Downloaded from jispp.iut.ac.ir at 13:42 IRST on Saturday December 4th 2021

بررسی کاربرد پرتو فرابنفش UVB در افزایش ترکیبات فنلی گیاه دارویی آلوئه‌ورا

آتوسا وزیری

گروه زیست‌شناسی، دانشگاه پیام‌نور، ایران

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۰۷/۰۸، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹۸/۰۱/۲۸)

چکیده

با توجه به اینکه کاربرد پرتو فرابنفش UVB می‌تواند به‌عنوان روشی آسان و مقرون به‌صرفه برای افزایش انباشت ترکیبات فنلی در گیاهان دارویی مورد استفاده قرار گیرد، در این تحقیق پاسخ گیاه دارویی آلوئه‌ورا به تابش دوزهای مختلف پرتو فرابنفش UVB (۱۰ و ۳۰ کیلوژول بر متر مربع در روز) در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار مورد بررسی قرار گرفت. تیمار گیاهان رشدیافته در شدت نور ۶۰۰ میکرومول بر متر مربع در ثانیه با دوز ۳۰ کیلوژول بر متر مربع در روز پرتو فرابنفش UVB باعث کاهش معنی‌دار توده خشک برگ گیاه آلوئه‌ورا گردید. کاهش معنی‌دار وزن برگ در این شرایط با کاهش شاخص کارایی فتوسیستم‌ها (PIabs) و افزایش انباشت مالون دی‌آلدئید (MDA) همراه بود. اگرچه، گیاهان رشدیافته تحت تیمار دوز ۱۰ کیلوژول بر متر مربع در روز، دارای بیشترین مقدار انباشت پرولین و قند محلول در برگ‌های خود بودند. همچنین بیشترین مقدار انباشت فنل در برگ‌های این گیاهان مشاهده شد. همبستگی مثبت بین مقدار انباشتگی فنل در برگ‌ها و خاصیت ضداکسایشی عصاره برگ‌ها مشاهده گردید. نتایج این تحقیق نشان داد که تیمار پرتو فرابنفش با دوز ۱۰ کیلوژول به‌مدت ۲۱ روز می‌تواند به‌عنوان روشی برای افزایش کیفیت و ارزش غذایی و دارویی برگ‌های گیاه آلوئه‌ورا از طریق افزایش میزان فنل‌ها به‌کار رود بدون آنکه ساختارهای فتوسنتزی دچار آسیب شوند.

واژه‌های کلیدی: آلوئه‌ورا، فنل، کارآیی فتوسنتز، UVB

مقدمه

به‌دنبال تغییرات اقلیمی در بخش‌های قابل توجهی از کره زمین، میزان تشعشات پرتو فرابنفش افزایش‌یافته و تأثیراتی عمیقی بر حیات جانداران گذاشته است. تشعشات پرتو فرابنفش تغییرات گسترده مورفولوژیک و فیزیولوژیک را در گیاهان عالی ایجاد می‌کند (Mosadegh *et al.*, 2018). تیمار پرتو فرابنفش باعث تخریب پروتئین D1 موجود در فتوسیستم II می‌شود و هم باعث افزایش انباشت گونه‌های واکنش‌پذیر اکسیژن (ROS) در کلروپلاست می‌گردد (Ivanov *et al.*, 2012). انباشت ROS باعث پراکسیداسیون لیپیدهای غشا تیلاکوئید، مهار سنتز پروتئین D1 و درنهایت مهار بازسازی فتوسیستم II می‌گردد (Chen *et al.*, 2012). در چنین شرایطی گیاه از طریق افزایش فروکش غیرفتوشیمایی (NPQ)، جریان انتقال الکترون چرخه‌ای و همچنین سایر سازوکارهای حفاظت نوری می‌تواند با تداوم مهار نوری (که ممکن است به آسیب نوری منجر شود) مقابله کند (Takahashi and Badger, 2011). یکی از مهم‌ترین سازوکارهای حفاظت نوری در گیاهان، فعالیت سیستم جاروب‌کننده ROS برای تجزیه

*نویسنده مسؤل، نشانی پست الکترونیکی: a_vaziri@pnu.ac.ir

Downloaded from jispp.iut.ac.ir at 13:42 IRST on Saturday December 4th 2021

گونه‌های فعال اکسیژن تولیده در شرایط شدت نور بالا است. گیاهان دارای دو سیستم پاسخگو آنتی‌اکسیداتیو شامل سیستم آنزیمی و سیستم غیرآنزیمی بر علیه ROS هستند (Habibi, 2014). آنزیم‌های این سیستم دفاعی شامل سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، کاتالاز (CAT)، آسکوربات پراکسیداز (APX)، دهیدروآسکوربات رودوکتاز (DHAR) و گلوتاتیون رودوکتاز (GR) است. سیستم غیرآنزیمی شامل آسکوربیک اسید (ASA)، گلوتاتیون، آلفاتوکوفرول (ویتامین E) و کاروتنوئیدها است (Habibi and Ajory, 2015). آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مثل سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز نقش کلیدی را در مقابله با صدمات گونه‌های فعال اکسیژن ایفا می‌کنند. آنزیم سوپراکسید دیسموتاز رادیکال‌های اکسیژن (O_2^-) را به هیدروژن پراکسید تبدیل می‌کند و در ادامه آنزیم کاتالاز موجب تجزیه هیدروژن پراکسیدها می‌شود و از صدمات آنها جلوگیری می‌شود.

گیاهان تحت تنش فرابنفش در طی سازوکار دیگری، مولکول‌های فیلترکننده و جاذب پرتو فرابنفش از جمله ترکیبات فنلی یا فنولیک‌ها (مثل فنل‌ها و آنتوسیانین‌ها) که در سیتوپلاسم سنتز و در واکوئل انباشته می‌شوند را ذخیره می‌کنند (Takahashi and Badger, 2011). در تحقیقی در سال ۲۰۱۸، Mosadegh و همکاران تیمار پرتو فرابنفش را برای افزایش ترکیبات فنلی در ریحان استفاده کرده‌اند. گیاه آلوئه‌ورا توان زیستن در مناطق خشک با شدت نور بالا را دارد (Hazrati *et al.*, 2017). با توجه به اینکه بیشترین استفاده دارویی گونه آلوئه‌ورا مربوط به درمان بیماری‌های پوستی بخاطر وجود فلاوونوئیدها در عصاره گیاه مذکور است، همچنین از آنجایی‌که تحقیقی درباره جزییات فیزیولوژیکی تأثیر فرابنفش بر خواص آنتی‌اکسیدانتی گیاه آلوئه‌ورا انجام نگرفته است و سازوکارهای فیزیولوژیک و بیوشیمیایی اثر پرتو فرابنفش در این گیاه ناشناخته مانده است، مهم‌ترین هدف این تحقیق افزایش توان آنتی‌اکسیدانت این گیاه با استفاده از پرتو فرابنفش است تا بتوان (۱) به کشت آنها با عملکرد بالا در مناطق خشک و مرتفع کشور مبادرت ورزید، (۲) ظرفیت آنتی‌اکسیدانت این گیاهان دارویی را افزایش داد تا کیفیت دارویی و آنتی‌اکسیدانتی آنها بالا رود و (۳) برخی سازوکارهای فیزیولوژیک و بیوشیمیایی اثر پرتو فرابنفش را تعیین کرد.

مواد و روش‌ها

پایه‌های جوان آلوئه‌ورا با طول تقریبی ۲۰ سانتی‌متر که از گیاه مادر منشعب شده بودند، جداسازی و در گلدان‌های جداگانه کشت شدند. گیاهان در شرایط گلخانه با دوره روشنایی ۱۲/۱۶ ساعت و دمای ۲۱/۲۸ درجه سلسیوس (به‌ترتیب در دوره روشنایی/تاریکی) و شدت نور ۱۸۵ میکرومول/مترمربع/ثانیه که توسط لامپ‌های فلورسنت تأمین شده بود، رشد کردند. پس از رشد گیاهان در شرایط پیش‌تیمار، گیاهان به‌مدت سه هفته تحت تیمارهای فرابنفش B با شدت‌های ۱۰ و ۳۰ کیلوژول بر متر مربع در روز در شدت‌های نور ۳۰۰ و ۶۰۰ میکرومول بر متر مربع در ثانیه قرار گرفتند. پس از گذشت سه هفته گیاهان برداشت شدند. سنجش رنگیزه‌ها و متابولیت‌ها بر روی نمونه‌های تازه برداشت‌شده و یا نگهداری‌شده در ازت مایع انجام شد.

سنجش رنگیزه‌های برگ: جهت سنجش مقدار رنگیزه‌ها، نمونه‌های گیاهی با آب دوبار تقطیر شستشو شده و بر روی کاغذ صافی خشک شدند. پس از اندازه‌گیری وزن تر (تقریباً ۲۰۰ میلی‌گرم)، نمونه‌ها در داخل ورقه آلومینیومی قرار گرفته و در ازت مایع تا زمان سنجش نگهداری شدند. استخراج ماده مورد نظر با استفاده از استون بر روی یخ و با هاون چینی سرد انجام شد. غلظت کلروفیل و کاروتنوئیدها به‌وسیله دستگاه اسپکتروفتومتر، بعد از ۲٤ ساعت استخراج در استون ۱۰۰ درصد تعیین شد. جذب در ٦٦٢، ٦٤٥ و٤٧٠ نانومتر اندازه‌گیری شده و غلظت کلروفیل *a*، *b* و کل طبق فرمول‌های زیر محاسبه شد (Lichtenthaler and Wellburn, 1985).

$$\text{Chl } a = 11.75\ A_{662} - 2.350\ A_{645}$$
$$\text{Chl } b = 18.61\ A_{645} - 3.960\ A_{662}$$

سنجش پارامترهای فلورسانس کلروفیل: جهت تعیین فلورسانس کلروفیل، از دستگاه فلورسانس‌سنج (دستگاه

Downloaded from jispp.iut.ac.ir at 13:42 IRST on Saturday December 4th 2021

فلوریمتر Pocket PEA، شرکت Hansatech، انگلستان) استفاده شد. پارامترهای فلورسانس کلروفیل در برگ‌های سازش‌یافته با تاریکی (به‌مدت حداقل ۲۰ دقیقه) شامل F_0 (فلورسانس پایه) و F_m (فلورسانس بیشینه) اندازه‌گیری شد.

سنجش متابولیت‌های مرتبط با دفاع آنتی‌اکسیدانت: سنجش مالون دی‌آلدئید (MDA) به‌عنوان معیاری برای بررسی میزان پراکسیداسیون لیپیدها براساس روش بومیناتان و دوران (Boominathan and Doran, 2002) صورت گرفت. عصاره برگ در محلول ۰/۱٪ (وزنی/حجمی) تری کلرواستیک اسید (TCA) استخراج شده و به‌مدت پنج دقیقه در g ۱۰۰۰۰ سانتریفوژ شد. نسبت ۱ به ٤ از روشناور با محلول ۲۰٪ از TCA حاوی ۰/۵٪ تیوباربیتوریک اسید در لوله آزمایش با هم مخلوط شده و به‌مدت ۳۰ دقیقه در حمام آب گرم با دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. سپس لوله‌ها به‌سرعت سریعاً در یخ سرد شده و به‌مدت ۱۵ دقیقه در g ۱۰۰۰۰ سانتریفوژ شدند. هم‌زمان با عصاره‌های برگ انگور محلول‌های استاندارد در محدوده صفر تا ۱۰۰ نانومول از ۱، ۱، ۳، ۳- تترا اتوکسی پروپان تهیه شده و جذب نمونه‌ها در ۵۳۲ نانومتر توسط اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد. درنهایت غلظت مالون دی‌آلدئید نمونه‌ها بر حسب گرم وزن تر/ نانومول محاسبه شد.

غلظت هیدروژن پراکسید (H_2O_2) براساس روش ولی کوا و همکاران (Velikova *et al.*, 2000) به‌دست آمد. محلول استخراج برگ‌ها محلول تری کلرواستیک اسید (۰/۱ درصد وزنی به حجمی) بود. عصاره‌ها به‌مدت ۱۵ دقیقه در g ۱۲۰۰۰ سانتریفوژ شده و روشناور مورد استفاده قرار گرفت. ۵۰۰ میکرولیتر از عصاره به یک میلی‌لیتر از محلول واکنشی شامل ۱۰ میلی‌مولار بافر فسفات پتاسیم (pH=۷) و یک مولار پتاسیم یدید اضافه شده و مخلوط حاصل به‌مدت ٦۰ دقیقه در تاریکی به‌منظور انجام واکنش قرار گرفت. جذب نمونه‌ها در۳۹۰ نانومتر توسط اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد. مقادیر براساس منحنی استاندارد H_2O_2 در محدوده صفر تا ۵۰ نانومول محاسبه شد.

سنجش فنل کل: از آنجایی‌که بیشترین ترکیبات فنلی گیاهان از نوع پلی‌فنل‌ها است، از روش معرف فنلی فولین سیوکالتو (Mavi *et al.*, 2004) برای سنجش فنل کل استفاده شد. برای این منظور ۵ گرم بافت سبز برگ یا ژل برگ جداسازی‌شده و پس از پودرشدن توسط هاون در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب‌مقطر به‌مدت ۳۰ دقیقه جوشانده شد و با استفاده از کاغذ واتمن شماره ٤۲ صاف شد. غلظت ۲۵۰ میکرولیتر معرف فولین با ۲۵ میکرولیتر عصاره و ۵۰۰ میکرولیتر محلول آبی سدیم کربنات ۲۰ درصد مخلوط شد. نمونه‌های شاهد فاقد عصاره بودند. پس از قراردادن نمونه‌ها در دمای آزمایشگاه به‌مدت ۳۰ دقیقه جذب آنها در طول‌موج ۷٦۵ نانومتر اندازه‌گیری شد و غلظت فنل کل براساس منحنی استاندارد گالیک اسید به‌دست آمد. برای هر عصاره این سنجش ٤ بار تکرار شد و میانگین فنل کل موجود در عصاره تیمارها به صورت میلی‌گرم گالیک اسید در گرم بافت بیان شد.

سنجش فلاونوئیدها: برای سنجش غلظت فلاونوئیدها، نمونه‌های برگ در متانول حاوی آلومینیوم کلراید دو درصد استخراج شده و پس از سانتریفوژ، روشناور برداشت و جذب آن در طول‌موج ٤۱۵ نانومتر خوانده شد. از غلظت‌های مختلف کوئرستین (صفر تا ۱٦ میلی‌گرم در لیتر) به‌عنوان استاندارد استفاده شد و غلظت فلاونوئیدها براساس واحد میلی‌گرم کوئرستین در گرم وزن تر بافت محاسبه شد (Simon *et al.*, 1974).

سنجش مهار رادیکال‌های دی‌فنیل پیکریل هیدرازین: برای سنجش فعالیت آنتی‌اکسیدانتی عصاره به روش مهار ۲، ۲- دی فنیل-۱- پیکریل هیدرازین (DPPH) (Lee *et al.*, 1998)، ابتدا عصاره ۱۰ گرم ژل در ۱۰۰ میلی‌لیتر متانول با استفاده از همزن مغناطیسی به‌مدت ۸ ساعت در دمای آزمایشگاه استخراج شد. مقدار ۲۵۰ میکرولیتر از غلظت‌های مختلف عصاره (رقیق‌شده بین ۰/۱ تا ۲ میلی‌گرم در میلی‌لیتر) با ٤۵۰ میکرولیتر بافر تریس اسید کلریدریک (pH=۷/٤) و یک میلی‌لیتر محلول متانولی دی‌فنیل پیکریل هیدرازین (۰/۱ میلی‌مولار) مخلوط شد. نمونه‌های شاهد به‌جای عصاره، متانول دریافت کردند. پس از گذشت ۳۰ دقیقه در دمای

Downloaded from jispp.iut.ac.ir at 13:42 IRST on Saturday December 4th 2021

آزمایشگاه در تاریکی، جذب نمونه‌ها در ۵۱۷ نانومتر اندازه‌گیری شد و فعالیت آنتی‌اکسیدانتی عصاره‌ها براساس درصد مهار رادیکال‌های دی‌فنیل پیکریل هیدرازین با رابطه زیر به‌دست آمد:

درصد مهار (I٪)= (جذب نمونه- جذب شاهد) / جذب شاهد × ۱۰۰

طرح آزمایشی و تجزیه داده‌ها: آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار اجرا شد. میانگین و انحراف معیار (SD) داده‌ها و همچنین رسم نمودارها به‌وسیله نرم‌افزار Excel 2010 انجام شد. برای گروه‌بندی میانگین‌ها نیز از نرم‌افزار Sigma Stat 3.5 با آزمون Tukey در سطح احتمال $P \leq ۰/۰۵$ استفاده شد.

نتایج و بحث

تأثیر پرتو فرابنفش و شدت نور بر رشد و انباشت اسمولیت‌ها

هر چند تیمار پرتو فرابنفش در شدت نور پایین (۳۰۰ میکرومول) تأثیر معنی‌داری بر وزن تر و خشک برگ‌ها نداشت، تیمار توأم پرتو فرابنفش ۳۰ کیلوژول در شدت نور ٦۰۰ میکرومول باعث کاهش معنی‌دار وزن تر و خشک برگ‌ها شد (جدول ۱). نتایج این تحقیق با نتایج Berli و همکاران (۲۰۱۳) در گیاه انگور و همچنین یافته‌های Surabhi و همکاران (۲۰۰۹) در لوبیای چشم‌بلبلی سازگار بود. آنها نشان دادند تیمار پرتو فرابنفش با دز بالای ۱۵ کیلوژول باعث کاهش سرعت فتوسنتز و افت زیست‌توده ساقه و برگ می‌شود. مقایسه مقدار قند محلول و پرولین در برگ‌های آلوئه‌ورا در شدت نورهای مختلف نشان داد که بیشترین انباشت قند محلول و پرولین در برگ‌های تیمارشده با پرتو فرابنفش ۱۰ و ۳۰ کیلوژول در شدت نور ٦۰۰ میکرومول مشاهده گردید (جدول ۱). تیمار پرتو فرابنفش تأثیر معنی‌داری بر محتوی نشاسته نداشت. افزایش انباشت قند محلول و پرولین تحت تیمار پرتو فرابنفش در این تحقیق، با نتایج Berli و همکاران (۲۰۱۳ و ۲۰۱۵) در گیاه انگور مطابقت داشت. افزایش انباشت پرولین در گیاهان در پاسخ به تنش‌های غیرزیستی به‌عنوان یک پاسخ سازگاری محسوب می‌شود (Dar *et al*., 2016; Fang *et al*., 2019). همچنین در این تحقیق، تیمار پرتو فرابنفش (UVB) باعث افزایش انباشت پرولین به‌عنوان یک پاسخ سازگاری در گیاه آلوئه‌ورا گردید.

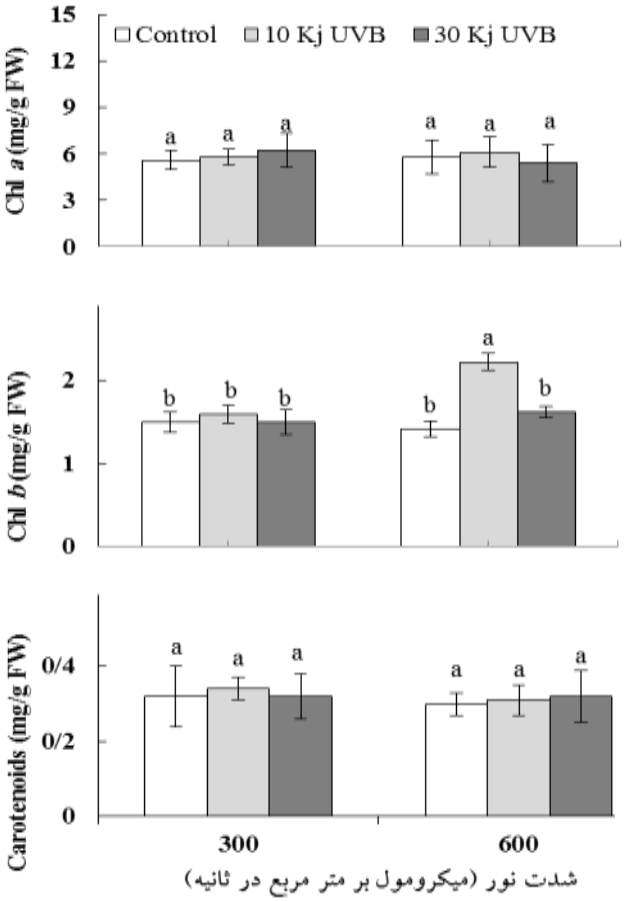
تأثیر پرتو فرابنفش و شدت نور بر ظرفیت فتوشیمیایی فتوسنتز: مقایسه محتوی رنگیزه‌های فتوسنتزی در برگ‌های آلوئه‌ورا در شدت نورهای مختلف نشان داد که بیشترین انباشت کلروفیل *b* در برگ‌های تیمارشده با پرتو فرابنفش ۱۰ کیلوژول در شدت نور ٦۰۰ میکرومول مشاهده گردید (شکل ۱). تیمار پرتو فرابنفش تأثیر معنی‌داری بر محتوی کلروفیل *a* و کاروتنوئید نداشت. تغییرنکردن مقدار کاروتنوئید تحت تیمار پرتو فرابنفش در این تحقیق، با نتایج Surabhi و همکاران (۲۰۰۹) در گیاه لوبیای چشم‌بلبلی تحت تیمار پرتو فرابنفش مطابقت داشت. شاخص F_v/F_m یکی از شاخص‌های مهم جهت تعیین مقاومت به انواع تنش‌ها از جمله پاتوژن‌ها، خشکی، سرما و پرتو فرابنفش است (Habibi and Ajory, 2015). سنجش F_v/F_m برگ‌های گیاه آلوئه‌ورا نشان داد که این پارامتر در پاسخ به پرتو فرابنفش در شدت نورهای مختلف تغییری نشان نداد (شکل ۲). هر چند شاخص شاخص کارآیی فتوسیستم‌ها (PI_{abs}) در برگ‌های آلوئه‌ورا در پاسخ به شدت نور بالا افزایش معنی‌دار نشان داد. پارامتر PI_{abs} یک پارامتر کمپلکس است که با ظرفیت فتوسنتزی و میزان تثبیت دی‌اکسید کربن در برگ‌ها همبستگی دارد (Van Heerden *et al*., 2007). مقدار بالای پارامتر PI_{abs} در برگ‌های آلوئه‌ورا در پاسخ به شدت نور بالا نشان داد که شاید ظرفیت فتوسنتزی و سرعت تثبیت دی‌اکسید کربن با افزایش شدت نور در برگ‌های آلوئه‌ورا، افزایش می‌یابد. یافته‌های این تحقیق، همچنین با نتایج Habibi و Ajory (۲۰۱۵) که نشان دادند افزایش شاخص کارآیی فتوسیستم‌ها با افزایش محتوی کلروفیل *b* در گیاه ماروبیوم ولگار همبستگی دارد، در توافق است.

تأثیر پرتو فرابنفش و شدت نور بر متابولیسم فنلی و خواص آنتی‌اکسیدانتی: هر چند اعمال تیمار پرتو فرابنفش در

Downloaded from jispp.iut.ac.ir at 13:42 IRST on Saturday December 4th 2021

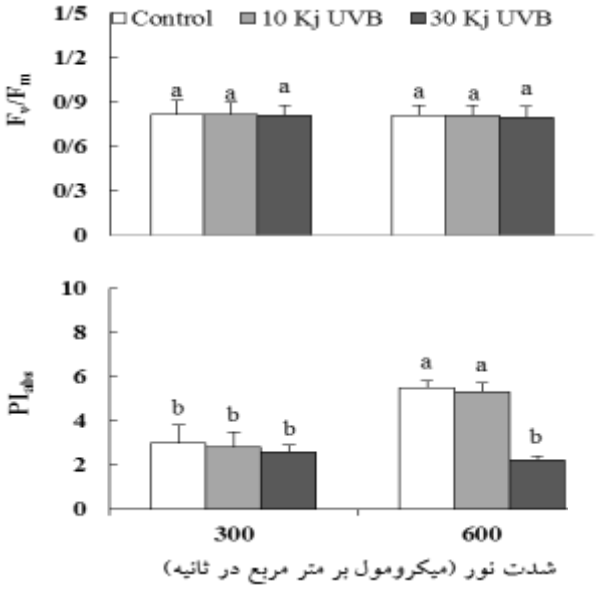
جدول ۱- تأثیر تیمار پرتو فرابنفش بر وزن تر و خشک برگ‌ها (گرم/ برگ)، مقدار قند محلول، نشاسته و پرولین (میلی‌گرم/گرم وزن تر) گیاه آلوئه‌ورا که در شدت نورهای مختلف رشد کرده است. میانگین چهار تکرار ± StD (انحراف معیار) است. حروف یکسان بیانگر عدم‌اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌ها در سطح P <۰/۰۵ است.

		شاهد	۱۰Kj UVB	۳۰Kj UVB
وزن تر برگ	شدت نور ۳۰۰	۴۱۰±۲۵ a	۴۲۳±۱۸ a	۴۰۰±۴۱ a
	شدت نور ۶۰۰	۴۳۱±۳۰ a	۴۴۵±۴۱ a	۳۲۰±۱۹ b
وزن خشک برگ	شدت نور ۳۰۰	۳۶±۶/۲ a	۳۲±۳/۳ a	۳۱±۴/۱ a
	شدت نور ۶۰۰	۳۷±۳/۴ a	۳۵±۵/۲ a	۲۴±۸/۲ b
قند محلول	شدت نور ۳۰۰	۱۲±۱/۶ c	۱۴±۱/۸ bc	۱۵±۱/۷ abc
	شدت نور ۶۰۰	۱۳±۲/۴ c	۱۹±۲/۱ a	۱۸±۸/۱ ab
نشاسته	شدت نور ۳۰۰	۰/۷۴±۰/۱۲ a	۰/۸۵±۰/۳۲ a	۰/۶۲±۰/۲۷ a
	شدت نور ۶۰۰	۰/۶۸±۰/۱۷ a	۰/۸۱±۰/۲۳ a	۰/۷۴±۰/۳۳ a
پرولین	شدت نور ۳۰۰	۱/۲۶±۰/۱۲ bc	۱/۴۵±۰/۲۴ abc	۱/۲۵±۰/۲۴ c
	شدت نور ۶۰۰	۱/۳۳±۰/۲۵ bc	۱/۸۸±۰/۲۸ a	۱/۷۴±۰/۱۱ ab



شکل ۱- تأثیر تیمار پرتو فرابنفش بر مقدار رنگیزه‌های فتوسنتزی در گیاه آلوئه‌ورا که در شدت نورهای مختلف رشد کرده است. میانگین چهار تکرار ± StD (انحراف معیار) است. حروف یکسان بیانگر عدم‌اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌ها در سطح P <۰/۰۵ است.

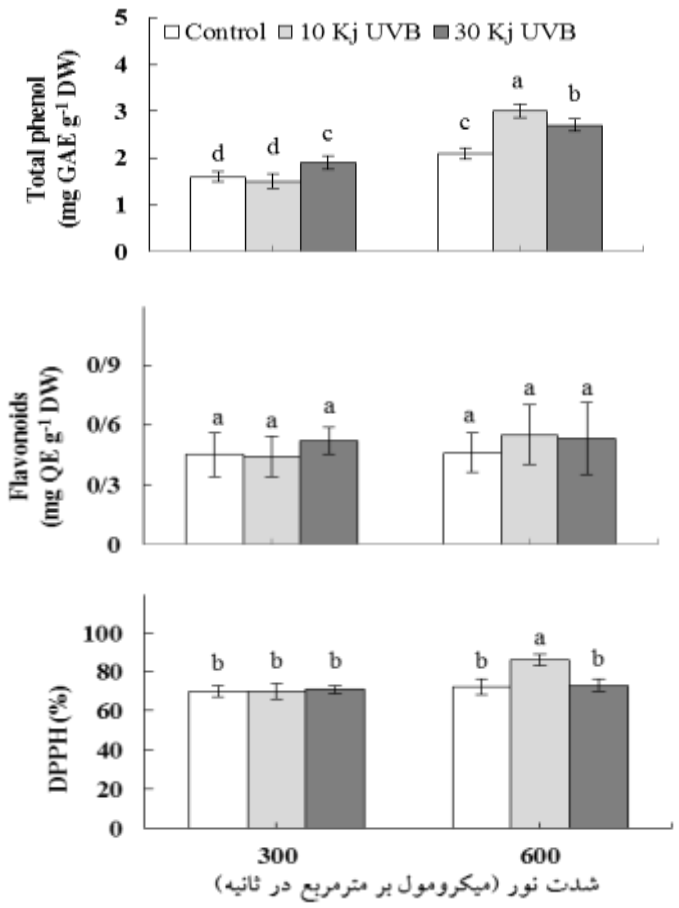
Downloaded from jispp.iut.ac.ir at 13:42 IRST on Saturday December 4th 2021



شکل ۲- تأثیر تیمار پرتو فرابنفش بر و بیشینه عملکرد کوانتومی فتوسیستم II (F_v/F_m) و شاخص کارآیی فتوسیستم‌ها (PI_{abs}) در گیاه آلوئه‌ورا که در شدت نورهای مختلف رشد کرده است. میانگین چهار تکرار ± StD (انحراف معیار) است. حروف یکسان بیانگر عدم‌اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌ها در سطح P <۰/۰۵ است.

شدت نورهای مختلف تغییر معنی‌داری در مقدار فلاونوئید ایجاد نکرد، شدت نور ۳۰۰ و ٦۰۰ میکرومول به‌تنهایی باعث افزایش معنی‌دار فنل کل در برگ‌ها شدند (شکل ۳). تیمار با پرتو فرابنفش ۱۰ و ۳۰ کیلوژول باعث تشدید انباشت فنل کل در شدت نور ٦۰۰ میکرومول گردید. اگرچه میزان فنل در تیمار ۳۰ کیلوژول نسبت به شاهد افزایش معنی‌دار داشت ولی نسبت به تیمار ۱۰ کیلوژول کاهش نشان داد. اعمال پرتو فرابنفش ۳۰ کیلوژول باعث افزایش شاخص پراکسیداسیون لیپیدها شد و درنتیجه منجر به بروز تنش اکسیداتیو در برگ‌های این گیاه گردید. به احتمال قوی تنش اکسیداتیو در تیمار ۳۰ کیلوژول توانسته با تخریب مولکول‌های آلی از جمله پروتیئن‌ها، سطح فعالیت آنزیم‌ها از جمله فعالیت آنزیم کلیدی بیوسنتز فنل‌ها یعنی فنیل آلانین آمونیالیاز را کاهش داده و درنتیجه میزان فنل را دچار کاهش کند. افزایش انباشت فنل تحت تیمار پرتو فرابنفش در این تحقیق، با نتایج Inostroza-Blancheteau و همکاران (۲۰۱٤) در گیاه blueberry، Escobar و همکاران (۲۰۱۷) در گیاه *Vaccinium corymbosum* و Bernal و همکاران (۲۰۱۵) در گیاه *Laurus nobilis* مطابقت داشت. آنها نشان دادند که تیمار پرتو فرابنفش باعث افزایش انباشت فنل به‌عنوان یک پاسخ سازگاری در گیاهان می‌شود. در این تحقیق، افزایش مقادیر فنل کل برگ‌ها به‌عنوان سازوکار حفاظت نوری عمل کرد. از آنجایی‌که شدت نور بالا باعث آسیب مستقیم فتوسیستم II می‌شود (Tyystjarvi, 2008)، گیاهان برای مقابله با آسیب نوری فتوسیستم‌ها، مقادیر بالایی فیلترهای نوری شامل فنل‌ها و فلاوونوئیدها در اپیدرم برگ‌های خود ذخیره می‌کنند (Takahashi and Badger, 2011). نتایج این تحقیق نشان داد که گیاهان آلوئه‌ورا با فعال‌کردن سازوکار حفاظت نوری یعنی افزایش توان فیلترکردن پرتو فرابنفش در سلول‌های اپیدرم برگ‌ها، خود را با شرایط پرتو فرابنفش سازگار می‌کنند. ترکیبات فنلی متابولیت‌های غنی از کربن و به‌عنوان گروه بزرگی از متابولیت‌های ثانویه گیاهی هستند. همچنین این ترکیبات جز آنتی‌اکسیدانت‌ها محسوب شده و در شرایط تنش‌های غیرزیستی ممکن است در جاروب‌کردن رادیکال‌های آزاد و گونه‌های فعال اکسیژن نقش ایفا کنند (Dicko *et al.*, 2005).

Downloaded from jispp.iut.ac.ir at 13:42 IRST on Saturday December 4th 2021



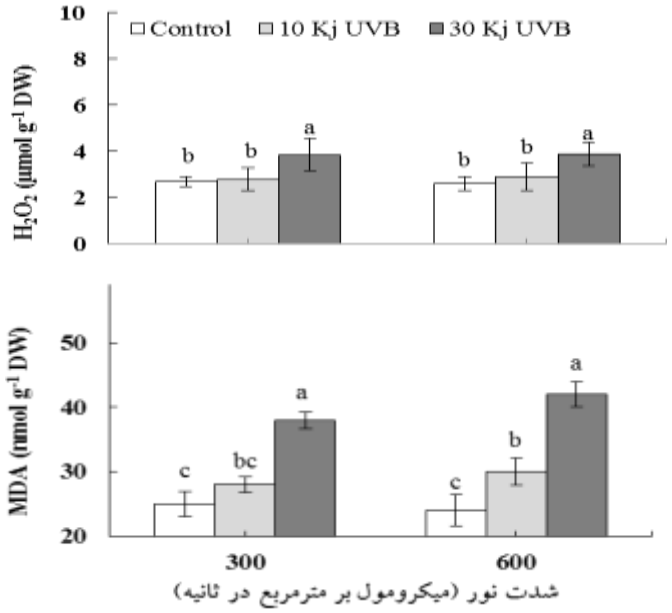
شکل ۳- تأثیر تیمار پرتو فرابنفش مقدار فنل و فلاوونوئید و مهار رادیکال‌های دی‌فنیل پیکریل هیدرازین در گیاه آلوئه‌ورا که در شدت نورهای مختلف رشد کرده است. میانگین چهار تکرار ± StD (انحراف معیار) است. حروف یکسان بیانگر عدم‌اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌ها در سطح P <۰/۰۵ است.

بررسی درصد مهار رادیکال‌های آزاد دی‌فنیل پیکریل هیدرازین توسط عصاره برگ‌های گیاه آلوئه‌ورا نشان داد که برگ‌های تیمارشده با پرتو فرابنفش ۱۰ کیلوژول، بیشترین توان مهار رادیکال‌های DPPH را بروز دادند (شکل ۳). از آنجایی که مهار رادیکال‌های آزاد دی‌فنیل پیکریل هیدرازین به‌عنوان معیاری برای فعالیت و ظرفیت آنتی‌اکسیدانتی عصاره برگ محسوب می‌شود (Działo *et al.*, 2016)، نتایج این تحقیق نشان داد که افزایش درصد مهار رادیکال‌های آزاد دی‌فنیل پیکریل هیدرازین از طریق افزایش میزان فنل‌ها انجام گرفته است و می‌تواند به‌عنوان عاملی در جهت افزایش کیفیت و ارزش غذایی و دارویی برگ‌های گیاه آلوئه‌ورا در تیمار پرتو فرابنفش مطرح شود.

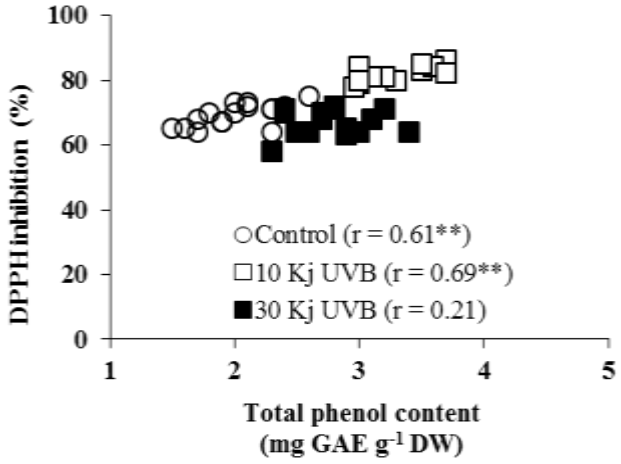
از آن جایی‌که غشا اولین بخش از سلول است که تحت تأثیر تنش قرار می‌گیرد، در این تحقیق برای تعیین آسیب غشاها در شرایط خشکی، مقدار MDA را به‌عنوان شاخص پراکسیداسیون لیپیدها سنجش شد (شکل ٤). اعمال پرتو فرابنفش ۳۰ کیلوژول باعث افزایش مقدار MDA و H_2O_2 برگ‌های آلوئه‌ورا شد و افزایش شاخص پراکسیداسیون لیپیدها نشان داد که اعمال پرتو فرابنفش ۳۰ کیلوژول در این تحقیق باعث تنش اکسیداتیو در برگ‌های گیاه شده است (Habibi, 2014). در مقایسه، شاخص پراکسیداسیون لیپیدها در برگ‌های تیمارشده با پرتو فرابنفش ۱۰ کیلوژول تغییر معنی‌داری نشان نداد.

بررسی درصد مهار رادیکال‌های آزاد دی‌فنیل پیکریل هیدرازین توسط عصاره برگ‌های گیاه آلوئه‌ورا نشان داد که افزایش مقدار فنل کل در برگ‌های تیمارشده با پرتو فرابنفش

Downloaded from jispp.iut.ac.ir at 13:42 IRST on Saturday December 4th 2021



شکل ٤- تأثیر تیمار پرتو فرابنفش بر غلظت هیدروژن پراکسید و مالون دی‌آلدئید در گیاه آلوئه‌ورا که در شدت نورهای مختلف رشد کرده است. میانگین چهار تکرار ± StD (انحراف معیار) است. حروف یکسان بیانگر عدم‌اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌ها در سطح P <۰/۰۵ است.



شکل ٥- بررسی همبستگی مقدار فنل کل در برگ‌های تیمارشده با پرتو فرابنفش ۱۰ و ۳۰ کیلوژول، با افزایش توان مهار رادیکال‌های DPPH در برگ‌های گیاه آلوئه-ورا که در شدت نور ٦۰۰ میکرومول رشد کرده بود.

۱۰ کیلوژول، با افزایش توان مهار رادیکال‌های DPPH همبستگی داشت (شکل ٥). در مقایسه، افزایش مقدار فنل کل در برگ‌های تیمارشده با پرتو فرابنفش ۳۰ کیلوژول، با افزایش توان مهار رادیکال‌های DPPH همبستگی نداشت. این یافته نشان داد که هرچند پرتو فرابنفش ۳۰ کیلوژول باعث افزایش مقدار فنل کل در برگ‌ها گردید ولی به‌خاطر وقوع تنش و تولید اکسیدانت‌های MDA و H_2O_2 در این شدت پرتو فرابنفش، توان مهار رادیکال‌های DPPH به‌عنوان شاخص خاصیت آنتی‌کسیدانت برگ‌ها افزایش نیافت.

نتیجه‌گیری

هر دو شدت پرتو فرابنفش، یعنی ۱۰ و ۳۰ کیلوژول توانستند باعث افزایش مقدار فنل کل در برگ‌ها شوند ولی تیمار پرتو فرابنفش ۱۰ کیلوژول به‌دلیل تحریک سازوکارهای حفاظت نوری و عدم‌تولید اکسیدانت‌های MDA و H_2O_2 توانست

به‌طور مؤثری درصد مهار رادیکال‌های آزاد دی‌فنیل پیکریل هیدرازین توسط عصاره برگ‌های گیاه آلوئه‌ورا را بهبود دهد. درنتیجه جهت افزایش کیفیت و ارزش غذایی و دارویی برگ‌های گیاه آلوئه‌ورا، تیمار پرتو فرابنفش ۱۰ کیلوژول در شدت نور بالا توصیه می‌شود.

منابع

Berli, F. J., Alonso, R., Beltrano, J. and Bottini, R. (2015) High-altitude solar UV-B and abscisic acid sprays increase grape berry antioxidant capacity. American Journal of Enology and Viticulture 66: 65-72.

Berli, F. J., Alonso, R., Bressan-Smith, R. and Bottini, R. (2013) UV-B impairs growth and gas exchange in grapevines grown in high altitude. Physiologia Plantarum 149: 127-140.

Bernal, M., Verdaguer, D., Badosa, J., Abadia, A., Llusia, J., Penuelas, J., Nunez-Olivera, E. and Llorens, L. (2015) Effects of enhanced UV radiation and water availability on performance, biomass production and photoprotective mechanisms of *Laurus nobilis* seedlings. Environmental and experimental botany 109: 264-275.

Boominathan, R. and Doran, P. M. (2002) Ni induced oxidative stress in roots of the Ni hyperaccumlator, *Alyssum bertoloni*. New Phytologist 156: 205-215.

Chen, L., Jia, H., Tian, Q., Du, L. and Gao, Y. (2012) Protecting effect of phosphorylation on oxidative damage of D1 protein by down-regulating the production of superoxide anion in photosystem II membranes under high light. Photosynthesis Research 112: 141-148.

Dar, M. I., Naikoo, M. I., Rehman, F., Naushin, F. and Khan, F. A. (2016) Proline accumulation in plants: roles in stress tolerance and plant development. In: Osmolytes and Plants Acclimation to Changing Environment: Emerging Omics Technologies. (eds. Iqbal, N., Nazar, R. and A. Khan, N.) Pp. 155-166. Springer, New Delhi.

Dicko, M. H., Gruppen, H., Barro, C., Traore, A. S., van Berkel, W. J. and Voragen, A. G. (2005) Impact of phenolic compounds and related enzymes in sorghum varieties for resistance and susceptibility to biotic and abiotic stresses. Journal of Chemical Ecology 31: 2671-2688.

Dzialo, M., Mierziak, J., Korzun, U., Preisner, M., Szopa, J. and Kulma, A. (2016) The potential of plant phenolics in prevention and therapy of skin disorders. International Journal of Molecular Sciences 17: 160.

Escobar, A. L., de Oliveira Silva, F. M., Acevedo, P., Nunes-Nesi, A., Alberdi, M. and Reyes-Diaz, M. (2017) Different levels of UV-B resistance in *Vaccinium corymbosum* cultivars reveal distinct backgrounds of phenylpropanoid metabolites. Plant Physiology and Biochemistry 118: 541-550.

Fang, C., Li, L., Zhang, P., Wang, D., Yang, L., Reza, B. M. and Lin, W. (2019) Lsi1 modulates the antioxidant capacity of rice and protects against ultraviolet-B radiation. Plant Science 278: 96-106.

Habibi, G. (2014) Hydrogen Peroxide (H_2O_2) Generation, scavenging and signaling in plants. In: Oxidative Damage to Plants: Antioxidant Networks and Signaling. (ed. Ahmad, P.) Pp. 557-574. Elsevier, USA.

Habibi, G. and Ajory, N. (2015) The effect of drought on photosynthetic plasticity in *Marrubium vulgare* plants growing at low and high altitudes. Journal of Plant Research 128: 987-994.

Hazrati, S., Tahmasebi-Sarvestani, Z., Mokhtassi-Bidgoli, A., Modarres-Sanavy, S. A. M., Mohammadi, H. and Nicola, S. (2017) Effects of zeolite and water stress on growth, yield and chemical compositions of *Aloe vera* L. Agricultural Water Management 181: 66-72.

Inostroza-Blancheteau, C., Reyes-Diaz, M., Arellano, A., Latsague, M., Acevedo, P., Loyola, R. and Alberdi, M. (2014) Effects of UV-B radiation on anatomical characteristics, phenolic compounds and gene expression of the phenylpropanoid pathway in highbush blueberry leaves. Plant Physiology and Biochemistry 85: 85-95.

Ivanov, A. G., Allakhverdiev, S. I., Huner, N. P. A. and Murata, N. (2012) Genetic decrease in fatty acid unsaturation of phosphatidylglycerol increased photoinhibition of photosystem I at low temperature in tobacco leaves. Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics 1817: 1374-1379.

Lee, S. K., Mbwambo, Z. H. and Chung, H. S. (1998) Evaluation of the antioxidant potential of natural products. Combinatorial Chemistry and High Throughput Screening 1: 35-46.

Lichtenthaler, H. K. and Wellburn, A. R. (1985) Determination of total carotenoids and chlorophylls *a* and *b* of leaf in different solvents. Biochemical Society Transactions 11: 591-592.

Mavi, A., Terzi, Z. and Ozgen, U. (2004) Antioxidant properties of some medicinal plants: *Prangos ferulacea* (Apiaceae), *Sedum sempervivoides* (Crassulaceae), *Malva neglecta* (Malvaceae), *Cruciata taurica* (Rubiaceae), *Rosa pimpinellifolia* (Rosaceae), *Galium verum* subsp. Verum (Rubiaceae), *Urtica dioica* (Urticaceae). Biological and Pharmaceutical Bulletin 27: 702-705.

Mosadegh, H., Trivellini, A., Ferrante, A., Lucchesini, M., Vernieri, P. and Mensuali, A. (2018) Applications of UV-B lighting to enhance phenolic accumulation of sweet basil. Scientia Horticulturae 229: 107-116.

Simon, L. M., Fatrai, Z., Jonas, D. E. and Matkovics, B. (1974) Study of peroxide metabolism enzymes during the development of *Phaseolus vulgaris*. Biochemie und Physiologie der Pflanzen 166: 387-392.

Downloaded from jispp.iut.ac.ir at 13:42 IRST on Saturday December 4th 2021

Surabhi, G. K., Reddy, K. R. and Singh, S. K. (2009) Photosynthesis, fluorescence, shoot biomass and seed weight responses of three cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp.) cultivars with contrasting sensitivity to UV-B radiation. Environmental and Experimental Botany 66:160-71.

Takahashi, S. and Badger, M. R. (2011) Photoprotection in plants: A new light on photosystem II damage. Trends in Plant Science 16: 1-10.

Tyystjarvi, E. (2008) Photoinhibition of photosystem II and photodamage of the oxygen evolving manganese cluster. Coordination Chemistry Reviews 252: 361-376.

Van Heerden, P. D. R., Swanepoel, J. W. and Kruger, G. H. J. (2007) Modulation of photosynthesis by drought in two desert scrub species exhibiting C_3-mode CO_2 assimilation. Environmental and Experimental Botany 61: 124-136.

Velikova, V., Yordanov, I. and Edreva, A. (2000) Oxidative stress and some antioxidant systems in acid rain-treated bean plants-protective role of exogenous polyamines. Plant Science 151: 59-66.

Downloaded from jispp.iut.ac.ir at 13:42 IRST on Saturday December 4th 2021

A pplications of UV-B radiation to increase phenolic compounds of *Alo vera* L. plants

Atousa Vaziri

Department of Biology, Payame Noor University (PNU), Tehran, Iran
(Received: 30/09/2018, Accepted: 17/04/2019)

Downloaded from jispp.iut.ac.ir at 13:42 IRST on Saturday December 4th 2021

Abstract

Since supplemental UV-B radiation can provide a simple and economical alternative to increase phenolic compounds in plants, we evaluated the dynamic biological responses of *Alo vera* L. plants to different UV-B doses (10 and 30 kJ m^{-2} day^{-1}). The experiment was performed on the basis of Completely Randomize Design with 4 independent replications. Under high light conditions (600 µmol m^{-2} s^{-1}), UV-B radiation at 30 kJ m^{-2} day^{-1} caused significant damaging effects in the Alo plants in terms of leaf biomass. This reduction of leaf biomass was coupled with lower values of photosynthetic performance index (PI_{abs}) as well as higher levels of malondialdehyde (MDA). However, when plants were grown at 10 kJ, UV-B-induced increase of proline and soluble sugar content was detected in Alo leaves. In addition, plants treated with 10 kJ m^{-2} day^{-1} UVB dose manifested a significant phenol content enhancement compared to the control plants. Most importantly, a significant correlation was observwd between accumulation of leaf phenolic compound and their antioxidant potential, when UV-B radiation was applied at 10 kJ. Our data suggested that an improved accumulation of phenolic compounds could be achieved when UV-B radiation was applied at 10 kJ within 21 days. This can be used to apply UV-B radiations to improve the nutritional quality of Alo leaves by increasing accumulation of phenolic compounds, without affecting the efficiency of photosynthetic apparatus.
Key words: *Alo vera* L., Phenol, Photosynthetic performance, UVB

Corresponding author, Email: a_vaziri@pnu.ac.ir