

Growth Mechanism of *Matricaria chamomilla* Plant under Space Lighting System: Induction of Pigment Synthesis, Enzyme Defense System, and Antioxidant Metabolites

Halimeh Hassanpour 

Assistant Professor, Aerospace Research Institute, Ministry of Science, Research and Technology, Tehran, Iran

E-mail: hassanpour@ari.ac.ir

Abstract

Light is a vital factor for plant cultivation in space. In this research, the impact of light spectrums was studied on the growth mechanisms through chlorophyll pigments, enzyme defense system, and antioxidant metabolite analyses. Seeds were cultivated in Murashige and Skoog (MS) medium and exposed to different light spectrums of white, red, blue, and red-blue. Results showed that red-blue lights induced the fresh and dry weight, root length, adventitious roots, relative water content, chlorophyll content, protein, flavonoids, and antioxidant enzymes of superoxide dismutase and catalase. Moreover, the highest amount of hydrogen peroxide was observed in seedlings treated with red light. It seems that red-blue light is a suitable lighting spectrum for *M. chamomilla* cultivation in the closed life support system.

Keywords: Optical spectra, *Matricaria chamomilla*, Chlorophyll pigment, Hydrogen peroxide, Flavonoid

1. Introduction

Plants are key elements in the life support system for space travel because they can provide food and oxygen for long-term travel through photosynthesis. Plant growth systems in the international space station require the use of artificial light sources for plant growth, and LED lights were designed to light in weight and generation of little heat. Moreover, they need less energy in long-term trips compared to traditional light sources [1]. *Matricaria chamomilla* L. is a medicinal plant belonging to the Asteraceae family. It is used in the pharmaceutical and food industries [2]. So far, few studies have been conducted on the effect of LED light on the growth, and antioxidant responses in medicinal plants, and it has not been investigated in German chamomile. Therefore, the aim of the current study is to investigate the mechanism of different light spectrums of white, red, blue, and red-blue light on the seedling's growth by measuring ROS level, antioxidant enzyme activities, and plant secondary metabolites.

2. Material and Methods

Plant material

The seeds were put in 10% sodium hypochlorite for 10 minutes, in 70% ethanol for 1 min, and then washed several times with sterile distilled water. Seeds were cultivated in a 1.2 MS medium and placed under different light spectrums of white (control), red, blue, and red-blue (respectively with a

ratio of 3 to 1) in the culture room conditions. The seedlings were harvested after 4 weeks and subjected to various physiological and biochemical analyses.

The relative water content and pigments

The relative water content and the content of chlorophyll pigments was evaluated using the method of Lichtenthaler (1987) [3].

Total sugar and hydrogen peroxide

The total sugar content was measured by the phenol-sulfuric acid method using a spectrophotometer at 485 nm. Hydrogen peroxide content was evaluated by the method of DuBois *et al.*, (1956) [4].

Protein, antioxidant enzyme activities, and flavonoid

Fresh leaves (0.1 g) were homogenized in Tris-HCl solution (1 M, pH 6.8). The protein content was evaluated using the Bradford method. The activity of superoxide dismutase was calculated based on the method of Giannopolitis *et al.*, (1977) and catalase activity and flavonoid measurement was done by the Hassanpour *et al.*, (2017) method [5].

Statistical analysis

Statistical analysis was done by ANOVA method using SPSS (*version 21*) software. The significant difference between the means was evaluated by the LSD method at the level of $P \leq 0.05$.



COPYRIGHTS

© 2023 by the authors. Published by Aerospace Research Institute. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of [the Creative Commons Attribution 4.0 International \(CC BY 4.0\)](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).

How to cite this article:

H. Hassanpour, "Growth Mechanism of *Matricaria chamomilla* Plant under Space Lighting System: Induction of Pigment Synthesis, Enzyme Defense System, and Antioxidant Metabolites," *Journal of Space Science and Technology*, Vol. 16, No. 3, pp. 69-78, 2023 (in Persian), <https://doi.org/10.30699/jsst.2023.1412>.

3. Results and Discussion

Growth parameters

Blue and red-blue spectrums caused a significant increase in the fresh and dry weights, relative water content, and the number of roots in *M. chamomilla* seedlings. Blue light

showed a negative impact on the shoot length, (Table 1). Differences in the growth responses can be related to the various impacts of spectra on cell division, differentiation and metabolic states [1].

Table 1. Effect of different light spectra on some growth parameters and relative water content (RWC) of *M. chamomilla* seedlings

Parameters	Light spectra			
	White	Red	Blue	Red-Blue
Fresh weight (g)	0.065 ± 0.0021 c	0.099 ± 0.0033b	0.119 ± 0.0024 a	0.122 ± 0.0036 a
Dry weight (g)	0.0052 ± 0.0002 c	0.0089 ± 0.0003 b	0.010 ± 0.0002 a	0.011 ± 0.0003 a
RWC (%)	61.4 ± 1.98 c	78.1 ± 2.28 b	91.5 ± 3.45 a	83.6 ± 2.39 ab
Shoot length (cm)	2.4 ± 0.31 b	3.7 ± 0.18 ab	2.1 ± 0.34 b	4.2 ± 0.28 a
Root length (cm)	2.5 ± 0.144 cd	4.2 ± 0.23 b	3.2 ± 0.35 c	4.8 ± 0.18 a
No. root	2.7 ± 0.22 b	3.2 ± 0.17 b	6.4 ± 0.19 a	6.7 ± 0.28 a

Different letters indicated significant ($p \leq 0.05$) differences

Photosynthetic pigments and carbohydrates

Photosynthetic pigments increased significantly under light spectra. Blue and red-blue lights showed the highest amount of chlorophyll *a* and *b* compared to the control (Figure 1A). On the other hand, the red-blue light showed the highest carbohydrate content compared to the control (Figure 1B). Different wavelengths affect the synthesis of pigments affecting the photo-absorption state of chlorophyll. Blue light plays an important role in chlorophyll synthesis and induces chlorophyll synthesis [4]. The difference in the response of chlorophyll synthesis and carbohydrate amount can be related to the different responses of light receptors. Protein content decreased under red light but increased in the blue and red-blue lights (Figure 1C). Light spectra can affect the content of proteins by producing and accumulating ROS. In this study, the highest content of H_2O_2 and the lowest amount of protein were observed in seedlings treated to red spectrum (Figure 1D). ROS compounds at high amounts act as a destructive effect on macromolecules such as proteins, DNA, lipids, etc. [5].

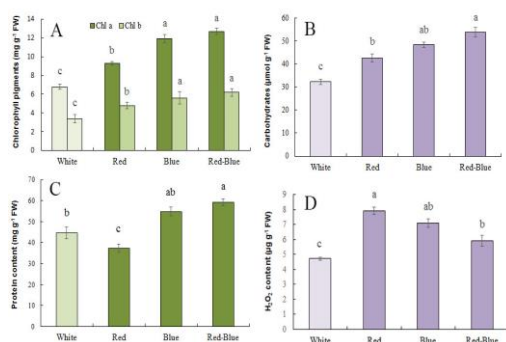


Figure 1. Effect of different light spectra on the chlorophyll (A), carbohydrates (B), protein (C), and H_2O_2 (D) content.

Antioxidant enzymes and flavonoids

Enzymatic and non-enzymatic antioxidants play an important role in ROS detoxification and the protection of cell damage. Antioxidant enzymes are located in different parts of the cell and play a role in eliminating free radicals and reducing cell damage [5]. In this study, the activity of superoxide dismutase and catalase enzymes increased under red-blue and blue light spectrums (Figure 2), indicating the high potential of cells to scavenge superoxide radicals. Flavonoid content showed a significant increase under different optical

spectra compared to the control, and the highest value was observed in red-blue and then in blue light. Flavonoids play an important role in the ROS scavenging and inhibition of ROS-producing enzyme systems [1].

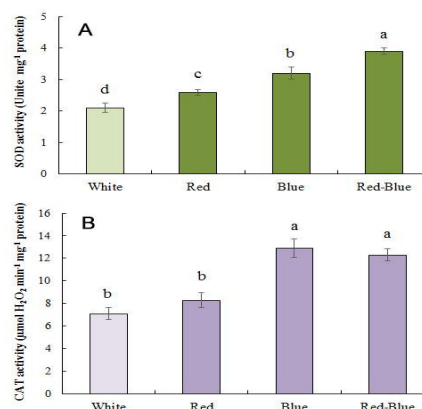


Figure 2. Effect of different light spectra on the SOD (A) and CAT activities


4. Conclusion

LED spectra showed different physiological and cell defense responses. Red-blue spectra increased the growth parameters, which was related to the accumulation of enzymatic and non-enzymatic antioxidants.

5. References

- [1] H. Hassanpour, "Potential impact of red-blue LED light on callus growth, cell viability, and secondary metabolism of *Hyoscyamus reticulatus*" *In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant*, Vol. 58, No. 2, 2022, pp. 256-265.
- [2] M. Zemestani, M. Rafraf, and M. Asghari-Jafarabadi, "Chamomile tea improves glycemic indices and antioxidants status in patients with type 2 diabetes mellitus" *Nutrition*, Vol. 32, No. 1, 2016, pp. 66-72.
- [3] H. K. Lichtenthaler, "Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes," in *Methods in enzymology*, vol. 148: Elsevier, pp. 350-382, 1987.
- [4] M. DuBois, K. A. Gilles, J. K. Hamilton, P. Rebers, and F. Smith, "Colorimetric method for determination of sugars and related substances," *Analytical chemistry*, vol. 28, no. 3, pp. 350-356, 1956.
- [5] H. Hassanpour, V. Niknam, and B.S. Haddadi, "High-frequency vibration improve callus growth via antioxidant enzymes induction in *Hyoscyamus kurdicus*," *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)*, Vol. 128, No. 1, 2017, pp. 231-241.

مکانیسم رشد گیاه بابونه آلمانی (*Matricaria Chamomilla*) تحت طیف‌های نوری: القای سنتز رنگیزه، سیستم دفاع آنزیمی و متابولیت‌های آنتی‌اکسیدانی

حلیمه حسن پور[†] 

پژوهشگاه هوافضا، وزارت علوم تحقیقات و فناوری، تهران، ایران

ایمیل: hassanpour@ari.ac.ir

چکیده

نور یکی از فاکتورهای حیاتی برای رشد و نمو گیاه است. لامپ‌های ال‌ای‌دی با طیف‌های نوری مختلف دارای مزایایی نظیر تولید گرمای کم، نیازمندی به انرژی پایین و طول عمر بالا بوده که در سیستم‌های کشت بسته و تحقیقات فضایی برای افزایش تولید بیومس و متابولیت‌های ثانوی استفاده می‌شوند. در این پژوهش، اثر طیف‌های نوری بر مکانیسم رشد گیاه دارویی بابونه آلمانی با بررسی محتوای رنگیزه، سیستم دفاع آنزیمی و متابولیت‌های ثانوی ارزیابی شد. بذرها پس از کشت در محیط موراشیگ و اسکوک، تحت طیف‌های سفید، قرمز، آبی و قرمز-آبی قرار گرفتند. گیاهچه‌ها بعد از ۴ هفته برداشت شده و تحت آنالیزهای رشد و بیوشیمیایی قرار گرفتند. نتایج نشان داد که نور قرمز-آبی سبب القای وزن تر، وزن خشک، طول ریشه، تعداد ریشه‌های جانبی، محتوای کلروفیل، پروتئین، فلاونوئید و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز شد. طیف آبی طول ساقه را کاهش و محتوای نسبی آب را افزایش داد. بالاترین مقدار هیدروژن پراکسید نیز در گیاهچه‌های تیمار شده با نور قرمز مشاهده شد. به نظر می‌رسد طیف‌های نوری با تغییر سطح هیدروژن پراکسید در تنظیم فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و تجمع متابولیت‌های ثانوی نقش دارند.

واژه‌های کلیدی: طیف‌های نوری، بابونه آلمانی، رنگیزه کلروفیل، هیدروژن پراکسید، فلاونوئید

علائم و اختصارات

مقدمه

گیاهان به‌عنوان عناصر کلیدی در سیستم پشتیبان حیات برای سفرهای فضایی هستند، زیرا با فتوسنتز می‌توانند مواد غذایی و اکسیژن را برای سفرهای طولانی مدت تأمین نمایند. سیستم‌های رشد گیاهان در ایستگاه‌های بین‌المللی فضایی نیازمند استفاده از منابع نوری مصنوعی برای رشد گیاه است. منابع نور سنتی نیاز به منبع انرژی بالا بوده و وزن

سوپراکسید دیسموتاز	Superoxide dismutase (SOD)
کاتالاز	Catalase (CAT)
گونه‌های اکسیژن فعال	Reactive Oxygen Species (ROS)
وزن اشباع	Saturated Mass (SM)

[†] استادیار



COPYRIGHTS

© 2023 by the authors. Published by Aerospace Research Institute. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of [the Creative Commons Attribution 4.0 International \(CC BY 4.0\)](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).

زیادی را اشغال می‌کنند. هم‌چنین گرمای زیادی در محیط بسته ایجاد نموده و اثر بازدارندگی روی رشد ایجاد می‌کنند. بنابراین اولین بار در تحقیقات فضایی، چراغ‌های ال‌ای‌دی طراحی شدند که وزن کمی داشته و گرمای کمی را ایجاد می‌کردند. هم‌چنین نیاز به انرژی کمتری در سفرهای طولانی مدت نسبت به منابع نور سنتی داشتند [۱]. نور خورشید دارای طول موج‌های مختلف از ۳۰۰ تا ۲۶۰۰ نانومتر است، در حالی که طیف‌های مورد نیاز گیاه بین ۴۰۰ تا ۷۰۰ نانومتر هستند. طیف قرمز (۶۲۰-۷۰۰ نانومتر) و آبی (۴۲۰ تا ۵۰۰ نانومتر) نقش مهم‌تری را در فتوسنتز نسبت به طیف‌های دیگر ایفا می‌کنند [۲]. نور قرمز در رشد گیاه و تولید بیومس و نور آبی در پدیده نورگرایی و بازنگه داشتن روزنه‌ها نقش دارد و از طولیل شدن ساقه نیز جلوگیری می‌کند [۳].

مواد و روش‌ها

کشت گیاهچه

بذرهای گیاه بابونه آلمانی از شرکت پاکان بذر اصفهان خریداری شد. بذرهای در هیپوکلریت سدیم ۱۰٪ برای ۱۰ دقیقه قرار گرفته و پس از شستشو با آب مقطر برای مدت ۱ دقیقه در اتانول ۷۰٪ قرار گرفته و چند بار با آب مقطر استریل شستشو شدند. سپس بذرهای در محیط ۱/۲ موراشیگ و اسکوگ کشت شدند. شیشه‌های کشت به اتاق کشت تحت طیف‌های مختلف نوری سفید (کنترل)، قرمز، آبی و قرمز-آبی (به ترتیب با نسبت ۳ به ۱) در شرایط نوری ۸/۱۶ (روشنایی/تاریکی) و دمای 25 ± 2 درجه سانتیگراد قرار گرفتند. گیاهچه‌ها پس از ۴ هفته برداشت شدند و تحت آنالیزهای مختلف فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی قرار گرفتند.

بررسی محتوای نسبی آب

وزن تر برگ‌ها بلافاصله پس از برداشت اندازه‌گیری شد. سپس وزن اشباع با قرارگیری برگ‌ها در آب مقطر به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۴ درجه سانتیگراد و شرایط تاریکی اندازه‌گیری شد. پس از اندازه‌گیری وزن اشباع، نمونه‌ها در آن ۴۵ درجه قرار گرفتند و وزن خشک محاسبه شد و با استفاده از روش Weatherley محتوای نسبی آب با استفاده از معادله زیر محاسبه گردید [۱۳].

$$100 \times \left[\frac{\text{وزن خشک} - \text{وزن اشباع}}{\text{وزن تر}} \right] = \text{محتوای نسبی آب}$$

بررسی رنگیزه‌ها

ارزیابی رنگیزه‌های کلروفیل بر اساس روش Arnon و همکاران انجام شد [۱۴]. برگ‌ها (۰/۲ گرم) در استن ۸۰٪ هموژنیزه شدند و پس از سانتریفیوژ جذب آن‌ها در ۶۶۳ و ۶۴۵ نانومتر خوانده شد و محتوای رنگیزه‌های کلروفیل با استفاده از معادلات زیر محاسبه شد [۱۵].

$$\text{Chl a} = 12.7 \text{ A663} - 2.69 \text{ A645} \quad (1)$$

$$\text{Chl b} = 22.9 \text{ A645} - 4.68 \text{ A663} \quad (2)$$

اخیراً توجه زیادی به تأثیر طیف‌های مختلف ال‌ای‌دی بر القای رشد گیاه در محیط‌های بسته شده است و این فرضیه وجود دارد که طیف‌های مختلف ال‌ای‌دی دارای اثرات متفاوتی بر سنتز رنگیزه‌های فتوسنتزی و کارایی فتوسنتز هستند [۵و۴]. برای مثال، طیف نوری آبی سبب افزایش رنگیزه‌های فتوسنتزی، فعالیت آنزیم روبیسکو، انتقال الکترون فتوسنتزی در گیاه کاهو و *Cucumis sativus* شد [۶ و ۷]. نور قرمز سبب کاهش تثبیت دی‌اکسید کربن فتوسنتزی و تولید بیومس در گیاه فلفل شد [۵]. بیشترین رشد بافت کالوس در گیاه *Canavalia ensiformis* تحت نور قرمز-آبی نسبت به طیف‌های دیگر به‌دست آمد [۸]. در کشت سلول *Artemisia* نشان دادند که نور قرمز تولید متابولیت آرتیمیزینین را تحریک نمود [۹]. تولید ترکیبات آنتی‌اکسیدانی و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی تحت نور قرمز-آبی در بافت کالوس بذرالبینج مشبک نیز افزایش یافت [۴]. اما مکانیسم اثر طیف‌های نوری بر تولید بیومس و متابولیت‌های ثانوی نیاز به مطالعه بیشتر در گیاهان دارد.

بابونه آلمانی (*Matricaria chamomilla L.*) گیاهی دارویی و متعلق به خانواده آستراسه است. این گیاه در آسیا، اروپا، و آمریکا گسترش دارد و در ایران نیز به‌صورت خودرو رویش دارد. از گل‌های گیاه در صنایع دارویی، غذایی و صنعتی استفاده شده و در طب سنتی به‌عنوان ضد اسپاسم، ضد درد، ضد قارچ، درمان اختلالات گوارشی و دردهای روماتیسمی به‌کار می‌رود [۱۰ و ۱۱]. اخیراً نشان داده‌اند که عصاره گیاه بابونه دارای خواص آنتی‌اکسیدانی، ضد التهابی، ضد سرطان، ضد میکروبی و ضد آلرژی است که به دلیل حضور ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی (از جمله آپی ژنین و آپی ژنین-۷-گلوکوزید) ارزشمند و دارویی موجود در عصاره گیاه است. بنابراین روش‌های بیوتکنولوژیکی و کشت درون شیشه می‌تواند به‌عنوان یکی از راه‌کارهای ارزشمند برای تولید پایدار متابولیت‌های دارویی این گیاه باشد. تاکنون مطالعات کمی در ارتباط با تأثیر اثر نور ال‌ای‌دی بر رشد، آسیب غشای سلولی و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در گیاهان دارویی انجام شده و در گیاه بابونه

بررسی محتوای قند کل

فعالیت آنزیم کاتالاز بر اساس روش Aebi (۱۹۸۴) محاسبه شد. ۱۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی به ۶۰۰ میکرولیتر بافر پتاسیم فسفات (۵۰ میلی‌مولار، pH 7) و ۷۵ میکرولیتر H_2O_2 (۳٪) اضافه شد و فعالیت آن در ۲۴۰ نانومتر محاسبه شد [۲۰].

بررسی محتوای فلاونوئید

سنجش فلاونوئید با روش Hatamnia و همکاران (۲۰۱۴) انجام خواهد شد. ۵۰۰ میکرولیتر عصاره با آلومینیوم کلرید ۱۰٪، استات پتاسیم ۱ مولار و ۲/۵ میلی‌لیتر آب مقطر مخلوط شده و جذب آن در ۵۱۸ نانومتر خوانده خواهد شد. از روتین نیز به عنوان استاندارد استفاده شد [۲۱].

آنالیز آماری

آنالیز آماری با روش ANOVA توسط نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۱ انجام شد. آزمایش‌های رشد با ۵ تکرار و آزمایش‌های بیوشیمیایی با ۳ تکرار برای هر تیمار انجام شد. اختلاف معنی‌داری بین میانگین‌ها با روش LSD در سطح $P \leq 0/05$ صورت گرفت.

نتایج**تأثیر طیف‌های نوری بر پارامترهای رشد**

پارامترهای مختلف رشد افزایش معنی‌داری را تحت طیف‌های مختلف نوری نشان دادند. بیشترین میزان وزن تر، وزن خشک و تعداد ریشه‌های جانبی تحت تیمارهای آبی و قرمز-آبی مشاهده شد (جدول ۱). محتوای نسبی آب نیز معنی‌داری یافت و طیف نور آبی سبب بیشترین میزان افزایش (۴۹/۰۲٪) محتوای آبی نسبت به تیمار شاهد (نور سفید) شد. بیشترین طول ساقه و ریشه در تیمارهای قرمز-آبی و قرمز مشاهده شد و تیمار قرمز-آبی سبب افزایش ۷۵ درصدی طول ساقه و ۹۲ درصدی طول ریشه نسبت به شاهد شد.

جدول ۱- تأثیر طیف‌های مختلف نوری بر برخی از پارامترهای رشد گیاه بابونه آلمانی.

حروف نامشابه بیانگر معنی‌داری در سطح $P \leq 0/05$ است.

طیف‌های نوری				شاخص‌های رشد
قرمز-آبی	آبی	قرمز	سفید	
۰/۱۲۲ ± ۰/۰۰۳۶ a	۰/۱۱۹ ± ۰/۰۰۲۴ a	۰/۰۹۹ ± ۰/۰۰۳۳ b	۰/۰۶۵ ± ۰/۰۰۲۱ c	وزن تر (گرم)
۰/۰۱۱ ± ۰/۰۰۰۳۱ a	۰/۰۱۰ ± ۰/۰۰۰۲۹ a	۰/۰۰۸۹ ± ۰/۰۰۰۳۳ b	۰/۰۰۵۲ ± ۰/۰۰۰۲۷ c	وزن خشک (گرم)
۸۳/۶ ± ۲/۳۹ ab	۹۱/۵ ± ۳/۴۵ a	۷۸/۱ ± ۲/۲۸ b	۶۱/۴ ± ۱/۹۸ c	محتوای نسبی آب
۴/۲ ± ۰/۲۸ a	۲/۱ ± ۰/۳۴ b	۳/۷ ± ۰/۱۸ ab	۲/۴ ± ۰/۳۱ b	طول ساقه (سانتی‌متر)
۴/۸ ± ۰/۱۸۶ a	۳/۲ ± ۰/۳۵۱ c	۴/۲ ± ۰/۲۳۲ b	۲/۵ ± ۰/۱۴۴ cd	طول ریشه (سانتی‌متر)
۶/۷ ± ۰/۲۸ a	۶/۴ ± ۰/۱۹ a	۳/۲ ± ۰/۱۷ b	۲/۷ ± ۰/۲۲ b	تعداد ریشه‌های جانبی

محتوای قند کل با استفاده از روش فنل-سولفوریک اسید سنجش شد [۱۶]. برای تعیین مقدار قند کل، پودر خشک برگ (۰/۳ گرم) در ۳ میلی‌لیتر آب مقطر هموزن و سانتی‌فوژ (۵۰۰۰ دور برای ۵ دقیقه) شد. سپس یک میلی‌لیتر عصاره به ۰/۵ میلی‌لیتر فنل ۵٪ و ۲/۵ میلی‌لیتر اسید سولفوریک ۹۷٪ اضافه شد. جذب عصاره در ۴۸۵ نانومتر بعد از ۳۰ دقیقه خوانده شد و غلظت قند کل با استفاده از نمودار استاندارد گلوکز به‌دست آمد.

بررسی محتوای پراکسید هیدروژن

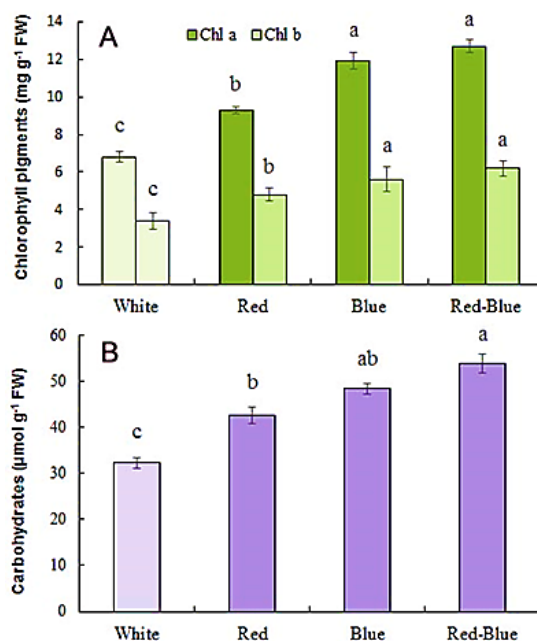
برگ‌های تازه (۰/۵ گرم) در محلول تری‌کلرواستیک اسید ۰/۱٪ (هموزن شد. ۰/۵ میلی‌لیتر از عصاره به ۰/۵ میلی‌لیتر بافر پتاسیم فسفات (۱۰ میلی‌مولار، pH 7) و یک میلی‌لیتر یدید پتاسیم (۱ مولار) اضافه شد. سپس جذب عصاره در ۳۹۰ نانومتر اندازه‌گیری شد و با استفاده از نمودار استاندارد پراکسید هیدروژن مقدار آن در هر نمونه به‌دست آمد [۱۷].

بررسی محتوای پروتئین و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان

برگ‌های تازه (۰/۱ گرم) در محلول Tris-HCl (۱ مولار، pH 8/6) و دمای ۴ درجه سائیده شد و از محلول رویی برای سنجش پروتئین و آنزیم‌ها استفاده شد. محتوای پروتئین با استفاده از روش برادفورد به‌دست آمد. بدین ترتیب که ۲/۵ میلی‌لیتر معرف برادفورد با ۵۰ میکرولیتر عصاره مخلوط و جذب آن در ۵۹۵ نانومتر اندازه‌گیری شد و با کمک نمودار استاندارد آلومین سرم گاوی غلظت پروتئین هر نمونه محاسبه شد [۱۸]. برای تعیین فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز، ۲۰۰ میکرولیتر از عصاره با نیتروبولوترازولیموم (۷۵ میکرومولار)، EDTA (۰/۱ میلی‌مولار)، بافر پتاسیم فسفات (۵۰ میلی‌مولار)، متیونین ۱۳ میلی‌مولار، ریوبوفلاوین (۷۵ میلی‌مولار) مخلوط شده و جذب آن در ۵۶۰ نانومتر بعد از ۱۰ دقیقه محاسبه شد [۱۹]. در واحد آنزیمی سوپراکسید دیسموتاز، یک واحد آنزیمی بیان‌گر مقدار آنزیمی است که سبب ۵۰٪ بازدارندگی احیای نیتروبولوترازولیموم می‌شود.

تأثیر طیف‌های نوری بر محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی و کربوهیدرات‌ها

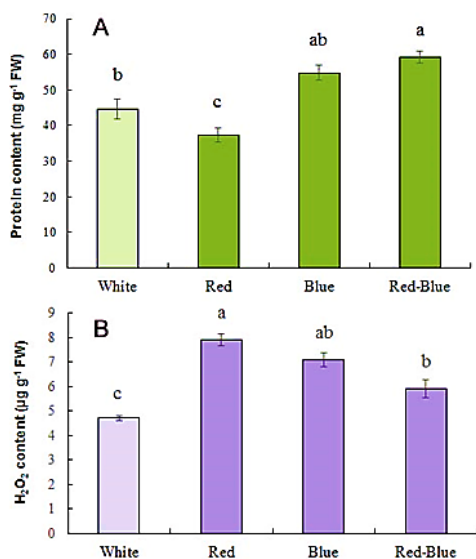
محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی تحت طیف‌های نوری افزایش معنی‌داری یافت. به طوری که طیف‌های آبی و قرمز-آبی بیشترین مقدار کلروفیل a و b را در مقایسه با گیاهچه‌های شاهد نشان دادند و تفاوت معنی‌داری بین این دو طیف از نظر محتوای رنگیزه مشاهده نشد (شکل ۱- A) از طرفی طیف قرمز-آبی سبب تجمع بیشترین محتوای کربوهیدرات شد و افزایش ۶۶/۸۷ درصدی را نسبت به شاهد نشان داد. به نظر می‌رسد تجمع کربوهیدرات‌ها در ارتباط با سنتز رنگیزه‌ها تحت طیف‌های نوری باشد (شکل ۱- B)



شکل ۱- تأثیر طیف‌های نوری مختلف بر محتوای رنگیزه کلروفیل (A) و کربوهیدرات‌ها (B). حروف نامشابه بیانگر معنی‌داری در سطح $P \leq 0.05$ است.

تأثیر طیف‌های نوری بر محتوای پروتئین و هیدروژن پراکسید

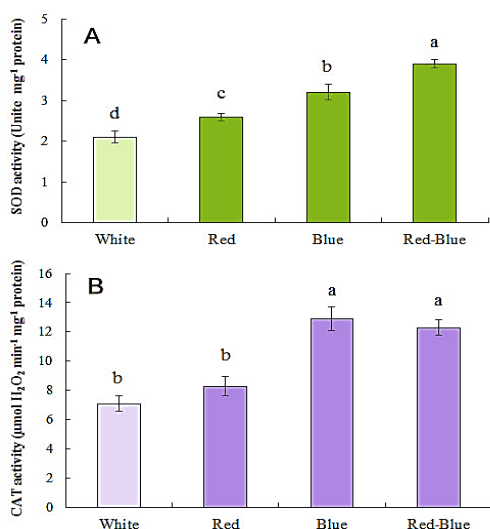
محتوای پروتئین‌های محلول تحت طیف‌های نوری تغییر معنی‌داری یافت. طیف‌های قرمز-آبی و آبی سبب افزایش محتوای پروتئین و طیف قرمز محتوای پروتئینی را به طور معنی‌داری کاهش داد (شکل ۲- A) طیف قرمز-آبی سبب افزایش ۳۲/۹ درصدی محتوای پروتئین نسبت به شاهد شد. محتوای هیدروژن پراکسید (H_2O_2) تحت طیف‌های مختلف افزایش یافت (شکل ۲- B) بیشترین محتوای H_2O_2 در تیمار قرمز مشاهده شد و سبب افزایش ۶۸/۱ درصدی نسبت به تیمار شاهد شد.



شکل ۲- تأثیر طیف‌های نوری مختلف بر محتوای پروتئین (A) و هیدروژن پراکسید (B). حروف نامشابه بیانگر معنی‌داری در سطح $P \leq 0.05$ است. تأثیر طیف‌های نوری بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی

تأثیر طیف‌های نوری بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی

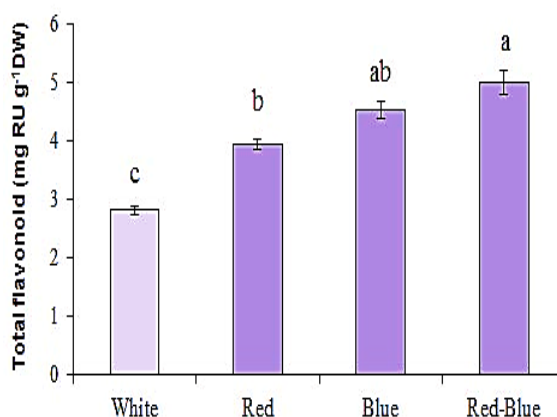
فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی تحت طیف‌های مختلف نوری تغییر یافت. طیف‌های آبی و قرمز-آبی سبب افزایش معنی‌دار فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز شدند (شکل ۳). از طرفی، افزایش کمتر فعالیت این دو آنزیم با طیف قرمز مشاهده شد که برای آنزیم کاتالاز معنی‌دار نبود. بیشترین فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز به ترتیب تحت تیمارهای قرمز-آبی و آبی مشاهده شد که طیف نوری قرمز-آبی افزایش ۸۵/۷ و ۷۳/۲ درصدی را نسبت به تیمار شاهد نشان داد.



شکل ۳- تأثیر طیف‌های نوری مختلف بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی سوپراکسید دیسموتاز (SOD; A) و کاتالاز (CAT; B). حروف نامشابه بیانگر معنی‌داری در سطح $P \leq 0.05$ است.

تأثیر طیف‌های نوری بر محتوای فلاونوئید کل

محتوای فلاونوئید تحت طیف‌های مختلف نوری افزایش معنی‌داری را نسبت به شاهد نشان داد و بیشترین مقدار در طیف قرمز-آبی و سپس در طیف آبی مشاهده شد (شکل ۴). طیف قرمز-آبی منجر به افزایش ۷۶/۹ درصدی محتوای فلاونوئید در مقایسه با تیمار شاهد شد.



شکل ۴- تأثیر طیف‌های نوری مختلف بر محتوای فلاونوئید کل. حروف نامشابه بیانگر معنی‌داری در سطح $P \leq 0.05$ است.

بحث

نور به‌عنوان یکی از فاکتورهای مهم تأمین انرژی برای رشد و نمو گیاه است. نور می‌تواند بر حالت ردوکس سلول‌ها تأثیر گذارد و باعث فعال‌سازی سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی شود. در این پژوهش، طیف‌های آبی و قرمز-آبی سبب افزایش معنی‌دار وزن تر و خشک و ریشه‌زایی گیاهچه‌های بابونه در شرایط درون شیشه شدند. طیف آبی اثر منفی بر طول ساقه داشت و طیف قرمز نیز اثر افزایشی کمتر رشد را در مقایسه با طیف‌های قرمز-آبی و آبی نشان داد. تفاوت پاسخ‌های رشد می‌تواند در ارتباط با اثرات مختلف سیگنالینگ طیف‌ها بر تقسیم، تمایز و حالت متابولیکی سلول‌ها باشد [۴]. تاکنون اثرات مختلف تأثیر طیف‌های نوری بر رشد گیاهان گزارش شده است. برای مثال، نور قرمز سبب کاهش تثبیت دی‌اکسید کربن و تولید بیومس در گیاه فلفل شد [۵]. در کاهو تیمار نور آبی سبب افزایش فعالیت روبیسکو و انتقال الکترون فتوسنتزی شد [۶]. بیشترین مقدار بیومس در بافت کالوس گیاه *Canavalia ensiformis* در طیف نوری قرمز-آبی به‌دست آمد [۸]. به‌علاوه نور زرد نیز سبب افزایش رشد گیاه *Panax vietnamensis* شد [۲۲]. تفاوت در پاسخ‌های رشد می‌تواند در ارتباط با ژنتیک گیاه، تجمع رادیکال‌های آزاد و همچنین شدت و کیفیت نور باشد [۲۳] می‌توان پیشنهاد نمود که کاهش رشد گیاهچه‌های بابونه تحت نور

قرمز می‌تواند در ارتباط با افزایش سطح تجمع رادیکال‌های آزاد باشد که با نتایج حاصل از این تحقیق هم‌خوانی دارد.

محتوای نسبی آب در گیاهچه‌های تیمار شده با نور آبی به نسبت بالایی افزایش یافت. تحقیقات نشان داد که طیف قرمز-آبی سبب تحریک رشد و محتوای نسبی آب در گیاه بابونه گیلانی شد [۲۴] با توجه به نتایج حاصله از این پژوهش، افزایش رشد تحت تیمارهای قرمز-آبی و آبی می‌تواند در ارتباط با افزایش تعداد ریشه‌ها و جذب بیشتر آب و مواد غذایی باشد.

گیاهان به شدت و کیفیت نور حساس‌اند و از طریق گیرنده‌های نوری سیگنال نوری را دریافت می‌کنند. تاکنون هشت رسپتور نوری شناسایی شده است که سه تای آن‌ها در دریافت نور آبی و پنج‌تای آن‌ها فیتوکروم‌ها هستند [۲۵]. طول موج‌های مختلف توسط رسپتورهای نوری مختلف در گیاهان دریافت شده و به‌طور متفاوتی روی سنتز رنگیزه‌ها تأثیر می‌گذارند و در پی آن بر حالت جذب نوری کلروفیل نیز اثر دارند. در این پژوهش طیف‌های آبی و قرمز-آبی سبب القای بیشتر سنتز کلروفیل و تجمع کربوهیدرات در گیاهچه‌های بابونه آلمانی در مقایسه با طیف قرمز و سفید (شاهد) شد. نور آبی نقش مهمی در سنتز کلروفیل داشته و در شرایط درون شیشه سبب القای سنتز کلروفیل می‌شود [۲۶]. به‌نظر می‌رسد تفاوت پاسخ سنتز کلروفیل و مقدار کربوهیدرات می‌تواند در ارتباط با پاسخ متفاوت رسپتورهای نوری به طیف‌های مختلف در گیاه بابونه باشد.

محتوای پروتئین پاسخ‌های متفاوتی را نسبت به طیف‌های مختلف نشان داد. به‌طوری‌که محتوای آن در طیف قرمز کاهش یافت، ولی در طیف آبی و قرمز-آبی افزایش را نشان داد. آنزیم‌ها ساختار پروتئینی دارند و سطح پروتئین کل می‌تواند بیان‌گر حالت فعال زیستی سلول باشد. در واقع کیفیت نورهای مختلف می‌تواند روی ترجمه پروتئین از mRNA، پایداری، ذخیره و یا حتی تخریب ساختار آن‌ها تأثیر بگذارد [۲۷]. طیف‌های نوری می‌توانند با تولید و تجمع ROS روی محتوای پروتئین‌ها تأثیر داشته باشند. در این پژوهش بیشترین محتوای H_2O_2 و کمترین مقدار پروتئین در گیاهچه‌های تیمار شده با طیف قرمز مشاهده شد. ترکیبات ROS در سطوح پایین می‌تواند به‌عنوان ملکول‌های سیگنالینگ عمل نموده و در تنظیم بیان ژن‌ها و فعالیت آنزیم‌ها نقش داشته باشند و در مقادیر بالا اثر تخریبی را روی ماکروملکول‌هایی نظیر پروتئین، DNA، لیپیدها و غیره نشان دهند [۲۸]. نتایج این پژوهش نشان داد که محتوای پروتئینی گیاهچه‌ها تحت طیف‌های نوری در ارتباط منفی با سطح رادیکال‌های آزاد درون سلولی است.

آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان نقش مهمی در از بین بردن ترکیبات ROS دارند و از آسیب سلولی جلوگیری می‌کنند. شرایط نامساعد و تنش می‌تواند سبب غیرفعال‌سازی و یا تخریب این آنزیم‌ها شده و بر

کاهش داد. افزایش رشد در ارتباط با فعالیت آنزیم‌های اکسیدانی و تجمع تولید متابولیت‌های آنتی‌اکسیدانی فلاونوئیدی بود. طیف قرمز رشد گیاهچه‌ها را کمتر از طیف‌های آبی و قرمز-آبی افزایش داد که در ارتباط با افزایش قابل توجه H_2O_2 و آسیب اکسیداتیو بود و در پی آن نیز آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی نیز فعالیت کمی را نشان دادند. بررسی اثر این طیف‌ها بر بیان ژن‌های آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و آنزیم‌های مسیر بیوستنز متابولیت‌های ثانوی در این گیاه نیاز به مطالعه بیشتر در آینده دارد.

تشکر و قدردانی

مقاله حاصل پروژه مستقل "بررسی اثر طیف‌های مختلف نور LED بر رشد و تکثیر سلول‌های گیاهی در راستای طراحی اتاقک‌های رشد گیاه در مطالعات فضایی" است و از مسئولین محترم پژوهشگاه هوافضا قدردانی می‌گردد.

تعارض منافع

هیچ‌گونه تعارض منافع توسط نویسندگان بیان نشده است.

مراجع

- [1] G. D. Massa, J. C. Emmerich, R. C. Morrow, C. M. Bourget, and C. A. Mitchell, "Plant-growth lighting for space life support: a review," *Gravitational and space biology*, vol. 19, no. 2, pp. 19-30, 2006.
- [2] J. Long, M. Pu, Z. Huang, J. Li, and Z. Xu, "Research progress of spectral regulation of plant growth and development," *China Illuminating Engineering Journal*, vol. 29, pp. 8-16, 2018.
- [3] He, L. Qin, E. L. Chong, T.-W. Choong, and S. K. Lee, "Plant growth and photosynthetic characteristics of Mesembryanthemum crystallinum grown aeroponically under different blue-and red-LEDs," *Frontiers in plant science*, vol. 8, p. 361, 2017.
- [4] H. Hassanpour, "Potential impact of red-blue LED light on callus growth, cell viability, and secondary metabolism of Hyoscyamus reticulatus," *In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant*, vol. 58, no. 2, pp. 256-265, 2022.
- [5] C. S. Brown, A. C. Schuerger, and J. C. Sager, "Growth and photomorphogenesis of pepper plants under red light-emitting diodes with supplemental blue or far-red lighting," *Journal of the American Society for Horticultural Science*, vol. 120, no. 5, pp. 808-813, 1995.
- [6] X.-l. Chen, Q.-c. Yang, W.-p. Song, L.-c. Wang, W.-z. Guo, and X.-z. Xue, "Growth and nutritional properties of lettuce affected by different alternating intervals of red and blue LED

تقسیم سلولی و رشد تأثیر گذارد. آنزیم‌های مهارکننده رادیکال‌های آزاد نظیر سوپراکسید دیسموتاز، اسکوربات پراکسیداز، کاتالاز و گایاکول پراکسیداز در بخش‌های مختلف سلولی قرار داشته و در از بین بردن رادیکال‌های آزاد و کاهش آسیب سلولی نقش ایفا می‌کنند. آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در اولین خط دفاعی سلول بوده و رادیکال‌های سوپراکسید را به آب و H_2O_2 تبدیل می‌کند و سپس توسط دیگر آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی نظیر کاتالاز و اسکوربات پراکسیداز جاروب می‌شود [۲۹]. در این پژوهش، فعالیت بالای آنزیم سوپراکسید دیسموتاز تحت طیف‌های نوری قرمز-آبی و آبی بیانگر پتانسیل بالای سلول‌ها در از بین بردن رادیکال‌های سوپراکسید بوده و در پی آن H_2O_2 تولید شده توسط آنزیم کاتالاز جاروب می‌شود [۳۰]. تفاوت در فعالیت آنزیم‌ها بیانگر سطح تنش اکسیداتیو ایجاد شده توسط ترکیبات ROS درون سلولی است. سمیت ایجاد توسط ROS بستگی به سطح تجمع آن در سلول‌ها دارد [۳۱]. نتایج این پژوهش نشان داد که افزایش رشد گیاهچه‌ها تحت طیف‌های آبی و قرمز-آبی می‌تواند در ارتباط با افزایش بیشتر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی برای جاروب کردن ترکیبات ROS در این طیف‌ها بوده که با نتایج مقدار H_2O_2 تجمع یافته در تیمارهای مختلف نوری در این تحقیق هم‌خوانی دارد.

علاوه بر آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، سلول‌های گیاهی حاوی ترکیبات آنتی‌اکسیدانی بوده که در جاروب نمودن رادیکال‌های ROS نقش مهمی دارند. در این پژوهش بیشترین محتوای فلاونوئیدی در تیمار قرمز-آبی و در پی آن طیف آبی در مقایسه با تیمار شاهد مشاهده شد. ارتباط مثبت بین متابولیسم ثانویه و فرایندهای سیستم دفاعی در تحقیقات زیادی گزارش شده است [۳۱]. تنش اکسیداتیو ایجاد شده با طیف‌های نوری می‌تواند مشابه نوعی سیگنال عمل نموده و سبب افزایش مکانیسم دفاعی از طریق تغییر متابولیت‌های ثانوی نظیر ترکیبات فنلیک و فلاونوئید گردد که نقش مهمی را در جاروب نمودن ترکیبات ROS و بازدارندگی سیستم‌های آنزیمی تولید کننده ROS دارند [۴]. به نظر می‌رسد کاهش محتوای H_2O_2 تحت طیف قرمز-آبی در ارتباط با تنظیم سطح این ترکیبات توسط ترکیبات آنتی‌اکسیدانی و فعال شدن آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی باشد.

نتیجه گیری

طیف‌های نوری ال‌ای‌دی پاسخ‌های متفاوت فیزیولوژیکی و سیستم دفاعی سلولی را نشان دادند. طیف‌های نوری آبی و قرمز-آبی سبب افزایش پارامترهای رشد گیاهچه‌های بایونه آلمانی شدند. نور آبی منجر به تحریک رشد و افزایش محتوای آبی شد، ولی طول ساقه را

- utilizing the principle of protein-dye binding," *Analytical biochemistry*, vol. 72, no. 1-2, pp. 248-254, 1976.
- [19] C. N. Giannopolitis and S. K. Ries, "Superoxide dismutases: II. Purification and quantitative relationship with water-soluble protein in seedlings," *Plant physiology*, vol. 59, no. 2, pp. 315-318, 1977.
- [20] H. Aebi. "Catalase in vitro." In *Methods in enzymology*." vol. 105, pp. 121-126. Academic press, 1984.
- [21] A. A. Hatamnia, N. Abbaspour, and R. Darvishzadeh, "Antioxidant activity and phenolic profile of different parts of Bene (*Pistacia atlantica* subsp. *kurdica*) fruits," *Food chemistry*, vol. 145, pp. 306-311, 2014.
- [22] D. T. Nhut, T. Takamura, H. Watanabe, K. Okamoto, and M. Tanaka, "Responses of strawberry plantlets cultured in vitro under superbright red and blue light-emitting diodes (LEDs)," *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, vol. 73, pp. 43-52, 2003.
- [23] M. Johkan, K. Shoji, F. Goto, S.-n. Hashida, and T. Yoshihara, "Blue light-emitting diode light irradiation of seedlings improves seedling quality and growth after transplanting in red leaf lettuce," *HortScience*, vol. 45, no. 12, pp. 1809-1814, 2010.
- [24] F. Soltani, H. Hassanpour, and M. Hekmati, "Study of light spectrums effects on some growth parameters and antioxidant capacity of *Anthemis gilanica*," *Space Science and Technology*, vol. 14, no. 1, pp. 15-22, 2021 (in Persian).
- [25] W. R. Briggs and M. A. Olney, "Photoreceptors in plant photomorphogenesis to date. Five phytochromes, two cryptochromes, one phototropin, and one superchrome," *Plant physiology*, vol. 125, no. 1, pp. 85-88, 2001.
- [26] P. R. Poudel, I. Kataoka, and R. Mochioka, "Effect of red-and blue-light-emitting diodes on growth and morphogenesis of grapes," *Plant cell, tissue and organ culture*, vol. 92, pp. 147-153, 2008.
- [27] E. Petrillo, M. A. Godoy Herz, A. Barta, M. Kalyna, and A. R. Kornblihtt, "Let there be light: regulation of gene expression in plants," *RNA biology*, vol. 11, no. 10, pp. 1215-1220, 2014.
- [28] A. Ashouri Sheikhi, H. Hassanpour, P. Jonoubi, M. Ghorbani Nohooji, and M. Nadimifar, "The Effect of Gamma Irradiation on In vitro Total Phenolic Content and Antioxidant Activity of *Ferula gummosa* Bioss," *Journal of Medicinal Plants*, vol. 15, no. 59, pp. 122-131, 2016 (in Persian).
- [29] H. Hassanpour, V. Niknam, and B. S. Haddadi, "High-frequency vibration improve callus growth via antioxidant enzymes induction in *Hyoscyamus kurdicus*," *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)*, vol. 128, pp. 231-241, 2017.
- irradiation," *Scientia Horticulturae*, vol. 223, pp. 44-52, 2017.
- [7] X. Wang, X. Xu, and J. Cui, "The importance of blue light for leaf area expansion, development of photosynthetic apparatus, and chloroplast ultrastructure of *Cucumis sativus* grown under weak light," *Photosynthetica*, vol. 53, no. 2, pp. 213-222, 2015.
- [8] J. F. Saldarriaga, Y. Cruz, and J. E. López, "Preliminary study of the production of metabolites from in vitro cultures of *C. ensiformis*," *BMC biotechnology*, vol. 20, no. 1, pp. 1-11, 2020.
- [9] Y. Wang, H. Zhang, B. Zhao, and X. Yuan, "Improved growth of *Artemisia annua* L hairy roots and artemisinin production under red light conditions," *Biotechnology letters*, vol. 23, pp. 1971-1973, 2001.
- [10] H. Hassanpour and V. Niknam, "Establishment and assessment of cell suspension cultures of *Matricaria chamomilla* as a possible source of apigenin under static magnetic field," *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)*, vol. 142, no. 3, pp. 583-593, 2020.
- [11] M. Zemestani, M. Rafrat, and M. Asghari-Jafarabadi, "Chamomile tea improves glycemic indices and antioxidants status in patients with type 2 diabetes mellitus," *Nutrition*, vol. 32, no. 1, pp. 66-72, 2016.
- [12] M. J. Merati, V. Niknam, H. Hassanpour, and M. Mirmasoumi, "Comparative effects of salt stress on growth and antioxidative responses in different organs of pennyroyal (*Mentha pulegium* L.)," *Journal of Plant Research (Iranian Journal of Biology)*, vol. 28, no. 5, pp. 1097-1107, 2016 (in Persian).
- [13] P. Weatherly, "Studies in the water relations of cotton plants. I. The field measurement of water deficit in leaves," *New Phytol*, vol. 49, pp. 81-87, 1950.
- [14] D. I. Arnon, "Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*," *Plant physiology*, vol. 24, no. 1, p. 1, 1949.
- [15] H. K. Lichtenthaler, "[34] Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes," in *Methods in enzymology*, vol. 148: Elsevier, pp. 350-382, 1987.
- [16] M. DuBois, K. A. Gilles, J. K. Hamilton, P. t. Rebers, and F. Smith, "Colorimetric method for determination of sugars and related substances," *Analytical chemistry*, vol. 28, no. 3, pp. 350-356, 1956.
- [17] V. Velikova, I. Yordanov, and A. Edreva, "Oxidative stress and some antioxidant systems in acid rain-treated bean plants: protective role of exogenous polyamines," *Plant science*, vol. 151, no. 1, pp. 59-66, 2000.
- [18] M. M. Bradford, "A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein

- hydroperoxide glutathione peroxidase inhibits cell death induced by Bax and oxidative stresses in yeast and plants," *Plant Physiology*, vol. 135, no. 3, pp. 1630-1641, 2004.
- [32] M. E. Maffei, "Magnetic field effects on plant growth, development, and evolution," *Frontiers in plant science*, vol. 5, p. 445, 2014.
- [30] A. Shohael, M. Ali, K. Yu, E. Hahn, R. Islam, and K. Paek, "Effect of light on oxidative stress, secondary metabolites and induction of antioxidant enzymes in *Eleutherococcus senticosus* somatic embryos in bioreactor," *Process Biochemistry*, vol. 41, no. 5, pp. 1179-1185, 2006.
- [31] S. Chen, Z. Vaghchhipawala, W. Li, H. Asard, and M. B. Dickman, "Tomato phospholipid