

تأثیر طیف‌های مختلف نوری بر تغییرات ترکیبات متابولیکی نعنای زراعی و پونه

مصطفی خزایی^۱، فریبا رفیعی^{۱*} و محمدرضا سبزلعلیان^۲^۱ گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران^۲ گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان، اصفهان، ایران

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۱۲/۱۵، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۴۰۱/۰۱/۳۰)

چکیده

افزایش روزافزون جمعیت جهان، با کاهش سرانه زمین‌های قابل کشت و تقاضای بیشتر برای منابع غذایی همراه است. بنابراین، کشاورزی عمودی که به زمین زراعی وابسته نیست و قابل استفاده در زمین‌های شهری است، رواج پیدا خواهد کرد. مهم‌ترین عیب این روش، مصرف بالای انرژی برق است. با پیشرفت‌هایی که در "دیودهای ساطع‌کننده نور LED"، از لحاظ راندمان نوری به وجود آمده، کشت عمودی چشم‌انداز روشنی دارد، لیکن لازم است کیفیت نور مورد نیاز برای هر گونه گیاهی تعیین گردد. از طرف دیگر خانواده نعنایان، جنس‌های متنوعی را در برمی‌گیرد که از نظر دارویی و بهداشتی - آرایشی از ارزش اقتصادی بالایی برخوردارند. لذا این پژوهش، به منظور تأثیر شش طیف نوری مختلف شامل: قرمز، آبی، ترکیب قرمز (۷۰) و آبی (۳۰)، سفید، لامپ فلورسنت و محیط شاهد (شرایط گلخانه - تحت طیف کامل نور خورشید) بر چگونگی تغییر در ترکیبات متابولیکی دو گونه متعلق به خانواده نعنائیان (نعناع زراعی و پونه) انجام شد. نمونه‌های گیاهی از محیط‌های مختلف رشدی در زمان گلدهی برداشت شدند و با کمک تکنیک نمونه‌برداری در فضای فوقانی و به دنبال آن آنالیز GC-MS ترکیبات بیوشیمیایی آنها شناسایی شد. آنالیز داده‌ها نشان‌دهنده تفاوت در غلظت مونوترپن‌های تولیدشده در محیط‌های مختلف نوری در دو گونه مورد مطالعه بود. همچنین، در محیط رشدی مجهز به LED قرمز - آبی شرایط خاصی از نور فراهم شده بود که غلظت ترکیبات مونوترپنی با ارزش اقتصادی، در هر دو گونه بالاتر از سایر محیط‌های نوری بود. این نتیجه نشان می‌دهد که امکان تولید نعنای زراعی و پونه در کشت عمودی وجود دارد و کیفیت روغن نسبت به گلخانه‌های معمول تغییر معنی‌داری نمی‌کند.

کلمات کلیدی: آنالیز GC-MS، ترکیبات فرار، خانواده نعنائیان، تکنیک فضای فوقانی، نور LED

مقدمه

می‌شوند (Darko *et al.*, 2014). اغلب گیاهان فقط طول‌موج‌های ۴۰۰-۷۰۰ نانومتر را جذب می‌نمایند و از آن در عمل فتوسنتز استفاده می‌نمایند (Darko *et al.*, 2014). در کشاورزی، نور فاکتور مهمی است که رشد و عملکرد گیاه را تحت تأثیر قرار می‌دهد. سیستم‌های رشدی مجهز به نور مصنوعی کنترل‌شده، آن دسته از طول‌موج‌ها را در اختیار گیاه

نور به‌عنوان منبع اولیه انرژی یکی از مهم‌ترین فاکتورهای محیطی برای رشد گیاهان است که گیاهان در واکنش فتوسنتز به‌طور مؤثری از آن استفاده می‌کنند (Fan *et al.*, 2013). در طی این فرآیند فوتوشیمیایی ATP و NADPH تولید می‌شود که در نهایت در تشکیل اتم‌های کربن مولکول‌های آلی مصرف

قرار می‌دهد که افزایش راندمان فتوسنتز را به‌همراه خواهد داشت. از این‌رو، امروزه برای افزایش ظرفیت تولید، سیستم‌های رشدی کنترل‌شده مجهز به انواع متنوعی از نورهای مصنوعی ابداع و رایج شده است. در این سیستم پرورش، راندمان مصرف آب، مواد غذایی و زمین بسیار بالاست به‌طوری‌که میزان تولید در هر واحد کشت‌شده در این سیستم‌ها بیشتر از کشاورزی معمولی پیش‌بینی شده است (Kalantari et al., 2017; Pennisi et al., 2019). این پیشرفت، مدیون ابداع تکنولوژی "دیوهای ساطع‌کننده نور (Light-emitting diodes: LEDs)" است. لامپ‌های LED حدود ۸۰-۱۰۰ درصد از تشعشع فعال فتوسنتزی را دارند و اندازه کوچک، دوام، عمر طولانی، درجه حرارت تابشی سرد و نیز فراهم آوردن امکان انتخاب طول‌موج‌های خاص برای گیاه موردنظر، آنها را نسبت به سایر منابع نوری برتر ساخته است (Abraham et al., 2004). یافته‌ها نشان می‌دهند که نور LED می‌تواند با تحریک متابولیسم گیاهی، کمیت و کیفیت تولید را در گونه‌های مختلف بهبود بخشد (Darko et al., 2014). نتایج تحقیقات انجام‌گرفته در زمینه استفاده از منبع روشنایی LED برای پرورش سبزیجات، گیاهان زینتی و نیز کشت درون‌شیشه‌ای حاکی از اثربخشی نورهای LED در افزایش و بهبود تولید بوده است (Brazaityte et al., 2009) از تیمارهای مختلف LED به‌طور موفقیت‌آمیزی در پرورش گیاهان باغی متعددی نظیر کاهو، تربچه، اسفناج، فلفل، گوجه‌فرنگی و توت‌فرنگی استفاده شده است (Brazaityte et al., 2009; Shahkaram et al., 2020). در پژوهش‌های داخلی نیز از این منابع نوری به‌فروم مکمل در پرورش گیاهان زینتی استفاده شده است (Asadi et al., 2018; Rashidi et al., 2017; Shahkaram et al., 2020).

علیرغم مزایای گفته‌شده در خصوص کاربرد LEDها در افزایش کمی و کیفی محصولات، تحقیقات زیادی در خصوص چگونگی تأثیر آنها در کمیت و کیفیت گیاهان معطر و دارویی انجام نگرفته است. خانواده نعنائیان (Lamiaceae)، دارای طیف وسیع و متنوعی از گونه‌های معطر با ارزش اقتصادی بالا

با کاربرد فراوان در صنایع دارویی، آرایشی و بهداشتی است که می‌توانند در چرخه اقتصادی کشور نقش چشمگیری ایفا کنند. تحقیقات اولیه در زمینه تأثیر طیف‌های نوری LED بر روی رشد گونه‌های نعناع زراعی، نعناع فلفلی و پونه حاکی از تأثیر مثبت و معنی‌دار نور قرمز و نیز ترکیب نوری قرمز (۷۰ درصد): آبی (۳۰ درصد) LED بر عملکرد تر و خشک شاخ و برگ سه گونه نامبرده بوده است (Heydarizadeh et al., 2014; Khazaei et al., 2021). مطالعات نشان داده است که مهم‌ترین تفاوت بین اجزاء ترکیبات فرار گیاهان متعلق به جنس نعناع در تعداد ترکیبات مهم تجاری آنها است (Farco and Grundmann, 2013) لیکن، در مطالعات مذکور چگونگی تأثیر نورهای LED بر کیفیت ترکیبات دارویی، که بخش اساسی و تعیین‌کننده ارزش تجاری گیاه است، مطرح نشده است. بر همین اساس، پژوهش حاضر با هدف بررسی چگونگی تأثیر طیف‌های مختلف نور LED همراه با نور فلورسنت و شرایط نوری گلخانه بر تغییرات ترکیبات فرار دو گیاه مهم از خانواده نعنائیان (نعناع و پونه) انجام گرفت.

مواد و روش‌ها

در پژوهش حاضر از دو گونه نعناع زراعی (*Mentha spicata* L.) کلون اهواز و پونه (*M. longifolia* L.) کلون نهاوند تکثیر شده در مزرعه باغ اناری دانشگاه صنعتی اصفهان استفاده شد. کشت در گلدان‌هایی با قطر دهانه ۱۰ و عمق ۱۲ سانتی‌متر حاوی خاکی با ترکیب ۲۰ درصد پرلیت، ۳۰ درصد ماسه و ۵۰ درصد خاک زراعی انجام‌شده و در هر گلدان سه قطعه ریزوم به طول ۴ سانتی‌متر در آبان‌ماه، کشت گردید. به‌منظور استقرار ریزوم‌ها، گیاهان به‌مدت یک ماه در شرایط محیط گلخانه رشد داده شدند. پس از این مدت، گیاهان در شش محیط نوری شامل (۱) قرمز (۶۶۵-۶۵۰ نانومتر)، (۲) آبی (۴۷۵-۴۶۰ نانومتر)، (۳) ترکیب قرمز (۷۰ درصد) و آبی (۳۰ درصد) (۴) سفید (۷۶۰-۳۸۰ نانومتر)، (۵) نور لامپ فلورسنت و (۶) شرایط گلخانه (گلخانه مزرعه باغ اناری دانشگاه صنعتی اصفهان) با شدت نور حدوداً ۳۰۰ میکرومول فوتون بر مترمربع بر ثانیه

جرمی شناسایی شد و شاخص بازداری کوتاس ترکیبات شناسایی شده توسط دستگاه GC-MS با توجه به خروج ان-آلکان های خطی C8 تا C24 با برنامه دمایی مورد استفاده به دستگاه تزریق و زمان بازداری ترکیبها (Retention time: RT) محاسبه شد. شاخص بازداری کوتاس (KI)، با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد.

$$KI = 100 \times \left\{ \frac{n_{\min} + (n_{\max} - n_{\min}) \times (RT_{\min} - RT_r)}{RT_{\min} - RT_{\max}} \right\}$$

در این فرمول، n_{\min} تعداد کربن در ان-آلکان کوچکتر، n_{\max} تعداد کربن در ان-آلکان بزرگتر، RT_{\min} زمان بازداری ان-آلکان کوچکتر، RT_{\max} زمان بازداری ان-آلکان بزرگتر، RT_r زمان بازداری ترکیب مجهول و KI شاخص بازداری کوتاس است.

با مقایسه این پارامترها با ترکیب های استاندارد و تطبیق آنها با الگوهای کتابخانه ای و شاخص های موجود در کتاب Adams و سایت های مرجع NIST، NCBI، VCF، OFTV و Pherobase ترکیباتی که با شاخص فوق در یک محدوده قرار داشتند به عنوان اجزاء سازنده ترکیبات فرار شناسایی شدند. داده های حاصل از GC-MS به صورت سطح زیر پیک (Peak Area: PA) بر گرم وزن تر (PA/g FW) گزارش شدند. لازم به ذکر است که روش های مختلفی برای گزارش داده های حاصل از آنالیز GC-MS به طور نسبی (عدم وجود استاندارد برای گزارش به صورت مطلق) در دنیا رایج است که از جمله آنها می توان به درصد، سطح زیر پیک بر گرم وزن تر، سطح زیر پیک ادغام شده کل در گرم وزن تر، سطح زیر پیک نرمالیزه شده بر گرم وزن تر و مقدار نسبی ماده براساس نزدیکترین ان-آلکان اشاره کرد (Hernandez et al., 2016). گزارش کردند سطح زیر پیک بر گرم وزن تر یکی از روش های مناسب برای ارائه نیمه کمی داده های حاصل از آنالیز GC-MS است که امکان مقایسه میزان ترکیبات تولیدی بین گونه های گیاهی مختلف را فراهم می آورد و وابسته به تعداد ترکیبات تولیدی در گیاه نمی باشد (Hernandez et al., 2016; Thalhamer and Himmelsbach, 2014; Khan et al., 2017). با توجه به مطالب فوق و با توجه به اینکه پژوهش ها ثابت کرده اند که سطح زیر پیک ترکیبات شناسایی شده بازتاب کننده غلظت آنها

تحت طیف کامل نور خورشید، در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار پرورش داده شدند. دو ماه بعد از رشد گیاهان در محیط های نوری، در اوایل دوره گلدهی، نمونه های برگ کاملاً توسعه یافته از هر محیط برای شناسایی ترکیبات فرار برداشت شد. به منظور سنجش ترکیبات فرار، از روش کروماتوگرافی گازی فضای فوقانی (Headspace- GC-MS)، استفاده شد. لازم به ذکر است که تحقیقات نشان داده که میزان از دست رفتن ترکیبات فرار و خطاهای انسانی و دستگاهی در این تکنیک به حداقل می رسد و روش برتری برای استخراج و به دنبال آن شناسایی ترکیبات فرار است (Etter, 1998; Buleandra et al., 2016). بدین منظور، ۵ گرم برگ توزین شده، در داخل ویال ۲۰ میلی لیتری مخصوص دستگاه قرار داده شد. به منظور شناسایی ترکیبات فرار، از دستگاه GC-MS شامل ردیاب جرمی مدل Agilent5975C با منبع یونیزاسیون الکترونی (EI) کوپل شده با دستگاه کروماتوگرافی گازی مدل Agilent7890 استفاده شد. دستگاه از ستون HP-5 MS با طول ۳۰ متر، قطر داخلی ۰/۲۵ میلی متر و ضخامت فیلم ۰/۲۵ میکرومتر برخوردار بود. دمای محل تزریق (Inlet) دستگاه کروماتوگرافی گازی ۲۸۰ درجه سانتی گراد، دمای منبع یونیزاسیون ردیاب جرمی ۱۵۰ درجه سانتی گراد، دمای آنالیز (کوادرول) ۲۳۰ درجه سانتی گراد و دمای واسط بین GC-MS ۲۸۰ درجه سانتی گراد بود. به منظور انجام آزمایش، دمای آون مخصوص روش فضای فوقانی (Agitators) دستگاه و سرنگ مخصوص تزریق به ترتیب روی ۱۰۰ و ۱۰۵ درجه سانتی گراد تنظیم گردید. جهت برقراری تعادل بین فاز جامد و فاز گازی نمونه به مدت ۳۰ دقیقه در این بخش دستگاه قرار داده شد. مقدار ۲۵۰ میکرولیتر گاز توسط سرنگ مخصوص ۲۵۰۰ میکرولیتری به محل تزریق دستگاه injector Splitless/Split تزریق گردید. دمای آون دستگاه به مدت ۳ دقیقه روی ۴ درجه سانتی گراد نگه داشته شد و در ادامه با سرعت ۵ درجه سانتی گراد بر دقیقه دما تا ۲۹۰ درجه سانتی گراد افزایش داده شد. در پایان ترکیبات فرار نمونه گیاهی توسط کروماتوگرافی گازی جداسازی شده و توسط طیف سنج

کمترین میزان لیمونن تولیدی را به خود اختصاص دادند (جدول ۲).

همچنین، دامنه تغییرات برای پولگن که یک ترکیب سمی به شمار می‌آید، در محیط نوری گلخانه از کمترین میزان و در محیط مجهز به فلورسنت بیشترین میزان را داشت (جدول ۲).

ترکیب کادینین (γ -cadinene) و ترکیب بتا المن (β -elemene) کمترین سهم ترکیبات مشترک شناسایی شده در کلیه محیط‌های رشدی نعنای زراعی را به خود اختصاص دادند (جدول ۲).

در پژوهش حاضر، نتایج آنالیز GC-MS درپونه نشان داد که در کلیه محیط‌های نوری ۴۳ ترکیب ترکیبات شناسایی شد (جدول ۱) که از این تعداد ۱۲ ترکیب به‌طور مشترک در کلیه محیط‌های نوری حضور داشتند (جدول ۳).

در کلیه محیط‌های نوری بجز گلخانه، پپیریتون (*Piperitenone*)، بالاترین سهم ترکیبات شناسایی شده در پونه را به خود اختصاص داد. پپیریتون اکساید (*Piperitenone Oxide*) ترکیب غالب شناسایی شده در گیاهان پونه رشد یافته در محیط گلخانه بود (جدول ۳). لیمونن یکی دیگر از ترکیبات ترپنی مهم شناسایی شده در گیاهان پونه پرورش یافته در اغلب محیط‌های نوری بود. بر طبق نتایج بدست آمده از آنالیز GC، مشخص شد که گیاهان پونه پرورش یافته در محیط رشدی مجهز به نور قرمز-آبی دارای بالاترین میزان لیمونن تولیدی بودند. از لحاظ این ترکیب، محیط‌های رشدی مجهز به نور آبی، قرمز، فلورسنت، سفید و گلخانه به ترتیب در رتبه‌های بعدی قرار گرفتند (جدول ۳).

ترکیبات دی-جرماسیرین (*D-Germacrene*) و ۸، ۹-دی هیدرو تیمول (*8,9-Dehydrothymol*) کمترین درصد از ترکیبات مشترک موجود در گیاهان پونه رشد یافته در کلیه محیط‌های نوری را تشکیل دادند (جدول ۳).

بتا-میرسن (β -Myrcene)، ایزومرهای آلفا و بتا-پینین (*Pinene*)، بتا-کریوفیلن (β -Caryophyllene)، ای-بتا فرنین (*(E)-\beta*-Farnesene) و ۳-اکتانول (*3-Octanol*) سایر ترکیبات

در ترکیبات فرار گیاه است (O'Callaghan *et al.*, 2012) در این پژوهش روش نیمه کمی PA/g FW برای گزارش داده‌های حاصل از آنالیز GC-MS نعنای زراعی و پونه و مقایسه بین ترکیبات تولیدی آنها در شرایط مختلف رشدی استفاده شد.

نتایج

نتایج حاصل از تعداد ترکیبات شناسایی شده توسط آنالیز داده‌های GC-MS در نعنای زراعی و پونه در پاسخ به محیط‌های مختلف نوری نیز در جدول ۱ خلاصه شده است.

همچنین، جزئیات مربوط به ترکیبات فرار شناسایی شده در دو گونه نعنای زراعی و پونه در پاسخ به محیط‌های مختلف نوری در جداول ۲ و ۳ آورده شده است.

در نعنای زراعی در کلیه محیط‌های نوری، تعداد ۵۳ ترکیب فرار شناسایی شد که از این تعداد، ۲۹ ترکیب به‌طور مشترک در کلیه محیط‌های نوری حضور داشتند (جدول ۲). در نعنای زراعی بیشترین تعداد ترکیبات شناسایی شده مربوط به محیط رشدی مجهز به لامپ آبی LED و کمترین میزان مربوط به محیط مجهز به لامپ قرمز LED بود (جدول ۱). در پونه، کمترین تعداد ترکیبات شناخته شده در گیاهان پرورش یافته در گلخانه و بیشترین آنها در گیاهان رشد یافته در محیط نوری با لامپ آبی LED به دست آمد (جدول ۱).

از لحاظ نوع ترکیبات، در نعنای زراعی و در کلیه محیط‌های نوری، لیمونن (*Limonene*)، کاروون (*Carvone*) و پولگن (*Pulegone*) سهم عمده ترکیبات ترپنی شناسایی شده را به خود اختصاص دادند. از این میان، کاروون بالاترین سهم را به خود اختصاص داد (جدول ۲). در همین ارتباط، گیاهان نعنای افته در محیط نوری قرمز-آبی LED بیشترین میزان کاروون (706482679 PA/g FW) را به خود اختصاص دادند و محیط گلخانه از این لحاظ حداقل میزان را به خود اختصاص داد (225839354 PA/g FW).

نعنای رشد یافته در محیط‌های رشدی مجهز به نور LED قرمز-آبی بیشترین میزان لیمونن و در محیط گلخانه

جدول ۱- تعداد کل ترکیبات شناسایی شده در گونه های نعنای زراعی و پونه پرورش یافته در محیط های نوری مختلف

گونه / محیط	گلخانه	قرمز	آبی	قرمز-آبی	سفید	فلورسنت
نعناع معمولی	۴۴	۴۰	۴۷	۴۳	۴۳	۲۴
پونه	۱۵	۳۵	۳۶	۳۵	۲۹	۴۲

جدول ۲- مقادیر نیمه کمی ترکیبات متابولیکی مشترک شناسایی شده در نعنای زراعی پرورش یافته در کلیه محیط های مختلف نوری مورد

مطالعه برحسب PA/g FW

Name	RT	KI _{Ref}	KI _{Cal}	گلخانه	قرمز	آبی	قرمز-آبی	سفید	فلورسنت
1R- α -pinene	۸/۹	۹۳۷	۹۲۸	۱۳۹۳۰۱۶	۳۱۶۰۹۱۴	۵۹۴۷۹۰۰	۲۱۸۴۸۶۶۰	۹۸۷۶۷۶۳	۹۲۲۱۰۵۰
Camphene	۹/۴	۹۴۶	۹۴۳	۴۳۸۲۹۸	۶۸۴۷۳۷	۹۸۵۶۷۰	۲۳۰۵۶۹۳	۱۲۳۰۲۹۹	۹۹۹۴۵۴
β -pinene	۱۰/۴	۹۷۳	۹۷۲	۴۳۷۶۳۹۳	۱۲۰۱۷۰۳۹	۲۰۱۵۶۹۷۵	۶۴۱۸۹۶۵۷	۳۵۲۱۴۵۳۸	۳۲۳۴۶۲۶۳
Myrcene	۱۱/۰	۹۹۱	۹۹۰	۳۴۱۱۸۴۰	۹۷۸۳۸۸۴	۱۳۵۱۴۷۸۱	۴۶۵۲۳۸۶۹	۲۵۱۸۵۰۶۴	۲۱۹۴۱۲۱۸
Limonene	۱۲/۴	۱۰۳۱	۱۰۳۵	۳۷۷۴۶۸۷۱	۸۱۳۴۷۸۶۰	۹۰۰۲۳۳۸۱	۲۲۶۶۷۵۱۴۴	۱۴۵۷۲۵۷۵۱	۱۳۱۰۸۲۰۳۱
(Z)- β -ocimene	۱۲/۹	۱۰۵۰	۱۰۴۸	۵۲۳۷۹۴	۶۹۴۶۴۶	۸۲۲۶۵۳	۱۹۴۵۵۰۴	۱۳۷۲۱۴۷	۱۲۹۴۴۵۲
α -terpinolene	۱۴/۲	۱۰۸۴	۱۰۸۵	۶۱۲۸۵۵	۶۷۷۱۲۱	۷۲۲۷۹۲	۱۹۳۷۲۳۶	۱۰۸۰۲۵۷	۹۱۱۸۷۵
iso-Amyl 2-methyl butyrate	۱۴/۵	۱۰۹۹	۱۰۹۶	۴۵۱۹۹۱	۳۶۱۶۹۳	۴۴۰۶۸۸	۱۲۱۷۹۸۴	۴۶۳۷۲۰	۲۸۱۷۶۶
Butyric acid	۱۴/۶	۱۱۰۳	۱۱۰۰	۳۴۴۶۶۱	۲۰۳۱۹۷	۳۲۱۴۴۷	۷۶۳۸۵۱	۳۹۷۵۴۱	۱۸۹۷۰۷
3-Octanol, acetate	۱۵/۳	۱۱۲۳	۱۱۲۱	۱۵۰۳۶۱۱	۱۰۹۳۶۸۶	۱۲۳۵۷۴۵	۱۴۹۲۵۲۱	۷۸۲۷۲۰	۷۵۴۸۱۹
Alloocimene	۱۵/۶	۱۱۲۸	۱۱۲۹	۲۴۴۷۵۶۱	۳۶۸۸۹۵۹	۳۵۸۱۱۹۸۲	۷۵۰۹۱۵۱	۴۲۱۴۸۷۹	۳۶۷۴۱۳۴
Menthone	۱۶/۴	۱۱۴۱	۱۱۵۳	۱۵۹۳۸۳	۵۰۰۲۱۴	۳۸۳۳۴۷	۶۳۲۶۴۵	۷۰۶۵۳۸	۶۱۹۱۹۸
Isomenthone	۱۶/۷	۱۱۵۴	۱۱۶۴	۱۹۸۸۲۲۸	۸۲۰۹۸۴۶	۴۶۳۲۱۵۵	۱۰۱۶۱۶۲۹	۱۱۱۵۸۲۰۳	۹۲۳۳۶۳۶
Dihydrocarvone	۱۷/۸	۱۲۰۰	۱۲۰۰	۱۴۸۸۹۶۲	۱۱۶۲۸۷۶۴	۱۱۸۱۵۶۳۶	۲۴۹۱۴۸۲	۲۹۸۵۵۲۲	۲۲۲۳۰۹۲
Neodihydrocarveol	۱۸/۰	۱۲۲۰	۱۲۱۲	۶۰۳۷۱۳۵	۱۳۹۲۱۳۵۱	۱۷۴۵۰۳۷۸	۸۳۷۱۸۱۹	۵۴۱۸۷۴۹	۷۳۲۴۳۴۴
Pulegone	۱۹/۲	۱۲۴۹	۱۲۴۸	۲۱۴۵۵۶۹۶	۳۱۵۸۷۵۱۱	۴۹۷۸۱۵۷۴	۸۲۱۳۴۸۸۴	۶۱۷۹۵۸۲۴	۴۵۲۴۰۰۲۶
Carvone	۱۹/۶	۱۲۵۷	۱۲۶۰	۴۵۱۶۷۸۷۱	۹۶۹۳۲۰۷۰	۸۰۸۶۱۲۷۲	۱۴۱۲۹۶۵۳۶	۱۱۷۹۱۸۲۶۵	۹۶۰۲۶۲۷۷
Bornyl Acetate	۲۰/۴	۱۲۸۳	۱۲۸۲	۳۶۶۴۰۵	۶۶۴۷۲۸	۷۰۷۵۵۹	۳۴۵۸۷۷	۴۰۶۸۹۹	۲۰۷۱۱۹
Piperitenone	۲۲/۱	۱۳۴۲	۱۳۴۳	۴۲۱۶۲۶	۷۶۹۸۳۲	۱۶۰۱۷۴۶	۳۳۸۴۳۴	۱۳۳۷۶۹۹	۱۰۵۶۴۴۱
Eugenol	۲۲/۷	۱۳۶۲	۱۳۶۰	۸۷۳۸۱	۶۴۷۳۹۴	۵۶۴۵۱۰	۲۹۷۴۷۳۱	۴۸۴۲۷۸	۳۳۶۸۹۶
β -elemene	۲۳/۴	۱۳۹۱	۱۳۸۹	۲۳۰۸۵۴	۲۶۲۵۰۱	۲۱۹۵۸۵	۳۲۱۹۹۳	۲۴۸۰۱۰	۱۷۷۱۶۷
α -gurjunene	۲۳/۸	۱۴۰۳	۱۴۰۴	۱۱۴۶۶۸۱۴	۲۱۴۹۲۲	۱۸۷۳۸۹	۲۷۲۴۴۰	۲۰۸۶۵۶	۱۵۳۸۵۱
β -caryophyllene	۲۴/۳	۱۴۲۰	۱۴۲۰	۸۳۰۷۰۲	۱۳۸۵۱۷۸۸	۱۲۱۱۵۴۸۸	۲۰۱۷۳۹۹۹	۱۳۴۸۱۸۸۸	۱۰۰۲۵۹۴۰
Isogermacrene D	۲۴/۴	۱۴۳۶	۱۴۲۶	۲۹۴۰۶۱	۱۵۱۸۸۹۴	۹۷۲۴۷۹	۱۹۳۷۹۷۴	۱۰۵۵۴۵۴	۹۲۳۱۳۵
epi-Bicyclosquiphellandrene	۲۵/۰	۱۴۵۱	۱۴۴۵	۱۵۷۲۲۱۰	۱۱۶۷۶۷۲	۱۰۹۵۸۳۹	۱۸۳۴۳۵۰	۱۲۵۳۶۳۳	۹۱۲۴۴۴
α -Caryophyllene	۲۵/۱	۱۴۵۲	۱۴۵۲	۷۶۴۲۹۱	۲۳۸۹۶۴۷	۱۹۲۱۷۹۶	۳۳۹۷۱۴۰	۲۰۷۸۳۵۹	۱۵۴۲۰۹۸
(Z)-Muurola-4(15),5-diene	۲۵/۴	۱۴۶۲	۱۴۵۶	۵۱۲۱۳۸	۱۲۶۵۸۳۷	۱۰۸۸۹۸۸	۱۶۲۰۷۵۱	۱۱۱۰۰۵۷	۸۷۱۵۸۰
Germacrene A	۲۶/۳	۱۴۹۶	۱۴۹۶	۲۹۵۸۱۰	۵۰۴۳۸۲	۴۰۶۳۵۵	۶۳۹۵۰۰	۴۳۰۶۸۶	۳۰۳۸۶۶
γ -cadinene	۲۶/۸	۱۵۱۲	۱۵۱۱	۹۳۷۳۷	۱۴۷۵۳۴	۱۳۱۰۵۳	۲۰۵۰۴۲	۱۴۶۰۸۴	۱۵۳۱۴۶

جدول ۳- مقادیر نیمه کمی ترکیبات متابولیکی مشترک شناسایی شده در پونه‌های پرورش یافته در کلیه محیط‌های مختلف نوری مورد

مطالعه برحسب PA/g FW

Name	RT	KI _{Ref}	KI _{Cal}	گلخانه	قرمز	آبی	قرمز-آبی	سفید	فلورسنت
<i>α</i> -pinene	۸/۹	۹۳۷	۹۲۹	۵۱۲۵۴/۶	۲۱۹۹۷۳۶/۶	۱۹۰۱۶۴۷/۴	۳۴۴۷۰۰۰	۱۶۸۰۲۶۳	۱۵۵۴۹۶۲
<i>β</i> -pinene	۱۰/۴	۹۷۳	۹۷۲	۲۶۵۳۷/۲	۴۰۸۵۳۶۳/۲	۳۶۲۹۴۴۸/۸	۸۲۴۸۶۹۳/۶	۳۱۲۵۲۰۰/۶	۲۶۰۹۷۳۰
<i>β</i> -Myrcene	۱۱/۰	۹۹۱	۹۹۰	۶۷۵۳۶/۸	۳۹۶۳۴۹۲/۸	۳۵۹۹۹۹۵/۶	۱۰۰۵۰۴۰۸/۸	۲۵۹۹۰۰۵/۲	۲۲۹۴۳۵۴
3-Octanol	۱۱/۴	۱۰۰۴	۱۰۰۴	۲۷۰۶۹/۲	۱۳۷۲۰۰۴/۲	۶۸۱۱۱۲/۸	۱۴۷۳۰۵۱	۲۵۶۶۴۱/۸	۱۸۶۰۴۳
Limonene	۱۲/۳	۱۰۳۱	۱۰۲۹	۸۲۹۹۳/۴	۱۰۷۴۲۸۰۲/۲	۱۱۶۳۱۶۷۶	۳۶۵۵۱۰۶۸/۲	۴۰۱۶۹۸۱۷/۶	۷۶۹۰۸۷۰
Alloocimene	۱۵/۶	۱۱۲۸	۱۱۳۰	۴۵۷۲۴	۵۸۵۳۲۶	۴۸۳۹۹۶/۴	۷۷۲۵۹۹/۸	۱۹۴۰۱۶/۶	۲۱۴۷۲۴
8,9-Dehydrothymol	۱۹/۰	۱۲۴۱	۱۲۳۶	۱۲۰۰۲۲/۲	۲۴۳۱۲۸	۱۹۵۱۸۶/۸	۲۲۰۴۹۸	۳۳۵۱۸۹/۶	۲۹۱۱۴۶
Piperitenone	۲۲/۶	۱۳۴۲	۱۳۴۵	۴۰۳۵۷۴	۴۵۵۸۷۸۴۵/۲	۳۶۸۸۴۱۲۷	۶۸۵۷۱۱۷۴	۵۵۱۵۰۶۴۵	۲۲۰۰۰۰۰۰
Piperitenone oxide	۲۳/۱	۱۳۵۱	۱۳۵۱	۱۵۸۱۲۰۰۳/۲	۱۳۵۱۸۹۸۴/۶	۸۵۵۸۳۵۳	۱۶۸۳۴۸۰۳/۶	۷۹۱۴۰۶۶	۱۴۰۰۰۰۰۰
<i>β</i> -caryophyllene	۲۴/۳	۱۴۲۰	۱۴۲۰	۷۸۸۳۵۷/۶	۲۹۹۵۳۱۸/۸	۴۴۹۱۵۲۳/۶	۷۱۸۸۴۰۵/۱	۶۲۴۰۷۸۱/۴	۶۰۵۲۷۶۷
<i>α</i> -pinene	۲۴/۵	۱۴۵۰	۱۴۵۰	۳۸۶۲۰/۲	۲۲۰۰۶۰/۴	۲۷۳۱۷۱/۴	۳۴۳۷۷۰/۲	۳۵۰۸۸۷/۴	۳۰۱۰۵۸
<i>β</i> -pinene	۲۵/۲	۱۴۵۱	۱۴۵۲	۱۴۴۱۳۷/۸	۷۵۶۴۲۲/۲	۱۰۲۱۹۱۰/۸	۱۳۹۴۱۸۱	۱۴۱۱۴۶۷	۱۳۸۳۲۴۲

را تغییر دهد. این دو گونه، دارای ترکیبات مؤثره مشترکی هستند که در گزارشات متعددی به چاپ رسیده‌اند. بسته به گونه مورد مطالعه، نوع ژنوتیپ، مرحله رشدی، شرایط پرورش، و روش مورد استفاده برای شناسایی، تعداد، نوع و میزان ترکیبات مؤثره موجود در ترکیبات فرار می‌تواند متفاوت باشد. در محیط رشدی مجهز به نور قرمز-آبی شرایط خاصی از نور فراهم شده بود که گیاهان نعنای پرورش یافته در این محیط، غلظت بالاتری از لحاظ اغلب ترکیبات ترپنی مفید را در ترکیبات فرار خود تجمع دادند. بر همین اساس، گیاهان نعنای معمولی پرورش یافته در محیط مجهز به نور قرمز-آبی، دارای بالاترین میزان لیمونن، کاروون، آلفا و بتاپینن، میرسن و بتا-کاریوفیلن قابل شناسایی بودند. بنابراین این محیط نوری می‌تواند برای اهداف تولید در محیط‌های کشت عمودی در مناطق شهری که بیشتر به آن اشاره شد، مطلوب و ایده‌آل باشد. تغییر در ترکیب روغن نعنای در اثر تغییر در شرایط محیطی در مطالعات قبلی گزارش شده است. در مطالعه‌ای که به منظور شناسایی تأثیر نوع محیط رشدی (شرایط خاکی در مزرعه در برابر شرایط بدون خاک در بستری از چوب و پر شده از ژئولیت در گلخانه)، بر روی گونه نعنای معمولی، انجام شده

شناسایی شده در گیاهان پونه رشد یافته در کلیه محیط‌های نوری را به خود اختصاص دادند (جدول ۳).

بحث

نعناع، جنسی متعلق به خانواده معطر نعنائیان است که نعنای زراعی و پونه از مهم‌ترین گونه‌های آن از لحاظ کیفیت روغن (ترکیبات فرار) و نقش آفرینی در صنایع غذایی، دارویی و بهداشتی - آرایشی هستند (Bensabah *et al.*, 2013). محققان از روش‌های متعددی از جمله تکنیک کشت بافت، به کارگرفتن الیستورهای زیستی و غیرزیستی، و مهندسی ژنتیک برای افزایش کیفیت و کمیت تولید در گیاهان دارویی استفاده کرده‌اند. تکنولوژی‌های نوری جدید همچون LEDs این امکان را برای ما فراهم کرده‌اند تا نه تنها نیازمندی‌های گیاهان را از لحاظ شدت تابش و طول موج مرتفع گردد، بلکه با شدت بخشیدن به طول موج نوری خاص بتوان به کمیت و کیفیت‌های خاصی در مراحل مختلف رشدی گیاه دست یافت (Darko *et al.*, 2014). نتایج پژوهش حاضر که به منظور تأثیر محیط رشد نوری بر روغن فرار نعنای و پونه انجام گرفت، نشان داد که نور می‌تواند کمیت و کیفیت ترکیبات تولیدی در دو گونه نامبرده

به‌طورکلی، روغن‌های ضروری مخلوطی مایع از ترکیبات فرار هستند که برای آنها فواید بیولوژیکی فراوانی همچون فعالیت‌های ضدویروسی، ضد میکروبی، ضد التهاب و نیز اثرات آنتی‌اکسیدانتی‌شان گزارش شده است (Wu et al., 2019). فاکتورهای محیطی همراه با مرحله رشدی- نموی گیاه تأثیر به‌سزایی بر میزان ترکیبات روغن و نیز فعالیت‌های زیستی آن‌ها دارد. همچنین پژوهش‌های مختلف نشان داده است که روش استخراج روغن می‌تواند بر میزان و تنوع ترکیبات شناسایی‌شده تأثیر به‌سزایی داشته باشد. در مطالعه حاضر از تکنیک نمونه‌برداری بر فضای فوقانی همراه با آنالیز GC-MS استفاده شد که مشخص شده بیشترین ترکیبات را به دام انداخته و به‌خاطر ماشینی‌شدن و تسهیل در استخراج، کمترین میزان خطا را به‌همراه دارد (Etter, 1998; Farco and Grundmann, 2013; Buleandra et al., 2016). در مطالعه‌ای که Buleandra و همکارانش (۲۰۱۶) به‌منظور مقایسه ترکیبات شناسایی‌شده توسط فن فضای فوقانی و تقطیر آبی انجام دادند، توانستند با کمک روش فضای فوقانی ۳۲ ترکیب را در نمونه گیاهی نعناع فلفلی و ۲۲ ترکیب را در نمونه گیاهی نعناع معمولی شناسایی کنند درحالی‌که روش دوم توانستند به‌ترتیب ۱۷ و ۲۰ ترکیب در روغن نعناع فلفلی و روغن نعناع معمولی شناسایی کنند.

نتیجه‌گیری

به‌طور خلاصه، نتایج تحقیق حاضر نشان‌دهنده اثربخشی تیمارهای مختلف نوری بر تعداد و تنوع ترکیبات فرار در نعناع زراعی و پونه است. همچنین محیط رشد مجهز به ترکیب نوری قرمز- آبی LED شرایطی را برای نعناع و پونه فراهم آورده بود که میزان ترکیبات با ارزش اقتصادی در این دو گونه از بالاترین میزان برخوردار بود و بر همین اساس می‌توان این ترکیب نوری را به‌عنوان یک محیط رشدی با پتانسیل مطلوب برای تولید نعناع زراعی و پونه در شرایط محدودیت زمین، نور خورشید برای کشت طبقاتی معرفی کرد.

بود، دو ترکیب: او ۸-سینئول، و پولگون را به‌عنوان ترکیبات اصلی روغن گزارش گردید (Al-Tawaha et al., 2013). در تحقیق ایشان، میزان او ۸-سینئول در نمونه‌های رشدیافته در مزرعه به‌طور چشمگیری بیشتر از نمونه‌های رشدیافته در زئولیت بود، بلعکس غلظت پولگن که ترکیبی سمی است، در گیاهان پرورش‌یافته در محیط رشد زئولیت به‌طور معنی‌داری بیشتر از شرایط مزرعه بود. بنابراین، درمی‌یابیم که محیط رشدی می‌تواند فاکتوری بسیار تأثیرگذار بر روی میزان اجزاء تشکیل‌دهنده ترکیبات فرار باشد.

نتایج آنالیز ترکیبات فرار کلون نه‌اوند پونه نشان داد که محیط رشدی مجهز به نور قرمز- آبی برای پرورش پونه از لحاظ دستیابی به غلظت بالاتر ترکیبات ترپنی با ارزش، متناسب‌تر از سایر محیط‌های نوری است. به‌طوری‌که گیاهان پونه پرورش‌یافته در محیط مجهز به نور قرمز- آبی، دارای بالاترین میزان لیمونن، کاروون، آلفا و بتاپینن، میرسن، پیریتون، پیریتون اکسید و بتا-کاروفیلن هستند. بلعکس، گلخانه شرایطی را برای گیاهان پونه فراهم آورده بود که غلظت ترکیبات لیمونن، کاروون، آلفا و بتاپینن، میرسن، پیریتون و بتا-کاروفیلن نسبت به سایر محیط‌های نوری، از کمترین میزان قابل شناسایی برخوردار بود و بنابراین محیط رشدی مناسبی برای رشد پونه نیست. گزارشات متعددی در خصوص اجزای تشکیل‌دهنده ترکیبات فرار در پونه نشان داده که پیریتون، پیریتون اکسید، کاروون، متون، لیمونن، او ۸-سینئول، فلاونوئیدها و تاننها، ترکیبات اصلی روغن در پونه است (Stanisavljevic et al., 2014). Monfared و همکاران (۲۰۰۲) با تجزیه ترکیبات فرار در ژنوتیپ پونه بومی ایران دریافتند که کاروون بخش اعظم ترکیبات فرار در روغن فرار پونه را تشکیل می‌دهد و لذا آنرا به‌عنوان یک کموتایپ غنی از کارون معرفی نمودند. در مطالعه انجام‌گرفته توسط Kokkini و Papageorgiou (۱۹۸۸)، چندین کموتایپ از پونه معرفی گردید که اجزای اصلی تشکیل‌دهنده روغن آن‌ها را پیریتون اکسید، کاروون، دی‌هیدروکاروون، لینالول، متون و ایزومتون تشکیل داده بود.

- Abraham, E. M., Huang, B., Bonos, S. A. and Meyer, W. A. (2004) Evaluation of drought resistance for *Texas bluegrass*, *Kentucky bluegrass*, and their hybrids. *Crop Science* 44: 1746-1753.
- Al-Tawaha, A., Al-Karaki, G. and Massadeh, A. (2013) Comparative response of essential oil composition, antioxidant activity and phenolic contents spearmint (*Mentha spicata* L.) under protected soilless vs. open field conditions. *Advances in Environmental Biology* 7: 902-910.
- Asadi, A., Kafi, M., Nabati, J. and Goldani, M. (2018) Effect of different light sources in in vitro on growth, morphology and minituber production of potato (*Solanum tuberosum* L.) in hydroponic conditions. *Iranian Journal of Horticulture Science* 48: 933-941.
- Bensabah, F., Houbairi, S., Essahli, M., Lamiri, A. and Naja, J. (2013) Chemical composition and inhibitory effect of the essential oil from *Mentha spicata* irrigated by wastewater on the corrosion of aluminum in 1 molar hydrochloric acid. *Portugaliae Electrochimica Acta* 31: 195-206.
- Thalhamer, B. and Himmelsbach, M. (2014) Characterization of quillaja bark extracts and evaluation of their purity using liquid chromatography–high resolution mass spectrometry. *Phytochemistry Letters* 8: 97-100.
- Brazaitytė, A. and Duchovskis, P. (2009) After-effect of light-emitting diodes lighting on tomato growth and yield in greenhouse. *Sodininkystė Ir Darzininkystė* 28: 115-126.
- Buleandra, M., Oprea, E., Popa, D. E., David, I. G., Moldovan, Z., Mihai, I. and Badea, I. A. (2016) Comparative chemical analysis of *Mentha piperita* and *M. spicata* and a fast assessment of commercial peppermint teas. *Natural Product Communications* 11: 1934578X1601100.
- Darko, E., Heydarizadeh, P., Schoefs, B. and Sabzalian, M. R. (2014) Photosynthesis under artificial light : The shift in primary and secondary metabolism. *Philosophical Transactions of the Royal Society B* 369: 20130243.
- Etter, L. S. (1998) Headspace gas chromatography. An ideal technique for sampling and analysis of volatile compounds present in non-volatile matrices. *Abstracts of Papers of the American Chemical Society* 216: 9-32.
- Fan, X., Xu, Z., Liu, X., Tang, C., Wang, L. W. and Han, X. (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.
- Farco, J. and Grundmann, O. (2013) Menthol - pharmacology of an important naturally medicinal “cool”. *Mini Reviews in Medicinal Chemistry* 13: 124-131.
- Heydarizadeh, P., Zahedi, M. and Sabzalian, M. (2014) The effect of LED lights on growth, essential oil content and activity of antioxidant enzymes in pepper mint (*Mentha piperita* L.). *Journal of Plant Process and Function* 3: 13-24.
- Kalantari, F., Mohd Tahir, O., Mahmoudi Lahijani, A. and Kalantari, S. (2017) A review of vertical farming technology: A guide for implementation of building integrated agriculture in cities. *Advanced Engineering Forum* 24: 76-91.
- Khazaei, M., Rafiei, F., Sabzalian, M. and Houshmand, S. (2021) Effect of light emitting diodes irradiations on morpho-physiological traits of three *Mentha* Spp. *Iranian Journal of Horticulture Science* 52: 461-471.
- Kokkini, S. and Papageorgiou, V. P. (1988) Constituents of essential oils from *Mentha longifolia* growing wild in Greece. *Planta Medica* 54: 59-60.
- Monfared, A., Nabid, M. R. and Rustaiyan, A. (2002) Composition of a carvone chemotype of *Mentha longifolia* (L.) Huds. from Iran. *Journal of Essential Oil Research* 14: 51-52.
- O'Callaghan, S., De Souza, D. P. and Isaac, A. (2012) PyMS: a Python toolkit for processing of gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) data. Application and comparative study of selected tools. *BMC Bioinformatics* 13: 115.
- Pennisi, G., Blasioli, S., Cellini, A., Maia, L., Crepaldi, A., Braschi, I. and Gianquinto, G. (2019) Unraveling the role of red: blue LED lights on resource use efficiency and nutritional properties of indoor grown sweet basil. *Frontiers in Plant Science* 10: 305.
- Rashidi, A., Tehranifar, A. and Nemati, S. H. (2017) The effect of blue and red spectrum combinations and light intensity on vegetative growth of *Petunia* seedling. *Iranian Journal of Horticulture Science* 48: 443-446.
- Hernandez, R., Eguchi, T., Deveci, M. and Kubota, C. (2016) Tomato seedling physiological responses under different percentages of blue and red photon flux ratios using LEDs and cool white fluorescent lamps. *Scientia Horticulturae* 213: 270-280.
- Shahkaram, L., Khaleghi, A., Khadivi, A. and Solgi, M. (2020) Effects of long-day treatment using different supplemental light intensities on quantitative and qualitative traits of *Rosa hybrida* ‘Dolce vita’. *Iranian Journal of Horticulture Science* 51: 403-412.
- Stanisavljevic, D., Dordevic, S., Milenkovic, M., Velickovic, D., Randelovic, N. and Zlatkovic, B. (2014) Antimicrobial and antioxidant activity of the essential oils obtained from *Mentha longifolia* L. Hudson, dried by three different techniques. *Records of Natural Products* 8: 61-65.

- Khan, W., Chester, K., Anjum, V., Ahmad, W., Ahmad, S., Narwaria, A., Kumar, D. P. and Katiyar, C. K. (2017) Chromatographic profiling of Pancharishta at different stages of its development using HPTLC, HPLC, GC-MS and UPLC-MS. *Phytochemistry Letters* 20: 391-400.
- Wu, Z., Tan, B., Liu, Y., Dunn, J., Martorell Guerola, P., Tortajada, M. and Ji, P. (2019) Chemical composition and antioxidant properties of essential oils from peppermint, native spearmint and scotch spearmint. *Molecules* 24: 2825.

The effect of different light wavelengths on metabolomic changes of mint and pennyroyal

M. Khazaei¹, F. Rafiei^{1*} and M. Sabzalian²

¹ Department of Plant Breeding and Biotechnology, Collage of Agriculture, Shahrekord University, Shahrekord, Iran

² Department of Plant Breeding, Collage of Agriculture, Isfahan University of Technology, Isfahan, Iran

(Received: 06/03/2022, Accepted: 19/04/2022)

Abstract

Increasing trend in global population and climate changes are driving forces to shift toward the use of vertical farms with artificial lighting (VFALs). The main downside of VFALs is inefficient electrical usage. High efficiency and economy cost of light-emitting diodes (LED) are going to make VFALs a promising type of farming in future. Each individual species needs unique light treatment in order to achieve maximal qualitative and quantitative production. Lamiaceae family includes plant species with high economic value and applications in medicinal and cosmetic industry. In the present study, we selected six light treatments including LED (red, blue, red-blue (70:30), white), florescent, and natural light to evaluate metabolomic changes in two species of Lamiaceae family (mint and pennyroyal). At flowering stage, fresh leaves were collected from plants to analyze for metabolic constituents using Head Space sampling technique and GC-MS. The results indicated light treatment had effect on metabolic profile of mint and pennyroyal plants. It was found that the application of red-blue LED maximized the concentration of beneficial monoterpenes suggesting that the production of selected genotypes is possible in environments without natural light such as VFAL systems.

Keywords: Analysis of GC-MS, Head space sampling technique, Lamiaceae, LED light, volatile compounds

Corresponding author, Email: Fariba.Rafiei@gmail.com