دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
پژوهشنامه اصلاح گیاهان زراعی

"مقاله پژوهشی"

اثر جهش‌زایی تشعشعات حاصل از گاز رادون محیطی بر مقادیر تانشیون‌ها در گیاه درمنه کوهی (*Artemisia absinthium*)

محمود حسن‌زاده[۱]، نورالدین حسین‌پورآزاد[۲] و فرهاد ذوالفقارپور[۳]

۱- دانشجوی دکتری فیزیک هسته‌ای، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران
۲- استادیار گروه علوم گیاهی و گیاهان دارویی، دانشکده کشاورزی مشگین‌شهر، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران، (نویسنده مسوول: n.hosseinpour@uma.ac.ir)
۳- دانشیار گروه فیزیک، دانشکده علوم پایه، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۹/۱۵ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۱۱/۲۳
صفحه: ۱۲۹ تا ۱۳۷

چکیده مبسوط

مقدمه و هدف: در تحقیق حاضر به بررسی اثرات پرتوهای حاصل از پسماندهای مواد رادیو اکتیو در یک معدن متروکه اورانیوم در تغییر کمیت و کیفیت محتویات متابولیتی اسانس درمنه کوهی پرداخته شده است.

مواد و روش‌ها: جهت دسترسی کامل به اطلاعات آلودگی تابشی منطقه مورد مطالعه نقشه تشعشعات رادونی نقطه به نقطه در ۱۰ نقطه با استفاده از دستگاه تابش سنج طی دو سال متمادی مورد سنجش قرار گرفت. این اندازه‌گیری مشتمل بر نقاط هم ارتفاع در دو کوه مقابل هم (کوه دارای نقاط حاوی مواد راداکیتو A و کوه نقاط فاقد مواد رادیواکتیو B) بود. نمونه‌برداری از سرشاخه‌های گیاه درمنه کوهی (*Artemisia absinthium*) بصورت سیستماتیک و در سه تکرار مختلف انجام پذیرفت. اسانس موجود در سرشاخه‌ها به روش تقطیر با بخار آب استخراج گردیده و با استفاده از کروماتوگرافی گازی مجهز به طیف سنجی جرمی (GC- Mass) متابولیت‌های تشکیل‌دهنده اسانس جداسازی و شناسایی شدند.

یافته‌ها: آزمون مقایسات میانگین ($p<0.01$) با استفاده از نرم‌افزار آماری GenStat12.1 به روش فیشر حفاظت شده، تغییرات معنی‌داری را در مقادیر متابولیت‌ها در هر دو نقطه مورد مطالعه نشان داد. به‌طوری که در ارتفاع ۹۳۰ متر با بالاترین میزان شدت رادیواکتیو ۱،۸ میلی سیوورت (A930/R1.8)، در مقایسه با نقطه شاهد (B930/R0.16) تغییرات افزایشی در مقادیر متابولیت‌های گاما ترپینن، اکالیپتول، توژون و کامفور مشاهده شد.

نتیجه‌گیری: قرار گرفتن طولانی‌مدت گیاهان چندساله در معرض تابش‌های محیطی منجر به تغییرات بیوشیمیایی شده که ممکن است در نتیجه جهش‌زایی عناصر پرتوزا در ژن‌های دخیل در مسیرهای بیوسنتزی متابولیت‌های ثانویه باشد.

واژه‌های کلیدی: تانشیون‌ها، درمنه، طیف‌سنجی جرمی، متابولیت‌های ثانویه، مواد رادیواکتیو

مقدمه

اشعهٔ گاما پرتویی الکترومغناطیسی با بسامد بالا و دارای انرژی بالا بوده و به‌عنوان پرتوی یونیزان برای سلامتی مضر بوده و اثرات معنی‌داری بر مکانیسم‌های سلولی جانداران و گیاهان بر جای می‌گذارد، این پرتو به‌طور معمول در نتیجهٔ فروپاشی حالت‌های انرژی بالای هسته‌های اتم تولید می‌شود، امروزه کاربرد پرتوهای یونیزان کاربرد زیادی در پزشکی، صنعت، کشاورزی و علوم نظامی پیدا کرده است (۷). در تحقیقی ریزنمونه‌های گیاه *Artemisia annua* جهت بررسی تاثیر مواد موتاسیون‌زا بر بیوسنتز ماده آرتمیزینین تحت تابش های اشعه گامای حاصل از ماده کبالت ۶۰ قرار گرفتند، نتایج نشان داد مقدار ماده آرتمیزینین در نمونه‌های شاهد از مقدار ۰/۱۸ درصد، به مقدار ۰/۸۴ درصد وزن خشک، در نمونه‌های تحت تابش قرار گرفته با شدت ۵ گری، افزایش پیدا کرده است (۱۱). تانشیون‌ها متابولیت‌های مشتق شده از دی‌ترپنوئیدها هستند. ترپنوئیدها بزرگ‌ترین گروه متابولیت-های ثانویه گیاهی بوده که در رشد و توسعه، سوخت و ساز و دفاع در برابر عوامل نامساعد محیطی نقش مهمی را بازی می‌کنند (۲). تنظیم شار کربنی بین متابولیت‌های اولیه (قندها،چربی‌ها و پروتئین‌ها) و ثانویه (مواد مؤثر دارویی از گروه ترپن‌ها، آلکالوئیدها و فلاوونوئیدها) از طریق تعامل بین وضعیت رشدی گیاه و عملکرد مکانیسم‌های دفاعی در برابر تهدیدات محیطی انجام می‌پذیرد (۳). مقدار متابولیت‌های ثانویه در حد یک درصد از وزن خشک گیاه بوده و برخی از پارامترهای ژنتیکی، ظاهری و به‌خصوص عوامل غیرزندهٔ محیطی هم‌چون خشکی، شوری و پرتوهای محیطی می‌توانند بر بیوسنتز و انباشت این متابولیت‌ها تأثیر بگذارند. ترکیبات شیمیایی منحصر به فرد درمنه کوهی دی‌ترپنوئیدها هستند که عمدتاً از مسیر پلاستیدی متیل اریترول فسفات (MEP) یا از طریق موالونات سیتوپلاسمی (MVA) مشتق می‌شوند (۱۴،۱۳،۶). اسیدهای فنولیک موجود در درمنه کوهی از طریق مسیرهای مشتق شده از تیروزین و فنیل پروپانوئید قابل سنتز هستند (۱۲). بیوسنتز تانشیون از طریق مسیر MEP و MVA در سیتوزول یا پراکسی‌زوم صورت می‌گیرد (۱۹،۱۵،۸). اثبات شده است اشعه گاما قادر به تغییر مسیرهای متابولیکی در گیاهان بوده و از این طریق با مسدود نمودن برخی از مسیرهای بیوسنتزی منجر به افزایش فعالیت دیگر مسیرها می‌گردد. دلیل این امر احتمالاً فرآیند جهش‌های ژنتیکی و تغییر در ماده ژنتیکی کنترل‌کننده مسیرهای بیوسنتزی باشد. شواهد اخیر حاکی از آن است که گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) نقش مهمی را در واکنش به تشعشعات یونیزاسیونی نشان می‌دهند. اشعه گاما تولید گونه‌های فعال اکسیژنی را در نتیجه تنش اکسیداتیو بیشتر می‌کنند و گیاه در پاسخ به عوامل اکسیداسیونی مسیرهای بیوسنتزی آنتی‌اکسیدان‌ها را فعال می‌نماید (۹،۱). تاکنون تحقیقی در رابطه با تأثیرات تشعشات گامای محیطی بر مسیرهای ساخت متابولیت‌های ثانویه در گیاه درمنه کوهی انجام نپذیرفته است که ضرورت دارد تحقیقات گسترده‌ای در این زمینه انجام پذیرد. هدف از این

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-11-09]

[DOI: 10.52547/jcb.14.41.129]

پروژه مطالعه اثرات تشعشعات اشعه گامای محیطی حاصل از گاز رادون بر تغییر سنتز انواع متابولیت‌های ثانویه بیوسنتزی مسیر شیکمیک اسید و موالونات می‌باشد.

مواد و روش‌ها

نمونه‌برداری در این عملیات در ارتفاعات اطراف روستای کوجنق واقع در هیجده کیلومتری شمال غربی شهرستان مشگین‌شهر با موقعیت جغرافیایی 38°29'17.7"N، 47°30'15.1"E انجام شد. کلیه محاسبات مربوط به موقعیت جغرافیایی با استفاده از دستگاه مکان‌یاب ماهواره‌ای گارمین (مدل اورگون ۶۵۰) صورت پذیرفت.

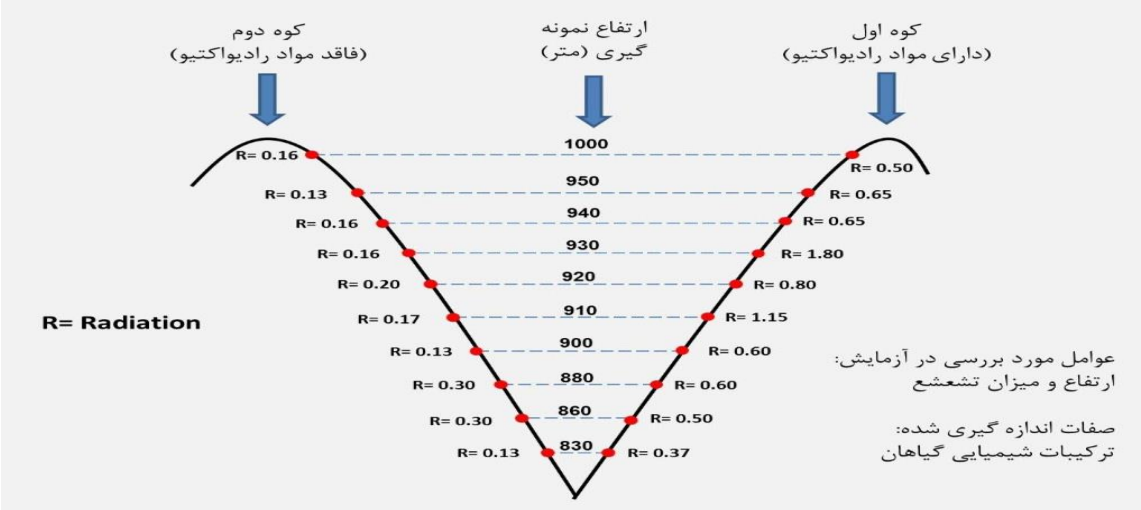
فرض بر این بوده که گیاهان منطقه تأثیرپذیری تدریجی طی سالیان متمادی از وجود تابش‌های رادیواکتیویته داشته باشند، معمولا تغییرات حاصل از این گونه تابش‌ها که بیشتر معروف به تابش‌های گاما می‌باشند منجر به تغییرات عمده‌ای در ذات ژنتیکی موجودات می‌کنند که این تغییرات (جهش‌ها) به صورت‌های مختلف خود را نمایان می‌سازند. هر اثرات جهشی که ممکن است ناشی از آسیب‌های ژنی یا ژنومی باشد می‌تواند به صورت تغییرات مورفولوژیکی (تغییرات ظاهری) و یا تغییرات بیوشیمیایی (تغییر در سنتز مواد مؤثره گیاهی یا متابولیت‌های ثانویه) یا ترکیب از این تغییرات یعنی مورفو شیمیایی باشد که هر دو از تغییرات را مشتمل خواهد شد. جهت اثبات فرضیه جهش‌زایی مواد رادیواکتیو منطقه نیاز بود که برای تفکیک اثرات پارامترهای مختلف از جمله تأثیرات تشعشعات، عناصر موجود در خاک، ارتفاع، منطقه‌ای انتخاب می‌شد که دارای پارامترهای یکسان از نظر موقعیت جغرافیایی، ارتفاع و عناصر خاک بوده و تنها فاکتور متغیره شدت‌های تابشی حاصل از وجود مواد رادیواکتیو در ناحیه ناشی می‌شد، بدین منظور دو کوه مجاور را که روبروی هم با موقعیت مشابه قرار داشتند در روستای کوجنق از توابع شهرستان مشگین‌شهر انتخاب شدند (38°22′56″N, 47°41′55″E)، کوه اول که معدن متروکه اورانیوم در آن قرار داشت با نماد (A) و کوه دوم که فاقد پسماندهای مواد رادیواکتیو بود با نماد (B) مشخص گردید. موقعیت جغرافیایی مناطق نمونه‌گیری با سیستم جی‌پی‌اس گارمین مدل ۷۵۰ (ساخت کشور آمریکا) به‌طور کامل یادداشت‌برداری شد. این منطقه از استان اردبیل دارای میانگین دمایی سالانه متغیر در دامنه 14°C− در زمستان تا 31°C+ در تابستان می‌باشد. جهت دسترسی کامل به اطلاعات آلودگی تابشی نواحی منطقه مورد مطالعه نقشه تشعشعات رادونی نقطه به نقطه در ۵۰ نقطه با استفاده از دستگاه تابش‌سنج Victoreen 451B Ion Chamber Survey Meter (Fluke biomedical company, USA) طی دو سال متمادی مورد سنجش قرار گرفت. این اندازه‌گیری مشتمل بر نقاط هم ارتفاع در هر دو کوه مورد مطالعه (نقاط حاوی مواد رادیواکیتو A و نقاط فاقد مواد رادیواکتیو B) بود. جهت بررسی تغییرات شیمیایی در محتویات متابولیتی سرشاخه‌های گیاه دارویی درمنه کوهی (*Artemisia absinthium*) پس از برداشت نمونه‌ها در اواخر فصل بهار، ابتدا، اسانس موجود در سرشاخه‌های گل‌دار به روش تقطیر با بخار آب (اسانس‌گیری با دستگاه کلونجر) استخراج، و با دستگاه کروماتوگرافی گازی مجهز به طیف‌سنج جرمی (GC- Mass) متابولیت‌های تشکیل‌دهنده اسانس جداسازی و شناسایی شدند. اسانس با استفاده از دستگاه کلونجر به روش استخراج با بخار آب با ظرفیت ۱۵۰۰ سی‌سی از حلال آب و تحت سیستم رفلاکس، استخراج شده و مقدار اسانس به‌صورت وزن حجمی محاسبه گردید. فرآیند استخراج اسانس، برای برخی از نمونه‌ها به جهت اطمینان از تکرارپذیری مشاهدات دو بار تکرار گردید که متوسط مقدار حاصله به‌صورت درصد وزنی نمونه پودر شده ارائه شد. سنجش متابولیتی اسانس‌های استخراج شده با استفاده از دستگاه کروماتوگرافی گازی مجهز به طیف‌سنج جرمی صورت گرفته و سپس نتایج حاصل از مقایسات میانگین با استفاده از نرم‌افزار آماری GenStat12.1 انجام شد.

نتایج و بحث

از کل نقاط سنجش یافته ۱۰ نقطه تحت شدت‌های تابشی متفاوت جهت نمونه‌برداری تعیین شدند که هر کدام در ارتفاع متفاوتی قرار گرفته بودند. در منطقه رادیواکتیو A و غیر رادیواکتیو B جهت نمونه‌برداری سیستماتیک انتخاب گردید (شکل ۱).

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-11-09]

[DOI: 10.52547/jcb.14.41.129]

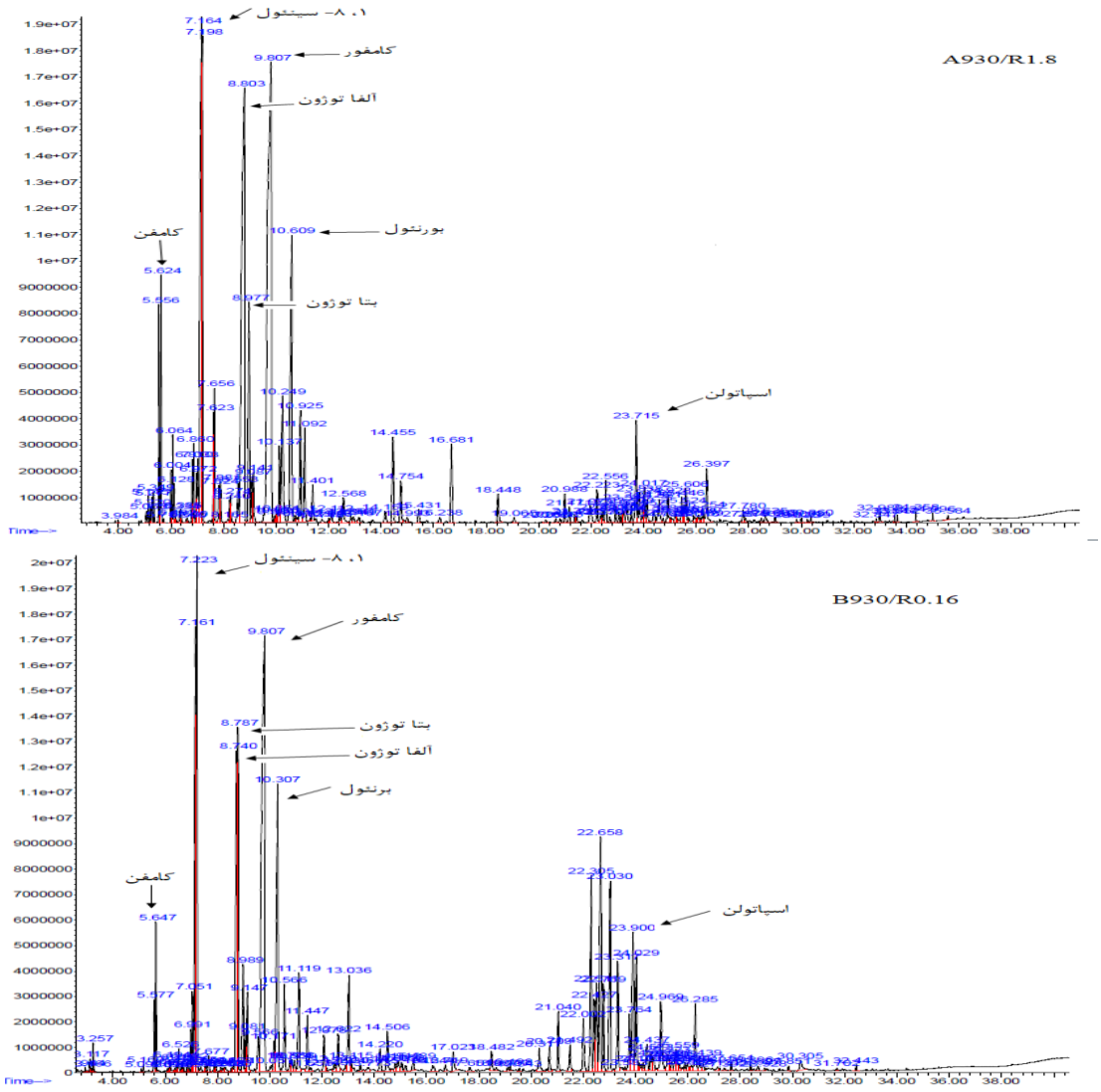


شکل ۱- نقشه شماتیکی نقاط نمونه‌گیری شده از سرشاخه‌های گیاه درمنه کوهی (*Artemisia absinthium*)
(از نظر نورگیری نقاط نمونه‌برداری در شرایط یکسانی قرار داشتند).
Figure 1. Schematic map of the sampling points of *Artemisia absinthium*
(the sampling points were in the same condition in terms of lighting).

گستردگی ناحیه پراکنش تشعشعات رادیواکتیو به‌صورتی بود که معمولاً در یک ارتفاع مشخصی از منطقه در نقاط مختلف تشعشعات با مقدار یکسانی را داشته و اما نسبت به منطقه مشخص شده برای شاهد موقعیت جغرافیایی متفاوتی را شامل می‌شدند بدین‌منظور جهت جلوگیری از اتلاف هزینه و کاهش خطاهای آزمایشی ناشی از تفاوت جغرافیایی، دو کوه هم ارتفاع در یک نقطه مشابه جغرافیایی جهت نمونه‌برداری انتخاب گردید. این نقاط به‌صورت روبروی هم در ارتفاع یکسانی واقع شده بودند. وجود مقادیر متفاوت از عناصر پرتوزا همچون اورانیوم، توریوم و پتاسیم منجر به ایجاد شدت‌های متفاوت از تشعشع در نقاط مختلف اندازه‌گیری شده بود، که همبستگی مثبتی بین مقادیر این عناصر با شدت تابش را رقم زده است. تفاوت اصلی نمونه‌های برداشته‌شده از این نقاط در تحت تأثیر قرار گرفتن از مقادیر شدت تشعشع و خاک محل رویش بود، در محل نمونه‌برداری از منطقه B (منطقه بدون رادیواکتیو) و A (منطقه رادیواکتیو) تعداد ۱۰ منطقه انتخاب شده با کدهای اختصاصی جهت سهولت در آنالیزهای بعدی مشخص گردیدند. به‌عنوان مثال نقطه کدگذاری شده B1000/R0/16 بیانگر محل نمونه‌گیری از شاهد (B) از ارتفاع (۱۰۰۰ متری) بوده که دارای شدت تشعشع ۰/۱۶ میلی‌سیوورت می‌باشد، و هم‌چنین نقطه کدگذاری شده A1000/R0/5 بیانگر محل نمونه‌گیری از منطقه رادیو اکتیو (A) از ارتفاع (۱۰۰۰ متری) بوده که دارای شدت تشعشع ۰/۵میلی‌سیوورت است. بدین ترتیب نقاط مختلف نمونه برداری به‌صورت دوبه‌دو در روبروی هم در ارتفاع مشخص قرار گرفته بودند تمامی این پارامترها جهت جلوگیری از بروز اشتباهات آزمایشی و تحلیل دقیق اطلاعات حاصله از آنالیزهای متابولیتی بود که در نتیجه مقایسات میانگین حاصل از تجزیه آماری نقاط هم ارتفاع حاصل می‌گردید. طبیعتاً انتظار می‌رفت نقاط شاهد دارای بافت یکسانی از نظر ترکیبات عناصری باشند، و هم‌چنین ارتفاع مختلف در نقاط شاهد به دلیل عدم وجود عناصر رادیواکتیو در محل دارای تشعشع شبیه حالت نقاط غیررادیواکتیو بودند، که در این صورت مقایسه متابولیتی نمونه‌ها در دو منطقه نمونه‌گیری (A وB) جهت جدا نمودن اثرات شدت تشعشع امکان‌پذیر به نظر می‌رسید. گیاه درمنه کوهی با نام علمی (*Artemisia absinthium*) بوده که در خانواده گیاهی گل ستاره‌گان (*Asteraceae*) طبقه‌بندی شده است، طبق گزارشات متعدد مراجع علمی در کشور ما بالغبر ۱۷ گونه از جنس آرتمیزیا موجود می‌باشد. در منطقه مورد پژوهش ۴ نوع از جنس آرتمیزا رویش داشت از جمله آن‌ها *A. vulgare*، *A.siberi*، *A. absinthium* و *A. annua* بودند. درمنه کوهی انتخاب شده (*Artemisia absinthium*) جهت بررسی اثرات تشعشع بر متابولیت‌های آن بود. با توجه اینکه آلودگی به مواد رادیواکتیو منطقه در سطح نسبتاً وسیعی پراکنده بود جهت دستیابی به نتایج با تکرارپذیری بالا از نمونه‌گیری سیستماتیک بر اساس اهداف آزمایش استفاده گردید. برای هرنقطه مشخص شده از نقشه پراکنش شدت تشعشع، نمونه‌گیری‌های گیاهی با سه تکرار متفاوت (نمونه‌های مختلف در یک ناحیه با ارتفاع و شدت رادیواکتیو یکسان) صورت گرفت. نمونه‌های مربوط به هر نقطه شامل نمونه‌های گیاهی، خاکی و شدت تشعشع به همراه ارتفاع محل نمونه‌گیری بوده که به‌طور مجزا برای نقطه یادداشت‌برداری و ثبت شدند. جهت آنالیز نمونه‌ها از دستگاه کروماتوگرافی گازی متصل به طیف سنج جرمی (مدل Agilent 7890B ساخت کشور آمریکا استفاده شد. این دستگاه قابلیت تزریق نمونه‌های مایع با توانایی رقیق‌سازی Split/SplitlessInlet را دارا بوده و مجهز به آشکارساز طیف‌سنج جرمی (MSD) جهت شناسایی ترکیبات کیفی و کمی نمونه‌ها بوه و دارای سیستم یونیزاسیون از نوع EI و آنالایزر Single Quadrupole بود. جداسازی با ستون (مویین (Plot) با جنسAl2O3/KCl (Varian) به طول ۵۰ متر و قطر داخلی ۰/۳۲ میلی‌متر)

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-11-09]
[DOI: 10.52547/jcb.14.41.129]

ساخت کشور آمریکا انجام شد. کروماتوگرام‌های حاصل شده، تعداد زیادی پیک با شدت‌های مختلف را نشان دادند این پیک‌ها نه تنها از نظر شدت باهم متفاوت بودند بلکه کیفیت‌های متفاوتی را نشان داده بودند بدین ترتیب که در هر یک از کروماتوگرام‌های بدست آمده تعداد سه ترکیب متفاوت به ترتیب کیفیت و در رجوع به کتابخانه دستگاه کروماتوگرافی پیشنهاد شده بود، تمامی متابولیت‌ها با مقادیر ۰/۱ درصد فراوانی به جهت بالا بردن دقت بررسی از مجموعه متابولیتی حذف شده و مقادیر بالاتر از آن جهت آنالیز انتخاب شدند هم چنین در تفسیر نوع متابولیت‌های پیشنهادی از بین سه ترکیب پیشنهادی برای هر یک از پیک‌های حاصله در کروماتوگرام‌ها بالاترین احتمال صحت در نظر گرفته شد. اما در برخی مواد نسبت به تجربه و بر اساس زمان بازداری حاصله نوع ترکیب مشخص گردید. با این ملاحظات صورت گرفته در هر کروماتوگرام مربوط به نمونه‌های مختلف از تعداد بالغ بر میانگین ۹۵ پیک ظاهر شده، تعداد ۳۰ پیک که قابل اطمینان‌تر از جنبه پارامترهای تشخیصی (زمان بازداری، درصد بالایی از کیفیت و مقدار کمی) بود، انتخاب شده و جهت تجزیه واریانس با نرم‌افزار آماری GenStat12.1 مورد استفاده قرار گرفتند (شکل ۲).



شکل ۲- نمونه‌ای از کروماتوگرام‌های حاصله از تزریق اسانس نمونه‌ها در دو نقطه مورد مقایسه رادیواکتیو (A930/R1/8) و غیر رادیواکتیو (B930/R0/16)

Figure 2. Chromatograms obtained from essential oil of samples at two comparison points of radioactive (A930 / R1/8) and non-radioactive (B930 / R0/16)

در تمامی نمونه‌های اسانسی تزریق شده در دستگاه کروماتوگرافی مجهز به طیف‌سنج جرمی (GC/MS) کروماتوگرام‌های حاصله پیک‌های متعددی با کیفیت‌های مختلف قابل مشاهده بودند. که از بین این پیک‌ها تعداد ۳۰ عدد از آنها را که دارای کیفیت‌های قابل قبول بودند. با اعمال فیلتر در غلظت‌های متابولیتی بالای ۰/۱% انتخاب شده و جهت بررسی‌های آماری مورد استفاده قرار گرفتند. تمامی متابولیت‌های مشاهده شده مربوط به گروه متابولیتی

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-11-09]
[DOI: 10.52547/jcb.14.41.129]

ترپنوئیدها بودند که این متابولیت‌ها نقش اصلی در تامین قدرت دفاعی گیاه در برابر عوامل مهاجم اکسیداسیونی را دارند که فعال شدن مسیر بیوسنتزی این متابولیت‌های دفاعی خود نشان از تأثیر عوامل محیطی از جمله مواد رادیواکتیویته در تحریک تولید آن می‌باشد. در بررسی اولیه پیک‌ها مشخص شد که متابولیت‌های قابل شناسایی در دسته‌های کاروتنوئیدی بصورت مونوترپن‌ها (C10)، سزکوئی‌ترپن‌ها (C15) و دی ترپن‌ها (C20) قرار گرفته‌اند. ترکیبات ترپنی دارای فرمول مولکولی با پایه اسکلت کربنی $(C5H8)_n$ بوده که این اسکلت کربنی بصورت مضربی از تعداد ۵ اتم کربن در دسته‌های مختلف به ساختار اولیه اضافه شده و منجر به تشکیل دیگر ساختارهای کربنی می‌گردند. در بررسی‌های اثر رادیواکتیو بر میزان متابولیت‌های مطالعه شده تعداد ۳۰ ترکیب انتخاب شده شامل: گاما ترپینن، آلفا فلاندرن، کامفن، سابینن سیکلو هگزان، بتا پینن، دی هیدرو-۱و۸ سینئول، آلفا ترپینن، ۱و۲ -متیلات اکالیپتول، گاماترپینن-۱، ترپینن سیس بتا، آلفا ترپینولن، سیس سابینن هیدرات، بتاتوژن، آلفا توژون، ترپینئول، کامفور، برونئول، آلفا ترپینئول، کامفن بی سیکلو، اسپاتولونل، ترانس پینوکاروول، ایزوپینوکاروول، ژرماکرن، اندوبرونیا استات، داوانا اتیل، کوپائن، میرتنول، کاریوفیلن و جاسمون بودند. از بین این متابولیت‌ها تعدادی شامل آلکان‌ها بودند که مجدداً جهت بررسی بهتر و تمرکز بر روی متابولیت‌های اصلی در ترکیبات اسانسی در مرحله دوم آنالیز حذف شدند که این ترکیبات شامل: ۱و۳- سیکلون، بنزن-۱- متیل، سیکلو هگزان-۱و۴-متیل بودند. در ارتفاع ۸۳۰ متر با شدت رادیواکتیو ۰/۳۷ میلی‌سیوورت (A830/R0/37)، مقایسات میانگین تفاوت معنی‌داری را در بین مقادیر متابولیتی حاصل از اسانس نمونه‌های ارتفاع ۸۳۰ متر مربوط به کوه شاهد (B830/R0.13) نشان داد، به‌طوری‌که مقادیر متابولیت‌های مهمی هم‌چون گاماترپینن و کامفن دارای روند افزایشی نسبت به شاهد بودند و دیگر متابولیت‌ها تفاوت چندانی با مقادیر محاسبه شده در نمونه‌های شاهد نداشتند که این وضعیت نشان دهنده آن است که تفاوت اندک در شدت رادیواکتیو بین دو ارتفاع مورد مقایسه تأثیر چندانی در مقادیر متابولیتی نمونه‌ها نداشته است. بررسی آماری مقادیر متابولیت‌های حاصل‌شده از اسانس‌های مربوط به ارتفاع ۸۶۰ متر با شدت تابش ۰/۵ میلی‌سیوورت (A860/R0/5) در مقایسه با ارتفاع متناظر در نقطه شاهد با شدت تشعشع ۰/۳ میلی سیوورت (B860/R0/3) تفاوت معنی‌داری در مقایسات میانگین نشان دادند. در این سطح از ارتفاع مقادیر متابولیت‌های گاماترپینن، بتا پینن، سابینن، ۱-۸- سینئول، آلفا ترپینئول و اسپاتولن روند افزایشی نسبت به نمونه‌های مناطق غیر رادیواکتیو داشت، و این در صورتی بود که محتویات اسانس در نمونه‌های غیر رادیواکتیو در ارتفاع مشابه دارای مقادیر افزایشی در برخی از متابولیت‌ها هم‌چون اکالیپتول، آلفا توژن، کامفن و میرتنول داشت که این چهار دسته از متابولیت‌ها از جمله متابولیت‌های اصلی در گیاه درمنه کوهی هستند، اکالیپتول با فرمول مولکولی (C10H18O) از گروه مونوترپنوئیدها، متابولیت آلفا توژون (C10H16O) از گروه کتوکاروتنوئیدهای مونوترپنی، کامفن (C10H16) بعنوان مونوترپن‌های غیرکتونی و متابولیت میرتنول (C10H16O) مونوترپن حاصل از کتونی شدن متابولیت کامفن می‌باشد. آنالیز آماری داده‌های متابولیتی در نقطه (A880/R0/6) با نقطه شاهد (B880/R0/3) نشان داد اختلاف معنی‌داری بین مقادیر متابولیتی در این دو نقطه وجود دارد. در ناحیه (A880/R0/6) متابولیت‌های گاماترپینن، کامفور، اسپاتولن دارای مقادیر افزایشی و متابولیت‌های اکالیپتول و بتاتوژن نسبت به نطقه (B880/R0/3) روند کاهشی داشتند و دیگر متابولیت‌ها تغییرات محسوسی را نشان دادند. در بررسی مقایسه‌ای متابولیتی در دو نقطه (A900/R0/6) و (B900/R0/13)، گاماترپینن، کامفن، ترپینئول سیس بتا، آلفا ترپینولن، ترپینئول، کامفور، برونئول، اسپاتولن و پینوکارون مقادیر افزایشی نسبت به نقطه شاهد داشته و متابولیت اکالیپتول مقدار کاهشی نشان داد و دیگر متابولیت‌ها در هر دو نطقه تفاوت معنی‌داری نشان ندادند. در دو نطقه (A910/R1/15) و (B910/R0/17) بررسی کروماتوگرام‌های حاصله دارای تغییرات نسبتا شدیدتری را در پیک‌های ظاهر شده در زمان‌های متفاوت بازداری بود. در نقطه (A920/R0/8) آنالیزهای آماری نشان داد که متابولیت‌های بتا پینن، اکالیپتول، آلفا ترپینولن، سیس سابینن هیدرات، بتاتوژن، آلفا ترپینول، اسپاتولن و پینوکارون دارای روند افزایشی نسبت به نقطه متناظر (A920/R0/2) شاهد داشتند و متابولیت‌های آلفافلاندرن و بتا کیوبینن روند کاهشی نشان دادند. در نقطه (A930/R1/8) متابولیت‌های کامفن، گاماترپینن، بتاتوژون، کامفور، آلفاترپینول، اسپاتولن، پینوکارون و میرتنول نسبت به نقطه شاهد (B930/R0/16) روند افزایشی و متابولیت‌های آلفا فلاندرن و برونئول روند کاهشی داشتند اما بین دیگر متابولیت‌ها اختلاف معنی‌دار وجود نداشت. در بالاترین نقطه مورد مطالعه (A940/R0/65) کامفن، سابینن، بتاپینن، اکالیپتول، گاماترپینن، بتاتوئین، آلفا توژون و آلفا ترپینن افزایش یافته و سایر متابولیت‌ها تغییر چندانی با نقطه متناظر در کوه شاهد (B940/R0/13) نداشتند. نتایج حاصل از تزریق اسانس‌های حاصله از نمونه‌ها نشان داد که بیشتر متابولیت‌های شناسایی شده عمدتا از گروه متابولیتی ترپنوئیدها هستند. همانطور که در جدول ۱ اشاره شده انواع خاصی از متابولیت‌های گروه ترپنوئیدی در کروماتوگرام‌ها در اثر فاکتورهای محیطی دستخوش تغییرات عمده‌ای شده‌اند (جدول ۱).

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-11-09]
[DOI: 10.52547/jcb.14.41.129]

جدول ۱- جدول تجزیه واریانس مقادیر متابولیت‌های تحت تأثیر از تشعشعات محیطی در نمونه‌های نقاط رادیواکتیو و غیر رادیواکتیو
Table 1. Analysis table of variance of metabolites amount affected by environmental radiation in samples of radioactive and non-radioactive points

S.O.V	df	gamma_Terpinene	Alpha_Phellanderen	Camphene	Sabinene_Bicyclohexane	beta_Pinene	Dehydro_1_8_cineole	alpha_Terpinene_1_3_Cyclohe	Benzene_1_methyl_2_1_methylet	Eucalyptol	gamma_Terpinene_1
RAD	۱۹	۱/۲۴۶**	۰/۰۲۵*	۲/۲۶۸**	۰/۱۷**	۰/۰۷ns	۰/۰۱۱**	۰/۸۴۳**	۰/۸**	۱۴۸/۱۵۴**	۲/۸۶۴**
F		۳۲۷/۷۹	۲/۳	۱۴۳/۴۶	۸۳/۵۶	۰/۷	۸/۶۱	۶۱/۷۶	۱۴۵/۴۳	۵۱/۰۷	۱۳۵/۶۶
Mse	۴۰	۰/۰۰۳	۰/۰۱۱	۰/۰۱۵۸	۰/۰۰۱	۰/۰۸۷	۰/۰۰۱	۰/۰۱۳۶	۰/۰۰۵	۲/۹۰۱	۰/۰۲۱۱
CV		۸/۱	۷/۲	۶/۹	۷/۲	۲۴	۳۱/۷	۲۰/۵	۱۲/۴	۱۴/۱	۱۲/۳

S.O.V	df	Terpineol_cis_beta	ALPHA_TERPINOLENE	cis_sabinene_hydrate	BETA_THUJONE	alpha_Thujone	Cyclohexen_1_ol_1_methyl_4_1	TERPINEOL_TERPENENE_1_OL	Camphor	Borneol	Cyclohexen_1_ol_4_methyl
RAD	۱۹	۰/۴۲۶**	۱/۳۵۶**	۰/۵۱۶**	۸۴/۴۷**	۱۵/۱۳۹**	۰/۳۶۵**	۰/۸۷۳**	۲۷۱/۱۶**	۱۳/۳۱۸**	۲۵/۲۷**
F		۴۰/۱۱	۵۶/۵۹	۲۴۲/۴	۱۲۴۴/۵۵	۳۱۴/۴۶	۲۸/۴۹	۳۳/۵۹	۷۹۱/۴۲	۹۵۰/۳۳	۶۴۶/۳۸
Mse	۴۰	۰/۰۱	۰/۰۱۵	۰/۰۰۲	۰/۰۶۷	۰/۰۴۸۱	۰/۰۱۲	۰/۰۲۶	۰/۳۴۲	۰/۰۱۴	۰/۰۳۹
CV		۱۸/۷	۱۰/۴	۷/۹	۲/۹	۷/۳	۱۱/۵	۱۳/۵	۳/۴	۴/۷	۳/۳

S.O.V	df	ALPHA_TERPINEOL	Camphene_Bicyclo[2 2 1]	beta_Cubebene_1H_Cyclopenta	Spathulenol	trans_Pinocarveol	Isopinocarveol	Pinocarvone	germacrene	endobornyl_acetate	davana_ether
RAD	۱۹	۱/۳۵۶**	۰/۹۴۶**	۰/۲۱۷**	۱/۱۳۲**	۰/۰۱۸**	۰/۰۰۲*	۰/۷۴۸**	۰/۰۹۲۱	۰/۱۴**	۰/۷۲۳**
F		۸۷/۴۱	۵۰/۵۶	۳۷/۸	۴۸/۲۵	۱۳/۲	۳	۳۶/۲۴	۸۸/۱۱	۴۱/۰۳	۲۷/۴۹
Mse	۴۰	۰/۰۱۵	۰/۰۱۸۷	۰/۰۰۵	۰/۰۲۳	۰/۰۰۱	۰	۰/۰۲۰۶	۰/۰۰۱	۰/۰۰۳	۰/۰۲۶
CV		۱۰/۴	۱۳/۸	۳۶/۹	۱۶/۷	۱۲۰/۹	۳۳	۳۲/۵	۱۱/۵	۴۱/۳	۶۴/۱

S.O.V	df	copaen	Myrtenol	Caryophyllene	Jasmone
RAD	۱۹	۰/۴۵۷**	۰/۸۷۵**	۰/۰۶**	۰/۲۶۴**
F		۱۰/۴۵	۱۷۵۷/۵۷	۲۴/۰۹	۶۳/۵۸
Mse	۴۰	۰/۰۴۳	۰	۰/۰۰۲	۰/۰۰۴
CV		۱۱۷/۶	۷/۸	۳۳/۴	۲۳/۲

تجمع متابولیت‌های ثانویه گیاهی با عوامل محیطی متعددی از جمله آب، حاصلخیزی خاک و شوری ارتباط تنگاتنگی دارد. تقریباً در تمام گیاهان، تغییر عامل منفرد، حتی اگر عوامل دیگر بدون تغییر باقی بمانند، کمیت یا کیفیت متابولیت‌های ثانویه را دستخوش تغییراتی می‌نماید (۲۰). در نقطه A920/R0/8، برخی متابولیت‌ها از جمله اوکالیپتول، بتا توژون و پینوکارون در بالاترین میزان خود هستند، که ممکن است به دلیل افزایش بهینه تابش در این نقطه باشد. به مانند تشعشعات سایر القاکننده‌ها نیز تأثیرات مشابهی روی گیاهان دارند. در تحقیقی، آنزیم‌های مرتبط با بیوسنتز متابولیت‌های گیاهی مانند فنیل آلانین آمونیاک لیاز (PAL) برای فنولیک ها و سنتز چالکون(CHS) برای فلاونوئیدها، با تابش γ با ۲۰Gy افزایش یافته است (۱۶). فولزل و همکاران اثر دوزهای مختلف اشعه گاما (۵ ،۱۰، ۱۵، ۲۰ و ۲۵ گری) را جهت تولید ماده کامپتوچین در کالوس‌های ۳ هفته‌ای گیاه گزنه را مورد مطالعه قرار دادند. بیشترین مقدار ماده کامپتوچین در کالوس‌های تیمار شده با دوزهای ۱۵ و ۲۰ گری اندازگیری شد. به‌طوری‌که در شدت ۲۰ گری مقدار این ماده نسبت به تیمار کنترل به میزان ۲۰ برابر افزایش نشان داد. نتایج نشان دادند که ارتباط مستقیمی بین قدرت اشعه و محتوی ماده کامپتوچین در کالوس‌های تحت تیمار وجود دارد. هرچند که با افزایش قدرت اشعه گاما به بالای ۲۵ گری اثر معکوس در تولید این ماده مشاهده گردیده و مقدار ۲۰ گری به‌عنوان مقدار بهینه معرفی گردید (۵). هم‌چنین اثبات شده که فعالیت PAL ممکن است در نتیجه عکس‌العمل به تنش‌های زنده و غیرزنده هم‌چون زخمی شدن، خشکی تشعشعات، کمبود مواد مغذی، علف‌کش‌ها و تهاجم حشرات تحت تأثیر قرار گیرد (۱۸،۱۷). الگاری و همکاران، نشان دادند که همبستگی بین تنظیم فعالیت ژن‌های چالکون سنتتاز و افزایش محتویات فلاونوئیدی در پاسخ به اشعه گاما بوده و نشان دادند که افزایش محتویات فلاونوئیدی همراه با افزایش بیان ژن‌های مرتبط با چالون سنتتاز می‌باشد. افزایش مواد فنولیکی و تانشیون‌ها احتمالاً در جهت کم کردن آسیب‌های حاصل از استرس‌های تشعشعی باشد (۴). خلیل و همکاران،

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-11-09]
[DOI: 10.52547/jcb.14.41.129]

به مطالعه اثر دزهای مختلف اشعه گاما (۵، ۱۰، ۱۵ و ۲۰ گری) بر روی کالوس‌های ۳۰ روزه گیاه استویا پرداخته و اثر اشعه گاما را جهت افزایش میزان ماده استویوزید و فنل کل و فلاونوئیدها مورد بررسی قرار دادند. آن‌ها دریافتند که در اکثر تیمارها به جز تیمار ۱۵ گری اثر معنی‌داری در مقدار مواد مؤثر مورد مطالعه مشاهد نمی‌شود. تیمار ۱۵ علاوه بر افزایش مقدار وزن کالوس افزایش تولید ۹۲ درصدی اسینوزید را موجب شده بود (۱۰). به‌طور کلی می‌توان دریافت که قرار گرفتن گیاهان به مدت طولانی در معرض مواد جهش‌زا هم چون اشعه گاما احتمالا به اعمال تغییرات نوکلئوتیدی و نهایتاً تغییر در عملکرد ژن‌های کنترل‌کننده هر یک از آنزیم زخمی شدن‌های مسیر بیوسنتزی منجر خواهد شد و بدین طریق تغییراتی در مقادیر متابولیت‌های سنتز شده خواهند داشت.

تشکر و قدردانی

این مقاله برگرفته از رساله نویسنده اول مقاله بوده و تمامی هزینه‌های مالی پروژه از طرف دانشگاه محقق اردبیلی تأمین گردید. به این وسیله از تمامی عوامل در به ثبت رسیدن این مقاله، تشکر می‌نماییم.

منابع

1. Azzam, E.I., J.P. Jay-Gerin and D. Pain. 2012. Ionizing radiation-induced metabolic oxidative stress and prolonged cell injury. Cancer Letter, 6: 327: 48.
2. Baenas, N., C. Garcia-Viguera and D.A. Moreno. 2014. Elicitation: a tool for enriching the bioactive composition of foods. Molecules, 19: 13541-13563.
3. Cheynier, V., G. Comte, K.M. Davies, V. Lattanzio and S. Martens. 2013. Plant phenolics: recent advances on their biosynthesis, genetics and ecophysiology. Plant Physiol Biochem, 72: 1-20.
4. El-Garhy, H.A., S. Khattab, M.M. Moustafa Ali, R.A. Azeiz, A.Z.A. Elhalwagi and A.E. Sherif. 2016. Silybin content and over expression of chalcone synthase genes in *Silybum marianum* L. plants under abiotic elicitation. Plant Physiol Biochem, 108: 191-202.
5. Fulzele, D.P., R. Satdive, S. Kamble, S. Singh and S. Singh. 2015. Improvement of anticancer drug camptothecin production by gamma irradiation on callus cultures of *Nothapodytes foetida*. International Journal of Pharmaceutical Research and Allied Sciences, 4: 19-27.
6. Hao, X.L.M., L.C. Shi, C.h. Xu, Y. Zhang and G. Kai. 2014. Effects of methyl jasmonate and salicylic acid on the tanshinone production and biosynthetic genes expression in transgenic *Salvia miltiorrhiza* hairy roots. Biotechnology and Applied Biochemistry, 62: 24-31.
7. Hozayn, M., A.A. El-Mahdy and H.M.H. Abdel-Rahman. 2015. Effect of magnetic field on germination, seedling growth and cytogenetic of onion (*Allium cepa* L.). African Journal of. Agricultural Research, 10(8): 57-849.
8. Kai, G., X. Hao, L. Cui, X. Ni, D. Zekaria and J.Y. Wu. 2014. Metabolic engineering and biotechnological approaches for production of bioactive diterpene tanshinones in *Salvia miltiorrhiza*, Biotechnology Advances, 50(14): 5-15.
9. Kebeish, R., E.D. Hanan and N. El-Bitaly. 2015. Effects of gamma radiation on growth, oxidative stress, antioxidant system and alliin producing gene transcripts in *Allium Sativum*. International Journal of Research Studies in Biosciences, 3: 161-174.
10. Khalil, S.A., N. Ahmad and R. Zamir. 2015. Gamma radiation induced variation in growth characteristics and production of bioactive compounds during callogenesis in *Stevia rebaudiana* (Bert.). New Negatives in Plant Science, 1: 1-5.
11. Koobkokkruad, T.H., P. Wanichananan, C. Kirdmanee and W. De-Eknamkul. 2019. Gamma irradiation causes variation and stability of artemisinin content in *Artemisia annua* plants. Techniques in peaceful applications. DOI: 10.5772/intechopen.82385.
12. Laule, O., A. Fürholz, H.S. Chang, T. Zhu, X. Wang, P.B. Heifetz, W. Gruissem and M. Lange. 2003. Crosstalk between cytosolic and plastidial pathways of isoprenoid biosynthesis in *Arabidopsis thaliana*. Proceedings of the National Academy of Sciences, 100(11): 6866-6871.
13. Shi, M., W. Zhou, J. Zhang, Sh. Huang, H. Wang and G. Kai. 2016 a. Methyl jasmonate induction of tanshinone biosynthesis in *Salvia miltiorrhiza* hairy roots is mediated by jasmonate zim-domain repressor proteins. Scientific Reports, 6: 20919.
14. Shi, M., X. Luo, G. Ju, L. Li, Sh. Huang, T. Zhang, H. Wang and G. Kai. 2016b. Enhanced diterpene tanshinone accumulation and bioactivity of transgenic *Salvia miltiorrhiza* hairy roots by pathway engineering. Journal of agricultural food chemistry, 64: 2523-2530.
15. Shi, M., X.Q. Luo, G.H. Ju, X.H. Yu, X.L. Hao, Q. Huang, J.B. Xiao, L.J. Cui and G.Y. Kai. 2014. Increased accumulation of the cardio-cerebrovascular disease treatment drug tanshinone in *Salvia miltiorrhiza* hairy roots by the enzymes 3-hydroxy-3-methylglutaryl CoA reductase and 1-deoxy-D-xylulose 5-phosphate reductoisomerase. Functional & Integrative Genomics, 14: 603-615.
16. Vivek Vardhan, P. and L.I. Shukla. 2017. Gamma irradiation of medicinally important plants and the enhancement of secondary metabolite production, International journal of Radiation biology, 93(9): 967-979.

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-11-09]
[DOI: 10.52547/jcb.14.41.129]

17. Wada, K.C., K. Mizuuchi, A. Koshio, K. Kaneko, T. Mitsui and K. Takeno. 2014. Stress enhances the gene expression and enzyme activity of phenylalanine ammonia-lyase and the endogenous content of salicylic acid to induce flowering in pharbitis. Journal of Plant Physiology, 171: 895-902.
18. Wang, G., L. Wu, H. Zhang, W. Wu, M.L. Zhang, X.H. Wu. 2016. Regulation of the phenylpropanoid pathway: a mechanism of selenium tolerance in peanut (*Arachis hypogaea* L.) seedlings. Agriculture Food Chemistry, 64: 3626-3635.
19. Xu, X., Q. Jiang, X. Ma, Q. Ying, B. Shen, Y. Qian, H. Song and H. Wang. 2014. Deep sequencing identifies tissue-specific micro-RNAs and their target Genes involving in the biosynthesis of tanshinones in *Salvia miltiorrhiza*. Plos one, 9(11): e111679.
20. Yang, J., M.A. Adhikari, H. Liu, H. Xu, G. He, R. Zhan, J. Wei and W. Chen. 2012. Characterization and functional analysis of the genes encoding 1-deoxy-D-xylulose-5-phosphate reducto isomerase and 1-deoxy-D-xylulose-5-phosphate synthase, the two enzymes in the MEP pathway, from *Amomum villosum* L. Molecular Biology Reports, 39: 8287-8296.
21. Yang, L., W. Kui-Shan, R. Xiao, Z. Ying-Xian, W. Feng and W. Qiang. 2018. Response of plant secondary metabolites to environmental factors. Molecules, 23(4): 762.

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-11-09]

[DOI: 10.52547/jcb.14.41.129]

The Mutagenic Effects of Environmental Radon Gas Radiation on the Tanshinone Related Metabolites in *Artemisia Absinthium*

Mahmoud Hassanzadeh[1], Noraddin Hosseinpour Azad[2] and Farhad Zolfagarpour[3]

1- Ph.D. Student of Nuclear Physics, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran
2- Department of plant science and medicinal plant, Meshginshahr faculty of Agriculture University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran. (Corresponding author: n.hosseinpour@uma.ac.ir)
3- Department of Physics, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran
Received: 6 December 2021 Accepted: 12 February 2022

Extended Abstract

Introduction and Objective: In the present study, the effects of radiation from radioactive waste in an obsolete uranium mine on the change in the quantity and quality of the metabolic content in the essential oil of *Artemisia absinthium* were investigated.

Material and Methods: In order to have full access to the radiation exposure information of the study areas, a point-to-point radon map was measured at 10 points with a radiometer for two consecutive years. This measurement included points at the same level in two neighboring mountains (the mountain had points that contained radioactive material A and the mountain had points that did not contain radioactive material B). Sampling of *Artemisia absinthium* branches was performed systematically in three different replications. The essential oil in the branches was extracted by steam distillation methods, and the essential oil of metabolites was identified using Gas chromatography equipped with a mass spectrometer (GC-Mass).

Results: Mean comparisons ($P < 0.01$) with protected fisher by the statistical software GenStat12.1 showed significant changes in the values of the metabolites in both study points. At an altitude of 930 m with the highest radioactivity of 1.8 mSv (A930 / R1.8), in comparison with the control point (B930 / R0.16), increasing changes in the levels of Gamma-terpinene, Eucalyptol, Thujon, and Camphor were observed.

Conclusion: Prolonged exposure of perennial plants to environmental radiation has led to biochemical changes that may be the result of the mutagenicity of radioactive elements in genes involved in the biosynthetic pathways of secondary metabolites.

Keywords: *Artemisia absinthium*, Mass spectrometry, Radioactive elements, Secondary metabolites, Tanshinone

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-11-09]

[DOI: 10.52547/jcb.14.41.129]