

تأثیر اشعه UV-B روی برخی شاخص های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی دو رقم از گیاه جو (*Hordeum vulgare* L.) ارقام ماکویی و بهمن

وریشه محمدی، سیاوش حسینی سرقین* و رشید جامعی

گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه ارومیه؛ ارومیه، ایران

sihosseini@yahoo.com

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۱۰/۱۳، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹۶/۰۳/۱۰)

(Received: 02/01/2017, Accepted: 31/05/2017)

چکیده

اشعه UV-B یکی از پرنرژی ترین ترکیبات از نورخورشید است که به زمین می‌رسد و تاثیراتی را روی گیاهان می‌گذارد. اشعه UV به سه باند تقسیم می‌شود: UV-A با طول موج ۳۲۰ تا ۴۰۰ نانومتر (ظاهراً کم خطر)، UV-B با طول موج ۲۸۰ تا ۳۲۰ نانومتر (خطرناک) و UV-C با طول موج ۲۲۰ تا ۲۸۰ نانومتر (مخرب). گیاه جو، با نام علمی (*Hordeum vulgare* L.) از نظر اقتصادی و زراعی حائز اهمیت است. گیاه جو، گیاهی علفی و دارای ساقه ای به ارتفاع ۵۰ تا ۷۰ سانتی متر و حتی یک متر است. در این مطالعه تاثیرات اشعه UV-B روی دو رقم گیاه جو، ماکویی و بهمن، مورد مطالعه قرار گرفت. بذره‌های هر دو رقم پس از جوانه زنی به گلدان‌هایی حاوی ماسه و خاک با نسبت ۳ به ۱ کشت داده شدند. پس از ۱۰ روز کشت گلدان‌های هر رقم به دو دسته تقسیم شدند دسته اول گروه شاهد که در همان شرایط قبل قرار گرفتند و دسته دوم گروه تیمار که به مدت ۲ هفته روزانه یک ساعت تحت تابش اشعه UV-B قرار گرفتند. نتایج نشان داد در هر دو رقم میزان فنل، فلاونوئید، آنتوسیانین و آنزیم‌های پاداکساینده یعنی گایاکول پراکسیداز، آسکوربات پراکسیداز و کاتالاز در گروه تحت تنش نسبت به گروه شاهد افزایش معنی‌دار و میزان DPPH در گیاهان تحت تنش نسبت به گیاهان شاهد کاهش معنی‌داری نشان داده است. این نتایج نشان داد که اشعه UV-B اثرات زیان‌باری بر گیاه جو، ارقام بهمن و ماکویی می‌گذارد.

کلمات کلیدی: گیاه جو، اشعه UV-B، فنل و فلاونوئید و آنزیم‌های پاداکساینده

مقدمه

گیاه جو با نام علمی (*Hordeum vulgare* L.) از راسته گندمیان (گلو مال) و از خانواده گرامینه (گندم) می‌باشد. گیاهان تیره گندم از نظر اقتصادی و پوشش گیاهی زمین از تیره‌های مهم به شمار می‌آیند و بویژه دارای پلی‌پلوئیدهای بی‌شماری تقریباً در تمامی سطح کره‌ی زمین هستند، از بعضی گیاهان این تیره به عنوان غلات استفاده می‌شود برخی نیز مصارف صنعتی و غذایی دارند مانند نیشکر و جو (قه‌رمان، ۱۳۷۵). تنش‌ها به دو صورت زنده و غیرزنده باعث ایجاد تغییراتی در فرآیندهای فیزیولوژیکی طبیعی گیاهان می‌شوند. که موجب آسیب‌دیدگی گیاه و کاهش بهره‌وری و کیفیت محصول می‌شود

(Lichtenthaler, 1996). پرتو فرابنفش (Ultraviolet) یا به اختصار UV دامنه موجی است در گستره امواج مغناطیسی با دامنه طول موجی کوتاه‌تر از نور مرئی، ولی بلندتر از پرتو X. اشعه UV به ۳ باند تقسیم می‌شود: UV-A با طول موج ۳۲۰ تا ۴۰۰ نانومتر (ظاهراً کم خطر)، UV-B با طول موج ۲۸۰ تا ۳۲۰ نانومتر (خطرناک) و UV-C با طول موج ۲۸۰ تا ۳۲۰ نانومتر (مخرب). امروزه فعالیت‌های صنعتی بشر باعث افزایش ترکیبات آلوده کننده‌ی اتمسفر به خصوص ترکیبات هالوژن دار شده است، این ترکیبات باعث تخریب لایه ی ازن می‌شوند. کاهش این لایه باعث افزایش میزان اشعه‌ی UV در سطح زیست کره شده و مشکلاتی را برای موجودات زنده به وجود آورده است (Buchholz et al., 1995). اشعه UV باعث تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن مانند اکسیژن منفرد، آنیون سوپراکسید، پراکسید هیدروژن و رادیکال‌های هیدروکسیل می‌شود این رادیکال‌ها منجر به برهم زدن تعادل متابولیسمی در سلول‌ها می‌شوند (Asada, K. 1999). هدف از این مطالعه تاثیر اشعه‌ی UV-B روی دو رقم بهمن و ماکویی از گیاه جو و بررسی نتایج فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی از جمله اندازه‌گیری میزان فنل کل و فلاونوئید کل، آنتوسیانین، ظرفیت جاروب کنندگی رادیکال‌های DPPH، فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز و گایاکول پراکسیداز می باشد تا نوع پاسخ این دو رقم از گیاه جو به تنش موردنظر و میزان حساسیت این دو رقم به این تنش مشخص گردد.

مواد و روش‌ها

ابتدا بذره‌های دو رقم بهمن و ماکویی که بصورت تصادفی از بین ارقام مختلف جو انتخاب شدند، در شرایط مناسب جوانه زدن به گلدان‌هایی با نسبت ۳ به ۱ ماسه و خاک منتقل شدند. در شرایط نوری، ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی و دمای ۲۱ تا ۳۰ درجه سانتیگراد و شدت نور ۱۵۴ میکرومول بر مترمربع برثانیه به مدت ۱۰ روز کشت داده شدند و یک روز در میان با آب و محلول هوگلند آبیاری شدند. پس از این ۱۰ روز گلدان‌های هر رقم به دو گروه تقسیم شدند یک گروه شاهد در همان شرایط قبلی قرار گرفتند و گروه دوم تیمار روزانه یک ساعت تحت تابش اشعه UV-B قرار می‌گرفتند، پس از ۱۴ روز همه گیاهان برداشت شدند و آزمایشات زیر، روی آنها انجام شد.

اندازه‌گیری ترکیبات جاذب اشعه UV (فنل، فلاونوئید و آنتوسیانین)

اندازه‌گیری آنتوسیانین

برای اندازه‌گیری آنتوسیانین از روش Francis و Fulcki (۱۹۶۸) استفاده شد. ۰/۰۵ گرم از وزن تر برگ به همراه ۱۰ میلی-لیتر متانول اسیدی ساییده شد. سپس عصاره حاصل به مدت ۱۰ دقیقه در ۶۰۰۰ دور سانتریفوژ شده و فاز بالایی آن به مدت ۲۴ ساعت در تاریکی و در دمای آزمایشگاه نگه داری شد. بعد از ۲۴ ساعت جذب هریک از نمونه‌ها در طول موج ۵۵۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شد. برای محاسبه‌ی غلظت آنتوسیانین از ضریب خاموشی ($\text{mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$) $\epsilon=150$ و فرمول زیر استفاده شد.

$$L=1\text{ cm} , C=\text{غلظت} , A=\epsilon CL$$

تعیین میزان فلاونوئید کل

میزان فلاونوئید کل بر مبنای رنگ‌سنجی آلومنیوم و با استفاده از روش Chang و همکاران (۲۰۰۲) تعیین گردید. ۰/۰۵ گرم بافت تر برگ به همراه ۱ میلی‌لیتر آب دیونیزه در هاون ساییده شد. سپس به ۰/۳ میلی‌لیتر از نمونه‌ی ساییده شده ۱/۵ میلی‌لیتر اتانول ۹۵ درصد، ۰/۱ میلی‌لیتر آلومنیوم کلراید ۱۰ درصد، ۰/۱ میلی‌لیتر استات پتاسیم ۱ مولار و ۲/۸ میلی‌لیتر آب دیونیزه اضافه شد. مخلوط حاصل به مدت ۴۵ دقیقه در دمای آزمایشگاه آنکوبه گردید. پس از این مدت زمان جذب هر یک از نمونه‌ها در طول موج ۴۱۵ نانومتر خوانده شد.

تعیین میزان فنل کل

برای استخراج عصاره ۰/۳ گرم از بافت تر برگ به همراه ۱۰ میلی‌لیتر متانول ۸۰ درصد در هاون ساییده شد. مخلوط حاصل به مدت ۱۵ دقیقه در ۱۰۰۰۰ دور در دمای ۴ درجه‌ی سانتی‌گراد سانتریفوژ شد (Horii *et al.*, 2007). برای تعیین میزان فنل کل از روش Marinova و همکاران (۲۰۰۵) استفاده گردید. به ۱ میلی‌لیتر از عصاره استخراجی ۹ میلی‌لیتر آب مقطر اضافه شد. در ادامه ۱ میلی‌لیتر معرف فولین سیوکالتنو نیز اضافه و مخلوط به هم زده شد. بعد از ۵ دقیقه ۱۰ میلی‌لیتر کربنات سدیم ۷ درصد اضافه و به مدت ۹۰ دقیقه در دمای آزمایشگاه آنکوبه گردید. بعد از مدت زمان یادشده جذب هر یک از نمونه‌ها در طول موج ۷۵۰ نانومتر خوانده شد.

ظرفیت جاروب کنندگی رادیکال‌های DPPH

فعالیت جاروب‌کنندگی رادیکال پایدار DPPH (۲ و ۲- دی فنیل ۱- پیکریل هیدرازیل) طبق روش (Bucar و Burits ۲۰۰۰) با کمی تغییر تعیین گردید. ۵۰ میکرولیتر از عصاره با ۲ میلی‌لیتر محلول متانولی DPPH (۰/۰۰۴ درصد) مخلوط شد. جذب مخلوط بعد از ۳۰ دقیقه آنکوباسیون (در دمای اتاق و تاریکی) در طول موج ۵۱۷ نانومتر خوانده شد. درصد فعالیت جاروب‌کنندگی عصاره‌ها طبق فرمول زیر محاسبه گردید.

$$\text{DPPH} = (1 - A_{\text{Sample}} / A_{\text{Blank}}) \times 100$$

A_{Sample} = جذب مخلوط واکنش حاوی عصاره

A_{Sample} = جذب مخلوط واکنش بدون عصاره

سنجش فعالیت آنزیم‌ها

استخراج عصاره‌ی گیاهی برای سنجش فعالیت آسکوربات پراکسیداز، گایاکول پراکسیداز، کاتالاز و گلوکاتایون ردوکتاز برای استخراج عصاره‌ی گیاهی از روش (Saltiveit and Kang, 2002) با اندکی تغییرات استفاده شد. ۰/۵ گرم از بافت تر ساقه به همراه ۳ میلی‌لیتر بافر استخراج تریس-اسید کلریدریک ۵۰ میلی‌مولار (pH=۷) محتوی (۳ میلی‌مولار MgCl_2 و ۱ میلی‌مولار EDTA) در هاون سرد ساییده شد. بافر استخراجی برای آنزیم آسکوربات پراکسیداز محتوی (۰/۲ میلی‌مولار آسکوربیک اسید) نیز بود. هم‌وزنات حاصل به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۴ درجه‌ی سانتی‌گراد با سرعت ۵۰۰۰ دور

سانتریفوژ شد. محلول رویی برای سنجش فعالیت آنزیمی آسکوربات پراکسیداز، گایاکول پراکسیداز و کاتالاز مورد استفاده قرار گرفت.

سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT)

سنجش فعالیت آنزیم CAT با استفاده از روش Aebi (۱۹۸۴) انجام شد. مخلوط واکنش شامل ۲/۵ میلی لیتر بافر فسفات ۵۰ میلی مولار (PH=۷) ۰/۲ میلی لیتر H_2O_2 ۱ درصد و ۰/۳ میلی لیتر عصاره ی استخراجی بود. فعالیت آنزیم CAT به صورت کاهش در جذب طی ۱ دقیقه در طول موج ۲۴۰ نانومتر محاسبه شد. برای سنجش میزان فعالیت از ضریب خاموشی ($0.0436 \text{ Mm. cm}^{-1}$) و فرمول زیر استفاده شد.

$$\text{Units (mM/min)} = \frac{\frac{dOD}{\text{min (slope)}} \times \text{Vol. of assay}}{\text{Extinction coefficient}}$$

سنجش فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز (APX)

سنجش فعالیت APX با استفاده از روش (Nakano and Asada, 1981) انجام شد. مخلوط واکنش شامل ۲/۵ میلی لیتر بافر فسفات ۵۰ میلی مولار (pH=۷) محتوی (EDTA) ۰/۱ میلی مولار و آسکوربات سدیم ۱ میلی مولار، ۰/۲ میلی لیتر H_2O_2 ۱ درصد و ۰/۱ میلی لیتر عصاره استخراجی بود. فعالیت APX به صورت کاهش در جذب طی ۱ دقیقه در طول موج ۲۴۰ نانومتر محاسبه شد. برای سنجش میزان فعالیت از ضریب خاموشی ($2/8 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) و فرمول ذکر شده استفاده شد.

سنجش فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز (GPX)

سنجش فعالیت آنزیم GPX با استفاده از روش Upadhyaya و همکاران (۱۹۸۵) انجام شد. مخلوط واکنش شامل ۲/۵ میلی لیتر بافر فسفات ۵۰ میلی مولار (PH=۷) ۱ میلی لیتر گایاکول ۱ درصد، ۱ میلی لیتر H_2O_2 ۱ درصد و ۰/۱ میلی لیتر عصاره ی استخراجی بود. فعالیت GPX به صورت افزایش در جذب طی ۱ دقیقه در طول موج ۴۲۰ نانومتر محاسبه شد. برای سنجش میزان فعالیت از ضریب خاموشی ($26/6 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) و فرمول ذکر شده استفاده شد.

آنالیز آماری:

برای کاهش خطا، نمونه برداری و آزمایش‌ها با ۳ تکرار انجام شد. تجزیه آماری در قالب بلوک‌های کاملاً تصادفی و با استفاده از نرم‌افزار کامپیوتری SPSS، سری ۲۱، طی مسیر Anova one way و آزمون Tukey در سطح احتمال آماری $P < 0.05$ انجام گرفت. مقایسه میانگین‌ها با آزمون در سطح احتمال آماری ۵ درصد انجام گرفت. بعضی شکلها با SPSS و بعضی شکلها با Excel سری ۲۰۱۰ رسم شدن. برای بیان درصد کاهش و افزایش شاخص‌های مورد سنجش، از فرمول زیر استفاده شد.

$$100 \times \text{شاهد} / \text{تیمار} - \text{شاهد} = \text{درصد کاهش}$$

$$100 \times \text{تیمار} / \text{شاهد} - \text{تیمار} = \text{درصد افزایش}$$

نتایج و بحث

ترکیبات جاذب اشعه UV (فنل، فلاونوئید و آنتوسیانین)

در این تحقیق مشخص شد که میزان ترکیبات جاذب اشعه UV از جمله فنل، فلاونوئید و آنتوسیانین در نمونه‌های تحت تیمار با اشعه UV-B نسبت به نمونه‌های شاهد در هر دو رقم بهمن و ماکویی افزایش نشان داده‌اند. در رقم ماکویی افزایش در میزان فنل کل ۱۴/۳۲ درصد و در رقم بهمن ۱۵/۴۶ درصد، میزان فلاونوئید کل در رقم ماکویی ۱۵/۶۳ درصد و در رقم بهمن ۱۶/۳۹ درصد افزایش یافته است و میزان آنتوسیانین در رقم ماکویی ۱۲/۱۲ درصد و در رقم بهمن ۱۲/۹۰ درصد افزایش نشان داد. میزان این افزایش در هر دو رقم بهمن و ماکویی معنی‌دار بود (شکل ۱).

در مطالعه‌ای Mustafa و همکاران (۲۰۰۸) افزایش در میزان فنل کل در میوه توت‌فرنگی تحت تاثیر اشعه‌ی UV گزارش کرده‌اند، آنها علت این افزایش را نقش پاداکسایشی فنل‌ها اعلام کرده‌اند. با این وجود کاهش در میزان فنل در برخی از گیاهان مانند گوجه‌فرنگی و دانه‌ریست *Cassia* تحت تاثیر اشعه UV مشاهده شده است (Agrawal et al., 2007). در مطالعه Costa و همکاران در سال ۲۰۰۶ افزایش ترکیبات فنلی از جمله فلاونوئید را در نوعی گل کلم گزارش کرده‌اند. حفاظت DNA از اثرات تخریبی اشعه‌ی UV توسط آنتوسیانین‌های با وزن مولکولی زیاد و آبی رنگ نیز گزارش شده است و گزارشاتمی وجود دارد که آنتوسیانین‌ها در آخرین نقطه‌ی بیوسنتز فلاونوئیدها ساخته می‌شوند (Hollosoy, 2002) و گزارش‌ها نشان می‌دهد که مقدار و فعالیت آنزیم کالکون سنتاز که نقش اساسی در بیوسنتز فلاونوئیدها را دارد تحت تاثیر پرتوهای فرابنفش افزایش می‌یابد (Sakihama et al., 2002). در تحقیق حاضر نیز مشخص شد که گیاهان تحت تاثیر اشعه‌ی UV-B نسبت به نمونه‌های شاهد در هر دو رقم جو، افزایش معنی‌دار میزان ترکیبات جاذب اشعه‌ی UV، فنل، فلاونوئید و آنتوسیانین را در نمونه‌های تیماریافته نسبت به نمونه‌های شاهد نشان دادند.

میزان DPPH

نتایج حاصل از آنالیز داده‌ها نشان داد که در هر دو رقم جو، ماکویی و بهمن و در ریشه و اندام هوایی میزان DPPH در نمونه‌های تحت تیمار نسبت به نمونه‌های شاهد کاهش نشان داده است. میزان DPPH در اندام هوایی در رقم ماکویی ۳۵/۲۷ درصد و در رقم بهمن ۲۹/۱۱ درصد کاهش نشان داد و در ریشه میزان این کاهش در رقم ماکویی ۵۵/۴۵ درصد و در رقم بهمن ۴۴/۱۱ درصد مشاهده شد (شکل ۲).

در مطالعه‌ای Sreenivasulu و همکاران (۲۰۰۰) گزارش کرده‌اند که میزان آسیب اکسیداتیو در گیاهانی که در معرض تنش‌های غیرزیستی قرار می‌گیرند، توسط ظرفیت سامانه پاداکسایشی یا ظرفیت جاروب کنندگی رادیکال‌های آزاد آن کنترل می‌شود. نقش کلیدی ترکیب‌های فنلی به عنوان حذف‌کننده‌های رادیکال‌های آزاد در چندین مقاله گزارش شده، لازم به ذکر است که ترکیبات فنلی به صورت مؤثری به عنوان دهنده‌ی هیدروژن عمل نموده به عنوان یک آنتی‌اکسیدان مؤثر عمل می‌کنند (Golluce et al., 2007). در تحقیق حاضر میزان DPPH در نمونه‌های تحت تنش UV-B نسبت به نمونه‌های شاهد در ریشه و اندام هوایی در هر دو رقم ماکویی و بهمن کاهش پیدا کرده است. دلیل کاهش میزان DPPH در شرایط تنش این است که چون میزان ترکیباتی مانند آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و ترکیبات فنلی در شرایط تنش زیاد می‌شود و این ترکیبات باعث جاروب کنندگی DPPH می‌شوند در نتیجه میزان DPPH کاهش می‌یابد.

میزان فعالیت آنزیم‌های پاداکساینده

میزان فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز (GPX)، آسکوربات پراکسیداز (APX) و کاتالاز (CAT)

با آنالیز داده‌های حاصل از این آزمایش مشخص شد که میزان آنزیم‌های گایاکول پراکسیداز، آسکوربات پراکسیداز و کاتالاز تحت تاثیر اشعه‌ی UV-B در اندام هوایی و ریشه هر دو رقم بهمن و ماکویی افزایش یافته است. میزان افزایش آنزیم گایاکول پراکسیداز در اندام هوایی رقم ماکویی ۶۶/۶۶ درصد و در رقم بهمن ۳۵/۶۳ درصد بود. در ریشه در رقم ماکویی ۱۴/۴۳ درصد و در رقم بهمن ۷/۳۵ درصد افزایش مشاهده شد (شکل ۳). میزان افزایش آنزیم آسکوربات پراکسیداز در اندام هوایی در رقم ماکویی ۲۱/۷۰ درصد و در رقم بهمن ۵۳/۸۴ درصد مشاهده شد. در ریشه در رقم ماکویی ۳۶/۳۶ درصد و در رقم بهمن ۲۶/۹۲ درصد افزایش مشاهده شد (شکل ۴). میزان افزایش آنزیم کاتالاز در اندام هوایی در رقم ماکویی ۳۰/۱۸ درصد و در رقم بهمن ۲۶/۵۳ درصد بود. در ریشه در رقم ماکویی کاتالاز ۴۵/۴۳ درصد افزایش و در رقم بهمن ۲۸/۶۸ درصد افزایش نشان داد (شکل ۵). میزان افزایش فعالیت هر سه آنزیم هم در ریشه و هم در اندام هوایی در هر دو رقم ماکویی و بهمن معنی‌دار بود.

افزایش در فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان نشان می‌دهد که گیاهان در معرض اشعه‌ی UV از طریق فعال کردن سیستم دفاعی آنتی اکسیدان، سطح گونه‌های فعال اکسیژن درون‌زا را کنترل کرده و سلول را از آسیب‌های ناشی از آن محافظت می‌کنند (Santos *et al.*, 2004). آنزیم GPX یکی از مهمترین پراکسیدازها می‌باشد، که براساس عملکرد فیزیولوژیکی و تفاوت در توالی، از APX می‌تواند تشخیص داده شود. GPX در تجزیه ایندول 3 استیک اسید (IAA) بیوستنز لیگنین و محافظت در برابر اثرات زیانبار H_2O_2 نقش مهمی دارد. GPX عمدتاً از ترکیبات آروماتیک همانند گایاکول و پیراگالول الکترون می‌گیرد (Gill and Tuteja, 2010). یکی از آنزیم‌های سیستم پاد اکسایشی آنزیم APX می‌باشد که باعث تبدیل پراکسید هیدروژن به آب می‌گردد. این آنزیم از اسید آسکوربیک (AA) به عنوان دهنده‌ی الکترون در اولین مرحله‌ی چرخه‌ی گلوتاتیون-آسکوربات استفاده می‌کند. افزایش فعالیت آنزیم APX تحت تاثیر اشعه‌ی UV دانه رست‌های بادام زمینی (Ke-Tang *et al.*, 2010) مشاهده شده است. بررسی تغییرات بیوشیمیایی و آنزیمی در برگ‌های گیاهان سیب زمینی رشد یافته در معرض پرتو UV-B نشان داد که قرار گیری در معرض این پرتو موجب افزایش فعالیت آنزیم GPX و APX شده است (Hernan *et al.*, 2002). افزایش فعالیت آنزیم GPX تحت تاثیر اشعه‌ی UV در نخود (Katerova, 2009) و بادام زمینی (Ke-Tang *et al.*, 2010) مشاهده شد. همچنین در مطالعه‌ی Santos و همکاران (۲۰۰۴) بیان کرده‌اند که افزایش در فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان نشان می‌دهد که گیاهان در معرض اشعه‌ی UV از طریق فعال کردن سیستم دفاعی آنتی اکسیدان، سطح گونه‌های فعال اکسیژن درون‌زا را کنترل کرده و سلول را از آسیب‌های ناشی از آن محافظت می‌کنند، افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان در معرض اشعه‌ی UV قبلاً نیز در تعدادی از گونه‌ها گزارش شده است همچنین افزایش در فعالیت آنزیم‌های گایاکول پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز را در گیاه سیب‌زمینی گزارش کرده‌اند. در مطالعه‌ی دیگر Costa و همکاران (۲۰۰۲) گزارش کرده‌اند، در آفتابگردان میزان فعالیت آسکوربات پراکسیداز تغییری پیدا نکرده است ولی آنزیم گایاکول پراکسیداز افزایش یافته است. CAT اولین آنزیم پاداکساینده است که کشف شده است آنزیم‌های CAT به صورت هموترامریک هستند و باعث تجزیه‌ی پراکسید هیدروژن به آب و اکسیژن می‌شوند. CAT ها به طور عمده در سیتوزول، میتوکندری و پراکسی‌زوم‌ها یافت می‌شوند. میزان فعالیت آنزیم CAT تحت تاثیر اشعه‌ی UV در گیاهان مختلف متفاوت می‌باشد، مثلاً در گیاه *Phyllanthus amarus* (Indrajith and Ravindran, 2009) میزان فعالیت

CAT کاهش یافته است و در دانه‌رست *Cassia* (Agrawal, 2007)، دانه‌رست بادام زمینی (Ke-Tang *et al.*, 2010) افزایش یافته است. نتایج با نتایج تحقیق حاضر همخوانی دارد و در این تحقیق مشاهده شد که در نمونه‌های تحت تاثیر UV-B میزان آنزیم‌های گایاکول پراکسیداز، آسکوربات پراکسیداز و کاتالاز افزایش معنی‌داری نسبت به نمونه‌های شاهد نشان داده است و این افزایش هم در ریشه و هم در اندام هوایی، در هر دو رقم ماکویی و بهمن معنی‌دار بوده است.

نتیجه گیری کلی:

گیاهان تحت تاثیر اشعه UV-B دچار تنش می‌شوند و در برابر این تنش مقاومت می‌کنند و تغییراتی در گیاه رخ می‌دهد. در گیاه جو در هر دو رقم ماکویی و بهمن میزان ترکیبات جاذب اشعه UV و همچنین آنزیم‌های پاداکساینده در گیاهان تحت تابش اشعه UV-B نسبت به گیاهان شاهد افزایش معنی‌دار و میزان DPPH کاهش معنی‌داری نشان داد اما بین دو رقم از لحاظ مقاوم و حساس بودن یک رقم نسبت به دیگری تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد.

منابع:

- قهرمان، ا. (۱۳۷۵) کورموفیت های ایران. انتشارات دانشگاه تهران. جلد چهارم. ص ۱۰۱ تا ۱۴۰.
- Aebi, H. (1984). Catalase *in Vitro*. *Methods in Enzymology* 105: 121-126.
- Agrawal, S.B. (2007). Increased antioxidant activity in *Cassia* seedlings under UV-B radiation. *Biologia Plantarum* 51(1): 157-160.
- Asada, K. (1999). The water-water cycle in chloroplasts: Scavenging of active oxygen and dissipation of excess photons. *Journal of Plant Physiology* 50: 601-639.
- Buchholz, G., Ehmann, B. and Wellman, E. (1995). Ultraviolet light inhibition of phytochrome induced flavonoid biosynthesis and DNA photolyase formation in mustard cotyledons (*Synapis alba* L.). *Journal of Plant Physiology* 108: 227-234.
- Chang, C.C. Yang, M.H., Wen, H.M. and Chern, J.C. (2002). Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. *Journal of Food and Drug Analysis* 10:178-182.
- 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.
- Costa, L., Vicente, A.R., Civello, P.M., Chaves, A.R. and Martinez, G.A. (2006). UV-C Treatment Delays Postharvest Senescence in Broccoli florets. *Journal of Biology and Technology*. 39(2): 204-210
- Fulcki, T. and Francis, F.J. (1968). Quantitative method for anthocyanins extraction and determination of total anthocyanin in cranberries. *Journal of Food Science* 33:72-77.
- Gill, S.S., Tuteja, N. (2010). Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant Physiology and Biochemistry* 48(12): 909-930.
- Golluce., M, Sahin., F, Sokmen., M, Ozer., H, Daferea., D, Sokmen., N, Polissicu., M, Adiguzel., A and Ozken., H. (2007) Antimicrobial and antioxidant properties of the essential from *Mentha longifolia* L. ssp. *longifolia*. *Food Chem.* 103: 1449-1456.

- Hernan, Costa., Susana, M and Gallego, Mari´a, L.T. (2002). Effect of UV-B radiation on antioxidant defense system in sunflower cotyledons. *Plant Science* 162: 939 -945.
- Hollosoy, F. (2002). Effects of ultraviolet radiation on plant cells. *Micron* 33: 179-197.
- Horii, A., Mccup. P and Shetty, K.(2007). Enhancement of seed vigour following insecticide and phenolic elicitor treatment. *Bioresour Technology* 98: 623-632.
- Indrajith, A. and Ravindran, K.C. (2009). Antioxidant potential of iindian medicinal plant *Phyllanthus Amarus* L. Uunder supplementary UV-B radiation. *Science and Technology* 1(1): 034– 042.
- Kang, H.M and Saltveit, M.E. (2002). Chilling tolerance of maize, cucumber and rice seedling(Leaves and Roots) and differentially affected by salicylic acid. *Physiologia Plantarum* 115: 577-576.
- Katerova, Z. (2009). Prolonged influence of short pulses ultraviolet-C radiation on young pea plant does not alter important antioxidant defense enzyme activities in young leaves. *Journal of Plant Physiology* 35 (3–4):134–139.
- Ke -Tang, J., Zhan, H and Yang, W.D.H. (2010). Changes of resveratrol and antioxidant enzymes during UV-Induced plant defense response in peanut seedling s. *Journal of Plant Physiology* 167: 95- 102.
- Marinova, D., Ribarova, F and Atanassova, M. (2005). Total phenolics and total flavonoids in Bulgaria fruits and vegetables. *The University of Chemical Technology and Metallurgy* 40: 255-260.
- Mustafa, E.A.C., Shiow, Y.W and Chien, Y.W.A. (2008). Effect of UV treatment on antioxidant capacity, antioxidant enzyme activity and decay in strawberry fruit. *Journal of Postharvest Biology and Technology* 48 (2008): 163–171.
- Nakano, Y and Asada, K. (1981). Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. *Plant Cell Physiol.* 22: 867-880.
- Santos, I., Fidalgo, F and Almeida, J. (2004). Biochemical and ultrastructural changes in leaves of potato plants grown under supplementary UV-B radiation. *Plant Sciences* 167: 925-935.
- Sreenivasulu, N., Grimm, B., Wobus, U and Weschke W.(2000) Differential response of antioxidant compounds to salinity stress in salt-tolerant and salt-sensitive seedling of foxtail millet. *Physiologia Plantarum.* 109:435-442.
- Upadhyaya, A., Sankhla, D., Davis, T.D., Sankhla, N and Smidth, B.N. (1985). Effect of paclobutrazol on the activities of some enzymes of activated oxygen metabolism and lipid peroxidation in senescing soybean leaves. *Journal of Plant Physiology* 121: 453-461.

The effect of UV-B radiation on some physiological and biochemical indices of two varieties of barley (*Hordeum vulgare* L.) varieties of Makuyi and Bahman

¹Wrisha Mohammadi, ^{2*}Siavash Hosseini Sarghein, ³Rashid Jamei

^{1,2,3}Department of Biology, Faculty of Science, Urmia University, Urmia, Iran

Email: ¹wrisha.mohammadi@yahoo.com ^{2*}sihosseini@yahoo.com ³r.jamei@urmia.ac.ir

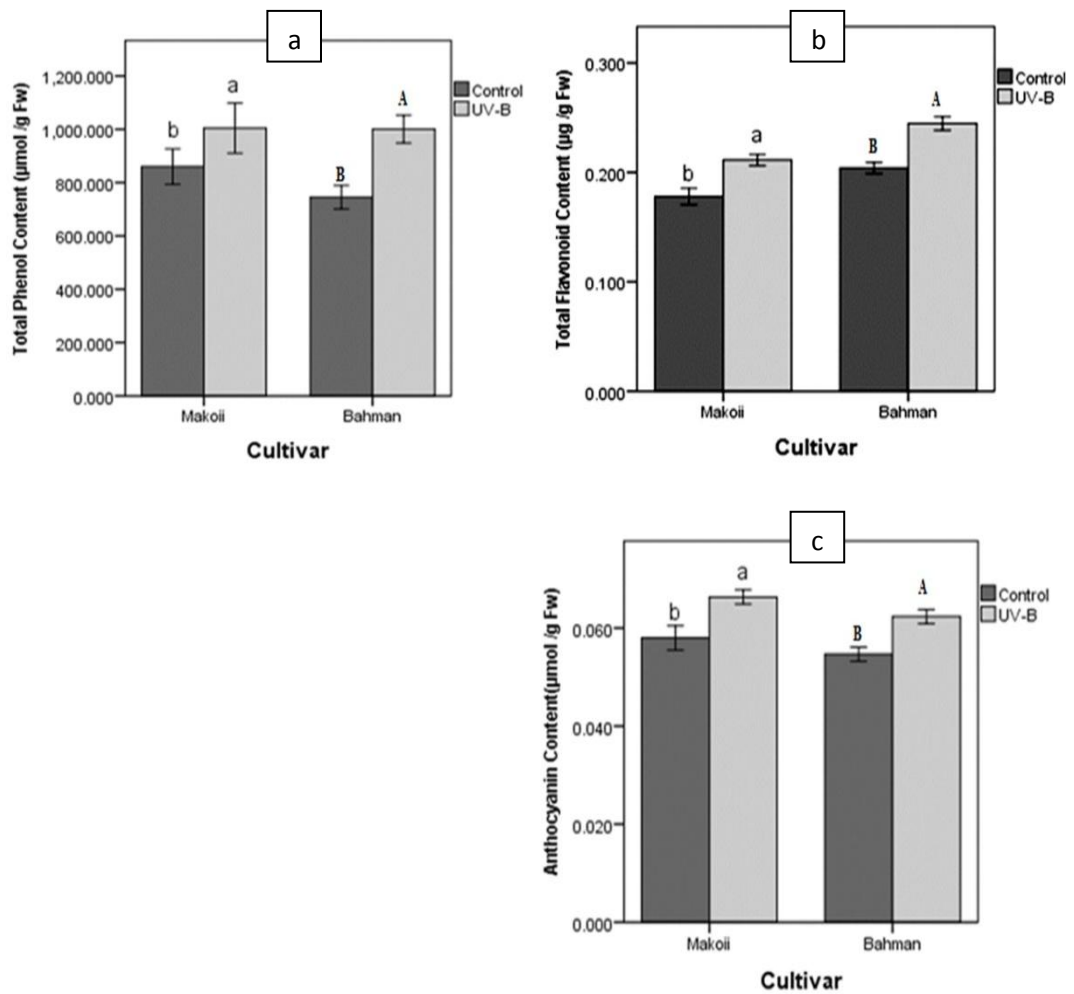
Abstract

UV-B rays, the most energetic combination of sunlight that reaches the earth's surface and exerts its effects on plants. The ultraviolet radiation is traditionally divided into three wavelength regions: The UV-A region 320-400 nm (apparently low risk), The UV-B region 280 -320 nm (dangerous) and the UV-C region 220-280 nm (destructive). Barley (*Hordeum vulgare* L.) is important economical and agricultural aspect. Barely, a herbaceous plant and the height of 50 to 70 cm even a

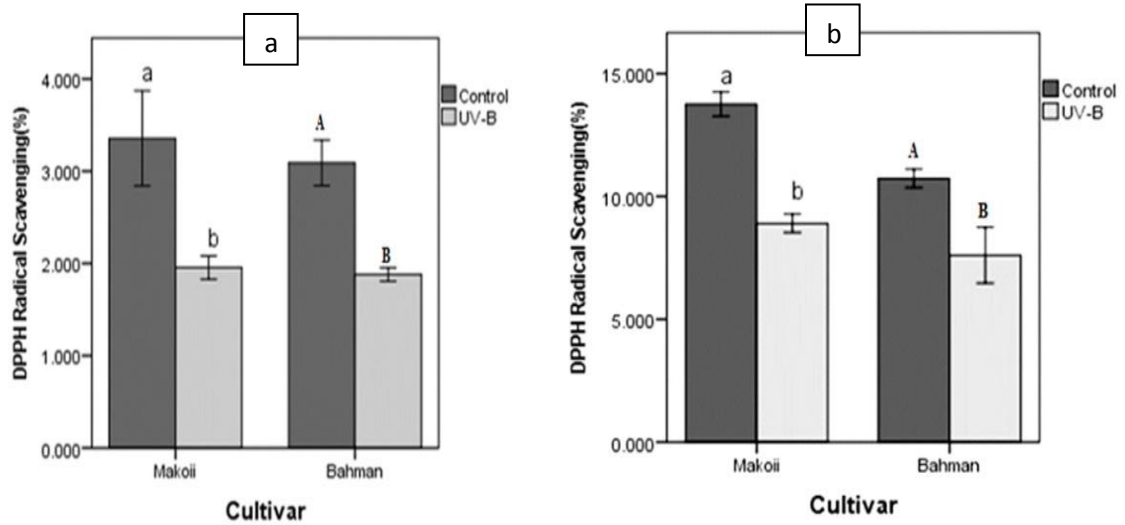
meter. In this study, the effects of UV-B radiation on two cultivars of barley, Makuyi and Bahman was studied and compared.

The seeds of the both varieties after germination were cultivated in a container of sand and soil in 3:1 ratio. After 10 days of cultivation, pots of each variety divided into two groups, the first group was selected as control group. That were in the same situation before and The second group which was selected as treatment group was irradiated with UV-B radiation for two weeks and one hour per day. The results showed that in both varieties the amount of phenols, flavonoids, anthocyanins and antioxidant enzymes namely guaiacol peroxidase, ascorbate peroxidase and catalase in under stress group compared to control group showed significantly increase and DPPH amount in understressed plants compared to control plants showed a significant decrease. These results showed that UV-B radiation has harmful effects on both Makuyi and Bahman's varieties of barley.

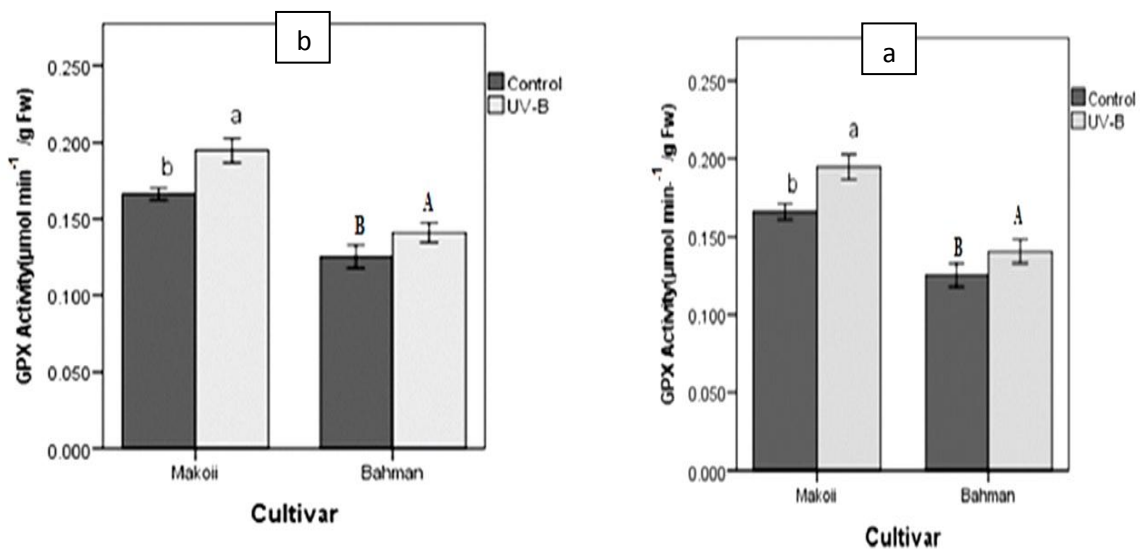
Keywords: Antioxidant enzymes, Barley, Flavonoid, Phenol, UV-B radiation



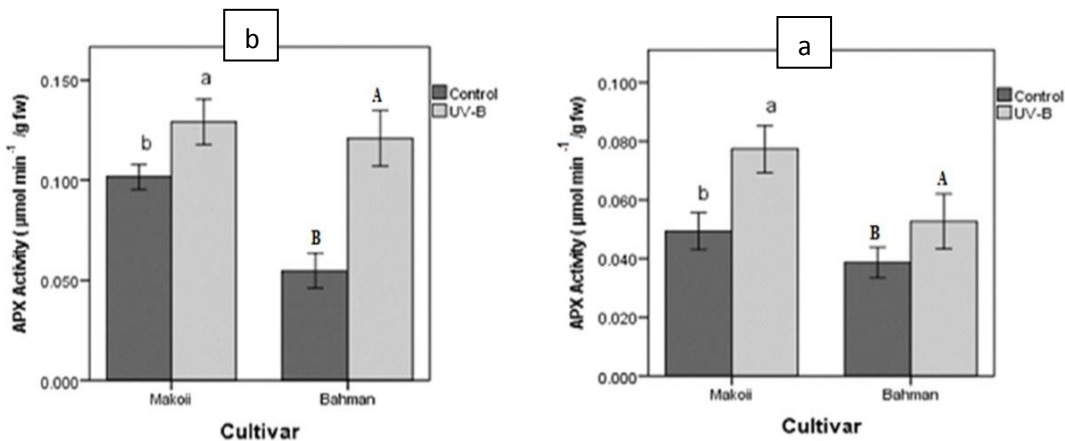
شکل ۱- اثر اشعه UV-B بر روی میزان فنل کل (a)، فلاونوئید کل (b) و آنتوسیانین (c) در دو رقم بهمن و ماکویی گیاه جو. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی دار در سطح احتمال پنج درصد با استفاده از آزمون توکی می باشد. بارها نشان دهنده خطای استاندارد (SE) می باشند.



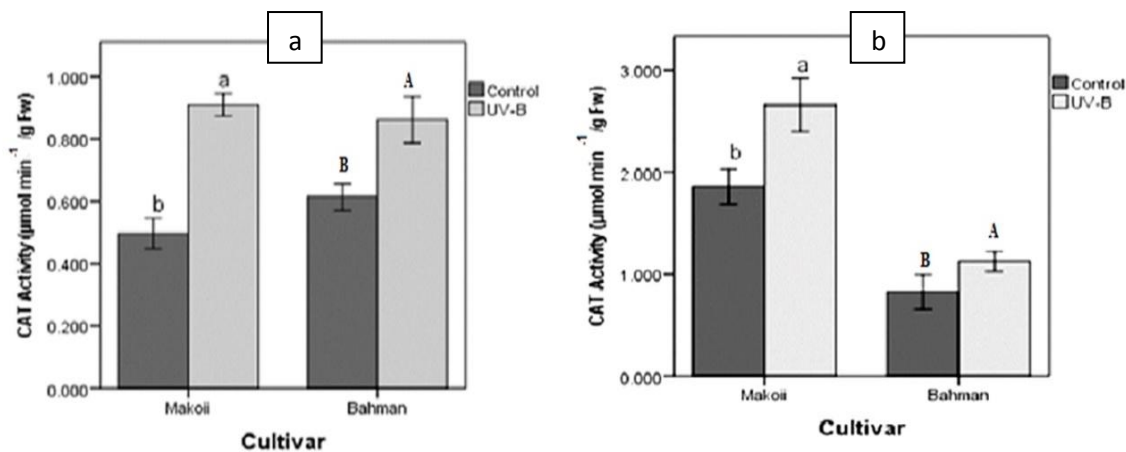
شکل ۲- اثر اشعه UV-B بر روی میزان DPPH در اندام هوایی (a) و ریشه (b) در دو رقم بهمن و ماکویی گیاه جو. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی دار در سطح احتمال پنج درصد با استفاده از آزمون توکی می باشد. بارها نشان دهنده خطای استاندارد (SE) می باشند.



شکل ۳- اثر اشعه UV-B بر روی میزان GPX در اندام هوایی (a) و ریشه (b) در دو رقم بهمن و ماکویی گیاه جو. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی دار در سطح احتمال پنج درصد با استفاده از آزمون توکی می باشد. بارها نشان دهنده خطای استاندارد (SE) باشند.



شکل ۴- اثر اشعه UV-B بر روی میزان APX در اندام هوایی (a) و ریشه (b) در دو رقم بهمن و ماکویی گیاه جو. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی دار در سطح احتمال پنج درصد با استفاده از آزمون توکی می باشد. بارها نشان دهنده خطای استاندارد (SE) باشند.



شکل ۵- اثر اشعه UV-B بر روی میزان CAT در اندام هوایی (a) و ریشه (b) در دو رقم بهمن و ماکویی گیاه جو. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی دار در سطح احتمال پنج درصد با استفاده از آزمون توکی می باشد. بارها نشان دهنده خطای استاندارد (SE) می باشند.