

Effect of foliar application of salicylic acid on some morphological and non-enzymatic antioxidant characteristics of Licorice (*Glycyrrhiza glabra* L.) under UV-B stress

Pages
77-97

F. Ahmadi¹, S. Hosseini Sarghein^{1*}, J. Khara¹ and Sh. Yeganeh Far¹

1) Department of Biology, Faculty of Science, Urmia University, Urmia, Iran.

*Corresponding author : s.hosseini@urmia.ac.ir

Received date: 2025.11.01

Accepted date: 2026.02.01

Abstract

Licorice (*Glycyrrhiza glabra* L.) is valued in various industries for its secondary metabolites. UV-B radiation stress can impair plant growth and metabolism, while salicylic acid, as a growth regulator, enhances plant tolerance to stress. This study was conducted to investigate the effects of UV-B and salicylic acid on growth and non-enzymatic antioxidant characteristics of licorice in a completely randomized factorial design with three replications during 2023–2024 at Urmia University. Seeds were prepared, germinated, and planted in pots, and at the 5–6 leaf stage, plants were treated with salicylic acid (0, 1, and 2 mM) via foliar application and UV-B stress (30 minutes daily) for two weeks. Growth traits (fresh and dry weight of roots and leaves) and biochemical traits (total phenol, flavonoid, anthocyanin content, and FRAP antioxidant activity) were evaluated. The results showed that UV-B significantly reduced the fresh weight of roots and leaves and dry weight of roots and leaves (by 67%, 68%, 64.6%, and 37.5% compared to the control, respectively) but increased total phenol and flavonoid content. Application of salicylic acid, particularly at 2 mM, mitigated these effects and improved the fresh and dry weight of leaves and roots. Additionally, salicylic acid combined with UV-B significantly increased phenol content in roots (130%), which led to an increase in FRAP antioxidant activity. The antioxidant activity of leaves (158%) and roots (130%) significantly increased under combined treatment of salicylic acid and UV compared to the control. Leaf anthocyanin content significantly increased under salicylic acid treatment. These findings highlight the role of salicylic acid in alleviating the negative effects of UV-B and enhancing the antioxidant defense system of licorice.

Keywords: Abiotic stress, Stress amelioration, Total flavonoid and Total phenol.

اثر محلول پاشی برگ‌های سالیسیلیک اسید بر برخی شاخص‌های رشدی و محتوای آنتی‌اکسیدان‌های غیر آنزیمی گیاه

شیرین بیان (*Glycyrrhiza glabra* L.) تحت تنش UV-B

شماره صفحات

۷۷-۹۷

فروغ احمدی^۱، سیاوش حسینی سرقین^{۲*}، جلیل خارا^۳ و شبنم یگانه فر^۴
۱، ۲، ۳ و ۴) گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران.

* نویسنده مسئول: s.hosseini@urmia.ac.ir

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۱۱/۱۲

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۸/۱۰

چکیده

شیرین بیان (*Glycyrrhiza glabra*) به دلیل تولید متابولیت‌های ثانویه در صنایع مختلف کاربرد دارد. تنش پرتو فرابنفش نوع (UV-B) می‌تواند رشد و متابولیسم گیاه را مختل کند، در حالی که سالیسیلیک اسید به عنوان تنظیم‌کننده رشد، تحمل گیاه به تنش را بهبود می‌بخشد. این مطالعه با هدف بررسی اثرات UV-B و محلول پاشی سالیسیلیک اسید بر ویژگی‌های رشدی و آنتی‌اکسیدانی غیر آنزیمی شیرین بیان به صورت فاکتوریل در قالب کاملاً تصادفی با سه تکرار در سال ۱۴۰۳-۱۴۰۲ در دانشگاه ارومیه انجام شد. بذرها پس از آماده‌سازی و جوانه‌زنی در گلدان کاشته شده و در مرحله ۵-۶ برگ، تحت تیمارهای سالیسیلیک اسید (۰، ۱ و ۲ mM) به صورت محلول پاشی و تنش UV-B (نیم ساعت روزانه) به مدت دو هفته قرار گرفتند. صفات رشدی (وزن تر و خشک ریشه و برگ) و فیتوشیمیایی (محتوای فنل، فلاونوئید، آنتوسیانین و فعالیت آنتی‌اکسیدانی FRAP) ارزیابی شدند. نتایج نشان داد که UV-B به طور معنی‌داری وزن تر ریشه و برگ و وزن خشک ریشه و برگ را کاهش (به ترتیب ۶۷٪، ۶۸٪، ۶۴/۶٪ و ۳۷/۵٪ نسبت به شاهد)، اما محتوای فنل و فلاونوئید کل را افزایش داد. کاربرد سالیسیلیک اسید، به ویژه در غلظت ۲ mM، این اثرات را تعدیل کرد و وزن تر و خشک برگ و ریشه را بهبود بخشید. همچنین، سالیسیلیک اسید در ترکیب با UV-B محتوای فنل ریشه را به طور معنی‌داری افزایش داد (۱۳۰٪)، که منجر به افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی FRAP گردید. فعالیت آنتی‌اکسیدانی برگ (۱۵۸٪) و ریشه (۱۳۰٪) به طور معنی‌داری تحت تیمار ترکیبی سالیسیلیک اسید و UV در مقایسه با شاهد افزایش یافت. آنتوسیانین برگ تحت تیمار سالیسیلیک اسید به طور معنی‌داری افزایش یافت. این یافته‌ها نشان‌دهنده نقش سالیسیلیک اسید در کاهش اثرات منفی UV-B و تقویت سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانی شیرین بیان است.

واژه‌های کلیدی: تنش غیر زیستی، فنل کل، فلاونوئید کل و بهبود تنش.

مقدمه

شیرین‌بیان (*Glycyrrhiza glabra*. L.)، گیاهی چندساله از خانواده Fabaceae، بومی نواحی مدیترانه، جنوب روسیه و آسیا است. نام علمی این گیاه از واژه‌های یونانی "Glyc" به معنای شیرین و "Rhyza" به معنای ریشه گرفته شده و "glabra" به دلیل صاف و بدون کرک بودن میوه آن است. نام‌های انگلیسی آن Licorice یا Liquorice و نام عربی آن شجره‌السوس یا عرق‌سوس است. این گیاه با ارتفاع ۱۰۰ تا ۲۰۰ سانتی‌متر، ساقه‌های منشعب، برگ‌های مرکب (شامل چهار تا هفت جفت برگچه و یک برگچه انتهایی که شیره چسبنده ترشح می‌کند)، گل‌های نامنظم به رنگ زرد، بنفش یا ارغوانی (با طول بیش از یک سانتی‌متر) و میوه‌های قهوه‌ای یا خرمایی (به طول دو تا سه سانتی‌متر حاوی سه تا پنج دانه لوبیاشکل با پوست ضخیم) شناخته می‌شود (Khan Ahmadi et al., 2013; Eghlima et al., 2019). ریشه و ریزوم‌های شیرین‌بیان، با پوستی قهوه‌ای و مغزی زردرنگ، منبع غنی ترکیبات فعال مانند فلاونوئیدها، اسیدهای آمینه، استرول‌ها و ساپونین‌ها هستند. مهم‌ترین ساپونین آن، گلیسیریزین (گلیسیریزیک اسید)، حدود ۵۰ برابر شیرین‌تر از شکر است و به عنوان ماده مؤثره اصلی این گیاه شناخته می‌شود (Khan Ahmadi et al., 2013). این گیاه از دوران باستان در طب سنتی جهان برای خواص ضدالتهابی، ضدزخم، خلط‌آور، ضداضطراب، آنتی‌بیوتیک، ضدادرار و ضد میکروبی مورد استفاده قرار گرفته و در درمان بیماری‌هایی مانند سرفه، سرطان، هپاتیت، ورم و زخم معده کاربرد دارد (El-Saber Batiha et al., 2020). بر اساس گزارش سازمان جهانی بهداشت (WHO)، شیرین‌بیان به عنوان نرم‌کننده گلو و خلط‌آور برای برونشیت و سرفه توصیه می‌شود. با وجود نبود گزارش از ترکیبات سمی، مصرف دوزهای بالا در بلندمدت ممکن است عوارض جانبی ایجاد کند، اما در دوزهای کم برای اهداف دارویی ایمن است. ریشه‌های این گیاه حاوی بیش از ۱۰۰ ترکیب، از جمله ساپونین‌های تری‌ترپنوئیدی (مانند گلیسیریزین) و فنول‌ها، هستند که در صنایع غذایی، دارویی، آرایشی، بهداشتی و دخانیات کاربرد دارند (Wahab et al., 2021). یکی از عوامل کلیدی محیطی مؤثر بر رشد و متابولیسم گیاهان، پرتو فرابنفش نوع B (UV-B)، با طول موج ۲۸۰ تا ۳۲۰ نانومتر است که پرنرژی‌ترین بخش طیف خورشیدی رسیده به زمین محسوب می‌شود. این پرتو، برخلاف UV-C (۲۲۰ تا ۲۸۰ نانومتر) که توسط اتمسفر جذب می‌شود و UV-A (۳۲۰ تا ۴۰۰ نانومتر) که کمتر آسیب‌زا است، می‌تواند باعث آسیب DNA، مرگ سلولی، تغییرات ژنتیکی و اختلال در بیان ژن‌ها شود (Hollosoy, 2002; Bhusal et al., 2021). اثرات UV-B بر گیاهان شامل تغییرات اولیه و ثانویه در رشد، ریخت‌شناسی، فیزیولوژی، بیوشیمی، فنولوژی و عملکرد مانند کاهش ارتفاع گیاه، سطح برگ، فاصله میان‌گره، وزن تر و خشک، محتوای کلروفیل، سرعت فتوسنتز و بازده کوانتومی فتوسیستم II (Fv/Fm) است (Zhang et al., 2016; Kataria, 2017). علاوه بر این، UV-B تولید گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) مانند پراکسید هیدروژن (H_2O_2)، سوپراکسید (O_2^-) و هیدروکسیل ($\bullet OH$) را القا می‌کند که می‌تواند به عنوان سیگنال‌دهنده عمل کند یا منجر به تنش اکسیداتیو شود (Huang et al., 2019). گیاهان برای مقابله با این تنش، مکانیسم‌های دفاعی آنزیمی مانند آنزیم‌های سوپر اکسید دیسموتاز

(SOD)، کاتالاز (CAT)، آسکوربات پراکسیداز (APX) و غیرآنزیمی (مانند فنل‌ها و فلاونوئیدها) را توسعه داده‌اند که شدت پاسخ به مدت و شدت تابش و ژنوتیپ بستگی دارد (Ozgun *et al.*, 2021; Tan *et al.*, 2023). مطالعات نشان‌دهنده اثرات UV-B بر متابولیت‌های ثانویه، پراکسیداسیون لیپید و ساختار پروتئین‌ها هستند؛ برای مثال، در گل راعی کرکدار (*Hypericum hirsutum* L.) افزایش شدت UV-B ($25 \text{ kJ m}^{-2} \text{ day}^{-1}$) باعث کاهش وزن تر و خشک، طول اندام هوایی، محتوای کلروفیل و قندهای محلول، اما افزایش فنل‌ها، فلاونوئیدها، مالون‌دی‌آلدئید، آنتوسیانین و پراکسید هیدروژن شد (Bagheri *et al.*, 2020). در غلات مانند جو (*Hordeum vulgare* L.) و گندم (*Triticum aestivum* L.)، تابش کوتاه‌مدت UV تولید ROS و رادیکال‌های پایدار را افزایش داد (Kurdziel *et al.*, 2018). سالیسیلیک اسید، یک ترکیب فنولی (اسید ارتو-هیدروکسی‌بنزوئیک) مشتق از درخت بید (*Salix*)، به عنوان تنظیم‌کننده رشد در فرآیندهای فیزیولوژیکی مانند گرم‌زایی، دفاع گیاهی و پاسخ به تنش‌های زیستی و غیرزیستی نقش دارد (Wani *et al.*, 2017). سالیسیلیک اسید به صورت آزاد یا کونژوگه (از طریق متیلاسیون، هیدروکسیلاسیون یا گلوکوزیلاسیون) وجود دارد و بیان ژن‌های دفاعی را تنظیم می‌کند، ایمنی گیاه را افزایش می‌دهد و با هورمون‌های دیگر مانند جاسمونیک اسید، اکسین و اتیلن تعامل دارد (Maruri-López *et al.*, 2019; Song *et al.*, 2023). کاربرد سالیسیلیک اسید اثرات تنش را کاهش می‌دهد؛ برای مثال، در گیاهان گوجه‌فرنگی (*Solanum lycopersicum*) تحت شوری، محلول‌پاشی سالیسیلیک اسید طول و قطر میوه، تعداد میوه، عملکرد و ویتامین C را بهبود بخشید (Naeem *et al.*, 2020). به طور مشابه در گیاهان توت‌فرنگی (*Fragaria × ananassa*) تحت شوری، کاربرد سالیسیلیک اسید وزن تر و خشک، محتوای کلروفیل، عناصر برگ، عملکرد و آسکوربیک اسید را افزایش داد. در حالی که غلظت سدیم و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی را تعدیل کرد (Roshdy *et al.*, 2021). گزارش شده است که در گیاهان رزماری (*Salvia rosmarinus*) در کشت درون‌شیشه‌ای، غلظت‌های $10\text{--}20 \text{ mg L}^{-1}$ همراه با اشعه فرابنفش تعداد شاخه، برگ، وزن تر و خشک، کلروفیل و کربوهیدرات‌ها را بهبود بخشید (Nasseralla and Almkhtar, 2023). محققان نشان دادند که در گیاهان سویا تحت UV-B، کاربرد سالیسیلیک اسید و آسکوربیک اسید زیست‌توده، محتوای آب نسبی، پایداری غشا و رنگدانه‌های فتوسنتزی را افزایش می‌دهد و اثرات مضر UV-B را کاهش می‌دهد (Arsule and Chaudhary, 2024). اگرچه افزایش تابش UV-B ناشی از تخریب لایه اوزون، به‌عنوان یک تهدید برای رشد گیاهان دارویی مانند شیرین‌بیان شناخته می‌شود، اما از منظر تولید متابولیت‌های ثانویه، به‌ویژه ترکیبات فنلی، می‌تواند یک فرصت محسوب شود؛ چرا که این پرتو نقش تحریک‌کنندگی بر مسیرهای سنتز این ترکیبات دارد. با توجه به اهمیت اقتصادی این گیاه، بررسی پاسخ آن به UV-B و نقش سالیسیلیک اسید در افزایش تحمل ضروری است. این مطالعه با هدف بررسی اثرات UV-B بر خصوصیات رشدی و آنتی‌اکسیدان‌های غیرآنزیمی گیاه شیرین‌بیان و ارزیابی نقش سالیسیلیک اسید در بهبود اثرات ناشی از این تنش انجام شد. این پژوهش با این فرضیه بنیادین طراحی و اجرا شد که کاربرد برگ‌گی اسید سالیسیلیک، به عنوان یک مولکول پیام‌رسان در پاسخ به تنش‌های زیستی و غیر

زیستی، قادر است اثرات مخرب پرتوهای فرابنفش UV-B را بر رشد و متابولیسم گیاه دارویی شیرین‌بیان تعدیل کند. هدف اصلی این مطالعه، واکاوی هم‌زمان اثرات متقابل این دو فاکتور بر شاخص‌های کلیدی رشد گیاه و همچنین ارزیابی پاسخ‌های دفاعی در قالب سیستم آنتی‌اکسیدانی غیرآنزیمی بود.

روش کار

طرح آزمایشی، کشت و اعمال تیمارها

به منظور بررسی پاسخ گیاه شیرین‌بیان به تنش UV-B تحت تیمار سالیسیلیک اسید، آزمایشی به صورت فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار، در اتاق کشت تحقیقاتی دانشکده علوم دانشگاه ارومیه طی سال‌های ۱۴۰۲-۱۴۰۳ انجام شد. بذره‌های گیاه شیرین‌بیان از مرکز تحقیقات کشاورزی آذربایجان غربی تهیه گردید. برای ضدعفونی، بذرها به مدت ۳۰ ثانیه در هیپوکلریت سدیم ۱۰٪ قرار داده شدند و سپس سه بار با آب مقطر شستشو یافتند. به منظور شکستن خواب بذرها، آن‌ها در محلول جیبرلیک اسید با غلظت ۴۰۰ ppm به مدت ۴۸ ساعت غوطه‌ور گردیدند (Rostami *et al.*, 2022). سپس، بذرها در پتری‌دیش‌های پوشیده‌شده با فویل آلومینیومی، در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد و رطوبت ۹۰٪، به مدت ۴۸ ساعت در دستگاه ژرمیناتور (BINDER مدل KBWF 240، ساخت شرکت آلمان) برای جوانه‌زنی قرار گرفتند. بذره‌های جوانه‌زده به گلدان‌هایی با قطر دهانه ۱۸ سانتی‌متر و عمق ۱۲ سانتی‌متر حاوی خاک منتقل شدند و به مدت ۳۰ روز تحت مراقبت‌های لازم قرار گرفتند. پس از آماده‌سازی، گلدان‌ها به گلخانه‌ای با رطوبت نسبی ۷۰٪، دمای ۲۵-۳۰ درجه سانتی‌گراد و دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی منتقل گردیدند. تیمارهای UV-B و سالیسیلیک اسید پس از رسیدن گیاهان به مرحله رشد مناسب (۵-۶ برگ بالغ) به مدت دو هفته اعمال شدند. تیمار اسید سالیسیلیک در سه سطح غلظتی (۰، ۱ و ۲ میلی‌مولار) به صورت محلول‌پاشی اوایل صبح انجام گرفت، به طوری که اندام‌های هوایی گیاه کاملاً پوشانده شد. این عملیات هشت بار طی دو هفته تکرار گردید. بلافاصله پس از محلول‌پاشی، گیاهان تحت تنش UV-B هر روز به مدت نیم ساعت قرار گرفتند. برای تیمار UVB از لامپ UV با این مشخصات استفاده شد: UVB = 2 (15w) (LF-215 m.312 nm). لامپ‌ها در فاصله ۷۵ سانتی‌متری از بالای گلدان‌ها نصب شدند. میزان قرار گرفتن در معرض تابش فرابنفش در نوک گیاهان با استفاده از یک طیف‌سنج UV-B اندازه‌گیری شد که مقدار ۹/۵ کیلوژول بر متر مربع در روز را ثبت کرد. ۱۴ روز پس از اعمال تیمارها، گیاهان برداشت شدند و نمونه‌های تر در فریزر ۴- درجه سانتی‌گراد برای سنجش صفات فیتوشیمیایی نگهداری شدند. همچنین وزن تر و خشک ریشه و برگ با استفاده از ترازوی دیجیتال اندازه‌گیری شد. ابتدا نمونه‌های تر وزن شدند. سپس این نمونه‌ها در آون ۷۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۷۲ ساعت نگهداری و خشک شدند و وزن خشک آنها اندازه‌گیری شد.

اندازه‌گیری آنتی‌اکسیدان‌های غیر آنزیمی

فنل کل

اندازه‌گیری محتوای فنل کل با استفاده از تکنیک رنگ سنجی فولین سیوکالچئو (Folin-Ciocalteu) انجام گرفت (Meda *et al.*, 2005). مقدار ۰/۱ گرم از نمونه گیاهی در ۵ میلی‌لیتر متانول در یک هاون چینی سائیده شد. سپس به مدت ۱۰ دقیقه در ۱۰۰۰ rpm سانتریفوژ گردید و برای سنجش فنل کل مورد استفاده قرار گرفت. مقدار ۰/۵ میلی‌لیتر از محلول رویی با ۰/۵ میلی‌لیتر معرف فولین سیوکالچئو ۲۰٪ (v/v) مخلوط شد و به مدت ۸-۵ دقیقه در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. پس از افزودن ۲ میلی‌لیتر محلول کرینات سدیم ۷/۵٪ به مخلوط و تنظیم بعدی حجم کل به ۱۰ میلی‌لیتر با استفاده از آب مقطر، مخلوط حاصل در تاریکی در دمای اتاق به مدت ۹۰ دقیقه انکوبه شدند. جذب محلول‌ها در طول موج ۷۲۵ نانومتر نسبت به شاهد (فاقد عصاره گیاهی) اندازه‌گیری شد. محتوای فنل کل نمونه‌ها براساس منحنی استاندارد تهیه شده از غلظت‌های مختلف گالیک اسید محاسبه شد و در نهایت بر اساس میلی‌گرم گالیک اسید بر گرم بافت تر گیاه (mg gallic acid/g FW) محاسبه گردید.

فلاونوئید کل

اندازه‌گیری محتوای فلاونوئید کل عصاره‌ها بر اساس روش رنگ سنجی آلومینیوم کلراید ($AlCl_3$)، همراه با تغییراتی انجام شد (Chang *et al.*, 2002). مقدار ۰/۱ گرم از نمونه گیاهی در ۵ میلی‌لیتر متانول در یک هاون چینی سائیده شد. سپس به مدت ۱۰ دقیقه در ۱۰۰۰ rpm سانتریفوژ گردید و از محلول رویی برای سنجش فلاونوئید کل مورد استفاده قرار گرفت. مقدار ۵۰۰ میکرولیتر از عصاره برداشته شد و مقادیر ۱/۵ میلی‌لیتر متانول، ۱۰۰ میکرو لیتر آلومینیوم کلراید ۱۰٪، ۱۰۰ میکرو-لیتر استات پتاسیم ۱ مولار و ۲/۸ میلی‌لیتر آب مقطر اضافه شد. مخلوط حاصل به خوبی ورتکس و به مدت ۴۰ دقیقه در دمای محیط نگهداری شد. سپس جذب محلول‌ها در طول موج ۴۱۵ نانومتر نسبت به شاهد اندازه‌گیری گردید. از لوله آزمایش فاقد عصاره گیاهی به عنوان شاهد استفاده شد. مقدار فلاونوئید کل نمونه‌ها براساس منحنی استاندارد تهیه شده از غلظت‌های مختلف کوئرستین محاسبه شد و در نهایت بر اساس میلی‌گرم معادل کوئرستین بر گرم بافت تر گیاه (mg quercetin/g FW) بیان گردید.

آنتوسیانین

برای اندازه‌گیری آنتوسیانین ۰/۱ گرم از وزن تر برگ به همراه ۱۰ میلی‌لیتر متانول اسیدی (شامل ۹۹٪ متانول و ۱٪ اسید کلریدریک) ساییده شد. سپس عصاره حاصل به مدت ۱۰ دقیقه در سرعت ۶۰۰۰ rpm ساتریفیوژ شد و فاز بالایی آن به مدت ۲۴ ساعت در تاریکی و در دمای اتاق نگهداری شد. بعد از ۲۴ ساعت جذب هر یک از نمونه‌ها در طول موج ۵۵۰ نانومتر توسط

دستگاه اسپکتروفوتومتر خوانده شد. برای محاسبه غلظت آنتوسیانین از ضریب خاموشی $150 \text{ mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$ استفاده شد (Mita *et al.*, 1997).

فعالیت آنتی‌اکسیدانی به روش (FRAP) Ferric Reducing Antioxidant Power

برای اندازه‌گیری FRAP ۵۰ میکرولیتر از عصاره متانولی تهیه شده برای اندازه‌گیری فنل و فلاونوئید، با ۲/۵ میلی‌لیتر معرف FRAP (شامل ۲۰ میلی‌لیتر بافر استات ۳۰۰ میلی‌مولار (pH=۳/۶)، ۲ میلی‌لیتر TPTZ (tris-pyridyl-s-triazine) ۱۰ میلی‌مولار، ۴۰ میلی‌لیتر HCl و ۲ میلی‌لیتر $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ۲۰ میلی‌مولار) مخلوط گردید. بعد از ۴ دقیقه، جذب نمونه‌ها در طول موج ۵۹۳ نانومتر نسبت به شاهد اندازه‌گیری شد (Benzie and Strain, 1996).

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی و با سه تکرار انجام شد. تجزیه آماری داده‌ها با محاسبه میانگین داده‌های سه تکرار و محاسبه خطای استاندارد (SE) توسط نرم افزار آماری SAS نسخه ۹/۴ انجام شد. تجزیه واریانس (ANOVA) با استفاده از روش مدل خطی عمومی (GLM) انجام شد. آزمون دانکن برای تعیین اهمیت آماری، در سطح احتمال $P < 0.05$ اعمال شد. نمودارها در MS Excel 2013 رسم شدند.

نتایج و بحث

جدول ۱ نتایج تجزیه واریانس صفات مطالعه شده را نشان می‌دهد.

جدول ۱- تجزیه و تحلیل واریانس خصوصیات رشدی، فنل کل برگ و ریشه، فلاونوئید کل برگ و ریشه، آنتوسیانین، FRAP برگ، و FRAP ریشه تحت تأثیر سطوح تیمارهای UVB و سالیسیلیک اسید

میانگین مربعات												
منابع تغییرات	درجه آزادی	وزن تر ریشه	وزن خشک ریشه	وزن تر برگ	وزن خشک برگ	فنل کل ریشه	فنل کل برگ	فلاونوئید ریشه	فلاونوئید برگ	آنتوسیانین	FRAP ریشه	FRAP برگ
تکرار	۲	۰/۰۲ ^{ns}	۰/۰۱ ^{ns}	۰/۰۵ ^{ns}	۰/۰۱ ^{ns}	۰/۰۲ ^{ns}	۰/۰۲ ^{ns}	۰/۰۰ ^{ns}	۰/۰۲ ^{ns}	۰/۲۷ ^{ns}	۴/۶۱ ^{ns}	۲/۹۵ ^{ns}
UV-B (A)	۱	۰/۲۹ ^{**}	۰/۰۱ ^{**}	۳/۷۹ ^{**}	۰/۰۱۵ [*]	۳/۱۱ ^{**}	۹/۸۸ ^{**}	۰/۱۷ ^{**}	۵/۲۷ ^{**}	۰/۵۱ ^{ns}	۱۴۴۵/۷۸ ^{**}	۱۳۴۰/۷۵ ^{**}
سالیسیلیک اسید (B)	۲	۱/۰۲۵ ^{**}	۰/۰۵ ^{**}	۴/۶۱ ^{**}	۰/۱۶ ^{**}	۰/۵۱ ^{**}	۰/۸۸ ^{**}	۰/۰۳ ^{**}	۰/۲۵ ^{**}	۴/۰۰ ^{**}	۱۴۱/۸۴ ^{**}	۱۳۵/۴۰ ^{**}
A×B	۲	۰/۸۴ ^{**}	۰/۰۳۴ ^{**}	۱/۳۸ ^{**}	۰/۰۵ ^{**}	۰/۱۳ ^{**}	۰/۰۰۷ ^{ns}	۰/۰۰۱ ^{ns}	۰/۰۲۴ ^{ns}	۰/۴۲ ^{ns}	۱۱/۰۳ [*]	۱۲/۱۵ [*]
خطا	۱۰	۰/۰۳	۰	۰/۰۸	۰/۰۰۲	۰/۰۶	۰/۰۳۶	۰/۰۰۹	۰/۳۰	۰/۲۹	۲۰/۴۰	۲۵/۱۰
ضریب تغییرات (%)	۱۲/۰۱	۷/۷۷	۱۰/۳۸	۸/۰۸	۳/۷۱	۹/۱۵	۰/۲۴	۱۵/۳۸	۱۱/۰۹	۴/۴۶	۴/۵۲	

ns: تفاوت غیر معنی‌دار، *: معنی‌دار در سطح احتمال $p < 0.05$ ، **: معنی‌دار در سطح احتمال $p < 0.01$

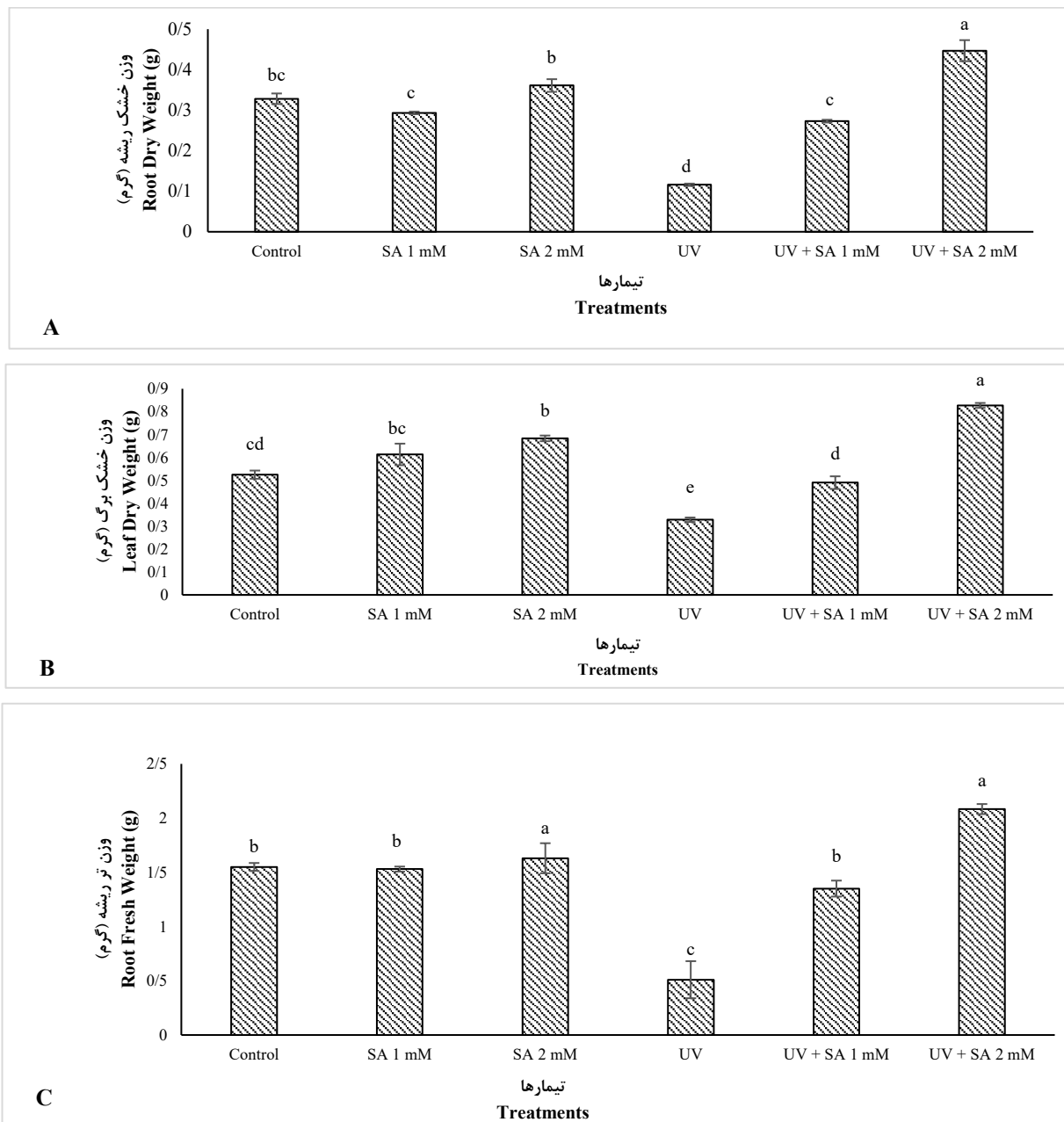
اثر UV-B و سالیسیلیک اسید بر شاخص‌های رشدی

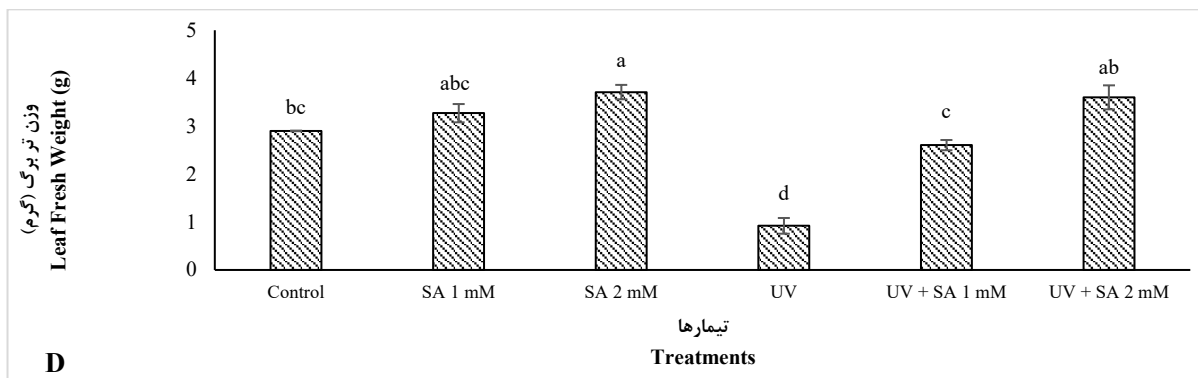
نتایج حاصل از تجزیه آماری داده‌ها نشان داد که UV-B تأثیر معنی‌داری در سطح احتمال ۵٪ بر وزن خشک ریشه و در سطح احتمال ۱٪ بر وزن تر ریشه و وزن برگ و خشک برگ در گیاه شیرین بیان داشت. به طوری‌که این تنش باعث کاهش قابل توجهی در وزن تر و خشک ریشه و برگ در گیاه شیرین بیان شد. تحت تنش UV-B وزن خشک ریشه و برگ به ترتیب ۶۴/۶٪ و ۳۷/۵٪ و وزن تر ریشه و برگ به ترتیب ۶۷٪ و ۶۸٪ در مقایسه با گیاهان شاهد کاهش یافت. همچنین وزن تر و خشک ریشه و برگ در تیمارهای ۱ mM و ۲ mM سالیسیلیک اسید در مقایسه با گیاهان شاهد افزایش یافت. بررسی آماری داده‌ها نشان داد که افزایش معنی‌دار در شاخص‌های رشدی تنها در شاخص وزن تر و خشک برگ در تیمار ۲ mM سالیسیلیک اسید معنی‌دار بوده است. وزن تر و خشک ریشه و برگ در تیمار توام سالیسیلیک اسید ۱ mM و ۲ mM و UV-B در مقایسه با نمونه‌های تنش UV-B به صورت تنها یک روند افزایشی را نشان داد. این افزایش در وزن تر و خشک ریشه و برگ در مقایسه با نمونه‌های تحت تنش تفاوت معنی‌دار نشان داد. همچنین بر اساس آزمون GLM اثرات متقابل UV-B و سالیسیلیک اسید در تمامی شاخص‌های رشدی (وزن تر و خشک ریشه و برگ) در سطح احتمال $p < 0.01$ معنی‌دار بود (جدول ۱ و شکل ۱).

به طور کلی پذیرفته شده است که افزایش UV-B با کاهش رشد و تولید زیست توده (De la Rosa *et al.*, 2003) همراه است. تنظیم رشد گیاه یک فرآیند بسیار پیچیده است و تابش UV-B به عنوان یک عنصر حیاتی شناخته می‌شود که با اختلال در فتوسنتز برگ، دسترسی به محصولات فتوسنتزی را کاهش می‌دهد. این اختلال، مکانیسم اصلی اثرات مضر تابش UV-B بر رشد گیاه را تشکیل می‌دهد (Safshekan *et al.*, 2025). تحقیقات نشان داده است که کاهش و تغییر در رشد ریشه تحت تابش UV به تغییرات در سطح مولکول‌های سیگنالینگ هورمونی، مولکول‌های سیگنالینگ اکسید نیتریک (NO) و گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) نسبت داده می‌شود که ناشی از قرار گرفتن در معرض تابش UV-B است. گزارش شده است که کاهش رشد گیاه تحت تنش UV-B در نتیجه تغییر در سرعت و مدت تقسیم و طول شدن سلولی، شاید به دلیل مهار ایندول استیک اسید (IAA)، یک تنظیم‌کننده کلیدی رشد گیاه، اتفاق می‌افتد (Poorter *et al.*, 2019). قرار گرفتن در معرض تابش UV باعث تغییرات مورفولوژیکی قابل توجهی در گیاهان، از جمله تغییر در شکل برگ، افزایش شاخه‌های جانبی، کاهش وزن، مساحت سطح برگ کوچکتر و ارتفاع کوتاه‌تر گیاه می‌شود (Azadi *et al.*, 2021). این اثرات در درجه اول تحت تأثیر هورمون‌های گیاهی، فرآیندهای تخریب نوری و کاهش فعالیت آنزیم‌های خاص قرار دارند (Balouchi *et al.*, 2009). فعالیت آنزیم‌هایی مانند اکسین اکسیداز می‌تواند از طول شدن سلول جلوگیری کند و منجر به کندتر شدن سرعت رشد شود (Xu *et al.*, 2019).

اخیرا گزارش شده است که در مقایسه با گیاهان شاهد، تابش UV-B باعث کاهش معنی‌دار وزن تر و خشک ریشه‌ها در گیاه نعناع فلفلی (*Mentha piperita* L.) می‌شود. همچنین محلول پاشی سالیسیلیک اسید باعث افزایش معنی‌دار این صفات می‌شود. به علاوه، تحت تنش UV-B، کاربرد سالیسیلیک اسید وزن تر ریشه را در مقایسه با گیاهان تحت تنش به طور معنی‌داری

افزایش می‌دهد (Karamdar *et al.*, 2023). در مطالعه حاضر شاخص‌های رشدی وزن تر و خشک برگ و ریشه، با تیمارهای ترکیبی سالیسیلیک اسید با UV-B بهبود یافتند. به نظر می‌رسد که سالیسیلیک اسید به عنوان عامل تعدیل‌کننده در هنگام قرار گرفتن گیاهان در معرض تابش UV عمل می‌کند. نتایج مطالعات نشان می‌دهد که سالیسیلیک اسید با افزایش تعداد برگ‌ها، افزایش فعالیت آنزیم روبیسکو، افزایش سطح برگ و افزایش میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی باعث افزایش ظرفیت فتوسنتزی و بنابراین افزایش رشد و وزن گیاه می‌شود (Ghassemi-Golezani *et al.*, 2022) که با نتایج حاصل از این مطالعه همخوانی دارد.





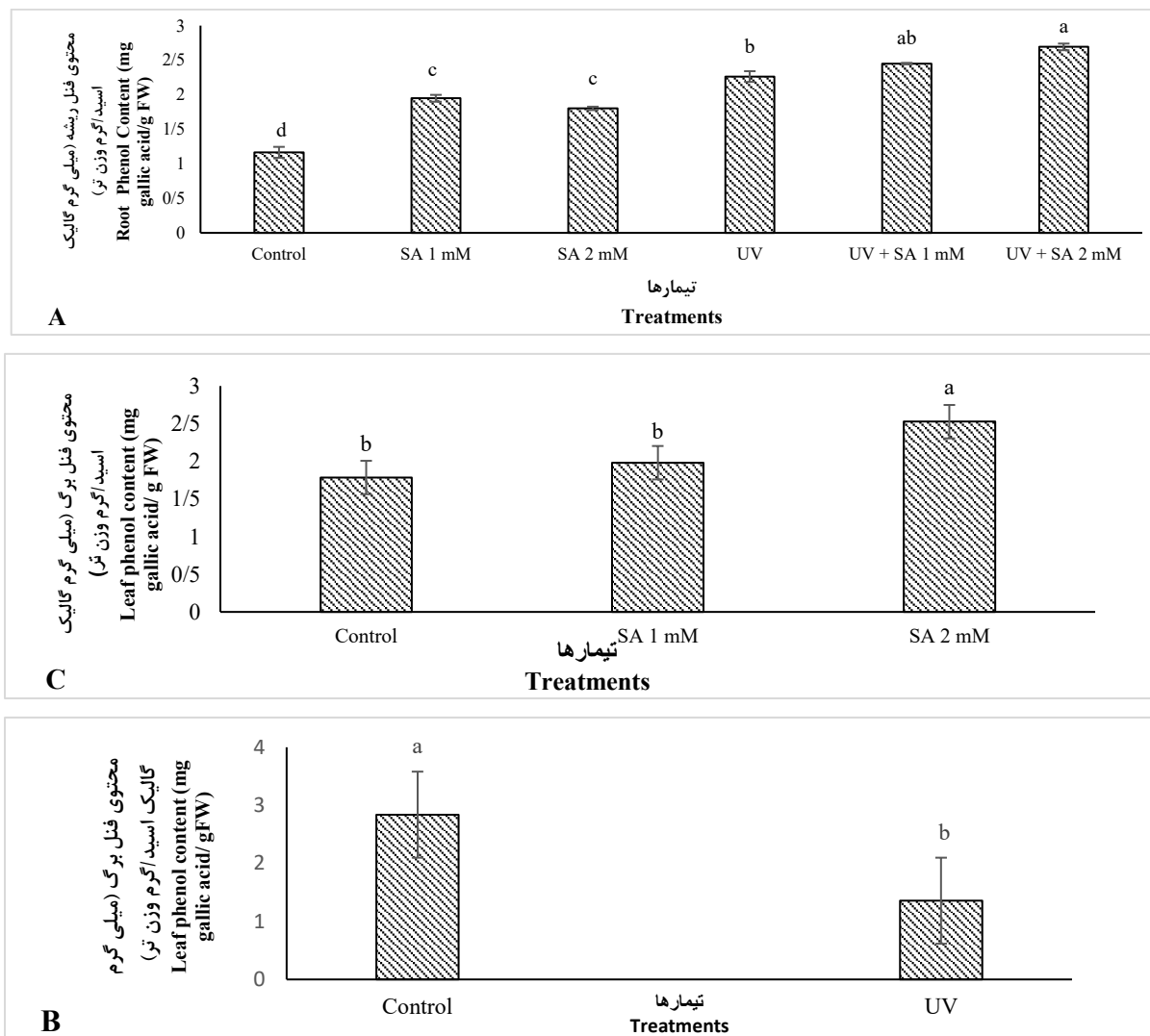
شکل ۱- وزن خشک ریشه (A) و برگ (B) و وزن تر ریشه (C) و برگ (D) در گیاه شیرین بیان تحت سطوح مختلف سالیسیلیک اسید (۰، ۱ و ۲ mM) و تیمار UV-B. Control (شاهد)، SA 1 mM (سالیسیلیک اسید ۱ mM)، SA 2 mM (سالیسیلیک اسید ۲ mM)، UV (UV-B)، UV+ SA 1 mM (سالیسیلیک اسید ۱ mM+UV-B)، UV+ SA 2 mM (سالیسیلیک اسید ۲ mM+UV-B). داده‌ها میانگین \pm SE (n=3) را نشان می‌دهند. حروف مختلف نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار ($P < 0.05$) بین تیمارها مطابق آزمون دانکن می‌باشد.

Figure 1- Root (A) and leaf (B) dry weight, and root (C) and leaf (D) fresh weight in licorice plants under different levels of salicylic acid (0, 1, and 2 mM) and UV-B treatment. Control, SA 1 mM (salicylic acid 1 mM), SA 2 mM (salicylic acid 2 mM), UV (UV-B), UV+ SA 1 mM (salicylic acid 1 mM+UV-B), UV+ SA 2 mM (salicylic acid 2 mM+UV-B). Data represent mean \pm SE (n=3). Different letters indicate a significant difference ($P < 0.05$) between treatments according to the Duncan test.

اثر UV-B و سالیسیلیک اسید بر محتوای فنل کل

بر اساس نتایج (جدول ۱) اثر تنش UV-B بر محتوای فنل کل ریشه و برگ گیاه شیرین بیان معنی‌داری ($p < 0.01$) بود. به طوریکه تنش UV-B موجب افزایش معنی‌دار محتوای فنل کل در ریشه و برگ گیاه شیرین بیان شد. محتوای فنل کل در تیمارهای ۱ mM و ۲ mM سالیسیلیک اسید ریشه در مقایسه با گیاهان شاهد افزایش یافت. بررسی آماری داده‌ها نشان داد که افزایش در محتوای فنل کل برگ در تیمار ۲ mM سالیسیلیک اسید نسبت به شاهد معنی‌دار ($P < 0.05$) بود. همچنین بر اساس آزمون GLM اثرات متقابل UV-B و سالیسیلیک اسید در ریشه در سطح احتمال ۱٪ معنی‌دار و در برگ غیر معنی‌دار بود. کاربرد سالیسیلیک اسید در هردو غلظت تحت تنش UV، موجب افزایش معنی‌دار فنل کل ریشه در مقایسه با تنش UV شد. ترکیبات فنلی به عنوان یکی از گسترده‌ترین گروه‌های متابولیت‌های ثانویه در گیاهان، دفاع در برابر طیف وسیعی از تنش‌های غیرزیستی، به ویژه تابش UV-B را تشکیل می‌دهند (Kumar *et al.*, 2023). گیاهان برای کاهش آسیب اکسیداتیو ناشی از تنش UV محیطی، گیاهان مکانیسم‌های دفاعی آنتی‌اکسیدانی خود را با افزایش سطح ترکیبات فنلی، افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی و بهبود مهار رادیکال‌های آزاد DPPH تنظیم می‌کنند (Moradi Rikabad *et al.*, 2019). این ترکیبات با جلوگیری از نفوذ اشعه UV به بافت‌های حساس و با عمل به عنوان آنتی‌اکسیدان برای خنثی کردن رادیکال‌های آزاد، نقش محافظتی ایفا می‌کنند و در نتیجه تنش اکسیداتیو را کاهش می‌دهند (Zhang *et al.*, 2017). اخیراً نشان داده شده است که تیمار UV-B با تنظیم بالای فعالیت آنزیم‌های مرتبط مانند فنیل‌آلانین آمونیلایاز (PAL)، سینامیک اسید ۴-هیدروکسیلاز (C4H) و بیان ژن‌ها، منجر

به تجمع اسیدهای فنولیک در گیاهچه‌های جو می‌شود و در نتیجه به تقویت سیستم آنتی‌اکسیدانی کمک می‌کند (Wang *et al.*, 2022). مشاهده شده است که در گیاه دارویی سرخارگل (*Echinacea purpurea* L.) در پاسخ به کاربرد سالیسیلیک اسید محتوای اسیدهای فنلی مانند کلروژنیک اسید افزایش می‌یابد (Mohebbi *et al.*, 2021). گزارش شده است که تنش UV-B و سالیسیلیک به تنهایی یا در ترکیب با هم محتوای فنل کل را در گیاه مرزه (*Satureja hortensis* L.) افزایش می‌دهند (Abrun *et al.*, 2016).

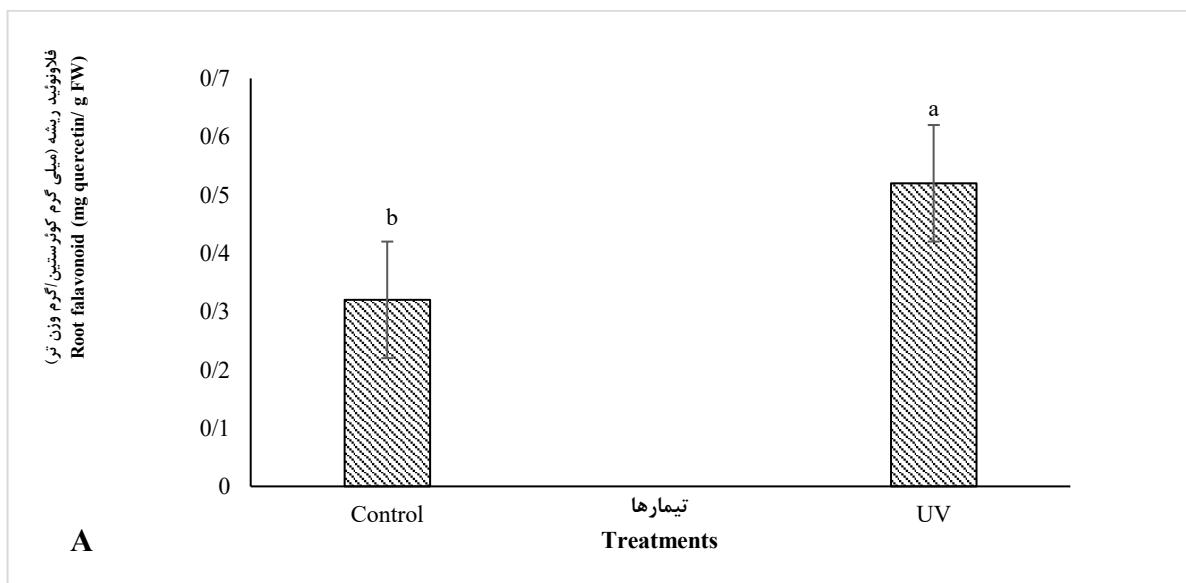


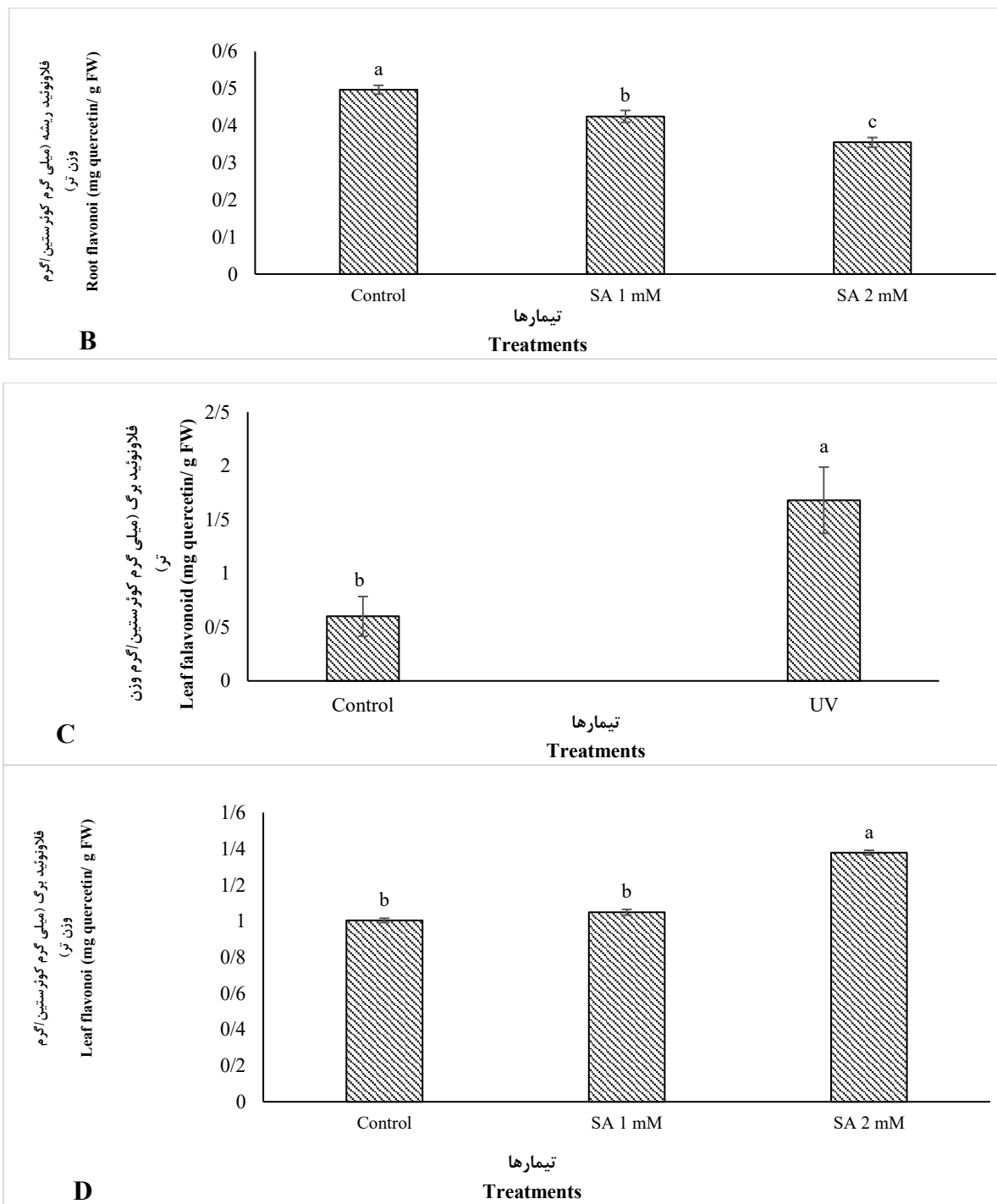
شکل ۲. محتوای فنل کل ریشه (A) و برگ (B, C) در گیاه شیرین بیان تحت سطوح مختلف سالیسیلیک اسید (۰، ۱، ۲ mM) و تیمار UV-B. Control (شاهد)، SA 1 mM (سالیسیلیک اسید 1 mM)، SA 2 mM (سالیسیلیک اسید 2 mM)، UV (UV-B)، UV+ SA 1 mM، UV+ SA 2 mM (سالیسیلیک اسید 1+UV-B)، UV+ SA 2 mM (سالیسیلیک اسید 2+UV-B). داده‌ها میانگین \pm SE (n=3) را نشان می‌دهند. حروف مختلف نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار ($p < 0.05$) بین تیمارها مطابق آزمون دانکن می‌باشد.

Figure 2. Total phenolic content of root (A) and leaf (B, C) in licorice plants under different levels of salicylic acid (0, 1, and 2 mM) and UV-B treatment. Control, SA 1 mM (salicylic acid 1 mM), SA 2 mM (salicylic acid 2 mM), UV (UV-B), UV+ SA 1 mM (salicylic acid 1 mM+UV-B), UV+ SA 2 mM (salicylic acid 2 mM+UV-B). Data represent mean \pm SE (n=3). Different letters indicate a significant difference ($P < 0.05$) between treatments according to the Duncan test.

اثر UV-B و سالیسیلیک اسید بر محتوای فلاونوئید کل

بر اساس نتایج (جدول ۱) اثر تنش UV-B بر محتوای فلاونوئید کل در ریشه و برگ گیاه شیرین بیان معنی‌دار ($p < 0.01$) بود. به طوریکه تنش UV-B موجب افزایش معنی‌دار محتوای فلاونوئید کل در ریشه و برگ گیاه شیرین بیان شد. محتوای فلاونوئید ریشه در تیمارهای ۱ mM و ۲ mM سالیسیلیک اسید در مقایسه با گیاهان شاهد به طور معنی‌دار کاهش یافت ($p < 0.01$). همچنین نتایج نشان داد که محتوای فلاونوئید کل برگ در تیمار ۲ mM سالیسیلیک اسید در مقایسه با گیاهان بدون تیمار به طور معنی‌داری افزایش یافت. در این مطالعه بر اساس آزمون GLM اثرات متقابل UV-B و سالیسیلیک اسید در ریشه و برگ در سطح احتمال ۵٪ معنی‌دار نبود (شکل ۳). یافته‌ها نشان داده است که تیمار UV-B به طور قابل توجهی محتوای فلاونوئیدها را در جوانه‌های گندم سیاه (*Fagopyrum esculentum*) افزایش می‌دهد، در نتیجه سیستم آنتی‌اکسیدانی جوانه‌های گندم سیاه را تقویت می‌کند (Tian et al., 2024). محققان نشان دادند که محلول پاشی برگی اسید سالیسیلیک، محتوای فنلی و فلاونوئیدی برگ‌های اسفناج (*Spinacia oleracea*) را ظرف چند روز پس از تیمار به طور قابل توجهی افزایش می‌دهد، که نشان دهنده یک استراتژی سریع برای افزایش سنتز متابولیت‌های ثانویه است (Singh, 2023). گزارش شده است که در گیاهان دندروبیوم (*Dendrobium officinale* L.) تابش UV-B و کاربرد سالیسیلیک اسید به تنهایی یا در ترکیب با یکدیگر محتوای فلاونوئید کل را در مقایسه با گیاهان شاهد افزایش می‌دهد. همچنین سالیسیلیک اسید همراه با تیمارهای UV-B محتوای فلاونوئید کل را در مقایسه با تیمار UV-B به تنهایی بیشتر افزایش می‌دهد، که با نتایج این پژوهش مطابقت دارد. این بدان معناست که سالیسیلیک اسید می‌تواند سنتز فلاونوئیدها را در گیاهان تسریع کند و گیاهان را از تنش UV-B محافظت کند (Tajik et al., 2019; Feng et al., 2021). به این صورت که افزایش غلظت ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی عموماً با افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ظرفیت بیشتر برای مهار رادیکال‌های آزاد همراه است (Alizadeh et al., 2021).



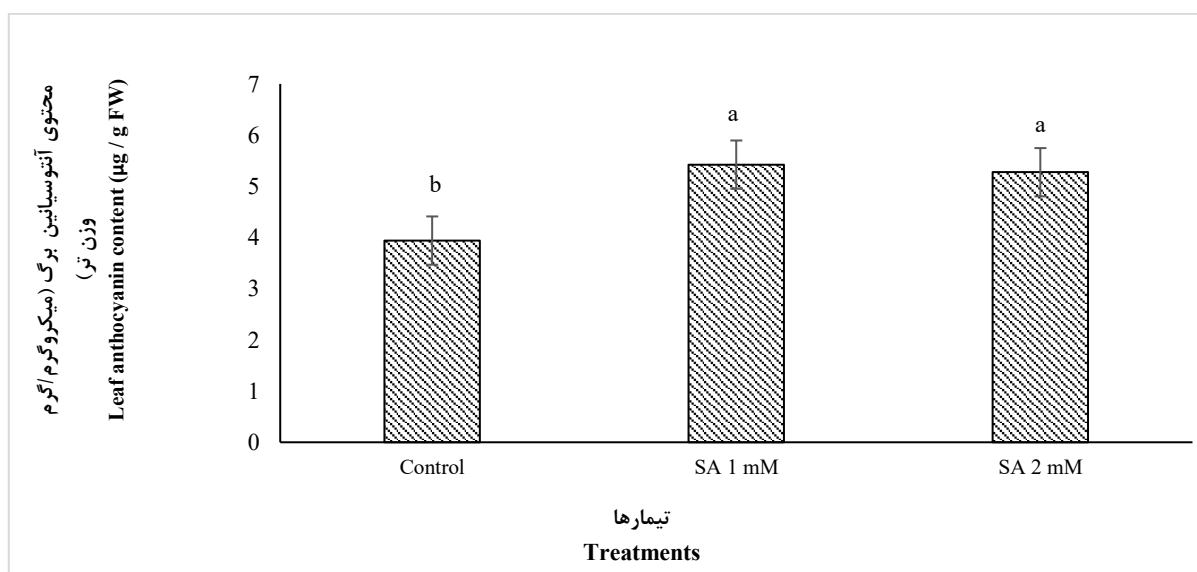


شکل ۳- محتوای فلاونوئید کل ریشه (A, B) و برگ (C, D) در گیاه شیرین بیان تحت سطوح مختلف سالیسیلیک اسید (۰، ۱ و ۲ mM) و تیمار UV-B (شاهد)، SA 1 mM (سالیسیلیک اسید 1 mM)، SA 2 mM (سالیسیلیک اسید 2 mM)، UV (UV-B)، UV+ SA 1 mM (سالیسیلیک اسید 1 mM+UV-B)، UV+ SA 2 mM (سالیسیلیک اسید 2 mM+UV-B). داده‌ها میانگین \pm SE (n=3) را نشان می‌دهند. حروف مختلف نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار ($P < 0.05$) بین تیمارها مطابق آزمون دانکن می‌باشد.

Figure 3- Total flavonoid content of root (A, B) and leaf (C, D) in licorice plants under different levels of salicylic acid (0, 1, and 2 mM) and UV-B treatment. Control, SA 1 mM (salicylic acid 1 mM), SA 2 mM (salicylic acid 2 mM), UV (UV-B), UV+ SA 1 mM (salicylic acid 1 mM+UV-B), UV+ SA 2 mM (salicylic acid 2 mM+UV-B). Data represent mean \pm SE (n=3). Different letters indicate a significant difference ($p < 0.05$) between treatments according to the Duncan test.

اثر UV-B و سالیسیلیک اسید بر محتوای آنتوسیانین

اثر تنش UV-B بر محتوای آنتوسیانین در برگ گیاه شیرین بیان معنی‌دار ($P < 0.05$) نبود. محتوای آنتوسیانین در تیمارهای ۱ mM و ۲ mM سالیسیلیک اسید در مقایسه با گیاهان شاهد به طور معنی‌داری افزایش یافت ($P < 0.01$). در این مطالعه اثرات متقابل UV-B و سالیسیلیک اسید در سطح احتمال ۵٪ معنی‌دار نبود (جدول ۱، شکل ۴). آنتوسیانین‌ها رنگدانه‌های محلول در آب در گیاهان هستند که به دلیل نقش محافظت نوری خود در برابر آسیب‌های مهار نوری و اکسیداسیون نوری در نور زیاد شناخته شده‌اند (Zheng *et al.*, 2021). در گیاهان گندم کاربرد بیرونی سالیسیلیک اسید منجر به افزایش محتوای آنتوسیانین شد (Kobyletska and Kavulych, 2024). در گیاه نعناع فلفلی میزان آنتوسیانین تحت تابش پرتوهای UV-B و کاربرد سالیسیلیک اسید تحت این تنش در مقایسه با گیاهان شاهد به طور معنی‌داری افزایش یافت (Karamdar *et al.*, 2023). بر عکس نتایج این پژوهش، اخیراً بیان شده است که در گیاه دارویی بادرشبو (*Dracocephalum moldavica* L.) محتوای آنتوسیانین با کاربرد سالیسیلیک اسید در شرایط تابش UV-B در مقایسه با گیاهان شاهد کاهش می‌یابد (Amirian *et al.*, 2025).



شکل ۴- محتوای آنتوسیانین برگ در گیاه شیرین بیان تحت سطوح مختلف سالیسیلیک اسید (۰، ۱ و ۲ mM). Control (شاهد)، SA 1 mM (سالیسیلیک اسید ۱ mM)، SA 2 mM (سالیسیلیک اسید ۲ mM). داده‌ها میانگین \pm SE (n=3) را نشان می‌دهند. حروف مختلف نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار ($P < 0.05$) بین تیمارها مطابق آزمون دانکن می‌باشد.

Figure 4- Anthocyanin content in licorice plant leaves under different levels of salicylic acid (0, 1, and 2 mM). Control, SA 1 mM (salicylic acid 1 mM), SA 2 mM (salicylic acid 2 mM). Data represent mean \pm SE (n=3). Different letters indicate a significant difference ($P < 0.05$) among treatments according to the Duncan's test.

اثر UV-B و سالیسیلیک اسید بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی به روش FRAP

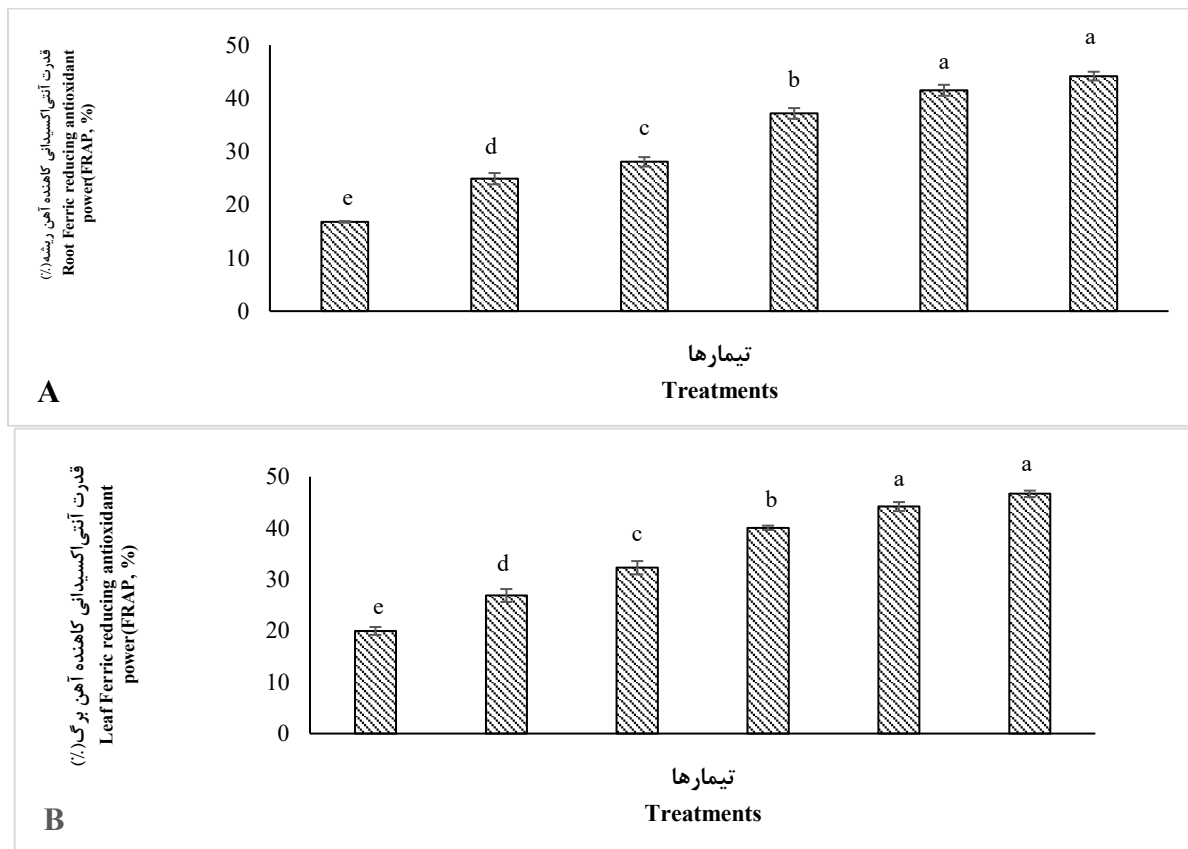
تنش UV-B موجب افزایش معنی‌دار ($p < 0.01$) فعالیت آنتی‌اکسیدانی به روش FRAP در ریشه و برگ گیاه شیرین بیان

گردید. بین تیمارهای شاهد و سالیسیلیک اسید بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی به روش FRAP در ریشه و برگ این گیاه نیز تفاوت معنی‌داری وجود داشت ($p < 0.01$). به این صورت که تیمار سالیسیلیک اسید موج افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدان به روش FRAP شد. در این مطالعه اثرات متقابل UV-B و سالیسیلیک اسید در ریشه و برگ در سطح احتمال ۵٪ معنی‌دار بود (جدول ۱، شکل ۵). مشابه نتایج این مطالعه، محققان گزارش کردند که پس از اعمال تابش UV-B، فعالیت آنتی‌اکسیدانی برگ‌های ریحان شیرین (*Ocimum basilicum* L.) به طور قابل توجهی افزایش می‌یابد. این افزایش می‌تواند مربوط به افزایش متابولیت‌های ثانویه مانند فلاونوئیدها و اسیدهای فنلی در گیاهان تیمار شده با UV-B باشد (Ghasemzadeh et al., 2016).

نتایج به دست آمده از مطالعه حاضر با نتایج به دست آمده توسط Tian و همکاران (۲۰۲۴) مطابقت دارد که تیمار UV-B سیستم آنتی‌اکسیدانی جوانه‌های گندم سیاه را تقویت کرد. این افزایش با افزایش قابل توجه فعالیت‌های مهار رادیکال‌های ABTS، DPPH و FRAP در جوانه‌های ۳ روزه تحت تابش UV-B تأیید شد. تیمار سالیسیلیک اسید باعث افزایش محتوی فنلی و در نتیجه افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی به روش FRAP در گیاه مریم گلی (*Salvia coccinea* L.) شد (Grzeszczuk et al., 2018). از بسیاری جهات، عملکرد محافظتی سالیسیلیک اسید از طریق عملکرد عوامل غیرزیستی و زیستی بر روی گیاهان با نقش آن در تنظیم بیوسنتز متابولیت‌های ثانویه مرتبط است (Ali, 2021). تیمار برگ‌گی با اسید سالیسیلیک منجر به افزایش محتوای اسیدهای هیدروکسی‌سینامیک، فلاونوئیدها، ترکیبات فنلی کل، فعالیت آنتی‌اکسیدانی (به روش‌های ABTS، DPPH و FRAP) و در مقایسه با گیاهان تیمار نشده می‌شود (Skrypnik et al., 2022).

نتایج تأثیر مثبت تیمار برگ‌گی سالیسیلیک اسید بر محتوای کل ترکیبات فنلی، اسید فنلی و فلاونوئیدها با داده‌های منتشر شده قبلی مطابقت دارد (Linić et al., 2021). مشخص است که اسید سالیسیلیک فعالیت فنیل‌آلنین آمونیاک-لیاز (PAL)، مهم‌ترین آنزیم دخیل در مراحل اولیه بیوسنتز ترکیبات فنلی را افزایش می‌دهد (Estaji and Niknam, 2020). برای گیاهان جنس مریم‌گلی (*Salvia officinalis*، *Salvia virgate*، *Salvia miltiorrhiza*)، نشان داده شد که استفاده از اسید سالیسیلیک برون‌زا منجر به فعال شدن بیان PAL و ژن‌های دخیل در سنتز فلاونوئید می‌شود (Xu et al., 2015; Li et al., 2016). نتایج مطالعات Singh (۲۰۲۳) همبستگی مثبت ترکیبات فنولی با فعالیت آنتی‌اکسیدانی (مهار رادیکال‌های آزاد در برابر رادیکال‌های DPPH و FRAP) را نشان می‌دهد. همچنین گزارش کرده است که تجمع این ترکیبات وابسته به غلظت و زمان است و غلظت بالای سالیسیلیک اسید در مقایسه با غلظت پایین در القای سنتز فنولیک‌ها و فلاونوئیدها مؤثرتر است. برای غلظت‌های بالا، فعالیت آنتی‌اکسیدانی در روز دوم تیمار حداکثر بود که تا روز پنجم حفظ شد و پس از آن با افزایش دوره زمانی، فعالیت کاهش یافت. غلظت‌های پایین در حفظ فعالیت آنتی‌اکسیدانی با گذشت زمان مؤثر بودند و تنها پس از روز دهم کاهش کمی نشان دادند. در این مطالعه نیز به نظر می‌رسد افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی تحت تابش UV-B با کاربرد

سالیسیلیک اسید در مقایسه با تیمار تنها UV-B می‌تواند ناشی از نقش مثبت ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی در طول تیماردهی با سالیسیلیک اسید، در کاهش اثرات مضر این تنش باشد.



شکل ۵- فعالیت آنتی‌اکسیدانی به روش FRAP در ریشه (A) و برگ (B) گیاه شیرین بیان تحت سطوح مختلف سالیسیلیک اسید (۰، ۱، ۲ mM) و تیمار UV-B (شاهد)، SA 1 mM (سالیسیلیک اسید 1 mM)، SA 2 mM (سالیسیلیک اسید 2 mM)، UV (UV-B)، UV+SA 1 mM (سالیسیلیک اسید 1 mM+UV-B)، UV+SA 2 mM (سالیسیلیک اسید 2 mM+UV-B)، داده‌ها میانگین \pm SE (n=3) را نشان می‌دهند. حروف مختلف نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار ($P < 0.05$) بین تیمارها مطابق آزمون دانکن می‌باشد.

Figure 5- Antioxidant activity (FRAP assay) in the root (A) and leaf (B) of the licorice plant under different levels of salicylic acid (0, 1, and 2 mM) and UV-B treatment. Control, SA 1 mM (salicylic acid 1 mM), SA 2 mM (salicylic acid 2 mM), UV (UV-B), UV+SA 1 mM (salicylic acid 1 mM+UV-B), UV+SA 2 mM (salicylic acid 2 mM+UV-B). Data represent mean \pm SE (n=3). Different letters indicate a significant difference ($P < 0.05$) among treatments according to the Duncan test.

نتیجه‌گیری کلی

این مطالعه نشان داد که تنش UV-B به‌طور معنی‌دار رشد گیاه شیرین بیان را از طریق کاهش وزن تر و خشک ریشه و برگ مختل می‌کند، اما تولید متابولیت‌های ثانویه نظیر فنل‌ها و فلاونوئیدها را به‌عنوان بخشی از پاسخ دفاعی گیاه افزایش می‌دهد. کاربرد سالیسیلیک اسید، به‌ویژه در ۲ mM، اثرات منفی UV-B را تعدیل کرده و با بهبود شاخص‌های رشدی و افزایش محتوای فنل، فلاونوئید و آنتوسیانین، تحمل گیاه را تقویت نمود. افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی FRAP در تیمارهای ترکیبی UV-B و

سالیسیلیک اسید احتمالاً ناشی از نقش محافظتی متابولیت‌های ثانویه در کاهش تنش اکسیداتیو است. این نتایج بر پتانسیل سالیسیلیک اسید به‌عنوان یک تنظیم‌کننده رشد در بهبود مقاومت شیرین‌بیان به تنش UV-B تأکید دارد و می‌تواند به‌عنوان راهکاری برای افزایش تولید متابولیت‌های با ارزش دارویی در این گیاه مورد استفاده قرار گیرد. پیشنهاد می‌شود تحقیقات آتی بر مکانیسم‌های مولکولی سالیسیلیک اسید و اثرات بلندمدت آن در شرایط تنش متمرکز شوند.

منابع

- Abrun, A., Fattahi, M., & Hassani, A. (2016).** Salicylic acid and UV-B/C radiation effects on growth and physiological traits of *Satureja hortensis* L. *Notulae Scientia Biologicae*, 8(2), 170–175.
- Ali, B. (2021).** Salicylic acid: An efficient elicitor of secondary metabolite production in plants. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 31, 101884.
- Alizadeh, S., Gharagoz, S. F., Pourakbar, L., Moghaddam, S. S., & Jamalomidi, M. (2021).** Arbuscular mycorrhizal fungi alleviate salinity stress and alter phenolic compounds of Moldavian balm. *Rhizosphere*, 19, 100417.
- Amirian, V., Kazemi, E.M., & Shoja, H.M. (2025).** Interactive impacts of salicylic acid and UV-B radiation on biochemical and anatomical characteristics of the Moldavian dragonhead (*Dracocephalum moldavica* L.). *Russian Journal of Plant Physiology*, 72(1), 11.
- Arsule, A.A., Nigam, B., & Chaudhary, I.J. (2024).** Comparative effectiveness of ascorbic acid, salicylic acid and orange juice on soybean cultivar (*Glycine Max* L.) under UV-B (ultraviolet radiation) stress. *Journal of Medicinal Plants Studies*, 12(1), 203–213.
- Azadi, M., Moghaddam, S.S., Rahimi, A., Pourakbar, L. & Popović-Djordjević, J. (2021).** Biosynthesized silver nanoparticles ameliorate yield, leaf photosynthetic pigments, and essential oil composition of garden thyme (*Thymus vulgaris* L.) exposed to UV-B stress. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 9(5), 105919.
- Bagheri, M., Motafakker Azad, R., Salehi Lisar, S.Y., & Talebpour, A.H. (2020).** Effect of different intensities of ultraviolet (UV) radiation on growth and some secondary metabolites of hairy St. John's wort (*Hypericum hirsutum* L.). *Technology of Medicinal and Aromatic Plants of Iran*, 3(1), 92–114. (In Persian)
- Balouchi, H.R., Sanavy, S.M., Emam, Y., & Dolatabadian, A. (2009).** UV radiation, elevated CO₂ and water stress effect on growth and photosynthetic characteristics in durum wheat. *Plant, Soil and Environment*, 55(10), 443-453.
- Benzie, I.F.F., & Strain, J.J. (1996).** The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power”: the FRAP assay. *Analytical Biochemistry*, 239(1), 70–76.
- Bhusal, N., Lee, M., & Lee, H. (2021).** Evaluation of morphological, physiological, and biochemical traits for assessing drought resistance in eleven tree species. *Science of the Total Environment*, 779, 146466.
- Chang, C.C., Yang, M.H., & Wen, H.M. (2002).** Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. *Journal of Food and Drug Analysis*, 10(3), 178–182.
- De La Rosa, T.M., Aphalo, P.J., & Lehto, T. (2003).** Effects of ultraviolet-B radiation on growth, mycorrhizas and mineral nutrition of silver birch (*Betula pendula* Roth) seedlings grown in low-nutrient conditions. *Global Change Biology*, 9(1), 65–73.
- Eghlima, Gh, Sani Khani, M., Kheiry, A., Hadian, J., & Aalaei, M. (2019).** Investigation and comparison of phytochemical and antioxidant activity of different native populations of licorice (*Glycyrrhiza glabra* L.) in Iran. *Ecophytochemistry of Medicinal Plants*, 7(2), 65–77. (In Persian)

El-Saber Batiha, G., Magdy Beshbishy, A., & El-Mleeh, A. (2020). Traditional uses, bioactive chemical constituents, and pharmacological and toxicological activities of *Glycyrrhiza glabra* L. (Fabaceae). *Biomolecules*, 10(3), 352.

Estaji, A., & Niknam, F. (2020). Foliar salicylic acid spraying effect on growth, seed oil content, and physiology of drought-stressed *Silybum marianum* L. plant. *Agricultural Water Management*, 234, 106116.

Feng, X.Y., Cui, D.D., & Zeng, L.J. (2021). Effects of UV-B irradiation alone and in combination with salicylic acid on the growth and active ingredients of *Dendrobium officinale*. *Russian Journal of Plant Physiology*, 68(3), 483–490.

Ghasemzadeh, A., Ashkani, S., & Baghdadi, A. (2016). Improvement in flavonoids and phenolic acids production and pharmaceutical quality of sweet basil (*Ocimum basilicum* L.) by ultraviolet-B irradiation. *Molecules*, 21(9), 1203.

Ghassemi-Golezani, K., & Farhadi, N. (2022). The efficacy of salicylic acid levels on photosynthetic activity, growth, and essential oil content and composition of pennyroyal plants under salt stress. *Journal of Plant Growth Regulation*, 41(5), 1953–1965.

Grzeszczuk, M., Salachna, P., & Meller, E. (2018). Changes in photosynthetic pigments, total phenolic content, and antioxidant activity of *Salvia coccinea* Buc'hoz Ex Etl. induced by exogenous salicylic acid and soil salinity. *Molecules*, 23(6), 1296.

Hollosy, F. (2002). Effects of ultraviolet radiation on plant cells. *Micron*, 33(2), 179–197.

Huang, H., Ullah, F., & Zhou, D.X. (2019). Mechanisms of ROS regulation of plant development and stress responses. *Frontiers in Plant Science*, 10, 800.

Karamdar, S.E., Hosseini, S., & Darvishzadeh, R. (2023). The effect of salicylic acid on some morpho-physiological parameters and gene expression in peppermint (*Mentha piperita* L.) under UV-B radiation. *Journal of Plant Physiology and Biochemistry*, 150, 1–10. (Note: Journal and page numbers assumed based on context as they were not specified in the document).

Kataria, S. (2017). Oxidative stress and antioxidative defence system in plants in response to UV-B stress. In: M. Pessaraki (Ed.), *UV-B Radiation: From Environmental Stressor to Regulator of Plant Growth* (pp. 99–121). Hoboken, NJ: Wiley.

Khan Ahmadi, M., Naghdi Badi, H., Akhondzadeh, Sh., Khalighi Sigaroodi, F., Mehrfarin, A., Shahriari, S., & Haji Aghaee, R. (2013). A review on the medicinal plant licorice (*Glycyrrhiza glabra* L.). *Journal of Medicinal Plants*, 12(46), 1–12. (In Persian)

Kobyletska, M., & Kavulych, Y. (2024). The effect of salicylic acid on the content of ascorbic acid and phenolic compounds in wheat plants. *Studia Biologica*, 18(2), 125–137.

Kumar, K., Debnath, P., & Singh, S. (2023). An overview of plant phenolics and their involvement in abiotic stress tolerance. *Stresses*, 3(3), 570–585.

Kurziel, M., Filek, M., & Łabanowska, M. (2018). The impact of short-term UV irradiation on grains of sensitive and tolerant cereal genotypes studied by EPR. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 98(7), 2607–2616.

Li, X., Guo, H., Qi, Y., Liu, H., Zhang, X., Ma, P., ... & Dong, J. (2016). Salicylic acid-induced cytosolic acidification increases the accumulation of phenolic acids in *Salvia miltiorrhiza* cells. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)*, 126(2), 333–341.

Linić, I., Mlinarić, S., Brkljačić, L., Pavlović, I., Smolko, A., & Salopek-Sondi, B. (2021). Ferulic acid and salicylic acid foliar treatments reduce short-term salt stress in chinese cabbage by increasing phenolic compounds accumulation and photosynthetic performance. *Plants*, 10(11), 2346. **Maruri-López, I., Aviles-Baltazar, N.Y., & Buchala, A. (2019).** Intra and extracellular journey of the phytohormone salicylic acid. *Frontiers in Plant Science*, 10, 423.

Meda, A., Lamien, C.E., & Romito, M. (2005). Determination of the total phenolic, flavonoid and proline contents in Burkina Fasan honey, as well as their radical scavenging activity. *Food Chemistry*, 91(3), 571–577.

Mita, S., Murano, N., & Akaike, M. (1997). Mutants of *Arabidopsis thaliana* with pleiotropic effects on the expression of the gene for β -amylase and on the accumulation of anthocyanin that are inducible by sugars. *The Plant Journal*, 11(4), 841–851.

Mohebbi, M., Mortazavi, S.N., & Kheiry, A. (2021). Assessment of physiological and phytochemical traits of purple coneflower (*Echinacea purpurea* L. Moench) in response to salicylic acid and methyl jasmonate application. *Medicinal Plant Research*, 11, 1–10.

Rikabad, M. M., Pourakbar, L., Moghaddam, S. S., & Popović-Djordjević, J. (2019). Agrobiological, chemical and antioxidant properties of saffron (*Crocus sativus* L.) exposed to TiO₂ nanoparticles and ultraviolet-B stress. *Industrial Crops and Products*, 137, 137-143.

Naeem, M., Basit, A., & Ahmad, I. (2020). Effect of salicylic acid and salinity stress on the performance of tomato plants. *Gesunde Pflanzen*, 72(4), 393–402.

Nasseralla, A.H.A., & Almukhtar, S.A. (2023). Effect of salicylic acid and ultraviolet rays on vegetative growth characteristics of *Rosmarinus officinalis* L. in vitro. In: *Proceedings of the IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 15–18 April 2023, Vol. 1158, No. 4, pp. 042024. IOP Publishing.

Ozgur, R., Uzilday, B., & Yalcinkaya, T. (2021). Differential responses of the scavenging systems for reactive oxygen species (ROS) and reactive carbonyl species (RCS) to UV-B irradiation in *Arabidopsis thaliana* and its high altitude perennial relative *Arabis alpina*. *Photochemical & Photobiological Sciences*, 20(7), 889–901.

Poorter, H., Niinemets, U., Ntagkas, N., Siebenkäs, A., Mäenpää, M., Matsubara, S., Pons, T.L. (2019). A meta-analysis of plant responses to light intensity for 70 traits ranging from molecules to whole plant performance. *New Phycologist*, 223, 1073–1105.

Qian, M., Rosenqvist, E., & Flygare, A.M. (2020). UV-A light induces a robust and dwarfed phenotype in cucumber plants (*Cucumis sativus* L.) without affecting fruit yield. *Scientia Horticulturae*, 263, 109110.

Roshdy, A.E.D., Alebidi, A., & Almutairi, K. (2021). The effect of salicylic acid on the performances of salt stressed strawberry plants, enzymes activity, and salt tolerance index. *Agronomy*, 11(4), 775.

Rostami, F., Radjabian, T., & Abrishamchi, P. (2022). Enhancement of phenolic acids accumulation in *Salvia abrotanoides* (Kar.) Sytsma shoot cultures under elicitation with nitric oxide. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)*, 149(1), 441–453.

Safshekan, S., Pourakbar, L., & Rahmani, F. (2025). The effect of Zn NPs on some growth, biochemical and anatomical factors of Chickpea plant stem under UVB irradiation. *Plant Nano Biology*, 100154.

Singh, S. (2023). Salicylic acid elicitation improves antioxidant activity of spinach leaves by increasing phenolic content and enzyme levels. *Food Chemistry Advances*, 2, 100156.

Skrypnik, L., Golovin, A., & Savina, T. (2022). Effect of salicylic acid on phenolic compounds, antioxidant and antihyperglycemic activity of Lamiaceae plants grown in a temperate climate. *Frontiers in Bioscience-Elite*, 14(1), 3.

Song, W., Shao, H., & Zheng, A. (2023). Advances in roles of salicylic acid in plant tolerance responses to biotic and abiotic stresses. *Plants*, 12(19), 3475.

Tajik, S., Zarinkamar, F., & Soltani, B.M. (2019). Induction of phenolic and flavonoid compounds in leaves of saffron (*Crocus sativus* L.) by salicylic acid. *Scientia Horticulturae*, 257, 108751.

Tan, Y., Duan, Y., & Chi, Q. (2023). The role of reactive oxygen species in plant response to radiation. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(4), 3346.

Tian, X., Hu, M., & Yang, J. (2024). Ultraviolet-B radiation stimulates flavonoid biosynthesis and antioxidant systems in buckwheat sprouts. *Foods*, 13(22), 3650.

Wahab, S., Annadurai, S., & Abullais, S.S. (2021). *Glycyrrhiza glabra* (Licorice): A comprehensive review on its phytochemistry, biological activities, clinical evidence and toxicology. *Plants*, 10(12), 2751.

Wang, M., Leng, C., & Zhu, Y. (2022). UV-B treatment enhances phenolic acids accumulation and antioxidant capacity of barley seedlings. *LWT*, 153, 112445.

Wani, A.B., Chadar, H., & Wani, A.H. (2017). Salicylic acid to decrease plant stress. *Environmental Chemistry Letters*, 15(1), 101–123.

Xu, A., Zhan, J. C., & Huang, W. D. (2015). Effects of ultraviolet C, methyl jasmonate and salicylic acid, alone or in combination, on stilbene biosynthesis in cell suspension cultures of *Vitis vinifera* L. cv. Cabernet Sauvignon. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)*, 122(1), 197-211.

Xu, Y., Charles, M.T., Luo, Z., Mimeo, B., Tong, Z., Véronneau, P.Y., Roussel, D., Rolland, D. (2019). "Ultraviolet-C priming of strawberry leaves against subsequent *Mycosphaerella fragariae* infection involves the action of reactive oxygen species, plant hormones, and terpenes. *Plant, cell & environment*, 42 (3), 815-831.

Zhang, Z.S., Jin, L.Q., & Li, Y.T. (2016). Ultraviolet-B radiation (UV-B) relieves chilling-light-induced PSI photoinhibition and accelerates the recovery of CO₂ assimilation in cucumber (*Cucumis sativus* L.) leaves. *Scientific Reports*, 6, 34455.

Zhang, X. R., Chen, Y. H., Guo, Q. S., Wang, W. M., Liu, L., Fan, J., ... & Li, C. (2017). Short-term UV-B radiation effects on morphology, physiological traits and accumulation of bioactive compounds in *Prunella vulgaris* L. *Journal of Plant Interactions*, 12(1), 348-354.

Zheng, X.T., Yu, Z.C., & Tang, J.W. (2021). The major photoprotective role of anthocyanins in leaves of *Arabidopsis thaliana* under long-term high light treatment: antioxidant or light attenuator? *Photosynthesis Research*, 149(1), 25–40.