

تأثیر شدت‌های مختلف پرتو فرابنفش (UV) بر روی رشد و برخی متابولیت‌های ثانویه گیاه گل راعی کرکدار (*Hypericum hirsutum* L.)

Effects of different levels of ultraviolet (UV) on growth and some secondary metabolites of the Hairy St. John's wort (*Hypericum hirsutum* L.)

محمد باقری^{۱*}، روح اله متفکر آزاد^۲، سید یحیی صالحی لیسار^۳، امیرحسین طالب پور^۴

۱. نویسنده مسئول، کارشناسی ارشد، گروه علوم گیاهی، دانشکده علوم طبیعی، دانشگاه تبریز، تبریز
۲. استادیار، گروه علوم گیاهی، دانشکده علوم طبیعی، دانشگاه تبریز، تبریز
۳. دانشیار، گروه علوم گیاهی، دانشکده علوم طبیعی، دانشگاه تبریز، تبریز
۴. کارشناسی ارشد، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی، سازمان جهاد کشاورزی آذربایجان شرقی، تبریز

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۸/۱۴ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۱۲/۲۴ - شناسانه برنمود رقی: 10.22092/mpt.2021.352445.1069

چکیده

باقری، م.، متفکر آزاد، ر.، صالحی لیسار، س. ی.، طالب پور، ا. ح.، . تأثیر شدت‌های مختلف پرتو فرابنفش (UV) بر روی رشد و برخی متابولیت‌های ثانویه گیاه گل راعی کرکدار (*Hypericum hirsutum* L.)
نشریه علمی ترویجی فناوری گیاهان دارویی ایران، دوره ۳ - شماره ۱ - پایند ۴ تابستان ۱۳۹۹ صفحه: ۹۲-۱۱۴

تولید مواد موثره در گیاهان دارویی توسط فرایندهای ژنتیکی کنترل می‌شود، ولی شدیداً تحت تأثیر عوامل محیطی هم قرار دارد. گل راعی کرکدار (*Hypericum hirsutum* L.) یک گیاه دارویی مهم می‌باشد که اغلب در مناطق مرتفع رویش دارد. از آنجایی که شدت تابش پرتو فرابنفش (UV) در این مناطق بالا می‌باشد از این رو در این تحقیق اثر سطوح مختلف پرتو فرابنفش (UV) بر روی رشد و برخی متابولیت‌های ثانویه و ترکیبات این گیاه مورد بررسی قرار گرفت. آزمایش به صورت گلدانی با پنج تیمار و هر تیمار با چهار تکرار اجرا گردید. گیاهان تحت تابش چهار سطح مختلف از پرتو فرابنفش (UV) با شدت‌های ۳، ۵، ۱۵ و ۲۵ کیلوژول بر متر مربع در روز قرار گرفتند و یک مجموعه نیز به عنوان شاهد در نظر گرفته شد. پس از ۵۱ روز از کاشت گیاهان که به مدت ۲۱ روز تیماردهی شده بود، سنجش‌های مورد نظر انجام شد. افزایش شدت پرتو فرابنفش (UV) باعث کاهش وزن تر و خشک اندام‌های هوایی، طول اندام هوایی، طول میانگره‌ها، محتوای کلروفیل a و کلروفیل کل و قندهای محلول شد که هر کدام در شدت‌های ۲۵ کیلوژول بر متر مربع در روز کمترین مقدار بودند. با افزایش شدت پرتو فرابنفش (UV) غلظت فنل‌ها، فلاونوئیدها و مالون دی‌آلدئید به طور قابل توجهی افزایش یافت و در شدت ۲۵ کیلوژول بر مترمربع در روز بیشترین مقدار بودند. غلظت آنتوسیانین و پراکسید هیدروژن در گیاهان تیمار شده با ۵ و ۱۵ کیلوژول بر مترمربع در روز، و غلظت کاروتنوئیدها در گیاهان تیمار شده با ۳ و ۵ کیلوژول بر مترمربع در روز، تفاوت معنی‌داری با شاهد نشان داد. نتایج این پژوهش نشان داد که جمع‌آوری بذرهای گیاه گل راعی کرکدار از ارتفاع حدود ۲۱۱۰ متر به واسطه وجود پرتوهای فرابنفش سبب تغییر در ترکیبات بیوشیمیایی گیاه شد و ترکیباتی مانند فنل‌ها و فلاونوئیدها را افزایش داد که از اثرات مثبت این پرتو بر مواد موثره این گیاه می‌باشد. واژه‌های کلیدی: آنتوسیانین، فلاونوئید، کاروتنوئید، قندهای محلول، مالون دی‌آلدئید.

مقدمه

موجودات زنده بخصوص گیاهان به همراه داشته باشد (Wang et al., 2008). به طور کلی پرتو فرابنفش می‌تواند بر فرایندهای ژنتیکی، ساختمان و عمل غشاها، فتوسنتز و تنفس، رشد و نمو، ویژگی‌های آناتومیکی برگ و رنگیزه‌های فتوسنتزی گیاهان اثرگذار باشد (Kafi et al., 2009). کاهش فتوسنتز، تخریب پروتئین‌ها و نوکلئیک اسیدها، ایجاد تنش اکسیداتیو، کاهش محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی و تغییر در ریخت‌شناسی، تبارزایی و بیوماس، از اثرات شناخته شده پرتو فرابنفش در گیاهان می‌باشد (Asada, 1999). تولید و انباشت رادیکال‌های آزاد اکسیژن مثل اکسیژن منفرد، آنیون سوپراکسید، پراکسید هیدروژن و رادیکال‌های هیدروکسیل نتیجه تابش پرتو فرابنفش در گیاهان است که با ماکرومولکول‌های حیاتی مثل لیپیدها، پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک واکنش می‌دهند و اعمال طبیعی سلول را مختل می‌سازند (Mackerness et al., 2001). آثار پرتو فرابنفش بر گیاهان به علت نیاز دائمی آن‌ها به جذب نور خورشید اجتناب‌ناپذیر است. گیاهان بیش از سایر موجودات در معرض این پرتو قرار دارند و به این دلیل برای حفاظت از خود ساز و کارهای دفاعی شامل فرآیندهای آنزیمی و غیر آنزیمی در مقابل این پرتو در خود ایجاد کرده‌اند (Nasibi & Manouchehri Kalantari 2006). تولید متابولیت‌های ثانویه مانند کاروتنوئیدها، آنتوسیانین‌ها، آلکالوئیدها و فنل‌ها از جمله سازوکارهای دفاعی گیاهان در برابر پرتو فرابنفش می‌باشد. برخی از این ترکیبات علاوه بر ویژگی‌های دفاعی برای گیاه، دارای خواص

طیف تابشی نور خورشید، ترکیبی از پرتو فرابنفش (UV)، پرتوهای مرئی یا تابش فعال فتوسنتزی و پرتو فروسرخ را شامل می‌شود (Wang et al., 2009). پرتو فرابنفش قسمتی از طیف الکترومغناطیسی است که حدود ۸ تا ۹ درصد کل اشعه خورشیدی را تشکیل می‌دهد و از لحاظ طول موج به سه بخش:

UV-A (۳۲۰-۲۸۰nm)،

VU-B و VU-C (۲۸۰-۲۰۰nm) تقسیم می‌شود.

پرتو فرابنفش C به طور کامل به وسیله لایه ازن استراتوسفری جذب می‌شود، اما پرتو فرابنفش A و بخشی از فرابنفش B به سطح زمین می‌رسند و می‌توانند بر بیوسفر تاثیرگذار باشند (Coohill, 1989). بالغ بر ۹۰ درصد از کل ازن جوی در استراتوسفر (قسمت فوقانی جو) قرار دارد و بخش زیادی از نور فرابنفش خورشیدی در عبور از جو زمین جذب یا پراکنده می‌شود. مهم‌ترین عامل موثر در جذب فرابنفش در جو زمین اکسیژن مولکولی و ازن است. لایه ازن از عبور تقریباً کلیه نور فرابنفش با طول موج‌های پایین‌تر از ۲۹۰ نانومتر جلوگیری می‌کند و بالغ بر ۹۰ درصد از کل پرتو فرابنفش در محدوده طول موجی ۲۹۰-۳۱۵ نانومتر تابش یافته به سمت زمین را جذب می‌کند. بنابراین کره زمین عملاً تحت تابش فرابنفش در محدوده طول موجی بین ۲۹۰ و ۴۰۰ نانومتر قرار دارد (Hosseinpour & Pirayesh, 2001). اما براساس آخرین تحقیقات انجام گرفته، کاهش ضخامت لایه ازن در سال‌های آینده به بالاترین حد خود خواهد رسید که می‌تواند عواقب جدی برای

زیاد گیاهان دارویی تیره گل راعی و مصرف گسترده آن در صنایع مختلف و با توجه به اینکه گیاه *Hypericum hirsutum* L. یک گیاه دارویی با ترکیبات موثره مهم می‌باشد و در مناطق مرتفع رویش دارد بنابراین در معرض شدت‌های زیاد پرتو فرابنفش قرار می‌گیرد که می‌تواند رشد گیاه و ترکیبات شیمیایی آن را تحت تاثیر قرار دهد. با توجه به اینکه بذر گیاه مورد مطالعه نیز از ارتفاع ۲۱۱۰ متری جمع آوری شد و شدت این پرتوها در این ارتفاع به طور میانگین حدود ۴/۵ کیلوژول بر متر مربع در روز تخمین زده می‌شود (Rostampour et al., 2013; Utrillas et al., 2016) بنابراین پژوهش حاضر با هدف بررسی تاثیر شدت‌های مختلف پرتو فرابنفش (UV)، با شدت‌های ۳، ۵، ۱۵ و ۲۵ کیلوژول بر متر مربع در روز بر روی رشد و برخی متابولیت‌های ثانویه گیاه *Hypericum hirsutum* L. در شرایط آزمایشگاهی انجام شد تا محتوای متابولیتی و خصوصیات ریخت‌شناسی گیاهان تحت تنش با گیاهان شاهد، مورد ارزیابی و مقایسه قرار گیرد.

مواد و روش‌ها:

تهیه بذر و کشت گیاهان

گیاه *Hypericum hirsutum* L. از گیاهان بومی ایران و منطقه آذربایجان می‌باشد. بذرهای گیاه از سرشاخه‌های گلدار آن از منطقه ارسباران واقع در شهرستان کلبر استان آذربایجان شرقی و از ارتفاع ۲۱۱۰ متری در اواخر مهر ماه که کپسول‌های گیاه کامل رسیده بودند، جمع‌آوری گردید. سپس چند روز سرشاخه‌ها در محیط گرم و سایه قرار گرفتند تا خشک شوند و در نهایت بذرهای آن از کپسول جدا گردید.

دارویی برای انسان و دام نیز می‌باشند (Nasibi & Manouchehri Kalantari 2006). حساسیت گیاهان به پرتو فرابنفش بسته به گونه گیاهی، رقم کشاورزی، مراحل رشد و نمو، شرایط رشد و میزان پرتو فرابنفش متفاوت است. تحقیقات نشان داده‌اند که گیاهان در پاسخ به پرتو فرابنفش محیط، واکنش‌های متفاوتی نشان می‌دهند. رشد بعضی از گیاهان مثل کدو، لویا و اسفناج توسط پرتو فرابنفش باز داشته می‌شود در صورتی که رشد بعضی دیگر مثل گوجه فرنگی تحریک می‌شود و بعضی مثل کتان و جو نسبت به پرتو فرابنفش بی تفاوت هستند (Tosserams et al., 1996).

جنس *Hypericum* شامل ۴۸۴ گونه در جهان می‌باشد (Napoil et al., 2018) و تنها بخش کوچکی از گونه‌های جنس *Hypericum* مطالعه شده‌اند و محتوای شیمیایی تقریباً سه چهارم گونه‌های این جنس مورد بررسی قرار نگرفته است (Karioti & Bilia, 2010). به عنوان مثال (Germ et al, 2010) گیاه *Hypericum perforatum* و (Azeez et al (2017) گیاه گل راعی مزرعه‌ای (*Hypericum triquetrifolium*) را تحت تاثیر پرتو فرابنفش (UV) مطالعه کرده و تغییرات برخی از مهمترین ترکیبات موثره آن‌ها را مورد ارزیابی قرار داده‌اند. *Hypericum hirsutum* L. یکی از گونه‌های مهم جنس *Hypericum* است که کم‌تر مطالعه شده است و می‌تواند مقادیر متوسطی از ترکیبات هایپریرسین، هایپرپورین و میزان قابل توجهی از روغن‌های ضروری را تولید کند (Smelcerovic et al., 2009; Kusari et al., 2006). با توجه به اهمیت

PHILIPS کشور آلمان استفاده شد. ابتدا گیاهان به پنج گروه که هر کدام شامل چهار تکرار (گلدان) بودند تقسیم شدند و چهار گروه از گیاهان تحت تیمار پرتو فرابنفش با شدت‌های ۳، ۵، ۱۵، و ۲۵ کیلوژول بر مترمربع در روز به مدت ۲۱ روز قرار گرفتند و گروه پنجم به عنوان شاهد در نظر گرفته شد. در هر گلدان با سطح حدود صد سانتی متر مربع به طور متوسط حدود چهل گیاه با فاصله ۲/۵ سانتی متر مربع کشت داده شد. گیاهان بعد از سه هفته تیماردهی زمانی که به مرحله هشت برگی رسیدند یعنی ۵۱ روز پس از کاشت، برداشت شدند و پس از اندازه‌گیری شاخص‌های رشدی، در دمای ۸۰- درجه سلسیوس تا زمان انجام سنجش‌های بیوشیمیایی نگه‌داری شدند.

اندازه‌گیری شاخص‌های رشدی

بلافاصله پس از برداشت، طول اندام هوایی و ریشه و طول میان‌گره‌ها با استفاده از خط کش اندازه‌گیری شدند و وزن تر اندام‌های هوایی بوسیله ترازوی دیجیتال توزین گردید. به منظور تعیین وزن خشک، گروهی از گیاهان برداشت شده در پاکت‌های کاغذی دربسته قرار داده شدند و به مدت ۷۲ ساعت در داخل آون با دمای ۷۰ درجه سلسیوس قرار گرفتند (Jabbarzadeh, 2019) و سپس وزن خشک نمونه‌ها با ترازوی حساس اندازه‌گیری شد.

سنجش رنگیزه‌های فتوسنتزی (کلروفیل و

کاروتنوئیدها)

۰/۱ گرم از بافت تر گیاهان در ۵ میلی لیتر متانول خالص ساییده و همگن شدند و بعد از ۲۴ ساعت قرار گرفتن در تاریکی، به مدت ۱۰ دقیقه

جهت سالم ماندن بذرها تا زمان انجام پژوهش، بذرها به طور کامل خشک شدند و در یک ظرف دربسته و تاریک در یخچال و در دمای ۴-۱ درجه سلسیوس نگهداری شدند. با توجه به اینکه درصد جوانه‌زنی بذرهای گیاه *Hypericum hirsutum* حدود ۲۰ درصد بود، برای افزایش درصد جوانه‌زنی، بذرها پس از شست و شو به مدت ۲۴ ساعت خیسانده شدند و پس از آن، با هیپوکلریت سدیم ۵ درصد به مدت ۲۰ دقیقه ضدعفونی شدند و در پتری دیش بر روی کاغذ صافی منتقل گردید. سپس به مدت دو هفته در سرما و در دمای ۴-۱ درجه سلسیوس قرار گرفتند. بعد از دو هفته تیمار سرما دهی، بذرهای موجود در پتری دیش به خاک منتقل گردیدند (Omidbeigy, 2013; Jadidi, 2014). برای این منظور از مخلوط پیت ماس و پرلیت با نسبت ۴:۱ استفاده شد تا ترکیب سبکی از خاک ایجاد شود. بر روی بذرها به ارتفاع یک سانتی متر خاک اضافه شد و به تاریکی منتقل شدند. بعد از جوانه زنی بذرها، گلدان‌ها از تاریکی خارج شدند و به اتاق رشد که دارای میانگین دمایی ۲۵ درجه سانتی گراد و دوره نوری (فتوپریود) ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی بود منتقل شدند. تمامی مراحل پژوهش در آزمایشگاه بیوشیمی و فیزیولوژی گیاهی دانشکده علوم طبیعی دانشگاه تبریز انجام گرفت.

تیماردهی گیاهان

۳۰ روز پس از کشت بذرها، زمانی که گیاهان به مرحله چهار برگی رسیدند تیماردهی آغاز گردید. جهت تیماردهی گیاهان از دو لامپ (ACTINIC BL) UV ساخت شرکت

۰/۱ درصد تری کلرو استیک اسید (TCA) در حمام یخ ساییده و همگن شد و سپس به مدت پنج دقیقه در 10000 g سانتیفریوژ گردید. سپس به نسبت ۱ به ۴ از محلول روشناور با محلول ۲۰ درصد TCA حاوی ۰/۵ درصد تیوباریوتیک اسید در لوله آزمایش با هم مخلوط شدند و به مدت ۳۰ دقیقه در حمام آب گرم با دمای ۹۵ درجه سانتیگراد قرار گرفتند. پس از این مدت نمونه ها سریعاً در یخ سرد شدند و به مدت ۱۵ دقیقه در 10000 g سانتیفریوژ گردیدند. هم زمان با عصاره گیاهی محلول های استاندارد در محدوده صفر تا ۱۰۰ نانومول از ۳،۱،۱،۳ ترا اتوکسی پروپان تهیه شدند و جذب نمونه ها در ۵۳۲ نانومتر توسط اسپکتروفتومتر مورد اندازه گیری قرار گرفت. در نهایت غلظت MDA نمونه ها بر اساس میکرومول بر گرم بافت تر گیاه محاسبه گردید.

سنجش پراکسید هیدروژن

غلظت پراکسید هیدروژن طبق روش Harinasut et al., (2003) اندازه گیری شد. ۰/۱ گرم از بافت گیاه در تری کلرواستیک اسید ۰/۱ درصد ساییده و همگن شد و سپس به مدت ۱۵ دقیقه در 10000 g سانتیفریوژ گردید. بلافاصله ۰/۵ میلی لیتر بافر فسفات پتاسیم ۱۰ میلی مولار با pH=۷ و یک میلی لیتر یدید پتاسیم یک میلی مولار به نمونه ها اضافه شد و نمونه ها در دمای ۲۵ درجه سانتیگراد به مدت ۱۵ دقیقه قرار گرفتند. سپس جذب نوری نمونه ها در طول موج ۳۹۰ نانومتر نسبت به شاهد اندازه گیری شد. غلظت پراکسید هیدروژن نمونه ها بر اساس منحنی استاندارد تهیه شده از غلظت های مختلف

با سرعت 10000 g سانتیفریوژ گردیدند. سپس جذب نوری عصاره ها، در طول موج های ۶۶۲، ۶۴۵ و ۴۷۰ نانومتر نسبت به شاهد اندازه گیری شد (Lichtenthaler, 1987). از متانول خالص به عنوان شاهد استفاده شد. غلظت کلروفیل و کاروتنوئیدها برای هر نمونه با استفاده از فرمول های زیر محاسبه گردید و بر اساس میکروگرم بر گرم بافت تر گیاه گزارش شد.

$$C_a = 15.65 A_{665} - 7.340 A_{653}$$

$$C_b = 27.05 A_{653} - 11.21 A_{665}$$

$$C_t = 1000 A_{470} - 2.860 C_a - 129.2 C_b / 245$$

سنجش پروتئین محلول کل

عصاره پروتئینی در بافر فسفات پتاسیم با غلظت 50 mM و pH=۷ استخراج شد و به مدت ۱۵ دقیقه در 10000 g سانتیفریوژ گردید. از روشناور برای سنجش پروتئین محلول کل به روش Bradford (1976) استفاده شد. برای این منظور ۱۰۰ میکرولیتر از عصاره با ۱۰۰ میکرولیتر آب مقطر و یک میلی لیتر معرف برادفورد مخلوط شد و پس از ۱۵ دقیقه جذب آن ها در طول موج ۵۹۵ نانومتر اندازه گیری گردید. همزمان محلول های استاندارد پروتئین با استفاده از آلبومین سرم گاوی (BSA) در محدوده صفر تا ۰/۲ میلی گرم بر میلی لیتر تهیه شد و در نهایت غلظت پروتئین محلول کل بر حسب میلی گرم بر گرم بافت تر گیاه محاسبه گردید.

سنجش مالون دی آلدئید (MDA)

به منظور بررسی میزان پراکسیداسیون لیپیدها سنجش MDA بر اساس روش Boominathan and Dorn (2002) انجام شد. برای این منظور ۰/۱ گرم از بافت گیاه در ۲ میلی لیتر محلول

روشناور با ۱/۵ میلی‌لیتر متانول، ۱۰۰ میکرولیتر آلومینیم کلرید ۱۰ درصد، ۱۰۰ میکرولیتر استات پتاسیم ۱ مولار و ۲/۸ میلی‌لیتر آب مقطر مخلوط شد. مخلوط حاصل به خوبی ورتکس گردید و به مدت ۴۰ دقیقه در دمای محیط نگهداری شد. سپس، جذب محلول‌ها در طول موج ۴۱۵ نانومتر نسبت به شاهد اندازه‌گیری گردید. از لوله آزمایش فاقد عصاره گیاهی به عنوان شاهد استفاده شد. مقدار فلاونوئید کل نمونه‌ها براساس منحنی استاندارد تهیه شده از غلظت‌های مختلف کوئرستین محاسبه شد و در نهایت بر اساس معادل میلی‌گرم کوئرستین بر گرم بافت تر گیاه گزارش گردید.

سنجش آنتوسیانین کل

سنجش آنتوسیانین کل به روش Mita et al., (1997) صورت گرفت. ۰/۱ گرم از بافت تر گیاهی با ۵ میلی‌لیتر محلول اسید کلریدریک ۱٪ حاوی متانول در یک هاون چینی ساییده شد و به مدت ۲۴ ساعت در یخچال نگهداری گردید. سپس محلول‌ها به مدت ۱۰ دقیقه و در 10000 g سانتریفیوژ شدند. جذب محلول‌ها در طول موج ۵۳۰ و ۶۵۷ نانومتر نسبت به شاهد اندازه‌گیری شد. از محلول اسید کلریدریک ۱٪ حاوی متانول به عنوان شاهد استفاده شد. در نهایت محتوای آنتوسیانین کل نمونه‌ها طبق فرمول زیر محاسبه گردید و بر اساس میلی‌گرم بر گرم بافت تر گیاه گزارش شد.

$$A = A_{530} - (0.25 \times A_{657})$$

سنجش قندهای محلول

اندازه‌گیری قندهای محلول با استفاده از روش فنل-اسیدسولفوریک صورت گرفت

پراکسید هیدروژن محاسبه شد و به صورت میکرومول بر گرم وزن تر بیان گردید.

سنجش فنل کل

اندازه‌گیری غلظت فنل کل نمونه‌ها با استفاده از معرف فولین سیو-کالچوانجام گرفت (Meda et al., 2005). مقدار ۰/۱ گرم از بافت گیاهی در ۵ میلی‌لیتر متانول در یک هاون چینی ساییده شد. سپس به مدت ۵ دقیقه در 10000 g سانتریفیوژ گردید و روشناور برای سنجش فنل کل مورد استفاده قرار گرفت. برای سنجش فنل کل، ۱۰۰ میکرولیتر از روشناور با ۲/۸ میلی‌لیتر آب مقطر، ۲ میلی‌لیتر کربنات سدیم دو درصد و ۱۰۰ میکرولیتر معرف فولین مخلوط گردید. مخلوط حاصل به خوبی ورتکس گردید و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای محیط نگهداری شد. جذب محلول‌ها در طول موج ۷۲۰ نانومتر نسبت به شاهد اندازه‌گیری شد. از لوله آزمایش فاقد عصاره گیاهی به عنوان شاهد استفاده شد. مقدار فنل کل نمونه‌ها براساس منحنی استاندارد تهیه شده از غلظت‌های مختلف گالیک اسید محاسبه شد و در نهایت بر اساس معادل میلی‌گرم گالیک اسید بر گرم بافت تر گیاه ارائه گردید.

سنجش فلاونوئید کل

اندازه‌گیری غلظت فلاونوئید کل نمونه‌ها براساس روش رنگ سنجی آلومینیوم کلرید، همراه با تغییراتی انجام شد (Chang et al., 2002). مقدار ۰/۱ گرم از نمونه گیاهی در ۵ میلی‌لیتر متانول در یک هاون چینی ساییده شد. سپس به مدت ۵ دقیقه در 10000g سانتریفیوژ گردید و روشناور برای سنجش فلاونوئید کل مورد استفاده قرار گرفت. ۵۰۰ میکرولیتر از

نتایج و بحث

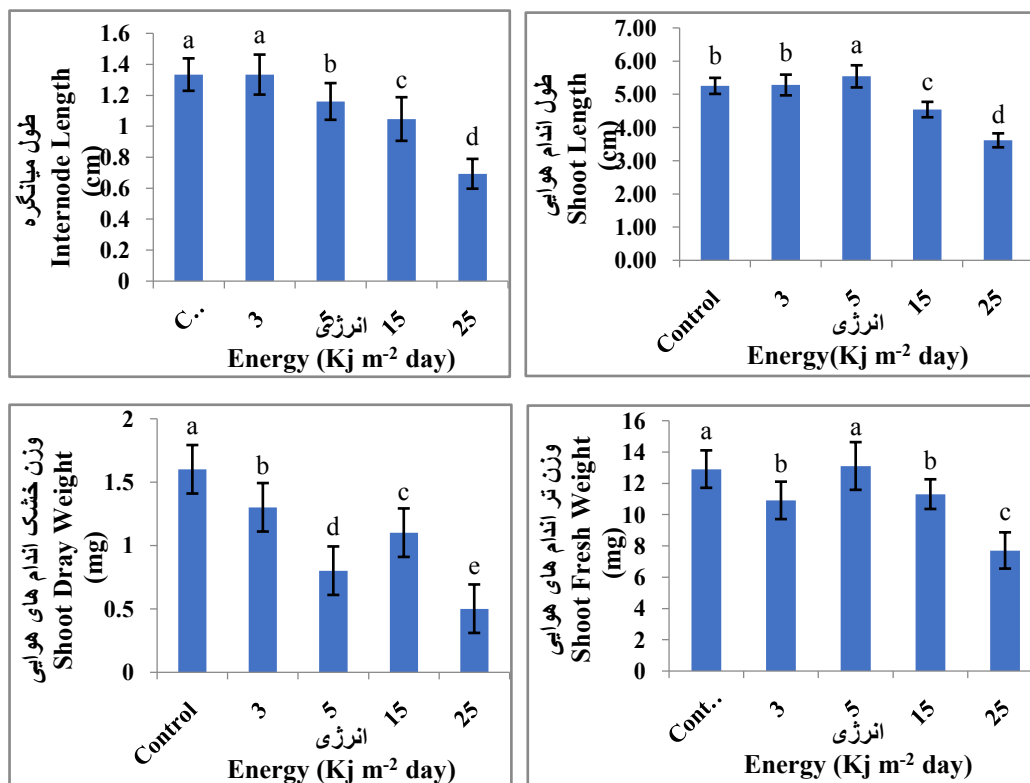
شاخص‌های رشدی

طول اندام‌های هوایی در شدت‌های ۳ و ۵ کیلوژول بر متر مربع در روز نسبت به شاهد افزایش یافت که در شدت ۵ کیلوژول بر متر مربع در روز معنی‌دار بود ولی در شدت‌های ۱۵ و ۲۵ کیلوژول بر متر مربع در روز، به ترتیب کاهش ۱۳ و ۳۱ درصدی نسبت به شاهد نشان داد که معنی‌دار بودند ($p \leq 0.05$). با افزایش شدت پرتو فرابنفش روند کاهش در طول ریشه دیده شد اما این کاهش نسبت به شاهد معنی‌دار نبود. همچنین با افزایش شدت سطح تیماردهی گیاهان، طول میانگره‌ها روند کاهش نشان داد به طوری که این کاهش در شدت‌های ۵، ۱۵ و ۲۵ کیلوژول بر متر مربع در روز نسبت به شاهد معنی‌دار بود ($p \leq 0.05$) و در شدت ۵۲ کیلوژول بر متر مربع در روز حدوداً کاهش دوبرابری نسبت به شاهد مشاهده شد. با افزایش شدت پرتو فرابنفش (UV) وزن تر و خشک گیاه کاهش پیدا کرد و سیر نزولی داشت. وزن تر اندام‌های هوایی به جز در شدت ۵ کیلوژول بر متر مربع در روز، در بقیه تیمارها تفاوت معنی‌داری با شاهد داشت ($p \leq 0.05$) و کمترین مقدار وزن تر در شدت ۲۵ کیلوژول بر متر مربع در روز بود که نسبت به شاهد حدود ۴۰ درصد کمتر بود. همچنین وزن خشک اندام‌های هوایی با افزایش شدت تابش، کاهش یافت و در تمام تیمارها معنی‌دار بود ($p \leq 0.05$) به طوری که در شدت ۲۵ کیلوژول بر متر مربع در روز با کاهش ۶۲ درصدی نسبت به شاهد کمترین مقدار وزن خشک را به خود اختصاص داد (شکل ۱).

(Kochert, 1978). برای این کار مقدار ۰/۰۵ گرم از نمونه خشک گیاه بعد از پودر کردن در لوله آزمایش ریخته شد و به آن ۵ میلی‌لیتر اتانول ۷۰ درصد اضافه شد و به مدت یک هفته در یخچال نگهداری گردید. سپس نمونه‌ها به مدت ۱۵ دقیقه در 10000 g در دمای اتاق سانتریفیوژ شدند. روشناور برای سنجش قند محلول مورد استفاده قرار گرفت. برای این منظور، ۰/۵ میلی‌لیتر از عصاره گیاهی در لوله‌های آزمایش با آب مقطر به حجم ۲ میلی‌لیتر رسانده شد. سپس به هریک از لوله‌ها به ترتیب ۱ میلی‌لیتر فنل ۰/۵ و ۵ میلی‌لیتر اسیدسولفوریک غلیظ اضافه گردید. مخلوط حاصل به خوبی هم زده شد و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق نگهداری گردید. پس از این مدت جذب محلول‌ها در طول موج ۴۸۵ نانومتر نسبت به شاهد اندازه‌گیری شد. از لوله آزمایش فاقد گلوکز به عنوان شاهد استفاده شد. محتوای قند محلول کل نمونه‌ها بر اساس منحنی استاندارد تهیه شده از غلظت‌های مختلف گلوکز محاسبه شد و در نهایت بر اساس میلی‌گرم بر گرم بافت خشک گیاه محاسبه و بیان گردید.

آنالیز آماری

این پژوهش به صورت یک طرح کاملاً تصادفی انجام گرفته و جهت آنالیز آماری برای هر تیمار سه تکرار در نظر گرفته شد و آنالیز داده‌های به دست آمده از طریق آزمون دانکن و در سطح احتمال ۵ درصد با استفاده از نرم افزار SPSS25 صورت پذیرفت. تعیین میانگین و انحراف از استاندارد داده‌ها و همچنین رسم نمودارها با استفاده از نرم افزار Microsoft Excel 2016 انجام گردید.



شکل ۱- تأثیر شدت‌های مختلف پرتو فرابنفش (UV) بر شاخص‌های رشدی گیاه *Hypericum hirsutum* L. ستون‌هایی که دارای حروف مشترک هستند تفاوت معنی داری در سطح احتمال ۵ درصد باهم ندارند.

همچنین پرتو فرابنفش باعث اختلال در بیوسنتز و انتقال تنظیم کننده‌های رشد مانند اکسین و اسیدجیبرلیک می‌شود که یکی دیگر از دلایل کاهش وزن تر و خشک اندام‌هایی هوایی می‌باشد (Krizek et al., 1998). تابش نور فرابنفش باعث تجزیه شیمیایی هورمون اکسین، فعال شدن آنزیم اکسین اکسیداز و پراکسیداسیون اسید ایندول استیک می‌گردد. در نتیجه تجزیه هورمون اکسین تقسیم سلولی و تعداد سلول کاهش می‌یابد و باعث کوتاه شدن طول میانگره‌ها و کاهش ارتفاع گیاه می‌گردد (Hollosy, 2002; Kakani et al., 2003). نتایج یک پژوهش نشان می‌دهد که پرتوهای UV-B و UV-C باعث کاهش معنی‌دار طول

(Teramura 1983) اعلام کرده است که تأثیرات پرتو فرابنفش (UV) بر روی رشد گیاهان به واسطه فیتوهورمون‌ها، تخریب نوری و یا کاهش فعالیت بعضی از آنزیم‌ها صورت می‌گیرد. اتیلن یکی از فیتوهورمون‌هایی می‌باشد که تحت تأثیر پرتو فرابنفش مقدار آن در گیاه افزایش می‌یابد. یک دلیل برای افزایش اتیلن تولید گونه‌های واکنشگر اکسیژن (ROS) اعلام شده است. گونه‌های واکنشگر اکسیژن سبب پراکسیداسیون لیپیدها می‌شود و این پراکسیداسیون موجب افزایش میزان اتیلن می‌گردد. افزایش اتیلن باعث کاهش رشد طولی و طول میانگره و در نتیجه کاهش وزن تر و خشک اندام‌های هوایی نیز می‌گردد،

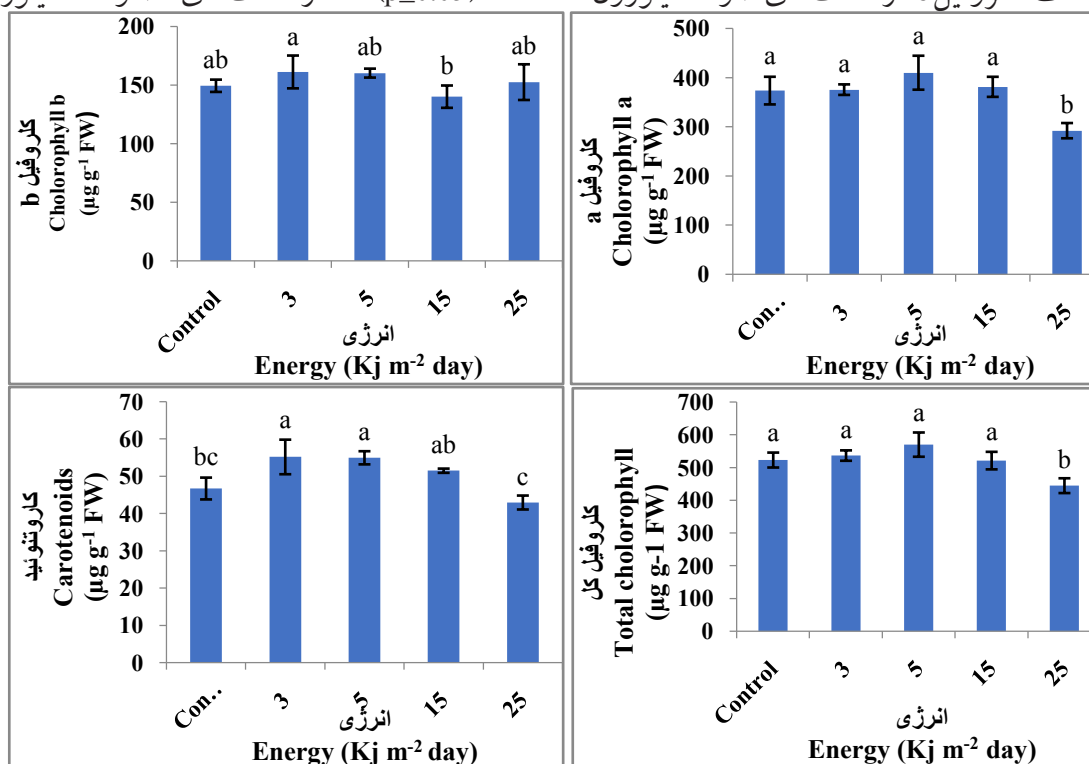
بر متر مربع در روز روند افزایشی نشان داد اما در تیمار ۱۵ کیلوژول بر متر مربع در روز کاهش یافت ولی در هیچ کدام از تیمارها تفاوت معنی‌داری نسبت به شاهد مشاهده نشد. غلظت کلروفیل کل با افزایش شدت پرتو فرابنفش تا ۵ کیلوژول بر متر مربع در روز روند افزایشی نشان داد که نسبت به شاهد معنی‌دار نبود، اما در شدت‌های ۱۵ و ۲۵ کیلوژول بر متر مربع در روز روند کاهشی بود ولی تنها در شدت ۲۵ کیلوژول بر متر مربع در روز با ۱۵ درصد کاهش معنی‌دار بود ($p \leq 0.05$). غلظت کاروتنوئیدها در شدت‌های ۳ و ۵ و ۱۵ کیلوژول بر متر مربع در روز روند افزایشی نشان داد که این افزایش در شدت‌های ۳ و ۵ کیلوژول بر متر مربع در روز نسبت به شاهد حدود ۱۸ درصد و معنی‌دار بود ($p \leq 0.05$) اما در شدت‌های ۱۵ و ۲۵ کیلوژول

ریشه و ساقه می‌شوند و علت این امر را به تاثیر منفی پرتوهای فرابنفش بر همانندسازی DNA و در نتیجه کاهش تقسیم سلولی نسبت داده اند (Frohnmeier (2003)

Gao et al. (2003) نشان داده‌اند که کاهش وزن تر و خشک اندام‌های هوایی گیاه پنبه تحت تاثیر پرتو فرابنفش به علت کاهش میزان سطح برگ است و این کاهش سطح برگ را به کاهش میزان تقسیم سلول‌ها نسبت دادند.

رنگیزه های فتوسنتزی

با افزایش شدت پرتو فرابنفش تا ۱۵ کیلوژول بر متر مربع در روز، غلظت کلروفیل a کمی افزایش یافت اما در تیمار ۲۵ کیلوژول بر متر مربع در روز، کاهش ۲۱ درصدی و معنی‌دار نسبت به شاهد نشان داد ($p \leq 0.05$). غلظت کلروفیل b در شدت‌های ۳ و ۵ کیلوژول



شکل ۲- تاثیر شدت‌های مختلف پرتو فرابنفش (UV) بر رنگیزه‌های فتوسنتزی در گیاه *Hypericum hirsutum* L. ستون‌هایی که دارای حروف مشترک هستند تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد باهم ندارند.

کاروتنوئیدها رنگیزه‌های کمکی فتوسنتز هستند که وظیفه حفاظت از کلروفیل در برابر اکسیداسیون نوری، جذب نور و انتقال انرژی به کلروفیل a را بر عهده دارند. افزایش کاروتنوئیدها در بعضی از گونه‌های گیاهی یک پاسخ سازشی برای کاهش اثرات منفی پرتو فرابنفش (UV) می‌باشد چرا که این ترکیبات از طریق چرخه گزانتوفیل سبب پراکنده شدن انرژی مازاد می‌گردد و نهایتاً دستگاه فتوسنتزی را محافظت می‌کنند (Inze and Montago, 2002). Allen et al (1998) اظهار کرده‌اند که کاهش کاروتنوئیدها می‌تواند به علت تبدیل آن‌ها به آبسزیک اسید باشد، که این تبدیل در بسیاری از تنش‌های محیطی نیز صورت می‌گیرد.

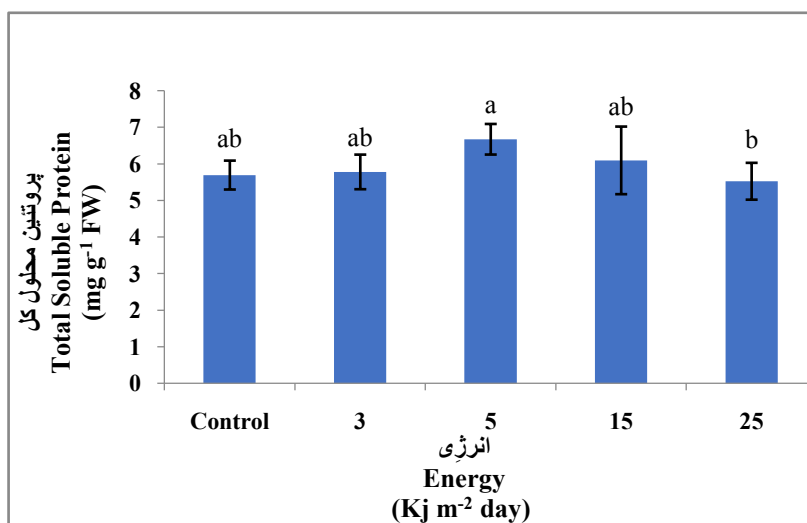
پروتئین محلول کل

با افزایش شدت پرتو فرابنفش تا ۱۵ کیلوژول بر متر مربع در روز محتوای پروتئین محلول کل نسبت به شاهد افزایش یافت اما در شدت ۲۵ کیلوژول بر متر مربع در روز نسبت به شاهد کاهش یافت ولی تغییرات در هیچ کدام از

بر مترمربع در روز تفاوت معنی‌داری با شاهد مشاهده نشد (شکل ۲).

ممانعت پرتو فرابنفش از سنتز کلروفیل و تخریب پیش سازهای این رنگیزه یکی از دلایل کاهش غلظت آن ذکر شده است. این موضوع با مطالعه تاثیرات پرتو فرابنفش بر روی رنگیزه‌های فتوسنتزی نوعی جلبک سبز گزارش شده است (Agrawl, 1992).

Gao et al. (2003) گزارش کرده‌اند که پرتو فرابنفش باعث فتواکسیداسیون غیر آنزیمی کلروفیل می‌شود. همچنین مشخص شده است که UV-B و UV-C محتوای کلروفیل را با تخریب ساختار کلروفیل کاهش می‌دهند. پژوهش‌های Hosseini Sarghein et al. (2008) بر روی گیاه فلفل قلمی، (Rahmatzadeh & Khara, 2008) بر روی گیاه گندم، (Kargarkhorami et al (2012) بر روی گیاه بامیه و Jabbarzadeh (2019) بر روی گیاه بادرشبو نیز نشان داده‌اند که نور فرابنفش باعث کاهش غلظت رنگیزه‌های فتوسنتزی می‌شود.



شکل ۳- تأثیر شدت‌های مختلف پرتو فرابنفش (UV) بر محتوای پروتئین محلول کل در گیاه *Hypericum hirsutum* L.

ستون‌هایی که دارای حروف مشترک هستند تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد باهم ندارند.

شدت به ۱۵ و ۲۵ کیلوژول بر متر مربع در روز، افزایش به ترتیب ۱۹ و ۴۵ درصدی نشان داد که نسبت به شاهد معنی‌دار بود ($p \leq 0.05$). بیشترین مقدار مالون دی آلدئید نیز در شدت ۲۵ کیلوژول بر متر مربع در روز مشاهده شد. محتوای پراکسید هیدروژن با افزایش شدت پرتو فرابنفش تا ۱۵ کیلوژول بر متر مربع در روز روند افزایشی نشان داد به طوری که در شدت‌های ۵ و ۱۵ کیلوژول بر متر مربع در روز نسبت به شاهد به ترتیب افزایش ۶۱ و ۵۷ درصدی و معنی‌دار نشان داد ($p \leq 0.05$) اما در شدت ۲۵ کیلوژول بر متر مربع در روز محتوای آن نسبت به شاهد کاهش یافت (شکل ۴).

پرتو فرابنفش باعث افزایش غلظت گونه‌های فعال اکسیژن و پراکسیداسیون لیپیدها در غشاهای سلولی می‌شود. از نتایج پراکسیداسیون لیپیدها تولید مالون دی آلدئید از تجزیه اسیدهای چرب غیراشباع می‌باشد که به عنوان یک شاخص بیوشیمیایی برای برآورد آسیب‌های وارده به غشا توسط رادیکال‌های آزاد مطرح می‌باشد (Eraslan et al., 2008). نتایج حاصل از بررسی

تیمارها نسبت به شاهد معنی‌دار نبود ($p \leq 0.05$) (شکل ۳).

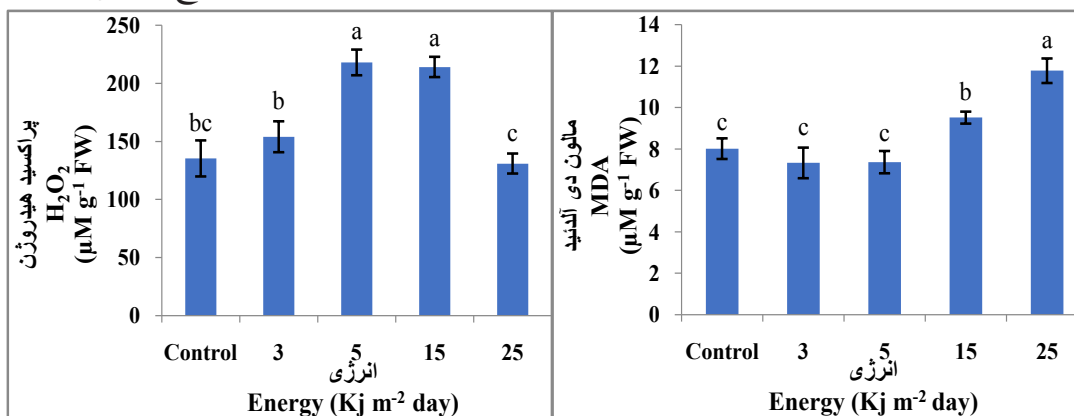
تنش‌های محیطی اغلب موجب تغییر در متابولیسم پروتئین‌ها در گیاهان می‌شوند. (Prinsze et al., 1990). علت کاهش محتوای پروتئین محلول کل با تابش نور فرابنفش در برگ به احتمال زیاد آسیب‌های وارده به آنزیم رویسکو می‌باشد که حدود نیمی از پروتئین محلول موجود در برگ‌ها را شامل می‌شود (Field and Mooney, 1986).

Jabbarzadeh (2019) با مطالعه بر روی گیاه بادرشبو گزارش کرده است که محتوای پروتئین محلول کل در شدت‌های پایین پرتو فرابنفش افزایش اما در شدت‌های بالا مقدار آن کاهش می‌یابد که با نتایج مطالعات ما در این پژوهش همخوانی دارد.

محتوای مالون دی آلدئید (MDA) و

پراکسید هیدروژن

غلظت مالون دی آلدئید در شدت‌های ۳ و ۵ کیلوژول بر متر مربع در روز از پرتو فرابنفش (UV) روند کاهشی داشت. اما با افزایش



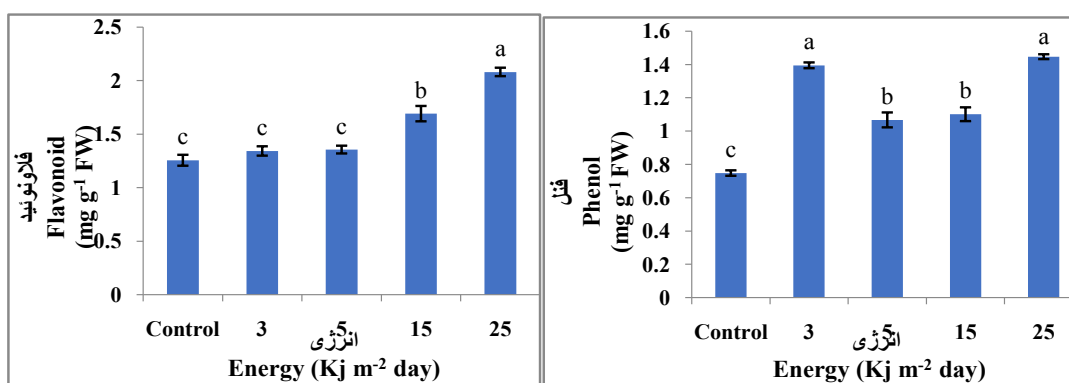
شکل ۴- تاثیر شدت‌های مختلف پرتو فرابنفش (UV) بر محتوای مالون دی آلدئید و پراکسید هیدروژن در گیاه *Hypericum hirsutum* L. ستون‌هایی که دارای حروف مشترک هستند تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد باهم ندارند.

محتوای فنل کل و فلاونوئید

با افزایش شدت تابش پرتو فرابنفش (UV) محتوای فنل کل و فلاونوئید افزایش یافت. افزایش غلظت فنل کل در تمام تیمارهای پرتو فرابنفش نسبت به شاهد معنی‌داری بود ($p \leq 0.05$) و در شدت‌های ۳ و ۲۵ کیلوژول بر مترمربع در روز نسبت به بقیه تیمارها مشهودتر بود (افزایش حدود دو برابری). محتوای فلاونوئید نیز در شدت‌های ۱۵ و ۲۵ کیلوژول بر مترمربع در روز نسبت به شاهد معنی‌دار بود ($p \leq 0.05$) و به ترتیب افزایش حدود ۳۵ و ۶۵ درصدی نشان داد (شکل ۵).

عوامل تنش‌زای محیطی از جمله نور باعث تحریک تولید متابولیت‌های ثانویه و به ویژه ترکیبات فنلی می‌شوند (Omidbeigy, 2013). ترکیبات پلی فنلی گروهی از ترکیبات پاد اکساینده هستند که با سازوکارهای متعددی نظیر جاروب کردن رادیکال‌های آزاد و قطع کردن واکنش‌های زنجیره‌ای اکسیداسیون، دادن هیدروژن و ... نقش پاداکسایشی خود را ایفا می‌کند. افزایش ترکیبات فنلی در شرایط

اثرات پرتو فرابنفش بر روی دانه رست (*Cassia* Agrawal, 2007)، لپه آفتابگردان (Hernan et al., 2002) و دانه رست‌های بادام زمینی (Ke – Tang, 2010) نشان داده است که میزان پراکسیداسیون لیپیدها و غلظت MDA افزایش می‌یابد. Quan et al (2009) نیز که بر روی *Chlamydomonas* مطالعه می‌کردند گزارش نموده‌اند که تنش اکسایشی ایجاد شده توسط نور فرابنفش میزان O_2^- و MDA را افزایش می‌دهد. پراکسید هیدروژن در گیاهان نقشی دوگانه دارد. از یک سو در غلظت‌های پایین به عنوان یک پیام رسان مولکولی مطرح است (Shu- Hsien et al., 2005) و تنظیم فرایندهای اصلی همچون فتوسنتز، تنفس، هدایت روزنه‌ای، چرخه سلولی و رشد و توسعه نقش دارد (Gill & Tuteja, 2010) و به عنوان فاکتور مهم در تحمل تنش در گیاهان مطرح است (Neill et al., 2002). اما در غلظت‌های بالا باعث تخریب بافت و مرگ گیاه می‌شود (Villa-Castorena et al., 2003).



شکل ۵- تأثیر شدت‌های مختلف پرتو فرابنفش (UV) بر

محتوای فنل کل و فلاونوئیدها در گیاه *Hypericum hirsutum* L.

ستون‌هایی که دارای حروف مشترک هستند تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد باهم ندارند.

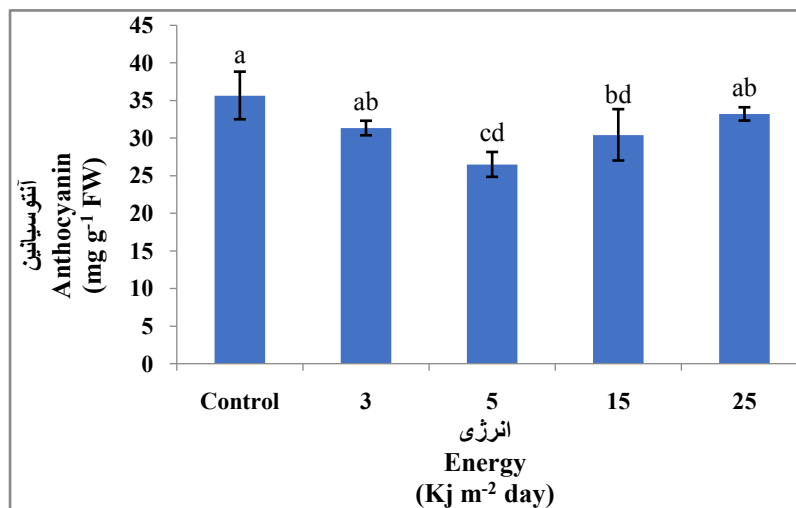
متصل در دیواره یا کوتیکول قرار می‌گیرند. این کار نوعی مکانیسم حفاظتی برای گیاه است که از نفوذ پرتوهای فرابنفش جلوگیری می‌کند (Turcsanyi, 2000). به علاوه فلاونوئیدها نقش‌های مهم دیگری در گیاهان مانند دفاع در برابر حمله پاتوژن‌ها و جذب گرده افشان‌ها را ایفا می‌کنند و به عنوان سیگنالی برای شروع همزیستی عمل می‌کنند (Yamasaki et al., 1997). گزارش‌ها نشان می‌دهند افزایش در غلظت فلاونوئیدها تحت تنش پرتو فرابنفش ناشی از فعالیت زیاد آنزیم فنیل آلانین آمونیا لیاز (PAL) و یا سرعت بالای بیوسنتز این آنزیم و همچنین افزایش فعالیت آنزیم چالکون سنتاز است. (Gao et al., 2004).

Germ et al. (2010) گزارش نموده‌اند که با افزایش شدت نور UV-B مقدار فلاونوئیدها در برگ‌ها و گل‌های گیاه هایپریکوم پرفوراتوم به طور معنی‌داری افزایش می‌یابد. افزایش محتوای فلاونوئیدها تحت تاثیر نور فرابنفش، در

تنش به ساختار ژنتیکی و محیط رشد گیاهان بستگی دارد (Tian & Lei, 2006). ترکیبات فنلی دارای قدرت احیاکنندگی هستند و باعث حفاظت سلول‌ها در برابر ROS ها می‌شوند (Kumaran & Joel, 2007).

Mustafa et al. (2008) گزارش کرده‌اند که محتوای فنل کل در میوه توت فرنگی تحت تاثیر نور فرابنفش افزایش می‌یابد و علت آن را نقش پاداکسایشی فنل‌ها اعلام کرده‌اند. همچنین مطالعه بر روی بامیه (Kargar et al., 2011)، ریحان (Mousavi et al., 2008)، گل کلم (Costa et al., 2006)، توتون (Ghaderi, 2016) و دو رقم جو نیز (Mohammadi, 2014) نشان داده است که محتوای فنل کل تحت تاثیر نور فرابنفش افزایش می‌یابد.

فلاونوئیدها ترکیبات جذب‌کننده پرتو فرابنفش هستند که در واکنش سلول‌ها به ویژه سلول‌های اپیدرم تجمع می‌یابند و یا به صورت



شکل ۶- تاثیر شدت‌های مختلف پرتو فرابنفش (UV) بر محتوای آنتوسیانین کل در گیاه *Hypericum hirsutum L.* ستون‌هایی که دارای حروف مشترک هستند تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد باهم ندارند.

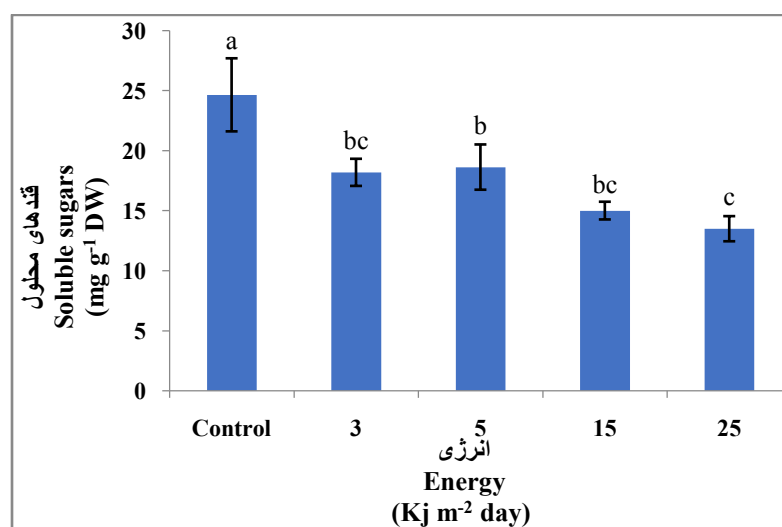
بالغ و هم در برگ‌های جوان وجود دارند. (Woodall & Stewart, 1998). دلیل افزایش آنتوسیانین‌ها در برابر پرتو فرابنفش حفاظت از DNA و بافت‌های حساس و افزایش تحریر ژن‌های سازنده آنزیم‌های درگیر در بیوسنتز این ترکیبات می باشد (Ravindran et al., 2008; Greenberg et al., 1996)

Gonzalez-Villagra et al. (2019) با مطالعه بر روی گیاه *Vaccinium corymbosum* L. در فصول مختلف گزارش نموده‌اند که در یک رقم از آن‌ها نور فرابنفش باعث افزایش محتوای آنتوسیانین کل و در رقم دیگر باعث کاهش محتوای آنتوسیانین می‌شود. افزایش در محتوای آنتوسیانین‌ها تحت تاثیر نور فرابنفش در گیاهان فلفل قلمی (Hosseini Sarghein et al., 2008)، توت فرنگی (Erkan et al., 2008) و *Artemisia annua* (Shaukat et al., 2013) و توتون (Ghaderi, 2016) نیز گزارش شده است.

گیاهان زغال اخته (Gonzalez-Villagra et al., 2019)، اسفناج (Smirnof & Wheellev, 2000)، اطلسی (Ryan et al., 2002)، سیب زمینی (Santos et al., 2004)، و کاج اسکاتلندی (Turunen et al., 2005) نیز گزارش شده است.

آنتوسیانین کل

غلظت آنتوسیانین کل با افزایش شدت تابش پرتو فرابنفش کاهش یافت به طوری که در شدت‌های ۵ و ۱۵ کیلوژول بر متر مربع در روز نسبت به شاهد معنی‌دار بود ($p \leq 0.05$) و کمترین غلظت آنتوسیانین کل در شدت ۵ کیلوژول بر متر مربع در روز بود که کاهشی حدود ۲۵ درصدی را نسبت به شاهد نشان داد (شکل ۶). آنتوسیانین‌ها از ترکیبات فنلی مشتق شده از مسیر بیوسنتز فلاونوئیدها هستند که خاصیت فیلتر کردن پرتوهای فرابنفش را دارند. (Greenberg et al., 1996). آنتوسیانین‌ها از نظر ساختمانی وابسته به فلاونوئیدها هستند که هم در برگ‌های



شکل ۷- تاثیر شدت‌های مختلف پرتو فرابنفش (UV) بر محتوای قندهای محلول در گیاه *Hypericum hirsutum* L.

ستون‌هایی که دارای حروف مشترک هستند تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد باهم ندارند.

قندهای محلول

با افزایش شدت پرتو فرابنفش (UV) تا ۲۵ کیلوژول بر متر مربع در روز یک روند کاهشی نسبتاً منظم در محتوای قندهای محلول مشاهده شد که این روند کاهش در تمام تیمارها نسبت به شاهد معنی دار بود ($p \leq 0.05$). کمترین محتوای قندهای محلول در شدت ۲۵ کیلوژول بر مترمربع در روز مشاهده شد که کاهشی حدود ۴۵ درصدی را نسبت به شاهد نشان داد (شکل ۷).

علت کاهش محتوای قندهای محلول می‌تواند به دلیل افزایش سنتز ترکیب‌های ثانویه تحت تاثیر پرتو فرابنفش (UV) باشد، منابع کربنی گیاه به سمت سنتز ترکیب‌های ثانویه مانند فنل‌ها، فلاونوئیدها و آنتوسیانین‌ها گرایش پیدا می‌کند. Krizek et al (1998) بیان کرده‌اند که غشاهای تیلاکوئیدی به دلیل داشتن اسیدهای چرب غیر اشباع فراوان، در برابر نور فرابنفش پراکسیده می‌شوند و نتیجه آن اختلال در همبستگی غشای تیلاکوئید، کاهش فتوسنتز و اختلال در متابولیسم است. به همین دلیل کاهش محتوای قندهای محلول در تیمارهای فرابنفش به کاهش فتوسنتز ارتباط داده شده است که به دلایلی از جمله پراکسیداسیون غشای تیلاکوئیدی، جذب فرابنفش توسط فتوسیستم II، تخریب پروتئین‌های D_1 و D_2 و تخریب آنزیم رويسكو اتفاق می‌افتد (Moussa & Khodary, 2008). تحقیقات انجام شده توسط Liu et al (2005) بر روی گیاه اکالیبتوس، Abedzadeh & Pourakbar (2013) بر روی گیاه بادرنجبویه Hosseini (2011) Sarghin et al (2011) بر روی گیاه فلفل قلمی،

Kargarkhorami et al (2012) بر روی گیاه بامیه، Nasibi & Kalantari (2006) بر روی گیاه بنگ‌دانه و Mousavi et al (۲۰۰۸) بر روی گیاه ریحان نشان داده است که نور فرابنفش باعث کاهش قندهای محلول در گیاهان مورد مطالعه می‌شود.

یافته های ترویجی

نتایج این پژوهش نشان داد با توجه به اینکه بذره‌های گیاه دارویی گل‌راعی کرکدار از ارتفاع حدود ۲۱۱۰ متری جمع‌آوری شده بود و در آن ارتفاعات نیز شدت تابش پرتو فرابنفش بالا و به طور میانگین حدود ۴/۵ کیلوژول بر متر مربع در روز بود بنابراین مواد موثره و خصوصیات ریخت‌شناسی این گیاه تحت تاثیر شدت‌های بالای پرتو فرابنفش قرار گرفت. اما در شدت‌های پایین‌تر از میانگین شدت پرتو فرابنفش در آن ارتفاع، تاثیر زیادی بر شاخص‌های مورد مطالعه نگذاشت. کاهش وزن خشک و تر اندام هوایی، کاهش طول اندام هوایی و طول میانگره‌ها و افزایش میزان ترکیبات موثره گیاه مانند فنل‌ها و فلاونوئیدها از اثرات شدت‌های بالای پرتو فرابنفش بر روی گیاه مورد مطالعه بود. گیاه با افزایش این ترکیبات به عنوان یک مکانیسم دفاعی در برابر پرتوهای فرابنفش عمل می‌کند تا از اثرات تخریبی آن بکاهد. علت کاهش قندهای محلول هم می‌تواند به دلیل افزایش سنتز فنل‌ها و فلاونوئیدها به عنوان ترکیبات ثانویه و محافظ باشد.

References:

1. Abedzadeh, M. & Pourakbar, L. 2013. Investigation of the interaction of UV-B, UV-C and salicylic acid on some physiological and biochemical parameters of the *Melissa officinalis* L.. Plant processes and functions. 3: 5-12. (In Persian).
2. Agrawal, S.B. 1992. Effects of supplemental UV-B radiation on photosynthetic pigment, protein and glutathione content in green algae. Environmental and Experimental Botany, 32: 137-143.
3. Agrawal, S.B. 2007. Increased antioxidant activity in cassia seedlings under UV-B radiation. Biologia Plantarum, 51: 157-160.
4. Allen, D. J., Nogues, S. and Baker, R.N. 1998. Ozone depletion and increased UV-B radiation: Is here a real threat to photosynthesis? Journal of Experimental Botany, 328: 1775-1788.
5. Asada, K. 1999. The water-water cycle in chloroplasts: scavenging of active oxygen and dissipation of excess photons. Journal of Plant Physiology, 50: 601-639.
6. Azeez, H., Ibrahim, K., Pop, R., Pamfil, D., Hârța, M. & Bobiș, O. 2017. Changes induced by gamma ray irradiation on biomass production & secondary metabolites accumulation in *Hypericum triquetrifolium* Turra callus cultures. Industrial Crops and Products, 108: 183-189.
7. Boominathan, R., Doran, P.M. 2002. Ni induced oxidative stress in roots of the Ni hypericum accumulator, *Alyssum bertoloni*. New Phytologist, 156: 202-205.
8. Bradford, M.M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Analytical Biochemistry, 72: 248-254.
9. Chang, C., Yag, M., Wen, H., Chern, J. 2002. Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. Journal of Food and Drug Analysis, 10: 178-182.
10. Coohill, T.P. 1989. Ultraviolet action spectra (280 nm to 380 nm) and solar effectiveness spectra for higher plants. Photochemistry and Photobiology, 50: 451-457.
11. Costa, L., Vicente, A.R., Civello, P.M., Chaves, A.R. & Martinez, G.A. 2006.

- UV-C Treatment Delays Postharvest Senescence in *Broccoli florets*. Journal of Biology, Technology, 39: 204-210.
12. Eraslan, F., Inal, A., David, J., pilbeam., Gunes, A. 2008. Interactive effects of salicylic acid and silicon on oxidative damage and antioxidant activity in spinach (*Spinacia oleracea L.cv .Matador*) grown under boron toxicity and salinity. Plant Growth Regul, 55 :207-219.
 13. Erkan, M., Wang, S.Y. & Wang, C.Y. 2008. Effect of UV treatment on antioxidant capacity, antioxidant enzyme activity and decay in Strawberry fruit. Postharvest Biology and Technology, 48: 163-171.
 14. Field, C., Mooney, H.A. 1986. The photosynthesis-Nitrogen relationship in wild plants-In: Givinish TJ (ed) on the economy of plant form and function. Cambridge university press, Cambridge. 25-55.
 15. Frohnmeyer, H., & Staiger, D. 2003. Ultraviolet-B radiation-mediated responses in plants. Balancing damage and protection. Plant Physiology, 133: 1420-1428.
 16. Gao, W., Zhen, Y., Slusser, J.R. & Gordon, M. 2003. Impact of enhanced Ultraviolet-B irradiance on Cotton growth, development, yield, and qualities under field conditions. Agricultural and Forest Meteorology, 120: 241- 248.
 17. Gao, W., Zheng, Y., Slusser, J. R., Heisler, G. M., Grant, R. H., Xu, J. & He, D. 2004. Effects of supplementary Ultraviolet-B irradiance on maize yield and qualities: A field experiment. Photochemistry and Photobiology, 80: 127-131.
 18. Germ, M., Stibilj, V., Kreft, S., Gaberščik, A. & Kreft, I. 2010. Flavonoid, tannin and hypericin concentrations in the leaves of St. John's wort (*Hypericum perforatum L.*) are affected by UV-B radiation levels. Food Chemistry, 122: 471-474.
 19. Ghaderi, F. 2016. Effect of UV-B radiation on some anatomical , physiological and biochemical parameters of tobacco (*Nicotiana tabacum*) plants and influence of salicylic acid in UV-B stress ameliorations. Master Thesis. University of Urmia. 130p. (In Persian).
 20. Gill, S. S., & Tuteja, N. 2010. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. Plant Physiology and

- Biochemistry, 48: 909-930.
21. González-Villagra, J., Marjorie, R., Alberdi, M., Acevedo, P., Loyola, R., Tighe-Neira, R., Arce-Johnson, P. & Inostroza-Blancheteau, C. 2019. Solar UV irradiation effects on photosynthetic performance, biochemical markers, and gene expression in highbush blueberry (*Vaccinium corymbosum* L.) cultivars. *Scientia Horticulturae*, 259: 108816.
 22. Greenberg, B. M., Wilson, M. I., Gerhardt, K. E. & Wilson, K. E. 1996. Morphological and physiological responses of *Brassica napusta* to ultraviolet radiation: photomodification of ribulose -5-1bis phosphate Carboxylase/oxygenase and potential acclimation processes. *Plant Physiology*, 148: 78-85.
 23. Harinasut, P., Poonsopa, D., Roengmongkol, K. & Charoensalaporn, R. 2003. Salinity Effects on antioxidant enzymes in mulberry cultivar. *Asian Journal of Scientific Research*, 29: 106-113.
 24. Herná'n, Costa., Susana, M. & Gallego, Mari'a, L.T. 2002. Effect of UV-B radiation on antioxidant defense system in sunflower cotyledons. *Plant Science*, 162: 939 -945.
 25. Hollosy, F. 2002. Effects of ultraviolet radiation on plant cells. *Micron*, 33: 179-197.
 26. Hosseini Sarghein, S., Carapetian, J. & Khara, J. 2008. Effects of UV radiation on photosynthetic pigments and UV-absorbing compounds in *Capsicum longum* L.. *International Journal of Botany*, 4: 486-490.
 27. Hosseini Sarghin, S. Karapetyan, J. & Khara, J. 2011. Investigation of the effect of ultraviolet radiation on some physiological parameters of the *capsicum longum*. *Herbal products*. 34: 2. (In Persian).
 28. Hosseinpour Faizi, M. & Pirayesh Islamian, J. 2001. Ultraviolet radiation: Scientific review of biological effects under the pretext of reducing ozone layer thickness. *Tabriz Univ.* 320p. (In Persian)
 29. Inze, D & Montagu, M.V. 2002. *Oxidative stress in plants*. Taylor and Francis: 1-321.
 30. Jabbarzadeh, S. 2019. Study of the effect of UV-B waves on some

- biochemical, molecular, anatomical and morphological characteristics of the *Dracocephalum moldavica* L.. PhD. Thesis. Faculty of Natural Sciences Tabriz University. (In Persian).
31. Jadidi, T. 2014. Study on genome content and phylogeny association of Hypericin gene in some species of Iranian endemic St. John's wort (*Hypericum* spp). M.Sc. Thesis. Faculty of Agriculture Tarbiat Modarres University. (In Persian).
 32. Kafi, M. Borzoi, A. Salehi, M. Kamandi, A. Masoumi, A. & nabati, J. 2009. Physiology of stress in plants. Mashhad University Jahad. 502 p. (In Persian).
 33. Kakani, V., K. Reddy, D. Zhao, & K. Sailaja. 2003. Field crop responses to ultraviolet-B radiation: a review. *Agric. Forest Meteorol*, 120: 191-218.
 34. Kargar, S. Jameai, R. & Hosseini Sarghin, S. 2011. Study of the effects of different spectra of ultraviolet radiation on some biochemical, physiological and morphological processes of the *Hibiscus esculentus* L.. Master Thesis in Plant Physiology. University of Urmia. (In Persian).
 35. Kargarkhorami, S. Jamei, R. & Hosseini Sarghin, S. 2012. Changes in the physiological and anatomical indicators of okra under different ultraviolet light bands. 16: 26-13. (In Persian).
 36. Karioti A. Bilia A.R. 2010. Hypericins as potential leads for newtherapeutics. *Int J Mol Sci* 11: 562-594.
 37. Ke -Tang, J., Zhan, H. & Yang, W.D.H. 2010. Changes of resveratrol and antioxidant enzymes during UV-induced plant defense response in peanut seedlings. *Journal of Plant Physiology*, 167: 95 -102.
 38. Kiong, A., Lai, A., Hussein, S. & Harun, AR. 2008. Physiological responses of orthosiphon stamineus plantlets to gamma irradiation. *American-Eurasian Journal sustain. Agriculture*, 2: 135-149.
 39. Kochert, G., Helebust, J.A. & Craig, J.S. 1978. Physiological methods: Carbohydrate by the phenol sulfuric acid method, *Physiological methods*, Kochert. G-Eds and Cambridge University: Press Cambridge, United Kingdom, PP: 13-16.
 40. Krizek, D.T., Brita, S.J. & Miewcki, R.M. 1998. Inhibitory effects of ambient

- level of solar UV-A and UV-B on growth of cv. New Red Fire Lettuce. *Journal of Plant Physiology*, 103: 1-7.
41. Kumaran, A. & Joel Karunakaran, R. 2007. In vitro antioxidant activities of methanol extracts of five *Phyllanthus* species from India. *Food Science and Technology*, 40: 344-352.
42. Kusari S. Zuñhke S. Borsch T. & Spitteller M. 2009. Positive correlations between hypericin and putative precursors detected in the quantitative secondary metabolite spectrum of *Hypericum*. *Phytochemistry*, 70: 1222–1232.
43. Lichtenthaler, H.K. 1978. Chlorophylls and carotenoids; pigments of photosynthetic membranes. *Method in Enzymology*, 148: 350-382.
44. Liu, L.X., Xu, S.M. & Woo, K.C. 2005. Solar UV-B radiation effect on growth, photosynthesis and the xanthophyll cycle in tropical acacias and eucalyptus. *Environmental and Experimental Botany*, 54: 121–130.
45. Mackerness, S.A.H., John, C.F., Jordan, B. & Thomas, B. 2001. Early signalling components in ultraviolet-B responses: distinct roles for different reactive oxygen species and nitric oxide. *FEBS Letters*, 489: 237–242.
46. Mazza, C. A., Boccalandro, H. E., Giordano, C. V., Battista, D. & Scopel, A. L. 2000. Functional significance induction by solar radiation of ultraviolet-absorbing sunscreens in field-grown soybean crops. *Plant Physiology*, 122:117-125.
47. Meda, A., Lamien, C.E., Romito, M., Millogo, J., Nacoulma, o.G. 2005. Determination of the total phenolic, flavonoid and pralin contents in Burkina fasan honey, as well as their frequency scavenging activity. *Food Chemistry*, 91: 571-577.
48. Mita, S., Murano, N., Akaike, M., Nakamura, K. 1997. Mutants of *Arabidopsis thaliana* with pleiotropic effects on the expression of the gen for beta-amylase and on the accumulation of anthocyanin that is inducible by sugar. *Plant Journal*, 11: 841-851.
49. Mohammadi, V. 2014. The effect of UV-B radiation on anatomical and some physiological parameteres of two cultivars of barley (*Hordeum vulgare* L.). Master Thesis. University of Urmia. 91 pages. (In Persian).

50. Mousavi, M. Khara, J. & Heydari, R. 2008. The Effects of UV-Radiation on Morphology, Anatomy and some Physiological Parameters in three varieties of Basil (*Ocimum basilicum* L.). Master Thesis. University of Urmia. 107p. (In Persian).
51. Mustafa, E.A.C., Shiow, Y.W. & Chien, Y.W.A. 2008. Effect of UV treatment on antioxidant capacity, antioxidant enzyme activity and decay in strawberry fruit. *Journal of Postharvest Biology and Technology*, 48: 163–171.
52. Napoli, E., Siracusa, L., Ruberto, G., Carrubba, A., Lazzara, S., Speciale, A., Cimino, F., Saija, A. & Cristani, M. 2018. Phytochemical profiles, phototoxic and antioxidant properties of eleven *Hypericum* species—A comparative study. *Phytochemistry*, 152: 162-173.
53. Nasibi, F. & Manouchehri Kalantari, Kh. 2006. Application of various UV bands to increase the amount of some secondary compounds in two species of *Hyoscyamus*. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research Quarterly*. 2: 140-145. (In Persian).
54. Neil, S. J., Desican, R., Clarke, A., & Hancock, J. T. 2002. Nitric oxide is a novel component of abscisic acid signaling in stomatal guard cells. *Plant Physiology*, 128: 13-16.
55. Nouri, F. 2012. Physiological, biochemical and anatomical responses of three cultivars of soybean (*Glycinemax* L.) under UV-B radiation. Master Thesis. University of Urmia. 72p. (In Persian).
56. Omidbeigy, R. 2013. Production and processing of medicinal plants. first volume. Quds Razavi Province Publications. 423p. (In Persian).
57. Prinsze, C., Dubbleman, T.M.A.R. & Steveninck, J.V. 1990. Protein damage induced by small amounts of photodynamically generated singlet oxygen or hydroxyl radicals. *Biochimical and Biophysical Acta*, 1038: 152-157.
58. Quan-fu, W., Yan-hua, H., Jin-lai, M. & Guang-you, L. 2009. Effect of UV-B radiation on the growth and antioxidant enzymes. of antarctic sea ice microalgae *Chlamydomonas* sp. ICE-L. *Journal of Acta Physiology Plant*, 31:1097–1102.
59. Rahmatzadeh, S. & Khara, J. 2008. The effect of UV-C radiation on growth and

- some morphological and physiological factors in wheat plants coexist with three species of mycorrhizal fungi. *Biology of Iran*. 21: 52-63. (In Persian).
60. Ravindran, K., Indrajith, A., Balakrishnan, V., Venkatesan, K., and Kulandaivelu, G. 2008. Determination of defense mechanism in, *Phaseolus trilobus* Ait. seedlings treated under UV-B radiation. *African Crop Science Journal*, 16: 111–118.
61. Rostampour, N. Almasi, T. Rostampour, M. Bayat, H. Karimi, S. 2013. Investigation of the intensity of type A solar ultraviolet rays in the city of Hamadan. *Scientific Journal of Hamadan University of Medical Sciences and Health Services*. 19: 69-74.
62. Ryan, K.G., Swinny, E.E., Markham, K.R. & Winefield, C. 2002. Flavonoid gene expression and UV photoprotection in transgenic and mutant *Petunia* leaves. *Phytochemistry*, 59: 23-32.
63. Santos, I., Fidalgo, F., Almeida, J.M. & Salema, R. 2004. Biochemical and ultrastructural changes in leaves of potato plants grown under supplementary UV-B radiation. *Plant Sciences*, 167: 925-935.
64. Shaukat, S.S., Farooq, M.A., Siddiqui, M.F., & Zaidi, S. 2013. Effect of enhanced UV-B radiation on germination, seedling growth and biochemical responses of *Vignamungo* L. Hepper. *Pak. J. Bot*, 45:779-785.
65. Shu-Hsien, H. U. N. G., Chih-Wen, Y. U. & Lin, C. H. 2005. Hydrogen peroxide functions as a stress signal in plants. *Botanical Bulletin of Academia Sinica*, 46.
66. Smelcerovic A, Verma V, Spitteller M, Ahmad SM, Puri SC, and Qazi GN. 2006. Phytochemical analysis and genetic characterization of six *Hypericum* species from Serbia. *Phytochemistry*, 67: 171–177.
67. Smirnoff, N. & Wheeler, G.L. 2000. Ascorbic acid in plants: biosynthesis and function critical. *Journal of Plant Sciences*, 19: 267-290.
68. Teramura, A.H. 1983. Effects of UV-B radiation on the growth and yield of crop plant. *Plant Physiology*, 58: 415-42.
69. Tian, X. & Lei, Y. 2006. Nitric oxide treatment alleviates drought stress in wheat seedlings. *Biological Plantarum*, 50: 775-778.

70. Tosserams, M., Paisde, A. & Rozema, J. 1996. The effect of solar UV-radiation on four plant species occurring in coastal grassland vegetation in the Netherlands. *Physiologia Plantarum*, 97: 731-739.
71. Turcsanyi, E. & Vass. 2000. Inhibition of photosynthetic electron transport by UV-A radiation targets the photosystem II complex. *Photochem Photobiology*, 72: 513-52.
72. Turunen, M., Sutinen, M.L., Derome, K., Krywullt, M., Smykla, J., King K. and Lakkala, K. 2005. Ecophysiological responses of subarctic scots pine to Ultraviolet (UV) radiation. *Polish Botanical Studies*, 19: 143-150.
73. Utrillas, M.P., Marín, M.J., Esteve, A.R., Salazar, G., Suarez, H., Castillo, J. and Martínez-Lozano, J.A., 2016. UVER and UV index at high altitude in Northwestern Argentina. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 163: 290-295.
74. Villa-Castorena, M., Ulery, A. L., Catalan-Valencia, E. A., & Remmenga, M. D. 2003. Salinity and nitrogen rate effects on the growth and yield of chile pepper plants. *Soil Science Society of America Journal*, 67: 1781-1789.
75. Wang, H., Gu, M., Cui, J., Shi, K., Zhou, Y. & Yu, J. 2009. Effects of light quality on CO₂ assimilation, chlorophyll-fluorescence quenching, expression of Calvin cycle genes and carbohydrate accumulation in *Cucumis sativus*. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 96: 30-37.
76. Wang, Y., Qiu, N., Wang, X., Ma, Z., & Du, G. 2008. Effects of enhanced UVB radiation on fitness of an alpine species *Cerastium glomeratum* Thuill. *Journal of Plant Ecology*, 1: 197-202.
77. Woodall, G.S. & Stewart, G.R. 1998. Do antocyanins play a role in UV protection of the red juvenile leaves of *Syzygium*. *Journal of Experimental Botany*, 49: 1447-1450.
78. Yamasaki, H., Sakihama, Y. & Ikehara, N., 1997. Flavonoid- peroxidase reactions detoxification mechanism of plant cells against hydrogen peroxide. *Plant Physiology*, 115: 1405-1415.

Effects of different levels of ultraviolet (UV) on growth and some secondary metabolites of the Hairy St. John's wort (*Hypericum hirsutum* L.)

Mohammad Bagheri^{1*}, Rouhollah Motafakkerazad², Seyd Yahya Salehi Lisar³, Amirhosein Talebpour⁴

1. Master of Science, Department of Plant Sciences, Faculty of Natural Sciences, University of Tabriz, Tabriz. (Corresponding Author)
2. Assistant Professor, Department of Plant Sciences, Faculty of Natural Sciences, University of Tabriz, Tabriz.
3. Associate Professor, Department of Plant Sciences, Faculty of Natural Sciences, University of Tabriz, Tabriz.
4. Master of Science, Agricultural and Natural Resources Research Center, East Azerbaijan Agricultural Jihad Organization, Tabriz.

Received: November 2020 Accepted: March 2021 - DOI: 10.22092/mpt.2021.352445.1069

Abstract

Bagheri, M., Motafakkerazad, R., Salehi lisar, S. Y., Talebpour, A., Effects of different levels of ultraviolet (UV) on growth and some secondary metabolites of the Hairy St. John's wort (*Hypericum hirsutum* L.)

Iranian Medicinal Plants Technology, Vol 3, No. 1, 2020 92-114: 7-8(in Persian)

Abstract

The production of active ingredients in medicinal plants is controlled by genetic processes but is also strongly influenced by environmental factors. Hairy St. John's wort (*Hypericum hirsutum* L.) is an important medicinal plant that often grown in highlands. Since the intensity of ultraviolet (UV) radiation in these areas is high, Therefore, in this study was investigated the effect of different levels of ultraviolet (UV) radiation on growth and some secondary metabolites and compounds of this plant. The experiment was conducted as a pot culture with five treatments and each treatment with four repetitions. The plants were exposed to four different levels of ultraviolet (UV) radiation including 3, 5, 15 and 25 KJ m⁻² day, and a set was considered as a control. After 51 days of planting the plants that had been treated for 21 days, the measurements were performed. Increasing the intensity of ultraviolet radiation reduced the shoot fresh and dry weight, shoot length, internodes length, the content of chlorophyll a and total chlorophyll and soluble sugars, each at the intensities of 25 kJ m⁻² day. The concentrations of phenols, flavonoids and malondialdehyde significantly increased with increasing of ultraviolet radiation intensity and highest concentrations were detected at 25 kJ m⁻² day. The concentrations of anthocyanins and hydrogen peroxide in plants treated by 5 and 15 kJ m⁻² day; and the concentrations of carotenoids in plants treated by 3 and 5 kJ m⁻² day showed a significant difference with the control. The results of this study showed that the collection of seeds of *Hypericum hirsutum* from a height of about 2110 meters due to

Email address of the corresponding author: mbagheribt@gmail.com

the presence of ultraviolet rays caused a change in the biochemical composition of the plant and increased compounds such as phenols and flavonoids, which is one of the positive effects of this radiation on the active ingredients of this plant.

Keywords: Anthocyanins, Carotenoids, Flavonoids, Malondialdehyde, Soluble sugars.