

بررسی کاربرد پرتو فرابنفش UVB در افزایش ترکیبات فنلی گیاه دارویی آلوئه‌ورا

آتوسا وزیری

گروه زیست‌شناسی، دانشگاه پیام‌نور، ایران

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۰۷/۰۸، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹۸/۰۱/۲۸)

چکیده

با توجه به اینکه کاربرد پرتو فرابنفش UVB می‌تواند به‌عنوان روشی آسان و مقرون به‌صرفه برای افزایش انباشت ترکیبات فنلی در گیاهان دارویی مورد استفاده قرار گیرد، در این تحقیق پاسخ گیاه دارویی آلوئه‌ورا به تابش دوزهای مختلف پرتو فرابنفش UVB (۱۰ و ۳۰ کیلوژول بر متر مربع در روز) در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار مورد بررسی قرار گرفت. تیمار گیاهان رشدیافته در شدت نور ۶۰۰ میکرومول بر متر مربع در ثانیه با دوز ۳۰ کیلوژول بر متر مربع در روز پرتو فرابنفش UVB باعث کاهش معنی‌دار توده خشک برگ گیاه آلوئه‌ورا گردید. کاهش معنی‌دار وزن برگ در این شرایط با کاهش شاخص کارایی فتوسنتز (PIabs) و افزایش انباشت مالون دی‌آلدئید (MDA) همراه بود. اگرچه، گیاهان رشدیافته تحت تیمار دوز ۱۰ کیلوژول بر متر مربع در روز، دارای بیشترین مقدار انباشت پرولین و قند محلول در برگ‌های خود بودند. همچنین بیشترین مقدار انباشت فنل در برگ‌های این گیاهان مشاهده شد. همبستگی مثبت بین مقدار انباشت فنل در برگ‌ها و خاصیت ضداکسایشی عصاره برگ‌ها مشاهده گردید. نتایج این تحقیق نشان داد که تیمار پرتو فرابنفش با دوز ۱۰ کیلوژول به مدت ۲۱ روز می‌تواند به‌عنوان روشی برای افزایش کیفیت و ارزش غذایی و دارویی برگ‌های گیاه آلوئه‌ورا از طریق افزایش میزان فنل‌ها به کار رود بدون آنکه ساختارهای فتوسنتزی دچار آسیب شوند.

واژه‌های کلیدی: آلوئه‌ورا، فنل، کارایی فتوسنتز، UVB

مقدمه

(2012). انباشت ROS باعث پراکسیداسیون لیپیدهای غشا تیلاکوئید، مهار سنتز پروتئین D1 و در نهایت مهار بازسازی فتوسیستم II می‌گردد (Chen et al., 2012). در چنین شرایطی گیاه از طریق افزایش فروکش غیرفتوشیمیایی (NPQ)، جریان انتقال الکترون چرخه‌ای و همچنین سایر سازوکارهای حفاظت نوری می‌تواند با تداوم مهار نوری (که ممکن است به آسیب نوری منجر شود) مقابله کند (Takahashi and Badger, 2011). یکی از مهم‌ترین سازوکارهای حفاظت نوری در گیاهان، فعالیت سیستم جاروب‌کننده ROS برای تجزیه

به‌دنبال تغییرات اقلیمی در بخش‌های قابل توجهی از کره زمین، میزان تشعشعات پرتو فرابنفش افزایش یافته و تأثیراتی عمیقی بر حیات جانداران گذاشته است. تشعشعات پرتو فرابنفش تغییرات گسترده مورفولوژیک و فیزیولوژیک را در گیاهان عالی ایجاد می‌کند (Mosadegh et al., 2018). تیمار پرتو فرابنفش باعث تخریب پروتئین D1 موجود در فتوسیستم II می‌شود و هم باعث افزایش انباشت گونه‌های واکنش‌پذیر اکسیژن (ROS) در کلروپلاست می‌گردد (Ivanov et al.,

آنتی‌اکسیدانت این گیاهان دارویی را افزایش داد تا کیفیت دارویی و آنتی‌اکسیدانتی آنها بالا رود و (۳) برخی سازوکارهای فیزیولوژیک و بیوشیمیایی اثر پرتو فرابنفش را تعیین کرد.

مواد و روش‌ها

پایه‌های جوان آلوئه‌ورا با طول تقریبی ۲۰ سانتی‌متر که از گیاه مادر منشعب شده بودند، جداسازی و در گلدان‌های جداگانه کشت شدند. گیاهان در شرایط گلخانه با دوره روشنایی ۱۲/۱۶ ساعت و دمای ۲۱/۲۸ درجه سلسیوس (به‌ترتیب در دوره روشنایی/تاریکی) و شدت نور ۱۸۵ میکرومول/مترمربع/ثانیه که توسط لامپ‌های فلورسنت تأمین شده بود، رشد کردند. پس از رشد گیاهان در شرایط پیش‌تیمار، گیاهان به‌مدت سه هفته تحت تیمارهای فرابنفش B با شدت‌های ۱۰ و ۳۰ کیلوژول بر متر مربع در روز در شدت‌های نور ۳۰۰ و ۶۰۰ میکرومول بر متر مربع در ثانیه قرار گرفتند. پس از گذشت سه هفته گیاهان برداشت شدند. سنجش رنگی‌ها و متابولیت‌ها بر روی نمونه‌های تازه برداشت‌شده و یا نگهداری‌شده در ازت مایع انجام شد.

سنجش رنگی‌های برگ: جهت سنجش مقدار رنگی‌ها، نمونه‌های گیاهی با آب دوبار تقطیر شستشو شده و بر روی کاغذ صافی خشک شدند. پس از اندازه‌گیری وزن تر (تقریباً ۲۰۰ میلی‌گرم)، نمونه‌ها در داخل ورقه آلومینیومی قرار گرفته و در ازت مایع تا زمان سنجش نگهداری شدند. استخراج ماده مورد نظر با استفاده از استون بر روی یخ و با هاون چینی سرد انجام شد. غلظت کلروفیل و کاروتنوئیدها به‌وسیله دستگاه اسپکتروفوتومتر، بعد از ۲۴ ساعت استخراج در استون ۱۰۰ درصد تعیین شد. جذب در ۶۶۲، ۶۴۵ و ۴۷۰ نانومتر اندازه‌گیری شده و غلظت کلروفیل a و b و کل طبق فرمول‌های زیر محاسبه شد (Lichtenthaler and Wellburn, 1985).

$$\text{Chl } a = 11.75 A_{662} - 2.350 A_{645}$$

$$\text{Chl } b = 18.61 A_{645} - 3.960 A_{662}$$

سنجش پارامترهای فلورسانس کلروفیل: جهت تعیین

فلورسانس کلروفیل، از دستگاه فلورسانس‌سنج (دستگاه

گونه‌های فعال اکسیژن تولید شده در شرایط شدت نور بالا است. گیاهان دارای دو سیستم پاسخگو آنتی‌اکسیداتیو شامل سیستم آنزیمی و سیستم غیرآنزیمی بر علیه ROS هستند (Habibi, 2014). آنزیم‌های این سیستم دفاعی شامل سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، کاتالاز (CAT)، آسکوربات پراکسیداز (APX)، دهیدروآسکوربات رودوکتاز (DHAR) و گلوکاتایون رودوکتاز (GR) است. سیستم غیرآنزیمی شامل آسکوربیک اسید (ASA)، گلوکاتایون، آلفاتوکوفرول (ویتامین E) و کاروتنوئیدها است (Habibi and Ajory, 2015). آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مثل سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز نقش کلیدی را در مقابله با صدمات گونه‌های فعال اکسیژن ایفا می‌کنند. آنزیم سوپراکسید دیسموتاز رادیکال‌های اکسیژن (O_2^-) را به هیدروژن پراکسید تبدیل می‌کند و در ادامه آنزیم کاتالاز موجب تجزیه هیدروژن پراکسیدها می‌شود و از صدمات آنها جلوگیری می‌شود.

گیاهان تحت تنش فرابنفش در طی سازوکار دیگری، مولکول‌های فیلترکننده و جاذب پرتو فرابنفش از جمله ترکیبات فنلی یا فنولیک‌ها (مثل فنل‌ها و آنتوسیانین‌ها) که در سیتوپلاسم سنتز و در واکوئل انباشته می‌شوند را ذخیره می‌کنند (Takahashi and Badger, 2011). در تحقیقی در سال ۲۰۱۸، Mosadegh و همکاران تیمار پرتو فرابنفش را برای افزایش ترکیبات فنلی در ریحان استفاده کرده‌اند. گیاه آلوئه‌ورا توان زیستن در مناطق خشک با شدت نور بالا را دارد (Hazrati et al., 2017). با توجه به اینکه بیشترین استفاده دارویی گونه آلوئه‌ورا مربوط به درمان بیماری‌های پوستی، بخاطر وجود فلاونونوئیدها در عصاره گیاه مذکور است، همچنین از آنجایی‌که تحقیقی درباره جزئیات فیزیولوژیکی تأثیر فرابنفش بر خواص آنتی‌اکسیدانتی گیاه آلوئه‌ورا انجام نگرفته است و سازوکارهای فیزیولوژیک و بیوشیمیایی اثر پرتو فرابنفش در این گیاه ناشناخته مانده است، مهم‌ترین هدف این تحقیق افزایش توان آنتی‌اکسیدانت این گیاه با استفاده از پرتو فرابنفش است تا بتوان (۱) به کشت آنها با عملکرد بالا در مناطق خشک و مرتفع کشور مبادرت ورزید، (۲) ظرفیت

گیاهان از نوع پلی فنل ها است، از روش معرف فنلی فولین سیوکالتو (Mavi et al., 2004) برای سنجش فنل کل استفاده شد. برای این منظور ۵ گرم بافت سبز برگ یا ژل برگ جداسازی شده و پس از پودر شدن توسط هاون در ۱۰۰ میلی لیتر آب مقطر به مدت ۳۰ دقیقه جوشانده شد و با استفاده از کاغذ واتمن شماره ۴۲ صاف شد. غلظت ۲۵۰ میکرو لیتر معرف فولین با ۲۵ میکرو لیتر عصاره و ۵۰۰ میکرو لیتر محلول آبی سدیم کربنات ۲۰ درصد مخلوط شد. نمونه های شاهد فاقد عصاره بودند. پس از قراردادن نمونه ها در دمای آزمایشگاه به مدت ۳۰ دقیقه جذب آنها در طول موج ۷۶۵ نانومتر اندازه گیری شد و غلظت فنل کل براساس منحنی استاندارد گالیک اسید به دست آمد. برای هر عصاره این سنجش ۴ بار تکرار شد و میانگین فنل کل موجود در عصاره تیمارها به صورت میلی گرم گالیک اسید در گرم بافت بیان شد.

سنجش فلاونوئیدها: برای سنجش غلظت فلاونوئیدها، نمونه های برگ در متانول حاوی آلومینیوم کلراید دو درصد استخراج شده و پس از سانتریفوژ، روشناور برداشت و جذب آن در طول موج ۴۱۵ نانومتر خوانده شد. از غلظت های مختلف کوئرستین (صفر تا ۱۶ میلی گرم در لیتر) به عنوان استاندارد استفاده شد و غلظت فلاونوئیدها براساس واحد میلی گرم کوئرستین در گرم وزن تر بافت محاسبه شد (Simon et al., 1974).

سنجش مهار رادیکال های دی فنیل پیکریل هیدرازین: برای سنجش فعالیت آنتی اکسیدانتی عصاره به روش مهار ۲، ۲- دی فنیل-۱- پیکریل هیدرازین (DPPH) (Lee et al., 1998)، ابتدا عصاره ۱۰ گرم ژل در ۱۰۰ میلی لیتر متانول با استفاده از همزن مغناطیسی به مدت ۸ ساعت در دمای آزمایشگاه استخراج شد. مقدار ۲۵۰ میکرو لیتر از غلظت های مختلف عصاره (رقیق شده بین ۰/۱ تا ۲ میلی گرم در میلی لیتر) با ۴۵۰ میکرو لیتر بافر تریس اسید کلریدریک (pH=۷/۴) و یک میلی لیتر محلول متانولی دی فنیل پیکریل هیدرازین (۰/۱ میلی مولار) مخلوط شد. نمونه های شاهد به جای عصاره، متانول دریافت کردند. پس از گذشت ۳۰ دقیقه در دمای

فلوریمتر Pocket PEA، شرکت Hansatech، انگلستان) استفاده شد. پارامترهای فلورسانس کلروفیل در برگ های سازش یافته با تاریکی (به مدت حداقل ۲۰ دقیقه) شامل F_0 (فلورسانس پایه) و F_m (فلورسانس بیشینه) اندازه گیری شد.

سنجش متابولیت های مرتبط با دفاع آنتی اکسیدانت:

سنجش مالون دی آلدئید (MDA) به عنوان معیاری برای بررسی میزان پراکسیداسیون لیپیدها براساس روش بومیناتان و دوران (Boominathan and Doran, 2002) صورت گرفت. عصاره برگ در محلول ۰/۱٪ (وزنی/حجمی) تری کلرواستیک اسید (TCA) استخراج شده و به مدت پنج دقیقه در ۱۰۰۰۰ g سانتریفوژ شد. نسبت ۱ به ۴ از روشناور با محلول ۲۰٪ از TCA حاوی ۰/۵٪ تیوباربیئوریک اسید در لوله آزمایش با هم مخلوط شده و به مدت ۳۰ دقیقه در حمام آب گرم با دمای ۹۵ درجه سانتی گراد قرار گرفت. سپس لوله ها به سرعت سریعاً در یخ سرد شده و به مدت ۱۵ دقیقه در ۱۰۰۰۰ g سانتریفوژ شدند. هم زمان با عصاره های برگ انگور محلول های استاندارد در محدوده صفر تا ۱۰۰ نانومول از ۱، ۱، ۳، ۳- ترا اتوکسی پروپان تهیه شده و جذب نمونه ها در ۵۳۲ نانومتر توسط اسپکتروفوتومتر اندازه گیری شد. در نهایت غلظت مالون دی آلدئید نمونه ها بر حسب گرم وزن تر/نانومول محاسبه شد. غلظت هیدروژن پراکسید (H_2O_2) براساس روش ولی کوا و همکاران (Velikova et al., 2000) به دست آمد. محلول استخراج برگ ها محلول تری کلرواستیک اسید (۰/۱ درصد وزنی به حجمی) بود. عصاره ها به مدت ۱۵ دقیقه در ۱۲۰۰۰ سانتریفوژ شده و روشناور مورد استفاده قرار گرفت. ۵۰۰ میکرو لیتر از عصاره به یک میلی لیتر از محلول واکنشی شامل ۱۰ میلی مولار بافر فسفات پتاسیم (pH=۷) و یک مولار پتاسیم یدید اضافه شده و مخلوط حاصل به مدت ۶۰ دقیقه در تاریکی به منظور انجام واکنش قرار گرفت. جذب نمونه ها در ۳۹۰ نانومتر توسط اسپکتروفوتومتر اندازه گیری شد. مقادیر براساس منحنی استاندارد H_2O_2 در محدوده صفر تا ۵۰ نانومول محاسبه شد.

سنجش فنل کل: از آنجایی که بیشترین ترکیبات فنلی

پاسخ سازگاری محسوب می‌شود (Dar et al., 2016; Fang et al., 2019). همچنین در این تحقیق، تیمار پرتو فرابنفش (UVB) باعث افزایش انباشت پرولین به‌عنوان یک پاسخ سازگاری در گیاه آلوئه‌ورا گردید.

تأثیر پرتو فرابنفش و شدت نور بر ظرفیت فتوشیمیایی فتوستتیز: مقایسه محتوی رنگیزه‌های فتوستتیزی در برگ‌های آلوئه‌ورا در شدت نورهای مختلف نشان داد که بیشترین انباشت کلروفیل *b* در برگ‌های تیمار شده با پرتو فرابنفش ۱۰ کیلوژول در شدت نور ۶۰۰ میکرومول مشاهده گردید (شکل ۱). تیمار پرتو فرابنفش تأثیر معنی‌داری بر محتوی کلروفیل *a* و کاروتنوئید نداشت. تغییر نکردن مقدار کاروتنوئید تحت تیمار پرتو فرابنفش در این تحقیق، با نتایج Surabhi و همکاران (۲۰۰۹) در گیاه لوبیای چشم‌بلبلی تحت تیمار پرتو فرابنفش مطابقت داشت. شاخص F_v/F_m یکی از شاخص‌های مهم جهت تعیین مقاومت به انواع تنش‌ها از جمله پاتوزن‌ها، خشکی، سرما و پرتو فرابنفش است (Habibi and Ajory, 2015). سنجش F_v/F_m برگ‌های گیاه آلوئه‌ورا نشان داد که این پارامتر در پاسخ به پرتو فرابنفش در شدت نورهای مختلف تغییری نشان نداد (شکل ۲). هر چند شاخص شاخص کارایی فتوسیستم‌ها (PI_{abs}) در برگ‌های آلوئه‌ورا در پاسخ به شدت نور بالا افزایش معنی‌دار نشان داد. پارامتر PI_{abs} یک پارامتر کمپلکس است که با ظرفیت فتوستتیزی و میزان تثبیت دی‌اکسید کربن در برگ‌ها همبستگی دارد (Van Heerden et al., 2007). مقدار بالای پارامتر PI_{abs} در برگ‌های آلوئه‌ورا در پاسخ به شدت نور بالا نشان داد که شاید ظرفیت فتوستتیزی و سرعت تثبیت دی‌اکسید کربن با افزایش شدت نور در برگ‌های آلوئه‌ورا، افزایش می‌یابد. یافته‌های این تحقیق، همچنین با نتایج Habibi و Ajory (۲۰۱۵) که نشان دادند افزایش شاخص کارایی فتوسیستم‌ها با افزایش محتوی کلروفیل *b* در گیاه ماروبیوم ولگار همبستگی دارد، در توافق است.

تأثیر پرتو فرابنفش و شدت نور بر متابولیسم فنلی و خواص آنتی‌اکسیدانتی: هر چند اعمال تیمار پرتو فرابنفش در

آزمایشگاه در تاریکی، جذب نمونه‌ها در ۵۱۷ نانومتر اندازه‌گیری شد و فعالیت آنتی‌اکسیدانتی عصاره‌ها براساس درصد مهار رادیکال‌های دی‌فنیل پیکریل هیدرازین با رابطه زیر به‌دست آمد:

$$\text{درصد مهار } (I) = (\text{جذب نمونه} - \text{جذب شاهد}) / \text{جذب شاهد} \times 100$$

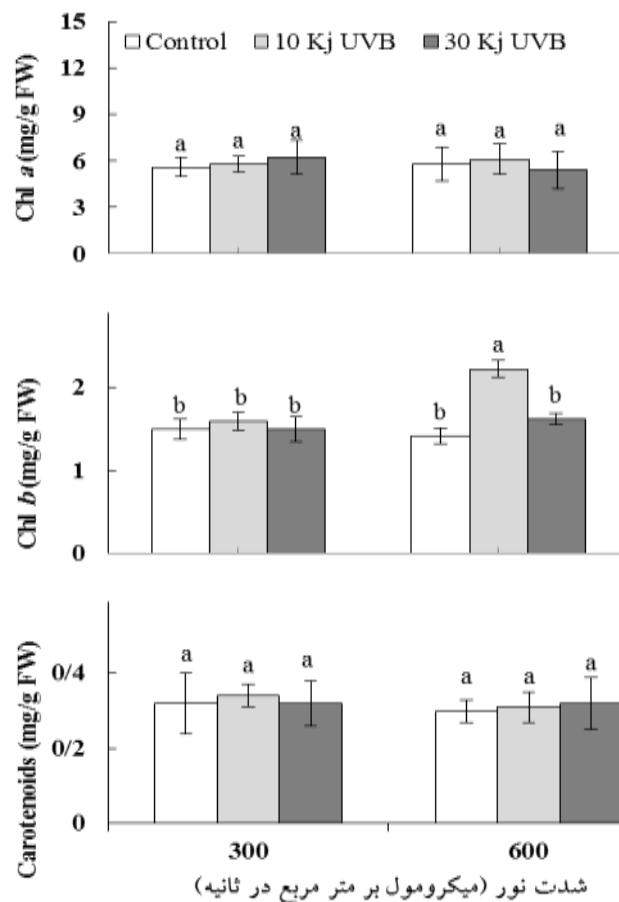
طرح آزمایشی و تجزیه داده‌ها: آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار اجرا شد. میانگین و انحراف معیار (SD) داده‌ها و همچنین رسم نمودارها به‌وسیله نرم‌افزار Excel 2010 انجام شد. برای گروه‌بندی میانگین‌ها نیز از نرم‌افزار Sigma Stat 3.5 با آزمون Tukey در سطح احتمال $P \leq 0/05$ استفاده شد.

نتایج و بحث

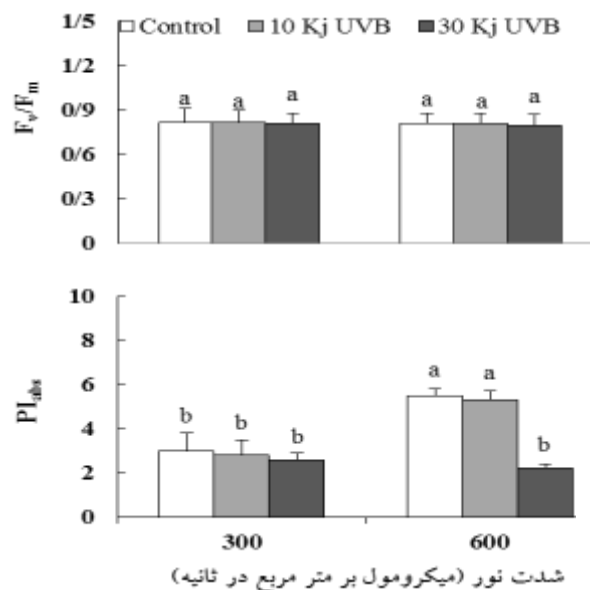
تأثیر پرتو فرابنفش و شدت نور بر رشد و انباشت اسمولیت‌ها هر چند تیمار پرتو فرابنفش در شدت نور پایین (۳۰۰ میکرومول) تأثیر معنی‌داری بر وزن تر و خشک برگ‌ها نداشت، تیمار توأم پرتو فرابنفش ۳۰ کیلوژول در شدت نور ۶۰۰ میکرومول باعث کاهش معنی‌دار وزن تر و خشک برگ‌ها شد (جدول ۱). نتایج این تحقیق با نتایج Berli و همکاران (۲۰۱۳) در گیاه انگور و همچنین یافته‌های Surabhi و همکاران (۲۰۰۹) در لوبیای چشم‌بلبلی سازگار بود. آنها نشان دادند تیمار پرتو فرابنفش با دز بالای ۱۵ کیلوژول باعث کاهش سرعت فتوستتیز و افت زیست‌توده ساقه و برگ می‌شود. مقایسه مقدار قند محلول و پرولین در برگ‌های آلوئه‌ورا در شدت نورهای مختلف نشان داد که بیشترین انباشت قند محلول و پرولین در برگ‌های تیمار شده با پرتو فرابنفش ۱۰ و ۳۰ کیلوژول در شدت نور ۶۰۰ میکرومول مشاهده گردید (جدول ۱). تیمار پرتو فرابنفش تأثیر معنی‌داری بر محتوی نشاسته نداشت. افزایش انباشت قند محلول و پرولین تحت تیمار پرتو فرابنفش در این تحقیق، با نتایج Berli و همکاران (۲۰۱۳ و ۲۰۱۵) در گیاه انگور مطابقت داشت. افزایش انباشت پرولین در گیاهان در پاسخ به تنش‌های غیرزیستی به‌عنوان یک

جدول ۱- تأثیر تیمار پرتو فرابنفش بر وزن تر و خشک برگ‌ها (گرم/ برگ)، مقدار قند محلول، نشاسته و پرولین (میلی‌گرم/گرم وزن تر) گیاه آلوئه‌ورا که در شدت نورهای مختلف رشد کرده است. میانگین چهار تکرار \pm StD (انحراف معیار) است. حروف یکسان بیانگر عدم‌اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌ها در سطح $P < 0/05$ است.

۳۰Kj UVB	۱۰Kj UVB	شاهد	شدت نور	
۴۰۰±۴۱ ^a	۴۲۳±۱۸ ^a	۴۱۰±۲۵ ^a	۳۰۰	وزن تر برگ
۳۲۰±۱۹ ^b	۴۴۵±۴۱ ^a	۴۳۱±۳۰ ^a	۶۰۰	
۳۱±۴/۱ ^a	۳۲±۳/۳ ^a	۳۶±۶/۲ ^a	۳۰۰	وزن خشک برگ
۲۴±۸/۲ ^b	۳۵±۵/۲ ^a	۳۷±۳/۴ ^a	۶۰۰	
۱۵±۱/۷ ^{abc}	۱۴±۱/۸ ^{bc}	۱۲±۱/۶ ^c	۳۰۰	قند محلول
۱۸±۸/۱ ^{ab}	۱۹±۲/۱ ^a	۱۳±۲/۴ ^c	۶۰۰	
۰/۶۲±۰/۲۷ ^a	۰/۸۵±۰/۳۲ ^a	۰/۷۴±۰/۱۲ ^a	۳۰۰	نشاسته
۰/۷۴±۰/۳۳ ^a	۰/۸۱±۰/۲۳ ^a	۰/۶۸±۰/۱۷ ^a	۶۰۰	
۱/۲۵±۰/۲۴ ^c	۱/۴۵±۰/۲۴ ^{abc}	۱/۲۶±۰/۱۲ ^{bc}	۳۰۰	پرولین
۱/۷۴±۰/۱۱ ^{ab}	۱/۸۸±۰/۲۸ ^a	۱/۳۳±۰/۲۵ ^{bc}	۶۰۰	



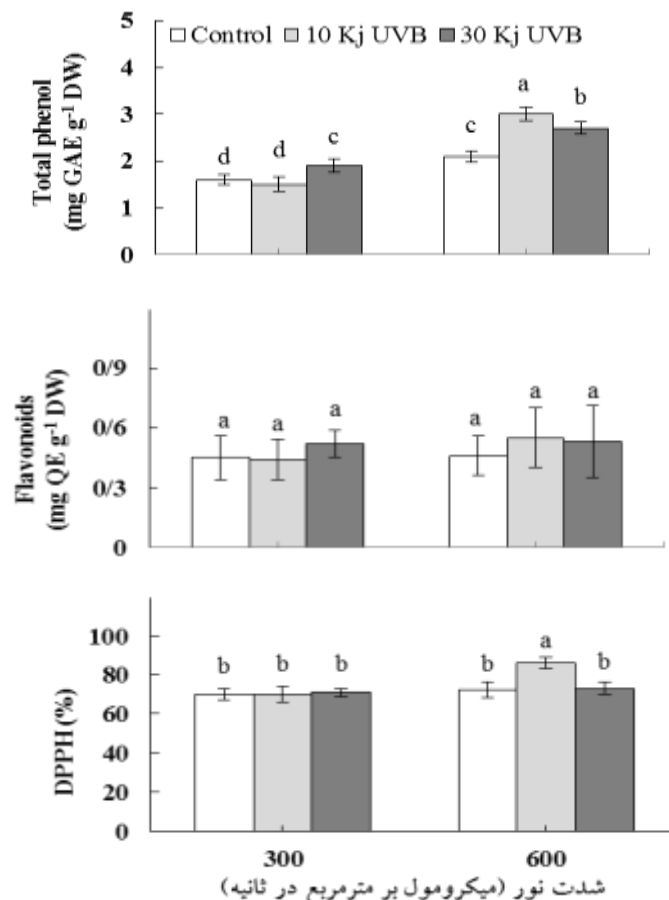
شکل ۱- تأثیر تیمار پرتو فرابنفش بر مقدار رنگیزه‌های فتوسنتزی در گیاه آلوئه‌ورا که در شدت نورهای مختلف رشد کرده است. میانگین چهار تکرار \pm StD (انحراف معیار) است. حروف یکسان بیانگر عدم‌اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌ها در سطح $P < 0/05$ است.



شکل ۲- تأثیر تیمار پرتو فرابنفش بر و پیشینه عملکرد کوانتومی فتوسیستم II (F_v/F_m) و شاخص کارایی فتوسیستمها (PI_{abs}) در گیاه آلوئه‌ورا که در شدت نورهای مختلف رشد کرده است. میانگین چهار تکرار \pm Std (انحراف معیار) است. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌ها در سطح $P < 0.05$ است.

nobilis مطابقت داشت. آنها نشان دادند که تیمار پرتو فرابنفش باعث افزایش انباشت فنل به‌عنوان یک پاسخ سازگاری در گیاهان می‌شود. در این تحقیق، افزایش مقادیر فنل کل برگ‌ها به‌عنوان سازوکار حفاظت نوری عمل کرد. از آنجایی که شدت نور بالا باعث آسیب مستقیم فتوسیستم II می‌شود (Tyystjarvi, 2008)، گیاهان برای مقابله با آسیب نوری فتوسیستم‌ها، مقادیر بالای فیلترهای نوری شامل فنل‌ها و فلاونوئیدها در اپیدرم برگ‌های خود ذخیره می‌کنند (Takahashi and Badger, 2011). نتایج این تحقیق نشان داد که گیاهان آلوئه‌ورا با فعال کردن سازوکار حفاظت نوری یعنی افزایش توان فیلترکردن پرتو فرابنفش در سلول‌های اپیدرم برگ‌ها، خود را با شرایط پرتو فرابنفش سازگار می‌کنند. ترکیبات فنلی متابولیت‌های غنی از کربن و به‌عنوان گروه بزرگی از متابولیت‌های ثانویه گیاهی هستند. همچنین این ترکیبات جز آنتی‌اکسیدانت‌ها محسوب شده و در شرایط تنش‌های غیرزیستی ممکن است در جاروب کردن رادیکال‌های آزاد و گونه‌های فعال اکسیژن نقش ایفا کنند (Dicko et al., 2005).

شدت نورهای مختلف تغییر معنی‌داری در مقدار فلاونوئید ایجاد نکرد، شدت نور ۳۰۰ و ۶۰۰ میکرومول به‌تنهایی باعث افزایش معنی‌دار فنل کل در برگ‌ها شدند (شکل ۳). تیمار با پرتو فرابنفش ۱۰ و ۳۰ کیلوژول باعث تشدید انباشت فنل کل در شدت نور ۶۰۰ میکرومول گردید. اگرچه میزان فنل در تیمار ۳۰ کیلوژول نسبت به شاهد افزایش معنی‌دار داشت ولی نسبت به تیمار ۱۰ کیلوژول کاهش نشان داد. اعمال پرتو فرابنفش ۳۰ کیلوژول باعث افزایش شاخص پراکسیداسیون لیپیدها شد و در نتیجه منجر به بروز تنش اکسیداتیو در برگ‌های این گیاه گردید. به احتمال قوی تنش اکسیداتیو در تیمار ۳۰ کیلوژول توانسته با تخریب مولکول‌های آلی از جمله پروتئین‌ها، سطح فعالیت آنزیم‌ها از جمله فعالیت آنزیم کلیدی بیوسنتز فنل‌ها یعنی فنیل آلانین آمونیلایز را کاهش داده و در نتیجه میزان فنل را دچار کاهش کند. افزایش انباشت فنل تحت تیمار پرتو فرابنفش در این تحقیق، با نتایج Inostroza-Blancheteau و همکاران (۲۰۱۴) در گیاه *Vaccinium blueberry* Escobar و همکاران (۲۰۱۷) در گیاه *Laurus corymbosum* Bernal و همکاران (۲۰۱۵) در گیاه

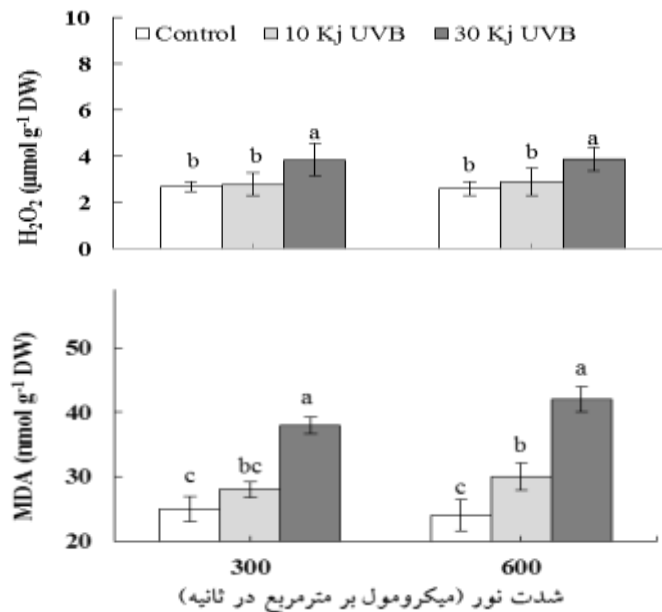


شکل ۳- تأثیر تیمار پرتو فرابنفش مقدار فنل و فلاونوئید و مهار رادیکال‌های دی‌فنیل پیکریل هیدرازین در گیاه آلوئه‌ورا که در شدت نورهای مختلف رشد کرده است. میانگین چهار تکرار \pm StD (انحراف معیار) است. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌ها در سطح $P < 0.05$ است.

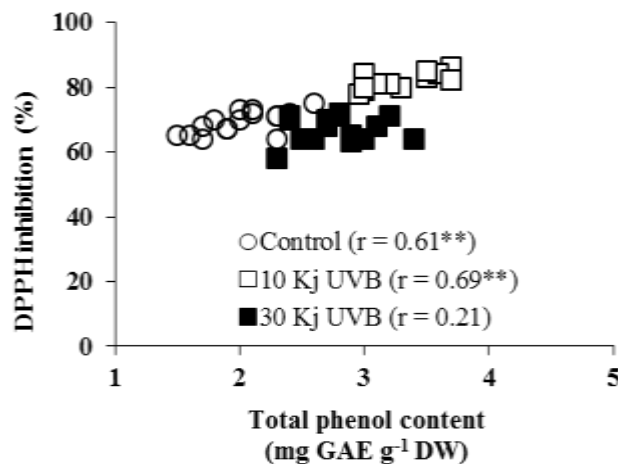
تأثیر تنش قرار می‌گیرد، در این تحقیق برای تعیین آسیب غشاها در شرایط خشکی، مقدار MDA را به‌عنوان شاخص پراکسیداسیون لیپیدها سنجش شد (شکل ۴). اعمال پرتو فرابنفش ۳۰ کیلوژول باعث افزایش مقدار MDA و H_2O_2 برگ‌های آلوئه‌ورا شد و افزایش شاخص پراکسیداسیون لیپیدها نشان داد که اعمال پرتو فرابنفش ۳۰ کیلوژول در این تحقیق باعث تنش اکسیداتیو در برگ‌های گیاه شده است (Habibi, 2014). در مقایسه، شاخص پراکسیداسیون لیپیدها در برگ‌های تیمار شده با پرتو فرابنفش ۱۰ کیلوژول تغییر معنی‌داری نشان نداد.

بررسی درصد مهار رادیکال‌های آزاد دی‌فنیل پیکریل هیدرازین توسط عصاره برگ‌های گیاه آلوئه‌ورا نشان داد که افزایش مقدار فنل کل در برگ‌های تیمار شده با پرتو فرابنفش

بررسی درصد مهار رادیکال‌های آزاد دی‌فنیل پیکریل هیدرازین توسط عصاره برگ‌های گیاه آلوئه‌ورا نشان داد که برگ‌های تیمار شده با پرتو فرابنفش ۱۰ کیلوژول، بیشترین توان مهار رادیکال‌های DPPH را بروز دادند (شکل ۳). از آنجایی که مهار رادیکال‌های آزاد دی‌فنیل پیکریل هیدرازین به‌عنوان معیاری برای فعالیت و ظرفیت آنتی‌اکسیدانتی عصاره برگ محسوب می‌شود (Dziąło *et al.*, 2016)، نتایج این تحقیق نشان داد که افزایش درصد مهار رادیکال‌های آزاد دی‌فنیل پیکریل هیدرازین از طریق افزایش میزان فنل‌ها انجام گرفته است و می‌تواند به‌عنوان عاملی در جهت افزایش کیفیت و ارزش غذایی و دارویی برگ‌های گیاه آلوئه‌ورا در تیمار پرتو فرابنفش مطرح شود. از آن جایی که غشا اولین بخش از سلول است که تحت



شکل ۴- تأثیر تیمار پرتو فرابنفش بر غلظت هیدروژن پراکسید و مالون دی آلدئید در گیاه آلوئه‌ورا که در شدت نورهای مختلف رشد کرده است. میانگین چهار تکرار \pm StD (انحراف معیار) است. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی دار بین میانگین‌ها در سطح $P < 0.05$ است.



شکل ۵- بررسی همبستگی مقدار فنل کل در برگ‌های تیمار شده با پرتو فرابنفش ۱۰ و ۳۰ کیلوژول، با افزایش توان مهار رادیکال‌های DPPH در برگ‌های گیاه آلوئه‌ورا که در شدت نور ۶۰۰ میکرومول رشد کرده بود.

خاصیت آنتی‌اکسیدانت برگ‌ها افزایش نیافت.

نتیجه‌گیری

هر دو شدت پرتو فرابنفش، یعنی ۱۰ و ۳۰ کیلوژول توانستند باعث افزایش مقدار فنل کل در برگ‌ها شوند ولی تیمار پرتو فرابنفش ۱۰ کیلوژول به دلیل تحریک سازوکارهای حفاظت نوری و عدم تولید اکسیدانت‌های MDA و H₂O₂ توانست

۱۰ کیلوژول، با افزایش توان مهار رادیکال‌های DPPH همبستگی داشت (شکل ۵). در مقایسه، افزایش مقدار فنل کل در برگ‌های تیمار شده با پرتو فرابنفش ۳۰ کیلوژول، با افزایش توان مهار رادیکال‌های DPPH همبستگی نداشت. این یافته نشان داد که هرچند پرتو فرابنفش ۳۰ کیلوژول باعث افزایش مقدار فنل کل در برگ‌ها گردید ولی به‌خاطر وقوع تنش و تولید اکسیدانت‌های MDA و H₂O₂ در این شدت پرتو فرابنفش، توان مهار رادیکال‌های DPPH به‌عنوان شاخص

به‌طور مؤثری درصد مهار رادیکال‌های آزاد دی‌فنیل پیکریل هیدرازین توسط عصاره برگ‌های گیاه آلوئه‌ورا را بهبود دهد. در نتیجه جهت افزایش کیفیت و ارزش غذایی و دارویی برگ‌های گیاه آلوئه‌ورا، تیمار پرتو فرابنفش ۱۰ کیلوژول در شدت نور بالا توصیه می‌شود.

منابع

- Berli, F. J., Alonso, R., Beltrano, J. and Bottini, R. (2015) High-altitude solar UV-B and abscisic acid sprays increase grape berry antioxidant capacity. *American Journal of Enology and Viticulture* 66: 65-72.
- Berli, F. J., Alonso, R., Bressan-Smith, R. and Bottini, R. (2013) UV-B impairs growth and gas exchange in grapevines grown in high altitude. *Physiologia Plantarum* 149: 127-140.
- Bernal, M., Verdaguer, D., Badosa, J., Abadia, A., Llusia, J., Penuelas, J., Nunez-Olivera, E. and Llorens, L. (2015) Effects of enhanced UV radiation and water availability on performance, biomass production and photoprotective mechanisms of *Laurus nobilis* seedlings. *Environmental and experimental botany* 109: 264-275.
- Boominathan, R. and Doran, P. M. (2002) Ni induced oxidative stress in roots of the Ni hyperaccumulator, *Alyssum bertoloni*. *New Phytologist* 156: 205-215.
- Chen, L., Jia, H., Tian, Q., Du, L. and Gao, Y. (2012) Protecting effect of phosphorylation on oxidative damage of D1 protein by down-regulating the production of superoxide anion in photosystem II membranes under high light. *Photosynthesis Research* 112: 141-148.
- Dar, M. I., Naikoo, M. I., Rehman, F., Naushin, F. and Khan, F. A. (2016) Proline accumulation in plants: roles in stress tolerance and plant development. In: *Osmolytes and Plants Acclimation to Changing Environment: Emerging Omics Technologies*. (eds. Iqbal, N., Nazar, R. and A. Khan, N.) Pp. 155-166. Springer, New Delhi.
- Dicko, M. H., Gruppen, H., Barro, C., Traore, A. S., van Berkel, W. J. and Voragen, A. G. (2005) Impact of phenolic compounds and related enzymes in sorghum varieties for resistance and susceptibility to biotic and abiotic stresses. *Journal of Chemical Ecology* 31: 2671-2688.
- Dzialis, M., Mierziak, J., Korzun, U., Preisner, M., Szopa, J. and Kulma, A. (2016) The potential of plant phenolics in prevention and therapy of skin disorders. *International Journal of Molecular Sciences* 17: 160.
- Escobar, A. L., de Oliveira Silva, F. M., Acevedo, P., Nunes-Nesi, A., Alberdi, M. and Reyes-Diaz, M. (2017) Different levels of UV-B resistance in *Vaccinium corymbosum* cultivars reveal distinct backgrounds of phenylpropanoid metabolites. *Plant Physiology and Biochemistry* 118: 541-550.
- Fang, C., Li, L., Zhang, P., Wang, D., Yang, L., Reza, B. M. and Lin, W. (2019) Lsi1 modulates the antioxidant capacity of rice and protects against ultraviolet-B radiation. *Plant Science* 278: 96-106.
- Habibi, G. (2014) Hydrogen Peroxide (H₂O₂) Generation, scavenging and signaling in plants. In: *Oxidative Damage to Plants: Antioxidant Networks and Signaling*. (ed. Ahmad, P.) Pp. 557-574. Elsevier, USA.
- Habibi, G. and Ajory, N. (2015) The effect of drought on photosynthetic plasticity in *Marrubium vulgare* plants growing at low and high altitudes. *Journal of Plant Research* 128: 987-994.
- Hazrati, S., Tahmasebi-Sarvestani, Z., Mokhtassi-Bidgoli, A., Modarres-Sanavy, S. A. M., Mohammadi, H. and Nicola, S. (2017) Effects of zeolite and water stress on growth, yield and chemical compositions of *Aloe vera* L. *Agricultural Water Management* 181: 66-72.
- Inostroza-Blancheteau, C., Reyes-Diaz, M., Arellano, A., Latsague, M., Acevedo, P., Loyola, R. and Alberdi, M. (2014) Effects of UV-B radiation on anatomical characteristics, phenolic compounds and gene expression of the phenylpropanoid pathway in highbush blueberry leaves. *Plant Physiology and Biochemistry* 85: 85-95.
- Ivanov, A. G., Allakhverdiev, S. I., Huner, N. P. A. and Murata, N. (2012) Genetic decrease in fatty acid unsaturation of phosphatidylglycerol increased photoinhibition of photosystem I at low temperature in tobacco leaves. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics* 1817: 1374-1379.
- Lee, S. K., Mbwambo, Z. H. and Chung, H. S. (1998) Evaluation of the antioxidant potential of natural products. *Combinatorial Chemistry and High Throughput Screening* 1: 35-46.
- Lichtenthaler, H. K. and Wellburn, A. R. (1985) Determination of total carotenoids and chlorophylls *a* and *b* of leaf in different solvents. *Biochemical Society Transactions* 11: 591-592.
- Mavi, A., Terzi, Z. and Ozgen, U. (2004) Antioxidant properties of some medicinal plants: *Prangos ferulacea* (Apiaceae), *Sedum sempervivoides* (Crassulaceae), *Malva neglecta* (Malvaceae), *Cruciata taurica* (Rubiaceae), *Rosa pimpinellifolia* (Rosaceae), *Galium verum* subsp. *Verum* (Rubiaceae), *Urtica dioica* (Urticaceae). *Biological and Pharmaceutical Bulletin* 27: 702-705.
- Mosadegh, H., Trivellini, A., Ferrante, A., Lucchesini, M., Vernieri, P. and Mensuali, A. (2018) Applications of UV-B lighting to enhance phenolic accumulation of sweet basil. *Scientia Horticulturae* 229: 107-116.
- Simon, L. M., Fatrai, Z., Jonas, D. E. and Matkovic, B. (1974) Study of peroxide metabolism enzymes during the development of *Phaseolus vulgaris*. *Biochemie und Physiologie der Pflanzen* 166: 387-392.

- Surabhi, G. K., Reddy, K. R. and Singh, S. K. (2009) Photosynthesis, fluorescence, shoot biomass and seed weight responses of three cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp.) cultivars with contrasting sensitivity to UV-B radiation. *Environmental and Experimental Botany* 66:160-71.
- Takahashi, S. and Badger, M. R. (2011) Photoprotection in plants: A new light on photosystem II damage. *Trends in Plant Science* 16: 1-10.
- Tyystjarvi, E. (2008) Photoinhibition of photosystem II and photodamage of the oxygen evolving manganese cluster. *Coordination Chemistry Reviews* 252: 361-376.
- Van Heerden, P. D. R., Swanepoel, J. W. and Kruger, G. H. J. (2007) Modulation of photosynthesis by drought in two desert scrub species exhibiting C₃-mode CO₂ assimilation. *Environmental and Experimental Botany* 61: 124-136.
- Velikova, V., Yordanov, I. and Edreva, A. (2000) Oxidative stress and some antioxidant systems in acid rain-treated bean plants-protective role of exogenous polyamines. *Plant Science* 151: 59-66.

A p plications of UV-B radiation to increase phenolic compounds of *Alo vera* L. plants

Atousa Vaziri

Department of Biology, Payame Noor University (PNU), Tehran, Iran
(Received: 30/09/2018, Accepted: 17/04/2019)

Abstract

Since supplemental UV-B radiation can provide a simple and economical alternative to increase phenolic compounds in plants, we evaluated the dynamic biological responses of *Alo vera* L. plants to different UV-B doses (10 and 30 kJ m⁻² day⁻¹). The experiment was performed on the basis of Completely Randomize Design with 4 independent replications. Under high light conditions (600 μmol m⁻² s⁻¹), UV-B radiation at 30 kJ m⁻² day⁻¹ caused significant damaging effects in the Alo plants in terms of leaf biomass. This reduction of leaf biomass was coupled with lower values of photosynthetic performance index (PI_{abs}) as well as higher levels of malondialdehyde (MDA). However, when plants were grown at 10 kJ, UV-B-induced increase of proline and soluble sugar content was detected in Alo leaves. In addition, plants treated with 10 kJ m⁻² day⁻¹ UVB dose manifested a significant phenol content enhancement compared to the control plants. Most importantly, a significant correlation was observwd between accumulation of leaf phenolic compound and their antioxidant potential, when UV-B radiation was applied at 10 kJ. Our data suggested that an improved accumulation of phenolic compounds could be achieved when UV-B radiation was applied at 10 kJ within 21 days. This can be used to apply UV-B radiations to improve the nutritional quality of Alo leaves by increasing accumulation of phenolic compounds, without affecting the efficiency of photosynthetic apparatus.

Key words: *Alo vera* L., Phenol, Photosynthetic performance, UVB