بررسی پاسخ های فنولوژی، متابولیت‌های ثانویه و ظرفیت آنتی اکسیدانی سه رقم گل گندم (*Centaurea cyanus*) تحت سطوح مختلف پرتو فرابنفش

علیرضا شایگان‌فر*، مهدی رستگار، حسن مومیوند، عبدالحسین رضایی نژاد
گروه مهندسی علوم باغبانی و فضای سبز، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ملایر، ایران
گروه مهندسی علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه لرستان، ایران
*-Shayganfar.a.r@gmail.com

چکیده

امروزه پرتو فرابنفش به عنوان یک عامل انگیزاننده و تعدیل کننده که قادر به تعویض و تغییر در متابولیت‌های اولیه و ثانویه است در نظر گرفته می‌شود تا یک عامل ساده محیطی. از طرفی پرتو فرابنفش به اجزای سلول آسیب وارد می‌کند. با این وجود مطالعات و بررسی واکنش گیاهان زینتی و دارویی به پرتو فرابنفش کم‌تر مورد توجه قرار گرفته است. پژوهش حاضر به منظور ارزیابی تأثیر پرتو فرابنفش (A و B) بر پاسخ‌های فنولوژی و فیتوشیمیایی سه رقم گل گندم انجام گرفت. نتایج تحقیق حاضر نشان داد که میزان فلاونویید، فنول کل، آنتوسیانین و فعالیت آنتی اکسیدانی گیاه گل گندم در نتیجه تابش اشعه فرابنفش B افزایش یافت. بیشترین میزان آنتوسیانین در تابش همزمان فرابنفش A+B، سپس فرابنفش B و پس از آن فرابنفش A مشاهده گردید. همچنین، فعالیت جارو کنندگی رادیکال‌های آزاد گل گندم با استفاده از روش DPPH و FRAP نشان دهنده افزایش خاصیت آنتی اکسیدانی گل تحت تاثیر تابش فرابنفش B بود. در حالی‌که پرتو فرابنفش A تأثیری بر این صفت نداشت. در این مطالعه دو آزمون آنتی اکسیدانی مختلف مورد بررسی، نتایج مشابهی را نشان دادند و این نتایج بیان‌گر تفاوت در فعالیت آنتی اکسیدانی ارقام گل گندم بود.

واژگان کلیدی: پرتو فرابنفش، گل گندم، متابولیت ثانویه

مقدمه

گل گندم (*Centaurea cyanus*) گیاهی یک‌ساله از خانواده کاسنی است که در ایران، عراق، ترکیه و پاکستان گسترش فراوانی دارد و در برخی از کشورهای اروپایی هم به‌صورت وحشی یافت می‌شود (Spaniel *et al.*, 2008). این گیاه دارای ساقه‌ای منشعب، برگ‌هایی به رنگ سبز مایل به سفید و کرک‌های پنبه‌ای فراوانی است. گل‌های این گیاه دارای خاصیت مدر، صفرابر، درمان سرفه و نرم‌کننده سینه (به دلیل داشتن مقادیر بالای موسیلاژ)، رفع التهاب خفیف چشم و جلوگیری کننده از پیدایش چین‌وچروک در پوست صورت هستند. همچنین از گل‌های آن به‌عنوان منبع رنگ آبی در صنایع غذایی و آرایشی-بهداشتی استفاده فراوانی می‌شود (زرگری، ۱۳۷۵؛ زمان، ۱۳۸۴). مهمترین مواد مؤثره موجود در گل‌های این گیاه عبارتند از: موسیلاژ، ماده آبی رنگی به نام پروتوسیانین، مواد مومی، تانن و مقدار بسیار کمی اسانس. در دهه‌های گذشته فعالیت‌های انسانی موجب تاثیرات نامطلوبی بر اتمسفر و لایه ازن استراتوسفری و در نتیجه افزایش میزان پرتو فرابنفش خورشید در سطح کره زمین و به ویژه در ارتفاعات شده است. پرتو فرابنفش B در شدت بالا به‌عنوان یک تنش اکسیداتیو عمل می‌کند. فرآیندهای فتوشیمیایی مختلف می‌تواند انواع مختلفی از گونه‌های اکسیژن واکنش‌گر (ROS) را تولید کند که می‌توانند نقش‌های متفاوتی داشته باشند. برای حفاظت از تنش پرتو فرابنفش B گیاهان ممکن است ترکیبات جذب‌کننده پرتو فرابنفش B مانند فلاونوئیدها را در اپیدرم برگ تولید کنند. امروزه پرتو فرابنفش به عنوان یک الیسیتور و عامل تعدیل کننده که قادر به تعویض و تغییر در متابولیت‌های اولیه و ثانویه است در نظر گرفته می‌شود تا یک عامل ساده محیطی. از طرفی پرتو فرابنفش به اجزای سلول آسیب وارد می‌کند. با این وجود مطالعات و بررسی واکنش گیاهان زینتی و دارویی به پرتو فرابنفش کم‌تر مورد توجه قرار گرفته است. بنابراین پژوهش حاضر به‌منظور ارزیابی تأثیر پرتو فرابنفش (A و B) بر رشد، خصوصیات ، فنولوژی و فیتوشیمیایی سه رقم گل گندم در شرایط گلخانه در سال ۱۳۹۷ انجام گرفت.

مواد و روش ها

شرایط آزمایش و اعمال تیمارها

این پژوهش به‌صورت آزمایش کرت‌های خرد شده در قالب طرح کاملاً تصادفی و در سه تکرار طراحی و اجرا شد. پرتو فرابنفش (شامل: شاهد یا عدم تیمار پرتو فرابنفش، فرابنفش A، فرابنفش B و فرابنفش A+B) به‌عنوان عامل اصلی و نوع رقم (شامل: ارقام صورتی *C. cyanus* var. Kornblume pink، قرمز *C. cyanus* var. Kornblume rot و آبی *C. cyanus* var. Kornblume blau) به‌عنوان عامل فرعی در نظر گرفته شدند. تیمارهای پرتو فرابنفش به‌صورت روزانه و به‌مدت سه ساعت در طول روز (از ساعت ۱۱ تا ۱۴) اعمال شدند. پس از کشت و جوانه‌زنی بذرها در سینی کشت، زمانی‌که گیاهچه‌ها به مرحله‌ی رشد دو برگ حقیقی رسیدند، به گلدان‌های اصلی هشت لیتری که با نسبت مساوی از کود دامی پوسیده، ماسه و خاک زراعی پر شده بودند، منتقل گردیدند. تیماردهی پرتو فرابنفش پس از رشد گیاهان و رسیدن آن‌ها به‌مرحله چهار برگ حقیقی آغاز و تا زمان تمام گل ادامه یافت. تیمارهای پرتو فرابنفش به‌صورت روزانه و به‌مدت سه ساعت در طول روز (از ساعت ۱۱ تا ۱۴) با استفاده از تایمر الکتریکی اعمال شدند. در تیمارهای شاهد نیز یک عدد لامپ مهتابی معمولی قرار گرفت. لامپ‌ها روی پایه‌های فلزی با ارتفاع ۸۰ سانتی‌متر نصب شدند. با توجه به تغییر ارتفاع گیاهان در طول دوره‌ی رشد و به‌منظور تیمار یکسان پرتو فرابنفش در طول زمان انجام آزمایش، ارتفاع پایه‌های نگهدارنده لامپ‌ها با گذشت زمان افزایش یافت.

صفات فنولوژی، فیتوشیمیایی و ظرفیت آنتی اکسیدانی

صفات تعداد روز تا ظهور اولین غنچه گل، باز شدن اولین غنچه گل، باز شدن کامل اولین گل و ماندگاری گل روی بوته به عنوان صفات فنولوژی مورد ارزیابی قرار گرفتند. به‌منظور ثبت تعداد روز تا ظهور اولین ساقه گل‌دهنده، باز شدن اولین غنچه گل و باز شدن کامل اولین گل، وضعیت تمامی تیمارها به‌صورت روزانه بررسی شد. پس از ظهور اولین علایم هر یک از این مراحل از رشد زایشی، تاریخ موردنظر یادداشت و اعداد مربوط به شاخص‌های ذکر شده ثبت گردید. با هدف محاسبه طول عمر و یا ماندگاری گل روی بوته، تعداد روز از زمان باز شدن کامل گل تا زمان ظهور علایم پیری یا زوال گل روی بوته، شمارش و به عنوان شاخص ماندگاری گل روی بوته در نظر گرفته شد.

صفات فنل کل، فلاونوئید کل و میزان آنتوسیانین به عنوان صفات فیتوشیمیایی مورد اندازه‌گیری قرار گرفت. جهت اندازه‌گیری محتوای فنول کل از معرف فولین سیوکالتیو استفاده شد (McDonald *et al.*, 2001). میزان فلاونویید کل به روش رنگ سنجی کلرید آلومینیوم و بر اساس دستورالعمل (Quetter-Deleu, 2000) اندازه‌گیری شد. به منظور اندازه‌گیری آنتوسیانین برگ نیز از روش واگنر (Wagner, 1979) استفاده شد. روش FRAP بر اساس کاهش Fe^{+3}-TPTZ (زردرنگ) به Fe^{+2}-TPTZ (آبی رنگ) در pH پایین استوار است به روش (Benzie and Strain, 1996) انجام گرفت. ظرفیت آنتی اکسیدانی کل عصاره‌های مورد مطالعه با توانایی خاموش شدن DPPH مورد بررسی قرار گرفت (Burits *et al.*, 2001).

نتایج

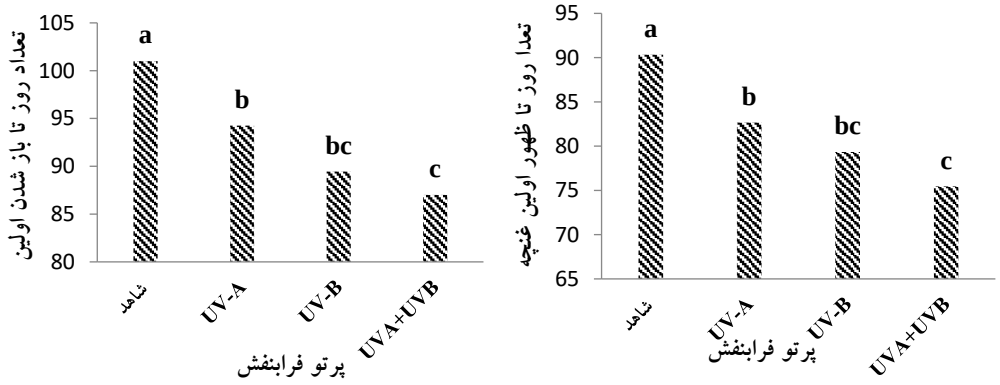
صفات فنولوژی

نتایج تجزیه واریانس صفات فنولوژی نشان داد که پرتو فرابنفش اثر معنی‌داری بر صفات تعداد روز تا ظهور اولین غنچه گل و تعداد روز تا باز شدن اولین گل داشت. صفات تعداد روز تا ظهور اولین غنچه گل و تعداد روز تا باز شدن اولین گل نیز به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر نوع رقم قرار گرفتند. با این حال اثر متقابل رقم و پرتو فرابنفش بر هیچ یک از صفات مورد مطالعه معنی‌دار نشد (جدول ۱).

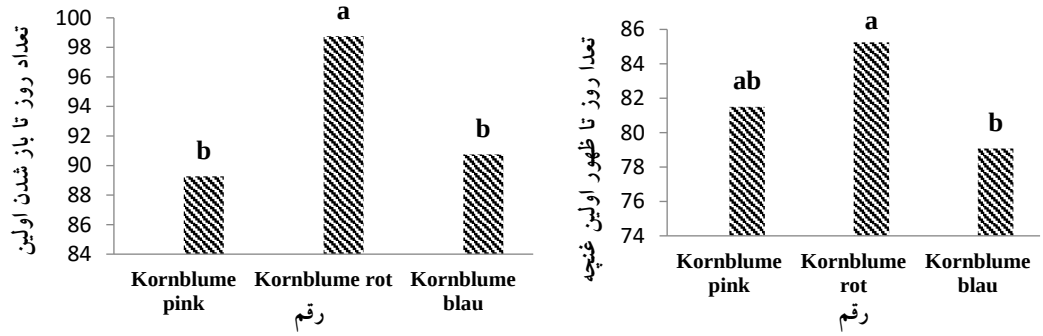
جدول ۱. نتایج تجزیه واریانس اثر پرتو فرابنفش بر برخی صفات فنولوژی سه رقم گل گندم

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات			
		تعداد روز تا ظهور ساقه گل‌دهنده	تعداد روز تا ظهور اولین غنچه گل	تعداد روز تا باز شدن اولین گل	طول عمر گل
پرتو فرابنفش	۳	۹۷/۹۰^{ns}	۳۵۹/۵۶**	۳۴۱/۴۳**	۲/۰۲۹^{ns}
خطای اصلی	۸	۱۳/۶۷	۱۷/۸۶	۲۳/۵۴	۵/۰۳۸
رقم	۲	۸۱/۳۳^{ns}	۱۱۵/۶۶**	۲۹۸/۷۴**	۷/۴۴۶^{ns}
فرابنفش*رقم	۶	۲۶/۳۳^{ns}	۲۲/۲۹^{ns}	۱۲/۶۲^{ns}	۷/۷۳۵^{ns}
خطای فرعی	۱۶	۴۳/۲۴	۱۸/۳۹	۲۰/۵۹	۲/۸۱۳

***، ** و ns به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و۱ درصد و غیر معنی‌دار**



شکل ۱. مقایسه میانگین اثر پرتو فرابنفش بر تعداد روز تا ظهور اولین غنچه گل و باز شدن اولین گل



شکل ۲. مقایسه میانگین اثر رقم بر تعداد روز تا ظهور اولین غنچه گل و باز شدن اولین گل

صفات فیتوشیمیایی و ظرفیت آنتی اکسیدانی

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که پرتو فرابنفش اثر معنی‌داری بر صفات فنل کل، فلاونویید کل، آنتوسیانین و فعالیت آنتی اکسیدانی گل گندم در هر دو آزمون FRAP، DPPH داشت. اثر رقم بر صفات فنول کل، فلاونویید کل، فعالیت آنتی اکسیدانی در آزمون FRAP و آنتوسیانین معنی‌دار شد. اما اثر متقابل پرتو فرابنفش و رقم بر هیچ یک از صفات مورد نظر معنی‌دار نبود (جدول ۲).

جدول ۲. نتایج تجزیه واریانس اثر پرتو فرابنفش بر برخی صفات فیتوشیمیایی سه رقم گل گندم

		میانگین مربعات				
منابع تغییرات	درجه آزادی	فنول کل	فلاونویید کل	FRAP	DPPH	آنتوسیانین
پرتو فرابنفش	۳	۳۳/۲۶**	۴۳/۵۸**	۵۵۲۸/۴*	/۰۰۰۱۵۲*	۵/۴۰**
خطای اصلی	۸	۷۶/۰۴	۶۱/۲۹	۱۰۴۸/۲	۰/۰۰۰۰۱۶	۱۸/۱۵
رقم	۲	۲۴/۸۱**	۱۵/۳۷**	۷۱۹/۵**	۰۰۲۱۱۸^{ns}	۲/۵۳**
فرابنفش*رقم	۶	۱۰/۸۳^{ns}	۲۱/۶۰^{ns}	۱۲۱/۱^{ns}	۰۰۰۰۶۰^{ns}	۲/۳۷^{ns}
خطای فرعی	۱۶	۵۷/۲۱	۳۷/۲۹	۹۵۲/۷	۰/۰۰۰۰۴۵	۱۸/۲۱

***، ** و ns به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و۱ درصد و غیر معنی‌دار**

جدول ۳. نتایج مقایسه میانگین اثر پرتو فرابنفش بر برخی صفات فیتوشیمیایی سه رقم گل گندم

پرتو فرابنفش	فنل کل (میلی‌گرم گالیک اسید	فلاونویید کل (میلی‌گرم روتین	FRAP	DPPH (IC50)	آنتوسیانین

	بر گرم وزن خشک گل)	بر گرم وزن خشک گل)	(میکرومول آهن بر گرم وزن خشک گل)	(میکرومول بر گرم وزن خشک گل)	(میکرومو ل بر گرم وزن خشک گل)
0	۲۰۲/۳۹۵b	۱۱۱/۴۹۹c	۶۵۶/۸۶۹c	۰/۰۶۷۳۸۲۵a	۳/۳۲۲۴d ۱
UVA	۲۰۳/۹۸۳b	۱۱/۴۸۸bc ۵	۶۶۸/۷bc	/۰۶۴۱۴۰۶ab ۰	۴/۰۷۸۵c ۰
UVB	۲۰/۶۶۳ab ۹	۱۲/۵۸۱ab ۱	۶۹/۱۵۶ab ۵	/۰۶۰۷۸۹۳ab ۰	۴/۳۹۹۷b ۵
UV(A + B)	۲۱۶/۱۳۹a	۱۲۷/۴۳۸a	۷۱۲/۱۹۶a	۰/۰۵۷۸۲۳۷b	۵/۲۴۸۰a ۰

میانگین‌های دارای حروف مشابه در هر ستون، بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال ٪ ۵ اختلاف معنی‌داری ندارند.

جدول ٤. نتایج مقایسه میانگین اثر رقم بر برخی صفات فیتوشیمیایی سه رقم گل گندم

رقم	فنول کل (میلی‌گرم گالیک اسید بر گرم وزن خشک)	فلاونویید کل (میلی‌گرم روتین بر گرم وزن خشک)	FRAP (میکرومول آهن بر گرم وزن خشک گل)	آنتوسیانین (میکرومول بر گرم وزن خشک گل)
Kornblumepink	۱۹۴/۶۹۲c	۱۰۸/۱۷۱c	۶۰۸/۰۷۶c	۴۰/۶۰۱۶b
Kornblume rot	۲۰۵/۴۲۹b	۱۱۷/۳۲۲b	۶۷۳/۵۷۲b	۳۷/۶۷۲b
Kornblumeblau	۲۲۴/۰۱۵a	۱۳۱/۵۱۱a	۷۶۸/۰۴۲a	۴۷/۰۱۲۹a

میانگین‌های دارای حروف مشابه در هر ستون، بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال ٪ ۵ اختلاف معنی‌داری ندارند.

بحث

صفات فنولوژی

نتایج مطالعه اثر پرتو فرابنفش بر صفات فنولوژی سه رقم گل گندم (تعداد روز تا ظهور ساقه گل‌دهنده، تعداد روز تا ظهور غنچه گل، تعداد روز تا باز شدن اولین گل و طول عمر گل) نشان داد که کاربرد پرتو فرابنفش منجر به کاهش تعداد روز تا ظهور اولین غنچه گل و تعداد روز تا باز شدن اولین گل در ارقام گل گندم نسبت به تیمار شاهد گردید. تیمار پرتو فرابنفش B باعث گلدهی زودتر گل گندم در مقایسه با فرابنفش A گردید. با این‌حال سریع‌ترین ورود به فاز زایشی و گلدهی در گل گندم با کاربرد هم‌زمان فرابنفش A و B مشاهده شد. به‌طورکلی در همه تیمارهای فرابنفش، گلدهی زودتر گونه‌های گل گندم اتفاق افتاد. نتایج ما در این بخش با نتایج شایگان‌فر و همکاران (۱۳۹۶) مطابقت داشت. در مقایسه بین ارقام مختلف نیز مشاهده گردید که از نظر زمان گلدهی رقم Kornblume pink سریع‌تر از سایر ارقام وارد فاز زایشی و گلدهی شد. تفاوت بین ارقام و گونه‌های مختلف یک گیاه از نظر ورود به فاز زایشی می‌تواند مربوط به مسائل ژنتیکی مختص به هر رقم و گونه باشد (شایگان‌فر و همکاران، ۱۳۹۶).

صفات فیتوشیمیایی و ظرفیت آنتی اکسیدانی

در تطابق با نتایج مطالعه ما تابش اشعه فرابنفش B در گیاه سوسن صغیر منجر به افزایش معنی‌دار کاروتنوییدها و فلاونوییدها گردید (کوماری و همکاران، ۲۰۰۹). در گیاه کلزا میزان ترکیبات جذب‌کننده فرابنفش (فلاونویید و آنتوسیانین) تحت تأثیر اشعه فرابنفش B و C افزایش نشان داد (نصیبی و همکاران، ۱۳۸۲). نتایج حاصل از آزمایش شایگان‌فر و همکاران (۱۳۹۶) در سه گونه آویشن نیز نشان داد که میزان کل ترکیبات فنلی تحت تیمار پرتو فرابنفش B افزایش یافت و علاوه بر این سایر ترکیبات محافظتی تحت تأثیر تیمار پرتو فرابنفش B افزایش یافتند. در آزمایشی روی گل راعی مشخص شد که تیمار پرتو فرابنفش B باعث افزایش تجمع فلاونوییدها می‌شود (Germ *et al.*, 2010). افزایش فلاونوییدها تحت تنش پرتو فرابنفش B در برگ‌ها و ریشه‌های گیاه پنیرباد نیز گزارش گردیده است. در این مطالعه میزان آنتوسیانین‌ها و کاروتنوئیدها نیز توسط تحریک آنزیم‌های گوناگون مسیر فنیل پروپانوئید افزایش یافت. این محققان عنوان کردند که این ترکیبات گیاه را از آسیب پرتو فرابنفش B مازاد حفاظت می‌کنند (Takshak and Agrawal, 2014). میزان آنتوسیانین‌ها بیانگر نقش دفاعی گیاه در مقابله با این پرتو بوده است و احتمالا خطرات ناشی از تابش پرتو UV را کاهش می‌دهند (نصیبی و همکاران، ۱۳۸۲). به‌طورکلی در اثر پرتو فرابنفش، ترکیبات جذب‌کننده

فرابنفش مانند فلاونوییدها و مشتقات هیدروکسی سینامیک اسید مانند آنتوسیانین‌ها در اپیدرم برگ تجمع یافته و نوعی مکانیسم حفاظتی برای جلوگیری از نفوذ پرتو فرابنفش به بافت‌های فتوسنتز کننده ایجاد می‌کنند. افزایش مقدار فلاونوییدها در تیمار با پرتو UV از خصوصیات دفاعی برخی گیاهان در برابر پرتو UV است. این ترکیب‌ها با فیلتر کردن اشعه UV و جلوگیری از نفوذ آن به درون بافت‌های حساس از ایجاد خسارت جلوگیری می‌کنند و یا نقش آنتی‌اکسیدانی در برابر رادیکال‌های آزاد ناشی از تنش UV در گیاه ایفا نموده و تنش اکسیداتیو را تخفیف می‌دهند. افزایش سنتز فلاوونوئیدها یکی از اساسی‌ترین سازوکارهای دفاعی گیاه در برابر پرتو UV است (نصیبی و همکاران، ۱۳۸۲). در این مطالعه دو آزمون آنتی اکسیدانی مختلف مورد بررسی، نتایج مشابهی را نشان دادند و این نتایج بیان‌گر تفاوت در فعالیت آنتی اکسیدانی ارقام گل گندم بود. وجود همبستگی معنی‌دار بین محتوای فنل کل، فلاونوئید کل و آنتوسیانین با فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره در هر دو روش نشان دهنده نقش مهم ترکیب‌های پلی‌فنلی در فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره است. همبستگی مثبت بین پلی‌فنل‌ها و فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره در مطالعات متعددی نشان داده شده است (Ghahremani-majd *et al.*, 2012, Pawar *et al.*, 2011).

منابع

زرگری، علی؛ گیاهان دارویی جلد سوم، موسسه چاپ و انتشارات دانشگاه تهران، تهران، ۱۳۷۵.

شایگان‌فر، علیرضا؛ عزیزی، مجید؛ و رسولی، موسی؛ بررسی تأثیرات سطوح متفاوت پرتو فرابنفش همراه با کاربرد ترکیبات آنتی‌اکسیدانی مختلف بر واکنش‌های مرفولوژی، فنولوژی، فیزیولوژی و فیتوشیمیایی سه گونه آویشن، رساله دکتری، علوم باغبانی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد،۱۳۹۶.

نصیبی، فاطمه؛ منوچهری کلانتری، خسرو؛ و رشیدی راوری، منیژه؛ بررسی تغییرات فیزیولوژیک و مورفولوژیک ایجادشده در برخی از پارامترهای رشد در اثر تابش باندهای UV-A، UV-B و UV-C اشعه ماورا بنفش در گیاهک کلزا (*Brassica napus*)، مجله پژوهش و سازندگی در زراعت و باغبانی، شماره ۶۰، ۱۰۳-۹۷، ۱۳۸۲

Benzie, I; and Strain, J; "The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power"": the FRAP assay. *Analytical Biochemistry*; 239: 70 – 6, 1996.

Burits, M;, Asres, K; and Bucar, F; "The antioxidant activity of the essential oils of Artemisia afra, Artemisia abyssinica and Juniperus procera" *Phytotherapy Research*, 15 (2): 103– 108, 2001

Spaniel, S;, Marhold, K;, Hodálová, I; and Lihová, J; "Diploid and tetraploid cytotypes of Centaurea stoebe (Asteraceae) in central Europe: Morphological differentiation and cytotype distribution patterns" *Folia Geobotanica*, 43(2): 131-158, 2008.

Investigation of phenological responses, secondary metabolites changes and antioxidant capacity of three *Centaurea cyanus* cultivars under different levels of UV radiation

Abstract

Today, ultraviolet radiation (UV) is considered as a stimulating and modulating factor that is able to change the primary and secondary metabolites rather than a simple environmental factor. On the other hand, UV radiation damages cell components. However, studies of the reaction of ornamental and medicinal plants to UV radiation have received less attention. The present study was conducted to evaluate the effect of UV radiation (A, B) on phenological and phytochemical responses of three *Centaurea cyanus* cultivars. The results of the present study showed that the amount of flavonoids, total phenol, anthocyanin and antioxidant activity of *C. cyanus* cultivars increased as a result of UV-B radiation. The highest amount of anthocyanin was observed in simultaneous UV A + B, then UV-B and then UV-A. The free radical scavenging activity of the studied cultivars using DPPH and FRAP methods showed an increase in the antioxidant properties of flowers under the influence of UV-B radiation. However, UV-A had no effect on this trait. In this study, two different antioxidant tests showed similar results and these indicated differences in the antioxidant activity of *C. cyanus* cultivars.

Key words: *C. cyanus*; UV radiation; secondary metabolite