



فصلنامه‌ی داروهای گیاهی

Journal homepage: www.ojs.iaushk.ac.ir



اثر اسید جاسمونیک و سالیسیلیک بر میزان ترکیبات فنلی و فلاونوئیدها در عصاره گل همیشه بهار

عبدالله قاسمی پیربلوطی^{۱و*}، سید عباس موسوی هریس^۱، فرهنگ تیرگیر^۳، بهزاد حامدی^۱

۱. گروه گیاهان دارویی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد شهرکرد، شهرکرد، ایران؛

۲. بخش تحقیقات گیاهان دارویی، کالج علوم طبیعی، دانشگاه ماساجوست، آمل، ماساجوست، ۰۱۰۰۳، آمریکا؛

* مسئول مکاتبات E-mail: aghasemipir@psis.umass.edu

۳. گروه گیاهان دارویی، دانشکده علوم، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد شهرکرد، شهرکرد، ایران؛

چکیده

شناسه مقاله

مقدمه و هدف: همیشه بهار (*Calendula officinalis* L.) گیاهی علفی، یکساله و متعلق به خانواده ستاره آسای می باشد. این گیاه از جمله گیاهان دارویی ارزشمند است که علاوه بر خاصیت دارویی جنبه زینتی نیز دارد. به منظور بررسی اثر مقادیر مختلف سالیسیلیک اسید و جاسمونیک اسید بر خاصیت فیتوشیمیایی گل همیشه بهار تحقیق حاضر انجام شد.

روش تحقیق: مطالعه حاضر در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در سال ۱۳۹۰ در شرایط مزرعه تحقیقاتی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد انجام گرفت. تیمارهای سالیسیلیک اسید در چهار سطح (۱- ۱۰- ۲۰- و ۴۰ میلی مول)، جاسمونیک اسید در سه سطح (۵۰- ۱۰۰- و ۲۰۰ میلی لیتر) به همراه شاهد (محلول پاشی آب مقطر) و تیمار محلول استون به عنوان حلال جاسمونیک و سالیسیلیک اسید مورد مطالعه و ارزیابی قرار گرفتند. میزان فنل کل، کارتنوئیدها و فلاونوئیدها در عصاره گل همیشه بهار تعیین شد.

نتایج و بحث: اثرات تیمارهای محلول پاشی اسید جاسمونیک و سالیسیلیک بر میزان کارتنوئید و میزان پلی فنل در عصاره گل همیشه بهار در سطح احتمال ۱ درصد و بر میزان فلاونوئید کل در سطح ۵ درصد معنی داری بودند. **توصیه کاربردی/صنعتی:** با توجه به نتایج حاصل از تحقیق حاضر مشخص شد که محلول پاشی تنظیم کننده های رشد به ویژه اسید جاسمونیک ممکن است سبب تغییرات ماده موثره در گل همیشه بهار شود.

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۱/۰۲/۱۷

تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۱/۰۵/۲۸

نوع مقاله: علمی- پژوهشی

موضوع: به زراعی

کلید واژگان:

- ✓ گل همیشه بهار
- ✓ جاسمونیک اسید
- ✓ سالیسیلیک اسید
- ✓ مواد مؤثره

۱. مقدمه

همیشه بهار (*Calendula officinalis* L.) یا آذرگون یک گیاه دارویی مهم و شناخته شده ای در جهان است (زرگری، ۱۳۶۹). گل همیشه بهار دارای خاصیت معرق، قاعده آور، التیام دهنده زخم های پوستی و ضد التهاب است که از آن به عنوان تونیک^۱ (نیرو دهنده) و

و ضد تشنج و رفع کننده قی نیز استفاده می شود (رجحان،

۱۳۶۰؛ Tyler et al., 1998; Dellaloggia et al., 1990). هم-

چنین برای تحریک ترشح صفرا و افزایش فعالیت کبد مورد استفاده

قرار می گیرد (زمانی، ۱۳۷۰؛ زرگری، ۱۳۶۹). برای تسکین

اسپاسم معده و روده و رفع التهاب و زخم دستگاه گوارش مفید است

(زمانی، ۱۳۷۰؛ زرگری، ۱۳۶۹). مهمترین مواد مؤثره درمانی گل

همیشه بهار فلاونوئیدها (۰/۰۴ تا ۰/۱ درصد) و کارتنوئید (۳ درصد)

^۱ - Tonic

سالیسیلیک و جاسمونیک بر ترکیبات ثانویه گل همیشه بهار در شرایط مزرعه انجام نشده است. لذا تحقیق حاضر با هدف ارزیابی اثرات سطوح مختلف اسید جاسمونیک و سالیسیلیک بر ترکیبات موثره عصاره گل همیشه بهار به مرحله اجرا درآمد.

۲. مواد و روشها

۲-۱. خصوصیات منطقه مورد مطالعه

تحقیق حاضر در بهار تا تابستان ۱۳۹۰ در شرایط مزرعه ای در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد (۳۲ درجه عرض شمالی و ۵۱ درجه و طول شرقی و ارتفاع ۲۱۰۰ متر از سطح دریا) اجرا شد. اقلیم منطقه بر اساس آمبروزه نیمه خشک سرد، متوسط بارندگی بلند مدت ۳۴۰ میلی متر و دمای متوسط بلندمدت ۱۱/۷ درجه سانتی گراد می باشد.

بذر مورد نیاز همیشه بهار جهت کاشت در گلدان از شرکت پاکان بذر اصفهان تهیه شد. به منظور کاشت از گلدان های با رنگ سفید (ارتفاع ۱۸ سانتی متر و شعاع ۲۳ سانتی متر) استفاده شد. خاک محتوی گلدان ها به نسبت خاک مزرعه (pH=7.9;) حیوانی پوسیده با نسبت ۶/۱ و ماسه بادی با نسبت ۶/۱ استفاده شد. به جز خاک برگ و کود حیوانی هیچ گونه کود شیمیایی دیگری به گلدانها اضافه نگردید. بعد از آماده شدن خاک اقدام به ضد عفونی کردن گلدانها با قارچ کش ریدومیل شد. مقدار ۷ عدد بذر در هر گلدان کشت شد و سپس با استفاده از مه پاش دستی اقدام به آبیاری گلدان ها گردید. به مدت سه هفته هر روز دوبار با استفاده از مه پاش اقدام به آبیاری گلدانها شد. آبیاری تا مرحله چهار برگی هر روز دو بار به وسیله مه پاش انجام می گرفت. بعد از این که گیاه به مرحله چهار برگی رسید اقدام به تنک کردن گلدان ها شد.

۲-۲. تیمارهای آزمایش

تیماری های مورد آزمایش در این بررسی به شرح ذیل بودند:
تیمار با اسید جاسمونیک (تهیه شده از سیگما آلدریج، آلمان):
- تیمار با آب مقطر
- تیمار با آب مقطر و استون

است (امیدبگی، ۱۳۷۶؛ Tyler et al., 1988). میزان فلاونوئیدها در گل های زبانه ای حدود ۰/۸۸ درصد و در گل های لوله ای حدود ۰/۳۳ درصد می باشد (Ocioszynska et al., 1977). گل های این گیاه همچنین حاوی کاروتنوئیدهایی مختلفی است که مقدار آنها مجموعاً در گل های زبانه ای حدود ۰/۰۷۸ درصد و در گل های لوله ای حدود ۰/۰۱۷ درصد می باشد (Ocioszynska et al., 1977). علاوه بر این گل های همیشه بهار دارای نوعی ساپونین، اسانس به میزان ۰/۰۲ درصد، ماده ای تلخ ب ه نام کالندولین^۲ به مقدار ۳ درصد، اسیدهای آلی، رزین، صمغ، لعاب و آلبومین می باشند (زرگری، ۱۳۶۹؛ Tyler et al., 1988).

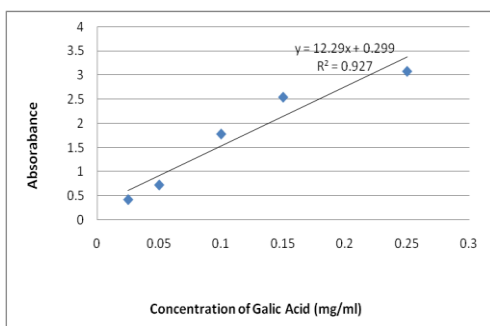
پیشینه استفاده از اورتوئیدروکسی بنزوئیک اسید (سالیسیلیک اسید) به ۳۵۰۰ سال قبل بر می گردد. در سال ۱۸۲۸ برای اولین بار ماده های به نام سالیسیلین از درخت بید جدا شد. در سال ۱۸۳۸ ماده فعالی را از پوست درخت بید جدا کردند که آن را اسید سالیسیلیک نامگذاری کردند. گزارش های متعددی مبنی بر نقش سالیسیلیک اسید در کاهش اثرات ناشی از تنش ها زیستی و غیر زیستی وجود دارد (سلطانی و همکاران، ۱۳۹۰؛ Gharib, 2006; Raskin, 1992; Choudhury et al., El-Tayeb, 2005; 2004).

اسید جاسمونیک ترکیبی مشتق شده از اسید چرب لینولئیک اسید است. اسید جاسمونیک به عنوان یک بازدارنده رشد یا هورمون های گیاهی مطرح است. اسید جاسمونیک عضوی از رده جاسمونات ها از گروه هورمون گیاهی است. این اسید به روش زیستی از اسید لینولئیک به وسیله روش Octadecanoid سنتز می شود (Creelman & Mullet, 1995). جاسمونات و استر متیلی آن یعنی متیل جاسمونات به عنوان فیتوهورمونهایی در نظر گرفته می شوند که گلدهی و پیری را در گیاه تنظیم می کنند و منجر به القای پاسخهای مربوط به مقاومت و تنش می شوند (Balbi & Devoto, 2007). اسید جاسمونیک نیز مهمترین هورمون مقاومت به تنش های زیستی و غیرزیستی است.

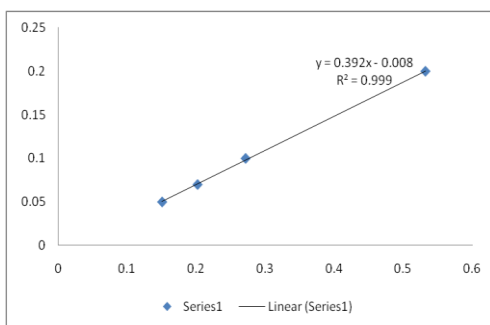
با توجه به بررسی منابع مشخص گردید که تاکنون مطالعه های مستند در خصوص اثر محلول پاشی غلظتهای مختلف اسید

² - Calenduline

موج ۷۶۰ نانومتر جذب عصاره های مختلف خوانده شد. گالیک اسید به عنوان استاندارد و شاهد در این روش برای نمونه عصاره مورد استفاده قرار گرفت. در نهایت منحنی استاندارد اسید گالیک رسم گردید و با استفاده از منحنی استاندارد غلظت های فنل نمونه ها اندازه گیری شد (شکل ۱ و ۲).



شکل ۱. منحنی استاندارد اسید گالیک



شکل ۲. منحنی استاندارد کورسین

۵-۲. تعیین مقدار کارتنوئید

برای اندازه گیری کارتنوئید در عصاره گل همیشه بهار از روش برناتونین و همکاران (Bernatoniene et al., 2011) استفاده شد. ۶ گرم از گیاه پودر شده را با ۲۰ میلی لیتر حلال پترولیوم استخراج کرده و پس از صاف کردن با کاغذ صافی واتمن در بالن ژوژه ۲۵ میلی لیتری با پترولیوم اثر به حجم رسانده و سپس ۱ میلی لیتر از این محلول را با دستگاه اسپکتروفتومتر فرابنفش در طول موج ۴۴۰ نانومتر خوانده شد. پترولیوم اثر به عنوان شاهد انتخاب شد. در این روش از محلول استاندارد دی کرومات پتاسیم که شامل ۰/۰۹ گرم در ۲۵۰ میلی لیتر حل شده است استفاده شد. لازم به ذکر

- تیمار با اسید جاسمونیک ۵۰ میکرولیتر
 - تیمار با اسید جاسمونیک ۱۰۰ میکرولیتر
 - تیمار با اسید جاسمونیک ۲۰۰ میلی لیتر
 تیمار با اسید سالیسیلیک (تهیه شده از سیگما آلدریج، آلمان):

- تیمار با اسید سالیسیلیک ۱ مول بر لیتر
 - تیمار با اسید سالیسیلیک ۱۰ مول بر لیتر
 - تیمار با اسید سالیسیلیک ۲۰ مول بر لیتر
 - تیمار با اسید سالیسیلیک ۴۰ مول بر لیتر

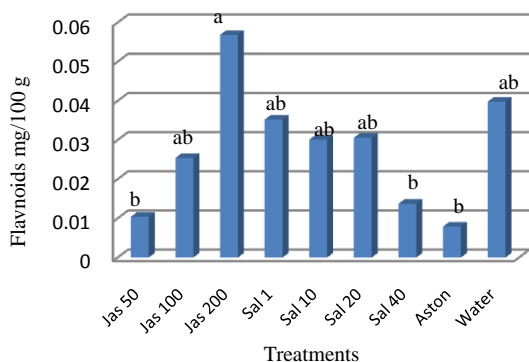
در مرحله قبل از شروع گلدھی اقدام به محلول پاشی تیمارهای مذکور در یک نوبت در غروب به محض خنک شدن هوا گردید. مرحله دوم محلول پاشی دو هفته پس از مرحله اول و مطابق با شرایط محلول پاشی اول انجام شد.

۳-۲. عصاره گیری

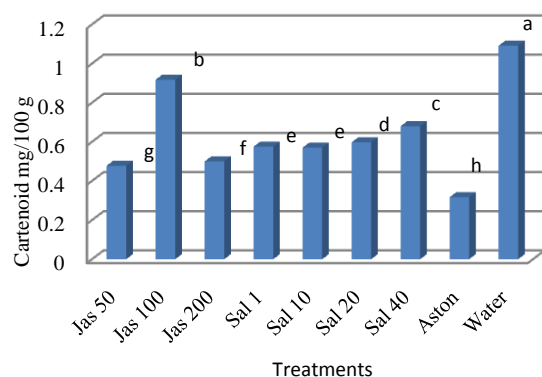
گل‌های گیاه همیشه بهار در دو نوبت در حدود ۷ الی ۸ روز بعد از محلول پاشی هر نوبت برداشت شد و اقدام به خشک کردن آن‌ها گردید. پس از خرد کردن جهت عصاره گیری ابتدا مقدار سی گرم از نمونه وزن شد سپس مقدار ۶۰ میلی لیتر حلال تتراهیدروفوران ۸۰ درصد به آن اضافه گردید. نمونه به مدت ۳۰ دقیقه با هیتر هات پلیت استایر مدل جنوای (Jenway1000) ساخت کشور انگلستان حرارت داده شد. سپس با کمک دستگاه روتاری مدل استریک (Strike 202) ساخت کشور ایتالیا حلال جدا سازی و مقدار ۱۵ سی سی متانول به آن اضافه گردید و داخل دستگاه التراسونیک (Ultrasonic-Cleaner) مدل Ds1500-Sk₂-57L ساخت اتحادیه اروپا قرار داده و به مدت ۵ دقیقه حرارت داده شد. سپس با دستگاه سانتریفوژ مدل (Tentnicu-centic-322A) ساخت کشور اسلونی به مدت دو دقیقه با ۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ شد و در نهایت نمونه با کاغذ واتمن ۱۲۵ میکرون صاف گردید.

۴-۲. تعیین مقدار فنل ها

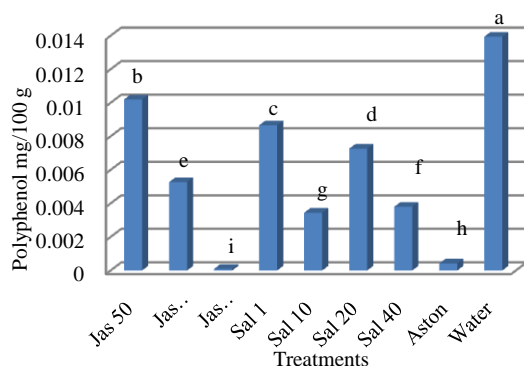
برای اندازه گیری میزان فنل کل از روش Folin-Ciocalteus (Singleton & Rossi, 1965) استفاده شد. پس از تهیه و آماده سازی نمونه ها، در نهایت با دستگاه اسپکتروفتومتر نوری در طول



شکل ۱. مقایسه میانگین اثرات تیمارهای مختلف محلول پاشی اسید جاسمونیک و سالیسیلیک بر میزان فلاونوئید در عصاره گل همیشه بهار (حروف مشابه بیانگر عدم اختلاف معنی دار در سطح احتمال ۵ درصد)



شکل ۲. مقایسه میانگین اثرات تیمارهای مختلف محلول پاشی اسید جاسمونیک و سالیسیلیک بر میزان کارتنوئید در عصاره گل همیشه بهار (حروف مشابه بیانگر عدم اختلاف معنی دار در سطح احتمال ۵ درصد)



شکل ۳. مقایسه میانگین اثرات تیمارهای مختلف محلول پاشی اسید جاسمونیک و سالیسیلیک بر میزان فنل کل در عصاره گل همیشه بهار (حروف مشابه بیانگر عدم اختلاف معنی دار در سطح احتمال ۵ درصد)

است ۱ میلی لیتر از این محلول معادل غلظت ۰/۰۰۲۰۸ میلی گرم بتا-کارتون می باشد. در نهایت مقدار کل بتا کارتنوئید با استفاده از شاخص بتا-کارتون توسط فرمول زیر محاسبه شد.

$$X=0.00208 \times A \times 25 \times 100 / (A_1 \times a)$$

مقدار جذب به دست آمده از نمونه عصاره ۱۰= A

مقدار جذب نمونه استاندارد دی کرومات پتاسیم تهیه شده= A₁

مقدار گیاه استفاده شده= a

۲-۶. تجزیه آماری

تجزیه آماری داده های به دست آمده صفات مختلف اندازه گیری شده در قالب طرح کاملاً تصادفی با استفاده از نرم افزار SPSS version 17 انجام شد. همچنین برای مقایسه میانگین از آزمون چند دامنه ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد با استفاده از نرم افزار مذکور استفاده شد. برای رسم نمودارها و روابط رگرسیونی از نرم افزار Exell office 2007 استفاده شد.

۳. نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس آزمایش نشان می دهد که اثرات تیمارهای مختلف محلول پاشی اسید جاسمونیک و سالیسیلیک بر میزان کارتنوئید و فنل کل در عصاره گل همیشه بهار در سطح احتمال یک درصد و میزان فلاونوئیدها در سطح احتمال پنج درصد معنی دارد بودند. در همین راستا نتیجه مقایسه میانگین ها برای فلاونوئیدها در عصاره گل همیشه بهار حاکی از آن است که بیشترین میزان این ترکیب از تیمار ۲۰۰ میکرولیتر محلول پاشی جاسمونیک به دست آمد و کمترین میزان از تیمار حلال استون حاصل شد (شکل ۱). همچنین نتایج مقایسه میانگین بین تیمارهای مختلف از نظر میزان کارتنوئید به روش دانکن در سطح احتمال ۵ درصد نشان داد که بیشترین میزان کارتنوئید مربوط به تیمار شاهد بوده و سپس تیمار جاسمونیک اسید ۱۰۰ ماکرولیتر و کمترین میزان کارتنوئید مربوط به تیمار حلال استون بود (شکل ۲).

همکاران (Kim et al., 2006) در مطالعه اثر متیل جاسمونات بر روی ترکیبات فنلی (اسید روزماریک و اسید کافئیک) ریحان شیرین به این نتیجه دست یافتند که افزایش متیل جاسمونات از ۰/۱ به ۰/۵ میلی مولار سبب افزایش میزان فنل کل در ریحان شده است. اسید جاسمونیک و متیل جاسمونات سبب القای فیتوآلکسینی در گیاه می شود و در اصل سنتز ترکیباتی که خاصیت ضد میکروبی و ضد گیاه خواری دارند را تحریک می کنند و آن را افزایش می دهد (Gundlach et al., 1992). زنگ و همکاران (Zheng et al., 1997) نتیجه گرفتند که اسید جاسمونیک سبب افزایش سنتز نیکوتین به عنوان یک ترکیب آفت کش در برگ زخمی شده گونه ای توتون به نام *Nicotina sylvestris* شده است. آنها دریافتند که اسید جاسمونیک بر اثر آسیب آفت در گیاه طی پیام های مولکولی سنتز و آنرا تحریک و افزایش می دهد.

مقایسه نتایج مطالعات مذکور با نتایج این تحقیق نشان می دهد که هورمون های تنظیم کننده رشد در اکثر موارد باعث افزایش رشد یا تولید متابولیت های ثانویه گردیده است این در حالی است که در تحقیق حاضر استون در مقایسه با اکثر تیمارهای آزمایش باعث کاهش تولید ماده فنل در گل همیشه بهار گردید.

منابع

- امیدبگی، ر.، ۱۳۷۶. رهیافت های تولید و فرآوری گیاهان دارویی، انتشارات طراحان نشر، جلد اول.
- امیدبگی، ر.، ۱۳۷۶. رهیافت های تولید و فرآوری گیاهان دارویی، انتشارات طراحان نشر، جلد دوم.
- رجحان، ع.، ۱۳۶۰، شفا با گیاهان دارویی، چاپ سوم.
- زرگری، ع.، ۱۳۶۹، گیاهان دارویی، چاپ دانشگاه تهران، جلد دوم، ۲۵ صفحه.
- زمانی، س.، ۱۳۷۰، گیاهان دارویی، (ترجمه)، انتشارات ققنوس، ۱۳۱ صفحه.
- سلطانی دلربا، ن.، کرمان، ر. و رنجبر م. ۱۳۹۰. اثر بر هم کنش سالیسیلیک اسید و تنش سرما بر فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی در گیاه شیرین بیان (*Glycyrrhiza glabra* L.). داروهای گیاهی، ۲(۱):۷-۱۳.

نتایج میزان فنل در عصاره گل همیشه بهار نشان داد که محلول پاشی اسید سالیسیلیک و جاسمونیک اثرات مثبتی بر میزان این صفت نداشتند در حالی که محلول پاشی آب مقطر (شاهد) دارای بیشترین میزان ماده موثره پلی فنل بوده است (شکل ۳).

در پژوهش های انجام شده قبلی توسط سایر پژوهشگران مشخص شده است که اسید جاسمونیک و سالیسیلیک می تواند بر میزان برخی ترکیبات ثانویه در گیاهان دارویی و معطر موثر باشند. برای مثال رن و همکاران (Ren et al., 2010) طی مطالعه ای در خصوص اثر متیل جاسمونات بر بیوسنتز اسید گانودریک (GA) بر نوعی گونه ای دارویی از قارچ به نام *Ganoderma lucidum* به این نتیجه دست یافتند که میزان اسید گانودریک در تیمار ۴۰۰ میکرومول جاسمونات بیشترین و در تیمار شاهد با اتانول کمترین میزان بود. نتیجه اخیر با نتیجه تحقیق ما که کمترین میزان ترکیبات موثره در گل همیشه بهار از تیمار شاهد حلال یعنی استون به دست آمد مشابهت دارد. شبانی و احسان پور (۱۳۸۸) طی تحقیقی مشاهده کردند که متیل جاسمونیک و اسید سالیسیلیک به طور قابل توجه سبب افزایش میزان ترکیبات فنولیک و فلاونوئید کل در کشت شیشه شیرین بیان (*Glycyrrhiza glabra*) گردید. در ضمن آنها پیشنهاد دادند دو ترکیب مذکور سبب فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیلایز شده که در نهایت سبب افزایش مواد موثره فنولیک و فلاونوئید می شود. گوپال و راموات (Goyal & Ramawat, 2008) در کشت سوسپانسیون سلول گونه گیاه *Pueraria tuberosa* به این نتیجه دست یافتند که تیمار ۴۰ میکرومول متیل جاسمونات در مقایسه با سایر تیمارها (۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰، ۴۰۰ میکرومول) و شاهد بیشترین تأثیر را در تولید ایزوفلاونوئیدها داشته است. همچنین در همین غلظت نیز اسید سالیسیلیک تأثیر مشابه با متیل جاسمونات داشته است. تیم و کروازیک (Thiem & Krawczyk, 2010) گزارش کردند که مصرف متیل جاسمونات با غلظت ۵۰ و ۱۰۰ میکرومول در مقایسه با شاهد و تیمار ۲۰۰ میکرومول اثرات مثبتی بر میزان ایزوفلاونوئیدها در کشت بافت گیاه کودزو (*Pueraria lobata*) شده است. در تحقیق ما نیز سطح ۲۰۰ میکرولیتر اسید جاسمونیک بیشترین تأثیر را مواد موثره در گل همیشه بهار داشته است. کیم و

- Kim, H.J, Chen, F., Wang, X. and Rajapakse, N.C. 2006. Effect of methyl jasmonate on secondary metabolites of sweet basil (*Ocimum basilicum* L.). *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 54(6): 2327-2332.
- Ocioszynska, I., Nartowska, J. and Strzelechka, H. (1977). *Badania chemizmu kwiatostanow nagietka (Calendula officinalis L.)*. *Herba Polonica*, 23.
- Raskin, I. 1992. Role of salicylic acid in plants. *Annual Review Of Plant Biology*, 43(1), 439-463.
- Ren, A., Qin, L., Shi, L., Dong, X., Mu, D. S., Li, Y. X. and Zhao, M. W. 2010. Methyl jasmonate induces ganoderic acid biosynthesis in the basidiomycetous fungus *Ganoderma lucidum*. *Bioresource Technology*, 101(17): 6785-6790.
- Singleton, V.L. and Rossi, J.A. 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16: 144-158
- Thiem, B. and Krawczyk, A. 2010. Enhanced isoflavones accumulation in methyl jasmonate-treated in vitro cultures of kudzu (*Pueraria lobata Ohwi*). *Herba Polonic*, 56: 48-56.
- Tyler, E., Brady, R. and Robbers, E. 1988. *Pharmacognosy*, 9th edition, Lea Febiger, Philadelphia, pp. 480.
- Zheng, Z.P., Krumm, T. and Baldwin, I.T. 1997. Structural requirements of jasmonates and mimics for nicotine induction in *Nicotiana glauca*. *Journal of Chemical Ecology*, 23: 2777-2789.
- شبانلی، ل. و احسان، پ.ع.ا. ۱۳۸۸. القا آنزیمهای آنتی اکسیدان، ترکیبات فنولیک و فلاونوئید در کشت در شیشه شیرین بیان (*Glycyrrhiza glabra*) با استفاده از متیل جاسمونات و سالیسیلیک اسید. *زیست شناسی ایران*، ۲۲(۴): ۶۹۱-۷۰۳.
- Balbi, V. and Devoto, A. 2007. Jasmonate signalling network in *Arabidopsis thaliana*: crucial regulatory nodes and new physiological scenarios. *New Phytologist*, 177(2): 301-318.
- Bernatoniene, J., Masteikova, R., Davalgiene, J., Peciura, R., Gauryliene, R., Bernatoniene, R. and Chalupova, Z. 2011. Topical application of *Calendula officinalis* (L.): Formulation and evaluation of hydrophilic cream with antioxidant activity. *Journal of Medicinal Plants Research*, 5(6): 868-877.
- Choudhury, S. and Panda, S. K. 2004. Role of salicylic acid in regulating cadmium induced oxidative stress in *Oryza sativa* L. roots. *Bulgarian Journal of Plant Physiology*, 30(3-4): 95-110.
- Creelman, R. A. and Mullet, J. E. 1995. Jasmonic acid distribution and action in plants: regulation during development and response to biotic and abiotic stress. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 92(10): 4114-4119.
- Dellaloggia, R., Beeke, H., Isaac, O. and Tubaro. A.A. 1990. Topical anti-inflammatory activity of *Calendula officinalis* extraction. *Planta Medica*, 56: 658.
- El-Tayeb, M. A. 2005. Response of barley grains to the interactive effect of salinity and salicylic acid. *Plant Growth Regulation*, 45(3): 215-224.
- Gharib, F.A.L. 2006. Effect of salicylic acid on the growth, metabolic activities and oil content basil and majram. *International Journal of Agriculture and Biology*, 4: 485-492.
- Gundlach, H., Müller, M. J., Kutchan, T. M. and Zenk, M. H. 1992. Jasmonic acid is a signal transducer in elicitor-induced plant cell cultures. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 89(6): 2389-2393.
- 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.

