

تأثیر نور ماورای بنفش نوع (UV-B) بر رنگیزه‌های فلاونوئیدی، محتوی نسبی کلروفیل و کارائی فتوشیمیایی فتوسیستم ۲ در گیاه چای

سارا کریم زاده، سید مهدی رضوی*، پریسا نصرالهی، علیرضا قاسمیان

گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه محقق اردبیلی

razavi694@gmail.com

چکیده

گیاه چای با نام علمی (*Camellia sinensis*)، از خانواده Theaceae، گیاهی درختچه‌ای و همیشه سبز است که بومی حوالی چین و هندوستان می‌باشد. برگ‌های این گیاه واجد انواع ترکیبات فلاونوئیدی مهم بوده و از این رو اثرات بیولوژیک فراوان دارد. به منظور بررسی تنش اشعه ماورای بنفش بی بر روی میزان فلاونوئیدهای گیاه چای، آزمایشی گلخانه‌ای به صورت طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار به انجام رسید. ابتدا نهال گیاه چای از ایستگاه تحقیقاتی چای شهید افتخاری فشالم تهیه شد، نهال‌های مذکور در گلدان‌هایی با بستر کوکوپیت-پرلیت قرار داشتند و هر گلدان حاوی یک نهال بود. پس از حدود دو هفته استقرار در گلخانه، تیمار نور ماورای بنفش بی بر روی گیاهان در ۵ سطح (صفر، ۳، ۶، ۹ و ۱۲ کیلوژول بر مترمربع در ثانیه) اعمال و سپس گیاهان برداشت شدند و میزان فلاونوئیدکل در هر یک از گروه‌های تیماری با روش اسپکتروفتومتری و میزان برخی فلاونوئیدهای شاخص در هر گروه با روش کروماتوگرافی لایه نازک تعیین شد. نتایج به دست آمده نشان داد که در اثر تیمار نور ماورای بنفش نوع بی، میزان فلاونوئیدها ابتدا روند کاهشی و سپس با افزایش میزان دوز اشعه تا حد ۱۲ کیلوژول بر مترمربع در ثانیه، روند افزایشی نشان داد. همچنین میزان کلروفیل نسبی گیاهان و کارائی فتوشیمیایی فتوسیستم ۲ به طور معنی داری مخصوصاً در دوزهای بالاتر از ۹ کیلوژول بر مترمربع در ثانیه از اشعه ماورای بنفش بالا منجر به کاهش کلروفیل و کارائی سیستم فتوسنتزی گیاه شده و بازده محصول مناطقی با شاخص نور ماورای بنفش بالا منجر به کاهش کلروفیل و کارائی سیستم فتوسنتزی گیاه شده و بازده محصول را پایین می‌آورد، ولی با توجه به اثر آن بر افزایش محتوی فلاونوئیدها می‌تواند اثرات مفید داروئی این گیاه را افزایش دهد.

کلید واژه‌ها: چای، فلاونوئید، اشعه ماورای بنفش

گیاه چای با نام علمی *Camellia sinensis* گیاهی از تیره *Theaceae* بوده و درختچه‌ای همیشه سبز است که ارتفاع آن در رویش‌های خودرو تا ۱۵ متر و در نمونه‌های پرورش‌یافته تا ۲ متر می‌رسد. این گیاه بومی چین و هندوستان بوده و توسط یکی از شاهزادگان قاجار به ایران وارد شده است و به دلیل مصرف برگ‌های آن در تهیه مشهورترین نوشیدنی گرم قابلیت زراعی بالایی دارد. اگرچه گیاه چای شامل ترکیبات متعددی چون پروتئین‌ها، آمینواسیدها، اسیدهای آلی و گروهی از ترکیبات شیمیایی و زیستی است ولی با وجود این فلاونوئیدها جزء شاخص‌ترین ترکیبات این گیاه می‌باشند (Friedman *et al.*, 2006). به‌طور کلی فلاونوئیدهای چای حدود ۳۰ درصد ماده خشک شاخساره‌های جوان آن را تشکیل می‌دهند و شامل انواع مختلف از جمله فلاون‌ها، کاتچین‌ها، فلاونول‌ها، آنتوسیانین‌ها و ... می‌باشند که مقدار آن‌ها در شرایط متفاوت آب و هوایی دستخوش تغییر می‌شود (Zaveri, 2006).

امروزه کاملاً مشخص شده‌است که فلاونوئیدها در جنبه‌های بسیاری از فرایندهای فیزیولوژیکی گیاهان از جمله حفاظت در برابر پرتو فرابنفش، مقاومت در برابر پاتوژن‌ها، تولید رنگدانه‌ها، رشد گرده و نمو پوشش دانه دخالت می‌کنند (Winkel-Shirley, 2001). مطالعات بسیاری اثبات کرده‌است که تجمع فلاونوئیدها و آنتوسیانین‌ها در گیاهان، مکانیسمی حفاظتی در برابر تابش اشعه ماورای بنفش خورشید ایجاد می‌کند (رضانژاد و همکاران، ۱۳۸۹).

تاکنون اثرات اشعه ماورای بنفش بر میزان رنگیزه‌های مختلف گیاهان مورد بررسی قرار گرفته‌است. در مطالعه‌ای که توسط Li و همکارانش (۲۰۲۰) انجام شد، تاثیر پرتوافکنی فرابنفش A و B بر آنتوسیانین و بیان ژن و میزان کلروفیل در چای بنفش، رقم زیان، مورد بررسی قرار گرفت. در این تحقیق، آزمایش به‌گونه‌ای طراحی شد که در آن تاثیر سه نوع مختلف پرتو فرابنفش، اعم از فرابنفش A، فرابنفش B و فرابنفش A+B بررسی شد و در هر سه مورد نتایج نشان دهنده‌ی افزایش معنی‌دار سطح آنتوسیانین و کاهش معنی‌دار سطح کلروفیل بود. همچنین در پژوهشی دیگر تاثیر اشعه ماورای بنفش نوع بی بر روی محتوای کل ترکیبات فنولی در بافت کالوس تهیه شده از ساقه گیاه چای (رقم گرجستان) ارزیابی شد. نتایج حاصل از این آزمایشات نشان داد که بافت حاصل از محیط کشت در حضور اشعه ماورای بنفش نوع بی، دارای ترکیبات فنولی به میزان ۱/۵ برابر بیش‌تر از گیاهان شاهد می‌باشد (Zagoskina *et al.*, 2005). همچنین مشخص شده‌است که در گیاه چای اشعه ماورای بنفش نوع بی منجر به افزایش سطح کاتچین می‌گردد (Zheng *et al.*, 2008). این در حالی است که تاکنون پژوهشی در مورد اثرات نور ماورای بنفش بر روی مجموع فلاونوئیدهای گیاه چای به انجام نرسیده‌است. از این رو در تحقیق حاضر این مسئله را مورد بحث و بررسی قرار دادیم. از طرفی دیگر، مطالعات انجام شده نشان داده که در گیاهان حاوی فلاونوئید بیش‌تر، فلورسانس کلروفیل کمتری در اثر تابش اشعه ماورای بنفش بی مشاهده می‌شود که این موضوع می‌تواند نقش محافظتی فلاونوئیدها بر دستگاه فتوسنتزی گیاهان را تایید نماید (Prior and Coa, 2000).

کثرت و تنوع زیاد فلاونوئیدها در گیاه چای موجب ایجاد اثرات دارویی و درمانی فراوان در این گیاه شده‌است. در چند دهه اخیر، به‌خاطر افزایش فعالیت‌های صنعتی و تولید کلروفلوروکربن‌ها و سایر آلاینده‌ها، لایه ازن دچار تخریب گشته و این امر موجب افزایش میزان تشعشعات ماورای بنفش در سطح زمین گردیده‌است. اگرچه همین امر می‌تواند موجب برخی ناهنجاری‌ها در فرایندهای رشد و نمو گیاهان گردد ولی از طرف دیگر می‌تواند تغییرات کمی و کیفی در **2640** **7795** بر تجمع فلاونوئیدها در گیاه چای که منبع عمده‌ی فلاونوئیدها می‌باشد مورد بررسی قرار گیرد. نور ماورای بنفش

مجله فرایند و کارکرد گیاهی

در شرایط کنونی در مناطقی از کره زمین که دچار پدیده‌ی تخریب لایه ازن هستند در حد ۱۲ تا ۱۴ کیلوژول بر مترمربع در ثانیه است. در این تحقیق سعی شده‌است شدت‌های موثر نور ماورای بنفش از محدوده طبیعی تا محدوده بحرانی مد نظر قرار گیرد.

مواد و روش‌ها

آماده‌سازی نمونه‌ها و اعمال تنش:

نهال‌های چای در فصل بهار از ایستگاه تحقیقاتی چای شهید افتخاری فشالم تهیه گردیده و از بین آن‌ها، نهال‌های ۱۰ برگی (با ارتفاع حدوداً ۴۰ سانتی‌متر) انتخاب و به گلخانه دانشکده علوم پایه دانشگاه محقق اردبیلی منتقل شدند. این نهال‌ها در شرایط گلخانه‌ای با دوره تاریکی ۸ ساعت و دوره روشنایی ۱۶ ساعت، با شدت ۲۵۰ میکرومول فوتون بر مترمربع در ثانیه، دمای ۲۵/۲۰ درجه سلسیوس (شب/روز) و رطوبت ۸۰ نسبی درصد در بستر (کوکوپیت ۶۰٪، پرلیت ۴۰٪) رشد داده شدند. آبیاری نهال‌ها با محلول هوگلند ۵۰٪ انجام شده و دو هفته بعد، برای اعمال تنش به آزمایشگاه منتقل گردیدند. تنش با استفاده از لامپ نور ماورای بنفش نوع بی (TL 20 W/ 12 RS SLV/ 25, Philips, Germany) و در چهار سطح ۳، ۶، ۹ و ۱۲ کیلوژول بر مترمربع در ثانیه اعمال شد.

نهال‌ها در ۵ گروه، شامل چهار گروه تیمار و یک گروه شاهد دسته‌بندی شده و گیاهان با فاصله ۲۰ سانتی‌متری از لامپ تحت تیمار قرار گرفته و تنظیم سطوح مختلف نور ماورای بنفش بر مبنای تداوم زمانی تیمار تعیین شد. گروه اول که شامل گیاهان شاهد بود، تابشی دریافت نکردند. گروه دوم به مدت ۳۰ دقیقه، گروه سوم ۶۰ دقیقه، گروه چهارم ۹۰ دقیقه و گروه پنجم به مدت ۱۲۰ دقیقه، تحت تیمار با نور ماورای بنفش نوع بی قرار گرفتند. این تیمارها تماماً در طی یک روز به گیاهان اعمال شد.

نمونه‌ها یک روز پس از اعمال تنش برداشت شدند. قسمتی از هر نمونه برای سنجش فلاونوئیدکل برداشته شد و قسمتی دیگر هم برای عصاره‌گیری خشک شده و با آسیاب پودر گردید.

سنجش فلاونوئیدکل:

میزان فلاونوئیدکل با روش رنگ‌سنجی آلومینیوم کلراید اندازه‌گیری شد (Toor and Savage, 2005). برای این کار ۰/۱ گرم از هر نمونه که شامل بافت برگ‌ها بود به‌طور جداگانه به‌همراه ۱۰ میلی‌لیتر متانول در هاون ساییده شد. سپس به ۰/۵ میلی‌لیتر از عصاره به‌دست آمده آب مقطر اضافه شد تا به حجم ۵ میلی‌لیتر برسد و بعد از آن به محلول حاصل ۰/۳ میلی‌لیتر NaNO_2 ۵ درصد و بعد از گذشت ۵ دقیقه، ۰/۶ میلی‌لیتر AlCl_3 ۱۰ درصد اضافه شد. در نهایت ۲ میلی‌لیتر NaOH ۱ مولار و مجدداً ۲ میلی‌لیتر آب مقطر اضافه گردید و شدت جذب آن‌ها در طول موج ۵۱۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد و غلظت نمونه‌ها با استفاده از منحنی استاندارد کوئرستین به‌دست آمد.

عصاره‌گیری با سوکسیله:

۱۰ گرم از نمونه پودر شده مربوط به هر کدام از تیمارها توزین شده و هر کدام به‌طور جداگانه درون یکی از محفظه‌های دستگاه سوکسیله ۶ خانه که حاوی ۱۰۰ سی‌سی متانول (به‌عنوان حلال) بودند قرار داده شد. عصاره‌گیری با دمای ۵۰-۷۰ درجه سانتی‌گراد انجام و پس از گذشت حدود ۱۵ ساعت به اتمام رسید. سپس عصاره حاصل از هر کدام از نمونه‌ها خشک شده و در ویال‌های شیشه‌ای به‌طور جداگانه نگهداری شد (Poblocka-Olech et al., 2016).

این مقاله نهایی نیست و پس از انتشار تغییراتی خواهد داشت.

کروماتوگرافی لایه نازک یا TLC:

برای این منظور از عصاره متانولی تیمارها استفاده شد. لکه‌گذاری بر روی صفحات سیلیکاژل که به ابعاد 10×12 سانتی‌متر برش داده شده بود با فاصله $1/5$ سانتی‌متر از لبه‌ها صورت گرفت. علاوه بر عصاره‌های مذکور از محلول‌های استاندارد فلاونوئیدهای روتین، کوئرستین، ناريجنين، کاتچین و شالکون نیز در کنار تیمارها برای شناسایی محتوای فلاونوئیدی نمونه‌ها، استفاده گردید. فاز متحرک یا حلال استفاده شده در این آزمایش شامل اتیل استات، فرمیک اسید، استیک اسید و آب با نسبت ($11/2 : 2/1 : 2/1$) بود. پس از آماده‌سازی صفحات TLC، لکه‌گذاری به ترتیب از چپ به راست صورت گرفت. پس از انجام لکه‌گذاری صفحه TLC در مجاورت هوا قرار گرفت تا خشک شود، سپس به درون تانک انتقال داده شد و پس از پیش‌روی حلال تا فاصله $1/5$ سانتی‌متری از انتهای صفحه و جداسازی اجزای عصاره، صفحه TLC از درون محفظه تانک خارج گردید و جبهه حلال علامت‌گذاری شد. بعد از این مرحله صفحه TLC خشک شده و موقعیت لکه‌ها با استفاده از TLC Scanners در طول موج 254 نانومتر ثبت گردید (Poblocka-Olech *et al.*, 2016). نهایتاً با استفاده از نرم‌افزار TLC Analyser پارامترهای مربوطه، شامل R_f و شدت لکه‌ها با روش رنگ‌سنجی ارزیابی شده و کروماتوگرام مربوطه برای هر مورد ارائه شد.

سنجش محتوای نسبی کلروفیل و کارایی فتوشیمیایی فتوسیستم ۲ (Fv/Fm):

پس از تیماردهی، میزان کلروفیل گیاهان شاهد و تیمار داده شده توسط دستگاه کلروفیل‌متر (Hansatech Instruments, CL-01, UK) براساس واحد نسبی (SPAD) از بین رگبرگ اصلی و حاشیه برگ صورت گرفت. این سنجش از برگ سوم تمام نمونه‌ها به انجام رسید.

در سنجش کارایی فتوشیمیایی فتوسیستم ۲ (Fv/Fm) قسمتی از محل میانه برگ توسط گیره‌های مخصوص دستگاه فلوریمتر (Hansatech Instruments, Handy PeA, UK) به مدت ۲۰ دقیقه در تاریکی قرار گرفت و سپس پارامتر (Fv/Fm) اندازه‌گیری گردید. (Szilárd *et al.*, 2006).

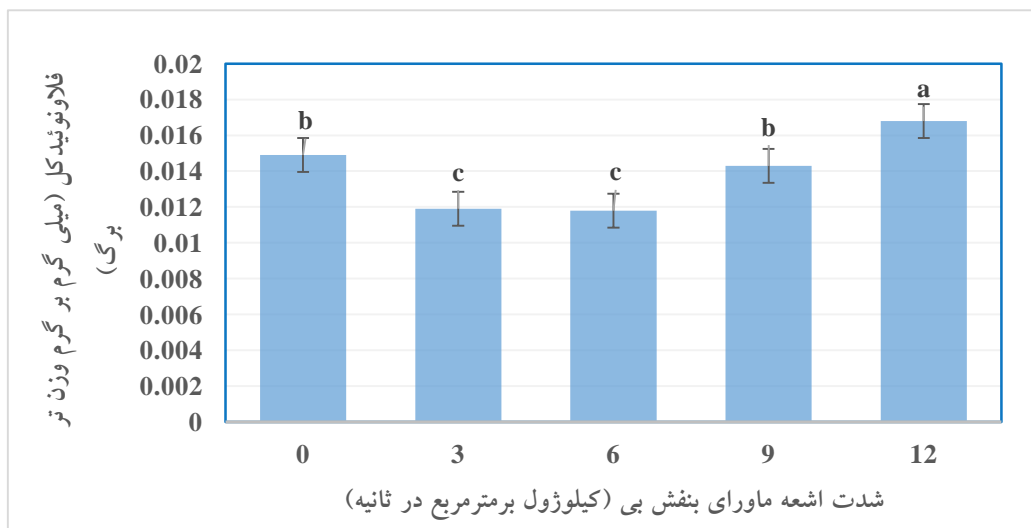
تجزیه آماری:

آزمایشات به صورت طرح کاملاً تصادفی و در سه تکرار انجام شد. آنالیز واریانس داده‌ها با نرم‌افزار SPSS 24 در سطح احتمال ۵ درصد و مقایسه میانگین‌ها با آزمون دانکن انجام شد.

نتایج

نتایج سنجش فلاونوئیدکل:

نتایج حاصل از سنجش فلاونوئیدکل نشان داد که محتوای فلاونوئیدکل در برگ‌های چای تیمار شده با اشعه ماورای بنفش با شدت‌های ۳ و ۶ کیلوژول بر مترمربع در ثانیه کاهش معنی‌داری نسبت به گیاهان گروه شاهد در سطح احتمال ۵ درصد نشان داد، ولی با تیمار ۹ کیلوژول بر مترمربع میزان فلاونوئیدها شروع به افزایش کرد و با شاهد در یک گروه قرار گرفت. در ادامه با تیمار ۱۲ کیلوژول بر مترمربع در ثانیه افزایش معنی‌داری در سطح فلاونوئیدکل نسبت به نمونه‌های شاهد مشاهده گردید (نمودار ۱).

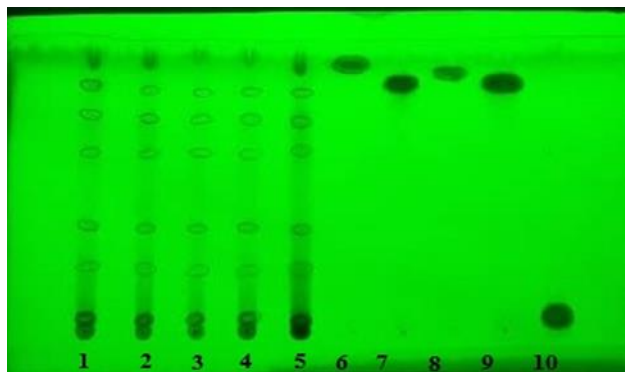


نمودار ۱- میزان فلاونوئید کل در گیاه چای تحت تیمار شدت‌های متفاوت نور ماورای بنفش. در هر ردیف اعداد با حروف یکسان در سطح معنی‌داری ۵ درصد غیر معنی‌دار هستند.

نتایج آنالیز فلاونوئیدها با کروماتوگرافی لایه نازک:

تصویر مربوط به لکه‌های آشکارسازی شده در کروماتوگرافی لایه نازک (شکل ۱)، کروماتوگرام مربوط به آن (شکل ۲) و جدول نمایش گر تغییرات درصدی و سطح زیر منحنی پیک/ لکه‌ها (جدول ۱) که معرف انواع مشتقات فلاونوئیدی است نمایان‌گر آن است که در تیمارهای ۳ و ۶ کیلوژول بر مترمربع در ثانیه از نور ماورای بنفش، روند کاهشی در تمامی پیک/ لکه‌های گروه‌ها نسبت به شاهد قابل مشاهده است اما پس از آن در تیمارهای ۹ و ۱۲ به تدریج روند افزایشی مشاهده می‌شود. در تیمار ۱۲ کیلوژول بر مترمربع در ثانیه افزایش نسبی در تمامی پیک/ لکه‌ها در حد ۱۰۷ تا ۲۴۲ درصد نسبت به شاهد مشهود می‌باشد.

مقایسه لکه‌های مربوط به فلاونوئیدهای استاندارد با نمونه‌های گروه‌های تیمار و شاهد نشان می‌دهد که لکه دارای R_f در حد ۰/۹۵ در تمامی گروه‌ها، نزدیک‌ترین لکه به جبهه حلال است که بایستی مرتبط با فلاونوئید شالکون بوده باشد. همچنین لکه با R_f در حد ۰/۸۵ می‌تواند مرتبط با فلاونوئید کوئرستین باشد. پایین‌ترین لکه که دارای R_f در حد ۰/۰۶ است با لکه مربوط به فلاونوئید روتین همخوانی نشان می‌دهد (شکل ۱).



شکل ۱: تصویر لکه‌های حاصل از کروماتوگرافی عصاره برگ چای تحت دوزهای متفاوت از نور ماورای بنفش نوع ب. ۱: شاهد، ۲: تیمار ۳ کیلوژول بر مترمربع در ثانیه، ۳: تیمار ۶ کیلوژول بر مترمربع در ثانیه، ۴: تیمار ۹ کیلوژول بر مترمربع در ثانیه و ۵: تیمار ۱۲ کیلوژول بر مترمربع در ثانیه، ۶: استاندارد شالکون، ۷: استاندارد کوئرستین، ۸: استاندارد نارنجین، ۹: استاندارد کاتچین و ۱۰: استاندارد روتین.

نتایج به دست آمده حاکی از این است که میزان فلاونوئید شالکون، که به عنوان پیش ساز تمامی انواع فلاونوئیدها شناخته می‌شود در تیمارهای ۳، ۶ و ۹ کیلوژول بر مترمربع در ثانیه از نور ماورای بنفش نسبت به شاهد کاهش داشته و این کاهش وابسته به دوز اشعه است به طوری که با افزایش شدت اشعه به تدریج کاهش مشاهده می‌شود. این در حالی است که در تیمار ۱۲ کیلوژول بر مترمربع در ثانیه میزان این فلاونوئید در حد ۲۷ درصد نسبت به شاهد افزایش نشان می‌دهد.

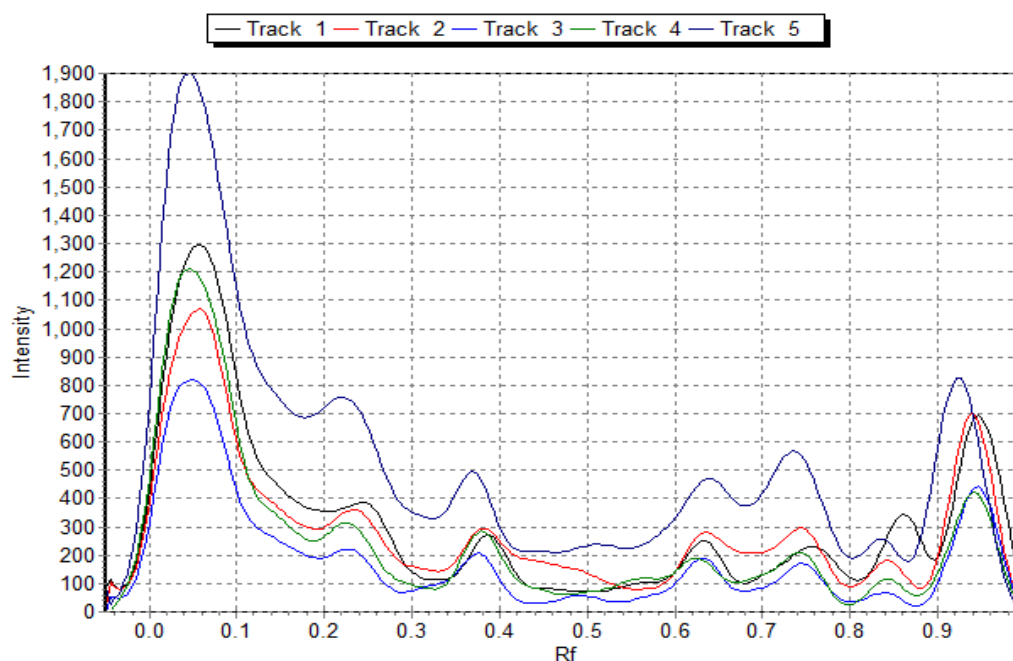
در خصوص دو فلاونوئید کوئرستین و روتین که از فلاونوئیدهای بسیار متداول در عالم گیاهان هستند، اشعه ماورای بنفش با شدت ۶ کیلوژول بر مترمربع در ثانیه، منجر به کاهش قابل توجه میزان این فلاونوئیدها در مقایسه با گروه شاهد شده ولی دوز ۱۲ کیلوژول بر مترمربع، منجر به افزایش قابل توجه، به ترتیب تا حد ۲۴۲ و ۱۰۷ درصد گردیده است (جدول ۲).

مجله فرایند و کارکرد گیاهی

جدول ۲- شاخص‌های مرتبط با پیک‌های مربوط به کروماتوگرافی لایه نازک برگ گیاه چای در شرایط تیمارهای مختلف نور ماورای بنفش.

شماره پیک	۱			۲			۳			۴			۵			۶			۷		
	شاخص	سطح	درصد	سطح	درصد	R _f	سطح	درصد	R _f	سطح	درصد	R _f	سطح	درصد	R _f	سطح	درصد	R _f	سطح	درصد	R _f
ها	زیر	تغییرات	منحنی	زیر	تغییرات	منحنی	زیر	تغییرات	منحنی	زیر	تغییرات	منحنی	زیر	تغییرات	منحنی	زیر	تغییرات	منحنی	زیر	تغییرات	منحنی
تیمار	شاهد	شاهد	شاهد	شاهد	شاهد	شاهد	شاهد	شاهد	شاهد	شاهد	شاهد	شاهد	شاهد	شاهد	شاهد	شاهد	شاهد	شاهد	شاهد	شاهد	شاهد
۳	۳۲۶۹۷	۱۴/۵	۰/۰۶	۶۷۹۴	۶/۷	۰/۲۳	۸۰۴۷	۱۰۵/۲	۰/۳۸	۴۸۹۸	۲۳	۰/۶۴	۴۷۰۸	۱۷/۱	۰/۷۴	۸۰۸۰	۸۱/۷	۰/۸۶	۸۵۷۷	-۵/۳	۰/۹۴
۶	۱۹۵۴۲	-۱۳/۹	۰/۰۵	۳۴۰۴	-۶۴/۶	۰/۲۳	۳۳۲۳	-۱۵/۲	۰/۳۷	۲۹۰۱	-۲۷/۱	۰/۶۳	۲۶۳۰	-۳۴/۵	۰/۷۴	۳۴۰۰	-۲۳/۵	۰/۸۵	۵۴۴۴	-۳۹/۹	۰/۹۵
۹	۲۸۰۷۸	۲۳/۷	۰/۰۶	۵۷۱۰	-۱۵/۹	۰/۲۳	۴۵۱۸	۱۵/۲	۰/۳۸	۵۸۱۰	۴۵/۹	۰/۶۳	۴۰۱۰	-۰/۲	۰/۷۴	۵۶۰۰	۲۵/۹	۰/۸۵	۵۴۷۴	-۳۹/۶	۰/۹۴
۱۲	۴۷۰۵۱	۱۰۷/۳	۰/۰۶	۱۷۲۷۴	۱۵۴/۲	۰/۲۲	۷۹۰۷	۱۰۱/۷	۰/۳۷	۹۹۰۵	۱۴۸/۸	۰/۶۴	۱۰۶۶۳	۱۶۵/۲	۰/۷۳	۱۵۲۲۴	۲۴۲/۴	۰/۸۵	۱۱۵۲۵	۲۷/۱	۰/۹۴

این مقاله نهایی نیست و پس از انتشار تغییراتی خواهد داشت.



شکل ۲: کروماتوگرام مربوط به کروماتوگرافی لایه نازک نمونه‌های برگ چای تحت تیمار نور ماورای بنفش نوع بی. Track1 مربوط به شاهد-Track2 مربوط به تیمار ۳ کیلوژول بر مترمربع در ثانیه -Track3 مربوط به تیمار ۶ کیلوژول بر مترمربع در ثانیه -Track4 مربوط به تیمار ۹ کیلوژول بر مترمربع در ثانیه و Track5 مربوط به تیمار ۱۲ کیلوژول بر مترمربع در ثانیه می‌باشد.

نتایج حاصل از اندازه‌گیری محتوای نسبی کلروفیل:

اندازه‌گیری محتوای نسبی کلروفیل در گیاهان تیمار یافته چای، با سطوح مختلف اشعه ماورای بنفش بی (۳، ۶، ۹ و ۱۲ کیلوژول بر مترمربع در ثانیه) و مقایسه آن‌ها با محتوای کلروفیل گیاهان شاهد نشان داد که با افزایش شدت تابش از ۶ کیلوژول مقدار نسبی کلروفیل کاهش می‌یابد که این کاهش وابسته به دوز اشعه می‌باشد (شکل ۲)



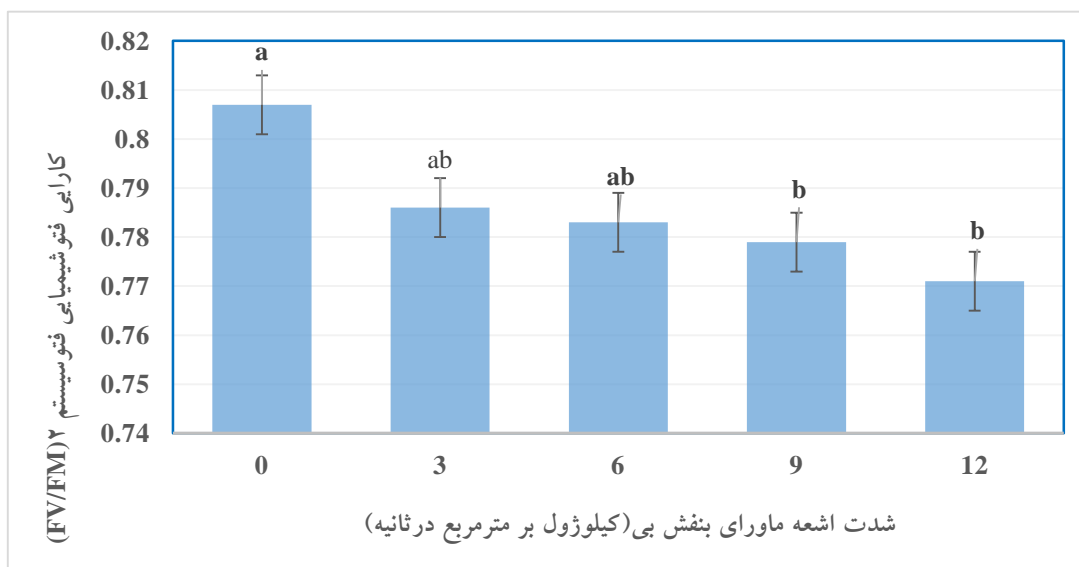
نمودار ۲- اثرات دوز متفاوت اشعه ماورای بنفش بر محتوای کلروفیل نسبی در گیاه چای.

حروف نامشابه در یک ردیف بیانگر وجود اختلاف معنی‌دار در بین تیمارها با سطح احتمال $P \leq 0.05$ می‌باشند.

این مقاله نهایی نیست و پس از انتشار تغییراتی خواهد داشت.

نتایج حاصل از سنجش کارایی فتوشیمیایی فتوسیستم ۲:

نتایج حاصل از اندازه‌گیری پارامترهای فلورسانس کلروفیل نشان داد که دوزهای متفاوت اشعه ماورای بنفش بی (۳، ۶، ۹ و ۱۲ کیلوژول بر مترمربع در ثانیه) به ترتیب، موجب کاهش معنی‌دار تدریجی کارایی فتوشیمیایی فتوسیستم ۲ نسبت به گیاهان گروه شاهد گردید که این کاهش در تیمارهای ۹ و ۱۲ کیلوژول بر مترمربع شدیدتر بود (نمودار ۳).



نمودار ۳- روند تغییرات کارایی فتوشیمیایی فتوسیستم ۲ (Fv/Fm) در گیاه چای در پاسخ به سطوح مختلف اشعه ماورای بنفش. حروف نامشابه در یک ردیف بیانگر وجود اختلاف معنی‌دار در بین تیمارها با سطح احتمال $P \leq 0.05$ می‌باشند.

بحث

مطالعات انجام شده مشخص کرده‌است که گونه‌های مختلف گیاهان پاسخ‌های متفاوتی در برابر آسیب‌های اشعه ماورای بنفش از خود بروز می‌دهند. این مکانیسمها شامل دو گروه متفاوت می‌باشند: ۱- مکانیسمهای آنزیمی که بر پایه تولید آنزیمهای آنتی اکسیدان در گیاه بوده ۲- مکانیسمهای غیر آنزیمی که مبتنی بر تولید ترکیبات آنتی اکسیدان مختلف در گیاهان در شرایط تنش زا هستند (Wargent and Jordan, 2016). موثرترین مکانیسم حفاظت غیر آنزیمی گیاهان که تحت تاثیر تنش اشعه ماورای بنفش تحریک می‌گردد، بیوسنتز فلاونوئیدها و ترکیبات فنلی است (Jaakola, 2013). این ترکیبات به‌عنوان رنگیزه‌های جذب‌کننده اشعه ماورای بنفش نقش مهمی در مقابله با تنش ناشی از این اشعه ایفا می‌کنند. در طیف جذب توری این ترکیبات، یکی از قله‌های جذب (۲۵۰ نانومتر) در محدوده نور ماورای بنفش می‌باشد و با جذب این طول موج‌ها از اثرات زیان‌بار این پرتوهای یونیزان در گیاهان، تا حدی پیش‌گیری می‌شود و به بیان بهتر از شکل‌گیری گونه‌های فعال اکسیژن ممانعت می‌گردد (Halbwirth, 2010). از طرف دیگر، در صورت تشکیل رادیکال‌های آزاد و انواع گونه‌های فعال اکسیژن، تحت تاثیر اشعه ماورای بنفش، فلاونوئیدها قابلیت جاروب‌کنندگی و حذف این ساختارهای مخرب را نیز دارند. قابلیت آنتی‌اکسیدانی فلاونوئیدها از جمله ویژگی‌های بسیار برجسته این ترکیبات به‌شمار می‌آید و اساساً به دلیل وجود گروه‌های شیمیایی هیدروکسیل در آنها می‌باشد (Shen et al., 2022).

نتایج به‌دست آمده از این تحقیق نشان داد که تحت تاثیر اشعه ماورای بنفش، میزان ترکیبات فلاونوئیدی در گیاه چای به‌طور قابل توجهی افزایش پیدا کرد. نتایج مذکور قبلاً در گیاهان دیگر نیز مورد تایید قرار گرفته‌است. افزایش معنی‌دار میزان فلاونوئیدها

این مقاله نهایی نیست و پس از انتشار تغییراتی خواهد داشت.

مجله فرایند و کارکرد گیاهی

تحت تاثیر اشعه ماورای بنفش در گیاهان اسفناج (Smirnoff and Wheelev, 2022) و اطلسی (Ryan et al., 2002) نیز گزارش شده است. همچنین در مطالعه‌ای اثر باندهای اشعه ماورای بنفش نوع بی و نوع سی در افزایش میزان برخی ترکیب‌ها (فلاونوئیدها، آنتوسیانین‌ها و قندهای احیاکننده) در دو گونه گیاه بنگ‌دانه مورد مطالعه قرار گرفته است. تجزیه و تحلیل فلاونوئیدها نشان داد که در هر دو گونه مورد بررسی، میزان فلاونوئیدها در اشعه ماورای بنفش نوع بی و نوع سی به ترتیب، افزایش ۳۵ و ۵۰ درصدی را نشان می‌دهند (نصیبی و منوچهری، ۱۳۸۵). افزایش میزان فلاونوئیدهای خاص در گیاه ریحان نیز تحت تنش اشعه ماورای بنفش اخیرا گزارش شده است (لاله عباسی و خارا، ۱۴۰۰). در خصوص سازوکار تاثیر اشعه ماورای بنفش در افزایش فلاونوئیدهای گیاهان، مطالعات صورت گرفته در سال‌های اخیر بر روی گیاه چای حاکی از این است که اشعه ماورای بنفش نوع بی، با تغییر مسیرهای متابولسمی منجر به القای روند بیوستز فلاونوئیدها در این گیاه می‌گردد. این روند از طریق تحریک بیان ژن‌های خاص در مسیر بیوستز فلاونوئیدها از جمله سه ژن CsFLS، CsLARA و CsDFRa صورت می‌گیرد. این ژنها از مهمترین ژنهای مسیر شکمات در گیاهان هستند (Ning et al., 2022).

در پژوهش حاضر، داده‌های مربوط به فلاونوئیدکل و همچنین کروماتوگرافی این ترکیبات، نشان داد که تنش اشعه ماورای بنفش نوع بی در شدت‌های اولیه سبب تغییر کاهشی در میزان فلاونوئیدها شده ولی بعدا با اعمال تنش با شدت ۱۲ کیلوژول بر مترمربع در ثانیه افزایش تراز فلاونوئیدها مشاهده می‌گردد. به نظر می‌رسد به محض اعمال تنش اشعه ماورای بنفش نوع بی، این پرتوها با ایجاد اختلال در روند فعالیت آنزیم‌ها موجب کند شدن مسیرهای متابولسمی گیاه از جمله مسیر بیوستز شکمات شده و سپس با گذشت زمان و افزایش شدت اشعه، گیاه شروع به انطباق خود با شرایط تنش کرده و با افزایش بیوستز فلاونوئیدها سعی در مقابله با تنش کرده است.

همچنین علاوه بر فلاونوئیدکل، در مورد برخی فلاونوئیدهای شاخص نیز نتایج مشابهی به دست آمده است. Zheng و همکارانش (۲۰۰۸) نیز افزایش میزان کاتچین که یکی از فلاونوئیدهای شاخص گیاه چای می‌باشد را تحت تاثیر اشعه ماورای بنفش نوع بی در دو نوع چای گزارش کرده‌اند. بررسی ما نشان داد که میزان شالکون که به عنوان پیش‌ساز انواع فلاونوئیدها شناخته می‌شود و نیز تراز فلاونوئید کوئرستین که به عنوان متداول‌ترین فلاونوئید در عالم گیاهان است، تحت تاثیر نور ماورای بنفش بی با شدت ۱۲ کیلوژول بر مترمربع در ثانیه در مقایسه با شاهد افزایش قابل توجه داشت. مطالعات محققین قبلی نشان داده است که بیان ژن آنزیم شالکون سنتتاز که کلیدی‌ترین آنزیم در مسیر بیوستز فلاونوئیدها می‌باشد تحت القای اشعه ماورای بنفش بی افزایش می‌یابد (Jenkins et al., 2001). این نتایج با نتایج به دست آمده از آزمایشات ما مطابقت نشان می‌دهد.

از طرف دیگر، نتایج پژوهش حاضر نشان داد که نور ماورای بنفش منجر به کاهش میزان کلروفیل با واحد نسبی می‌گردد. این امر می‌تواند به دلیل اثرات تخریبی این پرتوها بر روی کلروفیل a باشد که منجر به کاهش تراز کلی کلروفیل در گیاه چای گردیده است. قبلا اثرات تخریبی اشعه ماورای بنفش در دوزهای بالا بر تخریب کلروفیل a در سایر گیاهان از جمله پنیرک، بارهنگ و غیره مورد تایید قرار گرفته است (Salama et al., 2011). در گیاه چای مشخص شد که دوزهای حتی نه چندان بالا از اشعه ماورای بنفش می‌تواند روند کاهش تراز کلروفیل را آغاز نماید. در حالت کلی، میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی تحت اثر دو عامل میزان تجزیه و بیوستز رنگیزه و همچنین میزان سطح برگ می‌باشد. گزارش‌های متعددی درباره تاثیر پرتو ماورای بنفش بر رنگیزه‌های فتوسنتزی وجود دارد که دارای نتایج متناقضی می‌باشند به گونه‌ای که در برخی از آن‌ها افزایش تراز کلروفیل و در برخی دیگر کاهش آن را در برابر تنش اشعه ماورای بنفش نشان می‌دهد (خلیلی و همکاران، ۱۳۹۸). از طرف دیگر کاهش کارایی فتوسیستم‌ها تحت تاثیر اشعه ماورای بنفش در این تحقیق مشاهده گردید که از یک طرف می‌تواند به دلیل کاهش میزان کلروفیل و از طرف دیگر حساسیت شدید کمپلکس اکسیدکننده آب مستقر در فتوسیستم ۲ به نور ماورای بنفش بوده باشد (Szilárd et al., 2006).

این مقاله نهایی نیست و پس از انتشار تغییراتی خواهد داشت.

نتیجه گیری کلی

به عنوان نتیجه گیری کلی می توان گفت اگرچه کشت گیاه چای در مناطقی با شاخص نور ماورای بنفش بالا منجر به کاهش کلروفیل و کارایی سیستم فتوسنتزی گیاه شده و بازده محصول را پایین می آورد، ولی با توجه به اثر آن بر افزایش تراز فلاونوئیدهای چای، می تواند اثرات مفید دارویی این گیاه را افزایش دهد. نور ماورای بنفش در شرایط کنونی در مناطقی از کره زمین که دچار پدیده تخریب لایه ازن هستند در حد ۱۲ تا ۱۴ کیلوژول بر مترمربع در ثانیه است یعنی همان دوزی از اشعه که بر اساس بررسی های تحقیق حاضر القا کننده سنتز فلاونوئیدهاست. پس در کشت گیاه چای اگر هدف ارتقای خواص دارویی چای باشد می توان با کشت آن در مناطق با اندیس اشعه ماورای بنفش بالا به افزایش خواص دارویی این گیاه کمک کرد. از طرفی دیگر، با توجه به مصرف بالای روزانه چای در اغلب کشورهای جهان، افزایش تراز فلاونوئیدهای این گیاه بر تقویت قابلیت آنتی اکسیدانی آن موثر بوده و می تواند منجر به پیشگیری از بیماری های مختلف قلبی عروقی، سرطان و... گردد.

منابع

- بی جامی، آزاده، رضانزاد، فرخنده و ساسان، حسین علی (۱۳۸۹) اثر فرابنفش B بر میزان برخی ترکیب های آنتی اکسیدان فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیا لیا ز و پروتئین کل در میوه رسیده گوجه فرنگی پس از برداشت. مجله زیست شناسی گیاهی ۲(۶)، ۲۹-۳۸.
- خلیلی، معصومه، رضوی زاده، رویا و فرقانی، امیر حسین (۱۳۹۸) تغییرات رنگیزه ها و متابولیت های ثانویه گیاهچه های درمنه کوهی در پاسخ به پرتوهای uv و زمان نمونه گیری در شرایط این ویترو. مجله زیست شناسی گیاهی ایران، ۱۱(۲)، ۵۲-۴۵. [http:// 10.22108/IJPB.2019.116190.1146](http://10.22108/IJPB.2019.116190.1146)
- لاله عباسی، نرمین و خارا، جلیل (۱۴۰۰) مطالعه اثر اشعه UV-B بر برخی فاکتورهای شیمیایی و میزان اسانس گیاه ریحان. دومین همایش بین المللی و پنجمین همایش ملی گیاهان دارویی و کشاورزی پایدار، تبریز، ایران.
- نصیبی، فاطمه، و منوچهری، خسرو (۱۳۸۵) کاربرد باندهای مختلف اشعه ماوراء بنفش در بالا بردن میزان برخی از ترکیب های ثانویه در دو گونه گیاه بنگ دانه *Hyoscyamus*. فصلنامه علمی-پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران. <https://doi.org/10.22092/ijmapr.2006.114988>. ۱۴۰-۱۴۵، (۲)۲۲
- Friedman, M. Henika, P.R. Levin, C. E. Mandrell, R.E. & Kozukue, N. (2006). Antimicrobial activities of Tea Catechins and theoflavins and tea extracts against *Bacillus Cereus*. Journal of Food Protection 69(2): 354-361. <http://doi: 10.4315/0362-028x-69.2.354>.
- Halbwirth, H. (2010). The Creation and Physiological Relevance of Divergent Hydroxylation Patterns in the Flavonoid Pathway. International Journal of Molecular Sciences 11(2):595-621. <http://doi: 10.3390/ijms11020595>.
- Jaakola, L. (2013) New insights into the regulation of anthocyanin biosynthesis in fruits. Journal of Trends Plant Science 18(9): 477-483. <http://doi: 10.1016/j.tplants.2013.06.003>.
- Jenkins, G.I. Long, J.C. Wade, H.K. Shenton, M.R. & Bibikova, T.N. (2001). UV and blue light signaling: pathways regulating chalcone synthase gene expression in *Arabidopsis*. New Phytologist 151(1):121-131. <http://doi: 10.1046/j.1469-8137.2001.00151.x>.

Li, W. Tan, L. Zou, Y. Tan, X. Huang, J. Chen, w. & Tang, Q. (2020). The effects of ultraviolet A/B treatment on anthocyanin accumulation and gene expression on dark-purple tea cultivar ziyen (camellia sinensis). Sichuan Agricultural University, Chengdu 611130, China.

Ning, L. Xuyang, L. Wenfeng, Z. Xin, C. Xiaohai, W. Xiaochun, W. & Linlin, L. (2021). Ambient ultraviolet B signal modulates Tea flavor characteristic via shifting metabolic flux in flavonoid biosynthesis. Journal of Agriculture Food Chemistry 69(11): 3401-3414. [http://doi: 10.1021/acs.jafc.0c07009](http://doi:10.1021/acs.jafc.0c07009).

Prior, R. L. & Coa, G. (2000). Antioxidant phytochemicals in fruits and vegetables. Hort Science 35(4):588-592. <https://doi.org/10.21273/HORTSCI.35.4.588>.

Poblocka-Olech, L. Glod, D. Zebrowska, M.E. Sznitowska, M. & Krauze-Baranowska, M. (2016). TLC determination of flavonoids from different cultivars of *Allium cepa* and *Allium ascalonicum*. Acta Pharmaceutica 66(4):543-554. [https://doi: 10.1515/acph-2016-0038](https://doi:10.1515/acph-2016-0038).

Ryan, K.G. Ewald, E. Swinny, E. Markham, K.R. & Winefield, C. (2002). Flavonoid gene expression and UV photo protection in transgenic and mutant petunia leaves. Phytochemistry 59(1):23-32. [https://doi: 10.1016/s0031-9422\(01\)00404-6](https://doi:10.1016/s0031-9422(01)00404-6).

Salama, H. M.H. Al Watban, A.A. & Al-Fughom, A.T. (2011). Effect of ultraviolet radiation on chlorophyll, carotenoid, protein and proline contents of some annual desert plants. Saudi Journal of Biological Sciences 18(1):79-86. [https://doi: 10.1016/j.sjbs.2010.10.002](https://doi:10.1016/j.sjbs.2010.10.002). Epub 2010 Oct 11.

Shen, N. Wang, F. Gan, Q. Liu, L. Wang, L. & Jin, B. (2022) Plant flavonoids: Classification, distribution, biosynthesis, and antioxidant activity. Food Chemistry 383: 132531. [https://doi: 10.1016/j.foodchem.2022.132531](https://doi:10.1016/j.foodchem.2022.132531).

Smirnoff, N. & Wheeler, G. L. (2002). Ascorbic acid in plants: Biosynthesis and function. Critical Reviews in Plant Sciences 35(4): 294-394. [https://doi: 10.1080/10409230008984166](https://doi:10.1080/10409230008984166).

Szilárd, A. Sass, L. Deák, Z. & Vass, I. (2006). The sensitivity of Photosystem II to damage by UV-B radiation depends on the oxidation state of the water-splitting complex. Biochimica et Biophysica Acta 1767(6): 876-882. [https://doi: 10.1016/j.bbabi.2006.11.020](https://doi:10.1016/j.bbabi.2006.11.020).

Toor, R.K. & Savage, G.P. (2005). Antioxidant activity in different fractions of tomatoes. Food Research International 38(5): 487-494. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2004.10.016>.

Winkel-Shirley, B. (2001) Flavonoid biosynthesis: a colorful model for genetics, biochemistry cell biology and biotechnology. Plant Physiology 126(2): 485-493. [https://doi: 10.1104/pp.126.2.485](https://doi:10.1104/pp.126.2.485).

Wargent, J. & Jordan, B.R. (2013). From ozone depletion to agriculture: Understanding the role of UV radiation in sustainable crop production. New Phytologist 197(4): 1058-1076. [https://doi: 10.1111/nph.12132](https://doi:10.1111/nph.12132).

Zagoskina, N. N., Alyavina, A. K. Gladishko, T. O. Iaphin, P. V. Egorava, E. A. & Bukhov, N. G. (2005). Ultra violet rays promote development of photosystem II photochemical activity and accumulation. Russian Journal of Plant Physiology 52(6):731-739. <https://doi.org/10.1007/s11183-005-0109-3>.

Zaveri, N.T. (2006). Green tea and its polyphenol catechins, medicinal uses in cancer and noncancer applications. Life Science 78(18):2073-2080. [https://doi: 10.1016/j.lfs.2005.12.006](https://doi:10.1016/j.lfs.2005.12.006).

Zheng X.Q. Jin, J. Chen, H. Du, Y.Y. Ye, J.H. Lu, J.L. Lin, C. Dong, J.J. Sun, Q.L. Wu, L.Y. & Liang, Y.R. (2008). Effect of Ultraviolet B irradiation on accumulation of catechins in tea (*Camellia sinensis* (L) O.kuntze). Tea Research Institute of Zhejiang University, Hangzhou 310029, China.

The effects of UV-B on flavonoid pigments, relative chlorophyll content and photochemical efficiency of photosystem II in Tea plants

Sara Karimzadeh, Seyed Mehdi Razavi*, Parisa Nasrollahi, Alireza Ghasemian

Department of Biology, Faculty of Sciences, University of Mohaghegh Ardabili

Abstract

Tea (*Camellia sinensis*) belongs to the Theaceae family and is an evergreen shrub indigenous to China and India. The plant leaves contain different kinds of important flavonoids and, hence, indicate many biological activities. To study the effects of UV-B radiation on the flavonoid content of tea plants, a greenhouse experiment was performed in a completely randomized design. In this regard, first, tea seedlings were purchased from the Fashalem Research Institute and then kept in greenhouse conditions. Then the UV treatment at 5 levels was performed, and the plants were harvested to determine the total flavonoids content using spectrophotometry and certain flavonoid levels by the thin layer chromatography (TLC) method in all the treated groups. The results showed that flavonoids levels decreased at the beginning of UV treatment and then increased at 12 KJ/m²S of UV treatment. On the other hand, the relative chlorophyll content and photochemical efficiency of photosystem II were reduced in the UV-treated tea plants at doses higher than 9 KJ/m²S. It was concluded that although cultivation of tea plants in habitats with high UV index tends to result in a considerable reduction in photosynthetic parameters and plant yield, it can cause an elevation in the flavonoids content and pharmacological potential of the tea plant.

Keywords: Tea, Flavonoids, UV