدر مصری

گیاهی سرما دوست بوده و منشأ آن خاورمیانه است (Knight, 1985). این گیاه دارای قابلیت کشت به عنوان گیاه پوشش یک ساله در سیستم‌های زراعی می‌باشد. بازگشت شبدر برسیم به خاک سبب افزایش نیتروژن خاک، کاهش استفاده از کود ازت و بهبود کیفیت خاک می‌گردد (Ross et al., 2004).

۸-۲- مشخصات علف هرز تاج خروس (*Amaranthus retroflexus* L.)

تاج خروس ریشه قرمز گیاهی یک ساله و از خانواده *Amaranthaceae* است که به وسیله بذر تکثیر می‌یابد و دارای ریشه‌ای به رنگ قرمز یا صورتی و ساقه‌های راست با ارتفاع ۰/۱ تا ۲ m می‌باشد و یک بوته آن قادر به تولید بالغ بر صد هزار عدد بذرمی‌باشد (Kenzevic and Horak, 1998). این گیاه یکی از علف‌های هرز شایع مزارع اکثر مناطق دنیاست که باعث ایجاد مشکلاتی در رشد محصولات زراعی می‌شود و به دلیل داشتن مسیر فتوسنتزی C4 دارای قدرت رقابت زیاد تحت شرایط درجه حرارت بالا، رطوبت پایین و نور شدید می‌باشد (Kenzevic et al., 1994).

۹-۲- مشخصات قارچ فوزاریوم گرمینروم (*Fusarium graminearum*)

یکی از مهم‌ترین بیماری‌های ذرت در سرتاسر جهان پوسیدگی خوشه می‌باشد. این بیماری توسط گونه‌های *Fusarium* ایجاد می‌شود. پوسیدگی فوزاریومی خوشه (*Fusarium earrot*) به عامل *Fusarium graminearum* معمولاً در آب و هوای گرم و خشک و در طول دوره دانه‌دهی رخ می‌دهد (Sutton, 1982).

۱۰-۲- مشخصات قارچ اسکروتینا اسکروتیوروم (*Sclerotinia sclerotiorum*)

مطالعات اندکی روی فعالیت ضد قارچی ترکیبات ثانویه علیه پاتوژن خاک‌زاد *Scierotinia* انجام شده است. این قارچ در سرتاسر جهان انتشار دارد و بر روی بیش از ۴۸۰ گونه گیاهی که محصولات روغنی را نیز شامل می‌شوند، بیماری‌زا است. پوسیدگی ساقه که به وسیله این قارچ ایجاد می‌شود، یکی از بیماری‌های مهم در سویا و کلزا است (Hind et al., 2003).

Title and Author:	Investigation on allelopathic activity of chalcone and its nanoparticle derivative/Mina Tashvignezhad
Supervisor:	Seyed Mehdi Razavi, Alireza Ghasemian
Graduation date:	2019/1/21
Number of pages:	95

Abstract

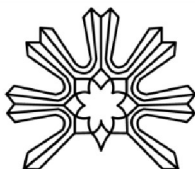
Research Aim: The present research synthesized with PLGA polymer chalcone polymeric nanoparticles and was carried out to investigate the possibility of optimal and environment-friendly usage of chalcone and nanoparticle chalcone derivative to fight against herbal pests and weeds.

Research method: In this research, the inhibitory effects of chalcone and its nanoparticle derivative evaluated on some herbal pathogenic fungi such as *Sclerotinia sclerotiorum*, *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus flavus*, *Fusarium graminearum*, and some pathogenic bacteria such as *Erwinia coratova*, *Xanthomonas compestris* and *Bacillus cereus* by using of disc spreading and MIC determination methods. Moreover, inhibitory effects of these compounds on the germination and growth of common weed including: *Amaranthus retriflexus*, *Portulaca oleracea*, *Medicago sativa*, *Trifolium alexandrinum L.* were studied. The examinations were performed by preparation of chalcone and its nanoparticle derivative at (0.001, 0.01, 0.1, 1 ml/ml) concentrations for seeds, at (0.25, 0.5, 1.5, 1, 2 mg/ml) concentrations for fungi, and at (1, 10, 20, 30, 40 mg/ml) concentrations for bacteria; and their effects were evaluated on in-plate treatment. Data were analyzed by SPSS 21 software.

Findings: Results showed that chalcone has significant decreasing effect on seed germination, radicle and shoot growth in all concentrations at 5% probability, and increasing the concentration of chalcone decreased fungus growth, but increasing the concentration of chalcone exhibited a weak antibacterial effect especially on gram negative bacteria. The results showed that chalcone at concentrations of 1 mg/ml completely affected seed of *Amaranthus retriflexus*, chalcone nanoparticles had more decreasing effect on fungus growth in comparison with chalcone, so that it decreased fungus growth by 30% but not for bacteria.

Conclusion: According to the results, chalcone and chalcone nanoparticles can be suggested as replacement of harmful chemicals against pests and weeds. Chalcone nanoparticles were more effective.

Keywords: Antifungal, Antibacterial, Chalcone, Nanoparticle Chalcone Derivative, Pests, Weed.



University of Mohaghegh Ardabili
Faculty of science
Department of Biology

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

Investigation on allelopathic activity of chalcone and its nanoparticle derivative

By:
Mina Tashvignezhad

Supervisor:
Seyed Mehdi Razavi (Ph. D)
Alireza Ghasemian(Ph. D)

Advisor:
Asadolah Asadi(Ph. D)
Parisa Nasrollahi (M.Sc)

January 2019