

## مطالعه اثر پرتو UV-C بر کلروفیل و فلاونوئیدهای یونجه تاجی (*Coronilla varia* L. (Fabaceae))

میترا نوری Ph.D.\*، رضا پورایمانی Ph.D.<sup>۲</sup>، مریم خدایی M.Sc.<sup>۲</sup>

۱- دانشگاه اراک، دانشکده علوم، گروه زیست شناسی، کد پستی ۳۸۱۵۶-۸-۸۳۴۹

۲- دانشگاه اراک، دانشکده علوم، گروه فیزیک، کد پستی ۳۸۱۵۶-۸-۸۳۴۹

۳- کارشناسی ارشد فیتوشیمی، دانشگاه سیستان و بلوچستان، زاهدان، دانشکده علوم، گروه شیمی، ص-پ: ۶۷۴-۹۸۱۳۵  
\* پست الکترونیک نویسنده مسئول: m-noori@araku.ac.ir

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۱/۳/۱۶

تاریخ دریافت: ۱۳۹۰/۸/۱

### چکیده

**هدف:** کاهش ضخامت لایه آزن در اثر افزایش آلاینده‌ها سبب کاهش جذب پرتوهای فرابنفش (UV) خورشید به وسیله‌ی این لایه و در نتیجه آسیب موجودات زنده، از جمله گیاهان می‌شود. وقوع تغییرات فیتوشیمیایی در گیاهان از جمله واکنش‌های سازش، دفاع و مقابله‌ی آنها در برابر آسیب‌های ناشی از این پرتوهاست. پس بررسی این تغییرات در گیاهان عالی اهمیت دارد.

**مواد و روش‌ها:** ده گروه کشت شامل گیاهان بذری و مزرعه‌ای شاهد و تحت تیمار UV-C (با زمان کل یک تا بیست ساعت) در گلدان‌های مشابه با خاک و شرایط نگهداری یکسان از گونه *Coronilla varia* L. آماده شدند. کلیه‌ی گیاهان ۹۰ روزه جهت کلروفیل متری قبل و بعد از تیمار UV-C و مطالعه‌ی فلاونوئیدها با روش‌های کروماتوگرافی کاغذی دو بعدی و لایه نازک برداشت گردیدند.

**نتایج:** نتایج کلروفیل متری، کاهش کلروفیل را در گیاهان تحت تیمار در مقایسه با شاهد نشان داد. مقایسه‌ی فلاونوئیدهای برگ تغییر در تعداد و نوع فلاونوئیدهای برگ گیاهان تحت تیمار نسبت به شاهد را نشان داد. این تغییرات شامل وجود لوتئولین و ویسینین در گیاهان تحت تیمار و عدم وجود آنها در گیاهان شاهد، وجود کامفرول در نمونه‌های مزرعه‌ای تحت تیمار و عدم وجود آن در سایر نمونه‌ها، وجود کریسین در نمونه‌های شاهد و عدم وجود آن در نمونه‌های تحت تیمار و حذف آپی‌جین، ایزورامنتین، رامنتین، نارنجین، میرستین و کوئرستین در نمونه‌های مزرعه‌ای تحت تیمار بودند.

**نتیجه‌گیری:** تصور می‌شود ایجاد تغییرات فیتوشیمیایی شامل تغییر در نوع و تعداد فلاونوئیدها، واکنش دفاعی گیاه در برابر تنش‌های فیزیولوژیک و از جمله پرتو UV-C باشد.

**واژگان کلیدی:** تغییرات فیتوشیمیایی، فلاونوئیدها، کلروفیل، یونجه تاجی، UV

## مقدمه

نور خورشید که گیاهان از آن برای فتوسنتز استفاده می‌کنند دارای پرتوهای فرابنفش (UV) الکترومغناطیسی کیهانی شامل: (۱) UV-A 320-390 nm، (۲) UV-B 280-320 nm و (۳) UV-C <280 nm می‌باشد. UV-A که طول موج‌های ۳۲۰ تا ۳۹۰ نانومتر را شامل می‌شود به وسیله لایه ازن جذب نشده و به دلیل انرژی پایین نیز آسیب جدی به گیاهان نمی‌رساند. پرتوهای UV-B با طول موج بین ۲۸۰ تا ۳۲۰ نانومتر تا حدودی به وسیله لایه ازن جذب می‌شوند که امروزه با کاهش لایه ازن در نتیجه آلودگی کلروفلوروکربن (CFC) در لایه استراتوسفر در محیط زیست افزایش یافته و دارای انرژی بالاتری نسبت به دو پرتو دیگر UV می‌باشند (۱). ناحیه UV-C در طیف UV شامل طول موج‌های پایین‌تر از ۲۸۰ نانومتر است. این طول موج‌ها با انرژی بالا، به صورت کامل و مؤثرتری توسط ازن در لایه استراتوسفر جذب می‌شود و بنابراین در صورت کامل بودن لایه ازن از نور خورشیدی که به سطح زمین می‌رسد حذف می‌شوند، اما امروزه با کاهش ضخامت لایه ازن در نتیجه افزایش آلاینده‌ها، موجودات زنده پرتو فرابنفش را دریافت کرده و در برابر آسیب جدی این پرتوها قرار می‌گیرند (۲). همه موجودات زنده مکانیسم‌هایی را برای جلوگیری از ورود نور به درون سلول‌های خود دارند. همچنین پاسخ‌های ترمیمی یا سازشی به سرعت در پاسخ به قرارگیری در معرض پرتو UV القا می‌شود. مقاومت و یا سازش گیاه به تنش UV در جنس‌ها، گونه‌ها و حتی واریته‌های گیاهی بسیار متفاوت است. در گیاهانی که در مناطق با پرتو UV زیاد مانند مناطق واقع در عرض‌های جغرافیایی پایین و یا نقاط مرتفع رشد و زندگی می‌کنند حفاظت در برابر UV مشاهده می‌شود (۳ و ۴). بر اساس مطالعات Frohnmeyer و همکاران (۵) تاثیر پرتو UV بر گیاهان شامل تغییرات مورفولوژیکی مانند ایجاد میان‌گره‌های کوچک، کاهش وزن، کاهش بیوماس، کاهش سطح برگ، کاهش تولید مثل، ممانعت از رشد و طویل شدن هیپوکوتیل می‌باشد. پرتوهای UV سبب برخی آسیب‌های مولکولی می‌شوند، زیرا جذب UV توسط اسیدهای آمینه آروماتیک و نوکلئوتیدها می‌تواند منجر به عدم کارکرد اسیدهای نوکلئیک و پروتئین‌های مربوطه شود (۶). در گیاهان تغییرات ساختاری ایجاد شده به وسیله UV در کلروپلاست‌ها و پروتئین‌های D1 و D2 در مرکز فتوسیستم ۲ می‌تواند منجر به کاهش ظرفیت فتوسنتزی و سرعت رشد شود (۷). مطالعات Reddy و همکاران (۸) نشان داد که پرتو UV

می‌تواند موجب تغییر آرایش مولکولی و موتاسیون گردد. همچنین UV از طریق تشکیل رادیکال‌های آزاد اکسیژنی آسیب‌های سلولی ایجاد می‌کند. مطالعات نشان داده که بیشترین جذب DNA در طول موج ۲۶۰ نانومتر UV-C بوده و می‌تواند آسیب‌های شدیدی را به سرعت در آن ایجاد کند (۲). همچنین، کاهش مقدار پروتئین کل برگ‌های گیاه سیب‌زمینی قرار گرفته در معرض پرتو UV-B نیز توسط Santhos و همکاران (۹) گزارش شده است. مطالعات رحمت زاده و همکاران (۱۰) بر روی گندم نشان داد که تابش UV-C منجر به کاهش محتوای پروتئین و قند در نمونه‌های تیمار شده با این پرتو شده است. همچنین، پرتو UV-C منجر به کاهش معنی‌داری در محتوای کلروفیل و کاروتنوئیدها در گیاهان تیمار شده با UV گردید. مطالعات تشریحی برگ گندم نیز نشان داد که گیاهانی که در معرض پرتو UV-C قرار گرفته‌اند دارای لایه کوتیکول ضخیم‌تری نسبت به گیاهان شاهد هستند. مطالعات نشان می‌دهد که حساس‌ترین مکان نسبت به اثر بازدارندگی UV-B در گیاهان، فتوسیستم ۲ بوده و فتوسیستم ۱، به پرتو UV-B مقاوم‌تر است (۱۱ و ۱۲).

همه موجودات زنده و به خصوص گیاهان مکانیسم‌ها و واکنش‌هایی را برای مقابله و یا سازش با این تنش محیطی دارا می‌باشند (۲) که از آن جمله می‌توان تغییرات مولکولی و فیتوشیمیایی را نام برد (۸). مطالعات بسیاری در زمینه تاثیر UV و سایر تنش‌ها بر گیاهان تا کنون صورت گرفته است. Singh (۱۳)، Biggs و همکاران (۱۴) و Krizek و همکاران (۱۵) در مطالعات خود کاهش کلروفیل، پیچیدگی و مومی شدن برگ‌ها، کاهش سطح برگ و Balakrishnan و همکاران (۱۶) افزایش فلاونوئیدها را در گیاهان تحت تیمار UV در مقایسه با کنترل نشان دادند. همچنین Mazza و همکاران (۱۷) و Mackerness و همکاران (۱۸) ایجاد تنش اکسیداتیو تحت این پرتو را بررسی کردند. فلاونوئیدها از دسته ترکیبات پلی فنلیک در گیاهان با اعمال مختلفی می‌باشند. افزایش متابولیسم فنیل پروپانویید و مقدار ترکیبات فنلیک می‌تواند تحت فاکتورهای محیطی و شرایط تنش مشاهده شود. سنتز ایزوفلاون‌ها و برخی فلاونوئیدهای دیگر، وقتی گیاهان آلوده یا مجروح شوند یا تحت دماهای پایین و شرایط کمبود تغذیه‌ای قرار گیرند، القا می‌شوند. گیاهان فلاونوئیدهای جذب کننده UV و دیگر ترکیبات فنلیک را به طور عمده در واکنش‌های سلول‌های اپیدرمی انباشته می‌کنند. در سال‌های اخیر خواص آنتی‌اکسیدانی فلاونوئیدها

بالای UV از دست می‌دهند. برعکس جوانه‌های تربچه حساسیت کمتری را نسبت به تابش پرتو UV-B تحت شرایط تنش آبی در مقایسه با خیار از خود نشان دادند. احتمال می‌رود دلیل این امر وجود تراکم بیشتر فلاونوئیدهای جاذب UV در اپیدرم برگ‌های تربچه باشد (۳۳). چنین مطالعاتی نقش فلاونوئیدها را به عنوان یکی از مکانیسم‌های دفاعی، سازش و مقابله گیاهان در برابر تنش‌های محیطی مانند پرتوهای UV نشان می‌دهد.

با توجه به اینکه فلاونوئیدها از جمله ترکیبات فیتوشیمیایی هستند که برای دفاع و مقابله با شرایط نامساعد محیطی مانند نور شدید، پرتوها، کم‌آبی و آلاینده‌ها و همچنین کاهش آسیب در برخی گیاهان ساخته شده و یا دچار تغییر می‌شوند (۳۴) لذا در این پژوهش گونه *Coronilla varia* از لگوم‌ها برای بررسی تاثیر پرتو UV-C بر کلروفیل و فلاونوئیدهای آن انتخاب گردید.

### مواد و روش‌ها

**نمونه‌برداری، شناسایی و تهیه بذر:** جمع‌آوری گونه *Coronilla varia* از اطراف شهر اراک، استان مرکزی در مرداد ماه ۱۳۸۹ انجام گردید. گونه پس از جمع‌آوری کدگذاری شده و اطلاعات مربوط به آن ثبت و به صورت نمونه هرباریومی درآمد که به عنوان نمونه شاهد در هرباریوم دانشگاه اراک نگهداری می‌شود. گونه پس از انتقال به آزمایشگاه با استفاده از منابع موجود (۳۵ و ۳۶) شناسایی، مورد تایید و برچسب‌گذاری گردید. بذره‌های رسیده و سالم گیاه نیز جهت انجام کشت جمع‌آوری شدند.

**یافتن بهترین شرایط کشت بذر برای گیاه مورد مطالعه، کشت، نگهداری و تیمار گیاهان:** تجربیات عملی در مورد کشت بذر یونجه تاجی نشان داد بهترین روش قرار دادن مستقیم بذر خشک استریل شده با محلول ۱ درصد هیپوکلرید سدیم به درون خاک گلدان است و در آزمایشات از این روش اخیر استفاده شد. در این پژوهش نمونه‌ها در ده گروه تیماری در پنج تکرار به قرار جدول ۱ آماده و تهیه شدند (هر گروه تیماری با علامت اختصاری مخصوص به خود که متشکل از S=sample، Cv= *Coronilla varia* و عدد که شماره تیمار است برچسب گذاری گردید). ده بذر سالم و رسیده *Coronilla varia* در دو پلیت جداگانه قرار داده شد. یک پلیت به مدت ۱ ساعت و پلیت دیگر به مدت دو ساعت در معرض پرتو ۲۴۵ نانومتر UV-C قرار گرفتند و پس از ایجاد شکاف کوچک به گلدان منتقل گردیدند.

بیشتر مورد توجه است (۱۹ و ۲۰). یافته‌های Quate و همکاران (۲۰) نشان می‌دهد که ظاهر گیاهان در طی تکامل خود را با سطوح مختلف تابش پرتوهای UV-B از طریق حداقل دو مکانیسم حفاظتی شامل برهم‌کنش نوری و رنگیزه‌های جاذب پرتوهای فرا بنفش مانند فلاونوئیدها و فنیل پروپانوئیدها تطبیق داده‌اند (۲۰). گونه‌های مقاوم به UV ممکن است به خوبی به وسیله‌ی رنگیزه‌های فرعی سنتز شده از مسیر پروپانوئید در لایه اپیدرمی یا در کرک‌های برگ محافظت شوند (۲۱ و ۲۲). مقادیر نفوذ UV-B از میان لایه اپیدرمی به مزوفیل با استفاده از فیبر نوری کوچک، اهمیت جذب مواد در لایه‌های اپیدرمی را تایید کرده است (۲۳). نقش فلاونوئیدها در بهبود آسیب وارده UV-B به فتوسنتز به طور واضح در جوانه‌های گندم سیاه نیز به اثبات رسیده است، طوری که ایزوویتکسین‌ها و سایر فنیل پروپانوئیدها منحصر در لایه‌ی اپیدرمی انباشته شده‌اند (۲۴). بیوسنتز این ترکیبات به وسیله‌ی مراحل ایزومریزاسیون القا شده UV-B، از ترکیبات پیش ساخت تنظیم می‌شود (۲۵). موتان‌های فاقد فلاونوئید *Arabidopsis* بسیار به پرتوهای UV کیهانی حساس هستند (۲۶ و ۲۷). ممانعت از آسیب DNA ایجاد شده به وسیله‌ی UV-B توسط فلاونوئیدها در جوانه‌های ذرت نشان داده شده است (۲۸). همچنین مطالعات Caldwell و همکاران (۲۹) تغییر و یا تحریک سنتز رنگیزه‌های جاذب UV تحت تاثیر پرتوهای UV را در گیاهان نشان می‌دهد. تجمع ترکیبات فنلی جاذب UV نیز در پاسخ گیاه به پرتوهای بالای خورشیدی نیز مشاهده شده است که می‌تواند گیاه را در برابر پرتوهای UV محافظت کنند (۲۹ و ۳۰). مطالعات میرزاتونی (۳۱) نشان داد که اپیدرم برگ گیاهان عالی به دلیل داشتن ترکیبات جاذب مانند فلاونوئیدهای موجود در واکول‌های سلول‌های اپیدرمی، به عنوان یک لایه محافظ در برابر پرتوهای UV عمل می‌کند. همچنین این مطالعات ثابت کرد که کاهش درصد اسانس در ریحان تحت تاثیر پرتوهای UV می‌تواند به دلیل تغییر مسیر پیش ساخت‌های ترکیبات اسانس باشد. یعنی اسیده‌های آمینه آروماتیک که پیش ساز مشترک ترکیبات فنلی اسانس و فلاونوئیدها هستند بیشتر به سمت سنتز ترکیبات جاذب UV مانند فلاونوئیدها هدایت می‌شوند. مطالعات Teramura و همکاران (۳۲) بر روی جوانه‌های خیار رشد یافته در اتاقک رشد نشان داد که از دست دادن آب تحت تاثیر ۱۲ درصد آزن رخ می‌دهد، چنانکه گیاهان تحت تنش آبی با سطوح بالایی از UV-B تیمار شوند، آن‌ها توانایی بستن روزنه‌ها را با افزایش دوز

کاشته شدند. همه گلدان‌ها پس از اولین آبیاری به اتاق کشت با دمای  $25 \pm 2$  درجه سانتی‌گراد، دوره نوری: ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی، شدت نور:  $53-68 \mu\text{Em}^{-2}\text{S}^{-1}$  (Lux)  $3500-4500$  و آبیاری با آب معمولی ۳ بار در هفته به مدت ۹۰ روز قرار داده شدند.

ده بذر *Coronilla varia* در هر گلدان (با قطر ۱۵ سانتی متر) تیمارهای SCv1 و SCv4 تا SCv7 کاشته شد (S=Sample, Cv=*Coronilla varia* و اعداد شماره تیمارها می باشد). گیاهان برگردار *Coronilla varia* نیز از مزرعه با احتیاط برداشت و در هر یک از گلدان‌های تیمارهای SCv8 تا SCv10

جدول ۱: ده گروه تیماری *Coronilla varia* برای بررسی تاثیر ۲۴۵ نانومتر UV-C بر آنها در مقایسه با شاهد.

کُد	نمونه	بذر		گیاه برگردار		تعداد کل دفعات تیمار	زمان کل تیمارها (h)
		زمان هر تیمار (h)	دفعات تیمار	زمان هر تیمار (h)	روز هر بار تیمار (d)		
SCv1	شاهد گلخانه ای	۰	۰	۰	۰	۰	۰
SCv2	UV-C در مرحله ی بذر	۱	۱	۰	۰	۱	۱
SCv3	UV-C در مرحله ی بذر	۲	۱	۰	۰	۱	۲
SCv4	UV-C در مرحله ی گیاه برگردار	۰	۰	۱	۳ روز متوالی	۳ بار به فاصله ۱ ماه	۹
SCv5	UV-C در مرحله ی گیاه برگردار	۰	۰	۲	۳ روز متوالی	۳ بار به فاصله ۱ ماه	۱۸
SCv6	UV-C در مرحله ی بذر و گیاه برگردار	۱	۱	۱	۳ روز متوالی	۴ بار (۱ بار بذر و ۳ بار گیاه برگردار به فاصله ۱ ماه)	۱۰
SCv7	UV-C در مرحله ی بذر و گیاه برگردار	۱	۱	۲	۳ روز متوالی	۴ بار (۱ بار بذر و ۳ بار گیاه برگردار به فاصله ۱ ماه)	۲۰
SCv8	شاهد مزرعه ای	۰	۰	۰	۰	۰	۰
SCv9	UV-C در مرحله ی گیاه برگردار انتقال از مزرعه به گلخانه	۰	۰	۱	۳ روز متوالی	۳ بار به فاصله ۱ ماه	۹
SCv10	UV-C در مرحله ی گیاه برگردار انتقال از مزرعه به گلخانه	۰	۰	۲	۳ روز متوالی	۳ بار به فاصله ۱ ماه	۱۸

Abbreviation: S=sample, Cv=*Coronilla varia* L., h=hour, d=day.

## کروماتوگرافی دو بعدی (2-DPC) 2-Dimensional Paper

**Chromatography** کروماتوگرام‌های هر نمونه به ترتیب در کروماتوتانک های شاندون حاوی BAW (Butanol, Acetic acid, Water) (HOAc) (اسید استیک ۱۵ درصد) به طور جداگانه قرار داده شده، پس از پایان کروماتوگرافی خشک و به وسیله UV در طول موج ۳۶۶ نانومتر (Camag UV Cabinet)  $254 \& 366 \text{ nm}$  خوانده و لکه‌ها بر روی آنها علامت‌گذاری گردیدند. مقادیر  $R_F$  لکه‌های هر یک از کروماتوگرام‌ها در BAW (بوتانول، اسید استیک، آب مقطر به نسبت ۴:۱:۵) و HOAc ۱۵ درصد محاسبه و سپس با استفاده از کلید شناسایی اولیه (۳۷ و ۳۸) لکه‌ها شناسایی شدند.

## کلروفیل متری و مطالعه فلاونوئیدها: در پایان کشت

کلروفیل متری (کوآنتا) در همه نمونه‌ها به وسیله کلروفیل‌متر SPAD-502 (Minolta) انجام گردید. نتایج در جدول ۲ و شکل ۱ آمده‌اند. برای مطالعه‌ی فلاونوئیدها، برگچه‌های گیاهان شاهد و تحت تیمار به طور جداگانه جمع‌آوری و پس از خشک کردن به صورت پودر درآمدند. ۲۰۰ میلی‌گرم از پودر برگ هر نمونه به روش آبی-الکلی (جوشاندن، خیساندن، فیلتراسیون) و تقطیر در خلاء (Heidolph laborrita 4000 efficient) عصاره‌گیری شدند. عصاره‌های هر نمونه و همچنین معرف روتین به طور جداگانه بر روی کاغذ کروماتوگرافی واتمن شماره یک در ابعاد  $29 \times 23$  لکه گذاری شدند.

جدول ۲: مقایسه مقدار کلروفیل برگ قبل و بعد از قرار گرفتن در معرض UV-C در نمونه های شاهد و تحت تیمار.

Treatments	Characters	
	Mean ± SD	
	ChB	ChA
<u>SCv1 (0.h)</u>	41±1.24	40.96±2.01
<u>SCv2 (1 h)</u>	38.79±1.14	35.69±0.86
<u>SCv3 (2 h)</u>	37.04±0.70	33.6±1.26
<u>SCv4 (9 h)</u>	36.2±0.85	31.95±2.03
<u>SCv5 (18 h)</u>	36.82±2.45	30.69±1.18
<u>SCv6 (18 h)</u>	35.96±2.01	29.03±1.01
<u>SCv7 (20 h)</u>	32±1.06	27.5±1.23
<u>SCv8 (0 h)</u>	45±2.09	44.18±2.10
<u>SCv9 (9 h)</u>	29.54±1.02	27.5±1.14
<u>SCv10 (18 h)</u>	27.98±1.04	24.44±0.09

Abbreviation: S=sample, Cv=Coronilla varia L.,

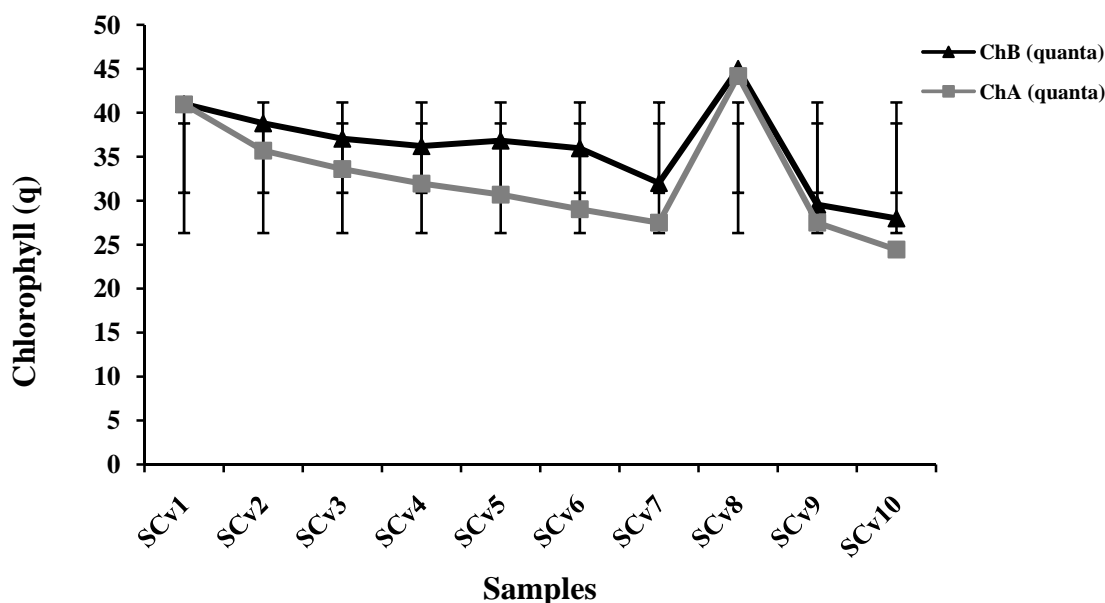
ChB= Chlorophyll before UV-C treatment (quanta)

ChA= Chlorophyll after UV-C treatment (quanta)

مقدار کلروفیل قبل از UV-C

مقدار کلروفیل پس از UV-C

UVC = UV-C (hours), UV-C (ساعت), زمان کل تحت تیمار.



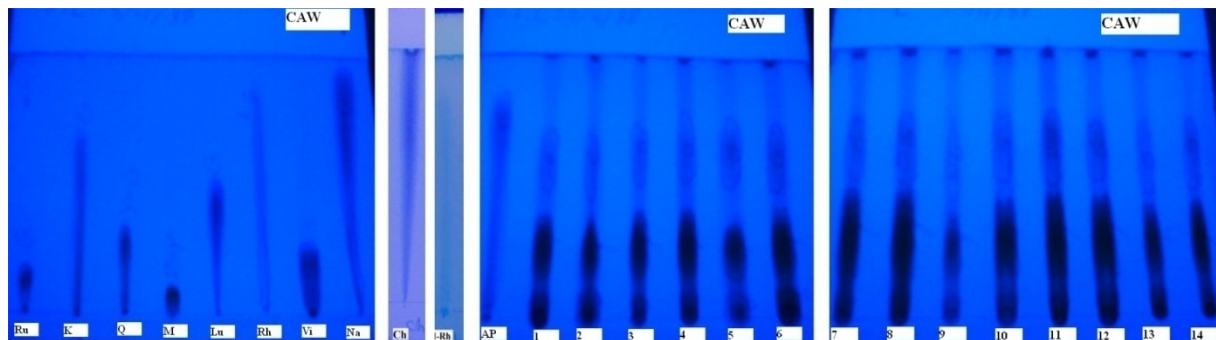
شکل ۱: مقایسه مقدار کلروفیل برگ قبل و بعد از قرار گرفتن در معرض UV-C در نمونه های شاهد و تحت تیمار، برای نوع تیمارها به مواد و روشها مراجعه شود (S=sample, Cv=Coronilla varia L.) و عدد شماره تیمار است.

مدت ۰/۵ ساعت در بن ماری ۱۰۰ درجه سانتی گراد قرار داده شد. پس از بیرون آوردن و سرد شدن لوله ها ۲ میلی لیتر اتیل استات به هر لوله اضافه شد. پس از تشکیل دو فاز مجزا، محلول رویی برداشت شد و بعد از تبخیر، در ۵ میلی لیتر اتانول حل گردید و به همراه استانداردهای قابل دسترس

هیدرولیز اسیدی و شناسایی فلاونوئیدهای آگلیکون: مقدار ۰/۵ میلی گرم از عصاره های مورد استفاده در 2-DPC هر جمعیت در ۰/۵ میلی لیتر اتانول ۷۰ درصد حل شدند و در لوله های آزمایش برچسب دار ریخته شدند. به هر لوله آزمایش ۲ میلی لیتر اسید کلریدریک ۲ مولار افزوده و مخلوط به

(تهیه شده از FLUKA و MERCK) در متانول ۸۰ درصد برای کروماتوگرافی لایه نازک (TLC) در سه حلال مختلف استفاده گردید. کروماتوگرام‌ها در حلال‌های BAW، CAW (3:0.4:6 Chlorophorm, Acetic acid, Water) و فروستال قرار داده شدند. در پایان کروماتوگرام‌ها خشک و با UV در طول موج ۳۶۶ نانومتر خوانده شدند. مقادیر RF برای هر لکه محاسبه و با مقایسه با استانداردهای مورد استفاده، شناسایی و غلظت هر یک از فلاونوئیدهای شناسایی شده بر اساس ابعاد لکه‌ها و شدت رنگ آن‌ها در ۳۶۶ نانومتر UV

(تهیه شده از FLUKA و MERCK) در متانول ۸۰ درصد برای کروماتوگرافی لایه نازک (TLC) در سه حلال مختلف استفاده گردید. کروماتوگرام‌ها در حلال‌های BAW، CAW (3:0.4:6 Chlorophorm, Acetic acid, Water) و فروستال قرار داده شدند. در پایان کروماتوگرام‌ها خشک و با UV در طول موج ۳۶۶ نانومتر خوانده شدند. مقادیر RF برای هر لکه محاسبه و با مقایسه با استانداردهای مورد استفاده، شناسایی و غلظت هر یک از فلاونوئیدهای شناسایی شده بر اساس ابعاد لکه‌ها و شدت رنگ آن‌ها در ۳۶۶ نانومتر UV



شکل ۲: نمایش کروماتوگرام‌های TLC در حلال CAW برای استانداردها و نمونه‌های تحت تیمار و شاهد *Coronilla varia*. اعداد شماره تیمارها و تکرار برخی از آن‌ها است.

Abbreviations: Ru=Rutin, K= Kaempferol, Q=Quercetin, M= Myricetin, L=Luteolin, Rh=Rhamnetin, V=Vitexin, N=Naringenin, Ch=Chrysin, I-Rh=Isorhamnetin, A=Apigenin.

جدول ۳: داده‌های حاصل از کروماتوگرافی کاغذی دو بعدی (2-DPC) و لایه نازک (TLC) نمونه‌های برگ گیاهان *Coronilla varia* تحت تیمارهای مختلف UV-C در مقایسه با گیاهان شاهد گلخانه‌ای و مزرعه‌ای این گونه.

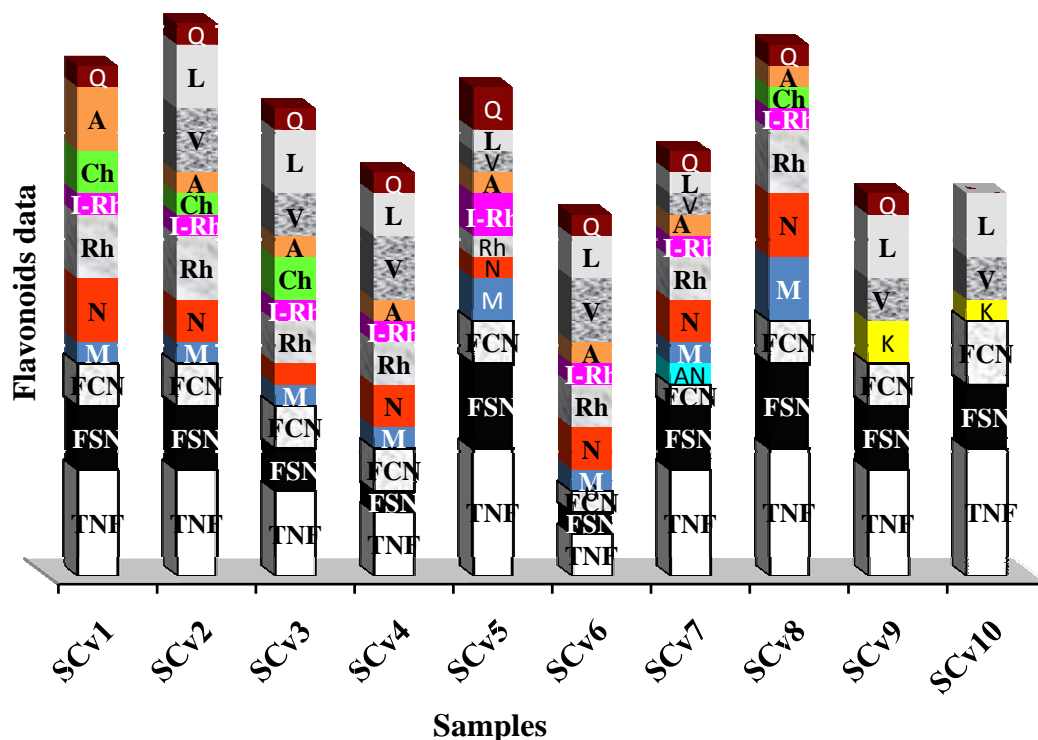
Samples	Flavonoid type	Identification														
		Rutin	Quercetin	Kaempferol	Myricetin	Naringenin	Rhamnetin	Iso rhamnetin	Chrysin	Apeginin	Vitexin	Luteolin				
code	treatments															
<u>SCv1</u>	GH control	5	3	2	-	-	+	-	+	+++	+++	+	++	+++	-	-
<u>SCv2</u>	UV <sup>+</sup> →UV <sup>+</sup> 1h	5	3	2	-	-	+	-	+	++	+++	+	+	+	+++	+++
<u>SCv3</u>	UV <sup>+</sup> →UV <sup>+</sup> 2h	4	2	2	-	-	+	-	+	+	++	+	++	+	++	+++
<u>SCv4</u>	UV <sup>-</sup> →UV <sup>+</sup> 1h	3	1	2	-	-	+	-	+	++	++	+	-	+	+++	++
<u>SCv5</u>	UV <sup>-</sup> →UV <sup>+</sup> 2h	6	4	2	-	-	++	-	++	+	+	++	-	+	+	+
<u>SCv6</u>	UV <sup>+</sup> →UV <sup>+</sup> 1h	2	1	1	-	-	+	-	+	++	++	+	-	+	+++	++
<u>SCv7</u>	UV <sup>+</sup> →UV <sup>+</sup> 2h	5	3	1	1	-	+	-	+	++	++	+	-	+	+	+
<u>SCv8</u>	F control	6	4	2	-	-	+	-	+++	+++	+++	+	+	+	-	-
<u>SCv9</u>	UV <sup>-</sup> →UV <sup>+</sup> 1h	5	3	2	-	-	+	++	-	-	-	-	-	-	++	+++
<u>SCv10</u>	UV <sup>-</sup> →UV <sup>+</sup> 2h	6	3	3	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	++	+++

Abbreviations: S=sample, Cv=*Coronilla varia*, GH=glass house, F=field, h=hour, numbers=treatment numbers. Scored characters: -0 (non flavonoid), + 1 (few flavonoid), ++ 2 (high concentration of flavonoid).

## نتایج

در حلال CAW برای استانداردها و نمونه‌های تحت تیمار و شاهد *Coronilla varia* نشان می‌دهد. داده‌های حاصل از کروماتوگرافی کاغذی دو بعدی (2-DPC) و لایه نازک (TLC) نمونه‌های برگ گیاهان *Coronilla varia* تحت تیمارهای مختلف UV-C در مقایسه با گیاهان شاهد گلخانه‌ای و مزرعه‌ای این گونه نیز در جدول ۳ آورده شده است. شکل ۳ نیز تعداد و تنوع فلاونوئیدهای موجود در برگچه‌های هر یک از نمونه‌های تحت تیمار پرتو UV-C را در مقایسه با نمونه‌های شاهد گلخانه‌ای و مزرعه‌ای در هیستوگرام ستونی سه بعدی بر مبنای داده‌های جدول ۳ با استفاده از ارزش گذاری صفات کیفی نشان می‌دهد. در این نمودار وجود کامفرول در نمونه‌های تحت تیمار UV-C مزرعه‌ای و عدم وجود فلاونوئیدهای موجود در گیاهان شاهد اهمیت دارد.

نتایج حاصل از این پژوهش در جدول ۲ و شکل ۱، کاهش میانگین مقدار کلروفیل موجود در برگچه‌ها در گیاهان تحت تیمار UV-C در مقایسه با شاهد‌های گلخانه‌ای و مزرعه‌ای (SCv1, SCv8) را قبل از در معرض قرار گرفتن و پس از در معرض قرار گرفتن UV-C در همه نمونه‌ها نشان می‌دهند. همه نمونه‌های تحت تیمار UV-C مقدار کلروفیل کمتری را نسبت به نمونه‌های شاهد گلخانه‌ای بذری و مزرعه‌ای نشان می‌دهند که نمونه SCv10 کمترین مقدار کلروفیل را داراست و نمونه‌های شاهد (SCv1, SCv8) بیشترین مقدار کلروفیل را دارا هستند. اندازه‌گیری کلروفیل نیز بلافاصله پس از تیمار UV-C در نمونه‌های تحت تیمار نیز همین نتایج را در مقایسه با نمونه‌های شاهد نشان می‌دهد. شکل ۲ کروماتوگرام‌های TLC را



شکل ۳: تعداد و تنوع فلاونوئیدهای موجود در برگچه‌های هر یک از نمونه‌های تحت تیمار پرتو UV-C در مقایسه با نمونه‌های شاهد گلخانه‌ای و مزرعه‌ای با استفاده از روش‌های کروماتوگرافی دو بعدی و لایه نازک.

Abbreviations: NTF= Number of total flavonoids, FSN=flavonoid sulphates number, FCN= flavone C- and C-/O-glucosides number, AN=aglycones number, Ru=Rutin, K= Kaempferol, Q=Quercetin, M= Myricetin, L=Luteolin, Rh=Rhamnetin, V=Vitexine, N=naringenin, Ch=chrysin, I-Rh=Isorhamnetin, A=Apigenin.

Scored characters for drawing 3-D column histogram in Excel based on Table 1 data: -0 (non flavonoid), + 1 (few flavonoid), ++ 2 (high concentration of flavonoid).

## بحث

مطالعات مختلف در خصوص تاثیر UV-C بر گیاهان نشان می‌دهد که اثرات UV بر همه گیاهان یکسان نبوده و تاکنون اثرات بیولوژیکی بسیاری از تاثیر UV-B بر گیاهان خشکی‌زی گزارش شده است. Singh (۱۳)، Biggs و همکاران (۱۴) و Krizek و همکاران (۱۵) در مطالعات خود کاهش کلروفیل، پیچیدگی و مومی شدن برگ‌ها، کاهش سطح برگ و افزایش فلاونوئیدها (۱۶) را در گیاهان تحت تیمار UV در مقایسه با کنترل نشان دادند. چنانکه جدول ۲ و شکل ۱ نشان می‌دهند میانگین مقدار کلروفیل موجود در برگچه‌ها در گیاهان تحت تیمار UV-C در مقایسه با شاهد‌های گلخانه‌ای و مزرعه‌ای (SCv1, SCv8) کاهش یافته است و این کاهش در نمونه‌های SCv10 و SCv7 که ساعات بیشتری در معرض UV قرار داشته‌اند مشهودتر بود. در حالی که نمونه شاهد بذری (SCv1) و نمونه شاهد مزرعه‌ای (SCv8) که تحت تیمار نبوده‌اند بیشترین مقدار کلروفیل را دارا بودند. کاهش مقدار کلروفیل در گیاه ایجاد کلروز می‌کند. این نتایج با یافته‌های Teramura و همکاران (۷) که نشان داد تغییرات ساختاری ایجاد شده در گیاهان به وسیله UV در کلروپلاست‌ها و پروتئین‌های D1 و D2 در مرکز فتوسیستم ۲ می‌تواند منجر به کاهش ظرفیت فتوسنتزی و سرعت رشد شود قابل تایید است. فتوسنتز یکی از فرآیندهای فیزیولوژیکی است که در زمینه بررسی تابش UV-B بر رشد بسیار مطالعه شده است. هنگامی که Teramura (۳۹) تابش بالای UV-B را همراه با نور سفید ملایم (شرایط معمولی اتاقک‌های رشد) به کار برد، اثرات آن بر فتوسنتز، به عنوان جاذب CO<sub>2</sub> در گیاهان حساس به UV-B به طور کلی زبان‌آور بود (۳۹). بنابراین حتی در حضور مقادیر بالای نورسفید در گلخانه و مزرعه کاهش بیش از ۱۷ درصد در کولتیوار سویای حساس به UV-B هنگامی که مجهز به تخلیه ۱۶ درصدی آزن بود، در فتوسنتز مشاهده گردید (۴۰). مطالعات رحمت زاده و همکاران (۱۰) بر روی گندم نشان داد که تابش UV-C منجر به کاهش محتوای پروتئین و قند در نمونه‌های تیمار شده با این پرتو شده است. همچنین، پرتو UV-C منجر به کاهش معنی‌داری در محتوای کلروفیل و کاروتنوئیدها در گیاهان تیمار شده با UV گردید (۱۰). Tevini و همکاران (۴۱) با مطالعاتی که با تاباندن پرتو UV-B مصنوعی و شبیه‌سازی لایه آزن و تخریب آن در گلخانه و اتاقک شیشه‌ای بر روی گیاهان انجام داد کاهش در اندازه گیاه، طول برگ، وزن تر، وزن خشک، مقدار

چربی و فعالیت‌های فتوسنتزی گونه‌های گیاهی حساس به این پرتو را مشاهده نمود. نتایج این پژوهش نشان می‌دهد که پرتوهای UV با کاهش کلروفیل، فتوسنتز را تحت تاثیر قرار داده و کاهش فتوسنتز می‌تواند فرآیند رشد را تحت تاثیر قرار داده و سبب کاهش رشد گردد.

تغییرات فیتوشیمیایی فلاونوئیدها نیز به عنوان یکی از مکانیسم‌ها و واکنش‌های دفاعی گیاهان برای مقابله و یا سازش در برابر تنش‌های محیطی شناخته شده است (۸) و مطالعات بسیاری نیز در زمینه تاثیر UV و سایر تنش‌ها بر گیاهان تا کنون صورت گرفته است. فلاونوئیدها از دسته ترکیبات پلی‌فنلیک در گیاهان هستند. فنلیک‌ها دارای اعمال مختلفی در گیاهان می‌باشند. افزایش متابولیسم فنیل پروپانوئید و مقدار ترکیبات فنلیکی می‌تواند تحت فاکتورهای محیطی مختلف و شرایط تنشی مشاهده شود. سنتز ایزوفلاون‌ها و برخی فلاونوئیدهای دیگر، وقتی گیاهان آلوده یا مجروح شوند یا تحت دماهای پایین و شرایط کمبود تغذیه‌ای قرار گیرند، القا می‌شوند. گیاهان فلاونوئیدهای جذب کننده UV و دیگر ترکیبات فنلیکی را به طور عمده در واکنش‌های سلول‌های اپیدرمی انباشته می‌کنند. ظاهراً گیاهان در طی تکامل خود را با سطوح مختلف تابش پرتوهای UV-B از طریق حداقل دو مکانیسم حفاظتی شامل برهم‌کنش نوری و رنگیزه‌های جاذب پرتوهای فرابنفش مانند فلاونوئیدها و فنیل پروپانوئیدها تطبیق داده‌اند. برهم‌کنش نوری از طریق ترمیم دیم‌های تیمین نوع سیکلوپوتان ممکن است مسئول بیشترین آسیب DNA القا شده به وسیله پرتو UV-B باشند (۲۰). چنانکه جدول ۳ و شکل ۳ نشان می‌دهند تغییر در تعداد و نوع فلاونوئیدهای برگ گیاهان تحت تیمار UV نسبت به شاهد مشاهده می‌گردد. ایجاد لوتئولین و وی‌سنین در گیاهان تحت تیمار و عدم وجود آنها در گیاهان شاهد، ایجاد کامفرول در نمونه‌های مزرعه‌ای تحت تیمار UV و عدم وجود آن در سایر نمونه‌ها، وجود کریسین در نمونه‌های شاهد و عدم وجود آن در نمونه‌های تحت تیمار UV، حذف آپی‌جین، ایزورامنتین، رامنتین، نارنجین، میرستین و کوئرستین در نمونه‌های مزرعه‌ای تحت تیمار UV نشان دهنده‌ی ایجاد تغییر در نوع فلاونوئیدهای موجود در این گیاهان در مقایسه با شاهد است که بیشترین تغییرات در نمونه‌ی SCv10 مشاهده گردید. در مطالعات Tevini و همکاران (۲۴) عمل حفاظتی فلاونوئیدها در بهبودی آسیب وارد شده UV-B به فتوسنتز به طور واضح در جوانه‌های گندم سیاه به اثبات رسیده است، طوری که ایزوویتکسین‌ها و سایر فنیل



سبب تغییر در تعداد و نوع فلاونوئیدهای موجود در خود شده تا بدینوسیله در برابر آسیب‌های ناشی از این تنش فیزیولوژیک سازش، مقابله و دفاع کنند.

### تشکر و قدردانی

نویسندگان از حمایت مالی حوزه معاونت محترم پژوهشی دانشگاه اراک در انجام این پژوهش قدردانی می‌کنند.

### منابع

1. Caldwell RR, Dave R, Steinhardt PJ. Cosmological Imprint of an Energy Component with General Equation of State. *Phys. Rev. Lett.* 1998; 80:1582-1585.
2. Stapleton AE. Ultraviolet radiation and plant: buring questions. *The Plant Cell.* 1992; 4: 1353-1358.
3. Searles PS, Flint SD, Caldwell MM. A meta-analysis of plant field studies simulatingstratospheric ozone depletion. *Oecologia.* 2001; 127: 1-10.
4. Day TA, Ruhland CT, Grobe CW, Xiong F. Growth and reproduction of Antarctic vascular plants in response to warming and UV radiation reductions in the field. *Oecologia.* 1999; 119: 24-35.
5. Frohnmeyer H, Staiger D. Ultraviolet-B radiation-mediated responses in plants. Balancing damage and protection. *Plant physiology.* 2003; 133 (4): 1420-8.
6. Casti P, Andreo CS. UV-B and UV-C induction of NADP-malic enzyme in tissues of different cultivars of *Phaseolus vulgaris* (Bean). *Plant Cell and Environment.* 2001; 24: 627-630.
7. Teramura AH, Briggs WR. How plants respond to a changing UV-B radiation environment in regulation of plant growth and development by light? *American Society of Plant Physiology.* 1996; 164-170.
8. Reddy AR, Chaitanya KV, Vivekanandan M. Drought induced responses of photosynthesis and antioxidant metabolism in higher plants. *Journal of Plant Physiology.* 2004; 161(11): 1189-1202.
9. Santhos I, Fidalgo F, Almedia JM, Salema R. Biochemical and ultrastructural changes in leaves of potato plants grown under supplementary UV-B radiation. *Plant Science.* 2004; 167: 925-935.
10. Rahmatzade S, Khara J. [Effects of UV-C on growth & some analytical & physiological parameters in symbiotic wheat plants with 3 species of mycorrhizal fungi]. *Iranian Biology J.* 2009; 21(1): 52-62. (Persian).

پروپانویدها منحصرآ در لایه‌ی اپیدرمی انباشته شده‌اند. مطالعات Li و همکاران (۲۷) و Britt و همکاران (۲۶) نشان داده است که موتان‌های فاقد فلاونوئید *Arabidopsis* بسیار به پرتوهای UV کیهانی حساس هستند. محافظت از آسیب DNA ایجاد شده به وسیله ی UV-B توسط فلاونوئیدها در جوانه‌های ذرت نشان داده شده است (۲۸). همچنین مطالعات Caldwell و همکاران (۲۹) تحریک سنتز رنگیزه‌های جاذب UV تحت تاثیر پرتوهای UV را در گیاهان نشان می‌دهد. تجمع ترکیبات فنلی جاذب UV نیز در پاسخ گیاه به پرتوهای بالای خورشیدی نیز مشاهده شده است که می‌توانند گیاه را در برابر پرتوهای UV محافظت کنند (۲۹ و ۳۰). مطالعات میرزاتونی (۳۱) نشان داد که اپیدرم برگ گیاهان عالی به دلیل داشتن ترکیبات جاذب مانند فلاونوئیدهای موجود در واکوئل‌های سلول‌های اپیدرمی، به عنوان یک لایه محافظ در برابر پرتوهای UV عمل می‌کند. همچنین این مطالعات ثابت کرد که کاهش درصد اسانس در ریحان تحت تاثیر پرتوهای UV می‌تواند به دلیل تغییر مسیر پیش ساخت‌های ترکیبات اسانس باشد. یعنی اسیدهای آمینه آروماتیک که پیش‌ساز مشترک ترکیبات فنلی اسانس و فلاونوئیدها هستند بیشتر به سمت سنتز ترکیبات جاذب UV مانند فلاونوئیدها هدایت می‌شوند. بر مبنای مطالعات نوری و همکاران (۳۴ و ۴۲) فلاونوئیدها از جمله ترکیبات فیتوشیمیایی هستند که برای دفاع و مقابله با شرایط نامساعد محیطی مانند نور شدید، کم‌آبی و آلاینده‌ها و همچنین کاهش آسیب در برخی گیاهان ساخته شده و یا دچار تغییر می‌شوند. چنین مطالعاتی نقش فلاونوئیدها را به عنوان یکی از مکانیسم‌های دفاعی، سازش و مقابله گیاهان در برابر تنش‌های محیطی مانند پرتوهای UV نشان می‌دهد.

### نتیجه گیری

نتایج حاصل از این پژوهش نشان می‌دهد که تاثیر پرتو UV-C بر گیاهان تحت تیمار *Coronilla varia* تغییرات نامطلوبی را در آنها ایجاد می‌کند که منجر به کاهش کلروفیل، فتوسنتز و رشد در آنها شده که در نهایت با کلروز و نکروز گیاه سبب نابودی آنها می‌گردد. گیاهان تحت تیمار نیز برای بقا با انجام تغییرات فیتوشیمیایی مانند تغییر در متابولیت‌های ثانویه و از جمله فلاونوئیدها به دفاع و مقابله با این تنش محیطی می‌پردازند. چنانکه نتایج حاصله نیز نشان داد که گیاهان تحت تاثیر UV-C با حذف برخی از فلاونوئیدها و یا ایجاد برخی دیگر

11. Iwanzik W, Tevini M, Dohnt G, Voss M, et al. Action of UV-B radiation on photosynthetic primary reactions in spinach chloroplasts. *Physiol. Plant.* 1983; 58: 401.
12. Prasil O, Adie N, Ohad I. Dynamics of photosystem II: mechanisms of photoinhibition and recovery processes, in *The Photosystems. Structure, Fundation and Molecular Biology.* Barber, J, (eds). Amsterdam: Elsevier; 1992; 295.
13. Singh A. Growth, physiological, and biochemical responses of three tropical legumes to enhanced UV-B radiation.-*Can. J. Bot.* 1996; 74: 135-139.
14. Biggs R.H, Sisson W.B, Caldwell M.M. In Impacts of climatic change on the biosphere. Part I. Ultraviolet radiation effects, (D.S. Nachtwey, M.M. Caldwell, R.H. Biggs, (eds). Monogr 5. Climatic impact Assessment Program. US Dept. of Transportation Report No. DOT-TST-75-55. Nat. Techn. Info. Serv. Springfield, VA; 1975; 263-273.
15. Krizek DT, Karmar GF, Mirecki RM. Influence of UV-B radiation and putrescine on shoot and root growth of cucumber seedlings grown in nutrient solution. *J. Plant Nutr.* 1997; 20(6): 613-623.
16. Balakrishnan V, Ravindran, KC, Venkatesan K, Karuppusamy S. Effect of UV-B supplemental radiation on growth and biochemical characteristics in *Crotalaria juncea L.* seedlings. *EJEAFChe.* 2005; 4 (6): 1125-1131.
17. Mazza CA, Battista D, Zima AM, Szwarcberg – Bracchitta M, et al. *Plant Cell Environ.* 1999; 22: 61-70.
18. Mackerness SAH, John CF, Thomas B. Early signaling components in ultraviolet-B responses: Distinct roles for different reactive oxygen species and nitric oxide. *FEBS Lett.* 2001; 489: 237-242.
19. Diaz J, Bernal A, Pomar F, Merino F. Induction of shikimate dehydrogenase and peroxidase in pepper (*Capsicum annum L.*) seedling in response to copper stress and its relation to lignification. *Plant Science.* 2001; 161: 179-188.
20. Quate FE, Sutherland BM, Sutherland JC. Action spectrum for DNA damage in alfalfa lowers predicted impact of ozone depletion. *Nature.* 1992; 358: 576-578.
21. Bornman J.F, Reuber S, Cen Y.P, Weissenböck G. Ultraviolet radiation as a stress factor and the role of protective pigments, in *Plant and UV-B: Responses to Environmental Change.* Lumsden. P. J, (eds), Society for Experimental Biology seminar series 64. Cambridge: Cambridge University Press; 1997; 157.
22. Tevini M, Braum J, Fieser G. The protective function of the epidermal layer of rye seedlings against ultraviolet-B radiation. *Photochem. Photobiol.* 1991; 53: 329.
23. Bornman JF, Vogelmann TC. Effects of UV-B radiation on leaf optical properties measured with fibre optics. *J. Exp. Bot.* 1991; 42: 547.
24. Tevini M, Mark U, Salie-Mark M. Effects of enhanced solar UV-B radiation on growth and function of crop plant seedlings. Randall, D. D, Blevius, D. G, (eds). *Current Topics in Plant Biochemistry and Phys.* Columbia: University of Missouri; 1991; 9: 13.
25. Braun J, Tevini M. Regulation of UV-protective pigment synthesis in the epidermal layer of rye seedlings (*Secale cereal L. cv Kustro*). *Photochem. Photobiol.* 1993; 57(2): 318.
26. Britt AB, Chen JJ, Wykoff D, Mitchell DA. UV-sensitive mutant of *Arabidopsis* defective in the repair of pyrimidine-pyrimidione (6-4) dimmers. *Science.* 1993; 261: 1571.
27. Li J, Ou-Lee TM, Raba R, Amundson RG, et al. *Arabidopsis* flavonoid mutants are hypersensitive to UV-B irradiation. *Plant Cell.* 1993; 5(2): 171.
28. Stapleton AE, Walbot V. Flavonoid can protect maize DNA from the induction of ultraviolet radiation damage. *Plant Physiol.* 1994; 105: 881.
29. Caldwell MM, Flint SD, Searles PS. Spectral balance and UV-B sensitivity of soybean: A field experiment. *Plant Cell Environ.* 1994; 17: 267-276.
30. Viet M, Bilger W, Muhlbeuer T, Brummet W, et al. Diurnal changes in flavonoids. *J. Plant Physiol.* 1996; 148: 478-482.
31. Mirzaton A. [Effects of UV on anatomical & ontogenical structure & quantitative & qualitative ocimum essential oil]. MSC Thesis. Islamic Azad University. 1998. (Persian).
32. Teramura AH, Tevini M, Iwanzik W. Effects of ultraviolet-B irradiance on plants during mild water stress. Effects on diurnal stomatal resistance. *Physiol. Plant.* 1983; 57(I): 175.
33. Tevini M, Iwanzik W, Teramura AH. Effects of UV-B radiation on plants during mild water stress. Effects on growth, protein and flavonoid content. *J. Pflanzenphysiol.* 1983; 110 (II): 459.
34. Noori M, Malayeri BE, Jafari M. Determination of fluoride and its effects on flavonoids in some Legumes. *Toxicological and Environmental Chemistry.* 2009; 91 (3): 409-418.
35. Rechinger KH. *Flora Iranica .Akademische Druch-Und verlagsantalt Graz.* 1984; 157: 327-361.
36. Ghahreman A. [Coromophytes of Iran (Plant Systematics)]. Tehran: Markaz Nashre Daneshgahi. 1993; 2:428-507. (Persian).
37. Markham KR. Techniques of flavonoid identification. Academic press. 1982; 16-55.
38. Mabry TJ, Markham KR, Thomas MB. The systematic identification of flavonoids. Berlin-Heidelberg, New York: Springer-verlag. 1970; 394.

39. Teramura A.H. In stratospheric ozone reduction, solar ultraviolet radiation and plant life (R.C. Worrest and M. M. Caldwell, (eds). Nato ASI series, Vol. 8, Springer-Verlag, Berlin; 1986; 327-343.
40. Murali NS, Teramura AH, Randall SK. Response differences between two soybean cultivars with contrasting UV-B radiation sensitivities. *Photochem Photobiol.* 1988; 48: 653.
41. Tevini M. UV-B effects on plants. In: Agrawal SB, Agrawal M, (eds). *Environmental Pollution and Plant Responses*, pp.83-97. Lewis Publishers, Boca Raton, U.S.A. 2000.
42. Noori M, Chehrehgani A, Hatami A. Nitrotoxins in 3 genera of Papilionoideae (Leguminosae) from central of Iran. *Toxicological and Environmental Chemistry.* 2007; 89 (3): 479-485.

## Studies of UV-C Effects on *Coronilla varia* L. Chlorophyll and Flavonoids

Noori M, Ph.D.<sup>1\*</sup>, Poorimani R, Ph.D.<sup>2</sup>, Khodae M, M.Sc.<sup>3</sup>

1. Biology Department, Faculty of Sciences, Arak University, Arak 38156-8-8349, Iran

2. Department of Physics, Faculty of Science, University of Arak, P.O.Box: 879, Post Code: 38156-88349

3. M.Sc. of Phytochemistry, Chemistry Department, Faculty of Science, Sistan and Balochestan University, Zahedan, P. O. Box: 98135-674.

\* Email corresponding author: m.noori@araku.ac.ir

Received: 23 Oct. 2011

Accepted: 5 Jun. 2012

---

### Abstract

**Aim:** Reduction in ozone layer diameter as a result of increasing amount of pollutant causes reduced absorbance of sun light UV rays by this layer. Consequently, living organisms, such as plants are damaged. Occurring photochemical changes in plants are some adaptation, defense and confronting reactions against these damages. So, studies of these changes are important in higher plants.

**Material and methods:** Studing ten cultivation groups seed and field plants consist of control and UV-C treated (totally 1-20 hours) of *Coronilla varia* L. were prepared in equal soil and cultivation condition. All of ninety-day old plants were used for chlorophyll-metry and flavonoid studies using 2-dimentional paper and thin layer chromatography methods.

**Results:** Chlorophyllmetric results showed a decrease in chlorophyll content in UV-C treated plants in comparison with the control. Comparising the leaf flavonoids showed that the number and kind of leaf flavonoid changes in UV-C treated plants in comparison with the control. These changes include Luteolin and Vitexin in treated plants and absence of them in control, Kaempferol presence in the treated field plants and absence of them in the others, Chrysin in the control and absence of them in the treated plants and the disappearing of Apeginin, Isorhamnetin, Rhamnetin, Narengenin, Myricetin and Quercetin in treated field samples.

**Conclusion:** It is believed that phytochemical changes consisting of flavonoids kind and number varieties are defensive reactions of plant against physiological stresses such as UV-C.

**Keywords:** UV, *Coronilla varia* L., Chlorophyll, Flavonoids, Phytochemical changes