نشریه علمی فناوری و گیاهان دارویی ایران
دوره۶- شماره ۱- پیاپند ۱۰-بهار و تابستان ۱۴۰۲

ارزیابی تاثیر محلول‌پاشی ملاتونین و متیل جاسمونات بر محتوای ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی گیاه دارویی خرفه

Evaluation of foliar application effect of melatonin and methyl jasmonate on the phenolic and flavonoid compounds of purslane medicinal plant

فرحناز ضیائی پور[۱]، غلامرضا شریفی[۲*]، حمیدرضا اخوان[۳]، رضا حاجی‌محمدی فریمانی[۴]

۱. دانشجوی کارشناسی ارشد، بخش بیوتکنولوژی کشاورزی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان ، (نگارنده مسئول)
۲. استاد، بخش بیوتکنولوژی کشاورزی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان.
۳. دانشیار، بخش علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان.
۴. استادیار، بخش علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان.

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۳/۱۹ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۶/۱۲ - شناسانهٔ برنمود رقمی: 10.22092/mpt.2024.365969.1155

چکیده

ضیائی پور ف.، شریفی، غ.، اخوان، ح.، حاجی محمدی فریمانی، ر.، . ارزیابی تاثیر محلول‌پاشی ملاتونین و متیل جاسمونات بر محتوای ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی گیاه دارویی خرفه
نشریه علمی فناوری وگیاهان دارویی ایران، دوره ۶ - شماره ۱- پیاپند ۱۰-بهار و تابستان ۱۴۰۲ صفحه: ۱۲-۰۱

متیل‌جاسمونات و ملاتونین به عنوان تنظیم کننده‌های سلولی با تاثیر بر فرآیندهای رشد و نمو گیاهان باعث افزایش کیفیت و کمیت محصول می‌شوند. با توجه به اهمیت گیاهان دارویی و متابولیت‌های ثانویه‌ی گیاهی، هدف پژوهش حاضر ارزیابی تاثیر محلول‌پاشی متیل‌جاسمونات و ملاتونین بر محتوای ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی گیاه دارویی خرفه (*Portulaca oleracea* L.) بود. این پژوهش در گلخانه تحقیقاتی بیوتکنولوژی دانشکده کشاورزی دانشگاه شهید باهنر کرمان در ۲۱ خرداد ماه ۱۴۰۲ آغاز شد. محلول‌پاشی از ۱۶ مرداد ماه یعنی بعد از رشد رویشی و قبل از رفتن گیاه به مرحله‌ی گلدهی در فاصله‌های زمانی هر دو روز یک بار به مدت دو هفته ادامه داشت. تیمارهای آزمایش شامل آب مقطر (شاهد)، متیل جاسمونات، ملاتونین، ترکیب توام متیل جاسمونات و ملاتونین و هر کدام در دو غلظت (۰/۱ و ۰/۵ میلی‌مولار) بود. برای انجام آنالیز آماری از طرح کاملا تصادفی با سه تکرار استفاده شد. نتایج نشان دادند که محلول‌پاشی متیل جاسمونات، ملاتونین و ترکیب توام متیل جاسمونات و ملاتونین با غلظت‌های ۰/۵ میلی‌مولار و ۰/۱ میلی‌مولار تاثیر معنی‌داری بر افزایش محتوای ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی گیاه خرفه داشتند ($P \leq ۰/۰۵$). بیشترین مقادیر فنل کل و فلاونوئید کل در شرایط محلول‌پاشی ۰/۵ میلی‌مولار ملاتونین به دست آمد که به ترتیب به میزان ۳/۲۸ و ۰/۹۵ برابر بیشتر از محتوای این ترکیبات در نمونه شاهد بودند. براساس نتایج حاصل از این پژوهش محلول‌پاشی با ملاتونین در غلظت ۰/۵ میلی‌مولار به علت تاثیر معنی‌دار بر افزایش محتواهای فنل و فلاونوئید کل در گیاه دارویی خرفه پیشنهاد می‌گردد.

واژه های کلیدی: صفات بیوشیمیایی، کارایی بیوسنتز، گیاهان دارویی، متابولیت ثانویه، محرک‌های زیستی

آدرس پست الکترونیکی نگارنده مسئول: sharifi@uk.ac.ir

مقدمه

تولید گیاهان دارویی و تقاضا برای محصولات طبیعی در سراسر جهان رو به افزایش است. خرفه (*Portulaca oleracea* L.) یک گیاه دارویی و خوراکی است که به عنوان یک گیاه دارویی سنتی برای طیف وسیعی از بیماری‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرد (Elkhayat *et al.* , 2008). خرفه به دلیل داشتن منبع غنی از اسیدهای چرب امگا-۳ و خواص آنتی‌اکسیدانی بالا فواید تغذیه‌ای ارزشمندی دارد (Palaniswamy *et al.* , 2001). در بین مردم به عنوان گیاهی با خاصیت ضدعفونی کننده، درمان کننده سوختگی، سردرد و بیماری‌های مربوط به روده، کبد، معده، سرفه، تنگی نفس و آرتریت استفاده می‌شود (Lee *et al*., 2012). همچنین دارای طیف وسیعی از اثرات دارویی از جمله خاصیت ضدباکتریایی (Zhang et *al.,* 2002)، ضدزخم (Karimi *et al*., 2004)، ضدالتهاب (Chan et al., 2000). آنتی‌اکسیدانی (Chen et al., 2012)، بهبود زخم (Rashed et al., 2003) و پاک‌کننده، تقویت‌کننده قلب، نرم‌کننده و شل‌کننده عضلات و درمان پوکی استخوان می‌باشد (Uddin *et al*., 2014). خرفه منبعی از تریپنوئیدها، آلکالوئیدها، ساپونین‌ها، موادمعدنی، ویتامین‌ها، اسیدهای چرب امگا۳، اسیدهای فنولیک و فلاونوئیدها است (Kumar *et al*., 2022).

گیاهان قادرند گروه بزرگ و متنوعی از ترکیبات آلی به نام متابولیت‌های ثانویه را تولید کنند که پراکنش آن‌ها در سلسله گیاهان متنوع می‌باشد. متابولیت‌های ثانویه منحصر به‌گونه یا نژاد در طی یک دوره رشد و نمو خاص در گیاه تولید می‌شوند. میزان تولید این ترکیبات در گیاهان اغلب کمتر از یک درصد وزن خشک گیاه می‌باشد (Oksman-Caldentey and Inze, 2004). مولکول‌هایی که متابولیسم ثانویه را تحریک می‌کنند به عنوان محرک یا الیسیتور شناخته می‌شوند. الیسیتورها محرک‌های فیزیکی یا ترکیبات شیمیایی با منشا زیستی و غیرزیستی هستند که می توانند پاسخ هایی را در گیاه القا کنند که باعث تولید و تجمع متابولیت‌های ثانویه مشابه و جدید در سلول‌ها شوند. محرک‌ها با اتصال به گیرنده غشا پلاسمایی و ایجاد تغییرات در فعالیت سلولی و با ارسال یک‌سری پیام‌های شیمیایی از طریق سیستم‌های سیگنالینگ نسخه‌برداری و بیان ژن‌های دخیل بیوسنتز، در گیاه سبب ایجاد پاسخ‌های فیزیولوژیکی و مرفولوژیکی و تجمع فیتوالکسین می‌شوند. طی پاسخ به سیگنال الیسیتور، سیستم دفاعی گیاه فعال می‌شود و در نتیجه بیان ژن‌های دفاعی، متابولیت‌های ثانویه تجمع می‌یابند (Sae-Lee, et al., 2011). محرک‌های مختلف می‌توانند در کشت گونه‌های مختلف گیاهان دارویی باعث افزایش یا تغییر سطح متابولیت‌های ثانویه گردند. از جمله این محرک‌ها می‌توان ملاتونین و متیل جاسمونات را نام برد (Naik and Al-Khayri 2016). ملاتونین(N-استیل-۵-متوکسی تریپتامین) یک ترکیب ایندول مشتق شده از سروتونین است (Arna and Hernández-Ruiz 2018). نقش اصلی ملاتونین در گیاهان شامل تنظیم چرخه شبانه‌روزی،

افزایش رشد کمی و کیفی، بهبود عملکرد و کیفیت محصول و تحمل به طیف گسترده‌ای از عوامل تنش‌های محیطی می‌باشد (Kaur *et al.*, 2015). ملاتونین همچنین باعث افزایش سرعت زنجیره انتقال الکترون میتوکندریایی می‌شود و نقش مهمی در برابر آسیب اکسیداتیو و فعالیت آنتی‌اکسیدانی دارد (Martinez *et al.*, 2018). متیل جاسمونات از مشتقات چربی‌ها و جزء تنظیم کننده‌های مهم رشد گیاهی می‌باشد که در فرایندهای مختلف رشد و نمو گیاه نقش ایفا می‌کند (Dar *et al.*, 2015). همچنین گزارش شده است که متیل جاسمونات از طریق تحریک آنزیم‌های خاصی مانند فنیل آلانین آمونیالیاز ((PAL، کاتالاز، ستیلن سینتاز و آنتوسیانین سینتاز که در تولید ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی گیاهان شرکت می‌کنند نقش کلیدی در فرآیند انتقال سیگنال‌هایی دارد که پاسخ‌های دفاعی را در گیاهان تنظیم می‌کنند و اثر خود را با افزایش تولید متابولیت‌های ثانویه در سلول نشان می‌دهند (Zabala *et al.*, 2010). تیمار ملاتونین به عنوان یک آنتی‌اکسیدان موثر در گیاه یونجه، از طریق افزایش فعالیت آنزیم‌های تیروزین آمونیالیاز (TAL و فنیل آلانین آمونیالیاز (PAL) سبب افزایش معنی‌دار محتوای ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی شد (Jalili and Ehsanpour, 2020). همچنین پیش‌تیمار برگ‌های کیوی با ملاتونین سبب افزایش محتوای ترکیبات فلاونوئیدی و هشت ژن مربوط به سنتز آن از جمله PAL و چالکون سنتاز گردید (Arnao and Hemandez-Ruiz 2018). محققان گزارش کردند که اثر زمان و غلظت‌های مختلف متیل جاسمونات بر فعالیت آنزیم پلی‌فنل اکسیداز در گیاه ریحان اثرگذار است. به طوری‌که بیشترین فعالیت این آنزیم در غلظت ۰/۱ میلی‌مولار متیل جاسمونات مشاهده شد و با افزایش غلظت متیل جاسمونات میزان فعالیت این آنزیم کاهش یافت (Milan *et al.,* 2016). بررسی اثر کاربرد متیل جاسمونات بر محتوای فنل کل در گیاه استویا نشان داد که با افزایش غلظت از صفر به ۲۰۰ میکرومولار مقدار ترکیبات فنلی افزایش ولی محتوای این ترکیبات از ۲۰۰ تا ۲۵۰ میکرومولار به دلیل عدم توانایی بیشتر سلول به پاسخ‌گویی به غلظت‌های بالای الیسیتور کاهش یافت (Samadi et al. 2019)

با توجه به تاثیر مثبت ملاتونین و متیل جاسمونات به عنوان محرک بر متابولیت‌های ثانویه‌ی گونه‌های مختلف گیاهی (Arnao and Hernandes- Ruiz 2018) و با توجه به ارزش دارویی گیاه خرفه در بین مردم جوامع مختلف و اثرات دارویی و درمانی آن در صنعت داروسازی، هدف از انجام این پژوهش بررسی تاثیر محرک ملاتونین و متیل جاسمونات بر محتوای ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی گیاه دارویی خرفه می‌باشد.

مواد و روشها

تهیه نمونه و محلول‌پاشی

این آزمایش برای ارزیابی تاثیر کاربرد ملاتونین و متیل جاسمونات بر محتوای ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی گیاه خرفه در ۲۱ خرداد سال ۱۴۰۲ در گلخانه تحقیقاتی بخش بیوتکنولوژی دانشکده کشاورزی شهید باهنر

کرمان اجرا شد. گلخانه دارای شرایط حرارتی (۲۸/۲۵ درجه سلسیوس)، دوره روشنایی و تاریکی ۱۰/۱۴ ساعت و رطوبت نسبی ۶۳ درصد بود. از الیسیتورهای متیل جاسمونات و ملاتونین (مرک، آلمان) برای محلول‌پاشی استفاده شد. بذرهای خرفه از مزارع کشاورزی شهرستان فاریاب (کرمان، ایران) تهیه و مورد تایید بخش کشاورزی دانشگاه شهید باهنر کرمان قرار گرفت. بذرها در ۲۱ خردادماه سال ۱۴۰۲ در گلخانه کشت شد. در هر گلدان (سایز ۳ و با ابعاد ۱۷/۵×۱۳ سانتی‌متر) سه کیلوگرم مخلوط خاک به خاک برگ (نسبت ۵:۱) اضافه شد. از ابتدای کاشت تا پایان آزمایش گلدان‌ها با آب معمولی آبیاری شدند. بعد از رشد رویشی و قبل از گلدهی گیاه، در ۱۶ مرداد ماه عمل محلول‌پاشی هر دو روز یک‌بار به مدت دو هفته انجام گرفت و عمل برداشت خرفه، دو روز پس از آخرین محلول‌پاشی انجام شد. سپس عمل خشک کردن برگ و ساقه گیاه خرفه در یک محیط تاریک انجام گرفت و در نهایت نمونه‌های خشک شده آسیاب شدند.

عصاره‌گیری و خشک کردن عصاره

برای تهیه عصاره، اندام‌های هوایی گیاه خرفه با حلال اتانول ۷۰ درصد (نسبت ۱ به ۲۰) مخلوط شدند. ارلن‌های حاوی مخلوط پودر خشک شده گیاه خرفه و حلال اتانول، درون انکوباتور شیکردار (Thermoshake, Gerhardt) با دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد با سرعت ۸۰ دور در دقیقه قرار گرفتند و پس از مدت زمان ۱۷ساعت، با سرعت ۳۵۰۰ دور در دقیقه به مدت ۵ دقیقه در دمای چهار درجه سلسیوس سانتریفیوژ گردیدند و سپس از کاغذ صافی واتمن شماره ۱۴ عبور داده شدند. حذف حلال از عصاره با استفاده از دستگاه تبخیر کننده چرخان تحت خلاء (IKA RV10, Germany) با سرعت چرخش ۱۲۰ دور در دقیقه و در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد انجام گرفت. سپس نمونه‌های تغلیظ شده در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد تا زمان انجام آنالیز نگهداری شدند (Neyestani and Khalaji, 2009).

اندازه‌گیری محتوای فنل کل

محتوای فنل کل نمونه‌ها بر اساس روش رنگ‌سنجی فولین-سیوکالتیو و بر حسب معادل اسیدگالیک اندازه‌گیری شد. ابتدا ۰/۱ گرم از نمونه خشک عصاره در اتانول ۶۰ درصد حل شدند. آنگاه مقدار ۰/۱ میلی‌لیتر از غلظت‌های مختلف گالیک اسید (۰، ۵، ۲۵، ۵۰، ۱۰۰، ۱۲۵، ۲۵۰ و ۵۰۰ میلی گرم بر لیتر) و محلول عصاره به لوله آزمایش انتقال داده شد و به آن‌ها ۰/۵ میلی‌لیتر واکنش‌گر فولین-سیوکالتیو ۱۰ درصد اضافه شد و پس از گذشت پنج دقیقه به آن‌ها ۰/۴ میلی‌لیتر محلول کربنات سدیم ۷/۵ درصد اضافه گردید. نمونه‌ها به مدت ۳۰ دقیقه در محل تاریک و در دمای اتاق نگهداری شدند. میزان جذب نوری به وسیله دستگاه طیف‌سنج نوری فرابنفش-مرئی (Epoch, Biotek) در طول موج ۷۶۰ نانومتر خوانده شد و با استفاده از معادله خطی مربوط به منحنی استاندارد ($Y=0.0041X+0.1948$; $R^2=0.99$) به صورت معادل میلی‌گرم گالیک اسید بر لیتر عصاره گزارش گردید (Slinkard

جدول ۱- نتایج آنالیز واریانس محتوای فنل کل و فلاونوئید کل گیاه دارویی خرفه تیمار شده با محرک‌های زیستی

منبع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات	
		محتوای فنل کل	محتوای فلاونوئید کل
تیمار	۶	۲۲۹۴۴/۴۰**	۱۵۱۱۱۰/۹۵**
خطای آزمایشی	۱۴	۴/۰۷	۲۵۱۰/۲۸
ضریب تغییرات		۰/۶۶	۴/۱۷

** معنی دار در سطح احتمال ۱ درصد

.(and Singleton. 1977

اندازه‌گیری محتوای فلاونوئید کل

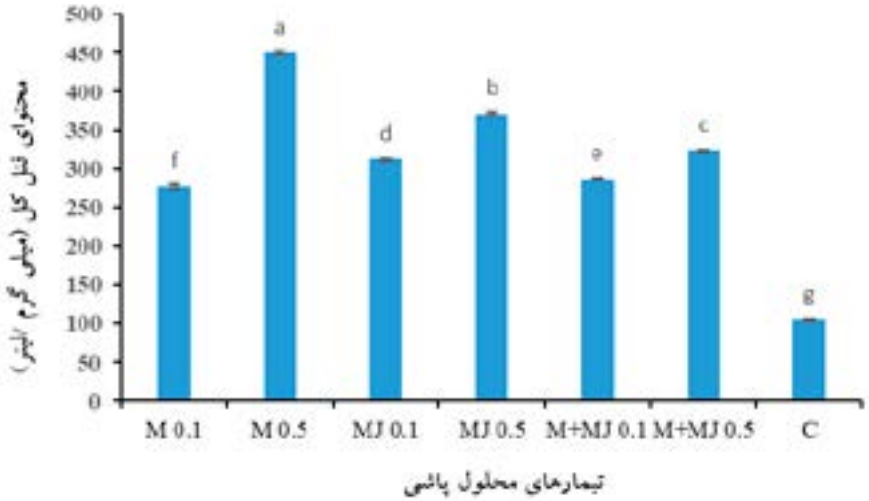
حتوای فلاونوئید کل نمونه‌ها با استفاده از معرف آلومینیوم کلرید اندازه‌گیری شد. به یک میلی‌لیتر از عصاره و محلول‌های استاندارد کوئرستین با غلظت‌های مختلف، ۲/۸ میلی‌لیتر آب مقطر و ۰/۱ میلی‌لیتر استات پتاسیم یک مولار اضافه شد و پس از مخلوط نمودن و نگهداری به مدت پنج دقیقه در دمای آزمایشگاه، مقدار ۰/۱ میلی‌لیتر کلرید آلومینیوم ۱۰ درصد به آن اضافه گردید و پس از پنج دقیقه، ۱/۵میلی‌لیتر اتانول ۹۵ درصد اضافه گردید. میزان جذب نمونه‌ها با روش طیف سنجی نوری در طول موج ۴۹۰ نانومتر خوانده شد. کوئرستین به عنوان ترکیب استاندارد برای رسم منحنی استاندارد ($Y=0.0005X+0.1529$; $R^2=0.98$) استفاده شد (Chang, 2002). محتوای فلاونوئید کل نمونه‌ها به صورت معادل میلی‌گرم کوئرستین بر لیتر عصاره گزارش گردید.

آنالیز آماری

آنالیز آماری با طرح کاملا تصادفی در سه تکرار انجام شد. تیمارهای آزمایش شامل آب مقطر (شاهد)، متیل جاسمونات ۰/۱ و ۰/۵ میلی‌مولار، ملاتونین ۰/۱ و ۰/۵ میلی‌مولار و ترکیب توام متیل جاسمونات و ملاتونین ۰/۱ و ۰/۵ میلی‌مولار بود. میانگین‌های حاصل با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در نرم افزار آماری SAS مقایسه شدند.

نتایج و بحث

بر اساس نتایج حاصل از این پژوهش مشخص شد که محلول‌پاشی ملاتونین، متیل جاسمونات و ترکیب توام ملاتونین و متیل جاسمونات تاثیر معنی‌دار بر مقادیر فنل کل و فلاونوئید کل گیاه خرفه داشت (جدول ۱). به طوری که مقادیر فنل کل و فلاونوئید کل در گیاه خرفه در تیمارهای ملاتونین ۰/۱ و ۰/۵ میلی‌مولار، متیل جاسمونات ۰/۱ و ۰/۵ میلی‌مولار و ترکیب توام متیل جاسمونات و ملاتونین ۰/۱ و ۰/۵ میلی‌مولار به ترتیب به میزان ۱/۶۳، ۳/۲۸، ۱/۹۶، ۲/۵۲، ۱/۷۲ و ۲/۰۸ برابر و ۰/۱۳، ۰/۹۵، ۰/۷۶، ۰/۵۳، ۰/۷۱ و ۰/۴۳ برابر بیشتر از محتوای این ترکیبات در تیمار شاهد بودند ($P\leq$ ۰/۰۵) (شکل ۱ و ۲).



شکل ۱. محتوای فنل کل نمونه های خرفه تیمار شده با محرک های ملاتونین، متیل جاسمونات و ترکیب توام آنها در غلظت های ۰/۱ و ۰/۵ میلی مولار. حروف غیرمشترک روی ستون ها بیانگر تفاوت معنی دار در سطح احتمال ۵ درصد است. (ملاتونین ۰/۱ میلی مولار (M 0.1) و ملاتونین ۰/۵ میلی مولار (M 0.5)؛ متیل جاسمونات ۰/۱ میلی مولار (MJ 0.1) و متیل جاسمونات ۰/۵ میلی مولار (MJ 0.5)؛ ترکیب توام ملاتونین و متیل جاسمونات در غلظت های ۰/۱ میلی مولار (M+MJ 0.1) و ۰/۵ میلی مولار (M+MJ 0.5)؛ شاهد (C)).

در شکل ۱، محتوای فنل کل نمونه‌های شاهد و تیمار شده با محرک‌ها نشان داده شده است. بیشترین محتوای ترکیبات فنلی کل در نمونه تیمار شده با ملاتونین ۰/۵ میلی‌مولار به میزان ۳/۲۸ برابر و کمترین محتوای آن‌ها در ملاتونین ۰/۱ میلی‌مولار به میزان ۱/۶۳ برابر محتوای این ترکیبات در نمونه شاهد بود. در پژوهش حاضر اثر متیل جاسمونات بر محتوای ترکیبات موثره گیاه خرفه تحت‌تاثیر غلظت آن قرار گرفت و غلظت متیل جاسمونات بر عملکرد متابولیت‌های ثانویه مختلف اثرات متفاوتی را از خود نشان داد. به طوری‌که محتوای فنل کل در بالاترین غلظت متیل جاسمونات (۰/۵ میلی‌مولار) به میزان ۲/۵۲ برابر و محتوای فلاونوئید کل در غلظت کمتر متیل جاسمونات (۰/۱ میلی‌مولار) به میزان ۰/۷۶ برابر بیشتر از محتوای این ترکیبات در نمونه شاهد بودند. در همین راستا نتایج تاثیر متیل جاسمونات در غلظت‌های (۰، ۱، ۱۰ و ۱۰۰ میکرومولار) بر محتوای فنل و فلاونوئید کل و برخی خصوصیات فیزیکوشیمیایی و کیفی میوه عروسک پشت پرده (*Physalis peruviana* L) نشان داد که تیمار متیل جاسمونات در بالاترین غلظت مورد استفاده (۱۰۰ میکرومولار) محتوای فنل و فلاونوئید کل را در این میوه به صورت معنی‌داری افزایش داد (Mojarab *et al.*, 2023). متیل جاسمونات یک محرک است که به عنوان تنظیم کننده رشد و آنتی‌اکسیدانی، سبب افزایش محتوای ترکیبات فنلی و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در

شکل۲. محتوای فلاونوئید کل نمونه های خرفه تیمار شده با محرک های ملاتونین، متیل جاسمونات و ترکیب توام آنها در غلظت های ۰/۱ و ۰/۵ میلی مولار. حروف غیرمشترک روی ستون ها بیانگر تفاوت معنی دار در سطح احتمال ۵ درصد است. (ملاتونین ۰/۱ میلی مولار (M 0.1) و ملاتونین ۰/۵ میلی مولار (M 0.5)؛ متیل جاسمونات ۰/۱ میلی مولار (MJ 0.1) و متیل جاسمونات ۰/۵ میلی مولار (MJ 0.5)؛ ترکیب توام ملاتونین و متیل جاسمونات در غلظت های ۰/۱ میلی‌مولار (M+MJ 0.1) و ۰/۵ میلی مولار (M+MJ 0.5)؛ شاهد (C)).

گیاه یونجه شد (Jalili and Javadirad, 2023).

نتایج تجزیه واریانس بیانگر تاثیر معنی‌دار محرک‌ها بر محتوای ترکیبات فلاونوئیدی گیاه دارویی خرفه بود (جدول ۱). محتوای ترکیبات فلاونوئیدی نمونه‌های خرفه (شکل۲) تحت تاثیر اثرات مثبت محلول‌پاشی ملاتونین، متیل جاسمونات و تیمار ترکیبی ملاتونین+متیل جاسمونات قرار گرفت. به طوری‌که محلول‌پاشی با ملاتونین ۰/۵ میلی‌مولار بیشترین تاثیر (۰/۹۵ برابر نمونه شاهد) را داشت و بعد از آن متیل جاسمونات ۰/۱ میلی‌مولار و ترکیب توام ملاتونین و متیل جاسمونات ۰/۱ میلی‌مولار و سپس متیل جاسمونات ۰/۵ میلی‌مولار و ترکیب توام ملاتونین و متیل جاسمونات ۰/۵ میلی‌مولار قرار داشتند ($P\leq$ ۰/۰۵). ملاتونین ۰/۱ میلی‌مولار تفاوت معنی‌داری با شاهد نشان نداد ($P\leq$ ۰/۰۵). در پژوهشی دیگر مشخص شد که غلظت ۰/۲ میلی‌مولار ملاتونین منجر به افزایش ۲۴۰ درصدی محتوای فلاونوئید کل برگ گیاه استویا در مقایسه با نمونه شاهد گردید (Mohammadi *et al*., 2020).

گیاهان توانایی این را دارند که ملاتونین را از محیط بیرون جذب و در بافت‌های خود ذخیره کنند. عملکرد ملاتونین حتی در گونه‌های گیاهی مشابه تحت تاثیر غلظت آن می‌باشد (Wei *et al*., 2015). تیمار ملاتونین سبب افزایش محتوای ترکیبات فنلی، فلاونوئید، آنتوسیانین و آسکوربیک اسید به همراه ظرفیت آنتی‌اکسیدانی توت‌فرنگی شد

(Mansouri *et al*., 2021).

به طور کلی، نتایج نشان داد که غلظت بالای ملاتونین تاثیر بیشتری بر افزایش محتوای فنل کل (۳/۲۸ برابر نمونه شاهد) و فلاونوئید کل (۰/۹۵ برابر نمونه شاهد) نمونه‌های خرفه را داشت؛ اما غلظت ملاتونین ۰/۱ میلی‌مولار کمترین تاثیر را بر افزایش محتوای این ترکیبات داشت. به طوری‌که محتوای فنل کل و فلاونوئید کل را به میزان ۱/۶۳ و ۰/۱۳ برابر محتوای این ترکیبات در نمونه شاهد افزایش داد. متیل جاسمونات نیز در غلظت ۰/۵ میلی‌مولار منجر به افزایش معنی‌دار محتوای ترکیبات فنلی شد؛ اما در مقابل غلظت ۰/۱ میلی‌مولار آن منجر به افزایش معنی‌دار محتوای ترکیبات فلاونوئیدی در مقایسه با سایر تیمارها گردید. در مقابل، محتوای فنل کل و فلاونوئید کل در اثر استفاده از تیمار ترکیبی ملاتونین و متیل جاسمونات در غلظت‌های ۰/۱ و ۰/۵ میلی‌مولار به ترتیب منجر به کاهش ۱/۷۲ و ۲/۰۸ برابری و ۰/۴۳ و ۰/۷۱ برابری محتوای این ترکیبات در مقایسه با تیمار متیل جاسمونات گردید.

با توجه به پژوهش انجام شده می‌توان به طور کلی نتیجه گرفت محرک‌های متیل جاسمونات و ملاتونین به عنوان تنظیم کننده‌های رشد گیاهی، افزایش دهنده متابولیت‌های ثانویه و ترکیبات آنتی‌اکسیدانی، در غلظت‌های مختلف می‌توانند بر محتوای ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی گیاه خرفه اثرگذار باشند. اگرچه محلول‌پاشی توام ملاتونین و متیل جاسمونات باعث افزایش محتوای ترکیبات فنل کل و فلاونوئید کل گردید، اما بیشترین تاثیر مثبت و قابل‌توجه این محرک‌ها بر محتوای ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی در هنگام استفاده از ملاتونین ۰/۵ میلی‌مولار مشاهده گردید. بعد از این تیمار، تیمارهای متیل جاسمونات ۰/۵ میلی‌مولار و متیل جاسمونات ۰/۱ میلی‌مولار به ترتیب تاثیر قابل‌توجهی بر محتوای ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی داشتند. با توجه به نتایج حاصل از این پژوهش ملاتونین ۰/۵ میلی‌مولار به عنوان تیمار موثر بر محتوای ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی گیاه دارویی خرفه پیشنهاد می‌گردد.

References:

Arnao, M. B. and Hernández-Ruiz,J. 2018. Melatonin and its relationship to plant hormones. Annals of Botany, 121(2): 195-207.

Chan, K., Islam, M. W., Kamil, M. A., Radhakrishnan, R., Zakaria, M. N. M., Habibullah, M. and Attas, A. 2000. The analgesic and anti-inflammatory effects of *Portulaca oleracea L*. subsp. sativa (Haw.) Celak. Journal of Ethnopharmacology, 73(3), 445-451.

Chang, C. C., Yang, M. H., Wen, H. M. and Chern, J. C. 2002. Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. Journal of food and drug analysis, 10(3).

Chen, B., Zhou, H., Zhao, W., Zhou, W., Yuan, Q. and Yang, G. 2012. Effects of aqueous extract of *Portulaca oleracea* L. on oxidative stress and liver, spleen leptin, PARα and FAS mRNA expression in high-fat diet induced mice. Molecular Biology Reports, 39, 7981-7988.

Dar, T. A., Uddin, M., Khan, M. M. A., Hakeem, K. R. and Jaleel, H. 2015. Jasmonates counter plant stress: a review. Environmental and experimental Botany, *115*, 49-57.

Elkhayat. E.S., Ibrahim, S.R. and Aziz, M.A. 2008. Portulene a new diterpene from *Portulacea oleracea* L. Journal of Asian Natural Products Research, 10(11), 1039-1043.

Jalili, S. and Ehsanpour, A.A. 2020. Investigating The Antioxidant Role of Melatonin on Alfalfa Roots (*Medicago sativa* L.) Under Salt Stress in Tissue Culture Conditions, 14(1), 17-32. (In Persion)

Jalili, S. and Javadirad, S. 2023. Effect of melatonin on growth parameters and phenolic compounds of in vitro salt stress of *Medicago sativa* L. Journal of Plant Research, 36(1), 62-74. (In persion)

Karimi, G., Hosseinzadeh, H. and Ettehad, N. 2004. Evaluation of the gastric antiulcerogenic effects of *Portulaca oleracea* L. extracts in mice. Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives, 18(6), 484-487.

Kaur, H., Mukherjee, S., Baluska, F. and Bhatla, S. C. 2015. Regulatory roles of

serotonin and melatonin in abiotic stress tolerance in plants. Plant Signaling and Behavior, 10(11), 1-8.

Kumar, A., Sreedharan, S., Kashyap, A. K., Singh, P., and Ramchiary, N. 2022. A review on bioactive phytochemicals and ethnopharmacological potential of purslane (*Portulaca oleracea L.*). Heliyon, 8(1), 1-16.

Lee, A. S., Kim, J. S., Lee, Y. J., Kang, D. G. and Lee, H. S. 2012. Anti-TNF-α activity of *Portulaca oleracea* in vascular endothelial cells. International Journal of Molecular Sciences, 13(5), 5628-5644.

Mansouri, S., Sarikhani, H., Sayyari, M., Solimani Aghdam, M. and Askari Sarcheshmeh, M. A. 2021. Effect of preharvest treatment of melatotin on ripening and postharvest qualitative characteristics of strawberry (*Fragaria× anannasa* cv. Queen Elisa). Journal of Plant Research (Iranian Journal of Biology), 34(3), 766-779. (In Persion)

Martínez-Huitle, C. A. and Panizza, M. 2018. Electrochemical oxidation of organic pollutants for wastewater treatment. *Current Opinion* in Electrochemistry, 11, 62-71.

Milan, E. B., Hassni, L., Mandoulakani, B. A., Darvishzadeh, R., Kheradmand, F. and Hassani, A. 2016. The effect of different concentrations of methyl jasmonate on the activity of antioxidant enzymes and total protein in basil. Journal of Crop Improvment, 18(1), 103-115.

Mohammadi Y, Baradaran Firouzabadi M, Gholami A. and Makarian, H. 2020. The effect of vitamins B group and melatonin foliar application on yield and some of physiological traits of soybean (*Glycine max*). Plant Process and Function, 9 (35) :359-376. (In persion)

Mojarab, S., Farokhzad, A. and Alirezalu, A. 2023. Effect of foliar application with methyl jasmonate on total phenol and flavonoid and some physicochemical properties of *Physalis peruviana* L. under soilless culture condition. Pomology Research Scientific Journal*, 7*(2), 33-46. (In Persion)

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 and future perspectives. Rijeka:

InTech, 17: 247-277.

Neyestani, T.R. and Khalaji, N. 2009. The inhibitory effects of gallic acid on the growth of bacteria, ß- Hemolytic *streptococcus* and pathogenic *Escherichia coli* in vitro. Journal of Microbiology Knowledge, 1(2): 11–16. (In Persian)

Oksman-Caldentey, K. M., and Inzé, D. 2004. Plant cell factories in the post-genomic era: new ways to produce designer secondary metabolites. Trends in plant science, 9(9), 433-440.

Palaniswamy, U. R., McAvoy, R. J. and Bible, B. B. 2001. Stage of harvest and polyunsaturated essential fatty acid concentrations in purslane (*Portulaca oleraceae*) leaves. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 49(7), 3490-3493.

Rashed, A. N., Afifi, F. U. and Disi, A. M. 2003. Simple evaluation of the wound healing activity of a crude extract of *Portulaca oleracea* L.(growing in Jordan) in Mus musculus JVI-1. Journal of ethnopharmacology, 88(2-3), 131-136.

Sae-Lee, N., Kerdchoechuen, O. and Laohakunjit, N. 2011. Effects of ammonium nitrate on cell growth and production of phenolic compounds in cell suspension cultures of *Vitis vinifera*. Warasan Witthayasat Kaset.

Samadi S, Ghasemnezhad A, and Alizade M. 2019. Fresh weight, Total phenol, Total flavonoids, Antioxidant and PAL enzyme activity of stevia callus variation affected by salicylic acid and methyl jasmonate. Plant Process and Function, 8 (32) ,325-337

Slinkard, K., & Singleton, V. L. 1977. Total phenol analysis: automation and comparison with manual methods. *American journal of enology and viticulture*, *28*(1), 49-55.

Uddin, M. K., Juraimi, A. S., Hossain, M. S., Nahar, M. A. U., Ali, M. E. and Rahman, M. M. 2014. Purslane weed (*Portulaca oleracea*) : a prospective plant source of nutrition, omega-3 fatty acid, and antioxidant attributes. The Scientific World Journal, 2014, 1-6.

Wei, W., Li, Q.-T., Chu, Y.-N., Reiter, R. J., Yu, X.-M., Zhu, D.H. and Zhang, J.-S. 2015. Melatonin enhances plant growth and abiotic stress tolerance in soybean plants. Journal of Experimental Botany, 66(3), 695-707.

Zabala, M. A., Angarita, M., Restrepo, J. M., Caicedo, L. A. and Perea, M. 2010. Elicitation with methyl-jasmonate stimulates peruvoside production in cell suspension cultures of *Thevetia peruviana*. In Vitro Cellular and Developmental Biology-Plant, 46, 233-238.

Zhang, X. J., Ji, Y. B., Qu, Z. H. Y., Xia, J. C. and Wang, L. 2002. Experimental studies on antibiotic functions of *Portulaca oleracea* L. in vitro. Chin J Microecol, 14(5), 277-280.

Evaluation of foliar application effect of melatonin and methyl jasmonate on the phenolic and flavonoid compounds of purslane medicinal plant

Farahnaz Ziaeipour[1], Gholam-Reza Sharifi[2*], Hamid-Reza Akhavan[3], Reza Hajimohammadi-Farimani[4]

1. MSc. student, Department of Agricultural Biotechnology, Faculty of Agriculture, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran . (Corresponding author)
2. Professor, Department of Agricultural Biotechnology, Faculty of Agriculture, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran.
3. Associate Professor, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran
4. Assistant Professor, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran.

Received: June 2024 Accepted: September 2024 - DOI: 10.22092/mpt.2024.365969.1155

Abstract

Ziaeipour, F., Sharifi, G. R., Akhavan, H., Hajimohammadi, Farimani, R., Evaluation of foliar application effect of melatonin and methyl jasmonate on the phenolic and flavonoid compounds of purslane medicinal plant

Iranian Medicinal Plants and Technology, Vol 6, No. 1, 2023 1-2: 1-12(in Persian)

Abstract:

Methyl jasmonate and melatonin, as cell regulators and biostimulants, enhance product quality and quantity by influencing growth and development processes. Given the significant effects of medicinal plants and secondary plant metabolites on human life, this study aimed to evaluate the effect of foliar application of methyl jasmonate and melatonin on phenolic and flavonoid compounds in purslane (*Portulaca oleracea* L.). This research was carried out in the biotechnology research greenhouse of Shahid Bahonar University of Kerman, on June 11, 2023. Foliar application was continued from August 7, that is, after vegetative growth and before the plant entered the flowering stage, with applications every two days for two weeks. The experimental treatments included distilled water (control), methyl jasmonate, melatonin, and a combination of methyl jasmonate and melatonin in two concentrations (0.1 and 0.5 mM). A completely randomized design with three replications was used for statistical analysis. The results showed that foliar application of methyl jasmonate, melatonin, and a combination of methyl jasmonate

Email address of the corresponding author: sharifi@uk.ac.ir

and melatonin at concentrations of 0.5 mM and 0.1 mM significantly increased the content of phenolic and flavonoid compounds in purslane ($P \leq 0.05$). The highest phenol and total flavonoid content were obtained under foliar application of 0.5 mM melatonin, which was 3.28 and 0.95 times higher than the content of these compounds in the control sample, respectively. Based on the results of this study, foliar application of melatonin at a concentration of 0.5 mM is recommended due to the significant effect on increasing the total phenolic and flavonoid content in purslane.

Keywords: Biochemical traits, Biostimulants, Biosynthesis efficiency, Medicinal plants, Secondary metabolite.