

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

مهدي عابدزاده و طيفه پور اكير

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 برگی 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 برگی با غلظت ۱ میلی مول 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 هم چنین میزان رنگیزه های فتوستزی (کلروفیل a، کلروفیل b و کاروتونئید) میزان قندها و پروتئین های محلول را کاهش دادند. میزان مالون-دی-آلید و فنیل آلانین آمونیالیاز 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 آسیب های واردہ به گیاه شد که در اثر پرتوهای UV-B و UV-C به وجود آمده بودند و توانست فاکتورهایی که تحت تابش های فرابنفش تغییر یافته بودند را جبران کنند.

کلمات کلیدی: پرتو فرابنفش، گیاه بادرنجبویه، رنگیزه های فتوستزی، فنیل آلانین آمونیالیاز، ترکیبات جاذب UV.

### پرتوهای فرابنفش ۸ تا ۹ درصد طیف خورشید را

شامل می شود و به سه باند (UV-A ۴۰۰ nm – ۳۲۰ nm)، (UV-B ۲۸۰ nm – ۳۲۰ nm) و (UV-C ۲۰۰ nm – ۲۸۰ nm) تقسیم می شود که به دلیل داشتن طول موج پایین نسبت به نور مرئی دارای انرژی زیادی برای نفوذ به بافت ها می باشدند. در میان موجودات زنده، گیاهان به دلیل احتیاج اجتناب ناپذیرشان به نور برای انجام فتوستزی، بیشتر تحت تأثیر پرتوهای فرابنفش قرار می

### مقدمه:

امروزه فعالیت های صنعتی بشر باعث افزایش ترکیبات آلوده کننده اتمسفر به خصوص ترکیبات هالوژن دار شده است که این ترکیبات به دلیل پایداری زیادی که دارند به سطح استراتوسفر رسیده و باعث تخریب لایه اوزون می شوند. کاهش لایه اوزون باعث افزایش میزان پرتوهای فرابنفش در سطح زمین شده و مشکلاتی را برای موجودات زنده به وجود آورده است (Buchholz, et al., 1995).

\*نویسنده مسئول، نشانی پست الکترونیکی: l.pourakbar@urmia.ac.ir

سالیسیلیک اسید یک تنظیم کننده‌ی رشد درونی از گروه ترکیبات فن ولی طبیعی می‌باشد 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 تنش‌های شوری، خشکی، سرما و گرمایش شود (Charkraborty and Tongden, 2005).

القای گل دهی، رشد و نمو، سنتز اتیلن، تأثیر در باز و بسته شدن روزنه‌ها، تنفس، جذب یون، توسعه گیاه، فتوستتر و جوانه‌زنی (El-Tayeb *et al.*, 2006) از نقش‌های مهم سالیسیلیک اسید به شمار می‌رود. سالیسیلیک اسید همچنین باعث فعال شدن سیستم مقاومت اکتسابی سیستمیک، سنتز متابولیتها و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان می‌شود (Eraslan *et al.*, 2008). گزارش شده است که سالیسیلیک اسید در تنظیم و ایجاد علامت‌هایی برای بیان ژن‌ها در زمان پیش‌تری در گیاه آراییدوپسیس دخالت دارد (Morris *et al.*, 2000). همچنین سالیسیلیک اسید رسیدن میوه را به تأخیر می‌اندازد (Srivastava and Dwivedi, 2000).

سالیسیلیک اسید در گیاهانی که در معرض تنش‌های محیطی از قبیل شوری، خشکی، فلزات سنگین، گرمادگی و سرمادگی هستند، نقش حفاظتی دارد (Charkraborty and Tongden, 2005).

تولید سالیسیلیک اسید از مکانیسم‌های دیگر دفاعی در گیاهان است. گزارش شده است که اسپری کردن سالیسیلیک اسید روی برگ‌ها در طول تابستان اثرات اشعه UV را در توتون کاهش می‌دهد (Moosavi *et al.*, 2009).

بادرنجبویه با نام علمی *Melissa officinalis* L. گیاهی از خانواده نعناعیان (*Lamiaceae*) بوده و از گیاهان دارویی می‌باشد که از مهم‌ترین خواص دارویی آن می‌توان به آرام بخشی، تقویت اعصاب، ضد نفخ و تقویت کننده‌ی 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 می‌شود.

گیرنده و آساییب پذیر تر هستند (Booji- James, *et al.*, 2000).

کاهش لایه 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 کننده‌ی آب، تخریب فتوسیستم II، پلاستوکوئینون، کاهش فعالیت آنزیم رویسکو و آنزیم ATP ستاز می‌شود. همچنین با القای بسته شدن روزنه‌ها و تغییر در ضخامت و آناتومی برگ می‌تواند فتوستتر را تحت تأثیر قرار دهد. تخریب رنگیزه‌های فتوستتری توسط پرتوهای فرابنفش نیز از دلایل کاهش میزان فتوستتر می‌باشد (Lutz *et al.*, 2005).

گیاهان در مقابل اشعه UV مکانیسم‌های دفاعی از خود بروز می‌دهند. ساختارهایی مانند اپیدرم که عموماً به وسیله‌ی کرک پوشیده شده است و حاوی ترکیبات جاذب UV است نقش حفاظتی در برابر اشعه UV دارند. همچنین موم موجود در سطح اپیدرم می‌تواند تا ۸۰ درصد اشعه را منعکس سازد (Balouchi *et al.*, 2009).

ترکیبات فنیل پروپانوئیدی مانند مشتقات هیدروکسی سینامیک اسید و فلاونوئیدها مثل فلاونون‌ها، فلاونونول‌ها و همچنین آنتوسیانین‌ها باعث جذب اشعه مأموری بنشش می‌شود (Hoque and Remus, 1999). همچنین گزارش شده است که فلاونوئیدها دارای نقش آنتی‌اکسیدانی بوده و باعث سمیت زدایی گونه‌های اکسیژن فعال می‌شود (Hollosy, 2002). آنتوسیانین‌ها هم در برگ‌های بالغ و هم در برگ‌های جوان وجود دارند و از نظر ساختمنی وابسته به فلاونوئیدها و از ترکیبات فنولی گیاهان می‌باشند. تحقیقات انجام گرفته نشانگر آن است که، آلکیله شدن آنتوسیانین‌ها و اسیدهای آلی آروماتیک باعث افزایش جذب آنها در ناحیه ۳۱۰ - ۳۲۰ نانومتر می‌شود (Hosseini Sarghein *et al.*, 2008).

حدود  $2\text{ m}^{-2}\text{ KJ}$   $17/2$  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 متواالی 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  $1\text{ mM}$  سالیسیلیک اسید - ۳- گیاهان در معرض تابش فرابنفش B - ۴- گیاهان در معرض تابش فرابنفش B + محلول  $1\text{ mM}$  سالیسیلیک اسید - ۵- گیاهان در معرض تابش فرابنفش C - ۶- گیاهان در معرض تابش فرابنفش C + محلول  $1\text{ mM}$  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 آون  $80^{\circ}\text{C}$  درجه سانتیگراد قرار گرفتند. و سپس وزن خشک اندام هوایی و ریشه‌ها توسط ترازویی با حساسیت  $0.001\text{ g}$  کرم 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  $-80^{\circ}\text{C}$  درجه سانتیگراد منتقل گردیدند.

**اندازه‌گیری رنگیزه‌های کلروفیل و کاروتینوئید:** میزان کلروفیل a (Chla), b (Chlb) و کاروتینوئیدهای کل ( $C_{x+0}$ ) با روش Lichtenthaler and Wellburn (1983) با روشنایی  $450\text{ nm}$  و  $645\text{ nm}$  بدستگاه Spectrophotometer در طول موج  $663\text{ nm}$  و  $645\text{ nm}$  برای اسپکتروفوتومتر

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-C, UV-B و نقش سالیسیلیک اسید به عنوان یک ماده شیمیایی در تحفیف 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  $121^{\circ}\text{C}$  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  $10\text{ mg/L}$  هیپوکاربیت سدیم استریل و سپس با آب مقطّر کاملاً شست و شو داده شد و برای جوانهزنی در داخل پتری دیش قرار گرفتند. رطوبت از طریق کاغذ صافی‌های خیس شده توسط آب مقطّر تأمین شد. بذرهای جوانه زده در  $18^{\circ}\text{C}$  عدد گلدان پلاستیکی و در عمق  $2\text{ cm}$  سانتی‌متری از خاک و قرار داده شدند. در هر گلدان ۴ بذر جوانه‌زده قرار گرفت. گلدان‌ها در شرایط گلخانه‌ای در اتاق کشت و دمای متوسط  $28\pm 2^{\circ}\text{C}$  درجه سانتیگراد و شدت نوری  $2\text{ mol m}^{-2}\text{ s}^{-1}$  به مدت  $60$  روز کشت یافتند. دوره شبانه روزی روشنایی  $16$  و تاریکی  $8$  ساعت بود. گلدان‌ها به طور متناسب با محلول هوگلند با رقیق سازی  $1/2$  (Hoagland and Arnon, 1950) و آب مقطّر 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 توسط دو لامپ  $15\text{ W}$  (LF-UV-B  $2(15)$   $215\text{ nm}$ , 312nm) تابش فرابنفش C از طریق یک لامپ فرابنفش C توسط TUV/G30T8- Philips, Holland) با میزان تابشی  $18/3\text{ KJ m}^{-2}$  در

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

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

بعد از ده دقیقه، ۱.۵ میلی لیتر 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 اسپکتروفوتومتر مدل Biowave S200 خوانده شده و با استفاده از منحنی استاندارد آلبومین، میزان پروتئین نمونه‌ها بر حسب میلی گرم بر گرم وزن خشک محاسبه گردید.

**اندازه‌گیری فعالیت آنزیم فنیلآلانین‌آمونیالیاز :** برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم فنیلآلانین‌آمونیالیاز از روش Beaudion -Eagan and Thorpe (۱۹۸۹) استفاده شد. pH = ۸ محلوط واکنش شامل بافر تریس ۰/۵ میلی مولار با ۸ و فنیلآلانین ۶ میکرومولار بود. ۲۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی به هر محلوط 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 اسپکتروفوتومتر مدل Biowave S200 اندازه-گیری شد. برای رسم منحنی استاندارد از اسید سینامیک به عنوان استاندارد استفاده شد و در نهایت فعالیت آنزیم فنیلآلانین‌آمونیالیاز 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. ۱۰ گرم از وزن تر برگ، در هاون چینی که حاوی ۱۰ میلی لیتر متانول بود، سائیده شد. سپس به ۱ میلی لیتر از عصاره استخراج شده، ۱ میلی لیتر محلول ۲ درصد آلومینیوم تریکلراید ( $\text{AlCl}_3$ ) اضافه شده و حجم آن با

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

$$\text{Chl}_a = (11.75 \text{ A}_{663} - 2.350 \text{ A}_{645})$$

$$\text{Chl}_b = (18.61 \text{ A}_{645} - 3.960 \text{ A}_{663})$$

$$\text{C}_{\text{Chl}} = (1000 \text{ A}_{470} - 2.270 \text{ Chl}_a - 81.4 \text{ Chl}_b) / 227$$

A میزان جذب خوانده شده هر طول موج، توسط اسپکتروفوتومتر 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 میلی لیتر آب مقطر بود ساییده شد. عصاره حاصل در لوله‌های سانتریفوژ ریخته شده و به مدت ۱۰ دقیقه با ۶۰۰۰ سانتریفوژ گردید. به ۰/۵ میلی لیتر از محلول رویی، آب مقطر اضافه شده و حجم آن به ۲ میلی لیتر رسانده شد. سپس به هر یک از لوله‌های آزمایش، ۱ میلی لیتر فنل سولفوریک اسید غلیظ روی هر کدام اضافه شد. بعد از نیم ساعت میزان جذب در طول موج ۴۸۵ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر اندازه‌گیری شد. غلطت 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. بدین ترتیب که ۰/۰۱ گرم ماده خشک گیاهی در داخل هاون چینی که محتوی ۵ میلی لیتر 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 سانترالیسم شدن. ۱ میلی لیتر از محلول بالایی هر نمونه در لوله‌های آزمایش جداگانه ریخته شده و بر روی هر کدام ۴ میلی لیتر از محلول C اضافه شد. محلول C به ترتیب زیر تهیه شد:

**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  $SE \pm$  برای سه تکرار می‌باشد. 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-C و UV-B و UV-C کاهش معنی‌داری نسبت به شاهد پیدا کرد. اما در نمونه هایی 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).

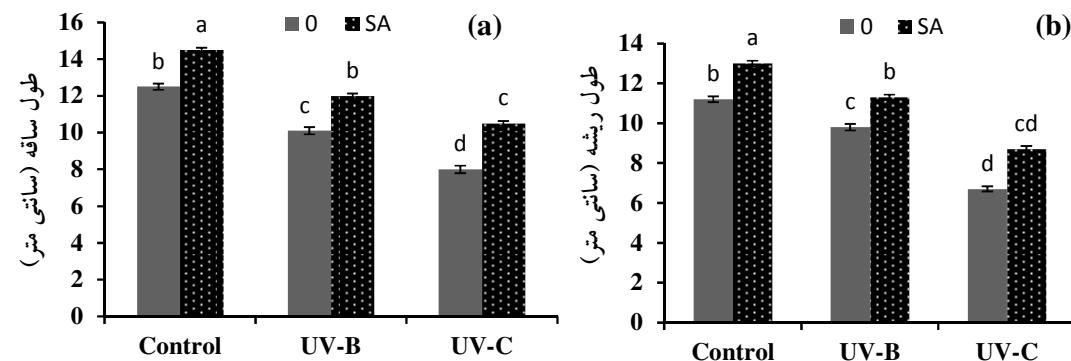
اندازه‌گیری وزن تر و وزن خشک گیاهان پرتو دیده و مقایسه‌ی آن با گیاهان شاهد نشان داد که اعمال پرتوهای UV-C و UV-B باعث کاهش معنی دار وزن تر و خشک در سطح احتمال ۵ درصد نسبت به گیاهان شاهد شد (شکل ۲). در نمونه‌های تیمار یافته با پرتوهای UV به همراه سالیسیلیک اسید مقدار این کاهش نسبت به گیاهان پرتو دیده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

**رنگیزه‌های فتوستتری:** بر اساس نتایج بدست آمده میزان کلروفیل a (شکل ۳(a) و b) تحت تأثیر پرتوهای UV-C، UV-B و 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 معنی داری نشان داد. در تیمار توأم پرتوهای UV-C و UV-B با سالیسیلیک اسید میزان کلروفیل a و کلروفیل b نسبت به اعمال به تنها یی هر دو پرتو فرابنفش افزایش معنی‌داری نشان داد.

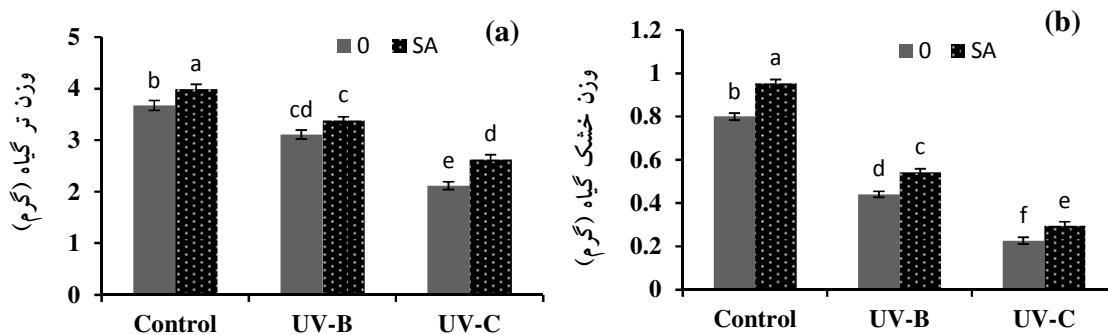
اتانول به ۲۵ میلی لیتر رسید. نمونه‌ها به مدت ۱۰ دقیقه در دور  $3000 \times g$  سانتریفوژ شده و بعد از ۴۰ دقیقه جذب نمونه‌ها (فاز بالایی نمونه‌های سانتریفوژ شده) در طول موج ۳۳۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر UV/Visible مدل Biowave S200 اندازه‌گیری شد. برای محاسبه غلظت فلاونوئیدهای کل از ضریب خاموشی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

**اندازه‌گیری آتسویانین:** برای اندازه‌گیری آتسویانین، از روش Wagner (۱۹۷۹) استفاده شد. ۰/۱ گرم نمونه‌تر برگ در هاون چینی حاوی ۱۰ میلی لیتر متانول اسیدی (۹۹ درصد متانول و ۱ درصد اسید کلریدریک) سائیده شد. عصاره حاصل به مدت ۱۰ دقیقه با دور  $6000 \times g$  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 آتسویانین از ضریب خاموشی  $150 \text{ mM cm}^{-1}$  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 میلی لیتر 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 تیوباربیوتیک اسید  $0/5\% / ۰/۵\%$  در تری‌کلرواستیک اسید  $20\%$  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  $10000 \times g$  سانتریفوژ شد. جذب محلول حاصل توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج‌های ۵۲۲ نانومتر و ۶۰۰ نانومتر اندازه‌گیری گردید ( $155 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$  = ضریب خاموشی).



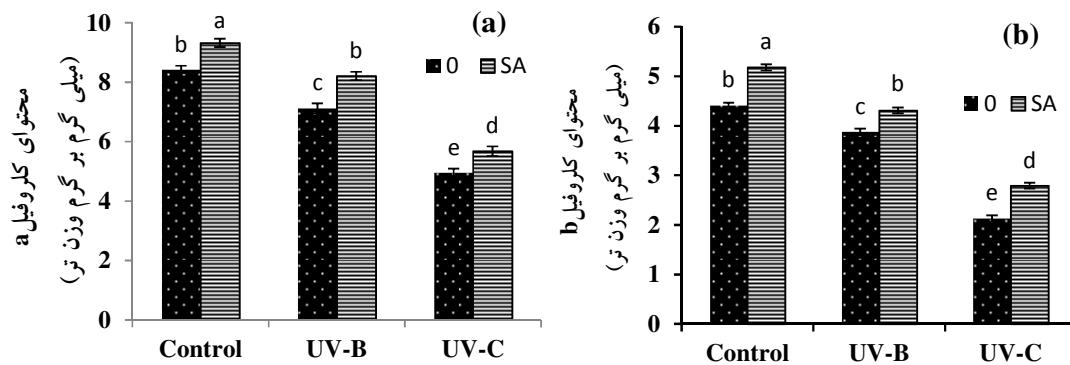
شکل ۱- تأثیر پرتوهای UV-C, UV-B و سالیسیلیک اسید بر روی طول ساقه (a) و ریشه (b) در گیاه بادرنجبویه. ۰ = بدون سالیسیلیک اسید و SA = به همراه سالیسیلیک اسید ۱ میلی مول. ستون‌ها نماینده میانگین سه تکرار و بارهای عمودی نشانگر انحراف استاندارد بوده در هر ستون، میانگین‌های دارای حروف متفاوت دارای تفاوت معنی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



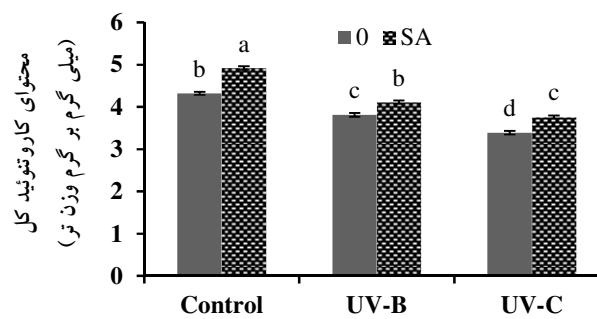
شکل ۲- تأثیر پرتوهای UV-C, UV-B و سالیسیلیک اسید بر روی وزن تر (a) و وزن خشک (b) در گیاه بادرنجبویه. ۰ = بدون سالیسیلیک اسید و SA = به همراه سالیسیلیک اسید ۱ میلی مول. ستون‌ها نماینده میانگین سه تکرار و بارهای عمودی نشانگر انحراف استاندارد بوده و در هر ستون، میانگین‌های دارای حروف متفاوت دارای تفاوت 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-C, UV-B باعث کاهش معنی دار میزان قندهای محلول (شکل ۵) و پروتئین‌های کل محلول (شکل ۵) در سطح احتمال ۵ درصد نسبت به گیاهان شاهد کاهش معنی دار یافت (شکل ۴). پرتوهای UV-C و UV-B با سالیسیلیک اسید به همراه پرتوهای 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 کاروتونوئیدها 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 کاروتونوئید کل در سطح احتمال ۵ درصد نسبت به گیاهان شاهد شد. اعمال توأم پرتوهای فرابنفش به همراه سالیسیلیک اسید موجب افزایش معنی دار محتوای کاروتونوئید کل نسبت به گیاهان پرتو دیده بدون سالیسیلیک اسید شد.



شکل ۳- تأثیر پرتوهای UV-C، UV-B و سالیسیلیک اسید بر محتوای کلروفیل a (a) و کلروفیل b (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 معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ با استفاده از آزمون دانکن هستند.

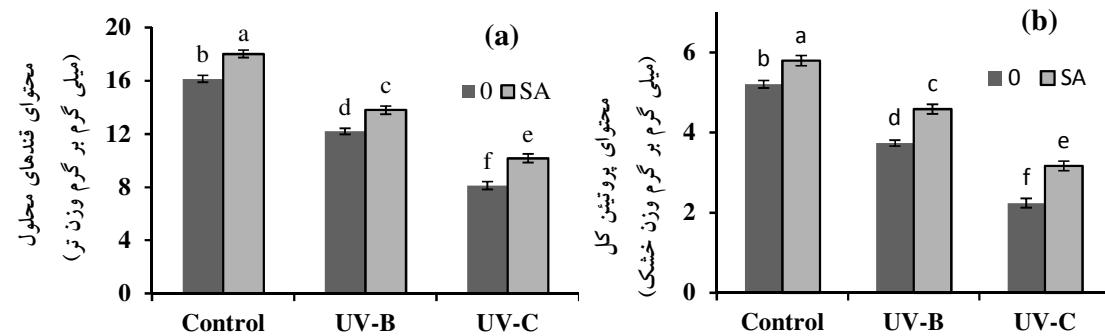


شکل ۴- تأثیر پرتوهای UV-C، UV-B و سالیسیلیک اسید بر محتوای کاروتونوئید کل در گیاه بادرنجبویه. ۰ = بدون سالیسیلیک اسید و SA = به همراه سالیسیلیک اسید ۱ میلی مول. ستون‌ها نماینده میانگین سه تکرار و بارهای عمودی نشانگر انحراف استاندارد بوده و در هر ستون، میانگین‌های دارای حروف متفاوت دارای تفاوت معنی‌دار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

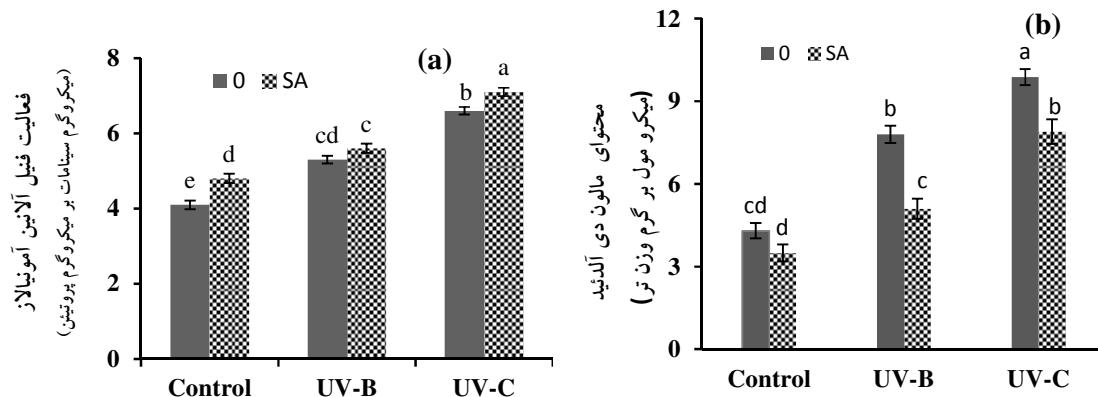
(شکل ۶ b). تیمار با سالیسیلیک اسید کاهش معنی‌داری را در سطح مالون‌دی‌آلدئید در گیاهان تحت تیمار هر دو پرتو UV و سالیسیلیک اسید نسبت به گیاهان تحت تیمار پرتوهای UV بدون سالیسیلیک اسید نشان داد. نتایج بدست آمده نشان داد که پرتوهای UV-C، UV-B باعث افزایش معنی‌دار سطح ترکیبات جاذب پرتوهای فرابنفش شد. طبق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

آلانین‌آمونیالیاز تحت تابش پرتوهای UV-C، UV-B نشان داد که پرتوهای فرابنفش باعث افزایش معنی‌دار 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 معنی‌دار میزان فنیل‌آلانین‌آمونیالیاز نسبت به اعمال پرتوهای فرابنفش بدون سالیسیلیک اسید گردید.

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



شکل ۵- تأثیر پرتوهای UV-C، UV-B و سالیسیلیک اسید بر محتوای قندهای 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 متغیر دارای تفاوت معنی‌دار در سطح  $0.05\%$  با استفاده از آزمون دانکن هستند.



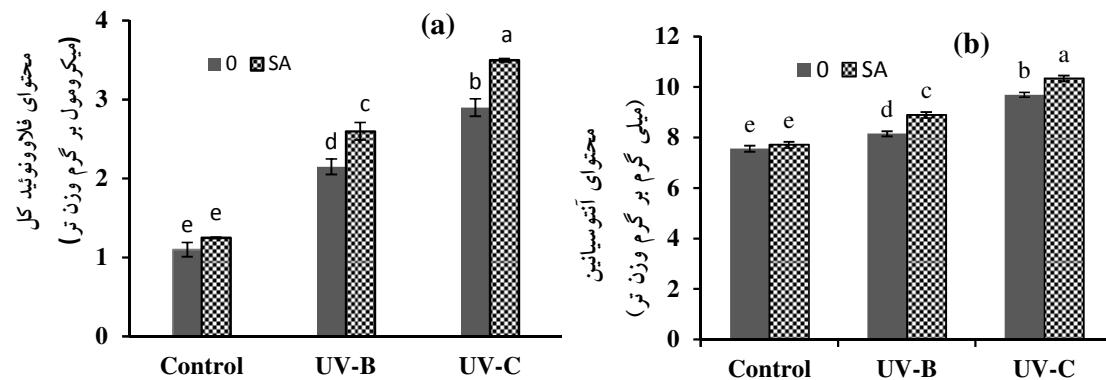
شکل ۶- تأثیر پرتوهای UV-C، UV-B و سالیسیلیک اسید بر محتوای فعالیت فیل آلائین آمونیاکاز (a) و محتوای مالوندی‌آلدید (b) در گیاه بادرنجبویه. ۰ = بدون سالیسیلیک اسید و SA = به همراه سالیسیلیک اسید ۱ میلی‌مول. ستون‌ها نماینده میانگین سه تکرار و بارهای عمودی نشانگر انحراف استاندارد بوده و در هر ستون، میانگین‌های دارای حروف متغیر دارای تفاوت معنی‌دار در سطح  $0.05\%$  با استفاده از آزمون دانکن هستند.

پریمیدون می‌گردد (Yeo *et al.*, 2011). DNA و RNA پلیمراز قادر به خواندن این تولیدات نوری نیست پس حذف آنها برای همانند سازی و رونویسی و در نتیجه برای بقا ضروری است (Frohnmeyer *et al.*, 2003). تحقیقات نشان داده است که، رشد طولی در گیاه لوبيا نیز تحت تابش UV-B کاهش می‌باید (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 دیمرهای پریمیدین سیکلوبوتانت و پریمیدین (۴-۶)



شکل ۷- تأثیر پرتوهای UV-C, UV-B و سالیسیلیک اسید بر محتوای فلانووئیدها (a) و آنتوسیانین (b) در گیاه بادرنجبویه. 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 متغیر متفاوت دارای تفاوت معنی‌دار در سطح  $0.05\%$  با استفاده از آزمون دانکن هستند.

افزایش سرعت تقسیم سلولی مشاهده شده در دانه رستهای 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-San Vicente and Plasencia, 2011) اندازه‌گیری وزن تر و خشک گیاهان پرتو دیده و مقایسه‌ی آن با گیاهان شاهد نشان داد که اشعه UV باعث کاهش وزن تر و خشک ریشه و اندام هوایی شد. مطالعات نشان داده است که در گیاهان Phaseolus vulgaris و Hordeum vulgare وزن تر ریشه و اندام هوایی تحت تابش UV-B کاهش می‌یابد (Moussa and Khodry, 2008). کاهش وزن ریشه و اندام هوایی تحت تأثیر اشعه 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 فتوستتر است (Hassan *et al.*, 2012). کاهش سطح برگ در اثر تابش UV نیز از دلایل دیگر این کاهش می‌باشد (Balouchi *et al.*, 2009).

سطح هورمون‌های فعال کننده رشد مثل اکسین و سیتوکنین 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-San Vicente 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 طویل شدن و تقسیم سلولی را به همراه مواد دیگری از قبیل اکسین تنظیم نماید (Shakirova and Sahabutdinova, 2003). پیشنهاد شده است که اثرات تحریکی رشد سالیسیلیک اسید می‌تواند در ارتباط با تغییرات هورمونی (Abreu and Munne-Bosch, 2009) و یا بهبود فتوستتر، تنفس و هدایت روزنہای باشد (Stevens *et al.*, 2006). شواهد نشان می‌دهد که همبستگی قوی بین مسیرهای علامت دهنده 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 سیتوکنین 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 معنی دار سطح قندهای محلول در اندام هوایی می شوند. کاهش محتوای قندهای محلول تحت تأثیر پرتوهای فرابنفش در گیاه فلفل قلمی توسط Hosseini sarghein و همکاران (۲۰۰۸) گزارش شده است. کاهش میزان قد در تیمارهای UV نشان دهنده کاهش فتوستتر است و این کاهش فتوستتر به دلایلی از جمله پراکسیداسیون غشای تیلاکوئیدی (Mazza *et al.*, 2000) جذب UV توسط فتوسیستم II و تخریب پروتئین های D<sub>1</sub> و D<sub>2</sub> تحریب آنزیم رویسکو رخ می دهد (Moussa and Khodary, 2008).

نتایج نشان داد، سالیسیلیک اسید باعث افزایش محتوای قندهای محلول می شود. Popova و همکاران (۱۹۹۷) بیان کردند که سالیسیلیک اسید باعث تأخیر در کاهش مقدار رنگیزه های فتوستتری می شود. بنابراین به علت تعدیل در کاهش مقدار رنگیزه های فتوستتری و احتمالاً حفظ ساختار و فعالیت رویسکو باعث افزایش مقدار قندها می شود (Khodary, 2000).

بررسی نتایج حاصل از اندازه گیری میزان پروتئین نشان داد که پرتوهای UV-B و UV-C باعث کاهش معنی دار محتوای پروتئین های محلول می شود. آمین و اسیدهای حلقوی مانند فنیل آلانین، تیروزین و تریپوفان جذب بالایی در ناحیه فرابنفش دارند و به شدت تحت تأثیر پرتوهای UV تخریب می شوند. سنتز پروتئین نیز از طریق آسیب رسیدن به مولکول های RNA دچار اختلال می شود (Moosavi *et al.*, 2009). پروتئین های رویسکو، ATP آز، ویولاگرانتین داپوکسیداز و زیر واحدهای پروتئینی فتوسیستم های I و II از مهم ترین پروتئین هایی هستند که تحت تأثیر پرتوهای UV دچار تخریب می شوند. 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 معنی داری وزن تر و خشک را در گیاهان بادرنجبویه افزایش می دهد. اصلی ترین دلیل برای این افزایش می تواند مربوط به توانایی آن در افزایش ظرفیت فتوستتری باشد. سالیسیلیک اسید باعث افزایش تعداد برگ ها، افزایش سطح برگ، افزایش فعالیت آنزیم رویسکو، افزایش میزان رنگیزه های فتوستتری می شود و بدین ترتیب باعث افزایش ظرفیت فتوستتری و تولید بیوماس و افزایش رشد و وزن گیاهی می شود. گزارش شده است که سالیسیلیک اسید باعث افزایش وزن خشک ریشه و اندام هوایی گیاه گندم می شود (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 اندازه گیری میزان کلروفیل a، b و کاروتونوئیدها نشان داد که پرتوهای UV-B و UV-C باعث کاهش محتوای آنها می شود. کاهش معنی دار سطح رنگیزه های فتوستتری در برگ های 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 کلروفیلаз (Piril *et al.*, 2011) و همچنین فتو اکسیداسیون غیر آنزیمی کلروفیل (Mahdavian *et al.*, 2008) در اثر تابش پرتوهای فرابنفش اتفاق می افتد.

نتایج حاصل از آزمایش ها نشان داد که سالیسیلیک اسید باعث افزایش محتوای کلروفیل و کاروتونوئید می شود. در گیاهانی که به صورت توأم تحت تیمار سالیسیلیک اسید و UV قرار داشتند میزان کلروفیل ها و کاروتونوئید اگر چه از گیاهان شاهد کمتر بود ولی نسبت به گیاهانی که فقط در معرض پرتوهای UV قرار داشتند بیشتر بود. این نتایج با یافته های Moosavi و همکاران (۲۰۰۹) هم سوی نشان می دهد. گزارش شده است که در گیاه لوبیا، اسپری برگی سالیسیلیک اسید بر مقدار کلروفیل a، کلروفیل b و کاروتونوئیدها افروده است (Turkyilmaz *et al.*, 2005). علت اصلی افزایش میزان رنگیزه های فتوستتری در این

نتایج حاصل از آزمایش‌ها نشان داد که فعالیت آنزیم فنیلآلانین‌آمونیالیاز تحت تأثیر پرتوهای B-UV و C-UV افزایش یافت. تیمار سالیسیلیک اسید نیز باعث افزایش فعالیت این آنزیم گردید. فنیلآلانین‌آمونیالیاز آنزیم کلیدی در متابولیسم فنیل پروپانوئیدها است که تبدیل L-فینیل-آلانین به ترانس سینامیک اسید، اولین مرحله در متابولیسم ترکیبات فنولی را انجام می‌دهد. این مرحله یک واکنش بیوشیمیابی کلیدی در نمو و دفاع گیاهان به شمار می‌رود (Chang *et al.*, 2008). بنابراین افزایش میزان ترکیبات فنولی، فلاونوئیدها و آنتوسبیانین‌ها 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 آنتوسبیانین‌ها می‌گردد، که باعث محافظت از بافت‌های گیاهی می‌شود (Chang *et al.*, 2008).

بررسی نتایج حاصل نشان داد که محتوای فلاونوئید و آنتوسبیانین به طور معنی‌داری تحت تابش‌های UV-B و UV-C افزایش یافت. افزایش محتوای فلاونوئید و UV-C آنتوسبیانین در گیاه فلفل قلمی تحت تیمار UV-A و UV-C نیز گزارش شده است (Hosseini sarghein *et al.*, 2008). ترکیبات جذب کننده UV که اغلب فلاونوئیدها یا مشتقات هیدروکسی سینامیک اسید مثل آنتوسبیانین 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 و حشی حساسیت زیادی در برابر تابش‌های UV-B دارند.

در این آزمایش سالیسیلیک اسید باعث افزایش محتوای پرتوئین در گیاهان بادرنجبویه شد و کاهشی را که در گیاهان با تیمار UV ایجاد شده بود را به خوبی جبران کرد. سالیسیلیک اسید بر تشکیل پرتوئین‌های دفاعی، پرتوئین کیازها و روپیسکو اثر گذاشته و همچنین سنتز پرتوئین‌های مهار کننده‌ی پرتوئازها را القا می‌کند (Horvath *et al.*, 2007). گزارش شده است که کاربرد سالیسیلیک اسید منجر به القای بیان ژن‌های پرتوئین‌های عامل مقاومت می‌شود (Senaratna *et al.*, 2000). همچنین گزارش شده است که سالیسیلیک اسید با افزایش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و توان آنتی‌اکسیدانی از اکسیداسیون پرتوئین‌ها جلوگیری می‌کند (Eraslan *et al.*, 2008).

نتایج حاصل از این آزمایش نشان داد که محتوای مالون‌دی‌آلدئید تحت تأثیر تابش پرتوهای 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 غشاء 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 که‌امی توان دلیل آن را توانایی سالیسیلیک اسید در ممانعت از تولید رادیکال‌های آزاد دانست. نقش سالیسیلیک اسید به عنوان ریاینده 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).

می شود که در نهایت منجر به افزایش بیوسنتر ترکیبات جاذب می گردد و این ترکیبات به عنوان جاذب پرتوهای فرابنفش در اپیدرم عمل کرده و بافت های گیاهی را از صدمات پرتوهای فرابنفش محافظت می کنند.  
(Rivas-San Vicente and Plasencia, 2011)

نتیجہ گیری:

نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که پرتوهای UV-B UV-C باعث وارد آمدن آسیب‌هایی به گیاه بادرنجبویه شد و گیاه از لحاظ مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی دچار تغییراتی گردید. آسیب‌های وارد به گیاه تحت تأثیر 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 فلاونونیلید و آنتوسیانین و نیز افزایش فعالیت آنزیم فنیل‌آلانین‌آمونیالیاز 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 فلاوونوئیدها می‌شود. افزایش در غلظت فلاوونوئیدها 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 فلاوونوئیدها را دارد تحت تأثیر پرتوهای فرابنفش افزایش می‌یابد (Sakihama *et al.*, 2002). آنتوسیانین‌ها از ترکیبات فنولی مشتق شده از مسیر بیوستز فلاوونوئیدها هستند که خاصیت فیلتر کردن پرتوهای UV را دارند. افزایش میزان آنتوسیانین‌ها تحت تنش UV ناشی از تحریک بیان ژن‌های کد کننده‌ی 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 فنیل آلانین به ترانس سینامیک اسید می‌شود که این ترکیب پیش‌ساز فعل 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-ستتاز، کالکون-ایزومراز و فنیل-آلانین آمونیالیاز

## منابع:

- 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 ammonialyase 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.

Balouchi1, H. R., Sanavy, S. A. M., Emam, Y. and Dolatabadian, A. (2009) UV radiation, elevated CO<sub>2</sub> 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 *Capsicum 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 angiosperms 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 cocalleu. *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. *Phytton* 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.
- Chakrabarty, 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.
- Frohnmeyer, 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 *phaselous vulgaris* L. *Science and Engineering Journal of Firat University* 17:319-326.
- Wagner, G. J. (1979) Content and vacuole/extravacuole 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 basilicum* 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.
- Piri, 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. Spcial 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  $28\pm2$  °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, *Mmelissa officinalis* l, Photosynthetic pigments, UV- absorbing compounds, Phenylalanine ammonialyase.

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