# بررسی تاثیر سطوح مختلف پرتو فرابنفش به همراه کاربرد ترکیبات آنتی اکسیدان بر ویژگی‌های فیزیولوژیک آویشن دنایی (*Thymus daenensis* Celak.)

**علیرضا شایگان‌فر*[۱]، مجید عزیزی[۲]، موسی رسولی[۱]**
[۱*] گروه علوم باغبانی و فضایی سبز، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ملایر، ملایر
[۲] گروه علوم باغبانی و فضایی سبز، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد
*نویسنده مسئول: Shayganfar.a.r@gmail.com

## چکیده

افزایش تابش پرتو فرابنفش B به عنوان یکی از پیامدهای تغییر اقلیم در سال‌های اخیر بشمار می‌رود. امروزه پرتو فرابنفش یک عامل ساده محیطی به شمار نمی‌آید بلکه به عنوان یک الیسیتور و عامل تعدیل کننده که قادر به تعویض و تغییر بین متابولیت‌های اولیه و ثانویه است در نظر گرفته می‌شود. صفات فیزیولوژیک مورد بررسی در این مطالعه شامل گلوتاتیون ردوکتاز، گلوتاتیون پروکسیداز، آسکوربات پروکسیداز، سوپراکساید دیسموتاز، کاتالاز، مالون دآلدئید، پرولین، فنل کل و کلرفیل آ، ب و کل بود. با در نظر گرفتن این نکته که تنش فرابنفش B می‌تواند به عنوان یکی از تنش‌های غالب در رویشگاه طبیعی آویشن دنایی به شمار آید، هدف از این بررسی علاوه بر ارزیابی پاسخ‌های فیزیولوژیک آویشن دنایی تحت سه سطح مختلف فرابنفش (فرابنفش محیط، تنش فرابنفش B و کاهش فرابنفش)، ایجاد شرایطی بود که با کاهش اثرات سوء تغییر سطوح فرابنفش توسط برخی تیمارهای محافظ (ملاتونین، گلوتاتیون و مخلوطی برابر از نانوکود آهن و روی)، بتوان تولید متابولیت ثانویه القا شده توسط پرتو فرابنفش را از طریق کاهش هزینه صرف شده به رفع اثرات نامطلوب، افزایش داد. آزمایش مزرعه‌ای به صورت طرح کرت‌های خرد شده در قالب بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار و در شرایط طبیعی اجرا شد. نتایج نشان داد در سطح فرابنفش محیطی ملاتونین بیشترین تاثیر مثبت را بر فعالیت آنزیم‌ها داشت. در حالی که در سطح فرابنفش B و "فرابنفش کاهش یافته"، تیمار نانوکود بیشتر موثر واقع شد. تیمار گلوتاتیون اثراتی متفاوت در سطوح مختلف فرابنفش و تا حدی یکسان نشان داد.

***کلمات کلیدی:*** پرتو فرابنفش B، گلوتاتیون، ملاتونین، نانوکود

## مقدمه

مدل‌های اقلیمی برای دهه‌های آینده افزایش در میزان پرتو فرابنفش A و B را ه ویژه برای اکوسیستم‌های مدیترانه‌ای به علت تغییرات اقلیمی پیش بینی می‌کنند. این شرایط نوعی تنش طبیعی را برای گیاهان رشد یافته در طبیعت القاء می‌کند (Paoletti, 2005). با این وجود، رهیافت‌های تجربی اخیر پرتو فرابنفش B را بیشتر به عنوان یک تعدیل کننده مطرح می‌سازد تا یک عامل بازدارنده محیطی، و بیان شده که آسیب پرتو فرابنفش محیط احتمالا یک استثنا بوده تا یک قاعده. بنابراین اثر تنظیم کنندگی یا اثر مخرب پرتو فرابنفش B صرفا نوع خاصی بوده و معمولا بستگی به میزان شدت و مدت در معرض بودن و همچنین برهمکنش با دیگر عوامل محیطی دخیل دارد (Zhang and Björn, 2009). گیاهان بواسطه سازوکار تکاملی خود، برای جلوگیری از اثرات نامطلوب پرتو فرابنفش B روش‌های محافظتی مختلفی را کسب کرده‌اند. دو سازوکار عمده حفاظتی عبارتند از: ۱) سپر دفاعی[۱] از طریق ساخت فنل‌های محلول (مانند فلاونوئیدها، آنتوسیانین‌ها و مشتقات هیدروکسی سینامیک اسید)، فنل‌های غیر محلول (مانند لیگنین) و ترکیبات جذب کننده فرابنفش متصل به دیواره سلولی (Clarke and Robinson, 2008)، و همین طور بوسیله بازتاب پرتو فرابنفش B توسط موم‌های اپی‌کوتیل و ساختار کوتیکول (Agati and Tattini, 2010). ۲) حذف و ترجمه دوباره آسیب‌های وارده بر

1- Shielding



IrHC2019

DNA (Britt, 2004). اثر بخشی توان دفاع آنتی‌اکسیدانی و توان تولید متابولیت‌های ثانویه گیاه را می‌توان با کاربرد ترکیبات دارای ماهیت شیمیایی با حالات کارکردی مختلف افزایش داد. کاربرد میزان پایین این ترکیبات می‌تواند با فعال کردن متابولیسم سلولی و بهبود فرآیندهای فیزیولوژیکی گیاه، منجر به افزایش تولید متابولیت‌های ثانویه مرتبط و در نهایت مقاومت گیاه را به عوامل تنشی گوناگون شود.

## مواد و روش‌ها

بوته‌های آویشن دنایی از رویشگاه طبیعی خود از مراتع شهرستان ملایر در اسفند ماه ۱۳۹۴ جمع‌آوری شد به روش تقسیم بوته در مزرعه آزمایشی دانشگاه ملایر کشت شد. آزمایش به صورت کرت‌های خرد شده در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی انجام گرفت. زمین مورد نظر به سه بلوک آزمایشی بر حَسَب چهار تیمار فرابنفش تقسیم شد. سپس این بلوک‌ها به چهار کرت آزمایشی مطابق چهار سطح تیمار آنتی اکسیدان تقسیم گردید و در هر کرت ۳ ردیف آویشن کشت شد. روی قطعه بدون پرتو فرابنفش یک چارچوب فلزی با ابعادی بزرگ‌تر قرار گرفت. سپس فیلترهایی از ورق‌های پلی‌کربنات مقاوم به فرابنفش پرتو فرابنفش روی این فریم قرار نصب شد. گفتنی است پوشش پلی‌کربنات تقریبا تمام پرتو فرابنفش محیطی را فیلتر نموده و از رسیدن آن به گیاهان جلوگیری می‌کند. چارچوب به صورت شیروانی شیب‌دار، در امتداد شمالی-جنوبی در نظر گرفته شد و اطراف چارچوب در هر چهار طرف برای گردش آزادانه هوا باز گذاشته شد. در بلوک با تیمار پرتو فرابنفش B، روی هر کرت دو لامپ فلورسنت پرتو فرابنفش B ۴۰ واتی باند پهن با پیک تابشی ۳۱۳ نانومتر قرار داده شد. لامپ‌ها در یک قاب براق و منعکس کننده نور قرار داده شدند، به طوری که پرتو فرابنفش را روی گیاهان تابانده می‌شد. این قاب‌ها در سمت شمالی هر کرت و در ارتفاع ۵۵ سانتی از مرکز کرت‌ها طوری قرار دادیم که نور بر روی کرت بتابد. مدت تابش پرتو فرابنفش به مدت ۳ ساعت (از ساعت ۱۱ تا ۱۴) در نظر گرفته شد. با تنظیم فاصله لامپ‌ها از گیاهان حدود ۵۵ سانتی‌متر شدت تابش پرتو فرابنفش B با شبیه سازی ٪۲۵ تخریب لایه ازن به میزان $+۵$ kJ $m^{-2}d^{-1}$ در نظر گرفته شد. قطعه پرتو فرابنفش محیط به هیچ تجهیرات خاصی نیاز نداشت. گیاهان همزمان با هر آبیاری و در هر ۱۰ روز یکبار در طول دوره رشد به میزان ۱۰۰ mg/l با آمینواسید ملاتونین، ۵۵۰ mg/l گلوتاتیون و gr/l ۵ با مخلوطی برابر از هر دو نانوکود آهن و روی محلول پاشی شدند. سنجش میزان فعالیت کاتالاز بر اساس میزان تجزیه آب اکسیژنه طبق روش Aebi (۱۹۸۴) انجام گرفت. برای سنجش فعالیت گلوتاتیون ردوکتاز از روش Sgherri و همکاران (۱۹۹۴) استفاده شد. اندازه‌گیری فعالیت گلوتاتیون پروکسیداز از روشHopkins و Tudhope (۱۹۷۳) با T-بوتیل هیدروپروکسیداز به عنوان سوبسترا استفاده شد. اندازه‌گیری فعالیت آسکوربات پروکسیداز به روش Yoshimura و همکاران (۲۰۰۰) به وسیله مانیتورینگ میزان اکسیداسیون آسکوربات در ۲۹۰ نانومتر انجام گرفت. سنجش سوپر اکسید دیسموتاز بر اساس تغییر شیمیائی نیترو بلوتترازولیوم و طبق روش Minami و Yoshikawa (۱۹۷۹) انجام شد. میزان مالون‌دی‌آلدئید با روش Ohkawa و همکاران (۱۹۷۹) سنجش شد. سنجش پرولین با روش Bates (۱۹۷۳) استفاده شد. میزان فنل کل در نمونه ها به وسیله روش تغییر یافته فلین-سیاکالتئو تعیین شد (Pennycooke *et al.*, 2005).

## نتایج و بحث

تاثیر تیمارهای مختلف بر همه صفات فیزیولوژیک بررسی شده در آویشن دنایی معنی‌دار بود. با نگاه به بخش بالای شکل ۱ می‌توان مشاهده کرد که بیشترین میزان فعالیت با اختلاف معنی‌دار در هر ۵ آنزیم مورد نظر مربوط به تیمار ملاتونین در سطح فرابنفش محیط است و کمترین فعالیت این آنزیم‌ها نیز مربوط به تیمارهای بدون آنتی اکسیدان (شاهد) در هر سه سطح فرابنفش و به ویژه فرابنفش B می‌باشد، هرچند اختلاف معنی‌داری نبود. در هر سطح فرابنفش، تقریبا الگوی یکسانی در افزایش و کاهش فعالیت هر ۵ آنزیم مشاهده می‌شود، اما سطوح معنی‌داری در آن‌ها متفاوت بود. اما بین سطوح مختلف فرابنفش الگو یکسانی در فعالیت آنزیم‌ها دیده نشد. بررسی در درون هر سطح از فرابنفش نشان داد که در سطح فرابنفش محیط که به نوعی منعکس کننده تاثیر ترکیبات آنتی‌اکسیدان در شرایط طبیعی است،



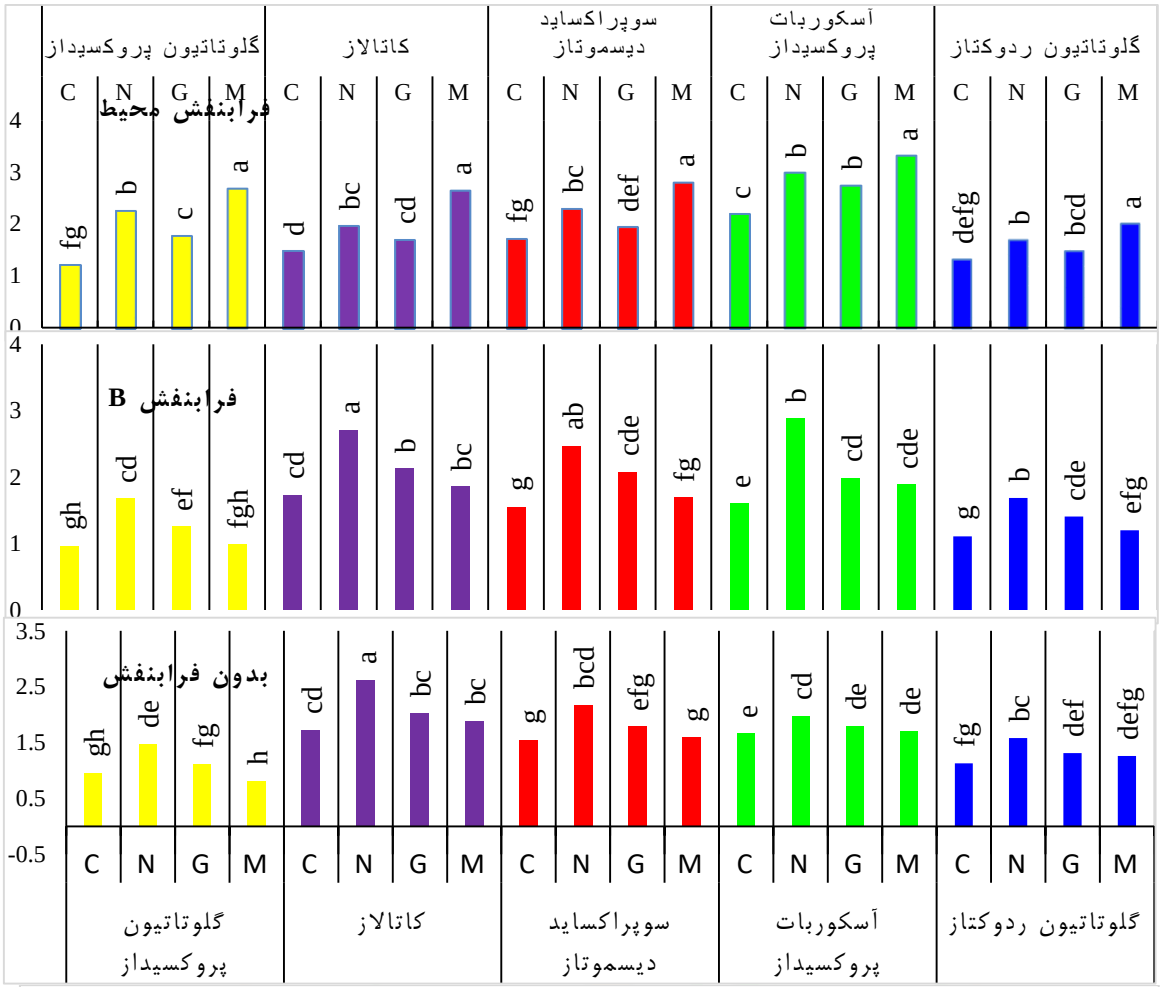
IrHC2019

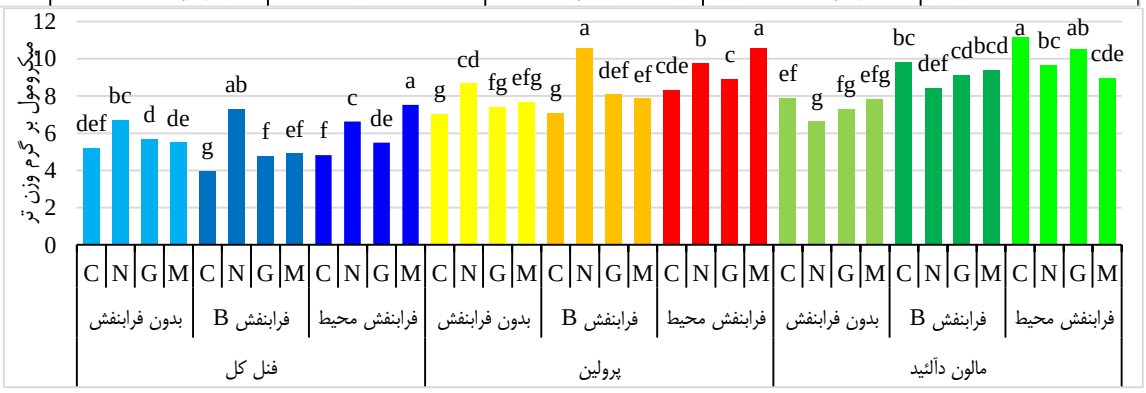
بیشترین تاثیر در افزایش میزان فعالیت هر ۵ آنزیم مربوط به ترکیب ملاتونین است. اما در سطح افزایش یافته فرابنفش B و "فرابنفش کاهش یافته"، این افزایش در فعالیت به طور میانگین در تیمارهای نانوکود مشاهده می‌شود. در بررسی میزان فعالیت آنزیم‌ها نسبت به یکدیگر مشاهده می‌شود که نسبت فعالیت آنزیم گلوتاتیون ردوکتاز و آسکوربات پروکسیداز در همه تیمارها تقریبا نسبت یکسانی بوده است. اما سه آنزیم تحت شرایط تیماری مختلف دارای نسبت‌های متفاوتی نسبت به یکدیگر هستند. در تیمارهایی که آنتی‌اکسیدان دریافت نکرده‌اند می‌توان تاثیر سطوح فرابنفش را صرف نظر از تاثیر تیمارهای آنتی‌اکسیدان بررسی کرد. از این رو مشاهده می‌شود که فعالیت آنزیم آسکوربات پروکسیداز در هر دو سطح فرابنفش B و "فرابنفش کاهش یافته" با کاهش روبرو شده است، در حالی که فعالیت آنزیم کاتالاز البته بطور غیر معنی‌دار افزایش پیدا کرده است. فعالیت آنزیم‌های گلوتاتیون ردوکتاز، سوپراکساید دیسموتاز و گلوتاتیون پروکسیداز نیز با کاهش نسبی و غیر معنی‌دار روبرو شدند. در سطح فرابنفش محیط بعد از تیمار ملاتونین، بیشترین فعالیت آنزیم‌ها در تیمار نانوکود مشاهده شد. به جز فعالیت آنزیم سوپراکساید دیسموتاز که در فرابنفش B افزایش غیر معنی‌دار داشت، سایر آنزیم‌هایی مورد بررسی با کاهش فعالیت در هر دو سطح فرابنفش B و "فرابنفش کاهش یافته" مواجه شدند، به طوری که این کاهش فعالیت در گلوتاتیون پروکسیداز و آسکوربات پروکسیداز معنا دار بود. برخلاف تیمار ملاتونین در فرابنفش محیط، تیمارهای ملاتونین در سطوح فرابنفش B و "فرابنفش کاهش یافته" باعث کاهش معنادار فعالیت هر ۵ آنزیم شد. این کاهش فعالیت در سطوح یاد شده طوری بود که در مقایسه با تیمارهای نانوکود و گلوتاتیون در همان سطح نیز بیشتر بود. بیشترین میزان مالون دآلدئید در تیمار شاهد تحت فرابنفش محیط به دست آمد. به عبارتی هر گونه ترکیب تیماری به نوعی موجب کاهش میزان این ترکیب شده است. در کل، در هر سطح فرابنفش بیشترین میزان مالون دآلدئید در تیمار شاهد و کمترین میزان آن در تیمارهای نانوکود (در سطح فرابنفش محیط در تیمار ملاتونین) مشاهده شد. همچنین، به طور میانگین مقدار مالون دآلدئید نخست در سطح محیطی فرابنفش، سپس در فرابنفش B و پس آن در سطح "فرابنفش کاهش یافته" کمتر بود (شکل ۱ وسط). صرف نظر از سطوح معنی‌داری، میزان پرولین و فنل کل تقریبا دارای الگوی یکسانی بودند. بطوری که بیشترین میزان این ترکیبات در تیمار ملاتونین تحت فرابنفش محیط و سپس در تیمارهای نانوکود در هر سه سطح فرابنفش مشاهده شد. تقریبا برعکس مالون دآلدئید، در هر سطح فرابنفش کمترین میزان هر دو ترکیب پرولین و فنل کل در تیمارهای شاهد مشاهده شد.

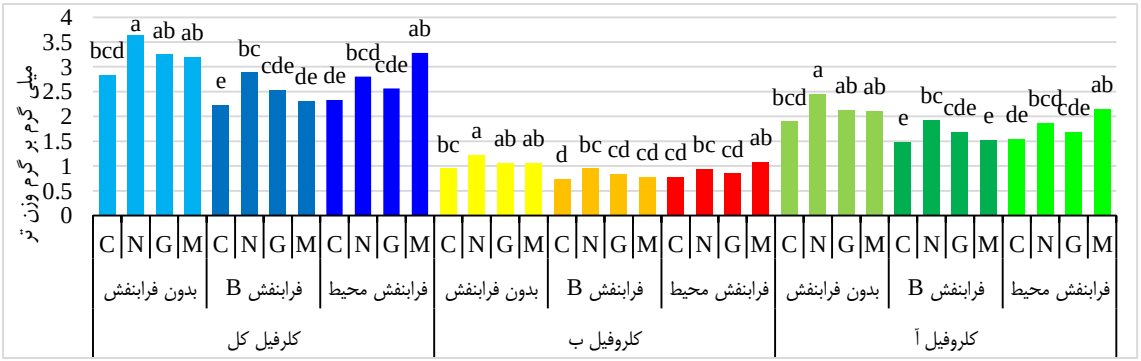
میزان کلروفیل در هر گونه نشان دهنده سلامت دستگاه فتوسنتز و وابسته به شرایط نوری مختلف است. بیشترین میزان کلروفیل (کلروفیل آ، ب و کل) در تیمار نانوکود و تحت شرایط "فرابنفش کاهش یافته" به دست آمد. در حالی که کمترین میزان آن مربوط به تیمار شاهد تحت شرایط افزایش فرابنفش B یافته مشاهده شد. تیمار ملاتونین و پس از آن تیمار نانوکود در شرایط محیطی فرابنفش بیشترین میزان کلروفیل را داشتند. در دو سطح دیگر فرابنفش نیز تیمار نانوکود بود که میزان کلروفیل بیشتری داشت. همچنین کمترین میزان کلروفیل در هر سطح فرابنفش مربوط به تیمار شاهد بود. در کل میزان کلرفیل در سطح کاهش یافته فرابنفش بیشترین و در سطح فرابنفش B کمترین بود (شکل ۱ پایین).

ترکیب شبه هورمون ملاتونین برخی از عملکردهای خود را در گیاه به وسیله سازوکاری مانند آنچه ایندول استیک اسید انجام می‌دهد به انجام می‌رساند (Arnao and Hernández, 2015). ملاتونین در شرایط غیر تنش‌زا (در اینجا شرایط فرابنفش محیط) مانند تنظیم کننده‌های رشد عمل می‌کند و لذا باعث بهبود رشد و افزایش توسعه گیاه خواهد شد. از طرفی احتمالا ملاتونین همانند ترکیب مشابه خود یعنی اکسین تحت تابش فرابنفش دچار تجزیه و تخریب می‌شود. همچنین مقدار تجویز شده ملاتونین و گلوتاتیون نیز ممکن است در ایجاد این تفاوت به ویژه در سطح "فرابنفش کاهش یافته" بی تاثیر نبوده است. افزایش فعالیت آنزیم‌های همه جا حاضر و شاخص کاتالاز و سوپراکساید دیسموتاز در تیمارهای نانوکود (به ویژه تحت تنش تابش فرابنفش B) به احتمال بسیار به تامین دو عنصر آهن و روی توسط تیمار نانوکود بر می‌گردد، که علاوه افزایش میزان سنتز این آنزیم موجب افزایش کارایی آن نیز می‌شود.

IrHC2019




شکل ۱. بالا: بر همکنش تاثیر سطوح مختلف فرابنفش و ترکیبات آنتی‌اکسیدان بر میزان فعالیت آنزیم‌های مورد مطالعه (بالا). میزان

IrHC2019

مالون دآلدئید، پرولین و فنل کل (وسط). میزان کلروفیل آ، کلروفیل ب و کلروفیل کل (پایین). C: شاهد (فاقد ترکیب آنتی‌اکسیدان)، N: نانوکود، G: گلوتاتیون، M: ملاتونین. حروف موجود بر روی ستون‌ها نشانه سطوح معنی‌داری در سطح احتمال $p\leq0.01$، سطوح معنی‌داری برای هر ترکیب که با رنگ‌های مختلف نشان داده شده است به صورت جداگانه محاسبه شده است، بنابراین باید از مقایسه بین ترکیبات مختلف خوداری نمود. واحد اندازه‌گیری آنزیم‌ها: واحد بین‌المللی بر گرم وزن‌تر.

## برخی از منابع

Agati, G., and Tattini, M. 2010. Multiple functional roles of fl avonoids in photoprotection. *New Phytologist, 186: 786–793.*

Arnao, M., and Hernández-Ruiz, J. 2015. Functionsofmelatonin inplants: a review. *Journal of Pineal Research, 59: 133–150.*

Britt, A. B. 2004. Repair of DNA damage induced by solar UV. *Photosynthesis Research, 81: 105–112.*

Clarke, L. J., and Robinson, S. A. 2008. Cell wall-bound ultraviolet-screening compounds explain the high ultraviolet tolerance of the Antarctic moss, Ceratodon purpureus. *New Phytologist, 179: 776–783.*

Paoletti, E. 2005. UV-B and Mediterranean forest species: Direct effects and ecological consequences. *Environmental Pollution, 137: 372-379.*

Zhang, W. J., and Björn, L. O. 2009. The effect of ultraviolet radiation on the accumulation of medicinal compounds in plants. *Fitoterapia, 80: 207–218.*

# Investigating the Effects of Different Levels of Ultraviolet Radiation and Protectant Compounds on the Physiological Characteristics of *Thymus daenensis* Celak.

Alireza Shayganfar[1]*, Majid Azizi[2], Mousa Rasouli[1]

[1*] Department of Horticultural Sciences and Landscape Engineering, Faculty of Agriculture, Malayer University, Malayer, Iran

[2] Department of Horticultural Sciences, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran

*Corresponding Author: Shayganfar.a.r@gmail.com*

**Abstract**

The increase in ultraviolet B UV-B) radiation is considered as one of the consequences of climate change in recent years. Nowadays, ultraviolet radiation, particularly from the UV-B range, is considered a regulating factor triggering a global response in the plants rather than a simple stressing factor. UV-B, as a growth modulator, is able to turn metabolic switches between primary and secondary metabolism. The studied physiological characteristics in this study included glutathione reductase, glutathione peroxidase, ascorbate peroxidase, superoxide dismutase, catalase, malondialdehyde, proline, total phenol and chlorophyll a, b and total. The present study aimed to investigate the physiological responses of *Thymus daenensis* Celak. in their natural habitats under different levels of UV (including ambient UV, elevated UV-B, and excluded solar UV), and to seek conditions that can induce desirable changes using UV (especially UV-B) radiation as an effective elicitor and protectant compounds as antioxidants (including melatonin, glutathione, and nano-fertilizer). The field experiment was conducted by a factorial experiment on base of randomized complete block. The results showed that under ambient UV, melatonin had the positive effect on the activity of studied enzymes. While under elevated UV-B and excluded UV, nano-fertilizer treatment was more effective. Glutathione treatment showed different effects at different UV levels and somewhat alike.

***Keywords*:** Glutathione, Melatonin, Nano-fertilizer, UV-B

IrHC2019