

## مقایسه دو زمان متفاوت نوردهی با طیف‌های مختلف نورهای LED در تحمل گیاه *Arabidopsis thaliana* به تنش زخم

زهرا میرزاحسینی<sup>۱</sup>، لیلا شبانی<sup>۱\*</sup> و محمد رضا سبزیعلیان<sup>۳</sup>

<sup>۱</sup>گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، <sup>۲</sup>پژوهشکده زیست‌فناوری دانشگاه شهرکرد، شهرکرد <sup>۳</sup>گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان، اصفهان ۸۳۱۱۱-۸۴۱۵۶  
(تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۰۸/۰۹، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹۸/۰۹/۳۰)

### چکیده

در این پژوهش تأثیر چهار نور مختلف LED شامل نور LED آبی، نور LED قرمز، نور LED قرمز (۷۰٪) + آبی (۳۰٪) و نور LED سفید در مقایسه با یکدیگر و همچنین نور فلورسنت سفید و مقایسه دو زمان متفاوت نوردهی بصورت نوردهی همزمان با تنش زخمی شدن (زمان ۱) و پیش تیمار و سپس اعمال تنش (زمان ۲) در پاسخ *Arabidopsis thaliana* به تنش زخم مورد بررسی قرار گرفت. در پاسخ به زخم، به ویژه تحت نور LED قرمز + آبی، وزن خشک اندام هوایی و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان بالاتر از گیاهان تحت نور فلورسنت بود. غلظت H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> در زمان ۱ نوردهی در گیاهان تیمار شده با LED قرمز + آبی و LED آبی، و در زمان ۲ در گیاهان تیمار شده با نور فلورسنت و LED آبی بیشتر از سایر گیاهان بود. بالاترین میزان MDA در هر دو زمان نوردهی در گیاهان تحت نور فلورسنت و LED آبی مشاهده شد. بیشترین میزان ترکیبات فنولیک در برگ‌های زخمی گیاهان تحت نور LED قرمز + آبی و LED قرمز اندازه‌گیری شد. بیشترین بیان نسبی ژن PAL، در زمان ۱ در گیاهان تیمار شده با نور LED قرمز + آبی و در زمان ۲ در گیاهان تیمار شده با نور آبی و یک هفته پس از ایجاد زخم مشاهده شد. با بررسی نتایج حاصل از اندازه‌گیری بیان ژن‌های AOC، AOS و COI1، پیام‌رسانی بیشتر جاسمونات در گیاهان تحت نور LED سفید پیشنهاد می‌شود. بررسی نتایج پیشنهاد می‌کند پیش تیمار با نورهای LED در کاهش تنش ناشی از زخم مؤثرتر است. واژگان کلیدی: آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، تنش زخم (جراحت)، جاسمونات، ترکیبات فنولیک

### مقدمه

هدف بهبود زیستی گیاه و جلوگیری از شیوع بیماری و نیز کاهش میزان آسیب ناشی از هر گونه حمله احتمالی علف‌خوارها و پاتوژن‌ها، تا حد امکان با آن مقابله کند (León et al., 2001).

در شرایط تنش زخم، گیاه با فعال‌سازی مسیرهای سیگنالی خاص و تغییر بیان ژن‌ها، سنتز مولکول‌های لازم برای تحریک بازسازی و رشد دوباره بافت‌های آسیب دیده را القا می‌کند (León et al., 2001). افزایش غلظت درونی هورمون اسید

در طبیعت، گیاهان اغلب با تنش‌های مختلفی مواجه می‌شوند که ممکن است منجر به آسیب‌های مکانیکی به بافت‌های آنها شود. علاوه بر آسیب بافتی که در اثر جراحت ایجاد می‌شود، ناحیه آسیب دیده شرایط مساعدی را برای حمله پاتوژن‌ها و عوامل بیماری‌زا مانند قارچ و باکتری فراهم می‌آورد. آسیب مکانیکی محدودیت‌های عمده‌ای را برای رشد و تولیدات طبیعی گیاهان ایجاد می‌کند که گیاه باید با پاسخ‌های قوی با

بیوسنتز جاسمونیک اسید به عنوان مرحله کلیدی ساخت اوکتادکانوئید و جاسمونات شناخته می‌شود (Schaller *et al.*, 2008). نشان داده شده است که تنش‌های زیستی و غیر زیستی که منجر به افزایش درونی اوکتادکانوئیدها و جاسمونات‌ها می‌شوند، معمولاً با فراتنظیمی رونوشت‌های AOS و AOC همراه هستند (Stenzel *et al.*, 2003). کروماتین یک فیتوتوکسین یا سم گیاهی است که توسط چندین وارسته از پاتوژن *Pseudomonas syringae* تولید می‌شود و اثراتی مثل ایجاد کلروز در برگ و مهار رشد ریشه را در گیاهان ایجاد می‌کند. نشان داده شده است که موتانت‌هایی از آرآیدوپسیس تالیانا که به کروماتین غیرحساس هستند (*coi1*) به متیل جاسمونات نیز غیرحساس هستند (Feys *et al.*, 1994). در پژوهش دیگری نشان داده شده است که COI1 تجزیه پروتئین JAZ (مهارکننده جاسمونات) را در پاسخ به جاسمونات میانجی‌گری کرده و از این طریق به بروز پاسخ‌های جاسمونات کمک می‌کند (Robson *et al.*, 2010).

شدت و کیفیت نور از عوامل مهم محیطی برای رشد و نمو گیاهان محسوب می‌شوند. تغییر در کیفیت نور به شدت بر مورفولوژی و فیزیولوژی برگ‌های گیاه تأثیر می‌گذارد (Fan *et al.*, 2013; Haliapas *et al.*, 2008). در سال‌های اخیر، دیویدهای منتشر کننده نور (LED) به عنوان منابع نوری با بازدهی الکتریکی بالا به طور گسترده‌ای به عنوان منابع نوری در اتاق‌های رشد کنترل شده و گلخانه‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرند. استفاده از LED ها علاوه بر صرفه انرژی (به دلیل استفاده از انرژی کمتر و طول عمر بیشتر)، امکان کنترل نور ساطع شده را برای طول موج‌های تعریف شده و باریک فراهم کرده و محققان را قادر می‌سازد که تأثیر نور بر گیاهان را با دقت و اطمینان بالاتری بررسی کنند (Dayani *et al.*, 2016). این منابع نوری اولین منابع نوری مصنوعی با قابلیت کنترل دقیق طیفی هستند که سبب ترکیب بهتر نور با گیرنده‌های نوری گیاهی و در نتیجه تولید با بازدهی بالا در گیاهان می‌شود. پتانسیل LED ها برای تقلید از نور طبیعی در تحقیقات گیاهی، توسط Darko و همکاران (۲۰۱۸) در یک مقاله مروری

جاسمونیک (JA) پس از زخمی شدن یا حمله پاتوژن‌ها در گیاه گزارش شده است (Koo and Howe, 2009; Mielke *et al.*, 2011). جاسمونات با تنظیم سنتز متابولیت‌های ثانویه سمی و تولید موانع مورفولوژیک و مواد فرار، سبب بهبود پاسخ‌های دفاعی در بافت‌های آسیب دیده می‌شود (Li *et al.*, 2005; Lorenzo and Solano, 2002). رویدادهای اولیه پس از زخمی شدن در نتیجه عدم تعادل یون و تغییر در پتانسیل غشاء، سیگنالینگ  $Ca^{2+}$  و تولید گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) آغاز می‌شوند (Maffei *et al.*, 2007). این مولکول‌های فعال در غلظت پایین به عنوان پیام رسان ثانویه در پیام‌رسانی درون سلولی و همچنین پیام‌رسانی بین سلولی و نیز در حفظ هوموستازی شرکت می‌کنند (Ali and Alqurainy, 2006) اما در غلظت بالا، تجمع ROS بخشی از دفاع مستقیم سلول را تشکیل می‌دهد (Maffei *et al.*, 2007). در طول تنش خارجی که به اندام‌های گیاهی وارد می‌شود، غلظت این مولکول‌های فعال به منظور ریشه‌کن کردن تنش، طی پدیده انفجار اکسیداتیو به طور تصاعدی افزایش می‌یابد. اما غلظت‌های بالای این مولکول‌های فعال خود برای سلول‌ها آسیب زنده است و بنابراین گیاهان مکانیسم‌های پیچیده‌ای را برای حفظ غلظت ROS به میزان پایین‌تر از حد تعادل در خود گسترش داده‌اند. سطوح ROS توسط سیستم‌های آنتی اکسیداتیو آنزیمی و غیر آنزیمی گیاه شاهد می‌گردد (Karuppanapandian *et al.*, 2011). مطالعات انجام شده ارتباط بسیار نزدیکی را بین تحمل گیاه به تنش‌های محیطی و افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و همچنین افزایش سطوح متابولیت‌های آنتی‌اکسیدان نشان داده‌اند (Inze and Van Montagu, 1995). تولید مولکول‌های سیگنال حاصل از چربی یک پدیده شایع در موجودات زنده است و در گیاهان جاسمونات‌ها و اوکتادکانوئیدها در این رابطه از اهمیت ویژه‌ای برخوردار هستند. این مواد از اسیدهای چرب اشباع نشده تشکیل شده و از طریق مسیر آلن اکسید سنتاز (AOS) که یک شاخه از هفت شاخه مسیر لیپوکسیژناز (LOX) است ساخته می‌شود. مرحله کاتالیز شده با آنزیم آلن اکسید سیکلاز (AOC) در مسیر

شرح داده شده است.

در مطالعات اخیر تأثیر مثبت نورهای مختلف LED در افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، بهبود رشد، عملکرد و سلامت گیاهان زراعی مختلف نشان داده شده است. با این حال هنوز گزارشات زیادی در رابطه با تأثیر این منابع نوری بر تحمل به تنش در گیاهان منتشر نشده است. ما در گزارش سابق خود با تکیه بر شواهد پروتئومیک و فیزیولوژیک نشان دادیم که تابش نورهای LED، به ویژه نور LED قرمز + آبی و سفید، به گیاه *Arabidopsis thaliana* بلافاصله پس از ایجاد زخم مکانیکی، سبب افزایش مقاومت آرابیدوپسیس به تنش زخم می‌شود (Mirzahosseini et al., 2019). در پژوهش حاضر، با مقایسه دو زمان متفاوت نوردهی، چگونگی تأثیر تابش همزمان با تنش یا پیش تیمار با طیف‌های مختلف LED به گیاه آرابیدوپسیس تالیانا در تحمل به تنش زخم از طریق تأثیر بر ظرفیت آنتی‌اکسیدانی گیاه و همچنین پیام‌رسانی اسید جاسمونیک مورد بررسی قرار گرفت.

#### مواد و روش‌ها

**کشت گیاهان و اعمال تیمار جراحی:** بذر تیپ وحشی گیاه آرابیدوپسیس تالیانا (*Arabidopsis thaliana*) اکوتیپ کلومبیا از مؤسسه ملی ژنتیک ایران خریداری شد. تعداد ۶ عدد بذر در گلدان‌هایی با قطر ۸ و ارتفاع ۱۰ سانتی‌متر در بستر پیت ماس و کوکوپیت (به نسبت سه به یک) کشت شد. تعداد ۶۰ گلدان در اتاقک رشد با نور فلورسنت (با شدت نوری ۳۰۰ میکرومول فوتون بر متر مربع بر ثانیه) و دمای  $22 \pm 1$  درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۵۰ درصد، تحت شرایط روز کوتاه (برای ممانعت از گلدهی و افزایش رشد رویشی گیاه) به صورت ۸ ساعت نور و ۱۶ ساعت تاریکی قرار داده شد. پس از گذشت سه هفته از رشد گیاهچه‌ها، تعداد ۴۸ گلدان به دستگاه انکوباتور LED (ساخت شرکت آروین تجهیز اسپادانا، اصفهان) با چهار قفسه مجزا مجهز به لامپ‌های LED با طیف‌های نوری قرمز، آبی، قرمز + آبی (نور قرمز ۷۰٪ و نور آبی ۳۰٪) و سفید با شدت نوری ۳۰۰ میکرومول فوتون بر متر

مربع بر ثانیه و با تناوب نوری ۸ ساعت روشنایی و ۱۶ ساعت تاریکی در دمای  $22 \pm 1$  درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۵۰ درصد (شرایط رشدی مشابه دستگاه انکوباتور قبلی با نور فلورسنت) منتقل شدند. دو زمان نوردهی برای ادامه آزمایش طراحی شد. از هر ۱۲ گلدان که در معرض طیف‌های مختلف نور LED بودند، پنجاه درصد از برگ‌های طوقه‌ای ۳ گلدان همزمان با قرار گرفتن در معرض نور و ۳ گلدان یک هفته پس از قرارگیری در معرض نورهای LED با استفاده از پنس فلزی زخمی شدند و شش گلدان باقی مانده به عنوان نمونه‌های شاهد به صورت سالم در دستگاه باقی ماند. برای نمونه‌های زخمی و سالم نمونه‌های شاهد داخل انکوباتور نور فلورسنت نیز همزمان با نمونه‌های انکوباتور LED تیمار زخم زنی اعمال شد. گلدان‌هایی که همزمان با تغییر نوع منابع نوری در معرض تیمار زخم نیز قرار گرفتند به همراه گلدان‌های شاهد مربوط به خود، زمان اول آزمایش (زمان ۱)، و گلدان‌هایی که یک هفته پس از قرار گرفتن در معرض نور LED زخمی شدند و گلدان‌های شاهد مربوط به آنها، زمان دوم آزمایش (زمان ۲) را تشکیل دادند. زخمی شدن به این صورت انجام شد که نیمه بالایی برگ‌ها به صورت موازی با رگبرگ میانی برگ به وسیله پنس استریل شده با الکل هفتاد درصد خراشیده شد.

**اندازه‌گیری وزن خشک اندام هوایی:** در پایان آزمایش یعنی دو هفته پس از اعمال تیمار جراحی، زمانی که تغییرات مورفولوژیکی بین گیاهان رشد کرده در محیط‌های مختلف نورهای LED مشاهده گردید، وزن خشک بخش هوایی گیاه پس از خشک شدن آنها در آون ۶۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت بر حسب گرم تعیین شد. جداسازی ریشه و توزین آن به دلیل نوع بستر کشت مورد استفاده ممکن نبود.

**سنجش میزان پراکسید هیدروژن ( $H_2O_2$ ) برگ:** اندازه‌گیری میزان پراکسید هیدروژن ۸ ساعت پس از اعمال جراحی و مطابق با روش Alexieva و همکاران (۲۰۰۱) انجام شد. برای عصاره‌گیری ۰/۱ گرم بافت تازه گیاه در هاون سرد شده با ۱/۵ میلی‌لیتر TCA (تری کلرو استیک اسید) ۰/۱ درصد سائیده شد و سپس به مدت ۱۵ دقیقه با

بافر فسفات حاوی EDTA، ۱۷۵ میکرولیتر آسکوربیک اسید، ۵۰ میکرولیتر  $H_2O_2$ ، ۵۰ میکرولیتر BSA و ۱۰۰ میکرولیتر از عصاره آنزیمی نمونه مخلوط شده و جذب آن در طول موج ۲۹۰ نانومتر قرائت شد. تنظیمات دستگاه به صورت کیتیک در طول موج ۲۹۰ نانومتر به مدت ۶۰ ثانیه بود. مخلوط ۶۲۵ میکرولیتر بافر فسفات حاوی EDTA، ۱۷۵ میکرولیتر آسکوربیک اسید، ۵۰ میکرولیتر  $H_2O_2$ ، ۵۰ میکرولیتر BSA و ۱۰۰ میکرولیتر آب مقطر به عنوان بلانک مورد استفاده قرار گرفت (Nakano and Asada, 1981).

**سنجش فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز:** سنجش فعالیت این آنزیم به روش Beyer و Fridovich (۱۹۸۷) صورت گرفت. یک میلی لیتر مخلوط واکنش شامل بافر فسفات پتاسیم ۵۰ میلی مولار (pH=۷/۸)، متیونین (۹/۹ میلی مولار)، تریتون X-100 (۰/۰۲۵ درصد)، نیتروبلوتترازولیوم (۵۷ میکرومولار) و ۲۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی به همراه ۱۰ میکرولیتر ریپوفلاوین (۰/۰۰۴ درصد) در لوله آزمایش ریخته شد. مخلوط حاصل به مدت ۷ دقیقه در یک محفظه دارای دو لامپ فلورسنت ۲۰ وات قرار داده شد. افزایش در جذب به واسطه تشکیل فورمازان در طول موج ۵۶۰ نانومتر اندازه گیری شد. طبق شرایط توصیف شده افزایش در جذب در نمونه بدون عصاره آنزیمی معادل ۱۰۰ درصد در نظر گرفته شد و فعالیت آنزیم با تعیین درصد ممانعت در دقیقه محاسبه گردید. ۵۰ درصد ممانعت معادل با ۱ واحد فعالیت آنزیم در نظر گرفته شد.

**سنجش ترکیبات فنولیک کل در برگ:** اندازه گیری میزان ترکیبات فنولیک کل به روش Singleton و Rossi (۱۹۶۵) و در انتهای آزمایش (دو هفته پس از اعمال زخم) صورت گرفت. در ابتدا ۰/۱ گرم از بافت تازه برگ در هاون سرد شده با ۳ میلی لیتر متانول ۸۰٪ سائیده شد. عصاره حاصل به مدت ۱۵ دقیقه در  $14000 \times g$  سانتریفوژ شد. محلول رویی برای سنجش میزان ترکیبات فنولیک مورد استفاده قرار گرفت. جذب نوری مخلوط واکنش شامل ۳۰ میکرولیتر عصاره، ۱۲۰ میکرولیتر  $Na_2CO_3$  و ۱۵۰ میکرولیتر

سرعت  $12000 \times g$  در دمای ۴ درجه سانتی گراد سانتریفوژ شد. منحنی استاندارد  $H_2O_2$  با رقت های ۰/۰۱، ۰/۰۱ و ۰/۱ تهیه گردید. ۵۰۰ میکرولیتر از عصاره با ۵۰۰ میکرولیتر بافر فسفات (pH=7) و ۱ میلی لیتر محلول KI ۱ مولار ترکیب شد و جذب آن در ۳۹۰ نانومتر اندازه گیری شد.

**سنجش مالون دی آلدئید در برگ:** تعیین میزان مالون دی آلدئید ۲۴ ساعت پس از اعمال زخم و مطابق با قانون بیر-لامبرت صورت گرفت. ۰/۱ گرم از برگ توزین و در ۲ میلی لیتر اتانول ۸۰٪ سائیده شد و سپس در دور  $5000 \times g$  و دمای ۴ درجه سانتی گراد به مدت ده دقیقه سانتریفوژ شد. در مرحله بعد، یک میلی لیتر از محلول TBA (محلول ۵۰٪ وزن به حجم) در محلول ۲۰٪ TCA به سوپرناتانت یا محلول رویی اضافه شد و سانتریفوژ با سرعت  $1000 \times g$  پس از پنج دقیقه قرار گرفتن محلول ها در دمای اتاق به مدت پنج دقیقه انجام شد. محلول رویی به یک فالدون جدید منتقل شد و ۱۰ میکرولیتر BHT به آنها اضافه گردید. سپس نمونه ها به مدت ۱۵ دقیقه در بن ماری با دمای  $92C$  تا  $93C$  انکوبه شدند و پس از آن برای مدت زمان پنج دقیقه روی یخ نگهداری شدند و جذب آن ها در طول موج ۵۳۲ نانومتر قرائت گردید (Ertan et al., 2002).

**سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز:** به منظور سنجش فعالیت کاتالاز طبق روش Aebi (1984)، ۱۰۰ میلی گرم برگ تازه در ۱/۵ میلی لیتر از ۵۰ میلی مولار بافر فسفات با pH برابر ۷/۸ حاوی ۰/۱ میلی مولار EDTA همگن شد. سپس ۲۰ دقیقه سانتریفوژ با دور  $12000 \times g$  و در دمای ۴ درجه سانتی گراد انجام شد. پس از آن، ۵۰۰ میکرولیتر از ماده رویی به ۱/۵ میلی لیتر بافر فسفات سدیم حاوی ۱۰ میلی مولار  $H_2O_2$  اضافه شد. تغییر در جذب نوری ( $\Delta OD$ ) محلول با استفاده از دستگاه طیف سنج کیتیک در ۲۴۰ نانومتر اندازه گیری شد و فعالیت CAT به عنوان واحد در هر گرم وزن تر برگ گیاه گزارش گردید.

**سنجش فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز:** برای اندازه گیری فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز ۶۲۵ میکرولیتر

جدول ۱- توالی آغازگرهای استفاده شده در Real Time PCR

نام ژن	توالی آغازگر	طول آغازگر
AOC	F 5'-GTGGCACCCGAGACCAAACCTC-3'	۲۰
	R 5'-AGTGAAGGAGACCACGGGA-3'	۲۰
AOS	F 5'-CGATTAGCGGAGGAGATT-3'	۱۸
	R 5'-CGGAGACATTCGTAAACC-3'	۱۸
PAL	F 5'-TCTGGAATGGCGTCAATG-3'	۱۸
	R 5'-ACTCAGGCTTACCACTCA-3'	۱۸
COII	F 5'-CTCAGCACAAACATCTC-3'	۱۸
	R 5'-CGACCTTCACAGATACCA-3'	۲۰
Actin	F 5'-GTATCGCTGACCGTATGAG-3'	۱۹
	R 5'-CTGCTGGAATGTGCTGAG-3'	۱۸

برای ژن‌های آلن اکسیدسیکلاز (AOC) آلن اکسیدسنتاز (AOS)، فنیل آلانین آمونیالیاز (PAL)، پروتئین غیرحساس به کروناتین (COII) و اکتین (به عنوان ژن رفرنس) به دست آمد. آغازگرهای مربوط به هر ژن با استفاده از نرم‌افزار Beacon Designer 7 طراحی شد. اطلاعات مربوط به آغازگرها در جدول ۱ ارائه شده است. پس از سنتز cDNA از تمام نمونه‌ها که در واکنش RT صورت گرفت، به منظور تعیین دمای اتصال بهینه برای آغازگرها، تکثیر فراورده‌های مورد نظر از روی cDNA با استفاده از ترموسایکلر گرادیانته PCR صورت گرفت. پس از اطمینان از اختصاصی بودن آغازگرها با رسم منحنی استاندارد از سری رقت‌های cDNA، واکنش زنجیره‌ای پلیمرز در زمان واقعی (Real-Time PCR) با استفاده از بهترین دمای اتصال برای آغازگرها انجام شد. تکثیر با استفاده از SYBR Premix Ex Taq TaKaRa انجام شد. تمام واکنش‌ها در ۳ تکرار و ۲ مرحله صورت گرفت. در نهایت میزان برابری در بیان ژن نسبت به شاهد تیمار نشده با روش  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  بدست آمد (Livak and Schmittgen, 2001).

**آنالیز آماری:** آنالیز آماری داده‌های حاصل از این پژوهش با استفاده از نرم افزار SAS و با استفاده از آنالیز واریانس (ANOVA) به صورت تجزیه مرکب اسپیلیت پلات در قالب طرح کاملاً تصادفی تجزیه و تحلیل شد

فولین پس از قرار گرفتن به مدت ۳۰ دقیقه در تاریکی، در طول موج ۷۶۵ نانومتر قرائت گردید. مخلوط ۱۲۰ میکرولیتر  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  و ۱۵۰ میکرولیتر فولین و ۳۰ میکرولیتر اتانل به عنوان بلانک استفاده شد. مقدار ترکیبات فنولیک کل در برگ‌ها با استفاده از منحنی استاندارد گالیک اسید (۲۵، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ میکروگرم بر گرم وزن تر) بدست آمد.

**اندازه‌گیری بیان نسبی ژن‌های آلن اکسید سیکلاز (AOC) آلن اکسید سنتاز (AOS)، فنیل آلانین آمونیالیاز (PAL)، پروتئین غیرحساس به کروناتین (COII):** اندازه‌گیری بیان ژن‌ها ۲ ساعت، ۲۴ ساعت و ۱ هفته پس از ایجاد زخم در برگ صورت گرفت. استخراج RNA کل از برگ‌ها و سنتز cDNA مطابق با دستورالعمل کیت DENA zist ASIA انجام شد. سپس برای حذف آلودگی DNA از نمونه‌های RNA استخراج شده، تیمار با آنزیم DNAase I صورت گرفت. پس از بررسی کمی RNA با استفاده از روش اسپکتروفتومتری، سنتز cDNA با استفاده از کیت PrimeScript™ RT reagent Kit ساخت شرکت تاکارا (TaKaRa, cat. no. RR081Q) صورت گرفت. به منظور ساخت رشته اول cDNA از آنزیم نسخه برداری معکوس PrimeScript RT Enzyme Mix I موجود در کیت استفاده شد. جهت طراحی آغازگر برای واکنش RCR، توالی DNA مربوط به هر ژن از سایت NCBI با شماره‌های دستیابی

نور آبی و سپس نور فلورسنت دارای گیاهان زخمی با بیشترین میزان پراکسید هیدروژن بودند. در این زمان نوردهی، زخم تأثیر معنی‌داری در میزان پراکسید هیدروژن در برگ‌های گیاهان تحت تیمارهای نوری قرمز + آبی و سفید نداشت. همچنین، میزان پراکسید هیدروژن در این دو تیمار نوری در زمان ۲ آزمایش نسبت به زمان ۱ به طور قابل توجهی کاهش نشان داد (شکل ۲).

**میزان مالون دی آلدئید برگ:** همانطور که در شکل ۳ نشان داده شده است، بیشترین میزان مالون دی آلدئید در برگ‌های زخمی گیاهان تیمار شده با نور آبی و پس از آن در برگ‌های زخمی گیاهان رشد کرده در محیط نور فلورسنت اندازه‌گیری شد. در تمام شرایط نوری و در هر دو زمان نوردهی، زخم سبب افزایش معنی‌دار میزان مالون دی آلدئید برگ شد (شکل ۳). به طور کلی و بدون در نظر گرفتن کیفیت نور و زمان نوردهی، تنش زخم سبب ۴۵٪ افزایش در میزان مالون دی آلدئید برگ شد. میزان مالون دی آلدئید در تمام تیمارهای نوری در زمان ۱ به طور معنی‌داری بیشتر از همتای خود در زمان ۲ بود (شکل ۳). به طور کلی میزان مالون دی آلدئید در زمان ۱، ۱۶٪ بیشتر از زمان ۲ بود.

**فعالیت آنزیم کاتالاز برگ:** زمان نوردهی تأثیر قابل توجهی بر فعالیت آنزیم کاتالاز داشت به طوری‌که بدون در نظر گرفتن کیفیت نور و تنش زخم، فعالیت این آنزیم در زمان ۲، ۶۴٪ بیشتر از زمان ۱ بود. اثر متقابل زمان نوردهی، کیفیت نور و زخم بر فعالیت آنزیم کاتالاز در شکل A ۴ نشان داده شده است. در زمان ۱، بیشترین میزان فعالیت آنزیم کاتالاز تحت شرایط نور قرمز + آبی و قرمز و کمترین فعالیت تحت شرایط نور آبی و فلورسنت مشاهده شد، در حالیکه در زمان ۲، گیاهان تیمار شده با نور آبی و گیاهان تیمار شده با نور سفید به ترتیب بیشترین و کمترین میزان از فعالیت آنزیم کاتالاز را نشان دادند.

**فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز برگ:** از میان محیط‌های مختلف، نور فلورسنت کمترین میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز را به خود اختصاص داد (شکل B ۴).

(SAS Institute Inc. 2004). پس‌آزمون LSD، با میانگین خطای استاندارد ( $SE \pm$ ) برای مقایسه معنی‌داری در سطح ۵٪ بین نمونه‌ها مورد استفاده قرار گرفت.

## نتایج

نتایج بدست‌آمده از تجزیه واریانس داده‌های وزن خشک اندام‌هوایی، میزان پراکسید هیدروژن، میزان مالون دی آلدئید، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و ترکیبات فنولیک کل در برگ در جدول ۲ و داده‌های بیان نسبی ژن‌های *AOS*، *AOC*، *PAL* و *COII* در جدول ۳ نشان داده شده است.

### وزن خشک اندام‌هوایی:

مطابق با شکل ۱، بیشترین میزان وزن خشک اندام‌هوایی در هر دو زمان ۱ و ۲ در شرایط نوری قرمز + آبی اندازه‌گیری شد و نورهای سفید و قرمز در رتبه‌های بعدی بودند. از بین نورهای LED، گیاهان تیمار شده با نور آبی و از بین تمامی تیمارهای نوری، گیاهان رشد یافته در شرایط نور فلورسنت، کمترین میزان وزن خشک اندام‌هوایی را نشان دادند (شکل ۱). وزن خشک اندام‌هوایی در گیاهانی که یک هفته بیشتر در معرض نورهای LED قرار گرفتند به طور کلی به میزان ۴٪ افزایش معنی‌دار پیدا کرد. همانطور که قبلاً بیان شد، به دلیل نوع بستر کشت مورد استفاده در این پژوهش امکان جداسازی کامل ریشه و در پی آن توزین ریشه وجود نداشت. با این حال، تراکم ریشه در گیاهان تحت تیمار نور قرمز + آبی و سفید بیشتر از گیاهان تیمار شده با نور قرمز، آبی و نور فلورسنت سفید برآورد گردید.

### مقدار پراکسید هیدروژن برگ:

تولید پراکسید هیدروژن به طور کلی در زمان ۱، ۲۸٪ بیشتر از زمان ۲ بود. مطابق با شکل ۲ که اثر متقابل زمان نوردهی، کیفیت نور و زخم را بر میزان پراکسید هیدروژن نشان می‌دهد، در زمان ۱، با اینکه تفاوت قابل توجهی در میزان پراکسید هیدروژن بین گیاهان سالم تحت کیفیت‌های مختلف نور مشاهده نشد، نور قرمز + آبی و سپس نور آبی بیشترین اثر را در افزایش میزان این ترکیب در گیاهان زخمی نشان دادند. در زمان ۲، محیط‌های

جدول ۲- تجزیه واریانس (مقادیر میانگین مربعات) تاثیر کیفیت نور، زخم و زمان نوردی بر وزن خشک اندام هوایی، ترکیبات فنولیک کل، مالون دی آلدئید، پراکسید هیدروژن و فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان در برگ گیاه *Arabidopsis thaliana*

منابع تغییر	درجه آزادی	وزن خشک اندام هوایی	ترکیبات فنولیک کل	مالون دی آلدئید	پراکسید هیدروژن	کاتالاز	آسکوربات پراکسیداز	سوپراکسید دیسموتاز
کیفیت نور	۴	۱/۹۸*	۲۰۹۸۴۲*	۷۳/۷۸*	۱/۰۸۵*	۲۲۱۷/۶۵*	۱۹۷/۷۹*	۳۹۱/۹۲*
تکرار (کیفیت نور)	۱۰	۰/۰۰۳۱	۱۲۴۱	۸/۶۵	۰/۰۳۴	۱۶/۴۹	۲/۹۶	۲۰/۵۵
زخم	۱	۰/۰۶۴*	۲۵۳۱۳۶*	۵۷۲/۱*	۵/۶۸*	۵۳۹۰/۷*	۲۳۱/۴۴*	۸۵۹/۳*
کیفیت نور × زخم	۴	۰/۰۰۵۸ <sup>ns</sup>	۴۲۸۳۰*	۱۹/۹۹*	۰/۲۳*	۴۴۰/۸*	۹/۵۱*	۶۷/۴*
تکرار (کیفیت نور × زخم)	۱۰	۰/۰۰۲	۷۴۳/۴۵	۰/۱۰۶	۰/۰۲۱	۰/۳۸۳	۰/۱۳۸	۰/۵۵۲
زمان	۱	۰/۰۱۶*	۸۶۸۸۰*	۱۰۶/۱*	۲/۷۱*	۴۱۳۱*	۲۴/۳۵*	۱۲۵۲/۳*
زمان × کیفیت نور	۴	۰/۰۰۲ <sup>ns</sup>	۵۰۲۰۲/۳*	۳/۹*	۰/۷۹*	۲۲۰۹*	۱۰۶/۸۳*	۱۷۵/۱*
زمان × زخم	۱	۰/۰۰۹۶ <sup>ns</sup>	۵۹۸/۲ <sup>ns</sup>	۱/۹۶*	۰/۳۲*	۱۰۳۷*	۱/۳۳۲*	۱۱۷*
زمان × کیفیت نور × زخم	۴	۰/۰۰۶۲ <sup>ns</sup>	۲۸۳۹/۵ <sup>ns</sup>	۱/۰۲*	۰/۳۶*	۵۶۹*	۱۰/۸۱*	۳۷/۸*
خطا	۲۰							

\* بیانگر معنی دار بودن و ns بیانگر عدم اختلاف معنی دار میانگین ها در سطح ۰/۰۵ است.

مشاهده شد (شکل ۴ C).

**میزان ترکیبات فنولیک برگ:** تاثیر کیفیت نور، زخم و زمان نوردی بر میزان ترکیبات فنولیک برگ در شکل ۵ نشان داده شده است. در تمامی گیاهان تیمار شده با نورهای LED، ترکیبات فنولیک بیشتر از گیاهان تیمار شده با نور فلورسنت بود. بیشترین میزان ترکیبات فنولیک در هر دو زمان نوردی در برگ های زخمی گیاهان تیمار شده با نورهای قرمز + آبی و سپس نور قرمز وجود داشت که افزایش معنی داری در میزان ترکیبات فنولیک نسبت به برگ های زخمی گیاهان رشد کرده در محیط نوری فلورسنت نشان دادند (شکل ۵). پیش تیمار با نورهای LED سبب افزایش معنی دار ترکیبات فنولیک تحت نورهای LED قرمز + آبی و سفید نسبت به زمان ۱ شد.

**بیان نسبی ژن PAL:** مطابق با شکل ۶، بیان نسبی ژن پس از گذشت یک هفته از اعمال زخم، در زمان ۱ در گیاهان تیمار شده با نور قرمز + آبی و در زمان ۲ در هر دو شرایط نور قرمز + آبی و نور آبی افزایش قابل توجهی نشان داد.

**بیان نسبی ژن AOC:** بیشترین القا بیان ژن AOC در پاسخ به زخم از بین سه زمان یاد شده، یک هفته پس از تیمار جراحی اتفاق افتاد. افزایش بیان ژن AOC یک هفته پس از

همانطور که در شکل B ۴ نشان داده شده است، فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در هر دو زمان و در تمام تیمارهای نوری، در گیاهان زخمی بیشتر از گیاهان سالم بود. با این حال، اثر القایی زخم بر فعالیت این آنزیم در زمان ۱، تحت شرایط نور قرمز + آبی و نور آبی و در زمان ۲، تحت نور قرمز بیشتر از سایر تیمارهای نوری بود. پیش تیمار با نورهای LED قرمز و آبی قبل از ایجاد زخم، نسبت به همزمانی نوردی و تیمار زخم سبب افزایش فعالیت این آنزیم در گیاهان شد، در حالیکه گیاهان تیمار شده با نورهای LED قرمز + آبی و سفید در زمان ۱ نوردی فعالیت بیشتر آنزیم آسکوربات پراکسیداز را نشان دادند (شکل B ۴).

**فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز برگ:** بدون در نظر گرفتن زخم و زمان نوردی، از بین کیفیت های مختلف نور، کمترین میزان فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در محیط نور فلورسنت مشاهده شد. طبق شکل C ۴، به طور کلی تاثیر زخم بر افزایش فعالیت این آنزیم در زمان ۱ بیشتر از تاثیر آن در افزایش فعالیت آنزیم در زمان ۲ بود. بیشترین فعالیت این آنزیم در زمان ۱ در گیاهان زخمی تیمار شده با نور قرمز و سفید، و در زمان ۲، در گیاهان سالم تیمار شده با نور آبی

جدول ۳- تجزیه واریانس (مقادیر میانگین مربعات) تاثیر کیفیت نور، زخم و زمان نوردهی بر بیان ژنهای *AOC*، *PAL*، *AOS* و *COII* در برگ گیاه *Arabidopsis thaliana*

منابع تغییر	درجه آزادی	ژن <i>PAL</i>			ژن <i>AOC</i>		
		۲ ساعت	۲۴ ساعت	یک هفته	۲ ساعت	۲۴ ساعت	یک هفته
نور	۴	۳/۲۷*	۸/۱۸*	۱۳۲/۵۶*	۸/۱۳*	۰/۵۷*	۱۷۳/۱*
تکرار (نور)	۱۰	۰/۱۲۵	۰/۰۵۲	۰/۱۵۵	۰/۲۶۲	۰/۰۲۱	۰/۹۱
زخم	۱	۴/۶۳*	۱۳/۲۹*	۳/۵*	۵۵/۸*	۰/۹۸*	۷۵۸/۳*
نور × زخم	۴	۱/۰۱*	۱/۸۹*	۲/۲۹*	۱۰/۵۲*	۰/۱۵*	۶۲/۷*
تکرار (نور × زخم)	۱۰	۰/۰۳۸	۰/۰۵۳	۰/۲۶	۰/۲۶*	۰/۰۱۴	۰/۷۸
زمان	۱	۰/۰۲۵ <sup>ns</sup>	۱۱/۹*	۶۳/۱۲*	۷/۹۱*	۱/۰۲*	۱۴۹/۲*
زمان × نور	۴	۱/۴۸*	۵/۷*	۵۱/۰۱*	۱/۶۹*	۰/۷۸*	۷۵/۹۷*
زمان × زخم	۱	۴/۹۹*	۱/۲۳*	۸/۱۲*	۰/۰۲۶ <sup>ns</sup>	۰/۰۰۸ <sup>ns</sup>	۸/۶۳*
زمان × نور × زخم	۴	۲/۵۴*	۱/۲۳*	۶/۲۲*	۰/۶۷*	۰/۳۱*	۴۰/۴۷*
خطا	۲۰						

\* بیانگر معنی دار بودن و <sup>ns</sup> بیانگر عدم اختلاف معنی دار میانگین ها در سطح ۰/۰۵ است.

#### ادامه جدول ۳-

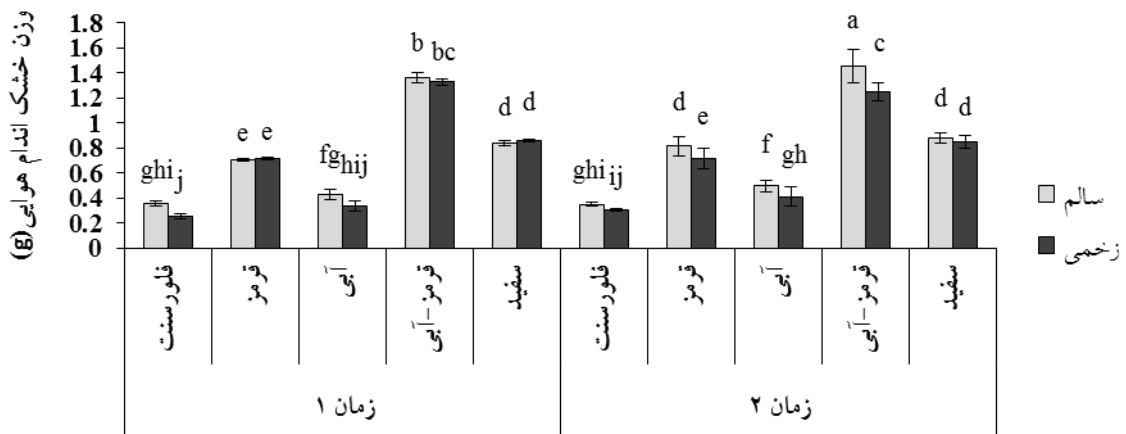
منابع تغییر	درجه آزادی	ژن <i>AOS</i>			ژن <i>COII</i>		
		۲ ساعت	۲۴ ساعت	یک هفته	۲ ساعت	۲۴ ساعت	یک هفته
نور	۴	۵/۰۶*	۰/۵۵۷*	۳۶/۲۸*	۳/۷۹*	۳/۹۱*	۶۶/۱*
تکرار (نور)	۱۰	۰/۱۵	۰/۰۱۶	۰/۰۴۲	۰/۰۶۴	۰/۰۹	۰/۲۲۳
زخم	۱	۱۶/۳۷*	۸/۴۷*	۱۶/۱۷*	۳/۲۳*	۲/۲۱*	۰/۶۱ <sup>ns</sup>
نور × زخم	۴	۲/۷۳*	۰/۱۵*	۱/۵۷*	۱/۰۰۶*	۲/۲۲*	۹/۳۹*
تکرار (نور × زخم)	۱۰	۰/۰۸۴	۰/۰۳۷	۰/۲۲۲	۰/۱۴	۰/۰۸۸	۰/۴۶
زمان	۱	۶/۲۰۸*	۰/۲۱۷*	۴۰/۴*	۰/۷۳ <sup>ns</sup>	۵۹/۲۶*	۱۸۵/۳۳*
زمان × نور	۴	۲/۴۱*	۱/۱۵*	۴۰/۲*	۷/۹۳*	۵/۲۹*	۸۱/۸۱*
زمان × زخم	۱	۲/۴۶*	۰/۱۶۷*	۰/۰۰۶۶ <sup>ns</sup>	۵/۷۷*	۱/۲۲*	۱۰/۱۳*
زمان × نور × زخم	۴	۰/۹۴*	۰/۷۶۹*	۱/۷۷*	۲/۱۳*	۱/۸۶*	۴/۷۵*
خطا	۲۰						

\* بیانگر معنی دار بودن و <sup>ns</sup> بیانگر عدم اختلاف معنی دار میانگین ها در سطح ۰/۰۵ است.

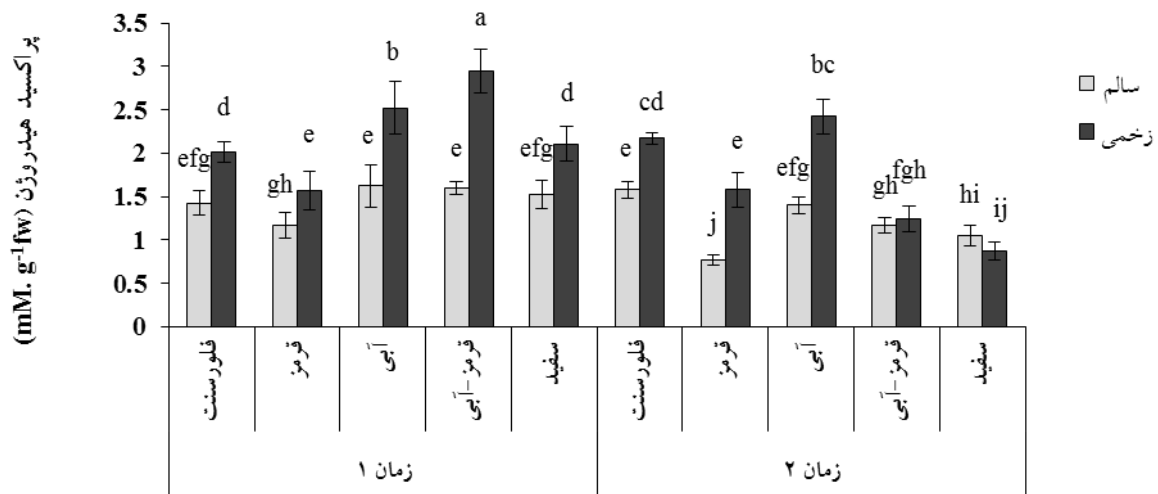
بیان نسبی ژن *AOS*: وقتی نوردهی همزمان با تنش زخم اعمال شد (زمان ۱)، ۲ ساعت پس از اعمال زخم، بیشترین میزان القای بیان ژن *AOS* در شرایط نور قرمز و سپس نور آبی صورت گرفت که هر کدام به ترتیب ۴ برابر و ۱۰ برابر نسبت به نمونه سالم همتای خود افزایش بیان نشان دادند (شکل ۸). ۲۴ ساعت پس از اعمال زخم، به جز نور آبی، در سایر شرایط نوری LED القای بیان ژن در پاسخ به زخم صورت گرفت

اعمال زخم در زمان ۲ بیشتر از زمان ۱ بود (شکل ۷A). مطابق با شکل ۷C، بیان نسبی ژن *AOC* یک هفته پس از اعمال زخم در تمامی محیط‌های نور LED نسبت به دو زمان دیگر (شکل‌های ۷A و ۷B) بالاتر بود. بیشترین بیان ژن *AOC* پس از گذشت یک هفته از اعمال زخم در زمان ۱، در گیاهان زخمی تیمار شده با نور سفید، و در زمان ۲، در گیاهان تیمار شده با نور قرمز + آبی مشاهده شد (شکل ۷).

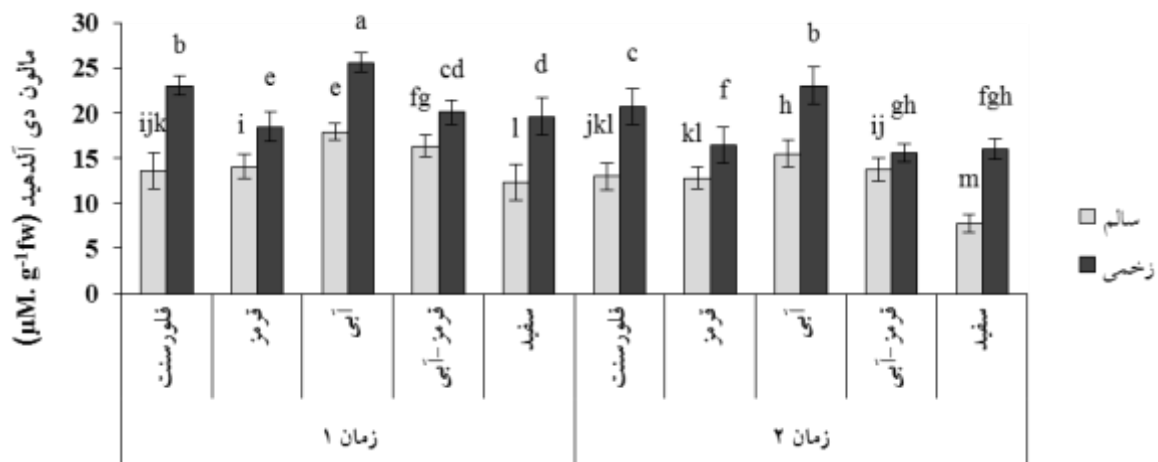




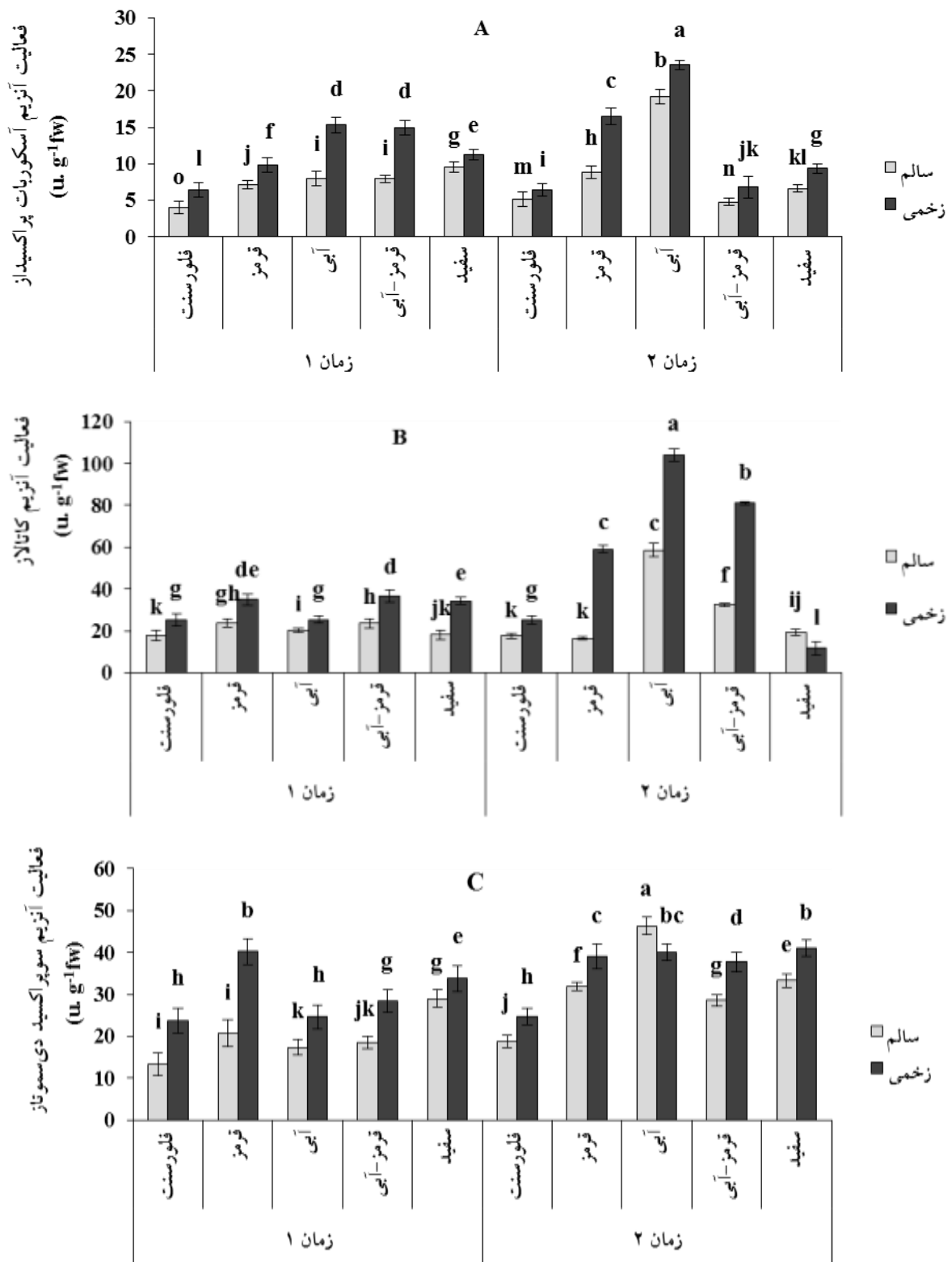
شکل ۱- تأثیر کیفیت نور، زخم و زمان نوردگی بر میزان وزن خشک اندام هوایی در گیاه *Arabidopsis thaliana*. (حروف غیریکسان بیانگر اختلاف معنی دار میانگین‌ها در سطح ۰/۰۵ آزمون LSD است)



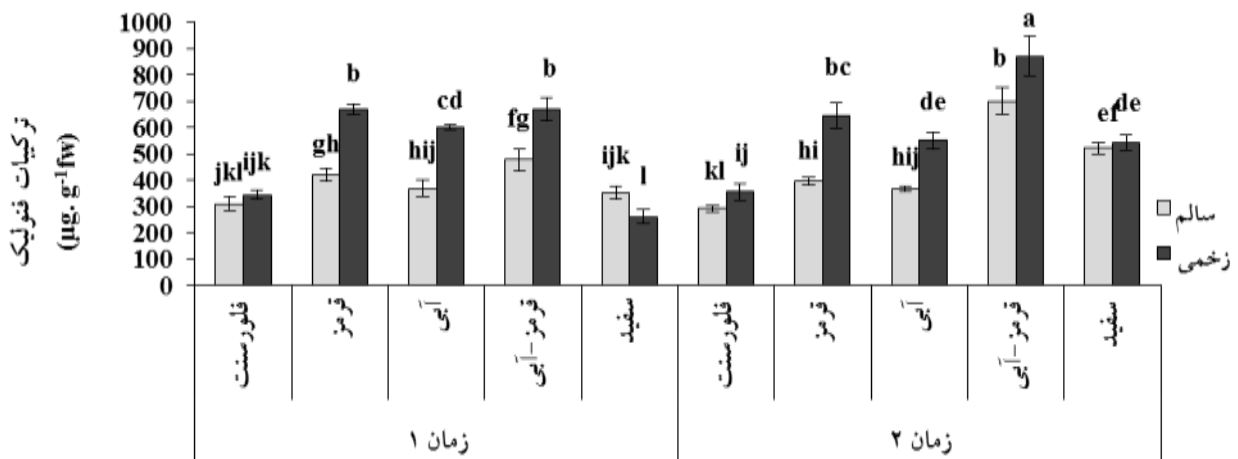
شکل ۲- تأثیر کیفیت نور، زخم و زمان نوردگی بر میزان پراکسید هیدروژن در برگ گیاه *Arabidopsis thaliana*. (حروف غیریکسان بیانگر اختلاف معنی دار میانگین‌ها در سطح ۰/۰۵ آزمون LSD است)



شکل ۳- تأثیر کیفیت نور، زخم و زمان نوردگی بر میزان مالون دی آلدئید در برگ گیاه *Arabidopsis thaliana*. (حروف غیریکسان بیانگر اختلاف معنی دار میانگین‌ها در سطح ۰/۰۵ آزمون LSD است)



شکل ۴- تأثیر کیفیت نور، زخم و زمان نوردگی بر میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان (A) کاتالاز، (B) اسکوربات پراکسیداز و (C) سوپراکسید دیسموتاز در برگ گیاه *Arabidopsis thaliana*. (حروف غیریکسان بیانگر اختلاف معنی‌دار میانگین‌ها در سطح ۰/۰۵ آزمون LSD است)



شکل ۵- تأثیر کیفیت نور، زخم و زمان نوردهی بر میزان ترکیبات فنولیک کل برگ در گیاه *Arabidopsis thaliana* (حروف غیریکسان بیانگر اختلاف معنی دار میانگین‌ها در سطح ۰/۰۵ آزمون LSD است).

پس از آن گیاهان زخمی در همین شرایط نوری بود (شکل ۹). به طور کلی، بیان این ژن ۲ ساعت پس از اعمال زخم افزایش، ۲۴ ساعت پس از آن نسبت به زمان قبل کاهش و پس از یک هفته مجدداً افزایش یافت (شکل ۹).

با اعمال پیش تیمار نوری قبل از اعمال زخم (زمان ۲)، نتایج متفاوت بود. در این حالت، بیشترین القا بیان ژن ۲۴ ساعت پس از اعمال زخم در گیاهان زخمی تیمار شده با نور سفید و همچنین گیاهان زخمی تیمار شده با نور قرمز + آبی صورت گرفت و پس از آن در تمام محیط‌های نور LED، یک هفته پس از اعمال زخم بیان ژن کاهش یافت (شکل ۹).

#### بحث

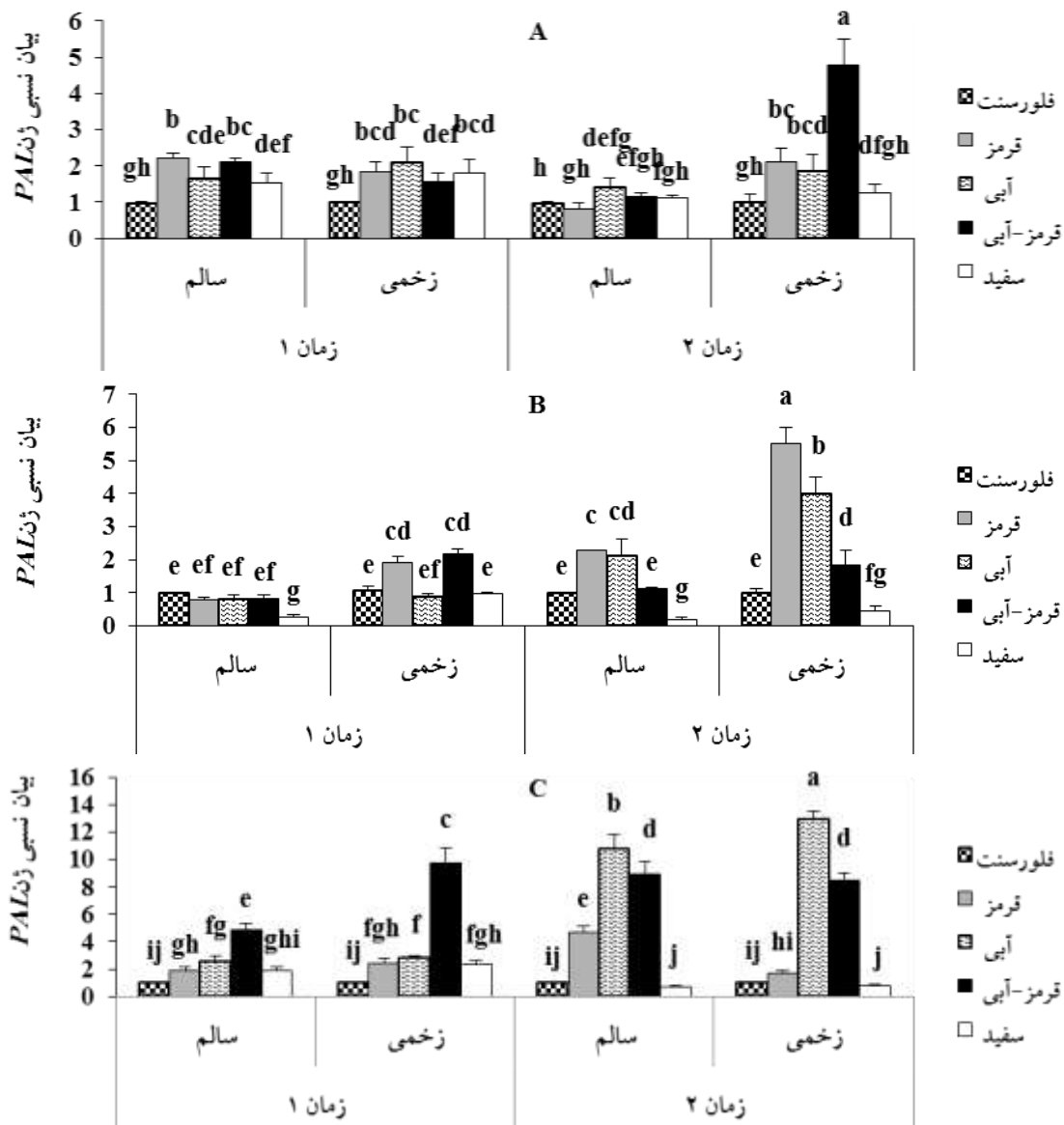
مشابه با مطالعات قبلی که نشان دادند گیاهان بسته به شرایط محیطی یا آزمایشگاهی، پاسخ متفاوتی به تنش ارائه می‌دهند (Kreps et al., 2002; Valcu et al., 2009)، یافته‌های حاصل از این پژوهش نیز نشان داد که پاسخ گیاه آرابیدوپسیس تالیانا به زخم مکانیکی می‌تواند به شدت تحت تأثیر کیفیت نور تغییر کند.

#### تأثیر نورهای LED در وزن خشک اندام هوایی در پاسخ

به تنش زخم: رشد بیشتر گیاهان سالم نسبت به گیاهان زخمی تاییدی بر تأثیر منفی تنش زخم، به عنوان یک تنش غیرزیستی که منجر به افزایش گونه‌های فعال اکسیژن می‌شود، بر رشد

(شکل B ۸). در گیاهان تیمار شده با نور قرمز + آبی و آبی اما، بیشترین میزان بیان ژن یک هفته پس از اعمال زخم صورت گرفت (شکل C ۸). بیشترین میزان بیان ژن ۲۴ ساعت و یک هفته پس از اعمال زخم در گیاهان زخمی تیمار شده با نور سفید مشاهده شد (شکل B ۸ و C ۸). وقتی نوردهی یک هفته پس از اعمال زخم صورت گرفت (زمان ۲)، بیشترین بیان ژن AOS هم در گیاهان سالم و هم در گیاهان زخمی یک هفته پس از اعمال زخم صورت گرفت (شکل C ۸). به طور کلی القای بیان ژن AOS یک هفته پس از اعمال تنش زخم در زمان ۲، ۷۳٪ بیشتر از زمان ۱ بود ولی ۲ ساعت و ۲۴ ساعت پس از ایجاد زخم، بیان ژن در گیاهانی که مطابق با زمان ۱ نوردهی شدند بیشتر از گیاهان نوردهی شده طبق زمان ۲ بود.

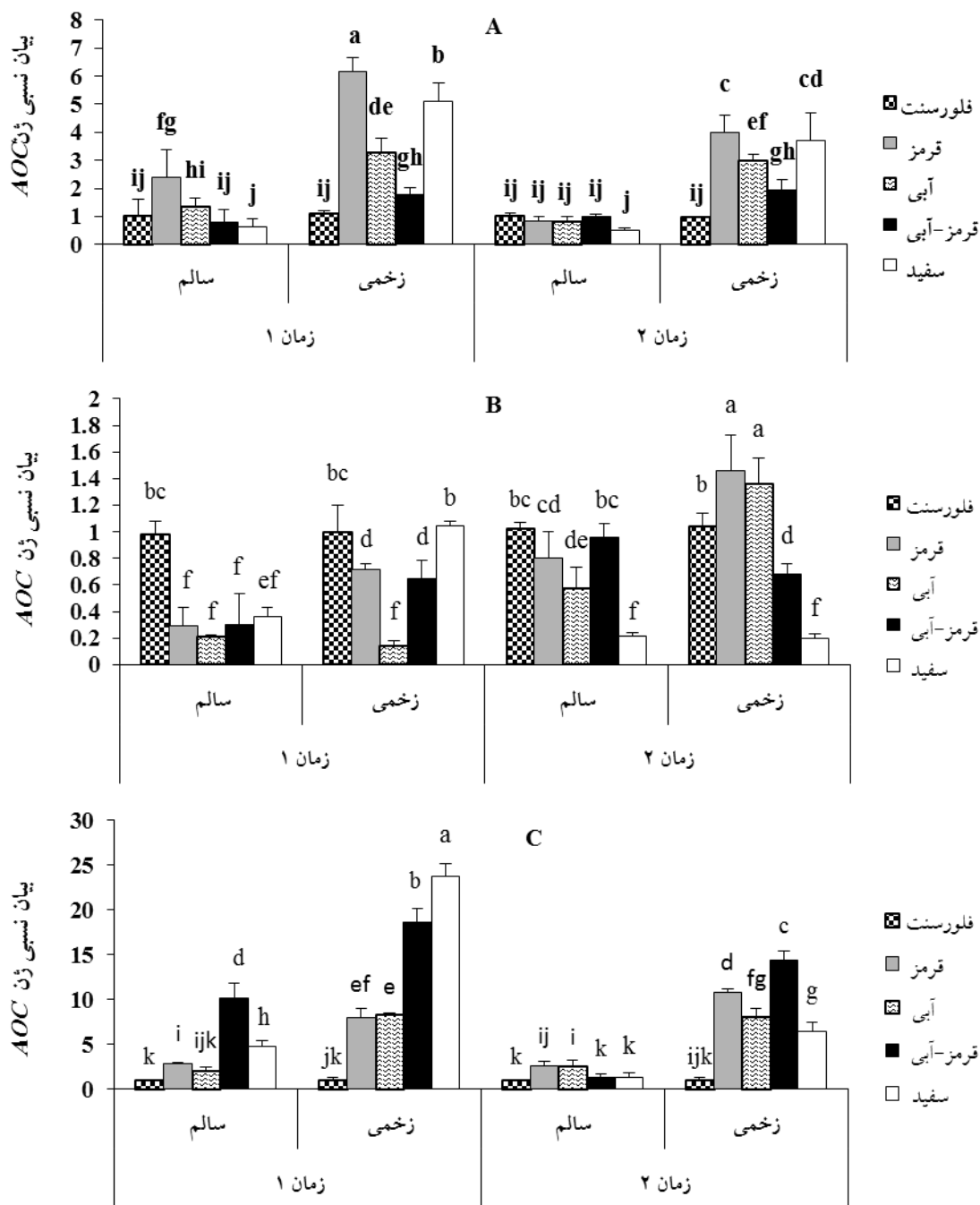
**بیان نسبی ژن COII:** زخم ۲۴ ساعت و ۱ هفته پس از اعمال آن سبب القا بیان ژن COII در گیاهان تیمار شده با نور قرمز، آبی و قرمز + آبی و سبب افزایش بیان این ژن در گیاهان تیمار شده با نور سفید در هر سه زمان اندازه‌گیری شد (شکل B ۹ و C ۹). در شرایط نور فلورسنت، تأثیر زخم بر القای ژن COII بسیار کمتر از شرایط نورهای LED بود (شکل ۹). وقتی نوردهی همزمان با اعمال زخم در گیاهان صورت گرفت (زمان ۱)، بیشترین بیان نسبی ژن COII در شرایط نور سفید و قرمز + آبی یک هفته پس از ایجاد زخم صورت گرفت و بیشترین بیان مربوط به گیاهان سالم تیمار شده با نور سفید و



شکل ۶- تأثیر کیفیت نور، زخم و زمان نوردهی بر میزان بیان نسبی ژن PAL در برگ گیاه *Arabidopsis thaliana* (A) ۲ ساعت، (B) ۲۴ ساعت و (C) ۱ هفته پس از ایجاد زخم. (حروف غیر یکسان بیانگر اختلاف معنی دار میانگین‌ها در سطح ۰/۰۵ آزمون LSD است).

LED ایجاد شد، اما مقایسه میزان رشد بین این محیط‌های نوری نشان دهنده توانایی بیشتری نور قرمز + آبی و سفید در این خصوص است. از سوی دیگر، با توجه به نتایج، از بین انواع تابش‌های LED، گیاهان تیمار شده با نور آبی حداقل میزان رشد را نشان دادند. مشابه با نتایج این تحقیق، Ahmadi و همکاران (۲۰۱۹) نشان دادند که پیش‌تیمار دو ژنوتیپ از گیاه *Melissa officinalis* با نور LED قرمز + آبی سبب افزایش رشد گیاه و تحمل آن به تنش خشکی شده است. Yu و همکاران (۲۰۱۷) نیز کاهش زیست توده اندام هوایی در

گیاه است که می‌تواند در نتیجه اثرات مخرب تنش اکسیداتیو و در پی آن کاهش تولیدات فتوسنتزی اتفاق افتد. همچنین، نتایج این پژوهش مبنی بر افزایش زیست توده اندام هوایی و همچنین تراکم بیشتر ریشه در هر دو گیاهان زخمی و سالم تحت تابش نورهای LED در مقایسه با گیاهانی که در شرایط تابش نور فلورسنت قرار گرفته بودند، نشان دهنده نقش مثبت طیف‌های مختلف LED با طول موج‌های باریک و تعریف شده در رشد گیاهچه‌های آرابیدوپسیس است. اگرچه این افزایش رشد نسبت به شرایط نور فلورسنت در هر چهار محیط نوری

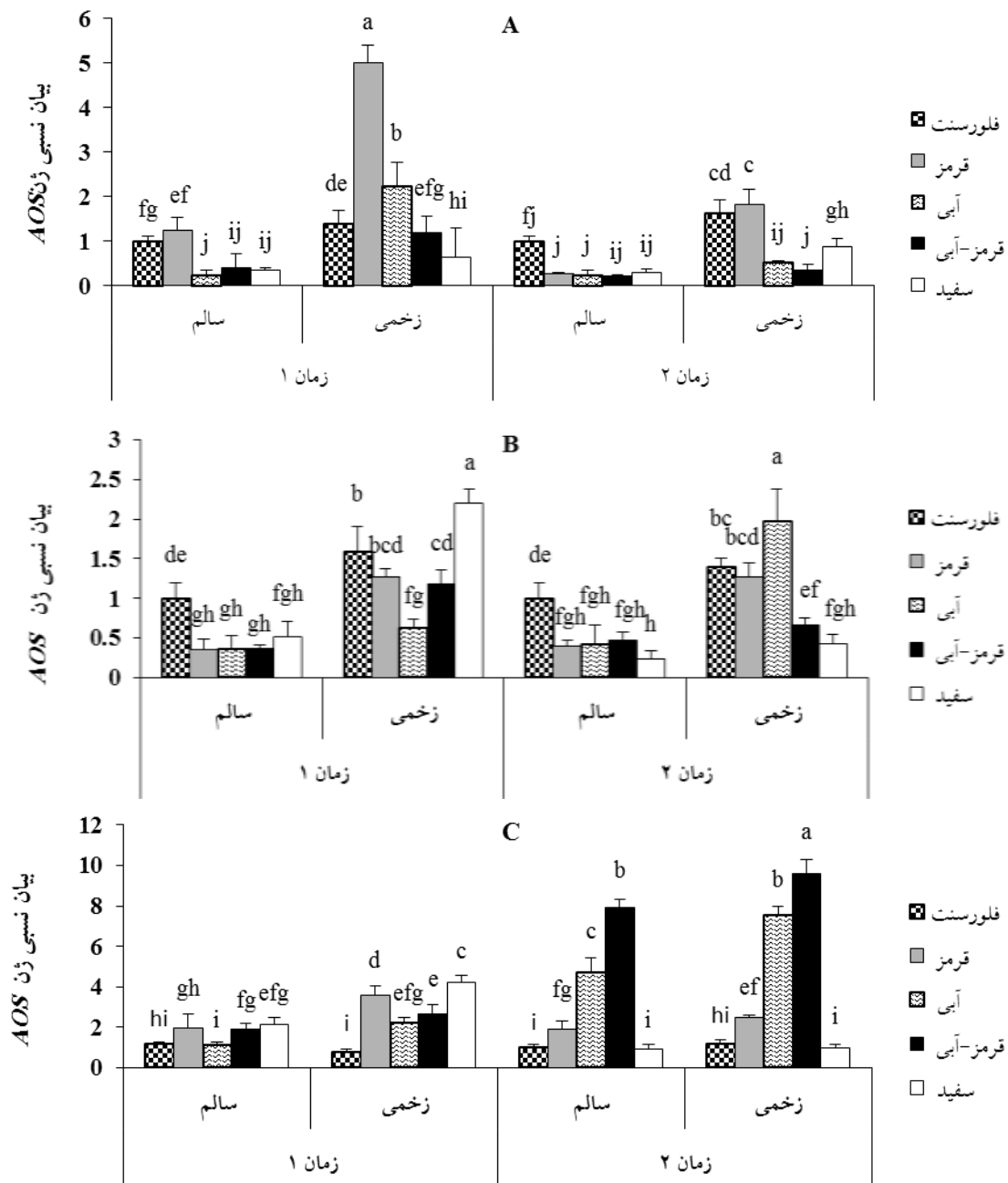


شکل ۷- تأثیر کیفیت نور، زخم و زمان نوردی بر میزان بیان نسبی ژن AOC در برگ گیاه *Arabidopsis thaliana* (A ۲ ساعت، B) ۲۴ ساعت و C) ۱ هفته پس از ایجاد زخم. (حروف غیر یکسان بیانگر اختلاف معنی دار میانگین‌ها در سطح ۰/۰۵ آزمون LSD است)

کیفیت نور مختص به گونه بوده و می‌تواند از گونه‌ای به گونه دیگر متفاوت باشد (Hogewoning *et al.*, 2010; Nanya *et al.*, 2012; Cope and Bugbee 2013).

رشد بیشتر گیاهان آرابیدوپسیس تحت نور LED قرمز + آبی در پژوهش حاضر، علاوه بر اثر تکمیل‌کنندگی این دو

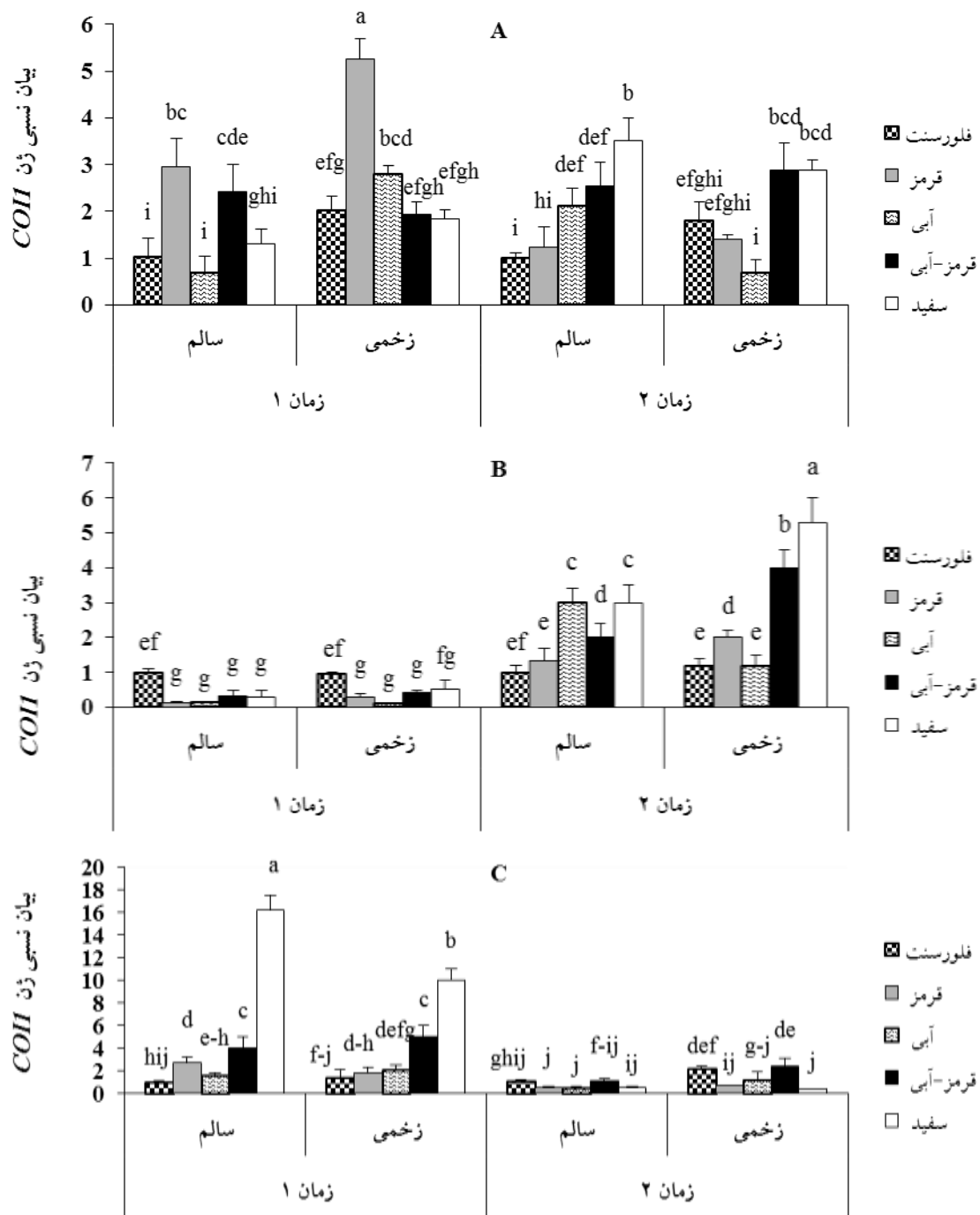
گیاهان *Camptotheca acuminata* را در نتیجه تابش نور LED آبی گزارش کردند. با این حال، Kook و همکاران (۲۰۱۳) بیشترین رشد کاهو را در شرایط نور LED آبی (در مقایسه با نورهای LED سفید و قرمز) گزارش کردند. تحقیقات انجام گرفته در شرایط نوری متفاوت نشان داده که پاسخ گیاهان به



شکل ۸- تأثیر کیفیت نور، زخم و زمان نوردهی بر میزان بیان نسبی ژن AOS در برگ گیاه *Arabidopsis thaliana* (A ۲ ساعت، B ۲۴ ساعت و C) ۱ هفته پس از ایجاد زخم. (حروف غیر یکسان بیانگر اختلاف معنی دار میانگین‌ها در سطح ۰/۰۵ آزمون LSD است)

سایر تابش‌های نوری LED دارد. طبق نتایج، وزن خشک اندام هوایی در گیاهان زمان ۲ آزمایش نسبت به زمان ۱ به طور کلی ۴٪ بیشتر بود. گیاهان زمان ۲، یک هفته بیشتر در معرض تابش نورهای LED بوده و بنابراین از اثرات مفید این نورها برای رشد بهره بیشتری دریافت کرده‌اند. مشابه با فیتوکرومها، گیرنده‌های نور آبی مانند کریپتوکرومها و فتوتروپین‌ها انواع

طیف نوری در فتوستتوز و رشد گیاه، می‌تواند همانطور که توسط Amoozgar و همکاران (۲۰۱۷) نشان داده شده است به علت تأثیر مثبت نور قرمز + آبی بر جذب بیشتر عناصری مانند نیتروژن و منیزیم در گیاه باشد. همچنین، رشد کمتر گیاهان تحت تابش LED آبی نشان می‌دهد که نور خالص آبی کارآمدی کمتری برای رشد گیاه آرابیدوپسیس در مقایسه با



شکل ۹- تأثیر کیفیت نور، زخم و زمان نوردگی بر میزان بیان نسبی ژن *COII* در برگ گیاه *Arabidopsis thaliana* (A ۲ ساعت، B ۲۴ ساعت و C) ۱ هفته پس از ایجاد زخم. (حروف غیریکسان بیانگر اختلاف معنی دار میانگین‌ها در سطح ۰/۰۵ آزمون LSD است)

نیاز به مطالعات بیشتری در آینده دارد. همچنین تأثیر طیف‌های مختلف نوری بر ساخت و یا مسیرهای پیام‌رسانی هورمون‌ها و در پی آن تأثیر میانکنش‌های پیچیده هورمون‌ها بر رشد گیاه نیز در این خصوص حائز اهمیت بوده که امید است در آینده به این موضوع بیشتر پرداخته شود.

دیگری از گیرنده‌های دخیل در انتقال سیگنال نور هستند که در تنظیم نورگرایی، دفع اتیلاسیون، حرکات کلروپلاست و باز شدن روزنه دخالت دارند (Strasser *et al.*, 2010). بنابراین کاهش رشد گیاهان تیمار شده با نور آبی ممکن است تا حدودی ناشی از عملکرد فیتوکروم‌ها یا کریپتوکروم‌ها باشد که

**تأثیر نورهای LED در میزان تنش اکسیداتیو در پاسخ به زخم:** محتوای بالای پراکسید هیدروژن به طور معمول منجر به پراکسیداسیون لیپیدها و به دنبال آن آسیب به غشاها می‌شود. بنابراین کاهش رشد در گیاهانی که در معرض تابش نور LED آبی بودند را می‌توان تا اندازه‌ای به تجمع بیشتر  $H_2O_2$  و مالون دی آلدئید برگ نسبت داد. به طور غیر منتظره‌ای، اگرچه گیاهانی که در معرض تابش نور LED قرمز + آبی بودند دارای بالاترین سطح پراکسید هیدروژن بودند، اما طبق شواهد مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی کمترین میزان آسیب ناشی از تنش و بیشترین میزان رشد در این گروه از گیاهان مشاهده شد. به عبارت دیگر، افزایش میزان پراکسید هیدروژن ناشی از تابش نور قرمز + آبی نه تنها منجر به بروز علائم تنش بیشتر نشد بلکه منجر به بالاترین رشد در گیاه شد بطوریکه رشد گیاهان زخمی و سالم در این شرایط نوردهی تقریباً برابر بود. اگرچه ROS در غلظت‌های بالا تأثیرات مخرب و منفی روی گیاهان دارد، اما گزارشات زیادی نقش ROS را به عنوان مولکول‌های مهم پیام‌رسانی در عملکرد سلولی و پاسخ به تنش تایید کرده‌اند. به عنوان مثال، Mittler و همکاران (۲۰۰۴) نشان دادند که در آرابیدوپسیس یک شبکه ژنی اکسیژن فعال متشکل از ۱۵۲ ژن وجود دارد که در عملکردهای تنظیمی مختلفی شرکت می‌کنند. دخالت پیام‌رسانی ROS در فعالسازی سیگنال‌های سیستمیک در پاسخ به تنش‌های غیرزیستی در مطالعات دیگری نیز نشان داده شده است (Szechyńska-Hebda et al., 2010; Rossel et al., 2007). به ویژه  $H_2O_2$  و  $O_2^{\bullet-}$  به عنوان مولکول‌های پیام‌رسان ثانویه در گیاهان در تنظیم فرایندهای مختلفی شامل رشد، نمو و پاسخ به تنش عمل می‌کنند. همچنین نشان داده شده است که افزایش غلظت ROS بیان ژن‌ها را در گیاهان تغییر می‌دهد (Choudhury et al., 2013). بنابراین، با توجه به نقش‌های مختلف  $H_2O_2$  در مسیرهای پاسخ به تنش در گیاهان، افزایش میزان پراکسید هیدروژن در برگ می‌تواند به عنوان یکی از مکانیسم‌های القا شده با نور LED قرمز + آبی تلقی شود که سبب افزایش مقاومت گیاه آرابیدوپسیس به تنش زخم شده است. نتایج

مرتبط با مالون دی آلدئید، فرضیه فوق را حمایت می‌کند چراکه نتایج اندازه‌گیری میزان مالون دی آلدئید برگ نشان می‌دهد که میزان آن در گیاهان تیمار شده با نور قرمز + آبی به مراتب کمتر از مقدار آن در گیاهان تحت تابش نور فلورسنت و نور LED آبی بود. نتایج این تحقیق هم راستا با نتایج منتشر شده توسط Ahmadi و همکاران (۲۰۱۹) است که در آن تولید زیاد  $H_2O_2$  همرا با تحمل بهتر تنش خشکی در نتیجه پیش تیمار گیاهچه‌های *M. officinalis* با نور LED قرمز + آبی رخ داده است. Yu و همکاران (۲۰۱۷) همچنین نشان دادند که تیمارهای نور LED آبی و قرمز در مقایسه با LED سفید به ترتیب باعث افزایش و کاهش همزمان مقادیر  $H_2O_2$  و MDA در گیاهچه‌های *C. acuminata* شد.

طبق نتایج این پژوهش، میزان پراکسید هیدروژن و مالون دی آلدئید، هر دو، در زمان ۱ یعنی زمانی که تیمارهای نوری و زخم به صورت همزمان به گیاه اعمال شد، بیشتر از زمانی بود که گیاه قبل از زخمی شدن یک هفته در معرض نورهای LED قرار داشت. این کاهش نه تنها در گیاهان زخمی بلکه در گیاهان سالم نیز دیده می‌شود. بطوریکه گیاهان سالم تیمارهای نوری در زمان ۲ آزمایش در مقایسه با گیاهان سالم همتای خود در زمان ۱ آزمایش مقدار کمتری (البته جزئی) پراکسید هیدروژن و مالون دی آلدئید در برگ‌های خود داشتند. این حالت همانطور که انتظار می‌رفت برخلاف نورهای LED، در گیاهان تیمار شده با نور فلورسنت مشاهده نشد. علت این کاهش در گیاهان سالم را علاوه بر سازگاری گیاه طی یک هفته با شرایط نوری جدید، می‌توان به ویژگی نورهای LED نسبت داد. به نظر می‌رسد در شرایط نوری LED به دلیل فقدان پرتوهای UV شرایط کم تنش‌تری برای رشد گیاه فراهم می‌شود. در پاسخ به زخم نیز به نظر می‌رسد پیش تیمار با نورهای LED قرمز + آبی و سفید سبب کاهش اثرات تنش در گیاه می‌شود.

**تأثیر نورهای LED در ظرفیت آنتی‌اکسیدانی گیاه در پاسخ به زخم:** تأثیر مثبت زخم در افزایش میزان ترکیبات فنولیک که در بسیاری موارد به خصوص در میوه‌ها و برگ‌ها



می‌دهند. Lee و همکاران (۲۰۱۴) با بررسی تأثیر طول موج‌های مختلف نور LED بر میزان ترکیبات فنولیک گندم سیاه (Buckwheat sprouts)، تجمع ترکیبات فنولیک را به این ترتیب پیشنهاد کردند: گیاهان رشد کرده تحت نور قرمز < نور قرمز + آبی < نور آبی. بنابراین با توجه به نتایج این پژوهش و با در نظر گرفتن نتایج مطالعات قبلی به نظر می‌رسد که چگونگی تأثیر نورهای مختلف LED بر تجمع متابولیت‌های ثانویه، به نوع گونه گیاهی وابسته است. دلیل این مورد می‌تواند علاوه بر ظرفیت متفاوت گیاهان در تولید متابولیت‌های ثانویه، تفاوت‌های جزئی در مسیرهای متابولیک و گوناگونی آن‌ها نیز باشد.

نتایج این پژوهش همچنین نشان داد که پیش‌تیمار با نورهای LED سبب افزایش میزان ترکیبات فنولیک شده است، که این نتیجه با توجه به اینکه گیاهان زمان ۲ یک هفته بیشتر در معرض نورهای LED بوده‌اند منطقی به نظر می‌رسد.

فنیل آلانین آمونیاکاز یکی از آنزیم‌های کلیدی در ساخت تعداد زیادی از ترکیبات آروماتیک است. در بین این ترکیبات، ترکیباتی مثل فیتوالکسین‌ها، فلاونوئیدها و پیش‌سازهای ساخت لیگنین وجود دارد که در تحمل و پاسخ به تنش نقش دارند (Dixon et al., 1990). طبق نتایج این پژوهش، زخم سبب القای بیان نسبی ژن PAL در برگ‌های گیاه آراییدوپسیس تالیانا شد. القای رونوشت‌های ژن PAL توسط تیمار با الیستورها، نور UV و زخم در مطالعات قبلی نیز نشان داده شده است (Liang et al., 1989; Heredia et al., 2009) و افزایش بیان آن در اثر زخم مرتبط با افزایش سطح هورمون‌های جاسمونات و اتیلن عنوان شده است. با بررسی نتایج پژوهش حاضر به نظر می‌رسد هنگامی که تیمار نوری LED قرمز + آبی از یک هفته قبل از ایجاد زخم به گیاه اعمال شود، القای بیشتر این ژن را در نخستین ساعات پس از زخمی شدن خواهیم داشت. این القا در مورد نورهای آبی و قرمز، ۲۴ ساعت پس از ایجاد زخم اتفاق می‌افتد. با این حال، هر سه نور آبی، قرمز + آبی و قرمز در این حالت (پیش تیمار یک هفته قبل از ایجاد زخم) بیشترین القا را با تاخیر یک هفته‌ای پس از

سبب ایجاد پدیده قهوه‌ای شدن می‌شود، در بسیاری از پژوهش‌ها نشان داده شده است. نتایج پژوهش حاضر علاوه بر این، نشان داد که در پاسخ به زخم نورهای LED قرمز، قرمز + آبی (به میزان بیشتر) و آبی (به میزان کمتر) می‌توانند از طریق افزایش تجمع ترکیبات فنولیک سبب بهبود ظرفیت آنتی‌اکسیدانی غیرآنزیمی گیاه آراییدوپسیس تالیانا شوند. میدانیم که مسیر پیام‌رسانی نور قرمز با تغییر شکل فیتوکروم مرتبط بوده (Carvalho et al., 2008) و شواهدی وجود دارد که نشان می‌دهد تولید ترکیبات فنولیک توسط نور قرمز تنظیم می‌شود (Galuszka et al., 2005). به علاوه، تغییرات نوری ممکن است سبب القا تغییرات فتواکسیداتیو شده و از این طریق منجر به تغییر محتوی و فعالیت متابولیت‌های ثانویه شود، حتی اگر این متابولیت‌ها در واکنش‌هایی که مستقیماً پذیرنده تحریکات نوری هستند شرکت نکنند. افزایش میزان ترکیبات فنولیک در گیاهانی که تحت تابش نور LED قرمز + آبی بودند همچنین می‌تواند با افزایش رونوشت‌های ژن PAL (همانطور که در نتایج این پژوهش نشان داده شده است) مرتبط باشد، چرا که محصول این ژن، یعنی آنزیم فنیل آلانین آمونیاکاز (PAL)، مرحله نخست مسیر ساخت فنیل‌پروپانوییدها را کاتالیز می‌کند و این مرحله در مسیر ساخت فنیل‌پروپانوییدها قابلیت تنظیم مسیر را دارد (Assis et al., 2001). ارتباط مستقیم و خطی مشاهده شده بین میزان ترکیبات فنولیک و پاکسازی-1-(2,2-Diphenyl-1-DPPH• picrylhydrazyl) که در مطالعات محققان قبلی نشان داده شده است (Carvalho et al., 2008; Ehala et al., 2005)، پیشنهاد می‌کند که ترکیبات فنولیک به شدت ظرفیت آنتی‌اکسیدانی را افزایش می‌دهند. Hashempour و همکاران (۲۰۱۰) دریافتند که ظرفیت آنتی‌اکسیدانی قویا با میزان ترکیبات فنولیک کل مرتبط است. اثر القائی نورهای LED در تولید ترکیبات فنولیک در مطالعات قبلی نیز نشان داده شده است. برای مثال Son و Oh (2013) نشان دادند که در مقایسه با نور فلورسنت، تابش ترکیبی نورهای LED قرمز و LED آبی، در نسبت‌های بالای نور آبی، تجمع ترکیبات فنولیک را در گیاه کاهو افزایش

در ترمیم فتوسیستم II ایفا می‌کنند و این کار را از طریق افزایش سنتز از نو پروتئین D1 انجام داده و در نتیجه فتوسیستم II را در برابر پدیده مهار نوری محافظت می‌کنند (Murata et al., 2012). Johkan و همکاران (۲۰۱۰) و Stutte و همکاران (۲۰۰۹) نیز توانایی آنتی‌اکسیدانی بالاتری را در کاهوی قرمز تحت تابش ترکیبی نور LED آبی و قرمز گزارش کرده‌اند. با وجود تجمع بالای پراکسید هیدروژن در برگ گیاهان در معرض تابش نور LED آبی در این پژوهش، فقط فعالیت آنزیم APX در این گیاهان در زمان ۱ آزمایش افزایش نشان داد. این آنزیم‌ها برای حفاظت بافت‌ها از پراکسیداسیون لیپیدی مهم بوده و گیاه را در برابر اثرات مخرب ناشی از تنش محافظت می‌کند. Schmidt و Feierabend (۲۰۰۶) نیز فعالیت القا شده با نور آبی را برای آنزیم کاتالاز در برگ‌های گیاه *Secale cereale L.* گزارش کردند. طبق نتایج این تحقیق، فعالیت تمام آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در پاسخ به زخم در شرایط تابش نورهای LED قرمز و سفید نسبت به نور فلورسنت افزایش یافت، که این موضوع می‌تواند کاهش میزان مالون دی‌آلدئید و در نتیجه رشد و مقاومت بیشتر گیاهان به تنش زخم را توجیه کند. فعالیت بالای آنزیم‌های کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز در گیاهان تیمار شده با نورهای حاوی نور قرمز (شامل نورهای LED قرمز، قرمز+آبی و سفید) احتمالاً به علت فعالیت منجر به تولید اکسیژن فتوسنتزی در نور قرمز است (Wu, 2016).

در زمان ۲ آزمایش، وقتی گیاهان قبل از زخمی شدن یک هفته در معرض تابش‌های LED قرار گرفتند، فعالیت آنزیم کاتالاز در شرایط نوری قرمز، آبی و قرمز + آبی به شدت نسبت به زمان ۱ افزایش نشان داد. به علاوه، در این زمان از آزمایش، نور آبی سبب بیشترین القا در فعالیت این آنزیم شد. فعالیت آسکوربات پراکسیداز نیز در این زمان تحت نورهای قرمز و آبی نسبت به زمان ۱ افزایش نشان داد. فعالیت سوپر اکسید دیسموتاز نیز به ویژه در گیاهان تیمار شده با نور آبی در این زمان افزایش چشمگیری نسبت به زمان ۱ داشت. بنابراین به نظر می‌رسد پیش تیمار با نورهای LED برای این سه آنزیم

ایجاد زخم نشان دادند. در حالتی که نوردهی همزمان با ایجاد زخم باشد، القای بالای ژن یک هفته پس از زخم همچنان در گیاهان تیمار شده با نور قرمز+ آبی مشاهده شد، اگرچه از زمان ایجاد زخم لااقل تا ۲۴ ساعت پس از آن بیان قابل ملاحظه‌ای نسبت به نور فلورسنت دیده نشد. با توجه به نتایج می‌توان تمام نورهای LED اعمال شده به گیاه در پژوهش حاضر را در القای بیشتر ژن PAL در پاسخ به زخم مؤثر دانست، اگرچه به نظر می‌رسد نورهای قرمز + آبی، آبی و قرمز، به خصوص در حالتی که شروع نوردهی قبل از ایجاد زخم در گیاه باشد، تأثیر بیشتری در افزایش رونوشت‌های این ژن دارند.

القای وابسته به نور ژن PAL در مطالعات انجام گرفته توسط سایر محققان نیز نشان داده شده است (Schmidlin et al., 2008; Wang et al., 2012; Zhou et al., 2013; Ahn et al., 2015). برای مثال، Ahn و همکاران (۲۰۱۵) نشان دادند که ۲۴ ساعت تیمار با نورهای LED آبی و قرمز سبب افزایش رونوشت‌های ژن PAL در پوست میوه انگور (Grape berries) می‌شوند. تأثیر نورهای LED در افزایش بیان این ژن نشان دهنده نقش مثبت این نورها در پاسخ‌های دفاعی گیاه است.

با توجه به نتایج مربوط به فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در این پژوهش، نورهای LED بکار رفته در این تحقیق، بدون در نظر گرفتن رنگ نور، سبب افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی گیاهچه‌های آراییدوپسیس در پاسخ به تنش زخم شدند. تأثیر نورهای LED مختلف بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در پاسخ به زخم در زمان ۱ و ۲ آزمایش با یکدیگر متفاوت بود. این بدین معنی است که مدت زمان تیمار گیاه با نورهای تک رنگ یا سفید LED در پاسخ آنتی‌اکسیدانی گیاه به تنش زخم مؤثر است. از بین طیف‌های مختلف نورهای LED، نور قرمز + آبی سبب بیشترین القا در فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز در زمان ۱ آزمایش شد. به نظر می‌رسد افزایش تجمع پراکسید هیدروژن در گیاهان تیمار شده با این نور سبب القا فعالیت این آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان شده تا از این طریق به مقابله با اثرات مخرب گونه‌های فعال اکسیژن بپردازد. از بین آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، کاتالاز و پراکسیداز نقش مهمی

اثر القا کنندگی در پاسخ به تنش زخم داشته و سبب کاهش میزان پراکسید هیدروژن تولید شده در پاسخ به زخم در زمان ۲ شده است. همانطور که از نتایج این پژوهش و مطالعات محققان قبلی که اثر نورهای LED را در تغییرات فیزیولوژیکی (Kim et al., 2015; Samuolien et al., 2013; Ahmadi et al., 2019)، مورفولوژیکی و متابولیکی (Amoozgar et al., 2017) گیاهان مختلف بررسی کرده‌اند دریافت می‌شود، کیفیت نور تأثیرات زیادی بر چگونگی استراتژی‌های فیزیولوژیکی، مولکولی و متابولیکی گیاهان دارد و بنابراین تغییر در استراتژی آنتی‌اکسیدانی گیاهان در مقابله با تنش زخم، وقتی آنها یک هفته قبل از تنش زخم در معرض تابش این نورها بوده‌اند دور از انتظار نیست، اگرچه شناخت دقیق این مکانیسم‌ها نیاز به مطالعات گسترده‌تری دارد.

#### تأثیر نورهای LED در بیوستز و پیام‌رسانی هورمون

اسید جاسمونیک در پاسخ به زخم: ژن‌های *AOS* و *AOC* کد کننده دو آنزیم مهم و کلیدی در تولید زیستی (بیوستز) اسید جاسمونیک به ترتیب به نام‌های آلن اکسید سنتاز و آلن اکسید سیکلاز در گیاهان هستند. طبق نتایج، زخم سبب افزایش در رونوشت‌های هر دو ژن *AOS* و *AOC* شد با این حال الگوی یکسانی برای القای این دو ژن تحت تأثیر زخم مشاهده نشد و افزایش در رونوشت‌های *AOS* در ساعات اولیه پس از ایجاد زخم و در رونوشت‌های *AOC* یک هفته پس از ایجاد زخم بیشتر بود. Lulai و همکاران (۲۰۱۱) نیز القای بیان ژن‌های *AOS* و *AOC* را پس از تنش زخم در توبرهای سیب‌زمینی گزارش کرده‌اند. همچنین با بررسی نتایج حاصل از تأثیر نورهای مختلف LED در بیان این دو ژن در پاسخ به زخم، در مقایسه با نور فلورسنت این نتیجه حاصل شد که کیفیت نور علاوه بر میزان القا، بر زمان القای ژن پس از ایجاد زخم نیز مؤثر است. به این معنی که القای بیان این دو ژن تحت تأثیر کیفیت و همچنین زمان نوردهی، یا در ساعات اولیه پس از ایجاد زخم و یا با تأخیر یک هفته‌ای پس از آن رخ داد. بنابراین با توجه به نقش کلیدی این دو ژن در بیوستز هورمون اسید جاسمونیک در گیاه می‌توان تأثیر کیفیت و زمان نوردهی

را در پاسخ‌های وابسته به زخم مهم و جدی تلقی کرد. به طور کلی نتایج نشان می‌دهد که نور قرمز در اولین ساعات پس از ایجاد زخم (۲ ساعت) در مقایسه با شرایط شاهد و همچنین سایر شرایط نوری سبب بیشترین القا در بیان هر دو ژن *AOS* و *AOC* گردید. ۲۴ ساعت پس از ایجاد زخم بیان این دو ژن در تمام شرایط نوری افزایش چشمگیری نسبت به شرایط شاهد نشان نداد. یک هفته پس از ایجاد زخم القای دوباره این دو ژن، اینبار با میزان بالاتر از القای اولیه، مشاهده شد. این القای تأخیری بسته به زمان نوردهی متفاوت بود بطوریکه وقتی نوردهی همزمان با زخم اعمال شد، نور سفید بیشترین اثر القایی را بر بیان هر دو ژن و نور قرمز + آبی بیشترین اثر القایی را بر بیان ژن *AOC* داشت. با این حال، پیش تیمار با نور قرمز + آبی بیشترین القا در بیان این دو ژن را یک هفته پس از ایجاد زخم سبب شد. بنابراین شاید بتوان گفت با پیش تیمار گیاه آرابیدوپسیس با نورهای LED، به خصوص دو نور قرمز + آبی و آبی، می‌توان میزان هورمون اسید جاسمونیک را در پاسخ به زخم افزایش داد. اگرچه این افزایش بیان ژن با تأخیر یک هفته‌ای پس از ایجاد زخم همراه خواهد بود.

اسید جاسمونیک و متابولیت‌های آن مانند متیل جاسمونات یا همیوگ‌های آمینواسیدی جاسمونات، که همگی به طور کلی جاسمونات‌ها نامیده می‌شوند، به عنوان پیام‌های مهم در پاسخ‌های گیاه به تنش‌های زیستی و غیرزیستی شناسایی شده‌اند (Hedden and Thomas, 2006). جاسمونات‌ها پاسخ‌های دفاعی علیه علفخواران، پاتوژن‌ها، نماتدها و سایر میکرواورگانیسم‌ها و همچنین برخی تنش‌های غیرزیستی مانند شوری، خشکی و زخم را میانجی‌گری می‌کنند (Dar et al., 2015). نتایج بدست آمده از بیان ژن‌های *AOS* و *AOC* در زمان یک آزمایش پیشنهاد می‌کند که تیمار با نورهای LED سفید و قرمز + آبی با افزایش بیان ژن‌های درگیر در بیوستز جاسمونات سبب افزایش این هورمون در هر دو برگ سالم و زخمی نسبت به گیاهان تحت شرایط نوری دیگر می‌شوند.

ژن *COII* کد کننده یک یوبیکوئیتین لیگاز E3 است که قسمتی از کمپلکس SCF یوبیکوئیتین لیگاز E3 بوده و سبب

نشان داده‌است که موتانت‌های *coil* در آرابیدوپسیس فاقد پاسخ‌های جاسمونات هستند، با وجود افزایش میزان هورمون (که از بیان بالایی ژن‌های بیوستنز آن استنتاج می‌شود)، افزایشی در پاسخ‌های جاسمونات انتظار نمی‌رود.

نور یکی از تنظیم‌کنندگان مهم در واکنش‌های ایمنی گیاهان است. پژوهش حاضر نیز نشان می‌دهد که نور در کیفیت‌های مختلف، با تأثیر بر بیان ژن‌های فرادست و فرودست هورمون‌ها می‌تواند مسیر پیام‌رسانی دفاع را در شرایط تنش تحت تأثیر قرار دهد. اینکه کیفیت‌های مختلف نور چگونه بیان این ژن‌ها را تغییر می‌دهند نیاز به بررسی بیشتر دارد، اما تحقیقات اخیر بر نقش فیتوکروم‌ها در مسیرهای دفاعی گیاه تأکید دارد (Cerrudo et al., 2012). اثر منفی سیگنال‌های مجاور درک شده توسط فیتوکروم B بر دفاع وابسته به JA در برخی گزارش‌ها نشان داده شده است (Ballare, 2011; Kazan and Manners, 2011) که به عنوان یک استراتژی رقابتی بین اختصاص منابع به رشد و دفاع نسبت داده می‌شود. شاید بتوان گفت، فیتوکروم B، لافل تا اندازه‌ای، با ایجاد تغییر در بیان ژن *COII* حساسیت گیاه به جاسمونات را تغییر می‌دهد. کشف کامل مکانیسم‌های دفاعی وابسته به نور به مطالعات بیشتری نیاز دارد.

### نتیجه‌گیری

در مجموع، نتایج این پژوهش پیشنهاد می‌کند که آرابیدوپسیس تالیانا می‌تواند از نورهای LED قرمز، آبی، سفید و از ترکیب نورهای قرمز (۷۰٪) و آبی (۳۰٪) برای رشد بیشتر و تحمل بهتر به تنش زخم بهره‌بردار. جمع بندی نتایج حاصل از زیست توده اندام هوایی و تراکم ریشه توانایی بیشتر نور قرمز + آبی و سفید را در خصوص بهبود ویژگی‌های رشدی آرابیدوپسیس در مقایسه با سایر شرایط نوری نشان می‌دهد. همچنین به نظر می‌رسد نور LED آبی نسبت به سایر شرایط نوری، تأثیر قابل توجهی در رشد گیاهان سالم و زخمی آرابیدوپسیس نخواهد داشت. مقاومت به تنش زخم از چندین جنبه قابل بررسی است. اولاً، گیاه باید قادر به دفع تنش اکسیداتیو ناشی از تنش

تجزیه پروتئین‌های هدف شده و رونویسی از ژن‌های پایین دست را مهار می‌کند (Xie et al., 1998). قریب به ۱۰ سال مطالعه روی پروتئین COII سبب شناسایی ۱۲ پروتئین JAZ (jasmonate ZIM domain proteins) به عنوان پروتئین‌های هدف SCFCOII شده است (Chini et al., 2007; Thines et al., 2007; Yan et al., 2007). بنابراین پروتئین COII با تجزیه مهارکننده‌هایی مثل JAZ ها سبب آزاد شدن فاکتورهای رونویسی مثل MYC2 شده و رونویسی از ژن‌های پایین دست پاسخ جاسمونات را فعال می‌کند (Fernández et al., 2011). همچنین مشخص شده است که پروتئین COII در مسیر پیام‌رسانی نوری وابسته به هر دو فیتوکروم A و B درگیر است (Robson et al., 2010). Robson و همکاران (۲۰۱۰) نشان دادند که تجزیه JAZ توسط COII به فیتوکروم A فعال نیاز دارد. با توجه به توضیحات بالا مشخص است که در مسیرهای پاسخ گیاهان به تنش‌ها نه تنها افزایش و کاهش هورمون‌ها نقش حائز اهمیتی دارد بلکه گیرنده‌های هورمونی و پروتئین‌هایی نظیر *COII* که در پیام‌رسانی هورمون پس از القا بیوستنز آن‌ها دخالت دارند، همچنین گفتمان بین هورمون‌ها و عوامل متعدد دیگری نیز دخیل هستند که برای درک کامل عوامل مؤثر در پاسخ به تنش باید به آنها توجه شود. نتایج حاصل از بیان ژن *COII* تحت شرایط نوری مختلف در پژوهش حاضر نشان می‌دهد که کیفیت نور می‌تواند با تأثیر بر بیان این ژن بر شدت پاسخ گیاه به هورمون اسید جاسمونیک مؤثر باشد. با توجه به نتایج حاصل از بیان ژن *COII* و همچنین نتایج حاصل از اندازه‌گیری بیان نسبی ژن‌های کلیدی درگیر در بیوستنز جاسمونات در برگ انتظار می‌رود که پاسخ‌های وابسته به جاسمونات یک هفته پس از ایجاد زخم در گیاهان تیمار شده با نور LED سفید و با فاصله نسبتاً زیاد پس از آن نور قرمز + آبی بیشتر از سایر شرایط نوری باشد. با پیش تیمار نور قبل از ایجاد زخم، بیان ژن *COII* به خصوص یک هفته پس از ایجاد زخم بسیار کمتر از حالت همزمانی تیمارهای زخم و نور بود. از آنجائیکه پروتئین *COII* نقش مهمی در پیام‌رسانی هورمون اسید جاسمونیک دارد و مطالعات

عوامل بیماری‌زا تحت شرایط تنش زخم توصیه می‌شود. به علاوه، با توجه به نتایج نورهای LED به عنوان محرک‌های نسبتاً ارزان می‌تواند جایگزین برخی محرک‌های دیگر تولید متابولیت‌های ثانویه مثل نور UV شوند بدون اینکه صدمه‌ای به محیط زیست وارد آورند. اگرچه برای شناسایی مکانیسم‌های درگیر در چگونگی پاسخ متفاوت گیاهان به تنش زخم تحت طیف‌های مختلف نور LED مطالعات بیشتری باید صورت گیرد، اما القای سطوح متفاوت پراکسید هیدروژن توسط طیف‌های مختلف نورهای LED، نقش احتمالی پیام‌رسانی  $H_2O_2$  را در پاسخ به تنش القا شونده با نور پیشنهاد می‌کند.

همچنین با مقایسه تنش اکسیداتیو و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بین گیاهان در زمان ۱ و ۲ نوردی، به نظر می‌رسد اگرچه نوردی همزمان با ایجاد تنش در کاهش اثرات تنش نقش بسزایی دارد، پیش تیمار با نورهای LED با کاهش تنش اکسیداتیو و در عین حال افزایش در میزان ترکیبات فنولیک و آنزیم‌های کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز، در کاهش اثرات مخرب حاصل از گونه‌های اکسیژن فعال و ترمیم بافت زخمی مؤثرتر خواهد بود. با این حال، از آنجائیکه بر طبق شواهد و نتایج آزمایش شده در این پژوهش، پیام‌رسانی هورمون اسید جاسمونیک و همچنین میزان پراکسید هیدروژن در زمان ۲ کمتر از زمان ۱ بود، اگرچه در مورد مقاومت به پاتوژن نمی‌توان نظر قطعی داد، اما افزایش مقاومت به پاتوژن پس از تنش زخم در گیاهانی که بلافاصله پس از زخم در معرض نورهای LED قرمز + آبی، سفید و آبی قرار می‌گیرند محتمل تر از زمانی است که این نورها به صورت پیش تیمار و از قبل به گیاهان تابش شوند.

#### تقدیر و تشکر

این پژوهش در قالب تز دکترای تخصصی و با حمایت مالی (گرنٹ شماره 4VGRN1M1032) دانشگاه شهرکرد انجام شده است، که بدین وسیله قدردانی می‌گردد.

باشد تا بتواند آسیب‌های ناشی از آن به بافت‌های را به حداقل برساند. به علاوه، در قدم بعدی گیاه باید آسیب مکانیکی وارد شده را ترمیم کرده و همچنین برای حمله احتمالی پاتوژن‌ها آماده باشد. نتایج این پژوهش مبنی بر افزایش ترکیبات فنولیک به خصوص در گیاهان تیمار شده با نورهای LED قرمز و قرمز + آبی و افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در شرایط نوری LED، ظرفیت بالاتر آنتی‌اکسیدانی را در پاسخ به تنش زخم در گیاهان تحت تابش نورهای LED در مقایسه با نور فلورسنت سفید نشان می‌دهد. به علاوه، تجمع سوبرین پلی فنولیک‌ها و سوبرین پلی آلیفاتیک‌ها (که در سوبرینی شدن دیواره سلولی و ایجاد سد در برابر تهاجم باکتری‌ها و قارچ‌ها نقش مهمی ایفا می‌کنند) و به دنبال آن ترمیم بافت زخمی در شرایط فعالیت بیشتر آنزیم PAL و همچنین تجمع بیشتر ترکیبات فنولیک می‌تواند به صورت مؤثرتری صورت پذیرد، که این ترکیبات همانگونه که قبلاً اشاره شد در گیاهان تیمار شده با نورهای LED به خصوص نور قرمز و قرمز + آبی تجمع بیشتری نشان دادند. در مورد مقاومت به پاتوژن‌ها، مطالعات نشان داده است که کیفیت دفاع گیاه در برابر پاتوژن‌ها در مراحل اولیه حمله پاتوژن به گیاه تعیین می‌شود. در حقیقت، در حالتی که پاسخ اولیه به پاتوژن پاسخ مؤثری باشد، می‌توان به آسانی از استقرار آلودگی در گیاه اجتناب نمود. مطالعات نشان داده است که انفجار اکسیداتیو نقش مهمی در میانکنش گیاه-پاتوژن و شناسایی پاتوژن توسط گیاه و در پی آن در فراتنظیمی ژن‌های پاسخ به پاتوژن (PR) ایفا می‌کند. تجمع و پیام‌رسانی اسید جاسمونیک نیز که به عنوان هورمون کلیدی در پاسخ‌های مرتبط با زخم در گیاهان شناخته می‌شود در گیاهان زخمی تیمار شده با نورهای سفید و قرمز + آبی بیشتر از سایر شرایط نوری بود. این هورمون نقش مهمی در دفاع علیه حشرات و علفخواران ایفا می‌کند (Schaller and Stintzi, 2008; Acosta and Farmer, 2010). با توجه به تمامی موارد ذکر شده، نور قرمز + آبی به عنوان بهترین شرایط نوری برای رشد بهتر گیاه آراییدوپسیس تالیانا و سلامت بیشتر و همچنین آمادگی بالاتر در برابر تهاجم

- Acosta, I. F. and Farmer, E. E. (2010) Jasmonates. The Arabidopsis Book 8: e0129.
- Aebi, H. (1984) Catalase in vitro. *Methods Enzymology* 105: 121-126.
- Ahmadi, T., Shabani, L. and Sabzalian, M.R. (2019) Improvement in drought tolerance of lemon balm, *Melissa officinalis* L. under the pre-treatment of LED lighting. *Plant Physiology and Biochemistry* 139: 548-57.
- Ahn, S.Y., Kim, S.A. and Yun, H.K. (2015) Comparison of Accumulation of Stilbene Compounds and Stilbene Related Gene Expression in Two Grape Berries Irradiated with Different Light Sources. *European Journal of Plant Pathology* 56(1):36-43.
- Alexieva, V., Sergiev, I., Mapelli, S. and Karanov, E. (2001) The effect of drought and ultraviolet radiation on growth and stress markers in pea and wheat. *Plant, Cell and Environment* 24(12): 1337-1344.
- Ali, A.A. and Alqurainy, F., (2006) Activities of antioxidants in plants under environmental stress. In: *The Lutein-Prevention and Treatment for Diseases* (ed. Motohashi, N.) Pp: 187e256. Transworld Research Network, India.
- Amoozgar, A., Mohammadi, A. and Sabzalian, M.R. (2017) Impact of light-emitting diode irradiation on photosynthesis, phytochemical composition and mineral element content of lettuce cv. Grizzly. *Photosynthetica* 55: 85-95.
- Assis, J.S., Maldonado, R., Muñoz, T., Escribano, M.I. and Merodio, C. (2001) Effect of high carbon dioxide concentration on PAL activity and phenolic contents in ripening cherimoya fruit. *Postharvest Biology and Technology* 23: 33-39.
- Ballare, C.L. (2011) Jasmonate-induced defenses: a tale of intelligence, collaborators and rascals. *Trends in Plant Science* 16: 249-257.
- Beyer, W.F. and Fridovich, I. (1987) Assaying for superoxide dismutase activity: some large consequences of minor changes in conditions. *Analytical Biochemistry* 161(2): 559-566.
- Carvalho, L.C., Santos, S., Vilela and B.J. Amâncio, S. (2008) *Solanum lycopersicon* Mill. and *Nicotiana benthamiana* L. under high light show distinct responses to anti-oxidative stress. *Journal of Plant Physiology* 165:1300-1312.
- Cerrudo, I., Keller, M.M., Cargnel, M.D., Demkura, P.V., de Wit, M., Patitucci, M.S., Pierik, R., Pieterse, C.M.J. and Ballare, C.L. (2012) Low red/far-red ratios reduce *Arabidopsis* resistance to *Botrytis cinerea* and jasmonate responses via a COI1-JAZ10-dependent, salicylic acid-independent mechanism. *Plant Physiology* 158: 2042-2052.
- Chini, A., Fonseca, S., Fernandez, G., Adie, B., Chico, J.M., Lorenzo, O., Garcia-Casado, G., Lopez-Vidriero, I., Lozano, F.M., Ponce, M.R., Micol, J.L. and Solano, R. (2007) The JAZ family of repressors is the missing link in jasmonate signaling. *Nature* 448: 666-671.
- Choudhury, S., Panda, P., Sahoo, L. and Panda, S.K. (2013) Reactive oxygen species signaling in plants under abiotic stress, *Plant Signaling & Behavior* 8: e23681-5.
- Cope, K.R. and Bugbee, B. (2013) Spectral effects of three types of white light-emitting diodes on plant growth and development: absolute versus relative amounts of blue light, *Horticultural Science* 48: 504-509.
- Dar, T.A., Uddin, M., Khan, M.M.A., Hakeem, K.R. and Jaleel, H. (2015) Jasmonates counter plant stress: A Review. *Environmental and Experimental Botany* 115: 49-57.
- Darko, E., Heydarizadeh, P., Schoefs, B. and Sabzalian, M.R. (2018) Photosynthesis under artificial light: the shift in primary and secondary metabolism, *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 369: 2013-2043.
- Dayani, S., Heydarizadeh, P. and Sabzalian, M.R. (2016) Efficiency of light-emitting diodes for future photosynthesis. in, *Handbook of Photosynthesis* (CRC Press).
- Dixon, R.A. and Harrison, M.J. (1990) Activation, structure and organization of genes involved in microbial defense in plants. *Advances in Genetics* 28: 165-234.
- Ehala, S., Vaher, M. and Kaljurand, M. (2005) Characterization of phenolic profiles of northern European berries by capillary electrophoresis and determination of their antioxidant activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53:6484-6490.
- Ertan, T., Soran, A., Kocer, B. and Cengiz, O. (2002) Oxidative stress in hemorrhagic shock: Prospective clinical study. *Nagoya Medical Journal* 45(2): 43-54.
- Fan, X.X., Xu, Z.G., Liu, X.Y., Tang, C.M., Wang, L.W. and Han, X.I. (2013) Effects of light intensity on the growth and leaf development of young tomato plants grown under a combination of red and blue light. *Scientia Horticulturae* 153: 50-55.
- Fernández-Calvo, P., Chini, A., Fernández-Barbero, G., Chico, J.M., Gimenez-Ibanez, S., Geerinck, J., Eeckhout, D., Schweizer, F., Godoy, M., Franco-Zorrilla, J.M., Pauwels, L., Witters, E., Puga, M.I., Paz-Ares Goossens A., Reymond, P., De Jaeger, G. and Solano, R. (2011) The *Arabidopsis* bHLH transcription factors MYC3 and MYC4 are targets of JAZ repressors and act additively with MYC2 in the activation of jasmonate responses. *Plant Cell* 23:701-715.

- Feys, B.J., Benedetti, C.E., Penfold, C.N., Turner, J.G. (1994) *Arabidopsis* mutants selected for resistance to the phytotoxin coronatine are male sterile, insensitive to methyl jasmonate, and resistant to a bacterial pathogen, *The Plant Cell* 6: 751-759.
- Galuszka, P., Frébertov'a, J., Luhov'a, L., Bilyeu, K.D., English, J.T. and Frébert, I. (2005) Tissue localization of cytokinin dehydrogenase in maize: possible involvement of quinone species generated from plant phenolics by other enzymatic systems in the catalytic reaction. *Plant and Cell Physiology* 46:716-728.
- Haliapas, S., Yupsanis, T.A., Syros, Kofidis, G. and Economou, A.S. (2008). *Petunia hybrida* during transition to flowering as affected by light intensity and quality treatments. *Acta Physiologiae Plantarum* 30: 807.
- Hashempour, A., Ghazvini, R.F., Bakhshi, D., Ghasemnezhad, M., Sharafti, M. and Ahmadian, H. (2010) Ascorbic acid, anthocyanins, and phenolics contents and antioxidant activity of ber, azarole, raspberry, and cornelian cherry fruit genotypes growing in Iran. *Horticultural and Environmental Biotechnology* 51:83-88.
- Hedden, P. and Thomas, S.G. (2006) *Plant Hormone Signaling*. Blackwell, Oxford.
- Heredia, B., Cisneros-Zevallos, L. 2009. The effect of exogenous ethylene and methyl jasmonate on PAL activity, phenolic profiles and antioxidant capacity of carrots (*Daucus carota* L.) under different wounding intensities. *Postharvest Biology and Technology* 51(2): 242-249.
- Hogewoning, S.W., Trouwborst, G., Maljaars, H., Poorter, H., Ieperen, W.V. and Harbinson, J. (2010) Blue light dose-responses of leaf photosynthesis, morphology, and chemical composition of *Cucumis sativus* grown under different combinations of red and blue light. *Journal of Experimental Botany* 61: 3107-17.
- Inze, D. and Van Montagu, M. (1995) Oxidative stress in plants. *Current Opinion in Biotechnology* 6(2): 153-158.
- Johkan, M., Shoji, K., Goto, F., Hashida, S. and Yoshihara, T. (2010) Blue light-emitting diode light irradiation of seedlings improves seedling quality and growth after transplanting in red leaf lettuce. *HortScience* 45: 1809-14.
- Karuppanapandian, T., Moon, J.C., Kim, C., Manoharan, K. and Kim, W., (2011) Reactive oxygen species in plants: their generation, signal transduction, and scavenging mechanisms. *Australian Journal of Crop Science* 5(6): 709-725.
- Kazan, K. and Manners, J.M. (2011) The interplay between light and jasmonate signalling during defence and development. *Journal of Experimental Botany* 62: 4087-4100.
- Kim, J.K., Mao, Y.X., Kraemer, G. and Yarish, C. (2015) Growth and pigment content of *Gracilaria tikvahiae* McLachlan under fluorescent and LED lighting. *Aquaculture* 436: 52-57.
- Koo, A.J. and Howe, G.A. (2009) The wound hormone jasmonate. *Phytochemistry*, 70(13): 1571-1580.
- Kook, H.S., Park, S.H., Jang, Y.J., Lee, G.W., Kim, J.u., Kim, H.M., Oh, B.T., Chae, J.C., Lee, K.J. 2013. Blue LED (light-emitting diodes)-mediated growth promotion and control of *Botrytis* disease in lettuce, *Acta Agriculturae Scandinavica, Section B-Soil & Plant Science* 63: 271-77.
- Kreps, J.A., Wu, Y., Chang, H.S., Zhu, T., Wang, X. and Harper, J.F. (2002) Transcriptome changes for *Arabidopsis* in response to salt, osmotic, and cold stress. *Plant Physiology* 130: 2129-41.
- Lee, S.W., Seo, J.M., Lee, M.K., Chun, J.H., Antonisamy, P., Arasu, M.V., Suzuki, T., Al-Dhabi, N.A. and Kim, S.J. (2014) Influence of different LED lamps on the production of phenolic compounds in common and Tartary buckwheat sprouts. *Industrial Crops and Products* 54: 320-26.
- León, J., Rojo, E. and Sánchez-Serrano, J.J. (2001) Wound signalling in plants. *Journal of Experimental Botany* 52: 1-9.
- Li, L., Li, C., Lee, G., and Howe, G. H. (2002) Distinct roles for jasmonate synthesis and action in the systemic wound response of tomato. *PNAS* 99: 6416-6421.
- Liang, X., Dron, M., Cramer, C.L., Dixon, R.A. and Lamb, C.J. (1989) Differential regulation of phenylalanine ammonia-lyase genes during plant development and by environment cues. *Journal of Biological Chemistry* 264:14486-14492.
- Livak, K.J. and Schmittgen, T.D. (2001) Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the  $2^{-\Delta\Delta CT}$  method. *Methods* 25: 402-08.
- Lorenzo, O. and Solano, R. (2005) Molecular players regulating the jasmonate signalling network. *Current Opinion in Plant Biology* 8(5): 532-540.
- Lulai, E., Huckle, L., Neubauer, J. and Suttle, J. (2011) Coordinate expression of AOS genes and JA accumulation: JA is not required for initiation of closing layer in wound healing tubers. *Journal of Plant Physiology* 168:976-982.
- Maffei, M.E., Mithöfer, A. and Boland, W. (2007) Before gene expression: early events in plant-insect interaction. *Trends in Plant Science* 12(7): 310-316.
- Mielke, K., Forner, S., Kramell, R., Conrad, U. and Hause, B. (2011) Cell-specific visualization of jasmonates in wounded tomato and *Arabidopsis* leaves using jasmonate-specific antibodies. *New Phytologist* 190(4): 1069-1080.
- Mirzahosseini, Z., Shabani, L., Sabbzalian, M.R. and Dayanandan, S. (2019) Comparative physiological and proteomic analysis of *Arabidopsis thaliana* revealed differential wound stress responses following the exposure to different LED light sources. *Environmental and Experimental Botany* 162 (2020): 103895.
- Mittler, R., Vanderauwera, S., Gollery, M. and Breusegem, F.V. (2004) Reactive oxygen gene network of plants. *Trends in Plant Science* 9: 490-98.

- Murata, A., Oka, N., Nakamura, S. and Shigesato, Y. (2012) Visible-light active photocatalytic WO<sub>3</sub> films loaded with Pt nanoparticles deposited by sputtering. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology* 12: 5082-86.
- Nakano, Y. and Asada, K. (1981). Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. *Plant and Cell Physiology* 22: 867-80.
- Nanya, K., Ishigami, Y., Hikosaka, S. and Goto, E. (2012) Effects of blue and red light on stem elongation and flowering of tomato seedlings. In VII International Symposium on Light in Horticultural Systems 956: 261-66.
- Robson, F., Okamoto, H., Patrick, E., Harris, S.R., Wasternack, C., Brearley, C. and Turner, J.G. (2010) Jasmonate and phytochrome A signaling in Arabidopsis wound and shade responses are integrated through JAZ1 stability. *Plant Cell* 22: 1143-1160.
- Rossel, J.B., Wilson, P.B., Hussain, D., Woo, N.S., Gordon, M.J., Mewett, O.P., Howell, K.A., Whelan, J., Kazan, K. and Pogson, B.J. (2007). Systemic and intracellular responses to photooxidative stress in Arabidopsis, *The Plant Cell* 19: 4091-110.
- SAS, 2004. User's guide, version 9.1. SAS Inst. Inc., Cary, NC, USA. Pp. 421-480.
- Schaller, A. and Stintzi, A. (2008) Jasmonate biosynthesis and signaling for induced plant defense against herbivory. In: Induced plant resistance to herbivory (ed. Schaller, A.) Pp: 349-66. Heidelberg: Springer.
- Schmidlin, L., Poutaraud, A., Claudel, P., Mestre, P., Prado, E., Santos-Rosa, M., Wiedemann-Merdinoglu, S., Karst, F., Merdinoglu, D. and Huguene, P. (2008) A stress-inducible resveratrol *o*-methyltransferase involved in the biosynthesis of pterostilbene in grapevine. *Plant Physiology* 148:1630-1639.
- Schmidt, M., Grief, J. and Feierabend, J. (2006) Mode of translational activation of the catalase (cat1) mRNA of rye leaves (*Secale cereale* L.) and its control through blue light and reactive oxygen. *Planta* 223: 835-46.
- Singleton, V.L. and Rossi, J.A. (1965) Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents, *American Journal of Enology and Viticulture* 16: 144-58.
- Son, K.H. and Oh, M.M. (2013) Leaf shape, growth, and antioxidant phenolic compounds of two lettuce cultivars grown under various combinations of blue and red light-emitting diodes. *Horticultural Science* 48: 988-95.
- Stenzel, I., Hause, B., Miersch, O., Kurz, T., Maucher, H., Weichert, H., Ziegler, J., Feussner, I., Wasternack, C. (2003) Jasmonate biosynthesis and the allene oxide cyclase family of *Arabidopsis thaliana*, *Plant Molecular Biology* 51: 895-911.
- Strasser, B., Sánchez-Lamas, M., Yanovsky, M.J., Casal, J.J. and Cerdán, P.D. (2010) *Arabidopsis thaliana* life without phytochromes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA* 107: 4776-4781.
- Stutte, G.W., Edney, S. and Skerritt, T. (2009) Photoregulation of bioprotectant content of red leaf lettuce with light-emitting diodes. *Horticultural Science* 44: 79-82.
- Szechyńska-Hebda, M., Kruk, J., Górecka, M., Karpińska, B. and Karpiński, S. (2010) Evidence for light wavelength-specific photoelectrophysiological signaling and memory of excess light episodes in *Arabidopsis*. *The Plant Cell* 22: 2201-18.
- Thines, B., Katsir, L., Melotto, M., Niu, Y., Mandaokar, A., Liu, G., Nomura, K., He, S.Y., Howe, G.A. and Browse, J. (2007) JAZ repressor proteins are targets of the SCF(COI1) complex during jasmonate signalling. *Nature* 448:661-665.
- Valcu, C.M., Junqueira, M., Shevchenko, A. and Schlink, K. (2009) Comparative proteomic analysis of responses to pathogen infection and wounding in *Fagus sylvatica*. *Journal of Proteom Research* 8: 4077-91.
- Wang, Y., Zhou, B., Sun, M., Li, Y. and Kawabata, S. (2012) UV-A light induces anthocyanin biosynthesis in a manner distinct from synergistic blue + UV-B light and UV-A/blue light responses in different parts of the hypocotyls in turnip seedlings. *Plant and Cell Physiology* 53:1470-1480.
- Wu, H. (2016) Effect of different light qualities on growth, pigment content, chlorophyll fluorescence, and antioxidant enzyme activity in the red alga *Pyropia haitanensis* (Bangiales, Rhodophyta). *BioMed Research International* 2016: 1-8.
- Xie, D.X., Feys, B.F., James, S., Nieto-Rostro, M. and Turner, J.G. (1998) COI1: an Arabidopsis gene required for jasmonate-regulated defense and fertility. *Science* 280: 1091-1094.
- Yan, Y., Stolz, S., Chetelat, A., Reymond, P., Pagni, M., Dubugnon, L. and Farmer, E.E. (2007). A downstream mediator in the growth repression limb of the jasmonate pathway. *Plant Cell* 19: 2470-2483.
- Yu, W., Liu, Y., Song, L., Jacobs, D.F., Du, X., Ying, Y., Shao, Q. and Wu, J. (2017) Effect of differential light quality on morphology, photosynthesis, and antioxidant enzyme activity in *Camptotheca acuminata* seedlings. *Journal of Plant Growth Regulation* 36: 148-60.
- Zhou, B., Wang, Y., Zhan, Y., Li, Y. and Kawabata, S. (2013) Chalcone synthase family genes have redundant roles in anthocyanin biosynthesis and in response to blue/ UV-A light in turnip (*Brassica rapa*; Brassicaceae). *American Journal of Botany* 100:2458-2467.



## A comparison of two different LED exposure times in wound stress tolerance in *Arabidopsis thaliana*

Zahra Mirzahosseini<sup>1</sup>, Leila Shabani<sup>1\*</sup>, Mohammad R. Sabzalian<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Department of Biology, Faculty of Sciences, Shahrekord University, Shahrekord, Iran

<sup>2</sup>Department of Agronomy and Plant Breeding, College of Agriculture, Isfahan University of Technology, Isfahan 84156-83111

(Received: 31/10/2019, Accepted: 21/12/2019)

### Abstract

In this experiment, we made a comparison between various Light Emitting Diode (LED) lights including red LED (R), blue LED (B), red (70%) + blue (30%) LED (RB), and white LED (W) as well as fluorescent (F) light, in addition to two lightening times (time1 and time2), on *Arabidopsis* plant's response to wounding. In response to wounding, LED-exposed plants, especially RB-irradiated plants, maintained significantly higher shoot dry weight and antioxidant enzyme activities compared to those irradiated with fluorescent lights. The concentration of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> was significantly higher under the condition of RB and B lights in time 1, and in B and florescent lights in time 2, compared to the other light environments. The highest amount of MDA was observed in F and B exposed plants in both times 1 and 2 of the experiment. The highest level of phenolic compounds was found in wounded leaves exposed to RB and R lights. The *PAL* gene in response to wounding was detected in RB-exposed plants in time 1, and in B exposed plants in time 2, one week after wounding. The results of *COII*, *AOC* and *AOS* relative expression suggested more JA signaling in W exposed plants in comparison with other light conditions. We concluded that, among LED light conditions, RB condition seemed to be the best environment for *Arabidopsis* growth and tolerance to wound stress, and pre-treatment with LED light could provide a better condition for plants to tolerate wound stress.

**Key words:** Antioxidant enzymes, *Arabidopsis thaliana*, LED lights, Jasmonate, Phenolic compounds, Wounding

Corresponding author, Email: Shabani-l@sci.sku.ac.ir -lshabani@gmail.com