

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

سارا کریم‌زاده، سید مهدی رضوی*، پریسا نصرالهی و علیرضا قاسمیان

گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۲/۲۰، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۴۰۲/۰۱/۱۵)

چکیده

گیاه چای با نام علمی (*Camellia sinensis*)، از خانواده *Theaceae*، گیاهی درختچه‌ای و همیشه سبز بومی حوالی چین و هندوستان است. برگ‌های این گیاه واجد انواع ترکیبات فلاونوئیدی مهم بوده و از این رو اثرات بیولوژیک فراوان دارد. به‌منظور 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 پنج 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 به‌دست 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 کارایی فتوشیمیایی فتوسیستم ۲ به‌طور معنی‌داری مخصوصاً در دوزهای بالاتر از ۹ کیلوژول بر مترمربع در ثانیه از اشعه ماورای بنفش کاهش یافت. به‌عنوان نتیجه‌گیری کلی می‌توان 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 می‌آورد، ولی با توجه به اثر آن بر افزایش محتوی فلاونوئیدها می‌تواند اثرات مفید دارویی این گیاه را افزایش دهد.

کلمات کلیدی: چای، فلاونوئید، اشعه ماورای بنفش

مقدمه

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). به‌طورکلی فلاونوئیدهای چای

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

حدود ۳۰ درصد ماده خشک شاخساره‌های جوان آن را تشکیل می‌دهند و شامل انواع مختلف از جمله فلاوون‌ها، کاتچین‌ها، فلاونول‌ها، آنتوسیانین‌ها و ... هستند که مقدار آن‌ها در شرایط متفاوت آب و هوایی دستخوش تغییر می‌شود (Zaveri, 2006). امروزه کاملاً مشخص شده است 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 کرده است که تجمع فلاونوئیدها و آنتوسیانین‌ها در گیاهان، مکانیسمی حفاظتی در برابر تابش اشعه ماورای بنفش خورشید ایجاد می‌کند (بی‌جامی و همکاران، ۱۳۸۹).

تاکنون اثرات اشعه ماورای بنفش بر میزان رنگیزه‌های مختلف گیاهان مورد بررسی قرار گرفته است. در مطالعه‌ای که توسط Li و همکارانش (۲۰۲۰) انجام شد، تأثیر پرتوافکنی فرابنفش A و B بر آنتوسیانین و بیان ژن و میزان کلروفیل در جای بنفش، رقم زیان، مورد بررسی قرار گرفت. در این تحقیق، آزمایش به گونه‌ای طراحی شد که در آن تأثیر سه نوع مختلف پرتو فرابنفش، اعم از فرابنفش A، فرابنفش B و فرابنفش A+B بررسی شد و در هر سه مورد نتایج نشان‌دهنده افزایش معنی‌دار سطح آنتوسیانین و کاهش معنی‌دار سطح کلروفیل بود. همچنین در پژوهشی دیگر تأثیر 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 محیط‌کشت در حضور اشعه ماورای بنفش نوع بی، دارای ترکیبات فنولی به میزان ۱/۵ برابر بیش‌تر از گیاهان شاهد است (Zagorskina et al., 2005). همچنین مشخص شده است 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 نرسیده است. 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 تأیید نماید (Prior and Coa, 2000).

کثرت و تنوع زیاد فلاونوئیدها در گیاه چای موجب ایجاد اثرات دارویی و درمانی فراوان در این گیاه شده است. 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 گردیده است. 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 عمده فلاونوئیدها می‌باشد مورد بررسی قرار گیرد. 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. در این تحقیق سعی شده است شدت‌های مؤثر 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 حدود 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,)

حاصل از هر کدام از نمونه‌ها خشک شده و در ویال‌های شیشه‌ای به‌طور جداگانه نگهداری شد (Poblocka-Olech et al., 2016).

کروماتوگرافی لایه نازک یا TLC: برای این منظور از عصاره متانولی تیمارها استفاده شد. لکه‌گذاری بر روی صفحات سیلیکاژل که به ابعاد 12×10 سانتی متر برش داده شده بود با فاصله $1/5$ سانتی متر از لبه‌ها صورت گرفت. علاوه بر عصاره‌های مذکور از محلول‌های استاندارد فلاونوئیدهای روتین، کوئرستین، نارینجین، 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 $(11/2:2/1:2/1:5/2)$ بود. پس از آماده‌سازی صفحات TLC، لکه‌گذاری به‌ترتیب 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

Germany) و در چهار سطح ۳، ۶، ۹ و ۱۲ کیلوژول بر مترمربع در ثانیه اعمال شد.

نهال‌ها در پنج 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 فلاونوئید کل 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 $0/1$ گرم از هر نمونه که شامل بافت برگ‌ها بود به‌طور جداگانه به‌همراه 10 میلی‌لیتر متانول در هاون ساییده شد. سپس به $0/5$ میلی‌لیتر از عصاره به‌دست آمده آب مقطر اضافه شد تا به حجم 5 میلی‌لیتر برسد و بعد از آن به محلول حاصل $0/3$ میلی‌لیتر NaNO_2 ۵ درصد و بعد از گذشت ۵ دقیقه، $0/6$ میلی‌لیتر AlCl_3 ۱۰ درصد اضافه شد. در نهایت ۲ میلی‌لیتر NaOH ۱ مولار و مجدد ۲ میلی‌لیتر آب مقطر اضافه گردید و شدت جذب آن‌ها در طول موج 510 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 100 سی‌سی متانول (به‌عنوان حلال) بودند قرار داده شد. عصاره‌گیری با دمای $50-70$ درجه سانتی‌گراد انجام و پس از گذشت حدود ۱۵ ساعت به اتمام رسید. سپس عصاره

فلوریمتر (Hansatech Instruments, Handy PeA, UK) به مدت ۲۰ دقیقه در تاریکی قرار گرفت و سپس پارامتر (Fv/Fm) اندازه‌گیری گردید. (Szilard et al., 2006).

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

نتایج

نتایج سنجش فلاونوئید کل: نتایج حاصل از سنجش فلاونوئید کل نشان داد که محتوی فلاونوئید کل در برگ‌های چای تیمارشده 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 فلاونوئید کل نسبت به نمونه‌های شاهد مشاهده شد (شکل ۱).

نتایج آنالیز فلاونوئیدها با کروماتوگرافی لایه نازک:

تصویر مربوط به لکه‌های آشکارسازی شده در کروماتوگرافی لایه نازک (تصویر ۱)، کروماتوگرام مربوط به آن (تصویر ۲) و جدول نمایش‌گر 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 است.

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 کوئرتستین باشد. پایین‌ترین لکه که دارای R_f در حد ۰/۰۶ است با لکه مربوط به فلاونوئید روتین همخوانی نشان می‌دهد (تصویر ۱).

نتایج به‌دست آمده حاکی از این است که میزان فلاونوئید شالکون، که به‌عنوان پیش‌ساز 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 به‌طوری که با افزایش شدت اشعه به‌تدریج 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.

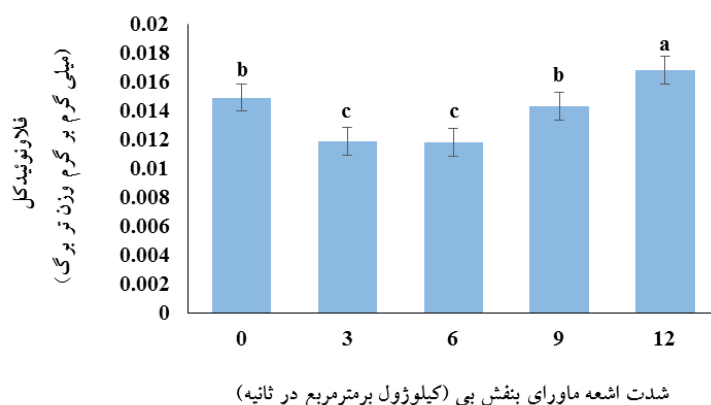
در خصوص دو فلاونوئید کوئرتستین و روتین که از فلاونوئیدهای بسیار متداول در عالم گیاهان هستند، اشعه ماورای بنفش با شدت ۶ کیلوژول بر مترمربع در ثانیه، منجر به کاهش قابل توجه میزان این فلاونوئیدها در مقایسه با گروه شاهد شده ولی دوز ۱۲ کیلوژول بر مترمربع، منجر به افزایش قابل توجه، به‌ترتیب تا حد ۲۴۲ و ۱۰۷ درصد گردیده است (جدول ۱).

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 است (شکل ۲).

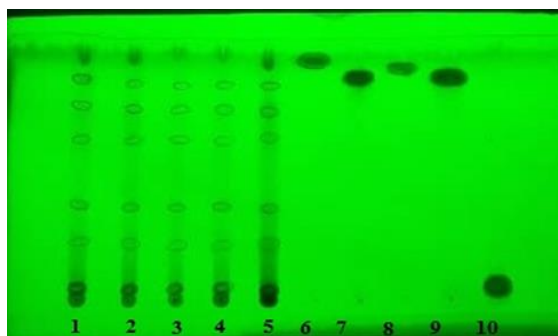
نتایج حاصل از سنجش کارایی فتوشیمیایی فتوسیستم ۲:

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) به‌ترتیب، موجب کاهش معنی‌دار تدریجی کارایی فتوشیمیایی فتوسیستم ۲ نسبت به گیاهان گروه شاهد گردید که این کاهش در تیمارهای ۹ و ۱۲

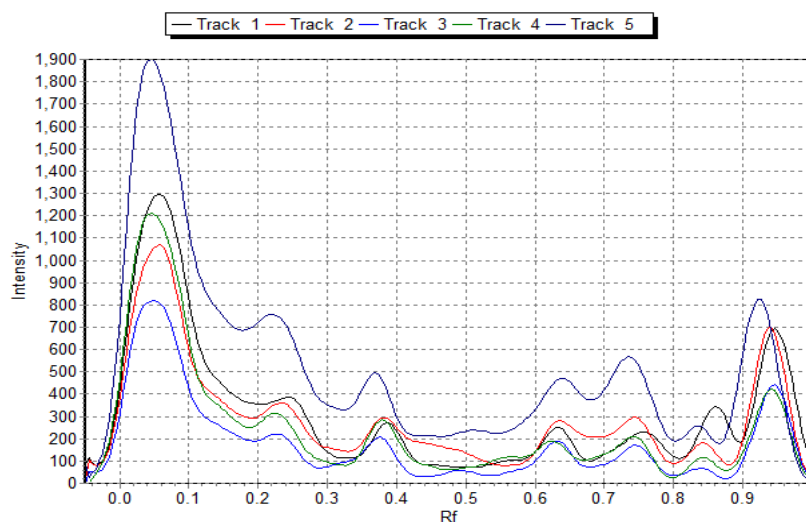


شدت اشعه ماورای بنفش بی (کیلوژول بر مترمربع در ثانیه)

شکل ۱- میزان فلاونوئیدکل 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.



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.



شکل ۲- کروماتوگرام مربوط به کروماتوگرافی لایه نازک نمونه‌های برگ چای تحت تیمار نور ماورای بنفش نوع بی.

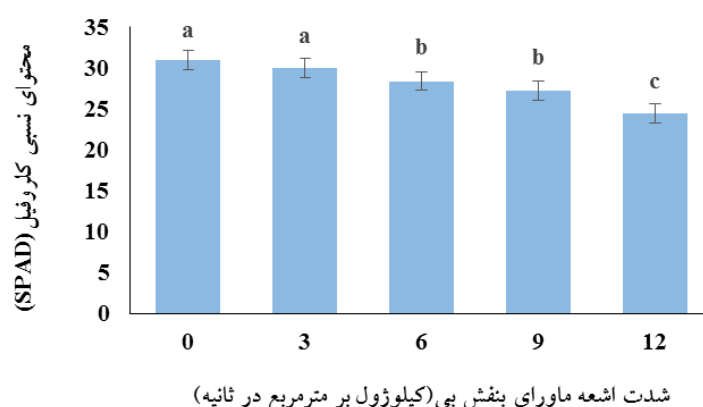
Track1 مربوط به شاهد-Track2 مربوط به تیمار ۳ کیلوژول بر مترمربع در ثانیه -Track3 مربوط به تیمار ۶ کیلوژول بر مترمربع در ثانیه -Track4 مربوط به تیمار ۹ کیلوژول بر مترمربع در ثانیه و Track5 مربوط به تیمار ۱۲ کیلوژول بر مترمربع در ثانیه است.

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

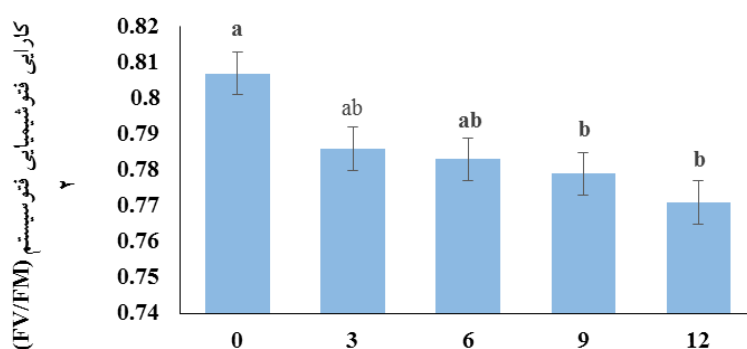
شماره پیک		۱			۲			۳			۴		
شاخص‌ها	R _f	درصد	سطح	R _f	درصد	سطح	R _f	درصد	سطح	R _f	درصد	سطح	
		تغییرات	زیر		تغییرات	زیر		تغییرات	زیر		تغییرات	زیر	
		به شاهد	منحنی		به شاهد	منحنی		به شاهد	منحنی		به شاهد	منحنی	
	تیمار												
شاهد	۰/۶۴	-	۳۹۸۰	۰/۳۸	-	۳۹۲۰	۰/۲۵	-	۶۷۹۴	۰/۰۶	-	۳۲۶۹۷	
۳	۰/۶۴	۲۳	۴۸۹۸	۰/۳۸	۱۰۵/۲	۸۰۴۷	۰/۲۳	۶/۷	۷۳۵۳	۰/۰۶	۱۴/۵	۲۶۰۰۷	
۶	۰/۶۳	-۲۷/۱	۲۹۰۱	۰/۳۷	-۱۵/۲	۳۳۲۳	۰/۲۳	-۶۴/۶	۳۴۰۴	۰/۰۵	-۱۳/۹	۱۹۵۴۲	
۹	۰/۶۳	۴۵/۹	۵۸۱۰	۰/۳۸	۱۵/۲	۴۵۱۸	۰/۲۳	-۱۵/۹	۵۷۱۰	۰/۰۶	۲۳/۷	۲۸۰۷۸	
۱۲	۰/۶۴	۱۴۸/۸	۹۹۰۵	۰/۳۷	۱۰۱/۷	۷۹۰۷	۰/۲۲	۱۵۴/۲	۱۷۲۷۴	۰/۰۶	۱۰۷/۳	۴۷۰۵۱	

ادامه جدول ۲-۲

شماره پیک	۵			۶			۷		
	شاخص‌ها	سطح	R _f	سطح	R _f	سطح	R _f	سطح	R _f
		درصد	تغییرات	درصد	تغییرات	درصد	تغییرات	درصد	تغییرات
		زیر	به شاهد	زیر	به شاهد	زیر	به شاهد	زیر	به شاهد
تیمار									
شاهد	۴۰۲۰	-	۰/۷۴	۴۴۴۶	-	۰/۸۶	۹۰۶۵	-	۰/۹۵
۳	۴۷۰۸	۱۷/۱	۰/۷۴	۸۰۸۰	۸۱/۷	۰/۸۶	۸۵۷۷	-۵/۳	۰/۹۴
۶	۲۶۳۰	-۳۴/۵	۰/۷۴	۳۴۰۰	-۲۳/۵	۰/۸۵	۵۴۴۴	-۳۹/۹	۰/۹۵
۹	۴۰۱۰	-۰/۲	۰/۷۴	۵۶۰۰	۲۵/۹	۰/۸۵	۵۴۷۴	-۳۹/۶	۰/۹۴
۱۲	۱۰۶۶۳	۱۶۵/۲	۰/۷۳	۱۵۲۲۴	۲۴۲/۴	۰/۸۵	۱۱۵۲۵	۲۷/۱	۰/۹۴



شکل 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 $P \leq 0.05$ هستند.



شدت اشعه ماورای بنفش بی (کیلوژول بر مترمربع در ثانیه)

شکل 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 $P \leq 0.05$ هستند.

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 است (Shen et al., 2022).

نتایج به‌دست آمده از این تحقیق نشان داد که تحت تأثیر اشعه ماورای بنفش، میزان ترکیبات فلاونوئیدی در گیاه چای به‌طور قابل توجهی افزایش پیدا کرد. نتایج مذکور قبلاً در گیاهان دیگر نیز مورد تأیید قرار گرفته است. افزایش معنی‌دار میزان فلاونوئیدها تحت تأثیر اشعه ماورای بنفش در گیاهان اسفناج (Smirnoff and Wheeler, 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 به‌ترتیب، 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 اخیراً گزارش شده است (لاله عباسی و خارا، ۱۴۰۰). در خصوص سازوکار تأثیر اشعه ماورای بنفش در

کیلوژول بر مترمربع شدیدتر بود (شکل ۳).

بحث

مطالعات انجام شده مشخص کرده است که گونه‌های مختلف گیاهان پاسخ‌های متفاوتی در برابر آسیب‌های اشعه ماورای بنفش از خود بروز می‌دهند. این مکانیسم‌ها شامل دو گروه متفاوت هستند: ۱- مکانیسم‌های آنزیمی که بر پایه تولید آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در گیاه بوده ۲- مکانیسم‌های غیرآنزیمی که مبتنی بر تولید ترکیبات آنتی‌اکسیدان مختلف در گیاهان در شرایط تنش‌زا هستند (Wargent and Jordan, 2013). مؤثرترین مکانیسم حفاظت غیرآنزیمی گیاهان که تحت تأثیر 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 نوری این ترکیبات، یکی از قله‌های جذب (۲۵۰ نانومتر) در محدوده نور ماورای بنفش است و با جذب این طول‌موج‌ها 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 تأثیر اشعه ماورای بنفش، فلاونوئیدها

می‌یابد (Jenkins *et al.*, 2001). این نتایج با نتایج به‌دست 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. قبلاً اثرات تخریبی اشعه ماورای بنفش در دوزهای بالا بر تخریب کلروفیل a در سایر گیاهان از جمله پنیرک، بارهنگ و غیره مورد تأیید 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 تأثیر پرتو ماورای بنفش بر رنگیزه‌های فتوسنتزی وجود دارد که دارای نتایج متناقضی هستند 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 تأثیر 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 (Szilard *et al.*, 2006).

نتیجه‌گیری

به‌عنوان نتیجه‌گیری کلی می‌توان 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 می‌آورد، ولی با توجه به اثر آن بر افزایش تراز فلاونوئیدهای چای، می‌تواند 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

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 متابولیسمی 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.*, 2021).

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 بعداً با اعمال تنش با شدت ۱۲ کیلوژول بر مترمربع در ثانیه افزایش تراز فلاونوئیدها مشاهده می‌گردد. به‌نظر می‌رسد به محض اعمال تنش اشعه ماورای بنفش نوع بی، این پرتوها با ایجاد اختلال در روند فعالیت آنزیم‌ها موجب کند شدن مسیرهای متابولیسمی 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 فلاونوئید کل، در مورد برخی فلاونوئیدهای شاخص نیز نتایج مشابهی به‌دست آمده است. Zheng و همکارانش (۲۰۰۸) نیز افزایش میزان کاتچین که یکی از فلاونوئیدهای شاخص گیاه چای می‌باشد را تحت تأثیر 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 به‌عنوان متداول‌ترین فلاونوئید در عالم گیاهان است، تحت تأثیر 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

۱۴ کیلوژول بر مترمربع در ثانیه است یعنی همان دوزی از اشعه که بر اساس بررسی‌های تحقیق حاضر القاکننده سنتز فلاونوئیدهاست. پس در کشت گیاه چای اگر هدف ارتقای خواص دارویی چای باشد می‌توان با کشت آن در مناطق با اندیس اشعه ماورابنفش 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 آنتی‌اکسیدانی آن مؤثر بوده و می‌تواند منجر به پیشگیری از بیماری‌های مختلف قلبی عروقی، سرطان و... گردد.

منابع

- بی جامی، آزاده، رضانزاد، فرخنده، و ساسان، حسین علی (۱۳۸۹). اثر فرابنفش B بر میزان برخی ترکیب‌های آنتی‌اکسیدان فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیلایز و پروتئین کل در میوه رسیده گوجه‌فرنگی پس از برداشت. *مجله زیست شناسی گیاهی*، ۲(۶)، ۳۸-۲۹.
- خلیلی، معصومه، رضوی‌زاده، رویا، و فرقانی، امیر حسین (۱۳۹۸). تغییرات رنگیزه‌ها و متابولیت‌های ثانویه گیاهچه‌های درمنه کوهی در پاسخ به پرتوهای UV و زمان نمونه‌گیری در شرایط این ویترو. *مجله زیست شناسی گیاهی ایران*، ۱۱(۲)، ۵۲-۴۵. <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 بین‌المللی و پنجمین همایش ملی گیاهان دارویی و کشاورزی پایدار، تبریز، ایران.
- نصیبی، فاطمه، و منوچهری، خسرو (۱۳۸۵). کاربرد باندهای مختلف اشعه ماورابنفش در بالا بردن میزان برخی از ترکیب‌های ثانویه در دو گونه گیاه بنگ‌دانه *Hyoscyamus*. *فصلنامه علمی- پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران*، ۲۲(۲)، ۱۴۵-۱۴۰. <https://doi.org/10.22092/ijmapr.2006.114988>
- 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>
- Halbawir, 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 (*Camelia 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>
- 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>
- 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>. 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>

- 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.org/10.1080/10409230008984166)
- Szilard, A., Sass, L., Deak, 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.org/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.org/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.org/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.org/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, Ardabil, Iran

(Received: 2022/05/10, Accepted: 2023/04/04)

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

Corresponding author, Email: razavi694@gmail.com