تاثیر پرتوتابی فرابنفش B و C بر غلظت ترکیبات فنلی در دو واریته اطلسی

حکیمه عربلو، علی عزیزی*، حسن ساری خانی
گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان
* نویسنده مسئول:azizi@basu.ac.ir

چکیده

یکی از مهم‌ترین عوامل محیطی تأثیرگذار در رشد و فیزیولوژی گیاهان، نور می‌باشد و تغییرات در طیف نور، منجر به تغییر در مقدار و ترکیب متابولیت‌های ثانویه می‌شود. پژوهش حاضر برای بررسی اثرات پرتو UV-B و UV-C بر روی برخی صفات فیتوشیمیایی برگ در دو واریته اطلسی (*Petunia hybrida*) انجام شد. بدین منظور، آزمایشی گلخانه‌ای به‌صورت فاکتوریل در قالب بلوک های کامل تصادفی با پنج تکرار اجرا شد. فاکتور اول، واریته (۲ رقم پرگل و گل‌درشت) و فاکتور دوم، نور فرابنفش در۶ سطح (شاهد، UV-B ۲دقیقه، UV-B ۵دقیقه، UV-C ۳۰ثانیه، UV-C ۱/۵دقیقه وUV ترکیبی (UV-B ۲دقیقه و UV-C ۳۰ثانیه) در روز بود. پرتوتابی یک ماه بعد از کشت بذر، به مدت ۱۵ روز صورت گرفت.

بر اساس نتایج این پژوهش، با پرتوتابی فرابنفش سطح برگ به شدت کاهش یافت و در هر دو واریته، میزان فنل و فلاونوئید کل افزایش یافت. نتایج شناسایی و اندازه گیری میزان ترکیبات فنلی با روش HPLC نشان داد که در واریته پرگل، بیشترین میزان کوئرستین (۰/۲۲ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک) در UV-C۳۰ثانیه تولید شد و بیشترین افزایش مقدار رزمارینیک اسید نیز در UV-C۱/۵دقیقه (تقریبا" یک ونیم برابر شاهد) روی داد، اما میزان سالویانولیک اسید در اثر پرتوتابی فرابنفش کاهش یافت. میزان سه ترکیب فنلی مذکور در تیمار فرابنفش ترکیبی کاهش یافت. یافته‌های این پژوهش، نشان می دهد، تغییرات در نوع و مدت تابش فرابنفش روی گیاه اطلسی باعث تغییرات در برخی مواد مؤثره فنلیک این گیاه می‌شود. این امر در آینده می‌تواند در تولید و پرورش ارقام دارویی اطلسی تحت شرایط گلخانه‌ای مد نظر قرار گیرد.

کلمات کلیدی: کوئرستین، رزمارینیک اسید، فلاونوئید، تنش نوری

مقدمه

ترکیبات فنلی گروه بزرگی از متابولیت‌های ثانویه گیاهی را تشکیل می‌دهند که عمدتا" به سازگاری گیاه با تغییر شرایط محیط زیست کمک می‌کنند. فنل‌ها اجزای مهم موجود در برخی گیاهان دارویی بوده و در صنایع غذایی از آن‌ها به‌عنوان عوامل رنگ و طعم دهنده، خوشبو کننده و آنتی اکسیدانت استفاده می‌گردد. از میان فنلیک ها، فلاونوئیدها گروه بزرگی هستند که به‌طور گسترده‌ای در غذاهای گیاهی یافت می‌شوند (شهیدی و همکاران، ۲۰۰۸). فلاونوئیدها گیاه را از تنش‌های زنده و غیرزنده حفاظت می‌کنند و همچنین بعنوان فیلتری بی نظیر برایUV، همچنین به‌عنوان ترکیبات آللوپاتیک، فیتوالکسین‌ها و ضد میکروب عمل می‌کنند (سامانتا و همکاران، ۲۰۱۱). از آنجا که گیاهان فاقد قدرت حرکت و سیستم ایمنی هستند، استراتژی‌های جایگزین دفاعی، از جمله سنتز متابولیت‌های ثانویه را جهت غلبه بر تنش‌ها با تغییرات محیطی و نجات از حمله آفات توسعه داده‌اند.

از مهم‌ترین فاکتورهای محیطی تأثیرگذار در رشد و فیزیولوژی گیاهان، نور می‌باشد. امروزه با کاهش ضخامت لایه‌ی ازن، کیفیت نور دریافتی تغییر کرده ومیزان پرتو فرابنفش رسیده به زمین افزایش یافته است (جانسن و همکاران، ۲۰۰۱). پرتو UV قسمتی از طیف الکترومغناطیسی است که حدود ۸ تا ۹٪ کل اشعه خورشیدی را تشکیل داده است و از لحاظ طول موج به سه باند UV-A با طول موج ۳۲۰ تا ۳۹۰ نانومتر، UV-B با طول موج ۲۸۰ تا ۳۲۰ نانومتر و UV-Cبا طول موج ۱۹۰ تا ۲۸۰ نانومتر تقسیم می‌شود. کیفیت، شدت و مدت روشنایی، هر یک به تنهایی می‌تواند تأثیر عمده‌ای بر وضعیت متابولیت‌های ثانویه بر جای بگذارد، تنش نور معمولا باعث ایجاد تنش اکسایشی در گیاهان می‌شود

IrHC2019

(ژانگ و همکاران، ۲۰۰۹). گیاهان برای مقابله با تنش اکسایشی و از بین بردن رادیکال های آزاد، دارای سیستم‌های دفاعی پیشرفته‌ای مانند آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت هستند. همچنین تنش اکسایشی نقش مهمی را در سنتز متابولیت‌های ثانویه بازی می‌کند (شوهل و همکاران، ۲۰۰۶).

گیاه اطلسی (*Petunia hybrida*) متعلق به خانواده سیب‌زمینی سانان (*Solanaceae*) است و در سه نوع بوته‌ای، خزنده و بالارونده موجود است. فلاونول‌های اصلی در گیاه اطلسی ترکیب پیچیده‌ای از کوئرستین استیله شده و کامفرول می‌باشد. کوئرستین برای جلوگیری از آزادسازی هیستامین (یک ماده شیمیایی التهابی) در برخی از سلول‌های ایمنی بدن مؤثر است (جابر، ۲۰۰۲). اسیدهای فنلیک موجود در برگ‌های اطلسی، شامل رزمارینیک اسید، P- کوماریک اسید، لیتوسپرمیک اسید B، O- کوماریک اسید و جنتیسیک اسید در داروسازی اهمیت زیادی دارند (پنی کوک و همکاران، ۲۰۰۴). مطالعه حاضر، در جهت ارزیابی تاثیر پرتوهای فرابنفش بر میزان فنل تام و برخی ترکیبات فنلیک در اطلسی طراحی و اجرا شد.

مواد و روش‌ها

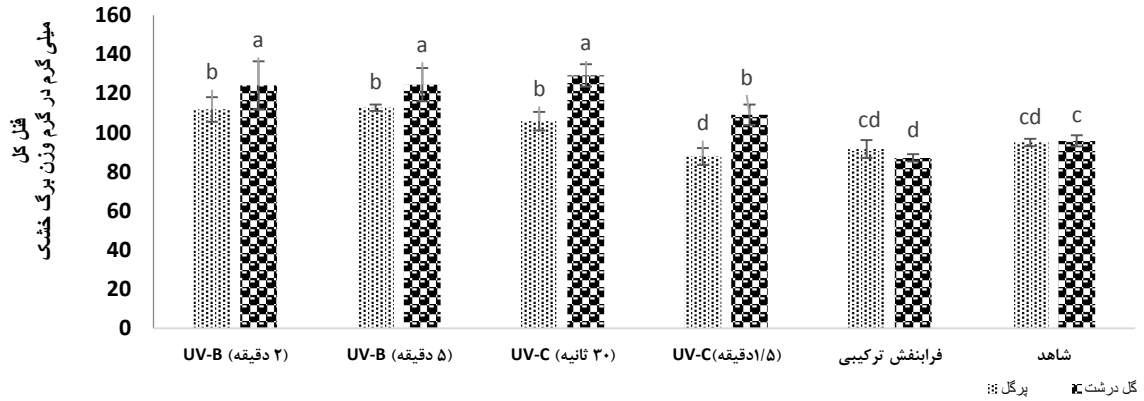
بذرهای هر دو واریته گیاه اطلسی (پرگل و گل‌درشت) از شرکت گلبرگ پامچال (میانه، آذربایجان) تهیه و در گلدان در شرایط یکسان گلخانه (دمای ۲۵ درجه سانتی گراد) کشت شدند و پس از گذشت یک ماه و حصول تعداد برگ کافی، تیمارهای پرتوتابی فرابنفش با لامپ های ۱۲۰ سانتی متری UV-B (۰/۴ وات بر مترمربع بر ثانیه) و UV-C (۰/۶۳ وات بر مترمربع بر ثانیه) با قرارگیری گلدان ها در اتاقک UV اعمال شد. آزمایش به‌صورت فاکتوریل (دو فاکتوره) در قالب طرح کاملا تصادفی با پنج تکرار و یک گلدان در هر تکرار اجرا شد. فاکتور اول، واریته در ۲ سطح و فاکتور دوم، نور فرابنفش در۶ سطح بود. سطوح فاکتور دوم (پرتو UV) شامل شاهد (بدون پرتوتابی)، UV-B یکی به مدت ۲ دقیقه و دیگری به مدت ۵ دقیقه در روز، UV-C یکی به مدت ۳۰ ثانیه و دیگری به مدت ۱/۵ دقیقه در روز و همچنین تیمار UV ترکیبی (UV-B ۲دقیقه به‌علاوه UV-C ۳۰ثانیه در روز) بود. تیماردهی بین ساعات ۱۲-۱۱ ظهر به مدت ۱۵ روز انجام شد. پس از اتمام تیماردهی و برداشت اندام های هوایی، عصاره گیری نمونه‌ها، اندازه گیری میزان فنل کل با معرف فولین سیوکالتو، و فلاونوئید کل به روش رنگ‌سنجی کلرید آلومینیوم در آزمایشگاه علوم باغبانی انجام شد. اندازه‌گیری میزان کوئرستین، رزمارینیک اسید و سالویانولیک اسید با استفاده از دستگاه کروماتوگرافی مایع با عملکرد بالا (HPLC) صورت گرفت.

نتایج و بحث

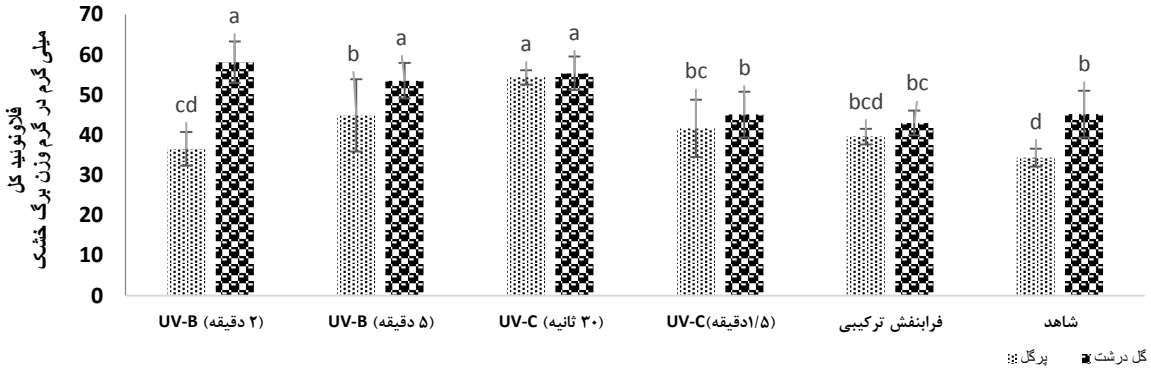
نتایج نشان داد که پرتوتابی فرابنفش بر تولید ترکیبات فنلی مؤثر است. بیشترین افزایش در میزان فنل کل در واریته های پرگل و گل‌درشت به ترتیب در تابش‌های UV-B ۵دقیقه و UV-C ۳۰ثانیه نسبت به شاهد مشاهده شد (شکل-۱) و بیشترین افزایش در میزان فلاونوئید کل در واریته های پرگل و گل‌درشت به ترتیب در تابش‌های UV-C ۳۰ثانیه و UV-B ۲دقیقه نسبت به شاهد ثبت گردید (شکل ۲). در این پژوهش میزان فنل کل، در اثر پرتوتابی فرابنفش افزایش یافت که این افزایش طبق مطالعات رزما و همکاران (۲۰۰۲)، وایت لم و هالیدی (۲۰۰۷) واکنشی دفاعی در برابر تنش نوری می‌باشد. مطالعات نشان می‌دهد که پرتو فرابنفش باعث افزایش فعالیت آنزیم PAL و در نتیجه باعث تولید سینامیک اسید و فعال شدن مسیر بیوسنتز فلاونوئیدها می‌شود. افزایش در غلظت ترکیبات فنلیک ناشی از فعالیت زیاد آنزیم PAL و یا سرعت بالای سنتز این آنزیم گزارش شده است (وانگ و همکاران، ۲۰۰۶). فلاونوئیدها می‌توانند به‌عنوان جاذب پرتو فرابنفش عمل کرده و از نفوذ آن به قسمت‌های داخلی جلوگیری کنند، اما فلاونوئیدهای موجود در واکوئول، غالبا نقش پاداکسایندگی دارند (بوچولز و همکاران، ۱۹۹۵). در حقیقت، UV، ژن‌های دخیل در سنتز برخی مواد مؤثره را تحریک می‌کند و تولید آن ترکیبات ویژه را افزایش می‌دهد. پرتو فرابنفش بر میزان کوئرستین و اسیدهای فنلیک

IrHC2019

اطلسی اثرات معنی‌داری ایجاد کرد (شکل-۳). مقادیر کوئرستین و رزمارینیک اسید تحت تابش فرابنفش افزایش یافتند که بیشترین افزایش به ترتیب در تابش UV-C ۳۰ثانیه و UV-C ۱/۵دقیقه مشاهده شد. اما میزان سالویانولیک اسید تحت تابش فرابنفش کاهش یافت، هر سه ترکیب فنلیک اندازه گیری شده در این پژوهش، در UV ترکیبی (UV-B ۲دقیقه و UV-C ۳۰ثانیه) نسبت به شاهد کاهش نشان دادند (شکل-۳).



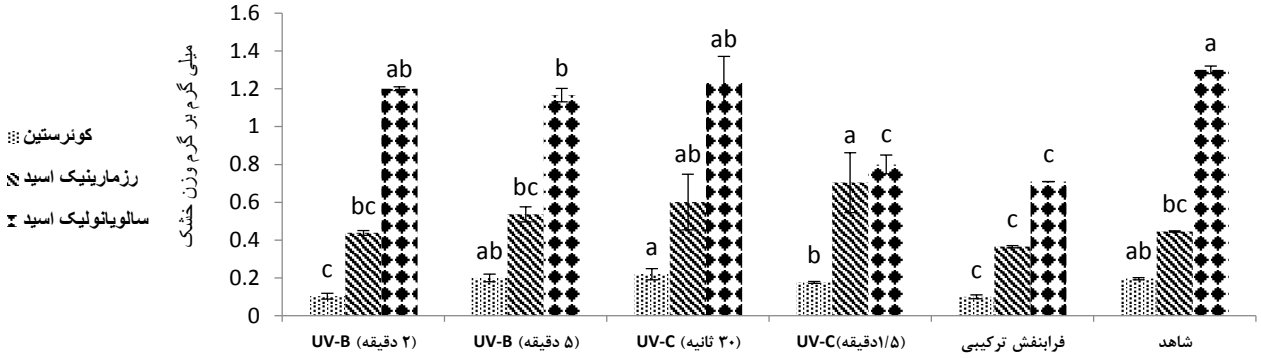
شکل-۱. مقایسه میانگین اثر برهم‌کنش واریته و پرتوتابی فرابنفش برمقادیر فنل کل در برگ اطلسی (فرابنفش ترکیبی شامل UV-B ۲ دقیقه و UV-C ۳۰ ثانیه می‌باشد).



شکل-۲. مقایسه میانگین اثر برهم‌کنش واریته و پرتوتابی فرابنفش برمقادیر فلاونوئید کل در برگ اطلسی (فرابنفش ترکیبی شامل UV-B ۲ دقیقه و UV-C ۳۰ ثانیه می‌باشد).

قبلا گزارش شده است که در گوجه فرنگی سنتز فلاونوئید کوئرستین در پاسخ به UV-B افزایش می یابد (شوری و همکاران، ۲۰۱۴). همچنین تابش UV-B در گیاه رزماری باعث افزایش غلظت رزمارینیک اسید می شود که افزایش آن هم‌زمان با افزایش جذب رادیکال های آزاد است (لوئیز و همکاران، ۲۰۰۷). در این پژوهش هم اطلسی با تابش فرابنفش، رزمارینیک اسید بیشتری تولید کرد. در رابطه با تغییرات میزان سالویانولیک اسید در پاسخ به فرابنفش، تاکنون مطالعه‌ای صورت نگرفته یا بسیار کم می‌باشد. شاید بتوان دلیل کاهش آن را در این مطالعه به تبدیل آن به دیگر ترکیبات نسبت داد.

IrHC2019



شکل-۳. مقایسه میانگین مقادیر کوئرستین، رزمارینیک اسید و سالویانولیک اسید در آنالیز عصاره‌ی برگ واریته گل‌درشت با HPLC تحت تابش‌های مختلف فرابنفش

نتیجه گیری

پرتوتابی فرابنفش در گیاه اطلسی موجب کاهش رشد گیاه و افزایش میزان ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی برگ می‌شود. میزان کوئرستین و اسیدهای فنلیک نیز از اشعه فرابنفش متاثر می‌شوند ولی بسته به اینکه تحت چه شدت و مدتی از فرابنفش باشند نتیجه متفاوتی را نشان می‌دهند.

منابع

Jaber, R. 2002. Respiratory and allergic diseases: from upper respiratory tract infections to asthma. Primary Care, 29(2): 231-261.

Luis, J. C., Martin Peres, R. and Valdes G.F. 2007. UV-B radiation effect on foliar concentrations of rosmarinic and cornosic acid in rosmary plant. Food Chemistry, 101: 1211-1215.

Pennycooke, J.C., Cox, S. and Stushnoff, C. 2005. Relationship of cold acclimation, total phenolic contentand antioxidant capacity with chilling tolerance in petunia (*Petunia×hybrida*). Environmental and Experimental Botany, 53: 225–232.

Rozema, J., Bojorn, L. O., Bornman, J. F., Hader, D. P. and Germ. M. 2002. The role of UV-B radiation inaquatic and terrestrial ecosystems on experiment and functional analysis of the evlution of UV-absorbing compounds. Photochemistry and Photobiology, 66: 2-12.

Samanta, A., Das, G. and Das, S. K. 2011. Roles of flavonoids in plants . International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research, 6(1): 0975-0525.

Shahidi, F., McDonald, J., Chandrasekara, A. and Zhong, Y. 2008. Phytochemicals of foods, beverages and fruit vinegars chemistry and health effects. Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition, 17 (S1):380-382.

Shohael., A. M., Ali, M. B., Yu, K. W., Hahn, E. J., Islam, R. and Peak, K. Y. 2006. Effect of light on oxidative stress, secondary metabolites and induction of antioxidant enzymes in Eleutherococus senticosus somatic embryos in bioreactor. Process Biochemisrty, 41: 1179-1185.

Shourie, A., Tomar, P., Srivastava, D. and Chauhan, R. 2014. Enhanced Biosynthesis of Quercetin Occurs as A Photoprotective Measure in *Lycopersicon esculentum* Mill. under Acute UV-B Exposure. Brazilian Archives of Biology and Technology, 57 (3): 317-325.

Wang, J. W., Zheng, L. P., Wu, J. Y. and Tan, R. Y. 2006. Involvement of nitric oxide in oxidative burst, phenylalanine ammonia-lyase activation and Taxol production induced by low-energy ultrasound in Taxus yunnanensis cell suspension cultures. Nitric Oxide-Biology and Chemistry, 15: 351-358.

Whitelam, G. C. and Halliday, K. J. 2007. Light and plant development. UK: Black Well, 313p.

Zhang, W. J. and Bjorn, L. O. 2009. The effect of ultraviolet radiation on the accumulation of medicinal compounds in plants. Fitoterapia, 80(4): 217-218.

IrHC2019

Effect of UV-B and UV-C irradiation on the concentration of phenolic compounds of two varieties of *Petunia*

Hakimeh Arablou, Ali Azizi*, Hasan Sari Khani
[1] Department of Horticultural Sciences, Faculty of Agriculture, Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran
Corresponding Author: azizi@basu.ac.ir

Abstract

Light is one of the most important environmental factors affecting the growth and physiology of plants, and changes in light spectrum lead to changes in the amount and composition of secondary metabolites. The present study was carried out to investigate the effects of UV-B and UV-C on some phytochemical traits of *Petunia hybrida*. For this purpose, a greenhouse experiment was conducted as factorial in a randomized complete block design with five replications. The first factor was variety (2 coltivar: Moltiflora and Grandiflora) and the second factor was ultraviolet light in 6 levels (control, UV-B 2 minutes, UV-B 5 minutes, UV-C 30 seconds, UV-C 1.5 min, and UV-B 2 minutes in combination with UV-C 30 seconds per day. Irradiation was carried out one month after seeding, for 15 days. Based on the results, the leaf area dropped sharply under UV irradiation and total phenol and total flavonoid increased in both varieties. The results of the identification and measurement of phenolic compounds by HPLC showed that the highest amount of quercetin (0.22 mg/g dry weight) was produced in the Moltiflora coltivar at 30 second UV-C.The amount of rosmarinic acid also showed the highest increase in 1.5 min UV-C (approximately one and a half times the control). However, The amount of salvianolic acid was reduced by ultraviolet radiation. The amount of the three mentioned phenolic compounds decreased by combined ultraviolet treatment. Finally, based on the findings of this research, it can be concluded that variations in the type and duration of UV radiation on this plant, cause changes in some phenolic compounds. In the future, this can be considered in the production and cultivation of petunia medicinal varieties under greenhouse conditions.

***Keywords*:** quercetin, rosmarinic acid, flavonoids, Light Stress

IrHC2019