Eco–phytochemical
Journal of Medicinal Plants
Print ISSN: 2322-3235
Online ISSN: 2783-4697
Islamic Azad University
Gorgan Branch
Iranian Society
of Medical Plants

Investigating the effect of jasmonic acid on the quantitative and qualitative changes of secondary metabolites of different organs from *Scrophularia striata*

Elham Ahmadi [1], Arash Fazeli[1*], Zeinab Rostami[1]

[1] Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, University of ilam, Ilam, Iran, Email: a.fazeli@ilam.ac.ir

Article type:
Research article

Article history
Received: 2-1-2023
Revised: 4-2-2023
Accepted: 17-2-2023

Keywords
GC Mass
Ilam
Jasmonic Acid
Secondary Metabolites
Scrophularia striata Boiss.

Abstract

Figwort (*Scrophularia striata* Boiss.) is a medicinal plant from the Lamiaceae family, which has a high medicinal value, despite its medicinal potential; there is a little information about type and amount of secondary metabolites. It is traditionally used in western Iran to treat wounds, infection and kidney disease. In the present study, seeds were collected from the slopes of the Zagros Mountains located at the University of Ilam and the effect of jasmonic acid in three levels (0 (control), 100 and 300) ppmwas performed on the changes of secondary metabolites in the different tissue (root and air) of this plant in the research greenhouse of Ilam University of Agriculture in 1400. The aerial parts and roots of the plant were extracted in the flowering stage after drying by the Soxhlet water method. Gas chromatography and Mass Spectrometer analysis were performed. The results showed that different concentrations of methyl jasmonate induce the biosynthesis of a number of secondary compounds, especially phenylpropanoid compounds. So that tetradecamethyl (8.69 percent), dodecamethyl- (31.7 percent), 2,3-Dihydro-benzofuran (35.5 percent), 2-Methoxy-4-vinylphenol (32.9 percent), 2-Furancarboxaldehyde (4.4 percent) 03%), Ethyl.alpha.-d-glucopyranoside (87.19%), 4-vinylphenol (64.12%), Methyl beta-D-glucopyranoside (28.26%), 2-Propenoic acid, 3-(4-methoxyphenyl) (Cinnamic acid) (21.02 percent) and 2-Propenoic acid, 3-phenyl-, (E)-(Cinnamic acid) (57.14 percent) were the highest in the shoots and roots of plants treated in compared to control samples.

Cite this article as: Hamidi, M., Navabpoor, S., Fathi Sadabadi, M. (2023). Investigating the effect of jasmonic acid on the changes of secondary metabolites of different organs from *Scrophularia striata* Boiss by using GC-MASS. *Eco-phytochemical Journal of Medicinal Plants.*, 11(3): 15-28.

©The author(s)
Publisher: Islamic Azad University, Gorgan branch
Doi: 10.30495/ejmp.2023.1976637.1715 Dor: 20.1001.1.23223235.1402.11.3.2.7

اکوفیتوشیمی گیاهان دارویی
شاپا چاپی: ۲۳۲۲-۳۲۳۵
شاپا الکترونیکی: ۲۷۸۳-۴۶۹۷
دانشگاه آزاد اسلامی واحد گرگان
انجمن گیاهان دارویی ایران ثبت ۱۸۹۶۳

بررسی اثر جاسمونیک اسید بر تغییرات کمی و کیفی متابولیت‌های ثانوی اندام‌های مختلف گیاه دارویی *Scrophularia striata* Boiss.

الهام احمدی[۱]، آرش فاضلی[۱*]، زینب رستمی[۱]

[۱] گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ایلام، ایلام، ایران، رایانامه: a.fazeli@ilam.ac.ir

نوع مقاله:
مقاله پژوهشی

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۱۰/۱۲
تاریخ بازنگری: ۱۴۰۱/۱۱/۵
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۱۱/۱۸

واژه‌های کلیدی:
کروماتوگرافی گازی
ایلام
جاسمونیک اسی
متابولیت‌های ثانوی
گل سازوئی

چکیده

گل سازویی (*Scrophularia striata* Boiss.) گیاهی دارویی از خانواده Lamiaceae است که ارزش دارویی بسیار بالایی دارد که علی رغم پتانسیل دارویی، اطلاعات کمی در خصوص نوع و میزان ترکیبات ثانویه آن وجود دارد. از این گیاه در مناطق غرب ایران به صورت سنتی برای درمان زخم، عفونت و بیماری‌های کلیوی استفاده می‌شود. در پژوهش حاضر بذرهای گل سازویی از دامنه های کوه‌های زاگرس واقع در دانشگاه ایلام جمع آوری گردید و تاثیر جاسمونیک اسید در سه سطح (۰ (کنترل)، ۱۰۰ و ۳۰۰) پی‌پی‌ام بر تغییرات متابولیت‌های ثانویه در بافت‌های مختلف (ریشه و اندام هوایی) این گیاه در گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه ایلام در سال ۱۴۰۰ انجام شد. اندام‌های هوایی و ریشه گیاه در مرحله گلدهی پس از خشک شدن با روش سوکسله آبی عصاره گیری شدند. آنالیز کروماتوگرافی گازی طیف سنج جرمی انجام گردید. نتایج نشان داد که غلظت‌های مختلف متیل جاسمونات روی القای بیوسنتز تعدادی از ترکیبات ثانویه به ویژه ترکیبات فنیل پروپانوئیدی می‌شود. به طوری که 2,3-Dihydro-benzofuran (۵/۳۵ درصد)، 2-Methoxy-4-vinylphenol (۳۲/۹ درصد)، 2-Furancarboxaldehyde (۴/۰۳ درصد)، Ethyl .alpha.-d-glucopyranoside (۱۹/۸۷درصد)، 4-vinylphenol (۱۲/۶۴ درصد)، Methyl beta-D-glucopyranoside (۲۶//۲۸ درصد)، 2-Propenoic acid, 3-(4-methoxyphenyl)- (Cinnamic acid) (۲۱/۰۲ درصد) و 2-Propenoic acid, 3-phenyl-, (E)- (Cinnamic acid) (۱۴/۵۷ درصد) بالاترین میزان در اندام هوایی و ریشه‌های گیاهان تیمار شده در مقایسه با نمونه‌های شاهد داشتند. نتایج کلی نشان می‌دهد که وجود برخی ترکیبات مفید و موثر بخصوص مواد آنتی باکتریال که در اثر کاربرد متیل جاسمونات نسبت به گیاهان شاهد افزایش یافته است می‌تواند به عنوان یک روش موثر جهت افزایش ترکیبات دارویی این گیاه دارویی باشد که نیازمند بررسی‌های بیشتر جهت شناسایی ترکیبات مفید فارماکولوژیکی و دارویی در این گیاه می‌باشد.

استناد: احمدی، الهام؛ فاضلی، آرش؛ رستمی، زینب. (۱۴۰۲). بررسی اثر جاسمونیک اسید بر تغییرات کمی و کیفی متابولیت‌های ثانوی اندام‌های مختلف گیاه دارویی *Scrophularia striata* Boiss. *فصلنامه اکوفیتوشیمی گیاهان دارویی*، ۱۱ (۳)، ۲۸-۱۵.

ناشر: دانشگاه آزاد اسلامی، واحد گرگان
© نویسندگان.
Doi: 10.30495/ejmp.2023.1976637.1715
Dor: 20.1001.1.23223235.1402.11.3.2.7

مقدمه

اخیرا با افزایش استقبال از داروهای گیاهی به عنوان اشکال جایگزین مراقبت‌های بهداشتی و درمانی، غربال‌گری گیاهان دارویی از لحاظ ترکیبات فعال و مکانیسم اثر آنها بسیار جالب توجه شده است (Chidambara Murthy et al., 2002; Badami et al., 2003; Meurer-Grimes et al., 1996; Kerdar et al., 2019). جنس *Scrophularia* L. (Scrophulariaceae) شامل حدود ۲۰۰ گونه است که به‌عنوان "figwort " شناخته می‌شوند، و *Scrophularia striata* Boiss. با نام علمی گل سازویی و نام محلی تشنه داری یکی از این گونه‌هاست. این گیاه دارویی بومی ایران است و در مناطق سردسیر و کوهستانی زاگرس از جمله استان‌های ایلام، کرمانشاه و مناطقی از استان خوزستان رشد می‌کند (Shouhani et al., 2010). این گیاه سال‌هاست که به صورت سنتی در درمان زخم‌ها (Rezaie-Tavirani, 2010)، بیماری‌های کلیوی (Bahrami and Valadi, 2010)، کاهش التهاب و عفونت چشم و گوش (Mahboubi et al., 2013; Kerdar et al., 2019) و... استفاده می‌شود. گلیکوزیدهای فنیل پروپانوئیدی و ایریدوئیدها عمده متابولیت‌های ثانویه جنس *Scrophularia* هستند که در تحقیقات متعدد پتانسیل درمانی آشکاری را نشان داده‌اند (Garrido et al., 2004: Korkina et al., 2007; Rostami et al., 2022). ریشه‌های خشک گونه‌های *Scrophularia* در طب آسیایی جهت درمان تب، لارنژیت، تورم، یبوست، نوریت و فارنژیت استفاده می‌شوند (Qian et al., 1992; Park et al., 2003; Bahmani et al., 2019). بنابراین بررسی گیاهان مورد استفاده در طب سنتی و نوین منبع الهام بخش و به عنوان الگویی برای سنتز داروهای جدید با خواص درمانی، شیمیایی یا فیزیکی بهتر از ترکیبات اصلی می‌باشد (Natarajan et al., 2005) از سویی دیگر، تولید گیاه دارویی زمانی مقرون به صرفه است که مقدار متابولیت‌های اولیه و ثانویه آن ایده ال باشد، لذا عوامل محیطی تاثیرگذار از جمله منطقه رشدی خاص، شرایط زراعی، زمان برداشت و نوع فرآوری می‌تواند ما را در رسیدن به هدف اصلی که تولید گیاهانی با حداکثر خواص دارویی و درمانی است کمک کند. روشی که امروزه به طور گسترده برای بهبود تولید متابولیت‌های ثانویه در شرایط آزمایشگاهی در چندین گونه گیاهی مورد استفاده قرار می‌گیرد، استخراج‌گری[1] است (Halder et al., 2019). محرک‌ها واکنش‌های استرس زا را در گیاهان تحریک می‌کنند و به این ترتیب باعث القای سنتز و تجمع متابولیت‌های ثانویه یا القای ترکیبات جدید در گیاه می‌شوند (Naik and Al-Khayri, 2016). جاسمونیک اسید[2] (JA) و مولکول‌های سیگنال مرتبط با آن همانند جاسمونات‌ها و سالیسیلیک اسید (SA) از پرمصرف‌ترین محرک‌ها هستند (Giri and Zaheer, 2016). جاسمونیک اسید (JA) و متیل-جاسمونات[3] (MeJA) ترکیبات سیکلوپنتانون هستند که از طریق مسیر اکتادکانوئیک از لینولنیک اسید تولید می‌شوند که این ترکیبات از رشد گیاه جلوگیری می کنند، از طرف دیگر به عنوان یک تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی، فرایندهای متنوعی از قبیل رسیدن میوه، پیری، تشکیل غده، تشکیل دانه گرده، پاسخ‌های دفاعی علیه آسیب‌های مکانیکی و حمله حشرات و بیماری‌زاها را کنترل و تقویت می‌نمایند (Jung, 2004). جاسمونات‌ها در سال ۱۹۶۰ به عنوان متابولیت‌های ثانویه از اسانس گیاه گل یاس (*Jasminum* Sp.)

[1] Elicitation
[2] Jasmonic acid
[3] methyl jasmonate

استخراج شدند که دو دهه بعد از آن به عنوان ترکیبات موثر در پیری، بازدارنده رشد و محرک‌هایی برای متابولیسم ثانویه در گونه‌های مختلف گیاهی شناخته شدند (Balbi and Devoto, 2008; Wasternack and Parthier, 1997; Dianat et al., 2016;). در گزارشی مندوزا و همکاران (Mendoza et al., 2018) سالیسیلیک اسید و متیل جاسمونات در تولید ترکیبات فنلی در کشت سوسپانسیون سلولی گیاه *Thevetia peruviana* نقش مهمی دارند که با استفاده از روش کروماتوگرافی مایع انجام گردید، نتایج نشان داد بالاترین مقدار ترکیب فنلی (PCC)، میزان فلاونوئید (FC)، فعالیت آنتی اکسیدانی (AA) در تیمارهای ۳ میلی‌مولار متیل جاسمونات، ۳ میلی‌مولار متیل جاسمونات۳۰۰ میلی‌مولار سالیسیلیک اسید بدست آمد. همچنین در پژوهشی دیگر الارد-الور و دوگلاس (Ellard-lver and Douglas, 1996) نشان دادند که متیل جاسمونات در افزایش بیان ژن‌های درگیر در مسیر تولید ترکیبات فنیل پروپانوئیدی و افزایش مقدار آن در جعفری و بومادران تاثیر بسزایی دارد (Fathi et al., 2020). علاوه بر اینها، در کشت درون شیشه شیرین بیان (*Glycyrrhiz glabra*) مقدار آنزیم های آنتی آکسیدانت، ترکیبات فنولیکی و فلاونوئید تحت تاثیر متیل جاسمونات و سالیسیلیک افزایش یافت (Bruni and Sacchetti, 2009). بازی ذلان و همکاران (Bazi-Zalan et al., 2022) با بررسی تاثیر سالیسیلیک اسید بر برخی فعالیت‌های آنزیمی و غیرآنزیمی در گیاه گل سازویی تحت تنش خشکی نشان دادند که محلول پاشی اسیدسالیسیلیک باعث کاهش مالون دی آلدهید و نشت یونی گردید در حالی که میزان فنول، فلاونوئید و فلاونول افزایش یافت. رستمی و همکاران (Rostami et al., 2022) با جداسازی و بررسی بیان برخی ژن های مهم همچون چالکون سنتتاز و سینامیک-٤- هیدروکسیلاز در مسیر بیوسنتز فنیل پروپانوئید در مراحل مختلف رشدی گیاه گل سازویی تحت کاربرد سه هورمون مختلف سالیسیلیک اسید، جیبرلین و جاسمونیک اسید نشان داد که میزان بیان این ژنها در مراحل مختلف رشدی و تحت تیمارهای هورمونی مختلف متفاوت است اما تیمار ۳۰۰ پی‌پی‌ام سالیسیلیک اسید بهترین تاثیر در مرحله رشد رویشی در افزایش فنیل پروپانوئید داشته است. مطالعه حاضر با توجه به اهمیت*Scrophularia striata* در طب سنتی در بین مردم ساکن استان‌های غربی و جنوب غربی ایران و همچنین لزوم توجه به افزایش مقدار ترکیبات موثره آن با استفاده درست از محرک‌ها، طراحی و اجرا شد، لذا استفاده از روش‌هایی همچون کروماتوگراف گازی- طیف سنج جرمی (GC-MS) (Gas Chromatography-Mass spectrometr) می-تواند اطلاعات کافی و جامع‌تری در خصوص میزان و نوع ترکیبات در این گیاه در اختیار محققان قرار دهد.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی و تیمارهای هورمون: بذرهای مورد استفاده در پژوهش حاضر از گیاهان وحشی در دامنه کوه‌های استان ایلام در سال ۱۳۹۸ در دانشگاه ایلام با طول جغرافیایی ٤٦ درجه و ۲۸ دقیقه، عرض جغرافیایی ۳۳ درجه و ۳۷ دقیقه، ارتفاع از سطح دریا ١١٧٤ متر جمع‌آوری و طبق ویژگی‌های گیاه‌شناسی (Ghahreman, 1996) صحت آنها تایید گردید. همچنین جهت استفاده عمومی در تحقیقات آتی این گیاه، تعدادی از بذور جمع آوری شده در بانک ژن غرب کشور واقع در دانشکده کشاورزی دانشگاه ایلام با کد دسترسی IUGB02076 ثبت و نگهداری شده است. در ادامه، بذور ابتدا با هیپوکلرید سدیم ۱۰ درصد ضدعفونی شده و سپس با آب مقطر شسته شدند. جهت شکستن خواب بذور، بذور شسته شده

به‌مدت ۷۲ ساعت با غلظت بهینهٔ اسید جیبرلیک (۴۰۰ پی‌پی‌ام) در شرایط تاریک و دمای ۲۴ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند (Rostami et al., 2022) سپس بذور تیمار شده، پس از ضدعفونی و شستشوی مجدد روی کاغذ صافی در پتری دیش به ژرمیناتور منتقل شدند. بعد از یک هفته بذور جوانه زده به گلدان های کوچکی در گلخانه منتقل شدند. آزمایش به‌صورت فاکتوریل بر پایه طرح کاملا تصادفی (فاکتور اول نوع تیمار- فاکتور دوم نوع بافت) درون گلدان‌های با مساحت پانزده صدم مترمربع و با نسبت مساوی خاک، ماسه و کود اجرا شد. گلدان‌ها در گلخانه در شرایط دمای روزانه ۲۵ و شبانه ۲۰ درجه سانتی‌گراد، با شدت نور ۳۵ تا ۴۰ هزار لوکس قرار گرفتند. تیمار آزمایشی شامل JA، (تهیه شده از شرکت سیگما) در ۲ سطح ۱۰۰ و ۳۰۰ پی‌پی‌ام همراه با تیمار کنترل (آب مقطر) بودند. سه نوبت محلول پاشی به فاصله۷۲ ساعت در مرحله ۴-۵ برگی انجام شد و در مرحله زایشی (۵۰ درصد گلدهی) نمونه برداری انجام گردید. سپس اندام هوایی و بافت ریشه به‌صورت جداگانه در شرایط سایه، خشک گردیدند.

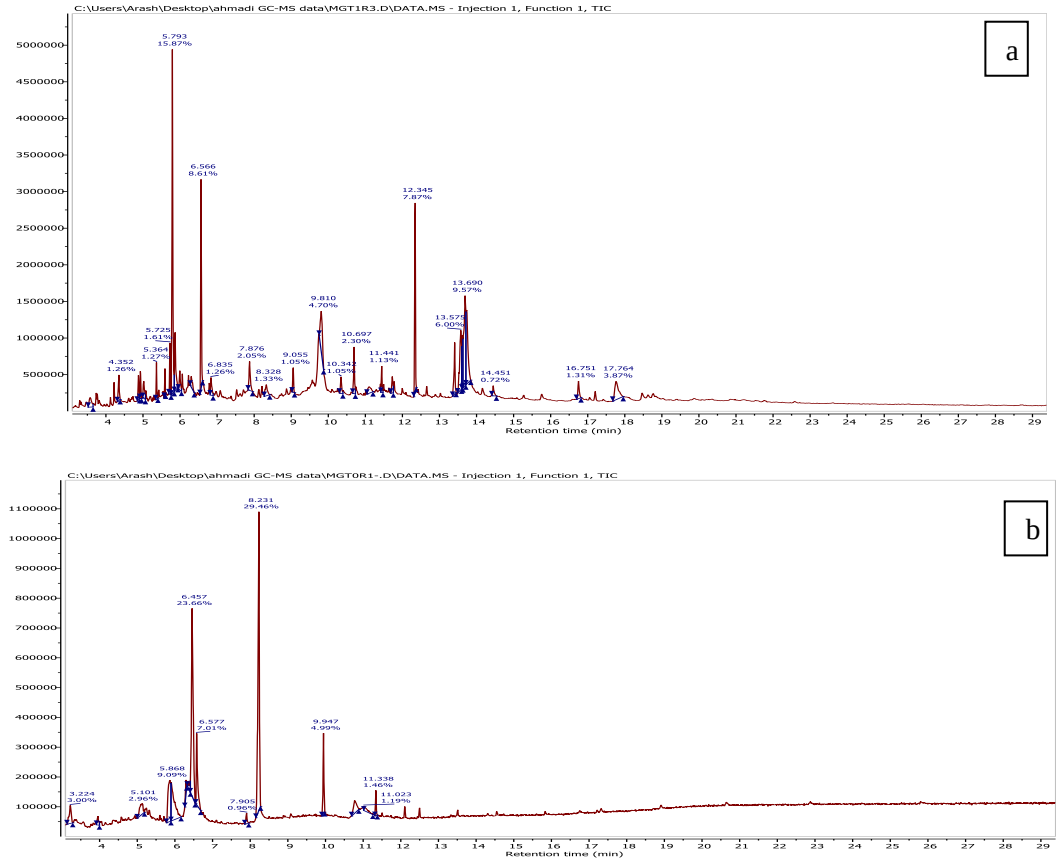
استخراج ماده موثره گیاهی به روش سوکسله: بعد از خشک شدن نمونه‌ها عصاره‌گیری با استفاده از دستگاه سوکسله انجام گردید. به این صورت که ۵۰ گرم از پودر گیاهی در کاغذ صافی ریخته و داخل سیفون دستگاه سوکسله قرار داده شد، متعاقبا میزان ۸۰۰-۶۰۰ میلی‌لیتر از حلال آبی را درون بالن سوکسله ریخته و دستگاه روشن گردید. مدت ۱۸ تا ۲۴ ساعت زمان لازم بود تا عصاره گیاه استخراج شود.

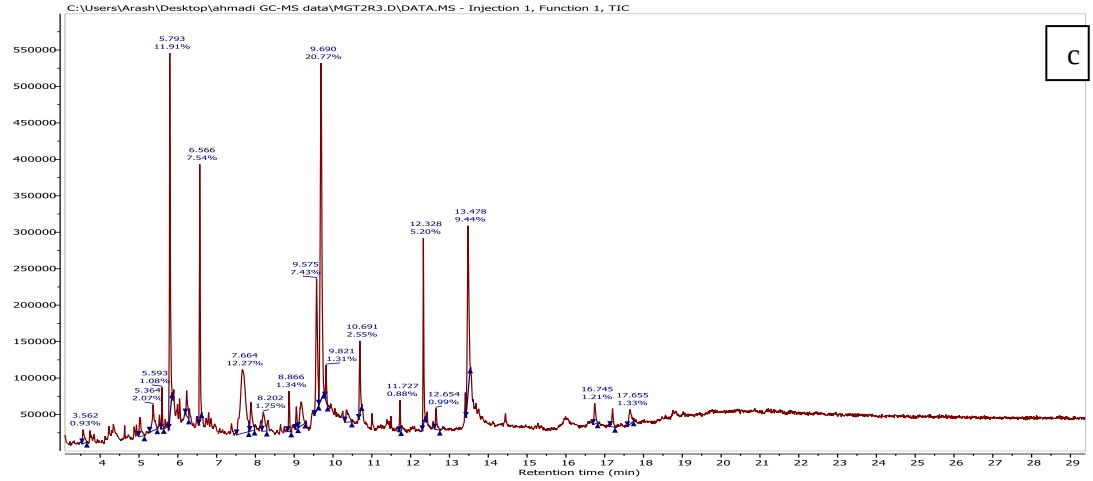
آنالیز (GC - Mass) – Gas chromatography mass spectrometry: مقدار مواد ماده موثره به روش GC-Mass با دستگاه Agilent 7890 (بادتکتور MSD۵۹۷۵ ساخت شرکت Agilent آمریکا (۲۰۱۰)) انجام شد. داده‌های به دست آمده از دستگاه GC-Mass جهت شناسایی ترکیبات موثره با مقدار بالا در گیاهان کنترل و تیمار شده توسط نرم‌افزار MestReNova آنالیز شدند. جهت آنالیز داده‌ها ابتدا براساس مقدار Quality (کیفیت) که مساوی یا بیشتر از ۵۰ درصد بودند انتخاب شدند. در ادامه، ترکیبات موجود در تیمارهای مختلف شامل درصد آنها، ویژگی‌ها و مشخصات هر ترکیب از جمله تعداد پیک‌ها (Peak)، درصد مساحت تحت پوشش (Percentage Area Covered)، کتابخانه/ شناسنامه (Library/Identification)، کیفیت (Quality) و زمان بازداری ترکیبات تشکیل دهنده (Retention Time) فرمول شیمیایی، وزن مولکولی و ساختار شیمیایی هر ترکیب مشخص شد.

نتایج

مقایسه ترکیبات در اندام هوایی تحت تیمارهای مختلف: نتایج حاصل از GC-Mass نشان داد که ۶۳ پیک متابولیتی در ترکیب تیمار کنترل اندام هوایی قابل شناسایی شد که فقط ۲۴ ترکیب کیفیت بالای ۵۰ درصد داشتند. ترکیبات در این تیمار براساس زمان بازداری در شکل (۱-a) نشان داده شده است. نتایج نشان داد که سه ترکیب Cycloheptasiloxane, tetradecamethyl با سطح ۸/۷ درصد در زمان ۸/۲۳ دقیقه در پیک ۲۰ و ترکیب Cyclohexasiloxane, dodecamethyl با سطح ۷/۳ درصد و زمان ۶/۵۶ دقیقه در پیک ۱۱ و ترکیب (Coumaran) -2,3 Dihydro-benzofuran با سطح ۵/۳۵ درصد و زمان ۵/۹۳ در پیک ۹ به عنوان ترکیبات با مقدار بالا در تیمار مذکور در اندام هوایی هستند. همچنین بر اساس نتایج به دست آمده تعداد ۱۰۰ پیک با فراوانی مختلف در ترکیب تیمار ۱۰۰ پی‌پی‌ام جاسمونیک اسید اندام هوایی شناسایی شد که در نهایت تعداد ۴۶ ترکیب که کیفیت بالای ۵۰ داشتند باقی ماندند که در کل ۷۷/۴۲

درصد کل ترکیبات را تشکیل می دادند. ترکیبات شناسایی شده در این تیمار بر اساس زمان بازداری در شکل (۱– b) ارائه شده است. نتایج نشان داد که ترکیبات ((2,3 Dihydro-benzofuran (Coumaran با ۱۵/۵ درصد و زمان ۵/۷۹ دقیقه در پیک ۱۴، ترکیب 2-Methoxy-4-vinylphenol با ۹/۳ درصد و زمان ۶/۵۶ دقیقه در پیک ۱۷ و ترکیب 2-Furancarboxaldehyde با سطح ۴/۰۳ درصد و زمان ۵/۸۶ دقیقه در پیک ۱۵ به‌ترتیب به‌عنوان سه ترکیب با فراوانی بالا در گیاه گل سازوئی هستند که براساس نتایج به دست آمده تعداد ۱۰۰ پیک با فراوانی‌های مختلف در تیمار ۳۰۰ پی‌پی‌ام جاسمونیک اسید در اندام هوایی شناسایی شد که تعداد ۳۰ ترکیب که مقدار کمیت مساوی یا بالای ۵۰ درصد داشتند که ۶۲/۸۸ درصد کل ترکیبات را در این تیمار نشان دادند. علاوه براین، مقدار و نوع ترکیبات موجود در این تیمار بر مبنای زمان بازداری در شکل (۱– c) نشان داده شده است. نتایج نشان داد که ترکیب Ethyl .alpha.-d-glucopyranoside با مقدار ۱۷/۷ درصد در زمان ۹/۶۹ دقیقه در پیک ۶۲، ترکیب 4-vinylphenol با مقدار ۱۲/۶ درصد در زمان ۵/۷۹ دقیقه در پیک ۲۸ و ترکیب 2-Methoxy-4-vinylphenol با مقدار ۷/۰۵ در زمان ۶/۵۶ دقیقه در پیک ۳۷ به ترتیب به‌عنوان سه ترکیب با بیشترین فراوانی در این تیمار در گیاه گل سازوئی شناسایی شدند.

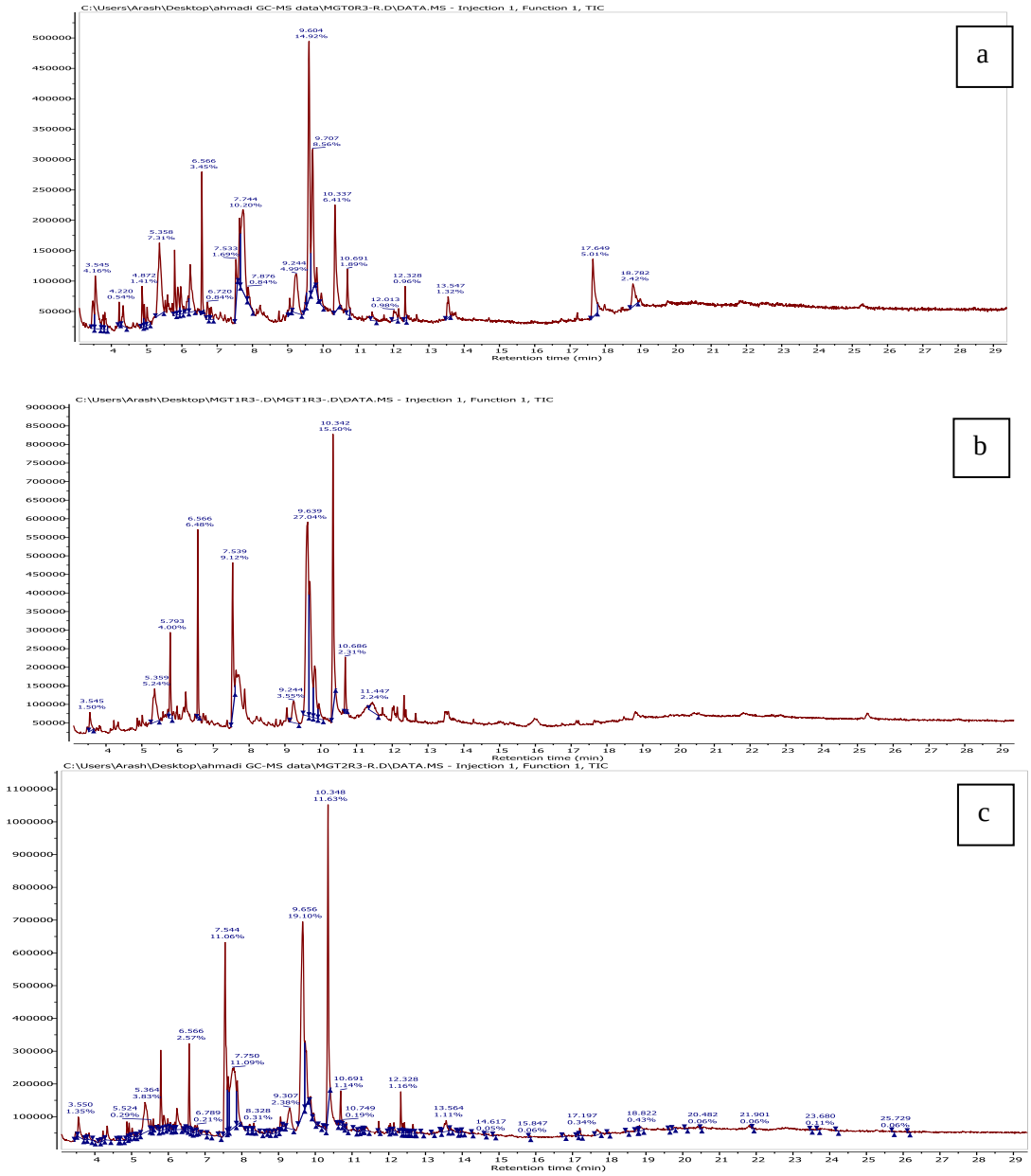




شکل ۱: نمودار شناسایی ترکیبات موجود بر اساس زمان بازداری در تیمار شاهد (a)، تیمار۱۰۰ پی‌پی‌ام جاسمونیک اسید (b)، تیمار ۳۰۰ پی‌پی‌ام جاسمونیک اسید (c) در اندام هوایی گل سازویی

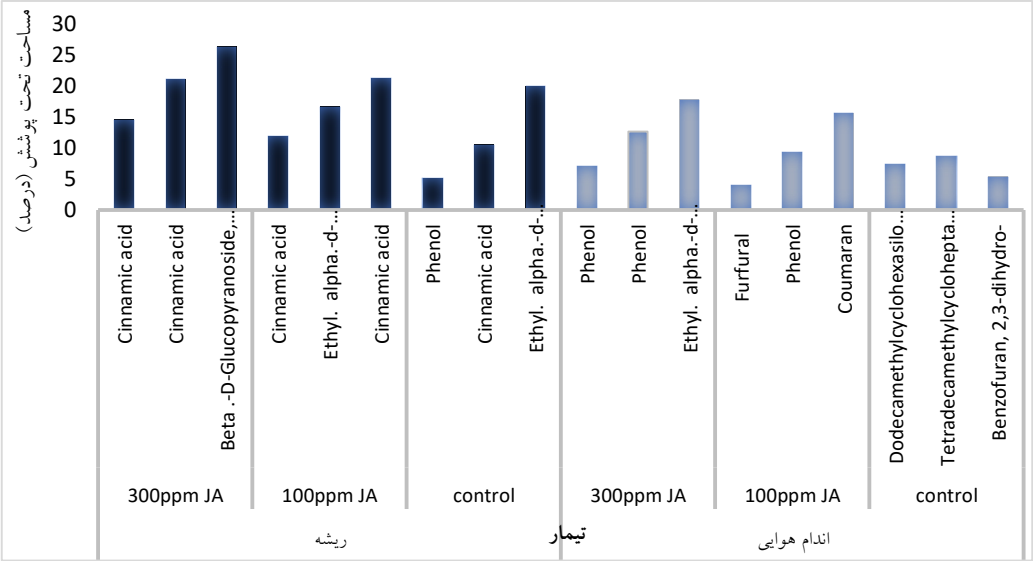
مقایسه ترکیبات در بافت ریشه تحت تیمارهای مختلف: تعداد ۹۹ پیک با فراوانی های مختلف در بافت ریشه شناسایی شدند که تنها ۲۷ ترکیب کیفیت مساوی یا بیشتر از ۵۰ درصد داشتند که نوع و ساختار این ترکیبات مورد بررسی قرار گرفت. نمودار ترکیبات شناسایی شده در بافت ریشه بر اساس زمان بازداری در شکل (۲-a) آورده شده است. نتایج آنالیز نشان داد که ترکیبات Ethyl .alpha.-d-glucopyranoside با ۱۹/۸۷ درصد در زمان ۹/۶۰ دقیقه در پیک ۱۴، ترکیب 2-Propenoic acid, 3-(4-methoxyphenyl)- (Cinnamic acid) با سطح ۱۰/۵۷ درصد و زمان ۱۰/۳۳ دقیقه در پیک ۱۵ و ترکیب 2-Methoxy-4-vinylphenol با سطح ۵/۰۴ و زمان ۶/۵۶ دقیقه در پیک ۱۰ به عنوان سه ترکیب با فراوانی بالا در ریشه گیاه گل سازوئی شناسایی شدند. همچنین نتایج آنالیز تیمار ۱۰۰ پی‌پی‌ام جاسمونیک اسید در بافت ریشه تعداد ۹۹ پیک با فراوانی های متفاوت را نشان داد که بعد از حذف پیک‌های با مقدار کمتر از ۵۰ تعداد ۲۸ ترکیب باقی ماند که ۷۵/۰۸ درصد کل ترکیبات این تیمار را تشکیل می داد. نمودار ترکیبات موثره شناسایی شده در این تیمار بر اساس زمان بازداری در شکل (۲-b) نشان داده شده است، که نتایج فوق را تایید می‌نماید. نتایج کلی نشان می‌دهد که ترکیبات Propenoic acid, 3-(4-methoxyphenyl)- (Cinnamic acid-2) با ۲۱/۲۱ درصد در زمان ۱۰/۳۴ دقیقه در پیک ۲، ترکیب Ethyl .alpha.-d-glucopyranoside با ۱۶/۶۳ درصد و زمان ۹/۶۲ دقیقه در پیک ۱۱ و ترکیب Propenoic acid, 3-phenyl-, (E)- (Cinnamic acid) (Phenylacrylic acid-2)) با سطح ۱۱/۸۷ درصد و زمان ۷/۵۴ دقیقه در پیک ۱ به عنوان ترکیبات با مقدار بالا در تیمار مذکور شناسایی شدند. نتایج حاصل از تیمار ۳۰۰ پی‌پی‌ام بافت ریشه نشان می دهد که تعداد ۱۰۰ پیک شناسایی شده که از این میان فقط ۳۲ پیک دارای مقدار مساوی یا بیشتر از ۵۰ بودند که ۸۱/۷۲ درصد کل ترکیبات این تیمار را تشکیل می دادند. نمودار ترکیبات تیمار ۳۰۰ پی‌پی‌ام بافت ریشه بر اساس زمان بازداری در شکل (۲-c) ارائه شده است. نتایج نشان داد که سه ترکیب Methyl beta-D-glucopyranoside با سطح ۲۶/۲۸۶۳ درصد و زمان بازداری ۹/۶۵ دقیقه در پیک ۱۷، ترکیب 2-Propenoic acid, 3-(4-methoxyphenyl)- (Cinnamic acid) با سطح ۲۱/۰۲ درصد و زمان

۱۰/۳۵ در پیک ۱۸ و ترکیب 2-Propenoic acid, 3-phenyl-, (E)- (Cinnamic acid) با سطح ۱٤/۵۷ و زمان ۷/۵٤ دقیقه در پیک ۱۲ بیشترین مقدار در این ماده موثره در این تیمار دارند.

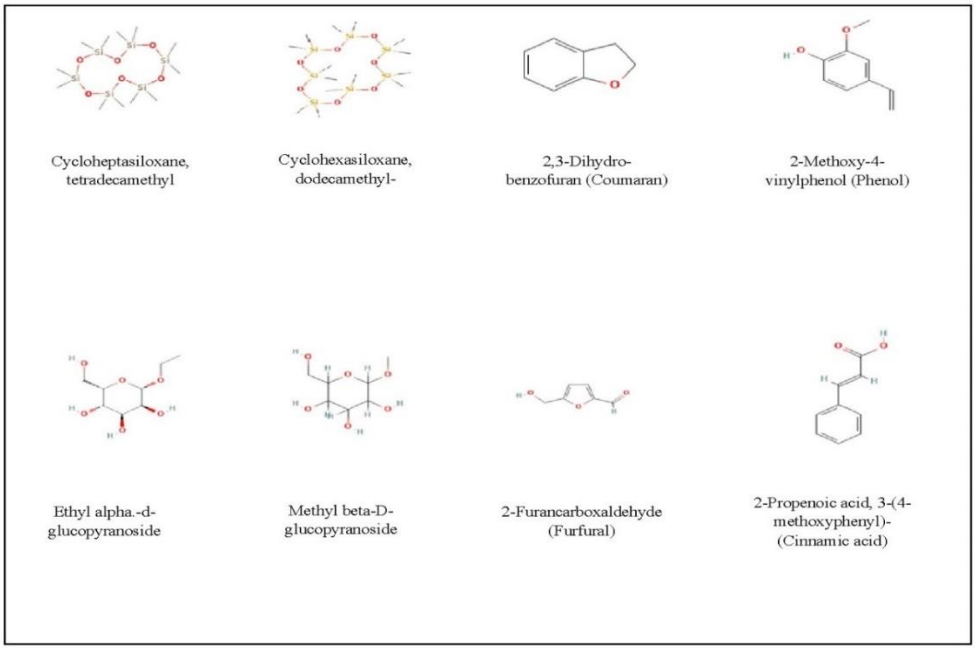


شکل ۲: نمودار شناسایی ترکیبات موجود بر اساس زمان بازداری در تیمار شاهد (a)، تیمار 100 پی‌پی‌ام جاسمونیک اسید (b)، تیمار۳۰۰ پی‌پی‌ام جاسمونیک اسید (c) در بافت ریشه گیاه گل سازویی

همچنین جهت مقایسه بهتر نوع و میزان متابولیت‌های ثانویه حاصل از تیمارهای مختلف آزمایشی در بافت‌های مختلف (اندام هوایی و بافت ریشه گیاه) نمودار آنها در شکل ۳ آورده شده است (شکل ۳). همچنین ساختار شیمیایی مهمترین ترکیبات موثره این گیاه نیز در شکل ٤ نشان داده شده است (شکل ٤).



شکل ۳: نمودار مقدار ترکیبات موثره گیاه گل سازوئی در تیمارهای مختلف مورد بررسی



شکل ٤: ساختار شیمیایی مهمترین ترکیبات موثره گل سازوئی در بافت‌های مختلف

بحث

مقایسه ترکیبات بین اندام های هوایی و ریشه گل سازوئی تحت تیمارهای آزمایشی متفاوت نشان می‌دهد که در اکثر تیمارهای آزمایش بیشترین ترکیبات موثره از نوع ترکیبات فنیل پروپانوئیدی می‌باشد، که از جمله می‌توان به ترکیبات، 2,3-Dihydro-benzofuran، 2-Methoxy-4-vinylphenol، 2-Furancarboxaldehyde، Ethyl alpha.-d-glucopyranoside.، 4-vinylphenol، Methyl beta-D-glucopyranoside، 2-Propenoic acid, 3-(4-methoxyphenyl)- (Cinnamic acid) و 2-Propenoic acid, 3-phenyl-, (E)- (Cinnamic acid) اشاره کرد که بیشتر این ترکیبات در مسیر سنتز

ترکیبات فنیل پروپانوئیدی نقش موثری دارند (شکل ۳). مقایسه بین بیشترین ترکیبات گزارش شده در تیمارها نشان داد که ترکیب 2-methoxy-4-vinylphenol با افزودن محرک جاسمونیک اسید با غلظت‌های مختلف، مقدار این ترکیب حدوداً سه تا چهار برابر شده است. ترکیب 2-Methoxy-4-vinylphenol نام دیگر فنول می‌باشد این ترکیب یکی از اعضای فنول‌ها با نام گایاکول است که در آن هیدروژن متصل به گروه هیدروکسی با یک گروه وینیل جایگزین شده است(شکل٤). تحقیق رباب و همکاران(Rubab et al., 2020) نشان داد که 2-methoxy-4-vinylphenol و benzofuran دو ترکیب اصلی شناسایی شده در گیاه B*rassica oleracea L.* var. *capitate f, rubra* بودند که بیشترین اثرات ضد میکروبی به ویژه بر روی سویه‌های مختلف باکتری‌ها را نشان دادند. همچنین در گزارش کیم و همکاران (Kim et al., 2019) نشان داده شد که ممکن است از ۲ -متوکسی-٤-وینیل فنل (M4VP2)، به‌عنوان مکمل درمان سرطان پانکراس استفاده شود. چرا که ۲ - متوکسی-٤-وینیل فنل (M4VP2)، یکی از اعضای کلاس فنل ها، و به دلیل خواص ضد التهابی می‌تواند باعث توقف چرخه سلولی شود، بنابراین آن را به یک داروی کاندید جذاب برای درمان سرطان پانکراس تبدیل می‌کند. همچینن ترکیب 2,3 Dihydro-benzofuran با نام کوماران در غلظت ۱۰۰ پی‌پی‌ام جاسمونیک اسید به میزان سه برابر نسبت به شاهد در اندام هوایی افزایش سطح نشان داد. چنانکه در گزارشی وو و همکاران (Wu et al., 2015) به بررسی ترکیبات بیوشیمایی بذور *Dendranthema nankingense* و *Borago officinalis* پرداختند و مشاهده نمودند که 2,3 Dihydro-benzofuran از فراوانترین ترکیبات موثره این گیاهان بود. کوماران ترکیبی از خانواده مواد فنلی و به عنوان ضد انعقاد خون در پزشکی کاربرد فراوانی دارد. از سویی دیگر، 2-Propenoic acid, 3-(4-methoxyphenyl) اسم دیگر ترانس سینامیک اسید است که در هر دو غلظت ۱۰۰ و ۳۰۰ پی‌پی‌ام متیل جاسمونات در بافت ریشه افزایش یافت، که نشان می دهد این گیاه سرشار از این ترکیبات می‌باشد. بررسی بخش های مختلف گیاه تشنه‌داری توسط منصف اصفهانی و همکاران (Monsef-Esfahani et al., 2010) نشان داد که پنج ترکیب شامل اسید سینامیک و سه فلاونوئید بنام‌های کوئرستین، ایزورامنیتین، نپترین، گلیکوزید فنیل پروپانوئید را *S. striata Boiss* بالاترین فراوانی را دارند. ترانس سینامیک اسید از دآمیناسیون فنیل آلانین تحت تأثیر آنزیم فنیل آلانین آمونیوم لیاز به دست می آید که از مسیرهای متابولیسمی مؤثر در فیزیولوژی عملکردی گیاهیان تولید می‌شود. سینامیک اسید اولین پیش‌ساز بیوسنتز هزاران ترکیب فنیل پروپانوئید از جمله فلاونوئیدها، فلاونول‌ها و کومارین ها است (Liu et al., 2008; Carvalho et al., 2015). اثر بیولوژیکی مشتقات سنتز شده سینامیک اسید و کومارین‌ها در مقایسه با داروهای استاندارد مورد استفاده برای درمان بیماری‌های مزمن یا عفونی در شرایط آزمایشگاهی موثرتر بوده است، بنابراین آن‌ها را به عوامل درمانی بسیار امیدوارکننده تبدیل می‌کند. همچنین گزارش شده است که اسید سینامیک دارای خواص آنتی‌اکسیدانی، ضدمیکروبی (Abd El-Raouf et al., 2015)، ضد سرطانی، محافظ عصبی، ضد التهابی و ضد دیابت است (Wang et al., 2019). بنابراین مقاومت دارویی و عدم وجود درمان‌های دارویی با مشخصات جانبی نامطلوب کم برای کنترل سرطان، رشد میکروبی، اختلالات عصبی و غیره منجر به تحقیقاتی در زمینه توسعه ترکیبات درمانی بر اساس اسید سینامیک شده است (Malheiro et al., 2019).

ترکیب Ethyl.alpha.-d-glucopyranoside از دیگر ترکیباتی است که در غلظت‌های متفاوت جاسمونیک اسید در هر دو بافت مشاهده شد. اتیل آلفا-گلوکوپیرانوزید جز ترکیبات آلی است که به عنوان ترکیب گلیکوزیل معروف است که در آن یک گروه قندی از طریق یک کربن به گروه دیگر از طریق پیوند O-glycosidic متصل می‌شوند. در گزارشی یوچگبو و همکاران (Uchegbu et al., 2015) موفق به شناسایی ترکیبات موثره گیاه *Mormodica balsamina* linn با استفاده از انالیز GC-MASS شدند که بر اساس آن Ethyl- alpha-d-glucopyranoside، 2-Hydroxypropanoic acid و... از جمله فراوان‌ترین ترکیبات موجود در این گونه گیاهی بودند. چنانچه نقش ترکیب Ethyl alpha.-d-glucopyranoside در گیاهان به عنوان فعالیت ضد سل، فعالیت آنتی اکسیدانی، فعالیت مهاری آلفا آمیلاز، فعالیت کاهش چربی خون و ضد تشنج به اثبات رسیده است (Rane et al., 2012) این بدان معناست که گیاه گل سازوئی را می توان در درمان ادم، سل، تشنج و سایر بیماری‌ها مورد استفاده قرار داد. نتایج تحقیقات پاسداران و حامدی (Pasdaran and Hamedi, 2017) نشان داد که در گونه‌های مختلف *Scrophularia* ترکیبات گلیکوزیدهای ایریدوید (۳۷,۸۲)، استرهای گلیکوزیدی (۱۲,۶۱)، اسیدهای فنولیک (۱۲,۶۱)، تری ترپنوئید (۹,۲۴) و فلاونوئیدها (۵,۵۸) درصد از ترکیبات مواد موثره جنس *Scrophularia* را تشکیل می‌دهند. لذا بر اساس نتایج حاضر و مطالعات قبلی گلیکوزیدهای فنیل پروپانوئیدی و ایریدوئیدها بخش عمده‌ای از متابولیت‌های ثانویه *Scrophularia* هستند که در تحقیقات پتانسیل درمانی آنها مشخص شده است. ترکیباتی که در گیاهان شاهد وجود ندارند اما با افزودن جاسمونیک اسید تولید شده‌اند می‌توان پیشنهاد داد که این الیسیتورها ممکن است ژن‌های جدیدی را فعال نمایند که آنزیم‌ها و در نهایت مسیرهای بیوسنتزی مختلفی را فعال نمایند که باعث تشکیل متابولیت‌های ثانویه شوند. فتحی و همکاران (Fathi et al., 2020) گزارش کردند که افزودن متیل جاسمونات بیان ژنهای مهم در مسیر بیوسنتز فنیل پروپانوئید را در بافت های برگ و گل گیاه بومادران افزایش می دهد (Zhang et al., 2006; Howlett, 2006). پاسخ‌های دفاعی گیاه شبکه‌ای از ترارسانی را القا می‌کند که با تشخیص مولکول‌های الیسیتور توسط گیرنده ها شروع می‌شود. افزایش تولید گونه های فعال اکسیژن باعث کاهش پروتئین در گیاهان تحت تنش می شود که از مهمترین ترکیباتی که باعث القا تعداد زیادی از ژن‌های وابسته به دفاع می‌شود تنظیم کننده‌های جاسمونیک اسید، اتیلن و سالسیلیک اسید از مهمترین ترکیباتی هستند که در القای بیان ژنهای وابسطه به دفاع نقش دارند (van Fürden et al., 2005; Diant et al., 2016, Rostami et al., 2022; Shakirovam et al., 2003). ترکیبات فنیل پروپانوئیدی بیشترین فراوانی را در این گیاه دارا هستند که می تواند بخشی از اثرات حفاظتی از طریق افزایش سیستم آنتی‌اکسیدانی و مهار تولید ROSها موثر باشد، لذا با اعمال خارجی محرک‌هایی همچون SA و JA در غلظت‌های مناسب می‌توان بیان آنزیم‌های کلیدی مهم در بیوسنتز این ترکیبات و در نهایت باعث افزایش تجمع آن‌ها در بافت های مختلف گردید. زمانی که این الیسیتورها به کار برده شوند با روشی معین در طول گیاه حرکت نموده و باعث بیان ژن‌های دفاعی خاصی در گیاه می‌شوند(Kozlowski et al., 1999; Epple et al., 1997, Bazi zalan et al., 2022). تنوع بالای متابولیت‌های ثانویه، ارزش اقتصادی آن‌ها و همچنین تولید بسیار کم در گیاهان راه را برای استفاده از روش‌های جدید مولکولی و زیست فناوری همچون

جداسازی، شناسایی و دستورزی مسیرهای بیوسنتتیک در گیاهان و هر یک از متابولیت‌ها مقدور می نماید. علاوه بر تغییرات ژنتیکی، تولید مقدار مناسب متابولیت‌های ثانویه نیازمند مولکول‌های محرک مفید می‌باشد، زیرا بیوسنتز متابولیت‌های ثانویه جزئی ازمکانیسم های دفاعی گیاه در برابر پاتوژن‌ها محسوب می‌شود، بنابراین بیان آن نیازمند ترکیبات القا کننده می‌باشد.

نتیجه‌گیری نهایی

مطالعه حاضر در خصوص کاربرد محلول‌پاشی جاسمونیک اسید در شرایط گلخانه ای نشان داد که تولید و تجمع برخی ترکیبات ثانویه مهم در گیاه گل سازوئی را افزایش داد. همچنین نتایج نشان داد که این گیاه منبع غنی از لحاظ ترکیبات فنیل پروپانوئیدی است. گیاه *S. striata* از گذشته های دور در ایلام و سایر مناطق زاگرس نشین به عنوان یک گیاه دارویی مورد استفاده بوده است که اکنون نقش ترکیبات فنیل پروپانوئیدی در موارد بالینی به خوبی مشخص شده است، لذا اعمال جاسمونیک اسید در غلظت مناسب می‌تواند راهکاری مؤثری برای افزایش ترکیبات ثانویه مهم در این گیاه باشد.

تشکر و قدردانی

از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه ایلام به خاطر حمایت در قالب هسته پژوهشی به شماره 1764/32 تشکر و قدرانی می‌گردد.

References

Abd El-Raouf, O.M., El-Sayed, E.S.M. and Manie, M.F. 2015. Cinnamic acid and cinnamaldehyde ameliorate cisplatin-induced splenotoxicity in rats. Journal of Biochemical And Molecular Toxicology 29(9): 426-431.

Badami, S., Gupta, M.K. and Suresh, B. 2003. Antioxidant activity of the ethanolic extract of *Striga orobanchioides*. Journal of Ethnopharmacology 85(2-3): 227-230.

Bahrami, A. and Valadi, A. 2010. Effects of Scrophularia striata ethanolic leaves extracts on Staphylococcus aureus. International Journal of Pharmacology 6(4): 431-434.

Balbi, V. and Devoto, A. 2008. Jasmonate signalling network in Arabidopsis thaliana: crucial regulatory nodes and new physiological scenarios. New Phytologist 177(2): 301-318.

Bazi-Zlan, R., Fazeli, A., Zarei, B. and Erfani Moghadam, J. 2022. The effect of salicylic acid on the activity of catalase and peroxidase enzymes and the content of phenol and flavonoid of (*Scrophularia striata* L.) under water deficit stress 14(3): 57-68.

Bruni, R. and Sacchetti, G. 2009. Factors affecting polyphenol biosynthesis in wild and field grown St. John's Wort (*Hypericum perforatum* L. Hypericaceae/Guttiferae). Molecules 14(2): 682-725.

Carvalho, A.A., Andrade, L.N., de Sousa, É.B.V. and de Sousa, D.P. 2015. Antitumor phenylpropanoids found in essential oils. BioMed research international, 2015: 1-21.

Chidambara Murthy, K.N., Jayaprakasha, G.K. and Singh, R.P. 2002. Studies on antioxidant activity of pomegranate (*Punica granatum*) peel extract using in vivo models. Journal of Agricultural and Food Chemistry 50(17): 4791-4795.

Ellard-Ivey, M. and Douglas, C.J. 1996. Role of jasmonates in the elicitor-and wound-inducible expression of defense genes in parsley and transgenic tobacco. Plant physiology 112(1): 183-192.

Epple, P., Apel, K. and Bohlmann, H. 1997. Overexpression of an endogenous thionin enhances resistance of Arabidopsis against *Fusarium oxysporum*. The Plant Cell 9(4): 509-520.

Garrido, G., González, D., Lemus, Y., Garcıa, D., Lodeiro, L., Quintero, G., Delporte, C., Núñez Sellés, A.J. and Delgado, R. 2004. In vivo and in vitro anti-inflammatory activity of *Mangifera indica* L. extract (VIMANG®). Pharmacological Research 50(2): 143-149.

Ghahreman, M. 1996. A dictionary of Iranian plants. Farhang Moasser, Tehran (in Persian).

Giri, C.C. and Zaheer, M. 2016. Chemical elicitors versus secondary metabolite production in vitro using plant cell, tissue and organ cultures: recent trends and a sky eye view appraisal. Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC) 126(1): 1-18.

Halder, M., Sarkar, S. and Jha, S. 2019. Elicitation: A biotechnological tool for enhanced production of secondary metabolites in hairy root cultures. Engineering in Life Sciences 19(12): 880-895.

Howlett, B.J. .2006. Secondary metabolite toxins and nutrition of plant pathogenic fungi. Current opinion in plant biology 9(4): 371-375.

Jung, S. 2004. Effect of chlorophyll reduction in *Arabidopsis thaliana* by methyl jasmonate or norflurazon on antioxidant systems. Plant Physiology and Biochemistry 42(3): 225-231.

Kim, D. H., Han, S. I., Go, B., Oh, U.H., Kim, C. S., Jung, Y. H., Lee, J. and Kim, J. H. 2019. 2-methoxy-4-vinylphenol attenuates migration of human pancreatic cancer cells via blockade of fak and akt signaling. Anticancer research 39(12): 6685-6691.

Korkina, L.G., Mikhal'Chik, E., Suprun, M., Pastore, S. and Dal Toso, R. 2007. Molecular mechanisms underlying wound healing and anti-inflammatory properties of naturally occurring biotechnologically produced phenylpropanoid glycosides. Cell Mol Biol 53(5): 84-91.

Kozlowski, G., Buchala, A. and Métraux, J. P. 1999. Methyl jasmonate protects Norway spruce [Picea abies (L.) Karst.] seedlings against *Pythium ultimum* Trow. Physiological and Molecular Plant Pathology 55(1): 53-58.

Liu, C., Liu, Y. and Yan, X.y. 2008. Effects of plumbagin on the human breast cancer cell mda-mb-231 in vitro. West China Journal of Pharmaceutical Sciences 23(1): 42.

Mahboubi, M., Kazempour, N. and Nazar, A.R.B. 2013. Total phenolic, total flavonoids, antioxidant and antimicrobial activities of *Scrophularia striata* Boiss .extracts. Jundishapur Journal of Natural Pharmaceutical Products 8(1): 15 (in Persian).

Malheiro, J.F., Maillard, J.-Y., Borges, F. and Simões, M. 2019. Evaluation of cinnamaldehyde and cinnamic acid derivatives in microbial growth control. International Biodeterioration and Biodegradation 141: 71-78.

Mendoza, D., Cuaspud, O., Arias, J.P., Ruiz, O. and Arias, M. .2018. Effect of salicylic acid and methyl jasmonate in the production of phenolic compounds in plant cell suspension cultures of Thevetia peruviana. Biotechnology reports 19: e00273.

Meurer-Grimes, B., McBeth, D.L., Hallihan, B. and Delph, S. 1996. Antimicrobial activity in medicinal plants of the Scrophulariaceae and Acanthaceae. International journal of pharmacognosy 34(4): 243-248.

Monsef-Esfahani, H.R., Hajiaghaee, R., Shahverdi, A.R., Khorramizadeh, M.R. and Amini, M. 2010. Flavonoids, cinnamic acid and phenyl propanoid from aerial parts of *Scrophularia striata*. Pharmaceutical biology 48(3): 333-336 (in Persian).

Naik, P.M. and Al-Khayri, J.M. 2016. Abiotic and biotic elicitors–role in secondary metabolites production through in vitro culture of medicinal plants. Abiotic and Biotic Stress in Plants, Recent Advances Future Perspectives. IntechOpen: 247-277.

Natarajan, D., Britto, S.J., Srinivasan, K., Nagamurugan, N., Mohanasundari, C. and Perumal, G. 2005. Anti-bacterial activity of *Euphorbia fusiformis*—A rare medicinal herb. Journal of Ethnopharmacology 102(1): 123-126.

Park, S.U., Chae, Y.A. and Facchini, P. 2003. Genetic transformation of the figwort, *Scrophularia buergeriana* Miq., an Oriental medicinal plant. Plant cell reports 21(12): 1194-1198.

Pasdaran, A. and Hamedi, A. 2017. The genus *Scrophularia:* a source of iridoids and terpenoids with a diverse biological activity. Pharmaceutical biology 55(1): 2211-2233.

Qian, J., Hunkler, D. and Rimpler, H. 1992. Iridoid-related aglycone and its glycosides from *Scrophularia ningpoensis*. Phytochemistry 31(3): 905-911.

Rezaie-Tavirani, M., Mortazavi, S.A., Barzegar, M., Moghadamnia, S.H. and Rezaee, M.B. 2010. Study of anti cancer property of *Scrophularia striata e*xtract on the human

astrocytoma cell line (1321). Iranian journal of pharmaceutical research: IJPR 9(4): 403 (in Persian).

Rostami, Z., Fazeli, A. & Hojati, Z. 2022. The isolation and expression analysis of cinnamate 4-hydroxylase and chalcone synthase genes of *Scrophularia striata* under different abiotic elicitors. Scitific reports **12**, 8128. 1-14.

Rubab, M., Chelliah, R., Saravanakumar, K., Barathikannan, K., Wei, S., Kim, J.R., Yoo, D., Wang, M.H. and Oh, D.H. 2020. Bioactive potential of 2-methoxy-4-vinylphenol and benzofuran from *Brassica oleracea* L. var. capitate f, rubra (Red Cabbage) onoxidative and microbiological stability of Beef Meat. Foods 9(5): 568.

Shouhani, B., Hemati, A.A. and Taheri, M.M. 2010. Effects of *Scrophularia striata* extract on wound healing in rabbit. Journal Of Ilam University Of Medical Sciences 17(4): 9-16 (in Persian).

Uchegbu, R.I., Bako, S.S., Ngozi-Olehi, L.C. and Achinihu, I.O. 2015. GC/MS analysis and identification of phytochemicals present in the fruits of *Mormodica balsamina* Linn. IOSR J Appl Chem 8: 39-42.

van Fürden, B., Humburg, A. and Fuss, E. 2005. Influence of methyl jasmonate on podophyllotoxin and 6-methoxypodophyllotoxin accumulation in *Linum album* cell suspension cultures. Plant cell reports 24(5): 312-317.

Wang, R., Yang, W., Fan, Y., Dehaen, W., Li, Y., Li, H., Wang, W., Zheng, Q. and Huai, Q. 2019. Design and synthesis of the novel oleanolic acid-cinnamic acid ester derivatives and glycyrrhetinic acid-cinnamic acid ester derivatives with cytotoxic properties. Bioorganic chemistry 88: 102951.

Wasternack, C. and Parthier, B. 1997. Jasmonate-signalled plant gene expression. Trends in plant science 2(8): 302-307.

Wu, S., Xu, T. and Huang, D. 2015. Chemical compositions of the volatile extracts from seeds of *Dendranthema nankingense* and *Borago officinalis*. journal of food and drug analysis 23(2): 253-259.

Zhang, Y., Mian, M. and Bouton, J. 2006. Recent molecular and genomic studies on stress tolerance of forage and turf grasses. Crop Science 46(2): 497-511.

Fathi, I., Majdi, M., Maroufi, A., & Dastan, D. (2020). Expression pattern analysis of some genes involved in the biosynthetic pathway of terpenoids and phenylpropanoids in tissues, developmental stages and under methyl jasmonate treatment in yarrow (Achillea millefolium subsp. millefolium). *Cellular and Molecular Research (Iranian Journal of Biology)*, *33*(1), 87-102.

Dianat M, Saharkhiz MJ, Tavassolian I (2016) Salicylic acid mitigatesdrought stress in Lippia citriodora L.: effects on biochemical traitsand essential oil yield. BiocatalAgric Biotechnol 8:286–293.

Shakirovam, F.M., Sakhbutdiova, A.R., Bezrukova, M.V., Fatkhutdinova, R.A.,Fatkhtdinova, D.R., (2003). Change in the hormonal status of Wheat seedling induced by salicylic acid and salinity. Plant Science, 164, 317-322.

Bahmani F, Kazemeini H, Hoseinzadeh-Chahkandak F, Farkhondeh T, Sedaghat M. (2019). Sedation with medicinal plants: A review of medicinal plants with sedative properties in Ira - nian ethnoblotanical documents. Plant Biotechnol Persa. 1 (1): 13-24.

Kerdar, T. Rabienejad, N. Alikhani, Y. Moradkhani, SH. Dastan, D. (2019). Clinical, in vitro and phytochemical, studies of Scrophularia striata mouthwash on chronic periodontitis disease. Journal of Ethnopharmacology. 239, 111872.