فرآیند و کارکرد گیاهی، جلد ۱۳، شماره ۶۲، مهر و آبان‌ماه ۱۴۰۳ صفحه: ۲۲۹-۲۴۶
https://doi.org/10.22034/13.62.229

مقاله پژوهشی

اثر UV-B و اسید هیومیک بر روی صفات فیزیولوژیکی گیاه مفراح (*Nepeta crispa*)

زهرا کریمی[۱]، علی عزیزی[۱] و علی‌رضا نوروزی‌شرف[۱و۲*]

[۱] گروه علوم باغبانی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان، ایران

[۲] گروه علوم و مهندسی باغبانی و فضای سبز، دانشگاه سیدجمال‌الدین اسدآبادی، اسدآباد، ایران

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۱۱/۲۱، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۴۰۳/۰۲/۱۸)

چکیده

مفراح گیاهی چندساله از تیره نعناعیان است. مطالعه حاضر با هدف اثر کاربرد توأم اسید هیومیک و پرتوتابی UV-B بر رشد و برخی پاسخ‌های فیتوشیمیایی گیاه مفراح مورد مطالعه قرار گرفت. آزمایش به‌صورت فاکتوریل (دو فاکتوره) در قالب طرح کاملا" تصادفی با سه تکرار اجرا شد. فاکتور اول، اسید هیومیک در چهار سطح (صفر، ۲، ۴ و ۸ گرم در لیتر) و فاکتور دوم، پرتو UV-B در سه سطح (صفر، ۱ و ۳ ساعت پرتودهی در روز) بود. بر اساس نتایج حاصل، بر خلاف تیمار پرتوتابی UV-B، اثر کاربرد اسید هیومیک باعث افزایش معنی‌دار ارتفاع ساقه نسبت به تیمار شاهد شد. همچنین بیشترین میزان فنل و فلاونوئید کل و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و کمترین میزان تانن کل همگی در تیمار ۳ ساعت پرتوتابی UV-B، در روز بدون کاربرد اسید هیومیک به‌دست آمد. بیشترین میزان تانن کل و کمترین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی نیز در تیمار ۸ گرم در لیتر اسید هیومیک، مشاهده شد. نتایج آنالیز HPLC عصاره برگ نشان داد که بیشترین میزان اسید رزمارینیک و اسید سالویانولیک در تیمار ۳ ساعت پرتوتابی UV-B در روز تولید شد. در میان اسیدهای فنولیک مورد مطالعه، بیشترین میزان اسید کلروژنیک در تیمار ۳ ساعت پرتوتابی UV-B به همراه ۸ گرم در لیتر اسید هیومیک به‌دست آمد. بیشترین میزان اسید کافئیک نیز با تیمار ۱ ساعت پرتوتابی به همراه ۴ گرم در لیتر اسید هیومیک مشاهده شد. بطورکلی، به‌کارگیری توأم (برهمکنش) اسید هیومیک و UV-B روی صفات فنل کل، فلاونوئید کل، اسید کافئیک و اسید کلروژنیک بسیار معنی‌دار بود. کاربرد اسید هیومیک در گیاه مفراح در میزان تانن کل، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و اسید رزمارینیک (اثر ساده) در سطح ۱ درصد معنی‌دار شد و باعث افزایش تانن، کاهش فعالیت پاداکسایشی و کاهش مقدار اسید رزمارینیک در برگ مفراح شد. اسید هیومیک باعث کاهش مقادیر ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و اسید رزمارینیک می‌شود و تنها صفتی که اثر افزایشی بر روی آن داشت میزان تانن کل بود. نتایج این پژوهش می‌تواند برای کشت این گیاه تحت شرایط گلخانه‌ای مزرعه‌ای، مدنظر قرار گیرد.

واژه‌های کلیدی: اسید رزمارینیک، ترکیبات فنلی، تنش نوری، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی، عوامل کاهنده تنش

مقدمه

انجام واکنش‌های متابولیسمی در گیاهان، مانند هر موجود زنده‌ی دیگر، با هدایت فرآیندهای ژنتیکی و ساختار وراثتی آن‌ها است. با این وجود، تأثیر عوامل محیطی بر رشد و نمو گیاهان دارویی و معطر، همچنین بر کمیت و کیفیت مواد مؤثره آن‌ها تأیید شده است (Mafakheri and Kordrostami, 2021). محصول یک گیاه دارویی از نظر اقتصادی وقتی مقرون به صرفه است که مقدار متابولیت‌های ثانویه آن به حد مطلوب

*نویسنده مسؤل، نشانی پست الکترونیکی: a.noroozi@basu.ac.ir; noroozi2ar@gmail.com

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-11-19]

[DOI: DOI: 10.22034/13.62.229]

رسیده باشد. با انتخاب عوامل محیطی و ارقام گیاهی مناسب می‌توان به حداکثر مقدار محصول دست یافت (Ghasemi *et al.*, 2019). عواملی چون درجه حرارت، میزان بارندگی، شدت نور و ارتفاع از سطح دریا که تعیین‌کننده اقلیم یک منطقه هستند، از جمله مهم‌ترین عوامل محیطی تأثیرگذار در تجمع ترکیبات مؤثره (متابولیت‌های ثانویه) در گیاهان هستند (Rahimi *et al.*, 2021). به‌عنوان مثال، فتوسنتز مهم‌ترین فرآیند زیستی گیاهان است که برای انجام آن وجود نور الزامی است. عمل فتوسنتز به تولید ترکیبات آلی در گیاه منجر می‌شود. نور علاوه بر تأمین انرژی برای فتوسنتز، به‌عنوان یک سیگنال تأثیرگذار در مراحل رشد گیاه است. نمو گیاه به ویژگی‌های مختلف نور مانند کیفیت، شدت و مدت (طول روز) وابسته است (Heijde and Ulm, 2012). از مهم‌ترین فاکتورهای محیطی تأثیرگذار در رشد و فیزیولوژی گیاهان، نور می‌باشد و تغییرات در طیف نور منجر به تغییر در مقدار متابولیت‌های ثانویه می‌شود. متابولیت‌های ثانویه گوناگون، نور فرابنفش را در قسمت‌های مختلف جذب می‌کنند و گیاه را از تابش بیش از حد نور مرئی حفظ می‌نمایند (Ouzounis *et al.*, 2014). کیفیت، شدت و مدت روشنایی، هر یک به تنهایی می‌تواند تأثیر عمده‌ای بر وضعیت متابولیت‌های ثانویه بر جای بگذارد (Al Murad *et al.*, 2021). زندگی و رشد گیاه در معرض انواع زیادی از تنش‌های طبیعی هستند مثل تنش آبی، حرارتی، تنش نوری و غیره قرار می‌دهد که تمامی این تنش‌ها به‌طور مستقیم و غیرمستقیم بر دستگاه فتوسنتز و عملکرد آن تأثیر می‌گذارند. یکی از پرتوهایی که بر تنش نوری تأثیر می‌گذارد پرتو فرابنفش است. پرتو UV از لحاظ طول‌موج به سه ناحیه UV- C با طول‌موج ۱۹۰ تا۲۸۰ نانومتر، UV- B با طول‌موج ۲۸۰ تا ۳۲۰ و UV-A با طول‌موج ۳۲۰ تا ۳۹۰ نانومتر تقسیم می‌شود. پرتو UV-B پرانرژی‌ترین ترکیب از نور خورشید است که بخشی از آن به سطح زمین می‌رسد (Buchholz *et al.*, 1995). مقدار UV-B رسیده به سطح زمین به عوامل اتمسفری، غلظت ازن، رطوبت، زاویه تابش خورشید نسبت به زمین، ذرات گرد و غبار، و پوشش ابر بستگی دارد. UV- C در نور رسیده به سطح زیست کره وجود ندارد و برای سیستم‌های زنده مناسب نیست. این باند به شدت کشنده سلول است اما UV-C خورشیدی به وسیله اکسیژن و ازن در اتمسفر جذب می‌شود و عامل مخربی در محیط زیست نمی‌باشد (Ghasemi *et al.*, 2019). پرتو UV-A به وسیله لایه ازن قابل جذب نیست و به میزان زیادی در نور معمول خورشید وجود دارد. این پرتو تقریباً ۶/۳ درصد از کل نور خورشیدی را تشکیل می‌دهد و بخش کم خطر پرتوها است (DasSarma *et al.*, 2020). امروزه فعالیت‌های صنعتی بشر باعث افزایش ترکیبات آلوده‌کننده اتمسفر به خصوص ترکیبات هالوژن‌دار شده است که این ترکیبات به دلیل پایداری زیادی که دارند به سطح استراتوسفر رسیده و باعث تخریب لایه ازن می‌شوند وکاهش لایه ازن باعث افزایش میزان پرتوهای فرابنفش در سطح زمین شده است (Buchholz *et al.*, 1995). تنش نور معمولاً باعث ایجاد تنش اکسایشی در گیاهان می‌شود (Zhang and Bjorn, 2009). تنش اکسایشی در گیاهان عوارضی ایجاد می‌کند که از آن جمله می‌توان به تولید گونه‌های فعال اکسیژن دار (ROS)، پراکسیداسیون لیپیدها، تخریب غشاهای بیولوژیکی و غیره اشاره کرد. گیاهان برای مقابله با تنش اکسایشی ناشی از تنش نوری و از بین‌بردن ترکیبات فعال اکسیژن، دارای سیستم‌های دفاعی پیشرفته‌ای هستند مانند آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و برخی اسیدهای آلی. برخی از تحقیقات انجام‌شده پیشنهاد کرده‌اند که تنش اکسایشی نقش مهمی را در سنتز متابولیت‌های ثانویه بازی می‌کند، با این وجود نقش نور در بیوسنتز متابولیت‌های ثانویه در گیاهان هنوز به‌خوبی روشن نیست (Shin *et al.*, 2011).

مواد هیومیکی شامل مخلوطی از ترکیبات آلی مختلف هستند که از باقی‌مانده‌ی گیاهان و حیوانات حاصل می‌شوند (MacCarthy, 2001). اسید هیومیک ازجمله ترکیبات دارای کربن آلی حاصل از شکسته‌شدن و تجزیه زیستی و شیمیایی گیاهان و جانوران است و حدود ۷۵ درصد مواد آلی بیشتر خاک‌های معدنی را تشکیل می‌دهد. اسید هیومیک یک ترکیب پلی‌مری طبیعی آلی است که در نتیجه پوسیدگی مواد آلی

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-11-19]

[DOI: DOI: 10.22034/13.62.229]

خاک، پیت، لیگنن و غیره به‌وجود می‌آید که می‌تواند برای افزایش محصول و کیفیت آن به‌کارگرفته شود (Aiken *et al.*, 1986). اسید هیومیک با وزن مولکولی ۳۰-۳۰۰ هزار دالتن سبب تشکیل کمپلکس‌های پایدار و نامحلول با عناصر میکرو می‌گردد (Liu and Cooper, 2000). از مزایای مهم اسید هیومیک می‌توان به کلات‌کنندگی عناصر غذایی مختلف مانند سدیم، پتاسیم، منیزیم، روی، کلسیم، آهن، مس و سایر عناصر در جهت غلبه بر کمبود عناصر غذایی اشاره کرد که سبب افزایش طول و وزن ریشه و آغازش ریشه‌های جانبی می‌شود و همچنین تأثیر بر صفات فیتوشیمیایی آویشن باغی گزارش شده است (Noroozisharaf and Kaviani, 2018). اسید هیومیک در ریشه‌زایی نقش عمده‌ای داشته و عموماً در باغات در زمان کاشت نهال با خاک مخلوط می‌گردد و با تولید بیشتر اسیدهای نوکلئیک و اسیدهای آمینه تکثیر سلولی را در کل گیاه و به‌خصوص در ریشه‌ها افزایش می‌دهد. این مواد با حفظ رطوبت از طریق پیوند با مینرال‌های خاک و کنترل دمای اطراف ریشه از یک سو و از سوی دیگر با افزایش متابولیسم و نفوذپذیری جدار سلول‌ها باعث افزایش فرآیند جذب در ریشه می‌شود (Aydin *et al.*, 2012). اسید هیومیک به‌عنوان یک کود ضدتنش مطرح است که باعث می‌شود تا تعادل گیاه برگردد و عملکرد و بازدهی به‌خصوص در کشت‌های صنعتی بر هم نخورد. این کود به خنثی‌کردن اتیلن گیاه در زمان تنش یاری می‌رساند. هورمون ضدتنش می‌تواند روی ژنوم گیاهان تأثیر بگذارد و آن‌ها را برای تولید آنتی‌اکسیدانت بیشتر تحریک کند. همچنین این کود سطح فعالیت آنزیم‌هایی که در ساختار گیاه هست را افزایش می‌دهد. تأثیر اسید هیومیک بر رشد گیاه ممکن است به‌صورت مستقیم (افزایش کل وزن خشک گیاه) و یا به‌صورت غیرمستقیم (افزایش راندمان مصرف کود و کاهش فشردگی خاک) باشد. اسید هیومیک با افزایش تبادل کاتیونی، ظرفیت نگهداری آب در خاک و همچنین ایفای نقش بر نفوذپذیری غشاء به‌عنوان ناقل پروتئین، فعال‌کردن تنفس، چرخه کربس، فتوسنتز و تولید آمینواسید و آدنوزین تری فسفات باعث افزایش رشد گیاهان می‌شود (Muscolo *et al.*, 2013).

مفراح (پونه‌سای مواج) با نام علمی *Nepeta crispa* Willd. گیاهی چندساله از تیره نعناعیان (Lamiaceae) است. در گویش محلی به دلیل رایحه مطبوع آن "مفراح یا مفرح" نامیده می‌شود و در طب سنتی ایران به ویژه همدان بیشتر مورد توجه قرار گرفته است، پونه‌سای مواج یکی از معطرترین گیاهان بومی استان همدان است که انحصاری ایران و الوند است (Mahmoodi *et al.*, 2022). تحقیقات اندکی در زمینه تأثیر توأم و برهمکنش پرتو UV-B و اسید هیومیک بر گیاهان صورت گرفته است (Todorova *et al.*, 2014). در بررسی منابع علمی نشان داده شده است که این دو عامل به صورت مجزا، تأثیر زیادی بر فیزیولوژی گیاهان دارویی دارند. از این رو در مطالعه حاضر، برهمکنش این دو عامل در رشد و کیفیت گیاه دارویی مفراح مورد بررسی قرار گرفته است.

مواد و روش‌ها

برای انجام این پژوهش نشاءهای گیاه مفراح از باغ گیاهان دارویی بوعلی سینا وابسته به مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان همدان تهیه شد. پژوهش شامل دو مرحله گلخانه‌ای و آزمایشگاهی بود که هر دو مرحله در گلخانه و آزمایشگاه تحقیقاتی گیاهان دارویی گروه علوم باغبانی دانشکده کشاورزی دانشگاه بوعلی‌سینا همدان انجام شد. عملیات گلخانه‌ای آزمایش که شامل رشد و انتقال نشاءها به گلدان بود، از ۲۵ فروردین‌ماه ۱۳۹۷ تا اول مردادماه ۱۳۹۷ انجام شد. مرحله بعدی که شامل سازگاری و تیماردهی گلدان‌ها بود، در محیط بیرون گلخانه از تاریخ ۱ مرداد ۱۳۹۷ تا ۲۸ شهریور ۱۳۹۷ انجام گرفت. پس از اتمام مرحله تیماردهی، خشک‌کردن، عصاره‌گیری و ارزیابی صفات فیتوشیمیایی نمونه‌ها در آزمایشگاه گروه علوم باغبانی انجام شد. آزمایش به‌صورت فاکتوریل (دو فاکتوره) در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار و یک گلدان (از نوع پلاستیکی، با قطر دهانه ۲۰ سانتی‌متر و ارتفاع ۲۰ سانتی‌متر) در هر تکرار اجرا شد. فاکتور

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-11-19]

[DOI: DOI: 10.22034/13.62.229]

اول، اسید هیومیک در چهار سطح و فاکتور دوم، پرتو UV-B در سه سطح بود. برای پرتودهی UV-B نیز از یک عدد لامپ مخصوص UV استفاده شد که به منظور سهولت انجام کار و نتیجه بهتر، یک لامپ روی داربست فلزی به طول ۲۰۰ سانتی‌متر، عرض ۶۰ سانتی‌متر و ارتفاع ۷۰ سانتی‌متر از سطح زمین قرار گرفت. به منظور بهره‌مندی بهتر گیاهان از پرتوهای UV داربست با فویل‌های آلومینیومی پوشانده شد و به‌صورت اتاقک UV درآمد. برای سهولت در پرتودهی و قرارگیری صحیح گلدان‌ها زیر اتاقک UV، گلدان‌ها به سه دسته تقسیم شدند، دسته اول مربوط به تیمار یک ساعت UV، دسته وسط سه ساعت UV و دسته آخر شاهد بود. سطوح فاکتور اول (اسید هیومیک) شامل: صفر (شاهد)، ۲، ۴ و ۸ گرم در لیتر بود که در آب حل می‌شد، به میزان ۳۰۰ میلی‌لیتر توسط بشر مدرج به خاک گلدان‌ها اضافه می‌شد. پس از اتمام تیماردهی با اسید هیومیک نوبت پرتودهی شد، سطوح فاکتور دوم (پرتو UV-B) شامل: بدون پرتوتابی (شاهد)، ۱ و ۳ ساعت پرتودهی در روز بود که با لامپ UV-B ساخت شرکت فلیپس به قدرت ۴۰ وات، شدت ۰/۴ وات بر متر مربع، طول ۱۲۰۰ میلی‌متر، قطر ۲۸ میلی‌متر و با فاصله ۲۰ سانت از منابع گیاهی انجام شد. تیماردهی در مرحله گل‌دهی و بین ساعات ۲ الی ۷ بعد ازظهر انجام شد. بدین ترتیب که ابتدا اتاقک برای تیمار ۱ ساعت روی گیاهان دسته اول قرار می‌گرفت، رأس ساعت ۳ بعدازظهر لامپ UV-B روشن می‌شد و پس از یک ساعت یعنی رأس ساعت ۴ لامپ خاموش می‌شد. سپس دقیقاً همین عملیات برای دسته گیاهان بعدی تکرار می‌شد با این تفاوت که آن‌ها سه ساعت تحت تیمار UV-B قرار می‌گرفتند. آبیاری گیاهان نیز یک روز در میان و قبل از اعمال تیمارها با توجه به نیاز گیاه انجام می‌شد. تیماردهی گیاهان بدین شیوه تا ۱۵ روز متمادی صورت گرفت و صبح روز شانزدهم یعنی ۲۸ شهریور ۱۳۹۷ پس از اندازه‌گیری طول ساقه، تمامی گیاهان کف بر شدند و جهت سایه خشک‌کردن و اندازه‌گیری صفات مورد نظر به آزمایشگاه منتقل شدند.

صفات مورد بررسی و روش‌های اندازه‌گیری آن‌ها: به منظور ارزیابی صفات فیتوشیمیایی شامل فنل کل، فلاونوئید کل، تانن کل و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی پس از عصاره‌گیری از برگ‌های سایه خشک شده مفراح و طی‌شدن مراحل مختص اندازه‌گیری هر صفت، میزان جذب نمونه‌ها توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر (مدل کری ۱۰۰، واریان، آمریکا) در طول‌موج معین اندازه‌گیری شد، جهت محاسبه نهایی صفات نیز، منحنی استاندارد هر کدام به صورت جداگانه رسم شد. تعیین میزان مواد مؤثره فنلیک مانند اسید رزمارینیک، اسید کافئیک، اسید کلروژنیک و اسید سالویانولیک درعصاره‌های برگی نیز با استفاده از دستگاه HPLC (مدل smalt line ساخت شرکت knuar کشور آلمان) انجام شد. مدل ستون (Thermo – C۱۸ (Hypersii – Keyfton، طول ستون ۱۵ سانتی‌متر، قطر داخلی ۴/۶ سانتی‌متر، دتکتور فرابنفش، دتکتور از نوع UV-DETECTOR بود و در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد و طول‌موج ۳۳۰ نانومتر تنظیم شد. استونیتریل (۹۵٪) و ارتوفسفریک (۱٪) به عنوان حلال مورد استفاده قرار گرفتند. میزان حجم هر تزریق نمونه ۲۰ میکرولیتر و سرعت جریان فاز متحرک ۱ میلی‌لیتر در دقیقه بود.۲۰ میکرولیتر ازعصاره تهیه شده به منظور شناسایی و تعیین ترکیبات فنولی به دستگاه تزریق شد. به منظور شناسایی ترکیبات، مساحت زیر منحنی کروماتوگرام برای هر پیک مشخص شد. براساس زمان بازداری پیک‌های خروجی و مطابقت پیک‌های استاندارد، مقدار و نوع ماده خروجی از ستون شناسایی و تعیین شد و در نهایت غلظت این ترکیبات برحسب میلی‌گرم در گرم وزن خشک برگ براساس معادله خط مختص هر اسید فنلی و فرمول محاسبه شد.

معادله خط اسید رزمارینیک

$R2 = ۰/۹۹۸ (y = ۱۲۱۳۹۲ x - ۷۴۸۷۸۰)$

معادله خط اسید کلروژنیک

$R2 = ۰/۹۹۰ (y = ۱۱۰۹۸۱ x - ۲۰۰۰۰۰۰)$

معادله خط اسید کافئیک

$R2 = ۰/۹۹۷ (y = ۱۰۹۷۳۲ x - ۱۰۰۰۰۰۰)$

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-11-19]

[DOI: DOI: 10.22034/13.62.229]

معادله خط اسید سالویانولیک

R2 =۰/۹۹۸ (y=۰ /۷۶۸۵۶ x – ۱۰۰۰۰۰۰)

$$\text{میزان اسیدهای فنولیک} = \frac{\text{غلظت در منحنی استاندارد}}{1000} \times \frac{0/3}{1}$$

سنجش فنل کل به روش فولین سیوکالتیو انجام شد (Tezcan *et al.*, 2009). بدین منظور ۳۰۰ میکرولیتر از عصاره نمونه گیاهی را برداشته و به آن ۱۵۰۰ میکرولیتر معرف فولین رقیق‌شده با نسبت ۱ به ۱۰ اضافه شد و به مدت ۵ دقیقه در دمای اتاق قرار داده شد. سپس به آن ۱۲۰۰ میکرولیتر سدیم کربنات ۷ درصد اضافه و به مدت ۹۰ دقیقه با سرعت ۱۱۰ دور در دقیقه شیکر در دمای اتاق قرار داده و در نهایت ۶ سی‌سی آب به آن اضافه شده و میزان جذب نمونه‌ها توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر (مدل کری ۱۰۰، واریان، آمریکا) در طول‌موج ۷۶۵ نانومتر با بلانک آب‌مقطر خوانده شد. اندازه‌گیری محتوای فلاونوئید کل از روش رنگ‌سنجی کلرید آلومینیوم انجام شد (Li *et al.*, 2006). جهت سنجش فلاونوئید کل ۰/۲۷۵ میلی‌لیتر از عصاره برگ با ۸۲۵ میکرولیتر آب‌مقطر به حجم ۱/۱ میلی‌لیتر رسانده و ۰/۳ میلی‌لیتر نیتریت سدیم ۵ درصد به محلول اضافه شد. پس از سپری شدن مدت زمان ۵ دقیقه ۰/۶ میلی‌لیتر کلرید آلومینیوم ۱۰ درصد به محلول اضافه و بعد از ۶ دقیقه ۲ میلی‌لیتر هیدروکسید سدیم (سود) ۱ مولار به همراه یک میلی‌لیتر آب‌مقطر به محلول اضافه شده و شدت جذب محلول در طول‌موج ۵۱۰ نانومتر با اسپکتروفتومتر خوانده شد. تانن کل به روش Oyetayo (۲۰۰۷) انجام شد به این طریق که ۱۳۷۵ میکرولیتر آب‌مقطر به ۲۵۰ میکرولیتر از عصاره برگ اضافه شد سپس ۰/۱۲۵ میلی‌لیتر فولین سیوکالتیو ۱ نرمال به محلول اضافه و پس از سپری‌شدن ۳ دقیقه ۰/۲۵ میلی‌لیتر کربنات سدیم اشباع به محلول اضافه شد و به مدت ۶۰ دقیقه در تاریکی و شیکر با دور گردش ۱۲۰ دور در دقیقه قرار گرفت و شدت جذب محلول در طول‌موج ۷۲۵ نانومتر خوانده شد. تعیین فعالیت مهار رادیکال (DPPH) براساس روش Brand-Williams و همکاران (۱۹۹۵) انجام گرفت. در این روش محلول متانولی DPPH به‌صورت ۲ میلی‌گرم DPPH در ۱۰۰ میلی‌لیتر متانول ۸۵ درصد آماده شد. سپس ۵۰۰ میکرولیتر از هر نمونه عصاره را برداشته و به آن مقدار ۵۰۰ میکرولیتر آب‌مقطر افزوده شد و با سرعت ده هزار دور در دقیقه به مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ شد سپس ۷۵ میکرولیتر عصاره در دمای اتاق در تاریکی درون لوله فالکون ریخته شد سپس ۲۹۲۵ میکرولیتر از محلول متانولی DPPH به آن اضافه و بعد از گذشت ۳۰ دقیقه در تاریکی میزان جذب در طول‌موج ۵۱۵ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر با بلانک متانول ۸۵ درصد اندازه‌گیری شد.

داده‌های حاصل از آزمایش‌ها پس از بررسی و انجام پراکنش آزمون نرمال بودن، با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS نسخه ۹/۴ تجزیه شد. میانگین‌ها نیز با آزمون چند دامنه‌ای دانکن مقایسه شدند. تجزیه خوشه‌ای و همبستگی بین صفات با استفاده از نرم‌افزار R انجام شد.

نتایج و بحث

تأثیر اسید هیومیک و پرتو فرابنفش بر ارتفاع ساقه گیاه مفراح: نتایج حاصل از تجزیه واریانس اثر اسید هیومیک و پرتو فرابنفش بر روس صفات مورد مطالعه در جدول ۱ آمده است. کاربرد اسید هیومیک و پرتوتابی UV-B روی افزایش ارتفاع ساقه مفراح در سطح یک درصد معنی‌دار شد ولی اثر متقابل این دو تیمار تأثیر معنی‌داری در افزایش یا کاهش ارتفاع گیاه نداشت. یافته‌های حاصل از مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که سطوح مختلف اسید هیومیک باعث افزایش ارتفاع ساقه مفراح می‌شود، به‌نحوی‌که بیشترین ارتفاع ساقه (۵۴/۶۶ سانتی‌متر) مربوط به تیمار کاربرد ۸ گرم اسید هیومیک در لیتر بود (جدول ۲). پرتوتابی با UV-B نیز به‌طور معنی‌داری باعث کاهش ارتفاع ساقه مفراح شد و کمترین ارتفاع در ۳ ساعت پرتوتابی رخ داد (جدول ۲).

تابش پرتوهای فرابنفش با انرژی بالا یک پدیده تنش‌زا در ویژگی‌های رشدی گیاه است. مشخص شده است که گیاهان واکنش‌های متفاوتی نسبت به فرابنفش نشان می‌دهند. اثر نور فرابنفش در بیش از ۳۰۰ نوع گیاه مورد بررسی قرار گرفته است و در ۵۰ درصد گیاهان کاهش رشد و کاهش سطح برگ

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-11-19]
[DOI: DOI: 10.22034/13.62.229]

جدول ۱- تجزیه واریانس اثر اسید هیومیک و پرتو فرابنفش بر روی صفت‌های مورد مطالعه

منابع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات						
		ارتفاع ساقه	فنل کل	فلاونوئید کل	تانن کل	اسید رزمارینیک	اسید کلروژنیک	اسید کافئیک	اسید سالویانولیک
اسید هیومیک	۳	۲۲/۵۲۲**	۱/۶۴^{ns}	۲/۲۰**	۱/۰۵**	۰/۱۲**	۰/۰۱^{ns}	۰/۰۹*	۰/۰۳^{ns}
پرتوفرابنفش	۲	۵۸/۷۸۷**	۷/۰۰**	۵/۴۱**	۰/۰۹^{ns}	۰/۱۱**	۱/۷۴**	۰/۳۹**	۱/۰۱**
HA × UV-B	۶	۲۲/۳۶^{ns}	۱/۸۵*	۰/۴۹*	۰/۰۱^{ns}	۰/۰۱^{ns}	۰/۱۴*	۰/۳۴**	۰/۰۷^{ns}
خطا	۲۴	۱۵/۵۸	۰/۵۸	۰/۱۴	۰/۰۵	۰/۰۰۸	۰/۰۴	۰/۰۲	۰/۰۵
ضریب تغییرات (٪)	–	۹۵/۹	۱۳/۵۰	۱۵/۵۹	۱۹/۹۶	۱۴/۸۷	۱۲/۴۶	۱۴/۴۱	۱۸/۸۳

**** نشان‌دهنده معنی‌دار بودن در سطح ۱ درصد، * معنی‌دار بودن در سطح ۵ درصد و ns بیانگر عدم معنی‌داری است.**

جدول ۲- مقایسه میانگین اثر اسید هیومیک و پرتو فرابنفش بر ارتفاع ساقه گیاه مفراح

		طول ساقه (سانتی‌متر)
اسید هیومیک (گرم در لیتر)	صفر (شاهد)	۳۵/۰۰^{c}
	۲	۴۴/۳۳^{bc}
	۴	۴۸/۰۰^{b}
	۸	۵۴/۶۶^{a}
پرتو فرابنفش(ساعت)	صفر (شاهد)	۳۵/۰۰^{a}
	۱	۳۱/۶۶^{b}
	۳	۲۵/۳۳^{c}

حروف مشابه در هر ستون نشان‌دهنده عدم اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن است.

دیده شده است. به‌طورکلی گیاهانی که زیر شدت بالایی از نور قرار دارند (مثل مفراح به علت ارتفاع پسند بودن گیاه) نسبت به گیاهان رشد کرده تحت شدت نور کم، قدرت سازگاری بیشتری به تابش پرتوهای فرابنفش با انرژی بالا دارد. به‌عنوان مثال Hoffmann و همکاران (۲۰۱۵) نشان دادند که دانه‌های سویا که تحت رژیم پایین نور فعال فتوسنتزی کشت شده بودند، بیش‌تر تحت‌تأثیر نور فرابنفش قرار گرفتند و کاهش بیش‌تری در میزان زیست‌توده (بیوماس گیاهی) را بروز دادند. علاوه بر این تابش UV باعث تخریب فتوسیستم II، کاهش فعالیت آنزیم روبیسکو و تثبیت CO_2 و در نهایت کاهش میزان ماده خشک می‌گردد. گزارش ها نشان می‌دهد که پرتوهای فرابنفش B، مورفولوژی، آناتومی، بیوشیمی و فیزیولوژی گیاهان را در سطوح مختلف تحت تأثیر قرار می‌دهند (Johnson *et al.*, 1999). براساس مطالعات Frohnmeyer و Staiger (۲۰۰۳) تأثیر پرتو فرابنفش در گیاهان شامل تغییرات مورفولوژیکی مانند ایجاد میانگره‌های کوچک، کاهش وزن بیوماس، کاهش سطح برگ، ممانعت از رشد و طویل شدن هیپوکوتیل است که با نتایج مطالعه حاضر در یک راستا قرار دارد. در بسیاری از منابع به تأثیر مواد هیومیکی بر رشد گیاهان به‌طور مستقیم و غیرمستقیم (باروری و حاصلخیزی خاک) و ارتباط مثبت آن با عملکرد و کیفیت محصول اشاره شده است. پس از جذب مولکول‌های ارگانیک (اسید هیومیک) توسط گیاه، تغییرات بیوشیمیایی زیادی در متابولیسم گیاه و اجزای سیتوپلاسمی و ساختار غشا رخ می‌دهد. یکی از اثرات مثبت مواد هیومیکی بر گیاه جذب عناصر عمده (نیتروژن، فسفر و پتاسیم) از طریق برگ و ریشه است. اسید هیومیک با افزایش

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-11-19]

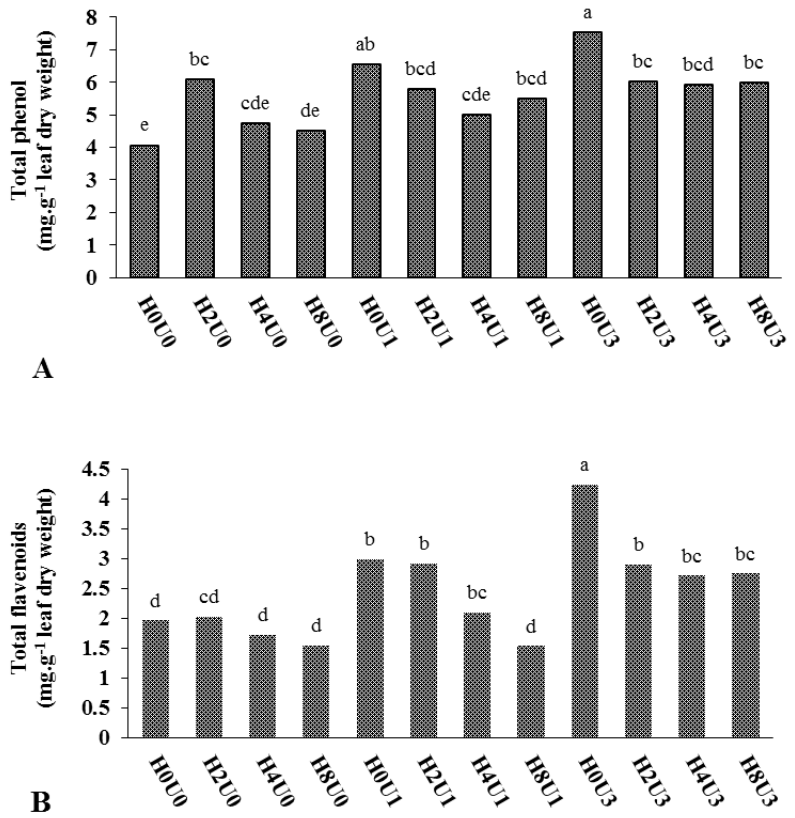
[DOI: DOI: 10.22034/13.62.229]

قدرت تقسیم سلولی ریشه، افزایش سنتز کلروفیل و تقویت فعالیت هورمونی و آنزیمی گیاهان باعث بهبود جذب عناصر غذایی و حاصل‌خیزی بیشتر خاک می‌گردد. در یک مطالعه بیشترین ارتفاع بوته در گیاه بادرنجبویه (*Melissa officinalis* L.) در برهم‌کنش ۴۰۰ میلی‌گرم اسید هیومیک و آبیاری در حد ظرفیت زراعی (عدم تنش) حاصل شد که با نتایج مطالعه حاضر در یک راستا قرار دارد. Ghasemi Pirbalouti و Nemati (۲۰۱۸) ثابت کردند که صفات رویشی گیاه بادرشبی (*Dracocephalum moldavica* L.) از قبیل طول شاخه فرعی با افزایش میزان تنش شوری کاهش معنی‌داری نسبت به شاهد نشان دادند و کاربرد اسید هیومیک (در هر دو سطح ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر) و اسید آسکوربیک (عمدتاً سطح ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر) سبب بهبود این صفات نسبت به شاهد شد. براساس نتایج به‌دست آمده از Zaremanesh و همکاران (۲۰۱۹) به نظر می‌رسد اسید هیومیک می‌تواند در بهبود خصوصیات مورفولوژیک و فیزیولوژیک گیاه مرزه مؤثر باشد. این نتایج با نتایج مطالعه حاضر در یک راستا قرار دارد.

تأثیر اسید هیومیک و UV-B بر فاکتورهای فیتوشیمیایی گیاه مفراح: نتایج حاصل از مقایسه میانگین داده‌ها (شکل ۱) نشان داد که بالاترین میزان فنل با میانگین ۷/۵۴ میلی‌گرم در گرم وزن خشک برگ با تابش ۳ ساعت پرتو UV-B در طول روز بدون کاربرد اسید هیومیک در برگ گیاه مفراح حاصل شد، و کم‌ترین میزان آن با میانگین ۴/۰۷ میلی‌گرم در گرم وزن خشک در برگ‌های گیاه شاهد به‌دست آمد که این امر نشان‌دهنده مسلم تأثیر معنی‌دار تابش پرتو UV-B در افزایش سطح فنل برگ گیاه مفراح است. گیاهانی که ۳ ساعت در روز تحت پرتوتابی با UV-B قرار گرفتند نیز بالاترین میزان فلاونوئید کل را با میانگین ۴/۲۳ میلی‌گرم در گرم برگ خشک دارا بودند (شکل ۱)، یعنی با افزایش ساعاتی که گیاه تحت تابش پرتوUV-B است میزان فلاونوئید آن‌ها نیز به‌طور معنی‌داری افزایش می‌یابد. کمترین میزان فلاونوئید کل با میانگین ۱/۵۲ میلی‌گرم در گرم وزن خشک در شرایط یک ساعت پرتوتابی در طول روز و کاربرد ۸ گرم اسید هیومیک در لیتر بدست آمد (شکل ۱) که نشان می‌دهد مصرف اسید هیومیک در مقادیر بالا، میزان فلاونوئیدهای برگ را به‌طور معناداری کاهش می‌دهد، به‌طوری‌که در حالت عدم پرتودهی و مصرف اسید هیومیک به مقدار ۸ میلی‌گرم در لیتر، میزان فلاونوئید برگ از فلاونوئید شاهد هم کمتر شد. این امر در حالی‌است که پرتوتابی به مدت یک ساعت در روز نیز نتوانست میزان کاهش فلاونوئید برگ در زمان کاربرد ۸ میلی‌گرم اسید هیومیک را نیز جبران کند و باز هم میزان فلاونوئید به زیر میزان شاهد سقوط کرد، ولی پرتوتابی به مدت ۳ ساعت همزمان با کاربرد ۸ گرم اسید هیومیک تا حدودی که میزان فلاونوئید از شاهد کمتر نشود مؤثر بود ولی همین تیمار پرتودهی (۳ ساعت در روز) با عدم کاربرد اسید هیومیک توانست بیشترین میزان فلاونوئید را در بین تمامی تیمارها تولید کند (شکل ۱).

کاربرد اسید هیومیک تأثیر معنی‌داری در میزان تولید تانن کل برگ گیاه مفراح داشت (جدول ۳) بدین صورت که بیشترین مقدار تانن کل با میانگین ۱/۷۶ میلی‌گرم در گرم وزن خشک برگ مربوط به تیمار ۸ گرم اسید هیومیک بود. بنابراین اسید هیومیک باعث افزایش تقریباً دو برابری میزان تانن برگ نسبت به شاهد در گیاه مفراح شد. کاربرد اسید هیومیک باعث کاهش معنی‌دار ظرفیت آنتی‌اکسیدانی عصاره برگ نسبت شاهد به کمترین عدد میانگین یعنی ۵۱/۱۵ درصد شد، این در حالی است که پرتودهی گیاه به مدت ۳ ساعت در روز باعث افزایش معنی‌دار ظرفیت آنتی‌اکسیدانی به بالاترین میزان آن با میانگین ۹۱/۳۴ درصد در برگ‌های گیاه شد (جدول ۳). این حالت دقیقاً برعکس اتفاقی است که برای تانن کل برگ با همین شرایط رخ داد. برهم‌کنش اسید هیومیک و UV-B نیز تأثیر معنی‌داری در افزایش یا کاهش میزان آنتی‌اکسیدان برگ نداشت. امروزه نقش دفاعی متابولیت‌های ثانویه برای همه تقریباً پذیرفته شده است، اما هنوز بررسی سازوکار تأثیر تنش‌های محیطی بر تولید این مواد، تصویر پیچیده و پر ابهامی پیش روی ما می‌گذارد. شواهد زیادی حاکی از آن است که در شرایط تنشی، تولید برخی از این ترکیب‌ها تا چندین برابر

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-11-19]
[DOI: DOI: 10.22034/13.62.229]



شکل ۱- تأثیر هیومیک اسید و پرتو فرابنفش (اثر متقابل) بر روی فنل کل (A) و فلاونوئید کل (B). حروف مشابه نشان‌دهنده عدم اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد با استفاده از آزمون چند دامنه ای دانکن است. در زیر هر ستون حرف اول مربوط هیومیک اسید و عدد بعد از آن مربوط به غلظت آن (گرم در لیتر) است و حرف دوم مربوط به پرتوفرابنفش و عدد بعد آن مدت زمان (ساعت) اعمال آن در روز است.

جدول ۳- مقایسه میانگین اثر اسید هیومیک و پرتو فرابنفش بر تانن کل و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی گیاه مفراح

		تانن کل	ظرفیت آنتی‌اکسیدانی
اسید هیومیک (گرم در لیتر)	صفر (شاهد)	۰/۹۰^{c}	۷۰/۰۳^{a}
	۲	۱/۰۷^{c}	۶۸/۴۰^{a}
	۴	۱/۲۳^{bc}	۵۵/۳۶^{b}
	۸	۱/۷۶^{a}	۵۱/۱۵^{b}
پرتو فرابنفش(ساعت)	صفر (شاهد)	۰/۹۰^{c}	۷۰/۰۳^{b}
	۱	۰/۹۸^{c}	۸۹/۲۶^{a}
	۳	۰/۸۱^{c}	۹۱/۳۴^{a}

حروف مشابه در هر ستون نشان‌دهنده عدم اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن است.

افزایش می‌یابد (Esra *et al.*, 2010). نور در طیف‌های خاص، به‌عنوان یک عامل تنش‌زای محیطی می‌تواند باعث تولید یا عدم تولید متابولیت‌های ثانویه شود (Landi *et al.*, 2020).

نتایج به‌دست آمده از این پژوهش هم نشان داد که پرتوتابی UV-B بر تولید ترکیبات مختلف از جمله ترکیبات فنلی، فلاونوئیدها، و فعالیت پاداکسایشی مؤثر است. پژوهش‌ها نشان

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-11-19]

[DOI: DOI: 10.22034/13.62.229]

داده‌اند که عوامل مختلفی بر درصد و میزان ترکیب‌های فنلی مؤثر هستند، در این زمینه می‌توان به عوامل ژنتیکی، شرایط محیطی، آب و هوا، گونه، روش استخراج و روش اندازه‌گیری فعالیت پاداکسایشی، سیستم‌های تغذیه‌ای و شرایط نگهداری اشاره کرد. در این پژوهش میزان فنل کل، در اثر پرتوتابی فرابنفش افزایش یافت که این افزایش طبق مطالعات Rozema و همکاران (۲۰۰۲) واکنشی دفاعی در برابر تنش نوری است. از آنجایی‌که گیاه مفراح ذاتاً ارتفاع‌پسند بوده و در ارتفاع بالا رشد می‌کند و در این مناطق هم مقدار UV موجود در اتمسفر نسبتاً بیشتر از ارتفاعات پایین‌تر است، پس این گیاهان، سازوکار متفاوتی برای عدم آسیب و جذب این پرتوها با مکانیسم‌های مختلف دارند که از جمله این مکانیسم‌های دفاعی که در گیاه مفراح هم وجود دارد، ذخیره‌سازی ترکیبات فنلی جذب‌کننده فرابنفش در لایه‌های اپیدرم و تولید سیستم‌های پاد اکسایشی از نوع غیر آنزیمی و فیتوشیمیایی است (Maffei and Scannerini, 2000). این ترکیبات با ذخیره شدن در واکوئول سلول‌ها و جذب پرتو UV از آسیب محتوای سلولی ممانعت می‌کنند (Rozema *et al.*, 2002). در گیاه ریحان میزان فنل کل و ظرفیت بازدارندگی رادیکال‌های آزاد DPPH تحت تابش UV-B افزایش یافت. با توجه به همبستگی قوی بین تجمع ترکیبات فنلی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی می‌توان گفت فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاه ریحان به‌دلیل حضور ترکیبات فنلی است. فنل‌ها نه تنها مانند یک غربال عمل می‌کنند و از ورود اشعه UV به لایه‌های زیرین جلوگیری می‌کنند بلکه دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی نیز هستند و رادیکال‌های آزاد تولیدشده توسط اشعه UV را پاک روبی می‌کنند (Kondo and Kawashima, 2000). فرض بر این است که تنش UV باعث افزایش فعالیت فنیل‌آلانین آمونیالیاز (PAL) که آنزیم اصلی فنیل‌پروپانوئید است، می‌شود. این امر باعث تسریع تولید ترکیبات فنلی می‌گردد (Sakalauskaite *et al.*, 2012). از اصلی‌ترین واکنش‌های دفاعی گیاهان برای مقابله با پرتو فرابنفش، سنتز فلاونوئیدها است (Sharma *et al.*, 1998). بسیاری از فلانوئیدها جز مؤثری از گیاهان دارویی بوده و به‌عنوان ترکیب‌های فعال فیزیولوژیکی، عوامل محافظت‌کننده در مقابل تنش، نقش مهمی در مقاومت گیاهان دارند. پس از دلایل اصلی افزایش فلاونوئیدهای مفراح تحت تابش پرتو UV-B، راهبرد دفاعی این گیاه در مقابله با این پرتو است که مطابق با مطالعات انجام‌شده توسط Mahdavian و همکاران (۲۰۰۸) است. استفاده از اسید هیومیک در تحقیقات Ozhan و همکاران (۲۰۱۷) در غلظت‌های بالا و در ترکیب با اسید سیتریک و کیتوزان تأثیرات مثبت بر بهبود ویژگی‌های رویشی و فیتوشیمیایی گیاه دارویی پونه‌سای گربه‌ای داشت، به‌طوری که محلول‌پاشی غلظت‌های ۴۰۰ و ۸۰۰ پی‌پی‌ام اسید هیومیک موجب کاهش اغلب صفات مورفولوژیکی پونه‌سای گربه‌ای شد، درحالی‌که ترکیب همین غلظت‌های اسید هیومیک با اسید سیتریک و کیتوزان موجب بهبود صفات رویشی نعناع گربه‌ای شد. این نتایج نشان می‌دهند که اگر اسید هیومیک به تنهایی در غلظت‌های بالا بر گیاه نعناع گربه‌ای محلول‌پاشی شود، اثر سمیت داردکه بررسی Khorasaninejad و همکاران (۲۰۱۸) هم تأییدکننده این موضوع است به شکلی که پژوهش آن‌ها هم نشان داد بیشترین میزان ترکیب‌های فنلی در برگ گیاه دارویی سرخارگل (*Echinacea purpurea* L.) در تیمار اسید هیومیک + ورمی کمپوست+کود کامل در شرایط تنش شدید رطوبتی به‌دست آمد.

اثر اسید هیومیک و پرتو فرابنفش بر اسیدهای فنولیک گیاه مفراح: این پژوهش نشان داد که کاربرد غلظت‌های مختلف اسید هیومیک اثر معنی‌داری بر مقدار اسید کلروژنیک برگ‌ها نداشت درحالی‌که پرتوتابی UV-B در سطح ۱ درصد بر فعالیت اسید کلروژنیک برگ معنی‌دار بود (جدول ۱) به‌طوری‌که بالاترین میزان فعالیت اسید کلروژنیک با میانگین ۲/۰۸ میلی‌گرم در یک گرم وزن خشک برگ در شرایط ۳ ساعت پرتوتابی UV-B (و کاربرد ۸ گرم اسید هیومیک) بدست آمد (جدول ۴) که این میزان اسید کلروژنیک در این تیمار، اختلاف معنی‌داری با تیمار ۳ ساعت پرتوتابی بدون کاربرد اسید هیومیک نداشت، پس استفاده از اسید هیومیک در تولید اسید کلروژنیک برگ‌های مفراح، تأثیر معنی‌داری نداشت.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-11-19]

[DOI: DOI: 10.22034/13.62.229]

جدول ۴- مقایسه میانگین‌های اثر متقابل اسید هیومیک و پرتو فرابنفش بر مقدار (میلی‌گرم در گرم وزن خشک برگ) برخی از مواد فیتوشیمیایی در گیاه مفراح

تیمارها		مواد فیتوشیمیایی	
اسید هیومیک (گرم در لیتر)	پرتو فرابنفش (ساعت)	اسید کلروژنیک	اسید کافئیک
۰	۰	۱/۰۵^{e}	۱/۱۹^{bc}
۲	۰	۱/۱۱^{e}	۰/۷۴^{e}
۴	۰	۱/۵۲^{d}	۰/۷۰^{e}
۸	۰	۱/۵۶^{cd}	۱/۴۵^{ab}
۰	۱	۱/۹۴^{abc}	۰/۸۱^{de}
۲	۱	۱/۸۸^{abcd}	۰/۷۶^{e}
۴	۱	۱/۶۶^{bcd}	۱/۵^{a}
۸	۱	۱/۵۹^{cd}	۱/۰۵^{cd}
۰	۳	۲/۰۶^{ab}	۱/۴۳^{ab}
۲	۳	۲/۰۵^{ab}	۱/۴۶^{ab}
۴	۳	۲/۰۷^{ab}	۱/۲۸^{abc}
۸	۳	۲/۰۸^{a}	۱/۱۸^{bc}

حروف مشابه در هر ستون و گروه تیماری نشان‌دهنده عدم اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد است.

پرتوتابی فرابنفش به مدت ۳ ساعت در روز بر گیاهان مفراح باعث افزایش میزان اسید کافئیک برگ‌ها نسبت به شاهد شد و بالاترین میانگین مقدار اسید کافئیک برگ با اختلاف کمی از تیمارهای پرتوتابی ۳ ساعت، مربوط به تیمار ۱ ساعت پرتوتابی به همراه کاربرد ۴ گرم اسید هیومیک با میانگین ۱/۵۰ میلی‌گرم در گرم برگ خشک بود. بیشترین مقدار اسید سالویانولیک با میانگین ۱/۶۳ میلی‌گرم در گرم برگ خشک مربوط به تیمار ۳ ساعت پرتوتابی با UV-B بود (جدول ۵) که اختلاف معنی‌داری با تیمار پرتوتابی ۳ ساعت به همراه کاربرد همزمان ۲ گرم اسید هیومیک نداشت و هر دو تیمار بیشترین عدد میانگین را نشان دادند که این اختلاف کم، حاکی از عدم معنی‌داری کاربرد اسید هیومیک در تغییر مقدار این ماده مؤثره بود. کمترین مقدار اسید سالویانولیک هم عدد ۰/۸۵ در تیمار ۱ ساعت پرتوتابی بود. با افزایش غلظت کاربرد اسید هیومیک میزان اسید رزمارینیک برگ‌ها نسبت به شاهد کاهش یافت تا به کمترین مقدار آن در کاربرد ۸ گرم اسید هیومیک با میانگین ۰/۳۵ میلی‌گرم در گرم وزن خشک برگ رسید. ولی با پرتوتابی UV-B میزان اسید رزمارینیک افزایش یافت، به‌طوری‌که به بالاترین میزان آن با میانگین ۰/۸۲ میلی‌گرم در گرم وزن خشک برگ در شرایط پرتوتابی ۱ و ۳ ساعت رسید (جدول ۵).

جهت مطالعه بهتر تیمارها و بررسی تأثیر آن‌ها بر روی صفات مورد مطالعه تجزیه خوشه‌ای انجام گرفت (شکل ۲). بر این اساس تعداد دو خوشه تشکیل شد. در خوشه اول تیمارهای ۸ گرم هیومیک اسید + صفر ساعت تابش UV، ۲ گرم هیومیک اسید + صفر ساعت تابش UV، ۴ گرم هیومیک اسید + صفر ساعت تابش UV، ۸ گرم هیومیک اسید + ۱ ساعت تابش UV، شاهد، ۴ گرم هیومیک اسید + ۱ ساعت تابش UV قرار گرفتند.

تیمارهای موجود در این خوشه از نظر صفات طول ساقه، تانن و کافئیک اسید دارای مقادیر بالایی بوده اما از نظر سایر عناصر دارای حداقل مقدار بودند. در خوشه دوم تیمارهای

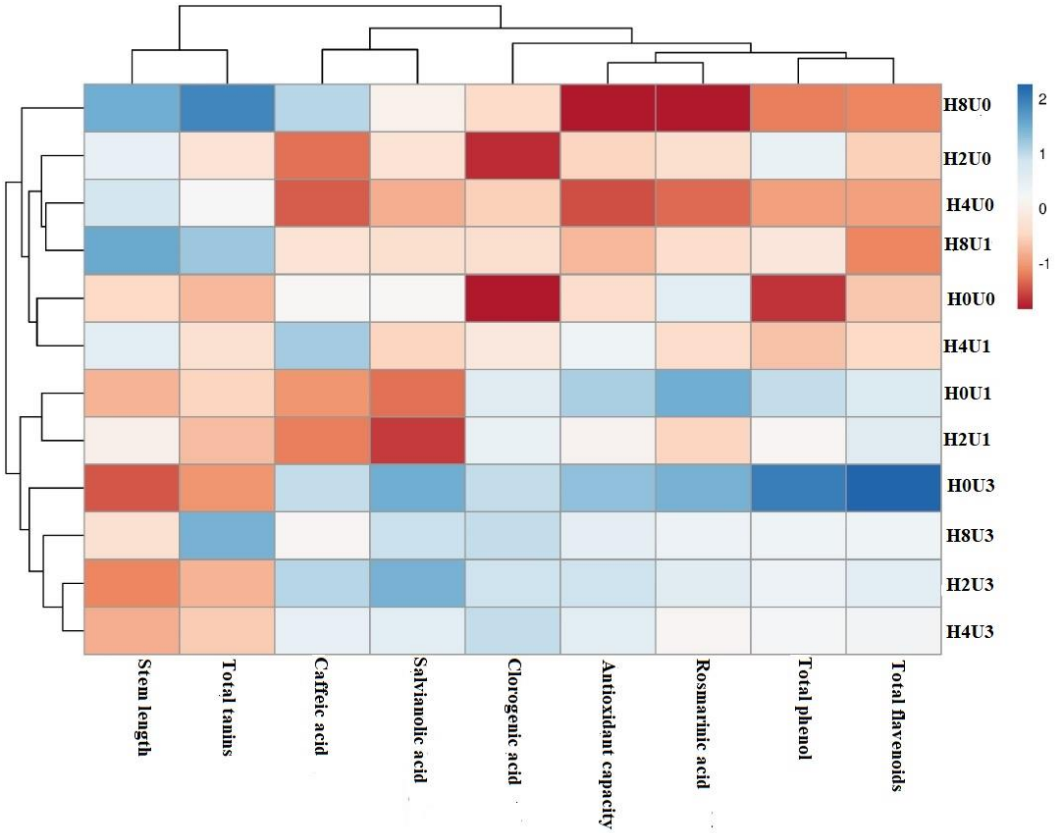
[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-11-19]

[DOI: DOI: 10.22034/13.62.229]

جدول ۵- مقایسه میانگین اثر اسید هیومیک و پرتو فرابنفش بر تانن کل و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی گیاه مفراح

		اسید رزمارینیک	اسید سالویانولیک
اسید هیومیک (گرم در لیتر)	صفر (شاهد)	۰/۶۹[a]	۱/۲۷[a]
	۲	۰/۵۷[b]	۱/۱۴[a]
	۴	۰/۴۲[c]	۰/۹۷[a]
	۸	۰/۳۵[d]	۱/۲۴[a]
پرتو فرابنفش(ساعت)	صفر (شاهد)	۰/۶۹[b]	۱/۲۷[b]
	۱	۰/۸۲[a]	۰/۸۵[b]
	۳	۰/۸۲[a]	۱/۶۳[a]

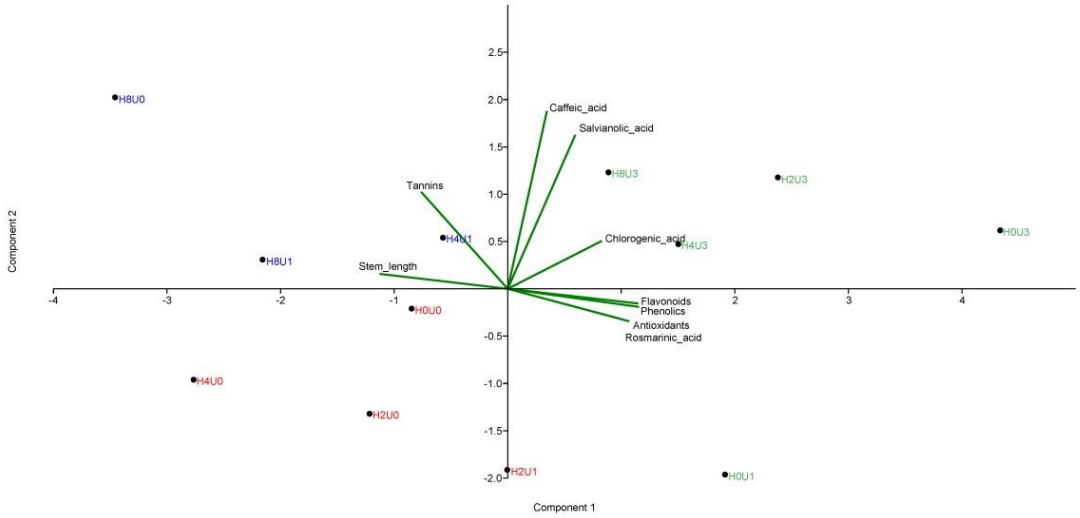
حروف مشابه در هر ستون نشان‌دهنده عدم اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن است.



شکل ۲- تجزیه خوشه‌ای بررسی تأثیر هیومیک اسید و پرتو ماوراءبنفش بر روی صفات مورد مطالعه. در انتهای هر ردیف حرف اول مربوط هیومیک اسید و عدد بعد از آن مربوط به غلظت آن (گرم در لیتر) است و حرف دوم مربوط به پرتوفرابنفش و عدد بعد آن مدت زمان (ساعت) اعمال آن در روز است.

صفر گرم هیومیک اسید + ۱ ساعت تابش UV، ۲ گرم هیومیک اسید + ۱ ساعت تابش UV، صفر گرم هیومیک اسید + ۳ ساعت تابش UV، ۸ گرم هیومیک اسید + ۳ ساعت تابش UV، ۲ گرم هیومیک اسید + ۳ ساعت تابش UV و ۴ گرم هیومیک اسید + ۳ ساعت تابش UV قرار گرفتند. با توجه به هیت‌مپ مورد مطالعه متوجه می‌شویم که تیمارهای موجود در

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-11-19]
[DOI: DOI: 10.22034/13.62.229]



شکل ۳- تجزیه به مؤلفه‌های اصلی بررسی تأثیر هیومیک اسید و پرتو ماوراءبنفش بر روی صفات مورد مطالعه

این کلاستر از نظر اکثر صفات نسبت به سایر تیمارها برتریت داشته و به‌عنوان تیمارهای نمونه معرفی شدند. با توجه به صفات مورد مطالعه می‌توان نتیجه گرفت که تیمارهای صفر گرم هیومیک اسید + ۳ ساعت تابش UV، ۸ گرم هیومیک اسید + ۳ ساعت تابش UV، ۲ گرم هیومیک اسید + ۳ ساعت تابش UV و ۴ گرم هیومیک اسید + ۳ ساعت تابش UV با دارا بودن اکثریت مقادیر برای صفات مورد مطالعه به‌عنوان بهترین تیمارها معرفی شدند.

جهت تأیید نتایج تجزیه خوشه‌ای از تجزیه به مؤلفه‌های اصلی استفاده شد (شکل ۳). این تجزیه تیمارهای مورد مطالعه را در سه گروه قرار داد. براساس نتایج موجود دو گروه از میان سه گروه به‌عنوان تیمارهای برتر شناخته شدند. اولین گروه شامل تیمارهای ۸ گرم هیومیک اسید + ۳ ساعت تابش UV، ۴ گرم هیومیک اسید + ۳ ساعت تابش UV، ۲ گرم هیومیک اسید + ۳ ساعت تابش UV، صفر گرم هیومیک اسید + ۳ ساعت تابش UV و صفر گرم هیومیک اسید + ۱ ساعت تابش UV قرار گرفتند.

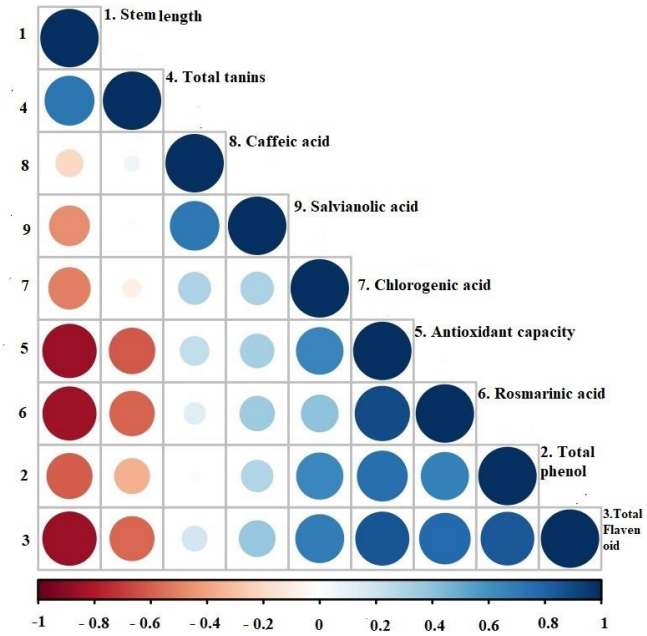
این تیمارها از نظر اکثر صفات دارای حداکثر مقدار بوده و بنابراین به‌عنوان تیمارهای برتر معرفی شدند. در گروه دوم نیز تیمارهای ۸ گرم هیومیک اسید + صفر ساعت تابش UV، ۸ گرم هیومیک اسید + ۱ ساعت تابش UV و ۴ گرم هیومیک اسید + ۱ ساعت تابش UV در یک گروه قرار گرفتند. این تیمارها از نظر صفات ارتفاع ساقه و تانن‌ها در اکثریت بودند.

همچنین جهت مطالعه ارتباط بین صفات مورد مطالعه از تجزیه همبستگی استفاده شد (شکل ۴). بر این اساس مشخص شد که صفت ارتفاع ساقه با اکثر صفات همبستگی منفی و معنی‌داری داشت. همچنین در مورد صفات فیتوشیمیایی تانن‌ها بیشترین همبستگی منفی را با اکثر صفات فیتوشیمیایی داشتند. در مورد سایر صفات، فلاونوئیدها با فنول‌ها، آنتی‌اکسیدان‌ها، اسید رزمارینیک و کلروژنیک اسید همبستگی مثبت و معنی‌داری داشتند.

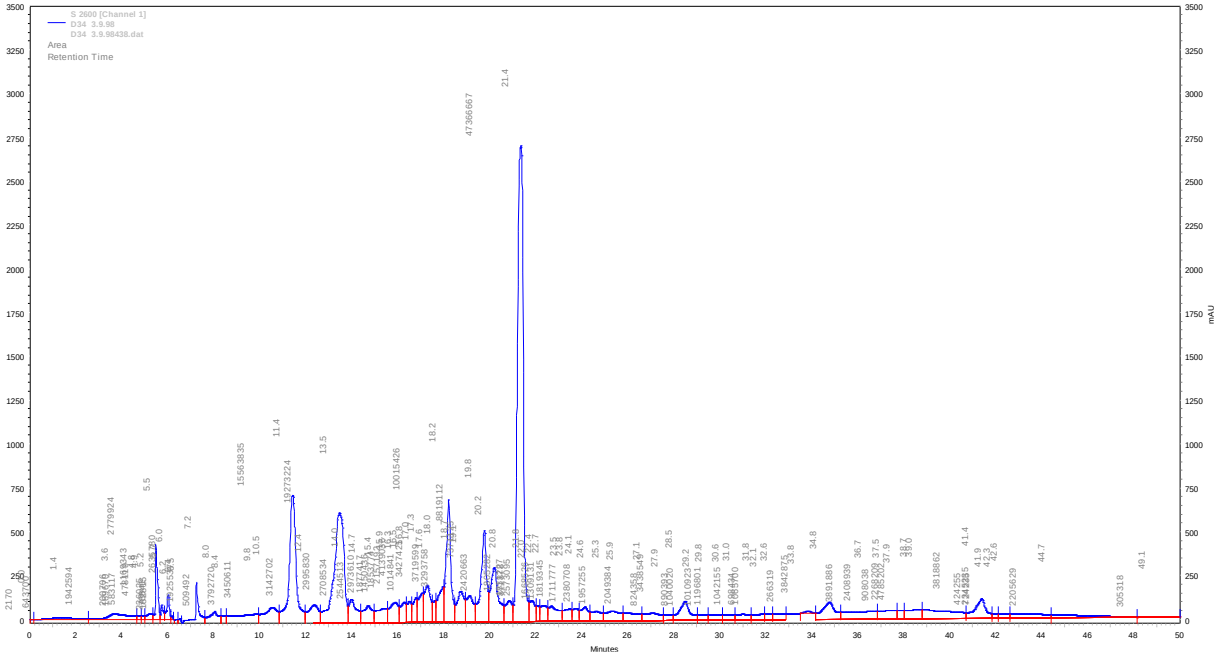
در این پژهش تأثیر توام کود آلی هیومیکی و پرتوتابی UV-B روی گیاهی وحشی انجام شد که تا کنون هیچ مورد مشابهی این فاکتورها را با هم روی گیاهان مورد مطالعه قرار نداده بود. مطالعه منابع نشان می‌دهد گیاه به منظور مقابله با اثرات ناشی از تنش (پرتوتابی فرابنفش)، تولید متابولیت‌های ثانویه خود از جمله فنولیک اسیدها را افزایش داده و بنابراین بیان ژن‌های اسید رزمارینیک که از مهمترین اسیدهای فنلی به شمار می‌رود را افزایش می‌دهد.

نتایج کروماتوگرافی مایع با عملکرد بالا (با توجه به

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-11-19]
[DOI: DOI: 10.22034/13.62.229]



شکل ۴- همبستگی بین صفات فیتوشیمیایی و مورفولوژیکی مورد مطالعه



شکل ۵- کروماتوگرام حاصل از تزریق عصاره متانولی گیاه مفراح تحت تابش ۳ ساعت UV-B به همراه کاربرد ۸ گرم هیومیک اسید به دستگاه HPLC.

استانداردهای اندازه‌گیری‌شده) نشان داد که در عصاره برگ مفراح، اسید کلروژنیک بیشترین و اسید رزمارینیک کمترین مقدار را بین چهار اسید فنلی اندازه‌گیری‌شده دارا بودند. افزایش میزان اسید رزمارینیک با نتایج سایر پژوهش‌ها مطابقت داشت، اما از آنجایی‌که این افزایش با بیشتر شدن مدت زمان تابش بیشتر نشد با برخی منابع مغایرت داشت که گویی تولید

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-11-19]
[DOI: DOI: 10.22034/13.62.229]

اسید رزمارینیک با شرایط پژوهش حاضر فقط تا یک آستانه مشخصی (در این آزمایش یک ساعت) افزایشی بود و بعد از آن افزایش ساعات پرتوتابی تأثیری در افزایش مقادیر آن نداشت. عوامل محیطی و شرایط تنش می‌توانند افزایش مقدار ترکیبات فنلی و متابولیسم فنیل پروپانوئید را تحت تأثیر قرار دهند. کروماتوگرام حاصل از تزریق عصاره متانولی گیاه مفراح تحت تابش ۳ ساعت UV-B به همراه کاربرد ۸ گرم هیومیک در شکل ۵ آمده است.

تغییر در تعداد و نوع ترکیبات فنلی برگ گیاهان تحت تنش UV نسبت به شاهد، گزارش شده است (Noori *et al.*, 2012). تابش UV-B باعث سنتز آنزیم‌های کلیدی مسیر فنیل پروپانوئید می‌شود؛ بنابراین تحت تابش UV-B، گیاهان معمولاً سنتز بیوشیمیایی فلاونوئیدها و مشتقات فنیل پروپانوئید (از ابتدای مسیر ساخت) را افزایش می‌دهند (Searles *et al.*, 2001). اسید رزمارینیک، اسید کافئیک، اسید کلروژنیک و اسید سالویانولیک هم مجموعاً جزئی از فنیل پروپانوئیدها هستند که طبق توضیحات ارائه‌شده در معرض پرتوتابی فرابنفش افزایش می‌یابند و این مطلب در نتایج مطالعه حاضر نیز مصداق دارد. تابش UV-B در گیاه رزماری باعث افزایش غلظت اسید رزمارینیک و اسید کارنوزیک شد که افزایش هر دو، هم‌زمان با افزایش جذب رادیکال آزاد بود (Luis *et al.*, 2007). به‌کار بردن UV-B در کشت سلول و ریشه‌های گیاه شوید سبب تحریک سنتز اسید کافئیک و فنیل پروپانوئید شد. در این تنش، تنها طول‌موج‌های زیر ۳۶۰ نانومتر مؤثر بودند و بیشترین میزان تأثیر در طول‌موج کمتر از ۳۲۰ نانومتر مشاهده شد که با نتایج مطالعه حاضر در یک راستا قرار دارد (Mohle and Wellmann, 1982). تابش فرابنفش باعث افزایش تجمع ترکیباتی مانند اسید کارنوزیک و اسید کافئیک در گیاه رزماری شد که این ترکیبات با دارا بودن خواص درمانی، کیفیت تغذیه‌ای گیاه رزماری را بهبود می‌بخشند (Sakalauskaite *et al.*, 2012). برخی از فنل‌ها مانند اسید کافئیک بر اثر پرتودهی با فرابنفش فعال می‌شوند. Tegelberg و Julkunen-Tiitto (۲۰۰۱) افزایش اسیدهای فنلی در درخت بید توسط پرتو فرابنفش را نیز گزارش کرده‌اند که با نتایج پژوهش حاضر مطابقت دارد. میزان اسید کلروژنیک موجود در *Nepeta* subsp. *nuda* طبق گزارش Aras و همکاران (۲۰۱۶)، ۱/۳ میلی‌گرم در عصاره گیاه اندازه‌گیری شده که با مقادیر بدست آمده از مفراح مطابقت دارد که بیانگیر مقادیر قابل توجه از این اسید فنلی در مقایسه با سایر ترکیبات موجود در آن است. براساس یافته‌های Ghane و همکاران (۲۰۱۹) بیشترین عملکرد اسید رزمارینیک در گیاه پریلا (*Perilla frutscens*) در بین کودهای مورد بررسی از تیمار کود شیمیایی ۱۰۰ کیلوگرم در هکتار، کاربرد اسید هیومیک و مصرف کود زیستی حاصل شد. نتایج آزمایش روی گیاه دارویی پریلا نشان داد کاربرد تلفیقی منابع کودی مختلف در هر دو منطقه (مشهد اردهال وسن سن) اثری به مراتب بیشتر بر وضعیت رشدی گیاه داشت.

نتیجه‌گیری

یافته‌های حاصل از این مطالعه نشان داد کاربرد اسید هیومیک (اثر ساده) باعث افزایش ارتفاع ساقه گیاه مفراح (حدود ۲۰ سانتی‌متر) نسبت به شاهد شد. طبق نتایج این پژوهش، کاربرد خاکی اسید هیومیک به همراه پرتوتابی فرابنفش با توجه به مدت تابش و مقدار کاربرد، اثرات متفاوتی را در صفات فیتوشیمیایی گیاه مفراح ایجاد کرد. با توجه به مشاهده الگوی افزایشی-کاهشی متفاوت فاکتورهای فیتوشیمیایی گیاه وحشی مفراح در این آزمایش می‌توان اینگونه نتیجه‌گیری کرد که به‌کارگیری توأم (برهمکنش) اسید هیومیک و UV-B روی صفات فنل کل، فلاونوئید کل، اسید کافئیک و اسید کلروژنیک بسیار معنی‌دار بود. کاربرد اسید هیومیک در گیاه مفراح در میزان تانن کل، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و اسید رزمارینیک (اثر ساده) در سطح ۱ درصد معنی‌دار شد و باعث افزایش تانن، کاهش فعالیت پاداکسایشی و کاهش مقدار اسید رزمارینیک در برگ مفراح شد. طبق نتایج این پژوهش، پرتو فرابنفش B توأم با کاربرد اسید هیومیک در مقادیر ذکر شده اثر منفی روی فنل و فلاونوئید کل داشت. بدین ترتیب می‌توان نتیجه گرفت که با مدیریت برخی عوامل محیطی از جمله نور، می توان سطح

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-11-19]

[DOI: DOI: 10.22034/13.62.229]

تولید برخی از ترکیبات جاذب UV را که نقش دارویی دارند در مفراح تحت تأثیر قرار داد. از آن‌جا که فرآیند تولید گیاهان دارویی به سوی بهبود کیفیت و کمیت ماده مؤثره آن‌ها پیش می‌رود می‌توان با شناخت و مدیریت عوامل مؤثر در تولید متابولیت‌های ثانویه مهم در مفراح، از جمله اسید کلروژنیک که مقادیر نسبتاً بالایی در گیاهان جنس نپتا دارد، به سمت اهلی‌سازی و تولید این گیاه دارویی با ارزش پیش رفت.

منابع

Aiken, G. R., Mcknight, D. M., Wershaw, R. L., & Maccarthy, P. (1986). Humic substances in soil, sediment, and water. *Soil Science*, *142*(5), 323 .

Al Murad, M., Razi, K., Jeong, B. R., Samy, P. M. A., & Muneer, S. (2021). Light emitting diodes (LEDs) as agricultural lighting: Impact and its potential on improving physiology, flowering, and secondary metabolites of crops. *Sustainability*, *13*(4), 1985. https://doi.org/10.1016/j.bbabio.2019.148131

Aras, A., Bursal, E., & Dogru, M. (2016). UHPLC-ESI-MS/MS analyses for quantification of phenolic compounds of Nepeta nuda subsp. lydiae. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, *6*(11), 009-013. https://doi.org/10.7324/JAPS.2016.601102

Aydin, A., Kant, C., & Turan, M. (2012). Humic acid application alleviate salinity stress of bean (*Phaseolus vulgaris* L.) plants decreasing membrane leakage. *African Journal of Agricultural Research*, *7*(7), 1073-1086.

Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., & Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food science and Technology*, *28*(1), 25-30. https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5

Buchholz, G., Ehmann, B., & Wellmann, E. (1995). Ultraviolet light inhibition of phytochrome-induced flavonoid biosynthesis and DNA photolyase formation in mustard cotyledons (*Sinapis alba* L.). *Plant Physiology*, *108*(1), 227-234. https://doi.org/10.1104/pp.108.1.227

DasSarma, P., Antunes, A., Simoes, M. F., & DasSarma, S. (2020). Earth's stratosphere and microbial life. *Current Issues in Molecular Biology*, *38*(1), 197-244. https://doi.org/10.21775/cimb.038.197

Esra, K., Islek, C., & Ustun, A. S. (2010). Effect of cold on protein, proline, phenolic compounds and chlorophyll content of two pepper (*Capsicum annuum* L.) varieties. *Gazi University Journal of Science*, *23*(1), 1-6.

Frohnmeyer, H. & Staiger, D. (2003). Ultraviolet-B radiation-mediated responses in plants. Balancing damage and protection. *Plant Physiology*, *133*(4), 1420-1428. https://doi.org/10.1104/pp.103.030049

Ghane, M., Mohammadi, M., & Pirdashti, H. (2019). Yield and physiological response of Perilla (*Perilla frutescens*) under different soil fertility treatments. *Advances in Horticultural Science*, *33*(2), 205-214.

Ghasemi Pirbalouti, A. & Nemati, S. H. (2018). Effect of humic acid and ascorbate on growth and biochemical traits of Moldavian balm (*Dracocephalum moldavica* L.) under salinity stress. *Journal of Plant Process and Function*, *7*(23), 297-312. https://doi.org/20.1001.1.23222727.1397.7.23.23.6

Ghasemi, S., Kumleh, H. H., & Kordrostami, M. (2019). Changes in the expression of some genes involved in the biosynthesis of secondary metabolites in *Cuminum cyminum* L. under UV stress. *Protoplasma*, *256*, 279-290. https://doi.org/10.1007/s00709-018-1297-y

Heijde, M. & Ulm, R. (2012). UV-B photoreceptor-mediated signalling in plants. *Trends in Plant Science*, *17*(4), 230-237. https://doi.org/10.1016/j.tplants.2012.01.007

Hoffmann, A. M., Noga, G., & Hunsche, M. (2015). High blue light improves acclimation and photosynthetic recovery of pepper plants exposed to UV stress. *Environmental and Experimental Botany*, *109*, 254-263. https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2014.06.017

Johnson, C. B., Kirby, J., Naxakis, G., & Pearson, S. (1999). Substantial UV-B-mediated induction of essential oils in sweet basil (*Ocimum basilicum* L.). *Phytochemistry*, *51*(4), 507-510. https://doi.org/10.1016/S0031-9422(98)00767-5

Khorasaninejad, S., Alizadeh Ahmadabadi, A., & Hemmati, K. (2018). The effect of humic acid on leaf morphophysiological and phytochemical properties of *Echinacea purpurea* L. under water deficit stress. *Scientia Horticulturae*, *239*, 314-323. https://doi.org/10.1016/j.scienta.2018.03.015

Kondo, N. & Kawashima, M. (2000). Enhancement of the tolerance to oxidative stress in cucumber (*Cucumis sativus* L.) seedlings by UV-B irradiation: possible involvement of phenolic compounds and antioxidative enzymes. *Journal of Plant Research*, *113*, 311-317.

Landi, M., Zivcak, M., Sytar, O., Brestic, M., & Allakhverdiev, S. I. (2020). Plasticity of photosynthetic processes and the accumulation of secondary metabolites in plants in response to monochromatic light environments: A review. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics*, *1861*(2), 148131. https://doi.org/10.1016/j.bbabio.2019.148131

Li, Y., Guo, C.,Yang, J., Wei, J., Xu, J., & Cheng, S. (2006). Evaluation of antioxidant properties of pomegranate peel extract in comparison with pomegranate pulp extract. *Food Chemistry*, *96*(2), 254-260.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-11-19]

[DOI: DOI: 10.22034/13.62.229]

Liu, C. & Cooper, R. J. (2000). Humic substances influence creeping bentgrass growth. *Carbon*, *54*(59), 41-51.

Luis, J., Perez, R. M., & Gonzalez, F. V. (2007). UV-B radiation effects on foliar concentrations of rosmarinic and carnosic acids in rosemary plants. *Food Chemistry*, *101*(3), 1211-1215. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.03.023

MacCarthy, P. (2001). The principles of humic substances. *Soil Science*, *166*(11), 738-751.

Mafakheri, M. & Kordrostami, M. (2021). Recent advances toward exploiting medicinal plants as phytoremediators. In Handbook of Bioremediation. Pp. 371-383. Elsevier. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-819382-2.00023-5

Maffei, M. & Scannerini, S. (2000). UV-B effect on photomorphogenesis and essential oil composition in peppermint (*Mentha piperita* L.). *Journal of Essential Oil Research*, *12*(5), 529-523. https://doi.org/10.1080/10412905.2000.9712150

Mahdavian, K., Ghorbanli, M., & Kalantari, K. (2008). The effects of ultraviolet radiation on the contents of chlorophyll, flavonoid, anthocyanin and proline in *Capsicum annuum* L. *Turkish Journal of Botany*, *32*(1), 25-33.

Mahmoodi, S., Heydari, M., Ahmadi, K., Khwarahm, N. R., Karami, O., Almasieh, K., Naderi, B., Bernard, P., & Mosavi, A. (2022). The current and future potential geographical distribution of *Nepeta crispa* Willd., an endemic, rare and threatened aromatic plant of Iran: Implications for ecological conservation and restoration. *Ecological Indicators*, *137*, 108752. https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2022.108752

Mohle, B. & Wellmann, E. (1982). Induction of phenylpropanoid compounds by UV-B irradiation in roots of seedlings and cell cultures from dill (*Anethum graveolens* L.). *Plant Cell Reports*, *1*(5), 183-185.

Muscolo, A., Sidari, M., & Nardi, S. (2013). Humic substance: Relationship between structure and activity. Deeper information suggests univocal findings. *Journal of Geochemical Exploration*, *129*, 57-63. https://doi.org/10.1016/j.gexplo.2012.10.012

Noori, M., Dehshiri, M. M., & Ghorbani, M. (2012). Investigation of leaf flavonoids of Reseda (Tourn.) et L. (Resedaceae) members in Markazi province, Iran. *Journal of Medicinal plants and By-product*, *1*(2), 171-176. https://doi.org/10.22092/jmpb.2012.108482

Noroozisharaf, A. & Kaviani, M. (2018). Effect of soil application of humic acid on nutrients uptake, essential oil and chemical compositions of garden thyme (*Thymus vulgaris* L.) under greenhouse conditions. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, *24*(3), 423-431. https://doi.org/10.1007/s12298-018-0510-y

Ouzounis, T., Frette, X., Rosenqvist, E., & Ottosen, C. O. (2014). Spectral effects of supplementary lighting on the secondary metabolites in roses, chrysanthemums, and campanulas. *Journal of Plant Physiology*, *171*(16), 1491-1499. https://doi.org/10.1016/j.jplph.2014.06.012

Oyetayo, V. (2007). Comparative studies of the phytochemical and antimicrobial properties of the leaf, stem and tuber of *Anchonnanes diffornis*. *Journal of Pharmacology and Toxicology*, *2*(4), 407-410.

Ozhan, N., Goldani, M., Naghdi Badi, H., Mehrafarin, A., & Parsa, M. (2017). Changes in Nepetalactone content and biochemical traits of catnip (*Nepeta cataria* L.) in response to induction of biostimulants compounds. *Journal of Medicinal Plants*, *16*(64), 32-44. https://doi.org/20.1001.1.2717204.2017.16.64.24.1

Rahimi, M., Kordrostami, M., Mohamadhasani, F., & Chaeikar, S. S. (2021). Antioxidant gene expression analysis and evaluation of total phenol content and oxygen-scavenging system in tea accessions under normal and drought stress conditions. *BMC Plant Biology*, *21*(1), 1-12.

Rozema, J., Bjorn, L. O., Bornman, J., Gaberscik, A., Hader, D. P., Trost, T., Germ, M., Klisch, M., Groniger, A., & Sinha, R. (2002). The role of UV-B radiation in aquatic and terrestrial ecosystems—an experimental and functional analysis of the evolution of UV-absorbing compounds. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, *66*(1), 2-12.

Sakalauskaite, J., Viskelis, P., Duchovskis, P., Dambrauskiene, E., Sakalauskiene, S., Samuoliene, G., & Brazaityte, A. (2012). Supplementary UV-B irradiation effects on basil (*Ocimum basilicum* L.) growth and phytochemical properties. *Journal of Food, Agriculture and Environment*, *10*(3-4), 342-346.

Searles, P. S., Flint, S. D., & Caldwell, M. M. (2001). A meta-analysis of plant field studies simulating stratospheric ozone depletion. *Oecologia*, *127*, 1-10. https://doi.org/10.1007/s004420000592

Sharma, P. K., Anand, P., Sankhalkar, S., & Shetye, R. (1998). Photochemical and biochemical changes in wheat seedlings exposed to supplementary ultraviolet-B radiation. *Plant Science*, *132*(1), 21-30. https://doi.org/10.1016/S0168-9452(97)00266-5

Shin, H. S., Lee, J., & Choi, C. Y. (2011). Effects of LED light spectra on oxidative stress and the protective role of melatonin in relation to the daily rhythm of the yellowtail clownfish, *Amphiprion clarkii*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, *160*(2), 221-228. https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2011.06.002

Tegelberg, R. & Julkunen-Tiitto, R. (2001). Quantitative changes in secondary metabolites of dark-leaved willow (*Salix myrsinifolia*) exposed to enhanced ultraviolet-B radiation. *Physiologia Plantarum*, *113*(4), 541-547.

Tezcan, F., Gultekin-Ozguven, M., Diken, T., Ozcelik, B., & Erim, F. B. (2009). Antioxidant activity and total phenolic, organic acid and sugar content in commercial pomegranate juices. *Food Chemistry*, *115*(3), 873-877.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-11-19]

[DOI: DOI: 10.22034/13.62.229]

https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.12.103

Todorova, D., Sergiev, I., Moskova, I., Katerova, Z., Georgieva, N., Alexieva, V., Brambilla, I., & Mapelli, S. (2014). Biochemical responses of triticale plants treated with UV-B irradiation and nutrient solution enriched with humic acids. *Turkish Journal of Botany*, *38*(4), 747-753. https://doi.org/10.3906/bot-1312-52

Zaremanesh, H., Eisvand, H., Akbari, N., Ismaili, A., & Feizian, M. (2019). Effects of different humic acid and salinity levels on some traits of Khuzestani savory (*Satureja khuzistanica* Jamzad). *Applied Ecology & Environmental Research*, *17* (3).

Zhang, W. J. & Bjorn, L. O. (2009). The effect of ultraviolet radiation on the accumulation of medicinal compounds in plants. *Fitoterapia*, *80*(4), 207-218.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-11-19]

[DOI: DOI: 10.22034/13.62.229]

Effect of UV-B and humic acid on the physiological properties of *Nepeta crispa*

Zahra Karimi[1], Ali Azizi[1] and Alireza Noroozisharaf[2*]

[1] Department of Horticultural Science, Faculty of Agriculture, Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran
[2] Department of Horticulture and Landscape Engineering, Sayyed Jamaleddin Asadabadi University, Asadabad, Iran
(Received: 2024/02/10, Accepted: 2024/05/07)

Abstract

Nepeta crispa is a perennial plant in the mint family. The present study aimed to study the effect of the combined application of humic acid and UV-B radiation on the growth and some phytochemical responses of this plant. The experiment was conducted as a factorial (two-factor) in a completely randomized design with three replications. The first factor was humic acid at 4 levels (0, 2, 4 and 8 g $.L^{-1}$) and the second factor, UV-B radiation at 3 levels (0, 1 and 3 hours of irradiation per day). Based on the results, in contrast to the UV-B irradiation treatment, the effect of humic acid application significantly increased stem height compared to the control treatment. Also, the highest amount of total phenol, flavonoids, and antioxidant capacity and the lowest amount of total tannin were all obtained in 3 hours of UV-B irradiation treatment without the application of humic acid. The highest amount of total tannin and the lowest antioxidant capacity were observed in the treatment of 8 g $.L^{-1}$ humic acid. The results of HPLC analysis of leaf extract showed that the highest amount of rosmarinic acid and salvanoic acid was produced in 3 hours of UV-B irradiation treatment per day. Among the studied phenolic acids, the highest amount of chlorogenic acid was obtained in the treatment of 3 hours of UV-B radiation + 8 g $.L^{-1}$ of humic acid. The highest amount of caffeic acid was observed in 1 hour of radiation treatment + 4 g $.L^{-1}$ of humic acid. In all, the combined use (interaction) of humic acid and UV-B were significant for total phenol, total flavonoid, caffeic acid and chlorogenic acid. The use of humic acid (simple effect) in this plant had a significant effect on the total tannin, antioxidant capacity and rosmarinic acid at a level of 1% and increased tannin while decreasing antioxidant activity and rosmarinic acid in *Nepeta crispa* leaves. Humic acid also reduced the levels of antioxidant capacity and rosmarinic acid, and the only trait that had an increasing effect on it was the amount of total tannin. The results of this study can be considered for the cultivation of this plant under greenhouse-field conditions.

Keywords: Antioxidant capacity, Optical stress, Phenolic compounds, Rosemaryic acid, Stress reducing agents

Corresponding author, Email: a.noroozi@basu.ac.ir; noroozi2ar@gmail.com

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-11-19]

[DOI: DOI: 10.22034/13.62.229]