**1-1-کلیات گیاهان دارویی**

**1-1-1-سیر تحول گیاهان دارویی**

برای پیگیری تاریخچه‌ی گیاهان دارویی ابتدا باید تاریخچه داروشناسی را بررسی کرد چون تا قرن 19میلادی گیاهان دارویی برای درمان بیماری­ها استفاده می­شد. اطلاعات اولیه دانش گیاه شناسی در مورد کاربرد درمانی گیاهان، بیشتر حکایت از نقش غریزه در انتخاب آنها دارد ولی با گذر بشر از دوران ماقبل تاریخ به دوران باستان، انسان شروع به کاربرد عقل و منطق نموده و با محاسبات منطقی به خلاقیت­های خاصی برای بهبود روش و­کیفیت زندگی خود دست یافت.

اگر از دوران ماقبل تاریخ بگذریم، تاریخ کهن شناخت گیاهان دارویی به عهد عتیق و به دوران ارسطو
برمیگردد. ارسطو (330ق. م.) اولین کسی است که آثار و مطالبی مکتوب مربوط به شناخت گیاهان دارد. بعد از او، تئوفراست شاگرد ارسطو که در سالهای 258-380 قبل از میلاد طبیب بود و میتوان از بقراط بزرگترین پزشک جهان باستان و هم عصر تئوفرا ست یاد کرد که ادامه مکتب بقراط بعدها منجر به مکتب طب جالینوسی شد (قهرمان، 1383). بعد از این دانشمندان عهد عتیق میتوان در سال­های23 تا 27 بعد از میلاد مسیح از پلینی کهن و همچنین از دیوسکورید نام برد. هزاره اول بعد میلاد دوران طلیعه دانش گیاهی در شرق است که تاریخی جدا و در عین حال در مواردی متأثر از شیوه های درمان غرب آن روز داشت. از دانشمندان مهم عرصه گیاه‌شناختی دارویی، می‌باید از یوحنا بن ماسویه پزشک گیاه‌شناس نام برد. از دیگر دانشمندان اسلامی و ایرانی می‌توان از محمد زکریای رازی، علی بن عباس ارجانی، ابن سینا و ابوریحان بیرونی نام برد. بعد از آثار این دانشمندان که در حقیقت دوران شکوفایی علم در شرق و عصر دوران فضای اندیشه باز اسلامی در مقابل فضای بسته تفکر قرون و سطی غرب می‌با شد، یکباره با پیدایش رنسانس و تحولات علمی در غرب، جهش علمی بزرگی در اروپا به وجود آمد.

هربالیست‌های غربی برای درمان از گیاهان دارویی جمع آوری کرده از طبیعت استفاده می­کردند و از بین همین هربالیست­ها، دانشمندان و محققان بزرگی برخاستند که انتشار آثار آنان سبب اعتلای علمی غرب یا اروپا شد. این دوره، آغاز تجربه شناخت علمی گیاهان همراه با توصیف دقیق و همچنین آغاز شرح نویسی علمی برای انتقال بهتر آگاهی ها و دانسته ها از گیاهان بود (قهرمان، 1383).

به تدریج که بر تعداد گیاهان دارویی جمع آوری شده افزوده می­شد، تفکیک و تمایز آنها از هم دشوارتر شده و ضرورت طبقه بندی به طریق ویژه و با روش­های علمی تازه با نام علم رده بندی (تاگزونومی) برای شناسایی گیاهان پیش آمد. از این پس تا زمان لینه و حتی بعد از او انگیزه اصلی، شناسایی گیاهان دارویی بود. در پایان نیمه اول قرن بیستم، با پیشرفت علم شیمی و رایج شدن مواد پز شکی ساخته شده و همچنین شناخت مواد موثره درمانی گیاهان و استخراج و تعیین فرمول آنها برای استفاده دارو، منجر به توسعه صنعت داروسازی و شیمی درمانی شد. ساخت مصنوعی این مواد و به بازار آمدن داروهای گوناگون ساخته شده با تعیین دوز مصرف، به ویژه تأثیر سریع آنها در درمان، سبب شد تا استفاده از گیاهان دارویی به تدریج به دست فرامو شی سپرده شود. اما اثر جانبی داروهای شیمیایی، الزامات زیست محیطی و روند تدریجی گرایش به سوی فرآورده های طبیعی سبب شد که به ویژه در سال­های اخیر استفاده از گیاهان دارویی در کشورهای پیشرفته شتاب بیشتری یابد (قهرمان، 1383).

**1-1-2-بازار گیاهان دارویی**

اگرچه طب نوین مستلزم به کارگیری داروهای سنتزی و عوامل میکروبی است، سهم عمده ای از صنعت دارویی جهان به منابع گیاهی اختصاص دارد. در حال حاضر بیش از یک چهارم داروهای تجویزی مورد استفاده در کشورهای توسعه یافته به طور مستقیم یا غیر مستقیم (نیمه سنتزی) از گیاهان مشتق می شود و فروش سالانه این داروها تنها در کشور آمریکا در سال 2002 بیش از 30 بیلیون دلار بوده ا ست (Fowler, 2006)

امروزه با توجه به گسترش فرهنگ حفظ سلامتی در میان اقشار مختلف مردم استفاده از گیاهان دارویی به صورت متداول شده و گردش مالی حدود 50 میلیارد دلار را در سال 2006 داشته است. در حال حاضر 71 درصد از داروهای مصرفی آلمان را داروهای گیاهی تشکیل می­دهد. میزان مصرف داروهای گیاهی در سوییس 35 در صد، در آمریکا و انگلیس 25 درصد، در ژاپن 40 درصد، در چین و هند بیش از 50 درصد می‌باشد و در ایران، این نسبت به حدود 4 درصد میرسد.

مقایسه بهره ناچیز و روش ابتدایی و قدیمی ما از این گیاهان، نسبت به استفاده کلان و اقتصادی همراه با تکنولوژی پیشرفته از گیاهان دارویی در دیگر کشورهای جهان که از نظر غنای این ثروت خدادادی در حد ما نیستند، نشان از اتلاف آشکار این ثروت عظیم کشور دارد و بسیار جای تأسف است و تأسف بیشتر برداشت غیرمسئولانه این گیاهان به طور انبوه از محیط است که باعث انهدام و انقراض آن در طبیعت میگردد و خود فاجعه ای است نامعقول در هدررفتن ثروت ملی و برهم خوردن شرایط تعادل زیست محیطی کشور و این در حالی است که بهره گیری درست آن می­تواند جای درآمد نفت را بگیرد (قهرمان، 1383).

**1-1-3- وضعیت گیاهان دارویی در ایران**

کشور پهناور ما که بخش عمده فلات ایران را شامل می­شود، بیش از 1648000 کیلومتر مربع وسعت دارد. در اطراف این فلات، کوه های مرتفع فراوان و رشته کوه های متعددی مشاهده می­شوند و در نتیجه اختلاف ارتفاع نسبتاً زیادی را به وجود آورده اند که از 24 متر در سواحل دریای خزر تا 5628 متر در قله دماوند تغییر می­کند. اختلاف درجه حرارت و میزان بارندگی در نقاط مختلف ایران بسیار متفاوت بوده و در برگیرنده سه ناحیه رویشی اروپا-سیبری، ایرانو- تورانی و خلیج و عمانی می‌باشد. در نتیجه چنین شرایط متنوع اقلیمی زیست بوم­های بسیار متنوع و در عین حال ویژه­ای در تمام نقاط کشور به وجود آمده است. یکی از ویژگی های مهم کشور ایران دارا بودن 11 نوع اقلیم از 14 نوع اقلیم شناخته شده در دنیاست. همچنین حدود 8 هزار گونه گیاهی را در خود جای داده است که این میزان گیاه، درصد بالایی از گیاهان دارویی کل جهان را تشکیل می­دهد و از این تعداد حدود 1800 گونه، اندمیک ایران بوده و گونه هایی هستند که در هیچ جای دیگر دنیا یافت نمی­شوند. در مجموع، حدود 1400 گونه از خاصیت دارویی برخوردارند و برخی از کارشناسان معتقدند تا حدود 2300 گونه گیاه دارویی در ایران قابل رویش است (دانشیان، 1387).

کشور ایران با داشتن شرایط اقلیمی و تنوع گیاهی به مراتب بهتر از اروپا، در حال حاضر تنها 60 تا 90 میلیون دلار از تجارت جهانی گیاهان دارویی را به خود اختصاص داده است که از آن نیز بخش عمده ای مربوط به صادرات زعفران است. در حال حاضر حدود 66 هزار هکتار از اراضی کشاورزی در استان های مختلف کشور به کشت گیاهان دارویی اختصاص دارد. از مجموع مزارع اختصاص یافته به گیاهان دارویی، حدود 65 هزار تن محصول تولید می‌شود. میزان صادرات گیاهان دارویی کشور در سال 1386 به میزان 63 میلیون دلار ثبت شده است که عمده ترین اقلام زیره، گشنیز و عصاره شیرین بیان بوده اند. این در حالی است که ارزش کل واردات گیاهان دارویی و مواد اولیه گیاهی در سال 1386 به میزان 85 میلیون دلار می­باشد (سفیدکن و همکاران 1387).

کشور ایران از نظر آب و هوایی توان تولید و پرورش انواع گونه های گیاهان را دارد و اگر این کار در مجرای صحیحی قرار بگیرد، می­تواند هم بخش صنعت، هم پزشکی و هم داروسازی را متحول نماید ولی متأسفانه تعداد اندکی از این گیاهان در صنایع دارویی کشور استفاده می­شود (دانشیان، 1387).

**1-1-4-ویژگی دارویی بودن گیاهان**

ویژگی دارویی بودن گیاهان به واسطه ترکیبات متنوعی است که طی واکنش­های متابولیسمی در پیکره این گیاهان تولید و تجمع می­یابند. به طور کلی یک سری از واکنش­های شیمیایی که واسطه­ی آنزیمی دارند، در گیاهان به سنتز مولکول­هایی مثل قندها، اسیدهای آمینه، اسید­های چرب، نوکلئوتیدها و پلیمرهای آنها شامل داکسیریبونوکلئیک­اسید و ریبونوکلئیک­اسید می­انجامد. این تولید و تجمع به عنوان متابولیسم اولیه در نظر گرفته می­شود و ترکیب­های تولید شده از آن متابولیت اولیه نامیده می­شوند که برای زنده ماندن و ادامه حیات گیاه ضروری هستند. علاوه بر این، در گیاهان مسیرهای متابولیکی دیگری نیز وجود دارد که محصولات مذکور برای بقا و حیات گیاهان حامل آنها لازم و ضروری نیستند. به همین علت مسیر متابولیکی آنها را ثانوی (متابولیسم ثانوی) و مواد تولید شده از آنها را متابولیت­های ثانوی می نامند. از آنجا که بسیاری از مولکول­های کوچکی که به وسیله متابولیسم اولیه تولید می­شوند، به عنوان واحد سازنده متابولیت­های ثانوی ضروری هستند، ارتباط نزدیکی بین متابولیسم اولیه و ثانوی وجود دارد (شکل 1-1).



شکل 1-1 مسیرهای بیوسنتز متابولیتهای اولیه و ثانویه در گیاهان دارویی (امیدبیگی، )1388

مسیرهای متابولیکی بخشی از برنامه تکاملی به حساب می­آیند. در واقع متابولیسم ثانوی نشانه تمایز سلول است و شکل گیری متابولیت­های ثانوی نشانه اختصاصی شدن سلول هاست (حیدری، .(1368

**1-1-5-نقش متابولیت­های ثانویه در گیاهان**

متابولیت­های ثانویه گروه عظیمی از ترکیبات طبیعی گیاهان را تشکیل می دهند. متابولیت­های ثانویه عامل ایجاد مقاومت گیاهان در مقابل تنش های غیرزنده، جذب گرده افشان ها (به ویژه رنگیزه های آنتوسیانینی و ترکیبات ترپنوئیدی) و برهمکنش با میکروارگانیزم های همزیست نیز می­باشند. از نظر بیولوژیکی و فیزیولوژیکی جزء ترکیبات فعال محسوب میگردند. تجمع مقادیر زیاد آنها در گیاهان ضروری نیست و این متابولیت ها در مقادیر بسیار کم تولید می­شوند. علاوه بر موارد مذکور، کیفیت گیاهان خوراکی (طعم، رنگ، بو) و زینتی (رنگ، بو، نقش) نیز وابسته به ترکیبات ثانویه است (Bourgaud et al., 2001; Tiwari and Rana, 2015).

**1-1-7-طبقه بندی متابولیت های ثانویه**

گیاهان طیف وسیعی از ترکیبات طبیعی را تولید می­کنند که اغلب بر اساس خصوصیات شیمیایی و مسیر بیوسنتزی طبقه بندی می­گردند

**1-1-7-1-ترپنوئیدها**ترپنوئیدها که ساختار شیمیایی حدود 40 هزار ترکیب از آنها در عالم گیاهی توصیف شده است، بدون شک مهم­ترین و بزرگ­ترین گروه متابولیت­های ثانویه را تشکیل می­دهند. ترپنوئیدها نقش­های مهمی در فرایندهای اساسی و ساختمان گیاهان از قبیل فتوسنتز (کارتنوئیدها و زنجیره جانبی کلروفیل­ها)، انتقال الکترون (یوبیکینون و پلاستوکینون)، ساختمان غشای سلول (استروئیدها) و تنظیم رشد و نمو سلول (جیبرلین­ها، آبسیزیک­اسید و براسینو استروئیدها) ایفا می­نمایند. علاوه بر این کاربردهای دیگری نیز دارند، محافظت از گیاهان در برابر هجوم علف­خوارها و عوامل بیماری­زا و جذب گرده­افشان­ها از جمله آن­ها می باشد. به عنوان مثال میرسن ،آلفا-پینن و پیرترین ترکیبات حشره-کش و لینالول و 1و8-سینئول ترکیبات جذب کننده گرده­افشان­ها هستند. از دیدگاه اقتصادی، ترکیبات ترپنی از اهمیت اقتصادی فراوانی نیز برخوردارند. به عنوان مثال تریترپن، ساپونین­ها و استروئید ساپونین­ها ترکیبات دارای خواص دارویی بسیار ارزشمند هستند و از اسانس­های گیاهی و اجزای آنها به فراوانی در صنایع مختلف دارویی، غذایی، عطرسازی و آرایشی - بهداشتی استفاده میشود(Samuelsson and Bohlin, 2017)

**1-1-7-2-ترکیبات فنولی**

ترکیبات فنولی به ترکیباتی اطلاق می­گردد که دارای یک یا چند استخلاف هیدروکسی با اتصال مستقیم بر روی یک هسته آروماتیک باشند. برخی از این متابولیت­ها شامل ترکیبات ) C6ترکیبات فنولی ساده)، C6-C1 (هیدروکسی بنزوئیک اسیدها و مشتقات آنها)، ) C6-C3فنیل پروپانوئیدها، هیدروکسی سینامیک اسیدها، اومبلیفرون و لیگنان ها)، ) C6-C3-C6فلاوانون­ها، فلاوون­ها، فلاوونول­ها، کاتکول­ها، لوکوآنتوسیانیدین­ها، آنتوسیانین­ها و آنتراکینون­ها) و پلی فنول ها هستند (جدول 1-1و شکل 1-2). ترکیبات فنولی عهده دار وظایف اکولوژیک بی­شماری در گیاهان مولد خود هستند که برخی شامل محافظت از گیاهان در برابر تنش­های زنده و غیرزنده و افزایش توان گیاه برای رقابت با گیاهان مجاور از طریق کاهش رشد آنها می باشد (Buchanan et al., 2015).

جدول 1-1 برخی ترکیبات فنولی دارای اهمیت اکولوژیکی(Harborne, 2013)



**1-1-7-3-آلکالوئیدها**آلکالوئیدها ترکیباتی نیتروژنه با وزن مولکولی اندک هستند و در حدود 20 درصد گونه های گیاهی یافت می­شوند. این متابولیت­ها فراوان­ترین ترکیبات شناخته شده گیاهی پس از ترپنوئیدها به شمار می­روند و تاکنون ساختار شیمیایی بیش از 12 هزار نوع آلکالوئید توصیف شده است .(Facchini, 2001) فعالیت های بیولوژیک قوی آلکالوئیدها منجر به استفاده از آنها در تهیه برخی داروها و سموم گردیده است (Julsing et al., 2006). از جمله آلکالوئیدهای مهم گیاهی که کاربرد گسترده­ای در پزشکی دارند می­توان به کدئین و مرفین (ضد درد)، وینبلاستین و تاکسول (ضد سرطان)، کینین و کلروکینین (ضد مالاریا)، کلشیسین (ضد نقرس،) آجمالین (ضد روماتیسم)، سانگوینارین (آنتی بیوتیک) و اسکوپولامین (آنتی کلینرژیک) اشاره نمود (Aniszewski, 2007).

**1-1-7-4-اسانس ها**

اسانس ها گروه عظیمی از متابولیت­های ثانویه هستند که ترکیباتی فرار و معطر بوده که در مسیرهای
بیوشیمیایی ویژه در گیاه، تولید و ذخیره میشوند. گزارشات نشان داده است که تمام گیاهان اسانس دار در مکان معینی سنتز ترپن را انجام نمی­دهند. از لحاظ خصوصیات فیزیکی این متابولیت ها عمدتاً ترکیباتی بی­رنگ و فرارند و در حلال­های آلی مانند الکل به خوبی حل می­شوند اما در آب حلالیت کمی دارند ( بقالیان و نقدابادی، 1379 ;سفیدکن، 1386).



شکل 3-1مسیر بیوسنتزی ترکیبات فنولی (امیدبیگی،1388 )

**1-2-زرین گیاه**

**1-2-1- مشخصات گیاهشناسی**

جدول1-2مشخصات گیاهشناسی زرین گیاه (نخجوان پور 1368)

|  |  |
| --- | --- |
| **شاخه**  | **پیدازادان)** Phanerogames( |
| **زیر شاخه**  | نهاندانگان Angiosperms |
| **رده**  | دولپه ای ها Dicotyledones |
| **زیر رده**  | پیوسته گلبرگان Dialypetales |
| **راسته**  | توبی فلورال ها Tubiflorales |
| **راسته فرعی**  | شاهپسند Verbenales |
| **تیره**  | نعناع |
| **جنس**  | دراکوسفالوم |
| **گونه**  | زرین گیاه |

زرین گیاه (*Dracocephalum kotschyi* Bioss)گونه بومی (اندمیک) ایران که به نام های زرین­گیاه و بادرنجبویه دنایی شناخته می شود به علت پراکنش وسیع آن در ایران با نام های متعددی از آن یاد می شود مثلا بختیاری های به آن زرّابی، در الموت به آن بالنگ بو وهم چنین در برخی مناطق به آن پلنگ مشک نیز اطلاق میشود. در مناطق مرکزی و غربی ارتفاعات 2000 تا 3000 متری رشته کوه البرز یافت می شود (Rechinger, 1986). زرین­گیاه گیاهي است چندساله، نیمه چوبي به ارتفاع 1۱
الي 18سانتی­متر، ساقه های متعدد چوبي، ایستاده، برگ­های دمبرگ­دار، تخم­مرغي شکل، دارای دندانه
های نوک کند یا کنگره­ای و گل­های بزرگ سفید یا متمایل به زرد، مجتمع در چرخه های واقع
دربندهای ساقه به صورت خوشه های انتهایي و حامل براکته های پهن و دراز مي­باشد که در حاشیه غالباً
دارای دندانه های منتهي به نوک نازک و بلند رشته ای شکل است. گل های این گیاه از نیمه دوم
اردیبهشت ماه ظاهر و تا اوایل تیرماه ادامه مي­یابد. گلدهي در زرین گیاه در یک­زمان انجام نمي­شود،
بلکه به تدریج تا اوایل تیرماه ادامه دارد. زمان آغاز بذردهي نیز متغیر است و یک هفته بعد از گل­دهي
مرحله بذردهي شروع مي­شود و بعد از تکمیل بذردهي معمولاً در هر میوه دو دانه و گاهي یک، سه و
چهار دانه سالم تشکیل مي­شود (Heydari et al., 2019؛ اطرشي و مرادی، 1391)



شکل 1-3 گیاه زرین گیاه در طبیعت

**1-2-2-رشد و تکثیر**

رشد و تکثیر این گیاه، از طریق کاشت بذر و کشت بافت امکان­پذیر مي­باشد (اطرشي و مرادی، 1391).
**1-2-3-دلایل در معرض انقراض قرار گرفتن زرین گیاه**زرین گیاه یکي از گونه­های در حال انقراض ایران مي­باشد که برداشت بي رویه این گیاه در مرحله
گل­دهي توسط افراد بومي مانع از به بذر نشستن این گیاه شده و در نتیجه باعث کاهش جمعیت این گیاه
در محل شده است(Ghavam, 2019). از طرفي برخي عوامل طبیعي مانند فرسایش و غیرطبیعي
مانند بهره­برداری بي­رویه باعث شده است که این گیاه به گونه در حال انقراض تبدیل شود. به طور کلي از عوامل محدودکننده فراواني و پراکنش زرین گیاه، مي­توان شرایط خاص اقلیمي و آب و هوایي رویشگاه، ارتفاع از سطح دریا، عمق کم خاک و شیب تند را نام برد که مجموع این عوامل در کنار هم باعث شده است تا رویشگاه بسیار محدودی از این گونه وجود داشته باشد (اسعدی و خشنود یزدی،1389).

**1-2-4-ترکیبات شیمیایی**

ترکیبات موجود در زرین گیاه از لحاظ دارویي ارزشمند بوده و حاوی اسانس، فلاونوئید،
رزمارینیک اسید و گلیکوزیدهای مونوترپن مي­باشد. ترکیب فلاونوئیدی از این گیاه گزارش شده است از اندام­های این گیاه دو منوترپن گلیکوزید جدید به همراه یک ترپنوئید و فیتواسترول جدا شده است که به عنوان ضد درد در موش مورد آزمایش قرار گرفته است. اجزای اصلي اسانس این گیاه شامل لیمونین، وربنون، االفا-ترپینول، الکل پرینیل، کایوفیلین مي­باشد. لیمونین که یکي از اجزای اصلي اسانس زرین گیاه مي­باشد به عنوان یک مهارکننده آنزیم مبدل آنژیوتانسین، ضدتومور، ضد ویروس، باکتریکش، عامل پیشگیری کننده از سرطان، ضد کاندیدیا، خلط آور، مهارکننده رشد قارچ، ضداسپاسم و مسکن موثر ميباشد. ژرانیول نیز یکي از ترکیباتي است که در اسانس زرین گیاه وجود دارد و سبب ممانعت از رشد و سنتز پلي­آمینها در سلول­های سرطاني انسان شده است. وجود ترکیبات فلاوني بنام گزانتومیکرول در برگ­های زرین گیاه گزارش شده است که این ترکیب مسئول اصلي خاصیت ضد سرطاني در این گیاه مي­باشد (Golshani et al., 2004; Heydari et al., 2019).

**1-2-5-کاربرد در طب سنتی**

این گیاه دارای کاربرد دارویي، ادویه­ای و عطری مي­باشد. از مصارف ادویه­ای این گیاه در مناطق
مختلف مي­توان به استفاده از آن به صورت دمنوش، چای و به عنوان برطرف کننده مزاج سرد دوغ اشاره
کرد. عرق آن دارای طبیعت گرم بوده و به صورت شربت بعد از غذا میل مي­شود. خواصي که برای عرق این گیاه ذکر شده شامل تقویت حافظه، درمان بیماریMS، سریع کردن جریان خون، درمان سرگیجه، وزوز گوش و سردرد، ضد صرع و تشنج و مؤثر در ریزش مو مي­باشد
(Fattahi et al., 2013; Golshani et al., 2004).

**1-3- تنش خشکی**

قرار گرفتن مداوم بیوسفر در معرض تنش های غیرزیستی ، به عنوان مثال ، خشک­سالی ، شوری ، درجه حرارت بالا ، سمیت شیمیایی ، استرس اکسیداتیو و غیره باعث عدم تعادل در وضعیت طبیعی محیط می شود. هر ساله ، تنش ها بر گیاهان در مناطق مختلف جهان ، کشاورزی و مواد غذایی را با پیامد نهایی - قحطی مختل می کند. عوامل کنترل کننده شرایط تنش تعادل طبیعی را تغییر می دهد و منجر به یک سری تغییرات مورفولوژیکی ، فیزیولوژیکی ، بیوشیمیایی و مولکولی در گیاهان می شوند که تأثیر منفی بر رشد و بهره وری آنها می گذارد. ميانگين محصولات گياهان به دليل تنش ، بيش از 50 درصد كاهش مي يابد. با این حال ، گیاهان با مجموعه ای از فرایند های بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی که شامل عملکرد بسیاری از ژن های مرتبط با استرس است، سازگاری های ذاتی با شرایط تنش ایجاد کرده اند(Lisar et al., 2012).

تنش خشکی یکی از نامطلوب ترین عوامل رشد و بهره وري گیاهان است و تهدیدي جدي براي تولید محصولات کشاورزي پایدار در شرایط متغییر آب و هوائی در نظر گرفته شده است. سازوکار هاي مقاومت به خشکی به چندین نوع مختلف تقسیم می شوند که شامل تحمل به خشکی در پتانسیل آب بالا، تحمل به خشکی در پتانسیل آب پائین و فرار از خشکی می باشند، فرار از خشکی در گیاهان دیده می شود که چرخه زندگی خود را در طی فصل مرطوب و قبل از شروع فصل خشک کامل می کنند. این گروه از گیاهان اجتناب کنندگان واقعی از تنش خشکی هستند. به علاوه، گیاهان سازو کارهاي سازگاري دارند که در شرایط کمبود آب و تنش اسمزي فعال می شوند. به طور کلی اثر خشکی روي گیاهان پیچیده و متغیر است و به وسیله فاکتورهاي دیگر، تشدید میشود. گونه گیاه و مرحله رشدي گیاه نیز از جمله عوامل مؤثر بر شدت اثرات القاء شده با خشکی میباشند(Zobayed et al., 2007).

 **بطور کلی خشکی نه تنها در روابط آب از طریق کاهش محتوای آب ، تورگر و کل آب تأثیر می گذارد ، بلکه بر بسته شدن روزنه نیز تأثیر می گذارد ، تبادل گاز را محدود می کند ، تعرق را کاهش می دهد و میزان جذب کربن (فتوسنتز) را کم می کند. اثرات منفی بر تغذیه مواد معدنی (جذب و انتقال مواد مغذی) و متابولیسم منجر به کاهش سطح برگ و تغییر در پارتیشن بندی جذب می شود. همچنین تغییر در قابلیت ارتجاعی دیواره سلول های گیاهی و اختلال در هموستاز و توزیع یون در سلول گزارش شده است. تحت تنش آب انبساط سلول کند می شود یا متوقف می شود و رشد گیاه عقب می ماند. با این حال ، استرس آب بیشتر از تقسیم سلولی بر بزرگ شدن سلول تأثیر می گذارد**(Lisar et al., 2012)**.**

**1-3-1-اثرات تنش خشکی در سطح سلولی**

تقریباً کلیه واکنش­های گیاهی به طور م ستقیم تحت تأثیر وجود آب قرار می­گیرند. تنش خشکی منجر به خروج آب از سیتوپلا سم به سمت فضای بیرون سلول، تغییرات حجم سیتوپلاسمی و واکوئلی سلول، از دست رفتن فشار تورژسانس سلول، تغییر سیالیت غشاها، تغییر ترکیب غشاها و تغییرات اسمزی سلول می­گردد. در نتیجه تنش خشکی تغییرات محافظتی زیادي در سلول رخ می­دهد، از جمله تغییر سطح بیان ژنهاي LEAو دهیدرین­ها، سنتز چاپرون­هاي مولکولی که مانع تخریب پروتئین­هاي همراهشان می­شوند، فعال­سازي آنزیم­هاي دخیل در حفاظت و برداشت گونه های فعال اکسیژن (ROS ) و پروتئین­هایی که عملشان برداشت پروتئین­هاي دناتوره شده و آسیب دیده است(Wang et al., 2009).

**1-3-2-اثرات تنش خشکی بر رشد گیاه**

تنش خشکی بیشتر از هر عامل محیطی دیگري رشد گیاهان را محدود می کند(Fu and Huang, 2001). در تنش خشکی محتوای نسبی آب گیاه((RWCکاهش می­یابد که باعثکاهش فشار تورگر سلول­ها شده و سلول­ها چروکیده می­شوند. کاهش فشار تورگر سلول­ها بر روی توسعه سلولی و
در نهایت بر روی رشد کل گیاه اثر می­گذارد (Wilkinson and Davies, 2010). اولین اثر ظاهری
خشکی برروی گیاهان، اندازه کوچک­تر و تعداد کمتر برگ­ها و یا ارتفاع کمتر گیاه می­باشد. تنش خشکی از طریق کاهش سطح برگ، کاهش سنتز پروتئین و کلروفیل سبب تقلیل
فتوسنتز می­گردد.کاهش وزن ریشه و ساقه را می­توان به کاهش فتوسنتز نسبت داد (Hsiao, 1973).

کاهش پارامترهای رشد ساقه همانند وزن خشک ساقه، سطح برگها و تعداد برگها به عنوان یک مکانیسم سازگاری برای کاهش اتلاف آب از برگها یک مزیت غیرمستقیم براي گیاه محسوب می­شود. رشد برگ معمولاً حساس­تر از رشد ریشه است و مهمولا در تنش خشکی کاهش پارامترهای رشد ساقه در مقایسه با پارامترهای رشد ریشه بیشتر بوده است به همین دلیل نسبت ریشه به ساقه در این تنش افزایش نشان می­دهد. از طرف دیگر تنش خشکی منجر به افزایش میزان تنفس در گیاه می­شود و در صورت طولانی بودن شرایط تنش کم­آبی میزان مصرف کربوهیدرات در گیاه افزایش یافته و در نتیجه رشد به شدت کاهش می­یابد. همچنین تنش خشکی به طور مستقیم باعث کاهش در جذب و ماده سازي و در نتیجه کاهش رشد می­گردد (Taiz and Zeiger, 2002).

**1-3-3-اثر تنش خشکی بر رنگیزه هاي فتوسنتزي**

فتوسنتز در کمبود آب بسیار حساس است. مقاومت گیاهان در برابر کمبود آب ، باعث تغییر در متابولیک و تنظیم مجدد عملکردی و ساختاری دستگاه فتوسنتز می شود. میزان فتوسنتز پایین یک اثر معمول استرس آب در گیاهان است و در درجه اول به محدودیت روزنه و در درجه دوم به نقص متابولیک نسبت داده شده است. برخی عوامل وجود دارد که باعث کاهش فتوسنتز گیاهان در شرایط تنش آبی می شود. از میان آن­ها ، تغییرات کمی و کیفی در رنگدانه های فتوسنتز کننده ، جذب کم CO2 به دلیل بسته شدن و مقاومت در برابر روزنه ، میزان جذب ضعیف در برگهای فتوسنتزی است. میزان جذب در برگ­های فتوسنتزی به دلیل کاهش متابولیت­های فتوسنتزی و فعالیت آنزیم­ها ، راندمان کربوکسیلاسیون پایین و مهار فعالیت کلروپلاست در پتانسیل کم آب کاهش می یابد. از دیگر عوامل موثر در استرس آب ، آسیب رساندن به دستگاه فتوسنتزی از طریق تولید ROS مانند رادیکالهای سوپر اکسید و هیدروکسیل ، قابل ذکر است.

تنش آبی سنتز کلروفیل را در چهار مرحله متوالی مهار می کند 1) تشکیل 5-آمینولوولینک اسید،(ALA)

2) تبدیل ALA به پورفوبیلینوژن که سپس به پروتوکلروفیلید تبدیل شده است. 3) تبدیل وابسته به نور پروتئین کلروفیلید به کلروفیلید و 4) سنتز کلروفیل a و b همراه با گنجاندن آنها در کمپلکس های رنگدانه-پروتئین دستگاه فتوسنتزی. در اکثر موارد ، کاروتنوئیدها نسبت به کلروفیل نسبت به استرس آب حساسیت کمتری دارند ، که برای چندین گونه از گیاهان اثبات شده است. روبیسکو، آنزیم اصلی برای متابولیسم کربن در برگ­ها ، به عنوان یک کربوکسیلاز در چرخه کالوین و به عنوان اکسیژناز در تنفس عمل می کند، که با این حال ، اغلب به عنوان یک روند نامطلوب مشاهده می شود. روبیسکو نقش مهمی بر فیزیولوژی گیاهان در شرایط تنش آب دارد. در شرایط تنش آبی ، کاهش سریع مقدار روبیسکو در اکثر گیاهان اتفاق می افتد که به نوبه خود منجر به فعالیت کم آنزیم می شود. (Lisar et al., 2012)

**1-3-4-تأثیر خشکی بر پراکسیداسیون لیپیدی غشا**

در گیاهانی که در معرض تنش­های محیطی قرار گرفته­اند، نفوذپذیری غشاهای سلولی به دلیل صدمات
ناشی از تجمع گونه های فعال اکسیژن به ویژه یون های پراکسید افزایش می­یابد که این امر منجر به کاهش تمامیت غشاها می­گردد. به همین دلیل توان غشای سلولی برای کنترل ورود و خروج مواد نیز کاهش می­یابد

**1-3-5-تنش اکسیداتیو ناشی از تنش خشکی**

در زمان بروز تنش به واسطه عدم تعادل بین به دام انداختن نور و استفاده از آن، دستگاه فتوسنتزي گیاه دچار آسیب می­شود. در حقیقت وقتی غلظت CO2درونی کم است، موجب کاهش NADPاکسید شده به عنوان پذیرنده الکترون ذخیره می­شود. بنابراین انرژي نوري جذب شده کاملاً مورد استفاده فتوسنتز، تنفس نوري و گرما قرار نگرفته و مسیر خود را عوض کرده و به اکسیژن مولکولی موجود در کلروپلاست میرسد (Ennajeh et al., 2009) و به این ترتیب موجب تشکیل گونه هاي اکسیژن فعال می­شود. پس به طورکلی تنش خشکی سبب تولید انواع اکسیژن فعال در گیاهان می­شود. این رادیکال­ها در غلظت زیاد بسیار سمی بوده و می­توانند به مولکول­هاي زیستی از جمله لیپیدها، پروتئین­ها، اسیدهاي نوکلئیک و کلروفیل­ها آسیب جدي وارد کنند و منجر به مرگ سلول شوند (Fu and Huang, 2001). میزان تولید ROSدر شرايط عادی رشد معمولاً کم بوده، اما در شرايط وجود تنش مانند کم­آبي، هموستاز سلولي مختل شده و تولید ROSبه سرعت افزايش يافته و در نتیجه منجر به ايجاد تنش اکتیداتیو مي­گردد(Mittler, 2002).

بررسي­هايي وجود دارد که نشان مي­دهد ROSنقش کلیدی در گیاهان ايفا مي­کند. برای مثال به عنوان
مولكول انتقال سیگنال به وسیله ژن­های درگیر در پاسخ به تنش­های محیطي، آلودگي پاتوژن­ها، مرگ برنامه ريز شده­ی سلول و ديگر محرك های رشد و تكامل انتقال در بافت­های گیاهي عمل مي­کند(Mittler et al., 2004). در واقع ROSاز تنظیم کننده های مولكولي حیاتي برای سلول بوده، اما در اثر تولید بیش از حد آن و يا زماني که سیستم آنتي اکسیداني به خوبي کار نمي­کند و موجب آسیب به سلول ها مي­شود (Gill and Tuteja, 2010).

**1-3-5-آنتی اکسیدان ها**

گیاهان براي مقابله با تنش اکسیداتیو مکانیسم هاي دفاعی مختلفی شامل آنزیمی و غیر آنزیمی بکار می برند

**1-3-5-1آنتی اکسیدان هاي غیرآنزیمی**

سیستم غیرآنزیمی شامل آسکوربات، ، توکوفرول، کارتنوئیدها وترکیب هاي متفرقه از جمله فلاونوئیدها و پلی فنول ها می­باشد

**1-3-5-2-آنتی اکسیدان هاي آنزیمی**

گیاهان مکانیزم هاي حفاظتی مختلفی را براي دفع یا کاهش گونه هاي آزاد اکسیژن( (ROSدارند که در سطوح مختلف تنش مؤثر است. سیستم هاي آنزیمی آنتی اکسیدانی یکی از مکانیسم هاي حفاظتی است.گیاهانی که از سطوح بالاتري از آنتی اکسیدان ها برخوردار هستند، مقاومت بیشتري به آسیب هاي اکسیداتیو نشان می دهند. آنزیم کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز از آنتی اکسیدان هاي مهم در گیاهان می باشند(Ozkur et al., 2009).

استفاده از اليسيتورها نيز يكي از راههاي مؤثر براي افزايش توليد متابوليت­هاي ثانويه و همچنين افزايش تحمل به خشكي است(Zhao et al., 2005)

**1-4- الیسیتورها (محرک ها)**

الیسیتور­ها ترکیبات علامت رسان مختلفی با منبع زیستی یا شیمیایی هستند که می­توانند سبب تغییرات فیزیولوژیکی در موجود زنده شوند. هنگام استفاده از الیستور در گیاه،آن ها سبب ارسال پیام­های شیمیایی می­شوند که در نتیجه پاسخ­های فیزیولوژیکی و مورفولوژیکی و تجمع فیتوآلکسین­ها را در پی خواهد داشت. محرک­ها به گیرنده خود درغشای پلاسمایی یا غشاهای داخلی متصل میشوند و در پی پاسخ به پیام محرک سیستم دفاعی گیاه فعال می­شود و برخی از عوامل نظیر کانال­های یونی کلسیم، پروتئین­های متصل شونده به GTP، اسیدی شدن سیتوپلاسم، قلیایی­شدن خارج سلول، انفجار اکسیداتیو وتولید گونه های فعال اکسیژن، تولید جاسمونیک اسید، تولید اتیلن و بیان ژن­های دفاعی فعال می­شوند که نتیجه آن تجمع متابولیت­های ثانویه می­باشد(Namdeo, 2007). محرک­ها می­توانند بر اساس طبیعت به محرک­های زیستی و غیرزیستی و یا بر اساس منشأ به محرک­های بیرونی و محرک­های درونی طبقه­بندی شوند. محرک­های غیرزیستی موادی با منشأ غیربیولوژیکی مانند فلزات سنگین، تغییرات دمایی و تنش های اسمزی می­باشند، درحالی­که محرک­های زیستی موادی با منشأ بیولوژیکی شامل پلی­ساکاریدهای ناشی از دیواره سلول گیاهی (پکتین یا سلولز) و میکروارگانیسم­ها (کیتین یا گلوکان) هستند(Wang and Wu, 2013). کاربرد هر دو الیسیتور در گیاه، روش مفیدی در کاهش زمان فرآیند لازم برای به دست آوردن غلظت بالای محصول و افزایش کمیت محصول است(Cai et al., 2011). از جمله محرک­هایی که در این پژوهش مورد استفاده قرار گرفته­اند، کیتوزان و نانوتیوب کربنی می­باشد،که در اینجا به آن­ها پرداخته می­شود.

**1-4-1-کیتوزان**

کیتوزان پلی­مر طبیعی خطی از مشتقات داستیله شده کیتین است که توسط برخی حیوانات و گیاهان ساخته می­شود. این دو پلیمر بعد از سلولز از فراوان­ترین پلیمرها در طبیعت می­باشد. سنتز آن ها­ در طبیعت همراه با سایر ترکیبات پروتئینی، مواد چربی، معدنی و مواد رنگی است که در بدن حیوانات و گیاهان نقش ماده حفاظتی دارند(Rinaudo et al., 1992). استخراج و عمل­آوری آن­ها با روش­های رایج شیمیایی است. تاکنون بیش از 300 منبع مختلف از انواع بی­مهرگان دریایی، قارچ­ها، باکتری­ها، گیاهان، جلبک­ها، نرم­تنان، دیاتومه­ها، مخمرها، حشرات و غیره مورد مطالعه و تحقیق قرارگرفته است. بیش از 3000 نوع از مشتقات آن در صنایع مختلف داروسازی، آرایشی، زیست­فناوری،کشاورزی، غذایی، شیمیایی و غیره به­کار برده شده است(Hein et al., 2001).

**1-4-1- ساختار شیمیایی کیتوزان**

کیتوزان با فرمول شیمیایی (C5H11No5)n و با نام علمی پلی بتا-(4→1)-2-آمینو2- داکسی-D-گلوکوپیرانوز) پس از حذف گروه استیل کیتین حاصل می­شود. برای اولین بار از یک نوع قارچ از خانواده موکور توسط Tart استخراج و شناسایی گردید که در این قارچ کیتین به صورت آنزیمی به کیتوزان تبدیل می­شود. کیتوزان از پلی­ساکاریدهای نیتروژن­دار است که با واکنش­های استیل­زدایی کیتین به صورت طبیعی ایجاد می­شود در این پدیده گروه N استیل موجود روی کربن شماره دو کیتین به گروه آمینی NH3 تبدیل می­شود. معمولی­ترین حلال کیتوزان اسید استیک 1 تا 2 درصد است که تشکیل کمپلکس همگن می­دهد(Hein et al., 2001). ساختار شیمیایی کیتوزان در شکل 1-9 نشان داده شده است.



شکل 1-4- ساختار شیمیایی کیتوزان

**1-4-2- خصوصیات کیتوزان**

تمامی بیوپلیمرهای تجاری طبیعی مانند سلولز، دکسترین، آگارین، هپارین و پکتین اسیدی هستند، ولی کیتین و کیتوزان تنها بیوپلیمرهای طبیعی با خاصیت بازی می­باشند که به علت داشتن گروه­های عاملی متفاوت دارای ویژگی­های شیمیایی و فیزیکی منحصر به فرد هستند. این ویژگی­ها آن­ها را از سایر پلی­ساکارید نیتروژن دار متمایز و جدا می­نماید

گروه­های عاملی مهم کیتوزان شامل گروه آمینی (C2-NH2) روی کربن دوم و گروه­های هیدروکسی روی کربن­های سوم و ششم ان است. این ویژگی­ها باعث شده تا کیتوزان دارای سیستم و ساختار شیمیایی، خواص و ویژگی­های متفاوت در مقایسه با سایر پلی­ساکاریدها داشته باشد(Knorr, 1991).

**1-4-3- روش­های کاربرد کیتوزان و مشتقات آن در کشاورزی**

کیتوزان و برخی از مشتقاتش به آسانی در محلول­های اسید آلی ضعیف، مانند اسیدلاکتیک و اسیداستیک قابل حل می­باشند. بنابراین کیتوزان و مشتقاتش به روش­های مختلف مانند مخلوط کردن با خاک، محلول­پاشی برگی، آغشته کردن به بذر، ترکیب با کشت هیدروپونیک و ترکیب با محیط کشت سلولی می­تواند در کشاورزی استفاده شودکه در بین این روش­ها محلول­پاشی برگی و آغشته­کردن به بذر مفیدتر می­باشد. مشکل استفاده از کیتوزان در کشاورزی عدم­یکنواختی آن است و اثر آن به­طور مؤثر ثابت نیست، زیرا فعالیت زیستی کیتوزان مانند تحریک رشد، افزایش عملکرد و فعالیت­های ضدقارچی آن بسته به درجه استیله کیتوزان ، وزن مولکولی، غلظت کیتوزان و نوع گیاه متفاوت است(Dzung et al., 2011).

**1-4-4- کیتوزان و جنبه­های مختلف رشد و نمو گیاهان**

یکی از مهم­ترین فعالیت­های زیستی کیتین، کیتوزان و مشتقات آنها روی گیاهان به عنوان جاذبه­الرطوبه است. کاربرد کیتوزان به صورت محلول­پاشی بر روی گیاه فلفل میزان تعرق را توسط بسته شدن روزنه­ها داد.(Bittelli et al., 2001) آن­ها دریافتند که محلول­پاشی، مصرف آب را در این گیاه 26تا 43 درصد کاهش می­دهد، درحالی که عملکرد و بیوماس فلفل در اتاقک رشد به خوبی مزرعه حفظ می شود.

یکی از مهم­ترین فعالیت­های زیستی کیتوزان و مشتقات آن­ روی گیاهان تحریک جوانه­زنی بذر است(Mahdavi and Rahimi, 2013). در تحقیقی بذرهای پنبه در غلظت 05/0 تا 3/0 درصد محلول کیتوزان با وزن مولکولی دو کیلودالتون خیسانده شدند. نتایج این بررسی نشان داد که میزان جوانه­زنی پنبه تحت تأثیر کیتوزان قرارگرفت (Dzung and Thang, 2004). همچنين در پژوهشي ديگـر گـزارش شـد كـه استفاده از كيتوزان ميتواند ميزان جوانـه زنـي خيـار، فلفـل
قرمــــز، كــــدو تنبــــل و كلــــم را افــــزايش دهــــد(Chandrkrachang, 2002)

اثر دیگر کیتوزان بر رشد وعملکرد گیاهان است. در بررسی اثر اولیگومر کیتوزان روی رشد و عملکرد گیاه زراعی برنج،. عملکرد برنج در گیاهان تیمارشده با ppm 40 کیتوزان 30/3 درصد نسبت به شاهد افزایش یافت. آن­ها همچنین مشاهده کردند که برگ گیاهان تیمار شده با کیتوزان سبزتر از گیاهان شاهد قبل از برداشت به­نظر می­رسید. محلول­پاشی بوته­های پنبه با کیتوزان رشد این گیاه را در مزرعه افزایش داد. ارتفاع پنبه در گیاهان محلول­پاشی شده نسبت به شاهد 10 سانتی­متر بیشتر بود. محلول کیتوزان در ppm90 عملکرد پنبه را 15 تا 40 درصد افزایش داد(Dzung, 2007). در تحقیق دیگری اولیگومر کیتوزان با وزن مولکولی 1 تا 2 کیلودالتون بیشترین اثر را روی رشد گیاهان جو و سویا داشت. بیوماس جو و سویا به میزان 15 تا 30 درصد افزایش یافت و غلظت ppm 20 برای رشد گیاه مناسب بود. همچنین اولیگومر کیتوزان عملکرد سویا را تا 5/15 درصد افزایش داد (Luan et al., 2006).

کیتوزان و اولیگومر کیتوزان همچنین روي برگهاي قهوه در مزرعه محلول­پاشی شدند. کیتوزان و الیگومر کیتوزان میزان کلروفیل، جذب مواد معدنی و رشد گیاه را افزایش داد و مشخص
شد که اولیگومر کیتوزان نسبت به کیتوزان مؤثرتر بود. در پژوهش دیگری گیاهچه­های قهوه با اولیگومرهای کیتوزان در غلظت­های ppm 20 تا 80 محلول­پاشی شدند، نتایج نشان داد که اولیگومر کیتوزان میزان ترکیب مواد معدنی را از 3/3 به 6/13 درصد در مقایسه با شاهد افزایش می­دهد (Nam, 2008). این تحقیق بیان کرد در غلظت ppm 60 الیگومر کیتوزان بیشترین اثر را روی مواد معدنی در برگ­های قهوه داشت.

**1-4-5-نقش کیتوزان بر واکنش هاي متابولیسمی گیاه در تنش های زیستی**

اخیراً گزارش شده است که کیتوزان و مشتقات آن می­تواند در کاهش تنش در گیاهان مؤثر باشد، به­طوری که از توانایی کلاته شدن فلزات سنگین توسط کیتوزان با کیتوزان تجزیه شده توسط اشعه گاما برای کاهش تنش وانادیم در گیاه برنج استفاده شده است (Tham et al., 2001)

کاربرد کیتوزان به صورت محلول­پاشی میزان تعرق را در گیاه فلفل توسط بسته­شدن روزنه­ها کاهش می­دهد(Bittelli et al., 2001). آنها دریافتند که محلول­پاشی، مصرف آب را در این گیاه 26 تا 43 درصد کاهش می­دهد، درحالی که عملکرد و بیوماس فلفل در اتاق رشد به خوبی مزرعه حفظ می­شود. محققی دیگر نیز دریافت که محلول­پاشی کیتوزان روی برگ قهوه میزان تعرق را در برگ­ها به میزان 11 درصد کاهش می­دهد و نتیجه گرفت که کاربرد اولیگومر کیتوزان مقاومت به خشکی را در گیاه قهوه افزایش می­دهد (Nam, 2008).

اثر تحریک کنندگی کیتوزان بر مقدار فعالیت آنزیم هاي آنتی
اکسیدانی تحت تنش خشکی در گیاه گلرنگ نیز گزارش شده است(Abdalla, 2011). علاوه براین محققان اعلام کردند کاربرد کیتوزان باعث کاهش اثر منفی تنش خشکی بر کلروفیل و افزایش رنگیزه هاي فتوسنتزي می گردد

**1-4-6-کاربرد کتیوزان در تولید متابولیت­های ثانویه**

El-Mekkawy و همکاران (2018) نشان دادند که میزان cucurbitacin در کالوس گیاه *(****Ecballium Elaterium****)* با استفاده از محرک­های کتیوزان به­طور قابل­توجهی افزایش پیدا کرده و غلظت 1 گرم برلیتر کیتوزان باعث بیشترین افزایش درغلظت cucurbitacin E شد. Khan و همکاران (2019) در بررسی اثر کیتوزان برروی گیاه *Fagonia indica* گزارش کردند که کیتوزان محتوای ترکیبات پلی­فنولی از جمله (گالیک اسید، کافئیک اسید، اورسولیک اسید،) محتوای فنول کل و همچنین ترکیبات فلاونوئیدی مانند اپیجنین، کاتچین، میرستین و کامفرول را افزایش داد. ایشان همچنین خاطر نشان کرد که کیتوزان با فعال کردن آنزیم­های خاصی در مسیر تولید این متابولیت­های ثانویه عمل کرده و منجر به افزایش چنین ترکیباتی شده است.

Vasconsuelo و همکاران (2005) نشان دادند که استفاده از کتیوزان به عنوان محرک باعث تولید افزایش آنتراکوئینون در گیاه *Rubia tinctorum* می­شود. چنین به نظرمی­رسد که کتیوزان در مسیر MAPK یا پروتئین کینازهای فعال کننده میتوژن عمل می­کند و به راه اندازی آبشار PLC/PKC باعث این افزایش می­شود.

براساس تحقیقات انجام شده توسط Putalun, و همکاران (2007) نشان داده شد که کیتوزان باعث افزایش تولید آرتمیزین در گیاه *Artemisia annua* L. می­شود. میزان آرتمیزین پس از گذشت 6 روز و اضافه کردن مقدار 150 میلی­گرم کیتوزان در هر لیتر محیط به 8/1 میکروگرم در هر میلی­گرم وزن خشک ریشه­های موئین این گیاه می­رسد که این میزان شش برابر نمونه شاهد گزارش شده است. در بررسی­های انجام شده در برگ­های سویا تأثیر کیتوزان باعث افزایش فعالیت فنیل­آلانین آمونیالیاز و تیروزین آمونیولیاز می­گردد. این دو آنزیم جزء آنزیم­های کلیدی مسیر بیوسنتز فنیل­پروپانوئیدها می­باشند.

**1-5-نانولوله های کربنی**

نانو مولکول ها موادی هستند که اخیراً از طریق نانو فناوری به دست آمده اند و به وسیله این ساختارها امکان دستکاری ها در سطح نانو و تنظیم و کاتالیز واکنش های شیمیایی وجود دارد و در این میان، نانولوله های کربنی آلوتروپ کربن هستند که نسبتاً به تازگی شناسایی شده‌اند. خواص ویژه و منحصر به فرد آن ها و استحکام کششی خوب از یک طرف و طبیعت کربنی بودن نانو لوله ها ( به خاطر اینکه کربن ماده ای است کم وزن بسیار پایدار و ساده جهت انجام فرایندها و نسبت به نان و مواد فلزی ارزان تر می باشد) از طرف دیگر باعث شده که در دهه گذشته شاهد تحقیقات مهمی در کارایی و کاربرد نانولوله ها در صنایع و کشاورزی باشیم. در میان نانو ذرات نانو لوله های کربنی (CNTs) یک موقعیت مهمی را به دلیل خواص منحصر به فرد مکانیکی، الکتریکی، حرارتی و شیمیایی شان به دست آورده‌اند. اطلاعات موجود نشان می دهند که مطالعات انجام شده در رابطه با CNTs به طور عمده بر روی حیوانات و انسان متمرکز بوده اند (Ke et al., 2010; Tiwari et al., 2014). در این خصوص توجه کمی به تاثیر این مواد در فیزیولوژی و رشد و نمو گیاهان شده است. در عین حال گیاهان اساس مهم حیات در زمین هستند و سهم بسزایی در تولید مواد غذایی و اکسیژن دارند که نجات دهنده زیست به شمار می روند و از این­رو تحقیق در زمینه اثرات مفید مواد مختلف برای گیاهان یک گام ضروری است(Tripathi et al., 2011).

نانولوله های کربنی چند دیواره(MWCNTs) نوعی از نانومواد هستند که از نظر تحقیقات بنیادی و توسعه فناوری مورد توجه قرار گرفته اند با توجه به ساختار نانویی منحصر به فرد و خواص فوق العاده (هدایت الکتریکی بالا، مساحت سطح ویژه بالا، نسبت ابعاد بالا و پایداری حرارتی قابل توجه) (Milne et al., 2004)، در مطالعات مختلف پژوهشگران گزارش کردند که نانو لوله های کربنی چند دیواره توانایی بالقوه برای تأثیر بر جوانه زنی و رشد گیاه دارند و به عنوان سیستم تحویل DNA و مواد شیمیایی به سلول‌های گیاهان عمل می‌کند. همچنین نانولوله ها کارایی جذب آب و مواد مغذی ضروری مثل آهن و کلسیم را افزایش داده و می‌توانند جوانه زنی بذر و رشد و توسعه گیاه را افزایش دهند (Tiwari et al., 2014; Villagarcia et al., 2012) . علاوه بر این MWCNTs ظرفیت نگهداری آب و زیست توده و عملکرد گل و میوه را بهبود می بخشند و خواص دارویی گیاه گیاهان را افزایش می دهند(Husen and Siddiqi, 2014; Khodakovskaya et al., 2012).

**1-5-1-ساختار**

نانولوله ها بر اساس ساختمان گرافیت بنا می‌شوند.گرافیت از لایه های مجزایی متشکل از اتم­های کربن تشکیل شده است که به صورت واحدهای شش ضلعی که در ۶ راس آن اتم کربن قرار دارد، آرایش یافته‌اند. قطر نانولوله بین ۱ تا ۲ نانومتر و طول آن گاه تا چند میکرومتر نیز می‌رسد. انتهای هر دوسوی نانولوله ها می تواند با نیمه ای از یک فولرن( یکی از دیگر شکل های مصنوعی عنصر کربن) مسدود باشد یا نباشد و لذا می‌تواند در انتهای خود علاوه بر اجزای شش ضلعی دارای اجزای پنج ضلعی نیز باشد. اما مهم­ترین ویژگی که در تعیین خصوصیات نانولوله‌ها نقش بازی می‌کند به عنوان پیچش شناخته می‌شود. از دیگر ویژگی‌های ساختاری نانولوله‌ها حضور آنها به دو فرم مختلف تک لایه و چند لایه است که هر یک از از این انواع دارای کاربردهای متفاوتی هستند(Dresselhaus et al., 1998)



شکل 1-5 ساختار نانولوله های کربنی تک دیواره( (SWCNT و چند دیواره)MWCNT)

**1-5-2-خصوصیات فیزیکی و شیمیایی**

نانولوله­ها با وجود اینکه از قطر بسیار کم برخوردارند، استحکام کششی بالایی در حدود ۱۰۰ گیگاپاسکال دارند. از دیگر خصوصیات نانولوله ها وجود پیوندهای واندروالس بین اتم­ها و لذا توانایی بسیار پایین آنها برای چسبیدن به یکدیگر( خواص الکتریکی منحصر به فرد) است. درنانولوله های فلزی و نیمه هادی رسانایی تنها در جهت طولی و رسانه های حرارتی و خاصیت نشر میدانی است. خاصیت نشر میدانی در ساختارهای که دارای نسبت طول به قطر بالا (بزرگتر ازهزار)، دارای راس اتمی تیز، ثبات بالای حرارتی و شیمیایی و هدایت بالای الکتریکی و گرمایی باشند دیده می‌شود(Dresselhaus and Riichiro, 1998).

**1-5-3-کاربرد نانولوله های کربنی در کشاورزی**

 تکنیک های پیشرفته مانند روش های حرارتی، میکروسکوپ الکترونی(TEM) و تجزیه و تحلیل روش های طیف سنجی نشان داده است که مواد مبتنی بر کربن از جمله نانولوله ها می تواند به راحتی توسط سلول­های گیاهی و دانهال های جذب شده و با آن­ها تعامل برقرار کنند که این تعامل منجر به اثرات مثبت و منفی در رشد و نمو گیاهان می‌شود و یا ممکن است اثری بر رشد نداشته باشد(Ghorbanpour and Hadian, 2015).

به تازگی نشان داده شده است که نانو لوله های کربنی با خاصیت ویژه‌ای که دارند (سطح شیمیایی، شکل، اندازه و عامل دار یا غیر عامل عامل دار بودن) رشد و فیزیولوژی گیاهان را تحت تاثیر قرار می دهند. رشد گیاهانی که در معرض نانولوله‌های کربنی قرار گرفته‌اند بستگی به غلظت مورد استفاده از آنها دارد و مواد کربنی حتی به عنوان عاملی برای تعدیل وضعیت استرس در نظر گرفته می‌شود و برای اصلاح فرایندهای فیزیولوژیک در گیاهان به کار می‌روند. توانایی نانولوله‌های کربنی در افزایش رشد گیاهان بیشتر به دلیل ساختار و ویژگی‌های فیزیکی آن­هاست. علاوه بر این توانایی افزایش رشد گیاه توسط نانو لوله های کربنی و انواع آنها( تک لایه یا چند لایه بودن) و وجود گروه های عاملی بر روی سطح آنها نسبت داده شده است. نانولوله های چند لایه عامل دار نسبت به انواع تک لایه و غیر عامل دار آن به عنوان افزایش دهنده رشد و توسعه دهنده سیستم های فیزیولوژیک گیاهان معرفی گردیده است(Ghorbanpour and Hadian, 2015). کاربرد نانولوله های کربنی در کشاورزی بیشتر برای استفاده در سموم گیاهی برای انتقال ژن بهبود مقاومت در برابر بیماری های گیاهی استفاده از مواد مغذی کارآمد برای افزایش رشد گیاه می باشد(Wang et al., 2012). نانولوله های کربنی در سیستم های رشد وفیزیولوژی گیاهان باعث اثرات مفید متعددی می­شود که در زیر به هر یک از آن ها اشاره می­گردد.

**1-5-3-1-افزایش رشد و جوانه زنی**

در محصولات کشاورزی استفاده از نانولوله‌های کربنی بیشتر برای افزایش رشد و عملکرد و بهبود خصوصیات رشد گیاهان مورد استفاده قرار می گیرد. در این خصوص این نانولوله‌ها باعث افزایش رشد و جوانه زنی گیاهان گوجه فرنگی(Khodakovskaya et al., 2013) ذرت (Tiwari et al., 2014)نخود(Tripathi et al., 2011) و افزایش رشد توتون و تنباکو (Khodakovskaya et al., 2012) اثر مثبت داشته است . در برخی محصولات مثل گندم(Joshi et al., 2018) پنبه (Nalwade and Neharkar, 2013)آوبشن دنایی(Samadi et al., 2020) و بسیاری از سبزیجات و گیاهان دیگر استفاده شده و افزایش رشد و بیوماس گیاهی رانشان داده است.

نانولوله کربنی محلول در آب مختلفی مانند استفاده در محیط کشت سلول گیاهی(Wang et al., 2012) ، بذر (Joshi et al., 2018)، به صورت مخلوط با خاک رشدی گیاه (Khodakovskaya et al., 2013) و یا به صورت محلول پاشی بر روی گیاه (Rahmani et al., 2020) مورد استفاده قرار می‌گیرد و باعث افزایش میزان رشد در هر بخش از گیاهان باغی از جمله ریشه، ساقه ها و همچنین در شاخه می شوند(Tripathi et al., 2011). وقتی بذر برخی از سبزیجات در معرض نانولوله ها قرار می گیرد، جوانه زنی و سرعت رشد آنها افزایش می یابد و به علت نفوذ بیشتر نانولوله داخل پوشش بذر، جذب آب بیشتر می‌شود.نانولوله های کربنی می‌تواند در سراسر سلول­های گیاهی جابه‌جا شوند. دیده شده است که نانولوله‌های عامل­دار توسط سلول به واسطه مکانیسم مستقل از انرژی گرفته می‌شوند و با وجود مهارکننده‌های جذب سلولی قادر به جابجایی در سراسر غشای سلولی می باشند. در این صورت نانولوله‌های جذب شده که حاوی عامل هایی برای تیمار کردن گیاه هستند به صورت مستقیم با آزاد کردن مولکول های فعال در سیتوپلاسم باعث افزایش فعالیت بیولوژیکی می شوند(Lacerda et al., 2012).

**1-5-3-2-فیزیولوژی گیاهان**

نانولوله­های کربنی می توانند روی فعالیت برخی آنزیم های مربوط به روش اثر گذاشته و باعث افزایش فعالیت آن­ها شوند. مطالعه فیزیولوژیکی ویژگی در سطح سلولی انجام شده با استفاده از روش‌های سنتی تغییرات احتمالی و پروژه سلول از منطقه ریشه و فعالیت آنزیمی دهیدروژناز را نشان داده است. تصاویر میکروسکوپ الکترونی نشان داده که نانولوله های کربنی می‌تواند به دیواره سلولی نفوذکرده و پس ازقرار گرفتن روی ریشه وارد سیتوپلاسم شود. طول سلول ناحیه ریشه در دانهال جوانه زده و رشد کرده در محیط کشت نانولوله‌ها افزایش یافته و به صورت قابل توجهی افزایش وابسته به غلظت در فعالیت آنزیم دهیدروژناز برای دانهال گندم تحت بیمار نانولوله‌های کربنی مشاهده شده است. این یافته ها نشان می دهد که نانولوله‌های کربنی می‌تواند به طور قابل توجهی باعث ترویج طویل شدن سلول در سیستم ریشه و افزایش فعالیت آنزیم دهیدروژناز و در نتیجه رشد سریع ترین ریشه به تولید بیوماس بالاتر شود(Wang et al., 2012).

**1-5-3-3-تنظیم بیان ژن**

 محققین یک ارتباط بین فعال شدن رشد سلول‌های در معرض نانولوله و تنظیم ژن های دخیل در تقسیم سلولی و حمل و نقل آب پیدا کرده اند. بیان ژن آکوآپورین توتون و تنباکو و همچنین تولید پروتئین NtPIP1 در سلول های در معرض نانولوله در مقایسه با سلول­های شاهد افزایش قابل توجهی پیدا می‌کند. بیان ژنofmarker برای تقسیم سلولیCycB و گسترش دیواره سلولیNtLRX1 در سلول های در مرحله نانولوله نسبت به سلول شاهد افزایش نشان می‌دهد. همچنین نشان داده شده لوله کربنی می‌تواند توسط گیاهان گوجه فرنگی گرفته شود و روی بیان ژن آن-ها نیز تاثیر بگذارد. به­عنوان مثال بیان ژن اکواپورین گوجه‌فرنگی و تعدادی از ژن های دیگر که در پاسخ گیاه­های محیطی دخیل هستند. دانهال قرار داده شده در معرض نانولوله می­تواند باعث افزایش بیان این ژن­ها می­شود(Khodakovskaya et al., 2012). مکانیسم عمل نانولوله های کربنی در خصوص اثرگذاری روی ژن ها نشان داده شده است. اثر متقابل سلول­های گیاهی با نانولوله می‌تواند به طور قابل توجهی منجر به تغییرات در سطح مولکولی شود که در نهایت بیان ژن­ها و به دنبال آن تولید پروتئین‌های مسئول برای یک فنوتیپ خاص تغییر پیدا می‌کند(Khodakovskaya et al., 2012).

**1-5-4-نقش نانومواد در سیستم دفاع آنتی اکسیدانی در گیاه**

گیاهان به طور مداوم در ساختارهای مانند کلروپلاست، میتوکندری، پراکسی زوم، شبکه اندوپلاسمی و غشای پلاسمایی گونه های فعال اکسیژن تولید می­کند.تحقیقات نشان دادند که هردونوع از نانوذرات مبتنی بر فلز و کربن قادر به تولید، تولید بیش از حد رادیکال های آزاد با پتانسیل تاثیر بر پروتئین ها، لیپیدها،کربوهیدرات ها در گیاهان هستند. گزارش شده است که غلظت های بالای نانولوله های کربنی منجر به ارائه تجمع های فعال اکسیژن و تنش اکسیداتیو در گیاهان می شوند (Ghorbanpour and Hadian, 2015; Rahmani et al., 2020).

آنزیم های انتی اکسیدان از جمله مهم‌ترین راهکارهای دفاعی گیاهان در مهار گونه‌های اکسیژن فعال می باشد. همچنین تولید بیش از حد گونه های فعال اکسیژن شامل سوپراکسید رادیکال هیدروکسیل و هیدروژن پراکسید در سلول های گیاهی به دنبال قرار گرفتن در معرض نانومواد می‌تواند مکانیزم ممکن دیگری برای افزایش تولید متابولیت­های ثانویه باشد(Hatami et al., 2016).

**1-5-5-الیسیتور تولید کننده متابولیت ثانویه**

 مولکول های ایجاد کننده سیگنال اینکه در سیستم های گیاهی پتانسیل این را دارند که به عنوان الیسیتور عمل کرده و باعث القای تولید متابولیت های ثانویه گیاهی شوند. استفاده از موادی که به عنوان محرک عمل می‌کند و باعث ایجاد سیگنال های مختلف می شوند یک استراتژی موثر تکامل یافته است که برای تولید متابولیت های ثانویه هدف در تکنیک های کشت بافت گیاهی کاربرد دارد(Ghorbanpour and Hadian, 2015).

 نانومواد می‌توانند با ایجاد پاسخ های متابولیکی و فیزیولوژیکی باعث ایجاد سیگنال های مختلف در شرایط خاص ایجاد شده در سیستم های گیاهی می­شوند(Ghorbanpour and Hadian, 2015). Zhang و همکارانش (2013) نشان دادند که ذرات نانو می‌توانند به عنوان محرک برای تولید متابولیت های ثانویه در گیاه گندواش به کار روند. استفاده از مواد نانو که می‌توانند به عنوان الیسیتور عمل کنند، در محیط های کشت بافت گیاهی می‌تواند موجب رفع موانع تولید کننده متابولیت های ثانویه عمل کند.

Ghasempour و همکاران (2019) بیان کرد که نانو لوله های کربنی در محیط کشت گیاه دارویی پریوش می‌تواند به عنوان الیسیتوری موثر به منظور افزایش بیوسنتز با مولکول های فعال دارویی از جمله ترکیبات فنولیک و فلاوونوئیدها عمل کند. با حضور نانولوله در محیط کشت این گیاه بالاترین محتوای متابولیت های ثانویه به دست آمد.

**1-5-6-اثرات سمی نانولوله های کربنی**

 در چندین گزارش از مطالعات مربوط، استرس اکسیداتیو و سمیت نانولوله ها روی گیاهان مشاهده شده است که به نظر می‌رسد این نتایج قابل تعمیم برای تمام گیاهان نباشد و احتمالاً اثر نانولوله ها در غلظت ‌های مختلف ودر گیاهان مختلف متفاوت خواهد بود .اگر غلظت های بالای نانولوله ها مورد استفاده قرار بگیرد. نفوذ بیشتر آن از غشای پلاسمایی باعث انسداد مسیر شده و ورود اب کم می شود. نتیجه نفوذبیشتر این نانولوله‌ها استرس اکسیداتیو و تجمع رادیکال‌های آزاد و در نتیجه آسیب به غشای سلولی خواهد بود. در موارد شدیدتر باعث سوراخ شدن اپیدرم شده و باعث اختلال در فعالیت­های متابولیکی سلول می­گردد. در برخی موارد این اختلالات باعث آسیب پروتئین می‌شود و برخی آمینواسیدهای آزاد در جهت حفظ و تنظیم فشار اسمزی سلول انباشته شده و در چنین شرایطی تغییر از سنتز پروتئین مشاهده می­شود(Ghosh et al., 2015).

اسعدی، ع. و خشنود یزدی، ا. 1389. بررسي خصوصیات بوم شناختي
. *Dracocephalum kotschyi* Biossدر مراتع شهرستان بجنورد، دو ماهنامه علمي و پژوهشي
تحقیقات گیاهان دارویي و معطر ایران، دوره26 ،شماره ۳، صص 406-414.

اطرشي، م. و مرادی، ک. 1391. اثر ریزنمونه­ها و هورمون­های رشد در باززایي مستقیم
زرین گیاه*. Dracocephalum kotschyi* Biossبا استفاده از تکنیک کشت بافت، فصلنامه
داروهای گیاهي، شماره ،۳صص 325-342.

امیدبیگی، ر. 1388تولید و فرآوری گیاهان دارویی. جلد اول. شرکت به نشر. انتشارات آستان قدس رضوی.مشهد. 347ص

قهرمان، ا. 1383.تطبیق نامهای کهن گیاهان دارویی با نامهای علمی. صص : .1-1

دانشیان، ا. م.1387. نگاهی به وضعیت گیاهان دارویی در ایران. همایش منطقهای شکوفایی و نوآوری در
گیاهان دارویی. شبستر. صص : .3-10

بقالیان، ک. و نقدی­ابادی، ح. 1379گیاهان اسانس­دار. چاپ اول. انتشارات اندرز تهران. 248ص

سفیدکن، فاطمه. 1386 شیمی و تهیه صنعتی روغنهای اسانسی. نشر زاوش. تهران. 253ص

سفیدکن، فاطمه،. ا. شریفی عاشورآبادی، ح. لباسچی، م. میرزا، ع. ابراهیمی، م. جایمند، م. نجفپور، م. باهرنیک،ف.، عسکری، ا. نجفی آشتیانی و ب. عباسزاده. 1387برنامه راهبردی تحقیقات گیاهان دارویی، وزارت جهاد کشاورزی، مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع. ص40

نخجوان پور، ر. 1368بررسيی فیتوشیمیایی، شناسيایی ترکیبات اسانس و اثرات ضد قارچی گیاه بادرشبی. رساله دکتری. دانشکده داروسازی دانشگاه تهران. 28ص

حیدری، ر. 1368سیری در زیست شیمی گیاهی. ترجمه. مرکز نشر دانشگاهی. تهران. 186ص

Abdalla, M.M., 2011. Beneficial effects of diatomite on growth, the biochemical contents and polymorphic DNA in Lupinus albus plants grown under water stress. Agric. Biol. J. North Am. 2, 207–220.

Aniszewski, T., 2007. Alkaloids-Secrets of Life:: Aklaloid Chemistry, Biological Significance, Applications and Ecological Role. Elsevier.

Bittelli, M., Flury, M., Campbell, G.S., Nichols, E.J., 2001. Reduction of transpiration through foliar application of chitosan. Agric. For. Meteorol. 107, 167–175.

Bourgaud, F., Gravot, A., Milesi, S., Gontier, E., 2001. Production of plant secondary metabolites: a historical perspective. Plant Sci. 161, 839–851.

Buchanan, B.B., Gruissem, W., Jones, R.L., 2015. Biochemistry and molecular biology of plants. John Wiley & Sons.

Cai, Z., Riedel, H., Saw, N.M.M.T., Mewis, I., Reineke, K., Knorr, D., Smetanska, I., 2011. Effects of elicitors and high hydrostatic pressure on secondary metabolism of Vitis vinifera suspension culture. Process Biochem. 46, 1411–1416.

Chandrkrachang, S., 2002. The application of chitin and chitosan in agriculture in Thailand. Adv. Chitin Sci. 5, 458–462.

Chappell, J. and Coates, R. 2010. Sesquiterpenes. University of Kentucky, Lexington,
KY, USA. Publication by Elsevier

Dresselhaus, G., Riichiro, S., 1998. Physical properties of carbon nanotubes. World scientific.

Dresselhaus, M., Dresselhaus, G., Eklund, P., Saito, R., 1998. Carbon nanotubes. Phys. World 11, 33.

Dzung, N.A., 2007. Chitosan and their derivatives as prospective biosubstances for developing sustainable eco-agriculture. Adv. chitin Sci. X 453–459.

Dzung, N.A., Khanh, V.T.P., Dzung, T.T., 2011. Research on impact of chitosan oligomers on biophysical characteristics, growth, development and drought resistance of coffee. Carbohydr. Polym. 84, 751–755.

Dzung, N.A., Thang, N.T., 2004. Effect of chitooligosaccharides on the growth and development of peanut (Arachis hypogea L.), in: Proceedings of the Sixth Asia-Pacific on Chitin, Chitosan Symposium.(Ed.) Khor, E., Hutmacher, D., and Yong, LL Singapore, Isbn. pp. 905–981.

El-Mekkawy, S., Farid, M.M., Taha, H.S., Fahmi, A.A., Amin, A.I., Saker, M.M., 2018. Effect of different plant growth regulators and elicitors on the production of cucurbitacins in Ecballium Elaterium callus.

Ennajeh, M., Vadel, A.M., Khemira, H., 2009. Osmoregulation and osmoprotection in the leaf cells of two olive cultivars subjected to severe water deficit. Acta Physiol. Plant. 31, 711–721.

Facchini, P.J., 2001. Alkaloid biosynthesis in plants: biochemistry, cell biology, molecular regulation, and metabolic engineering applications. Annu. Rev. Plant Biol. 52, 29–66.

Fattahi, M., Nazeri, V., Torras-Claveria, L., Sefidkon, F., Cusido, R.M., Zamani, Z., Palazon, J., 2013. Identification and quantification of leaf surface flavonoids in wild-growing populations of Dracocephalum kotschyi by LC–DAD–ESI-MS. Food Chem. 141, 139–146.

Fowler, M.W., 2006. Plants, medicines and man. J. Sci. Food Agric. 86, 1797–1804.

Fu, J., Huang, B., 2001. Involvement of antioxidants and lipid peroxidation in the adaptation of two cool-season grasses to localized drought stress. Environ. Exp. Bot. 45, 105–114.

Ghasempour, M., Iranbakhsh, A., Ebadi, M., Ardebili, Z.O., 2019. Multi-walled carbon nanotubes improved growth, anatomy, physiology, secondary metabolism, and callus performance in Catharanthus roseus: an in vitro study. 3 Biotech 9, 404.

Ghavam, M., 2019. Study of antioxidant activity and some herbal compounds of Dracocephalum kotschyi Boiss. in different ages of growth. Biotechnol. Reports e00408.

Ghorbanpour, M., Hadian, J., 2015. Multi-walled carbon nanotubes stimulate callus induction, secondary metabolites biosynthesis and antioxidant capacity in medicinal plant Satureja khuzestanica grown in vitro. Carbon N. Y. 94, 749–759.

Ghosh, M., Bhadra, S., Adegoke, A., Bandyopadhyay, M., Mukherjee, A., 2015. MWCNT uptake in Allium cepa root cells induces cytotoxic and genotoxic responses and results in DNA hyper-methylation. Mutat. Res. Mol. Mech. Mutagen. 774, 49–58.

Gill, S.S., Tuteja, N., 2010. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. Plant Physiol. Biochem. 48, 909–930.

Golshani, S., Karamkhani, F., Monsef-Esfehani, H.R., Abdollahi, M., 2004. Antinociceptive effects of the essential oil of Dracocephalum kotschyi in the mouse writhing test. J pharm pharm Sci 7, 76–79.

Harborne, J.B., 2013. The flavonoids: advances in research since 1980. Springer.

Hatami, M., Kariman, K., Ghorbanpour, M., 2016. Engineered nanomaterial-mediated changes in the metabolism of terrestrial plants. Sci. Total Environ. 571, 275–291.

Hein, S., Ng, C.H., Chandrkrachang, S., Stevens, W.F., 2001. A systematic approach to quality assessment system of chitosan. Chitin Chitosan Chitin Chitosan Life Sci. Yamaguchi 327–335.

Heydari, P., Yavari, M., Adibi, P., Asghari, G., Ghanadian, S.-M., Dida, G.O., Khamesipour, F., 2019. Medicinal properties and active constituents of Dracocephalum kotschyi and its significance in Iran: A systematic review. Evidence-Based Complement. Altern. Med. 2019.

Hsiao, T.C., 1973. Plant responses to water stress. Annu. Rev. Plant Physiol. 24, 519–570.

Husen, A., Siddiqi, K.S., 2014. Carbon and fullerene nanomaterials in plant system. J. Nanobiotechnology 12, 16.

Joshi, A., Kaur, S., Dharamvir, K., Nayyar, H., Verma, G., 2018. Multi‐walled carbon nanotubes applied through seed‐priming influence early germination, root hair, growth and yield of bread wheat (Triticum aestivum L.). J. Sci. Food Agric. 98, 3148–3160.

Julsing, M.K., Koulman, A., Woerdenbag, H.J., Quax, W.J., Kayser, O., 2006. Combinatorial biosynthesis of medicinal plant secondary metabolites. Biomol. Eng. 23, 265–279.

Ke, P.C., Lin, S., Reppert, J., Rao, A.M., Luo, H., 2010. Uptake of carbon-based nanoparticles by mammalian cells and plants, in: Handbook of Nanophysics: Nanomedicine and Nanorobotics. CRC Press.

Khan, Taimoor, Khan, Tariq, Hano, C., Abbasi, B.H., 2019. Effects of chitosan and salicylic acid on the production of pharmacologically attractive secondary metabolites in callus cultures of Fagonia indica. Ind. Crops Prod. 129, 525–535.

Khodakovskaya, M. V, De Silva, K., Biris, A.S., Dervishi, E., Villagarcia, H., 2012. Carbon nanotubes induce growth enhancement of tobacco cells. ACS Nano 6, 2128–2135.

Khodakovskaya, M. V, Kim, B., Kim, J.N., Alimohammadi, M., Dervishi, E., Mustafa, T., Cernigla, C.E., 2013. Carbon nanotubes as plant growth regulators: effects on tomato growth, reproductive system, and soil microbial community. Small 9, 115–123.

Knorr, D., 1991. Recovery and utilization of chitin and chitosan in food processing waste management. Food Technol. 45, 114–122.

Lacerda, L., Russier, J., Pastorin, G., Herrero, M.A., Venturelli, E., Dumortier, H., Al-Jamal, K.T., Prato, M., Kostarelos, K., Bianco, A., 2012. Translocation mechanisms of chemically functionalised carbon nanotubes across plasma membranes. Biomaterials 33, 3334–3343.

Lisar, S.Y.S., Motafakkerazad, R., Hossain, M.M., Rahman, I.M.M., 2012. Causes, Effects and Responses. Water Stress 1.

Luan, L.Q., Nagasawa, N., Tamada, M., Nakanishi, T.M., 2006. Enhancement of plant growth activity of irradiated chitosan by molecular weight fractionation. Radioisotopes 55, 21.

Mahdavi, B., Rahimi, A., 2013. Seed priming with chitosan improves the germination and growth performance of ajowan {Carum copticum) under salt stress. EurAsian J. Biosci. 7, 69–76.

Milne, W.I., Teo, K.B.K., Amaratunga, G.A.J., Legagneux, P., Gangloff, L., Schnell, J.-P., Semet, V., Binh, V.T., Groening, O., 2004. Carbon nanotubes as field emission sources. J. Mater. Chem. 14, 933–943.

Mittler, R., 2002. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. Trends Plant Sci. 7, 405–410.

Mittler, R., Vanderauwera, S., Gollery, M., Van Breusegem, F., 2004. Reactive oxygen gene network of plants. Trends Plant Sci. 9, 490–498.

Nalwade, A.R., Neharkar, S.B., 2013. Carbon nanotubes enhance the growth and yield of hybrid Bt cotton Var. ACH-177-2. Int J Adv Sci Tech Res 3: 840–846.

Nam, B.P. (2008). Effect of chitosan oligomer on growth and drought resistance of coffee
 seedlings in green house. Thesis of Biology. Tay Nguyen University, Dak Lak Province Vietnam

Namdeo, A.G., 2007. Plant cell elicitation for production of secondary metabolites: a review. Pharmacogn Rev 1, 69–79.

Ozkur, O., Ozdemir, F., Bor, M., Turkan, I., 2009. Physiochemical and antioxidant responses of the perennial xerophyte Capparis ovata Desf. to drought. Environ. Exp. Bot. 66, 487–492.

Putalun, W., Luealon, W., De-Eknamkul, W., Tanaka, H., Shoyama, Y., 2007. Improvement of artemisinin production by chitosan in hairy root cultures of Artemisia annua L. Biotechnol. Lett. 29, 1143–1146.

Rahmani, N., Radjabian, T., Soltani, B.M., 2020. Impacts of foliar exposure to multi-walled carbon nanotubes on physiological and molecular traits of Salvia verticillata L., as a medicinal plant. Plant Physiol. Biochem. 150, 27–38.

Rechinger, H., 1986. Flora Iranica, Lamiaceae, vol. 150. Akad. Druck Verlagsantalt, Graz, Austria 360–361.

Rinaudo, M., Le Dung, P., Gey, C., Milas, M., 1992. Substituent distribution on O, N-carboxymethylchitosans by 1H and 13C NMR. Int. J. Biol. Macromol. 14, 122–128.

Samadi, S., Saharkhiz, M.J., Azizi, M., Samiei, L., Ghorbanpour, M., 2020. Multi-walled carbon nanotubes stimulate growth, redox reactions and biosynthesis of antioxidant metabolites in Thymus daenensis celak. in vitro. Chemosphere 249, 126069.

Samuelsson, G., Bohlin, L., 2017. Drugs of natural origin: a treatise of pharmacognosy. CRC Press Inc.

Taiz, L., Zeiger, E., 2002. Plant physiology.

Tham, L.X., Nagasawa, N., Matsuhashi, S., Ishioka, N.S., Ito, T., Kume, T., 2001. Effect of radiation-degraded chitosan on plants stressed with vanadium. Radiat. Phys. Chem. 61, 171–175.

Tiwari, D.K., Dasgupta-Schubert, N., Cendejas, L.M.V., Villegas, J., Montoya, L.C., García, S.E.B., 2014. Interfacing carbon nanotubes (CNT) with plants: enhancement of growth, water and ionic nutrient uptake in maize (Zea mays) and implications for nanoagriculture. Appl. Nanosci. 4, 577–591.

Tiwari, R., Rana, C.S., 2015. Plant secondary metabolites: a review. Int. J. Eng. Res. Gen. Sci. 3, 661–670.

Tripathi, S., Sonkar, S.K., Sarkar, S., 2011. Growth stimulation of gram (Cicer arietinum) plant by water soluble carbon nanotubes. Nanoscale 3, 1176–1181.

Vasconsuelo, A., Morelli, S., Picotto, G., Giulietti, A.M., Boland, R., 2005. Intracellular calcium mobilization: A key step for chitosan-induced anthraquinone production in Rubia tinctorum L. Plant Sci. 169, 712–720.

Villagarcia, H., Dervishi, E., de Silva, K., Biris, A.S., Khodakovskaya, M. V, 2012. Surface chemistry of carbon nanotubes impacts the growth and expression of water channel protein in tomato plants. Small 8, 2328–2334.

Wang, J.W., Wu, J.Y., 2013. Effective elicitors and process strategies for enhancement of secondary metabolite production in hairy root cultures, in: Biotechnology of Hairy Root Systems. Springer, pp. 55–89.

Wang, W.-B., Kim, Y.-H., Lee, H.-S., Kim, K.-Y., Deng, X.-P., Kwak, S.-S., 2009. Analysis of antioxidant enzyme activity during germination of alfalfa under salt and drought stresses. Plant Physiol. Biochem. 47, 570–577.

Wang, X., Han, H., Liu, X., Gu, X., Chen, K., Lu, D., 2012. Multi-walled carbon nanotubes can enhance root elongation of wheat (Triticum aestivum) plants. J. Nanoparticle Res. 14, 841.

Wilkinson, S., Davies, W.J., 2010. Drought, ozone, ABA and ethylene: new insights from cell to plant to community. Plant. Cell Environ. 33, 510–525.

Zhang, B., Zheng, L.P., Yi Li, W., Wen Wang, J., 2013. Stimulation of artemisinin production in Artemisia annua hairy roots by Ag-SiO2 core-shell nanoparticles. Curr. Nanosci. 9, 363–370.

Zhao, J., Davis, L.C., Verpoorte, R., 2005. Elicitor signal transduction leading to production of plant secondary metabolites. Biotechnol. Adv. 23, 283–333.

Zobayed, S.M.A., Afreen, F., Kozai, T., 2007. Phytochemical and physiological changes in the leaves of St. John’s wort plants under a water stress condition. Environ. Exp. Bot. 59, 109–116.