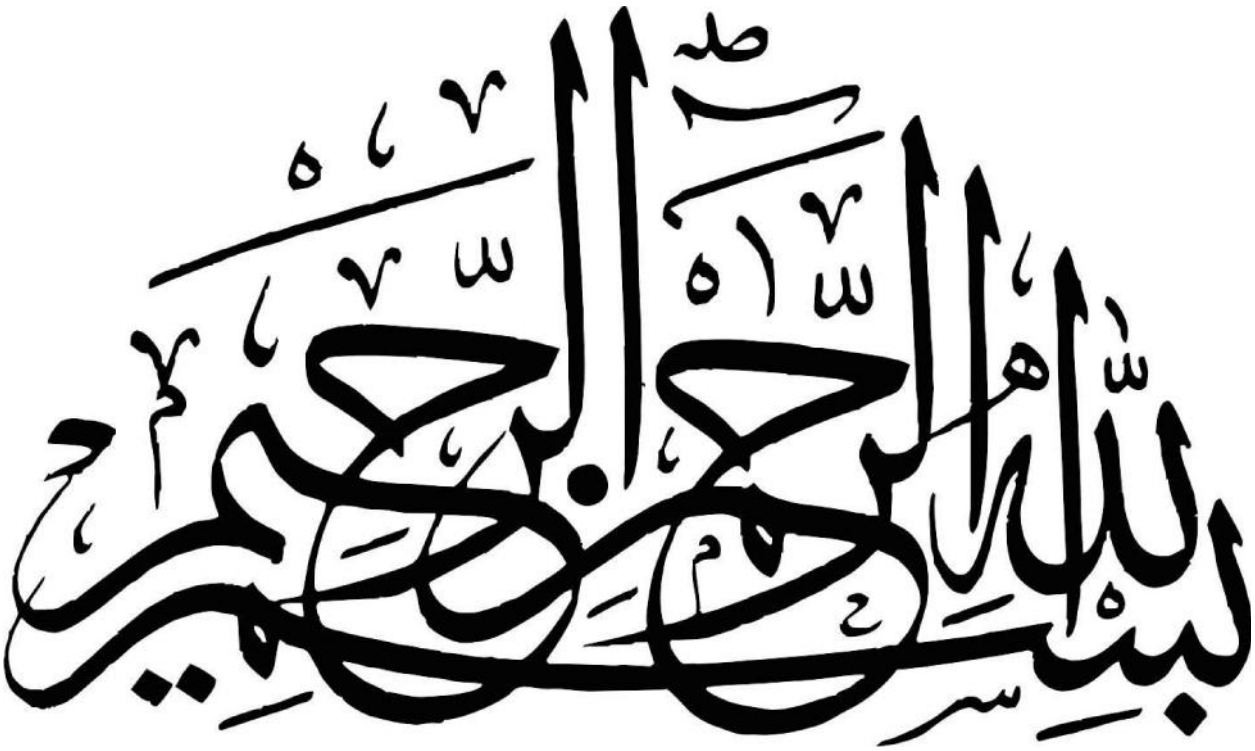

بسم الله الرحمن الرحيم

فهرست صفحه

فصل اول: کلیات ۲

۱- کلیاتی درباره ی گیاه بادرنجبویه ۲

۱-۱- تاریخچه کشت و وجه تسمیه ۲

۱-۲- مشخصات گیاه شناسی ۲

۱-۳- ترکیبات شیمیایی و ماده ی موثره ٤

۱-٤- خواص درمانی بادرنجبویه ٤

۲- پرتوهای فرابنفش و گیاهان ٥

۲-۱- تابش های فرابنفش ٥

۲-۲- اهداف پرتوهای فرابنفش ٥

۲-۲-۱- اسیدهای نوکلئیک ٥

۲-۲-۲- آمینواسیدها ٦

۲-۲-۳- پروتئین ها ٦

۲-۲-٤- لیپیدها ۷

۲-۲-٥- تنظیم کننده های رشد ۷

۲-۲-٦- ساختمان و عمل غشا ۷

۷-۲-۲- رنگیزه های فتو سنتزی ۸
۸-۲-۲- فتو سنتز ۸
۹-۲-۲- تغییرات آناتومیکی برگ ۸
۳- حفاظت در برابر اشعه یUV ۹
٤- کلیاتی در مورد سالیسیلیک اسید ۱۱
۱-٤- تاریخچه ۱۱
۲-٤- ساختمان سالیسیلیک اسید و مشتقات آن ۱۱
۳-٤- بیوسنتز سالیسیلیک اسید ۱۲
٥- اثر سالیسیلیک اسید در تنش های غیر زیستی ۱۳
۱-٥- اثر سالیسیلیک اسید در برطرف نمودن سمیت ناشی از فلزات سنگین ۱۳
۲-٥- اثر سالیسیلیک اسید در برطرف نمودن تنش ناشی از خشکی ۱٤
۳-٥- نقش سالیسیلیک اسید در برطرف کردن تنش ناشی از دمای بالا ۱٤
٤-٥- نقش سالیسیلیک اسید در برطرف کردن تنش ناشی از دمای پایین ۱٤
٥-٥- نقش سالیسیلیک اسید در برطرف کردن تنش ناشی ازاشعه ی فرابنفش خورشید ۱٥
٦-٥- نقش سالیسیلیک اسید در برطرف کردن تنش ناشی از شوری ۱٥
٦- مکانیسم های احتمالی فعال در پاسخ به تنش ها در گیاهان ۱٥

۷- اثرات فیزیولوژیکی سالیسیلیک اسید بر گیاهان ۱٦
۸- کلیاتی در ارتباط با میدان های مغناطیسی ۱٦
هدف ۱۸
فصل دوم: مواد و روش ها ۱۹
۱- مواد گیاهی و شرایط رشد ۱۹
۱-۱- اعمال پرتوهای فرابنفش و سالیسیلیک اسید ۱۹
۱-۲- اعمال پرتوهای فرابنفش و میدان های مغناطیسی ۲۰
۲- مطالعه پارامترهای فیزیولوژیکی ۲۱
۲-۱- تعیین وزن تر و خشک ریشه و اندام هوایی ۲۱
۲-۲- اندازه گیری رنگیزه های کلروفیل و کاروتنوئید ۲۱
۲-۳- اندازه گیری میزان قندهای محلول ۲۲
۲-٤- اندازه گیری میزان پروتئین کل ۲۲
۲-۵- اندازه گیری مالون دی آلدئید ۲۳
۲-٦- طرز تهیه عصاره گیاهی جهت اندازه گیری فعالیت آنزیم ها ۲۳
۲-۷- اندازه گیری فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز ۲٤
۲-۸- اندازه گیری فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز ۲٤

۹-۲- اندازه گیری فعالیت آنزیم کاتالاز..... ۲٤
۱۰-۲- اندازه گیری فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیالیاز..... ۲۵
۱۱-۲- اندازه گیری میزان فلاونوئیدها..... ۲۵
۱۲-۲- اندازه گیری آنتوسیانین..... ۲٦
برنامه های آماری..... ۲٦
فصل سوم: نتایج..... ۲۷
۱- تیمار پرتوهای فرابنفش و سالیسیلیک اسید..... ۲۷
۱-۱- طول ریشه و ساقه..... ۲۷
۱-۲- وزن تر و خشک..... ۲۸
۱-۳- محتوای کلروفیل b,a و کاروتنوئید..... ۳۰
۱-٤- محتوای قندهای محلول..... ۳۲
۱-۵- محتوای پروتئین های محلول..... ۳۲
۱-٦- محتوای مالون دی آلدئید..... ۳۳
۱-۷- فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان..... ۳٤

۸-۱- فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیالیاز ۳۶

۹-۱- ترکیبات جاذب UV ۳۶

۲- تیمار پرتو فرابنفش و میدان های مغناطیسی ۳۹

۱-۲- رشد طولی ریشه و ساقه ۳۹

۲-۲- وزن تر و خشک ٤۰

۳-۲- رنگیزه های فتوسنتزی ٤۲

٤-۲- محتوای پروتئین های محلول ٤٤

۵-۲- محتوای قندهای محلول ٤٤

٦-۲- ترکیبات جاذب UV ٤۵

فصل چهارم: بحث و نتیجه گیری ٤۸

پیشنهادات ۵۹

فصل پنجم: ضمائم ٦۰

منابع ٦۱

فهرست اشکال و نمودارها

شکل ۱-۱- گیاه بادرنجبویه (*Melissa Officinalis*)..... ۳

شکل ۱-۲- سالیسیلیک اسید..... ۱۲

شکل ۱-۳- مسیرهای پیشنهاد شده برای بیوسنتز سالیسیلیک اسید در گیاهان..... ۱۳

شکل ۱-٤- مدل شماتیک فعالیت سالیسیلیک اسید برای القای مقاومت در تنش های غیر زیستی..... ۱۵

نمودار ۳-۱- تاثیر پرتوهای UV-B، UV-C و سالیسیلیک اسید بر روی طول ساقه گیاه بادرنجبویه..... ۲۷

نمودار ۳-۲- تاثیر پرتوهای UV-B، UV-C و سالیسیلیک اسید بر روی طول ریشه گیاه بادرنجبویه..... ۲۸

نمودار ۳-۳- تاثیر پرتوهای UV-B، UV-C و سالیسیلیک اسید بر روی وزن تر گیاه..... ۲۹

نمودار ۳-٤- تاثیر پرتوهای UV-B، UV-C و سالیسیلیک اسید بر روی وزن خشک گیاه..... ۲۹

۳-۵- تاثیر پرتوهای UV-B، UV-C و سالیسیلیک اسید بر میزان کلروفیل a..... ۳۰

نمودار ۳-٦- تاثیر پرتوهای UV-B، UV-C و سالیسیلیک اسید بر میزان کلرفیل b..... ۳۱

نمودار ۳-۷- تاثیر پرتوهای UV-B، UV-C و سالیسیلیک اسید بر میزان کارتنوئید..... ۳۱

نمودار ۳-۸- تاثیر پرتوهای UV-B، UV-C و سالیسیلیک اسید بر میزان قندهای محلول..... ۳۲

نمودار ۳-۹- تاثیر پرتوهای UV-B، UV-C و سالیسیلیک اسید بر میزان پروتئین های محلول..... ۳۳

نمودار ۳-۱۰- تاثیر پرتوهای UV-B، UV-C و سالیسیلیک اسید بر میزان MDA..... ۳۳

نمودار ۳-۱۱- تاثیر پرتوهای UV-B، UV-C و سالیسیلیک اسید بر روی فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز..... ۳٤

نمودار ۳-۱۲- تاثیر پرتوهای UV-B، UV-C و سالیسیلیک اسید بر روی فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز..... ۳۵

نمودار ۳-۱۳- تاثیر پرتوهای UV-B، UV-C و سالیسیلیک اسید بر روی فعالیت آنزیم کاتالاز..... ۳۵

نمودار ۳-۱٤- تاثیر پرتوهای UV-B، UV-C و سالیسیلیک اسید بر روی فعالیت آنزیم PAL..... ۳٦

نمودار ۳-۱۵- تاثیر پرتوهای UV-B، UV-C و سالیسیلیک اسید بر میزان آنتوسیانین..... ۳۷

نمودار ۳-۱٦- تاثیر پرتوهای UV-B، UV-C و سالیسیلیک اسید بر روی میزان جذب فلاونوئید در ۲۷۰ نانومتر..... ۳۷

نمودار ۳-۱۷- تاثیر پرتوهای UV-B، UV-C و سالیسیلیک اسید بر روی میزان جذب فلاونوئید در ۳۰۰ نانومتر..... ۳۸

۳-۱۸- تاثیر پرتوهای UV-B، UV-C و سالیسیلیک اسید بر روی میزان جذب فلاونوئید در ۳۳۰ نانومتر..... ۳۸

نمودار ۳-۱۹- تاثیر پیش تیمار میدان مغناطیسی و پرتوهای UV-B بر روی طول ساقه.....۳۹

نمودار ۳-۲۰- تاثیر پیش تیمار میدان مغناطیسی و پرتوهای UV-B بر روی طول ریشه.....٤۰

نمودار ۳-۲۱- تاثیر پیش تیمار میدان مغناطیسی و پرتوهای UV-B بر روی وزن تر گیاه بادرنجبویه.....٤۱

نمودار ۳-۲۲- تاثیر پیش تیمار میدان مغناطیسی و پرتوهای UV-B بر روی وزن خشک گیاه بادرنجبویه.....٤۱

نمودار ۳-۲۳- تاثیر پیش تیمار میدان مغناطیسی و پرتوهای UV-B بر روی محتوای کلروفیل a.....٤۲

نمودار ۳-۲٤- تاثیر پیش تیمار میدان مغناطیسی و پرتوهای UV-B بر روی محتوای کلروفیل b.....٤۳

نمودار ۳-۲۵- تاثیر پیش تیمار میدان مغناطیسی و پرتوهای UV-B بر روی محتوای کاروتنوئید.....٤۳

نمودار ۳-۲٦- تاثیر پیش تیمار میدان مغناطیسی و پرتوهای UV-B بر روی محتوای پروتئین.....٤٤

نمودار ۳-۲۷- تاثیر پیش تیمار میدان مغناطیسی و پرتوهای UV-B بر روی محتوای قندهای محلول.....٤۵

نمودار ۳-۲۸- تاثیر پیش تیمار میدان مغناطیسی و پرتوهای UV-B بر روی محتوای آنتوسیانین.....٤٦

نمودار ۳-۲۹- تاثیر پیش تیمار میدان مغناطیسی و پرتوهای UV-B بر روی میزان جذب فلاونوئیدها در ۲۷۰ نانومتر.....٤٦

نمودار ۳-۳۰- تاثیر پیش تیمار میدان مغناطیسی و پرتوهای UV-B بر روی میزان جذب فلاونوئیدها در ۳۰۰ نانومتر.....٤۷

نمودار ۳-۳۱- تاثیر پیش تیمار میدان مغناطیسی و پرتوهای UV-B بر روی میزان جذب فلاونوئیدها در ۳۳۰ نانومتر.....٤۷

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 تاثیر پرتوهای UV-B و UV-C بر روی گیاه بادرنجبویه (*Melissa Officinalis* L.) و تاثیر سالیسیلیک اسید و میدان های مغناطیسی در کاهش اثرات زیانبار این پرتوها بر روی این گیاه می باشد. گیاهان بادرنجبویه در شرایط ۸/۱۶ ساعت روشنایی/تاریکی با دمای متوسط ۲±۲۸ درجه سانتیگراد و در شدت نور $150\ \mu E\ m^{-2}\ S^{-1}$ و به مدت ۶۰ روز کشت یافتند. 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. تیمار میدان مغناطیسی به مدت یک ساعت و با شدت های ۰، ۴۰ و ۸۵ میلی تسلا اعمال گردید. 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 رنگیزه های فتوسنتزی (کلروفیل a، کلروفیل b و کاروتنوئید) میزان قندها و پروتئین های محلول را کاهش دادند. افزایش فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان آسکوربات پراکسیداز و گایاکول پراکسیداز و کاهش فعالیت آنزیم کاتالاز نیز مشاهده شد. میزان مالون دی آلدئید و فنیل آلانین آمونیا لیاز و ترکیبات جاذب UV نیز تحت تاثیر پرتوهای UV-B و UV-C افزایش نشان داد. بررسی نتایج نشان داد تیمار با سالیسیلیک اسید و میدان های مغناطیسی باعث تخفیف در آسیب های وارده به گیاه شد که در اثر پرتوهای UV-B و UV-C به وجود آمده بودند و توانستند فاکتورهایی که تحت تابش های فرابنفش تغییر یافته بودند را جبران کنند.

کلمات کلیدی: **پرتو فرابنفش، گیاه بادرنجبویه، سالیسیلیک اسید، میدان مغناطیسی، رنگیزه های فتوسنتزی، آنزیم های آنتی اکسیدان**

فصل اول: کلیات

۱- کلیاتی درباره ی گیاه بادرنجبویه

۱-۱- تاریخچه کشت و وجه تسمیه

پیشینه ی کشت بادرنجبویه به ۲۰۰۰ سال می رسد و در سراسراروپا، قفقاز، ایران، ترکمنستان، دامنه های معتدل هیمالیا، هندوستان و اندونزی کشت می شد. این گیاه امروزه در سراسر جهان کشت می شود، ولی منشا آن شرق مدیترانه و جنوب اروپا گزارش شده است. وجه تسمیه ی این گیاه این است که اگر برگ بادرنجبویه را بین دو انگشت فشار داده و له کنند بوی عطر مطبوعی شبیه بوی بادرنگ (*Citrus medica*) یا شبیه بوی لیمو از آن استشمام می شود که این وجه تسمیه ی آن به فارسی است و چون بوی شبیه مشک می دهد آن را فرنگ مشک یا فرنجمشک نیز می نامند. ابو علی سینا به سبب خواص این گیاه بادرنجبویه را مفرح القلب نامیده است. وجه تسمیه ی آن در زبان لاتین این است که به زنبور عسل ملیسا می گویند و چون گل این گیاه فوق العاده مورد علاقه ی زنبور عسل است این گیاه را نیز ملیسا و به یونانی ملیسافولون یا برگ زنبور عسل نامیدند. سابقاً مرسوم بوده که برای گرفتن زنبور عسل برگ بادرنجبویه را خرد کرده و در محل مورد نظر که می خواستند زنبورها جمع شوند می ریختند. همچنین بدلیل کثرت مصرف دم کرده آن در فرانسه به چای فرانسه نیز شهرت یافته است.

۱-۲- مشخصات گیاه شناسی

بادرنجبویه (*Melissa Officinalis* L.) گیاهی از خانواده ی نعناعیان (*Lamiaceae*) می باشد. گیاهی است پایا و چند ساله با ریزوم چوبی، ساقه ی راست و منشعب ٤ گوش که ارتفاع آن به حدود یک متر می رسد و کرکدار است. ارتفاع آن بین ۵۰ تا ۱۰۰ سانتی متر متفاوت است. برگ ها پهن و تخم مرغی شکل به طول ۳ تا ٦ سانتی متر و بصورت متقابل

روی ساقه قرار می گیرند. رنگ برگها سبز تیره است. سطح آنها ناصاف بوده و برجستگیهای متعددی دارد. برگ ها نوک تیز و قاعده ی آن گوه ای و حاشیه دار است. غنچه های بادرنجبویه معمولاً زرد رنگ هستند که پس از باز شدن گلهای سفید یا بنفش پدید می آیند. بر روی ریزوم گره های خاصی وجود دارد که از این گره ها استولون و سایر انشعابات ریشه ای به رنگ قهوه ای روشن خارج می شود. میوه ی این گیاه فندقه چهار قسمتی بوده و طول آن ۱ تا ۱/۵ میلی متر است. دانه تخم مرغی شکل و رنگ آن تیره و براق است. بذور این گیاه چنانچه در شرایط مناسبی نگهداری می شوند، تا چهار سال از قوه ی رویشی مناسبی برخوردارند.

شکل ۱-۱- گیاه بادرنجبویه (*Melissa Officinalis*)

۳-۱- ترکیبات شیمیایی و ماده ی موثره: برگ ها دارای قندهای مختلف، تانن، مواد رزینی، مواد پکتیکی، لیمونن و ۰/۱ تا ۰/۲۵ درصد اسانس است که ماده ی موثره ی آن به حساب می آید. اسانس بادرنجبویه مایعی بی رنگ یا به رنگ زرد روشن تا مایل به خاکستری است که دارای بویی بسیار مطبوع شبیه لیمو می باشد. مهمترین ترکیبات تشکیل دهنده ی اسانس شامل سیترال، سیترونلال، ژرانیول و لینالول هستند. اسانس این گیاه حاوی مقادیر کمی اسید رزماری نیز می باشد.

٤-۱- خواص درمانی بادرنجبویه

بادرنجبویه داروی مورد علاقه ی پزشک بزرگ ایرانی، ابوعلی سینا بود که جهت تقویت قلب و انبساط روح تجویز کرده است. استفاده از این گیاه بعنوان یک داروی ضد افسردگی تا قرن هفدهم ادامه داشت. آزمایش های جدید بر روی حیوانات آزمایشگاهی نشان می دهد که این گیاه همانند یک داروی مسکن بر روی دستگاه عصبی مرکزی عمل می کند و به همین دلیل آرام بخش است. این گیاه به اشکال مختلفی از قبیل اسانس، روغن، پماد، کمپرس و دم کرده استفاده می شود. بادرنجبویه دارای طبیعت گرم و خشک است. از مهمترین خواص دارویی آن می توان آرام بخشی اعصاب، ضد بیماری های قلب، معده و روده، مفرح و نشاط آور، خوشبو کننده دهان، بالا برنده ی فشار خون، ضد اسپاسم، ضد تشنج را نام برد.

دم کرده ی بادرنجبویه تعریق بدن را افزایش می دهد که راه درمان سنتی سرما خوردگی های همراه با تب است. همچنین نوشیدن دم کرده ی بادرنجبویه بعد از غذا به هضم آن کمک می کند. جوشانده یا شربت آن برای تقویت معده، کبد و ازدیاد هوش وحافظه تجویز می شود. همچنین برای تنگی نفس و برای استحکام لثه و دندان ها مفید است و سکسکه را آرام می کند. ضماد برگ بادرنجبویه برای بهبود درد مفاصل مفید است. در ایران پمادی بنام ملیسان که از ترکیبات این گیاه گرفته شده، جهت رفع تبخال وجود دارد.

۲- پرتوهای فرابنفش و گیاهان

۲-۱- تابش های فرابنفش

امروزه فعالیت های صنعتی بشر باعث افزایش ترکیبات آلوده کننده ی 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 ی اوزون می شوند. کاهش لایه ی اوزون باعث افزایش میزان پرتوهای فرابنفش در سطح زمین شده و مشکلاتی را برای موجودات زنده بوجود آورده است (۱٤).

پرتوهای فرابنفش ۸ تا ۹ درصد طیف خورشید را شامل می شود و به سه باند (UV-A ۳۲۰ – ٤۰۰ nm)، (UV-B ۲۸۰ - ۳۲۰ nm) و (UV-C ۲۰۰ – ۲۸۰ nm) تقسیم می شود که به دلیل داشتن طول موج پایین نسبت به نورمرئی دارای انرژی زیادی برای نفوذ به بافت ها می باشند. در میان موجودات زنده، گیاهان به دلیل احتیاج اجتناب ناپذیرشان به نور برای انجام فتو سنتز، بیشتر تحت تاثیر پرتوهای فرا بنفش قرار می گیرند و آسیب پذیرتر هستند (۱۲). اشعه ی UV-A با وجود اینکه توسط لایه ی اوزون جذب نمی شود کمترین خسارت را به موجودات زنده وارد می سازد. اشعه ی UV-B توسط لایه ی اوزون جذب شده و از رسیدن آن به سطح زمین جلوگیری می شود. کاهش لایه ی اوزون منجر به افزایش تابش این اشعه به سطح زمین شده است. پرتوهای UV-B و UV-C اثرات زیانباری را برای موجودات زنده و به خصوص گیاهان در بردارند (٦۸).

۲-۲- اهداف پرتوهای فرابنفش

۲-۲-۱- اسیدهای نوکلئیک

پرتوهای فرابنفش باعث افزایش محصولات نوری DNA و RNA می شوند. محصولات نوری در DNA، از عمل DNA به عنوان الگوی همانند سازی و نسخه برداری جلوگیری می کنند. فراورده های نوری در RNA نیز آن را از انجام

وظیفه باز می دارد که mRNA به عنوان حساس ترین بخش به پرتوهای فرابنفش محسوب می شود. عمده ی محصولات نوری DNA و RNA ترکیبات پیریمیدین یعنی سیکلوبوتادی پیریمیدین ها و مراکز پیریمیدین – پیریمیدون هستند.

۲-۲-۲- آمینواسیدها

پروتئین ها نسبت به پرتوهای UV و به خصوص UV-B جذب بالایی دارند و این به دلیل جذب این اشعه توسط آمینو اسیدهای حلقوی مانند فنیل آلانین، تیروزین، تریپتوفان، هیستیدین و سیستئین می باشد (۳۹). پرتوهای فرابنفش باعث تخریب اسیدهای آمینه می شوند. جذب این پرتوها توسط اسید آمینه ی سیستئین باعث تبدیل پل های دی سولفیدی به گروه های سولفیدریل واکنش گر می شود. پل های دی سولفیدی جهت استحکام ساختمان سوم و چهارم پروتئین ها ضروری هستند و با از بین رفتن آنها ساختمان پروتئین ها و عملکرد آنها متاثر خواهد شد (۵).

۳-۲-۲- پروتئین ها

پرتوهای فرابنفش علاوه بر اینکه بطور مستقیم می تواند پروتئین ها را تخریب کند، بطور غیر مستقیم نیز می تواند از طریق آسیب رساندن به مولکول های DNA و RNA در فرآیند سنتز پروتئین اختلال ایجاد کند (٦). غیر فعال شدن پروتئین ها و آنزیم ها می تواند به واسطه ی فتولیز مستقیم اسیدهای آمینه ی آروماتیک یا گروه های دی سولفیدی ایجاد شود. از جمله مهمترین آنزیم هایی که تحت تاثیر این پرتوها قرار می گیرند می توان به روبیسکو، ATP آز، ویولاگزانتین دی اپوکسیداز و زیر واحدهای پروتئینی فتوسیستم های I وII اشاره کرد. همچنین ترکیبات پروتئینی اسکلت سلولی گیاهان نیز ممکن است هدف اشعه ی UV باشند. گزارش شده است که تابش اشعه ی فرابنفش به پروتوپلاست های اطلسی هیبرید، باعث کوتاه شدن ساختار میکروتوبول ها می شود (۷) .

٤-٢-٢- لیپیدها

فسفولیپیدها و گلیکولیپیدها از اجزای اصلی غشاهای سلولی گیاهی با اسیدهای چرب غیر اشباع هستند که در حضور اکسیژن توسط پرتو فرابنفش تخریب می شوند. پراکسیداسیون لیپیدها جزء آسیب های اکسیداتیو است که توسط پرتوهای فرابنفش ایجاد می شود که از محصولات آن می توان به مالون دی آلدئید و پراکسید هیدروژن اشاره کرد. مالون دی آلدئید معیاری جهت پراکسیداسیون لیپیدی است و پراکسیداسیون هیدروژن نیز می تواند آنزیم های چرخه ی کالوین را غیر فعال کند.

٥-٢-٢- تنظیم کننده های رشد

پرتو فرابنفش می تواند با تاثیر بر روی تنظیم کننده های رشد گیاهی باعث تغییر در رشد و نمو و همچنین گلدهی گیاهان شود. تخریب نوری اکسین منجر به تولید ۳- متیلن اکسیندول می شود که یک بازدارنده ی رشد است و در آفتابگردان باعث عدم رشد هیپوکوتیل می شود. هورمون آبسیزیک اسید نیز به شدت در ناحیه ی UV-B جذب دارد و به وسیله ی فتولیز غیر فعال می شود . هورمون اتیلن تحت تاثیر پرتو فرابنفش، بیشتر تولید می شود و باعث تغییر رشد طولی به رشد عرضی می شود (۱۱).

٦-٢-٢- ساختمان و عمل غشا

پرتوهای فرابنفش باعث آسیب دیدگی غشا می شوند. خسارت های وارده ناشی از اکسیداسیون چربی های غیر اشباع و یا پروتئین های غشا است که می تواند به علت جذب مستقیم اشعه توسط غشا و یا جذب غیر مستقیم بوسیله ی گونه های فعال اکسیژن (ROS) باشد. در معرض این پرتوها نشت یون ها از غشای کلروپلاست و تونوپلاست و نیز اختلال در انتقال از عرض غشای پلاسمایی مشاهده شده است. در نتیجه آسیب پرتوهای فرابنفش به غشا بیشتر با تاثیر بر روی پدیده ی انتقال است.

۷-۲-۲- رنگیزه های فتو سنتزی

پرتو فرابنفش باعث کاهش مقدار کلروفیلa، کلروفیلb و نیز کاروتنوئیدها می شود. کاهش مقدار کلروفیل می تواند به دلیل تاثیر این اشعه بر پیش سازهای سنتز کلروفیل ویا تخریب کلروفیل موجود باشد. کاهش کاروتنوئیدها می تواند به علت تبدیل آن به آبسیزیک اسید باشد که عموماً در استرس های محیطی مقدار آبسیزیک اسید افزایش می یابد.

۸-۲-۲- فتو سنتز

پرتوهای فرابنفش باعث اختلال در عمل آنزیم تجزیه کننده ی آب، تخریب فتو سیستم II، پلاستوکوئینون، کاهش فعالیت آنزیم روبیسکو و آنزیم ATP سنتاز می شود. همچنین با القای بسته شدن روزنه ها و تغییر در ضخامت و آناتومی برگ می تواند فتو سنتز را تحت تاثیر قرار دهد. تخریب رنگیزه های فتو سنتزی توسط پرتوهای فرابنفش نیز از دلایل کاهش میزان فتو سنتز می باشد (۵۵). در آزمایشی که بر روی گیاه گندم صورت گرفته است پرتوهای فرابنفش با اثر بر روی روزنه ها و بسته شدن آنها سرعت فتو سنتز خالص را کاهش می دهد.

۹-۲-۲- تغییرات آناتومیکی برگ

گونه های گیاهی واکنش های نسبتاً متفاوتی به پرتوهای فرابنفش نشان می دهند، اما بطور کلی این اشعه می تواند سبب افزایش ضخامت برگ، افزایش لایه های پارانشیم نردبانی، تخریب سلول های اپیدرم فوقانی برگ، تغییر شکل اپیدرم، فرسایش موم کوتیکولی، کاهش سطح برگ، کاهش تعداد روزنه شود. همه ی این عوامل سبب جلوگیری از جذب CO_2 و کاهش میزان فتو سنتز می شود. علائم ظاهری تنش فرابنفش شامل تغییر شکل و رنگ برگ ها، ایجاد کلروز و نکروز در برگ ها، کلروز بین رگبرگی و فنجانی شدن برگ هاست.

۳- حفاظت در برابر اشعه ی UV

گیاهان در مقابل اشعه ی UV مکانیسم های دفاعی از خود بروز می دهند. ساختارهایی مانند اپیدرم که معمولاً بوسیله 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 (٦٦). همچنین گیاهان سازوکارهای دفاعی شامل سازوکارهای آنزیمی و غیر آنزیمی در مقابل اشعه ی UV دارند که گیاهان را در مقابل این اشعه محافظت می کند (٤). مکانیسم های آنزیمی شامل فعالیت آنزیم های فتولیاز، سوپراکسید دیسموتاز، آسکوربات پراکسیداز، کاتالاز، گلوتاتیون ردوکتاز و غیره است (۳۰). در حفاظت غیر آنزیمی سنتز ترکیباتی چون اسید آسکوربیک، کاروتنوئیدها، فلاونوئیدها، آنتوسیانین ها و آلکالوئیدها افزایش می یابد (۸۹).

آنزیم فتولیاز مسئول جداسازی دیمرهای پریمیدین سیکلوبوتانی می باشد که با تابش اشعه ی UV در مولکول DNA بوجود آمده اند. آنزیم های سوپراکسید دیسموتاز، آسکوربات پراکسیداز و کاتالاز گیاهان را در برابر تنش اکسایشی که در اثر افزایش تولید گونه های فعال اکسیژن (ROS) بوسیله ی اشعه ی UV، با تبدیل رادیکال های سوپراکسید به H_2O_2 و تجزیه ی H_2O_2 به آب و اکسیژن محافظت می کنند. پس افزایش آنزیم های ضد اکسایشی یک مکانیسم دفاعی برای از بین بردن رادیکال های آزاد اکسیژن در برابر اشعه ی UV بوده و باعث حفظ و پایداری تمامیت غشای سلولی و دیگر ساختارهای زیر سلولی می شود و در کنار آن افزایش در ترکیبات جاذب UV و همچنین افزایش ضخامت برگ باعث حفاظت در برابر آسیب های ناشی از اشعه ی UV می گردد.

ترکیبات فنیل پروپانوئیدی مانند مشتقات هیدروکسی سینامیک اسید و فلاونوئیدها مثل فلاون ها، فلاونول ها و همچنین آنتو سیانین ها باعث جذب اشعه ی ماورای بنفش می شود (٤٠). همچنین گزارش شده است که فلاونوئیدها دارای نقش آنتی اکسیدانی بوده و باعث سمیت زدایی گونه های اکسیژن فعال می شود (۱۵). لوئیس و همکاران در سال ۱۹۹٤ گزارش

نموده اند که فلاونوئیدها در پاسخ به تابش اشعه ی ماورای بنفش (UV-C , UV-B) سریعاً افزایش یافته و به مقدار زیاد در لایه ی اپیدرمی تجمع می یابند. آنها با استفاده از موتان هایی که قدرت ساختن این ترکیبات را ندارند اهمیت فلاونوئیدها را در مقاومت گیاهان نسبت به اشعه نشان داده اند. این ترکیبات در واکوئل سلول های اپیدرمی تجمع می یابند و اشعه ی UV را جذب می کنند و از نفوذ این اشعه به قسمت های حساس برگ مثل بافتهای فتوسنتزی (پارانشیم نردبانی وحفره ای) جلوگیری می کنند (۱۶). ترکیبات جاذب UV از اسیدهای آمینه آروماتیک فنیل آلانین و تیروزین از مسیر فنیل پروپانوئید سنتز می شوند. چندین مرحله از این مسیر تحت تاثیر اشعه ی UV قرار می گیرد. مخصوصاً بیان ژنهای کد کننده PAL و Tal (تیروزین آمونیالیاز) و CHS (کالکون سنتاز) که برای بیوسنتز فلاونوئیدها مورد نیاز است (۱۷). فلاونوئیدها بعنوان یک فیلتر در برابر اشعه ی UV عمل کرده و اثرات زیانبار آن را کاهش می دهند.

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. آنتوسیانین ها دو ناحیه ی جذبی مختلف نشان می دهند، یکی بین ۲۹۰ – ۲۷۰ نانومتر و دیگری در ناحیه ۵۵۰ – ۵۰۰ نانومتر است. گزارش شده است که آلکیله شدن آنتوسیانین ها، اسیدهای آلی آروماتیک باعث افزایش جذب آنها در ناحیه ی ۳۲۰ – ۳۱۰ نانومتر می شود (۱۸). شواهد مختلف موجود آنتوسیانین ها را در اپیدرم فوقانی و زیرین مزوفیل گیاهان نشان می دهد ولی مقدار آنها در برگ های جوان و مسن گیاهان متفاوت می باشد بطوریکه در برگهای جوان گیاه انبه مقدار آنتوسیانین ها نسبت به کل ترکیبات فنولی کمتر است (۱۹). گزارش موجود در مورد حضور مقدار زیادی از آنتو سیانین ها در پارانشیم نردبانی گیاه *Syzygium* احتمالاً می تواند نقش آنتوسیانین ها را بعنوان ترکیبات جذب کننده ی UV اثبات نماید و چنانچه لایه ی کوتیکول و اپیدرم نتواند بطور کامل UV تابیده شده را جذب کند بطور یقین فیلتر دیگری مانع از رسیدن این اشعه به اعماق بافت و تولید خسارت بیشتر می شود (۲۱).

٤- کلیاتی در مورد سالیسیلیک اسید

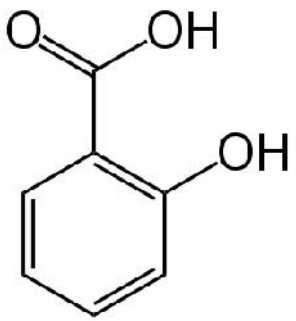
٤-١- تاریخچه

برای اولین بار در سال ۱۸۳۸ سالیسیلیک اسید را از *Salix* استخراج کردند. در طول قرن نوزدهم از گیاهانی مانند *Wintergreen, Spirea* سالیسیلاتهای دیگری مثل متیل استرها و گلوکوزیدها استخراج شده اند که به آسانی به سالیسیلیک اسید تبدیل می شدند (۷۸). سالیسیلیک اسید یا ارتوهیدروکسی بنزوئیک اسید یک ترکیب فنولی است که در طبیعت وجود داشته و در برخی بافت های گیاهی هم به فراوانی یافت می شود (۱۰۴). از این ترکیب برای اولین بار در سال ۱۸۹۸ پرفروش ترین داروی مسکن ساخته شد که آسپرین یا استیل سالیسیلیک اسید نام دارد. در نهایت در سال ۱۹۹۰، راسکین، سالیسیلیک اسید را به عنوان یک تنظیم کننده ی رشد گیاهی معرفی کرد (۳۷). ولی هنوز نقش هورمونی این ترکیب شناخته نشده و برخی مثل Popova آن را به عنوان یک مولکول علامت دهنده معرفی کرده اند (۸۶).

٤-٢- ساختمان سالیسیلیک اسید و مشتقات آن

سالیسیلیک اسید یا ارتوهیدروکسی بنزوئیک اسید و ترکیبات متعلق به آن از مشتقات فنول های گیاهی می باشند که معمولاً در آب و حلال های قطبی آلی بسیار محلولند (۷۲). یکی از آنالوگ های این ترکیب آسپرین یا استیل سالیسیلیک اسید است که پس از جذب به سرعت به سالیسیلیک اسید تبدیل می شود. یکی دیگر از مشتقات سالیسیلیک اسید، متیل سالیسیلیک اسید است که استر نیمه فرار بنزوئیک اسید بوده و این روغن از گیاه *Wintergreen* به دست آمده است. این ترکیب در اتمسفر به سرعت جذب گیاهان شده و در سیگنال های ارتباطی بین سلول ها، گیاهان، حیوانات و میکرو ارگانیسم ها شرکت می کند. همچنین این ترکیب به عنوان یک سیگنال داخل گیاهی باعث افزایش مقاومت گیاه به تنش های شوری، خشکی، سرما و گرما می شود. آنالوگ های دیگر سالیسیلیک اسید، ۲ و ٦ دی هیدروکسی بنزوئیک اسید

(DHBA)، ۲ و ٦ دی کلروایزونیکوتینیک اسید (INA)، ۷ کربوکسی بنزوتیادیازول (BTH) و متوکسی بنزوئیک اسید می باشند که مسیر طبیعی دفاع در گیاهان را فعال می کنند.



شکل ۱-۲- سالیسیلیک اسید

۳-٤- بیوسنتز سالیسیلیک اسید

بیوسنتز اسید سالیسیلیک با تبدیل فنیل آلانین به ترانس سینامیک اسید توسط آنزیم فنیل آلانین آمونیالیاز شروع می شود. مسیرهای متفاوتی در موجودات مختلف جهت سنتز سالیسیلیک اسید شناخته شده است که شامل موارد زیر می باشد:

مسیر ۱: زنجیره ی جانبی سینامیک اسید به بنزوئیک اسید دکربوکسیله شده، سپس با هیدروکسیلاسیون در کربن شماره ی ۲، سالیسیلیک اسید تولید می شود.

مسیر ۲: سینامیک اسید با هیدروکسیلاسیون به ۰ – کوماریک اسید تبدیل می شود. ۰ – کوماریک اسید با دکربوکسیلاسیون به سالیسیلیک اسید تبدیل می شود. احتمالاً آنزیم این واکنش ترانس – سینامات – ٤ هیدروکسیداز می باشد.

امروزه دانشمندان مسیر سومی را هم در باکتری ها شناسایی کرده اند که تحقیقات اخیر انجام این مسیر را در کلروپلاست ها هم ثابت کرده است. به این صورت که سالیسیلیک اسید از مسیر شیکمیک اسید و از طریق کوریسمیک اسید و ایزوکوریسمیک اسید سنتز می شود (۴۲). آنزیم های این مسیر ایزوکوریسمات سنتاز و ایزوکوریسمات پیروات لیاز می باشند که دو مرحله ی سنتز سالیسیلیک اسید را از کوریسمیک اسید کاتالیز می کنند (۲۴).