(*Satureja hortensis* L.)پرتو گاما و تأثیر آن بر کلروفیل و کاروتنوئید مرزه تابستانه

ندا تاری وردیزاده[۱]، مهدی محب الدینی*[۱]
[۱]گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی
* نویسنده مسئول: mohebodini@uma.ac.ir

چکیده
مرزه تابستانه با نام علمی .*Satureja hortensis* L یک گیاه دارویی یک‌ساله، ارزشمند و معطر از خانواده Lamiaceae است. این گیاه در سراسر جهان کشت می شود و به‌دلیل فعالیت‌های ضددیابتی، آنتی‌اکسیدانی، ضدمیکروبی و ضد قارچی شناخته شده است. یکی از روش‌های مهم جهت افزایش متابولیت‌های ثانویه در گیاهان استفاده از الیسیتورهای غیرزیستی می‌باشد. که نوع تنش و میزان آن در تولید متابولیت‌های ثانویه تأثیرگذار است. هدف از این مطالعه بررسی تأثیر دزهای مختلف (۰ ، ۲۰ ، ۴۰ ، ۶۰ ، ۸۰ و ۱۰۰ گری) پرتو گاما با منبع کبالت (۶۰ Co) بر خصوصیات بیوشیمیایی (کلروفیل و کاروتنوئید) گیاه مرزه بود. این پژوهش در قالب طرح بلوک کامل تصادفی (RCBD) با سه تکرار انجام شد. نتایج تجزیه واریانس نشان داد که تیمار پرتو گاما بر میزان کلروفیل (a و b) و کاروتنوئید در سطح احتمال ۱% معنی‌دار بود. همچنین، بالاترین میزان کلروفیل (a و b) و کاروتنوئید در تیمار ۱۰۰ گری پرتو گاما به ترتیب ۲۲/۴۰ ، ۴/۷۶ و ۷/۸۶ میلی‌گرم در گرم بافت تازه مشاهده شد. افزایش میزان کلروفیل درگیاهان پرتوتابی‌شده با گاما نسبت به گیاهان شاهد مشاهده شده است که دلیل آن می‌تواند اختلال ایجاد شده در تعادل هورمونی، مقدار آب و فعالیت آنزیم برگی ناشی از پرتودهی با گاما باشد. که این اختلالات می‌تواند منجر به ایجاد تغییرات در ساختار سلولی گیاه، تغییر در فتوسنتز و تجمع ترکیبات فنلی باشد. همچنین در بین اندامک‌های سلولی، کلروپلاست بسیار حساس‌تر نسبت به پرتو گاما می‌باشد. ازاین‌رو افزایش میزان کلروفیل باعث افزایش در میزان فتوسنتز گیاهان پرتوتابی شده می‌شود.

واژه‌های کلیدی: پرتو گاما، کلروفیل، مرزه تابستانه.

مقدمه
مرزه تابستانه (*Satureja hortensis* L.) گیاهی علفی، خودگشن، باارزش و معطر از خانواده نعناعیان، که این جنس در ایران ۱۲ گونه علفی یک‌ساله و چندساله دارد. این گیاه در سراسر جهان در مناطق مدیترانه‌ای، آسیای‌غربی، آفریقای‌شمالی، جزیره‌قناری و آمریکای-جنوبی کشت می‌شود (Sefidkon and Jamzad, 2005) و به دلیل داشتن فعالیت‌های ضددیابت، آنتی‌اکسیدانی (Güllüce *et al.*, 2003)، ضدمیکروبی و ضدقارچ معروف است (Güllüce *et al.*, 2003; Boyraz and Ozcan, 2006). مرزه گیاهی است با شاخه های نازک به رنگ سبز مایل به‌کبود و مخلوط با قرمز و دارای برگ‌های متقابل، نرم و پوشیده از کرک‌های کوتاه، ساقه‌ی چهارگوش و مستقیم و ارتفاع آن به شرایط اقلیمی محل رویش بستگی دارد و بین ۳۰ تا ۶۰ سانتی‌متر است، گل‌های آن نامنظم، دوجنسی و به رنگ بنفش یا صورتی و گاهی به رنگ سفید، دارای بذرهایی به رنگ قهوه‌ای تیره و وزن هزار دانه آن ۰/۵ تا ۰/۶ گرم است. دمای مطلوب برای جوانه‌زنی بذر مرزه ۲۰ تا ۲۲ درجه سانتی‌گراد است و از آنجائیکه مرزه به سرما نیز حساس است مناسب‌ترین زمان برای کاشت این گیاه در اواخر فروردین ماه پس از گذشتن سرمای بهاره می‌باشد. فصل گلدهی آن بین ماه‌های خرداد تا تیر صورت می‌گیرد و زمان مناسب برای جمع‌آوری بذر دراوایل شهریور ماه می‌باشد (Fridley, 2003 ; Suarez *et al.*, 2003). اسانس مرزه از تقطیر با بخار آب از برگ‌ها و سرشاخه‌های برگدار حاصل می‌شود. این اسانس مایعی بی‌رنگ و یا مایل به زرد است و دارای ۳۰ درصد کارواکرول و۲۵ % پاراسیمن است. از مهم‌ترین ترکیبات تشکیل دهنده‌ی اسانس مرزه کارواکرول و تیمول (ترکیبات فنلی) و ترپنوئیدها از جمله پاراسیمن، گاماترپینن، بتاکاریوفیلن را می‌توان نام برد (Ghannadi, 2002). یکی از روش‌های مهم جهت افزایش متابولیت‌های ثانویه در گیاهان استفاده از تنش‌های غیرزیستی می‌باشد. انواع تنش‌های غیرزنده که شامل اشعه (تابش‌های یونیزه)، خشکی، شوری، دما، فلزات سنگین که منجر به بروز تنش در گیاهان می‌شوند. نوع تنش و میزان آن نیز از مهم‌ترین عوامل تعیین‌کننده تأثیرگذار در تولید متابولیت‌های ثانویه هستند (Eilert, 1987). تشعشعات یونیزه، از جمله پرتوهای گاما، به‌عنوان تنش غیرزنده بیشترین استفاده را دارند که می‌توانند با

اصلاح خصوصیات فیزیولوژیکی، باعث جهش در گیاهان شوند. اشعه گاما از پرتوهای الکترومغناطیسی که دارای طول موج کوتاه‌تر ولی انرژی بیشتر از اشعه X می‌باشد، به‌دلیل میزان نفوذ بالا ترجیحاً برای اشعه دادن به بذر یا بافت‌های رویشی استفاده می‌شود و توانایی ایجاد انواع جهش‌ها را در مولکول‌های مهم زیستی دارد (Wiley and Sons, 1995). همچنین تعیین دوز مناسب از پرتو گاما برای گونه‌ها از اهمیت بالایی برخوردار است. تابش گاما در اثر واکنش با اتم‌ها و مولکول‌های مختلف سلول می‌تواند رادیکال‌های آزاد ایجاد کند (Kovacs and Keresztes, 2002). تولید و تجمع بیش از حدگونه‌های فعال اکسیژن (ROS) در سلول‌های گیاهی به نحوی که توسط سیستم آنتی‌اکسیدانتی گیاه قابل رفع نباشد سبب پراکسیداسیون چربی‌ها، تجزیه و اکسید شدن پروتئین‌ها، آسیب به اسیدهای نوکلئیک، DNA و تغییرات اپی‌ژنتیکی همچون تغییر متیلاسیون DNA، تغییرات هیستونی و فعال‌شدن عناصر جابجا شونده در آن‌ها می‌شود (Bednarek and Orłowska, 2020). مطالعه حاضر با هدف ارزیابی نقش پرتوگاما بر خصوصیات بیوشیمیایی گیاه مرزه و تعیین دوز مناسب انجام گرفت.

مواد و روش‌ها

این آزمایش در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه محقق اردبیلی در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار انجام شد. جهت انجام این طرح از بذر گیاه مرزه استفاده شد. جهت پرتودهی، بذور خشک مرزه (با رطوبت ۱۲%) به سازمان انرژی اتمی ایران منتقل شدند و تحت تیمار پرتو گاما با دزهای مختلف (۲۰، ۴۰، ۶۰، ۸۰ و ۱۰۰ گری) با راکتور با منبع کبالت ۶۰ قرار گرفتند. پس از تابش، بذرهای تیمار شده به‌همراه شاهد (بذر تیمار نشده) در مزرعه در کرت‌هایی به طول و عرض یک متر (فاصله ردیف‌های کشت،۲۰ سانتی‌متر و فاصله بوته‌ها در هر ردیف ۱۰ سانتی‌متر) کشت شدند. بهترین دوز پرتوگاما از لحاظ بیوشیمیایی (کلروفیل‌ها، کاروتنوئید و اسانس) ارزیابی شد. تجزیه و تحلیل آماری داده ها با استفاده از نرم افزار SPSS 16 و رسم نمودارها توسط نرم افزار Excel انجام گردید.

روش مطالعه رنگیزه های فتوسنتزی (کلروفیل و کاروتنوئید): بر اساس این روش ۰/۲گرم بافت تازه برگی با ترازو وزن شد و در هاون چینی حاوی ۵ میلی لیتر استون ۸۰ درصد خوب سائیده شد. محتوای هاون روی کاغذ صافی واتمن شماره یک که در قیف شیشه‌ای قرار داشت ریخته و صاف گردید سپس ۵ میلی‌لیتر استن دیگر به آن اضافه شد و حجم محلول به ۱۵ میلی‌لیتر رسانده شد. این محلول حاوی کلروفیل های a ,b و کاروتنوئید است. ۳ میلی‌لیتر از این محلول در کووت ریخته شد و شدت جذب آن در طول موج های۴۷۰، ۶۴۵ و ۶۶۳ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر UV Visible خوانده شد. برای تنظیم دستگاه اسپکتروفتومتر از استون ۸۰ درصد به عنوان بلانک استفاده شد. غلظت این رنگیزه‌ها با استفاده از فرمول‌های زیر محاسبه گردید (Lichtenthaler, 1978).

$$\text{Chl.a (mg g}^{-1}\text{ FW)} = 12.5\ (A663) - 2.79\ (A645)$$

$$\text{Chl.b (mg g}^{-1}\text{ FW)} = 21.51\ (A645) - 5.1\ (A663)$$

$$\text{Car (mg g}^{-1}\text{ FW)} = (1000\ (A470) - 1.8\text{chla} - 85.02\text{chlb}) / 198$$

که در این فرمول Chl. a، Chl. b و Car به‌ترتیب غلظت کلروفیل a، کلروفیل b و کارتنوئید می‌باشد. غلظت برحسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر عصاره گیاهی تعیین گردید.

نتایج و بحث

آنالیز داده‌ها جدول ۱ نشان داد که محتوای کلروفیل a و b و کارتنوئید تحت تأثیر تیمار پرتودهی گاما قرار گرفت. به‌عبارتی اختلاف معنی‌داری ($p\leq 0/01$) بین تیمارها وجود داشت. ولی بین نمونه‌های گرفته شده در هر تکرار اختلافی وجود نداشت. نتایج حاصل از مقایسه میانگین داده ها نشان داد که بیشترین میزان کلروفیل a (۲۲/۴۰ میلی‌گرم بر گرم وزن تر گیاه) و کارتنوئید (۷/۸۶ میلی‌گرم بر گرم وزن‌تر گیاه) در تیمار ۱۰۰ گری پرتوی گاما و کمترین آن در تیمار شاهد مشاهده شد. همچنین، بالاترین محتوای کلروفیل b در تیمار ۱۰۰ گری که با تیمار ۸۰ گری از لحاظ آماری اختلاف معنی‌داری نداشتند، حاصل شد.

جدول ۱- مقایسه‌ی میانگین تأثیر دوزهای مختلف پرتو گاما بر محتوای کلروفیل (b و a) و کارتنوئید.

دز پرتو گاما	کلروفیل a (mg/g)	کلروفیل b (mg/g)	کارتنوئید (mg/g)
۰ گری	۱۰/۴۸ e	۳/۳۶ c	۴/۹۶ f
۲۰ گری	۱۳/۹۲ d	۳/۶۶ c	۵/۴۲ e
۴۰ گری	۱۵/۲۴ d	۳/۷۳ c	۶/۱۲ d
۶۰ گری	۱۷/۱۸ c	۴/۲۴ b	۶/۷۹ c
۸۰ گری	۲۰/۱۶ b	۴/۳۹ ab	۷/۳۷ b
۱۰۰ گری	۲۲/۴۰ a	۴/۷۶ a	۷/۸۶ a

اعداد با حروف مشترک، از لحاظ آماری دارای اختلاف معنی‌دار نمی‌باشند.

در مورد کلروفیل سطح برگ، به گزارش Abu و همکاران (۲۰۰۵) پرتودهی گاما بر روی گیاه پالونیا (میزان دز ۲۰ گری) سبب افزایش سطح کلروفیل a، b و سطح کلی کلروفیل موجود در برگ شد و بدین ترتیب افزایش سطح فتوسنتز را در برداشت. مطالعات انجام شده روی نخود (Desai and Rao, 2014) و ترمس (Khodary and Moussa, 2003) افزایش میزان کلروفیل را طی پرتودهی در دزهای بالا بیان نمودند. همچنین طی آزمایش صورت گرفته روی گیاه داوودی (*Chrysanthemum morifolium*) نیز تغییر در سطح کلروفیل مشاهده شد (Armugam *et al.*, 1977). Borzouei و همکاران (۲۰۱۰ و ۲۰۱۳) و راحمی و همکاران (۱۳۹۴) طی مطالعات انجام داده روی گندم افزایش میزان کلروفیل را طی تیمار با اشعه گاما در دز ۱۰۰ گری ارائه دادند که می‌تواند با تحریک رشدی گیاه تحت تأثیر پرتودهی در ارتباط باشد. بررسی‌های صورت گرفته توسط Rabinson و همکاران (۲۰۰۵) روی گیاه خزه نیز افزایش ۲۷ درصدی کلروفیل را طی پرتودهی با اشعه UV گزارش نمود. کیم و همکاران (۲۰۰۴) نیز طی ارزیابی‌های صورت داده روی فلفل قرمز افزایش قابل توجهی در میزان کلروفیل را در دز ۱۶ گری مشاهده نمودند. گزارش شده دزهای کم با ایجاد تغییر در سیستم هورمون‌های منتقل‌کننده پیام در سلول‌های گیاه و یا فاکتورهای تنش مانند نوسان شدت نور و دما در هنگام رشد، منجر به افزایش میزان کلروفیل و ظرفیت فتوسنتزی و در نهایت برانگیختن رشد گیاه می‌گردند (kim *et al.*, 2004). در این بین کلروپلاست‌ها در برابر پرتوگاما بسیار حساس‌تر از دیگر اندامک‌های سلولی بوده و اثرات قابل ملاحظه‌تری در آن‌ها قابل مشاهده است (Wi *et al.*, 2007) که افزایش رنگدانه در کلروپلاست، در نمونه‌های پرتودیده‌کاملاً مشهود می‌باشد که منجر به افزایش فتوسنتز در گیاه می‌شود. لذا گیاهان نمونه شاهد از نظر جذب ماده غذایی فقیرتر از گیاهان پرتودیده بودند (راحمی و همکاران، ۱۳۹۴). چندین استراتژی برای افزایش عملکرد متابولیت‌های ثانویه استفاده شده است. الیسیتورها به‌عنوان یکی از مؤثرترین رویکردهای بیوتکنولوژی برای افزایش بیوسنتز متابولیت‌های ثانویه یافت شده است. الیسیتورها ممکن است زنده (به عنوان مثال، دیواره سلول‌های باکتریایی و قارچی، عصاره مخمر) یا غیرزنده (پرتو گاما، نور ماورا UV بنفش، استرس اسمزی و فلزات سنگین) باشند، که قادر به تحریک گیاهان جهت افزایش متابولیت‌های ثانویه می‌باشند (Namdeo, 2007). پرتو گاما به عنوان روشی سریع و قابل اعتماد برای تغییر فرایندهای فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاهان شناخته شده است.

منابع

Abu, J.O., Muller, K., Duodu, K.G., Minnar, A. 2005. Gamma irradiation of cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp) flours and pastes. Food Chemistry, 95: 138-147.

Bednarek, P.T., Orłowska, R. 2020. Plant tissue culture environment as a switchkey of (epi) genetic changes. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 140: 245-257.

Borzouei, A., Kafi, M., Sayahi, R., Rabiei, E., Sayad Amin, P. 2013. Biochemical response of two wheat cultivars (*Triticum Aestivum* L.) to gamma radiation. Pakistan Journal of Botany, 45(2): 473-477.

Borzouei, A., Khazaei, M., Naseryan, B., Majdabadi, A. 2010. Effects of gamma radiation on germination and physiological spects of wheat (*Triticum Aestivun* L.) Seedlings. Pakistan Journal of Botany, 42(4): 2281-2290.

Boyraz, N., Ozcan, M. 2006. Inhibition of phytopathogenic fungi by essential oil, hydrosol, ground material and extract of summer savory (*Satureja hortensis* L.) growing wild in Turkey. International Journal of Food Microbiology, 107(3): 238-242.

Desai, A.S., Rao, S. 2014. Effect of Gamma Radiation on Germination and Physiological Aspects of Pigeon pea (*Cajanus Cajan* (L.) Millsp). Seedlings. International Journal of Research in Applied, Natural and Social Sciences, 2(6): 47-52.
Lichenthaler, H.K. 1987. Chlorophyll and carotenoid: pigment of photosynthic biomembranes. Enzymol, 148: 350-382.
Rabinson, S., Turnbull, J.D., Lovelock, C.E. 2005. Impact of changes in natural UV radiation on pigment composition, physiological and morphological characteristics of the Antarctic moss, Grimmia antarctici. faculty of science- papers (Archive). University of Wollongong Research online, 11(3): 476-489.
Sefidkon, F., Jamzad, Z. 2005. Chemical composition of essential oil of three Iranian Satureja species (S. mutica, S. macrantha and S. intermedia). Food Chemistry, 91(1): 1-4.
Wi, S.G., Chung B.Y., Kim, J.S. 2007. Effects of gamma irradiation on morphological changes and biological responses in plants. Micron, 38(6): 553-564.

Gamma radiation and its effects on chlorophylls and carotenoids of summer savory (*Satureja hortensis* L.)

Neda Tariverdizadeha[1], Mehdi Mohebodinia*[1]
[1]Department of Horticultural science, Faculty of Agriculture and Natural resources, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran.
*Corresponding Author:mohebodini@uma.ac.ir

Abstract
Summer savory (*Satureja hortensis* L.) is an annual, valuable medicinal plant and, aromatic of the Lamiaceae family. It is widely cultivated worldwide and is known for having anti-diabetic, antioxidant, anti-microbial and, antifungal activities. One of the important methods to increase secondary metabolites in plants is the use of abiotic stresses. The type of stress and its magnitude are the major factors determining the effects on the production of secondary metabolites. Secondary metabolites are a diverse group of low molecular weight, may often be biosynthesized from primary metabolites, or share substrates of primary metabolite origin. They assist plants to interact with the environment both biotic and abiotic and to establish defense mechanism. The objective of this study was to determine the effects of gamma radiation at different doses (0, 20, 40, 60, 80 and 100 Gy) of radioactive cobalt (^{60}Co) on biochemical characters in summer savory (Satureja hortensis L.). A randomized complete block design (RCBD) was used and data analyses were carried out accordingly. Results of variance showed that the effect of gamma radiation on chlorophyll (a and b) content and carotenoid were significant at 1% probability level. The highest values of chlorophyll (a and b) content and carotenoid in the leaves of seedlings were noted from 100 Gy gamma radiation as 22.40, 4.76 and 7.86 mg/g fresh tissue, respectively.

Keywords: Chlorophyll, Gamma ray, Summer savory.