



<https://ijpb.ui.ac.ir/?lang=en>
Journal of Plant Biological Sciences
E-ISSN: 3041-9603
Vol. 18, Issue 1, No. 67, 2026
Document Type: Research Paper
Received: 21/12/2025 Accepted: 11/04/2026

Combined effect of methyl jasmonate, yeast extract and salicylic acid on flavonoids, rosmarinic acid and other phenolic acids accumulation in Moldavian balm (*Dracocephalum moldavica* L.)

Nesa Ansari, Mohammad Abdoli¹ , Mohammad Reza Talebian

¹. Department of Plant Production and Genetics, Faculty of Agriculture, Malayer University, Malayer, Iran

Abstract

Elicitation is an effective approach to increase the accumulation of plant secondary metabolites. This study aimed to increase the production of rosmarinic acid and other phenolic compounds in *Dracocephalum moldavica* L. by combining different concentrations of methyl jasmonate, yeast extract, and salicylic acid. The experiment was conducted in a completely randomized design with 13 treatments and three replications. The treatments included spraying with distilled water (control) and the combined effects of methyl jasmonate (50 and 100 μ M), salicylic acid (80 and 160 mg/L), and yeast extract (1 and 1.5 g/L). The contents of phenolic and flavonoid compounds, including rosmarinic acid, chlorogenic acid, ferulic acid, caffeic acid, *p*-coumaric acid, apigenin, quercetin and luteolin, was measured using HPLC. The results showed that the treatments significantly increased the levels of phenolic acids and flavonoids. Foliar application of 160 mg/L salicylic acid + 100 μ M methyl jasmonate resulted in the greatest increase in rosmarinic acid, chlorogenic acid, *p*-coumaric acid, and quercetin, with increases of 4.2-, 3.5-, 10.3-, and 6.2-fold, respectively, compared to the control. The results of the correlation analysis among the traits showed that the amount of rosmarinic acid had a positive and significant correlation with chlorogenic acid ($r=0.819^{**}$), ferulic acid ($r=0.773^{**}$), quercetin ($r=0.987^{**}$), and *p*-coumaric acid ($r=0.986^{**}$) and a negative and significant correlation with caffeic acid ($r=-0.920^{**}$). The heatmap of the studied traits showed distinct clustering between the control and some combined treatments of these elicitors. Overall, the results highlighted the synergistic effect of methyl jasmonate and salicylic acid on increasing polyphenolic compound production in *D. moldavica*.

Keywords: *Dracocephalum moldavica*, Rosmarinic acid, Medicinal plant, Secondary metabolite, Methyl jasmonate, Elicitor

*Corresponding Author: Abdoli_m@malayeru.ac.ir



Introduction

Moldavian balm or dragonhead (*Dracocephalum moldavica* L.) is an annual herbaceous plant belonging to the Lamiaceae family, widely used in the food and pharmaceutical industries. Its extract exhibits various therapeutic effects, including anticancer, antirheumatic, anti-inflammatory, antibacterial, analgesic, sedative, and antioxidant activities. The quality of medicinal plants intended for pharmacological use is often assessed by the content of biologically active compounds. Phytochemical analyses have revealed that phenolic compound production in *D. moldavica* is often limited. Elicitation represents an effective approach to enhance the accumulation of plant secondary metabolites. This study aimed to increase the production of flavonoids, rosmarinic acid, and other phenolic compounds in *D. moldavica* by applying combinations of methyl jasmonate (MeJA), yeast extract (YE), and salicylic acid (SA) at different concentrations.

Materials and Methods

The experiment was conducted in a completely randomized design with 13 treatments and three replications under greenhouse conditions. Treatments included foliar application of distilled water (control) and the combinations: salicylic acid (80 mg/L)+yeast extract (1 g/L), salicylic acid (80 mg/L)+yeast extract (1.5 g/L), salicylic acid (80 mg/L)+methyl jasmonate (50 μ M), salicylic acid (80 mg/L)+methyl jasmonate (100 μ M), salicylic acid (160 mg/L)+yeast extract (1 g/L), salicylic acid (160 mg/L)+yeast extract (1.5 g/L), salicylic acid (160 mg/L)+methyl jasmonate (50 μ M), salicylic acid (160 mg/L)+methyl jasmonate (100 μ M), methyl jasmonate (50 μ M)+yeast extract (1 g/L), methyl jasmonate (50 μ M)+yeast extract (1.5 g/L), methyl jasmonate (100 μ M)+yeast extract (1 g/L), and methyl jasmonate (100 μ M)+yeast extract (1.5 g/L). For each treatment, three pots were used, each containing five plants (one replicate). Elicitors were applied as foliar sprays to the aerial parts at the 50% flowering stage. Six days after spraying, all aerial parts were harvested. The harvested material was shade-dried for seven days at ambient temperature (25-30 °C) with adequate ventilation. The content of phenolic compounds, including rosmarinic acid, chlorogenic acid, ferulic acid, caffeic acid, *p*-coumaric acid, apigenin, quercetin, and luteolin, was determined using high-performance liquid chromatography (HPLC; UNICAM, Crystal 200 model, England). Retention times were as follows: chlorogenic acid (9.8 min), caffeic acid (16.2 min), *p*-coumaric acid (22.5 min), ferulic acid (24.8 min), rosmarinic acid (34.1 min), luteolin (40.9 min), quercetin (41.7 min), and apigenin (42.3 min). Concentration of rosmarinic acid and other compounds was expressed as mg/g dry weight. Statistical analysis was performed using SPSS software (version 26). Means were compared using Duncan's multiple range test at $P \leq 0.01$. A heatmap was generated using ClustVis, and Pearson correlation coefficients were calculated with SPSS. Principal component analysis (PCA) was performed using PAST software (version 4.17).

Results and Discussion

The results of analysis of variance (ANOVA) revealed that the combined elicitor treatments significantly ($P \leq 0.01$) increased the phenolic compounds contents in *D. moldavica* compared to the control. The results showed that the type, combination, and concentration of elicitors markedly influenced the accumulation of flavonoids, rosmarinic acid, and other phenolic acids in *D. moldavica* compared to the control. The most effective treatment was a foliar application of 160 mg/L salicylic acid combined with 100 μ M methyl jasmonate, which increased rosmarinic acid, chlorogenic acid, *p*-coumaric acid, and quercetin by 4.2-, 3.5-, 10.3-, and 6.2-fold, respectively, relative to the control. The results showed that within salicylic acid 160 mg/L treatments, the order of efficacy for rosmarinic acid accumulation was: 100 μ M methyl jasmonate > 50 μ M methyl jasmonate > 1.5 g/L yeast extract > 1 g/L yeast extract. The results of the correlation analysis indicated that rosmarinic acid content was positively and significantly correlated with chlorogenic acid ($r=0.819^{**}$), ferulic acid ($r=0.773^{**}$), quercetin ($r=0.987^{**}$), and *p*-coumaric acid ($r=0.986^{**}$), but negatively correlated with caffeic acid ($r=-0.920^{**}$). The heatmap clustering clearly distinguished the control group from the combined elicitor treatments, and principal component analysis further supported these groupings.

Conclusion

Foliar application of 160 mg/L salicylic acid combined with 100 μ M methyl jasmonate proved most effective in enhancing the accumulation of phenolic compounds in *D. moldavica*. Rosmarinic acid, the major phenolic compound in this species, showed strong positive correlations with chlorogenic acid, ferulic acid, quercetin, and *p*-coumaric acid. These findings suggest that the combined use of salicylic acid and methyl jasmonate is a viable strategy to significantly increase the levels of valuable phenolic and flavonoid metabolites in *D. moldavica*, with potential applications in the pharmaceutical and food industries.

اثر ترکیبی متیل جاسمونات، عصاره مخمر و سالیسیلیک اسید بر تولید فلاونوئیدها، رزمارینیک اسید و سایر اسیدهای فنلی بادرشبو (*Dracocephalum moldavica* L.)

نساء انصاری، محمد عبدلی^{id*}، محمدرضا طالبیان

گروه تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ملایر، ملایر، ایران

چکیده

یکی از رویکردهای مؤثر برای افزایش تولید متابولیت‌های ثانویه گیاهی، استفاده از محرک‌ها است. این پژوهش، با هدف افزایش تولید رزمارینیک اسید و سایر ترکیبات فنلی بادرشبو (*Dracocephalum moldavica* L.) توسط اثر ترکیبی غلظت‌های مختلف متیل جاسمونات، عصاره مخمر و سالیسیلیک اسید انجام شد. آزمایش در قالب طرح کامل تصادفی با ۱۳ تیمار و در سه تکرار انجام شد. تیمارها شامل محلول‌پاشی با آب مقطر (شاهد)، اثر توأم متیل جاسمونات (۵۰ و ۱۰۰ میکرومولار)، سالیسیلیک اسید (۸۰ و ۱۶۰ میلی گرم در لیتر) و عصاره مخمر (۱ و ۱/۵ گرم در لیتر) بود. میزان ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی شامل رزمارینیک اسید، کلروژنیک اسید، فرولیک اسید، کافئیک اسید، پی کوماریک اسید، آپیزنین، کوئرستین و لوئولین توسط دستگاه HPLC اندازه‌گیری شدند. نتایج نشان داد تیمارها بر افزایش مقدار اسیدهای فنلی و فلاونوئیدی بادرشبو تأثیر معنی‌دار داشتند. محلول‌پاشی با ۱۶۰ میلی گرم در لیتر سالیسیلیک اسید+۱۰۰ میکرومولار متیل جاسمونات بهترین نتیجه را در افزایش میزان رزمارینیک اسید، کلروژنیک اسید، پی کوماریک اسید و کوئرستین داشت و به ترتیب ۴/۲، ۳/۵، ۱۰/۳ و ۶/۲ برابر نسبت به شاهد افزایش داشتند. همچنین نتایج همبستگی بین صفات نشان داد که میزان رزمارینیک اسید همبستگی مثبت و معنی‌دار با کلروژنیک اسید ($r=0.819^{**}$)، فرولیک اسید ($r=0.773^{**}$)، کوئرستین ($r=0.987^{**}$) و پی کوماریک اسید ($r=0.986^{**}$) و منفی و معنی‌دار با کافئیک اسید ($r=-0.92^{**}$) دارد. نتایج نقشه حرارتی برای صفات مورد پژوهش، بین شاهد و برخی تیمارهای توأم این محرک‌ها خوشه‌بندی متمایزی نشان داد. در مجموع، نتایج بر اثر هم‌افزایی سالیسیلیک اسید با متیل جاسمونات در افزایش تولید ترکیبات پلی فنلی بادرشبو دلالت داشت.

واژه‌های کلیدی: بادرشبو، رزمارینیک اسید، گیاه دارویی، متابولیت ثانویه، متیل جاسمونات، محرک

*Corresponding Author: Abdoli_m@malayeru.ac.ir



مقدمه

گیاهان دارویی و معطر منابع ارزشمندی برای تولید ترکیبات زیست فعال به عنوان مواد اولیه در صنعت داروسازی و سایر صنایع هستند (Albayrak et al., 2024). ترکیبات فنلی، مولکول‌های زیست فعال طبیعی هستند که عمدتاً در بافت‌های گیاهی یافت می‌شوند و خواص مفید متنوعی مانند ضد سرطان، محافظت کننده قلب، پشتیبانی از سیستم ایمنی، فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی، ضد میکروبی و ضد التهابی دارند (Rao & Zheng, 2025). تاکنون بیش از ۸۰۰۰ ترکیب فنلی شناسایی شده است که نیمی از آنها فلاونوئیدها هستند (Foss et al., 2022). بر اساس گزارش‌ها، ارزش بازار جهانی ترکیبات فنلی در سال ۲۰۲۲ میلادی، ۱/۶۸ میلیارد دلار بوده است و از سال ۲۰۲۳ تا ۲۰۳۰ نرخ رشد سالانه ۷/۴ پیش‌بینی می‌شود (Suliman et al., 2023). امروزه خانواده‌های گیاهی مانند نعناعیان با محتوای پلی فنلی بیشتر را به عنوان منابع بالقوه آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی برای بهره‌برداری تجاری در نظر گرفته‌اند (Rao & Zheng, 2025).

بادرشبو (*Dracocephalum moldavica* L.) گیاه دارویی علفی و یک ساله متعلق به خانواده نعناعیان است که در صنایع غذایی و دارویی مورد استفاده قرار می‌گیرد (Nejatzadeh, 2020). این گیاه بومی مناطق مرکزی آسیا است که در طب سنتی و مدرن برای درمان درد معده، سردرد، سرماخوردگی و اختلالات کبدی استفاده می‌شود (Dastmalchi et al., 2007; Ghanbarzadeh et al., 2020). علاوه بر این، عصاره گیاه بادرشبو دارای اثرات درمانی مختلفی مانند ضد سرطانی، ضد روماتیسمی، ضد التهابی، ضد باکتریایی، ضد درد، آرام‌بخش و آنتی‌اکسیدانی است (Abdossi et al., 2015; Dastmalchi et al., 2007; Kuete & Efferth, 2010). پژوهش‌های فارماکولوژیکی متعددی نشان دادند در شاخساره بادرشبو، انواع مختلفی از ترکیبات زیست فعال شامل ترپنوئیدها، فلاونوئیدها، گلیکوزیدها، اسیدهای هیدروکسی بنزوئیک و هیدروکسی

سینامیک و سایر ترکیبات شناسایی شده است که مسئول خواص آنتی‌اکسیدانی و دارویی آن هستند (Yang et al., 2007; Dastmalchi et al., 2014). مسیر بیوسنتزی ترکیبات فنلی توسط مسیرهای شیکیمات و فنیل پروپانوئید است (Foss et al., 2022). اسید رزمارینیک (آلفا-او-کافئوئیل-۳، ۴-دی‌هیدروکسی فنیل لاکتیک اسید) که توسط مسیر فنیل پروپانوئید تولید می‌شود، یک استر اسید هیدروکسی سینامیک شناخته شده است که آثار و فواید زیستی گسترده و جالبی برای بهبود سلامت انسان دارد (Pérez-Tortosa et al., 2012). ترکیبات فنلی و فلاونوئیدها جایگزین‌های بالقوه‌ای برای عوامل زیست فعال در بخش‌های دارویی و پزشکی برای ارتقاء سلامت انسان و پیشگیری و درمان بیماری‌های مختلف هستند (Sun & Shahrajabian, 2023).

به علت نقش مهم و ارزش اقتصادی متابولیت‌های ثانویه در صنایع غذایی، دارویی و سایر صنایع، استفاده از محرک‌های زیستی و غیرزیستی می‌تواند یکی از روش‌های مناسب و کارآمد برای تحریک تولید ترکیبات زیست فعال ارزشمند باشد (Kumari et al., 2020; Albayrak et al., 2024). مقدار متابولیت‌های ثانویه در گیاهان تیمار نشده بسیار ناچیز است. محرک‌ها در غلظت‌های بسیار کم می‌توانند به علت تحریک و بهبود عکس‌العمل‌های فیزیولوژیکی و متابولیکی گیاهان، سبب افزایش قابل توجه تولید آنها شوند (Zhang et al., 2014). سادگی استفاده از محرک‌ها و هزینه کمتر برای افزایش تولید متابولیت‌های ثانویه سبب شده که امروزه از آنها به‌طور گسترده در گیاهان دارویی استفاده شود (Isah et al., 2018). استفاده از محرک‌های مختلف از قبیل سالیسیلیک اسید، نانوذرات آهن و مس، کود زیستی، سولفات منیزیم، ملاتونین و غیره در افزایش میزان متابولیت‌های ثانویه بادرشبو در پژوهش‌های مختلف بررسی شده است (Khanlari et al., 2025; Varasteh Khanlari et al., 2024; Nejatzadeh, 2020; Asghari et al., 2025; Naghizadeh et al., 2019). سالیسیلیک اسید یا اسید

بهترین ترکیب و غلظت محرک‌ها بر افزایش تولید اسیدهای فنلی به‌ویژه رزمارینیک اسید و فلاونوئیدی بادرشبو، انجام شد.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی و شرایط آزمایش: این پژوهش جهت افزایش تجمع اسیدهای فنلی و فلاونوئیدی بادرشبو در واکنش به اثر توام محرک‌های متیل جاسمونات، عصاره مخمر و سالیسیلیک اسید در گلخانه سازمان پارک‌ها و فضای سبز شهرداری ملایر واقع در ملایر (عرض جغرافیایی: ۳۴ درجه و ۱۹ دقیقه شمالی، طول جغرافیایی: ۴۸ درجه و ۵۱ دقیقه شرقی، ارتفاع از سطح دریا: ۱۷۲۵ متر) انجام شد. بذره‌های گیاه دارویی بادرشبو (*Dracocephalum moldavica* L.) با کد هرباریوم ۵۶۷-۱۳۸۹ از شرکت پاکان بذرافشان تهیه شدند (<http://www.pakanbazr.com/>). تعداد ۱۰ بذر بادرشبو در هر گلدان سفالی با ارتفاع ۲۵ سانتی‌متر و قطر دهانه ۲۰ سانتی‌متر در بستری حاوی مخلوط یکنواخت خاک زراعی، خاک برگ پوسیده و ماسه بادی با نسبت وزنی ۱:۱:۱ به‌صورت سطحی در عمق ۰/۵ تا ۱ سانتی‌متر کاشته شدند و بلافاصله آبیاری صورت گرفت. پس از استقرار گیاهچه‌ها، در مرحله ۴ برگی گیاهان اضافی تنک شدند و تعداد پنج بوته با فاصله یکنواخت در هر گلدان نگهداری شد. گیاهان در طول مدت رشد در گلخانه با دمای روزانه 25 ± 3 و شبانه 18 ± 3 درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی بین ۵۵ تا ۶۰ درصد و نور طبیعی پرورش یافتند. آبیاری گلدان‌ها هر دو روز یک بار انجام شد.

طرح آزمایشی و تیمارها: این پژوهش، در سه تکرار و در قالب طرح کامل تصادفی با ۱۳ تیمار در شرایط گلخانه انجام شد. تیمارهای آزمایشی شامل محلول‌پاشی با آب مقطر (شاهد) و اثر توام متیل جاسمونات، عصاره مخمر و سالیسیلیک اسید طبق جدول ۱ بود.

اورتو-هیدروکسی بنزوئیک ($C_7H_6O_3$) یک تنظیم‌کننده رشد درونی از گروه ترکیبات فنلی طبیعی و مولکول پیام-رسان است که به‌عنوان یک محرک کارآمد، مقرون به صرفه، سازگار با محیط زیست و سریع‌الاث‌ر در تولید ترکیبات زیست فعال نقش دارد (Ali, 2020; Gorni et al., 2020). در پژوهش‌های مختلف، نقش مثبت سالیسیلیک اسید بر تنظیم فرآیندهای فیزیولوژیکی گیاه و افزایش تولید متابولیت‌های ثانویه در بادرشبو و سایر گیاهان دارویی گزارش شده است (Abdoli et al., 2021; Izan et al., 2016; Mehrpooya et al., 2021; Motiee & Abdoli, 2021). یکی دیگر از محرک‌های زیستی غیرهورمونی رایج که می‌تواند منجر به افزایش تولید ترکیبات زیست فعال در گیاهان دارویی شود، عصاره مخمر است (Vasefpour et al., 2025; Hedayati & Abdoli, 2021). همچنین متیل جاسمونات (MeJA) به‌عنوان یکی از مهم‌ترین محرک‌ها و تنظیم‌کننده‌های سیگنالینگ دفاعی گیاهان در تنش‌های غیرزیستی و زیستی، به‌طور گسترده‌ای برای تولید موفق متابولیت‌های ثانویه گیاهی مورد استفاده قرار می‌گیرد (Wang et al., 2021). استفاده از متیل جاسمونات به‌عنوان روشی برای افزایش تولید متابولیت‌های ثانویه، افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و بیان ژن‌های مرتبط با دفاع شناخته شده است (Ho et al., 2020).

نتایج پژوهش‌های مختلف بر اهمیت هم‌افزایی و اثر توام محرک‌ها بر افزایش تولید متابولیت‌های ثانویه در گیاهان دارویی دلالت دارد (Kiani et al., 2024; Sahu et al., 2013; Jeyasri et al., 2023; Pandey et al., 2025). بررسی مقالات منتشر شده نشان داد تاکنون پژوهشی در رابطه با کاربرد توام و ترکیبی متیل جاسمونات، عصاره مخمر و سالیسیلیک اسید به‌عنوان محرک‌های کارآمد و مقرون به صرفه بر تولید رزمارینیک اسید و سایر ترکیبات فنلی بادرشبو انجام نشده است. بنابراین، پژوهش حاضر با هدف بررسی اثر توام این محرک‌ها و مشخص کردن

جدول ۱- تیمارهای آزمایشی شامل شاهد و اثر توام متیل جاسمونات، عصاره مخمر و سالیسیلیک اسید بر ترکیبات فنلی بادرشبو

Table 1- The treatments included control and combined effect of methyl jasmonate, yeast extract and salicylic acid on phenolic compounds in *D. moldavica*

Treatment				
Control	SA ₈₀ +YE ₁	SA ₈₀ +YE _{1.5}	SA ₈₀ +MeJA ₅₀	SA ₈₀ +MeJA ₁₀₀
SA ₁₆₀ +YE ₁	SA ₁₆₀ +YE _{1.5}	SA ₁₆₀ +MeJA ₅₀	SA ₁₆₀ +MeJA ₁₀₀	MeJA ₅₀ +YE ₁
MeJA ₅₀ +YE _{1.5}	MeJA ₁₀₀ +YE ₁	MeJA ₁₀₀ +YE _{1.5}		

SA: سالیسیلیک اسید (۸۰ و ۱۶۰ میلی گرم در لیتر). YE: عصاره مخمر (۱ و ۱/۵ گرم در لیتر). MeJA: متیل جاسمونات (۵۰ و ۱۰۰ میکرومولار).

SA: Salicylic acid (80 and 160 mg/L). YE: Yeast extract (1 and 1.5 g/L). MeJA: Methyl jasmonate (50 and 100 μM).

آماده سازی محرک ها و اعمال تیمارها: برای آماده سازی محرک ها، عصاره مخمر در آب مقطر حل شد. مقدار وزن شده سالیسیلیک اسید و متیل جاسمونات نیز در حداقل مقدار اتانول (۱ درصد اتانول به عنوان حلال) حل شد و با آب مقطر به حجم نهایی رسید. پس از استقرار کامل بوته ها و در حدود ۵۰ درصد گلدهی، یک مرحله توسط محلول پاش دستی، محلول پاشی یکنواخت محرک ها بر روی شاخساره های بادرشبو اعمال شد (Motiee & Abdoli, 2021). برای هر تیمار، از سه گلدان با پنج گیاه در هر تکرار استفاده شد. برای ارزیابی میزان ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی بادرشبو، شش روز پس از افشانه برگی و اعمال تیمار، کل اندام های هوایی گیاهان در تیمارهای مختلف برداشت شدند. اندام های بوته ها به مدت ۷ روز در سایه با تهویه مناسب و دمای محیط (۲۵-۳۰ درجه سانتیگراد)، به طور کامل خشک شدند. برگ و پیکره رویشی نمونه های گیاهی خرد و مخلوط شدند و هر نمونه به طور جداگانه در یک کیسه پلاستیکی قرار داده شد و درب آنها بسته شد. در این پژوهش، صفاتی مانند میزان رزمارینیک اسید، کلروژنیک اسید، فرولیک اسید، کافئیک اسید، پی کوماریک اسید، آپیزین، کوئرسیتین و لوتولین با استفاده از کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC) ارزیابی شدند.

عصاره گیری و تعیین مقدار ترکیبات فنلی توسط HPLC: جهت عصاره گیری و تعیین کمی ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی بادرشبو، مقدار ۱۰ گرم ماده گیاهی در یک بالن شیشه ای ته گرد ۵۰۰ میلی لیتری قرار داده شد و ۲۵۰ میلی لیتر آب به آن اضافه شد و به مدت ۲ ساعت جوشانده شد. این

فرآیند دو بار دیگر با نمونه تازه تکرار شد و عصاره های آبی بدست آمده مخلوط شدند. سپس در دستگاه مبرد منفی ۴۵ درجه سانتی گراد تحت خلاء حجم آنها به ۴۰ میلی لیتر رسید و تا زمان کروماتوگرافی در یخچال ۴ درجه سانتی گراد نگهداری شدند (Dastmalchi et al., 2007). از دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا متصل به آرایه تشخیص نوری شرکت UNICAM، مدل Crystal 200 ساخت انگلستان استفاده شد. عصاره آبی بدست آمده که از فیلتر ۰/۴۵ میکرومتر عبور داده شد با تزریق خودکار به ستون Discovery-C18 با طول ۲۵ میلی متر، قطر ۴/۶ میلی متر و اندازه ذرات ۵ میکرومتر، متصل به آرایه تشخیص نوری با طول موج های ۲۰۰ تا ۵۰۰ نانومتر تزریق شد. فاز متحرک مخلوطی از محلول اسید استیک و استونیتریل فوق خالص بود که با سرعت جریان ۱ میلی لیتر در دقیقه به ستون وارد می شد. غلظت فاز متحرک به صورت گرادینانی تغییر می کرد؛ ابتدا در فاصله ۳۰ دقیقه اول شیب غلظت محلول از ۰٪ به ۲۰٪، سپس در ۵ دقیقه بعدی از ۲۰٪ به ۵۰٪ و در نهایت در پایان ۴۵ دقیقه، غلظت آن به تدریج کاهش یافته و در پایان به صفر درصد رسید. آشکارساز از نوع ماوراء بنفش بوده و برای گروهی از مواد در ۳۲۰ و برای برخی مواد در ۲۸۰ نانومتر تنظیم شد. اجزاء مختلف نمونه در زمان های بازداری متفاوتی از یکدیگر جدا شدند، بنابراین با تطبیق زمان بازداری پیک خروجی با پیک استاندارد شناسایی شدند. زمان بازداری به شرح زیر بود: کلروژنیک اسید (۹/۸ دقیقه)، کافئیک اسید (۱۶/۲ دقیقه)، پی کوماریک اسید (۲۲/۵ دقیقه)، فرولیک اسید (۲۴/۸ دقیقه)، رزمارینیک اسید (۳۴/۱ دقیقه)، لوتولین (۴۰/۹ دقیقه)، کوئرسیتین (۴۱/۷)

استفاده شد. تجزیه مؤلفه‌های اصلی (PCA) با نرم افزار PAST ver. 4.17 (Hammer & Harper, 2024) انجام شد.

نتایج

مقدار ترکیبات فنلی عصاره بخش‌های هوایی گیاه بادرشبو با استفاده از دستگاه HPLC اندازه‌گیری شد. نتایج جدول تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۲) نشان داد که مقدار رزمارینیک اسید، کلروژنیک اسید، فرولیک اسید، کافنیک اسید، پی‌کوماریک اسید، آپیزنین، کوئرسیتین و لوتولین بادرشبو تحت تاثیر توام محرک‌های متیل جاسمونات، عصاره مخمر و سالیسیلیک اسید قرار گرفته است. به عبارت دیگر، اثر توام این محرک‌های زیستی و غیرزیستی بر تمام صفات مورد ارزیابی معنی‌دار بود ($P \leq 0.01$).

دقیقه) و آپیزنین (۴۲/۳ دقیقه). رزمارینیک اسید و سایر ترکیبات موجود در هر نمونه با استفاده از منحنی کالیبراسیون کمی‌سازی شدند و غلظت آنها بر اساس وزن خشک (میلی-گرم بر گرم) اندازه‌گیری شد (Dastmalchi et al., 2007).
آنالیز آماری: تجزیه واریانس داده‌ها با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۲۶ و مقایسه میانگین صفات با آزمون چند دامنه دانکن در سطح احتمال یک درصد صورت گرفت. برای ترسیم شکل‌ها از نرم افزار Excel 2013 استفاده شد. نتایج به صورت میانگین $\pm$ خطای استاندارد (SE) ارائه شد. برای رسم نقشه حرارتی و نشان دادن الگوی ارتباطی میان تیمارهای اعمال شده با صفات مورد بررسی، از نرم افزار ClustVis (<https://lbiit.cs.ut.ee/clustvis/>) و برای تعیین ضرایب همبستگی پیرسون از نرم افزار SPSS نسخه ۲۶

جدول ۲- تجزیه واریانس اثر ترکیبی متیل جاسمونات، عصاره مخمر و سالیسیلیک اسید بر مقدار رزمارینیک اسید، کلروژنیک اسید، فرولیک اسید، کافنیک اسید، پی‌کوماریک اسید، آپیزنین، کوئرسیتین و لوتولین بادرشبو

Table 2- Analysis of variance the combined effect of methyl jasmonate, yeast extract and salicylic acid on rosmarinic acid, chlorogenic acid, ferulic acid, caffeic acid, *p*-coumaric acid, apigenin, quercetin and luteolin content in *D. moldavica* plants

Source of variation	df	Mean of squares							
		Rosmarinic acid	Chlorogenic acid	Caffeic acid	<i>p</i> -coumaric acid	Ferulic acid	Apigenin	Quercetin	Luteolin
Treatment	12	86.275**	26.385**	1.740**	2.932**	7.375**	2.275**	2.312**	0.038**
Error	26	0.572	0.166	0.011	0.020	0.018	0.020	0.014	0.009
Total	38								
C.V. (%)		6.4	5.7	7.4	8.7	5.2	7.8	7.9	29.9

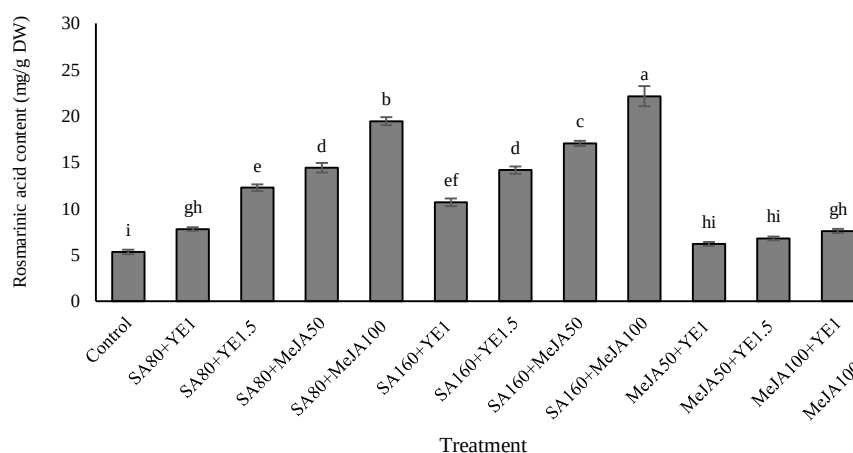
**Significant at the 1% probability level

** معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد

میلی گرم در لیتر سالیسیلیک اسید+۱۰۰ میکرومولار متیل جاسمونات ادامه یافت که تولید رزمارینیک اسید در اندام‌های هوایی بادرشبو را ۳/۶۵ برابر نسبت به گیاهان شاهد افزایش داد. نتایج نشان داد به‌طور کلی سالیسیلیک اسید به همراه غلظت‌های مختلف متیل جاسمونات نسبت به سالیسیلیک اسید به همراه غلظت‌های مختلف عصاره مخمر تاثیر بیشتری بر افزایش مقدار رزمارینیک اسید داشته است. همچنین نتایج به‌خوبی نشان دادند که تفاوت معنی‌داری بین دو غلظت متیل جاسمونات بر این صفت وجود دارد. تیمار ترکیبی ۱۶۰ میلی گرم در لیتر سالیسیلیک اسید+۱۰۰ میکرومولار متیل جاسمونات (۲۲/۱۴ میلی گرم بر گرم ماده

رزمارینیک اسید: نتایج مقایسه میانگین‌ها نشان داد که افشانه برگی متیل جاسمونات، عصاره مخمر و سالیسیلیک اسید به صورت توام، محتوای ترکیبات فنلی بادرشبو را افزایش داد. نتایج نشان داد که مقدار رزمارینیک اسید از ۵/۳۳ تا ۲۲/۱۴ میلی گرم بر گرم ماده خشک متغیر بوده است (شکل ۱).
بیشترین مقدار تجمع رزمارینیک اسید (۲۲/۱۴ میلی گرم بر گرم ماده خشک) در محلول‌پاشی برگی با تیمار ترکیبی ۱۶۰ میلی گرم در لیتر سالیسیلیک اسید+۱۰۰ میکرومولار متیل جاسمونات مشاهده شد و کمترین آن در تیمار شاهد (۵/۳۳ میلی گرم بر گرم ماده خشک) بدست آمد که در مقایسه با شاهد ۴/۱۵ برابر افزایش یافت. این روند با تیمار ترکیبی ۸۰

برای تیمار ترکیبی ۸۰ میلی گرم در لیتر سالیسیلیک اسید با محرک‌های مذکور صدق می‌کند. نتایج نشان می‌دهد تیمار ترکیبی غلظت‌های مختلف عصاره مخمر (۱ و ۱/۵ گرم در لیتر) با غلظت‌های مختلف متیل جاسمونات (۵۰ و ۱۰۰ میکرومولار) تاثیر چندانی بر مقدار رزمارینیک اسید در مقایسه با شاهد نداشته است. نتایج این تحقیق تفاوت معنی‌داری بین اثر دو مقدار عصاره مخمر در حضور متیل جاسمونات بر صفت محتوای رزمارینیک اسید نشان نداد.



شکل ۱- اثر توأم متیل جاسمونات، عصاره مخمر و سالیسیلیک اسید بر مقدار رزمارینیک اسید در بادرشبو. میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال پنج درصد ندارند. SA: سالیسیلیک اسید (۸۰ و ۱۶۰ میلی گرم در لیتر). YE: عصاره مخمر (۱ و ۱/۵ گرم در لیتر). MeJA: متیل جاسمونات (۵۰ و ۱۰۰ میکرومولار).

Figure 1- The combined effect of methyl jasmonate, yeast extract and salicylic acid on rosmarinic acid content in *D. moldavica*. Means with similar letters in each column are not significantly different at the 5% probability level. SA: Salicylic acid (80 and 160 mg/L). YE: Yeast extract (1 and 1.5 g/L). MeJA: Methyl jasmonate (50 and 100 μ M).

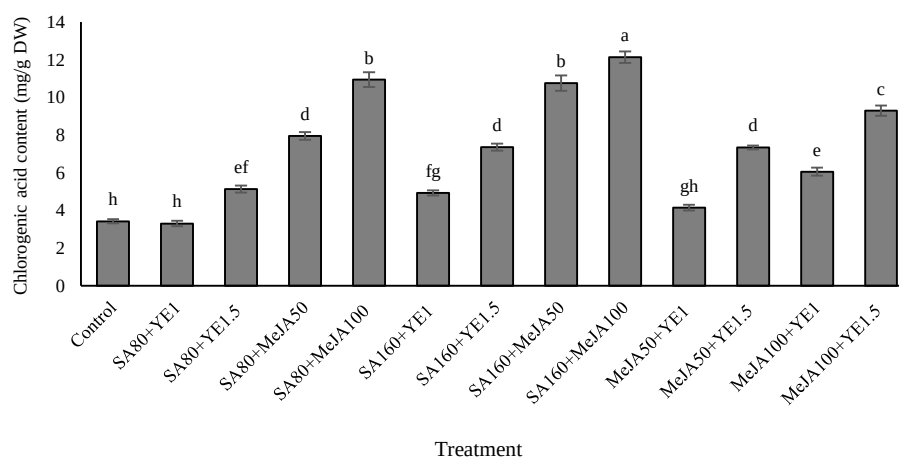
میکرومولار متیل جاسمونات در رتبه دوم تاثیر مثبت بر مقدار کلروژنیک اسید قرار داشتند که هر کدام ۳/۱۹ برابر مقدار کلروژنیک اسید بیشتری نسبت به شاهد تولید کردند. همچنین نتایج نشان داد که تفاوت معنی‌داری بین اثر دو غلظت ۵۰ و ۱۰۰ میکرومولار متیل جاسمونات بر این صفت وجود دارد به‌طوری‌که با افزایش غلظت متیل جاسمونات، تمایل واضحی به افزایش ترکیب فنلی کلروژنیک اسید وجود داشت. تیمار ترکیبی ۱۶۰ میلی گرم در لیتر سالیسیلیک اسید به‌همراه ۱۰۰ میکرومولار متیل جاسمونات نسبت به ۵۰ میکرومولار متیل جاسمونات ۱۳ درصد کلروژنیک اسید بیشتری تولید نمود. اثر دوگانه ۱۶۰ میلی گرم در لیتر

خشک) ۳۰ درصد رزمارینیک اسید بیشتری نسبت به تیمار ترکیبی ۱۶۰ میلی گرم در لیتر سالیسیلیک اسید+۵۰ میکرومولار متیل جاسمونات (۱۷/۰۶ میلی گرم بر گرم ماده خشک) تولید نمود. نتایج نشان می‌دهد در حضور ۱۶۰ میلی گرم در لیتر سالیسیلیک اسید، به‌ترتیب ۱۰۰ میکرومولار متیل جاسمونات < ۵۰ میکرومولار متیل جاسمونات < ۱/۵ گرم در لیتر عصاره مخمر < ۱ گرم در لیتر عصاره مخمر، مقدار رزمارینیک اسید بیشتری تولید می‌کنند. این ترتیب

کلروژنیک اسید: نتایج آزمایش حاضر نشان داد که مقدار کلروژنیک اسید از ۳/۴۳ تا ۱۲/۱۴ میلی گرم بر گرم ماده خشک متغیر بوده است. کاربرد توأم محرک‌های زیستی و غیرزیستی منجر به افزایش معنی‌دار مقدار کلروژنیک اسید شدند ($P \leq 0.01$). بیشترین مقدار تولید کلروژنیک اسید (۱۲/۱۴ میلی گرم بر گرم ماده خشک) در افشانه برگی با تیمار ترکیبی ۱۶۰ میلی گرم در لیتر سالیسیلیک اسید+۱۰۰ میکرومولار متیل جاسمونات مشاهده شد که در مقایسه با شاهد ۳/۵۴ برابر افزایش یافت (شکل ۲). تیمارهای ۸۰ میلی-گرم در لیتر سالیسیلیک اسید+۱۰۰ میکرومولار متیل جاسمونات و ۱۶۰ میلی گرم در لیتر سالیسیلیک اسید+۵۰

رزمارینیک اسید، در حضور ۱۶۰ میلی گرم در لیتر سالیسیلیک اسید به ترتیب ۱۰۰ میکرومولار متیل جاسمونات < ۵۰ میکرومولار متیل جاسمونات < ۱/۵ گرم در لیتر عصاره مخمر < ۱ گرم در لیتر عصاره مخمر، مقدار کلروژنیک اسید بیشتری تولید کرد. غلظت ۱ گرم در لیتر عصاره مخمر به همراه غلظت ۵۰ میکرومولار متیل جاسمونات یا غلظت ۸۰ میلی گرم در لیتر سالیسیلیک اسید از نظر مقدار کلروژنیک اسید تفاوت معنی داری با شاهد نداشتند.

سالیسیلیک اسید با غلظت های مختلف متیل جاسمونات و عصاره مخمر نسبت به اثر دوگانه ۸۰ میلی گرم در لیتر سالیسیلیک اسید با غلظت های مختلف و مشابه متیل جاسمونات و عصاره مخمر، مقدار بیشتری کلروژنیک اسید تولید کرد. نتایج مقایسه میانگین (شکل ۲) اثر توأم محرک ها نشان داد که به طور کلی سالیسیلیک اسید به همراه غلظت های مختلف متیل جاسمونات نسبت به سالیسیلیک اسید به همراه غلظت های مختلف عصاره مخمر تأثیر بیشتری بر افزایش مقدار کلروژنیک اسید داشته است. در تطابق با صفت مقدار



شکل ۲- اثر توأم متیل جاسمونات، عصاره مخمر و سالیسیلیک اسید بر مقدار کلروژنیک اسید در بادرشو. میانگین های دارای حداقل یک حرف مشترک اختلاف معنی داری در سطح احتمال پنج درصد ندارند. SA: سالیسیلیک اسید (۸۰ و ۱۶۰ میلی گرم در لیتر). YE: عصاره مخمر (۱ و ۱/۵ گرم در لیتر). MeJA: متیل جاسمونات (۵۰ و ۱۰۰ میکرومولار).

Figure 2- The combined effect of methyl jasmonate, yeast extract and salicylic acid on chlorogenic acid content in *D. moldavica*. Means with similar letters in each column are not significantly different at the 5% probability level. SA: Salicylic acid (80 and 160 mg/L). YE: Yeast extract (1 and 1.5 g/L). MeJA: Methyl jasmonate (50 and 100 μ M).

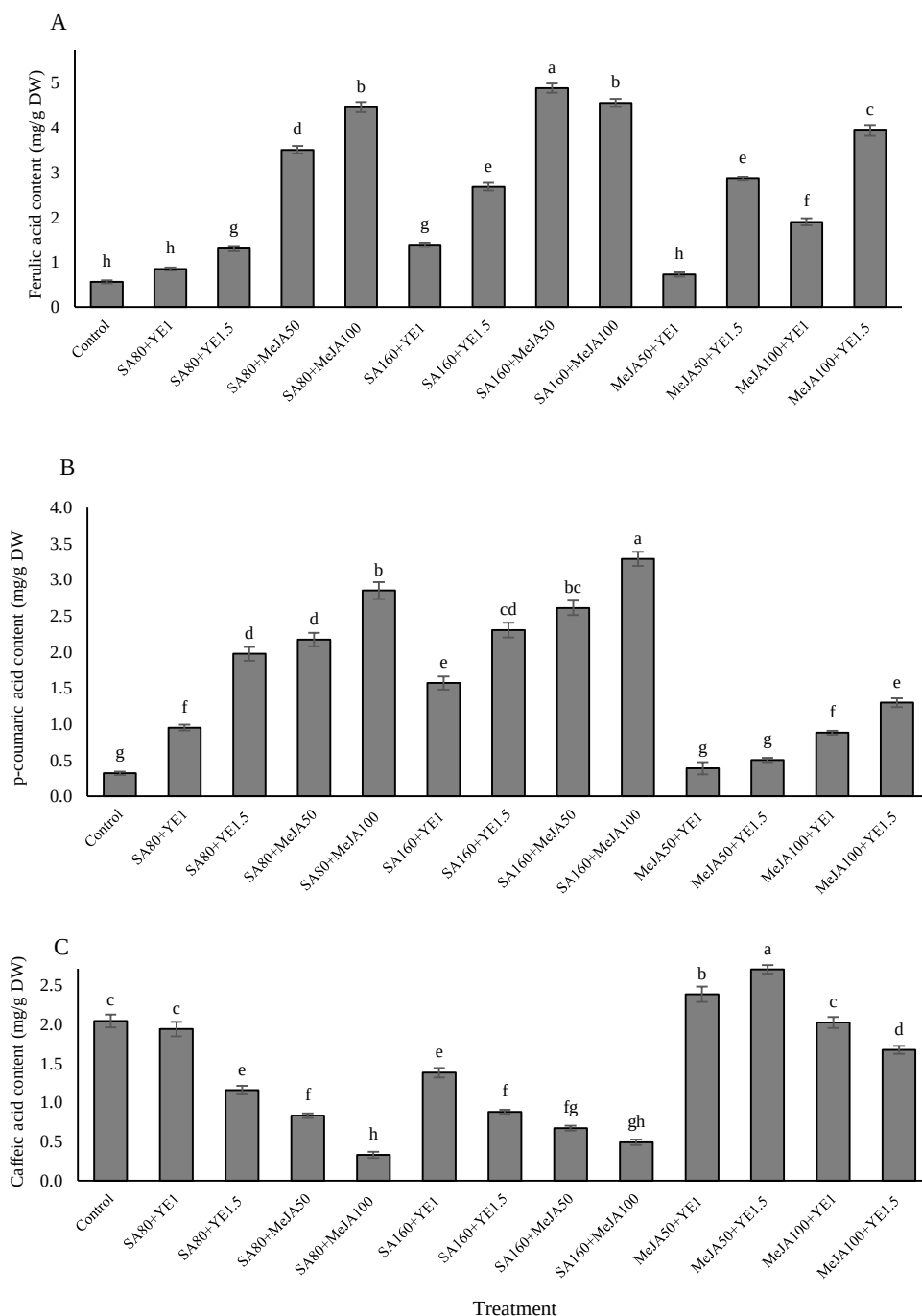
شد. در حضور غلظت های مختلف سالیسیلیک اسید، متیل جاسمونات نسبت به عصاره مخمر تأثیر بیشتری بر تولید فرولیک اسید داشت. با افزایش غلظت عصاره مخمر از ۱ به ۱/۵ گرم در لیتر به همراه متیل جاسمونات یا سالیسیلیک اسید تمایل واضحی به افزایش فرولیک اسید وجود داشت. به طور کلی اثر توأم سالیسیلیک اسید با متیل جاسمونات بیشترین مقادیر فرولیک اسید را تولید کرد.

پی کوماریک اسید: مقایسه میانگین اثر محلول پاشی توأم محرک ها که در شکل ۳ ارائه شده است نشان داد اثر ترکیبی محرک ها بر پی کوماریک اسید به گونه ای است که به ترتیب

فرولیک اسید: بر اساس مقایسه میانگین داده ها، کاربرد ترکیبی محرک های سالیسیلیک اسید با متیل جاسمونات و نیز عصاره مخمر، منجر به افزایش فرولیک اسید شدند (شکل ۳). مقدار فرولیک اسید از ۰/۵۷ تا ۴/۸۸ میلی گرم بر گرم ماده خشک متغیر بود. بالاترین مقدار فرولیک اسید با استفاده از محلول پاشی ۱۶۰ میلی گرم در لیتر سالیسیلیک اسید به همراه ۵۰ میکرومولار متیل جاسمونات مشاهده شد و کمترین مقدار فرولیک اسید در تیمار شاهد (۰/۵۷ میلی گرم بر گرم ماده خشک) مشاهده شد. نتایج نشان داد در بهترین تیمار، مقدار فرولیک اسید ۸/۵۶ برابر بیشتر از شاهد تولید

حضور ۱۶۰ یا ۸۰ میلی گرم در لیتر سالیسیلیک اسید، به- ترتیب ۱۰۰ میکرومولار متیل جاسمونات < ۱/۵ گرم در لیتر عصاره مخمر < ۱ گرم در لیتر عصاره مخمر، مقدار بیشتری پی کوماریک اسید تولید می کنند.

بیشترین مقدار پی کوماریک اسید مربوط به تیمار ۱۶۰ میلی گرم در لیتر سالیسیلیک اسید + ۱۰۰ میکرومولار متیل جاسمونات (۳/۲۹ میلی گرم بر گرم ماده خشک) بوده و کمترین مقدار پی کوماریک اسید در تیمار شاهد (۰/۳۲ میلی گرم بر گرم ماده خشک) بوده است. نتایج نشان داد در



شکل ۳- اثر توأم متیل جاسمونات، عصاره مخمر و سالیسیلیک اسید بر مقدار فرولیک اسید (A)، پی کوماریک اسید (B) و کافئیک اسید (C) در بادرشو. میانگین های دارای حداقل یک حرف مشترک اختلاف معنی داری در سطح احتمال پنج درصد ندارند. SA: سالیسیلیک اسید (۸۰ و ۱۶۰ میلی گرم در لیتر). YE: عصاره مخمر (۱ و ۱/۵ گرم در لیتر). MeJA: متیل جاسمونات (۵۰ و ۱۰۰ میکرومولار).

Figure 3- The combined effect of methyl jasmonate, yeast extract and salicylic acid on ferulic acid (A), p-coumaric acid (B) and caffeic acid (C) content in *D. moldavica*. Means with similar letters in each column are not significantly different at the 5% probability level. SA: Salicylic acid (80 and 160 mg/L). YE: Yeast extract (1 and 1.5 g/L). MeJA: Methyl jasmonate (50 and 100 μ M).

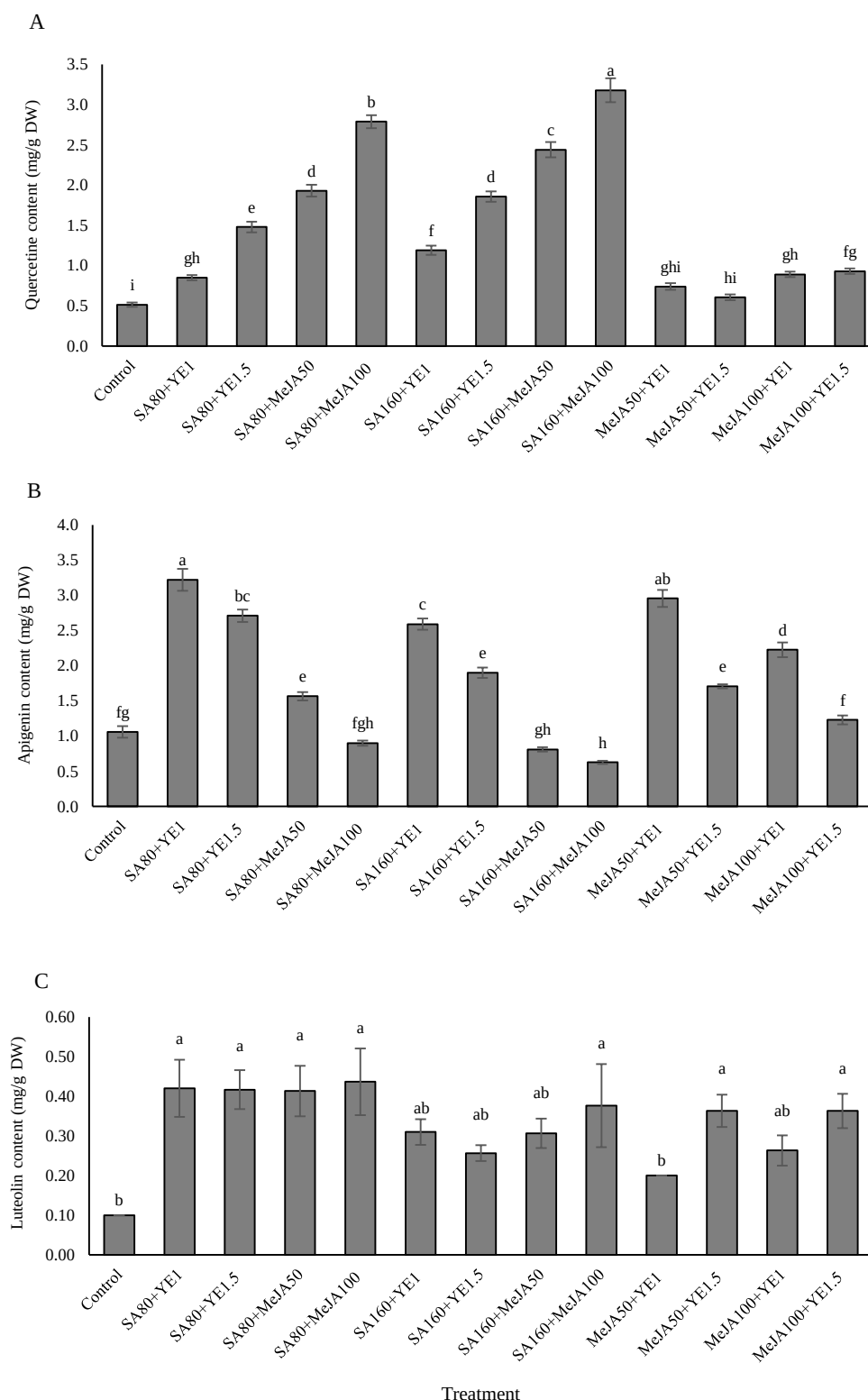
باعث افزایش معنی دار محتوای کوثرسیتین نسبت به ترکیب با متیل جاسمونات شد. در بین تیمارهای مورد پژوهش، کم-ترین مقدار تولید کوثرسیتین در شرایط محلول پاشی به-صورت توام غلظت‌های مختلف متیل جاسمونات (۵۰ و ۱۰۰ میکرومولار) و عصاره مخمر (۱ و ۱/۵ گرم در لیتر) مشاهده شد.

آپیژنین: تأثیر محلول پاشی به صورت توام متیل جاسمونات، عصاره مخمر و سالیسیلیک اسید بر مقدار آپیژنین به طور معنی داری متفاوت با محلول پاشی با آب مقطر (شاهد) بود (جدول ۲). محلول پاشی بوته‌های بادرشبو با ۸۰ میلی گرم در لیتر سالیسیلیک اسید و ۱ گرم در لیتر عصاره مخمر سبب شد تا مقدار آپیژنین به طور معنی داری افزایش یابد (افزایش ۳ برابری نسبت به گیاهان شاهد). پس از آن، تیمار ۵۰ میکرومولار متیل جاسمونات+۱ گرم در لیتر عصاره مخمر (۲/۹۶ میلی گرم بر گرم ماده خشک) قرار داشت که سبب افزایش ۲/۸ برابری نسبت به گیاهان شاهد شد (شکل ۴). همچنین، در تیمارهای توام، غلظت کمتر عصاره مخمر (۱ گرم در لیتر) نیز تأثیر مثبت و معنی دار بیشتری نسبت به غلظت ۱/۵ گرم در لیتر بر بهبود مقدار این فلاونوئید داشت. برخلاف صفات محتوای رزمارینیک اسید، کلروژنیک اسید، فرولیک اسید، پی کوماریک اسید و کوثرسیتین، کاربرد توام ۱۶۰ میلی گرم در لیتر سالیسیلیک اسید+۱۰۰ میکرومولار متیل جاسمونات و ۸۰ میلی گرم در لیتر سالیسیلیک اسید+۱۰۰ میکرومولار متیل جاسمونات تأثیر معنی داری بر این صفت نداشتند.

لوتولین: نتایج مقایسه میانگین تیمارها برای صفت مقدار لوتولین نشان دادند که اثر ترکیبی محرک‌های متیل جاسمونات، عصاره مخمر و سالیسیلیک اسید بر این صفت معنی دار و تقریباً مشابه بوده است. کمترین مقدار لوتولین مربوط به تیمار شاهد با ۰/۱ میلی گرم بر گرم ماده خشک بوده است و مشاهده شد نوع و غلظت محرک‌ها تأثیر متفاوت چندانی بر این صفت نداشته است (شکل ۴).

کافنیک اسید: نتایج مقایسه میانگین اثر محلول پاشی محرک‌ها نشان داد کاربرد توام ۵۰ میکرومولار متیل جاسمونات با ۱/۵ و ۱ گرم در لیتر عصاره مخمر سبب شد تا مقدار کافنیک اسید در شرایط انجام این تحقیق نسبت به تیمار شاهد به ترتیب به میزان ۳۲ و ۱۷ درصد افزایش یابد (شکل ۳). برخلاف صفات مقدار رزمارینیک اسید، کلروژنیک اسید، فرولیک اسید، پی کوماریک اسید و کوثرسیتین، تیمارهای ۸۰ میلی گرم در لیتر سالیسیلیک اسید+۱۰۰ میکرومولار متیل جاسمونات و ۱۶۰ میلی گرم در لیتر سالیسیلیک اسید+۱۰۰ میکرومولار متیل جاسمونات بیشترین اثر منفی و کاهش را بر مقدار کافنیک اسید داشتند به طوری که نسبت به شاهد به ترتیب ۷/۳ و ۴/۲ برابر کاهش پیدا کردند. اثر توام دو غلظت سالیسیلیک اسید (۸۰ و ۱۶۰ میلی گرم در لیتر) با سایر محرک‌ها به غیر از یک مورد بر مقدار کافنیک اسید کاهش بود (شکل ۳).

کوثرسیتین: نتایج مقایسه میانگین‌ها نشان داد که مقدار ترکیب فلاونوئیدی کوثرسیتین از ۰/۵۱ تا ۳/۱۸ میلی گرم بر گرم ماده خشک متغیر بوده است. مشاهده می شود (شکل ۴) که در تیمارهای ترکیبی سه محرک مورد بررسی، مقدار کوثرسیتین نسبت به شاهد افزایش یافت به گونه‌ای که بیشینه مقدار کوثرسیتین (۳/۱۸ میلی گرم بر گرم ماده خشک) در گیاهان تیمار شده با ۱۶۰ میلی گرم در لیتر سالیسیلیک اسید+۱۰۰ میکرومولار متیل جاسمونات به دست آمد (افزایش ۶/۲ برابری نسبت به گیاهان شاهد). پس از آن، تیمار ۸۰ میلی گرم در لیتر سالیسیلیک اسید+۱۰۰ میکرومولار متیل جاسمونات (۲/۷۹ میلی گرم بر گرم ماده خشک) قرار داشت. کمترین مقدار تولید کوثرسیتین در شاهد مشاهده شد. مقایسه میانگین اثر محلول پاشی سالیسیلیک اسید نشان داد با افزایش غلظت از ۸۰ به ۱۶۰ میلی گرم در لیتر به همراه غلظت‌های مختلف متیل جاسمونات و عصاره مخمر تمایل آشکاری به افزایش ترکیب فلاونوئیدی کوثرسیتین وجود داشت. همچنین نتایج نشان داد که عصاره مخمر در ترکیب با سالیسیلیک اسید



شکل ۴- اثر توأم متیل جاسمونات، عصاره مخمر و سالیسیلیک اسید بر مقدار کوئرستین (A)، آپیزنین (B) و لوتولین (C) در بادرشو. میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال پنج درصد ندارند. SA: سالیسیلیک اسید (۸۰ و ۱۶۰ میلی گرم در لیتر). YE: عصاره مخمر (۱ و ۱/۵ گرم در لیتر). MeJA: متیل جاسمونات (۵۰ و ۱۰۰ میکرومولار).

Figure 4- The combined effect of methyl jasmonate, yeast extract and salicylic acid on quercetin (A), apigenin (B) and luteolin (C) content in *D. moldavica*. Means with similar letters in each column are not significantly different at the 5% probability level. SA: Salicylic acid (80 and 160 mg/L). YE: Yeast extract (1 and 1.5 g/L). MeJA: Methyl jasmonate (50 and 100 μ M)

آنالیز همبستگی: جهت تجزیه و تحلیل همبستگی بین صفات بررسی شده شامل مقدار رزمارینیک اسید، کلروژنیک اسید، فرولیک اسید، کافئیک اسید، پی کوماریک اسید، آپیزین، کوئرسیتین و لوتولین گیاه بادرشبو که با متیل جاسمونات، عصاره مخمر و سالیسیلیک اسید به صورت ترکیبی محلول- پاشی شده بودند، از روش پیرسون استفاده شد که در جدول ۳ قابل مشاهده است. نتایج نشان داد همبستگی مثبت و منفی معنی داری بین اسیدهای فنلی و فلاونوئیدهای عصاره بادرشبو وجود دارد. همبستگی بین ترکیبات فنلی تحت اثر توام محرک‌های فوق نشان داد که محتوای رزمارینیک اسید به عنوان عمده ترین ترکیب فنلی بادرشبو که فعالیت آنتی-اکسیدانی قوی دارد، همبستگی مثبت و معنی دار ($P \leq 0.01$) با کلروژنیک اسید ($r=0.819^{**}$)، فرولیک اسید ($r=0.773^{**}$)، کوئرسیتین ($r=0.987^{**}$) و پی کوماریک اسید ($r=0.986^{**}$) دارد. همچنین همبستگی مثبت غیر معنی-دار با لوتولین و منفی و معنی دار با کافئیک اسید ($r=0.920^{**}$)

($r=$) و منفی و غیر معنی دار با آپیزین داشت. نتایج همبستگی بین صفات نشان داد که بیشترین مقدار همبستگی مثبت معنی دار مربوط به ترکیب رزمارینیک اسید با کوئرسیتین بود. نتایج نشان داد به طور کلی لوتولین با سایر ترکیبات فنلی همبستگی قابل توجهی نداشت. بین مقدار کلروژنیک اسید با صفات اندازه گیری شده مانند فرولیک اسید ($r=0.971^{**}$)، رزمارینیک اسید ($r=0.819^{**}$)، کوئرسیتین ($r=0.804^{**}$) و پی کوماریک اسید ($r=0.773^{**}$) همبستگی مثبت و معنی دار مشاهده شد ($P \leq 0.01$). از سوی دیگر، بین این صفت و محتوای آپیزین و کافئیک اسید همبستگی منفی و معنی دار مشاهده شد. همچنین نتایج نشان داد محتوای کافئیک اسید همبستگی منفی و معنی داری با کوئرسیتین، رزمارینیک اسید و کلروژنیک اسید داشت. محتوای آپیزین نیز با مقدار فرولیک اسید و کلروژنیک اسید همبستگی منفی و معنی دار نشان داد.

جدول ۳- همبستگی بین صفات اندازه گیری شده در اندام هوایی بادرشبو تحت اثر توام متیل جاسمونات، عصاره مخمر و سالیسیلیک اسید

Table 3- Correlation between measured traits in *D. moldavica* aerial parts affected by the combined effect of methyl jasmonate, yeast extract and salicylic acid

Triats	Apigenin	Quercetin	Luteolin	Rosmarinic acid	Ferulic acid	p-coumaric acid	Caffeic acid	Chlorogenic acid
Apigenin	1							
Quercetin	-0.571**	1						
Luteolin	-0.044	0.343*	1					
Rosmarinic acid	-0.572**	0.987**	0.385*	1				
Ferulic acid	-0.772**	0.757**	0.412**	0.773**	1			
p-coumaric acid	-0.506**	0.950**	0.432**	0.968**	0.738**	1		
Caffeic acid	0.500**	-0.911**	-0.375*	-0.920**	-0.656**	-0.953**	1	
Chlorogenic acid	-0.781**	0.804**	0.353*	0.819**	0.971**	0.775**	-0.675**	1

*, ** همبستگی به ترتیب در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد معنی دار است.

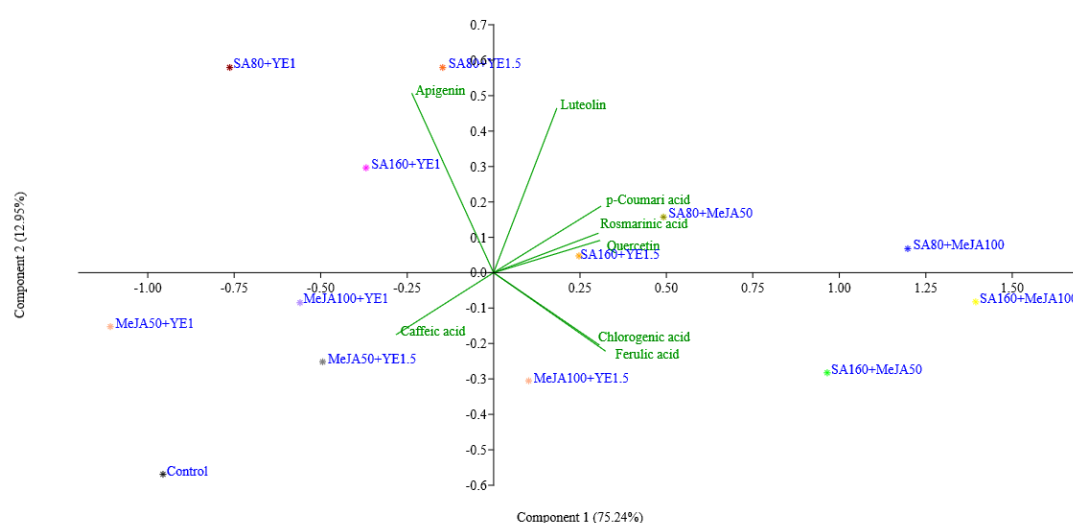
*, ** Correlation is significant at the 5 and 1% probability level, respectively.

تجزیه مؤلفه‌های اصلی برای تجسم پاسخ بادرشبو به اثر توام متیل جاسمونات، عصاره مخمر و سالیسیلیک اسید انجام شد که دسته‌بندی بین گیاهان شاهد و تحت تیمار با اثر توام محرک‌ها را تأیید کرد. نتایج نشان داد که دو مؤلفه اصلی اول تقریباً ۸۸/۱۹ درصد از کل واریانس را توضیح می‌دهند. ۷۵/۲۴ درصد از تغییرات مربوط به مؤلفه اول بود، از سوی دیگر، مؤلفه دوم ۱۲/۹۵ درصد از کل واریانس را توضیح

داد (شکل ۵). بر این اساس، محتوای رزمارینیک اسید، کلروژنیک اسید، فرولیک اسید، پی کوماریک اسید، کوئرسیتین و لوتولین به عنوان یک گروه جداگانه در کنار هم و آپیزین و کافئیک اسید نیز در یک خوشه دیگری گروه‌بندی شدند. اسیدهای فنولی و فلاونوئیدهایی که در یک گروه طبقه‌بندی شدند، همبستگی بالایی با یکدیگر دارند و پاسخ مشابهی را در آزمایش نشان داده‌اند؛ در حالی

سالیسیلیک اسید در ترکیب با متیل جاسمونات، جدا شده است. به عنوان مثال، محتوای رزمارینیک اسید همبستگی مثبت معنی داری با محتوای کوئرستین و همبستگی منفی معنی داری با محتوای آپیزین نشان داد. به عبارت دیگر، با افزایش مقدار رزمارینیک اسید، مقدار آپیزین کاهش یافت. مطالعه حاضر نشان داده است که محتوای ترکیبات فنلی می تواند به طور قابل توجهی در بادرشو به علت استفاده با هم از سالیسیلیک اسید و متیل جاسمونات تغییر کند.

که ترکیبات فنلی که در دو طرف نمودار قرار دارند با یکدیگر همبستگی منفی دارند. در این پژوهش، نمودار دوبعدی تجزیه مؤلفه های اصلی، ارتباط مثبت محتوای کلروژنیک اسید، فرولیک اسید، پی کوماریک اسید، کوئرستین و لوتولین با رزمارینیک اسید را در پیکر رویشی بادرشو نشان داد. نتایج نشان داد که تیمار شاهد (محلول- پاشی با آب مقطر) در نمودار تجزیه مؤلفه های اصلی از تیمارهای محللول پاشی با اثر توام محرک ها، به ویژه



شکل ۵- نمایش دوبعدی تجزیه مؤلفه های اصلی (PCA) بر روی داده های محتوای رزمارینیک اسید، کلروژنیک اسید، فرولیک اسید، کافنیک اسید، پی کوماریک اسید، آپیزین، کوئرستین و لوتولین در گیاهان بادرشو تحت اثر توام متیل جاسمونات، عصاره مخمر و سالیسیلیک اسید. در این شکل، محورهای x و y نشان دهنده مولفه اول (PC1) و دوم (PC2) هستند که به ترتیب ۷۵/۲۴ و ۱۲/۹۵ درصد از کل واریانس را توضیح دادند.

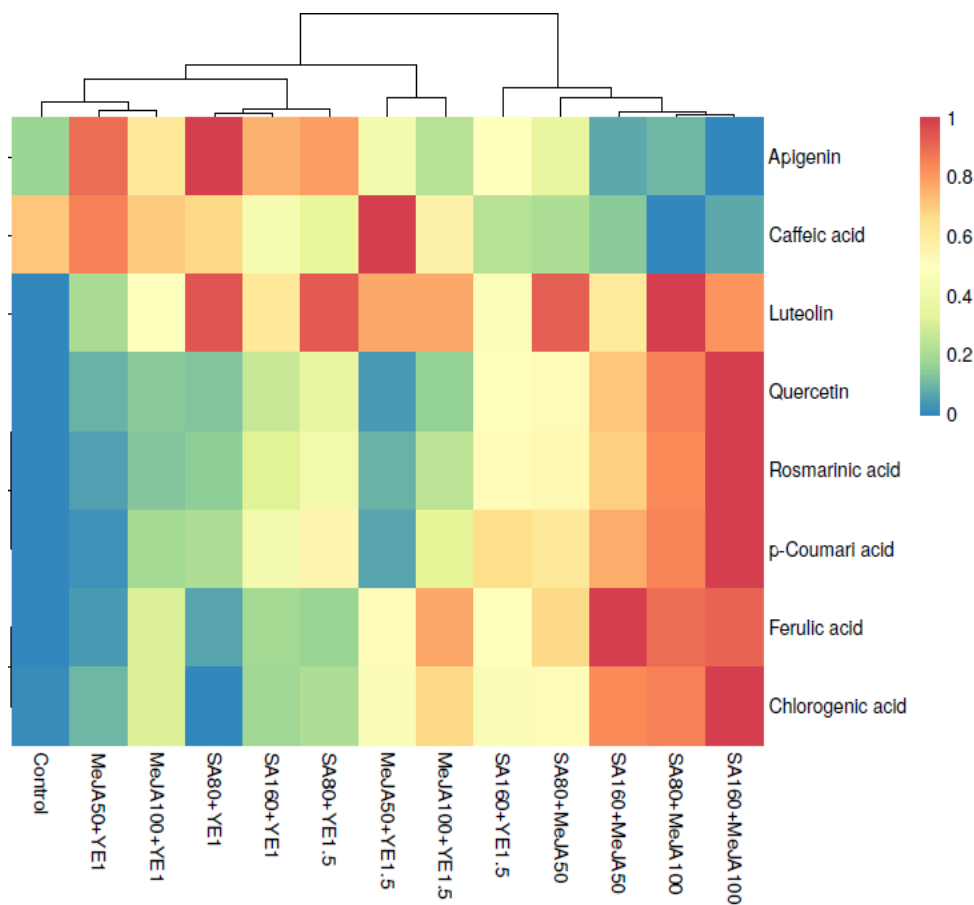
Figure 5- Principal component analysis (PCA) biplot on data of rosmarinic acid, chlorogenic acid, ferulic acid, caffeic acid, p-coumaric acid, apigenin, quercetin and luteolin content in *D. moldavica* plants subjected to combined effect of methyl jasmonate, yeast extract and salicylic acid elicitation. In this figure, the x and y axes represent the first (PC1) and second (PC2) components, which explained 75.24 and 12.95 percent of the total variance, respectively.

گرم در لیتر عصاره مخمر همراه با ۸۰ میلی گرم در لیتر سالیسیلیک اسید نیز در یک گروه و با اختلاف کم در مجاورت شاهد قرار گرفت. ۱/۵ گرم در لیتر عصاره مخمر همراه با ۵۰ و ۱۰۰ میکرومولار متیل جاسمونات خوشه دیگری را تشکیل دادند. اثر توام سالیسیلیک اسید (۸۰ و ۱۶۰ میلی گرم در لیتر) با متیل جاسمونات (۵۰ و ۱۰۰ میکرومولار) و نیز تیمار ۱۶۰ میلی گرم در لیتر سالیسیلیک اسید همراه با ۱/۵ گرم در لیتر عصاره مخمر نیز در کنار هم

نمودار نقشه حرارتی: نتایج نمودار نقشه حرارتی، همبستگی بین شاخص های مورد ارزیابی و تیمارها را به خوبی نمایان کرد و گیاهان را در چهار گروه تقسیم بندی کرد (شکل ۶). در بین ۱۳ تیمار این پژوهش، گیاهانی که با آب مقطر (شاهد) و اثر توام متیل جاسمونات (۵۰ و ۱۰۰ میکرومولار) و ۱ گرم در لیتر عصاره مخمر محللول پاشی شده بودند در یک خوشه گروه بندی شدند؛ ۱ گرم در لیتر عصاره مخمر همراه با ۸۰ و ۱۶۰ میلی گرم در لیتر سالیسیلیک اسید و ۱/۵

و کنار هم قرار گرفتند و روند پاسخ به تیمارها مشابه به هم بود. بیشترین مقدار رزمارینیک اسید، کلروژنیک اسید، پی-کوماریک اسید و کوئرسیتین در تیمار اثر توام ۱۶۰ میلی گرم در لیتر سالیسیلیک اسید + ۱۰۰ میکرومولار متیل جاسمونات که با رنگ قرمز مشاهده می شود و کمترین آنها در تیمار شاهد که با رنگ آبی مشاهده می شود حاصل شد (شکل ۶).

و کاملاً مجزای از شاهد قرار گرفتند. تیمارهایی که در یک خوشه طبقه بندی شده اند، پاسخ های مشابهی را نشان داده اند. بنابراین، نوع محرک و نوع ترکیب آنها عامل کلیدی برای تفاوت های مشاهده شده در تیمارها بود. نقشه حرارتی نیز به خوبی نشان داد که مقدار رزمارینیک اسید، همبستگی مثبت بالایی با ترکیبات فنلی شامل کوئرسیتین، پی کوماریک اسید، فرولیک اسید و کلروژنیک اسید دارد و در یک گروه



شکل ۶- نقشه حرارتی اثر توام متیل جاسمونات، عصاره مخمر و سالیسیلیک اسید بر تولید ترکیبات فنلی بادرشبو (ستون ها و ردیف ها به ترتیب تیمارها و صفات را نشان می دهند. رنگ ها (آبی به قرمز)، نشان دهنده مقادیر میانگین متغیر از کم به زیاد هستند).

Figure 6- The heatmap diagram of combined effect of methyl jasmonate, yeast extract and salicylic acid on the accumulation of phenolic compounds in *D. moldavica*. Columns and rows represent the treatments and traits, respectively. The colors (blue to red) represent the mean values ranging from low to high.

بحث

طبیعی را شبیه سازی می کنند تا زنجیره ای از سازوکارهای دفاعی گیاه را فعال کرده و تولید و تجمع متابولیت های ثانویه را تحریک کنند (Halder et al., 2019). به عبارت دیگر، محرک ها منجر به فعال سازی ژن ها و آنزیم های دخیل در

استفاده از محرک ها، راهبرد و روشی شناخته شده برای افزایش تولید متابولیت های ثانویه هستند. محرک ها، مولکول های زیستی یا غیرزیستی هستند که شرایط تنش

دسته‌بندی مشخص تیمارها نسبت به شاهد شده‌اند. تفاوت در مقدار متابولیت‌های ثانویه به عوامل مختلفی از جمله نوع و غلظت محرک، مدت زمان تیمار با محرک و اثر مجزا یا ترکیبی محرک‌ها بستگی دارد (Khanlari et al., 2025; Varasteh Khanlari et al., 2024; Kiani et al., 2024; Hedayati & Abdoli, 2021; Mehrpooya et al., 2021). نتایج این پژوهش نشان داد به‌طور کلی سالیسیلیک اسید به همراه غلظت‌های مختلف متیل جاسمونات نسبت به سالیسیلیک اسید به همراه غلظت‌های مختلف عصاره مخمر، تأثیر بیشتری بر افزایش مقدار رزمارینیک اسید در گیاه بادرشبو داشت. مطابق با نتایج این پژوهش، بیان شده است که متیل جاسمونات و سالیسیلیک اسید از مؤثرترین محرک‌ها هستند که با مسیر علامت‌رسانی اختصاصی، سبب افزایش فعالیت آنزیم کلیدی فیل‌آل‌آنین‌آمونیا‌لیاز، فعال‌سازی مسیر فیل‌پروپانوییدی و نهایتاً افزایش میزان ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی می‌شوند (Shabani & Ehsanpour, 2010). همچنین بیان شده که سالیسیلیک اسید به عنوان یک محرک غیرزیستی، می‌تواند بر بیان ژن‌های کدکننده آنزیم‌های کلیدی برای متابولیسم ثانویه تأثیر بگذارد و به افزایش تولید اسیدهای فنلی، فلاونوئیدها و تانن‌ها کمک کند (Ali et al., 2024). نتایج این پژوهش، رفتار متفاوت کافئیک اسید نسبت به سایر اسیدهای فنلی را نشان داد. کافئیک اسید یکی از پیش‌ماده‌های اصلی در مسیر سنتز رزمارینیک اسید است (Jakovljević et al., 2025). بیشترین میزان تجمع رزمارینیک اسید، در تیمار ترکیبی ۱۶۰ میلی گرم در لیتر سالیسیلیک اسید + ۱۰۰ میکرومولار متیل جاسمونات مشاهده شد که در مقایسه با شاهد ۴/۱۵ برابر افزایش یافت؛ در حالی که این تیمار بیشترین اثر منفی و کاهش را بر مقدار کافئیک اسید داشت به طوری که نسبت به شاهد ۴/۲ برابر کاهش پیدا کرد (شکل‌های ۱ و ۳). کاهش معنی‌دار و همزمان کافئیک اسید در تیمار مذکور در کنار افزایش چشمگیر ترکیبات پیچیده‌تر مانند رزمارینیک اسید، می‌تواند نشان‌دهنده افزایش سرعت تبدیل و هدایت این

مسیرهای بیوسنتز متابولیت‌های ثانویه می‌شوند (Albayrak et al., 2024). نتایج ارزیابی مقدار ترکیبات فنلی پیکره رویشی بادرشبو توسط کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC) نشان داد که اثر توام غلظت‌های مختلف متیل جاسمونات، عصاره مخمر و سالیسیلیک اسید می‌تواند به طور قابل توجهی بر محتوای ۸ ترکیب شامل رزمارینیک اسید، کلروژنیک اسید، فرولیک اسید، کافئیک اسید، پی-کوماریک اسید، آپیزین، کوئرسیتین و لوتئولین تأثیر معنی‌دار بگذارند (جدول ۲). فراوان‌ترین اجزای عصاره بادرشبو که در شرایط گلخانه در معرض محلول‌پاشی توام با این محرک‌ها قرار گرفتند، رزمارینیک اسید بود. محتوای رزمارینیک اسید پیکره رویشی این گیاه دارویی بین ۵/۳۳ تا ۲۲/۱۴ میلی گرم بر گرم ماده خشک متغیر بود. نتایج پژوهش حاضر با نتایج سایر پژوهشگران مطابقت دارد که گزارش دادند فراوان‌ترین ترکیب فنلی عصاره گیاه بادرشبو، رزمارینیک اسید می‌باشد (Dastmalchi et al., 2007; Kamalizadeh et al., 2015). رزمارینیک اسید و سایر اسیدهای فنلی، از ترکیبات با ارزش بالا در صنایع دارویی و آرایشی هستند که خواص ضد میکروبی، ضد التهابی و ضد سرطانی دارند (Sun & Shahrajabian, 2023). نتایج این پژوهش نشان داد کاربرد هم‌زمان متیل جاسمونات، سالیسیلیک اسید و عصاره مخمر می‌تواند به طور معنی‌داری مسیرهای بیوسنتزی فیل‌پروپانویید را در گیاه دارویی بادرشبو فعال کرده و منجر به افزایش چشمگیر متابولیت‌های ثانویه شوند، به‌ویژه، تیمار ترکیبی ۱۶۰ میلی گرم در لیتر سالیسیلیک اسید + ۱۰۰ میکرومولار متیل جاسمونات بیشترین اثر افزایشی را بر تجمع رزمارینیک اسید (۴/۲ برابر)، کلروژنیک اسید (۳/۵ برابر)، پی-کوماریک اسید (۱۰/۳ برابر) و کوئرسیتین (۶/۲ برابر) در مقایسه با شاهد داشت. این یافته‌ها، نتایج حاصل از تجزیه مولفه‌های اصلی و نقشه حرارتی را تقویت می‌کند و نشان می‌دهد که تیمارهای ترکیبی سالیسیلیک اسید و متیل جاسمونات موجب فعال‌سازی مسیرهای تولید ترکیبات فنلی شده‌اند و سبب

پیش سازها به سمت تولید ترکیبات نهایی دفاعی باشد. چنین کاهشی تحت تأثیر محرک‌ها، به معنای افزایش فعالیت آنزیم‌های اصلی سنتز رزمارینیک اسید است که ثابت شده در حضور متیل جاسمونات بیشترین فعالیت را دارند (Jakovljević et al., 2025). عصاره مخمر می‌تواند سبب تحریک پاسخ‌های متابولیکی و سیگنال‌های انتقال شود و سنتز پروتئین‌ها و سایر متابولیت‌های فعال زیستی را کاتالیز کند (Halder et al., 2019). بر اساس یافته‌های این پژوهش، اثر توام عصاره مخمر با متیل جاسمونات تأثیر چندانی بر محتوای رزمارینیک اسید نداشته است. به عبارت دیگر، عصاره مخمر که غنی از ترکیبات تأثیرگذاری مانند پلی ساکاریدها، پتیدها، آمینواسیدهای مختلف، ویتامین‌ها و مواد معدنی است در برخی صفات تأثیر مثبت داشت اما در مقایسه با متیل جاسمونات و سالیسیلیک اسید اثربخشی کمتر و ضعیف‌تری نشان داد. این موضوع با مطالعات قبلی که نشان دادند اثر عصاره مخمر وابسته به گونه گیاهی و غلظت بوده و اغلب کمتر از محرک‌های هورمونی است، همخوانی دارد (El-Beltagi et al., 2022). ترکیبات تأثیرگذار عصاره مخمر می‌توانند پاسخ سیستم دفاعی گیاه را با تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن، فعال کنند. برای جلوگیری از آسیب غلظت بالای رادیکال‌های آزاد به سلول، سیستم آنتی اکسیدانی آنزیمی و غیر آنزیمی سلول از جمله فنل‌ها وارد عمل می‌شوند (Ho et al., 2018). اگرچه عصاره مخمر یک محرک شناخته شده در افزایش ترکیبات فنلی است، اما در گیاه بادرشبو و در شرایط انجام این پژوهش، اثر آن به مراتب کمتر از سالیسیلیک اسید و متیل جاسمونات بود. اثر تحریکی عصاره مخمر بر تولید متابولیت‌های ثانویه در گیاهان دارویی مختلف از جمله سرخارگل، نعناع فلفلی و مفرو تأیید شده است (Motiee & Abdoli, 2021; Mehrpooya et al., 2025; Vasefpour et al., 2021). همچنین در تحقیقی، عصاره مخمر به عنوان یک محرک زیستی، سبب افزایش محتوای اسانس و ترکیبات عمده اسانس بادرنبویه شده است (Hedayati & Abdoli, 2021). یافته‌های این پژوهش

نشان داد که استفاده توام و ترکیبی از متیل جاسمونات، عصاره مخمر و سالیسیلیک اسید می‌تواند به عنوان راهبردی مناسب و روشی کاربردی برای افزایش متابولیت‌های دارویی در بادرشبو به کار رود. این امر نشان داد بادرشبو در برابر تحریک ترکیبی، یک پاسخ دفاعی کامل و یکپارچه تولید کرده است. این یافته‌ها، با نتایج تحقیقی که نشان داد کاربرد همزمان سالیسیلیک اسید، متیل جاسمونات و عصاره مخمر منجر به افزایش دو برابری تولید رزمارینیک اسید در گیاه حسن یوسف شده است، مطابقت دارد (Sahu et al., 2013). همچنین مطابق با نتایج این پژوهش، بیان شده است که تیمار ترکیبی محرک‌ها سبب افزایش بیشتر محتوای اسانس بادرنبویه شده است (Kiani et al., 2024). افزون بر این، هماهنگی با نتایج این پژوهش، در پژوهشی اثر توام ۱/۵ گرم در لیتر عصاره مخمر + ۱۶۰ میلی گرم در لیتر سالیسیلیک اسید در مقایسه با شاهد و اثر جداگانه محرک‌ها، بیشترین تأثیر را بر مقدار اسانس بادرنبویه در شرایط گلخانه داشت (Hedayati & Abdoli, 2021). همچنین، در پژوهشی بیشترین مقدار ترکیبات فنلی و فلاونوئیدها در گیاهان بادرشوبی تیمار شده با اثر توام و ترکیبی نانوذرات آهن و مس بدست آمد (Varasteh Khanlari et al., 2024). هم-راستا با مشاهدات ما، در پژوهشی اثر مجزا و توام سالیسیلیک اسید و فنیل آلانین بر افزایش تولید ترکیبات فنلی در ریشه نابجای روناس بررسی شد که تیمار ترکیبی ۴۰ میکرومولار سالیسیلیک اسید + ۱۰۰ میکرومولار فنیل آلانین نسبت به شاهد و کاربرد مجزای محرک‌ها موثرتر بود (Demiric et al., 2020). بر اساس یافته‌های ما، در پژوهشی کاربرد همزمان سالیسیلیک اسید و متیل جاسمونات بر تولید ترکیبات فنلی در کشت سوسپانسیون سلولی خرزهره زرد بررسی شد. نتایج نشان‌دهنده اثر هم‌افزایی هر دو محرک برای بیوستز برخی ترکیبات فنلی بود؛ اما جالب توجه بود که برخی ترکیبات پس از تیمار همزمان با هر دو محرک، افزایش نیافتند که نشان‌دهنده اثر آنتاگونیستی سالیسیلیک اسید نسبت به متیل جاسمونات برای این ترکیبات بود.

بنابراین، نتیجه گرفتند که تیمار همزمان این دو محرک در تولید برخی، اما نه همه ترکیبات فنلی، اثر آنتاگونیستی ایجاد می کند (Mendoza et al., 2018). اگرچه مسیرهای سالیسیلیک اسید و متیل جاسمونات اغلب عملکرد آنتاگونیستی دارند، نتایج پژوهش حاضر نشان داد که در بادرشو، این دو محرک می توانند اثر هم افزایی داشته باشند. پژوهش های متعددی بر اهمیت هم افزایی محرک ها بر افزایش تولید متابولیت های ثانویه در گیاهان دارویی تأکید کرده اند (Kiani et al., 2024; Sahu et al., 2013; Jeyasri et al., 2023; Pandey et al., 2025). از یافته های کلیدی این پژوهش، همبستگی مثبت و معنی دار ($P \leq 0.01$) بین مقدار رزمارینیک اسید با مقدار کلروژنیک اسید، پیکوماریک اسید، فرولیک اسید و کوئرسیتین بود. این همبستگی نشان دهنده آن است که همه این ترکیبات تحت تأثیر یک تنظیم مشترک ژنی قرار دارند. افزایش فعالیت مسیر فنیل پروپانویید در واکنش به اثر توام محرک ها، منجر به افزایش هم زمان چند متابولیت کلیدی این مسیر می شود.

نتیجه گیری

با توجه به نتایج حاصل از این پژوهش می توان نتیجه گرفت که محلول پاشی برگی با محرک های عصاره مخمر، متیل جاسمونات و سالیسیلیک اسید منجر به تجمع ترکیبات فنلی در گیاه دارویی بادرشو شد. اثر توام این محرک های زیستی و غیرزیستی بر تمام صفات مورد ارزیابی بسیار معنی دار بود ($P \leq 0.01$). نوع محرک، نوع ترکیب و غلظت آنها عامل

Forum – An International Journal. 7(2), 36-42.
<https://B2n.ir/ej3607>

Albayrak, G., Ozturk, I., Tekintas, Y., Kurkcuglu, M., Erguc, A., & Baykan, S. (2024). Chemical composition, antimicrobial and antibiofilm activities of essential oil from Turkish endemic *Prangos hulusii* fruits. *Journal of Essential Oil Research*, 36(5), 481-492.
<https://doi.org/10.1080/10412905.2024.2392188>

Ali, A., Kant, K., Kaur, N., Gupta, S., Jindal, P., Gill, S. S., & Naeem, M. (2024). Salicylic acid: homeostasis, signalling and phytohormone

کلیدی برای تفاوت های مشاهده شده در تیمارها بود. به طور کلی، محلول پاشی برگی با تیمار ترکیبی ۱۶۰ میلی گرم در لیتر سالیسیلیک اسید + ۱۰۰ میکرومولار متیل جاسمونات، بهترین نتیجه را در افزایش مقدار رزمارینیک اسید (۴/۲ برابر)، کلروژنیک اسید (۳/۵ برابر)، پی کوماریک اسید (۱۰/۳ برابر) و کوئرسیتین (۶/۲ برابر) نسبت به گیاهان شاهد نشان داد. محتوای رزمارینیک اسید به عنوان عمده ترین ترکیب فنلی بادرشو، همبستگی مثبت و معنی دار با کلروژنیک اسید، فرولیک اسید، کوئرسیتین و پی کوماریک اسید داشت. طبق نتایج نقشه حرارتی، اختلاف واضحی بین اثر توام محرک ها به ویژه استفاده همزمان سالیسیلیک اسید و متیل جاسمونات با شاهد مشاهده شد. نتایج این پژوهش بر نقش کارآمد کاربرد ترکیبی دو محرک در راستای افزایش تولید فلاونوئیدها، رزمارینیک اسید و سایر اسیدهای فنلی بادرشو دلالت دارد و اثر هم افزایی سالیسیلیک اسید با متیل جاسمونات را در این گیاه به خوبی تأیید می کند. به عبارت دیگر کاربرد همزمان سالیسیلیک اسید و متیل جاسمونات می تواند به عنوان یک راهبرد مؤثر، موجب افزایش چشمگیر ترکیبات ارزشمند فنلی و فلاونوئیدی به ویژه رزمارینیک اسید در بادرشو شود.

سپاسگزاری

نویسندگان از سازمان پارک ها و فضای سبز شهرداری ملایر به خاطر همکاری در اجرای این پژوهش، کمال تشکر و قدردانی را دارند.

References

- Abdoli, M., Koolivand, N., & Babaei, A. (2021). Establishment of adventitious root culture in *Echinacea purpurea* and enhanced accumulation of caffeic acid derivatives by biotic and abiotic elicitors. *Journal of Plant Molecular Breeding*, 9(2), 24-34.
<https://B2n.ir/mg1130>
- Abdossi, V., Mohammadi, H., Ahmadi, S. H. H., & Hadipanah, A. (2015). The response of dragon head (*Dracocephalum moldavica* L.) plant to sowing date and planting density. *Biological*

- crosstalk in plants under environmental challenges. *South African Journal of Botany*, 169, 314–335.
<https://doi.org/10.1016/j.sajb.2024.04.012>
- Ali, B. (2021). Salicylic acid: An efficient elicitor of secondary metabolite production in plants. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 31, 101884.
<https://doi.org/10.1016/j.bcab.2020.101884>
- Asghari, B., Hoseinzadeh, M., & Mafakheri, S. (2025). Enhancing drought resistance in *Dracocephalum moldavica* L. through mycorrhizal fungal inoculation and melatonin foliar application. *Scientific Reports*, 15, 10051.
<https://doi.org/10.1038/s41598-025-95127-2>
- Dastmalchi, K., Dorman, H. J. D., Kosar, M., & Hiltunen, R. (2007). Chemical composition and *in vitro* antioxidant evaluation of a water-soluble Moldavian balm (*Dracocephalum moldavica* L.) extract. *Food Science and Technology*, 40, 239–248.
<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2005.09.019>
- Demirci, T., Aras Asci, Ö., & Göktürk Baydar, N. (2021). Influence of salicylic acid and L-phenylalanine on the accumulation of anthraquinone and phenolic compounds in adventitious root cultures of madder (*Rubia tinctorum* L.). *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 144, 313–324.
<https://doi.org/10.1007/s11240-020-01952-w>
- El-Beltagi, H. S., Mohamed, H. I., Aldaej, M. I., Al-Khayri, J. M., Rezk, A. A., Al-Mssallem, M. Q., Sattar, M. N., & Ramadan, K. M. (2022). Production and antioxidant activity of secondary metabolites in Hassawi rice (*Oryza sativa* L.) cell suspension under salicylic acid, yeast extract, and pectin elicitation. *In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant*, 58(4), 615–629.
<https://doi.org/10.1007/s11627-022-10264-x>
- Foss, K., Przybyłowicz, K. E., & Sawicki, T. (2022). Antioxidant activity and profile of phenolic compounds in selected herbal plants. *Plant Foods for Human Nutrition*, 77(3), 383–389.
<https://doi.org/10.1007/s11130-022-00989-w>
- Ghanbarzadeh, Z., Mohsenzadeh, S., Rowshan, V., & Zarei, M. (2020). Mitigation of water deficit stress in *Dracocephalum moldavica* L. by symbiotic association with soil microorganisms. *Scientia Horticulturae*, 272, 109549.
<https://doi.org/10.1016/j.scienta.2020.109549>
- Gorni, P. H., Pacheco, A. C., Moro, A. L., Silva, J. F. A., Moreli, R. R., de Miranda, G. R., & da Silva, R. M. G. (2020). Salicylic acid foliar application increases biomass, nutrient assimilation, primary metabolites and essential oil content in *Achillea millefolium* L. *Scientia Horticulturae*, 270, 109436. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2020.109436>
- Halder, M., Sarkar, S., & Jha, S. (2019). Elicitation: A biotechnological tool for enhanced production of secondary metabolites in hairy root cultures. *Engineering in Life Sciences*, 19(12), 880–895.
<https://doi.org/10.1002/elsc.201900058>
- Hammer, O., & Harper, D. A. T. (2024). *Paleontological data analysis*: 2nd Edition. John Wiley & Sons.
- Hedayati, A., & Abdoli, M. (2021). Foliar application of yeast extract and salicylic acid affect chemical composition and content of lemon balm (*Melissa officinalis* L.) essential oil. *Journal of Plant Molecular Breeding*, 9(1), 12–24. <https://www.magiran.com/paper/2492488>
- Ho, T. T., Lee, J. D., Jeong, C. S., Paek, K. Y., & Park, S. Y. (2018). Improvement of biosynthesis and accumulation of bioactive compounds by elicitation in adventitious root cultures of *Polygonum multiflorum*. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 102(1), 199–209. <https://doi.org/10.1007/s00253-017-8629-2>
- Ho, T. T., Murthy, H. N., & Park, S. Y. (2020). Methyl jasmonate induced oxidative stress and accumulation of secondary metabolites in plant cell and organ cultures. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(3), 716. <https://www.mdpi.com/1422-0067/21/3/716>
- Isah, T., Umar, S., Mujib, A., Sharma, M. P., Rajasekharan, P. E., Zafar, N., & Fruk, A. (2018). Secondary metabolism of pharmaceuticals in the plant *in vitro* cultures: strategies, approaches, and limitations to achieving higher yield. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 132, 239–265.
<https://doi.org/10.1007/s11240-017-1332-2>
- Izan, T., Shekari, F., & Nasiri, Y. (2016). Effects of salicylic acid application on yield and essential oil content of moldavian balm (*Dracocephalum*

- moldavica* L.) under drought stress conditions. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, 32(3), 543-554.
<https://doi.org/10.22092/ijmapr.2016.106834>
- Jakovljević, D., Warchoń, M., & Skrzypek, E. (2025). Rosmarinic acid as bioactive compound: molecular and physiological aspects of biosynthesis with future perspectives. *Cells*, 14(11), 850.
<https://doi.org/10.3390/cells14110850>
- Jeyasri, R., Muthuramalingam, P., Karthick, K., Shin, H., Choi, S. H., & Ramesh, M. (2023). Methyl jasmonate and salicylic acid as powerful elicitors for enhancing the production of secondary metabolites in medicinal plants: An updated review. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 153(3), 447-458.
<https://doi.org/10.1007/s11240-023-02485-8>
- Kamalizadeh, M., Bihamta, M. R., peyghambari, S. A., & Hadian, J. (2015). The effect of different levels of titanium dioxide nanoparticle on production of two major phenolic compounds in dragonhead herb (*Dracocephalum moldavica* L.). *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, 31(3), 428-435.
<https://doi.org/10.22092/ijmapr.2015.101876> [In Persian]
- Khanlari, N. V., Kiarostami, K., Namin, M. H., Abdoli, M., & Karamian, R. (2025). Rosmarinic acid content and antioxidant capacity in *Dracocephalum moldavica* hairy roots affected by iron and copper nanoparticles. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 161, 81.
<https://doi.org/10.1007/s11240-025-03001-w>
- Kiani, M., Abdoli, M., & Ghabooli, M. (2024). Effect of culture filtrate and *Serendipita indica* cell homogenate on content and chemical composition of essential oil and some physiological traits of lemon balm (*Melissa officinalis* L.). *Journal of Plant Biological Sciences*, 16(3), 95-120.
<https://doi.org/10.22108/ijpb.2025.145810.1413> [In Persian]
- Kuete, V., & Efferth, T. (2010). Cameroonian medicinal plants: pharmacology and derived natural products. *Frontier in Pharmacology*, 1, 1-19.
<https://doi.org/10.3389/fphar.2010.00123>
- Kumari, N., Varghese, B. A., Khan, M. A., Jangra, S., & Kumar, A. (2020). Abiotic elicitation: a tool for producing bioactive compounds. *Plant Archives*, 20, 2683-2689.
- Mehrpooya, Zh., Abdoli, M., & Talebian, M. A. (2021). Effect of salicylic acid and yeast extract on caffeic acid derivatives production in *Echinacea purpurea* L. *Journal of Medicinal Plants*, 20(78): 36-47.
<https://doi.org/10.52547/jmp.20.78.36>
- Mendoza, D., Cuaspuud, O., Arias, J. P., Ruiz, O., & Arias, M. (2018). Effect of salicylic acid and methyl jasmonate in the production of phenolic compounds in plant cell suspension cultures of *Thevetia peruviana*. *Biotechnology Reports*, 19, e00273.
<https://doi.org/10.1016/j.btre.2018.e00273>
- Motiee, M., & Abdoli, M. (2021). Changes in essential oil composition of peppermint (*Mentha x piperita* L.) affected by yeast extract and salicylic acid foliar application. *Journal of Medicinal Plants*, 20(79), 47-58.
<https://doi.org/10.52547/jmp.20.79.47>
- Naghizadeh, M., Kabiri, R., Hatami, A., Oloumi, H., Nasibi F., & Tahmasei, Z. (2019). Exogenous application of melatonin mitigates the adverse effects of drought stress on morpho-physiological traits and secondary metabolites in moldavian balm (*Dracocephalum moldavica*). *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 25, 881-894.
<https://doi.org/10.1007/s12298-019-00674-4>
- Nejatzadeh, F. (2020). Effect of biofertilizer and magnesium sulfate on the components of essential oil of *Dracocephalum moldavica*. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 27(2), 101671.
<https://doi.org/10.1016/j.bcab.2020.101671>
- Pandey, E., Kumari, R., Faizan, S., & Pandey, S. (2025). Linking the interaction of salicylates and jasmonates for stress resilience in plants. *Stress Biology*, 5, 64.
<https://doi.org/10.1007/s44154-025-00250-9>
- Pérez-Tortosa, V., López-Orenes, A., Martínez-Pérez, A., Ferrer, M. A., & Calderón, A. A. (2012). Antioxidant activity and rosmarinic acid changes in salicylic acid-treated *Thymus membranaceus* shoots. *Food Chemistry*, 130(2), 362-369.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.07.051>

- Rao, M. J., & Zheng, B. (2025). The role of polyphenols in abiotic stress tolerance and their antioxidant properties to scavenge reactive oxygen species and free radicals. *Antioxidants*, 14(1), 74. <https://doi.org/10.3390/antiox14010074>
- Sahu, R., Gangopadhyay, M., & Dewanjee, S. (2013). Elicitor-induced rosmarinic acid accumulation and secondary metabolism enzyme activities in *Solenostemon scutellarioides*. *Acta Physiologiae Plantarum*, 35, 1473–1481. <https://doi.org/10.1007/s11738-012-1188-3>
- Shabani, L., & Ehsanpour, A. A. (2010). Induction of antioxidant enzymes, phenolic and flavonoid compounds in *in vitro* culture of licorice (*Glycyrrhiza glabra* L.) using methyl jasmonate and salicylic acid. *Iranian Journal of Biology*, 22(4), 691-703. <https://sid.ir/paper/21603/en> [In Persian]
- Suliman, S. S., Othman, N., Noah, N. F. M., & Kahar, I. N. S. (2023). Separation of phenolic compounds from fruit processing wastewater using liquid membrane technology: a short review. *Biochemical Engineering Journal*, 200, 109096. <https://doi.org/10.1016/j.bej.2023.109096>
- Sun, W., & Shahrajabian, M. H. (2023). Therapeutic potential of phenolic compounds in medicinal plants-natural health products for human health. *Molecules*, 28(4), 1845. <https://doi.org/10.3390/molecules28041845>
- Varasteh Khanlari, N., Kiarostami, K., Hosseinzadeh Namin, M., & Abdoli, M. (2024). Effects of iron and copper nanoparticles on stress factors and rosmarinic acid synthesis in moldavian balm (*Dracocephalum moldavica* L.). *Plant Process and Function*, 13(60), 429-448. <https://doi.org/10.22034/13.60.429> [In Persian]
- Vasefpour, Z., Taghizadeh, M., & Moazzami Farida, S. H. (2025). The dose-dependent effect of yeast extract on the content of some phenolics in the cell suspension culture of *Dracocephalum polychaetum* Bornm. *Journal of Plant Biological Sciences*, 16(1), 21-38. <https://doi.org/10.22108/ijpb.2025.143444.1379> [In Persian]
- Wang, Y., Mostafa, S., Zeng, W., & Jin, B. (2021). Function and mechanism of jasmonic acid in plant responses to abiotic and biotic stresses. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(16), 8568. <https://doi.org/10.3390/ijms22168568>
- Yang, L. N., Xing, J. G., He, C. H., & Wu, T. (2014). The phenolic compounds from *Dracocephalum moldavica* L. *Biochemical Systematics and Ecology*, 54, 19–22. <https://doi.org/10.1016/j.bse.2013.12.009>
- Zhang, S., Yan, Y., Wang, B., Liang, Z., Liu, Y., Liu, F., & Qi, Z. (2014). Selective responses of enzymes in the two parallel pathways of rosmarinic acid biosynthetic pathway to elicitors in *Salvia miltiorrhiza* hairy root cultures. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 117(5), 645-651. <https://doi.org/10.1016/j.jbiosc.2013.10.013>

