

بررسی اثر متقابل تأثیر پرتوهای UV-B و UV-C و سالیسیلیک اسید بر برخی پارامترهای فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی بادرنجبویه (*Melissa officinalis L.*)

مهدی عابدزاده و لطیفه پور اکبر

گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه ارومیه

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۱/۱۲/۱۳؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۲/۰۵/۰۵)

چکیده:

اثرات ناشی از کاهش لایه اوزون و افزایش اشعه فرابنفش امروزه توسط بسیاری از محققان مورد بررسی قرار گرفته است. هدف این مطالعه بررسی تأثیر پرتوهای UV-B و UV-C بر روی گیاه بادرنجبویه (*Melissa officinalis L.*) و تأثیر سالیسیلیک اسید در کاهش اثرات زیان‌بار این پرتوها بر روی این گیاه بود. گیاهان بادرنجبویه به مدت ۶۰ روز کشت شدند. تیمار فرابنفش بعد از مرحله ۶ برگری اعمال گردید و پرتو UV-B به مدت ۱۵ روز به صورت یک روز در میان و هر بار به مدت ۲۰ دقیقه و پرتو UV-C به مدت ۱۵ روز و به صورت یک روز در میان و هر بار به مدت ۸ دقیقه اعمال گردید. اسید سالیسیلیک نیز بعد از مرحله ۶ برگری با غلظت ۱ میلی‌مول به مدت یک هفته بر روی گیاهان پاشیده شد. نتایج نشان داد که پرتوهای UV-B و UV-C باعث کاهش وزن تر و خشک، رشد طولی ریشه و اندام هوایی شد. این پرتوها هم‌چنین میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی (کلروفیل a، کلروفیل b و کاروتنوئید) میزان قندها و پروتئین‌های محلول را کاهش دادند. میزان مالون-دی‌آلدئید و فنیل‌آلانین-آمونیاک‌لیاز و ترکیبات جاذب UV نیز تحت تأثیر پرتوهای UV-B و UV-C افزایش نشان داد. بررسی نتایج نشان داد تیمار با سالیسیلیک اسید باعث کاهش آسیب‌های وارده به گیاه شد که در اثر پرتوهای UV-B و UV-C به وجود آمده بودند و توانست فاکتورهایی که تحت تابش‌های فرابنفش تغییر یافته بودند را جبران کنند.

کلمات کلیدی: پرتو فرابنفش، گیاه بادرنجبویه، رنگیزه‌های فتوسنتزی، فنیل‌آلانین‌آمونیاک‌لیاز، ترکیبات جاذب UV.

مقدمه:

پرتوهای فرابنفش ۸ تا ۹ درصد طیف خورشید را شامل می‌شود و به سه بانده (UV-A ۳۲۰ - ۴۰۰ nm)، (UV-B ۲۸۰ - ۳۲۰ nm) و (UV-C ۲۰۰ - ۲۸۰ nm) تقسیم می‌شود که به دلیل داشتن طول موج پایین نسبت به نور مرئی دارای انرژی زیادی برای نفوذ به بافت‌ها می‌باشند. در میان موجودات زنده، گیاهان به دلیل احتیاج اجتناب ناپذیرشان به نور برای انجام فتوسنتز، بیشتر تحت تأثیر پرتوهای فرابنفش قرار می‌

امروزه فعالیت‌های صنعتی بشر باعث افزایش ترکیبات آلوده کننده‌ی اتمسفر به خصوص ترکیبات هالوژن‌دار شده است که این ترکیبات به دلیل پایداری زیادی که دارند به سطح استراتوسفر رسیده و باعث تخریب لایه‌ی اوزون می‌شوند. کاهش لایه‌ی اوزون باعث افزایش میزان پرتوهای فرابنفش در سطح زمین شده و مشکلاتی را برای موجودات زنده به وجود آورده است (Buchholz, et al., 1995).

سالیسیلیک اسید یک تنظیم کننده رشد درونی از گروه ترکیبات فن ولی طبیعی می باشد که در تنظیم فرآیندهای فیزیولوژیکی گیاه نقش مهمی دارد (Sakhababudinova et al., 2003). همچنین این ترکیب به عنوان یک سیگنال داخل گیاهی باعث افزایش مقاومت گیاه به تنش های شوری، خشکی، سرما و گرما می شود (Chakraboity and Tongden, 2005).

القای گل دهی، رشد و نمو، سنتز اتیلن، تأثیر در باز و بسته شدن روزنه ها، تنفس، جذب یون، توسعه گیاه، فتوسنتز و جوانه زنی (El-Tayeb et al., 2006) از نقش های مهم سالیسیلیک اسید به شمار می رود. سالیسیلیک اسید همچنین باعث فعال شدن سیستم مقاومت اکتسابی سیستمیک، سنتز متابولیت ها و آنزیم های آنتی اکسیدان می شود (Eraslan et al., 2008). گزارش شده است که سالیسیلیک اسید در تنظیم و ایجاد علامت هایی برای بیان ژن ها در زمان پیری در گیاه آراییدوپسیس دخالت دارد (Morris et al., 2000). همچنین سالیسیلیک اسید رسیدن میوه را به تأخیر می اندازد (Srivastava and Dwivedi, 2000). سالیسیلیک اسید در گیاهانی که در معرض تنش های محیطی از قبیل شوری، خشکی، فلزات سنگین، گرمادگی و سرمادگی هستند، نقش حفاظتی دارد (Chakraboity and Tongden, 2005). هم چنین القای تولید سالیسیلیک اسید از مکانیسم های دیگر دفاعی در گیاهان است. گزارش شده است که اسپری کردن سالیسیلیک اسید روی برگ ها در طول تابستان اثرات اشعه ی UV را در توتون کاهش می دهد (Moosavi et al., 2009).

بادرنجبویه با نام علمی *Melissa officinalis* L. گیاهی از خانواده ی نعناعیان (*Lamiaceae*) بوده و از گیاهان دارویی می باشد که از مهم ترین خواص دارویی آن می توان به آرام بخشی، تقویت اعصاب، ضد نفخ و تقویت کننده ی حافظه اشاره کرد (Kennedy et al., 2006). با توجه به تهیه عرق از این گیاه و استفاده از آن در تهیه انواع شربت و شیرینی، بادرنجبویه در سطح وسیعی در آذربایجان کشت می شود.

گیرند و آسیب پذیر تر هستند (Booji- James, et al., 2000).

کاهش لایه ی اوزون منجر به افزایش تابش اشعه فرابنفش به سطح زمین شده است. پرتوهای UV-B و UV-C اثرات زیان باری را برای موجودات زنده و به خصوص گیاهان دارند (Paul and Gwynn-jones, 2003). در گیاهان پرتوهای فرابنفش باعث اختلال در عمل کمپلکس تجزیه کننده ی آب، تخریب فتوسیستم II، پلاستوکوئینون، کاهش فعالیت آنزیم روپیسکو و آنزیم ATP سنتاز می شود. همچنین با القای بسته شدن روزنه ها و تغییر در ضخامت و آناتومی برگ می تواند فتوسنتز را تحت تأثیر قرار دهد. تخریب رنگیزه های فتوسنتزی توسط پرتوهای فرابنفش نیز از دلایل کاهش میزان فتوسنتز می باشد (Lutz et al., 2005).

گیاهان در مقابل اشعه ی UV مکانیسم های دفاعی از خود بروز می دهند. ساختارهایی مانند اپیدرم که معمولاً به وسیله ی کرک پوشیده شده است و حاوی ترکیبات جاذب UV است نقش حفاظتی در برابر اشعه ی UV دارند. همچنین موم موجود در سطح اپیدرم می تواند تا ۸۰ درصد اشعه را منعکس سازد (Balouchi et al., 2009).

ترکیبات فنیل پروپانوییدی مانند مشتقات هیدروکسی سینامیک اسید و فلاونوئیدها مثل فلاون ها، فلاونول ها و همچنین آنتوسیانین ها باعث جذب اشعه ی ماورای بنفش می شود (Hoque and Remus, 1999). همچنین گزارش شده است که فلاونوئیدها دارای نقش آنتی اکسیدانی بوده و باعث سمیت زدایی گونه های اکسیژن فعال می شود (Hollosy, 2002). آنتوسیانین ها هم در برگ های بالغ و هم در برگ های جوان وجود دارند و از نظر ساختمانی وابسته به فلاونوئیدها و از ترکیبات فنولی گیاهان می باشند. تحقیقات انجام گرفته نشانگر آن است که، آلکیله شدن آنتوسیانین ها و اسیدهای آلی آروماتیک باعث افزایش جذب آنها در ناحیه ی ۳۲۰ - ۳۱۰ نانومتر می شود (Hosseini Sarghein et al., 2008).

نقش سالیسیلیک اسید در رشد گیاهی نسبت به هورمون‌های دیگر کمتر مورد مطالعه قرار گرفته است. لذا هدف از این مطالعه، بررسی تأثیر پرتوهای UV-B، UV-C و نقش سالیسیلیک اسید به عنوان یک ماده شیمیایی در تخفیف آثار زیان‌بار این پرتوها بر روی شاخص‌های رشدی، فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه بادرنجبویه (*Melissa officinalis* L.) بود.

مواد و روش‌ها:

مواد گیاهی و شرایط رشد: ابتدا خاک و ماسه مورد استفاده جهت کشت در اتوکلاو و در شرایط دمایی ۱۲۱ درجه سانتیگراد و فشار یک اتمسفر به مدت ۵ ساعت استریل شدند. خاک و ماسه به نسبت ۱ به ۴ باهم مخلوط شدند. بذرهای سالم و یکنواخت بادرنجبویه (*Melissa officinalis* L.) به مدت ۱۵ دقیقه در محلول ۱۰٪ هیپوکلریت سدیم استریل و سپس با آب مقطر کاملاً شست و شو داده شد و برای جوانه‌زنی در داخل پتری دیش قرار گرفتند. رطوبت از طریق کاغذ صافی‌های خیس شده توسط آب مقطر تأمین شد. بذرهای جوانه زده در ۱۸ عدد گلدان پلاستیکی و در عمق ۲ سانتی‌متری از خاک و قرار داده شدند. در هر گلدان ۴ بذر جوانه‌زده قرار گرفت. گلدان‌ها در شرایط گلخانه‌ای در اتاقک کشت و دمای متوسط 28 ± 2 درجه سانتیگراد و شدت نوری $\mu \text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ به مدت ۶۰ روز کشت یافتند. دوره شبانه روزی روشنایی ۱۶ و تاریکی ۸ ساعت بود. گلدان‌ها به طور متناوب با محلول هوگلند با رقیق سازی ۱/۲ (Hoagland and Arnon, 1950) و آب مقطر آبیاری شدند. گیاهان بادرنجبویه بعد از مرحله ۶ برگی در معرض تابش فرابنفش B و C قرار گرفتند. اشعه مورد نیاز برای تیمار UV-B = 2(15) (LF- وات ۱۵ و $18/3 \text{ KJ m}^{-2}$ اعمال شد. تابش فرابنفش C از طریق یک لامپ فرابنفش C (TUV/G30T8- Philips, Holland) با میزان تابشی در

حدود $17/2 \text{ KJ m}^{-2}$ تأمین شد. گیاهان به مدت ۱۵ روز به صورت یک روز در میان و هر بار به مدت ۲۰ دقیقه در معرض تابش فرابنفش B قرار گرفتند. هم‌چنین تابش فرابنفش C طی ۱۵ روز به صورت یک روز در میان و هر بار به مدت ۸ دقیقه اعمال گردید. اسید سالیسیلیک بعد از مرحله ۶ برگی با غلظت یک میلی مول به مدت یک هفته و به طور متوالی بر روی برگ گیاهان پاشیده شد. آزمایش به صورت طرح کاملاً تصادفی با ۶ تیمار و ۳ تکرار برای هر تیمار انجام گرفت. تیمارها عبارت بودند از: ۱- گیاهان شاهد (بدون اعمال اشعه فرابنفش و سالیسیلیک اسید) ۲- گیاهان شاهد + محلول ۱ mM سالیسیلیک اسید ۳- گیاهان در معرض تابش فرابنفش B ۴- گیاهان در معرض تابش فرابنفش B + محلول ۱ mM سالیسیلیک اسید ۵- گیاهان در معرض تابش فرابنفش C. ۶- گیاهان در معرض تابش فرابنفش C + محلول ۱ mM سالیسیلیک اسید. پس از گذشت ۶۰ روز کشت نمونه‌ها برداشت شده و دو پایه گیاه از هر گلدان بعد از جداسازی اندام هوایی از ریشه‌ها در داخل پاکت‌های مجزا قرار داده شد و برای تعیین وزن خشک به مدت ۷۲ ساعت در آن ۸۰ درجه سانتیگراد قرار گرفتند. و سپس وزن خشک اندام هوایی و ریشه‌ها توسط ترازویی با حساسیت ۰/۰۰۱ گرم اندازه‌گیری شد. دو پایه دیگر از هر گلدان برای آنالیزهای بی و شیمیایی و فیزیولوژیک که نیاز به وزن تر داشتند، بعد از جداسازی اندام هوایی و ریشه‌ها و توزین آنها، به فریزر ۸۰- درجه سانتیگراد منتقل گردیدند.

اندازه‌گیری رنگی‌های کلروفیل و کاروتنوئید: میزان کلروفیل a (Chla)، b (Chlb) و کاروتنوئیدهای کل (C_{x+c}) با روش Lichtenthaler and Wellburn (۱۹۸۳) اندازه‌گیری شد. ۱ گرم از بافت تر برگ توزین و با ۳۰ میلی لیتر استون ۸۰٪ سائیده شد. بعد از صاف کردن، عصاره به مدت ۱۰ دقیقه با دور ۲۵۰۰ rpm سانتریفوژ گردید. برای تعیین میزان کلروفیل a و b جذب آن توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۶۶۳ و ۶۴۵ نانومتر و برای

تعیین میزان کاروتنوئیدها در طول موج ۴۷۰ نانومتر، اندازه‌گیری شد. برای محاسبه مقادیر کلروفیل a و b و کاروتنوئید از فرمول Lichtenthaler and Wellburn (۱۹۸۳) به شرح زیر استفاده گردید:

$$\begin{aligned} \text{Chl}_a &= (11.75 A_{663} - 2.350 A_{645}) \\ \text{Chl}_b &= (18.61 A_{645} - 3.960 A_{663}) \\ C_{x+c} &= (1000A_{470} - 2.270 \text{Chl}_a - 81.4 \text{Chl}_b) / 227 \end{aligned}$$

A میزان جذب خوانده شده هر طول موج، توسط اسپکتروفتومتر می‌باشد.

اندازه‌گیری میزان قندهای محلول: برای اندازه‌گیری میزان قندهای محلول از روش فنل سولفوریک (Kochert, 1978) استفاده شد. ابتدا ۰/۰۱ گرم ماده خشک گیاهی در داخل هاون چینی که محتوی ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر بود ساییده شد. عصاره حاصل در لوله‌های سانتریفوژ ریخته شده و به مدت ۱۰ دقیقه با ۶۰۰۰ xg سانتریفوژ گردید. به ۰/۵ میلی‌لیتر از محلول رویی، آب مقطر اضافه شده و حجم آن به ۲ میلی‌لیتر رسانده شد. سپس به هر یک از لوله‌های آزمایش، ۱ میلی‌لیتر فنل ۵٪ اضافه نموده و بعد از ده دقیقه ۵ میلی‌لیتر سولفوریک اسید غلیظ روی هر کدام اضافه شد. بعد از نیم ساعت میزان جذب در طول موج ۴۸۵ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد. غلظت قندهای محلول با استفاده از منحنی استاندارد گلوکز تعیین گردید.

اندازه‌گیری میزان پروتئین کل: برای اندازه‌گیری میزان پروتئین‌ها از روش Lowry و همکاران (۱۹۵۱) استفاده شد. بدین ترتیب که ۰/۰۱ گرم ماده خشک گیاهی در داخل هاون چینی که محتوی ۵ میلی‌لیتر محلول تریس - اسید کلریدریک بود، ساییده شد. سپس عصاره‌های گیاهی ساییده شده هر تیمار، به صورت جداگانه در لوله‌های سانتریفوژ ریخته شده و به مدت ده دقیقه با دور ۴۰۰۰ xg سانترالیسم شدند. ۱ میلی‌لیتر از محلول بالایی هر نمونه در لوله‌های آزمایش جداگانه ریخته شده و بر روی هر کدام ۴ میلی‌لیتر از محلول C اضافه شد. محلول C به ترتیب زیر تهیه شد:

محلول A: ۴ گرم کربنات کلسیم، ۰/۴ گرم هیدروکسید سدیم، ۰/۲ گرم سدیم پتاسیم تارتارها که مجموعاً در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر حل شد.

محلول B: حاوی سولفات مس ۰/۵ درصد (W/V). محلول C: ۵۰ میلی‌لیتر محلول A + ۱ میلی‌لیتر محلول B.

بعد از ده دقیقه، ۱.۵ میلی‌لیتر محلول فولن رقیق شده با آب مقطر (۹:۱) به نمونه‌ها اضافه شده و به مدت نیم ساعت در تاریکی قرار گرفتند. در نهایت جذب نوری آنها در طول موج ۶۶۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر مدل Biowave S200 خوانده شده و با استفاده از منحنی استاندارد آلبومین، میزان پروتئین نمونه‌ها بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن خشک محاسبه گردید.

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیا لیاز: برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیا لیاز از روش Beaudion - Eagan and Thorpe (۱۹۸۹) استفاده شد. مخلوط واکنش شامل بافر تریس ۰/۵ میلی‌مولار با pH = ۸ و فنیل آلانین ۶ میکرومولار بود. ۲۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی به هر مخلوط واکنش افزوده شد و به مدت ۶۰ دقیقه در درجه حرارت ۳۷ درجه سانتیگراد قرار گرفت و بعد از ۶۰ دقیقه واکنش با افزودن ۵۰ میکرو لیتر HCl نرمال متوقف شد و سپس جذب نمونه‌ها در ۲۹۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر مدل Biowave S200 اندازه‌گیری شد. برای رسم منحنی استاندارد از اسید سینامیک به عنوان استاندارد استفاده شد و در نهایت فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیا لیاز بر حسب میکروگرم سینامات تولیدی به ازای هر میکرو گرم پروتئین برای هر یک از نمونه‌ها محاسبه شد.

اندازه‌گیری میزان فلاونوئیدها: برای اندازه‌گیری فلاونوئیدها، از روش Jia و همکاران (۱۹۹۹) استفاده شد. ۰/۱ گرم از وزن تر برگ، در هاون چینی که حاوی ۱۰ میلی‌لیتر متانول بود، ساییده شد. سپس به ۱ میلی‌لیتر از عصاره استخراج شده، ۱ میلی‌لیتر محلول ۲ درصد آلومینیوم تری‌کلراید (AlCl₃) اضافه شده و حجم آن با

آنالیز آماری: برای آنالیز داده‌ها و رسم نمودارها از برنامه‌های رایانه‌ای SPSS و Excel استفاده گردید. در کلیه نمودارها نتایج به صورت مقادیر میانگین سه تکرار بیان شد و بارهای عمودی نشان دهنده $\pm SE$ برای سه تکرار می-باشد. اختلاف بین تیمارها و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آنالیز واریانس ANOVA دو طرفه و آزمون دانکن در سطح آماری $P \leq 0/05$ انجام شد.

نتایج:

شاخص‌های رشدی: بر اساس نتایج بدست آمده طول ریشه و ساقه تحت تأثیر پرتوهای UV- B و UV- C کاهش معنی‌داری نسبت به شاهد پیدا کرد. اما در نمونه‌هایی که پرتوهای فرابنفش به همراه سالیسیلیک اسید تیمار شده بودند این کاهش طول نسبت به تیمار پرتوهای فرابنفش بدون سالیسیلیک اسید به طور معنی‌دار کمتر بود (شکل ۱).

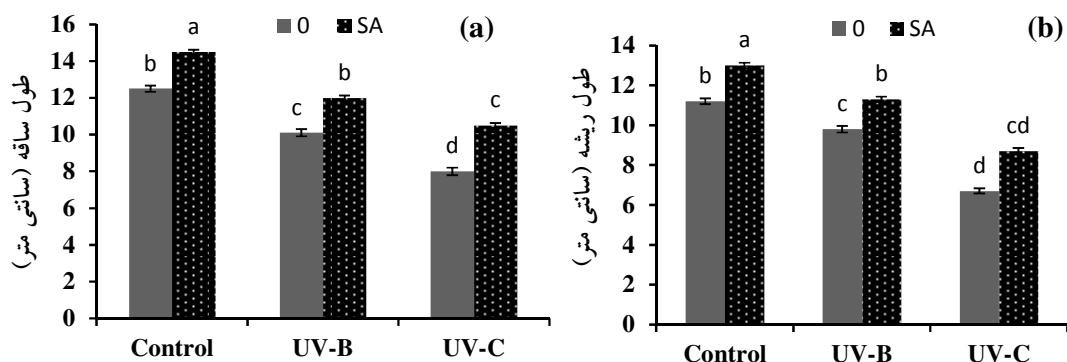
اندازه‌گیری وزن تر و وزن خشک گیاهان پرتو دیده و مقایسه‌ی آن با گیاهان شاهد نشان داد که اعمال پرتوهای UV- B و UV- C باعث کاهش معنی‌دار وزن تر و خشک در سطح احتمال ۵ درصد نسبت به گیاهان شاهد شد (شکل ۲). در نمونه‌های تیمار یافته با پرتوهای UV به همراه سالیسیلیک اسید مقدار این کاهش نسبت به گیاهان پرتو دیده بدون سالیسیلیک اسید به طور معنی‌دار کمتر بود.

رنگیزه‌های فتوسنتزی: بر اساس نتایج بدست آمده میزان کلروفیل a (شکل ۳ a) و b (شکل ۳ b) تحت تأثیر پرتوهای UV- B , UV- C کاهش معنی‌داری نسبت به گیاهان شاهد یافت. اما در نمونه‌هایی که با سالیسیلیک اسید تیمار شده بودند میزان هر دو کلروفیل نسبت به گیاهان شاهد افزایش معنی‌داری نشان داد. در تیمار توأم پرتوهای UV-B و UV-C با سالیسیلیک اسید میزان کلروفیل a و کلروفیل b نسبت به اعمال به تنهایی هر دو پرتو فرابنفش افزایش معنی‌داری نشان داد.

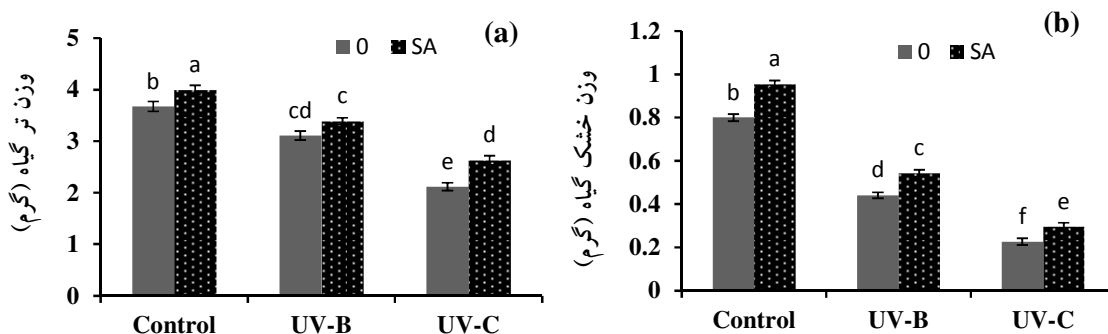
اتانول به ۲۵ میلی‌لیتر رسید. نمونه‌ها به مدت ۱۰ دقیقه در دور $3000 \times g$ سانتریفوژ شده و بعد از ۴۰ دقیقه جذب نمونه‌ها (فاز بالایی نمونه‌های سانتریفوژ شده) در طول موج ۳۳۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر UV/Visible مدل Biowave S200 اندازه‌گیری شد. برای محاسبه غلظت فلاوونوئیدهای کل از ضریب خاموشی $33000 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ استفاده شد.

اندازه‌گیری آنتوسیانین: برای اندازه‌گیری آنتوسیانین، از روش Wagner (۱۹۷۹) استفاده شد. ۰/۱ گرم نمونه‌تر برگ در هاون چینی حاوی ۱۰ میلی‌لیتر متانول اسیدی (۹۹ درصد متانول و ۱ درصد اسید کلریدریک) سائیده شد. عصاره حاصل به مدت ۱۰ دقیقه با دور 6000 g سانتریفوژ شده و فاز بالایی آن به مدت ۲۴ ساعت در دمای آزمایشگاه و در تاریکی قرار گرفت. جذب هر یک از نمونه‌ها در طول موج ۵۵۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شد. برای محاسبه غلظت آنتوسیانین از ضریب خاموشی $150 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ استفاده شد.

اندازه‌گیری مالون‌دی‌آلدئید: اندازه‌گیری محتوای مالون‌دی‌آلدئید با استفاده از روش Heath and Packer (۱۹۶۸) اندازه‌گیری شد. در این روش یک گرم از بافت تر گیاه در ۲ میلی‌لیتر تری‌کلرواستیک اسید ۱۰ درصد توسط هاون ساییده شد و در $15000 \times g$ به مدت ۲۰ دقیقه سانتریفوژ شد. بعد از عمل سانتریفوژ، حجم مساوی از عصاره و تیوباربیتیک اسید ۵/۰٪ در تری‌کلرواستیک اسید ۲۰٪ به داخل لوله آزمایش منتقل شده و به مدت ۳۰ دقیقه در داخل بن ماری ۹۶ درجه‌ی سانتی‌گراد قرار داده شد. در نهایت لوله‌ها را به مدت ۵ دقیقه وارد آب یخ نموده و بعد به مدت ۵ دقیقه با نیروی 10000 g سانتریفوژ شد. جذب محلول حاصل توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج‌های ۵۳۲ نانومتر و ۶۰۰ نانومتر اندازه‌گیری گردید ($155 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ = ضریب خاموشی).



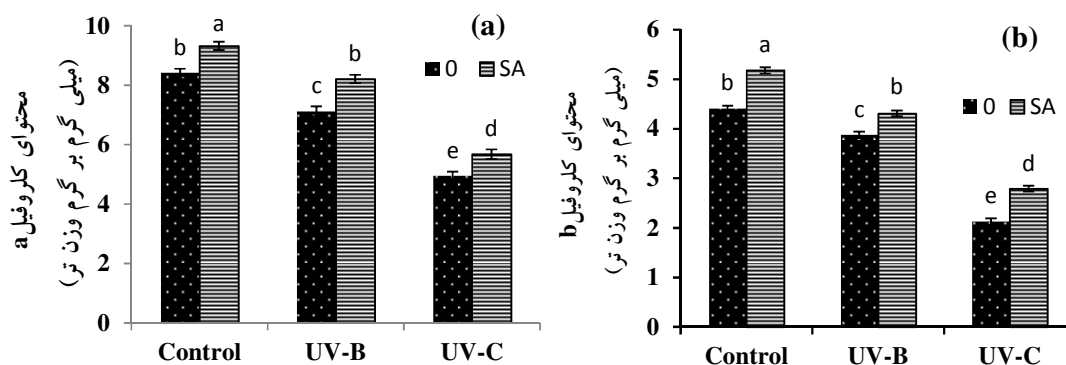
شکل ۱- تأثیر پرتوهای UV-C، UV-B و سالیسیلیک اسید بر روی طول ساقه (a) و ریشه (b) در گیاه بادرنجبویه. ۰ = بدون سالیسیلیک اسید و SA = به همراه سالیسیلیک اسید ۱ میلی مول. ستون‌ها نماینده میانگین سه تکرار و بارهای عمودی نشانگر انحراف استاندارد بوده در هر ستون، میانگین‌های دارای حروف متفاوت دارای تفاوت معنی دار در سطح ۰/۰۵ با استفاده از آزمون دانکن هستند.



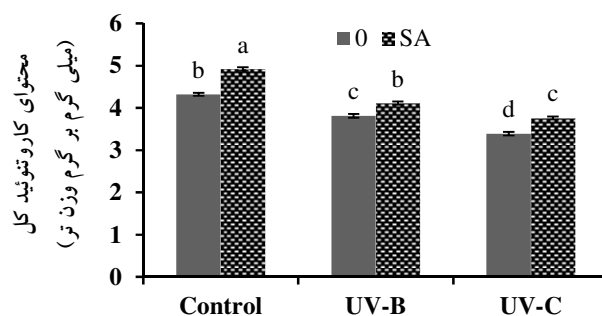
شکل ۲- تأثیر پرتوهای UV-B، UV-C و سالیسیلیک اسید بر روی وزن تر (a) و وزن خشک (b) در گیاه بادرنجبویه. ۰ = بدون سالیسیلیک اسید و SA = به همراه سالیسیلیک اسید ۱ میلی مول. ستون‌ها نماینده میانگین سه تکرار و بارهای عمودی نشانگر انحراف استاندارد بوده و در هر ستون، میانگین‌های دارای حروف متفاوت دارای تفاوت معنی دار در سطح ۰/۰۵ با استفاده از آزمون دانکن هستند.

قندهای و پروتئین کل محلول: بررسی نتایج حاصل از اندازه‌گیری میزان قندها و پروتئین‌های کل محلول نشان داد که پرتوهای UV-B، UV-C باعث کاهش معنی دار میزان قندهای محلول (شکل ۵ a) و پروتئین‌های کل محلول (شکل ۵ b) در سطح احتمال ۵ درصد نسبت به گیاهان شاهد شد. تیمار با سالیسیلیک اسید به همراه پرتوهای فرابنفش این کاهش را نسبت به گیاهان تیمار دیده با پرتوهای فرابنفش بدون سالیسیلیک اسید جبران کرد. بررسی نتایج حاصل از اندازه‌گیری فعالیت آنزیم فنیل

بر اساس نتایج حاصله، محتوای کاروتنوئیدها کل در گیاهان تحت تیمار با UV-B و UV-C نسبت به گیاهان شاهد کاهش معنی دار یافت (شکل ۴). سالیسیلیک اسید باعث افزایش معنی دار سطح کاروتنوئید کل در سطح احتمال ۵ درصد نسبت به گیاهان شاهد شد. اعمال توأم پرتوهای فرابنفش به همراه سالیسیلیک اسید موجب افزایش معنی دار محتوای کاروتنوئید کل نسبت به گیاهان پرتو دیده بدون سالیسیلیک اسید شد.



شکل ۳- تأثیر پرتوهای UV-B، UV-C و سالیسیلیک اسید بر محتوای کلروفیل a (a) و کلروفیل b (b) در گیاه بادرنجبویه. 0 = بدون سالیسیلیک اسید و SA = به همراه سالیسیلیک اسید ۱ میلی مول. ستون‌ها نماینده میانگین سه تکرار و بارهای عمودی نشانگر انحراف استاندارد بوده و در هر ستون، میانگین‌های دارای حروف متفاوت دارای تفاوت معنی دار در سطح ۰/۰۵ با استفاده از آزمون دانکن هستند.

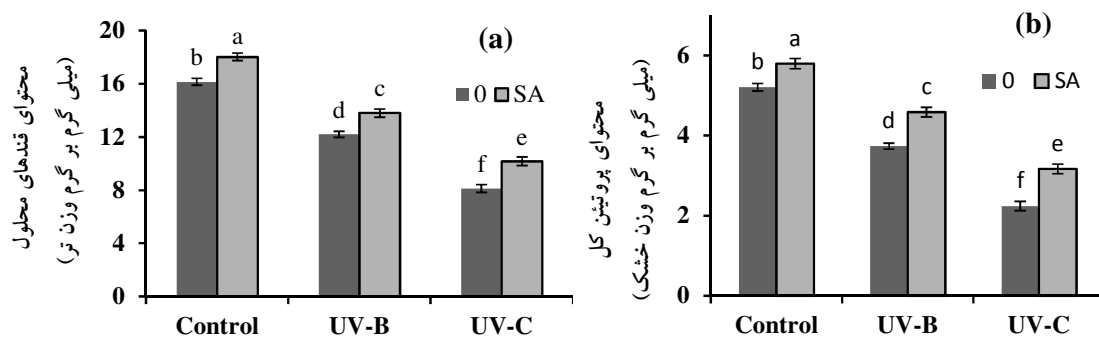


شکل ۴- تأثیر پرتوهای UV-B، UV-C و سالیسیلیک اسید بر محتوای کاروتنوئید کل در گیاه بادرنجبویه. 0 = بدون سالیسیلیک اسید و SA = به همراه سالیسیلیک اسید ۱ میلی مول. ستون‌ها نماینده میانگین سه تکرار و بارهای عمودی نشانگر انحراف استاندارد بوده و در هر ستون، میانگین‌های دارای حروف متفاوت دارای تفاوت معنی دار در سطح ۰/۰۵ با استفاده از آزمون دانکن هستند.

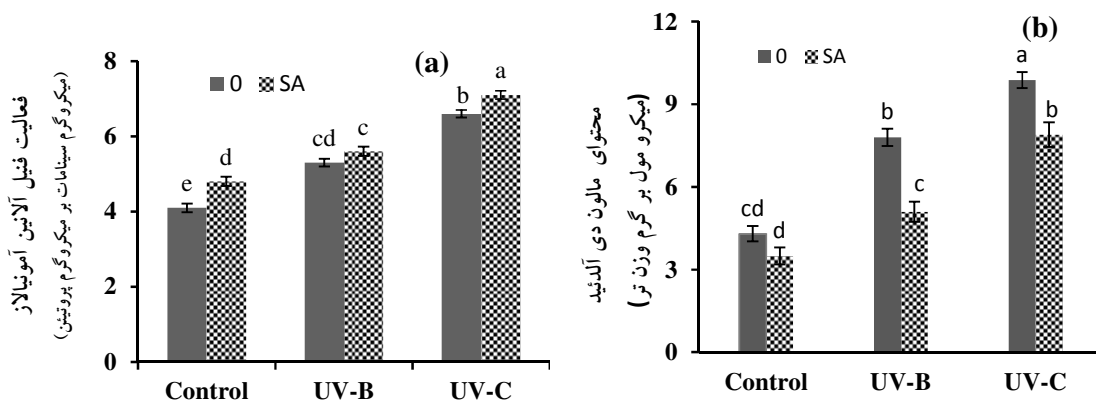
(شکل ۶ b). تیمار با سالیسیلیک اسید کاهش معنی داری را در سطح مالون‌دی‌آلدئید در گیاهان تحت تیمار هر دو پرتو UV و سالیسیلیک اسید نسبت به گیاهان تحت تیمار پرتوهای UV بدون سالیسیلیک اسید نشان داد. نتایج بدست آمده نشان داد که پرتوهای UV-B، UV-C باعث افزایش معنی دار سطح ترکیبات جاذب پرتوهای فرابنفش شد. طبق نتایج حاصله، میزان فلاونوئیدها (شکل ۷ a) و آنتوسیانین‌ها (شکل ۷ b) در گیاهان پرتو دیده نسبت به گیاهان شاهد افزایش معنی داری یافت. تیمار با سالیسیلیک اسید در گیاهان پرتو دیده نیز باعث افزایش معنی دار محتوای فلاونوئیدها و آنتوسیانین نسبت به گیاهان پرتو

آلانین‌آمونیاک تحت تابش پرتوهای UV-B، UV-C، نشان داد که پرتوهای فرابنفش باعث افزایش معنی دار فعالیت این آنزیم می‌شوند (شکل ۶ a). تیمار با سالیسیلیک اسید باعث افزایش بیشتر فعالیت این آنزیم نسبت به گیاهان شاهد شد. اعمال توأم سالیسیلیک اسید با پرتوهای فرابنفش موجب افزایش معنی دار میزان فنیل‌آلانین‌آمونیاک نسبت به اعمال پرتوهای فرابنفش بدون سالیسیلیک اسید گردید.

نتایج حاصل از بررسی میزان مالون‌دی‌آلدئید نشانگر افزایش معنی دار سطح مالون‌دی‌آلدئید در گیاهان تحت تیمار با UV-B، UV-C نسبت به گیاهان شاهد بود



شکل ۵- تأثیر پرتوهای UV-B، UV-C و سالیسیلیک اسید بر محتوای فندهای محلول (a) و پروتئین‌های کل محلول (b) در گیاه بادرنجبویه. ۰ = بدون سالیسیلیک اسید و SA = به همراه سالیسیلیک اسید ۱ میلی‌مول. ستون‌ها نماینده میانگین سه تکرار و بارهای عمودی نشانگر انحراف استاندارد بوده و در هر ستون، میانگین‌های دارای حروف متفاوت دارای تفاوت معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ با استفاده از آزمون دانکن هستند.



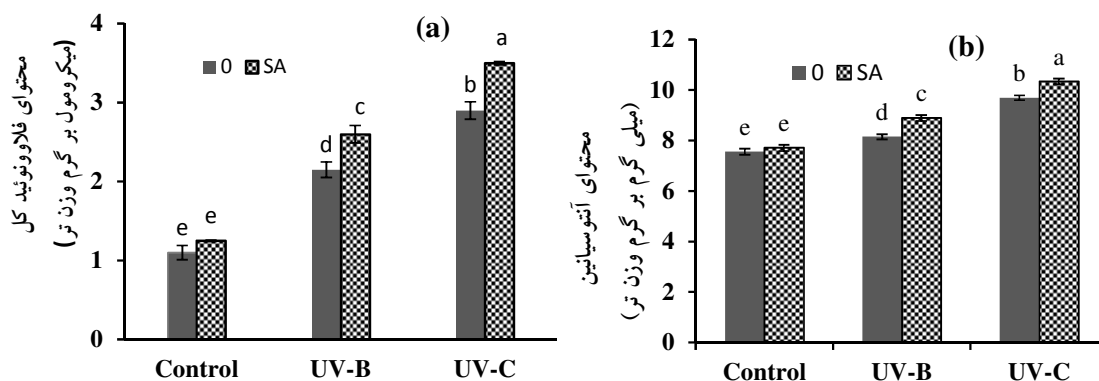
شکل ۶- تأثیر پرتوهای UV-B، UV-C و سالیسیلیک اسید بر محتوای فعالیت فنیل آلانین آمونیا لاز (a) و محتوای مالون‌دی‌آلدئید (b) در گیاه بادرنجبویه. ۰ = بدون سالیسیلیک اسید و SA = به همراه سالیسیلیک اسید ۱ میلی‌مول. ستون‌ها نماینده میانگین سه تکرار و بارهای عمودی نشانگر انحراف استاندارد بوده و در هر ستون، میانگین‌های دارای حروف متفاوت دارای تفاوت معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ با استفاده از آزمون دانکن هستند.

پرمیدون می‌گردد (Yeo et al., 2011). RNA و DNA پلیمرز قادر به خواندن این تولیدات نوری نیست پس حذف آنها برای همانند سازی و رونویسی و در نتیجه برای بقا ضروری است (Frohnmeier et al., 2003). تحقیقات نشان داده است که، رشد طولی در گیاه لوبیا نیز تحت تابش UV-B کاهش می‌یابد (Hassan et al., 2012). فاکتورهای محیطی نامطلوب مثل خشکی، سرما و اشعه فرابنفش منجر به تغییرات سریع در تعادل هورمون‌های گیاهی، نه تنها از طریق تجمع آبسزیک اسید بلکه با کاهش

دیده بدون سالیسیلیک اسید شد.

بحث:

بررسی نتایج حاصل از اندازه‌گیری طول ریشه و ساقه نشان داد که پرتوهای UV-B و UV-C باعث کاهش معنی‌دار طول ریشه و ساقه می‌شوند. علت این امر کاهش تقسیم سلولی در نتیجه‌ی اثر پرتوهای فرابنفش بر همانند سازی DNA است. پرتوهای فرابنفش عمدتاً منجر به تشکیل دیم‌های پرمیدین سیکلوپوتانت و پرمیدین (۴-۶)



شکل ۷- تأثیر پرتوهای UV-B، UV-C و سالیسیلیک اسید بر محتوای فلاونوئیدها (a) و آنتوسیانین (b) در گیاه بادرنجبویه. ۰ = بدون سالیسیلیک اسید و SA = به همراه سالیسیلیک اسید ۱ میلی‌مول. ستون‌ها نماینده میانگین سه تکرار و بارهای عمودی نشانگر انحراف استاندارد بوده و در هر ستون، میانگین‌های دارای حروف متفاوت دارای تفاوت معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ با استفاده از آزمون دانکن هستند.

افزایش سرعت تقسیم سلولی مشاهده شده در دانه رست های گندم تیمار شده با ۵۰ میکرومولار سالیسیلیک اسید با افزایش سطح درون زا اکسین هم‌بستگی نشان می‌دهد (Shakirova *et al.*, 2003). این نشان دهنده آن است که احتمالاً سالیسیلیک اسید با وساطت پاسخ‌های اکسین وارد عمل می‌شود (Rivas-SanVicente and Plasencia, 2011). اندازه‌گیری وزن تر و خشک گیاهان پرتو دیده و مقایسه‌ی آن با گیاهان شاهد نشان داد که اشعه‌ی UV باعث کاهش وزن تر و خشک ریشه و اندام هوایی شد. مطالعات نشان داده است که، در گیاهان *Hordeum vulgare* و *Phaseolus vulgaris* وزن تر ریشه و اندام هوایی تحت تابش UV-B کاهش می‌یابد (Moussa and Khodry, 2008). کاهش وزن ریشه و اندام هوایی تحت تأثیر اشعه‌ی UV به خصوص UV-B و UV-C بیانگر کاهش تولید بیوماس در این تیمارها است و این یک پاسخ عمومی در بسیاری از گونه‌های گیاهی است. یکی از دلایل کاهش وزن ریشه و اندام هوایی در تیمارهای UV، کاهش فعالیت آنزیم رویسکو و کاهش فتوسنتز است (Hassan *et al.*, 2012). کاهش سطح برگ در اثر تابش UV نیز از دلایل دیگر این کاهش می‌باشد (Balouchi *et al.*, 2009).

سطوح هورمون‌های فعال کننده رشد مثل اکسین و سیتوکینین می‌شوند (Zhang and Li, 2012). افزایش رشد طولی ریشه و ساقه تحت تأثیر تیمار با سالیسیلیک اسید مشاهده شد. اثر سالیسیلیک اسید بر رشد گیاهان بستگی به گونه گیاهی، مرحله توسعه‌ای و غلظت سالیسیلیک اسید دارد (Rivas-SanVicente and Plasencia, 2011). سازوکاری که اسید سالیسیلیک رشد ریشه و بخش هوایی را در برخی گیاهان افزایش می‌دهد به خوبی شناخته نشده است اما احتمال داده می‌شود که اسید سالیسیلیک طولی شدن و تقسیم سلولی را به همراه مواد دیگری از قبیل اکسین تنظیم نماید (Shakirova and Sahabudinova, 2003). پیشنهاد شده است که اثرات تحریکی رشد سالیسیلیک اسید می‌تواند در ارتباط با تغییرات هورمونی (Abreu and Munne-Bosch, 2009) و یا بهبود فتوسنتز، تنفس و هدایت روزه‌ای باشد (Stevens *et al.*, 2006). شواهد نشان می‌دهد که هم‌بستگی قوی بین مسیرهای علامت دهی سالیسیلیک اسید و اکسین وجود دارد. مطالعه بر روی گیاه گندم تحت تنش شوری نشان داده است که اعمال سالیسیلیک اسید از کاهش اکسین و سیتوکینین جلوگیری کرده و از این طریق، مهار رشد ناشی از تنش شوری را کاهش می‌دهد (Sakhabutdinova *et al.*, 2003).

گیاه توسط سالیسیلیک اسید، تحریک سنتز کلروفیل بیان گردیده است.

نتایج حاصل از بررسی میزان قندهای محلول تحت تابش پرتوهای فرابنفش نشان داد که پرتوهای UV-B و UV-C باعث کاهش معنی‌دار سطح قندهای محلول در اندام هوایی می‌شوند. کاهش محتوای قندهای محلول تحت تأثیر پرتوهای فرابنفش در گیاه فلفل قلمی توسط Hosseini sarghein و همکاران (۲۰۰۸) گزارش شده است. کاهش میزان قند در تیمارهای UV نشان دهنده‌ی کاهش فتوسنتز است و این کاهش فتوسنتز به دلایلی از جمله پراکسیداسیون غشای تیلاکوئیدی (Mazza et al., 2000)، جذب UV توسط فتوسیستم II و تخریب پروتئین‌های D_۱ و D_۲ تخریب آنزیم روبیسکو رخ می‌دهد (Moussa and Khodary, 2008).

نتایج نشان داد، سالیسیلیک اسید باعث افزایش محتوای قندهای محلول می‌شود. Popova و همکاران (۱۹۹۷) بیان کرده‌اند که سالیسیلیک اسید باعث تأخیر در کاهش مقدار رنگیزه‌های فتوسنتزی می‌شود. بنابراین به علت تعدیل در کاهش مقدار رنگیزه‌های فتوسنتزی و احتمالاً حفظ ساختار و فعالیت روبیسکو باعث افزایش مقدار قندها می‌شود (Khodary, 2000).

بررسی نتایج حاصل از اندازه‌گیری میزان پروتئین نشان داد که پرتوهای UV-B و UV-C باعث کاهش معنی‌دار محتوای پروتئین‌های محلول می‌شود. آمین و اسیدهای حلقوی مانند فنیل‌آلانین، تیروزین و تریپتوفان جذب بالایی در ناحیه‌ی فرابنفش دارند و به شدت تحت تأثیر پرتوهای UV تخریب می‌شوند. سنتز پروتئین نیز از طریق آسیب رسیدن به مولکول‌های RNA دچار اختلال می‌شود (Moosavi et al., 2009). پروتئین‌های روبیسکو، ATP، آز، ویولاگزاتین‌داپوکسیداز و زیر واحدهای پروتئینی فتوسیستم‌های I و II از مهم‌ترین پروتئین‌هایی هستند که تحت تأثیر پرتوهای UV دچار تخریب می‌شوند. کاهش محتوای پروتئین در گیاه فلفل تحت تیمار پرتوهای UV در توسط Mahdavian و همکاران (۲۰۰۸) گزارش شده است.

نتایج بدست آمده از این تحقیق نشان داد که سالیسیلیک اسید به طور معنی‌داری وزن تر و خشک را در گیاهان بادرنجبویه افزایش می‌دهد. اصلی‌ترین دلیل برای این افزایش می‌تواند مربوط به توانایی آن در افزایش ظرفیت فتوسنتزی باشد. سالیسیلیک اسید باعث افزایش تعداد برگ‌ها، افزایش سطح برگ، افزایش فعالیت آنزیم روبیسکو، افزایش میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی می‌شود و بدین ترتیب باعث افزایش ظرفیت فتوسنتزی و تولید بیوماس و افزایش رشد و وزن گیاهی می‌شود. گزارش شده است که سالیسیلیک اسید باعث افزایش وزن خشک ریشه و اندام هوایی گیاه گندم می‌شود (Kaydan et al., 2007). همچنین افزایش وزن خشک در گیاهان ذرت و سویا تحت تأثیر سالیسیلیک اسید گزارش شده است (Khan et al., 2003). بررسی نتایج حاصل از اندازه‌گیری میزان کلروفیل a، کلروفیل b و کاروتنوئیدها نشان داد که پرتوهای UV-B و UV-C باعث کاهش محتوای آنها می‌شود. کاهش معنی‌دار سطح رنگیزه‌های فتوسنتزی در برگ‌های فلفل قلمی تحت تابش UV-B و UV-C در مقایسه با گیاهان شاهد گزارش شده است (Hosseini sarghein et al., 2008). کاهش میزان کلروفیل به دلیل ممانعت از سنتز آن و یا افزایش فعالیت کلروفیل‌لاز (Piril et al., 2011) و همچنین فتو اکسیداسیون غیر آنزیمی کلروفیل (Mahdavian et al., 2008) در اثر تابش پرتوهای فرابنفش اتفاق می‌افتد.

نتایج حاصل از آزمایش‌ها نشان داد که سالیسیلیک اسید باعث افزایش محتوای کلروفیل و کاروتنوئید می‌شود. در گیاهانی که به صورت توأم تحت تیمار سالیسیلیک اسید و UV قرار داشتند میزان کلروفیل‌ها و کاروتنوئید اگر چه از گیاهان شاهد کمتر بود ولی نسبت به گیاهانی که فقط در معرض پرتوهای UV قرار داشتند بیشتر بود. این نتایج با یافته‌های Moosavi و همکاران (۲۰۰۹) هم سویی نشان می‌دهد. گزارش شده است که در گیاه لوبیا، اسپری برگ‌ی سالیسیلیک اسید بر مقدار کلروفیل a، کلروفیل b و کاروتنوئیدها افزوده است (Turkyilmaz et al., 2005). علت اصلی افزایش میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی در این

نتایج حاصل از آزمایش‌ها نشان داد که فعالیت آنزیم فنیل‌آلانیل‌آمونیا لیا ز تحت تأثیر پرتوهای UV-B و UV-C افزایش یافت. تیمار سالیسیلیک اسید نیز باعث افزایش فعالیت این آنزیم گردید. فنیل‌آلانیل‌آمونیا لیا ز آنزیم کلیدی در متابولیسم فنیل پروپانوئیدها است که تبدیل L - فنیل - آلانین به ترانس سینامیک اسید، اولین مرحله در متابولیسم ترکیبات فنولی را انجام می‌دهد. این مرحله یک واکنش بیوشیمیایی کلیدی در نمو و دفاع گیاهان به شمار می‌رود (Chang *et al.*, 2008). بنابراین افزایش میزان ترکیبات فنولی، فلاونوئیدها و آنتوسیانین‌ها می‌تواند مربوط به افزایش فعالیت آنزیم PAL باشد. افزایش میزان و فعالیت آنزیم PAL تحت تنش UV می‌تواند ناشی از افزایش بیان ژن مسئول سنتز این آنزیم باشد. تیمار سالیسیلیک اسید نیز باعث القای شدید ژن سازنده آنزیم PAL می‌شود که منجر به سنتز ترکیباتی مانند فلاونوئیدها و آنتوسیانین‌ها می‌گردد، که باعث محافظت از بافت‌های گیاهی می‌شود (Chang *et al.*, 2008).

بررسی نتایج حاصل نشان داد که محتوای فلاونوئید و آنتوسیانین به طور معنی‌داری تحت تابش‌های UV-B و UV-C افزایش یافت. افزایش محتوای فلاونوئید و آنتوسیانین در گیاه فلفل قلمی تحت تیمار UV-A و UV-C نیز گزارش شده است (Hosseini sarghein *et al.*, 2008). ترکیبات جذب‌کننده UV که اغلب فلاونوئیدها یا مشتقات هیدروکسی سینامیک اسید مثل آنتوسیانین هستند می‌توانند در اپیدرم و در واکوئل سلول‌ها تجمع یابند و یا به صورت باند به دیواره یا کوتیکول قرار بگیرند که تجمع آنها نوعی مکانیسم حفاظتی برای جلوگیری از نفوذ پرتوهای فرابنفش است (Balouchi *et al.*, 2009). نقش حفاظتی این ترکیبات در تحقیقاتی که Li و همکاران (۱۹۹۳) انجام داده‌اند مشخص شده است. به طوری که موتان‌های آراییدوپسیس که قدرت ساختن فلاونوئیدها را ندارند نسبت به تیپ وحشی حساسیت زیادی در برابر تابش‌های UV-B دارند.

در این آزمایش سالیسیلیک اسید باعث افزایش محتوای پروتئین در گیاهان بادرنجبویه شد و کاهش را که در گیاهان با تیمار UV ایجاد شده بود را به خوبی جبران کرد. سالیسیلیک اسید بر تشکیل پروتئین‌های دفاعی، پروتئین کینازها و روبیسکو اثر گذاشته و همچنین سنتز پروتئین‌های مهارکننده پروتئازها را القا می‌کند (Horvath *et al.*, 2007). گزارش شده است که کاربرد سالیسیلیک اسید منجر به القای بیان ژن‌های پروتئین‌های عامل مقاومت می‌شود (Senaratna *et al.*, 2000). همچنین گزارش شده است که سالیسیلیک اسید با افزایش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و توان آنتی‌اکسیدانی از اکسیداسیون پروتئین‌ها جلوگیری می‌کند (Eraslan *et al.*, 2008).

نتایج حاصل از این آزمایش نشان داد که محتوای مالون‌دی‌آلدئید تحت تابش پرتوهای UV-B و UV-C به طور معنی‌داری افزایش می‌یابد. پرتوهای فرابنفش باعث افزایش گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) می‌شوند که یکی از موارد آسیب آنها پراکسیداسیون لیپیدهای غشای پلاسمایی و سایر غشاهای درونی اندامک‌هایی مانند کلروپلاست و میتوکندری می‌باشد. حاصل این پراکسیداسیون لیپیدی ترکیباتی مانند مالون‌دی‌آلدئید، هپتانال، بوتانال و هگزانال می‌باشد. مالون‌دی‌آلدئید حاصل تجزیه‌ی اسیدهای چرب غیر اشباع است که به عنوان شاخص زیستی پراکسیداسیون لیپیدها زمانی که در معرض ROS قرار گرفته‌اند، شناخته می‌شود (Bartosz, 1997).

کاهش میزان مالون‌دی‌آلدئید در گیاهان تحت تیمار سالیسیلیک اسید در این آزمایش مشاهده شد که می‌توان دلیل آن را توانایی سالیسیلیک اسید در ممانعت از تولید رادیکال‌های آزاد دانست. نقش سالیسیلیک اسید به عنوان رباینده رادیکال‌های هیدروکسید در گیاهان پیشنهاد شده است (El-Tayeb *et al.*, 2006). کاهش محتوای مالون‌دی‌آلدئید در دو گونه چغندر که تحت تیمار شوری و سالیسیلیک اسید قرار گرفته بودند نیز، گزارش شده است (Jana and Choudhuri, 1981).

می‌شود که در نهایت منجر به افزایش بیوستز ترکیبات جاذب می‌گردد و این ترکیبات به عنوان جاذب پرتوهای فرابنفش در اپیدرم عمل کرده و بافت‌های گیاهی را از صدمات پرتوهای فرابنفش محافظت می‌کنند (Rivas-San Vicente and Plasencia, 2011).

نتیجه‌گیری:

نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که پرتوهای UV-B و UV-C باعث وارد آمدن آسیب‌هایی به گیاه بادرنجبویه شد و گیاه از لحاظ مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی دچار تغییراتی گردید. آسیب‌های وارده به گیاه تحت تأثیر پرتوهای UV-C بیشتر از پرتوهای UV-B بود. کاهش وزن، کاهش رشد طولی، کاهش میزان رنگیزه‌ها، قندها و پروتئین‌ها در اثر پرتوهای فرابنفش در گیاه ایجاد شد. افزایش میزان ترکیبات جاذب UV مانند فلاونوئید و آنتوسیانین و نیز افزایش فعالیت آنزیم فنیل‌آلانین‌آمونیا لیز یک مکانیسم دفاعی در برابر پرتوهای فرابنفش است، مشاهده گردید. تیمار با سالیسیلیک اسید به عنوان یک روش شیمیایی باعث جبران آسیب‌های فیزیولوژیکی و مورفولوژیکی و افزایش مکانیسم‌های دفاعی مثل افزایش ترکیبات جاذب پرتوهای فرابنفش در گیاه بادرنجبویه شد و از این طریق آسیب‌های ناشی از تابش هر دو نوع پرتو فرابنفش را کاهش داد. این نتایج نشانگر نقش مفید استفاده از سالیسیلیک اسید به صورت محلول پاشی بر روی اندام هوایی در کاهش اثرات زیان‌بار پرتوهای فرابنفش در گیاه بادرنجبویه بود.

مطالعات نشان می‌دهد که پرتوهای فرابنفش باعث افزایش فعالیت آنزیم PAL می‌شوند و در نتیجه باعث تولید سینامیک اسید و فعال شدن مسیر بیوستز فلاونوئیدها می‌شود. افزایش در غلظت فلاونوئیدها ناشی از فعالیت زیاد آنزیم PAL و یا سرعت بالای سنتز این آنزیم گزارش شده است (Wang *et al.*, 2006). گزارش‌ها نشان می‌دهند که مقدار و فعالیت آنزیم کالکون سنتاز که نقش اساسی در بیوستز فلاونوئیدها را دارد تحت تأثیر پرتوهای فرابنفش افزایش می‌یابد (Sakihama *et al.*, 2002). آنتوسیانین‌ها از ترکیبات فنولی مشتق شده از مسیر بیوستز فلاونوئیدها هستند که خاصیت فیلتر کردن پرتوهای UV را دارند (Balouchi *et al.*, 2009). افزایش میزان آنتوسیانین‌ها تحت تنش UV ناشی از تحریک بیان ژن‌های کد کننده آنزیم‌های درگیر در مسیر بیوستز این ترکیبات است. اثر شدت‌ها و زمان‌های مختلف پرتو UV-C بر افزایش میزان آنتوسیانین‌ها در توت فرنگی گزارش شده است (Erkan *et al.*, 2008).

بر طبق نتایج بدست آمده تیمار با سالیسیلیک اسید باعث افزایش محتوای فلاونوئیدها و آنتوسیانین در گیاهان تحت تیمار شد. آنزیم PAL به عنوان اولین آنزیم در مسیر فنیل پروپانوئید موجب تبدیل فنیل‌آلانین به ترانس سینامیک اسید می‌شود که این ترکیب پیش‌ساز فعال ترکیبات فلاونوئیدی است (Chang *et al.*, 2008). سالیسیلیک اسید بیان و فعالیت این آنزیم را تحریک می‌کند. تیمار سالیسیلیک اسید باعث القای شدید ژن آنزیم های کالکون-سنتاز، کالکون‌ایزومراز و فنیل‌آلانین‌آمونیا لیز

منابع:

- synthetic characteristics in durum wheat. *Plant Soil and Environment* 55: 443-453.
- Beaudion -Eagan, L. D. and Thorpe, T. A. (1989) Tyrosine and phenylalanine ammoniolyase activities during shoot initiation in *Tobacco callus* cultures. *Plant Physiology* 78:438-441.
- Booji- James, I. S., Dube, S. K., Jansen, M. A. K., Edelman, M. and Mattoo, A. K. (2000) Ultraviolet-B radiation impacts light-mediated turnover of the photosystem II reaction center heterodimer
- Abreu, M. E. and Munne -Bosch, S. (2009) Salicylic acid deficiency in *Nah G* transgenic lines and *sid2* mutants increases seed yield in the annual plant *Arabidopsis thaliana*. *Journal of Experimental Botany* 60: 1261-1271.
- Balouchi 1, H. R., Sanavy, S. A. M., Emam, Y. and Dolatabadian, A. (2009) UV radiation, elevated CO₂ and water stress effect on growth and photo-

- signaling. *Plant Growth Regulation* 26: 290-300.
- Hosseini sarghein, S., Carapetia, J. and Khara, J. (2008) Effects of UV radiation on photosynthetic pigments and UV-absorbing compounds in *Cap-sicum longum* L. *International Journal of Botany* 4:486-490.
- Bartosz, G. (1997) Oxidative stress in plants. *Acta Physiologiae Plantarum* 19: 47-64
- Jana, S. and Choudhuri, M. A. (1981) Glycolate metabolism of three submerged aquatic anagiosperms during aging. *Aquatic Botany* 12: 345-354.
- Jia, Z., Tang, M. and Wu, J. (1999) The determination of flavonoid content in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chemistry* 64: 555-559.
- Kaydan, D., Yagmur, M. and Okut, N. (2007) Effects of salicylic acid on the growth and some physiological characters in salt stressed wheat (*Triticum aestivum* L.). *Tarim Bilimleri Dergisi* 13: 114-119.
- Kennedy, D. O., Little, W., Haskell, C. and Scholey, A.B. (2006) Anxiolytic effects of a combination of *Melissa officinalis* and *Valeriana officinalis* during laboratory induced Stress. *Phytotherapy Research* 20: 96-102.
- Khan, W., Prithiviraj, B., Smith, D. L. (2003) Photosynthetic responses of corn and soybean to foliar application of salicylates. *Plant Physiology* 160:485-492.
- Khodary, S. E. A. (2004) Effect of salicylic acid on the growth, photosynthesis and carbohydrate metabolism in salt stressed *Maize* plant. *International Journal of Biology* 6: 5-8.
- Kochert, G. (1978) Carbohydrate determination by phenol-sulfuric acid method. In: *Handbook of physiological and biochemical methods* (eds. Hellebust, J. A. and Craige, J. S.) pp. 95-97. Cambridge University Press, London.
- Li, J., Ou-Lee, T. M., Raba, A., Amundson, R. G. and Last, R. L. (1993) *Arabidopsis* flavonoid mutants are hypersensitive to UV-B irradiation. *Plant Cell* 5: 171-179.
- Lichtenthaler H.K. and Wellburn A. (1983) Determination of total carotenoids and chlorophylls a and b of leaf extracts in different solvents. *Biochemical Society Transactions* 603: 591-592
- Lowry, O. H., rosebrough, N. J., Farr, A. L., and Randal, R. J. (1951) Folin cioalleu. *Biochemistry* 193: 265-7.
- Lutz, C., Schonauer, E. and Neuner, G. (2005) Physiological adaptation to early spring conditions in green overwintering leaves of some alpine plants. *Phyton* 45:139-156.
- Mahdavian, K., Ghorbanli, M. and Kalantari, M. K. (2008) The effects of ultraviolet radiation on contents of chlorophyll, flavonoid anthocyanin in *Arabidopsis* mutant altered in phenolic metabolism. *Plant Physiology* 124: 1275-1283.
- Buchholz, G., Ehmann, B, and Wellman, E. (1995) Ultraviolet light inhibition of phytochrome-induced flavonoid biosynthesis and DNA photolyase formation in mustard cotyledones (*Synapis alba* L.). *Plant Physiology* 108: 227-234.
- Chakraborty, U. and Tongden, C. (2005) Evaluation of heat acclimation and salicylic acid treatments as potent inducers of thermotolerance in *Cicer arietinum* L. *Current Science* 89: 384-389
- Chang, A., Lim, M. H., Lee, S. W., Robb, E. J. and Nazar, R. N. (2008) Tomato PAL gene family: highly redundant but strongly underutilized. *Journal of Biology and Chemistry* 283: 33591-33601.
- El-Tayeb, M. A., EL-Enany, A. E. and Ahmed, N. L. (2006) Salicylic acid -induced adaptive response to copper stress in sunflower (*Helianthus annuus* L.). *Plant Growth Regulation* 50 :191-199.
- Eraslan, F., Inal, A., David, J. and Gunes, A. (2008) Interactive effects of salicylic acid and silicon on oxidative damage and antioxidant activity in spinach (*Spinacia oleracea* L.cv .Matado) grown under boron toxicity and salinity. *Plant Growth Regulation* 55 :207-219.
- Erkan, M., Wang, S. Y. and Wang, C. Y. (2008) Effect of UV treatment on antioxidant capacity, antioxidant enzyme activity and decay in strawberry fruit. *Postharvest Biology and Technology* 48: 163-171.
- Frohnmeier, H. and Staiger, D. (2003) Ultraviolet-B radiation-mediated responses in plants. Balancing damage and protection. *Plant Physiology* 133: 1420-1428.
- Hassan, I. A., Basahi, J. M. and Kadi, M. W. (2012) Physiological and biochemical impairment in bean plants due to supplementary ultraviolet radiation and water stress: possible protective roles of secondary metabolites. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences* 6: 552-563.
- Heath, R. L. and Packer, L. (1968) Photoperoxidation in isolated chloroplasts. I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 125: 189-198.
- Hoagland, D. R. and Arnon, D. I. (1950) The water culture method for growing plants without soil. *California Agricultural Experiment Station* 347: 23-32.
- Hollosy, F. (2002) Effects of ultraviolet radiation on plant cells. *Micron* 33: 179-197.
- Hoque, E. and Remus, G. (1999) Natural UV-screening mechanisms of Norway spruce (*Picea abies* L. karts) needles. *Photochemistry and Photobiology* 69: 177-192.
- Horvath, E., Szalai, G. and Janda, T. (2007) Induction of abiotic stresses tolerance by salicylic acid

- damage mediated by metals in plants. *Toxicology* 177: 67-80.
- Senaratna, T., Touchell, D., Bunn E. and Dixon K. (2000) Acetyl salicylic acid (aspirin) and salicylic acid induce multiple stress tolerance in bean and tomato plant. *Plant Growth Regulation* 30:157-161.
- Shakirova, F. M. and Sahabutdinova D. R. (2003) Changes in the hormonal status of wheat seedlings induced by salicylic acid and salinity. *Plant Science* 164: 317-322.
- Srivastava, M. K. and Dwivedi, U. N. (2000) Delayed ripening of banana fruit by salicylic acid. *Plant Science* 158: 87-96.
- Stevens, J., Senaratna, T. and Sivasithamparam, K. (2006) Salicylic acid induces salinity tolerance in tomato (*Lycopersicon esculentum* cv.Roma): associated changes in gas exchange, water relations and membrane stabilisation. *Plant Growth Regulation* 49: 77-83.
- Turkyilmaz, B., Aktas, L. Y. and Guven, A. (2005) Salicylic acid induced some biochemical and physiological changes in *Phaseolus vulgaris* L. *Science and Engineering Journal of Firat University* 17:319-326.
- Wagner, G. J. (1979) Content and vacuole/extra vacuole distribution of neutral sugars, ferr aminoacids and anthocyanins in protoplasts. *Plant Physiology* 64: 87-93.
- Wang, J. W., Zheng, L. P., Wu, J. Y. and Tan, R. Y. (2006) Involvement of nitric oxide in oxidative burst, phenylalanine ammonia-lyase activation and Taxol production induced by low-energy ultrasound in *Taxus yunnanensis* cell suspension cultures. *Nitric Oxide-Biology and Chemistry* 15: 351-358.
- Yeo, y., Danna, C. H., Zemp, F. J., Titov, V., Nazem Ciftci, O. and Przybylski, R. (2011) UV-C-irradiated Arabidopsis and Tobacco emit volatiles that trigger genomic instability in neighboring Plants. *The Plant Cell* 23: 3842-3852.
- Zhang, L. and Li, X. (2012) Exogenous treatment with salicylic acid attenuates ultraviolet-B radiation stress in soyabean seedling. *Information Technology and Agricultural Engineering* 134: 889-894.
- and proline in *Capsicum annum* L. *Turk Journal of Botany* 32: 25-33.
- Mazza, C. A., Boccalandro, H. E., Girodano, C. V., Battista, D., Scopel, A. L. and Ballare, C. L. (2000) Functional significance and induction by solar radiation of ultraviolet- absorbing sunscreens in field-grown soy bean crops. *Plant physiology* 122: 117-125.
- Moosavi, S. M., Khara, J. and Heidari, R. (2009) Effects of salicylic acid on photosynthetic pigment content in *Ocimum basillicum* L. under UV radiation stress. *Ferdowsi University International Journal of Biological Sciences* 1: 57-60.
- Morris, K., Mackerness, S. A., Page, T., John, C. F., Murphy, A. M., Carr, J. P. and Buchanan-Wollaston, V. (2000) Salicylic acid has a role in regulating gene expression during leaf senescence. *The Plant Journal* 23: 677-685.
- Moussa, H. R. and Khodary, S. E. A. (2008) Changes in growth and $^{14}\text{CO}_2$ fixation of *Hordeum vulgare* and *Phaseolus vulgaris* induced by UV-B radiation. *Journal of Agriculture and Social Sciences* 4: 59-64.
- Paul, N. D., and Gwynn-jones, D. (2003) Ecological roles of solar ultraviolet radiation: towards an integrated approach. *Trends in Ecology and Evolution* 18: 48-55.
- Piri1, E., Babaeian, M., Tavassoli, A. and Esmaeilian, Y. (2011) Effects of UV irradiation on plants. *African Journal of Microbiology Research* 5: 1710-1716.
- Popova, L., Pancheva, T. and Uzunova, A. (1997) Salicylic acid: properties, biosynthesis and physiological role. *Plant Physiology* 23: 85-93.
- Sakhabutdinova, A. R., Fatkhutdinova, D. R., Bezrukova, M. V. and Shakirova, F. M. (2003) Salicylic acid prevents the damaging action of stress factors on wheat plants. *Bulgarian Journal of Plant Physiology. Spicial Issue* 314-319.
- Rivas-San Vicente, M and Plasencia, J. (2011) Salicylic acid beyond defense: its role in plant growth and development. *Journal of Experimental Botany* 62: 3321-3338.
- Sakihama, Y., Cohen, M. F., Grace, S. C. and Yamasaki, H. (2002) Plant phenolic antioxidant and prooxidant activities: phenolic-induced oxidative

The interactions of UV-B and UV-C radiation and salicylic acid on some physiological and biochemical parameters in *Melissa officinalis* L.

Mehdi Abedzadeh and Latifeh Pourakbar*

Department of Biology, Faculty of Sciences, Urmia University, Iran.

(Received: 3 March 2013; Accepted: 27 July 2013)

Abstract:

Nowdays, effects of decreased ozone and increased UV radiation have been studied by many researchers. The aim of this study was to investigate the effects of UV-B and UV-C radiations on *Melissa officinalis* L and to study the impact of salicylic acid in reducing the harmful effects of radiation on plants. The *Melissa officinalis* L. plants were treated with 28 ± 2 °C temperature for about 60 days. The light intensity was $150 \mu \text{mol m}^{-2} \text{S}^{-1}$ and the photoperiod condition was 8-16 hours. UV treatment was applied after the six-leaf stage and UV-B radiation was applied for a period of 15 days application for 20 minutes. But UV-C radiation was applied every other days for 15 days in and time of each application was 8 minutes. Salicylic acid was sprayed on the plants after the six-leaf stage with a concentration of 1 mM. The results indicated that the UV-B and UV-C radiations led to reduction in dry and fresh weight, root elongation and shoots. The radiations also reduced the photosynthetic pigments (chlorophyll a, chlorophyll b and carotenoid) sugar content and total soluble proteins amount. The malondialdehyde and phenylalanine ammonialyase compounds content and UV- absorbing compounds were increased under the effect of UV-B and UV-C radiations. The results showed that treatment with salicylic acid reduced. The damage to the plant which had been created due to UV-B and UV-C radiations and was able to compensate for modified factors that had been changed because of ultra violet radiations.

Key words: UV radiation, *Melissa officinalis* L, Photosynthetic pigments, UV- absorbing compounds, Phenylalanine ammonialyase.

* Corresponding author: l.pourakbar@urmia.ac.ir