Research Article

Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research

DOI: 10.22092/ijmapr.2026.368557.3520

Vol. 42, No. 2, Page 284-306 (2026)

# Photoprotection mechanisms in *Nepeta crassifolia* ecotypes under UVB radiation and high-light stress

**Zahra Mottaki[1] and Ghader Habibi[2]***

1. Department of Biology, Payame Noor University (PNU), PO BOX 19395-3697 Tehran, Iran
2. Corresponding Author, Department of Biology, Payame Noor University (PNU), PO BOX 19395-3697 Tehran, Iran, E-mail: ghabibi@pnu.ac.ir

Received: 06/02/2025 Revised: 01/07/2026 Accepted: 10/07/2026

## Abstract

**Background and objectives**: In nature, plants are continuously exposed to both abiotic and biotic stresses. Along altitudinal gradients, changes in temperature, radiation, and moisture can adversely affect plant growth. Among the environmental factors that vary with altitude, high radiation is one of the most important factors limiting plant growth. Under such conditions, plants have developed various morphophysiological and biochemical adaptations, collectively referred to as photoprotection mechanisms, to mitigate the harmful effects of high-intensity radiation. In this study, the roles of high-light (HL) and UVB stress in regulating photoprotection mechanisms were investigated for the first time in two ecotypes of *Nepeta crassifolia*. A controlled level of UVB radiation may also stimulate the accumulation of secondary metabolites in medicinal plants, thereby enhancing their medicinal and economic value.

**Methodology:** Three to five seeds of *Nepeta crassifolia* were sown on the surface of cylindrical plastic pots (30 cm in diameter and 40 cm in depth) containing a mixture of sandy soil, peat moss, and perlite. The seeds were grown for 12 weeks and irrigated with distilled water every seven days. Plants were maintained at 25 °C during the day and 14 °C at night under a 16-h photoperiod, with a daytime photon flux density of 400 µmol $m^{-2} s^{-1}$, in an environmentally controlled growth chamber for three months before the experiments began. Mature plants were subsequently exposed to UVB radiation at three levels (control, 15, and 30 kJ $m^{-2} d^{-1}$) and high-intensity light (HL; 800 µmol $m^{-2} s^{-1}$) for 10 days. Chlorophyll fluorescence measurements, as described in the following section, and other analyses were performed using fully expanded, mature leaves. For biochemical analyses, leaf samples were immediately frozen in liquid nitrogen and stored until analysis.

**Results:** Following exposure to UVB and HL stress, plants from the high-altitude site (3500 m) exhibited greater tolerance to photoinhibition than plants from the low-altitude site (2400 m). Under combined stress conditions, low-altitude plants exhibited lower photochemical activity, which was associated with reduced chlorophyll levels and, consequently, the development of photoinhibition. Photoinhibition of photosystem II (PSII) under combined stress was assessed based on the maximum quantum yield of PSII (Fv/Fm), which was consistent with the reduction in the activity of the oxygen-evolving complex, as indicated by the Fv/Fo ratio. The greater tolerance of high-altitude plants was associated with higher phenolic content under UVB and HL stress, together with higher carotenoid levels and, consequently, better maintenance of photochemical function.

Copyright: © 2026 by the authors. This is an open access, peer-reviewed article published by Research Institute of Forests and Rangelands (http://ijmapr.areeo.ac.ir/) and distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (http://creativecommons.org/licenses/by/4.0), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

**Conclusion:** Overall, exposure of high-altitude plants to HL and UVB radiation resulted in increased phenylalanine ammonia-lyase (PAL) activity and enhanced accumulation of phenolic compounds, rosmarinic acid, and chlorogenic acid (CGA). These responses appear to play an important role in enhancing tolerance to combined stress compared with low-altitude plants. The present findings provide valuable information for the selection of stress-tolerant ecotypes with high concentrations of economically valuable secondary metabolites. The results may have applications in scientific research, agriculture, and the pharmaceutical and related industries.

**Keywords:** Chlorogenic acid, ecotypes, phenylalanine ammonia lyase, photochemical activity, *Nepeta crassifolia*, UVB radiation

# سازوکارهای حفاظت نوری اکوتیپ‌های گیاه دارویی پونه‌سای البرزی (*Nepeta crassifolia* Boiss. & Buhse) تحت تنش شدت نور بالا و پرتو فرابنفش

زهرا متکی[۱] و قادر حبیبی[۲*]

۱- گروه زیست‌شناسی، دانشگاه پیام نور، ایران

۲- نویسنده مسئول، استاد، گروه زیست‌شناسی، دانشگاه پیام نور، ایران، پست‌الکترونیک: ghabibi@pnu.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۱۱/۱۸ تاریخ اصلاح نهایی: ۱۴۰۵/۰۴/۱۰ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۵/۰۴/۱۹

## چکیده

**سابقه و هدف:** در طبیعت، گیاهان در معرض تنش‌های زیستی و غیر زیستی متعددی قرار می‌گیرند. با افزایش ارتفاع، تغییرات دما، شدت تابش نور و رطوبت، رشد گیاهان را محدود می‌کنند. مهمترین عاملی که در ارتفاعات باعث محدودیت رشد می‌شود، افزایش شدت تابش نور می‌باشد. در این شرایط، گیاهان برای جلوگیری از اثر مضر شدت‌های بالاتر تابش نور، سازگاری‌های مورفوفیزیولوژیکی و بیوشیمیایی متنوعی ایجاد کرده‌اند که به عنوان سازوکارهای حفاظت نوری تعریف می‌شوند. در این مطالعه برای اولین بار، نقش تنش نور زیاد و UVB بر تنظیم سازوکارهای حفاظت نوری در دو اکوتیپ گیاه دارویی پونه‌سای البرزی (*Nepeta crassifolia* Boiss. & Buhse) بررسی شد. در حقیقت، تابش UVB به میزان معینی بر گیاهان دارویی، می‌تواند راهی مناسب برای بدست آوردن مقدار قابل توجهی از متابولیت‌های ثانویه و افزایش ارزش‌های دارویی و اقتصادی آنها باشد.

**مواد و روش‌ها:** سه تا پنج بذر پونه‌سای البرزی از هریک از اکوتیپ‌های ارتفاع پایین (۲۴۰۰ متری) و ارتفاع بالا (۳۵۰۰ متری) در گلدانهای پلاستیکی به عمق ۴۰ سانتی‌متر و قطر ۳۰ سانتی‌متر و حاوی خاک ماسه‌ای پرلیت‌دار به مدت ۱۲ هفته کشت و هر ۷ روز یکبار با آب مقطر آبیاری شدند. گیاهان به شرایط نرمال اتاق رشد شامل دوره نوری ۱۴ ساعت روشنایی و ۱۰ ساعت تاریکی و دمای روز ۲۵ و شب ۱۸ درجه سانتی‌گراد منتقل شدند. گیاهان انتخاب شده به مدت ۱۰ روز با شدت نور ۴۰۰ $\mu mol\ m^{-2}\ s^{-1}$ و ۸۰۰ $\mu mol\ m^{-2}\ s^{-1}$ و با پرتو فرابنفش با دوز ۱۵ و ۳۰ کیلوژول بر متر مربع در روز تیمار شدند. سنجش پارامترهای فلوئورسانس کلروفیل بر روی سومین برگ جوان و قبل از برداشت و توزین گیاهان انجام شد و سنجش رنگیزه‌ها و متابولیت‌ها بر روی نمونه‌های تازه برداشت شده و یا نگهداری شده در ازت مایع انجام شد.

**نتایج:** هنگامی که اکوتیپ‌های مناطق مرتفع (ارتفاع ۳۵۰۰ متری) در معرض تنش ترکیبی (UVB+HL) قرار گرفتند، سازوکارهای حفاظت نوری بهتری در مقایسه با گیاهان ساکن ارتفاع پایین (ارتفاع ۲۴۰۰ متری) نشان دادند. گیاهان ساکن ارتفاع پایین، کاهش کلروفیل و فعالیت فتوشیمیایی را بروز دادند که منجر به وقوع مهار نوری فتوسیستم‌ها شد. وقوع مهار نوری در این گیاهان با کاهش بیشینه عملکرد کوانتومی فتوسیستم II ($F_v/F_m$) و فعالیت کمپلکس فتولیز کننده آب در فتوسیستم II ($F_v/F_o$) همراه بود. مقاومت بالای اکوتیپ‌های مناطق مرتفع در معرض تنش ترکیبی افزایش سازگاری با شرایط نور بالا از طریق تجمع متابولیت‌های آنتی اکسیدانی شامل ترکیبات فنلیک و کاروتنوئیدها انجام شد و عملکرد فتوشیمیایی برگ‌ها افزایش یافت.

**نتیجه‌گیری:** به‌طورکلی تحت تنش ترکیبی در اکوتیپ‌های مرتفع مقادیر فنل کل، فعالیت آنزیم PAL، اسید رزمارینیک و اسید کلروژنیک به‌طور قابل توجهی بیشتر از اکوتیپ‌های کم ارتفاع بود. افزایش مقادیر پارامترهای ذکرشده باعث بهبود فعالیت فتوشیمیایی فتوسنتز و افزایش تحمل اکوتیپ‌های مرتفع به تنش ترکیبی در مقایسه با اکوتیپ‌های ساکن ارتفاع پایین شد. این یافته‌ها اطلاعات مهمی برای سازوکارهای دخیل در حفاظت نوری گیاه پونه‌سای البرزی در برابر تنش‌های نوری ارائه می‌کند که آسیب به گیاهان را به حداقل رسانده و منجر به انتخاب اکوتیپ‌های مقاوم به شرایط تنش با ترکیبات مؤثره بیشتر به منظور استفاده‌های علمی، کشاورزی و صنعتی می‌شود.

**واژه‌های کلیدی:** اسید کلروژنیک، اکوتیپ، فنیل‌آلانین آمونیالیاز، فعالیت فتوشیمیایی، پونه‌سای البرزی، پرتو فرابنفش B.

## مقدمه

قرار گرفتن طولانی‌مدت گیاهان در معرض شدت نور زیاد، سازوکارهای محافظت‌کننده نوری طولانی‌مدت را فعال می‌کند که منجر به پاسخ‌های سازگاری (بوم‌پذیری) می‌شود (Pinnola & Bassi, 2018). افزایش ارتفاع، می‌تواند اثر مضر خشکی و پرتو UVB بر رشد، بهره‌وری و فتوسنتز گیاهان عالی را افزایش دهد (Singh *et al*., 2023). اگرچه شرایط تنش می‌تواند رشد گیاه را به تعویق بیندازد، با وجود این بسیاری از گونه‌های مقاوم سازوکارهای سازگاری متفاوتی را تحت این شرایط کسب کرده‌اند (Elkeilsh *et al*., 2019). در این شرایط، گیاهان برای جلوگیری از اثر مضر شدت‌های بالاتر تابش نور، سازگاری‌های مورفوفیزیولوژیکی و بیوشیمیایی متنوعی ایجاد کرده‌اند که به عنوان مکانیسم‌های حفاظت نوری تعریف می‌شوند (Shi *et al*., 2022؛ Lingwan *et al*., 2023؛ Wu *et al*., 2023).

مکانیسم‌های حفاظت نوری در گیاهان شامل کاهش مهار نوری فتوسیستم II (PSII)، حرکت برگ‌ها و کلروپلاست‌ها، غربال و تعدیل کردن انرژی تابش نوری از طریق تغییر در بیوسنتز کاروتنوئیدها و فلاونوئیدها، افزایش ظرفیت سیستم‌های مهارکننده گونه‌های فعال اکسیژن (ROS)، اتلاف انرژی نور جذب‌شده به عنوان انرژی حرارتی (qE)، جریان چرخه‌ای الکترون (CEF) در اطراف فتوسیستم I (PSI) و مسیر تنفس نوری هستند (Takahashi & Badger, 2011). تجمع فلاونوئیدها و فنل‌ها به عنوان آنتی‌اکسیدان، همچنین افزایش پرولین و پروتئین محلول، نقش حیاتی در تحمل تنش‌های مختلف زیستی و غیرزیستی دارند (Soliman *et al*., 2020). افزایش نسبت کاروتنوئیدها به کلروفیل، از طریق افزایش مخزن رنگیزه چرخه گزانتوفیل، آسیب نور را کاهش می‌دهد (Saleem *et al*., 2020). اتلاف انرژی نور اضافی به عنوان گرما در کمپلکس انباشت نور (LHC) از طریق تنظیم مثبت چرخه گزانتوفیل، از دستگاه فتوسنتزی در برابر آسیب اکسیداتیو محافظت می‌کند. علاوه بر این، گیاهان کاروتنوئیدها را برای تجمع نور (بعنوان رنگیزه‌های جاذب نور) و نقش حفاظت از نور در برگ‌ها ذخیره می‌کنند (Cazzonelli & Pogson, 2010؛ Ashraf & Harris, 2013). قرار گرفتن بیش از حد در معرض نور، باعث تجمع آنتی‌اکسیدآنها و رنگیزه‌های غیر فتوسنتزی مانند ترکیبات فنلی در برگ‌ها به منظور کاهش آسیب نوری می‌شود (Shi *et al*. 2022). به دلیل وجود ساختارهای حلقوی، فلاونوئیدها توانایی جذب الکترون‌های اضافی را دارند که آنها را قادر می‌سازد تا به عنوان جاروب کننده‌های غیرآنزیمی ROS عمل کنند و می‌توانند در برابر آسیب نوری، به‌ویژه ناشی از پرتو فرابنفش، از گیاه محافظت نمایند (Ferreyra *et al*. 2021؛ Shi *et al*., 2022). بعضی ترکیبات فنلی در شدت نور بالا پرتو فرابنفش را غربال می‌کنند (Takahashi & Badger 2011؛ Singh *et al*., 2023). تمام فلاونوئیدها در محدوده پرتو فرابنفش جذب دارند و بیشتر در روپوست سلول‌های گیاهی تجمع می‌یابند تا مقادیر زیاد پرتوفرابنفش را جذب کنند و اجازه عبور به لایه‌های داخلی را ندهند (Ferreyra *et al*., 2021). شدت زیاد پرتو فعال فتوسنتزی (photosynthetically active radiation: (PAR) که همان طول موج‌های لازم برای فراهم آوردن انرژی مورد نیاز فتوسنتز هستند، اغلب با مقادیر زیاد پرتوفرابنفش همراه است که از خورشید به سطح گیاه می‌رسند. همانند تنش نور زیاد، تابش زیاد UV بر گیاهان منجر به تولید ROS و آسیب به DNA و تغییر در متابولیت‌ها می‌شود (Chen *et al*., 2019؛ Yadav *et al*., 2020؛ Zhu *et al*., 2021). به منظور کاهش اثرهای منفی تنش UV-B، گیاهان سیستم‌های جاروب ROS شامل انواع آنزیمی و غیرآنزیمی را فعال می‌سازند (Lee *et al*., 2022؛ Singh *et al*., 2023). در واقع بین فعالیت سیستم آنتی‌اکسیدان و میزان مقاومت به UV-B ارتباط مستقیمی وجود دارد که می‌توان آن را جزء مکانیسم‌های مهم حفاظت نوری دانست و از طریق بررسی آن به میزان حفاظت گیاه از خود در برابر تنش پی برد (Lee *et al*., 2022؛ Shi *et al*., 2022).

علاوه بر سیستم آنتی‌اکسیدان، فلورسانس‌گذاری کلروفیل *a* (O-J-I-P)، اطلاعات دقیقی راجع به مکانیسم‌های حفاظت

نوری مرتبط با وضعیت و عملکرد مراکز واکنش فتوسیستم II تحت تنش‌های محیطی فراهم می‌کند (Habibi, 2017). آزمون JIP، اطلاعاتی درباره جریان انرژی در غشای تیلاکوئیدی، ساختار و عملکرد دستگاه فتوسنتزی و به دام انداختن انرژی برانگیختگی و انتقال الکترون فراهم می‌کند تا شرایط حاکم بر گیاه در پاسخ به تنش را تعیین کند (Habibi, 2021). بنابراین مکانیسم‌های دخیل در حفاظت نوری که گیاهان طی سال‌ها برای رویش و زندگی در زیستگاه طبیعی با ارتفاعات بالا ایجاد کرده‌اند تا تحت تنش‌های نور بالا و پرتو فرابنفش، بقای خود را تضمین کنند، از اهمیت زیادی برخوردار است.

گیاهان دارویی از ارزش و اهمیت خاصی در تأمین بهداشت و سلامت جوامع، هم به لحاظ درمان و هم پیشگیری از بیماری‌ها برخوردار هستند. تولید مواد مؤثره (متابولیت‌های ثانویه) در گیاهان دارویی با هدایت ژنتیکی همراه است، ولی به‌طور بارزی تحت تأثیر عوامل محیطی قرار می‌گیرد. به‌طوری‌که عوامل محیطی سبب تغییراتی در رشد گیاهان دارویی و نیز در کیفیت مواد مؤثره آنها می‌شود. ازاین‌رو، در این تحقیق گیاه دارویی پونه‌سای البرزی به‌علت ترکیب‌های مهم شیمیایی انتخاب شد. تابش UV-B به میزان معینی بر گیاهان دارویی می‌تواند راهی مناسب برای بدست آوردن مقدار قابل توجهی از متابولیت‌های ثانویه و افزایش ارزش دارویی و اقتصادی آنها باشد (Jaiswal *et al*., 2020؛ Lingwan *et al*., 2023). هم اکنون، هیچ اطلاعاتی در مورد نقش تابش UV-B بر تغییرات محتمل در اکوتیپ‌های گیاه دارویی پونه‌سای البرزی در ارتفاعات زیاد و کم وجود ندارد. در این تحقیق فرض شده است که تنوع قابل توجهی در مکانیسم‌های حفاظت نوری و وضعیت جریان الکترون فتوسنتزی بین گیاهان مناطق مرتفع و کم ارتفاع متناسب با ارتفاعی که در آن زیست می‌کنند، وجود دارد. همچنین طی این تحقیق، گیاه ذکرشده از نظر بعضی متابولیت‌های ثانوی مورد برررسی قرار گرفت.

## مواد و روش‌ها

### آماده‌سازی و تیمار گیاهان

پس از جمع‌آوری بذرهای گیاه دارویی پونه‌سای البرزی از ارتفاعات مختلف (جدول ۱)، سه تا پنج بذر از هر اکوتیپ در گلدانهای پلاستیکی به عمق ۴۰ سانتی‌متر و قطر ۳۰ سانتی‌متر و حاوی خاک ماسه‌ای پرلیت‌دار به مدت ۱۲ هفته کشت و هر ۷ روز یکبار با آب مقطر آبیاری شدند. گیاهان به شرایط نرمال اتاق رشد شامل دوره نوری ۱۴ ساعت روشنایی و ۱۰ ساعت تاریکی و دمای روز ۲۵ و شب ۱۸ درجه سانتی‌گراد منتقل شدند. گیاهان انتخاب شده به مدت ۱۰ روز با شدت نور ۴۰۰ $\mu$mol $m^{-2}$ $s^{-1}$ (اندازه‌گیری شده با کوآنتوم سنسور متصل به دستگاه Leaf Chamber Analyser, ADC, UK) و ۸۰۰ $\mu$mol $m^{-2}$ $s^{-1}$ و با پرتو فرابنفش با دوز ۱۵ و ۳۰ کیلوژول بر مترمربع در روز تیمار شدند. سنجش پارامترهای فلوئورسانس کلروفیل بر روی سومین برگ جوان و قبل از برداشت و توزین گیاهان انجام شد و سنجش رنگیزه‌ها و متابولیت‌ها بر روی نمونه‌های تازه برداشت شده و یا نگهداری شده در ازت مایع انجام شد.

جدول ۱- مشخصات محل جمع‌آوری اکوتیپ‌های گیاه دارویی پونه‌سای البرزی (***Nepeta crassifolia***)

**Table 1. Geographical characterization of *Nepeta crassifolia* ecotypes collection sites**

| Ecotype | Collection site | Latitude and Longitude | Altitude (m) |
|---|---|---|---|
| Low elevation ecotype | Pol-e Zanguleh, Mazandaran province | 36° 19’ N, 51° 33’ E | 2400 |
| High elevation ecotype | Labashm Pass, Baladeh, Mazandaran province | 36° 13’ N, 51° 27’ E | 3500 |

**سنجش پارامترهای فلورسانس کلروفیل**

برای تعیین فلورسانس کلروفیل، از دستگاه فلورسانس‌سنج (دستگاه فلوریمتر Pocket PEA، شرکت Hansatech، انگلستان) استفاده شد. پارامترهای فلورسانس کلروفیل در برگ‌های سازش یافته با تاریکی (به مدت حداقل ۲۰ دقیقه) شامل $F_0$ (فلورسانس پایه) و $F_m$ (فلورسانس بیشینه) اندازه‌گیری شد. برای رسم منحنی فلورسانس از آزمون JIP بهره گرفته شد. آزمون JIP داده‌های ثبت شده اولیه توسط دستگاه فلورسانس‌سنج را به پارامترهای بیوفیزیکی تبدیل می‌کند و کمیت مراحل جریان انرژی را طی فتوسیستم II تعیین می‌کند. برای رسم منحنی فلورسانس OJIP، از نور قرمز با طول موج ۶۲۷ نانومتر و شدت ۳۵۰۰ میکرومول/ مترمربع/ثانیه (برای اطمینان از رسیدن به پیک $F_m$) استفاده شد. شاخص‌های زیر در اندازه‌گیری‌های فلورسانس اولیه مورد استفاده قرار گرفت: شدت فلورسانس بیشینه ($F_m$)، شدت فلورسانس در ۵۰µs (به عنوان $F_o$ در نظر گرفته شد)، شدت فلورسانس در ۳۰۰µs ($F_{300\mu s}$) و شدت فلورسانس در ۲ میلی‌ثانیه (مرحله J). برای رسم منحنی گذار فلورسانس کلروفیل از نرم‌افزار PEA Plus V1.10 استفاده شد. در منحنی گذار فلورسانس OJIP برگ‌ها، گذار فلورسانس کلروفیل از سطح پایه «O» (فلورسانس کمینه) به سطح «J» که حدود ۲ میلی‌ثانیه طول می‌کشد، مربوط به احیاء QA توسط فتوسیستم PSII می‌باشد. تداوم فلورسانس از سطح «J» به سطح «I» که حدود ۳۰ میلی‌ثانیه طول می‌کشد با احیاء کامل ذخایر پلاستوکوئینونی (PQ) مرتبط است. گذار فلورسانس از سطح «I» به سطح «P» نتیجه احیاء جایگاه گیرنده الکترون فتوسیستم PSI می‌باشد (Kalaji *et al.*, 2011). در نهایت پارامترهای کارآیی فعالیت کمپلکس آزادکننده اکسیژن ($F_v/F_o$)، میزان جذب نور در فتوسیستم II به ازای هر مرکز واکنش (ABS/RC)، عملکرد کوانتومی انتقال الکترون ($\varphi E_o$)، میزان انتقال الکترون در واحد تهییج شده برگ‌ها ($ET_o/CS$)، شاخص کارآیی فتوسیستم‌ها ($PI_{abs}$) و بیشینه عملکرد کوانتومی فتوسیستم II ($F_v/F_m$) مورد مطالعه قرار گرفتند (Strasser *et al.*, 1995, 2004).

**سنجش رنگیزه‌های برگ**

برای سنجش مقدار رنگیزه‌ها، نمونه‌های گیاهی با آب دوبار تقطیر شستشو شده و بر روی کاغذ صافی خشک شدند. پس از اندازه‌گیری وزن تر (تقریباً ۲۰۰ میلی‌گرم)، نمونه‌ها در داخل ورقه آلومینیومی قرار گرفته و در ازت مایع تا زمان سنجش نگهداری گردیدند. استخراج ماده مورد نظر با استفاده از استن بر روی یخ و با هاون چینی سرد انجام شد. غلظت کلروفیل و کاروتنوئیدها به وسیله اسپکتروفتومتر (Shimadzu AA-6500, Kyoto, Japan)، بعد از ۲۴ ساعت استخراج در استن ۱۰۰ درصد تعیین شد. جذب در ۶۶۲، ۶۴۵ و ۴۷۰ نانومتر اندازه‌گیری شده و غلظت کلروفیل *a*، *b* و کل و کاروتنوئیدها طبق فرمول‌های مربوط محاسبه شد (Lichtentaler & Wellburn, 1985).

**سنجش پرولین آزاد**

برای استخراج و سنجش پرولین آزاد در نمونه‌ها، از روش Bates و همکاران (۱۹۷۳) استفاده شد. استخراج عصاره‌های گیاهی در محلول آبی سولفوسالیسیک اسید ۳٪ انجام شد و به مدت پنج دقیقه در ۲۰۰۰g سانتریفوژ گردید. برای سنجش پرولین، معرف نین‌هیدرین با حل کردن ۱/۲۵ گرم از آن در ۳۰ میلی‌لیتر اسید استیک گلاسیال و ۲۰ میلی‌لیتر اسید فسفریک ۶ M تهیه شد. یک میلی‌لیتر از روشناور در لوله آزمایش ریخته و بر روی آن دو میلی‌لیتر آب مقطر، دو میلی‌لیتر معرف نین‌هیدرین و دو میلی‌لیتر اسید استیک گلاسیال اضافه شد. محلول حاصل پس از هم زدن به مدت یک ساعت در حمام آب گرم با دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفته و بعد بلافاصله در داخل یخ سرد شده و به دمای اتاق رسید. به محلول ذکرشده چهار میلی‌لیتر تولوئن افزوده و به مدت ۳۰ ثانیه به هم زده شد. در این حالت دو فاز تشکیل شده و پرولین وارد فاز فوقانی رنگی (فاز تولوئن) گردید. همزمان محلول‌های استاندارد پرولین در محدوده صفر تا ۱۳/۸ میلی‌گرم در میلی‌لیتر (صفر تا ۶۰ میکرومولار) تهیه شد. فاز فوقانی نمونه‌های گیاهی و محلول‌های استاندارد را جدا کرده و جذب آنها در ۵۲۰ nm توسط اسپکتروفتومتر

اندازه‌گیری گردید. در نهایت مقدار پرولین نمونه‌ها برحسب nmol $mg^{-1}$ protein محاسبه گردید.

**سنجش کربوهیدرات‌های محلول (قند محلول)**

مقدار ۰/۰۱ گرم ماده خشک گیاهی را توزین نموده و درون لوله‌های آزمایش ریخته و مقدار ۱۰ میلی‌لیتر اتانول ۸۰ درصد به آنها اضافه شد. درب لوله‌ها با پارافیلم محکم بسته شد و به مدّت یک هفته در یخچال نگهداری گردید. محلول لوله‌ها با کاغذ واتمن شماره یک صاف و روشناور برای سنجش قند محلول استفاده شد. مقدار ۲ میلی‌لیتر از روشناور به لوله‌های حاوی ۵ میلی‌لیتر اسیدسولفوریک ۹۸ درصد افزوده شد. پس از ۳۰ دقیقه جذب نمونه‌ها با دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۴۸۵ نانومتر قرائت شد. غلظت قند نمونه‌ها با استفاده از منحنی استاندارد گلوکز ترسیم شده با غلظت‌های ۱۰ تا ۵۰ میلی‌گرم در لیتر بدست آمد (Cao *et al*., 2013).

**سنجش فعالیت آنزیم فنیل‌آلانین آمونیالیاز**

فعالیت فنیل‌آلانین آمونیالیاز (PAL) مطابق روش Zucker (1965) اندازه‌گیری شد. ابتدا عصاره آنزیمی در بافر ۵۰ میلی‌مولار بافر فسفات سدیم با pH=۷/۸ و حاوی اتیلن دی‌آمین تترااستیک اسید (EDTA) با غلظت ۲ میلی‌مولار و ۱۸ میلی‌مولار مرکاپتواتانول و ۰/۱ درصد تریتون X-100استخراج شد. عصاره‌ها به مدت ۱۵ دقیقه در ۱۵۰۰۰ دور سانتریفوژ شده و روشناور برای سنجش فعالیت مورد استفاده قرار گرفت. ۱۰۰ میکرولیتر از عصاره به یک میلی‌لیتر از محلول واکنشی شامل ۵۰ میلی‌مولار بافر سدیم بورات (pH=۸/۸) و ۵ میلی‌مولار L–فنیل آلانین اضافه شده و مخلوط حاصل به مدت ۶۰ دقیقه در دمای ۳۰ درجه به منظور انجام واکنش قرار گرفت. جذب نمونه‌ها در ۲۹۰ نانومتر توسط اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد. یک واحد فعالیت آنزیم براساس غلظت پروتئین آنزیمی لازم برای تولید یک نانومول سینامیک اسید محاسبه شد.

**سنجش فنل کل**

از آنجایی که بیشترین ترکیبات فنلی گیاهان از نوع پلی‌فنل‌ها می‌باشد، برای سنجش فنل کل از روش معرف فنلی فولین سیوکالتو (Mavi *et al*., 2004)، استفاده شد. برای این منظور، ۵ گرم برگ پس از پودر شدن توسط هاون در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر به مدت ۳۰ دقیقه جوشانده شد و با استفاده از کاغذ واتمن شماره ۴۲ صاف گردید. غلظت ۲۵۰ میکرولیتر معرف فولین با ۲۵ میکرولیتر عصاره و ۵۰۰ میکرولیتر محلول آبی کربنات سدیم ۲۰ درصد مخلوط شد. نمونه‌های شاهد فاقد عصاره بودند. پس از قرار دادن نمونه‌ها در دمای آزمایشگاه به مدت ۳۰ دقیقه جذب آنها در طول موج ۷۶۵ نانومتر اندازه‌گیری شد و غلظت فنل کل براساس منحنی استاندارد اسید گالیک به دست آمد. برای هر عصاره این سنجش ۴ بار تکرار شد و میانگین فنل کل موجود در عصاره تیمارها به صورت میلی‌گرم اسید گالیک در گرم بافت بیان شد.

**سنجش فلاونوئیدها**

برای سنجش غلظت فلاونوئیدها، نمونه‌های برگ در متانول حاوی آلومینیوم کلراید دو درصد استخراج شده و پس از سانتریفوژ، روشناور برداشت و جذب آن در طول موج ۴۱۵ نانومتر قرائت شد. از غلظت‌های مختلف کوئرستین (صفر تا ۱۶ میلی‌گرم در لیتر) به عنوان استاندارد استفاده گردید و غلظت فلاونوئیدها براساس واحد میلی‌گرم کوئرستین بر گرم وزن تر محاسبه شد (Simon *et al*., 1974).

**سنجش آنتوسیانین**

برای سنجش آنتوسیانین، عصاره حاصل از استخراج در حلال متانول، هیدروکلریک اسید (۹۸ v/v : ۲) به مدت ۲۰ دقیقه در g ۱۰۰۰ سانتریفوژ گردید. ۰/۵ میلی‌لیتر از محلول روشناور با ۴۹/۵ میلی‌لیتر از بافر یک میلی‌مولار MES(2-(N-morpholino) ethanesulfonic acid) با pHهای ۱ و ۴/۵ در بالن ژوژه‌های ۵۰ میلی‌لیتری ریخته شد، پس از ۳۰ دقیقه جذب در ۵۱۰ نانومتر اندازه‌گیری گردید. مقدار آنتوسیانین براساس FW -3-mg cyanidin

$glucoside\ g^{-1}$ گزارش شد.

**بررسی محتوای اسیدهای فنلی و فلاونوئیدها با استفاده از روش کروماتوگرافی مایع با کارآیی بالا (HPLC)**

پودر خشک برگ (۰/۵ گرم) با استفاده از متانول (۵ میلی لیتر) عصاره‌گیری و بعد فیلتر شد. مایع رویی به مدت ۳ دقیقه در ۳۰۰۰ گرم سانتریفوژ شد و قبل از آنالیز HPLC فیلتر گردید. برای منحنی کالیبراسیون، محلول‌های ذخیره ترکیبات فنلی شناسایی شده با متانول تهیه شد تا غلظت یک میلی‌گرم در میلی‌لیتر به دست آید و منحنی‌های کالیبراسیون برای نمونه‌های استاندارد با رسم مساحت پیک ترکیبات فنلی شناسایی شده در برابر غلظت آنها از طریق رقیق‌سازی ساخته شد. از هر محلول موجود در متانول شش غلظت (0.78ppm، 1.58 ppm، 3.12 ppm، 6.25 ppm و 25ppm ) تهیه شد. آنالیز HPLC نمونه‌ها به کمک سیستم ۱۲۶۰Infinity Agilent ( آمریکا) مجهز به پمپ HPLC Quaternery به همراه اتوسمپلر با لوپ‌های ۲۰ میکرولیتر و آشکارساز PDA انجام شد. جداسازی نمونه‌ها با استفاده از ستون فاز معکوس C18 (Beckman، آمریکا ) با مشخصات (قطر داخلی ۴/۶ میلی‌متر، طول ۱۵۰ میلی‌متر و اندازه ذره ۵ میکرومتر) در دمای اتاق انجام شد. نرم‌افزار Chemstation برای بررسی داده‌های کروماتوگرافی استفاده شد. حجم تزریق نمونه‌ها ۲۰ میکرولیتر و سرعت جریان فاز متحرک ۰/۷ میلی‌لیتر در دقیقه بود. اسیدهای فنلی و فلاونوئیدهای مورد مطالعه در طول موج‌های ۲۵۴، ۲۷۰، ۳۰۵، ۳۳۰ و ۳۸۰ نانومتر شناسایی شدند. جداسازی با استفاده از اسید تری فلوئور و استیک ۰/۰۲ درصد در آب (شستشوی A) و متانول (شستشوی D) انجام شد. کمی‌سازی هر پیک اسیدهای فنلی با استفاده از منحنی‌های کالیبراسیون در محدوده ۰/۲۵ ppm تا ۰/۷۸ انجام شد و معادلات آنها اندازه‌گیری گردید.

**اندازه‌گیری پروتئین کل**

عصاره پروتئینی در بافر فسفات سدیم با غلظت ۵۰ میلی‌مولار و pH=۶/۸ استخراج شده و به مدت ۲۰ دقیقه در ۱۵۰۰۰ دور سانتریفوژ شد. از روشناور حاصل برای سنجش پروتئین کل به روش برادفورد (Bradford, 1976) استفاده گردید.

**طرح آزمایشی و تجزیه داده‌ها**

آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار اجرا شد. شدت نور ۸۰۰ میکرومول بر مترمربع در ثانیه و پرتو فرابنفش در سه سطح صفر، ۱۵ و ۳۰ کیلوژول بر مترمربع در روز اعمال شدند. تجزیه‌وتحلیل داده‌ها با کمک نرم‌افزار سیگما استات (نسخه ۳/۵) با استفاده از آزمون توکی در سطح پنج درصد انجام گردید.

## نتایج

**پارامترهای رشد**

وزن خشک اندام هوایی (SDW) گیاه دارویی پونه‌سای البرزی ساکن ارتفاع کم، بیشترین افزایش معنی‌دار را تحت تأثیر تیمار نور زیاد (HL) به تنهایی نشان داد. همچنین SDW تحت اعمال تنش‌های UVB15 و HL+UVB30 نیز افزایش معنی‌داری داشت. در مقابل گیاهان مناطق مرتفع در هیچ تیماری افزایش معنی‌داری در وزن خشک اندام‌های هوایی گیاه از خود نشان ندادند. گیاهان مناطق مرتفع در اثر تیمار نور زیاد (HL) به تنهایی، بیشترین کاهش معنی‌دار را نشان دادند. در هر دو اکوتیپ گیاه، در شرایط تیمارهای UVB30 به تنهایی و تنش ترکیبی HL+UVB15، وزن خشک اندام‌های هوایی گیاه دارویی پونه‌سای البرزی در مقایسه با گیاه شاهد تغییری پیدا نکرد. گیاهان هر دو اکوتیپ، بیشتر تحت تأثیر تنش‌های منفرد قرار گرفتند (جدول ۲).

جدول ۲- تأثیر شدت نور و پرتوفرابنفش بر وزن خشک اندام هوایی اکوتیپ‌های مختلف گیاه دارویی پونه‌سای البرزی (*Nepeta crassifolia*)

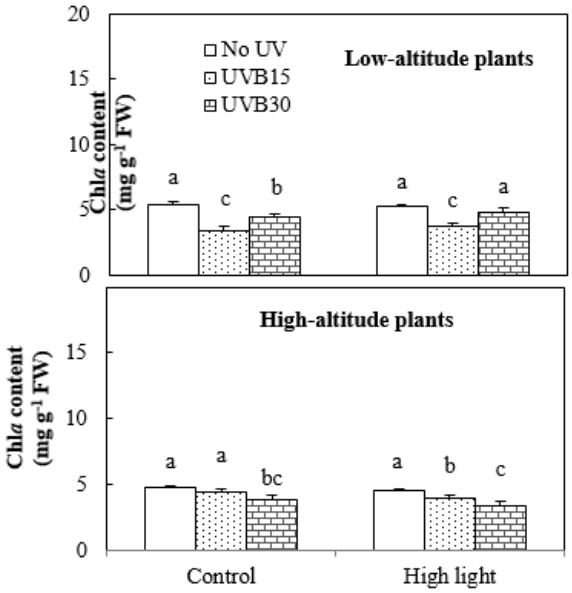
**Table 1. Effect of light intensity and UVB on shoot dry weight of different *Nepeta crassifolia* ecotypes**

| Treatment | Shoot dry weight (g.plant$^{-1}$) |
|---|---|
| **Low altitude ecotypes** | |
| Control | 0.35±0.02$^{c}$ |
| UVB15 | 0.40±0.01$^{b}$ |
| UVB30 | 0.36±0.01$^{c}$ |
| HL | 0.80±0.02$^{a}$ |
| HL+UVB15 | 0.33±0.01$^{c}$ |
| HL+UVB30 | 0.39±0.02$^{b}$ |
| **High altitude ecotypes** | |
| Control | 0.42±0.02$^{a}$ |
| UVB15 | 0.30±0.02$^{c}$ |
| UVB30 | 0.42±0.02$^{a}$ |
| HL | 0.28±0.02$^{c}$ |
| HL+UVB15 | 0.45±0.01$^{a}$ |
| HL+UVB30 | 0.37±0.02$^{b}$ |

Means (± SD) followed by the same letter are not significantly different at 5% probability level (Tukey test).
Treatments included high light (HL, 800 $\mu$mol $m^{-2}$ $s^{-1}$) and three UV-B levels (0, 15, and 30 kJ $m^{-2}$ $d^{-1}$). The control treatment was 400 $\mu$mol $m^{-2}$ $s^{-1}$ without UV-B (0 kJ $m^{-2}$ $d^{-1}$).

**رنگیزه‌های فتوسنتزی**

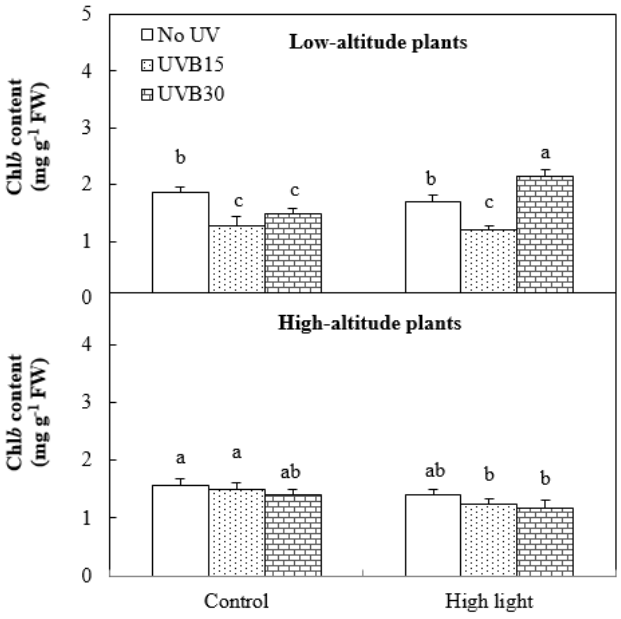
گیاهان مناطق مرتفع، تحت تأثیر تنش UVB30 به تنهایی و تنش ترکیبی UVB+HL، بیشترین واکنش را با کاهش معنی‌دار محتوای کلروفیل *a* در برگ‌های خود نشان دادند (شکل ۱). محتوای کلروفیل *b* در گیاهان مناطق مرتفع تحت تنش‌های مختلف در مقایسه با شاهد، تغییر معنی‌داری نکرد. در اکوتیپ‌های مناطق کم ارتفاع، محتوای کلروفیل *a* و *b* تحت تأثیر تنش UVB به تنهایی و تنش ترکیبی UVB15+HL کاهش معنی‌داری پیدا کردند. کلروفیل *a* تحت اعمال تنش ترکیبی UVB30+HL تغییری نکرد اما کلروفیل *b* افزایش معناداری را نشان داد. الگوی تجمع کاروتنوئیدها در گیاهان مناطق مرتفع و کم ارتفاع، در پاسخ به تنش‌ها، مشابه عمل کرد، به این صورت که در هر دو اکوتیپ، در حضور دوزهای مختلف UVB به تنهایی، تجمع کاروتنوئیدها تغییر معناداری نشان نداد ولی تجمع کاروتنوئیدها در پاسخ به تنش ترکیبی، تحت تنش UVB30+HL افزایش و تحت تنش UVB15+HL کاهش پیدا کرد (شکل ۳).




شکل ۱- تأثیر شدت نور و پرتوفرابنفش بر محتوای کلروفیل ***a*** در برگ اکوتیپ‌های مختلف گیاه دارویی پونه‌سای البرزی (***Nepeta crassifolia***)

**Figure 1. Effect of light intensity and UVB on leaves chlorophyll *a* content of different *Nepeta crassifolia* ecotypes**

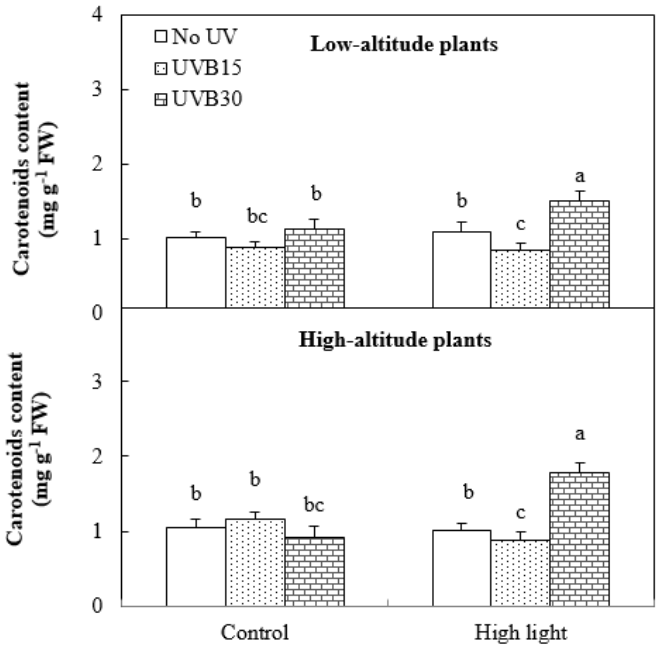
Means (± SD) followed by the same letter are not significantly different at 5% probability level (Tukey test).
Treatments included high light (HL, 800 $\mu$mol $m^{-2}$ $s^{-1}$) and three UV-B levels (0, 15, and 30 kJ $m^{-2}$ $d^{-1}$). The control treatment was 400 $\mu$mol $m^{-2}$ $s^{-1}$ without UV-B (0 kJ $m^{-2}$ $d^{-1}$).




شکل ۲- تأثیر شدت نور، پرتو فرابنفش و ترکیب آنها بر محتوای کلروفیل ***b*** در برگ‌های اکوتیپ‌های مناطق مرتفع و کم ارتفاع گیاه دارویی پونه‌سای البرزی (***Nepeta crassifolia***).

**Figure 2. The Effect of light intensity, UVB and their combination on the chlorophyll *b* contents in leaves of *Nepeta crassifolia* plants growing at low and high altitudes.**

Bars indicated with the same letter within each altitude site are not significantly different ($p<0.05$ Tukey test). Values are the mean ± SD (n=4).
Treatments consisted of high light (HL, 800 µmol $m^{-2}$ $s^{-1}$) and three UV-B levels (0, 15, and 30 kJ $m^{-2}$ $d^{-1}$). The control treatment was 400 µmol $m^{-2}$ $s^{-1}$ without UV-B (0 kJ $m^{-2}$ $d^{-1}$).




شکل ۳- تأثیر شدت نور، پرتو فرابنفش و ترکیب آنها بر محتوای کاروتنوئید در برگ‌های اکوتیپ‌های مناطق مرتفع و کم ارتفاع گیاه دارویی پونه‌سای البرزی (***Nepeta crassifolia***).

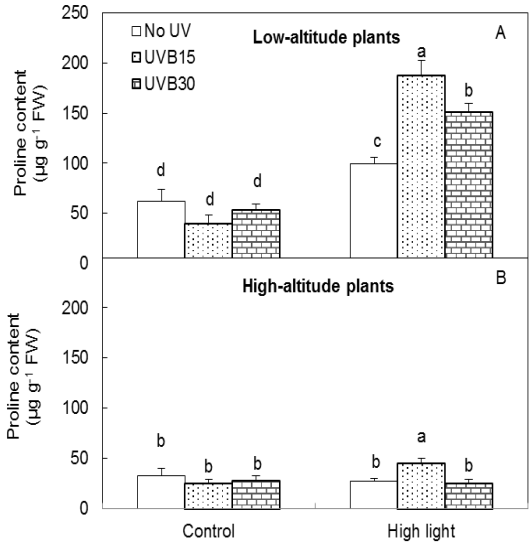
**Figure 3. The Effect of light intensity, UVB and their combination on the carotenoids contents in leaves of *Nepeta crassifolia* plants growing at low and high altitudes.**

Bars indicated with the same letter within each altitude site are not significantly different ($p<0.05$ Tukey test). Values are the mean ± SD (n=4). Treatments consisted of high light (HL, 800 µmol $m^{-2}$ $s^{-1}$) and three UV-B levels (0, 15, and 30 kJ $m^{-2}$ $d^{-1}$). The control treatment was 400 µmol $m^{-2}$ $s^{-1}$ without UV-B (0 kJ $m^{-2}$ $d^{-1}$).

**مقدار پرولین و قند محلول**

گیاهان مناطق کم ارتفاع تحت تأثیر تنش نور بالا (شامل نور بالا به تنهایی و تنش‌های ترکیبی)، افزایش معناداری در محتوای پرولین نشان دادند. محتوای پرولین در هر دو اکوتیپ مناطق مرتفع و کم ارتفاع تحت تأثیر تنش UVB به تنهایی قرار نگرفتند اما تحت تنش ترکیبی UVB15+HL بیشترین افزایش معنی‌دار را در مقایسه با شاهد نشان دادند (شکل ۴). مقدار پرولین در گیاهان مناطق مرتفع به‌طورکلی بیشتر از گیاهان کم ارتفاع است (شکل ۴).

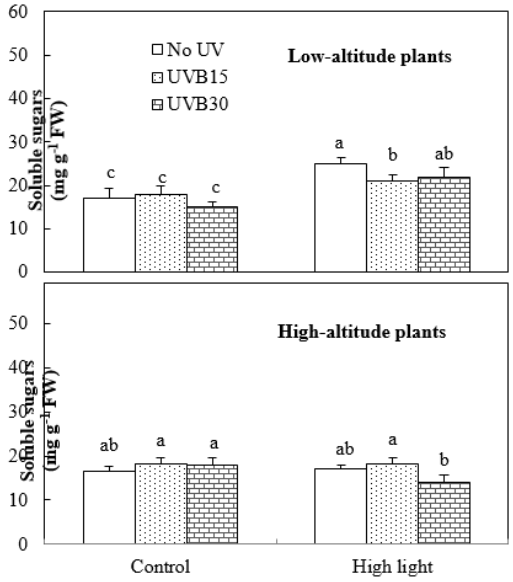
مقدار قند محلول در هر دو اکوتیپ تحت تأثیر تنش UVB به تنهایی (نور کم) قرار نگرفت. در گیاهان مناطق کم ارتفاع تحت تنش نور زیاد، میزان قند محلول افزایش معنی‌داری نشان داد اما در اکوتیپ‌های مرتفع تیمارها تفاوت معنی‌داری با شاهد نداشتند (شکل ۵). محتوای قند محلول در گیاهان مناطق کم ارتفاع، به‌طورکلی نسبت به گیاهان مناطق مرتفع بیشتر بود.




شکل ۴- تأثیر شدت نور، پرتو فرابنفش و ترکیب آنها بر محتوای پرولین در برگ‌های اکوتیپ‌های مناطق مرتفع و کم ارتفاع گیاه دارویی پونه‌سای البرزی (***Nepeta crassifolia***).

**Figure 4. The Effect of light intensity, UVB and their combination on the proline contents in leaves of *Nepeta crassifolia* plants growing at low and high altitudes.**

Bars indicated with the same letter within each altitude site are not significantly different ($p<0.05$ Tukey test). Values are the mean ± SD (n=4). Treatments consisted of high light (HL, 800 µmol $m^{-2}$ $s^{-1}$) and three UV-B levels (0, 15, and 30 kJ $m^{-2}$ $d^{-1}$). The control treatment was 400 µmol $m^{-2}$ $s^{-1}$ without UV-B (0 kJ $m^{-2}$ $d^{-1}$).




شکل ۵- تأثیر شدت نور، پرتو فرابنفش و ترکیب آنها بر محتوای قند محلول در برگ‌های اکوتیپ‌های مناطق مرتفع و کم ارتفاع گیاه دارویی پونه‌سای البرزی (***Nepeta crassifolia***).

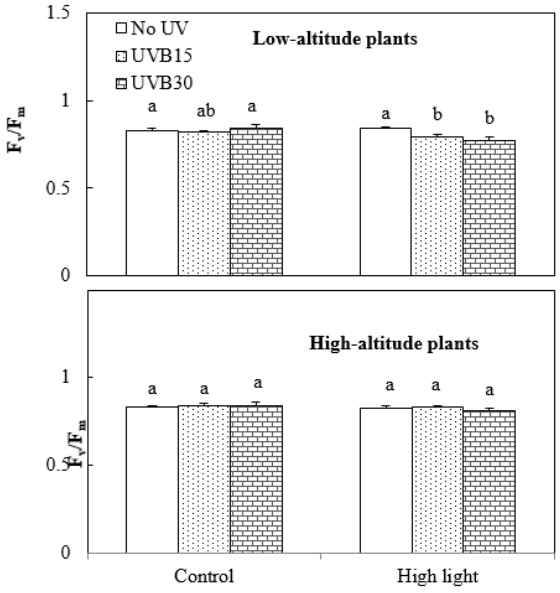
**Figure 5. The Effect of light intensity, UVB and their combination on the soluble sugars contents in leaves of *Nepeta crassifolia* plants growing at low and high altitudes.**

Bars indicated with the same letter within each altitude site are not significantly different ($p<0.05$ Tukey test). Values are the mean ± SD (n=4). Treatments consisted of high light (HL, 800 µmol $m^{-2}$ $s^{-1}$) and three UV-B levels (0, 15, and 30 kJ $m^{-2}$ $d^{-1}$). The control treatment was 400 µmol $m^{-2}$ $s^{-1}$ without UV-B (0 kJ $m^{-2}$ $d^{-1}$).

**پارامترهای فلورسانس کلروفیل**

در این مطالعه، بیشینه عملکرد کوانتومی فتوسیستم II ( $F_v/F_m$ ) در گیاهان مناطق کم ارتفاع تحت تنش ترکیبی UVB با نور زیاد، کاهش پیدا کرد، در حالی که $F_v/F_m$ در گیاهان مناطق مرتفع تحت تنش‌ها در قیاس با گیاهان شاهد تغییری نداشت (شکل ۶). به دنبال آن، فعالیت کمپلکس فتولیز کننده آب در فتوسیستم II ($F_v/F_o$) در برگ‌های گیاهان مناطق کم ارتفاع تحت تنش توأم UVB+HL به صورت معنی‌داری کاهش پیدا کرد (شکل ۷)، اما در گیاهان مناطق مرتفع، فعالیت کمپلکس فتولیز کننده آب در فتوسیستم II ($F_v/F_o$) تحت تنش‌ها تغییری نکرد. در مقایسه با گیاهان مناطق کم ارتفاع، جالب توجه است که گیاهان مناطق مرتفع مقادیر $F_v/F_m$ و $F_v/F_o$ را در محدوده گیاهان شاهد حفظ کردند.

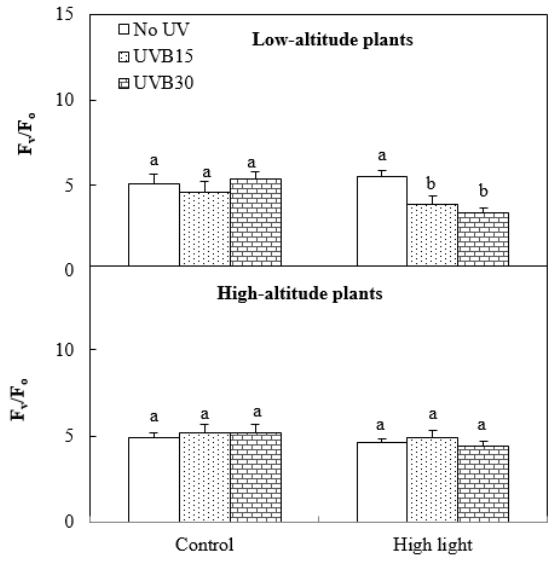
شاخص کارایی فتوسیستم‌ها ($PI_{abs}$) در گیاهان مناطق مرتفع تحت تابش UVB، نور زیاد و تنش UVB15+HL افزایش معنی‌داری پیدا کرد اما گیاهان مناطق کم ارتفاع تحت تنش‌های ترکیبی UVB+HL کاهش قابل توجهی در مقدار شاخص کارایی فتوسیستم‌ها پیدا کردند. همچنین در گیاهان کم ارتفاع، $PI_{abs}$ تحت تنش‌های UVB به تنهایی و نور بالا به تنهایی افزایش یافت. هر دو اکوتیپ در تنش‌های UVB به تنهایی افزایش معنی‌دار شاخص کارایی فتوسیستم‌ها ( $PI_{abs}$)را نشان دادند (شکل ۸).




**شکل ۶- تأثیر شدت نور، پرتو فرابنفش و ترکیب آنها بر بیشینه عملکرد کوانتومی فتوسیستم II ($F_v/F_m$) در برگ‌های اکوتیپ‌های مناطق مرتفع و کم ارتفاع گیاه دارویی پونه‌سای البرزی (*Nepeta crassifolia*).**

**Figure 6. The Effect of light intensity, UVB and their combination on the maximum quantum yield ($F_v/F_m$) in leaves of *Nepeta crassifolia* plants growing at low and high altitudes.**

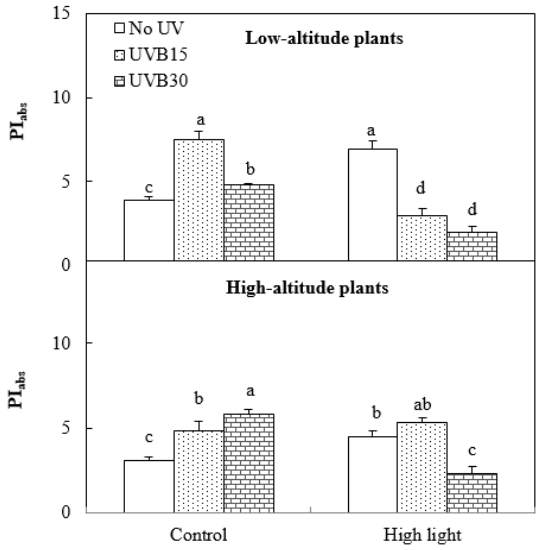
Bars indicated with the same letter within each altitude site are not significantly different ($p<0.05$ Tukey test). Values are the mean ± SD (n=4). Treatments consisted of high light (HL, 800 µmol $m^{-2}$ $s^{-1}$) and three UV-B levels (0, 15, and 30 kJ $m^{-2}$ $d^{-1}$). The control treatment was 400 µmol $m^{-2}$ $s^{-1}$ without UV-B (0 kJ $m^{-2}$ $d^{-1}$).




شکل ۷- تأثیر شدت نور، پرتو فرابنفش و ترکیب آنها بر فعالیت کمپلکس فتولیزکننده آب در فتوسیستم II ($F_v/F_o$) در برگ‌های اکوتیپ‌های مناطق مرتفع و کم ارتفاع گیاه دارویی پونه‌سای البرزی (***Nepeta crassifolia***).

**Figure 7. The Effect of light intensity, UVB and their combination on the oxygen-evolving complex efficiency of PSII ($F_v/F_o$) in leaves of *Nepeta crassifolia* plants growing at low and high altitudes.**

Bars indicated with the same letter within each altitude site are not significantly different ($p<0.05$ Tukey test). Values are the mean ± SD (n=4). Treatments consisted of high light (HL, 800 µmol $m^{-2}$ $s^{-1}$) and three UV-B levels (0, 15, and 30 kJ $m^{-2}$ $d^{-1}$). The control treatment was 400 µmol $m^{-2}$ $s^{-1}$ without UV-B (0 kJ $m^{-2}$ $d^{-1}$).




شکل ۸- تأثیر شدت نور، پرتو فرابنفش و ترکیب آنها بر شاخص کارآیی فتوسیستم‌ها ($PI_{abs}$) در برگ‌های اکوتیپ‌های مناطق مرتفع و کم ارتفاع گیاه دارویی پونه‌سای البرزی (***Nepeta crassifolia***).

**Figure 8. The Effect of light intensity, UVB and their combination on the performance index ($PI_{abs}$) in leaves of *Nepeta crassifolia* plants growing at low and high altitudes.**

Bars indicated with the same letter within each altitude site are not significantly different ($p<0.05$ Tukey test). Values are the mean ± SD (n=4). Treatments consisted of high light (HL, 800 µmol $m^{-2}$ $s^{-1}$) and three UV-B levels (0, 15, and 30 kJ $m^{-2}$ $d^{-1}$). The control treatment was 400 µmol $m^{-2}$ $s^{-1}$ without UV-B (0 kJ $m^{-2}$ $d^{-1}$).

**متابولیسم فنلی (مقدار فلاونوئید و آنتوسیانین و HPLC)**

مقدار فلاونوئیدها در گیاهان مناطق کم ارتفاع تحت تأثیر اعمال تنش نور زیاد و تنش ترکیبی UVB+HL، افزایش معنی‌داری پیدا کردند که بیشترین افزایش را طی تیمار UVB30+HL نشان دادند. مقدار فلاونوئیدها به‌طورکلی در گیاهان مناطق مرتفع بیشتر از گیاهان کم ارتفاع بود. گیاهان مناطق مرتفع تحت تأثیر اعمال تنش‌های UVB به تنهایی یا تنش ترکیبی UVB+HL، افزایش معنی‌داری در مقدار فلاونوئید نشان دادند که مؤید این مطلب است که گیاهان مناطق مرتفع با افزایش فلاونوئیدها در پاسخ به تنش UVB عمل می‌کنند (شکل ۹).

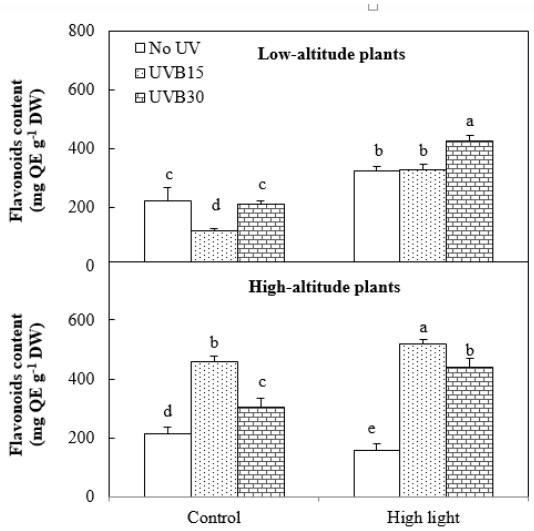
مقدار آنتوسیانین در گیاهان مناطق کم ارتفاع، بجز افزایش معنی‌دار تحت تنش UVB30، تحت تأثیر هیچ تیمار دیگری قرار نگرفت. در گیاهان مناطق مرتفع نیز فقط شاهد کاهش معنی‌دار مقدار آنتوسیانین تحت اعمال تیمارهای نور زیاد به تنهایی و تنش ترکیبی UVB15+HL بودیم (شکل ۱۰).

فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیالیاز (PAL)، در گیاهان کم ارتفاع تحت تأثیر اعمال تیمار UVB به تنهایی قرار نگرفت، اما نور زیاد و ترکیب آن با UVB منجر به افزایش معنی‌دار فعالیت آنزیم PAL شد. گیاهان مناطق مرتفع در پاسخ به تنش نور زیاد و تنش ترکیبی UVB+HL، فعالیت آنزیم PAL را افزایش دادند که در تیمارهای نور زیاد و UVB30+HL افزایش معنی‌دار بود. فعالیت آنزیم PAL در گیاهان مناطق مرتفع تحت تنش UVB به تنهایی، کاهش پیدا کرد (شکل ۱۱).

ما اسیدهای فنلیک اصلی در عصاره برگی را با استفاده از تکنیک HPLC اندازه‌گیری کردیم. افزایش معنی‌دار اسید کلروژنیک در گیاهان کم ارتفاع تحت تنش UVB15+HL و UVB15 مشاهده شد اما گیاهان مناطق مرتفع در همین تیمارها کاهش معنی‌دار نشان دادند و بقیه تیمارهای هر دو اکوتیپ تغییری در میزان اسید کلروژنیک نشان ندادند (شکل ۱۲).

محتوای اسید کافئیک در گیاهان مناطق کم ارتفاع تحت تأثیر اعمال تیمارهای پرتو فرابنفش (UVB)، نور زیاد (HL) و ترکیبی از نور زیاد و UVB (UVB+HL) افزایش معنی‌داری پیدا کرد. در گیاهان مناطق مرتفع نیز تحت تنش‌های پرتو فرابنفش به تنهایی (UVB) و تنش ترکیبی UVB15+HL افزایش معنی‌دار اسید کافئیک مشاهده شد. در واقع اسید کافئیک که از اسیدهای فنلیک می‌باشد در هر دو اکوتیپ تحت تنش UVB به تنهایی و تنش UVB15+HL افزایش یافت (شکل ۱۳).

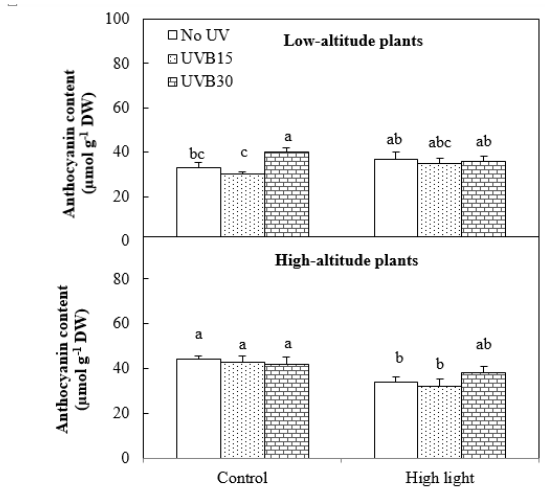
مقدار اسید رزمارینیک در گیاهان مناطق مرتفع تحت تیمارهای UVB30 و UVB15+HL افزایش معنی‌داری پیدا کرد که بیشترین مقدار اسید رزمارینیک در تیمار UVB30 اندازه‌گیری شد، اما مقدار اسید رزمارینیک در تیمارهای نور زیاد به تنهایی، UVB15 و تنش ترکیبی UVB30+HL، کاهش معنی‌داری را در مقایسه با شاهد نشان داد. مقدار اسید رزمارینیک در گیاهان مناطق کم ارتفاع در تیمارهای نور زیاد به تنهایی، UVB30 و تنش ترکیبی UVB15+HL افزایش معنی‌داری پیدا کرد (شکل ۱۴).




شکل ۹- تأثیر شدت نور، پرتو فرابنفش و ترکیب آنها بر محتوای فلاونوئید در برگ‌های اکوتیپ‌های مناطق مرتفع و کم ارتفاع گیاه دارویی پونه‌سای البرزی (***Nepeta crassifolia***).

**Figure 9. The Effect of light intensity, UVB and their combination on the total flavonoids in leaves of *Nepeta crassifolia* plants growing at low and high altitudes.**

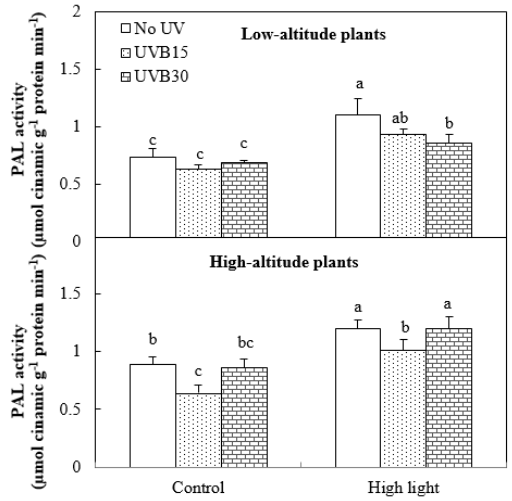
Bars indicated with the same letter within each altitude site are not significantly different ($p<0.05$ Tukey test). Values are the mean ± SD (n=4). Treatments consisted of high light (HL, 800 µmol $m^{-2}$ $s^{-1}$) and three UV-B levels (0, 15, and 30 kJ $m^{-2}$ $d^{-1}$). The control treatment was 400 µmol $m^{-2}$ $s^{-1}$ without UV-B (0 kJ $m^{-2}$ $d^{-1}$).




شکل ۱۰- تأثیر شدت نور، پرتو فرابنفش و ترکیب آنها بر محتوای آنتوسیانین در برگ‌های اکوتیپ‌های مناطق مرتفع و کم ارتفاع گیاه دارویی پونه‌سای البرزی (***Nepeta crassifolia***).

**Figure 10. The Effect of light intensity, UVB and their combination on the anthocyanin content in leaves of *Nepeta crassifolia* plants growing at low and high altitudes.**

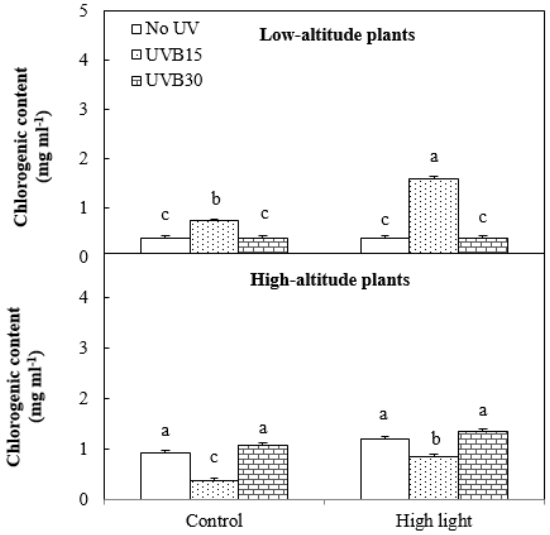
Bars indicated with the same letter within each altitude site are not significantly different ($p<0.05$ Tukey test). Values are the mean ± SD (n=4). Treatments consisted of high light (HL, 800 µmol $m^{-2}$ $s^{-1}$) and three UV-B levels (0, 15, and 30 kJ $m^{-2}$ $d^{-1}$). The control treatment was 400 µmol $m^{-2}$ $s^{-1}$ without UV-B (0 kJ $m^{-2}$ $d^{-1}$).




شکل ۱۱- تأثیر شدت نور، پرتو فرابنفش و ترکیب آنها بر فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیالیاز (**PAL**) در برگ‌های اکوتیپ‌های مناطق مرتفع و کم ارتفاع گیاه دارویی پونه‌سای البرزی (***Nepeta crassifolia***).

**Figure 11. The Effect of light intensity, UVB and their combination on the activity of phenylalanine ammonia-lyase (PAL) in leaves of *Nepeta crassifolia* plants growing at low and high altitudes.**

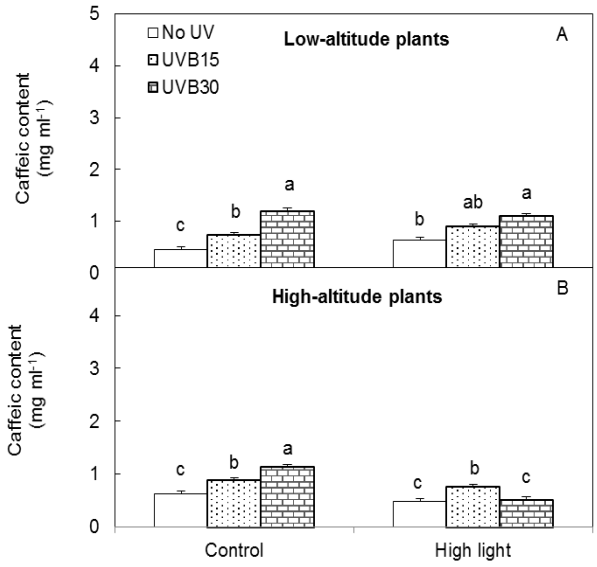
Bars indicated with the same letter within each altitude site are not significantly different ($p<0.05$ Tukey test). Values are the mean ± SD (n=4). Treatments consisted of high light (HL, 800 µmol $m^{-2}$ $s^{-1}$) and three UV-B levels (0, 15, and 30 kJ $m^{-2}$ $d^{-1}$). The control treatment was 400 µmol $m^{-2}$ $s^{-1}$ without UV-B (0 kJ $m^{-2}$ $d^{-1}$).




شکل ۱۲- تأثیر شدت نور، پرتو فرابنفش و ترکیب آنها بر محتوای اسید کلروژنیک در برگ‌های اکوتیپ‌های مناطق مرتفع و کم ارتفاع گیاه دارویی پونه‌سای البرزی (***Nepeta crassifolia***).

**Figure 12. The Effect of light intensity, UVB and their combination on the content of chlorogenic acid in leaves of *Nepeta crassifolia* plants growing at low and high altitudes.**

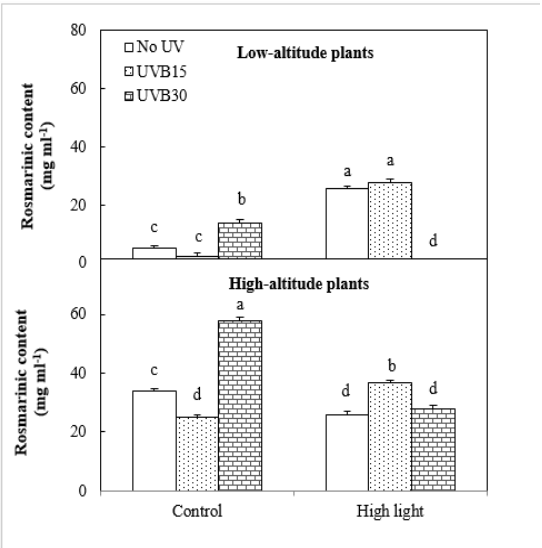
Bars indicated with the same letter within each altitude site are not significantly different ($p<0.05$ Tukey test). Values are the mean ± SD (n=4). Treatments consisted of high light (HL, 800 µmol $m^{-2}$ $s^{-1}$) and three UV-B levels (0, 15, and 30 kJ $m^{-2}$ $d^{-1}$). The control treatment was 400 µmol $m^{-2}$ $s^{-1}$ without UV-B (0 kJ $m^{-2}$ $d^{-1}$).




شکل ۱۳- تأثیر شدت نور، پرتو فرابنفش و ترکیب آنها بر محتوای اسید کافئیک در برگ‌های اکوتیپ‌های مناطق مرتفع و کم ارتفاع گیاه دارویی پونه‌سای البرزی (***Nepeta crassifolia***).

**Figure 13. The Effect of light intensity, UVB and their combination on the content of caffeic acid in leaves of *Nepeta crassifolia* plants growing at low and high altitudes.**

Bars indicated with the same letter within each altitude site are not significantly different ($p<0.05$ Tukey test). Values are the mean ± SD (n=4). Treatments consisted of high light (HL, 800 µmol $m^{-2}$ $s^{-1}$) and three UV-B levels (0, 15, and 30 kJ $m^{-2}$ $d^{-1}$). The control treatment was 400 µmol $m^{-2}$ $s^{-1}$ without UV-B (0 kJ $m^{-2}$ $d^{-1}$).




شکل ۱۴- تأثیر شدت نور، پرتو فرابنفش و ترکیب آنها بر محتوای اسید رزمارینیک در برگ‌های اکوتیپ‌های مناطق مرتفع و کم ارتفاع گیاه دارویی پونه‌سای البرزی (***Nepeta crassifolia***)

**Figure 14. The Effect of light intensity, UVB and their combination on the content of rosmarinic acid in leaves of *Nepeta crassifolia* plants growing at low and high altitudes.**

Bars indicated with the same letter within each altitude site are not significantly different ($p<0.05$ Tukey test). Values are the mean ± SD (n=4). Treatments consisted of high light (HL, 800 µmol $m^{-2}$ $s^{-1}$) and three UV-B levels (0, 15, and 30 kJ $m^{-2}$ $d^{-1}$). The control treatment was 400 µmol $m^{-2}$ $s^{-1}$ without UV-B (0 kJ $m^{-2}$ $d^{-1}$).

## بحث

کاهش وزن خشک اندام هوایی گیاه در مناطق مرتفع که خود روشی برای پاسخ به تنش پرتوفرابنفش و نور زیاد می‌باشد با نتایج Niazwali و همکاران (۲۰۲۰) همخوانی دارد. احتمالاً این کاهش وزن بدلیل کاهش ارتفاع و کاهش زیست توده گیاه بوده است که این فرایند می‌تواند به همراه کاهش ارتفاع به منظور جلوگیری از آسیب نوری اتخاذ شده باشد. البته در گیاهان مناطق کم ارتفاع، شاهد افزایش وزن خشک اندام هوایی در بعضی تیمارها بودیم. نتایج ما نشان داد که تنش UVB باعث کاهش مقادیر کلروفیل در برگ‌های گیاهان کم ارتفاع و گیاهان مرتفع که در معرض دوزهای مختلف پرتو فرابنفش به تنهایی و تحت تنش ترکیبی پرتو فرابنفش به همراه نور بالا قرار گرفتند می‌شود. Salama و همکاران (۲۰۱۱) نیز کاهش محتوای کلروفیل *a* و *b* در گیاه تحت تنش UVB را مشاهده کردند. Riو همکاران (۲۰۲۴) نتایج مشابهی را در محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی در گیاه *Schisandra chinensis* مشاهده کردند، که احتمالاً از طریق تخریب یا مهار آنزیم‌های دخیل در مسیرهای بیوسنتزی کلروفیل انجام شده است (Yadav *et al*., 2017).

تیمار گیاهان مرتفع تحت تنش ترکیبی UVB30+HL، منجر به افزایش چشمگیر محتوای کاروتنوئید در مقایسه با افزایش آن در اکوتیپ کم ارتفاع تحت تنش UVB30+HL شد. در گیاه *Capsicum annuum* نیز افزایش محتوای کاروتنوئید تحت تنش UVB توسط Castillejo و همکاران (۲۰۲۲) مشاهده شد. افزایش مقدار کاروتنوئیدها با افزایش فرایندهای مهاری تنش و محافظت نوری چرخه گزانتوفیل ارتباط دارد (Habibi, 2020؛ Habibi, 2021). چرخه گزانتوفیل شامل تبدیل آنزیمی گزانتوفیل‌ها، نقش کلیدی در اتلاف انرژی اضافی دارد (Lingwan *et al*., 2023).

در گیاهان مناطق کم ارتفاع در تیمارهای ترکیبی، $F_v/F_m$ و $F_v/F_o$ کاهش پیدا کردند که نشان‌دهنده ایجاد اختلال در کارآیی PSII و کمپلکس فتولیز آب و بروز مهار نوری PSII (Guidi *et al*., 2019؛ Chen *et al*., 2023) تحت تیمارهای UVB+HL بود. کاهش در $F_v/F_o$ می‌تواند منعکس کننده کاهش فعالیت کمپلکس فتولیز کننده آب در محل اهدا کننده PSII باشد (Habibi & Ajory 2015؛ Kalaji *et al*., 2016) و در مطالعات دیگر کاهش $F_v/F_o$ نشان‌دهنده تغییر میزان انتقال الکترون از PSII به اولین پذیرندگان الکترون با کاهش تعداد و اندازه مرکز واکنش می‌باشد (Janka *et al*., 2013؛ Kumar *et al*., 2020). همچنین در گیاهان کم ارتفاع، شاخص کارآیی فتوسیستم‌ها ($PI_{abs}$) که عملکرد PSII را بهتر نشان می‌دهد، در تیمارهای ترکیبی کاهش یافت. همانطور که Ji و همکاران (۲۰۲۲) در گیاه برنج شاهد کاهش $PI_{abs}$ تحت تنش UVB بودند و نتایج نشان داد که UV-B به‌طور قابل توجهی ظرفیت فتوسنتزی را مهار می‌کند و در نتایج Shomali و همکاران (۲۰۲۳) نیز کاهش $PI_{abs}$ در گیاه گوجه فرنگی تحت تنش نور زیاد مشاهده شد. در نتایج این مطالعه، همراهی این دو تنش در گیاهان مرتفع منجر به نتایج مشابه شده است. بقیه تیمارهای کم ارتفاع که تحت تنش منفرد مانند نور زیاد و یا پرتو فرابنفش قرار گرفتند، افزایش میزان $PI_{abs}$ را نشان دادند که ثابت می‌کند تحت تأثیر تنش نوری و مهار و آسیب نوری قرار نگرفتند. در همه تیمارهای گیاهان مناطق مرتفع، مقدار $F_v/F_m$ و $F_v/F_o$ تغییری پیدا نکردند که نشان‌دهنده آن بود که عملکرد کوانتومی PSII و فعالیت کمپلکس فتولیز کننده آب تحت تأثیر پرتو فرابنفش و نور بالا قرار نگرفتند و عملکرد طبیعی خود را حفظ کرده‌اند اما شاخص کارایی فتوسیستم‌ها در تیمارهای مناطق مرتفع افزایش پیدا کرد که نشان‌دهنده تحمل و سازگاری گیاهان نسبت به تیمارهای اعمال شده بود. پارامتر $PI_{abs}$ فقط در تیمار ترکیبی UVB30+HL کاهش پیدا کرد که در نهایت منجر به مهار نوری و آسیب نوری شده است که شواهد بعدی نیز نشان خواهند داد. افزایش میزان کاروتنوئید در تیمار UVB30+HL در گیاه مرتفع مطابق با شرایط گیاه، به منظور راهی برای مقابله با مهار نوری هنگام احساس تنش توسط گیاه می‌باشد. در واقع، مقدار بیشتر کاروتنوئیدها می‌تواند از کلروپلاست‌ها در شرایط تنش نوری بالا محافظت کند (Han *et al*., 2023؛ Ramachandran *et al*., 2023).

در مطالعات زیادی پرولین بعنوان آمینواسید دخیل در حفظ متابولیسم و رشد گیاه تحت تنش‌های متنوع غیرزیستی مشخص شده است که با نقش‌های زیادی ازجمله آنتی‌اکسیدان جاروبگر ROS، مولکول سیگنال‌دهی برای فعال کردن ژن‌های مربوط به

تحمل تنش و اسموپروتکتانت در گیاه عمل می‌کند. در گیاهان مناطق مرتفع تنها تیمار ترکیبی UVB15+HL، افزایش پرولین را به همراه دیگر سازوکارهای حفاظتی از خود نشان داد که در نهایت منجر به موفقیت گیاه در جلوگیری از فرایند مهار نوری شد و فعالیت‌های فتوشیمیایی خود را در حد طبیعی به خوبی حفظ کرد. در گیاهان مناطق کم ارتفاع نیز میزان پرولین در تنش نور بالا و ترکیبی افزایش پیدا کرد که تلاش گیاه به منظور افزایش تحمل به شرایط تنش در نور بالاست، هر چند در حفظ عملکرد فتوشیمیایی گیاه موفق نبود. در این مطالعه، غلظت قندهای محلول در گیاهان مناطق مرتفع تحت تیمارهای UVB به تنهایی، HL به تنهایی یا تنش ترکیبی (UVB+HL) افزایش معنی‌داری پیدا نکردند بلکه در تیمار UVB30+HL کاهش نیز نشان داد که با شواهد بعدی مشخص می‌شود که به حفاظت نوری گیاه کمک نکرده و نهایتاً تیمار دچار مهار نوری شده است. از سوی دیگر، در اکوتیپ‌های کم ارتفاع، قند محلول در حضور نور کم، افزایش پیدا کرد. Wang و همکاران (۲۰۲۱) نیز نشان دادند که با افزایش دوز UVB محتوای قند محلول کاهش می‌یابد.

عملکرد فتوشیمیایی بالاتر در گیاهان مناطق مرتفع تحت تنش به خوبی با بالاترین فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و تجمع فلاونوئیدها همراه بود. تنش UVB منجر به تجمع ROS در گیاهان می‌شود (Hideg *et al*., 2013). تولید بیش از حد ROS در گیاهان در نتیجه قرارگرفتن در معرض اشعه UVB، منجر به آسیب اکسیداتیو و مرگ سلولی می‌گردد (Sharma *et al*., 2021). گیاهان در طول سال‌ها، راهبردهای مختلفی برای بهبود رشد خود تحت تنش UV-B توسعه داده‌اند. متابولیت‌های ثانویه به عنوان تنظیم‌کننده‌های رشد، مهارکننده آنزیم، سیگنال‌های شیمیایی، آنتی‌اکسیدان و غربالگر UV-B عمل می‌کنند (Yavaş *et al*., 2020 ؛Takshak & Agrawal, 2015). متابولیت‌های ثانویه مانند فلاونوئیدها، اسیدهای فنلیک، تانن‌ها و آنتوسیانین‌ها ظرفیت فوق‌العاده‌ای در مهار ROS و کاهش تنش اکسیداتیو در گیاهان نشان داده‌اند (Pandeya *et al*., 2020). فلاونوئیدها از محصولات مسیر فنیل پروپانوئید در گیاهان با نقش‌های فراوانی، به‌طور مثال بعنوان مولکول‌های سیگنال‌دهی، فیلتر پرتو فرابنفش و جاروبگر گونه‌های فعال اکسیژن با نقش آنتی‌اکسیدانی عمل می‌کنند (Dias *et al*., 2021) و نقش‌های زیادی در تحمل به تنش‌های غیر زیستی مانند پرتو فرابنفش دارند (Panche *et al*., 2016). در این مطالعه، مقدار فلاونوئید برگ‌های گیاهان کم ارتفاع تحت تأثیر اعمال نور بالا (شامل تیمارهای نور بالا به تنهایی و تنش‌های ترکیبی)، افزایش معنی‌داری نشان داد که با افزایش معنی‌دار در فعالیت فنیل‌آلانین آمونیالیاز همراه بود. در گیاهان مناطق مرتفع، مقدار فلاونوئید تقریباً در همه تیمارها افزایش معناداری داشت که با سطوح بالای فعالیت آنزیم PAL در برگ تیمارهای تحت تنش نور بالا همراه بود. Shi و Liu (۲۰۲۱) نشان دادند که گیاهان تحت تنش UVB، به تجمع فلاونوئیدهای غربالگر نور آفتاب می‌پردازند که منجر به جلوگیری یا کاهش آسیب ناشی از آن می‌شود. در گیاه *Capsicum annuum* نیز افزایش محتوای فلاونوئید تحت تنش UVB توسط Castillejo و همکاران (۲۰۲۲) مشاهده شد. Pandey و همکاران (۲۰۲۰) نیز نشان دادند که UVB باعث افزایش قابل توجه تولید فلاونوئیدها از طریق افزایش بیان ژن PAL می‌شود. همچنین در مطالعات دیگر نشان داده شده است که افزایش تابش UVB به‌طور قابل توجهی فعالیت PAL را افزایش می‌دهد که منجر به تجمع متابولیت‌های ثانویه‌ای که به‌طور مستقیم یا غیر مستقیم از گیاه در برابر UVB محافظت می‌کنند، می‌شود (Hideg *et al*., 2013) که با نتیجه این مطالعه مطابقت دارند. در این تحقیق، به‌طورکلی گیاهان مناطق مرتفع نسبت به گیاهان مناطق کم ارتفاع، تجمع بیشتری از ذخیره‌های فلاونوئیدی را در برگ‌های خود نشان دادند و میزان فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیالیاز در تیمارهای گیاهان مرتفع در مقایسه با گیاهان کم ارتفاع به‌طور معناداری بیشتر بود. اسید رزمارینیک (RA) بعنوان فیلتر UVB و جاروبگر ROS (Emiliani *et al*., 2013) نیز در برگ‌های گیاهان مناطق مرتفع نسبت به کم ارتفاع تجمع بیشتری یافته بود که با مطالعات قبلی همخوانی دارد. بیوسنتز RA با افزایش فعالیت PAL از طریق مسیر فنیل پروپانوئید همراه بود (Hunaefi *et al*., 2018).

## نتیجه‌گیری

پاسخ دو اکوتیپ مناطق مرتفع (ارتفاع ۳۵۰۰ متری) و کم ارتفاع (ارتفاع ۲۴۰۰ متری) در گیاه دارویی پونه‌سای البرزی و میزان تحمل آنها به تنش نور و پرتو فرابنفش متفاوت بود. در اکوتیپ‌های کم ارتفاع تحت تنش ترکیبی، شاخص‌های عملکرد فتوشیمیایی یعنی $F_v/F_m$ و $F_v/F_o$ و $PI_{abs}$ کاهش یافت. هر چند در گیاهان مناطق مرتفع تحت تنش ترکیبی، بیشینه عملکرد PSII و فعالیت کمپلکس فتولیز کننده آب حفظ شد. به‌طورکلی در اکوتیپ‌های مرتفع مقادیر فلاونوئید کل، فعالیت آنزیم PAL، اسید رزمارینیک و اسید کلروژنیک به‌طور قابل توجهی بیشتر از اکوتیپ‌های کم ارتفاع بود.

## References

- Ashraf, M.H. and Harris, P.J., 2013. Photosynthesis under stressful environments: An overview. Photosynthetica, 51(2): 163-190. https://doi.org/10.1007/s11099-013-0021-6
- Bradford, M.M., 1976. A rapid and sensitive method for quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Analytical Biochemistry, 72: 248-254. https://doi.org/10.1016/0003-2697(76)90527-3
- Cao, S., Yang, Z. and Zheng, Y., 2013. Sugar metabolism in relation to chilling tolerance of loquat fruit. Food Chemistry, 136(1): 139-143. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.07.113
- Cazzonelli, C.I. and Pogson, B.J., 2010. Source to sink: regulation of carotenoid biosynthesis in plants. Trends in Plant Science, 15: 266-274. https://doi.org/10.1016/j.tplants.2010.02.003
- Castillejo, N., Martínez-Zamora, L. and Artés-Hernández, F., 2022. Postharvest UV radiation enhanced biosynthesis of flavonoids and carotenes in bell peppers. Postharvest Biology and Technology, 184: 111774. https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2021.111774
- Chen, C.I., Lin, K.H., Lin, T.C., Huang, M.Y., Chen, Y.C., Huang, C.C. and Wang, C.W., 2023. Responses of photosynthesis and chlorophyll fluorescence during light induction in different seedling ages of *Mahonia oiwakensis*. Botanical Studies, 64(1): 1-11. https://doi.org/10.1186/s40529-023-00369-w
- Chen, Z., Ma, Y., Yang, R., G, Z. and Wang, P., 2019. Effects of exogenous $Ca^{2+}$ on phenolic accumulation and physiological changes in germinated wheat (*Triticum aestivum* L.) under UV-B radiation. Food chemistry, 288: 368-376. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.02.131
- Dias, M.C., Pinto, D.C. and Silva, A.M., 2021. Plant flavonoids: Chemical characteristics and biological activity. Molecules, 26(17): 5377. https://doi.org/10.3390/molecules26175377
- Elkeilsh, A., Awad, Y.M., Soliman, M.H., Abu-Elsaoud, A., Abdelhamid, M.T., and El-Metwally, I.M., 2019. Exogenous application of β-sitosterol mediated growth and yield improvement in water-stressed wheat (*Triticum aestivum*) involves up-regulated antioxidant system. Journal of Plant Research, 132(6): 881-901. https://doi.org/10.1007/s10265-019-01143-5
- Emiliani, J., Grotewold, E., Ferreyra, M.L.F. and Casati, P., 2013. Flavonols protect Arabidopsis plants against UV-B deleterious effects. Molecular Plant, 6(4): 1376-1379. https://doi.org/10.1093/mp/sst021
- Ferreyra, M.L.F., Serra, P. and Casati, P., 2021. Recent advances on the roles of flavonoids as plant protective molecules after UV and high light exposure. Physiologia Plantarum, 173(3): 736-749. https://doi.org/10.1111/ppl.13543.
- Guidi, L., Lo Piccolo, E. and Landi, M., 2019. Chlorophyll fluorescence, photoinhibition and abiotic stress: does it make any difference the fact to be a $C_3$ or $C_4$ species? Frontiers in Plant Science, 10: 174. https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00174
- Habibi, G., 2020. Effects of altitudinal gradient on daily rhythm of antioxidant capacity and dynamic photoinhibition in Marrubium vulgare. Iranian Journal of Plant Biology, 12(3): 57-72. https://doi.org/10.22108/ijpb.2020.120483.1188
- Habibi, G., 2021. Changes in crassulacean acid metabolism expression, chloroplast ultrastructure, photochemical and antioxidant activity in the *Aloe vera* during acclimation to combined drought and salt stress. Funcional Plant Biology, 49(1): 40-53. https://doi.org/10.1071/FP21008
- Habibi, G. and Ajory, N., 2015. The effect of drought on photosynthetic plasticity in Marrubium vulgare plants growing at low and high altitudes. Journal of plant research, 128: 987-994. https://doi.org/10.1007/s10265-015-0748-1
- Habibi, G., 2017. Physiological, photochemical and ionic responses of sunflower seedlings to exogenous selenium supply under salt stress. Acta Physiologiae Plantarum, 39(10): 213. https://doi.org/10.1007/s11738-017-2517-3
- Han, S., Wang, Y., Zhang, Q., Wang, W. and Pei, D., 2023. Chrysanthemum morifolium β-carotene hydroxylase overexpression promotes *Arabidopsis thaliana* tolerance to high light stress. Journal of Plant Physiology, 284: 153962.

https://doi.org/10.1016/j.jplph.2023.153962
- Hideg, É., Jansen, M.A.K. and Strid, Å., 2013. UVB exposure, ROS, and stress: inseparable companions or loosely linked associates? Trends in Plant Science, 18: 107-115. https://doi.org/10.1016/j.tplants.2012.09.003
- Hunaefi, D., Yuliana, N.D., Smetanska, I. and Gruda, N., 2018. Effect of ultraviolet and ultrasonic on potential antidiabetic activity of in vitro shoot cultures of *Orthosiphon aristatus*. In *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 207(1): 012008. https://doi.org/10.1088/1755-1315/207/1/012008
- Jaiswal, D., Pandey, A., Mukherjee, A., Agrawal, M. and Agrawal, S.B., 2020. Alterations in growth, antioxidative defense and medicinally important compounds of *Curcuma caesia Roxb*. under elevated ultraviolet-B radiation. Environmental and Experimental Botany, 177: 104152. https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2020.104152
- Janka, E., Körner, O., Rosenqvist, E. and Ottosen, C.O., 2013. High temperature stress monitoring and detection using chlorophyll a fluorescence and infrared thermography in chrysanthemum (*Dendranthema grandiflora*). Plant Physiology and Biochemistry, 67: 87-94. https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2013.02.025
- Kalaji, H.M., Jajoo, A., Oukarroum, A., Brestic, M., Zivcak, M., Samborska, I.A. and Ladle, R.J., 2016. Chlorophyll a fluorescence as a tool to monitor physiological status of plants under abiotic stress conditions. Acta Physiologiae Plantarum, 38: 1-11. https://doi.org/10.1007/s11738-016-2113-y
- Kalaji, H.M., Bosa, K., Kościelniak, J. and Żuk-Gołaszewska, K., 2011. Effects of salt stress on photosystem II efficiency and $CO_2$ assimilation of two Syrian barley landraces. Environmental and Experimental Botany, 73: 64-72. https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2010.10.009
- Kumar, D., Singh, H., Raj, S. and Soni, V., 2020. Chlorophyll a fluorescence kinetics of mung bean (*Vigna radiata* L.) grown under artificial continuous light. Biochemistry and Biophysics Reports, 24: 100813. https://doi.org/10.1016/j.bbrep.2020.100813
- Lee, J.H., Tanaka, S. and Goto, E., 2022. Growth and biosynthesis of phenolic compounds of canola (*Brassica napus* L.) to different ultraviolet (UV)-B wavelengths in a plant factory with artificial light. Plants, 11(13): 1732. https://doi.org/10.3390/plants11131732
- Lichtenthaler, H. and Wellburn, A., 1983. Determinations of total carotenoids and chlorophylls a and b of leaf extracts in different solvents. Biochemical Society Transactions, 11: 591-592. https://doi.org/10.1042/BST0110591
- Lingwan, M., Pradhan, A.A., Kushwaha, A.K., Dar, M.A., Bhagavatula, L. and Datta, S., 2023. Photoprotective role of plant secondary metabolites: Biosynthesis, photoregulation, and prospects of metabolic engineering for enhanced protection under excessive light. Environmental and Experimental Botany, 209: 105300. https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2023.105300
- Mavi, A., Terzi, Z. and Ozgen, U., 2004. Antioxidant properties of some medicinal plants: *Prangos ferulacea* (Apiaceae), *Sedum sempervivoides* (Crassulaceae), *Malva neglecta* (Malvaceae), *Cruciata taurica* (Rubiaceae), *Rosa pimpinellifolia* (Rosaceae), *Galium verum* subsp. Verum (Rubiaceae), *Urtica dioica* (Urticaceae). Biological and Pharmaceutical Bulletin, 27: 702-705. https://doi.org/10.1248/bpb.27.702
- Niazwali, S.A., Senthilkumar, A., Karthishwaran, K. and Salem, M.A., 2020. The growth and tissue mineral concentrations of date palm (*Phoenix dactylifera* L.) cultivars in response to the ultraviolet-B radiation. Australian Journal of Crop Science, 14(2): 354-361. https://doi.org/10.21475/ajcs.20.14.02.p2098
- Panche, A.N., Diwan, A.D. and Chandra, S.R., 2016. Flavonoids: an overview. Journal of nutritional science, 5: e47. https://doi.org/10.1017/jns.2016.41
- Pandey, A. and Agrawal, S.B., 2020. Ultraviolet-B radiation: A potent regulator of flavonoids biosynthesis, accumulation and functions in plants. Current Science, 119: 176-185. https://doi.org/10.18520/cs/v119/i2/176-185
- Pinnola, A. and Bassi, R., 2018. Molecular mechanisms involved in plant photoprotection. Biochemical Society Transactions, 46(2): 467-482. https://doi.org/10.1042/BST20170307
- Ramachandran, P., Pandey, N.K., Yadav, R.M., Suresh, P., Kumar, A. and Subramanyam, R., 2023. Photosynthetic efficiency and transcriptome analysis of *Dunaliella salina* under hypersaline: a retrograde signaling mechanism in the chloroplast. Frontiers in Plant Science, 14: 1192258. https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1192258
- Ri, I., Pak, S., Pak, U., Yun, C. and Tang, Z., 2024. How does UV-B radiation influence the photosynthesis and secondary metabolism of *Schisandra chinensis* leaves? Industrial Crops and Products, 208: 117832. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2023.117832
- Salama, H.M., Al Watban, A.A. and Al-Fughom, A.T., 2011. Effect of ultraviolet radiation on chlorophyll, carotenoid, protein and proline contents of some

annual desert plants. Saudi Journal of Biological Sciences, 18(1): 79-86. https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2010.10.002
- Saleem, M.H., Rehman, M., Fahad, S., Tung, S.A., Iqbal, N., Hassan, A., Ayub, A., Wahid, M.A., Shaukat, S., Liu, L. and Deng, G., 2020. Leaf gas exchange, oxidative stress, and physiological attributes of rapeseed (*Brassica napus* L.) grown under different light-emitting diodes. Photosynthetica, 58(3): 836-845. https://doi.org/10.32615/ps.2020.010
- Sharma, A., Cooper, R., Bhardwaj, G. and Cannoo, D.S., 2021. The genus *Nepeta*: Traditional uses, phytochemicals and pharmacological properties. Journal of Ethnopharmacology, 268: 113679. https://doi.org/10.1016/j.jep.2020.113679
- Shi, C. and Liu, H., 2021. How plants protect themselves from ultraviolet-B radiation stress. Plant Physiology, 187(3): 1096-1103. https://doi.org/10.1093/plphys/kiab245
- Shi, Y., Ren, J., Zhao, B., Zhu, T. and Qi, H., 2022. Photoprotective mechanism of fucoxanthin in ultraviolet B irradiation-induced retinal müller cells based on lipidomics analysis. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 70(10): 3181-3193. https://doi.org/10.1021/acs.jafc.1c07980
- Shomali, A., Aliniaeifard, S., Mohammadian, M., Lotfi, M. and Kalaji, H.M., 2023. Genotype-dependent strategies to "Overcome" excessive light: Insights into non-photochemical quenching under high light intensity. Physiologia Plantarum, 175(6): e14077. https://doi.org/10.1111/ppl.14077
- Singh, P., Singh, A. and Choudhary, K.K., 2023. Revisiting the role of phenylpropanoids in plant defense against UV-B stress. Plant Stress, 7: 100143. https://doi.org/10.1016/j.stress.2023.100143
- Soliman, M.H., Abdulmajeed, A.M., Alhaithloul, H., Alharbi, B.M., El-Esawi, M.A., Hasanuzzaman, M. and Elkelish, A., 2020. Saponin biopriming positively stimulates antioxidants defense, osmolytes metabolism and ionic status to confer salt stress tolerance in soybean. Acta Physiologiae Plantarum, 42: 114. https://link.springer.com/article/10.1007/s11738-020-03098-w
- Simon, L.M., Fatrai, Z., Jonas, D.E. and Matkovics, B., 1974. Study of peroxide metabolism enzymes during the development of *Phaseolus vulgaris*. Biochemie und Physiologie der Pflanzen, 166(5-6): 387-392. https://doi.org/10.1016/S0015-3796(17)30073-2
- Strasser, B.J. and Strasser, R.J., 1995. Measuring fast fluorescence transients to address environmental questions- The JIP-test: 977-980. In: Mathis, P., (Ed.). Photosynthesis: From Light to Biosphere. Kluwer Academic Publishers, Netherlands, 5168p. https://doi.org/10.1023/A:1026012116709
- Strasser, R.J., Tsimilli-Michael, M. and Srivastava, A., 2004. Analysis of the chlorophyll *a* fluorescence transient: 321-362. In: Papageorgiou, G.C., (Ed.). Chlorophyll *a* Fluorescence: A Signature of Photosynthesis. Springer, Dordrecht, 818p. https://doi.org/10.1007/978-1-4020-3218-9_12
- Takahashi, S. and Badger, M.R., 2011. Photoprotection in plants: A new light on photosystem II damage. Trends in plant science, 16(1): 53-60. https://doi.org/10.1016/j.tplants.2010.10.001
- Takshak, S. and Agrawal, S.B., 2015. Defence strategies adopted by the medicinal plant *Coleus forskohlii* against supplemental ultraviolet-B radiation: Augmentation of secondary metabolites and antioxidants. Plant Physiology and Biochemistry, 97: 124-138. https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2015.09.018
- Wang, H., Guo, Y., Zhu, J., Yue, K. and Zhou, K., 2021. Characteristics of mango leaf photosynthetic inhibition by enhanced UV-B radiation. Horticulturae, 7(12): 557. https://doi.org/10.3390/horticulturae7120557
- Wu, X., Chen, B., Xiao, J. and Guo, H., 2023. Different doses of UV-B radiation affect pigmented potatoes' growth and quality during the whole growth period. Frontiers in Plant Science, 14: 1101172. https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1101172
- Yadav, A., Singh, D., Lingwan, M., Yadukrishnan, P., Masakapalli, S.K. and Datta, S., 2020. Light signaling and UV-B-mediated plant growth regulation. Journal of Integrative Plant Biology, 62(9): 1270-1292. https://doi.org/10.1111/jipb.12932
- Yadav, S., Shrivastava, A.K., Agrawal, C., Sen, S., Chatterjee, A., Rai, S. and Rai, L.C., 2017. Impact of UV-B exposure on phytochrome and photosynthetic machinery: From cyanobacteria to plants. UV-B Radiation: From Environmental Stressor to Regulator of Plant Growth, 1: 259-277. https://doi.org/10.1002/9781119143611.ch13
- Zhu, L., Huang, R., Zhou, L., Xi, Y. and Xiang, X., 2021. Responses of the ecological characteristics and antioxidant enzyme activities in *Rotaria rotatoria* to UV-B radiation. Hydrobiologia, 848(6): 4749-4761. https://doi.org/10.1007/s10750-021-04671-1
- Zucker, M., 1965. Induction of phenylalanine deaminase by light, its relation to chlorogenic acid synthesis in potato tuber tissue. Physiologia Plantarum, 40: 779-784. https://doi.org/10.1104/pp.40.5.779