دانشکده کشاورزی

پایان‌نامه برای دریافت درجه کارشناسی ارشد در رشته

علوم باغبانی-گیاهان دارویی

اثرات نورفرابنفش و اسید سالیسیلیک بر خصوصیات مورفولوژیکی و فیتوشیمیایی مرزه (*Satureja hortensis*)

استاد راهنما:

دکترمحمد فتاحی

استاد مشاور:

دکتر عباس حسنی

تحقیق و نگارش:

عبدالواحد آبرون

۱۳۹۳

تقدیم به

پدر و مادر مهربانم،

آنهاکه وجودم برایشان همه رنج بوده و وجودشان برایم همه عمر،

آنهاکه راستی قامتم، در شکست قامتشان تجلی یافت، در برابر وجود گرامیشان زانوی ادب بر زمین می نهم

وبادلی مملو از عشق و محبت و خضوع بر دستشان بوسه می زنم.

و تقدیم به

خواهران، برادرن و همسر گرامیم

که دعای خیرشان همیشه بدرقه راهم بوده و بی یاری آنان پیمودن این راه ممکن نبود

تقدیر و تشکر

بدین وسیله از تمام کسانی که به نحوی در به انجام رساندن این پایان نامه من را یاری کرده و پشتوانه ی اینجانب بوده اند تشکر می کنم . این را وظیفه خود می دانم که از استاد محترم راهنمای پایان نامه، دکتر محمد فتاحی و استاد مشاور گرامی دکتر عباس حسنی که با راهنمایی ها و دلگرمی هایشان مرا در انجام بهتر پایان نامه یاری نمودند، تشکر می کنم . همچنین از مدیر گروه باغبانی آقای دکتر اصغری و تمام اساتید گروه تشکر می کنم .

از کارشناسان گروه باغبانی، آقای محسنی آذر، خانم مهندس جلیل دوست، خانم مهندس آقایی و بخصوص مهندس رامین حاجی تقی لوکه بسیار به اینجانب لطف داشته اند، نیز تشکر می کنم .

همچنین از راهنمایی های مفید و مؤثر آقای صابر اوستان سپاسگزارم و از دوستان عزیزم آقای دکتر علی اصغر، دکتر فرزاد اله نوری، دکتر آرمان، موسی زکی ئی، صلاح فهیمی نیا، شهاب موسوی، حسنین قاسمی، رضا عرفانی فر، کمال قدرت، ارسلان رشتاک، شهاب ارس زاده، کمال قدرت، فخرالدین یعقوب نژاد، صادق ملکی و تمام دوستان و همکلاسیانم که همیشه یاور من بوده اند، تشکر می کنم .

چکیده

تولید روز افزون ترکیبات آلوده کننده هوا باعث کاهش ضخامت لایه اوزون موجود در اطراف کره زمین می‌شود که عاملی برای افزایش پرتوهای فرا بنفش به سطح زمین است که خود باعث تخریب در سطح موجودات زنده و گیاهان می‌شود. مرزه، یک گیاه دارویی شناخته شده متعلق به خانواده نعناع (Lamiaceae) است و این گیاه در ایران از دیر باز به عنوان گیاه ادویه‌ای استفاده شده و جایگاه ویژه‌ای در طب سنتی دارد. از اثرات با ارزش این گیاه می‌توان خواص ضد اسپاسم، ضد اسهال، آنتی اکسیدان، آرام بخش و ضد میکروبی را اشاره نمود تحقیق حاضر به منظور بررسی امکان افزایش مقاومت گیاهان دارویی در مقابل تنش حاصل از UV با استفاده از اسید سالیسیلیک و همچنین بررسی مکانیسم‌های دفاعی گیاه مرزه به لحاظ مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی و فیتوشیمیایی طرح ریزی شده است. به این منظور آزمایشی در قالب فاکتوریل برپایه طرح کاملا تصادفی با سه سطح UV (صفر، UV-B و UV-C) و دو سطح سالیسیلیک اسید (صفر و ۱میلی مولار) در ۵ تکرار اجرا گردید. نتایج حاصل از این آزمایش نشان داد که کاربرد UV باعث کاهش وزن‌تر و خشک اندام هوایی، ارتفاع گیاه، فاصله میانگره، طول ریشه، سطح برگ و شاخص کلروفیل و همچنین باعث افزایش قطرساقه، تعداد گره، تعدادشاخه جانبی، ضخامت برگ، فلاونوئید کل، فنل‌کل، آنتی‌اکسیدان کل در نمونه‌های تحت تنش شد. در تیمارهایی که اسید سالیسیلیک ۱ میلی‌مولار استفاده شد به دلیل کاهش اثرات ناشی از UV، افزایشی در فاکتورهای رشدی نسبت به تیمارهایی که در معرض تنش بدون سالیسیلیک اسید بودند، مشاهده شد. به نظر می‌رسد جهت افزایش مقاومت درگیاه در مقابل تنش حاصل از UV می‌توان از اسید سالیسیلیک استفاده کرد.

واژه‌های کلیدی: نورفرابنفش، اسید سالیسیلیک، کلروفیل، فلاونوئیدکل، آنتی‌اکسیدان‌کل، مرزه

فصل اول ۱

۱-۱- اهمیت کشت و تولید گیاهان دارویی ۱

۱-۲- مشخصات گیاه‌شناسی ۲

۱-۳- نیاز اکولوژیکی ۲

۱-۴- مواد و عناصر غذایی مورد نیاز ۳

۱-۵- مراقبت و نگهداری ۳

۱-۶- برداشت محصول ۳

۱-۷- تابش‌های اشعه ماورائ بنفش ۴

۱-۸- اهداف پرتوهای فرابنفش ۴

۱-۸-۱- اسیدهای نوکلئیک ۴

۱-۸-۲- پروتئین‌ها ۵

۱-۸-۳- لیپیدها ۵

۱-۸-۴- آمینواسیدها ۶

۱-۸-۵- رنگیزه‌های فتوسنتزی و آنزیم روبیسکو ۶

۱-۸-۶- اثرات مخرب پرتوهای فرابنفش روی ساختار گیاهان و اندامک‌های سلولی ۶

۱-۸-۷- تنظیم‌کننده‌های رشد ۷

۱-۹- حفاظت در مقابل پرتوهای UV ۷

۱-۹-۱- آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (SOD) ۸

۱-۹-۲- آنزیم کاتالاز(CAT) ۸

۱-۹-۳- آنزیم پلی فنل‌اکسیداز(PPO) ۹

۱-۹-۴- آنزیم فنیل آلانین آمونیالیاز(PAL) ۹

۱-۹-۵- اسید آسکوربیک(AA) ۹

۱-۹-۶- فلاونوئید و آنتوسیانین‌ها ۹

۱-۱۰- کلیاتی در مورد اسید سالیسیلیک ۱۰
۱-۱۰-۱- تاریخچه ۱۰
۱-۱۰-۲- خصوصیات شیمیایی و بیوشیمیایی اسید سالیسیلیک..... ۱۰
۱-۱۰-۳- بیوسنتز اسید سالیسیلیک..... ۱۱
۱-۱۰-۴- اثر اسید سالیسیلیک در برطرف نمودن سمیت ناشی از فلزات سنگین..... ۱۳
۱-۱۰-۵- اثر اسید سالیسیلیک در برطرف کردن ناشی از تنش خشکی.....۱۴
۱-۱۰-۶- نقش اسید سالیسیلیک در برطرف کردن تنش ناشی از اشعه‌ی فرابنفش..... ۱۴
۱-۱۰-۷- اثرات فیزیولوژیکی اسید سالیسیلیک بر گیاهان..... ۱۴
۱-۱۰-۸- اسید سالیسیلیک و سایر هورمون‌های گیاهی..... ۱۵
۱-۱۰-۹- اسید سالیسیلیک و مقاومت اکتسابی سیستمیک.....۱۵
۲ **فصل دوم** ۱۶
۲-۱- تنش امواج ماورائ بنفش..... ۱۶
۲-۲- اثرات مستقیم امواج ماورائ بنفش.....۱۶
۲-۳- اثرات غیر مستقیم امواج ماورائ بنفش..... ۱۷
۲-۴- مروری بر مطالعات انجام شده..... ۱۷
۳ **فصل سوم** ۲۳
۳-۱- مواد گیاهی و شرایط رشد..... ۲۲
۳-۲- تیمار دهی UV و اسید سالیسیلیک..... ۲۲
۳-۳- طرح آزمایشی..... ۲۲
۳-۴- زمان‌های اندازه‌گیری..... ۲۳
۳-۵- آزمون‌های مورفولوژیکی..... ۲۳
۳-۵-۱- وزن تر و خشک ریشه و اندام هوایی..... ۲۳
۳-۵-۲- سطح برگ..... ۲۳
۳-۵-۳- ارتفاع گیاه و قطر ساقه..... ۲۳

۳-۵-۴- ضخامت برگ ۲۳
۳-۵-۵- طول ریشه ۲۴
۳-۵-۶- تعداد گره و طول میانگره ۲۴
۳-۶- تغییر رنگ و سنجش این تغییر با سیستم IELAB (رنگ سنج) ۲۴
۳-۷- ویژگی باز جذب آب ۲۴
۳-۸- شاخص‌های فیزیولوژیکی ۲۵
۳-۸-۱- اندازه‌گیری رنگیزه‌های کلروفیل و کاروتنوئید ۲۵
۳-۸-۲- اندازه‌گیری میزان فنل‌کل ۲۵
۳-۸-۳- اندازه‌گیری میزان فلاونوئیدکل ۲۶
۳-۸-۴- اندازه‌گیری میزان آنتی اکسیدان‌کل ۲۶
۴ **فصل چهارم** ۲۷
۴-۱- صفات مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی گیاه ۲۷
۴-۲- وزن تر و خشک شاخساره ۳۱
۴-۳- وزن تر و خشک ریشه ۳۲
۴-۴- ارتفاع گیاه ۳۳
۴-۵- طول ریشه ۳۴
۴-۶- سطح برگ ۳۴
۴-۷- ضخامت برگ ۳۵
۴-۸- طول میانگره ۳۶
۴-۹- تعداد گره در گیاه ۳۷
۴-۱۰- تعداد شاخه جانبی ۳۷
۴-۱۱- قطر ساقه ۳۸
۴-۱۲- محتوای کلروفیل a، b و کل و محتوای کاروتنوئید ۳۹
۴-۱۳- ویژگی باز جذب آب ۴۱

۴-۱۴- تغییر رنگ و سنجش این تغییر با سیستم IELAB (رنگ سنج) ۴۲
۴-۱۵- محتوای فنل‌کل ۴۳
۴-۱۶- محتوای فلاونوئیدکل ۴۴
۴-۱۷- محتوای آنتی‌اکسیدان‌کل ۴۵
۴-۱۸- همبستگی کانونیک ۴۶
۵ **فصل پنجم** ۴۹
۵-۱- وزن تر و خشک ریشه و اندام‌های هوایی ۴۹
۵-۲- طول ریشه و ساقه و میانگره ۵۰
۵-۳- سطح برگ ۵۱
۵-۴- ضخامت برگ و قطر ساقه ۵۱
۵-۵- تعداد گره و تعداد شاخه جانبی ۵۲
۵-۶- رنگیزه‌های فتوسنتزی(کلروفیل و کاروتنوئید) ۵۲
۵-۷- ویژگی بازجذب آب ۵۳
۵-۸- تغییر رنگ و سنجش این تغییر با سیستم IELAB (رنگ سنج) ۵۳
۵-۹- فنل‌کل ۵۴
۵-۱۰- فلاونوئید و آنتی اکسیدان‌کل ۵۵
۵-۱۱- همبستگی کانونیک ۵۵
۵-۱۲- نتیجه‌گیری کلی ۵۷
۵-۱۳- پیشنهادها ۵۸
منابع ۵۹

فهرست جدول‌ها

جدول ۴-۱: تجزیه واریانس اثر تیمارهای مختلف UV، اسید سالیسیلیک و اثر متقابل آنها بر خصوصیات مورفولوژیکی مرزه ۲۸

جدول ۴-۲: تجزیه واریانس اثر تیمارهای مختلف UV، اسید سالیسیلیک و اثر متقابل آنها بر خصوصیات فیزیولوژیکی مرزه ۲۹

جدول ۴-۳: تجزیه واریانس اثر تیمارهای مختلف UV، اسید سالیسیلیک و اثر متقابل آنها بر خصوصیات رنگ مرزه ۳۰

جدول۴-۴: نتایج مقایسه میانگین اثر تیمارهای مختلف UV، اسید سالیسیلیک و اثر متقابل آنها خصوصیات رنگ مرزه ۴۳

جدول ۴- ۵: همبستگی کانونیک بین صفات مورفولوژیک و فیتوشیمیایی ۴۷

جدول ۴- ۶: ادامه همبستگی کانونیک بین صفات مورفولوژیک و فیتوشیمیایی ۴۸

فهرست نمودارها

نمودار ۴-۱: مقایسه میانگین اثرات ساده تیمارهای مختلف بر وزن تر مرزه ۳۱

نمودار ۴-۲: مقایسه میانگین اثر متقابل تیمارهای مختلف بر وزن خشک مرزه ۳۲

نمودار ۴-۳: مقایسه میانگین اثرات ساده UV بر وزن تر ریشه ۳۲

نمودار ۴-۴ مقایسه میانگین اثرات ساده UV بر وزن خشک ریشه ۳۳

نمودار ۴-۵: مقایسه میانگین اثرات ساده تیمارهای مختلف بر ارتفاع گیاه ۳۴

نمودار ۴-۶: مقایسه میانگین اثرات ساده UV بر طول ریشه ۳۴

نمودار ۴-۷: مقایسه میانگین اثرات متقابل UV و اسید سالیسیلیک بر سطح برگ ۳۵

نمودار ۴-۸: مقایسه میانگین اثرات ساده UV بر ضخامت برگ ۳۶

نمودار ۴-۹: مقایسه میانگین اثرات ساده تیمارهای مختلف بر طول میانگره ۳۷

نمودار ۴-۱۰: مقایسه میانگین اثرات ساده UV بر تعداد گره ۳۷

نمودار۴-۱۱: مقایسه میانگین اثرات ساده UV بر تعداد شاخه جانبی ۳۸

نمودار ۴-۱۲: مقایسه میانگین اثرات ساده UV بر قطر ساقه ۳۹

نمودار ۴-۱۳: مقایسه میانگین اثرات متقابل UV و اسید سالیسیلیک بر کلروفیل a ۴۰

نمودار ۴-۱۴: مقایسه میانگین اثرات ساده UV بر کلروفیلb ۴۰

نمودار ۴-۱۵: مقایسه میانگین‌های اثرات ساده UV بر کلروفیل کل ۴۱

نمودار ۴-۱۶: مقایسه میانگین اثرات ساده تیمارهای مختلف بر باز جذب آب ۴۱

نمودار ۴-۱۷: مقایسه میانگین اثرات متقابل UV و اسید سالیسیلیک بر محتوای فنل‌کل ۴۴

نمودار ۴-۱۸: مقایسه میانگین اثرات ساده UV بر محتوای فلاونوئیدکل ۴۵

نمودار ۴-۱۹: مقایسه میانگین اثرات ساده UV بر درصد آنتی‌اکسیدان‌کل ۴۵

فهرست شکل‌ها

شکل۱-۱: فرمول مولکولی اسید سالیسیلیک (۲۰۰۷) ۱۱

شکل ۱-۲: مسیر بیوسنتز اسید سالیسیلیک در گیاهان و باکتری‌ها (۲۰۰۷) ۱۳

شکل ۳-۱: دستگاه اسپکتروفتومتر ۲۶

فصل اول

مقدمه و کلیات

۱-۱- اهمیت کشت و تولید گیاهان دارویی

با توجه به اثرات سوء داروهای شیمیایی یا سنتزی، بشر از اواخر قرن بیستم رویکردی مثبت به سمت جایگزین کردن فرآورده‌های دارویی گیاهان به جای داروهای شیمیایی داشته است. به همین دلیل این گیاهان امروزه از اهمیت اقتصادی بسیار بالایی برخوردار هستند (نجفی، ۱۳۸۰). در فلات ایران به عنوان منشأ و خاستگاه بسیاری از گیاهان دارویی، و با توجه به نیاز صنایع دارویی، غذایی، آرایشی و بهداشتی به گیاهان دارویی به عنوان مواد اولیه، کشت این گیاهان در حال گسترش بوده و در این رابطه انجام تحقیقات و مطالعات بیشتری ضروری است (امید بیگی، الف ۱۳۸۴). رویکرد انسان به فرآورده‌های دارویی گیاهان از دیرینه‌ای بس طولانی برخوردار است ولی از حدود نیمه دوم قرن بیستم مسئله افزایش تولید این فرآورده‌ها در سطح مزارع و باغ‌ها شکل علمی جدیدی به خود گرفت (امید بیگی، الف ۱۳۸۴).

گیاهان دارویی مخازن غنی از متابولیت‌های ثانوی یعنی مواد موثره اساسی بسیاری از داروها می‌باشند. مواد مذکور اگرچه اساساً با هدایت فرایندهای ژنتیکی ساخته می‌شوند، ولی ساخت آنها بطور بارزی تحت تأثیر عوامل محیطی قرار می‌گیرد. به طور کلی نظر بر این است که تولید متابولیت‌های ثانویه برای تنظیم سازگاری گیاه نسبت به عوامل نامساعد و تنش‌های محیط زندگی صورت گرفته و به منزله بکار افتادن نوعی جریان دفاعی در جهت استمرار تعادل فعالیت‌های حیاتی به حساب می‌آید. بنابراین محصولات دارویی بر خلاف همه محصولات کشاورزی که در اوضاع تنشی از نظر مقدار تولید لطمه می‌بینند، ممکن است در این اوضاع تولید شیمیایی بیشتر و در نتیجه بازدهی اقتصادی برتری پیدا کنند (امید بیگی، الف۱۳۸۴). در قرن حاضر تحقیقات گسترده‌ای روی گیاهان دارویی انجام پذیرفته و داروهایی با مواد موثره‌ی طبیعی افق‌های جدیدی را برای

جامعه پزشکان و داروسازان پژوهشگر گشوده است. به طوری که در حال حاضر حدود یک سوم داروهـای مـورد استفاده در جوامع انسانی را داروهایی با منشأ طبیعـی و گیـاهی تشـکیل مـی‌دهـد و مسـاعی جهـانی صـنایع داروسازی بر این متمرکز است که ساخت شیمیایی اقلام مربوط به دو سوم بقیه‌ی داروها نیز به تدریج منسوخ و به منابع گیاهی متکی گردد. از این رو صنایع داروسازی و گروه‌های تحقیقاتی بسیاری از کشورها توجـه خـود را به کشت و تولید گیاهان دارویی معطوف داشته‌اند (امید بیگی، الف۱۳۸۴).

۱-۲- مشخصات گیاه‌شناسی

مرزه گیاهی است علفی یکساله که دارای گونه‌های متعددی است. پیکر رویشی مرزه، حـاوی مـواد مـوثره‌ای است که باعث افزایش فشار خون و مداوای سرفه می‌گردد. این گیاه ضد نفخ بوده و به هضم غذا نیز کمک مـی-کند. اسانس این گیاه خاصیت ضد میکروبی داشته و مانع رشد برخی از باکتری‌ها می‌شود. ریشه مـرزه مسـتقیم بوده و از انشعابات فراوانی برخوردار است. در این گیاه، ساقه چهارگوش و مستقیم است و ارتفـاع آن بـه شـرایط اقلیمی محل رویش بستگی دارد و بین ۳۰ تا ۶۰ سانتی‌متر است. قسمت تحتانی دارای انشعابات بیشتری اسـت. پای ساقه(قسمت تحتانی) چوبی و بندرت کرکدار بوده و رنگ آن سبز تیره است و در مرحله گلدهی، رنـگ آن به بنفش و یا قهوه‌ای روشن تبدیل می‌شود. برگ‌ها نیزه‌ای شکل(باریک و بلند)، متقابـل و دارای دمبـرگ کوتـاه است. طول برگ‌ها ۱ تا ۳ سانتی‌متر و پهنای آن ۲ تا ۴ میلی‌متر است. اسانس در حفره‌هـای مخصوصـی کـه در دو طرف برگ وجود دارند، تشکیل می‌شود(امیدبیگی، ۱۳۸۸).

اسانس مرزه حاوی ترکیب های آنتی اکسیدانی قوی نظیـر کـارواکرول، پـارا-سـیمین، گامـاترپینن، تیمـول، لینالول و بتاکاریوفیلن می‌باشد (Ruberto & Baratta, 2000).

مرزه دوره رویشی متوسطی دارد. از بدو رویش تا تشکیل میوه، ۱۴۰ تا ۱۶۰ روز به طول می‌انجامـد. رویـش بذر به شرایط آب و هوایی منطقه بستگی دارد. در صورت نامساعد بودن شرایط اقلیمی، بذرها پس از ۲۵ تـا ۳۵ روز سبز می‌شوند. گیاه پس از سبز شدن رشد و نمو سریعی به خود می‌گیـرد، بطوریکـه ۷۵ تـا ۸۰ روز پـس از سبز شدن، گیاهان به گل می‌نشینند(امیدبیگی، ۱۳۸۸).

۱-۳- نیاز اکولوژیکی

مرزه برای رشد مناسب به هوای گرم و نور کافی نیاز دارد. بذرها در دمای ۱۲ تا ۱۵ درجه سانتی‌گراد جوانـه می‌زنند، ولی درجه حرارت مطلوب برای جوانه‌زنی آنها بین ۲۰ تا ۲۲ درجه سـانتی‌گـراد اسـت. رشـد مـرزه در

دمای ۱۰ درجه سانتی‌گراد متوقف می‌شود. گزارش شده است که برای رشد مطلوب مرزه، pH خاک در بازه ۵/۶ تا ۸/۲ مناسب است(امیدبیگی، ۱۳۸۸).

۱-۴- مواد و عناصر غذایی مورد نیاز

کودهای حیوانی و شیمیایی، تاثیر مطلوبی در رشد و عملکرد مرزه دارند. در فصل پاییز، هنگام آماده سازی خاک، افزودن ۵۰ تا ۶۰ کیلوگرم در هکتار اکسید فسفر و ۶۰ تا ۸۰ کیلوگرم در هکتار اکسید پتاس در زمینهایی که مرزه کشت می‌شود، ضروری است. همچنین، افزودن ۵۰ تا ۸۰ کیلوگرم در هکتار ازت در فصل بهار، هنگام آماده کردن زمین برای کاشت گیاه، نتایج مطلوبی در افزایش عملکرد خواهد داشت. پس از اولین برداشت محصول، اضافه کردن مقادیر مناسبی ازت به فاصله بین ردیف‌ها، نتایج مطلوبی را در رشد و افزایش عملکرد به همراه دارد(امیدبیگی، ۱۳۸۸).

۱-۵- مراقبت و نگهداری

در صورت متراکم بودن گیاهان در طول ردیف‌ها، آنها را تنک می‌کنند. مرحله ۴ تا ۶ برگی، زمان مناسبی برای این کار است. در طول رویش مرزه، مبارزه با علفهای هرز ضرورت دارد. پس از کاشت بذرها و قبل از رویش، می‌توان از محلول یک درصد گراماکسون برای مبارزه با علف‌های هرز استفاده نمود. برای گسترش سطح برگها و افزایش عملکرد، استفاده از محلول غذایی ۰/۴ درصد واکسال یا محلولهای غذایی مشابه، مفید است(امیدبیگی، ۱۳۸۸).

۱-۶- برداشت محصول

گیاهان در مرحله گلدهی، حاوی حداکثر مقدار اسانس می‌باشند. از این رو برداشت پیکر رویشی آنها از این مرحله آغاز می‌شود. چنانچه کلیه شرایط(اعم از آبیاری، نوع خاک و مواد و عناصر غذایی موجود در خاک و ...) برای رویش گیاه مناسب باشد، می‌توان در طول سال ۲ و یا حتی ۳ بار محصول را برداشت کرد. اولین برداشت همواره در آغاز گلدهی انجام می‌گیرد. دومین برداشت، معمولا اواخر شهریور تا اوایل مهر مناسب می‌باشد. برداشت محصول بوسیله ماشین یا داس صورت می‌گیرد و کلیه اندام‌های هوایی گیاهان برداشت می‌شوند. پس از جمع آوری، محصول را خشک می‌کنند. دمای مناسب برای خشک کردن اندام‌هایی رویشی مرزه، ۴۰ درجه

سانتی‌گراد است. پس از خشک کردن، آنها را تمیز و بسته‌بندی می‌کنند. مقدار عملکرد وزن خشک پیکر رویشی ۱/۴ تا ۱/۸ تن در هکتار است(امیدبیگی، ۱۳۸۸).

۱-۷- تابش‌های اشعه ماوراء بنفش

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

پرتوهای فرابنفش هشت تا نه درصد طیف خورشیدی را شامل می‌شوند و به سه باند(۴۰۰ nm - ۳۲۰ UV-A)، (۲۸۰-۳۲۰nm UV-B) و (۲۰۰ - ۲۸۰nm UV-C) تقسیم می‌شوند که به دلیل داشتن طول موج پایین نسبت به نور مرئی دارای انرژی زیادی برای نفوذ به بافت‌ها می‌باشند. در میان موجودات زنده، گیاهان بدلیل نیاز اجتناب ناپذیرشان به نور برای انجام فتوسنتز، بیشتر تحت تاثیر پرتوهای فرابنفش قرار می‌گیرند و آسیب پذیرتر هستند(Booji *et al*., 2000). اشعه UV-A با وجود اینکه توسط لایه‌ی اوزون جذب نمی‌شود کمترین خسارت را به موجودات زنده وارد می‌سازد. اشعه‌ی UV-B توسط لایه‌ی اوزون جذب شده و از رسیدن آن به سطح زمین جلوگیری می‌شود. کاهش لایه اوزون منجر به افزایش تابش این به سطح زمین شده است. پرتوهای UV-B و UV-C اثرات زیانباری را برای موجودات زنده بخصوص گیاهان در بر دارند(Paul *et al*., 2003).

۱-۸- اهداف پرتوهای فرابنفش

۱-۸-۱- اسیدهای نوکلئیک

درجه آسیب به DNA به شدت نور و طول موج پرتو UV بستگی دارد. پرتوها منجر به تولید بازهای تغییر شکل یافته می‌شوند که از همانندسازی یا نسخه‌برداری صحیح ممانعت می‌کنند. تشکیل دیمرهای پیریمیدینی تیپ سیکلوبوتان(CPDs)، دیمرهای پیریمیدنی ۴ و ۶ پیریمیدین- پیریمیدین، شکستن زنجیره DNA و اتصال DNA به پروتئین و حذف نوکلئوتید در رشته‌های DNA و تخریب بازها از مهمترین تاثیرات اشعه UV

بر DNA می‌باشد. CPDها در اثر جفت شدن پیریمیدین‌های مجاور (CC, CT, TC, TT) در یک زنجیره DNA ایجاد می‌شوند. دیمرهای پیریمیدین به طور مستقیم جهش‌زا نیستند بلکه بعنوان مهارکننده‌های همانندسازی DNA عمل می‌کنند(Jansen *et al.*, 2008). پس اگر یک دیمر پیریمیدین منفرد ترمیم نشده رها شود کافی است تا بیان یک واحد نسخه برداری را کاملا حذف کند. همچنین از آنجائیکه مولکول‌های RNA نیز طیف جذبی مشابه DNA دارند. بنابراین تابش UV می‌تواند به مولکول‌های RNA آسیب برساند و سنتز پروتئین‌ها را تحت تاثیر قرار دهد(Mpoloka, 2010).

۱-۸-۲- پروتئین‌ها

پرتوهای فرابنفش علاوه بر اینکه بطور مستقیم می‌توانند پروتئین‌ها را تخریب کنند، بطور غیر مستقیم نیز از طریق آسیب رساندن به مولکول‌های DNA و RNA در فرآیند سنتز پروتئین اختلال ایجاد کنند(Aladjadjiyan, 2002). غیر فعال شدن پروتئین‌ها و آنزیم‌ها می‌تواند بواسطه‌ی فتولیز مستقیم اسید-های آمینه‌ی آروماتیک یا گروههای دی سولفید ایجاد شود. از جمله مهمترین آنزیم‌هایی که تحت تاثیر این پرتوها قرار می‌گیرند می‌توان به روبیسکو، ATP آز، ویولاگزانتین دی اپوکسیداز و زیر واحدهای پروتئینی فتوسیستم‌های I و II اشاره کرد. علاوه بر این ترکیبات اسکلت سلولی گیاهان نیز ممکن است هدف اشعه UV باشد(Aladjadjiyan, 2007).

۱-۸-۳- لیپیدها

فسفولیپیدها و گلیکولیپیدها بعنوان اجزاء اصلی ساختمان غشای سلول‌های گیاهی محسوب می‌شود و به طور کلی شامل اسیدهای چرب غیراشباعی هستند که در حضور اکسیژن و به واسطه اشعه UV-B پراکسیده شده و به رادیکال‌های پراکسی و هیدروکسی تبدیل می‌شوند(Dai *et al.*, 1997). همچنین پرتوهای UV می‌توانند ترکیب لیپیدهای غشایی کلروپلاست مثل منو و دی گالاکتوزیل دی گلیسرید(DGDG و MGDG) را تغییر دهند و چون برای ثبات ساختمان غشائی کلروپلاست، میزان بالایی از MGDG غیر اشباع لازم است، کاهش در میزان این ترکیبات بواسطه UV، پایداری و ثبات کلروپلاست را تحت تاثیر قرار داده و یکپارچگی غشای کلروپلاست و غشاهای تیلاکوئیدی را کاهش می‌یابد(Wilson *et al.*, 1993).

۱-۸-۴- آمینواسیدها

پروتئین‌ها نسبت به پرتوهای UV و بخصوص UV-B جذب بالایی دارند و این بدلیل جذب این اشعه توسط آمینواسیدهای حلقوی مانند فنیل‌آلانین، تیروزین، تریپتوفان، هیستیدین و اسید آمینه های دی سولفید مانند سیستئین می‌باشد(Hollosy, 2002). پرتوهای فرابنفش باعث تخریب اسیدهای آمینه می‌شوند. جذب این پرتوها توسط اسیدهای آمینه‌ی سیستئین باعث تبدیل پل‌های دی سولفیدی به گروه‌های سولفیدریل واکنش‌گر شده و در نتیجه باعث از بین رفتن آنها و در نهایت ساختمان پروتئین‌ها و تغییر عملکرد آنها خواهد شد(Aladjadjiyan, 2010).

۱-۸-۵- رنگیزه‌های فتوسنتزی و آنزیم روبیسکو

اثر اشعه‌ی UV بر میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی، علاوه بر نوع گونه و رقم، با توجه به فرم رویشی گیاهان متفاوت است. در حالت کلی، واکنش گیاهان در برابر اشعه‌ی UV با کاهش رنگیزه‌های فتوسنتزی(کلروفیل و کاروتنوئید) همراه است. کاهش میزان کلروفیل در اثر تابش اشعه UV بدلیل ممانعت از سنتز آنها و یا تخریب پیش‌سازهای این رنگیزه می‌باشد(Agrawal, 1992). مطالعات نشان می‌دهد افزایش سطح اتیلن در واکنش پراکسیداسیون لیپیدها یکی از دلایل کاهش کلروفیل است زیرا اتیلن تخریب کلروفیل را تشدید می‌کند(Zhang *et al*., 1996). روبیسکو یکی از آنزیم‌های اساسی در تثبیت دی اکسید کربن است که تقریبا ۵۰ درصد پروتئین‌های محلول گیاهان را تشکیل می‌دهد و با افزایش اشعه‌ی UV میزان فعالیت آن کاهش می‌یابد(Greengerg *et al*., 1996). مطالعات انجام شده در شرایط آزمایشگاهی روی کلروپلاست‌های جدا شده نشان داده که تحت اشعه UV فعالیت های فتوشیمیایی در گیاهان C_3 بیش از گیاهان C_4 می‌باشد، این تفاوت بخاطر نوع ترکیبات پلی پپتیدی تیلاکوئیدها در کلروپلاست‌های گیاهان C_3 و گیاهان C_4 می‌باشد(Kulandaivelu *et al*., 1991).

۱-۸-۶- اثرات مخرب پرتوهای فرابنفش روی ساختار گیاهان و اندامک‌های سلولی

تغییرات ایجاد شده در مورفولوژی گیاهان توسط اشعه UV شامل تغییر در شکل برگ، افزایش شاخه‌های جانبی، کاهش میانگره‌ها، کاهش وزن، کاهش سطح برگ، کاهش بسامد روزنه‌ای و کاهش ارتفاع گیاه می‌باشد.

اشعه UV با مهار مستقیم سلولی موجب کاهش رشد، تولیدمثل و فتوسنتز در گیاه می‌شود(Horii *et al.*, 2007). از میان اندامک‌های مهم سلولی کلروپلاست‌ها حساسیت بیشتری را نسبت به اشعه UV نشان می‌دهند. مطالعات نشان داده است که کلروپلاست سلول مزوفیل تحت تیمار اشعه UV اختیار خود را از دست داده و متحمل تغییراتی می‌شود، ساختار گرانا و تیلاکوئیدهای استرومایی تخریب شده و بعضی از تیلاکوئیدها متورم می‌شوند. تغییرات ایجاد شده در میتوکندری، شبکه آندوپلاسمی و دیکتیوزوم‌ها توسط اشعه UV می‌تواند در نتیجه‌ی فعال شدن برخی مسیرهای متابولیکی باشد. یکی از تغییرات مهم فراساختاری که در اثر اشعه UV القاء می‌شود ظهور ترکیبات شبه کریستالی در پراکسی‌زوم‌ها می‌باشد، این کریستال‌ها در اثر افزایش تولید و تجمع آنزیم کاتالاز تشکیل می‌شوند(Hoslly, 2002).

۱-۸-۷- تنظیم‌کننده‌های رشد

پرتوهای فرابنفش می‌توانند با تاثیر روی تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی باعث تغییر در رشد و نمو و همچنین گلدهی گیاهان شوند. تخریب نوری اکسین منجر به تولید ۳- متیلن اکسیندول می‌شود که یک بازدارنده رشد است و در آفتابگردان باعث عدم رشد هیپوکوتیل می‌شود. هورمون اسید آبسیزیک نیز به شدت در ناحیه UV-B جذب دارد و بوسیله فتولیز غیرفعال می‌شود. هورمون اتیلن تحت تاثیر پرتو فرابنفش، بیشتر تولید شده و باعث تغییر رشد طولی به رشد عرضی می‌شود(Bi *et al.*, 1995).

۱-۹- حفاظت در مقابل پرتوهای UV

گیاهان در مقابل اشعه UV مکانیسم‌های مختلف دفاعی از خود بروز می‌دهند. ساختارهایی مانند اپیدرم که معمولاً توسط 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(Mulroy, 1979). مقاومت یا سازش گیاهان به تنش اشعهUV از طریق ترمیم نوری و یا از طریق تخفیف تابش صورت می‌گیرد، سطوح مقاومت به اشعه UV بطور قابل ملاحظه‌ای در بین جنس‌ها، گونه‌ها و حتی واریته‌های نزدیک بهم متفاوت می‌باشد. مکانیسم‌های محافظت در برابر اشعه‌ی UV بصورت ویژه‌ای در بین گیاهانی که در عرض‌های جغرافیایی پایین و مناطق مرتفع رشد می‌کنند قابل توجه است(Bornman *et al.*, 1983). از مهمترین سازوکارهای سازگاری گیاهان در برابر اشعه‌ی UV می‌توان به افزایش ضخامت برگ، کوچک‌تر شدن برگ‌ها،

تغییر زاویه‌ی برگ‌ها نسبت به اشعه‌ی تابشی، افزایش انعکاس از سطح برگ‌ها، افزایش ترکیبات جاذب اشعه‌ی UV مانند فلاونوئیدها، آنتوسیانین‌ها و افزایش کرک‌های انعکاسی اشاره کرد(Mpoloka *et al*., 2007).

همچنین گیاهان یک سری سازوکارهای دفاعی شامل سازوکارهای آنزیمی و غیر آنزیمی در مقابل اشعه‌ی UV دارند که گیاهان را در مقابل این اشعه محافظت می‌کند(Agrawal, 1992).

مکانیسم‌های آنزیمی شامل فعالیت آنزیم‌های فتولیاز، سوپراکسید دسموتاز، آسکوربات پراکسیداز، کاتالاز، گلوتاتیون ردوکتاز و غیره است(Foyer *et al*., 1997). در حفاظت غیر آنزیمی سنتز ترکیباتی چون اسید آسکوربیک، کاروتنوئیدها، فلاونوئیدها، آنتوسیانین‌ها و آلکالوئیدها افزایش می‌یابد(Smirnoff *et al*., 2000).

۱-۹-۱- آنزیم سوپراکسیددیسموتاز(SOD)

این آنزیم اولین خط دفاعی در مقابل تنش‌های اکسایشی است. SODها بطور کلی بر مبنای کوفاکتور فلزی به ۳ گروه تقسیم می‌شوند: ۱- $Cu/Zn\ SOD_s$ که در سیتوزول و کلروپلاست گیاهان یافت می‌شوند. ۲- Mn SODs که در میتوکندری و پراکسی زوم وجود دارند. ۳- Fe SODs که در کلروپلاست گیاهان یافت می‌شوند و در جانوران وجود ندارند(Bowler *et al*., 1992).

SODها باعث تبدیل O^{2-} به پراکسید هیدروژن می‌شوند که در کلروپلاست بوسیله یکسری واکنش اکسیداسیون و احیا که بعنوان الگوی Halliwell- Asada شناخته می‌شود، جاروب می‌شوند. گزارش شده که Fe SOD بطور ویژه در شرایط نور زیاد و اشعه‌ی UV افزایش می‌یابد(Bowler *et al*., 1992).

۱-۹-۲- آنزیم کاتالاز(CAT)

آنزیم‌های کاتالاز جزء آنزیم های هموتترامریک هستند و باعث تجزیه‌ی پراکسید هیدروژن به آب و اکسیژن می‌شوند. کاتالازها بطور عمده در سیتوزول، میتوکندری و پراکسی‌زوم‌ها یافت می‌شوند. CAT و SOD آنزیم-های مهم پاداکساینده‌ای هستند که ROSها را جاروب می‌کنند و از اکسیداسیون لیپیدها، تخریب کلروفیل و آسیب‌های دیواره سلولی جلوگیری می‌کنند(Jithesh *et al*., 2006).