

تأثیر فنیل آلانین و گاما آمینوبوتریک اسید بر شاخص‌های مورفوفیزیولوژیک بادرشوبویه (*Dracocephalum moldavica* L.) تحت تنش شوری

فاطمه یزدان‌پناهی^۱، محسن ثانی‌خانی^{۱*}، عزیزاله خیری^۱ و حسین ربی‌انگورانی^۲

^۱ گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان، زنجان، ایران

^۲ پژوهشکده فناوری‌های نوین زیستی، دانشگاه زنجان، زنجان، ایران

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۱۱/۰۱، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۴۰۲/۱۲/۱۴)

چکیده

شوری یکی از مهم‌ترین تنش‌های محیطی است که باعث کاهش رشد و عملکرد گیاهان زراعی می‌شود. کاربرد کودهای زیستی به‌ویژه اسیدهای آمینه برای غلبه بر این موضوع به‌منظور بهبود رشد و افزایش کمی و کیفی محصولات حائز اهمیت است. به‌منظور بررسی اثر اسیدهای آمینه بر برخی پارامترهای مورفوفیزیولوژیک گیاه دارویی بادرشوبویه تحت تنش شوری، آزمایشی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کاملاً تصادفی (RCBD) در سه تکرار در گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه زنجان در پاییز ۱۴۰۱ اجرا شد. تیمارهای آزمایش شامل سه سطح شوری (صفر، ۴۰ و ۸۰ میلی‌مولار سدیم کلرید) به‌عنوان فاکتور اصلی و فنیل آلانین (۲ و ۴ میلی‌مولار)، گاما آمینوبوتریک اسید (۵ و ۱۰ میلی‌مولار) به‌همراه تیمار آب مقطر به‌عنوان فاکتورهای فرعی اعمال شد. نتایج آزمایش نشان داد که با افزایش شدت شوری برخی پارامترهای مورفولوژیک و فیزیولوژیک گیاه کاهش یافت اما بر محتوای آنتوسیانین گل افزوده شد. کاربرد فنیل آلانین ۲ میلی‌مولار وزن تر و خشک بوته را به‌طور قابل توجهی افزایش داد و کاربرد ۴ میلی‌مولار آن باعث افزایش معنی‌دار تعداد برگ، شاخص پایداری غشاء سلولی، کلروفیل و کاروتنوئید در سطح شوری صفر میلی‌مولار و آنتوسیانین در شرایط ۸۰ میلی‌مولار سدیم کلرید شد. همچنین گابا ۵ و ۱۰ میلی‌مولار در شرایط بدون تنش و فنیل آلانین ۲ میلی‌مولار در شرایط ۴۰ و ۸۰ میلی‌مولار شوری منجر به افزایش قطر ساقه شد. اگر چه کاربرد فنیل آلانین ۴ میلی‌مولار در شرایط بدون تنش بیشترین تأثیر را داشت ولی گابا ۱۰ میلی‌مولار در شرایط تنش شوری نقش مؤثرتری در افزایش وزن تر و خشک بوته، کلروفیل، کاروتنوئید و در نتیجه افزایش پایداری غشاء سلولی داشت. بنابراین استفاده از اسیدهای آمینه فنیل آلانین ۴ میلی‌مولار و گابا ۱۰ میلی‌مولار جهت بهبود الگوی رشد و نمو و صفات فیزیولوژیک گیاه بادرشوبویه و کاهش اثرات زیان‌بار تنش شوری توصیه می‌شود.

واژه‌های کلیدی: رنگیزه‌های فتوسنتزی، شاخص پایداری غشاء، محتوای نسبی آب برگ، اسیدهای آمینه

مقدمه

ساله، معطر، با ساقه چهارگوش به ارتفاع ۲۲ تا ۴۵ سانتی‌متر، ساده یا منشعب، معمولاً به فرم ایستاده است. برگ‌های آن قاعده‌ای به شکل مستطیل تا بیضی با طول ۱/۷ تا ۲/۴

بادرشوبویه با نام علمی (*Dracocephalum moldavica* L.)، متعلق به خانواده (Labiatae) Lamiaceae، گیاهی علفی یک

بر ویژگی‌های مورفولوژیک گیاهان تحت تنش، می‌توان به کاهش و توقف رشد، کاهش عملکرد و در نهایت از بین رفتن گیاه اشاره کرد (Ashraf *et al.*, 2008). محققان دریافته‌اند که با افزایش میزان تنش شوری شدت فتوستنز و مقدار کلروفیل کل در برگ‌ها کم شد که دلیل آن تخریب کلروفیل در اثر بیش‌بود عناصر سدیم و کلر در سلول‌های برگ ذکر کردند (Soundararajan *et al.*, 2017). تحقیقات نشان داده که افزایش تنش شوری در گیاه ریحان باعث کاهش رنگیزه‌های فتوستنزی و محتوای نسبی آب برگ شده است (مقدم و طالبی، ۱۳۹۵). در گیاه بادرشبویه شاخص‌های رشد، رنگیزه‌های فتوستنزی و محتوای نسبی آب برگ تحت تأثیر تنش شوری کاهش یافت (زاجی و همکاران، ۱۳۹۸).

یکی از اهداف مهم در کشاورزی پایدار استفاده از کودهای زیستی و مؤثر به منظور بهبود رشد و افزایش کمی و کیفی محصولات است. ترکیبات حاوی آمینواسیدها یکی از مؤثرترین انواع این کودها هستند. آمینواسیدها از اجزای بنیادی در فرآیند سنتز پروتئین بوده که به‌صورت مستقیم و غیرمستقیم بر فرآیندهای فیزیولوژیک گیاهان مؤثرند. استفاده از آمینواسیدها، از طریق سیستم ریشه یا محلول‌پاشی، برای بهبود جذب و غلظت عناصر غذایی برگ توصیه شده است. چنین اثراتی به‌طور گسترده‌ای برای عناصر کم مصرف گزارش شده است (Garcia *et al.*, 2011). اسیدهای آمینه بهره‌وری متابولیسم گیاه را افزایش می‌دهند و باعث افزایش کیفیت محصول و عملکرد آن، افزایش تحمل گیاه در تنش‌های زیستی، تسهیل جذب، انتقال و استفاده مواد مغذی، بهبود ویژگی‌های کیفی محصول، بالابردن روند تنفس گیاهی، فتوستنز، سنتز پروتئین، تقویت رشد و عملکرد گیاه می‌شوند (Davies, 2010).

گاما آمینوبوتریک اسید (GABA) یک اسید آمینه غیرپروتئینی با عملکردهای مختلف در گیاهان بوده که نقش مهمی در فرآیندهای متابولیک مانند سیگنالینگ، اتصال متابولیسم کربن و نیتروژن و تحمل تنش‌های مختلف از جمله شدت نور کم، شوری و کم‌آبی و کمبود ازت ایفا می‌کند. پیش‌ماده آن گلوتامیک اسید است که هرگاه گیاهان در معرض

سنتی‌متر با حاشیه دندانه‌دار است (Jeong *et al.*, 2018). گل‌ها به رنگ صورتی، سفید و آبی مایل به بنفش به‌صورت مجتمع روی گل‌آذین آرایش یافته‌اند (Dmitruk *et al.*, 2018). این گیاه بومی نواحی گرمسیر آسیای مرکزی و اهلی شده در مرکز و شرق اروپا بوده که در ایران هشت گونه از این جنس در مناطق شمال و شمال‌غرب رویش دارد. اندام‌های هوایی این گیاه دارای انواعی ترکیبات ثانویه است که برای برخی ترکیب‌های اسانس آن مصارف متعدد دارویی، بهداشتی و صنعتی ذکر شده است (Acimovic *et al.*, 2019). دمای بیشتر از ۳۵ درجه سانتی‌گراد و کمتر از ۱۵ درجه سانتی‌گراد منجر به کاهش سطح برگ و تولید ماده خشک این گیاه می‌گردد (Khaleghnezhad *et al.*, 2019). اسانس بادرشبوی به رنگ زرد روشن، دارای بوی مطبوع و بسیار نافذ و مزه‌ای بسیار تند دارد که بیشترین میزان اسانس در طول دوره زایشی گیاه تجمع می‌یابد. ترکیبات اصلی اسانس شامل ژرانیال (Geranial)، نرال (Neral)، ژرانیل استات (Geranylacetat) و ژرانیلول (Geraniol) است که از مونوترپن‌های اکسیژن‌دار هستند و حدود ۹۰ درصد اسانس را تشکیل می‌دهد (Chu *et al.*, 2011). بادرشبویه به‌دلیل وجود نرال، ژرانیل دارای خاصیت ضدباکتری و ضدویروسی بوده که التیام‌دهنده زخم و جراحات است. همچنین به‌عنوان نیرودهنده و ضدتنج، تقویت‌کننده معده، تسهیل‌کننده عمل هضم، ضد دل‌پیچه و برطرف‌کننده تپش قلب، آرام‌بخش و اشتهاآور به‌کار می‌رود (Nejatzadeh-Barandozi *et al.*, 2015).

شوری یکی از مهم‌ترین تنش‌های غیرزیستی مؤثر در کاهش عملکرد گیاهان و به‌عنوان خطری جدی در تولید پایدار گیاهان در مناطق خشک و نیمه‌خشک جهان محسوب می‌شود. شوری با ایجاد تنش اکسیداتیو و برهم‌زدن تعادل یونی و هورمونی، رشد و فتوستنز، روابط آبی گیاه، فعالیت‌های آنزیمی، جذب عناصر غذایی و عملکرد را تحت تأثیر قرار می‌دهد (Seleiman *et al.*, 2021). مطالعات نشان داده است که تنش شوری بر جنبه‌های مختلف مورفولوژیک و فیزیولوژیک گیاهان اثر می‌گذارد (Bor *et al.*, 2003). از جمله اثرات شوری

حفاظت از گیاه در برابر تنش‌های زیستی و غیرزیستی در سراسر جهان در حال افزایش است. همچنین اطلاعات مربوط به کاربرد اسید آمینه‌ها بر صفات مورفولوژیک و فیزیولوژیک گیاهان تحت تنش شوری به‌ویژه گیاهان دارویی نظیر بادرشبویه بسیار محدود است، لذا پژوهش حاضر به‌منظور بررسی تأثیر اسیدهای آمینه بر برخی ویژگی‌های مورفوفیزیولوژیک گیاه دارویی بادرشبویه در شرایط گلخانه‌ای انجام شد.

مواد و روش‌ها

این پژوهش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کاملاً تصادفی (RCBD) در گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه زنجان در سال ۱۴۰۱ اجرا شد. تیمارهای آزمایش شامل تنش شوری در سه سطح (صفر، ۴۰ و ۸۰ میلی‌مولار سدیم کلرید) به‌عنوان فاکتور اصلی و فنیل آلانین (۲ و ۴ میلی‌مولار) و گاما آمینوبوتیریک اسید (GABA) (۵ و ۱۰ میلی‌مولار) به‌عنوان فاکتورهای فرعی و محلول‌پاشی با آب مقطر اعمال شد. قبل از اجرای طرح یک نمونه از خاک گلدان جهت بررسی خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک تهیه شد که نتایج آزمایش خاک در جدول ۱ ارائه شده است.

برای انجام آزمایش بذر بادرشبویه از شرکت پاکان بذر اصفهان تهیه شد. بذرها در آبان ماه در گلدان‌های پلاستیکی به قطر دهانه ۲۵ و ارتفاع ۳۰ سانتی‌متر در خاک زراعی، به تعداد چهار بوته کشت شد و در شرایط دمای 25 ± 2 درجه سانتی‌گراد در روز و 20 ± 2 درجه سانتی‌گراد در شب با رطوبت نسبی ۶۵ درصد رشد کردند. آبیاری هر سه روز یک‌بار تا شروع اعمال تیمارها انجام شد. با استقرار گیاه در مرحله ۶-۸ برگی آبیاری با آب شور هر دو روز یک‌بار انجام شد. همچنین برای جلوگیری از تجمع نمک و شوک ناشی از شوری، هر دو هفته یکبار آب‌شویی گلدان‌ها صورت گرفت. محلول‌پاشی برگ‌های آمینواسیدهای فنیل آلانین و گابا یک هفته قبل از اعمال تنش، در چهار مرحله زمانی به فاصله ۱۰ روز یکبار، تا پایان دوره آزمایش تکرار شد (Seyedi et al., 2023).

تنش‌های مختلف محیطی قرار گیرند، میزان این ماده در گیاهان به سرعت افزایش می‌یابد (Han et al., 2021). در گیاهان در شرایط عادی مقدار گابا موجود در سلول پایین است، اما در پاسخ به برخی شرایط مانند خشکی، شوری و تنش دمای پایین می‌تواند به‌صورت سریع و زیاد تجمع یابد (Shang et al., 2011). مشخص شده است که استفاده از گابا به‌صورت محلول‌پاشی در گیاه کینوا توانسته با تشدید متابولیسم گونه‌های فعال اکسیژن (ROS)، پایداری غشای سلولی را حفظ کرده و تحمل این گیاه به شوری را تا حد قابل‌توجهی افزایش دهد (Kiani-Pouya et al., 2017). ال‌فنیل آلانین یک اسید آمینه ضروری با نام شیمیایی ۲- آمینو-۳- پروپانوئیک اسید یکی از ۲۹ اسید آمینه اصلی محسوب می‌شود که در گیاهان نه‌تنها از اجزای ضروری برای سنتز پروتئین است بلکه به‌عنوان پیش‌ساز بیوسنتزی تولید متابولیت‌های ثانویه گیاهان به شمار می‌آید. کاربرد فنیل آلانین می‌تواند به‌عنوان یک روش کارآمد برای افزایش کیفیت مواد مغذی در میوه‌ها و سبزی‌ها با افزایش تجمع فنل‌ها، فلاونوئیدها و آنتوسیانین‌ها با ظرفیت بالای حذف گونه‌های فعال اکسیژن از طریق تحریک فعالیت مسیر فنیل پروپانوئید استفاده گردد (Portu et al., 2015). فنیل آلانین به‌صورت مستقیم و غیرمستقیم بر فعالیت فیزیولوژیک مرتبط با رشد و نمو گیاه می‌تواند مؤثر واقع شود. Reham و همکاران (۲۰۱۶) گزارش کردند که محلول‌پاشی فنیل آلانین (۱۰۰ ppm) موجب افزایش پارامترهای رشدی گیاه ریحان شده است. محلول‌پاشی ال‌فنیل آلانین بر روی گیاه مریم‌گلی از طریق بهبود سیستم تغذیه‌ای و ساخت آنزیم‌ها سبب افزایش کلروفیل شده است (Al-Mohammad et al., 2021). کاربرد فنیل آلانین تحت شرایط تنش موجب افزایش عملکرد مریم‌گلی شده که این افزایش رشد را می‌توان به نقش اسیدهای آمینه در بهره‌وری متابولیسم گیاه، افزایش تحمل گیاه به تنش‌های زیستی و افزایش ویژگی‌های کیفی نسبت داد (Calvo et al., 2014). همچنین در پژوهشی گزارش شده است که کاربرد ال‌فنیل آلانین باعث افزایش عملکرد مرزه گردید (Poorghadir et al., 2020). طی دهه‌های گذشته، تولیدات گلخانه‌ای به‌منظور

جدول ۱- خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک

بافت خاک	ماده آلی (%)	پتاسیم (گرم بر کیلوگرم)	سدیم (گرم بر کیلوگرم)	کلسیم	نیتروژن (%)	هدایت الکتریکی (دسی‌زیمنس بر متر)	اسیدیته
لوم رسی	۰/۹۴	۰/۲۰	۰/۱۳	۰/۱۲	۰/۰۷	۱/۴۹	۷/۴

$$EL = 1 - (EC_1/EC_2) \times 100$$

برای سنجش محتوای کلروفیل کل و کارتنوئید با استفاده از روش Arnon (۱۹۶۷) انجام شد. برای اندازه‌گیری ۰/۱ گرم از بافت سبز برگ‌های جوان گیاه در هاون چینی با ۱۰ میلی‌لیتر استون ۸۰ درصد ساییده شد سپس با دور ۵۰۰۰ به مدت پنج دقیقه سانتریفیوژ شد. میزان جذب محلول با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر SAFAS MONACO (RS 232) در طول موج‌های ۶۴۵ و ۶۶۳ نانومتر برای کلروفیل و در طول موج‌های ۵۱۰ و ۴۸۰ نانومتر برای کارتنوئید خوانده شد. در نهایت غلظت آنها بر حسب میلی‌گرم بر گرم با استفاده از رابطه ۳ و ۴ محاسبه شد که در این رابطه (V) بیانگر حجم نهایی عصاره کلروفیل و کارتنوئید در استون ۸۰ درصد، (W) وزن تازه بافت استخراج‌شده، (A) جذب در طول موج مشخص است.

رابطه (۳)

$$\text{رابطه (۳)} = [20.2 (A_{645}) + 8.02 (A_{663})] \times V / (W \times 1000)$$

رابطه (۴)

$$\text{رابطه (۴)} = [7.6 (A_{480}) - 1.49 (A_{510})] \times V / (W \times 1000)$$

برای سنجش میزان آنتوسیانین کل مقدار ۰/۱ گرم از گلبرگ‌های تازه گیاه با ۱۰ میلی‌لیتر محلول متانول حاوی یک درصد اسید کلریدریک در هاون چینی ساییده شد. محلول حاصل به مدت ۲۴ ساعت در یخچال در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد و شرایط تاریکی نگهداری شد. سپس، محلول به مدت ۱۰ دقیقه با دور ۴۰۰۰ سانتریفیوژ گردید. جذب محلول در طول موج ۵۵۰ نانومتر خوانده شد. میزان آنتوسیانین برای هر عصاره بر حسب میکرومول بر گرم با استفاده از رابطه ۵ محاسبه شد که (A) مقدار جذب، (E) ضریب خاموشی معادل ۳۳۰۰۰ مول بر سانتی‌متر، (b) عرض کوت برابر یک سانتی‌متر و (c) مقدار آنتوسیانین را نشان می‌دهد (Wagner, 1979).

رابطه (۵)

گیاهان از کاشت تا مرحله گلدهی به مدت سه ماه نگهداری شده و سپس خصوصیات مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی گیاه از چهار بوته در هر واحد آزمایشی اندازه‌گیری شد.

صفات مورد ارزیابی: به‌منظور ارزیابی صفات رویشی،

تعداد برگ و شاخه‌های فرعی شمارش شده، قطر ساقه به‌وسیله کولیس برحسب میلی‌متر، طول گل‌آذین و ارتفاع بوته، با استفاده از متر، برحسب سانتی‌متر و اندازه‌گیری شد. وزن تر و خشک بوته، عملکرد کل بوته براساس وزن خشک بوته بر حسب گرم در متر مربع به‌دست آمد.

برای اندازه‌گیری درصد محتوای نسبی آب برگ (RWC)، یک گرم از برگ‌های تازه (FW) توزین شد. سپس برگ‌ها را به مدت ۲۴ ساعت درون آب مقطر غوطه‌ور شده وزن اشباع برگ‌ها (TW) اندازه‌گیری شد. در نهایت برگ‌ها را به مدت ۲۴ ساعت درون آون با دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده و وزن خشک برگ‌ها (DW) تعیین شد. در نهایت محتوای نسبی آب برگ با استفاده از رابطه یک محاسبه شد (Hanson and Hitz, 1982).

رابطه (۱)

$$RWC (\%) = (FW - DW) / (TW - DW) \times 100$$

جهت اندازه‌گیری شاخص پایداری غشاء سلول یک گرم از بافت تازه برگ در لوله‌های حاوی ۲۰ میلی‌لیتر آب مقطر قرار داده شدند. سپس لوله‌ها به مدت ۳۰ دقیقه در حمام آب گرم در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد و سپس به مدت ۳۰ دقیقه در حمام آب در دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. پس از سرد شدن هدایت الکتریکی آن‌ها در هر نوبت خوانده شد و در نهایت شاخص پایداری غشاء سلولی از طریق رابطه دو با تقسیم هدایت الکتریکی اولیه (EC_1) بر هدایت الکتریکی سلول‌های مرده (EC_2) محاسبه شد (Azizpour et al., 2010).

رابطه (۲)

کمترین تعداد آن در شرایط شوری ۸۰ میلی مولار سدیم کلرید به دست آمد. ولی اثر محلول پاشی اسیدهای آمینه فنیل آلانین و گابا و اثر متقابل شوری و محلول پاشی بر تعداد شاخه‌های فرعی معنی دار نبود (جدول ۲).

برای غلبه بر اثرات منفی تنش شوری در گیاهان می‌توان از محرک زیستی مبتنی بر اسیدهای آمینه استفاده کرد. در این پژوهش با افزایش غلظت شوری، پارامترهای رشدی به‌طور معنی داری کاهش یافت. گزارش شده است که افزایش غلظت شوری باعث کاهش تعداد شاخه‌های فرعی می‌شود (Seyedi *et al.*, 2023).

قطر ساقه: نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها حاکی از آن بود که اثر تنش، تیمارهای اسید آمینه و اثرات متقابل آن‌ها در سطح یک درصد معنی دار است (جدول ۲). تنش شوری به‌طور معنی داری قطر ساقه را نسبت به شرایط عدم تنش کاهش داد. مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که بیشترین قطر ساقه در شرایط عدم تنش به ترتیب با محلول پاشی ۵ و ۱۰ میلی مولار گابا به دست آمد. با این حال، کاربرد فنیل آلانین ۲ میلی مولار با افزایش قطر ساقه در شرایط تنش شوری، بیشترین تأثیر را در تعدیل اثرات منفی شوری داشت (شکل ۲).

گیاهان با سازوکارهای ویژه‌ای از قبیل کاهش تقسیم سلولی، بستن روزنه‌ها، کاهش سطح برگ و تعرق و تنظیم اسمزی به تنش شوری پاسخ می‌دهند که این امر سرعت رشد آنها را به شدت کاهش می‌دهد که با مطالعات انجام شده در گیاه دارویی بادرشوبیه مطابقت دارد (Banerjee and Roychoudhury, 2018). طبق مطالعات انجام شده شوری در گیاه کینوا باعث کاهش قطر ساقه شده که استفاده از گابا سبب کاهش اثر منفی شوری بر رشد و نمو گیاه شده است (Parvez *et al.*, 2020; Hatami *et al.*, 2022). گابا رشد و عملکرد را در گیاهان مختلف کنترل می‌کند. این ماده از طریق افزایش سطح هورمون‌های درون‌زای گیاهی از جمله تجمع گابا و اسمولیت‌هایی نظیر پرولین که ناشی از افزایش فعالیت گلوتامات دکربوکسیلاز و پیرولین ۵ کربوکسیلات سنتاز است، نقش مثبتی در بهبود صفات رویشی و زایشی گیاهان دارد

$$A = \bar{X}bc$$

آنالیز داده‌های حاصل با استفاده از نرم‌افزار SAS V9 و مقایسه میانگین داده‌ها از طریق آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح یک و پنج درصد مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند.

نتایج و بحث

تعداد برگ: نتایج مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که بیشترین تعداد برگ در شرایط عدم تنش به ترتیب با تیمار ۲ میلی مولار فنیل آلانین و ۵ میلی مولار گابا به دست آمد. شوری موجب کاهش ۴۶/۳۲ درصدی در تعداد برگ شد و محلول پاشی تیمار ۴ میلی مولار فنیل آلانین و ۵ میلی مولار گابا به‌طور معنی داری موجب تقلیل اثرات منفی تنش شوری به‌ویژه در شرایط ۴۰ میلی مولار سدیم کلرید به ترتیب سبب افزایش ۶۵/۳۹ و ۴۶/۴۸ درصدی تعداد برگ نسبت به تیمار آب مقطر شد (شکل ۱) که با نتایج گزارش شده در بادرشوبیه تحت تیمار با اسیدهای آمینه سیستمین همخوانی دارد (مددخانی و همکاران، ۱۴۰۰).

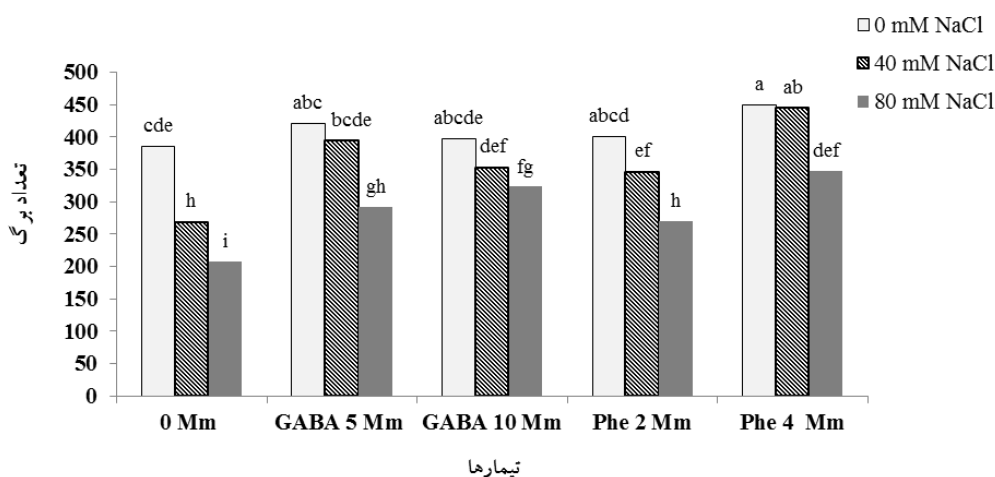
اثر عمومی تنش شوری بر گیاهان کاهش شدت رشد به دلیل ایجاد برگ‌های کوچک‌تر و گاهی تعداد برگ کمتر در شرایط تنش است. کاهش در شاخص‌های رشدی در سایر سبزی‌های برگی مانند کلم و سبزی‌های میوه‌ای مانند گوجه‌فرنگی در شرایط تنش شوری گزارش شده است. در شرایط تنش شوری در اثر تجمع زیاد کلر که با کلروز حاشیه برگ‌ها همراه است منجر به کاهش شدید فتوسنتز و در نهایت کاهش تعداد برگ می‌شود. همچنین کاهش تعداد برگ را می‌توان به کاهش جذب عناصر غذایی و افزایش مقدار سدیم و کلر در بافت گیاهی نسبت داد (Ors and Suarez, 2016). در پژوهشی بر روی زعفران گزارش کردند که کاربرد گابا در غلظت ۵۰ میکرومولار در شرایط تنش شوری باعث کاهش تعداد برگ گردید که نتایج پژوهش حاضر را تأیید می‌کند. این کاهش در تعداد برگ‌ها می‌تواند به دلیل کاهش اندازه سلول، کاهش تولید برگ، تشدید پیری و ریزش برگ باشد (صدیقی مشکانی و همکاران، ۱۳۹۹).

تعداد شاخه فرعی با توجه به نتایج به دست آمده تنش شوری باعث کاهش معنی دار تعداد شاخه فرعی شد به‌طوری‌که

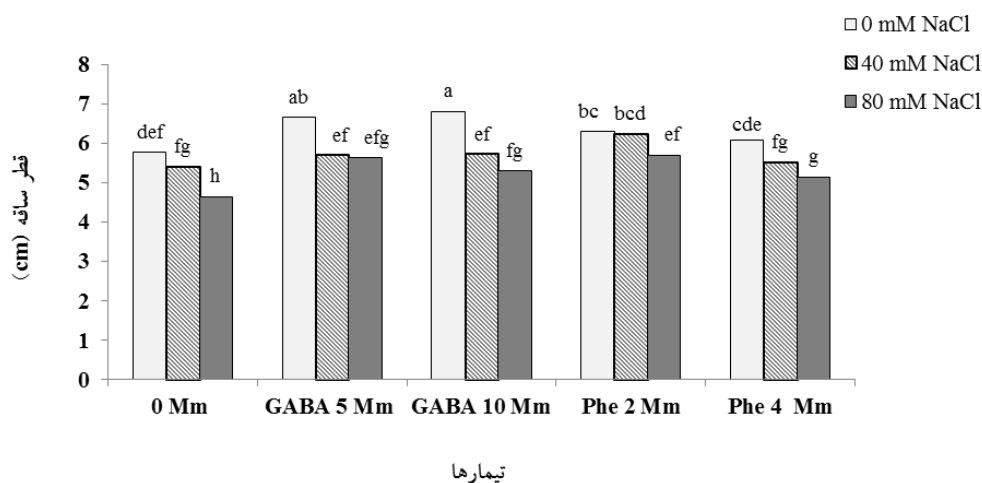
جدول ۲- تجزیه واریانس تأثیر اسیدهای آمینه بر برخی ویژگی‌های مورفوبولوژیک بادرشبویه تحت تنش شوری

وزن خشک	میانگین مربعات					درجه آزادی	منابع تغییرات
	وزن تر	قطر ساقه	ارتفاع بوته	شاخه فرعی	تعداد برگ		
۱۴۸۵/۹۱	۲۷۴۵۸/۴۴	۰/۰۱۹	۰/۹۵	۱/۳۵	۱۲۸/۴۲	۲	تکرار
۶۰۷۹۰/۶۰**	۱۶۹۷۸۳۰/۱۰**	۴/۰۶۶**	۹۱/۸۲**	۱۹/۲۸**	۵۷۲۳۷/۳۵۵۶**	۲	شوری
۱۴۰۱۳۴/۰۰**	۱۵۹۳۵۵۷/۶۳**	۱/۰۳**	۱۱۴/۷۵**	۰/۹۷ ^{ns}	۱۹۲۷۲/۷۵۵۶**	۴	تیمارها
۲۵۶۸/۰۳**	۱۵۸۴۵۲/۶۰*	۰/۱۷*	۸/۹۸*	۱۱/۳۴ ^{ns}	۲۰۸۰/۹۳۸۹**	۸	شوری × تیمارها
۱۳۵/۹۵	۶۹۰۵۵/۰۴	۰/۰۷	۳/۵۹	۰/۹	۸۰۲/۴۹۳۷	۲۸	خطای آزمایش
۱/۴۱	۷/۱۳	۴/۷۰	۲/۲۴	۸/۲۵	۸/۰۰	-	ضریب تغییرات

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



شکل ۱- اثر محلول پاشی اسیدهای آمینه گاما آمینوبوتریک اسید و فنیل آلانین بر تعداد برگ گیاه دارویی بادرشبویه تحت شرایط تنش شوری. در هر ستون حروف مشابه نشان‌دهنده عدم تفاوت معنی داری در سطح احتمال ۵ درصد آزمون دانکن است.



شکل ۲- اثر محلول پاشی اسیدهای آمینه گاما آمینوبوتریک اسید و فنیل آلانین بر قطر ساقه گیاه دارویی بادرشبویه تحت شرایط تنش شوری. در هر ستون حروف مشابه نشان‌دهنده عدم تفاوت معنی داری در سطح احتمال ۵ درصد آزمون دانکن است.

(Ramos-Ruiz et al., 2018; Shang et al., 2011).

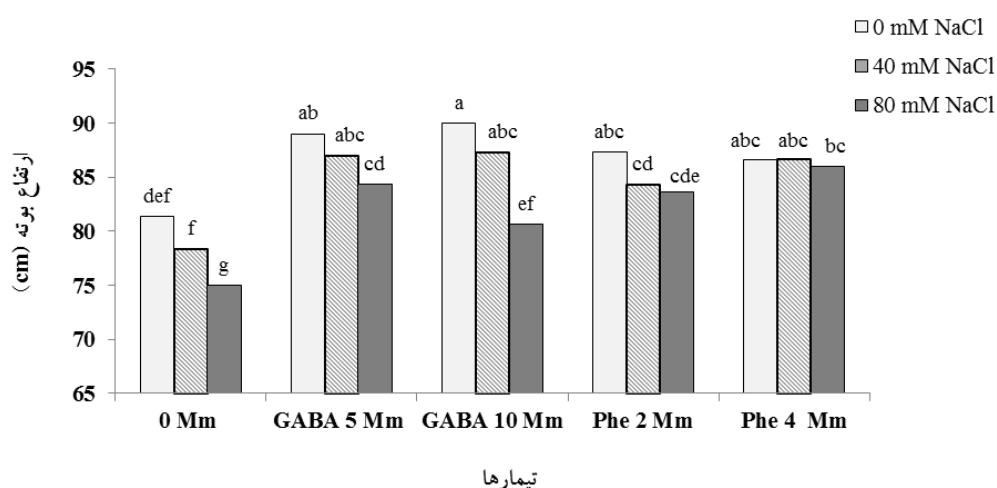
ارتفاع بوته: اعمال تنش شوری به‌طور معنی‌داری ارتفاع بوته را کاهش داد و کاربرد اسیدهای آمینه باعث افزایش معنی‌دار ارتفاع بوته در تمام سطوح شوری نسبت به تیمار آب‌مقطر شد (جدول ۲). نتایج نشان داد که بیشترین ارتفاع بوته در شرایط عدم تنش به‌ترتیب در تیمارهای ۱۰ و ۵ میلی‌مولار گابا به‌دست آمد (شکل ۳). با این‌حال تحت تنش شوری به‌ویژه شوری ۴۰ میلی‌مولار بین سطوح مختلف تیمارهای اسید آمینه فنیل آلانین و گابا تفاوت معنی‌داری وجود نداشته و ارتفاع بوته را به‌طور معنی‌داری نسبت به تیمار آب‌مقطر افزایش دادند.

تنش شوری سبب کاهش تقسیم سلولی، کاهش رشد طولی و در نتیجه کاهش رشد گیاه می‌شود (Jahani et al., 2021). که می‌تواند به دلیل اختلال در توازن یونی ایجاد شده و جذب بیشتر یون سدیم و کلر در گیاه باشد (Vojodi Mehrabani, 2019). کاهش ارتفاع بوته در شرایط تنش شوری را می‌توان به کاهش جذب آب به‌واسطه جذب عناصر مرتبط با شوری مانند سدیم و کلر نسبت داد. به‌عبارتی فراهمی آب به‌واسطه افزایش طول گره‌ها سبب تغییرات ارتفاع گیاه می‌شود (Rezaeinia et al., 2018). در پژوهشی با محلول‌پاشی گابا ۴۰ میلی‌مولار بر روی گیاه خرفه ارتفاع بوته تحت تنش افزایش یافت (زینلی پور و عاقبتی، ۱۴۰۱). همچنین کاربرد ۱۰ میلی‌مولار گابا سبب افزایش معنی‌داری در ارتفاع بوته کینوا شده است (حاتمی و همکاران، ۱۴۰۰). این افزایش می‌تواند به‌دلیل نقش گابا در افزایش فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی مانند پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز باشد که منجر به کاهش پراکسیداسیون لیپیدی و تعدیل اثرات منفی شوری و بهبود شاخص‌های رشدی گیاه می‌شود (Zarei et al., 2018).

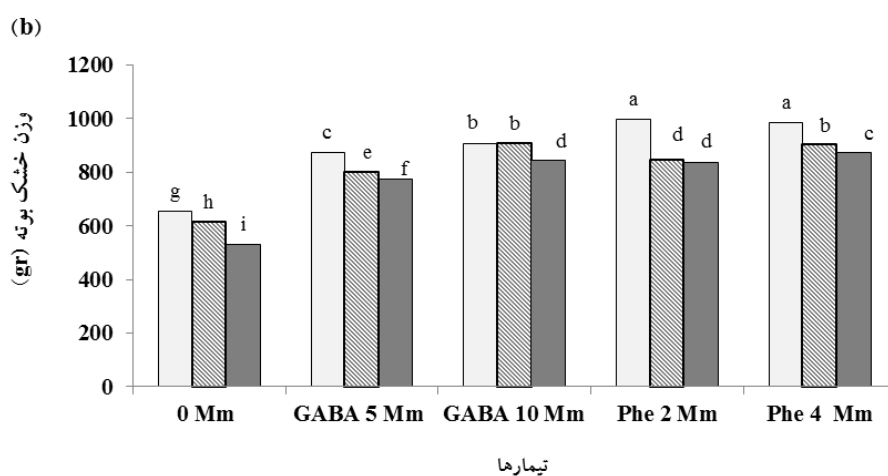
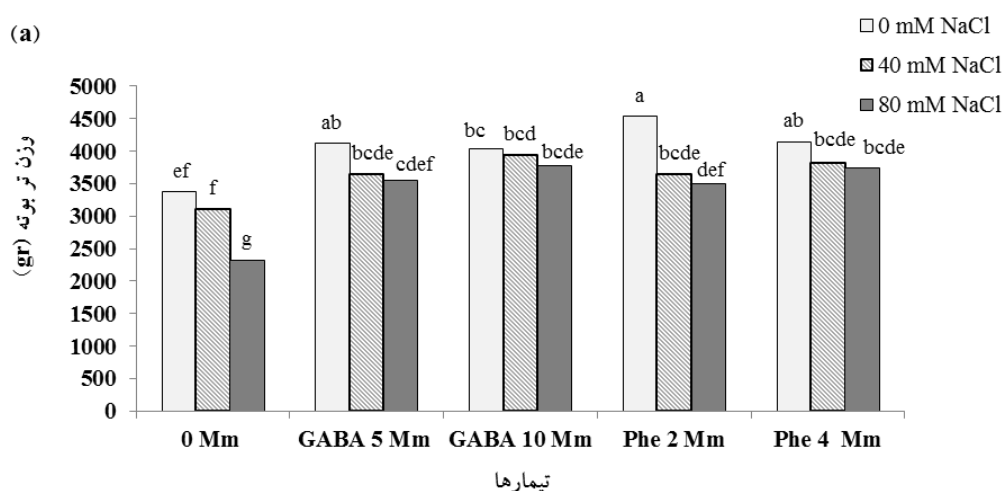
وزن تر و خشک بوته: نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد (جدول ۲) که اثرات ساده تنش شوری، تیمارها و اثرات متقابل آن‌ها بر وزن تر و خشک بوته در سطح احتمال یک درصد ($P < 0.01$) معنی‌دار بود. نتایج مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که بیشترین مقدار وزن تر و خشک بوته در شرایط

عدم تنش با تیمار ۲ میلی‌مولار فنیل آلانین بدست آمد. شوری موجب کاهش وزن تر و خشک بوته شد و محلول‌پاشی تیمار ۲ و ۴ میلی‌مولار فنیل آلانین و ۵ میلی‌مولار گابا به‌طور معنی‌داری سبب تعدیل اثرات منفی تنش شوری شده و مقدار وزن تر و خشک بوته را نسبت به تیمار آب‌مقطر افزایش داد (شکل ۴).

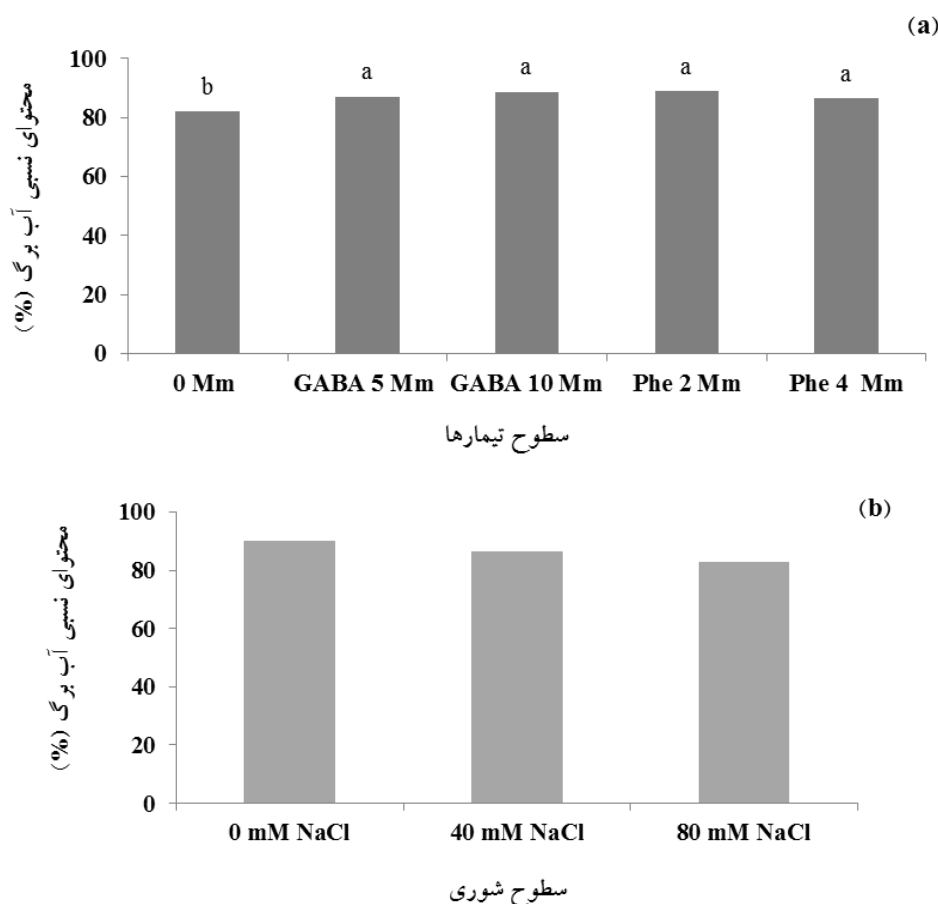
شوری سبب کاهش پتانسیل اسمزی در محلول خاک شده و دسترسی گیاه به آب را کاهش داده و به سبب پیامدهای ناشی از کمبود آب مانند کاهش سطح برگ و در نتیجه سبب کاهش فتوسنتز، کاهش جذب دی‌اکسید کربن شده و کاهش معنی‌دار مواد فتوسنتزی شده در نتیجه وزن تر و خشک اندام هوایی گیاه را تحت تأثیر قرار داده است (Saadatmand et al., 2007). کاربرد محلول‌پاشی فنیل آلانین در شرایط تنش موجب افزایش عملکرد گیاه بادرشوبیه شد که این افزایش رشد و عملکرد گیاه را می‌توان به نقش اسیدهای آمینه در افزایش و بهره‌وری متابولیسم گیاه، تسهیل جذب مواد مغذی، بالابردن روند تنفس گیاهی، فتوسنتز، سنتز پروتئین، افزایش ویژگی‌های کیفی و در نهایت به تقویت رشد و عملکرد گیاه نسبت داد (Calvo et al., 2010; Davies, 2014). در شرایط نامساعد محیطی عمل ساخت اسیدهای آمینه کاهش یافته یا متوقف می‌شود. در صورت تأمین اسیدهای آمینه از طریق محلول‌پاشی نیاز به ساخت آن‌ها توسط گیاه کاهش یافته و به گیاه امکان می‌دهد انرژی ذخیره‌شده در خود را صرف رشد بیشتر و بالابردن عملکرد و کیفیت محصول نماید (Belal et al., 2016). افزایش وزن تر بوته با کاربرد اسیدهای آمینه می‌تواند دلیل توانایی اسیدهای آمینه در بهبود فرآیندهای بیوشیمیایی و سوخت و ساز گیاهان باشد (Golzadeh et al., 2011). در پژوهشی کاربرد محلول‌پاشی فنیل آلانین با غلظت ۲ میلی‌مولار سبب افزایش وزن تر و خشک بوته در گیاه مریم‌گلی شده است (Hasan Abadi et al., 2022). همچنین بیشترین مقدار عملکرد وزن تر و خشک پیکره رویشی هندوانه ابوجهل با کاربرد فنیل آلانین با غلظت ۲ میلی‌مولار مشاهده شد (ثانی‌خانی و همکاران، ۱۳۹۹).



شکل ۳- اثر محلول پاشی اسیدهای آمینه گاما آمینوبوتریک اسید و فنیل آلانین بر ارتفاع بوته گیاه دارویی بادرشبویه تحت شرایط تنش شوری. در هر ستون حروف مشابه نشان‌دهنده عدم تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد آزمون دانکن است.



شکل ۴- اثر محلول پاشی اسیدهای آمینه گاما آمینوبوتریک اسید و فنیل آلانین بر وزن تر (a) و خشک بوته (b) گیاه دارویی بادرشبویه تحت شرایط تنش شوری. در هر ستون حروف مشابه نشان‌دهنده عدم تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد آزمون دانکن است.



شکل ۵- اثر ساده محلول‌پاشی اسیدهای آمینه گاما آمینوبوتیریک اسید و فنیل آلانین (a) و شوری (b) بر محتوای نسبی آب برگ گیاه دارویی بادرشبویه. در هر ستون حروف مشابه نشان‌دهنده عدم تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد آزمون دانکن است.

ریشه و کاهش توان گیاه در جذب آب، افزایش مقاومت در مسیر جریان آب در داخل گیاه و یا افزایش مقاومت روزنه‌ای و کاهش تعرق می‌باشد (Heidari Sharif Abad, 2001). مشابه نتایج این تحقیق، کاهش محتوای نسبی آب برگ در اثر شوری در آویشن باغی (*Thymus vulgaris*) و آویشن دناپی (*Thymus daenensis*) (Emami-Bistgani et al., 2019) و بادرشبویه (Esmailpour et al., 2020) نیز گزارش شده است. یافته‌ها حاکی از آن است که کاربرد ۲۰ میلی‌مولار آمینون فورتن، کودی حاوی آمینواسیدها، در گیاه بادرشبویه تحت تنش شوری ۶۰ میلی‌مولار با کاهش پتانسیل اسمزی و بهبود جذب آب سبب افزایش معنی‌دار محتوای نسبی آب برگ نسبت به تیمار آب‌مقطر شد (Seyedi et al., 2023). برای غلبه بر اثرات منفی تنش شوری در گیاهان می‌توان از محرک زیستی

محتوای نسبی آب برگ: با توجه به نتایج به‌دست آمده، تنش شوری محتوای نسبی آب برگ را کاهش داد، به‌طوری‌که از ۷۷/۹۴ درصد در تنش شوری صفر به ۷۰/۹ درصد در تنش شوری ۸۰ میلی‌مولار رسید (شکل ۵A).

طبق نتایج، محلول‌پاشی اسیدهای آمینه گابا و فنیل آلانین با افزایش محتوای نسبی آب برگ به‌ویژه تیمار ۴ میلی‌مولار فنیل آلانین (۷۷/۰۲۴ درصد) سبب تعدیل اثرات مضر تنش شوری شد، اگر چه بین سطوح مختلف اسیدهای آمینه تفاوت معنی‌داری وجود نداشت و فقط نسبت به تیمار آب‌مقطر افزایش یافت (شکل ۵B).

محتوای نسبی آب گیاه، معیار مناسبی برای بررسی وضعیت آبی گیاه است. در شرایط شوری مقدار آب مصرفی گیاه کاهش پیدا می‌کند که علت آن کاهش قابلیت آب محیط

همانند پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز، پراکسیداسیون لیپیدی را کاهش داده و در نتیجه سبب افزایش پایداری غشاء سلولی می‌شود (Krishnan et al., 2013). نتایج نشان داد که محلول پاشی فنیل آلانین از کاهش پایداری غشاء سلولی تحت تنش شوری جلوگیری کرده است.

رنگیزه‌های فتوستتزی: نتایج نشان داد که اعمال تنش شوری به‌طور قابل توجهی محتوای رنگیزه‌های فتوستتزی کلروفیل کل و کاروتنوئید را کاهش داد، به‌طوری‌که کمترین میزان رنگیزه‌های فتوستتزی در شرایط شوری ۸۰ میلی‌مولار سدیم کلرید به‌دست آمد (جدول ۳). محلول پاشی تیمارهای اسیدهای آمینه (گابا و فنیل آلانین) محتوای رنگیزه‌های فتوستتزی را به‌طور معنی‌داری افزایش داد. مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که کاربرد تیمارهای ۵ میلی‌مولار گابا و ۴ میلی‌مولار فنیل آلانین در شرایط تنش و عدم تنش با تعدیل اثرات منفی شوری سبب حفظ و افزایش کلروفیل کل و کاروتنوئید برگ بادرشبویه نسبت به تیمار آب‌مقطر گردید (شکل ۷).

کلروفیل به‌عنوان یکی از اجزای مهم دستگاه فتوستتزی موجب افزایش جذب نور و تولید انرژی برای گیاه می‌شود و با افزایش محتوای کلروفیل در گیاهان، رشد و فتوستتزی در گیاه افزایش می‌یابد (Ye et al., 2020). تنش شوری باعث کاهش رنگیزه‌های فتوستتزی در بادرشبویه شد. کاهش محتوای کلروفیل تحت شرایط شوری ممکن است ناشی از کاهش فعالیت آنزیم آمینولولینیک اسید سنتاز (به‌عنوان یکی از آنزیم‌های مهم در مسیر بیوستتزی کلروفیل) تخریب در اثر فعالیت بیشتر آنزیم کلروفیلاز، تجزیه آنها به‌دلیل آسیب اکسیداتیو ناشی از تولید گونه‌های واکنش‌گر اکسیژن باشد (Emami-Bistgani et al., 2019). در پژوهشی روی زعفران بیشترین محتوای کلروفیل a، b و کل و محتوای کاروتنوئید با کاربرد تیمار گابا در غلظت ۲۵ میکرومولار در تنش شوری صفر مشاهده شد (صدیقی مشکانی، ۱۳۹۹). گابا با افزایش سطوح آنتی‌اکسیدانی در گیاه و بالابردن ظرفیت ضداکسایشی، باعث حذف رادیکال‌ها و مانع از تخریب بافت غشای سلولی

مبتنی بر اسیدهای آمینه استفاده کرد. اگر اسیدهای آمینه از طریق محلول پاشی تأمین شود، نیاز گیاه به ساخت آن‌ها کاهش می‌یابد و به گیاه اجازه می‌دهد انرژی ذخیره شده خود را صرف رشد بیشتر کند (Belal et al., 2016).

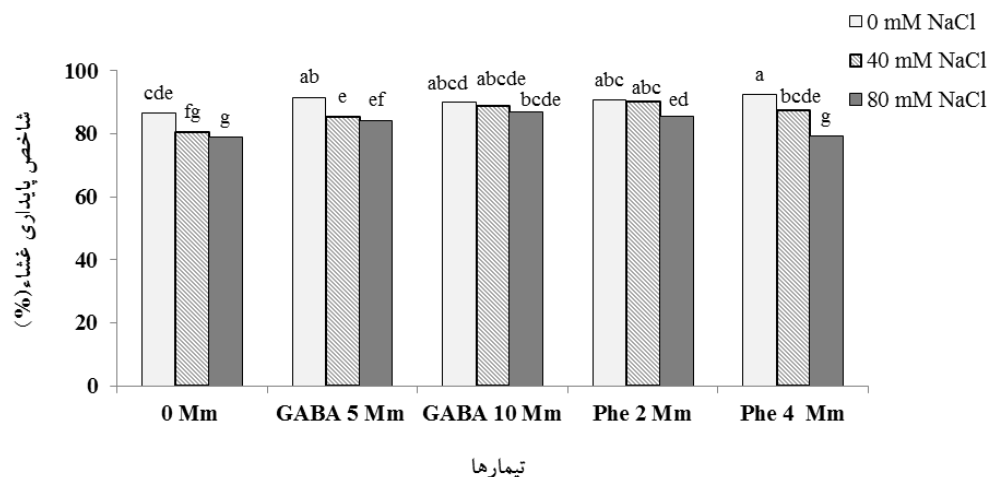
شاخص پایداری غشا: با توجه به نتایج، تنش شوری شاخص پایداری غشاء را به‌طور معنی‌داری کاهش داد. محلول پاشی اسیدهای آمینه گابا و فنیل آلانین سبب بهبود پایداری غشاء گردید، به‌طوری‌که در شرایط عدم تنش بیشترین مقدار آن در تیمار فنیل آلانین ۴ میلی‌مولار به‌دست آمد که افزایش ۶/۸۵ درصد نسبت به تیمار آب‌مقطر نشان داد (جدول ۳). با این حال در شرایط تنش شوری غلظت ۲ میلی‌مولار فنیل آلانین آن بهتر از غلظت بالای آن بوده و پایداری غشاء را در شوری ۴۰ و ۸۰ میلی‌مولار به‌ترتیب ۱۲/۲۹ و ۸/۵۴ درصد به‌طور قابل توجهی افزایش داد (شکل ۶). نتایج اثرات متقابل نشان داد که بیشترین درصد شاخص پایداری غشاء با کاربرد تیمار فنیل آلانین ۴ میلی‌مولار تحت شرایط صفر میلی‌مولار سدیم کلرید حاصل شد و کمترین آن در تیمار آب‌مقطر تحت شرایط ۸۰ میلی‌مولار سدیم کلرید به‌دست آمد (شکل ۶).

غشاهای سلولی از اولین بخش‌های سلول است که توسط تنش‌های محیطی آسیب می‌بینند. حفظ یکپارچگی و ثبات غشای سلولی تحت شرایط تنش از اجزای مهم تحمل به تنش‌های محیطی در گیاهان است (Ahmadizadeh et al., 2011). زمانی که محتوای آب در اندام‌های گیاه تحت تنش کاهش می‌یابد موجب اختلال در فعالیت‌های غشای سلول و در نهایت افزایش تراوایی و نشت یونی از سلول و مرگ آن می‌شود (Apel and Hirt, 2004). تنش شوری با القای تنش اکسیداتیو و تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن، سبب پراکسیداسیون اسیدهای چرب غشاهای سلولی شده و نفوذپذیری غشاء را افزایش می‌دهد و سبب کاهش پایداری غشای سلول می‌شود (Hassani Moghadam et al., 2016). نتایج به‌دست آمده با نتایج پژوهش‌های پیشین در هندوانه ابوجهل (Mohammadzade and Soltani, 2015) همخوانی دارد. اسیدهای آمینه از طریق افزایش آنزیم‌های ضداکسایشی

جدول ۳- تجزیه واریانس تأثیر اسیدهای آمینه بر برخی ویژگی‌های فیزیولوژیک بادرشوبیه تحت تنش شوری

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات			
		کلروفیل	کاروتنوئید	محتوای نسبی آب برگ	شاخص پایداری غشا
تکرار	۲	۰/۰۰۱	۰/۰۰۲۶	۱۴/۰۷	۳/۸۸
شوری	۲	۰/۵۲**	۰/۰۵۳**	۱۶۲/۸۴**	۱۹۹/۴۴**
تیمارها	۴	۰/۰۴**	۰/۰۰۸**	۳۵/۶۵*	۶۹/۸۲**
شوری × تیمارها	۸	۰/۰۲۳**	۰/۰۰۴**	۱۶/۵۳ ^{ns}	۱۵/۸۹*
خطای آزمایش	۲۸	۰/۰۰۳	۰/۰۰۱۱	۱۳/۰۶	۶/۱۳
ضریب تغییرات	-	۳/۲۵	۶/۳۹	۴/۸۷	۲/۸۵

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

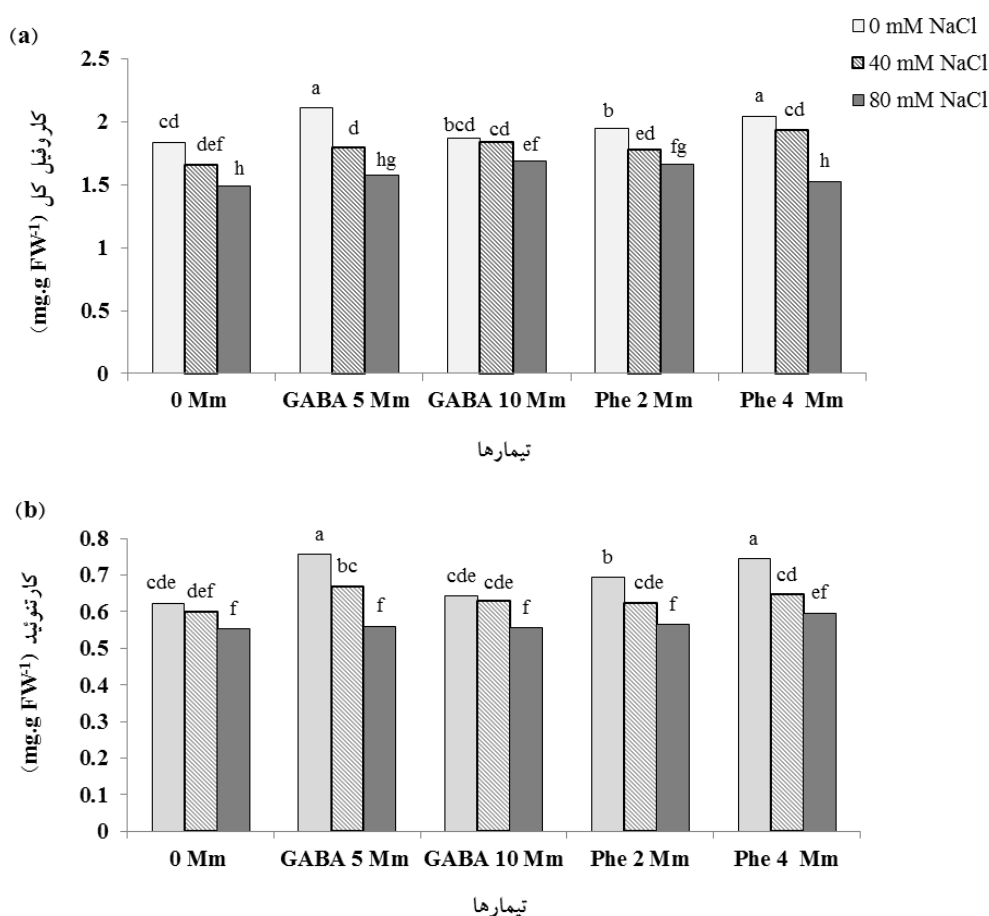


شکل ۶- اثر محلول پاشی اسیدهای آمینه گاما آمینوبوتریک اسید و فنیل آلانین بر شاخص پایداری غشاء گیاه دارویی بادرشوبیه تحت شرایط تنش شوری. در هر ستون حروف مشابه نشان دهنده عدم تفاوت معنی داری در سطح احتمال ۵ درصد آزمون دانکن است.

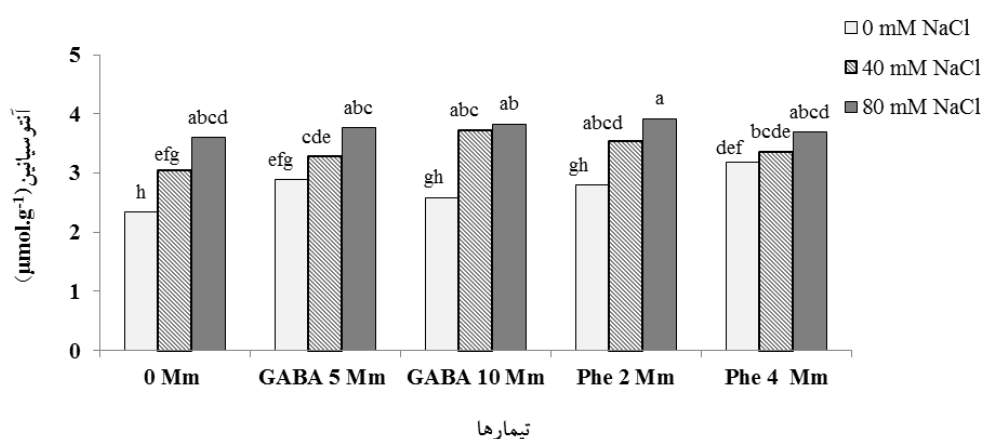
و فنیل آلانین اگر چه باعث افزایش میزان آنتوسیانین گل شد اما تفاوت معنی داری با تیمار آب مقطر نداشتند (جدول ۳). نتایج حاصل از مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که بیشترین میزان آنتوسیانین گل بادرشوبی با ۵۸/۶۱ و ۶۷/۲۳ درصد افزایش به ترتیب تحت تنش شوری ۴۰ میلی مولار سدیم کلرید با کاربرد گابا ۱۰ میلی مولار و با افزایش سطوح تنش شوری تیمار فنیل آلانین ۲ میلی مولار به دست آمد. همچنین در شرایط عدم تنش تیمار فنیل ۴ میلی مولار در مقایسه با سایر تیمارهای محلول پاشی آنتوسیانین گل را افزایش داد. کمترین آن در تیمار آب مقطر تحت شرایط شوری صفر میلی مولار به دست آمد

و از جمله غشاء کلروپلاست می‌گردد (زارعی و همکاران، ۱۳۹۷). گیاهان برای مقابله با تنش اکسیداتیو، مکانیسم‌های دفاعی مختلفی شامل آنزیمی و غیر آنزیمی را به کار می‌برند (Ozkur et al., 2009). کاروتنوئیدها سیستم غیر آنزیمی هستند که صدمات اکسیداتیو ناشی از تنش را با گرفتن رادیکال‌های آزاد اکسیژن و ایفای نقش آنتی‌اکسیدانی کاهش می‌دهند و به این ترتیب مانع از تخریب کلروفیل می‌گردند (Chalker-Scott, 2002).

آنتوسیانین: اعمال تنش شوری به‌طور معنی داری محتوای آنتوسیانین گل را افزایش داد. محلول پاشی اسیدهای آمینه گابا



شکل ۷- اثر محلول پاشی اسیدهای آمینه گاما آمینوبوتریک اسید و فنیل آلانین بر محتوای کلروفیل کل (a) و کارتنوئید (b) بادرشوبه تحت شرایط تنش شوری. در هر ستون حروف مشابه نشان دهنده عدم تفاوت معنی داری در سطح احتمال ۵ درصد آزمون دانکن است.



شکل ۸- اثر محلول پاشی اسیدهای آمینه گاما آمینوبوتریک اسید و فنیل آلانین بر محتوای آنتوسیانین گل بادرشوبه تحت شرایط تنش شوری. در هر ستون حروف مشابه نشان دهنده عدم تفاوت معنی داری در سطح احتمال ۵ درصد آزمون دانکن است.

(شکل ۸) بوده که گیاهان را در برابر تنش های وارده محافظت می کند که آنتوسیانین ها همانند فلاونوئید از جمله رنگیزه های محافظ تولید آن در گیاهان تحت عواملی از جمله تنش، هورمون های

نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج حاصله از آزمایش می‌توان بیان نمود که تنش شوری تأثیر معنی‌داری بر گیاه بادرشبوپه دارد. با اعمال شوری برخی خصوصیات مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی گیاه کاهش یافت اما بر محتوای آنتوسیانین گل افزوده شد. محلول‌پاشی سطوح مختلف اسیدهای آمینه گابا و فنیل آلانین سبب بهبود ویژگی‌های رشد و نمو از جمله وزن خشک و همچنین خصوصیات فیزیولوژیکی گیاه بادرشبوپه در مقایسه با شاهد شد. همچنین سبب افزایش محتوای نسبی آب برگ و آنتوسیانین به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدان غیرآنزیمی، گردید و بدین ترتیب باعث تعدیل اثرات زیان‌بار تنش اکسیداتیو ناشی از شوری شده و شاخص پایداری غشاء سلولی را افزایش داد. بنابراین استفاده از اسیدهای آمینه فنیل آلانین ۴ میلی‌مولار و گابا ۱۰ میلی‌مولار جهت بهبود الگوی رشد و نمو و صفات فیزیولوژیکی گیاه بادرشبوپه و کاهش اثرات زیان‌بار تنش شوری توصیه می‌شود.

گیاهی، دما و نور است (Kim et al., 2006). مطابق نتایج پژوهش حاضر، افزایش میزان آنتوسیانین در کاهو تحت تنش اکسیداتیو گزارش شده است (خانی و همکاران، ۱۳۹۸). همچنین گابا باعث افزایش بهبوددهندگی در محتوای آنتوسیانین زعفران شده است که بیشترین محتوای آنتوسیانین با تیمار گابا در غلظت ۲۵ میکرومولار مشاهده شده است (صدیقی‌مشکنانی و همکاران، ۱۳۹۹). این افزایش به علت نقش حفاظت نوری آنتوسیانین به وسیله حذف مستقیم گونه‌های فعال اکسیژن در طول تنش اکسیداتیو است (Zhang et al., 2011). کاربرد فنیل آلانین باعث افزایش تجمع آنتوسیانین درون سلولی میوه توت‌فرنگی شد که نشان‌دهنده اثربخشی فنیل آلانین برای بهبود تولید آنتوسیانین است (Edahiro et al., 2005). همچنین در پژوهشی تأثیر اسیدهای آمینه بر روی انگور، فنیل آلانین به‌عنوان مهم‌ترین اسیدهای آمینه برای افزایش تجمع آنتوسیانین میوه انتخاب شده است (Hottori et al., 2019). فنیل آلانین ترکیب اولیه در بیوسنتز آنتوسیانین از طریق مسیر فنیل پروپانویید است (Dixon et al., 2002). در نتیجه کاربرد فنیل آلانین می‌تواند تجمع آنتوسیانین را تسریع کند (Garde-Cerdan et al., 2014).

منابع

- ثانی‌خانی، محسن، اکبری، آرزو، و خیری، عزیزاله (۱۳۹۹). اثر فنیل آلانین و تربیتوفان بر صفات مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی هندوانه ایوجهل (*Citrullus colocynthis* L.). فرآیند و کارکرد گیاهی، ۹(۳۵)، ۳۱۷-۳۲۷. DOR: 20.1001.1.23222727.1399.9.35.5.6.۳۲۷-۳۱۷
- حاتمی، عبدالامیر، امینیان، رقیه، مفاخری، سکینه، و سلیمانی‌اقدم، مرتضی (۱۴۰۰). اثر گاما آمینو بوتیریک اسید بر صفات مورفوفیزیولوژیکی و عملکرد دانه کینوا در شرایط تنش شوری. تولیدات گیاهی، ۳(۴۴)، ۵۷۲-۵۵۹. <https://doi.org/10.22055/ppd.2021.35988.1960>
- خانی، آرزو، برزگر، طاهر، قهرمانی، زهرا، و نیکبخت، جعفر (۱۳۹۸). ارزیابی تأثیر لاکتات کلسیم بر رشد، عملکرد و کیفیت کاهوی رقم "نیو رد فایر" تحت شرایط تنش کم‌آبی. فرآیند و کارکرد گیاهی، ۸(۳۳)، ۱۸۷-۲۰۱. DOR: 20.1001.1.23222727.1398.8.33.9.9
- زاجی، بیتا، خاوری‌نژاد، رمضانعلی، سعادت‌مند، سارا، و ایرانبخش، علیرضا (۱۳۹۸). بررسی برخی پاسخ‌های مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی گیاه دارویی بادرشبوپه (*Dracocephalum moldavica* L.) به سلینیوم تحت تنش شوری. فیزیولوژی محیطی گیاهی، ۱۴(۵۶)، ۲۷-۱۳.
- زارعی، لولوا، کوشش‌صبا، محمود، وفایی، یاور، و جوادی، تیمور (۱۳۹۷). اثر محلول‌پاشی گاما آمینو بوتیریک اسید بر ویژگی‌های فیزیولوژیکی گوجه‌فرنگی رقم نامیب تحت تنش شوری. تولیدات گیاهی، ۱(۴۱)، ۱۵-۲۹.

- زینلی پور، نجمه، و عاقبتی، فاطمه (۱۴۰۱). تأثیر گاما آمینو بوتیریک اسید بر بهبود تحمل به تنش کم آبی در سبزی خرفه (*Portulaca oleracea*). نشریه علوم باغبانی مشهد، ۳(۳۶)، ۶۸۳-۶۹۱. <https://doi.org/10.22067/jhs.220.73535.1106>
- صدیقی مشکنانی، فرحناز، نیکنام، وحید، شریفی، گل اندام، و سیفی کلهر، مریم (۱۳۹۹). اثر گاما آمینوبوتیریک اسید بر بهبود تحمل تنش خشکی در زعفران زراعی (*Crocus sativus* L.). فرآیند و کارکرد گیاهی، ۹(۳۹)، ۵۰-۲۹. DOR: 201001.1.23222727.1399.9.39.10.9
- مددخانی، ثریا، خیری، عزیزاله، ارغوانی، مسعود، ثانی خانی، محسن، و محکمی، زینب (۱۴۰۰). تأثیر محرک‌های زیستی بر برخی از ویژگی‌های مورفولوژیک و فیتوشیمیایی گیاه دارویی (*Dracocephalum moldavica* L.) تحت تنش کم‌آبیاری. نشریه علمی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران، ۶(۳۷)، ۱۰۲۱-۱۰۳۸. DOR: 201001.1.17350905.1400.37.6.10.1
- مقدم، محمد، و طالبی، مهدی (۱۳۹۵). اثر شوری و متیل جاسمونات بر خصوصیات مورفولوژیکی، بیوشیمیایی و میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی دو رقم ریحان. مجله بذر و نهال به‌زراعی، ۲(۳۲)، ۸۱-۹۸. DOR: 10.22092/sppj.2017.110580
- Acimovic, M., Sikora, V., Brdar-Jokanovic, M., & Kiprovski, B. (2019). *Dracocephalum moldovica*: Cultivation, chemical composition, and biological activity. *Journal of Agronomy, Technology and Engineering Management*, 2(1), 153-167.
- Ahmadizadeh, M., Valizadeh, M., Zaefizadeh, M., & Shahbazi, H. (2011). Antioxidative protection and electrolyte leakage in durum wheat under drought stress condition. *Journal of Applied Sciences Research*, 7(3), 236-246.
- Al-Mohammad, M. H. S., Sachet, T. F. K., & Al-dulaim, Z. S. (2021). Effect of phenylalanine, jasmonic acid and biofertilizer on growth, yield and anthocyanin pigments of roselle calyces. *IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science*, 11(3), 544. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/910/1/012077>
- Apel, K. & Hirt, H. (2004). Reactive oxygen species: Metabolism, oxidative stress, and signal transduction. *Plant Biology*, 55, 373-399. <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.55.031903.141701>
- Ashraf, M., Athar, H. R., Harris, P. J. C., & Kwon, T. R. (2008). Some prospective strategies for improving crop salt tolerance. *Advances in Agronomy*, 97, 45-110. [https://doi.org/10.1016/S0065-2113\(07\)00002-8](https://doi.org/10.1016/S0065-2113(07)00002-8)
- Azizpour, K., Shakiba, M. R., Khosh Kholgh, S. N., Alyari, H., Moghaddam, M., Esfandiari, E., & Pesarakli, M. (2010). Physiological response of spring durum wheat genotypes to salinity. *Journal of Plant Nutrition*, 33, 859-873. <https://doi.org/10.1080/01904161003654097>
- Arnon, A. N. (1967). Method of extraction of chlorophyll in the plants. *Agronomy Journal*, 23, 112-121.
- Banerjee, A. & Roychoudhury, A. (2018). Effect of salinity stress on growth and physiology of medicinal plants. *Springer* 177-188.
- Belal, B. E. A., El-Kenawy, M. A., & Uwakiem, M. K. (2016). Foliar application of some amino acids and vitamins to improve growth, physical and chemical properties of flame seedless grapevines. *Egyptian Journal of Horticulture*, 43, 123-136. <https://doi.org/10.21608/EJOH.2016.2831>
- Bor, M., Ozdemir, F., & Turkan, I. (2003). The effect of salt stress on lipid peroxidant and antioxidant in leave of suger beet (*Beta vulgar* L.) and wild beet (*Beta maritima* L.). *Plant Science*, 164, 77-84. [https://doi.org/10.1016/S0168-9452\(02\)00338-2](https://doi.org/10.1016/S0168-9452(02)00338-2)
- Calvo, P., Nelson, L., & Kloepper, J. W. (2014). Agricultural uses of plant biostimulants. *Plant and Soil*, 383, 3-41.
- Chalker-Scott, L. (2002). Do anthocyanins function as osmoregulators in leaf tissues? *Advances in Botanical Research*, 37, 104-129.
- Chu, S. S., Liu, S. L., Liu, Q. Z., Liu, Z. L., & Du, S. S. (2011). Composition and toxicity of Chinese *Dracocephalum moldavica* (Labiatae) essential oil against two grain storage insects. *Journal of Medicinal Plants Research*, 5, 4621-4626.
- Davies, P. J. (2010). Plant Hormones: Biosynthesis. Department of Plant Biology, Cornell University, Ithaca, New York 14853, USA
- Dixon, R. A., Achnine, L., Kota, P., Liu, C. J., Reddy, M. S., & Wang, L. (2002). The phenylpropanoid pathway and plant defence-a genomics perspective. *Molecular Plant Pathology*, 3, 371-390. <https://doi.org/10.1046/j.1364-3703.2002.00131.x>
- Dmitruk, M., Weryszko-chielew, E., & Sulborska, A. (2018). Flowering and nectar secretion in two forms of the Moldavian dragonhead (*Dracocephalum moldavica* L.) a plant with extraordinary apicultural potential. *Journal of Agricultural Science*, 62, 97-109. <https://doi.org/10.2478/jas-2018-0010>
- Edahiro, J., Nakamura, M., Seki, M., & Furusaki, Sh. (2005). Enhanced accumulation of anthocyanin in cultured strawberry cells by repetitive feeding of l-phenylalanine into the medium. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 99, 43-47. <https://doi.org/10.1263/jbb.99.43>

- Emami-Bistgani, Z., Hashemi, M., DaCosta, M., Craker, L., Maggi, F., & Morshedloo, M. R. (2019). Effect of salinity stress on the physiological characteristics, phenolic compounds and antioxidant activity of *Thymus vulgaris* L. and *Thymus daenensis* Celak. *Industrial Crops and Products*, 135, 311-320. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.04.055>
- Esmailpour, B., Shiekhalipour, M., & Torabi-Giglo, M. (2020). Effects of zinc nanoparticles on growth, some physiological characteristics, and essential oil yield of *Dracocephalum moldavica* L. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plant Research*, 36(5), 867-884. <https://doi.org/10.22092/ijmapr.2020.343320.2809>
- Garcia, A. L., Madrid, R., Gimeno, V., Rodriguez Ortega, W. M., Nicolas, N., & Garcia-Sanchez, F. (2011). The effects of amino acids fertilization incorporated to the nutrient solution on mineral composition and growth in tomato seedlings. *Spanish Journal of Agricultural Research*, 9(3), 852-861. <https://doi.org/10.5424/sjar/20110903-399-10>
- Garde-Cerdan T., Lopez R., Portu J., Gonzalez- Arenzana L., Lopez-Alfaro, I., & Santamaria, P. (2014). Study of the effects of proline, phenylalanine, and urea foliar application to *Tempranillo* vineyards on grape amino acid content. Comparison with commercial nitrogen fertilisers. *Food Chemistry*, 163, 136-141. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.04.101>
- Golzadeh, H., Mehrafarin, A., Naqdi Badi, H., Fazeli, F., Ghaderi, A., & Zarrin Panjeh, N. (2011). The effect of biostimulants on quantitative and qualitative yield of German chamomile. *Journal of Medicinal Plants*, 11(8), 195-207.
- Han, S., Liu, H., Han, Y., He, Y., Nan, Y., Qu, W., & Rao, J. (2021). Effects of calcium treatment on malate metabolism and γ -aminobutyric acid (GABA) pathway in postharvest apple fruit. *Food Chemistry*, 334, 127479. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127479>
- Hanson, A. D. & Hitz, W. D. (1982). Metabolic responses of mesophytes to plant water deficits. *Annual Review of Plant Biology*, 33, 163-203. <https://doi.org/10.1146/annurev.pp.33.060182.001115>
- Hasan Abadi, S., Ardakani, M. R., Ghasemi Pirbalouti, A., Paknejad, F., & Habibi, D. (2022). Evaluation of L-phenylalanine foliar application and non-chemical nutritional treatments on growth characteristics and essential oil of *Salvia officinalis* L. under different levels of irrigation. *Eco-phytochemical Journal of Medicinal Plants*, 10(3), 24-40. <https://doi.org/10.30495/ejmp.2022.1951602.1678>
- Hassani Moghadam, E., Esna-Ashari, M., & Rezainejad, A. (2016). Effect of drought stress on some physiological characteristics in six commercial Iranian pomegranate (*Punica granatum* L.) cultivars. *Plant Production Technology*, 15, 1-11.
- Hatami, A., Aminian, R., Mafakheri, S., & Soleimani Aghdam, M. (2022). Effect of gamma amino butyric acid on morpho-physiological traits and seed yield quinoa under salinity stress. *Plant Productions*, 44(4), 559-572. <https://doi.org/10.22055/ppd.2021.35988.1960>
- Heidari Sharif Abad, H. (2001). Plant and Salinity. Research Institute of Forests and Rangelands Publications, Tehran.
- Hottori, T., Chen, Y., Enoki, Sh., Igarashi, D., & Suzuki, Sh. (2019). Exogenous isoleucine and phenylalanine interact with abscisic acid-mediated anthocyanin accumulation in grape. *Journal of Folia Horticultural*, 31, 147-157. <https://doi.org/10.2478/fhort-2019-0010>
- Jahani, F., Tohidi-Moghadam, H. R., Larijani, H. R., Ghooshchi, F., & Oveysi, M. (2021). Influence of zinc and salicylic acid foliar application on total chlorophyll, phenolic components, yield and essential oil composition of peppermint (*Mentha piperita* L.) under drought stress. condition. *Arabian Journal of Geosciences*, 14, 691. <https://doi.org/10.13128/ahsc-8404>
- Jeong, K. S., Jang, C. S., Park, S. H., Lee, J. S., Yoon, S. M., Kim, T. H., Shin, C. H., & Choi, K. (2018). Two unrecorded naturalized plants in Korea: *Stachys agraria* and *Dracocephalum moldavica* (Lamiaceae). *Korean Journal of Plant Taxonomy*, 46, 413-419. <https://doi.org/10.11110/kjpt.2016.46.4.413>
- Khaleghnezhad, V., Yousefi, A. R., Tavakoli, A., & Farajmand, B. (2019). Interactive effects of abscisic acid and temperature on rosmarinic acid, total phenolic compounds, anthocyanin, carotenoid and flavonoid content of dragonhead (*Dracocephalum moldavica* L.). *Scientia Horticulturae*, 250, 302-309. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2019.02.057>
- Kiani-Pouya, A., Roessler, U., Nirupama, S., Rupasinghe, T., & Bazihizina, N. (2017). Epidermal bladder cells confer salinity stress tolerance in the halophyte quinoa and *Atriplex* species. *Plant, Cell and Environment*, 40(9), 1900-1915. <https://doi.org/10.1111/PCE.12995>
- Kim, J. S., Lee, B. H., Kim, S. H., Ok, K. H., & Cho, K. Y. (2006). Response to environmental and chemical signals for anthocyanin biosynthesis in nonchlorophyllous corn (*Zea mays* L.) leaf. *Journal of Plant Biology*, 49, 16-25.
- Krishnan, S., Laskowski, K., Shukla, V., & Merewitz, E. B. (2013). Mitigation of drought stress damage by exogenous application of a non-protein amino acid γ -aminobutyric acid on perennial ryegrass. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 138(5), 358-366. <https://doi.org/10.21273/JASHS.138.5.358>
- Mohammadzade, Z. & Soltani, F. (2015). Morphological and physiological response of two accessions of *Citrullus colocynthis* to drought stress induced by polyethylene glycol. *Iranian Journal of Plant Physiology*, 5(3), 1361-1371.

- Nejatzadeh-Barandozi, F., Shahvaladi, E., & Gholami-Borujeni, F. (2015). Nitrogen fertilization and microelements influences growth index and yield in *Dracocephalum moldavica* L. *Bulgarian Journal of Agricultural Science*, 21, 266-269.
- Ors, S. & Suarez, D. L. (2016). Salt tolerance of spinach as related to seasonal climate. *Horticultural Science (Prague)*, 43, 33-41.
- Ozkur, O., Ozdemir, F., Bor, M., & Turkan, I. (2009). Physiochemical and antioxidant responses of the perennial xerophyte *Capparis ovata* Desf to drought. *Environmental and Experimental Botany*, 66, 487-492. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2009.04.003>
- Parvez, Sh., Abbas, G., Shahid, M., Amjad, M., Hussain, M., Asad, S., & Naeem, M. A. (2020). Effect of salinity on physiological, biochemical and photo stabilizing attributes of two genotypes of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) exposed to arsenic stress. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 187(1), 120-134. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2019.109814>
- Poorghadir, M., Torkashvand, A. M., Mirjalili, S. A., & Moradi, P. (2020). Interactions of amino acids (proline and phenylalanine) and biostimulants (salicylic acid and chitosan) on the growth and essential oil components of savory (*Satureja hortensis* L.). *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 101815. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2020.101815>
- Portu, J., Gonzalez-Arenzana, L., Hermosin-Gutierrez, I., Santamaria, P., & Garde-Cerdan, T. (2015). Phenylalanine and urea foliar applications to grapevine: Effect on wine phenolic content. *Food Chemistry*, 180, 55-63. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.02.008>
- Ramos-Ruiz, R., Poirot, E., & Flores-Mosquera, M. (2018). GABA, a non-protein amino acid ubiquitous in food matrices. *Cogent Food & Agriculture*, 4(1), 153-154. <https://doi.org/10.1080/23311932.2018.1534323>
- Reham, M., Khattab, M., Ahmed, S., & Kandil, M. (2016). Influence of foliar spray with phenylalanine and nickel on growth, yield quality and chemical composition of genoveser Basil plant. *African Journal of Agricultural Research*, 11, 1398-1410. <https://doi.org/10.5897/AJAR2015.10699>
- Rezaeinia, N., Rmroudi, M., Galavi, M., & Forouzandeh, M. (2018). Study of agronomical characteristics, flower yield and root inulin percentage of chicory (*Chicorium intybus* L.) under soil fertilizers and drought stress. *Journal of Plant Production of Research*, 24, 129-140. <https://doi.org/10.22069/JOPP.2018.12966.2168>
- Saadatmand, A., Banihashemi, Z., Maftoun, M., & Sepaskhah, A. (2007). Interactive effect of soil salinity and water stress on growth and chemical compositions of pistachio nut tree. *Journal of Plant Nutrition*, 30, 2037-2050. <https://doi.org/10.1080/01904160701700483>
- Seleiman, M. F., Aslam, M. T., Alhammad, B. A., Hassan, M. U., Maqbool, R., Chattha, M. U., Khan, I., Gitari, O. S., Uslu, R., Roy, T., & Battaglia, M. L. (2021). Salinity stress in wheat: Effects, mechanisms and management strategies. *Phyton- International Journal of Experimental Botany*. 1-28. <https://doi.org/10.32604/phyton.2022.017365>
- Seyedi, A., Fatahi, Sh., & Movlodzadeh, R. (2023). The effect of biostimulants based on free amino acids on some growth and physiological parameters of *Dracocephalum moldavica* L. under salinity stress. *Journal of Medicinal Plants and By-products*. <https://doi.org/10.22034/JMPB.2023.361962.1543>
- Shang, H., Cao, S., Yang, Z., Cai, Y., & Zheng, Y. (2011). Effect of exogenous γ -aminobutyric acid treatment on proline accumulation and chilling injury in peach fruit after long-term cold storage. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(4), 1264-1268. <https://doi.org/10.1021/jf104424z>
- Soundararajan, P., Manivannan, A., Ko, C. H., Muneer, S., & Jeong, B. R. (2017). Leaf physiological and proteomic analysis to elucidate silicon induced adaptive response under salt stress in *Rosa hybrida* 'Rock Fire'. *International Journal of Molecular Sciences*, 18(8), 1768.
- Vojodi Mehrabani, L. (2019). The effects of methanol and ethanol foliar application under salinity stress on some physiological characteristics of (*Pelargonium graveolens* L.). *Journal of Plant Physiology and Breeding*, 9(1), 67-79.
- Wagner, G. J. (1979). Content and vacuole/extra vacuole distribution of neutralsugars, free amino acids and anthocyanins in protoplasts. *Plant Physiology*, 64, 88-93.
- Ye, S., Liu, T., & Niu, Y. (2020). Effects of organic fertilizer on water use, photosynthetic characteristics, and fruit quality of pear jujube in northern Shaanxi. *Open Chemistry*, 18(1), 537-545. <https://doi.org/10.1515/chem-2020-0060>
- Shang, H., Cao, S., Yang, Z., Cai, Y., & Zheng, Y. (2011). Effect of exogenous γ -aminobutyric acid treatment on proline accumulation and chilling injury in peach fruit after long-term cold storage. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(4), 1264-1268. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2014.01.022>
- Zarei, L., Koushesh Saba, M., Vafae, Y., & Javadi, T. (2018). Effect of gamma-amino-butyric acid foliar application on physiological characters of tomato (cv. Namib) under salinity stress. *Plant Productions*, 41(1), 15-30. <https://doi.org/10.22055/ppd.2018.13547>

Zhang, J., Zhang, Y., Du, Y., Chen, S., & Tang, H. (2011). Dynamic metabonomic responses of tobacco (*Nicotiana tabacum*) plants to salt stress. *Journal of Proteome Research*, 10(4), 1904-1914.

Effect of phenylalanine and gamma-aminobutyric acids on morphophysiological characteristics of *Dracocephalum moldavica* L. under salinity stress

Fatemeh Yazdanpanahi¹, Mohsen Sanikhani^{1*}, Azizollah Kheiry¹, Hossein Rabbi Angourani²

¹ Department of Horticultural Sciences, Faculty of Agriculture, University of Zanjan, Zanjan, Iran

² Institute of Modern Biological Techniques, University of Zanjan, Zanjan, Iran

(Received: 2024/01/21, Accepted: 2024/03/04)

Abstract

Salinity is one of the most important environmental stresses that diminishes the growth and yield of crop plants. Application of biological fertilizers, especially amino acids, is important to overcome this issue in order to improve the growth, quantity and quality of the products. In order to investigate the effect of amino acids on some morphophysiological characteristics of the medicinal plant *Dracocephalum moldavica* grown under salinity stress, a factorial experiment was conducted in a randomized complete block design (RCBD) with three replications in the greenhouse of the University of Zanjan, during Autumn of 2022. The experimental treatments included three levels of salinity (0, 40 and 80 mM NaCl) as the main plots and phenylalanine (2 and 4 mM), gamma aminobutyric acid (GABA 5 and 10 mM) plus control were used as subplots. The results showed that with increasing salinity, some morphological and physiological parameters of the plant decreased, but the anthocyanin content of the flower increased. The use of 2 mM phenylalanine significantly increased the FW and DW of the plant, and the use of 4 mM led to a significant increase in the number of leaves, cell membrane stability index, chlorophyll and carotenoid at 0 mM and anthocyanin in the condition of 80 mM sodium chloride. Also, 5 and 10 mM GABA in non-stress conditions and 2 mM phenylalanine in 40 and 80 mM salinity conditions led to an increase in stem diameter. Although the application of 4 mM phenylalanine had the greatest effect in non-stress conditions, GABA 10 mM in salt stress conditions had a more effective role in increasing the FW and DW of the plant, chlorophyll, and carotenoid content, and as a result, increasing the stability of the cell membrane. Therefore, the use of different levels of the amino acids 4 mM phenylalanine and 10 mM GABA is recommended to improve the growth and development pattern and physiological characteristics of the *Dracocephalum moldavica* L. plant.

Keywords: Photosynthetic pigments, Membrane stability index, Relative leaf water content, Amino acids

Corresponding author, Email: Mohsen Sanikhani, Sani@znu.ac.ir