

Changes in pigments and secondary metabolites of *Artemisia aucheri* seedlings in response to *in-vitro* UV radiation and time

Masoumeh Khalili, Roya Razavizadeh*, Amir Hossein Forghani

Department of Biology, Payame Noor Universtiy, Tehran, Iran

Abstract

Increase in secondary metabolites content has been attracting interest recently due to their huge economic importance. For example, *Artemisia aucheri*, which produces artemisinin, has both medicinal and economical importance. The aim of this study was to investigate the effect of single or combination UV radiation as well as sampling time on biochemical-physiological properties of *A. aucheri* on the increase in secondary metabolites, especially artemisinin. Therefore, a completely randomized factorial design including 7 radiation conditions (no UV, UV-A, UV-B, UV-C, UV- (A + B), UV- (A + C) and UV- (B + C)) and Two different sampling times (2 and 24 hours after treatment) was carried out in three replicates. The results indicated that the content of chlorophyll a, b and total chlorophyll decreased in response to all UV radiation conditions except for UV-A. Moreover, the highest decrease in photosynthetic pigments was observed under the UV-(B+C) radiation. In addition, the concentration of photosynthetic pigments was reduced through time. In contrast, the content of carotenoids in plants treated with UV-A was increased by about 42% as compared with control. The carotenoid level, however, did not change significantly with time. Moreover, total flavonoid content of *A. aucheri* was increased about 50% in response to UV-(A+C) radiation. Further, the delay in sampling was shown to be associated with an increase in the concentration of flavonoid. Generally, all types of UV radiation, except for UV-C, increased the concentration of artemisinin and most of the other essential oils in both sampling times. Although the highest concentration of artemisinin was obtained in the plants treated with UV-(B+C), but due to its negative effect on chlorophyll content of *A. aucheri*, the usage of UV-B, UV-(A+B) and UV-(A+C) radiation is suggested for increasing the artemisinin content in the short time.

Keywords: Artemisinin, Essential oil, Flavonoid, Photosynthetic pigments

* Corresponding Author: razavi.roya@gmail.com

تغییرات رنگیزه‌ها و متابولیت‌های ثانویه گیاهچه‌های درمنه کوهی (*Artemisia aucheri*) در پاسخ به پرتوهای UV و زمان نمونه‌گیری در شرایط *in vitro*

معصومه خلیلی، رؤیا رضوی زاده*، امیر حسین فرقانی

گروه زیست‌شناسی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران

چکیده

در حال حاضر، افزایش متابولیت‌های ثانویه گیاهان به دلیل اهمیت اقتصادی و دارویی آنها بسیار اهمیت دارد. اهمیت گیاه درمنه کوهی (*Artemisia aucheri*) نیز به دلیل تولید آرتیمیزین است که از نظر اقتصادی و دارویی مهم است. هدف پژوهش حاضر، بررسی اثر تابش‌های منفرد و ترکیبی UV و همچنین زمان نمونه‌گیری بر ویژگی‌های بیوشیمیایی - فیزیولوژیکی گیاه درمنه کوهی برای افزایش متابولیت‌های ثانویه و به ویژه آرتیمیزین است. بدین منظور آزمایشی به صورت فاکتوریل بر پایه طرح کامل تصادفی شامل ۷ نوع تابش (بدون UV، UV-A، UV-B، UV-C، UV-(A+B)، UV-(A+C)، UV-(B+C) و در دو زمان نمونه‌گیری متفاوت (۲ و ۲۴ ساعت پس از تیماردهی) در سه تکرار طراحی شد. تحلیل داده‌ها کاهش کلروفیل‌های a و b و کلروفیل کل را در همه تابش‌ها بجز UV-A نشان داد و بیشترین کاهش در تابش UV(B+C) مشاهده شد. علاوه بر این، با گذشت زمان پس از تیماردهی، غلظت رنگیزه‌های فتوسنتزی نیز به صورت معنی‌داری کاهش یافت. در مقابل، مقدار کاروتنوئیدها در گیاهان در معرض تابش UV-A در مقایسه با گروه شاهد، ۴۲ درصد افزایش یافت و گذشت زمان تفاوت معنی‌داری در غلظت کاروتنوئیدها ایجاد نکرد. همچنین فلاونوئید کل در پاسخ به تابش UV-(A+C) حدود ۵۰ درصد در گیاه درمنه کوهی افزایش یافت و تأخیر در نمونه‌گیری با افزایش غلظت این ترکیبات همراه بود. به طور کلی، تابش همه انواع UV (بجز UV-C) مقدار آرتیمیزین و بیشتر ترکیبات اسانس را در دو زمان نمونه‌گیری متفاوت سبب شد. اگرچه بیشترین غلظت آرتیمیزین در تابش UV-(B+C) مشاهده شد، با توجه به آثار زیان‌بار آن بر مقدار کلروفیل استفاده از تابش‌های UV-B، UV-(A+B) و UV-(A+C) برای افزایش آرتیمیزین در کوتاه‌مدت پیشنهاد می‌شود.

واژه‌های کلیدی: آرتیمیزین، اسانس، رنگیزه‌های فتوسنتزی، فلاونوئید

* نگارنده مسئول: نشانی پست الکترونیک: razavi.roya@gmail.com، شماره تماس: ۰۳۱۴۲۷۲۷۱۲۱

مقدمه

(2005). گیاهان در مقابل اشعه UV، سازوکارهای دفاعی به کار می‌برند. استفاده از کرک در سطح اپیدرم، نمونه‌ای از شیوه محافظت در برابر آثار مضر اشعه UV است. همچنین مشخص شده است موم موجود در سطح اپیدرم تا ۸۰ درصد اشعه را منعکس می‌کند (Balouchi et al., 2009; Zhang and Björn, 2009). علاوه بر این، گیاهان در پاسخ به گونه‌های اکسیژن فعال و تابش UV، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان مانند سوپر اکسید دیسموتاز، کاتالاز، پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز را افزایش می‌دهند. افزایش متابولیت‌های ثانویه، فلاونوئیدها، آنتوسیانین و غیره یکی دیگر از سازوکارهای پاسخی گیاهان به این تنش است (Zhang and Björn, 2009)؛ از این رو به افزایش متابولیت‌های ثانویه در گیاهان دارویی بر اثر انواع محرک‌ها توجه شده است. متابولیت‌های ثانویه، ویژه گونه یا حتی نژاد هستند و بیشتر در دوره رشدنموی ویژه‌ای در گیاهان تولید می‌شوند. متابولیت‌های ثانویه، عملکردهای بوم‌شناختی مهمی در گیاهان دارند. این ترکیبات، در حفاظت از گیاهان در برابر گیاه‌خواران و تنش‌های زیستی و غیرزیستی نقش دارند و به کاربرد آنها به صورت دارو، علف‌کش زیستی، طعم‌دهنده، رنگ‌های طبیعی، عطر و مواد توه‌م‌زا در زیست‌فناوری توجه شده است (Wink, 2010). در واقع محرک‌ها با منشأ زیستی یا غیرزیستی (مانند امواج UV) با القای پاسخ‌های دفاعی، بیوستنز و انباشت متابولیت‌های ثانویه را موجب می‌شوند (Zhao et al., 2005) و در سال‌های گذشته، توجه بسیاری به افزایش تولید این ترکیبات در کشت‌بافت شده است (Yu et al., 2006).

۸ تا ۹ درصد طیف خورشید شامل پرتوهای فرابنفش است که به سه دسته UV-A (۳۲۰ تا ۴۰۰ نانومتر)، UV-B (۲۸۰ تا ۳۲۰ نانومتر) و UV-C (۲۰۰ تا ۲۸۰ نانومتر) تقسیم می‌شوند. پرتوهای فرابنفش بر گیاهان به دلیل وابستگی به نور برای انجام فتوسنتز و رشد، بیشتر از سایر موجودات زنده تأثیر می‌گذارند؛ بنابراین، گیاهان، آسیب‌پذیرتر هستند (Booij-James et al., 2000). میزان دریافت اشعه فرابنفش در سطح زمین به عوامل اتمسفری، غلظت ازن، رطوبت، زاویه تابش خورشید نسبت به زمین، ذرات گردوغبار، پوشش ابر، عوامل زمین، وجود آب و برف، سن و غیره بستگی دارد. همچنین با افزایش ارتفاع، کاهش عرض جغرافیایی و فاصله دورتر خورشید از سطح زمین، شدت آن به مقدار زیادی افزایش می‌یابد. (Zhang and Björn, 2009). این امواج به دلیل داشتن انرژی کوانتومی زیاد، صدمات زیادی به موجودات زنده و به ویژه گیاهان می‌زنند. به‌طور کلی، اشعه فرابنفش ممکن است بر فرایندهای ژنتیکی، ساختمان و عمل غشا، فتوسنتز و تنفس، رشدنمو، سازوکار روزنه‌ها، ویژگی‌های آناتومیکی برگ و رنگیزه‌های فتوسنتزی اثر بگذارد (Zhang and Björn, 2009; Razavizadeh and Komatsu, 2018). پرتوهای فرابنفش در گیاهان اختلال در عمل کمپلکس تجزیه‌کننده آب، تخریب فتوسیستم II، پلاستوکوئینون و رنگیزه‌های فتوسنتزی و کاهش فعالیت آنزیم‌های روبیسکو و ATP سنتاز را باعث می‌شوند. همچنین با القای بسته‌شدن روزنه‌ها و تغییر در ضخامت و آناتومی برگ، بر فتوسنتز اثر می‌گذارد (Lutz et al.,

غلظت پایین آرتیمیزینین در گیاه درمنه و قیمت بسیار گران آن از یک طرف و از سوی دیگر تلاش‌های متنوعی جهت تولید شیمیایی یا دستکاری ژنتیکی به منظور افزایش این ماده با موفقیت قابل توجهی روبرو نبوده‌اند؛ بنابراین، تولید آرتیمیزینین به صورت طبیعی هنوز توجه اقتصادی دارد. پژوهش‌های گذشته بر درمنه خزری نشان داده‌اند عامل‌های غیرزیستی مانند نور، دما، شوری و فلزهای سنگین عملکرد آرتیمیزینین را افزایش داده‌اند و پیشنهاد شده است تنش‌های یادشده، تولید گونه‌های اکسیژن فعال را تقویت می‌کنند که این مسئله، تبدیل دی هیدرو آرتیمیزینیک اسید را به آرتیمیزینین (آخرین مرحله سنتز) سرعت می‌دهد و بنابراین تجمع آرتیمیزینین در پاسخ به این تنش‌ها مشاهده می‌شود (Rai et al., 2011). پژوهش‌های قبلی بیان‌کننده افزایش متابولیت‌های ثانویه در گیاهان در معرض تنش امواج UV هستند. در پژوهش Hofmann و همکاران (۲۰۱۴) بر شبدر سفید در شرایط کشت گلخانه‌ای مشخص شد گیاهان به خوبی با میزان UV محیط اطراف خود سازش می‌یابند؛ بنابراین از این ویژگی با به کار بردن اشعه UV برای افزایش کیفیت محصولات کشاورزی و مواد غذایی استفاده می‌شود (Zhang Nasibi and Björn, 2009) و همکاران (۲۰۰۳) با بررسی دو گونه گیاه بنگ‌دانه در شرایط گلخانه‌ای نشان دادند این گیاه برای مقابله با UV-B و UV-C، مقدار فلاونوئید خود را افزایش می‌دهد و همچنین از آثار اشعه فرابنفش برای افزایش ترکیبات ثانویه دارویی در گیاه بنگ‌دانه استفاده می‌شود. باتوجه به اهمیت گیاه درمنه کوهی و به ویژه ترکیبات

گیاه درمنه کوهی با نام علمی *Artemisia aucheri* از تیره کمپوزیته (Asteraceae) است (Ghahreman, 1983). این جنس در ایران ۳۴ گونه علفی یک‌ساله و چندساله دارد که در سراسر کشور پراکنده شده‌اند (Mozaffarian, 1996). ترکیب شیمیایی اسانس درمنه کوهی، برحسب نوع واریته، مرحله رشد یا زمان جمع‌آوری گیاه و شرایط آب‌وهوایی رویش، متفاوت است (Mahboubi and Bidgoli, 2009). اسانس درمنه کوهی، منبعی بسیار قوی از ترکیب‌های فعال زیستی است که به صورت ماده قارچ کش و ضدباکتری به کار می‌رود (Dupont et al., 1996). تاکنون وجود ۵۴ ترکیب در اسانس این گیاه، مشخص شده است که ترکیبات استات، آلفا سیترال، لینالول، ژرانیول و Z-سیترات از اجزاء اصلی اسانس گیاه درمنه هستند. یکی از ترکیبات مهم گیاه درمنه، آرتیمیزینین (Artemisinin) است. آرتیمیزینین با فرمول $C_{15}H_{22}O_2$ ، سزکوئی ترین لاکتون اندوپراکسیداز مشتق شده از بخش‌های هوایی گیاه درمنه خزری (*A. annua*) است که به طور گسترده‌ای در صنایع دارویی و به ویژه بر ضد انگل مالاریا به کار می‌رود (Bhakuni et al., 2001). بررسی‌ها نشان می‌دهند آرتیمیزینین در شرایط آزمایشگاهی از فعالیت ویروس‌های ایدز و هپاتیت‌های B و C جلوگیری می‌کند (Efferth et al., 2008). باتوجه به آثار ضدانگلی، ضد میکروبی و ضد مسموم شدن متابولیت‌های ثانویه گیاه درمنه کوهی و اهمیت آنها در درمان مالاریا و سرطان، بررسی میزان تغییرات این ترکیبات بر اثر محرک زیستی و غیرزیستی ضرورت دارد. علاوه بر این،

نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی و در دمای 25 ± 2 درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. جوانه‌زنی بذرها پس از ۶ تا ۷ روز آغاز شد. پس از رشد کامل دانه‌رست‌ها، گیاهچه‌ها دوباره در زیر لامینار ایرفلو و در شرایط کاملاً استریل در فاصله‌های زمانی یک‌ماهه، ۶ مرتبه واگشت شدند و در نهایت، نمونه‌های لازم برای پژوهش حاضر، به صورت ۳ تکرار برای هر تیمار حاوی ۳ گیاهچه ۵ تا ۶ سانتی‌متری و دارای ۸ تا ۱۰ برگ و همگی از سرشاخه‌های حامل مریستم انتهایی در زمان‌های مشخص در معرض تیمار قرار گرفتند. برای تیماردهی با امواج UV، از محفظه‌ای به شکل مکعب مستطیل با ابعاد $90 \times 40 \times 50$ سانتی‌متر (ارتفاع \times عرض \times طول) از جنس پلکسی گلاس استفاده شد که در سقف آن لامپ‌های UV-A (۳۶۵ نانومتر)، UV-B (۳۱۲ نانومتر) و UV-C (۲۵۴ نانومتر) از هر کدام دو عدد و هر دو با توان ۸ وات تعبیه شده بودند. قبل از شروع هر تیماردهی، ابتدا داخل محفظه با الکل ۹۶ درجه استریل و شیشه‌های کشت در باز حاوی گیاهچه‌های درمنه کوهی در فاصله ۳۰ سانتی‌متری از لامپ‌ها قرار گرفتند. هریک از تیمارهای UV-A، UV-B، UV-C، UV-(A+B)، UV-(A+C) و UV-(B+C) به مدت ۹ روز و هر تیمار در هر روز، به مدت ۳۰ دقیقه اعمال شد و پس از آخرین تیماردهی، برداشت نمونه‌ها با تأخیر ۲ و ۲۴ ساعته انجام شد. انتخاب زمان و تعداد روز تیماردهی براساس آزمایش‌های ابتدایی مشخص شد. گفتنی است برای ایجاد پرتوهای تک‌طول موج از دو لامپ UV (مدل Actinic BL، شرکت Philips، لهستان) با طول موج و توان یکسان

متابولیت‌های ثانویه و از آنجا که بررسی‌های اندکی درباره آثار امواج UV بر ویژگی‌های فیزیولوژیک و ترکیبات گیاه *A. aucheri* انجام شده‌اند، هدف از پژوهش حاضر، بررسی تغییرات برخی شاخص‌های فیزیولوژیک گیاه درمنه کوهی و تغییرات متابولیت‌های ثانویه به‌ویژه آرتیمیزینین در پاسخ به طیف‌های متعدد امواج UV است.

مواد و روش‌ها

کشت بذر و تهیه گیاهچه: برای بررسی اثر امواج UV و زمان نمونه‌گیری (پس از تیماردهی) بر برخی ویژگی‌های فیزیولوژیک و متابولیت‌های ثانویه گیاه درمنه کوهی، آزمایشی به صورت فاکتوریل بر پایه طرح کامل تصادفی در شرایط کشت درون‌شیشه‌ای انجام شد. تیمارهای آزمایش شامل ۷ نوع تابش (بدون UV، UV-A، UV-B، UV-C، UV-(A+B)، UV-(A+C) و UV-(B+C)) و در دو زمان نمونه‌گیری متفاوت (۲ و ۲۴ ساعت پس از تیماردهی) پس از ۹ روز تیماردهی با تابش‌های یادشده در سه تکرار بود. بدین منظور، بذرها گیاه درمنه کوهی (*Artemisia aucheri*) از مرکز تحقیقات کشاورزی اصفهان تهیه شدند. ابتدا بذرها در شرایط کاملاً استریل در زیر لامینار ایرفلو (کلاس ۲، مدل JTLVC2، شرکت JALTAJHIZ، ایران) به مدت ۳ دقیقه در اتانول ۹۶ درجه و سپس به مدت ۹ دقیقه در سدیم هیپوکلریت ۱ درصد قرار گرفتند و پس از هر مرحله، بذرها با آب مقطر استریل شستشو شدند. در مرحله بعد بذرها در شرایط استریل به شیشه‌های کشت حاوی محیط کشت MS منتقل و در اتاق رشد با شرایط

درجه سانتی‌گراد (مدل WTC، شرکت Binder، آلمان) به مدت ۲۴ ساعت خشک شدند؛ سپس پودر آن تهیه و به آن ۱۰۰ میلی‌لیتر هگزان اضافه و هم‌وزن شد و در آن جوش به مدت ۱۵ دقیقه قرار گرفت. فاز هگزان جدا و در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد تبخیر شد. بر باقی‌مانده، ۲۵ میلی‌لیتر استونیتریل خالص اضافه و هم زده شد و از فیلتر ۰/۴۵ میکرومتر عبور داده شد. ماده استاندارد آرتمیزینین شرکت SIGMA هم در غلظت لازم در استونیتریل حل و به دستگاه HPLC تزریق شد. بدین‌منظور، از دستگاه HPLC (مدل Unicam Crystal 200، شرکت Kinesis، انگلستان) استفاده شد. ستون C18-Bonda pak با طول ۳۰ سانتی‌متر و قطر ۳/۹ میلی‌متر و قطر ذرات ۱۰ میکرومتر با فاز معکوس به کار رفت. فاز متحرک شامل استونیتریل خیلی خالص و بافر استات با pH برابر با ۵/۱ بود که با نسبت ۵۵ درصد از استونیتریل و ۴۵ درصد از بافر استات مخلوط و با سرعت ۰/۴۵ میلی‌متر در دقیقه از ستون عبور داده شد. دکتور از نوع LCD بود که در طول موج ۲۸۹ نانومتر تنظیم شد (ElSohly et al., 1987). مقدار آرتمیزینین نمونه براساس تطبیق peak آن با peak نمونه استاندارد و محاسبه سطح زیر نمودار آنها مشخص شد.

مواد مؤثر: برای ارزیابی مواد مؤثره اسانس از دستگاه کروماتوگراف گازی جرم‌سنجی (مدل Hewlett-Packard 5890 GC، شرکت Waldbronn، آلمان) دارای سیستم تله یونی استفاده شد که بر انرژی یونیزاسیون ۷۰ الکترون ولت و درجه حرارت ۲۵۰ درجه سانتی‌گراد برای تولید منبع یون تنظیم شد. رقیق کردن نمونه‌ها با روش

و برای پرتوهای ترکیبی از دو لامپ UV با طول‌موج متفاوت و توان یکسان استفاده شد. در دو زمان ۲ و ۲۴ ساعت پس از تیماردهی، نمونه‌گیری برای بررسی تغییرات رنگیزه‌های فتوسنتزی، فلاونوئیدها و ترکیبات مؤثر انجام شد. همچنین در گیاهان شاهد، تابش با نور مرئی با شرایط مشابه انجام شد.

رنگیزه‌های فتوسنتزی: برای اندازه‌گیری رنگیزه‌های فتوسنتزی، ۰/۱ گرم از وزن تر برگ با ۵ میلی‌لیتر استون ۱۰۰ درصد در هاون چینی ساییده شد و عصاره به دست آمده به مدت ۱۰ دقیقه در ۲۵۰۰ سانتی‌فیوژ و سپس جذب فاز بالایی هریک از نمونه‌ها در طول‌موج‌های ۶۶۳، ۶۴۵ و ۴۷۰ نانومتر با اسپکتروفتومتر UV-Visible (مدل ۶۳۰۵، شرکت JENWAY، انگلستان) ثبت شد (Lichtenthaler and Wellburn, 1983).

فلاونوئید کل: برای اندازه‌گیری فلاونوئید کل، از روش Zhishen و همکاران (۱۹۹۹) استفاده شد. ۰/۱ گرم برگ تازه در هاون چینی حاوی ۱۰ میلی‌لیتر متانول ساییده شد؛ سپس به ۱ میلی‌لیتر از عصاره استخراج شده، ۱ میلی‌لیتر محلول ۲ درصد آلومینیوم کلرید ($AlCl_3$) اضافه شد و حجم آن، با اتانول به ۲۵ میلی‌لیتر رسید. نمونه‌ها به مدت ۱۰ دقیقه در دور ۳۰۰۰ سانتی‌فیوژ و پس از ۴۰ دقیقه، جذب روش‌ناور نمونه‌ها در طول‌موج ۳۳۰ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد. برای محاسبه غلظت فلاونوئیدهای کل از ضریب خاموشی ۳۳۰۰۰ میلی‌مولار بر سانتی‌متر استفاده شد. **آرتمیزینین:** برای استخراج و ارزیابی آرتمیزینین، برگ‌های درمنه کوهی در آن ۴۰

شکافت با نسبت ۱:۱۰۰ انجام شد. طول ستون موئینه، ۵۰ متر، قطر داخلی آن ۰/۲۰ میلی‌متر و ضخامت فیلم، ۲۵ میکرومتر بود. ذرات از جنس متیل سیلیکون کراس‌لینک‌شده بودند و دتکتور از نوع انتخاب‌کننده جرمی (مدل HP5970 Series mass selective detector، شرکت LabX Media Group، کانادا) استفاده شد. برنامه حرارتی از ۱۰۰ تا ۲۵۰ درجه سانتی‌گراد با تغییرات ۴ درجه سانتی‌گراد در دقیقه استفاده شد. هلیوم خیلی خالص با سرعت عبور یک میلی‌لیتر در دقیقه به‌عنوان گاز حامل به کار برده شد. شناسایی هر ترکیب براساس زمان بازداری و جرم ثبت‌شده آنها انجام شد. مقادیر براساس درصد در جدول گزارش شده‌اند.

تحلیل آماری: برای تحلیل داده‌ها و رسم

نمودارها از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۰ استفاده شد. در همه نمودارها، نتایج به‌صورت میانگین سه تکرار بیان شدند. اختلاف بین تیمارها و مقایسه میانگین‌ها با تجزیه واریانس (ANOVA) دوطرفه و آزمون توکی در سطح آماری $P < 0/05$ بررسی شدند.

نتایج

رنگی‌های فتوسنتزی: نتایج به‌دست‌آمده از

تجزیه واریانس‌ها نشان دادند تأثیر تابش اشعه UV و زمان نمونه‌گیری و همچنین تأثیر برهم‌کنش تابش و زمان نمونه‌گیری بر کلروفیل a، کلروفیل b و کلروفیل کل در سطح ۵ درصد معنی‌دار است (جدول ۱). بررسی آثار تابش امواج UV آشکار کرد بجز UV-A سایر تابش‌ها کاهش معنی‌دار کلروفیل a را در گیاه درمنه کوهی سبب شد. براین‌اساس، UV-B، UV-C، UV-(A+B)، UV-(A+C) و UV-(B+C) تقریباً به‌ترتیب، سطح

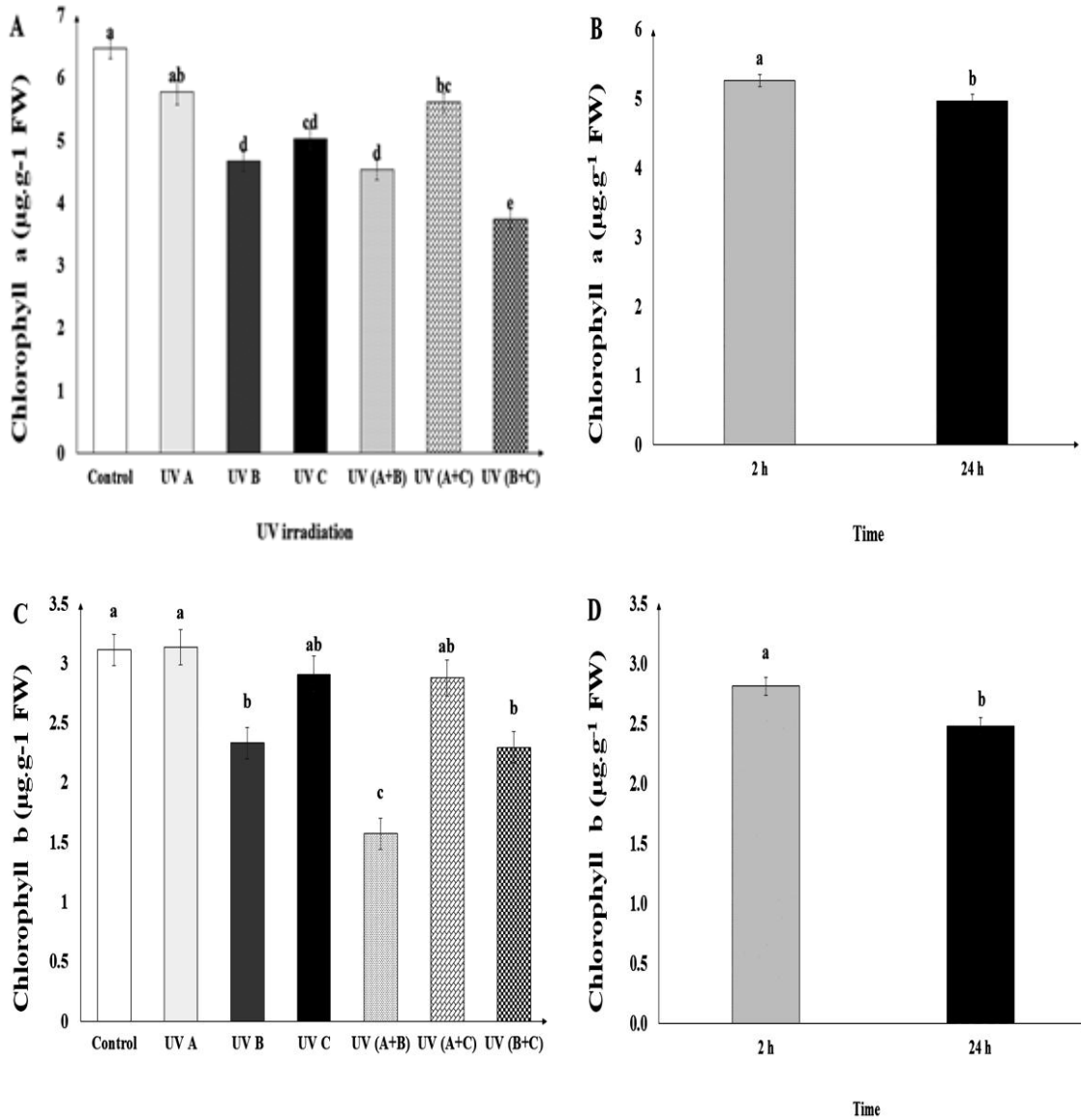
کلروفیل a را ۲۸، ۲۲، ۳۰، ۱۳ و ۴۲ درصد نسبت به گیاهان شاهد کاهش دادند و کمترین مقدار کلروفیل a در تابش UV-(B+C) مشاهده شد (شکل ۱-A). نتایج مقایسه میانگین اثر متقابل تابش UV و زمان نمونه‌گیری مشخص کرد بجز تیمار UV-A، مقدار کلروفیل a در برداشت ۲۴ ساعته پس از تیماردهی با سایر تابش‌های UV در مقایسه با برداشت دوساعته پس از تیماردهی از دیدگاه آماری کاهشی یا بدون تغییر بود؛ برای نمونه، میزان کلروفیل a در تیمارهای UV-(A+B) و UV-(A+C) در ۲۴ ساعت پس از تیماردهی به‌ترتیب، حدود ۱۷/۵ و ۳۶ درصد نسبت به ۲ ساعت پس از برداشت کاهش یافت (شکل ۲-A)؛ باوجوداین، مقایسه اثر زمان نمونه‌گیری بر میزان کلروفیل a بیان‌کننده کاهش این رنگی‌زه در ۲۴ ساعت پس از تیماردهی است (شکل ۱-B).

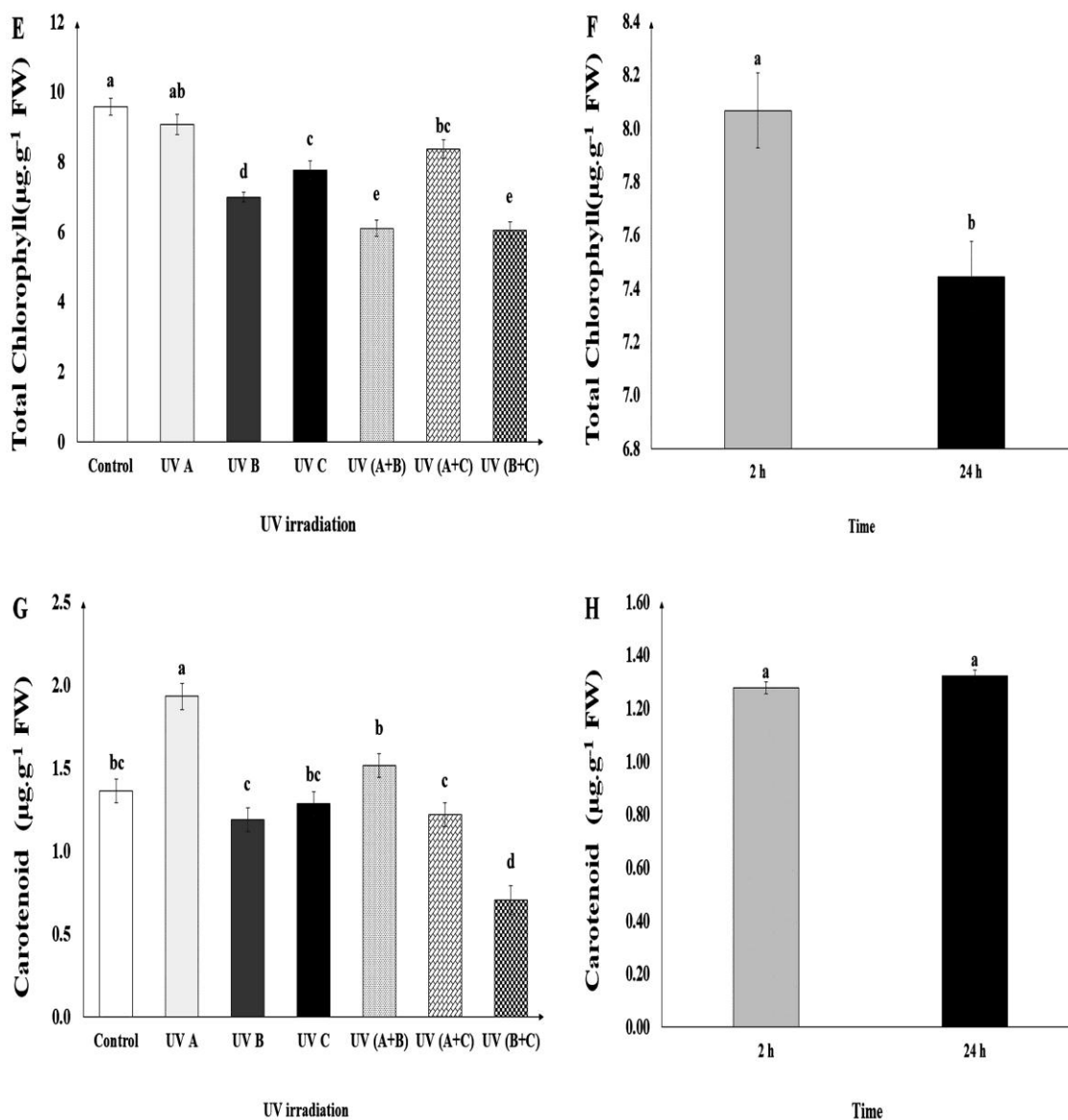
آثار تابش UV مشخص کردند تابش UV-B، UV-(A+B) و UV-(B+C) به‌ترتیب میزان کلروفیل b را نسبت به گیاهان شاهد حدود ۲۵، ۴۹ و ۲۶ درصد کاهش دادند (شکل ۱-C)؛ بنابراین بیشترین کاهش در تابش UV-(A+B) مشاهده شد. همچنین بررسی آثار متقابل تابش UV و زمان نمونه‌گیری مشخص کرد برداشت ۲۴ ساعته پس از تیماردهی با امواج UV-(A+C) مقدار کلروفیل b را حدود ۵۸ درصد نسبت به برداشت دوساعته کاهش داد (شکل ۲-B)؛ درحالی‌که اختلاف معنی‌داری در سایر تیمارهای UV در زمان‌های نمونه‌گیری مشاهده نشد. به‌هرحال، مقایسه اثر زمان نمونه‌گیری بر میزان کلروفیل b بیان‌کننده کاهش هرچند اندک اما معنی‌دار این رنگی‌زه در ۲۴ ساعت پس از تیمار دهی است (شکل ۱-D).

جدول ۱- نتایج تجزیه واریانس ویژگی‌های رنگیزه‌های فتوسنتزی و فلاونوئیدها در گیاه درمنه کوهی

میانگین مربعات					درجه آزادی	منبع تغییرات
فلاونوئید کل	کاروتنوئید	کلروفیل کل	کلروفیل b	کلروفیل a		
۰/۶۸۹*	۰/۵۱۷*	۱۱/۲۶۵*	۲/۰۲۵*	۴/۷۷۵*	۶	تابش (UV)
۱/۰۰۶*	۰/۰۱۸ ^{ns}	۳/۵۵۹*	۱/۰۵۲*	۰/۸۱۲*	۱	زمان نمونه گیری
۱/۱۴۳*	۰/۶۵۴*	۵/۱۴۱*	۰/۶۹۹*	۲/۵۱۷*	۶	تابش × زمان نمونه گیری
۰/۰۵۴	۰/۰۳	۰/۳۳۹	۰/۱۰۵	۰/۱۵۱	۲۶	خطا

ns، نبود تفاوت معنی دار و *، تفاوت معنی دار در سطح احتمال $P \leq 0.05$ را نشان می‌دهد.





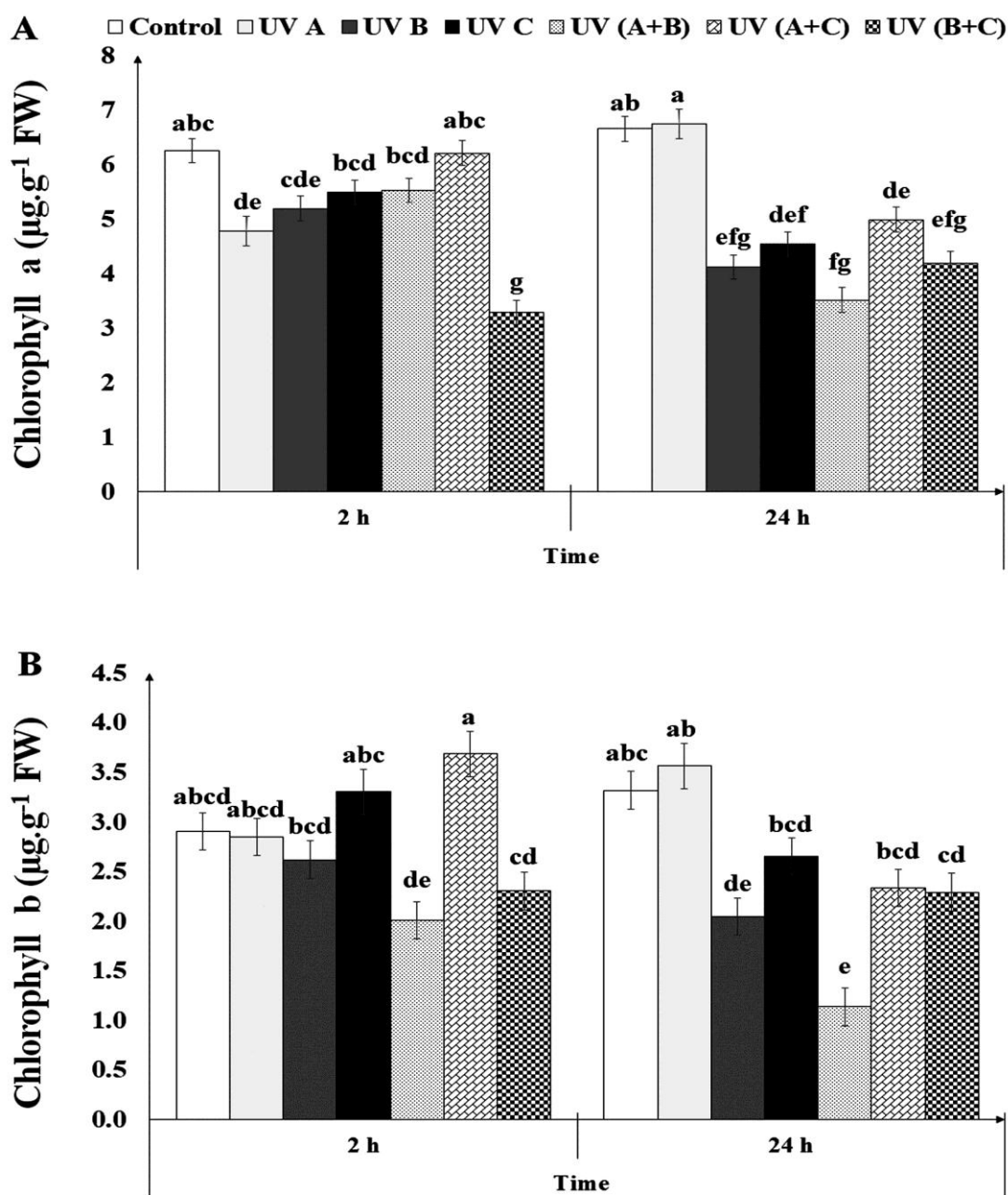
شکل ۱- آثار ساده تابش UV (A, C, E و G) و زمان نمونه‌گیری پس از آخرین تیماردهی (B, D, F و H) بر محتوای کلروفیل‌های a و b، کلروفیل کل و کاروتنوئید- مقادیر، میانگین سه تکرار \pm SE هستند. حروف متفاوت، بیان‌کننده تفاوت معنی‌دار در سطح $P < 0.05$ براساس آزمون توکی هستند.

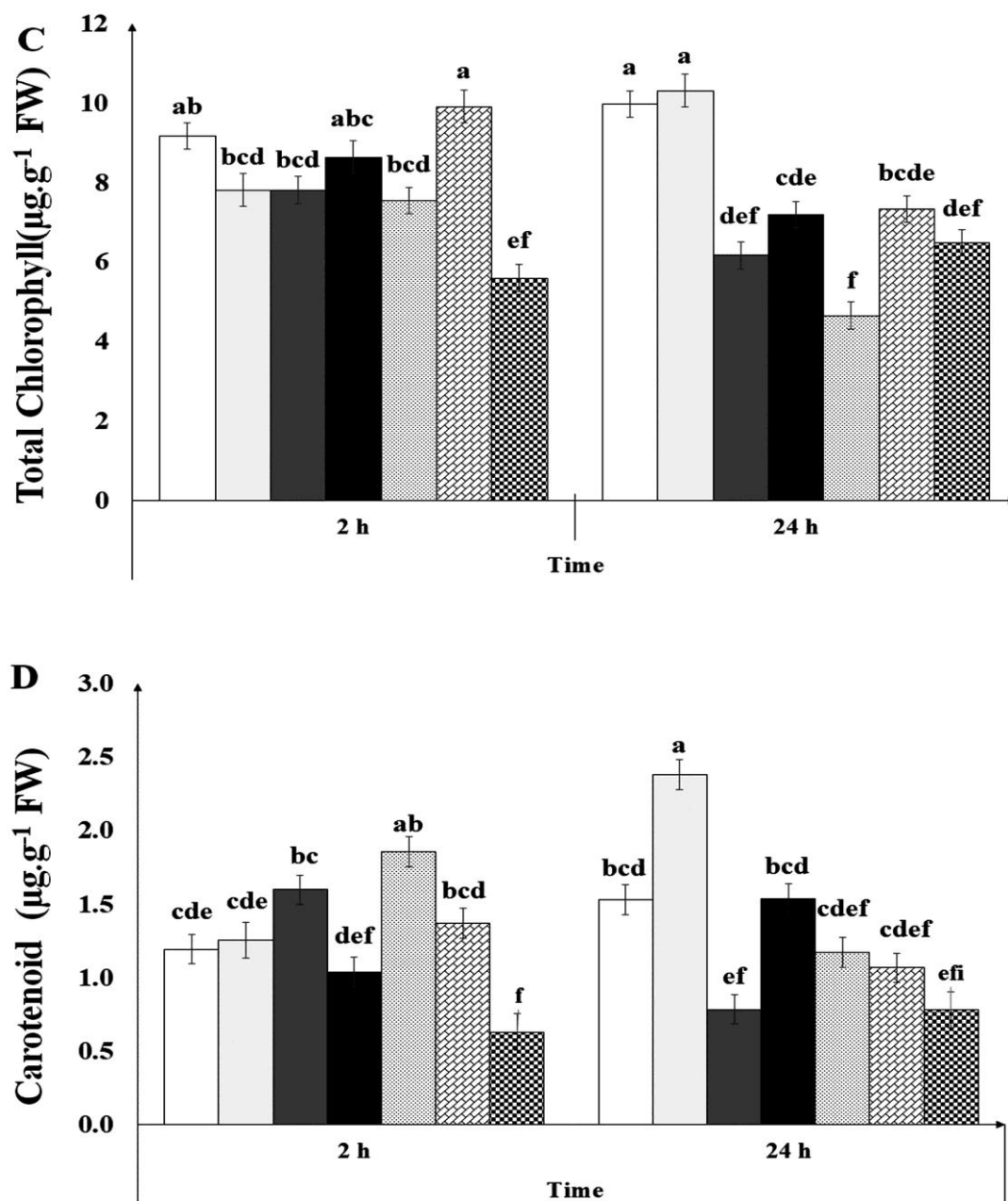
معنی‌دار نسبت به گیاهان شاهد در تابش‌های ترکیبی UV-(A+B) و UV-(B+C) مشاهده شد. مقایسه اثر زمان نمونه‌گیری نیز به صورت کلی مشخص کرد میزان کلروفیل کل در برداشت ۲۴ ساعته پس از تیماردهی نسبت به دو ساعت پس از تیماردهی روند کاهشی دارد (شکل ۱-F). همچنین

نتایج تحلیل داده‌ها نشان دادند کلروفیل کل بر اثر همه تابش‌های UV بجز UV-A کاهش یافت و مقدار کلروفیل در تابش‌های UV-B، UV-C، UV- (A+B)، UV-(A+C) و UV-(B+C) حدود ۲۷، ۱۹، ۳۶، ۱۳ و ۴۰ درصد نسبت به گیاهان شاهد کاهش یافت (شکل ۱-E)؛ بنابراین بیشترین کاهش

UV-، UV-(A+C)، UV-(A+B)، UV-C، B مقایسه میانگین آثار تابش و زمان نمونه‌گیری آشکار کرد بجز تابش UV-A، سایر تیمارها کاهش میزان کلروفیل کل را در برداشت ۲۴ ساعته پس از تیماردهی سبب شدند. براین اساس، مقدار کلروفیل در گیاهان در ۲۴ ساعت پس از تیماردهی با UV-

مقایسه میانگین آثار تابش و زمان نمونه‌گیری آشکار کرد بجز تابش UV-A، سایر تیمارها کاهش میزان کلروفیل کل را در برداشت ۲۴ ساعته پس از تیماردهی سبب شدند. براین اساس، مقدار کلروفیل در گیاهان در ۲۴ ساعت پس از تیماردهی با UV-





شکل ۲- آثار متقابل تابش UV و زمان نمونه‌گیری بر محتوای کلروفیل‌های a و b، کلروفیل کل و کاروتنوئید- مقادیر، میانگین سه تکرار \pm SE هستند. حروف متفاوت، بیان‌کننده تفاوت معنی‌دار در سطح $P < 0.05$ براساس آزمون توکی هستند.

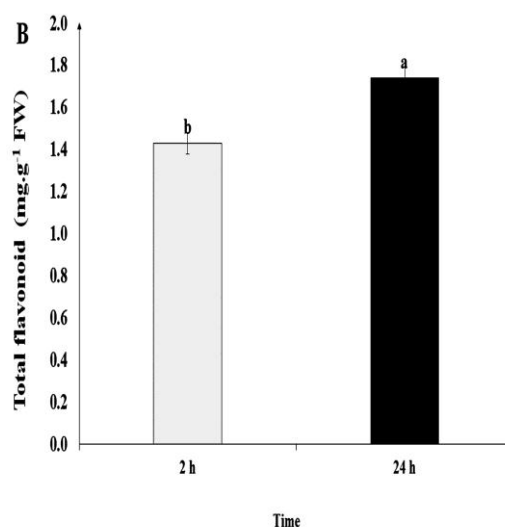
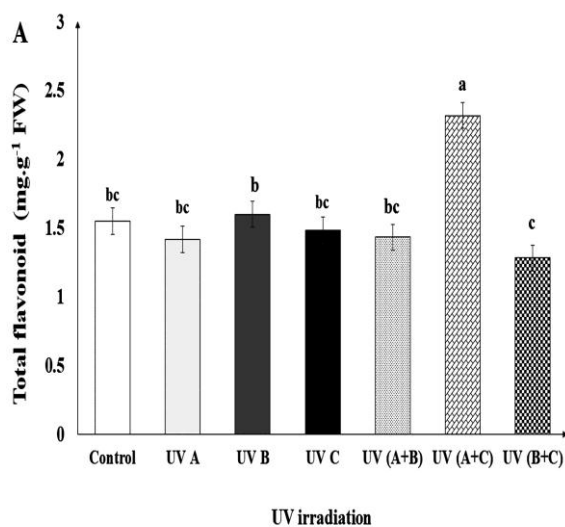
۵ درصد است (جدول ۱)؛ درحالی‌که برخلاف رنگیزه‌های کلروفیلی، زمان نمونه‌گیری تأثیر معنی‌داری بر مقدار کاروتنوئیدها نداشت (شکل ۱-)

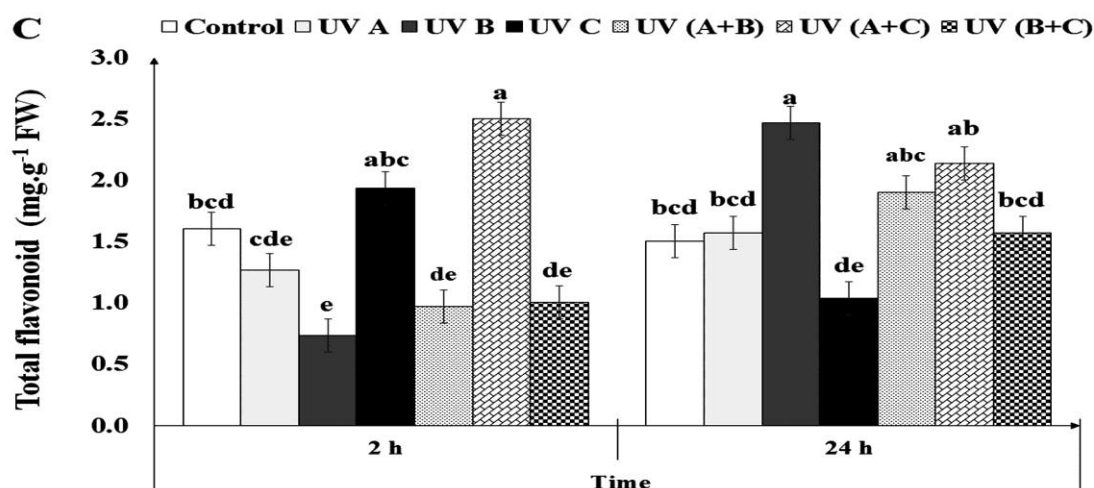
درباره کاروتنوئیدها نتایج تحلیل واریانس داده‌ها بیان‌کننده اثر معنی‌دار تابش UV و همچنین برهم‌کنش تابش UV و زمان نمونه‌گیری در سطح

UV-(A+C) بر فلاونوئید کل است. مقدار فلاونوئید کل گیاهان در معرض تابش UV-(A+C) در مقایسه با گیاهان شاهد تقریباً ۵۰ درصد افزایش یافت (شکل ۳-۱). به‌طور کلی، زمان نمونه‌گیری بر مقدار فلاونوئید کل اثر گذاشت؛ به‌طوری‌که غلظت این ترکیبات با گذشت زمان پس از تیماردهی با امواج UV افزایش یافت (شکل ۳-۲). مقایسه میانگین آثار متقابل تنش UV و زمان نمونه‌گیری، بیشترین مقدار معنی‌دار فلاونوئید کل را در ۲ ساعت پس از برداشت در تابش UV-(A+C) و در ۲۴ ساعت پس از برداشت در تابش UV-B نسبت به گیاهان شاهد نشان داد. همچنین بیشترین میزان افزایش مقدار ترکیبات فلاونوئید با گذشت زمان در تابش UV-B مشاهده شد (شکل ۳-۳).

H). علاوه‌براین، از انواع تابش‌های به‌کاررفته، تابش UV-A به افزایش ۴۲ درصدی کاروتنوئیدها و تابش UV-(B+C) به کاهش ۴۸ درصدی آن نسبت به گیاهان شاهد منجر شد (شکل ۱-G). همچنین آثار متقابل تابش UV و زمان نمونه‌گیری نشان دادند ۲۴ ساعت پس از تیماردهی با امواج UV-A مقدار کاروتنوئید در مقایسه با گیاهان شاهد ۵۶ درصد افزایش یافت؛ ولی تابش‌های UV-B و UV-(B+C) هر دو کاهش ۴۹ درصدی کاروتنوئیدها را سبب شدند (شکل ۲-D).

فلاونوئید: اثر تیمارهای تابش UV، زمان نمونه‌گیری و برهم‌کنش تابش UV و زمان نمونه‌گیری بر مقدار فلاونوئید کل براساس تجزیه واریانس در سطح ۵ درصد معنی‌دار شد (جدول ۱). بررسی آثار تابش، بیان‌کننده اثر افزایشی تابش





شکل ۳- آثار ساده تابش UV (A) و زمان نمونه‌گیری (B) و آثار متقابل تابش UV و زمان نمونه‌گیری (C) بر فلاونوئید کل گیاه درمنه کوهی-مقادیر، میانگین سه تکرار \pm SE هستند. حروف متفاوت، بیان‌کننده تفاوت معنی‌دار در سطح $P < 0.05$ براساس آزمون توکی هستند.

باگذشت زمان پس از تیماردهی، غلظت آرتمیزینین افزایش یافت.

ترکیبات مؤثر اسانس: تغییرات ترکیبات اسانس گیاهچه‌های درمنه کوهی کشت‌شده در شرایط درون‌شیشه‌ای در پاسخ به تابش UV پس از ۹ روز تیمار و در دو زمان نمونه‌گیری متفاوت، با GC-MS تحلیل شد. به‌طورکلی، مقدار ترکیبات ترپنی شامل کامفن، لیمونن، سینئول، لینالول، کامفور، ایزوبورنئول، توجون و بورنئول در گیاهان شاهد در هر دو زمان نمونه‌گیری بیشتر از سایر ترکیبات بود و تابش انواع UV به‌طورکلی با افزایش کامفن، لیمونن، سینئول، لینالول و ایزوبورنئول و با کاهش کامفور، توجون و بورنئول در هر دو زمان نمونه‌گیری همراه بود.

آرتمیزینین: نتایج به‌دست‌آمده از تأثیر تابش

UV بر غلظت آرتمیزینین در جدول ۲ مشاهده می‌شوند. به‌طورکلی تابش همه انواع UV بجز UV-C افزایش مقدار آرتمیزینین را در گیاه درمنه بررسی شده در دو زمان نمونه‌گیری متفاوت سبب شده است. براساس نتایج، بیشترین افزایش غلظت آرتمیزینین در گیاهانی که با تأخیر ۲ ساعته پس از تیماردهی بررسی شدند در تابش‌های UV(A+B)، UV(B+C) و UV-B در مقایسه با شاهد مشاهده شد و در گیاهان با تأخیر ۲۴ ساعته بیشترین افزایش غلظت آرتمیزینین در تابش‌های UV(B+C) و UV(A+C) مشاهده شد؛ بنابراین بیشترین مقدار این ماده در تابش UV-(B+C) وجود دارد. به‌طورکلی

جدول ۲- تغییرات غلظت آرتمیزینین بر اثر تابش UV و زمان نمونه‌گیری در گیاه درمنه کوهی

تیمار	نمونه‌گیری با تأخیر ۲ ساعته پس از تیماردهی	نمونه‌گیری با تأخیر ۲۴ ساعته پس از تیماردهی	تغییرات نسبت به کنترل در نمونه‌گیری با تأخیر ۲ ساعته پس از تیماردهی	تغییرات نسبت به کنترل در نمونه‌گیری با تأخیر ۲۴ ساعته پس از تیماردهی
شاهد	۷/۳۱	۸/۳۱	-	-
UV-A	۹/۷	۱۰/۳۸	۳۲/۶	۲۴/۹
UV-B	۱۰/۴۱	۹/۵۶	۴۱/۳	۱۵/۰۴
UV-C	۸/۴۳	۸/۳۵	۱۵/۳	۰/۴
UV-(A+B)	۱۱/۴۲	۱۲/۳	۵۶/۲	۴۸
UV-(A+C)	۹/۶	۱۱/۳۷	۳۱/۳	۳۶/۸
UV-(B+C)	۱۰/۳۳	۱۳/۲	۴۱/۳	۵۸/۸

پاسخ به همه تیمارهای UV بجز UV-A کاهش یافت و مشخص شد تابش‌های ترکیبی UV-(A+B) و UV-(B+C) بیشترین اثر را بر کاهش کلروفیل دارند. در بررسی گیاهچه فلفل (*Capsicum annuum* L.) مشخص شد اشعه UV-A نقش زبان‌باری بر رشد گیاه ندارد و بیشتر آسیب‌های اشعه UV مربوط به تابش‌های UV-B و UV-C هستند (Mahdavian et al., 2006). کاهش میزان کلروفیل را به اثر بازدارندگی اشعه UV بر سنتز کلروفیل و تجزیه پیش‌سازهای این رنگیزه‌ها (Paul and Gwynn-Jones, 2003) و افزایش غلظت اتیلن (Zhang and Kirkham, 1996) مرتبط می‌دانند؛ بنابراین، نبود تغییرات معنی‌دار در رنگیزه‌های فتوسنتزی در تیمار UV-A شاید مربوط به انرژی کمتر آن در مقایسه با دیگر تابش‌ها است و باگذشت زمان احتمالاً فرایندهای تجزیه کلروفیل و تولید اتیلن در گیاه درمنه در پاسخ به تابش UV تسریع و به دنبال آن، کاهش غلظت کلروفیل را موجب شده‌اند.

علاوه بر این، افزایش چشمگیر استات ژرانیل در پاسخ به تابش UV-(A+B) در هر دو زمان مشاهده شد (جدول ۳).

بحث

مقدار رنگیزه‌های فتوسنتزی به میزان بیوسنتز و تجزیه آن و همچنین سطح برگ مرتبط است. گزارش‌های متناقضی درباره تأثیر اشعه UV بر رنگیزه‌های فتوسنتزی وجود دارند. بررسی تأثیر تابش UV-B بر ۱۹ واریته سویا نشان داد UV-B در گروهی از واریته‌ها کاهش مقدار کلروفیل کل را باعث شده است. در واریته‌های حساس، غلظت کلروفیل a بیشتر از کلروفیل b کاهش پیدا کرده است و در تعدادی از واریته‌ها، حتی افزایش مقدار کلروفیل a و b نیز گزارش شده است (Biggs et al., 1981). کاهش کلروفیل b در گیاهان ذرتی که در معرض تابش با UV-B قرار داشتند نیز مشاهده شد (Shen et al., 2015). هم‌راستا با این نتایج، غلظت کلروفیل در گیاه درمنه کوهی در

جدول ۳- تغییرات ترکیبات اسانس گیاه درمنه کوهی بر اثر تابش UV و زمان نمونه‌گیری

ردیف	نام گیاه	تعداد قطعات	تاریخ برداری	نمونه‌گیری با تأخیر ۲ ساعته پس از تیماردهی						نمونه‌گیری با تأخیر ۲۴ ساعته پس از تیماردهی						
				UV-A	UV-B	UV-C	UV-A+B	UV-A+C	UV-B+C	شاهد	UV-A	UV-B	UV-C	UV-A+B	UV-A+C	UV-B+C
۱	پیریدین	۷۵۶	۱/۱	۰/۸	۱/۳	۱/۰	۱/۳	۱/۱	۰/۸	۱/۴	۰/۷	۱/۱	۱/۱	۱/۱	۱/۱	۰/۶
۲	۱-اکتان	۷۷۵	۱/۰	۰/۹	-	۱/۴	۱/۰	۰/۸	-	۱/۰	۱/۳	۰/۹	۱/۱	۱/۰	۰/۸	
۳	اکتان ۷-متیل	۷۹۲	۱/۳	۱/۱	۱/۶	-	۱/۲	۰/۹	۱/۲	۱/۱	۱/۲	۱/۰	۱/۱	۱/۱	۰/۶	
۴	آلفا-پینن	۹۱۳	۱/۱	۱/۵	۱/۶	۱/۰	۰/۸	۰/۹	۱/۱	۱/۳	۱/۰	۱/۳	۱/۱	۱/۱	۱/۰	
۵	کامفن	۹۳۰	۵/۰	۶/۱	۵/۶	۷/۶	۶/۲	۶/۲	۶/۸	۵/۵	۶/۱	۴/۵	۴/۵	۵/۵	۸/۴	
۶	پاراسیمن	۹۴۱	۱/۲	۱/۶	۱/۲	۱/۲	۰/۸	۰/۸	۰/۹	۱/۶	۰/۹	۱/۴	۱/۴	۱/۶	-	
۷	بتا-فلاندرین	۹۶۰	۰/۹	۱/۲	۱/۸	۱/۰	۱/۲	۱/۲	۱/۰	۱/۸	۱/۲	۱/۵	۱/۱	۱/۸	۰/۶	
۸	بتا-پینن	۹۷۴	۱/۶	۱/۱	۱/۳	۰/۹	۱/۴	۱/۴	۰/۸	۱/۱	۱/۲	۱/۲	۱/۱	۱/۱	۰/۹	
۹	میرسن	۹۸۸	۱/۳	۰/۸	۱/۶	۰/۸	۱/۰	۱/۰	۱/۴	۱/۲	۱/۴	۱/۸	۱/۲	۱/۲	۰/۷	
۱۰	لیمونن	۱۰۱۰	۳/۶	۴/۲	۳/۵	۵/۲	۴/۱	۴/۱	۴/۲	۵/۳	۴/۸	۴/۱	۳/۱	۳/۱	۶/۲	
۱۱	۸،۱-سینال	۱۰۲۶	۷/۷	۹/۱	۸/۴	۱۰/۷	۹/۲	۹/۲	۹/۹	۹/۸	۹/۳	۱۰/۱	۸/۳	۸/۳	۱۲/۰	
۱۲	گاما-ترپینن	۱۰۵۷	۰/۹	۱/۱	۱/۲	۰/۸	۱/۱	۱/۱	۰/۸	۰/۹	۱/۳	۱/۳	۰/۹	۰/۹	۰/۷	
۱۳	لینالول اکسید	۱۰۷۰	۱/۳	۰/۸	۱/۴	۰/۹	۱/۳	۱/۳	۱/۲	۱/۳	۱/۱	۲/۰	۱/۳	۱/۳	۰/۹	

جدول ۳- تغییرات ترکیبات اسانس گیاه درمنه کوهی بر اثر تابش UV و زمان نمونه‌گیری

نمونه‌گیری با تأخیر ۲۴ ساعته پس از تیماردهی		نمونه‌گیری با تأخیر ۲ ساعته پس از تیماردهی						نمونه‌گیری با تأخیر ۲ ساعته پس از تیماردهی		نمونه‌گیری با تأخیر ۲ ساعته پس از تیماردهی		ردیف			
UV- B+C	UV- A+C	UV- A+B	UV- C	UV- B	UV- A	شاهد	UV- B+C	UV- A+C	UV- A+B	UV- C	UV- B		UV- A	شاهد	تأخیر بازداری
۰/۸	۰/۹	۰/۶	۱/۰	۰/۹	۱/۲	۳/۱	۱/۰	۱/۴	۰/۸	۱/۱	۱/۵	۱/۲	۱/۱	۱۲۶۱	Z- جاسمون
۱/۳	۱/۱	۰/۹	۱/۱	۱/۴	۰/۸	۱/۱	۰/۸	۱/۱	۱/۱	۱/۳	۱/۰	۱/۳	۰/۹	۱۲۷۷	بنا- فنیکل اسنات
۰/۹	۱/۲	۰/۸	۱/۴	۰/۸	۱/۰	۱/۲	۰/۷	۰/۹	۱/۲	۱/۶	۱/۲	۱/۰	۱/۳	۱۲۹۴	ژرانیال
۰/۷	۰/۸	۱/۱	۱/۷	۱/۲	-	۱/۰	۱/۱	۱/۰	۰/۸	۱/۲	۰/۷	۰/۹	۱/۶	۱۳۲۶	سیترال
۰/۹	۰/۷	۰/۹	۱/۳	۱/۰	۱/۱	۱/۶	۱/۰	۱/۲	۱/۱	۰/۸	۱/۰	۱/۲	۱/۱	۱۳۶۷	بنا- کاروفیلین
۴/۰	۳/۴	۴/۱	۲/۶	۳/۰	۳/۶	۱/۵	۳/۴	۲/۶	۳/۵	۲/۰	۲/۵	۳/۱	۲/۱	۱۳۷۹	ژرانیل اسنات
۱/۱	۰/۷	۰/۶	۱/۲	۰/۸	۱/۳	۰/۹	۰/۸	۱/۱	۰/۹	۱/۲	۰/۸	۱/۰	۱/۲	۱۳۹۳	اوزنال
۰/۸	۱/۱	۰/۹	۱/۰	۱/۳	۱/۶	۱/۴	۱/۲	۱/۴	۰/۸	۱/۰	۱/۴	۰/۹	۱/۸	۱۴۱۶	ژرماکرین D
۰/۹	۱/۲	۱/۰	۱/۴	۰/۹	۱/۰	۱/۳	۰/۹	۰/۸	۱/۲	۰/۸	۱/۳	۰/۸	۱/۲	۱۴۲۹	کاروفیلین اکسید
۴/۸	۴/۲	۴/۷	۳/۱	۳/۷	۴/۱	۲/۰	۴/۲	۳/۰	۴/۱	۲/۷	۳/۲	۳/۸	۲/۶	۱۴۵۱	بنا- بیزابولین
۱/۱	۰/۷	۱/۱	۰/۸	۱/۲	۰/۷	۱/۳	۰/۸	۱/۱	۰/۹	۱/۱	۰/۹	۰/۸	۰/۹	۱۴۶۶	متیل اوزنال
۰/۷	۰/۸	۰/۷	۱/۱	۱/۴	۰/۹	۱/۱	۱/۰	۰/۹	۰/۷	۱/۳	۰/۸	۱/۰	۱/۴	۱۴۷۷	آلفا- هومولین
۰/۹	۱/۰	۰/۸	۱/۲	۰/۸	۱/۰	۱/۲	۰/۷	۱/۱	۰/۸	۱/۰	۱/۳	۰/۸	۱/۱	۱۴۹۱	ژرانیل پروپونات

بنابراین افزایش این ترکیبات در پاسخ به تابش UV و به‌ویژه UV-(A+C) و UV-B ممکن است از افزایش ویژگی دارویی این گیاه ناشی شود. مشابه با نتایج به‌دست‌آمده در پژوهش حاضر، افزایش میزان فلاونوئیدها بر اثر پرتوی UV، در گیاهان اسفناج (Smirnoff and Wheeler, 2000)، اطلسی (Ryan *et al.*, 2002) و میوه گوجه‌فرنگی (*Lycopersicon esculentum*) گزارش شده است (Bijami *et al.*, 2011). علاوه‌براین، با تابش UV در گیاه درمنه (*A. annua*) هم‌راستا با نتایج پژوهش حاضر، میزان فلاونوئیدها با گذشت زمان افزایش یافت (Pandey and Pandey-Rai, 2014) که بیان‌کننده نقش حفاظتی و شاید افزایش بیان یا فعالیت آنزیم‌های مسیر بیوسنتزی این ترکیبات است. مطابق با تجمع آرتمیزینین در بررسی حاضر در پاسخ به تابش UV، افزایش ۱۰۰ درصدی تجمع این ماده در گیاه *A. annua* در پاسخ به تابش کوتاه‌مدت UV-B گزارش شده است. تحریک بیوسنتز آرتمیزینین در بررسی حاضر ممکن است مربوط به تبدیل سریع دی‌هیدرو آرتمیزینیک اسید به آرتمیزینین باشد که در تنش‌های غیرزیستی دیگر همچون شوری و فلزهای سنگین در پاسخ به افزایش گونه‌های فعال اکسیژن مشاهده شده است (Qureshi *et al.*, 2005). در بررسی دیگری بر گیاه *A. annua* پیش‌تیمار با تابش UV-B و UV-C در چند مرحله رشدونومی، افزایش تجمع آرتمیزینین را از دو روش سبب شد که عبارتند از: ۱- تبدیل سریع پیش‌ماده به آرتمیزینین بر اثر افزایش گونه‌های فعال اکسیژن و ۲- تنظیم مثبت بیان ژن‌های مسیر بیوسنتزی این ماده (Rai *et al.*,

افزایش کاروتنوئیدها با تابش UV برای محافظت از غشاهای تیلاکوئیدی و جلوگیری از اکسیداسیون نوری کلروفیل‌ها است که به نوع تابش وابسته است (Hollósy, 2002; Lawlor and Cornic, 2002). بنابراین، افزایش کاروتنوئیدها در پاسخ به تابش UV-A در گیاه درمنه کوهی ممکن است بخشی از پاسخ سازشی این گیاه با توجه به کاهش نیافتن کلروفیل در این تیمار باشد. در بررسی جداگانه‌ای بر گیاه بامیه (*Hibiscus esculentus*) (Kargar *et al.*, 2013) مشاهده شد رنگیزه‌های کلروفیل و کاروتنوئید در نمونه‌های در معرض تابش‌های UV-B و UV-C کاهش یافتند. نتایج به‌دست‌آمده از پژوهش حاضر نیز بیان‌کننده آثار کاهشی تابش UV-B و UV-(B+C) بر کاروتنوئید هستند. Allen و همکاران (۱۹۹۸) با بررسی روابط طول‌موج‌های کم نور و کاهش کاروتنوئیدها بیان کردند کاهش کاروتنوئیدها ممکن است از تبدیل آنها به آبسزیک اسید یا سایر ترکیبات مشابه ناشی شود. براساس گزارش‌ها، تجمع فلاونوئیدها در پاسخ به تابش UV در سلول‌های اپیدرمی افزایش می‌یابد (Sakihama *et al.*, 2002). به نظر می‌رسد افزایش این ترکیبات برای حفاظت سلول‌های فتوسنتزی در پاسخ به پرتوهای مخرب فرابنفش است (Liakoura *et al.*, 2001). برخی گزارش‌ها نقش آنتی‌اکسیدانی و توانایی پاک‌کردن رادیکال‌های آزاد فلاونوئیدها را در بافت‌های برگ‌گی نشان می‌دهند (Morales *et al.*, 2010). در گیاه درمنه خزری، بجز خاصیت آنتی‌اکسیدانی فلاونوئیدها، آرتمیزینین بر بیماری‌های مالاریا و سرطان تأثیر دارد (Pandey and Pandey-Rai, 2014) و

basilicum نشان دادند میزان ترکیبات اسانس در پاسخ به تابش UV-B با افزایش و کاهش همراه بودند؛ ولی بیشتر ترکیبات روند افزایشی را در پاسخ به تابش UV-B نشان دادند و حتی پژوهشگران، تابش UV-B را برای نمو غده‌های روغنی در گیاه یاد شده الزامی دانستند (Ioannidis et al., 2002)؛ بنابراین باتوجه به نتایج به دست آمده استنباط می‌شود استفاده کوتاه مدت از امواج UV به صورت تکی و ترکیبی به افزایش آرتمیزینین و نیز بیشتر ترکیبات ترپنی در اسانس گیاه درمنه کوهی منجر شد که اهمیت اقتصادی دارد.

جمع‌بندی

پژوهش حاضر نشان داد اگرچه تابش UV کاهش محتوای کلروفیل را سبب شد، انواع تابش‌های اعمال شده، بیشتر با افزایش آرتمیزینین و ترکیبات اسانس در زمان کوتاهی همراه بوده‌اند که باتوجه به فواید آرتمیزینین اهمیت دارد. اگرچه تابش UV-(B+C) بیشترین افزایش آرتمیزینین را موجب شد، باتوجه به آثار زیان‌بار آن بر مقدار کلروفیل، استفاده از تابش‌های UV-B، UV-(A+B) و UV-(A+C) برای افزایش آرتمیزینین در کوتاه مدت پیشنهاد می‌شود.

سپاسگزاری

نگارندگان مقاله از دانشگاه پیام نور استان اصفهان برای حمایت از پژوهش حاضر سپاسگزاری می‌کنند.

منابع

Allen, D. J., Nogués, S. and Baker, N. R. (1998) Ozone depletion and increased UV-B radiation: is there a real threat to photosynthesis? *Journal of Experimental Botany* 49(328): 1775-1788.

(2011). این دو روش، احتمالاً بیان‌کننده دلایل افزایش تولید آرتمیزینین در پاسخ به امواج UV در پژوهش حاضر نیز هستند.

اسانس شامل انواع مختلف ترکیبات شیمیایی است که به طور گسترده در تولید حشره‌کش، دارو، مواد معطر و آرایشی استفاده می‌شود و بخشی از آن‌ها شامل ترکیبات ترپنی است (Zhang and Björn, 2009). بررسی‌های مربوط به آثار تابش UV بر اسانس در گونه‌های گیاهی و نوع موج تاییده شده متفاوت هستند و به نظر می‌رسد علاوه بر گونه و طول موج، به مرحله نمو گیاه نیز وابسته است. اسانس گیاه *Taxus bachata* شامل ترکیبات ترپنوئیدی است و بررسی دو نوع از آنها بیان‌کننده افزایش این ترکیبات در پاسخ به تابش UV-A و UV-C است. Hajnos و همکاران (۲۰۰۱) مشاهده کردند میزان افزایش ترکیبات ترپنی در پاسخ به تابش UV-C بیشتر از UV-A است (Hajnos et al., 2001). علاوه بر این، بررسی بر گیاه *Tanacetum parthenium* مشخص کرد تابش UV-(A+B) غلظت پارتنوئید مشتق از ترکیبات ترپنی را تا سه برابر افزایش داد. نتایج به دست آمده از پژوهش حاضر نیز نشان دادند تابش UV تغییرات چشمگیر اسانس گیاه را سبب شد که علاوه بر اهمیت اقتصادی، بیان‌کننده افزایش توان دفاعی گیاه در پاسخ به این تنش است (Fonseca et al., 2006). اگرچه مقدار ترکیبات اسانس گیاه درمنه در بررسی حاضر در پاسخ به انواع تابش UV متغیر بودند، در بیشتر مواقع این ترکیبات افزایش یافتند. همگام با این نتایج، بررسی‌ها بر گیاه *Ocimum*

- Balouchi, H., Sanavy, S. M., Emam, Y. and Dolatabadian, A. (2009) UV radiation, elevated CO₂ and water stress effect on growth and photosynthetic characteristics in durum wheat. *Plant, Soil and Environment* 55(10): 443-453.
- Bhakuni, R., Jain, D., Sharma, R. and Kumar, S. (2001) Secondary metabolites of *Artemisia annua* and their biological activity. *Current Science* 80(1): 35-48.
- Biggs, R., Kossuth, S. and Teramura, A. H. (1981) Response of 19 cultivars of soybeans to ultraviolet-B irradiance. *Physiologia Plantarum* 53(1): 19-26.
- Bijami, A., Rezanejad, F. and Sasan, H. A. (2011) The effects of post-harvest uv-b radiation on some antioxidant compounds, pal activity and total protein contents of ripe red tomato (*lycopersicon esculentum*). *Journal of Plant Biology* 2(6): 29-38 (in Persian).
- 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(3): 1275-1284.
- Dupont, B., Dromer, F. and Improvisi, L. (1996) The problem of resistance to azoles in *Candida*. *Journal de Mycologie Médicale* 6(2): 12-19.
- Efferth, T., Romero, M. R., Wolf, D. G., Stamminger, T., Marin, J. J. and Marschall, M. (2008) The antiviral activities of artemisinin and artesunate. *Clinical Infectious Diseases* 47(6): 804-811.
- ElSohly, H. N., Croom, E. M. and ElSohly, M. A. (1987) Analysis of the antimalarial sesquiterpene artemisinin in *Artemisia annua* by high-performance liquid chromatography (HPLC) with postcolumn derivatization and ultraviolet detection. *Pharmaceutical Research* 4(3): 258-260.
- Fonseca, J. M., Rushing, J. W., Rajapakse, N. C., Thomas, R. L. and Riley, M. B. (2006) Potential implications of medicinal plant production in controlled environments: the case of feverfew (*Tanacetum parthenium*). *Horticultural Science* 41(3): 531-535.
- Ghahreman, A. (1983) The colorful flora of Iran. vols. 14-17. Research institute of forests and rangelands, Tehran (in Persian).
- Hajnos, M., Zabel, A. and Glowniak, K. (2001) The influence of ultraviolet radiation on the content of pharmacologically active taxoids in yew tissues. *Phytomedicine* 8(2): 139-143.
- Hofmann, R. W. (2014) UV effects in plants-case studies from New Zealand with a northern hemisphere twist. In: *Effects on Human Health and the Environment. Proceeding of NIWA UV Workshop*, Auckland, New Zealand.
- Hollósy, F. (2002) Effects of ultraviolet radiation on plant cells. *Micron* 33(2): 179-197.
- Ioannidis, D., Bonner, L. and Johnson, C. B. (2002) UV-B is required for normal development of oil glands in *Ocimum basilicum* L. (Sweet Basil). *Annals of Botany* 90(4): 453-460.
- Kargar, K. S., Jamei, R. and Hosseini, S. S. (2013) Changes in physiological anatomical and parameters of okra (*hibiscus esculentus* L.) under different ultraviolet radiation. *Journal of Plant Biology* 5(16): 13-26 (in Persian).
- Lawlor, D. W. and Cornic, G. (2002) Photosynthetic carbon assimilation and associated metabolism in relation to water deficits in higher plants. *Plant, cell and environment* 25(2): 275-294.
- Liakoura, V., Manetas, Y. and Karabourniotis, G. (2001) Seasonal fluctuations in the concentration of UV-absorbing compounds in the leaves of some Mediterranean plants under field conditions. *Physiologia Plantarum* 111(4): 491-500.

- Lichtenthaler, H. K. and Wellburn, A. R. (1983) Determinations of total carotenoids and chlorophylls a and b of leaf extracts in different solvents. *Biochemical Society Transactions* 11: 591-592.
- Lutz, C., Schonauer, E. and Neuner, G. (2005) Physiological adaptation before and after snow melt in green overwintering leaves of some alpine plants. *Phyton* 45: 139-156.
- Mahboubi, M. and Bidgoli, Q. (2009) Chemical composition and antimicrobial activity of *Artemisia aucheri* Boiss. essential oil. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants* 25(3): 429-440.
- Mahdavian, K., Ghorbanli, M., Kalantari, K. and Mohamadi, G. (2006) The effect of different bands of ultraviolet radiation on morphological and physiological parameters in pepper (*Capsicum annuum* L.). *Iranian Journal of Biology* 19(1): 43-53 (in Persian).
- Morales, L. O., Tegelberg, R., Brosché, M., Keinänen, M., Lindfors, A. and Aphalo, P. J. (2010) Effects of solar UV-A and UV-B radiation on gene expression and phenolic accumulation in *Betula pendula* leaves. *Tree Physiology* 30(7): 923-934.
- Mozaffarian, V. (1996) Dictionary of Iranian plant names. Farhang Moaser, Tehran (in Persian).
- Nasibi, F., Kalantari, K. and Rashidi, M. (2003) Investigation of change in morphological and physiological parameter induced by UV-A, UV-B and UV-C of ultraviolet radiation in colza seedling (*Brassica napus*). *Research and Reconstruction* 16(3): 97-103.
- Pandey, N. and Pandey-Rai, S. (2014) Short term UV-B radiation-mediated transcriptional responses and altered secondary metabolism of *in vitro* propagated plantlets of *Artemisia annua* L.. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 116(3): 371-385.
- Paul, N. D. and Gwynn-Jones, D. (2003) Ecological roles of solar UV radiation: towards an integrated approach. *Trends in Ecology and Evolution* 18(1): 48-55.
- Qureshi, M. I., Israr, M., Abdin, M. and Iqbal, M. (2005) Responses of *Artemisia annua* L. to lead and salt-induced oxidative stress. *Environmental and Experimental Botany* 53(2): 185-193.
- Rai, R., Meena, R. P., Smita, S. S., Shukla, A., Rai, S. K. and Pandey-Rai, S. (2011) UV-B and UV-C pre-treatments induce physiological changes and artemisinin biosynthesis in *Artemisia annua* L.-An antimalarial plant. *Journal of Photochemistry and Photobiology. B, Biology* 105(3): 216-225.
- Razavizadeh, R. and Komatsu, S. (2018) Changes in essential oil and physiological parameters of callus and seedlings of *Carum copticum* L. under *in vitro* drought stress. *Journal of Food Measurement and Characterization* 12(3): 1581-1592.
- Ryan, K. G., Swinny, E. E., Markham, K. R. and Winefield, C. (2002) Flavonoid gene expression and UV photoprotection in transgenic and mutant *Petunia* leaves. *Phytochemistry* 59(1): 23-32.
- 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(1): 67-80.
- Shen, X., Dong, Z. and Chen, Y. (2015) Drought and UV-B radiation effect on photosynthesis and antioxidant parameters in soybean and maize. *Acta Physiologiae Plantarum* 37(2): 25-32.
- Smirnoff, N. and Wheeler, G. L. (2000) Ascorbic acid in plants: biosynthesis and function. *Critical Reviews in Plant Sciences* 19(4): 267-290.
- Wink, M. (2010) Annual plant reviews, functions and biotechnology of plant secondary metabolites, vol. 39. John Wiley and Sons, New York.

- Yu, Z. Z., Fu, C. X., Han, Y. S., Li, Y. X. and Zhao, D. X. (2006) Salicylic acid enhances jaceosidin and syringin production in cell cultures of *Saussurea medusa*. *Biotechnology Letters* 28(13): 1027-1031.
- Zhang, J. and Kirkham, M. (1996) Antioxidant responses to drought in sunflower and sorghum seedlings. *New Phytologist* 132(3): 361-373.
- Zhang, W. J. and Björn, L. O. (2009) The effect of ultraviolet radiation on the accumulation of medicinal compounds in plants. *Fitoterapia* 80(4): 207-218.
- Zhao, J., Davis, L. C. and Verpoorte, R. (2005) Elicitor signal transduction leading to production of plant secondary metabolites. *Biotechnology Advances* 23(4): 283-333.
- Zhishen, J., Mengcheng, T. and Jianming, W. (1999) The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chemistry* 64(4): 555-559.
- Ginefra Toni, J. P. (2017) Comparative morphology of the perianth in the tribe Sanguisorbeae (Rosaceae). MSc thesis, University of Basel, Basel, Switzerland.
- Hebda, R. J., Chinnappa, C. C. and Smith, B. M. (1988) Pollen morphology of the Rosaceae of Western Canada: I. *Agrimonia* to *Crataegus*. *Grana* 27(2): 95-113.
- Juzepczuk, S. W. (1941) *Alchemilla*. In: *Flora of USSR* (Ed. Komarov, V. L.) vol. 13, 289-410. Izd Akad Nauk SSSR, Moskva-Leningrad.
- Kalkman, K. (2004) Rosaceae. In: *The families and genera of vascular plants* (Ed. Kubitzki, K.) 343-386. Springer-Verlag, Berlin.
- Kerr, M. S. (2004) A phylogenetic and biogeographic analysis of Sanguisorbeae (Rosaceae), with emphasis on the Pleistocene radiation of the high Andean genus *Polylepsis*. PhD Dissertation, University of Maryland, Maryland, US.
- Khatamsaz, M. (1993) *Flora of Iran, Rosaceae*. vol. 6. Research Institute of Forests and Rangeland, Tehran (in Persian).
- Linnaeus, C. (1753) *Species plantarum*. vol 1, Salvius, Stockholm.
- Metcalf, C. R. and Chalk, L. (1957) *Anatomy of the dicotyledons*. vol. 2, Clarendon Press, Oxford.
- Mishima, M., Ohmido, N., Fukui, K. and Yahara, T. (2002) Trends in site-number change of rDNA loci during polyploid evolution in *Sanguisorba* (Rosaceae). *Chromosoma* 110: 550-558.
- Muñoz Garmendia, F. and Navarro, C. (1998) Notas acerca del género *Sanguisorba* L. (Rosaceae) en la Península Ibérica y Baleares. *Anales del Jardín Botánico de Madrid* 56: 174-176.
- Nordborg, G. (1961) The genus *Sanguisorba* section *Poterium*. Experimental studies and taxonomy. *Opera Botanica* 16: 1-166.
- Nordborg, G. (1966) *Sanguisorba* L., *Sarcopoterium* Spach, and *Bencomia* Webb & Berth. Delimitation and subdivision of the genera. *Opera Botany* 11: 1-103.
- Nordborg, G. (1967) The genus *Sanguisorba* section *Poterium*. Experimental studies and taxonomy. *Opera Botanica* 16: 1-166.
- Potter, D., Eriksson, T., Evans, R. C., Oh, S., Smedmark, J. E. E., Morgan, D. R., Kerr, M., Robertson, K. R., Arsenault, M., Dickinson, T. A. and Campbell, C. S. (2007) Phylogeny and classification of Rosaceae. *Plant Systematic and Evolution* 266: 5-43.
- Ryan, B. F. and Joiner, B. L. (2001) *MINITAB handbook*. 4th Edition, Duxbury Press, Pacific Grove, CA.
- Purohit, K. M. and Panigrahi, G. (1984) The genus *Sanguisorba* (Rosaceae) in India. *Blumea* 30: 51-68.

- Scopoli, I. A. (1772) *Flora Carniolica*. vol. 1, 2nd edition, Impensis Ioannis Pavli Krauss, Vienna
- Tantawy, M. E. and Naseri, M. M. (2003) A contribution to the achene knowledge of Rosoideae (Rosaceae) LM and SEM. *Intentional Journal of Agriculture Biology* 5: 105-112.
- Zhang, S. D, Jin, J. J., Chen, Si. Y., Chase, M. W., Soltis, D. E., Li, H. T., Yang, J. B., Li, D. Z. and Yi, T. S. (2017) Diversification of Rosaceae since the Late Cretaceous based on plastid phylogenomics. *New Phytologist* 214: 1355-1367.