

بررسی اثر شدت‌های نوری بر صفات رشدی، میزان فتوستتوز و هیپریسین کل در رقم توپاز و اکوتیپ میشو گیاه دارویی *Hypericum perforatum*

جاوید عمارت‌پرداز^۱، سجاد محرم‌نژاد^{۲*}، جابر پناهنده^۳، مسعود چمنی^۴، محمدرضا زاده اسفهلان^۵،
حسین کربلایی خیاوی^۶

^۱دکتری، گروه فیزیولوژی گیاهان زراعی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران
^۲استادیار، بخش تحقیقات علوم زراعی و باغی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان اردبیل (مغان)، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، مغان، ایران
^۳دانشیار، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران
^۴دکتری، گروه گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران
^۵کارشناس ارشد، گروه زراعت، دانشکده کشاورزی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، اردبیل، ایران
^۶استادیار، بخش تحقیقات گیاهپزشکی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان اردبیل (مغان)، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، مغان، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۱۰/۱۱ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۰۵/۱۴

چکیده

گل راعی (*Hypericum perforatum* L.) یک گیاه علفی دائمی با متابولیت‌هایی مانند هیپریسین، سودو هیپریسین و هیپرفورین، بطور گسترده برای درمان افسردگی مورد استفاده قرار می‌گیرد. به منظور ارزیابی شدت نور (سه سطح نوری شامل شدت نور کامل، ۷۵ درصد و ۵۰ درصد) روی ارتفاع بوته، تعداد روزنه برگ، غلظت کلروفیل، فتوستتوز، تعداد غده برگ، وزن تر و خشک گل راعی و تولید هیپریسین کل آن در رقم توپاز و اکوتیپ میشو در سیستم هیدروپونیک با بستر ماسه‌ای، آزمایشی بصورت کرت‌های خرد شده در قالب بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در گلخانه دانشگاه تبریز در سال ۱۳۹۶ اجرا شد. میزان غلظت کلروفیل و هیپریسین کل گل راعی با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتری اندازه‌گیری شد. نتایج حاصل نشان داد که اثر تیمار نوری روی صفات وزن تر و خشک بوته، ارتفاع، تعداد غده برگ، کلروفیل *a*، کلروفیل *b*، روزنه برگ، فتوستتوز و میزان هیپریسین کل در بین رقم توپاز و اکوتیپ میشو اختلاف معنی‌دار بود. بیشترین وزن تر و خشک، تعداد غده برگ، فتوستتوز و میزان هیپریسین کل مربوط به تیمار نوری کامل (۱۰۰ درصد) بود. همچنین بیشترین میزان ارتفاع بوته، کلروفیل *a* و کلروفیل *b* مربوط به تیمار ۵۰ درصد نور بود. در تمام صفات اندازه‌گیری شده رقم توپاز نسبت به اکوتیپ میشو برتری نشان داد. براساس نتایج حاصل می‌توان با مدیریت مناسب شدت نور میزان هیپریسین گل راعی را افزایش داد.

واژه‌های کلیدی: غده برگ، غلظت کلروفیل، متابولیت، هیپریسین

مقدمه

انرژی نورانی قابل استفاده برای گیاه به وسیله عوامل مختلف محیطی به شدت تغییر یافته و به همین دلیل تنش ناشی از کاهش شدت نور جزء تنش‌های مهم برای گیاهان زراعی محسوب می‌شود و شدت‌های پایین نور در گیاهان تنش ایجاد کرده، زیرا فتوسنتز و در نتیجه جذب خالص کربن و رشد گیاه را محدود می‌سازد (Kazemi et al., 2012). گیاهان برای فعالیت‌های متعدد خود مانند فتوسنتز، گل‌انگیزی، رشد و تولید بسیاری از متابولیت‌های گیاهی به نور نیاز دارند. نور مورد نیاز از لحاظ شدت، مدت تابش یا فتوپریود و همچنین از لحاظ کیفیت نور اهمیت زیادی دارد. پس از جذب پروتوهای نور خورشید واکنش‌های فتوشیمیایی در مولکول‌های گیرنده نور رخ می‌دهد که می‌تواند منجر به تغییرات مورفولوژیکی، آناتومیکی، فیزیولوژیکی و مولکولی در گیاه گردد. کیفیت و شدت تابش نور نیز مانند تنش‌های محیطی و غیرزنده می‌تواند باعث افزایش تنش اکسیداتیو در سلول‌های گیاهی شود (Yamori and Shikanai, 2016). گزارش‌های متعددی مبنی بر افزایش میزان تولید متابولیت‌های ثانویه گیاه دارویی جینسنگ (Chen et al., 2016) و گیاه دارویی گل‌راعی (Odabas et al., 2009) شده است. عمارت‌پرداز و همکاران (Emarat-Pardaz et al., 2013) اظهار کردند که استفاده از شدت‌های مختلف نور سبب افزایش میزان رشد و میزان تولید متابولیت‌های ثانویه گیاه دارویی گل‌راعی می‌شود. هدف از اجزای این آزمایش بررسی اثر شدت نور روی رشد و نمو گل‌راعی و تولید هیپریسین کل در رقم اصلاح شده خارجی توپاز و اکوتیپ میشو در شرایط گلخانه‌ای بود.

طی سال‌های اخیر استفاده از گیاهان دارویی به‌عنوان جایگزینی برای طب امروزی و مدرن به‌طور قابل ملاحظه‌ای افزایش یافته است (Temizel, 2015). گل‌راعی یا علف‌چای (*Hypericum perforatum* L.) متعلق به تیره Hypericaceae است. این گیاه از نظر آب و هوایی با مناطق معتدل سازگار است و گیاهی روز بلند و مقاوم به سرما نیز می‌باشد. این همواره به‌عنوان یک گیاه دارویی مهم و ارزشمند شناخته شده است. اندام‌های برگ، پرچم، گلبرگ و مادگی گل‌راعی دارای متابولیت هیپریسین^۱، سودوهیپریسین^۲ و هیپرفورین^۳ که برای درمان افسردگی و تولید پمادهای سوختگی مورد استفاده قرار می‌گیرد (Cirak et al., 2013).

کیفیت فرآورده‌های گل‌راعی ممکن است توسط شرایط محیطی مختلف مانند کیفیت و کمیت نور، تغذیه کودی، تراکم گیاهی، رطوبت خاک و دما که توانایی تغییر محتوای ماده مؤثره دارویی گیاه را دارند، تحت تأثیر قرار گیرند (Odabas et al., 2014). روی برگ‌های این گیاه دو نوع غده تیره و روشن وجود دارد. غده‌های روشن که در سطح برگ‌ها پراکنده و محل تجمع اسانس می‌باشند. غده‌های تیره در تمام قسمت‌های گل، ساقه، بذر و حاشیه برگ‌ها وجود داشته و محل تجمع هیپریسین می‌باشند (Koperdakova et al., 2004). هیپریسین، فعالیت بیولوژیکی خود را در برابر حشرات، میکروارگانیسم‌ها و ویروس‌ها تنها در حضور نور نشان داده (Yamanner et al., 2013) و تحت تأثیر نور فعال و تولید رادیکال اکسیژن می‌نماید (Kashef et al., 2013).

1. Hypericin
2. Pseudohypericin
3. Hyperforin

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی و اعمال تیمار نوری: این تحقیق در گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز در سال ۱۳۹۶ صورت گرفته و مواد گیاهی شامل یک اکوتیپ بومی با نام میشو ($38^{\circ}22'22''N$ $45^{\circ}36'45''E$) که از مرکز تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی و منابع طبیعی استان آذربایجان شرقی شد و یک رقم اصلاح شده خارجی با نام توپاز^۱ که از شرکت ریچر کانادا تهیه شد. جوانه زنی بذور در گلدان‌های جی‌پی‌پات صورت گرفته و بعد از ۴۰ روز گیاهچه‌های حاصل به بستر ماسه‌ای سیستم هیدروپونیک انتقال یافتند. طول بستر کاشت ۴ متر و فاصله بوته‌ها از همدیگر ۲۵ سانتیمتر بوده، دما و رطوبت در گلخانه مورد استفاده در این آزمایش به ترتیب ۲۰-۳۰ درجه سانتی‌گراد و ۶۰-۴۰ درصد بود. از محلول هوگلند تغییر یافته که بر اساس روش ولفلی و همکاران (Wölfle et al., 2014) تهیه شده بود، به عنوان منبع غذایی استفاده گردید.

تیمارهای نوری در گلخانه شامل سه سطح شدت نور کامل به صورت ترکیبی از نور طبیعی موجود و نور تکمیلی با استفاده از لامپ‌های سدیمی (نور سرخ) و فلورسنت (سفید)، ۷۵ درصد و ۵۰ درصد شدت نور کامل که با استفاده از توری‌های استاندارد ایجاد گردید. حداکثر شدت نور در گلخانه حدود ۹۰۰ میکرومول بر متر مربع در ثانیه و نور تکمیلی مرحله اول قبل از ظهر هر روز به مدت سه ساعت و نور تکمیلی مرحله دوم بعد از ظهر به مدت سه ساعت پیش‌بینی و اعمال شد.

صفات رشدی: شامل ارتفاع بوته، وزن تر و وزن خشک بوته و سطح برگ در مرحله گلدهی کامل گیاهان، از هر واحد آزمایشی دو بوته به‌طور تصادفی

برداشت و صفات مذکور مورد اندازه‌گیری قرار گرفت.

تعداد غده^۲ و روزنه‌های برگی: برای اندازه‌گیری این صفت، از هر بوته ۲۰ برگ انتخاب و توسط میکروسکوپ Nikon E400 مجهز به دوربین Coolpix 1200 با درشت‌نمایی ۱۰۰، تعداد گلندها و روزنه‌ها شمارش گردید.

فتوسنتز: برای اندازه‌گیری این پارامتر، از هر واحد آزمایشی یک گیاه انتخاب و میزان فتوسنتز خالص برگ‌ها با استفاده از دستگاه فتوسنتز متر (Walz, Model HCM-1000-Germany) مورد ارزیابی قرار گرفت. میزان فتوسنتز خالص در اواسط فصل رشد و در برگ‌های جوان بالغ کاملاً توسعه یافته و بین ساعات ۹ تا ۱۴ اندازه‌گیری گردید.

کلروفیل *a* و *b* سنجش مقادیر کلروفیل بر اساس روش آرنائو و هیرناندز-ریوز (Arnao and Hernández-Ruiz, 2014) صورت گرفت.

هیپریسین کل: برای استخراج هیپریسین از سرشاخه‌های گلدار گل راعی خشک شده در دمای اتاق، ۲۰ میلی‌گرم از نمونه خشک با پنج میلی‌لیتر کلروفورم به مدت ۱۵ دقیقه به هم زده شد. پس از گذراندن محلول حاصل از کاغذ صافی، بقایای گیاهی در دمای اتاق خشک شد. ۵ میلی‌لیتر متانول به مواد گیاهی باقی مانده اضافه گردید و پس از هم زدن و عبور از کاغذ صافی، تیوب‌ها به مدت ۱۸ ساعت در حمام آبی با دمای ۴۵ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. دوباره پنج میلی‌لیتر کلروفورم به نمونه‌ها اضافه و به مدت ۱۵ دقیقه به هم زده شد. سپس محلول حاصل به مدت ۱۵ دقیقه در ۶۰۰۰ دور سانتریفوژ شد. فاز مایع بالایی از ظرف خارج شد و فاز جامد حاوی هیپریسین را با ۲ میلی‌لیتر متانول حل گردید و پس از

نمودارها نیز از نرم افزار Excel استفاده گردید.

نتایج

وزن تر و وزن خشک: تجزیه واریانس داده‌های حاصل نشان داد که اختلاف شدت‌های نوری روی وزن تر در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. ارقام در این صفت در سطح احتمال پنج درصد تفاوت داشتند (جدول ۱). بالاترین میانگین وزن تر بوته (۳۲۰ گرم) در شدت نور کامل حاصل (شکل ۱) و رقم توپاز بیشترین وزن تر بوته به مقدار ۳۳۲ گرم را تولید کرد. وزن خشک بوته‌ها نیز تحت تأثیر شدت‌های نوری (سطح احتمال پنج درصد) قرار گرفت بالاترین وزن خشک بوته (۱۰۲ گرم) در شدت نور کامل حاصل شد (شکل ۱).

گذراندن محلول حاصل از کاغذ صافی، در طول موج ۵۹۲ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (Bio-wave, 2100S) اندازه‌گیری شد. در نهایت میزان هیپیرسین کل نمونه‌ها با استفاده از نمودار رگرسیون بدست آمده از محلول‌های استاندارد هیپیرسین (Sigma-Aldrich, K56178) تعیین گردید (Emarat- (Pardaz et al., 2013).

طرح آزمایشی و تجزیه‌های آماری: طرح آماری مورد استفاده بصورت اسپلیت پلات (کرت‌های خرد شده) در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار بود. شدت نور بعنوان فاکتور اصلی و رقم بعنوان فاکتور فرعی در نظر گرفته شد. تجزیه واریانس داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS انجام و مقایسه آزمون داده‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطوح احتمال پنج درصد انجام گرفت.

برای رسم

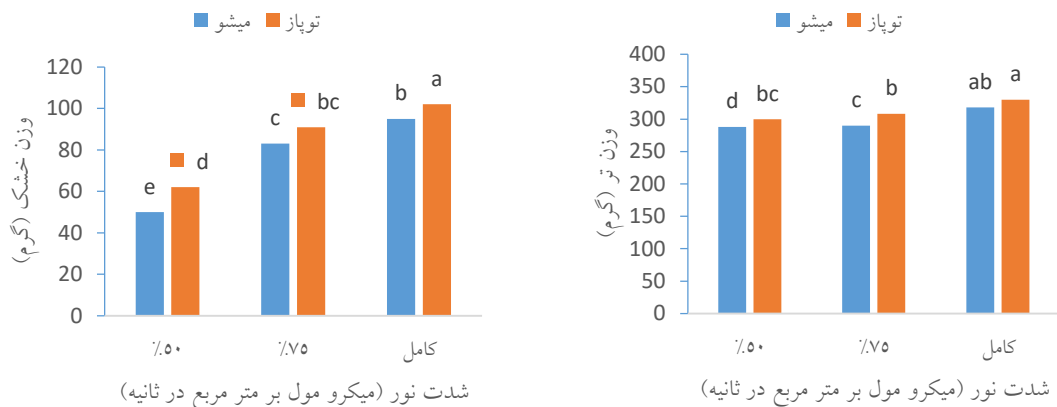
جدول ۱: تجزیه واریانس صفات مورد اندازه‌گیری شده در گل راعی

میانگین مربعات										
منابع تغییر	درجه آزادی	وزن تر	وزن خشک	ارتفاع	روزنه برگی	غده برگی	کلروفیل a	کلروفیل b	فتوستتر	هیپیرسین کل
تکرار	۲	۰/۶۷ ^{ns}	۰/۷۹ ^{ns}	۰/۸۵ ^{ns}	۱۷/۸۰ ^{**}	۰/۲۴ ^{ns}	۱۶/۳۵ ^{ns}	۴/۶۲ ^{ns}	۰/۰۴ ^{ns}	۹۳/۹۶ ^{ns}
نور	۲	۲/۳۳ ^{**}	۲/۸۱ [*]	۱/۵۲ ^{**}	۲۰/۴۲ ^{**}	۹/۲۳ ^{**}	۱۵۴/۴۶ [*]	۱۲/۱۱ [*]	۰/۲۶ [*]	۱۹۹/۳۰ ^{**}
خطای اول	۶	۰/۳۸	۰/۳۲	۰/۱۱	۰/۹۸	۰/۰۷	۱۳/۳۲	۲/۰۲	۰/۰۱	۳۶/۴۷
رقم	۱	۰/۱۷ [*]	۰/۰۷ ^{ns}	۱/۱۲ [*]	۱۵/۴۰ ^{**}	۱/۱۵ ^{**}	۱۶۷/۷۱ ^{**}	۴۲/۹۹ ^{ns}	۰/۳۷ ^{**}	۴۰۷/۱۶ ^{**}
نور× رقم	۲	۰/۰۷ ^{ns}	۰/۱۴ ^{ns}	۰/۰۲ ^{ns}	۷/۱۱ ^{**}	۰/۱۰ ^{ns}	۳/۶۶ ^{ns}	۹/۷۱ ^{ns}	۰/۰۲ ^{ns}	۱۰/۴۵ ^{ns}
خطای دوم	۶	۰/۰۷	۰/۱۰	۰/۰۷	۰/۸۰	۰/۰۳	۲/۸۰	۱۰/۴۷	۰/۰۱	۶/۸۷

^{ns}، * و ** به ترتیب غیر معنی‌داری و معنی‌دار در سطح احتمال پنج و یک درصد

گشته و شدت‌های نور کامل و ۷۵ درصد از نظر ارتفاع اختلاف معنی‌داری نداشتند (شکل ۲). ارتفاع واریته توپاز با ۸۷ سانتی‌متر حدود پنج درصد نسبت به رقم بومی میشو بلندتر بود.

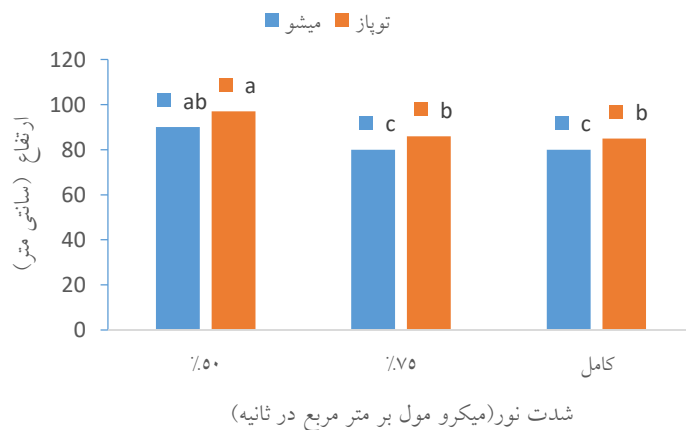
ارتفاع بوته: ارتفاع بوته تحت تأثیر شدت‌های نوری قرار گرفت (سطح احتمال یک درصد) و ارقام نیز از نظر صفت ارتفاع، در سطح احتمال یک درصد اختلاف معنی‌داری نشان دادند (جدول ۱). حداکثر ارتفاع (۹۷ سانتی‌متر) در کمترین شدت نور حادث



شکل ۱: تأثیر شدت‌های نوری بر میانگین وزن تر و وزن خشک دو رقم گل راعی

(شکل ۳) و رقم توپاز با ۲۲ غده در هر برگ در مقایسه با رقم بومی میشو (۱۶ غده برگ) تعداد غده بیشتری را به خود اختصاص داد (جدول ۱).

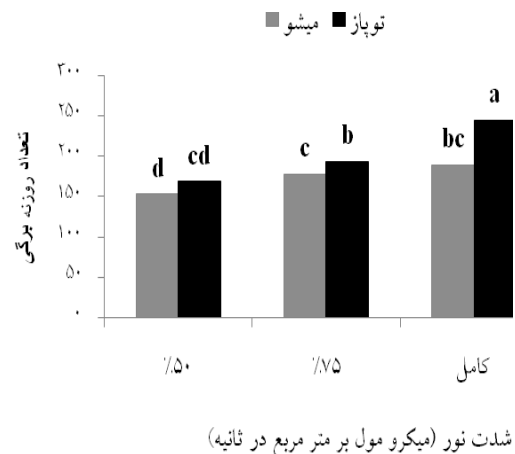
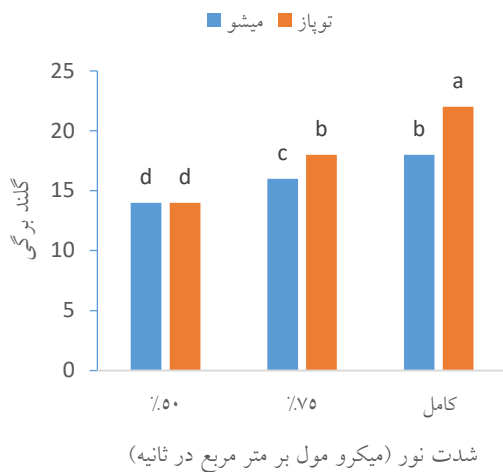
تعداد غده برگی: شدت‌های نوری و ارقام از لحاظ تولید غده برگی در سطح احتمال یک درصد اختلاف معنی‌داری داشتند. مقایسه میانگین‌ها نشان داد که بالاترین تعداد گلند (۲۰ عدد) در نور کامل تولید



شکل ۲: تأثیر شدت‌های نوری بر میانگین ارتفاع در دو رقم گل راعی

(جدول ۱). با کاهش شدت نور گرچه اختلاف در تعداد روزنه بین ارقام کاهش یافت، با این حال رقم توپاز از نظر این صفت برتری معنی‌داری داشت (شکل ۳). در ارقام مورد کاشت گل راعی پراکندگی روزنه در سطح زیرین برگ بود.

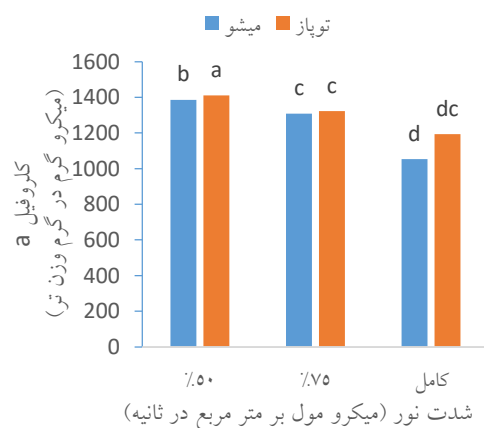
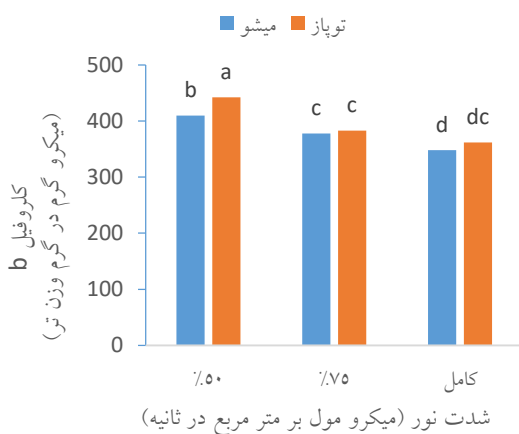
تعداد روزنه برگی: تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که تعداد روزنه برگی تحت تأثیر تیمارهای نور قرار گرفتند و ارقام از نظر تعداد روزنه برگی اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد نشان دادند. اثرات متقابل نور در رقم بر روی تعداد روزنه‌های برگی در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار گشت



شکل ۳: تأثیر شدت‌های نوری بر میانگین تعداد غده و تعداد روزنه برگ‌های دو رقم گل راعی

مقدار کلروفیل *a* در شدت نور ۵۰ درصد به میزان ۱۳۲۲ میکروگرم در گرم وزن تر بود (شکل ۴). مقدار کلروفیل *b* بوته‌ها در این آزمایش، تحت تأثیر شدت‌های نوری در سطح احتمال پنج درصد قرار گرفتند و ارقام از لحاظ میزان کلروفیل *b* اختلاف معنی‌داری نشان ندادند (جدول ۱). بالاترین مقدار کلروفیل *b* در شدت نور ۵۰ درصد حاصل گشت (شکل ۴).

غلظت کلروفیل *a* و *b*: کلروفیل *a* به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر شدت‌های نوری و نوع رقم قرار گرفت. ارقام از لحاظ مقادیر کلروفیل *a* تفاوت داشته (جدول ۱) و رقم توپاز با دارا بودن ۱۴۲۰ (میکروگرم در گرم وزن تر) کلروفیل *a* نسبت به رقم بمومی میشو برتری داشت (شکل ۴). با افزایش شدت نور از نور ۵۰ درصد تا نور کامل، کلروفیل *a* کاهش و بالاترین

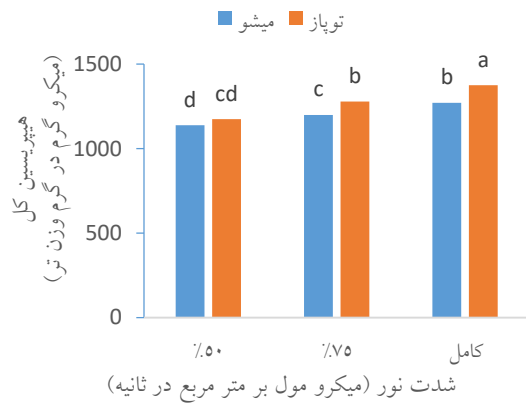


شکل ۴: تأثیر شدت‌های نوری بر میانگین کلروفیل *a* و *b* در دو رقم گل راعی

(۱). در شدت نور پایین (۵۰ درصد نور کامل)، میزان فتوسنتز هر دو رقم تقریباً یکسان بوده و با افزایش شدت نور میزان فتوسنتز رقم توپاز از رقم میشو پیشی گرفت (شکل ۵). این موضوع می‌تواند ناشی از

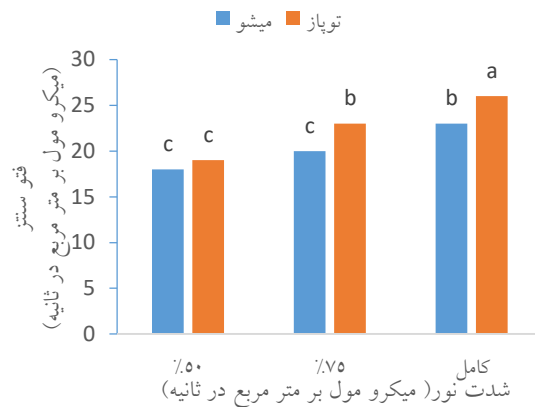
فتوسنتز: تجزیه آماری داده‌ها نشان داد که میزان فتوسنتز به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر شدت نور و نوع رقم (سطح احتمال یک و پنج درصد) بوده و حد اکثر میزان فتوسنتز در شدت نور کامل حاصل شد (جدول

بالاترین مقدار هیپرسیس کل در رقم توپاز به میزان ۱۴۵۵ میکروگرم در گرم وزن تر ایجاد گردید. هیپرسیس کل تحت تأثیر شدت‌های نوری قرار گرفت و حداکثر عملکرد هیپرسیس در شدت نور کامل به میزان ۱۳۸۶ میکروگرم در گرم وزن تر بود (شکل ۵).



استفاده بهتر رقم اصلاح شده از شرایط بهینه محیط نسبت به رقم بومی باشد.

هیپرسیس کل: تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که مقدار هیپرسیس کل به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر شدت‌های نوری و نوع رقم قرار گرفت (جدول ۱). ارقام از لحاظ تولید هیپرسیس متفاوت عمل کرده و



شکل ۵: تأثیر شدت‌های نوری بر میانگین فتوسنتز و میزان هیپرسیس کل در دو رقم گل راعی

رشد یافته در شرایط کم نور (۲۶۰ میکرو مول بر متر مربع در ثانیه) به‌طور معنی‌داری بیشتر از شرایط پر نور (۲۳۰۰ میکرو مول بر متر مربع در ثانیه) بود. ارتفاع گیاه باچاریس (*Baccharis trimera*) به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر شدت‌های نوری بوده و با کاهش شدت نور بر میزان آن افزوده شده و حداکثر ارتفاع (۱۸۴ سانتی‌متر) در ۲۰ درصد شدت نور کامل حادث شد (Chen et al., 2016). در مطالعه‌ای سکیا و همکاران (Skyba et al., 2010) ویژگی‌های مورفولوژیکی و بیوشیمیایی گل راعی در ارتفاعات و شدت‌های متفاوت نور فرابنفش بررسی و مشخص گردید که با افزایش ارتفاع از سطح دریا؛ طول گیاهان کاهش و به تناسب آن فاصله میان‌گرهی ساقه‌ها کاهش یافت. نتایج حاصل از این تحقیق با نتایج حاصل از مطالعات عبادی و همکاران (Ebadi et al., 2012) در مورد جمعیت‌های گل راعی ارتفاعات بالاتر (۱۸۶۳ متر) از سطح دریا نسبت به سایر

بحث

در شرایط کم نور گرچه گسترش سطح برگگی زیاد بود ولی ضخامت برگ‌ها نسبت به شرایط نور کامل کمتر بود و به عبارت دیگر مقدار سطح ویژه برگ در شرایط کم نور افزایش می‌یابد که با نتایج محققان دیگر همخوانی دارد (Emarat-Pardaz et al., 2013). سیلوسترینی و همکاران (Silvestrini et al., 2007) نیز اظهار داشتند که در شدت‌های بالای نور وزن خشک گیاهان به‌طور معنی‌داری نسبت به شرایط نوری پایین بیشتر بود. نیکولاس و همکاران (Nicolás et al., 2005) در بررسی اثر سایه بر رشد گیاه *Adhatoda beddomei* اعلام کردند که بیشترین وزن خشک گیاه در تیمار ۶۰ درصد سایه حاصل شد و کمترین مقدار وزن خشک مربوط به شاهد (نور کامل) بود. سیلوسترینی و همکاران (Silvestrini et al., 2007) در بررسی تأثیر شدت‌های نوری بر دو گونه جنگلی در برزیل اعلام داشتند که ارتفاع گیاهان

به طور معنی داری نسبت به سایه بیشتر است. عمارت-پرداز و همکاران (Emarat-Pardaz et al., 2013) در بررسی فراوانی و اندازه روزنه در گل راعی تحت شرایط محیطی مختلف از لحاظ نوری عنوان کردند که تیمار نوری باعث افزایش تعداد روزنه‌ها می‌شود. در تحقیقی روی گیاه گل راعی، افزایش شدت نور از ۱۰۰ به ۴۵۰ میکرومول بر متر مربع در ثانیه مقدار کلروفیل را از ۴۸۰ به ۴۳۳ میلی گرم در مترمربع رساند (Emarat-Pardaz et al., 2013) ولی در گیاه *Panax* این روند معکوس و مقدار کلروفیل از ۴۸۴ به ۵۱۵ میلی گرم در مترمربع افزایش یافت (Chen et al., 2016). سیلوسترینی و همکاران (Silvestrini et al., 2007) در مطالعه تأثیر شدت‌های نوری بر برخی گونه‌های گیاهی و درختی گیاه، اختلاف معنی داری بر روی مقادیر کلروفیل *a* در شرایط پر نور و کم نور مشاهده نکردند. یاموری و شیکانی (Yamori and Shikanai, 2016) در مطالعه اثر شدت‌های نور کامل و ۴۵ درصد نور کامل بر گونه‌های ایلوسیوم اعلام کردند که مقادیر کلروفیل *a* از روند مشخصی تبعیت نکرده و مقدار آن با تنوع گونه‌ای متفاوت می‌باشد. زوییک و همکاران (Zubek et al., 2012) در بررسی دو گونه گل سرخ پرورش یافته در شرایط مختلف نوری، اظهار داشتند که بین گونه‌ها از نظر مقادیر کلروفیل تفاوت معنی داری بوده و گیاهان رشد یافته در شدت نوری پایین دارای برگ‌های نازک و مقادیر کلروفیل بالایی بودند. در گیاه ترما مقادیر کلروفیل *b* در شدت‌های نوری بالا و پایین (۲۳۰۰ و ۲۶۰ میکرومول بر متر مربع در ثانیه) اختلاف معنی داری نشان نداده و مقادیر آن ۱۴۶ و ۱۴۴ میلی گرم در متر مربع بود (Silvestrini et al., 2007). با افزایش شدت نور مقادیر کلروفیل *b* در گونه‌های ایلوسیوم متفاوت عمل کرده و در برخی گونه‌ها با افزایش و در برخی با کاهش میزان کلروفیل *b* همراه بود (Yamori and Shikanai, 2016). گویندجی (Govindjee, 2012)

جمعیت‌های جمع‌آوری شده، مطابقت داشت به طوری که فاصله میان‌گره و ارتفاع بوته در این جمعیت به‌طور معنی داری کمتر از سایر جمعیت‌ها بود. احتمالاً کاهش طول گیاه در مقابل افزایش ارتفاع از سطح دریا یک مکانیسم دفاعی جهت غلبه بر آسیب نور فرابنفش در ارتفاعات می‌باشد. مطالعات شاروپو و همکاران (Sharopov et al., 2010) روی گل راعی بیانگر تفاوت در جمعیت‌های مختلف این از نظر ارتفاع، تعداد میان‌گره‌های ساقه، ابعاد برگ، تعداد گل می‌باشد. ریاضی و همکاران (Riazi et al., 2011) گزارش کردند که ارتفاع بوته‌های جمع‌آوری شده گل راعی از منطقه گرم‌دشت تقریباً دو برابر جمعیت درازنو بودند. همچنین ایشان اظهار کردند که کاهش ارتفاع گیاهان درازنو می‌تواند مربوط به منشأ ژنتیکی و یا ناشی از خوگیری گیاهان به ارتفاعات بالای منطقه درازنو باشد.

کوست و همکاران (Coste et al., 2011) اعلام کردند که رابطه معنی داری بین افزایش شدت نور و تعداد غده‌های برگی در گل راعی وجود داشته، به طوری که با افزایش نور از ۱۰۰ به ۵۰۰ میکرومول بر مترمربع در ثانیه تعداد غده‌های برگی از ۶ به ۱۸ رسید. به نظر آنها افزایش شدت نور، میزان فتوسنتز گیاه را افزایش داده و به طبع آن تعداد غده‌های تیره برگی و غلظت هیپرسیسین نیز افزایش می‌یابد.

مطالعه پیرون و همکاران (Perrone et al., 2013) در مورد روزنه‌های گیاهان مختلف ضمن تأیید این موضوع، تأثیر مثبت شدت نور بر تعداد روزنه‌های برگی در گل راعی را بیان می‌کند. شدت‌های پایین نور با کاهش قطر لایه‌های مزوفیل و پارانشیم، ضخامت برگی را کم کرده و این در نهایت کم شدن تعداد روزنه‌های برگی را به دنبال خواهد داشت. بولدت و رانک (Boldt and Rank, 2010) در مطالعات خود به این نتیجه رسید که تعداد روزنه برگی در شرایط آفتابی

در پژوهشی روی پنج گیاه ریشه‌ای گرمسیری اعلام کردند که در تمام گونه‌ها میزان کلروفیل برگ‌ها در شرایط سایه بیشتر بود. در گیاه کارامبولا با کاهش شدت نور به ۲۵ درصد شدت نور کامل، میزان کلروفیل برگ‌ها افزایش معنی‌داری نشان داد (Smith and Dukes, 2013). به نظر یاموری و شیکانی (Yamori and Shikanai, 2016) افزایش کلروفیل در اثر تمایل گیاه زراعی برای غنی کردن سیستم جذبی برای تولید مواد فتوستتزی بیشتر صورت گرفته و مقادیر کلروفیل بالا، می‌تواند بعنوان پارامتری برای غربال ارقام در جهت فتوستتزی کارآمد در شرایط نوری کم به کار گرفته شود. بررسی گاوامالدین و همکاران (Ghavamaldin et al., 2012) در علف گینه نشان داد که میزان فتوستتزی در شدت‌های نوری بالا با مصرف زیاد نیتروژن با کاهش رو به رو شده و حداکثر فتوستتزی در شرایط نوری بالا با مصرف پایین نیتروژن حادث گردید. راهنورد و همکاران (Rahnavard et al., 2012) در بررسی تأثیر شدت‌های نوری بر میزان فتوستتزی در گونه‌های گل راعی اعلام کردند که حداکثر میزان فتوستتزی در برخی از گونه‌ها در نور کامل و در برخی در ۴۵ درصد شدت نور کامل حاصل گردید. در بررسی میزان فتوستتزی دو گونه گل سرخ مشخص گردید که گونه‌ها از لحاظ فتوستتزی متفاوت عمل کرده و در شدت نور ۷۵۰ (میکرو مول بر متر مربع بر ثانیه) عملکرد گونه‌ها به ترتیب ۱۸/۷ و ۱۶/۸ میکرو مول بر مترمربع بر ثانیه بود.

در شرایط نامناسب رشدی قسمتی از متابولیت‌های اولیه تولید شده در فرآیند فتوستتزی به جای وارد شدن در مسیر متابولیکی ثانویه به طرف ریشه‌های گیاه گسیل شده و در آنجا به صورت کربوهیدرات‌ها یا چربی ذخیره می‌گردند و در گیاهانی مثل شوید و زیره سیاه تغذیه نامناسب باعث تسریع مرحله گلدهی و بذردهی گیاه شده و

متابولیت‌های اولیه گیاه به جای توزیع یکسان بین مسیرهای بیوستتزی اسانس در پوسته بذر، چربی‌های ذخیره‌ای و تری‌گلیسیریدها در آندوسپرم ذخیره می‌شوند (Gadzovska et al., 2013). بین شاخص‌های رشدی گیاه و محتوای متابولیت‌های ثانویه ارتباط بوده و شاخص‌های رشدی، تثبیت کربن طی فرآیند فتوستتزی و همچنین توزیع فرآورده‌های فتوستتزی و فتواسیمیلات‌های به‌دست آمده از مسیرهای فتوستتزی، چرخه گلیکولیز، چرخه کربس، مسیر پنتوز فسفات و هگزوز منو فسفات و در نهایت عرضه کافی و مناسب فرآورده‌های فوق را که به‌عنوان سوستر، منبع انرژی و قدرت احیا کنندگی در مسیرهای بیوزن متابولیت‌های ثانویه مورد استفاده قرار می‌گیرند را تحت تأثیر قرار می‌دهند (Dudareva et al., 2006). مقدار هیپریسین در گل و برگ گونه‌های *H. perforatum* به ترتیب ۱۹۰۰ و ۸۱۳ میلی‌گرم در لیتر بوده، گرچه اکثر تحقیقات روی این گونه انجام یافته است، لیکن در گونه *H. triquetrifolium* مقدار آن در گل ۱۴۶۰، برگ ۱۴۲۶ و ساقه ۱۷ میلی‌گرم در لیتر بود و مقدار هیپریسین برگ *H. triquetrifolium* بیشتر از گونه *H. perforatum* است (Jaimand et al., 2008). آیدن و چیراک (Ayan and Çirak, 2008) در بررسی محتوای هیپریسین گونه‌های گل راعی در ترکیه اعلام کردند که دو گونه *H. montbretii* و *H. triquetrifolium* نسبت به گونه *H. perforatum* دارای مقادیر هیپریسین بالایی در گل و برگ هستند. در شرایط طبیعی با افزایش شدت نور، تعداد غده‌های تیره برگ‌های گل راعی و نیز میزان هیپریسین آن افزایش می‌یابد (Emarat-Pardaz et al., 2013). اودباس و همکاران (Odabas et al., 2009) نشان دادند که افزایش دما از ۲۴ به ۳۲ درجه سانتی‌گراد و شدت نور از ۸۰۳/۴ به ۱۶۱۸/۶

افزایش تعداد گلند برگگی در شرایط نوری بالا باعث افزایش محتوای هیپریسین کل در گل راعی می‌شود. در محیط‌های دارای شدت نور کم میزان این دو صفت کاهش یافته که از لحاظ ارزش دارویی و همچنین اقتصادی توجیه‌پذیر نیست. نتایج حاصل نشان داد که میزان هیپریسین کل در رقم اصلاح شده خارجی توپاز بیشتر از اکوتیپ بومی میشو بود.

میکرومول بر متر مربع در ثانیه رشد فزاینده‌ای بر میزان هیپریسین، سودوهیپریسین و هیپرفورین دارد.

نتیجه‌گیری نهایی

بر اساس نتایج این پژوهش، بالا رفتن شدت نور باعث افزایش میزان بیوماس، تعداد غده برگگی و هیپریسین کل در گیاه دارویی گل راعی گردید.

References

1. Arnao, M.B. and Hernández-Ruiz, J. 2014. Melatonin: Plant growth regulator and/or biostimulator during stress Trends in Plant Science, 19: 789-797.
2. Ayan, A.K. and Çirak, C. 2008. Hypericin and pseudohypericin contents in some *Hypericum* species growing in Turkey. Pharmaceutical Biology, 46: 288-291.
3. Chen, J.W., Kuang, S.B., Long, G.Q., Yang, S.C., Meng, Z.G., Li, L.G., Chen, Z.J. and Zhang, G.H. 2016. Photosynthesis, light energy partitioning, and photoprotection in the shade-demanding species *Panax notoginseng* under high and low level of growth irradiance. Functional Plant Biology, 43: 479-491.
4. Cirak, C., Radusiene, J., Camas, N., Caliskan, O. and Odabas, M.S. 2013. Changes in the contents of main secondary metabolites in two Turkish *Hypericum* species during plant development. Pharmaceutical Biology, 51: 391-399.
5. Coste, A., Vlase, L., Halmagyi, A., Deliu, C. and Coldea, G. 2011. Effects of plant growth regulators and elicitors on production of secondary metabolites in shoot cultures of *Hypericum hirsutum* and *Hypericum maculatum*. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 106: 279-288.
6. Dudareva, N., Negre, F., Nagegowda, D.A. and Orlova, I. 2006. Plant volatiles: recent advances and future perspectives. Critical Reviews in Plant Sciences, 25: 417-440.
7. Ebadi, A., Morshedloo, M., Fatahi Moghaddam, M. and Yazdani, D. 2012. Evaluation of some population of *Hypericum perforatum* L. using agromorphological traits and most components of essential oil. Scientific Journal Management System, 3: 1-14.
8. Emarat-Pardaz, J., Shakiba, M.R., Toorchi, M. and Mohammadinasab, A.D. 2013. The influence of light intensities and nitrogen on growth of *Hypericum perforatum* L. International Journal of Agriculture, 3: 77-781.
9. Gadzovska, S., Maury, S., Delaunay, A., Spasenoski, M., Hagège, D., Courtois, D. and Joseph, C. 2013. The influence of salicylic acid elicitation of shoots, callus, and cell suspension cultures on production of naphthodianthrones and phenylpropanoids in *Hypericum perforatum* L. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 113: 25-39.
10. Govindjee, J. 2012. Photosynthesis V2 Development, Carbon Metabolism, and Plant Productivity. Elsevier. 608 p.
11. Jaimand, K., Rezaee, M., Mozaffarian, V., Azadi, R., Naderi Haji Bagher Kandy, M., Meshkyzadeh, S. and Golipoor, M. 2008. Determination of hypericin content in flowers and leaves of eight *Hypericum* species. Journal of Medicinal Plants, 1: 49-55.
12. Kashef, N., Borghei, Y.S. and Djauid, G.E. 2013. Photodynamic effect of hypericin on the microorganisms and primary human fibroblasts. Photodiagnosis and Photodynamic Therapy, 10: 150-155.
13. Kazemi, S.Y., Abedirad, S.M., Zali, S.H. and Amiri, M. 2012. Hypericin from St. John's Wort (*Hypericum perforatum*) as a novel natural fluorophore for chemiluminescence reaction of bis (2, 4, 6-trichlorophenyl) oxalate-H₂O₂-

- imidazole and quenching effect of some natural lipophilic hydrogen peroxide scavengers. *Journal of Luminescence*, 132: 1226-1231.
14. Koperdakova, J., Brutovska, R. and Čellarova, E. 2004. Reproduction pathway analysis of several *Hypericum perforatum* L. somaclonal families. *Hereditas*, 140: 34-41.
 15. Nicolás, E., Torrecillas, A., DellAmico, J. and Alarcón, J.J. 2005. Sap flow, gas exchange, and hydraulic conductance of young apricot trees growing under a shading net and different water supplies. *Journal of Plant Physiology*, 162: 439-447.
 16. Odabas, M.S., Raduĝieneuml, J., Camas, N., Janulis, V. and Ivanauskas, L. 2009. The quantitative effects of temperature and light intensity on hyperforin and hypericins accumulation in *Hypericum perforatum* L. *Journal of Medicinal Plants Research*, 3: 519-525.
 17. Odabas, M.S., Temizel, K.E., Caliskan, O., Senyer, N., Kayhan, G. and Ergun, E. 2014. Determination of reflectance values of hypericum's leaves under stress conditions using adaptive network based fuzzy inference system. *Neural Network World*, 24: 79-87.
 18. Perrone, R., Rosa, P., Castro, O. and Colombo, P. 2013. Leaf and stem anatomy in eight *Hypericum* species. *Acta Botanica Croatica*, 72: 269-286.
 19. Riazi, A., Majnoun Hosseini, N., Naghdi Badi, H., Naghavi, M., Rezazadeh, S. and Ajani, Y. 2011. The study of morphological characteristics of St. John's Wort (*Hypericum perforatum* L.) populations in Iran's natural habitats. *Journal of Medicinal Plants*, 3: 49-64.
 20. Sharopov, F., Gulmurodov, I. and Setzer, W. 2010. Essential oil composition of *Hypericum perforatum* L. and *Hypericum scabrum* L. growing wild in Tajikistan. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 2: 284-290.
 21. Silvestrini, M., Válio, I.F.M. and Mattos, E.A.D. 2007. Photosynthesis and carbon gain under contrasting light levels in seedlings of a pioneer and a climax tree from a Brazilian Semideciduous Tropical Forest. *Brazilian Journal of Botany*, 30: 463-474.
 22. Skyba, M., Urbanová, M., Kapchina-Toteva, V., Košuth, J., Harding, K. and Čellárová, E. 2010. Physiological, biochemical and molecular characteristics of cryopreserved *Hypericum perforatum* L. shoot tips. *CryoLetters*, 31: 249-260.
 23. Smith, N.G. and Dukes, J.S. 2013. Plant respiration and photosynthesis in global-scale models: incorporating acclimation to temperature and CO₂. *Global Change Biology*, 19: 45-63.
 24. Temizel, K.E. 2015. Estimation of the phenolics content of St. John's wort (*Hypericum perforatum* L.) grown under different water and salt levels based on reflectance spectroscopy. *Kuwait Journal of Science*, 42: 104-114.
 25. Wölflle, U., Seelinger, G. and Schempp, C.M. 2014. Topical application of St. John's wort (*Hypericum perforatum*). *Planta Medica*, 80: 109-120.
 26. Yamanner, O., Erdag, B. and Gokbulut, C. 2013. Stimulation of the production of hypericins in in vitro seedlings of *Hypericum adenotrichum* by some biotic elicitors. *Turkish Journal of Botany*, 37: 153-159.
 27. Yamori, W. and Shikanai, T. 2016. Physiological functions of cyclic electron transport around photosystem I in sustaining photosynthesis and plant growth. *Annual Review of Plant Biology*, 67: 81-106.
 28. Zubek, S., Mielcarek, S. and Turnau, K. 2012. Hypericin and pseudohypericin concentrations of a valuable medicinal plant *Hypericum perforatum* L. are enhanced by arbuscular mycorrhizal fungi. *Mycorrhiza*, 22: 149-156.

Effect of light intensity on growth traits, photosynthetic and total hypericin in Topaz cultivar and Mishu ecotype of *Hypericum perforatum*

Emaratpardaz, J.¹, Moharramnejad, S.^{2*}, Panahandeh, J.³, Chamani, M.⁴, Zadehesfahlan, M.R.⁵, Karbalaei Khiavi, H.⁶

¹Ph.D, Dept of Crop Physiology, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran.

²Assistant Professor, Dept. of Crop and Horticultural Science Research, Ardabil Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, AREEO, Moghan, Iran.

³Associate Professor, Dept. of Horticulture, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran.

⁴Ph.D, Dept. of Plant Protection, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran.

⁵M.Sc, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Ardabil, Iran.

⁶Assistant Professor, Dept. of Plant Protection Research, Ardabil Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, AREEO, Moghan, Iran.

Received: 2019-1-1 ; Accepted: 2019-8-5

Abstract

Hypericum perforatum L. (St. John's wort) is a perennial herb which contains precious metabolites such as hypericin, pseudo-hypericin and hyperforin widely used in the treatment of mild to moderate depression. In order to evaluate light density (three levels including full light condition, 75% and 50% of full light intensities) on plant height, gland number per leaf, stomata number, chlorophyll content, fresh and dry weight, as well as hypericin production of Topaz cultivar and Mishu ecotype of *H. perforatum* under hydroponic conditions in the greenhouse, an experiment was carried out as split plots based on randomized complete blocks design with three replications at the University of Tabriz in 2017. The chlorophyll and hypericin contents were used by spectrophotometry. The results showed that the light density significantly affected on fresh and dry weight, plant height, gland number per leaf, chlorophylls *a* and *b*, photosynthesis and total hypericin content in the *H. perforatum*. The highest fresh and dry weight, gland number per leaf, stomata number, photosynthesis and total hypericin content were belonged to the full light conditions (100% light). The highest plant height, chlorophyll *a* and *b* were belonged to the 50% of prevalent light intensity. The results indicated that Topaz cultivar is better than Mishu ecotype. In conclusion, increasing hypericin content in *Hypericum perforatum* by managing of light intensity is possible.

Keywords: Chlorophyll content, Hypericin, Leaf gland, Metabolite

*Corresponding author; sm.chakherlo@yahoo.com