Research Article

Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research
Vol. 40, No. 1, Page 66-78 (2024)

DOI:10.22092/ijmapr.2023.363013.3349

Investigating the effects of salicylic acid and methyl jasmonate on the morphological and biochemical traits of *Matricaria chamomilla* L. under in vitro conditions

Farhad Bagherifard Sharabiani[1], Esmaeil Chamani[2*], Mousa Torabi giglou[3], Alireza Ghanbari[3] and Younes Pourbeyrami hir[3]

1- M.Sc. student, Physiology and Breeding of Flowers and Ornamental Plants, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran
2*- Corresponding author, Faculty of Agricultural Sciences and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran
E-mail: echamani@uma.ac.ir
3- Faculty of Agricultural Sciences and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran

Received: May 2023 Revised: December 2023 Accepted: December 2023

Abstract

Background and objectives: The beneficial effects of the chamomile plant have been attributed to its essential oil, so any factor that affects the quantity of its essential oil will be of interest to researchers. To investigate the effect of plant growth regulators salicylic acid and methyl jasmonate on the production of secondary metabolites in chamomile plants, this experiment was conducted under the native in vitro conditions of Sharbian City.

Methodology: To conduct this research**,** chamomile seeds were collected from Sharbian (N "52 58 37 and E "06 '11 °), East Azerbaijan province. After transfer, the seeds were sterilized for 15 minutes in a detergent. Their surfaces were disinfected with 70% alcohol for 45 seconds and then with sodium hypochlorite for 30 minutes. After surface disinfection, they were washed twice with distilled water. The basic culture medium in this study was the MS culture medium. All cultures were placed in the growth chamber at a temperature of 24±2°C and 16 hours of light and 8 hours of darkness. A factorial experiment was performed in a complete random design with three replications. Test treatments included salicylic acid (SA) and methyl jasmonate (MeJA) at five levels (0, 50, 100, 200, 400 µM). Minguez-Mosquera and Perez-Galvez methods were applied to determine photosynthetic pigment amounts. The amount of phenolic compounds in the plant extract was measured with a slight modification based on the Slinkard and Singleton method with the Folin-Ciocalteau reagent. The data related to this research were analyzed using SAS V.9.g.1 statistical software. The comparison of treatment averages was done with Duncan's test at 5% and 1%**.** Graphs were drawn using Microsoft Excel software.

Results: The analysis of variance showed that the interaction effect of the applied treatments on the traits of stem weight, root weight, stem length, and root length is significant at the 1% probability level. In addition, it is significant on the number of stems at the 5% probability level. The comparison of the averages showed that the highest amount of stem weight was obtained in the interaction effect of (50 µM) SA and (200 µM) MeJA, and the lowest amount of stem weight was obtained in the interaction effect of (400 µM) SA and (400 µM) MeJA treatment. The comparison of the means shows a significant difference in this trait. The highest amount of root weight was obtained in the interaction effect of (100 µM) SA and (100 µM) MeJA, and the lowest amount of root weight was obtained in the interaction of (400 µM) SA and (400 µM) MeJA treatment. Came. A comparison of the averages showed that the highest number of stems was obtained in the interaction of (100 µM) SA and (50 µM)

Copyright: © 2024 by the authors. This is an open access, peer-reviewed article published by Research Institute of Forests and Rangelands (http://ijmapr.areeo.ac.ir/) and distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (http://creativecommons.org/licenses/by/4.0), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

MeJA, and the lowest number of stems was obtained in the interaction of (400 µM) SA and (200 µM) MeJA. The comparison of the means showed the significance of the stem and root length traits. The highest value of these two traits was due to the interaction of (50 µM) SA and (100 µM) MeJA treatments, and the lowest value of stem length was in the combination of (400 µM) SA and (µM) treatments. 400) MeJA and root length were measured from the combination of SA (400 µM) and MeJA (200 µM) treatments. In the biochemical traits, variance analysis of the data showed that the effect of SA levels on the amount of chlorophyll a, b, carotenoid, total chlorophyll, phenol, and flavonoid in all three wavelengths was significant at the 1% probability level.
Conclusion: In this experiment, it was shown that metabolite production depends not only on enzyme activity but also on stimulant concentration. Increasing the stimulus more than usual not only increases metabolism but also reduces or stops the production of metabolites through the reduction of enzyme activity (probably through the reduction of the corresponding gene expression).

Keywords: Salicylic acid, chamomile, flavonoid, phenol, secondary metabolite, methyl jasmonate.

بررسی اثر اسید سالیسیلیک و متیل جاسمونات بر برخی صفات مورفولوژیک و بیوشیمیایی گیاه بابونه (*Matricaria chamomilla* L.) در شرایط کشت درون شیشه‌ای

فرهاد باقری فرد شربیانی[۱]، اسماعیل چمنی[۲*]، موسی ترابی گیگلو[۳]، علیرضا قنبری[۴] و یونس پوربیرامی هیر[۳]

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، فیزیولوژی و اصلاح گل و گیاهان زینتی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران

۲*- نویسنده مسئول، استاد، دانشکده علوم کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران، پست الکترونیک: echamani@uma.ac.ir

۳- دانشیار، دانشکده علوم کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران

۴- استاد، دانشکده علوم کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران

تاریخ دریافت: خرداد ۱۴۰۲ تاریخ اصلاح نهایی: آذر ۱۴۰۲ تاریخ پذیرش: دی ۱۴۰۲

چکیده

سابقه و هدف: اثرهای مفید گیاه بابونه به اسانس آن نسبت داده شده است، بنابراین هر عاملی که به کمیت اسانس آن اثر بگذارد مورد توجه محققان قرار خواهد گرفت. به منظور بررسی تأثیر تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی اسید سالیسیلیک و متیل جاسمونات بر تولید متابولیت‌های ثانویه در گیاه بابونه تحت شرایط درون شیشه‌ای بومی منطقه شهر شربیان، این آزمایش انجام شد.

مواد و روش‌ها: برای انجام این پژوهش، بذرهای گیاهان بابونه از استان آذربایجان‌شرقی شهر شربیان (N "۵۲ '۵۸ °۳۷ و E "۰۶ '۱۱ °۴۷) جمع‌آوری شد. بذرها پس از انتقال به مدت ۱۵ دقیقه در ماده شوینده و سطح آنها به مدت ۴۵ ثانیه در الکل ۷۰٪ و بعد به مدت ۳۰ دقیقه به وسیله هیپوکلریت سدیم ضدعفونی شد. پس از ضدعفونی سطحی، با آب مقطر دو بار تقطیر شستشو داده شدند. محیط کشت پایه در این پژوهش، محیط کشت MS بود. تمامی کشت‌های انجام شده در اتاقک رشد در دمای ۲±۲۴ درجه سانتی‌گراد و ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی قرار گرفتند و آزمایشی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کامل تصادفی، با ۳ تکرار اجرا شد. تیمارهای آزمایش شامل اسید سالیسیلیک (SA) و متیل جاسمونات (MeJA) در ۵ سطح (۰، ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰، ۴۰۰ میکرومولار) بود. برای تعیین میزان رنگریزه‌های فتوسنتزی، از روش Minguez-Mosquera and Perez-Galvez استفاده شد. میزان ترکیب‌های فنلی موجود در عصاره گیاه با استفاده از معرف فولین‌سیوکالتیو (Folin-Ciocalteau) اندازه‌گیری شد. داده‌های مربوط به این پژوهش با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS V.9.g.1 تجزیه‌شده و مقایسه میانگین تیمارها نیز با آزمون دانکن در سطح احتمال ۱٪ و ۵٪ انجام گردید. نمودارها نیز با استفاده از نرم‌افزار Excel Microsoft رسم شد.

نتایج: نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر متقابل تیمارهای اعمال‌شده بر صفات وزن ساقه، وزن ریشه، طول ساقه و طول ریشه در سطح احتمال ۱٪ و بر تعداد ساقه در سطح احتمال ۵٪ تفاوت معنی‌داری است. مقایسه میانگین‌ها نشان داد بیشترین مقدار وزن ساقه در اثر متقابل (۵۰ µM) SA و (۲۰۰ µM) MeJA و کمترین مقدار وزن ساقه در اثر متقابل تیمار (۴۰۰ µM) SA و (۴۰۰ µM) MeJA بدست آمد. مقایسه میانگین‌ها نشانگر تفاوت معنی‌داری این صفت بوده و بیشترین مقدار وزن ریشه در اثر متقابل تیمار (۱۰۰ µM) SA و (۱۰۰ µM) MeJA و کمترین مقدار وزن ریشه در برهم‌کنش تیمار (۴۰۰ µM) SA و (۴۰۰ µM) MeJA بدست آمد. مقایسه میانگین‌ها نشان داد بیشترین تعداد ساقه در اثر متقابل تیمار (۱۰۰ µM) SA و (۵۰ µM) MeJA و کمترین تعداد ساقه در برهم‌کنش تیمار (۴۰۰ µM) SA و (۲۰۰ µM) MeJA بدست آمد. مقایسه میانگین‌ها نشان از معنی‌داری صفات طول ساقه و ریشه داشت و بیشترین مقدار این دو صفت در اثر متقابل تیمارهای (۵۰ µM)SA و (۱۰۰ µM) MeJA و کمترین مقدار طول ساقه در ترکیب تیمارهای (۴۰۰ µM) SA و

(۴۰۰ µM) MeJA و طول ریشه در ترکیب تیمارهای (۴۰۰ µM)SA و (۲۰۰ µM) MeJA مشاهده شد. در صفات بیوشیمیایی تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر سطوح SA بر میزان کلرفیل a، b، کاروتنوئید، کلروفیل کل، فنول و فلاونوئید در هر سه طول موج در سطح احتمال ۱٪ معنی‌دار بود.

نتیجه‌گیری: در این آزمایش نشان داده شد که افزایش تولید متابولیت‌ها نه‌تنها تحت تأثیر فعالیت آنزیم، بلکه به غلظت محرک‌ها بستگی دارد. افزایش محرک بیش از حد معمول نه‌تنها افزایش متابولییت را دربر ندارد، بلکه از طریق کاهش فعالیت آنزیم (احتمالاً از طریق کاهش بیان ژن مربوط) تولید متابولیت‌ها را کم یا متوقف می‌کند.

واژه‌های کلیدی: اسید سالیسیلیک، بابونه، فلاونوئید، فنول، متابولیت ثانویه، متیل جاسمونات.

مقدمه

بابونه آلمانی (*Matricaria chamomilla* L.) گیاهی علفی و یک‌ساله از خانواده کاسنی (Asteraceae) است. بابونه آلمانی دارای واریته‌های دیپلوئید (2n=18) و تتراپلوئید (2n=36) می‌باشد که واریته‌های دیپلوئید آن دارای دوره رشد کوتاه‌تر و ارتفاع بوته کمتری نسبت به واریته‌های تتراپلوئید بوده و زودتر شروع به گلدهی می‌کنند (Seidler, 2003).

متابولیت‌های ثانویه گیاهی، منابع منحصربه‌فرد برای دارو، مواد غذایی، مواد افزودنی و مواد شیمیایی خوب هستند. در کنار استخراج مستقیم متابولیت‌ها و سنتز شیمیایی آنها و یا ترکیب‌ها و مشتقات مشابه از گیاهان، کشت سلولی به‌عنوان یک جایگزین امیدوارکننده برای تولید متابولیت‌هایی که به‌سختی بدست می‌آیند توسعه پیدا کرده است. بااین‌حال، با وجود تلاش‌ها در چهار دهه اخیر، تولید متابولیت‌های ثانویه گیاهی توسط فناوری کشت سلولی گیاه، هنوز با محدودیت‌های بیولوژیکی و بیوتکنولوژی بسیاری روبرو است. یکی از موانع عمده در کشت سلولی گیاهان، عملکرد کم متابولیت‌های ثانویه گیاهیست. از آنجا که نقش عمده متابولیت‌های ثانویه گیاهی محافظت گیاهان در برابر حمله حشرات، گیاه‌خواران، عوامل بیماری‌زا و یا زنده ماندن در برابر تنش‌های زنده و غیر زنده می‌باشد، برخی از راهبردها برای تولید متابولیت از کشت سلول یا بافت، براساس اصل بهبود عملکرد متابولیت‌های ثانویه در گیاه توسعه یافته است (Zhao *et al*., 2005).

اسید سالیسیلیک هورمون چندوجهی است که نقش مهمی در القاء تحمل به تنش در گیاهان دارد. کاربرد برون‌زای اسید سالیسیلیک نه‌تنها حفاظت در برابر تنش‌های مختلف زنده و غیر زنده را فراهم می‌کند، بلکه موجب افزایش رشد و بهره‌وری گیاهان می‌شود (Orenes, 2013). اسید سالیسیلیک یا ارتوهیدروکسی بنزوئیک ترکیبی فنلی است که در طبیعت وجود داشته و در برخی بافت‌های گیاهی هم به فراوانی یافت می‌شود. یکی از آنالوگ‌های این ترکیب، استیل سالیسیلیک اسید (آسپرین) است که پس از جذب به‌سرعت به اسید سالیسیلیک تبدیل می‌شود (Bari & Jones, 2009). اسید سالیسیلیک، همچنین به‌عنوان یکی از مولکول‌های سیگنالی استرس به‌طور گسترده مورد مطالعه قرار گرفته است و نقش آن در مقاومت مؤثر گیاه به پاتوژن‌ها و عوامل استرس‌زای دیگر به خوبی مستند شده است. اخیراً، اسید سالیسیلیک به‌عنوان یک جزء کلیدی سیگنالی درگیر در فعال شدن واکنش‌های خاص دفاعی گیاه شناخته شده است (Kanga *et al*., 2004). به‌منظور بررسی اثر اسید سالیسیلیک بر روی خصوصیات مورفولوژیکی بابونه آلمانی تحت شرایط تنش گرما، آزمایشی انجام شد و نتایج نشان داد که کلیه سطوح اسید سالیسیلیک اثر معنی‌داری بر تمام پارامترهای رشد داشته است و اسید سالیسیلیک باعث افزایش تحمل به حرارت در بابونه آلمانی تحت شرایط مزرعه شد (Ghasemi *et al*., 2013). در مطالعه‌ای اثر

اسید سالیسیلیک روی تجمع ترکیب‌های فنولیک و مقدار افزایش فعالیت متابولیت‌های ثانویه و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در کشت سلولی یک نوع مریم‌گلی (*Salvia mitiorrhiza*) توسط Dong و همکاران (۲۰۱۰) بررسی شد. آنان گزارش کردند زمانی که اسید سالیسیلیک در محیط کشت سلول اعمال شد، ترکیب‌های فنولی افزایش پیدا کرده و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی (PAL، TAT، SOD، CAT و POD) افزایش یافت.

در دهه ۱۹۶۰ جاسمونات به‌عنوان متابولیت‌های ثانویه در اسانس گیاه گل یاس مشاهده شد. دو دهه پس از شناسایی اولیه جاسمونات‌ها تأثیر فیزیولوژیکی آنها شناسایی و به‌عنوان ترکیب‌های پیش‌برنده پیری، بازدارنده رشد و محرک‌هایی برای متابولیسم ثانویه در گیاهان عالی، شناخته شدند (Koo & Howe, 2009). اسید جاسمونیک ترکیبی مشتق شده از اسید چرب لینولئیک اسید است. این اسید از اسید لینولئیک به‌وسیله روش اکتا دکانوئید سنتز می‌شود. مهمترین نقش اسید جاسمونیک ممانعت از رشد، پیری و ریزش برگ گیاه می‌باشد (Rubio *et al.*, 2009). اسید جاسمونیک مهمترین هورمون مقاومت به تنش‌های زیستی و غیرزیستی است. این هورمون بعد از زخم شدن گیاه به‌سرعت در بافت‌های زخمی و غیر زخمی تجمع پیدا می‌کند (Bari & Jones, 2009; Negari *et al.*, 2022). در مطالعه‌ای اثر غلظت‌های مختلف متیل جاسمونات (۰، ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰، ۴۰۰ میکرومولار) روی سنتز جینسنوساید در سلول‌های کشت سوسپانسیون گیاه جینسینگ آسیایی (*Panax ginseng*) در شرایط درون شیشه ارزیابی شد. در این تحقیق گزارش شد که استفاده از متیل جاسمونات اثر معنی‌داری بر رشد سلول دارد و شاخص‌های وزن تر، وزن خشک و نسبت رشد سلول‌ها با افزایش غلظت متیل جاسمونات، کاهش پیدا کردند و تیمار شاهد بالاترین عملکرد را داشت (Sanchez-Sampedro *et al.*, 2005). ازاین‌رو، هدف از این پژوهش، مطالعه اثر متیل‌جاسمونات و اسید سالیسیلیک بر برخی صفات مورفولوژیک و بیوشیمیایی در گیاه بابونه در شرایط درون شیشه‌ای بود.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی مورد نیاز

این پژوهش به منظور بررسی اثر هورمون اسید سالیسیلیک در ۵ سطح بر روی صفات مورفولوژیکی و بیوشیمیایی در گیاه بابونه بومی شهر شربیان (N ″۵۲ ′۵۸ °۳۷ و E ″۰۶ ′۱۱ °۴۷) در شرایط درون شیشه در محل آزمایشگاه کشت بافت و بیوتکنولوژی گروه علوم باغبانی دانشکده کشاورزی دانشگاه محقق اردبیلی اجرا شد. برای انجام این پژوهش، بذر گیاهان بابونه از استان آذربایجان‌شرقی (شهر شربیان) جمع‌آوری شد.

ضدعفونی بذرها

پس از انتقال بذرها به آزمایشگاه کشت بافت گیاهی، به مدت ۱۵ دقیقه در ماده شوینده شسته شده و سطح آنها به مدت ۴۵ ثانیه در الکل ۷۰٪ و بعد به مدت ۳۰ دقیقه به‌وسیله هیپوکلریت سدیم ضدعفونی شد. پس از ضدعفونی سطحی، با آب مقطر دو بار تقطیر شده ۳ مرتبه (۲، ۵ و ۱۵ دقیقه) شستشو داده شدند.

انتقال بذرها به محیط کشت

برای تولید گیاهچه‌ها از محیط کشت MS استفاده شد. pH محیط کشت در محدوده ۵/۷ تنظیم شد و محیط کشت تهیه شده به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد اتوکلاو گردید.

روش نگهداری بذرهای کشت شده

تمامی کشت‌های انجام شده در اتاقک رشد در دمای ۲±۲۴ درجه سانتی‌گراد و ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی قرار گرفتند. این پژوهش در قالب آزمایش فاکتوریل و بر پایه طرح کاملاً تصادفی و با ۵ تکرار برای تیمارهای متیل جاسمونات و اسید سالیسیلیک اجرا شد. در این بررسی شاخص‌های متابولیت‌های ثانویه (کاروتنوئید، فلاونوئید و فنول کل)، وزن تر قسمت هوایی گیاهچه، وزن تر ریشه، طول ریشه، طول قسمت هوایی گیاهچه، شمارش تعداد شاخه و

شـمارش تعـداد ریشـه در هـر گیاهچـه بررسـی گردیـد.

اندازه‌گیری رنگریزه‌های فتوسنتزی

برای این کار، از روش Minguez-Mosquera و Perez-Galvez (۱۹۹۸) استفاده گردید. ابتدا قسمت‌های هوایی گیاه جدا شد، سپس ۱۰ گرم از گیاه بابونه توزین و با ۱۶ میلی‌لیتر استون و ۴ میلی‌لیتر آب در هاون چینی کاملاً ساییده و محلول حاصل با پمپ خلأ صاف شده و بعد توسط سانتریفوژ در دور ۲۷۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه و در حرارت ۲۵ درجه باقیمانده گیاهی تفکیک گردید. سپس میزان جذب در طول موج‌های ۶۶۳، ۶۴۷ و ۴۷۰ نانومتر با استفاده از سیستم اسپکتروفتومتر قرائت و مقدار کلروفیل *a*، *b* و کاروتنوئید کل با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد، که در آن Chl *a*، Chl *b* و C به‌ترتیب بیانگر کلروفیل *a* و *b* و کاروتنوئید برحسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر نمونه است.

$$\text{Chl } a \text{ (mg.ml}^{-1}) = 12.25A_{663.2} - 2.79A_{646.8}$$
$$\text{Chl } b \text{ (mg.ml}^{-1}) = 21.50A_{646.8} - 5.10A_{663.2}$$
$$\text{Tchl (mg.ml}^{-1}) = \text{Chl}\boldsymbol{a} + \text{Chl}\boldsymbol{b}$$
$$C_{x=c} = (1000A_{470} - 1.8C_{a} - 85.02C_{b})/198$$

اندازه‌گیری میزان فنل

میزان ترکیب‌های فنلی موجود در عصاره گیاه با کمی تغییر براساس روش Slinkard و Singleton (۱۹۷۷) با استفاده از معرف فولین‌سیوکالتیو (Folin-Ciocalteau) اندازه‌گیری شد.

اندازه‌گیری میزان فلاونوئید

برای محاسبه غلظت فلاونوئید در هر طول موج از فرمول ضریب خاموشی استفاده شد. میزان فلاونوئید کل از روی میزان جذب نمونه و استاندارد برحسب میلی‌گرم کاتچین در ۱۰۰ گرم وزن تر بیان شد. درصد رقیق کردن نیز در محاسبات منظور گردید (Zhao *et al*., 2005).

روش تجزیه آماری

داده‌های مربوط به این پژوهش با استفاده از نرم‌افزار SAS V.9.g.1 تجزیه شد و مقایسه میانگین تیمارها نیز با آزمون دانکن در سطح احتمال ۵٪ انجام گردید. نمودارها نیز با استفاده از نرم‌افزار Excel Microsoft رسم شدند.

نتایج

صفات مورفولوژیک

نتایج تجزیه واریانس حکایت از این داشت که اثر متقابل تیمارهای اعمال‌شده در صفات وزن ساقه، وزن ریشه، طول ساقه و طول ریشه در سطح احتمال ۱٪ و تعداد ساقه در سطح احتمال ۵٪ تفاوت معنی‌داری نشان داد (جدول ۱).

جدول ۱- تجزیه واریانس اثر اسید سالیسیلیک و متیل جاسمونات بر خصوصیات مورفولوژیک گیاه بابونه (***Matricaria chamomilla***) در شرایط کشت درون‌شیشه‌ای

Table 1. ANOVA of salicylic acid and methyl jasmonate effects on morphological properties of *Matricaria chamomilla* under *in vitro* culture

S.O.V.	d.f.	M.S.					
		Stem weight	Root weight	Number of stems	Number of roots	Stem length	Root length
Salicylic acid (S)	4	0.12**	0.02**	65.13**	8.70^{ns}	2.54^{ns}	9.45**
Methyl jasmonate (M)	4	0.10**	0.02**	8.55^{ns}	2.40^{ns}	4.32**	3.39**
S × M	16	0.03**	0.01**	63.81*	3.56^{ns}	3.20**	12.59**
Experimental error	50	0.00	0.00	26.87	4.03	1.11	1.05
C.V. (%)		15.53	29.85	31.84	33.82	19.75	14.09

n.s., *, and **: non-significant, significant at 5%, and 1% probability levels, respectively

مقایسه میانگین‌ها نشان داد بیشترین مقدار وزن ساقه در اثر متقابل (۵۰ µM) SA و (۲۰۰ µM) MeJA و کمترین مقدار وزن ساقه در اثر متقابل تیمار (۴۰۰ µM) SA و (۴۰۰ µM) MeJA بدست آمد و دارای تفاوت معنی‌داری بود (جدول ۲).

مقایسه میانگین‌ها نشانگر تفاوت معنی‌داری این صفت بوده و بیشترین مقدار وزن ریشه در اثر متقابل تیمار (۱۰۰ µM) SA و (۱۰۰ µM) MeJA و کمترین مقدار وزن ریشه در برهم‌کنش تیمار (۴۰۰ µM) SA و (۴۰۰ µM) MeJA بدست آمد (جدول ۲).

مقایسه میانگین‌ها نشان داد بیشترین تعداد ساقه در اثر متقابل تیمار (۱۰۰ µM) SA و (۵۰ µM) MeJA و کمترین تعداد ساقه در برهم‌کنش تیمار (۴۰۰ µM) SA و (۲۰۰ µM) MeJA بدست آمد و دارای تفاوت معنی‌دار بودند (جدول ۲).

جدول ۲- مقایسه میانگین اثر متقابل اسید سالیسیلیک و متیل جاسمونات بر صفات مورفولوژیک گیاه بابونه (***Matricaria chamomilla***) در شرایط کشت درون‌شیشه‌ای

Table 2. Means comparison of salicylic acid × methyl jasmonate interaction on morphological traits of *Matricaria chamomilla* under *in vitro* culture

Treatment		Root length	Stem length	Number	Root	Stem
Salicylic acid (µM)	Methyl jasmonate (µM)	(cm)	(cm)	of stems	weight (g)	weight (g)
0	0	6.50^{f-j}	5.30^{b-f}	12.00^{cd}	0.32^{e-i}	0.40^{d-g}
	50	10.50^{b}	5.20^{b-f}	17.00^{a-d}	0.13^{d-f}	0.36^{f-h}
	100	5.37^{i-k}	4.20^{d-f}	12.33^{cd}	0.04^{hi}	0.32^{g-i}
	200	8.57^{c-e}	5.37^{b-f}	11.67^{cd}	0.22^{bc}	0.57^{b}
	400	6.43^{f-j}	5.70^{b-e}	18.67^{a-d}	0.12^{e-g}	0.39^{e-g}
50	0	5.57^{i-k}	5.40^{b-f}	16.67^{a-d}	0.10^{e-h}	0.37^{f-h}
	50	6.83^{e-j}	4.10^{ef}	20.00^{a-d}	0.15^{de}	0.49^{b-d}
	100	12.53^{a}	8.17^{a}	22.00^{a-c}	0.19^{cd}	0.37^{f-h}
	200	10.00^{bc}	6.50^{a-c}	25.67^{a}	0.26^{ab}	0.70^{a}
	400	7.23^{e-i}	5.07^{b-f}	13.00^{cd}	0.08^{f-i}	0.56^{h-l}
100	0	7.30^{e-i}	5.57^{b-f}	24.33^{ab}	0.07^{f-i}	0.24^{i-k}
	50	6.63^{e-j}	5.77^{d-e}	26.33^{a}	0.08^{f-i}	0.37^{f-h}
	100	7.30^{e-i}	6.63^{ab}	14.33^{b-d}	0.28^{a}	0.50^{bc}
	200	8.10^{d-f}	5.87^{b-e}	19.33^{a-d}	0.07^{f-i}	0.42^{c-f}
	400	7.73^{e-h}	3.90^{ef}	14.00^{cd}	0.03^{hi}	0.17^{kl}
200	0	5.17^{jk}	6.37^{a-c}	15.33^{b-d}	0.19^{cd}	0.19^{j-l}
	50	5.80^{h-k}	6.27^{a-d}	10.33^{d}	0.14^{d-f}	0.48^{b-e}
	100	7.10^{e-j}	4.43^{c-f}	17.00^{a-d}	0.19^{cd}	0.44^{c-f}
	200	5.97^{g-k}	5.40^{b-f}	11.67^{cd}	0.11^{e-g}	0.22^{i-l}
	400	9.73^{b-d}	4.20^{d-f}	14.67^{b-d}	0.07^{f-i}	0.22^{i-l}
400	0	7.83^{e-g}	4.53^{c-f}	17.00^{a-d}	0.07^{f-i}	0.20^{j-l}
	50	7.80^{e-h}	4.57^{b-f}	12.00^{cd}	0.06^{g-i}	0.28^{h-j}
	100	6.23^{f-k}	4.83^{b-f}	13.00^{cd}	0.22^{g-i}	0.27^{h-j}
	200	4.30^{k}	6.27^{a-d}	9.67^{d}	0.08^{f-i}	0.23^{i-l}
	400	5.60^{i-k}	3.57^{f}	19.00^{a-d}	0.02^{i}	0.13^{l}

In each column, means with common letters are in the same statistical group at 5% probability level (Duncan test).

مقایسه میانگین‌ها نشان از معنی‌داری صفات طول ساقه و ریشه داشت و بیشترین مقدار این دو صفت در اثر متقابل تیمارهای (۵۰ µM) SA و (۱۰۰ µM) MeJA و کمترین مقدار طول ساقه در ترکیب تیمارهای (۴۰۰ µM) SA و (۴۰۰ µM) MeJA و طول ریشه در ترکیب تیمارهای (۴۰۰ µM) SA و (۲۰۰ µM) MeJA بدست آمد (جدول ۲).

صفات بیوشیمیایی

تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر سطوح SA بر میزان کلروفیل a، b، کاروتنوئید، کلروفیل کل، فنول و فلاونوئید در هر سه طول موج (۲۷۰–۳۰۰–۳۳۰) در سطح احتمال ۱٪ معنی‌دار بود (جدول ۳).

جدول ۳- تجزیه واریانس اثر اسید سالیسیلیک و متیل جاسمونات بر خصوصیات بیوشیمیایی گیاه بابونه (*Matricaria chamomilla*) در شرایط کشت درون‌شیشه‌ای

Table 3. ANOVA of salicylic acid and methyl jasmonate effects on biochemical properties of *Matricaria chamomilla* under *in vitro* culture

S.O.V.	d.f.	M.S.							
		Total phenol	Total flavonoids at wavelength 270	Total flavonoids at wavelength 300	Total flavonoids at wavelength 330	Chloro phyll *a*	Chloro phyll *b*	Carote noids	Total chloro phyll
Salicylic acid (S)	4	39747.40**	0.00**	0.00**	0.00**	0.25**	0.10**	0.20**	0.34**
Methyl jasmonate (M)	4	2612.31^{ns}	0.00^{ns}	0.00**	0.00**	0.02^{ns}	0.01^{ns}	0.02^{ns}	0.03^{ns}
S ×M	16	4589.41^{ns}	0.00**	0.00**	0.00**	0.02^{ns}	0.01^{ns}	0.02^{ns}	0.02^{ns}
Experimental error	50	3330.07	0.00	0.00	0.00	0.02	0.01	0.02	0.03
C.V. (%)		26.81	14.61	15.85	16.99	19.44	19.19	17.48	19.35

n.s. and **: non-significant and significant at 1% probability level, respectively

مقایسه میانگین‌ها نشان داد بیشترین مقدار کلروفیل a، کلروفیل b، کاروتنوئید و کلروفیل کل در تیمار شاهد و کمترین مقدار در تیمار ۵۰ میکرومولار اسید سالیسیلیک بدست آمد. همچنین، مقایسه میانگین‌ها حکایت از آن داشت که بیشترین مقدار فنول کل در تیمار ۴۰۰ میکرومولار اسید سالیسیلیک و کمترین مقدار در تیمار ۵۰ میکرومولار اسید سالیسیلیک بدست آمد (جدول ۴).

مقایسه میانگین‌ها نشان داد بیشترین مقدار فلاونوئید در طول موج ۲۷۰ در تیمار ۴۰۰ میکرومولار اسید سالیسیلیک و کمترین مقدار در تیمار ۱۰۰ میکرومولار اسید سالیسیلیک بدست آمد، همچنین مقایسه میانگین‌ها نشان داد بیشترین مقدار فلاونوئید در طول موج ۳۰۰ و ۳۳۰ در تیمار ۲۰۰ میکرومولار اسید سالیسیلیک و کمترین مقدار در تیمار ۴۰۰ میکرومولار اسید سالیسیلیک حاصل شد (جدول ۴).

اثر متقابل SA و MeJA بر خصوصیات بیوشیمیایی

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که برهم‌کنش تیمارهای اعمال‌شده فلاونوئید در هر سه طول موج ۲۷۰، ۳۰۰ و ۳۳۰ در سطح احتمال ۱٪ تفاوت معنی‌داری نشان داد (جدول ۳).

بیشترین مقدار فلاونوئید در طول‌موج ۲۷۰ در برهم‌کنش تیماری ۴۰۰ میکرومولار اسید سالیسیلیک و ۵۰ میکرومولار متیل جاسمونات و کمترین مقدار در برهم‌کنش تیماری صفر میکرومولار اسید سالیسیلیک و ۵۰ میکرومولار متیل جاسمونات بدست آمد. همچنین، مقایسه میانگین‌ها حکایت از آن داشت که بیشترین مقدار فلاونوئید در طول موج

۳۰۰ و ۳۳۰ در برهم‌کنش تیماری ۲۰۰ میکرومولار اسید سالیسیلیک و ۲۰۰ میکرومولار متیل جاسمونات و کمترین مقدار در برهم‌کنش تیماری ۴۰۰ میکرومولار اسید سالیسیلیک و صفر میکرومولار متیل جاسمونات (شاهد) حاصل شد (جدول ۴).

جدول ۴- مقایسه میانگین اثر متقابل اسید سالیسیلیک و متیل جاسمونات بر صفات بیوشیمیایی گیاه بابونه (*Matricaria chamomilla*) در شرایط کشت درون‌شیشه‌ای

Table 4. Means comparison of salicylic acid × methyl jasmonate interaction on biochemical traits of *Matricaria chamomilla* under *in vitro* culture

Treatment		Total flavonoids at wavelength 330 (mg CAT.100 g^{-1} FW)	Total flavonoids at wavelength 300 (mg CAT.100 g^{-1} FW)	Total flavonoids at wavelength 270 (mg CAT.100 g^{-1} FW)
Salicylic acid (μM)	Methyl jasmonat (μM)			
0	0	0.0290^{e-g}	0.0301^{g-i}	0.0483^{f-h}
	50	0.0191^{ij}	0.0214^{kl}	0.0230^{n}
	100	0.0335^{cd}	0.0403^{bc}	0.0428^{i-k}
	200	0.0425^{a}	0.0422^{b}	0.0547^{cd}
	400	0.0398^{bc}	0.0310^{g}	0.0455^{h-j}
50	0	0.0207^{h-j}	0.0217^{kl}	0.0398^{kl}
	50	0.0284^{fg}	0.0271^{ij}	0.0513^{d-f}
	100	0.0259^{g}	0.0268^{j}	0.0424^{i-k}
	200	0.0292^{ef}	0.0316^{g}	0.0322^{m}
	400	0.0297^{ef}	0.0315^{g}	0.0421^{jk}
100	0	0.0318^{de}	0.0321^{fg}	0.0310^{m}
	50	0.0320^{de}	0.0392^{cd}	0.0413^{k}
	100	0.0214^{hi}	0.0233^{k}	0.0254^{n}
	200	0.0416^{a}	0.0405^{bc}	0.0369^{l}
	400	0.0230^{ef}	0.0303^{gh}	0.0535^{de}
200	0	0.0368^{b}	0.0347^{ef}	0.0578^{bc}
	50	0.0228^{h}	0.0240^{k}	0.0521^{d-f}
	100	0.0370^{b}	0.0365^{de}	0.0490^{f-h}
	200	0.0443^{a}	0.0461^{a}	0.0467^{g-i}
	400	0.0302^{ef}	0.0297^{g-j}	0.0536^{de}
400	0	0.0179^{j}	0.0190^{l}	0.0458^{h-j}
	50	0.0382^{b}	0.0385^{cd}	0.0649^{a}
	100	0.0208^{h-j}	0.0228^{k}	0.0504^{e-g}
	200	0.0261^{g}	0.0279^{h-j}	0.0595^{b}
	400	0.0216^{hi}	0.0228^{k}	0.0465^{g-i}

In each column, means with common letters are in the same statistical group at 5% probability level (Duncan test).

بحث

غلظت‌های بالای اسید سالیسیلیک باعث تغییراتی در اندامک‌های سلولی می‌شود که می‌تواند باعث آسیب به رشد و متابولیسم گیاه شود (Uzunova & Popova, 2000). همچنین گزارش شده است که علت تحریک رشد توسط اسید سالیسیلیک، می‌تواند به افزایش آنتی‌اکسیدان‌های سلول مربوط باشد که گیاهان را در برابر تخریب اکسیداتیو ناشی از فلزات سنگین حفاظت می‌کند (El-Tayeb, 2005).

Charlang Badil و همکاران (۲۰۱۴) گزارش کردند که سطوح اسید سالیسیلیک در صفات وزن تر قسمت‌های هوایی و ریشه دارای تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال ۱٪ بوده و مقایسه میانگین‌ها نشان داد که مصرف اسید سالیسیلیک باعث افزایش این صفات نسبت به شاهد شده است، ولی با افزایش میزان غلظت اسید سالیسیلیک شاخص‌های مورد ارزیابی کاهش یافته است که با نتایج این آزمایش همخوانی دارد. گزارش شده است که متیل جاسمونات در غلظت‌های کم دارای اثر تحریک‌کنندگی در رشد گیاهان بوده و به‌طور قابل توجهی ارتفاع بوته، سطح برگ و وزن خشک گیاه را افزایش می‌دهد. ولی غلظت‌های زیاد متیل جاسمونات، ویژگی‌های مذکور را کاهش می‌دهد (Walia *et al.*, 2007؛ El-Tayeb, 2005). Salimi و همکاران (۲۰۱۵) گزارش کردند که سطوح متیل جاسمونات در صفات وزن بخش هوایی و ریشه و ارتفاع گیاه دارای تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال ۱٪ بوده و مقایسه میانگین‌ها نشان داد که مصرف متیل جاسمونات باعث افزایش این صفات نسبت به شاهد شده است (۷۵ میکرومولار)، ولی با افزایش میزان غلظت متیل جاسمونات شاخص‌های مورد ارزیابی کاهش یافته است که با نتایج این آزمایش همخوانی دارد.

در مطالعه‌ای اثر متقابل سالیسیلیک اسید و متیل جاسمونات بر میزان ترکیب‌های فنلی و فلاونوئیدها در کنگر فرنگی (*Cynara scolymus* L) توسط Samadi و همکاران (۲۰۱۵) چنین گزارش شد که اثر متقابل سالیسیلیک اسید و متیل جاسمونات بر تغییر ترکیب‌های فنولی تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال ۱٪ داشته است. به‌طوری که تیمارهای سالیسیلیک ۵۰ میکرومولار و متیل جاسمونات ۵۰ میکرومولار و اسید سالیسیلیک ۱۰۰ میکرومولار و متیل جاسمونات ۵۰ میکرومولار حداکثر محتوی فنیل پروپانوییدی را داشته است. همچنین گزارش کردند که با افزایش غلظت الیسیتورها کاهش قابل توجهی در سطح فنل کل مشاهده شد. Shebani و Ehsan (۲۰۱۰) طی تحقیقی مشاهده کردند که متیل جاسمونات و اسید سالیسیلیک به‌طور قابل توجهی سبب افزایش میزان ترکیب‌های فنولی و فلاونوئید کل در کشت درون شیشه شیرین‌بیان (*Glycyrrhiza glabra*) گردید. Goyal و Ramawat (۲۰۰۸) در کشت سوسپانسیون سلول گونه گیاه *Pueraria tuberosa* به این نتیجه رسیدند که تیمار ۴۰۰ مایکرومول اسید سالیسیلیک در مقایسه با سایر تیمارها (۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰، ۴۰۰ مایکرومول) و شاهد بیشترین تأثیر را در تولید ایزوفلاونوئیدها داشته است، این نتایج با نتایج بدست آمده در این تحقیق همخوانی دارد. نتایج حاصل از کاربرد اسید سالیسیلیک در افزایش متابولیت‌های ثانویه با نتایج Rahimi Malek و همکاران (۲۰۱۳) مطابقت دارد. آنان گزارش کردند که سطوح اسید سالیسیلیک در افزایش متابولیت‌های ثانویه گیاه مریم‌گلی دارای تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال ۱٪ بوده و مقایسه میانگین‌ها نشان داد که مصرف اسید سالیسیلیک باعث افزایش کامفور و کامفورن نسبت به شاهد شده است (۴۰ مول در لیتر).

در مطالعه‌ای اثر اسید سالیسیلیک روی متابولیت‌های ثانویه (گلیسیریزین و ایزولیکویریتیجئین) در ریشه‌های مویین شیرین‌بیان (*Glycyrrhiza glabra* L.) توسط Shirazi و همکاران (۲۰۱۳) چنین گزارش شد که غلظت‌های مختلف اسید سالیسیلیک بر تولید متابولیت‌های ثانویه در سطح احتمال ۱٪ تأثیر معنی‌داری داشت. اسید سالیسیلیک باعث افزایش معنی‌داری در تولید گلیسیریزین شد و بیشترین مقدار گلیسیزین بر اثر تیمار با ۵۰۰ میکرومولار اسید سالیسیلیک بدست آمد.

Ashrafi و همکاران (۲۰۱۳) طی تحقیقی مشاهده کردند که متیل جاسمونات سبب افزایش میزان متابولیت‌های ثانویه (تیمول و کارواکرول) در گیاه آویشن دنایی (*Thymus daenensis* Celak) گردید. در ضمن آنان پیشنهاد دادند که غلظت ۱۰۰ میکرومولار در بین دیگر تیمارها (۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میکرومولار) بهترین تأثیر را روی این متابولیت‌ها گذاشته و موجب افزایش این مواد شده است.

نتایج این تحقیق با یافته‌های حاصل از پژوهش انجام شده در مورد متیل جاسمونات بر میزان تولید متابولیت‌های ثانویه (هیپرسین) در گل راعی (*Hypericum perforathum* L.) همخوانی دارد (Hamedi *et al.*, 2012). به‌طوری که بیشترین میزان متابولیت‌های ثانویه در تیمار ۲۰۰ میکرومولار متیل جاسمونات گزارش شده است. Mousavi (۲۰۱۲) گزارش کرد که بین تیمارهای محلول‌پاشی با متیل جاسمونات از نظر میزان فلاونوئید کل در سطح احتمال ۵٪ اختلاف معنی‌داری مشاهده شد. ایشان پیشنهاد کردند که محلول‌پاشی جاسمونیک ۱۰۰ میکرومولار اثرهای مطلوبی بر میزان فلاونوئید در عصاره گل همیشه‌بهار داشته است.

Khanpour Ardestani و همکاران (۲۰۱۴) گزارش کردند که متیل جاسمونات بر ترکیب‌های فنولی و فلاونوئیدی در کشت سلول اسکروفولاریا (*Scrophularia straita* Boiss) اثر معنی‌داری داشته و در غلظت ۰/۱ میلی‌مولار بیشترین تأثیر را روی این گیاه گذاشته است. Khanpour Ardestani و همکاران (۲۰۱۴) همچنین نتیجه‌گیری کردند که با توجه به وجود ترکیب‌های فلاونوئیدی در این گیاه می‌توان گفت که بخشی از اثرهای حفاظتی در آن از طریق تقویت سیستم آنتی‌اکسیدانی و مهار تولید ROS اعمال می‌گردد. در مطالعه‌ای اثر متیل جاسمونات بر میزان ترکیب‌های فنلی و فلاونوئیدها در عصاره گل همیشه‌بهار توسط Ghasemi Pirbaluti و همکاران (۲۰۱۳) چنین گزارش شد که تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که غلظت‌های مختلف متیل جاسمونات در سطح احتمال ۵٪ بر روی میزان فلاونوئید معنی‌دار بود. در همین راستا، نتیجه مقایسه میانگین‌ها برای فلاونوئیدها در عصاره گل همیشه‌بهار حکایت از آن دارد که بیشترین میزان این ترکیب از تیمار ۲۰۰ میکرومولار محلول‌پاشی جاسمونیک بدست آمده که با نتایج این آزمایش کاملاً مطابقت دارد.

در مطالعه‌ای اثر متیل جاسمونات بر میزان ترکیب‌های فنلی و فلاونوئیدها در کنگر فرنگی (*Cynara scolymus* L) توسط Samadi و همکاران (۲۰۱۵) چنین گزارش شد که بررسی اثر متیل جاسمونات بر محتوای فنلی کالوس نشان داد که در غلظت‌های صفر تا ۱۰۰ میکرومولار میزان ترکیب‌های فنولی افزایش و در ۱۰۰ تا ۲۵۰ میکرومولار کاهش می‌یابد که می‌تواند به‌دلیل محدود بودن توانمندی سلول‌ها در پاسخ به عامل تنش‌زا، یا کاهش فعالیت آنزیم‌ها توسط آن ایجاد گردد. محتوای فنولی در ۱۰۰ میکرومولار در حداکثر مقدار بوده و نسبت به نمونه شاهد افزایش سه برابری نشان داد. جالب اینکه با افزایش بیشتر غلظت متیل جاسمونات نه‌تنها افزایش تجمع فنل مشاهده نشد، بلکه روند تجمع فنول کاهش یافت تا جایی که میزان فنل کل نمونه‌هایی که با ۲۵۰ میکرومولار متیل جاسمونات تیمار شدند، از نمونه شاهد نیز کمتر بود. نتایج Samadi و همکاران (۲۰۱۵) در مورد اینکه افزایش غلظت متیل جاسمونات موجب کاهش تجمع ترکیب‌های فنولی می‌گردد با نتایج این پژوهش همخوانی دارد.

بنابراین، به‌عنوان نتیجه‌گیری کلی می‌توان گفت که ترکیب‌های ثانویه گیاهان دارویی برای اهداف غذایی و درمانی دارای اهمیت هستند. ازاین‌رو، هر عاملی که بتواند ضمن ایجاد کمترین تغییر در ساختار ژنتیکی گیاه تولید این ترکیب‌ها را افزایش دهد با ارزش خواهد بود. در مقایسه با گیاهان دست نخورده، سلول‌ها و بافت‌ها برای مطالعه تغییرات تولید متابولیت‌ها قابلیت بیشتری دارند. در این آزمایش نشان داده شد که افزایش تولید متابولیت‌ها نه‌تنها تحت تأثیر فعالیت آنزیم، بلکه به غلظت محرک محیط نیز بستگی دارد. افزایش محرک بیش از حد معمول نه‌تنها افزایش متابولیت را دربر ندارد، بلکه از طریق کاهش فعالیت آنزیم (احتمالاً از طریق کاهش بیان ژن مربوط) تولید متابولیت‌ها را کم و یا متوقف می‌کند. بنابراین، با بهینه‌سازی غلظت محرک و ترکیب‌های غذایی محیط کشت می‌توان بدون دستکاری در ساختار ژنتیکی گیاه با افزایش فعالیت آنزیم میزان متابولیت ثانویه مورد نظر را افزایش داد. کاربرد هورمون‌های اسید سالیسیلیک و متیل جاسمونات با توجه

به اینکه هورمون‌های تنش هستند، موجب کاهش صفات مورفولوژیکی و افزایش متابولیت‌های ثانویه می‌شود تا در برابر تنش وارده به گیاه از خود مقاومت نشان دهد که ما در آزمایش خود به این نتیجه رسیدیم که این هورمون‌ها موجب کاهش صفات تعداد ساقه و ریشه، وزن ساقه و ریشه و طول ساقه و ریشه شده ولی از این‌طرف موجب افزایش فنول و فلاونوئید کل در گیاه که متابولیت‌های ثانویه هستند، می‌شود. غلظت ۲۰۰ و ۴۰۰ میکرومولار اسید سالیسیلیک و متیل جاسمونات به‌عنوان بهترین تیمار برای افزایش متابولیت‌های ثانویه در این آزمایش شناخته شد که هم به‌صورت تکی و هم به‌صورت برهم‌کنشی موجب افزایش چشمگیر متابولیت‌های ثانویه گردید.

References

- Ashrafi, M., Ghasemi Pirbalouti, A., Rahimmalek, M. and Hamedi, B., 2012. Effect of foliar application of Jasmonic Acid (JA) on essential oil yield and its compositions of *Thymus daenensis* Celak. Journal of Medicinal Herbs, 3(2): 75-80.
- Bari, R. and Jones, J.D.G., 2009. Role of plant hormones in plant defense responses. Plant Molecular Biology, 69: 473-488.
- Charlang Badil, F., Parari, M., Shamili, M. and Tahmasbi, Z., 2014. Investigation of the effect of different levels of salicylic acid on the improvement of growth and some physiological and biochemical indicators of sugarcane (*Saccharum officinarum* L.) under salt stress. Journal of Environmental Stresses in Horticultural Sciences, 8: 307-317.
- Dong, J., Wan, G. and Liang, Z., 2010. Accumulation of salicylic acid induced phenolic compounds and raised activities of secondary metabolic and antioxidant enzymes in *Salvia miltorrhiza* cell culture. Journal of biotechnology, 148: 99-104.
- El-Tayeb, M.A., 2005. Response of barley grains to the interactive effect of salinity and salicylic acid. *Plant Growth Regulation*, 45: 215-225.
- Ghasemi, M., Jelodar, N.B., Modarresi, M. and Bagheri, N., 2013. Morphological response of German chamomile to heat stress accompanies salicylic acid-mediated under field conditions. International Journal of Agriculture and Crop Sciences, 756-760.
- Ghasemi Pirbaluti, A., Mousavi Haris, S.A., Tirgir, F. and Hamedi, B., 2013. The effect of jasmonic and elisylic acid on the amount of phenolic and flavonoid compounds in marigold flower extract. Herbal Medicine Quarterly, 3: 175-180.
- Goyal, S.H. and Ramawat, K.G., 2008. Ethrel treatment enhanced isoflavonoids accumulation in cell suspension cultures of *Pueraria tuberosa*, a woody legume. *Acta Physiologiae Plantarum*, 30(6): 849-853.
- Hamedi, B., Ghasemi Pirbalouti, A. and Moradi, P., 2012. The effect of foliar application of jasmonic acid on hypercine of *Hypericum perfuratum* L. Planta Medica, 78(11): PF17.
- Kanga, S.M., Jung, H.Y., Kang, Y.M., Yun, D.J., Bahk, J.D., Yang, J.K. and Choi, M.S. 2004. Effects of methyl jasmonate and salicylic acid on the production of tropane alkaloids and the expression of PMT and H6H in adventitious root cultures of *Scopolia parviflora*. Plant Science, 166: 745-751.
- Khanpour Ardestani, N., Sharifi, M. and Behmanesh, M., 2014. The effect of methyl jasmonate on the antioxidant activity of phenolic compounds and flavonoids in cell culture of *Scrophularia straita* Boiss. Journal of Plant Research (Iranian Biology Journal), 27(5): 850-858.
- Koo, A.J.K. and Howe, G.A., 2009. The wound hormone jasmonate. *Phytochemistry*, 70: 1571-1580.
- Minguez-Mosquera, M.I. and Perez-Galvez, A., 1998. Color quality in *Paprika oleoresins*. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 46: 5124-5127.
- Mousavi, A., 2012. The effect of jasmonic acid foliar application on the photochemical properties of marigolds, master's thesis in agricultural engineering - medicinal plants. Islamic Azad University, Shahrekord branch.
- Negari, A.K., Jami Al-Ahmadi, M. and Zamani, G., 2022. Response of *Thymus vulgaris* L. to coronatine, methyl jasmonate, and cyclodextrin at different levels of moisture supply under greenhouse conditions. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research, 37(6): 934-953.
- Orenes, A.L., 2013. Changes in phenolic metabolism in salicylic acid-treated shoots of *Cistus heterophyllus*. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 113: 417-427.
- Rahimi Malek, M., Azad, S., Yadgari, M. and Ghassims Pir Baluti, A., 2013. Effects of jasmonic and salicylic acid on the phytochemical properties of sage leaves (*Salvia officinalis* L.). Herbal Medicines, 2: 89-94.
- Rubio, V., Bustos, R., Irigoyen, M.L., Cardona-Lopez, X., Rojas-Triana, M. and Paz-Ares, J., 2009. Plant hormones and nutrient signaling. *Plant Molecular Biology*, 69: 361-373.
- Salimi, F., Shekari, F., Azimi, M.R. and Zagani, E., 2011. Role of methyl jasmonate on improving salt resistance through some physiological characters in

- Shirazi, Z., Piri, KH., Mirzaie Asl, A., Hasanloo, T. and Ghiasvand, T., 201۲. The effect of methyl jasmonate and salicylic acid elicitors on production amount of Glycyrrhizin and Isoliquiritigenin in hairy roots of Licorice (*Glycyrrhiza glabra* L.). Journal of Plant Research, 27: 440-449.
- Slinkard, K. and Singleton, V.L., 1977. Total phenol analysis; automation and comparison with manual methods. American Journal of Enology and Viticulture, 28: 49-55.
- Uzunova, A.N. and Popova, L.P., 2000. Effect of salicylic acid on leaf anatomy and chloroplast ultrastructure of barley plants. *Photosynthetica*, 38(2): 243-250.
- Walia, H., Wilson, C., Condamine, P., Liu, X., Ismail, A. and Close, T., 2007. Large-scale expression profiling and physiological characterization of jasmonic acid-mediated adaptation of barley to salinity stress. Journal of Plant Nutrition and Soil Science, 4: 410-421.
- Zhao, J., Davis, L. C. and Verpoorte, R., 2005. Elicitor signal transduction leading to production of plant secondary metabolites. *Biotechnolgy Advance*, 23: 283-333.

German chamomile (*Matricaria chamomilla* L.). Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research. 4(4): 700-711.
- Samadi, S., Ghasemnejad, A. and Alizadeh, M., 2013. Changes in the activity of artichoke (*Cynara scolymus* L.) phenylalanine ammonialyase (PAL) enzyme under the influence of methyl jasmonate and salicylic acid in vitro. Plant production research journal, 21(4): 135-148.
- Sanchez-Sampedro, M.A., Fernandez-Tarrago, J. and Corchete, P., 2005. Yeast extract and methyl jasmonate induced silymarin production in cell cultures of *Silybum Marianum* L. Gaerth. Journal of biotechnology, 119: 60-69.
- Seidler, L., 2003. Determination of the ploidy level in chamomile (*Chamomailla recutita* L. *Rausch*) strain rich in alpha-bisabolol. Journal of Applied Genetics, 44: 151-155.
- Shebani, L. and Ehsan, P.A.A., 2018. Induction of antioxidant enzymes, phenolic and flavonoid compounds in in vitro culture of licorice (*Glycyrrhiza glabra*) using methyl jasmonate and salicylic acid. Biology of Iran, 22(4): 691-703.