فرآیند و کارکرد گیاهی، جلد ۱۲، شماره ۵۴، خرداد و تیرماه ۱۴۰۲ صفحه: ۹۱-۱۰۳

مقاله پژوهشی

تأثیر متیل‌جاسمونات و کیفیت نور بر متابولیت‌های ثانویه شیرین‌بیان (*Glycyrrhiza glabra* L.) در شرایط درون‌شیشه‌ای

مهسا امامی[۱]، اصغر استاجی[۱*]، علیرضا قنبری[۱]، زهرا خزائی[۱] و حسن قربانی قوژدی[۲]

[۱] گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران

[۲] گروه کشاورزی، دانشکده علوم، مجتمع آموزش عالی گناباد، خراسان رضوی، ایران

(تاریخ دریافت:۱۴۰۱/۰۲/۱۶، تاریخ پذیرش نهایی:۱۴۰۱/۰۷/۱۹)

چکیده

گیاهان دارویی دارای مواد مؤثره با ارزشی هستند که در شرایط طبیعی به‌طور محدود تولید می‌شوند، لذا استفاده از روش‌هایی مانند کشت بافت و استفاده از محرک‌ها برای تولید بیشتر متابولیت ثانویه در گیاهان دارویی مفید است. در این پژوهش اثرات متیل‌جاسمونات و نور LEDبه عنوان دو القاءکننده بر صفات فیزیولوژیک و متابولیت‌های ثانویه در ریشه گیاهچه‌های ۳۰ روزه شیرین‌بیان در محیط MS مورد مطالعه قرار گرفت. در این مطالعه از غلظت‌های صفر، ۰/۲، ۰/۵، ۱ و ۲ میکرومولار متیل‌جاسمونات و تیمارهای نوری آبی، قرمز و آبی + قرمز در سه تکرار در قالب طرح آزمایش کاملاً تصادفی استفاده شد. نتایج نشان داد که، محتوای فلاونوئید فقط در طول‌موج ۳۰۰ نانومتر در غلظت ۱ میکرومولار متیل‌جاسمونات نسبت به شاهد افزایش معنی‌داری نشان داد همچنین میزان ترکیبات فنولیک در تیمار با متیل‌جاسمونات در غلظت ۱ میکرومولار و در تیمار نور آبی افزایش نشان داد و بیشترین فعالیت آنزیم فنیل‌آلانین آمونیالیاز در نور آبی مشاهده شد درحالی‌که بیشترین میزان گلیسیریزین (۱۲/۱۰ µg/g FW) در تیمار نور قرمز حاصل شد همچنین نور قرمز نسبت به بقیه تیمارها افزایش معنی‌داری بر رشد و پرآوری گیاه داشت. به‌طورکلی می‌توان نتیجه گرفت که استفاده از محرک‌هایی مانند متیل‌جاسمونات و نورهای قرمز و آبی موجب افزایش میزان متابولیت‌های ثانویه در گیاهان دارویی می‌شود.

کلمات کلیدی: شیرین‌بیان، کشت بافت، متابولیت ثانویه، متیل‌جاسمونات، نور آبی و قرمز

مقدمه

شیرین‌بیان با نام علمی *Glycyrrhiza glabra* متعلق به خانواده Fabaceae یکی از مهم‌ترین گیاهان دارویی بومی ایران و یکی از مهم‌ترین گیاهان دارویی در فارماکوپه‌های بسیاری از کشورهای آسیایی و اروپایی است (Eghlima *et al*., 2019) که کاربردهای درمانی گوناگونی داشته و از ریشه شیرین‌بیان در طب سنتی به‌طور عمده برای درمان زخم معده استفاده می‌شود (Fedina *et al*., 2000). ماده اصلی موجود در ریشه و ساقه‌های زیرزمینی این گیاه یک ترکیب ساپونین تری ترپنوئیدی به نام اسید گلیسیریزیک یا گلیسیریزین است که حدود ۳۰ تا ۵۰ برابر ساکارز شیرینی دارد (Facchini and St-Pierre, 2005) گلیسیریزین ماده اصلی موجود در ریشه و ریزوم شیرین‌بیان، عامل شیرین شدن این گیاه است که به عنوان ماده شیرین‌کننده در بسیاری از محصولات تجاری،

*نویسنده مسؤل، نشانی پست الکترونیکی: aestaji@yahoo.com

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-01-07]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1402.12.54.6.6]

صنایع دارویی و غذایی کاربرد دارد (Pandey and Ayangla, 2017). فرمول گلیسیریزین به صورت $C_{42}H_{62}O_{16}$ است که از دو واحد اسید گلوکورونیک و یک مولکول اسید گلیسرتنیک (آگلیکون) تشکیل شده است. مگناسوئیت (Magnasweet) نام تجاری گلیسیریزن است. این ماده برای ایجاد طعم در محصولات غذایی، تجاری و فرآورده‌های دارویی کاربرد دارد (گیاهی و کرامت، ۱۳۹۵). ترکیبات فنولیک دسته دیگری از متابولیت‌های ثانویه گیاه شیرین‌بیان است. فلاونوئیدها از دسته ترکیبات فنولی بوده که طیف وسیعی از مواد رنگی را شامل می‌شوند. به نظر می‌رسد فلاونوئیدها به عنوان ترکیبات حفاظت‌کننده در مقابل اثرات زیان‌بار اشعه ماورای‌بنفش عمل می‌نمایند (Michalak, 2016). از گونه‌های مختلف جنس *Glycyrrhiza* بیش از ۳۰۰ نوع ترکیب فلاونوئیدی گزارش شده است که در حدود ۷۰ نوع آن از گونه گلابرا جداسازی شده است. این ترکیبات اثرات دارویی مانند آنتی‌ویروسی، ضدالتهابی، فعالیت آنتی‌اکسیدانی، آنتی‌توموری (Hosseinzadeh and Nassiri-Asl, 2015) ضدتصلب شرائین (Esmaeili *et al*., 2019) فعالیت استروژنی (شبانی و احسان‌پور، ۱۳۸۸) و خواص آنتی‌باکتری دارد (Vlaisavljevic *et al*., 2019).

جاسمونات در دهه ۱۹۶۰ در اسانس گیاه گل یاس به عنوان متابولیت ثانویه دیده شد. دو دهه بعد از این شناسایی اولیه، اثرهای فیزیولوژیکی آن‌ها مانند تسریع پیری، بازدارنده رشد و همچنین الیسیتور یا محرکی برای تولید متابولیت‌های ثانویه در گیاهان عالی شناسایی شد. جاسمونیک اسید و متیل استر آن یعنی متیل‌جاسمونات از مشتقات سیکلوپنتان لینولنیک اسید هستند که از مسیر اکتادکانوئید سنتز می‌شوند. در این مسیر، لینولنیک اسید تبدیل به اسید جاسمونیک می‌شود (Koo and Howe, 2009). متیل جاسمونات (MeJA) یک هورمون گیاهی مهم است که در فرآیندهای مختلفی مانند جوانه‌زنی بذر، رشد ریشه، جاذبه، تشکیل تریکوم، رشد جنینی، رشد گیاهچه، تشکیل غده، حرکت برگ، رسیدن میوه و پیری برگ شرکت می کند (Wasternack *et al*. 2014; Gumerova *et al*., 2015). متیل جاسمونات مشتق متیل استر اسید جاسمونیک است. متیل جاسمونات اغلب به عنوان یک عامل تحریک‌کننده در کشت‌های درون شیشه‌ای استفاده می‌شود، زیرا باعث پاسخ دفاعی از طریق تحریک آنزیم‌های خاصی مانند PAL، CAT، CHI، استیلن سینتاز و آنتوسیانین سینتاز که دخیل در تولید ترکیبات فنلی و فلاونوئیدها در گیاهان هستند در مقابل زخم و حمله پاتوژن‌ها می‌شوند (Portu *et al*., 2017). مشخص شده است که وقتی متیل جاسمونات به محیط‌کشت اضافه می‌شود، تولید آنزیم PAL افزایش یافته که در نهایت منجر به افزایش تولید متابولیت‌های ثانویه می‌شود (Zhou, Memelink. 2016). شیرازی و همکاران (۱۳۹۹) در تحقیقی در کشت بافت ریشه‌های مویین شیرین‌بیان نتیجه گرفتند که غلظت‌های مختلف میتل‌جاسمونات بر تولید گلیسیریزین و ایزولیکو یریتیجنین در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. میانگین وزن خشک ریشه‌ها در غلظت‌های ۱۰۰ و ۲۰۰ میکرومولار بیشتر شد ولی بیشترین وزن خشک ریشه‌ها در غلظت ۱۰۰ میکرومولار میتل‌جاسمونات مشاهده شد. Wongwicha و همکاران (۲۰۱۱) در تحقیقات خود نشان دادند که استفاده از میتل‌جاسمونات به عنوان الیسیتور در غلظت ۱۰۰ میکرومولار موجب افزایش گلیسیرین در گیاه شیرین‌بیان شد. Shabani و همکاران (۲۰۰۹) گزارش کرده‌اند که کاربرد محرک‌های میتل‌جاسمونات و سالیسیلیک اسید در گیاه شیرین‌بیان میزان گلیسیریزین را افزایش داد.

نور یکی از مهمترین عوامل مؤثر بر تولید محصولات کشاورزی و دارویی در کشت‌های کنترل شده و متراکم است. استفاده از LEDها در کشاورزی در محیط‌های کنترل‌شده سبب می‌شود تا تنها طول‌موج‌های ضروری و مؤثر در رشد و عملکرد گیاه در دسترس آن قرار بگیرد و از هدررفت انرژی به منظور تولید نور سفید که حاوی طیف‌های غیرضروری است، جلوگیری شود (Gupta and Agarwal, 2017). نور تنها منبع انرژی فتوسنتزی و مهم‌ترین فاکتور محیطی است که در فعالیت فتوسنتزی، تنظیم رشدونمو گیاهان و بیوسنتز مواد فیتوشیمیایی نقش حیاتی دارد. از این‌رو تنظیم شرایط نوری مناسب برای

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-01-07]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1402.12.54.6.6]

تجمع ترکیبات فیتوشیمیایی در حد مناسب در گیاهان اهمیت زیادی دارد (محسن‌پور، ۱۳۹۵). گیاهان به کمک چندین گیرنده قادر به تشخیص طول‌موج‌های خورشید هستند و توسط گیرنده‌های نوری گوناگون به پارامترهای نوری مثل شدت نور، کیفیت نور، مدت نور و جهت نور پاسخ می‌دهند. گیرنده‌های فیتوکروم، کریپتوکروم و فتوتروپین‌ها متداول‌ترین گیرنده‌های نوری در گیاهان هستند، اولین گیرنده نوری فیتوکروم است که یک رنگیزه پروتئینی است. طیف تابشی نور خورشید دامنه گستردهای از طول‌موج ۳۰۰ تا ۱۰۰۰ نانومتر را شامل می‌شود که از این بین تنها ۵۰ درصد از انرژی تابشی خورشیدی در دامنه ۴۰۰ تا ۷۰۰ نانومتر در قالب تابش فعال فتوسنتزی (PAR) توسط گیاهان قابل جذب و استفاده است (Georgiev *et al*., 2018) و طول‌موج ۶۶۰ نانومتر (نور قرمز) و ۳۸۰ نانومتر (نور آبی) پیک‌های جذب فیتوکروم هستند. نور قرمز دور در طول‌موج ۷۳۰ نانومتر (نور قرمز دور) بالاترین پیک جذب و نور آبی در طول‌موج ۴۸۰ نانومتر کمترین پیک جذب فیتوکروم را دارند. گیاهان از تمام تابش فعال فتوسنتزی استفاده نمی‌کنند و تنها بخش‌هایی از آن را توسط گیرنده‌های نوری مختلف مانند کلروفیل b و a، کارتنوئیدها، فیتوکروم‌ها، سیتوکروم و فتوتروپین جذب نموده و در فرآیندهای مختلف مانند فتوسنتز، فتوپریودیسم، نورگرایی و همچنین برخی فرایندهای فیزیولوژیکی و مسیرهای تولید متابولیکی استفاده می‌کنند (Zakurin *et al*., 2020; میرعمادی و همکاران، ۱۳۸۸). رشدونمو گیاه، میزان تجمع متابولیت‌های ثانویه و خصوصیات فیتوشیمیایی گیاه تحت تأثیر بعضی عوامل محیطی مثل شدت نور، مدت نور و کیفیت نور قرار می‌گیرد (شیرازی و همکاران، ۱۳۹۹) در پژوهشی دریافتند که وزن تر کاهو در تیمار با نور ترکیبی قرمز و آبی افزایش یافت (Jasus *et al*., 2011).

وابسته بودن به منابع طبیعی و روش‌های کشت به صورت سنتی به ماه‌ها و سال‌ها زمان جهت حصول گیاهان دارویی دارد. به همین جهت استفاده از روش‌هایی مانند کشت بافت این زمان را کوتاه‌تر کرده و امکان بررسی الیسیتورهای مختلف را در میزان تغییر متابولیت‌های ثانویه گیاهان دارویی مورد نظر را نیز فراهم می‌کند. از این‌رو کشت سلول، بافت و اندام گیاهی یک راهکار مفید به منظور مطالعه و بررسی بیولوژیکی متابولیت‌های ثانویه فعال تحت شرایط درون‌شیشه‌ای است (امیرمرادی و همکاران، ۱۳۹۹) و با استفاده از روش‌هایی چون کشت تعلیق یاخته‌ای و کشت ریشه موئین می‌توان ترکیباتی را که تنها در مراحل خاصی از رشد یا در اندام‌های خاص در گیاه کامل ساخته می‌شوند را به میزان بالا و با سهولت تولید نمود (Chandran *et al*., 2020). سریع‌ترین و بهترین روش برای تولید گیاه جهت مصارف صنعتی روش کشت‌بافت است. به کار بردن محرک‌ها، تنظیم‌کننده‌ها و بازدارنده‌های رشد در گیاهان دارویی هم موجب رشد گیاه و هم موجب تحریک و تولید متابولیت‌های ثانویه می‌شود. هدف از مطالعه حاضر بررسی پاسخ‌های فیزیولوژیک شیرین‌بیان به تیمار متیل‌جاسمونات و تیمار نوری از طریق مطالعه آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و سنتز ترکیبات فنولیک شیرین‌بیان است.

مواد و روش‌ها

تحقیق حاضر در دانشکده کشاورزی دانشگاه محقق اردبیل در زمستان ۱۴۰۰ در قالب طرح کاملاً تصادفی و در سه تکرار انجام شد. بذرهای گیاه شیرین‌بیان از شرکت پاکان بذر اصفهان تهیه شدند. سپس بذرها را به مدت ۱۵ دقیقه در هیپوکلریت سدیم ۳ درصد قرار گرفت و سه مرتبه با آب‌مقطر استریل شستشو شد و بعد به مدت ۱۵ ثانیه در الکل ٪۹۶ قرار گرفت و دوباره با آب‌مقطر استریل شسته شد. در ادامه بذرها در محیط کشت جامد MS حاوی ۳۰ گرم ساکارز و ۸ گرم آگار کشت شد و به اتاق کشت دارای تناوب نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی، دمای ۲۵-۲۳ درجه سانتی‌گراد و شدت نور ۲۲۰۰ لوکس قرار داده شد. پس از جوانه‌زنی بذور و گذشت حدود دو هفته گیاهچه‌ها واکشت شدند تا به اندازه مناسب (۳-۴ برگی) برای اعمال تیمار برسند سپس گیاهچه‌های مناسب در محیط MS حاوی تیمار متیل جاسمونات کشت شدند. همچنین محلول متیل‌جاسمونات ابتدا

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-01-07]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1402.12.54.6.6]

به وسیله فیلتر سرسرنگی با قطر منافذ ۰/۲۲ میکرومتر در زیر هود استریل شد و غلظت‌های صفر، ۰/۲، ۰/۵، ۱ و ۲ میکرومولار جهت تیمار گیاهچه‌ها به محیط‌کشت MS افزوده شد. شیشه‌های کشت‌شده جهت تیمار نوری به اتاق رشد دارای نور (LED) قرمز، نور آبی و نور قرمز+ آبی با زمان بدون خاموشی و شدت نور ۳۰۰۰ لوکس (٪۸۰ قرمز و ٪۲۰ درصد آبی) منتقل شدند. از نور فلورسانت موجود در اتاق کشت به عنوان شاهد استفاده شد. پس از گذشت ۲۰ روز گیاهچه‌ها از محیط‌کشت بیرون آورده شدند و برای اندازه‌گیری صفات مورد نظر و نمونه‌برداری استفاده شدند.

اندازه‌گیری محتوای گلیسیریزین: میزان محتوای گلیسیریزین طبق روش تغییریافته Jeffry و همکاران (۱۹۸۳) اندازه‌گیری شد بدین صورت که ابتدا به ۰/۵ گرم بافت خشک گیاهچه شیرین‌بیان ۱۰ میلی‌لیتر آب‌مقطر افزوده و در هاون چینی ساییده شد. سپس محتوای هاون به لوله آزمایش انتقال یافته و در اتوکلاو با دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد و فشار ۱/۲ بار به مدت ۳۰ دقیقه حرارت داده شد. پس از اینکه محلول‌ها خنک شد به این محلول‌ها قطره‌قطره اسید سولفوریک غلیظ ۹۵ درصد اضافه شد تا اسید گلیسیریزیک به تدریج رسوب کند. محتویات فوقانی رسوب جدا شد و در ادامه برای حذف اسید به محلول‌ها آب و اتانول به نسبت ۱ به ۱ اضافه شد و در دستگاه سانتریفیوژ به مدت ۱۵ دقیقه با دور g ۱۰۰۰۰ قرار گرفت. سپس از بخش بالایی رسوب، آب و اتانول حذف شده و رسوب به دست آمده در آون در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت خشک شد. در ادامه به این ترکیب ۳ میلی‌لیتر متانول ۸۰ درصد اضافه شد تا رسوب به شکل محلول در آید و شدت جذب محلول‌ها در دستگاه اسپکتروفتومتر در طول‌موج ۲۵۴ نانومتر خوانده شد. با استفاده از منحنی استاندارد، غلظت گلیسیریزین محاسبه می‌شود. به منظور رسم منحنی استاندارد مقدار ۱۰ میلی‌گرم از پودر نمک آمونیوم گلیسیریزیک اسید با متانول ۸۰ درصد به حجم ۱۰ میلی‌لیتر رسانده شد؛ بنابراین محلول استانداردی با غلظت ۱ میلی‌گرم در یک میلی‌لیتر تهیه شد (Shabani *et al.*, 2009). سپس از این محلول، استانداردهایی با غلظت ۱۰/۵، ۲۱، ۴۲، ۸۳ و ۱۶۷ میلی‌گرم در لیتر تهیه شد و شدت جذب این محلول‌ها و همچنین نمونه‌های گیاهی در طول‌موج ۲۵۴ نانومتر به وسیله دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شد و منحنی جذب برحسب غلظت رسم شد. با استفاده از فرمول به دست آمده از رسم نمودار (y= 0.0012x-0.0053) میزان غلظت هر نمونه محاسبه شد (سلطانی‌نژاد و همکاران، ۱۳۹۲).

اندازه‌گیری ترکیبات فنلی: اندازه‌گیری ترکیبات فنلی طبق روش Folin –ciocalteu به صورت زیر انجام شد. ابتدا ۰/۰۵ گرم از ریشه هر گیاهچه داخل هاون چینی ریخته شد و به آن ۳ میلی‌لیتر اتانول ۹۵ درصد اضافه کرده و خوب ساییده شد. عصاره حاصل داخل لوله‌های آزمایش ریخته و به مدت ۲۴ ساعت در تاریکی قرار داده شد. بعد از گذشت ۲۴ ساعت به محلول حاصل ۱ میلی‌لیتر اتانول ۹۵ درصد، ۰/۵ میلی‌لیتر فولین ۵۰ درصد و یک میلی‌لیتر کربنات سدیم ۵ درصد اضافه شد. در ادامه این محلول‌ها به مدت یک ساعت دیگر در تاریکی قرار گرفت و سپس با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر شدت جذب هر نمونه در طول‌موج ۷۵۰ نانومتر خوانده شد (سلطانی‌نژاد و همکاران، ۱۳۹۲).

اندازه‌گیری فلاونوئیدها: برای سنجش میزان فلاونوئیدها ۰/۱ گرم وزن تر گیاهچه در ۱۰ میلی‌لیتر اتانول اسیدی ساییده شد و به مدت ۱۰ دقیقه عصاره حاصل با دور g ۴۰۰۰ سانتریفیوژ شد. محلول رویی جدا شده و در حمام آب گرم با دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. شدت جذب با دستگاه اسپکتروفتومتر در طول‌موج ۲۷۰، ۳۰۰ و ۳۳۰ نانومتر خوانده شد. مقایسه میزان ترکیبات فلاونوئیدی براساس شدت جذب خوانده شده انجام گرفت (Guan *et al.*, 1995).

اندازه‌گیری آنزیم فنیل‌آلانین آمونیالیاز: برای سنجش فعالیت آنزیم فنیل‌آلانین آمونیالیاز از ریشه گیاهان تحت تیمار متیل‌جاسمونات مقدار ۰/۱ گرم درون هاون چینی سرد قرار دادیم و به آن مقدار ۲ میلی‌لیتر بافر بورات با pH=۸/۸ دارای ۳۸ گرم بوراکس یا دی‌سدیم تترابورات، ۶ گرم PVP (Polyvinylidon)، چند قطره مرکاپتواتانول و ۲ میلی‌مولار

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-01-07]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1402.12.54.6.6]

EDTA به آن اضافه کردیم و بافت‌ها در آن ساییده شدند. سپس به مدت ۲۰ دقیقه با دور rpm ۱۴۰۰۰ در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شد. از محلول رویی برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم فنیل‌آلانین آمونیالیاز استفاده کردیم. در ادامه ۴۰۰ میکرولیتر بافر بورات ۰/۱ مولار با pH=۸ و ۲۵۰ میکرولیتر محلول فنیل‌آلانین ۳ میلی‌مولار و مقدار ۱۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی به میکروتیوب دیگری منتقل گردید و به مدت یک ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد در حمام آب گرم قرار گرفت و در ادامه ۵۰۰ میکرولیتر HCl ۵ نرمال به این محلول اضافه شد. سپس شدت جذب محلول‌ها در طول‌موج ۲۹۰ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شد (سلطانی‌نژاد و همکاران، ۱۳۹۲). فعالیت آنزیم فنیل‌آلانین آمونیالیاز بعد از اندازه‌گیری در طول‌موج ۲۹۰ نانومتر با استفاده از ضریب خاموشی معادل $cm^{-1}m^{-1}$ ۹۵۰۰ به دست می‌آید. فعالیت این آنزیم براساس سرعت تبدیل فنیل‌آلانین به ترانس سینامیک اسید تعیین می‌شود. یک واحد از فعالیت PAL معادل یک میکرومول از سینامیک اسید تولید شده در یک دقیقه است. مقدار جذب خوانده شده بر عدد ۹۵۰۰ تقسیم می‌گردد و میزان فعالیت آنزیم برحسب میکرومول بر گرم وزن تر در دقیقه محاسبه می‌گردد (Cheng and Breen, 1991).

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم پراکسیداز: فعالیت آنزیم پراکسیداز به روش Koroi (۱۹۸۹) اندازه‌گیری گردید. مخلوط مورد استفاده شامل بافر استات (۰/۲ میلی‌مولار و pH=۴/۸)، پراکسید هیدروژن ۰/۱ درصد و بنزیدین ۰/۰۴ مولار محلول در متانول ۵۰ درصد است. دو میلی‌لیتر بافر استات و ۲۰۰ میکرولیتر محلول بنزیدین و ۲۰۰ میکرولیتر پراکسید هیدروژن را در حمام یخ مخلوط کرده و ۱۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی به آن اضافه کرده و بلافاصله با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر عدد جذب در طول‌موج ۵۳۰ نانومتر خوانده می‌شود. فعالیت آنزیمی برحسب تغییرات واحد جذب در دقیقه به ازای هر گرم وزن برگ تر حساب گردید. برای صفر شدن دستگاه از ترکیب دو میلی‌لیتر بافر استات و ۲۰۰ میکرولیتر محلول بنزیدین و ۲۰۰ میکرولیتر پراکسید هیدروژن بدون افزودن هیچ عصاره‌ای استفاده شد.

داده‌های به دست آمده از این تحقیق در برنامه نرم‌افزاری SPSS (IBM Spss Statistics 22) وارد شدند. نرمال بودن داده‌ها بررسی و آمار استنباطی مانند تجزیه واریانس و مقایسه میانگین تیمارها با استفاده از آزمون LSD محاسبه شد و نیز رسم نمودارها با استفاده از برنامه اکسل انجام شد.

نتایج

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر غلظت‌های مختلف متیل‌جاسمونات بر روی میزان فنول در سطح ۵٪ و فلاونوئید nm ۳۰۰ در سطح ۱٪ معنی‌دار شده است ولی بر سایر صفات تأثیر معنی‌داری نداشت (جدول ۱). همچنین در تیمار نوری نیز این تیمار بر صفات وزن تر ساقه، وزن تر ریشه، وزن خشک کل و میزان فنول در سطح ۱٪ و در صفات میزان گلیسیریزین و فعالیت آنزیم PAL در سطح ۵٪ معنی‌دار شده بود (جدول ۲).

تأثیر متیل‌جاسمونات و تیمار نوری بر روی وزن تر ساقه و ریشه و وزن خشک کل: مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که در صفات وزن تر ساقه، ریشه و وزن خشک کل تفاوت معنی‌داری بین غلظت‌های مختلف متیل جاسمونات مشاهده نشد، هر چند که تیمارهای ۰/۵ میکرومولار در صفت وزن تر ساقه و ریشه مقداری بیشتری را نشان داد ولی تأثیر آن بی‌معنی بود (جدول ۳). همچنین نتایج نشان داد که در گیاهچه‌های تیمار شده با نورهای قرمز و آبی صفات وزن تر ساقه (۰/۳۲ گرم)، وزن تر ریشه (۰/۱۷ گرم) و وزن خشک کل (۰/۰۴۹ گرم) بیشترین مقدار را دارا بودند. ولی بین تیمار نور آبی و شاهد و ترکیبی تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. کمترین وزن تر ساقه در تیمار ترکیبی قرمز و آبی (۰/۱۵ گرم) مشاهده شد. همچنین کمترین میزان وزن خشک کل در گیاه شاهد مشاهده شد (جدول ۴).

تأثیر متیل‌جاسمونات و تیمار نوری بر روی محتوای گلیسیریزین: نتایج حاصل از اندازه‌گیری محتوای گلیسیریزین در ریشه‌های شیرین‌بیان پس از تیمار با متیل‌جاسمونات نشان

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-01-07]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1402.12.54.6.6]

جدول ۱- تجزیه واریانس حاصل از تیمار متیل‌جاسمونات بر صفات فیزیولوژیک و متابولیت‌های گیاهچه شیرین‌بیان

منبع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات									
		وزن تر ساقه	وزن تر ریشه	وزن خشک کل	فنول	فلاونوئید ۲۷۰ nm	فلاونوئید ۳۰۰ nm	فلاونوئید ۳۳۰ nm	میزان گلیسیریزین	فعالیت PAL	فعالیت پراکسیداز
تیمار	۴	۰/۰۱۵ ns	۰/۰۰۱ ns	۰/۰۰۰	۱۰۴/۰۳۵*	۰/۰۹۰ ns	۰/۱۹۴**	۰/۲۸۰*	۳۱/۳۲۰ ns	۰/۰۰۱ ns	۰/۵۰۴ ns
خطا	۱۰	۰/۰۰۶	۰/۰۰۱	۰/۰۰۰۰۸	۲۱/۰۰۱	۰/۰۵۷	۰/۰۳۲	۰/۰۵۰	۱۹/۵۱۴	۰/۰۰۱	۰/۱۵۷
ضریب تغییرات (٪)		۱۹/۲	۲۰/۴	۱۵/۸	۱۴/۴	۱۸/۱	۱۶/۶	۱۹/۳	۱۵/۳	۱۳/۵	۱۲/۸

ns، * و ** به ترتیب به معنی عدم معنی‌دار بودن و معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد

جدول ۲- تجزیه واریانس تیمار نوری بر صفات فیزیولوژیک و میزان متابولیت‌های گیاهچه شیرین‌بیان

منبع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات									
		وزن تر ساقه	وزن تر ریشه	وزن خشک کل	فنول	فلاونوئید ۲۷۰ nm	فلاونوئید ۳۰۰ nm	فلاونوئید ۳۳۰ nm	میزان گلیسیریزین	فعالیت PAL	فعالیت پراکسیداز
تیمار	۳	۰/۰۱۶**	۰/۰۰۲**	۰/۰۰۰**	۱۱۸/۶۹۹**	۰/۰۲۰ ns	۰/۰۲۰ ns	۰/۰۲۳ ns	۳۱/۸۱۷*	۰/۰۱۸*	۰/۰۰۴ ns
خطا	۸	۰/۰۰۲	۰/۰۰۰۳	۰/۰۰۰۰۱	۱۳/۷۲۶	۰/۰۱۴	۰/۰۱۲	۰/۰۱۲	۷/۱۳۴	۰/۰۰۲	۰/۰۰۴
ضریب تغییرات (٪)		۱۵/۴	۵/۳	۱۱/۴	۱۳/۴	۱۵/۱	۱۴/۰	۱۸/۷	۱۵/۴	۱۳/۳	۱۷/۸

ns، * و ** به ترتیب به معنی عدم معنی‌دار بودن و معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد

جدول ۳- مقایسه میانگین تیمار متیل‌جاسمونات بر صفات فیزیولوژیک و متابولیت‌های ثانویه گیاهچه شیرین‌بیان

تیمار		وزن تر ساقه (g)	وزن تر ریشه (g)	وزن خشک کل (g)	فنول (mg/L)	فلاونوئید ۲۷۰ nm	فلاونوئید ۳۰۰ nm	فلاونوئید ۳۳۰ nm	میزان گلیسیریزین (µg/g FW)	فعالیت PAL (U/mg protein)
شاهد		۰/۱۶	۰/۱۶	۰/۰۳	۹/۷۰ abc	۰/۶۵	۰/۴۹ c	۱/۲۷ a	۵/۵۲	۰/۰۱
متیل‌جاسمونات	۰/۲	۰/۱۶	۰/۱۹	۰/۰۳	۱/۴۷ c	۰/۸۷	۰/۹۰ ab	۰/۷۴ bc	۲/۸۳	۰/۰۴
	۰/۵	۰/۳۰	۰/۲۱	۰/۰۵	۲/۳۶ bc	۰/۵۰	۰/۷۳ bc	۰/۴۹ c	۴/۲۶	۰/۰۴
	۱	۰/۲۷	۰/۱۹	۰/۰۵	۱۵/۳۶ a	۰/۹۴	۱/۱۷ a	۰/۹۴ ab	۹/۰۶	۰/۰۴
	۲	۰/۲۹	۰/۱۸	۰/۰۵	۱۰/۷ ab	۰/۷۴	۰/۷۱ bc	۱/۰۹ ab	۱۰/۴۸	۰/۰۴

حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار با استفاده از آزمون دانکن است.

داد که اثر سطوح مختلف متیل‌جاسمونات بر محتوای گلیسیریزین معنی‌دار نمی‌باشد (جدول ۱). همچنین نتایج نشان داد که اثر تیمار نوری بر میزان گلیسیریزین در گیاهچه‌های شیرین‌بیان در سطح احتمال ۵٪ معنی‌دار بود (جدول ۲). نتایج مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که بیشترین میزان گلیسیریزین در تیمار نور قرمز (۱۲/۱۰ µg/g FW) به دست آمد که نسبت به گیاه شاهد ۱/۵۷ برابر افزایش نشان می‌دهد ودر تیمار با نور آبی میزان گلیسیریزین ۶/۵ میکروگرم حاصل شد و همچنین کمترین میزان گلیسیریزین در تیمار نور ترکیبی قرمز و آبی به میزان ۴/۵۲ میکروگرم به دست آمد. میزان گلیسیریزین در تیمار با نورهای آبی و نور ترکیبی قرمز و آبی در مقایسه با نور فلورسانت محیط کشت (گیاه شاهد) کاهش نشان داد (جدول ۳).

اثر متیل‌جاسمونات و تیمار نوری بر محتوای فنول

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-01-07]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1402.12.54.6.6]

جدول ۴- مقایسه میانگین تیمار نوری بر صفات برخی صفات فیزیولوژیک و متابولیت‌های ثانویه گیاهچه شیرین‌بیان

تیمار	وزن تر ساقه (g)	وزن تر ریشه (g)	وزن خشک کل (g)	فنول (mg/L)	فلاونوئید ۲۷۰ nm	فلاونوئید ۳۰۰ nm	فلاونوئید ۳۳۰ nm	میزان گلیسیریزین (µg/g FW)	فعالیت PAL U/mg protein)	فعالیت پراکسیداز U/min.mg protein)
شاهد	۰/۲۰^{b}	۰/۱۲^{b}	۰/۰۳۱^{b}	۱۶/۴۸^{b}	۰/۲۳	۰/۲۱	۰/۲۰	۷/۸۲^{ab}	۰/۰۲^{b}	۰/۰۶
آبی	۰/۲۱^{b}	۰/۱۲^{b}	۰/۰۳۲^{b}	۲۴/۳۲^{a}	۰/۳۵	۰/۳۳	۰/۳۵	۶/۵^{b}	۰/۱۹^{a}	۰/۰۱
قرمز	۰/۳۲^{a}	۰/۱۷^{a}	۰/۰۴۹^{a}	۸/۹۶^{c}	۰/۳۸	۰/۳۶	۰/۳۷	۱۲/۱۰^{a}	۰/۰۵^{b}	۰/۱۰
ترکیب آبی و قرمز	۰/۱۵^{b}	۰/۱۲^{ab}	۰/۰۲۷^{b}	۱۵/۶۴^{bc}	۰/۲۲	۰/۲۱	۰/۲۰	۴/۵۲^{b}	۰/۰۴^{b}	۰/۰۵

در هر ستون، حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار با استفاده از آزمون دانکن است.

شیرین‌بیان: نتایج حاصل از اندازه‌گیری مقدار ترکیبات فنول در ریشه‌های شیرین‌بیان بعد از تیمار با متیل‌جاسمونات نشان داد که بیشترین محتوای فنول در تیمار با غلظت ۱ میکرومولار متیل‌جاسمونات (۱۵/۳۶ **mg/L**) حاصل شد که نسبت به گیاه شاهد ۱/۵۸ برابر افزایش نشان داد. در گیاهچه‌های تیمارشده با غلظت ۲ میکرومولار متیل‌جاسمونات میزان فنول ۱۰/۷۰ میلی‌گرم در لیتر حاصل شد. همچنین کمترین میزان فنول گیاهچه‌ها هم در تیمار با غلظت ۰/۲ میکرومولار به میزان ۱/۴۷ میلی‌گرم در لیتر به دست آمد (جدول ۳). میزان ترکیبات فنل در اثر تیمار با غلظت‌های ۰/۲ و ۰/۱ متیل‌جاسمونات نسبت به گیاه شاهد کاهش نشان داد. تجزیه واریانس حاصل از تیمار نوری بر میزان فنول گیاهچه‌های شیرین‌بیان نشان داد که اثر تیمار نوری بر میزان فنول گیاهچه‌ها در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار است (جدول ۲). نتایج مقایسه میانگین تیمار نوری هم نشان داد که بیشترین میزان فنول در تیمار نور آبی (۲۴/۳۲ mg/L) دیده شد که نسبت به گیاه شاهد ۱/۴۷ برابر بیشتر است. کمترین میزان فنول هم در تیمار نور قرمز به میزان ۸/۹۶ میلی‌گرم در لیتر مشاهده شد و میان ترکیبات فنولی در تیمار با نور قرمز و آبی ۱۵/۶۴ میلی‌گرم در لیتر به دست آمد که نسبت به گیاه شاهد ۰/۹۴ برابر کاهش نشان داد (جدول ۲).

اثر متیل‌جاسمونات و تیمار نوری بر محتوای فلاونوئید شیرین‌بیان: نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر تیمار متیل جاسمونات بر میزان فلاونوئید در طول‌موج ۳۰۰ نانومتر در غلظت یک میکرومولار (۱/۱۷) که نسبت به گیاه شاهد ۲/۳۸ برابر بیشتر است (جدول ۳). نتایج نشان داد که میزان فلاونوئید در طول‌موج ۳۰۰ نانومتر در تمام غلظت‌های متیل‌جاسمونات نسبت به گیاه شاهد بیشتر بود. در غلظت ۰/۲ و ۰/۵ میکرومولار متیل‌جاسمونات میزان قلاونوئید به ترتیب ۰/۹۰ و ۰/۷۳ حاصل شد که نسبت به گیاه شاهد افزایش نشان داد (جدول ۳). بیشترین میزان فلاونوئید در طول‌موج ۳۳۰ نانومتر (۱/۲۷) در غلظت صفر متیل جاسمونات مشاهده شد. در غلظت ۲ میکرومولار متیل‌جاسمونات میزان فلاونوئید (۱/۰۹) بدست آمد که در مقایسه با غلظت های دیگر بیشتر بود. کمترین میزان فلاونوئید در ۰/۵ میکرومولار متیل‌جاسمونات حاصل شد (جدول ۳). همچنین تأثیر تیمار نوری بر محتوای فلاونوئید گیاهچه شیرین‌بیان بی‌معنی بود (جدول ۱).

اثر متیل‌جاسمونات و تیمار نوری بر میزان فعالیت آنزیم فنیل‌آلانین آمونیالیاز (PAL): نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر غلظت‌های مختلف متیل‌جاسمونات بر روی میزان فعالیت آنزیم فنیل‌آلانین آمونیالیاز معنی‌دار نبود (جدول ۱). در مورد اثر تیمار نوری بر میزان فعالیت آنزیم فنیل‌آلانین آمونیالیاز نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر تیمار نوری بر فعالیت این آنزیم در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار بود (جدول ۲). نتایج مقایسه میانگین داده‌ها هم نشان داد که بیشترین میزان فعالیت آنزیم فنیل‌آلانین آمونیالیاز در تیمار نور آبی (۰/۱۹ U/mg protein) مشاهده شد

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-01-07]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1402.12.54.6.6]

که نسبت به گیاه شاهد (۰/۰۲)، ۹/۵ برابر بیشتر بود. در تیمار با نور قرمز میزان این آنزیم ۰/۰۵ و در نور ترکیبی میزان آن ۰/۰۴ واحد مشاهده شد که هر دو نسبت به تیمار شاهد افزایش نشان داد. کمترین میان فعالیت آنزیم در گیاه شاهد حاصل شد (جدول ۴).

اثر متیل‌جاسمونات و تیمار نوری بر میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز: نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر غلظت‌های مختلف متیل‌جاسمونات و همچنین تیمار نوری بر روی میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز معنی‌دار نمی‌باشد (جدول ۳ و ۴).

بحث

نتایج حاصل از تأثیر تیمارهای نوری شامل نور قرمز، آبی و نور ترکیبی قرمز و آبی بر صفات مورفولوژیکی شیرین بیان نشان داد که وزن تر ساقه و ریشه و همچنین وزن خشک کل در تیمار نور قرمز نسبت به تیمار شاهد افزایش معنی‌داری داشت. در پژوهشی بر پاسخ زرین گیاه به شدت و ترکیب‌های مختلف نور در شرایط درون شیشه‌ای، بیشترین میزان باززایی ساقه و تعداد برگ در تیمار نوری ۸۰ درصد قرمز + ۲۰ درصد آبی به دست آمد (Chamani *et al.*, 2022) همچنین در پژوهشی دیگر در پنج تیمار نوری با ترکیبات مختلف، بالاترین وزن تر گیاه در ترکیب نور قرمز و آبی روی نعناع فلفلی (*Mentha piperita*) را گزارش کردند (Heydarizadeh *et al.*, 2014) به علاوه نتیجه پژوهش بر روی گیاه اطلسی (*Petonia hybrida*) نشان داد بیشترین وزن‌های تر و خشک برگساره و ریشه، سطح برگ و قطر ساقه در نسبت‌های نوری ۱۵ درصد آبی و ۸۵ درصد قرمز با شدت ۶۵ میکرومول برمتر مربع بر ثانیه بود (Rashidi *et al.*, 2017). ریزوم گیاه شیرین‌بیان دارای ترکیب فنول، فلاونوئیدی، ایزوفلاونوئیدی، کومارین‌ها و استیلبنوئیدهاست. رنگ زردی که از عصاره شیرین‌بیان استخراج می‌شود به دلیل مقادیر بالای فلاونوئیدی آن است (خاکپور، ۱۳۹۸). در تحقیق حاضر تحت تیمارهای نوری بیشترین محتوای گلیسیریزین (۱۲/۱۰ میکروگرم بر گرم وزن خشک) به عنوان مهم‌ترین و باارزش‌ترین ماده مؤثره شیرین‌بیان در تیمار نور قرمز مشاهده شد و کمترین میزان (۴/۵۲ میکروگرم بر گرم وزن خشک) در تیمار نور ترکیبی قرمز + آبی به دست آمد. Heydarizadeh و همکاران (۲۰۱۴) نور قرمز باعث بهبود درصد اسانس نعناع فلفلی نسبت به شرایط عادی مزرعه شد. احمدی و همکاران (۱۳۹۶) در بررسی تأثیر طیف‌های مختلف نور LED بر شاخص‌های رشد و محتوای رزمارینیک اسید در گیاه بادرنجبویه گزارش دادند که میزان این ماده در اندام هوایی به عنوان مهم‌ترین ماده گیاه در نورهای قرمز نسبت به سایر نورها افزایش معنی‌داری داشت. بیشترین میزان ماده رزمارینیک اسید در نور قرمز به میزان ۴/۶۱۶ میکروگرم بر گرم وزن خشک بود که در راستای نتیجه تحقیق حاضر است. تحقیقات نشان داده است که متیل‌جاسمونات به عنوان مولکول‌های پیام‌رسان مانند الیسیتورهای دیگر، بیان ژن‌های مرتبط با تولید متابولیت‌های ثانویه را در گیاه القا می‌کند. در واقع متیل‌جاسمونات یک تنظیم‌کننده رشد گیاهی است که در فعال‌سازی پاسخ‌های اختصاصی دفاعی گیاه از ترکیبات پیام‌رسان کلیدی محسوب می‌شود. پاسخ‌های دفاعی گیاه هم موجب کاهش تولید مواد اولیه و بیوسنتز و تجمع انواع ترکیبات ثانویه گیاه می‌شود. متیل‌جاسمونات دامنه وسیعی از پاسخ‌های نموی گیاه را تنظیم می‌کند و موقع ایجاد تنش در گیاه، القای بیوسنتز آن‌ها موجب تولید گونه‌های فعال اکسیژن می‌شود (Chen *et al.*, 2013).

ترکیبات فنلی رایج‌ترین گروه از خانواده متابولیت‌های ثانویه بوده که به عنوان ترکیبات دفاعی، نقش مهمی در حذف رادیکال‌های آزاد دارند (پنبه‌کار و همکاران، ۱۳۹۷). از آنجا که نورهای شدید قرمز و آبی برای گیاه شیرین‌بیان می‌تواند به عنوان نوعی تنش عمل نماید احتمالاً با افزایش محتوای ترکیبات آنتی‌اکسیدانی غیرآنزیمی در جلوگیری از تولید و تجمع رادیکال‌های آزاد نقش بسزایی داشته باشد. بر خلاف نتایج حاصل از مطالعه حاضر که بیشترین محتوای فنول در تیمار با نور آبی مشاهده شد بیشتر گزارش‌ها نشان دادند که نور قرمز باعث افزایش قابلیت آنتی‌اکسیدانی شده است. Li و

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-01-07]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1402.12.54.6.6]

همکاران (۲۰۱۱) در کاهو نشان دادند که نور قرمز موجب افزایش میزان ترکیبات فنولیک گردیده است. اینکه چه سازوکاری باعث می‌شود که متابولیت‌های ثانویه گیاهی در برخی گیاهان با نور قرمز و در برخی دیگر با نور آبی القا شود و تجمع یابد هنوز به درستی مشخص نیست ولی به نظر می‌رسد احتمالاً این طول‌موج‌ها با فعال‌سازی بعضی ژن‌های گیاهی مرتبط بوده و از طریق این ژن‌ها موجب افزایش متابولیت‌های ثانویه گیاهی می‌شوند. تولید مواد مؤثره گیاهان دارویی معمولاً تحت تأثیر ژنوتیپ و عوامل محیطی قرار دارد (Heydarizadeh *et al*., 2014). در تحقیق حاضر تیمار نوری موجب افزایش معنی‌داری بر سنتز محتوای ترکیبات فنولی در گیاهچه شیرین‌بیان داشت به‌طوری‌که بیشترین میزان فنول در نور آبی به دست آمد که نسبت به گیاه شاهد افزایش نشان داد. همچنین نتایج تحقیق ما نشان داد که تیمار نوری بر فعالیت آنزیم پراکسیداز معنی‌دار نبود. خلیلی و خانقلی (۱۳۹۹) در مطالعات خود گزارش کردند که نور قرمز موجب افزایش فعالیت آنزیم پراکسیداز نسبت به نور سفید شد که با نتایج مقایسه میانگین داده‌های ما مطابقت داشت. مطالعات مختلف نشان داد که، متیل‌جاسمونات موجب افزایش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی شده و از این طریق موجب کاهش رادیکال‌های آزاد در گیاهان می‌شود. فلاونوئیدها از دسته ترکیبات فنولی بوده که طیف وسیعی از مواد رنگی را شامل می‌شوند. به نظر می‌رسد فلاونوئیدها به عنوان ترکیبات حفاظت‌کننده در مقابل اثرات زیان‌بار اشعه ماورای‌بنفش عمل می‌نمایند (مختاری و همکاران، ۱۳۹۷). در تحقیق حاضر تیمار نوری بر شدت جذب فلاونوئید بی‌معنی بود. از آنجا که نورهای قرمز و آبی به عنوان نوعی تنش غیرزیستی عمل نموده و از این طریق در حذف رادیکال‌های آزاد اکسیژن نقش بسزایی می‌تواند داشته باشد (سلطانی‌نژاد و همکاران، ۱۳۹۲). به نظر می‌رسد در تحقیق حاضر شاید شدت نور به‌کار رفته کافی نبوده باشد. شدت جذب فلاونوئید در ۳۰۰ نانومتر در اثر تیمار با متیل‌جاسمونات در غلظت یک میکرومولار نسبت به دیگر غلظت‌ها بیشتر بود که نسبت به تیمار شاهد ۲/۳۸ درصد افزایش نشان داد. در شدت جذب ۲۷۰ نانومتر بیشترین فلاونوئید نیز در اثر تیمار با غلظت یک میکرومولار حاصل شد؛ اما شدت جذب فلاونوئید در ۳۳۰ نانومتر در گیاهچه‌های بدون متیل‌جاسمونات مشاهده شد که البته با غلظت یک میکرومولار تفاوت معنی‌داری نداشت. محققان بیان کردند که چالکون سنتتاز که پیش‌ساز فلاونوئیدها است به وسیله متیل‌جاسمونات القا می‌شود. گزارش شده است که محتوای فلاونوئید در اثر تیمار با متیل‌جاسمونات افزایش می‌یابد (خان‌پور اردستانی و همکاران، ۱۳۹۳). شبانی و احسان‌پور (۱۳۸۸) گزارش کردند که بیشترین مقدار ترکیبات فلاونوئید در غلظت یک میکرومولار متیل‌جاسمونات به دست آمد که با نتیجه این مطالعه همخوانی دارد. همچنین افزایش در غلظت فلاونوئیدها ناشی از فعالیت زیاد آنزیم فنیل‌آلانین آمونیالیاز و یا سرعت بالای سنتز این آنزیم تحت تنش است که در تحقیق ما نور آبی افزایش معنی‌داری بر فعالیت این آنزیم در سطح احتمال ۵ درصد نشان داد. به‌طوری‌که بیشترین فعالیت آنزیم فنیل‌آلانین آمونیالیاز نسبت به تیمار شاهد ۹/۵ برابر افزایش نشان داد. Heydarizadeh و همکاران (۲۰۱۴) دریافتند که در نور آبی فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز و گلوتاتیون ردوکتاز نسبت به سایر تیمارها به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. به نظر می‌رسد که نورهای LED بتوانند با تحریک رشد و القاء تولید و انباشت متابولیت‌های ثانویه در گیاه به‌طور همزمان تولید و کیفیت گیاه را در محیط‌های کنترل شده در مقایسه با شرایط طبیعی مزرعه افزایش دهند (Kamali *et al*., 2014). آنزیم فنیل‌آلانین آمونیالیاز (PAL) جز آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی هست که نقش دفاعی در گیاهان دارد. این آنزیم در گیاهان حدواسط بین متابولیسم اولیه و ثانویه بوده و به عنوان نخستین آنزیم مسیر فنیل پروپانوئید موجب تبدیل L فنیل‌آلانین به ترانس سینامیک اسید می‌شود و از این طریق منجر به بیوسنتز متابولیت‌های با ارزشی مانند فلاونوئیدها، آنتوسیانین، لیگنین، تانن و دیگر ترکیبات فنلی می‌گردد. PAL به عنوان آنزیم کلیدی در تشکیل ترکیبات فنیل پروپانوئیدی که یکی از مکانیسم‌های دفاعی غیرآنزیمی در گیاهان هست نقش

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-01-07]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1402.12.54.6.6]

اساسی ایفا می‌کند و یکی از شاخص‌های حساس به تغییرات محیطی و نیز یکی از نشانگرهای بیوشیمیایی دفاعی گیاه در مقابل تنش‌های محیطی است (Zhang *et al.*, 2004). همچنین در این تحقیق اثر متیل‌جاسمونات بر فعالیت آنزیم فنیل‌آلانین آمونیالیاز و آنزیم پراکسیداز معنی‌دار نبود. فارسی و همکاران (۱۳۹۹) گزارش کردند که استفاده از متیل‌جاسمونات و جاسمونیک اسید به عنوان محرک در کشت سلولی گیاه ترتیزک فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی را افزایش داد که با نتیجه تحقیق حاضر همخوانی نداشت. به نظر می‌رسد که در این مطالعه محرک متیل‌جاسمونات موجب افزایش فعالیت این آنزیم‌ها نشده ودر نتیجه میزان تولید ترکیبات فلاونوئیدی هم در تحقیق حاضر زیاد قابل توجه نبود چون که در طول‌موج ۲۷۰ نانومتر اثر متیل جاسمونات بی‌معنی بود و در طول موج‌های ۳۰۰ و ۳۳۰ نانومتر هم به ترتیب در غلظت یک میکرومولار و صفر میکرومولار بیشترین شدت جذب فلاونوئید مشاهده شد.

نتیجه‌گیری

در این تحقیق بیشترین میزان گلیسیریزین در تیمار با نور قرمز به دست آمد و در گیاهچه‌های تیمارشده با متیل‌جاسمونات میزان این ماده در غلظت دو میکرومولار نسبت به غلظت‌های دیگر افزایش داشت هر چند بدون تأثیر معنی‌دار و بیشترین میزان فنول در غلظت یک میکرومولار و بیشترین محتوای فلاونوئید در طول‌موج ۳۰۰ نانومتر در غلظت یک میکرومولار متیل‌جاسمونات مشاهده شد و بیشترین فعالیت آنزیم فنیل‌آلانین آمونیالیاز در نور آبی مشاهده شد و نور قرمز نسبت به بقیه تیمارها افزایش معنی‌داری بر رشد و پرآوری گیاه داشت. تحقیقات نشان داده است که میزان مواد مؤثره در گیاهان دارویی و اندام‌های آن‌ها هیچ‌وقت ثابت نبوده و متناسب با مراحل رشدی و شرایط محیطی گیاه قابل تغییر هست. به نظر می‌رسد نورهای قرمز و آبی با تحریک رشد و همچنین القا تولید و تجمع متابولیت‌های ثانویه در گیاه موجب افزایش تولید و کیفیت گیاه در محیط‌های کنترل شده باشند. از آنجا که برخی گیاهان در نور قرمز و برخی دیگر در نور آبی بیشترین سنتز مواد مؤثره را دارند لذا انجام تحقیقات دیگر و بیشتر در مورد تأثیر نورها ضروری به نظر می‌رسد.

منابع

احمدی، ط.، شبانی، ل. و سبزعلیان، م. ر. (۱۳۹۶) بررسی تأثیر طیف‌های مختلف نور LED بر شاخص‌های رشد و محتوای رزمارینیک اسید در *Melissa officinalis* L. مجله فرآیند و کارکرد گیاهی ۶: ۲۲۲-۲۱۳.

امیر مرادی، س.، کاظمی تبار، س.، ابراهیمی، م.، کیانی، غ. و خان احمدی، م. (۱۳۹۹) بررسی تأثیر میواینوزیتول بر زیست توده و میزان متابولیت‌های ثانویه ریشه نابجا گل راعی (*Hypericum perforatum* L.). فرآیند و کارکرد گیاهی ۹: ۱۸۳-۱۶۹.

پنبه کار، ف.، مختاری، ب.، رستگارزاده، س. و کلاهی، م. (۱۳۹۷) بررسی فیتوشیمیایی، سنجش ترکیبات فنلی و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی عصاره ریشه گیاه وتیور (*Chrysopogon zizanioides*). زیست‌شناسی تکوینی ۱۰: ۵۸-۴۵.

خاکپور، ع.، ذوالفقاری، م. و سرخه، ک. (۱۳۹۸) بررسی برخی متابولیت‌های ثانویه گیاه شیرین‌بیان (*Glycyrrhiza glabra* L.) در شرایط فصل پاییز و بهار در استان خوزستان. تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران ۳۵: ۱۰۰-۹۱.

خان‌پور اردستانی، ن.، شریفی، م. و بهمنش، م. (۱۳۹۳) اثر متیل جاسمونات بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی در کشت سلول *Scrophularia straita* Boiss. پژوهش‌های گیاهی (مجله زیست‌شناسی ایران) (علمی) ۲۷: ۸۵۳-۸۴۰

خلیلی، و. و خانقلی، ش. (۱۳۹۹) اثر نورهای LED بر شاخص مورفولوژیک و فیزیولوژیک درگیاه مرزنگوش (*Origanum vulgare* L.). دهمین همایش ملی گیاهان دارویی و کشاورزی پایدار، همدان.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-01-07]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1402.12.54.6.6]

سلطانی‌نژاد، ر.، رضوی‌زاده، ر. و علومی، ح. (۱۳۹۲) بررسی تغییرات میزان برخی متابولیت‌های گیاهچه شیرین‌بیان در تیمار اکسید مس و اکسید روی. زیست‌شناسی گیاهی ایران ۵: ۸۰-۶۷.

شبانی، ل. و احسان‌پور، ع. ا. (۱۳۸۸) القاء آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، ترکیبات فنولیک و فلاونوئید در کشت درون‌شیشه‌ای شیرین‌بیان (*Glycyrrhiza glabra* L.) با استفاده از متیل‌جاسمونات و سالیسیلیک اسید. مجله زیست‌شناسی ایران ۲۲: ۷۰۳-۶۹۱.

شیرازی، ز.، پیری، خ.، میرزایی اصل، ا.، حسنلو، ط. و قیاسوند، ط. (۱۳۹۹) اثر محرکه‌ای اسید سالیسیلیک و متیل‌جاسمونات بر میزان تولید ماده مؤثره گلیسیریزین و ایزولیکویریتیجنین در ریشه‌های مویین شیرین‌بیان. مجله پژوهش‌های گیاهی (مجله زیست‌شناسی ایران) ۲۷: ۴۴۹-۴۴۰.

فارسی، م.، عبدالهی، ف.، صالحی، ا. و قاسمی، ش. (۱۳۹۹) تأثیر متیل جاسمونات بر رشد و مقدار اسانس مرزنجوش (*Origanum majorana*) در شرایط تنش خشکی. پژوهش‌های گیاهی (مجله زیست‌شناسی ایران) (علمی) ۳۳: ۷۱۲-۶۹۸.

گیاهی، ا. و کرامت، د. (۱۳۹۵) معرفی و بررسی کاربردهای شیرین‌بیان و گلیسیریزین موجود در آن به عنوان شیرین‌کننده. دومین همایش ملی علوم و صنایع غذایی.

محسن‌پور، م. (۱۳۹۵) تأثیر نوردهی تکمیلی با نور آبی و فرابنفش A روی برخی ویژگی‌های اگزو فیزیولوژیکی و فیتوشیمیایی نعناع فلفلی. پایان‌نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه بوعلی سینا، همدان.

مختاری، م.، فلاح، س. و رحیمی چگنی، ا. (۱۳۹۷) تأثیر متیل جاسمونات بر تحمل گیاهچه کدوی پوست کاغذی (*Cucurbita pepo* L.) به تنش سرما. تنش‌های محیطی در علوم زراعی ۱۱: ۱۰۵۷-۱۰۴۵.

میرعمادی، پ.، عزت پناه، ح.، لاریجانی، ک.، عزیزی نژاد ر. و متقیان، پ. (۱۳۸۸) مقایسه روش‌های مختلف استخراج گلیسیریزیک از پودر عصاره شیرین‌بیان. علوم غذایی و تغذیه ۸: ۲۷-۲۱.

Chamani, E., Shahbazi Yajlou, R., Azarmi, R. and Pourbeyrami Hir, Y. (2022) Response of *Dracocephalum kotschyi* to different light intensities and combinations under in-vitro condition. Iranian Journal of Horticultural Science and Technology 23: 145-156. (In Persian).

Chandran, H., Meena, M., Barupal, T. and Sharma, K. (2020) Plant tissue culture as a perpetual source for production of industrially important bioactive compounds. Journal of Applied Biotechnology Reports 00450.

Chen, Z., Ricigliano, J. W. and Klessig, D. F. (2013) Purification and characterization of a solublesalicylic acid-Binding protein from tobacco. Proceedings of the Nationalences 90: 9533-9537.

Cheng, G. W. and Breen, P. J. (1991) Activity of phenylalanine ammonia-lyase (PAL) and concentrations of anthocyanins and phenolics in developing strawberry fruit. Journal of American Society Horticultural Science 116: 865-869.

Eghlima, Gh., Sanikhani, M., Kheiry, A., Hadian, J. and Aelaei, M. (2019) Study and comparison of phytochemical and antioxidant activity in different native populations of *Glycyrrhiza glabra* L. from Iran. Eco-phytochemical Journal of Medicinal Plants 26: 65-77.

Esmaeili, H., Karami, A., Hadian, J., Saharkhiz, M. J. and Nejad Ebrahimi, S. (2019) Variation in the phytochemical Sicily and Spain. Nature Medicine 52: 259-264.

Facchini, P. J. and St-Pierre, B. (2005) Synthesis and trafficking of alkaloid biosynthetic enzymes. Current Opinion in Plant Biology 8: 657-666.

Fedina, I. S. and Benderliev, K. M. (2000) Response of scenedesmus incrassatulus to salt stress as affected by methyl jasmonate. Biologia Plantarum 43: 625-627.

Georgiev, V., Slavov, A., Vasileva, I. and Pavlov, A. (2018) Plant cell culture as emerging technology for production of active cosmetic ingredients. Engineering in Life Sciences 18.

Guan, J. Y., Wang, W. W., Ma, M. T., Zhang, S. Y. and Xing, Y. (1995) Investigation of technological preparation on soak of Saussurea involucrate. Journal of Shenyang Pharmacology University 12: 209-211.

Gumerova, E. A., Akulov, A. N. and Rumyantseva, N. I. (2015) Effect of methyl jasmonate on growth characteristics and accumulation of phenolic compounds in suspension culture of tartary buckwheat. Russian Journal of Plant Physiology 62: 195-203.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-01-07]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1402.12.54.6.6]

Gupta, S. D. and Agarwal, A. (2017) Artificial lighting system for plant growth and development: Chronological advancement, working principles, and comparative assessment. In Light emitting diodes for agriculture. Springer, Singapore 1-25.

Heydarizadeh, P., Zahedi, M. and Sabzalian, M. R. (2014) The effect of LED light 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. (In Persian).

Hosseinzadeh, H. and Nassiri-Asl, M. (2015) Pharmacological effects of *Glycyrrhiza* Spp. and its bioactive constituents: Update and review. Phytotherapy Research 29: 1868-1886 (In Persian).

Jasus-Gonzalez, L. D. E. and Weathers, P. J. (2011) Tetraploid *Artemisia annua* hairy roots produce more artemisinin than diploid. Plant Cell Reports 21: 809-813.

Jeffry, H. W., Michael, M. J., Robert, A. and Martin, J. R. (1983) High performance liquid chromatographic determination of glycyrrhizin in licorice products. Journal of Agricultural and Food Chemistry 31: 387-389.

Kamali, M., Khosroyar, S. and Jalilvand, M. R. (2014) Investigation on the composition of phenol, flavonoid, anthocyanin and antioxidant capacity of different aerial organs extract of medicinal *Dracocephalum kotschyi* Bioss plants. Journal of North Khorasan University of Medical Sciences 6: 627-634. (In Persian).

Koo, A. J. and Howe, G. A. (2009) The wound hormone jasmonate. Phytochemistry 70: 1571-1580.

Koroi, S. A. A. (1989) Gel elektrophers tische and spectral photometrischoe under uchungen zomein fiuss der temperature auf straktur and aktritat der amylase and peroxidase isoenzyme. Physiological Journal 20: 15-23.

Li, Y. J., Chen, J., Li, Y., Li, Q., Zheng, Y. F., Fu, Y. and Li, P. (2011) Screeing and haracterization of natural antioxidants in four Glycyrrhiza species by liquid chromatography coupied with electrospary ionization quadrupole time of flight tanden mass spectrometry. Journal of Chromatography A 1218: 8181-8191.

Michalak, A. (2016) Phenolic compounds and their antioxidant activity in plants growing under heavy metal stress. Polish Journal of Environmental Studies 15: 523-530.

Pandey, D. K. and Ayangla, N. W. (2017) Biotechnological aspects of the production of natural sweetener glycyrrhizin from Glycyrrhiza sp. Phytochemistry Reviews 17: 1-34

Portu, J., Lopez, R., Santamaria, P. and Garde-Cerdan, T. (2017) Elicitation with methyl jasmonate supported by precursor feeding with phenylalanine: Effect on Garnacha grape phenolic content. Food Chemistry 237: 416-422.

Rashidi, A., Tehranifar, A. and Nemati, H. (2017) The effect of blue and red spectrum combinations and light intensity on vegetative growth of Petunia seedling. Iranian Journal of Horticultural Science 48:443-446. (In Persian).

Shabani, L., Ehsanpour, A. A., Asgari, G. and Emami, J. (2009) Glycyrrhizin production by in vitro cultured *Glycyrrhiza glabra* elicited by methyl Jasmonate and salicylic acid. Russian Journal of Plant Physiology 56: 621-626.

Vlaisavljevic, S., Sibul, F., Sinka, I., Zupko, I., Ocsovszki, I. and Jovanovic Santa, S. (2019) Chemical composition, antioxidant and anticancer activity of licorice from Fruska Gora locality. Industrial Crops and Products 112: 217-224.

Wasternack, C. (2014) Action of jasmonates in plant stress responses and development - applied aspects. Biotechnology Advances 32: 31-39.

Wongwicha, W., Tanaka, H., Shoyama, Y. and Putalun, W. (2011) Methyl jasmonate elicitation enhances glycyrrhizin production in *Glycyrrhiza inflata* hairy roots cultures. Zeitschrift fur Naturforschung 66: 423-428.

Zakurin, A. O., Shchennikova, A. V. and Kamionskaya, A. M. (2020) Artificial-light culture in protected ground plant growing. Photosynthesis, photo morphogenesis, and prospects of LED application. Russian Journal of Plant Physiology 67: 413-424.

Zhang, C., Yan, Q., Cheuk, W. K. and Wu, J. (2004) Enhancement of tanshinone production in *Salvia miltiorrhiza* hairy root culture by Ag^{+} elicitation and nutrient feeding. Planta Medica 70: 147-151.

Zhou, M. and Memelink, J. (2016) Jasmonate-responsive transcription factors regulating plant secondary metabolism. Biotechnology Advances 34: 441-449.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-01-07]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1402.12.54.6.6]

The effect of methyl jasmonate and light on licorice secondary metabolites (*Glycyrrhiza glabra* L.) under in vitro condition

Mahsa Emami[1], Asghar Estaji[*1], Alireza Ghanbari[1], Zahra Khazaei[1], Hassan Ghorbani Ghouzhdi[2]

[1] Department of Horticulture, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran

[2] Lecturer, Department of Agriculture, Faculty of sciences, University of Gonabad , Khorasan Razavi, Iran

(Received: 06/05/2022, Accepted: 11/10/2022)

Abstract

Medicinal plants contain valuable active compounds that are produced in limited quantities under natural conditions, so the use of methods such as tissue culture and stimulant materials is useful to produce more secondary metabolites in medicinal plants. In this study, the effects of methyl jasmonate and LED lights as two elicitors on physiologic and secondary metabolites in the roots of 30-day-old licorice seedlings in MS media were investigated. In this study, concentrations of zero, 0.2, 0.5, 1 and 2 µM methyl jasmonate as well as blue, red and blue+red light treatments, were used in three replications in a completely randomized design. The results showed that flavonoid content at wavelengths of 300 nm at a concentration of 1 µM methyljasmonate showed a significant increase compared to the control. According to results, the amount of phenolic compounds in methyl jasmonate treatment increased at a concentration of 1 µM and in blue light treatment. The highest activity of phenylalanine ammonialyase was observed in blue light, but the greatest amount of glycyrrhizin (12.10 µg/g FW) was recognized in red light treatment. Also, red light significantly increased the growth and proliferation of plants compared to other treatments. In general, it can be concluded that the use of stimulants such as methyl jasmonate and red and blue lights increases the amount of secondary metabolites in medicinal plants.

Keywords: Blue and red light, Licorice (*Glyccyrhiza glabra* L.), Methyl jasmonate, Tissue culture, Secondary metabolite

Corresponding author, Email: aestaji@yahoo.com

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-01-07]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1402.12.54.6.6]