

## بررسی اثر اشعه UV روی برخی پارامترهای ساختاری و فراساختاری در گیاه فلفل قلمی<sup>۱</sup>

سیاوش حسینی سرقین، ژیرایر کاراپتیان، جلیل خارا:  
دانشگاه ارومیه، دانشکده علوم، گروه زیست شناسی

[Sihosseini@yahoo.com](mailto:Sihosseini@yahoo.com)

### چکیده

در چند دهه اخیر تحقیقات متعددی برای ارزیابی پاسخ گیاهان به افزایش اشعه ماورای بنفش (UV)، در اثر کاهش لایه اوزون انجام گرفته است. هدف از این پژوهش بررسی اثرات اشعه UV روی برخی از پارامترهای ساختاری و فراساختاری گیاه فلفل قلمی<sup>۱</sup> تحت شرایط گلخانه‌ای است. این گیاهان در شرایط یک‌خواخت محیطی رشد داده شدند و بعد از ۳۵ روز تحت تیمار اشعه UV-A به مدت ۱۵ روز و اشعه UV-C به مدت ۸ روز قرار گرفتند. با بررسی‌های انجام گرفته مشخص شد که اشعه UV روی رشد ریشه تأثیر چندانی ندارد، ولی باعث کاهش رشد طولی ساقه می‌شود که این کاهش در مورد تیمار UV-C معنی‌دار بود. سطح برگ گیاهان تیمار شده با UV هم نسبت به شاهد کاهش نشان داد. اشعه UV روی ضخامت ریشه تأثیر چندانی نداشت، ولی باعث افزایش معنی‌دار ضخامت ساقه و برگ شد که این افزایش در تیمار UV-C بیش‌تر بود. همچنین تعداد و اندازه روزه‌های گیاهان در اثر تیمار با UV افزایش پیدا کرد. از لحاظ فراساختاری هم مشاهده شد که اشعه UV باعث ایجاد تغییراتی در کلروپلاست سلول‌های مزوفیل برگ شده و تیلاکوئیدهای آن اتساع پیدا می‌کنند. همچنین محتویات نشاسته‌ای کلروپلاست در گیاهان تیمار کاهش پیدا کرد. اشعه UV باعث تشکیل کریستال‌هایی در پراکسی زوم سلول‌های مزوفیل شد که این کریستال‌ها به علت افزایش فعالیت کاتالاز، که یک آنزیم آنتی‌اکسیدان است، تشکیل می‌شوند. در این بررسی مشخص شد که گیاه فلفل قلمی در برابر اشعه ماورای بنفش حساس بوده و از لحاظ ساختاری و فراساختاری متحمل تغییراتی می‌شود. حساسیت این گیاه به اشعه UV-C بیش از UV-A بود.

### مقدمه

در طی دو دهه اخیر ضخامت لایه اوزون در اثر فعالیت‌های صنعتی انسان و وارد کردن گاز کلروفلوروکربن (CFCs) به طبیعت کاهش پیدا کرده [۱]، [۲]، [۳] و بازسازی لایه اوزون به شدت انتشار مواد کاهنده اوزون مثل CFCs و گازهای گلخانه‌ای مانند CO<sub>2</sub> بستگی دارد [۴]. به موازات کاهش لایه اوزون میزان اشعه ماورای بنفش (UV) نفوذ یافته به سطح زمین نیز افزایش پیدا کرده که می‌تواند برای موجودات زنده

واژه‌های کلیدی: UV-A، UV-C، فلفل قلمی، ساختار، فراساختار، کلروپلاست

دریافت ۸۷/۱۲/۴

پذیرش ۸۹/۵/۲۵

۱. Capsicum longum DC.

از جمله گیاهان خطرناک باشد [۳]، [۵]، [۶]، [۷].

اشعه ماورای بنفش بخشی از طیف الکترومغناطیسی است که حدود ۹-۸٪ کل اشعه خورشیدی را تشکیل می‌دهد و از لحاظ طول موج به سه قسمت تقسیم می‌شود [۸]، [۹]:

UV-A (320-400nm), UV-B (280-320nm), UV-C (200-280nm)

گیاهان در برابر تابش UV یا باید آنرا تحمل کنند یا آنرا خنثی کنند و یا از آن اجتناب کنند [۱۰]. فوتون‌های UV انرژی کافی برای تخریب پیوندهای شیمیایی را به‌علت واکنش‌های شیمیایی دارا هستند که اثر بیولوژیکی اشعه ماورای بنفش هم به‌دلیل همین فرایند است [۱۱].

پروتئین‌ها، DNA، رنگیزه‌های فتوسنتزی، غشاهای زیستی، فتوسیستم‌های نوری و هورمون‌های گیاهی از اهداف بالقوه اشعه UV هستند [۶]، [۱۲]، [۱۳]. اشعه UV باعث تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن می‌شود که بسیار فعال است و می‌تواند با ماکرومولکول‌های حیاتی، چون لیپیدها، پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک واکنش نشان دهد و اعمال طبیعی سلول را مختل سازد [۱۴]، [۱۵]، [۱۶]، [۱۷]. القای آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان جزئی از پاسخ‌های دفاعی است و همچنین در بسیاری از گونه‌ها سنتز برخی از ترکیبات جاذب UV مثل فلاونوئیدها و آنتوسیانین‌ها در پاسخ به UV تحریک شده و با تجمع در بافت اپیدرمی از نفوذ اشعه به بافت‌های داخلی جلوگیری می‌کنند [۶]، [۱۸]. در بیشتر گونه‌ها علاوه بر افزایش ترکیبات جاذب UV، کاهش سطح برگ و افزایش ضخامت آن هم برای کاهش میزان UV اتفاق می‌افتد [۱۲]. بنا بر این ساختار برگ اجازه نفوذ نور فتوسنتزی را به‌صورت بهینه به درون برگ می‌دهد و بالعکس نفوذ اشعه‌های مضر، مثل UV محدود می‌شود [۱۹].

تأثیر اشعه UV روی رشد گیاهان به‌وسیله فیتوهورمون‌ها وساطت می‌شود که می‌تواند از طریق تخریب نوری یا از طریق واکنش‌های آنزیمی باشد. واکنش گیاهان مختلف در برابر UV یکسان نبوده و در بین گونه‌ها حتی رقم‌های مختلف متفاوت است. میزان حساسیت گیاهان علاوه بر نوع گیاه به عواملی چون سرعت رشد [۲۰]، مرحله نمو [۲۱]، فرم رویشی (علفی یا درختی)، و نوع عمل‌کرد آن [۲۲] بستگی دارد و همچنین عوامل محیطی، چون دما [۲۳]، میزان CO<sub>2</sub> اتمسفری [۲۴] نیتروژن [۲۵]، [۲۶] و فسفر خاک [۲۷] و میزان رطوبت [۲۸] می‌توانند این حساسیت را تحت تأثیر قرار دهند.

قسمت اعظم گیاهانی که تحت تیمار اشعه UV قرار گرفته‌اند میزان رشد آن‌ها کاهش یافته (کاهش در ارتفاع، وزن خشک، سطح برگ و غیره)، فعالیت‌های فتوسنتزی و همچنین گلدهی آن‌ها نیز کمتر شده است. کاهش فعالیت فتوسنتزی می‌تواند نتیجه اثر مستقیم روی فرایندهای فتوسنتزی یا مسیرهای متابولیکی بوده، یا به‌صورت غیر مستقیم از طریق تحت تأثیر قرار گرفتن رنگیزه‌های فتوسنتزی [۲۹] و عمل‌کرد روزنه‌ها باشد [۲۹]، [۳۰].

اشعه UV نه تنها روی فرایندهای فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی تأثیر می‌گذارد، بلکه در ساختار گیاهان هم مؤثر است. در بیشتر گیاهان، کاهش ارتفاع، کاهش سطح برگ و افزایش ضخامت برگ مشاهده شده است که

مکانیسمی حفاظتی در مقابل آسیب‌های ناشی از اشعه UV است [۳۱]. اثر UV در سطح سلولی هم در گیاهان مختلف بررسی شده و تغییراتی در سلول‌های روزنه، اپیدرم و مزوفیل مشاهده شده است. در اغلب گیاهان تیمارشده با UV، تغییر در اندازه کلروپلاست، کاهش تعداد و اندازه دانه‌های نشاسته و ظهور ترکیبات شبه کریستالی در پراکسی‌زوم‌ها مشاهده شده است. همچنین در پلاست‌ها و زیگولاسیون استرومایی ممکن است اتفاق بیفتد [۳۲]. کلروپلاست‌ها آسیب بیشتری در برابر UV متحمل شده و ممکن است ساختار عادی گرانا، تیلاکوئیدها و استروما بر هم خورده و تیلاکوئیدها متسع شوند. افزایش تراکم الکترونی در مرز واکوئل‌ها که نشانه‌ای از رسوب ترکیبات فنلی به‌عنوان فیلتر اشعه UV است- دیده شده است. در بعضی از گونه‌ها تغییرات فراساختاری دیگری هم مشاهده شده است که شامل اتساع غشای هسته، تورم کلروپلاست، انقطاع در غشای خارجی کلروپلاست، تورم در سیستم‌های ER و زیگولاسیون پلاسما و تونوپلاست از آن جمله‌اند [۳۳].

هدف از این پژوهش بررسی واکنش‌ها و تغییرات ساختاری و فراساختاری ایجاد شده در گیاه فلفل قلمی در برابر دزهای متفاوت اشعه UV بوده است که می‌تواند به‌صورت مقایسه‌ای برای بررسی عملکرد سایر گیاهان زراعی- که اهمیت تغذیه‌ای برای انسان دارند- به‌عنوان الگو مورد استفاده قرار گیرد. در این پژوهش تغییرات ساختاری گیاه از جمله ضخامت برگ، ساقه و ریشه، همچنین تعداد و اندازه روزنه‌ها و از لحاظ فراساختاری تغییرات ایجاد شده در اندامک‌های سلولی، مانند کلروپلاست‌ها و پراکسی‌زوم‌ها بررسی شده و همچنین سطح برگ و ارتفاع گیاهان تحت تیمار نیز مورد اندازه‌گیری قرار گرفته است.

### مواد و روش‌ها

فلفل قلمی با نام علمی (*Capsicum longum* L.) از تیره سیب زمینی<sup>۱</sup> بوده و دارای ارزش تغذیه‌ای است. بذره‌های تهیه شده از شرکت آرتان به مدت ۱۰ دقیقه در محلول ۱۰٪ هیپوکلریت سدیم ضدعفونی شده و برای جوانه‌زنی در داخل پتری دیش قرار گرفتند. رطوبت از طریق کاغذ صافی‌های خیس شده با آب مقطر تأمین شد. بعد از ۲ روز حدود ۹۰٪ بذرها جوانه زدند. خاک مورد استفاده برای گلدان‌ها همراه با ماسه با نسبت ۵:۱ به مدت ۴ ساعت در درجه حرارت ۱۲۱°C اوتوکلاو ضدعفونی شد.

بذره‌های جوانه زده در ۴۵ گلدان قرار گرفت و بعد از ۳۵ روز رشد در شرایط محیطی یکنواخت به سه گروه تقسیم شدند: ۱۵ گلدان به‌عنوان شاهد، ۱۵ گلدان برای تیمار UV-A که اشعه مورد نیاز آن با دو لامپ هیتاچی<sup>۲</sup> و ۱۵ گلدان برای تیمار UV-C که اشعه مورد نیاز آن با یک لامپ فیلیپس<sup>۳</sup> تأمین می‌شد. مورد استفاده قرار گرفتند. دز اشعه مورد استفاده برای تیمار UV-A،  $18/9 \text{ KJ m}^{-2}\text{d}^{-1}$ ، به مدت ۵ روز و برای تیمار UV-C،  $17/2 \text{ KJ m}^{-2} \text{d}^{-1}$  و به مدت ۸ روز بود. رشد گیاهان در دوره نوری ۱۴ ساعت روشنایی و ۱۰ ساعت تاریکی و در دمای ۲۶/۳۵°C (روز/شب) و میزان رطوبت نسبی ۵۷٪ انجام گرفت و به‌طور متناوب با محلول نیم قدرت هوگلد و آب مقطر آبیاری شدند.

۱. Solanaceae

۲. F20T9/BL-Hitachi, Japan

۳. TUV/G30T8-Philips, Holland

ارتفاع گیاهان شاهد و تیمار پس از برداشت اندازه‌گیری شد و سطح برگ آن‌ها هم با استفاده از دستگاه اسکنر و نرم‌افزار کامپیوتری<sup>۱</sup> محاسبه شد. بقیه نمونه‌ها برای بررسی‌ها میکروسکوپ نوری و الکترونی به ترتیب در محلول‌های F.A.A. و گلو تار آلدئید به‌عنوان فیکساتور قرار گرفتند.

برای بررسی با میکروسکوپ نوری، ابتدا مقاطع دستی از ساقه، ریشه و برگ گیاهان شاهد و تیمار تهیه شد و مقاطع پس از قرار گرفتن در داخل آب ژاول به مدت ۱۵ دقیقه با استفاده از کارمن زاجی و سبز متیل رنگ‌آمیزی شدند. نمونه‌ها پس از قرار گرفتن روی لام با میکروسکوپ نوری مدل زایس که مجهز به عدسی مدرج بود بررسی و ضخامت آن‌ها اندازه‌گیری شد. برای بررسی سلول‌های روزنه، اپیدرم برگ جدا شده و به‌صورت جداگانه در زیر میکروسکوپ بررسی و اندازه و تعداد آن‌ها با استفاده از عدسی مدرج محاسبه شد.

برای بررسی‌های فراساختاری از نمونه‌های فیکس شده در محلول گلو تار آلدئید ۳٪ استفاده شد. ابتدا نمونه‌ها با بافر فسفات با pH=7.4 شستشو داده شدند؛ سپس برای تثبیت بعدی در داخل محلول نتر اکسیداسمیوم ۱٪ به مدت سه الی چهار ساعت در محیط آزمایشگاه قرار گرفتند. در این مرحله مجدداً با بافر فسفات شستشو شدند و سپس با سری محلول‌های استون، آب‌گیری شدند و در نهایت در محلول رزین و استون با حجم مساوی به مدت یک ساعت قرار گرفتند. بعد از این مراحل نمونه‌ها در دمای ۶۰ الی ۷۰ درجه سانتی‌گراد به مدت هفت الی هشت ساعت در رزین خالص به‌عنوان ماده قالب‌گیری قرار داده شدند. نمونه‌ها بعد از قالب‌گیری با دستگاه اولترامیکروتوم به ضخامت ۷۰ نانومتر برش داده شده و روی گریدهای مسی قرار گرفتند. برای رنگ‌آمیزی نمونه‌ها از دو ماده استات اورانیوم و سیترات سرب استفاده شد. نمونه‌های رنگ‌آمیزی شده با استفاده از میکروسکوپ الکترونی گذاره<sup>۲</sup> و در ۷۵kV بررسی و عکس‌برداری شدند.

به منظور آنالیز آماری برای هر تیمار ۳ تکرار در نظر گرفته شد و مقایسه میانگین داده‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای توکی در سطح احتمال آماری ۰/۰۵ <math>P</math> انجام شد [۳۴].

## نتایج و بحث

### ۱. رشد طولی ریشه و ساقه

بر اساس نتایج به‌دست آمده در این تحقیق، اشعه UV روی رشد ریشه تأثیر چندانی نداشت؛ ولی باعث کاهش رشد طولی ساقه شد که این کاهش در مورد تیمار UV-C معنی‌دار بود (شکل‌های ۱ و ۲). رشد اغلب گونه‌های گیاهی با افزایش UV کاهش می‌یابد. در پژوهشی روی گیاهان آفتاب‌گردان، ذرت و دانه‌سبزی‌های چاودار مشاهده شده است که ارتفاع گیاه به‌طور معنی‌داری کاهش می‌یابد [۳۵] که گفته می‌شود به‌واسطه تخریب تنظیم‌کننده‌های رشد، یعنی اسید ایندول استیک (IAA) و تشکیل ترکیبات منع‌کننده رشد در اثر تابش UV است. همچنین فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز که در نقش IAA-اکسیداز عمل می‌کنند باعث کاهش در انعطاف‌پذیری

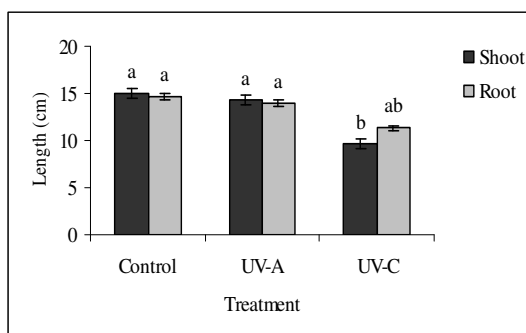
۱. Flächenberechnung-einer-sw-Grafik

۲. CM 100 BIOTWIN-PHILIPS مدل

دیواره‌های سلولی شده و رشد منع می‌گردد [۳۶]. در گیاه ایمپاتینس<sup>۱</sup> [۴۳]، پنبه<sup>۲</sup> [۳۷]، نخود فرنگی<sup>۳</sup> [۳۸] و گیاه فاگوپیروم تاتاریکوم<sup>۴</sup> [۳۹] نیز کاهش رشد و ارتفاع گیاه در اثر UV گزارش شده است.



شکل ۱. اثر طیف‌های مختلف اشعه UV روی رشد ظاهری گیاهان تیمار در مقایسه با شاهد



شکل ۲. اثر طیف‌های مختلف اشعه UV روی طول ریشه و ساقه گیاه فلفل قلمی مقادیری که با حروف مشابه مشخص شده‌اند بر اساس آزمون توکی اختلاف معنی‌داری در سطح  $P=0.05$  ندارند.

## ۲. سطح برگ

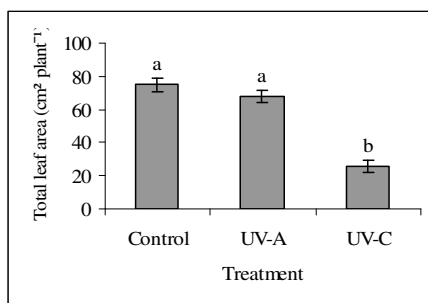
با بررسی اثر UV روی سطح برگ، مشاهده شد که این اشعه باعث کاهش سطح برگ گیاهان تیمار شد که این کاهش در مورد تیمار UV-C معنی‌دار بود و سطح برگ این گیاهان به‌طور چشمگیری کاهش یافته بود (شکل ۳). کاهش سطح برگ یک تغییر فتومورفوزنتیکی در مقابل اشعه UV است که می‌تواند باعث کاهش آسیب‌های وارد شده به برگ باشد [۱۳]. کاهش سطح برگ ممکن است به‌علت کاهش تقسیمات سلولی باشد [۱۲]، [۳۷]، [۳۸]. اشعه UV می‌تواند با آسیب رساندن به DNA باعث اختلال در همانندسازی شده و تقسیم سلولی را مهار کند؛ زیرا DNA یکی از اهداف اشعه UV است [۴۰]، [۴۱]. بنا بر این، UV باعث کاهش فعالیت میتوزی و افزایش مدت زمان تقسیم سلولی می‌گردد [۴۲]. کاهش سطح برگ در مقابل اشعه UV در گیاهان آفتاب‌گردان و ذرت [۳۵]، پنبه [۳۷]، نخود فرنگی [۳۸]، ایمپاتینس [۴۳]، سیب زمینی [۳۲] و فاگوپیروم تاتاریکوم [۳۹] نیز گزارش شده است.

۱. *Impatiens capensis*

۲. *Gossypium hirsutum* L.

۳. *Pisum sativum* L.

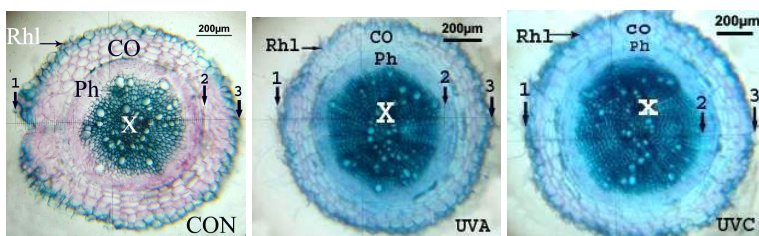
۴. *Fagopyrum tataricum*



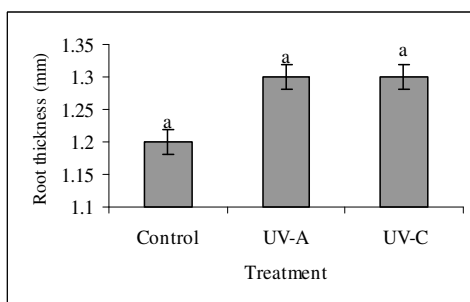
شکل ۳. اثر طیف‌های مختلف اشعه UV روی سطح برگ گیاه فلفل قلمی مقادیری که با حروف مشابه مشخص شده‌اند بر اساس آزمون توکی اختلاف معنی‌داری در سطح  $P=0.05$  ندارند.

### ۳. ضخامت ریشه

شکل‌های ۴ و ۵ نتیجه تأثیر اشعه UV روی ضخامت ریشه را نشان می‌دهند. در این بررسی مشاهده شد که ضخامت ریشه به‌صورت معنی‌دار تحت تأثیر UV قرار نگرفته و در گیاهان تیمار بافت‌های مختلف ریشه از جمله لایه تارهای کشنده، پارانشیم پوستی، آبکش و چوب به‌صورت عادی و تقریباً همانند شاهد رشد کرده‌اند.



شکل ۴. اثر طیف‌های مختلف اشعه UV روی ضخامت ریشه گیاه فلفل قلمی. قطر ریشه‌ها بین فلش‌هایی که با اعداد ۱ و ۳ نشان داده شده‌اند مشخص شده است. CO، پارانشیم پوستی؛ Ph، فلونم؛ X، گزیم؛ Rh1، لایه تارهای کشنده

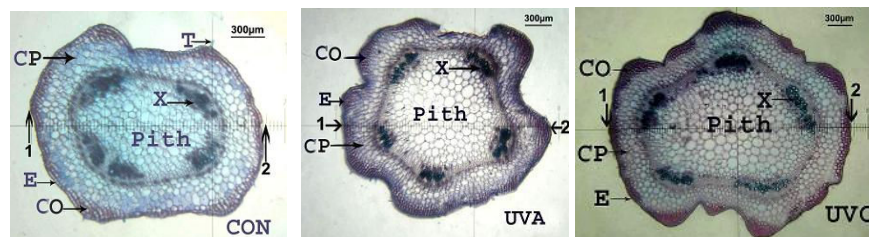


شکل ۵. اثر طیف‌های مختلف اشعه UV روی ضخامت ریشه گیاه فلفل قلمی مقادیری که با حروف مشابه مشخص شده‌اند بر اساس آزمون توکی اختلاف معنی‌داری در سطح  $P=0.05$  ندارند.

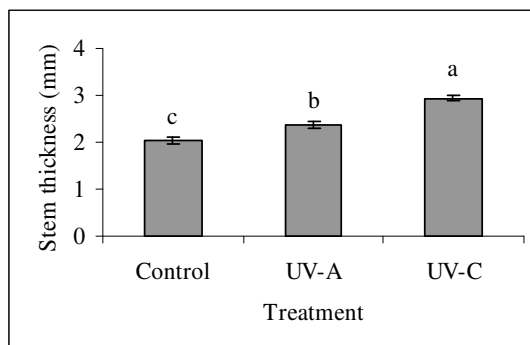
### ۴. ضخامت ساقه

با بررسی مقاطع میکروسکوپی تهیه شده از ساقه گیاهان شاهد و تیمار، مشاهده شد که میزان رشد قطری و ضخامت ساقه به‌صورت معنی‌داری تحت تأثیر اشعه UV افزایش پیدا کرده و این افزایش مخصوصاً در تیمار UV-C بیشتر است (شکل‌های ۶ و ۷). یکی از دلایل عنوان شده برای این پدیده این است که اشعه UV

تولید هورمون اتیلن را ترغیب می‌کند و افزایش اتیلن رشد طولی را کاهش داده و رشد عرضی و قطری را افزایش می‌دهد [۴۴]. ولی در گیاه فاگوپیروم تاتاریسیم کاهش ضخامت ساقه تحت تیمار UV مشاهده شده است [۳۹].



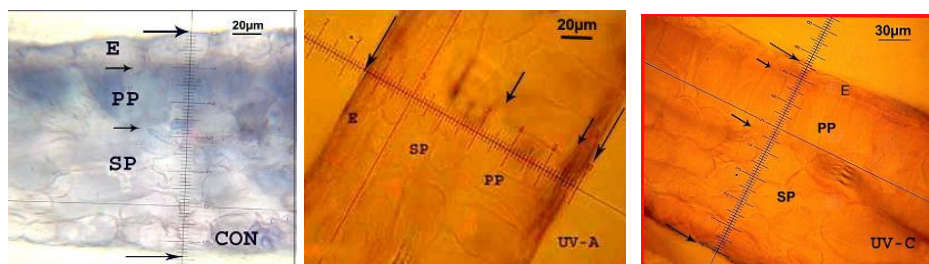
شکل ۶. اثر طیف‌های مختلف اشعه UV روی ضخامت ساقه گیاهان تیمار در مقایسه با شاهد. قطر ساقه در ضخیم‌ترین قسمت هر نمونه با عدسی مدرج اندازه‌گیری و بین فلش‌هایی که با اعداد ۱ و ۲ مشخص شده‌اند نشان داده شده است. E، اپیدرم؛ CO، کلانشیم؛ CP، پارانشیم پوستی؛ X، گزیم؛ T، کرک



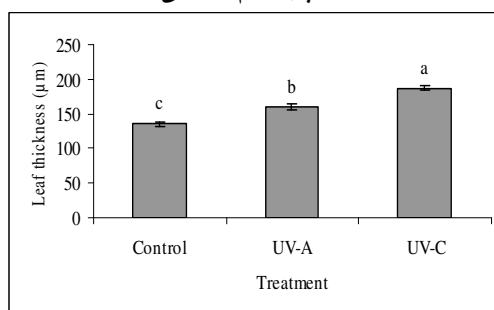
شکل ۷. اثر طیف‌های مختلف اشعه UV روی ضخامت ساقه گیاه فلفل قلمی مقادیری که با حروف مشابه مشخص شده‌اند بر اساس آزمون توکی اختلاف معنی‌داری در سطح  $P=0.05$  ندارند.

### ۵. ضخامت برگ

مقاطع عرضی تهیه شده از برگ گیاهان شاهد و تیمار نشان داد که اشعه UV باعث افزایش معنی‌دار ضخامت برگ‌های گیاهان تیمار شد که این افزایش مخصوصاً در تیمار UV-C بیش‌تر بود. در گیاهان شاهد و تیمار یک ردیف پارانشیم نرده‌ای مشخص شکل گرفته و سه ردیف پارانشیم اسفنجی دیده می‌شود ولی اندازه سلول‌ها در گیاهان تیمار بیش‌تر از شاهد بود (شکل‌های ۸ و ۹). افزایش ضخامت برگ مکانیسمی حفاظتی است و باعث افزایش مقاومت آن در برابر اشعه UV می‌شود [۱۲]، [۴۵]، [۴۶] و آسیب‌های اشعه را روی بافت‌های حساس فتوسنتزی کاهش می‌دهد [۴۷].



شکل ۸. اثر طیف‌های مختلف اشعه UV روی ضخامت برگ گیاهان تیمار در مقایسه با شاهد. ضخامت برگ‌ها بین دو فلش بزرگ و اندازه پارانثیم‌های نرده‌ای بین دو فلش کوچک نشان داده شده است E، اپیدرم؛ PP، پارانثیم نرده‌ای؛ SP، پارانثیم اسفنجی.



شکل ۹. اثر طیف‌های مختلف اشعه UV روی ضخامت برگ گیاه فلفل قلمی

مقادیری که با حروف مشابه مشخص شده‌اند بر اساس آزمون توکی اختلاف معنی‌داری در سطح  $P=0.05$  ندارند.

افزایش ضخامت برگ در برابر اشعه UV قبلاً نیز در گیاهان براسیکا کامپستریس<sup>۱</sup> [۴۷]، پوپولوس کاتایانا<sup>۲</sup> [۴۸]، سیب زمینی [۳۲]، سویا [۴۹] و کلزا [۵۰] هم گزارش شده است. با وجود این، در بعضی از گونه‌های گیاهی، مانند فاگوپیروم تاتاریکوم [۳۹]، ذرت [۱۲] و پنبه [۳۷] کاهش ضخامت برگ در برابر اشعه UV مشاهده شده است. در نوعی کاج<sup>۳</sup> افزایش ضخامت سلول‌های اپیدرمی و هیپودرمی هم گزارش شده است [۲].

#### ۶. اندازه و تراکم روزنه‌ها

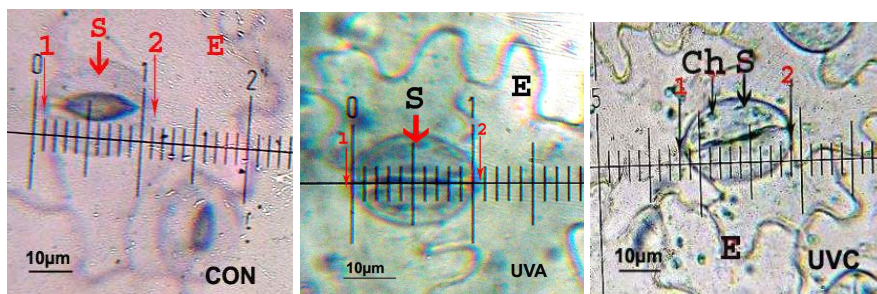
تأثیر اشعه UV روی طول روزنه‌ها هم بررسی و مشخص شد که این اشعه باعث افزایش اندازه روزنه‌ها می‌شود. افزایش اندازه روزنه‌های گیاهان در معرض UV-C بیش‌تر از UV-A بود (شکل‌های ۱۰ و ۱۱). اشعه UV علاوه بر اندازه روزنه‌ها روی تعداد و تراکم روزنه‌ها نیز تأثیر گذاشته و باعث افزایش تعداد روزنه‌ها در واحد سطح شد که این افزایش در مورد گیاهان تیمار شده با UV-C معنی‌دار بود (شکل‌های ۱۲ و ۱۳). افزایش تعداد و تراکم روزنه‌ها و همچنین افزایش طول روزنه‌ها نیز در مورد گیاهان پنبه [۳۷]، اوکالیپتوس و آکاسیا [۵۱] گزارش شده است.

۱. *Brassica campestris*

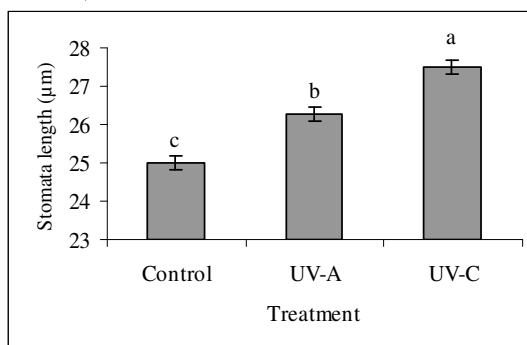
۲. *Populus cathayana*

۳. Scots pine

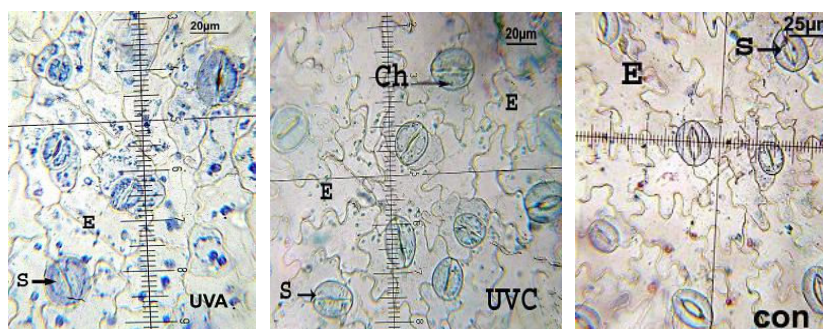




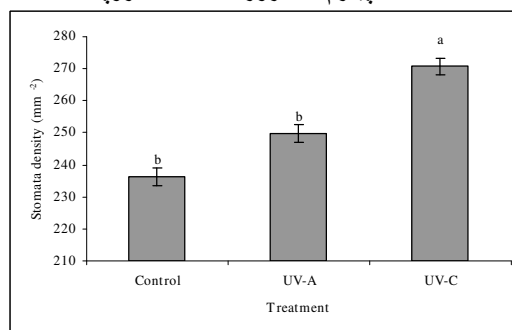
شکل ۱۰. اثر طیف‌های مختلف اشعه UV روی اندازه روزنه‌های گیاهان تیمار در مقایسه با شاهد. اندازه روزنه‌ها بین فلش‌هایی که با اعداد ۱ و ۲ نشان داده شده‌اند مشخص شده است. E، اپیدرم؛ S، روزنه؛ Ch، کلروپلاست



شکل ۱۱. اثر طیف‌های مختلف اشعه UV روی اندازه روزنه‌های گیاه فلفل قلمی مقادیری که با حروف مشابه مشخص شده‌اند بر اساس آزمون توکی اختلاف معنی‌داری در سطح  $P=0.05$  ندارند.



شکل ۱۲. اثر طیف‌های مختلف اشعه UV روی تعداد روزنه‌های گیاهان تیمار در مقایسه با شاهد E، اپیدرم؛ S، روزنه؛ Ch، کلروپلاست



شکل ۱۳. اثر طیف‌های مختلف اشعه UV روی تراکم روزنه‌های گیاه فلفل قلمی مقادیری که با حروف مشابه مشخص شده‌اند بر اساس آزمون توکی اختلاف معنی‌داری در سطح  $P=0.05$  ندارند.

## ۷. فراساختار

اثر اشعه UV از لحاظ فراساختاری نیز با میکروسکوپ الکترونی روی سلول‌های مزوفیل برگ بررسی و مشخص شد که این اشعه علاوه بر ساختار تشریحی، روی برخی پارامترهای سلولی نیز تأثیر گذاشته و باعث تغییراتی در ارگانل‌های داخل سلولی می‌شود. کلروپلاست‌ها از جمله مهم‌ترین اندامک‌های سلولی هستند که تحت تأثیر اشعه UV قرار می‌گیرند و در حقیقت از میان اندامک‌های مختلف، کلروپلاست‌ها حساسیت بیش‌تری در برابر UV از خود نشان می‌دهند [۱۲]. مقایسه کلروپلاست گیاهان تحت تیمار اشعه UV با کلروپلاست گیاهان شاهد نشان داد که تیلاکوئیدها که در گیاهان شاهد دارای نظم و انسجام هستند، در گیاهان تیمار انسجام کم‌تری دارند و حالت اتساع پیدا کرده‌اند (شکل ۱۴). اتساع تیلاکوئیدها در اثر اشعه UV در گیاه نخود فرنگی نیز گزارش شده است در این گیاه علاوه بر اتساع تیلاکوئیدها، تورم در کلروپلاست و شبکه آندوپلاسمی، اتساع غشای هسته و وزیکولاسیون در غشای پلاسمایی و تونوپلاست مشاهده شده است [۱۲]. اتساع غشاء تیلاکوئیدی در اثر اشعه UV در نوعی جلبک قرمز به‌نام پالماریا دسیپینس<sup>۱</sup> [۴۱] و نخود فرنگی [۱۱] نیز گزارش شده است، ولی در سیب زمینی اثری روی سیستم تیلاکوئیدی نداشته است [۳۲].

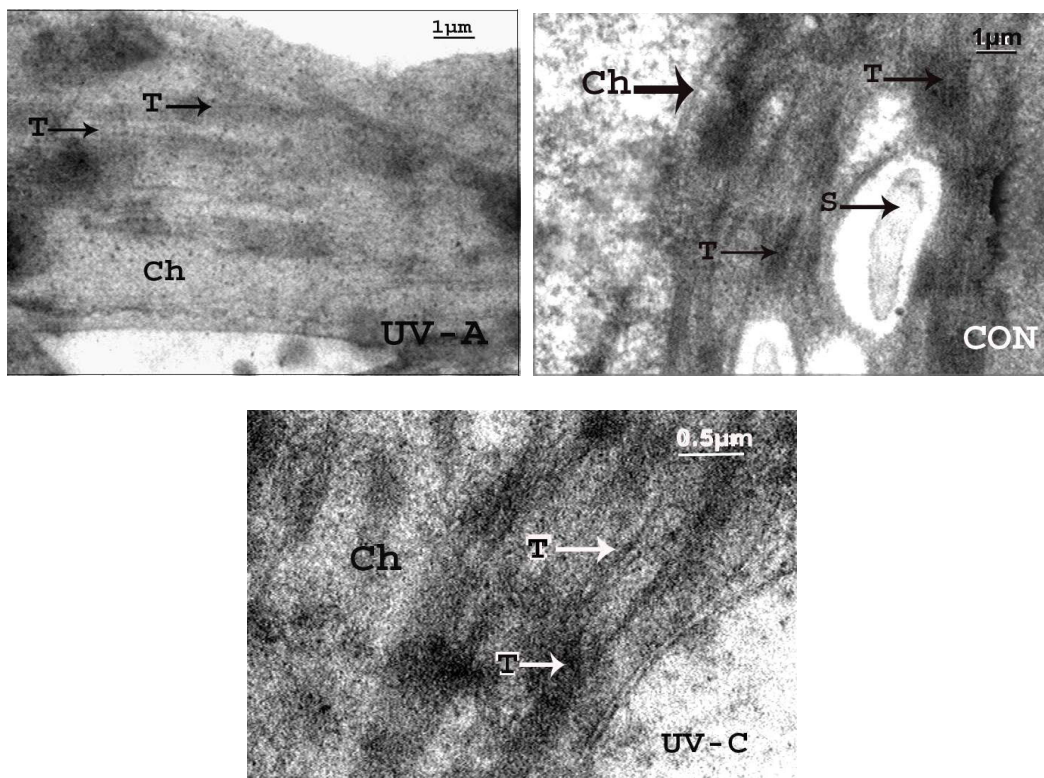
اشعه UV روی محتویات نشاسته کلروپلاست‌ها نیز تأثیر گذاشته و باعث کاهش آن‌ها شد. چنان‌که در شکل ۱۵ دیده می‌شود تعداد و اندازه دانه‌های نشاسته در کلروپلاست گیاهان تیمار کاهش یافته است. دانه‌های نشاسته در اثر فرایند فتوسنتز در کلروپلاست سنتز می‌شوند [۵۲]. بنا بر این هرگونه تغییری در ساختار و عملکرد کلروپلاست باعث کاهش محتویات نشاسته آن خواهد شد. در سیب زمینی هم کاهش محتویات نشاسته‌ای کلروپلاست در معرض UV مشاهده شده است [۳۲]. در مقابل در نوعی نخود فرنگی<sup>۲</sup> مشاهده شده است که محتویات نشاسته برگ‌های در معرض اشعه UV افزایش پیدا کرده است که گفته می‌شود بیش‌تر به خاطر عدم تحرک دانه‌های نشاسته به علت آسیب رسیدن به آنزیم‌های تجزیه کننده نشاسته بوده است تا افزایش در سنتز نشاسته [۱۱]. در ذرت هم تجمع و افزایش دانه‌های نشاسته در اثر آسیب دیدن میتوکندری در اثر اشعه UV صورت گرفته است؛ یعنی جایی که نشاسته به‌عنوان سوسترای تنفسی استفاده می‌شود و در اثر آسیب میتوکندری استفاده نشده و در کلروپلاست تجمع پیدا کرده است [۵۳].

یکی دیگر از تغییرات مهم فراساختاری مشاهده شده در اثر اشعه UV، تغییرات ایجاد شده در پراکسی‌زوم‌ها بود. پراکسی‌زوم‌ها یکی از اندامک‌های داخل سلولی هستند که محل فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، مثل کاتالازها هستند. کاتالاز پراکسید هیدروژن را به آب و اکسیژن تجزیه می‌کند و اثر سمی آن‌را مهار می‌کند [۵۴]. بنا بر این در استرس‌های اکسیداتیو فعالیت آن معمولاً افزایش پیدا می‌کند. اشعه UV هم یکی از فاکتورهایی است که باعث ایجاد تنش اکسیداتیو می‌شود و کاتالاز یکی از آنزیم‌های کلیدی سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدان را

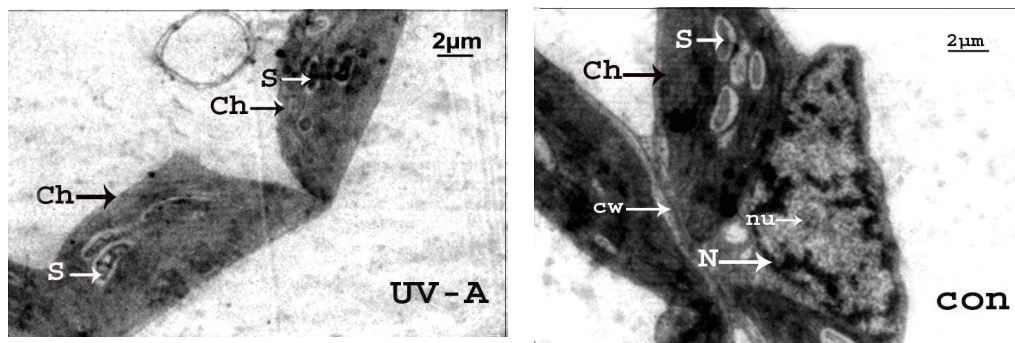
۱. *Palmaria decipiens*

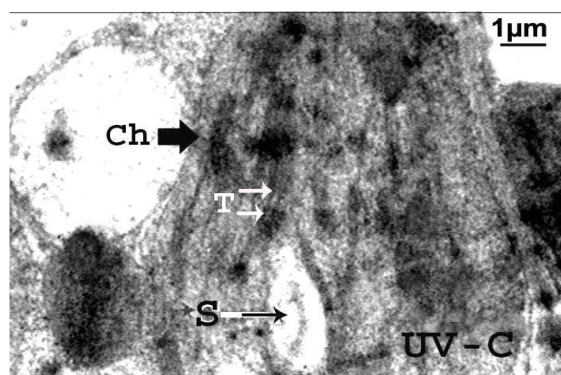
۲. Pea cv. Greenfas

تشکیل می‌دهد [۳۲]. در این بررسی مشاهده شد که پراکسی‌زوم سلول‌های مزوفیل تحت تیمار UV حاوی کریستال‌هایی هستند که در گیاهان شاهد دیده نمی‌شود. در شکل ۱۶ پراکسی‌زوم نمونه شاهد فاقد کریستال، نمونه مربوط به تیمار UV-A دارای یک پراکسی‌زوم محتوی کریستال و نمونه مربوط به تیمار UV-C دارای دو پراکسی‌زوم حاوی کریستال، دیده می‌شود. در حقیقت این کریستال‌ها در اثر تجمع کاتالاز تشکیل شده و فعالیت کاتالازی از خود نشان می‌دهند [۵۵]. در گیاه سیب زمینی تحت تیمار UV هم ظهور این کریستال‌ها در پراکسی‌زوم‌ها مشاهده شده است که به موازات آن فعالیت کاتالازها افزایش پیدا کرده است [۳۲]. چنین تغییراتی در لپه‌های آفتابگردان نیز گزارش شده است [۵۶].

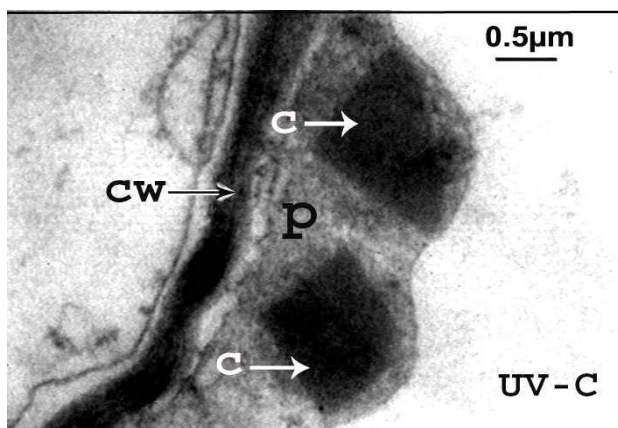
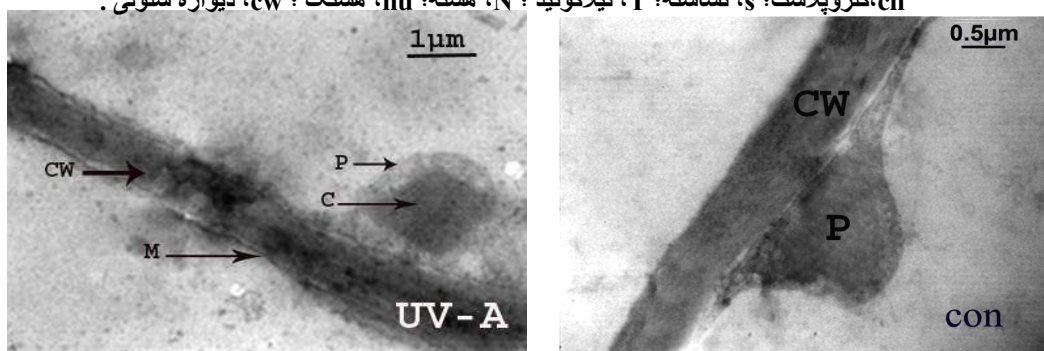


شکل ۱۶. اثر اشعه V روی ساختار تیلاکوئیدی کلروپلاست سلول‌های مزوفیل گیاهان تیمار در مقایسه با شاهد  
Ch، کلروپلاست؛ T، تیلاکوئید؛ S، نشاسته





شکل ۱۵. اثر اشعه UV روی میزان نشاسته موجود در کلروپلاست سلول‌های مزوفیل گیاهان تیمار در مقایسه با شاهد  
ch، کلروپلاست؛ s، نشاسته؛ T، تیلاکوئید؛ N، هسته؛ nu، هستک؛ cw، دیواره سلولی.



شکل ۱۶. اثر اشعه UV روی تشکیل کریستال‌های پروکسی زومی در سلول‌های مزوفیل گیاهان تیمار در مقایسه با شاهد  
M، غشای سلولی؛ CW، دیواره سلولی؛ C، کریستال؛ P، پروکسی زوم.

### نتیجه‌گیری

پژوهش حاضر نشان داد که گیاه فلفل قلمی همانند بیشتر گیاهان زراعی در برابر اشعه UV حساس بوده و از لحاظ ساختاری متحمل تغییراتی در برابر اشعه UV می‌شود که از جمله کاهش سطح برگ و افزایش ضخامت آن اتفاق افتاد که این تغییرات واکنشی دفاعی است که باعث کاهش اشعه دریافتی توسط بافت‌های گیاه شده و



آسیب‌های آن به حداقل می‌رسد. از لحاظ فراساختاری هم تغییراتی در اندامک‌های سلولی مخصوصاً کلروپلاست‌ها و پروکسی زوم‌ها مشاهده شد و تعداد و اندازه دانه‌های نشاسته در کلروپلاست گیاهان تیمار کاهش پیدا کرد و در داخل پروکسی زوم‌ها کریستال‌هایی مشاهده شد که حاصل تجمع آنزیم کاتالاز است. افزایش فعالیت این آنزیم باعث کاهش آسیب‌های ناشی از اشعه UV می‌شود. از سوی دیگر، مشخص شد که حساسیت این گیاه در برابر اشعه UV-C بیش از UV-A است.

### سپاس‌گزاری

بخش فراساختاری این تحقیق در مرکز میکروسکوپ الکترونی دانشگاه ارومیه انجام گرفت که جا دارد از مساعدت و همکاری جناب آقای دکتر فرشید و آقای کهربا تشکر و قدردانی گردد.

### منابع

1. M. J. Molina, F. S. Rowland, "Stratospheric sink for chlorofluoromethanes: chlorine atom-catalyzed destruction of ozone", *Nature*, 249 (1974) 810-812.
2. M. Turunen, M-L Sutinen, K. Derome, M. Krywullt, J. Smykla, K. King and K. Lakkala, "Ecophysiological responses of subarctic scots pine to ultraviolet (UV) radiation", *Polish Botanical Studies*, 19 (2005) 143-150.
3. WMO (World Meteorological Organization), Global ozone research and monitoring project, scientific assessment of ozone depletion: 1998. Report 44, World Meteorological Organization Global Ozone Research and Monitoring Project, Geneva, Switzerland (1999).
4. P. Taalas, J. Kaurola, A. Kylling, D. Shindell, R. Sausen, M. Dameris, V. Grewe, J. Hermand, J. Damski, and B. Steil, "The impact of greenhouse gases and halogenated species on future solar UV radiation doses", *Geophys. Res. Lett.* 27 (2000) 1127-1130.
5. M. Blumthaler, W. Amback, "Indication of increasing solar UV-B radiation flux in alpine regions", *Science*, 248 (1990) 206-208.
6. P. Casati, V. Walbot, "Crosslink of ribosomal proteins to RNA in maize ribosomes by UV-B and its effects on translation", *Plant Physiol*, 136 (2004) 3319-3332.
7. J. R. Ziemke, S. Chandra and J. Herman, "Erythemally weighted UV trends over northern latitudes derived from Nimbus 7 TOMS measurements", *J. Geophys. Res.* 105 (2000) 7373-7382.

8. T. P. Coohill, "Ultraviolet action spectra (280 nm to 380 nm) and solar effectiveness spectra for higher plants", *Photochem, Photobiol*, 50 (1989) 451-457.
9. J. E. Frederick, "Ultraviolet sunlight reaching the Earth's surface", A review of recent research, *Photochem, Photobiol*, 57 (1993) 175-178.
10. A. W. D. Larkum, W. F. Wood, "The effect of UV-B radiation on photosynthesis and respiration of phytoplankton", benthic macroalgae and seagrasses, *Photosynth, Res.* 36 (1993) 17-23.
11. E. Kovacs, A. Keresztes, "Effect of gamma and UV-B/C on plant cells", *Micron*, 33 (2002) 199-210.
12. F. Hollosy, "Effects of ultraviolet radiation on plant cells", *Micron*, 33 (2002) 179-197.
13. M. A. K. Jansen, V. Gaba and B. M. Greenberg, (1998) Higher plants and UV-B radiation: balancing damage, repair and acclimation, *Trends in Plant Science*, 3 (2002) 131-135.
14. Q. Dai, B. Yan, S. Huang, X. Liu, S. Peng, M. L. L. Miranda, A. Q. Chavez, B. S. Vergara and D. M. Olszyk, "Response of oxidative stress defense systems in rice (*Oryza sativa*) leaves with supplemental UV-B radiation", *Physiol, Plant*, 101(1997) 301-308.
15. E. Hideg, C. Barta, T. Kálai, I. Vass, K. Hideg and K. Asada, "Detection of singlet oxygen and superoxide with fluorescent sensor in leaves under stress by photoinhibition or UV radiation", *Plant Cell Physiol*, 43 (2002) 1154-1164.
16. E. Hideg, I. Vass, "UV-B induced free radical production in plant leaves and isolated thylakoid membranes", *Plant Sci.* 115 (1996) 251-260.
17. S. A. H. Mackerness, C. F. John, B. Jordan and B. Thomas, "Early signalling components in ultraviolet-B responses: distinct roles for different reactive oxygen species and nitric oxide", *FEBS Lett.* 489 (2001) 237-242.
18. C. A. Rice-Evans, N. J. Miller and G. Papanga, "Antioxidant properties of phenolic compounds", *Trends Plant Sci.* 2 (1997) 152-159.
19. H. L. Gorton and T. C. Vogelmann, "Effects of Epidermal Cell Shape and Pigmentation on Optical Properties of *Antirrhinum* Petals at Visible and Ultraviolet Wavelengths", *Plant Physiol*, 11 (1996) 879-8238.
20. M. Eichhorn, G. Dohler and H. Austen, "Impact of UV-B radiation on photosynthetic electron transport of *Wolffia arrhiza* L. Wimm", *Photosynthetica*, 39 (1993) 613-618.

21. A. H. Teramura, J. H. Sullivan, "Soybean growth responses to enhanced levels of ultraviolet-B radiation under greenhouse conditions", *American Journal of Botany*, 74 (1987) 975-979.
22. D. Gwynn-Jones, J. Lee, U. Johanson, G. Phoenix, T. Callaghan and M. Sonesson, "The responses of plant functional types to enhanced UV-B radiation. In: Rozema J, ed. Stratospheric ozone depletion: the effects of enhanced UV-B radiation on terrestrial ecosystems", Leiden, The Netherlands: Backhuys Publishers (1999) 173-185.
23. U. Mark, M. Tevini, "Effects of solar ultraviolet-B radiation, temperature and CO<sub>2</sub> on growth and physiology of sunflower and maize seedlings", *Plant Ecology*, 128 (1997) 224-234.
24. J. H. Sullivan, "Effects of Increasing UV-B Radiation and Atmospheric CO<sub>2</sub> on Photosynthesis and Growth: Implications for Terrestrial Ecosystems", *Plant Ecology*, 128 (1997) 194-206.
25. C. M. Correia, J. F. Coutinho, L. O. Bjorn and J. M. G. Torres-Pereira, "Ultraviolet-B radiation and nitrogen effects on growth and yield of maize under Mediterranean field conditions", *European Journal of Agronomy*, 12 (2000) 117-125.
26. J. E. Hunt, D. L. McNeil, "Nitrogen status affects UV-B sensitivity of cucumber", *Australian Journal of Plant Physiology*, 25 (1998) 79-86.
27. N. S. Murali, A. H. Teramura, "Effects of UV-B irradiance on soybean. VI. Influence of phosphorus nutrition on growth and flavonoid content", *Physiologia Plantarum*, 63 (1985) 413-416.
28. J. H. Sullivan, A. H. Teramura, "Field study of the interaction between solar ultraviolet-B radiation and drought on photosynthesis and growth in soybean", *Plant Physiology*, 92 (1990) 141-146.
29. A. H. Teramura, M. Tevini, J. F. Bornman, M. M. Caldwell, G. Kulandaivelu and L. O. Bjorn, *Terrestrial plants*, Chapter 3 in *Environmental effects of ozone depletion* (1991).
30. G. Grammatikopoulos, G. Karabourniotis, A. Kyparissis, Y. Petropoulou and Y. Manetas, "Leaf hair of olive (*Olea europaea*) prevent stomatal closure by Ultraviolet-B radiation", *Australian Journal of Plant Physiology*, 21 (1994) 293-301.

31. P. W. Barnes, S. D. Flint and M. M. Caldwell, "Morphological responses of crop and weed species of different growth forms to ultraviolet-B radiation", *Am.J. Bot.* 77 (1990) 1354-360.
32. I. Santos, F. Fidalgo, J. M. Almeida and R. Salema, "Biochemical and ultrastructural changes in leaves of potato plants grown under supplementary UV-B radiation", *Plant Sciences*, 167 (2004) 925-935.
33. J. R. Brandle, W. F. Campbell, W. B. Sisson and M. M. Caldwell, "Net photosynthesis, electron transport capacity, and ultrastructure of *Pisum sativum* L. exposed to ultraviolet-B radiation", *Plant Physiol*, 60 (1977) 165-169.
34. SAS. The SAS System Version 7 for Windows, SAS Institute, Cary (2000).
35. M. Tevini, U. Mark and M. Saile-Mark, "Effects of enhanced solar UV-B radiation on growth and function of crop plant seedlings", *Curr. Top. Plant Biochem, Physiol*, 10 (1991) 13-31.
36. J. Ros, On the effect of UV-radiation on elongation growth of sunflower seedlings (*Helianthus annuus* L.) (Thesis) 1-157 in Karlsru, Beitr. Entw. Okophysiol, 8, Tevini, M. (ed.), Bot. Inst. II, Karlsruhe (1990).
37. V. G. Kakani, K. R. Reddy, D. Zhao and A. R. Mohammed, "Effects of ultraviolet-B radiation on cotton (*Gossypium hirsutum* L.) morphology and anatomy", *Annals of Botany*, 91 (2003) 817-826.
38. S. Nogués, D. J. Allen, J. I. L. Morison and N. R. Baker, "Ultraviolet-B Radiation Effects on Water Relations, Leaf Development, and Photosynthesis in Droughted Pea Plants", *Plant Physiol*. 117 (1998) 173-181.
39. Y. Yao, Z. Xuana, Y. Li, Y. He, H. Korpelainen and C. Li, "Effects of ultraviolet-B radiation on crop growth, development, yield and leaf pigment concentration of tartary buckwheat (*Fagopyrum tataricum*) under field conditions", *Europ. J. Agron.* 25 (2006) 215-222.
40. A. G. J. Buma, H. J. Zemmeling, K. Sjollem and W. W. C. Gieskes, "UV-B radiation modifies protein and photosynthetic pigment content, volume and ultrastructure of marine diatoms", *Mar. Ecol.-Prog. Ser.* 142 (1996) 47-54.
41. A. Holzinger, C. Lutz, "Algae and UV irradiation: Effects on ultrastructure and related metabolic functions", *Micron*, 37 (2006) 190-207.



42. L. Hopkins, M. A. Bond and A. K. Tobin, "Ultraviolet-B radiation reduces the rates of cell division and elongation in the primary leaf of wheat (*Triticum aestivum* L. cv Maris Huntsman), *Plant, Cell & Environment*", 25 (2002) 617-624.
43. P. Dixon, C. Weinig and J. Schmitt, "Susceptibility to UV damage in *Impatiens capensis* (Balsaminaceae): testing for opportunity costs to shade-avoidance and population differentiation", *American Journal of Botany*, 88 (2001) 1401-1408.
44. J. Ros, M. Tevini, "Interaction of UV radiation and IAA during growth of seedlings and hypocotyl segments of sunflower", *J. Plant Physiol*, 146 (1995) 295-302.
45. T. A. Day, "Relating UV-B radiation screening effectiveness of foliage to absorbing compound concentration and anatomical characteristics in a diverse group of plants", *Oecologia*, 95 (1993) 542-550.
46. G. Deckmyn, I. Impens, "Seasonal responses of six Poaceae to differential levels of solar UV-B radiation", *Environ, Exp. Bot.* 41 (1999) 177-184.
47. J. F. Bornman, T. C. Vogelmann, "Effect of UV-B radiation on leaf optical properties measured with fibre optics", *Journal of Experimental Botany*, 42 (1991) 547-554.
48. J. Ren, W. Dai, Z. Xuan, Y. Yao, H. Korpelainen and C. Li, "The effect of drought and enhanced UV-B radiation on the growth and physiological traits of two contrasting poplar species", *Forest Ecology and Management*, 239 (2007) 112-119.
49. N. S. Murali, A. H. Teramura and S. K. Randall, "Response differences between two soybean cultivars with contrasting UV-B radiation sensitivities", *Photochem. Photobiol*, 48 (1988) 653-657.
50. Y-P. Cen, J. F. Bornman, "The effect of exposure to enhanced UV-B radiation on the penetration of monochromatic and polychromatic UV-B radiation in leaves of *Brassica napus*", *Physiol, Plant*, 87 (1993) 249-255.
51. L-X. Liu, X. Shou-Min and K. C. Woo, "Solar UV-B radiation on growth, photosynthesis and the xanthophyll cycle in tropical acacias and eucalyptus", *Environmental and Experimental Botany*, 54 (2005) 121-130.
52. A. Fahn, *Plant Anatomy*, 4<sup>th</sup> ed. Pergamon Press (1990).

53. I. Santos, J. Almeida and R. Salema, "Plants of *Zea mays* L. developed under enhanced UV-B radiation. I. Some ultrastructural and biochemical aspects", *J. Plant Physiol*, 141 (1993) 450-456.
54. S. Zancan, I. Suglia, N. La Rocca and R. Ghisi, "Effects of UV-B radiation on antioxidant parameters of iron-deficient barley plants", *Environmental and Experimental Botany*, 63 (2008) 71-79.
55. B. Colman, "Microbodies. In: The molecular biology of plant cell. Botanical Monographs, Blackwell Scientific Publications", Oxford. 14 (1977) 136-159.
56. K. B. Tenberge, C. Ruholl, M. Heinz and R. Eising, "Purification and immuno-electron microscopical characterization of crystalline inclusions from plant peroxisomes", *Protoplasma*, 196 (1997) 142-154.