تأثیر نور UV-A و UV-B بر تولید رزمارینیک اسید و کافئیک اسید در کشت کالوس نوروزک (*Salvia leriifolia* Benth.)

سمیه جوکار[۱]، زیبا قسیمی حق[۲*]، معصومه مدرس[۳] و حجت اله بداقی[۲]

[۱و۲] گروه علوم باغبانی و گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی شاهرود

[۳] گروه زیست شناسی، پردیس شهید هاشمی نژاد، دانشگاه فرهنگیان خراسان رضوی، مشهد

(تاریخ دریافت: ۱۳۹٦/۱۰/۱۰، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹۷/۰۳/۰۵)

چکیده

با توجه به اهمیت دارویی گیاه نوروزک، در پژوهش حاضر ابتدا کالوس‌زایی با ریزنمونه‌های ریشه و برگ در ترکیب اکسین‌های NAA و2,4-D با سایتوکنین Kin در محیط پایه MS بهینه‌سازی شد. نتایج نشان داد از ریزنمونه برگ و ریشه در محیط حاوی NAA، کالوسی تولید نشد، در حالیکه با 2,4-D، مناسب‌ترین کالوس برخاسته از نمونه برگ در محیط حاوی ۱ میلی‌گرم در لیتر Kin و ۲ میلی‌گرم در لیتر 2,4-D بدست آمد. سپس اثر الیسیتورهای نوری UV-A و نور UV-B در دو زمان (۳۰ و ٦۰ دقیقه) در کالوس‌های برخاسته از برگ در محیط 2,4-D بر محتوای فنلی، فلاونوئیدی، رزمارینیک اسید و کافئیک اسید مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که نور UV-A و UV-B باعث افزایش فنل کل، فلاونوئید، رزمارینیک اسید و کافئیک اسید در کالوس گیاه نوروزک گردید. بیشترین وزن تر، محتوی فنل و فلاونوئید در تیمار ۳۰ دقیقه نور UV-A و بالاترین محتوای رزمارینیک اسید و کافئیک اسید در تیمار ۳۰ دقیقه نور UV-B مشاهده شد. در کل، با بهینه سازی الیسیتور نور UV می‌توان محتوی متابولیت ثانوی نظیر کافئیک اسید را در کشت کالوس تحت تأثیر قرار داد.

کلمات کلیدی: پرتو فرابنفش A، پرتو فرابنفشB، رزمارینیک اسید، کافئیک اسید، نوروزک (*Salvia leriifolia*)

مقدمه

نوروزک (*Salvia leriifolia* Benth) متعلق به جنس مریم گلی و از خانواده نعناعیان (Lamiaceae) گیاهی چندساله، علفی، بسیار معطر و از جمله گیاهان با ارزش مناطق کویری ایران است. از متابولیت‌های ثانوی با ارزش موجود در این گیاه، به ترتیب فراوانی می‌توان به ترپنوئیدها، ساپونین‌ها، فلاونوئیدها، تانن‌ها و آلکالوئیدها اشاره کرد (Rechinger, 1982 ؛ طباطبائی یزدی، ۱۳۷٤) که در بین متابولیت‌های ثانوی موجود در جنس مریم گلی، پلی فنل‌هایی مانند کافئیک اسید و رزمارینیک با خواص آنتی‌اکسیدانی به گروه فلاونوئیدها تعلق دارند (Kahkonen *et al*., 1999). کافئیک اسید در بیوشیمی تیره نعناعیان، واحد سازنده انواع متابولیت‌های فنلی از منومرهای ساده تا انواع فراورده‌های الیگومری است. رزمارینیک اسید فراوان‌ترین دیمرکافئیک اسید و مهم‌ترین ترکیب فنلی است که فعالیت آنتی‌اکسیدانی گونه‌های مریم گلی را به طور عمده به علت وجود این ترکیب می‌دانند (Lu and Foo, 2002; Kamatou, 2008). از آنجایی که سنتز شیمیایی این متابولیت‌ها معمولاً پیچیده و پرهزینه است، بنابراین تولید متابولیت‌ها با

*نویسنده مسؤل، نشانی پست الکترونیکی: zghasimi@shahrood.ac.ir; z_ghasimi@yahoo.com

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-25]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1398.8.32.14.2]

روش‌های مختلف فناوری کشت بافت گیاهی، جایگزین سودمندی است. لذا بهینه‌سازی تولید کالوس در این ارتباط حائز اهمیت است. از جمله عواملی که در تولید کالوس مؤثرند، ژنوتیپ، تنظیم کننده‌های رشد، محیط کشت، نوع کربوهیدرات، نوع ریز نمونه و شرایط محیطی است (Han *et al*, 2011). در گیاه نوروزک در محیط کشت پایه MS، با استفاده از ریز نمونه برگ در محیط حاوی ۵ میلی‌گرم در لیتر BAP توأم با ۵ میلی‌گرم در لیتر NAA و ۱ میلی‌گرم در لیتر Kin توأم با ۳ میلی‌گرم در لیتر 2,4-D و با استفاده از ریزنمونه مریستم جوانه انتهایی در ترکیب ۱ میلی‌گرم در لیتر Kin با ۲ میلی‌گرم در لیتر 2,4-D کالوس‌زایی انجام شد (مدرس و همکاران، ۱۳۹۲؛ Modarres *et al.*, 2014). دست‌ورزی محیط‌های کشت بافت از جمله کشت کالوس با استفاده از الیسیتورها یکی از راهکارهای مهم جهت القای متابولیسم ثانوی و افزایش تولید متابولیت‌های ارزشمند است. عوامل مختلفی مانند غلظت الیسیتور، سن محیط کشت، زمان افزودن الیسیتور به محیط کشت و مدت زمانی که محیط در معرض الیسیتور قرار می‌گیرد بر افزایش تولید متابولیت‌های ثانوی تأثیرگذار است (Vasconsuelo and Boland, 2007). تابش فرابنفش یا به اختصار UV، موجی در گستره امواج الکترومغناطیسی با طول موج کوتاه‌تر از نور مرئی، ولی بلندتر از پرتو ایکس است. به بیانی دیگر انرژی آن کمتر از پرتو ایکس، ولی بیشتر از نور مرئی است. این پرتو را می‌توان به سه دسته تقسیم کرد: پرتو فرابنفش A با علامت اختصاری UV-A دارای طول موج ٤۰۰-۳۲۰ نانومتر است، موج بلند یا نور سیاه که توسط لایه ازون جذب نمی‌شود. پرتو فرابنفش B با علامت اختصاری UV-B دارای طول موج ۳۲۰-۲۸۰ نانومتر است که بیشتر آن توسط لایه ازون جذب می‌شود. پرتو فرابنفش C با علامت اختصاری UV-C دارای طول موج ۲۸۰-۲۰۰ نانومتر است، موج کوتاه که کاملاً توسط لایه ازون و جو زمین جذب می‌شود (Booij-James *et al.*, 2000). بررسی‌ها نشان داده است که تابش نور UV-A در گیاه رزماری (رحیمی‌ریزی و همکاران، ۱۳۹۳) و در آرتیشو باعث افزایش فنل کل شد (شاهبداغلو و همکاران، ۱۳۹۳). مطالعات Manaf و همکاران (۲۰۱٦) نشان داد، نور UV-B باعث افزایش تمام پارامترهای رشدی، فعالیت آنتی اکسیدانی و مقدار کافئیک اسید در کالوس و کشت سلولی گیاه سرخارگل (*Echinacea purpurea*) می‌شود و ٤ ساعت بعد از تیمار در کشت سلولی این گیاه، حداکثر افزایش مقدار کافئیک اسید، فنل کل و آنزیم فنیل آلانین آمونیالیاز مشاهده شد. نور UV-B به عنوان عاملی برای القاء فنل در گیاهان شناخته شده است که برای این عمل به مسیر شیکمیک اسید و فنیل‌آلانین و از این رو به DAHP سنتتاز نیاز دارد (Day and Neale, 2002). پرتو UV-B باعث افزایش میزان فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیالیاز (PAL) و ترکیبات جاذب UV در گیاه بادرنجبویه تحت تأثیر پرتوهای UV-B شد (پوراکبر و عابد زاده، ۱۳۹۳). Pan و همکاران (۲۰۱٤) نشان دادند که در گیاه درمنه خزری (*Artemisia annua*) این اشعه به عنوان محرکی در تولید ماده مؤثره آرتمیزین است. با توجه به اهمیت اقتصادی متابولیت‌های گیاهی و افزایش تقاضا، محققین به دنبال روش‌هایی به منظور تولید هر چه بیشتر این ترکیبات هستند. با توجه به عدم گزارشات اثر اکسین NAA با سایتوکینین Kin در ریز نمونه برگ و ریشه و 2,4-D با سایتوکینین Kin در ریز نمونه ریشه در کالوس‌زایی گیاه نوروزک، در این پژوهش پس از بهینه سازی کالوس زائی، تأثیر دو نور UV-A و UV-B بر تولید متابولیت‌های ثانوی نوروزک مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

تهیه گیاهان استریل درون شیشه‌ای: این تحقیق در سال ۱۳۹٦ در دانشگاه صنعتی شاهرود در دانشکده کشاورزی انجام گرفت. بذرهای گیاه نوروزک از منطقه بجستان واقع در استان خراسان رضوی در خرداد ماه جمع‌آوری شدند. برای جوانه‌زنی بهتر و رفع نیاز سرمایی، به مدت سه هفته در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد نگه‌داری شدند. ضدعفونی بذرها طبق روش مدرس و همکاران (۱۳۸٦) انجام شد ابتدا پوسته سخت بذرها جدا شدند و بلافاصله به مدت دو ساعت در آب استریل

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-25]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1398.8.32.14.2]

قرار گرفتند تا کاملاً متورم شوند. جهت ضدعفونی در زیر هود ابتدا به مدت ۳۰ ثانیه در الکل ۷۰ درصد و در ادامه ۳ دقیقه در محلول هیپوکلریت سدیم ۳ درصد قرار گرفتند و در نهایت ۳ بار با آب مقطر استریل آبشویی شده و اقدام به جداسازی پوسته نازک بذر گردید. جهت ایجاد گیاهچه‌های استریل از ریزنمونه های برگ و ریشه، رویان چند میلی‌متری از بذرهای استریل شده به کمک پنس و سوزن‌های استریل، با دقت جدا شد و در شیشه‌های کشت حاوی محیط MS، کشت داده شدند و به شرایط تاریکی به مدت یک هفته با دمای ۲±۲۵ درجه سانتی گراد انتقال داده شدند. بعد از یک هفته جنین‌های با رشد اولیه به اتاق رشد با شرایط فتوپریود ۱٦ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی و دمای ۲±۲۵ درجه سانتی گراد انتقال یافتند و پس از ٤ هفته گیاهان استریل نوروزک درون شیشه‌ای حاصل شدند.

تأثیر اکسین‌های NAA و 2,4-D با Kin در کالوس‌زایی از جداکشت‌های برگ و ریشه: برای بررسی تأثیر اکسین‌های NAA با چهار غلظت (صفر، ۱، ۲ و ۳ میلی‌گرم در لیتر) و 2,4-D با پنج غلظت (صفر،۱، ۱/۵، ۲ و ۲/۵ میلی‌گرم در لیتر) در ترکیب با سه غلظت سایتوکنین Kin (صفر، ۰/۳ و۱ میلی‌گرم در لیتر) در کالوس‌زایی، آزمایش‌های فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار (پنج ریزنمونه در هر تکرار) انجام شد. از گیاهان نوروزک استریل ریزنمونه‌های ریشه و برگ ۱ سانتی‌متری جدا شدند. محیط کشت پایه در آزمایش‌ها، MS حاوی ۳۰ گرم در لیتر ساکارز بود. ریزنمونه‌ها جهت تولید کالوس در تاریکی با دمای ۲±۲۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. پس از گذشت چهار هفته صفات مورفولوژیکی اندازه گیری شدند.

القای الیسیتورهای نور UV-A و UV-B: از بین تیمارهای مختلف هورمونی، مناسب‌ترین تیمار با ریزنمونه برگ برای القای الیسیتور نور UV-A و UV-B در آزمایشی به صورت طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار و در هر تکرار پنج ریزنمونه استفاده شد. برای اعمال الیسیتورهای نوری، از LEDهای حاوی نور UV-A و UV-B به فاصله ۳۰ سانتی‌متر از ظروف کشت و در دو سطح (۳۰ و ٦۰ دقیقه روزانه) استفاده شد. در نهایت کشت‌ها پس از اعمال تیمار نوری روزانه، در همان شرایط نگهداری کالوس‌زایی نگهداری می‌شدند.

اندازه‌گیری صفات مورفولوژیکی کالوس‌ها: پس از گذشت ٤ هفته (اوایل هفته پنجم) ویژگی‌های ظاهری کالوس‌ها شامل درصد کالوس‌زایی، رنگ کالوس، نوع کالوس (برش با پنس) و قطر کالوس (توسط دستگاه کولیس) ثبت و اندازه گیری شد. درصد کالوس‌زایی براساس نسبت تعداد ریز نمونه‌های دارای کالوس به تعداد کل ریزنمونه‌های کشت شده در یک ظرف کشت محاسبه گردید. میانگین وزن آنها به صورت میانگین مجموع وزن تر بررسی گردید. برای اندازه‌گیری وزن خشک، کالوس‌های مورد نظر در ورق آلومینیومی بسته‌بندی و در دمای ۸۰ درجه سانتیگراد به مدت ۳٦ ساعت در آون قرار داده شد و در نهایت وزن خشک کالوس‌ها محاسبه گردید (تنوری و همکاران، ۱۳۹۳).

سنجش اسیدهای فنلی، فنل کل: سنجش فنل کل به روش فولین- سیوکالتیو انجام شد (Singleton and Rossi, 1965). ابتدا ۰/۵ گرم از کالوس‌های تازه را در ۳ میلی‌لیتر متانول ۸۰ درصد همگن و به مدت ۳ ساعت در بن ماری (حمام آب گرم) با دمای ۷۰ درجه سانتیگراد قرار داده شد. سپس با سرعت ۹۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه (دو بار) سانتریفیوژ و عصاره متانولی از رسوب جدا شد. این عصاره برای سنجش فنل کل و فلاونوئید استفاده شد. به ۵۰ میکرولیتر عصاره متانولی، ۵۰۰ میکرولیتر محلول فولین- سیوکالتیو اضافه شد. به مخلوط حاصل پس از ۵ دقیقه ۵۰۰ میکرو لیتر محلول سدیم کربنات ۷ درصد اضافه و جذب پس از ۱۰ دقیقه در طول موج ۷٦۵ نانومتر قرائت شد. برای شاهد نیز به جای عصاره متانولی از متانول ۸۰ درصد استفاده شد. آزمایش سه بار تکرار و میانگین آنها گزارش گردید.

فلاونوئید کل: به یک میلی‌لیتر از عصاره متانولی ۲۵۰ میکرولیتر از محلول کلرید آلومینیوم ۱۰ درصد و ۲۵۰ میکرو لیتر پتاسیم استات یک مولار اضافه کرده و جذب نمونه‌ها در

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-25]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1398.8.32.14.2]

طول موج ٤١٥ نانومتر خوانده شد (Akkol *et al.*, 2008). میزان فلاونوئید کل بر اساس منحنی استاندارد روتین (Rutin) محاسبه شد.

رزمارینیک اسید: برای عصاره‌گیری و سنجش رزمارینیک اسید از روش Tepe (۲۰۰۷) استفاده شد. در این روش بیومس تر کالوس (۰/۵ گرم) پس از توزین، در مقدار ۲۰ میلی‌لیتر اتانول ۵۰ درصد به خوبی سائیده و به مدت یک ساعت در بن ماری ۷۰ درجه سانتی‌گراد نگه‌داری شد. پس از آن به کمک روتاری، حلال اتانول از محلول حذف و باقی مانده‌های کالوس در ۲۰ میلی‌لیتر اتانول ۷۰ درصد حل گردید. در این مرحله محلول به مدت ٢٤ ساعت در فریزر ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگه‌داری شد. در نهایت محلول جهت فیلتر شدن، دو مرتبه از کاغذ صافی واتمن شماره ۱ عبور داده شد و جذب آن در طول موج ۳۲۷ نانومتر قرائت شد. غلظت رزمارینیک اسید در هر نمونه با کمک منحنی استاندارد بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر محاسبه گردید. برای شاهد از اتانول ۷۰ درصد استفاده شد.

کافئیک اسید: برای سنجش کافئیک اسید از روش Sauvesty و همکاران (۱۹۹۲) استفاده شد. نمونه‌ها روی یخ و با کمک متانول ۸۰ درصد به نسبت ۱/۵ حجمی/وزنی تا حصول یک محلول همگن سائیده شدند. همگنای حاصل به مدت سه ساعت در دمای ٤٠ درجه سانتی‌گراد همزده و سپس به مدت ٤٥ دقیقه با سرعت ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد و از محلول روئی برای سنجش کافئیک اسید استفاده گردید. ۱ میلی‌لیتر از عصاره‌های متانولی ۸۰ درصد را برداشته و به آن ۱ میلی‌لیتر معرف آرنو، ۱ میلی‌لیتر سدیم هیدروکسید ۱ مولار، ۱ میلی‌لیتر اسید کلریدریک ۰/۱ مولار افزوده شد تا حجم نهایی به ۱۰ میلی‌لیتر رسید. سپس ورتکس کرده و بلافاصله جذب نمونه‌ها در ٤٩٠ نانومتر خوانده شد. در نمونه شاهد به جای عصاره، ۱ میلی‌لیتر متانول ۸۰ درصد اضافه شد.

نتایج و بحث

تأثیر تیمار توأم NAA و Kin در کالوس‌زایی ریزنمونه

ریشه و برگ: نتایج کالوس‌زایی ریزنمونه‌های ریشه و برگ گیاه نوروزک حاکی از آن بود که پس از چهار هفته در غلظت‌های مختلف NAA و Kin هیچ تغییری در ریز نمونه‌ها مشاهده نشد. نتایج این آزمایش با نتایج Ewa و Halina (۲۰۰٤) در *S. nemoroza* با ریز نمونه برگ مطابقت دارد. در صورتیکه طبق گزارش Mederos-Molin (۲۰۰٤) کالوس‌زایی از قطعات ساقه *S. canariensis* در محیط واجد NAA انجام شده است.

تأثیر تیمار توأم 2,4-D و Kin در کالوس‌زایی ریزنمونه

ریشه و برگ: نتایج محاسبه‌ی نرخ کالوس‌زایی در ریشه در غلظت‌های مختلف Kin و 2,4-D، نشان داد که بیشترین نرخ کالوس‌زایی در تیمار ۱ میلی‌گرم در لیتر Kin با ۱ میلی‌گرم در لیتر 2,4-D بدست آمد. در هفته‌ی سوم، نرخ کالوس‌زایی در تیمارهای ۰/۳ میلی‌گرم در لیتر Kin با ۱ میلی‌گرم در لیتر 2,4-D و ۰/۳ میلی‌گرم در لیتر Kin با ۱/۵ میلی‌گرم در لیتر 2,4-D افزایش یافت (جدول ۱). نتایج وزن تر و خشک، بافت و رنگ کالوس‌ها نشان داد که هیچ اختلاف آماری بین تیمارها وجود ندارد و در تمام تیمارها کالوس‌های گرانولار سفید و نرم تولید شد.

نتایج محاسبه نرخ کالوس‌زایی در برگ نشان داد که بیشترین نرخ کالوس‌زایی در تیمار ۱ میلی‌گرم در لیتر Kin با ۲ میلی‌گرم در لیتر 2,4-D صورت گرفته است (جدول ۲). مقایسه میانگین وزن تر کالوس‌ها نشان داد که بیشترین وزن تر کالوس در تیمار ۱ میلی‌گرم در لیتر Kin با ۲ میلی‌گرم در لیتر 2,4-D بدست آمد که با تیمارهای دیگر تفاوت معنی‌دار داشت. کم‌ترین وزن تر در تیمار ۰/۳ میلی‌گرم در لیتر Kin با ۲ میلی‌گرم در لیتر 2,4-D بدست آمد. نتایج وزن خشک نیز این یافته را تأیید کرد. از لحاظ رنگ و بافت کالوس هیچ اختلافی وجود نداشت و در تمام تیمارها کالوس‌های کرم رنگ و متراکم تولید شد (جدول ۲).

تحقیقات بر القای کالوس در گونه‌های مختلف Salvia به منظور ریز ازدیادی و تولید متابولیت‌های ثانویه نشان داده است که القای کالوس در این جنس تنها در گیاهچه‌های جوان ٦ تا ۸ برگی در شرایط درون شیشه ای صورت می‌گیرد

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-25]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1398.8.32.14.2]

جدول ۱- مقایسه‌ی نرخ کالوس‌زایی و خصوصیات کالوس‌های حاصل از ریز نمونه ریشه در محیط MS حاوی 2,4-D وKin

نوع تیمار (میلی‌گرم در لیتر)		نرخ کالوس‌زایی بعد از دو هفته (درصد)	نرخ کالوس‌زایی بعد از سه هفته (درصد)
Kin	2,4-D		
۰	۰	۰ f	۰ e
۰/۳	۱	۲۵ e	۵۸/۳۳ c
۱	۱	۱۰۰ a	۱۰۰ a
۰/۳	۱/۵	۵۸/۳۳ c	٦٦/٦٦ b
۱	۱/۵	٦٦/٦٦ b	٦٦/٦٦ b
۰/۳	۲	٦٦/٦٦ b	٦٦/٦٦ b
۱	۲	۵۸/۳۳ c	٦٦/٦٦ b
۰/۳	۲/۵	٦٦/٦٦ b	٦٦/٦٦ b
۱	۲/۵	۵۲ d	۵۲ d

مقادیر، میانگین سه تکرار (در هر تکرار پنج ریزنمونه) است. هر تکرار حاوی پنج ریز نمونه و حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار با استفاده از آزمون LSD است.

جدول ۲- مقایسه‌ی نرخ کالوس‌زایی و خصوصیات کالوس‌های حاصل از ریز نمونه برگ در محیط MS حاوی 2,4-D و Kin

نوع تیمار (میلی‌گرم در لیتر)		نرخ کالوس‌زایی بعد از دو هفته (درصد)	نرخ کالوس‌زایی بعد از سه هفته (درصد)	وزن تر کالوس (گرم)	وزن خشک کالوس (گرم)	خصوصیات بافت کالوس
Kin	2,4-D					
۰	۰	۰ e	۰ e	۰ e	۰ d	–
۰/۳	۱	۰ e	۰ e	۰ e	۰ d	–
۱	۱	۰ e	۰ e	۰ e	۰ d	–
۰/۳	۱/۵	۰ e	۰ e	۰ e	۰ d	–
۱	۱/۵	۰ e	۰ e	۰ e	۰ d	–
۰/۳	۲	٦٦/۲ c	٦٦/۲ c	۰/۲۲ d	۰/۰۱۹ c	کرم رنگ متراکم
۱	۲	۱۰۰ a	۱۰۰ a	۲/۱ a	۰/۱٦٤ a	کرم رنگ متراکم
۰/۳	۲/۵	۲۳ d	۲۳ d	۰/۲۷ c	۰/۰۲۱ c	کرم رنگ متراکم
۱	۲/۵	۸۲/۲۷ b	۸۲/۲۷ b	۰/۷٦ b	۰/۰۸۳ b	کرم رنگ متراکم

مقادیر، میانگین سه تکرار (در هر تکرار پنج ریزنمونه) است. هر تکرار حاوی پنج ریزنمونه و حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار با استفاده از آزمون LSD است.

(Mederos-Molina, 2004; Kintzios *et al*., 1999). در این تحقیق نیز با استفاده از کشت رویان و تولید گیاهچه‌های جوان، القای کالوس در اندام‌های مختلف این گیاه صورت گرفت. محیط کشت حاوی مقادیر کم از هورمون اکسین، تأثیری در کالوس‌زایی برگ نداشت و القاء کالوس در آن تنها با حضور غلظت‌های بالای 2,4-D به همراه Kin انجام شد که این نتیجه با نتایج Mederos-Molina (۲۰۰٤) و Kintzios و همکاران (۱۹۹۹) در القای کالوس از بخش هوایی

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-25]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1398.8.32.14.2]

S. canariensis L. مطابقت دارد. بر اساس تحقیقات Kintzios و همکاران (۱۹۹۹) برای القای کالوس از برگ *S. fruticosa* و *S. officinalis* غلظت‌های بالای 2,4-D نسبت به Kin مناسب بوده است. بر خلاف برگ، برای القای کالوس در ریشه مقادیر کم هورمون تأثیر بیشتری داشت، که این یافته با نتایج Mederos-Molina (۲۰۰٤)، Ewa و Halina (۲۰۰٤) و Liu و همکاران (۲۰۰۰) در مورد القای کالوس در *S. canariensis*، *S. nemoroza* و *S. sclarea* مطابقت دارد. اگر چه القای کالوس در ریز نمونه ریشه در تیمارهای زیادی با مقادیر هورمونی پایین صورت گرفت اما تنها در محیط ۱ میلی‌گرم در لیتر Kin با ۱ میلی‌گرم در لیتر 2,4-D بیشترین نرخ کالوس‌زایی (۱۰۰ درصد) بدست آمد که به نظر می‌رسد که نسبت خاصی از 2,4-D به Kin سبب نرخ کالوس‌زایی مطلوب شده است. علاوه بر این، این تحقیق نشان داد که کالوس‌ها در تاریکی القاء شده و رشد می‌کنند و رنگ آنها از سفید تا کرم است و بین ۲۳–۲۰ روز رشد سریع خود را حفظ می‌کنند. بطور کلی استفاده‌ی توأم از 2,4-D و Kin با نسبت‌های بالای 2,4-D به Kin بر کالوس‌زایی در ریز نمونه‌های برگ گیاه نوروزک تأثیر بهینه دارد در صورتیکه برای القای کالوس از ریز نمونه‌های ریشه، نه تنها غلظت‌های کمتر هورمون‌های فوق مؤثر است بلکه 2,4-D به تنهایی نیز می‌تواند در محدوده‌ی مناسبی سبب القای کالوس شود. تفاوت در عملکرد 2,4-D نسبت به NAA می‌تواند مربوط به ساختار این ترکیبات باشد. 2,4-D یک ترکیب دارای فنوکسی استیک اسید است در حالیکه در NAA یک ساختار نفتالین استیک اسید دارد (Moore, 1989).

صفات مورفولوژیکی کالوس‌های تحت تیمار با الیسیتورهای نوری UV-A و UV-B: نتایج به دست آمده از این آزمایش، نشان داد که الیسیتورهای نوری UV-A و UV-B تأثیری بر کالوس‌زایی نداشت و در تمام محیط‌ها ۱۰۰ درصد کالوس‌زایی مشاهده شد. بررسی روند کالوس‌زایی نشان داد که در ریز نمونه‌های تیمار شده با نور UV-A و UV-B همانند ریز نمونه‌های شاهد، ۱۰ روز پس از کشت، اولین توده‌های کالوس مشاهده شدند و پس از گذشت چهار هفته کالوس‌های بزرگ تشکیل شدند. رنگ کالوس‌ها کرم و کرم متمایل به سبز بود. کالوس‌های تیمار شده با نور UV-A (به مدت ۳۰ و ٦۰ دقیقه) و نور UV-B (به مدت ٦۰ دقیقه)، دارای رنگ کرم بودند در حالیکه کالوس‌های شاهد و کالوس‌های تیمار شده با ۳۰ دقیقه نور UV-B، دارای رنگ کرم متمایل به سبز بودند. تأثیر مستقیم نور UV بر رشد و نمو گیاهان، معمولاً منفی است و گیاهان ساز وکارهای دفاعی مختلفی برای حفاظت و سازگاری خود به کار می‌گیرند. علایم ظاهری تنش UV-B شامل تغییر شکل و رنگ برگ‌ها، خشک شدن برگ‌ها، ایجاد کلروزه و نکروزه در برگ‌ها (کاهش کلروفیل)، کلروز بین رگبرگی و فنجانی شدن برگ‌هاست (Barsig and Malz, 2000). این یافته‌ها تا حدودی می‌تواند تغییرات رنگ کالوس‌ها را در این آزمایش توجیه کند که با افزایش طول مدت تابش رنگ کالوس‌ها بیشتر تغییر می‌کرد. بافت کالوس‌های حاصل از برگ در کلیه تیمارها نرم بود.

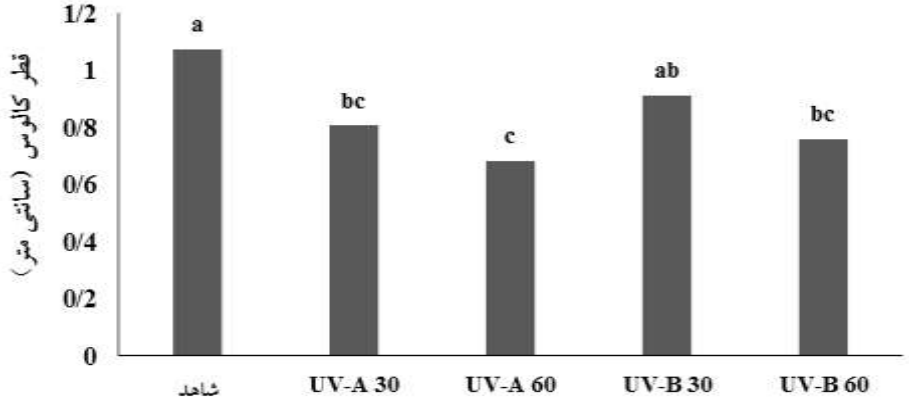
بررسی نتایج مقایسه میانگین اثر نور UV بر قطر کالوس نشان داد، تیمار با الیسیتور نور UV-A و UV-B به مدت ۳۰ دقیقه باعث کاهش قطر کالوس شد (شکل۱). به طوریکه بیشترین قطر کالوس (۱/۰۷۳ سانتی‌متر) مربوط به کالوس‌های شاهد بود. در حالیکه این کاهش، با افزایش زمان تیمار از ۳۰ به ٦۰ دقیقه در هر دو نوع نور UV بیشتر بود.

اندازه‌گیری وزن تر کالوس‌های تحت تیمار نور UV و مقایسه آن با کالوس‌های شاهد نشان داد که بین تیمارهای ۳۰ دقیقه نور UV-A و UV-B با شاهد اختلاف معنی‌داری وجود نداشت. در حالیکه با افزایش زمان تیمار از ۳۰ به ٦۰ دقیقه در هر دو نوع نور UV میزان وزن تر کاهش یافت (شکل۲). در مورد وزن خشک، اختلاف تیمارها با شاهد معنی‌دار نبود.

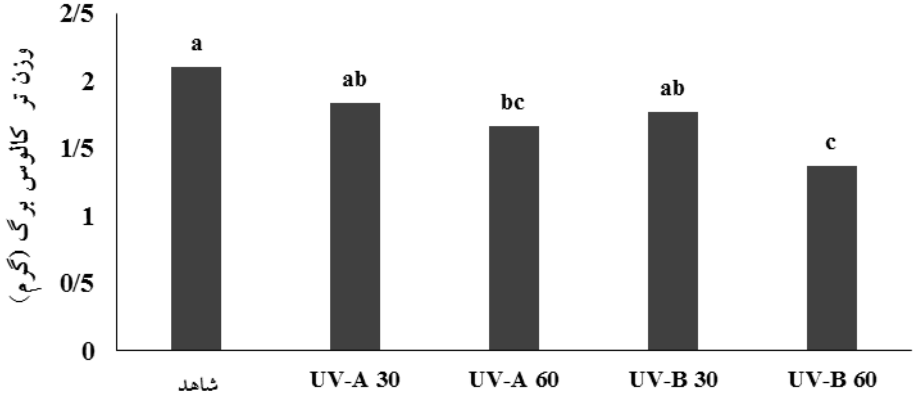
نتایج آزمایشات پوراکبر و همکاران (۱۳۹۱) در تأثیر نور UV بر کاهش وزن تر و خشک در گیاه رازیانه نیز با نتایج پژوهش حاضر هم راستا است. در کشت درون شیشه‌ای گندم، اشعه UV-C باعث کاهش وزن تر ریز نمونه‌ها شد (Rahmatzadeh and Khara, 2007). در گیاه لوبیا وزن تر ریشه و اندام هوایی تحت تابش UV-B کاهش یافت. کاهش

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-25]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1398.8.32.14.2]



شکل۱- تأثیر نور UV-A و UV-B بر قطر کالوس برگ گیاه نوروزک. مقادیر، میانگین سه تکرار (هر تکرار پنج ریزنمونه) است. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار با استفاده از آزمون LSD است.

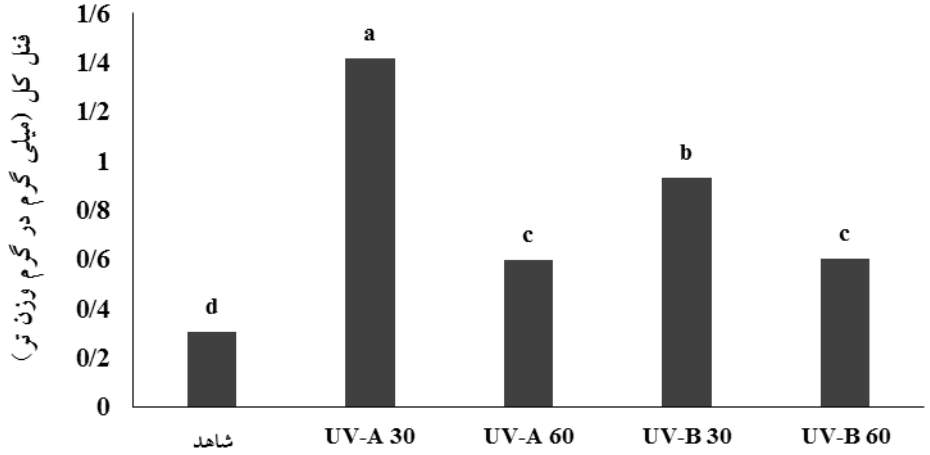


شکل ۲- تأثیر نور UV-A و UV-B بر وزن تر کالوس برگ گیاه نوروزک. مقادیر، میانگین سه تکرار (هر تکرار پنج ریزنمونه) است. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار با استفاده از آزمون LSD است.

وزن ریشه و اندام هوایی تحت تأثیر به خصوص UV-B مبین کاهش تولید بیوماس در این تیمارهاست و این یک پاسخ عمومی در بسیاری از گونه‌های گیاهی است. یکی از دلایل کاهش وزن ریشه و اندام هوایی تحت تأثیر نور UV، اختلال در بیوسنتز یا انتقال تنظیم کننده‌های رشد و نمو گیاهی مثل اکسین و اسید جیبرلیک است (Hassan *et al*., 2012). باتوجه به نتایج مشاهدات Zhang و Li (۲۰۱۲)، UV با تأثیر بر تعادل هورمونی در گیاه سبب افزایش تجمع آبسیزیک اسید (Peng and Zhou, 2009) و کاهش هورمون‌های مؤثر بر رشد مانند اکسین و سیتوکینین می‌شود (Kataria *et al*, 2005; Hassan *et al*., 2012).

فنل کل: مقایسه میانگین محیط‌های تیمار شده با نور UV و شاهد نشان داد که فنل کل به طور معنی‌داری تحت تابش نور UV افزایش یافت (شکل۳). از بین تیمارهای نور UV، تیمار ۳۰ دقیقه با نور UV-A بیشترین میزان فنل کل (۱/٤۱۸ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) را به خود اختصاص داد و کمترین میزان فنل (۰/۳۰٦۹ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) مربوط به کالوس‌های شاهد بود. در هر دو تیمار نور UV-A و UV-B با افزایش زمان تیمار از ۳۰ به ٦۰ دقیقه میزان فنل کل کاهش یافت. بین خصوصیات نور(کیفیت، کمیت و تداوم) و تولید متابولیت‌های ثانوی گیاهان ارتباط نزدیکی وجود دارد (Mardani *et al*., 2015). نتایج این پژوهش در افزایش میزان

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-25]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1398.8.32.14.2]



شکل ۳- تأثیر نور UV-A و UV-B بر میزان فنل کل کالوس برگ گیاه نوروزک. مقادیر، میانگین سه تکرار (هر تکرار پنج ریزنمونه) است. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار با استفاده از آزمون LSD است.

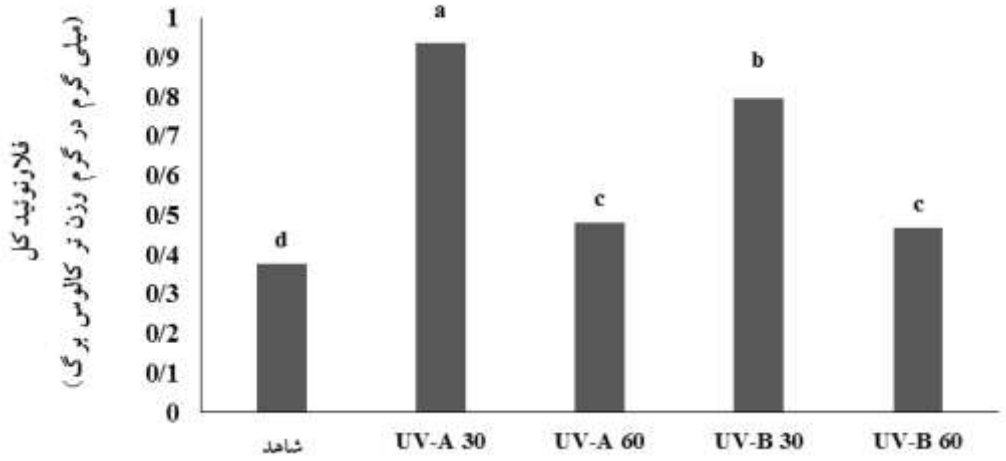
فنل کل تحت نور UV با گزارشات Cetin (۲۰۱٤) در انگور با نور UV-C، رحیمی ریزی و همکاران (۱۳۹۳) در گیاه رزماری با نور UV-A و شاهبداغلو و همکاران (۱۳۹۳) در کنگر فرنگی (*Cynara scolymus* L.) با نور UV-A مطابقت دارد. اشعه UV-A باعث بیان ژن‌های خاص و راه‌اندازی مسیرهای متابولیکی مرتبط با ساخت ترکیبات جاذب UV (متابولیت‌های ثانوی) در گیاه می‌شود و از این طریق بر آسیب‌های تنش UV غلبه می‌کند (Wilson *et al.*, 2001). نتایج Mosadegh و همکاران (۲۰۱۷) با نور UV-B در ریحان شیرین هم راستا با پژوهش حاضر است چرا که الیسیتور UV-B باعث افزایش فعالیت آنزیم کلیدی متابولیسم فنیل پروپانوئیدی و سرعت بخشیدن به بیوسنتز ترکیبات فنلی می‌شود (Escobar *et al.*, 2017).

مقایسه میانگین محتوی فلاونوئیدی تحت تیمارهای نور UV نشان داد، بیشترین میزان فلاونوئید کل مربوط به تیمار ۳۰ دقیقه نور UV-A (۰/۹۳ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) بود که تفاوت معنی‌داری با سایر تیمارها داشت و حدود ۲/۵ برابر شاهد بود(شکل ٤). در کل با وجود افزایش میزان فلاونوئید کل تحت تابش هر دو نور UV، با افزایش زمان تیمار از ۳۰ به ٦۰ دقیقه کاهش در میزان آن مشاهده شد.

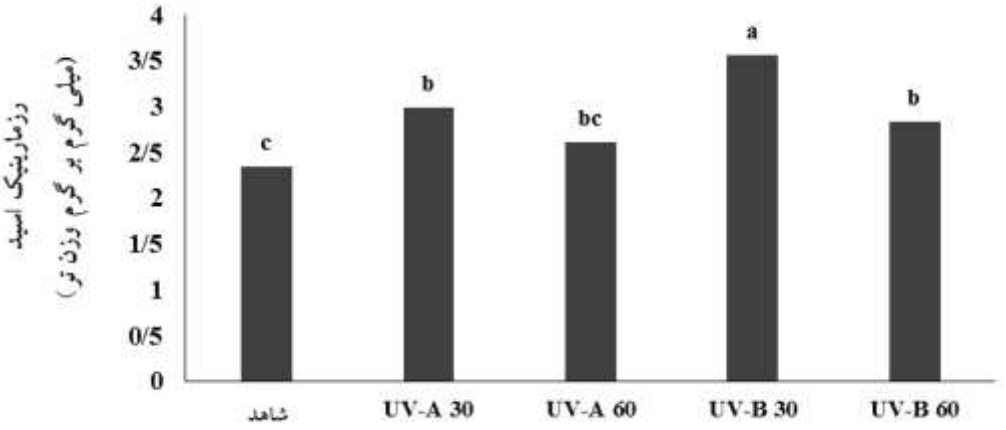
در بسیاری از گونه‌های گیاهی سنتز برخی از مشتقات مسیر فنیل پروپانوئید مانند فلاونوئیدها در پاسخ به نور UV تحریک می‌شود (Dixon *et al.*, 2001). افزایش مقدار فلاونوئیدها در تیمار با نور UV از ویژگی‌های دفاعی برخی از گیاهان در برابر پرتو UV است. این ترکیب‌ها با جذب پرتو UV و جلوگیری از نفوذ آن به درون بافت‌های حساس از ایجاد خسارت جلوگیری می‌کنند و یا نقش آنتی اکسیدانی در برابر رادیکال‌های آزاد ناشی از تنش UV در گیاهان ایفا نموده، تنش اکسیداتیو را کاهش می‌دهند. افزایش در غلظت فلاونوئیدها ناشی از فعالیت زیاد آنزیم PAL و یا سرعت بالای سنتز این آنزیم تحت تنش UV است (Wang *et al.*, 2006). گزارش‌ها نشان داده است که مقدار و فعالیت آنزیم چاکلون سنتاز که نقش اساسی در بیوسنتز فلاونوئیدها دارد نیز تحت تأثیر نور UV افزایش می‌یابد (Sakihama *et al.*, 2002).

مقایسه میانگین تیمارهای نور UV نشان داد، کالوس‌های تیمار شده با نور UV-B تأثیر بیشتری بر میزان رزمارینیک اسید نسبت به نور UV-A داشت. به طوریکه کالوس‌های تیمار شده با ۳۰ دقیقه نور UV-B بیشترین تأثیر را بر افزایش میزان رزمارینیک اسید نسبت به شاهد حدود ۱/۵ برابر داشت (شکل ۵). در حالیکه با افزایش زمان تیمار از ۳۰ به ٦۰ دقیقه در هر دو نوع نور UV-A و UV-B میزان تجمع رزمارینیک اسید کاهش یافت، ولی نسبت به شاهد افزایش معنی‌داری را نشان می‌داد. مطالعات Xu و همکاران (۲۰۱۵) در خصوص تأثیر نور UV-C بر تجمع استیل بن (stilbene) هم راستا با پژوهش

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-25]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1398.8.32.14.2]



شکل ٤- تأثیر نور UV-A و UV-B بر میزان فلاونوئید کل کالوس برگ گیاه نوروزک. مقادیر، میانگین سه تکرار (هر تکرار پنج ریزنمونه) است. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار با استفاده از آزمون LSD است.

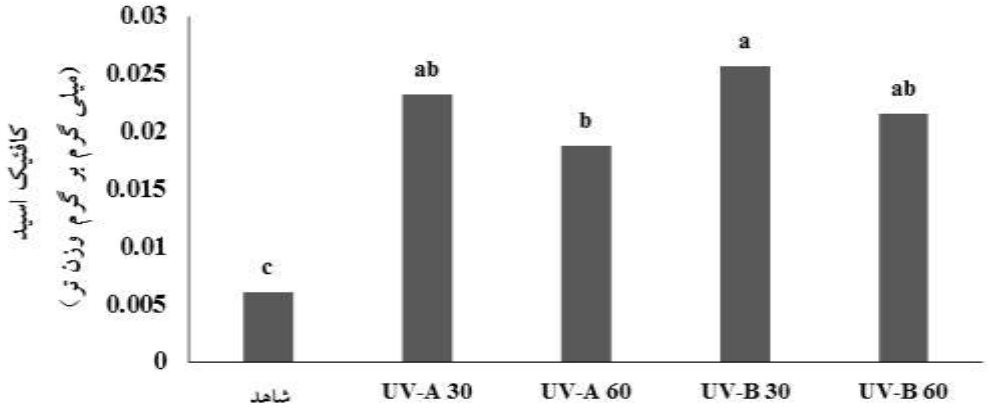


شکل ٥- تأثیر نور UV-A و UV-B بر میزان رزمارینیک اسید کالوس برگ گیاه نوروزک. مقادیر، میانگین سه تکرار (هر تکرار پنج ریزنمونه) است. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار با استفاده از آزمون LSD است.

حاضر است. همچنین مشخص شده است که اثر الیسیتورها بر تجمع رزمارینیک اسید به فعالیت خاص آنزیم‌های موجود در مسیر بیوسنتز رزمارینیک اسید وابسته است (Sahu *et al*., 2013).

نتایج مقایسه میانگین میزان کافئیک اسید نشان داد، تیمار ۳۰ دقیقه با نور UV-B بیشترین (۰/۲۵۷ میلی‌گرم در گرم وزن تر کالوس) تأثیر را بر افزایش میزان کافئیک اسید داشت (شکل ٦). به طوریکه باعث افزایش ٤۲ برابری میزان کافئیک اسید نسبت به تیمار شاهد شد. تیمار با نور UV توانست به طور قابل توجهی میزان کافئیک اسید را در کالوس نوروزک افزایش دهد، ولی با افزایش زمان تیمار در هر دو نوع نور UV-A و UV-B، میزان کافئیک اسید کاهش یافت ولی همچنان تفاوت معنی‌داری از نظر تولید کافئیک اسید با تیمار شاهد داشت. بین خصوصیات روشنایی و تولید متابولیت‌های ثانوی دارویی، ارتباط تنگاتنگ وجود دارد و نقش اکوفیزیولوژیک روشنایی در تولید فرآورده‌های مذکور، عمده و اساسی است. فعالیت گیاهان در سنتز متابولیت‌های دارویی، تحت تأثیر وضعیت‌های مختلف نوری تغییر می‌کند. مدت، شدت و کیفیت روشنایی، هر یک به تنهایی می‌تواند تأثیر عمده‌ای بر وضعیت متابولیت‌های ثانوی بر جای بگذارد (Duke, 2002). گزارشات

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-25]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1398.8.32.14.2]



شکل ٦- تأثیر نور UV-A و UV-B بر میزان کافئیک اسید کالوس برگ گیاه نوروزک. مقادیر، میانگین سه تکرار (هر تکرار پنج ریزنمونه) است. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار با استفاده از آزمون LSD است.

شاهبداغلو و همکاران (۱۳۹۳) و Wilson و همکاران (۲۰۰۱) در مورد افزایش تابش اشعه UV-A و کاهش تجمع ترکیبات مؤثره مهم دارویی از جمله کافئیک اسید و کلروژنیک اسید هم راستا با نتایج این پژوهش است. نتایج به دست آمده از این پژوهش نیز حاکی از این است که احتمالاً تابش اشعه UV-A و UV-B در شارهای بالا نه تنها باعث افزایش میزان فلاونوئیدهای دارویی و سایر ترکیبات فنلی مهم در گیاهان مورد تیمار قرار گرفته نمی‌شود، بلکه باعث کاسته شدن این ترکیبات نیز می‌گردد. همچنین از این آزمایش نتیجه گرفته شد که سنتز ترکیبات فنلی متفاوت به وسیله گیرنده‌های نوری جداگانه‌ای تحریک می‌گردد و تأثیری که گیرنده‌های نور UV-B بر مسیر متابولیکی می‌گذارند کاملاً متفاوت با تأثیر گیرنده‌های طیف UV-A است.

نتیجه‌گیری

چنین به نظر می‌رسد که کالوس‌زایی در ریز نمونه ریشه و برگ گیاه نوروزک در مقایسه کارایی اکسین NAA و 2,4-D پس از چهار هفته، اکسین NAA با غلظت‌های مصرفی نمی‌تواند تولید کالوس کند در حالیکه 2,4-D در ریزنمونه ریشه نسبت به ریزنمونه برگ حتی با غلظت نصف تولید کالوس کرد و با توجه به بافت کالوس‌ها، ریزنمونه برگ با غلظت ۱ میلی‌گرم در لیتر Kin با ۲ میلی‌گرم در لیتر 2,4-D مناسب‌ترین کالوس را تولید کرد که در بررسی اثر الیسیتورهای نور UV از آن استفاده شد. گیرنده‌های نور UV-A نسبت به سایر طول موج‌ها از جمله امواج UV-B متفاوت بوده و جذب اشعه فوق توسط آنها سبب تحریک مسیرهای متابولیکی متفاوتی در گیاه می‌شود. نتایج نشان داد تیمار نور UV-B به مدت ۳۰ دقیقه تأثیر بیشتری در افزایش میزان کافئیک اسید و رزمارینیک اسید داشت. با توجه به نتایج این پژوهش و تأثیر مثبت تابش نورUV بر تولید متابولیت‌های ثانوی رزمارینیک اسید و کافئیک اسید در گیاه نوروزک شاید بتوان نتیجه گرفت که با توجه به تأثیر زمان تابش بر تولید متابولیت‌های ثانوی، استفاده بازه‌های زمانی کمتر، احتمال تولید بیشتر این متابولیت‌ها را به دنبال داشته باشد. البته اثبات این ادعا نیاز به تحقیقات بیشتر دارد.

منابع

پوراکبر، ل. و عابدزاده، م. (۱۳۹۳) مطالعه اثر میدان مغناطیسی و سالیسیلیک اسید بر گیاه بادرنجبویه (نعناعیان) تحت تنش فرابنفش B، یافته‌های نوین در علوم زیستی ۱: ٥٦-٤٠.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-25]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1398.8.32.14.2]

پوراکبر، ل.، صدقی، ح. و اسدی سامانی، م. (۱۳۹۱) تأثیر میدان‌های مغناطیسی بر جوانه زنی، رشد اولیه و فعالیت برخی آنزیم‌های دخیل در جوانه زنی بذر رازیانه. مجله علوم دانشگاه تربیت معلم ۱۲:۱-۱.

تنوری، آ.، قاسم‌نژاد، ع.، و علیزاده، م. (۱۳۹۳) تأثیر متیل جاسمونات و اسید سالیسیلیک بر صفات مورفولوژیکی و رنگدانه‌های درونی کالوس کنگر فرنگی. به زراعی کشاورزی ۱۶: ۸۶۹-۸۵۷.

رحیمی‌ریزی، م.، عزیزی، ع.، و ساری‌خانی، ح. (۱۳۹۳) پاسخ‌های گیاه دارویی رزماری به افزایش تشعشع فرابنفش UV-A با تغییر در صفات اگرومورفولوژیک، تولید ترکیبات فنلی و ویژگی‌های ضد اکسایش، دومین همایش ملی گیاهان دارویی و کشاورزی پایدار، همدان، ایران.

شاهبداغلو، ع.، عزیزی، ع.، و ساری خانی، ح. (۱۳۹۳) اثر نور فرابنفش بر تعدادی از ترکیبات ثانویه در برخی ژنوتیپ‌های کنگر فرنگی (*Cynara scolymus* L.). اولین همایش یافته‌های نوین در محیط زیست و اکوسیستم‌های کشاورزی، تهران، ایران.

طباطبائی یزدی، ف. (۱۳۷٤) بررسی اثرات آنتی اکسیدانی اسانس و عصاره برگ گیاه نوروزک و شناسایی فیتوشیمیایی آن. پایان نامه کارشناسی ارشد شیمی، دانشکده علوم، دانشگاه تهران.

مدرس، م.، ابریشم چی، پ. اجتهادی، ح. و رمضانی، ع. (۱۳۸٦) تکثیر گیاه نوروزک (*Salvia leriifolia* Benth) با استفاده از کشت رویان. فصل نامه علمی پژوهشی تحقیقات ژنتیک و اصلاح گیاهان مرتعی و جنگلی ایران ۱۵: ۱٤۱-۱۲۹.

مدرس، م.، لاهوتی، م. اصیلی، ج. کافی، م. و رمضانی، ع. (۱۳۹۲) بهینه‌سازی کشت کالوس برگ گیاه *Salvia leriifolia* برای تولید اسیدهای فنولیک. مجله فرآیند و کارکرد گیاهی ۲:۷۳-٦۵.

Akkol, E. K., Goger, F. Kosar, M. and Baser, K. H. C. (2008) Phenolic composition and biological activities of *Salvia halophila* and *Salvia virgata* from Turkey. Food Chemistry 108: 942-949.

Barsig, M. and Malz, R. (2000) Fine structure, carbohydrates and photosynthetic pigments of sugar maize leaves under UV-B radiation. Environmental and Experimental Botany 43: 121-130.

Booij-James, I. S., Dube, S. K. Jansen, M. A. Edelman, M. and Mattoo, A. K. (2000) Ultraviolet-B radiation impacts light-mediated turnover of the photosystem II reaction center heterodimer in Arabidopsis mutants altered in phenolic metabolism. Plant Physiology 124: 1275-1284.

Cetin, E. S. (2014) Induction of secondary metabolite production by UV-C radiation in *Vitis vinifera* L. Okuzgozu callus cultures. Biological Research 4: 37-47.

Day, T. A. and Neale, P. J. (2002) Effects of UV-B radiation on terrestrial and aquatic primary producers. Annual Review of Ecology and Systematics 33: 371-396.

Dixon, P., Weinig, C. and Schmitt, J. (2001) Susceptibility to UV damage in *Impatiens capensis* (Balsaminaceae): testing for opportunity costs to shade-avoidance and population differentiation. American Journal of Botany 88: 1401-1408.

Duke, J. A. (2002) Handbook of Medicinal Herbs. 2nd Ed. CRC press LLC, New York.

Escobar, A. L., De Oliveira Silva, F. M., Acevedo, P. Nunes-Nesi, A. Alberdi, M. and Reyes-Diaz, M. (2017) Different levels of UV-B resistance in *Vaccinium corymbosum* cultivars reveal distinct backgrounds of phenylpropanoid metabolites. Plant Physiology and Biochemistry 118:541-550.

Ewa, A. and Halina S. (2004) In vitro regeneration of *Salvia nemoroza* L. from shoot tips and leaf explants. In Vitro Cellular and Developmental Biology-Plant 40: 596-602.

Han, Y., Jin, X. L. Wu, F. B. and Zhang, G. P. (2011) Genotypic differences in callus induction and plant regeneration from mature embryos of barley (*Hordeum vulgare* L.). Journal of Zhejiang University-Science B 12: 399-407.

Hassan, I. A., Basahi, J. M. and Kadi, M. W. (2012) Physiological and biochemical impairment in Bean plants due to supplementary. Australian Journal of Basic and Applied Sciences 9: 552-561.

Kahkonen, M. P., Hopia, A. I., Vuorela, H. J., Rauha, J. P., Pihlaja, K., Kujala, T. S. and Heinonen, M. (1999) Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds. Journal of Agricultural and Food Chemistry 47: 3954-3962

Kamatou, G. P. P., Makunga, N. P., Ramogola, W. P. N. and Viljoen, A. M., (2008) South African Salvia species: A review of biological activities and phytochemistry. Journal of Ethnopharmacology 119: 664-672.

Kataria, S., Jain, K. and Guruprasad, K. N. (2005) Involvement of oxyradicals in promotion/inhibition of expansion growth in Cucumber cotyledons. Indian Journal of Experimental Biology 43: 910-915.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-25]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1398.8.32.14.2]

Kintzios, S., Nikolaou A. and Skoula, M. (1999) Somatic embryogenesis and in vitro rosmarinic acid accumulation in *Salvia officinalis* and *S. fruticosa* leaf callus cultures. Plant Cell Reports 18: 462-466.

Liu, W., Chilcott, C. E., Reich, R. C. and Hellmann, G. M. (2000) Regeneration of *Salvia sclarea* via Organogenesis. In vitro Cellular and Development Biology- Plant 36: 201-206.

Lu, Y. and Foo, L. Y. (2002) Polyphenolics of Salvia-a review. Phytochemistry 59: 117-140

Manaf, H. H., Rabie, K. A. and El-Aal, M. S. A. (2016) Impact of UV-B radiation on some biochemical changes and growth parameters in *Echinacea purpurea* callus and suspension culture. Annals of Agricultural Sciences 61: 207-216.

Mardani, H., Sekine, T., Azizi, M., Mishyna, M. and Fujii, Y. (2015) Identification of safranal as the main allelochemical from saffron (*Crocus sativus*). Natural Product Communications 10: 775-777.

Mederos-Molina, S. (2004) In vitro callus induction and plants from stem and petiole explants of *Salvia canariensis* L. Plant Tissue Culture 14: 167-172.

Modarres, M., Asili, J., Gangali, A., Iranshahy, M. and Sahebkar, A. (2014) Simultaneous rosmarinic acid, salvianolic acid b and caffeic acid in *salvia leriifolia* benth. root, leaf and callus extracts using a high-performance liquid chromatography with diodearray detection technique. Journal of Liquid Chromatography and Related Technologies 37: 1721-1730.

Moore, T. C. (1989) Biochemistry and physiology of plant hormones. Springer-Verlag 14: 234-242.

Mosadegh, H., Trivellini, A. Ferrante, A., Lucchesini, M., Vernieri, P. and Mensuali, A. (2017) Applications of UV-B lighting to enhance phenolic accumulation of sweet basil. Scientia Horticulturae 229: 107-116.

Pan, W., S. Zheng, L. P., Tian, H., Li, W. Y. and Wang, J. W. (2014) Transcriptome responses involved in artemisinin production in *Artemisia annua* L. under UV-B radiation. Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology 140: 292-300.

Peng, Q. and Zhou, Q. (2009) The endogenous hormones in soybean seedlings under the joint actions of rare earth element La (III) and ultraviolet-B stress. Biological Trace Element Research 132: 270-277.

Rahmatzadeh, S. and Khara, J. (2007) Anatomical and morphological changes caused by interaction between UV-C radiation and colonized wheat by some species of *arbuscular mycorrhizas*. Journal of Biological Sciences 7: 1001-1004.

Rechinger, K. H. (1982) Flora Iranica. 150nd Ed. Academische Druk-U Verlagsustalt, Gratz.

Sahu, R., Gangopadhyay, M. and Dewanjee, S. (2013) Elicitor-induced rosmarinic acid accumulation and secondary metabolism enzyme activities in Solenostemon scutellarioides. Acta Physiologiae Plantarum 35: 1473-1481.

Sakihama, Y., Cohen, M. F., Grace, S. C. and Yamasaki, H. (2002) Plant phenolic antioxidant and prooxidant activities: phenolics-induced oxidative damage mediated by metals in plants. Toxicology 177: 67-80.

Sauvesty, A., Page, F. and Huot, J. (1992) A simple method for extracting plant phenolic compounds. Canadian Journal of Forest Research 22: 654-659.

Singleton, V. S. and Rossi, J. A. (1965) Colorimetric of total phenolics with phosphomolybdic- phosphotungstic acid reagents. American Journal of Enology and Viticulture 3: 144-158.

Tepe, B. (2007) Antioxidant potentials and rosmarinic acid levels of the methanolic extracts of *Salvia virgata* (Jacq), *Salvia staminea* (Montbret and Aucher ex Bentham) and *Salvia verbenaca* (L.) from Turkey. Bioresour Technolgy 99: 1584-1588.

Vasconsuelo, A. and Boland, R. (2007) Molecular aspects of the early stages of elicitation of secondary metabolites in plants. Plant Science 172: 861-875.

Wang, J. W., Zheng, L. P., Wu, J. Y. and Tan, R. X. (2006) Involvement of nitric oxide in oxidative burst, phenylalanine ammonia-lyase activation and Taxol production induced by low-energy ultrasound in *Taxus yunnanensis* cell suspension cultures. Nitric Oxide 15: 351-358.

Wilson, K. E., Thompson, J. E., Huner, N. P., and Greenberg, B. M. (2001) Effects of ultraviolet-a exposure on ultraviolet-b–induced accumulation of specific flavonoids in *Brassica napus*. Photochemistry and photobiology 73: 678-684.

Xu, A., Zhang, J. and Huang, W. (2015) Effects of ultraviolet C, methyl jasmonate and salicylic acid, alone or in combination, on stilbene biosynthesis in cell suspension cultures of *Vitis vinifera* L. Cv. cabernet sauvignon. Plant Cell, Tissue and Organ Culture 122: 197-211.

Zhang, L. and Li, X. (2012) Exogenous treatment with salicylic acid attenuates ultraviolet-b radiation stress in Soybean seedlings. Information Technology and Agricultural Engineering 134: 889-894.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-25]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1398.8.32.14.2]

Effect of UV-A and UV-B radiation on the production of rosmarinic acid and caffeic acid in callus culture of *Salvia leriifolia* Benth.

Somayyeh Jokar[1], Ziba Ghasimi Hagh[2*], Hojatollah Bodaghi[3], Masoomeh Modarres[1]

[1,2] Department of Horticultural Sciences and Plant Protection, Faculty of Agriculture, Shahrood University of Technology
[3] Department of Biology, Faculty of Basic Science, Shahid Hasheminejad campus, Mashhad, Farhangian University
(Received: 13/12/2017, Accepted: 26/05/2018)

Abstract

Salvia leriifolia Benth. is one of the most important medicinal plants. In the present study, firstly, callus production was improved using root and leaf explants on MS medium supplemented with combination of NAA and 2.4-D with Kin. The results showed that NAA had not effected callus formation from leaf and root explants while, the most suitable callus formation was obtained from the leaf explant on medium supplemented with 1 mg/l Kin and 2 mg/l 2,4-D. Then, the effect of UV-A and UV-B radiation (as elicitors) at 30 and 60 min on content of phenolic, flavonoid, rosmarinic acid, and caffeic acid of leaf callus were investigated. The results showed that UV-A and UV-B radiation increased the content of total phenol, flavonoids, rosmarine acid and caffeic acid in callus. The highest fresh weight, phenol and flavonoid content were observed after 30 min of UV-A radiation and the maximum accumulation of rosmarinic acid and caffeic acid was observed after 30 min of UV-B radiation. Totally, the content of secondary metabolites like as caffeic acid of salvia in callus culture can be affected by optimizing the UV radiation as an elicitor.

Key words: UV-A, UV-B, Rosemaric Acid, Caffeic Acid, Norouzak (*Salvia leriifolia*)

Corresponding author, Email: z_ghasimi@yahoo.com, zghasimi@shahrood.ac.ir

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-25]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1398.8.32.14.2]