

اثرات تنش‌های مستقل و توأم خشکی و شوری بر صفات زراعی، متابولیت‌های ثانویه و فعالیت آن‌تی‌اکسیدانی گیاه خلال دندان (*Ammi visnaga* L.)

گلناز عرب^۱، پوران‌دخت گلکار*^۱، محمدرضا وهابی^۱ و حمیدرضا عشقی‌زاده^۲

^۱ گروه مرتع و آبخیزداری، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه صنعتی اصفهان، اصفهان، ایران

^۲ گروه تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان، اصفهان، ایران

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۴/۲۱، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۴۰۱/۰۸/۲۴)

چکیده

تنش‌های خشکی و شوری از مهمترین تنش‌های موجود در زمین‌های کشاورزی جهان و به‌ویژه ایران است، که به سرعت در حال گسترش می‌باشد. در این مطالعه، اثرات مستقل و توأم تنش‌های شوری و خشکی، بر صفات زراعی و بیوشیمیایی گیاه دارویی خلال دندان مورد مطالعه قرار گرفت. آزمایش به صورت اسپلیت پلات و در قالب طرح بلوک کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. سطوح مختلف آبیاری (بر اساس ۵۰، ۷۰ و ۸۵ درصد میزان تخلیه ظرفیت زراعی خاک به ترتیب به عنوان شاهد، تنش متوسط و تنش شدید) و سطوح مختلف شوری (شاهد، ۸۰ و ۱۰۰ میلی‌مولار نمک کلرید سدیم به منظور اجرای تنش‌ها انتخاب شد. نتایج مطالعه نشان داد که سطوح مختلف تنش‌های مستقل و توأم شوری و خشکی، در هر دو حالت، باعث کاهش معنی‌دار در عملکرد دانه، وزن هزار دانه و ارتفاع و افزایش معنی‌دار در محتوای مالون دی‌آلدئید نسبت به تیمار شاهد شد. در تنش‌های توأم خشکی و شوری افزایش معنی‌دار در محتوای کل فنول، محتوای کل فلاونول، محتوای کل فلاونوئید، فعالیت آن‌تی‌اکسیدانی، محتوای پرولین و کاروتنوئید نسبت به تیمار شاهد، به عنوان مکانیسم‌هایی دفاعی در جهت مقابله با اثرات منفی تنش‌های ترکیبی مشاهده شد. در تیمارهای ترکیبی مختلف، تغییرات محتوای کلروفیل روند یکسانی را نسبت به تیمار شاهد نشان ندادند. کمترین میزان عملکرد دانه و ارتفاع بوته و بیشترین فعالیت آن‌تی‌اکسیدانی در تنش ترکیبی شدید خشکی و شدید شوری مشاهده شد. حداکثر محتوای فلاونول و کاروتنوئید و کمترین میزان مالون دی‌آلدئید در تنش ترکیبی متوسط خشکی و عدم تنش شوری (D2S1) مشاهده شد. حداکثر میزان محتوای کل فنول (۲۲۸/۶۴ میلی‌گرم گالیک اسید بر گرم برگ تر) و فلاونوئید (۱۲۰/۶۲ میلی‌گرم کوئرستین بر گرم برگ تر) در تنش ترکیبی متوسط شوری و شدید خشکی (D3S2) و حداکثر محتوای آنتوسیانین (۰/۱۲ میکرومول بر گرم وزن تر) در تنش ترکیبی شدید شوری و خشکی (D3S3) حاصل شد، که نشان‌دهنده اثرات تحریک‌کنندگی این سطوح از تنش‌های ترکیبی در تولید حداکثری ترکیبات فنولیکی، فلاونوئیدی و آنتوسیانینی در گیاه خلال دندان بود. با توجه افزایش معنی‌دار ترکیبات فنولیکی در سطوح متوسط و شدید از تنش‌های خشکی و شوری، کشت آن در زمین‌های متأثر از تنش‌های خشکی و شوری می‌تواند مورد توجه قرار گیرد.

کلمات کلیدی: آنتی اکسیدانی، تنش، ترکیبات فنولیک، رنگیزه‌های فتوسنتزی، عملکرد

مقدمه

افزایش تصاعدی مناطق خشک و نیمه‌خشک در جهان به عنوان یکی از مهم‌ترین عوامل محدودکننده رشد در گیاهان محسوب می‌شود (Takahashi *et al.*, 2020). خسارات تنش‌های کمبود آب و شوری به گیاهان زراعی در سطح جهان در مقایسه با سایر تنش‌ها گسترده‌تر است. تنش خشکی به عنوان مهمترین و اولین عامل محدودکننده محیطی، بر رشد و نمو و عملکرد گیاه اثر منفی می‌گذارد و موجب کاهش رشد و تولید ماده خشک می‌شود (Takahashi *et al.*, 2020; Jaleel *et al.*, 2019). وسعت خاک‌های شور ایران حدود ۲۴ میلیون هکتار است که معادل ۱۵ درصد از اراضی کشور را شامل می‌شود. تنش شوری و حضور غلظت بالای از کلرید سدیم و نمک‌های دیگر، به عنوان دومین تنش محیطی مخرب باعث بروز طیف وسیعی از آشفتگی‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی مانند کم‌آبی سلولی، حذف آب از سیتوپلاسم و در نتیجه کاهش حجم سلول می‌شود (Parihar *et al.*, 2015). شوری از سه طریق تنش اسمزی، سمیت عناصر و برهم زدن تعادل تغذیه‌ای موجب اختلال در فعالیت‌های گیاه و در نتیجه کاهش رشد می‌شود (Hernandez *et al.*, 2019). در مواقعی که شوری باعث می‌شود آب در اختیار گیاه قرار نگیرد، تنش خشکی نیز در گیاه ایجاد می‌شود (Blum, 2011). شدت خسارات این تنش‌ها بستگی به شدت تنش، نوع تنش، میزان تحمل گیاهی، مراحل مختلف رشدی، نوع بافت و اندام گیاهی (سیر تکاملی) متفاوت است (Yang *et al.*, 2018).

اولین راهکار دفاعی گیاهان در مواجهه با تنش‌های محیطی خنثی‌سازی رادیکال‌های فعال اکسیژن (ROS) است (Isah, 2019). در تنش‌های محیطی، گیاهان برای سمیت‌زدایی ترکیب‌های ROS از سطح سلول، از سیستم‌های دفاعی آنزیمی و غیرآنزیمی استفاده می‌کنند (Isah, 2019; Yang *et al.*, 2018). فرآیندهای مختلف بیوشیمیایی از جمله تعادل و انتقال یون‌ها، ساخت و افزایش تجمع متابولیت‌های ثانویه،

اسمولیت‌ها و پلی‌آمین‌هایی نظیر پرولین مکانیسم‌های مؤثری در مقابله با تنش‌های خشکی و شوری در گیاهان هستند (Nahar *et al.*, 2022). با وجود اینکه متابولیت‌های ثانویه (ترکیب‌های فنولیکی، فلاونوئیدی، فلاونول‌ها و آنتوسیانین‌ها) در گیاهان دارویی اساساً با کنترل و هدایت ژنتیکی سنتز می‌شوند ولی میزان تولید آن‌ها به‌طور قابل‌توجهی تحت تأثیر عوامل تنش‌زا افزایش می‌یابد (Isah, 2019). ترکیبات فنولیک به عنوان آنتی‌اکسیدان‌های ثانویه و مهارکننده‌های رادیکال‌های آزاد عمل می‌کنند و با کاهش آسیب‌های اکسیداتیو، ساختارهای سلولی را از تأثیرات منفی تنش‌های محیطی محافظت می‌کنند (Yang *et al.*, 2018). توانایی نگهداری و افزایش رنگیزه‌های فتوسنتزکننده در گیاهان از جمله کلروفیل و کاروتنوئید به عنوان یکی از شاخص‌های مهم فیزیولوژیکی تحمل به تنش محسوب می‌شود (Mittler, 2002). کاروتنوئیدها به عنوان آنتی‌اکسیدان‌های غیرآنزیمی، از طریق خنثی‌سازی رادیکال‌های آزاد، فرایند اکسیداسیون را متوقف می‌کنند (Mittler, 2002). افزایش معنی‌دار فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی می‌تواند نشان‌دهنده ظرفیت‌های بالای دفاعی گیاه مورد مطالعه در مواجهه با انواع تنش و شدت آن باشد (Sewelam *et al.*, 2016).

با توجه به پدیده گرم‌شدن زمین و تغییرات اقلیمی، فهم چگونگی واکنش گیاهان به تنش‌های ترکیبی و همین‌طور نحوه واکنش گیاهان به این تنش‌های ترکیبی، امری مهم در زمینه کشاورزی پایدار محسوب می‌شود (Goharrizi *et al.*, 2020). وقوع هم‌زمان تنش‌های محیطی از طریق ایجاد تغییرات سلولی، مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی بر جنبه‌های مختلف رشد و نمو گیاه تأثیر می‌گذارد. مطالعاتی در زمینه بررسی توأم اثرات تنش‌های شوری و خشکی بر روی عملکرد دانه و صفات مختلف بیوشیمیایی در برخی از گیاهان دارویی از جمله مرزه (*Satureja hortensis* L.) (فابریکی اورنگ و پوربناب، ۱۳۹۵) و همچنین ترکیبات فنولی و

است (Benchriet *et al.*, 2011) این گیاه در نواحی جنوبی، مرکزی و شمالی ایران نیز رویش دارد و به‌طور معمول خرداد ماه گل می‌دهد. در مورد تأثیر تنش خشکی بر گیاه خلال دندان مطالعات بسیار محدودی صورت گرفته است (Osama *et al.*, 2019). مطالعاتی اندکی نیز در زمینه تنش شوری فقط بر روی *Ammi majus* (Ashraf *et al.*, 2004) انجام گرفته است.

امروزه با توجه به بحران آب، جایگزین کردن گیاهان دارویی متحمل به تنش‌های خشکی و شوری به جای کاشت گیاهان حساس از اهمیت بسیاری برخوردار است. گیاه خلال دندان به دلیل دارا بودن متابولیت‌های ثانویه مهم از جمله ترکیبات مهم در اسانس، ترکیبات آنتی‌اکسیدانی و سازگاری با اقلیم‌های مناطق مختلف کشور دارای اهمیت می‌باشد. تاکنون مطالعه‌ای در زمینه تأثیر توأم تنش‌های خشکی و شوری بر صفات زراعی و همچنین محتوای متابولیت‌های ثانویه در گیاه خلال دندان صورت نگرفته است. بنابراین یافته‌های پژوهش حاضر می‌تواند، از جنبه‌های زراعی و اقتصادی برای تولید زراعی گیاه خلال دندان از طریق توسعه رویشگاه‌های آن به ویژه در مناطق متأثر از تنش‌های خشکی و یا شوری به خصوص در ایران حائز اهمیت باشد.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه، بذره‌های اکوتیپ مربوط به منطقه نجف‌آباد اصفهان، به صورت آزمایش اسپلیت پلات (دو عامل) در قالب طرح بلوک کاملاً تصادفی، در مزرعه آموزشی - تحقیقاتی لورک دانشگاه صنعتی اصفهان (عرض جغرافیایی ۳۲ درجه و ۳۲ دقیقه شمالی، طول جغرافیایی ۵۱ درجه و ۲۲ دقیقه شرقی و ارتفاع ۱۶۰۰ متری از سطح دریا) در اسفند سال ۱۳۹۹ مورد کشت قرار گرفتند. میانگین بارندگی در طول سال زراعی (فروردین تا شهریور) ۶۳ میلی‌متر بود. فاصله بین ردیف‌های کاشت ۵۰ سانتی‌متر و فاصله روی ردیف‌ها ۲۰ سانتی‌متر در نظر گرفته شد. در هر تکرار دو ردیف کاشت به طول ۳ متر از بذور گیاه خلال دندان کاشته شد. تیمارهای تنش خشکی در سه سطح مختلف براساس میزان تخلیه ظرفیت زراعی خاک

محتوای تیمول در آویشن باغی (صیادی و همکاران، ۱۳۹۳) بررسی شده است. در مطالعه بررسی تنش‌های مستقل و توأم شوری و خشکی در پایه‌های مختلف پسته، اثرات مخرب تنش‌های ترکیبی شوری و خشکی، بر روی صفات مختلف بیوشیمیایی (آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، آمینواسیدهای آزاد، محتوای یونی، کربوهیدرات‌های محلول، محتوای پرولین، میزان نشت یونی و محتوای مالون دی‌آلدهید) بیشتر از تنش‌های مستقل شوری و خشکی گزارش شد (Goharrizi *et al.*, 2020). در مطالعه‌ای در ذرت (Yao *et al.*, 2016) اثرات مستقل و توأم تنش‌های خشکی و شوری منجر به کاهش معنی‌دار در میزان جوانه‌زنی، صفات رویشی و همچنین افزایش معنی‌دار در محتوای آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی (سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز) شد که میزان اثرات مخرب در تنش مستقل خشکی بیشترین و در تنش شوری کمترین میزان گزارش شد.

گیاه خلال دندان (*Ammi visnaga* L.) از تیره چتریان، گیاهی یکساله یا گاهی دوساله، دارای گل آذین چتر مرکب با دانه‌های ریز و بومی مناطق مدیترانه‌ای شمال آفریقا، آسیا و اروپا است (Khalil *et al.*, 2020; Chevallier, 2016). خلال دندان یک گیاه دارویی بسیار با ارزش است که به دلیل داشتن مواد مؤثره دارویی کاربرد فراوانی می‌تواند داشته باشد. در پزشکی مدرن از عرق و اسانس میوه آن در درمان بیماری‌های قلبی به عنوان بازکننده عروق، درمان تنگی نفس به عنوان بازکننده برونش‌ها، رفع اسپاسم کیسه صفرا، رفع ورم لثه و درمان دیابت استفاده می‌کنند (Khalil *et al.*, 2020). اسانس بذره‌های گیاه خلال دندان دارای خواص شل‌کنندگی عضلات و عروق، کاهش درد ناشی از سنگ کلیه و همین‌طور اثرات ضدالتهابی و ضد میکروبی است (Feirouz and Salima, 2014; Khalil *et al.*, 2020). گیاه خلال دندان دارای ترکیبات کرومونی ارزشمند شامل خلین (Khellin)، ویسناگین (Visnagin) و همین‌طور ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی با اثرات ضد میکروبی و ضد قارچی است (Durate and Torres, 2000). ترکیبات فنولیکی به ویژه در قسمت‌های هوایی خلال دندان، شناسایی شده است که به‌طور عمده متعلق به گروه فلاونوئیدها

صورت تصادفی انتخاب شد و اندازه‌گیری صفات زراعی بر روی آن‌ها صورت گرفت.

اندازه‌گیری صفات بیوشیمیایی، سنجش مالون دی-آلدهید: به منظور اندازه‌گیری مالون دی‌آلدهید، ابتدا ۰/۳ گرم از بافت تازه برگ در هاون با ۵ میلی‌لیتر تری کلرواستیک اسید ۰/۱ درصد ساییده شد. عصاره حاصل به مدت ۵ دقیقه با سرعت ۵۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. ۴ میلی‌لیتر محلول تری کلرواستیک اسید ۲۰ درصد که حاوی ۰/۵ درصد تیوباربتوریک اسید بود را با ۱ میلی‌لیتر از محلول رویی عصاره مخلوط کرده و به مدت ۳۰ دقیقه در حمام آبگرم با دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. پس از آن بلافاصله در داخل توده یخ قرار داده شد تا سریع سرد شود. عصاره دوباره به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۵۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. به منظور محاسبه مالون دی‌آلدهید از ضریب خاموشی $155 \text{ mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$ استفاده شد و نتایج حاصل از اندازه‌گیری بر حسب وزن تر گزارش گردید (Heath and Pacher, 1968).

سنجش غلظت پرولین: ابتدا ۰/۳ گرم از هر نمونه برگ توزین و به وسیله اسید سولفوسالسیلیک ۳ درصد، پرولین نمونه‌ها استخراج و مخلوط حاصل از کاغذ فیلتر واتمن عبور داده شده و در ادامه حجم نمونه‌ها با اضافه کردن اسید سولفوسالسیلیک ۳ درصد به ۱۰ میلی‌لیتر رسانده شد. سپس، ۲ میلی‌لیتر از عصاره صاف شده به لوله درب‌دار منتقل گردید و به آن ۲ میلی‌لیتر معرف نین‌هیدرین و ۲ میلی‌لیتر اسید استیک، اضافه شد. محلول حاصل به مدت یک ساعت در حمام آبی در دمای ۹۰ درجه سلسیوس قرار گرفت. پس از خارج کردن نمونه‌ها از حمام آب گرم، نمونه‌ها در بستری از یخ قرار گرفتند تا سرد شوند. سپس ۴ میلی‌لیتر تولوئن به هر لوله آزمایش اضافه و نمونه‌ها ورتکس شدند. در این حالت دو فاز در لوله آزمایش از هم جدا شده که برای اندازه‌گیری میزان پرولین از فاز بالایی ۲ میلی‌لیتر برداشته و در طول موج ۵۲۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر جذب نمونه‌ها خوانده شد. از تولوئن برای محلول شاهد (بلانک) دستگاه استفاده

(شاهد: ۵۰ درصد (D1) تنش ملایم: ۶۰ درصد (D2) و تنش شدید: ۸۵ درصد (D3) اعمال شد (غلامی‌زالی و احسان‌زاده، ۱۳۹۸). رطوبت قابل استفاده خاک و حجم آب مورد نیاز برای هر پلات در هر سطح آبیاری در ناحیه بین ظرفیت زراعی و نقطه پژمردگی از طریق روابط زیر محاسبه شدند:

(رابطه ۱)

$$W = (W_{FC} - \theta_{Irrigation}) \times S \times Z \times pb / Ea$$

(رابطه ۲)

$$\theta_{Irrigation} = (W_{FC} - (W_{FC} - W_{PWP}) \times P$$

(رابطه ۳)

$$W = (W_{FC} - W_{PWP}) \times pb \times VS$$

(رابطه ۴)

$$V = (P \times W) / (Ea)$$

W : رطوبت قابل استفاده خاک، V : حجم آب مورد نیاز برای هر سطح آبیاری، S : مساحت هر کرت (مترمکعب) W_{PWP} : درصد رطوبت وزنی آب خاک در نقطه پژمردگی دائم، $\theta_{Irrigation}$: درصد رطوبت خاک قبل از آبیاری W_{FC} : درصد رطوبت وزنی آب خاک در حد ظرفیت مزرعه، Z : عمق توسعه ریشه (سانتی‌متر)، Pb : جرم حجمی خاک (گرم بر سانتی‌متر مکعب) Ea : کارایی مصرف آب (۰/۷۰) و P میزان تخلیه مجاز رطوبتی بود که که برای شاهد (۰/۵۰)، تنش ملایم (۰/۶۰) و تنش شدید (۰/۸۵) در نظر گرفته شد. VS : حجم لایه خاک در منطقه توسعه ریشه (مترمکعب) بود. براساس این نیاز آبی حجم آب آبیاری محاسبه شده و برای هر پلات از طریق لوله خرطومی سه اینچی متصل به کنتور به هر پلات وارد شد (جدول ۱). تنش شوری در سه سطح [شاهد (S1)، ۸۰ میلی‌مولار (S2) و ۱۰۰ میلی‌مولار (S3)] از نمک کلرید سدیم و با در نظر گرفتن جرم مولی نمک NaCl (۵۸/۴۴) گرم در لیتر) اعمال شد (جدول ۱). اعمال تنش‌های شوری و خشکی از مرحله ۱۰ درصد گلدهی شروع و تا آخرین مرحله رسیدگی ادامه یافت (پاوری، ۱۳۹۸).

اندازه‌گیری صفات زراعی: جهت اندازه‌گیری عملکرد دانه، وزن هزار دانه و ارتفاع بوته، ۱۰ بوته از هر تکرار به

جدول ۱- مشخصات زمان‌های اعمال تیمارهای آبیاری و شوری در شرایط مزرعه‌ای در گیاه خلال دندان

تنش توأم خشکی شوری	تیمار خشکی (D)	تیمار شوری (S)	تاریخ آبیاری مشترک	حجم آبیاری در هر آبیاری (مترمکعب در هکتار)	غلظت نمک در هر آبیاری (گرم نمک در لیتر آب)
اسفند (۲۸)					
D1S1	بدون تنش	بدون تنش	فروردین (۲، ۸، ۱۳، ۱۹، ۲۵، ۳۱)	۷۵۵۰**	۰
D1S2	بدون تنش	شوری متوسط	اردیبهشت (۶، ۱۲، ۱۸، ۲۴، ۳۰) خرداد (۵، ۱۱، ۱۸، ۲۲، ۲۶، ۳۰) تیر (۳، ۷، ۱۱، ۱۵، ۱۹، ۲۳، ۲۷)	۷۵۵۰	۴/۶۸* (۸۰ میلی مولار)
D1S3	بدون تنش	شوری شدید	(۳۱) مرداد (۴، ۸، ۱۲، ۱۶، ۲۰، ۲۴، ۲۸)	۷۵۵۰	۵/۸۴ (۱۰۰ میلی مولار)
شهریور (۱)					
تاریخ آبیاری مشترک					
اسفند (۲۸)					
D2S1	تنش متوسط	بدون تنش	فروردین (۲، ۸، ۱۳، ۱۹، ۲۵، ۳۱) اردیبهشت (۶، ۱۲، ۱۸، ۲۴، ۳۰)	۵۹۵۰	۰
D2S2	تنش متوسط	شوری متوسط	خرداد (۵، ۱۱، ۱۸، ۲۴، ۳۰) تیر (۵، ۱۱، ۱۷، ۲۳، ۳۱)	۵۹۵۰	۴/۶۸ (۸۰ میلی مولار)
D2S3	تنش متوسط	شوری شدید	مرداد (۶، ۱۲، ۱۸، ۲۴)	۵۹۵۰	۵/۸۴ (۱۰۰ میلی مولار)
تاریخ آبیاری مشترک					
اسفند (۲۸)					
D3S1	تنش شدید	بدون تنش	فروردین (۲، ۸، ۱۳، ۱۹، ۲۵، ۳۱) اردیبهشت (۶، ۱۲، ۱۸، ۲۴، ۳۰)	۵۱۵۰	۰
D3S2	تنش شدید	شوری متوسط	خرداد (۵، ۱۱، ۱۸، ۲۸) تیر (۷، ۱۷، ۲۷)	۵۱۵۰	۴/۶۸ (۸۰ میلی مولار)
D3S3	تنش شدید	شوری شدید	مرداد (۶، ۱۶، ۲۶)	۵۱۵۰	۵/۸۴ (۱۰۰ میلی مولار)

آنگاه از عصاره رویی برای خواندن جذب نوری در طول موج‌های ۴۷۰، ۶۴۶ و ۶۶۳ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (UV-2100 Unico) استفاده شد (Lichtenthaler and Buschmann 2001) و غلظت کلروفیل کل و کاروتنوئید محاسبه گردید.

سنجش خاصیت آنتی‌اکسیدانی به روش DPPH: به منظور تخمین قدرت عصاره گیاهی در به دام انداختن رادیکال‌های آزاد DPPH، ابتدا محلول ۰/۱ مولار از پودر

گردید. غلظت پرولین براساس وزن تر محاسبه گردید (Bates et al., 1973).

سنجش غلظت رنگیزه‌های فتوسنتزی: ابتدا ۰/۳ گرم بافت تازه برگ در داخل هاون چینی به کمک نیتروژن مایع پودر شد و سپس با افزودن استون ۸۰ درصد به‌طور کامل له شد. عصاره به حجم ۱۰ میلی‌لیتر رسانده و داخل فالکون ۱۰ سی‌سی ریخته شد. نمونه‌ها به مدت ۱۰ دقیقه و با سرعت ۳۲۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد، به‌طوری‌که به دو فاز جدا تفکیک شوند.

۱/۵ میلی لیتر سدیم استات، و ۲۵۰ میکرولیتر متانول اسیدی ترکیب شد. نمونه‌ها به مدت ۹۰ دقیقه در دمای محیط قرار داده و سپس قرائت در طول موج ۴۴۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر انجام گرفت (Miliauskas *et al.*, 2004).

اندازه‌گیری محتوای کل آنتوسیانین: ۰/۳ گرم از نمونه گیاهی تازه با ۳ میلی لیتر متانول اسیدی (۹۹ میلی لیتر متانول و ۱ میلی لیتر اسید) ساییده و داخل فالدون ریخته شد. عصاره برای ۲۴ ساعت در تاریکی در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. سپس نمونه‌ها به مدت ۱۰ دقیقه سرعت ۴۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شدند. از محلول رویی برای خواندن جذب در طول موج ۵۲۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر استفاده شد. میزان آنتوسیانین برحسب میکرومول در گرم وزن تر برگ بیان گردید (Golkar *et al.*, 2019).

سطوح مختلف تنش شوری به عنوان پلات‌های اصلی و سطوح مختلف تنش خشکی به عنوان پلات‌های فرعی در نظر گرفته شدند. تجزیه واریانس داده‌ها و مقایسه میانگین صفات با آزمون حداقل تفاوت معنی‌دار ($LSD_{5\%}$) با استفاده از نرم‌افزار SAS انجام گرفت.

نتایج و بحث

نتایج جدول تجزیه واریانس (جدول ۲) نشان داد که اثر تنش خشکی، اثر تنش شوری و اثرات توأم تنش شوری و خشکی بر صفات زراعی مورد مطالعه گیاه خلال‌دندان در این مطالعه در سطوح احتمال ۱ درصد و ۵ درصد معنی‌دار شد.

تأثیر تنش‌های مستقل و توأم خشکی و شوری بر صفات اندازه‌گیری‌شده: مقایسه میانگین اثرات اصلی شوری بر روی صفات زراعی مورد مطالعه نشان داد که سطوح مختلف تنش شوری باعث کاهش عملکرد بذر، وزن هزاردانه و ارتفاع بوته نسبت به تیمار شاهد شد (جدول ۳). مقایسه میانگین سطوح اصلی تنش شوری نشان داد که عملکرد بذر در شرایط تنش شدید (S3) کاهش ۵۱ درصدی را نسبت به تیمار شاهد شوری نشان داد و اختلاف بین عملکرد بذر در هر سه سطح (عدم تنش، تنش متوسط و تنش شدید) تنش شوری معنی‌دار بود

DPPH (شرکت سیگما) با استفاده از متانول تهیه شد. از عصاره گیاهی مقدار ۰/۱ میلی لیتر داخل لوله آزمایش ریخته و ۱۰ میلی لیتر محلول DPPH به آن اضافه گردید و ۳۰ دقیقه در محیط تاریک قرار گرفت و سپس در طول موج ۵۱۷ نانومتر میزان جذب با دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شد. از محلول DPPH بدون عصاره گیاهی برای بلانک دستگاه استفاده شد. سپس فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها به صورت درصد بازدارندگی DPPH محاسبه گردید (راسخ و همکاران، ۱۳۹۸).

اندازه‌گیری محتوای کل فنول: میزان ۳۰۰ میلی گرم از نمونه تر گیاهی داخل هاون با ۳ سی سی متانول ساییده و داخل فالدون ریخته شد. سپس نمونه‌ها به مدت ۲۵ دقیقه با دور ۴۰۰۰ سانتریفیوژ گردید. مقدار ۰/۵ سی سی از عصاره متانولی با ۱/۵ سی سی محلول معرف فولین ۱۰٪ و ۱/۵ سی سی محلول کربنات کلسیم ۱۵٪ مخلوط شد و نمونه‌ها به مدت ۹۰ دقیقه در محیط قرار گرفت. سپس با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر میزان فنول کل با اندازه‌گیری جذب در طول موج ۷۲۵ نانومتر قرائت گردید. در نهایت، میزان فنول کل داده‌ها براساس معادل میلی گرم گالیک اسید بر گرم وزن تر گیاه بیان گردید (Golkar *et al.*, 2021).

اندازه‌گیری محتوای کل فلاونوئید: به منظور اندازه‌گیری محتوای کل فلاونوئید، به ۰/۵ میلی لیتر از هر عصاره، ۱/۵ میلی لیتر متانول، ۰/۱ میلی لیتر از محلول آلومینیوم کلرید در اتانول، ۰/۱ میلی لیتر از استات پتاسیم یک مولار و ۲/۸ میلی لیتر آب مقطر اضافه شد. جذب مخلوط نیم ساعت بعد از نگهداری در دمای اتاق، در طول موج ۴۱۵ نانومتر در مقابل بلانک با دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شد (Miliauskas *et al.*, 2004).

اندازه‌گیری محتوای کل فلاونول: سنجش میزان فلاونول بر اساس روش رنگ‌سنجی آلومینیوم کلرید با کمی تغییرات انجام شد. میزان ۰/۳ گرم از نمونه گیاهی تازه با ۳ میلی لیتر متانول ساییده و داخل فالدون ریخته شد. نمونه‌ها به مدت ۲۵ دقیقه با سرعت ۴۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شدند. ۲۵۰ میکرولیتر از محلول رویی با ۵۰۰ میکرولیتر آلومینیوم کلرید،

جدول ۲- نتایج تجزیه واریانس صفات زراعی و بیوشیمیایی گیاه خلال دندان در سطوح مختلف شوری و خشکی در شرایط مزرعه‌ای

صفات اندازه‌گیری شده							
منابع تغییرات	درجه آزادی	عملکرد بذر (گرم در متر مربع)	وزن هزار دانه (گرم)	فعالیت آنتی اکسیدانی (درصد)	پرویلین (میکرومول بر گرم وزن تر)	مالون دی‌آلدهید (میکرومول بر گرم وزن تر)	ارتفاع (سانتی‌متر)
تکرار	۲	۲/۲۷	۰/۰۰۰۰۷	۰/۹۱	۰/۳۳	۰/۰۰۷۷	۳/۱۷
شوری	۲	۳۲۲۷/۹۸**	۰/۰۰۶۴**	۶۳۸/۷۴**	۱۰/۳۳**	۰/۲۵**	۱۰۳۷/۰۰**
خطای (a)	۴	۳/۷۶	۰/۰۰۱	۱/۲۳	۰/۲۴	۰/۰۰۳۹	۲/۴۲**
خشکی	۲	۸۳۳۱/۷۶**	۰/۱۸۳۰**	۸۱۱/۰۸**	۴۳/۶۱**	۰/۸۲**	۱۲۴۷/۵۶**
شوری × خشکی	۴	۶۵۶/۰۴**	۰/۰۱۷**	۵۴۵/۲۷**	۱۹/۶۴**	۰/۳۰**	۱۵/۵۲*
خطای (b)	۱۲	۵/۹۰	۰/۰۰۰۷۷	۰/۷۱	۰/۲۶	۰/۰۰۴۷	۵/۵۰
ضریب تغییرات (%)		۴/۶۵	۳/۹۱	۱/۳۴	۳/۴۷	۸/۷۵	۲/۳۳

* و ** به ترتیب نشان‌دهنده معنی‌دار بودن در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد است.

ادامه جدول ۲-

صفات اندازه‌گیری شده							
منابع تغییرات	درجه آزادی	محتوای آنتوسیانین (میکرومول بر گرم وزن تر)	محتوای کل فلاونول (میلی‌گرم کوئرستین بر گرم وزن تر)	محتوای کل فلاونوئید (میلی‌گرم گالیک اسید بر گرم وزن تر)	محتوای کل فنول (میلی‌گرم)	کاروتنوئید (میلی‌گرم بر گرم وزن تر)	کلروفیل کل (میلی‌گرم بر گرم وزن تر)
تکرار	۲	۰/۰۰۰۰۰۰۲۳	۰/۱۷	۳/۴۰	۱۶/۴۹	۳۶/۷۹	۴۰۰/۳۱
شوری	۲	۰/۰۰۰۰۵۰**	۲۴۵/۹۶**	۵۳۴۵/۰۳**	۲۷۵۶/۸۹**	۲۴۵۰/۵۶**	۲۴۸۴۶/۴۸**
خطای (a)	۴	۰/۰۰۰۰۱۲	۰/۶۸	۱۶/۰۷	۹۳/۱۲	۱۱۵/۸۹*	۳۷۲/۳۹
خشکی	۲	۰/۰۰۰۰۳۳**	۲۵۸/۴۷*	۱۸۲/۷۶**	۲۴۴۲/۴*	۳۲۲۱/۰۱**	۶۳۵۹/۰۲**
خشکی × شوری	۴	۰/۰۰۰۰۹۱**	۴۸۰/۰۶*	۱۲۴۶/۶۹**	۱۲۵۲/۴۶*	۱۶۳۷/۹۷**	۲۹۴۱۲/۲۵**
خطای (b)	۱۲	۰/۰۰۰۰۱۵	۱/۴۹	۸۸/۳۶	۲۴۰/۱۱	۳۳/۳۲	۶۴۴/۵۷
ضریب تغییرات (%)		۳/۹۸	۳/۳۲	۲/۸۹	۸/۵۲	۸/۶۸	۵/۷۱

* و ** به ترتیب نشان‌دهنده معنی‌دار بودن در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد است.

(جدول ۳). همچنین وزن هزار دانه کاهش ۵ درصدی در تنش شوری (S3) نسبت به تیمار شاهد نشان داد (جدول ۳). با ایجاد تنش اسمزی و سمیت یونی، تنش اکسیداتیو در گیاه ایجاد می‌شود که منجر به مهار فتوسنتز و کاهش رشد در گیاه می‌شود (Nahar et al., 2022). در اثر کاهش سطح فتوسنتز کننده برگ‌ها در تنش شوری، کاهش تعداد و وزن دانه‌ها و به

دنبال آن کاهش عملکرد دانه ایجاد می‌شود (Parihar et al., 2015). مشابه این نتایج، کاهش معنی‌دار عملکرد بیولوژیک، عملکرد دانه و اجزای عملکرد (از جمله تعداد چتر و وزن هزار دانه) در زنیان در اثر تنش شوری گزارش شده است (Piri et al., 2017). ارتفاع بوته در سطوح تنش شوری S2 و S3 به ترتیب کاهش معنی‌دار ۷/۲ درصد و ۱۹/۳ درصد نشان داد و

جدول ۳- تأثیر سطوح مختلف شوری بر صفات زراعی و بیوشیمیایی گیاه خلال دندان در شرایط مزرعه‌ای

صفات اندازه‌گیری شده						
سطوح شوری	عملکرد بذر (گرم بر متر مربع)	وزن هزار دانه (گرم)	ارتفاع (سانتی‌متر)	مالون دی‌آلدهید (میکرومول بر گرم وزن تر)	پرولین (میکرومول بر گرم وزن تر)	فعالیت آنتی اکسیدانی (درصد)
S1 (شاهد)	72/80 ^a ±13/80	0/73 ^a ±0/012	110/16 ^a ±3/8	0/68 ^c ±0/097	13/90 ^c ±1/35	54/32 ^c ±3/82
S2 (80 mM)	48/19 ^b ±7/34	0/71 ^{ab} ±0/02	102 ^b ±2/89	0/70 ^b ±0/127	16/02 ^a ±0/34	62/34 ^b ±6/03
S3 (100 mM)	35/55 ^c ±5/75	0/68 ^b ±0/033	88/87 ^c ±3/71	0/98 ^a ±0/124	14/74 ^b ±0/65	71/73 ^a ±1/41

در هر ستون برای هر صفت، وجود حداقل یک حرف لاتین مشترک نشان‌دهنده عدم وجود تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد است.

ادامه جدول ۳-

صفات اندازه‌گیری شده						
سطوح شوری	کلروفیل کل (میلی‌گرم بر گرم وزن تر)	کاروتنوئید (میلی‌گرم بر گرم وزن تر)	محتوای (میکرومول بر گرم وزن تر)	محتوای کل فنول (میلی‌گرم اسید گالیک بر گرم وزن تر)	محتوای کل فلاونوئید (میلی‌گرم کوئرستین بر گرم وزن تر)	محتوای کل فلاونول (میلی‌گرم کوئرستین بر گرم وزن تر)
S1 (شاهد)	385/07 ^b ±28/52	47/69 ^b ±12/55	0/091 ^b ±0/004	164/30 ^c ±7/46	68/67 ^c ±6/09	30/78 ^c ±5/28
S2 (80 mM)	484/85 ^a ±36/61	78/70 ^a ±3/54	0/10 ^a ±0/003	199/30 ^a ±10/43	117/36 ^a ±1/72	38/46 ^b ±2/12
S3 (100 mM)	463/50 ^a ±37/2	72/98 ^a ±4/82	0/10 ^a ±0/005	181/96 ^b ±4/29	94/91 ^b ±6/03	40/67 ^a ±1/30

در هر ستون برای هر صفت، وجود حداقل یک حرف لاتین مشترک نشان‌دهنده عدم وجود تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد است.

در شرایط تنش شدید خشکی (D3) شد (جدول ۴). کاهش معنی‌دار ۱۰ درصدی در وزن هزار دانه در شرایط تنش شدید خشکی (D3) نسبت به تیمار شاهد مشاهده شد (جدول ۴). نتایج این مطالعه با گزارشات Osama و همکاران (۲۰۱۹) مبنی بر کاهش رشد گیاه، ارتفاع بوته، عملکرد و اجزای عملکرد (قطر چتر، تعداد چتر در بوته و وزن هزار دانه) در گیاه خلال دندان، تحت تنش خشکی، مطابقت نشان می‌دهد. مشابه با این مطالعه، کاهش عملکرد و اجزای عملکرد و ارتفاع در زینان (Abdoli et al., 2020) و رازیانه (Rezaei Chiyaneh et al., 2013) و زیره (Laribi et al., 2009) در اثر تنش خشکی گزارش شده است.

مقایسه میانگین اثرات متقابل تنش‌های خشکی × شوری نشان داد که عملکرد بذر از شرایط شاهد (DIS1) (۱۲۸ گرم در متر مربع) به ۲۲ گرم در مترمربع در تیمار شدید تنش

این اختلاف در هر سه سطح تنش شوری معنی‌دار بود (جدول ۳). شوری با ایجاد تنش سمیت یونی منجر به ایجاد اختلال در جذب مواد مغذی مورد نیاز گیاه شده و با کاهش سطح فتوسنتزکننده منجر به کاهش ارتفاع در گیاه می‌شود (Piri et al., 2017). مشابه با نتایج این مطالعه کاهش معنی‌دار ارتفاع در اثر تنش شوری در *Ammi majus* (Ashraf et al., 2004) گزارش شده است.

مقایسه میانگین اثرات اصلی خشکی بر روی صفات زراعی مورد مطالعه نشان داد که تنش متوسط (D2) و شدید خشکی (D3) باعث کاهش معنی‌دار عملکرد دانه شد، به طوری که عملکرد دانه کاهش ۶۳ درصدی در تیمار تنش شدید خشکی (D3) نسبت به تیمار شاهد نشان داد (جدول ۴). اثرات کاهنده تنش خشکی بر ارتفاع منجر به کاهش معنی‌دار این صفت از ۱۱۲/۸۳ سانتی‌متر در شرایط شاهد (D1) تا ۸۹/۴۴ سانتی‌متر

جدول ۴- تأثیر سطوح مختلف خشکی بر صفات زراعی و بیوشیمیایی گیاه خلال دندان در شرایط مزرعه‌ای

صفات اندازه‌گیری شده						
عملکرد بذری	وزن هزار دانه	ارتفاع	مالون دی‌آلدهید	پرولین	فعالیت	سطوح آبیاری
(گرم در متر مربع)	(گرم)	(سانتی‌متر)	(میکرومول بر گرم وزن تر)	(میکرومول بر گرم وزن تر)	آنتی‌اکسیدانی (درصد)	
۸۷/۸۲ ^a ±۱۰/۴۱	۰/۷۶ ^a ±۰/۰۲	۱۱۲/۸۳ ^a ±۳/۱۴	۰/۶۱ ^b ±۰/۰۷	۱۳/۷۹ ^b ±۰/۸۴	۵۴/۳۳ ^c ±۴/۹۴	D1 (FC ۵۰٪)
۳۶/۹۱ ^b ±۳/۱۵	۰/۶۸ ^b ±۰/۰۱	۹۸/۷۷ ^b ±۳/۵۵	۰/۶۱ ^b ±۰/۱۱	۱۷/۴۲ ^a ±۰/۵۲	۶۱/۰۰ ^b ±۴/۸۶	D2 (FC ۶۰٪)
۳۱/۸۲ ^c ±۲/۹۹	۰/۶۸ ^b ±۰/۰۲	۸۹/۴۴ ^c ±۲/۸۷	۱/۱۳ ^a ±۰/۰۷	۱۳/۴۵ ^b ±۰/۶۷	۷۳/۰۶ ^a ±۱/۲۰	D3 (FC ۸۵٪)

در هر ستون برای هر صفت، وجود حداقل یک حرف لاتین مشترک نشان‌دهنده عدم وجود تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد است.

ادامه جدول ۴-

صفات اندازه‌گیری شده						
سطوح آبیاری	کلروفیل کل	کاروتنوئید	محتوای	محتوای کل فنول	محتوای کل	محتوای کل
	(میلی‌گرم بر گرم وزن تر)	(میلی‌گرم بر گرم وزن تر)	آنتوسیانین (میکرومول بر گرم وزن تر)	(میلی‌گرم اسید گالیک بر گرم وزن تر)	فلاونوئید (میلی‌گرم کوئرستین بر گرم وزن تر)	فلاونول (میلی‌گرم کوئرستین بر گرم وزن تر)
D1 (FC ۵۰٪)	۴۵۲/۱۴ ^b ±۲۲/۲۴	۵۲/۶۶ ^c ±۹/۶۷	۰/۰۹ ^c ±۰/۰۰۴	۱۶۵/۴۱ ^b ±۵/۰۰۳	۸۹/۲۰ ^c ±۱۰/۶۳	۳۳/۵۰ ^b ±۳/۰۰۵
D2 (FC ۶۰٪)	۵۲۴/۴۳ ^a ±۴۱/۹۱	۸۸/۰۳ ^a ±۳/۹۷	۰/۱۰ ^b ±۰/۰۰۵	۱۹۵/۱۱ ^a ±۶/۳۲	۹۸/۲۱ ^a ±۷/۳۳	۴۲/۸۸ ^a ±۲/۸۵
D3 (FC ۸۵٪)	۳۵۶/۸۴ ^c ±۱۴/۵۶	۵۸/۷۰ ^b ±۷/۹۲	۰/۰۹ ^b ±۰/۰۰۴	۱۸۷/۰۴ ^a ±۱/۲۵	۹۳/۵۳ ^b ±۷/۲۸	۳۳/۷۰ ^b ±۴/۰۰۷

در هر ستون برای هر صفت، وجود حداقل یک حرف لاتین مشترک نشان‌دهنده عدم وجود تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد است.

است. اما وقوع همزمان تنش‌های شوری و خشکی هر دو باعث تأثیر منفی بر تعداد گل‌های بارور و وزن بذور شده که در کل باعث کاهش عملکرد دانه نیز شده است. بیشترین میزان کاهش در ارتفاع بوته (۳۶ درصد) در تیمار شدید تنش شوری و خشکی (D3S3) مشاهده شد (جدول ۵). تنظیم اسمزی در شرایط تنش شدید، منجر به صرف انرژی زیاد از گیاه و کاهش رشد اندام‌های هوایی از جمله ارتفاع می‌شود (Blum, 2011).

مالون دی‌آلدهید: نتایج این مطالعه نشان داد که وقوع تنش‌های شوری و خشکی به صورت مستقل و ترکیبی منجر به افزایش معنی‌دار در محتوای مالون دی‌آلدهید نسبت به شرایط شاهد شد (جدول ۳، ۴ و ۵). مقایسه میانگین سطوح اصلی تنش شوری نشان داد که تنش شوری منجر به افزایش

خشکی و شدید تنش شوری (D3S3) رسید، که حاکی از کاهش در عملکرد دانه بود (جدول ۵). کاهش شدید عملکرد در تنش‌های توأم شوری و خشکی می‌تواند به واسطه پیری زودرس برگ‌ها، کاهش سطح برگ و کاهش سهم انتقال مجدد مواد ذخیره شده در ساقه به دانه و در نهایت کاهش عملکرد دانه شود (غلامی‌زالی و احسان‌زاده، ۱۳۹۸). نکته جالب توجه این بود که وزن هزار دانه در تیمار عدم تنش خشکی و شدید تنش شوری (D1S3) افزایش معنی‌دار ۱۹ درصدی نسبت به تیمار شاهد نشان داد (جدول ۵). می‌توان این‌طور استنباط نمود که اعمال تنش شوری ۱۰۰ میلی‌مولار در شرایط نرمال آبیاری در گیاه خلال دندان باعث کاهش تعداد گل‌های بارور و تعداد بذور شد و از طرفی به علت وجود اثرات جبرانی در اجزای عملکرد، وزن بذرها تولید شده افزایش نشان داده

جدول ۵- نتایج مقایسه میانگین اثرات متقابل شوری × خشکی بر صفات مختلف زراعی و بیوشیمیایی گیاه خلال دندان

تیمار شوری و خشکی	عملکرد بلبر	وزن هزار دانه	مالون دی آلدئید	پرولین	فعالیت آنژی آکسیدانی	کلروفیل کل	کاروتنوئید	محتوای کل فنول	محتوای کل فلاونول	محتوای کل فلاونوئید	محتوای آنتوسیانین	کاروتنوئید	کلروفیل کل
D1S1	۱۲۷/۸۰ ^a	۰/۶۹ ^{dc}	۱۲۳/۸۳ ^a	۰/۸۹ ^d	۱۰/۴۲ ^f	۵۲/۵۰ ^e	۴۸۸/۶۲ ^b	۱۴/۲۰ ^e	۱۲۷/۶ ^e	۲۱/۹۱ ^g	۴۷/۰۴ ^f	۰/۱۰ ^b	۱۴/۲۰ ^g
D1S2	۷۷/۳۵ ^b	۰/۷۸ ^{ab}	۱۱۱/۸۳ ^b	۰/۴۳ ^e	۱۵/۱۶ ^d	۳۸/۲۱ ^g	۴۹۳/۵۲ ^b	۷۳/۵۴ ^{cd}	۱۶۱/۷۹ ^{de}	۳۶/۸۷ ^e	۱۱۳/۱۸ ^b	۰/۰۹ ^c	۷۳/۵۴ ^{dc}
D1S3	۵۸/۳ ^c	۰/۸۰ ^a	۱۰۲/۸۳ ^c	۰/۵۲ ^e	۱۵/۷۹ ^{cd}	۷۲/۲۸ ^c	۳۷۴/۲۹ ^{cd}	۷۰/۲۴ ^{de}	۱۸۰/۸۳ ^{cd}	۴۱/۷۳ ^d	۱۰۷/۳۷ ^c	۰/۰۷ ^d	۷۰/۲۴ ^{de}
D2S1	۴۸/۰۰ ^d	۰/۷۴ ^{bc}	۱۰۸/۸۳ ^b	۰/۲۹ ^f	۱۹/۲۱ ^a	۴۲/۰۹ ^f	۳۵۷/۲۵ ^d	۹۶/۶۸ ^a	۱۸۱/۲۶ ^{cd}	۵۱/۷۴ ^a	۶۹/۸۶ ^e	۰/۰۸ ^d	۹۶/۶۸ ^a
D2S2	۳۶/۳۵ ^f	۰/۶۷ ^{de}	۱۰۲/۱۶ ^c	۰/۴۸ ^e	۱۶/۷۷ ^b	۷۴/۱۱ ^b	۶۰۶/۵۶ ^a	۷۷/۴۱ ^{bcd}	۲۰۷/۴۸ ^{ab}	۳۲/۳۶ ^f	۱۱۸/۲۸ ^{ab}	۰/۱۱ ^a	۷۷/۴۱ ^{bcd}
D2S3	۲۶/۳۷ ^h	۰/۶۳ ^{ef}	۸۵/۳۳ ^f	۱/۰۷ ^c	۱۶/۲۸ ^{bc}	۶۶/۷۹ ^d	۶۰۹/۴۷ ^a	۸۹/۹۸ ^{ab}	۱۹۶/۶۰ ^{cd}	۴۴/۵۵ ^c	۱۰۶/۴۸ ^c	۰/۱۰ ^b	۸۹/۹۸ ^{ab}
D3S1	۴۲/۵۹ ^e	۰/۷۸ ^{ab}	۹۷/۸۳ ^d	۰/۸۵ ^d	۱۲/۰۶ ^e	۶۸/۳۶ ^d	۳۰۹/۳۳ ^c	۳۲/۲۱ ^f	۱۶۴/۰۳ ^{de}	۱۸/۶۷ ^h	۸۹/۱۲ ^d	۰/۰۸ ^d	۳۲/۲۱ ^f
D3S2	۳۰/۸۸ ^g	۰/۶۷ ^{de}	۹۲/۰۰ ^e	۱/۲۰ ^b	۱۶/۱۴ ^{bc}	۷۴/۷۰ ^{ab}	۳۵۴/۴۷ ^d	۸۵/۱۵ ^{abc}	۲۲۸/۶۴ ^a	۴۶/۶۹ ^b	۱۲۰/۶۲ ^a	۰/۱۰ ^b	۸۵/۱۵ ^{abc}
D3S3	۲۱/۹۸ ⁱ	۰/۶۱ ^f	۷۸/۵۰ ^e	۱/۳۵ ^a	۱۲/۱۴ ^e	۷۶/۱۲ ^a	۴۰۶/۷۲ ^c	۵۸/۸۰ ^e	۱۶۸/۴۵ ^{de}	۳۵/۷۵ ^e	۷۰/۸۶ ^e	۰/۱۲ ^a	۵۸/۸۰ ^e

در هر ستون برای هر صفت، وجود حداقل یک حرف لاتین مشترک نشان دهنده عدم وجود تفاوت معنی دار در سطح احتمال ۱ درصد است. D1S1: عدم وقوع تنش خشکی و شوری، D1S2: عدم وقوع تنش خشکی و شوری متوسط، D1S3: عدم وقوع تنش خشکی و شوری شدید، D2S1: تنش متوسط خشکی و عدم شوری، D2S2: تنش متوسط خشکی و شوری، D2S3: تنش متوسط خشکی و شدید شوری، D3S1: تنش شدید خشکی و عدم شوری، D3S2: تنش شدید خشکی و شوری متوسط، D3S3: تنش شدید خشکی و شوری.

شوری نشان داد که کمترین مقدار مالون دی آلدئید (۲۹/۱ میکرومول بر گرم وزن تر) مربوط به تیمار تنش متوسط خشکی و عدم شوری (D2S1) و بیشترین مقدار (۱۳۵/۱ میکرومول بر گرم وزن تر) مربوط به تیمار تنش شدید خشکی و شوری (D3S3) است که هر دو تیمار اختلاف معنی دار با شاهد نشان دادند (جدول ۵).

محتوای پرولین: مقایسه میانگین سطوح اصلی تنش شوری نشان می دهد که کمترین میزان پرولین (۱۳/۹ میکرومول بر گرم وزن تر) در سطح شاهد و بیشترین مقدار پرولین (۱۶/۰۲ میکرومول بر گرم وزن تر) در سطح تنش متوسط (S2) مشاهده شد (جدول ۳). اگر چه محتوای پرولین در سطح S3 نسبت به S2 کاهش معنی داری داشت، اما روند افزایش آن در سطح S3 نسبت به شاهد، افزایشی و معنی دار بود. تجمع اسید آمینه پرولین در طول تنش شوری علاوه بر نقش مهم در برقراری تعادل اسمزی، منجر به برقراری و ثبات ساختارهای سلولی، بافری نمودن پتانسیل احیایی سلول و تأمین منبع ذخیره کربن و نیتروژن مؤثر است (Celik and Unsal, 2013).

معنی دار محتوای مالون دی آلدئید در تیمارهای متوسط و شدید تنش شوری شد (جدول ۳)، که این نتیجه با تغییرات مالون دی آلدئید تحت تنش شوری در زنیان (Abdoli et al., 2020) مطابقت دارد. محتوای مالون دی آلدئید به عنوان شاخصی از پراکسیداسیون لیپیدهای غشا معمولاً در شرایط تنش های محیطی افزایش پیدا می کند زیرا اسیدهای چرب غیراشباع ترکیبات اصلی لیپیدهای غشا هستند و مستعد پراکسیداسیون به وسیله رادیکال های آزاد تولید شده در شرایط تنش هستند (Farooq et al., 2009). مقایسه میانگین اثرات اصلی تنش خشکی نشان داد که بیشترین مقدار مالون دی آلدئید (۱۰/۱۳ میکرومول بر گرم وزن تر) در تنش شدید خشکی (D3) و کمترین مقدار آن (۰/۶۱ میکرومول بر گرم وزن تر) در شرایط شاهد حاصل شد (جدول ۴). به طور مشابه افزایش در محتوای مالون دی آلدئید در شرایط متوسط تنش خشکی در گیاه انیسون (اسدی کاوان و همکاران، ۱۳۸۷) و تنش شدید خشکی در گلرنگ (Golkar et al., 2021) گزارش شده است. مقایسه میانگین اثرات متقابل تنش های خشکی ×

پروتئینی، تثبیت ساختارهای درون سلولی و حذف رادیکال‌های آزاد صورت گیرد (Munns, 2002). نتایج نشان می‌دهد که در شرایط تنش‌های شدید، میزان تجمع پرولین، نسبت به سطوح متوسط تنش‌های شوری و خشکی، کاهش معنی‌داری را نشان داده است که می‌تواند بیانگر عدم توانایی کافی گیاه خلال‌دندان در مقابله با شرایط تنش شدید از طریق مکانیسم سنتز پرولین باشد.

رنگیزه‌های فتوستتزی: نتایج مقایسه میانگین محتوای کلروفیل و کاروتنوئید در سطوح مختلف تنش شوری نشان داد که تنش متوسط شوری (S2) و شدید (S3) منجر به افزایش معنی‌دار در محتوای کلروفیل کل و کاروتنوئید نسبت به شاهد شده است (جدول ۳). با توجه به نتایج به دست آمده می‌توان استنباط نمود که کاروتنوئیدها با دفع انرژی از سیستم‌های فتوستتزی، می‌توانند در شرایط تنش، غشاهای کلروپلاستی را حفظ کنند؛ چنان‌چه میزان کاروتنوئیدها که به عنوان حمایت‌کننده کلروفیل‌ها در برابر اکسیداسیون نوری به شمار می‌روند افزایش می‌یابد تا مانع تخریب بیشتر کلروفیل‌ها در گیاه در شرایط تنش شوری گردد (Jaleel et al., 2009).

در مطالعه حاضر، تنش متوسط خشکی (D2) نیز سبب افزایش معنی‌دار غلظت کاروتنوئید نسبت به تیمار شاهد شد (جدول ۴). وقوع تنش شدید خشکی (D3)، اگر چه باعث کاهش میزان کاروتنوئید نسبت به تنش متوسط شد، اما میزان آن باز هم نسبت به تیمار شاهد به‌طور معنی‌داری بیشتر بود (جدول ۴). محتوای میزان کلروفیل در تنش‌های متوسط (D2) و شدید (D3) خشکی، نسبت به تیمار شاهد، به‌طور معنی‌داری به ترتیب افزایش و کاهش نشان داد (جدول ۴). این نتیجه می‌تواند بیانگر این موضوع باشد که این گیاه می‌تواند در تنش متوسط خشکی از طریق افزایش سنتز رنگدانه‌ها و فعالیت فتوستتزی مطلوب واکنش نشان دهد. به‌طور مشابه، افزایش غلظت رنگیزه‌های کلروفیل و کاروتنوئید در اثر تنش خشکی در *Trachyspermum ammi* L. (Azhar et al., 2011) و رازیانه (غلامی‌زالی و احسان‌زاده، ۱۳۹۸) گزارش شده است، در صورتی‌که در بعضی گیاهان دیگر نظیر بابونه (Arazmjo et

گیاه در هنگام مواجهه‌شدن با تنش‌های خشکی و شوری، از طریق تجمع یا سنتز موادی مانند پرولین، به مقابله در برابر تنش اقدام می‌کند (Ashraf and Foolad, 2007). تجمع پرولین باعث منفی‌تر شدن پتانسیل اسمزی محیط داخل سلول نسبت به محیط بیرونی و جذب مقدار بیشتری آب از اطراف سلول گیاهی و به دنبال آن مقابله با تنش اسمزی می‌شود (Moreno-Galvan et al., 2020).

مقایسه میانگین سطوح اصلی تنش خشکی نشان داد که میزان پرولین در سطوح تنش شدید و شاهد با هم تفاوت معنی‌داری نداشتند اما این سطوح با تنش متوسط (D2)، اختلاف معنی‌داری نشان دادند (جدول ۴). اگر چه افزایش میزان پرولین در تنش‌های شوری در بابونه (راسخ و همکاران، ۱۳۹۸) و همین‌طور تنش خشکی در رازیانه (غلامی‌زالی و احسان‌زاده، ۱۳۹۸)، بادرشبو (صفی‌خانی و همکاران، ۱۳۸۶) زنیان (رضوی‌زاده و همکاران، ۱۳۹۳)، بابونه (Arazmjo et al., 2010) و گلرنگ (Golkar et al., 2021) گزارش شده است، اما کاهش بیش از حد پتانسیل آبی محیط در تنش‌های شدید خشکی، به نوعی اثر بازدارنده بر بیوسنتز پرولین در گیاه خلال‌دندان اعمال نمود، که می‌تواند بیانگر حساسیت بالای این گیاه در شرایط تنش‌های شدید و عدم تحمل به سطوح شدید تنش باشد.

مقایسه میانگین اثرات متقابل تنش‌های شوری و خشکی نشان داد که کمترین غلظت پرولین (۱۰/۴۲ میکرومول بر گرم وزن تر) مربوط به شرایط عدم وقوع تنش‌های شوری و خشکی (D1S1) بود و اعمال سطوح مختلف تنش محتوای پرولین را به صورت معنی‌دار افزایش دادند به‌طوری‌که بیشترین مقدار پرولین (۱۹/۲۱ میکرومول بر گرم وزن تر) در تیمار تنش متوسط خشکی و عدم شوری (D2S1) مشاهده شد که افزایش معنی‌دار ۸۴ درصدی نسبت به تیمار شاهد نشان داد (جدول ۵). افزایش میزان پرولین در شرایط توأم از تنش‌های متوسط شوری و خشکی می‌تواند نوعی حالت سازگاری گیاه خلال‌دندان برای مقابله با تنش باشد که می‌تواند این مکانیسم سازگاری از طریق ایجاد تعادل اسمزی، حفاظت از ساختار

شوری منجر به افزایش معنی‌دار ترکیبات فنولیک و به دنبال آن افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی در گیاه می‌شود که مشابه با این نتیجه در تنش خشکی در گیاهان گلرنگ (Golkar et al., 2021) و زینان (Zeid et al., 2014)، همچنین تنش شوری در بابونه (راسخ و همکاران، ۱۳۹۸) گزارش شده است. زمانی که گیاه تحت تأثیر چندین تنش قرار می‌گیرد، در پاسخ به هر دو تنش به مقابله با گونه‌های فعال اکسیژن می‌پردازد، اما با وجود تداخل و همپوشانی در مسیرهای تنظیم‌کننده تنش‌ها، در نهایت پاسخ‌های متفاوتی را به هر یک از تنش‌ها خواهد داد (Sewelam et al., 2016).

ترکیبات فنولیکی: نتایج مقایسه میانگین محتوای ترکیبات فنولیکی مختلف در سطوح تنش شوری، نشان‌دهنده افزایش معنی‌دار ترکیبات فنولیکی در اثر وقوع تنش‌های متوسط و شدید شوری نسبت به شاهد است (جدول ۳). کمترین میزان محتوای کل فنول، فلاونول، فلاونوئید و آنتوسیانین، مربوط به شرایط بدون اعمال تنش شوری (S1) و بیشترین مقادیر محتوای کل فنول (۹۹/۳۰ میلی‌گرم اسید گالیک بر گرم وزن تر) و محتوای کل فلاونوئید (۱۷۷/۲۶ میلی‌گرم کوئرستین بر گرم وزن تر)، در شرایط وقوع تنش ملایم شوری (S2) حاصل شد (جدول ۳). نتایج نشان‌دهنده اثرات تحریک‌کنندگی تنش متوسط شوری در افزایش ساخت و انباشتگی ترکیبات فنولیکی بود، که با نتایج راسخ و همکاران (۱۳۹۸) مبنی بر کاهش محتوای ترکیبات فنولی تحت شرایط شوری شدید مطابقت نشان داد. علت این پدیده می‌تواند این‌طور بیان شود که تنش‌های شدید محیطی می‌توانند اثر بازدارنده بر روی توان آنتی‌اکسیدانی و همین‌طور کاهش بیان ژن‌ها و آنزیم‌های درگیر در سنتز ترکیبات فنولیکی گیاه داشته باشند و به دنبال آن باعث کاهش ترکیبات فنولی گردند (Valifard et al., 2014). بیشترین مقادیر محتوای کل فلاونول (۴۰/۶۷ میلی‌گرم کوئرستین بر گرم وزن تر) در تیمار S3 (جدول ۳) و بیشترین مقدار آنتوسیانین (۰/۱۰ میکرومول بر گرم وزن تر) در سطوح شوری S2 و S3 مشاهده شد (جدول ۳). بسیاری از ترکیبات فنولی از جمله فلاونوئیدها می‌توانند از طریق تأثیر بر

al., 2010) و گلرنگ (Golkar et al., 2021) روند کاهش‌ی نشان داده است. طبق مطالعات انجام‌شده تغییرات افزایشی یا کاهش‌ی در رنگیزه‌های فتوسنتزی گیاهان دارویی تحت شرایط تنش، در گیاهان وابسته به گونه، ژنوتیپ و شدت تنش است (Koocheki et al., 2008).

مقایسه میانگین اثرات متقابل تنش‌های شوری و خشکی نشان داد که کمترین غلظت کاروتنوئید (۱۴/۲ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) مربوط به تیمار شاهد (D1S1) و بیشترین مقدار آن (۹۶/۶۸ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) مربوط به تیمار تنش متوسط خشکی و عدم تنش شوری (D2S1) بود (جدول ۵). اثرات متقابل تنش‌های شوری و خشکی، اثرات افزایشی یا کاهش‌ی معنی‌داری بر روی محتوای کلروفیل کل داشتند به طوری که بیشترین مقدار آن در تیمارهای (D2S2) و (D3S2) و کمترین مقدار آن در تیمار (D3S1) مشاهده شد (جدول ۵). در این پژوهش به نظر می‌رسد گیاه خلال دندان در اثر تنش‌های توأم کم آبی و شوری با کاهش آب در سلول‌های مزوفیلی، غلظت کلروفیل و کاروتنوئید در واحد سطح را افزایش داده تا با ادامه فتوسنتز و ماده‌سازی بتواند این تنش‌های مستقل و توأم را بهتر تحمل کند (Zhou et al., 2017).

فعالیت آنتی‌اکسیدانی: مقایسه میانگین سطوح اصلی تنش خشکی و شوری نشان‌دهنده افزایش معنی‌دار فعالیت آنتی‌اکسیدانی در سطح شدید تنش شوری (۷۱/۷۳ درصد) (جدول ۳) و خشکی (۷۳/۰۶ درصد) (جدول ۴) نسبت به تیمار شاهد بود. مقایسه میانگین اثرات متقابل خشکی × شوری نشان داد که کمترین میزان بازدارندگی از فعالیت آنتی‌اکسیدانی DPPH در شرایط شاهد (D1S1) به میزان ۵۲/۵ درصد بود. اعمال تنش‌های متوسط شوری (D1S2) و تنش متوسط خشکی (D2S1) باعث کاهش معنی‌دار در میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی شدند. اثر سایر سطوح تنش‌های خشکی و شوری روی فعالیت آنتی‌اکسیدانی افزایشی و معنی‌دار بود، به طوری که بیشترین میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی (۷۶/۱۲ درصد) در تیمار شدید تنش‌های شوری و خشکی (D3S3) مشاهده شد (جدول ۴). وقوع تنش‌های خشکی و

مربوط به تیمار متوسط تنش خشکی و عدم تنش شوری (D2S1) بود (جدول ۵). بیشترین مقدار آنتوسیانین (۰/۱ میکرومول بر گرم وزن تر) در تیمارهای تنش متوسط خشکی و شوری (D2S2) و تنش شدید خشکی و شوری (D3S3) مشاهده شد که دارای اختلاف معنی‌داری با شاهد بودند (جدول ۵).

نتیجه‌گیری

نتایج بررسی تنش‌های مستقل و توأم شوری و خشکی در گیاه خلال‌دندان نشان داد که تنش‌های مستقل و توأم اگر چه منجر به کاهش معنی‌دار در عملکرد دانه و صفات زراعی اندازه‌گیری شده (وزن هزار دانه و ارتفاع) شدند، ولی وقوع توأم این تنش‌ها منجر به افزایش ترکیبات فنولیکی (محتوای کل فنول، محتوای کل) در تنش شدید خشکی و متوسط شوری (D3S2) و افزایش حداکثری در رنگیزه‌های فتوسنتزکننده در تنش متوسط خشکی و شدید شوری (D2S3) شد. با توجه به نتایج، افزایش در محتوای کل ترکیبات فنولی، فلاونوئیدی و پرولین و فعالیت آنتی‌اکسیدانی به عنوان راهکارهای دفاعی گیاه خلال‌دندان در مواجهه با تنش‌های شدید شوری و خشکی صورت گرفت. با توجه به گستره فراوان زمین‌های شور و خشک در کشور و روند توسعه آنها، توسعه سطح زیر کشت گیاه دارویی خلال‌دندان در زمین‌های مرطبی و زراعی خشک و شور کشور، می‌تواند گام مؤثری در زمینه افزایش تولید این گیاه دارویی و بهره‌برداری اقتصادی از متابولیت‌های ثانویه دارویی ارزشمند در آن باشد.

برخی ویژگی‌های مورفولوژیکی برگ، تعرق را کاهش و بر مقاومت گیاه در برابر خشکی بیافزایند (Naikoo *et al.*, 2019). در این مطالعه سطوح ملایم (D2) و شدید تنش خشکی (D3) منجر به افزایش معنی‌دار در محتوای کل فنول، فلاونوئید و آنتوسیانین نسبت به تیمار شاهد شد (جدول ۴) که با نتایج گلرنگ مطابقت نشان داد (Golkar *et al.*, 2021). افزایش محتوای فلاونول فقط در سطح تنش متوسط خشکی (D2)، نسبت به تیمار شاهد تفاوت معنی‌دار نشان داد (جدول ۴). زمانی که انتقال الکترون فتوسنتزی محدود می‌شود، تغییرات متابولیکی ممکن است منجر به افزایش فلاونول‌ها در اثر افزایش خشکی شود که به علت فعال شدن راه‌های متابولیکی با واسطه آنزیم فنیل‌آلانین آمونیلایز یا آنزیم‌های دیگر است (Jaleel *et al.*, 2009). فلاونول‌ها و آنتوسیانین‌ها، به عنوان یک گروه تخصصی از ترکیبات فلاونوئیدی، با فعالیت مهار رادیکالی قوی در کاهش تنش اکسیداتیو ناشی از تنش‌های محیطی در گیاهان نقش دارند. افزایش محتوای فلاونول‌ها و آنتوسیانین‌ها در کاهش اثرات مضر ناشی از تنش خشکی، از طریق حذف مستقیم رادیکال‌های آزاد، در بابونه (Arazmjo *et al.*, 2010)، میخک (Zhang *et al.*, 2017) و گلرنگ (Golkar *et al.*, 2021) گزارش شده است.

مقایسه میانگین اثرات متقابل تنش شوری و خشکی نشان داد که کمترین محتوای فنول کل، محتوای کل فلاونول و محتوای کل فلاونوئید مربوط به تیمار شاهد (D1S1) (جدول ۵) و بیشترین محتوای کل فنول (۲۲۸/۶۴ میلی‌گرم اسید گالیک بر گرم وزن تر) و محتوای کل فلاونوئید (۱۲۰/۶۲ میلی‌گرم کوئرستین بر گرم وزن تر) مربوط به تیمار تنش شدید خشکی و متوسط شوری (D3S2) و بیشترین محتوای کل فلاونول (۵۱/۷۴ میلی‌گرم کوئرستین بر گرم وزن تر)

منابع

- اسدی کاوان، ژ.، و قربانلی، م. و ساطعی، آ. (۱۳۸۷) تغییرات ناشی از تنش خشکی و آسکوربات خارجی روی پارامترهای رشد و قندهای محلول در گیاه انیسون (*Pimpinella anisum L.*). مجله دانش زیستی ایران ۳: ۳۷-۴۶.
- راسخ، ر.، وزیر، آتوسا، و خلدبرین، ب. (۱۳۹۸) اثر تنش شوری بر ویژگی‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه دارویی بابونه (*Matricaria chamomilla*). مجله پژوهش‌های گیاهی ۳: ۶۷۳-۶۵۹.

- رضوی‌زاده، ر.، شفقت، م. و نجفی، ش. (۱۳۹۳) اثر تنش کمبود آب بر شاخص‌های مورفولوژیک و فیزیولوژیک گیاه زنیان. مجله زیست‌شناسی گیاهی ایران ۲۲: ۳۸-۲۵.
- صفی‌خانی، ف.، حیدری شریف‌آباد، ح.، شریفی عاشورآبادی، ا.، سیادت، ع.، سیدنژاد، م. و عباس‌زاده، ب. (۱۳۸۶) تأثیر خشکی بر عملکرد و صفات مورفولوژیک گیاه دارویی بادرشبو (*Dracocephalum moldavical*). فصلنامه حقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران ۲۳: ۱۹۴-۱۸۳.
- صیادی، ا.، احمدی، ج.، اصغری، ب. و حسینی، س. م. (۱۳۹۳) بررسی اثر تنش‌های خشکی و شوری بر میزان ترکیبات فنلی گیاه دارویی *Thymus vulgaris* L. اکوفیتوشیمی گیاهان دارویی ۲: ۶۱-۵۰.
- غلامی‌زالی، ع. و احسان‌زاده، پ. (۱۳۹۸) پاسخ فیزیولوژیک، آنتی‌اکسیدانی و عملکرد سه ژنوتیپ رازیانه به استعمال خارجی پرولین در شرایط تنش رطوبتی. مجله فرآیند و کارکرد گیاهی ۸: ۱۸-۱.
- فابریکی اورنگ، ص. و مهرآباد پوربناب، ث. (۱۳۹۵) بررسی اثر تنش خشکی و شوری بر خصوصیات مورفولوژیک و بیوشیمیایی گیاه دارویی (*Satureja hortensis* L.). مجله اکوفیتوشیمی گیاهان دارویی ۳: ۳۵-۲۳.
- یاوری، پ. (۱۳۹۸) تنوع صفات مورفولوژیک، عملکرد اسانس و میزان ترکیبات فنولیک در توده‌های مختلف زنیان تحت تنش شوری. پایان‌نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه صنعتی اصفهان، اصفهان، ایران.
- Azhar, N., Hussain, B., Ashraf, M. Y. and Abbasi, K. Y. (2011) Water stress mediated changes in growth, physiology and secondary metabolites of desi ajwain (*Trachyspermum ammi* L.). Pakistan Journal of Botany 9: 15-19.
- Abdoli, S., Ghassemi-Golezani, K. and Alizadeh-Salteh, S. (2020) Responses of ajowan (*Trachyspermum ammi* L.) to exogenous salicylic acid and iron oxide nanoparticles under salt stress. Environmental Science and Pollution Research 29: 36939-36953.
- Arazmjo, A., Heidari, M. and Ghanbari, A. (2010) The effect of water stress and three sources of fertilizers on flower yield, physiological parameters and nutrient uptake in chamomile (*Matricaria chamomilla* L.). Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants 4: 482-494.
- Ashraf, M. and Foolad, M. R. (2007) Roles of glycinebetaine and proline in improving plant abiotic stress tolerance. Environmental and Experimental Botany 59: 206-216.
- Ashraf, M., Mukhtar, N., Rehman, S. and Rha, E. S. (2004) Salt-induced changes in photosynthetic activity and growth in a potential medicinal plant Bishop's weed (*Ammi majus* L.). Photosynthesis 42: 543-550.
- Bates, L. S., Waldren, R. P. and Teare, I. D. (1973) Rapid determination of free proline for water-stress studies. Plant and Soil 1: 205-207.
- Benchriet, R., Kherrab, H., Kabouche, A., Kabouche, Z. and Jay, M. (2011) Flavonols and antioxidant activity of *Ammi visnaga* L. (Apiaceae). Natural Products Research 1: 52-55.
- Blum, A. (2011) Plant Breeding For Water-Limited Environments. Springer, New York.
- Celik, O. and Unsal, S. G. (2013) Expression analysis of proline metabolism-related genes in salttolerant soybean mutant plants. Plant Omics Journal 5: 364-370.
- Chevallier, A. (2016) Encyclopedia of Herbal Medicine: 550 Herbs and Remedies for Common Ailments. Penguin.
- Durate, J. A. and Torres, L. (2000) Cardio vascular effects of visnagin on rats. Planta Medica 66: 35-39.
- Farooq, M., Wahid, A., Kobayashi, N. S. M. A., Fujita, D. B. S. M. A. and Basra, S. M. A. (2009) Plant drought stress: Effects, mechanisms and management. Sustainable Agriculture 153-188.
- Feirouz, B. and Salima, K. G. (2014) Antibacterial activity and chemical composition of *Ammi visnaga* L. essential oil collected from Boumerdes (Algeria) during three periods of the plant growth. Journal of Essential Oil Bearing Plants 6: 1317-1328.
- Goharrizi, K. J., Baghizadeh, A., Kalantar, M. and Fatehi, F. (2020) Combined effects of salinity and drought on physiological and biochemical characteristics of pistachio rootstocks. Scientia Horticulturae 261: 108970.
- Golkar, P., Taghizadeh, M. and Jalali, S. A. M. (2019) Determination of phenolic compounds, antioxidant and anticancer activity of *Chrozophora tinctoria* accessions collected from different regions of Iran. Journal of Food Biochemistry 11: e13036.
- Golkar, P., Hamzeh, E., Maibody, S. A. M. and Taghizadeh, M. (2021) Safflower's (*Carthamus tinctorius* L.) physio-biochemical mechanisms to improve its drought tolerance. Acta Physiologiae Plantarum 5: 1-15.
- Heath, R. L. and Packer, L. (1968) Photoperoxidation in isolated chloroplasts: I. kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. Archives of Biochemistry and Biophysics 1: 189-198.

- Hernandez, J. A. (2019) Salinity tolerance in plants: Trends and perspectives. *International Journal of Molecular Sciences* 10: 2408.
- Isah, T. (2019) Stress and defense responses in plant secondary metabolites production. *Biological Research* 52.
- Jaleel, C. A., Manivannan, P. A. R. A. M. A. S. I. V. A. M., Wahid, A., Farooq, M., Al-Juburi, H. J., Somasundaram, R. A. M. A. M. U. R. T. H. Y. and Panneerselvam, R. (2009) Drought stress in plants: a review on morphological characteristics and pigments composition. *International Journal of Agriculture and Biology* 11: 100-105.
- Khalil, N., Bishr, M., Desouky, S. and Salama, O. (2020) *Ammi visnaga* L., a potential medicinal plant: A review. *Molecules* 2: 301.
- Koocheki, A., Nassiri-Mahallati, M. and Azizi, G. (2008) Effect of drought, salinity, and defoliation on growth characteristics of some medicinal plants of Iran. *Journal of Herbs Spices and Medicinal Plants* 14: 37-53.
- Laribi, B., Bettaieb, I., Kouki, K., Sahli, A., Mougou, A. and Brahim, M. (2009) Water deficit effects on caraway (*Carum carvi* L.) growth, essential oils and fatty acids composition. *Industrial Crops and Products* 30: 372-379.
- Lichtenthaler, H. K. and Buschmann, C. (2001) *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*. Wiley, New York.
- Miliauskas, G., Venskutonis, P. and Van Beek, T. (2004) Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extracts. *Food Chemistry* 2: 231-237.
- Mittler, R. (2002) Oxidative stress, antioxidant and stress tolerance. *Trends in Plant Science* 9: 405-410.
- Moreno-Galvan, A. E., Cortes-Patino, S., Romero-Perdomo, F., Uribe-Velez, D., Bashan, Y. and Bonilla, R. R. (2020) Proline accumulation and glutathione reductase activity induced by drought-tolerant rhizobacteria as potential mechanisms to alleviate drought stress in Guinea grass. *Applied Soil Ecology* 147: 103367.
- Munns, R. (2002) Comparative physiology of salt and water stress. *Plant, Cell and Environment* 25: 239-250.
- Nahar, K., Rhaman, M. S., Parvin, K., Bardhan, K., Marques, D. N., Garcia-Caparrós, P. and Hasanuzzaman, M. (2022) Arsenic-induced oxidative stress and antioxidant defense in plants. *Stresses* 2: 179-209.
- Naikoo, M. I., Dar, M. I., Raghieb, F., Jaleel, H., Ahmad, B., Raina, A., Khan, F. A. and Naushin, F. (2019) Role and regulation of plants phenolics in abiotic stress tolerance: An overview. *Plant Signaling Molecules* 1: 157-168.
- Osama, S., El Sherei, M., Al-Mahdy, D. A., Bishr, M. and Salama, O. (2019) Effect of Salicylic acid foliar spraying on growth parameters, γ -pyrones, phenolic content and radical scavenging activity of drought stressed *Ammi visnaga* L. plant. *Industrial Crops and Products* 134: 1-10.
- Parihar, P., Singh, S., Singh, R., Singh, V. P. and Prasad, S. M. (2015) Effect of salinity stress on plants and its tolerance strategies: A review. *Environmental Science and Pollution Research* 6: 4056-4075.
- Piri, I., Keshtegar, M., Tavassoli, A. and Babaeian, M. (2017) Effect of salinity on osmotic adjustment, yield and essence of local landraces ajowan (*Trachyspermum ammi* L.). *Journal of Crop Ecophysiology* 11: 43519-43530.
- Rezaei Chiyaneh, E., Zehtab Salmasi, S., Ghassemi Golezani, K. and Delazar, A. (2013) Effect of irrigation treatments on yield and yield components of three fennel (*Foeniculum vulgare* L.) Landraces. *Journal of Agricultural Science and Sustainable Production* 4: 57-71.
- Sewelam, N., Kazan, K. and Schenk, P. M. (2016) Global plant stress signaling: Reactive oxygen species at the cross-road. *Frontiers in Plant Science* 7: 187-187.
- Takahashi, F., Kuromori, T., Urano, K., Yamaguchi-Shinozaki, K. and Shinozaki, K. (2020) Drought stress responses and resistance in plants: From cellular responses to long-distance intercellular communication. *Frontiers in Plant Science* 11: 556972.
- Valifard, M., Mohsenzadeh, S., Kholdebarin, B. and Rowshan, V. (2014) Effects of salt stress on volatile compounds, total phenolic content and antioxidant activities of *Salvia mirzayanii*. *South African Journal of Botany* 93: 92-97.
- Yao, H. M., Li, Y. S., Zhang, T. Z., Zhao, J., Wang, C., Wang, H. N. and Fang, Y. F. (2016) Effects of combined drought and salinity stress on germination and physiological characteristics of maize (*Zea mays*). *The Journal of Applied Ecology* 27: 2301-2307.
- Yang, L., Wen, K. S., Ruan, X., Zhao, Y. X., Wei, F. and Wang, Q. (2018) Response of plant secondary metabolites to environmental factors. *Molecules* 23: 762.
- Zeid, F. A., Omer, E. A., Amin, A. Y. and Hanafy, S. A. (2014) Effect of putrescine and salicylic acid on Ajwain plant (*Trachyspermum ammi*) at vegetative stage grown under drought stress. *International Journal of Agricultural Science and Research* 4: 61-80.
- Zhang, W., Cao, Z., Xie, Z., Lang, D., Zhou, L., Chu, Y., Zhao, Q., Zhang, X. and Zhao, Y. (2017) Effect of water stress on roots biomass and secondary metabolites in the medicinal plant *Stellaria dichotoma* L. var. lanceolata Bge. *Scientia Horticulturae* 224: 280-285.
- Zhou, R., Yu, X., Ottosen, C. O., Rosenqvist, E., Zhao, L., Wang, Y. and Wu, Z. (2017) Drought stress had a predominant effect over heat stress on three tomato cultivars subjected to combined stress. *BMC Plant Biology* 17: 1-13.

The single and combined effects of salinity and drought stresses on some agronomic traits, secondary metabolites and antioxidant activity of *Ammi visnaga* L.

Golnaz Arab¹, Pooran Golkar^{1*}, Mohammad Reza Vahabi¹ and Hamid Reza Eshghizadeh²

¹ Department of Natural Resources, Isfahan University of Technology, 84156-83111 Isfahan, Iran

² Department of Agronomy and Plant Breeding, College of Agriculture, Isfahan University of Technology, 84156-83111 Isfahan, Iran

(Received: 12/07/2022, Accepted: 15/11/2022)

Abstract

The most important stresses in the world's agricultural lands, especially in Iran, are drought and salinity stresses, which are increasing in these days. In this study, the independent and combined effects of salinity and drought stresses were studied on different agronomic and biochemical traits of the medicinal plant of *Ammi visnaga*. The experimental design was performed as split plot based on a completely randomized block design with three replication. Drought stress treatments were based on soil depletion rate (normal 50%, moderate stress 60% and severe stress 85%) and three salinity stress levels (normal, average stress: 80 mM and severe stress :100 mM were applied. The results of the present study showed that different levels of independent stresses and also the combination of salinity and drought both caused a significant decrease in seed yield, seed weight as well as plant height but a significant increase in malondialdehyde content compared to the control treatment. In combined treatments, the changes in chlorophyll content did not show the same trend compared to the control treatment. In both drought and salinity stresses, there was a significant increase in the contents of total phenolics, total flavonols, total flavonoids, carotenoids, proline and antioxidant activity, compared to the control, in order to compensate the negative effects of tensions. The lowest values for seed yield, plant height and the highest antioxidant activity were observed in the combined stress of severe drought and severe salinity. The highest content for total flavonols and carotenoid and the lowest value for malondialdehyde were observed in the combined stress of moderate drought and non salinity (D2S1). The highest contents of total phenolics (228.64 mg of gallic acid per gram of fresh leaves) and total flavonoids (120.62 mg of quercetin per gram of fresh leaves) were obtained in the combined stress of moderate salinity and severe drought (D3S2). The highest content of anthocyanin (0.12 $\mu\text{mol/g}$ FW) was obtained in severe combined stress of salinity and drought (D3S3). These results showed the stimulating effects of these combined levels in the highest production of phenolics, flavonoids and anthocyanins compounds in this plant. Due to the significant increase of phenolic compounds in moderate and severe levels of drought and salinity stresses, its cultivation in lands affected by drought and salinity stress can be considered.

Keywords: Antioxidant; Photosynthetic pigments, Phenolics contents, Stress, Yield

Corresponding author, Email: lshabani@gmail.com