بررسی اثر فولویک‌اسید و متیل‌جاسمونات بر میزان کلروژنیک‌اسید، کافئیک اسید و برخی صفات فیتوشیمیایی در اندام هوایی و ریشه گیاه دارویی *Echinacea purpurea* (L.) Moench.

مهرنوش کریمی[۱]، خدایار همتی[۲*]، نسترن همتی[۳]

[۱]دانشجوی کارشناسی‌ارشد گیاهان دارویی، گروه علوم باغبانی، دانشکده تولید گیاهی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران

[۲]دانشیار، گروه علوم باغبانی، دانشکده تولید گیاهی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان ، ایران

[۳]دانشجوی دکتری گیاهان دارویی، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد ، ایران

تاریخ دریافت: ٤/١٦/ ٩٩ تاریخ پذیرش: ۹۹/۱۲/۱۹

چکیده

سرخارگل (*Echinacea purpurea (L.) Moench*.) یکی از گیاهان دارویی متعلق به تیرهٔ کاسنی (Asteraceae) است .انـدام های مختلف گیاه به‌ویژه ریشه‌های آن حاوی ترکیب‌های دارویی ارزشمندی است که خواص ضدباکتریایی و ضدویروسی دارند که در صنعت داروسازی کاربرد دارند. این پژوهش با هدف بررسی تاثیر غلظت‌های مختلف فولویک‌اسید و متیل‌جاسمونات بـر برخی صفات مورفوفیزیولوژیک و بیوشیمیایی ریشه و اندام هوایی گیاه سرخارگل انجام شده است. این تحقیق در قالب آزمایش فاکتوریل برپایه طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان به صـورت گلـدانی در سـال زراعی ۱۳۹۷-۱۳۹۶ انجام شد. تیمارها شامل: فولویک‌اسیددر سه سطح (۰، ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر) و متیل‌جاسمونات در چهار سطح (۰، ۹۰، ۱۰۰، ۱۱۰ میکرومولار) بوده است. متغیرهای اندازه‌گیری شده شامل: میزان فنل‌کل، فلاونوئیدکل، فعالیت آنتی‌اکسیدانی، کلروژنیک‌اسید و کافئیک‌اسید بوده است. ارزیابی صفات بیوشیمیایی با متانول و استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر و اندازه‌گیری کلروژنیک‌اسید و کافئیک‌اسید توسط HPLC انجام شد. نتایج نشان داد که تیمارها و اثر متقابـل آن‌هـا بـر صـفات فیتوشیمیایی در سطح یک و پنج درصد معنی‌دار بوده است. بر اساس نتایج مقایسه میانگین‌ها بیش‌ترین میـزان کلروژنیـک‌اسـید (۷/۴۶ میلی‌گرم بر گرم) در غلظت ۱۱۰ میکرومولار متیل‌جاسمونات و ۱۰۰۰ میلـی‌گـرم بـر لیتـر فولویـک‌اسـید و بـیش‌تـرین مقدارکافئیک‌اسید (۲۸/۹۰ میلی‌گرم بر گرم) در شاهد ۱۰۰۰ میلی گرم بر لیتر فولویک‌اسید تولید شد. همچنین بیشـترین میـزان فنل کل (۴۹/۲۹ میلی‌گرم در گرم) در متیل‌جاسمونات ۱۰۰میکرومولار و فولویک‌اسید ۱۰۰۰ میلـی گـرم بـر لیتـر در ریشـه و بیشترین میزان فلاونوئید کل (۲۳/۶۶ میلی‌گرم در گرم) در متیل‌جاسمونات ۱۰۰ میکرومولار و فولویک‌اسید ۱۰۰۰ میلی‌گـرم در لیترمشاهده شد. بیشترین فعالیت آنتی‌اکسـیدانی (۷۶/۰۳ درصـد مهـار رادیکـال آزاد) در متیـل‌جاسـمونات ۱۱۰ میکرومـولار و فولویک‌اسید ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر در ریشه نتیجه‌گیری شد. از نتایج برداشت شد که بیشترین میزان متغیرهای اندازه‌گیری شده در ریشه گیاه ودر غلظت ۱۰۰۰میلی‌گرم بر لیتر فولویک‌اسید بود.

واژه‌های کلیدی: سرخارگل، فولویک‌اسید، فیتوشیمیایی، متیل‌جاسمونات

*نویسنده مسئول: khodayarhemmati@yahoo.com

مقدمه

رویکرد روز افزون به استفاده از گیاهان دارویی در سطح جهان، اهمیت کشت و تولید این گیاهان را روشن‌تر می‌سازد. در حال حاضر تقاضا برای گیاهان دارویی به عنوان تولیدات قابل مصرف در صنایع بهداشتی و دارویی در حال افزایش است (Agha alikhani et al., 2013). افزایش کمی و کیفی تولید، در گیاه سرخارگل به عنوان یک گیاه دارویی مهم و پرتقاضا یکی از اولین گام‌ها در معرفی و پیشنهاد این گیاه برای توسعه کشت، از دیدگاه دارویی خواهد بود. الیسیتورها و ترکیبات مشابه یکی از راهکارهایی هستند که بر ویژگی‌های مورفولوژیکی و شاخص‌های کمی و کیفی گیاه اثر داشته و همچنین در اکثر مواقع باعث بهبود ویژگی‌های رشدی گیاه و عملکرد آن می‌شود. این پژوهش با هدف بررسی اثر دو ترکیب فولویک‌اسید و متیل‌جاسمونات در بهبود برخی صفات فیتوشیمیایی گیاه سرخارگل به‌عنوان یگ گیاه دارویی ارزشمند در شرایط اقلیمی گرگان اجرا شد. محرک‌ها ترکیباتی با منشاءزیستی (پلی‌ساکاریدها و گلیکوپروتئین‌ها) و غیرزیستی (سالسیلیک‌اسید و متیل‌جاسمونات) هستند که از طریق القای پاسخ‌های دفاعی باعث بیوسنتز و انباشت متابولیت‌های ثانویه می‌شوند (Mohammadi babzeidi et al., 2013).

انواع اسیدهای آلی برای بهبود کمی و کیفی محصولات زراعی و باغی رواج فراوان یافته‌است. مقادیر بسیار کم از اسیدهای آلی به دلیل وجود ترکیبات هورمونی، اثرات قابل‌ملاحظه‌ای در بهبود خصوصیات فیزیکی، شیمیایی و زیستی خاک و افزایش تولید و بهبود کیفیت محصولات کشاورزی دارند (Khoranasinejad et al., 2019). جاسمونات به عنوان متابولیت‌های ثانویه در اسانس گیاه گل یاس[1] مشاهده شد. دو دهه پس از شناسایی اولیه جاسمونات‌ها تاثیر فیزیولوژیکی آن‌ها شناسایی و به عنوان ترکیبات پیش‌برنده‌ی پیری، بازدارنده رشد و محرک‌هایی برای متابولیت ثانویه در گیاهان عالی شناخته شدند (Rajabi et al., 2016). جاسمونات‌ها برای تحریک تولید فلاونوئیدها و فنول‌ها استفاده می‌شوند (Saeed et al., 2017). متیل‌جاسمونات در گیاه ریحان[2] مانند سایر گیاهان به عنوان محرک عمل کرده و سیستم آنتی‌اکسیدانی مخصوصا آنزیم فنیل‌آلانین آمونیالیاز که آنزیم کلیدی در مسیر تولید ترکیبات فنیل‌پروپانوئیدی می‌باشد را در این گیاه فعال می‌کند (Brouki milan et al., 2015). متیل‌جاسمونات نقش کلیدی در فرآیند انتقال سیگنال در پاسخ به تنش‌های محیطی دارد و تولید متابولیت‌های ثانویه را افزایش می‌دهد (Zhao et al., 2015). استفاده از متیل‌جاسمونات ۱۰۰میکرومولار تاثیر مثبتی بر سیستم‌های آنتی‌اکسیدانی میوه عناب چینی زمستانی[3] داشت (Dong et al., 2016). مواد هیومیکی از منابع تجدید ناپذیر مانند زغال سنگ نارس به دست می‌آیند. آن‌ها می‌توانند باعث تغییر در متابولیسم اولیه و ثانویه گیاه شوند و کمیت و کیفیت گیاه را افزایش دهند. بر اساس نتایج پژوهشی، فولویک‌اسید می‌تواند به میزان قابل‌توجهی فعالیت آنزیم آنتی‌اکسیدانی را در گل مرواریدی[4] افزایش دهد (Fang et al., 2020).

تحقیقات اخیر بیشتر بر هیومیک‌اسید متمرکز بوده و تحقیقات کمی در مورد فولویک‌اسید انجام شده است. فولویک‌اسید موجب افزایش ظرفیت تولید از طریق افزایش سنتز کلروفیل می‌گردد. فولویک‌اسید موجب افزایش تعداد گل و افزایش محصول می‌گردد

1. *Jasminum grandifloram*
2. *Ocimum basilicum*
3. Chinese winter jujube
4. *Paeonia ostia*

و رشد عمودی گیاه را کاهش می‌دهد (Aparna et al., 2008). هیومیک‌اسید و فولویک‌اسید با کلات کردن عناصر ضروری سبب افزایش جذب عناصر می‌شوند و باروری خاک و تولید در گیاهان را افزایش می‌دهند (Samavat and malakouti., 2005). فولویک اسید به عنوان فعال‌ترین ترکیب هیومیکی از طریق حل نمودن مواد معدنی در آب و انتقال راحت آن‌ها به گیاه سبب افزایش عملکرد کلاله زعفران [1] شد (Akrami et al., 2006). مطالعه‌ای نشان داد که محلول‌پاشی فولویک‌اسید در حدود ۰/۸ گرم در لیتر برای تقویت رشد گیاه و افزایش عملکرد گوجه‌فرنگی [2] موثر است (Saeed et al., 2017). Geng و همکاران (۲۰۲۰) عنوان داشتند فولویک‌اسید، متابولیسم فیزیولوژیکی سلول‌های گیاهی را تحریک می‌کند و باعث افزایش عملکرد می‌شود.

سرخارگل [3] یکی از گیاهان تیره گل ستاره‌ای است که گیاهی گلدار و علفی و چند ساله می‌باشد. گیاه سرخارگل به دلیل زیبایی و خواص دارویی به‌طور گسترده در سراسر ایالات متحده، کانادا و اروپا کشت می‌شود. از عصاره گیاه سرخارگل به طور سنتی به عنوان ترمیم زخم، برای بهبود سیستم ایمنی بدن و درمان علائم تنفسی ناشی از عفونت‌های باکتریایی استفاده می‌شود. بررسی عصاره گیاه سرخارگل نشان داد که این گیاه دارای خواص آنتی‌اکسیدانی و ضدمیکروبی است (Sharifi rad et al., 2018). همچنین از عصاره‌ی این گیاه در درمان عفونت حاد دستگاه تنفس استفاده می شود (Barrett, 2003) و به‌طور گسترده‌ای برای پیشگیری و درمان عفونت های تنفسی ویروسی مورد استفاده قرار گرفته است و اطلاعات نشان می‌دهد که ممکن است از عوارض عفونت ثانویه نیز جلوگیری کند. سرخارگل با جلوگیری از چسبندگی باکتریایی ناشی از ویروس و از طریق مهار تحریک التهاب، خطر عوارض تنفسی را کاهش می‌دهد (Vimalanathan et al., 2017 ;Schapowal et al., 2015).

قسمت‌های مختلف گیاه از جمله ریشه و بخش‌های هوایی آن دارای خواص درمانی زیادی است. تأثیر سرخارگل در تقویت سیستم دفاعی بدن مربوط به ترکیبات پلی‌ساکاریدی گیاه مانند اکیناسن و اکیناکوزید و ترکیبات آلکیل‌آمیدی آن می‌باشد. پلی‌فنل‌ها مانند کلروژنیک‌اسید و کافئیک‌اسید از طریق مهار توپو ایزومرایز II در مهار سرطان نقش دارند. کلروژنیک‌اسید و کافئیک‌اسید در شرایط آزمایشگاهی نقش آنتی‌اکسیدانی دارند و اثر جهش‌زایی و سرطان‌زایی برخی از ترکیبات را مهار می‌کنند. گزارش‌ها حاکی از آن است که رژیم غذایی غنی از ترکیبات کلروژنیک اسید در حفاظت بیماری‌های گوناگون همراه با تنش اکسیداتیو از قبیل سرطان نقش دارند (Dana, 2011). لذا هدف از این پژوهش تاثیر غلظت‌های مختلف فولویک‌اسید و متیل‌جاسمونات بر میزان کافئیک‌اسید و کلروژنیک‌اسید و برخی صفات و فیتوشیمیایی ریشه و اندام هوایی گیاه سرخارگل بوده است.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در سال ۱۳۹۷-۱۳۹۶ به صورت آزمایش فاکتوریل بر پایه کاملاً تصادفی با ۳ تکرار به صورت گلدانی در فضای آزاد و آزمایشگاه گروه مهندسی علوم باغبانی در دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان انجام شد. تیمارها شامل فولویک‌اسید در سه غلظت (۰، ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر)، متیل جاسمونات در چهار غلظت

1. *Crocus sativus*
2. *Lycopersicon esculentum*
3. *Echinacea purpurea*

(۰، ۹۰ ۱۰۰ و ۱۱۰ میکرومولار) و در دو بافت (اندام هوایی و ریشه) بود.

مواد گیاهی: بذر سرخارگل از شرکت دشتیار اصفهان تهیه گردید. بذور سرخارگل در تاریخ اول بهمن۱۳۹۶ به منظور تهیه نشاء در سینی کشت در گلخانه کشت گردیده سپس انتقال نشا در تاریخ ۱۴ اردیبهشت ۱۳۹۷ (در مرحله ۶-۴ برگی) به گلدان‌های اصلی با قطر دهانه ۲۶ و ارتفاع ۱۹ سانتی‌متر انتقال داده شد. طی این دوره عملیات داشت شامل آبیاری و حذف علف هرز انجام شد. در هر گلدان یک بوته گیاه سرخارگل بر اساس طرح آماری کشت گردید. تیمار فولویک‌اسید و متیل‌جاسمونات در غلظت‌های مختلف بعد از استقرار گیاه در گلدان (دو هفته) طی دو مرحله (رویشی) در گیاه اعمال گردید. برداشت در زمان گلدهی در تاریخ ۲ مهر ۱۳۹۷ صورت گرفت.

عصاره‌گیری ریشه و اندام هوایی: نمونه‌ها برای خشک شده به آون ۴۵ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۷۲ ساعت قرار داده سپس با آسیاب پودر شده و برای کار در آزمایشگاه مهیا شدند. نمونه‌های پودر شده به میزان یک گرم نوزین شده به ارلن ۵۰ میلی‌لیتری انتقال یافته و با ۱۰ سی‌سی حلال (متانول ۸۰٪) مخلوط شد. پس از ۲۴ ساعت روی شیکر عصاره متانولی حاوی نمونه با استفاده از کاغذ صافی صاف گردید سپس عصاره خالص برای اندازه‌گیری فنل‌کل، فلاونوئید کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی نمونه مورد استفاده قرار گرفت (Li et al., 1998).

فعالیت آنتی‌کسیدانی: برای اندازه‌گیری میزان مهار رادیکال‌های‌آزاد[1] DPPH از روش ابراهیم‌زاده (Ebrahim zadeh et al., 2008) استفاده گردید. یک میلی‌لیتر از عصاره متانولی با یک میلی‌لیتر DPPH با غلظت ۰/۱ میلی‌مولار (چهار میلی‌گرم رادیکال در ۱۰۰ میلی‌لیتر متانول) مخلوط گردید. برای شاهد یک میلی‌لیتر متانول خالص به جای یک میلی‌لیتر عصاره متانولی قرار داده شد و برای بلانک از متانول خالص استفاده شد. بعد از ۳۰ دقیقه تاریکی، نمونه‌ها در طول موج ۵۱۷ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (مدل 2800UV/VIS) قرائت شد. اعداد به دست آمده از جذب نمونه توسط رابطه (۱) به درصد مهار تبدیل شد.

(۱)

$$\text{درصد مهار آزادرادیکال(DPPH)} = \frac{(A_C - A_S)}{A_C} \times 100$$

در رابطه‌ی(۱) Ac و As به ترتیب برابر با عدد جذب کنترل و نمونه می‌باشد. اعداد به دست آمده برابر با درصد مهار رادیکال‌های‌آزاد در عصاره متانولی (۰/۱ppm) نمونه‌ها می‌باشد.

فلاونوئید کل: به میزان ۰/۵ میلی‌لیتر عصاره متانولی مقدار ۰/۱ میلی‌لیتر آلومینیم‌کلرید ۱۰ درصد در اتانول (۱۰ گرم آلومینیم‌کلرید در ۱۰۰ میلی لیتر اتانول) و ۱/۵ میلی‌لیتر متانول افزوده شد، سپس ۰/۱ میلی‌لیتر استات‌پتاسیم یک مولار (۲/۴ گرم در ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر) و ۲/۸ میلی‌لیتر آب مقطر اضافه گردید. برای تهیه شاهد، متانول خالص جایگزین عصاره متانولی گردید. در نهایت نمونه‌ها به مدت ۳۰ دقیقه در تاریکی قرار گرفت و در طول موج ۴۱۵ نانومتر قرائت شد. منحنی استاندارد بر اساس غلظت‌های مختلف کوئرستین محاسبه گردید و میزان فلاونوئید کل معادل کوئرستین در هر گرم پودر خشک تعیین شد (Chang et al., 2012).

فنل کل: میزان فنل کل با استفاده از روش فولین سیوکالتیو اندازه‌گیری شد. ابتدا ۲۰ میکرولیتر از عصاره برداشته شد و با ۱/۱۶ میلی‌لیتر آب مقطر و ۱۰۰ میکرولیتر فولین سیوکالتیو اضافه شد و بعد از ۸-۱ دقیقه استراحت، ۳۰۰ میکرولیتر کربنات‌سدیم

1. 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl

یک مولار (۱۰/۶ گرم در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر) به محلول افزوده شد و به‌مدت ۳۰ دقیقه در حمام بخار ۴۰ درجه سانتی‌گراد در تاریکی قرار گرفت. در شاهد متانول خالص جایگزین عصاره متانولی گردید. سپس در طول موج ۷۶۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر قرائت گردید. برای رسم منحنی کالیبراسیون از غلظت‌های متفاوت گالیک اسید (۰، ۲۵، ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰، ۲۰۰، ۲۵۰ میلی‌گرم بر لیتر) در متانول : آب (۸۰ : ۲۰) استفاده گردید. در معادله خطی حاصل به‌جای Y، عدد قرائت شده در مقابل بلانک را قرار داده شد و به این ترتیب X به‌دست آمد. این مقدار برای یک گرم در لیتر محاسبه شد و فنل کل بر حسب میلی‌گرم گالیک اسید در یک گرم نمونه خشک بدست آمد (Ordonez et al., 2006).

کلروژنیک‌اسید وکافئیک‌اسید: برای اندازه‌گیری کلروژنیک‌اسید وکافئیک‌اسید، یک گرم از نمونه پودر شده با متانول مرک به حجم ۱۰ میلی‌لیتر رسانده شد و سپس به مدت ۲۴ ساعت بر روی شیکر قرار گرفت و با کاغذ صافی فیلتر شده و از محلول فیلتر شده برای تزریق به HPLC با مشخصات مندرج در جدول ۱ استفاده شد.

جدول ۱: مشخصات دستگاه HPLC مورد استفاده

مدل دستگاه	مرک- هیتاچی ال-۷۱۰۰
دتکتور	دیود اری هیتاچی ال -۲۴۵۰
آون ستون	هیتاچی ال -۲۳۰۰
نوع ستون	آرپی- C_{18} با ابعاد ۴/۶ ×۲۵۰ میلی متر واندازه ذرات ۵ میکرومتر

فاز متحرک شامل استونیتریل به میزان ۱۰ میلی‌لیتر به اضافه ۱ میلی‌لیتراستیک‌اسید و ۸۹ میلی‌لیتر آب مقطر دیونیزه[1] بود (Trachtenberg et al., 2006). استاندارد کلروژنیک‌اسید از شرکت مرک خریداری و مقدار ۱۰۰ میلی‌گرم از استاندارد با متانول مرک به حجم ۱۰۰ میلی‌لیتر رسانده شد و از آن، غلظت‌های مختلف تهیه و به عنوان محلول‌های استاندارد برای تزریق در دستگاه HPLC و تهیه طیف مورد استفاده قرار گرفت.

قبل از تزریق نمونه‌ها به وسیله سرنگ‌های مجهز به فیلتر کاملاً صاف شدند. سپس به منظور شناسایی پیک مربوط به کلروژنیک‌اسید وکافئیک‌اسید نمونه‌ای از استاندارد کلروژنیک‌اسید و کافئیک‌اسید به دستگاه تزریق شد. زمان بازداری آن‌ها در نمونه با زمان بازداری ترکیب استاندارد در هر تزریق مقایسه شد. برای اطمینان بیشتر مخلوط نمونه و استاندارد تزریق شد. میزان کلروژنیک‌اسید و کافئیک‌اسید بر حسب میلی‌گرم در واحد حجم بیان می‌شود.

غلظت‌های متفاوتی از نمونه استاندارد (چهار نمونه با غلظت‌های ۲/۵، ۵، ۱۰ و ۱۰۰ پی‌پی‌ام) تهیه و به دستگاه تزریق شد. سپس با تزریق ۲۰ میکرولیتر از هر نمونه سطح زیر نمونه‌ها محاسبه گردید. پس از رسم منحنی کالیبراسیون و ایجاد معادله خطی با ضریب همبستگی بالا (R^2=۰/۹۹) غلظت کلروژنیک‌اسید در هریک از نمونه‌ها با استفاده از مساحت سطح زیر پیک آن‌ها محاسبه گردید. با مقایسه زمان تأخیر (مدت زمانی که طول می‌کشد تا ترکیب مورد نظر از ستون خارج شود) و سطح زیر منحنی نمونه با نمونه‌های استاندارد، میزان کافئیک اسید و کلروژنیک اسید تعیین و در نهایت بر اساس میلی‌گرم بر گرم وزن خشک نمونه بیان گردید.

1. Deionized water

نمونه‌ها در طول موج ۳۳۰ نانومتر قرائت گردید (Tanuri et al., 2012). تجزیه تحلیل داده‌ها با نرم‌افزار SAS و مقایسه میانگین‌ها با آزمون LSD و رسم نمودار با نرم‌افزار Excel انجام گردید.

نتایج

تجزیه واریانس تأثیر فولویک اسید و متیل جاسمونات بر صفات فیتوشیمیایی

میزان فنل کل: بر اساس نتایج تجزیه واریانس (جدول۲) تیمار متیل‌جاسمونات و فولویک اسید و اثر متقابل آن‌ها با یکدیگر در سطح ۱ درصد بر صفات فیتوشیمیایی فنل کل، فلاونوئیدکل، فعالیت آنتی‌اکسیدانی، کافئیک اسید و کلروژنیک‌اسید در ریشه و اندام هوایی اثر معنی‌دار داشتند.

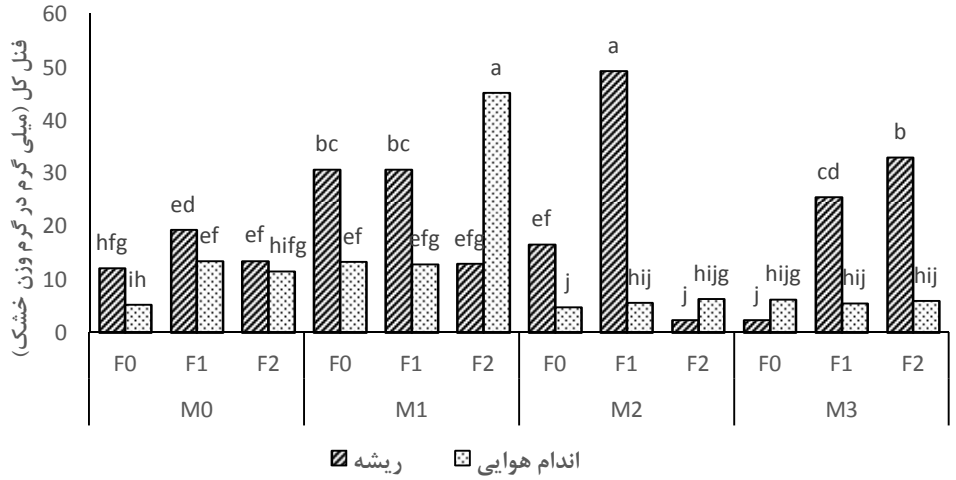
جدول ۲: تجزیه واریانس اثر تیمارها بر صفات فیتوشیمیایی در گیاه سرخارگل

منابع تغییرات	درجه آزادی	فنل کل	فلاونوئید کل	فعالیت آنتی‌اکسیدانی	کافئیک‌اسید	کلروژنیک‌اسید
بافت	۱	۱۵۷۹/۰۳**	۲۱۵۴/۳**	۴۸۱۹/۰۰۱**	۱۳۸/۵۲**	۹/۱۵**
متیل‌جاسمونات	۳	۵۵۶/۷۶**	۱۵۵/۷۱**	۵۵۱۹/۰۹**	۱۷۹/۲۱**	۱۶/۳۳**
فولویک‌اسید	۲	۴۷۱/۴۰**	۲۵/۵۶^{ns}	۱۳۱/۱۱*	۳۰/۱۵**	۱۷/۳۳**
بافت × متیل‌جاسمونات	۳	۲۶۶/۸۴**	۱۶۷/۴۱**	۷۹/۹۴^{ns}	۱۰۵/۶۴**	۱۱/۳۱**
بافت × فولویک‌اسید	۲	۸۴۸/۸۶**	۳۱/۵۷^{ns}	۹۵۰/۵۶**	۲۵/۳۲**	۳/۲۹**
متیل جاسمونات × فولویک‌اسید	۶	۳۱۵/۸۷**	۸۴/۰۳**	۲۰۰۵/۵۵**	۴۹/۳۹**	۱۱/۳۲**
بافت × متیل جاسمونات × فولویک‌اسید	۶	۵۶۱/۷۷**	۷۶/۶۶**	۳۳۵/۶۲**	۷۵/۹۲**	۱۲/۳۳**
خطا	۴۸	۱۶/۸۹	۱۷/۲۸	۳۷/۹۵	۰/۰۰۱	۱۰/۶۶
ضریب تغییرات	–	۲۵/۶۳	۵۴/۴۳	۱۶/۳۵	۰/۰۰۹	۶/۱۵

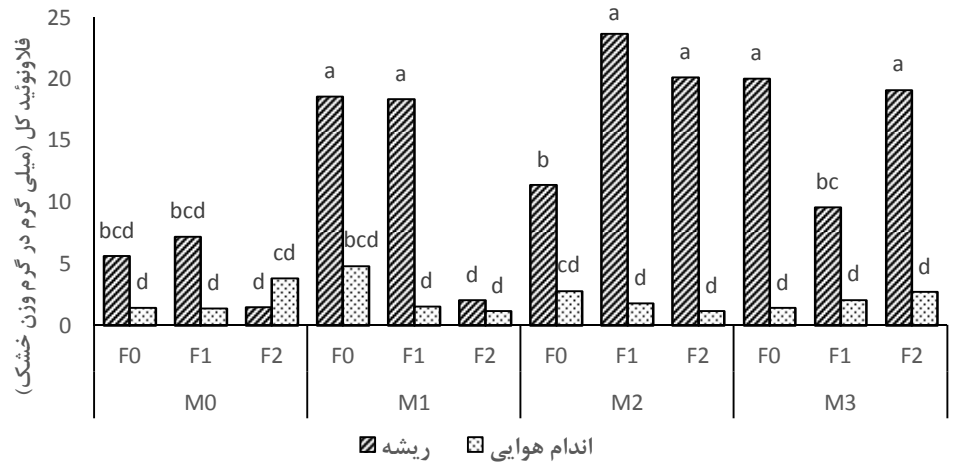
مقایسه میانگین اثر فولویک‌اسید و متیل جاسمونات بر صفات فیتوشیمیایی

میزان فنل کل: بر اساس نتایج مقایسه میانگین‌ها (شکل ۱) بیشترین میزان فنل کل (۴۹/۲۹ میلی‌گرم در گرم) در متیل‌جاسمونات ۱۰۰میکرومولار و فولویک اسید ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر در ریشه که اختلاف معنی‌دار با غلظت ۲۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر فولویک‌اسید و ۹۰ میکرومولار متیل‌جاسمونات با اندام هوایی نداشت و کمترین میزان فنل کل (۴/۷۶ میلی‌گرم در گرم) در متیل‌جاسمونات ۱۰۰ میکرومولار در اندام هوایی تولید شد.

میزان فلاونوئید کل: نتایج حاصل از مقایسه میانگین‌ها نشان داد (شکل ۲)که بیشترین میزان فلاونوئید کل (۲۳/۶۶ میلی‌گرم در گرم) در متیل‌جاسمونات ۱۰۰ میکرومولار و فولویک اسید ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر در ریشه که اختلاف معنی‌دار با غلظت ۲۰۰۰ میلی‌گرم و متیل‌جاسمونات ۹۰ میکرومولار در همان اندام نداشت و کم‌ترین میزان آن (۱/۱۵ میلی‌گرم در گرم) در متیل‌جاسمونات ۱۰۰ میکرومولار و فولویک‌اسید ۲۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر در اندام هوایی تولید گردید.

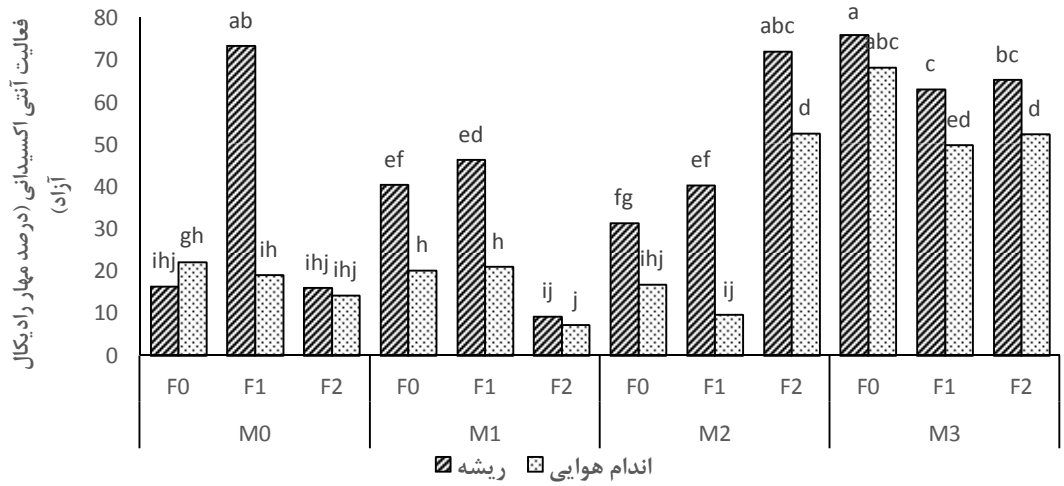


شکل ۱: اثر متقابل فولویک‌اسید و متیل جاسمونات بر میزان فنل کل ریشه و اندام هوایی گیاه سرخارگل فولویک اسید شاهد (F0)، فولویک اسید ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام (F1)، فولویک اسید ۲۰۰۰ پی‌پی‌ام (F2)، متیل‌جاسمونات شاهد (M0)، متیل‌جاسمونات ۹۰ میکرومولار (M1)، متیل‌جاسمونات ۱۰۰ میکرومولار (M2)، متیل‌جاسمونات۱۱۰میکرومولار (M3)



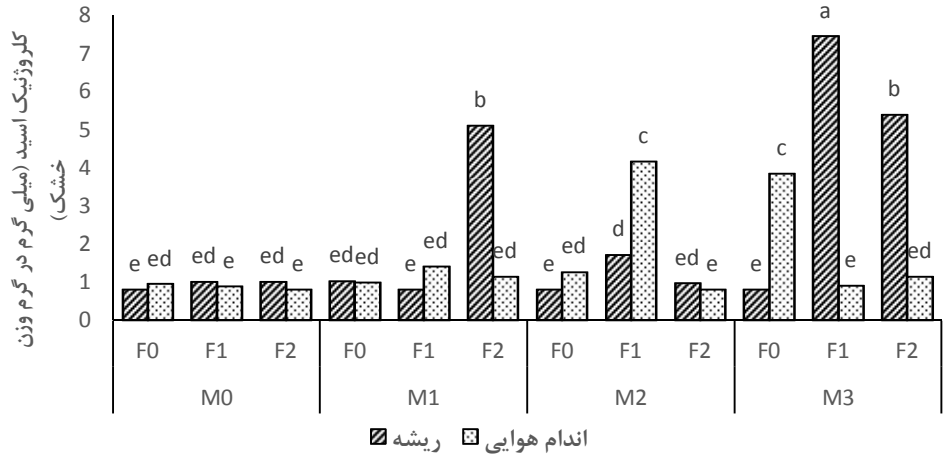
شکل ۲: اثر متقابل فولویک‌اسید و متیل جاسمونات بر میزان فلاونوئید کل ریشه و اندام هوایی گیاه سرخارگل فولویک اسید شاهد (F0)، فولویک اسید ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام (F1)، فولویک اسید ۲۰۰۰ پی‌پی‌ام (F2)، متیل‌جاسمونات شاهد (M0)، متیل‌جاسمونات ۹۰ میکرومولار (M1)، متیل‌جاسمونات ۱۰۰ میکرومولار (M2)، متیل‌جاسمونات۱۱۰میکرومولار (M3)

میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی: بر اساس نتایج مقایسه میانگین (شکل ۳) بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی (۷۶/۰۳ درصد مهار رادیکال آزاد) در متیل‌جاسمونات ۱۱۰ میکرومولار و فولویک‌اسید ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر در ریشه و کمترین میزان فعالیت آنتی‌اکسیدان (۷/۲۶ درصد مهار رادیکال آزاد) در متیل‌جاسمونات ۹۰ میکرومولار و فولویک‌اسید ۲۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر در اندام هوایی مشاهده گردید.



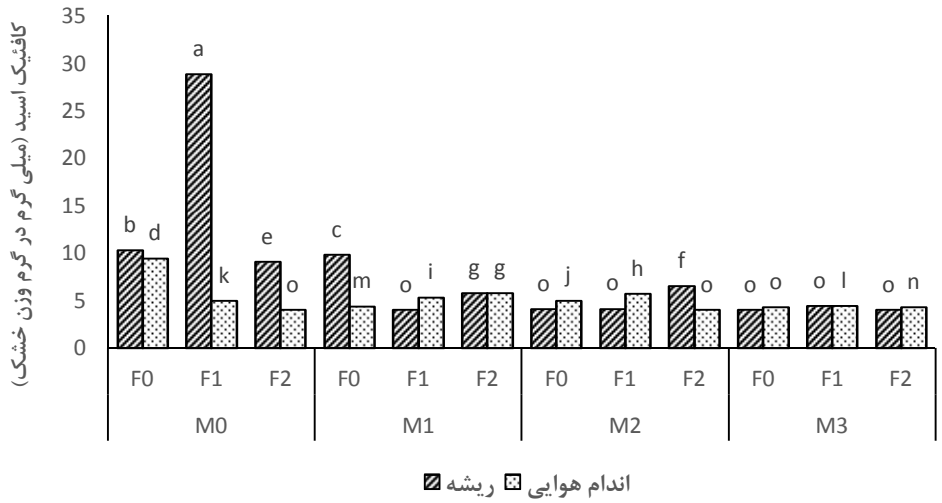
شکل ۳: اثر متقابل فولویک‌اسید و متیل جاسمونات بر فعالیت آنتی اکسیدان ریشه و اندام هوایی گیاه سرخارگل فولویک اسید شاهد (F0)، فولویک اسید ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام (F1)، فولویک اسید ۲۰۰۰ پی‌پی‌ام (F2)، متیل‌جاسمونات شاهد (M0)، متیل‌جاسمونات ۹۰ میکرومولار (M1)، متیل‌جاسمونات ۱۰۰ میکرومولار (M2)، متیل‌جاسمونات۱۱۰میکرومولار (M3)

میزان کلروژنیک‌اسید: براساس مقایسه میانگین (شکل۴) بیشترین میزان کلروژنیک اسید (۷/۴۶ میلی‌گرم در گرم) در متیل‌جاسمونات ۱۱۰ میکرومولار و اسید فولویک ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر در ریشه و کمترین میزان کلروژنیک اسید (۰/۸۱۷ میلی‌گرم در گرم) در نمونه‌های شاهد مشاهده گردید.



شکل٤: اثر متقابل فولویک‌اسید و متیل جاسمونات بر میزان کلروژنیک‌اسید در ریشه و اندام هوایی گیاه سرخارگل فولویک اسید شاهد (F0)، فولویک اسید ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام (F1)، فولویک اسید ۲۰۰۰ پی‌پی‌ام (F2)، متیل‌جاسمونات شاهد (M0)، متیل‌جاسمونات ۹۰ میکرومولار (M1)، متیل‌جاسمونات ۱۰۰ میکرومولار (M2)، متیل‌جاسمونات۱۱۰میکرومولار (M3)

میزان کافئیک‌اسید: نتایج مقایسه میانگین نشان داد (شکل ۵) بیشترین میزان کافئیک اسید (۲۸/۹۰ میلی‌گرم در گرم) در فولویک اسید ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر در ریشه و کم‌ترین میزان کافئیک اسید (۴/۰۴ میلی‌گرم در گرم) در شاهد تولید گردید که با غلظت‌های مختلف متیل‌جاسمونات در اندام هوایی و ریشه اختلاف معنی دار نداشت.



شکل ۵: اثر متقابل فولویک‌اسید و متیل‌جاسمونات بر میزان کافئیک‌اسید در ریشه و اندام هوایی گیاه سرخارگل فولویک‌اسید شاهد (F0)، فولویک‌اسید ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام (F1)، فولویک‌اسید ۲۰۰۰ پی‌پی‌ام (F2)، متیل‌جاسمونات شاهد (M0)، متیل‌جاسمونات ۹۰ میکرومولار (M1)، متیل‌جاسمونات ۱۰۰ میکرومولار (M2)، متیل‌جاسمونات ۱۱۰میکرومولار (M3)

بحث

متیل‌جاسمونات مکانیسم گیاهی را در مقابل تنش‌های محیطی افزایش می‌دهد و موجب افزایش متابولیت‌های ثانویه می‌گردد (Horbowicz et al., 2011). مطالعه‌های انجام شده روی اثر متیل‌جاسمونات بر ترکیب‌های ثانویه گل همیشه‌بهار[1] نشان داد که افزایش غلظت متیل‌جاسمونات از ۰/۱ به ۰/۵ میلی‌مولار سبب افزایش میزان فنل‌کل در همیشه بهار شد. همچنین محتوای فنل‌کل ریشه با متیل‌جاسمونات افزایش و در اندام هوایی کاهش یافت (Ghanati and Bakhtiarian , 2014). کاربرد کودهای آلی به دلیل افزایش دسترسی گیاه به مواد غذایی مخصوصا کربن و نیتروژن موجب افزایش تولید ترکیبات فنلی می‌گردد (Vojudi et al., 2017). در مطالعه‌ای نتیجه گرفته شد که استفاده از متیل جاسمونات محتوای فنل را در گیاه کنگرفرنگی[2] در هنگام برداشت افزایش می‌دهد (Martinez et al., 2017). در گیاه لبدیسی[3] نیز، متیل‌جاسمونات باعث افزایش فنل کل، فلاونوئید کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی در ریشه شد (Saeed et al., 2017). همتی و همکاران (۲۰۰۸) در تحقیقی گزارش کردند میزان فلاونوئیدهای سرخ‌ولیک[4]، میزان کوئرستین این گیاه در گل نسبت به برگ و میوه بیشتر بوده است در حالی که بین برگ، گل و میوه از نظر میزان روتین اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. چالکون‌سنتاز که پیش‌ساز فلاونوئیدها را تولید می‌کند با متیل‌جاسمونات القا می‌شود (Point et al., 1998). آنزیم فنیل‌آلانین آمونیالیاز به عنوان اولین آنزیم در مسیر فنیل‌پروپانوئید موجب تبدیل فنیل‌آلانین می‌شود که این ترکیب A–کوماریل‌کوآنزیم–۹ به پیش‌ساز فعال در تولید ترکیبات فلاونوئیدی است و از طرفی فنیل‌آلانین آمونیالیاز و چالکون‌سینتاز هر دو در مسیر بیوسنتز آنتوسیانین‌ها استفاده می‌شوند (Kilo, 1998). لذا به‌نظر می‌رسد نهاده‌های اکولوژیک مورد مطالعه احتمالاً از طریق مکانیسم‌هایی نظیر انحلال ویتامین‌ها، ایزوآنزیم‌ها، هورمون‌ها و آنتیبیوتیک‌ها و افزایش مقاومت گیاه

1. *Calendula officinalis*
2. *Cynara scolymus*
3. *Ajuga bracteosa*
4. *Cratageus mongyna*

به تنش‌های محیطی سنتز آنزیم فنیل‌آلانین آمونیالیاز را فعال کردند و در نتیجه منجر به افزایش میزان فلاونوئید و آنتوسیانین در گاوزبان ایرانی شدند (Samavat and malakouti., 2005). در پژوهشی نشان داده شد که غلظت یک میلی‌مولار متیل‌جاسمونات تاثیر مثبت زیادی بر میزان فلاونوئید و فعالیت آنزیم‌های آنتی-اکسیدانی مانند پراکسیداز و کاتالاز در سرخارگل شد (Dastyar and Kheiri, 2019).

حسن زاده و همکاران در آزمایشی اعلام داشتند کاربرد کودهای آلی و مواد شیمیایی بر درصد اسانس و فعالیت آنتی‌اکسیدان گیاه مرزه[1] تاثیرگذار بود (Hasan zadeh et al., 2016). افزایش میزان پروتئین در هنگام استفاده از متیل‌جاسمونات می‌تواند به دلیل فعال شدن مسیر پروپانوئیدی و در نتیجه سنتز بیشتر آنزیم‌های شرکت‌کننده در این مسیر و نیز آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی باشد (Rauf fard et al., 2014). فاروغ و همکاران گزارش کردند متیل‌جاسمونات باعث تقویت سیستم آنتی‌اکسیدانی و متابولیت ثانویه در کلزا[2] شد (Farooq et al., 2016). درنتیجه پژوهشی متیل‌جاسمونات در ریحان[3] به‌طور قابل توجهی فعالیت آنتی‌اکسیدانی را افزایش داد (Talebi et al., 2018). همچنین در مطالعه‌ای نشان‌داده شد متیل جاسمونات باعث تحریک مسیرهای آنتی‌اکسیدانی در زغال اخته آبی[4] شد (Ulloa-Inostroza et al., 2019). نتایج این پژوهش‌ها مشابه نتایج پژوهش انجام شده بود.

نتایج تحقیقات خاوری نژاد (Khavari nejad and Asadi, 2005)، بابرعلی (Babar ali et al., 2007)، حسینی (Hosseini et al., 2011) و کواسیک (Kováčik et al., 2010) نشان می‌دهد که تیمار متیل‌جاسمونات باعث افزایش ترکیبات فنلی چون کلروژنیک‌اسید و کافئیک‌اسید و سایر ترکیبات موثره در برابر تنش‌ها می‌شود. در پژوهش حاضر، افزایش غلظت متیل‌جاسمونات باعث افزایش کلروژنیک‌اسید شد ولی در کافئیک‌اسید نتیجه عکس حاصل شد.

در پژوهشی بر گیاه کلزا[5] محققان گزارش دادند غلظت ۱۵۰ میکرومولار متیل‌جاسمونات در گیاه کلزا میزان کافئیک اسید را نسبت به شاهد افزایش داد (Qasimi et al., 2003). همچنین نتیجه پژوهشی روی سرخارگل نشان داد که در اثر استفاده از متیل‌جاسمونات ۱۰۰ میکرولیتر باعث افزایش کافئیک‌اسید شد (Demirci et al., 2017). نتایج این پژوهش نشان داد که غلظت‌های به کار برده‌شده متیل‌جاسمونات اثر مثبتی بر میزان کافئیک اسید نداشت ولی فولویک اسید در غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر بهترین نتیجه را در میزان کافئیک اسید داشت.

نتیجه‌گیری نهایی

نتایج کلی نشان داد متیل‌جاسمونات و فولویک‌اسید روی کلیه صفات فیتوشیمیایی در سطح ۱ درصد تاثیر معنی‌دار داشته است. بیشترین میزان فنل‌کل (۴۹/۲۹ میلی‌گرم درگرم) و فلاونوئید کل (۲۳/۶۶ میلی‌گرم در گرم) در متیل‌جاسمونات ۱۰۰ میکرومولار و فولویک اسید ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر در ریشه بیشترین میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی (۷۶/۰۳ درصد) در متیل‌جاسمونات ۱۱۰ میکرومولار در ریشه تولید گردید. بیشترین میزان کلروژنیک‌اسید (۷/۴۶ میلی‌گرم در گرم) در متیل‌جاسمونات ۱۱۰میکرومولار و فولویک اسید ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر ریشه و بیشترین میزان کافئیک‌اسید (۲۸/۹۰ میلی‌گرم در گرم) در فولویک اسید ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر در ریشه مشاهده شد. با توجه به نتایج این تحقیق غلظت ۹۰

1. *Satureja hortensis*
2. *Brassica napus*
3. *Ocimum basilicum*
4. *Vaccinium corymbosum*
5. *Brassica napus*

میکرومولار متیل‌جاسمونات و فولویک‌اسید در غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر تاثیر بیشتری بر صفات مورد اندازه‌گیری داشته است.

References

1. Agha Alikhani, M., Iranpour, A. and Naqdi Badi, H. 2013. Changes in agronomic and phytochemical yield of *Echinacea purpurea* Moench under the influence of urea and biofertilizer. Journal of Medicinal Plants. 12 (2): 121 - 136.
2. Akrami, M., Malakouti, M., Keshavarz, P. 2015. Study of flower and stigma yield of saffron as affected by potassium and zinc fertilizers in Khorasan Razavi Province. Journal of Saffron Research, 2(1): 85-96.
3. Aparna, C., Saritha, V., Himabindu, Y. and Anjaneyulu, P. 2008. Techniques for the evaluation of maturity for composts of industrially contaminated lake sediments Waste Management, 28(10): 1773-1784.
4. Babar Ali, M., Hahn, E.J., and Paek, K.Y. 2007. Methyl jasmonate and salicylic acid induced oxidative stress and accumulation of phenolics in *Panax ginseng* bioreactor root suspension cultures. Molecules. 12: 607-621.
5. Barrett, B. 2003. Medicinal properties of Echinacea: a critical review. *Phytomedicine*, 10(1), 66-86.
6. Brouki milan, E., Hassni, L., Abdollahi Mandoulakani, B., Darvishzadeh, R., Kheradmand, F., and Hassani, A. 2016. The effect of different concentrations of methyl jasmonate on the activity of antioxidant enzymes and total protein in basil. Journal of Crops Improvement, 18(1): 103-115.
7. Chang, C.C., Yang, M.H., Wen, H.M., and Chern, J.C. 2002. Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. Journal of food and drug analysis, 10(3).
8. Dana, R. 2011. Antimicrobial activity of plants. Exploration Magazine. 24 (3):39-36.
9. Dastyar, Y., and Kheiri, A. 2019. Effect of salicylic acid and methyl jasmonate on morphological traits, enzymatic activity and essential oil percentage of purple coneflower plant (*Echinacea purpurea* L.) in Zanjan climate.
10. Demirci, T., Özmen, S., Yılmaz, E. G., Aşcı, Ö.A., and Baydar, N.G. 2017. The influence of methyl jasmonate on growth and caffeic acid derivative contents of in vitro shoot and roots in *echinaceae* (*Echinacea Purpurea*). Indian Journal of Pharmaceutical Education, 51(3s2), s513-s517.
11. Dong, Y., Zhi, H.H., Xu, J., Zhang, L. H., Liu, M.P., and Zong, W. 2016. Effect of methyl jasmonate on reactive oxygen species, antioxidant systems, and microstructure of Chinese winter jujube at two major ripening stages during shelf life. The Journal of Horticultural Science and Biotechnology, 91(3): 316-323.
12. Ebrahimzadeh, A., Nabavi, S.M., Nabavi, S.F. and Dehpour, A.A. 2011. "Antioxidant activity of hydroalcholic extract of *Ferula gummosa* Boiss roots", US National Library of Medicine National Institutes of Health. 15(6):658-64.
13. Fang, Z., Wang, X., Zhang, X., Zhao, D., and Tao, J. 2020. Effects of fulvic acid on the photosynthetic and physiological characteristics of *Paeonia ostii* under drought stress. Plant Signaling & Behavior, 15(7), 1774714.
14. Farooq, M.A., Gill, R. A., Islam, F., Ali, B., Liu, H., Xu, J., and Zhou, W. 2016. Methyl jasmonate regulates antioxidant defense and suppresses arsenic uptake in *Brassica napus* L. Frontiers in plant science, 7: 468.
15. Geng, J., Yang, X., Huo, X., Chen, J., Lei, S., Li, H. and Liu, Q. 2020. Effects of controlled-release urea combined with fulvic acid on soil inorganic nitrogen, leaf senescence and yield of cotton. Scientific Reports, 10(1), 1-11.
16. Ghanati, F., and Bakhtiarian, S. 2014. Effect of methyl jasmonate and silver nanoparticles on production of secondary metabolites by *Calendula officinalis* L.

(Asteraceae). Tropical Journal of Pharmaceutical Research, 13(11):1783-1789.

17. Hassanzadeh, R., Jahan, M., Majnoon Hosseini, N., Nezami, A. and Rezvani Moghadam, P. 2016. The effect of low irrigation and application of high and low consumption fertilizers on morpho-physiological traits of summer annual border. Iranian Crop Science. 46 (2): 286-277
18. Horbowicz, M., Chrzanowski, G., Koczkodaj, D., and Mitrus, J. 2011. The effect of methyl jasmonate vapors on content of phenolic compounds in seedlings of common buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench.). Acta Societatis Botanicorum Poloniae, 80(1).
19. Hosseini, S.S., Mashayekhi, K., Alizadeh, M., and Ebrahimi, P. 2011. Effect of salicylic acid on somatic embryogensis and chlorogenic acid levels of Carrot (*Daucus carota* cv. Nantes) explants. Ornamental and Horticultural Plant. 1(2): 105-113.
20. Khavari Nejad, R., and Asadi, A. 2005 Effect of salicylic acid on the amount of some secondary metabolites (saponins and anthocyanins) and induction of antimicrobial resistance in *Bellis perennis* L. Iranian Medicinal and Aromatic Plants Research: 21(4): 586-533
21. Khorasaninejad, S., Sadeghi, M., and Ebrahimi, P. 2019. The effect of irrigation intervals on growth, physiological and biochemical indices of coneflower (*Echinaceae purpurea* (L.) Monch) under humic acid foliar application. Journal of Crop Production, 12(3): 101-120.
22. Kilo, C.M. 1998. A framework for collaborative improvement: lessons from the Institute for Healthcare Improvement's Breakthrough Series. Quality management in health care, 6: 1-14.
23. Kováčik, J., Klejdus, B., Hedbavny, J., and Bačkor, M. 2010. Effect of copper and salicylic acid on phenolic metabolites and free amino acids in *Scenedesmus quadricauda* (Chlorophyceae). Plant Science, 178(3): 307-311.
24. Li, L., and Van Staden, J. 1998. Effects of plant growth regulators on the antioxidant system in callus of two maize cultivars subjected to water stress. *Plant Growth Regulation*, 24(1), 55-66.
25. Martínez-Esplá, A., Valero, D., Martínez-Romero, D., Castillo, S., Giménez, M. J., García-Pastor, M.E. and Zapata, P. J. 2017. Preharvest application of methyl jasmonate as an elicitor improves the yield and phenolic content of artichoke. Agricultural and food chemistry, 65(42): 9247-9254.
26. Mohammadi Babazeidi, H., Falaknaz, M., Heidary P., Hemmati. M., and Farrokhian, Sh. 2013. The effect of azospirillium and salicylic acid on physiological and morphological traits of basil under dehydration. New Journal of Cell Biotechnology. 3 (12): 35 - 31.
27. Ordonez, A.A.L., Gomez, J.D., and Vattuone, M.A. 2006. Antioxidant activities of *Sechium edule* (Jacq.) Swartz extracts. Food chemistry, 97(3): 452-458.
27. Point. F., Benveniste, I., Salaun, J.P. and Durst, F. 1998. Methyl jasmonate induces lauric acid hydroxylase activity and accumulation of CYP94AL transcripts but does not affect epoxide hydrolase activities in *Vicia sativa* seedling. Plant Physiology. 118(4):1481-1486.
28. Qasim, M., Ashraf, M., Jamil, M.A., Ashraf, M.Y., and RHA, E.S. 2003. Water relations and leaf gas exchange properties in some elite canola (*Brassica napus*) lines under salt stress. Annals of applied biology, 142(3): 307-316.
29. Rajabi, A., Zakizadeh, H., Hatamzadeh, A. and Sahraru, A. 2016. Investigation of different concentrations of growth regulators and type of explants on callus formation of marigold. Fourth National Congress of Organic and Conventional Agriculture.
30. Rauf-Fard. F., Sharifi, M., Omidbeigi, R., sefidkon, F., Bahmanesh, M. and Ahmadi, N. 2014. The Effect of methyl-jasmonate on metabolism enzymes and phenolic materials in agustact drug. Iranian journal of Medecinal plants and Herbs Research, 30(3): 369-361.
31. Saeed, S., Ali, H., Khan, T., Kayani, W., and Khan, M.A. 2017. Impacts of methyl jasmonate and phenyl acetic acid on

biomass accumulation and antioxidant potential in adventitious roots of *Ajuga bracteosa* Wall ex Benth. a high valued endangered medicinal plant. Physiology and molecular biology of plants, 23(1): 229-237.

32. Samavat, S. and Malakooti, M. 2005. The necessity of using organic acids to increase the quality and quantity of agricultural products. Technical Journal, 463. Sana Press, Tehran. (In Persian).
33. Schapowal, A., Klein, P., and Johnston, S. L. 2015. Echinacea reduces the risk of recurrent respiratory tract infections and complications: a meta-analysis of randomized controlled trials. Advances in therapy, 32(3): 187-200.
34. Sharifi-Rad, M., Mnayer, D., Morais-Braga, M.F.B., Carneiro, J.N.P., Bezerra, C F., 35. Coutinho, H.D.M., & Uribe, Y. A.H. 2018. *Echinace*a plants as antioxidant and antibacterial agents: From traditional medicine to biotechnological applications. Phytotherapy Research, 32(9): 1653-1663.
35. Talebi, M., Moghaddam, M., and Pirbalouti, A G. 2018. Methyl jasmonate effects on volatile oil compounds and antioxidant activity of leaf extract of two basil cultivars under salinity stress. *Acta Physiologiae Plantarum*, 40(2), 34.
36. Tanuri, A., Qasemnejad, A. and Alizadeh, M. 2012. The effect of methyl jasmonate and salicylic acid on morphological traits and internal pigments of artichoke callus. Agriculture. 16(4): 869-857
37. Trachtenberg, E., Korber, B., Sollars, C., Kepler, T.B., Hraber, P.T., Hayes, E. and Wolinsky, S. 2006. Advantage of rare HLA supertype in HIV disease progression. Nature medicine, 9(7): 928-935.
38. Ulloa-Inostroza, E.M., Alberdi, M., Ivanov, A.G., and Reyes-Díaz, M. 2019. Protective effect of methyl jasmonate on photosynthetic performance and its association with antioxidants in contrasting aluminum-resistant blueberry cultivars exposed to aluminum. Journal of Soil Science and Plant Nutrition, 19(1): 203-216.
39. Vimalanathan, S., Schoop, R., Suter, A., and Hudson, J. 2017. Prevention of influenza virus induced bacterial superinfection by standardized *Echinacea purpurea*, via regulation of surface receptor expression in human bronchial epithelial cells. Virus research, 233: 51-59.
40. Vojudi., L. Valizadeh Kamran, R., Soltani Qaralar, Z., Imani Zaraatkar, Z. and Masoompour, Z. 2017. The effect of application of different levels of organic fertilizer and urea on nitrate accumulation and some physiological traits of spinach. Plant products. 41(3):83-94.
41. Zhou, P., Yang, J., Zhu, J., He, S., Zhang, W., Yu, R., and Huang, X. 2015. Effects of β-cyclodextrin and methyl jasmonate on the production of vindoline, catharanthine, and ajmalicine in *Catharanthus roseus* cambial meristematic cell cultures. Applied microbiology and biotechnology, 99(17): 7035-7045.

Study on effect of Fulvic acid and Methyljasmonate on Chlorogenic acid, Caffeic acid and some phytochemical traits in aerial parts and roots of *Echinacea purpurea* (L.) Moench

Karimi, M.[1], Hemmati, KH.[2*], Hemmati, N.[3]

[1]M.Sc. Student of Medicinal Plants, Department of Horticulture, Faculty of Plant Production, Gorgan Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran

[2]Associate Professor of Horticulture Science Department, Faculty of Plant Production, Gorgan Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran

[3]PhD Candidate in Medicinal Plants, Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran

Received: 2020-6-6 ; Accepted: 2021-3-9

Abstracts

Echinacea purpurea L. is one of the medicinal plants belonging to the Asteraceae family. The various organs of the plant, especially its roots, contain valuable medicinal compounds with anti-bacterial and anti-viral properties that are widely used in the pharmaceutical industries. The aim of this study to investigate the effect of different concentrations of fulvic acid and methyl jasmonate on some morphophysiological and biochemical traits of the roots and aerial herbal parts of coneflower. This study was conducted as a factorial experiment based on completely randomized design with three replications at Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources in 2016 and 2017. Treatments included: fulvic acid at three levels (0, 1000 and 2000 mg/l) and methyl jasmonate at four levels (0, 90, 100, and 110 µM). The measured variables included: total phenol content, total flavonoid, antioxidant activity, chlorogenic acid and caffeic acis. The biochemical traits were examined by spectrophotometer and chlorogenic acid and caffeic acid were measured by HPLC. The results showed that the treatments and their interaction on phytochemical traits were significant at the level of 1% and %5. Based on the results of mean comparison, the highest amount of chlorogenic acid (7.46 mg/g) was observed at 110 mM methyl jasmonate and 1000 ppm fulvic acid and the maximum amount of caffeic acid (28 mg/g) was observed at 110 µM of methyl jasmonate and 1000 ppm of fulvic acid. The highest amount of total phenol (49.29 mg / g) in 100 µM methyl jasmonate and 1000 mg / l fulvic acid and the highest amount of total flavonoids (23.66 mg / g) at 100 µM methyl jasmonate and 1000 mg/l fulvic acid were observed. The highest antioxidant activity (76.03% free radical scavenging) was obtained at 110 µM methyl jasmonate and 1000 mg / l fulvic acid. Thus, the highest amount of variables measured was in the roots of the plant at a concentration of 1000 mg / l fulvic acid.

***Keywords*:** Coneflower, Fulvic Acid, Methyl Jasmonate, Phytochemical,

*Corresponding author khodayarhemmati@yahoo.com