

مطالعه تغییرات ریخت‌شناسی - تشریحی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی ناشی از امواج الکترومغناطیس در مرزه بختیاری (*Satureja bachtiarica* L.)

فریبا رضانی ویشکی^{۱*}، احمد مجد^۲، طاهر نژادستاری^۳، صدیقه اربابیان^۴

^۱استادیار، گروه زیست‌شناسی، سازمان آموزش و پرورش شهر تهران، آموزش و پرورش منطقه ۸، تهران

^۲استاد، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران شمال

^۳دانشیار، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران

^۴دانشیار، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران شمال

تاریخ پذیرش: ۹۲/۲/۳۱

تاریخ دریافت: ۹۱/۱۰/۱۸

چکیده

گیاهان تنش‌های محیطی را شناسایی و به آن پاسخ می‌دهند. امواج الکترومغناطیسی یکی از فاکتورهای تنش زای موثر بر گیاهان است. در این پژوهش، به منظور بررسی اثر میدان الکترومغناطیسی بر جوانه‌زنی بذرها و رشد دانه رست‌های مرزه، ظرف‌های پتری حاوی بذرهایی که به مدت ۵ ساعت در آب خیسانده شده بودند همراه آب به‌طور افقی روی صفحه بین دو سیم پیچ کروی دستگاه مولد الکترومغناطیس قرار داده شد و با اتصال دستگاه به برق به مدت دو ساعت تحت پرتودهی امواج با شدت یک میلی تسلا قرار گرفتند. بذرهای شاهد در شرایط کاملاً یکسان با نمونه‌های تحت تیمار قرار گرفتند، جز اینکه تحت اثر امواج الکترومغناطیس قرار داده نشدند. تعدادی از بذرها برای بررسی سرعت جوانه‌زنی در پتری نگهداری و تعدادی نیز پس از تیمار به خاک گلدان منتقل شدند. طبق نتایج بدست آمده سرعت جوانه‌زنی در نمونه‌های تحت تیمار نسبت به شاهد افزایش معنی‌داری نشان داد. ادامه مطالعه بر روی دانه رست‌های ۳۰ روزه انجام شد. طول ساقه، سطح برگ، وزن تر و خشک در نمونه تحت تیمار نسبت به شاهد کاهش معنی‌داری یافت. در بررسی‌های تشریحی، میانگین اندازه قطر ساقه و قطر متازایلم در آن در نمونه‌های تحت تیمار نسبت به شاهد افزایش معنی‌داری داشت. آنالیز شیمیایی بیانگر کاهش معنی‌دار میزان کلروفیل a و b در نمونه تحت تیمار نسبت به شاهد بود. میزان کاروتنوئید، ترکیبات آنتی‌اکسیدانی از جمله، ترکیبات فنلی، فلاونوئیدی و میزان پرولین در نمونه تحت تیمار نسبت به شاهد، افزایش نشان داد که این افزایش معنی‌دار بود.

واژه‌های کلیدی: امواج الکترومغناطیس، جوانه‌زنی، رنگیزه‌های فتوسنتزی، ترکیبات آنتی‌اکسیدانی، مرزه بختیاری

مقدمه

دارای ترکیبات شیمیایی موثر و مفیدی است (زرگری، ۱۳۷۶). تنش‌های زیستی با القای تنش اکسیداتیو، اثرات مخرب خود را اعمال می‌کنند و اثرات مختلفی بر متابولیسم، رشد و نمو گیاهان می‌گذارند و باعث القای تغییرات زیادی در ساختار و عملکرد گیاهان می‌شوند (Apel and Hirt, 2004). امواج الکترومغناطیس از

جنس مرزه در دنیا حدود ۳۰ گونه دارد که *Satureja bachtiarica* Bunge یکی از گونه‌های بومی این جنس در ایران است. مرزه گیاهی دارویی و

*نویسنده مسئول: ramezanivishki@yahoo.com

اندامک‌های درون سلولی در گیاه شناخته شده‌اند (Tevini et al., 1991). افزایش بیوسنتز کاروتنوئیدها طی تنش می‌تواند سبب کاهش اثرات مخرب امواج بر کلروفیل‌ها شود (Hao, 1997).

در این بررسی تاثیر امواج الکترومغناطیسی به‌عنوان یک عامل تنش زا بر ساختار فیزیولوژیکی، محتوای شیمیایی و میزان برخی آن‌تی‌اکسیدان‌ها در اسانس مرزه بختیاری مورد مطالعه قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

برای انجام این پژوهش، بذره‌های مرزه بختیاری از مؤسسه اصلاح نباتات و کشاورزی کرج تهیه شد. ظرف‌های پتری حاوی بذره‌های مرطوب که به مدت ۵ ساعت در آب خیسانده شده بودند، همراه آب همان‌طوری که در شکل ۱ مشاهده می‌شود، به‌طور افقی روی صفحه بین دو سیم پیچ کروی دستگاه مولد امواج الکترومغناطیس که بر اساس سیم پیچ هلمهولتزکویل طراحی و ساخته شده بود، قرار داده شدند و با اتصال دستگاه به برق به‌مدت دو ساعت تحت تاثیر امواج الکترومغناطیس با شدت یک میلی‌تسلا قرار گرفتند. این آزمایشات با سه تکرار در دمای 25 ± 2 درجه سانتی‌گراد انجام شد. بذره‌های شاهد در حالت مرطوب در شرایط کاملاً یکسان با نمونه‌های تحت تیمار قرار گرفتند، جز اینکه تحت اثر امواج الکترومغناطیس قرار داده نشدند. در دستگاه موجود تعداد دوره‌های سیم پیچ هر حلقه ۱۰۰ دور بوده و شعاع حلقه نیز ۰/۲۱ متر می‌باشد. برای داشتن میدان یک میلی‌تسلا باید جریانی معادل ۱/۱۶ میلی‌آمپر از سیم پیچ‌ها عبور نماید.

جمله تنش‌های محیطی است که می‌تواند سبب افزایش تولید گونه اکسیژن واکنش‌گر و تنش اکسیداتیوی شده و باعث تغییراتی در رشد، ساختار ظاهری و تشریحی، محتوای شیمیایی سلول و در نتیجه القای پاسخ‌های متابولیکی خاص در گیاه تحت تنش شود (Smirnoff, 1998).

گیاهان سیستم آن‌تی‌اکسیدانی موثری را در مقابل عوامل تنش زا ایجاد می‌کنند که باعث افزایش مقاومت آنها در مقابل عوامل تنش زا می‌شود (Smirnoff, 1995). تولید متابولیت‌هایی از جمله ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی از آن جمله است. هر یک از این ترکیبات دارای ساختار و خصوصیات بیوشیمیایی خاص بوده و با مکانیسم متفاوتی در پاک سازی رادیکال‌های اکسیژن شرکت می‌کنند (Shao et al., 2008). مطابق نظر Tevini و همکاران (۱۹۹۱)، فلاونوئیدها از بزرگترین گروه ترکیبات فنلی هستند که نقش دفاعی در مقابل تنش‌ها را بازی می‌کنند. گیاهان با تولید فلاونوئیدها و تجمع آن در واکنش سلول‌های لایه اپیدرمی برگ و ساقه، از آن به‌عنوان جاذب امواج استفاده می‌کنند (Flint et al., 1985). گیاهان در مقابل تنش اکسیداتیو ناشی از امواج الکترومغناطیس تولید ترکیبات فنلی را نیز افزایش می‌دهند (Mittler, 2002). تجمع فنل‌ها در بافت‌های گیاهی برای ارتقاء مکانیسم‌های دفاعی بسیار مهم است. تولید و تجمع پرولین نیز یکی از سازگاری‌های مهم فیزیولوژیک در گیاهان تحت تنش است. تجمع پرولین در گیاهان عالی با افزایش ROS، افزایش می‌یابد. تنش اکسیداتیو ناشی از امواج الکترومغناطیس بر رنگیزه‌های فتوسنتزی نیز موثر است. کاروتنوئیدها در واقع به‌عنوان حفاظت‌کننده تجهیزات فتوسنتزی و



شکل ۱: دستگاه مولد امواج الکترومغناطیس و نحوه اثردهی امواج

$$GS = \frac{100 \sum ni}{\sum ni \times ti}$$

اندازه گیری مقدار رنگیزه‌های فتوستتزی: سنجش رنگیزه‌های فتوستتزی از جمله کلروفیل‌های a و b و نیز کاروتنوئیدها با استفاده از عصاره استنی برگ دانه رست‌های ۳۰ روزه گیاه مرزه به روش (Lichtenthaler, 1987) انجام شد. ۰/۲ گرم بافت تازه برگ‌گی را با ۵ میلی لیتر استن ۸۰ درصد به خوبی سائیده و سپس محلول حاصل توسط کاغذ صافی واتمن شماره ۱ صاف شد، ۵ میلی لیتر استن دیگر به آن اضافه، حجم محلول را به ۱۵ میلی لیتر رسانده و شدت جذب آن در طول موج‌های ۶۶۳/۲، ۶۶۴/۸ و ۴۷۰ نانومتر با استفاده از اسپکتروفتومتر خوانده شد. غلظت رنگیزه‌های فتوستتزی و کاروتنوئیدها با استفاده از فرمول‌های زیر محاسبه شد. نتایج بدست آمده بر اساس وزن خشک محاسبه و ارائه شد.

$$\text{Chl. a} = (12.25A663.2 - 2.79A646.8) \times \text{volume of supernatant (ml)} \times \text{dilution factor/sample weight (g)}$$

$$\text{Chl. b} = (21.21A646.8 - 5.1 A663.2) \times \text{volume of supernatant (ml)} \times \text{dilution factor/sample weight (g)}$$

$$\text{Car} = [(1000A470 - 1.8 \text{ Chl. A} - 85.02 \text{ Chl. b}) / 198] \times \text{volume of supernatant (ml)} \times \text{factor /sample weight (g)}$$

تهیه عصاره متانولی: به ۵ گرم از پودر خشک برگ نمونه‌های گیاه تیمار و شاهد به‌طور جداگانه، ۵۰

تعدادی از بذرها در پتری نگهداری و سرعت جوانه‌زنی مقایسه شد. تعدادی از بذرها نیز پس از تیمار به خاک گلدان منتقل شدند. ادامه مطالعه بر روی دانه رست‌های ۳۰ روزه انجام شد. طول ساقه، سطح برگ، وزن تر و خشک در نمونه تحت تیمار و شاهد اندازه‌گیری شد. از ساقه (میانگره اول) و راس آن، برش‌های دستی و میکروتومی تهیه، رنگ‌آمیزی و عکس‌برداری شد. در بررسی‌های میکروسکوپی نیز قطر ساقه، استوانه مرکزی و قطر متازاپلم‌های ساقه در هر گیاه با کمک عدسی‌های مدرج به‌طور جداگانه اندازه‌گیری و مقایسه شد. در برگ دانه رست‌های سی روزه، رنگیزه‌های فتوستتزی، میزان متابولیت‌هایی مثل ترکیبات فنلی و فلاوونوئیدی و پرولین مورد سنجش قرار گرفت. تجزیه آماری داده‌ها از طریق محاسبه انجام گرفت. مقایسه بین تیمار و شاهد بر اساس آزمون دانکن توسط برنامه آماری SPSS_{۱۸} برای سه تکرار در سطح $P < 0.05$ صورت گرفت (Mean ± SE) و نمودارها با کمک نرم‌افزار Excel ترسیم شد.

تعیین سرعت جوانه‌زنی: برای محاسبه سرعت جوانه زنی از معادله زیر استفاده گردید. که در این معادله، ni تعداد بذر جوانه‌زده در هر روز، و ti طول مدت جوانه‌زنی بر حسب روز است.

میلی‌متر متانول ۸۰ درصد اضافه شد، پس از ۲۴ ساعت نگهداری در یخچال، عصاره با کاغذ واتمن ۱ صاف و سپس عصاره متانولی به دستگاه روتاری منتقل و متانول از آن خارج شد. عصاره در ظرف تیره برای اندازه‌گیری فنل و فلاونوئید نگهداری شد.

اندازه‌گیری محتوای فنلی: برای سنجش محتوای فنلی از روش (Mc Donald et al., 2001) استفاده شد. ۰/۵ میلی‌لیتر عصاره متانولی با ۵ میلی‌متر فولین سیوکالتیو ۰/۲ نرمال، مخلوط و سپس ۴ میلی‌لیتر کربنات سدیم یک مولار به آن اضافه شد و حجم آن با آب مقطر به ۱۰۰ میلی‌لیتر رسانده شد. جهت تهیه بلانک از متانول استفاده شد. محلول ۱۵ دقیقه در تاریکی قرار داده شده و سپس طیف جذبی آن در طول موج ۷۶۵ بررسی شد. برای تهیه منحنی کالیبراسیون استاندارد، از اسیدگالیک در غلظت‌های مختلف استفاده شد.

اندازه‌گیری محتوای فلاونوئیدی: سنجش عصاره متانولی برای بررسی محتوای فلاونوئیدی بر اساس روش (Change et al., 2002) انجام شد. ۰/۵ میلی‌لیتر از محلول عصاره متانولی تهیه شده با ۱/۵ میلی‌لیتر متانول ۹۵ درصد و ۰/۱ میلی‌لیتر آلومینیوم کلراید ۱۰ درصد در متانول و ۰/۱ میلی‌لیتر استات پتاسیم یک مولار و ۲/۸ میلی‌لیتر آب مقطر دی یونیزه مخلوط شد. جذب، پس از ۳۰ دقیقه در طول موج ۴۱۵ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شد. برای تهیه ثابت بلانک از متانول استفاده شد. برای تهیه منحنی کالیبراسیون استاندارد، از اسیدگالیک استفاده شد.

اندازه‌گیری محتوای پرولین: بررسی و سنجش میزان پرولین بر اساس روش (Bates et al., 1973) انجام شد. در این روش ۰/۵ گرم برگ تازه با ۱۰ میلی‌لیتر محلول ۳ درصد سولفوسالیسیلیک اسید ساییده شد. از مخلوط همگن پس از صاف کردن، ۲ میلی‌لیتر برداشته

و پس از افزودن ۲ میلی‌لیتر معرف نین هیدرین و ۲ میلی‌لیتر اسیداستیک خالص، در لوله‌های دردار، در بن ماری ۱۰۰ درجه به مدت یک ساعت قرار داده شد. پس از طی یک ساعت، برای توقف واکنش، لوله‌ها در یخ قرار داده شدند. سپس به هریک ۴ میلی‌لیتر تولوئن افزوده و به شدت تکان داده شد. جذب فاز تولوئن در ۵۲۰ نانومتر خوانده شد و مقدار پرولین با استفاده از منحنی استاندارد آن به دست آمد.

نتایج

جوانه‌زنی بذرهای مرطوب ۴۵ ساعت بعد از قرارگیری در معرض امواج الکترومغناطیس آغاز شد و این در حالی بود که نمونه‌های شاهد آن پس از ۴۹ ساعت جوانه‌زنی را آغاز کردند. مقایسه جوانه‌زنی نمونه‌های تحت تیمار نسبت به شاهد، حاکی از تسریع جوانه‌زنی در نمونه‌های تحت تیمار بود (جدول ۱). سرعت جوانه‌زنی در نمونه‌های تحت تیمار مرطوب نسبت به نمونه‌های شاهد، ۳۳/۳۱ درصد افزایش نشان داد که این اختلاف در سطح ۰/۰۵ معنی‌دار بود. در دانه رست‌های ۳۰ روزه، در نمونه‌های تحت تیمار نسبت به نمونه‌های کنترل، میانگین طول ساقه کاهش معنی‌داری نشان داد و به انشعابات و شاخه‌های جانبی افزوده شد (شکل ۲). مقایسه و اندازه‌گیری سطح برگ‌گی در نمونه‌های تیمار و شاهد بیانگر کاهش سطح برگ‌گی در نمونه‌های تحت تیمار نسبت به نمونه‌های شاهد بود (جدول ۱). اندازه‌گیری‌ها نشان داد که سطح برگ‌گی، وزن تر و وزن خشک برگ‌ها در نمونه‌های تحت تیمار نسبت به شاهد کاهش نشان می‌دهد که بر اساس محاسبات آماری این اختلاف معنی‌دار بود.

جدول ۱: مقایسه اثر امواج الکترومغناطیسی بر پارامترهای رشد در گیاه مرزه بختیاری

	وزن خشک (g)	وزن تر (g)	سطح برگی (cm ²)	طول ساقه (cm)	سرعت جوانه‌زنی
شاهد مرطوب	۰/۵۳±۰/۰۵	۲/۱۶±۰/۰۹	۲/۸۱±۰/۱۳	۵/۸۲±۰/۱۰	۲۲/۲۷±۰/۶۲
تیمار مرطوب	۰/۳۵±۰/۰۳	۱/۴۸±۰/۱۴	۲/۳۲±۰/۰۵	۴/۲۰±۰/۱۶	۲۹/۶۹±۰/۹۵
P	*	*	*	*	*

نتایج (means±SE) با سه تکرار ارائه شده است. علامت ستاره معنی‌دار بودن اختلاف را نشان می‌دهد.



شکل ۲: مقایسه رشد طولی ساقه در نمونه‌های شاهد (الف) و تحت تیمار (ب)

میزان کاروتنوئیدها در نمونه‌های تحت تیمار، نشان‌دهنده افزایش معنی‌دار آن نسبت به نمونه‌های شاهد بود. بررسی محتوای فنلی، فلاونوئیدی و میزان پرولین در نمونه‌های تحت تیمار، افزایش قابل توجه و معنی‌داری در سطح ۰/۰۵ نشان داد (جدول ۳).

میزان کلروفیل a، b و کاروتنوئیدها در نمونه‌های تحت تیمار و شاهد اندازه‌گیری شد که نتایج آن در جدول ۲ آمده است. بررسی‌ها بیانگر کاهش میزان کلروفیل a و b در نمونه تحت تیمار نسبت به شاهد بود که اختلاف معنی‌داری را نشان داد. اندازه‌گیری

جدول ۲: مقایسه اثر امواج الکترومغناطیسی بر میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی در گیاه مرزه بختیاری

	کلروفیل a (mg g ⁻¹ fw)	کلروفیل b (mg g ⁻¹ fw)	کلروفیل کل (mg g ⁻¹ fw)	کاروتنوئید (mg g ⁻¹ fw)
شاهد مرطوب	۳/۲۸±۰/۰۸	۱/۵۸±۰/۰۰۵	۴/۸۷±۰/۰۸	۴/۱۱±۰/۰۱
تیمار مرطوب	۲/۶۸±۰/۱۳	۱/۵۱±۰/۰۰۲	۴/۲۰±۰/۱۳	۴/۳۲±۰/۰۶
P	*	*	*	*

نتایج (means±SE) با سه تکرار ارائه شده است. علامت ستاره معنی‌دار بودن اختلاف را نشان می‌دهد.

جدول ۳: مقایسه اثر امواج الکترومغناطیسی بر میزان ترکیبات آنتی‌اکسیدانی در گیاه مرزه بختیاری

	فنل (mg g ⁻¹ dw)	فلاونونوئید (mg g ⁻¹ dw)	پرولین (μM g ⁻¹ fw)
شاهد مرطوب	۱/۳۷±۰/۰۲	۱/۴۳±۰/۰۴	۰/۰۴±۰/۰۰۲
تیمار مرطوب	۲/۴۸±۰/۰۹	۲/۰۵±۰/۱۵	۰/۰۷±۰/۰۰۴
P	*	*	*

نتایج (means±SE) با سه تکرار ارائه شده است. علامت ستاره معنی‌دار بودن اختلاف را نشان می‌دهد.

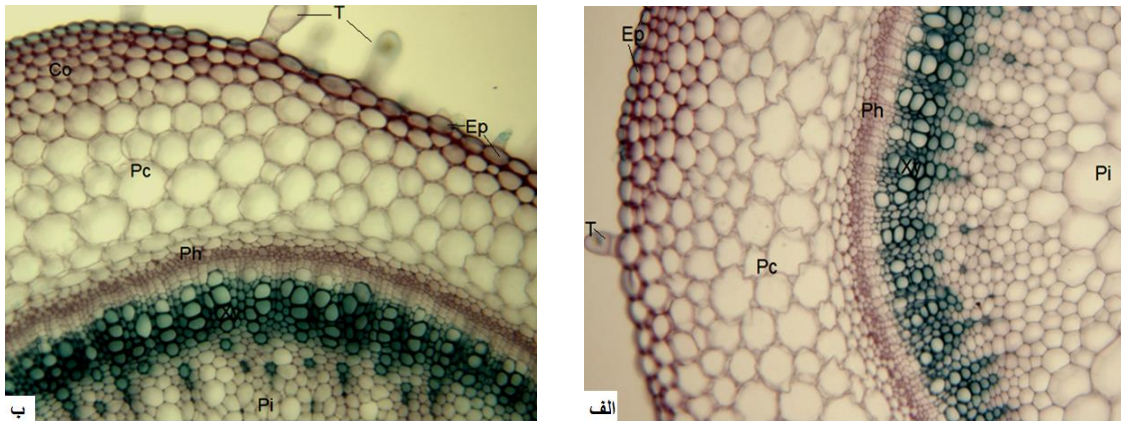
تحت تیمار نسبت به شاهد نوعی گسترش یا افزایش ردیف سلول‌های کلانشیمی مشاهده شد (شکل ۳). در بررسی مریستم رویشی ساقه در نمونه‌های تحت تیمار در مقایسه با شاهد، دیده شد که مریستم رویشی تیمارها حجیم تر و کشیده تر شده‌اند. از طرف دیگر بررسی‌های مریستم رویشی ساقه حاکی از حجیم شدن سلول‌های مریستم مغزی و افزایش قطر استوانه مرکزی در نمونه‌های تحت تیمار نسبت به شاهد بود. در نمونه‌های تحت تیمار نسبت به شاهد، تسریع در تشکیل سیستم آوندی دیده شد (شکل ۴).

مطابق آنچه در شکل ۳ و جدول ۴ دیده می‌شود، در نمونه‌های تحت تیمار قطر ساقه و قطر استوانه مرکزی نسبت به شاهد افزایش نشان داد. در استوانه مرکزی، فراوانی عناصر چوبی در نمونه‌های تحت تیمار در مقایسه با شاهد افزایش یافت و اندازه‌گیری قطر عناصر چوبی نیز نشان دهنده افزایش معنی‌دار این پارامتر در نمونه‌های تحت تیمار نسبت به شاهد بود. در سطح اپیدرم ساقه، فراوانی تعداد کرک نسبت به نمونه‌های شاهد، دیده شد. در زیر اپیدرم در گوشه‌های ساقه، تراکمی از سلول‌های کلانشیمی با دیواره سلولزی ضخیم دیده می‌شود که در نمونه‌های

جدول ۴: مقایسه اثر امواج الکترومغناطیسی بر ساختار تشریحی ساقه در گیاه مرزه بختیاری

	قطر ساقه (mm)	وسعت یا گستره پوست (mm)	وسعت یا گستره استوانه مرکزی (mm)	قطر متنازایلم (Mic)
شاهد مرطوب	۱/۲۹±۰/۰۲	۰/۱۹±۰/۰۲	۰/۸۸±۰/۰۱	۳۲/۳۶±۱/۱۷
تیمار مرطوب	۱/۴۶±۰/۰۲	۰/۱۴±۰/۰۲	۱/۱۵±۰/۰۵	۳۷/۰۴±۱/۲۰
P	*	*	*	*

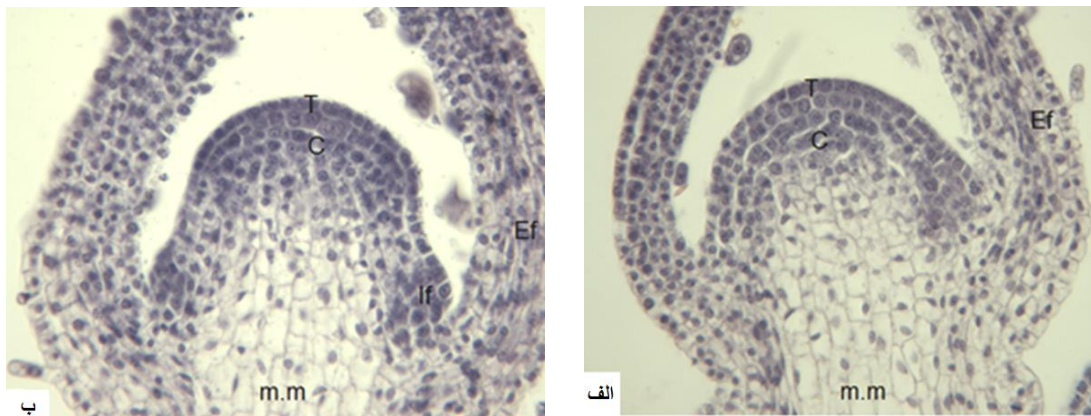
نتایج (means±SE) با سه تکرار ارائه شده است. علامت ستاره معنی‌دار بودن اختلاف را نشان می‌دهد.



شکل ۳: مقایسه اثر امواج الکترومغناطیسی بر ساختار تشریحی ساقه در نمونه‌های

شاهد (الف) و تحت تیمار (ب) گیاه مرزه بختیاری

(Ep: اپیدرم؛ Pc: پارانشیم پوست؛ Ph: فلوئم؛ Xy: زایلم؛ Pi: پارانشیم مغز؛ T: کرک) (ابژکتیو ۱۰X)



شکل ۴: مقایسه ساختار مریستم راس ساقه در نمونه‌های شاهد (الف) و تحت تیمار (ب) گیاه مرزه بختیاری (ابژکتیو ۱۰X)

(T: تونیکا؛ C: کورپوس؛ m.m: مریستم مغز؛ Ef: طرح اولیه برگگی؛ If: بنیان برگگی)

بحث

می‌کنند (Blokina et al., 2003). در بررسی‌های ما، در بذرهایی که تحت تاثیر امواج الکترومغناطیسی قرار گرفتند، نسبت به بذرهایی که این امواج را دریافت نکرده بودند، سرعت جوانه‌زنی افزایش یافت. این ویژگی ممکن است به دلیل افزایش متابولیسم، تحت اثر امواج الکترومغناطیس و در نتیجه افزایش مصرف مواد و جذب آب در دانه صورت گرفته باشد (Shabrang and Majd, 2009). این احتمال نیز وجود دارد که عملکرد لاکتاند تشعشعات امواج بتواند میزان ژن‌های فعال در هسته سلول‌ها را افزایش دهد به طوری که سبب تغییر در متابولیسم گیاه شده و در

با توجه به آنکه امواج الکترومغناطیسی حامل انرژی هستند، بدیهی است که این انرژی می‌تواند روی موجودات زنده، از جمله گیاهان تاثیراتی را بر جا گذارد. گیاهان قادر به شناسایی و پاسخ به تنش‌های محیطی اطرافشان هستند. در گیاهان مثل سایر موجودات زنده، طی تنش‌های زیستی و غیرزیستی، گونه‌های اکسیژن واکنش گر (ROS) تولید می‌شود که می‌تواند آسیب به سلول را در پی داشته باشد (Hare and cress, 1997). تنش‌های زیستی با القای تنش اکسیداتیو، اثرات مخرب خود را اعمال

نتیجه باعث تسریع جوانه‌زنی شود (Yao et al., 2006). در این تحقیق در نمونه‌های تحت تیمار نسبت به نمونه‌های کنترل، رشد طولی ساقه دستخوش کاهش شد و به انشعابات و شاخه‌های جانبی آن افزوده شد. به نظر می‌آید امواج بر تنظیم کننده‌های رشد در گیاهان مثل اکسین تاثیر گذاشته و این امر باعث ایجاد تغییراتی در غلظت آنزیم شده که پیامد آن، کاهش در رشد طولی گیاه است. دلیل دیگر تولید پراکسیداز طی تشش است که می‌تواند به‌عنوان یک اکسین اکسیداز عمل کند و منجر به تجزیه اکسین شود. تجزیه اکسین سبب کاهش انعطاف پذیری دیواره سلولی و در نتیجه کاهش رشد گیاه می‌شود (Ros and Tevini, 1995). از آنجا که در این پژوهش تحت تاثیر امواج کاهش رنگیزه‌های کلروفیلی نیز دیده شد، ممکن است مهار فتوسنتز و کاهش رنگیزه‌های کلروفیلی نیز سبب کاهش رشد طولی شود. در عین حال، حذف منبع اکسین راسی، به کاهش چیرگی راسی می‌انجامد و این امر همانطور که در نتایج آزمایشات ما دیده شد، امکان رشد بیشتر شاخه‌های جانبی و انشعاب دهی را فراهم می‌کند. افزایش انشعابدهی در گیاه تحت تیمار، سبب کاهش سهم نسبی میزان کلروفیل، کاهش سطح برگ در هر برگ می‌شود که می‌تواند یکی از دلایل دیگر کاهش میزان رنگیزه‌های کلروفیلی در نمونه‌های تحت تیمار نسبت به شاهد باشد. افزایش انشعابات در گیاهان تحت تیمار ویژگی مطلوبی است که می‌توان از آن در صنایع کشاورزی و نیز در تهیه علوفه دام از آن بهره برد. Jansen و همکاران (۱۹۹۸) توضیح دادند که کاهش کلروفیل ممکن است به دلیل مهار ژن تولید کننده آن و یا تجزیه پیش سازهای کلروفیل تحت تنش امواج الکترومغناطیس صورت گرفته باشد. Caldwell و همکاران (۱۹۸۳) دلیل کاهش رنگیزه‌های کلروفیلی را تخریب کلروفیل و یا تاثیر

منفی اشعه بر پیش سازهای سنتز کلروفیل گزارش نموده‌اند. در بررسی‌های ما، افزایش بیوسنتز کاروتنوئیدها در نمونه‌های تحت تیمار نسبت به شاهد دیده شد. تجمع کاروتنوئیدها در کلروپلاست، سبب حفاظت از این اندامک از اثرات مخرب امواج می‌شود. کاروتنوئیدها قادر هستند انرژی زیاد طول موج‌های کوتاه را گرفته و اکسیژن واکنش گر را خاموش کنند و با گرفتن رادیکال‌های اکسیژن، نقش آنتی اکسیدانی بروز دهند (Smirnov, 1995). در واقع تجمع کاروتنوئیدها در کلروپلاست‌ها سبب حفاظت از این اندامک از اثرات مخرب امواج می‌شود. غشای فتوسنتز کننده می‌تواند به راحتی از طریق جذب مقادیر زیاد انرژی به وسیله رنگدانه‌ها، آسیب ببیند. اگر این انرژی نتواند به‌صورت فتوشیمیایی ذخیره شود، در این صورت به یک مکانیسم حفاظتی نیاز است. مکانیسم حفاظتی می‌تواند به‌عنوان یک سوپاپ اطمینان در نظر گرفته شود و انرژی اضافی را خارج کند. اگر این وضعیت برانگیخته کلروفیل به سرعت فروکش نشود، در آن صورت واکنشی با اکسیژن ملکولی اتفاق می‌افتد که منجر به تشکیل حالت برانگیخته اکسیژن یعنی اکسیژن یکتایی می‌شود. کاروتنوئیدها از طریق فروکش کردن سریع وضعیت برانگیخته کلروفیل، محافظت نوری را انجام می‌دهند. وضعیت برانگیخته کاروتنوئیدها فاقد انرژی لازم برای تشکیل اکسیژن یکتایی است و ضمن از دست دادن انرژی به صورت گرما، به حالت اولیه بر می‌گردد (Yao et al., 2006). در نمونه‌های تحت تیمار کاهش میزان کلروفیل و در نتیجه فتوسنتز و کاهش رشد ناشی از آن می‌تواند سبب کاهش سطح برگ شود. کاهش سطح برگ تحت تنش امواج به نظر Hopkins (۲۰۰۲)، می‌تواند ناشی از کاهش تقسیم سلولی و نیز کاهش طویل شدن سلول‌ها باشد. در واقع امواج الکترومغناطیس می‌تواند با افزایش مدت زمان انجام

هر تقسیم سبب کاهش تعداد تقسیم سلولی شوند. پیامد کاهش سطح برگ، می‌تواند مطابق آنچه که در آزمایشات ما دیده شد، کاهش وزن تر و خشک نیز در نمونه‌های تحت تیمار باشد. افزایش تعداد کرک در سطح ساقه، افزایش فراوانی عناصر چوبی و قطر آنها، گسترش یا افزایش ردیف سلول‌های کلانشیمی با دیواره سلولزی ضخیم در نمونه‌های تحت تیمار نسبت به شاهد می‌تواند سبب افزایش مقاومت گیاه در برابر تنش شود.

حجم تر و کشیده تر شدن مریستم رویشی در نمونه تحت تیمار نسبت به شاهد، احتمالاً نشانه فعال تر شدن تقسیمات در این ناحیه تحت اثر امواج الکترومغناطیس است. از طرف دیگر بررسی‌های ما روی مریستم رویشی ساقه حاکی از حجیم شدن سلول‌های مریستم مغزی در نمونه‌های تحت تیمار نسبت به شاهد بود که این ویژگی با آنچه که در بررسی برش‌های عرضی ساقه به آن اشاره شد، یعنی افزایش قطر استوانه مرکزی همخوانی دارد. در نمونه‌های تحت تیمار نسبت به شاهد، تسریع در تشکیل سیستم آوندی نیز دیده شد که با افزایش فراوانی زایلیم یا چوب که در برش‌های عرضی دیده شد، مطابقت دارد. به نظر می‌آید، یکی از دلایل افزایش سنتز چوب، تولید پراکسیداز طی تنش باشد.

مطابق نظر Hosseini و همکاران (۲۰۱۱)، گیاهان مقاومت آنتی‌اکسیدانی موثری را نیز در مقابل عوامل تنش‌زا ایجاد می‌کنند. بسیاری از مکانیسم‌های دفاعی شامل آنتی‌اکسیدان‌های غیرآنزیمی در گیاهان تحت تنش فعال می‌شوند تا از اثرات مخرب تنش‌ها جلوگیری کند (Smirnov, 1995). در بررسی حاضر نیز میزان متابولیت‌های ثانویه از جمله فنل، فلاونوئید در نمونه‌های تحت تیمار نسبت به شاهد افزایش نشان داد. به نظر یکی از مهم‌ترین سیستم‌های دفاعی گیاهان برای کنترل و خنثی کردن رادیکال‌های آزاد،

الفای سنتز برخی از ترکیبات آنتی‌اکسیدانی می‌باشد (Smirnov, 1995). بر اساس نظر Smirnov (۱۹۹۳)، این ترکیبات با رادیکال‌های آزاد واکنش داده و با دادن الکترون به این رادیکال‌های واکنش‌پذیر، آنها را به فرم پایدار خود تبدیل می‌کنند. فلاونوئیدها یکی از بزرگترین گروه ترکیبات فنلی هستند که نقش دفاعی در مقابل تنش‌ها را بازی می‌کنند. مطابق نظر Caldwell و همکاران (۱۹۸۳)، مسیر فنیل پروپانوئید که مسئول ساخت ترکیبات فنلی مانند فلاونوئیدها و تانن‌ها است، در شرایط تنش القاء می‌شود. یکی از دلایل افزایش فلاونوئیدها، ایجاد محدودیت در انتقال الکترون فتوسنتزی طی تنش است که سبب ایجاد تغییرات متابولیکی در گیاه از جمله منجر به القاء فلاونوئیدها برای تعدیل این وضعیت می‌شود. امواج می‌توانند باعث تحریک سنتز سینامیک اسید و فعال شدن مسیر بیوسنتز فلاونوئیدها شوند و از این طریق تنش حاصل را کاهش دهند. کاربرد بازدارنده‌های سنتز فنیل آلانین آمونیا لیا و مهار مسیر بیوسنتز فلاونوئید، باعث افزایش حساسیت گیاه نسبت به امواج می‌شود. مطابق نظر Tevini و همکاران (۱۹۹۱)، تجمع فلاونوئیدها، تحت تنش الکترومغناطیس به عنوان یک مکانیسم محافظتی در مقابل تنش امواج حائز اهمیت است. فلاونوئیدها از مهم‌ترین ترکیبات آنتی‌اکسیدانی هستند که نه تنها رادیکال‌های آزاد را از بین می‌برند، بلکه از تولید بیشتر آنها در گیاه جلوگیری می‌کنند. گیاهان با تولید فلاونوئیدها و تجمع آن در واکنش سلول‌های لایه اپیدرمی برگ و ساقه می‌توانند سبب جذب امواج شده و مانع از رسیدن امواج به اندامک‌های حساس هدف از جمله کلروپلاست‌ها شوند و در نتیجه باعث کاهش اثرات تنش اکسیداتیو گردند (Flint et al., 1985). ترکیبات فنلی نیز از آنتی‌اکسیدان‌های دفاعی در مقابل تنش اکسیداتیو هستند. گیاهان در مقابله با اثرات امواج، تولید ترکیبات فنلی را افزایش می‌دهند. تجمع ترکیبات فنلی در بافت‌های گیاهی برای تثبیت کربن

کردن رادیکال‌های آزاد، تنظیم اسمزی، کمک به پایداری فرم طبیعی پروتئین‌ها و حفظ ساختار طبیعی منومرهای پروتئینی و کمپلکس پروتئین‌های اولیگومریک، از تغییر شکل ترکیبات آنزیمی در مقابل تنش‌ها ممانعت کرده و به پایداری غشا کمک نموده و سبب کاهش اثرات منفی تنش بر غشای سلولی می‌شود و از طرف دیگر به عنوان منبع ذخیره کربن و نیتروژن سبب افزایش بردباری و مقاومت گیاه در برابر تنش‌ها شده و نقش مهمی را در سلول‌های گیاهی در ایجاد پاسخ‌های سازگارکننده و محافظتی در مقابل تنش‌ها ایفا می‌کند و از آسیب‌های اکسیداتیو جلوگیری می‌نماید (Siripornadaulsil et al., 2002).

نتیجه‌گیری نهایی

در این پژوهش امواج الکترومغناطیس در شدت مورد استفاده سبب تسریع جوانه‌زنی بذرها تحت تیمار نسبت به بذرها شاهد شد. امواج با اثر بر رنگیزه‌های کلروفیلی و کاهش آن، سبب کاهش رشد طولی ساقه و کاهش سطح برگ می‌شد. میزان کاروتنوئید، فنل، فلاونوئید و پرولین در جهت افزایش مقاومت گیاه در برابر تنش حاصل از امواج الکترومغناطیس، افزایش یافت. گیاه تحت تیمار با افزایش تعداد کرک و گسترش بافت کلانشیمی و نیز افزایش شدت چوبی شدن، راهکارهای مقاومتی دیگری را برای خود ایجاد کرد.

منابع

- زرگری، ع. (۱۳۷۶). گیاهان دارویی، موسسه انتشارات و چاپ دانشگاه تهران، چاپ چهارم.
- Apel, K. and Hirt, H. (2004). Reactive oxygen species: Metabolism, oxidative stress and signal transduction. *Annual Review of Plant Biology*. 55(5):373-399.
- Bates, L.S., Waldren, R.P. and Teare, L.D. (1973). Rapid determination of free proline content for water stress studies. *plant and Soil*. 39(3): 205-207.
- Blokina, O., virolainen, E. and fagersted, K. (2003). Antioxidant, oxidative damage and

فتوستنتزی و ارتقاء مکانیسم‌های دفاعی بسیار مهم است. Sakihama و همکاران (۲۰۰۲)، گزارش کردند که ترکیبات فنولیک در پاسخ به تابش امواج الکترومغناطیس به سرعت افزایش یافته و به مقدار زیاد در لایه اپیدرمی تجمع می‌یابند. آنها با استفاده از موتان‌هایی که قدرت ساخت این ترکیبات را ندارند، اهمیت این ترکیبات را در مقاومت گیاه نسبت به تابش این اشعه نشان دادند. به نظر Smirnoff (۱۹۹۸)، گروه‌های هیدروکسیل آزاد متصل به حلقه آروماتیک فنل‌ها به وسیله حذف رادیکال‌ها و سایر مکانیسم‌های دفاعی مانند فروکشی اکسیژن یکتایی با کلاته کردن فلز به وسیله باند شدن یون‌های سمی، از آسیب‌های اکسیداتیو کاسته و به این ترتیب ساختارهای سلولی را از تأثیرات منفی تنش محافظت می‌کنند. تجمع ترکیبات فنلی در کرک‌ها، واکوئل و دیواره سلول‌های اپیدرمی از آسیب سلول‌های مزوفیلی زیرین جلوگیری می‌کند. این ترکیبات با جذب طیف امواج الکترومغناطیس و با قابلیت آنتی‌اکسیدانی و سمیت زدایی رادیکال‌های اکسیژن، باعث افزایش مقاومت گیاهان تحت تابش اشعه می‌شوند (Sakihama, et al., 2002). افزایش محتوای پرولین در مطالعات ما در نمونه‌های تحت تیمار نسبت به شاهد حاکی از آن است که پرولین به‌عنوان یک پروتئین دفاعی می‌تواند از سلول‌ها در برابر آسیب‌های ناشی از تنش محافظت کند (Maggio et al., 2002). به همین سبب در هنگام تنش، به‌عنوان یک پاسخ دفاعی یا انطباقی افزایش می‌یابد و در تنظیم و تعدیل فشار اسمزی نقش دارد و منبع بسیار مناسب انرژی، کربن و نیتروژن برای بافت‌های در حال ترمیم می‌باشد (Hare et al., 1999). تجمع پرولین در گیاهان عالی با افزایش ROS، افزایش می‌یابد. افزایش پرولین تحت تنش می‌تواند به علت تحریک ساخت پرولین از گلوتامیک اسید باشد (Hermans و Verbruggen, (Kostsl et al., 2011) (۲۰۰۸) بیان کردند پرولین با مکانیسم‌هایی مثل پاک

- and antioxidant activity of olive extract. *Food Chemistry*. 73(9):73-84.
- Mittler, R. (2002).** Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. *Trends in Plant Science* 7(1):405-410.
- Ros, J.M. and Tevini, M. (1995).** Intraction of UV radiation and IAA during growth of seedling and hypocotyls segments of Sunflower. *Plant Physiology*. 146(9):295-302.
- Sakihama, Y., Cohen, M.F. Grace, S.C. and Yamasaki, H. (2002).** Plant phenolic antioxidant and prooxidant activities: phenolic induced oxidative damage mediated by metals in plants. *Toxicology*. 177(9): 67-80.
- Shabrangi, A. and Majd, A. (2009).** Comparing effects of Electromagnetic Fields (60 Hz) on seed germination and seedling development in Monocotyledons and Dicotyledons. *Progress in Electromagnet. Research Symposium Proceeding*. Moscow, Russia, August 18 - 21.
- Shao, H.B., Chu, L.Y., ZH, L.U., Kang, C.M. (2008).** Primary antioxidant free radical scavenging and redox signaling pathway in higher plant cells. *International Journal of Biology Science*. 4(1): 8-14.
- Siripornadulsil, S., Traina, S., Verma, D.P. and Sayre, R.T. (2002).** Molecular mechanisms of proline-mediated tolerance to toxic heavy metals in transgenic microalgae. *Plant Cell*. 14(7): 2837-2847.
- Smirnoff, N. (1993).** The role of active oxygen in the response of plants to water deficit and desiccation. *Plant Phytology*. 125(1):27-58.
- Smirnoff, N. (1995).** Antioxidant systems and plant response to the environment; in *Environment and Plant Metabolism*. Bios Scientific Publishers, Oxford, United Kingdom. 111(2): 217-243.
- Smirnoff, N. (1998).** Plant resistance to environmental stress. *Current Opinion in Biotechnology*. 9(5):214-219.
- Tevini, M., Braun, J. and Fieser, G. (1991).** The productive function of the epidermal layer of rye seedling against ultraviolet-B radiation. *Journal of Photochemistry and Photobiology*. 53(6): 329-333.
- Verbruggen, N. and Hermans, C. (2008).** Proline accumulation in plants: A review. *Amino Acids* 35(3): 753-759.
- Yao, Y., Xuana, Z. and Li, Y. (2006).** Effect of Ultraviolet-B radiation on crop growth, development, yield and leaf pigment concentration of tartary buckwheat (*Fagopyrum tataricum*) under field conditions. *European Journal of Agronomy*. 25(7): 215-222.
- oxygen deprivation stress. *Annual of Botany*. 91(4): 179-194.
- Caldwell, M.M., Robberecht, R. and Flint, S.D. (1983).** Internal filters: prospects for UV acclimation in higher plants. *Physiologia Plantarum*. 58(8): 445-450.
- Change, C., Yang, M., Wen, H. and Chern, J. (2002).** Stimulation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. *Journal Food Drug Analysis*. 10(1): 178-182.
- Flint, S.D., Jordan, P.W. and Caldwell, M.M. (1985).** Plant protective responses to enhanced UV-B radiation under field condition: Leaf optical properties and photosynthesis. *Journal of Photochemistry Photobiology*. 41(4): 95-99.
- Hare, P.D. and Cress, W.A. (1997).** Metabolic implications of stress-induced accumulation in plants. *Plant Growth Regulation*. 21(2):79-103.
- Hare, P.D., Cress, W. and vanStaden, J. (1999).** Proline synthesis and degradation: a model system for elucidating stress related signal transduction. *Journal of Experimental Botany*. 50(1): 413-434.
- Hopkins, L., Bond, M.A. and Tobin, A.K. (2002).** Ultraviolet-B radiation reduces the rates of cell division and elongation in primary leaf of wheat (*Triticum aestivum* L.). *Plant Cell Environment*. 25(7):617-624.
- Hosseini sarghein, S., Carapetian, J. and Khara, J. (2011).** The effects of UV radiation on some structural and ultra structural parameters in peper (*Capsicum longum*). *Turk boil*. 35(8): 69-77.
- Iiao, B.A. (1997).** The effects of ultraviolet-B radiation and CO₂ on growth and photosynthesis of Tomato. *Canadian Journal of Botany*. 75(2): 213-219.
- Jansen, M., gaba, V. and Greenberg, B.M. (1998).** Higher plants and UV-B radiation : balancing damage, repair and accumulation. *Trends plants Science*. 3(1): 131-135.
- Kostal, V., Zahradnickova, H. and Simek, P. (2011).** Hyperprolinemic larvae of the drosophilid fly, *Chymomyza costata*, survive cryopreservation in liquid nitrogen. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 108(9): 13041-13046.
- Lichtenthaler, H.K. (1987).** Chlorophyll and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. *Method of Enzymology*. 148(4): 350-382.
- Maggio, A., Miyazaki, S. and Veronese, P. (2002).** Does proline accumulation play an active role in stress-induced growth reduction? *Plant Journal*. 31(5): 699-712.
- McDonald, S., Prenzler, P.D., Autolovich, M. and Robards, K. (2001).** Phenolic content

