فرآیند و کارکرد گیاهی، جلد ۱۳، شماره ۵۹، فروردین و اردیبهشت‌ماه ۱۴۰۳ صفحه: ۱-۱۱
https://doi.org/10.22034/13.59.1

مقاله پژوهشی

تأثیر نور ماورای‌بنفش نوع (UV-B) بر رنگیزه‌های فلاونوئیدی، محتوی نسبی کلروفیل و کارایی فتوشیمیایی فتوسیستم۲ 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 این‌رو اثرات بیولوژیک فراوان دارد. به‌منظور بررسی تنش اشعه ماورای بنفش بی بر روی میزان فلاونوئیدهای گیاه چای، آزمایشی گلخانه‌ای به‌صورت طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار به‌انجام 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 ماورای‌بنفش 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 فلاونوییدکل 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 ماورای‌بنفش نوع بی، میزان فلاونوئیدها ابتدا روند کاهشی و سپس با افزایش میزان دوز اشعه تا حد ۱۲ کیلوژول بر متر-مربع در ثانیه، روند افزایشی نشان داد. همچنین میزان کلروفیل نسبی گیاهان و کارایی فتوشیمیایی فتوسیستم۲ به‌طور معنی‌داری مخصوصاً در دوزهای بالاتر از ۹ کیلوژول بر مترمربع در ثانیه از اشعه ماورای‌بنفش کاهش یافت. به‌عنوان نتیجه‌گیری کلی می‌توان گفت اگرچه کشت گیاه چای در مناطقی با شاخص نور ماورای‌بنفش 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 ماورای‌بنفش

مقدمه
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). به‌طورکلی فلاونوئیدهای چای

*نویسنده مسؤل، نشانی پست الکترونیکی: razavi694@gmail.com

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-12-31]

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 ماورای‌بنفش خورشید ایجاد می‌کند (بی‌جامی و همکاران، ۱۳۸۹).

تاکنون اثرات اشعه ماورای‌بنفش 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 چای بنفش، رقم زیان، مورد بررسی قرار گرفت. در این تحقیق، آزمایش به‌گونه‌ای طراحی شد که در آن تأثیر سه نوع مختلف پرتوفرابنفش، 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 تهیه‌شده از ساقه گیاه چای (رقم گرجستان) ارزیابی شد. نتایج حاصل از این آزمایشات نشان داد که بافت حاصل از محیط‌کشت در حضور اشعه ماورای‌بنفش نوع بی، دارای ترکیبات فنولی به میزان ۱/۵ برابر بیش‌تر از گیاهان شاهد است (Zagoskina *et al*., 2005). همچنین مشخص شده است که در گیاه چای اشعه ماورای‌بنفش نوع بی منجر به افزایش سطح کاتچین می‌گردد (Zheng *et al*., 2008). این در حالی است که تاکنون پژوهشی در مورد اثرات نور ماورای‌بنفش 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 انجام‌شده نشان داده که در گیاهان حاوی فلاونوئید بیش‌تر، فلورسانس کلروفیل کمتری در اثر تابش اشعه ماورای‌بنفش 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 تشعشات ماورای‌بنفش 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 ماورای‌بنفش 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 ماورای‌بنفش 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 سیلسیوس (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 ماورای‌بنفش نوع بی (TL 20 W/ 12 RS SLV/ 25, Philips,

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-12-31]

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 ماورای‌بنفش 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 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 مجدد ۲ میلی‌لیتر آب مقطر اضافه گردید و شدت جذب آن‌ها در طول‌موج 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).

کروماتوگرافی لایه نازک یا TLC: برای این منظور از عصاره متانولی تیمارها استفاده شد. لکه‌گذاری بر روی صفحات سیلیکاژل که به ابعاد ۱۲×۱۰ سانتی‌متر برش داده شده بود با فاصله ۱/۵ سانتی‌متر از لبه‌ها صورت گرفت. علاوه بر عصاره‌های مذکور از محلول‌های استاندارد فلاونوئیدهای روتین، کوئرستین، ناریجنین، 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 (۲/۱:۱۱/۲: ۲/۱: ۵۶/۲) 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 ۱/۵ 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 طول‌موج ۲۵۴ 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 Instuments, 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 فتوسیستم۲ (Fv/Fm) قسمتی از محل میانه برگ توسط گیره‌های مخصوص دستگاه

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-12-31]

فلوریمتر (Hansatech Instuments, 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 ماورای‌بنفش 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 قرارگرفت. 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 ماورای‌بنفش، 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 کوئرستین باشد. پایین‌ترین لکه که دارای R_f در حد ۰/۰۶ است با لکه مربوط به فلاونوئید روتین همخوانی نشان می‌دهد (تصویر ۱).

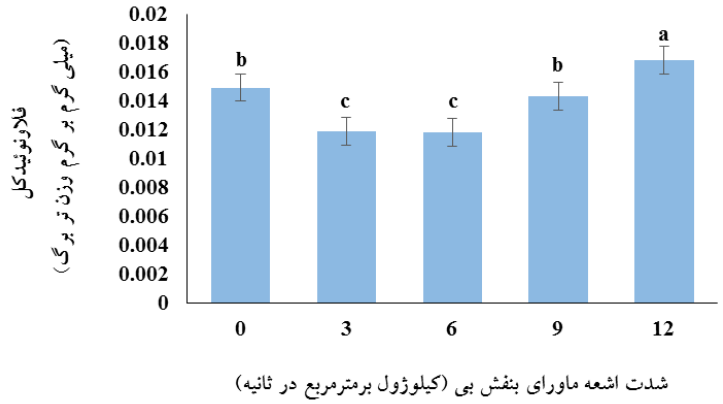
نتایج به‌دست آمده حاکی از این است که میزان فلاونوئید شالکون، که به‌عنوان پیش‌ساز تمامی انواع فلاونوئیدها شناخته می‌شود در تیمارهای ۳، ۶ و ۹ کیلوژول بر مترمربع در ثانیه از نور ماورای‌بنفش نسبت به شاهد کاهش داشته و این کاهش وابسته به دوز اشعه است به‌طوری که با افزایش شدت اشعه به‌تدریج کاهش مشاهده می‌شود. 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 کوئرستین و روتین که از فلاونوئیدهای بسیار متداول در عالم گیاهان هستند، اشعه ماورای‌بنفش 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).

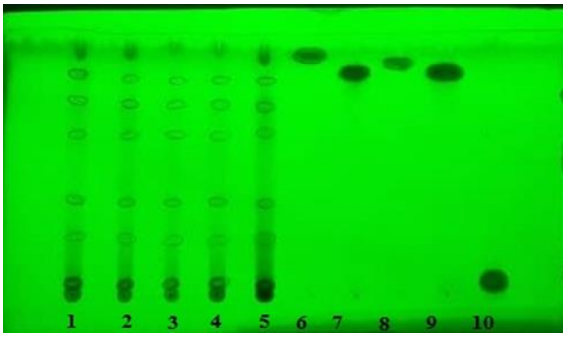
نتایج حاصل از اندازه‌گیری محتوای نسبی کلروفیل: اندازه‌گیری محتوای نسبی کلروفیل در گیاهان تیمار یافته چای، با سطوح مختلف اشعه ماورای‌بنفش بی (۳، ۶، ۹ و ۱۲ کیلوژول بر مترمربع در ثانیه) و مقایسه آن‌ها با محتوای کلروفیل گیاهان شاهد نشان داد که با افزایش شدت تابش از ۶ کیلوژول مقدار نسبی کلروفیل کاهش می‌یابد 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 ماورای‌بنفش بی (۳، ۶، ۹ و ۱۲ کیلوژول بر مترمربع در ثانیه) به‌ترتیب، موجب کاهش معنی‌دار تدریجی کارایی فتوشیمیایی فتوسیستم۲ نسبت به گیاهان گروه شاهد گردید که این کاهش در تیمارهای ۹ و ۱۲

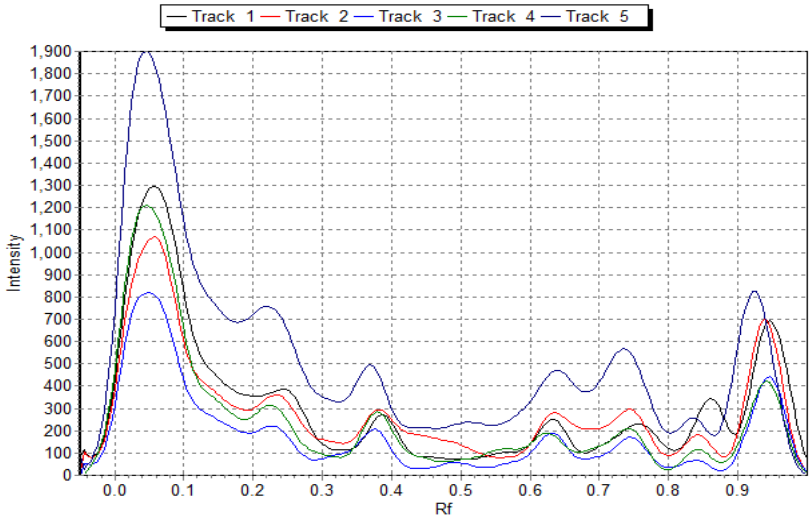
[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-12-31]



شکل ۱- میزان فلاونوئیدکل در گیاه چای تحت تیمار شدت‌های متفاوت نور ماورای‌بنفش. 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 نارنجنین، 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.

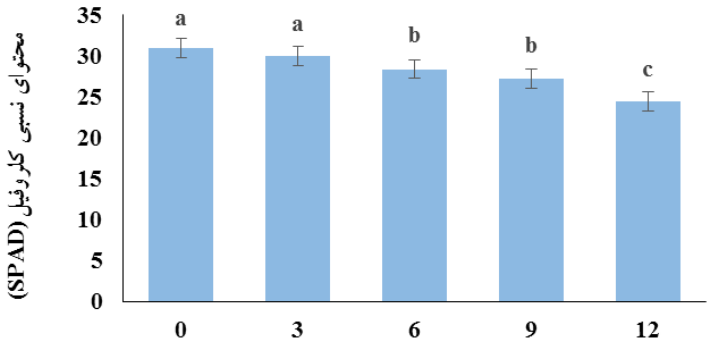
[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-12-31]

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

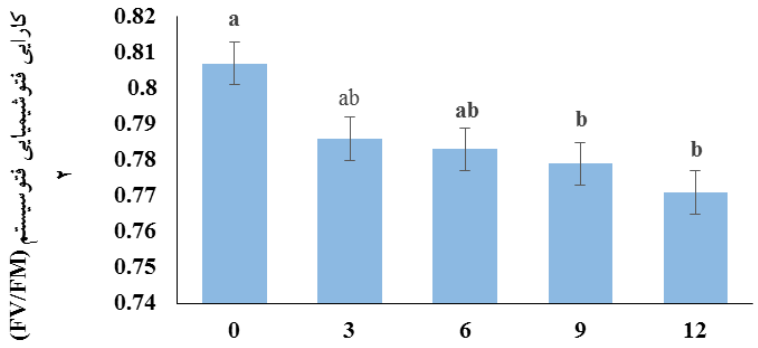
ادامه جدول ۲-

شماره پیک	۵			۶			۷		
شاخص‌ها / تیمار	سطح زیر منحنی	درصد تغییرات به شاهد	Rf	سطح زیر منحنی	درصد تغییرات به شاهد	Rf	سطح زیر منحنی	درصد تغییرات به شاهد	Rf
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 محتوی کلروفیل نسبی در گیاه چای. حروف نامشابه در یک ردیف بیانگر وجود اختلاف معنی‌دار در بین تیمارها با سطح احتمال ۰/۰۵ ≥ P هستند.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-12-31]



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 ۰/۰۵ ≥ P هستند.

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 ماورای‌بنفش 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 ماورای‌بنفش 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 ماورای‌بنفش، 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 است (Shen *et al.*, 2022).

نتایج به‌دست آمده از این تحقیق نشان داد که تحت تأثیر اشعه ماورای‌بنفش، 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 ماورای‌بنفش در گیاهان اسفناج (Smirnoff and Wheelev, 2022) و اطلسی (Ryan *et al.*, 2002) نیز گزارش شده است. همچنین در مطالعه‌ای اثر باندهای اشعه ماورای‌بنفش 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 ماورای‌بنفش 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 ماورای‌بنفش اخیراً گزارش شده است (لاله عباسی و خارا، ۱۴۰۰). در خصوص سازوکار تأثیر اشعه ماورای‌بنفش در

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-12-31]

افزایش فلاونوئیدهای گیاهان، مطالعات صورت گرفته در سال‌های اخیر بر روی گیاه چای حاکی از این است که اشعه ماورای‌بنفش نوع بی، با تغییر مسیرهای متابولیسمی منجر به القای روند بیوسنتز فلاونوئیدها در این گیاه می‌گردد. این روند از طریق تحریک بیان ژن‌های خاص در مسیر بیوسنتز 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 بعدا 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 بیوسنتز شیکمات شده و سپس با گذشت زمان و افزایش شدت اشعه، گیاه شروع به انطباق خود با شرایط تنش کرده و با افزایش بیوسنتز 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 ماورای‌بنفش 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 ماورای‌بنفش 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 بیوسنتز فلاونوئیدها می‌باشد تحت القای اشعه ماورای‌بنفش بی افزایش 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 ماورای‌بنفش 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 ماورای‌بنفش می‌تواند روند کاهش تراز کلروفیل را آغاز نماید. در حالت کلی، میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی تحت اثر دو عامل میزان تجزیه و بیوسنتز 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 ماورای‌بنفش نشان می‌دهد (خلیلی و همکاران، ۱۳۹۸). از طرف دیگر کاهش کارایی فتوسیستم‌ها تحت تأثیر اشعه ماورای‌بنفش در این تحقیق مشاهده گردید که از یک طرف می‌تواند به‌دلیل کاهش میزان کلروفیل و از طرف دیگر حساسیت شدید کمپلکس اکسیدکننده آب مستقر در فتوسیستم۲ 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

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-12-31]

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، رضانژاد، فرخنده، و ساسان، حسین علی (۱۳۸۹). اثر فرابنفش B بر میزان برخی ترکیب‌های آنتی‌اکسیدان فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیالیاز 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 activites of tea catechins and theoflavins and tea ertracts 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 ziyan (*Camelia sinensis*). Sichuan Agricultural University, Chengdu 611130, China.

Ning, L., Xuyang, L., Wenfeng, Z., Xin, C., Xiahoi, 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 Pharmaceutics, 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

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

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-12-31]

Smirnoff, N, & Wheelev, G. L. (2002). Ascorbic acid in plants: Biosynthesis and function. *Critical Reviews in Plant Sciences, 35*(4), 294-394. https:// doi: 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.bbabio.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

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

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.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-12-31]

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/m^2S 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/m^2S. 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

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-12-31]