تأثیر نور فرابنفش A بر رشد و برخی از ویژگی‌های فیزیولوژیکی نعناع فلفلی (*Mentha piperita*)

Effect of UV-A Radiation on Growth and Some Physiological Properties of Peppermint (*Mentha piperita*)

حسن ساری‌خانی[۱*]

تاریخ دریافت: ۹۱/۰۷/۰۲ تاریخ پذیرش: ۹۲/۱۱/۰۲

چکیده

تنش نوری فرابنفش یکی از تنش‌های محیطی مهم است که در حالت شدید می‌تواند باعث از بین رفتن گیاهان شود. اما در گیاهان دارویی، اعمال تنش نوری فرابنفش به‌صورت کنترل‌شده می‌تواند باعث فعال‌شدن سیستم‌های تولید متابولیت‌های ثانویه شده و افزایش ارزش گیاهان دارویی را باعث شود. پژوهش حاضر با هدف بررسی تأثیر نور فرابنفش A بر رشد و فیزیولوژی گیاه دارویی نعناع فلفلی صورت گرفته است. در این پژوهش گیاهچه‌های نعناع فلفلی در شرایط گلخانه کشت شدند و به‌صورت تکمیلی تحت پرتوتابی نور فرابنفش با طول موج ۳۶۵ نانومتر حاصل از دیودهای ساطع‌کننده نور در چهار تیمار ۰ (شاهد)، ۱، ۲ و ۴ ساعت پرتو فرابنفش قرار گرفتند. گیاهچه‌ها پس از ۶۰ روز تیمار برداشت شدند و از نظر صفات طول شاخه، سطح برگ، وزن تر، وزن خشک، درصد ماده خشک، محتوای کلروفیل برگ، محتوای پروتئین، محتوای فنل کل و محتوای اسانس مورد بررسی قرار گرفتند. نتایج نشان داد که نوردهی فرابنفش باعث کاهش رشد رویشی و عملکرد پیکره رویشی گردید. محتوای کلروفیل در تیمارهای ۱ و ۲ ساعت نوردهی فرابنفش با شاهد تغییری نکرد اما در تیمار ۴ ساعت نوردهی فرابنفش کاهش یافت. در مقابل افزایش در فعالیت محتوای ترکیبات فنلی و محتوای اسانس در تیمارهای نور فرابنفش دیده شد. در کل می‌توان چنین نتیجه‌گیری کرد که گیاه نعناع فلفلی گیاهی حساس به نور فرابنفش A است که جهت مقابله با تنش فرابنفش ترکیبات فنلی در آن افزایش می‌یابد. اعمال تنش ملایم فرابنفش A در این گیاه با کاهش اندک عملکرد منجر به افزایش زیاد متابولیت‌های ثانویه می‌شود.

واژه‌های کلیدی: نعناع فلفلی، نور فرابنفش، رشد، عملکرد، فنل کل

۱. استادیار گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی دانشگاه بوعلی‌سینا، همدان

*: نویسنده مسئول Email: sarikhani@basu.ac.ir

مقدمه

نعناع فلفلی (*Mentha piperita*) گیاهی چندساله از خانواده نعناع است که در صنایع عطرسازی، آرایشی و دارویی کاربرد فراوانی دارد. با این‌که سالانه حدود ۲۰۰۰ تن اسانس از گونه‌های جنس نعناع تولید می‌شود و پس از مرکبات مهم‌ترین اسانس در بین اسانس‌های گیاهی است تقاضا برای اســـانس آن‌ها و به‌ویژه اسانس نعناع فلفلی روبه افزایش است *تلسیا*[1] و همکاران (2011). نعناع فلفلی گیاهی چندساله علفی است که ارتفاع آن به ۳۰ تا ۹۰ سانتی‌متر می‌رسد. ساقه گیاه چهارگوش و به رنگ قرمز ارغوانی است. برگ‌های گیاه به‌طول ۲/۵ تا ۵ سانتی‌متر می‌باشد و گل‌های ارغوانی- صورتی گیاه در تابستان ظاهر می‌شود. این گیاه دارای ساقه رونده‌رو و زیرزمینی است که از طریق این ساقه‌های رونده تکثیر می‌شود *شاه و دیملو*[2] (2004) و در بین گونه‌های نعناع، این گونه به شرایط آب و هوایی گسترده‌تری سازگار است *تلسیا* و همکاران (2011).

گیاهان برای فعالیت‌های متعدد خود ماننـد فتوسنـــتز، گل‌انگیزی، نورگرایی، رشد و تولید بسیاری از متابولیت‌های گیاهی به نور نیاز دارند. نور موردنیاز گیاهان از لحاظ شدت، مدت تابش یا فتوپریود و همچنین از لحاظ کیفیت نور اهمیت زیادی دارد. نورخورشید دارای فوتون‌هایی با طـــول موجهـــایی بین 10^{-3} تا 10^{15} نانومتر است که تنها بخشی از این طیف وسیع، که به نام نور مرئی نامیده می‌شود و دارای طول موجی بین ۳۸۰ نانومتر تا ۷۶۰ نانومتر است در اکثر پدیده‌های گیاهی شرکت دارند. همچنین نور مطلوب برای فتوسنتز در محدوده آبی و قرمز طیف مرئی است (*تایز و زایگر*[3]، 2006؛ *راجاپاکسه و شاهک*[4]، 2007). در گیاهان گیرنده‌های نوری متعددی وجود دارند که هر کدام از این رنگیزه‌ها طیف خاصی از نور را دریافت می‌کنند. به‌طور معمول فیتوکروم‌ها طیف قرمز و قرمز دور را دریافت می‌کنند و کریپتوکروم‌ها و فتوتروپین‌ها علاوه‌بر نور آبی توانایی دریافت بخشی از نور فرابنفش را نیز دارند (*بریگس و هوالا*[5]، 1999). پس از جذب پرتوهای نور خورشید واکنش‌های فتوشیمیایی در مولکول‌های گیرنده نور رخ می‌دهد که می‌تواند منجر به تغییرات موفولوژیکی، آناتومیکی و فیزیولوژیکی در گیاه گردد (*راجاپاسکه و شاهک*، 2007).

کیفیت و شدت تابش نور نیز مانند تنش‌های محیطی و غیرزنده می‌تواند باعث افزایش تنش اکسیداتیو در سلول‌های گیاهی شود. پرتو فرابنفش نور خورشید به‌عنوان یکی از مهم‌ترین بخش تنش‌زای نورخورشید به‌شمار می‌آید که حدود ۶ درصد از مجموع فوتون‌های خورشیدی را شامل می‌شود (*موان*[6]، 2001) و مطالعات زیادی در مورد اثرات آن روی رشدونمو و فیزیولوژی گیاهان صورت گرفته است. نور فرابنفش به امواج نورانی با طول موج بین ۲۰۰ تا ۴۰۰ نانومتر گفته می‌شود. این امواج براساس طول موج به سه دسته A (بین ۳۲۰ تا ۴۰۰ نانومتر)، B (بین ۲۸۰ تا ۳۲۰ نانومتر) و C (کمتر از ۲۸۰ نانومتر) تقسیم‌بندی می‌شوند (*هلوسی*[7]، 2002). امواج فرابنفش به اندازه کافی دارای انرژی هستند تا باندهای شیمیایی ترکیبات را تخریب کنند. همه انواع امواج فرابنفش به‌عنوان نور مضر برای گیاهان شناخته می‌شوند که می‌توانند روی دی‌ان‌آ و فعالیت‌های فیزیولوژیکی گیاه اثرات مخرب داشته باشند. با کوتاه‌تر شدن طول موج امواج فرابنفش، انرژی آنها زیادتر می‌شود. بخش C توسط لایه ازن در استراتوسفر جو زمین جذب می‌شود و به سطح زمین نمی‌رسد. همچنین بخش زیادی از امواج فرابنفش B تحت تأثیر غلظت و ضخامت لایه ازن در قسمت‌های مختلف زمین قرار می‌گیرد و به سطح زمین نمی‌رسد. اما بخش فرابنفش A کمتر تحت تأثیر ازن است و به سطح زمین می‌رسد (*هلوسی*، 2002). فرابنفش A اثر مخرب کمتری دارد و می‌توانند توسط گیرنده‌های نور آبی و فرابنفش جذب شوند و روی فعالیت‌های گیاه مؤثر باشند (*بریگس و هوالا* (1999).

گیاهان حساسیت متفاوتی به نور فـرابنفش دارنـد. در بـین ۳۰۰ گیاه بررسی شده، حدود ۵۰ درصد گیاهان حساس، ۲۰ تا ۳۰ درصد با حساســیت متوسـط و مـابقی غیرحسـاس بـه نـور فرابنفش B شناخته شده‌اند (*هلوسی*، 2002). زمانی که گیاهان در مقابل نور فرابنفش قـرار مـی‌گیرنـد مکانیسـم‌هـای دفـاعی متعددی را نشان می‌دهند (*مافعی*[8] و همکاران، 1999؛ *هلوسـی* 2002). کاهش در رشد رویشی یکی از مهم‌ترین علایم ظـاهری تنش نور فرابنفش است. همچنین در گیاهـان حسـاس کـاهش سطح برگ یا رشد ساقه در مقابل نور فـرابنفش مشـاهده شـده است (*هلوسـی*، 2002). *مولئـو و مـورینی*[9] (2006) در بررسـی تأثیر کیفیت نور بر رشدونمو گیاهچه‌های پایه سـیب MM106

1. Telcia *et al.*
2. Shah and Mello
3. Taiz and Zeiger
4. Rajapakse and Shahak
5. Briggs and Huala
6. Moan
7. Hollosy
8. Maffei *et al.*
9. Muleo and Morini

در شرایط درون‌شیشه‌ای کاهش رشد طولی شاخه را در تیمار فرابنفش A و نور آبی گزارش کردند. همچنین آنها افزایش شکل‌گیری جوانه‌های جانبی تحت تأثیر نور آبی و فرابنفش A را مشاهده نمودند.

در بین اثرات متعدد ایجاد شده توسط تشعشع نور فرابنفش، نوسان در تولید متابولیت‌های ثانویه شامل افزایش در غلظت ترکیبات فنلی در شاخساره (*تروتر*[1]، 2005؛ *گرهارت*[2] و همکاران، 2008) و افزایش در ایزوپرن و ترپنوئید (*جانسون*[3] و همکاران، 1999؛ *ولیکوا*[4]، 2008) مشاهده شده است. با اینکه نوردهی و کیفیت نور بر تولید ترکیبات مختلف شامل متابولیت‌های اولیه و ثانویه مؤثر است، اما پژوهش‌های اندکی در این مورد انجام شده است. *کوجیما و تاکوچی*[5] (1989) گزارش کردند که نور به‌عنوان فاکتوری ضروری در بیوسنتز پلی‌فنل‌ها در ماش مؤثر است. *ایوای*[6] و همکاران (2010) مشاهده کردند که نوردهی مصنوعی در شرایط گلخانه باعث افزایش پلی‌فنل‌ها در گیاه پریلای قرمز[7] گردید. به‌طوری‌که مقدار رزمارینیک‌اسید از ۱/۱۵ به ۶/۱۱ و مقدار لاتئولین گلوکوزاید[8] از ۷۲/۸ به ۱۰۹۴/۷۰ میکروگرم در گرم افزایش یافت. اثر نوردهی مصنوعی روی ترکیبات مختلف متفاوت بود. به‌دلیل این‌که بیوسنتز پلی‌فنل‌ها با گیرنده‌های نور آبی، کریپتوکرم و فتوتروپین ارتباط دارد، افزایش مقدار لاتئولین گلوکوزاید، کافئیک‌اسید و رزمارینیک‌اسید باید به‌طور نزدیکی با القای کریپتوکروم توسط نور ارتباط داشته باشد.

اگرچه پژوهش‌های زیادی در مورد اثر نور فرابنفش و به‌ویژه فرابنفش B انجام شده است، اما تأثیر نور فرابنفش A روی بسیاری از جنبه‌های فیزیولوژی و رشد گیاهان ناشناخته است. در پژوهش حاضر تأثیر پرتو فرابنفش حاصل از دیودهای ساطع کننده نور[9] LED، به‌عنوان یک منبع نوری کم‌مصرف با بازده بالا، طی فصل رشد بر رشد و برخی ویژگی‌های کیفی نعناع فلفلی مورد بررسی قرار گرفته است.

مواد و روش‌ها

به‌منظور انجام این آزمایش گیاهچه‌های نعناع فلفلی از باغ گیاهان دارویی بوعلی‌سینا وابسته به مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان همدان تهیه گردید. گیاهچه‌ها در مخلوط خاکی با نسبت یکسان خاکبرگ پوسیده، خاک باغچه و ماسه گلخانه‌ای کشت شدند و برای سازگاری به مدت ۲ ماه در شرایط گلخانه با پوشش شیشه‌ای قرار گرفتند. سپس گیاهچه‌ها سربرداری شده و پس از حذف تمامی شاخساره از ۱۰ تیرماه ۱۳۹۱ در معرض تیمارهای نور فرا بنفش حاصل از دیودهای ساطع‌کننده نور (LED) با طول موج ۳۶۵ نانومتر با شدت نور حدود ۷/۵ میکرومول بر مترمربع در ثانیه در چهار تیمار، شاهد (بدون نور فرابنفش)، ۱، ۲ و ۴ ساعت نوردهی فرابنفش به‌صورت تکمیلی (اضافه شده به نور معمول در گلخانه) در طول روز با زمان شروع یکسان نوردهی از ساعت ۱۰ صبح براساس برنامه شکل ۱ قرار گرفتند. به‌طوری‌که پرتوتابی فرابنفش از ساعت ۱۰، ۱۲، ۱۴ و ۱۶ در همه تیمارها به غیر از تیمار شاهد شروع شد. در هر کدام از این زمان‌ها به‌مدت ۱۵، ۳۰ و ۶۰ دقیقه به‌ترتیب برای تیمارهای ۱، ۲ و ۴ ساعت، گیاهان در معرض نور فرابنفش و نور طبیعی داخل گلخانه قرار گرفتند. این آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار و تعداد ۳ بوته در هر تکرار انجام شد. از ورقه‌های پلاستیکی ضدفرابنفش برای جداکردن بخش‌ها و جلوگیری از عبور نور بین آن‌ها استفاده شد. در هرکدام از بخش‌ها از نوارهای LED در فاصله ۳۰ سانتی‌متری بالای گلدان‌ها استفاده شد.

پس از گذشت دو ماه تیمار نوری فرابنفش، تمامی شاخساره‌های گیاهان مورد تیمار برداشت شدند و از نظر صفاتی مانند عملکرد کل، طول شاخساره، وزن تر، وزن خشک، محتوای کلروفیل a، b و کل، محتوای پروتئین، محتوای فنل کل و محتوای اسانس مورد ارزیابی قرار گرفتند.

برای اندازه‌گیری میزان کلروفیل از روش *پرا*[10] (2002) استفاده شد. بدین‌صورت‌که ابتدا مقدار ۱۰۰ میلی‌گرم از شاخساره‌های گیاه با استفاده از ۵ میلی‌لیتر استون ۸۰ درصد له گردید. سپس به‌مدت ۵ دقیقه با ۵۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ گردید. بخش رویی برداشته شد و به قسمت باقیمانده ۵ میلی‌لیتر استون ۸۰ درصد اضافه گردید و پس از له کردن با شرایط ذکر شده سانتریفیوژ گردید. بخش رویی برداشته شده به بخش رویی قبلی اضافه گردید. این عمل تا

1. Treutter
2. Gerhardt *et al.*
3. Johnson *et al.*
4. Velikova
5. Kojima and Takeuchi
6. Iwai *et al.*
7. Red perilla
8. Luteolin-7-O-Glucoside
9. Light emitting diode
10. Porra

بی‌رنگ شدن کامل بخش رویی ادامه یافت. در نهایت حجم بخش رویی با استون ۸۰ درصد به ۲۰ میلی‌لیتر رسانده شد. سپس جذب نمونه‌ها در طول موج‌های ۶۶۴ و ۶۴۵ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر (مدل کری۱۰۰، ساخت شرکت واریان، آمریکا) اندازه‌گیری شد و با استفاده از رابطه‌های۱، ۲ و ۳ میزان کلروفیل a، b و کل براساس میکروگرم در میلی‌گرم محاسبه شدند.

(رابطه ۱) کلروفیل a = (۱۲/۲۵ × A۶۶۴) – (۲/۵۵ × A۶۴۵)

(رابطه ۲) کلروفیلb = (۲۰/۳۱ × A۶۴۵) – (۴/۹۱× A۶۶۴)

(رابطه ۳) کلروفیل کل =(۱۲/۷۶ × A۶۴۵) + (۷/۳۴ × A۶۶۴)

برای اندازه‌گیری محتوای پروتئین برگ و سرشاخه، ابتدا نیتروژن کل نمونه، از روش کجلدال[1] حجازی و همکاران (۱۳۸۳) اندازه‌گیری شد. در این روش، نیتروژن موجود در ۰/۵ گرم نمونه سرشاخه خشک شده در آون توسط اسیدسولفوسالیسیلیک غلیظ در مجاورت کاتالیزور آب اکسیژنه، به‌صورت سولفات‌آمونیوم درآمده و پس از تقطیر در حضور سود ۳۷ درصد، به‌صورت آمونیاک متصاعد شد. آمونیاک حاصله توسط اسیدبوریک یک درصد به بورات آمونیوم تبدیل و بالاخره با استفاده از اسیدسولفوریک تیتر گردید و درصد نیتروژن کل محاسبه گردید و در نهایت پروتئین کل نمونه از رابطه‌های زیر به‌دست آمد.

مقدار ازت = حجم اسیدسولفوریک مصرفی × ۵۶ ٪

مقدار پروتئین = مقدار ازت × ۶/۲۵

۰/۵۶ فاکتور ازت و ۶/۲۵ فاکتور تبدیل ازت به پروتئین در این گیاه استفاده شد.

محتوای فنول کل با استفاده از معرف فولین- سیکالته *سینگلتون و روسی*[2] (1965) اندازه‌گیری شد. به‌طور خلاصه، ابتدا ۰/۱ گرم سرشاخه در حضور ۳ میلی‌لیتر متانول ۸۵٪ به‌طور کامل خرد گردید و ۳۰۰ میکرولیتر از آن با ۱۵۰۰ میکرولیتر معرف فولین رقیق شده (با نسبت یک به ۱۰) ترکیب شد. پس از پنج دقیقه ۱۲۰۰ میکرولیتر کربنات‌سدیم ۷ درصد به آن اضافه شد و پس از ۹۰ دقیقه، جذب آن با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر (کری ۱۰۰، ساخت شرکت واریان، آمریکا) در طول موج ۷۶۵ نانومتر اندازه‌گیری شد و پس از مقایسه با منحنی استاندارد گالیک‌اسید، محتوای فنل کل براساس میلی‌گرم اسیدگالیک در گرم وزن تر شاخساره گیاه بیان گردید.

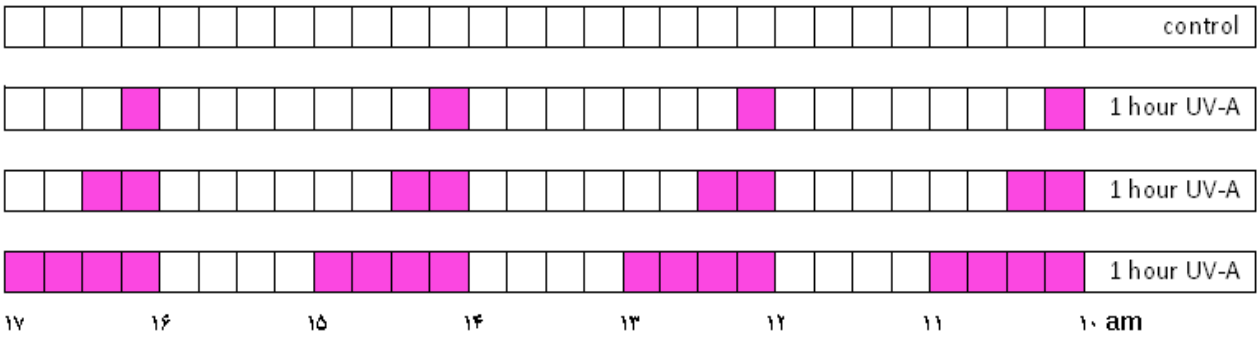
استخراج اسانس با استفاده از روش تقطیر با آب و با استفاده از دستگاه کلونجر صورت گرفت. با توجه به اینکه در تمامی کلونجرهای موجود، مقدار زیادی ماده گیاهی برای اسانس‌گیری ضروری است، لذا برای حجم کم ماده اولیه کلونجر کوچکی طراحی شده و توسط شرکت تکنوپیرکس ساخته شد. برای اسانس‌گیری، مقدار ۲ گرم نمونه خشک از سرشاخه‌های این گیاه مورد استفاده قرار گرفت. این مقدار نمونه به‌همراه ۳۰ میلی‌لیتر آب مقطر در بالن دستگاه قرار گرفته و به‌مدت ۲ ساعت جوشانیده شدند. پس از جداسازی، اسانس به‌دست آمدن در داخل تیوب اپندروف با استفاده از سولفات‌سدیم بدون آب، آب‌گیری شد و درصد اسانس (وزنی به وزنی) محاسبه گردید.

تجزیه آماری داده‌ها به روش مدل خطی عمومی (GLM) به کمک نرم‌افزار SAS و مقایسه میانگین با استفاده از آزمون چنددامنه‌ای دانکن انجام شد.

نتایج و بحث

نوردهی نور فرابنفش A و زمان تابش آن تأثیر معنی‌داری را در سطح ۱ درصد بر صفات رشدی گیاهچه‌های نعناع فلفلی نشان داد. بیش‌ترین رشد طولی، سطح برگ، وزن تر و وزن خشک در تیمار شاهد مشاهده گردید و با افزایش مدت نوردهی فرابنفش رشد رویشی کاهش یافت (جدول ۱). به‌طوری‌که بیشترین کاهش رشد طولی و سطح برگ در تیمار ۴ ساعت نوردهی فرابنفش مشاهده گردید. ازنظر رشد طولی شاخساره، بین تیمارهای ۱ و ۲ ساعت نوردهی فرابنفش اختلاف معنی-داری مشاهده نشد. ازنظر سطح برگ با افزایش مدت نوردهی فرابنفش، سطح برگ کاهش یافت. اگرچه از نظر وزن تر و وزن خشک در هر بوته، اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای ۲ و ۴ ساعت نوردهی فرابنفش مشاهده نشد اما با افزایش مدت نوردهی فرابنفش، وزن‌تر و خشک در هر بوته به‌طور معنی‌داری کاهش یافت. درصد ماده خشک نیز با نوردهی فرابنفش کاهش یافت اما بین تیمارهای ۱، ۲ و ۴ ساعت نوردهی فرابنفش اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (جدول ۱).

1. Kjeldahl
2. Singleton and Rossi



شکل ۱: نحوه نوردهی فرابنفش در تیمارهای مختلف. پرتوتابی فرابنفش از ساعت ۱۰، ۱۲، ۱۴ و ۱۶ در همه تیمارها به غیر از تیمار شاهد شروع شد. در هر کدام از این زمان‌ها به مدت ۱۵، ۳۰ و ۶۰ دقیقه به‌ترتیب برای تیمارهای ۱، ۲ و ۴ ساعت گیاهان در معرض نور فرابنفش قرار گرفتند

Fig. 1: Method of application of UV radiation in different treatments. Radiation of UV was stared from 10, 12, 14 and 16 in all of treatments except for those of control. In each time, plants were exposed to UV light for 15, 30 and 60 minutes for 1, 2 and 4 hour radiation, respectively

جدول ۱: تأثیر مدت نوردهی فرابنفش A روی ویژگی‌های رشدی نعناع‌فلفلی پس از ۶۰ روز نوردهی

Table 1: Effect of UV-A radiation time on growth properties of peppermint after radiation for 60 days

ماده خشک Dry Matter (٪)	وزن خشک گیاه Plant dry weight (g)	وزن تر گیاه Plant fresh weight (g)	سطح برگ Leaf area (cm^2)	طول شاخساره Stem length (cm)	تیمار Treatment
26.40^{a}	4.92^{a}	18.73^{a}	4.62^{a}	29.00^{a}	Control
34.47^{b}	5.01^{a}	14.32^{b}	3.73^{b}	25.67^{b}	1 h UV-A radiation
32.03^{b}	4.42^{b}	13.83^{c}	3.08^{c}	26.50^{b}	2 h UV-A radiation
34.62^{c}	4.48^{b}	13.03^{c}	2.91^{d}	24.00^{c}	4 h UV-A radiation

حروف همسان در هر ستون نشان‌دهنده‌ی عدم‌اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ با استفاده از آزمون دانکن می‌باشد

Similar letters in each column show non-significant differences at 5% level of *probability* using DMRT

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که نوردهی فرابنفش A به‌صورت تکمیلی تأثیر معنی‌داری روی فتومورفوژنز و تولید متابولیت‌ها در گیاه دارویی نعناع فلفلی دارد. تأثیر متفاوتی از نوردهی فرابنفش بر رشد طولی، سطح برگ، وزن تر و خشک و طول میان‌گره در پژوهش‌های قبلی مشاهده شده است. اگرچه نور فرابنفش A اثرات مخرب بسیار کمتری روی رشد رویشی در مقایسه با فرابنفش B دارد اما در موارد متعددی اثر آن بر کاهش رشد گزارش شده است (*کریزک*[1] و همکاران، 1998). به نظر می‌رسد یکی از مکانیسم‌های درگیر در تأثیر کیفیت نور بر میزان رشد و موفولوژی گیاه، تأثیر نور بر نسبت هورمون‌های گیاهی باشد. نوردهی فرابنفش و مدت تابش آن می‌تواند از طریق تخریب یا کاهش تولید روی میزان هورمون‌های داخلی گیاه مؤثر باشد. *کورپین*[2] و همکاران (2007) مشاهده کردند که کشت طولانی تحت شرایط مختلف نوری بر سطوح هورمون‌های داخلی به‌ویژه اکسین مؤثر است. نور آبی و نور فرابنفش در شدت مناسب باعث تخریب یا تولید نشدن اکسین می‌شود و از این طریق نسبت اکسین به سیتوکینین را تغییر می‌دهد (*کورپین* و همکاران، 2007). همچنین *مولئو و مورینی* (2006) مشاهده کردند که نور سبز و سفید باعث افزایش تعداد شاخه‌ها در گیاهچه‌های پایه سیب MM106 در شرایط درون شیشه‌ای شد. آنها کم‌ترین طول شاخه اصلی و طول میان‌گره را در تیمار فرابنفش A و بلندترین طول شاخه را در تیمار نور قرمز مشاهده کردند. با توجه به یکسان‌بودن گیرنده‌های نور آبی و فرابنفش در گیاهان، احتمال آن وجود دارد که نور فرابنفش به‌ویژه در طول موج نزدیک به آبی، مانند نور آبی عمل نموده و از این طریق باعث کاهش رشد رویشی شده است. نور آبی در شدت‌های بالا از کشیده‌شدن طول ساقه

1. Krizek *et al.*
2. Kurepin *et al.*

جلوگیری می‌کند (*اسکینز*[1]، 1992؛ *آوکونا و مولئو*، 2010). در صورتی‌که در شدت پایین، تأثیر آن کم شده یا به‌طور کامل تأثیر آن از بین می‌رود. همچنین مشخص شده است که نور آبی غالبیت انتهایی را کاهش می‌دهد و در مقابل تولید شاخه از جوانه‌های جانبی را افزایش می‌دهد (*اپلگرین*[2]، 1991). همچنین مشخص شده که نور آبی باعث شکستن ایندول استیک‌اسید می‌شود، به همین دلیل در صورت استفاده از نور آبی تنها یا افزایش شدت نور فرابنفش یا مدت تابش آن، ایندول‌استیک‌اسید شکسته شده و کاهش رشد طولی و کاهش رشد میان‌گره رخ می‌دهد که این موضوع در پژوهش حاضر نیز مشاهده گردید.

به‌طور معمول کاهش رشد منجر به چوبی‌تر شدن بافت‌ها در گیاهان علفی مانند نعناع فلفلی می‌گردد. به احتمال زیاد چوبی‌شدن بخش‌های شاخساره گیاه در تیمارهای فرابنفش به‌دلیل کاهش رشد رویشی منجر به افزایش درصد ماده خشک در این تیمارها نسبت به تیمار شاهد شده است.

مدت نوردهی فرابنفش تأثیر معنی‌داری را بر محتوای کلروفیل a، b و کل در سطح یک درصد معنی‌دار داشت. بیشترین محتوای کلروفیل a، b و کل در تیمار شاهد مشاهده شد که اختلاف معنی‌داری را با تیمارهای ۱ و ۲ ساعت نوردهی فرابنفش نداشتند. با افزایش مدت تابش نور فرابنفش به ۴ ساعت محتوای کلروفیل a، b و کل کاهش یافت (جدول ۲).

در حالت تاریک رویی محتوای رنگیزه‌ها، به ویژه کلروفیل و کاروتن کاهش می‌یابد. در مقابل با افزایش شدت نوردهی، محتوای آنها نیز افزایش می‌یابد. با این‌حال مشخص شده که نور آبی باعث تجمع کلروفیل می‌گردد (*وو*[3] و همکاران، 2007). نور آبی و محدوده نزدیک به آن از طریق گیرنده‌های نوری کریپتوکروم و فوتوتروپین دریافت شده و روی ساخته‌شدن کلروفیل در گیاهان تأثیر گذاشته و باعث افزایش محتوای آن می‌گردد (*فنخاسر و چوری*[4]، 1997؛ *راجاپاکسه و شاهک*[5]، 2007). در مواردی نیز مشخص شده که نوردهی فرابنفش در محدوده نزدیک به آبی می‌تواند اثر مشابه نور آبی را در افزایش محتوای کلروفیل داشته باشد. اما نوردهی فرابنفش در شدت بالا، طول موج پایین و یا قرارگیری به‌مدت طولانی می‌تواند منجر به تخریب بافت‌های گیاهی در اثر تنش ایجاد شده گردد *کریزک* و همکاران (1998) و از این طریق باعث کاهش محتوای کلروفیل گردد. در تیمار ۴ ساعت نور فرابنفش در پژوهش حاضر نیز اثر مخرب تیمار طولانی مدت نور فرابنفش در کاهش محتوای کلروفیل a، b و کل مشاهده گردید.

تأثیر مدت نوردهی فرابنفش بر مقدار پروتئین کل در سطح ۱ درصد معنی‌دار شد. نوردهی فرابنفش باعث افزایش پروتئین کل گردید. بالاترین مقدار پروتئین در تیمار نوردهی فرابنفش به‌مدت ۲ ساعت مشاهده شد. پس از آن تیمارهای ۱ و ۴ ساعت نوردهی فرابنفش قرار گرفتند که باهم اختلاف معنی‌داری را باهم نداشتند. کمترین مقدار پروتئین کل در تیمار شاهد مشاهده شد (جدول ۳).

یکی از موارد تأثیر نور فرابنفش بر گیاهان، تأثیر آن بر بیان ژن‌های مختلف است. با توجه به افزایش محتوای پرژتئین کل در تیمارهای نور فرابنفش، به‌نظر می‌رسد که نور فرابنفش در پژوهش حاضر به‌عنوان سیگنال نوری عمل کرده و از این طریق باعث بیان برخی از ژن‌ها شده است (*بریگس و هوالا*، 1999). در این مورد مشخص شده است که بیوسنتر بسیاری از ترکیبات فنلی تحت تأثیر بیان ژن‌هایی است که بیان آنها توسط نور فرابنفش کنترل می‌شود (*دولزنکو*[6] و همکاران، 2010). البته درک بیشتر این موضوع نیاز به پژوهش‌های تکمیلی دارد.

تأثیر مدت نوردهی فرابنفش بر محتوای فنل کل در سطح ۱ درصد معنی‌دار شد. نوردهی فرابنفش باعث افزایش فنل کل گردید. محتوای فنل کل در بین گیاهان تیمارهای مختلف بین ۱/۱۲ تا ۲/۶۸ میلی‌گرم در گرم وزن تر متغییر بود. بالاترین محتوای فنل کل در تیمار نوردهی فرابنفش به‌مدت ۱ ساعت با مقدار ۱/۵۳ میلی‌گرم در گرم وزن تر مشاهده شد که اختلاف معنی‌داری را با تیمارهای ۲ و ۴ ساعت نوردهی فرابنفش نداشت (جدول ۳).

1. Eskins
2. Appelgren
3. Wu *et al.*
4. Fankhauser and Chory
5. Rajapakse and Shahak
6. Dolzhenko *et al.*

جدول ۲: تأثیر نوردهی فرابنفش A بر محتوای کلروفیل (میکروگرم در گرم) برگ و شاخساره نعناع‌فلفلی پس از ۶۰ روز نوردهی
Table. 2: Effect of UV-A radiation time on chlorophyll content (µg/g) in leaves and stems of peppermint after radiation for 60 days

کلروفیل کل Ch total	کلروفیل b Ch b	کلروفیل a Ch a	تیمار Treatment
1.34[a]	0.43[a]	0.92[a]	Control
1.27[a]	0.37[a]	0.85[a]	1 h UV-A radiation
1.26[a]	0.34[a]	0.84[a]	2 h UV-A radiation
0.61[b]	0.25[b]	0.37[b]	4 h UV-A radiation

حروف همسان در هر ستون نشان‌دهنده‌ی عدم‌اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ با استفاده از آزمون دانکن می‌باشد
Similar letters in each column show non-significant differences at 5% level of *probability* using DMRT

جدول ۳: تأثیر نوردهی فرابنفش A روی محتوای پروتئین کل (میکروگرم بر گرم)، محتوای فنل کل (میلی‌گرم بر گرم) و محتوای اسانس (درصد) برگ‌ها و شاخساره نعناع فلفلی پس از ۶۰ روز نوردهی
Table. 3: Effect of UV-A radiation time on protein content (µg/g), total phenolic content (mg/g) and essential oil content (%) in leaves and stems of peppermint after 60 days radiation

محتوای اسانس Essential oil (%)	فنل کل Total pPhenol (mg/g^{-1})	پروتئین کل Total antocyanin (mg/g^{-1})	تیمار Treatment
1.55[c]	1.26[b]	0.016[c]	Control
1.70[b]	2.53[a]	0.019[b]	1 h UV-A radiation
1.75[b]	2.47[a]	0.027[a]	2 h UV-A radiation
1.90[a]	2.48[a]	0.020[b]	4 h UV-A radiation

حروف همسان در هر ستون نشان‌دهنده‌ی عدم‌اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ با استفاده از آزمون دانکن می‌باشد
Similar letters in each column show non-significant differences at 5% level of *probability* using DMRT

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که نوردهی فرابنفش بر تولید ترکیبات مختلف شامل ترکیبات فنلی و مواد مؤثره در ایجاد ظرفیت آنتی‌اکسیدانی این گیاه مؤثر است. تأثیر کیفیت نور و نور فرابنفش بر ترکیبات و متابولیت‌های اولیه و ثانویه در پژوهش *جانسون* و همکاران (1999) و *دولزنکو* و همکاران (2010) گزارش شده است. بیوسنتز فلاون‌ها و آنتوسیانین‌ها نیاز به آنزیم‌هایی دارند که بیان آنها توسط کیفیت نور تنظیم می‌گردد. پژوهش‌های زیادی در ارتباط با سنتز پلی‌فنل‌ها در حضور نور صورت گرفته است (*ایوای* و همکاران، 2010). همچنین به‌دلیل تنوع بسیار زیاد ترکیبات فنلی به‌نظر می‌رسد سنتز هر کدام از آنها در شرایط خاصی صورت می‌گیرد. *دولزنکو* و همکاران (2010) گزارش کردند که رزمارینیک‌اسید به‌عنوان یکی از مهم‌ترین ترکیبات فنلی موجود در گیاهان خانواده نعناع در زمانی که گیاه نعناع در معرض نور فرابنفش B قرار می‌گیرد افزایش می‌یابد. از طرف دیگر ثابت شده است که عوامل تنش‌زا نیز به‌عنوان تحریک‌کننده تولید متابولیت‌های ثانویه و به‌ویژه ترکیبات فنلی در گیاهان دارویی هستند (*امیدبیگی* ۱۳۸۶). مدت نوردهی فرابنفش نیز به‌عنوان عاملی تنش‌زا، باعث ایجاد تنش در گیاهان می‌شود و از این طریق باعث تولید متابولیت‌های خاص گیاهی می‌شود. نور آبی و فرابنفش تأثیر بیشتری را نسبت به بقیه طول موج‌های نور بر تجمع پلی‌فنل‌ها دارند (*ایوای* و همکاران، 2010). نتایج حاصل از پژوهش حاضر نشان داد که نوردهی فرابنفش روی تجمع ترکیبات فنلی و همچنین ترکیبات ایجادکننده فعالیت آنتی‌اکسیدانی نقش دارد که با نتایج *دولزنکو* و همکاران (2010) مطابقت دارد.

تأثیر مدت نوردهی فرابنفش بر میزان اسانس در سطح ۵ درصد معنی‌دارشد. به‌طوری‌که با افزایش مدت نوردهی مقدار اسانس افزایش یافت. بیشترین مقدار اسانس در تیمار ۴ ساعت نوردهی فرابنفش مشاهده شد. پس از آن، در تیمارهای ۱ و ۲ ساعت نوردهی فرابنفش مقدار اسانس بیشتری را نسبت به شاهد تولید کردند که با هم اختلاف معنی‌داری را نداشتند (جدول ۳).

تولید ترکیبات آروماتیک در گیاهان در شرایط تنش افزایش می‌یابد. یکی از تنش‌های محیطی که در سطح طبیعت رخ می‌دهد نور فرابنفش است که در طبیعت و در مزارع (خارج از گلخانه) تنها بخش نزدیک به آبی آن به گیاهان می‌رسد و باعث تنش ملایمی در گیاهان می‌گردد. از طرف دیگر، در شرایط گلخانه بخش بسیار زیادی از امواج فرابنفش وارد گلخانه نمی‌شود که این موضوع، به‌عنوان یکی از دلایل کاهش

تولید متابولیت‌های‌ثانویه در شرایط گلخانه مطرح است (*جانسون* و همکاران، 1999). در پژوهش حاضر مقدار اسانس کمتری در تیمار شاهد مشاهده شد که با افزایش نوردهی فرابنفش مقدار آن افزایش یافت.

در کل چنین به‌نظر می‌رسد که گیاه نعناع فلفلی نسبت به نور فرابنفش A حساس است و نسبت به‌مدت تابش آن واکنش نشان می‌دهد. افزایش مدت نوردهی فرابنفش باعث کاهش رشد رویشی گیاه گردید. تابش طولانی‌مدت فرابنفش A باعث کاهش شدید محتوای کلروفیل و همچنین کاهش در پروتیئن کل گردید که می‌تواند نشان‌دهنده اثرات مخرب طولانی‌مدت آن بر گیاه نعناع فلفلی باشد. از طرف دیگر افزایش مدت نوردهی فرابنفش منجر به افزایش محتوای فنل کل و محتوای اسانس گردید که با توجه به مقدار بسیار زیاد محتوای فنلی و همچنین محتوای زیاد اسانس در تیمارهای نور فرابنفش، امکان استفاده از این نوع نوردهی فرابنفش A در شرایط کشت و کار تجاری می‌تواند مورد بررسی قرار گیرد. همچنین با توجه به تأثیر نور فرابنفش بر افزایش محتوای ترکیبات فنلی و درصد اسانس، بررسی آن بر اجزای ترکیبات فنلی و اجزای اسانس نعناع فلفلی در پژوهش‌های بعدی می‌تواند به درک بهتر نوع تأثیر نور فرابنفش در تولید متابولیت‌های‌ثانویه در این گیاه و سایر گیاهان دارویی کمک کند. همچنین با توجه به نتایج پژوهش حاضر و اثرات افزایشی تیمار نور فرابنفش بر تولید متابولیت‌های‌ثانویه بررسی روش اعمال و کاربرد این تیمارها در شرایط مزرعه‌ای در پژوهش‌های تکمیلی پیشنهاد می‌گردد.

منابع

امیدبیگی، ر. (۱۳۸۶)، تولید و فرآوری گیاهان دارویی، انتشارات آستان قدس رضوی مشهد، جلد اول. ۳۴۸ صفحه.

Appelgren, M. 1991. Effects of light quality on stem elongation of *Pelargonium in vitro*. Scientia Horticulturae, 45: 345-351.

Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E. and Berset, C. 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. Food Science and Technology, 28: 25-30.

Briggs, W. R. and Huala, E. 1999. Blue-light receptors in higher plants. Annual Review of Cell and Developmental Biology, 15: 33-62.

Dolzhenko, Y., Bertea, C. M., Occhipinti, A., Bossi, A. and Maffei, M. E., 2010. UV-B modulates the interplay between terpenoids and flavonoids in peppermint (*Mentha piperita* L.). Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology, 100: 67-75.

Eskins, K. 1992. Light-quality effects on Arabidopsis development. Red, blue and far-red regulation of flowering and morphology. Physiologia Plantarum, 86(3): 439-444.

Fankhauser, C. and Chory, J. 1997. Light control of plant development. Annual Review of Cell and Developmental Biology, 13: 203-29.

Gerhardt, K. E., Lampi, M. A. and Greenberg, B. M. 2008. The effects of far-red light on plant growth and flavonoid accumulation in *Brassica napus* in the presence of ultraviolet B radiation, Photochemistry and Photobiology, 84: 1445-1454.

Hollosy, F., 2002. Effects of ultraviolet radiation on plant cells. Micron, 33(2): 179-97.

Iwai, M., Ohta, M., Tsuchiya, H. and Suzuki, T. 2010. Enhanced accumulation of caffeic acid, rosmarinic acid and luteolin-glucoside in red perilla cultivated under red diode laser and blue LED illumination followed by UV-A irradiation. Journal of Functional Foods, 2: 66-70.

Johnson, C. B., Kirby, J., Naxakis, G. and Pearson, S. 1999. Substantial UV-B-mediated induction of essential oils in sweet basil (*Ocimum basilicum* L.). Phytochemistry, 51: 507-510.

Kojima, M. and Takeuchi, W. 1989. Detection and characterization of p-coumaric acid hydroxylase in mung bean, *Vigna mungo*, seedlings. Journal of Biochemistry, 105: 265-270.

Krizek, D. T., Britz, S. J. and Mirecki, R. M. 1998. Inhibitory effects of ambient levels of solar UV-A and UV-B radiation on growth of cv. New Red Fire lettuce. Physiologia Plantarum, 103: 1-7.

Kurepin, L. V., Walton, L. J., Yeung, E. C., Chinnappa, C. C. and Reid, D. M. 2007. The interaction of light irradiance with ethylene in regulating growth of *Helianthus annuus* shoot tissues. Plant Growth Regulation, 62(1): 43-50.

Maffei, M., Canova, D., Bertea, C. M. and Scannerini, S. 1999. UV-A effects on photomorphogenesis and essential-oil composition in *Mentha piperita.* Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology, 52: 105-110.

Moan, J. 2001. Visible light and UV radiation. In: Brune, D., Hellborg, R., Persson, B. R. R. and Paakkonen, R., (eds). Radiation at Home, Outdoors and in the Workplace. Oslo: Scandinavian Publisher. pp 69-85.

Muleo, R. and Morini, S. 2006, Light quality regulates shoot cluster growth and development of MM106 apple genotype *in vitro* culture. Scientia Horticulturae, 108: 364-370.

Porra, R. J. 2002. The chequered history of the development and use of simultaneous equations for the accurate determination of chlorophylls *a* and *b*. Photosynthesis Research, 73: 149-156.

Rajapakse, N. C. and Shahak, Y. 2007. Light-quality manipulation by horticulture industry. pp 290-310. In: Whitelam, G. C. and Halliday, K. J. (Eds), Light and plant development. Wiley-Blackwell.

SAS Institute, Inc. 1989. SAS User's Guide. Statistical Analysis System, 1989 ed. SAS Institute, Inc., Cary, NC.

Shah, P. P. and D'Mello, P. M. D. 2004. A review of medicinal uses and pharmacological effects of *Mentha piperita*. Natural Product Radiance, 3(4): 214-21.

Singleton, V. L. and Rossi, J. A. 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. American Journal of Enology and Viticulture, 16: 144-158.

Taiz, L. and Zeiger, E. 2006. Plant Physiology. Forth edition, 705 pages.

Telcia, I., Kacarb, O., Bayramc, E. Arabac, O., Demirtas, I., Yılmaza, G., ozcand, I. Sonmez, I. and Goksu, E. 2011. The effect of ecological conditions on yield and quality traits of selected peppermint (*Mentha piperita* L.) clones. Industrial Crops and Products, 34: 1193-1197

Treutter, D. 2005. Significance of flavonoids in plant resistance and enhancement of their biosynthesis. Plant Biology, 7: 581-591.

Velikova, V. B. 2008. Isoprene as a tool for plant protection against abiotic stresses. Journal of Plant Interaction, 3: 1-15.

Wu, M. C., Jiang, C., Wang, Y., Wang, C., Chen, H. and Chang, H. 2007. A novel approach of LED light radiation improves the antioxidant activity of pea seedlings. Food Chemistry, 101: 1753-1758.

Effect of UV-A Radiation on Growth and Some Physiological Properties of Peppermint (*Mentha piperita*)

Sarikhani[1*], H.

Abstract

Light stress is one of the important environmental stresses which at high levels could destroy plants. However, in medicinal plants using ultraviolet-induced stress could activate secondary metabolite biosynthesis systems and could increases the values of medicinal plants. Current research was aimed to investigate the effect of UV-A radiation on growth and physiology of peppermint. Potted peppermint plantlets were cultured in glasshouse condition and were radiated by UV-A using light-emitting diode light at 365 nm at four treatments of 0, 1, 2 and 4 hours UV-A radiation. Treated plants were harvested after 60 days and were analyzed for their shoot length, leaf area, fresh weight, dry weight, dry matter, chlorophyll concentration, total protein concentration, total phenolic concentration and essential oil. Result indicated lower growth and yield in UV-A radiated plants. Although there were no significant differences between 1 and 2 hour UV-A radiation on chlorophyll in leaves, its concentration reduced in those of 4 hour radiated plants. In contrary, total phenolic concentration and essential oil concentration increased in UV-A radiated plants. In conclusion, it seems that peppermint is sensitive to UV-A radiation which for facing up to its stress, increases phenolic compounds production. Using modest stress of UV-A in peppermint by reducing growth and yield could increase its secondary metabolites.

Keywords: *Mentha piperita*, UV-A, Growth, Yield, Total phenol

1. Assistant Professor, Department of Horticultural Sciences, Faculty of Agriculture, Bu-Ali Sina University, Hamedan
⁎: Corresponding author Email: sarikhani@basu.ac.ir