

# فرم پیشنهاد تحقیق پایان‌نامه‌ی کارشناسی ارشد

عنوان تحقیق به فارسی:

پاسخ مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی گیاه استویا (*Stevia rebaudiana*) نسبت به تغییرات میزان  
جیبرلین و سیتوکینین

- اطلاعات مربوط به پایان‌نامه:

الف- عنوان تحقیق

۱- عنوان به زبان فارسی:

پاسخ مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی گیاه استویا نسبت به تغییرات میزان جیبرلین و سیتوکینین

۲- عنوان به زبان انگلیسی/آلمانی، فرانسه، عربی):

تذکر: صرفاً دانشجویان رشته‌های زبان آلمانی، فرانسه و عربی مجازند عنوان پایان‌نامه خود را به زبان مربوطه در این بخش درج نمایند و  
برای بقیه دانشجویان، عنوان بایستی به زبان انگلیسی ذکر شود.

Morphological and physiological responses of *Stevia (Stevia rebaudiana)* under  
gibberellins and cytokines treatments

ب - تعداد واحد پایان‌نامه: ۶ واحد

ج- بیان مسأله اساسی تحقیق به طور کلی (شامل تشریح مسأله و معرفی آن، بیان جنبه‌های مجهول و مبهم، بیان متغیرهای مربوطه و منظور از تحقیق) :



گیاهان دارویی بخش مهمی از تنوع زیستی موجود در بسیاری از کشورهای جهان را شامل می‌شوند (پادولوسی و همکاران<sup>۱</sup>، ۲۰۰۲). بر اساس برآوردهای انجام یافته ۲۵ تا ۵۰ درصد کلیه داروهای تجویز شده در دنیا به ترکیبات فعال بیولوژیکی حاصل از گیاهان مربوط می‌شود. این امر حاکی از ارزش اقتصادی قابل توجه گیاهان دارویی در جوامع بشری است (گوشل<sup>۲</sup>، ۲۰۰۲). گیاهان دارویی مخازن غنی از متابولیت‌های ثانوی یعنی مخازن مواد مؤثره اساسی بسیاری از داروها می‌باشند. با وجود اینکه بیوسنتز متابولیت‌های ثانوی به صورت ژنتیکی کنترل می‌شود، ولی ساخت آن‌ها به شدت توسط عوامل محیطی تحت تأثیر قرار می‌گیرد (امیدبگی، ۱۳۷۴). افزایش کمی و کیفی مواد ثانویه گیاهی از طریق بهینه کردن رشد و نمو گیاهان با به کارگیری روش‌های به زراعی و به نژادی، بیوشیمیایی، بیوتکنولوژی و بهره‌گیری از عوامل اکولوژیکی میسر است (بقالیان، ۱۳۸۰).

با وجود مصرف و اهمیت گیاهان دارویی از زمانهای قدیم در تمامی تمدن‌ها، در حال حاضر مصرف داروهای شیمیایی بسیار بیشتر است. عوارض جانبی و افزایش قیمت داروهای شیمیایی، استفاده از گیاهان دارویی را دوباره با اهمیت کرده و باعث تغییر در تمایل به سمت مصرف داروهای طبیعی در جهان شده است (شارما و همکاران<sup>۳</sup>، ۲۰۰۸). دلیل دیگر توجه به استفاده از ترکیبات گیاهی، کاهش کارایی داروهای مرسوم مانند آنتی بیوتیک‌ها است (حسین و همکاران<sup>۴</sup>، ۲۰۰۷). در مقابل، گیاهان دارویی هم در درمان و هم در پیشگیری نقش مهمی دارند (کیرینج<sup>۵</sup>، ۲۰۰۵). استویا یک گیاه چند ساله علفی است و پیدایش طبیعی آن بین ۲۲-۲۴ درجه جنوبی و ۵۳-۵۶ درجه

<sup>1</sup> Padulosi et al., 2002

<sup>2</sup> Goeschl, 2002

<sup>3</sup> Sharma et al., 2008

<sup>4</sup> Hussain et al., 2007

<sup>5</sup> Kiringe, 2005

غربی در پاراگوئه و برزیل است (زیدان و همکاران<sup>۱</sup>، ۱۹۸۰؛ رامش و همکاران<sup>۲</sup>، ۲۰۰۶). این گیاه به طور طبیعی در آمازیای هیگلد و نزدیک منشا رودخانه ماندی رشد می‌کند (کیم و همکاران<sup>۳</sup>، ۲۰۰۲). این گیاه به دمای متوسط ۱۵ تا ۳۸ درجه سانتی‌گراد و ۸۰ درصد رطوبت نیاز دارد (شوکلای و همکاران<sup>۴</sup>، ۲۰۰۹). سال‌ها از این گیاه به عنوان شیرین کننده برای از بین بردن مزه تلخ گیاهان دارویی استفاده شد (تخت چین، ۱۳۹۱). امروزه به صورت تجاری در پاراگوئه، برزیل، امریکای جنوبی، فلسطین اشغالی، چین، تایلند و ایالات متحده کشت می‌شود و در ژاپن و کره جنوبی به عنوان شیرین کننده مهم شناخته می‌شود (ریتا الینکس<sup>۵</sup>، ۲۰۰۹). استویا دارای پروتئین، فیبر، کربوهیدرات، فسفر، آهن، کلسیم، سدیم، پتاسیم، منیزیم، روی و ویتامین A و C است (سینق و راثو<sup>۶</sup>، ۲۰۰۵). این ترکیبات شیرین از میان فرایندهای گوارشی بدون تجزیه شیمیایی عبور می‌کند و به همین دلیل برای کسانی که نیاز به کنترل قند خون دارند مفید است (حسین و همکاران، ۲۰۰۸<sup>۷</sup>؛ ریتا الینکس، ۲۰۰۹). تنظیم کننده های رشد گیاهان ترکیبات آلی هستند که در مقادیر کم یک فرآیند فیزیولوژیکی را در گیاه تغییر می‌دهند و به ندرت به صورت منفرد عمل می‌کنند و اغلب فعالیت دو یا چند ترکیب برای تولید یک اثر ضروری می‌باشد (لیت و همکاران<sup>۸</sup>، ۲۰۰۳). جیبرلین‌ها گروه وسیعی از فیتوکروم‌های چهارحلقوی دی ترپنوئید را تشکیل می‌دهند و از موآلونیک اسید سنتز می‌شوند (هوآنگ و همکاران<sup>۹</sup>، ۲۰۰۷). هم‌اکنون انواع زیادی از جیبرلین‌ها وجود دارد که از گیاهان، قارچ‌ها و باکتری‌ها استخراج می‌شوند (مک‌میلان<sup>۱۰</sup>، ۲۰۰۱). بعضی از آنها در مراحل مختلف رشدی گیاه شامل جوانه زنی بذر، طویل شدن ساقه، رشد ریشه، گسترش برگ، نمو کرک، گلدهی و تشکیل میوه نقش کنترلی دارند (دیویس<sup>۱۱</sup>، ۱۹۹۵). تیمار گیاهان با جیبرلین باعث طویل شدن میان‌گره‌ها می‌گردد (لانگ<sup>۱۲</sup>، ۱۹۹۸). افزایش ارتفاع گیاه بر اثر کاربرد جیبرلین ممکن است به علت افزایش سرعت تقسیم سلولی، طویل شدن سلول و یا هر دو باشد (هارتمن و همکاران<sup>۱۳</sup>، ۱۹۹۰). تحقیقات نشان دهنده آن است که جیبرلین بر تقسیم سلولی اثر غیر مستقیم داشته و در طویل شدن سلول‌ها نقش مهمی را ایفا می‌کند، در واقع با تحریک طویل شدن سلول تقسیم سلولی نیز تحریک می‌شود (اسرایلسون<sup>۱۴</sup>، ۲۰۰۴).

<sup>1</sup> Zaidan et al., 1980

<sup>2</sup> Ramesh et al., 2006

<sup>3</sup> Kim et al., 2002

<sup>4</sup> Shukla et al., 2009

<sup>5</sup> Rita Elkins, 2009

<sup>6</sup> Singh, and Rao, 2005

<sup>7</sup> Hossein et al., 2008

<sup>8</sup> Leite et al., 2003

<sup>9</sup> Hwang et al., 2007

<sup>10</sup> MacMillan, 2001

<sup>11</sup> Davies, 1995

<sup>12</sup> Lange, 1998

<sup>13</sup> Hartmann et al., 1990

<sup>14</sup> Israelsson, 2004

سیتوکینین‌ها ترکیباتی هستند که جذب آب را تحریک می‌کنند و باعث افزایش تقسیم سلولی، اندام‌زایی، نمو آوندی و تحرک مواد غذایی می‌شوند (موک و موک<sup>۱</sup>، ۲۰۰۱). سیتوکینین‌ها به سه گروه زاتین، دی‌هیدرو-زاتین و ایزوپنتیل-آدنین تقسیم می‌شوند. زاتین فعال‌ترین و بیشترین نوع سیتوکینین در بسیاری از گونه‌ها است. از سیتوکینین‌های فعال احتمالاً نوکلئوتیدها (متشکل از ریبوزیدها و بازها) با جذب در ارتباط هستند (نقوی، ۱۹۹۹).

د - اهمیت و ضرورت انجام تحقیق (شامل اختلاف نظرها و خلاءهای تحقیقاتی موجود، میزان نیاز به موضوع، فواید احتمالی نظری و عملی آن و همچنین مواد، روش و یا فرآیند تحقیقی احتمالاً جدیدی که در این تحقیق مورد استفاده قرار می‌گیرد):

با توجه به نقش تنظیم کننده‌های رشد گیاهان به عنوان عاملی مهم برای تغییرات رشد و عملکرد گیاهان و نیز کمبود اطلاعات در مورد نقش تنظیم کننده‌های رشد روی گیاه استویا در این پژوهش سعی شده است اثر جیبرلین و سیتوکینین بر خصوصیات مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی گیاه استویا در گلخانه بررسی شود.

ه - مرور ادبیات و سوابق مربوطه (بیان مختصر پیشینه تحقیقات انجام شده در داخل و خارج کشور پیرامون موضوع تحقیق و نتایج آنها و مرور ادبیات و چارچوب نظری تحقیق):

کورساوا<sup>۲</sup> (۱۹۲۶) کشف کرد که جیبرلین‌ها با طول کردن شدید سلول‌ها، رشد گیاهان را افزایش می‌دهند. در سال ۱۹۳۸ یابوتا و سومیکی دو ماده فعال شفاف را از محیط کشت قارچ‌ها ایزوله کردند و آن‌ها را جیبرلین‌های A و B نامیدند. بیش از یکصد جیبرلین از قارچ‌ها و گیاهان استخراج شده است که تمام آن‌ها روی گیاهان اثر دارند (سالیسبوری و راس<sup>۳</sup>، ۱۹۹۲). علاوه بر سایر اثرات، نقش اولیه جیبرلین‌ها روی طول شدن ساقه است که در نتیجه افزایش تقسیم سلولی و طول شدن سلول می‌باشد. تیمار بذرها با جیبرلین قبل از کاشت باعث تغییر در پارامترهای رشد، ویژگی‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاهان می‌گردد. به طوری که تیمار با این هورمون به بهبود رشد برگ و القای تجمع مونوساکاریدها در شرایط محیطی مختلف منجر می‌شود (الهادی و همکاران<sup>۴</sup>، ۱۹۹۹). گزارش شده است که جیبرلین باعث افزایش محتوای کربوهیدرات‌ها، اسیدهای آمینه و نیتروژن کل بادام‌زمینی می‌شود (ال‌ملیجی و همکاران<sup>۵</sup>، ۱۹۹۹). همچنین این هورمون اثر تنش کم‌آبی بر پراکسیداسیون لیپیدها و تخریب پلی‌پپتیدها را در کاهو

<sup>1</sup> Mok and Mok, 2001

<sup>2</sup> Kurosawa, 1926

<sup>3</sup> Salisbury and Ross, 1992

<sup>4</sup> Alhadi et al., 1999

<sup>5</sup> El-Meleigy et al., 1999

کم کرده و فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز و کاتالاز را در این گیاه زیاد می‌کند (عبدالقادری<sup>۱</sup>، ۲۰۰۱). علاوه بر این اثرات مفید، تیمار جیبرلیک‌اسید جذب مواد غذایی و عملکرد گندم را در مزرعه افزایش داده است (بالکی و پادول<sup>۲</sup>، ۲۰۰۹).

استارک و کوزینسکا<sup>۳</sup> (۲۰۰۸) نتیجه گرفتند که لوبیای تیمار شده با جیبرلین، فسفر و کلسیم بیشتر و سدیم کمتری جذب می‌کند. قاسمی گلعدانی و همکاران (۱۳۹۲) گزارش کردند تیمار گندم بهاره با جیبرلین سبب افزایش طول میانگرمه و افزایش ارتفاع بوته می‌شود. همچنین پازکی و همکاران (۱۳۹۱) نشان دادند کاربرد ۱۰ میلی‌مولار آسکوربات و جیبرلین در شرایط آبیاری FC منجر به بیشترین میزان وزن خشک ریشه، وزن خشک اندام‌های هوایی، تعداد شاخه‌های فرعی، سطح برگ و وزن خشک برگ به عنوان اجرای اصلی تولید کننده اسانس آویشن گردید.

تیمار سیتوکینین جوانه‌زنی بذرها را در شرایط کم‌آبی بهبود می‌بخشد (نیدزویدزیسگین و لواک<sup>۴</sup>، ۱۹۹۲). گزارش شده است که در تعدادی از گونه‌های گیاهی تیمار با سیتوکینین به دلیل باز شدن حداکثر روزنه، تعرق را افزایش می‌دهد (مورسوقی و همکاران<sup>۵</sup>، ۱۹۹۱). ساوندرس<sup>۶</sup> (۱۹۸۸) نشان داده است که سیتوکینین حداقل اثرش را با تحریک جذب یون کلسیم توسط سلول‌های مسئول اعمال می‌کند. نشان داده شده است که سیتوکینین-های خاص (۶-بنزیل آمینوپورین، زآتین، ۲-ایزوپنتیل آدنین) در القای فسفوانول‌پیرووات کربوکسیلاز (PEPCase) [آنزیم کلیدی در متابولیسم اسید کراسولاسه (CAM)]، تجمع پینیتول و پرولین در گیاه گل یخ<sup>۷</sup> (توماس و همکاران<sup>۸</sup>، ۲۰۰۴) و PEPCase و کربونیک دی‌هیدروژناز در گیاه ذرت نقش دارند (سوجیهارتو و همکاران<sup>۹</sup>، ۱۹۹۲). همچنین سیتوکینین دیگری (بنزیل آدنین) تجمع mRNA نیترات ردوکتاز را در برگ‌های اتیوله جو افزایش می‌دهد و تجمع جاسمونیک‌اسید و سالیسیلیک‌اسید را که به ترتیب توسط عوامل پاتوژنی و زخم القا می‌شوند را تنظیم می‌کند (نقوی<sup>۱۰</sup>، ۱۹۹۹). سانو و همکاران<sup>۱۱</sup> (۱۹۹۶) نتیجه گرفتند که سیتوکینین در انواع وحشی و تراریخت توتون برای کنترل جاسمونیک‌اسید و سالیسیلیک‌اسید ضروری است. گزارش شده است که تیمار گیاهان با سیتوکینین با ممانعت از فعالیت ریبونوکلئاز (الوارز و همکاران<sup>۱۲</sup>، ۱۹۸۴)، تخریب پروتئین و پیری (چنگ و گوانگ‌ون<sup>۱۳</sup>، ۲۰۰۰) را به تأخیر می‌اندازد. مدرس ثانوی و همکاران (۱۳۹۰) گزارش کردند کاربرد سیتوکینین در بذر ذرت باعث افزایش درصد جوانه زنی بذرها و طول ریشه چه‌ها می‌گردد.

<sup>1</sup> Abdel-Kader, 2001

<sup>2</sup> Balki and Padole, 2009

<sup>3</sup> Starck and Kozinska, 2008

<sup>4</sup> Niedzwiedz-Siegien and Lewak, 1992

<sup>5</sup> Morsucci et al., 1991

<sup>6</sup> Saunders, 1988

<sup>7</sup> *Mesembryanthemum crystallinum*

<sup>8</sup> Tomas et al., 2004

<sup>9</sup> Sugiharto et al., 1992

<sup>10</sup> Naqvi, 1999

<sup>11</sup> Sano et al., 1996

<sup>12</sup> Alvarz et al., 1984

<sup>13</sup> Cheng and GuangWen, 2000

در این مطالعه اثرات هورمون‌های گیاهی جیبرلین و سیتوکینین و اثرات برهم کنش این دو فاکتور بر مورفولوژی و فیزیولوژی گیاه استویا بررسی خواهد شد.

و - جنبه جدید بودن و نوآوری در تحقیق:

تحقیقات در زمینه اثرات هورمون‌های گیاهی روی واکنش‌های مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی گیاهان دارویی کم می‌باشد بنابراین بررسی پاسخ مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی گیاه استویا نسبت به تغییرات میزان جیبرلین و سیتوکینین از اولویت‌های تحقیقاتی محسوب می‌شود.

ز- اهداف مشخص تحقیق (شامل اهداف آرمانی، کلی، اهداف ویژه و کاربردی):

بررسی خصوصیات مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی گیاه استویا و در اثر به‌کارگیری هورمون‌های گیاهی جیبرلین و سیتوکینین.

ح - در صورت داشتن هدف کاربردی، نام بهره‌وران (سازمان‌ها، صنایع و یا گروه ذینفعان) ذکر شود (به عبارت دیگر محل اجرای مطالعه موردی):

محققان، دانشجویان، اساتید دانشگاهها و مراکز تحقیقات کشاورزی و بخش خصوصی و کشاورزان می‌توانند از دستاورد حاصل از این تحقیق بهره‌مند شوند.

ط - سؤالات تحقیق:

- ۱- اثر جیبرلین روی خصوصیات فیزیولوژیکی و مورفولوژیکی استویا چگونه خواهد بود؟
- ۲- اثر سیتوکینین روی خصوصیات فیزیولوژیکی و مورفولوژیکی استویا چگونه خواهد بود؟
- ۳- اثرات متقابل جیبرلین و سیتوکینین روی خصوصیات رشدی استویا چگونه خواهد بود؟

ی - فرضیه‌های تحقیق:

- ۱- احتمال می‌رود جیبرلین خصوصیات مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی استویا را افزایش دهد.
- ۲- احتمال می‌رود جیبرلین عملکرد استویا را بهبود بخشد.
- ۳- احتمال می‌رود سیتوکینین خصوصیات مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی استویا را افزایش دهد.

ک- تعریف واژه‌ها و اصطلاحات فنی و تخصصی (به صورت مفهومی و عملیاتی):

#### ۵-روش شناسی تحقیق:

الف- شرح کامل روش تحقیق بر حسب هدف، نوع داده‌ها و نحوه اجراء (شامل مواد، تجهیزات و استانداردهای مورد استفاده در قالب مراحل اجرایی تحقیق به تفکیک):

تذکر: درخصوص تفکیک مراحل اجرایی تحقیق و توضیح آن، از به کار بردن عناوین کلی نظیر، «گردآوری اطلاعات اولیه»، «تهیه نمونه‌های آزمون»، «انجام آزمایش‌ها» و غیره خودداری شده و لازم است در هر مورد توضیحات کامل در رابطه با منابع و مراکز تهیه داده‌ها و ملزومات، نوع فعالیت، مواد، روش‌ها، استانداردها، تجهیزات و مشخصات هر یک ارائه گردد.

زمان: تاریخ شروع: ۱۳۹۳/۰۲/۰۱ تاریخ پایان: ۱۳۹۳/۱۰/۳۰

مکان: مزرعه مرکز آموزش عالی امام خمینی

نوع گیاه: نهال کشت بافت



تیمارهای آزمایشی:

الف: سیتوکینین

|                |         |
|----------------|---------|
| C1 (سیتوکینین) | 50 ppm  |
| C2 (سیتوکینین) | 100 ppm |

ب: جبریلین

|              |        |
|--------------|--------|
| G1 (جبریلین) | 25 ppm |
|--------------|--------|

|              |         |
|--------------|---------|
| G2 (جبیرلین) | 50 ppm  |
| G3 (جبیرلین) | 75 ppm  |
| G4 (جبیرلین) | 100 ppm |

روش های اعمال تیمارها:

این آزمایش با استفاده از گیاه استویا در گلخانه مرکز آموزش عالی امام خمینی (ره) واقع در محمد شهر کرج به صورت فاکتوریل بر پایه بلوک های کامل تصادفی در سه تکرار اجرا خواهد شد. نهال استویا در گلدان های پلاستیکی با حجم ۹ لیتر که قبلا سوراخ هایی به قطر یک سانتی متر در ته آنها به منظور زهکشی مناسب ایجاد خواهد شد و در عمق ۵ سانتی متری خاک کاشته خواهند شد. در هر گلدان ۳ نهال کاشته خواهد شد. بافت خاک از نوع ماسه بادی است. در مرحله طویل شدن ساقه، گلدان های شاهد جدا گردیده و تیمارهای سیتوکینین با غلظت های 50 ppm، 75 ppm، 100 ppm، در ۱،۵ و ۲ لیتر آب مقطر و تیمار جبیرلین با سطوح 25 ppm، 50 ppm، 75 ppm، 100 ppm با پاشش یکنواخت روی گیاهان اعمال خواهد گردید.

اثر تیمارهای مختلف بر صفاتی مانند ارتفاع بوته، تعداد برگ، طول ساقه، قطر ساقه، عرض برگ، طول برگ، وزن تر و وزن خشک بوته ها اندازه گیری و ثبت خواهد شد.

سایر صفات نظیر: شاخص سطح برگ، محتوای نسبی آب برگ، شاخص کلروفیل، کربوهیدرات محلول، درصد قند، غلظت اجزای کلروفیل برگ، خاکستر و آزمون خاک نیز انجام خواهد شد.

ب- متغیرهای مورد بررسی در قالب یک مدل مفهومی و شرح چگونگی بررسی و اندازه گیری متغیرها:

- شاخص سطح برگ: در هر نمونه برداری یک بوته از هر واحد آزمایشی برداشت گردیده و به آزمایشگاه منتقل خواهد شد. سپس تمام برگ های هر بوته جدا گردیده و سطوح برگ ها با استفاده از دستگاه سنجش سطح برگ (ADC-AM300) اندازه گیری خواهد شد و شاخص سطح برگ (LAI) با استفاده از فرمول زیر محاسبه و سپس تغییرات سطح برگ نسبت به درجه روزهای رشد برآزش خواهد گردید.

$$\text{سطح زمین} / \text{سطح برگ} = \text{شاخص سطح برگ}$$

- محتوای نسبی آب برگ: بعد از جدا نمودن برگ ها از گیاه، بلافاصله نمونه ها به آزمایشگاه منتقل و سپس با ترازویی با دقت ۰/۰۰۱ گرم توزین خواهند شد. نمونه ها به مدت ۲۴ ساعت در آب مقطر و شرایط آزمایشگاهی بدون نور قرار گرفته و دوباره توزین خواهند گردید (وزن اشباع). در نهایت برگ ها به مدت ۴۸ ساعت در داخل آونی با دمای ۷۵ درجه سانتی گراد قرار داده شده و وزن آنها تعیین خواهد گردید. محتوای نسبی آب برگ از طریق رابطه زیر محاسبه خواهد شد:



$$RWC = \frac{\text{وزن خشک برگ} - \text{وزن تر برگ}}{\text{وزن خشک برگ} - \text{وزن اشباع برگ}} \times 100$$

-شاخص کلروفیل: برای اندازه گیری شاخص کلروفیل نیز پس از استقرار کامل گیاهچه ها، در هر واحد آزمایشی یک بوته علامت گذاری خواهد شد و هر هفته با استفاده از دستگاه کلروفیل سنج (CCM-200) شاخص کلروفیل برگ اندازه گیری خواهد گردید. برای این منظور، شاخص کلروفیل در سه قسمت از هر یک از برگچه های بالایی، میانی و پایینی هر بوته اندازه گیری و میانگین ۹ عدد به عنوان معیاری از شاخص کلروفیل برگ هر مرحله در نظر گرفته خواهد شد.

-تعداد برگ: تعداد برگ بوته های هر گلدان شمارش شده و میانگین آن ها گزارش خواهد شد.

-طول و قطر ساقه: طول و قطر ساقه بوته های هر گلدان با کولیس اندازه گیری شده و میانگین آن ها محاسبه خواهد شد.

-طول و عرض برگ: طول و عرض سه برگ از هر بوته اندازه گیری شده و میانگین آن ها گزارش خواهد شد.

-وزن تر و خشک بوته ها: ابتدا بوته های موجود در هر گلدان با ترازو وزن گردیده و وزن تر آنها یادداشت شده سپس بوته ها در پاکت های کاغذی قرار داده شده و داخل آونی با دمای ۷۵ درجه سانتی گراد به مدت ۲۴ ساعت خشک شده و پس از توزین وزن خشک آنها تعیین خواهد گردید.

-کربوهیدرات محلول: پس از استخراج، ۱/ میلی لیتر عصاره الکلی با ۳ میلی لیتر آنترون تازه تهیه شده (۱۵۰ میلی گرم آنترون + ۱۰۰ میلی لیتر سولفوریک اسید ۷۲ درصد مخلوط می گردد. این محلول ده دقیقه در حمام آب جوش قرار داده شد تا واکنش انجام و رنگی شود. سپس میزان جذب آن با اسپکتروفتومتر در طول موج ۶۲۵ نانو متر قرائت و مقدار قندهای محلول محاسبه خواهد شد.

-درصد قند: پس از اندازه گیری کربوهیدرات محلول درصد قند محاسبه خواهد شد.

-غلظت اجزای کلروفیل برگ: غلظت اجزای کلروفیل برگ (کلروفیل a، b و a+b) به روش آرنون (۱۹۴۹) تعیین خواهد شد. ابتدا یک گرم از پهنک برگ انتخاب و به قطعات کوچکی خرد شده و در داخل هاون چینی به همراه ۱۰ میلی لیتر استون ۸۰ درصد به مدت چند دقیقه به خوبی له می گردد. ماده حاصل درون قیف بوختر متصل به پمپ خلاء ریخته شده و پس از جداسازی محلول باقی مانده مواد به هاون منتقل می شود و ۱۰ میلی لیتر استون اضافه می گردد. این عمل تا زمانی که مواد باقی مانده در قیف بوختر به طور کامل فاقد کلروفیل و سفید شوند ادامه می یابد. عصاره حاصل به مدت ۲۰ دقیقه با سرعت ۴۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شده و محلول به دست آمده با استون ۸۰ درصد به حجم ۳۰ میلی لیتر رسانده شده و درون

لوله آزمایش در بیدار ریخته می شود. میزان جذب نوری عصاره توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج های ۶۶۳ و ۶۴۵ نانومتر قرائت خواهد گردید. به منظور حذف استون از محلول شاهد (استون ۸۰ درصد) استفاده خواهد شد. پس از کالیبره کردن دستگاه عصاره حاصل درون قیف بوختر ریخته شده و اعداد به دست آمده قرائت خواهند شد. جهت محاسبه غلظت کلروفیل از روابط زیر استفاده می شود.

میلی گرم برگ / میلی لیتر استون\* { (جذب در ۶۴۵ نانومتر) - ۶۹/۲ } (جذب در ۶۶۳ نانومتر) / ۷/۱۲ = میلی گرم کلروفیل a در هر گرم وزن تر

میلی گرم برگ / میلی لیتر استون\* { (جذب در ۶۶۳ نانومتر) - ۶۸/۴ } (جذب در ۶۴۵ نانومتر) / ۹/۲۲ = میلی گرم کلروفیل b در هر گرم وزن تر

کلروفیل b + کلروفیل a = میلی گرم کلروفیل a در هر گرم وزن تر

- خاکستر: بوته های موجود در هر گلدان پس از توزین با هم مخلوط شده و با الک های ۴ و ۱ میلی متری دو بار آسیاب می شوند، سپس به آزمایشگاه علوم دامی منتقل و میزان خاکستر خام و مواد معدنی کلسیم، فسفر، منیزیم، پتاسیم، آهن، منگنز، مس و روی آنها اندازه گیری خواهد شد.

- آزمون خاک: خاک موجود در گلدانها داخل کیسه های پلاستیکی سر بسته قرار داده شده و به آزمایشگاه خاکشناسی جهت آزمون خاک منتقل خواهد شد.

ج - شرح کامل روش (میدانی، کتابخانه ای) و ابزار (مشاهده و آزمون، پرسشنامه، مصاحبه، فیش برداری و غیره) گردآوری داده ها :

میدانی و از طریق اجرای طرح پژوهشی در گلخانه مرکز آموزش عالی امام خمینی (ره)

د - جامعه آماری، روش نمونه گیری و حجم نمونه (در صورت وجود و امکان):

نمونه برداری تخریبی از تعداد ۲۴ گلدان

ه - روش ها و ابزار تجزیه و تحلیل داده ها:

این آزمایش به صورت فاکتوریل بر پایه بلوک های کامل تصادفی در سه تکرار خواهد بود. کلیه تجزیه های آماری با بهره گیری از نرم افزار رایانه ای MSTATC و مقایسه میانگین ها با روش آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد انجام خواهد شد. رسم شکل با بهره گیری از نرم افزار Excel انجام خواهد گردید.

#### منابع مورد استفاده:

امیدبگی، ر. ۱۳۷۴. رهیافت های تولید و فراوری گیاهان دارویی. جلد اول، انتشارات فکر روز، ۲۸۳ صفحه.

بقالیان، ک. ۱۳۸۰. روش‌های تزیید کمی و کیفی متابولیت‌های ثانویه موجود در گیاهان دارویی. چکیده مقالات همایش ملی گیاهان دارویی ایران، ۲۹۳ صفحه.

پازکی، ع.ر.، رضایی، ح.، حبیبی، د. و پاک نژاد، ف. ۱۳۹۱. اثر تنش خشکی، محلول پاشی آسکوربات و جیبرلین بر روی برخی صفات مورفولوژیکی، محتوی نسبی آب برگ و پایداری غشای سیتوپلاسمی گیاه آویشن. مجله زارعت و اصلاح نباتات، شماره ۷۰، جلد ۲، صفحه‌های ۱-۱۳.

تخت چین، ف. ۱۳۹۱. شیرین کننده استویا، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید بهشتی، معاونت غذا و دارو. قاسمی گلعدانی، ک.، چادردوزجدی، الف. و موسی بیگی، ط. ۱۳۹۲. واکنش گندم بهاره به جیبرلین و سایکوسل. نشریه زارعت پژوهش و سازندگی، شماره ۱۰۰، جلد ۱، صفحه‌های ۷-۱.

مدرس ثانوی، س.ع.م.، مهدوی، ب.، حمزی الوائق، س. و احتشامی، س.م.ر. ۱۳۹۰. تاثیر جیبرلین و سیتوکینین در میزان تحمل به شوری در مرحله جوانه زنی ارقام ذرت. مجله پژوهش و سازندگی، شماره ۸۸، جلد ۳، صفحه‌های ۲۷-۱۳.

Abdel-Kader, D.Z. 2001. Drought and gibberellic acid dependent oxidative stress: effect on antioxidant defense system in two lettuce cultivar. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 4: 1138-1143.

Alhadi, F.A., Taha, B. and Jabr, Y.M. 1999. Water stress and gibberellic acid effects on growth of fenugreek plants. *Irrigation Science*, 18: 185–190.

Alvarz, J., Guerra, H. and Corchete, P. 1984. Effect of benzyladenine and kinetin and the degradation of proteins in lentil protein bodies. 4th Congress of the FESSP, Strassbourg, France, pp. 166–167.

Balki, A.S. and Padole, V.W. 2009. Effect of presoaking seed treatments with plant hormones on wheat under conditions of soil salinity. *Journal of the Indian Society of Soil Science*, 30: 361–365.

Cheng, Z. and GuangWen, Z. 2000. Physiological and biochemical changes in flower senescence of *Osmanthus fragrans*. *Acta Horticulturae Sinica*, 27: 356-360.

Davies, P. 1995. *Plant hormones: physiology, biochemistry and molecular biology*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht.

El-Meleigy, E.A., Hassanein, R.A. and Abdel-Kader, D.Z. 1999. Improvement of drought tolerance in *Arachis hypogaea* L. plant by applying growth substances. 3-Endogenous phytohormones and certain oxidative enzymes. *Bulletin of the Faculty of Science Assiut University*, 28: 219-244.

Goeschl, T. 2002. Stakes in the evolutionary race: The economic value of plants for medicinal application. *Journal of Herbs, Spices and Medicinal Plants*, 9: 373-388.

Hartmann, H.T., Kester, D.E. and Davies Jr, F.T. 1990. *Plant propagation, principles, and practices*, 5th ed. Prentice-Hall, Englewood Cliffs, NJ.

Hosseini, M.A., Shamim kabri, A.M., Jahan, T.A. and Hassan, M.N. 2008. Micropropagation of *Stevia Rebaudiana*. *International Journal of Sustainable crop production*, 3(4): 1-90.

- Hussain, G.M., Mishra, D., Singh, P.N., Rao, C.V. and Kumar, V. 2007. Ethno pharmacological review of native traditional medicinal plants for brain disorders. *Pharmacognosy Reviews*. 1: 19-28.
- Hwang, S., Hamayun, M., Kim, H., Shin, D., Kim, J., Kim, S. and Lee, I. 2007. Diurnal variation in endogenous gibberellin levels of rice shoots. *Journal of Crop Science Biotechnology*, 10: 163-166.
- Israelsson, M. 2004. Gibberllin homeostasis and biosynthesis in relation to shoot growth in hybrid aspen. Doctoral thesis. Swedish University of Agricultural Sciences.
- Kim, J., Hae choi, Y. and Hee choo, Y. 2002. Use of stevioside and cultivation of stevia *Rebaudiana* in Korea. *Stevia hook*. Chapter 10: 196-202.
- Kiringe, J.W. 2005. Ecological and anthropological threats to ethno-medicinal plant resources and their utilization in maasai communal ranches in the amboseli region of Kenya. *Ethnobotany Research and Applications*, 3: 231-241.
- Kurosawa, E. 1926. Experimental studies on the secretion of *Fusarium heterosporum* on rice plants. *National Historical Society (Formosa)*, 16: 213–227.
- Lange, T. 1998. Molecular biology of gibberllin synthesis. *Planta*, 204: 409-419.
- Leite, V.M., Rosolem, C.A. and Rodrigues, J.D. 2003. Gibberellin and cytokenin effects on soybean growth. *Scientia Agricola*, 60: 537-541.
- MacMillan, J. 2001. Occurrence of gibberellins in vascular plants, fungi, and bacteria. *Journal of Plant Growth Regulation*, 20: 387-442.
- Mok, D.W.S. and Mok, M.C. 2001. Cytokinin metabolism and action. *Plant Molecular Biology*, 52: 89-118.
- Morsucci, R., Curveto, N. and Delmastro, S. 1991. Involvement of cytokinins and adenosine 3',5'-cyclic monophosphate in stomatal movement in *Vicia faba*. *Plant Physiology and Biochemistry*, 29: 537–547.
- Naqvi, S.S.M. 1999. Plant hormones and stress phenomena. In: M. Pessaraki (ed.). *Handbook of Plant and Crop Stress*. Marcel Dekker, Inc., New York, USA, pp. 709-730.
- Niedzwiedz-Siegien, I. and Lewak, S. 1992. Growth regulator differentially affect photosensitivity induce by low temperature and osmotic stresses in germinating white clover seeds. *Plant Growth Regulation*, 11: 133-137.
- Padulosi, S., Leaman, D. and Quek, P. 2002. Challenges and opportunities in enhancing and conservation and use of medicinal and aromatic plants. *Journal of Herbs, Spices and Medicinal Plants*, 9: 243-267.
- Ramesh, K., Singh V. and Megeji, N.W. 2006. Cultivation of stevia rebaudiana (BERT) Bertoni a comprehensive review. *Advance in Agronomy*, 89: 137-177.
- Rita Elkins, M.H. 2009. *Stevia natures sweetener*. Woodland publishing, Inc: 160: 1-29
- Salisbury, F.B. and Ross, C.W. 1992. *Plant Physiology*. Belmont, Wadsworth, USA, pp. 682.

- Sano, H., Seo, S., Koizumi, N., Niki, T., Iwamura, H. and Ohashi, Y. 1996. Regulation by cytokinins of endogenous levels of jasmonic and salicylic acids in mechanically wounded tobacco plants. *Plant, Cell & Physiology*, 37: 762-769.
- Saunders, M.J. 1988. Cytokinin: evidence for spatial control of signal transduction. In: R.P. Pharis and S.W. Rood (eds.). *Plant Growth Substances*. Springer-Verlag, Heidelberg, Germany, pp. 511–518.
- Sharma, A., Shanker, C., Tyagi, L.K., Singh, M. and Rao, C.V. 2008. Herbal Mrdicine for Market Potential in India: An Overview. *Academic Journal of Plant Sciences*, 1: 26-36.
- Shukla, S., Mehta, A., Bajpai, V.K. and Shukla, S. 2009. In vitro antioxidant activity and total Phenolic content of ethanolic leaf extract of *Stevia Rebaudiana*. *Food and chemical Toxicology*. 47(9): 2338-2343.
- Singh, S.D. and Rao, G.P. 2005. *Stevia*: the herbal sugar of 21 st century. *Sugar Technical*, 7(1): 17-24.
- Starck, Z. and Kozinska, M. 2008. Effect of phytohormones on absorption and distribution of ions in salt stressed bean plants. *Acta Societatis Botanicorum Poloniae*, 49: 111-125.
- Sugiharto, B., Burnell, J.N. and Sugiyama, T. 1992. Cytokinin is required to induce the nitrogen-dependent accumulation of mRNAs for phosphoenolpyruvate carboxylase and carbonic anhydrase in detached maize leaves. *Plant Physiology*, 100: 153-156.
- Tomas Robertson, M.J., Fukai, S. and Peoples, M.B. 2004. The effect of timing and severity of water deficit on growth, development, yield accumulation and nitrogen fixation of mungo bean. *Field Crops Research*, 86: 67-80.
- Zaidan, L.B.P., Dietrich, S.M.C. and Felipe, G.M. 1980. Effect of photoperiod on flowering and stevioside content in plants of *Stevia Rebaudiana* Japanese. *Journal of crop science*, 49: 569-574

۶- استفاده از امکانات آزمایشگاهی واحد:

آیا برای انجام تحقیقات نیاز به استفاده از امکانات آزمایشگاهی واحد علوم و تحقیقات می باشد؟ بلی  خیر

در صورت نیاز به امکانات آزمایشگاهی لازم است نوع آزمایشگاه، تجهیزات، مواد و وسایل مورد نیاز در این قسمت مشخص گردد.

| نوع آزمایشگاه | تجهیزات مورد نیاز | مواد و وسایل | مقدار مورد نیاز |
|---------------|-------------------|--------------|-----------------|
|               |                   |              |                 |

امضاء استاد راهنما:

امضاء مدیر گروه تخصصی:

۷- زمان بندی انجام تحقیق:

الف- تاریخ شروع: ۱۳۹۳/۰۲/۰۱ ب- مدت زمان انجام تحقیق: ۸ ماه ج- تاریخ اتمام: ۱۳۹۳/۱۰/۳۰

تذکر: لازم است کلیه فعالیتها و مراحل اجرایی تحقیق (شامل زمان ارائه گزارشات دوره‌ای) و مدت زمان مورد نیاز برای هر یک، به تفکیک پیش‌بینی و در جدول مربوطه درج گردیده و در هنگام انجام عملی تحقیق، حتی‌الامکان رعایت گردد.

پیش‌بینی زمان‌بندی فعالیت‌ها و مراحل اجرایی تحقیق و ارائه گزارش پیشرفت کار

| زمان |   |   |   |   | زمان کل<br>(ماه) | شرح فعالیت                       |    |
|------|---|---|---|---|------------------|----------------------------------|----|
| ۵    | ۴ | ۳ | ۲ | ۱ |                  |                                  |    |
|      |   |   |   |   |                  | آماده سازی گلدان‌ها              | ۱  |
|      |   |   |   |   |                  | بررسی منابع                      | ۲  |
|      |   |   |   |   |                  | تهیه نشاءها                      | ۳  |
|      |   |   |   |   |                  | کشت نشاءها در گلدان‌های اصلی     | ۴  |
|      |   |   |   |   |                  | اعمال تیمارهای کودی و هورمونی    | ۵  |
|      |   |   |   |   |                  | اندازه گیری صفات                 | ۶  |
|      |   |   |   |   |                  | آنالیز واریانس و تجزیه های آماری | ۷  |
|      |   |   |   |   |                  | پیش نویس پایان نامه              | ۸  |
|      |   |   |   |   |                  | پیش دفاع و دفاع                  | ۹  |
|      |   |   |   |   |                  |                                  | ۱۰ |
|      |   |   |   |   |                  |                                  | ۱۱ |
|      |   |   |   |   |                  |                                  | ۱۲ |