

پاسخ زرین گیاه به شدت و ترکیب‌های مختلف نور در شرایط درون شیشه‌ای^۱

Response of *Dracocephalum kotschy* to Different Light Intensities and Combinations under *In-Vitro* Conditions

*اسماعیل چمنی، رقیه شهبازی یاجلو، رسول آذرمی و یونس پوربیرامی هیر^۲

چکیده

پیشرفت‌های اخیر در زمینه زیست‌فناوری، به‌ویژه کشت بافت گیاهان در شرایط نوری مختلف، بستر مناسبی را برای تولید متابولیت‌های ثانویه فراهم آورده است. پژوهش حاضر با هدف بررسی تأثیر شدت و کیفیت‌های مختلف نوری بر رشد درون شیشه‌ای و تولید متابولیت‌های ثانویه زرین گیاه بود. شاخص‌های مورفولوژیک ارزیابی شده شامل تعداد گیاهچه باززایی شده، ارتفاع گیاهچه، طول برگ، تعداد برگ و تعداد ریشه و ویژگی‌های زیست‌شیمیایی نیز شامل فنول کل، فلاونوئید کل، کلروفیل، کارتنوئید، پروتئین کل و شاخص آنتی‌اکسیدان‌تی FRAP بودند. نتیجه‌ها نشان داد ترکیب نور قرمز و آبی سبب بهبود شاخص‌های رشدی و زیست‌شیمیایی زرین گیاه می‌شود؛ به‌طوری‌که بیشترین میزان باززایی ساقه و تعداد برگ در تیمار نوری ۸۰ درصد قرمز + ۲۰ درصد آبی به‌دست آمد. همچنین، بیشترین میزان پروتئین کل (۱۵/۳۶ میلی‌گرم بر گرم وزن تر)، میزان کلروفیل a با مقدار ۷/۷۳ میلی‌گرم بر گرم وزن تر، فنول کل ۶۰۶/۱۳ و کارتنوئید (۲/۷۸ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) در تیمار نوری ۶۰ درصد قرمز + ۴۰ درصد آبی حاصل شد. نتیجه‌ها نشان می‌دهد ترکیب نور قرمز و آبی بیشترین کارایی جذب را در گیاهان دارد و در مقایسه با نور سفید به‌طور مؤثری سبب بهبود ویژگی‌های مورفولوژیک و زیست‌شیمیایی زرین گیاه شده است.

واژه‌های کلیدی: دیویدهای منتشر کننده نور (LED)، زرین گیاه، متابولیت‌های ثانویه، نور آبی، نور قرمز.

مقدمه

زرین گیاه یا بادرنجبویه دناپی (*Dracocephalum kotschy* Bross) گیاهی دارویی و چند ساله متعلق به تیره نعناسانان است. جنس *Dracocephalum* دارای ۶۰ تا ۷۰ گونه بوده که از این بین، هشت گونه بومی ایران است و زرین گیاه یکی از این گونه‌های بومی در کشور می‌باشد. این گیاه در نواحی کوهستانی مناطق مرکزی و شمالی ایران و در ارتفاع ۳۰۰۰-۲۰۰۰ متری از سطح دریا مانند استان‌های اصفهان، یاسوج، مازندران و آذربایجان شرقی یافت می‌شود (۲۲). اسانس زرین گیاه منبع غنی از برخی ترکیب‌ها مانند سیترال^۳، کاریوفیلین^۴، ترپینیل استات^۵، لیمونن^۶، آلفا ترپینول^۷، آلفا پینن^۸ و جرانئیل^۹ است. همچنین، اندام‌های این گیاه منبع غنی از فلاونوئیدهایی مانند کالیکوپترین^{۱۰}، زانتومایکرول^{۱۱}، ایزوکامپفرید^{۱۲}، لوتئولین^{۱۳} و آپیزنین^{۱۴} و همچنین ترکیب‌های فنولی مهم مانند رزمارینیک اسید می‌باشند (۱۴). از این رو، زرین گیاه از نظر دارویی به عنوان گیاهی ارزشمند شناخته شده و از آن در طب سنتی برای درمان سردرد، گرفتگی عروق و بیماری‌های معده و کبد و امروزه به عنوان ضد روماتیسم، ضد تومورها، ضد عفونی کننده، ضد اسهال، ضد التهاب و آنتی‌اکسیدان استفاده می‌شود (۱۰). افزایش تقاضا برای

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۵/۱۲

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۴/۱۷

۲- به‌ترتیب استاد، دانشجوی کارشناسی ارشد، استادیاران گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران.
* نویسنده مسئول، پست الکترونیک: (echamani@uma.ac.ir).

۳- Citral ۴- Caryophyllene ۵- Terpinyl acetate ۶- Limonene ۷- α -terpineol ۸- α -pinene ۹- Geranial
۱۰- Calycopterin ۱۱- Xanthomicro ۱۲- Isokaempferide ۱۳- Luteolin ۱۴- Apigenin

استفاده از این گیاه در کنار پراکنش کم، استفاده بیش از حد از ذخایر طبیعی این گیاه و مشکلاتی در زمینه تکثیر مانند خواب بذر سبب شده است تا زین گیاه در دسته گونه‌های در خطر انقراض در کشور قرار بگیرد (۱۵). از این رو توسعه روش‌های جدید و مطمئن به منظور تکثیر این گیاه و تولید متابولیت‌های ثانویه آن و همچنین بهینه‌سازی شرایط مربوطه، نیازی ضروری است (۸). با پیشرفت علم زیست‌فناوری، فنون کشت بافت گیاهی به عنوان روشی کارآمد برای تولید متابولیت‌های ثانویه و جایگزینی برای کشت مزرع‌ای معرفی شدند که افزون بر رفع موانع در کشت سنتی، زمینه‌های جدیدی را به منظور بهبود تولید متابولیت‌های ثانویه فراهم آوردند (۱۳). با استفاده از این روش می‌توان با تغییر شرایط مؤثر بر رشد گیاهان مانند نور، دما و ترکیب محیط کشت و همچنین کاربرد محرک‌های زیستی و غیر زیستی، میزان تولید متابولیت‌ها را چندین برابر افزایش داد (۳). همچنین، با استفاده از روش‌هایی چون کشت تعلیق یاخته‌ای و کشت ریشه مؤین می‌توان ترکیباتی را که تنها در مراحل خاصی از رشد یا در اندام‌های خاص در گیاه کامل ساخته می‌شوند را به میزان بالا و با سهولت تولید نمود (۶). از این رو، در دهه‌های اخیر تمرکز اغلب پژوهشگران و صنایع بهداشتی، دارویی و غذایی بر استفاده و بهبود تولید متابولیت‌های ثانویه از راه روش‌های کشت بافت گیاهی بوده است.

طیف تابشی نور خورشید دامنه گسترده‌ای از طول موج ۳۰۰ تا ۱۰۰۰ نانومتر را شامل می‌شود که از این بین تنها ۵۰ درصد از انرژی تابشی خورشیدی در دامنه ۴۰۰ تا ۷۰۰ نانومتر در قالب تابش فعال فتوسنتزی (PAR) توسط گیاهان قابل جذب و استفاده است (۹). گیاهان از تمام تابش فعال فتوسنتزی استفاده نمی‌نمایند و تنها بخش‌هایی از آن را توسط گیرنده‌های نوری مختلف مانند کلروفیل a و b، کارتنوئیدها، فیتوکروم‌ها، سیتوکروم و فتوتروپین جذب نموده و در فرایندهای مختلف مانند فتوسنتز، فتوپریودیسم، اندام‌زایی نوری، نورگرایی و همچنین برخی فرایندهای فیزیولوژیکی و مسیرهای تولید متابولیکی استفاده می‌کنند (۲۵). نور یکی از مهم‌ترین عوامل مؤثر بر تولید محصولات کشاورزی و داروهای وابسته به گیاهان در کشت‌های کنترل‌شده و متراکم می‌باشد. استفاده از LEDها در کشاورزی در محیط‌های کنترل‌شده سبب می‌شود تا تنها طول موج‌های ضروری و مؤثر در رشد و عملکرد گیاه در دسترس آن قرار بگیرد و از هدررفت انرژی به منظور تولید نور سفید که حاوی طیف‌های غیرضروری می‌باشد، جلوگیری شود (۱۱). با توجه به اهمیت نقش نور در رشد و نمو و تولید متابولیت‌های ثانویه در گیاهان، پژوهش‌های زیادی در این زمینه صورت گرفته است. در پژوهشی که روی داوودی و گیاه *Withania somnifera* صورت گرفت، پس از اعمال تیمارهای نوری، گیاهان میزان کلروفیل بیشتر و سرعت فتوسنتزی بالاتری در نور آبی + نور قرمز LED نشان دادند. اما وقتی این گیاهان با نور فلورسنت یا نور LED تکی آبی یا قرمز، یا طول موج آبی دور و قرمز دور تیمار شدند، این افزایش را نشان ندادند (۱۸). احمدی و همکاران (۱) تأثیر طیف‌های مختلف نور LED را بر میزان اسید رزمارینیک در گیاه بادرنجبویه بررسی کردند. نیساگ‌های بادرنجبویه در گلدان کشت شده و در اتاقک‌های با لامپ‌های LED با طیف نوری قرمز (۱۰۰٪)، آبی (۱۰۰٪)، قرمز و آبی (به نسبت ۷۰ به ۳۰٪) و سفید (۱۰۰٪) با شدت نوری ۳۰۰ میکرومول بر مترمربع در ثانیه و در شرایط گلخانه‌ای به عنوان شاهد قرار داده شدند. بیشترین تعداد ساقه و برگ در هر گلدان در نورهای قرمز و ترکیب قرمز + آبی مشاهده شد و میانگین ارتفاع ساقه گیاهان تیمار شده با نور قرمز دارای بالاترین میزان بود. همچنین، در نورهای LED میزان کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل و کارتنوئید افزایش یافت، اما نسبت کلروفیل a/b تنها در اتاقک دارای LEDهای قرمز دارای بیشترین مقدار بود. میزان ترکیب اسید رزمارینیک در اندام هوایی در LEDهای قرمز مقدار بیشتری داشت؛ به طوری که این منبع نور سبب افزایش اسید رزمارینیک به اندازه ۳۰/۱۶ درصدی نسبت به LED سفید و افزایش ۴۴/۵۲ درصدی در مقایسه با نمونه‌های موجود در گلخانه گردید، اما این ماده در ریشه‌های گیاهان موجود در گلخانه بیشترین مقدار را نشان داد. از آنجایی که پاسخ گیاهان بادرنجبویه در این پژوهش در شرایط نوری LED نسبت به نمونه‌های گلخانه دارای منابع نوری فلورسنت و نور طبیعی بسیار بهتر بود، بنابراین برای این گیاه استفاده از منابع نوری مصنوعی مانند LEDها به عنوان منابع نوری جایگزین در گلخانه‌ها جهت بهبود رشد و افزایش مواد مؤثره پیشنهاد گردید (۱). پژوهش حاضر با هدف بررسی تأثیر شدت نور و کیفیت‌های مختلف نوری بر رشد و نمو و تولید متابولیت‌های ثانویه زین گیاه در شرایط درون شیشه‌ای انجام گرفت.

مواد و روش‌ها

تهیه ریز نمونه

پژوهش حاضر در سال ۱۳۹۹ در آزمایشگاه کشت بافت گروه علوم باغبانی دانشگاه محقق اردبیلی انجام پذیرفت. برای این منظور بذرهای زرین گیاه از شرکت پاکان بذر تهیه شد و به دلیل داشتن خواب مکانیکی بذر، با اسید سولفوریک ۹۸ درصد به مدت ۱۲ دقیقه تیمار شدند. برای آسانی تنزیگی، بذرها با اسید جیبرلیک تیمار شده و ضد عفونی سطحی با الکل ۷۰ درصد به مدت ۴۵ ثانیه و هیپوکلریت سدیم ۲/۵ درصد به مدت ۱۵ دقیقه صورت گرفته و در محیط کشت MS بدون تنظیم کننده رشد کشت شدند. بعد از تنزیدن و رشد، قلمه‌های جوانه‌دار از گیاهچه‌های رشد یافته گرفته شد و در محیط حاوی هورمون توفوردی و BA کشت شدند. سپس از گیاهچه‌های پرآوری شده، ریز نمونه‌های تک گره تهیه شده و به عنوان ریز نمونه اصلی در مراحل بعدی آزمایش مورد استفاده قرار گرفتند.

این پژوهش در قالب فاکتوریل بر پایه طرح به طور کامل تصادفی با دو فاکتور شدت نور (۱۵۰۰ و ۳۰۰۰ لوکس) و کیفیت نور انجام شد. تیمار ترکیبات نوری به ترتیب: نور سفید ۱۰۰ درصد (شاهد) (W)، نور قرمز ۱۰۰ درصد (R)، نور آبی ۱۰۰ درصد (B)، ترکیب ۲۰ درصد قرمز + ۸۰ درصد آبی (BR)، ترکیب ۴۰ درصد قرمز + ۶۰ درصد آبی (B₁R)، ترکیب ۶۰ درصد قرمز + ۴۰ درصد آبی (R₁B) و ترکیب ۸۰ درصد قرمز + ۲۰ درصد آبی (RB) با ۵ تکرار انجام پذیرفت. شدت نور با دستگاه لوکس‌متر اندازه‌گیری شد. ویژگی‌های مورفولوژیکی شامل تعداد گیاهچه باززایی شده، ارتفاع گیاهچه، طول برگ، تعداد برگ و تعداد ریشه و ویژگی‌های زیست‌شیمیایی شامل فنول کل، فلاونوئید کل، کلروفیل، کارتنوئید، پروتئین کل و شاخص آنتی اکسیدانتی FRAP اندازه‌گیری شدند. به منظور اندازه‌گیری فنول کل، فلاونوئید کل و ویژگی آنتی اکسیدانتی نمونه‌های به دست آمده در این پژوهش از عصاره متانولی با استفاده از روش چمنی و همکاران (۲۰۱۵) با اندکی تغییر استفاده شد (۵). اندازه‌گیری فنول کل نیز با استفاده از معرف فولین سیوکالتو و گالیک اسید به عنوان استاندارد بر اساس روش حیدری و همکاران (۲۰۲۰) انجام پذیرفت (۱۳). میزان فلاونوئید کل به روش اسپکتروفتومتر و به روش چمنی و همکاران اندازه‌گیری شد (۴). اندازه‌گیری پروتئین به روش برادفورد (۱۹۷۶) صورت پذیرفت (۲). کلروفیل a و b و کارتنوئید به روش Lichtenthaler (۱۹۸۷) انجام گرفت (۱۹). غلظت نهایی کلروفیل a و b و کارتنوئید با استفاده از روابط زیر محاسبه شد:

$$\begin{aligned} \text{Chlorophyll a} &= (19.3 * A_{663} - 0.86 * A_{645}) V/100W \\ \text{Chlorophyll b} &= (19.3 * A_{645} - 3.6 * A_{663}) V/100W \\ \text{Carotenoides} &= 1000(A_{470}) - 3.27(\text{mg chl. a}) - 104(\text{mg chl. b})/2 \end{aligned}$$

فعالیت آنتی اکسیدانتی احیاکنندگی آهن با استفاده از معرف FRAP به روش حیدری و همکاران در طول موج ۵۹۳ نانومتر سنجیده شد (۱۳). برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از نرم افزار SAS نسخه ۹.4 استفاده شد. مقایسه میانگین داده‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال‌های یک و پنج درصد انجام پذیرفت. برای رسم نمودارها از نرم افزار اکسل ۲۰۱۳ استفاده شد.

نتایج و بحث

ویژگی‌های مورفولوژیکی

در پژوهش حاضر، تأثیر تیمارهای شدت نور (۱۵۰۰ و ۳۰۰۰ لوکس) و کیفیت‌های مختلف نور (W, R, B, BR, B₁R, R₁B,) بر شش صفت مورفولوژیکی گیاهچه‌های زرین گیاه شامل تعداد گیاهچه باززایی شده، ارتفاع، تعداد برگ، طول برگ، تعداد ریشه و وزن تر گیاهچه‌های باززایی شده اندازه‌گیری شد.

ارتفاع

نتیجه‌های حاصل نشان می‌دهد اثرهای اصلی تیمار کیفیت نور در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بوده است، اما در بررسی تیمار شدت نور و برهمکنش کیفیت نور و شدت آن معنی‌دار نبود. نتیجه‌های مقایسه میانگین تأثیر کیفیت نور بر ارتفاع

گیاهچه‌های باززایی شده زیرین گیاه نشان می‌دهد که تیمار نوری R بیشترین میزان ارتفاع گیاهچه را با مقدار ۷/۵۶ سانتی‌متر نشان داد که نسبت به تیمارهای نور W و تیمار RB که به ترتیب باعث ایجاد گیاهچه‌هایی با ارتفاع ۶/۲۱ و ۶/۱۲ سانتی‌متر شده‌اند، تفاوت معنی‌داری نشان نمی‌دهد، اما تفاوت آن با سایر تیمارها به طور معنی‌داری بیشتر است. همچنین، ارتفاع گیاهچه‌ها در تیمارهای نوری B₁R (۴/۰۲) و تیمار BR (۳/۸۱ سانتی‌متر) به طور معنی‌داری کمتر از شاهد بود (شکل ۵). این نتیجه‌ها نشان می‌دهد که با افزایش نور آبی ارتفاع گیاه کوتاه‌تر می‌شود و نور قرمز ۱۰۰ درصد همانند تاریکی عمل کرده و طولی‌تر می‌شود که با نتیجه‌های پژوهش حاضر هم راستا است (۲۰ و ۲۳). در هر دو تیمار شدت نور این افزایش ارتفاع تغییر محسوسی نداشته است پس نشان می‌دهد احتمالاً شدت نور برای رشد گیاه کافی نبوده است (شکل ۱ و الف ۲).

گیاهچه باززایی شده

نتیجه‌های تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد برهمکنش تیمارهای شدت و کیفیت نور بر شاخص تعداد گیاهچه باززایی شده زیرین گیاه در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بوده است. همچنین، اثر ترکیب نوری در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار بوده است. بر اساس نتیجه‌های حاصل از مقایسه میانگین داده‌ها، تیمار RB در شدت نور ۳۰۰۰ لوکس سبب انگیزش بیشترین تعداد شاخه باززایی شده (۶/۳۱ گیاهچه به ازای هر ریز نمونه) شد (شکل ۱). هر چند نسبت به تیمار B₁R در شدت نور ۱۵۰۰ لوکس (۵/۶۵ گیاهچه به ازای هر ریز نمونه) تفاوت معنی‌داری ندارد، اما نسبت به سایر تیمارها و همچنین نور W در شدت نور ۱۵۰۰ لوکس (۲/۰۶ گیاهچه به ازای هر ریز نمونه) و ۳۰۰۰ لوکس (۲/۷۳ گیاهچه به ازای هر ریز نمونه) به طور معنی‌داری بیشتر بود. همچنین، کمترین تعداد باززایی به مقدار ۱/۵۱ گیاهچه به ازای هر ریز نمونه در تیمار نور B در شدت نور ۳۰۰۰ لوکس مشاهده شد (شکل ب ۲ و شکل ۳).

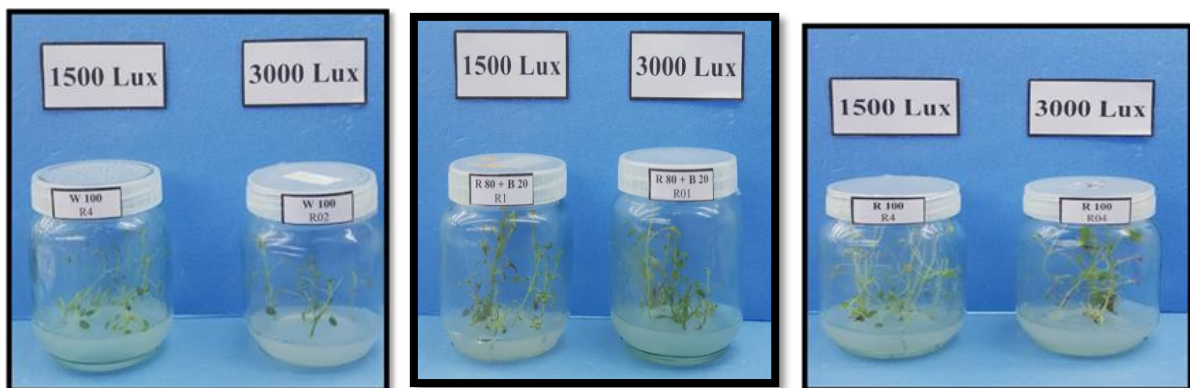


Fig. 1. White light treatment (W) (control), Light treatment with the highest plant, the highest regeneration rate of plantlets.

شکل ۱- تیمار نور سفید (W) (شاهد)، تیمار نوری با بیشترین ارتفاع گیاه، بیشترین میزان باززایی گیاهچه‌ها.

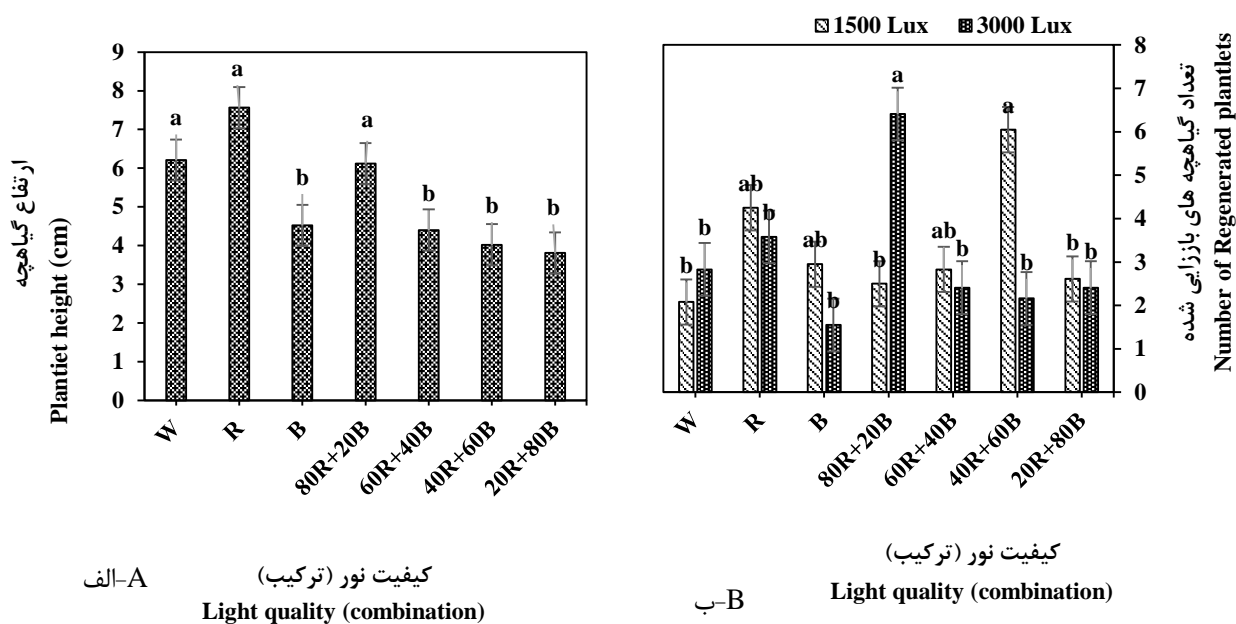


Fig 2. The effect of different light qualities (combinations) on the height (A) and number (B) of regenerated plantlets of *Dracocephalum kotschy*.

شکل ۲- تأثیر کیفیت‌های (ترکیب) مختلف نور بر ارتفاع (الف) و شماره (ب) گیاهچه‌های باززایی شده زرين گیاه .

تعداد برگ

تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد برهمکنش شدت نورهای مختلف و کیفیت‌های مختلف نور بر تعداد برگ گیاهچه‌های زرين گیاه در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بوده است. تیمار نوری RB در شدت نور ۳۰۰۰ لوکس سبب تشکیل ۴۶/۸۳ برگ به ازای هر گیاهچه باززایی شده گردیده است که نسبت به سایر تیمارها و شاهد به طور معنی‌داری بیشتر بوده است. همچنین، تیمار نوری B₁R در شدت نور ۱۵۰۰ لوکس با ۳۷/۷۴ عدد برگ به ازای هر گیاهچه، نسبت به نور W در شدت نور ۱۵۰۰ لوکس (۱۳/۲۶ برگ به ازای هر گیاهچه) به طور معنی‌داری بیشتر بود. کمترین تعداد برگ (۱۳/۹۴ عدد) در تیمار نور B در شدت نور ۳۰۰۰ لوکس و تیمار شاهد ۱۵۰۰ لوکس مشاهده شد (شکل الف ۴).

طول برگ

تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد اثر اصلی تیمار ترکیب نوری بر این شاخص در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بوده است، اما برهمکنش این دو تیمار و هم چنین شدت نور معنی‌دار نبوده است. مقایسه میانگین اثر ترکیب نوری بر شاخص طول برگ نشانگر بیشترین میزان طول برگ (۰/۷۵ mm²) در نور B حاصل شده است که نسبت به تیمار نوری W (۰/۶۲ mm²) و نور R (۰/۶۴ mm²) اختلاف معنی‌داری نشان نمی‌دهد، اما نسبت به سایر تیمارها به طور معنی‌داری بیشتر است. همچنین، تیمار نوری B₁R با مقدار ۰/۲۹ mm² کمترین میزان طول برگ را ایجاد نموده است که به طور معنی‌داری از شاهد کمتر است. براساس نتیجه‌های برهمکنش تیمار شدت و کیفیت نور و همچنین اثر اصلی تیمار شدت نور بر شاخص طول برگ گیاهچه‌های زرين گیاه معنی‌دار نبوده است (شکل ب ۴).



Fig.3. The effects of Blue and Red light combination (80B+20R) with White 100% treatment on regeneration of *Dracocephalum kotschy* plantlets.

شکل ۳- تأثیر ترکیب نور آبی و قرمز با تیمار نوری سفید ۱۰۰٪ بر باززایی گیاهچه‌های زرین گیاه.

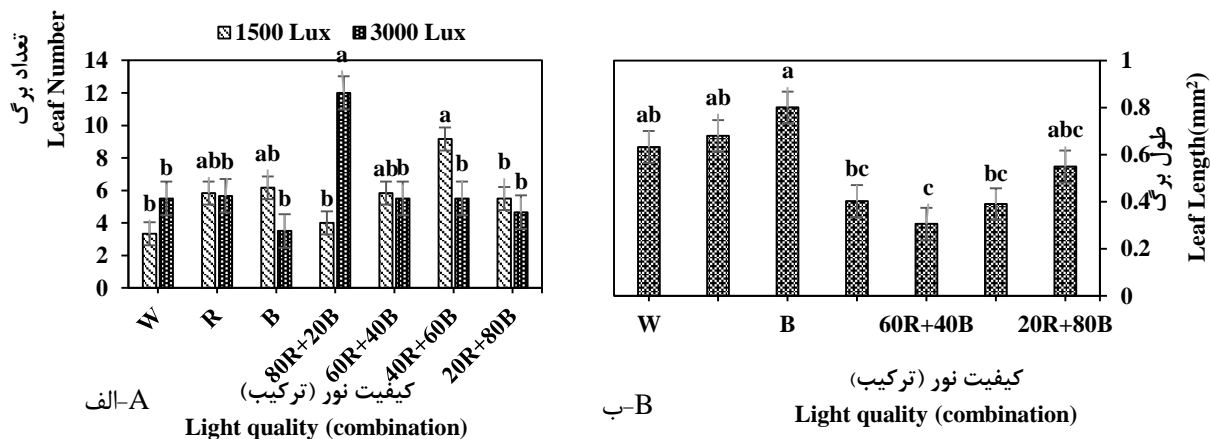


Fig. 4. The effect of different light qualities (combinations) on the length(A) and number (B) of *Dracocephalum kotschy* leaves.

شکل ۴- تأثیر کیفیت‌های (ترکیب) مختلف نور بر تعداد (الف) و طول برگ (ب) گیاهچه‌های زرین گیاه.

تعداد ریشه

نتیجه‌های تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر اصلی تیمار ترکیب نوری بر ویژگی تعداد ریشه در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود، اما برهمکنش این تیمار و همچنین اثر اصلی تیمار شدت نور بر این ویژگی معنی‌دار نبود. گیاهچه‌های رشد یافته در تیمار نوری RB به طور معنی‌داری نسبت به سایر تیمارها و شاهد، بیشترین تعداد ریشه تشکیل شده به مقدار ۲/۱۲ عدد به ازای هر گیاهچه را داشت. مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که کمترین تعداد ریشه تشکیل شده در دو تیمار نوری R1B و B1R با مقدار ۰/۶۶ عدد به ازای هر گیاهچه ثبت شد (شکل الف-۵).

وزن تر گیاهچه

نتیجه‌های حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان می‌دهد که اثرهای اصلی تیمار شدت نور بر این شاخص و همچنین برهمکنش تیمارهای شدت و کیفیت نور در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار بوده است. اما اثر اصلی تیمار ترکیب نوری بر شاخص وزن گیاهچه‌های زرین گیاه معنی‌دار نبوده است. بر اساس نتیجه‌های مقایسه میانگین شدت‌های مختلف نور بر وزن تر

گیاهچه‌های باززایی شده زرين گیاه، تیمار ۳۰۰۰ لوکس با وزن تر ۱۲۹۹ میلی‌گرم به ازای هر گیاهچه، نسبت به تیمار ۱۵۰۰ لوکس با وزن تر ۹۶۰ میلی‌گرم به ازای هر گیاهچه، به طور معنی‌داری وزن تر بیشتری را ایجاد کرده است (شکل ب-۵).

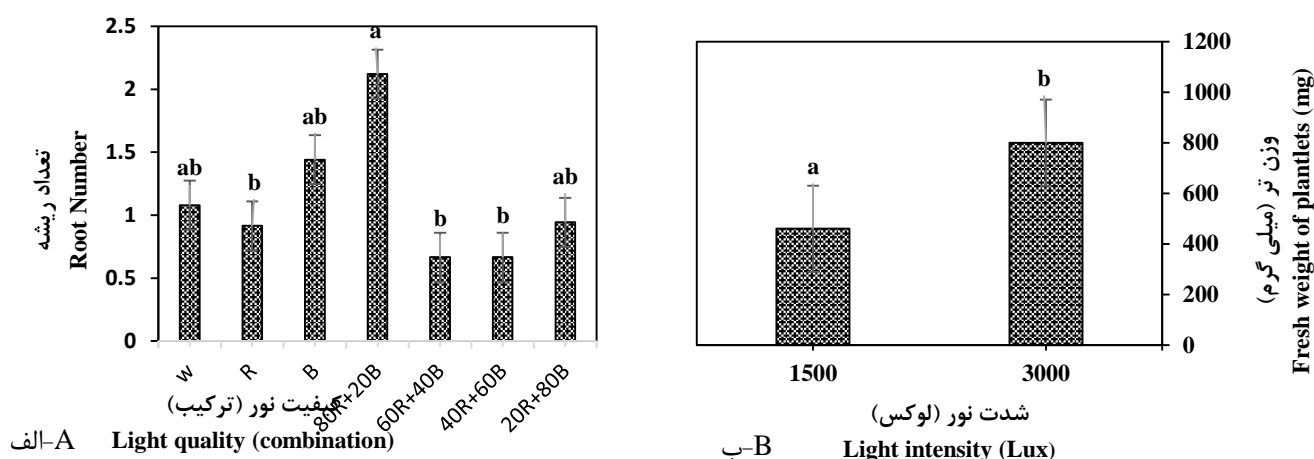


Fig. 5. The effect of different light qualities (combination) and intensities on root number (A) and fresh weight (B) of *Dracocephalum kotschy* plantlets.

شکل ۵- تأثیر شدت و کیفیت‌های (ترکیب) مختلف نور بر تعداد ریشه (الف) و وزن تر (ب) گیاهچه‌های زرين گیاه.

ویژگی‌های فیزیولوژیکی و زیست‌شیمیایی

در پژوهش حاضر، تأثیر تیمارهای شدت نور و ترکیب نور بر ویژگی‌های زیست‌شیمیایی گیاهچه‌های زرين گیاه شامل پروتئین کل، فنول کل، فلاونوئید کل، کلروفیل a، کلروفیل b، کارتنوئید و شاخص آنتی‌اکسیدانتي FRAP در گیاهچه‌های باززایی شده اندازه‌گیری شد.

فنول کل

تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد اثر کیفیت نور و شدت نور و هم‌چنین برهمکنش تیمارهای شدت و کیفیت نور در سطح احتمال یک درصد بر میزان فنول کل گیاهچه‌های باززایی شده زرين گیاه معنی‌دار بود. تیمارهای نوری R₁B در شدت نور ۳۰۰۰ لوکس و تیمار BR در شدت نور ۳۰۰۰ لوکس به ترتیب با مقدار ۶۰۶/۱۳ و ۵۱۶/۶ میلی‌گرم بر گرم تر باعث تولید بیشترین میزان فنول کل شد که اختلاف معنی‌داری نسبت به سایر تیمارها دارد. میزان فنول کل تولید شده در این تیمارها بین دو تا سه برابر بیشتر از میزان فنول کل تولید شده در گیاهچه‌های رشد یافته در نور W در شدت‌های ۱۵۰۰ و ۳۰۰۰ لوکس بود. گیاهچه‌های رشد یافته در تیمار نوری R در شدت ۱۵۰۰ لوکس (۱۲۷/۸۶ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) و تیمار نوری W در شدت نور ۳۰۰۰ لوکس (۱۹۰/۲۱ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) و تیمار نوری RB در شدت نور ۱۵۰۰ لوکس (۱۸۸/۸۳ میلی‌گرم بر گرم وزن تر)، کمترین میزان فنول کل را نشان داد (شکل الف-۶).

پروتئین کل

نتیجه‌ها نشان می‌دهد که برهمکنش تیمارهای شدت و ترکیب نور بر میزان پروتئین کل گیاهچه‌های شده زرين گیاه در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار بوده است. اثر شدت نور معنی‌دار نبود، اما اثر کیفیت نور در این شاخص در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بوده است. بر اساس نتیجه‌های مقایسه میانگین داده‌ها، بیشترین میزان پروتئین کل به مقدار ۱۵/۳۶ میلی‌گرم بر گرم وزن تر در تیمار نوری R₁B در شدت نور ۳۰۰۰ لوکس به دست آمد (۱۵،۱۸ میلی‌گرم بر گرم وزن تر)، که نسبت به تیمارهای نوری R₁B در شدت نور ۱۵۰۰ لوکس (۱۴/۶ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) اختلاف معنی‌داری نداشته است، اما نسبت به سایر تیمارها به طور معنی‌داری بیشتر بود (شکل ۸). کمترین میزان پروتئین کل نیز در تیمار نوری W و R در شدت نور ۱۵۰۰ لوکس با مقدار ۶/۵۷ و ۵/۸۵ میلی‌گرم بر گرم وزن تر مشاهده شد (شکل ب-۶).

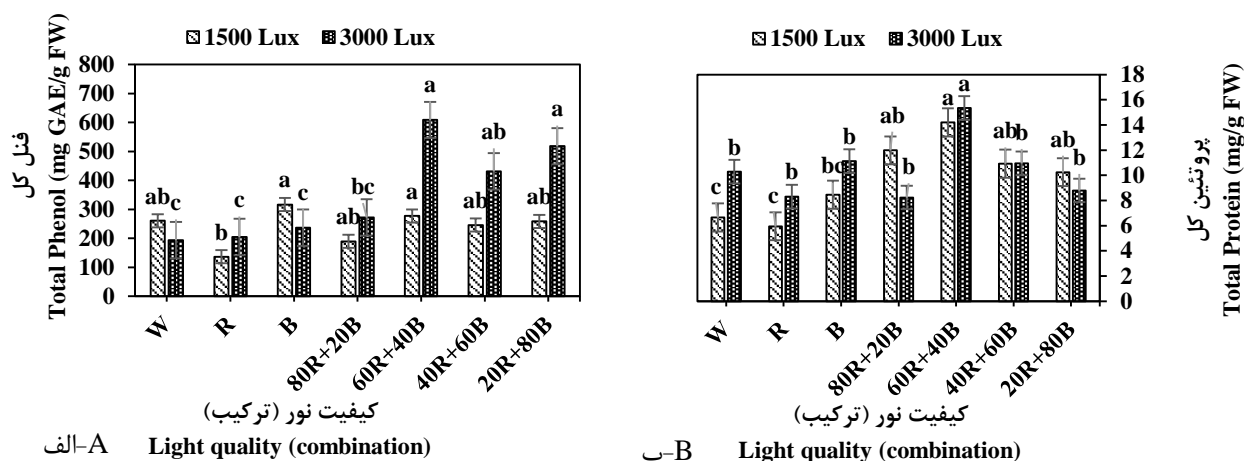


Fig. 6. The effect of different light qualities (combination) and intensity on total phenol (A) and total protein (B) content of *Dracocephalum kotschy*.

شکل ۶- تأثیر شدت و کیفیت‌های (ترکیب) مختلف نور بر میزان فنول کل (الف) و پروتئین کل (ب) گیاهچه‌های زرین گیاه.

فلاونوئید کل

تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد اثر شدت نور و کیفیت نور در گیاهچه‌های باززایی شده زرین گیاه در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود، اما برهمکنش تیمارهای شدت و کیفیت نور بر میزان فلاونوئید کل معنی‌دار نبود. مقایسه میانگین داده‌ها نشان می‌دهد بیشترین میزان فلاونوئید کل با مقدار ۱۷/۹۹ میلی‌گرم بر گرم وزن تر در تیمار نوری B₁R در شدت نور ۳۰۰۰ لوکس نشان داد که هر چند با تیمار نوری R₁B در شدت نور ۳۰۰۰ لوکس با مقدار ۱۶/۴۷ میلی‌گرم بر گرم وزن تر اختلاف معنی‌داری نداشت، اما نسبت به سایر تیمارها به طور معنی‌داری افزایش نشان داد. کمترین میزان فلاونوئید کل نیز در تیمار نور R در شدت نور ۱۵۰۰ لوکس (۴/۸۸ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) مشاهده شد که نسبت به نور W در شدت نور ۱۵۰۰ لوکس (۸/۶۸ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) بیش از ۵۰ درصد کمتر بود. نتیجه‌ها نشان می‌دهد که در تیمار ترکیب نوری که درصد نور آبی در تعادل با نور قرمز است و همچنین شدت نور زیاد می‌شود، میزان فلاونوئید کل افزایش می‌یابد. این ترکیب نوری همانند تنش عمل کرده و باعث افزایش این ترکیب می‌شود (شکل الف ۷).

کلروفیل a

تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد برهمکنش تیمارهای شدت و کیفیت نور بر میزان کلروفیل a در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار بوده است. اثرهای هر کدام از این تیمارها به تنهایی در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. بر اساس نتیجه‌های به دست آمده از مقایسه میانگین داده‌ها، تیمار نوری R₁B در شدت نور ۳۰۰۰ لوکس بیشترین میزان کلروفیل a را با مقدار ۷/۷۳ میلی‌گرم بر گرم وزن تر نشان داد که نسبت به تیمار نوری B₁R در شدت نور ۱۵۰۰ لوکس (۶/۷۹ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) و تیمار BR در شدت نور ۱۵۰۰ لوکس (۶/۷۹ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) اختلاف معنی‌داری از نظر آماری نداشت، اما نسبت به سایر تیمارها به طور معنی‌داری بیشتر بود. کمترین میزان کلروفیل a نیز در نور W در شدت نور ۱۵۰۰ لوکس به مقدار ۱/۴۱ میلی‌گرم بر گرم وزن تر مشاهده شد (شکل ب ۷).

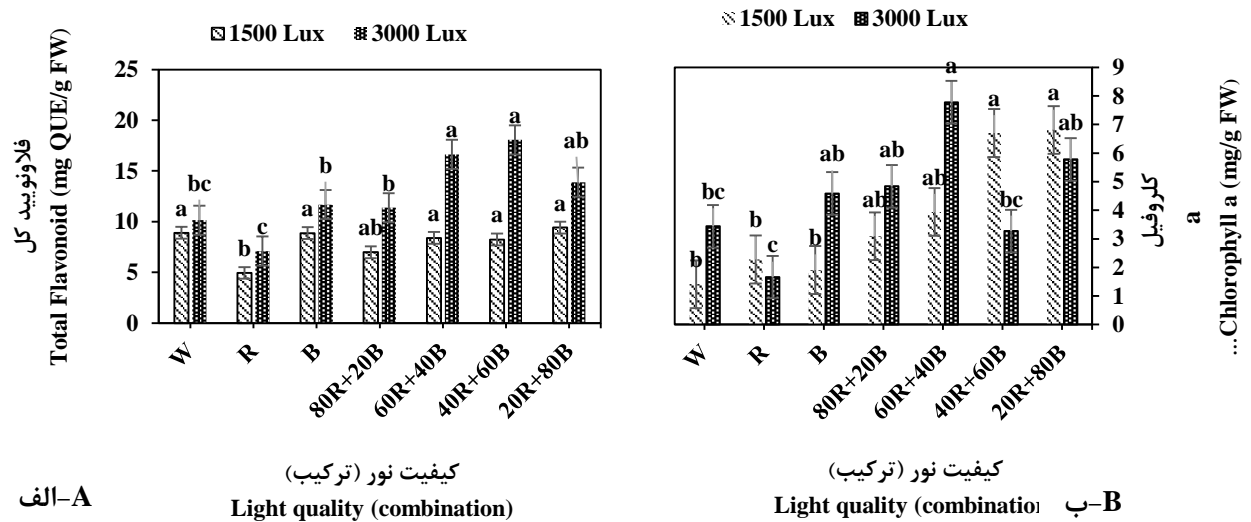


Fig. 7. The effect of different light qualities (combination) and intensities on total flavonoid (A) and chlorophyll a (B) content of *Dracocephalum kotschy*.

شکل ۷- تأثیر شدت و کیفیت‌های (ترکیب) مختلف نور بر میزان فلاونوئید کل (الف) و کلروفیل a (ب) گیاهچه‌های زرين گیاه.

کلروفیل b

بر اساس نتیجه‌های تجزیه واریانس داده‌ها، برهمکنش تیمارهای شدت و کیفیت نور و همچنین اثر اصلی این تیمارها بر میزان کلروفیل b گیاهچه‌های باززایی شده زرين گیاه معنی‌دار نبوده است.

کارتنوئید

اثرهای اصلی تیمار کیفیت نور بر این شاخص در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بوده است، اما برهمکنش تیمارهای شدت و کیفیت نور و همچنین اثر اصلی تیمار شدت نور بر میزان کارتنوئید گیاهچه‌های باززایی شده معنی‌دار نبوده است. تیمار نوری R₁B، تیمار نوری B₁R و نور BR به ترتیب با میزان ۲/۷، ۲/۶۳ و ۲/۵۳ میلی گرم بر گرم وزن تر، بیشترین میزان کارتنوئید را نشان داد که نسبت به سایر تیمارها اختلاف معنی‌داری داشت. کمترین میزان کارتنوئید نیز در تیمار نور R با مقدار ۰/۸۹ میلی گرم بر گرم وزن تر ثبت شده است (شکل الف-۸).

ویژگی آنتی اکسیدانتي FRAP

با توجه به تجزیه واریانس داده‌ها تنها اثر تیمار کیفیت نور در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار بوده است. با توجه به جدول مقایسه میانگین بیشترین میزان آنتی اکسیدان در تیمار نور BR با مقدار ۱/۴۳ ثبت شد. در این آزمایش تیمارهایی که در ترکیب خود درصد بالاتری نور قرمز داشتند، ظرفیت آنتی اکسیدانتي پایینی داشتند. با افزایش درصد نور آبی در تیمار، گیاهان ظرفیت آنتی اکسیدانتي بالاتری را نشان دادند. تیمارهای نوری که به صورت تک رنگ بودند (B, R, W) ویژگی آنتی اکسیدانتي کمتری را نشان دادند. ثابت شده است که تیمار نور آبی در ساخت متابولیت‌های ثانویه نقش دارد (شکل ب-۸).

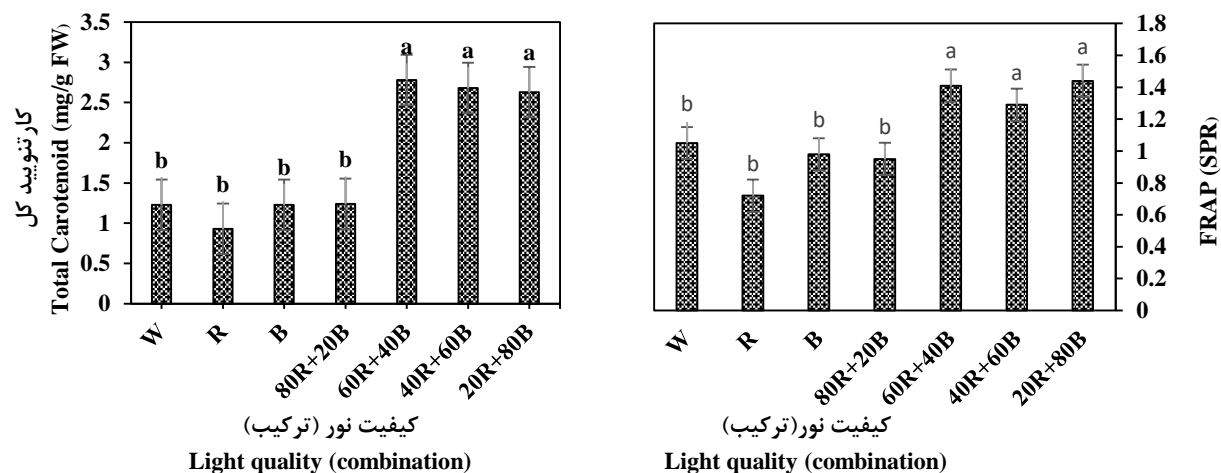


Fig. 8. The effect of different light qualities (combination) on total carotenoid (A) and FRAP antioxidant (B) of *Dracocephalum kotschy*.

شکل ۸- تأثیر کیفیت‌های (ترکیب) مختلف نور بر میزان کارتنوئید کل (الف) و شاخص آنتی‌اکسیدانتی FRAP (ب) گیاهچه‌های زرین گیاه.

با توجه به نتیجه‌های حاصل از آزمایش حاضر، ترکیب نور قرمز و آبی نسبت به نور ۱۰۰ درصد قرمز، ۱۰۰ درصد آبی و هم چنین نور سفید ۱۰۰ درصد، باعث بهتر شدن ویژگی‌های مورفولوژیکی و زیست‌شیمیایی می‌شود؛ به طوری که بیشترین میزان بازایی و تعداد برگ در تیمار نوری RB و هم‌چنین بیش‌ترین میزان پروتئین کل، فنول کل، فلاونوئید کل، کلروفیل a و کارتنوئید در تیمار نوری RB حاصل شد. هم‌چنین، نتیجه‌های به‌دست آمده در مطالعه حاضر نشان می‌دهد که ترکیب نور قرمز و آبی که بیشترین کارایی جذب را در گیاهان دارد، در مقایسه با نور سفید، به‌طور مؤثری سبب بهبود ویژگی‌های مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی و زیست‌شیمیایی زرین گیاه شده است. طی آزمایشی بر روی گیاهان اکالیپتوس (*Eucalyptus camaldulensis*) و موز (*Musa acuminata*)، این گیاهان در ترکیب‌های نوری مختلف قرار گرفتند. نتیجه‌های حاصل از آن نشان داد که گیاهچه‌های رشد یافته درون شیشه‌ای در نسبت ۴:۱ (آبی/قرمز LED)، رشد بیشتری نسبت به گیاهان رشد یافته در نور سفید دارند (۲۳ و ۲۰ و ۱۷). در ویژگی‌های مورفولوژیکی مانند تعداد برگ و تعداد ریشه و میزان بازایی ترکیب نور قرمز و آبی اثر مثبت گذاشت که نتیجه‌های حاصل از پژوهش ما با پژوهش فوق همخوانی دارد. در آزمایش ترکیب‌های مختلف نوری روی گل داوودی (*Dendranthema grandiflora*) و گیاه *Withania somnifera* و *Brassica napus* زیر، میزان کلروفیل بیشتر در نور آبی+نور قرمز LED بدست آمد، اما وقتی این گیاهان با نور فلوروسنت یا نور LED تک رنگ آبی یا قرمز یا قرمز دور تیمار شدند، این افزایش را نشان ندادند که نتیجه آزمایش ما با این پژوهش مطابقت دارد. به طوری که ترکیب نوری قرمز و آبی در مقایسه با نور سفید باعث افزایش در میزان کلروفیل شد (۱۸). در پژوهش انجام شده توسط حیدری‌زاده و همکاران (۲۰۱۴) روی نعناع فلفلی (*Mentha piperita*) در ۵ تیمار نوری با ترکیبات مختلف، بالاترین وزن تر گیاه در ترکیب نور قرمز و آبی به‌دست آمد که با پژوهش ما همخوانی داشت. نور قرمز باعث بهبود درصد اسانس نسبت به شرایط عادی مزرعه شد. در نور آبی فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز و گلوکاتایون ردوکتاز نسبت به سایر تیمارها به طور معنی‌داری افزایش یافت. به نظر می‌رسد که نورهای LED بتوانند با تحریک رشد و القاء تولید و انباشت متابولیت‌های ثانویه در گیاه به‌طور همزمان تولید و کیفیت گیاه را در محیط‌های کنترل شده در مقایسه با شرایط طبیعی مزرعه افزایش دهند (۱۶). در آزمایش روی زرین گیاه نور قرمز ۱۰۰ درصد در ارتفاع گیاه تأثیر گذاشت که با نتیجه‌های آزمایش روی گیاه دارویی بادرنجبویه مطابقت داشت. در این پژوهش بیشترین تعداد ساقه و برگ در هر گلدان در نورهای قرمز و ترکیب قرمز + آبی مشاهده شد و بالاترین میزان ارتفاع ساقه در گیاهان تیمار شده با نور قرمز دارای مشاهده شد. هم‌چنین در نورهای LED میزان کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل و کارتنوئید افزایش یافت، اما نسبت کلروفیل a/b تنها در اتاقت دارای LED های قرمز دارای بیشترین مقدار بود (۱). در

آزمایشی روی گیاه مورد، نور LED قرمز و ۵ میکرو مول BA بیشترین سرعت تکثیر را نشان داد. بیشترین شاخساره‌ها از تیمار نور R اما با پایین‌ترین غلظت BA محیط کشت به‌دست آمد. در صورتی که در آزمایش ما میزان باززایی شاخه‌ها در ترکیب نوری قرمز و آبی در مقایسه با نور W اختلاف معنی‌داری داشت. بیشترین وزن تر در LEDs حاوی نور آبی و ترکیب قرمز و آبی بود. بالاترین میزان اسیدهای فنولی و فلاونوئیدها در نور LED قرمز با بیشترین مقدار BA بدست آمد (۷). افزایش ترکیبات فنولی و فلاونوئیدها در ترکیب نوری آبی و قرمز با نتیجه‌های آزمایش ما همخوانی دارد که نسبت به نور W و R به طور معنی‌داری بیشتر بوده است. نتیجه‌های پژوهش بر روی گیاه اطلسی (*Petonia hybrida*)، بیانگر بیشترین وزن‌های تر و خشک برگساره و ریشه، سطح برگ و قطر ساقه با کاربرد نسبت‌های نوری ۱۵ درصد آبی و ۸۵ درصد قرمز با شدت ۶۵ میکرومول بر متر مربع بر ثانیه است (۲۴). در پژوهش ما، نور قرمز ۱۰۰ درصد روی ارتفاع گیاهچه‌ها اثر مثبت و افزایشی گذاشت. در پژوهشی دیگر، در تیمارهای نوری مختلف، گیاهچه‌های ارکید اونسیدیوم^۲ میزان رنگدانه‌های بیشتری را در نور LED آبی نشان دادند، اما این افزایش در نور LED زرد یا سبز یا لامپ‌های فلوروسنت مشاهده نشد (۲۱). در آزمایش حاضر این افزایش در میزان کلروفیل در ترکیب نوری قرمز و آبی دیده شد، بنابراین با نتیجه آزمایش روی ارکید در یک راستا نبود.

نتیجه گیری

به‌طور کلی نتیجه‌ها نشان داد که ترکیب تیمارهای نوری با استفاده از لامپ‌های LED در نسبت‌های مختلف، سبب بهبود ویژگی‌های فیزیولوژیک شده است. در تیمار نوری R ارتفاع گیاه به‌طور چشمگیری افزایش یافت و با سایر تیمارهای نوری تفاوت نشان داد. در واقع این تیمار نوری عملکرد مشابهی با تاریکی نشان داد. وقتی گیاه در تاریکی قرار می‌گیرد ارتفاع آن زیاد شده و غلغی می‌شود. ترکیب‌های نوری آبی و قرمز باعث بهبود ویژگی‌های زیست‌شیمیایی زرین گیاه می‌شود. همچنین، پژوهش‌ها نشان می‌دهد که واکنش گیاهان مختلف به ترکیب‌های نوری متفاوت می‌باشد؛ به‌طوری‌که برخی از گیاهان به درصد بالای نور آبی در ترکیبات نوری پاسخ بهتری در عملکرد نشان می‌دهند و در برخی دیگر درصد بالای نور قرمز باعث بهبود ویژگی‌های فیزیولوژیک و مورفولوژیک می‌شود. پاسخ گیاهان به تیمار شدت نور هم متفاوت است؛ به طوری که شدت نور بالا فعالیت فتوسنتزی، رشد و محصول دهی برخی گیاهان را کاهش می‌دهد، اما گاهی شدت نور بالا در برخی گیاهان باعث افزایش ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی می‌شود که نشان می‌دهد شدت‌های بالای نور به‌صورت تنش عمل کرده و باعث انباشت جاذب‌های نوری شامل فنول‌ها و فلاونوئیدها در یاخته‌های اپیدرم برگ می‌شود.

References

- Ahmadi, T., L. Shabani and R. Sabzalian. 2017. Effects of LED light spectrum on growth and rosmarinic acid content in *Melissa officinalis* L. *J. Plant Proc. Func.* 6(21):213-222. (In Persian).
- Bradford, M.M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.* 72:248-254.
- Bourgau, F., A. Gravot, S. Milesi and E. Gontier. 2001. Production of plant secondary metabolites: a historical perspective. *Plant Sci.* 161(5):839-851.
- Chamani, E., M. Ghamari, M. Mohoboldini, A. Ghanbari and H. Heydari. 2017. Effects of plant growth regulators on callogenesis and regeneration of *Fritillaria imperialis* L. *J. Hort. Sci.* 31(1):469-482. (In Persian).
- Chamani, E., M. Bonyadi and A. Ghanbari. 2015. The effects of salicylic acid and humic acid on vegetative traits of ornamental *Vinca minor* plants. *J. Hort. Sci.* 29(4):631-641. (In Persian).
- Chandran, H., M. Meena, T. Barupal and K. Sharma. 2020. Plant tissue culture as a perpetual source for production of industrially important bioactive compounds. *Biotechnol. Rep.* p.e 00450.
- Cioć, M., A. Szewczyk, M. Żupnik, A. Kalisz and B. Pawłowska. 2018. LED lighting affects plant growth, morphogenesis and phytochemical contents of *Myrtus communis* L. *in-vitro*. *Plant Cell Tiss. Organ Cult.* 132(3): 433-447.
- Fattahi, M., V. Nazeri, L. Torras-Claveria, F. Sefidkon, R.M. Cusido, Z. Zamani and J. Palazon. 2013. Identification and quantification of leaf surface flavonoids in wild-growing populations of *Dracocephalum kotschyi* by LC-DAD-ESI-MS. *Food Chem.* 141(1):139-146.
- Georgiev, V., A. Slavov, I. Vasileva and A. Pavlov 2018. Plant cell culture as emerging technology for production of active cosmetic ingredients. *Eng. Life Sci.* 18(11).

منابع

10. Gohari, A.R., S. Saeidnia, K. Matsuo, N. Uchiyama, T.M. Yagura, F. Kiuchi and G. Honda. 2003. Flavonoid constituents of *Dracocephalum kotschy* growing in Iran and their trypanocidal activity. *Nat. Med.* 57(6): 250-252.
11. Gupta, S.D. and A. Agarwal. 2017. Artificial lighting system for plant growth and development: Chronological advancement, working principles, and comparative assessment. In *Light emitting diodes for agriculture*. Springer, Singapore, 1-25
12. Harmut, A. 1987. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic membranes. *Methods Enzymol.* 148:350-383.
13. Heydari, H.R., E. Chamani, B. Esmailpour. 2020. Cell line selection through gamma irradiation combined with multi-walled carbon nanotubes elicitation enhanced phenolic compounds accumulation in *Salvia nemorosa* cell culture. *Plant Cell Tiss. Organ Cult.* 142(2): 353-367.
14. Heydari, P., M. Yavari, P. Adibi, G. Asghari, S.M. Ghanadian, G.O. Dida, F. Khamesipour. 2019. Medicinal properties and active constituents of *Dracocephalum kotschy* and its significance in Iran: a systematic review. *Evid. Based Complement Alternat. Med.* 1-14. (In Persian).
15. Heydarizadeh, P., M. Zahedi and M.R. Sabzalian. 2014. The Effect of LED Light on Growth, Essential Oil Content and Activity of Antioxidant Enzymes in Pepper Mint (*Mentha piperita* L.). *J Plant Proc. Funct.* 3(8):13-24. (In Persian).
16. Kamali, M., S. Khosroyar and M R. Jalilvand. 2014. Investigation on the composition of phenol, flavonoid, anthocyanin and antioxidant capacity of different aerial organs extract of medicinal *Dracocephalum kotschy* Boiss plants. *J. North Khorasan Uni. Medic. Sci.* 6(3): 627-634
17. Kim, S.J., E.J. Hahn, J.W. Heo and K.Y. Paek. 2004. Effects of LEDs on net photosynthetic rate, growth and leaf stomata of chrysanthemum plantlets *in-vitro*. *Sci. Hort.* 101(1-2):143-151.
18. Lee, S.H., R.K. Tewari, E.J. Hahn and K.Y. Paek. 2007. Photon flux density and light quality induce changes in growth, stomatal development, photosynthesis and transpiration of *Withania somnifera* (L.) Dunal. Plantlets. *Plant Cell Tiss. Organ Cult.* 90(2):141-151.
19. Lichtenthaler, H.K. 1987. Chlorophylls and Cartenoid: Pigments of photosynthetic biomembranes. *Method in enzyme.* 148:350-382.
20. Li, H., C. Tang and Z. Xu. 2013. The effects of different light qualities on rapeseed (*Brassica napus* L.) plantlet growth and morphogenesis *in vitro*. *Sci. Hort.* 150:117-124.
21. Mengxi, L., X. Zhigang, Y. Yang and F. Yijie. 2011. Effects of different spectral lights on *Oncidium* PLBs induction, proliferation, and plant regeneration. *Plant Cell Tiss. Organ Cult.* 106(1):1-10.
22. Moradi, H., M. Ghavam and A. Tavili. 2020. Study of antioxidant activity and some herbal compounds of *Dracocephalum kotschy* Boiss. In different ages of growth. *Biotech. Rep.* 25:P.e00408.
23. Nhut, D.T. and N.B. Nam. 2010. Light-emitting diodes (LEDs): an artificial lighting source for biological studies. In *The third international conference on the development of biomedical engineering in Vietnam*. Springer, Berlin, Heidelberg. 134-139.
24. Rashidi, A., A. Tehranifar and H. Nemati. 2017. The effect of blue and red spectrum combinations and light intensity on vegetative growth of *Petunia* seedling. *Iran J. Hort. Sci.* 48(2):443-446.(In Persian).
25. Zakurin, A.O., A.V. Shchennikova and A.M. Kamionskaya. 2020. Artificial-Light Culture in Protected Ground Plant Growing. Photosynthesis, Photo morphogenesis, and Prospects of LED Application. *Russ. J. Plant Physiol.* 67:413-424.

Response of *Dracocephalum kotschy* to Different Light Intensities and Combinations Under *In-Vitro* Condition

E. Chamani*, R. Shahbazi Yajlou, R. Azarmi and Y. Pourbeyrami Hir¹

Recent advances in biotechnology, especially tissue culture of plants under various light conditions, have provided a good platform for the production of secondary metabolites. The present study aims to investigate the effect of intensity and different light qualities on *in vitro* growth and production of secondary metabolites in *Dracocephalum kotschy* plant. The evaluated morphological traits included the number of regenerated plantlets, plantlet height, leaf area, the number of roots and leaves. Also, the measured biochemical traits were total phenol and flavonoid contents, chlorophyll a and b, carotenoid, total protein and FRAP antioxidant. The results showed that the combination effect of red and blue light improves the growth and biochemical indices, so that the highest regeneration rate and number of leaves was attained in combined 80% Red + 20% blue light treatment. the highest amount of total protein (15.36 mg/g FW), total phenol (606.13 mg GA / g FW), chlorophyll a (7.73 mg / g FW) and carotenoids (2.78 mg / g FW) were obtained in combined light treatment of 60 % red + 40% blue. In general, the results obtained in the present study showed that the combination of red and blue light, compared to white light, has effectively improved the morphological and biochemical indices of *Dracocephalum kotschy* plant.

Keywords: Blue light, *Dracocephalum kotschy*, Light-emitting diode, Red light, Secondary metabolites.

1. Professor, Former M.Sc. Student, and Assistant Professors, Horticulture Department of Ardabil Mohaghegh University, Ardabil, Iran

* Corresponding Author, Email: (echamani@uma.ac.ir).