

## تأثیر باندهای مختلف اشعه ماوراء بنفش بر برخی ویژگی‌های رویشی و تغییرات بیوشیمیایی در گیاهچه فلفل (*Capsicum annuum* L.)

کبری مهدویان\*

دانشگاه پیام نور، دانشکده علوم، گروه زیست‌شناسی، تهران، ایران

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۰۴/۰۴، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹۵/۰۷/۲۸)

چکیده

اشعه ماوراء بنفش به سه نوار با طول موج‌های UV-A (320-390 nm)، UV-B (280-320 nm) و UV-C (254-280 nm) تقسیم می‌شود. طول موج‌های متفاوت اشعه ماوراء بنفش تأثیرات متفاوتی بر ویژگی‌های رویشی، فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاهان دارد. در این تحقیق تأثیر باندهای مختلف این اشعه بر طول ریشه و ساقه، فلاونوئید، آنتوسیانین، پروتئین، اتیلن، فعالیت آنزیمی پراکسیداز و پلی فنل اکسیداز، غلظت یون‌های کلسیم، پتاسیم و منیزیم در گیاهچه‌های فلفل مورد مطالعه قرار گرفته است. گیاهچه‌های ۱۰ روزه به مدت ۳ روز تحت تیمار UV-A، UV-B و UV-C قرار گرفتند. برای بررسی اثر تیمارهای اشعه ماوراء بنفش بر الگوهای پلی پپتیدی، پروتئین‌های اندام هوایی به روش SDS-PAGE الکتروفورز گردیدند. نتایج نشان داد که تحت شرایط آزمایشی، اشعه UV-B و UV-C طول ریشه و ساقه را کاهش می‌دهد. همچنین آزمایش‌ها نشان داد در گیاهچه‌هایی که تحت تابش اشعه UV-B و UV-C قرار داشتند میزان پروتئین‌ها، آنتوسیانین‌ها، فلاونوئیدها، اتیلن، غلظت یون‌های کلسیم، پتاسیم و منیزیم، فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز و پلی فنل اکسیداز افزایش معنی‌داری یافت در حالی که تحت تیمار با اشعه UV-A فعالیت آنزیم‌ها در مقایسه با گیاهچه‌های کنترل تغییرات معنی‌داری را نشان نداد. از آنجایی که این ترکیبات آنزیمی در ناحیه طیف ماوراء بنفش جذب بالایی دارند مانع عبور این اشعه به بافت‌های حساس شده و به تبع از اثرات مضر آن جلوگیری می‌کنند. همچنین نقش رنگیزه‌ها در فرونشاندن رادیکال‌های پراکسید هیدروژن و سایر گونه‌های اکسیژن فعال می‌تواند یک واکنش تدافعی گیاهان در مقابل تابش اشعه ماوراء بنفش در نظر گرفته شود.

واژه‌های کلیدی: آنتوسیانین، اتیلن، پراکسیداز، پلی فنل اکسیداز، فلاونوئیدها

مقدمه:

ترکیبات هالوژن دار باعث کاهش لایه اوزون استراتوسفری در دو دهه گذشته شده‌اند در نتیجه اشعه UV-B به سطح زمین می‌رسد. باند UV-A با وجودی که توسط لایه اوزون جذب نمی‌شود کمترین خسارت را به موجودات وارد می‌سازد. باندهای B و C اثرات زیانباری را برای موجودات زنده به خصوص گیاهان در بر دارند Paul and Gwynn-Jones،

اشعه ماوراء بنفش حدود ۸-۹ درصد طیف خورشیدی را شامل می‌شود و خود به سه نوار با طول موج‌های UV-A (320-390nm)، UV-B (280-320 nm) و UV-C (254-280 nm) تقسیم می‌شود. طول موج باند B توسط لایه اوزون جذب شده و از رسیدن آن به سطح زمین جلوگیری می‌شود،

\*نویسنده مسئول، نشانی پست الکترونیکی: mahdavian.k@gmail.com

(2003; Hollosy, 2002; Giordano *et al.*, 2003).

حساسیت گیاهان به اشعه UV بسته به گونه گیاهی، رقم کشاورزی، مراحل رشد و نمو، شرایط رشد و میزان نور UV متفاوت است. تحقیقات بر روی گیاهان نشان داده است که گیاهان در پاسخ به UV محیط واکنش‌های متفاوتی نشان می‌دهند. بعضی از گیاهان مثل کدو، لوبیا و اسفناج رشدشان توسط UV باز داشته می‌شود در صورتی که بعضی دیگر مثل گوجه فرنگی رشدشان تحریک می‌شود و بعضی مثل کتان و جو نسبت به UV بی تفاوت هستند (Tosserams *et al.*, 1996).

اثرات زیانبار اشعه ماوراء بنفش شامل تولید گونه‌های اکسیژن فعال، رادیکال‌های آزاد، خسارت به DNA، جلوگیری از فتوسنتز و پاسخهای حفاظتی شامل رنگیزه‌ها و سیستمهای تعمیر خسارت است (Caldwell *et al.*, 1998). گزارش شده است که تنش UV موجب ایجاد تنش اکسیداتیو می‌شود که این تنش باعث اختلال در اعمال فیزیولوژیکی سلول می‌شود. گونه‌های فعال اکسیژن که در نتیجه پرتوهای ماوراء بنفش تولید می‌شوند شامل آنیون سوپراکسید  $O_2^-$ ، رادیکال هیدروکسیل OH و پراکسید هیدروژن  $H_2O_2$  می‌باشند. در بافت‌های فتوسنتزی احتمال به وجود آمدن رادیکال‌های آزاد اکسیژن بیشتر است (Costa *et al.*, 2002; Dai *et al.*, 1997; Rao *et al.*, 1996).

برای خنثی کردن اثر سمی گونه‌های اکسیژن فعال یک سیستم آنتی اکسیدانی خیلی مؤثر نیاز است که شامل دو سیستم آنزیمی و غیر آنزیمی در سلول‌های گیاه است (Hollosy, 2002). آنزیم‌های مسئول از بین بردن گونه‌های اکسیژن فعال شامل سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز، پراکسیدازها، گلوکاتایون ردوکتاز، گلوکاتایون پراکسیداز، آسکوربات پراکسیداز و دهیدرو آسکوربات ردوکتاز است (Foyer *et al.*, 1997; Mittler *et al.*, 2002; Palner *et al.*, 2002). علاوه بر آنزیم‌هایی که در دفع گونه‌های اکسیژن فعال شرکت دارند، بعضی از مواد به طور مستقیم و غیر آنزیمی باعث دفع رادیکال‌های آزاد اکسیژن می‌شوند. این مواد شامل آسکوربیک اسید، کاروتنوئیدها، ویتامین E، پلی آمین‌ها،

آلکالوئیدها، فلاونوئیدها و آنتوسیانین‌ها هستند (Hollosy, 2002). فلاونوئیدها در اکثر قسمت‌های گیاه مثل برگ، گلبرگ، ساقه، میوه و دانه دیده می‌شوند (Hollosy, 2002). مسیر سنتز فلاونوئیدها به عنوان مسیر فنیل پروپانوئید شناخته شده است. آنزیم‌های مهم این مسیر شامل فنیل آلانین آمونیا لیاز، چالکون سنتتاز و چالکون ایزومراز هستند که تحت تأثیر اشعه ماوراء بنفش ژن‌های مربوط به آنها بروز می‌کنند (Jenkins, 1999).

این تحقیق با هدف بررسی تغییرات رشد و برخی سیستم‌های آنتی اکسیدانی آنزیمی و غیر آنزیمی شامل طول ریشه و ساقه، فلاونوئید، آنتوسیانین، پروتئین، اتیلن، فعالیت آنزیمی پراکسیداز و پلی فنل اکسیداز، غلظت یون‌های کلسیم، پتاسیم و منیزیم در شرایط تنش ناشی از UV-A، UV-B و UV-C بر گیاهچه‌های فلفل انجام شده است.

#### مواد و روش‌ها:

**شرایط کشت گیاهان:** بذرهای گیاه فلفل از شرکت پاکان بذر اصفهان تهیه گردید. پس از انتقال بذرهای گیاه فلفل (*Capsicum annum L.*) به ظروف پتری استریل شده حاوی کاغذ جوانه زنی ۲۰ بذر در هر پتری، پتری‌ها در ژرمیناتور (گروک ایران) با دمای  $20 \pm 30$  درجه سانتی‌گراد و دوره نوری ۸/۱۶ به ترتیب نور/تاریکی قرار داده شدند. پس از ۱۰ روز، گیاهچه‌ها جهت اعمال تیمار UV مورد استفاده قرار گرفتند.

برای تامین منبع نور UV از لامپ‌های فلئوئورسانس با طول موج‌های زیر استفاده شد:

دو عدد لامپ ۱۸ W UV-A Philips TLD با طول موج ۳۸۰ نانومتر.

دو عدد لامپ ۱۵ W UV-B Philips با طول موج ۳۱۲ نانومتر.

یک عدد لامپ ۳۰ W UV-C Philips با طول موج ۲۵۴ نانومتر.

گیاهچه‌ها به مدت ۳ روز و هر روز به مدت ۷ دقیقه تحت تیمار با UV-A و UV-B و UV-C، در فاصله ۱ متری از منبع نور UV با شدت ۶/۱ (وات بر متر مربع) برای UV-A، ۵/۸

**استخراج پروتئین:** ابتدا پروتئین کل از برگچه‌های ۴ تکرار جداگانه در دمای ۴-۰ درجه سانتیگراد استخراج شدند. به این منظور یک گرم بافت تر در یک هاون چینی محتوی ۵ میلی‌لیتر بافر تریس-HCl ۰/۰۵ مولار با pH=۷/۵ کامل سائیده شد. محلول همگن بدست آمده به لوله سانتریفیوژ منتقل شد و پس از ده دقیقه سکون، مدت ۳۵ دقیقه در ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه و در دمای ۴ درجه سانتیگراد با استفاده از دستگاه سانتریفیوژ یخچالدار (ناپکو مدل ۲۰۲۸)، سانتریفیوژ کردن نمونه‌ها انجام پذیرفت. سپس لوله‌ها به آرامی از دستگاه خارج و محلول روئی در چند لوله اپندروف ۱/۵ میلی‌لیتری توزیع گردید. عصاره‌های پروتئینی حاصل برای سنجش غلظت پروتئین محلول و بررسی فعالیت آنزیم پراکسیداز، پلی فنل اکسیداز، مورد استفاده قرار گرفتند. برای هر تیمار تعداد ۳ پتری به عنوان ۳ تکرار در نظر گرفته شد.

**سنجش غلظت پروتئین به روش برادفورد:** به منظور سنجش غلظت پروتئین، به لوله‌های آزمایش مقدار ۰/۱ میلی‌لیتر عصاره پروتئینی و ۵ میلی‌لیتر معرف بیوره افزوده و سریعاً ورتکس شد. پس از ۲۵ دقیقه، جذب آنها با دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۹۵ نانومتر خوانده شد. به منظور تهیه معرف بیوره، ۰/۱ گرم کوماسی بریلیانت بلو G250 در ۵۰ میلی‌لیتر اتانول ۹۵٪ به مدت یک ساعت حل گردید، سپس ۱۰۰ میلی‌لیتر اسید فسفریک ۸۵٪ قطره قطره به آن افزوده شد. در پایان حجم کل محلول به کمک آب مقطر به یک لیتر رسانده شد، محلول حاصل با کاغذ صافی واتمن شماره ۱ صاف گردید (Bradford, 1976). برای هر تیمار تعداد ۳ پتری به عنوان ۳ تکرار در نظر گرفته شد.

**اندازه گیری فعالیت آنزیم پراکسیداز:** پس از آماده سازی عصاره های پروتئینی برای سنجش فعالیت سیتیکی آنزیم پراکسیداز، ۲/۵ میلی‌لیتر معرف (شامل بافر تریس-HCl ۱۰۰ میلی مولار، آب اکسیژنه ۵ میلی مولار و پیروگال ۱۰ میلی مولار) را در حمام یخ با ۵۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی مخلوط و منحنی تغییرات جذب را در طول موج ۴۲۵ نانومتر با استفاده از اسپکتروفتومتر (مدل Cary 50-UV visible) خوانده

(وات بر متر مربع) برای UV-B و ۵/۷ (وات بر متر مربع) برای UV-C قرار گرفتند.

**اندازه گیری طول اندام هوایی و ریشه:** در پایان تیماردهی، طول ساقه و ریشه با استفاده از خط کش اندازه‌گیری شد. طول ساقه از یقه تا قسمت انتهای ساقه و طول ریشه از یقه تا انتهای ریشه در نظر گرفته شد. برای هر تیمار بیش از ۴ تکرار در نظر گرفته شد و مقادیر بر اساس سانتی‌متر گزارش شد.

**سنجش مقدار آنتوسیانین‌ها:** جهت اندازه گیری مقدار آنتوسیانین‌ها، ۰/۱ گرم از اندام هوایی تازه گیاه در هاون چینی با ۱۰ میلی‌لیتر متانول اسیدی (شامل الکل متیلیک ۹۹/۵ درصد و اسید کلریدریک خالص به نسبت ۹۹ به ۱) کاملاً سائیده و به مدت ۲۴ ساعت در تاریکی و دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. سپس ۱۰ دقیقه در ۴۰۰۰ سانتریفیوژ و جذب محلول بالای در طول موج ۵۵۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. با استفاده از ضریب خاموشی ۳۳۰۰۰ مول بر سانتی‌متر مکعب غلظت آنتوسیانین‌ها محاسبه و نتایج بر حسب میلی مولار بر گرم وزن تر ارائه شد (Wanger, 1979). برای هر تیمار تعداد ۳ پتری به عنوان ۳ تکرار در نظر گرفته شد.

**سنجش میزان جذب فلاونوئیدها:** برای مقایسه این ترکیبات ۰/۱ گرم وزن تر برگچه و ساقچه در ۱۰ میلی لیتر اتانول اسیدی (شامل الکل اتیلیک ۹۵ درصد و اسید استیک گلاسیال به نسبت ۹۹ به ۱) خوب سائیده شد و عصاره حاصل به مدت ۱۰ دقیقه در ۴۰۰۰ سانتریفیوژ گردید. محلول رویی جدا شد و به مدت ۱۰ دقیقه به آرامی در حمام آبگرم بادمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد حرارت داده شد. سپس شدت جذب آن توسط اسپکتروفتومتر (مدل Cary 50-UV visible استرالیا) در سه طول موج ۲۷۰، ۳۰۰ و ۳۳۰ نانومتر خوانده شد. برای تنظیم دستگاه اسپکتروفتومتر از اتانول اسیدی به عنوان شاهد استفاده شد. مقایسه میزان این ترکیبات براساس شدت جذب خوانده شده در این طول موج‌ها انجام گرفت (Krizek, 1998). برای هر تیمار تعداد ۳ پتری به عنوان ۳ تکرار در نظر گرفته شد.

**اندازه گیری فعالیت آنزیم:** برای اندازه گیری فعالیت آنزیم ابتدا عصاره پروتئین از برگچه‌ها استخراج شد.

متانول و استیک اسید انجام گردید. برای تعیین تقریبی وزن ملکولی هر باند پلی پپتیدی ظاهر شده بر روی ژل، تحرک نسبی باند پروتئینهای استاندارد با تحرک نسبی هر باند پروتئینی بدست آمده تطبیق داده شد. سپس الگوهای پلی پپتیدی بدست آمده در تیمارهای مختلف با هم مقایسه گردیدند. برای هر تیمار تعداد ۳ پتری به عنوان ۳ تکرار در نظر گرفته شد.

#### اندازه گیری اتیلن در برگ‌های قطع شده گیاه: تولید

اتیلن توسط برگ‌های قطع شده در گیاهان کنترل و تیمارهای مختلف اندازه‌گیری شد. بدین طریق که بلافاصله بعد از قطع برگها وزن تر آنها با ترازوی دقیق آزمایشگاهی (۱ گرم) اندازه‌گیری شد. برگها در لوله‌های آزمایش ۵۰ میلی‌لیتری قرار داده شدند و به هر لوله ۰/۵ میلی‌لیتر آب اضافه گردید تا برگها تورژسانس خود را در طی آزمایش از دست ندهند. درب لوله آزمایش به وسیله Subaseal مخصوص (W. Freeman & Co., Barnsley, Yorkshire) بطور دقیق بسته شد. بلافاصله پس از بستن درب لوله آزمایش زمان صفر منظور گردید. مدت یک دقیقه سر سوزنی داخل Subaseal فرو برده شد تا فشار داخل لوله آزمایش با فشار اتمسفر برابر گردد. لوله‌های آزمایش به مدت ۵ ساعت در اتاقک رشد دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. سپس با استفاده از سرنگ ۱ میلی‌لیتر از هوای داخل لوله آزمایش به دستگاه کروماتوگرافی گازی Agilent مدل ۱۱۵-۳۴ H ساخت کشور انگلستان، مجهز به آشکار ساز یونیزاسیون شعله ای (Flame ionization detector)، ستون کاپیلاری با اندازه (۱۰ m x ۵۳۰ μm) تزریق گردید. درجه حرارت قسمت تزریق، آشکار ساز و محفظه گرماده (آون) به ترتیب ۲۰۰، ۲۵۰ و ۱۱۵ درجه سانتی‌گراد تنظیم گردید. در شرایط مذکور زمان بازیابی اتیلن استاندارد (خالص) از ستون ۱ دقیقه بود. نمودار غلظت استاندارد نیز بر اساس ارتفاع منحنی رسم گردید (Kalantari, 1989). برای هر تیمار تعداد ۳ پتری به عنوان ۳ تکرار در نظر گرفته شد.

**تعیین میزان یون‌های کلسیم، پتاسیم و منیزیم:** به منظور اندازه‌گیری یون‌های فوق از روش جذب اتمی استفاده شد.

شد. فعالیت آنزیمی بر حسب واحد جذب در دقیقه به ازای هر میلی‌گرم پروتئین محاسبه شد (Kara and Mishra, 1976). برای هر تیمار تعداد ۳ پتری به عنوان ۳ تکرار در نظر گرفته شد.

#### اندازه گیری فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز: پس از آماده

سازی عصاره‌های پروتئینی، برای سنجش فعالیت سینتیکی آنزیم پلی فنل اکسیداز، از معرف (شامل ۱/۵ میلی لیتر بافر تریس pH=۷/۶ ۰/۲ مولار، ۰/۴ میلی لیتر پیروگال ۰/۰۲ مولار) به مجموعه فوق ۰/۱ میلی‌لیتر عصاره آنزیمی اضافه می‌شود و پس از آنکه ۵ دقیقه در بن ماری ۲۵ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. منحنی تغییرات جذب در طول موج ۴۲۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده می‌شود. سپس فعالیت آنزیمی بر حسب تغییرات واحد جذب در دقیقه به ازای هر میلی‌گرم پروتئین محاسبه می‌شود (Kara and Mishra, 1976). برای هر تیمار تعداد ۳ پتری به عنوان ۳ تکرار در نظر گرفته شد.

#### انجام الکتروفورز با روش SDS-PAGE: جهت انجام

الکتروفورز پروتئین‌های اندام هوایی، از تکنیک SDS-PAGE به روش Lammlie استفاده گردید (حسینی، ۱۳۷۹؛ کرامت، ۱۳۷۹).

#### استخراج پروتئین و آماده سازی نمونه: یک گرم برگچه

با ۵ میلی‌لیتر بافر استخراج تریس-ساکارز در محیط یخ ساییده شده و محلول حاصل سانتریفوژ و ۳۰ میکرولیتر از محلول رویی با حجم مساوی از بافر تریس-ساکارز مخلوط گردید. نمونه‌ها بمدت یک دقیقه در حمام آب گرم قرار داده شد و از آن‌ها جهت تزریق در ژل استفاده گردید.

تهیه ژل: غلظت بخش بالای الکتروفورز ۳/۷۵ درصد آکریل آمید و غلظت بخش پایین ژل ۱۲/۵ درصد آکریل آمید بود. پس از تهیه ژل، ۳۰ میکرولیتر از نمونه‌های آماده شده و محلول مارکر پروتئین VIII، IV (ساخت شرکت مرک آلمان)، در چاهکها تزریق گردید و به مدت ۳ تا ۵ ساعت در ولتاژ ۱۰۰ الکتروفورز گردید. بعد از خاتمه عمل الکتروفورز از محلول تثبیت کننده برای تثبیت پروتئین‌ها بر روی ژل استفاده شد. رنگ آمیزی ژل با کوماسی بلو و رنگبری آن با محلول

در این تحقیق فلاونوئیدها بر اساس شدت جذبشان در طول موج‌های ۲۷۰، ۳۰۰ و ۳۳۰ نانومتر در تیمارهای مختلف مقایسه شدند. میزان جذب فلاونوئیدها در طول موج‌های ۲۷۰، ۳۰۰ و ۳۳۰ نانومتر در تیمارهای UV-B و UV-C نسبت به شاهد افزایش معنی‌داری را در برگچه‌ها نشان دادند (شکل ۳a). اما میزان جذب فلاونوئیدها، در تیمار UV-A نسبت به شاهد اختلاف معنی‌داری نداشت و میزان جذب فلاونوئیدها در باندهای UV-B و UV-C مشابه است. در ساقچه‌ها میزان جذب فلاونوئیدها در طول موج‌های ۲۷۰ و ۳۳۰ نانومتر در تیمارهای UV-B و UV-C نسبت به شاهد افزایش معنی‌داری را نشان دادند اما در طول موج ۳۰۰ نانومتر فقط تحت تیمار UV-C نسبت به شاهد افزایش معنی‌داری نشان دادند و تحت تیمارهای UV-B و UV-A اختلاف معنی‌داری نسبت به شاهد نشان ندادند (شکل ۳b).

تحت تیمارهای UV-B و UV-C فعالیت آنزیم پراکسیداز در برگچه‌ها نسبت به شاهد افزایش معنی‌داری داشت اما در تیمار UV-A نسبت به شاهد تغییرات معنی‌داری مشاهده نشد (شکل ۴).

بر اساس شکل ۵، اندازه گیری فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز در برگچه‌های فلفل تحت تیمارهای مختلف اشعه ماوراء بنفش نشان داد که فعالیت آنزیم در تیمارهای UV-B و UV-C بطور چشمگیری افزایش یافته است اما در تیمار UV-A نسبت به شاهد تفاوت معنی‌داری نداشت (شکل ۵).

مقایسه پروتئین‌های کل در برگ و ریشه گیاهچه فلفل نشان داد که مقدار این پروتئین‌های کل تحت تیمارهای UV-B و UV-C نسبت به شاهد کاهش معنی‌داری یافت (شکل ۶).

مقایسه الگوی باندهای پروتئینی حاصل از الکتروفورز پروتئین‌های اندام هوایی گیاهان تحت تیمارهای مختلف اشعه ماوراء بنفش نشان داد که تفاوت‌هایی در باندهای الکتروفورزی تیمارهای UV-B و UV-C نسبت به شاهد وجود دارد. و میزان پروتئین‌ها در UV-B و UV-C نسبت به شاهد کم رنگ تر و کاهش یافت (شکل ۷).

طبق نتایج ارائه شده در شکل ۸، تحت تیمارهای UV-B و

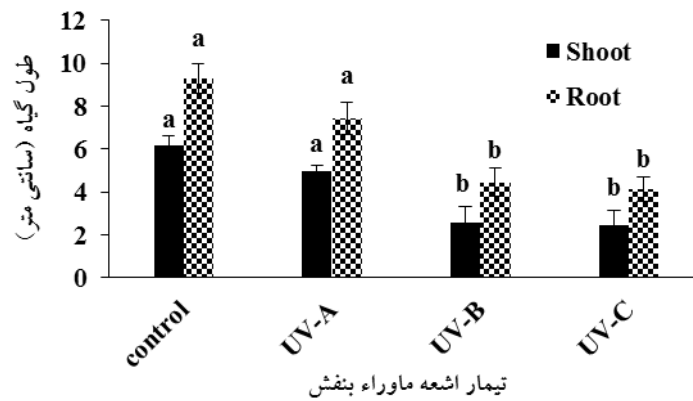
روش جذب اتمی یکی از دقیقترین روش‌ها جهت اندازه‌گیری میزان عناصر می باشد. اندازه‌گیری یون‌ها در بافت برگ انجام شد. برای این منظور ۰/۵ گرم از بافت گیاهی خشک را در ۱۰ میلی‌لیتر نیتریک اسید غلیظ به مدت ۲۴ ساعت قرار داده تا نمونه گیاهی به خوبی در اسید حل شود. بعد از این مدت محصول حاصل را گرم کرده تا بخارات اسیدی از محلول خارج شوند. سپس حجم محلول را به ۵۰ میلی‌لیتر توسط آب مقطر رسانده و از کاغذ صافی عبور داده شدند. از محلول بدست آمده جهت اندازه‌گیری در دستگاه جذب اتمی Varian (مدل Spectra aa 220 ساخت کشور استرالیا) استفاده شد. میزان تزریق نمونه در دستگاه ۶ میلی لیتر در دقیقه بود. جهت تعیین غلظت یون‌ها، محلول استاندارد هر یون را قبل از اندازه‌گیری نمونه به دستگاه تزریق کرده و نمودار استاندارد مربوطه توسط نرم افزار دستگاه جذب اتمی Varian (مدل Spectra aa 220 ساخت کشور استرالیا) رسم شده و غلظت مجهول محلول‌ها با استفاده از این نرم افزار تعیین شد. برای هر تیمار تعداد ۳ پتری به عنوان ۳ تکرار در نظر گرفته شد.

**تجزیه و تحلیل آماری:** آنالیز آماری در این پژوهش بر اساس طرح کاملاً تصادفی انجام و برای هر تیمار ۳ تکرار در نظر گرفته شد. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از نرم افزار SPSS و آزمون دانکن با ضریب اطمینان ۹۵ درصد انجام گردید.

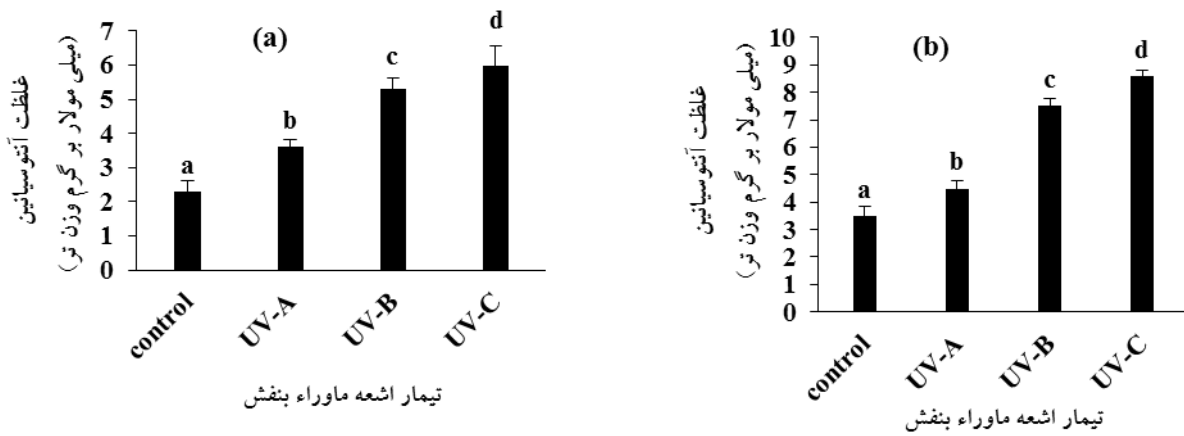
## نتایج:

همانطور که در شکل ۱ مشاهده می‌شود طول ساقه و ریشه در UV-B و UV-C کاهش چشمگیری یافته است اما در UV-A نسبت به کنترل معنی‌دار نبود.

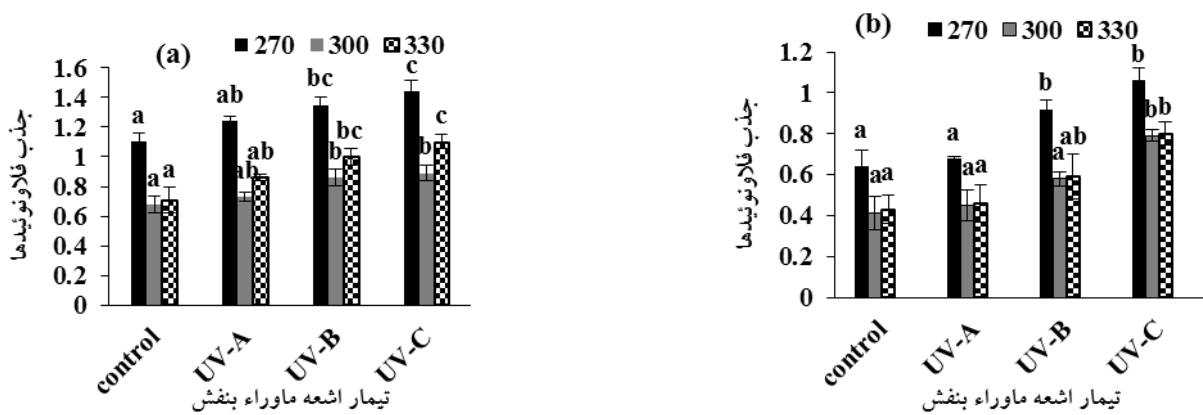
مقدار آنتوسیانین‌ها تحت تیمار اشعه UV-A، UV-B و UV-C در برگچه‌ها و ساقچه‌ها افزایش معنی‌داری نسبت به شاهد نشان دادند. مقدار آنتوسیانین‌ها تحت تیمار UV-C افزایش چشمگیری نسبت به سایر تیمارها و شاهد داشت (شکل ۲a). در حالی که مقدار آنتوسیانین‌ها در ساقچه‌ها تحت تیمار UV-B و UV-C افزایش چشمگیری نسبت به تیمار اشعه UV-A و شاهد نشان دادند (شکل ۲b).



شکل ۱- اثر تیمار باندهای مختلف اشعه ماوراء بنفش بر طول اندام هوایی و ریشه گیاهچه فلفل حروف غیر مشترک دارای تفاوت معنی دار در سطح ۰.۰۵ می باشند.

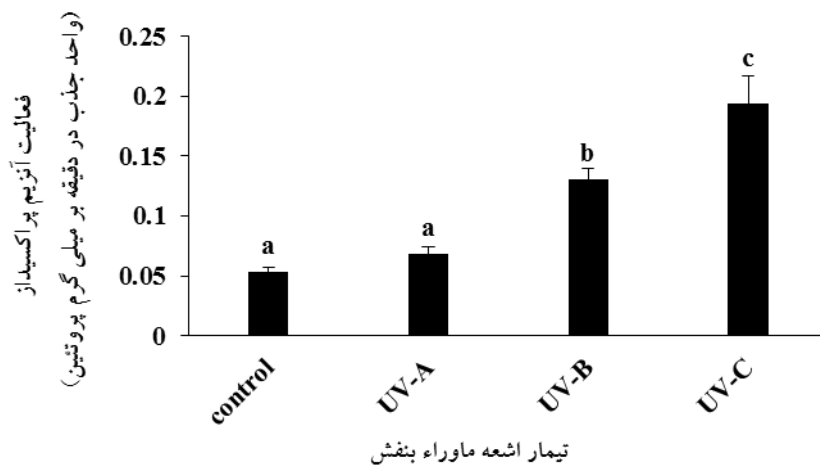


شکل ۲- اثر تیمار نوارهای مختلف اشعه ماوراء بنفش بر مقدار آنتوسیانین در برگ (a) و ساقه (b) گیاهچه فلفل. حروف غیر مشترک دارای تفاوت معنی دار در سطح ۰.۰۵ می باشند.

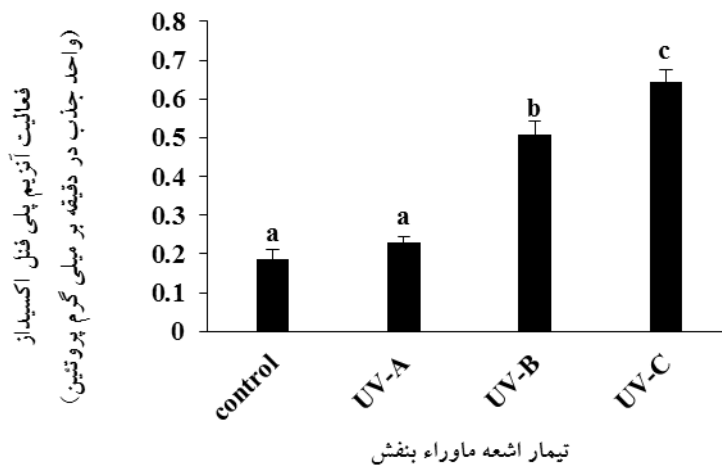


شکل ۳- اثر تیمار نوارهای مختلف اشعه ماوراء بنفش بر میزان جذب فلاونوئیدها در برگ (a) و ساقه (b) گیاهچه فلفل حروف غیر مشترک دارای تفاوت معنی دار در سطح ۰.۰۵ می باشند.

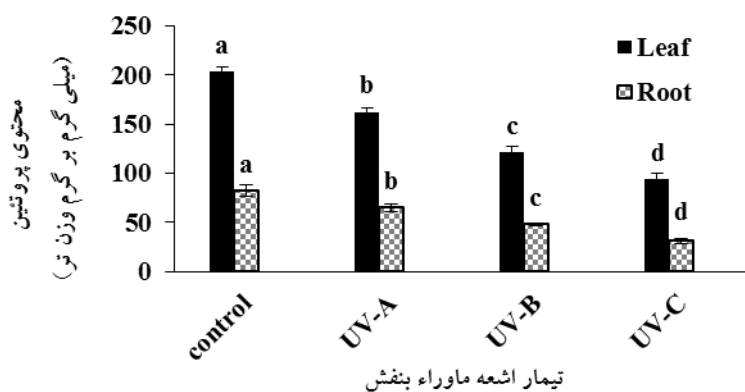
UV-C مقدار کلسیم در برگ نسبت به شاهد افزایش معنی داری داشت اما در تیمار UV-A نسبت به شاهد تغییرات



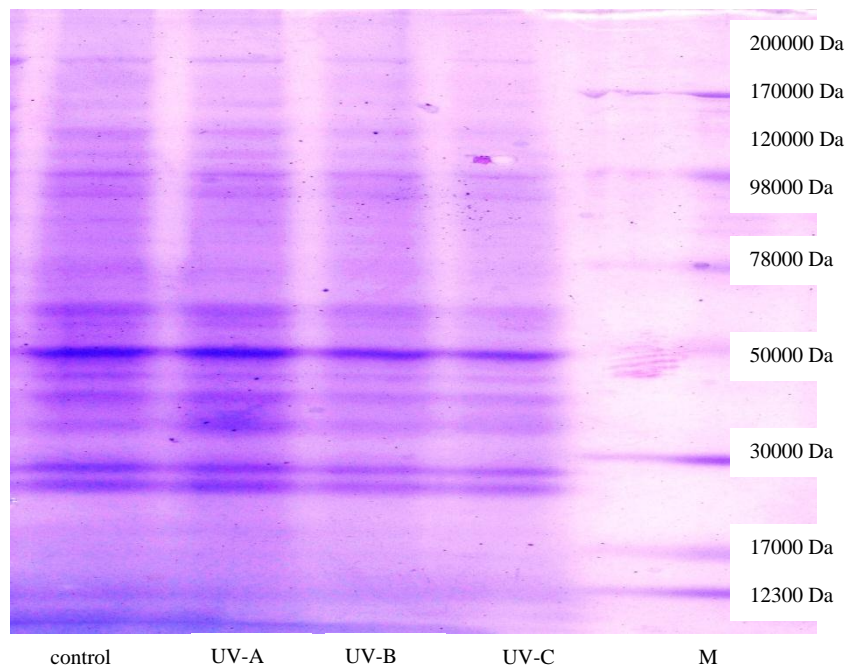
شکل ۴- اثر تیمار باندهای مختلف اشعه ماوراء بنفش بر فعالیت آنزیم پراکسیداز در برگچه های فلفل. حروف غیر مشترک دارای تفاوت معنی دار در سطح ۰.۰۵٪ می باشند.



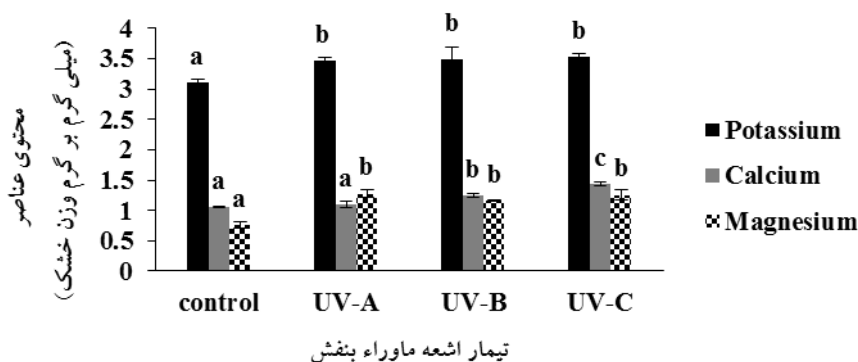
شکل ۵- اثر تیمار باندهای مختلف اشعه ماوراء بنفش بر فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز در برگچه های فلفل. حروف غیر مشترک دارای تفاوت معنی دار در سطح ۰.۰۵٪ می باشند.



شکل ۶- اثر تیمار باندهای مختلف اشعه ماوراء بنفش بر مقدار پروتئین کل در برگ و ریشه گیاهچه فلفل حروف غیر مشترک دارای تفاوت معنی دار در سطح ۰.۰۵٪ می باشند.



شکل ۷- تاثیر تیمارهای مختلف اشعه ماوراء بنفش بر باندهای الکتروفورزی پروتئین‌های گیاهچه.



شکل ۸- اثر تیمار باندهای مختلف اشعه ماوراء بنفش بر مقدار کلسیم، پتاسیم و منیزیم در برگ گیاهچه فلفل. حروف غیر مشترک دارای تفاوت معنی‌دار در سطح ۵٪ می‌باشند.

نتایج حاصل از مقدار اتیلن برگ گیاهچه‌های فلفل نشان داد که تحت تیمارهای مختلف اشعه ماوراء بنفش مقدار اتیلن برگ در تیمارهای UV-A، UV-B و UV-C بطور چشمگیری افزایش یافته و بیشترین مقدار اتیلن مربوط به گیاهانی است که تحت UV-C بوده اند، بطوریکه مقدار اتیلن در تیمار UV-C افزایش زیادی نسبت به گیاهان شاهد نشان داده است (شکل ۹).

بحث:

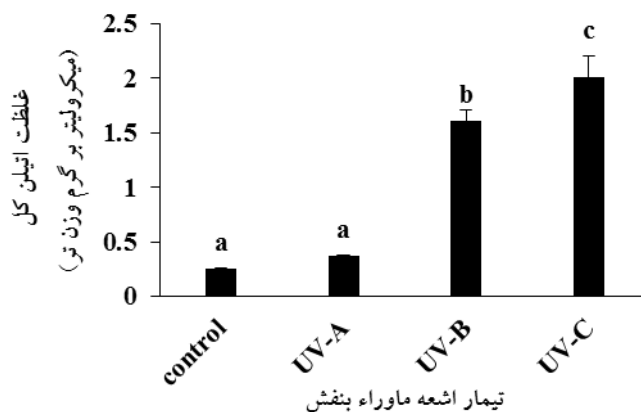
کاهش رشد طولی ایجاد شده در اثر تابش اشعه ماوراء بنفش را

معنی‌داری مشاهده نشد (شکل ۸).

بررسی نتایج حاصل از اندازه‌گیری مقدار پتاسیم برگ گیاهان فلفل تحت تیمارهای مختلف اشعه ماوراء بنفش نشان داد که مقدار پتاسیم برگ در تیمارهای UV-A، UV-B و UV-C نسبت به شاهد افزایش یافت (شکل ۸).

با توجه به شکل ۸، مقدار منیزیم برگ گیاهان فلفل تحت تیمارهای مختلف اشعه ماوراء بنفش نشان داد که مقدار منیزیم برگ در تیمارهای UV-A، UV-B و UV-C نسبت به شاهد افزایش یافت (شکل ۸).





شکل ۹- اثر تیمار باندهای مختلف اشعه ماوراء بنفش بر مقدار انیلن در برگ گیاهچه فلفل حروف غیر مشترک دارای تفاوت معنی‌دار در سطح ۵٪ می‌باشند.

Ryan *et al.*, ) (Smirnoff and Wheelev, 2000)، اطلسی (Nogués and ) (Sharma *et al.*, 1998)، گندم (Cheimphango *et al.*, ) (Baker, 2000) و *Lupinus luteus* (2003) گزارش شده است.

ترکیبات ثانویه فنلی از قبیل فلاونوئیدها و هیدروکسی سینامیک اسیدها به طور گسترده در اپیدرم‌های گیاهان آوندی تشخیص داده شده اند (Merzlyak *et al.*, 2005). فلاونوئیدها گروهی از ترکیبات فنلی هستند که در برابر اشعه ماوراء بنفش تولید می‌شوند (Solovchenko and Schmitz-Eiberger, ) (2003). یکی از بهترین پاسخ‌های سازگار با UV-B افزایش تجمع ترکیبات جذب کننده UV از جمله فلاونوئیدها، درسلولهای اپیدرمی واکوئل‌ها است (Giordano *et al.*, 2003). بنابراین این ترکیبات اشعه UV-B مضر را از سطح برگ جذب نموده و از بافت‌های فتوسنتزی در برابر UV محافظت می‌کنند. نتایج نشان می‌دهد که عملکرد حفاظتی فنول‌ها قبل از رسیدن اشعه UV به بافت‌های فتوسنتزی گیاهان صورت می‌گیرد (Gitz III *et al.*, 2004). در پژوهش حاضر افزایش درصد جذب فلاونوئیدها در طول موج‌های ۲۷۰، ۳۰۰ و ۳۳۰ نانومتر و افزایش درصد جذب ترکیبات جذب کننده UV در برگچه‌های تیمار شده با UV-B و UV-C مشاهده شد (شکل ۳). نتایج این تحقیق با نتایج حاصل از تحقیقات Yuan و همکاران (۲۰۰۰) بر ۲۰ واریته گندم مطابقت دارد (Yuan *et*

به دلیل تأثیر این اشعه بر میزان هورمون اکسین نسبت داده اند و اعتقاد بر این است که اکسین یک گیرنده نوری در ناحیه ماوراء بنفش است که تحت تأثیر شدت بالای این اشعه تخریب می‌شود (Greenberg, 1996; Wilson and ) (Greenberg, 1993). Lingakumar و همکاران (۱۹۹۹) معتقدند که اثر بازدارندگی اشعه ماوراء بنفش بر رشد گیاهان مربوط به تخریب اکسین درونی است زیرا وقتی که اشعه ماوراء بنفش را از محیط حذف کردند افزایش رشد گیاه را مشاهده نمودند. این افزایش رشد را به سنتز بیشتر اکسین و یا تحریک پائین تر آنزیمهای مسئول متابولیسم اکسین نسبت داده‌اند.

تابش اشعه UV-B بر ۲۰ واریته گندم نشان داد که این اشعه باعث کاهش طول میانگره‌ها می‌شود (Yuan *et al.*, 2000). در گیاهک کاهو بازدارندگی رشد هیپوکوتیل تحت تأثیر اشعه UV-B و UV-C گزارش شده است اما مشاهده شده که اشعه UV-A هیچ تأثیری بر رشد هیپوکوتیل ندارد (Mazza *et al.*, 2000).

در تحقیق حاضر مقدار آنتوسیانین‌ها در پاسخ به اشعه UV-A، UV-B و UV-C افزایش معنی‌داری نسبت به شاهد نشان دادند (شکل ۲). افزایش میزان فلاونوئیدها و آنتوسیانین‌ها تحت تأثیر اشعه UV در گیاهان برنج (Dai *et al.*, 1997)، سیب زمینی (Kovacs and Kereszsfes, 2002)، اسفناج

بیوسنتز فلاونوئیدها تحت تأثیر اشعه UV دارد (Barka, 2001; Yuan et al., 2000).

گونه‌های اکسیژن فعال شامل  $O_2^-$ ،  $O_2$ ،  $H_2O_2$  و  $HO^\cdot$  فعال و سمی هستند که در اثر استرس‌ها تولید می‌شوند و اثرات مخرب اکسایشی بر روی سلول‌ها دارند. این استرس‌ها شامل خشکی، شوری، ترکیبات شلات کننده، شوک‌های حرارتی، فلزات سنگین، اشعه ماوراء بنفش، آلاینده‌های هوا از قبیل اوزون و سولفیدها هستند (Lantz et al., 1999). در نتیجه، تکامل کلیه ارگانیسم‌های هوایی به تکامل مکانیسم‌های حذف کننده گونه‌های اکسیژن فعال وابسته است. فعالیت آنزیم پراکسیداز تحت شرایط UV-B در جلبک *Ulva fasciata* (Shiu and Lee, 2005) و *Crotalaria juncea* L. (Balakrishnan et al., 2005) و آرابیدوپسیس تالیانا (Rao et al., 1996) افزایش می‌یابد.

چرخه آسکوربات-گلوتاتیون به عنوان یک سیستم دفاعی آنتی اکسیدانی عمل می‌کند. توانایی آنتی اکسیدان‌ها و القاء فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان برای سم زدایی گونه‌های اکسیژن فعال در *Ulva fasciata* بر علیه استرس اکسیداتیو UV-B تنظیم شده است و سیستم‌های دفاع آنتی اکسیدانی میزان  $O_2^-$  یا  $H_2O_2$  را تعدیل می‌کنند (Shiu and Lee, 2005). بررسی‌ها نشان داده‌اند گیاهانی که تحت شرایط UV-B رشد کرده‌اند، پراکسیدازها نقش محافظت از فتوسیستم II را در برابر اشعه UV-B بر عهده دارند (Jansen et al., 2001).

افزایش پراکسیداز می‌تواند به علت افزایش تولید  $H_2O_2$  باشد. به علاوه، پراکسیدازها استفاده از ترکیبات فنلی را به عنوان سوپستراه‌های توأم توسعه می‌دهند و دارای مکانیسم‌هایی هستند که برای حذف رادیکال‌های آزاد اکسیژن تحت شرایط استرس تولید می‌شوند (Balakrishnan et al., 2005).

Gaspar و همکاران (۱۹۸۵) بیان کردند که افزایش فعالیت پراکسیدازها در پاسخ به تنش اشعه ماوراء بنفش سبب کاهش غلظت ایندول استیک اسید می‌شود، اما سنتز پراکسیدازهای اسیدی را افزایش می‌دهد.

(al., 2000). همانطور که در نتایج این پژوهش نیز ملاحظه شد درصد جذب ترکیبات جذب کننده UV و فلاونوئیدها تحت تابش UV-B و UV-C افزایش قابل ملاحظه‌ای یافته است. افزایش فلاونوئیدها تحت اشعه ماوراء بنفش UV-B در جو (Liu et al., 1995)، شیدر (Hofmann et al., 2000)، کلزا (Olsson et al., 1998) و برنج (Dai et al., 1997) مشاهده شده است. به هر حال، عملکرد آنتی اکسیدانهای فلاونوئیدی پیچیده است و به فاکتورهایی از قبیل پتانسیل اکسیداسیون و احیاء، حضور باندهای دوگانه، گلیکوزیده و هیدروکسیله شدن وابسته است (Bors et al., 1995).

مشاهده شده است که در گیاهان حساس به UV، اگر چنانچه فلاونوئیدها در پاسخ به UV-B افزایش نیافتند نشان می‌دهد که به احتمال زیاد به رنگیزه‌های فتوسنتزی خسارت وارد شده است (Middleton and Teramura, 1993). اغلب سنتز و تجمع فلاونوئیدها در پاسخ به اشعه ماوراء بنفش در سطوح بالا مشاهده شده است (Merzlyak and Solovchenko, 2002). Veit و همکارانش (۱۹۹۶) گزارش کردند که سنتز ترکیبات جذب کننده UV-B از خسارت به فتوسیستم II جلوگیری می‌کنند. گزارش شده است که برگ‌های بالغ آرابیدوپسیس تالیانا قادر به تجمع فلاونوئیدها در برابر اشعه UV-B نیست، در حالیکه فلاونوئیدها در برگ‌های جوان تجمع یافته‌اند (Bilger et al., 2001). ثابت شده است که رنگیزه‌های فنیل پروپانوئید نقش مهمی در حفاظت بر علیه UV-B دارند (Musil et al., 2002). اشعه UV به خصوص باند UV-B باعث بروز ژن‌های سنتز کننده فنیل آلانین آمونیوم لیاز و در نتیجه باعث سنتز سینامیک اسید و فعال شدن مسیر بیوسنتز فلاونوئیدها می‌شود که از این طریق تنش حاصل را کاهش می‌دهد (et al., Greenberg et al., 1996; Krizek et al., 1998; Rozema 2002). همچنین مشاهده شده است که ترکیبات فنلی با جذب طیف ماوراء بنفش و قابلیت آنتی اکسیدانی و سمیت زدایی رادیکال‌های اکسیژن باعث افزایش مقاومت گیاهان تحت تابش اشعه ماوراء بنفش می‌شود (Inze and Montagu, 2002). آنزیم چالکون سنتتاز نقش اساسی در

در تحقیق حاضر پرتوهای UV-B و UV-C باعث افزایش فعالیت آنزیم پراکسیداز در برگچه‌های فلفل شده است (شکل ۵). بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که افزایش فعالیت آنزیم پراکسیداز در برگچه‌های فلفل تیمار شده با پرتوهای UV-B و UV-C باعث افزایش مقاومت این گیاهان در مقابل تنش‌ها می‌شود.

نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که فعالیت پلی فنل اکسیداز در برگچه‌های فلفل در برابر تابش UV-B و UV-C افزایش یافت (شکل ۶). ثابت شده است که فعالیت پلی فنل اکسیداز تحت تیمار UV-B در *Crotalaria juncea* L. می‌یابد (Balakrishnan et al., 2005). گیاهان سیستم‌های حذف کننده مناسبی برای گونه‌های اکسیژن فعال دارند که آنها را از خرابی واکنش‌های اکسیداتیو محافظت می‌کند. پلی فنل اکسیداز و فنیل آلانین آمونیاک در محافظت از طریق ترکیبات فنلی شرکت می‌کنند. فعالیت پلی فنل اکسیداز نسبت به پراکسیداز کمتر است. آنزیم‌هایی از قبیل پلی فنل اکسیداز دارای مکانیسم‌هایی هستند که برای حذف رادیکال‌های آزاد اکسیژن تحت شرایط UV ایجاد می‌شوند (Balakrishnan et al., 2005). پلی فنل‌ها در لوبیای خشک به عنوان آنتی اکسیدان‌های جلوگیری کننده از تشکیل رادیکال‌های آزاد عمل می‌کنند (Namiki, 1990).

در آزمایشی در گیاه برنج تنش شوری موجب افزایش شدت باندهای پروتئینی گردید (Kanlaya et al., 2005). کاهش مقدار پروتئین‌ها می‌تواند در اثر کاهش میزان سنتز پروتئین، افزایش فعالیت آنزیم‌های هیدرولیز کننده پروتئین‌ها، کاهش آمینو اسیدهای در دسترس و یا دناتوره شدن آنزیم‌های درگیر در سنتز آمینو اسیدها یا پروتئین‌ها باشد. در گیاهانی مثل کدو، سویا، نخود و ذرت گزارش شده که کاهش محتوای پروتئینی برگ به دلیل افزایش رادیکال‌های اکسیژن فعال تحت تأثیر اشعه UV است (Agrawal, 1992; Gao et al., 2004; Kovacs and Keresztes, 2002). بسیاری از پروتئین‌ها علاوه بر اینکه تحت تأثیر اشعه UV تخریب می‌شوند مسیر سنتز آنها نیز مختل می‌شود و سنتزشان کاهش می‌یابد (Costa et al., 2002).

نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که اشعه ماوراء بنفش باعث افزایش مقدار گاز اتیلن در گیاهان فلفل می‌شود (شکل ۹). افزایش بیوستز اتیلن تحت تأثیر اشعه ماوراء بنفش مشاهده شده است. در مطالعه بر روی گیاه جو گزارش شده است که آخرین مرحله بیوستز اتیلن که تبدیل ACC به اتیلن است توسط نور قرمز، قرمز دور و اشعه ماوراء بنفش تشویق می‌شود (Kovacs and Keresztes, 2002). افزایش مقدار اتیلن می‌تواند به علت افزایش واکنش‌های پراکسیداسیون لیپید تحت تیمار اشعه ماوراء بنفش باشد (An et al., 2000; Barka et al., 2000).

#### نتیجه گیری کلی:

سیستم آنزیمی و غیر آنزیمی در سلول‌های گیاهی نقش موثری در برابر گونه‌های اکسیژن فعال تحت تنش نوارهای مختلف اشعه ماوراء بنفش بازی می‌کند. در این تحقیق فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز و پلی فنل اکسیداز و همچنین مقدار آنتوسیانین‌ها، فلاونوئیدها، پروتئین‌ها، اتیلن و غلظت یون‌های

در تحقیق حاضر پرتوهای UV-B و UV-C باعث افزایش فعالیت آنزیم پراکسیداز در برگچه‌های فلفل شده است (شکل ۵). بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که افزایش فعالیت آنزیم پراکسیداز در برگچه‌های فلفل تیمار شده با پرتوهای UV-B و UV-C باعث افزایش مقاومت این گیاهان در مقابل تنش‌ها می‌شود.

نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که فعالیت پلی فنل اکسیداز در برگچه‌های فلفل در برابر تابش UV-B و UV-C افزایش یافت (شکل ۶). ثابت شده است که فعالیت پلی فنل اکسیداز تحت تیمار UV-B در *Crotalaria juncea* L. می‌یابد (Balakrishnan et al., 2005). گیاهان سیستم‌های حذف کننده مناسبی برای گونه‌های اکسیژن فعال دارند که آنها را از خرابی واکنش‌های اکسیداتیو محافظت می‌کند. پلی فنل اکسیداز و فنیل آلانین آمونیاک در محافظت از طریق ترکیبات فنلی شرکت می‌کنند. فعالیت پلی فنل اکسیداز نسبت به پراکسیداز کمتر است. آنزیم‌هایی از قبیل پلی فنل اکسیداز دارای مکانیسم‌هایی هستند که برای حذف رادیکال‌های آزاد اکسیژن تحت شرایط UV ایجاد می‌شوند (Balakrishnan et al., 2005). پلی فنل‌ها در لوبیای خشک به عنوان آنتی اکسیدان‌های جلوگیری کننده از تشکیل رادیکال‌های آزاد عمل می‌کنند (Namiki, 1990).

در آزمایشی در گیاه برنج تنش شوری موجب افزایش شدت باندهای پروتئینی گردید (Kanlaya et al., 2005). کاهش مقدار پروتئین‌ها می‌تواند در اثر کاهش میزان سنتز پروتئین، افزایش فعالیت آنزیم‌های هیدرولیز کننده پروتئین‌ها، کاهش آمینو اسیدهای در دسترس و یا دناتوره شدن آنزیم‌های درگیر در سنتز آمینو اسیدها یا پروتئین‌ها باشد. در گیاهانی مثل کدو، سویا، نخود و ذرت گزارش شده که کاهش محتوای پروتئینی برگ به دلیل افزایش رادیکال‌های اکسیژن فعال تحت تأثیر اشعه UV است (Agrawal, 1992; Gao et al., 2004; Kovacs and Keresztes, 2002). بسیاری از پروتئین‌ها علاوه بر اینکه تحت تأثیر اشعه UV تخریب می‌شوند مسیر سنتز آنها نیز مختل می‌شود و سنتزشان کاهش می‌یابد (Costa et al., 2002).

را تقویت نموده است. همچنین نقش رنگیزه‌ها در فرونشاندن رادیکال‌های پراکسید هیدروژن و سایر گونه‌های اکسیژن فعال می‌تواند یک واکنش تدافعی گیاهان در مقابل تابش اشعه ماوراء بنفش در نظر گرفته شود. بنابراین اشعه UV-A نقش زیانباری بر رشد گیاه ندارد و بیشتر آسیب اشعه ماوراء بنفش مربوط به نوارهای UV-B و UV-C می‌باشد.

کلسیم، پتاسیم و منیزیم افزایش چشمگیری تحت نوارهای UV-B و UV-C نشان دادند اما تحت نوار UV-A تفاوت معنی‌داری نسبت به شاهد مشاهده نشد. از آنجایی که این ترکیبات آنزیمی در ناحیه طیف ماوراء بنفش جذب بالایی دارند. اشعه ماوراء بنفش منجر به ایجاد رادیکال‌های آزاد شده و سلول برای جاروب نمودن آن‌ها سیستم‌های آنتی‌اکسیدانی

#### منابع:

حسینی، س. (۱۳۷۹) بررسی فیزیولوژیکی مقاومت به سرما در پنج رقم پسته رفسنجان. پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه شهید باهنر، کرمان. ایران.

کرامت، ب. (۱۳۷۹) مطالعه سیستم تثبیت ازت آگروباکتریوم تومافاشینس در سه رقم یونجه. پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه شهید باهنر، کرمان. ایران.

Agrawal, S. B. (1992) Effects of supplemental UV-B radiation on photosynthetic pigment, protein and glutathione contents in *green algae*. *Environmental and Experimental Botany* 32 : 137-143.

An, L., Feng, H., Tang, X. and Wang, X. (2000) Changes of microsomal membrane properties in spring wheat leaves (*Triticum aestivum* L.) exposed to enhanced ultraviolet-B radiation. *Photochemistry and Photobiology* 57: 60-65.

Balakrishnan, V., Venkatesan, K., Ravindran, K. C. and Kulandaivelu, G. (2005) Protective mechanism in UV-B treated *Crotalaria juncea* L. seedlings. *Plant Protection Science* 41: 115-120.

Barka, E. A. (2001) Protective enzymes against reactive oxygen species during ripening of tomato fruits in response to low amount of UV-C. *Australian Journal of Plant Physiology* 28: 785-791.

Barka, E. A., Kalantari, S., Maklouf, J. and Arul, J. (2000) Effects of UV-C irradiation on lipid peroxidation markers during ripening of tomato (*Lycopersicon esculentum* L.) fruits. *Australian Journal of Plant Physiology* 27: 147-152.

Bilger, W., Johnsen, T. and Schreiber, U. (2001) UV-excited chlorophyll fluorescence as a tool for the assessment of UV-protection by the epidermis of plants. *Journal of Experimental Botany* 52: 2007-2014.

Bors, W., Michel, C. and Schikora, S. (1995) Interaction of flavonoids with ascorbate and determination of their univalent redox potentials: A pulse radiolysis study. *Free Radical Biology and Medicine* 19: 45-52.

Bradford, M. M. (1976) A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry* 72: 248-254.

Caldwell, M. M., Björn, L. O., Bornman, J. F., Flint, S. D., Kulandaivelu, G., Teramura, A. H. and Tevini, M. (1998) Effects of increased solar ultraviolet radiation on terrestrial ecosystems. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology* 46: 40-52.

Cheimphango, S. B. M., Musil, C. F. and Dakora, F. D. (2003) Response of purely symbiotic and NO<sub>3</sub>-fed nodulated plants of *Lupinus luteus* and *Vicia atropurpurea* to ultraviolet-B radiation. *Journal of Experimental Botany* 54: 1771-1784.

Costa, H., Gallego, S. M. and Tomaro, M. L. (2002) Effects of UV-B radiation on antioxidant defense system in sunflower cotyledons. *Plant Science* 162 (6): 939-945.

Dai, Q., Yan, B., Huang, S., Liu, X. and Peng, S. (1997) Response of oxidative stress defense system in rice (*Oryza sativa*) leaves with supplemental UV-B radiation. *Physiologia Plantarum* 101: 301-308.

Foyer, C. H., Lopez-Delgado, H., Dat, J. F. and Scott, I. M. (1997) Hydrogen peroxide and glutathione-associated mechanisms of acclimatory stress tolerance and signalling. *Physiologia Plantarum* 100: 241-254.

Gao, W., Zheng, Y., Slusser, J. R., Heisler, G. M., Grant, R. H., Xu, J. and He, D. (2004) Effects of supplementary Ultraviolet-B Irradiance on Maize Yield and Qualities: A Field Experiment. *Photochemistry and Photobiology* 80: 127-131.

Gaspar, T. H., Penel, C., Castillo, F. J., Greppin, H. (1985) A two-step control of basic and acidic peroxidases and its significance for growth and development. *Physiologia Plantarum* 64: 418-423.

Giordano, C. V., Mori, T., Sala, O. E., Scopel, A. L., Caldwell, M. M. and Ballare, C. L. (2003) Functional acclimation to solar UV-B radiation in *Gunnera magellanica*, a native plant species of southernmost Patagonia. *Plant, Cell and Environment* 26: 2027-2036.

Gitz III, D. C., Gitz, L. L., McClure, J. W. and Huerta, A. J. (2004) Effects of a PAL inhibitor on phenolic accumulation and UV-B tolerance in *Spirodela intermedia* (Koch.). *Journal of Experimental Botany* 55: 919-927.

- Greenberg, B. M., Wilson, M. I., Gerhardt, K. E. and Wilson, K. E. (1996) Morphological and physiological responses of *Brassica napus* to ultraviolet radiation: photomodification of ribulose 1-5-bis phosphate Carboxylase/oxygenase and potential acclimation processes. *Plant Physiology* 148: 78-85.
- Hofmann, R. W., Swinny, E. E., Bloor, S. J., Markham, K. R., Ryan, K. G., Campbell, B. D., Jordan, B. R. and Fountain, D. W. (2000) Responses of Nine *Trifolium repens* L. Populations to Ultraviolet-B radiation: Differential flavonol Glycoside accumulation and biomass production. *Annals of Botany* 86: 527-537.
- Hollósy, F. (2002) Effects of ultraviolet radiation on plant cells. *Micron* 33: 179-197.
- Inze, D. and Montagu, M. V. (2002) Oxidative stress in plants. Taylor and Francis 1-321.
- Jansen, M. A. K., Noort, R. E., Tan, M. Y. A., Prinsen, E., Lagrimini, L. M. and Thorneley, R. N. F. (2001) Phenol-oxidizing peroxidases contribute to the protection of plants from Ultraviolet radiation stress. *Plant Physiology* 126: 1012-1023.
- Jenkins, G. I. (1999) Regulation of phenylpropanoid and flavonoid biosynthesis genes by UV-B in Arabidopsis. In: Plant responses to environmental stress. Ed by: Small wood, Calvent and Bowles. Bios. Scientific publishers. Oxford.
- Kara, M. and Mishra, D. (1976) Catalase, peroxidase, poly phenoloxidase activities during since leaf senescence. *Plant Physiology* 54: 315-319.
- Kalantari, K. h. M. (1989) Studies on the role of ethylene in water-stressed tomato plants, Ph.D thesis, University College of Wales Aberystwyth, U.K.
- Kovacs, E. and Keresztes, A. (2002) Effect of gamma and UV-B/C radiation on plant cells. *Micron* 33: 199-210.
- Krizek, D. T., Britz, S. J. and Mirecki, R. M. (1998) Inhibitory effects of ambient levels of solar UV-A and UV-B radiation on growth of cv. new red fire Lettuce. *Physiologia Plantarum* 103: 1-7.
- Lantz, T. C., Rothwell, G. W. and Stockey, R. A. (1999) *Conantiopteris schuchmanii*, gen. et sp. nov., and the role of fossils in resolving the Phylogeny of Cyatheaceae s. l. *Journal of Plant Research* 112: 361-381.
- Lingakumar, K., Amudha, P. and Kulandaivelu, G. (1999) Exclusion of solar UV-B (280-315 nm) radiation on vegetative growth and photosynthetic activities in *Vigna unguiculata* L. *Plant Science* 34: 97-103.
- Liu, L., Gitz III, D. C. and McClure, J. W. (1995) Effects of UV-B on flavonoids, ferulic acid, growth and photosynthesis in barley primary leaves. *Physiologia Plantarum* 93: 725-733.
- Matsumoto, T. K., Ellsmore, A. J., Cessna, S. G., Low, P. S., Pardo, J. M., Bressan, R. A. and Hasegawa, P. M. (2002) An osmotically induced cytosolic Ca<sup>2+</sup> transient activates calcineurin signaling to mediate ion homeostasis and salt tolerance of *Saccharomyces cerevisiae*. *Journal of Biological Chemistry* 27: 3075-3080.
- Mazza, C. A., Boccalandro, H. E., Giordano, C. V., Battista, D. and Scopel, A. L. (2000) Functional significance induction by solar radiation of ultraviolet-absorbing sunscreens in field-grown soybean crops. *Plant Physiology* 122: 117-125.
- Merzlyak, M. N. and Solovchenko, A. E. (2002) Patterns of pigment changes in apple fruits during adaptation to high sunlight and sunscald development. *Plant Biochemistry and Physiology* 40: 679-684.
- Merzlyak, M. N., Solovchenko, A. E., Smagin, A. I. and Gitelson, A. A. (2005) Apple flavonols during fruit adaptation to solar radiation: spectral features and technique for non-destructive assessment. *Journal of Plant Physiology* 162: 151-160.
- Middleton, E. M. and Teramura, A. H. (1993) The role of flavonol glycosidases and carotenoids in protectivity soybean from ultraviolet-B damage. *Plant Physiology* 103: 741-752.
- Mittler, R. (2002) Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. *Trends in Plant Sciences* 7 (9): 405-410.
- Musil, C. F., Chimphango, S. B. M. and Dakora, F. D. (2002) Effects of elevated Ultraviolet radiation on native and cultivated plants of southern Africa. *Annals of Botany* 90: 127-137.
- Namiki, M. (1990) Antioxidants/antimutagens in food. *Nutrition and Food Science* 29: 273-300.
- Nogués, S. and Baker, N. R. (2000) Effects of drought on photosynthesis in Mediterranean plants grown under enhanced UV-B radiation. *Journal of Experimental Botany* 51: 1309-1317.
- Olsson, L. C., Veit, M., Weissenbock, G. and Bornman, J. F. (1998) Differential flavonoids response to enhanced UV-B radiation in *Brassica napus*. *Phytochemistry* 49: 1021-1028.
- Palner, H., Ohta, M. and Suzuki, T. (2002) Oxidative stress-induced cellular damage caused by UV and methyl viologen in *Euglena gracilis* and its suppression with rutin. *Photochemistry and Photobiology* 67 (2): 116-129.
- Paul, N. D. and Gwynn-jones, D. (2003) Ecological roles of solar ultraviolet radiation: towards an integrated approach. *Trends in Ecology and Evolution* 18 (1): 48-55.
- Rao, M. V., Gopinadhan, P. and Ormrod, D. P. (1996) Ultraviolet-B and ozone-induced biochemical changes in antioxidants enzymes of *Arabidopsis thaliana*. *Plant Physiology* 110: 125-136.
- Rozema, J., Bojorn, L. O., Bornman, J. F., Hader, D. P. and Germ, M. (2002) The role of UV-B radiation in aquatic and terrestrial ecosystems on experiment and functional analysis of the evolution of UV-absorbing compounds. *Photochemistry and Photobiology* 66: 2-12.

- Ryan, K. G., Swinny, E. E., Markham, K. R. and Winefield, C. (2002) Flavonoid gene expression and UV photoprotection in transgenic and mutant *Petunia* leaves. *Phytochemistry* 59: 23-32.
- Sharma, P. K., Anand, P., Sankhalkar, S. and Shety, R. (1998) Photochemical and biochemical changes in wheat seedlings exposed to supplementary ultraviolet-B radiation. *Plant Sciences* 132: 21-30.
- Shiu, C. T. and Lee, T. M. (2005) Ultraviolet-B-induced oxidative stress and responses of the ascorbate-glutathione cycle in a marine macroalga *Ulva fasciata*. *Journal of Experimental Botany* 56: 2851-2865.
- Smirnoff, N. and Wheeler, G. L. (2000) Ascorbic acid in plants: Biosynthesis and function. *Critical Reviews in plant sciences* 19 (4): 267-290.
- Solovchenko, A. and Schmitz-Eiberger, M. (2003) Significance of skin flavonoids for UV-B protection in apple fruits. *Journal of Experimental Botany* 54: 1977-1984.
- Tosserams, M., Paisde sa, A. and Rozema, J. (1996) The effect of solar UV-radiation on four plant species occurring in coastal grassland vegetation in the Netherlands. *Physiologia Plantarum* 97: 731-739.
- Veit, M., Bilger, W., Mühlbauer, T., Brummet, W. and Wlinter, K. (1996) Diurnal changes in flavonoids. *Journal of Plant Physiology* 148: 478-482.
- Wanger, G. J. (1979) Content and vacuole/extra vacuole distribution of neutral sugars, free amino acids, and anthocyanins in protoplasts. *Plant Physiology* 64: 88-93.
- Wilson, M. I. and Greenberg, B. M. (1993) Specificity and photomorphogenic nature of ultraviolet-B induced cotyledon curling in *Brassica napus* L. *Plant Physiology* 102: 671-677.
- Yuan, L., Yanqun, Z., Jianjun, C., Haiyan, C., Jilong, Y. and Zhide, H. (2000) Intraspecific differences in physiological response of 20 wheat cultivars to enhanced ultraviolet-B radiation under field conditions. *Environmental and Experimental Botany* 44: 95-103.

## The effect of different bands of ultraviolet radiation on some growth characters and biochemical changes in pepper (*Capsicum annuum* L.) seedling

Kobra Mahdavian\*

Department of Biology, Faculty of Sciences, Payame Noor University, Tehran, Iran

(Received: 24/06/2016, Accepted: 19/10/2016)

### Abstracts:

Ultraviolet radiation divides to three bands UV-A (320-390 nm), UV-B (280-320 nm) and UV-C (254-280 nm). Different bands of ultraviolet radiation have different effects on growth, physiological and biochemical plants. In this research, the effect of different bands of UV radiation on the shoot and root length, quantity of flavonoids, anthocyanine, protein, ethylene, peroxidase and polyphenol oxidase activities and the concentration of  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Mg}^{2+}$  in seedlings of the pepper (*Capsicum annuum* L.) were studied. After 10 days, seedlings were exposed to treatment of UV-A, UV-B and UV-C for 3 days. To assess the effect of ultraviolet treatments on electrophoretic polypeptide patterns, shoot proteins were separated on SDS-PAGE gels. The results showed that under the experimental conditions, UV-B and UV-C radiation reduced the length of shoot and root. This study showed that irradiation of the plant with UV-B and UV-C caused significant increase in quantity of protein, anthocyanine, flavonoids, ethylene, the concentration of  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ , activity of enzymes peroxidase and polyphenol oxidase, while in those plants which were treated with UV-A, the activity of enzymes were not significantly different in comparison to the control. These pigments have high absorption in UV spectrum of light and therefore could be used as UV absorption compounds by plants to prevent penetration of UV to the more sensitive tissues. The role of flavonoids in quenching of hydrogen peroxide against UV radiation can be considered as a defensive mechanism.

Key words: Anthocyanine, Ethylene, Peroxidase, Polyphenol oxidase, Flavonoids

\*Corresponding author: Mahdavian.k@gmail.com