

## تأثیر نور LED بر عملکرد گیاه، درصد اسانس و میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان در نعناع فلفلی (*Mentha piperita*)

پریسا حیدری زاده، مرتضی زاهدی\* و محمد رضا سبزعلیان

گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان، اصفهان ۸۳۱۱۱-۸۴۱۵۶

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۰۸/۲۵؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۲/۱۲/۱۸)

چکیده:

با نوآوری تولید لامپ‌های LED (Light Emitting Diode) فرصت تازه‌ای برای تولید گیاهان دارویی، باغی و زیستی در محیط‌های کنترل شده و همچنین مطالعه تأثیر فیزیولوژیکی طول موج‌های نوری بر گیاهان فراهم شده است. در این آزمایش سه کلون نعناع فلفلی (اصفهان، طبس و قزوین) به صورت گلدنای در ۵ انکوباتور حاوی لامپ‌های LED با طیف نوری قرمز (۱۰۰ درصد)، آبی (۱۰۰ درصد)، ترکیب قرمز (۷۰ درصد) و آبی (۳۰ درصد)، سفید (۱۰۰ درصد) و لامپ فلورسنت با شدت نوری ۳۰۰ میکرومول فوتون بر متر مربع بر ثانیه مورد بررسی قرار گرفتند. دو ماه پس از کشت، وزن گیاه، درصد اسانس و میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان کاتالاز، گلوتاتیون ردوکتاز، آسکوربیات پراکسید دیسموتاز ارزیابی شدند. بالاترین وزن‌تر گیاه در ترکیب نور قرمز و آبی برای کلون اصفهان بدست آمد. تحت تأثیر نور قرمز، درصد اسانس در کلون اصفهان بیش از ۴ برابر شرایط مزرعه بود. نور آبی، فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، گلوتاتیون ردوکتاز و آسکوربیات پراکسید دیسموتاز، تأثیر نور آبی بعد از نور فلورسنت قرار داشت. به نظر می‌رسد که نورهای LED بتوانند با تحريك رشد و القاء تولید و تجمع متابولیت‌های ثانویه در گیاه به طور همزمان تولید و کیفیت گیاه را در محیط‌های کنترل شده در مقایسه با شرایط طبیعی مزرعه افزایش دهند.

کلمات کلیدی: لامپ‌های LED، نعناع، اسانس، آنتی اکسیدان

مقدمه:

هیدروژن و لیپید هیدروپراکسید، آن‌ها را تبدیل به ترکیبات مفید سلولی آب و هیدروکسید لیپید می‌نمایند (Niki, 2010). این فعالیت‌ها با استفاده از سازوکارهای آنتی اکسیدان‌های آنزیمی و غیر آنزیمی صورت می‌گیرد. آنتی اکسیدان‌های غیر آنزیمی اصلی شامل گلوتاتیون و اسید آسکوربیک و آنتی اکسیدان‌های آنزیمی شامل کاتالاز (CAT; SOD; EC 1.11.1.6)، سوپراکسید دیسموتاز (SOD; EC 1.15.1.1)

آنتی اکسیدان‌های گیاهی نقش ویژه‌ای در حفظ سلامت انسان و همچنین پیشگیری و درمان بسیاری از بیماری‌ها ایفا می‌کنند. در گیاهان این ترکیبات به عنوان اولین خط دفاع سلولی در برابر انواع گونه‌های فعال اکسیژن (ROS: Reactive Oxygen Species) تولید شده در اثر تنفس می‌باشند که با تأثیر بر ترکیبات مضر پراکسید

\*نویسنده مسؤول، نشانی پست الکترونیکی: mzhahedi@cc.iut.ac.ir

گل گیاهان متعلق به این جنس منابع مهم و غنی انسانس بوده که در صنایع دارویی، غذایی، آرایشی و بهداشتی کاربرد وسیعی دارند. خواص دارویی این گیاهان به میزان تولید انسانس و ترکیبات قابل استخراج آنها بستگی دارد و انسانس این گیاه نیز ضد نفخ، معطر، نیروبخش و اشتها آور است (Bais *et al.*, 2002; Moreno *et al.*, 2002). امروزه توجه به انسانس نعناع و ترکیبات آن به دلیل سالم و طبیعی بودن، تقاضای بالای مصرف کنندگان و قابلیت استفاده چند منظوره از آنها رو به افزایش است.

*M. M. spicata* گونه‌های مهم جنس نعناع شامل *M. longifolia* و *M. piperita* می‌باشد که وجود آنها در مجموعه غنی گیاهی ایران نیز گزارش شده است (Mozaffarian, 1996). در بین گونه‌های نعناع، گونه نعناع فلغلی یا *M. piperita* بیشترین کاربرد تجاری از نظر تولید انسانس را دارد. درصد انسانس گیاه بر حسب ژنوتیپ و مکان رشد متغیر است و در منابع بین ۰/۳ تا ۳ درصد گزارش شده است (Mirzaie-Nodoushan *et al.*, 2001; Zeinali, *et al.*, 2004). ترکیبات اصلی انسانس گیاه شامل ۱۹/۷۶ درصد متول، ۱۹/۳۱ درصد متان، ۹/۱۲ درصد ایزومتنون، همره با سیثول و متول استات (مجموعاً حدود ۱۵ درصد) می‌باشد (Farshbaf *et al.*, 2004).

با وجود اینکه نعناع به طور طبیعی در مکان‌های سایه-آفتاب رشد می‌کند ولی آفتاب و شدت نور مناسب، رشد و محتوای متابولیت‌های گیاه را افزایش می‌دهد. در آزمایش Patra و همکاران (۲۰۰۳) زمانی که پاسخ رشدی بررسی شد، مشخص گردید که گیاه قادر به تولید زیست توده بیشتر و رشد مناسب‌تر و تولید و تجمع کلروفیل و کاروتینوئیدهای بیشتری در تیمار نور طبیعی می‌باشد. در مطالعه Barisic و همکاران (۲۰۰۶) که تحت شرایط گلخانه انجام شد تأثیر شدت نور بر ۳ گونه لامیوم (Lamium sp.) از خانواده نعناع بررسی گردید و مشخص شد که میزان تشعشع فعال فتوستزی (Photosynthetic Active Radiation)

آسکوربیات پراکسیداز (APX; EC 1.11.1.11) و گلوتاتیون ردوکتاز (GR; EC 1.6.4.2) هستند (Hsu and Kao, 2003). تولید ترکیبات آنتی اکسیدانی در سلول‌های گیاهی به عنوان بخشی از متابولیت‌های ثانویه تحت تأثیر عوامل محیطی قرار می‌گیرد که از بین آنها کیفیت نور یکی از مهم‌ترین متغیرهای مؤثر و کنترل کننده غلظت این ترکیبات است (Lee *et al.*, 2010). Fan و همکاران (۲۰۱۳) نشان دادند که گوجه فرنگی می‌تواند تحت ترکیب نور قرمز و آبی، میوه کامل با محتوای متابولیتی بالایی نسبت به شرایط نور طبیعی تولید کند. کیفیت نور از نظر رنگ و طول موج حتی می‌تواند ساختار مورفوژوژیکی گیاهان را نیز تحت تأثیر قرار دهد (Li *et al.*, 2013). بنابراین تغییر کیفیت نور بویژه از طریق استفاده از منابع نور مصنوعی در محیط‌های کنترل شده جهت تغییر کیمی و کیفیت محصولات کشاورزی امکان پذیر شده است. در سال‌های اخیر لامپ‌های LED به عنوان منابع جدید نور برای تولید گیاه در محیط‌های کنترل شده و همچنین تحقیقات فیزیولوژی گیاهی مورد توجه قرار گرفته‌اند. از مزیت‌های این لامپ‌ها نسبت به دیگر منابع نوری مرسوم از جمله لامپ‌های فلورسنت و همچنین لامپ‌های هالوژنی - سدیمی تخلیه‌ای می‌توان به بهره وری نوری بالا، صرفه جویی در مصرف انرژی، حجم کم، عمر طولانی، تولید پایین انرژی حرارتی، شدت/کیفیت نوری قابل تنظیم و عدم دارا بودن اشعه مضر UV اشاره کرد (Li *et al.*, 2013).

در بین گیاهان دارویی، گونه‌های موجود در گیاهان تیره نعناع (Lamiaceae) به دلیل داشتن انسانس‌های روغنی و انواع ترپنoidها در انسان از اهمیت بالایی برخوردار هستند. جنس نعناع (*Mentha*) از مهم‌ترین گیاهان دارویی معطر و چند ساله متعلق به خانواده نعناع بوده و دارای توزیع وسیعی در هر پنج قاره جهان به استثناء آمریکای جنوبی می‌باشد (Chambers, Dzamic *et al.*, 1992). گونه‌های متعلق به این جنس به دلیل دارا بودن خواص ادویه‌ای و دارویی، اهمیت ویژه‌ای داشته و از زمان مصر باستان مورد استفاده قرار می‌گرفته‌اند (Ashurst, 1999).

درصد)، سفید (۱۰۰ درصد) و لامپ فلورسنت با شدت نور ۳۰۰ میکرومول فوتون بر متر مربع بر ثانیه و ۱۴ ساعت روشنایی قرار گرفتند (شرکت آروین تجهیز اسپادانا، اصفهان، ایران). دمای انکوباتورها در دامنه ۲۷-۲۵ درجه سانتی گراد تنظیم گردید که با متوسط دمای ماهیانه در شرایط مزرعه در طی دوره رشد تقریباً یکسان بود. درصد رطوبت در انکوباتورهای مورد استفاده قابل تنظیم نبود ولی دامنه آن بین ۳۸ تا ۵۵ درصد تغییر داشت. کلون‌ها در محیط مزرعه نیز به عنوان شاهد در ۳ تکرار به صورت طرح کاملاً تصادفی و با تعداد قطعه ریزوم یکسان و خاک مشابه در گلدان در تاریخ کشت مشابه (نیمه دوم فروردین) با شرایط انکوباتور کشت گردیدند. آبیاری گلدان‌های انکوباتور در صورت نیاز به صورت روزانه صورت گرفت و هفت‌مایی یک بار محلول غذایی کریستالون (Kristalon, Yara International Co.) با غلاظت ۱ در هزار به گیاهان داده شد. آبیاری گیاهان در مزرعه نیز هفت‌مایی یک تا دو بار بسته به نیاز گیاه صورت گرفت و مشابه با گلدان‌های انکوباتور تغذیه گیاهان در مزرعه با غلاظت ۱ در هزار محلول غذایی کریستالون انجام شد. پس از گذشت ۶۰ روز از زمان کاشت، گیاهان گلدان و مزرعه که در مرحله رشد رویشی قرار داشتند از سطح خاک برداشت شده و پس از محاسبه وزن تر گیاهان، برگ کلون‌های مورد مطالعه برای ارزیابی درصد اسانس و همچنین بررسی فعالیت آنزیمی استفاده گردید.

**استخراج اسانس:** به منظور تعیین درصد اسانس، برگ‌های خشک شده (در سایه و هوای آزاد) هر کلون با آسیاب پودر شده و سپس میزان ۲۰-۱۰ گرم از پودر به دست آمده از هر نمونه همراه با ۵۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر در بالن دستگاه تقطیر کلونجر (Clevenger apparatus) قرار گرفت. پس از ۶ ساعت اسانس‌گیری، درصد اسانس نسبت به وزن خشک برای هر نمونه تعیین گردید.

(British Pharmacopoeia, 1980).

**ارزیابی آنزیم‌های آنتی اکسیدان:** سنجش فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز، گلوتاتیون

گیاهان، اثرات متفاوتی بر مورفولوژی و فیزیولوژی رشد آنها داشت. در شدت پایین نور، ارتفاع گیاه و طول و عرض برگ‌ها افزایش یافت و تعداد ساقه و برگ و وزن خشک گیاه کاهش یافت اما در شدت بالای نور، تعداد برگ‌ها و ارتفاع گیاه کاهش ولی وزن خشک گیاه افزایش نشان داد. مطالعه تأثیر نور LED که اخیراً در گلخانه‌ها و مراکز رشد و پرورش گیاه مورد توجه قرار گرفته است نشان دهنده تأثیر طول موج و رنگ‌های نور بر کمیت و کیفیت تولیدات گیاهی است. تأثیر معنی دار لامپ‌های LED بر رشد و تولید متابولیت‌های ثانویه گیاهان، توسط Olle و Virsile (۲۰۱۳) به طور جامع مورد بررسی قرار گرفته است. Wu و همکاران (۲۰۰۷) نیز نشان دادند که نور LED قرمز میزان آنتی اکسیدان‌های گیاه نخود را به صورت معنی داری تا ۲ برابر افزایش می‌دهد. این تأثیر به خصوص در گیاهان گلخانه‌ای می‌تواند موجب افزایش مقاومت گیاه به بیماری گردد و کیفیت خواراکی بافت سبر گیاهان را نیز بهبود بخشد. با این حال، بررسی تأثیر نورهای LED تولید متابولیت‌های ثانویه گیاهی به ویژه اسانس و آنتی اکسیدان‌های گیاهی در گیاهان و سبزیجات معطر کمتر مورد توجه بوده است. در این مطالعه تأثیر نورهای LED بر رشد، محتوای اسانس و فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان در نعناع فلفلی مورد بررسی قرار گرفته است.

#### مواد و روش‌ها:

**مواد گیاهی و شرایط کشت:** مواد گیاهی شامل ۳ کلون نعناع فلفلی شامل ژنوتیپ‌های جمع آوری شده از طبس، قزوین و اصفهان بود که در مزرعه باغ اناری دانشگاه صنعتی اصفهان تکثیر شده بودند (Heydarizadeh et al., 2013). چهار قطعه ریزوم با اندازه چهار سانتی متر در گلدان‌های ۱۰×۱۰ سانتی متر (با حجم ۰/۷۸۵ لیتر) حاوی خاک لومی-رسی کشت شده و در ۵ انکوباتور حاوی لامپ‌های LED با طیف نوری قرمز (۱۰۰ درصد)، آبی (۲۰ درصد)، ترکیب قرمز (۷۰ درصد) و آبی (۱۰۰ درصد)،

اضافه شد و دستگاه اسپکتروفوتومتر روی طول موج ۲۹۰ نانومتر تنظیم شد. فعالیت آنزیم گلوتاتیون ردوکتاز با استفاده از ۳ میلی لیتر بافر استخراج، ۰/۰۱۸۳ گرم گلوتاتیون اکسید شده (GSSG) و ۰/۰۰۰۱۲۵ گرم نیکوتینامید آدنین دی نوکلئوتید فسفات (NADPH) و در طول موج ۳۴۰ نانومتر بررسی گردید. جهت بررسی تغییرات آنزیم سوپراکسید دیسموتاز، ۳ میلی لیتر متیونین، ۳/۹ میکرولیتر ریبوفلاوین و ۱۸۹ میکرولیتر نیترو بلو ترازوولیوم (NBT) در هر کووت ریخته شد و ۵۰ میکرولیتر از عصاره گیاهی اضافه گردید. در مرحله بعد، هر نمونه به مدت ۱۵ دقیقه در معرض تابش نور مهتابی قرار گرفت و سپس برای قرائت در دستگاه اسپکتروفوتومتر با طول موج ۵۶۰ نانومتر قرار داده شد.

**تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها:** با توجه به اینکه کشت گیاهان در مزرعه و ۵ انکوباتور آزمایشگاه به عنوان آزمایش در محیط‌های جداگانه تلقی می‌گردد، تجزیه داده‌های آزمایش بر اساس انجام تجزیه مرکب داده‌ها که برای مقایسه محیط‌ها صورت می‌گیرد و همچنین در قالب طرح کاملاً تصادفی که در هر کدام از ۵ محیط پیاده سازی شده بود، صورت گرفت. بدین منظور با استفاده از نرم‌افزار SAS و بر اساس روش ANOVA (طرح کاملاً تصادفی و آزمایش فاکتوریل) با سه تکرار تجزیه واریانس صورت گرفت و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون LSD انجام شد.

### نتایج و بحث:

جدول تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که کلون‌های مورد مطالعه به غیر از میزان فعالیت آنزیم آسکوربیات پراکسیداز از نظر سایر آنزیم‌های آنتی اکسیدان و همچنین از نظر وزن تر گیاه و درصد اسانس اختلاف آماری معنی داری در سطح احتمال ۱ درصد نشان دادند (به غیر از آنزیم گلوتاتیون ردوکتاز که در سطح احتمال ۵ درصد معنی دار بود). منبع نور مورد استفاده نیز تأثیر معنی داری بر همه صفات مورد مطالعه در آزمایش داشت. همچنین اثر متقابل

ردوکتاز و سوپراکسید دیسموتاز با استفاده از روش‌های Aebi (۱۹۸۴) و Chance (۱۹۹۵) به صورت زیر مورد اندازه‌گیری قرار گرفت.

**تهیه بافر استخراج:** محلول استخراج (باfr استخراج) با استفاده از بافرهای فسفات پتاسیم ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ) و  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  (با pH=7) و EDTA (اتیلن دی آمید تترا استیک اسید) تهیه گردید. به منظور تهیه بافر استخراج آنزیم APX، علاوه بر EDTA از Triton-X100 و PVP-40 نیز استفاده شد.

**آماده سازی نمونه‌های گیاهی:** مقدار ۰/۱ گرم از برگ‌های تازه گیاه انتخاب گردید. هر نمونه گیاهی پس از اضافه شدن بافر استخراج (برای هر قطعه ۰/۱ گرمی، ۱ میلی لیتر بافر) داخل یک هاون چینی در دمای ۴ درجه سانتیگراد ساییده شد. سپس هر نمونه در فالکون ۱۵ میلی لیتری ریخته شد و در سانتیفیوژ در دمای ۴ درجه سانتیگراد با ۴۰۰۰ دور در دقیقه (rpm) به مدت ۱۰ تا ۱۵ دقیقه قرار گرفت. محلول شفاف روشنایور در لوله‌های مجزا انتقال داده شد و در دمای ۴ درجه سانتیگراد جهت اندازه‌گیری بعدی فعالیت آنزیم‌ها قرار گرفت.

**سنجهش فعالیت آنزیم:** به منظور اندازه‌گیری فعالیت آنزیم کاتالاز، در هر کووت، ۳ میلی لیتر بافر و سپس ۴/۵۱ میکرولیتر  $\text{H}_2\text{O}_2$  (۳۰ درصد) اضافه گردید و محلول حاصل تکان داده شد. سپس کووت در دستگاه اسپکتروفوتومتر قرار داده شد و دستگاه روی طول موج ۲۴۰ نانومتر تنظیم و صفر گردید. به میزان ۵۰ میکرولیتر از محلول عصاره استخراج شده گیاهی به محلول درون کووت اضافه و در دستگاه قرار گرفت. پس از ۱ دقیقه (مدت زمان لازم برای تکمیل و ثبیت فعل و انفعالات) قرائت دستگاه به مدت ۲ دقیقه با فواصل ۱۵ ثانیه انجام شد. میزان فعالیت آنزیم بر اساس کاهش جذب نور در اثر تجزیه  $\text{H}_2\text{O}_2$  در نمونه اندازه‌گیری شد.

برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم آسکوربیات پراکسیداز، همانند روش اشاره شده در بالا عمل شد با این تفاوت که ۱۰۰ میکرولیتر محلول ۵ میلی مول آسکوربیات به بافر

آزمایش نیز، نور قرمز منجر به وزن‌تر بیشتری نسبت به نور آبی گردید، با این حال، عملکرد گیاه نعناع در ترکیب نور قرمز و آبی بیشتر از قرمز به تنها یابود که احتمالاً نشان دهنده تأثیر تکمیلی نور آبی بر بهبود رشد گیاه نعناع است. البته تأثیر تکمیلی نور آبی به ژنوتیپ گیاهی هم بستگی دارد، به طوری که نمودار اثر متقابل کلون نعناع و محیط نشان می‌دهد که با وجود اینکه تحت ترکیب نور قرمز و آبی، وزن تر هر سه کلون افزایش داشته است ولی این افزایش در کلون اصفهان نسبت به دو کلون دیگر بیشتر بود (شکل ۱، a). وجود اثر متقابل بین کلون‌های نعناع و محیط نوری نشان می‌دهد که کلون‌ها ممکن است واکنش متفاوتی در نورهای خالص و یا ترکیبی نشان دهنده به همین جهت ارزیابی تعداد قابل توجهی ژنوتیپ گیاهی در آزمایش‌هایی که تحت محیط‌های متفاوت به ویژه از نظر نوری بررسی می‌شوند توصیه می‌گردد. این در حالی است که بیشتر مطالعه‌های صورت گرفته روی گیاهان تحت نور LED غالباً با یک ژنوتیپ بوده است.

کمترین میزان رشد گیاه نعناع نیز در انکوباتور تحت نور فلورسنت پذست آمد. با وجود اینکه شرایط نوری انکوباتورها طوری انتخاب شد که شدت نور تقریباً یکسانی در همه انکوباتورها وجود داشته باشد، با این حال کیفیت نور در انکوباتورهای LED و فلورسنت متفاوت است. لامپ‌های فلورسنت ترکیب ضعیف و رقیقی از انواع طول موج‌های مختلف را تابش می‌کنند که حاوی مقادیری نور فرابنفش نیز می‌باشد که علاوه بر مضر بودن برای گیاه می‌تواند تولید و عملکرد گیاه را کاهش دهد و به همین دلیل گیاهان در انکوباتورهای فلورسنت رشد مناسبی ندارند (Sager and McFarlane, 1997).

همچنین شرایط نوری انکوباتور با شرایط نوری مزرعه متفاوت است. در مزرعه زاویه تابش نوری و همچنین طول دوره نوری (طول روز متغیر) می‌تواند بر رشد گیاه نعناع موثر باشد ضمن اینکه ابری بودن هوا و جریانات هوایی می‌تواند رشد گیاه را تغییر دهد. به نظر می‌رسد که عوامل احتمالی

ژنوتیپ و منبع نور در همه صفات در سطح احتمال ۱ درصد معنی دار بود (جدول ۱).

**تأثیر کیفیت منبع نور بر وزن تر گیاه:** مقایسه میانگین کلون‌های مورد مطالعه در آزمایش نشان داد که اختلاف آماری معنی‌داری بین کلون‌ها از نظر وزن تر گیاه وجود داشت (جدول ۲). بدین ترتیب که عملکرد کلون اصفهان منبع نور (محیط) نیز بیشترین وزن تر گیاه در محیط ترکیب نور قرمز و آبی LED و مزرعه حاصل شد. کمترین وزن تر گیاه در محیط انکوباتور دارای نور فلورسنت بدست آمد.

در گیاه کاهو که در مطالعات زیادی تحت نور LED مورد بررسی قرار گرفته، بیشترین اطلاعات از تأثیر نورهای LED بدست آمده است. با مطالعه رشد گیاه کاهو تحت نورهای مختلف LED، Kim و همکاران (۲۰۰۴) نشان دادند که وزن تر گیاه در ترکیب نورهای قرمز و آبی بیشتر از سایر تیمارها از جمله نور فلورسنت بود. در همین راستا در مطالعه Johkan و همکاران (۲۰۱۰) نیز بیشترین وزن کاهوی رشد یافته تحت ترکیب نور قرمز و آبی بدست آمد. با این حال، Martineau و همکاران (۲۰۱۲) نشان دادند که نور قرمز در افزایش عملکرد کاهو موثرتر است. در مطالعه حاضر نیز وزن تر نعناع در محیط نور قرمز (۱۸/۸۵ گرم در گلدان) به صورت معنی داری بیشتر از محیط نور آبی (۷/۷۷ گرم در گلدان) بود.

از نظر تئوری و از نظر فیزیولوژیکی، محققین معتقد هستند که عملکرد فوتونی نور قرمز و آبی به تنها یابراز رشد گیاهان کافی است (Kim et al., 2004). به عبارت دیگر در صورتی که گیاه تنها در یکی از محیط‌های خالص نوری قرمز یا آبی و نه هر دو قرار گیرد امکان رشد کامل گیاه فراهم می‌شود. البته برخی هم اعتقاد دارند که در صورت استفاده از نور قرمز، درصد کمی نور آبی حتی در حد ۱۰ درصد برای رشد کامل گیاه لازم است (Yorio et al., 2001; Massa et al., 2008).

جدول ۱- تجزیه واریانس داده‌های وزن تر، درصد انسانس و فعالیت آنژیم‌های آنتی اکسیدان

درجه آزادی	وزن ترکیه	درصد انسانس	کاتالاز	گلوتاتیون	اسکوربات	سوپراکسید
محیط	۵ (۴)	۱۵۳۳/۷۳ **	۱۹/۳۲ **	۰/۶۵۲ **	۰/۱۰۱ **	۰/۰۱۲ **
تکرار (محیط)	۱۰ (۸)	۱۰/۸۶	۰/۰۴۴	۰/۰۰۵	۰/۰۱۳	۰/۰۰۰۷
کلولن	۲	۳۱۶/۹۱ **	۲/۱۹ **	۰/۴۶۴ **	۰/۰۳۰ *	۰/۰۰۶ ns
کلولن * محیط	۱۵ (۸)	۶۸/۴۳ **	۲/۶۷ **	۰/۵۸۴ **	۰/۲۱۱ **	۰/۰۱۶ **
خطا	۲۴ (۲۰)	۲۹/۴۸	۰/۰۸	۰/۰۰۶	۰/۰۰۷۶	۰/۰۰۰۹

درصد انسانس است که فاقد مقادیر مریبوط به نور فلورست بود.

جدول ۲- مقایسه میانگین وزن تر گیاه، درصد انسانس و فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان در کلون‌های نعناع رشد یافته در نورهای مختلف

آنژیم های آنتی اکسیدان		درصد اسانس		وزن تر (گرم بر گلدان)	
سوپراکسید دیسموتاز	گلوتاتیون پراکسیداز	کاتالاز	آسکوربیات	کاتالاز	درصد اسانس
۰/۱۵۴ <sup>b</sup>	۰/۱۳۷ <sup>a</sup>	۰/۳۳۹ <sup>a</sup>	۰/۶۹۷ <sup>a</sup>	۲/۸۶ <sup>b</sup>	۱۶/۵۰ <sup>b*</sup>
۰/۲۲۴ <sup>a</sup>	۰/۱۲۲ <sup>a</sup>	۰/۲۵۹ <sup>b</sup>	۰/۴۳۹ <sup>b</sup>	۳/۵۹ <sup>a</sup>	۲۳/۸۷ <sup>a</sup>
۰/۰۹۱ <sup>c</sup>	۰/۱۳۱ <sup>a</sup>	۰/۲۸۳ <sup>ab</sup>	۰/۴۰۲ <sup>b</sup>	۳/۰۴ <sup>b</sup>	۱۶/۷۰ <sup>b</sup>
۰/۲۲۱ <sup>b</sup>	۰/۱۹۳ <sup>a</sup>	۰/۴۵۶ <sup>a</sup>	۰/۸۶۷ <sup>a</sup>	۴/۰۰ <sup>b</sup>	۷/۷۷ <sup>c</sup>
۰/۱۴۱ <sup>c</sup>	۰/۱۳۶ <sup>b</sup>	۰/۳۲۶ <sup>b</sup>	۰/۷۹۲ <sup>a</sup>	۴/۴۱ <sup>a</sup>	۱۸/۸۵ <sup>b</sup>
۰/۰۸۸ <sup>d</sup>	۰/۰۸۳ <sup>d</sup>	۰/۳۳۶ <sup>ab</sup>	۰/۴۲۸ <sup>bc</sup>	۳/۷۸ <sup>b</sup>	۳۲/۵۸ <sup>a</sup>
۰/۰۲۱ <sup>e</sup>	۰/۱۰۶ <sup>cd</sup>	۰/۱۷۰ <sup>c</sup>	۰/۳۵۲ <sup>c</sup>	۲/۵۲ <sup>c</sup>	۱۷/۲۹ <sup>b</sup>
۰/۳۲۸ <sup>a</sup>	۰/۱۲۶ <sup>bc</sup>	۰/۲۸۸ <sup>bc</sup>	۰/۴۷۸ <sup>b</sup>	—**	۲/۴۲ <sup>d</sup>
۰/۱۴۱ <sup>c</sup>	۰/۱۲۹ <sup>bc</sup>	۰/۱۸۵ <sup>c</sup>	۰/۱۵۸ <sup>d</sup>	۰/۹۳ <sup>c</sup>	۳۵/۲۴ <sup>a</sup>

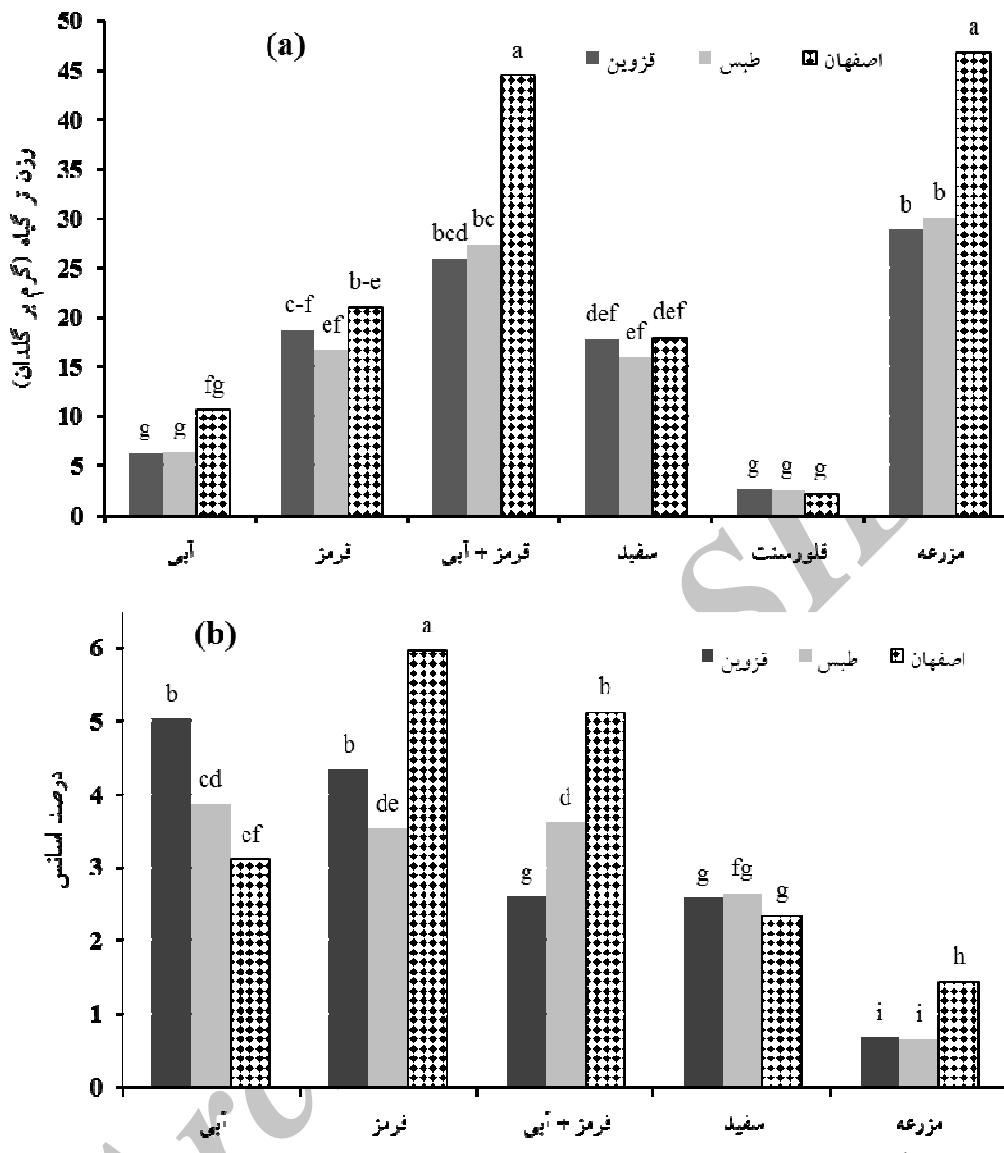
\*در هر ستون میانگین ژنوتیپ ها یا کیفیت های مختلف نور که حداقل دارای یک حرف مشترک باشند اختلاف معنی دار در سطح احتمال کمتر از ۰/۰۵ ندارند.

\*\*\* وزن تر گیاه در شرایط نور فلورسنت برای استخراج اسانس کافی نبود.

۱۰) واحد آنژیم‌های کاتالاز و آسکوربیات پراکسیداز، مصرف نانومول پراکسید هیدروژن در دقیقه، واحد آنژیم گلوتاتیون ردوکتاز، مصرف نانومول گلوتاتیون اکسید شده در دقیقه و واحد آنژیم سوپراکسید دیسموتاز، مصرف نانومول رادیکال اکسیژن در دقیقه است.

تأثیر کیفیت منبع نور بر محتوای انسانس: درصد انسانس گیاه نعناع به صورت معنی داری تابع کلون و محیط روشنایی، گیاه بود (جادول ۱). همانند وزن ترکیب، بیشترین

ذکر شده بر رشد نعناع تأثیر منفی نداشته اند چون عملکرد وزن تر گیاه در مزرعه با شرایط نور قرمز و آبی یکسان بود.



شکل ۱- مقایسه میانگین اثر متقابل ژنوتیپ\*محیط از نظر وزن تر گیاه (a)، درصد اسانس (b) در هر صفت ستونهایی که حداقل دارای یک حرف مشترک هستند، اختلاف معنی دار در سطح احتمال ۰/۰۵ ندارند.

شرایط مزرعه، بیشترین درصد اسانس متعلق به کلون اصفهان بود در حالی که در نور آبی، بیشترین اسانس متعلق به کلون قزوین بود. در نور سفید LED کلون‌ها از نظر محتوای اسانس اختلاف آماری نداشتند (شکل ۱، b). با توجه به اینکه کلون اصفهان، بیشترین عملکرد وزن تر بوته را نیز به خود اختصاص داد می‌توان استنباط کرد که در شرایط کشت نعناع تحت نور مصنوعی، استفاده از ژنوتیپ‌های انتخابی و ترجیحاً تحت نور قرمز و آبی قابل توصیه است.

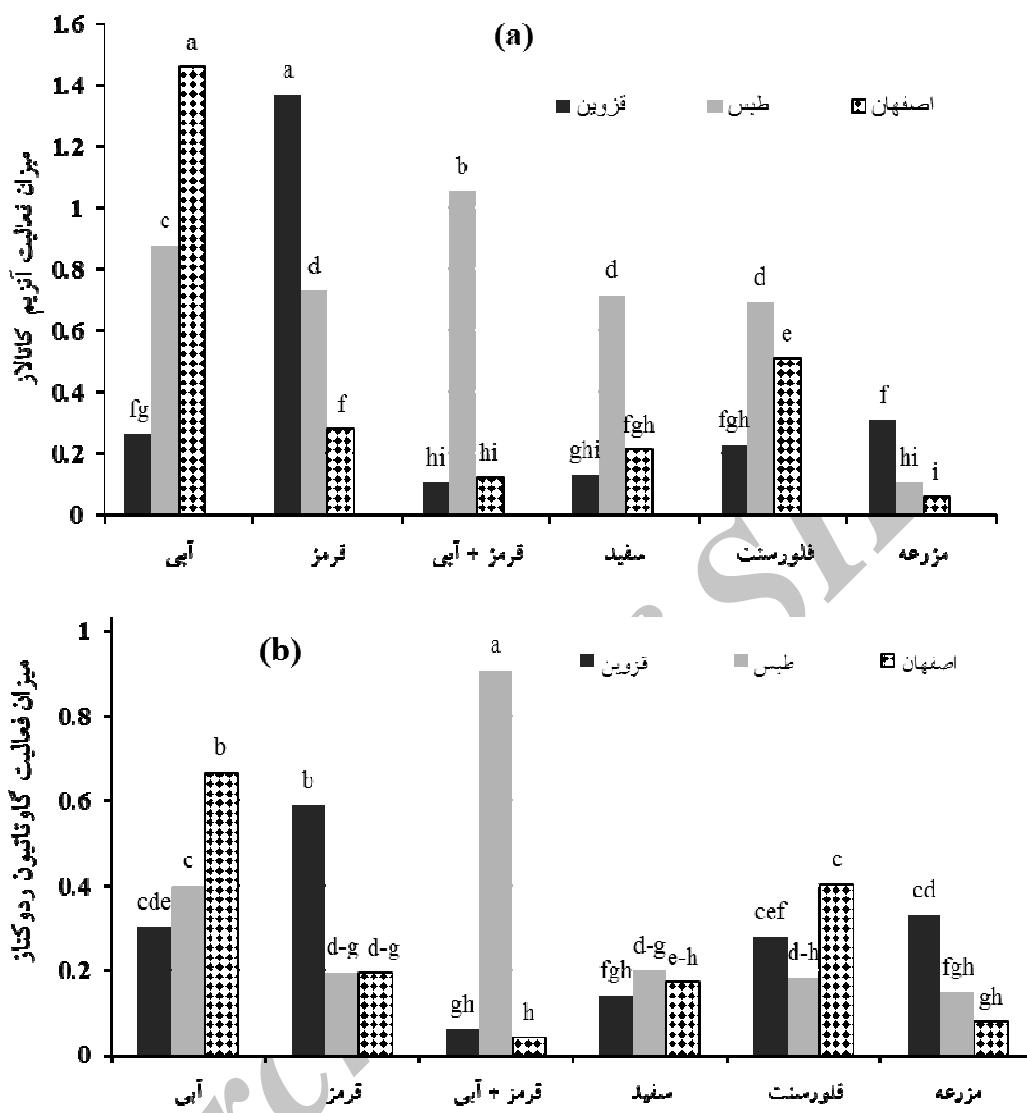
درصد اسانس (۳/۵۹ درصد) متعلق به کلون اصفهان بود. همچنین بیشترین درصد اسانس گیاه نعناع در نور قرمز LED (۴/۴۱ درصد) و کمترین آن در شرایط مزرعه (۰/۹۳ درصد) بدست آمد. درصد اسانس در ترکیب نور قرمز و آبی (۳/۷۸ درصد) اختلاف آماری معنی داری با نور آبی (۴/۰۰ درصد) نداشت (جدول ۲). بررسی میانگین‌های درصد اسانس از طریق تحلیل اثر متقابل کلون و محیط‌های نور نیز نشان داد که در نور قرمز، ترکیب قرمز و آبی و

می شود که به عنوان افزودنی غذایی (رنگ) نیز قابل مصرف است.

**تأثیر کیفیت منع نور بر فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان:** مقایسه میانگین کلون‌های نعناع از نظر میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان نشان داد که از نظر دو آنزیم کاتالاز و گلوتاتیون ردوکتاز، کلون طبس بیشترین فعالیت را داشت و دو کلون دیگر از این نظر اختلاف آماری با همدیگر نداشتند (جدول ۲). از نظر فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز، کلون اصفهان فعالیت بیشتری نشان داد و کلون‌های طبس و قزوین به ترتیب در رتبه‌های بعدی قرار داشتند. اختلاف بین کلون‌ها از نظر آنزیم آسکوربات پراکسیداز معنی‌دار نبود. مقایسه محیط‌های نوری مورد استفاده در آزمایش نیز نشان داد که نور آبی بیشترین تأثیر را بر افزایش فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، گلوتاتیون ردوکتاز و آسکوربات پراکسیداز در گیاه نعناع داشت (جدول ۲). بیشترین فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در محیط انکوباتور حاوی لامپ فلورسنت ملاحظه شد. کمترین فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و گلوتاتیون ردوکتاز به ترتیب در گیاهان رشد یافته در مزرعه و نور سفید LED (به همراه شرایط مزرعه) و کمترین فعالیت آنزیم‌های آسکوربات پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز در گیاهان رشد یافته در ترکیب نور قرمز و آبی مشاهده گردید.

بررسی نمودارهای اثر متقابل کلون و محیط نور (شکل ۲ و ۳ a و b) نشان داد که تنوع بیشتری بین کلون‌های مورد مطالعه از نظر فعالیت دو آنزیم کاتالاز و گلوتاتیون ردوکتاز در مقایسه با آنزیم‌های دیگر در واکنش به محیط نور وجود داشت. به طوری که نتایج نشان می‌دهد فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و گلوتاتیون ردوکتاز تحت نور آبی LED در کلون اصفهان بیشتر از سایر کلون‌ها بود ولی تحت نور قرمز LED، کلون قزوین از نظر فعالیت دو آنزیم مذکور به صورت معنی‌داری از کلون اصفهان پیشی گرفته است. در حالی که در ترکیب نور قرمز و آبی، این آنزیم‌ها در هر دو کلون اصفهان و قزوین کاهش شدیدی نشان دادند و به جای آن ژنوتیپ طبس از نظر فعالیت آنتی اکسیدانی در

نتایج این مطالعه نشان داد که نور قرمز می‌تواند منجر به افزایش اسانس نعناع تا بیش از ۴ برابر شود. افزایش میزان اسانس نعناع فلسفی تحت تأثیر نور قرمز می‌تواند احتمالاً نشان دهنده نقش تحریک کننده‌گی نور قرمز در بروز ژن‌های موثر در تولید اسانس باشد. اسانس‌های گیاهی از متابولیت‌های ثانویه محسوب می‌شوند و هر چند تا کنون تأثیر نورهای LED بر اسانس گیاهان به طور کامل بررسی نشده است ولی اخیراً مشخص شده است که هر دو نور قرمز و نور آبی می‌توانند با تأثیر بر تولید سایر متابولیت‌های ثانویه، تجمع آنها را در بافت‌های مختلف گیاهان افزایش دهند (Urbonaviciute *et al.*, 2008). در مطالعه‌ای Lefsrud و همکاران (۲۰۰۸) نشان دادند که در گیاه کلم (*Brassica oleracea*) که تحت نورهای LED پرورش یافته بود، نور قرمز منجر به افزایش معنی‌دار لوئین و گلیکوزینولات در برگ گردید. در گیاه اطلسی (*Petunia hybrid*) که تحت نور LED قرار گرفت، Colquhoun و همکاران (۲۰۱۳) ملاحظه کردند که برخی از ترکیبات معطر گل به ویژه phenylacetaldehyde با تابش نور قرمز به طور قابل توجهی افزایش می‌یابد. بدین ترتیب این محققین پیشنهاد کردند که می‌توان از نورهای LED برای بهبود کیفیت و همچنین نگهداری گل‌ها و میوه‌ها استفاده کرد. با این حال گزارش‌هایی هم وجود دارد که نشان می‌دهد نور آبی نیز می‌تواند تولید برخی از متابولیت‌های گیاه را افزایش دهد. به عنوان مثال، Park و همکاران (۲۰۱۳) در گیاه جینسنگ که گیاه دارویی و پرورشی کشور کره محسوب می‌شود، گزارش کردند که نور آبی منجر به افزایش ترکیبات اسید وانیلیک، اسید کوماریک و اسید فرولیک گردید. برخی از متابولیت‌ها که در اثر نورهای تک موج افزایش پیدا می‌کنند ممکن است ارزش‌های اقتصادی خاصی هم داشته باشند. در جلبک Katsuda *Haematococcus pluvialis* و همکاران (۲۰۰۶) با استفاده از نور آبی LED توانستند ترکیبی به نام آستاگرانتین (Astaxanthin) را افزایش دهند. آستاگرانتین یکی از ترکیبات مؤثر علیه سرطان محسوب

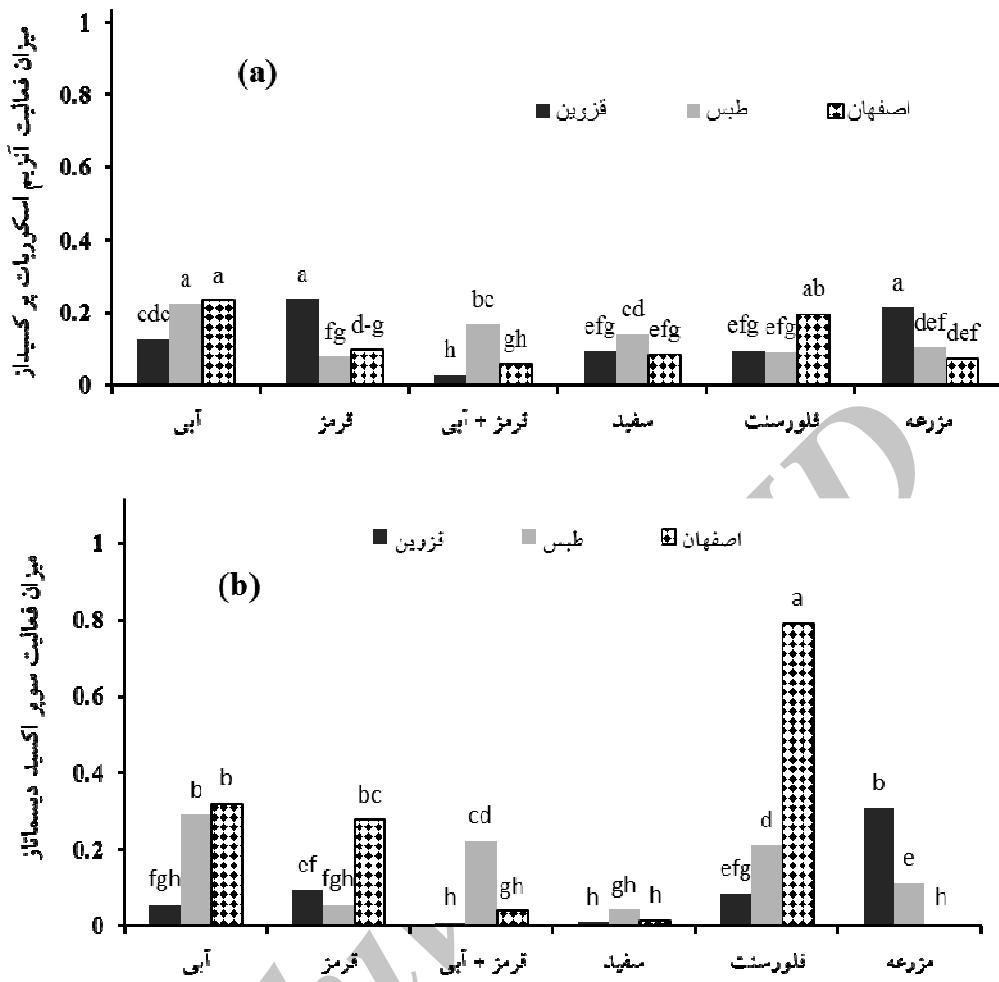


شکل ۲- مقایسه میانگین اثر متقابل ژنوتیپ\*محیط از نظر فعالیت کاتالاز بر حسب مصرف نانومول پراکسید هیدروژن در دقیقه (a)، فعالیت گلوتاتیون ردوکتاز بر حسب نانومول گلوتاتیون اکسید شده در دقیقه (b). در هر صفت ستون هایی که حداقل دارای یک حرف مشترک هستند، اختلاف معنی دار در سطح احتمال ۰/۰۵ ندارند.

باشد. از آنجا که نورهای شدید قرمز و آبی برای گیاه نعناع می‌تواند نوعی تنفس محسوب شود، احتمالاً افزایش محتوای آنزیم‌های آنتی اکسیدان گیاه نعناع می‌تواند در جلوگیری از تولید و تجمع رادیکال‌های آزاد اکسیژن نقش مؤثری داشته باشد.

بر خلاف نتایج حاصل از مطالعه حاضر، بیشتر گزارش‌ها نشان می‌دهد که نور قرمز منجر به افزایش بیشتر قابلیت

مکان بسیار بالاتری قرار گرفت (شکل ۲ و a و b)). نتایج بررسی فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان نشان می‌دهد که با وجود اینکه به نظر می‌رسد نور آبی می‌تواند احتمالاً منجر به افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی در گیاه گردد ولی این تأثیر به شدت به ژنوتیپ گیاه بستگی دارد. این مطلب می‌تواند به دلیل محتوای ژنتیکی گیاه و همچنین آثار متقابل این محتوای ژنتیکی با نورهای آبی و قرمز



شکل ۳- مقایسه میانگین اثر متقابل ژنوتیپ\*محیط از نظر فعالیت آسکوربیات پروکسیداز بر حسب مصرف نانومول پراکسید هیدروژن در دقیقه (a) و فعالیت سوپراکسید دیسموتاز بر حسب مصرف نانومول رادیکال اکسیژن در دقیقه (b). در هر صفت ستون هایی که حداقل دارای یک حرف مشترک هستند، اختلاف معنی دار در سطح احتمال ۰/۰۵ ندارند.

متقابل ژنوتیپ و منبع نور را نداشتند. به همین دلیل پیش بینی می شود که احتمالاً در سایر گیاهان نیز افزایش فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی در شرایط نور LED تحت تأثیر ژنوتیپ گیاه قرار گیرد. به همین ترتیب در این مطالعه نیز کلون نعناع فلفلی قزوین فعالیت آنتی اکسیدانی بیشتری در نور قرمز نشان داد در حالی که در کلون اصفهان، فعالیت آنتی اکسیدانی در نور آبی بیشتر بود. اینکه چه سازوکاری موجب می شود که ترکیبات ثانویه گیاهی در برخی کلون ها با نور قرمز و در برخی دیگر با نور آبی القاء شده و تجمع کنند هنوز به درستی مشخص نیست ولی به نظر می رسد

احیاء کنندگی عصاره گیاه از طریق بالا بردن قابلیت آنتی اکسیدانی شده است. در کاهو Kubota و Li (۲۰۰۹) نشان دادند که نور قرمز منجر به افزایش میزان ترکیبات فنولیک گیاه گردید. همچنین در کلم، Lefsrud و همکاران (۲۰۰۸)، گزارش کردند که تحت نور قرمز LED، میزان ترکیبات آنتوسیانین گیاه که از انواع آنتی اکسیدان ها محسوب می شوند، افزایش یافت. در خود هم افزایش میزان ترکیبات آنتی اکسیدان تحت نور قرمز مشاهده گردید (Wu *et al.*, 2007). اگرچه در مطالعات گذشته تنها از یک ژنوتیپ گیاهی استفاده شده است که امکان بررسی اثر

گلوتاتیون ردوکتاز و آسکوربیات پرکسیداز داشت. در حالی که بیشترین فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در محیط نور لامپ فلورسنت مشاهده شد. اثر متقابل کلون و محیط نور بر فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان معنی‌دار بود، به طوری که بیشترین فعالیت کاتالاز در نور آبی و کلون اصفهان و بیشترین فعالیت گلوتاتیون ردوکتاز در نور قرمز و آبی و کلون طبس حاصل شد. نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که از نظر درصد و عملکرد انسانس، نور LED (ترکیب قرمز و آبی) نسبت به شرایط مزرعه برتری داشت. به نظر می‌رسد که با استفاده از نورهای LED تولید اقتصادی گیاه نعناع در محیط‌های کنترل شده (گلخانه) امکان پذیر باشد.

#### تشکر و قدردانی:

نویسنده‌گان مقاله از آقای مهندس احسان عطایی به دلیل همکاری در انجام آزمایش و استخراج انسانس و آقای دکتر حسین زینلی برای در اختیار گذاشتن کلون اصفهان سپاسگزاری می‌کنند.

احتمالاً این طول موج‌ها با فعالسازی برخی ژن‌های گیاهی مرتبط هستند که مسئول نهایی افزایش متابولیت‌های ثانویه گیاهی محسوب می‌شوند (Sabzalian et al., 2014).

#### نتیجه گیری کلی:

در این تحقیق رشد، درصد انسانس و فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان تحت تأثیر طول موج‌های مختلف نور و ژنوتیپ گیاه قرار گرفت. ترکیب نور قرمز و آبی وزن تر هر سه کلون نعناع را افزایش داد ولی این افزایش در کلون اصفهان بیشتر بود. در نور قرمز، ترکیب قرمز و آبی و شرایط مزرعه، بیشترین درصد انسانس متعلق به کلون اصفهان بود، در حالی که در نور آبی، بیشترین درصد انسانس در کلون قزوین بدست آمد. با وجود اینکه نور قرمز منجر به افزایش چهار برابری انسانس نعناع نسبت به شرایط مزرعه گردید، با این حال، به دلیل بالاتر بودن وزن گیاه در ترکیب نور قرمز و آبی، این ترکیب بیشترین عملکرد انسانس را خواهد داشت. صرف نظر از نوع کلون، نور آبی بیشترین تأثیر را بر افزایش فعالیت کاتالاز،

#### منابع:

- Rushing, G. V., Hunter, T. M., Olmstead, J., Clark, D. G. and Folta, K. M. (2013) Light modulation of volatile organic compounds from petunia flowers and select fruits. Postharvest Biology and Technology 86: 37–44.
- Dzamic, A. M., Sokovic, M. D., Ristic, M. S., Novakovic, M., Grujic-Jovanovic, S., Tesevic V. and Marin, P. D. (2010) Antifungal and antioxidant activity of *Mentha longifolia* (L.) Hudson (Lamiaceae) essential oil. Botanica Srbica. 34: 57-61.
- Fan, X. X., Xu Z. G., Liu X.Y., Tang C. M., Wang L.W. and Han, X. L. (2013) Effects of light intensity on the growth and leaf development of young tomato plants grown under a combination of red and blue light. Scientia Horticulturae 153: 50–55.
- Farshbaf Moghaddam, M., Omidbaigi R., Pourbaig V. M. and Ghaemi, A. (2004) Composition and antifungal activity of peppermint (*Mentha piperita*) essential oil. Iranian Journal of Pharmaceutical Research 3: 68-69.
- Heydarizadeh, P., Zahedi M., Sabzalian M. R. and Ataii, E. (2013) Mycorrhizal infection, essential oil content and morpho-phenological
- Aebi, H. (1984) Catalase *in vitro*. Methods in Enzymology 105: 121–126.
- Ashurst, P. R. (1999) Food Flavorings. Aspen Publishers Inc, Maryland, USA.
- Bais, H. P., Walker, T. S. Schweizer H. P. and Vivanco, J. A. (2002) Root specific elicitation and antimicrobial activity of rosmarinic acid in hairy root cultures of *Ocimum basilicum*. Plant Physiology and Biochemistry 40:983–995.
- Barisic, N., Stojkovic, B. and Tarasjev, A. (2006) Plastic responses to light intensity and planting density in three *Lamium* species. Plant Systematics and Evolution 262: 25-36.
- British Pharmacopoeia. (1980) H. M. S. Office. 2, London, pp. 109-110.
- Chambers, H. (1992) *Mentha*, genetic resources and the collection at USDA-ARSNCGR-Corvallis. Lamiales News letter 1: 3-4.
- Chance, B. and Maehly, A. C. (1955) Assay of catalases and peroxidase. Methods in Enzymology 2:764–775.
- Colquhoun, T. A., Schwieterman, M. L., Gilbert, J. L. E. A. Jaworski, Langer, K. M. Jones, C. R.,

- of the methanol extract from *Mentha suaveolens* Ehrh. *Phytotherapy Research* 16:10-13.
- Mozaffarian, V. (1996) A dictionary of Iranian plant names. Farhang Moaser Publication, Tehran, 360 p.
- Niki, E. (2010) Assessment of antioxidant capacity in vitro and in vivo. *Free Radical Biology and Medicine* 49: 503-515.
- Olle, M. and Virsilé, A. (2013) The effects of light emitting diode lighting on greenhouse plant growth and quality. *Agricultural and Food Science* 22: 223-234.
- Park, S. Y., Lee, J. G., Cho, H. S., Seong, E. S., Kim, H. Y., Yu, C. Y. and Kim, J. K. (2013) Metabolite profiling approach for assessing the effects of colored light-emitting diode lighting on the adventitious roots of ginseng (*Panax ginseng* C. A. Mayer). *Plant Omics Journal* 6: 224-230.
- Patra, P. K., Das M. and Behera, P. K. (2003) Growth response of mint (*Mentha spicata* L.) to light and shade regime, *Indian Journal of Plant Physiology*, New Delhi, 8:193-195.
- Sabzalian, M. R., Heydarizadeh, P., Zahedi, M., Boroomand, A., Agharokh, M., Sahba, M. R. and Schoefs, B. (2014) High performance of vegetables, flowers, and medicinal plants in a red-blue LED incubator for indoor plant production. *Agronomy for Sustainable Development* 34:879-886.
- Sager, J. C. and McFarlane, J. C. (1997) Radiation. In *Plant Growth Chamber Handbook* (eds. Langhans R. W. and Tibbitts, T. W.), pp. 1-29. Iowa State University. Iowa Agriculture and Home Economics Experiment Station Special Report. 99.
- Urbonaviciute, A., Samuoliene, G., Brazaityte, A., Ulinskaite, R., Jankauskiene, J., Duchovskis, P. and Zukauskas, A. (2008) The possibility to control the metabolism of green vegetables and sprouts using light emitting diode illumination. *Sodininkyste ir Darzininkyste*, 27: 83-92.
- Wu, M. C., Hou, C. Y., Jiang, C. M., Wang, Y. T., Wang, C. Y., Chen, H. H. and Chang, H. M. (2007) A novel approach of LED light radiation improves the antioxidant activity of pea seedlings. *Food Chemistry* 101:1753-1758.
- Yorio, N. C., Goins, G. D., Kagie, H. R., Wheeler, R. M., and Sager, J. C. (2001) Improving spinach, radish, and lettuce growth under red light-emitting diodes (LEDs) with blue light supplementation. *HortScience* 36:380-383.
- Zeinali, H., Arzani, A. and Razmjoo, K. (2004) Morphological and essential oil content diversity of Iranian mints (*Mentha* spp.). *Iranian Journal of Science and Technology Transactions A* 28: 1-9.
- characteristics variability in three mint species. *Scientia Horticulturae* 153: 136- 303.
- Hsu, S. Y. and Kao, C. H. (2003) Differential effect of sorbitol and polyethylene glycol and antioxidant enzymes in rice leaves. *Plant Growth Regulator* 39: 83-90.
- Johkan, M., Shoji, K., Goto, F., Hashida, S. and Yoshihara, T. (2010) Blue light-emitting diode light irradiation of seedlings improves seedling quality and growth after transplanting in red leaf lettuce. *HortScience* 12:1809–1814.
- Katsuda T., Shimahara K., Shiraishi H., Yamagami K., Ranjbar R. and Katoh, S. (2006) Effect of flashing light from blue light emitting diodes on cell growth and astaxanthin production of *Haematococcus pluvialis*. *Journal of Bioscience and Bioengineering* 102: 442-446.
- Kim, H. H., Goins, G. D., Wheeler, R. M. and Sager, J. C. (2004) Green-light supplementation for enhanced lettuce growth under red- and blue-light-emitting diodes. *HortScience* 39:1617-1622.
- Lee, N. Y., Lee, M. -J., Kim, Y. -K., Park, J. -C., Park, H. -K., Choi, J. -S., Hyun, J. -N., Kim, K. -J., Park K.-H., Ko, J.-K. and Kim, J. -G. (2010) Effect of light emitting diode radiation on antioxidant activity of barley leaf. *Journal of the Korean Society for Applied Biological Chemistry* 53: 685-690.
- Lefsrud, M. G., Kopsell, D. A. and Sams, C. (2008) Irradiance from distinct wave-length light-emitting diodes affect secondary metabolites in kale. *HortScience* 43: 2243-2244.
- Li, H., Tang C. and Xu, Z. (2013) The effects of different light qualities on rapeseed (*Brassica napus* L.) plantlet growth and morphogenesis in vitro. *Scientia Horticulturae* 150:117-124.
- Li, Q. and Kubota, C. (2009) Effects of supplemental light quality on growth and phytochemicals of baby leaf lettuce. *Environmental and Experimental Botany* 67: 59-64.
- Martineau, V., Lefsrud, M. , Naznin, M. T. and Kopsell, D. A. ( 2012) Comparison of light-emitting diode and high-pressure sodium light treatments for hydroponics growth of Boston lettuce. *HortScience* 47: 477-482
- Massa, G. D., Kim H.-H., Wheeler, R. M. and Mitchell, C. A. (2008) Plant productivity in response to LED lighting. *Hortscience* 43: 1951-1956.
- Mirzaie-Nodoushan, H., Rezaie, M. B. and Jaimand, K. (2001) Path analysis of the essential oil-related characters in *Mentha* spp. *Flavour and Fragrance Journal* 16: 340-343.
- Moreno, L., Bello, R., Primo-Yufera, E. and Esplugues, J. (2002) Pharmacological properties