

مقاله پژوهشی

اثر آلانتوئین بر برخی خصوصیات ریخت‌شناسی و فیزیولوژیکی گیاه زوفا (*Hyssopus officinalis* L.) در شرایط تنش شوری و کشت هیدروپونیک

نیلوفر مصطفوی، خدیجه کیارستمی* و منا صراحی نوبر

گروه علوم گیاهی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه الزهرا، تهران، ایران

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۷/۲۸، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۴۰۳/۱۱/۰۲)

چکیده

با توجه به محدودیت دسترسی به زمین‌های قابل کشت و اولویت‌دهی به تولید محصولات غذایی، کاشت گیاهان دارویی در خاک‌های شور می‌تواند گزینه‌ای مناسب باشد. به منظور بررسی تأثیر آلانتوئین بر رشد و فیزیولوژی زوفا (*Hyssopus officinalis* L.) در شرایط تنش شوری، آزمایشی به صورت فاکتوریل در سیستم‌های هیدروپونیک در دانشگاه الزهرا انجام گردید. تیمارها شامل سه سطح شوری (صفر، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم) و سه سطح آلانتوئین (صفر، ۰/۱ و ۱ میلی‌مولار) بودند. تنش شوری، به‌ویژه در غلظت ۲۰۰ میلی‌مولار، باعث کاهش معنی‌دار وزن خشک شاخساره (۴۱٪/۵۲)، محتوای نسبی آب برگ (۳۰٪/۸۳)، فلورسانس کلروفیل (۲۹٪)، محتوای کلروفیل کل (۴۳٪/۵) پروتئین (۲۷٪) و قندهای پلی‌ساکاریدی (۳۲٪) نسبت به شاهد شد. نشت یونی (۲/۹ برابر) و محتوای پرولین (۱/۶ برابر) در شرایط تنش در مقایسه با شاهد افزایش یافت. کاربرد غلظت‌های ۰/۱ و ۱ میلی‌مولار آلانتوئین در سطوح مختلف تنش شوری باعث بهبود برخی ویژگی‌های فیزیولوژیکی نسبت به شاهد شد. به ویژه، غلظت ۰/۱ میلی‌مولار آلانتوئین تحت تنش شوری ۲۰۰ میلی‌مولار به‌طور معنی‌داری باعث کاهش نشت یونی (۴۰٪/۲۰) و افزایش محتوای کلروفیل کل (۶۵٪/۸) محتوای نسبی آب برگ (۳۰٪/۵۲)، فلورسانس کلروفیل (۲۷/۸۳)، محتوای پروتئین (۷۰٪/۴۷)، پرولین (۳۰٪/۲۴)، آنتوسیانین (۳۴٪/۵۵)، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی (۱۵٪/۰۷)، محتوای قندهای احیایی (۳۴٪/۴) و پلی‌ساکاریدی (۲۴٪/۶۴) نسبت به شاهد شد. نتایج این بررسی نشان می‌دهد که آلانتوئین با بهبود پاسخ‌های فیزیولوژیکی گیاه می‌تواند تأثیرات منفی تنش شوری را کاهش دهد. در نتیجه، کاربرد آلانتوئین به‌عنوان یک رویکرد پایدار و سازگار با محیط‌زیست برای افزایش تحمل زوفا به شوری پیشنهاد می‌شود.

واژگان کلیدی: آلانتوئین، تنش شوری، زوفا، نشت یونی

مقدمه

گیاهی، مرحله رشد، شدت و مدت تنش بستگی دارد (Munns and Tester, 2008). در حال حاضر، یک سوم زمین‌های کشاورزی جهان به دلیل استفاده از شیوه‌های آبیاری نامناسب و استفاده بیش از حد از کودها و سموم شیمیایی دچار تنش شوری شده‌اند و آلودگی صنعتی نیز این مشکل را تشدید

شوری خاک یکی از مهم‌ترین تنش‌های غیرزیستی است که با تأثیر بر تولیدات کشاورزی، امنیت غذایی را در سراسر جهان به ویژه در مناطق خشک و نیمه‌خشک جهان به خطر می‌اندازد. پاسخ گیاهان به شوری به عوامل متعددی مانند نوع گونه

* نویسنده مسؤول، نشانی پست الکترونیکی: kh.kiarostami@alzahra.ac.ir

می‌کند (Zhao et al., 2020). خاک‌های شور تقریباً ۸۳۳ میلیون هکتار از زمین‌های کشاورزی جهان را تحت تأثیر قرار داده‌اند (FAO, 2021). تنش یونی و اسمزی ناشی از غلظت بالای نمک سبب اختلال در روابط آبی، کاهش تقسیم و گسترش سلولی، بازدارندگی ظرفیت فتوسنتزی و تغییر فرآیندهای متابولیکی گیاهان می‌شود. علاوه بر این تنش یونی و اسمزی با تولید بیش از حد گونه‌های فعال اکسیژن (reactive oxygen species) منجر به آسیب قابل توجه به ساختارهای سلولی، تغییر متابولیسم طبیعی و کاهش رشد گیاهان می‌شود (Balasubramaniam et al., 2023). سیستم دفاعی ذاتی گیاه با افزایش ستنز و تجمع آنتی‌اکسیدان‌ها و اسمولیت‌های سازگار (مانند پرولین، پروتئین‌های محلول و قندهای احیایی) از پروتئین‌ها، آنزیم‌ها و سایر مولکول‌های زیستی در برابر آسیب اکسیداتیو محافظت می‌کند. همچنین این املاح آلی با حفظ محتوای آب سلولی به بهبود عملکرد گیاه در شرایط تنش کمک می‌کند (Arif et al., 2020). گاهی اوقات سیستم دفاعی ذاتی گیاه برا مقابله با اثرات مخرب تنش شوری کافی نیست و روش‌های مناسبی مورد نیاز است که تحمل گیاهان را در شرایط تنش بهبود بخشد. کاربرد ترکیبات تعدیل‌کننده تنش مانند آلانتوئین راهکاری سریع و مقرون به صرفه برای کاهش اثرات مخرب تنش است (Raihan et al., 2023).

آلانتوئین (۵ اورییدو-هیدانتوئین) و شکل هیدرولیزشده آن (آلانتوات) به‌طورکلی اوریید نامیده می‌شوند (Werner and Witte, 2011). آلانتوئین به عنوان یک متابولیت حد واسط با تخریب اکسیداتیو پورین‌ها ایجاد می‌شود و پتانسیل بالایی برای حفاظت از گیاهان در برابر عوامل تنش‌زای محیطی دارد. اورییدها در مقایسه با فرم‌های آمیدی (گلوتامین و آسپاراژین) نسبت کربن به نیتروژن کمتری دارند و در انتقال نیتروژن بهتر عمل می‌کنند (Raihan et al., 2023). ثابت شده است که آلانتوئین در شرایط عادی با انتقال و استفاده مجدد از نیتروژن به رشدونمو گیاه کمک می‌کند. اخیراً نقش آلانتوئین در کاهش اثرات مخرب تنش‌های مختلف مانند شوری، خشکی و فلزات سنگین گزارش شده است (Kaur et al., 2023). نتایج

مطالعات مختلف نشان داده است که آلانتوئین با مهار گونه‌های فعال اکسیژن و فعال‌سازی بیوسنتز اسید آسبیزیک نقش حفاظتی خود را در برابر تنش ایفا می‌کند (Chowrasia et al., 2023). علاوه بر این آلانتوئین با بهبود وضعیت آبی گیاه، افزایش تجمع اسمولیت‌های سازگار و کاهش جذب سدیم سبب افزایش تحمل گیاهان به تنش شوری می‌شود. تأثیر آلانتوئین در کاهش اثرات مخرب تنش شوری در گیاهان مختلف گزارش شده است (Chowrasia et al., 2023; Irani and Todd, 2018; Liu et al., 2020). در پژوهشی، افشانه غلظت‌های ۰/۱ و ۱ میلی‌مولار آلانتوئین باعث افزایش وزن خشک بخش هوایی و ریشه، سطح برگ، محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی و قندهای محلول گیاه نخود در شرایط تنش شوری ۳۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم شد (Liu et al., 2020). رشد گیاه کلزا با افشانه برگ‌گی غلظت‌های ۰/۵ و ۱ میلی‌مولار آلانتوئین در شرایط تنش خشکی افزایش یافت (Raihan et al., 2023).

زوفا (*Hyssopus officinalis* L.) گیاهی معطر، چندساله و نیمه‌بوته‌ای از خانواده نعنائیان (Lamiaceae) است. این گیاه به خشکی مقاوم است و به‌طور گسترده در زیستگاه‌های آفتاب‌گیر روی خاک‌های خشک، صخره‌ای و کلسیمی در مناطق جنوبی اروپا، آسیای مرکزی و خاورمیانه رشد می‌کند (Ahmadi et al., 2020). شاخساره‌های زوفا دارای عطر و طعم کمی تند و بسیار مطبوع است و به عنوان طعم‌دهنده در صنایع غذایی استفاده می‌شود. استفاده دارویی از ترکیبات فعال موجود در شاخساره‌های زوفا سابقه طولانی دارد و تأثیر مثبت این ترکیبات در درمان التهاب حنجره، آسم، برونشیت و تبخال گزارش شده است (Skrypnik et al., 2022). همچنین اسانس و عصاره زوفا دارای خواص ضدعفونی‌کننده، ضدقارچی، ضدویروسی، ضدپلاکت و آنتی‌اکسیدانی است (Fathiazad et al., 2011). انواع مختلفی از متابولیت‌های ثانویه شامل اسانس، فنل‌ها، فلاونوئیدها و مشتقات گلیکوزیدی آن‌ها در شاخساره‌های گیاه زوفا شناسایی شده است (Ahmadi et al., 2020; Dzamic et al., 2013).

بیشتر زمین‌های حاصلخیز به تولید محصولات غذایی

اختصاص یافته و کشت گیاهان دارویی در این زمین‌ها کمتر مورد توجه قرار گرفته است. بنابراین، اراضی حاشیه‌ای، به‌ویژه آن‌هایی که تحت تأثیر تنش شوری قرار دارند، می‌توانند به کشت این گیاهان ارزشمند اختصاص یابند (Navarro-Torre et al., 2023). این امر مستلزم استفاده از روش‌های نوین کشاورزی است که توانایی گیاهان را در مواجهه با عوامل تنش‌زای محیطی بهبود بخشد. با توجه به اینکه مطالعه‌ای مبنی بر کاربرد آلانتوئین در شرایط تنش شوری در گیاه زوفا انجام نشده است، این پژوهش با هدف بررسی تأثیر افشانه برگی غلظت‌های مختلف آلانتوئین بر برخی خصوصیات ریخت‌شناسی و فیزیولوژیکی گیاه زوفا در شرایط تنش شوری انجام شد. در راستای اهداف پژوهش، پارامترهای مختلفی از جمله برخی از شاخص‌های رشدی، محتوای نسبی آب برگ، فلورسانس کلروفیل، پراکسیداسیون لیپیدها، محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی، قندهای احیایی و پلی‌ساکاریدی، پروتئین کل، آنتوسیانین و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل مورد ارزیابی قرار گرفتند.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در سال ۱۴۰۱ در گلخانه تحقیقاتی دانشگاه الزهرا تهران، با رطوبت نسبی $5 \pm 65\%$ ، دمای روز ۲۷ درجه سانتی‌گراد و دمای شب ۱۹ درجه سانتی‌گراد و دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی انجام شد. نشا دو ماهه گیاه زوفا (*Hyssopus officinalis* L.) در اواخر شهریور از پژوهشکده گیاهان دارویی جهاد دانشگاهی کرج و آلانتوئین از شرکت سیگما-آلدریج تهیه شد. در تاریخ ۲۸ شهریورماه، نشاها به گلدان‌های پلاستیکی با ارتفاع ۱۹ سانتی‌متر و قطر ۲۰ سانتی‌متر منتقل شدند. بستر کشت گلدان‌ها شامل ترکیبی از پرلیت و پیت‌ماس به نسبت برابر بود. در هر گلدان، یک نشا کاشته شد. گیاهان سه بار در هفته با محلول غذایی نیم قدرت هوگلند ($pH=6/5$) محلول‌دهی شدند. به منظور حفظ ذخیره آب و عناصر غذایی مورد نیاز گیاهان از زیر گلدانی‌های پلاستیکی استفاده شد و بستر هر هفت روز یک بار برای

جلوگیری از تجمع نمک‌ها و ایجاد شوک اسمزی با آب غیرشور شست‌وشو داده شد تا تغییرات EC و pH به حداقل برسد. مطالعه حاضر به‌صورت فاکتوریل و در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. فاکتورهای آزمایشی شامل تنش شوری حاصل از کلرید سدیم در سه سطح (صفر، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌مولار) و آلانتوئین در سه سطح (صفر، ۰/۱ و ۱ میلی‌مولار) بود. دو ماه پس از نگهداری گلدان‌ها در شرایط گلخانه‌ای، سطوح مختلف تنش شوری با استفاده از نمک کلرید سدیم اعمال گردید. برای جلوگیری از شوک اسمزی در بستر کشت، غلظت‌های ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم به تدریج به محلول غذایی نیم قدرت هوگلند افزوده شد. سه هفته پس از اعمال تنش شوری، افشانه برگی آلانتوئین در مرحله رشد رویشی در سه نوبت با فواصل زمانی هفت روزه تکرار شد. برای اجتناب از جذب تیمارهای آزمایشی توسط ریشه، سطح بستر با کیسه‌های پلاستیکی پوشانده شد. برداشت گیاهان در تاریخ ۱۹ دی‌ماه، دو هفته پس از آخرین افشانه برگی انجام شد و گیاهان هنگام برداشت در اوایل گلدهی بودند. بخشی از گیاهان برای اندازه‌گیری صفات رشدی، محتوای نسبی آب برگ، فلورسانس کلروفیل و محتوای قندهای احیایی و پلی‌ساکاریدی اختصاص داده شد. سایر گیاهان بلافاصله در نیتروژن مایع قرار داده شده و برای اندازه‌گیری صفات فیزیولوژیکی (از جمله درصد نشت یونی، محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی، پروتئین محلول، پرولین، آنتوسیانین و فعالیت آنتی‌اکسیدانی کل) در دمای ۷۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

برای اندازه‌گیری طول شاخساره و ریشه از خط‌کش استفاده شد و نتایج به سانتی‌متر گزارش گردید. برای تعیین وزن تر، شاخساره و ریشه گیاه از محل طوقه جدا و با ترازوی حساس اندازه‌گیری شد. سپس برای اندازه‌گیری وزن خشک، شاخساره و ریشه‌ها به مدت ۷۲ ساعت در آن با دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد خشک شده و وزن آن‌ها تعیین گردید.

برای اندازه‌گیری محتوای نسبی آب برگ، چند دیسک برگگی از گیاهان هر گلدان برداشت و وزن تر آن‌ها تعیین شد.

سپس دیسک‌های برگ‌ی به مدت ۲۴ ساعت در آب دیونیزه قرار داده شدند تا به حالت تورژسانس کامل برسند و وزن تورگور آن‌ها اندازه‌گیری شد. سپس برگ‌ها به مدت ۲۴ ساعت در آون با دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد خشک شده و وزن خشک آن‌ها تعیین گردید (Ritchie et al., 1990). در نهایت محتوای نسبی آب برگ با استفاده از رابطه زیر محاسبه شد.

$$RWC = \frac{\text{وزن خشک} - \text{وزن تر}}{\text{وزن خشک} - \text{وزن تورگور}}$$

برای اندازه‌گیری فلورسانس کلروفیل (Fv/Fm) از دستگاه فلورومتر قابل حمل (PAM-2000, H Wals GmbH, Effeltrich, Germany) استفاده شد. یک برگ جوان و کاملاً توسعه‌یافته از هر گل‌دان انتخاب گردید. سپس برگ مورد نظر توسط فویل آلومینیومی به مدت ۲۰ دقیقه پوشانده و به تاریکی عادت داده شد. سپس برگ در گیره نگهدارنده (سنسور) دستگاه قرار داده شد و عدد فلورسانس کلروفیل بر روی صفحه نمایش نشان داده شد (Genty et al., 1989).

برای اندازه‌گیری درصد نشت یونی (EL%)، برگ‌های تازه با آب مقطر شسته شدند و دیسک‌های برگ‌ی در فالكون‌های حاوی ۱۰ میلی‌لیتر آب دوبار تقطیر قرار داده شدند. سپس فالكون‌ها به مدت ۲۴ ساعت در محیط تاریک بر روی شیکر نگهداری شدند و هدایت الکتریکی (EC1) با استفاده از دستگاه EC متر اندازه‌گیری گردید. سپس نمونه‌ها به مدت ۱۵ دقیقه در اتوکلاو با دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند و هدایت الکتریکی آن‌ها (EC2) اندازه‌گیری شد (Lutts et al., 1996). در نهایت، با استفاده از رابطه زیر درصد نشت یونی محاسبه شد.

$$\text{نشت یونی (\%)} = \frac{EC1}{EC2} \times 100$$

به منظور اندازه‌گیری محتوای کلروفیل (Porra et al., 1989) و کاروتنوئید (Holm, 1954)، ۰/۲ گرم بافت برگ‌ی با ۵ میلی‌لیتر استون ۸۰ درصد به خوبی سائیده شد. سپس عصاره‌ها به مدت ۱۵ دقیقه با سرعت ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شدند. جذب روشناورها در طول موج ۴۴۰/۵، ۶۴۶/۶ و ۶۶۳/۶ نانومتر که بالاترین جذب کلروفیل a، کلروفیل b و کاروتنوئید

است، توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (مدل CE 1021 ساخت کمپانی CECIL انگلستان) خوانده شد. برای تنظیم دستگاه اسپکتروفتومتر از استون ۸۰ درصد به عنوان شاهد استفاده شد و در نهایت محتوای کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل و کاروتنوئید با استفاده از روابط زیر محاسبه شد. در روابط زیر A جذب خوانده شده، V حجم نهایی عصاره در استون ۸۰ درصد بر حسب میلی‌لیتر و W وزن نمونه بر حسب گرم است.

$$a \text{ کلروفیل } (mg/g \text{ FW}) = \left((12.25 \times A663.6) - (2.55 \times A646.6) \right) \times \left(\frac{V}{W} \right)$$

$$b \text{ کلروفیل } (mg/g \text{ FW}) = \left((20.31 \times A646.6) - (4.68 \times A663.6) \right) \times \left(\frac{V}{W} \right)$$

$$\text{کلروفیل کل } (mg/g \text{ FW}) = a \text{ کلروفیل} + b \text{ کلروفیل}$$

$$\text{کاروتنوئید کل } (mg/g \text{ FW}) = \left((4.69 \times A440.5) - (0.267 \times \text{Total Chl}) \right) \times \left(\frac{V}{W} \right)$$

برای اندازه‌گیری پروتئین، ۰/۱ گرم بافت برگ تازه با ۵ میلی‌لیتر سولفوسالسیلیک اسید ۳ درصد در هاون چینی به خوبی سائیده شد. سپس به مدت ۱۵ دقیقه با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. ۲ میلی‌لیتر روشناور با ۲ میلی‌لیتر معرف اسید نین‌هیدرین (تهیه‌شده از ۱/۲۵ گرم نین‌هیدرین حل شده در ۳۰ میلی‌لیتر اسید استیک گلاسیال و ۲۰ میلی‌لیتر اسید فسفریک ۶ مولار) و ۲ میلی‌لیتر اسید استیک گلاسیال مخلوط گردید. سپس لوله‌ها به مدت ۱ ساعت در حمام آب گرم با دمای ۱۰۰ درجه سلسیوس قرار گرفت. برای خاتمه واکنش، نمونه‌ها به مدت ۱۰ دقیقه روی یخ سرد شدند. سپس ۴ میلی‌لیتر تولوئن به هر لوله اضافه و نمونه‌ها به مدت ۱۵ ثانیه با دستگاه ورتکس مخلوط شدند. جذب فاز فوقانی در طول موج ۵۲۰ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شد. محتوای پروتئین با استفاده از منحنی استاندارد و بر حسب میکرومول بر گرم وزن تر محاسبه شد (Bates et al., 1973).

برای اندازه‌گیری محتوای پروتئین، ۰/۲ گرم بافت برگ‌ی با نیتروژن مایع پودر گردید. سپس ۲ میلی‌لیتر بافر فسفات با اسیدیته ۶/۸ به پودر برگ‌ی اضافه و با سرعت ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. ۲۰ میکرولیتر از عصاره استخراجی با یک میلی‌لیتر از محلول برادفورد مخلوط شده و جذب نمونه‌ها در طول موج ۵۹۵ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شد. برای رسم منحنی استاندارد از پروتئین گاما گلوبولین

پلاسمای گاوی (Bovine serum albumin) استفاده شد و در نهایت محتوای پروتئین بر حسب میلی‌گرم بر گرم پروتئین بدست آمد (Bradford, 1976).

به منظور اندازه‌گیری محتوای قندهای احیایی، برگ‌ها به مدت ۲۴ ساعت در آون خشک شده و در هاون به خوبی سائیده شدند. سپس ۰/۵ میلی‌لیتر حلال اتانول ۸۰ درصد به ۰/۵ گرم از پودر برگ اضافه شد و بعد از ۵۰ ثانیه ورتکس به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۷۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ گردید. روش‌ها به پتری‌دیش منتقل و تغال‌های باقیمانده به منظور استخراج پلی‌ساکاریدها جمع‌آوری گردید. روش‌ها پس از تبخیر در ۱۰ میلی‌لیتر آب‌مقطر گرم حل شده و به لوله‌های بلند منتقل گردید. به هر لوله ۲/۵ میلی‌لیتر باریم هیدروکسید ۰/۳ نرمال و ۱۰ میلی‌لیتر محلول سولفات روی درصد اضافه شد و به مدت ۱۵ دقیقه با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شدند. پس از جداسازی روش‌هاور فوقانی به رسوب باقی‌مانده ۸ میلی‌لیتر آب‌مقطر اضافه و دوباره سانتریفیوژ شد. روش‌هاورهای حاصل برای سنجش قندهای احیایی استفاده شد (Nelson, 1944). برای سنجش قندهای احیایی، یک میلی‌لیتر محلول کوئیوروسدیک به یک میلی‌لیتر عصاره اضافه شد و توسط ورتکس مخلوط شد. سپس لوله‌ها به مدت ۲۰ دقیقه در حمام آب جوش قرار گرفتند. پس از خنک‌شدن در دمای اتاق، به هر لوله یک میلی‌لیتر محلول آرسینومولیدات اضافه شد و حجم نهایی با آب‌مقطر به ۱۲/۵ میلی‌لیتر رسید. سپس جذب نمونه‌ها در طول موج ۵۰۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. منحنی استاندارد با غلظت‌های مختلف گلوکز بر حسب میلی‌گرم بر لیتر تعیین شد و در نهایت محتوای قندهای احیایی بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن خشک محاسبه گردید (Somogyi, 1952).

برای اندازه‌گیری قندهای پلی‌ساکاریدی، ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر به رسوب حاصل از سنجش قندهای محلول اضافه شد و به مدت ۱۰ دقیقه در حمام آب جوش قرار گرفت. سپس نمونه‌ها به مدت ۱۵ دقیقه با سرعت ۴۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد و در نهایت به حجم ۲۵ میلی‌لیتر رسانده شد و

۰/۵ میلی‌لیتر عصاره با ۱/۵ میلی‌لیتر آب‌مقطر و یک میلی‌لیتر محلول فنل ۵ درصد به خوبی مخلوط شد. سپس ۵ میلی‌لیتر سولفوریک اسید غلیظ به آن اضافه شد و پس از ۳۰ دقیقه جذب نمونه‌ها در طول موج ۴۸۵ نانومتر توسط اسپکتروفتومتر خوانده شد (Seyyednejad et al., 2001). منحنی استاندارد با غلظت‌های مختلف گلوکز بر حسب میلی‌گرم بر لیتر تعیین شد و در نهایت محتوای قندهای پلی‌ساکاریدی بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن خشک محاسبه گردید (Du Bois et al., 1956).

به منظور اندازه‌گیری محتوای آنتوسیانین (Wagner, 1979)، نمونه‌های برگ ابتدا در هاون چینی با استفاده از متانول اسیدی (یک میلی‌لیتر اسید کلریدریک و ۹۹ میلی‌لیتر متانول خالص) به‌طور کامل سائیده شدند. عصاره به مدت ۲۴ ساعت در تاریکی و در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. سپس این عصاره به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۴۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ و جذب روش‌هاور در طول موج ۵۵۰ نانومتر خوانده شد. ضریب خاموشی $M^{-1}cm^{-1}$ ۳۳۰۰۰ در نظر گرفته شد و محتوای آنتوسیانین با استفاده از رابطه $A = \epsilon bc$ محاسبه شد. در این رابطه A جذب خوانده‌شده، b عرض کووت، c غلظت محلول و ϵ ضریب خاموشی است.

برای اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی کل از آزمون درصد تخریب رادیکال آزاد اودی فنیل-۲ پیکریل هیدرازیل (DPPH) توسط عصاره گیاه استفاده گردید. برای عصاره‌گیری، ۰/۱ گرم بافت برگ خشک‌شده با ۲ میلی‌لیتر متانول ۸۰ درصد به مدت ۲۴ ساعت بر روی شیکر قرار داده شد و مخلوط حاصل با سرعت ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. یک میلی‌لیتر DPPH با غلظت ۰/۱ میلی‌مولار به ۵۰ میکرولیتر عصاره متانولی برگ زوفا اضافه شد و به خوبی مخلوط گردید. سپس نمونه‌ها به مدت ۳۰ دقیقه در تاریکی قرار گرفتند و جذب آن‌ها در طول موج ۵۱۷ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شد (Blois, 1958). اعداد به دست آمده از جذب نمونه‌ها برای اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی کل توسط رابطه زیر به درصد مهار رادیکال آزاد

DPPH تبدیل شد.

$$\text{جذب نمونه} - \text{جذب شاهد} \times 100 = \frac{(\text{جذب نمونه} - \text{جذب شاهد})}{\text{جذب شاهد}} \times 100 = (\%) \text{فعالیت آنتی اکسیدانی کل}$$

بررسی آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS 23 صورت گرفت. مقایسه میانگین داده‌ها با آزمون دانکن در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد انجام شد و برای ترسیم اشکال از نرم‌افزار Excel استفاده شد.

نتایج و بحث

شاخص‌های رشدی (طول و وزن تر و خشک شاخساره و ریشه): نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثرات ساده شوری و آلانتوئین در سطح احتمال ۱ درصد بر طول و وزن تر و خشک شاخساره معنی‌دار است. درحالی‌که اثر متقابل شوری و آلانتوئین بر طول و وزن تر و خشک شاخساره معنی‌دار نیست (جدول ۱).

نتایج مقایسه میانگین اثرات ساده نشان داد که سطوح مختلف شوری طول و وزن تر و خشک شاخساره گیاهان زوفا را کاهش معنی‌دار داد. به‌طوری‌که کمترین طول و وزن تر و خشک شاخساره در گیاهان تحت تنش ۲۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم مشاهده شد. افشانه آلانتوئین باعث افزایش طول و وزن تر و خشک شاخساره در مقایسه با گیاهان افشانه نشده گردید. به‌طوری‌که بیشترین طول و وزن تر و خشک شاخساره در گیاهان افشانه‌شده با غلظت ۰/۱ میلی‌مولار آلانتوئین ملاحظه شد که به ترتیب ۲۲/۹، ۱/۳۵ و ۳۶/۶ درصد نسبت به گیاهان افشانه‌نشده افزایش معنی‌دار داشت (جدول ۲). نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثرات ساده شوری و آلانتوئین بر طول و وزن تر و خشک ریشه در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار است (جدول ۱). ولی اثر متقابل شوری و آلانتوئین بر طول و وزن تر و خشک ریشه معنی‌دار نمی‌باشد. نتایج مقایسه میانگین اثرات ساده نشان داد که تنش شوری (۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم) باعث کاهش معنی‌دار طول و وزن تر و خشک ریشه شد. افشانه آلانتوئین باعث افزایش طول و وزن تر و خشک ریشه در مقایسه با گیاهان افشانه‌نشده شد.

به‌طوری‌که بیشترین طول و وزن تر و خشک ریشه در گیاهان افشانه‌شده با غلظت ۰/۱ میلی‌مولار آلانتوئین گزارش شد که در مقایسه با گیاهان افشانه‌نشده به ترتیب ۱۷، ۳۳/۱۶ و ۲۹/۸۴ درصد افزایش معنی‌دار داشت (جدول ۲).

محتوای نسبی آب برگ: اثرات ساده شوری و آلانتوئین و اثر متقابل آن‌ها بر محتوای نسبی آب برگ در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود (جدول ۱). همراه با افزایش غلظت کلرید سدیم محتوای نسبی آب برگ کاهش معنی‌دار نسبت به شاهد یافت و کاهش حداکثری محتوای آن در تنش شوری شدید مشاهده شد. افشانه آلانتوئین بر گیاهان تحت تنش شوری باعث افزایش محتوای نسبی آب برگ نسبت به شاهد شد. در حالی‌که افشانه آلانتوئین در شرایط بدون تنش تأثیر معنی‌داری بر محتوای نسبی آب برگ نسبت به شاهد نداشت (شکل ۱a).

فلورسانس کلروفیل (Fv/Fm): نتایج آنالیز واریانس نشان داد که اثرات ساده شوری و آلانتوئین ($P \leq 0/01$) و اثر متقابل آن‌ها ($P \leq 0/05$) بر فلورسانس کلروفیل معنی‌دار بود (جدول ۱). نتایج نشان داد که تنش شوری باعث کاهش معنی‌دار فلورسانس کلروفیل نسبت به شاهد شد. افشانه آلانتوئین در سطوح مختلف شوری باعث افزایش فلورسانس کلروفیل نسبت به شاهد شد. بیشترین فلورسانس کلروفیل (۰/۷۶) در گیاهان افشانه‌شده با غلظت‌های ۰/۱ و ۱ میلی‌مولار آلانتوئین در شرایط بدون تنش شوری و کمترین میزان آن (۰/۵۱) در گیاهان افشانه‌نشده در شرایط تنش شوری ۲۰۰ میلی‌مولار مشاهده شد (شکل ۱b).

درصد نشت یونی (EL%): اثرات ساده شوری و آلانتوئین ($P \leq 0/01$) و اثر متقابل آن‌ها ($P \leq 0/05$) بر درصد نشت یونی معنی‌دار بود (جدول ۳).

نتایج مقایسه میانگین نشان داد که درصد نشت یونی در گیاهان تحت تنش شوری نسبت به شاهد افزایش معنی‌دار یافت و بیشترین درصد نشت یونی در تنش شوری ۲۰۰ میلی‌مولار مشاهده شد که در مقایسه با گیاهان شاهد، ۲/۹ برابر افزایش معنی‌دار داشت. افشانه آلانتوئین در شرایط تنش شوری باعث کاهش معنی‌دار درصد نشت یونی در مقایسه با شاهد

جدول ۱- تجزیه واریانس اثر افشانه برگی آلانتوئین بر شاخص‌های رشدی، فلورسانس کلروفیل و محتوای نسبی آب برگ در زوفا تحت تنش شوری

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات					
		طول شاخساره	وزن تر شاخساره	وزن خشک شاخساره	طول ریشه	وزن تر ریشه	وزن خشک ریشه
شوری	۲	۳۷۳/۹**	۸۶۷/۱۱**	۲۶/۶**	۷۹۶/۳**	۳۹/۲۶۱**	۱/۶۴**
آلانتوئین	۲	۱۳۷/۷**	۳۸۶/۳۵**	۱۱/۱۱**	۱۶۲/۳**	۳۳/۳۴**	۰/۷۴۲**
شوری × آلانتوئین	۴	۰/۵۶ ^{ns}	۱/۰۹ ^{ns}	۰/۰۴۶ ^{ns}	۶/۷ ^{ns}	۰/۲۹ ^{ns}	۰/۰۰۷ ^{ns}
اشتباه آزمایشی	۱۸	۱۱/۹	۱۱/۶۱	۰/۲۳۳	۶/۳۴	۰/۹۳	۰/۰۲۱
ضریب تغییرات (%)		۶/۵۳	۷/۶۸	۶/۷	۶/۱۸	۱۰/۰۵	۶/۵

ns, * و ** به ترتیب بیانگر اختلاف غیرمعنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد است.

جدول ۲- مقایسه میانگین اثرهای شوری و آلانتوئین بر شاخص‌های رشدی گیاه زوفا

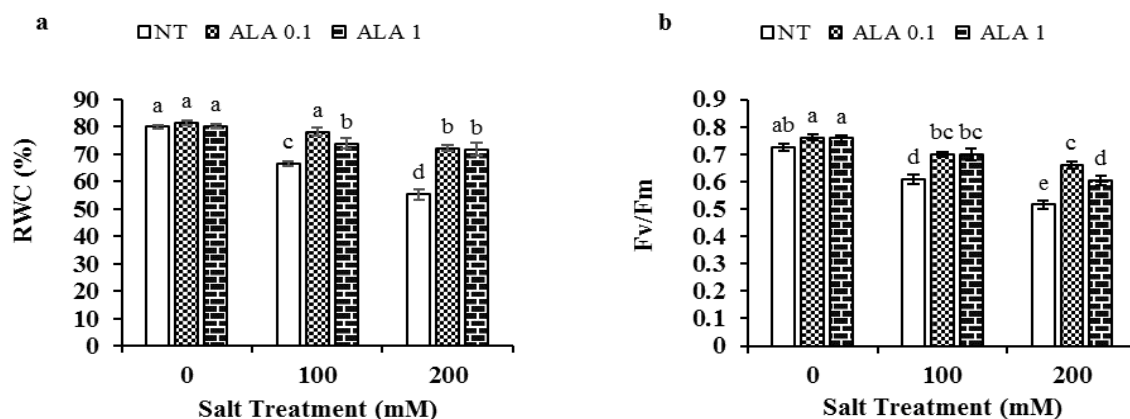
تیمار	طول ساقه	وزن تر ساقه	وزن خشک ساقه	طول ریشه	وزن تر ریشه	وزن خشک ریشه
شوری (میلی‌مولار)						
صفر	۴۶/۹ ± ۱/۲ ^a	۵۴/۵۴ ± ۲/۱ ^a	۸/۹۶ ± ۰/۳۸ ^a	۶۲/۱۷ ± ۱/۴ ^a	۱۱/۸۲ ± ۰/۵۹ ^a	۲/۶۳ ± ۰/۱۰۶ ^a
۱۰۰	۴۱ ± ۱/۶۷ ^b	۴۳/۶ ± ۲/۲۴ ^b	۷/۰۸ ± ۰/۳۳ ^b	۵۲/۹۳ ± ۱/۸۱ ^b	۹/۳ ± ۰/۴۵ ^b	۲/۱ ± ۰/۰۹۳ ^b
۲۰۰	±۰۱/۳۴ ۱/۳۹ ^c	۳۴/۹۶ ± ۱/۹۱ ^c	۵/۵۲ ± ۰/۳۲ ^c	۴۳/۳۶ ± ۱/۵۹ ^c	۷/۶۷ ± ۰/۳۸ ^c	۱/۷۸ ± ۰/۰۷ ^b
آلانتوئین (میلی‌مولار)						
صفر	۳۶/۶۸ ± ۲ ^c	۳۷/۴۲ ± ۲/۸ ^c	۶ ± ۰/۴۷ ^c	۴۸/۰۵ ± ۳/۰۲ ^b	۸/۲ ± ۰/۵۳ ^c	۱/۹۱ ± ۰/۱۱ ^c
۰/۱	۴۴/۵ ± ۲ ^a	۵۰/۴۴ ± ۳/۱ ^a	۸/۲۲۱ ± ۰/۵۶ ^a	۵۶/۱۹ ± ۲/۵۲ ^a	۱۰/۹۲ ± ۰/۷۶ ^a	۲/۴۸ ± ۰/۱۴ ^a
۱	±۸۵/۴۰ ۲/۱۴ ^b	۴۵/۲۵ ± ۳/۰۹ ^b	۷/۳۴ ± ۰/۵۱ ^b	۵۴/۲۳ ± ۳/۱۵ ^a	۹/۶ ± ۰/۶۸ ^b	۲/۲۲ ± ۰/۱۳ ^b

حروف غیرمشابه نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد است.

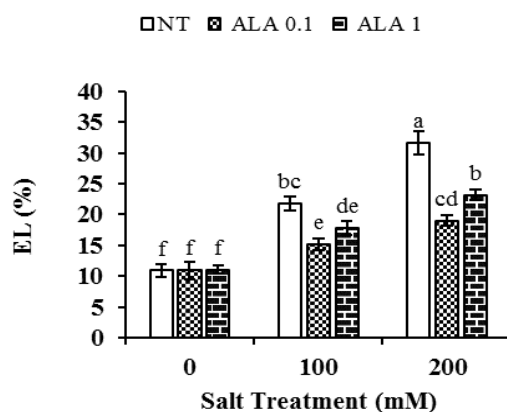
جدول ۳- تجزیه واریانس اثر افشانه برگی آلانتوئین بر درصد نشت یونی، محتوای کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل و کارتنوئید در زوفا تحت تنش شوری

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات			
		نشت یونی	کلروفیل a	کلروفیل b	کلروفیل کل
شوری	۲	۵۳۴/۸۶۱**	۱/۵۳**	۰/۲۵۷**	۰/۰۲۹**
آلانتوئین	۲	۴۱۹/۳۸**	۰/۹۰۸**	۰/۳۶۹**	۰/۰۲۴**
شوری × آلانتوئین	۴	۹۵/۴۲*	۰/۰۳۳*	۰/۰۲۸**	۰/۰۰۴ ^{ns}
اشتباه آزمایشی	۱۸	۴/۱۷	۰/۰۱۲	۰/۰۰۵	۰/۰۰۰۱۵
ضریب تغییرات (%)		۱۱/۳۷	۵/۶۱	۷/۲۹	۴/۳۴

ns, * و ** به ترتیب بیانگر اختلاف غیرمعنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد است.



شکل ۱- مقایسه میانگین اثر متقابل شوری و آلانتوئین بر (a) محتوای نسبی آب برگ و (b) فلورسانس کلروفیل گیاه زوفا. در هر ستون (میانگین حاصل از سه تکرار)، حروف مشابه بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد است. میله‌های روی ستون‌ها خطای استاندارد را در هر گروه نشان می‌دهد.

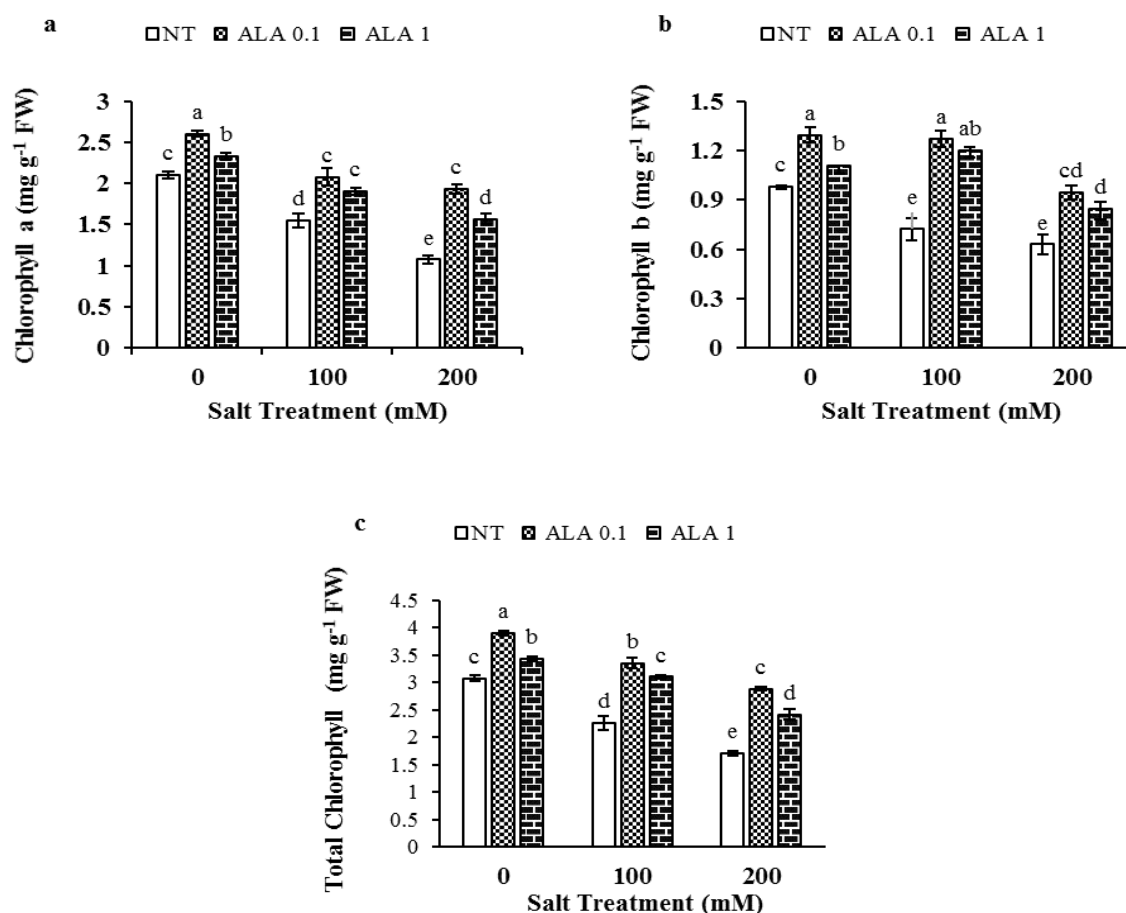


شکل ۲- مقایسه میانگین اثر متقابل شوری و آلانتوئین بر درصد نشت یونی گیاه زوفا. در هر ستون (میانگین حاصل از سه تکرار)، حروف مشابه بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد است. میله‌های روی ستون‌ها خطای استاندارد را در هر گروه نشان می‌دهد.

بوده و بر محتوای کارتنوئید معنی‌دار نمی‌باشد (جدول ۳). نتایج مقایسه میانگین نشان داد که تنش شوری منجر به کاهش معنی‌دار محتوای کلروفیل a، کلروفیل b و کلروفیل کل نسبت به شاهد شد. به‌طوری‌که در تنش ۲۰۰ مولار شوری کمترین محتوای کلروفیل a، کلروفیل b و کلروفیل کل ملاحظه شد که به ترتیب ۴۸، ۳۵/۶۷ و ۴۴/۶۴ درصد نسبت به شاهد کاهش معنی‌دار داشت. افزایش آلانتوئین در تمام سطوح شوری باعث افزایش محتوای کلروفیل a، کلروفیل b و کلروفیل کل نسبت به شاهد داشت. به‌طوریکه بیشترین محتوای کلروفیل a،

به‌طوری‌که درصد نشت یونی با افزایش غلظت ۰/۱ میلی‌مولار آلانتوئین در تنش شوری ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌مولار به‌ترتیب ۳۰/۴ و ۴۰ درصد نسبت به شاهد کاهش معنی‌دار یافت (شکل ۲).

رنگیزه‌های فتوسنتزی: نتایج آنالیز واریانس نشان داد که اثرات ساده شوری و آلانتوئین در سطح احتمال ۱ درصد بر محتوای کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل و کارتنوئید معنی‌دار بود. با این حال، اثر متقابل شوری و آلانتوئین بر محتوای کلروفیل a، کلروفیل b و کلروفیل کل در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار



شکل ۳- مقایسه میانگین اثر متقابل شوری و آلانتوئین بر محتوای (a) کلروفیل a، (b) کلروفیل b و (c) کلروفیل کل. در هر ستون (میانگین حاصل از سه تکرار)، حروف مشابه بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد است. میله‌های روی ستون‌ها خطای استاندارد را در هر گروه نشان می‌دهد.

به گیاهان افشانه‌نشده داشت (شکل ۴b).

پروتئین کل: نتایج آنالیز واریانس نشان داد که اثرات ساده شوری و آلانتوئین و اثر متقابل آن‌ها بر محتوای پروتئین در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود (جدول ۴).

نتایج مقایسه میانگین نشان داد که محتوای پروتئین در تنش شوری ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌مولار به ترتیب ۱۷/۵ و ۲۷/۵۸ درصد نسبت به شاهد کاهش معنی‌دار یافت. افشانه آلانتوئین در تمام سطوح شوری باعث افزایش معنی‌دار محتوای پروتئین نسبت به شاهد شد. به‌طوری‌که محتوای پروتئین در گیاهان افشانه شده با غلظت ۰/۱ میلی‌مولار آلانتوئین در تنش شوری ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌مولار به ترتیب ۷۲/۷۹ و ۷۰/۴۷ درصد نسبت به شاهد افزایش معنی‌دار پیدا کرد (شکل ۵a).

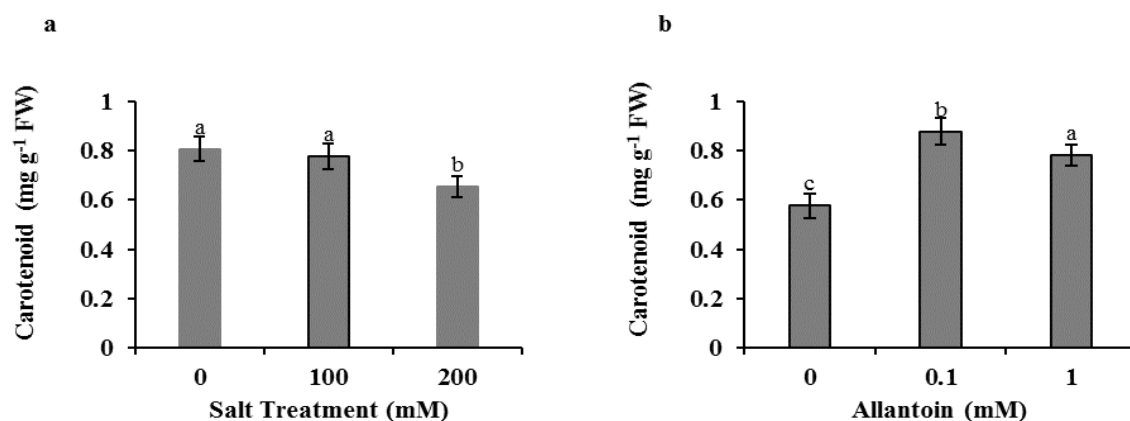
کلروفیل b و کلروفیل کل با افشانه غلظت ۰/۱ میلی‌مولار آلانتوئین در شرایط بدون تنش شوری ثبت شد که به ترتیب ۲۴/۴، ۳۲/۳۲ و ۲۶/۶۷ درصد نسبت به شاهد افزایش معنی‌دار داشت (شکل ۳a-c).

نتایج مقایسه میانگین اثرات ساده شوری و آلانتوئین نشان داد که محتوای کارتنوئید با افزایش سطح شوری نسبت به شاهد کاهش معنی‌داری یافت و بیشترین کاهش محتوای آن در تنش شوری ۲۰۰ میلی‌مولار مشاهده شد که ۲۰/۵۴ درصد در مقایسه با شرایط بدون تنش کاهش معنی‌دار نشان داد (شکل ۴a). افشانه آلانتوئین باعث افزایش محتوای کارتنوئید شد و بیشترین محتوای کارتنوئید با افشانه غلظت ۰/۱ میلی‌مولار آلانتوئین به‌دست آمد که ۵۲/۶ درصد افزایش معنی‌دار نسبت

جدول ۴- تجزیه واریانس اثر افشانه برگ آلتوتوین بر محتوای پروتئین کل، پرولین، قندهای احیایی، قندهای پلی ساکاریدی، آنتوسیانین و ظرفیت آنتی اکسیدانی کل در زوفا تحت تنش شوری

منابع تغییرات	درجه آزادی	پروتئین کل	پرولین	میانگین مربعات		ظرفیت آنتی اکسیدانی کل
				قندهای احیایی	قندهای پلی ساکاریدی	آنتوسیانین
شوری	۲	۰/۰۶۲**	۱۸۲/۷۱۵**	۹۸/۶۸**	۱۷۱/۵۰۷**	۱/۱۵۷**
آلتوتوین	۲	۰/۴۹۹**	۱۹/۸۶۷**	۲۲/۱۳**	۱۶۸/۴۰۶**	۰/۶۳۶**
شوری × آلتوتوین	۴	۰/۰۳۱**	۳/۲۶۸*	۳/۹۷*	۷/۹۷۷*	۰/۰۶۶*
اشتباه آزمایشی	۱۸	۰/۰۰۳	۱/۱۳۵	۱/۴۲	۲/۷۸۷	۰/۰۱۹
ضریب تغییرات (%)		۴/۹۵	۶/۵۲	۷/۶۱	۴/۶۵	۶/۳۲
		۳/۵۵				

ns، * و ** به ترتیب بیانگر اختلاف غیرمعنی دار و معنی دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد است.

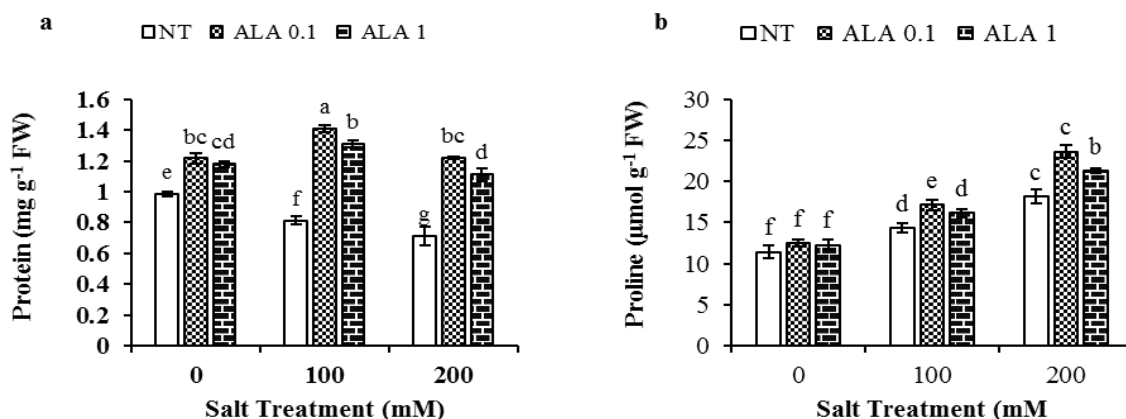


شکل ۴- مقایسه میانگین اثر (a) شوری و (b) آلتوتوین بر محتوای کارتنوئید. در هر ستون (میانگین حاصل از سه تکرار)، حروف مشابه بیانگر عدم اختلاف معنی دار بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد است. میله‌های روی ستون‌ها خطای استاندارد را در هر گروه نشان می‌دهد.

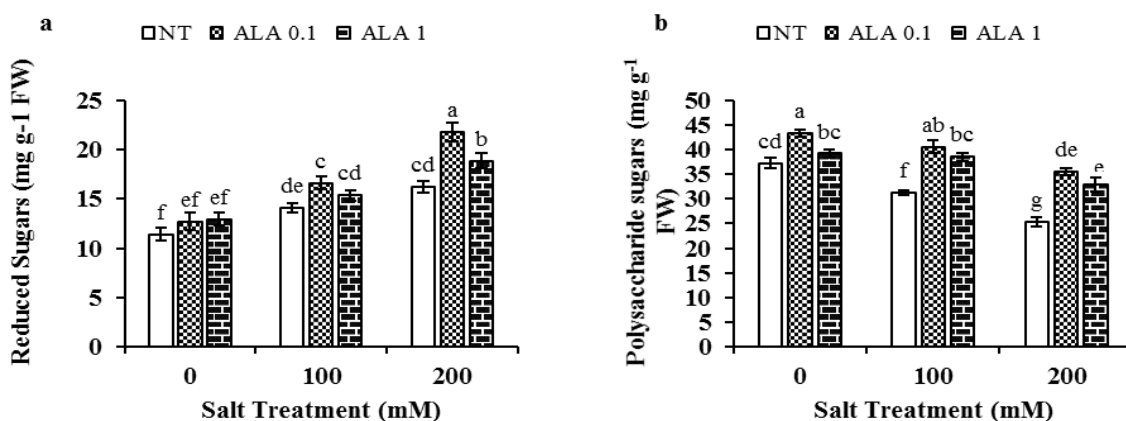
معنی دار داشت (شکل ۵b).

قندهای احیایی و پلی ساکاریدی: نتایج آنالیز واریانس نشان داد که اثرات ساده شوری و آلتوتوین ($P \geq 0.01$) و اثر متقابل آن‌ها ($P \geq 0.05$) بر محتوای قندهای احیایی و پلی ساکاریدی معنی دار بود (جدول ۴). محتوای قندهای احیایی در سطوح ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی مولار کلرید سدیم به ترتیب ۲۳/۶۱ و ۴۲/۲۶ درصد نسبت به شاهد افزایش معنی دار یافت. افشانه آلتوتوین در تمامی سطوح شوری، محتوای قندهای احیایی را نسبت به شاهد افزایش داد. بیشترین محتوای قندهای

پرولین: مطابق با نتایج آنالیز واریانس اثرات ساده شوری و آلتوتوین ($P \geq 0.01$) و اثر متقابل آن‌ها ($P \geq 0.05$) بر محتوای پرولین معنی دار بود (جدول ۴). محتوای پرولین در سطوح ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی مولار شوری به ترتیب ۲۵/۱۲ و ۵۸/۸۳ درصد افزایش معنی دار نسبت به شاهد داشت. افشانه گیاهان تحت تنش شوری با آلتوتوین باعث افزایش معنی دار محتوای پرولین در مقایسه با گیاهان شاهد شد. بیشترین محتوای پرولین در غلظت ۰/۱ میلی مولار آلتوتوین در سطح ۲۰۰ میلی مولار شوری ملاحظه شد که نسبت به شاهد، ۳۰/۱۷ درصد افزایش



شکل ۵- مقایسه میانگین اثر متقابل شوری و آلانتوئین بر محتوای (a) پروتئین و (b) پرولین گیاه زوفا. در هر ستون (میانگین حاصل از سه تکرار)، حروف مشابه بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد است. میله‌های روی ستون‌ها خطای استاندارد را در هر گروه نشان می‌دهد.



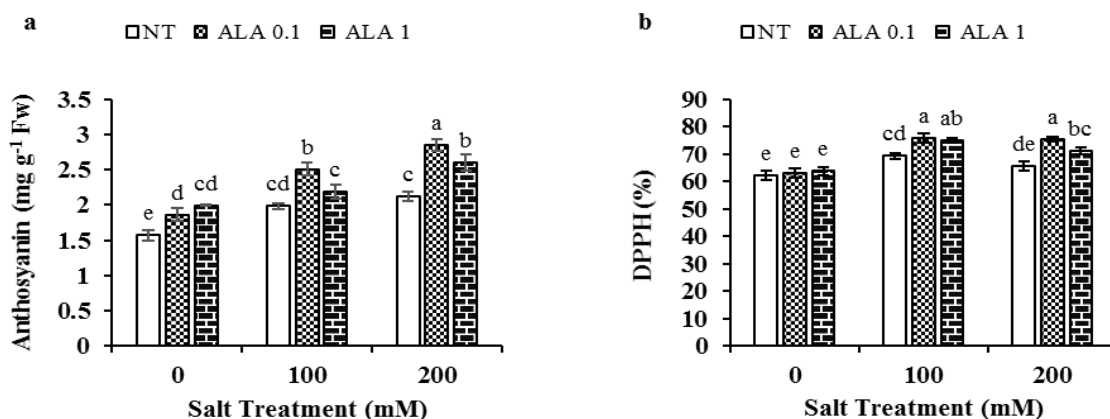
شکل ۶- مقایسه میانگین اثر متقابل شوری و آلانتوئین بر محتوای (a) قندهای احیایی و (b) قندهای پلی‌ساکاریدی گیاه زوفا. در هر ستون (میانگین حاصل از سه تکرار)، حروف مشابه بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد است. میله‌های روی ستون‌ها خطای استاندارد را در هر گروه نشان می‌دهد.

یافت. به‌طوریکه گیاهان افشانه‌شده با غلظت ۰/۱ میلی‌مولار آلانتوئین در شرایط بدون تنش بیشترین محتوای قندهای پلی‌ساکاریدی را داشتند که این افزایش نسبت به شاهد، ۱۶/۲ درصد بود (شکل ۶b).

آنتوسیانین: بر اساس نتایج آنالیز واریانس اثرات ساده شوری و آلانتوئین ($P \leq 0/01$) و اثر متقابل آن‌ها ($P \leq 0/05$) بر محتوای آنتوسیانین معنی‌دار بود (جدول ۴). محتوای آنتوسیانین در اثر تنش شوری نسبت به شاهد به طور معنی‌داری افزایش یافت. افشانه آلانتوئین در تمامی سطوح

احیایی در غلظت ۰/۱ میلی‌مولار آلانتوئین در تنش شوری ۲۰۰ میلی‌مولار مشاهده گردید که نسبت به شاهد، ۳۴/۴۴ درصد افزایش داشت (شکل ۶a).

محتوای قندهای پلی‌ساکاریدی با افزایش سطح شوری به‌طور معنی‌داری نسبت به شاهد کاهش یافت. به‌طوری‌که کمترین محتوای آن در تنش شوری بالا (۲۰۰ میلی‌مولار) مشاهده شد که در مقایسه با شاهد، ۳۹ درصد کاهش معنی‌دار داشت. محتوای قندهای پلی‌ساکاریدی با افشانه آلانتوئین در تمام سطوح شوری به‌طور معنی‌داری نسبت به شاهد افزایش



شکل ۷- مقایسه میانگین اثر متقابل شوری و آلانتوئین بر (a) محتوای آنتوسیانین و (b) فعالیت آنتی اکسیدانی کل (DPPH) گیاه زوفا. در هر ستون (میانگین حاصل از سه تکرار)، حروف مشابه بیانگر عدم اختلاف معنی دار بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد است. میله های روی ستونها خطای استاندارد را در هر گروه نشان می دهد.

دسترسی ریشه ها به آب، بر هم خوردن توازن عناصر غذایی، افزایش تولید گونه های فعال اکسیژن و پراکسیداسیون لیپیدهای غشایی از جمله عوامل مهمی است که رشد گیاهان را در محیط های شور با مشکل مواجه می کند. علاوه بر این گیاهان با بستن روزنه ها، کاهش تقسیم و گسترش سلولی و کاهش انتقال تعدادی از هورمون ها مانند سیتوکینین به تنش شوری پاسخ می دهند و این سازوکارها در نهایت منجر به کاهش رشد می شوند (Arif et al., 2020). همچنین پراکسیداسیون لیپیدهای غشا کلروپلاست ها سبب مختل شدن فتوسنتز و کاهش زیست توده گیاهان می شود. افشانه برگگی آلانتوئین سبب افزایش شاخص های رشدی در شرایط تنش شوری شد و اثرات مخرب شوری را تعدیل کرد. مطالعات انجام شده بر گیاه چغندر قند نشان داد که آلانتوئین با افزایش ترشح هورمون هایی مانند ایندول استیک اسید، سیتوکینین و جیبرلین باعث افزایش وزن تر و خشک گیاه در شرایط تنش شوری شد (Yu et al., 2024). در مطالعه ای دیگر، تیمار گیاهان آرابیدوپسیس و کلزا با آلانتوئین از طریق کاهش گونه های فعال اکسیژن و افزایش حفاظت از غشاهای سلولی سبب افزایش شاخص های رشدی در شرایط تنش شد (Raihan et al., 2023; Liu et al., 2020). فلورسانس کلروفیل (Fv/Fm) یک شاخص حساس به تنش های محیطی است و یک معیار مناسب جهت بیان و

شوری باعث افزایش محتوای آنتوسیانین شد. به طوری که بیشترین محتوای آنتوسیانین در گیاهان افشانه شده با غلظت ۰/۱ میلی مولار آلانتوئین در تنش شوری ۲۰۰ میلی مولار مشاهده شد، که نسبت به گیاهان شاهد ۳۵/۵۵ درصد افزایش داشت (شکل ۷a).

فعالیت آنتی اکسیدانی کل (DPPH): نتایج آنالیز واریانس نشان داد که اثرات ساده شوری و آلانتوئین ($P \geq 0.01$) و اثر متقابل آنها ($P \geq 0.05$) بر فعالیت آنتی اکسیدانی کل معنی دار بود (جدول ۴). سطوح ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی مولار شوری فعالیت آنتی اکسیدانی کل را به ترتیب ۱۱/۴۶ و ۵/۳۸ درصد نسبت به شاهد افزایش داد. افشانه آلانتوئین در تمامی سطوح شوری باعث افزایش فعالیت آنتی اکسیدانی کل شد. به طوری که بیشترین فعالیت آنتی اکسیدانی کل با افشانه غلظت ۰/۱ میلی مولار آلانتوئین در تنش شوری ۱۰۰ میلی مولار مشاهده شد که نسبت به شاهد ۹/۵ درصد افزایش معنی دار داشت (شکل ۷b).

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که شاخص های رشدی گیاه زوفا با افزایش سطح شوری به طور معنی داری نسبت به شاهد کاهش یافت. در چند دهه اخیر مطالعات متعددی گزارش کرده اند که رشد بسیاری از گیاهان از جمله زوفا تحت تنش شوری کاهش می یابد (Jahantigh et al., 2016). کاهش

برآورد راندمان فتوشیمیایی فتوسیستم II است. مطالعات مختلفی نشان داده‌اند که کارایی فتوسیستم II، زنجیره انتقال الکترون و میزان جذب CO_2 در بسیاری از گیاهان در شرایط تنش شوری کاهش می‌یابد (Stepien and Klobus, 2005). نتایج حاضر نشان داد که تنش شوری سبب کاهش فلورسانس کلروفیل گیاهان زوفا شد. مقادیر بالای فلورسانس کلروفیل در اثر تیمار با آلانتوئین نشان‌دهنده این امر است که آلانتوئین می‌تواند اثرات مضر شوری بر فتوسیستم II را کاهش دهد (Liu et al., 2020).

افزایش میزان تعرق در شرایط تنش شوری منجر به اختلال در تعادل آبی گیاه و کاهش محتوای نسبی آب برگ می‌شود (Arif et al., 2020). در این مطالعه تنش شوری سبب کاهش محتوای نسبی آب برگ گردید. گزارش شده است که کاربرد آلانتوئین در شرایط تنش خشکی با مهار گونه‌های فعال اکسیژن، تجمع پرولین و حفظ پایداری غشا سبب افزایش محتوای نسبی آب گیاهان کلزا شد که مطابق با نتایج مطالعه حاضر است (Raihan et al., 2023).

مطالعات انجام‌شده توسط Jahantigh و همکاران (۲۰۱۶) نشان داد که محتوای کلروفیل و کاروتنوئید گیاهان زوفا در اثر تنش شوری کاهش می‌یابد که مطابق با نتایج مطالعه حاضر است. مطالعات مختلف نشان داده است که کاهش کلروفیل عمدتاً به دلیل تخریب ساختمان کلروپلاست و دستگاه فتوسنتزی، فتواکسیداسیون کلروفیل‌ها، تخریب پیش‌ماده‌های کلروفیل و یا ممانعت از بیوسنتز کلروفیل است (Arif et al., 2020). مطالعات انجام‌شده بر کلزا نشان داد که کاربرد آلانتوئین باعث افزایش محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی در شرایط تنش خشکی شد که مطابق با بررسی حاضر است. به نظر می‌رسد آلانتوئین با مهار گونه‌های فعال اکسیژن، کاهش جذب و انتقال سدیم و محافظت از آنزیم‌های کلروپلاستی مانند روبیسکو باعث افزایش محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی در شرایط تنش خشکی می‌شود (Liu et al., 2020).

با توجه به نقش حیاتی غشاها در تنظیم متابولیسم سلول و عملکرد اندامک‌ها، نشت الکترولیت‌ها به‌عنوان شاخصی برای

سنجش آسیب به غشاهای زیستی استفاده می‌شود. در مطالعه حاضر، تنش شوری به طور قابل توجهی باعث افزایش نشت یونی شد. مطالعات متعددی نشان داده‌اند که تنش شوری با تولید گونه‌های فعال اکسیژن باعث اختلال در عملکرد و ساختار غشاهای سلولی شده و نشت مواد سیتوپلاسمی را افزایش می‌دهد (Munns and Tester, 2008). آسیب به غشا و افزایش نشت یونی در گیاه زوفا در شرایط تنش شوری گزارش شده است که با نتایج مطالعه حاضر همخوانی دارد (Jahantigh et al., 2016). با توجه به نتایج این بررسی به نظر می‌رسد آلانتوئین با افزایش ترکیبات دفاعی مانند آنتوسیانین‌ها، قندهای احیایی، پروتئین‌ها و پرولین باعث مهار گونه‌های فعال اکسیژن و کاهش آسیب به غشای پلاسمایی می‌شود (Kaur et al., 2023).

تنش‌هایی نظیر خشکی و شوری باعث اختلال در وضعیت آبی گیاه و بروز تنش اسمزی می‌شوند. گیاهان برای مقابله با این تنش‌ها از سازوکارهای مختلفی استفاده می‌کنند. یکی از این سازوکارهای کلیدی، افزایش چشمگیر اسمولیت‌های سازگار مانند پرولین، پروتئین‌های محلول، سایر اسیدهای آمینه و قندهای احیایی است که به حفظ تعادل اسمزی کمک می‌کنند. مطابق با بررسی حاضر، کاهش محتوای پروتئین محلول در اثر تنش شوری در گیاه پسته (Kamab et al., 2014) و ماش (Rahman et al., 2019) گزارش شده است. کاهش محتوای پروتئین تحت شرایط تنش شوری می‌تواند ناشی از واکنش پروتئین‌ها با رادیکال‌های آزاد، کاهش زیرواحدهای آنزیم روبیسکو، افزایش فعالیت آنزیم‌های پروتئاز و کاهش سنتز پروتئین باشد. اسیدهای آمینه حاصل از فعالیت بالای پروتئازها در تنظیم اسیدیته سلول، ذخیره‌سازی نیتروژن، حفاظت از ماکرومولکول‌های سلولی، تنظیم اسمزی، سم‌زدایی و مهار رادیکال‌های آزاد نقش دارند (Arif et al., 2020; Parida et al., 2004). به نظر می‌رسد که آلانتوئین به‌طور غیرمستقیم و توسط افزایش تولید آنتی‌اکسیدان‌های غیرآنزیمی مانند قندهای احیایی و آنتوسیانین باعث کاهش تولید گونه‌های فعال اکسیژن و افزایش محتوای پروتئین می‌شود. همچنین،

محتوای پروتئین ارتباط مستقیمی با سطح نیتروژن گیاه دارد و احتمالاً آلانتوئین با افزایش محتوای نیتروژن، موجب تجمع پروتئین در سطوح مختلف شوری (۲۰۰-۰ میلی مولار) می شود (Kaur et al., 2023).

پرولین یکی از اسیدهای آمینه مهم است که نقش اساسی در پاسخ به تنش شوری دارد و افزایش آن در شرایط تنش شوری در مطالعات متعددی گزارش شده است. پرولین با تنظیم فشار اسمزی، به حفظ تعادل آبی سلولها در شرایط تنش شوری کمک می کند. علاوه بر این پرولین توانایی مهار گونه های فعال اکسیژن را دارد و به عنوان یک چاپرون مولکولی از ساختارهای مختلف پروتئینها محافظت می کند (Al-Zahrani et al., 2021; Arif et al., 2020). مطالعه انجام شده بر گیاه آراییدوپسیس نشان داد که آلانتوئین باعث افزایش قابل توجه محتوای پرولین در شرایط تنش شوری نسبت به شاهد شد، که با نتایج بررسی حاضر همخوانی دارد (Irani and Todd, 2018).

تجزیه پلی ساکاریدها در شرایط تنش اسمزی افزایش می یابد که منجر به تجمع بیشتر قندهای محلول و احیایی می شود (Liang et al., 2021). قندهای احیایی علاوه بر حفظ تعادل اسمزی، با سم زدایی گونه های فعال اکسیژن از یکپارچگی غشاهای زیستی حفاظت کرده و مانع از تجمع و دنا توره شدن پروتئینها می شوند (Arif et al., 2020; Munns and Tester, 2008; Raihan et al., 2023). در مطالعه حاضر، تأثیر آلانتوئین بر افزایش قندهای احیایی و پلی ساکاریدی در گیاه زوفا می تواند به دلیل نقش مثبت آلانتوئین در بهبود ساختار و عملکرد سیستم فتوسنتزی در شرایط تنش شوری باشد (Yu et al., 2024).

نتایج حاضر نشان داد که محتوای آنتوسیانین با افزایش شوری روند افزایشی داشت. افزایش محتوای آنتوسیانین در شرایط تنش شوری در زوفا (Jahantigh et al., 2016) و بادرنبویه (Hawrylak-Nowak et al., 2021) گزارش شده است. آنتوسیانین از جمله ترکیبات فنلی است، که در پاسخ به تنش اکسیداتیو تجمع می یابد. این ترکیب با خاصیت

آنتی اکسیدانی از گیاه در برابر گونه های فعال اکسیژن حفاظت می کند. همچنین آنتوسیانین با کاهش پتانسیل اسمزی می تواند وضعیت آبی گیاه را در شرایط تنش اسمزی بهبود دهد (Chalker-Scott 2002; Landi et al., 2015). آلانتوئین در تمامی سطوح شوری باعث افزایش محتوای آنتوسیانین شد. بر اساس نتایج مربوط به محتوای نسبی آب برگ و ظرفیت آنتی اکسیدانی کل، به نظر می رسد که آنتوسیانین با تعدیل گونه های فعال اکسیژن و کمک به تنظیم اسمزی گیاه اثرات مخرب تنش شوری را کاهش داد (Kaur et al., 2023).

مهار رادیکال آزاد DPPH به عنوان یک روش متداول برای اندازه گیری فعالیت آنتی اکسیدانی در گیاهان دارویی و معطر استفاده می شود و ظرفیت گیاهان را برای مقابله با تنش نشان می دهد (Krishnaiah et al., 2011). مطالعه انجام شده بر گیاه کاملینا (*Camelina sativa* L.) نشان داد که تنش شوری با افزایش محتوای آنتوسیانین سبب افزایش فعالیت آنتی اکسیدانی شد (Hezaveh et al., 2020). همچنین افزایش فعالیت آنتی اکسیدانی در گیاه ماش (Al-Zahrani et al., 2021) و بادرشبو (Hawrylak-Nowak et al., 2021) در شرایط تنش شوری گزارش شده است. به نظر می رسد که آلانتوئین به طور غیرمستقیم و از طریق افزایش ترکیبات فنلی مانند آنتوسیانین، باعث افزایش فعالیت آنتی اکسیدانی در شرایط تنش شده است.

نتیجه گیری

نتایج به دست آمده نشان داد که تنش شوری باعث کاهش شاخص های رشدی، رنگی های فتوسنتزی، محتوای نسبی آب برگ، فلورسانس کلروفیل در گیاهان زوفا شد. در مقابل، محتوای قندهای احیایی، پرولین، آنتوسیانین و ظرفیت آنتی اکسیدانی کل افزایش یافت که نوعی سازگاری گیاه با شرایط تنش محسوب می شود. تیمار گیاهان تحت تنش شوری با آلانتوئین (۰/۱ و ۱ میلی مولار) با افزایش محتوای قندهای احیایی، پرولین، پروتئین های محلول و آنتوسیانین سبب کاهش نشت یونی، بهبود توان آنتی اکسیدانی، افزایش محتوای نسبی آب برگ و ممانعت از تخریب رنگی های

فتوستتزی گردید. با توجه به اینکه آلانتوئین یک ماده سازگار با محیط‌زیست است، می‌توان از آن به‌عنوان یک راهکار مؤثر و مفید برای افزایش تحمل گونه دارویی مهم زوفا در شرایط

منابع

- Ahmadi, H., Babalar, M., Sarcheshmeh, M. A. A., Morshedloo, M. R., & Shokrpour, M. (2020). Effects of exogenous application of citrulline on prolonged water stress damages in hyssop (*Hyssopus officinalis* L.): Antioxidant activity, biochemical indices, and essential oils profile. *Food Chemistry*, 333, 127433. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127433>
- Al-Zahrani, H. S., Alharby, H. F., Hakeem, K. R., & Rehman, R. U. (2021). Exogenous application of zinc to mitigate the salt stress in *Vigna radiata* (L.) Wilczek—Evaluation of physiological and biochemical processes. *Plants*, 10(5), 1005. <https://doi.org/10.3390/plants10051005>
- Arif, Y., Singh, P., Siddiqui, H., Bajguz, A., & Hayat, S. (2020). Salinity induced physiological and biochemical changes in plants: An omic approach towards salt stress tolerance. *Plant Physiology and Biochemistry*, 156, 64-77. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2020.08.042>
- Balasubramaniam, T., Shen, G., Esmaili, N., & Zhang, H. (2023). Plants' response mechanisms to salinity stress. *Plants*, 12(12), 2253. <https://doi.org/10.3390/plants12122253>
- Blois, M. S. (1958). Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*, 181(4617), 1199-1200. <https://doi.org/10.1038/1811199a0>
- Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72(1-2), 248-254. <https://doi.org/10.1006/abio.1976.9999>
- Bates, L. S., Waldren, R. P., & Teare, I. D. (1973). Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and Soil*, 39(1), 205-207. <https://doi.org/10.1007/bf00018060>
- Chalker-Scott, L. (2002). Do anthocyanins function as osmoregulators in leaf tissues? *Advances in Botanical Research*, 103-127. [https://doi.org/10.1016/s0065-2296\(02\)37046-0](https://doi.org/10.1016/s0065-2296(02)37046-0)
- Chowrasia, S., Nishad, J., Mahato, R., Kiran, K., Rajkumari, N., Panda, A. K., Rawal, H. C., Barman, M., & Mondal, T. K. (2023). Allantoin improves salinity tolerance in Arabidopsis and rice through synergid activation of abscisic acid and brassinosteroid biosynthesis. *Plant Molecular Biology*, 112(3), 143-160. <https://doi.org/10.1007/s11103-023-01350-8>
- Du Bois, M., Gilles, K. A., Hamilton, J. K., Rebers, P. A., & Smith, F. (1956). Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical Chemistry*, 28(3), 350-356. <https://doi.org/10.1021/ac60111a017>
- Dzamic, A. M., Sokovic, M. D., Novakovic, M., Jadranin, M., Ristic, M. S., Tesevic, V., & Marin, P. D. (2013). Composition, antifungal and antioxidant properties of *Hyssopus officinalis* L. subsp. pilifer (Pant.) Murb. essential oil and deodorized extracts. *Industrial Crops and Products*, 51, 401-407. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2013.09.038>
- Fathiazad, F., Mazandarani, M., & Hamedeyazdan, S. (2011). Phytochemical analysis and antioxidant activity of *Hyssopus officinalis* L. from Iran. *Advanced Pharmaceutical Bulletin*, 6(1), 131-136. <https://doi.org/10.15171/apb.2016.019>
- FAO. (2021). Global Map of Salt-Affected Soils (GSASmap). Retrieved from <https://www.fao.org/soils-portal/data-hub/soil-maps-and-databases/global-map-of-salt-affected-soils/en/>
- Genty, B., Briantais, J. M., & Baker, N. R. (1989). The relationship between the quantum yield of photosynthetic electron transport and quenching of chlorophyll fluorescence. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*, 990(1), 87-92. [https://doi.org/10.1016/s0304-4165\(89\)80016-9](https://doi.org/10.1016/s0304-4165(89)80016-9)
- Hawrylak-Nowak, B., Dresler, S., Stasinska-Jakubas, M., Wojciak, M., Sowa, I., & Matraszek-Gawron, R. (2021). NaCl-induced elicitation alters physiology and increases accumulation of phenolic compounds in *Melissa officinalis* L. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(13), 6844. <https://doi.org/10.3390/ijms22136844>
- Hezaveh, T. A., Rahmani, F., Alipour, H., & Pourakbar, L. (2020). Effects of foliar application of ZnO nanoparticles on secondary metabolite and micro-elements of camelina (*Camelina sativa* L.) under salinity stress. *Journal of Stress Physiology and Biochemistry*, 16(4), 54-69.
- Holm, G. (1954). Chlorophyll mutations in barley. *Acta Agriculturae Scandinavica*, 4(1), 457-471. <https://doi.org/10.1080/00015125409439955>
- Irani, S., & Todd, C. D. (2018). Exogenous allantoin increases Arabidopsis seedlings tolerance to NaCl stress and regulates expression of oxidative stress response genes. *Journal of Plant Physiology*, 221, 43-50. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2017.11.011>

- Jahantigh, O., Najafi, F., Badi, H. N., Khavari-Nejad, R. A., & Sanjarian, F. (2016). Changes in antioxidant enzymes activities and proline, total phenol and anthocyanin contents in *Hyssopus officinalis* L. plants under salt stress. *Acta Biologica Hungarica*, 67(2), 195-204. <https://doi.org/10.1556/018.67.2016.2.7>
- Kamiab, F., Talaie, A., Khezri, M., & Javanshah, A. (2014). Exogenous application of free polyamines enhances salt tolerance of pistachio (*Pistacia vera* L.) seedlings. *Plant Growth Regulation*, 72(3), 257-268. <https://doi.org/10.1007/s10725-013-9857-9>
- Kaur, R., Chandra, J., Varghese, B., & Keshavkant, S. (2023). Allantoin: A potential compound for the mitigation of adverse effects of abiotic stresses in plants. *Plants*, 12(17), 3059. <https://doi.org/10.3390/plants12173059>
- Krishnaiah, D., Sarbatly, R., & Nithyanandam, R. (2011). A review of the antioxidant potential of medicinal plant species. *Food and Bioproducts Processing*, 89(3), 217-233. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2010.04.008>
- Landi, M., Tattini, M., & Gould, K. S. (2015). Multiple functional roles of anthocyanins in plant-environment interactions. *Environmental and Experimental Botany*, 119, 4-17. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2015.05.012>
- Liang, Y., Wei, G., Ning, K., Li, M., Zhang, G., Luo, L., Zhao, G., Wei, J., Liu, Y., & Dong, L. (2021). Increase in carbohydrate content and variation in microbiome are related to the drought tolerance of *Codonopsis pilosula*. *Plant Physiology and Biochemistry*, 165, 19-35. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2021.05.004>
- Liu, L., Liu, D., Wang, Z., Zou, C., Wang, B., Zhang, H., Gai, Z., Zhang, P., Wang, Y., & Li, C. (2020). Exogenous allantoin improves the salt tolerance of sugar beet by increasing putrescine metabolism and antioxidant activities. *Plant Physiology and Biochemistry*, 154, 699-713. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2020.06.034>
- Lutts, S., Kinet, J., & Bouharmont, J. (1996). NaCl-induced senescence in leaves of rice (*Oryza sativa* L.) cultivars differing in salinity resistance. *Annals of Botany*, 78(3), 389-398. <https://doi.org/10.1006/anbo.1996.0134>
- Munns, R., & Tester, M. (2008). Mechanisms of salinity tolerance. *Annual Review of Plant Biology*, 59, 651-681. <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.59.032607.092911>
- Nelson, N. (1944). A photometric adaptation of the Somogyi method for the determination of glucose. *Journal of Biological Chemistry*, 153(2), 375-380. [https://doi.org/10.1016/s0021-9258\(18\)71980-7](https://doi.org/10.1016/s0021-9258(18)71980-7)
- Navarro-Torre, S., Garcia-Caparrós, P., Nogales, A., Abreu, M. M., Santos, E., Cortinhas, A. L., & Caperta, A. D. (2023). Sustainable agricultural management of saline soils in arid and semi-arid Mediterranean regions through halophytes, microbial and soil-based technologies. *Environmental and Experimental Botany*, 212, 105397. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2023.105397>
- Parida, A. K., Das, A. B., Mitra, B., & Mohanty, P. (2004). Salt-stress induced alterations in protein profile and protease activity in the mangrove *Bruguiera parviflora*. *Zeitschrift fur Naturforschung C*, 59(5-6), 408-414. <https://doi.org/10.1515/znc-2004-5-622>
- Porra, R. J., Thompson, W. A., & Kriedemann, P. E. (1989). Determination of accurate extinction coefficients and simultaneous equations for assaying chlorophylls a and b extracted with four different solvents: Verification of the concentration of chlorophyll standards by atomic absorption spectroscopy. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics*, 975(3), 384-394. [https://doi.org/10.1016/s0005-2728\(89\)80347-0](https://doi.org/10.1016/s0005-2728(89)80347-0)
- Rahman, M. M., Mostofa, M. G., Rahman, M. A., Islam, M. R., Keya, S. S., Das, A. K., ... & Tran, L. S. P. (2019). Acetic acid: A cost-effective agent for mitigation of seawater-induced salt toxicity in mung bean. *Scientific reports*, 9(1), 15186. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-51178-w>
- Raihan, M. R. H., Rahman, M., Rastogi, A., Fujita, M., & Hasanuzzaman, M. (2023). Exogenous allantoin confers rapeseed (*Brassica campestris*) tolerance to simulated drought by improving antioxidant metabolism and physiology. *Antioxidants*, 12(8), 1508. <https://doi.org/10.3390/antiox12081508>
- Ritchie, S. W., Nguyen, H. T., & Holaday, A. S. (1990). Leaf water content and gas-exchange parameters of two wheat genotypes differing in drought resistance. *Crop Science*, 30(1), 105-111. <https://doi.org/10.2135/cropsci1990.0011183x003000010025x>
- Seyyednejad, M., Ebrahimzadeh, H., & Talaie, A. (2001). Carbohydrate content in olive Zard cv and alternate bearing pattern. *International Sugar Journal*, 103(1226), 84-87. <https://doi.org/10.3923/pjbs.2007.2744.2747>
- Skrypnik, L., Feduraev, P., Golubkina, N., Maslennikov, P., Antipina, M., Katserov, D., Murariu, O. C., Tallarita, A. V., & Caruso, G. (2024). Foliar spraying of selenium in inorganic and organic forms stimulates plant growth and secondary metabolism of sage (*Salvia officinalis* L.) through alterations in photosynthesis and primary metabolism. *Scientia Horticulturae*, 338, 113633. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2024.113633>
- Somogyi, M. (1952). Notes on sugar determination. *Journal of Biological Chemistry*, 195(1), 19-23. [https://doi.org/10.1016/s0021-9258\(19\)50870-7](https://doi.org/10.1016/s0021-9258(19)50870-7)
- Stepien, P., & Klobus, G. (2005). Antioxidant defense in the leaves of C3 and C4 plants under salinity stress. *Physiologia Plantarum*, 125(1), 31-40. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.2005.00534.x>
- Wagner, G. J. (1979). Content and vacuole/extravacuole distribution of neutral sugars, free amino acids, and anthocyanin in protoplasts. *Plant Physiology*, 64(1), 88-93. <https://doi.org/10.1104/pp.64.1.88>
- Werner, A. K., & Witte, C. P. (2011). The biochemistry of nitrogen mobilization: Purine ring catabolism. *Trends in Plant Science*, 16(8), 381-387. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2011.03.011>

- Yu, X. R., Zhao, J. N., Zhuang, Y. L., Zhao, L. H., Wang, C., Yang, X. F., Wang, Y. B., & Li, C. F. (2024). Effects of spraying allantoin at different stages on inorganic nitrogen assimilation, endogenous hormones, yield. <https://doi.org/10.1007/s12355-024-01420-1>
- Zhao, C., Zhang, H., Song, C., Zhu, J. K., & Shabala, S. (2020). Mechanisms of plant responses and adaptation to soil salinity. *The Innovation*, 1(1). <https://doi.org/10.1016/j.xinn.2020.100017>

Effect of allantoin on some morphological and physiological traits of hyssop (*Hyssopus Officinalis* L.) under salt stress and hydroponic cultivation

Nilloofar Mostafavi, Khadijeh Kiarostami*, Mona Sorahinobar

Department of Plant Sciences, Faculty of Biological Sciences, Alzahra University, Tehran, Iran
(Received: 2024/10/19, Accepted: 2025/01/21)

Abstract

Given the limited availability of arable land and the prioritization of food crops, cultivating medicinal plants on saline soils presents a viable alternative. To investigate allantoin's influence on hyssop (*Hyssopus officinalis* L.) growth and physiology under salt stress, a factorial experiment was conducted in hydroponic systems at Al-Zahra University. The treatments consisted of three salinity levels (0, 100, and 200 mM sodium chloride) and three allantoin levels (0, 0.1, and 1 mM). Salinity, especially at 200 mM, significantly reduced shoot dry weight (41.52%), relative leaf water content (30.83%), chlorophyll fluorescence (29%), total chlorophyll (43.5%), protein (27%), and polysaccharide sugar (32%) contents compared to the control. Ion leakage (2.9-fold) and proline content (1.6-fold) increased under stress conditions compared to the control. Application of 0.1 and 1 mM allantoin at different salinity levels improved some physiological characteristics compared to the control. In particular, 0.1 mM allantoin concentration under 200 mM salinity stress significantly mitigated ion leakage (40.20%) and increased total chlorophyll content (65.8%), relative leaf water content (30.52%), chlorophyll fluorescence (27.83%), protein (70.47%), proline (30.24%), anthocyanin (34.55%) contents, antioxidant capacity (15.07%), reducing sugar (34.4%), and polysaccharide sugar (24.64%) contents compared to the control. These findings suggest that allantoin can alleviate the detrimental effects of salt stress by bolstering plant physiological responses. Consequently, allantoin application is proposed as a sustainable and environmentally friendly approach to increase hyssop's salinity tolerance.

Keywords: Allantoin, Hyssop, Ion Leakage, Salinity

Corresponding author, Email: kh.kiarostami@alzahra.ac.ir