

Investigating the Effects of Different Elicitors on Growth and Phytochemical Characteristics of Sage (*Salvia officinalis* L.) under Hydroponic Cultivation System

R. Azadi Gonbad^{1*}, N. Farhadi²

1- Tea Research Center, Horticultural Science Research Institute, AREEO, Lahijan, Iran

2- Greenhouse and Controlled Environments Research Center (GCER), Horticultural Science Research Institute (HSRI), AREEO, Karaj, Iran

(*- Corresponding author's Email: reza.azadi1352@gmail.com)

Received: 02 August 2025

Revised: 28 September 2025

Accepted: 29 September 2025

Available Online: 29 September 2025

How to cite this article:

Azadi Gonbad, R., & Farhadi, N. (2026). Investigating the effects of different elicitors on growth and phytochemical characteristics of sage (*Salvia officinalis* L.) under hydroponic cultivation system. *Journal of Horticultural Science*, 40(3), 453-465. (In Persian). <https://doi.org/10.22067/jhs.2025.94738.1449>

Introduction

Hydroponic systems have emerged as an advanced method for cultivating medicinal plants, offering precise control over environmental and nutritional factors to enhance the production of secondary metabolites. Chemical elicitors, such as salicylic acid (SA) and methyl jasmonate (MeJA), play a key role in stimulating plant defense responses and increasing the synthesis of valuable phytochemical compounds. These compounds alleviate biotic and abiotic stress signals, triggering plant defense mechanisms and stimulating the biosynthesis of valuable secondary metabolites, including phenolics, flavonoids, and essential oils (Mehdizadeh and Moghaddam, 2023). *Salvia officinalis* L. (sage), a perennial aromatic plant from the Lamiaceae family, is known for its medicinal properties and rich content of bioactive compounds, including essential oils and phenolic derivatives. Recent studies have demonstrated that exogenous application of SA and MeJA can significantly influence plant growth and secondary metabolism. However, their effects are highly concentration-dependent and species-specific, necessitating further research to determine optimal dosages for different medicinal plants (Mohi-Ud-Din et al., 2025). While some studies have explored the individual effects of these elicitors, their synergistic interactions in hydroponically grown sage remain understudied (Jeyasri et al., 2023). This study investigates the synergistic effects of SA and MeJA foliar application on the growth, phytochemical composition, and antioxidant activity of sage in a hydroponic system.

Materials and Methods

This experiment was conducted as a factorial design based on a completely randomized design with three replications. Treatments included the foliar application of SA (0, 0.5, and 1 mM) and MeJA (0, 0.25, and 0.5 mM). Sage seeds were germinated under controlled conditions, and seedlings were transferred to a hydroponic system with a perlite-cocopeat (3:1, v/v) substrate. Plants were grown under natural light, with temperatures maintained at 20–30°C and relative humidity at 70–80%. Nutrient solutions were provided using Hoagland's formula (EC 1.6 dS.m⁻¹). Foliar treatments were applied at three growth stages: initial three-leaf, six-leaf, and flowering onset. Ten days after the final treatment, biomass, photosynthetic pigments, antioxidant enzyme activities (POX, APX, SOD), phenylalanine ammonia-lyase (PAL) activity, phenolic and flavonoid content, essential oil percentage, and antioxidant capacity (DPPH assay) were evaluated.

Results and Discussion



Authors retain the copyright. This is an open access article distributed under [Creative Commons Attribution 4.0 International License \(CC BY 4.0\)](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).

<https://doi.org/10.22067/jhs.2025.94738.1449>

The experimental results demonstrated that the foliar application of salicylic acid and methyl jasmonate significantly influenced the growth, physiological traits, and phytochemical composition of hydroponically cultivated sage. The combined treatment of 0.5 mM SA and 0.25 mM MeJA produced the highest fresh (49.00 g) and dry (21.48 g) biomass, indicating a synergistic effect on plant growth. This enhancement can be attributed to the role of SA in promoting cell division and elongation, while MeJA at low concentrations stimulates metabolic activity without inducing excessive stress. However, higher MeJA concentrations (0.5 mM) exhibited inhibitory effects, likely due to the overactivation of defense mechanisms that divert energy away from growth-related processes. Photosynthetic pigments, including chlorophyll and carotenoids, were significantly influenced by the elicitor treatments. The combination of 1 mM SA and 0.25 mM MeJA resulted in the highest carotenoid content ($2.34 \text{ mg.g}^{-1} \text{ FW}$), suggesting that moderate elicitation enhances photosynthetic efficiency. Conversely, excessive MeJA (0.5 mM) led to a reduction in chlorophyll content, possibly due to accelerated senescence or oxidative stress. The application of SA and MeJA also induced a marked increase in antioxidant enzyme activities, including POX, SOD, and APX. Among the highest activities, POX was maximized in the combined treatment of 0.5 mM SA and 0.25 mM MeJA ($20.49 \text{ U.mg}^{-1} \text{ protein}$), while the highest APX ($6.96 \text{ U.mg}^{-1} \text{ protein}$) and SOD ($1.95 \text{ U.mg}^{-1} \text{ protein}$) activities were recorded in plants treated with 0.25 mM MeJA alone. These enzymes are critical for scavenging reactive oxygen species (ROS), which accumulate under elicitor-induced stress. The upregulation of these defense mechanisms not only protects cellular integrity but also stimulates the biosynthesis of secondary metabolites. A key finding was the significant increase in phenylalanine ammonia-lyase activity, a rate-limiting enzyme in the phenylpropanoid pathway. The highest PAL activity was observed in plants treated with 1 mM SA alone or in combination with 0.25 mM MeJA, correlating with elevated levels of total phenolics and flavonoids. Phenolic compounds, such as rosmarinic acid, are major bioactive constituents in sage, contributing to its antioxidant and antimicrobial properties. The increase in flavonoid content, particularly under the combination of 0.5–1 mM SA and 0.25 mM MeJA, further supports the role of these elicitors in activating secondary metabolic pathways. One of the most notable outcomes was the 39% increase in essential oil content under the 0.5 mM SA + 0.25 mM MeJA treatment. Essential oils in sage are synthesized via the terpenoid pathway, which appears to be strongly induced by these elicitors. The enhanced essential oil yield was accompanied by a significant improvement in antioxidant capacity, as evidenced by the DPPH radical scavenging assay. This suggests that the elicited plants not only produced higher quantities of bioactive compounds but also exhibited stronger free-radical quenching activity, which is valuable for medicinal and nutraceutical applications. These findings align with previous studies indicating that SA and MeJA act synergistically at optimal concentrations to enhance secondary metabolite production while maintaining plant growth. However, the negative effects of high MeJA levels (0.5 mM) underscore the importance of dosage optimization, as excessive elicitation can lead to phytotoxicity and metabolic imbalance.

Conclusion

This study demonstrated that the combined application of salicylic acid and methyl jasmonate in a hydroponic growth medium serves as a powerful tool for regulating growth and enhancing the production of secondary metabolites in sage plants (*S. officinalis*). A key finding was the identification of an optimal treatment combination (0.5-1 mM salicylic acid coupled with 0.25 mM methyl jasmonate), which synergistically increased biomass, essential oil content, and antioxidant activity. In contrast, higher concentrations of methyl jasmonate alone were found to inhibit growth. The implications of this research are significant, as it shows that by precisely modulating elicitor concentrations, the metabolic balance between growth and defense compound synthesis can be strategically managed to meet agricultural and pharmaceutical objectives. This approach holds considerable potential for the large-scale production and standardization of high-quality medicinal plants in controlled cultivation systems. Future research should focus on elucidating the molecular mechanisms underlying these synergistic effects, as well as evaluating the efficacy of these treatments in other plant species.

Keywords: Antioxidant capacity, Biomass, Essential oil, Methyl jasmonate, Salicylic acid

بررسی اثر الیستورهای مختلف بر خصوصیات رشدی و فیتوشیمیایی گیاه مریم‌گلی (*Salvia officinalis* L.) در شرایط کشت هیدروپونیک

رضا آزادی گنبد^{۱*} - نسرین فرهادی^۲

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۵/۱۱

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۷/۰۷

چکیده

استفاده از الیستورها در سیستم‌های کشت کنترل شده، راهکاری نوین برای بهبود کیفیت گیاهان دارویی است. در این راستا، پژوهش حاضر به منظور بررسی اثر محلول پاشی اسید سالیسیلیک (در سه سطح صفر، ۰/۵ و ۱ میلی مولار) و متیل جاسمونات (در سه سطح صفر، ۰/۲۵ و ۰/۵ میلی مولار) بر خصوصیات رشدی و فیتوشیمیایی گیاه مریم‌گلی (*Salvia officinalis* L.) در بستر هیدروپونیک در گلخانه تحقیقاتی پژوهشکده گلخانه و محیط‌های کنترل شده طی سال ۱۴۰۳-۱۴۰۴ اجرا گردید. نتایج نشان داد که کاربرد ترکیبی الیستورها دارای اثر هم‌افزایی قابل توجهی بود، به طوری که تیمار ۰/۵ میلی مولار اسید سالیسیلیک به همراه ۰/۲۵ میلی مولار متیل جاسمونات، بیشترین زیست‌توده (وزن تر و خشک) را تولید کرد. همچنین ترکیبات مختلف این دو الیستور منجر به افزایش معنی‌دار رنگیزه‌های فتوسنتزی، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی (پراکسیداز، آسکوربات پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز)، محتوای ترکیبات فنولی کل و درصد اسانس گردید. به طور کلی، این پژوهش نشان داد که تیمار ترکیبی و بهینه الیستورها می‌تواند به عنوان یک راهکار مؤثر برای افزایش هم‌زمان عملکرد کمی (زیست‌توده) و کیفی (متابولیت‌های ثانویه) تولید صنعتی گیاه مریم‌گلی در سیستم‌های کشت بدون خاک به کار رود.

واژه‌های کلیدی: اسانس، اسید سالیسیلیک، زیست‌توده، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی، متیل جاسمونات

مقدمه

کشت هیدروپونیک به عنوان یک سیستم پیشرفته در کشت گیاهان دارویی، با حذف محدودیت‌های خاک و امکان کنترل دقیق عوامل محیطی و تغذیه‌ای، نقش مهمی در افزایش کمیت و کیفیت متابولیت‌های ثانویه ایفا می‌کند. در این میان، استفاده از الیستورهای محیطی و شیمیایی در شرایط هیدروپونیک به عنوان ابزاری کارآمد برای تحریک پاسخ‌های دفاعی گیاهان و افزایش تولید ترکیبات فیتوشیمیایی ارزشمند مورد توجه قرار گرفته است (Bashabsheh et al., 2021). استفاده از محرک‌های شیمیایی به عنوان راهکاری مؤثر

برای افزایش رشد و بهبود عملکرد و کیفیت تولید ترکیبات مختلف ترپنوئیدی، فنولی و آلکالوئیدی در گونه‌های مختلف گیاهان دارویی گزارش شده است (Khan et al., 2015; Sohn et al., 2022). هورمون‌های گیاهی، ترکیبات محرک رشد و نانوذرات از الیستورهای شیمیایی هستند که از طریق فعال‌سازی سیستم دفاعی، تولید متابولیت‌های ثانویه در گیاهان را تحریک می‌کنند (Wang et al., 2016). استفاده از ترکیبات هورمونی به عنوان الیستور، با تحت تأثیر قرار دادن خصوصیات فیزیولوژیکی گیاه، رشد و عملکرد را تحت تأثیر قرار می‌دهند (Tafreshi et al., 2025). اسید سالیسیلیک (SA)^۲ و متیل جاسمونات (MeJA)^۳ از مهم‌ترین هورمون‌های گیاهی هستند که با القای تولید مواد فعال زیستی و بهبود ظرفیت آنتی‌اکسیدانی، مقاومت گیاهان را در برابر تنش‌های محیطی و زیستی افزایش می‌دهند (Bozaba & Kuru, 2024; Hussain et al., 2022). اثر

۱- پژوهشکده چای، مؤسسه تحقیقات علوم باغبانی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، لاهیجان، ایران

۲- پژوهشکده گلخانه و محیط‌های کنترل شده، مؤسسه تحقیقات علوم باغبانی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران

(*)- نویسنده مسئول: reza.azadi1352@gmail.com

<https://doi.org/10.22067/jhs.2025.94738.1449>

2- Salicylic acid (SA)

3- Methyl jasmonate (MeJA)

متیل جاسمونات و اسید سالیسیلیک بر افزایش زیست‌توده و ترکیبات فیتوشیمیایی در گونه‌های مختلف گیاهی از جمله تره‌تیزک (*Lepidium sativum* L.) (Klimek-Szczykutowicz et al., 2022)، بادرنبویه (*Melissa officinalis* L.) (Medeiros et al., 2024) و نسترن (*Rosa canina* L.) (Tafreshi et al., 2025) گزارش شده است. نکته جالب توجه، تأثیر هم‌افزایی دو ترکیب اسید سالیسیلیک و متیل جاسمونات در افزایش تولید ترکیبات مختلف فنولی و اسانس است (Jeyasri et al., 2023; Tafreshi et al., 2025). اگرچه استفاده از الیستورها در کشت هیدروپونیک امیدوارکننده است، اما چالش‌هایی مانند سمیت در غلظت‌های بالا و تداخل اثرات با سایر عوامل محیطی وجود دارد، از طرف دیگر اثرات الیستورها بسته به گونه گیاهی متفاوت می‌باشد (Mehdizadeh & Moghaddam, 2023). بنابراین برای افزایش اثر الیستورهای مختلف بر بهبود زیست‌توده و عملکرد تولید متابولیت‌های ثانویه در شرایط کشت هیدروپونیک نیاز است که نوع، شدت و غلظت بهینه هر یک از الیستورهای محیطی و شیمیایی برای هر گونه گیاهی بهینه شود (Atherton & Li, 2023).

مریم گلی (*Salvia officinalis* L.) از مهم‌ترین گونه‌های معطر و دارویی خانواده نعنائیان است. در حال حاضر، مریم گلی به‌دلیل خواص آنتی‌اکسیدانی بالا و اثرات دارویی مهمی از جمله ضداسپاسم، ضد عفونی‌کننده، آنتی‌بیوتیک و آرام‌بخش، در صنایع مختلف غذایی و دارویی کاربردهای فراوانی دارد (Koubaa et al., 2021). مریم‌گلی حاوی ترکیبات زیست‌فعال ارزشمندی است که مهم‌ترین آن‌ها را اسانس و مشتقات فنولی تشکیل می‌دهند که ترکیب شیمیایی و خواص بیولوژیکی آن‌ها به عوامل متعددی از جمله موقعیت جغرافیایی، شرایط محیطی (دما، نور خورشید، رطوبت و اسیدیته خاک) و روش‌های استخراج بستگی دارد (Karalija et al., 2022). مطالعات نشان می‌دهد که قرار گرفتن این گیاه در معرض محرک‌های مختلف زیستی و غیرزیستی می‌تواند موجب تغییرات معنی‌داری در ترکیبات متابولیتی آن گردد (Bozaba & Kuru, 2024; Pesaraklu et al., 2021). نتایج کاندودی و همکاران (Kandoudi et al., 2021) نشان داد که کاربرد متیل جاسمونات در غلظت‌های پایین می‌تواند موجب تحریک رشد رویشی گیاه مریم‌گلی شود، درحالی‌که غلظت‌های بالاتر ممکن است با تخصیص منابع گیاه به تولید ترکیبات دفاعی، رشد گیاه را کاهش دهد. افزایش ترکیبات فنولی گیاه مریم‌گلی در واکنش به متیل جاسمونات توسط گزرگورچیک-کارولاک و همکاران (Grzegorzczak-Karolak et al., 2024) گزارش شده است. محلول‌پاشی گیاه مریم‌گلی با اسید سالیسیلیک، مقدار اسانس این گیاه را تا ۲۵ درصد افزایش داد که به

فعال‌سازی آنزیم‌های کلیدی مسیر بیوستز ترپنوئیدها تحت تأثیر اسید سالیسیلیک نسبت داده شده است (Es-sbihi et al., 2020). استفاده از الیستورها در سیستم‌های کشت کنترل‌شده مانند کشت هیدروپونیک که امکان تنظیم دقیق غلظت و شدت محرک‌ها وجود دارد، از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است و می‌تواند زمینه‌های جدیدی را در تولید صنعتی ترکیبات دارویی از گیاهان مختلف از جمله مریم‌گلی فراهم آورد. بر این اساس، در پژوهش حاضر اثر ترکیبی محلول‌پاشی اسید سالیسیلیک و متیل جاسمونات بر رشد، ترکیبات فیتوشیمیایی و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی گیاه مریم‌گلی انجام گرفت.

مواد و روش‌ها

این آزمایش به‌صورت فاکتوریل برپایه طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام گرفت. تیمارهای آزمایشی شامل دو الیستور شامل اسید سالیسیلیک در سه غلظت (صفر، ۰/۵ و ۱ میلی‌مولار) و متیل جاسمونات در سه سطح (صفر، ۰/۲۵ و ۰/۵ میلی‌مولار) بودند. این پژوهش در سیستم کشت هیدروپونیک با بستر کشت حاوی پرلیت و کوکوپیت (نسبت سه به یک) در گلخانه تحقیقاتی پژوهشکده گلخانه و محیط‌های کنترل‌شده طی سال ۱۴۰۳-۱۴۰۴ انجام شد. بذره‌های مریم‌گلی (*Salvia officinalis* L.) از شرکت پاکان بذر با قوه نامیه ۹۰ درصد تهیه گردید. جهت شکستن خواب بذره‌های مریم‌گلی، بذرها به مدت دو هفته در دمای چهار درجه سانتی‌گراد سرمادهی شدند. سپس در سینی‌های نشاء (۵۰ حفره‌ای با ابعاد حفره ۴/۵ در ۴/۵ سانتی‌متر و ارتفاع هفت سانتی‌متر) کشت و پس از چهار برگی شدن به گلدان‌های اصلی انتقال یافتند. گیاهان تحت شرایط نور طبیعی، دمای ۲۰-۳۰ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۷۰-۸۰ درصد رشد کردند. طول دوره نور طبیعی در زمان انجام آزمایش، ۱۶ ساعت در روز بوده است و شدت نور محیط گلخانه طی ساعات میانی روز در محدوده ۸۰۰ تا ۱۰۰۰ میکرومول بر مترمربع بر ثانیه متغیر بود. محلول غذایی هوگلند با هدایت الکتریکی ۱/۶ دسی‌زیمنس بر متر برای تغذیه گیاهان استفاده شد. محلول‌پاشی تیمارها در سه مرحله رشدی (سه برگی، شش برگی و آغاز گل‌هی) صورت گرفت. ده روز پس از آخرین محلول‌پاشی، صفات رشدی، فیزیولوژیکی و فیتوشیمیایی مورد ارزیابی قرار گرفتند.

سنجش صفات رشدی و فیزیولوژیکی

عملکرد بیولوژیکی

پس از برداشت، اندام‌های هوایی گیاهان هر گلدان جدا شده و به مدت ۴۸ ساعت در آون با دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد خشک شدند، سپس وزن خشک آن‌ها به‌عنوان عملکرد بیولوژیکی ثبت گردید (Shahhoseini et al., 2024).

رنگیزه‌های فتوسنتزی

برای اندازه‌گیری میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی، کلروفیل و کاروتنوئیدها، نمونه‌های تازه برگ با استفاده از استون ۸۰ درصد استخراج گردید. محلول حاصل به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد و میزان جذب محلول رویی در طول‌موج‌های ۴۷۰، ۶۴۸ و ۶۶۴ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت گردید. مقدار کلروفیل کل و کاروتنوئیدها براساس میلی‌گرم بر گرم وزن تر طبق روش لیچنتالر (Lichtenthaler, 1987) محاسبه شد.

فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی

جهت استخراج آنزیم، بافت برگ تازه با بافر فسفات پتاسیم (۵۰ میلی‌مولار) ساییده و عصاره حاصل سانتریفیوژ گردید. از محلول رویی به‌عنوان عصاره آنزیمی برای سنجش‌های بعدی استفاده شد. غلظت پروتئین کل در عصاره آنزیمی نیز به‌روش برادفورد (Bradford, 1976) و با استفاده از آلبومین سرم گاوی به‌عنوان استاندارد تعیین گردید.

آنزیم پراکسیداز (POX)

فعالیت آنزیم پراکسیداز براساس سنجش نرخ تشکیل تترایاکول از گایاکول اندازه‌گیری شد (Chance & Maehly, 1955). در این روش، عصاره آنزیمی به مخلوط واکنش حاوی بافر فسفات پتاسیم (۱۰۰ میلی‌مولار) و محلول گایاکول (۲۰ میلی‌مولار) افزوده شد. واکنش با اضافه نمودن پراکسید هیدروژن (۱۰ میلی‌مولار) آغاز گردید و تغییرات جذب نوری به مدت ۹۰ ثانیه در طول‌موج ۴۷۰ نانومتر ثبت شد. فعالیت ویژه آنزیم با استفاده از ضریب خاموشی تترایاکول (۲۶/۶ میلی‌مولار بر سانتی‌متر) محاسبه و برحسب واحد (میلی‌مول تترایاکول تولیدشده در دقیقه) بر میلی‌گرم پروتئین گزارش گردید.

آنزیم آسکوربات پراکسیداز (APX)

فعالیت این آنزیم براساس میزان اکسیداسیون اسید آسکوربیک (Nakano & Asada, 1981) سنجیده شد. مخلوط واکنش شامل بافر پتاسیم فسفات (۵۰ میلی‌مولار، pH = ۷)، آسکوربات (۵/۰ میلی‌مولار)، آب اکسیژنه (۰/۱ میلی‌مولار) و ۱۵۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی بود. کاهش جذب ناشی از اکسیداسیون آسکوربات به مدت دو دقیقه در طول‌موج ۲۹۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. فعالیت آنزیم با استفاده از ضریب خاموشی (۲/۸ میلی‌مولار بر سانتی‌متر) محاسبه و برحسب واحد (میلی‌مول اسید آسکوربیک اکسیدشده در دقیقه) بر میلی‌گرم پروتئین بیان گردید.

آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (SOD)

برای سنجش فعالیت این آنزیم، از روش مهار احیای نوری نیتروبلوترازولیوم (NBT) استفاده گردید (Sairam et al., 1998). بدین منظور، عصاره آنزیمی به مخلوط واکنش حاوی بافر فسفات پتاسیم (۵۰ میلی‌مولار، pH = ۷)، EDTA (۰/۱ میلی‌مولار)، نیتروبلوترازولیوم (۰/۵ میلی‌مولار)، متیونین (۱۳ میلی‌مولار) و ربیوفلاوین (چهار میکرومولار) اضافه شد. مخلوط حاصل به مدت ۱۰ دقیقه در معرض نور فلورسنت (۴۰ وات) قرار گرفت و سپس جذب نوری نمونه‌ها در طول موج ۵۶۰ نانومتر قرائت شد. فعالیت آنزیم براساس میزان مهار احیای NBT در مقایسه با نمونه شاهد (فاقد عصاره آنزیمی) ارزیابی و برحسب واحد (میلی‌مول نیتروبلوترازولیوم احیاشده در دقیقه) بر میلی‌گرم پروتئین محاسبه گردید.

سنجش ترکیبات فیتوشیمیایی

فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیا لایز (PAL)

برای اندازه‌گیری فعالیت این آنزیم، ابتدا عصاره آنزیمی از بافت برگ با استفاده از بافر تریس (۱۰۰ میلی‌مولار) استخراج شد. مخلوط واکنش شامل ۰/۵ میلی‌لیتر عصاره آنزیمی، یک میلی‌لیتر سوبسترای فنیل آلانین (۱۰ میلی‌مولار)، یک میلی‌لیتر بافر تریس و یک میلی‌لیتر آب دیونیزه بود. نمونه‌ها به مدت یک ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و در شرایط تاریکی انکوبه شدند. در پایان، واکنش با افزودن ۰/۵ میلی‌لیتر اسید کلریدریک (دو مولار) متوقف گردید. جذب نوری محلول حاصل در طول موج ۲۹۰ نانومتر به‌وسیله دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت شد. فعالیت آنزیم براساس میزان سینامات تولیدشده، محاسبه و برحسب نانومول بر میلی‌گرم پروتئین گزارش گردید (Beaudoin-Eagan & Thrope, 1985).

تهیه عصاره متانولی و سنجش ترکیبات فنولی

نمونه‌های برگ با متانول ۹۹ درصد عصاره‌گیری و سپس سانتریفیوژ شدند. از عصاره رویی برای اندازه‌گیری محتوای فنول و فلاونوئید کل استفاده گردید (Aryal et al., 2019).

فنول کل

اندازه‌گیری مقدار فنول کل در عصاره متانولی با استفاده از معرف فولین-سیوالتو انجام شد (Aryal et al., 2019). بدین منظور، پس از رقیق‌سازی عصاره با آب مقطر، معرف فولین-سیوالتو به آن اضافه گردید. پس از چهار دقیقه، سدیم کربنات (۷/۵ درصد) به مخلوط افزوده شد و پس از ۳۰ دقیقه انکوباسیون، جذب نوری در طول موج ۷۶۰ نانومتر قرائت شد. مقدار فنول کل براساس منحنی استاندارد

اسید گالیک و برحسب میلی گرم اسید گالیک در هر گرم وزن تازه اندازه گیری شد.

فلاونوئید کل

مقدار فلاونوئید به روش آلومینیوم کلرید سنجیده شد (Zhao et al., 2018). عصاره متانولی با محلول های آلومینیوم کلرید (۱۰ درصد)، پتاسیم استات (یک مولار) و آب مقطر مخلوط و به مدت ۳۰ دقیقه در تاریکی نگهداری شد. جذب محلول واکنش در طول موج ۴۱۵ نانومتر قرائت و مقدار فلاونوئید با استفاده از منحنی استاندارد کوئرستین، برحسب میکروگرم کوئرستین در گرم وزن تازه برگ محاسبه گردید.

درصد و فعالیت آنتی اکسیدانی اسانس

درصد اسانس

اندام های هوایی خشک شده در سایه، به روش تقطیر با آب توسط دستگاه کلونجر به مدت دو ساعت اسانس گیری شدند. اسانس به دست آمده توسط سدیم سولفات بدون آب، آب گیری شدند و درصد اسانس هر نمونه نسبت به وزن خشک گزارش گردید (Shahhoseini et al., 2024).

فعالیت آنتی اکسیدانی اسانس

فعالیت آنتی اکسیدانی اسانس از طریق آزمون مهار رادیکال آزاد DPPH (۲۰۲-۱-۲) دی فنیل-۱-پیکریل هیدرازیل) ارزیابی شد (Wang et al., 1998). برای این منظور، به غلظت های مختلفی از اسانس، ۱/۵ میلی لیتر محلول DPPH (۰/۱ میلی مولار) اضافه شد. نمونه ها به همراه یک نمونه شاهد (حاوی آب مقطر به جای اسانس)، به مدت ۵۰ دقیقه در تاریکی نگهداری شدند. سپس جذب هر محلول در طول موج ۵۱۷ نانومتر قرائت و درصد مهار رادیکال با استفاده از معادله ۱ محاسبه شد.

(۱)

$100 \times (\text{جذب شاهد} - \text{جذب نمونه}) / \text{جذب شاهد} = \text{درصد ممانعت}$
در نهایت، غلظتی از اسانس که قادر به مهار ۵۰ درصد از رادیکال های آزاد باشد (IC₅₀)، از روی معادله رگرسیونی خطی نمودار غلظت-پاسخ، برحسب میکروگرم بر میلی لیتر محاسبه گردید.

تجزیه و تحلیل آماری

آنالیز داده ها توسط نرم افزار آماری SPSS (نسخه ۲۱) انجام گرفت. مقایسه میانگین ها به روش آزمون چنددامنه ای دانکن در سطح

احتمال پنج درصد صورت پذیرفت و رسم نمودارها با استفاده از نرم افزار Excel انجام شد.

نتایج و بحث

اثر الیستورها بر صفات رشدی و فیزیولوژیکی عملکرد بیولوژیکی (زیست توده)

براساس نتایج تجزیه واریانس، محلول پاشی اسید سالیسیلیک، متیل جاسمونات و همچنین اثرات متقابل آن ها به طور معنی داری وزن تر و خشک اندام های هوایی گیاه مریم گلی را تحت تأثیر قرار دادند. اسید سالیسیلیک، زیست توده گیاهان تیمار شده را به میزان معنی داری نسبت به شاهد افزایش داد. متیل جاسمونات در غلظت پایین (۰/۲۵ میلی مولار) در بهبود وزن تر و خشک مؤثر بود، ولی در غلظت بالا (۰/۵ میلی مولار) کاهش رشد گیاهان تیمار شده مشاهده گردید. محلول پاشی توأم اسید سالیسیلیک و متیل جاسمونات، اثر قابل توجهی در افزایش زیست توده مریم گلی داشت، به طوری که بیشترین وزن تر (۴۹/۰۰ گرم) و وزن خشک (۲۱/۴۸ گرم) بوته در گیاهان تیمار شده با ۰/۵ میلی مولار اسید سالیسیلیک همراه با ۰/۲۵ میلی مولار متیل جاسمونات ثبت گردید (جدول ۱). این نتایج با مطالعات پیشین که نشان داده اند اسید سالیسیلیک و متیل جاسمونات در غلظت های متعادل می توانند پاسخ های دفاعی و رشد گیاه نستر را همزمان تحریک کنند، همخوانی دارد (Tafreshi et al., 2025). افزایش زیست توده گیاه در واکنش به اسید سالیسیلیک و متیل جاسمونات به تغییرات وضعیت هورمونی گیاه به ویژه افزایش اکسین و سیتوکینین نسبت داده شده است (Jeyasri et al., 2023). همچنین اسید سالیسیلیک، سنتز و تجمع انواع مختلف پروتئین مانند پروتئین کینازها را تحریک می کند که نقش مهمی در تنظیم تقسیم سلولی، تمایز و مورفوزن دارند (Vinay et al., 2025). از سوی دیگر، متیل جاسمونات در غلظت های پایین از طریق تحریک سنتز پروتئین های مرتبط با رشد، زیست توده گیاه را افزایش می دهد (Wang et al., 2022). در پژوهش حاضر، در گیاهان تیمار شده با غلظت بالای متیل جاسمونات، کاهش معنی داری در وزن تر و خشک اندام های هوایی مشاهده شد که توسط پسرakلو و همکاران (Pesaraklu et al., 2021) نیز گزارش شده است. این پدیده احتمالاً به دلیل فعال سازی بیش از حد مسیرهای دفاعی تحت تأثیر متیل جاسمونات و تولید مهارکننده های رشد مانند پروتئازها است که می تواند رشد گیاه مریم گلی را مهار کند (Pesaraklu et al., 2021). باین وجود، واکنش های رشدی گیاهان به کاربرد هر یک از الیستورها بسته به غلظت، گونه گیاهی و مرحله رشد در زمان تیمار متفاوت است (Klimek-Szczykutowicz et al., 2022).

جدول ۱- اثر متقابل محلول‌پاشی اسید سالیسیلیک × متیل جاسمونات بر زیست‌توده و کاروتنوئیدهای گیاه مریم‌گلی

Table 1- The interaction effect of foliar application of salicylic acid × methyl jasmonate on the biomass and carotenoids of *S. officinalis*

اسید سالیسیلیک Salicylic acid (mM)	متیل جاسمونات Methyl jasmonate (mM)	وزن تر اندام هوایی بوته Plant aerial fresh weight (g per plant)	وزن خشک اندام هوایی بوته Plant aerial dry weight (g per plant)	کاروتنوئیدها Carotenoids (mg.g ⁻¹ FW)
0	0	28.00±1.00 de*	16.45±0.11 c	1.36±0.03 f
	0.25	31.33±1.53 d	18.69±0.54 b	2.05±0.04 b
	0.5	26.00±2.65 e	14.90±0.59 d	1.18±0.06 g
0.5	0	37.00±1.00 c	16.45±0.10 c	1.72±0.05 d
	0.25	49.00±1.00 a	21.478±1.33 a	1.36±0.04 f
	0.5	28.00±1.10 de	16.48±0.40 c	1.35±0.03 f
1	0	45.00±3.46 b	18.54±0.10 b	1.87±0.01 c
	0.25	42.00±1.50 b	17.95±0.46 b	2.34±0.03 a
	0.5	28.00±1.45 de	18.49±0.95 b	1.47±0.08 e

* در هر صفت و گروه مقایسه‌شده، تیمارهای با حروف یکسان اختلاف معنی‌داری بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال پنج درصد ندارند.

* Values followed by the same letter in each trait have no significant difference based on Duncan's multiple range test at 5% of probability level.

رنگیزه‌های فتوسنتزی

میانگین مربعات اسید سالیسیلیک و متیل جاسمونات بر میزان کلروفیل کل و کاروتنوئیدهای گیاه مریم‌گلی معنی‌دار شد، ولی اثر متقابل اسید سالیسیلیک و متیل جاسمونات تنها بر مقدار کاروتنوئیدها معنی‌دار بود. محلول‌پاشی با هر دو غلظت اسید سالیسیلیک (۰/۵ و ۱ میلی‌مولار) موجب افزایش معنی‌دار مقدار کلروفیل شد (شکل ۱-۱A). غلظت پایین متیل جاسمونات موجب افزایش معنی‌دار کلروفیل گردید و استفاده از آن در غلظت ۰/۵ میلی‌مولار مقدار کلروفیل را نسبت به گیاهان شاهد کاهش داد (شکل ۱-۱B). در پژوهش حاضر، استفاده از الیستورها اثر معنی‌داری بر افزایش مقدار کاروتنوئیدهای گیاه مریم‌گلی داشت. براساس نتایج حاصل از این پژوهش، بیشترین مقدار کاروتنوئیدها (۲/۳۴ میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ) در گیاهان تیمارشده با غلظت یک میلی‌مولار اسید سالیسیلیک همراه با متیل جاسمونات با غلظت ۰/۲۵ میلی‌مولار به دست آمد (جدول ۱).

فتوسنتز از جمله مهم‌ترین واکنش‌های حیاتی در گیاه محسوب می‌شود که نقش تعیین‌کننده در عملکرد و همچنین خصوصیات کمی و کیفی گیاه دارد. در کلروپلاست برگ‌ها، کلروفیل‌ها و کاروتنوئیدها مهم‌ترین اجزای سیستم فتوسنتزی گیاه را تشکیل می‌دهند (Vinay et al., 2025). براساس نتایج به‌دست‌آمده در این پژوهش، محلول‌پاشی گیاه مریم‌گلی با اسید سالیسیلیک و متیل جاسمونات موجب افزایش رنگیزه‌های فتوسنتزی گردید که همراه با افزایش وزن تر و خشک گیاهان تیمارشده بود. بررسی پژوهش‌های انجام‌شده نشان می‌دهد که اسید سالیسیلیک از طریق افزایش فعالیت آنزیم‌های کلیدی در سنتز کلروفیل مانند کلروفیل سنتاز موجب بهبود محتوای کلروفیل می‌شود (Samadi et al., 2016). متیل جاسمونات با تنظیم

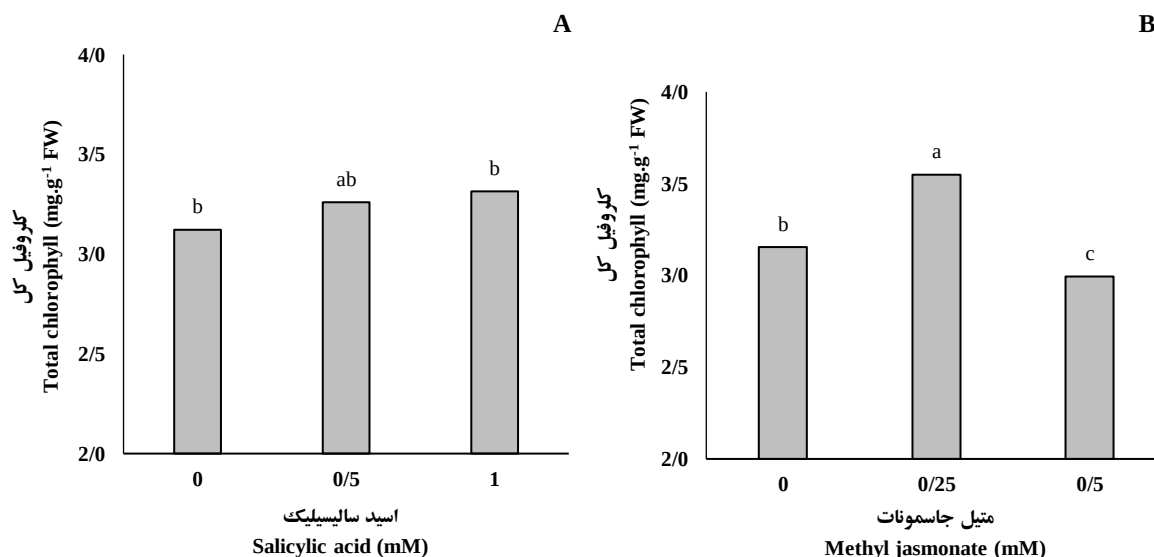
بیان ژن‌های مرتبط با سنتز کاروتنوئیدها مانند PSY و Lcy، نقش مؤثری در افزایش این ترکیبات دارد. بالین‌حال، غلظت‌های بالای متیل جاسمونات اثرات معکوسی بر شاخص‌های مورد مطالعه دارد، که به القای تنش اکسیداتیو و فعال‌سازی مسیرهای تجزیه کلروفیل و کاروتنوئیدها نسبت داده شده است (Sohn et al., 2022). اگرچه اسید سالیسیلیک و متیل جاسمونات در غلظت‌های بهینه می‌توانند اثر هم‌افزایی داشته باشند و پاسخ‌های فیزیولوژیکی گیاه را به‌طور هم‌زمان بهبود بخشند، اما در غلظت‌های بالا، اثرات آنتاگونیسم بین مسیرهای پیام‌رسانی اسید سالیسیلیک و متیل جاسمونات می‌تواند منجر به کاهش اثرات مثبت این هورمون‌ها شود (Mohi-Ud-Din et al., 2025). مطالعات نشان داده‌اند که اسید سالیسیلیک می‌تواند از طریق مهار فاکتور رونویسی MYC2 که در مسیر متیل جاسمونات نقش دارد، اثرات متیل جاسمونات را تعدیل کند (Medeiros et al., 2024). این پدیده می‌تواند توضیح‌دهنده کاهش اثرات مثبت اسید سالیسیلیک در حضور غلظت بالای متیل جاسمونات (۰/۵ میلی‌مولار) در پژوهش حاضر باشد.

اثر الیستورها بر سیستم دفاعی و متابولیت‌های ثانویه
فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی

نتایج تجزیه واریانس بیانگر اثر معنی‌دار محلول‌پاشی الیستورهای مورد مطالعه و اثرات متقابل آن‌ها بر فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز می‌باشد. اگرچه اثر اسید سالیسیلیک بر فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز معنی‌دار نبود، ولی اثر متیل جاسمونات و اثر متقابل اسید سالیسیلیک و متیل جاسمونات بر این آنزیم معنی‌دار شد. محلول‌پاشی گیاه مریم‌گلی با غلظت‌های مختلف الیستورها اثر

به تنظیم فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در گیاه مریم‌گلی هستند. اسید سالیسیلیک از طریق فعال‌سازی مسیر NPR1-dependent مؤثر در القای مقاومت اکتسابی و متیل جاسمونات از طریق اثرگذاری بر بیان ژن‌های کدکننده آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، فعالیت آن‌ها را افزایش می‌دهند (Klimek-Szczykutowicz et al., 2022). نکته قابل توجه در نتایج حاصل‌شده در این مطالعه، اثرات منفی غلظت‌های بالای متیل جاسمونات بر فعالیت آنزیم‌های مورد مطالعه به‌ویژه آسکوربات پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز است. غلظت‌های بالای متیل جاسمونات ممکن است منجر به تولید بیش از حد گونه‌های فعال اکسیژن شود که سبب تخریب آنزیم‌ها می‌گردد. از طرف دیگر، فعال شدن مسیرهای تجزیه پروتئین‌ها تحت تیمار غلظت‌های بالای متیل جاسمونات سبب کاهش فعالیت آنزیم‌های اندازه‌گیری‌شده می‌شود (Wang et al., 2022).

بارزی بر افزایش فعالیت آنزیم پراکسیداز داشت و بیشترین فعالیت این آنزیم (۲۰/۴۹ واحد بر میلی‌گرم پروتئین) در استفاده ترکیبی اسید سالیسیلیک در غلظت ۰/۵ یا ۱ میلی‌مولار با ۰/۲۵ میلی‌مولار متیل جاسمونات حاصل شد. با وجود اینکه در واکنش به تیمارهای مورد مطالعه، فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز نیز افزایش یافت، ولی تفاوت معنی‌داری با شرایط بدون تیمار نداشت. فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز نیز به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر محلول‌پاشی الیسی‌تورها افزایش یافت. گیاهان تیمار شده با ۰/۲۵ میلی‌مولار متیل جاسمونات، تیمار ترکیبی (۰/۵ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک و ۰/۲۵ میلی‌مولار متیل جاسمونات)، و یک میلی‌مولار اسید سالیسیلیک، همگی در یک گروه آماری قرار گرفته و بالاترین سطح فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز را نشان دادند (جدول ۲). نتایج به‌دست‌آمده در این پژوهش نشان می‌دهد که الیسی‌تورهای شیمیایی استفاده‌شده قادر



شکل ۱- اثر اسید سالیسیلیک (A) و متیل جاسمونات (B) بر مقدار کلروفیل کل گیاه مریم‌گلی

Figure 1- The effect of foliar application of salicylic acid (A) and methyl jasmonate (B) on total chlorophyll content of *S. officinalis* (DMRT, $p \leq 0.05$)

آنزیم فنیل آلانین آمونیالیز را به میزان ۲۵/۲۸ درصد افزایش داد، با این‌وجود غلظت ۰/۵ میلی‌مولار سبب کاهش معنی‌دار فعالیت این آنزیم گردید (شکل ۲-B). مقدار فنول کل در برگ‌های گیاه مریم‌گلی تحت تأثیر تیمارهای اسید سالیسیلیک (شکل ۳-A) و متیل جاسمونات (شکل ۳-B) تغییر معنی‌داری یافت. در هر یک از تیمارها، بیشترین مقدار فنول کل در غلظت یک میلی‌مولار اسید سالیسیلیک (۱/۶۲ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) و ۰/۲۵ میلی‌مولار متیل جاسمونات (۱/۶۵ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) ثبت شد. محلول‌پاشی با ترکیبات مورد مطالعه، اثر معنی‌داری بر افزایش مقدار فلاونوئید کل برگ‌های

فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیالیز و ترکیبات فنولی

تجزیه واریانس داده‌ها نشان‌دهنده اثرات معنی‌دار متیل جاسمونات و اسید سالیسیلیک بر فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیالیز، مقدار فنول کل و فلاونوئید است، ولی اثر متقابل این الیسی‌تورها تنها بر مقدار فلاونوئید معنی‌دار شد. محلول‌پاشی اسید سالیسیلیک در بهبود فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیالیز معنی‌دار بود که فعالیت آن را از ۱/۶۵ نانومول بر میلی‌گرم پروتئین در شاهد به ۱/۹۷ نانومول بر میلی‌گرم پروتئین در تیمار یک میلی‌مولار سالیسیلیک افزایش داد (شکل ۲-A). متیل جاسمونات در غلظت ۰/۲۵ میلی‌مولار، فعالیت

سالیسیلیک می‌تواند بیان ژن تنظیم‌کننده فعالیت فنیل آلانین آمونیاز را تا چندین برابر افزایش دهد. همچنین گرزگورچیک-کارولاک و همکاران (Grzegorzczuk-Karolak et al., 2024) نقش کلیدی متیل جاسمونات را در فعال‌سازی فنیل پروپانویید را گزارش کرده‌اند. در پژوهش حاضر، هم‌گام با افزایش فعالیت آنزیم فنیل-آلانین-آمونیااز، محتوای فنول کل نیز در تیمارهای مشابه به‌طور معنی‌داری افزایش یافت.

مریم‌گلی داشت و بیشترین مقدار آن در گیاهان تیمار شده با ۰/۵ یا ۱ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک همراه با ۰/۲۵ میلی‌مولار متیل جاسمونات حاصل شد (جدول ۳).

فنیل آلانین آمونیاز، آنزیم اصلی در مسیر فنیل پروپانویید است که منجر به بیوسنتز ترکیبات مختلف فنولی مانند فلاونوئیدها از اسید آمینه فنیل آلانین می‌شود و افزایش فعالیت فنیل آلانین آمونیاز هم‌زمان با تجمع ترکیبات فنولی است. مطالعات اسکرپنیک و همکاران (Skrypnik et al., 2022) نشان داده‌اند که اسید

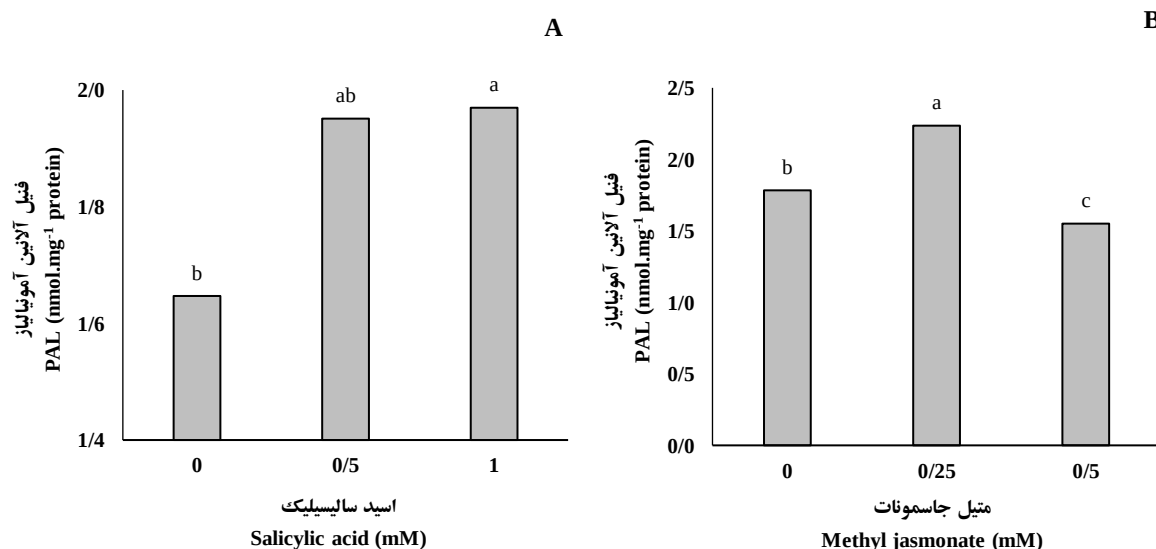
جدول ۲- اثر متقابل محلول‌پاشی اسید سالیسیلیک × متیل جاسمونات بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی گیاه مریم‌گلی

Table 2- The interaction effect of foliar application of salicylic acid × methyl jasmonate on antioxidant enzymes activity of *S. officinalis*

اسید سالیسیلیک Salicylic acid (mM)	متیل جاسمونات Methyl jasmonate (mM)	پراکسیداز Peroxidase (U.mg ⁻¹ protein)	آسکوربات پراکسیداز Ascorbate peroxidase (U.mg ⁻¹ protein)	سوپراکسید دیسموتاز Superoxide dismutase (U.mg ⁻¹ protein)
0	0	13.93±0.24 d*	6.52±0.02 ab	1.71±0.00 bc
	0.25	16.97±0.41 bc	6.96±0.10 a	1.95±0.02 a
	0.5	14.87±1.81 cd	6.38±0.21 b	1.26±0.07 e
0.5	0	15.87±0.34 cd	6.67±0.02 ab	1.77±0.01 b
	0.25	20.49±0.30 a	6.95±0.45 a	1.92±0.02 a
	0.5	15.93±2.05 cd	6.18±0.59 b	1.58±0.08 d
1	0	18.66±0.42 ab	6.94±0.02 a	1.89±0.03 a
	0.25	20.26±2.51 a	6.48±0.05 ab	1.64±0.03 cd
	0.5	14.40±1.37 d	6.40±0.12 b	1.70±0.15 bc

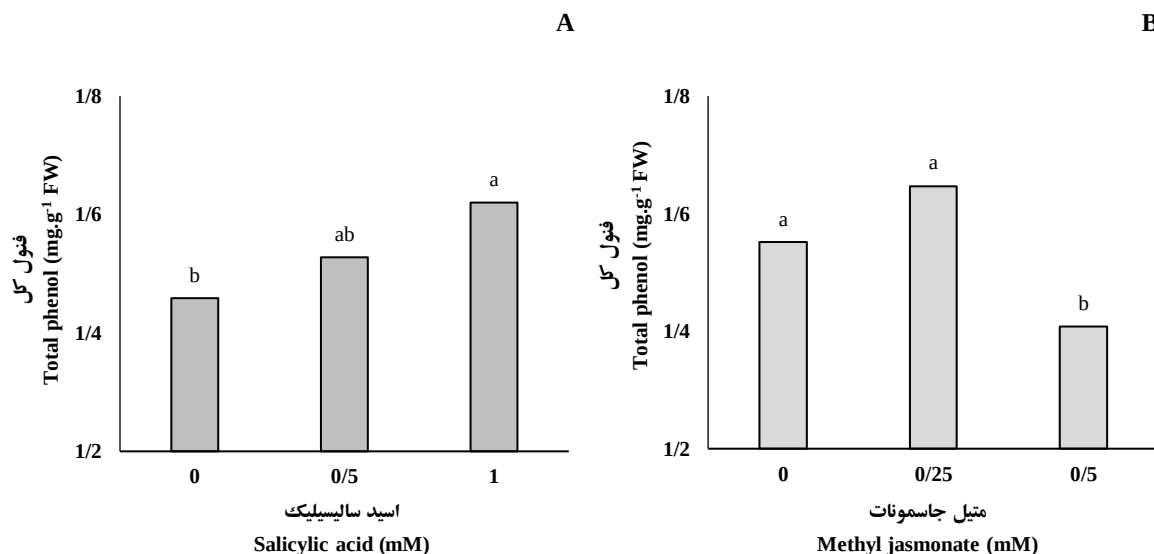
* در هر صفت و گروه مقایسه‌شده، تیمارهای با حروف یکسان اختلاف معنی‌داری بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال پنج درصد ندارند.

* Values followed by the same letter in each trait have no significant difference based on Duncan's multiple range test at 5% of probability level.



شکل ۲- اثر اسید سالیسیلیک (A) و متیل جاسمونات (B) بر فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیاز گیاه مریم‌گلی

Figure 2- The effect of foliar application of salicylic acid (A) and methyl jasmonate (B) on PAL enzyme activity of *S. officinalis* (DMRT, $p \leq 0.05$)



شکل ۳- اثر اسید سالیسیلیک (A) و متیل جاسمونات (B) بر مقدار فنول کل گیاه مریم‌گلی

Figure 3- The effect of foliar application of salicylic acid (A) and methyl jasmonate (B) on total phenol content of *S. officinalis* (DMRT, $p \leq 0.05$)

همکاران (Vinay et al., 2025)، سازوکار این اثر را به افزایش بیان ژن‌های کلیدی مسیر بیوستنز فلاونوئیدها مانند چالکون سنتاز و فلاون سنتاز نسبت داده‌اند. بررسی مطالعه حاضر و سایر پژوهش‌های گزارش شده بیانگر تفاوت در تأثیر غلظت‌های مختلف الیسیتورهای استفاده شده است. باید در نظر داشت که تعیین غلظت بهینه برای محلول پاشی بسته به گونه گیاهی، شرایط محیطی و روش استفاده متفاوت می‌باشد (Jeyasri et al., 2023).

همبستگی مثبت بین فنیل آلانین آمونیا لایز و تجمع فنول‌ها توسط مطالعات متعددی از جمله صمدی و همکاران (Samadi et al., 2016) و وینی و همکاران (Vinay et al., 2025) نیز گزارش شده است. در مورد فلاونوئیدها، الگوی مشابهی مشاهده شد، با این تفاوت که بیشترین مقدار آن در تیمار ترکیبی اسید سالیسیلیک و متیل جاسمونات ثبت گردید. این نتیجه با یافته‌های تفرشی و همکاران (Tafreshi et al., 2025) که هم‌افزایی این دو ترکیب را در افزایش فلاونوئیدها گزارش کرده‌اند، مطابقت دارد. پژوهش‌های وینی و

جدول ۳- اثر متقابل محلول پاشی اسید سالیسیلیک × متیل جاسمونات بر مقدار فلاونوئید، درصد اسانس و فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاه مریم‌گلی
Table 3- The interaction effect of foliar application of salicylic acid × methyl jasmonate on flavonoid content, essential oil percent and antioxidant activity of *S. officinalis*

اسید سالیسیلیک Salicylic acid (mM)	متیل جاسمونات Methyl jasmonate (mM)	فلاونوئید Flavonoids ($\mu\text{g.g}^{-1}$ FW)	درصد اسانس Essential oil (%)	فعالیت آنتی‌اکسیدانی Antioxidant activity ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)
0	0	2.21±0.01 ef*	0.59±0.01 cd	163.30±8.95 b
	0.25	2.49±0.19 cd	0.64±0.01 bc	134.05±6.65 c
	0.5	2.21±0.08 ef	0.56±0.03 d	183.92±9.36 a
0.5	0	2.40±0.06 de	0.62±0.02 cd	121.38±1.23 c
	0.25	2.74±0.04 ab	0.82±0.05 a	94.69±4.07 d
	0.5	2.18±0.06 f	0.58±0.01 cd	190.56±1.25 a
1	0	2.61±0.25 bc	0.70±0.05 b	166.44±16.48 b
	0.25	2.86±0.03 a	0.81±0.06 a	102.05±3.35 d
	0.5	2.21±0.01 ef	0.60±0.04 cd	191.66±7.61 a

* در هر صفت و گروه مقایسه شده، تیمارهای با حروف یکسان اختلاف معنی داری بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال پنج درصد ندارند.

* Values followed by the same letter in each trait have no significant difference based on Duncan's multiple range test at 5% of probability level.

اثر الیستورها بر کمیت و کیفیت اسانس

درصد اسانس

نتایج تجزیه واریانس نشانگر اثر معنی‌دار اسید سالیسیلیک، متیل جاسمونات و اثرات متقابل آن‌ها بر درصد اسانس گیاه مریم‌گلی بود. نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که کاربرد هم‌زمان اسید سالیسیلیک و متیل جاسمونات در غلظت‌های بهینه می‌تواند به‌طور معنی‌داری درصد اسانس گیاه دارویی مریم‌گلی را افزایش دهد. براساس نتایج **جدول ۳**، میزان اسانس در تیمار ترکیبی ۰/۵ یا ۱ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک همراه با ۰/۲۵ میلی‌مولار متیل جاسمونات نسبت به شاهد افزایش حدود ۳۹ درصدی را نشان داد. این افزایش محتوای اسانس را می‌توان به توانایی اسید سالیسیلیک و متیل جاسمونات در فعال‌سازی مسیرهای بیوسنتز ترپنوئیدها نسبت داد. مطالعات مایروس و همکاران (Medeiros et al., 2024) نشان دادند که این ترکیبات می‌توانند بیان ژن‌های ترپن سنتازها را که آنزیم‌های کلیدی در تولید پیش‌سازهای اسانس هستند، به‌طور هماهنگ تنظیم کنند. اثر هم‌افزایی ترکیب اسید سالیسیلیک و متیل جاسمونات در غلظت‌های بهینه در افزایش مقدار اسانس گیاه مریم‌گلی می‌تواند ناشی از فعال‌سازی هم‌زمان مسیرهای پیام‌رسانی مستقل توسط این دو ترکیب باشد. اسید سالیسیلیک و متیل جاسمونات می‌توانند با کاهش تنش اکسیداتیو، انرژی سلول را به سمت تولید متابولیت‌های ثانویه مانند اسانس هدایت کنند (Tafreshi et al., 2025; Kandoudi et al., 2021). در مقابل، کاهش اثرات مثبت متیل جاسمونات در غلظت بالا (۰/۵ میلی‌مولار) بر مقدار اسانس با یافته‌های سون و همکاران (Sohn et al., 2022) هم‌خوانی دارد که گزارش کردند که غلظت‌های بالای متیل جاسمونات ممکن است منجر به فعال‌سازی بیش از حد مسیرهای دفاعی و در نتیجه تخصیص منابع به فرآیندهای غیرضروری شود.

ظرفیت آنتی‌اکسیدانی اسانس

اثرات محلول‌پاشی اسید سالیسیلیک و متیل جاسمونات بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس مریم‌گلی از نظر قدرت مهار رادیکال‌های DPPH معنی‌دار بود، همچنین اثرات متقابل آن‌ها برای این صفت معنی‌دار شد.

صفت IC_{50} غلظتی از نمونه است که برای مهار ۵۰ درصدی رادیکال‌ها لازم است. به این ترتیب، هرچه یک نمونه قوی‌تر باشد، به غلظت کمتری برای رسیدن به این هدف نیاز دارد. بنابراین، کاهش عدد IC_{50} به معنای افزایش قدرت آنتی‌اکسیدانی است. بر این اساس، غلظت‌های ۰/۵ و ۱ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک همراه با غلظت ۰/۲۵ میلی‌مولار متیل جاسمونات در بهبود ظرفیت آنتی‌اکسیدانی

اسانس گیاه مریم‌گلی مؤثر بودند. براساس نتایج به‌دست‌آمده در این پژوهش، در تیمارهای ترکیبی ۰/۵ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک با ۰/۲۵ میلی‌مولار متیل جاسمونات (۹۴/۶۹ میکروگرم در میلی‌لیتر اسانس) و یک میلی‌مولار اسید سالیسیلیک با ۰/۲۵ میلی‌مولار متیل جاسمونات (۱۰۲/۰۵ میکروگرم در میلی‌لیتر اسانس) بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی ثبت گردید (**جدول ۳**).

ترکیبات ترپنوئیدی اسانس با فعالیت آنتی‌اکسیدانی آن‌ها در ارتباط است که عمدتاً به دلیل قابلیت اکسایش و احیاء، فعالیت جاروب‌کنندگی رادیکال‌های آزاد، ظرفیت خنثی‌کنندگی اکسیژن فعال و فعالیت کلات‌کنندگی فلزات است (Es-Sbihi et al., 2020). در پژوهش حاضر، کاربرد ترکیبی اسید سالیسیلیک (۰/۵ میلی‌مولار) و متیل جاسمونات (۰/۲۵ میلی‌مولار)، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی اسانس را به‌طور قابل توجهی بهبود بخشید، به‌طوری که مقدار IC_{50} تا ۴۲ درصد نسبت به شاهد کاهش یافت (از ۱۶۳/۳۰ به ۹۴/۶۹ میکروگرم بر میلی‌لیتر). اسید سالیسیلیک و متیل جاسمونات از طریق سازوکارهای مختلفی خواص آنتی‌اکسیدانی گیاهان تیمار شده را تحت تأثیر قرار می‌دهد. این محرک‌های گیاهی از طریق القای بیان ژن‌های کلیدی آنزیم‌های ترپن سنتاز (Medeiros et al., 2024) و فنیل آلانین آمونیلایز (Skrypnik et al., 2022)، تولید متابولیت‌های ثانویه با خاصیت آنتی‌اکسیدانی را افزایش می‌دهند. در برخی از گونه‌های گیاهی، بیان این ژن‌ها در تیمارهای ترکیبی اسید سالیسیلیک و متیل جاسمونات تا سه برابر نسبت به شاهد افزایش یافته است (Jeyasri et al., 2023). بررسی‌ها نشان می‌دهد که این ترکیبات می‌توانند از طریق تغییر در الگوی متیلاسیون DNA نواحی پروموتور ژن‌های مرتبط در مسیر بیوسنتز ترکیبات ترپنوئیدی، بیان آن‌ها را به مدت طولانی‌تری حفظ کنند (Tafreshi et al., 2025; Bozaba & Kuru, 2024). کاهش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی در غلظت‌های بالای متیل جاسمونات به فعال‌سازی بیش از حد مسیرهای تجزیه ترکیبات فنولی و ایجاد عدم تعادل در سیستم ردوکس سلولی نسبت داده شده است (Wang et al., 2022).

نتیجه‌گیری

این مطالعه نشان داد که کاربرد ترکیبی اسید سالیسیلیک و متیل جاسمونات در بستر کشت هیدروپونیک، ابزاری قدرتمند برای مدیریت رشد و تولید متابولیت‌های ثانویه در گیاه مریم‌گلی است. یافته کلیدی این پژوهش، شناسایی یک تیمار بهینه (۱-۰/۵ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک به همراه ۰/۲۵ میلی‌مولار متیل جاسمونات) بود که توانست به‌طور هم‌افزا موجب افزایش زیست‌توده، درصد اسانس و فعالیت آنتی‌اکسیدانی شود، درحالی‌که غلظت‌های بالاتر متیل

برای تولید انبوه و استانداردسازی گیاهان دارویی با کیفیت بالا در سیستم‌های کشت کنترل‌شده دارد. تحقیقات آینده باید بر روی شناسایی سازوکارهای مولکولی پشت این اثرات هم‌افزا و همچنین ارزیابی این تیمارها بر روی سایر گونه‌های گیاهی تمرکز کند.

جاسمونات به تنهایی، رشد را مهار کرد. پیامدهای این پژوهش حاظر اهمیت است، زیرا نشان می‌دهد که می‌توان با تنظیم دقیق غلظت الیستورها، موازنه متابولیکی بین رشد و تولید ترکیبات دفاعی را به نفع اهداف کشاورزی و دارویی مدیریت کرد. این رویکرد، پتانسیل بالایی

References

1. Aryal, S., Baniya, M. K., Danekhu, K., Kunwar, P., Gurung, R., & Koirala, N. (2019). Total phenolic content, flavonoid content and antioxidant potential of wild vegetables from western Nepal. *Plants (Basel)*, 8(4), 96. <https://doi.org/10.3390/plants8040096>
2. Atherton, H. R., & Li, P. (2023). Hydroponic cultivation of medicinal plants—Plant organs and hydroponic systems: Techniques and trends. *Horticulturae*, 9(3), 349. <https://doi.org/10.3390/horticulturae9030349>
3. Bashabsheh, K., Al-Tabbal, J., Qrunfleh, I., Haddad, M., & Al-Einein, S. A. (2021). Production of sage (*Salvia officinalis* L.) in a hydroponics system using brackish water at low cost. *Irrigation and Drainage*, 70(5), 1172–1182. <https://doi.org/10.1002/ird.2595>
4. Beaudoin-Eagan, L. D., & Thorpe, T. A. (1985). Tyrosine and phenylalanine ammonia-lyase activities during shoot initiation in tobacco callus cultures. *Plant Physiology*, 78(3), 438–441. <https://doi.org/10.1104/pp.78.3.438>
5. Bozaba, T. O., & Kuru, İ. S. (2024). The effect of the combined application of elicitors to *Salvia virgata* Jacq. under salinity stress on physiological and antioxidant defense. *BMC Plant Biology*, 24, 788. <https://doi.org/10.1186/s12870-024-05443-4>
6. Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72, 248–254. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(76\)90527-3](https://doi.org/10.1016/0003-2697(76)90527-3)
7. Chance, B., & Maehly, A. C. (1955). Assay of catalases and peroxidases. In S. P. Colowick & N. O. Kaplan (Eds.), *Methods in Enzymology*. Vol. 2, pp. 764–775. Academic Press.
8. Es-Sbihi, F., Hazzoumi, Z., & Joutei, K. A. (2020). Effect of salicylic acid foliar application on growth, glandular hairs and essential oil yield in *Salvia officinalis* L. grown under zinc stress. *Chemical and Biological Technologies in Agriculture*, 7(1), 1–11. <https://doi.org/10.1186/s40538-020-00192-6>
9. Grzegorzczak-Karolak, I., Krzemińska, M., Grąbkowska, R., Gomulski, J., Żekanowski, C., & Gaweda-Walerych, K. (2024). Accumulation of polyphenols and associated gene expression in hairy roots of *Salvia viridis* exposed to methyl jasmonate. *International Journal of Molecular Sciences*, 25(2), 764. <https://doi.org/10.3390/ijms25020764>
10. Hussain, M., Abbas, Y., Nazli, N., Fatima, S., Drouet, S., & Hano, C. (2022). Root cultures, a boon for the production of valuable compounds: A comparative review. *Plants*, 11(3), 439. <https://doi.org/10.3390/plants11030439>
11. Jeyasri, R., Muthuramalingam, P., Karthick, K., Shin, H., Choi, S. H., & 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. <https://doi.org/10.1007/s11240-023-02485-8>
12. Kandoudi, W., Radácsi, P., Gosztola, B., & Zámoriné Németh, É. (2021). Elicitation of medicinal plants *in vivo*—Is it a realistic tool? The effect of methyl jasmonate and salicylic acid on Lamiaceae species. *Horticulturae*, 8(1), 5. <https://doi.org/10.3390/horticulturae8010005>
13. Karaliya, E., Dahija, S., Tarkowski, P., & Zeljković, S. Č. (2022). Influence of climate-related environmental stresses on economically important essential oils of Mediterranean *Salvia* sp. *Frontiers in Plant Science*, 13, 864807. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.864807>
14. Khan, M. R., Fatma, M., Per, T. S., Anjum, N., & Khan, N. (2015). Salicylic acid-induced abiotic stress tolerance and underlying mechanisms in plants. *Frontiers in Plant Science*, 6, 462. <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00462>
15. Klimek-Szczykutowicz, M., Dziurka, M., & Blažević, I. (2022). Impacts of elicitors on metabolite production and on antioxidant potential and tyrosinase inhibition in watercress microshoot cultures. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 106, 619–633. <https://doi.org/10.1007/s00253-021-11743-8>
16. Koubaa, F. G., Chaâbane, M., & Turki, M. (2021). Anti-oxidant and hepatoprotective effects of *Salvia officinalis* essential oil against vanadium-induced oxidative stress and histological changes in the rat liver. *Environmental Science and Pollution Research*, 28(9), 11001–11015. <https://doi.org/10.1007/s11356-020-11303-z>
17. Lichtenthaler, H. K. (1987). Chlorophylls and carotenoids: Pigments of photosynthetic biomembranes. *Methods in Enzymology*, 148, 350–382. [https://doi.org/10.1016/0076-6879\(87\)48036-1](https://doi.org/10.1016/0076-6879(87)48036-1)
18. Medeiros, A. P. R., Leite, J. J. F., De Assis, R. M. A., Rocha, J. P. M., Bertolucci, S. K. V., & Pereira Pinto, J. E. B. (2024). Application of natural elicitors to promote growth, photosynthetic pigments, and the content and

- composition of essential oil in *Melissa officinalis* L. *Industrial Crops and Products*, 208, 117885. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2023.117885>
19. Mehdizadeh, L., & Moghaddam, M. (2023). Hydroponic system for cultivation of medicinal plants. In N. S. Kumar & R. Singh (Eds.). *Biosynthesis of Bioactive Compounds in Medicinal and Aromatic Plants* (pp. 1–25). Springer. https://doi.org/10.1007/978-3-031-35221-8_10
20. Mohi-Ud-Din, M., Tahery, M. H., Nazran, A., Talukder, D., Hasan, M. M., Al-Meraj, S. M. Z., & Ahmed, S. F. (2025). Synergistic effects of methyl jasmonate and salicylic acid enhances photosynthetic efficiency in drought-stressed French beans. *South African Journal of Botany*, 177, 630–642. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2024.12.037>
21. Nakano, Y., & Asada, K. (1981). Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. *Plant and Cell Physiology*, 22(5), 867–880. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.pcp.a076232>
22. Pesaraklu, A., Radjabian, T., & Salami, S. A. (2021). Methyl jasmonate and Ag⁺ as effective elicitors for enhancement of phenolic acids contents in *Salvia officinalis* and *Salvia verticillata*, as two traditional medicinal plants. *South African Journal of Botany*, 141, 105–115. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2021.04.032>
23. Shahhoseini, R., Hossaini, S. M., & Nikjouyan, M. J. (2024). Investigation of the growth and phytochemical variations for different *Salvia* species in terms of their transfer and adaptation in Iran. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*, 38, 100526. <https://doi.org/10.1016/j.jarmap.2023.100526>
24. Sairam, R. K., Deshmukh, P. S., & Saxena, D. C. (1998). Role of antioxidant systems in wheat genotypes tolerance to water stress. *Biologia Plantarum*, 41(3), 387–394. <https://doi.org/10.1023/A:1001898310321>
25. Samadi, S., Ghasemnezhad, A., Alizadeh, M., & Alami, M. (2016). Influence of elicitors on photosynthesis pigments, caffeic acid, chlorogenic acid and proline content of *Cynara scolymus* callus. *Iranian Journal of Horticultural Science*, 47(3), 435–443. (In Persian). <https://doi.org/10.22059/ijhs.2016.59806>
26. Skrypnik, L., Golovin, A., & Savina, T. (2022). Effect of salicylic acid on phenolic compounds, antioxidant and antihyperglycemic activity of Lamiaceae plants grown in a temperate climate. *Frontiers in Bioscience (Elite Edition)*, 14(1), 3. <https://doi.org/10.31083/j.fbe1401003>
27. Sohn, S., Pandian, S., Rakkammal, K., Largia, M. J. V., Thamilarasan, S., & Balaji, S. (2022). Jasmonates in plant growth, development, and elicitation of secondary metabolites: An updated overview. *Frontiers in Plant Science*, 13, 942789. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.942789>
28. Tafreshi, Y. M., Eghlima, G., & Hatami, M. (2025). Exploring the potential impact of salicylic acid and jasmonic acid in promoting seed oil content, vitamin C and antioxidant activity in rosehip (*Rosa canina* L.). *BMC Plant Biology*, 25, 249. <https://doi.org/10.1186/s12870-025-06251-0>
29. Vinay, C. M., Shetty, D. N., Sanjay, K. U., Venkatasai, N. N., & Rai, P. S. (2025). Impact of salicylic acid elicitation on the growth, photosynthesis, and metabolites of *Bacopa monnieri* (L.) Pennell growing in a hydroponic control system. *Scientia Horticulturae*, 342, 114056. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2025.114056>
30. Wang, C. H., Zheng, L. P., Tian, H., & Wang, J. W. (2016). Synergistic effects of ultraviolet-B and methyl jasmonate on tanshinone biosynthesis in *Salvia miltiorrhiza* hairy roots. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 159, 93–100. <https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2016.01.012>
31. Wang, C., Zhang, J., Lv, J., Li, J., Gao, Y., Patience, B. E., Niu, T., Yu, J., & Xie, J. (2022). Effect of methyl jasmonate treatment on primary and secondary metabolites and antioxidant capacity of the substrate and hydroponically grown Chinese chives. *Frontiers in Nutrition*, 9, 859035. <https://doi.org/10.3389/fnut.2022.859035>
32. Wang, M., Li, J., Rangarajan, M., Shao, Y., Lavoie, E. J., & Huang, C. T. H. (1998). Antioxidative phenolic compounds from sage (*Salvia officinalis*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46(12), 4869–4873.
33. Zhao, L., Liu, W., Xiong, S., Tang, J., Lou, Z., Xie, M., Xia, B., Lin, L., & Liao, D. (2018). Determination of total flavonoids contents and antioxidant activity of *Ginkgo biloba* leaf by near-infrared reflectance method. *International Journal of Analytical Chemistry*, 2018, 8195784. <https://doi.org/10.1155/2018/8195784>