

بررسی تأثیر طیف‌های مختلف نور LED بر شاخص‌های رشد و محتوای

رزمارینیک اسید در *Melissa officinalis* L.

طیبه احمدی^۱، لیلا شبانی^۱ و محمد رضا سبزیعلیان^۲

^۱ گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد

^۲ گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان، اصفهان ۸۴۱۵۶-۸۳۱۱۱

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۱۰/۱۴، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹۵/۰۲/۲۲)

چکیده:

دیویدهای پخش‌کننده نور (LEDs) می‌توانند نور مورد نیاز برای رشد گیاه را در کیفیت و کمیت ویژه‌ای فراهم آورند. بادرنجبویه (*Melissa officinalis* L.) یکی از مهمترین گیاهان دارویی در دنیا است که کاربردهای زیادی در صنایع دارویی و مواد معطر دارد. ریزوم‌های *M. officinalis* در گلدان کشت داده شد و در اتاقک حاوی لامپ‌های LED با طیف نوری قرمز (۱۰۰٪)، آبی (۱۰۰٪)، ۷۰٪ قرمز به علاوه ۳۰٪ آبی و سفید (۱۰۰٪) با شدت نوری ۳۰۰ میکرومول بر مترمربع بر ثانیه و در شرایط گلخانه‌ای به عنوان نمونه کنترل تجاری قرار داده شدند. بیشترین تعداد ساقه و برگ در هر گلدان در نورهای قرمز و ترکیب قرمز+آبی مشاهده شد و میانگین ارتفاع ساقه گیاهان در تیمار دارای نور قرمز بالاترین میزان بود. همچنین در نورهای LED میزان کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل و کاروتنوئید افزایش یافت اما نسبت کلروفیل a/b تنها در اتاقک دارای LED های قرمز بیشترین مقدار بود. میزان ترکیب رزمارینیک اسید در اندام هوایی در LED های قرمز بالاترین میزان بود، به طوری که این منبع نور سبب افزایش رزمارینیک اسید به اندازه ۳۰/۱۶ درصدی نسبت به LED سفید (که برای نمونه‌های موجود در دستگاه نمونه کنترل محسوب می‌شود) و افزایش ۴۴/۵۲ درصدی در مقایسه با نمونه‌های موجود در گلخانه شده بود، اما این ماده در ریشه‌های گیاهان موجود در گلخانه بیشترین مقدار را نشان داد. از آنجایی که پاسخ گیاهان بادرنجبویه در این پژوهش در شرایط نوری LED نسبت به نمونه‌های گلخانه دارای منابع نوری فلورسنت و نور طبیعی بسیار بهتر بود، بنابراین، برای این گیاه استفاده از منابع نوری مصنوعی مانند LED ها به عنوان منابع نوری جایگزین در گلخانه‌ها جهت بهبود رشد و افزایش مواد مؤثره پیشنهاد می‌شود.

کلمات کلیدی: بادرنجبویه + بهبود رشد + دیویدهای پخش‌کننده نور + متابولیت‌های ثانویه.

مقدمه:

لامیاسه به خاطر ترکیبات فنولی به خصوص رزمارینیک اسید است. رزمارینیک اسید استری از کافئیک اسید بوده و از نظر ساختاری ۳ و ۴-دی‌هیدروکسی فنیل استیک اسید است که اولین بار از برگ‌های رزماری (*Rosmarinus officinalis*) و سپس از گونه‌های دیگری از خانواده لامیاسه و بوراژیناسه

بادرنجبویه گیاهی از راسته Lamiales، خانواده Lamiaceae، جنس *Melissa* و گونه *Melissa officinalis* L. است (Noorul Basar & Zaman, 2013). خواص دارویی مانند خاصیت آنتی‌اکسیدانی، ضدویروسی، ضدافسردگی و ... در خانواده

*نویسنده مسئول، نشانی پست الکترونیکی: lshabani@gmail.com

استخراج گردید (Shekarchi et al., 2012).

رزمارینیک اسید در شرایط درون شیشه دارای فعالیت‌های ضدویروسی مانند ضدویروس HIV-1، ضدباکتریایی و آنتی‌اکسیدانی و ضدسرطانی (Huang & Zheng, 2006) است و در شرایط در زیوه خواصی چون ضدآلرژی و انعقادی (Zou et al., 1993) و ضدسرطانی (Lee et al., 2007) برای آن به اثبات رسیده است. مطالعات مختلفی نشان داده‌اند که فعالیت آنتی‌اکسیدانی این ترکیب از ویتامین E و توکوفرول نیز بالاتر است. امروزه محصولات زیادی از رزمارینیک اسید در زمینه‌های دارویی، عطرسازی و صنایع غذایی تهیه می‌گردد. این ترکیب در گیاهان زیادی وجود دارد اما منبع اصلی آن گیاه رزماری است. این مسئله سبب تقاضای بالا و افزایش قیمت این گیاه شده است (Achamlale et al., 2009) لذا یافتن گیاهان دارای مقادیر بالای این ترکیب برای معرفی به عنوان منابع جدید بسیار با اهمیت است (Shekarchi et al., 2012). رزمارینیک اسید در همه اندام‌های گیاه بادرنجبویه یافت می‌شود. مقدار این ترکیب در برگ ۶ درصد وزن خشک است (Weitzel & Petersen, 2011).

در سال‌های اخیر منابع سنتی نور با دیوهای پخش کننده نور (LED) جایگزین شده‌اند. مزیت استفاده از LED به عنوان منبع مصنوعی نور برای استفاده در رشد کنترل شده محیطی گیاه شامل راندمان بالای تبدیل انرژی، حجم کم، طول عمر بیشتر، طول موج ویژه، شدت و کیفیت قابل تنظیم نور و خروجی گرمایی کمتر می‌باشد. آزمایش‌ها انجام شده در زمینه نور LED در کشت گیاه در اواخر دهه ۱۹۸۰ شروع شده و تاکنون ادامه دارد. تغییرات مورفولوژیک و فیزیولوژیک که تحت تأثیر رنگ‌های مختلف LED ها بودند در بسیاری از گیاهان مثل فلفل، گندم، اسفناج، کاهو، تربچه، توت فرنگی و انگور مطالعه شدند. به خاطر اثرات نامطلوب محیطی و محدودیت زمین‌های کشاورزی، توسعه سیستم‌های خانگی امری ضروری است. برای توسعه سیستم‌های کشت خانگی نیز نورهای مصنوعی بویژه لامپ‌های LED می‌تواند راهگشا باشند. استفاده از ترکیب LED قرمز و آبی سبب افزایش چهار

برابری تولید اسانس در نعنا (Sabzalian et al., 2014) شده است. در گیاهان نعنا فلفلی نیز منابع نوری LED سبب افزایش بیش از چهار برابر درصد اسانس نسبت به شرایط مزرعه شده بود (حیدری زاده و همکاران ۱۳۹۳). افزایش متابولیت‌های ثانویه در پاسخ به نور LED نیز مشاهده شده است (Lefsrud, 2008 Ramakrishna et al., 2011). متابولیت‌های ثانویه در برگ‌های گیاه برنج تحت نورهای مختلف LED نیز متفاوت بوده است به طوری که LED های آبی سبب افزایش میزان فلاونوئیدهای گلوکوزیدی شدند (Sung Jung et al., 2013). در این تحقیق تأثیر طیف‌های مختلف نورهای سفید، قرمز، آبی و قرمز-آبی لامپ‌های LED بر رشد و تولید ماده مؤثره گیاه بادرنجبویه بررسی می‌گردد و با شاخص‌های رشد و میزان رزمارینیک اسید این گیاه در شرایط گلخانه مقایسه خواهد شد.

مواد و روش‌ها:

ماده گیاهی این مطالعه گیاهان *M. officinalis* بود که از مزرعه این گیاه در شهرستان ایوان استان ایلام جمع‌آوری گردید. تعداد سه عدد ریزوم همراه با ساقه هوایی دارای ۳-۴ برگ با طول‌های یکسان در گلدان‌های با قطر ۱۵ سانتی‌متر حاوی خاک لومی- شنی کشت شدند. گلدان‌ها در دستگاه‌های انکوباتور (ساخت شرکت آروین تجهیز اسپادانا، اصفهان) حاوی لامپ‌های LED با طیف نوری قرمز، آبی، قرمز-آبی (به نسبت ۳۰:۷۰) و سفید با شدت نوری ۳۰۰ میکرومول فوتون بر متر مربع بر ثانیه و با تناوب نوری ۱۴ ساعت روشنایی و ۱۰ ساعت تاریکی و دمای 25 ± 2 درجه سانتی‌گراد در سه تکرار و به مدت ۵۱ روز قرار داده شدند. به عنوان نمونه‌های شاهد تعداد ۳ عدد گلدان در گلخانه با شدت نور بین ۳۰۰۰-۴۰۰۰ لوکس و دمای 25 ± 2 درجه سانتی‌گراد و تناوب نوری ۱۳ ساعت روشنایی و ۱۱ ساعت تاریکی نگهداری شدند. کلیه گلدان‌ها هر روز با آب معمولی آبیاری شدند و هفته‌ای یک بار نیز با محلول ۱/۲ (یک دوم) هوگلند آبیاری شدند. پس از ۵۱ روز گیاهان برای نمونه برداری به آزمایشگاه منتقل شدند.

سنجش شاخص‌های رشد: جهت اندازه‌گیری وزن تر و

رسم منحنی استاندارد رزمارینیک اسید، میزان این ترکیب در نمونه‌ها بر اساس میلی‌مول بر گرم وزن خشک محاسبه گردید. تجزیه و تحلیل آماری: این آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار اجرا گردید. تجزیه و تحلیل آماری با استفاده از نرم افزار SAS و MSTATC انجام گرفت و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون حداقل تفاوت معنی‌دار (LSD) ($P < 0.05$) مشخص شد.

نتایج:

نتایج حاصل از تجزیه واریانس تأثیر منبع نور مورد استفاده بر صفات مورفولوژیک *M. officinalis* در جدول ۱ آمده است. جدول تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که صفات مورفولوژیک به غیر از شاخص طول‌ترین ریشه در گلدان اختلاف آماری معنی‌داری در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد نشان دادند.

طبق نتایج به‌دست آمده در این پژوهش بیشترین میزان وزن‌تر و خشک اندام هوایی به ترتیب در نور قرمز و ترکیب نور قرمز+آبی حاصل شد (شکل ۱، a و b). برعکس تحت تأثیر نورهای مختلف، میزان وزن‌تر و خشک ریشه و نسبت وزن خشک ریشه به اندام هوایی در مقایسه با گیاهچه‌های واقع در گلخانه کاهش نشان داد (شکل ۱، c، d و e). مطابق با شکل ۲ و ۳ بیشترین تعداد ساقه و تعداد برگ در گلدان‌ها در نورهای قرمز و ترکیب قرمز+آبی مشاهده شد و در سایر نورها تعداد ساقه و تعداد برگ با نور گلخانه تفاوت معنی‌داری نشان ندادند. میانگین ارتفاع ساقه در نور قرمز بالاترین میزان بود و بقیه نورها هم ارتفاع ساقه بالاتری در مقایسه با نور گلخانه داشتند.

نورهای LED مورد استفاده در این تحقیق تأثیر معنی‌داری بر میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی در گیاهچه‌های بادرنجبویه در مقایسه با نور گلخانه داشتند (جدول ۲). بیشترین مقدار کلروفیل‌های a و b و همچنین کلروفیل کل در نورهای قرمز و ترکیب قرمز+آبی حاصل شد. در حالی که شاخص نسبت کلروفیل a/b، تنها در نور قرمز بالاترین مقدار بود و در بقیه نورها این شاخص با نور گلخانه اختلافی نشان نداد (جدول ۳). همچنین در بین کیفیت‌های مختلف نوری، نور LED قرمز

خشک ریشه و اندام هوایی، ابتدا قسمت‌های هوایی گیاهچه‌ها جدا شد و بعد از قرار دادن آن‌ها در پاکت‌های کاغذی، به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد در آون، نمونه‌های خشک شده بر حسب گرم توزین گردیدند. همچنین تعداد اندام هوایی و برگ موجود در گلدان‌ها و ارتفاع اندام هوایی و طول بلندترین ریشه در گلدان‌ها اندازه‌گیری شد.

سنجش محتوای کلروفیل و کاروتنوئید در اندام هوایی:

برای اندازه‌گیری رنگیزه‌های فتوسنتزی شامل کلروفیل a، b و کاروتنوئیدها از اندام هوایی گیاهان استفاده شد. اندازه‌گیری کلروفیل‌های a و b با روش Arnon (۱۹۴۹) و کاروتنوئید با روش Lichtenthaler (۱۹۸۷) انجام شد. در این روش میزان جذب محلول سانتی‌فریور شده برگ‌های سائیده شده در استون ۸۰٪ در طول موج‌های ۶۴۵، ۶۶۳ و ۴۷۰ نانومتر با دستگاه اسپکتروفوتومتر (مدل JENWAY 6300) خوانده شد و سپس میزان کلروفیل a، b و کاروتنوئیدها برحسب میلی‌گرم در هر گرم وزن‌تر بافت گیاهی محاسبه گردید.

عصاره‌گیری و اندازه‌گیری رزمارینیک اسید: برای

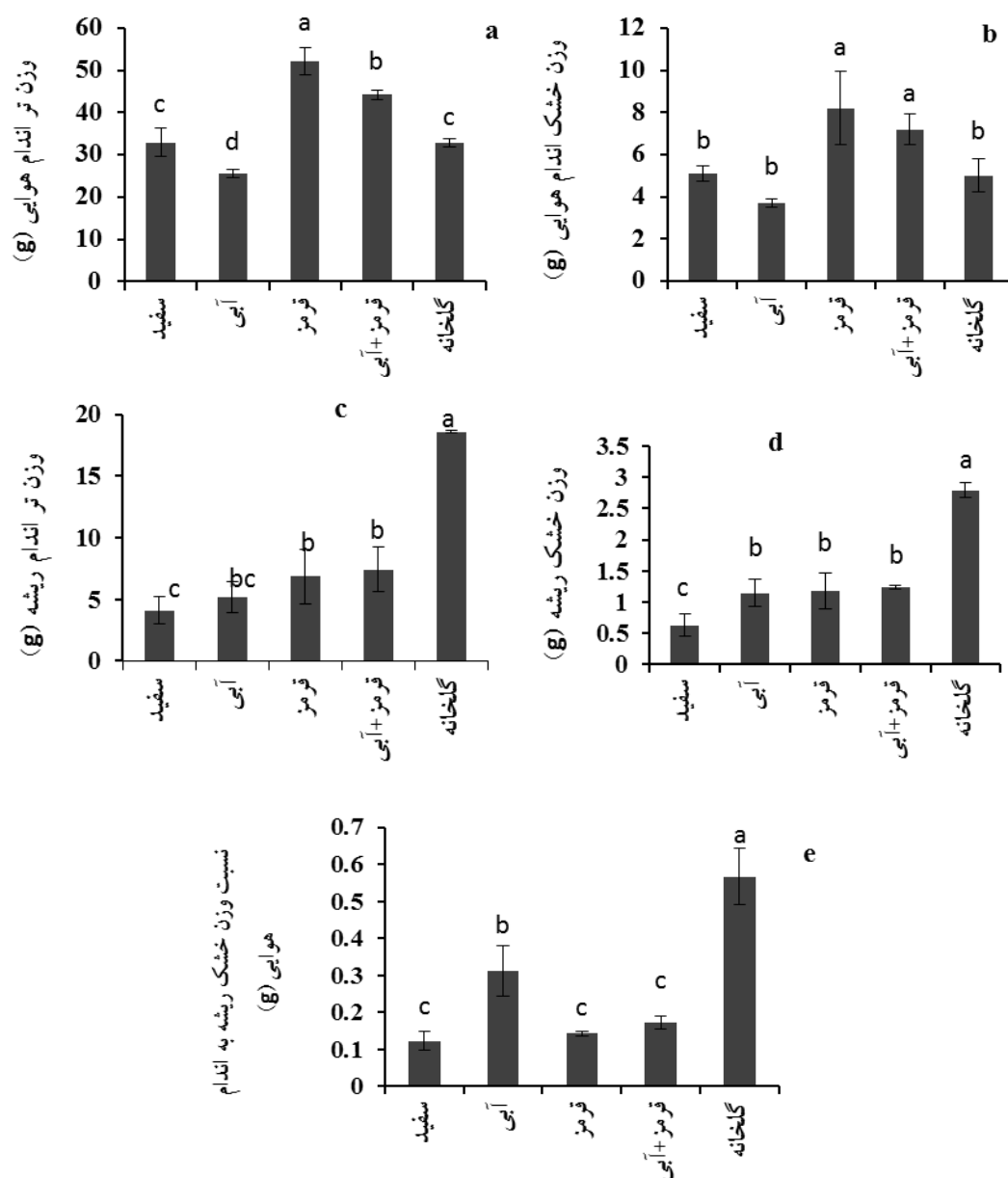
عصاره‌گیری رزمارینیک اسید موجود در گیاهچه‌های بادرنجبویه، ابتدا به اندام هوایی و ریشه‌های خشک و پودر شده متانول اضافه شد و به مدت ۲۴ ساعت در دمای اتاق قرار داده شد. سپس فاز رویی که حاوی رزمارینیک اسید بود در دستگاه روتاری در دمای ۴۰°C تغلیظ شد. عصاره‌های تغلیظ شده با ۱ میلی لیتر اتانول ۹۶٪ مخلوط گردید و از فیلتر $0.22\mu\text{m}$ عبور داده شدند.

سنجش مقدار رزمارینیک اسید نمونه‌ها با روش Öztürk و همکاران (۲۰۱۰) انجام شد. محلول استاندارد رزمارینیک اسید (Sigma) با غلظت ۱ میلی مولار با حل کردن مقدار مشخصی از پودر رزمارینیک اسید در اتانول تهیه گردید. سپس از این محلول استانداردهایی با غلظت ۰، ۰/۰۱ و ۰/۰۲ و ۰/۰۳ و ۰/۰۴ مولار تهیه شدند. برای تعیین میزان رزمارینیک اسید، مقدار ۲۰۰ میکرولیتر از معرف زیرکونیوم ($\text{ZrOCl}_2 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$) به محلول‌های اتانولی نمونه‌ها و استانداردها اضافه شد و پس از ۵ دقیقه جذب نمونه‌ها در ۳۶۲ نانومتر خوانده شد. پس از

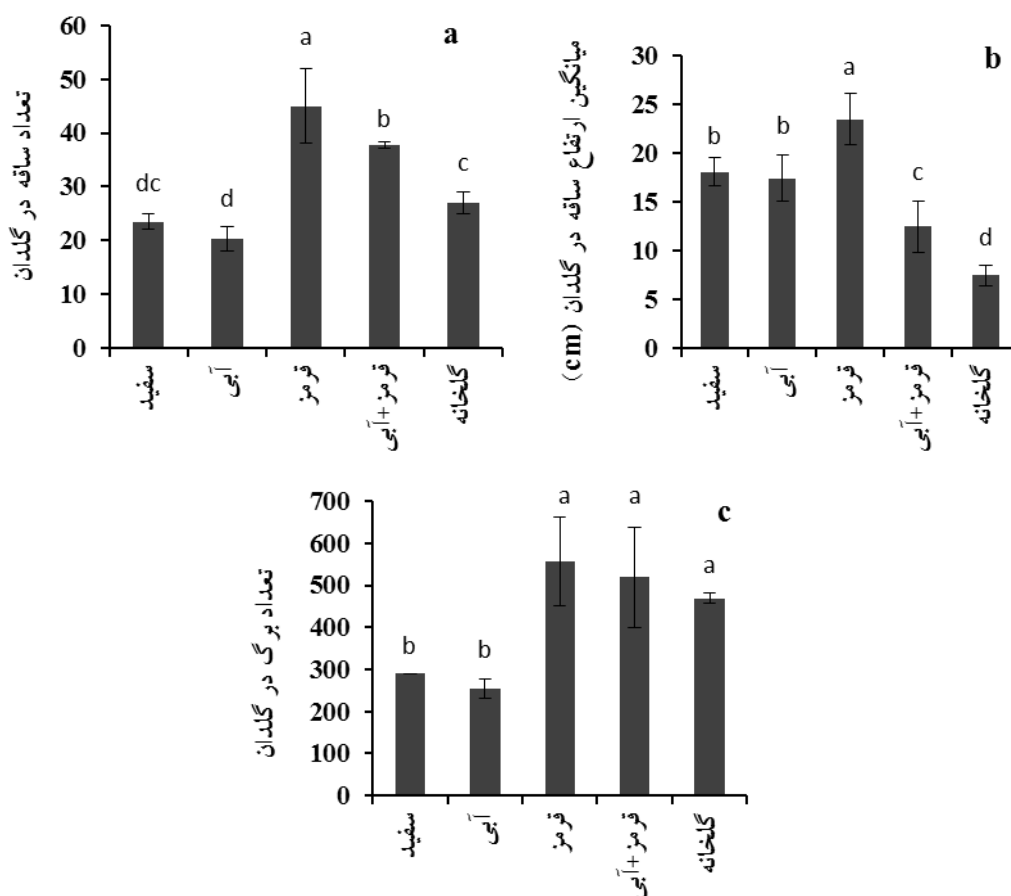
جدول ۱- تجزیه واریانس (مقادیر میانگین مربعات) تأثیر نورهای مختلف بر صفات موفولوژیک در گیاهچه‌های *M. officinalis*.

منابع تغییر	درجه آزادی	وزن تر اندام هوایی	وزن خشک اندام هوایی	نسبت وزن خشک به اندام هوایی	نسبت وزن		میانگین		طول برگ	تعداد برگ	تعداد ریشه
					وزن خشک	ریشه	میانگین	ارتفاع ساقه			
نور	۴	۳۳۵/۴۸**	۹/۹۳**	۰/۱۰۲**	۲/۰۲**	۳۲۰/۸۱**	۱۱۰/۲۸**	۵۶۵۹۳/۶**	۷۳/۲۹ ^{ns}	۵۲/۹۱	۹/۸۵
خطا	۱۰	۴/۸۶	۰/۸۶	۰/۰۰۲	۰/۰۳	۱۱/۹۲	۴/۵۰				

**،* به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال کمتر از ۰/۰۱ و ۰/۰۵ و ns عدم معنی‌داری.



شکل ۱ - تأثیر نورهای مختلف بر وزن تر اندام هوایی (a)؛ وزن خشک اندام هوایی (b)؛ وزن تر ریشه (c)؛ وزن خشک ریشه (d)؛ نسبت وزن خشک ریشه به اندام هوایی (e) در گیاهچه‌های *M. officinalis*. مقادیر، میانگین ۳ تکرار است. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار با استفاده از آزمون LSD در سطح ۰/۰۵ است.



شکل ۲- تأثیر نورهای مختلف بر تعداد ساقه در گلدان (a)؛ ارتفاع ساقه (b)؛ تعداد برگ (c) در گیاهچه‌های *M. officinalis*. مقادیر، میانگین ۳ تکرار است. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار با استفاده از آزمون LSD در سطح ۰/۰۵ است.



شکل ۳ - مقایسه رشد گیاهچه‌های بادرنجبویه تحت تأثیر طیف‌های مختلف نور سفید، آبی، قرمز و ترکیب نور قرمز و آبی در انکوباتور LED با گلخانه.

بالاتر بود (شکل ۴). بیشترین میزان رزمارینیک اسید در نور قرمز به میزان ۴/۶۱۶ میکرومول بر گرم وزن خشک بود. در مقایسه با نور گلخانه نور LED قرمز سبب افزایش ۴۴/۵۲ درصدی میزان رزمارینیک اسید و در مقایسه با نور LED سفید

سبب افزایش معنی‌دار در میزان کارتنوئید در مقایسه با بقیه نورها شد. میزان رزمارینیک اسید موجود در اندام هوایی به صورت معنی‌داری در نورهای قرمز به کار رفته نسبت به سایر نورها

جدول ۲- تجزیه واریانس (مقادیر میانگین مربعات) تأثیر نورهای مختلف بر رنگیزه‌های فتوسنتزی و میزان رزمارینیک اسید اندام هوایی و ریشه در گیاهچه‌های *M. officinalis*

منابع تغییر	درجه آزادی	کلروفیل a	کلروفیل b	کلروفیل کل	کلروفیل a/b	کلروفیل	کاروتنوئید	رزمارینیک اسید برگ	رزمارینیک اسید ریشه
نور	۴	۰/۱۴۴**	۰/۶۰۸**	۱/۲۱**	۰/۲۱۴**	۰/۱۱۵**	۴/۹۶**	۰/۰۱۷**	
خطا	۱۰	۰/۰۱۰	۰/۰۲۹	۰/۰۳۲	۰/۰۲۹۱	۰/۰۰۰۶	۰/۱۰۶	۰/۰۰۰۰۳	

**،* : به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال کمتر از ۰/۰۱ و ۰/۰۵

جدول ۳- تأثیر نورهای مختلف بر میزان کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل، نسبت کلروفیل a به کلروفیل b و کاروتنوئید در گیاهچه‌های *M. officinalis*

نور	میانگین مربعات				
	کلروفیل a	کلروفیل b	کلروفیل کل	نسبت کلروفیل a به کلروفیل b	کاروتنوئید
سفید	۲/۳۵۸ ^a	۳/۷۳۲ ^a	۶/۹۱۳ ^a	۰/۶۳۰ ^b	۲/۳۷۸ ^{bc}
آبی	۱/۲۹۱ ^d	۲/۱۶۳ ^b	۳/۴۵۲ ^{bc}	۰/۵۹۶ ^b	۲/۱۲۳ ^c
قرمز	۱/۶۵۲ ^a	۱/۵۵۶ ^c	۳/۲۰۸ ^c	۱/۹۰۵ ^a	۳/۰۰۰ ^a
قرمز-آبی	۱/۵۷۶ ^{bc}	۲/۴۸۵ ^b	۴/۰۵۳ ^b	۰/۶۳۰ ^b	۲/۶۹۱ ^{ab}
گلخانه	۱/۳۱۳ ^{cd}	۱/۵۳۳ ^c	۲/۸۴۷ ^c	۰/۸۹۳ ^a	۲/۱۴۲ ^c

مقادیر، میانگین ۳ تکرار است. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار با استفاده از آزمون LSD در سطح ۰/۰۵ است.

به نظر می‌رسد که طویل شدن ساقه می‌تواند با برهمکنش‌های مختلف و همزمان گیرنده‌های نور آبی/قرمز و فیتوکروم‌ها بسته به گونه افزایش یافته یا ممانعت شود (Kim et al., 2004b).

با مطالعه رشد گیاه کاهو تحت نورهای مختلف LED، Kim و همکارانش (۲۰۰۴a) نشان دادند که وزن تر گیاه در ترکیب نورهای قرمز و آبی بیشتر از سایر تیمارها بود. با این حال Martineau و همکاران (۲۰۱۲) نشان دادند که نور قرمز در افزایش عملکرد کاهو موثرتر بوده است. با اینکه نور قرمز معمولاً بخش اصلی در طیف نور می‌باشد و به تنهایی برای رشد طبیعی و فتوسنتز گیاه کافی است، ولی طول موج‌های مختلف نور قرمز اثرات نابرابری بر گیاه دارند (Olle and Virsilè 2013). در این تحقیق نیز نور LED قرمز سبب افزایش وزن تر و خشک اندام هوایی، تعداد ساقه، برگ و ارتفاع ساقه در گیاهچه‌های بادرنجبویه نسبت به LED آبی شده بود. حیدری زاده و همکاران (۱۳۹۳) نیز نشان دادند که وزن تر نعنای در محیط نور LED قرمز نسبت به نور آبی بیشتر

افزایش ۳۰/۱۶ درصدی مشاهده گردید. در این تحقیق میزان رزمارینیک اسید موجود در ریشه‌ها نیز اندازه‌گیری شد و به طور قابل توجهی در مقایسه با میزان این ماده در اندام هوایی نتایج عکس حاصل شد، به گونه‌ای که بالاترین میزان رزمارینیک اسید در ریشه‌ها در گلدان‌های موجود در گلخانه حاصل شد.

بحث:

از نظر تئوری و از نظر فیزیولوژیک، محققین معتقدند که عملکرد فوتونی نور قرمز و آبی به تنهایی برای رشد گیاهان کافی است (Kim et al., 2004a). البته برخی هم اعتقاد دارند که در صورت استفاده از نور قرمز، درصد کمی نور آبی نیاز است (Yorio et al., 2001; Massa et al., 2008). در مطالعه‌ای که توسط Poudel و همکارانش (۲۰۰۸) انجام شده بود طول ساقه و میانگره و تعداد برگ گیاهچه‌های انگور رشد یافته در نور LED قرمز در مقایسه با LED های آبی بالاتر بود.

بادرنجبویه ارتباطی میان ارتفاع گیاه و وزن تر و خشک ریشه مشاهده نشد زیرا که وزن تر و خشک ریشه در نمونه‌های موجود در گلخانه بیشترین میزان بود در حالی که نمونه‌های موجود در گلخانه کمترین میزان ارتفاع ساقه را داشتند.

در تحقیقی که Frąszczak و همکارانش (۲۰۱۴) انجام داده بودند و از منابع نوری فلورسنت و LED (به ترتیب با شدت‌های ۱۶۰ و ۱۷۹ میکرومول بر مترمربع بر ثانیه) بر رشد گیاه ریحان و بادرنجبویه استفاده کرده بودند، مشاهده کردند که لامپ‌های فلورسنت نسبت به LED ها برای گیاهان ریحان مفیدتر بودند و گیاهان رشد کرده تحت لامپ‌های فلورسنت با وزن و ارتفاع ساقه بیشتر شناخته می‌شدند. در مورد بادرنجبویه تفاوت‌ها در رشد گیاه بسته به نوع منبع نوری مورد استفاده خیلی قابل توجه نبود. ارتفاع گیاه و سطح برگ گیاهان بادرنجبویه در گیاهان رشد کرده تحت نور LED اندکی بالاتر بود هرچند تفاوت‌ها معنی‌دار نبودند. این در حالی است که در این تحقیق تحت تأثیر نور LED قرمز و ترکیب قرمز+آبی (با شدت ۳۰۰ میکرومول بر متر مربع بر ثانیه) بهبود رشد گیاهان به ویژه در شاخص‌های اندام هوایی در مقایسه با گیاهچه‌های گلخانه مشاهده شد که در مقایسه با تحقیقات قبلی به نظر می‌رسد که این گیاه برای رشد بهتر تحت نورهای مصنوعی به شدت نور بالاتری احتیاج دارد.

نور قرمز طیف مرئی برای نمو دستگاه فتوسنتزی و فتوسنتز نیاز است در حالی که نور آبی برای سنتز کلروفیل، کلروپلاست، باز شدن روزنه و فتومورفوزن مورد نیاز می‌باشد (Singh *et al.*, 2014). میزان کلروفیل گیاهان ریحان تحت لامپ‌های فلورسنت در مقایسه با لامپ LED بیشتر بود ولی در مورد بادرنجبویه منابع نوری (چه فلورسنت و چه LED) اثر معنی‌داری بر میزان کلروفیل ایجاد نکرده بودند (Frąszczak *et al.*, 2014). در تحقیق Poudel و همکاران (۲۰۰۸) میزان کلروفیل برگ انگور تحت LED های آبی بیشترین و تحت LED های قرمز کمترین میزان بود. در حالی که در مطالعه حاضر بیشترین مقدار کلروفیل های a و b و همچنین کاروتنوئید در نورهای قرمز و ترکیب قرمز+آبی حاصل شد.

لذا می‌توان نتیجه‌گیری کرد که عملکرد این گیاهان در LED قرمز نسبت به سایر منابع نوری (چه LED و چه گلخانه) مورد استفاده در این مطالعه بهتر بوده است. همچنین بهبود رشد گیاه بادرنجبویه در ترکیب نورهای LED قرمز+آبی نیز در مقایسه با نور گلخانه دیده شد که نقش تکمیلی نور آبی را بر بهبود رشد گیاه نشان می‌دهد. کمترین میزان عملکرد گیاه بادرنجبویه در شاخص‌های ذکر شده در گیاهچه‌های رشد یافته در گلخانه مشاهده شد. نور آبی سبب ایجاد میانگره‌های کوتاه در گیاهان می‌شود (Johkan *et al.*, 2010) همانطور که از نتایج این تحقیق نیز برمی‌آید میانگین ارتفاع ساقه در گیاهان رشد یافته تحت LED های آبی نسبت به قرمز بطور معنی‌داری کمتر بود.

جایگاه درک نور برای طویل شدن ریشه در ساقه‌ها قرار دارد، ریشه‌ها به شرایط نوری بی‌تفاوت هستند (Vinterhalter *et al.*, 1990). در تحقیقی که توسط Poudel و همکارانش (۲۰۰۸) انجام شد ریشه‌های طویل‌تر تحت نور LED قرمز برای ژنوتیپ Ryuukyuganebu گیاهچه‌های انگور و تحت نور فلورسنت برای ژنوتیپ هیبرید France و Kadainou R-1 مشاهده شده بود. پیک طول‌موج فلورسنت و LED های قرمز بین ۵۹۴ و ۶۹۹ نانومتر قرار داشت. این مطالعه نشان داد که طول‌موج بیشتری برای طویل شدن ریشه ژنوتیپ‌های به کار رفته در آن تحقیق مورد نیاز است. نور ممکن است طویل شدن ریشه را از طریق عمل فتومورفوزنی تحت تأثیر قرار بدهد برای مثال طویل شدن ریشه ممکن است با فیتوکروم کنترل شده باشد (Vinterhalter *et al.*, 1990). در حالی که در تحقیق حاضر نور LED تأثیری بر طول ریشه‌ها نداشت. با توجه به تفاوت دامنه طول موج LED های استفاده شده در این تحقیق (LED سفید با طول موج ۳۸۰-۷۶۰ نانومتر، LED آبی با طول موج ۴۶۰-۴۷۵ نانومتر، LED قرمز با طول موج ۶۵۰-۶۶۵ نانومتر و LED های قرمز+آبی با درصد ۳۰:۷۰ احتمالاً طول‌موج‌های بالاتری برای طویل شدن ریشه ژنوتیپ به کار رفته در این تحقیق نیز مورد نیاز است (نتایج پژوهش حاضر هم بررسی‌های Poudel و همکارانش (۲۰۰۸) را تأیید می‌کند). مطابق نتایج به دست آمده از تحقیق حاضر در گیاهچه‌های

مشابه با این نتایج Amoozgar و همکاران (۱۳۹۲) نیز گزارش کردند که بالاترین میزان کلروفیل و کاروتنوئید در گیاهان کاهو تحت LED های قرمز+آبی بدست آمده بود اما مکانیسم این تغییرات در کاهو هنوز معلوم نشده است. Topchiy و همکاران (۲۰۰۵) گزارش کردند که تفاوت در کیفیت تابش طیف، ترکیب رنگیزه-پروتئین را تحت تأثیر قرار می‌دهد که خصوصیت مهمی برای حالت عملکردی دستگاه فتوسنتزی می‌باشد. در گزارشاتمی توسط Ryberg و همکاران (۲۰۰۶)، Massa (۲۰۱۰) و Niakan و همکاران (۲۰۱۴) بر تأثیر مثبت نور بر رشد و میزان کلروفیل تاکید شده است.

میزان رزمارینیک اسید اندام هوایی گیاهچه‌های بادرنجبویه به صورت معنی‌داری در LED های قرمز به کار رفته نسبت به بقیه LED ها و گلخانه بالاتر بود. بیشترین میزان رزمارینیک اسید در LED قرمز (۴/۶۱۶ میلی‌مول بر گرم وزن خشک) و کمترین آن در LED سفید (۱/۳۹۲ میلی‌مول بر گرم وزن خشک) بود هرچند که در نمونه کنترل میزان این ماده با LED های سفید، آبی و قرمز+آبی تفاوت معنی‌دار نداشت. میزان رزمارینیک اسید در گیاهان ریحان تحت کیفیت‌های مختلف نور به طور قابل توجهی بیشتر از حالتی بود که این گیاه تحت تأثیر الیسیتورهای شیمیایی مانند کیتوزان یا متیل جاسمونات قرار گرفت (Kim et al., 2005; 2006). در مطالعه‌ای که توسط Shiga و همکارانش ۲۰۰۹ انجام شده بود معلوم شد که طیف قرمز برای افزایش تجمع رزمارینیک اسید لازم است. از طرفی در این تحقیق معلوم شد که با افزایش شدت نور از ۱۰۰ میکرومول بر مترمربع بر ثانیه به ۳۰۰ میکرومول بر مترمربع بر ثانیه تولید رزمارینیک اسید افزایش یافته است.

Iwai و همکاران (۲۰۰۸) نشان دادند که تابش نور مصنوعی می‌تواند مقادیر سه دسته از پلی‌فنول‌ها شامل کافئیک اسید، رزمارینیک اسید و لوتئولین-O-۷-گلوکوزید را در *Perilla frutescens* افزایش دهد (شدت نورهای مصنوعی ۳۶۰ میکرومول بر مترمربع بر ثانیه بوده است). از آن جایی که بیوسنتز پلی‌فنول‌ها با گیرنده‌های نور آبی یعنی کریپتوکروم‌ها و فتوتروپین‌ها ارتباط دارند لذا افزایش این سه پلی‌فنول باید با

القای کریپتوکروم‌ها توسط نور تنظیم شده باشد (Kang et al., 2008; Li & Yang 2007). فیتوکروم در تنظیم تولید و تجمع آنتوسیانین هم دخالت دارد (Shin et al., 2007). نتایج این بررسی نشان داد که تابش همزمان LED قرمز و LED آبی سپس بدنالشان تابش UV-A نقش مهمی در تولید این سه ترکیب پلی‌فنولی دارد. از آن جایی که سیتوکروم‌های P450 در بیوسنتز کوماریک اسید از ترانس-سینامیک اسید شرکت می‌کنند و مونواکسیژناز مونوفنول دخیل در بیوسنتز کافئیک اسید از کوماریک اسید در بیوسنتز رزمارینیک اسید، گونه‌های فعال اکسیژن را طی واکنش بیوسنتز درگیر می‌کند، لذا افزایش بیوسنتز این پلی‌فنول‌ها با تولید ROS همراه است. افزایش در این سه ترکیب پلی‌فنولی ممکن است به عنوان جبران‌کننده‌هایی برای حذف ROS های تولید شده از CYP450 و مونواکسیژناز باشند. عمل خاص طول موج‌های استفاده شده با PPFD (Photosynthesis photon flux density) مشخص در این بررسی با بیان سیستم‌های آنزیمی سنتز کننده پلی‌فنول‌ها ارتباط دارد (Iawi et al., 2010). بنابراین با توجه به افزایش میزان رزمارینیک اسید در نور قرمز، این طول موج نور احتمالاً توانسته است با افزایش میزان H_2O_2 به عنوان مولکول سیگنال، مسیر سیگنالینگ H_2O_2 را فعال کرده و این مولکول با فعالسازی رونویسی از ژن‌های درگیر در مسیر پلی‌فنول‌ها باعث افزایش میزان رزمارینیک اسید شده باشد. همچنین در این تحقیق میزان شاخص رشد در اندام هوایی و ریشه‌ها برای تعیین ارتباط احتمالی میان تجمع رزمارینیک اسید و رشد گیاهچه‌های بادرنجبویه تیمار شده با نور LED اندازه‌گیری شد. با توجه به ارتباط مستقیم میان تولید بیوماس و تجمع رزمارینیک اسید هم در اندام هوایی و هم در ریشه‌ها (با میزان ضریب همبستگی به ترتیب ۰/۹۹ و ۰/۹۸) (بالاترین میزان رزمارینیک اسید در ریشه‌ها در گیاهچه‌های رشد یافته در گلخانه که بیشترین بیوماس ریشه را داشتند، حاصل شد)، افزایش رشد القاء شده توسط کیفیت‌های متفاوت نور LED و نور گلخانه ممکن است سنتز رزمارینیک اسید را بهبود بخشیده باشد.

نتایج بدست آمده از تحقیق انجام شده توسط Fraszcak

موجود در گلخانه شد. نور قرمز و ترکیب نور قرمز و آبی سبب افزایش همه خصوصیات فوق بجز وزن تر و خشک ریشه و نسبت وزن خشک ریشه به اندام هوایی شده است به عبارتی موثرترین نورهای LED در این بررسی LED های قرمز و قرمز+آبی بودند. این نورها همچنین سبب مقادیر بالاتر رنگیزه-ها هم شده بود؛ اما ویژگی نسبت کلروفیل a/b تنها در نور قرمز بیشترین مقدار را داشت. در این تحقیق میزان ماده مؤثره و بارزش رزمارینیک اسید تحت شرایط آزمایش شده هم در اندام هوایی هم در ریشه اندازه‌گیری گردید. این میزان در اندام هوایی در گیاهچه‌های رشد یافته تحت LED های قرمز بیشترین مقدار بدست آمد اما در ریشه برعکس در نمونه‌های موجود در گلخانه بیشترین میزان بود. در کل نتایج این تحقیق نشان می‌دهد که کیفیت نور LED می‌تواند جهت بهبود رشد گیاه بادرنجبویه در شرایط گلخانه به کار برده شود.

تشکر و قدردانی:

این پژوهش در قالب طرح تحقیقاتی و با حمایت معاونت پژوهشی دانشگاه شهرکرد انجام پذیرفته است که بدین وسیله قدردانی می‌گردد.

و همکارانش (۲۰۱۴) نشان داده است که توزیع طیفی در استفاده از منابع نوری LED برای هر گونه گیاهی می‌تواند مختص آن گونه باشد و باید برای هر گونه بطور جداگانه شرایط بهینه‌اش را یافت. با توجه به نتایج بدست آمده در این تحقیق در مورد گیاه بادرنجبویه می‌توان پیشنهاد کرد که استفاده از LED های قرمز یا ترکیب LED های قرمز و آبی می‌تواند در رشد بهتر این گیاه از نظر ریختی و فیزیولوژیکی موثرتر باشد. از آنجایی که پاسخ اکثر شاخص‌های رشدی و فیزیولوژیک و همچنین میزان ماده مؤثره رزمارینیک اسید در گیاه بادرنجبویه در این تحقیق تحت منابع نوری LED بسیار بهتر از نمونه‌های کنترل می‌باشد پس استفاده از منابع نور مصنوعی LED می‌تواند به عنوان منابع جایگزین نورهای رایج در گلخانه‌ها نیز پیشنهاد شود.

نتیجه‌گیری:

در این تحقیق استفاده از منابع نوری LED تأثیر مثبت و معنی‌داری بر تمام خصوصیات مورفولوژیک (مانند وزن تر و خشک اندام هوایی، میانگین تعداد ساقه و ارتفاع ساقه و تعداد برگ) داشت و سبب افزایش این صفات نسبت به نمونه‌های

منابع:

- حیدری زاده، پ.، زاهدی، م. و سبزیلیان، م. ر. (۱۳۹۳) تأثیر نور LED بر عملکرد گیاه، درصد اسانس و میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان در نعنای فلفلی (*Mentha piperita*). فرآیند و کارکرد گیاهی. جلد ۳، شماره ۸.
- Achamlale, S., Rezzonico, B., Grignon-Dubois, M. (2009) Rosmarinic acid from beach waste: Isolation and HPLC quantification in *Zostera detritus* from Arcachon lagoon. Food Chemistry 113:878–83.
- Amoozgar, A., Mohammadi, M. and Sabzalian, M.R. (1392) Light-emitting diode technology to promote growth and quality of Lettuce. The 1st International Conference on New Ideas in Agriculture.
- Arnon, D. I. (1949) Cooper enzymes in isolated chloroplasts. Phenol-oxidase in *Beta vulgaris*. Plant Physiology 24: 1-15.
- Frąszczak, B., Golcz, A., Zawirska-Wojtasiak, R. and Janowska, B. (2014) Growth rate of sweet basil and lemon balm plants grown under fluorescent lamps and LED modules. Acta Scientiarum Polonorum Hortorum Cultus 13: 3-13.
- Huang, S.S, Zheng, R.L. (2006) Rosmarinic acid inhibits angiogenesis and its mechanism of action in vitro. Cancer Letters; 239:271–80.
- Iwai, M., Ohta, M., Tsuchiya, H. and Suzuki, T. (2010) Enhanced accumulation of caffeic acid, rosmarinic acid and luteolin-glucoside in red perilla cultivated under red diode laser and blue LED illumination followed by UV-A irradiation. Journal of Functional Foods 2: 66–70.
- Johkan, M., Shoji, K., Goto, F., Hashida, S., Yoshihira, T. (2010) Blue light – emitting diode irradiation of seedlings improves seedling quality of growth after transplanting in red leaf lettuce. Hort Science 45: 1809–1814.
- Kang, B., Grancher, N., Koyffman, V., Lardemer, D., Burney, S., and Ahmed, M. (2008) Multiple interactions between cryptochrome and phototropin blue-light signaling pathways in Arabidopsis thaliana. Planta 227: 1091–1099.
- Kim, H.J, Chen, F., Wang, X., Rajapakse, N.C. (2005) Effect of chitosan on the biological properties of sweet basil (*Ocimum basilicum* L.). Journal of Agriculture and Food Chemistry 53: 3696–370.

- Kim, H. J., Chen, F., Wang, X. and Rajapakse, N.C. (2006) Effect of methyljasmonate on secondary metabolites of sweet basil (*Ocimum basilicum* L.). *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 54: 2327–2332.
- Kim, H. H., Goins G. D., Wheeler R. M. and Sager J. C. (2004a) Green-light supplementation for enhanced lettuce growth under red- and bluelight-emitting diodes. *HortScience* 39:1617–1622.
- Kim, S., Hahn, E. J., Heo, J. W., Paek, K. Y. (2004b) Effect of LEDs on net photosynthetic rate, growth and leaf stomata of chrysanthemum plantlets in vitro. *Science Hort* 101:143–151.
- Lefsrud, M.G. (2008) Irradiance from Distinct Wavelength Light-emitting Diodes Affect Secondary Metabolites in Kale. *Hortscience* 43:2243–2244.
- Lee, J., Kim, Y. S., Park, D. (2007) Rosmarinic acid induces melanogenesis through protein kinase an activation signaling. *Biochemistry Pharmacology* 74:960–8.
- Li, Q. H., and Yang, H.Q. (2007) Cryptochrome signaling in plants. *Journal of Photochemistry and Photobiology* 83: 94–101.
- Lichtenthaler, H. (1987) Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. *Method of Enzymology* 148: 320-382.
- Martineau, V., Lefsrud, M., Naznin, M.T. and Kopsell, D.A. (2012) Comparison of lightemitting diode and high-pressure sodium light treatments for hydroponics growth of Boston lettuce. *HortScience* 47: 477-482.
- Massa, G. D. (2010) Plant Productivity in Response to LED Lighting. *Hortscience* 43: 20-28.
- Massa, G. D., Kim, H. H., Wheeler R. M. and Mitchell, C. A. (2008) Plant Productivity in Response to LED Lighting. *Hortscience* 43:1951-1956.
- Niakan, M., Rezapour Mahjoob, Sh. and Ghorbanli, M. (2014) compounds of *Datura* (*Datura stramonium* L.) in response to salinity stress under hydroponic conditions. *Journal of Science and Technology. Greenhouse Culture* 6:11-20.
- Noorul Basar, S. and Zaman, R. (2013) An Overview of Badranjboya (*Melissa officinalis*). *International Research Journal of Biological Sciences* 2: 107-109.
- Olle, M. and Viršilė, A. (2013) The effects of Light-emitting diode lighting on greenhouse plant growth and quality. *Agricultural and Food Science* 22: 223-234.
- Öztürk, M., Duru, M.E., Ince, B., Harmandar, M. and Topcu, G. (2010) A new rapid spectrophotometric method to determine the rosmarinic acid level in plant extracts. *Food Chemistry* 123: 1352–1356.
- Poudel, P., Kataoka, I. and Mochioka, R. (2008) Effect of red- and blue-light-emitting diodes on growth and morphogenesis of grapes. *Plant Cell Tissue and Organ Culture* 92:147–153.
- Ramakrishna, A. and Ravishankar, G. A. (2011) Influence of abiotic stress signals on secondary metabolites in plants. *Plant Signaling and Behavior* 6: 1720-1731.
- Ryberg, H., Axelsson, L., Widell, K. and Virgin, H. (2006) Chlorophyll b accumulation and grana formation in low intensities of red light. *Physiologia Plantarum*, 431–436.
- Sabzalian, M. R., Heydarizadeh, P., Zahedi, M., Boroomand, A., Agharokh, M., Sahba, M. R. and Schoefs, B. (2013) High performance of vegetables, flowers, and medicinal plants in a red-blue LED incubator for indoor plant production. *Agronomy for Sustainable Development* 34: 879-886.
- Shekarchi, M., Hajimehdipoor, H., Saeidnia, S., Gohari, A.R. and Pirali Hamedani, M. (2012) Comparative study of rosmarinic acid content in some plants of Labiatae family. *Pharmacognosy Magazine* 8: 37-41.
- Shiga, T., Shoji, K., Shimada, H., Hashida, Sh., Goto, F. and Yoshihara, T. (2009) Effect of light quality on rosmarinic acid content and antioxidant activity of sweet basil, *Ocimum basilicum* L. *Plant Biotechnology* 26: 255–259.
- Shin, J., Park E., and Choi, G. (2007) PIF3 regulates anthocyanin biosynthesis in an HY5-dependent manner with both factors directly binding anthocyanin biosynthetic gene promoters in *Arabidopsis*. *The Plant Journal* 49: 981–984.
- Singh, D., Basu, Ch., Meinhardt-Wollweber, M. and Roth, B. (2014) LEDs for Energy Efficient Greenhouse Lighting. Hannover Centre for Optical Technologies, Nienburger Str. 17, 30167 Hannover, Germany.
- Sung Jung, E., Lee, S., Lim, S., Ha, S., Liu, K. and Lee, C.H. (2013) Metabolite profiling of the short-term responses of rice leaves (*Oryza sativa* cv. Ilmi) cultivated under different LED lights and its correlations with antioxidant activities. *Plant science* 210: 61-69.
- Topchiy, N. M., Sytnik, S. K., Syvash, O. O., Zolotareva, O. K. (2005) The effect of additional red irradiation on the photosynthetic apparatus of *Pisum sativum*. *Photosynthetica* 43:451–456.
- Vinterhalter, D., Grubišić, D., Vinterhalter, B., Konjević, R. (1990) Light controlled root elongation in in vitro cultures of *Dracaena fragrans* Ker-Gawl. *Plant Cell Tissue and Organ Culture* 22:1–6.
- Weitzel, C. and Petersen, M. (2011) Cloning and characterization of rosmarinic acid synthase from *Melissa officinalis* L. *Phytochemistry* 72:572–578.
- Yorio, N. C., Goins, G. D., Kagie, H. R., Wheeler, R. M., and Sager, J. C. (2001) Improving spinach, radish, and lettuce growth under red light-emitting diodes (LEDs) with blue light supplementation. *HortScience* 36:380–383.
- Zou, Z. W., Xu, L. N, Tian, J. Y. (1993) Antithrombotic and antiplatelet effects of rosmarinic acid, a water-soluble component isolated from radix *Salviae miltiorrhizae* (danshen). *Acta Pharmaceutica Sinica* 28:241–245.