



<https://ijpb.ui.ac.ir/?lang=en>
IRANIAN JOURNAL OF PLANT BIOLOGY
E-ISSN: 2322-2204
Vol. 13, Issue, No. 4, Winter 2021
Document Type: Research Paper
Received: 10/06/2022 Accepted: 16/08/2022

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

Roholah Bazi Zlan¹, Arash Fazeli*¹, Batool Zarei¹, Javad Erfani Moghadam²

¹ Agriculture and Plant Breeding Department, Faculty of Agriculture, Ilam University, Ilam, Iran

² Horticulture Department, Faculty of Agriculture, Ilam University, Ilam, Iran.

Abstract

Nowadays, the use of plant growth regulators has increased in improving the resistance of plants to drought stress. Therefore, in order to investigate the effect of salicylic acid on antioxidant enzymes activity and secondary metabolites of *Scrophularia striata* under water deficit stress, an experiment was conducted as the arrangement in a randomized complete block design with three replications in 2018 at the research greenhouse of Ilam University. Treatments included water deficit stress at four levels (100, 75, 50 and 25% of field capacity) and foliar application with salicylic acid at two levels (0 and 1.5 mM). The results showed that in 75 and 25% of field capacity with salicylic acid, malondialdehyde decreased by 17.81% and 34.04% compared with non-foliar application treatment, respectively. Also, the application of foliar spray reduced the amount of ion leakage under severe drought-stress conditions. Foliar application of salicylic acid increased total phenol content by 20.92, 33.00, 10.84 and 10.19% under 100, 75, 50 and 25%, field capacity, respectively. Under severe drought stress conditions, foliar spray with salicylic acid increased the amount of flavonol and flavonoid compared to the control. With the application of drought stress, catalase enzyme activity increased by 36.09 and 67.65%, respectively, compared to the absence of drought stress. The highest amount of peroxidase activity (1.07 units per mg protein per minute) under 25% of field capacity by application of salicylic acid was observed with the lowest amount of peroxidase activity under 100 per cent of field capacity, respectively. According to the mentioned content, it can be concluded that salicylic acid improved the growth and production of secondary metabolites (Phenol, flavonol and flavonoid) in *Scrophularia striata* under drought stress and non-stress conditions.

Keywords: Antioxidant enzymes, drought stress, Peroxidase, *Scrophularia striata*, Salicylic acid

*Corresponding author: a.fazeli@ilam.ac.ir



تأثیر سالیسیلیک اسید بر فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز و محتوای فنل و فلاونوئید کل گل سازویی (*Scrophularia striata* L.) در شرایط تنش کم‌آبی

روح‌اله بازی‌ذلان^۱، آرش فاضلی^{۱*}، بتول زاعی^۱، جواد عرفانی مقدم^۲
^۱ گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ایلام، ایلام، ایران
^۲ گروه باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ایلام، ایلام، ایران.

چکیده

امروزه، کاربرد مواد تنظیم‌کننده رشد گیاهی، در بهبود مقاومت گیاهان به تنش خشکی افزایش یافته است. از این رو به‌منظور بررسی تأثیر سالیسیلیک اسید بر فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، پراکسیداز، محتوای فنل و فلاونوئید کل گیاه گل سازویی تحت تنش کم‌آبی، آزمایشی به‌صورت فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار اجرا شد. عوامل مورد بررسی شامل تنش کم‌آبی در چهار سطح (۰، ۲۵، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی) و محلول‌پاشی با سالیسیلیک اسید در دو سطح (۰ و ۱/۵ میلی‌مولار اسید) بود. نتایج نشان داد در ۲۵ و ۷۵ درصد ظرفیت زراعی محلول‌پاشی با سالیسیلیک اسید، میزان مالون‌دی‌آلدهید را به‌ترتیب ۱۷/۸۱ و ۳۴/۰۴ درصد در مقایسه با تیمار عدم محلول‌پاشی کاهش داد. همچنین، کاربرد محلول‌پاشی میزان نشن یونی را تحت شرایط تنش شدید خشکی کاهش داد. محلول‌پاشی با سالیسیلیک اسید تحت شرایط ۱۰۰، ۷۵، ۵۰ و ۲۵ درصد ظرفیت زراعی، مقدار فنل کل را به‌ترتیب به‌میزان ۲۰/۹۲، ۳۳/۰۰، ۱۰/۸۴ و ۱۰/۱۹ درصد افزایش داد. تحت شرایط تنش شدید خشکی، محلول‌پاشی با اسید سالیسیلیک میزان فلاونول و فلاونوئید را در مقایسه با شاهد افزایش داد. با اعمال تنش خشکی، فعالیت آنزیم کاتالاز در مقایسه با عدم تنش خشکی به‌ترتیب ۳۶/۰۹ و ۶۷/۶۵ درصد افزایش یافت. همچنین، بیشترین مقدار فعالیت آنزیم پراکسیداز (۱/۰۷) واحد در میلی‌گرم پروتئین در دقیقه) در شرایط ۲۵ درصد ظرفیت زراعی با محلول‌پاشی با سالیسیلیک اسید و کمترین میزان آن در شرایط ۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی به‌دست آمد. باتوجه‌به مطالب ذکر شده می‌توان نتیجه‌گیری کرد که سالیسیلیک اسید باعث بهبود رشد و تولید متابولیت‌های ثانویه (فنل، فلاونول و فلاونوئید) در گیاه گل سازویی تحت شرایط تنش و عدم تنش خشکی می‌شود.

واژه‌های کلیدی: گیاه گل سازویی، تنش خشکی، آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، پراکسیداز، سالیسیلیک اسید.

مقدمه

دارویی سبب شده است که هر ساله تعداد بیشتری از کشاورزان با تغییر نوع کشت از زراعت‌های معمول به کشت گیاهان دارویی، به سمت تولید این دسته از گیاهان روی آورند (Sharma, 2004). خواص گیاهان دارویی به‌دلیل حضور متابولیت‌های ثانویه است که منابع احتمالی برای تولید داروهای جدید با منشأ طبیعی و دارای عملکردهای اکولوژیک

گیاه گل سازویی یا تشنه‌داری با نام علمی (*Scrophularia striata*) متعلق به تیره گل میمون (*Scrophulariaceae*) است (Amiri et al., 2011). در مناطق غرب ایران به‌صورت محلی و سنتی از جوشانده و دم‌کرده این گیاه برای عفونت‌های سطحی، عمقی و داخلی استفاده می‌شود (Aidi and Aidi, 2007). اهمیت گیاهان

* نگارنده مسؤل: نشانی پست الکترونیک: a.fazeli@ilam.ac.ir، شماره تماس: ۰۹۱۸۸۴۳۷۳۰۲



مهم‌ترین آنتی‌اکسیدان‌های غیر آنزیمی در سلول‌های گیاهی به‌شمار می‌آیند (Ahmad et al., 2010).

برای مقابله با انواع تنش، تنظیم‌کننده‌های رشد گیاه به‌طور مستقیم یا غیرمستقیم در طیف گسترده‌ای از پاسخ و تحمل به تنش‌های زیستی و غیرزیستی در گیاهان دخیل هستند و نقش مهمی در تنظیم فرایندهای رشد گیاهان و شبکه‌های سیگنال‌دهنده ایفا می‌کنند (Asgher et al., 2015). در این میان، سالیسیلیک اسید نقش محوری در تنظیم فرایندهای فیزیولوژیک مختلف مانند رشد و نمو گیاه، جذب یون‌ها، فتوسنتز، جوانه‌زنی، رسیدگی و پاسخ‌های دفاعی ایفا می‌کند (Miura and Tada, 2014). الیستورهای مانند سالیسیلیک اسید در افزایش تولید متابولیت‌های ثانویه دارای ارزش دارویی، نقش کلیدی دارند و با سرعت دادن به تشکیل متابولیت‌های ثانویه زمان دستیابی به مقادیر زیاد متابولیت‌ها را کاهش می‌دهند (Singh and Dwivedi, 2018). همچنین، سالیسیلیک اسید از طریق افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، گیاه را از صدمات به‌دست آمده از واکنش‌های اکسیداتیو محافظت می‌کند (Nemeth et al., 2002).

مطالعات مربوط به محلول‌پاشی سالیسیلیک اسید توسط Salarpour و Farahbakhsh (۲۰۱۵) نشان داد کاربرد سالیسیلیک اسید با افزایش فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز و گایوکول پراکسیداز در گیاه رازیانه تحت شرایط تنش کم‌آبی باعث کاهش خسارت تنش اکسیداتیو خواهد شد. در پژوهشی دیگر در گندم، کاربرد سالیسیلیک اسید با افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان‌های همچون آسکوربات پراکسیداز، سوپراکسیداز دیسموتاز و کاتالاز سبب کاهش مقدار مالون‌دی‌آلدهید و پراکسید هیدروژن تحت تنش خشکی شد (Abbadi et al., 2015). در پژوهشی Ali و همکاران (۲۰۰۷) تأثیر سالیسیلیک اسید با غلظت ۲۰۰ میکرومولار در گیاه جینسینگ (*Panax ginseng*) را بررسی و بیان کردند که مقدار فلاونوئیدها به میزان ۸۸ درصد در مقایسه با شاهد افزایش یافت. همچنین، سالیسیلیک اسید در گیاه سیاهدانه فعالیت آنزیم فنیل‌آلانین‌آمولیاز و ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی (Kabiri et al.,

مهم در گیاهان هستند و در حفاظت گیاهان در مقابل گیاهخواران و عوامل بیماری‌زای میکروبی، جذب گرده‌افشان‌ها و جانوران منتشرکننده بذر، رقابت گیاه با گیاه و همزیستی گیاه با میکروب نقش دارند (Wink, 2010). گروهی از ترکیبات شناخته شده در گونه‌های مختلف گیاهان و همچنین، گیاه گل سازویی، فلاونوئیدها هستند. این مواد با خواص آنتی‌اکسیدانی بالا، بزرگترین گروه ترکیبات فنلی طبیعی به‌شمار می‌روند. بیش از ۲۰۰ ترکیب از این گروه متابولیت‌های ثانویه شناخته شده‌اند، که حدود ۵۰ ترکیب از آن‌ها به‌صورت آزاد وجود دارند. اکثر مواد این گروه به‌ویژه اگر به شکل گلیکوزیدی باشند، در آب محلول‌اند (Jafary et al., 2012). براساس مطالعات انجام شده روی ترکیبات شیمیایی و مواد مؤثره گیاه گل سازویی در سال‌های اخیر، ترکیبات فنولی، فلاونوئید و فلاونولی در عصاره اتانولی این گیاه شناسایی شده است (Sharafati-chalesshtori et al., 2010). عصاره گل سازویی دارای ترکیبات آنتی‌اکسیدانی متعددی است و ترکیبات شاخص شامل سینامیک اسید (Cinnamic acid)، سه ترکیب فلاونوئیدی شامل نپیتترین (Nepitrin)، روتینوزید (Rutinoside) و فنیل پروپانوئید گلیکوزید (Phenyl propanoid glycoside)، کوئرستین (Quercetine) و ایزورامنن (Isorhamnetin) در عصاره اندام‌های هوایی این گیاه شناسایی شده است (Monsef-Esfahani et al., 2010).

گیاهان دارای سیستم‌های آنتی‌اکسیدانی هستند که تولید اضافی گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) را تحت شرایط تنش کنترل می‌کنند و بنابراین، آن‌ها را در مقابل آثار مضر گونه‌های فعال اکسیژن محافظت می‌کنند. از سوی دیگر، سطح مناسبی از گونه‌های فعال اکسیژن را برای رشد و مسیر انتقال پیام حفظ می‌کنند (Mittler, 2002). سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز، دهیدروآسکوربات ردوکتاز و گلوکاتایون ردوکتاز از جمله مهم‌ترین آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی (Esfandiari et al., 2011) و آسکوربات، گلوکاتایون، آلفاتوکوفرول (ویتامین E)، کاروتنوئیدها، فلاونوئیدها و آنتوسیانین‌ها

(خاک، شن و کود دامی با نسبت ۱:۱:۲) تهیه و از گلدان‌هایی با قطر دهانه ۲۰ سانتی‌متر، ارتفاع ۲۱ سانتی‌متر به ظرفیت ۴/۴ کیلوگرم خاک استفاده شد. ابتدا ۲۰ عدد بذر در گلدان‌های آماده شده کشت و پس از رشد گیاهچه‌ها، تعداد بوته‌ها به دو بوته در هر گلدان تنک شد. رشد گیاهچه‌های گل سازویی در گلخانه با طول دوره روشنایی ۱۰-۱۲ ساعت و دمای ۱۵-۲۸ درجه سانتیگراد بود. عملیات کشت گلخانه‌ای در مهرماه ۱۳۹۷ انجام و پس از دوره رشد هشت ماهه در اواخر اردیبهشت ۱۳۹۸ برداشت شدند.

تنش کم‌آبی پس از مرحله سبز شدن گیاهچه‌ها و بارش ظرفیت زراعی اعمال شد. برای تعیین ظرفیت آب گلدانی، خاک مورد نظر در داخل گلدان پلاستیکی زهکش‌دار ریخته و آبیاری گلدان به‌صورت کامل و در حد اشباع انجام شد. پس از خارج‌شدن کامل آب ثقی، نمونه خاکی از گلدان برداشت و بلافاصله وزن شد (وزن مرطوب خاک) و سپس در آن الکتریکی با دمای ۷۰ درجه سانتیگراد به مدت ۲۴ ساعت منتقل شد و وزن خاک خشک نیز به‌دست آمد. درصد رطوبت خاک در حد ظرفیت زراعی با استفاده از رابطه (۱) محاسبه شد:

$$FW-DW$$

$$FC (\%) = \frac{DW}{FW-DW} \times 100$$

در این رابطه، FC: ظرفیت زراعی، FW: وزن خاک مرطوب و DW: وزن خاک خشک است. میزان ظرفیت زراعی خاک معادل ۲۸ درصد بود که باتوجه به وزن خاک گلدان‌ها (۴/۴ کیلوگرم) میزان آب مورد نیاز برای ۱۰۰، ۷۵، ۵۰ و ۲۵ درصد ظرفیت زراعی به‌ترتیب ۱۲۳۲، ۹۲۴، ۶۱۶ و ۳۰۸ میلی‌لیتر به‌دست آمد. باتوجه به وزن اولیه گلدان‌ها و شن استفاده شده به‌عنوان زهکش (۰/۶ کیلوگرم) میزان وزن گلدان‌ها برای اعمال سطوح تنش خشکی به‌ترتیب ۶۲۳۲، ۵۹۲۴، ۵۶۱۶ و ۵۳۰۸ گرم محاسبه شد. برای اعمال تنش چهار گلدان به‌عنوان مرجع در نظر گرفته شد که کاملاً مشابه گلدان‌های اصلی بودند. تیمارهای آبیاری با توزین روزانه گلدان‌ها و

(2014) و در گل همیشه بهار مقدار فلاونوئیدها را افزایش داد (Pacheco et al., 2013). در پژوهشی Rostami و Fazeli (۲۰۲۱) تأثیر سه الیسیستور سالیسیلیک اسید، جاسمونیک اسید و جیبرلیک اسید را بر بیان ژنهای سینامات ۴-هیدروکسیلاز و چالکون سنتتاز در ریشه گیاه گل سازویی بررسی و نشان دادند که غلظت ۱۰۰ پی‌پی‌ام از سالیسیلیک اسید و جیبرلیک اسید بیشترین تأثیر را در بیان این ژنها داشته و به تجمع ترکیبات فنیل پروپانوییدی منجر شده است. همچنین، Rostami و همکاران (۲۰۲۲) ژنهای سینامات ۴-هیدروکسیلاز و چالکون سنتتاز را از گیاه دارویی گل سازویی جداسازی نمودند. بیان این ژنها در دو مرحله رویشی و زایشی تحت سه الیسیستور نشان داد که بیان این ژنها در مرحله زایشی بیشتر از رویشی بود و علاوه بر اینها تیمار ۳۰۰ پی‌پی‌ام سالیسیلیک اسید بیشترین تأثیر را در افزایش ترکیبات فنیل پروپانوییدی در مرحله زایشی داشته است اگرچه تاکنون پژوهش‌های فراوانی در رابطه با تأثیر تنش خشکی روی گیاهان زراعی انجام شده است، اما تاکنون مطالعه‌ای در خصوص تأثیر سالیسیلیک اسید بر ویژگی‌های فیزیولوژیک و متابولیت‌های ثانویه گیاه دارویی گل سازویی در شرایط تنش خشکی انجام نشده است. بنابراین، پژوهش حاضر، تأثیر سالیسیلیک اسید بر فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز و محتوای فنل و فلاونوئید کل گیاه گل سازویی تحت تنش کم‌آبی را بررسی می‌کند.

مواد و روش‌ها

این آزمایش در گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه ایلام در سال ۱۳۹۷ به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. عامل‌های مورد بررسی شامل محلول‌پاشی با سالیسیلیک اسید در دو سطح (۰ و ۱/۵ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک) و تنش کم‌آبی در چهار سطح (۲۵، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی) بود (Elyasi et al., 2016). کیسول‌های حاوی بذر گل سازویی مورد استفاده در این آزمایش از ارتفاعات استان ایلام جمع‌آوری شدند. برای انجام این آزمایش، خاکی با بافت متوسط

از بافر فسفات ۵۰ میلی‌مولار استفاده شد. فعالیت آنزیمی با استفاده از قانون بیر- لامبرت و ضریب خاموشی محصول کاتالیز گایاکول پراکسیداز محاسبه و بر حسب واحد میلی‌گرم پروتئین در دقیقه بیان شد.

میزان ترکیبات فنلی کل براساس روش رنگ‌سنجی فولین- سیوکالتیو (Singleton *et al.*, 1965) و بر حسب منحنی استاندارد گالیک اسید در طول موج ۷۶۵ نانومتر اندازه‌گیری شد. ابتدا ۰/۳ گرم از اندام‌های هوایی تازه در ۳ میلی‌لیتر متانول ۸۰ درصد هموزن و به مدت ۳ ساعت در بن‌ماری با دمای ۷۰ درجه سانتیگراد قرار داده شد. سپس به مدت ۱۵ دقیقه با سرعت ۹۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ و پس از جدا کردن عصاره متانولی از رسوب، این عصاره برای سنجش فنل کل، فلاونوئیدها و فلاونول‌ها استفاده شد. به‌این‌منظور به ۵۰ میکرولیتر عصاره متانولی، ۵۰۰ میکرولیتر محلول فولین- سیوکالتیو اضافه و به مخلوط حاصل پس از ۵ دقیقه، ۵۰۰ میکرولیتر محلول سدیم کربنات ۷ درصد اضافه و جذب پس از ۱۰ دقیقه در طول موج ۷۶۵ نانومتر خوانده شد. در نهایت، برای محاسبه غلظت نهایی از منحنی استاندارد گالیک اسید استفاده و مقدار فنل کل بر حسب میلی‌گرم گالیک اسید بر گرم وزن خشک محاسبه شد. برای اندازه‌گیری فلاونوئید کل به یک میلی‌لیتر از عصاره متانولی ۲۵۰ میکرولیتر از محلول کلرید آلومینیوم ۱۰ درصد و ۲۵۰ میکرولیتر پتاسیم استات یک مولار اضافه شد. به‌منظور سنجش فلاونوئید کل از نمودار استاندارد روتین (Rutin) استفاده و در نهایت جذب نمونه‌ها در طول موج ۴۱۵ نانومتر خوانده شد (Akkol *et al.*, 2008).

سنجش فلاونول کل نیز براساس منحنی استاندارد روتین سنجیده شد. برای این‌منظور به یک میلی‌لیتر از عصاره متانولی یک میلی‌لیتر از محلول کلرید آلومینیوم ۲ درصد و ۳ میلی‌لیتر از محلول سدیم استات ۵ درصد اضافه و میزان فلاونول کل در طول موج ۴۴۵ نانومتر اندازه‌گیری شد (Akkol *et al.*, 2008).

غلظت مالون‌دی‌آلدهید که حاصل پراکسیداسیون اسیدهای چرب غیراشباع است،

اضافه نمودن آب مصرفی در هر تیمار (میزان کاهش وزن گل‌دان‌ها) اعمال شد.

در این آزمایش از سالیسیلیک اسید با فرمول $C_7H_6O_3$ و جرم مولکولی ۱۳۸/۱۲ گرم بر مول ساخت شرکت مرک آلمان استفاده شد. تیمار سالیسیلیک اسید از طریق محلول‌پاشی براساس غلظت مورد نظر (۱/۵ میلی‌مولار) روی برگ طی دو مرحله پس از سبز شدن گیاهچه‌ها و قبل از اعمال تنش خشکی و با فواصل زمانی ۷ روز، تکرار شد. محلول‌پاشی گیاهان با سالیسیلیک اسید به‌صورتی بود که تمام سطوح فوقانی و زیرین اندام‌های هوایی کاملاً خیس شدند. همچنین، گیاهان شاهد با آب مقطر محلول‌پاشی شدند.

برای سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز از روش Luck (۱۹۷۴) استفاده شد. تجزیه آب اکسیژنه با کاهش جذب در طول موج ۲۴۰ نانومتر همراه است که از طریق همین کاهش جذب، فعالیت آنزیمی اندازه‌گیری شد. برای این‌منظور نیم گرم از بافت برگ در ۲۵ میلی‌مولار از بافر سدیم فسفات با اسیدیته ۷ ساییده شد و به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتیگراد و با سرعت ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ (مدل Spectrod, شرکت Jena

AG آلمان) شد. سپس به ۵ میلی‌لیتر آب مقطر، ۲/۵ میلی‌لیتر از بافر فسفات سدیم ۲۵ میلی‌مولار با اسیدیته ۷، ۰/۱ میلی‌لیتر از سوپرناتانت و ۰/۱ میلی‌لیتر از پراکسید هیدروژن ۲۵ میلی‌مولار اضافه و فعالیت این آنزیم توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (UV-Visible مدل Cary-50 ساخت شرکت Varian آمریکا) در طول موج ۲۴۰ نانومتر، در مدت ۵ دقیقه، هر ۵ ثانیه یکبار، طیف سنجی شد.

برای سنجش فعالیت آنزیم پراکسیداز مطابق روش In و همکاران (۲۰۰۷) از دو بافر آب اکسیژنه (H_2O_2) ۲۲۵ میلی‌مولار و بافر حاوی گایاکول ۴۵ میلی‌مولار استفاده شد. ابتدا ۴۵۰ میکرولیتر محلول H_2O_2 و ۴۵۰ میکرولیتر محلول گایاکول در دمای پایین (ظرف حاوی یخ) با هم مخلوط و به آن ۱۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی اضافه شد و سپس تغییرات جذب در طول موج ۴۷۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر دنبال شد. در محلول شاهد به جای عصاره آنزیمی، ۱۰۰ میکرولیتر

(LSD) در سطح احتمال پنج درصد انجام شد. برای رسم نمودارها از نرم افزار Excel استفاده شد.

نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که تأثیر تیمار کم‌آبی بر فعالیت آنزیم کاتالاز در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود اما تأثیر تیمار سالیسیلیک اسید و بر همکنش تیمارها تأثیر معنی‌داری بر فعالیت آنزیم کاتالاز نداشت. با اعمال تنش کم‌آبی (ظرفیت زراعی ۵۰ و ۲۵ درصد) فعالیت آنزیم کاتالاز در مقایسه با شاهد (۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی) به‌ترتیب $۳۶/۰۹$ و $۶۷/۶۵$ درصد افزایش یافت (شکل ۱-الف). Liu و همکاران (Liu et al., 2011) بیان کردند که فعالیت کاتالاز تحت تنش ملایم بالاتر از تنش خشکی شدید و شرایط آبیاری کامل است. در مقابل Ghobadi و همکاران (۲۰۱۳)، بیان نمودند که فعالیت آنزیم کاتالاز در شرایط تنش شدید، بیشتر از تنش ملایم و همچنین، فعالیت کاتالاز در شرایط تنش ملایم بیشتر از شرایط آبیاری کامل است.

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که کم‌آبی و سالیسیلیک اسید توانستند فعالیت آنزیم پراکسیداز در سطح احتمال یک درصد را تحت تأثیر قرار دهند و همچنین، برهمکنش این تیمارها در سطح احتمال پنج درصد بر فعالیت آنزیم پراکسیداز معنی‌دار بود. بیشترین مقدار فعالیت آنزیم پراکسیداز ($۱/۰۷$ واحد در میلی‌گرم پروتئین در دقیقه) تحت شرایط ۲۵ درصد ظرفیت زراعی با محلول‌پاشی با سالیسیلیک اسید مشاهده شد و کمترین میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز تحت شرایط ۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی به‌دست آمد که در این شرایط محلول‌پاشی با سالیسیلیک اسید تأثیر معنی‌داری بر فعالیت آنزیم پراکسیداز نداشت (شکل ۱-ب). در بسیاری از پژوهش‌ها بیان شده است که تنش خشکی می‌تواند در برگ‌ها باعث افزایش شدید فعالیت گایاکول پراکسیداز شود که می‌تواند به‌عنوان پاسخی به آسیب اکسیداتیو ایجاد شده توسط تنش خشکی باشد و حذف پراکسید هیدروژن توسط این آنزیم انجام می‌شود. نتایج آزمایش Keshavarz and Modarres Sanavy (۲۰۱۴) نشان داد که با کاربرد اسید سالیسیلیک به میزان ۴۰۰

با روش Heath و Parker (۱۹۶۸) اندازه‌گیری شد. ۰/۲ گرم از بافت تازه برگ در هاون چینی حاوی ۵ میلی‌لیتر تری کلرواستیک اسید (یک درصد) سائیده و عصاره حاصل با استفاده از دستگاه سانتریفیوژ به مدت ۵ دقیقه در ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه، سانتریفیوژ شد. به یک میلی‌لیتر از محلول رویی حاصل از سانتریفیوژ، ۵ میلی‌لیتر محلول تری کلرواستیک اسید (۲۰ درصد) که حاوی ۰/۵ درصد تیوباربیونیک بود، اضافه و محلول حاصل به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۹۵ درجه سانتیگراد قرار داده شد. برای توقف واکنش در نمونه‌های گرم‌دیده، نمونه‌ها بلافاصله به سطح یخ و دمای پایین برای سرد شدن، منتقل شدند. سپس نمونه‌ها به مدت ۵ دقیقه با ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه و دمای ۴ درجه سانتیگراد سانتریفیوژ و جذب محلول روئی که طیف رنگی زرد تا قرمز را شامل می‌شود، در طول موج ۵۳۲ و ۶۰۰ نانومتر خوانده شد. در نهایت از حاصل تفریق این دو، عدد نهایی برای تعیین غلظت مالون‌دی‌آلدهید به‌دست می‌آید که ضریب خاموشی آن معادل ۱۵۵ بر میلی‌مولار بر سانتی‌متر است.

برای سنجش میزان نشت یونی مقدار ۰/۲ گرم از بافت سالم و تازه اندام هوایی گیاه پس از شستشو با آب مقطر درون لوله‌ی آزمایش قرار داده و ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر به آن اضافه شد. لوله آزمایش به مدت ۲ ساعت در دمای ۳۲ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت و میزان هدایت الکتریکی نمونه‌ها ($EC1$)، با EC متر اندازه‌گیری شد؛ سپس لوله‌های آزمایش در دمای ۱۲۱ درجه سانتیگراد به مدت ۲۰ دقیقه در بن‌ماری قرار داده شدند و پس از خنک‌شدن لوله‌های آزمایش تا دمای ۲۵ درجه سانتیگراد، میزان هدایت الکتریکی نمونه‌ها ($EC2$) دوباره اندازه‌گیری و درصد نشت یونی با رابطه (۲) محاسبه شد (Ben Hamed et al., 2007).

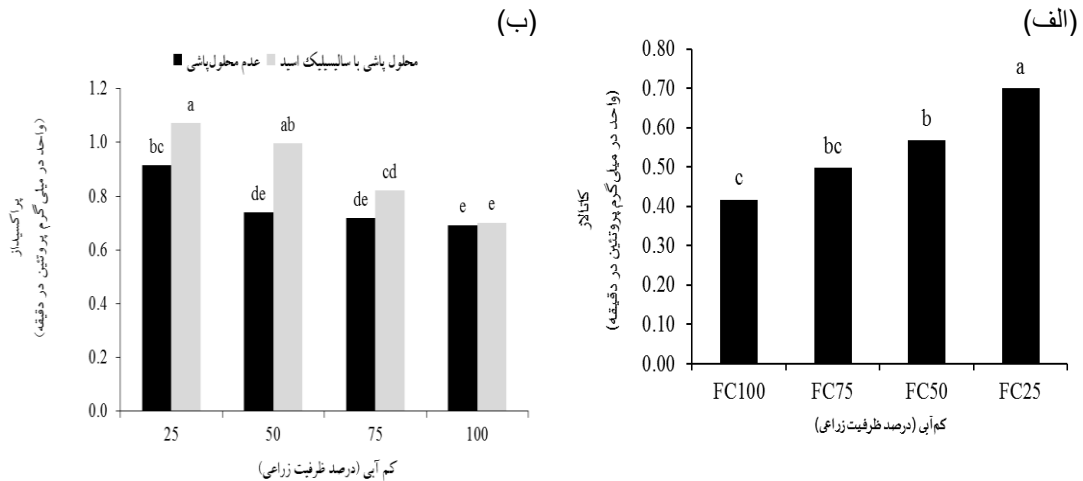
رابطه ۲:

$$100 \times (EC1/EC2) = \text{درصد نشت یونی}$$

قبل از تجزیه واریانس داده‌ها، ابتدا نرمال بودن داده‌ها بررسی و تجزیه آماری داده‌های آزمایش با نرم‌افزار SAS 9.1 و مقایسه میانگین‌ها با آزمون حداقل اختلاف معنی‌دار

را تحت شرایط تنش شدید خشکی کاهش داد. نتایج مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد میزان نشت یونی در شرایط عدم تنش و تنش متوسط (۷۵ و ۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی) تحت تأثیر محلول‌پاشی با سالیسیلیک اسید قرار نگرفت.

۴۰۰ میلی‌مولار میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز افزایش یافت، که با نتایج آزمایش حاضر مطابقت دارد. اعمال کم‌آبی و سالیسیلیک اسید و برهمکنش آن‌ها تأثیر معنی‌داری ($P \leq 0.01$) بر میزان نشت یونی داشت. با اعمال تنش کم‌آبی میزان نشت یونی افزایش یافت و کاربرد محلول‌پاشی میزان نشت یونی در گل سازویی



شکل ۱- مقایسه میانگین تأثیر کم‌آبی و سالیسیلیک اسید بر فعالیت آنزیم‌های کاتالاز (الف) و پراکسیداز (ب) گل سازویی. میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک، براساس آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد تفاوت معنی‌داری با یکدیگر ندارند.

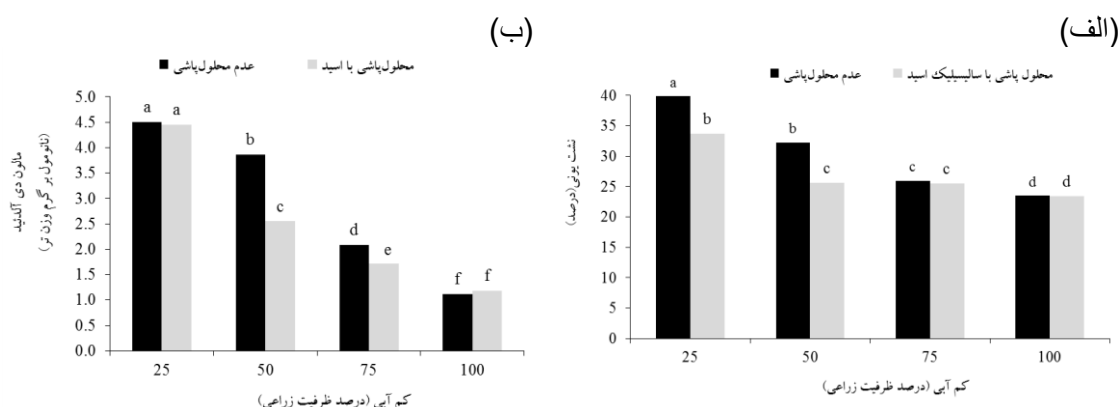
Figure 1 - Comparison of the mean effect of water deficit stress and salicylic acid on the activity of catalase (A) and peroxidase (B) enzymes *Scrophularia striata*. The means with at least one common letter are not significantly different from each other based on the LSD test at the level of 5% probability.

نشت یونی تا ۳۲ درصد در گیاهان برنج تحت تنش کم‌آبی می‌شود (Sawada *et al.*, 2006). نتایج تجزیه واریانس غلظت مالون‌دی‌آلدهید معنی‌دار بودن تأثیر تیمارهای مطالعه شده و برهمکنش آن‌ها را نشان می‌دهد. تحت شرایط عدم تنش (۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی) و تنش شدید خشکی (۲۵ درصد ظرفیت زراعی) محلول‌پاشی با سالیسیلیک اسید بر میزان مالون‌دی‌آلدهید تأثیر معنی‌داری نداشت. اما در ۷۵ و ۲۵ درصد ظرفیت زراعی محلول‌پاشی با اسید سالیسیلیک میزان مالون‌دی‌آلدهید را به ترتیب ۱۷/۸۱ و ۳۴/۰۴ درصد در مقایسه با تیمار عدم محلول‌پاشی کاهش داد (شکل ۲-ب). اگرچه روند تغییرات مالون‌دی‌آلدهید در واکنش به تنش خشکی به‌صورت افزایشی بود،

محلول‌پاشی با سالیسیلیک اسید میزان نشت یونی را تحت شرایط ۵۰ و ۲۵ درصد ظرفیت زراعی در مقایسه با عدم محلول‌پاشی در این شرایط به ترتیب ۲۰/۵۶ و ۱۵/۴۳ درصد کاهش داد (شکل ۲-الف). نتایج به‌دست آمده در این آزمایش که نشان‌دهنده افزایش نشت یونی توسط تنش خشکی است، مطابق با بسیاری از بررسی‌های دیگر در مورد گیاهان دارویی است (Jalalvand *et al.*, 2019; Shahrivar *et al.*, 2019). در این پژوهش اگرچه با افزایش شدت تنش نشت الکترولیتی غشا زیاد شد، اما محلول‌پاشی سالیسیلیک اسید در این شرایط سبب بهبود غشا و در نتیجه کاهش نشت الکترولیت شد. طبق بررسی‌های انجام شده تیمار با سالیسیلیک اسید سبب کاهش

فعال‌سازی سازوکارهای دفاعی در گیاهان شناخته شده است (Wang and Li, 2006). در یک آزمایش Salarpour و Farahbakhsh (2015) نشان دادند که کاربرد سالیسیلیک اسید در گیاه رازیانه به کاهش معنی‌دار مقدار مالون‌دی‌آلدهید تحت تنش خشکی منجر شده است که با نتایج این بررسی هم‌خوانی دارد.

اما با محلول‌پاشی سالیسیلیک اسید کاهش یافت. پژوهشگران در نتایج پژوهشی گزارش کردند، در شرایط تنش، میزان مالون‌دی‌آلدهید به شدت افزایش می‌یابد (Liu et al., 2014). کاهش میزان مالون‌دی‌آلدهید با کاربرد سالیسیلیک اسید در گیاه در شرایط تنش خشکی ممکن است به دلیل نقش تنظیم‌کنندگی آن در برابر تنش‌ها باشد. به طوری که این هورمون به عنوان یک مولکول علامتی سیگنال طبیعی برای



شکل ۲- مقایسه میانگین تأثیر کم‌آبی و سالیسیلیک اسید بر میزان نشت یونی (الف) و غلظت مالون‌دی‌آلدهید (ب) گل سازویی. میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک، براساس آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد تفاوت معنی‌داری با یکدیگر ندارند.

Figure 2 - Comparison of the mean effect of water deficit stress and salicylic acid on ion leakage (A) and malondiadehyde concentration (B) of *Scrophularia striata*. The means with at least one common letter are not significantly different from each other based on the LSD test at the level of 5% probability.

ترکیب‌های فنلی کل افزایش معنی‌داری پیدا کرد. محلول‌پاشی سالیسیلیک اسید در شرایط تنش شدید (۲۵ درصد ظرفیت زراعی) باعث افزایش فنل کل شد که اختلاف معنی‌داری با عدم محلول‌پاشی داشت (شکل ۳- الف). در مطالعات پیشین سالیسیلیک اسید به عنوان عامل محرک سیستم دفاعی در افزایش میزان ترکیبات فنلی گیاه مریم‌گلی (Dong et al., 2010 و رازیانه Salarpour and Frahbakhsh, 2015) شناخته شده است.

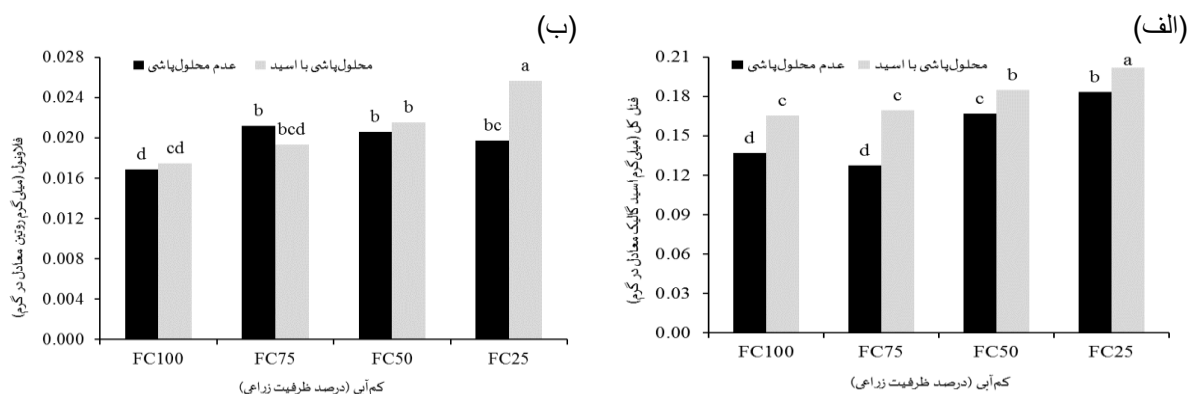
نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اعمال تنش کم‌آبی (در سطح احتمال یک درصد) و سالیسیلیک اسید (در سطح احتمال پنج درصد) بر میزان فلاونول کل در گل سازویی معنی‌دار بودند. همچنین، برهمکنش این تیمارها (در سطح احتمال یک درصد) بر میزان فلاونول کل معنی‌دار بود. مقایسه میانگین‌ها نشان داد

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان‌دهنده معنی‌داری تأثیرات تنش خشکی و سالیسیلیک اسید (در سطح احتمال یک درصد) و برهمکنش آن‌ها (در سطح احتمال پنج درصد) بر مقدار فنل کل بود. محلول‌پاشی با سالیسیلیک اسید تحت شرایط ۲۵، ۷۵، ۱۰۰ و ۵۰ درصد ظرفیت زراعی، مقدار فنل کل را در گل سازویی به ترتیب به میزان ۲۰/۹۲، ۳۳/۰۰، ۱۰/۸۴ و ۱۰/۱۹ درصد افزایش داد (شکل ۳- الف). افزایش میزان فنل در این آزمایش تحت شرایط تنش خشکی مشاهده شد که نتایج مشابهی توسط سایر محققان در این مورد گزارش شده است (Moradi and Pourghasemian, 2018). Asadi Kavan و همکاران (۲۰۱۰) گزارش دادند که براساس سنجش‌هایی که در اندام هوایی گیاه انیسون انجام شد، همگام با افزایش تنش خشکی، میزان

به‌ترتیب ۳۲/۰۲ و ۷۳/۲۲ درصد افزایش یافت (شکل ۴- الف). همچنین، محلول‌پاشی با سالیسیلیک اسید میزان فلاونوئیدها در گل سازویی را در مقایسه با عدم محلول‌پاشی به‌میزان ۱۵/۵۷ درصد افزایش داد (شکل ۴- ب). به‌نظر می‌رسد سالیسیلیک اسید از طریق افزایش محتوای فلاونوئید باعث پاک‌سازی گونه‌های فعال اکسیژن شده و از تنش‌های اکسیداتیو جلوگیری می‌کند که در نهایت افزایش مقاومت در گیاه را به‌دنبال دارد (Khan *et al.*, 2003). افزایش محتوای فنل کل و فلاونوئید با تیمار سالیسیلیک اسید در پژوهش حاضر، با نتایج بررسی‌های پیشین در شیرین‌بیان (Shabani and Ehsanpour, 2010) و سیاهدانه (Samadi *et al.*, 2014) مطابقت دارد. Zarinkamar و همکاران (۲۰۱۶) گزارش کردند که محلول‌پاشی باعث افزایش میزان فلاونوئیدهای کل در بابونه آلمانی شده است. در گیاه همیشه‌بهار کاربرد غلظت‌های ۰/۲۵، ۰/۵ و ۱ میلی‌مولار سالیسیلیک اسید موجب افزایش فلاونوئیدهای کل شد (Pacheco *et al.*, 2013).

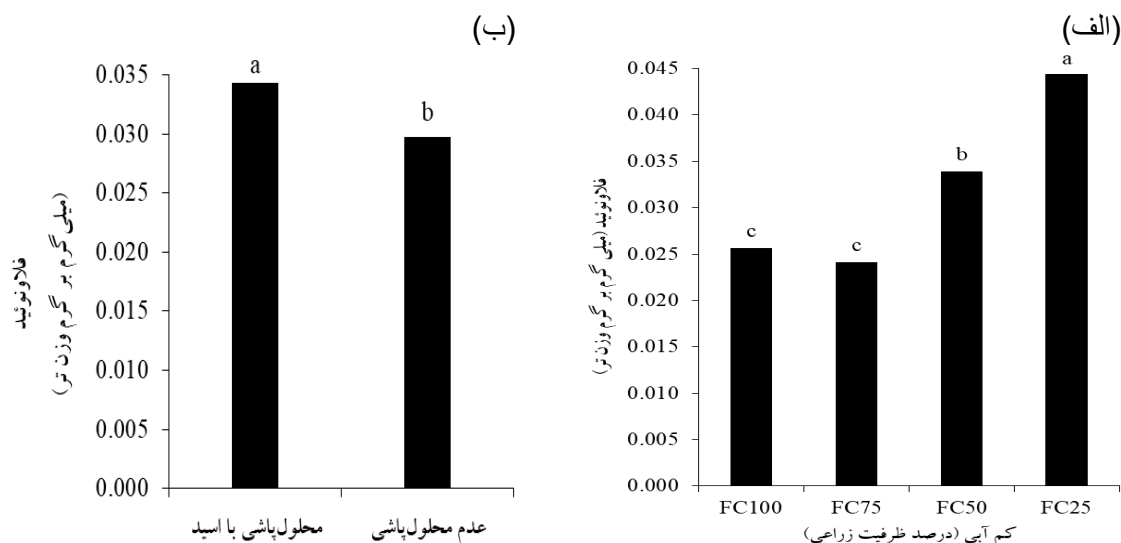
محلول‌پاشی با سالیسیلیک اسید در مقایسه با عدم محلول‌پاشی، میزان فلاونول را به مقدار ۳۰/۱۰ درصد تحت شرایط تنش شدید خشکی افزایش داد (شکل ۳- ب). فلاونول‌ها مهم‌ترین نوع از انواع فلاونوئیدها هستند (Winkel- Shirley, 2002) و همچنین، فلاونوئیدها متابولیت‌های ثانویه گیاهی هستند که به‌طور کلی، به‌عنوان مواد آنتی‌اکسیدان شناخته شده‌اند (Ververidis *et al.*, 2007). به‌نظر می‌رسد که در این آزمایش افزایش این متابولیت ثانویه رنگدانه توسط سالیسیلیک اسید از طریق پاک‌سازی گونه‌های فعال اکسیژن از تنش‌های اکسیداتیو جلوگیری کرده و باعث افزایش مقاومت در گیاه می‌شود (Khan *et al.*, 2003).

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که کم‌آبی و سالیسیلیک اسید تأثیر معنی‌داری (در سطح احتمال یک درصد) بر میزان فلاونوئید گل سازویی داشتند اما بر هم‌کنش آنها معنی‌دار نبود. با اعمال تنش خشکی (ظرفیت زراعی ۵۰ و ۲۵ درصد) میزان فلاونوئیدها در مقایسه با شاهد (۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی)



شکل ۳- مقایسه میانگین تأثیر سالیسیلیک اسید بر مقدار فنل کل (الف) و فلاونول کل (ب) در گل سازویی تحت سطوح مختلف کم‌آبی. میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک، براساس آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد تفاوت معنی‌داری با یکدیگر ندارند.

Figure 3. Comparison the mean of salicylic acid on the amount of total phenol (A) and flavonol (B) in *Scrophularia striata* under different levels of water deficit stress. The means with at least one common letter are not significantly different from each other based on the LSD test at the level of 5% probability.



شکل ۴- مقایسه میانگین تأثیر کم‌آبی (الف) و سالیسیلیک اسید (ب) بر فلاونوئید در گل سازویی. میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک، براساس آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد تفاوت معنی‌داری با یکدیگر ندارند.

Figure 4 - Comparison of the mean effect of water deficit stress (A) and salicylic acid (B) on flavonoid *Scrophularia striata*. The means with at least one common letter are not significantly different from each other based on the LSD test at the level of 5% probability.

یکی از مهمترین ترکیبات گیاه دارویی گل سازویی را افزایش دهد. بنابراین، استفاده از ترکیباتی که قادر به کاهش تأثیر تنش‌های محیطی و افزایش متابولیت‌های ثانویه در گیاهان هستند، می‌توانند اهمیت فراوانی برای کشاورزی و زراعت داشته باشند.

تشکر و قدردانی

نگارندگان از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه ایلام که حمایت‌های لازم در قالب هسته پژوهشی به شماره ۱۷۶۴/۳۲ داشته‌اند صمیمانه تشکر و قدردانی می‌نمایند.

نتیجه‌گیری

به‌طور کلی، نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که مقدار مالون‌دی‌آلدهید و نشست یونی با افزایش شدت تنش خشکی افزایش یافتند. همچنین، مقدار ترکیبات فنلی و آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز طی تنش خشکی در گیاه گل سازویی افزایش یافتند. محلول‌پاشی با سالیسیلیک اسید از طریق افزایش میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز و کاهش نشست یونی و مقدار مالون‌دی‌آلدهید باعث افزایش مقاومت گیاه گل سازویی در برابر تنش خشکی شد. همچنین، محلول‌پاشی با سالیسیلیک اسید توانست تولید و تجمع فنل کل، فلاونول و فلاونوئیدها به‌عنوان

References

- Abbadi, A., Shekari, F. and Mustafavi, S. H. (2015) Effect of paclobutrazol and salicylic acid on antioxidants enzyme activity in drought stress in wheat. *Idesia* 33(4): 5-13
- Ahmad, P. C. A., Jeleel, C. A., Azooz, M. M. and Nabi, G. (2010) Generation of ROS and non-enzymatic antioxidants during abiotic stress in plants. *Botany Research International* 2(1): 11-20.
- Aidi, A. and Aidi, M. (2007) *Iranian Medicinal Plants*. First Edition. Islamic Azad University, Science and Research Branch of Tehran. (In Persian).
- Akkol, E. K., Goger, F., Kosar, M and Baser, K. H. (2008) Phenolic composition and

- biological activities of *Salvia halophila* and *Salvia virgata* from Turkey. Food Chemistry 108(3): 942-949.
- Ali, M. B., Hahn, E. J. and Paek, K. Y. (2007) Methyl jasmonat and salicylic acid induced oxidative stress and accumulation of phenolic in *Panax ginseng* bioreactor root suspension culture. Journal of Molecular 12(3): 607-621.
- Amiri, A., Parsa, S. R., Nezami M. and Ganjeali, A. (2011) The effects of drought stress at different phenological stages on growth indices of chickpea (*Cicer arietinum* L.) in greenhouse conditions. Iranian Journal of Pulses Research 1(2): 69-84.
- Asadi Kavan, Z. h., Ghorbanli, M and Sateei, A. (2010) The effect of drought stress and exogenous ascorbate on photosynthetic pigments, flavonoids, phenol compounds and lipid peroxidation in *Pimpinella anisum* L. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants 25(4): 456-469.
- Asgher M., Khan, M. I. R., Anjum, N. A and Khan, N. A. (2015) Minimizing toxicity of cadmium in plants role of plant growth regulators. Protoplasma 252(2): 399-413.
- Ben Hamed, K., Castagna, A., Salem, E. A., Ranieri, A and Abdelly, C. (2007) Sea fennel (*Crithmum maritimum* L.) under salinity conditions: a comparison of leaf and root antioxidant responses. Plant Growth Regulation 53: 185-194.
- Dong, J., Wan, G and Liang, Z. (2010). Accumulation of salicylic acid-induced phenolic compounds and raised activities of secondary metabolic and antioxidative enzyme in *Salvia miltiorrhiza* cell culture. Journal of Biotechnology 148(2-3): 99-104.
- Elyasi, R., Majdi, M., Bahramnejad, B and Mirzaghaderi, G. (2016) Spatial modulation and abiotic elicitors responses of the biosynthesis related genes of mono/triterpenes in black cummin (*Nigella sativa*). Industrial Crops and Products 79: 240-247
- Esfandiari, E., Enayati, V and Abbasi, A. (2011) Biochemical and physiological changes in response to salinity in two durum wheat (*Triticum turgidum* L.) genotypes. Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca 39(1): 165-170.
- Ghobadi, M., Taherabadia, S., Ghobadi, M. E., Mohammadi, G. H. R. and Jalali-Honarmand, S. (2013) Antioxidant capacity, photosynthetic characteristics and water relations of sunflower (*Helianthus annuus* L.) cultivars in response to drought stress. Industrial Crops and Products 50: 29-38.
- Jafary, A. A., Latifi, A. M., Shohrati, M., Haji Hosseini, R. and Salesi, M. (2012) The effect of *Scrophularia striata* extracts on wound healing of Mice. Armaghane-danesh, Yasuj University of Medical Sciences Journal 18(3): 194-209. (In Persian).
- Jalalvand, A., Andalibi, B., Tavakoli, A and Moradi, P. (2019). Investigating the effects of salicylic acid and cycocel on gas exchange process in moldavian balm (*Dracocephalum moldavica* L.) under drought stress conditions. Environmental Stresses in Crop Sciences 12(2): 481-494.
- Kabiri, R., Nasibi, F and Farahbakhsh, H. (2014) Effect of exogenous salicylic acid on some physiological parameters and alleviation of drought stress in *Nigella sativa* Plant under hydroponic culture. Plant Protection Science 50(1): 43-51.
- Keshavarz, H and Modarres Sanavy, S. A. M. (2014) Effect of salicylic acid on chlorophyll, some growth characteristics and yield of two canola varieties. Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources 7(4): 167-178. (In Persian).
- Khan, W., Balakrishnan, P and Smith, D. L. (2003) Photosynthetic responses of corn and soybean to foliar application of salicylates. Journal of Plant Physiology 160: 485-492.
- Liu, C., Liu, Y., Guo, K., Fan, D., Li, G., Zheng, Y., Yu, L and Yang, R. (2011) Effect of drought on pigments, osmotic adjustment and antioxidant enzymes in six woody plant species in karst habitats

- of southwestern China. *Environmental*
- Liu, J. H., Peng, T and Dai, W. S. (2014) Critical cis-acting elements and interacting transcription factors, key players associated with abiotic stress responses in plants. *Plant Molecular Biology Research* 32: 303-317.
- Luck, H. (1974) *Methods in Enzymatic Analysis V2* (Ed. Bergmeyer, H, U). Academic Press, New York.
- Mittler, R. (2002) Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. *Trends in Plant Science* 9: 405-410.
- Miura, K and Tada, Y. (2014) Regulation of water, salinity and cold stress responses by salicylic acid. *Plant Science Journal* 5(4): 1-12.
- 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.
- Moradi, R and Pourghasemian, N. (2018) Effect of salicylic acid application on mitigating impacts of drought stress in marigold (*Calendula officinalis* L). *Water and Soil Science* 28(2): 15-28.
- Nemeth, M., Janda, T., Hovarth, E., Paldi, E and Szalai, G. (2002) Exogenous salicylic acid increases polyamine content but may decrease drought tolerance in maize. *Plant Science* 162: 569-574.
- Pacheco, A. C., Cabral, C. S., Silva Fermino, E. S. and Aleman, C. C. (2013) Salicylic acid-induced changes to growth, flowering and flavonoids production in marigold plants. *Journal of Medicinal Plants Research* 7(42): 3158-3163.
- Rostami, Z., Fazeli, A. (2021). Identification and isolation of cinnamate 4-hydroxylase and chalcon synthase genes in the roots of *scrophularia striata* and study of their expression and some physiological traits under the influence of various abiotic elicitors. *Agricultural Biotechnology Journal* 13(1): 1-28.
- Rostami, Z., Fazeli, A and Hojati, Z. (2022). The isolation and expression analysis of and *Experimental Botany* 71: 174-183.
- cinnamate 4-hydroxylase and chalcone synthase genes of *Scrophularia striata* under different abiotic elicitors. *Scientific Report* 12(8128): 1-14.
- Salarpour, F and Farahbakhsh, H. (2015) Effects of water deficit and salicylic acid on essential oil and antioxidant enzymes of fennel (*foeniculum vulgare* Mill.). *Journal of Crop Improvement (Journal of agriculture)* 17(3): 713-727.
- Samadi, S., Ghasemnezhad, A and Alizadeh, M. (2014) Investigation on phenylalanine ammonia-lyase activity of artichoke (*Cynara scolymus* L.) affected by methyl jasmonate and salicylic acid in *in vitro* conditions. *Journal of Plant Production Research* 21(4): 135-148
- Sawada. H., Shim, I. S. and Usui, K. (2006) Induction of benzoic acid 2-hydroxylase and salicylic acid biosynthesis-modulation by salt stress in rice seedling. *Plant Science* 171: 263-270.
- Shabani, L and Ehsanpour, A. (2010) Induction of antioxidant enzymes, phenolic and flavonoid compounds in *in vitro* culture of licorice (*Glycyrrhiza glabra* L.) using methyl jasmonate and salicylic acid. *Iranian Journal of Biology* 2(2): 691-703.
- Shahrivar, Z., Abtahi, F. S. and Hatami M. (2019). Effect of growth regulator salicylate on some physiological and biochemical parameters of peppermint (*Mentha piperita* L.) under drought stress. *Journal of Plant Research (Iranian Journal of Biology)* 32(4): 815-830.
- Sharafati-chalesshtori, R., Sharafati-chalesshtori, F., Sharafati-chalesshtori, A and Ashrafi, K. (2010) Antimicrobial effects and evaluation of total phenols, flavonoids and flavonols contents of ethanolic extracts of *Scrophularia striata*. *Journal of Shahrekord University of Medical Sciences* 11(4): 32-37.
- Sharma, R. (2004) *Agro-Techniques of medicinal plants*. Daya Publishing House, Delhi, 264p

- Singh, A and Dwivedi, P. (2018) Methyljasmonate and salicylic acid as potent elicitors for secondary metabolite production in medicinal plants, a review. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry* 7(1): 750-757.
- Singleton, V. L. and Rossi, J. R. (1965) Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungestic acid reagent. *American Journal of Enology and Viticulture* 16: 144-158.
- Ververidis, F., Trantas, E., Douglas, C., Vollmer, G., kretschmar, G. and Panopoulos, N. (2007) Biotechnology of flavonoids and other phenylpropanoid-derived natural products. Part I, chemical diversity, impacts on plant biology and human health. *Biotechnology Journal* 2(10): 1214-1234.
- Wang, L. J. and Li, S. H. (2006) Salicylic acid-induced heat or cold tolerance in relation to Ca²⁺ homeostasis and antioxidant systems in young grape plants. *Plant Science* 170: 685-94.
- Wink, M. (2010) Functions and biotechnology of plant secondary metabolites. second edition. Inc. New Delhi, India. 20-30.
- Winkel-Shirley, B. (2002) Biosynthesis of flavonoids and effects of stress. *Current Opinion in Plant Biology* 5(3): 218–223.
- Zarinkamar, F., Abdollahzadeh Zaviehjak, A., Sharifi, M and Behmanesh, M. (2016) Effect of salicylic acid on flavonoids, apigenin, anthocyanin and carbohydrate in (*Matricaria chamomilla L.*) *Iranian Journal of Plant Biology* 5(17): 67-74.