

اثر عصاره مخمر بر رشد و برخی شاخص‌های فیزیولوژیکی سلول‌های گیاه *Dracocephalum polychaetum* Bornm.

زهرة واصف‌پور و مرضیه تقی‌زاده*

گروه زیست‌شناسی گیاهی و جانوری، دانشکده علوم و فناوری‌های زیستی، دانشگاه اصفهان، اصفهان، ایران

چکیده

Dracocephalum polychaetum یک گیاه دارویی متعلق به خانواده نعنائیان، بومی ایران و مناطق جنوب استان کرمان است. این مطالعه با هدف بررسی اثر غلظت‌های مختلف عصاره مخمر بر رشد و بررسی برخی پاسخ‌های فیزیولوژیکی سلول‌های گیاه *D. polychaetum* انجام شد. پس از القا، کالوس، ۲ گرم کالوس مناسب به محیط کشت MS مایع غنی‌شده با ۰/۲ میلی‌گرم در لیتر BAP، ۲ میلی‌گرم در لیتر NAA و ۲۰ گرم در لیتر ساکارز منتقل و در روی شیکر با سرعت ۱۲۰ دور در دقیقه در تاریکی قرار داده شد. سپس سلول‌های کشت‌شده با غلظت‌های ppm صفر، ۲۵، ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ عصاره مخمر در طول مرحله رشد نمایی آن‌ها (از روز ۸ تا ۱۳ پس از واكشت) تحت تیمار قرار گرفتند. نتایج نشان داد که عصاره مخمر سبب تغییرات معنادار در شاخص‌های فیزیولوژیکی شامل محتوای فلاونول، آنتوسیانین‌ها، مالون دی‌آلدئید، هیدروژن پراکسید، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل، پرولین و وزن تر در تمام سلول‌های تحت تیمار شد. نتایج بدست آمده نشان داد که غلظت‌های مختلف عصاره مخمر تغییرات مختلفی را در متابولیسم سلولی از طریق استرس اکسیداتیو ایجاد کرده و سیستم‌های دفاعی آنتی‌اکسیدان غیرآنزیمی را تحریک و در نتیجه سبب افزایش تولید فلاونول، آنتوسیانین، پرولین و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل در این سلول‌ها شده است. غلظت ۵۰ و ۱۰۰ ppm عصاره مخمر بیشترین اثر را در ایجاد تعادل بین رشد و فعالسازی سیستم دفاع آنتی‌اکسیدان غیرآنزیمی سلول‌ها داشته است. به‌طور کلی، یافته‌ها نشان داد که عصاره مخمر به‌عنوان یک محرک زیستی می‌تواند موجب تقویت سیستم دفاعی سلول‌های *D. polychaetum* شده و سازگاری آن‌ها را در برابر شرایط تنش‌زا افزایش دهد. این امر اهمیت استفاده از عصاره مخمر را به‌عنوان ابزاری مؤثر در مطالعات فیزیولوژیکی و سازوکارهای دفاعی گیاهان برجسته می‌سازد.

واژگان کلیدی: کشت سوسپانسیون سلولی، سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی، گیاه مفرو، عصاره مخمر

مقدمه

یکی از اعضای خانواده Lamiaceae یا نعنائیان است. جنس

Dracocephalum دارای ۵۰ گونه در سراسر جهان است که

تنها ۸ گونه از این جنس در ایران یافت می‌شود. زیستگاه این

گیاه *Dracocephalum polychaetum* Bornm. با نام

بادرنجبویه کرمانی یا لاله‌زاری، مفرو یا زررو و بومی ایران،

دریافت مقاله: ۱۴۰۴/۰۶/۰۶، بازنگری: ۱۴۰۴/۰۷/۱۱، پذیرش: ۱۴۰۴/۰۹/۲۵، اولین انتشار: ۱۴۰۵/۰۳/۱۲

* نویسنده مسئول، رایانامه: m.taghizadeh@bio.ui.ac.ir



حق انتشار این مستند، متعلق به انجمن فیزیولوژی گیاهی ایران است. © ۱۴۰۳

این مقاله تحت گواهی زیر منتشر شده و هر نوع استفاده غیرتجاری از آن مشروط بر استناد صحیح به مقاله و با رعایت شرایط مندرج در آدرس زیر مجاز است:

Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International license <https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>

از محرک‌های زیستی یا غیرزیستی است که پاسخ دفاعی سلول‌های گیاهی را تحریک می‌کنند و متابولیسم ثانویه را از طریق واردکردن تنش‌های شیمیایی یا فیزیکی القا می‌کنند (Suntar et al., 2021). علاوه بر این، کشت سلولی امکان تحلیل دقیق‌تری از اثرات محرک‌های زیستی و غیرزیستی را فراهم می‌سازد. این روش به پژوهشگران اجازه می‌دهد تا پاسخ‌های فیزیولوژیکی، بیوشیمیایی و مولکولی سلول گیاه را به صورت جداگانه بررسی کنند (Zhou et al., 2019).

عصاره مخمر یک نام رایج برای انواع مختلف محصولات فراوری‌شده از مخمر ساکاروماسس سرویزیه است که به عنوان افزودنی‌های مواد غذایی و یا طعم‌دهنده استفاده می‌شوند. اکثر ترکیبات تأثیرگذاری که در عصاره مخمر وجود دارد شامل ویتامین‌های گروه ب، کیتین، بتا گلوکان، الیگومرهای ان-استیل گلوکز آمین، گلیکوپپتیدها، آمینو اسیدها، ارگوسترول، مواد معدنی از قبیل کبالت، کلسیم و روی است که می‌تواند پاسخ سیستم ایمنی گیاه را از طریق القای تولید متابولیت‌های ثانویه فعال کند (El-Beltagi et al., 2022). اولیگوساکاریدهای موجود در عصاره مخمر می‌تواند به عنوان محرک و از طریق گیرنده‌های غشای سلولی موجود در سطح غشای سلولی برهمکنش محرک-گیرنده را ایجاد کند و پاسخ دفاعی سلول‌های گیاهی از جمله افزایش تولید متابولیت‌های ثانویه را تحت تأثیر قرار دهد (زارع و همکاران، ۱۴۰۰). در اثر این برهمکنش و تحریک پیام‌رسان‌های متعددی مانند افزایش غلظت سیتوسولی Ca^{2+} ، ایزوپنتیل تری فسفات و دی‌اسیل گلیسرول تولیدشده و آبخاری از علامت‌ها از طریق مسیرهای انتقال پیام به هسته سلول انتقال می‌یابد. این سیگنال‌ها در نهایت از طریق پروتئین کینازهای فعال‌شده با میتوزن بیان ژن‌های مرتبط با پاسخ‌های دفاعی سلول‌های گیاهی از جمله افزایش تولید متابولیت‌های ثانویه را تحت تأثیر قرار می‌دهد (زارع و همکاران، ۱۴۰۰).

مطالعات پیشین نشان دادند که، تیمار سلول‌های *Oryza sativa* L. با غلظت‌های بهینه عصاره مخمر سبب افزایش وزن تر و خشک، محتوای فنل، فلاونوئید، آنتوسیانین و

گیاه چندساله و بومی ایران کوه‌های هزار در بخش راین، واقع در جنوب استان کرمان، است. در طب سنتی این منطقه در درمان مشکلاتی از جمله دل درد، دردهای عضلانی، اختلالات کلیه، درد دندان، اختلالات کبدی، احتقان و سرماخوردگی استفاده می‌شود (Khodami et al., 2011). این گیاه سرشار از اسیدهای فنلی و فلاونوئیدها به‌ویژه رزمارینیک اسید، نارینجین، تیمول، کاروکول، کوئرسیتین، آپیجین و ترپن‌یوئیدها از قبیل پریل آلدئید و لیمونن است (Taghizadeh et al., 2019). رویش گیاه در ارتفاعات بالا (۴۰۰۰ متر)، آب‌وهوای سرد رویشگاه و خواب پیچیده بذر از جمله عوامل محدودکننده رویش این گونه هستند. تغییرات آب‌وهوایی، کاهش بارندگی و استفاده بی‌رویه انسان نیز سبب کاهش سالانه جمعیت این گیاه شده است.

رویکردهای بیوتکنولوژیکی، از جمله کشت سلول‌ها و بافت‌های گیاهی، به عنوان یکی از راه‌های امیدوارکننده و مؤثر در تکثیر گیاهان دارویی در معرض خطر انقراض شناخته شده است (Mehrabani et al., 2005; Taghizadeh et al., 2022). همچنین به دلیل اینکه تولید متابولیت‌های ثانویه به‌طور طبیعی به کندی انجام می‌شود و میزان تولید آن‌ها کافی نیست، لازم است تا شرایطی برای تولید انبوه آن‌ها فراهم شود. علاوه بر این، با توجه به این موضوع که تولید متابولیت‌های ثانویه به شدت تحت تأثیر عوامل محیطی و جغرافیایی است، استخراج مستقیم این ترکیبات از گیاهان صرفه اقتصادی نداشته و باعث نابودی این گیاهان بومی و با ارزش می‌شود (Jain et al., 2019). بنابراین تولید این ترکیبات با تکنیک‌های کشت سلول، بافت و اندام گیاه، می‌تواند جایگزین مناسبی جهت تولید انبوه و مدام این ترکیبات باشد (Karuppusamy, 2009).

کشت سلولی گیاهی امروزه به عنوان یک جایگزین نوید بخش، تجدیدپذیر، پایدار و سازگار با محیط‌زیست برای به دست آوردن متابولیت‌های ثانویه گیاهی از گیاهان شناخته‌شده است (Narayani and Srivastava, 2017). یکی از استراتژی‌های مورد استفاده برای بهبود رشد و تولید متابولیت‌های ثانویه در کشت سوسپانسیون سلول گیاهی استفاده

گرم ساکارز، منتقل شدند. ارلن حاوی سلول‌ها روی شیکر با دور rpm ۱۰۰ و در تاریکی مطلق، در اتاق کشت با دمای °C ۲۳±۲ قرار داده شدند. پس از نگهداری سلول‌ها در محیط کشت مایع و چهار مرحله واکشت کردن، کشت سوسپانسیون سلولی یک‌دست و مناسب به‌دست آمد. بر اساس منحنی رشد سلول‌های این گیاه، در روز هشتم پس از واکشت سلول‌ها، زمانی که سلول‌ها در مرحله رشد لگاریتمی قرار داشتند (Taghizadeh et al., 2020)، غلظت‌های ppm صفر، ۲۵، ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ عصاره مخمر (براساس تست‌های اولیه و مطالعه پژوهش‌های پیشین) به هر ارلن اضافه شد. عصاره مخمر استفاده‌شده در این تحقیق از شرکت مرک با درصد خلوص ۹۹ درصد خریداری و جهت تیماردهی در شرایط کشت سوسپانسیون سلولی استفاده شد. روز سیزدهم از منحنی رشد سلول‌ها، زمانی که سلول‌ها وارد فاز ثابت رشد شدند، سلول‌ها برداشت و برای اندازه‌گیری شاخص‌های فیزیولوژیکی در فریزر ۷۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

اندازه‌گیری رشد سلول‌ها: برای بررسی تأثیر غلظت‌های

مختلف عصاره مخمر در تیمار بر رشد سلول‌های گیاه، اختلاف وزن تر اولیه سلول‌ها در روز صفر و وزن سلول‌ها در انتهای تیمار و زمان برداشت سلول‌ها در روز سیزدهم محاسبه شد.

اندازه‌گیری مقدار هیدروژن پراکسید (H₂O₂): به منظور

تعیین مقدار H₂O₂، ۵۰۰ mg از سلول‌های توزین شده و روی یخ و در تاریکی به همراه ۵۰۰ µL تری‌کلرواستیک اسید ۱٪، ۱ میلی‌لیتر محلول پتاسیم یدید یک مولار و ۵۰۰ میکرولیتر بافر پتاسیم فسفات ۱۰ میلی‌مولار (pH = ۷) همگن شد. مخلوط حاصل به مدت ۱۵ دقیقه و با دور rpm ۴۰۰۰ در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شده و محلول رویی جداسازی و سپس جذب نمونه‌ها در طول موج ۳۹۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر بررسی و مقدار پراکسید هیدروژن با استفاده از منحنی استاندارد پراکسید هیدروژن محاسبه شد (Liu et al., 2020).

بررسی حفظ تمامیت غشا: جهت اندازه‌گیری مقدار مالون

دی‌آلدید (MDA)، ابتدا ۵۰۰ میلی‌گرم از سلول‌ها به همراه ۲

فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی سلول‌ها شد (El-Beltagi, 2022). همچنین، تیمار عصاره مخمر در غلظت‌های کم سبب افزایش وزن تر در کشت سلولی *Nigella sativa* L. شد (عنبرستانی و همکاران، ۱۳۹۹). در مطالعه دیگری، عصاره مخمر در غلظت بهینه سبب افزایش وزن تر سلول، محتویات فنل کل، فلاونوئید و همچنین افزایش فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی در کشت سلول *Ocimum basilicum* L. شد (Zaman et al., 2022). بررسی پژوهش‌های پیشین نشان داد که تا کنون مطالعه‌ای در رابطه با اثر عصاره مخمر روی محتوای ترکیبات فنلی در کشت‌بافت و سوسپانسیون سلولی *D. polychaetum* انجام نشده است. لذا، با توجه به اهمیت این گیاه از نظر دارویی، و اندک مطالعات انجام‌شده در این گیاه، هدف از انجام این پژوهش بررسی اثر غلظت‌های مختلف عصاره مخمر به عنوان یک محرک زیستی بر رشد و برخی شاخص‌های فیزیولوژیکی در کشت سوسپانسیون سلولی گیاه *D. polychaetum* Bornm. است.

مواد و روش‌ها

کشت سوسپانسیون سلولی و تیمار با عصاره مخمر: برای رشد هیپوکوتیل، بذره‌های استریل گیاه *D. polychaetum* در محیط MS $\frac{1}{2}$ کشت به همراه ۱۰ میلی‌گرم در لیتر جیبرلین (GA₃) و سپس در تاریکی و دمای ۲۳±۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ روز قرار داده شدند. هیپوکوتیل به دست آمده به عنوان ریزنمونه جهت القاء کالوس در محیط‌کشت MS به همراه ۴ میلی‌گرم در لیتر بنزیل آمینوپورین (BAP) و ۱/۵ میلی‌گرم در لیتر نفتالین استیک اسید (NAA)، ۳۰ گرم ساکاروز و ۶ گرم آگار کشت و در شرایط تاریکی مطلق با دمای ۲۳ ± ۲ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. کالوس‌های تشکیل‌شده هر ۲۱ روز یکبار واکشت و به محیط جدید منتقل شدند. پس از چند مرحله واکشت کالوس‌ها، ۲/۵ گرم از کالوس‌های نرم، شیری رنگ و کاملاً یک‌دست به ارلن مایر ۱۰۰ میلی‌لیتری حاوی ۲۰ میلی‌لیتر محیط MS مایع غنی‌شده با ۲ میلی‌گرم در لیتر BAP و ۱ میلی‌گرم در لیتر NAA به همراه ۲۰

بیر و لامبرت و ضریب خاموشی $33000 \text{ mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$ استفاده و غلظت آنتوسیانین براساس نانو مول در گرم وزن تر بیان شد (Taghavi et al., 2022).

بررسی ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل با روش فسفو مولیبدات: برای سنجش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل از عصاره متانولی استفاده شد. در ابتدا معرف فسفومولیبدات حاوی ۱۰۰ میلی‌لیتر از محلول‌های سدیم فسفات ۲۸ میلی‌مولار، سولفوریک اسید ۰/۶ مولار و آمونیوم مولیبدات ۴ میلی‌مولار ساخته شد. در مرحله بعد ۱/۰۵۰ میلی‌لیتر از معرف به ۵۰ میکرولیتر عصاره اضافه و لوله‌های آزمایش به مدت ۹۰ دقیقه در حمام آب گرم با دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. اثر انجام فرآیند، مخلوط واکنش از حالت بی رنگ به آبی تیره تغییر می‌یابد. در آخر نیز پس از سرد شدن نمونه‌ها در دمای محیط، جذب نوری نمونه‌ها در طول موج ۷۶۵ نانومتر توسط دستگاه طیف‌سنج نوری خوانده شد. مقدار فسفومولیبدات بر اساس منحنی استاندارد آسکوربیک اسید محاسبه و بر اساس میلی‌گرم آسکوربیک اسید بر گرم وزن تر سلول گزارش شد (Mbinda and Musangi, 2019; Pathak et al., 2023).

اندازه‌گیری مقدار پرولین: برای اندازه‌گیری مقدار پرولین از روش اصلاح شده Bates و همکاران (۱۹۷۳) استفاده شد. برای این کار ابتدا ۱۰۰ میلی‌گرم از بافت گیاهی به همراه ۱/۷ میلی‌لیتر سولفوسالسیلیک اسید ۳ درصد (وزنی/حجمی) به خوبی هموزن شد. سپس عصاره حاصل در 4000 rpm به مدت ۲۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. در ادامه ۱ میلی‌لیتر از محلول رویی به یک ویال جدید منتقل و ۱ میلی‌لیتر استیک اسید گلاسیال و ۱ میلی‌لیتر معرف نین‌هیدرین اضافه شد. در مرحله بعدی نمونه‌ها به مدت یک ساعت در حمام آبگرم ۱۰۰ درجه سلسیوس قرار گرفتند. پس از سرد شدن نمونه‌ها در دمای محیط، ۲ میلی‌لیتر تولوئن به آن‌ها اضافه شد و نمونه‌ها به مدت ۲۰ ثانیه با شدت زیاد ورتکس شدند. پس از این مرحله نمونه‌ها به مدت یک ساعت در شرایط ثابت و بدون نور قرار گرفتند تا دو فاز محلول از هم به خوبی تفکیک شوند. فاز بالایی به عنوان فاز آلی رنگ صورتی مایل به قرمز و فاز پایینی

میلی‌لیتر تری‌کلرو استیک اسید ۲۰ درصد به خوبی همگن شدند. در مرحله بعد نمونه‌ها به مدت ۲۰ دقیقه در 4000 rpm و دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شدند. پس از آن، مایع رویی جدا و به لوله جدیدی منتقل شد. سپس با نسبت ۱ به ۴ (۱ میلی‌لیتر عصاره: ۴ میلی‌لیتر محلول) محلول تری‌کلرو استیک اسید حاوی ۰/۵ درصد تیوباربیتوریک اسید (TBA) اضافه شد و نمونه‌ها به مدت ۳۰ دقیقه در حمام آب گرم ۹۵ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. پس از گذشت زمان موردنظر، لوله‌ها بلافاصله روی یخ قرار داده و پس از سرد شدن به مدت ۵ دقیقه در 4000 rpm سانتریفیوژ شدند و جذب محلول رویی در طول موج‌های ۵۳۰ و ۶۰۰ نانومتر توسط دستگاه طیف‌سنج نوری خوانده شد. در نهایت نیز نتایج حاصل توسط قانون بیر لامبرت و با در نظر گرفتن ضریب خاموشی (ε) برابر با $155 \text{ mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$ بر حسب $\mu\text{mol}\cdot\text{ml}^{-1}$ گزارش شدند (Hnilickova et al., 2021).

اندازه‌گیری مقدار فلاونول: برای اندازه‌گیری فلاونول‌ها، ۲۵۰ میکرولیتر از عصاره با ۲۵۰ میکرولیتر آلومینیوم کلراید ۲ درصد به خوبی مخلوط و سپس ۱۵۰۰ میکرولیتر سدیم استات ۵ درصد به آن اضافه و به خوبی ورتکس شد. پس از قرار گرفتن محلول در تاریکی به مدت ۲/۵ ساعت در دمای محیط، شدت جذب کمپلکس زرد رنگ تشکیل شده در طول موج ۴۴۰ نانومتر توسط دستگاه طیف‌سنج نوری خوانده شد. جهت محاسبه مقدار فلاونول موجود در هر نمونه از منحنی استاندارد کوئرستین استفاده و بر حسب میکروگرم کوئرستین بر گرم وزن تر سلول گزارش شد (Chang et al., 2002).

اندازه‌گیری مقدار آنتوسیانین: به منظور سنجش مقدار آنتوسیانین، ابتدا ۵۰۰ میلی‌گرم از سلول‌ها با ۱/۵ میلی‌لیتر متانول اسیدی (۹۹:۱ Methanol-HCl) هموزن شد. سپس نمونه‌ها به مدت ۲۴ ساعت در تاریکی و در دمای اتاق نگهداری شدند. پس از پایان زمان انکوباسیون نمونه‌ها به مدت ۱۵ دقیقه و با دور 4000 rpm سانتریفیوژ و جذب محلول رویی در طول موج ۵۳۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر خوانده شد. جهت محاسبه محتوای آنتوسیانین نمونه از قانون

تمامیت غشا: حفظ تمامیت غشا با استفاده از ارزیابی مقدار MDA تولیدشده در سلول‌های تیمارشده با غلظت‌های مختلف عصاره مخمر بررسی شد. براساس نتایج نشان داده شده در شکل ۲b تفاوت معنادار در مقدار MDA در سلول‌های تیمارشده با غلظت‌های ۲۵ ppm و ۵۰ عصاره مخمر در مقایسه با شاهد مشاهده نشد. غلظت‌های ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ ppm سبب افزایش معنادار در مقدار MDA در سلول‌های تحت تیمار در مقایسه با شاهد مشاهده شد، به طوری که با افزایش غلظت عصاره مخمر، مقدار MDA افزایش یافت. بیشترین مقدار MDA مربوط به سلول‌های تیمارشده با غلظت ۲۰۰ ppm عصاره مخمر بود که افزایشی حدود ۱/۴۲ برابر نسبت به محتوای MDA کنترل نشان داد.

بررسی اثر غلظت‌های مختلف عصاره مخمر بر محتوای فلاونول: نتایج حاصل از بررسی محتوای فلاونول سلول، نشان داد که غلظت‌هایی ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ ppm عصاره مخمر سبب افزایش معنادار محتوای فلاونول در مقایسه با نمونه شاهد شد. بیشترین مقدار فلاونول در سلول‌های تحت تیمار با غلظت ۱۰۰ و ۱۵۰ ppm عصاره مخمر مشاهده شد که افزایشی حدود ۱/۷۸ و ۱/۶۶ را نسبت به شاهد نشان داد. همچنین محتوای فلاونول در سلول‌های تحت تیمار با تیمار با غلظت‌های ۲۵ و ۲۰۰ ppm تفاوت معنادار با نمونه شاهد نشان ندادند (شکل ۳a).

بررسی اثر غلظت‌های مختلف عصاره مخمر بر محتوای آنتوسیانین: نتایج حاصل از بررسی اثر غلظت‌های مختلف عصاره مخمر بر محتوای آنتوسیانین کل نشان داد که تمامی غلظت‌های عصاره مخمر به جز غلظت ۲۰۰ ppm سبب افزایش معنادار تولید آنتوسیانین در سلول‌ها شد. تیمار با غلظت‌های ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ ppm عصاره مخمر سبب تولید بیشترین مقدار آنتوسیانین به ترتیب ۱/۱۹، ۱/۲ و ۱/۳ برابر افزایش نسبت به شاهد شد. کمترین مقدار آنتوسیانین هم در سلول‌های تحت تیمار با عصاره مخمر با غلظت ۲۰۰ ppm مشاهده شد که کاهش حدود ۰/۸ برابری نسبت به کنترل

به عنوان فاز آبی رنگ شفاف گرفت. در نهایت نیز از فاز آلی برای سنجش میزان پرولین استفاده شد. بدین منظور نمونه‌ها با استفاده از دستگاه اسپکتوفتومتر در طول موج ۵۲۰ نانومتر توسط دستگاه طیف‌سنج نوری خوانده شدند (Shabnam et al., 2016).

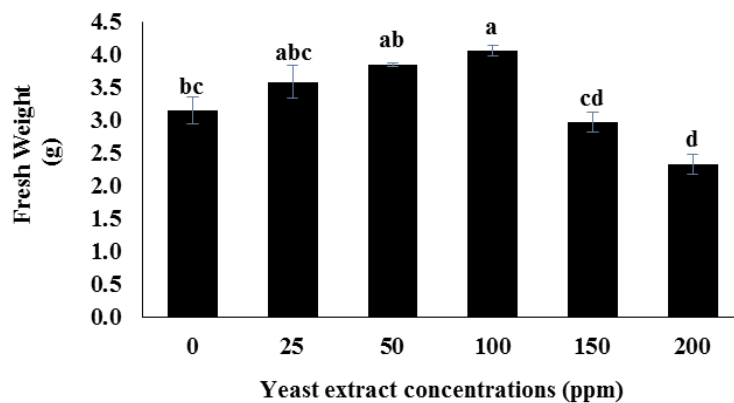
آنالیز آماری نتایج حاصل با نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۶ در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. معنادار بودن داده‌ها براساس تجزیه واریانس یک طرفه (One-Way ANOVA) در سطح ۵ درصد مشخص شد. از آزمون دانکن برای رتبه‌بندی میانگین‌ها استفاده شد.

نتایج

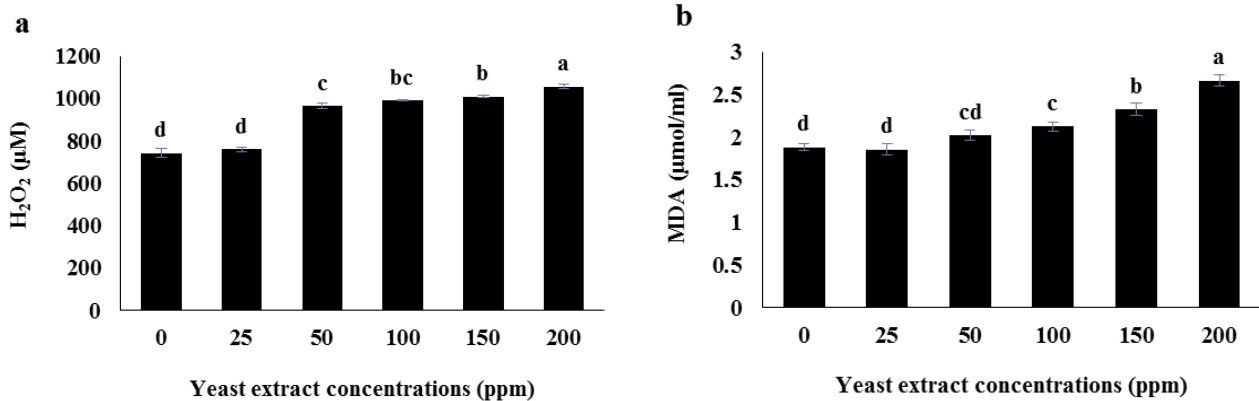
بررسی اثر غلظت‌های مختلف عصاره مخمر بر رشد سلولی: اثر غلظت‌های مختلف عصاره مخمر بر رشد سلولی با اندازه‌گیری و مقایسه اختلاف وزن تر سلول‌ها در روز صفر و روز برداشت مورد بررسی قرار گرفت. نتایج این بررسی نشان داد که غلظت‌های ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ ppm عصاره مخمر سبب افزایش رشد سلولی شد که این افزایش رشد در غلظت ۱۰۰ ppm عصاره مخمر نسبت به شاهد معنادار بود. بیشترین افزایش رشد مربوط به سلول‌های تحت تیمار با غلظت ۱۰۰ ppm عصاره مخمر (۱/۳ برابر افزایش) بود. درحالی‌که تیمار سلول‌ها با غلظت ۲۰۰ ppm عصاره مخمر موجب کاهش معنادار وزن سلول‌ها (کاهش ۰/۷۴ درصدی) در مقایسه با شاهد شد (شکل ۱).

بررسی اثر غلظت‌های مختلف عصاره مخمر بر تولید هیدروژن پراکسید: براساس شکل ۲a، تمامی غلظت‌های عصاره مخمر به غیر از غلظت ۲۵ ppm سبب افزایش محتوای هیدروژن پراکسید در سلول‌ها شد و با افزایش غلظت عصاره مخمر، غلظت هیدروژن پراکسید نیز افزایش یافت. بیشترین مقدار هیدروژن پراکسید در سلول‌های تحت تیمار با غلظت ۲۰۰ ppm مشاهده شد که افزایشی حدود ۱/۴۲ برابر نسبت به نمونه شاهد داشت.

بررسی اثر غلظت‌های مختلف عصاره مخمر بر حفظ



شکل ۱- اثر غلظت‌های مختلف عصاره مخمر (صفر، ۲۵، ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ ppm) بر اختلاف وزن تر سلول‌های *Dracocephalum polychaetum* مقادیر براساس میانگین سه تکرار \pm SE بوده و حروف نامشابه معرف معنادار بودن براساس آزمون دانکن ($P \leq 0.05$) است.



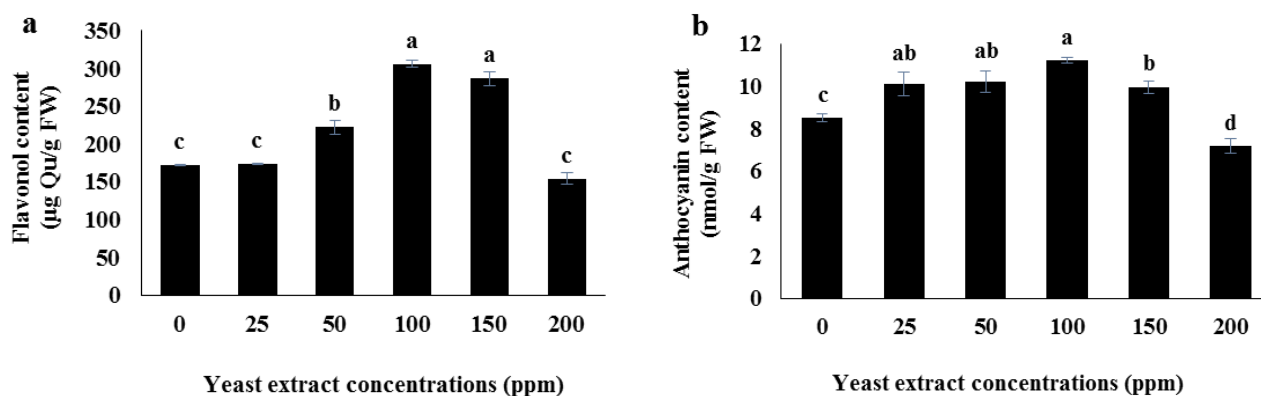
شکل ۲- اثر غلظت‌های مختلف عصاره مخمر (صفر، ۲۵، ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ ppm) بر مقدار (a) H₂O₂ و (b) MDA سلول‌های *Dracocephalum polychaetum* مقادیر براساس میانگین سه تکرار \pm SE بوده و حروف نامشابه معرف معنادار بودن براساس آزمون دانکن ($P \leq 0.05$) است.

سلول‌ها در مقایسه با کنترل شد.

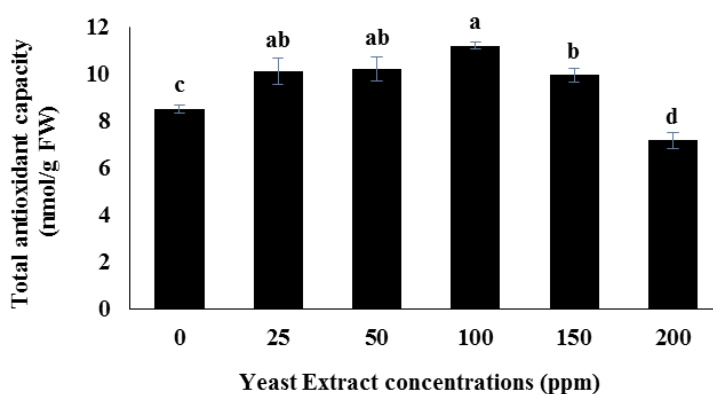
نشان داد (شکل ۳b).

بررسی اثر غلظت‌های مختلف عصاره مخمر بر مقدار پرولین: ارزیابی میزان اسیدآمین پرولین تولیدشده توسط سلول‌های تیمار شده با غلظت‌های مختلف عصاره مخمر نشان داد که تمامی غلظت‌های به کار برده شده عصاره مخمر سبب افزایش معنادار انباشت پرولین در سلول‌های تحت تیمار در مقایسه با شاهد شد. بیشترین مقدار پرولین در سلول‌های تیمار شده با غلظت ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ ppm عصاره مخمر مشاهده شد به طوری که این افزایش حدود ۱/۲۵ برابر نسبت به شاهد بود (شکل ۵).

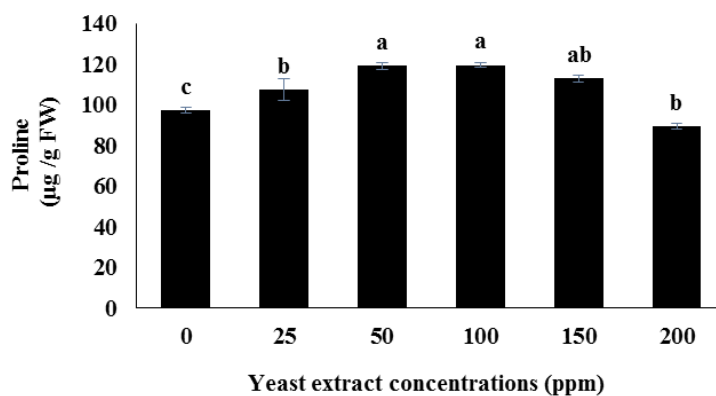
بررسی اثر غلظت‌های مختلف عصاره مخمر بر ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل: نتایج حاصل از بررسی اثر غلظت‌های مختلف عصاره مخمر بر ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل با استفاده از روش فسفومولیدات در شکل ۴ نشان داده شده است. بر اساس نتایج بیشترین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی در سلول‌های تیمار شده با غلظت ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ ppm عصاره مخمر مشاهده شد. به طوری که تیمار ۱۰۰ ppm سبب افزایش ۱/۳۲ برابری ظرفیت آنتی‌اکسیدانی در مقایسه با شاهد شد. تیمار با غلظت ۲۰۰ ppm سبب کاهش معنادار (حدود ۰/۸۲) ظرفیت آنتی‌اکسیدانی



شکل ۳- اثر غلظت‌های مختلف عصاره مخمر (صفر، ۲۵، ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ ppm) بر مقدار فلاونول (a) و آنتوسیانین (b) سلول‌های *Dracocephalum polychaetum* مقادیر براساس میانگین سه تکرار \pm SE بوده و حروف نامشابه معرف معنادار بودن براساس آزمون دانکن ($P \leq 0.05$) است.



شکل ۴- اثر غلظت‌های مختلف عصاره مخمر (صفر، ۲۵، ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ ppm) بر ظرفیت آنتی‌اکسیدانی سلول‌های *Dracocephalum polychaetum* مقادیر براساس میانگین سه تکرار \pm SE بوده و حروف نامشابه معرف معنادار بودن براساس آزمون دانکن ($P \leq 0.05$) است.



شکل ۵- اثر غلظت‌های مختلف عصاره مخمر (صفر، ۲۵، ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ ppm) بر مقدار پرولین سلول‌های *Dracocephalum polychaetum* مقادیر براساس میانگین سه تکرار \pm SE بوده و حروف نامشابه معرف معنادار بودن براساس آزمون دانکن ($P \leq 0.05$) است.

بحث

درصد نسبت به شاهد شد (Cai et al., 2014).

براساس نتایج به دست آمده، در تمامی سلول‌های تیمار شده با غلظت‌های مختلف عصاره مخمر، به غیر از غلظت ۲۵ ppm محتوای هیدروژن پراکسید (H_2O_2) نسبت به شاهد افزایش یافت. اغلب تنش‌ها باعث ایجاد تنش اکسیداتیو از طریق افزایش تولید و تجمع H_2O_2 و سایر رادیکال‌های آزاد در سلول‌های گیاهی می‌شوند که می‌تواند موجب عدم تعادل بین تولید رادیکال‌های آزاد و دفاع آنتی‌اکسیدانی سلولی شده و بر حفظ تمامیت غشا اثر گذارد (Goncharuk et al., 2022). H_2O_2 مانند سایر گونه‌های فعال اکسیژن در سلول‌های گیاهی نقش دوگانه‌ای ایفا می‌کند. H_2O_2 در غلظت‌های پایین به عنوان مولکول سیگنال عمل کرده و سبب فعال شدن مسیرهای پاسخ‌های مسیرهای دفاعی مختلف می‌شود و در غلظت‌های بالا با فعالیت اکسایشی خود سبب ایجاد استرس اکسایشی و آسیب به سلول و در نهایت مرگ سلول می‌شود (Ho et al., 2020). براساس مطالعات پیشین، استفاده از غلظت‌های بالای عصاره مخمر به علت ایجاد تنش اکسایشی می‌تواند منجر به آسیب سلولی و مهار رشد آن‌ها گردد. به دنبال افزایش تولید و تجمع H_2O_2 و دیگر رادیکال‌های آزاد در سلول، اجزای سلولی از جمله غشاءهای زیستی دچار آسیب می‌شوند (Skinner et al., 1977).

پراکسیداسیون لیپیدهای غشایی به علت تنش اکسایشی درون سلولی منجر به تولید مالون دی‌آلدئید (MDA) در سلول می‌شود. این ترکیب شاخصی برای آسیب به غشاء سلول‌های گیاهی است (Morales and Munne-Bosch, 2019). در این پژوهش مقدار MDA مانند H_2O_2 ، در تمامی تیمارها به غیر از تیمار با غلظت ۲۵ ppm عصاره مخمر نسبت به نمونه شاهد افزایش یافت که نشان‌دهنده بروز تنش اکسایشی در سلول‌های تیمار با غلظت‌های عصاره مخمر است. همچنین افزایش مقدار MDA همانند افزایش مقدار H_2O_2 ، با افزایش غلظت عصاره مخمر رابطه مستقیم داشت. در تأیید نتایج به دست آمده در این پژوهش، در مطالعه‌ای غلظت‌های صفر تا ۱۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر عصاره مخمر در کشت سوسپانسیون گیاه

رشد سلول‌های گیاهی با طول شدن و افزایش اندازه سلول و در پی آن تقسیم سلولی و تجمع زی‌توده همراه است. رشد گیاهان تحت تأثیر عوامل داخلی و خارجی متعددی قرار دارد که از جمله آن‌ها می‌توان به محرک‌های زیستی اشاره کرد (Sohn et al., 2022). تیمار سلول‌های گیاهی با محرک‌هایی مانند عصاره مخمر به منظور تحریک تولید متابولیت‌های ثانویه ممکن است با تغییرات زی‌توده نیز همراه باشد (Pathak et al., 2023). نتایج حاصل از بررسی رشد سلولی *D. polychaetum* تحت تیمار با غلظت‌های مختلف عصاره مخمر مشخص کرد، غلظت‌های عصاره مخمر شامل ۲۵ ppm، ۵۰ و ۱۰۰ موجب افزایش معنادار وزن تر سلول‌ها در مقایسه با نمونه شاهد شد، در حالی که تیمار سلول‌ها با غلظت‌های ۱۵۰ و ۲۰۰ ppm موجب کاهش معنادار وزن سلول‌ها در مقایسه با نمونه کنترل شد. عصاره مخمر منبع اصلی اسیدهای آمینه ضروری مختلف، ویتامین‌ها است که می‌تواند موجب افزایش رشد سلول‌های گیاهی شود (Abdelaal et al., 2017). اگر چه این ترکیب می‌تواند یک محرک رشد مناسب برای گیاه باشد اما استفاده از غلظت‌های بالای این ترکیب نه تنها موجب تحریک رشد نمی‌شود بلکه می‌تواند با ایجاد تنش اکسیداتیو در سلول سبب کاهش رشد سلول شود. افزایش محتوای MDA، در سلول‌های تیمار با غلظت‌های بالای عصاره مخمر می‌تواند تأییدکننده کاهش رشد به دلیل تخریب غشای سلولی و مرگ سلولی باشد. در تأیید این نتایج، تیمار سلول‌های *Oryza sativa* L. با غلظت‌های مختلف عصاره مخمر سبب افزایش وزن تر و خشک سلول‌ها به ویژه در غلظت‌های ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر شد (El-Beltagi, 2022). همچنین، تیمار عصاره مخمر در غلظت‌های کم سبب افزایش وزن تر در کشت سلولی *Nigella sativa* L. (عنبرستانی و همکاران، ۱۳۹۹). در طی مطالعه‌ای دیگر اثرات عصاره مخمر بر رشد و تولید متابولیت‌های ثانویه کشت سلولی *Malus domestica* Borkh. بررسی شد و نتایج نشان داد که عصاره مخمر در غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر سبب افزایش رشد سلول تا ۷۲

ترکیبات فنلی در سلول‌های تحت تیمار با غلظت‌های مختلف عصاره مخمر می‌تواند تأییدکننده افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی در این سلول‌ها باشد. مشابه با نتایج به‌دست آمده در این پژوهش، در مطالعه‌ای غلظت‌های بالای عصاره مخمر موجب القای تنش اکسایشی، افزایش H_2O_2 و در پی آن افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی در کشت کالوس *Ocimum basilicum* L. شد (Zaman, 2022). در تیمار کالوس *Ammi visnaga* L. با عصاره مخمر در غلظت‌های صفر، ۱۰۰، ۲۵۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر، حداکثر مقادیر فنل کل، فلاونوئید کل، فلاونول کل و بیشترین رشد کالوس‌ها در غلظت ۵۰۰ میلی‌گرم بر لیتر عصاره مخمر مشاهده شد (Akbari and Golkar, 2023).

غلظت‌های ۲۵ ppm، ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ عصاره مخمر سبب تغییر محتوای فنل کل، فلاونوئیدها (Vasefpour et al., 2025)، فلاونول و آنتوسیانین در کشت سلولی *D. polychaetum* شد. با افزایش غلظت عصاره مخمر محتوای این ترکیبات افزایش یافت درحالی‌که در غلظت ۲۰۰ ppm محتوای آن‌ها کاهش یافت. متابولیت‌های ثانویه بخشی از سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی غیرآنزیمی هستند و عصاره مخمر به عنوان یک محرک، احتمالاً با اثر بر بیان ژن‌های پاسخ‌های دفاعی، بیان عوامل تنظیمی (فعال‌کننده و یا مهارکننده‌ها) ژن‌های کدکننده آنزیم‌های مسیر بیوستز متابولیت‌های ثانویه، به تنظیم مسیرهای بیوستزکننده آن‌ها و تجمع این ترکیبات در سلول و خنثی‌سازی رادیکال‌های آزاد می‌پردازد (Gharechahi et al., 2013; Li et al., 2022).

ترکیبات فنلی، فلاونوئیدها، فلاونول‌ها و آنتوسیانین‌ها نقش عمده‌ایی در سیستم آنتی‌اکسیدانی غیرآنزیمی دارند و می‌توانند به عنوان دهنده الکترون و هیدروژن در به دام انداختن رادیکال‌های آزاد عمل کنند. این آنتی‌اکسیدان‌های قوی با روش‌های متعددی مانند جاروب‌کردن رادیکال‌های آزاد، انتقال هیدروژن، خاموش کردن اکسیژن یکتایی، کلات کردن یون‌های فلزی و همکاری با پراکسیدازها جهت پاکسازی H_2O_2 به خنثی‌سازی عوامل اکسیدکننده و رادیکال‌های آزاد در سلول می‌پردازند (Khanpour-Ardestani, 2015). از این‌رو ترکیبات

Zataria multiflora Bioss. سبب افزایش سطوح H_2O_2 و MDA به‌طور قابل‌توجهی در سلول‌های تیمار شده با عصاره مخمر شد که این افزایش با افزایش غلظت تیمار رابطه مستقیم داشت (Bavi et al., 2022). براساس این نتایج ممکن است کاهش رشد در سلول‌های تیمار شده با غلظت‌های بیشتر عصاره مخمر به علت تخریب غشاءهای زیستی باشد. همچنین در میان غلظت‌های مختلف، تیمار ۲۵ ppm عصاره مخمر مقدار H_2O_2 و MDA کمتر و رشد بیشتری نشان داده است.

افزایش محتوای H_2O_2 و MDA در تیمار با غلظت‌های مختلف عصاره مخمر بیانگر ایجاد تنش اکسایشی در سلول‌های *D. polychaetum* است که انتظار می‌رود سلول‌ها در جهت کاهش آن، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل را افزایش دهند. نتایج حاصل نشان داد تیمار با غلظت‌های ۲۵ ppm، ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ منجر به افزایش معنادار ظرفیت آنتی‌اکسیدانی در سلول‌ها شد درحالی‌که تیمار با غلظت ۲۰۰ ppm موجب کاهش معنادار ظرفیت آنتی‌اکسیدانی شد. سلول‌های گیاهی مخزنی از ترکیبات احیاءکننده قوی مثل ترکیبات فنلی، آسکوربات، کاروتنوئیدها، کامپفرول، پلی‌آمین‌ها، پروتئین‌های گوگرد دار و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی هستند که با اهدا الکترون خود به اتم‌ها و مولکول‌های حاوی الکترون جفت نشده از انجام واکنش اکسایشی ممانعت می‌کنند (Mittler et al., 2004). بنابراین، عصاره مخمر عوامل احیاءکننده درون سلولی از جمله ترکیبات فنلی، پرولین و غیره را افزایش داده تا با احیاء رادیکال‌های آزاد تشکیل‌شده در سلول، آن‌ها را غیرفعال کرده و مانع از آسیب به سلول در اثر رادیکال‌های آزاد شود. همچنین، می‌توان گفت، در غلظت بالای عصاره مخمر، کاهش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی در سلول به دلیل عدم برقراری تعادل بین این ترکیبات احیاءکننده و رادیکال‌های آزاد تولیدشده است و این امر سبب افزایش MDA و تخریب غشای سلولی شده است که در نهایت کاهش رشد و احتمالاً مرگ سلولی را به دنبال داشته است. از مهمترین ترکیبات آنتی‌اکسیدانی غیرآنزیمی، متابولیت‌های ثانویه از قبیل ترکیبات فنلی هستند (Gill and Tuteja, 2010). براساس نتایج مشاهده‌شده، افزایش

بیشتری در مقایسه با نمونه کنترل تولید شد. بیشترین مقدار این اسیدآمین به در تیمار ۱۰۰ ppm عصاره مخمر مشاهده شد. پرولین علاوه بر نقش اسمولیتی، می‌تواند از آنزیم‌ها محافظت کند و سبب افزایش ثبات غشا در طی تنش شود، ممکن است در سم‌زدایی غیرآنزیمی رادیکال‌های آزاد کمک کند. علاوه بر این، پرولین نقش مهمی در تنظیم عملکرد میتوکندری‌ها، محافظت از کلروپلاست‌ها در برابر آسیب اکسایشی و فعال کردن بیان ژن‌های مختلف جهت مقابله با تنش دارد (Hayat et al., 2012). براساس مطالعات، برخی تنش‌ها با القای تنش اکسایشی باعث آسیب غشای سلولی می‌شوند اما افزایش تولید متابولیت‌های ثانویه و ترکیبات آنتی‌اکسیدانی مانند اسیدآمین پرولین می‌تواند آن‌ها را از آسیب‌های جدی اکسایشی محافظت می‌کند (Sahin et al., 2017). در همین راستا، در مطالعه‌ای کاربرد عصاره مخمر سبب افزایش تولید پرولین در گیاه *Calendula officinalis* L. شد (El-Shawa et al., 2020).

نتیجه‌گیری

به‌طورکلی، عصاره مخمر به عنوان یک محرک زیستی، در غلظت‌های مختلف با اثر بر سلول و بروز تنش اکسایشی سطوح H_2O_2 و MDA را در سلول افزایش داده و سلول برای مقابله با این تنش با افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل سلول، افزایش محتوی پرولین و افزایش فلاونول، آنتوسیانین به پاسخ به این محرک پرداخته است. در این پژوهش تیمار سوسپانسیون سلولی با غلظت ۵۰ و ۱۰۰ ppm عصاره مخمر در کنار افزایش رشد و زی‌توده اثر مثبتی بر افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدان غیرآنزیمی داشت. نتایج به‌دست‌آمده نشان داد که عصاره مخمر می‌تواند به‌عنوان یک محرک زیستی در فعال‌سازی پاسخ‌های دفاعی سلول‌های *D. polychaetum* مؤثر باشد. این یافته اهمیت استفاده از عصاره مخمر را به‌عنوان ابزاری کارآمد در مطالعات فیزیولوژیکی و بررسی سازوکارهای دفاعی گیاهان نشان می‌دهد، هر چند بررسی نقش آن در شرایط تنش‌زا نیازمند پژوهش‌های تکمیلی است.

تشکر و قدردانی

فنی پتانسیل بالایی در مقابله با تنش اکسایشی در سلول دارند. نقش محرک‌ها در افزایش تولید متابولیت‌های ثانویه در کشت‌های درون شیشه‌ای بارها گزارش شده است (Ram et al., 2013). از طرفی محرک‌ها با فعال‌کردن سیستم دفاعی، سلول را به سمت پاسخ‌های دفاعی و متابولیسم ثانویه پیش می‌برند و معمولاً موازی با افزایش غلظت محرک و متابولیت‌های تولیدشده، مهار رشد نیز مشاهده می‌شود. بنابراین انتخاب غلظتی از محرک که اثر مثبتی بر تولید متابولیت‌های ثانویه داشته و کم‌ترین اثر منفی را بر رشد بگذارد حائز اهمیت است. مشابه با نتایج به‌دست آمده در این پژوهش، تأثیر غلظت‌های مختلف عصاره مخمر بر رشد سلولی، تولید ترکیبات فیتوشیمیایی و فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی در کشت کالوس *Ocimum basilicum* L. var. *purpurascens* نشان داد که غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر عصاره مخمر سبب افزایش وزن تر سلول و افزایش محتویات فنل کل، فلاونوئید و همچنین افزایش فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی شد (Zaman et al., 2022). عصاره مخمر در غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر در کشت سوسپانسیون سلولی گیاه *Oryza sativa* L. سبب افزایش محتوی فنل کل، فلاونوئید، آنتوسیانین، تانن و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی شد (El-Beltagi et al., 2022). نتایج به‌دست آمده نشان می‌دهد، سلول جهت مقابله با اثرات مخرب رادیکال‌های تولیدشده، تجمع ترکیبات فنلی، فلاونوئیدها، فلاونول‌ها و آنتوسیانین‌ها را افزایش داده است. همچنین، کاهش محتوی این ترکیبات به همراه افزایش مقدار MDA در غلظت ۲۰۰ ppm، احتمالاً نشان‌دهنده این است که غلظت بالای عصاره مخمر از طریق تولید بیش از حد ROS و آسیب به غشاءهای زیستی، مولکول‌های زیستی و تخریب سلول سبب کاهش تولید این ترکیبات و کاهش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی سلول شده باشد.

پرولین به عنوان یک اسیدآمین ضروری نقش مهمی در گیاهان دارد و از آن‌ها در برابر تنش‌های مختلف محافظت می‌کند و همچنین به آن‌ها کمک می‌کند تا سریع‌تر از استرس بازیابی شوند. نتایج نشان داد که در تمامی تیمارها پرولین

نویسندگان این مقاله مراتب قدرانی خود را از دانشگاه اصفهان به منظور حمایت از انجام این پژوهش ابراز می‌نمایند.

منابع

- زارع، ناصر، نوروزپور، مهران، و شیخزاده مصدق، پریسا (۱۴۰۰). تأثیر عصاره مخمر بر رشد، ویژگی‌های بیوشیمیایی و تولید متابولیت‌های ثانویه در کشت‌های درون‌شیشه‌ای قره‌قاط (*Vaccinium arctostaphylos* L.). *علوم زیستی گیاهی*، ۱۳(۱)، ۳۷-۵۴.
- عنبرستانی، صادق (۱۳۹۹). پاسخ‌های بیوشیمیایی به عصاره مخمر و ساکارز در کشت سلولی سیاه‌دانه (*Nigella sativa* L.). *تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران*، ۳۴(۶)، ۹۹۷-۱۰۰۶.
- Abdelaal, K. A., Hafez, Y. M., El Sabagh, A., & Saneoka, H. (2017). Ameliorative effects of abscisic acid and yeast on morpho-physiological and yield characteristics of maize plant (*Zea mays* L.) under water deficit conditions. *Fresenius Environmental Bulletin*, 26(12), 7372-7383.
- Akbary, R., & Golkar, P. (2023). Elicitation of medicinally-valuable secondary metabolites, enzymatic, and antioxidant activity using chitin and yeast extract in callus cultures of *Ammi visnaga* L. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)*, 154(3), 689-702. <https://doi.org/10.1007/s11240-023-02543-1>
- Bates, L. S., Waldren, R., & Teare, I. (1973). Rapid determination of free proline for water stress studies. *Plant and Soil* 39, 205-207. <https://doi.org/10.1007/BF00018060>
- Bavi, K., Khavari-Nejad, R. A., Najafi, F., & Ghanati, F. (2022). Phenolics and terpenoids change in response to yeast extract and chitosan elicitation in *Zataria multiflora* cell suspension culture. *3 Biotech*, 12(8), 163. <https://doi.org/10.1007/s13205-022-03235-x>
- Cai, Z., Kastell, A., & Smetanska, I. (2014). Chitosan or yeast extract enhance the accumulation of eight phenolic acids in cell suspension cultures of *Malus domestica* Borkh. *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 89(1), 93-99. <https://doi.org/10.1080/14620316.2014.11513054>
- Chang, C. C., Yang, M. H., Wen, H. M., & Chern, J. C. (2002). Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. *Journal of Food and Drug Analysis*, 10(3). <https://doi.org/10.38212/2224-6614.2748>
- El-Beltagi, H. S., Mohamed, H. I., Aldaej, M. I., Al-Khayri, J. M., Rezk, A. A., Al-Mssallem, M. Q., Sattar, M. N., & Ramadan, K. M. (2022). Production and antioxidant activity of secondary metabolites in Hassawi rice (*Oryza sativa* L.) cell suspension under salicylic acid, yeast extract, and pectin elicitation. *In Vitro Cellular and Developmental Biology-Plant*, 58(4), 615-629. <https://doi.org/10.1007/s11627-022-10264-x>
- El-Shawa, G. M., Rashwan, E. M., & Abdelaal, K. A. (2020). Mitigating salt stress effects by exogenous application of proline and yeast extract on morpho-physiological, biochemical and anatomical characters of calendula plants. *Scientific Journal of Flowers and Ornamental Plants*, 7(4), 461-482. <https://doi.org/10.21608/sjofop.2020.135166>
- Gharechahi, J., Khalili, M., Hasanloo, T., & Salekdeh, G. H. (2013). An integrated proteomic approach to decipher the effect of methyl jasmonate elicitation on the proteome of *Silybum marianum* L. hairy roots. *Plant Physiology and Biochemistry*, 70, 115-122. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2013.05.031>
- Gill, S. S., & Tuteja, N. (2010). Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant Physiology and Biochemistry*, 48(12), 909-930. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2010.08.016>
- Goncharuk, E. A., Zubova, M. Y., Nechaeva, T. L., Kazantseva, V. V., Gulevich, A. A., Baranova, E. N., Lapshin, P. V., Katanskaya, V. M., Aksenova, M. A., & Zagoskina, N. V. (2022). Effects of hydrogen peroxide on in vitro cultures of tea (*Camellia sinensis* L.) grown in the dark and in the light: Morphology, content of malondialdehyde, and accumulation of various polyphenols. *Molecules*, 27(19), 6674. <https://doi.org/10.3390/molecules27196674>
- Hayat, S., Hayat, Q., Alyemeni, M. N., Wani, A. S., Pichtel, J., & Ahmad, A. (2012). Role of proline under changing environments: A review. *Plant Signaling and Behavior*, 7(11), 1456-1466. <https://doi.org/10.4161/psb.21949>
- Hnilickova, H., Kraus, K., Vachova, P., & Hnilicka, F. (2021). Salinity stress affects photosynthesis, malondialdehyde formation, and proline content in *Portulaca oleracea* L. *Plants*, 10(5), 845. <https://doi.org/10.3390/plants10050845>
- Ho, T. T., Murthy, H. N., & Park, S. Y. (2020). Methyl jasmonate induced oxidative stress and accumulation of secondary metabolites in plant cell and organ cultures. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(3), 716. <https://www.mdpi.com/1422-0067/21/3/716>
- Jain, C., Khatana, S., & Vijayvergia, R. (2019). Bioactivity of secondary metabolites of various plants: A review. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 10(2), 494-504. [https://doi.org/10.13040/IJPSR.0975-8232.10\(2\).494-04](https://doi.org/10.13040/IJPSR.0975-8232.10(2).494-04)

- Karuppusamy, S. (2009). A review on trends in production of secondary metabolites from higher plants by *in vitro* tissue, organ and cell cultures. *Research Journal of Medicinal Plant*, 3(13), 1222-1239. <https://doi.org/10.5897/JMPR.9000026>
- Khanpour-Ardestani, N. (2015). Effect of methyl jasmonate on antioxidant enzyme activities, phenolic and flavonoid compounds in *Scrophularia striata* cell culture. *Journal of Plant Research (Iranian Journal of Biology)*, 27(5). <https://doi.org/840-853>. 20.1001.1.23832592.1393.27.5.8.4
- Khodami, M., Abbasnejad, M., Sheibani, V., Mobasher, M., Mehrabani, M., Anaie Goodary, A., & Salari, S. (2011). Evaluation of the analgesic and anxiolytic effects of *Dracocephalum polychaetum*. *Physiology and Pharmacology*, 15(3), 444-454.
- Li, C., Xu, M., Cai, X., Han, Z., Si, J., & Chen, D. (2022). Jasmonate signaling pathway modulates plant defense, growth, and their trade-offs. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(7), 3945. <https://www.mdpi.com/1422-0067/23/7/3945>
- Liu, T., Ye, X., Li, M., Li, J., Qi, H., & Hu, X. (2020). H₂O₂ and NO are involved in trehalose-regulated oxidative stress tolerance in cold-stressed tomato plants. *Environmental and Experimental Botany*, 171, 103961. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2019.103961>
- Mbinda, W., & Musangi, C. (2019). Antioxidant activity, total phenolic and total flavonoid. *Journal of Phytopharmacol*, 8(4), 161-166. <https://doi.org/10.3390/foods11213519>
- Mehrabani, M., Roholahi, S., & Foruomadi, A. (2005). Phytochemical studies of *Dracocephalum polychaetum* Bornm. *Agriculture*, 11(3), 212. <https://doi.org/20.1001.1.2717204.2005.4.16.5.2>
- Mittler, R., Vanderauwera, S., Gollery, M., & Van Breusegem, F. (2004). Reactive oxygen gene network of plants. *Trends in Plant Science*, 9(10), 490-498. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2004.08.009>
- Morales, M., & Munne-Bosch, S. (2019). Malondialdehyde: Facts and artifacts. *Plant Physiology*, 180(3), 1246-1250. <https://doi.org/10.1104/pp.19.00405>
- Narayani, M., & Srivastava, S. (2017). Elicitation: A stimulation of stress in *in vitro* plant cell/tissue cultures for enhancement of secondary metabolite production. *Phytochemistry Reviews*, 16, 1227-1252. <https://doi.org/10.1007/s11101-017-9534-0>
- Pathak, A. R., Patel, S. R., Joshi, A. G., Shrivastava, N., Sindhav, G., Sharma, S., & Ansari, H. (2023). Elicitor mediated enhancement of shoot biomass and lupeol production in *Hemidesmus indicus* L. (R. Br. ex. Schult.) and *Tylophora indica* (Burm. F.) merrill using yeast extract and salicylic acid. *Natural Product Research*, 37(11), 1767-1773. <https://doi.org/10.1080/14786419.2022.2119388>
- Ram, M., Prasad, K. V., Singh, S. K., Hada, B. S., & Kumar, S. (2013). Influence of salicylic acid and methyl jasmonate elicitation on anthocyanin production in callus cultures of *Rosa hybrida* L. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)*, 113(3), 459-467. <https://doi.org/10.1007/s11240-013-0287-1>
- Sahin, G., Verma, S. K., & Gurel, E. (2017). Investigation of relationship between chemical stress factors and certain metabolites including cardenolides in callus cultures of endemic *Turkish Digitalis* L. Species. *International Journal of Secondary Metabolite*, 4(3), 27-36. <https://doi.org/10.21448/ijsm.356249>
- Shabnam, N., Tripathi, I., Sharmila, P., & Pardha-Saradhi, P. (2016). A rapid, ideal, and eco-friendlier protocol for quantifying proline. *Protoplasma*, 253, 1577-1582. <https://doi.org/10.1007/s00709-015-0910-6>
- Skinner, F., Roughley, R., & Chandler, M. R. (1977). Effect of yeast extract concentration on viability and cell distortion in *Rhizobium* spp. *Journal of Applied Microbiology*, 43(2), 287-297. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.1977.tb00753.x>
- Sohn, S. I., Pandian, S., Rakkammal, K., Largia, M. J. V., Thamilarasan, S. K., Balaji, S., Zoelanclounon, Y. A. B., Shilpha, J., & Ramesh, M. (2022). Jasmonates in plant growth and development and elicitation of secondary metabolites: An updated overview. *Frontiers in Plant Science*, 13, 942789. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.942789>
- Suntar, I., Cetinkaya, S., Haydaroglu, U. S., & Habtemariam, S. (2021). Bioproduction process of natural products and biopharmaceuticals: Biotechnological aspects. *Biotechnology Advances*, 50, 107768. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2021.107768>
- Taghavi, T., Patel, H., Akande, O. E., & Galam, D. C. A. (2022). Total anthocyanin content of strawberry and the profile changes by extraction methods and sample processing. *Foods*, 11(8), 1072. <https://doi.org/10.3390/foods11081072>
- Taghizadeh, M., Nasibi, F., Kalantari, K. M., & Benakashani, F. (2020). Callogenesis optimization and cell suspension culture establishment of *Dracocephalum polychaetum* Bornm. and *Dracocephalum kotschyi* Boiss.: An *in vitro* approach for secondary metabolite production. *South African Journal of Botany*, 132, 79-86. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2020.04.015>
- Taghizadeh, M., Nasibi, F., Kalantari, K. M., & Ghanati, F. (2019). Evaluation of secondary metabolites and antioxidant activity in *Dracocephalum polychaetum* Bornm. cell suspension culture under magnetite nanoparticles and static magnetic field elicitation. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)*, 136(3), 489-498. <https://doi.org/10.1007/s11240-018-01530-1>

- Taghizadeh, M., Soltanian, S., & Nasibi, N. (2022). Phytochemical analysis of volatile and non-volatile fractions, antioxidant, and anti-cancer activities of *Dracocephalum polychaetum* and *Dracocephalum kotschyi*. *Journal of Cell and Molecular Research*, 14(1), 11-19. <https://doi.org/10.22067/jcmr.2022.75035.1031>
- Vasefpour, Z., Taghizadeh, M., & Moazzami Farida, S. H. (2025). The dose-dependent effect of yeast extract on the content of some phenolics in the cell suspension culture of *Dracocephalum polychaetum* Bornm. *Journal of Plant Biological Sciences*, 16(1), 21-38. <https://doi.org/10.22108/IJPB.2025.143444.1379>
- Zaman, G., Farooq, U., Bajwa, M. N., Jan, H., Shah, M., Ahmad, R., Andleeb, A., Drouet, S., Hano, C., & Abbasi, B. H. (2022). Effects of yeast extract on the production of phenylpropanoid metabolites in callus culture of purple basil (*Ocimum Basilicum* L. var *purpurascens*) and their in-vitro evaluation for antioxidant potential. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)*, 150(3), 543-553. <https://doi.org/10.1007/s11240-022-02303-7>
- Zhou, C., Guo, J., Zhu, L., Xiao, X., & Xie, Y. (2019). Exogenous GABA application enhances carotenoid accumulation and alleviates oxidative damage in plants under salt stress. *Plant Growth Regulation*, 89(1), 85-92. <https://doi.org/10.1007/s10725-019-00544-4>

The effect of yeast-extract on the growth and some physiological indicators of *Dracocephalum polychaetum* Bornm. Cells

Zohreh Vasefpour and Marzieh Taghizadeh*

Department of Plant and Animal Biology, Faculty of Biological Science and Technology, University of Isfahan, Isfahan, Iran

Abstract

Dracocephalum polychaetum Bornm. is a medicinal herb from the Lamiaceae family and is native to Iran, specifically from regions in the southern part of Kerman province. This study aimed to investigate the effects of different concentrations of yeast extract on the growth and physiological responses in the cell suspension of *D. polychaetum*. After callus induction, suitable callus was transferred to liquid MS medium supplemented with 0.2 mg/L BAP, 2 mg/L NAA, and 20 g/L sucrose and incubated on a gyratory shaker at 120 rpm in the dark. Suspension-cultured cells were then treated with 0, 25, 50, 100, 150, and 200 ppm concentrations of yeast extract during their exponential growth phase (from day 8 to 13 after sub-culturing). The results showed that the content of flavonol, anthocyanins, malondialdehyde (MDA), hydrogen peroxide (H₂O₂), proline, total antioxidant capacity, and fresh weight in all treated cells had a significant difference from the control. The results indicated significant differences in the content of flavonol, anthocyanins, malondialdehyde (MDA), hydrogen peroxide (H₂O₂), proline, phosphomolybdate, and fresh weight among all treated cells compared to the control. Different concentrations of yeast extract induced various changes in cell metabolism through oxidative stress and stimulated non-enzymatic antioxidant defense systems, leading to increased production of flavonol, anthocyanin, proline, and total antioxidant capacity. Concentrations of 50 and 100 ppm yeast extract had the most significant impact on balancing growth and activating the non-enzymatic antioxidant defense system of the cells. Overall, the findings suggest that yeast extract, as a biostimulant, can enhance the defense system of *D. polychaetum* cells and improve their adaptability to stressful conditions. This underscores the importance of using yeast extract as an effective tool in physiological studies and plant defense mechanisms.

Keywords: Antioxidant defense system, Cell suspension culture, *Dracocephalum polychaetum*, Yeast extract

Received: Aug. 28, 2025; Revised: Oct. 03, 2025; Accepted: Dec. 16, 2025; Published Online: June. 02, 2026

*Corresponding Author: m.taghizadeh@bio.ui.ac.ir



Copyright © 2025 Iranian Society of Plant Physiology, Published by Isfahan University of Technology press. This work is licensed under a Creative Commons Attribution-Noncommercial 4.0 International license (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>). Non-commercial uses of the work are permitted, provided the original work is properly cited.