

بررسی اثر پرتو فرا بنفش روی برخی پارامترهای فیزیولوژیکی گیاه فلفل قلمی (*Capsicum longum*)

سیاوش حسینی سرفین^{۱*}، ژیرایر کاراپتیان^۲ و جلیل خارا^۳

*۱- نویسنده‌ی مسئول: عضو هیات علمی گروه زیست شناسی، دانشکده‌ی علوم، دانشگاه ارومیه (Sihosseini@yahoo.com)

۲و۳- اعضاء هیات علمی گروه زیست شناسی، دانشکده‌ی علوم، دانشگاه ارومیه

تاریخ دریافت: ۸۸/۲/۲۰ تاریخ پذیرش: ۹۰/۲/۱۴

چکیده

هدف از این مطالعه بررسی اثرات پرتو فرا بنفش روی برخی از پارامترهای فیزیولوژیکی گیاه فلفل قلمی (*Capsicum longum*) تحت شرایط گلخانه‌ای می باشد. این گیاهان در شرایط یکنواخت محیطی رشد داده شدند و بعد از ۳۵ روز تحت تیمار اشعه‌ی UV-A به مدت ۱۵ روز و اشعه‌ی UV-C به مدت ۸ روز قرار گرفتند. با بررسی های انجام گرفته مشخص شد که میزان پروتئین ها تحت تأثیر اشعه‌ی UV قرار گرفته و در اندام های هوایی و در ریشه اندکی کاهش یافت. میزان قندهای محلول به طور معنی داری در اندام های هوایی گیاهان تیمار شده با UV-C کاهش یافت ولی تغییرات آن در گیاهان تیمار با UV-A معنی دار نبود. در میزان قندهای محلول ریشه گیاهان تیمار با UV نیز، تغییرات معنی داری مشاهده نشد. فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان آسکوربات پراکسیدازو گایاکول پر اکسیداز در اثر تیمار شده با UV افزایش نشان داد. افزایش فعالیت GuPX فقط در تیمار شده UV-C معنی دار بود ولی فعالیت APX در هر دو تیمار UV-C و UV-A معنی دار بود. میزان مالون دی آلدئید (MDA) در هر دو تیمار مخصوصاً در تیمار UV-C اندکی افزایش نشان داد. وزن خشک اندام های هوایی در گیاهان تیمار شده به طور معنی داری کاهش یافت ولی در مورد ریشه ی این کاهش فقط در تیمار UV-C معنی دار بود. اشعه‌ی UV باعث کاهش معنی دار تعداد انشعابات جانبی شد که این کاهش در تیمار UV-C معنی دار بود. در این بررسی مشخص شد که گیاه فلفل قلمی در برابر اشعه‌ی ماوراء بنفش حساس بوده و از لحاظ فیزیولوژیکی، متحمل تغییراتی می شود. حساسیت این گیاه به اشعه‌ی UV-C بیش تر از UV-A بود.

کلید واژه ها: اشعه‌ی UV، آسکوربات پراکسیداز، گایاکول پر اکسیداز، مالون دی آلدئید، قند های محلول، پروتئین، فلفل قلمی

مقدمه

رسید و پیش بینی می شود بازسازی آن بتدریج وطی چند دهه ی آینده صورت گیرد (۴۵). به موازات کاهش لایه ازن، میزان اشعه‌ی ماوراء بنفش نفوذ یافته به سطح زمین نیز افزایش پیدا کرده که می تواند برای موجودات زنده از جمله گیاهان خطرناک باشد (۴).

پرتو فرا بنفش قسمتی از طیف الکترو مغناطیسی است که حدود ۹-۸٪ کل اشعه خورشیدی را تشکیل داده و از لحاظ طول موج به سه بخش UV-A (320-400 nm), UV-B (280-320 nm), UV-C (200-280 nm) تقسیم می شود (۶). بر اساس آخرین تحقیقات انجام گرفته، کاهش لایه ی ازن در سال های آینده به بالاترین حد خود خواهد

می کنند. فسفولیپیدها و گلیکولیپیدها که ترکیب اصلی غشاء سلول های گیاهی را تشکیل می دهند، حاوی اسیدهای چرب غیر اشباع بوده و در اثر تابش اشعه UV در حضور اکسیژن تخریب می شوند (۲۰). آسیب اکسایشی بواسطه پراکسیداسیون لیپیدها مشخص می شود. یکی از محصولات پراکسیداسیون لیپیدی، مالون دی آلدئید (MDA) می باشد که به عنوان شاخصی از پراکسیداسیون لیپیدی اندازه گیری می شود. (۱۱).

مطالعه‌ی بیش از ۳۰۰ گونه و رقم گیاهی نشان داده است که حدود ۵۰٪ آن ها در برابر اشعه‌ی UV کاملاً حساس بوده، ۳۰-۲۰٪ دارای حساسیت متوسط و بقیه غیر حساس هستند (۴۱). در گیاهان پهن برگ، با توجه به این که میزان اشعه رسیده به سطح برگ، بیش تر از سوزنی برگان می باشد؛ بنابر این از استعداد بالاتری در مقابل تشدید اشعه‌ی UV از خود نشان داده و تأثیر پذیرتر هستند (۱۷).

مطالعات نشان می دهند که اشعه‌ی UV باعث افزایش میزان فرم های فعال اکسیژن^۱ (ROS) شده که منجر به ایجاد تنش اکسایشی می شود (۲۴). در حقیقت تشکیل فرم های فعال اکسیژن، بخشی از فرآیند های سیگنالی هشدار دهنده در گیاهان است که باعث تغییر متابولیسم یا بیان ژن ها می شود به طوریکه گیاه می تواند در برابر شرایط محیطی گوناگون، ارگانیزم های مهاجم و اشعه ی ماوراء بنفش واکنش نشان دهد (۱۹). آنزیم های آنتی اکسیدان مهم ترین آنزیم هایی هستند که گیاهان را در برابر آسیب های اکسایشی محافظت می کنند. افزایش فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان، یک مکانیسم دفاعی برای از بین بردن رادیکال های آزاد اکسیژن در برابر اشعه‌ی UV بوده و باعث حفظ و پایداری تمامیت غشای سلولی و دیگر ساختارهای زیر سلولی می شود (۳۶).

هدف از این مطالعه بررسی واکنش ها و تغییرات فیزیولوژیکی ایجاد شده در گیاه فلفل قلمی در برابر دوز

اشعه‌ی UV به راحتی توسط مولکول هایی مثل اسیدهای آمینه، پلی پتیدها و اسیدهای نوکلئیک جذب می شود (۴۰). میزان حساسیت و نوع پاسخ گیاهان در برابر اشعه‌ی UV متفاوت بوده و می تواند برای هر گونه، اختصاصی باشد (۱۷ و ۴۵). علاوه بر این در مراحل مختلف رشد و نمو گیاه، میزان حساسیت آن ممکن است تغییر پیدا کند (۴۵).

مطالعات سطح مزرعه ای و آزمایشگاهی نشان می دهد که میزان محصول در اثر تابش پرتو فرا بنفش کاهش می یابد. تشدید UV به طور قابل ملاحظه ای باعث کاهش رشد، ظرفیت فتوسنتزی و میزان رنگیزه ها می شود (۴۲).

پروتئین ها، اسیدهای نوکلئیک، رنگیزه های فتوسنتزی، غشاهای زیستی، فتوسیستم های نوری و هورمون های گیاهی از اهداف بالقوه ی اشعه‌ی UV هستند (۴، ۱۵). اشعه‌ی UV باعث تولید رادیکال های آزاد اکسیژن، مثل اکسیژن منفرد، آنیون سوپراکسید، پراکسید هیدروژن و رادیکال های هیدروکسیل می شود (۴۶) که بسیار فعال بوده و می توانند با ماکرومولکول های حیاتی مثل لیپیدها، پروتئین ها و اسیدهای نوکلئیک واکنش نشان داده و اعمال طبیعی سلول را مختل سازند (۸ و ۲۴).

در اغلب گیاهان مقدار پروتئین کل در برابر اشعه‌ی UV کاهش می یابد. در گیاه سیب زمینی مشاهده شده است که با وجود کاهش میزان پروتئین در گیاهان تیمار شده با نور UV، سنتز یک پلی پتید جدید با اندازه ی ۳۴ کیلو دالتون اتفاق می افتد (۳۶). تجمع این پلی پتید در تنش های دیگر مثل کمبود آب، دماهای پایین، شوری و همچنین در شدت روشنایی بالا نیز مشاهده شده است. گفته می شود که این پروتئین القا شده توسط تنش، باعث پایداری تیلاکوئیدها شده و از آسیب های اسمزی یا اکسایشی ممانعت می کند (۳۰).

لیپیدهایی که دارای پیوندهای دو گانه هستند به صورت فتوشیمیایی در اثر جذب اشعه‌ی UV تغییر پیدا

گرفت و به طور متناوب با محلول نیم قدرت هوگلند و آب مقطر آبیاری شدند. برداشت نمونه ها ۵۰ روز پس از کشت انجام گرفت.

وزن خشک گیاهان شاهد و تیمار، پس از برداشت توسط ترازوی دیجیتال اندازه گیری شد. همچنین تعداد برگ ها و تعداد انشعابات جانبی در گروه های شاهد و تیمار به طور جداگانه شمارش شد. بقیه ی نمونه ها برای مطالعه پارامترهای فیزیولوژیکی، در دمای ۸۰- درجه ی سانتی گراد نگه داری شدند. آزمایش با استفاده از طرح کاملا تصادفی انجام گرفته و جهت آنالیز آماری برای هر تیمار سه تکرار در نظر گرفته شد و مقایسه ی میانگین داده ها با استفاده از آزمون چند دامنه ای توکی در سطح احتمال آماری $P \leq 0/05$ انجام شد. تجزیه و تحلیل داده ها با استفاده از نرم افزار SPSS و رسم نمودار ها با استفاده از برنامه ی Excel صورت گرفت.

اندازه گیری میزان پروتئین ها

برای اندازه گیری میزان پروتئین ها از روش فولن لوری^۱ استفاده شد (۲۳). بدین ترتیب که ۰/۰۱ گرم ماده ی خشک گیاهی (به صورت جداگانه از ریشه و اندام های هوایی) در داخل هاون چینی که محتوی ۵ میلی لیتر محلول تریس-اسید کلریدریک بود، ساییده شد. سپس عصاره های گیاهی ساییده شده هر تیمار، به صورت جداگانه در لوله های سانتریفوژ ریخته شده و به مدت ده دقیقه با دور ۴۰۰۰ g سانتریفوژ شدند. محلول رویی حاوی پروتئین کل بود. یک میلی لیتر از محلول بالایی هر نمونه در لوله های آزمایش جداگانه ریخته شده و روی هر کدام ۴ میلی لیتر از محلول C اضافه شد. محلول C از ۵۰ میلی لیتر محلول A و ۱ میلی لیتر محلول B تشکیل شده بود. محلول A حاوی ۴ گرم کربنات سدیم (Na_2CO_3)، ۴/۰ گرم هیدروکسید سدیم (NaOH)، ۰/۰۲ گرم سدیم پتاسیم تارتارات که مجموعاً در ۱۰۰ میلی لیتر آب مقطر حل شده بودند، و محلول B حاوی سولفات مس ۰/۰۵٪ (w/v) بود. بعد

های متفاوت اشعه UV بوده و تغییرات فیزیولوژیکی گیاه از جمله میزان پروتئین ها، میزان قند های محلول، مالون دی آلدئید، تعداد برگ ها، وزن خشک و تعداد انشعابات جانبی بررسی شده و همچنین فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان گیاهان تحت تیمار نیز مورد اندازه گیری قرار گرفته است.

مواد و روش ها

فلفل قلمی با نام علمی *Capsicum longum* L.

از تیره سیب زمینی بوده (۱) و دارای ارزش تغذیه ای می باشد. بذرها ی این گیاه که از شرکت آرتان تهیه شده بودند، به مدت ۱۰ دقیقه در محلول ۱۰٪ هیپوکلریت سدیم ضدعفونی شده و برای جوانه زنی در داخل پتری دیش قرار گرفتند. رطوبت از طریق کاغذ صافی های خیس شده توسط آب مقطر تامین شد. بعد از ۲ روز حدود ۹۰٪ بذرها جوانه زدند. خاک مورد استفاده برای گلدان ها همراه با ماسه با نسبت ۵:۱ به مدت ۴ ساعت در درجه حرارت 121°C ضدعفونی شدند.

بذرها ی جوانه زده در ۴۵ گلدان قرار گرفته و پس از ۳۵ روز رشد در شرایط محیطی یکنواخت به سه گروه تقسیم شدند: ۱۵ گلدان به عنوان شاهد، ۱۵ گلدان برای تیمار UV-A و ۱۵ گلدان برای تیمار UV-C مورد استفاده قرار گرفتند. اشعه ی مورد نیاز برای تیمار UV-A توسط دولامپ (F20T9/BL-Hitachi, Japan)، و اشعه ی مورد نیاز برای تیمار UV-C توسط یک لامپ (TUV/G30T8-Philips, Holland) تامین می گردید. مقدار اشعه ی مورد استفاده برای تیمار UV-A، $18/9 \text{ KJ m}^{-2} \text{d}^{-1}$ به مدت ۱۵ روز و برای تیمار UV-C، $17/2 \text{ KJ m}^{-2} \text{d}^{-1}$ و به مدت ۸ روز بود. استفاده از دو مدت زمان متفاوت به این علت بود که طول موج اشعه ی UV-C بسیار کوتاه تر از اشعه ی UV-A بوده در نتیجه از انرژی بسیار بالاتری برخوردار است.

رشد گیاهان در دوره نوری ۱۴ ساعت روشنایی و ۱۰ ساعت تاریکی و در دمای $26/35^\circ\text{C}$ (روز/شب) انجام

در دور g ۸۰۰۰ سانتریفوژ شده و در نهایت جذب آن ها در طول موج های ۵۳۲ و ۶۰۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر مدل Biowave S200 اندازه گیری شد. میزان مالون دی آلدئید با استفاده از تفاوت جذب در دو طول موج و ضریب خاموشی ۱۵۵ میلی مولار بر سانتی متر محاسبه شد (۱۲).

اندازه گیری فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان

برای اندازه گیری فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان ابتدا ۰/۵ گرم وزن تر برگ در داخل هاون چینی که حاوی ۴ میلی لیتر محلول بافر بود ساییده شد. این محلول شامل بافر تریس ۰/۰۵ مولار، اتیلن دی آمین تترا استیک اسید (EDTA) ۱ میلی مولار، کلرید منیزیم ($MgCl_2$) ۳ میلی مولار و پلی وینیل پلی پیرولیدین (PVPP) ۱/۵٪ بود. محلول حاصل از عصاره به مدت ۵ دقیقه در دور g ۶۰۰۰ سانتریفوژ شد و از فاز بالایی محلول، برای اندازه گیری فعالیت آنزیم های آسکوربات پراکسیداز (APX) و گایاکول پراکسیداز (GuPX) استفاده شد (۵ و ۴۴).

اندازه گیری فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز (APX)

برای اندازه گیری فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز، روی ۰/۱ میلی لیتر از عصاره تهیه شده، ۰/۱ میلی لیتر آسکوربات ۰/۵ میلی مولار، ۲/۵ میلی لیتر بافر فسفات با pH=7، ۰/۱ میلی لیتر اتیلن دی آمین تترا استیک اسید (EDTA) ۰/۱ میلی مولار و ۰/۲ میلی لیتر آب اکسیژنه (H_2O_2) ۱٪ اضافه شد. فعالیت آنزیم از طریق اکسید شدن آسکوربات توسط دستگاه اسپکتروفتومتر UV/visible مدل LKB-Biochrom در طول موج ۲۴۰ نانومتر اندازه گیری شد که با کاهش جذب در طی یک دقیقه همراه بود. برای محاسبه فعالیت این آنزیم از ضریب خاموشی ویژه آسکوربات پراکسیداز $2/8 \text{ mM cm}^{-1}$ استفاده شد (۵).

از ده دقیقه، ۱/۵ میلی لیتر محلول فولن رقیق شده با آب مقطر (۹:۱) به نمونه ها اضافه شده و به مدت نیم ساعت در تاریکی قرار گرفتند. در نهایت جذب نوری آن ها در طول موج ۶۶۰ نانومتر توسط اسپکتروفتومتر مدل Biowave S200 خوانده شده و با استفاده از منحنی استاندارد پروتئین (آلبومین سرم گاوی)، میزان پروتئین نمونه های تیمار و شاهد محاسبه گردید.

اندازه گیری میزان قند های محلول

برای اندازه گیری میزان قند های محلول، ابتدا ۰/۰۱ گرم ماده ی خشک گیاهی (به صورت جداگانه از ریشه و اندام های هوایی) در داخل هاون چینی که محتوی ۱۰ میلی لیتر آب مقطر بود، سائیده شد. عصاره ی حاصل در لوله های سانتریفوژ ریخته شده و به مدت ۱۰ دقیقه با دور g ۶۰۰۰ سانتریفوژ گردید. روی ۰/۵ میلی لیتر از محلول رویی، آب مقطر اضافه شده و حجم آن به ۲ میلی لیتر رسانده شد. سپس به هریک از لوله های آزمایش، ۱ میلی لیتر فنل ۵٪ اضافه نموده و پس از ده دقیقه ۵ میلی لیتر اسید سولفوریک غلیظ روی هر کدام اضافه شد. بعد از نیم ساعت میزان جذب در نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر مدل Biowave S200 اندازه گیری شد. میزان جذب متناسب با رنگ محلول و آن هم متناسب با غلظت قندهای محلول است. غلظت قند های محلول با استفاده از منحنی استاندارد تعیین گردید (۱۰).

اندازه گیری مالون دی آلدئید

برای اندازه گیری میزان مالون دی آلدئید، ۰/۲ گرم بافت تر گیاهی در ۵ میلی لیتر تری کلرواستیک اسید (TCA) ۱٪ ساییده شده و در داخل لوله ی آزمایش ریخته شد. سپس نمونه ها به مدت ۱۰ دقیقه در دور g ۸۰۰۰ سانتریفوژ شدند. ۱ میلی لیتر از فاز بالایی نمونه های سانتریفوژ شده، در لوله های آزمایش که حاوی ۴ میلی لیتر محلول ۲۰٪ TCA، و ۰/۵٪ تیو باربیتوریک اسید بود، ریخته شد. نمونه ها به مدت ۳۰ دقیقه در حمام آب گرم با دمای ۹۵ درجه ی سانتی گراد قرار گرفته و بلافاصله در آب یخ سرد شدند. سپس به مدت ۵ دقیقه

در گیاه *Impatiens capensis* نیز کاهش تعداد برگ ها در برابر اشعه UV مشاهده شده است (۹) ولی در گیاهان نخود فرنگی (۲۷) و پنبه (۱۸) کاهش معنی داری در تعداد برگ ها مشاهده نشده است. در نوعی تبریزی (*Populus*) تعداد برگ ها تحت تأثیر اشعه UV قرار نگرفته است (۳۳).

میزان پروتئین های محلول در ریشه و اندام های هوایی

نتایج حاصل از اندازه گیری میزان پروتئین، نشان داد که اشعه UV میزان پروتئین ها را تحت تأثیر قرار داده و باعث کاهش آن در ریشه و اندام های هوایی می شود. این کاهش در مورد تیمارهای UV-C بیش تر از UV-A بود (شکل ۲ و ۳). نتیجه مشابهی برای گیاهان سیب زمینی تحت تیمار UV گزارش شده است (۳۶). اشعه UV نه تنها باعث تغییر یا تخریب اسیدهای آمینه می شود، بلکه می تواند سبب غیر فعال شدن پروتئین ها و آنزیم ها نیز بشود (۲۹).

غیر فعال شدن پروتئین ها و آنزیم ها می تواند به صورت مستقیم در اثر تجزیه نوری اسیدهای آمینه حلقوی اتفاق بیافتد و یا ممکن است پیوند های دی سولفیدی آن ها تحت تأثیر قرار گیرد (۱۶). اشعه UV علاوه بر این که به طور مستقیم می تواند پروتئین ها را تخریب کند، به طور غیر مستقیم نیز می تواند از طریق آسیب رساندن به مولکول های RNA، در فرآیند سنتز پروتئین ها اختلال ایجاد کند (۴). در اغلب گیاهان مقدار پروتئین کل در برابر اشعه UV کاهش نشان می دهد. در گیاه سیب زمینی مشاهده شده است که با وجود کاهش میزان پروتئین در گیاهان در تیمار با UV، سنتز یک پلی پپتید جدید ۳۴ کیلو دالتونی اتفاق می افتد (۳۶). در گونه های مختلف آکاسیا و اوکالیپتوس افزایش معنی دار پروتئین ها در برابر اشعه UV مشاهده شده است (۲۲). کاهش پروتئین ها و آنزیم ریبولوز بیس - فسفات کربوکسیلاز بعد از تیمار شده با

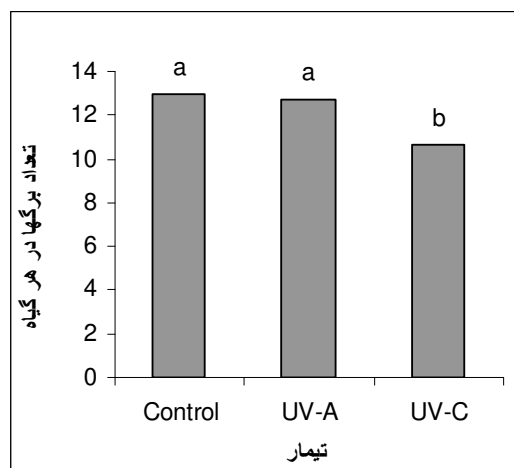
اندازه گیری فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز (GuPX)

برای اندازه گیری فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز، روی ۲۰ میکرو لیتر از عصاره ی تهیه شده، ۱ میلی لیتر گایاکول ۰.۱٪، ۲/۵ میلی لیتر بافر فسفات با pH=7 و ۱ میلی لیتر آب اکسیژنه (H_2O_2) ۰.۱٪ اضافه شد. فعالیت آنزیم توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر UV/visible مدل LKB-Biochrom در طول موج ۴۲۰ نانومتر اندازه گیری شد که با کاهش جذب در طی یک دقیقه همراه بود. برای محاسبه ی فعالیت این آنزیم از ضریب خاموشی ویژه ی گایاکول پراکسیداز ۲۶/۶ میلی مولار بر سانتی متر استفاده شد (۴۴).

نتایج و بحث

تعداد برگ ها

با مطالعه ی اثر اشعه UV روی تعداد برگ ها در گیاهان تیمار شده در مقایسه با شاهد، مشخص شد که اشعه UV-C به طور معنی داری باعث کاهش تعداد برگ ها می شود ولی این کاهش در مورد گیاهان تیمار با UV-A معنی دار نبود (شکل ۱).

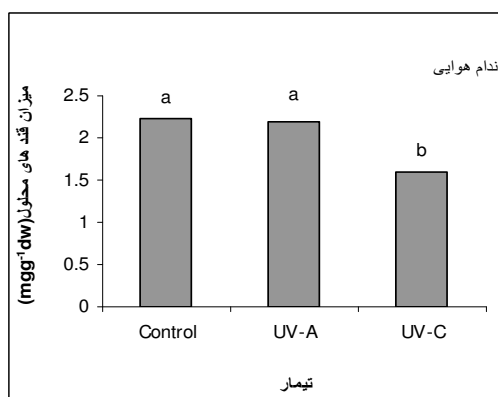


شکل ۱ - تعداد برگ ها در گیاهان تحت تیمار با اشعه UV در مقایسه با شاهد

مقادیری که با حروف مشابه مشخص شده اند بر اساس آزمون توکی اختلاف معنی داری در سطح $P=0.05$ ندارند.

میزان قند های محلول ریشه و اندام های هوایی

بررسی میزان قندهای محلول در ریشه و اندام های هوایی گیاهان تحت آزمایش نشان داد که اشعه UV-C باعث کاهش معنی دار این ترکیبات در اندام های هوایی گیاهان تیمار گردید. ولی در میزان قند گیاهان تیمار شده با UV-A تغییر معنی داری مشاهده نشد (شکل ۴).

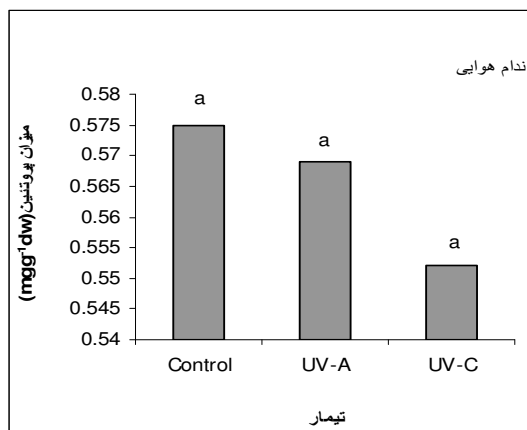


شکل ۴- میزان قند های محلول در اندام های هوایی گیاهان تحت تیمار با اشعه UV در مقایسه با شاهد

مقادیری که با حروف مشابه مشخص شده اند بر اساس آزمون توکی اختلاف معنی داری در سطح $P=0/05$ ندارند.

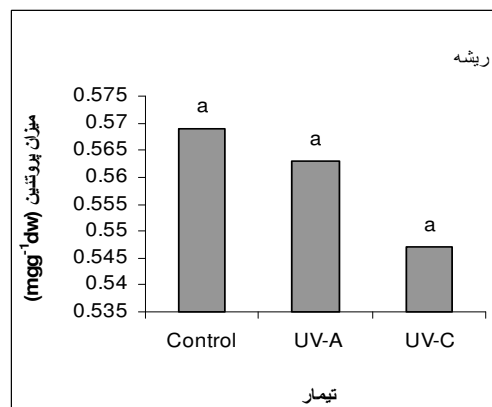
در ریشه ی گیاهان تیمار شده با UV نیز تغییر معنی داری در مقایسه با شاهد مشاهده نشد (شکل ۵). در سایر گیاهانی که تحت تأثیر اشعه UV قرار گرفته اند با توجه به نوع گونه نتایج مختلفی به دست آمده است. در گونه های مختلف اوکالیپتوس و آکاسیا میزان قند های محلول در گیاهان تیمار با UV کاهش پیدا کرده است (۲۲). در گیاه درختی *Colophospermum mopane* تغییرات معنی داری در میزان کربوهیدرات های غیر ساختمانی حاصل شده و مقدار آن ها در برابر اشعه UV کاهش یافته است. در مقابل، در گیاهان درختچه ای *Leucadendron laureolu*، *Protea burchellii* و *Phylica pubescens* میزان این ترکیبات افزایش پیدا کرده است (۲۶). چنین

اشعه UV توسط هی و همکاران^۱ گزارش شده است که منجر به کاهش میزان فتوسنتز می شود (۱۳). در مقابل، کاهش کربوکسیلاسیون همراه با افزایش پروتئین ها در مقابل اشعه، توسط Li و همکاران^۲ گزارش شده است (۲۱).



شکل ۲- میزان پروتئین ها در اندام های گیاهان تحت تیمار با اشعه UV در مقایسه با شاهد

مقادیری که با حروف مشابه مشخص شده اند بر اساس آزمون توکی اختلاف معنی داری در سطح $P=0/05$ ندارند.

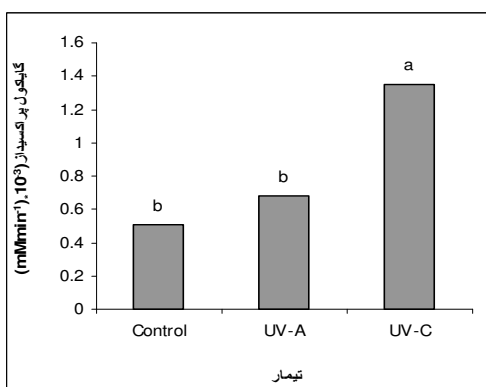


شکل ۳- میزان پروتئین ها در ریشه گیاهان تحت تیمار با اشعه UV در مقایسه با شاهد

مقادیری که با حروف مشابه مشخص شده اند بر اساس آزمون توکی اختلاف معنی داری در سطح $P=0/05$ ندارند.

1- He et al.
2- Li et al.

افزایش در فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان نشان میدهد که گیاهان در معرض اشعه UV از طریق فعال کردن سیستم دفاعی آنتی اکسیدان، سطح گونه های فعال اکسیژن درون را کنترل کرده و سلول را از آسیب های ناشی از آن محافظت می کنند (۳۶). افزایش فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان در معرض اشعه UV قبلا نیز در تعدادی از گونه ها گزارش شده است. در گیاهان سیب زمینی (۳۶) و آرایید و پیسیس (*Arabidopsis thaliana*) (۳۱)، اشعه UV باعث افزایش فعالیت آنزیم های آسکوربات پراکسیداز و گایاکول پراکسیداز شده است. در آفتابگردان (۷) میزان فعالیت آسکوربات پراکسیداز تغییری پیدا نکرده و در ذرت (۳۵) فعالیت آن کاهش پیدا کرده است. آسکوربات پراکسیداز، پراکسید هیدروژن را به آب تبدیل کرده و در عین حال اکسید کردن آسکوربات را کاتالیز می کند (۴۸). آنزیم آسکوربات پراکسیداز حداقل در چهار مکان سلولی توزیع شده و در ارگانسیم های فتوسنتزی به صورت ترکیب با گلوکاتایون، تحت عنوان چرخه ی آسکوربات- گلوکاتایون عمل می کند (۲). پراکسیدازها طیف وسیعی از آنزیم ها هستند که



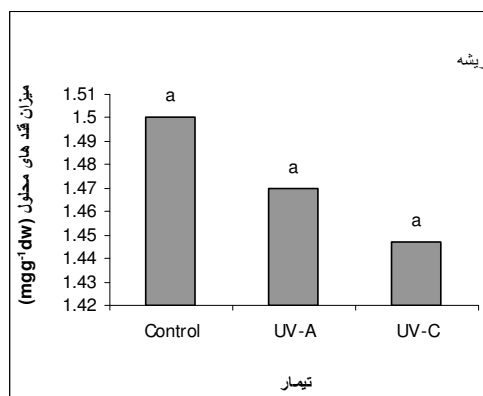
شکل ۶- اثر اشعه UV روی میزان فعالیت آنزیم GuPX در گیاهان تیمار در مقایسه با شاهد

مقادیری که با حروف مشابه مشخص شده اند بر اساس آزمون توکی اختلاف معنی داری در سطح $P=0.05$ ندارند.

افزایشی در گیاهان نخود فرنگی (۱۴) و ذرت (۳۴) نیز، در اثر اشعه UV گزارش شده است. گفته می شود آسیب دیدن میتوکندری در اثر اشعه UV باعث کاهش مصرف گهرومایه ی تنفسی شده و مقدار آن ها افزایش پیدا می کند (۱۴ و ۳۴). در خزه *Polytrichum commune* اشعه UV باعث تغییر در غلظت کربوهیدراتها شده و میزان سنتز ساکارز و گلوکز افزایش پیدا کرده است و با افزایش مقدار اشعه، غلظت ساکارز کاهش یافته است (۳).

میزان فعالیت آنزیم های آسکوربات پراکسیداز (APX) و گایاکول پراکسیداز (GuPX)

نتایج حاصل از اندازه گیری میزان فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان نشان داد که اشعه UV باعث افزایش فعالیت آنزیم های آسکوربات پراکسیداز و گایاکول پراکسیداز می شود. افزایش فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز در تیمارهای UV-C معنی دار بود ولی در تیمار UV-A افزایش معنی دار نبود (شکل ۶). افزایش فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز نیز در تیمار UV-C معنی دار بود ولی در تیمار UV-A افزایش معنی دار نبود (شکل ۷).



شکل ۷- میزان قند های محلول در ریشه گیاهان تحت تیمار با اشعه UV در مقایسه با شاهد

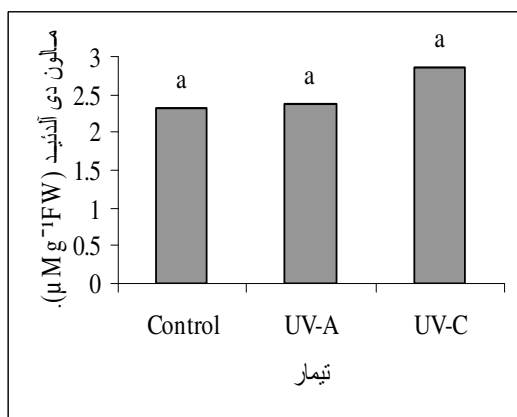
مقادیری که با حروف مشابه مشخص شده اند بر اساس آزمون توکی اختلاف معنی داری در سطح $P=0.05$ ندارند.

در *Arabidopsis thaliana* اشعه‌ی UV باعث افزایش فعالیت آسکوربات پراکسیداز و گایاکول پراکسیداز (GuPX) شده ولی روی کاتالاز تأثیری ندارد (۳۱).

افزایش در فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان یک مکانیسم دفاعی برای از بین بردن رادیکال‌های آزاد اکسیژن در برابر اشعه‌ی UV بوده و باعث حفظ و پایداری تمامیت غشای سلولی و دیگر ساختارهای زیر سلولی می‌شود و در کنار آن، افزایش در ترکیبات جذب UV و همچنین افزایش ضخامت برگ باعث حفاظت در برابر آسیب‌های ناشی از اشعه‌ی UV می‌گردد (۳۶).

۸-۳- مالون دی‌آلدئید (MDA)

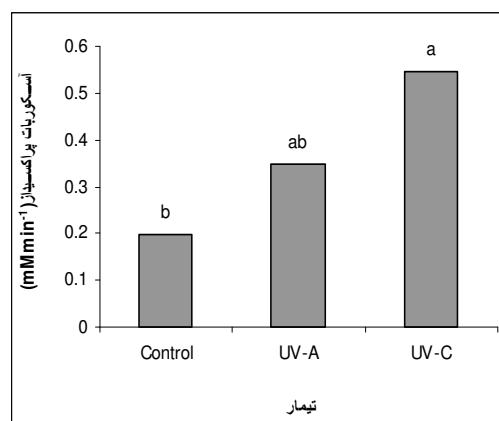
بررسی میزان مالون دی‌آلدئید در گیاهان تحت تأثیر اشعه‌ی UV در این آزمایش، افزایش نسبی این ترکیب را در گیاهان تیمار شده نشان داد اگرچه این افزایش معنی‌دار نبوده است. این افزایش در گیاهان تیمار شده با UV-C بیش‌تر از UV-A بود (شکل ۸). قبلاً نیز افزایش مالون دی‌آلدئید در دانه‌های گیاه برنج (*Oryza sativa* L.) تحت تیمار UV گزارش شده



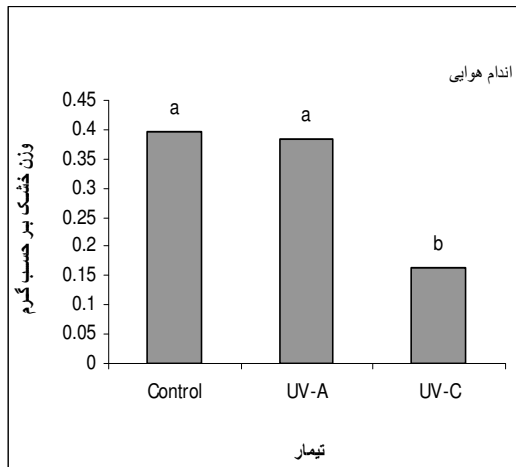
شکل ۸- اثر اشعه‌ی UV روی میزان مالون دی‌آلدئید (MDA) در گیاهان تیمار در مقایسه با شاهد

مقادیری که با حروف مشابه مشخص شده‌اند بر اساس آزمون توکی اختلاف معنی‌داری در سطح $P=0.05$ ندارند.

علاوه بر تجزیه‌ی پراکسید هیدروژن (۴۶) در تعدادی دیگر از واکنش‌های مهم از جمله پلی‌مریزاسیون لیگنین در دیواره‌ی سلولی و همچنین تجزیه‌ی فلاونوئیدهای آگلیکان شرکت می‌کنند (۳۸). افزایش فعالیت این آنزیم‌ها نشان می‌دهد که واکنش دفاعی گیاه در برابر اشعه‌ی UV با فعال شدن سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدان برانگیخته می‌شود که برای کنترل میزان سوپراکسید و آب اکسیژنه (H_2O_2) درونی مورد نیاز بوده و باعث حفاظت سلول‌ها در برابر اثرات زیانبار گونه‌های فعال اکسیژن می‌شود. در بیش‌تر گیاهان فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز نیز در برابر اشعه‌ی UV افزایش پیدا می‌کند (۳۶). گزارش شده است که فعالیت این آنزیم علاوه بر باندهای مختلف اشعه‌ی UV (۴۷)، در معرض شوری (۲۸) نیز افزایش پیدا می‌کند و این افزایش می‌تواند به عنوان شاخصی برای تنش‌های غیرزنده مورد استفاده قرار گیرد (۴۶). در لپه‌های آفتابگردان مشاهده شده است که اشعه‌ی UV باعث افزایش فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز شده ولی در فعالیت آسکوربات پراکسیداز تغییری حاصل نشده است (۴۶). این واکنش‌ها بستگی به نوع گونه داشته به طوری که



شکل ۷- اثر اشعه‌ی UV روی میزان فعالیت آنزیم APX در گیاهان تیمار در مقایسه با شاهد مقادیری که با حروف مشابه مشخص شده‌اند بر اساس آزمون توکی اختلاف معنی‌داری در سطح $P=0.05$ ندارند.



شکل ۹- وزن خشک اندام هوایی گیاهان

تحت تیمار با اشعه‌ی UV در مقایسه با شاهد

مقادیری که با حروف مشابه مشخص شده اند بر اساس آزمون توکی اختلاف معنی داری در سطح $P=0/05$ ندارند.

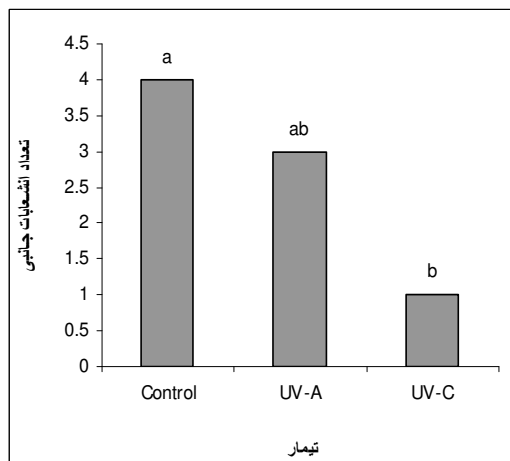
۱۰-۳- تعداد انشعابات جانبی

مطالعه‌ی حاضر نشان داد که اشعه‌ی UV باعث کاهش تعداد انشعابات جانبی در گیاهان تیمار شده می‌گردد. این کاهش در تیمار UV-C معنی دار بود (شکل ۱۱). قبلاً نیز کاهش تعداد انشعابات جانبی در اثر اشعه‌ی UV در گیاهان *Impatiens capensis* (۹) و پنبه (۳۲) گزارش شده است. مشاهده شده است که تعداد انشعابات در گیاه پنبه، علاوه بر اشعه‌ی UV، تحت تأثیر دما نیز تغییر پیدا می‌کند و باعث کاهش انشعابات رویشی آن می‌شود. به طوری که با افزایش مقدار اشعه از صفر به ۱۴ کیلو ژول، تعداد شاخه‌های رویشی به طور متوسط ۵۰٪ کاهش نشان داد و با افزایش دما همراه با مقدار بالای اشعه این کاهش به ۹۰٪ رسید.

است (۳۷). اشعه‌ی UV باعث پراکسیداسیون لیپیدی غشاء و اختلال در ساختار و عملکرد آن می‌شود (۲۵). یکی از محصولات تولید شده در پراکسیداسیون لیپیدی، مالون دی آلدئید می‌باشد که به عنوان شاخصی از پراکسیداسیون لیپیدی مورد اندازه گیری قرار می‌گیرد (۱۵).

۹-۳- وزن خشک

اندازه گیری وزن خشک گیاهان تیمار شده و شاهد در این مطالعه نشان داد که اشعه‌ی UV باعث کاهش وزن خشک اندام های هوایی و ریشه ی گیاهان تیمار شده می‌شود. این کاهش فقط در تیمارهای UV-C معنی دار بود (شکل ۹ و ۱۰). کاهش فعالیت فتوسنتزی در گیاهان تیمار شده با اشعه‌ی UV علت اصلی کاهش وزن خشک می‌باشد. در نوعی کاج (*Pinus banksiana*) نیز کاهش وزن خشک دآن‌ها تحت تیمار UV قبلاً گزارش شده است (۳۹). در یک مطالعه که روی گیاهان مختلف انجام گرفته، مشاهده شده است که اشعه‌ی UV باعث کاهش معنی دار وزن خشک در گیاهان آفتابگردان، ذرت و چاودار شده است ولی دآن‌ها یونولاف بدون تغییر باقی مانده اند (۴۳). تأثیر اشعه‌ی UV روی وزن خشک گیاهان، در بین گونه‌های مختلف متفاوت است. گزارش شده است که در گیاه سیب زمینی بر خلاف اکثر گونه‌ها، اشعه‌ی UV باعث افزایش وزن خشک گیاه می‌شود (۳۶). در گیاهان نخود فرنگی، اشعه‌ی UV باعث افزایش معنی دار وزن خشک کل گیاه، برگ‌ها و ریشه‌ها شده است (۲۷). در یک مطالعه ی دیگر مشاهده شده است که در گونه درختی *Colophospermum mopane* وزن خشک، تحت تأثیر اشعه‌ی UV افزایش معنی دار پیدا کرده در حالی که در گونه‌های درختچه ای *Barleria obtusa* و *Vigna Cyclopia genistoides* و گونه‌های علفی *Glycine max unguiculata* کاهش پیدا کرده است (۲۶).

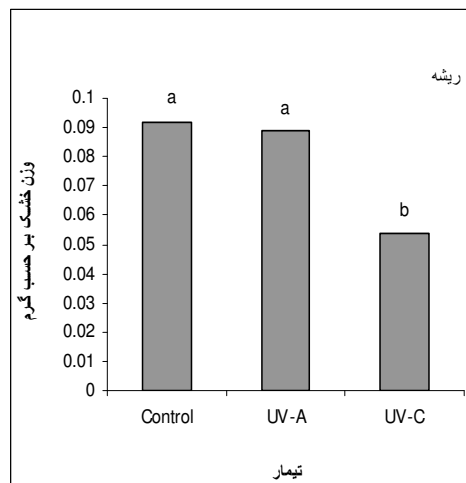


شکل ۱۱- تعداد انشعابات جانبی در گیاهان

تحت تیمار با اشعه‌ی UV در مقایسه با شاهد

مقادیری که با حروف مشابه مشخص شده اند بر اساس

آزمون توکی اختلاف معنی داری در سطح $P=0/05$ ندارند



شکل ۱۰- وزن خشک ریشه گیاهان تحت

تیمار با اشعه‌ی UV در مقایسه با شاهد

مقادیری که با حروف مشابه مشخص شده اند بر اساس

آزمون توکی اختلاف معنی داری در سطح $P=0/05$ ندارند.

سپاس‌گزاری

در پایان لازم می‌دانم از همکاری‌ها و مساعدت‌های

آقای دکتر جامعی و سرکار خانم فرناد در آزمایشگاه

بیوشیمی گروه زیست‌شناسی دانشگاه ارومیه تشکر و

قدردانی نمایم.

منابع

۱. قهرمان، ا. ۱۳۷۳. کورموفیت‌های ایران، جلد سوم، مرکز نشر دانشگاهی، تهران.
2. Asada, K. 1992. Ascorbate peroxidase- a hydrogen peroxide scavenging enzyme in plants. *Physiologia Plantarum*, 85: 235- 241.
3. Barsig, M., Schneider, K., and Gehrke, C. 1998. Effects of UV-B Radiation on Fine Structure, Carbohydrates, and Pigments in *Polytrichum commune*. *The Bryologist*, 101(3): 357-365.
4. Casati, P., and Walbot, V. 2004. Crosslink of ribosomal proteins to RNA in maize ribosomes by UV-B and its effects on translation. *Plant Physiology*, 136: 3319-3332.
5. Chen, G.N., and Asada, K. 1989. Ascorbate peroxidase in tea leaves: Occurrence of two isozymes and differences in their enzymatic and molecular properties. *Plant and Cell Physiology*, 30: 987-998.

6. Coohill, T.P. 1989. Ultraviolet action spectra (280 nm to 380 nm) and solar effectiveness spectra for higher plants. *Photochemistry and Photobiology*, 50: 451-457.
7. Costa, H., Gallego, S.M., and Tomaro, M.L. 2002. Effect of UV-B radiation on antioxidant defense system in sunflower cotyledons. *Plant Science*, 162: 939-945.
8. Dai, Q., Yan, B., Huang, S., Liu, X., Peng, S., Miranda, M.L.L., Chavez, A.Q., Vergara, B.S., and Olszyk, D.M. 1997. Response of oxidative stress defense systems in rice (*Oryza sativa*) leaves with supplemental UV-B radiation. *Physiologia Plantarum*, 101:301-308.
9. Dixon, P., Weinig, C., and Schmitt, J. 2001. Susceptibility to UV damage in *Impatiens capensis* (Balsaminaceae): testing for opportunity costs to shade-avoidance and population differentiation. *American Journal of Botany*, 88:1401-1408.
10. Dubios, M., and Gilles, K.A. 1956. Colorometric method for determination of sugars and related substances. *Analytical Chemistry*, 28: 350-356.
11. Halliwell, B. 1987. Oxidative damage, lipid peroxidation and antioxidant rotection in chloroplasts. *Chemistry and Physics of Lipids*, 44: 327- 340.
12. Heath, R.L., and Packer, L. 1968. Photoperoxidation in isolated chloroplasts. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 125: 189-198.
13. He, J., Huang, L.-K., Chow, W.S., Whitecross, M.I., and Anderson, J.M.1993. Effects of supplementary ultraviolet-B radiation on rice and pea plants. *Australian Journal of Plant Physiology*, 20: 129-142.
14. He, J., Huang, L.-K., Chow, W.S., Whitecross, M.I., and Anderson, J.M. 1994. Chloroplast ultrastructure changes in *Pisum sativum* associated with supplementary ultraviolet (UV-B) radiation. *Plant Cell and Environment*, 17: 771-775.
15. Hollosy, F. 2002. Effects of ultraviolet radiation on plant cells. *Micron*, 33: 179-197.
16. Jordan, B.R. 1993. The molecular biology of plants exposed to ultraviolet-B radiation and the interaction with other stresses. In: Jackson, M.B., Black, C.R. (Eds.). *Interacting Stresses on Plants in a Changing Climate*. NATO ASI Series, vol. 16. Springer-Verlag, Berlin, pp:153 -170.
17. Julkunen-Tiitto, R., Haggman, H., Aphalo, P.J., Lavola, A., Tegelberg, R., and Veteli, T. 2005; Growth and defense in deciduous trees and shrubs under UV-B. *Environmental Pollution*, 137: 404-414.

18. Kakani, V.G., Reddy, K.R., Zhao, D., and Mohammed, A.R. 2003. Effects of ultraviolet-B radiation on cotton (*Gossypium hirsutum* L.) morphology and anatomy. *Annals of Botany*, 91:817-826.
19. Kovacs, E., and Keresztes, A. 2002. Effect of gamma and UV-B/C on plant cells. *Micron*, 33: 199-210.
20. Kramer, G.F., Norman, H.L., Krizek, D.T., and Mirecki, R.M. 1991. Influence of UV-B radiation on polyamines, lipid peroxidation and membrane lipids in cucumber. *Phytochemistry*, 30: 2101-2108.
21. Li, Y., Zu, Y.Q., Chen, J.J., and Chen, H.Y. 2002. Intra-specific responses in crop growth and yield of 20 soybean cultivars to enhanced ultraviolet-B radiation under field conditions. *Field Crops Research*, 78: 1-8.
22. Liu, L.X., Xu, S.M., and Woo, K.C. 2005. Solar UV-B radiation on growth, photosynthesis and the xanthophyll cycle in tropical acacias and eucalyptus. *Environmental and Experimental Botany*, 54: 121-130.
23. Lowry, O.H., and Rosebrough N.J. 1951. Protein measurement with the folin phenol reagent. *Journal of Biological Chemistry*, 193: 265-276.
24. Mackerness, S.A.H., John, C.F., Jordan, B., and Thomas, B., 2001. Early signalling components in ultraviolet-B responses: distinct roles for different reactive oxygen species and nitric oxide. *FEBS Letters*, 489: 237-242.
25. Murphy, T.M., and Vu, H. 1996. Photoinactivation of superoxide synthases of the plasma membrane from rose (*Rosa damascena* Mill.) cells. *Photochemistry and Photobiology*, 64: 106-109.
26. Musil, C.F., Chimphango, S.B.M., and Dakora, F.D. 2002. Effects of ultraviolet-B radiation on native and cultivated plants of Southern Africa. *Annals of Botany*, 90: 127-137.
27. Nogués, S., Allen, D.J., Morison, J.I.L., and Baker, N.R. 1998. Ultraviolet-B Radiation Effects on Water Relations, Leaf Development, and Photosynthesis in Droughted Pea Plants. *Plant Physiology*, 117: 173-181.
28. Parida, A.K., Das, A.B., and Mohanty, P. 2004. Defense potentials to NaCl in a mangrove, *Bruguiera parviflora*: differential changes of isoforms of some antioxidative enzymes. *Journal of Plant Physiology*, 161: 531-542.
29. Prinsze, C., Dubbleman, T.M.A.R., and Steveninck, J.V. 1990. Protein damage induced by small amounts of photodynamically generated singlet oxygen or hydroxyl radicals. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1038: 152-157.
30. Pruvot, G., Masimino, J., Peltier, G., and Rey, P. 1996. Effects of low temperature, high salinity and exogenous ABA on the synthesis of two chloroplastic drought-induced proteins in *Solanum tuberosum*. *Physiologia Plantarum*, 97: 123-131.

31. Rao, M.V., Paliyath, G., and Ormrod, D.P. 1996. Ultraviolet-B and ozone-induced biochemical changes in antioxidant enzymes of *Arabidopsis thaliana*. *Plant Physiology*, 110: 125–136.
32. Reddy, K.R., Kakani, V.G., Zhao, D., Koti, S., and Gao, W. 2004. Interactive Effects of Ultraviolet-B Radiation and Temperature on Cotton Physiology, Growth, Development and Hyperspectral Reflectance. *Photochemistry and Photobiology*, 79(5): 416–427.
33. Ren, J., Dai, W., Xuan, Z., Yao, Y., Korpelainen, H., and Li., C. 2007. The effect of drought and enhanced UV-B radiation on the growth and physiological traits of two contrasting poplar species. *Forest Ecology and Management*, 239: 112–119.
34. Santos, I., Almeida, J.M., and Salema, R. 1993. Plants of *Zea mays* L. developed under enhanced UV-B radiation. I. Some ultrastructural and biochemical aspects. *Journal of Plant Physiology*, 141: 450-456.
35. Santos, I., Almeida, J., and Salema, R. 1999. The influence of UV-B radiation on the superoxide dismutase of maize, potato, sorghum, and wheat leaves. *Canadian Journal of Botany*, 77: 70–76.
36. Santos, I., Fidalgo, F., Almeida, J.M., and Salema, R. 2004. Biochemical and ultrastructural changes in leaves of potato plants grown under supplementary UV-B radiation. *Plant Science*, 167:925-935.
37. Shao-Shan, L., Yan, W., and Song-hao, L. 2000. Effects of UVB Radiation on Lipid Peroxidation in Rice Seedlings. *Acta Laser Biologica Sinica*, 9: 23-26.
38. Stafford, H.A. 1991. Flavonoid evolution: An enzymatic approach. *Plant Physiology*, 96: 680- 685.
39. Stewart, J.D., and Hoddinott, J. 1993; Photosynthetic acclimation to elevated atmospheric carbon- dioxide and uv irradiation in *Pinus banksiana*. *Physiologia Plantarum*, 88(3): 493-500.
40. Sullivan, J.H., and Teramura, A.H. 1989. The effects of ultraviolet-B radiation on loblolly pine. I. Growth, photosynthesis and pigment production in greenhouse-grown seedlings. *Physiologia Plantarum*, 77: 202–207.
41. Teramura, A.H., and Sullivan, J.H. 1994. Effects of UV-B radiation on photosynthesis and growth of terrestrial plants. *Photosynthesis Research*, 39: 463-473.
42. Teramura, A.H., Tevini, M., Bornman, J.F., Caldwell, M.M., Kulandaivelu, G., and Bjorn, L.O. 1991. Terrestrial plants. Chapter 3 in *Environmental effects of ozone depletion*.
43. Tevini, M., Mark, U., and Saile-Mark, M. 1991. Effects of enhanced solar UV-B radiation on growth and function of crop plant seedlings. *Current Topics in Plant Biochemistry and Physiology*, 10: 13–31.

44. Upadhyaya, A., and Sankhla, D. 1985. Effect of paclobutrazol on the activities of some enzymes of activated oxygen metabolism and lipid peroxidation in senescing soybean leaves. *Plant Physiology*, 121: 453-461.
45. Wang, Y., Qiu, N., Wang, X., Ma, Z., and Du, G. 2008. Effects of enhanced UV-B radiation on fitness of an alpine species *Cerastium glomeratum* Thuill. *Journal of Plant Ecology*, 1(3): 197-202.
46. Yannarelli, G.G., Gallego, S.M., and Tomaro, M.L. 2006. Effect of UV-B radiation on the activity and isoforms of enzymes with peroxidase activity in sunflower cotyledons. *Environmental and Experimental Botany*, 56: 174–181.
47. Zacchini, M., and de Agazio, M. 2004. Spread of oxidative damage and antioxidative response through cell layers of tobacco callus after UV-C treatment. *Plant Physiology and Biochemistry*, 42: 445– 450.
48. Zancan, S., Suglia, I., La Rocca, N., and Ghisi, R. 2008. Effects of UV-B radiation on antioxidant parameters of iron-deficient barley plants. *Environmental and Experimental Botany*, 63: 71-79.