DOR: 20.1001.1.23832592.1401.35.1.3.7

پاسخ‌های بیوشیمیایی گیاه شمعدانی عطری *Pelargonium graveolens* L'Her تحت تنش پرتو فرابنفش درشرایط درشیشه

مرجان آذرافشان[۱]، مریم پیوندی[۱*]، حسین عباسپور[۱]، زهرا نورمحمدی[۲] و احمد مجد[۱]

۱ ایران، تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران شمال، دانشکده علوم زیستی، گروه زیست شناسی

۲ ایران، تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم تحقیقات، دانشکده علوم، گروه ژنتیک

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۸/۰۲ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۹/۱۰

چکیده

گیاه شمعدانی عطری (*Pelargonium graveolens*) گیاهی دارویی و معطر است که در صنعت داروسازی، عطر سازی و صنایع غذایی کاربرد فراوان دارد. در این مطالعه اثر تابش پرتو فرابنفش با شدت‌های متفاوت (وات بر مترمربع ۰/۳۸و ۰/۲۶، ۰/۱۲، ۰) بر روی این گیاه در محیط کشت بافت بررسی شد. میزان فنل کل، فلاونوئید, آنتوسیانین، رنگیزه‌های فتوسنتزی، کربوهیدرات‌ها، پروتئین و فعالیت آنزیم‌های فنیل آلانین آمونیا لیاز، کاتالاز، پراکسیداز و سوپر اکسید دیسموتاز سنجش شدند. فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره متانولی با استفاده از ۲و۲- دیفنیل ۱- پیکریل هیدرازیل (DPPH) اندازه گیری گردید. نتایج نشان داد که با افزایش شدت تابش پرتو UV-B، میانگین پروتئین کل و کلروفیل‌های a و b در شدت‌های بالای پرتو فرابنفش کاهش یافته و مقدار کاروتنوئید افزایش معنی‌داری ($P\leq$ ۰/۰۵) داشته است. میانگین فنل کل، فلاونوئیدها و آنتوسیانین‌های برگ گیاهان تحت تیمار افزایش معنی‌داری در سطح($P\leq$ ۰/۰۵) نشان دادند. همچنین با افزایش شدت تابش، میانگین IC_{50} عصاره متانولی کاهش یافت. الگوی کاهش IC_{50} با روند افزایش میانگین فنل‌ها همخوانی داشت. نتایج حاضر نشان می‌دهد گیاه شمعدانی در پاسخ به تنش UV-B توان آنتی اکسیدانی خود را با افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان وافزایش انواع فنل‌ها بالا برده است.

واژه های کلیدی: شمعدانی عطری، اشعه فرابنفش، متابولیت‌های ثانویه، کشت بافت

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۲۱۲۲۴۵۴۶۸۸ ، پست الکترونیکی: m_peyvandi@iau-tnb.ac.ir

مقدمه

P.graveolens گیاهی متعلق به خانواده شمعدانی است (۴). این گیاه اسانس‌دار و با ارزش، بومی آفریقای جنوبی است و توسط دریانوردان اروپایی قرن ۱۷ همراه با گیاهان طبی و ادویه‌ای به اروپا راه یافت (۱۴و ۴۵). این گیاه دارای خاصیت بسیار بالایی از فعالیت آنتی اکسیدانی است که بر ضد بیماری‌هایی مانند سرطان، بیماری‌های قلبی و دیابت تأثیرگذار است و ریسک ابتلا به این بیماری‌ها را کاهش می‌دهد و از گسترش آن‌ها جلوگیری می‌کند. عصارهٔ آبی ساقه و برگ *P.graveolens* دو برابر تیمول خاصیت آنتی‌اکسیدانی دارد. همینطور این گیاه دارای خواص ضد کرم پارازیت *Meloidogyne incognita* می‌باشد (۴۶). در طب سنتی بسیاری از کشورها مانند یونان از برگ این گیاه به عنوان نوعی دمنوش برای رفع مشکلات روحی مانند استرس و اضطراب و همچنین در بهبود جریان خون و درمان ورم لوزه استفاده می‌شود (۲۰). اشعه UV-B با طول موج ۳۱۵-۲۹۰ نانومتر پرانرژی‌ترین ترکیب نور خورشید است و در نتیجه کاهش لایه ازن میزان رسیدن این نوع اشعه به زمین بیشتر شده است. این اشعه دارای تأثیرات منفی بر روی گیاهان می‌باشد و در نتیجه رشد و تکامل آنها به طور منفی تحت تأثیر قرار می‌گیرد (۲۵). هنگامیکه

DOR: 20.1001.1.23832592.1401.35.1.3.7

گیاهان در برابر تشعشع UV-B قرار می‌گیرند، تولید متابولیت‌های ثانویه آن‌ها افزایش می‌یابد و اینگونه است که می‌توانند به وسیله دفاع فیتوشیمیایی، خود را از تأثیرات مخرب تشعشع دور نگه دارند (۴۳). امروزه استفاده از عصاره های گیاهی یا متابولیت های ثانویه استخراج شده از گیاهان در صنایع پزشکی، دارویی و غذایی کاربرد گسترده ای یافته است. تولید گونه های فعال اکسیژن (ROS) در گیاهانی که تحت تأثیر عوامل تنش‌زای زیستی و غیرزیستی مانند پرتو فرابنفش قرار دارند بیشتر از گیاهان در شرایط کنترل شده است. از این رو تولید ترکیبات دفاعی همانند آنتی اکسیدان‌ها در این گیاهان بالاتر است (۶). افزایش به کارگیری روشهای کشت سلول و اندامهای گیاهی منجر به تولید متابولیت‌های گیاه در مقیاس وسیع شده است. پیشرفت در این تحقیقات، جنبه جدیدی را در کشت درون شیشه ای ایجاد کرده است که افزایش عملکرد و همچنین تولید محصولات متعدد از آن جمله می‌باشد (۵). یکی از این روش‌ها که جهت افزایش تولید متابولیت‌های ثانویه به کارمی‌رود، استفاده از الیسیتورها در کشت درون شیشه (in vitro) می‌باشد (۱). نتایج حاصل ازمطالعات قبلی ما بر روی گیاه شمعدانی عطری (گیاه کامل) در شرایط گلخانه نشان داد که با افزایش شدت پرتو، میزان پروتئین، قند و رنگیزه های فتوسنتزی کاهش و فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی (۹) و میزان فنل‌ها از جمله فلاوانول‌هائی نظیر کوئرستین، روتین،کامفرول و میریستین افزایش می‌یابد (۱۰).

هدف از پژوهش حاضر ارزیابی تأثیرات تابش پرتو فرابنفش بر روی پاسخ‌های بیوشیمیایی گیاه شمعدانی عطری درشرایط کشت در شیشه می‌باشد تا از این طریق امکان استفاده از UV-B به عنوان یک الیسیتور جهت افزایش متابولیت‌های ثانویه در این گیاه به دست آید.

مواد و روشها

ماده گیاهی و روش سترون سازی: گیاه شمعدانی عطری از گلخانه وابسته به باغ گیاه‌شناسی ایران واقع در بلوار باغ گیاه‌شناسی تهیه شد. رشد گیاه مادر در گلخانه ای با دمای بیشینه ۲۲ درجه سانتی گراد ودمای کمینه ۱۷ درجه سانتی گراد و دوره نوری ۱۶ ساعت طول روز (روشنایی) و ۸ ساعت طول شب (تاریکی) انجام گرفت. جداکشت های تک گره از شاخه‌های هم‌سن که از نقاط یکسان تهیه شده بودند، به مدت ۵ دقیقه در محلول ضدعفونی کننده و گندزدای دتول (Dettol) (که به نسبت ۱/۲۰ با آب مقطر رقیق شده بود) و ۱۰ دقیقه در محلول ۱۵ درصد از هیپوکلریت سدیم ۰/۰۵ (وایتکس تجاری) قرارگرفتند. سپس شستشو با آب مقطر سترون (پنج بار) انجام گرفت.

محیط کشت و تیمار با اشعه UV-B : از محیط کشت ۱/۲MS (۱/۲ غلظت عناصر ماکرو و میکرو و سایر مواد کامل)استفاده شد. pH مناسب برای محیط کشت بین ۵/۷ تا ۵/۸ تنظیم گشت. دراین آزمایش از هورمون 2ip با غلظت ۰/۵ میلی‌گرم برلیتر استفاده شد. آزمایش به صورت کاملاً تصادفی و ۳ تکرار برای هر تیمار طراحی شد. نمونه های جدا کشت های تک گره با شدت‌هائی از پرتوی UV-B (وات بر متر مربع T3:۰/۳۸ و T2: ۰/۲۶، T1: ۰/۱۲، شاهد:۰) به مدت ۱۰ دقیقه در روز و برای یک هفته تیمار شدند. منبع تابش UV-B به صورت مصنوعی به وسیله لامپ‌های Sankio Denki (ژاپن / G ۱۵ T۸ E) که در فاصله ۷۰ سانتی‌متری از گیاهان قرارگرفته بودند تأمین شد. دمای اتاق رشد ۳±۲۵ درجه سانتی گراد، طول دوره روشنایی ۱۶ ساعت و طول دوره تاریکی ۸ ساعت ولوکس نوری ۴۵۰۰ لوکس بود. برگ گیاهان بعد از گذشت ۲۱ روز (سه هفته بعد از تیمار) برداشت شدند.

سنجش رنگیزه های فتوسنتزی: جهت اندازه‌گیری رنگیزه-های کلروفیلa وb و همینطور کاروتنوئید از روش Wellburntو Lichtenthaler (۱۹۸۳) استفاده شد (۳۱). ۰/۱گرم از وزن تر برگ همراه ۵ میلی لیتر استون ۸۰ درصد در هاون چینی ساییده شد. پس از سانتریفوژ جذب

DOR: 20.1001.1.23832592.1401.35.1.3.7

فاز بالایی به دست آمده توسط طیف‌سنج نوری در طول موج های ۶۶۳ نانومتر (کلروفیلa) ۶۴۶ نانومتر(کلروفیلb) و ۴۷۰ نانومتر (کاروتنوئید) خوانده شد.

کلروفیلa: ۱۲/۲۱$A_{۶۶۳}$–۲/۸۱ $A_{۶۴۶}$

کلروفیلb: ۲۰/۱۳$A_{۶۴۶}$ – ۵/۰۳$A_{۶۶۳}$

کارتنوئید: ۱۰۰۰ $A_{۴۷۰}$ - (۳/۲۷ کلروفیلa) - (۱۰۴ کلروفیلb) /۲۲۷

کلروفیل کل: کلروفیلa + کلروفیلb

سنجش کربوهیدرات‌ها: جهت بررسی میزان کربوهیدرات‌های برگ از روش Kochert (۱۹۷۸) استفاده شد (۲۸). استخراج به وسیله اتانول ۷۰ درصد انجام شد و جذب نمونه‌ها در طول موج ۴۸۵ نانومتر به وسیله دستگاه طیف سنج نوری خوانده شد. جهت رسم منحنی استاندارد از غلظت‌های مشخص گلوکز استفاده گردید.

سنجش پروتئین: ۰/۵ گرم ماده تر برگ در ۵ میلی لیتر بافر تریس– گلایسین در هاون چینی سائیده شد و از ۱۰۰ میکرولیتر از عصاره پروتئینی حاصله جهت سنجش میزان پروتئین به روش Bradford (۱۹۷۶) استفاده گردید (۱۳). جذب نمونه‌ها در طول موج ۵۹۵ نانومتر به وسیله دستگاه طیف سنج نوری خوانده شد. جهت رسم منحنی استاندارد از غلظت های مشخص آلبومین گاوی (BSA) استفاده شد.

سنجش فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی و آنزیم فنیل آلانین آمونیا لیاز: فعالیت آنزیم کاتالاز با استفاده از روش Pereira و همکاران (۲۰۰۲) در طول موج ۲۴۰ نانومتر(۴۲)، فعالیت آنزیم پراکسیداز با استفاده از روش Koroi (۱۹۸۹) در طول موج ۵۳۰ نانومتر(۲۹) و فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز به وسیله روش Ries (۱۹۷۷) و Giannopolitie در طول موج ۵۶۰ نانومتر(۲۱) در برگ به وسیله دستگاه طیف سنج نوری سنجیده شد. سنجش فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیا لیاز با استفاده از غلظت اسید سینامیک تولید شده به روش Wang و همکاران (۲۰۰۶) انجام شد (۵۲). جذب نمونه‌ها در طول موج ۲۹۰ نانومتر خوانده شد. جهت رسم منحنی استاندارد از غلظت های مشخص اسید سینامیک استفاده شد.

سنجش میزان فنل کل، فلاونوئید، آنتوسیانین و IC_{50}: ۰/۱ گرم از وزن تر برگ در ۱۰ میلی لیتر متانول ۸۰٪ برای مدت ۲۴ ساعت خیسانده شد. از این عصاره برای اندازه-گیری میزان فلاونوئید کل با استفاده از روش Chang و همکاران (۲۰۰۲) و اندازه‌گیری میزان فنل کل به روش Marrinovaو همکاران (۲۰۰۵) استفاده شد (۱۶و ۳۵). جهت رسم منحنی استاندارد برای محاسبه میزان فنل کل ازغلظت‌های مشخص اسید گالیک و جهت محاسبه میزان فلاونوئیدها از غلظت های مشخص کوئرستین استفاده شد. همچنین از عصاره بالا جهت سنجش میزان IC_{50} با استفاده از روش Akowuah و همکاران (۲۰۰۵) استفاده گردید (۷). میزانIC_{50} نمونه ها به وسیله رسم منحنی غلظت در برابر درصد ممانعت کنندگی محاسبه شد. جهت اندازه گیری آنتوسیانین از روش Baker (۲۰۰۰) و Nouges استفاده شد (۴۰). ۰/۱ گرم از وزن تر برگ همراه ۱۰ میلی لیتر متانول اسیدی (۹۹ حجم متانول و ۱ حجم اسید کلریدریک) در هاون سائیده شد. سپس جذب محلول در طول موج ۵۳۰ نانومتر توسط دستگاه طیف سنج نوری خوانده شد و با استفاده از ضریب خاموشی ε=۳۳۰۰۰ mm^{-1} cm^{-1} میزان آنتوسیانین محاسبه گردید.

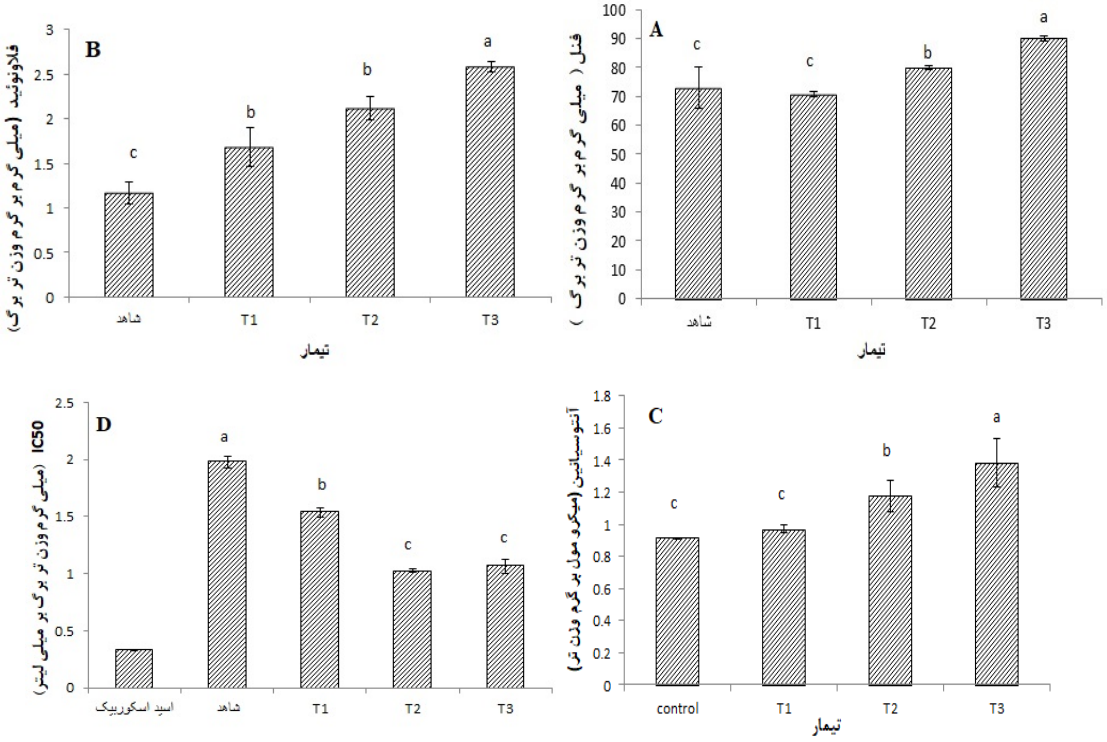
آنالیز آماری: آنالیز آماری داده‌ها با استفاده از نرم افزار آماری SPSS (Version۱۶) انجام شد. اختلاف بین میانگین ها با استفاده از آنالیز واریانس یکطرفه (one-way ANOVA) محاسبه شد. بررسی نتایج آزمایش‌ها ورسم منحنی‌ها برمبنای مقایسه میانگین‌ها وانحراف از میانگین (Mean±SE)صورت گرفت و گروه بندی تیمارها درسطح احتمال($P\leq$ ۰/۰۵) با آزمون دانکن (Dunkan) در سه تکرار انجام شد.

نتایج

فنل کل، فلاونوئید، آنتوسیانین و IC_{50} : بررسی آنالیز

DOR: 20.1001.1.23832592.1401.35.1.3.7

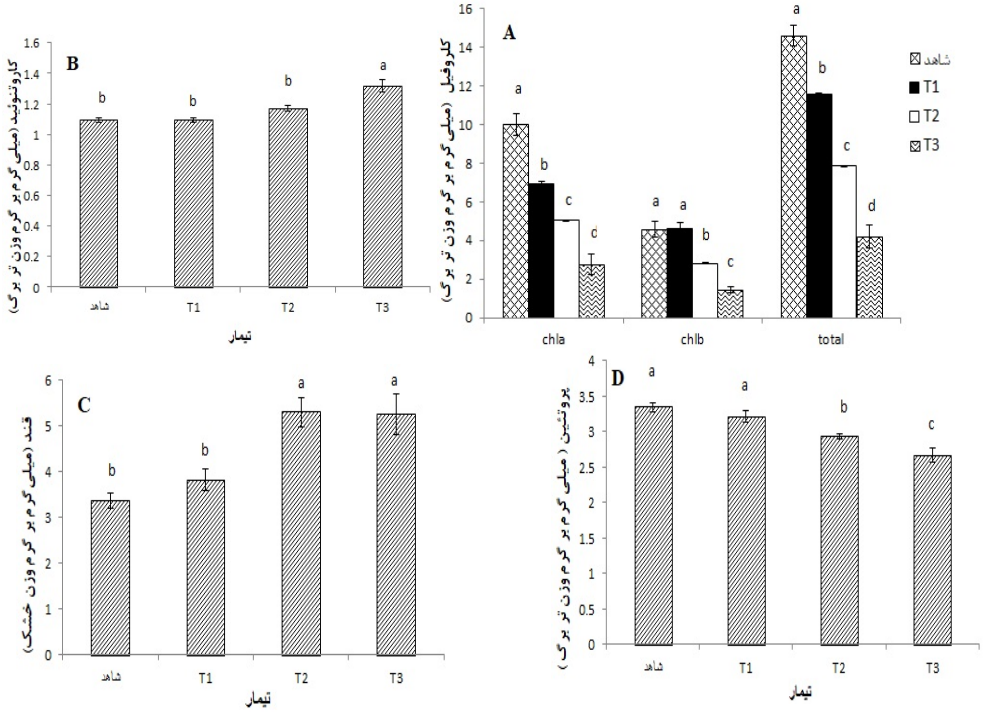
واریانس داده‌ها نشان داد که میانگین فنل کل، فلاونوئید، آنتوسیانین و IC50 در بین تیمارها تفاوت معنی‌داری (۰/۰۵ ≥P) را نشان می‌دهد (شکل ۱). گروه بندی میانگین فنل، با آزمون دانکن نشان داد که با افزایش شدت پرتو در تیمارها، میزان فنل به طرز معنی داری (۰/۰۵ ≥P) افزایش یافت. بیشترین میزان فنل (۹۰/۱۸ میلی گرم بر گرم وزن تر) در تیمار۰/۳۸ وات بر متر مربع و کمترین (۷۳/۰۱ میلی گرم بر گرم وزن تر) در گیاه شاهد به دست آمد. گروه بندی میانگین فلاونوئید با آزمون دانکن نشان داد، با افزایش شدت پرتو در تیمارها، مقدار فلاونوئید افزایش معنی داری (۰/۰۵ ≥P) یافته است. بیشترین میزان فلاونوئید (۲/۵۸ میلی گرم بر گرم وزن تر) در تیمار ۰/۳۸ وات بر مترمربع و کمترین میزان در گیاه شاهد مشاهده شد (شکل ۱). اثر افزایشی به علت تابش پرتو فرابنفش بر روی میزان آنتوسیانین نیز دیده شد. نتایج نشان داد که با افزایش شدت پرتو میزان آنتوسیانین به طور معنی داری (۰/۰۵ ≥P) افزایش یافته است. بالاترین میزان آنتوسیانین (۱/۳۸ میکرومول بر گرم وزن تر) در تیمار ۰/۳۸ وات بر مترمربع و کمترین مقدار(۰/۹۱ میکرومول بر گرم وزن تر) در تیمار شاهد به دست آمد (شکل ۱). همینطور نتایج نشان داد که افزایش شدت تابش پرتو باعث کاهش معنی دار (۰/۰۵ ≥P) IC_{50} شده است. تیمار ۰/۳۸ وات بر مترمربع کمترین IC_{50} و گیاه شاهد بیشترین IC_{50} را دارا بود (شکل ۱). IC_{50} به دست آمده در تیمارهای ۰/۲۶ وات بر مترمربع و ۰/۳۸ وات بر مترمربع نزدیکتر به IC_{50} اسید اسکوربیک بودند (شکل ۱).



شکل ۱- میانگین فنل کل(A)، فلاونوئید(B)، آنتوسیانین (C) و IC_{50} (D) عصاره متانولی در شدت‌های متفاوت تابش فرابنفش. (۰:شاهد، T1:۰/۱۲، T2: ۰/۲۶ و T3: ۰/۳۸وات بر مترمربع). نتایج میانگین سه تکرار (Maen±SE) را نشان می‌دهد. حروف متفاوت نشان دهنده معنی‌دار بودن تفاوت ها در سطح (۰/۰۵ ≥P) براساس آزمون دانکن می‌باشند.

DOR: 20.1001.1.23832592.1401.35.1.3.7

رنگیزه‌های فتوسنتزی، پروتئین و کربوهیدرات‌ها: کلروفیل a با افزایش شدت تابش کاهش یافت، که این کاهش در تمام تیمارها نسبت به گیاه شاهد معنی‌دار (۰/۰۵ ≥P) بود (شکل۲). کلروفیل b نیز در شدت‌های ۰/۳۸ و ۰/۲۶ وات بر مترمربع کاهش یافت. میانگین کلروفیل کل نیز کاهش معنی داری را (۰/۰۵ ≥P) در تمام تیمارها در مقایسه با گیاه شاهد نشان داد. میزان کاروتنوئیدها تنها در تیمار ۰/۳۸ وات بر مترمربع افزایش معنی داری (۰/۰۵ ≥P) را نشان داد (شکل۲). تحلیل نتایج نشان داد که افزایش معنی داری (۰/۰۵ ≥P) در میزان کربوهیدرات‌ها در گیاهان مورد مطالعه وجود دارد (شکل۲). این افزایش در تیمارهای ۰/۲۶ و ۰/۳۸ وات بر مترمربع در مقایسه با گیاه شاهد معنی دار است (شکل۲). همچنین میانگین پروتئین تفاوت معنی داری (۰/۰۵ ≥P) را در بین گروه‌های مورد مطالعه نشان داد (شکل۲). بررسی آنالیز داده‌ها نشان داد که تابش پرتو فرابنفش باعث کاهش میزان پروتئین در گیاهان رشد یافته در محیط کشت بافت شده است (شکل۲).

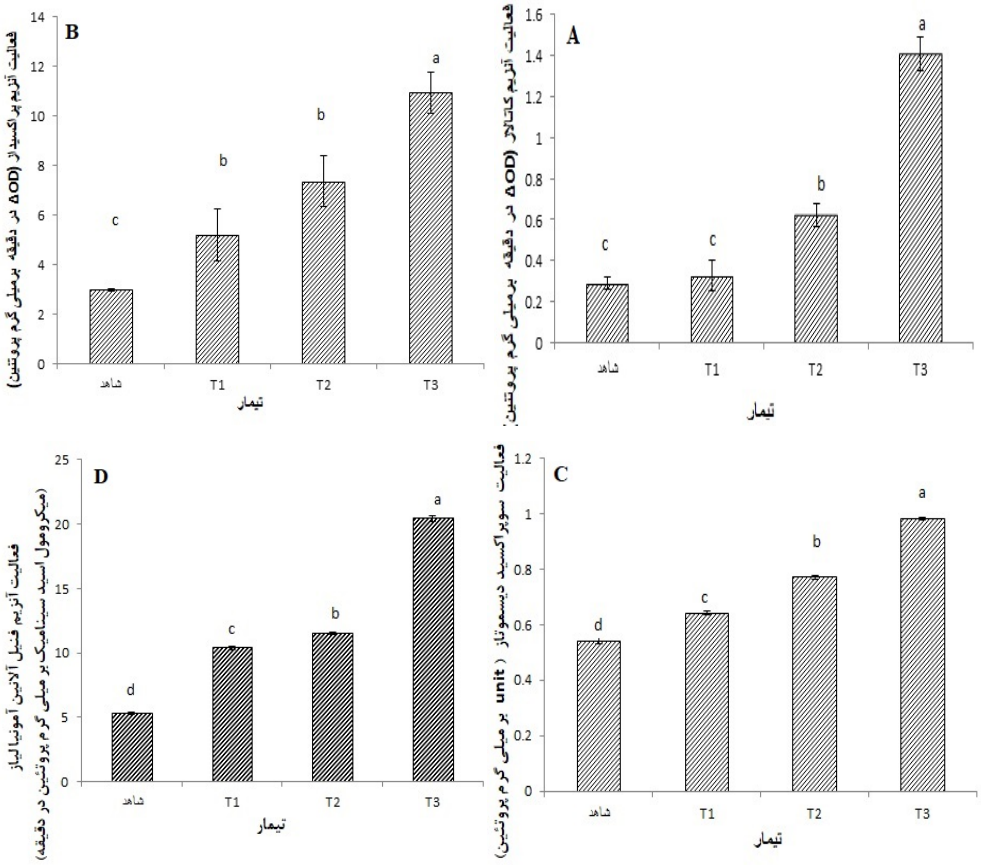


شکل ۲- میانگین کلروفیل (A)، کاروتنوئید(B)، قند (C) و پروتئین (D) در شدت‌های متفاوت تابش فرابنفش. (۰:شاهد، ۰/۱۲:T1، ۰/۲۶ :T2و ۰/۳۸ :T3 وات بر متر مربع). نتایج میانگین سه تکرار (Maen±SE) را نشان می‌دهد. حروف متفاوت نشان دهنده معنی دار بودن تفاوت ها درسطح (۰/۰۵ ≥P) براساس آزمون دانکن می‌باشند.

آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و آنزیم فنیل آلانین آمونیا لیاز: نتایج نشان داد، فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT)، پراکسیداز(POD) و سوپر اکسید دیسموتاز(SOD) در بین گروه‌های مورد مطالعه تفاوت معنی داری (۰/۰۵ ≥P) دارد. با افزایش شدت تابش پرتو، فعالیت آنزیم کاتالاز افزایش یافت به طوریکه در تیمار ۰/۳۸ وات بر مترمربع ناگهان افزایش چشمگیری در میانگین فعالیت این آنزیم نسبت به گیاه شاهد مشاهده شد اما بین گیاه شاهد و تیمار ۰/۱۲ وات بر مترمربع تفاوت معنی داری (۰/۰۵ ≥P) مشاهده نشد (شکل۳). با افزایش تابش، میانگین فعالیت آنزیم

DOR: 20.1001.1.23832592.1401.35.1.3.7

پراکسیداز نسبت به گیاه شاهد افزایش معنی داری (۰/۰۵ ≥P) یافت اما تفاوت معنی داری بین تیمار ۰/۲۶ و ۰/۳۸ وات بر مترمربع مشاهده نشد (شکل۳). نتایج نشان داد که با افزایش شدت تابش فرابنفش میزان آنزیم سوپراکسید دیسموتاز افزایش یافته و تفاوت بین تمام تیمارها معنی دار است (شکل۳). بررسی داده ها نشان داد که با افزایش شدت تابش پرتو فرابنفش میانگین فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیالیاز افزایش داشت و تفاوت در بین تمامی تیمارها معنی دار (۰/۰۵ ≥P) بود (شکل۳).



شکل ۳- فعالیت آنزیم‌های کاتالاز (A)، پراکسیداز(B)، سوپراکسید دیسموتاز (C) و فنیل آلانین آمونیا لیاز (D) در شدت‌های متفاوت تابش فرابنفش. (۰:شاهد، T1:۰/۱۲، T2: ۰/۲۶ و T3: ۰/۳۸وات بر مترمربع). نتایج میانگین سه تکرار (Maen±SE) را نشان می‌دهد. حروف متفاوت نشان دهنده معنی دار بودن تفاوت ها در سطح (P≤۰/۰۵) براساس آزمون دانکن می‌باشند.

بحث

استفاده از تکنیک کشت بافت برای کوتاه کردن زمان تولید گیاهان زینتی و داروئی در سال‌های اخیر افزایش یافته است. گیاه شمعدانی عطری نیز یک گیاه دارویی و معطر بسیار مهم است و به طور معمول از طریق قلمه و بذر تکثیر می شود. روند قلمه زدن احتیاج به نگه داری زیادی از قلمه‌ها دارد و این قلمه‌ها ممکن است دچار بیماری‌های قارچی و باکتریایی شوند. ازدیاد از طریق بذر نیز به علت گران بودن بذرهای این گیاه چندان مورد استقبال قرار نگرفته است .بنابراین به نظر می‌رسد تکنیک کشت بافت می‌تواند راهکار مناسبی برای افزایش تکثیر این گیاه باشد که مزایایی از جمله تکثیر انبوه و سریع،راحتی در ذخیره

DOR: 20.1001.1.23832592.1401.35.1.3.7

سازی و حمل و نقل را دارا می‌باشد (۳۷و ۱۵). نتایج مطالعات ما بر گیاهان گلخانه ای نشان داد با افزایش شدت تابش پرتو، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، قدرت آنتی-اکسیدانی و انواع فلاونول‌های برگ‌های تحت تیمار افزایش می‌یابد (۹ و ۱۰). نتایج حاضر نیز نشان داد با افزایش شدت تابش پرتو UV-B، الگوی کاهش IC_{50} با روند افزایش محتوای فلاونویدها و آنتوسیانین‌های برگ همخوانی دارد. مکانیسم عمل فنل به عنوان یک متابولیت ثانویه به دو روش می‌باشد: ۱- جذب مستقیم پرتو UV و جلوگیری از نفوذ آن به بافت‌های حساس و ۲- جاروب کردن گونه‌های فعال اکسیژن و ایفای نقش آنتی‌اکسیدانی (۳۸و ۳۹). این آنتی اکسیدان های غیرآنزیمی، حفاظت از گیاهان در حین تنش را برعهده دارند و ثابت شده است که غلظت بالای فنل‌ها توانایی مقاومت بالاتری را در برابر اشعه UV به گیاه می‌دهد (۲۶) .پژوهش حاضر نشان می دهد گیاه تحت تأثیر پرتو فرابنفش برای مقابله با تأثیرات مخرب این پرتو شروع به تولید متابولیتهای ثانویه جهت دفاع از خود کرده است. بررسی تأثیر پرتو UV-B برگیاه شمعدانی در شرایط گلخانه نشان داد میزان انواع فلاونول-هائی نظیر روتین، کوئرستین، کامفرول و میریستین وابسته به شدت تابش تغییر می‌کند. به طوریکه با افزایش شدت تابش اشعه، نسبت کوئرستین/کامفرول افزایش می‌یابد (۱۰). در مطالعه تأثیر پرتوی فرابنفش بر روی گیاه *Artemisia annua* L. در محیط کشت بافت مشاهده شد که میزان ترکیبات فنلی در گیاهان تیمار یافته نسبت به گیاه کنترل افزایش یافته است (۴۱). همچنین مطالعه تغییرات فنل در گیاهان *Echium orientale* L. رشد یافته در محیط کشت نشان داد که میزان فنل در گیاهانی که دو هفته بعد از تیمار برداشت شدند نسبت به گیاهانی که بلافاصله بعد از تیمار برداشت شده‌اند افزایش داشته است (۵۴). در بررسی تاثیر پرتوی UV-B بر روی کالوس‌های گیاه *Echinacea Purpurea* و کشت سوسپانسیونی آن Manaf و همکاران (۲۰۱۶) گزارش دادند که میزان فنل، در گیاه تحت تأثیر اشعه UV-B افزایش یافته است (۳۴). همچنین در بررسی تأثیر میزان متفاوت تابش اشعه UV-B بر روی کالوس‌های گیاه چای Zagoskina و همکاران (۲۰۰۳) عنوان کردند که میزان فنل در این گیاه افزایش یافته است (۵۵). فلاوونوئیدها ترکیبات عمده در بافت‌های گیاهی هستند که عمل حفاظتی آن‌ها دفاع در برابر آسیب اکسیداتیو ناشی از UV-B است (۸). فلاونوئید از طریق جلوگیری از سنتز و شکل گیری مالون دی آلدئید باعث پایداری غشاء و نفوذ پذیری غشاء در نمونه های تحت تابش می‌شود. در واقع افزایش بیوسنتز فلاونوئیدها تحت فاکتورهای محیطی مختلف و شرایط تنش‌زا نوعی سازش با شرایط نامساعد محیطی می باشد (۲). به طور مثال قرارگرفتن کالوس *Passiflora Quadrangularis* درمعرض دوز مطلوب UV-B باعث افزایش میزان فلاوونوئیدها شده است (۲۶). همچنین تابش UV-B باعث القاء افزایش سطح فلاوونوئید در کالوس *Ginko biloba* می‌شود (۲۲). افزایش میزان فلاونوئیدها در بررسی تأثیر پرتو UV-B بر روی گیاهان *Artemisia annua* L. و *Echium orientale* L. در محیط کشت بافت نیز مشاهده شده است (۴۱و ۵۴). اولین مکانیسم دفاعی برای گیاهان در برابر اشعه UV احتمالاً دفاع غیرنفوذی است و تابش UV-B باعث تجمع ترکیبات جذب‌کننده UV مانند آنتوسیانین‌ها می‌شود که از دستگاه فتوسنتزی در برابر آسیب‌های اکسیداتیو محافظت می‌کند (۳۶و ۴۸). مطالعه بر روی گیاه *Artemisia annua* L. در محیط کشت بافت تحت تأثیر پرتو UV-B افزایش میزان آنتوسیانین را نشان داد (۴۱). گزارش Basahi و همکاران (۲۰۱۳)، در بررسی تأثیر پرتو فرابنفش بر روی گیاه *Lactuca Sativa* نشان داد که تمام ترکیبات جاذب UV مانند کاروتنوئیدها، فنل‌ها و آنتوسیانین‌ها افزایش یافته‌اند (۱۲). همچنین در بررسی دانه رست‌های *Vigna Mungo* تحت تیمار UV-B عنوان شد که میزان آنتوسیانین‌ها افزایش یافته است (۴۷). افزایش میزان آنتوسیانین در گیاه کاهو نیز پس از تیمار توسط پرتو UV-B مشاهده شد (۳). در مطالعه

DOR: 20.1001.1.23832592.1401.35.1.3.7

حاضر تحت تأثیر پرتو فرابنفش میزان IC_{50} عصاره متانولی شمعدانی عطری کاهش یافت. دلیل به وجود آمدن این حالت را به بیشتر بودن میزان فنل‌های کل محلول در گیاه مرتبط می‌دانند که رابطه همبستگی مستقیمی بین فعالیت آنتی‌اکسیدانی و میزان فنل کل را نشان می‌دهد. بیشتر ترکیبات آنتی‌اکسیدانی طبیعی معمولاً برای ایجاد یک طیف وسیع از خواص آنتی‌اکسیدانی تا یک سیستم دفاعی قوی در برابر رادیکال‌های آزاد با هم همکاری می‌کنند. توانایی آنتی‌اکسیدانی ترکیبات فنلی بیشتر به دلیل خاصیت اکسید و احیاء آنها وهمینطور ساختار شیمیایی آن‌ها است، که به توانایی آن‌ها در کلات کردن فلزات انتقالی، ممانعت کردن از لیپوکسی ژناز و جاروب‌کردن رادیکال‌های آزاد منجر می‌شود (۳۴). نتایج پژوهش حاضر نشان می‌دهد گیاه شمعدانی عطری در پاسخ به تنش UV-B مقدار فنل‌های برگ را افزایش داده است. از این‌رو گیاهان تحت تنش، قدرت آنتی اکسیدانی بیشتری (IC_{50} کمتر) را از خود نشان داده‌اند. در بررسی کالوس‌های *Echinacea Purpurea* تحت پرتو UV-B، Manaf و همکاران (۲۰۱۶)، افزایش میزان خاصیت آنتی‌اکسیدانی (IC_{50} کمتر) را در کالوس‌های تحت پرتو UV-B در مقایسه با کنترل، گزارش دادند (۳۴). در مطالعه ای Li و همکاران (۲۰۱۷)، دریافتند که تحت تنش UV-C میزان ترکیبات فنلی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی چند نوع میوه نیمه گرمسیری در فرم‌های متفاوت میوه بالا می‌رود (۳۲). در بررسی خاصیت آنتی‌اکسیدانی کالوس‌های *Pelargonium Sidoides*، Kumar و همکاران (۲۰۱۵)، عنوان کردند که خاصیت آنتی‌اکسیدانی گیاهان دارویی رابطه ای نزدیک با میزان ترکیبات فنلی دارد و بیشتر بودن خاصیت آنتی‌اکسیدانی نیز باعث بالا رفتن ارزش دارویی یک گیاه می‌شود (۳۰). همچنین افزایش میزان خاصیت آنتی‌اکسیدانی (IC_{50} کمتر) در گیاهان *Artemisia annua* L. و *Echium orientale* L. در محیط کشت بافت تحت تأثیر پرتو UV-B مشاهده شد (۴۱و ۵۴). نتایج پژوهش حاضر نشان داد با افزایش شدت تابش میانگین محتوای کلروفیل-های a, b و کلروفیل کل کاهش نشان داده و میزان کاروتنوئید افزایش یافته است. کاهش میزان کلروفیل ممکن است به ممانعت از بیوسنتز کلروفیل و یا تخریب رنگیزه‌ها و یا پارامترهای آن‌ها مانند پروتوکلروفیل و یا پروتوکلروفیلید وابسته باشد (۲۳و ۴۴) و یا کاهش میزان کلروفیل ممکن است با تأثیرات فتومورفولوژی مشاهده شده در گیاه مانند کاهش طول، تغییر شکل و سطح برگ نیز در ارتباط باشد (۱۷). کاروتنوئیدها جاروب کننده‌های مؤثری برای ROS هستند و کلروفیل‌ها را در برابر آسیب‌های اکسیداتیو نوری ایجاد شده به وسیله اشعه UV-B از طریق از بین بردن انرژی بیش از حد رسیده به گیاه محافظت می‌کنند (۴۰). به نظر می‌رسد که گیاه شمعدانی نیز تحت تأثیر پرتو فرابنفش میزان کاروتنوئید را افزایش داده است تا با آسیب ناشی از تخریب کروفیل مقابله کند. در بررسی تشعشعات UV-B و UV-C بر روی گیاه *Artemisia Annua* L عنوان شد که میزان کلروفیل تحت تأثیر اشعه UV به طرز معنی‌داری کاهش یافته است و افزایش میزان کاروتنوئید ممکن است به علت نقش جاروب کنندگی آن برای اکسیژن تکی باشد (۴۴). Azarafshan و همکاران (۲۰۱۹) نشان دادند که در گیاه شمعدانی تحت تیمار UV-B میزان کلروفیل‌ها کاهش و مقدار کاروتنوئیدها افزایش می‌یابد (۹). همچنین در بررسی تأثیر اشعه UV-B بر روی میزان کلروفیل خزه *Bryum argenteum* توسط Hui و همکاران (۲۰۱۵)، عنوان شد که کلروفیل a و b و کلروفیل کل کاهش داشته است (۲۳). مطابق با یافته های ما در شرایط کشت بافت (شیشه) میزان قند با افزایش شدت تابش پرتو فرابنفش افزایش نشان می‌دهد، که می‌تواند به دلیل تنش اضافی ناشی از کشت بافت علاوه بر تنش UV باشد. علاوه بر این محیط کشت میتواند تنش اسمزی را نیز ایجاد کند که تحت این تنش میزان کربوهیدرات ها به عنوان اسمولیت‌های سازگار بالا می رود. Tegelberg و همکاران (۲۰۰۲)، در بررسی تأثیر پرتو UV-B بر روی فاکتورهای بیوشیمیایی گیاه

DOR: 20.1001.1.23832592.1401.35.1.3.7

Betula Pendula گزارش کردند که میزان کربوهیدرات‌های کل و محلول افزایش یافته است که ممکن است نتیجه تغییر تقسیم‌بندی کربن یا شکستن کربوهیدرات‌های ذخیره به حالت کربوهیدرات‌های محلول باشد و یا اینکه تعمیر و پروسه ممانعت از آسیب‌های UV بیشتر از این که احتیاج به کربوهیدرات‌ها ذخیره داشته باشد محتاج کربوهیدرات-های محلول باشد (۵۰). همینطور Huima و همکاران (۲۰۱۶)، در بررسی تأثیر UV-B بر گیاه داروئی *Chrysanthemum* عنوان کردند که تحت تأثیر UV میزان کربوهیدرات‌ها افزایش یافته است (۲۴). دراین مطالعه میزان پروتئین با تابش اشعه فرابنفش کاهش معنی داری یافت. تخریب پروتئین تحت تیمار UV-B ممکن است مستقیم (از طریق تخریب یا تغییر شکل باقی مانده‌های آمینواسیدی) یا غیرمستقیم (از طریق آسیب اکسیداتیو مربوط به افزایش تولید ROS یا مربوط به تغییر ساختار DNA و RNA که در نتیجه تغییر در نسخه‌برداری، ترجمه و در نهایت کاهش سنتز پروتئین را همراه دارد) باشد (۴۸). در بررسی تأثیر اشعه UV-B در گیاه *Solanum lycopersicum* L مشاهده شد که میزان پروتئین با افزایش شدت تابش پرتو فرابنفش کاهش می‌یابد (۱۱). کاهش در میزان پروتئین در نخود فرنگی و لوبیای مانگ نیز گزارش شده است (۱۸). دراین مطالعه فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیا لیاز تحت تأثیر پرتو فرابنفش افزایش داشته است. اشعه UV به عنوان محرک آنزیم فنیل آلانین آمونیا لیاز و آنزیم‌های دیگر مسیر ساخت فنیل پروپانوئیدها مطرح شده است. PAL فنیل آلانین را به تراس اسید سینامیک تبدیل می‌کند و این ترکیب با واکنش‌های متوالی تبدیل به ترکیباتی نظیر فلاوونوئیدها و فنل‌ها می‌شود. در بررسی سازش دفاعی در گیاه دارویی *Coleus Forskohii* در مقابل پرتو تابی UV-B, Takshak و Agrawal (۲۰۱۵) عنوان کردند که میزان آنزیم PAL تحت تنش UV-B افزایش یافته است (۴۹). در بررسی سطوح مقاومت در برابر اشعه UV-B در گیاه *Vaccinium Corymbosum*, Ecsobar و همکاران (۲۰۱۷)، عنوان کردند که میزان PAL و بیان ژن‌های مربوط به آن در ارقام مقاوم نسبت به ارقام حساس بیشتر بوده است (۱۹). دراین مطالعه مشخص شد که میزان فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی در گیاهان تحت تیمار افزایش یافته است. تحت افزایش میزان UV-B سلول‌های گیاهی تولید ROS می‌کنند که به گیاه آسیب می‌رساند. گیاهان راهکارهای متفاوتی برای جاروب‌کردن ROS ها دارند. یکی از آن‌ها سیستم آنزیمی و آنزیم‌هایی مانند CAT، SOD و POD است (۵۶). به نظر می‌رسد که گیاه مورد مطالعه در این پژوهش نیز دفاع آنزیمی را برای مقاومت در برابر تاثیرات مخرب پرتو فرابنفش که توسط ROSها ایجاد می‌شود فعال می‌کند. افزایش میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در گیاه سویا توسط Xu و همکاران(۲۰۰۸) گزارش شده است (۵۳). در بررسی گیاه *Pelargonium Zonal* تحت تنش UV-B, Vidovic و همکاران (۲۰۱۵) مطرح کردند که میزان فعالیت کاتالاز در پاسخ به شدت تابش افزایش یافته است (۵۱). Rai و همکاران (۲۰۱۱)، در بررسی تأثیر UV-B و UV-C بر گیاه *Artemisia Annua* L. گزارش دادند که فعالیت پراکسیداز با افزایش شدت پرتو UV-B افزایش یافته است (۴۴). افزایش در میزان فعالیت سوپراکسید دیسموتاز تحت تأثیر اشعه UV در دانه رست‌های بادام زمینی نیز گزارش شده است (۲۷). همچنین در مطالعه پاسخ‌های مسیر فلاوونوئید به تیمار پرتو UV-B و همبستگی آن با پراکسیداسیون لیپیدها و سیستم آنتی‌اکسیدانی در *Caryopteris Mongolica* گزارش شد که فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز افزایش یافته است (۳۳).

نتایج این پژوهش نشان داد گیاه شمعدانی معطر در پاسخ به تابش شدت‌های مختلف پرتو UV-B، توان آنتی اکسیدانی خود را, هم از طریق افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان و هم بالابردن مقدار فلاونوئیدها و آنتوسیانین‌ها افزایش داده است.

DOR: 20.1001.1.23832592.1401.35.1.3.7

تشکر و قدردانی

از شهرداری منطقه ۳ تهران و مرکز تحقیقات و مشاوره گل و گیاه پارک ملت به علت در اختیار قرار دادن امکانات کشت بافت و گلخانه این مجموعه تقدیر و تشکر می‌گردد.

منابع

۱- اسمعیل زاده بهابادی، ص.، و شریفی، م.، ۱۳۹۲. افزایش تولید متابولیت های ثانویه گیاهی با استفاده از الیسیتورهای زیستی، مجله سلول و بافت، جلد۴، شماره ۲، صفحات ۴۱۲۸-۱۱۹.

۲-جلیلی، ش.، احسانپور، ع.ا.، اصغری، غ.ر.، عبدی، م.ر.، ۱۳۹۵. اثر اشعه گاما بر برخی از شاخص های فیزیولوژیکی و آنتی اکسیدانی گیاه درمنه کوهی (Artemisia aucheri Boiss)، مجله پژوهشهای گیاهی (مجله زیست شناسی ایران)، جلد ۲۹، شماره ۴، صفحات ۷۵۰-۷۴۱.

۳-رنجبر، ا.، و موسوی، س.ع.، ۱۳۹۶. اثرات تابش اشعه ماوراء بنفش-ب (UV-B) و عنصر فلزی سنگین کادمیوم بر برخی ویژگی‌های فیزیولوژیکی گیاه کاهو (Lactuca sativa)، مجله پژوهشهای گیاهی (مجله زیست شناسی ایران)، جلد۳۰، شماره ۴، صفحات ۸۶۱-۸۵۳.

۴-زهزاد، ب.،۱۳۹۰.سیستماتیک گیاهی ۲، انتشارات دانشگاه پیام نور، صفحات ۱۰۴-۱۰۲.

۵- سیاه منصور، ش.، اسماعیلی، ا.، و نظریان فیروز آبادی، ف.، ۱۳۹۷. تأثیر محرک‌های مختلف زیستی و غیرزیستی بر رشد ریشه مویین در گیاه دارویی خشخاش (*Papaver somniferum* L.). مجله تولیدات گیاهی، جلد ۴۱، شماره ۱، صفحات ۴۳-۲۹.

۶-صبورا، ع.، دادمهر، خ.، رنجبر، م.، ۱۳۹۲. سنجش محتوای فنل و فلاونوئید تام و بررسی خاصیت آنتی اکسیدانی عصاره ساقه و برگ ۶ گونه میخک وحشی (*Dianthus* L.) ایران، نشریه علمی تحقیقات گیاهان داروئی و معطر ایران، جلد ۲۹، شماره ۲، صفحات ۲۹۵-۲۸۱.

7-Akowuah, G.A., Ismail, Z., Norhayati, I., and Sadikun, A., 2005. The effects of different extraction solvents of varying polarities on polyphenols of *Orthosiphon stamineus* and evaluation of the free radical-scavenging activity, Food chemistry, 93(2), PP: 311-317.

8-Alvero-Bascos, E.M., and Ungson, L.B., 2012. Ultraviolet-B radiation as an elicitor of flavonoid production in callus cultures of jatropha (*Jatropha curcas* L.), Philippine Agricultural Scientist, 95(4), PP: 335-343.

9-Azarafshan, M., Peyvandi, M., Abbaspour, H., Noormohammadi, Z., and Majd, A., 2019. The impact of UV-B radiation on antioxidant activity, essential oil composition and physiological factors of *Pelargonium graveolens* L'Hér, Acta Agriculturae Slovenica, 113(2), PP: 211-219.

10-Azarafshan, M., Peyvandi, M., Abbaspour, H., Noormohammadi, Z., and Majd, A., 2020. The effects of UV-B radiation on genetic and biochemical changes of *Pelargonium graveolens* L′ Her, Physiology and Molecular Biology of Plants, 26, PP: 605–616.

11-Bano, C., Amist, N., and Singh, N.B., 2017. UV-B radiation escalate allelopathic effect of benzoic acid on *Solanum lycopersicum*L. Scientia Horticulturae, 220, PP: 199-205.

12-Basahi, J.M., Ismail, I.M., and Hassan, I.A., 2014. Effects of enhanced UV-B radiation and drought stress on photosynthetic performance of lettuce (*Lactuca sativa* L. Romaine) plants, Annual Research & Review in Biology, 4(11), PP: 1739-1756.

13-Bradford, M.M., 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding, Analytical biochemistry, 72(1-2), PP: 248-254.

14-Cavar, S., and Maksimovic, M., 2012. Antioxidant activity of essential oil and aqueous extract of *Pelargonium graveolens* L'Her, Food Control, 23(1), PP: 263-267.

15-Chandran, H., Meena, M., Barupal, T., and Sharma, K., 2020. Plant tissue culture as a perpetual source for production of industrially important bioactive compounds, Biotechnology Reports, doi.org/10.1016/j, btre, 2020.e00450 p.

16-Chang, C.C., Yang, M.H., Wen, H.M., and Chern, J.C., 2002. Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods, Journal of food and drug analysis, 10(3), PP: 178-82.

17-Cuadra, P., Herrera, R., and Fajardo, V., 2004. Effects of UV-B radiation on the Patagonian *Jaborosa magellanica* Brisben. Journal of

DOR: 20.1001.1.23832592.1401.35.1.3.7

Photochemistry and Photobiology B: biology, 76(1-3), PP: 61-68.

18-Choudhary, K.K., and Agrawal, S.B., 2014. Ultraviolet-B induced changes in morphological, physiological and biochemical parameters of two cultivars of pea (*Pisum sativum* L.), Ecotoxicology and environmental safety, 100, PP: 178-187.

19-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, PP: 541-550.

20-Fayed, S.A., 2009. Antioxidant and anticancer activities of Citrus reticulate (*Petitgrain Mandarin*) and *Pelargonium graveolens* (Geranium) essential oils. Research Journal of Agriculture and Biological Sciences, 5(5), PP: 740-747.

21-Giannopolitis, C.N., and Ries, S.K., 1977. Superoxide dismutase: I. Occurrence in higher plants. Plant physiology, 59(2), PP: 309-314.

22-Hao, G., Du, X., Zhao, F., Shi, R., and Wang, J., 2009. Role of nitric oxide in UV-B-induced activation of PAL and stimulation of flavonoid biosynthesis in *Ginkgo biloba* callus, Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 97(2), PP: 175-185.

23-Hui, R., Li, X., Zhao, R., Liu, L., Gao, Y., and Wei, Y., 2015. UV-B radiation suppresses chlorophyll fluorescence, photosynthetic pigment and antioxidant systems of two key species in soil crusts from the Tengger Desert, China, Journal of Arid Environments, 113, PP: 6-15.

24-Hui Ma, C.H., Chu, J.Z., Shi, X.F., Liu, C.Q., and Yao, X.Q., 2016. Effects of enhanced UV-B radiation on the nutritional and active ingredient contents during the floral development of medicinal chrysanthemum. Journal of Photochemistry and Photobiology B, Biology, 158, PP: 228-234.

25-Inostroza-Blancheteau, C., Acevedo, P., Loyola, R., Arce-Johnson, P., Alberdi, M., and Reyes-Diaz, M., 2016. Short-term UV-B radiation affects photosynthetic performance and antioxidant gene expression in high bush blueberry leaves, Plant physiology and biochemistry, 107, PP: 301-309.

26-Katerova, Z., Todorova, D., Tasheva, K., and Sergiev, I., 2012. Influence of ultraviolet radiation on plant secondary metabolite production, Genetics and plant Physiology, 2(3-4), PP: 113-144.

27-Ke Tang, K., Zhan, J.C., Yang, H.R., and Huang, W.D., 2010. Changes of resveratrol and antioxidant enzymes during UV-induced plant defense response in peanut seedlings, Journal of plant physiology, 167(2), PP: 95-102.

28-Kochert, G., 1978. Carbohydrate determination by the phenol-sulfuric acid method, Handbook of phycological methods, Phycological and biochemical methods, PP: 95-97.

29-Koroi, S.A., 1989. Gel electrophoresis tissue and spectrophotometrscho unter uchungen zomeinfiuss der temperature auf struktur der amylase and peroxidase isoenzyme, Physiological Reviews, 20, PP: 15-23.

30-Kumar, V., Moyo, M., Gruz, J., Šubrtová, M., and Van Staden, J., 2015. Phenolic acid profiles and antioxidant potential of *Pelargonium sidoides* callus cultures, Industrial Crops and Products, 77, PP: 402-408.

31-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, PP: 591-592.

32-Li, P., Yu, X. and Xu, B., 2017. Effects of UV-C Light Exposure and Refrigeration on Phenolic and Antioxidant Profiles of Subtropical Fruits (Litchi, Longan, and Rambutan) in Different Fruit Forms, Journal of Food Quality, PP: 1-12.

33-Liu, B., Liu, X.B., Li, Y.S., and Herbert, S.J., 2013. Effects of enhanced UV-B radiation on seed growth characteristics and yield components in soybean, Field crops research, 154, PP: 158-163.

34-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(2), PP: 207-216.

35-Marinova, D., Ribarova, F., and Atanassova, M., 2005. Total phenolics and total flavonoids in Bulgarian fruits and vegetables, Journal of the university of chemical technology and metallurgy, 40(3), PP: 255-260.

36-Matsuura, H.N., de Costa, F., Yendo, A.C.A., and Fett-Neto, A.G., 2013. Photoelicitation of bioactive secondary metabolites by ultraviolet radiation: mechanisms, strategies, and applications, In Biotechnology for medicinal

DOR: 20.1001.1.23832592.1401.35.1.3.7

plants, Springer, Berlin, Heidelberg, PP: 171-190.

37-Mithila, J., Murch, S.J., KrishnaRaj, S., and Saxena, P.K., 2001. Recent advances in Pelargonium in vitro regeneration systems, Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 67(1), PP: 1-9.

38-Mpoloka, S.W., 2008. Effects of prolonged UV-B exposure in plants, African journal of biotechnology, 7(25), PP: 4874-4883.

39-Mohajer, S., Taha, R.M., Mohajer, M., and Javan, I.Y., 2015. UV-B irradiation effects on biological activities and cytological behavior of sainfoin (*Onobrychis viciifolia* Scop.) grown in vivo and in vitro, Pakistan Journal of Botany, 47(5), PP: 1817-1824.

40-Nogues, S., and Baker, N.R., 2000. Effects of drought on photosynthesis in Mediterranean plants grown under enhanced UV-B radiation. Journal of experimental botany, 51(348), PP: 1309-1317.

41-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 (PCTOC), 116(3), PP: 371-385.

42-Pereira, G.J.G., Molina, S.M.G., Lea, P.J., and Azevedo, R.A.D., 2002. Activity of antioxidant enzymes in response to cadmium in *Crotalaria juncea*, Plant and soil, 239(1), PP: 123-132.

43-Piri, E., Babaeian, M., Tavassoli, A.E.S., and Aeilian, Y., 2011. Effects of UV irradiation on plants. African journal of microbiology research, 5(14), PP: 1710-1716.

44-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), PP: 216-225.

45-Sharopov, F.S., Zhang, H., and Setzer, W.N., 2014. Composition of geranium (*Pelargonium graveolens*) essential oil from Tajikistan. American Journal of Essential Oils and Natural Products, 2(2), PP: 6-13.

46-Saraswathi, J., Venkatesh, K., Baburao, N., Hilal, M.H., and Rani, A.R., 2011. Phytopharmacological importance of Pelargonium species, Journal of Medicinal Plants Research, 5(13), PP: 2587-2598.

47-Shaukat, S.S., Farooq, M.A., Siddiqui, M.F., and Zaidi, S.A.H.A.R., 2013. Effect of enhanced UV-B radiation on germination, seedling growth and biochemical responses of *Vigna mungo* (L.) Hepper, Pakistan Journal of Botany, 45(3), PP: 779-785.

48-Takshak, S., and Agrawal, S.B., 2016. The role of supplemental ultraviolet-B radiation in altering the metabolite profile, essential oil content and composition, and free radical scavenging activities of *Coleus forskohlii*, an indigenous medicinal plant, Environmental Science and Pollution Research, 23(8), PP: 7324-7337.

49-Takshak, S., and Agrawal, S.B., 2015. Defence strategies adopted by the medicinal plant *Coleus forskohlii* against supplemental ultraviolet-B radiation: Augmentation of secondary metabolites and antioxidants, Plant Physiology and Biochemistry, 97, PP: 124-138.

50-Tegelberg, R., Aphalo, P.J., and Julkunen-Tiitto, R., 2002. Effects of long-term, elevated ultraviolet-B radiation on phytochemicals in the bark of silver birch (B*etula pendula*), Tree physiology, 22(17), PP: 1257-1263.

51-Vidovic, M., Morina, F., Milic, S., Albert, A., Zechmann, B., Tosti, T., Winkler, J.B., and Jovanovic, S.V., 2015. Carbon allocation from source to sink leaf tissue in relation to flavonoid biosynthesis in variegated *Pelargonium zonale* under UV-B radiation and high PAR intensity, Plant Physiology and Biochemistry, 93, PP: 44-55.

52-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(4), PP: 351-358.

53-Xu, C., Natarajan, S., and Sullivan, J.H., 2008. Impact of solar ultraviolet-B radiation on the antioxidant defense system in soybean lines differing in flavonoid contents, Environmental and Experimental Botany, 63(1-3), PP: 39-48.

54-Yildirim, A.B., 2020. Ultraviolet-B-induced changes on phenolic compounds, antioxidant capacity and HPLC profile of in vitro-grown plant materials in *Echium orientale* L., Industrial Crops and Products, 153, doi: 10.1016/j.indcrop, 112584 p.

55-Zagoskina, N.V., Dubravina, G.A., Alyavina, A.K., and Goncharuk, E.A., 2003. Effect of ultraviolet (UV-B) radiation on the formation

DOR: 20.1001.1.23832592.1401.35.1.3.7

and localization of phenolic compounds in tea plant callus cultures, Russian journal of plant physiology, 50(2), PP: 270-275.

56-Zlatev, Z.S., Lidon, F.J., and Kaimakanova, M., 2012. Plant physiological responses to UV-B radiation, Emirates Journal of Food and Agriculture, 24(6), PP: 481-501.

Biochemical responses of *Plargonium graveolens* L′HER under UV-B radiation under *In Vitro* condition

Azarafshan M.[1], Peyvandi M.[1]*, Abbaspour H.[1], Noormohammadi Z.[2] and Majd A.[1]

[1] Dept. of Biology, Faculty of Biological Science, North Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, I.R. of Iran.

[2] Dept. of Biology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, I.R. of Iran.

Abstract

Pelargonium graveolens L ′Her is an aromatic and medicinal plant which is widely used in pharmaceutical, perfumery and food industry. In this study, the effect of ultraviolet radiation with different intensities (0, 0.12, 0.26 and 0.38 W/m^2) was investigated on *P. graveolens* in *InVitro* condition. The amount of total phenol, flavonoid and anthocyanin, activity of phenylalanine ammonia lyase (PAL), photosynthetic pigments, carbohydrates, proteins and activity of some anti-oxidant enzymes (Catalase, peroxidase and superoxide dismutase) were evaluated. The antioxidant activity of methanolic extract was measured by using 2-2-di-phenyl-1-picaril hydrazil (DPPH) method. Total protein content and chlorophylls a, b showed a significant decrease ($P\leq 0.05$), while the amount of carotenoid increased significantly ($P\leq 0.05$), when ultraviolet radiation increased. With increasing UV-B radiation, the activity of studied enzymes, total phenols, flavonoids and anthocyanins content increased significantly ($P\leq 0.05$). Also, with increasing radiation intensity, the mean IC50 of methanolic extract decreased. The decreasing pattern of IC_{50} was consistent with the trend of increasing the mean of phenols. The present results show that *P.graveolens* in response to UVB stress has increased its antioxidant capacity by increasing the activity of antioxidant enzymes and increasing the phenols.

Keywords: *Pelargonium graveolens*, UV radiation, Secondary metabolite, *In Vitro* condition