Research Article

Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research

DOI:10.22092/IJMAPR.2026.370829.3578

Vol. 42, No. 3, Page 547-571 (2026)

Improving content and major components of essential oil and changing the physiological characteristics of *Melissa officinalis* L. under the combined effects of biotic and abiotic elicitors

Maryam Kiani[1], Mohammad Abdoli[2*] and Mehdi Ghabooli[3]

1. M.Sc. Gradute of Horticultural Sciences and Engineering, Department of Plant Production and Genetics, Faculty of Agriculture, Malayer University, Malayer, Iran
2*. Corresponding Author, Department of Plant Production and Genetics, Faculty of Agriculture, Malayer University, Malayer, Iran, E-mail: Abdoli_m@malayeru.ac.ir
3. Department of Plant Production and Genetics, Faculty of Agriculture, Malayer University, Malayer, Iran

Received: 26/09/2025 Revised: 07/10/2026 Accepted: 12/10/2026

Abstract

Background and objectives: Applying biotic and abiotic elicitors effectively enhances the biosynthesis and accumulation of valuable plant metabolites. This study aimed to assess the combined effects of yeast extract, salicylic acid, culture filtrate, and a cell homogenate derived from Serendipita indica on the essential oil content, chemical composition, and selected physiological characteristics of lemon balm (*Melissa officinalis* L.).

Methodology: The experiment used a completely randomized design with 15 treatments and three replications in the research greenhouse at Malayer University in 2021. The experimental treatments included foliar application of distilled water (control), salicylic acid (320 mg L^{-1}), yeast extract (1 g L^{-1}), salicylic acid (320 mg L^{-1}) combined with yeast extract (1 g L^{-1}), salicylic acid (320 mg L^{-1}) combined with culture filtrate (½ v/v), yeast extract (1 g L^{-1}) combined with culture filtrate (½ v/v), salicylic acid (320 mg L^{-1}) combined with cell homogenate (40 or 80 mg L^{-1}), yeast extract (1 g L^{-1}) combined with cell homogenate (40 or 80 mg L^{-1}), salicylic acid (320 mg L^{-1}) combined with yeast extract (1 g L^{-1}) and cell homogenate (40 or 80 mg L^{-1}), salicylic acid (320 mg L^{-1}) combined with culture filtrate (½ v/v) and cell homogenate (40 mg L^{-1}), yeast extract (1 g L^{-1}) combined with culture filtrate (½ v/v) and cell homogenate (40 mg L^{-1}), and the combination of salicylic acid (320 mg L^{-1}), yeast extract (1 g L^{-1}), culture filtrate (½ v/v), and cell homogenate (40 mg L^{-1}). The elicitors were applied as foliar sprays to the aerial parts of lemon balm plants at the 40% flowering stage. Essential oil was extracted by hydrodistillation using distilled water and analyzed by gas chromatography–mass spectrometry (GC–MS). Essential oil content and chemical composition were determined, along with physiological traits, including photosynthetic pigments (chlorophyll *a*, chlorophyll *b*, total chlorophyll, and carotenoids), proline, malondialdehyde, soluble sugars, total phenolic compounds, and total flavonoids. Pearson's correlation coefficients (*r*) were calculated to assess the relationships among the measured traits.

Results: A total of 38 chemical compounds were identified in the essential oil extracted from the aerial parts of lemon balm. The major constituents of the essential oils were citronellal (6.1–13.5%), trans-carveol (5.0–10.6%), citral (3.9–10.1%), linalool (4.2–9.3%), and γ-3-carene (4.2–9.2%), respectively. The combined treatment consisting of salicylic acid (320 mg L^{-1}), yeast extract (1 g L^{-1}), culture filtrate (½ v/v), and cell homogenate (40 mg L^{-1}) produced the most pronounced increases in essential oil content and the concentrations of its major constituents. Compared with the control, this treatment increased essential oil content by 63% and increased

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

citronellal, trans-carveol, citral, and linalool by 2.20-fold, 2.12-fold, 2.59-fold, and 2.21-fold, respectively. The lowest values for these traits were recorded in the control treatment. The elicitor treatments significantly affected soluble sugar, malondialdehyde, proline, and flavonoid levels. Correlation analysis revealed significant positive correlations at the 1% probability level between essential oil content and the major essential oil constituents linalool (r = 0.971**), trans-carveol (r = 0.983**), citronellal (r = 0.988**), and citral (r = 0.984**). In contrast, essential oil content was significantly negatively correlated with γ-3-carene (r = −0.990**). Heatmap analysis of the studied traits revealed a clear separation between the control and the combined biotic and abiotic elicitor treatments.

Conclusion: The results indicated that essential oil content and the concentrations of its major constituents in lemon balm were influenced by elicitors, including salicylic acid, yeast extract, culture filtrate, and cell homogenate. Overall, the combined application of two or more elicitors effectively enhanced essential oil production and the accumulation of its major constituents, particularly linalool, trans-carveol, citronellal, and citral, in lemon balm.

Keywords: Citral, fungus, medicinal plant, *Melissa officinalis*, salicylic acid, yeast extract.

بهبود میزان و اجزای اصلی اسانس و تغییر ویژگی‌های فیزیولوژیکی بادرنجبویه (*Melissa officinalis* L.) در واکنش به اثر توأم محرک‌های زیستی و غیرزیستی

مریم کیانی[۱]، محمد عبدلی*[۲] و مهدی قبولی[۳]

۱- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد علوم و مهندسی باغبانی، گروه تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ملایر، ملایر، ایران

۲*- نویسنده مسئول، استادیار، گروه تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ملایر، ملایر، ایران، پست‌الکترونیک: Abdoli_m@malayeru.ac.ir

۳- دانشیار، گروه تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ملایر، ملایر، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۷/۰۴ تاریخ اصلاح نهایی: ۱۴۰۵/۰۷/۱۵ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۵/۰۷/۲۰

چکیده

سابقه و هدف: استفاده از محرک‌های زیستی و غیر زیستی، یکی از رویکردهای مناسب و مؤثر برای افزایش بیوسنتز و تجمع متابولیت‌های ارزشمند گیاهی می‌باشد. این تحقیق، با هدف بررسی اثر توأم محرک‌های عصاره مخمر، اسید سالیسیلیک، عصاره کشت و هموژنایت سلولی قارچ *Serendipita indica* بر ترکیب شیمیایی، میزان اسانس و برخی ویژگی‌های فیزیولوژیکی بادرنجبویه (*Melissa officinalis* L.) انجام شد.

مواد و روش‌ها: این پژوهش در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۱۵ تیمار و سه تکرار در گلخانه تحقیقاتی دانشگاه ملایر در سال ۱۴۰۰ انجام شد. تیمارهای آزمایشی شامل محلول‌پاشی با آب مقطر (شاهد)، اسید سالیسیلیک (۳۲۰ میلی‌گرم در لیتر)، عصاره مخمر (۱ گرم در لیتر)، اثر توام اسید سالیسیلیک (۳۲۰ میلی‌گرم در لیتر)+عصاره مخمر (۱ گرم در لیتر)، اسید سالیسیلیک (۳۲۰ میلی‌گرم در لیتر)+عصاره کشت (½ حجمی/حجمی)، عصاره مخمر (۱ گرم در لیتر)+عصاره کشت (½ حجمی/حجمی)، اسید سالیسیلیک (۳۲۰ میلی‌گرم در لیتر)+هموژنایت سلولی (۴۰ و ۸۰ میلی‌گرم در لیتر)، عصاره مخمر (۱ گرم در لیتر)+هموژنایت سلولی (۴۰ و ۸۰ میلی‌گرم در لیتر)، اسید سالیسیلیک (۳۲۰ میلی‌گرم در لیتر)+عصاره مخمر (۱ گرم در لیتر)+هموژنایت سلولی (۴۰ و ۸۰ میلی‌گرم در لیتر)، اسید سالیسیلیک (۳۲۰ میلی‌گرم در لیتر)+عصاره کشت (½ حجمی/حجمی)+هموژنایت سلولی (۴۰ میلی‌گرم در لیتر)، عصاره مخمر (۱ گرم در لیتر)+عصاره کشت (½ حجمی/حجمی)+هموژنایت سلولی (۴۰ میلی‌گرم در لیتر) و اسید سالیسیلیک (۳۲۰ میلی‌گرم در لیتر)+عصاره مخمر (۱ گرم در لیتر)+عصاره کشت (½ حجمی/حجمی)+هموژنایت سلولی (۴۰ میلی‌گرم در لیتر) بود. محلول‌پاشی محرک‌ها روی اندام هوایی بادرنجبویه در مرحله ۴۰ درصد گلدهی انجام شد. اسانس‌گیری به روش تقطیر با آب و تجزیه اسانس نیز به روش کروماتوگرافی گازی متصل به طیف‌سنج جرمی انجام گردید. صفات میزان و ترکیب شیمیایی اسانس، همچنین برخی صفات فیزیولوژیکی شامل رنگیزه‌های فتوسنتزی (کلروفیل *a*، کلروفیل *b*، کلروفیل کل و کاروتنوئیدها)، پرولین، محتوای مالون‌دی‌آلدهید، قندهای محلول، فنل و فلاونوئید کل اندازه‌گیری شدند. به‌منظور تجزیه‌وتحلیل همبستگی بین شاخص‌های مورد ارزیابی، از روش پیرسون استفاده شد.

نتایج: در مجموع، ۳۸ ترکیب شیمیایی در اسانس ساختار هوایی گیاه بادرنجبویه شناسایی شد. سیترونلال (۶/۱ تا ۱۳/۵ درصد)، ترانس-کاروئول (۵ تا ۱۰/۶ درصد)، سیترال (۳/۹ تا ۱۰/۱ درصد)، لینالول (۴/۲ تا ۹/۳ درصد) و گاما-۳-کارن (۴/۲ تا ۹/۲ درصد) به‌ترتیب ترکیبات عمده اسانس‌های مورد مطالعه بودند. محلول‌پاشی با ۳۲۰ میلی‌گرم در لیتر اسید سالیسیلیک+۱ گرم در لیتر عصاره مخمر+ ½ عصاره کشت+۴۰ میلی‌گرم در لیتر هموژنایت سلولی، بهترین نتیجه را در افزایش میزان اسانس و اجزای اصلی آن داشت. در این تیمار، میزان اسانس (۶۳ درصد)، سیترونلال (۲/۲۰ برابر)، ترانس-کاروئول (۲/۱۲ برابر)، سیترال (۲/۵۹ برابر) و لینالول (۲/۲۱ برابر) نسبت به گیاهان شاهد افزایش پیدا کردند. کمترین این صفات در تیمار شاهد بدست آمد. نتایج نشان داد که این محرک‌ها،

به‌طور معنی‌داری بر میزان قندهای محلول، محتوای مالون‌دی‌آلدهید، محتوای پرولین و محتوای فلاونوئیدها اثر گذاشته‌اند. نتایج همبستگی بین صفات مختلف نشان داد که میزان اسانس همبستگی مثبت و معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد با ترکیبات عمده اسانس شامل لینالول (r=۰/۹۷۱**)، ترانس-کاروئول (r=۰/۹۸۳**)، سیترونلال (r=۰/۹۸۸**) و سیترال (r=۰/۹۸۴**) و منفی و معنی‌دار با گاما-۳-کارن (r=-۰/۹۹۰**) دارد. نتایج نقشه حرارتی برای صفات مورد مطالعه، بین تیمار شاهد و تیمارهای اثر توام محرک‌های زیستی و غیرزیستی، جدایی آشکاری نشان داد.

نتیجه‌گیری: براساس نتایج، مشخص شد که میزان اسانس و ترکیبات اصلی آن در بادرنجبویه تحت تأثیر محرک‌های اسید سالیسیلیک، عصاره مخمر، عصاره کشت و هموژنایت سلولی قرار داشتند. درمجموع می‌توان گفت که کاربرد توام دو یا چند محرک مذکور می‌توانند به‌طور مؤثر تولید اسانس و اجزای عمده اسانس بادرنجبویه شامل لینالول، ترانس-کاروئول، سیترونلال و سیترال را افزایش دهند.

واژه‌های کلیدی: اسید سالیسیلیک، بادرنجبویه، سیترال، عصاره مخمر، قارچ، گیاه دارویی.

مقدمه

در چند دهه گذشته، گیاهان دارویی و معطر منابع ارزشمندی برای تولید متابولیت‌های ثانویه به‌عنوان مواد اولیه در صنایع، به‌ویژه در صنعت داروسازی بوده‌اند (Albayrak *et al.*, 2024). اسانس‌ها، مخلوط‌های طبیعی از مواد فرار، چربی‌دوست و خوشبو با ساختارهای پیچیده هستند که معمولاً در گیاهان معطر یافت می‌شوند (de Sousa *et al.*, 2023). اسانس‌ها، اجزای مواد طعم‌دهنده و معطرکننده هستند که عمدتاً در صنایع غذایی و آشامیدنی، عطرسازی، لوازم آرایشی و بهداشتی، سلامتی و رایحه‌درمانی، آرامش‌بخشی، مراقبت‌های بهداشتی، دارویی و شیمیایی کاربرد دارند. در سال‌های اخیر، روند استفاده از آنها رو به افزایش بوده و ارزش بازار جهانی اسانس‌ها در سال ۲۰۲۳ میلادی، ۲۳/۷۴ میلیارد دلار آمریکا بوده است (Baser & Bonello, 2025). تنوع شیمیایی در اسانس‌ها یک ویژگی بسیار مهم برای بازاریابی است و به تجاری‌سازی آن کمک می‌کند (Zouari, 2013).

بادرنجبویه (*Melissa officinalis* L.) گیاه دارویی علفی از خانواده نعناعیان است که به‌دلیل اهمیت اقتصادی آن، به‌طور گسترده در جنوب اروپا، آمریکای شمالی و شرق آسیا کشت می‌شود (Szabó *et al.*, 2016). مطالعات فارماکولوژیکی متعددی نشان داده‌اند که حضور متابولیت‌های ثانویه ارزشمندی مانند ترکیبات فنلی، فلاونوئیدی و اسانس استخراج‌شده از بادرنجبویه سبب خواص درمانی مختلفی مانند آرام‌بخش، ضد افسردگی، مقوی قلب، تقویت‌کننده حافظه، آنتی‌اکسیدان، ضد اسپاسم، ضد نفخ، ضد باکتری، ضد قارچ، ضد سرطان، ضد ویروس و ضد التهاب برای این گیاه گزارش شده است (Petrisor *et al.*, 2022؛ Shakeri *et al.*, 2016؛ Weinder *et al.*, 2014). به‌طورکلی، پیکر رویشی خشک شده این گیاه معطر محتوای اسانس کمی دارد و حاوی ۰/۰۲ تا ۰/۴۰ درصد است (Silva *et al.*, 2021) که مقدار اسانس و ترکیبات تشکیل‌دهنده آن به‌طور معنی‌داری متاثر از مرحله رشد و نمو و وضعیت فیزیولوژیکی گیاه است (Twaij & Hasan, 2022). در مطالعات مختلف، اجزای اصلی اسانس بادرنجبویه متفاوت بوده است؛ برای نمونه، در پژوهشی نشان داده شد که مهمترین ترکیبات تشکیل‌دهنده به‌ترتیب سیترونلول، ترانس-کاروئول، گاما-۳-کارن، لینالول و سیترال بودند (Hedayati & Abdoli, 2021).

کیفیت گیاهان دارویی معمولاً با محتوای متابولیت‌های ثانویه آنها ارزیابی می‌شوند. با توجه به ظرفیت اقتصادی متابولیت‌های ثانویه در افزودنی‌های غذایی، دارویی، مواد مغذی و مواد شیمیایی کشاورزی، راهبردهای مختلفی برای افزایش تجمع آنها در منابع گیاهی مطرح شده است (Ali, 2021). استفاده از محرک‌های زیستی و غیر زیستی به‌عنوان مولکول‌های سیگنال می‌تواند یکی از راهبردهای مناسب و کارآمد برای بهبود تولید متابولیت‌های ثانویه ارزشمند باشد که منجر به فعال‌سازی ژن‌ها و آنزیم‌های دخیل در مسیرهای بیوسنتز متابولیت‌های ثانویه می‌شوند

(Kumari *et al.*, 2020 ؛Albayrak *et al.*, 2024). در حال حاضر، استفاده از محرک‌ها به دلیل هزینه کم و سادگی استفاده، به‌طور گسترده به‌کار می‌روند (Isah *et al.*, 2018).

اسید سالیسیلیک یا ۲-هیدروکسی بنزوئیک اسید ($C_7H_6O_3$) یک فیتوهورمون فنلی و مولکول سیگنال‌دهنده است که به‌عنوان یک تنظیم‌کننده مهم فرایندهای فیزیولوژیکی مختلف عمل می‌کند. همچنین به‌عنوان یک محرک کارآمد در تولید متابولیت‌های ثانویه، ازجمله اسانس‌ها، نقش مهمی ایفا می‌کند (Gorni *et al.*, 2020). در پژوهش‌های متعددی، اثر اسید سالیسیلیک به‌عنوان یک راهبرد بسیار قوی، مقرون به صرفه، سازگار با محیط‌زیست و سریع‌الاثر (Ali, 2021) برای افزایش سنتز و تجمع متابولیت‌های ثانویه در گیاهان دارویی مختلف تأیید شده است (Ahmadi *et al.*, 2018؛ Ghasemi Pirbalouti *et al.*, 2019؛ Hedayati & Abdoli, 2021؛ Mehrpooya *et al.*, 2021؛ Motiee & Abdoli, 2021).

عصاره مخمر یکی از محرک‌های زیستی است که می‌تواند منجر به بهبود تولید متابولیت‌های ثانویه شود. بسیاری از محققان اثر تحریک‌کنندگی عصاره مخمر به‌عنوان محرک زیستی را بر تولید متابولیت‌های ثانویه گیاهان مطالعه کرده‌اند (Hedayati & Abdoli, 2021؛ Mehrpooya *et al.*, 2021؛ Motiee & Abdoli, 2021؛ Pourianezhad *et al.*, 2019؛ Vasefpour *et al.*, 2025).

قارچ اندوفیت *Serendipita indica* قادر است با برقراری رابطه همزیستی با طیف گسترده‌ای از گیاهان عالی، باعث تحریک رشد گیاه میزبان، بهبود جذب مواد غذایی و افزایش مقاومت به تنش‌های زیستی و غیر زیستی شود (Ghabooli *et al.*, 2013)، همچنین سبب افزایش معنی‌دار صفات وزن تر و خشک اندام هوایی و ریشه، کلروفیل کل، کاروتنوئید، قند کل، پروتئین و نیتروژن گردد (Haghighat *et al.*, 2024). در مطالعات مختلف، نقش برجسته و با دامنه وسیع قارچ *S. indica* برای کاربردهای کشاورزی مورد تأکید قرار گرفته است (Jangir *et al.*, 2021). در پژوهشی، اثر مجزای عصاره کشت و هموژنایت سلولی قارچ *S. indica* بر تولید اسانس بادرنجبویه بررسی شده است (Kiani *et al.*, 2024). طبق دانش ما تا به حال اطلاعاتی در مورد اثر توام محلول‌پاشی برگی این محرک‌ها بر تولید اسانس بادرنجبویه وجود ندارد و اغلب نقش مفید همزیستی قارچ *S. indica* در بهبود عملکرد گیاهان مختلف مورد مطالعه قرار گرفته است. بر این اساس، در مطالعات محدود، اثرهای مثبت عصاره کشت استریل‌شده با فیلتر قارچ *S. indica* در کشت ریشه موئین کتان و درمنه در شرایط درون شیشه‌ای بررسی شده است (Ahlawat *et al.*, 2014؛ Kumar *et al.*, 2012).

به‌منظور تولید اقتصادی اسانس و ترکیبات اصلی تشکیل‌دهنده آن، استفاده بهینه از محرک‌ها در گیاهان دارویی ضروریست. بر همین اساس و با توجه به اینکه تاکنون بررسی واکنش گیاه دارویی بادرنجبویه به‌عنوان یک گیاه دارویی و معطر مهم به اثر توام چند محرک غیرزیستی و زیستی شامل اسید سالیسیلیک، عصاره مخمر، عصاره کشت و هموژنایت سلولی قارچ *S. indica* تعیین نشده است؛ این پژوهش با هدف بررسی اثر توام محلول‌پاشی این محرک‌ها بر محتوا و اجزای اصلی اسانس و برخی صفات فیزیولوژیکی بادرنجبویه در شرایط گلخانه شامل رنگیزه‌های فتوسنتزی (کلروفیل *a*، کلروفیل *b*، کلروفیل کل و کاروتنوئیدها)، پرولین، محتوای مالون‌دی‌آلدهید، قندهای محلول، فنل و فلاونوئید کل طراحی و اجرا شد.

مواد و روش‌ها

کشت گیاهان، قارچ اندوفیت و اعمال تیمارها

این پژوهش برای بررسی پاسخ‌های بیوشیمیایی و فیزیولوژیک گیاهان بادرنجبویه به اثر توام محرک‌های عصاره مخمر، اسید سالیسیلیک، عصاره کشت و هموژنایت سلولی قارچ *S. indica* به صورت طرح کاملاً تصادفی با ۳ تکرار در گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه ملایر اجرا شد. تیمارهای آزمایشی شامل محلول‌پاشی با آب مقطر (شاهد)، اسید سالیسیلیک (۳۲۰ میلی‌گرم در لیتر)، عصاره مخمر (۱ گرم در لیتر)، اثر توام اسید سالیسیلیک (۳۲۰ میلی‌گرم در لیتر)+عصاره مخمر (۱ گرم در لیتر)، اثر توام اسید سالیسیلیک (۳۲۰ میلی‌گرم در لیتر)+عصاره کشت (½ حجمی/حجمی)، اثر توام عصاره مخمر (۱ گرم در لیتر)+

عصاره کشت (½ حجمی/حجمی)، اثر توام اسید سالیسیلیک (۳۲۰ میلی‌گرم در لیتر)+هموژنایت سلولی (۴۰ و ۸۰ میلی‌گرم در لیتر)، اثر توام عصاره مخمر (۱ گرم در لیتر)+ هموژنایت سلولی (۴۰ و ۸۰ میلی‌گرم در لیتر)، اثر توام اسید سالیسیلیک (۳۲۰ میلی‌گرم در لیتر)+عصاره مخمر (۱ گرم در لیتر)+ هموژنایت سلولی (۴۰ و ۸۰ میلی‌گرم در لیتر)، اثر توام اسید سالیسیلیک (۳۲۰ میلی‌گرم در لیتر)+عصاره کشت (½ حجمی/حجمی)+هموژنایت سلولی (۴۰ میلی‌گرم در لیتر)، اثر توام عصاره مخمر (۱ گرم در لیتر)+عصاره کشت (½ حجمی/حجمی)+هموژنایت سلولی (۴۰ میلی‌گرم در لیتر) و اثر توام اسید سالیسیلیک (۳۲۰ میلی‌گرم در لیتر)+عصاره مخمر (۱ گرم در لیتر)+عصاره کشت (½ حجمی/حجمی)+ هموژنایت سلولی (۴۰ میلی‌گرم در لیتر) بود.

بذرهای بادرنجبویه از شرکت پاکان بذر تهیه شد (http://www.pakanbazr.com/). تعداد ۱۵-۱۰ بذر در گلدان‌های پلاستیکی با قطر دهانه ۲۰ سانتی‌متر و ارتفاع ۲۵ سانتی‌متر در بستری با ترکیب خاک زراعی، کود دامی پوسیده و ماسه بادی با نسبت وزنی ۱:۱:۱ به‌صورت سطحی کاشته شد و بلافاصله آبیاری انجام گردید. پس از جوانه‌زنی بذرها و استقرار گیاهچه‌ها (در مرحله ۴ برگی)، تعداد پنج بوته در هر گلدان نگهداری شد. گیاهان در شرایط گلخانه با نور طبیعی، دمای بین ۲۲ تا ۲۸ درجه سانتی‌گراد به‌ترتیب شبانه و روزانه و رطوبت نسبی حدود ۶۰ درصد رشد کردند. در مرحله حدود ۴۰ درصد گلدهی (Hedayati & Abdoli, 2021)، توسط محلول‌پاش دستی اقدام به محلول‌پاشی عصاره مخمر، اسید سالیسیلیک، عصاره کشت و هموژنایت سلولی اتوکلاو شده قارچ *S. indica* روی اندام‌های هوایی بادرنجبویه شد. غلظت عصاره مخمر و اسید سالیسیلیک براساس مطالعه قبلی انتخاب گردید (Hedayati & Abdoli, 2021). پنج روز پس از اعمال تیمار، نمونه‌گیری از اندام‌های هوایی گیاهان تیمارشده و گیاهان شاهد انجام شد.

در این پژوهش، صفات فیزیولوژیکی شامل میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی (کلروفیل *a*، کلروفیل *b*، کلروفیل کل و کاروتنوئیدها) مطابق با روش (Lichtenthaler, 1987)، محتوای پرولین به روش (Bates *et al.*, 1973)، محتوای مالون‌دی‌آلدهید (MDA) به روش (Heath & Paker, 1968)، قندهای محلول به روش (Irigoyen *et al.*, 1992)، فنل کل به روش (Ronald & Laima, 1999) و فلاونوئید کل به روش (Chang *et al.*, 2002) ارزیابی شدند.

تعیین میزان اسانس، جداسازی و شناسایی ترکیب‌های شیمیایی آن

برای اسانس‌گیری از گیاه بادرنجبویه، نمونه‌های گیاهی در سایه و دمای محیط به‌طور کامل خشک شدند. در ادامه، برگ و پیکره رویشی نمونه‌های گیاهی خرد و مخلوط گردیدند. از نمونه‌ها به وسیله دستگاه کلونجر و به روش تقطیر با آب، اسانس‌گیری شد. زمان اسانس‌گیری برای هر نمونه سه ساعت بود. درصد اسانس بر مبنای وزن خشک نمونه‌ها و بوسیله رابطه:

۱۰۰ × [وزن اندام‌های هوایی خشک (گرم)/ مقدار اسانس (میلی‌گرم)]= محتوای اسانس، محاسبه شد. میزان اسانس به صورت درصد نسبی (حجمی/وزنی) محاسبه شد. همچنین قبل از تعیین اجزاء، اسانس حاصل در شیشه‌های تیره رنگ و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری گردید. برای ارزیابی مواد مؤثره موجود در اسانس گیاه بادرنجبویه، از دستگاه کروماتوگراف گازی مدل Hewlett-Packard-5890 دارای سیستم تله یونی استفاده شد که در آن انرژی یونیزاسیون برابر ۷۰ الکترون ولت و درجه حرارت ۲۵۰ درجه سانتی‌گراد برای تولید منبع یون تنظیم گردید. رقیق کردن نمونه‌ها به روش شکافت با نسبت ۱۰۰:۱ انجام شد. ستون موئینه به طول ۵۰ متر، قطر داخلی ۰/۲۰ میلی‌متر، ضخامت فیلم ۲۵ میکرومتر و ذرات از جنس متیل سیلیکون با اتصال عرضی بودند. آشکارساز از نوع انتخابگر جرمی (HP-5970 mass-selective detector-USA) بود. برنامه‌ریزی حرارتی ستون از دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد شروع شد و به‌تدریج با شیب ۴ درجه سانتی‌گراد در دقیقه افزایش یافت تا به دمای ۲۵۰ درجه سانتی‌گراد رسید. از هلیوم ذکرشده خالص با سرعت عبور ۱ میلی‌لیتر در دقیقه به‌عنوان گاز حامل استفاده شد. شناسایی هر ترکیب به کمک زمان بازداری و جرم ثبت شده آنها انجام شد. محتوای نسبی ترکیبات اسانس (درصد) براساس سطح زیر منحنی هریک از پیک‌های

کروماتوگرام و مقایسه آن با سطح کل زیر منحنی تعیین شد (Li *et al.*, 2009 ؛Davies, 1990).

آماده‌سازی محرک‌ها

برای این منظور، عصاره مخمر در آب مقطر حل شد. مقدار وزن شده محلول اسید سالیسیلیک نیز در مقدار کمی اتانول حل شد و با آب مقطر به حجم نهایی رسید. از عصاره کشت و هموژنایت سلولی اتوکلاو شده قارچ *S. indica* (شناسه DSM11827) که از آزمایشگاه ژنتیک و تولید گیاهی دانشکده کشاورزی دانشگاه ملایر تهیه شده بود استفاده شد. قـارچ اندوفیت *S. indica* به‌مدت ۴ هفته در دمای ۲±۲۸ درجه سانتی‌گراد بـر روی محـیط کشـت پیچیده جامد (محیط کشت آسپرژیلوس تغییریافته حاوی عناصر پرمصرف، کم‌مصرف، عصاره مخمر، پپتون و کازئین هیدرولیزات) کشت داده شد (Ghabooli *et al.*, 2013). برای تهیه میسلیوم، دیسک‌های فعال قارچ به ارلن‌های حاوی ۱۰۰ میلی‌لیتر محیط کشت Hill و Käfer (۲۰۰۱) مایع انتقال یافتند و به‌مدت ۱۰-۷ روز در دمای ۲± ۲۸ درجه سانتی‌گراد روی دستگاه شیکر (۱۵۰ دور در دقیقه) رشد کردند. سپس ارلن‌ها به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد اتوکلاو شدند. توده سلولی توسط کاغذ صافی واتمن شماره ۱ از محیط کشت مایع جدا شد و پس از شستشو با آب مقطر، در دمای اتاق و تاریکی خشک و با هاون به‌خوبی پودر شدند. سوسپانسیون میسلیوم به‌عنوان هموژنایت سلولی و محیط کشت اتوکلاو شده قارچ در ترکیب با آب مقطر به عنوان عصاره کشت استفاده شد.

تجزیه‌وتحلیل آماری

این پژوهش در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۱۵ تیمار و سه تکرار در شرایط گلخانه اجرا شد. تجزیه آماری داده‌ها به کمک نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۶ و مقایسه میانگین تیمارها با آزمون چند دامنه دانکن (در سطح احتمال ۱ درصد) انجام گردید. رسم نمودار به کمک Excel 2013 انجام شد. برای رسم نقشه حرارتی و نشان دادن الگوی ارتباطی میان تیمارهای اعمال شده با صفات مورد مطالعه، از نرم‌افزار ClustVis (https:llbiit.cs.ut.ee/clustvisl) و از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۶ برای تعیین ضرایب همبستگی پیرسون استفاده شد.

نتایج

اثر محرک‌ها بر محتوای اسانس بادرنجبویه

اسانس استخراج شده از اندام‌های هوایی گیاه بادرنجبویه مایعی شفاف و زرد رنگ بود. میزان اسانس تیمارهای مورد مطالعه براساس وزن خشک بین ۰/۲۱ تا ۰/۳۵ درصد (حجمی/وزنی) متغیر بود. تجزیه آماری نشان داد که از نظر محتوای اسانس، تفاوت بسیار معنی‌داری در سطح احتمال ۱ درصد بین تیمارها وجود دارد (داده‌ها نشان داده نشده است). نتایج مقایسه میانگین‌ها نشان داد که افشانه برگی اسید سالیسیلیک، عصاره مخمر، عصاره کشت و هموژنایت سلولی قارچ *S. indica* به صورت توام، محتوای اسانس بادرنجبویه را افزایش داد (جدول ۱). بیشترین میزان تجمع اسانس (۰/۳۵ درصد) در محلول‌پاشی برگی با تیمار ترکیبی ۳۲۰ میلی‌گرم در لیتر اسید سالیسیلیک+۱ گرم در لیتر عصاره مخمر+ ½ عصاره کشت+۴۰ میلی‌گرم در لیتر هموژنایت سلولی مشاهده شد و کمترین آن در تیمار شاهد (بدون محرک) با ۰/۲۱ درصد بدست آمد که در مقایسه با شاهد ۶۳ درصد افزایش یافت.

اثر محرک‌ها بر ترکیبات اسانس بادرنجبویه

ترکیبات تشکیل‌دهنده اسانس برگ و شاخساره گلدار گیاه دارویی بادرنجبویه در جدول ۱ ارائه شده است. تعداد ۳۸ ترکیب از اجزای تشکیل‌دهنده اسانس این گیاه تحت محلول‌پاشی توام اسید سالیسیلیک، عصاره مخمر، عصاره کشت و هموژنایت سلولی قارچ *S. indica* شناسایی گردید که میزان درصد آنها در تیمارهای مذکور در جدول ۱ نشان داده شده است. نتایج این پژوهش نشان داد که براساس میزان درصدشان به‌ترتیب سیترونلال (۶/۱ تا ۱۳/۵ درصد)، ترانس-کاروئول (۵ تا ۱۰/۶ درصد)، سیترال (۳/۹ تا ۱۰/۱ درصد)، لینالول (۴/۲ تا ۹/۳ درصد) و گاما-۳-کارن (۴/۲ تا ۹/۲ درصد) پنج ترکیب عمده موجود در اسانس بادرنجبویه در شرایط گلخانه را تشکیل داده بودند. در این مطالعه، سیترونلال با ۱۳/۵ درصد ترکیب اصلی اسانس را تشکیل داد.

نتایج جدول تجزیه واریانس نشان داد که اثر توام تیمارهای آزمایشی بر میزان ۳۸ ترکیب اسانس بادرنجبویه

شامل: سیترونلال، ترانس-کاروئول، سیترال، لینالول، گاما-۳-کارن، ۳،۱-اکتادین، آلفا-پینن، ۱، اکتن-۳-اول، میرسن، آلفا فلاندرن، پارا-سیمن، لیمونن، اوکالیپتول، ۶،۳،۱-اکتاترین، گاما-ترپینن، سیس-سابینن، ۳-متیل-۲ (متیل-۲-۲ بوتنیل)، بتا توژان، ۵-هپتن-۱-اول، بای سیکلوهپتانون، ایزوپولگل، ایزوبورنول، سیترونلول، منتاترین، ۶،۳-اکتادینوئیک اسید، تیمول، کارواکرول، کارواکرول استات، بتاکاریوفیلن، اپوکسید کاریوفیلن، کالامن، الفا-هومولن، جرماکرن-دی، بتا-ایونون، بتا-بیزابولن، اوژنول، آلفا-مورولن و بتاکوبین در سطح احتمال ۱ درصد بسیار معنی‌دار بود (داده‌ها نشان داده نشده است؛ بازه ضریب تغییرات کمتر از ۱۰ درصد بوده است). مقایسه میانگین اثر محلول‌پاشی توام محرک‌های عصاره مخمر، اسید سالیسیلیک، عصاره کشت و هموژنایت سلولی قارچ *S. indica* بر اجزای اسانس (درصد) در بادرنجبویه در شکل ۱ و جدول ۱ ارائه شده است.

در این پژوهش، از ترکیبات شناسایی شده در اسانس بادرنجبویه، فقط روند تغییرات میزان پنج ترکیب عمده (یا نسبتاً عمده) که فراوانی بیشتری داشتند توضیح داده شد. نتایج نشان داد که میزان سیترونلال از ۶/۱ درصد تا ۱۳/۵ درصد متغیر بوده است. نتایج مقایسه میانگین‌ها (شکل ۱) نشان داد که در تیمارهای مختلف، مقدار سیترونلال نسبت به شاهد افزایش یافت، به گونه‌ای که بیشینه مقدار سیترونلال (۱۳/۵ درصد) در گیاهان تیمار شده با ۳۲۰ میلی‌گرم در لیتر اسید سالیسیلیک+۱ گرم در لیتر عصاره مخمر+ ½ عصاره کشت+۴۰ میلی‌گرم در لیتر هموژنایت سلولی به‌دست آمد (افزایش ۲/۲ برابری نسبت به گیاهان شاهد). پس از آن، تیمار ترکیبی ۳۲۰ میلی‌گرم در لیتر اسید سالیسیلیک+½ عصاره کشت+۴۰ میلی‌گرم در لیتر هموژنایت سلولی (۱۲/۶ درصد) قرار داشت. کمترین میزان تولید سیترونلال در شاهد (۶/۱ درصد) مشاهده شد. همچنین نتایج نشان داد که عصاره کشت و هموژنایت سلولی قارچ *S. indica* در ترکیب با اسید سالیسیلیک و عصاره مخمر باعث افزایش معنی‌دار محتوای سیترونلال نسبت به استفاده مجزای اسید سالیسیلیک و عصاره مخمر و نیز شاهد شد.

مقایسه میانگین اثر تیمارهای مختلف روی ترانس-کاروئول نشان داد که میزان آن از ۵ درصد تا ۱۰/۶ درصد متغیر بوده است (شکل ۱). نتایج نشان داد در مقایسه با شاهد، مقدار ترانس-کاروئول در تیمارهای اعمال شده افزایش معنی‌داری پیدا کرده است. بیشترین محتوای ترانس-کاروئول در تیمارهای ۳۲۰ میلی‌گرم در لیتر اسید سالیسیلیک+۱ گرم در لیتر عصاره مخمر+½ عصاره کشت+۴۰ میلی‌گرم در لیتر هموژنایت سلولی و ۳۲۰ میلی‌گرم در لیتر اسید سالیسیلیک+½ عصاره کشت+۴۰ میلی‌گرم در لیتر هموژنایت سلولی به‌ترتیب با ۱۰/۶ و ۱۰ درصد بدست آمده است که در مقایسه با شاهد به ترتیب ۲/۱۲ و ۲ برابر افزایش یافتند. کمترین محتوای ترانس-کاروئول مربوط به شاهد (۵ درصد) بود. همچنین نتایج نشان داد که اسید سالیسیلیک به‌صورت مجزا و یا توام با ۴۰ میلی‌گرم در لیتر هموژنایت سلولی به‌ترتیب نسبت به عصاره مخمر به‌صورت مجزا و یا توام با ۴۰ میلی‌گرم در لیتر هموژنایت سلولی باعث افزایش میزان ترانس-کاروئول شد.

نتایج این پژوهش نشان داد که میزان سیترال از ۳/۹ درصد تا ۱۰/۱ درصد و لینالول از ۴/۲ درصد تا ۹/۳ درصد متغیر بوده است. همچنین در مقایسه با شاهد، مقدار سیترال و لینالول در تیمارهای اعمال شده افزایش معنی‌داری پیدا کردند. براساس نتایج حاصل از مقایسه میانگین تیمارها، بیشترین محتوای سیترال (۱۰/۱ درصد) و لینالول (۹/۳ درصد) مربوط به تیمار ۳۲۰ میلی‌گرم در لیتر اسید سالیسیلیک+۱ گرم در لیتر عصاره مخمر+ ½ عصاره کشت+۴۰ میلی‌گرم در لیتر هموژنایت سلولی بود که در مقایسه با شاهد به ترتیب ۲/۵۹ و ۲/۲۱ برابر افزایش یافتند (شکل ۱) و کمترین آنها مربوط به تیمار شاهد (بدون محرک) بود. پس از آن، تیمار ۳۲۰ میلی‌گرم در لیتر اسید سالیسیلیک+½ عصاره کشت+۴۰ میلی‌گرم در لیتر هموژنایت سلولی بیشترین اثر افزاینده بر مقدار این دو ترکیب عمده اسانس را داشت. همچنین در تیمارهای ترکیبی هموژنایت سلولی و نیز عصاره کشت با عصاره مخمر و اسید سالیسیلیک، در مقایسه با استفاده مجزا از عصاره مخمر و اسید سالیسیلیک، این دو ترکیب عمده اسانس بادرنجبویه افزایش پیدا کردند.

نتایج نشان داد که میزان گاما-۳-کارن از ۹/۲ درصد تا ۴/۲ درصد متغیر بوده است. برخلاف چهار ترکیب عمده اسانس که اشاره شد، تیمار ۳۲۰ میلی‌گرم در لیتر اسید سالیسیلیک+۱ گرم در لیتر عصاره مخمر+ ½ عصاره کشت+۴۰ میلی‌گرم در لیتر هموژنایت سلولی بیشترین اثر منفی را بر مقدار گاما-۳-کارن داشت، به‌طوری‌که نسبت به شاهد ۲/۱۹ برابر کاهش پیدا کرد. بیشترین میزان تولید گاما-۳-کارن (۹/۲ درصد) در گیاهان تیمار شده با آب مقطر (شاهد) به‌دست آمد. نتایج نشان داد که در همه تیمارها، مقدار گاما-۳-کارن نسبت به شاهد کاهش یافت.

نتایج نشان داد که عصاره کشت اثر مثبت بر مقدار بیشتر ترکیبات عمده اسانس دارد. برای نمونه، در تیمار ترکیبی ½ عصاره کشت با اسید سالیسیلیک، مقدار سیترونلال، ترانس-کاروئول، سیترال و لینالول در مقایسه با تیمار مجزای اسید سالیسیلیک به ترتیب ۱۹، ۱۹، ۲۲ و ۱۵ درصد افزایش یافتند. همچنین در تیمار ترکیبی ۴۰ میلی‌گرم در لیتر هموژنایت سلولی با اسید سالیسیلیک، مقدار سیترونلال، ترانس-کاروئول، سیترال و لینالول در مقایسه با تیمار مجزای اسید سالیسیلیک به‌ترتیب ۳۰، ۲۱، ۳۰ و ۲۳ درصد افزایش یافتند.

اثر محرک‌ها بر برخی شاخص‌های فیزیولوژیکی بادرنجبویه

نتایج آنالیز واریانس نشان داد که اثر توام اسید سالیسیلیک، عصاره مخمر، عصاره کشت و هموژنایت سلولی قارچ *S. indica* در سطح احتمال ۱ درصد بر میزان قندهای محلول، محتوای مالون‌دی‌آلدهید، پرولین و فلاونوئیدها معنی‌دار بود. با این حال، اثر این تیمارها بر محتوای کلروفیل *a*، کلروفیل *b*، کلروفیل کل و کاروتنوئیدها در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار نیست (جدول ۲) (داده‌ها نشان داده نشده است). به‌عبارت دیگر، نتایج این آزمایش نشان داد تفاوت معنی‌داری بین میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی در گیاهان تحت تأثیر توام اسید سالیسیلیک، عصاره مخمر، عصاره کشت و هموژنایت سلولی اتوکلاو شده این قارچ اندوفیت با شاهد در شرایط انجام این تحقیق وجود نداشت (جدول ۲). میزان کلروفیل *a*، کلروفیل *b*، کلروفیل کل و کاروتنوئیدها در تیمار شاهد، به‌ترتیب ۱/۰۶، ۰/۶۰، ۲/۲۷ و ۰/۶۸ میلی‌گرم بر گرم وزن تر ثبت شد.

تأثیر توام محرک‌های زیستی و غیرزیستی بر میزان قندهای محلول در جدول ۲ نشان داده شده است. همان‌طور که در جدول قابل مشاهده است، بیشترین مقدار قند محلول در تیمار ۳۲۰ میلی‌گرم در لیتر اسید سالیسیلیک (۴۹/۹۲ میلی‌گرم در گرم وزن تر) مشاهده شد که نسبت به شاهد ۵۴ درصد افزایش نشان داد. استفاده توام با ۸۰ و ۴۰ میلی‌گرم در لیتر هموژنایت سلولی در رتبه‌های بعدی افزایش میزان قند محلول نسبت به شاهد می‌باشند. نتایج نشان می‌دهد در شرایط انجام این تحقیق، محلول‌پاشی با عصاره مخمر به‌صورت مجزا و یا توام با ۴۰ و ۸۰ میلی‌گرم در لیتر هموژنایت سلولی و نیز توام با عصاره کشت اثر مثبتی بر میزان قندهای محلول نداشته است. اثر مثبت اسید سالیسیلیک نسبت به عصاره مخمر برای این صفت مشهود می‌باشد.

طبق نتایج تجزیه آماری، اثر برخی تیمارهای این چهار محرک بر محتوای مالون‌دی‌آلدهید به‌عنوان شاخص تنش اکسیداتیو و آسیب به غشاها در مقایسه با شاهد در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود. نتایج مقایسه میانگین داده‌ها نشان می‌دهد (جدول ۲) افشانه برگی با اسید سالیسیلیک و عصاره مخمر، باعث شد محتوای مالون‌دی‌آلدهید در مقایسه با شاهد به‌ترتیب ۱/۶۹ و ۱/۷۱ برابر افزایش یابد. بیشترین محتوای مالون‌دی‌آلدهید در گیاهان محلول‌پاشی شده با تیمارهای ۳۲۰ میلی‌گرم در لیتر اسید سالیسیلیک به‌همراه ۸۰ و ۴۰ میلی‌گرم در لیتر هموژنایت سلولی مشاهده شد که به‌ترتیب ۲/۲۵ و ۲/۰۴ برابر بیشتر از مقدار حاصل در گیاهان شاهد بود. کمترین محتوای مالون‌دی‌آلدهید مربوط به شاهد (۰/۴۸ میکرومول در گرم وزن تر) بود. همچنین نتایج بدست آمده نشان داد که محتوای مالون‌دی‌آلدهید در گیاهان محلول‌پاشی شده با هموژنایت سلولی قارچ *S. indica* به‌طور ترکیبی با اسید سالیسیلیک و عصاره مخمر بیش از گیاهان شاهد بود. نتایج نشان داد محلول‌پاشی با ½ عصاره کشت در مقایسه با هموژنایت سلولی، اثر مثبت و افزایشی بر محتوای مالون‌دی‌آلدهید نداشته است. به‌عبارت دیگر، تیمارهای توام هموژنایت سلولی نسبت به تیمارهای ترکیبی عصاره کشت،

باعث افزایش بیشتر غلظت مالون‌دی‌آلدهید گردید.

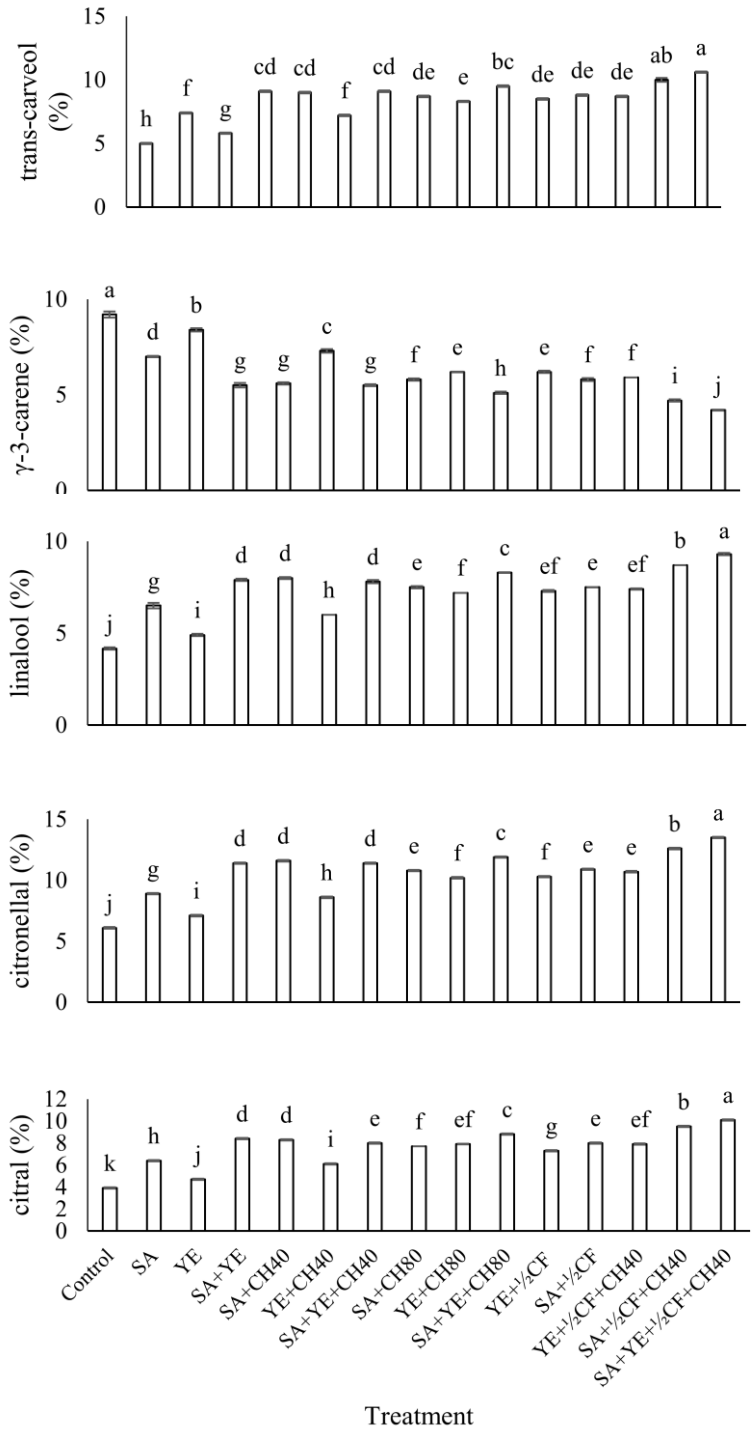
جدول مقایسه میانگین اثر محرک‌های زیستی و غیرزیستی بر محتوای پرولین نشان داد که بیشترین محتوای پرولین مربوط به افشانه برگی با ۱ گرم در لیتر عصاره مخمر (۱/۳۸ میکرومول در گرم وزن تر) و کمترین میزان آن (۰/۸۶ میکرومول در گرم وزن تر) مربوط به تیمار شاهد بود. این تیمار نسبت به شاهد، ۶۰ درصد میزان پرولین را افزایش داد. همچنین براساس نتایج حاصل از مقایسه میانگین تیمارها، اثر توام ۱ گرم در لیتر عصاره مخمر با ۳۲۰ میلی‌گرم در لیتر اسید سالیسیلیک، با ۴۰ میلی‌گرم در لیتر هموژنایت سلولی و نیز توام با عصاره کشت از لحاظ آماری با اثر مجزای عصاره مخمر اختلاف معنی‌داری نداشت و بیشترین محتوای پرولین بدست آمد. نتایج حاصل از این بررسی نشان داد که تمامی تیمارهای ترکیبی عصاره مخمر به‌طور معنی‌داری بر صفت محتوای پرولین اثر گذاشت که این اثر در هریک از تیمارها بر روی این صفت متفاوت بود.

نتایج این پژوهش نشان داد تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد بین مقدار فنل کل در گیاهان تحت تیمارهای مذکور و گیاهان شاهد در شرایط این تحقیق وجود نداشت. نتایج این آزمایش نشان داد اثر برخی تیمارهای این چهار محرک بر محتوای فلاونوئیدها در مقایسه با شاهد در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود. تیمار توام ۱ گرم در لیتر عصاره مخمر با ۳۲۰ میلی‌گرم در لیتر اسید سالیسیلیک بیشترین اثر را بر محتوای فلاونوئیدها داشت (۲/۳۱ برابر بیشتر از شاهد). همچنین جدول مقایسه میانگین نشان داد که در رتبه بعد، حداکثر مقدار این صفت، در تیمارهای اثر توام ۱ گرم در لیتر عصاره مخمر با ۴۰ میلی‌گرم در لیتر هموژنایت سلولی (۱/۷۹ میلی‌گرم در گرم وزن تر) و اثر ترکیبی عصاره مخمر با اسید سالیسیلیک و ۸۰ میلی‌گرم در لیتر هموژنایت سلولی (۱/۶۹ میلی‌گرم در گرم وزن تر) بدست آمد. مشاهده شد تفاوت معنی‌داری بین سایر تیمارها با شاهد برای صفت محتوای فلاونوئید کل وجود نداشت، به‌عبارتی اثر مثبتی بر افزایش مقدار این صفت نداشتند.

آنالیز همبستگی

به‌منظور تجزیه‌وتحلیل همبستگی بین شاخص‌های مورد ارزیابی شامل محتوای اسانس، ده ترکیب عمده یا نسبتاً عمده آن و برخی صفات فیزیولوژیکی گیاه بادرنجبویه که با اسید سالیسیلیک، عصاره مخمر، عصاره کشت و هموژنایت سلولی قارچ *S. indica* به‌صورت توام محلول‌پاشی شده بودند، از روش پیرسون استفاده شد که به‌خوبی همبستگی صفات را نمایان کرد (جدول ۳). میزان اسانس، همبستگی مثبت و معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد با ترکیبات عمده اسانس شامل لینالول ($r=۰/۹۸۵^{**}$)، ترانس-کاروئول ($r=۰/۹۸۳^{**}$)، سیترونلال ($r=۰/۹۸۸^{**}$) و سیترال ($r=۰/۹۸۴^{**}$) نشان داد. همچنین یک همبستگی منفی و معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد بین محتوای اسانس با آلفا-پینن ($r=-۰/۶۲۳^{**}$)، گاما-۳-کارن ($r=-۰/۹۹۰^{**}$)، لیمونن ($r=-۰/۷۴۷^{**}$)، ایزوپولگول ($r=-۰/۶۸۴^{**}$)، تیمول ($r=-۰/۷۲۵^{**}$) و جرماکرن دی ($r=-۰/۶۶۸^{**}$) وجود داشت. همبستگی منفی و معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد بین میزان اسانس و کلروفیل *b* و کل نیز مشاهده شد. سیترونلال به‌عنوان عمده‌ترین ترکیب شیمیایی اسانس بادرنجبویه در شرایط این تحقیق، بیشترین همبستگی مثبت و معنی‌دار را به‌ترتیب با ترکیبات لینالول ($r=۰/۹۹۳^{**}$) و ترانس-کاروئول ($r=۰/۹۸۵^{**}$) و بیشترین همبستگی منفی و معنی‌دار را با گاما-۳-کارن ($r=-۰/۹۹۴^{**}$) نشان داد. سیترال به‌عنوان یکی از اجزای اصلی اسانس بادرنجبویه که باعث ایجاد بویی شبیه لیمو می‌شود با لینالول ($r=۰/۹۹۱^{**}$)، ترانس-کاروئول ($r=۰/۹۸۰^{**}$) و سیترونلال ($r=۰/۹۹۱^{**}$) همبستگی مثبت و با گاما-۳-کارن ($r=-۰/۹۹۱^{**}$)، لیمونن ($r=-۰/۷۲۶^{**}$) و ایزوپولگول ($r=-۰/۶۹۰^{**}$) همبستگی منفی داشت.

بررسی روابط همبستگی (جدول ۳) نشان داد بین میزان اسانس و صفات فیزیولوژیکی مورد مطالعه، پنج روز پس از اعمال تیمارها همبستگی مثبت یا منفی معنی‌داری وجود ندارد. همچنین نتایج نشان می‌دهد همبستگی مثبت و منفی معنی‌داری بین اجزای عمده اسانس وجود دارد ولی همبستگی بین این صفات فیزیولوژیکی کم و اغلب غیر معنی‌دار می‌باشد.



شکل ۱- مقایسه میانگین اثر توام اسید سالیسیلیک، عصاره مخمر، عصاره کشت و هموژنایت سلولی قارچ ***Serendipita indica*** بر مقدار ترکیبات اصلی اسانس بادرنجبویه

Figure 1. Mean comparison of the combined effect of salicylic acid, yeast extract, culture filtrate, and cell homogenate of *Serendipita indica* on the content of *Mellisa officinalis* essential oil main compounds
Control: Distilled water, SA: Salicylic acid (320 mg.l^{-1}), YE: Yeast extract (1 g.l^{-1}), CF: Culture filtrate (*v/v*), and CH: Fungal cell homogenate (mg.l^{-1}).
Means with common letters are in the same statistical group at 5% probability level (Duncan test).

جدول ۱- مقایسه میانگین اثر توام اسید سالیسیلیک، عصاره مخمر، عصاره کشت و هموژنایت سلولی قارچ ***Serendipita indica*** بر اجزای اسانس بادرنجبویه

Table 1. Mean comparison of the combined effect of salicylic acid, yeast extract, culture filtrate, and cell homogenate of *Serendipita indica* on the content of *Mellisa officinalis* essential oil compounds

Treatment	Essential oil compound (%)								
	1,3-octadiene	***α*-pinene**	**1-octen-3-ol**	**myrcene**	***α*-phellandrene**	***p*-cymene**	**limonene**	**1,8-cineole**	**1,3,6,-octatriene**
Control	1.60 ±0.06^{bc}	3.10 ±0.06^{a}	1.80 ±0.02^{ab}	2.50 ±0.00^{bc}	2.70 ±0.07^{bc}	2.10 ±0.03^{bc}	3.60 ±0.10^{a}	1.70 ±0.02^{cd}	2.00 ±0.09^{ab}
SA_{320}	1.90 ±0.06^{a}	3.10 ±0.06^{a}	1.50 ±0.06^{c-e}	2.10 ±0.10^{de}	2.60 ±0.02^{b-d}	2.20 ±0.03^{ab}	2.80 ±0.06^{b}	1.80 ±0.03^{bc}	1.60 ±0.06^{cd}
YE_1	1.30 ±0.05^{de}	2.60 ±0.05^{b}	1.70 ±0.06^{bc}	2.60 ±0.00^{b}	3.30 ±0.30^{a}	2.40 ±0.03^{a}	2.50 ±0.10^{b-d}	2.20 ±0.06^{a}	1.80 ±0.00^{bc}
$SA_{320}+YE_1$	1.60 ±0.03^{bc}	2.30 ±0.00^{cd}	1.40 ±0.06^{de}	2.00 ±0.10^{e}	1.70 ±0.01^{f}	1.80 ±0.09^{de}	2.10 ±0.01^{e-g}	1.30 ±0.01^{ef}	1.20 ±0.06^{e}
$SA_{320}+CH_{40}$	1.50 ±0.06^{b-d}	2.10 ±0.06^{de}	1.60 ±0.00^{b-d}	2.40 ±0.00^{b-d}	2.30 ±0.05^{c-e}	1.60 ±0.06^{e}	2.30 ±0.06^{c-f}	1.15 ±0.02^{f}	2.00 ±0.06^{ab}
YE_1+CH_{40}	1.70 ±0.00^{ab}	2.60 ±0.05^{b}	1.80 ±0.06^{ab}	1.90 ±0.06^{e}	2.70 ±0.06^{bc}	2.40 ±0.10^{a}	2.60 ±0.09^{bc}	1.80 ±0.04^{bc}	2.10 ±0.09^{a}
$SA_{320}+YE_1+CH_{40}$	1.30 ±0.05^{de}	2.30 ±0.05^{cd}	1.70 ±0.02^{bc}	2.50 ±0.06^{bc}	2.90 ±0.07^{b}	1.80 ±0.10^{de}	1.70 ±0.03^{h}	1.90 ±0.06^{bc}	1.40 ±0.06^{de}
$SA_{320}+CH_{80}$	1.50 ±0.06^{b-d}	2.00 ±0.06^{e}	1.40 ±0.06^{de}	2.00 ±0.20^{e}	2.30 ±0.08^{c-e}	2.40 ±0.05^{a}	2.00 ±0.02^{f-h}	1.50 ±0.04^{de}	1.60 ±0.06^{cd}
YE_1+CH_{80}	1.70 ±0.06^{ab}	2.06 ±0.06^{b}	1.90±0.04 ^{a}	2.40 ±0.06^{b-d}	2.60 ±0.09^{b-d}	1.60 ±0.02^{e}	2.20 ±0.02^{d-g}	1.80 ±0.10^{bc}	1.30 ±0.02^{e}
$SA_{320}+YE_1+CH_{80}$	1.40 ±0.03^{c-e}	2.40 ±0.00^{bc}	1.60 ±0.04^{b-d}	1.90 ±0.01^{e}	2.00 ±0.06^{ef}	1.80 ±0.01^{de}	1.70 ±0.16^{h}	2.00 ±0.05^{ab}	1.70 ±0.01^{c}
YE_1+½CF	1.20 ±0.06^{e}	2.60 ±0.12^{b}	1.50 ±0.03^{de}	3.00 ±0.20^{a}	1.70 ±0.09^{f}	2.20 ±0.10^{ab}	2.40 ±0.01^{c-e}	1.80 ±0.02^{bc}	1.60 ±0.07^{cd}
SA_{320}+½CF	1.60 ±0.01^{bc}	2.10 ±0.06^{de}	1.40 ±0.03^{e}	2.50 ±0.06^{bc}	2.30 ±0.02^{c-e}	1.90 ±0.06^{cd}	2.10 ±0.06^{e-g}	1.50 ±0.03^{de}	1.20 ±0.06^{e}
YE_1+½CF+CH_{40}	1.70 ±0.09^{ab}	2.30 ±0.00^{cd}	1.70 ±0.06^{bc}	2.20 ±0.06^{c-e}	2.80 ±0.03^{b}	1.60 ±0.03^{e}	1.90 ±0.03^{gh}	2.20 ±0.02^{a}	2.00 ±0.06^{ab}
SA_{320}+½CF+CH_{40}	1.30 ±0.02^{de}	2.00 ±0.11^{e}	1.60 ±0.06^{b-d}	2.60 ±0.04^{b}	2.20 ±0.05^{de}	1.80 ±0.03^{de}	2.60 ±0.10^{bc}	1.70 ±0.10^{cd}	1.40 ±0.06^{de}
$SA_{320}+YE_1$+½CF+CH_{40}	1.50 ±0.06^{b-d}	2.60 ±0.04^{b}	1.40 ±0.06^{de}	2.10 ±0.00^{de}	2.50 ±0.06^{b-d}	2.00 ±0.06^{b-d}	1.70 ±0.05^{h}	1.30 ±0.08^{ef}	1.70 ±0.03^{c}
Retention time (min)	7.6	9.8	10.5	11.0	11.8	12.2	12.6	12.9	13.5
Retention index (RI)	948	1013	1034	1048	1071	1082	1094	1102	1116

Treatment	***γ*-terpinene**	**cis-sabinene**	**3-methyl-2(methyl-2-2butenyl acetat)**	***β*-thujone**	**5-hepten-1-ol**	**bicyclo[2.2.1] heptan-2-one**	**isopulegol**	**isoborneol**	**citronellol**
Control	2.60 ±0.06^{a}	1.90 ±0.06^{ab}	1.70 ±0.00^{d}	2.80 ±0.00^{a}	1.90 ±0.06^{ab}	2.50 ±0.06^{a}	3.10 ±0.06^{a}	2.60 ±0.06^{a}	2.10 ±0.06^{cd}
SA_{320}	2.00 ±0.06^{cd}	1.60 ±0.09^{cd}	2.20 ±0.10^{ab}	2.40 ±0.06^{b}	2.20 ±0.06^{a}	1.90 ±0.06^{cd}	2.60 ±0.06^{b}	2.20 ±0.01^{bc}	2.40 ±0.10^{ab}
YE_1	2.50 ±0.03^{a}	1.90 ±0.06^{ab}	2.40 ±0.02^{a}	2.70 ±0.06^{a}	1.80 ±0.06^{bc}	2.10 ±0.06^{bc}	2.20 ±0.06^{c}	1.60 ±0.06^{e}	2.50 ±0.06^{a}
$SA_{320}+YE_1$	1.80 ±0.06^{de}	1.70 ±0.06^{b-d}	1.80 ±0.06^{cd}	1.60 ±0.00^{d}	1.20 ±0.06^{d}	1.70 ±0.06^{de}	1.40 ±0.08^{f}	2.60 ±0.06^{a}	1.90 ±0.08^{de}
$SA_{320}+CH_{40}$	1.60 ±0.00^{ef}	1.50 ±0.03^{d}	1.40 ±0.00^{ef}	2.00 ±0.06^{c}	1.50 ±0.10^{cd}	2.10 ±0.05^{bc}	1.60 ±0.06^{d-f}	2.20 ±0.08^{bc}	1.70 ±0.06^{e-g}
YE_1+CH_{40}	2.40 ±0.09^{ab}	1.70 ±0.06^{b-d}	2.40 ±0.06^{a}	1.90 ±0.06^{c}	2.20 ±0.06^{a}	2.40 ±0.06^{a}	2.10 ±0.03^{c}	2.00 ±0.06^{cd}	1.80 ±0.05^{ef}

Treatment	γ-terpinene	cis-sabinene	3-methyl-2(methyl-2-2butenyl acetat)	β-thujone	5-hepten-1-ol	bicyclo[2.2.1] heptan-2-one	isopulegol	isoborneol	citronellol
$SA_{320}+YE_1+CH_{40}$	1.70 ±0.06^{ef}	1.50 ±0.00^{d}	1.20 ±0.04^{f}	1.60 ±0.03^{d}	1.90 ±0.06^{ab}	1.50 ±0.05^{e}	1.70 ±0.06^{de}	1.60 ±0.03^{e}	1.40 ±0.10^{h}
$SA_{320}+CH_{80}$	2.00 ±0.05^{cd}	1.70 ±0.04^{b-d}	2.20 ±0.06^{ab}	2.00 ±0.10^{c}	1.60 ±0.10^{bc}	2.30 ±0.06^{ab}	1.60 ±0.06^{d-f}	2.10 ±0.10^{bc}	1.60 ±0.06^{f-h}
YE_1+CH_{80}	2.20 ±0.06^{bc}	1.60 ±0.06^{cd}	2.00 ±0.00^{bc}	1.60 ±0.02^{d}	1.80 ±0.06^{bc}	2.00 ±0.06^{c}	1.80 ±0.06^{d}	1.80 ±0.09^{de}	1.50 ±0.00^{gh}
$SA_{320}+YE_1+CH_{80}$	1.60 ±0.04^{ef}	1.80 ±0.05^{a-c}	1.90 ±0.02^{cd}	1.40 ±0.06^{d}	1.30 ±0.06^{d}	1.70 ±0.10^{de}	2.20 ±0.07^{c}	1.60 ±0.06^{e}	1.90 ±0.03^{de}
YE_1+½CF	2.40 ±0.06^{ab}	1.80 ±0.06^{a-c}	2.20 ±0.05^{ab}	2.00 ±0.06^{c}	1.80 ±0.06^{bc}	2.00 ±0.06^{c}	1.70 ±0.05^{de}	2.00 ±0.06^{cd}	1.90 ±0.06^{de}
SA_{320}+½CF	1.80 ±0.06^{de}	1.60 ±0.06^{cd}	1.30 ±0.06^{ef}	1.90 ±0.04^{c}	2.20 ±0.06^{a}	2.10 ±0.05^{bc}	2.50 ±0.02^{b}	2.30 ±0.06^{b}	2.60 ±0.10^{a}
YE_1+½CF+CH_{40}	1.50 ±0.02^{f}	1.50 ±0.00^{d}	2.30 ±0.05^{a}	1.60 ±0.06^{d}	1.20 ±0.06^{d}	1.60 ±0.06^{e}	2.20 ±0.06^{c}	2.10 ±0.10^{bc}	2.30 ±0.03^{bc}
SA_{320}+½CF+CH_{40}	2.10 ±0.05^{c}	2.00 ±0.10^{a}	1.50 ±0.06^{e}	1.40 ±0.06^{d}	1.50 ±0.06^{cd}	2.00 ±0.10^{c}	1.70 ±0.06^{de}	1.70 ±0.03^{e}	1.80 ±0.06^{f-h}
$SA_{320}+YE_1$+½CF+CH_{40}	1.60 ±0.06^{ef}	1.50 ±0.06^{d}	1.20 ±0.05^{f}	1.50 ±0.03^{d}	1.90 ±0.03^{ab}	1.70 ±0.06^{de}	1.50 ±0.05^{ef}	1.30 ±0.06^{f}	1.10 ±0.10^{i}
Retention time (min)	14.1	14.8	15.7	16.3	17.4	17.8	18.2	20.4	21.8
Retention index (RI)	1136	1155	1180	1197	1228	1239	1250	1313	1354

ادامه جدول ۱-

Continued Table 1. Mean comparison of …

Treatment	Essential oil compound (%)							
	1,3,8-*p*-menthatriiene	3,6-octadienoic acid	thymol	carvacrol	carvacrol acetate	E-caryophyllene	caryophyllene epoxide	calamenene
Control	1.70 ±0.06^{f-h}	1.40 ±0.05^{gh}	3.50 ±0.06^{a}	2.10 ±0.06^{b}	1.50 ±0.06^{cd}	1.90 ±0.06^{ab}	1.80 ±0.04^{d}	2.10 ±0.06^{a}
SA_{320}	1.80 ±0.06^{e-g}	2.30 ±0.05^{a}	2.90 ±0.07^{b}	2.10 ±0.05^{b}	1.50 ±0.08^{cd}	1.40 ±0.07^{de}	1.70 ±0.00^{de}	2.10 ±0.03^{a}
YE_1	2.00 ±0.10^{c-e}	1.50 ±0.06^{f-h}	2.50 ±0.06^{c}	2.40 ±0.06^{a}	1.90 ±0.06^{a}	2.00 ±0.06^{ab}	2.20 ±0.10^{ab}	1.70 ±0.06^{c-e}
$SA_{320}+YE_1$	2.50 ±0.06^{a}	1.80 ±0.06^{c-e}	2.20 ±0.08^{de}	1.60 ±0.08^{de}	1.20 ±0.06^{ef}	1.60 ±0.08^{cd}	1.40 ±0.08^{f}	1.50 ±0.08^{e-g}
$SA_{320}+CH_{40}$	1.80 ±0.03^{e-g}	1.40 ±0.05^{gh}	2.40 ±0.04^{cd}	1.90 ±0.06^{bc}	1.60 ±0.06^{bc}	1.40 ±0.06^{de}	1.90 ±0.03^{cd}	1.60 ±0.06^{d-f}
YE_1+CH_{40}	2.10 ±0.06^{b-d}	2.00 ±0.09^{bc}	2.50 ±0.05^{c}	1.70 ±0.10^{cd}	1.40 ±0.05^{c-e}	1.30 ±0.05^{e}	2.10 ±0.02^{bc}	1.90 ±0.05^{a-c}
$SA_{320}+YE_1+CH_{40}$	2.00 ±0.09^{c-e}	1.80 ±0.06^{c-e}	2.30 ±0.09^{cd}	1.40 ±0.05^{ef}	1.80 ±0.04^{ab}	1.50 ±0.09^{de}	1.90 ±0.05^{cd}	1.70 ±0.10^{c-e}
$SA_{320}+CH_{80}$	1.90 ±0.06^{d-f}	2.10 ±0.06^{ab}	2.50 ±0.06^{c}	1.90 ±0.06^{bc}	1.30 ±0.06^{d-f}	1.60 ±0.06^{cd}	1.50 ±0.05^{ef}	1.80 ±0.06^{b-d}
YE_1+CH_{80}	2.00 ±0.00^{c-e}	1.70 ±0.06^{d-f}	2.90 ±0.06^{b}	2.40 ±0.06^{a}	1.80 ±0.06^{ab}	2.10 ±0.06^{a}	1.70 ±0.06^{de}	1.40 ±0.06^{f-h}
$SA_{320}+YE_1+CH_{80}$	1.50 ±0.06^{h}	1.90 ±0.03^{b-d}	1.70 ±0.10^{f}	2.00 ±0.10^{b}	1.50 ±0.07^{cd}	1.30 ±0.10^{e}	2.10 ±0.10^{bc}	1.30 ±0.09^{gh}
YE_1+½CF	1.60 ±0.06^{gh}	1.60 ±0.09^{e-g}	2.00 ±0.05^{e}	2.10 ±0.05^{b}	1.30 ±0.05^{d-f}	1.80 ±0.03^{bc}	2.10 ±0.02^{bc}	1.70 ±0.05^{c-e}
SA_{320}+½CF	2.20 ±0.07^{bc}	1.40 ±0.06^{gh}	2.20 ±0.10^{de}	1.00 ±0.00^{g}	1.50 ±0.06^{cd}	1.30 ±0.10^{e}	2.40 ±0.08^{a}	1.50 ±0.10^{e-g}
YE_1+½CF+CH_{40}	1.90 ±0.06^{d-f}	1.70 ±0.06^{d-f}	3.00 ±0.06^{b}	1.70 ±0.06^{cd}	1.00 ±0.06^{f}	1.60 ±0.06^{cd}	1.10 ±0.06^{g}	2.00 ±0.06^{ab}

Treatment	1,3,8-*p*-menthatriene	3,6-octadienoic acid	thymol	carvacrol	carvacrol acetate	E-caryophyllene	caryophyllene epoxide	calamenene
SA_{320}+½CF+CH_{40}	2.30 ±0.09^{ab}	1.30 ±0.05^{h}	1.70 ±0.06^{f}	1.20 ±0.06^{fg}	1.60 ±0.06^{ab}	1.50 ±0.06^{de}	1.70 ±0.06^{de}	1.20 ±0.06^{h}
SA_{320}+YE_1+½CF+CH_{40}	1.50 ±0.05^{h}	1.80 ±0.06^{c-e}	1.50 ±0.07^{f}	1.30 ±0.08^{f}	1.40 ±0.07^{c-e}	1.90 ±0.10^{ab}	1.30 ±0.03^{fg}	1.40 ±0.10^{f-h}
Retention time (min)	22.4	24.2	25.1	25.5	26.0	29.8	30.3	30.7
Retention index (RI)	1371	1425	1453	1478	1513	1607	1625	1639

Treatment	*α*-humulene	germacrene D	*β*-ionone	*β*-bisabolene	eugenol	*α*-muurolene	*β*-cubebene	oil content (%, v/w)
Control	1.00 ±0.06^{f}	3.20 ±0.06^{a}	1.50 ±0.06^{ef}	2.20 ±0.06^{a}	1.40 ±0.06^{b-d}	1.30 ±0.06^{cd}	1.60 ±0.06^{a}	0.212 ±0.02^{j}
SA_{320}	1.00 ±0.09^{f}	2.70 ±0.05^{b}	1.20 ±0.05^{g}	1.90 ±0.07^{b-d}	1.50 ±0.06^{a-c}	1.60 ±0.00^{b}	1.00 ±0.06^{d-f}	0.269 ±0.04^{g}
YE_1	2.10 ±0.06^{a}	1.90 ±0.06^{d}	2.00 ±0.06^{bc}	1.70 ±0.06^{d-f}	1.40 ±0.03^{b-d}	1.80 ±0.04^{a}	1.40 ±0.08^{ab}	0.231 ±0.0^{i}
SA_{320}+YE_1	1.80 ±0.08^{b}	1.60 ±0.06^{e}	2.40 ±0.08^{a}	2.10 ±0.05^{ab}	1.60 ±0.07^{ab}	1.30 ±0.05^{cd}	1.20 ±0.06^{b-d}	0.312 ±0.02^{cd}
SA_{320}+CH_{40}	1.20 ±0.06^{d-f}	2.00 ±0.05^{cd}	1.90 ±0.06^{b-d}	1.50 ±0.08^{f}	1.30 ±0.03^{cd}	1.00 ±0.00^{ef}	1.10 ±0.05^{c-e}	0.310 ±0.03^{d}
YE_1+CH_{40}	1.40 ±0.05^{cd}	3.00 ±0.09^{a}	1.40 ±0.05^{fg}	1.80 ±0.04^{c-e}	1.40 ±0.09^{b-d}	1.20 ±0.06^{c-e}	1.30 ±0.06^{bc}	0.255 ±0.07^{h}
SA_{320}+YE_1+CH_{40}	1.80 ±0.06^{b}	2.60 ±0.05^{b}	1.70 ±0.10^{de}	2.00 ±0.09^{a-c}	1.20 ±0.09^{de}	1.10 ±0.03^{d-f}	1.20 ±0.00^{b-d}	0.312 ±0.02^{cd}
SA_{320}+CH_{80}	1.30 ±0.06^{c-e}	2.20 ±0.06^{c}	1.50 ±0.06^{ef}	1.60 ±0.03^{ef}	1.50 ±0.12^{a-c}	1.30 ±0.05^{c}	1.40 ±0.10^{ab}	0.303 ±0.02^{de}
YE_1+CH_{80}	1.50 ±0.06^{c}	1.30 ±0.06^{fg}	1.70 ±0.06^{de}	1.50 ±0.08^{f}	1.00 ±0.00^{e}	0.90 ±0.03^{d-f}	1.20 ±0.09^{b-d}	0.291 ±0.04^{f}
SA_{320}+YE_1+CH_{80}	1.40 ±0.10^{cd}	2.10 ±0.03^{cd}	1.30 ±0.10^{fg}	1.90 ±0.06^{b-d}	1.20 ±0.06^{de}	1.10 ±0.06^{f}	0.80 ±0.00^{f}	0.323 ±0.02^{bc}
YE_1+½CF	1.40 ±0.05^{cd}	2.10 ±0.09^{cd}	1.30 ±0.05^{fg}	1.90 ±0.04^{b-d}	1.40 ±0.03^{b-d}	1.20 ±0.06^{c-e}	0.80 ±0.07^{f}	0.293 ±0.02^{ef}
SA_{320}+½CF	1.00 ±0.06^{f}	1.90 ±0.06^{d}	1.20 ±0.09^{g}	2.20 ±0.05^{a}	1.70 ±0.09^{a}	0.90 ±0.00^{f}	1.10 ±0.02^{c-e}	0.303 ±0.0^{de}
YE_1+½CF+CH_{40}	1.80 ±0.03^{b}	1.50 ±0.06^{ef}	2.10 ±0.06^{b}	1.70 ±0.03^{d-f}	1.20 ±0.08^{de}	1.10 ±0.07^{d-f}	1.00 ±0.10^{d-f}	0.306 ±0.02^{d}
SA_{320}+½CF+CH_{40}	1.30 ±0.06^{c-e}	1.10 ±0.06^{g}	1.80 ±0.06^{cd}	1.20 ±0.09^{g}	1.50 ±0.06^{a-c}	1.00 ±0.09^{ef}	0.90 ±0.00^{ef}	0.334 ±0.0^{ab}
SA_{320}+YE_1+½CF+CH_{40}	1.10 ±0.10^{ef}	1.20 ±0.05^{g}	1.40 ±0.07^{fg}	1.80 ±0.06^{c-e}	1.30 ±0.05^{cd}	1.20 ±0.06^{c-e}	1.00 ±0.05^{d-f}	0.345 ±0.02^{a}
Retention time (min)	31.7	32.9	33.1	34.0	35.1	36.6	40.2	
Retention index (RI)	1675	1721	1740	1764	1808	1872	2038	

Control: Distilled water, SA: Salicylic acid (320 mg.l^{-1}), YE: Yeast extract (1 g.l^{-1}), CF: Culture filtrate (*v/v*), and CH: Fungal cell homogenate (mg.l^{-1}).
Means (± standard error) with common letters are in the same statistical group at 5% probability level (Duncan test).

جدول ۲- مقایسه میانگین اثر توام اسید سالیسیلیک، عصاره مخمر، عصاره کشت و هموژنایت سلولی قارچ ***Serendipita indica*** بر شاخص‌های فیزیولوژیکی بادرنجبویه

Table 2. Mean comparison of the combined effect of salicylic acid, yeast extract, culture filtrate, and cell homogenate of *Serendipita indica* on *Mellisa officinalis* physiological characteristics

Treatment	Chlorophyll *a*	Chlorophyll *b*	Total chlorophyll	Carotenoids	Soluble sugars	Malondialdehyde	Proline	Total phenol	Total flavonoid
	mg.g^{-1} FW	mg.g^{-1} FW	mg.g^{-1} FW	mg.g^{-1} FW	mg.g^{-1} FW	µmol.g^{-1} FW	µmol.g^{-1} FW	mg.g^{-1} FW	mg.g^{-1} FW
Control	1.06± 0.01^{a}	0.60 ±0.04^{a}	2.27 ±0.07^{a}	0.68 ±0.01^{a}	32.40 ±0.81^{c-f}	0.48 ±0.00^{e}	0.86 ±0.02^{c}	9.49 ±0.40^{a}	1.04 ±0.06^{de}
SA_{320}	1.11± 0.00^{a}	0.49 ±0.01^{a}	2.09 ±0.02^{a}	0.79 ±0.01^{a}	49.92 ±1.45^{a}	0.81 ±0.01^{bc}	1.19 ±0.10^{ab}	9.70 ±0.65^{a}	0.88 ±0.01^{e}
YE_1	1.13 ±0.01^{a}	0.54 ±0.06^{a}	2.21 ±0.13^{a}	0.79 ±0.00^{a}	35.58 ±0.91^{b-e}	0.82 ±0.02^{bc}	1.38 ±0.30^{a}	9.66 ±0.46^{a}	1.44 ±0.40^{b-d}
$SA_{320}+YE_1$	1.07 ±0.03^{a}	0.48 ±0.09^{a}	2.03 ±0.20^{a}	0.75 ±0.02^{a}	30.22 ±0.13^{d-f}	0.66 ±0.04^{c-e}	1.36 ±0.06^{a}	9.67 ±0.07^{a}	2.40 ±0.39^{a}
$SA_{320}+CH_{40}$	1.07 ±0.03^{a}	0.43 ±0.06^{a}	1.93 ±0.15^{a}	0.76 ±0.02^{a}	39.17 ±2.89^{b}	0.98 ±0.10^{ab}	0.91 ±0.10^{bc}	9.74 ±0.30^{a}	1.49 ±0.09^{b-d}
YE_1+CH_{40}	1.01 ±0.05^{a}	0.36 ±0.05^{a}	1.72 ±0.16^{a}	0.74 ±0.02^{a}	28.32 ±1.15^{f}	0.52 ±0.12^{de}	1.28 ±0.10^{a}	9.73 ±0.40^{a}	1.79 ±0.08^{b}
$SA_{320}+YE_1+CH_{40}$	0.94 ±0.11^{a}	0.36 ±0.11^{a}	1.65 ±0.33^{a}	0.67 ±0.07^{a}	35.67 ±0.81^{b-e}	0.59 ±0.09^{de}	0.92 ±0.02^{bc}	9.70 ±0.05^{a}	1.45 ±0.25^{b-d}
$SA_{320}+CH_{80}$	0.99 ±0.08^{a}	0.35 ±0.05^{a}	1.69 ±0.18^{a}	0.72 ±0.04^{a}	39.34 ±3.46^{b}	1.08 ±0.10^{a}	0.88 ±0.08^{bc}	9.65 ±0.15^{a}	1.10 ±0.15^{de}
YE_1+CH_{80}	1.12 ±0.01^{a}	0.64 ±0.12^{a}	2.39 ±0.24^{a}	0.77 ±0.02^{a}	30.57 ±0.33^{c-f}	0.82 ±0.20^{bc}	1.15 ±0.14^{a-c}	9.75 ±0.40^{a}	1.10 ±0.00^{de}
$SA_{320}+YE_1+CH_{80}$	1.05 ±0.04^{a}	0.38 ±0.06^{a}	1.81 ±0.15^{a}	0.75 ±0.03^{a}	36.75 ±1.59^{bc}	0.73 ±0.02^{cd}	1.32 ±0.02^{a}	9.74 ±0.24^{a}	1.69 ±0.29^{bc}
$YE_1+½CF$	1.11 ±0.01^{a}	0.60 ±0.09^{a}	2.31 ±0.19^{a}	0.77 ±0.00^{a}	29.90 ±1.73^{ef}	0.62 ±0.02^{c-e}	1.36 ±0.20^{a}	9.71 ±0.11^{a}	0.96 ±0.13^{de}
$SA_{320}+½CF$	1.07 ±0.04^{a}	0.40 ±0.04^{a}	1.86 ±0.11^{a}	0.78 ±0.01^{a}	36.50 ±0.29^{b-d}	0.63 ±0.03^{c-e}	1.13 ±0.13^{a-c}	9.79 ±0.09^{a}	1.27 ±0.27^{c-e}
$YE_1+½CF+CH_{40}$	1.08 ±0.03^{a}	0.52 ±0.15^{a}	2.12 ±0.32^{a}	0.77 ±0.01^{a}	38.97 ±0.59^{b}	0.63 ±0.30^{c-e}	1.15 ±0.10^{a-c}	9.70 ±0.70^{a}	0.86 ±0.10^{e}
$SA_{320}+½CF+CH_{40}$	1.03 ±0.06^{a}	0.43 ±0.12^{a}	1.88 ±0.31^{a}	0.75 ±0.03^{a}	39.00 ±0.00^{b}	0.72 ±0.12^{cd}	0.93 ±0.03^{bc}	9.67 ±0.17^{a}	1.07 ±0.02^{de}
$SA_{320}+YE_1+½CF+CH_{40}$	1.02 ±0.06^{a}	0.36 ±0.07^{a}	1.74 ±0.20^{a}	0.76 ±0.04^{a}	29.51 ±0.87^{ef}	0.55 ±0.04^{de}	1.28 ±0.06^{a}	9.71 ±0.20^{a}	0.86 ±0.03^{e}

Control: Distilled water, SA: Salicylic acid (320 mg.l^{-1}), YE: Yeast extract (1 g.l^{-1}), CF: Culture filtrate (*v*/*v*), and CH: Fungal cell homogenate (mg.l^{-1}).
Means (± standard error) with common letters are in the same statistical group at 5% probability level (Duncan test).

جدول ۳- همبستگی صفات اندام هوایی بادرنجبویه تحت تأثیر توام اسید سالیسیلیک، عصاره مخمر، عصاره کشت و هموژنایت سلولی قارچ ***Serendipita indica***

Table 3. Correlation of *Melissa officinalis* shoot traits under the combined effect of salicylic acid, yeast extract, culture filtrate, and cell homogenate of *Serendipita indica*

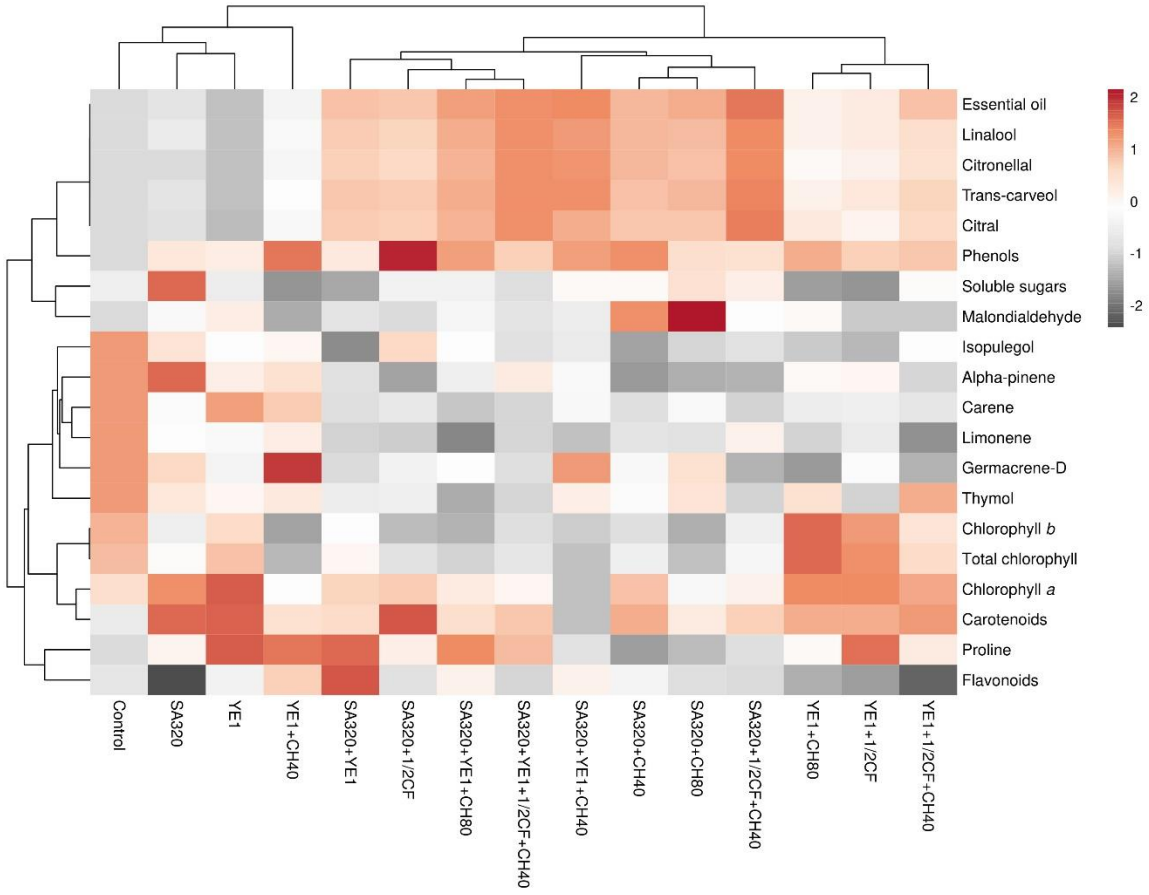
Triat	essential oil	α-pinene	3-carene	limonene	linalool	isopulegol	trans-carveol	citronellal	citral	thymol	germacrene D	chlorophyll *a*	chlorophyll *b*	total chlorophyll	carotenoids	soluble sugars	malondialdehyde	proline	phenols	flavonoids
essential oil	1																			
α-pinene	-0.623**	1																		
3-carene	-0.990**	0.632**	1																	
limonene	-0.747**	0.574**	0.765**	1																
linalool	0.985**	-0.604**	-0.993**	-0.735**	1															
isopulegol	-0.684**	0.582**	0.701**	0.618**	-0.707**	1														
trans-carveol	0.983**	-0.598**	-0.983**	-0.738**	0.984**	-0.701**	1													
citronellal	0.988**	-0.637**	-0.994**	-0.747**	0.993**	-0.713**	0.985**	1												
citral	0.984**	-0.611**	-0.991**	-0.726**	0.991**	-0.690**	0.980**	0.991**	1											
thymol	-0.725**	0.479**	0.750**	0.566**	-0.752**	0.591**	-0.741**	-0.758**	-0.731**	1										
germacrene-D	-0.668**	0.482**	0.653**	0.494**	-0.651**	0.573**	-0.650**	-.658**	-0.702**	0.492**	1									
chlorophyll *a*	-0.224	0.219	0.225	0.203	-0.218	0.191	-0.233	-0.245	-0.197	0.241	-0.103	1								
chlorophyll *b*	-0.311*	0.252	0.325*	0.290	-0.311*	0.169	-0.333*	-0.335*	-0.293	0.362*	-0.024	0.738**	1							
total chlorophyll	-0.306*	0.257	0.318*	0.284	-0.305*	0.182	-0.327*	-0.331*	-0.285	0.352*	-0.043	0.832**	0.988**	1						
carotenoids	0.067	0.005	-0.086	-0.077	0.084	-0.007	0.087	0.058	0.104	-0.068	-0.322*	0.860**	0.388**	0.512**	1					
soluble sugars	0.046	-0.036	-0.017	0.065	0.026	0.263	0.026	-0.004	-0.012	0.192	0.075	0.144	-0.045	-0.005	0.225	1				
malondialdehyde	0.095	-0.365*	-0.120	-0.172	0.123	-0.281	0.074	0.109	0.103	0.028	-0.147	0.041	-0.113	-0.084	0.168	0.386**	1			
proline	-0.017	0.170	-0.018	-0.175	0.029	-0.062	0.007	-0.012	0.030	-0.300*	-0.178	0.299*	0.133	0.176	0.387**	-0.262	-0.189	1		
phenols	0.069	-0.154	-0.128	-0.180	0.156	-0.113	0.150	0.124	0.126	-0.113	-0.075	0.023	0.090	0.080	0.103	0.027	0.138	0.184	1	
flavonoids	0.004	-0.217	-0.028	-0.157	0.022	-0.228	0.012	0.029	0.021	-0.182	0.114	-0.001	-0.016	-0.013	-0.031	-.321*	-0.013	0.319*	0.127	1

* and **: significant at 5 and 1% probability levels, respectively.

نمودار نقشه حرارتی

در این پژوهش، ارزیابی داده‌ها نشان داد که میزان اسانس، ترکیب شیمیایی و برخی صفات فیزیولوژیکی بادرنجبویه در گیاهانی که به‌صورت توام با محرک‌های اسید سالیسیلیک، عصاره مخمر، عصاره کشت و هموژنایت سلولی قارچ *S. indica* افشانه برگی شده بودند، متفاوت بود. داده‌های صفات مذکور تحت آنالیز چند متغیره قرار گرفتند تا بتوان روابط بین آنها را تجسم کرد. نتایج نمودار نقشه حرارتی، خوشه‌بندی بین شاخص‌های مورد ارزیابی و تیمارها را به خوبی نمایان کرد و گیاهان را در چهار دسته گروه‌بندی کرد (شکل ۲). در میان ۱۵ تیمار این پژوهش، گیاهانی که با آب مقطر (شاهد) و اثر مجزای اسید سالیسیلیک و عصاره مخمر محلول‌پاشی شده بودند در یک خوشه گروه‌بندی شدند؛ عصاره مخمر همراه با ۴۰ میلی‌گرم در لیتر هموژنایت سلولی قارچ *S. indica* نیز در یک گروه و با اختلاف کم در مجاورت شاهد قرار گرفت. اثر توام اسید سالیسیلیک با سایر محرک‌ها که بیشتر تیمارها را تشکیل می‌دادند نیز در کنار هم و کاملاً مجزا از شاهد قرار گرفتند؛ در حالی که اثر توام عصاره مخمر با ۸۰ میلی‌گرم در لیتر هموژنایت سلولی و نیز عصاره کشت، خوشه دیگری را تشکیل دادند. نمودار نقشه حرارتی (شکل ۲) نشان داد که این چهار خوشه، کاملاً از یکدیگر جدا هستند. تیمارهایی که در یک گروه طبقه‌بندی شده‌اند، پاسخ‌های مشابهی را نشان داده‌اند. بنابراین، نوع محرک و نوع ترکیب آنها عامل کلیدی برای تفاوت‌های مشاهده شده در تیمارها بود. نقشه حرارتی به خوبی نمایان کرد که میزان اسانس، با ترکیبات عمده اسانس شامل لینالول، سیترونلال، ترانس-کاروئول و سیترال در یک گروه و کنار هم قرار گرفتند و روند پاسخ به تیمارها مشابه هم بود. بیشترین مقدار اسانس و ترکیبات اصلی اسانس که در یک خوشه طبقه‌بندی شدند، در تیمارهای اثر توام اسید سالیسیلیک با سایر محرک‌ها حاصل شد (شکل ۲). برای صفات محتوای اسانس، سیترونلال، ترانس-کاروئول، سیترال و لینالول بیشترین مقدار

در تیمار اثر توام ۳۲۰ میلی‌گرم در لیتر اسید سالیسیلیک +۱ گرم در لیتر عصاره مخمر+ ½ عصاره کشت +۴۰ میلی‌گرم در لیتر هموژنایت سلولی و بعد تیمار ترکیبی ۳۲۰ میلی‌گرم در لیتر اسید سالیسیلیک+½ عصاره کشت+۴۰ میلی‌گرم در لیتر هموژنایت سلولی بدست آمد که با رنگ قرمز مشاهده می‌شود. خوشه‌بندی در این نمودار، به وضوح اثرهای مثبت توام محرک‌ها را نشان می‌دهد. نتایج نشان داد که ترکیب هر چهار محرک بهترین تیمار برای افزایش تولید ترکیبات اصلی اسانس بادرنجبویه بود. گیاهانی که بدون محرک‌ها محلول‌پاشی شدند (شاهد)، محتوای بالاتری از گاما-۳-کارن، ایزوپولگول، آلفاپینن، لیمونن، تیمول و جرماکارن-دی را نشان دادند. اثر تیمارها بر سایر صفات، به‌ویژه صفات فیزیولوژیکی، در نمودار مشخص شده است.



شکل ۲- نقشه حرارتی اثر توام اسید سالیسیلیک، عصاره مخمر، عصاره کشت و هموژنایت سلولی قارچ ***Serendipita indica*** بر ترکیب شیمیایی، میزان اسانس و برخی صفات فیزیولوژیکی بادرنجبویه در شرایط گلخانه

Figure 2. Heatmap of the combined effect of salicylic acid, yeast extract, culture filtrate, and cell homogenate of *Serendipita indica* on chemical composition, essential oil content, and some physiological traits of *Melissa officinalis* under greenhouse conditions

Control: Distilled water, SA: Salicylic acid (320 mg.l^{-1}), YE: Yeast extract (1 g.l^{-1}), CF: Culture filtrate (*v/v*), and CH: Fungal cell homogenate (mg.l^{-1}).

Colors from dark gray to red represent mean values from low to high.

بحث

استفاده از محرک‌ها به‌عنوان مولکول‌های سیگنال که آنزیم‌ها و ژن‌های دخیل در سنتز متابولیت ثانویه را تحریک می‌کنند، می‌تواند رویکرد مناسبی برای افزایش تولید متابولیت‌های ثانویه ارزشمند در گیاهان دارویی و معطر باشد (Jeyasri *et al.*, 2023). در این پژوهش، تیمارهای ذکرشده اثرهای محرکی متفاوتی بر محتوای اسانس و ترکیبات اسانس بادرنجبویه نشان دادند. میزان اسانس ساختار هوایی بادرنجبویه بین ۰/۲۱۲ تا ۰/۳۴۵ درصد (حجمی/وزنی) متغیر بود و در مجموع، تعداد ۳۸ ترکیب در آن شناسایی شد که در جدول ۱ فهرست شده است. فراوان‌ترین اجزای اسانس بادرنجبویه که در شرایط گلخانه در معرض محلول‌پاشی توام با اسید سالیسیلیک، عصاره مخمر، عصاره کشت و هموژنایت سلولی قارچ *S. indica* قرار گرفتند، سیترونلال، ترانس-کاروئول، سیترال، لینالول و گاما-۳-کارن بودند. مطابق با نتایج این تحقیق، در پژوهشی بیان شده است که میزان اسانس بادرنجبویه بین ۰/۲۲ تا ۰/۳۳ درصد (حجمی/وزنی) متغیر بوده و ۳۹ ترکیب در اسانس آن شناسایی شده که به‌ترتیب سیترونلول، ترانس-کاروئول، گاما-۳-کارن، لینالول و سیترال از اجزای اصلی بودند (Hedayati & Abdoli, 2021). افزون بر این، هماهنگ با نتایج این پژوهش، تعداد ۳۸ ترکیب در اسانس بادرنجبویه شناسایی شد که ترکیب اصلی آن سیترونلال بود و میزان اسانس آن نیز بین ۰/۲۷ تا ۰/۳۲ درصد متغیر بود (Ahmadi *et al.*, 2021). در پژوهشی گزارش دادند که در مجموع ۳۵ ترکیب در اسانس برگ‌های بادرنجبویه شناسایی شد که اجزای اصلی آن ژرانیال، نرال، کارواکرول، بتا-کاریوفیلن، سیترونلال، تیمول، ژرانیل استات و اکسیدکاریوفیلن بودند و میزان اسانس تیمارهای مورد مطالعه بین ۰/۵۳ تا ۰/۶۱ درصد (حجمی/وزنی) متغیر بود (Ghasemi Pirbalouti *et al.*, 2019). در پژوهش دیگری که روی گیاه بادرنجبویه انجام گردید، مشخص شد که ترکیبات غالب اسانس این گیاه دارویی، نرال، ژرانیال، ژرانیل استات، سیترونلال، اکسید کاریوفیلن و بتاکاریوفیلن هستند (Taherpour *et al.*, 2012). همچنین پژوهشگران بیان کرده‌اند با استفاده از آنالیز GC/MS در مجموع ۱۵ ترکیب در اسانس گیاه دارویی بادرنجبویه شناسایی شد که ژرانیال و نرال اجزای اصلی آن بودند و میزان اسانس بین ۰/۱۶ تا ۰/۲۹ درصد (Farahani *et al.*, 2025) و ۰/۱۶ تا ۰/۳۲ درصد (Hatami *et al.*, 2021) متغیر بودند. هم‌راستا با مشاهدات ما، سیترونلال به‌عنوان مونوترپن اکسیژن‌دار بالاترین درصد نسبی را بین اجزای اصلی اسانس بادرنجبویه در تیمارهای مختلف نشان داد و میزان اسانس بین ۰/۱۲ تا ۰/۲۵ درصد متغیر بود (Khalid & Cai, 2011). در پژوهشی دیگر بیان شده که اجزای اصلی اسانس بادرنجبویه سیترونلال و سیترال می‌باشند (Yadegari, 2016) که با یافته‌های این پژوهش هماهنگی دارد.

مقایسه نتایج این پژوهش با گزارش‌های قبلی، تفاوت‌هایی را در محتوای اسانس و کمیت و کیفیت اجزای اصلی آن نشان می‌دهد که چنین تنوع فیتوشیمیایی در این گیاه یا سایر گیاهان دارویی ممکن است ناشی از تنوع ژنوتیپی، موقعیت جغرافیایی، شرایط آب و هوایی، شیوه‌های زراعی، کود، نانوذرات، تنش غیرزیستی، زمان برداشت، روش خشک کردن و استخراج اسانس، نوع و غلظت محرک، اثر مجزا یا ترکیبی محرک و غیره باشد (Ahmadi *et al.*, 2018؛ Farahani *et al.*, 2025؛ Ghasemi Pirbalouti *et al.*, 2019؛ He *et al.*, 2018؛ Hedayati & Abdoli, 2021؛ Mehrpooya *et al.*, 2021؛ Motiee & Abdoli, 2021؛ Yadegari, 2016).

اسانس‌ها معمولاً در ساختارهای مختلفی ازجمله سلول‌ها، کرک‌ها و مجاری ترشحی تولید می‌شوند که با توجه به گونه گیاهی متفاوت است. یافته‌ها نشان داد در مقایسه با شاهد میزان اسانس پیکره هوایی این گیاه به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر توام این محرک‌ها قرار گرفت و افزایش یافت (متغیر بین ۰/۲۱۲ تا ۰/۳۴۵ درصد). محلول‌پاشی به تنهایی با اسید سالیسیلیک (۲۷ درصد) و عصاره مخمر (۹ درصد) و محلول‌پاشی توام آنها (۴۷ درصد)، باعث افزایش محتوای اسانس در اندام‌های هوایی بادرنجبویه نسبت به گیاهان شاهد

شد. افشانه برگی با ۳۲۰ میلی‌گرم در لیتر اسید سالیسیلیک +۱ گرم در لیتر عصاره مخمر+ ½ عصاره کشت +۴۰ میلی‌گرم در لیتر هموژنایت سلولی، کارآمدترین تیمار برای ارتقای محتوای اسانس بود و نسبت به شاهد ۶۳ درصد تولید اسانس را افزایش داد. نتایج نشان داد به‌طورکلی اثر اسید سالیسیلیک نسبت به عصاره مخمر و نیز تیمارهای ترکیبی چند محرک نسبت به تیمارهای مجزا و توام دو محرک، باعث افزایش بیشتر میزان اسانس شده است. مطابق با نتایج این تحقیق، در پژوهشی بیان شده است که میزان اسانس شاخساره بادرنجبویه در پاسخ به کاربرد توام ۱۶۰ میلی‌گرم در لیتر اسید سالیسیلیک و ۱/۵ گرم در لیتر عصاره مخمر نسبت به اثر مجزای آنها افزایش یافت (Hedayati & Abdoli, 2021). در آن مطالعه، غلظت بالای عصاره مخمر اثر تحریکی متوسطی بر محتوا و ترکیبات اصلی اسانس نشان داد و اسید سالیسیلیک مؤثرتر از عصاره مخمر بود.

نتایج این مطالعه نشان داد تیمار ۳۲۰ میلی‌گرم در لیتر اسید سالیسیلیک+۱ گرم در لیتر عصاره مخمر+ ½ عصاره کشت+۴۰ میلی‌گرم در لیتر هموژنایت سلولی، بهترین نتیجه را در افزایش میزان سیترونلال، ترانس-کاروئول، سیترال و لینالول به ترتیب ۲/۲۰، ۲/۱۲، ۲/۵۹ و ۲/۲۱ برابر نسبت به گیاهان شاهد داشت. همچنین نتایج نشان داد که عصاره کشت و هموژنایت سلولی قارچ *S. indica* در ترکیب با اسید سالیسیلیک و عصاره مخمر، باعث افزایش معنی‌دار محتوای سیترونلال، سیترال و لینالول نسبت به استفاده مجزای اسید سالیسیلیک، عصاره مخمر و نیز شاهد شدند. اثر تحریکی عصاره مخمر بر تولید متابولیت‌های ثانویه در سرخارگل (Mehrpooya *et al.*, 2021)، نعناع فلفلی (Motiee & Abdoli, 2021)، جینسینگ (Kochan *et al.*, 2017) و مفرو (Vasefpour *et al.*, 2025) تأیید شده است. مشخص شده که علاوه بر آمینواسیدهای مختلف، ویتامین‌ها (ویتامین‌های گروه ب) و مواد معدنی، عصاره مخمر حاوی طیف وسیعی از مواد شیمیایی است و اثرهای تحریکی آن احتمالاً به وجود کلسیم، کبالت و روی مربوط می‌شود (Baenas *et al.*, 2014). علاوه بر این، عصاره مخمر به دلیل محتوای بالای کیتین، الیگومرهای ان-استیل-گلوکزامین، بتاگلوکان، گلیکوپپتیدها و ارگوسترول به عنوان اجزای کلیدی مخمر، یک محرک مهم است، زیرا این مواد شیمیایی با فعال کردن تولید متابولیت‌های ثانویه، پاسخ‌های دفاعی گیاه را تحریک می‌کنند (El-Beltagi *et al.*, 2022).

موقعی که محرک‌ها به عنوان مولکول سیگنال بر روی گیاهان محلول‌پاشی می‌شوند، توسط گیرنده‌های خاصی که به غشای سلولی متصل هستند شناسایی شده و به وسیله یک سیستم انتقال سیگنال به هسته سلول انتقال می‌یابند. این سیگنال‌ها در نهایت از طریق پروتئین کینازهای فعال شده با میتوژن، بیان ژن‌ها و فعال شدن آنزیم‌های کلیدی دخیل در بیوسنتز متابولیت‌های ثانویه را تحت تأثیر قرار می‌دهند (Roy *et al.*, 2022). در پژوهشی مطابق با نتایج ما، محلول‌پاشی با اسید سالیسیلیک به‌طور قابل توجهی مونوترپن‌های اکسیژن‌دار و سزکوئی‌ترپن‌ها را در گیاهان بادرنجبویه افزایش داده است؛ اما محتوای اسانس به‌طور قابل توجهی تحت تأثیر محلول‌پاشی اسید سالیسیلیک قرار نگرفت (Ghasemi Pirbalouti *et al.*, 2019) که با نتایج به دست آمده در این مطالعه مطابقت ندارد. هم‌راستا با مشاهدات ما، نتایج مشابهی از افزایش میزان و ترکیب اسانس در پاسخ به کاربرد اسید سالیسیلیک در گیاه بادرنجبویه (Ahmadi *et al.*, 2018) و چندین گونه گیاهی دیگر مانند سداب (Attia *et al.*, 2018)، بومادران (Gorni *et al.*, 2020) و نعناع فلفلی (Alizadeh Salteh *et al.*, 2024؛ Ahmadi *et al.*, 2018؛ Motiee & Abdoli, 2021) گزارش شده است. در پژوهشی بر روی کشت ریشه‌های نابجای سرخارگل، ۹۶ ساعت پس از اعمال تیمار با ۱۶۰ میلی‌گرم در لیتر اسید سالیسیلیک و ۱/۵ گرم در لیتر عصاره مخمر به ترتیب افزایش ۲/۳۸ و ۳/۹۴ برابری میزان اسید کلروژنیک گزارش شد. همچنین مشخص شد ۹۶ ساعت قرار گرفتن در معرض محرک‌ها نسبت به ۷۲ ساعت، باعث افزایش بیشتر مقدار مشتقات کافئیک اسید شد (Abdoli *et al.*, 2021).

نتایج این تحقیق نشان می‌دهد که می‌توان به‌طور قابل‌توجهی تولید ترکیبات عمده اسانس بادرنجبویه را توسط

عصاره کشت و هموژنایت سلولی اتوکلاو شده قارچ *S. indica* تحریک کرد. یافته‌های این پژوهش نشان داد مقدار سیترونلال، ترانس-کاروئول، سیترال و لینالول در تیمار ترکیبی عصاره کشت با اسید سالیسیلیک به ترتیب ۱۹، ۱۹، ۲۲ و ۱۵ درصد و تیمار ترکیبی ۴۰ میلی‌گرم در لیتر هموژنایت سلولی با اسید سالیسیلیک به ترتیب ۳۰، ۲۱، ۳۰ و ۲۳ درصد نسبت به تیمار مجزای اسید سالیسیلیک افزایش یافتند. طبق دانش ما، در حالی که تحقیقات گسترده‌ای در مورد تلقیح و همزیستی قارچ *S. indica* با گیاهان مختلف انجام شده است، اما در ارتباط با اثر افشانه برگی عصاره کشت و هموژنایت سلولی اتوکلاو شده این قارچ بر میزان اسانس و ترکیبات اصلی اسانس شاخساره این گیاه دارویی و معطر تا به حال گزارشی ارائه نشده است. در ارتباط با اثر این محرک‌ها در شرایط درون شیشه‌ای مطالعات اندکی انجام شده است؛ برای نمونه، پژوهشگران به ترتیب افزایش ۴/۴ و ۱/۹۷ برابری میزان ۶-متوکسی پودوفیلوتوکسین و آرتمیزین را در کشت ریشه‌های موئین کتان (Kumar *et al.*, 2012) و درمنه (Ahlawat *et al.*, 2014) در واکنش به عصاره کشت استریل قارچ *S. indica* گزارش کردند. اثر محرکی این قارچ و نیز عصاره کشت بر گیاهان را می‌توان به ترتیب به اثرهای ترکیبات خارج سلولی قارچ ازجمله آنزیم‌ها، کیتین و دی ساکاریدها (Varma *et al.*, 2013) و تراوشات، هورمون‌ها، مواد معدنی، پروتئین‌ها و آنزیم‌های عصاره کشت (Jangir *et al.*, 2021) نسبت داد. یکی از محیط‌های کشت مناسب برای رشد این قارچ، محیط کشت کافر گزارش شده است که این محیط دارای عناصر ماکرو، میکرو، ویتامین‌ها، عصاره مخمر، پپتون و گلوکز می‌باشد (Bagde *et al.*, 2010). با وجود اینکه اتوکلاو می‌تواند پروتئین‌ها را دناتوره کند و آمینو اسیدها را تجزیه کند و فعالیت تحریک‌کنندگی را کم کند اما هم‌راستا با یافته‌های این پژوهش، بیان شده است که عصاره کشت و هموژنایت سلولی اتوکلاو شده نیز می‌توانند منجر به افزایش معنی‌دار متابولیت‌های ثانویه شوند (Kruszka *et al.*, 2022).

براساس تجزیه‌وتحلیل نقشه حرارتی، گیاهان بادرنجبویه که در معرض اثر توام اسید سالیسیلیک با سایر محرک‌ها قرار گرفتند، بهترین کیفیت و کمیت اسانس را داشتند و بعد گیاهان در معرض اثر توام عصاره مخمر با هموژنایت سلولی و نیز عصاره کشت در گروه دوم از نظر عملکرد و اجزای اسانس قرار گرفتند. گروه بعدی گیاهانی بودند که بدون هیچ‌گونه محرکی و با اثر مجزای اسید سالیسیلیک و عصاره مخمر کمترین عملکرد اسانس و اجزای اصلی آن را داشتند. این مطالعه نشان داده است که محتوای اجزای اصلی اسانس می‌تواند به‌طور قابل توجهی در بادرنجبویه به دلیل استفاده با هم از محرک‌ها تغییر کند. در حالی که مطالعات زیادی در مورد استفاده محرک‌ها به صورت جداگانه برای بهبود بیوسنتز متابولیت‌های ثانویه وجود دارد، تعداد کمی به موضوع استفاده همزمان محرک‌ها پرداخته‌اند. در پژوهشی، اثر محلول‌پاشی توام محرک‌های اسید سالیسیلیک و عصاره مخمر در افزایش بیوسنتز سیترونلول، لینالول و سیترال نسبت به شاهد و نسبت به اثر مجزای اسید سالیسیلیک یا عصاره مخمر مؤثرتر بود (Hedayati & Abdoli, 2021). هم‌راستا با مشاهدات این پژوهش، در تحقیقی اثر عصاره مخمر، متیل جاسمونات و نیترات نقره به صورت مجزا و توام بر تولید پارتنولید در کشت سوسپانسیون سلولی بابونه گاوی بررسی شد. نتایج آنها نشان داد که اثر توام در مقایسه با اثر جداگانه محرک‌ها برای تولید پارتنولید مفیدتر بود و بیشترین محتوای پارتنولید پس از کاربرد ترکیبی متیل جاسمونات و عصاره مخمر به‌دست آمد. دلیل این تأثیر مثبت هنوز معلوم نیست و ممکن است به دلیل تعاملات بین فرآیندهای فیزیولوژیکی مختلف باشد (Pourianezhad *et al.*, 2019). مطابق با نتایج این پژوهش، در تحقیقی اثر مجزا و توام نانوذرات مس و آهن بر کشت ریشه مویین بادرشبو بررسی شد که تیمار ترکیبی ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر نانوذره مس به همراه ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر نانوذره آهن بهترین تیمار بود و نسبت به شاهد مقدار رزمارنیک اسید را ۶/۶ برابر افزایش داد (Khanlari *et al.*, 2025). در تحقیقی، کاربرد همزمان اسید سالیسیلیک و اسید بوریک بر شاخص‌های کمی و کیفی بوته و میوه خیار گلخانه‌ای

بررسی شد. نتایج نشان داد محلول‌پاشی توام این دو تیمار نتیجه مطلوب و بهینه‌تری نسبت به کاربرد تکی آنها دارد (Shahbazi *et al.*, 2025).

اثر توام محرک‌های زیستی و غیرزیستی بر صفات فیزیولوژیکی شامل محتوای پرولین، مالون دی آلدهید، میزان قندهای محلول و فلاونوئیدها معنی‌دار ($P\leq$۰/۰۱) و بر میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی معنی‌دار نبود ($P\geq$۰/۰۵). پرولین یک محافظ اسمزی است که در شرایط تنش تجمع می‌یابد و نقش دفاعی در برابر تنش اکسیداتیو دارد؛ همچنین فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان را افزایش داده که منجر به جاروب شدن رادیکال هیدروکسیل و گونه‌های اکسیژن واکنش‌گر می‌شود (Varasteh Khanlari *et al.*, 2024). در این پژوهش، بیشترین محتوای پرولین مربوط به تیمار ۱ گرم در لیتر عصاره مخمر بود که نسبت به شاهد، ۶۰ درصد افزایش یافت. همچنین تمامی تیمارهای ترکیبی عصاره مخمر نیز به‌طور معنی‌داری بر صفت محتوای پرولین اثر گذاشت. عصاره مخمر غنی از اسیدهای آمینه (شامل پرولین)، پپتیدها، ویتامین‌ها، مواد معدنی و فاکتورهای رشد می‌باشد که پیش‌سازهای پرولین را فراهم می‌کند، علاوه بر این، سنتز پروتئین‌ها و آنزیم‌های دخیل در متابولیسم پرولین را تحریک و تجمع پرولین را بیشتر می‌کند (Tao *et al.*, 2023).

مالون‌دی آلدهید محصول نهایی پراکسیداسیون لیپیدهای غشای سلولی است که توسط گونه‌های اکسیژن واکنش‌گر ایجاد می‌شود. بیشترین میزان پراکسیداسیون لیپید در تیمار ۳۲۰ میلی‌گرم در لیتر اسید سالیسیلیک به همراه ۸۰ میلی‌گرم در لیتر هموژنایت سلولی با ۲/۲۵ برابر بیشتر از شاهد مشاهده شد. افزایش سطح مالون دی آلدهید توسط اسید سالیسیلیک و هموژنایت سلولی نشان می‌دهد که احتمالاً این ترکیب تیماری باعث تحریک تولید رادیکال‌های آزاد از طریق افزایش فعالیت آنزیم لیپوکسیژناز شده و باعث ایجاد پراکسیداسیون لیپیدی و افزایش سطح مالون دی آلدئید شده است. اثر تحریکی هموژنایت سلولی قارچ را می‌توان به ترکیبات خارج سلولی قارچ ازجمله آنزیم‌ها، کیتین و دی‌ساکاریدها نسبت داد (Varma *et al.*, 2013).

فنل کل، ترکیبات ثانویه با خاصیت آنتی‌اکسیدانی هستند. بین مقدار فنل کل گیاهان در واکنش به تیمارها و گیاهان شاهد اختلاف معنی‌داری وجود نداشت. در این پژوهش، مقدار فنل کل پنج روز بعد از اعمال تیمار سنجیده شد؛ ممکن است در روزهای اول اعمال تیمار بین مقدار فنل کل در گیاهان مذکور با شاهد اختلاف معنی‌داری وجود داشته است. در تحقیقی بیان شد مدت زمان قرار گرفتن در معرض محرک‌ها تأثیر معنی‌داری بر واکنش فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاهان دارد (Abdoli *et al.*, 2021). تیمار توام ۱ گرم در لیتر عصاره مخمر با ۳۲۰ میلی‌گرم در لیتر اسید سالیسیلیک باعث افزایش ۲/۳۱ برابری محتوای فلاونوئیدها نسبت به شاهد شد. آنزیم فنیل آلانین آمونیالیاز (PAL) یک آنزیم کلیدی در مسیر بیوسنتز ترکیبات فنلی و فلاونوئیدها می‌باشد که در شرایط تنش فعالیت آن افزایش می‌یابد. هم‌راستا با مشاهدات این پژوهش، در تحقیقی بالاترین محتوای ترکیبات فنلی و فلاونوئیدها در گیاهان تیمار شده با اثر توام نانو ذرات آهن و مس بدست آمد (Varasteh Khanlari *et al.*, 2024).

در این تحقیق، اثر مثبت اسید سالیسیلیک نسبت به عصاره مخمر برای مقدار قند محلول مشهود بود، به‌طوری‌که بیشترین مقدار آن در تیمار ۳۲۰ میلی‌گرم در لیتر اسید سالیسیلیک مشاهده شد که نسبت به شاهد ۵۴ درصد افزایش نشان داد. اسید سالیسیلیک تقریباً بر بیشتر واکنش‌های متابولیسمی گیاه تأثیر می‌گذارد و موجب تغییراتی می‌شود که میزان تحمل و سازگاری گیاهان را در مقابل عوامل محیطی افزایش می‌دهد و در شرایط تنش احتمالاً با حفظ ساختار و فعالیت روبیسکو باعث افزایش مقدار قندها می‌شود (Metwally *et al.*, 2003).

کاروتنوئید یک ترکیب تتراترپنی بوده که از کلروفیل در مقابل اکسیداسیون نوری محافظت کرده و وظیفه جذب نور و انتقال انرژی را به صورت رزونانس به کلروفیل مرکز فتوسیستم‌های II و I دارد (Varasteh Khanlari *et al.*, 2024). در این تحقیق، اثر توام محرک‌ها بر محتوای کلروفیل *a*، کلروفیل *b*، کلروفیل کل و کاروتنوئیدهای بادرنجبویه در شرایط گلخانه در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار نبود. نتایج این مطالعه با نتایج

تحقیق بر روی گیاه گوجه فرنگی مطابقت ندارد. در آن تحقیق، بیشترین میزان کلروفیل کل و کاروتنوئیدها در تیمار تلقیح شده با قارچ *S. indica* بدست آمد (Haghighat *et al.*, 2024). همچنین در پژوهشی تیمار توام نانوذرات مس و نانوذرات آهن اثر بیشتری بر محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی بادرشبو داشتند (Varasteh Khanlari *et al.*, 2024). نوع محرک و مدت زمان قرار گرفتن در معرض محرک، همگی در افزایش اثر محرک نقش دارند (El-Beltagi *et al.*, 2022). نتایج این مطالعه نیز تفاوت در کمیت و کیفیت اسانس را به دلیل نوع و اثر توام محرک‌ها برجسته می‌کند.

نتیجه‌گیری کلی

نتایج حاصل از این بررسی نشان داد که محلول‌پاشی برگی با محرک‌های اسید سالیسیلیک، عصاره مخمر، عصاره کشت و هموژنایت سلولی قارچ *S. indica* به‌صورت توام بر میزان ترکیبات عمده و اسانس بادرنجبویه اثر بسیار معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد داشت. از مجموع ۳۸ ترکیب شیمیایی که در اسانس بادرنجبویه شناسایی شد، سیترونلال، ترانس–کاروئول، سیترال، لینالول و گاما–۳–کارن به ترتیب ترکیبات عمده آن بودند. تیمار ۳۲۰ میلی‌گرم در لیتر اسید سالیسیلیک+۱ گرم در لیتر عصاره مخمر+ ½ عصاره کشت+۴۰ میلی‌گرم در لیتر هموژنایت سلولی، بهترین نتیجه را در افزایش میزان اسانس (۶۳ درصد)، سیترونلال (۲/۲۰ برابر)، ترانس–کاروئول (۲/۱۲ برابر)، سیترال (۲/۵۹ برابر) و لینالول (۲/۲۱ برابر) نسبت به گیاهان شاهد داشت. این محرک‌ها، به‌طور معنی‌داری بر میزان قندهای محلول، محتوای مالون دی آلدهید، پرولین و فلاونوئیدها اثر گذاشت؛ ولی اثر معنی‌داری بر رنگیزه‌های فتوسنتزی نداشت. میزان اسانس، همبستگی مثبت و معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد با ترکیبات عمده اسانس شامل لینالول، ترانس–کاروئول، سیترونلال و سیترال و منفی و معنی‌دار با گاما–۳–کارن داشت. نتایج نقشه حرارتی برای صفات مورد مطالعه، اختلاف آشکاری را بین اثر توام محرک‌ها و شاهد نشان داد. نتایج این پژوهش بر نقش مؤثر کاربرد توام دو یا چند محرک در راستای افزایش متابولیت‌های ارزشمند گیاهی دلالت دارد.

سپاسگزاری

بدین‌وسیله از مسئولان دانشگاه ملایر به دلیل حمایت و مساعدت مالی در اجرای این پژوهش، تشکر و قدردانی می‌شود.

References

- Abdoli, M., Koolivand, N. and 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://doi.org/10.22058/jpmb.2022.563277.1265
- Alizadeh Salteh, S., Najjarzadeh, S., Panahandeh, J. and Eghlima, G.H., 2024. The effect of foliar application of salicylic acid and putrescine on essential oil yield and composition of peppermint (*Mentha piperita* L.). Plant Productions, 47(1): 147-160. https://doi.org/10.22055/ppd.2024.45206.2129
- Ahlawat, S., Saxena, P., Alam, P., Wajid, S. and Abdin, M.Z., 2014. Modulation of artemisinin biosynthesis by elicitors, inhibitor, and precursor in hairy root cultures of *Artemisia annua* L. Journal of Plant Interactions, 9: 811-824. https://doi.org/10.1080/17429145.2014.949885
- Ahmadi, S., Yadegari, M. and Hamedi, B., 2018. Foliar application effects of salicylic acid and indole acetic acid on the essential oil composition of *Mentha piperita* L. and *Melissa officinalis* L. Plant Process and Function, 7(26): 251-262. http://jispp.iut.ac.ir/article-1-798-fa.html
- Ahmadi, T., Shabani, L. and Sabzalian, M.R., 2021. Led light sources improved the essential oil components and antioxidant activity of two genotypes of lemon balm (*Melissa officinalis* L.). Botanical Studies, 62(1): 9. https://doi.org/10.1186/s40529-021-00316-7
- Albayrak, G., Ozturk, I., Tekintas, Y., Kurkcuoglu, M., Erguc, A. and 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, 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
- Attia, E.Z., El-Baky, R.M.A., Desoukey, S.Y., Mohamed, M.A.E.H., Bishr, M.M. and Kamel, M.S., 2018. Chemical composition and antimicrobial activities of essential oils of *Ruta graveolens* plants treated with salicylic acid under drought stress conditions. Future Journal of Pharmaceutical Sciences, 4: 254-264. https://doi.org/10.1016/j.fjps.2018.09.001
- Bagde, U.S., Prasad, R. and Varma, A., 2010. Interaction of mycobiont: *Piriformospora indica* with medicinal plants and plants of economic importance. African Journal of Biotechnology, 9(54): 9214-9226. https://doi.org/10.5897/AJB2010.000-3348
- Baser, K.H. and Bonello, J.M., 2025. Global trade of essential oils. Journal of Essential Oil Research, 37(2): 208-214. https://doi.org/10.1080/10412905.2025.2470791
- Bates, L.S., Waldren, R.P. and Teare, I.D., 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. Plant and Soil, 39: 205-207. https://doi.org/10.1007/BF00018060
- Baenas, N., García-Viguera, C. and Moreno, D.A., 2014. Elicitation: A tool for enriching the bioactive composition of foods. Molecules, 19: 13541-13563. https://doi.org/10.3390/molecules190913541
- Chang, C., Yang, M., Wen, H. and Chern, J., 2002. Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. Journal of Food and Drug Analysis, 10(3): 178-182. https://doi.org/10.38212/2224-6614.2748
- Davies, N.W., 1990. Gas chromatographic retention indices of monoterpenes and sesquiterpenes on methylsilicon and carbowax 20M phases. Journal of Chromatography, 503: 1-24. https://doi.org/10.1016/S0021-9673(01)81487-4
- De Sousa, D.P., Damasceno, R.O.S., Amorati, R., Elshabrawy, H.A., de Castro, R.D., Bezerra, D.P., Nunes, V.R.V., Gomes, R.C. and Lima, T.C., 2023. Essential oils: Chemistry and pharmacological activities. Biomolecules, 13(7): 1144. https://doi.org/10.3390/biom13071144
- El-Beltagi, H.S., Mohamed, H.I., Aldaej, M.I., Al-Khayri, J.M., Rezk, A.A., Al-Mssallem, M.Q., Sattar, M.N. and 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
- -Farahani, F., Shahhoseini, R. and Hatami, M., 2025. Phytochemical, physiological and morphological response of industrial-medicinal plant *Melissa officinalis* L. to drought stress, nanosilicon and superabsorbent polymer application. BMC Plant Biology, 25: 989. https://doi.org/10.1186/s12870-025-07038-z
- Ghabooli, M., Khatabi, B., Ahmadi, F.S., Sepehri, M., Mirzaei, M., Amirkhani, A., Jorrín-Novo, J.V. and Salekdeh, G.H., 2013. Proteomics study reveals the molecular mechanisms underlying water stress tolerance induced by *Piriformospora indica* in barley. Journal of Proteomics, 94: 289-301. https://doi.org/10.1016/j.jprot.2013.09.017
- Ghasemi Pirbalouti, A., Nekoei, M., Rahimmalek, M. and Malekpoor, F., 2019. Chemical composition and yield of essential oil from lemon balm (*Melissa officinalis* L.) under foliar applications of jasmonic and salicylic acids. Biocatalysis and Agricultural Biotechnology, 19: 101144. https://doi:10.1016/j.bcab.2019.101144
- Gorni, P.H., Pacheco, A.C., Moro, A.L., Silva, J.F.A., Moreli, R.R., de Miranda, G.R. and 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
- Haghighat, F., Ghabooli, M., Movahedi, Z. and Abdoli, M., 2024. Effects of endophytic fungi, *Serendipita indica* and *Colletotrichum tofieldiae* on the growth and morphophysiological traits of tomato plants at different phosphate concentrations in a hydroponic system. Journal of Plant Biological Sciences, 16(2): 19-38. https://doi.org/10.22108/IJPB.2025.143232.1374
- Hatami, M., Khanizadeh, P., Bovand, F. and Aghaee, A., 2021. Silicon nanoparticle-mediated seed priming and *Pseudomonas* spp. inoculation augment growth, physiology and antioxidant metabolic status in *Melissa officinalis* L. plants. Industrial Crops and Products, 162: 113238. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2021.113238
- He, X., Wang, S., Shi, J., Sun, Z., Lei, Z., Yin, Z., Qian, Z., Tang, H. and Xie, H., 2018. Genotypic and environmental effects on the volatile chemotype of *Valeriana jatamansi* Jones. Frontiers in Plant Science, 9: 1-10. https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01003
- Heath, R.L. and Packer, L., 1968. Photoperoxidation in isolated chloroplasts: I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. Archives of Biochemistry and Biophysics, 125: 189-198. https://doi.org/10.1016/0003-9861(68)90654-1
- Hedayati, A. and Abdoli, M., 2021. Foliar applications 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://doi:10.22058/JPMB.2022.544981.1248
- Hill, T.W. and Käfer, E., 2001. Improved protocols for *Aspergillus* minimal medium: Trace element and minimal medium salt stock solutions. Fungal Genetics Reports, 48(1): 20-21. https://doi:10.4148/1941-4765.1173
- Irigoyen, J., Einerich, D. and Sánchez-Díaz, M., 1992. Water stress induced changes in concentrations of proline and total soluble sugars in nodulated alfalfa (*Medicago sativa*) plants. Physiologia Plantarum, 84(1): 55-60. https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1992.tb08764.x
- Isah, T., Umar S., Mujib A., Sharma, M.P., Rajasekharan, P.E., Zafar, N. and Frukh, 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
- Jangir, P., Shekhawat, P.K., Bishnoi, A., Ram, H. and Soni, P., 2021. Role of *Serendipita indica* in enhancing drought tolerance in crops. Physiological and Molecular Plant Pathology, 116: 101691. https://doi.org/10.1016/j.pmpp.2021.101691
- Jeyasri, R., Muthuramalingam, P., Karthick, K., Shin, H., Choi, S.H. and 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
- Khalid, A.Kh. and Cai, W., 2011. The effects of mannitol and salinity stresses on growth and biochemical accumulations in lemon balm. Acta Ecologica Sinica, 31(2): 112-120. https://doi.org/10.1016/j.chnaes.2011.01.001
- Khanlari, N.V., Kiarostami, K., Namin, M.H., Abdoli, M. and 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/10.21203/rs.3.rs-5016434/v1
- Kiani, M., Abdoli, M. and 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
- Kochan, E., Szymczyk, P., Kuźma, Ł., Lipert, A. and Szymańska, G., 2017. Yeast extract stimulates ginsenoside production in hairy root cultures of American ginseng cultivated in shake flasks and nutrient sprinkle bioreactors. Molecules, 22(6): 880. https://doi.org/10.3390/molecules22060880
- Kumar, V., Rajauria, G., Sahai, V. and Bisaria, V., 2012. Culture filtrate of root endophytic fungus *Piriformospora indica* promotes the growth and lignan production of *Linum album* hairy root cultures. Process Biochemistry, 47: 901-907. https://doi.org/10.1016/j.procbio.2011.06.012
- Kumari, N., Varghese, B.A., Khan, M.A., Jangra, S. and Kumar, A., 2020. Abiotic elicitation: A tool for producing bioactive compounds. Plant Archives, 20: 2683-2689. http://www.plantarchives.org/
- Li, X.M., Tian, S.L., Pang, Z.C., Shi, J.Y., Feng, Z.S. and Zhang, Y.M., 2009. Extraction of *Cuminum cyminum* essential oil by combination technology of organic solvent with low boiling point and system distillation. Food Chemistry, 115: 1114-1119. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.12.091
- Lichtenthaler, H.K., 1987. Chlorophylls and carotenoids: Pigments of photosynthetic membranes: 397-407. In: Colowick, S.P. and Kaplan, N.O. (Eds.). Methods in Enzymology. Academic Press, San Diego, 598p. https://doi.org/10.1016/0076-6879(87)48036-1
- Mehrpooya, Zh., Abdoli, M. and 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:10.52547/jmp.20.78.36
- Metwally, A., Finkemeier, I., Georgi, M. and Dietz, K.J., 2003. Salicylic acid alleviated the cadmium toxicity in barley seedling. Plant Physiology, 132(1): 272-281. https://doi.org/10.1104/pp.102.018457
- Motiee, M. and 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:10.52547/jmp.20.79.47
- Petrisor, G., Motelica, L., Craciun, L.N., Oprea, O.C., Ficai, D. and Ficai, A., 2022. *Melissa officinalis*: Composition, pharmacological effects and derived release systems – A review. International Journal of Molecular Sciences, 23: 3591. https://doi:10.3390/ijms23073591
- Pourianezhad, F., Rahnama, H., Mousavi, A., Khosrowshahi, M. and Mafakheri, S., 2019. Parthenolide production in cell suspension culture of feverfew. Bioresources and Bioprocessing, 6: 23. https://doi.org/10.1186/s40643-019-0258-4
- Ronald, S.F. and Laima, S.K., 1999. Phenolics and cold tolerance of *Brassica napus*. Plant Agriculture, 1: 1-5. https://doi.org/10.1016/j.jff.2019.05.020
- Shahbazi, A.H., Mousavizadeh, S.J., Mashayekhi, K.

and Ghorbani Dehkordi, A., 2025. Optimization of greenhouse cucumber growth and fruit yield in response to foliar application of salicylic acid and boric acid. Plant Productions, 48(1): 69-85. https://doi.org/10.22055/ppd.2024.47687.2193

- Shakeri, A., Sahebkar, A. and Javadi, B., 2016. *Melissa officinalis* L. – A review of its traditional uses, phytochemistry and pharmacology. Journal of Ethnopharmacology, 188: 204-228. https://doi.org/10.1016/j.jep.2016.05.010
- Silva, T.C., Bertolucci, S.K.V., Carvalho, A.A., Tostes, W.N., Alvarenga, I.C.A., Pacheco, F.V., Assis, R.M.A., Honorato, A.C. and Pinto, J.E.B.P., 2021. Macroelement omission in hydroponic systems changes plant growth and chemical composition of *Melissa officinalis* L. essential oil. Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants, 24(12): 100297. https://doi.org/10.1016/j.jarmap.2021.100297
- Szabó, K., Malekzadeh, M., Radácsi, P., Ladányi, M., Rajhárt, P., Inotai, K., Tavaszi-Sárosi, Sz. and Németh, É., 2016. Could the variety influence the quantitative and qualitative outcome of lemon balm production? Industrial Crops and Products, 83: 710-716. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.12.027
- Taherpour, A., Maroof, H., Rafe, Z. and Larijani, K., 2012. Chemical composition analysis of the essential oil of *Melissa offcinalis* L. from Kurdistan, Iran by HS/ SPME method and calculation of the biophysicochemical coefcients of the components. Natural Product Research, 26(2): 152-160. https://doi:10.1080/14786419.2010.534733
- Tao, Z., Yuan, H., Liu, M., Liu, Q., Zhang, S., Liu, H., Jiang, Y., Huang, D. and Wang, T., 2023. Yeast extract: Characteristics, production, applications and future perspectives. Journal of Microbiology and Biotechnology, 33(2): 151-166. https://doi.org/10.4014/jmb.2207.07057
- Twaij, B.M. and Hasan, M.N., 2022. Bioactive secondary metabolites from plant sources: Types, synthesis, and their therapeutic uses. International Journal of Plant Biology and Research, 13(1): 4-14. https://doi.org/10.3390/ijpb13010003
- Varasteh Khanlari, N., Kiarostami, K., Hosseinzadeh Namin, M. and 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:10.22034/13.60.429
- Vasefpour, Z., Taghizadeh, M. and 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
- Weinder, C., Wowro, S.J., Freiwald, A., Kodelja, V., Abdel-Aziz, H., Kelber, O. and Sauer, S., 2014. Lemon balm extract causes potent antihyperglycemic and antihyperlipidemic effects in insulin-resistant obese mice. Molecular Nutrition & Food Research, 58: 903-907. https://doi.org/10.1002/mnfr.201300477
- Yadegari, M., 2016. Effect of micronutrient foliar application and biofertilizers on essential oils of lemon balm. Journal of Soil Science and Plant Nutrition, 16(3): 702-715. https://doi.org/10.4067/S0718-95162016005000051
- Zouari, N., 2013. Essential oils chemotypes: A less known side. Medicinal and Aromatic Plants, 1: e145. https://doi.org/10.4172/2167-0412.1000e145