

Exploring Drought Tolerance Strategies in *Ziziphora clinopodioides* Lam. through Morphological and Physiological Traits

ABSTRACT

Ziziphora clinopodioides is a perennial plant native to Iran that has gained significant attention due to its uses in food and medicine. Given the complexity of yield trait heritability, understanding how this plant manages water deficit through its morpho-physiological traits is essential. A split-plot experiment based on the randomized complete block design was employed with three replicates in this research. The irrigation treatments included full irrigation (the control), transient drought stress (irrigation cut-off at the flowering stage), and prolonged drought stress (irrigation cut-off at the vegetative growth stage). Different ecotypes from various regions were cultivated and evaluated for morphological traits, pigment content, enzymatic antioxidant activities, soluble carbohydrates, and proline accumulation across two harvests. The results indicated that drought stress had a significant impact on both morphological and physiological traits. Under transient drought stress, the effects on plant morphological traits were less compared to prolonged drought stress; however, there was a considerable reduction in pigments and soluble protein levels, along with an increase in both enzymatic and non-enzymatic antioxidant activities. In contrast, during prolonged drought stress, pigment and soluble protein levels increased, but the activities of enzymatic and non-enzymatic antioxidants declined. Notable morphological and physiological differences between the ecotypes in response to drought stress were observed in both harvests. Overall, this study demonstrated that *Z. clinopodioides* adopts a tolerance strategy under transient drought stress, whereas under prolonged drought stress, it maintains tolerance and utilizes avoidance strategy, it's exhibits phenotypic plasticity. These findings can be applied in breeding and domestication programs for this plant.

Key words: " prolonged drought stress ", " transient drought stress ", "domestication", "irrigation cut-off ", "ecotype"

Extenden abstract

Introduction

Ziziphora clinopodioides, a species belonging to the Lamiaceae family, is a native medicinal plant of Iran, also found in Turkey, Tajikistan, and China. It's essential oil is rich in pulegone and 1,8-cineole, with antioxidant and antimicrobial properties. These features make it useful in food preservation, animal nutrition, and pest management. The essential oil has been applied in fish fillet preservation, poultry feed, and ruminant diets, enhancing both product quality and shelf life.

Cultivation and domestication of *Z. clinopodioides* not only ensure a steady supply while preserving biodiversity but also provide an opportunity to utilize superior genetic materials, agricultural machinery, and agronomic practices to improve yield and quality. One of the major challenges in cultivating this plant is managing irrigation, especially since most Iranian agricultural land is in arid or semi-arid zones. Global climate models predict increased drought frequency and intensity in the coming decades, making water management a crucial aspect of sustainable agriculture. Drought stress particularly affects critical growth stages, such as vegetative growth and flowering, leading to significant reduction in yield and quality.

Due to the high environmental influence on yield-related traits and their complex and low heritability, understanding the morphological and physiological responses of *Z. clinopodioides* ecotypes to drought stress is essential.

Materials and Methods

A field experiment was conducted at the Horticultural Science Research Station in Mohammadshahr, Alborz Province, using a split-plot based on a randomized complete block with three replicates. The main factor was the irrigation regime, which was applied as follows: full irrigation (Control), irrigation continued until full flowering, irrigation ceased when the first flowers appeared (transient drought stress), and irrigation was stopped at the stem elongation stage (prolonged drought stress).

The sub-factor included five ecotypes of *Z. clinopodioides* collected from different regions: Velian, Taleqan, Galoogah, Kabodarahang, and Shazand. Soil moisture was measured gravimetrically, and irrigation was applied based on soil properties and dripper flow to reach field capacity. The parameters measured included morphological traits such as plant height, number of nodes, branches, and flowers, as well as leaf and flower coordinates, and biomass accumulation. Physiological traits assessed comprised pigments, antioxidant enzyme activity (including catalase and superoxide dismutase), soluble sugars, and proline. Additionally, biochemical assays were performed to evaluate antioxidant capacity using the DPPH assay, and to determine lipid peroxidation levels through malondialdehyde (MDA) quantification. Data were analyzed using SAS 9.4, and means were compared using LSD at 1% and 5% significance.

Results and Discussion

Drought stress significantly influenced all traits, except inflorescence width. Prolonged stress notably reduced biomass, leaf expansion, and plant height, while some ecotypes exhibited adaptive responses, such as increased internode length and the more floral branches.

Under prolonged drought, plants showed a 36.2% reduction in leaf area (4.83 cm² in the control to 3.08 cm²), likely as a water conservation mechanism. Ecotypes responded differently; Valian increased internode length from 38.33 mm to 43.83 and secondary branches from 16.67 to 19.43 under prolonged stress compared to control, while Shazand and Taleqan showed 3.01-fold and 2.1-fold increases in floral branch number, respectively, possibly as a reproductive survival strategy.

Moreover, drought stress induced a decline in chlorophyll content, particularly under transient stress. However, under prolonged drought conditions, some ecotypes, such as Valian and Galoogah, exhibited 2.38-fold and 1.98-fold increases in total chlorophyll levels, respectively, compared to transient drought, suggesting a protective adaptation to oxidative stress.

In biochemical traits, Proline and soluble sugars accumulated under drought. Taleqan showed the largest increases (4.41-fold and 5.79-fold under transient stress compared to control). Antioxidant enzyme activities also rose under stress conditions, particularly in transient drought. MDA content, a marker of lipid peroxidation, increased significantly under drought conditions, indicating cellular membrane damage, were highest in Galoogah (33.46 nmol/g FW).

Drought Tolerance Strategies in *Z. clinopodioides*

The results highlight the three primary drought tolerance strategies observed in *Z. clinopodioides*: (1) Tolerance, through enhancing antioxidant activity and osmolyte accumulation to mitigate oxidative damage; (2) Avoidance, by reducing leaf area and biomass to minimize water loss; and (3) Escape, via increased reproductive effort under prolonged stress conditions. Transient drought caused less damage compared to prolonged drought.

Ecotypic Variability in Response to Drought

Ecotypes showed significant differences. Although Galoogah exhibited the highest MDA levels, indicating greater oxidative sensitivity, it also showed the highest antioxidant enzyme activities. In contrast, osmoprotectant accumulated in Taleqan and Valian ecotypes in water deficit. Regarding morphological traits, Shazand and Taleqan produced more floral branches. Moreover, drought stress increased number of internodes and lateral branches in Galoogah and Kabodarahang ecotypes.

Impact of Harvest Timing (First vs. Second Cut)

MDA levels were significantly higher in the second cut, suggesting increased oxidative stress over time. However, leaf length and width were greater in the second harvest, indicating potential recovery and regrowth capacity. The second harvest also exhibited higher antioxidant enzyme activity and soluble sugar content, demonstrating that plants can accumulate protective compounds over successive growth cycles.

Conclusions and Recommendations

This study underscores the resilience of *Z. clinopodioides* adopts a tolerance strategy under transient drought stress. While under prolonged stress, it integrates tolerance with avoidance and escape mechanisms. Transient drought stress triggered antioxidant and osmoprotectant responses with minimal impact on biomass, prolonged drought led to significant morphological and physiological changes, including leaf size reduction and increased floral development. Ecotypic differences highlight the genetic diversity of *Z. clinopodioides*, which could be leveraged for breeding drought-tolerant cultivars. Future research should focus on root related traits, pigment-protein interactions, and irrigation scheduling to optimize water use efficiency for large-scale cultivation. Developing domestication strategies tailored to specific ecotypes can enhance the plant's agronomic potential, ensuring sustainable production in arid and semi-arid regions.

بررسی راهبردهای تحمل خشکی در کاکوتی از طریق صفات مورفولوژیک و فیزیولوژیک

چکیده

کاکوتی کوهی (*Ziziphora clinopodioides* L.) گیاهی چندساله از تیره نعنائیان است که به دلیل استفاده در صنایع غذایی و دارویی توجه زیادی را جلب کرده است. با توجه به پیچیدگی وراثت‌پذیری صفات عملکردی، درک راهبردهای گیاه در شرایط کم‌آبی با ارزیابی صفات مورفو-فیزیولوژیک می‌تواند مفید باشد. در این پژوهش برای مطالعه پاسخ کاکوتی کوهی به تنش خشکی از طرح کرت‌های خرد شده در زمان به صورت بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار اجرا شد. رژیم‌های آبیاری شامل آبیاری کامل (شاهد)، تنش خشکی کوتاه مدت (قطع آبیاری در شروع گلدهی) و بلند مدت (قطع آبیاری در مرحله رشد رویشی) بود. اکوتیپ‌های رویشگاه‌های مختلف از نظر صفات مورفولوژیک، محتوای رنگیزه‌ها و مالون‌دی‌آلدهید، پرولین، قندها و پروتئین محلول، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در دو چین ارزیابی شدند. نتایج نشان داد که در شرایط خشکی کوتاه مدت، اگرچه اثر تنش بر صفات مورفولوژیک گیاه کمتر بود اما کاهش قابل توجهی در رنگیزه‌ها و پروتئین محلول (به ترتیب ۲/۱۶ و ۱/۸ برابر کاهش در کلروفیل a و پروتئین محلول در مقایسه با شاهد) مشاهده شد که با افزایش فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی آنزیمی و غیرآنزیمی همراه بود. در مقابل، در خشکی بلند مدت، هرچند سطح رنگیزه‌ها از ۰/۲۷ به ۰/۴۹۷ میلی‌گرم در گرم وزن تر در کلروفیل a و پروتئین محلول از ۱۲۸/۶۵ به ۱۷۱/۳۳ میلی‌گرم در گرم وزن تر در مقایسه با تنش خشکی کوتاه‌مدت افزایش یافت اما فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی آنزیمی و غیرآنزیمی کاهش یافت. در چین اول و دوم تفاوت‌های قابل توجهی در صفات مورفو-فیزیولوژیک بین اکوتیپ‌ها در پاسخ به خشکی مشاهده شد. به‌طور کلی، در این مطالعه کاکوتی کوهی از راهبرد تحمل در خشکی کوتاه مدت استفاده نمود، در حالی که در خشکی بلند مدت، علاوه بر حفظ راهبرد تحمل، از راهبرد اجتناب نیز بهره برد و انعطاف‌پذیری فنوتیپی نشان داد. یافته‌های این مطالعه می‌تواند در برنامه‌های اصلاحی به کار گرفته شود.

کلمات کلیدی: "تنش خشکی بلند مدت"، "تنش خشکی کوتاه مدت"، "اهلی‌سازی"، "قطع آبیاری"، "اکوتیپ"

جنس *Ziziphora* یکی از ۴۶ جنس تیره نعنائیان^۱ موجود در فلور ایران است (Rechinger, 1974). گونه *Z. clinopodioides* (کاکوتی کوهی) با ۹ زیرگونه جزء گونه‌های بومی ایران محسوب می‌شود (Jamzad, 2012). این گونه چند ساله با ارتفاع ۳۰ تا ۴۰ سانتی‌متر و گل‌آذین سرسان و گل‌های ارغوانی رنگ (Ghaviandam & Mazandarani, 2017)، علاوه بر پراکندگی مناسب در ایران، در ترکیه، تاجیکستان و چین نیز گزارش شده است (Mohammadhosseini, 2017). پولگون و ۸-۱ سینئول از ترکیبات اصلی اسانس این گیاه معطر (Dehghan et al, 2010) به علت خواص آنتی‌اکسیدانی (Hazrati et al, 2020)، ضد باکتریایی (Baygan et al, 2022) و ضد قارچی (Hassani et al, 2023)، توجه محققان حوزه صنایع غذایی را به خود جلب کرده است. کاربرد اسانس این گیاه به عنوان نگهدارنده طبیعی در غذاهای زود فاسد شونده پروتئینی، به علت افزایش ماندگاری با حداقل آثار سوء و همچنین افزایش کیفیت مواد غذایی پیشنهاد شده است (Shahbazi, 2021; Ajourloo et al, 2021; Shakour et al, 2021; Karami and Shavisi, 2018; Shahinfar et al, 2017). افزون بر این، به سبب آثار مثبت تغذیه‌ای و ایجاد مقاومت در برابر بیماری، کاربرد اسانس کاکوتی در جیره غذایی برخی آبزیان (Oroji et al, 2021; Roohani Rankouhi et al, 2021)، ماکیان (Talebi et al, 2021) و نشخوارکنندگان (Edalati Nacab et al, 2018) توصیه شده است. از طرفی اثر حشره‌کشی (Perinelli et al, 2022) و کنه‌کشی (Modarres Najafabadi, 2014) اسانس کاکوتی کوهی نیز گزارش شده است. علاوه بر خواص ضد فشارخون (Senejoux et al, 2012) و ضد سرطان (Zhang et al, 2019) ناشی از فلاونوئیدهای آنتی‌اکسیدان (Zhang et al, 2021) گیاه، آثار ضد دیابتی (Mohammad Sadeghi et al, 2015)، ضد آرتريت مفاصل (Shabbir et al, 2018)، ضد درد (Mohammadifard & Alimohammadi, 2018)، ضد آسم (Ahsan et al, 2019)، ضد التهاب معده (Niazmand et al, 2009) و روده (Amini-Shirazi et al, 2009) تحت تأثیر عصاره‌های مختلف گیاه نیز گزارش شده است.

با توجه به کاربرد وسیع و مختلف کاکوتی کوهی، به نظر می‌رسد کشت و اهلی‌سازی، علاوه بر تامین پایدار و یکنواخت مواد اولیه صنایع و کاهش فشار از روی رویشگاه‌های طبیعی (Phondani et al, 2016)، فرصت بهره‌گیری از مواد تکثیری با خواص ژنتیکی برتر، کاربرد ماشین‌آلات کشاورزی، عملیات‌های به‌زراعی در جهت افزایش کمیت و کیفیت (Schippmann et al, 2006) کاکوتی کوهی را نیز فراهم می‌آورد. انتخاب گیاهان مناسب از رویشگاه‌ها جهت کشت در مزارع و همچنین تعیین نحوه آبیاری گیاه در مزرعه از جمله موارد مورد مطالعه در فرآیند اهلی‌سازی گیاهان به شمار می‌رود (Alamgir, 2017).

با توجه به پیش‌بینی افزایش مدت و تکرار خشکی توسط مدل‌های آب و هوایی جهانی در نیم قرن آینده (Dai, 2013) و از آنجا که ۸۰ درصد زمین‌های کشاورزی ایران در مناطق خشک و نیمه خشک قرار دارند (ملکوتی، ۱۳۹۵)، آبیاری مناسب در ایران از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. علاوه بر این، مرحله گلدهی و رشد رویشی قبل از آن از حساس‌ترین مراحل رشدی گیاهان به تنش خشکی بوده که منجر به کاهش کمیت و کیفیت محصولات کشاورزی می‌گردد (De Micco & Aronne, 2012). این درحالی است که پراکندگی نزولات آسمانی در اکثر مناطق ایران به گونه‌ای است که گیاهان اغلب در این مراحل با تنش خشکی مواجه می‌شوند.

پاسخ گیاهان به خشکی در واقع سازوکارهایی است که گیاهان را برای شرایط رویشگاه اصلی خود سازگار کرده است (De Micco & Aronne, 2012). تنوع اکولوژیکی (Asaadi, 2016)، مورفولوژیکی، ژنتیکی و کموتایی (Shaltouki et al, 2021) کاکوتی کوهی فرصت خوبی را برای برنامه‌های اهلی‌سازی و اصلاحی فراهم کرده است. از آنجا که صفات عملکردی معمولاً وراثت‌پذیری پایینی داشته و تحت تأثیر محیط قرار می‌گیرند، بررسی آن‌ها به تنهایی در گزینش موثر ژنوتیپ‌های متحمل به خشکی کافی نخواهد بود. درک بهتر فرآیندها و سازوکارهای گیاه برای تحمل به خشکی از طریق بررسی صفات مورفو-فیزیولوژیک می‌تواند منجر به یافتن صفات مرتبط با عملکرد و با وراثت‌پذیری بالا و یا یافتن نشانگرهای بیوشیمیایی و مورفولوژیک برای انتخاب بهتر شود (De Micco & Aronne, 2012). افزون بر این، نقش سیگنالینگ (علامت‌رسانی) این پارامترها در تولید

متابولیت ثانویه (Selmar & Kleinwächter, 2013) اهمیت این صفات را بیشتر کرده است. بنابراین، این تحقیق با هدف درک بهتر پاسخ‌ها و سازوکارهای اکوتیپ‌های مختلف کاکوتی کوهی به خشکی در شرایط مزرعه صورت پذیرفت.

پیشینه پژوهش

خشکی در کشاورزی به عنوان عدم وجود آب کافی برای رشد و نمو طبیعی و تکمیل چرخه زندگی گیاه تعریف می‌شود. در شرایط تنش خشکی، ریشه برای جذب بیشتر آب نیازمند مصرف انرژی می‌شود که همین امر با اثر سیگنالینگ موجب تجمع اسید آبسزیک^۱ در ریشه می‌گردد. تجمع اسید آبسزیک در ریشه اثر سیگنالینگ برای بسته شدن روزنه‌ها در برگ ایجاد می‌کند. الکترون‌های برانگیخته ناشی از تابش خورشید به علت کاهش محتوی دی‌اکسیدکربن سلول با اکسیژن موجود در سلول وارد واکنش شده و موجب افزایش گونه‌های فعال اکسیژن^۲ به ویژه در کلروپلاست می‌گردد (De Micco & Aronne, 2012). این درحالی است که کاهش محتوی آب سلول موجب از دست رفتن آماس^۳ سلولی و مختل شدن فعالیت ماکرومولکول‌ها و آنزیم‌های گیاهی می‌گردد. بنابراین سلول‌های گیاهی در اثر تنش خشکی در معرض تنش اکسیداتیو و اسمزی نیز قرار می‌گیرند (Ghasemi et al, 2023).

گیاهان پاسخ‌های متفاوتی در مواجهه با خشکی می‌دهند که عموماً به علت سازگاری با رویشگاه برای کاهش خسارات، بقا و تولیدمثل است (De Micco & Aronne, 2012). این پاسخ‌ها شامل افزایش آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی و غیر آنزیمی (ElSayed et al, 2019) و همچنین افزایش غلظت تنظیم‌کننده‌های اسمزی (Khaleghi et al, 2019) و کاهش سطح برگ و ارتفاع (Azimi et al, 2018)، افزایش طول میانگره (Rustioni & Bianchi, 2021) و افزایش تعداد گل (رئوف، ۱۴۰۳) می‌شود. به طور کلی پاسخ‌های گیاهان در مواجهه با خشکی از سه راهبرد فرار، اجتناب و تحمل پیروی می‌کند. تسریع مراحل فنولوژی و تکمیل چرخه زندگی گیاه برای رسیدن به شرایط خفتگی در فصل خشک، به عنوان راهبرد فرار مطرح می‌گردد. اجتناب به مجموعه‌ای از پاسخ‌ها به خشکی گفته می‌شود که منجر به بالا نگه داشتن محتوی آبی گیاه در شرایط تنش خشکی می‌شود و پاسخ‌های گیاه برای تحمل شرایط خشکی (عمدتاً فیزیولوژیک) در راهبرد تحمل دسته‌بندی می‌گردد (De Micco & Aronne, 2012). علاوه بر دسته‌بندی یاد شده، حفظ عملکرد اکوتیپ، مستقل از محیط (شرایط تنش خشکی) جز اکوتیپ ارتجاعی تعریف می‌گردد و انعطاف‌پذیری مثبت اکوتیپ^۴ با ایجاد تغییرات معنی‌دار در جهت سازگاری متمایز می‌گردد و تغییرات معنی‌دار به علت حساسیت، در انعطاف‌پذیری منفی اکوتیپ دسته‌بندی می‌شود (Rustioni & Bianchi, 2021).

بررسی‌های بوم‌شناسی تک گونه‌ای^۵ نشان می‌دهد که کاکوتی کوهی از ارتفاع ۱۰- تا ۲۹۰۰ متر از سطح دریا رویش دارد (رئوف، ۱۴۰۳; Asaadi, 2016). خاک‌های شنی تا لومی، با هدایت الکتریکی پایین (۰/۳ تا ۱ میکرو زیمنس بر سانتی‌متر)، غنی از مواد آلی و اسیدیته خنثی تا قلیایی را می‌پسندد و در مناطقی با متوسط دمای سالیانه ۸ تا ۱۷ درجه سلسیوس و متوسط بارش سالیانه ۱۷۵ تا ۳۵۰ میلی‌متر رویش دارد (Asaadi, 2016; Dehghan et al, 2010; Razmjoue & Zarei, 2015).

بررسی فنولوژی گیاه کاکوتی کوهی در منطقه بوانلو استان خراسان شمالی (در ارتفاع ۱۷۲۸ متر از سطح دریا) نشان می‌دهد که گیاه رشد رویشی خود را از اوایل فروردین شروع و در نیمه دوم خرداد به گل می‌رود، پس از گذراندن چهار ماه موسم گلدهی، در اواخر مهر گل‌ها به بذر تبدیل می‌شوند. بذردهی تا اواخر آبان ماه ادامه دارد و از اوایل آذر تا اواخر اسفند گیاه خزان می‌کند

1. Absciscic Acid
2. Reactive Oxygen Species (ROS)
3. Turgor
4. Positive Plasticity Ecotype
5. Autecology

طالبان	حسن	۰.۷۰۷۰	۴۴°۵۰'۴۸"	۳۶°۱۳'۰۷"	۲۲۵۵	۱۸/۷	۵/۲	۱۲/۹۵	۴۱۵/۴	۵۳/۳
گلگاه	مازندران	۰.۷۰۷۴	۵۰°۵۳'۰۱"	۳۶°۳۶'۰۷"	-۱۰	۲۲/۵	۱۲/۷۵	۱۷/۶	۵۹۴/۶	۷۱/۲
کبودر آهنگ	همدان	۰.۷۰۷۳	۴۸°۲۷'۱۹"	۳۵°۳۵'۳۵"	۱۶۷۲	۱۹/۶	۳	۱۰/۱	۲۸۹/۲	۴۷/۶۵
شازند	مرکزی	۰.۷۰۷۲	۱۲°۴۹'۰۸"	۰۴°۳۴'۵۰"	۱۹۰۲	۱۹/۸	۴/۷۵	۱۲/۵	۴۴۵/۵	۴۳/۷

بنور جمع‌آوری شده از رویشگاه (جدول ۱) در بستر ۳ به ۱ کوکوپیت پرلیت کشت و در گلخانه (با دمای ۱۵ تا ۲۵) تا مرحله ۵ الی ۶ برگه نگهداری شد. پس از دو هفته مقاوم‌سازی گیاهان به شرایط خارج از گلخانه، در اردیبهشت ماه سال ۱۴۰۰ به زمین اصلی (۱۶۶/۷۵ متر مربع) منتقل شد. تعداد ۹ کرت اصلی با ابعاد ۲/۵ در ۳/۵ متر با فاصله یک متر از یکدیگر برای اعمال سطوح آبیاری به عنوان عامل اصلی استفاده شد. سطوح عامل فرعی (اکوتیپ‌ها) به صورت ردیفهائی در درون کرت اصلی اجرا شد. فاصله ردیف‌ها از هم ۵۰ سانتی‌متر و فاصله بین بوته‌ها روی ردیف ۳۰ سانتی‌متر در نظر گرفته شد. بدین ترتیب حدود ۷ بوته در هر ردیف کشت گردید. آبیاری با استفاده از نوار آبیاری با دور آبیاری ۵ روز تا زمان رسیدن به حد ظرفیت مزرعه انجام شد. رطوبت خاک قبل از آبیاری به روش وزنی اندازه‌گیری (ASTM, 2010) و مقدار آبیاری با استفاده از چگالی خاک، عمق ریشه و مساحت زمین واحد آزمایشی به مترمکعب محاسبه و با اندازه‌گیری دبی قطره‌چکان زمان آبیاری تا رسیدن به رطوبت خاک به حد ظرفیت مزرعه محاسبه و اعمال شد. کلیه عملیات های داشت و نگهداری بجز آبیاری بطور یکسان برای همه تیمارها تا زمان برداشت اعمال شد.

اندازه‌گیری صفات مورفولوژیک

در زمان نمونه‌برداری ارتفاع بوته توسط خط‌کش اندازه‌گیری شد. تعداد شاخه جانبی روی شاخه گل‌دهنده، تعداد شاخه گلدار جانبی در شاخه گلدار اصلی و تعداد گره شمارش شد. فاصله میان‌گره، طول و عرض گل آذین و برگ با کولیس اندازه‌گیری شد. وزن تر و خشک کل قسمت هوایی بوته و وزن خشک سرشاخه گلدار و ساقه با استفاده از ترازوی حساس (۰/۰۱ گرم) توزین گردید. محیط و مساحت برگ توسط تصویربرداری و نرم افزار Image J نسخه 1.8.0_345 مورد اندازه‌گیری قرار گرفت (Wang et al, 2000).

اندازه‌گیری صفات فیزیولوژیک

اندازه‌گیری محتوی رنگی‌ها

استخراج رنگی‌های فتوسنتزی از بافت تر برگ بر اساس روش Lichtenthaler (1987) صورت گرفت. بر این اساس میزان جذب در طول موج‌های ۴۷۰، ۶۴۵ و ۶۶۳ نانومتر به ترتیب برای محاسبه مقدار کارتنوئید، کلروفیل a و کلروفیل b با واحد میلی‌گرم بر گرم وزن تر با استفاده از رابطه‌های ۱، ۲ و ۳ اندازه‌گیری شد. همچنین حاصل جمع کلروفیل a و b به عنوان کلروفیل کل در نظر گرفته شد.

$$\text{رابطه (۱)} \quad \text{جذب} \quad a = 12/25 \times 663 - 2/79 \times 645 \quad \text{کلروفیل}$$

$$\text{رابطه (۲)} \quad \text{جذب} \quad b = 21/50 \times 645 - 5/10 \times 663 \quad \text{کلروفیل}$$

$$\text{رابطه (۳)} \quad 195 / (\text{کلروفیل } b \times 85/02 - \text{کلروفیل } a \times 1/82 - \text{جذب } 1000 \times 470) = \text{کارتنوئید}$$

اندازه‌گیری محتوی پروتئین و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی

از بافت تر برگ عصاره آنزیمی برای اندازه‌گیری محتوی پروتئین و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی طبق روش ارائه شده توسط Pagariya و همکاران (۲۰۱۲) تهیه و با روش Bradford (۱۹۷۶) و منحنی استاندارد مقدار پروتئین به صورت میلی‌گرم در گرم وزن تر محاسبه شد.

سنجش یک واحد فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز بر اساس کمیتی از آن در طول موج ۵۶۰ نانومتر انجام شد که توان کاهش در میزان جذب را به میزان ۵۰ درصد دارا باشد. فعالیت آنزیم به صورت واحد به ازای میلی‌گرم پروتئین بیان شد (Dhindsa et al, 1981).

فعالیت آنزیم کاتالاز بر اساس کاهش میزان جذب نور به دلیل تجزیه پراکسید هیدروژن در طول موج ۲۴۰ نانومتر، در طی مدت ۱ دقیقه ارزیابی شد. نتایج به صورت واحد فعالیت آنزیم در میلی‌گرم پروتئین بیان شد (Dai et al, 2020).

اندازه‌گیری ظرفیت آنتی‌اکسیدانی، قندهای محلول، پرولین و مالون دی آلدئید

عصاره‌گیری از بافت تر برگ با استفاده از روش Singleton و Rossi (۱۹۶۵) انجام و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی به روش DDPH در طول موج ۵۱۷ نانومتر اندازه‌گیری و به صورت درصد گزارش شد (Das & Goyal, 2015).

طبق روش Schlegel (۱۹۵۶) از بافت تر برگ جهت اندازه‌گیری قند محلول، عصاره‌گیری شد بر این اساس مقدار جذب در طول موج ۴۷۳ نانومتر اندازه‌گیری و با استفاده از منحنی استاندارد به صورت میکروگرم گلوکز در گرم وزن تر گزارش شد. عصاره بدست آمده از بافت تر گیاهی، در طول موج ۵۲۰ نانومتر اندازه‌گیری و مقدار پرولین با استفاده از منحنی استاندارد به صورت میکرومول در گرم وزن تر بیان شد (Bates et al, 1973).

عصاره گیاهی و مخلوط واکنش در طول موج ۵۳۲ و ۶۰۰ نانومتر جهت اندازه‌گیری مالون دی آلدئید اندازه‌گیری و با واحد نانومول بر گرم وزن تر بیان شد (Heath & Packer, 1968).

تحلیل آماری داده‌ها

داده‌های بدست آمده از طریق سنجش پارامترهای مورد نظر، بر اساس طرح آزمایشی کرت‌های خرد شده در زمان توسط نرم‌افزار SAS نسخه ۹/۴ مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. مقایسه میانگین داده‌ها از طریق آزمون LSD در سطح احتمال یک و پنج درصد انجام شد.

یافته‌های پژوهش

اثر تنش خشکی بر صفات مورفو-فیزیولوژیک اکوتیپ‌های کاکونی کوهی

صفات طول، مساحت و محیط برگ، تعداد شاخه‌های جانبی، وزن تر کل، وزن خشک سرشاخه گلدار، کلروفیل *a* و پروتئین محلول کل به طور معنی‌داری تحت تاثیر اثر ساده رژیم آبیاری قرار گرفتند. مقایسه میانگین‌ها در جدول ۲ نشان داد که ۴۰ روز تنش خشکی اعمال شده در اثر قطع آبیاری در زمان ساقه‌دهی و رشد رویشی (تنش خشکی بلندمدت) به طور معنی‌داری موجب کاهش طول (۲۷٪)، مساحت (۳۶٪) و محیط برگ (۴۱٪)، وزن تر (۳۸٪) کل بوته، وزن خشک سرشاخه گلدار (۴۶٪) و وزن خشک ساقه بوته (۵۰٪) در مقایسه با شاهد شده است (جدول ۲). تنش خشکی کوتاه‌مدت (۱۳ روز تنش خشکی اعمال شده در اثر قطع آبیاری در زمان شروع گلدهی) هرچند سبب کاهش معنی‌دار صفات وزن تر کل (۱۱٪) و وزن خشک سرشاخه گلدار بوته (۱۸٪) در مقایسه با رژیم آبیاری شاهد شد اما این کاهش در صفات طول، مساحت و محیط برگ و وزن خشک ساقه معنی‌دار نبود.

جدول ۲. مقایسه میانگین صفات مورفو-فیزیولوژیک کاکوتی کوهی تحت تاثیر رژیم آبیاری

تنش خشکی	طول برگ (میلی متر)	مساحت برگ (میلی متر مربع)	محیط برگ (میلی متر)	کلروفیل a (میلی گرم در گرم وزن تر)	پروتئین (میلی گرم در گرم وزن تر)	وزن تر کل بوته (گرم)	وزن خشک سرشاخه گلدار بوته (گرم)	وزن خشک ساقه بوته (گرم)
شاهد	۲۲/۳۳a	۴/۸۳a	۴/۱۴a	۰/۵۸a	۲۳۱/۸۵a	۴۷۱/۵۹a	۱۰۶/۱۴a	۱۰۲/۱۹a
کوتاه مدت	۲۰/۸۳a	۴/۷۱a	۳/۹۳a	۰/۲۹c	۱۲۸/۶۵c	۴۱۵/۷۱b	۸۶/۰۶b	۹۱/۸۷a
بلند مدت	۱۶/۲۵b	۳/۰۸b	۲/۵۹b	۰/۴۹b	۱۷۱/۳۳b	۲۸۹/۳۷c	۵۶/۹۸c	۵۰/۳۷b

میانگین های دارای حروف مشترک در هر ستون فاقد تفاوت معنی دار بر اساس آزمون حداقل اختلاف معنی دار (LSD) در سطح احتمال یک و پنج درصد می باشد. شاهد: رژیم آبیاری بدون توقف، کوتاه مدت: رژیم توقف آبیاری در مرحله گلدهی، بلند مدت: رژیم توقف آبیاری در مرحله رویشی.

اکوتیپ های کاکوتی پاسخ های متفاوتی در صفات تعداد گره، شاخه و گل آذین جانبی، طول میانگره و وزن خشک کل بوته تحت رژیم آبیاری نشان دادند. به طوری که بیشترین تعداد شاخه های جانبی با میانگین ۲۹/۵ شاخه در گیاهان اکوتیپ سازند و تحت آبیاری کامل و کمترین مقدار آن در اکوتیپ های طالقان و سازند با میانگین ۹/۵ شاخه تحت تنش خشکی بلند مدت مشاهده شد که با تعداد شاخه جانبی اکوتیپ گلوگاه تحت رژیم آبیاری شاهد (۱۱/۳۳ شاخه) اختلاف معنی داری نداشت. همچنین، در اکوتیپ ولیان تحت تنش خشکی شدید طول میانگره از ۳۸/۳۳ به ۴۳/۸۳ میلی متر و تعداد شاخه جانبی از ۱۶/۶۷ به ۱۹/۴۳ شاخه به طور معنی داری در مقایسه با شاهد افزایش یافت و صفات تعداد گره و تعداد گل آذین این اکوتیپ به طور معنی داری تحت تاثیر خشکی قرار نگرفت. در مقابل، اکوتیپ های سازند و طالقان افزایش معنی دار ۲ برابری تعداد گل آذین های جانبی تحت تنش خشکی شدید در مقایسه با شاهد را نشان دادند. از طرفی در صفت تعداد شاخه جانبی، در این دو اکوتیپ به ترتیب کاهش معنی دار ۶۸/۸ و ۵۲ درصدی در مواجهه با تنش خشکی شدید در مقایسه با شاهد، مشاهده شد. تعداد گره در اثر تنش خشکی شدید در اکوتیپ های گلوگاه ۲۶ درصد و کبودرآهنگ ۳۴ درصد در مقایسه با شاهد افزایش معنی دار پیدا کرد اما تیمارهای رژیم آبیاری، صفات تعداد گل آذین و فاصله میانگره را در این دو اکوتیپ تحت تاثیر قرار نداد. تنش خشکی شدید هرچند در اکوتیپ سازند باعث کاهش معنی دار طول میانگره از ۴۳/۶۷ به ۳۷/۱۷ میلی متر و تعداد شاخه جانبی از ۲۹/۵ به ۹/۵ شاخه شد اما موجب افزایش معنی دار تعداد گل آذین جانبی از ۴/۶۷ به ۹/۰۳ گل آذین و گره از ۱۴/۱۷ به ۱۱/۸۳ نسبت به رژیم آبیاری شاهد شد (جدول ۳).

جدول ۳. مقایسه میانگین صفات مورفولوژیک اکوتیپ های کاکوتی کوهی تحت تاثیر رژیم های آبیاری

تنش خشکی	اکوتیپ	تعداد شاخه جانبی	طول میانگره (میلی متر)	تعداد گره	تعداد گل آذین جانبی	وزن خشک کل بوته (گرم)
شاهد	ولیان	۱۶/۶۷ ^e	۳۸/۳۳ ^{egf}	۱۰/۵ ^{fe}	۹/۵۸ ^{ab}	۲۳۷/۱۳ ^a
شاهد	طالقان	۲۰ ^{bcd}	۴۰/۶۷ ^{egcdf}	۱۶/۱۷ ^a	۵/۲۳ ^e	۱۸۰/۱۳ ^{cd}
شاهد	گلوگاه	۱۱/۳۳ ^{gh}	۲۴/۶۷ ^h	۱۲/۱۷ ^{dec}	۵/۲۷ ^e	۱۹۶/۲۵ ^{cb}
شاهد	کبودرآهنگ	۱۵/۸۳ ^e	۴۷/۷۵ ^a	۱۰/۸۳ ^{fe}	۵/۶۵ ^e	۲۱۴/۳۵ ^{ab}
شاهد	سازند	۲۹/۵ ^a	۴۳/۶۷ ^{abcd}	۱۱/۸۳ ^{de}	۴/۶۷ ^e	۲۱۳/۸۱ ^{ab}
کوتاه مدت	ولیان	۱۵/۲۷ ^{ef}	۳۷/۵ ^{gf}	۱۰/۶۷ ^{fe}	۸/۶۹ ^{abcd}	۱۷۵/۶۸ ^{cd}
کوتاه مدت	طالقان	۱۷/۵ ^{ed}	۴۲/۳۳ ^{ebcd}	۱۴/۵۵ ^{ab}	۵/۷۵ ^{ed}	۱۷۶/۶۷ ^{cd}
کوتاه مدت	گلوگاه	۱۳/۰۳ ^{gf}	۲۴/۵ ^h	۱۱/۸۳ ^{de}	۴/۷۳ ^e	۱۹۹/۳۹ ^{cb}

۱۷۴/۳۹ ^{cd}	۶/۵۱ ^{ecd}	۱۱/۹۳ ^{de}	۴۵/۵۴ ^{ab}	۱۶/۶۳ ^e	کبودرآهنگ	کوتاهمدت
۱۶۳/۵۱ ^d	۵/۱۳ ^e	۱۳/۰۲ ^{dbc}	۳۹/۳۱ ^{egdf}	۲۱/۹۷ ^{bc}	شازند	کوتاهمدت
۱۱۰/۹۴ ^e	۷/۱۹ ^{ebcd}	۹/۵ ^f	۴۳/۸۳ ^{abc}	۱۹/۴۳ ^{cd}	ولیان	بلندمدت
۱۱۸/۰۳ ^e	۱۱ ^a	۱۳/۱۷ ^{dbc}	۴۱/۶۷ ^{ebcdf}	۹/۵ ^h	طالقان	بلندمدت
۱۰۳/۸۸ ^e	۴/۶۹ ^e	۱۵/۳۳ ^a	۲۶/۳۳ ^h	۲۲/۶۷ ^b	گلوگاه	بلندمدت
۹۷/۰۵ ^e	۵/۹۸ ^{ed}	۱۴/۳۳ ^{ab}	۴۴/۱۷ ^{abc}	۱۹/۶۳ ^{cd}	کبودرآهنگ	بلندمدت
۱۰۷/۵۵ ^e	۹/۰۳ ^{abc}	۱۴/۱۷ ^{abc}	۳۷/۱۷ ^g	۹/۵ ^h	شازند	بلندمدت

میانگین‌های دارای حروف مشترک در هر ستون فاقد تفاوت معنی‌دار بر اساس آزمون حداقل اختلاف معنی‌دار (LSD) می باشد. شاهد: رژیم آبیاری بدون توقف، کوتاهمدت: رژیم توقف آبیاری در مرحله گلدهی، بلندمدت: رژیم توقف آبیاری در مرحله رویشی.

علاوه بر این اکوتیپ‌ها در صفات کلروفیل کل، کلروفیل b، کارتنوئید، نسبت کلروفیل a به b، مالون‌دی‌آلدهید، ظرفیت آن‌تی‌اکسیدانی، آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز، قند محلول و پرولین پاسخ‌های متفاوت معنی‌داری به رژیم‌های آبیاری دادند. تنش خشکی کوتاهمدت سبب کاهش کلروفیل کل و کلروفیل b در مقایسه با شاهد شد هر چند که این کاهش در اکوتیپ گلوگاه در صفت کلروفیل b معنی‌دار نبود. این درحالی است که تنش خشکی بلندمدت موجب افزایش معنی‌دار کلروفیل کل و کلروفیل b و همچنین کارتنوئید در اکوتیپ‌های شازند، گلوگاه و ویلان در مقایسه با تنش خشکی کوتاهمدت شد. بطوریکه این افزایش تحت تاثیر تنش خشکی بلندمدت در اکوتیپ ویلان منجر به جبران کامل کاهش در تنش خشکی کوتاهمدت در کلروفیل کل و عدم اختلاف معنی‌دار در مقایسه با تیمار شاهد شد. قابل توجه است که در کلروفیل b و کارتنوئید منجر به افزایش معنی‌دار حتی در مقایسه با تیمار شاهد در اکوتیپ گلوگاه و ویلان شد (جدول ۴).

جدول ۴. مقایسه میانگین مقدار رنگیزه‌های اکوتیپ‌های کاکوتی تحت تاثیر رژیم‌های آبیاری

تنش خشکی	اکوتیپ	کلروفیل کل (میلی گرم در گرم وزن تر)	کلروفیل b (میلی گرم در گرم وزن تر)	کارتنوئید (میلی گرم در گرم وزن تر)	نسبت کلروفیل b به کلروفیل a
شاهد	ولیان	۰/۹۳ ^a	۰/۲۷ ^{dc}	۰/۹۴ ^b	۲/۴۲ ^{cde}
شاهد	طالقان	۰/۹۵ ^a	۰/۲۹ ^{bc}	۱/۸۷ ^a	۲/۲۳ ^{fe}
شاهد	گلوگاه	۰/۹۹ ^a	۰/۱۲ ^f	۰/۹۵ ^b	۴/۵۱ ^a
شاهد	کبودرآهنگ	۰/۶۶ ^b	۰/۴۴ ^a	۲/۷۹ ^a	۱/۲۶ ^h
شاهد	شازند	۰/۹۷ ^a	۰/۴۴ ^a	۰/۸۳ ^c	۱/۱۳ ^h
کوتاهمدت	ولیان	۰/۳۹ ^c	۰/۱۱ ^f	۰/۸ ^b	۲/۶۹ ^{cd}
کوتاهمدت	طالقان	۰/۳۹ ^c	۰/۱۱ ^f	۰/۸۸ ^c	۲/۴۷ ^{cde}
کوتاهمدت	گلوگاه	۰/۳۴ ^c	۰/۱ ^f	۰/۹۳ ^b	۲/۴۷ ^{cde}
کوتاهمدت	کبودرآهنگ	۰/۳۴ ^c	۰/۰۷ ^f	۰/۹۴ ^b	۳/۴۶ ^b
کوتاهمدت	شازند	۰/۴ ^c	۰/۱۲ ^f	۰/۸۳ ^c	۲/۳۱ ^{de}
بلندمدت	ولیان	۰/۹۳ ^a	۰/۳۴ ^b	۲/۰۱ ^a	۱/۷۴ ^g
بلندمدت	طالقان	۰/۷ ^b	۰/۱۹ ^e	۰/۸۷ ^c	۲/۷۴ ^c
بلندمدت	گلوگاه	۰/۶۶ ^b	۰/۲۳ ^{de}	۲ ^a	۱/۸۵ ^{fg}
بلندمدت	کبودرآهنگ	۰/۷۲ ^b	۰/۲۵ ^{dc}	۰/۸۵ ^c	۱/۸۸ ^{fg}
بلندمدت	شازند	۰/۷۳ ^b	۰/۲۲ ^{de}	۱/۹۴ ^a	۲/۲۹ ^{de}

میانگین‌های دارای حروف مشترک در هر ستون فاقد تفاوت معنی‌دار بر اساس آزمون حداقل اختلاف معنی‌دار (LSD) می باشد. شاهد: رژیم آبیاری بدون توقف، کوتاهمدت: رژیم توقف آبیاری در مرحله گلدهی، بلندمدت: رژیم توقف آبیاری در مرحله رویشی.

هرچند تنش خشکی (کوتاهمدت و بلندمدت) موجب کاهش معنی‌دار صفات کلروفیل a و پروتئین (جدول ۲) و همچنین افزایش معنی‌دار فعالیت آنزیم کاتالاز، محتوی پرولین، قند محلول و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی در مقایسه با رژیم آبیاری شاهد شد اما شدت این کاهش و افزایش در تنش خشکی کوتاهمدت بیشتر از تنش خشکی بلندمدت بود (جدول ۵). مقدار مالون‌دی‌آلدهید که بیانگر نفوذپذیری و مقدار تخریب غشا سلولی است، در اثر تنش خشکی افزایش یافت، این افزایش در تنش خشکی بلندمدت به طور معنی‌داری بیشتر از تنش خشکی کوتاهمدت بود.

جدول ۵. مقایسه میانگین صفات فیزیولوژیک اکوتیپ‌های کاکوتی تحت تاثیر رژیم‌های آبیاری

تنش خشکی	اکوتیپ	مالون دی‌الدهید (نانو مول در گرم وزن تر)	ظرفیت آنتی اکسیدانی (درصد)	فعالیت سوپر اکسید دیسموتاز (واحد در میلی گرم پروتئین)	فعالیت کاتالاز (واحد در میلی گرم پروتئین)	قند محلول (میکروگرم گلوکز در گرم وزن تر)	پرولین (میکرو مول در گرم وزن تر)
شاهد	ولیان	۵/۳۱ ^g	۵۷/۲۹ ^e	۷/۵۵ ^g	۲۲/۸۳ ^e	۴۵/۴۵ ⁱ	۱۲/۷۳ ^g
شاهد	طالقان	۵/۳۳ ^g	۵۷/۴۷ ^{de}	۷/۶۵ ^g	۲۳/۳۳ ^e	۳۹/۸۵ ^j	۱۲/۰۲ ^g
شاهد	گلوگاه	۱۰/۶ ^e	۴۴/۳۳ ^f	۹/۷۵ ^e	۲۵ ^e	۱۹/۶۶ ^l	۳/۶۷ ^h
شاهد	کبودرآهنگ	۵/۴ ^g	۴۵/۴۴ ^f	۸/۳۳ ^{gf}	۲۴/۳۳ ^e	۲۷ ^k	۷/۱۶ ^h
شاهد	شازند	۷/۳۱ ^f	۴۵/۴۶ ^f	۹ ^{ef}	۲۵/۶۷ ^e	۲۸/۰۱ ^k	۵/۵۵ ^h
کوتاهمدت	ولیان	۱۱/۹۱ ^e	۹۷/۳۲ ^a	۱۱/۲۱ ^{cd}	۶۷/۰۵ ^b	۱۳۸/۲۲ ^b	۶۷/۶۵ ^a
کوتاهمدت	طالقان	۱۵/۷۶ ^d	۹۶/۵۵ ^a	۱۲/۳۲ ^c	۷۱/۰۵ ^b	۱۷۶/۱ ^a	۶۹/۷ ^a
کوتاهمدت	گلوگاه	۲۰/۷۴ ^c	۶۶/۶۵ ^c	۱۸/۳۳ ^a	۸۷/۷۵ ^a	۸۹/۶۹ ^g	۳۴/۳۵ ^c
کوتاهمدت	کبودرآهنگ	۱۷/۰۷ ^d	۷۸/۲۸ ^b	۱۵/۰۷ ^b	۷۱/۵۸ ^b	۱۱۷/۷۲ ^d	۳۸/۱ ^c
کوتاهمدت	شازند	۱۶/۱۷ ^d	۷۸/۰۲ ^b	۱۵/۷۱ ^b	۷۲/۵۴ ^b	۱۰۷/۱۱ ^e	۴۳/۰۸ ^b
بلندمدت	ولیان	۲۰/۵۵ ^c	۷۷/۷۹ ^b	۸/۴۷ ^{gf}	۴۱/۱۷ ^{cd}	۱۳۱/۸۸ ^c	۳۰/۱۲ ^d
بلندمدت	طالقان	۲۲/۰۴ ^c	۷۶/۵۲ ^b	۹/۰۵ ^{ef}	۴۰/۳۳ ^{cd}	۱۱۸/۱۶ ^d	۲۳/۵۹ ^e
بلندمدت	گلوگاه	۳۳/۴۶ ^a	۵۶/۸۱ ^e	۱۱/۲۳ ^{cd}	۳۶/۱۷ ^d	۵۳/۴۲ ^h	۱۱/۵۶ ^g
بلندمدت	کبودرآهنگ	۲۱/۴ ^c	۵۷/۶۲ ^{de}	۹/۸۳ ^e	۳۷/۱۷ ^{cd}	۹۸/۱۶ ^f	۱۸/۶۹ ^f
بلندمدت	شازند	۲۸/۷۴ ^b	۶۰/۳۸ ^d	۱۰/۱۷ ^{ed}	۴۲/۶۷ ^c	۹۴/۷۳ ^f	۲۰/۶۷ ^{ef}

میانگین‌های دارای حروف مشترک در هر ستون فاقد تفاوت معنی‌دار بر اساس آزمون حداقل اختلاف معنی‌دار (LSD) می‌باشد. شاهد: رژیم آبیاری بدون توقف، کوتاهمدت: رژیم توقف آبیاری در مرحله گلدهی، بلندمدت: رژیم توقف آبیاری در مرحله رویشی.

هرچند مقدار مالون‌دی‌آلدهید اکوتیپ گلوگاه در تنش خشکی بلندمدت با ۳۳/۴۶ نانو مول در گرم وزن تر به طور معنی‌داری بیشتر از دیگر اکوتیپ‌ها بود اما شایان ذکر است بیشترین فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان تحت تنش خشکی کوتاهمدت (۱۸/۳۳) و ۸۷/۷۵ واحد در میلی گرم پروتئین به ترتیب برای فعالیت آنزیم‌های سوپر اکسید دیسموتاز و کاتالاز نیز در این اکوتیپ مشاهده شد. این درحالی است که بیشترین مقدار محتوی قند محلول با ۱۷۶/۱ میکروگرم گلوکز در گرم وزن تر و پرولین با ۶۹/۷ میکرو مول در گرم وزن تر مربوط به اکوتیپ طالقان در تنش خشکی کوتاهمدت بود که در مقدار پرولین تفاوت معنی‌داری با اکوتیپ ویلیان با ۶۷/۶۵ میکرو مول در گرم وزن تر در تنش خشکی کوتاهمدت نداشت.

اثر چین بر اکوتیپ‌های مورد مطالعه

صفات طول میانگره، عرض برگ و طول گل‌آذین، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و مالون‌دی‌آلدهید به طور معنی‌داری تحت تاثیر اثر ساده چین قرار گرفت. از اینرو نتایج نشان جدول ۶ نشان داد که در چین دوم به طور معنی‌داری مقدار مالون‌دی‌آلدهید با ۱۶/۷۴ میکرو

مول در گرم وزن تر، طول گل آذین با ۲۴/۶ میلی متر و عرض برگ با ۶/۰۹ میلی متر نسبت به چین اول بیشتر بود. این در حالی است که میانگین فاصله میانگره در چین اول با ۴۰/۵۴ میلی متر به طور معنی داری بیشتر از چین دوم با ۳۶/۴۶ میلی متر بدست آمد (جدول ۶).

جدول ۶. مقایسه میانگین برخی صفات مورفو-فیزیولوژیک کاکوتی کوهی در چین اول و دوم

چین	مالون دی الدهید (نانو مول در گرم وزن تر)	طول گل آذین (میلی متر)	فاصله میانگره (میلی متر)	عرض برگ (میلی متر)
۱	۱۵/۵ ^b	۱۹/۹۳ ^b	۴۰/۵۴ ^a	۵/۴۲ ^b
۲	۱۶/۷۴ ^a	۲۴/۶ ^a	۳۶/۴۶ ^b	۶/۰۹ ^a

میانگین‌های دارای حروف مشترک در هر ستون فاقد تفاوت معنی دار بر اساس آزمون حداقل اختلاف معنی دار (LSD) در سطح یک و پنج درصد می باشد.

علاوه بر این اثر متقابل رژیم آبیاری و چین بر صفات تعداد شاخه و گل‌های جانبی، آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز، ظرفیت آنتی اکسیدانی و قند محلول معنی دار بود. در نتیجه بررسی مقایسه میانگین‌های جدول ۷ نشان داد که علی‌رغم پیروی از الگوی یکسان افزایش معنی دار صفات فیزیولوژیک در اثر تنش خشکی کوتاه مدت در مقایسه با تنش خشکی بلند مدت، صفات یاد شده در چین دوم در مقایسه با چین اول به طور معنی داری بیشتر تحت تاثیر قرار گرفته و میانگین‌های بیشتری داشتند (جدول ۷).

جدول ۷. مقایسه میانگین صفات مورفو-فیزیولوژیک کاکوتی کوهی تحت تاثیر رژیم‌های آبیاری در چین اول و دوم

تنش خشکی	چین	تعداد شاخه جانبی	تعداد گل آذین	فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (واحد در میلی گرم پروتئین)	فعالیت آنزیم کاتالاز (واحد در میلی گرم پروتئین)	فعالیت آنتی اکسیدانی (درصد)	قند محلول (میکروگرم ساکارز در گرم وزن تر)
شاهد	۱	۱۵/۴ ^{cd}	۳/۵۹ ^c	۸/۴۷ ^d	۲۴/۴ ^d	۴۷/۹۳ ^e	۳۰/۹۳ ^e
شاهد	۲	۲۱/۹۳ ^a	۸/۵۷ ^a	۸/۴۴ ^d	۲۴/۰۷ ^d	۵۲/۰۲ ^d	۳۳/۰۶ ^e
کوتاه مدت	۱	۱۴/۸۲ ^d	۳/۸۲ ^c	۱۳/۲۸ ^b	۶۶/۷۳ ^b	۷۷/۴ ^b	۱۲۲/۹۳ ^b
کوتاه مدت	۲	۱۸/۹۴ ^b	۸/۵۱ ^{ab}	۱۵/۷۷ ^a	۸۱/۲۵ ^a	۸۹/۳۳ ^a	۱۲۸/۶ ^a
بلند مدت	۱	۱۵/۴۷ ^{cd}	۷/۰۲ ^b	۹/۹ ^c	۳۹/۵۳ ^c	۶۷ ^c	۱۰۳ ^c
بلند مدت	۲	۱۶/۸۳ ^c	۸/۱۴ ^{ab}	۹/۶ ^c	۳۹/۴۷ ^c	۶۴/۶۵ ^c	۹۶/۵۴ ^d

مقادیر میانگین‌های دارای حروف مشترک در هر ستون فاقد تفاوت معنی دار بر اساس آزمون حداقل اختلاف معنی دار (LSD) می باشد. شاهد: رژیم آبیاری بدون توقف، کوتاه مدت: رژیم توقف آبیاری در مرحله گلدهی، بلند مدت: رژیم توقف آبیاری در مرحله رویشی.

در صفات مورفولوژیک بیشترین تعداد گل آذین در هر سه رژیم آبیاری در چین دوم (میانگین ۸/۴ گل آذین) مشاهده شد. این در حالی است که بیشترین تعداد گل آذین در چین اول با میانگین ۸/۵۷ گل آذین در تنش خشکی بلند مدت ثبت شد (جدول ۷). در چین دوم بیشترین شاخه جانبی در مقایسه با سایر تیمارها (میانگین ۲۱/۹۳ شاخه جانبی) ایجاد شد که در اثر تنش خشکی (کوتاه مدت و بلند مدت) به طور معنی داری کاهش یافت. در چین اول هر چند شاخه جانبی کمتری مشاهده شد اما این صفت تحت تاثیر رژیم‌های مختلف آبیاری قرار نگرفت.

مطالعه اکوتیپ‌های کاکوتی و بررسی اثر چین بر آنها

اکوتیپ‌ها در صفات ارتفاع، طول گل آذین، طول و عرض برگ، کلروفیل *a* و پروتئین محلول کل بطور معنی داری متمایز بودند. نتایج نشان داد اکوتیپ گلوگاه و طالقان به ترتیب کوتاه ترین (۳۱/۶۵ سانتی متر) و بلندترین ارتفاع (۴۷/۷۷ سانتی متر) را در مقایسه با سایر اکوتیپ‌ها داشتند (جدول ۸). میانگین ارتفاع اکوتیپ‌های شازند، کبودرآهنگ و ولیان با هم تفاوت معنی داری نداشتند.

جدول ۸. مقایسه میانگین صفات مورفو-فیزیولوژیک اکوتیپ‌های کاکوتی کوهی

اکوتیپ	ارتفاع (سانتی‌متر)	طول برگ (میلی‌متر)	عرض برگ (میلی‌متر)	طول گل‌آذین (میلی‌متر)	کلروفیل a (میلی‌گرم در گرم وزن تر)	پروتئین (میلی‌گرم در گرم وزن تر)
ولیان	۴۱/۵ ^b	۱۸/۶۴ ^b	۶/۰۳ ^{ab}	۲۵/۶۶ ^a	۰/۵ ^a	۱۹۷/۰۱ ^a
طالقان	۴۷/۷۷ ^a	۲۳/۱۲ ^a	۵/۶۳ ^{bc}	۲۱/۷۲ ^b	۰/۴۸ ^{ab}	۱۹۳/۹ ^a
گلوگاه	۳۱/۶۵ ^c	۱۵/۱۴ ^c	۵/۷۲ ^{abc}	۲۰/۵۶ ^b	۰/۴ ^c	۱۵۹/۱۹ ^c
کبودر آهنگ	۴۲/۹۵ ^b	۱۹/۳۰ ^b	۵/۲۷ ^c	۲۲/۵ ^b	۰/۴۲ ^c	۱۷۲/۶ ^b
شازند	۴۰/۳۸ ^b	۲۲/۸۰ ^a	۶/۱ ^a	۲۱/۳۹ ^b	۰/۴۴ ^{cb}	۱۶۳/۷۱ ^{bc}

مقادیر میانگین‌های دارای حروف مشترک در هر ستون فاقد تفاوت معنی‌دار بر اساس آزمون حداقل اختلاف معنی‌دار (LSD) می‌باشد.

نتایج مقایسه میانگین‌ها نشان داد که اکوتیپ‌های شازند و طالقان به ترتیب با ۲۲/۸ و ۲۳/۱۲ میلی‌متر طول برگ طویل‌ترین برگ‌ها و اکوتیپ گلوگاه با ۱۵/۱۴ میلی‌متر طول برگ، کوتاه‌ترین برگ‌ها را دارا بودند. از طرفی اکوتیپ کبودر آهنگ با ۵/۲۷۷ میلی‌متر عرض برگ باریک‌ترین برگ‌ها و اکوتیپ شازند با ۶/۱۰۲ میلی‌متر عرض برگ و اکوتیپ گلوگاه با ۵/۷۲۲ میلی‌متر، دارای پهن‌ترین برگ‌ها بودند.

اکوتیپ ویلیان بیشترین مقدار کلروفیل a (۰/۵۰ میلی‌گرم در گرم وزن تر) و پروتئین محلول (۱۹۷/۰۱ میلی‌گرم در گرم وزن تر) را داشت که از این نظر با اکوتیپ طالقان تفاوت معنی‌داری نداشت. همچنین طول گل‌آذین اکوتیپ ویلیان با میانگین ۲۲/۶۶ میلی‌متر به طور معنی‌داری بیشتر از دیگر اکوتیپ‌ها بود (جدول ۸).

از طرفی، تعداد شاخه و گل جانبی و همچنین تعداد میانگره در اثر برهم‌کنش رژیم اکوتیپ و چین تفاوت معنی‌داری داشتند. در چین دوم صفات تعداد گل‌آذین و شاخه جانبی به مراتب بیشتر از چین اول بود اما مقدار این افزایش بین اکوتیپ‌ها قابل توجه بود (جدول ۹).

جدول ۹. مقایسه میانگین برخی صفات مورفولوژیک اکوتیپ‌های کاکوتی در چین اول و دوم

اکوتیپ	چین	تعداد شاخه جانبی	تعداد گره	تعداد گل‌آذین
ولیان	۱	۱۴/۹۶ ^{de}	۹/۲۲ ^g	۷/۰۵ ^{cb}
ولیان	۲	۱۹/۲۹ ^b	۱۱/۲۳ ^{ef}	۹/۹۳ ^a
طالقان	۱	۱۵/۲۲ ^{de}	۱۶/۵۱ ^a	۷/۰۷ ^{cb}
طالقان	۲	۱۶/۱۱ ^{dc}	۱۲/۷۴ ^{ecd}	۷/۵۸ ^{ab}
گلوگاه	۱	۱۳/۸۳ ^e	۱۲/۳۳ ^{ed}	۱/۳۳ ^e
گلوگاه	۲	۱۷/۵۲ ^{bc}	۱۳/۸۹ ^{bcd}	۸/۴۶ ^{ab}
کبودر آهنگ	۱	۱۶/۲۴ ^{dc}	۱۴/۶۴ ^b	۳/۶۳ ^{ed}
کبودر آهنگ	۲	۱۸/۴۹ ^b	۱۰/۰۸ ^{gf}	۸/۴۶ ^{ab}
شازند	۱	۱۵/۸۹ ^{dce}	۱۴/۲۳ ^{bc}	۴/۹۶ ^{cd}
شازند	۲	۲۴/۷۶ ^a	۱۱/۷۸ ^{ef}	۷/۶ ^{ab}

مقادیر میانگین‌های دارای حروف مشترک در هر ستون فاقد تفاوت معنی‌دار بر اساس آزمون حداقل اختلاف معنی‌دار (LSD) می‌باشد.

برای مثال در اکوتیپ گلوگاه تعداد گل‌آذین در چین دوم ۶ برابر بیشتر از چین اول بود، در حالی که در اکوتیپ طالقان این افزایش معنی‌دار نبود. همچنین در اکوتیپ گلوگاه از نظر تعداد شاخه جانبی، افزایش در چین دوم بیش از ۱/۵ برابر بوده اما در اکوتیپ طالقان این افزایش نسبت به چین اول معنی‌دار نبود (جدول ۹).

تعداد گره اکوتیپ‌های کاکوتی از یک الگوی یکسان در چین اول و دوم پیروی نکردند. تعداد گره در اکوتیپ‌های طالقان با ۱۶/۵۱ گره، کبودرآهنگ با ۱۴/۶۴ گره و شازند با ۱۴/۲۳ گره در چین اول به طور معنی‌داری بیشتر از چین دوم بود، در حالی که در اکوتیپ‌های ولیان با ۱۹/۲۹ گره و گلوگاه با ۱۷/۵۱ گره در چین دوم، گره بیشتری داشتند. اگرچه این افزایش در اکوتیپ گلوگاه معنی‌دار نبود (جدول ۹).

بحث

تحقیقات نشان داده است که گیاهان در اثر تنش خشکی دچار تنش اکسیداتیو و اسمزی نیز می‌شوند (De Micco & Aronne, 2012) که این تنش‌های چندگانه از طریق اختلال در فعالیت آنزیم‌ها و عرضه انرژی، تقسیم و بزرگ شدن سلول و در نهایت عملکرد محصول را تحت تأثیر قرار می‌دهند (Selmar & Kleinwächter, 2013). گیاهان برای محافظت از خود در مقابل صدمات ناشی از خشکی از راهبردهای فرار، اجتناب و تحمل استفاده می‌کنند (De Micco & Aronne, 2012). در این تحقیق نیز نشان داده شد قطع آبیاری در زمان ابتدای گلدهی یا به عبارتی تنش خشکی کوتاه‌مدت (۱۳ روز تنش خشکی) موجب تخریب غشای سلولی و ساختار فتوسنتزی (انعطاف‌پذیری منفی) شد. از طرفی، کاکوتی کوهی با افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، افزایش مقدار پرولین و قندهای محلول انعطاف‌پذیری مثبت از طریق راهبرد تحمل را برای کاهش صدمات ناشی از خشکی کوتاه‌مدت نشان داد. لذا مشاهده شد این سطح از تنش تغییرات کمی در صفات مورفولوژیک کاکوتی کوهی در مقایسه با تیمار شاهد ایجاد کرد و فرصت لازم برای نشان دادن انعطاف‌پذیری فنوتیپی و مورفولوژیکی وجود نداشت.

کلروپلاست یکی از محل‌های اصلی تولید گونه‌های فعال اکسیژن است و از اولین محل‌هایی است که در تنش اکسیداتیو تخریب می‌شود. تنش خشکی از طریق افزایش گونه‌های فعال اکسیژن موجب تجمع آن‌ها شده و در نتیجه منجر به تخریب کلروفیل می‌گردد (De Micco & Aronne, 2012). کاهش مقدار رنگیزه‌ها در اثر تنش خشکی در شرایط گلخانه در گیاه کاکوتی کوهی گزارش شده است (Heidarzadeh et al, 2021). بنابراین شاید بتوان کاهش شدید مقدار رنگیزه‌های کاکوتی در تیمار تنش خشکی کوتاه‌مدت را به تنش اکسیداتیو ناشی از خشکی نسبت داد.

تحقیقات افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و تنظیم‌کننده‌های اسمزی (مانند قندهای محلول و پرولین) در تنش خشکی را به خوبی نشان داده‌اند و حتی به عنوان شاخص‌های شناسایی گیاهان متحمل به خشکی پیشنهاد شده‌اند که با نتایج این تحقیق همسو می‌باشد (Mostajeran & Rahimi, 2009). قطع آبیاری در مرحله زایشی در سال اول رشد سبب افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کاکوتی کوهی شد (رئوف، ۱۴۰۳). در گیاه خارمریم (*Silybum marianum* (L.) Gaertn) نیز افزایش شدت و مدت خشکی، مقدار مالون‌دی‌آلدهید و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی (کاتالاز و سوپر اکسیددیسموتاز) را افزایش داد که با نتایج این تحقیق همسو می‌باشد (ElSayed et al, 2019).

این درحالی است که مشاهده شد در تنش خشکی بلندمدت یا در رژیم قطع آبیاری در زمان رشد رویشی (۴۰ روز بدون آبیاری) کاکوتی کوهی علی‌رغم آسیب بیشتر به غشا سلولی و کاهش پارامترهای آنتی‌اکسیدانی آنزیمی و غیر آنزیمی (انعطاف‌پذیری منفی)، مقدار پروتئین و رنگیزه در این سطح از تنش، کمتر از تنش خشکی کوتاه‌مدت کاهش یافت.

در پژوهش دیگری در گیاه کاکوتی نیز کاهش معنی‌دار مقدار کلروفیل کاکوتی‌های تحت تنش اسمزی ۵/۰- مگاپاسکال (تنش خفیف‌تر) در مقایسه با تیمار کنترل گزارش شد اما در تنش اسمزی ۱- و ۵/۱- مگاپاسکال (تنش شدیدتر) مقدار کلروفیل با تیمار

کنترل تفاوت معنی‌دار نداشت (Koocheki et al, 2008). همچنین افزایش محتوی رنگیزه‌های کاکوتی‌های یکساله تحت تنش خشکی خصوصاً تیمار قطع آبیاری در مرحله رویشی نیز گزارش شده است. در این تحقیق افزایش محتوی رنگیزه‌ها تحت تنش خشکی به عنوان عامل سازگاری گیاه در شرایط تنش معرفی شده است (رئوف، ۱۴۰۳). در این خصوص، افزایش مقدار کلروفیل تحت تنش خشکی به عنوان شاخصی برای شناسایی اکوتیپ/ژنوتیپ/گونه متحمل به خشکی نیز در تحقیقات دیگر بیان شده است (Rahdari et al, 2012; Rustioni & Bianchi, 2021)

از طرفی در کاکوتی‌کوهی در سال اول رشد هر چند قطع آبیاری در مرحله زایشی سبب افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی شد اما در مرحله رویشی این شاخص به‌طور معنی‌داری کاهش پیدا کرد (رئوف، ۱۴۰۳). در گیاه پونه (*Mentha pulegium*) نیز در اثر تنش خشکی افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز مشاهده شد اما با افزایش شدت و مدت خشکی مقدار فعالیت آنزیم کاهش یافت (Ulusu et al, 2022). در گیاه توت آمریکایی (*Maclura pomifera*) مقدار گلوکز و ساکارز در تنش خشکی کوتاه‌مدت افزایش یافته اما در تنش بلندمدت کاهش معنی‌دار گزارش شد (Khaleghi et al, 2019). در این تحقیقات دلیل کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی را تخریب و خسارت سیستم آنتی‌اکسیدانی گیاه در مواجهه با خشکی بلندمدت مرتبط دانسته‌اند و کاهش تنظیم‌کننده‌های اسمزی همچون پرولین و قندهای محلول را با اثر سمیت تولید و تجمع این مواد در سلول توجیه کرده‌اند.

در این خصوص می‌توان به این نکته توجه کرد که اندازه‌گیری کلروفیل، پرولین، قندهای محلول و فعالیت آنزیم کاتالاز و سوپراکسیددیسموتاز هر چند شاخص‌های مناسبی برای ارزیابی تنش خشکی کوتاه‌مدت (با توجه به تغییرات در اثر تنش خشکی کوتاه‌مدت در مقایسه با رژیم آبیاری شاهد و همچنین مشاهده تفاوت‌های معنی‌دار اکوتیپ‌ها در مواجهه با تنش خشکی کوتاه‌مدت) به نظر می‌رسند اما برای ارزیابی و درک بهتر در خصوص پاسخ گیاه کاکوتی‌کوهی به تنش خشکی بلندمدت نیاز به بررسی صفات دیگر می‌باشد. کنجکاوی بیشتر در خصوص چرایی افزایش مقدار رنگیزه‌ها و پروتئین محلول در اثر تنش خشکی بلندمدت در مقایسه با تنش خشکی کوتاه‌مدت و کارایی آن‌ها می‌تواند قسمتی از نقشه راه برای مطالعه بیشتر را مشخص کند.

یکی از روش‌های گیاهان برای تحمل خشکی، کاهش سطح برگ جهت کاهش تعرق است، از این رو غالب گونه‌های گزروفیت^۱ دارای برگ‌های کوچک هستند (De Micco & Aronne, 2012). در این تحقیق نیز مشاهده شد در اثر تنش خشکی اندازه و سطح برگ کاهش پیدا کرد، هرچند این کاهش در تنش خشکی کوتاه‌مدت نسبت به رژیم آبیاری شاهد معنی‌دار نبود. کاهش سطح برگ کاکوتی‌کوهی در اثر تنش خشکی در تحقیقات گذشته نیز مشاهده و از علل کاهش وزن خشک گیاه در تنش خشکی دانسته شده است (رئوف، ۱۴۰۳; Heidarzadeh et al, 2021).

علاوه بر این، تنش خشکی موجب تأخیر در رشد یا تغییر در رفتار رشد می‌شود. این اثرات کلی می‌تواند وضعیت متابولیک و نسبت بین ویژگی‌های زایشی و رویشی را تغییر دهد (Selmar & Kleinwächter, 2013). در این تحقیق نیز مشاهده شد خصوصیات رشدی اکوتیپ‌ها تحت تأثیر خشکی قرار گرفت به طوری‌که در اثر تنش خشکی خصوصاً بلندمدت، تعداد گره و شاخه جانبی اکوتیپ گلوگاه افزایش و فاصله میانگره گره کاهش پیدا کرد. در عوض اکوتیپ طالقان و سازند با افزایش معنی‌دار تعداد گل‌آذین جانبی به این سطح از تنش پاسخ دادند. یکی از مکانیسم‌های گیاهان برای بقا در مناطق خشک و نیمه خشک کاهش دوره‌های فنولوژی و وارد شدن به فاز زایشی با اندک رشد رویشی عنوان شده است (De Micco & Aronne, 2012). فاصله میانگره و تعداد گل‌آذین جانبی در کاکوتی‌های یکساله تحت تیمار توقف آبیاری در مرحله رویشی به طور معنی‌داری بیشتر از تیمار شاهد و توقف آبیاری در مرحله گلدهی گزارش شد. افزایش تعداد گل‌آذین جانبی و تولید گل‌های بیشتر در تیمار توقف آبیاری در مرحله رویشی، به عنوان نوعی مکانیزم برای بقا مطرح شد (رئوف، ۱۴۰۳).

بنابراین در تنش خشکی بلندمدت، افزایش محتوی رنگیزه‌ها و پروتئین محلول در مقایسه با تنش خشکی کوتاه‌مدت و افزایش فعالیت ظرفیت آنتی‌اکسیدانی (آنزیمی و غیر آنزیمی) نسبت به رژیم آبیاری شاهد را در راهبرد تحمل، کاهش سطح برگ، کاهش زیست توده، متراکم شدن بوته و افزایش تعداد گل آذین را مربوط به فعال شدن راهبرد اجتناب برای حفظ بقا در شرایط تنش خشکی بلندمدت به عنوان انعطاف‌پذیری مثبت در نظر گرفت.

می‌توان در خصوص تغییرات صفات اکوتیپ‌های کاکوتی کوهی در چین اول و دوم تحت تاثیر تنش خشکی، دلایلی همچون اثرگذاری شرایط اقلیمی فصل رشد در چین اول (از اسفند تا خرداد) و دوم (از خرداد تا شهریور) و اثر کفبر کردن گیاه و شرایط اقلیمی پس از کفبری بر چین اول (شروع رشد پس از طی یک دوره سرمای بلندمدت) و چین دوم (شروع رشد مجدد بلافاصله بعد از کفبر کردن) بیان کرد. علاوه بر این، تحقیقات نشان داده است که حافظه تنشی در پاسخ به تنش واکنش‌های متفاوتی را ایجاد می‌کند (Kulak, 2020). در تحقیق امین‌غفوری و همکاران (۱۳۹۲) نیز تفاوت معنی‌دار اثرآبیاری در چین اول و دوم گیاه کاکوتی دو ساله در صفت تعداد گل‌آذین‌های جانبی گزارش شد. همچنین در بررسی کاکوتی‌های کوهی جمع‌آوری شده از سه رویشگاه و کاشته شده در اصفهان گزارش شده است، برهمکنش سال و رویشگاه بر صفات مورفولوژیکی و عملکردی گیاه اثر معنی‌دار داشته است. در این تحقیق نیز این تفاوت‌ها به شرایط آب و هوایی متفاوت دو سال رشدی که منجر به تغییرات فیزیولوژیکی و متابولیکی می‌شود نسبت داده شده است (Safaii et al, 2022).

تفاوت‌های معنی‌دار در صفات مورفو-فیزیولوژیک اکوتیپ‌های کاکوتی کوهی فارق از تیمارهای اعمال شده در شرایط یکسان مزرعه احتمالاً به علت تنوع ژنتیکی اکوتیپ‌ها است. همچنین با توجه به پاسخ‌های اکوتیپ‌های کاکوتی کوهی و در نظر داشتن شرایط اقلیمی و جغرافیایی متفاوت رویشگاه‌های آن‌ها، به نظر می‌رسد این تنوع ژنتیکی در جهت سازگاری با رویشگاه اصلی این گیاه ایجاد شده است. کاکوتی‌های برداشت شده از رویشگاه‌های مختلف خراسان شمالی و رضوی تفاوت‌های معنی‌داری در صفات مورفولوژیک از جمله تعداد گل‌آذین، تعداد گره و تعداد شاخه‌جانبی نشان داده‌اند (Asgharipour et al, 2016). در بررسی ۴۱ ژنوتیپ گیاه چای کوهی (*Stachys lavandulifolia*) تفاوت‌های معنی‌داری در صفات مورفولوژیک از جمله تعداد میانگره و تعداد شاخه‌جانبی در چین‌های اول تا سوم گزارش شد (Arabsalehi et al, 2019). در بررسی صفات اکوفیزیولوژیکی برخی اکوتیپ‌های کاکوتی استان یزد تفاوت‌های معنی‌داری در مقدار رنگیزه‌های رویشگاه‌های مورد مطالعه گزارش شد (Amiri et al, 2019). مقدار پروتئین در سه رویشگاه گیاه *Perovskia abrotanoides* (برازمبل بلوچی) در استان‌های سمنان و مازندران تفاوت معنی‌داری داشت (Farzaneh et al, 2021).

در پژوهشی دیگر، بررسی سال اول رویش اکوتیپ‌های آزمایش شده در این تحقیق نشان داده است که اکوتیپ گلوگاه در سال اول رویش نیز به طور معنی‌داری به لحاظ ارتفاع گیاه کوتاه‌تر و برگ‌هایی با طول کمتر در مقایسه با دیگر اکوتیپ‌ها ایجاد کرده است (رئوف، ۱۴۰۳). کاکوتی‌های رشد یافته در رویشگاه مرطوب سرد (رینه/مازندران) کوتاه‌تر از رویشگاه‌های نیمه مرطوب سرد و نیمه خشک سرد بود (Asri et al, 2016). همچنین، سه جمعیت *Ziziphora tenuior* (سه رویشگاه مختلف استان اصفهان) کاشته شده در یک مزرعه تحقیقاتی در صفت ارتفاع بوته اختلاف معنی‌دار نشان دادند. در این تحقیق گیاهان رویشگاه با اقلیم مدیترانه‌ای به طور معنی‌داری کوتاه‌تر از گیاهان دو رویشگاه با اقلیم خشک بودند (Safaii et al, 2021). به نظر می‌رسد کاکوتی کوهی در رویشگاه‌های مرطوب، ارتفاع کمتری نسبت به هم گونه‌های خود در رویشگاه‌های خشک و نیمه خشک داشته باشد.

نتیجه‌گیری و پیشنهادها

این تحقیق نشان داد که کاکوتی کوهی در تنش خشکی کوتاه‌مدت از راهبرد تحمل بهره می‌برد (احتمالا به دلیل کوتاه بودن دوره تنش) در حالی که در تنش خشکی بلندمدت علاوه بر فعال نگه داشتن راهبرد تحمل، گیاه زمان لازم برای نشان دادن انعطاف‌پذیری مورفولوژیکی و استفاده از راهبرد اجتناب را نیز برای کاهش صدمات ناشی از خشکی و بقا دارد. همچنین، در این تحقیق مشاهده شد که هر چند تنش خشکی صدماتی به گیاه وارد می‌کند اما این صدمات در خشکی کوتاه‌مدت به مراتب کمتر از خشکی بلندمدت است. علاوه بر این، تنوع پاسخ‌های اکوتیپ‌های کاکوتی کوهی به رژیم‌های آبیاری، چین و حتی شرایط یکسان مزرعه می‌تواند به دلیل تفاوت‌های ژنتیکی در جهت سازگاری اکوتیپ‌ها با رویشگاه اصلی آن‌ها باشد. لذا می‌توان از این تنوع پاسخ به خشکی در برنامه‌های اصلاحی و اهلی‌سازی بهره برد.

با توجه به نتایج این تحقیق، برای درک بهتر از راهبردها و سازوکارهای کاکوتی کوهی در مواجهه با خشکی پیشنهاد می‌گردد که صفات مورفولوژیک دیگر نظیر صفات مربوط به ریشه گیاه و فیزیولوژیک خصوصا صفات مربوط به رنگیزه‌ها و پروتئین‌ها نیز بررسی گردد. شایان ذکر است برای انتخاب رژیم آبیاری و اکوتیپ برتر در بین عامل‌های بررسی شده، مطالعه عملکرد کمی و کیفی اسانس و ماده خشک اکوتیپ‌ها تحت رژیم‌های مختلف آبیاری ضروری است. مجهول بودن نیاز آبی گیاه علی‌رغم تحقیقات انجام شده در خصوص پاسخ گیاه به تنش خشکی، مشکل اساسی برای کشت گسترده گیاه به نظر می‌رسد. با توجه به تنوع رویشگاهی و ژنتیکی این گیاه و مصارف مختلف آن، داشتن برنامه‌های مدون اهلی‌سازی و اصلاحی برای تامین نیاز بازار می‌تواند منجر به سودآوری قابل توجه گردد.

منابع

امین غفوری، افسانه؛ کوچکی، علیرضا؛ نصیری محلاتی، مهدی و خیرخواه، محمد (۱۳۹۲). اسفند). / ارزیابی خصوصیات رشدی گیاه دارویی کاکوتی چند ساله (*Ziziphora clinopodioides* Lam.) در شرایط زراعی کم‌نهاد. ارائه شده در همایش ملی علوم و فنون کشاورزی ملایر، ایران.

رئوف، میساء (۱۴۰۳). تاثیر سطوح مختلف تنش خشکی بر خصوصیات رشدی و فیتوشیمیایی کاکوتی کوهی (*Z. clinopodioides*). پایان نامه کارشناسی/ارشد. به راهنمایی وحیده ناظری و لیلا تبریزی. تهران: دانشگاه تهران، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، گروه مهندسی علوم باغبانی و فضای سبز.

ملکوتی، محمدجعفر (۱۳۷۵). کشاورزی پایدار و افزایش عملکرد با بهینه سازی مصرف کود در ایران. چاپ سوم، تهران: انتشارات سنا.

Ahsan, F., Shabbir, A., Shahzad, M., Mobashar, A., Sharif, M., Basheer, M. I., Syed, N.-i.-H. (2019). Amelioration of allergic asthma by *Z. clinopodioides* via upregulation of aquaporins and downregulation of IL4 and IL5. *Respiratory Physiology & Neurobiology*, 266, 39-46. <https://doi.org/10.1016/j.resp.2019.04.005>

Ajourloo, M., Khanjari, A., Misaghi, A., Akhondzadeh Basti, A., Kamkar, A., Yadegar, F., Fallah, F. (2021). Combined effects of *Z. clinopodioides* essential oil and lysozyme to extend shelf life and control *Listeria monocytogenes* in Balkan-style fresh sausage. *Food Science & Nutrition*, 9(3), 1665-1675. <https://doi.org/10.1002/fsn3.2141>

Alamgir, A. (2017). Cultivation of herbal drugs, biotechnology, and in vitro production of secondary metabolites, high-value medicinal plants, herbal wealth, and herbal trade, In *Therapeutic Use of Medicinal Plants and Their Extracts: Volume 1*. Progress in Drug Research, vol 73. Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-319-63862-1_9

- Aminghafori, A., Koochaki, A., Nassiri Mahalati, M., & Kherkhah, M. (2014, March). *Evaluation of Growth Characteristics of perennial Ziziphora in low input cropping system*. Paper presented at National Conference on Agricultural Sciences and Technologies. Malayer, Hamedan, Iran. (In Persian).
- Amini-Shirazi, N., Hoseini, A., Ranjbar, A., Mohammadirad, A., Khoshakhlagh, P., Yasa, N., & Abdollahi, M. (2009). Inhibition of tumor necrosis factor and nitrosative/oxidative stresses by *Ziziphora Clinopoides* (Kahliti); A molecular mechanism of protection against dextran sodium sulfate-induced colitis in Mice. *Toxicology Mechanisms and Methods*, 19(2), 183-189. <https://doi.org/10.1080/15376510701533996>
- Amiri, F., Gholipouri, A., Kheirkhah, M., & Mirjalili, M. H. (2019). Eco-physiology of *Ziziphora clinopodioides* Lam.(Lamiaceae) from Iran. *Annali di Botanica*, 9, 63-72. <https://doi.org/10.13133/2239-3129/14577>
- Amiri, H. (2009). Influence of growth phase on the essential oil composition of *Z. clinopodioides* Lam. *Natural product research*, 23(7), 601-606. <https://doi.org/10.1080/14786410802113995>
- Arabsalehi, F., Rahimmalek, M., & Ehtemam, M. H. (2019). Morphological variation and effects of cutting time in different genotypes of *Stachys lavandulifolia* Vahl. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research*, 35(1), 25-43. <https://doi.org/10.22092/ijmapr.2019.116013.2172>
- Asaadi, A. (2016). Study of ecological characters of *Z. clinopodioides* L. medicinal plant in north east rangelands of Iran. *International Journal of Agriculture and Biosciences*, 5(6), 373-377 .
- Asgharipour, M. R., Abjahan, A. A., & Dahmarde, M. (2016). Variability in *Z. clinopodioides* subsp. *bungeana* (Juz.) based on morphological traits and essential oils profile. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 44(1), 189-194. <https://doi.org/10.15835/nbha44110118>
- Asri, Y., Firozi Ardestani, M., Rabie, M., & Bakhshi Khaniki, G. (2016). The effect of environmental factors on growth characteristics, seed germination and essential oils of *Z. clinopodioides*. *Journal of Plant Biological Sciences*, 8(29), 91-106. <https://doi.org/10.22108/ijpb.2016.21038>
- ASTM International. (2019). Standard Test Methods for Laboratory Determination of Water (Moisture) Content of Soil and Rock by Mass (ASTM D2216-19), ASTM International, West Conshohocken, PA, USA. <https://doi.org/10.1520/D2216-19>
- Azimi, R., Heshmati, G. A., & Kianian, M. K. (2018). Effects of drought stress and mycorrhiza on viability and vegetative growth characteristics of *Z. clinopodioides* Lam. *Journal of Rangeland Science*, 8(3), 253-263 .
- Bates, L. S., Waldren, R. P., & Teare, I. (1973). Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and soil*, 39(1), 205-207. <https://doi.org/10.1007/BF00018060>
- Baygan, A., Safaeian, S., Shahinfar, R., & Khoshkhoo, Z. (2022). Evaluation of antibacterial effect of *Z. clinopodioides* essential oil in North Khorasan region on gram-negative bacteria *Salmonella typhimurium* in vitro. *Journal of food science and technology (Iran)*, 19(130), 355-370 .
- Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72(1-2), 248-254. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(76\)90527-3](https://doi.org/10.1016/0003-2697(76)90527-3)
- Dai, A. (2013). Increasing drought under global warming in observations and models. *Nature Climate Change*, 3(1), 52 <https://doi.org/10.1038/nclimate1633>

- Dai, L., Li, J., Harmens, H., Zheng, X., & Zhang, C. (2020). Melatonin enhances drought resistance by regulating leaf stomatal behaviour, root growth and catalase activity in two contrasting rapeseed (*Brassica napus* L.) genotypes. *Plant Physiology and Biochemistry*, 149, 86-95. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2020.01.039>
- Das, D., & Goyal, A. (2015). Antioxidant activity and γ -aminobutyric acid (GABA) producing ability of probiotic *Lactobacillus plantarum* DM5 isolated from Marcha of Sikkim. *LWT - Food Science and Technology*, 61(1), 263-268. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.11.013>
- Dehghan, Z., Sefidkon, F., Khaniki, G & .Kalvandi, R. (2010). Effects of some ecological factors on essential oil content and composition of *Z. clinopodioides* Lam. subsp. *rigida* (Boiss.). *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, 26(1), 49-63.
- De Micco, V., Aronne, G. (2012). Morpho-Anatomical Traits for Plant Adaptation to Drought. In: *Plant Responses to Drought Stress*. edited by Aroca, R. Springer, Berlin, Heidelberg. https://doi.org/10.1007/978-3-642-32653-0_2
- Dhindsa, r. s., Plumb-dhindsa, p & .thorpe, t. a. (1981). Leaf senescence: correlated with increased levels of membrane permeability and lipid peroxidation, and decreased levels of superoxide dismutase and catalase. *Journal of Experimental Botany*, 32(1), 93-101. <https://doi.org/10.1093/jxb/32.1.93>
- Ding, W., Yang, T., Liu, F., & Tian, S. (2014). Effect of different growth stages of *Z. clinopodioides* Lam. on its chemical composition. *Pharmacognosy Magazine*, 10(Suppl 1), S1. <https://doi.org/10.4103/0973-1296.127329>
- Edalati Nacab, M., Naserian, A. A., Vakili, S. A., & Tahmasbi, A. M.(2018). Effects of using *Mentha pulegium* and *Z. clinopodioides* essential oils as additive on in vitro study. *Biosciences Biotechnology Research Asia*, 15(1),217-227. <https://doi.org/10.13005/bbra/2625>
- ElSayed, A. I., El-Hamahmy, M. A. M., Rafudeen, M. S., Mohamed, A. H., & Omar, A. A. (2019). The impact of drought stress on antioxidant responses and accumulation of flavonolignans in milk thistle (*Silybum marianum* (L.) Gaertn). *Plants (Basel)*, 8(12). <https://doi.org/10.3390/plants8120611>
- Farzaneh, M., Amirahmadi, A., & Salimi, F. (2021). Study on phytochemical diversity and antioxidant properties of extracts from different populations of *Perovskia abrotanoides* Kar. in Eastern Alborz .*Eco-phytochemical Journal of Medical Plants*, 9(3), 16-28. <https://doi.org/10.30495/ejmp.2021.1925667.1633>
- Ghasemi, S., Kumleh, H. H., Kordrostami, M., & Rezadoost, M. H. (2023). Drought stress-mediated alterations in secondary metabolites and biosynthetic gene expression in cumin plants: insights from gene-specific and metabolite-level analyses. *Plant Stress*, 10, 100241. <https://doi.org/10.1016/j.stress.2023.100241>
- Ghaviandam, a., & Mazandarani, m. (2017). Aut-ecology and phytochemical survey of *Z. clinopodioides* Lam. with ethnopharmacology and floristic spectrum of medicinal plants in Bovanlou region (Northern Khorasan province). *Eco-phytochemical Journal of Medicinal Plants*, 5(3), 63-74 .
- Hassani, F., Abyavi, T., Taheri mirghaed, A., Payghan, R., & Alishahi, M .(2023). Evaluation of antifungal and antibacterial activity of essential oils of *Z. clinopodioides*, *Thymus vulgaris* and *Salvia rosmarinus* to some fungal and bacterial pathogens of aquatic animals. *Experimental animal Biology*, 11(3), 55-66. <https://doi.org/30473.10/eab.2023.62409.1863>

- Hazrati, S., Govahi, M., Sedaghat, M., & Beyraghdar Kashkooli, A. (2020). A comparative study of essential oil profile, antibacterial and antioxidant activities of two cultivated *Ziziphora* species (*Z. clinopodioides* and *Z. tenuior*). *Industrial Crops and Products*, 157, 112942. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2020.112942>
- Heath, R. L., & Packer, L. (1968). Photoperoxidation in isolated chloroplasts. I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. *Arch Biochem Biophys*, 125(1), 189-198. [https://doi.org/10.1016/0003-9861\(68\)90654-1](https://doi.org/10.1016/0003-9861(68)90654-1)
- Heidarzadeh, A. , Nazeri, V. and Tabrizi, L. (2021). Effect of salicylic acid application on quantitative and qualitative features of *Ziziphora clinopodioides* Lam. under water deficit stress condition. *Iranian Journal of Horticultural Science*, 51(4), 871-887. <https://doi.org/10.22059/ijhs.2019.274761.1593>
- Jamzad, Z. (2012). *Flora of Iran, Lamiaceae*. No. 76. Research Institute of Forests and Rangelands. Ministry of Jihad-e-Keshavarzi.
- Khaleghi, A., Naderi, R., Brunetti, C., Maserti, B. E., Salami, S. A., & Babalar, M. (2019). Morphological, physiochemical and antioxidant responses of *Maclura pomifera* to drought stress. *Scientific reports*, 9(1), 19250. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-55889-y>
- Koocheki, A., Nassiri-Mahallati, M., & Azizi, G. (2008). Effect of drought, salinity, and defoliation on growth characteristics of some medicinal plants of Iran. *Journal of Herbs, Spices & Medicinal Plants*, 14(12), 37-53. <https://doi.org/10.1080/10496470802341201>
- Kulak, M. (2020). Recurrent drought stress effects on essential oil profile of Lamiaceae plants: An approach regarding stress memory. *Industrial Crops and Products*, 154, 112695 . <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2020.112695>
- Lichtenthaler, H. K. (1987). Chlorophylls and carotenoids: Pigments of photosynthetic biomembranes. *Methods in Enzymology*, 148, 350-382. [https://doi.org/10.1016/0076-6879\(87\)48036-1](https://doi.org/10.1016/0076-6879(87)48036-1)
- Malakoti, M. J. (1996). *Sustainable agriculture and increasing yield by optimizing fertilizer use in Iran*. Third edition, Tehran: Sana Publications. (In Persian).
- Modarres Najafabadi, S. S. (2014). Comparative study on the acaricidal activities of essential oils from *Z. clinopodioides*, *T. vulgaris*, *Rosmarinus officinalis* and *Lavandula angustifolia* against *Tetranychus cinnabarinus* Boisduval, on Cut Roses. *Journal of Medicinal plants and By-product*, 3(1), 13-19. <https://doi.org/10.22092/jmpb.2014.108598>
- Mohammadhosseini, M. (2017). The ethnobotanical, phytochemical and pharmacological properties and medicinal applications of essential oils and extracts of different *Ziziphora* species. *Industrial Crops and Products*, 105, 164-192. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.05.009>
- Mohammadifard, F., & Alimohammadi, S. (2018). Chemical Composition and Role of Opioidergic System in Antinociceptive Effect of *Z. Clinopodioides* Essential Oil. *Basic Clin Neurosci*, 9(5), 357-366. <https://doi.org/10.32598/bcn.9.5.357>
- Mohammad Sadeghi, H., Mansourabadi, A., Moogooei, M., & Nahvinejad, M. (2015). The Effects of the hydroalcoholic extract of *Ziziphora Clinopodioides* Lam on pancreatic beta cell count in diabetic Wistar Rats. *Journal of Diabetes Nursing*, 2(4), 8-15. <https://dor.isc.ac/dor/20.1001.1.23455020.1393.2.4.1.0>

- Mostajeran, A., & Rahimi, V. (2009). Effects of drought stress on growth and yield of Rice (*Oryza sativa* L.) cultivars and accumulation of proline and soluble sugars in sheath and blades of their different ages leaves. *American-Euroasian Journal of Agricultural and Environmental Sciences*, 5, 264-272 .
- Niazmand, S., Hosaini, K., & Derakhshan, M. (2009). The effects of *Z. clinopodioides* Lam. extract on rat's gastric motility at basal and vagal stimulated conditions. *Pharmacologyonline (newsletter)*, 2, 734-740 .
- Oroji, E., Mehrgan, M. S., Islami, H. R., & Sharifpour, I. (2021). Dietary effect of *Z. clinopodioides* extract on zootechnical performance, immune response, and disease resistance against *Yersinia ruckeri* in *Oncorhynchus mykiss*. *Aquaculture Reports*, 21, 100827. <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2021.100827>
- Pagariya, M. C., Devarumath, R. M., & Kavar, P. G. (2012). Biochemical characterization and identification of differentially expressed candidate genes in salt stressed sugarcane. *Plant Science*, 184, 1-13. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2011.12.002>
- Perinelli, D. R., Pavela, R., Bonacucina, G., Baldassarri, C., Spinozzi, E., Torresi, J., . . . Canale, A. (2022). Development, characterization, insecticidal and sublethal effects of *Bunium persicum* and *Z. clinopodioides*-based essential oil nanoemulsions on *Culex quinquefasciatus*. *Industrial Crops and Products*, 186, 115249. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2022.115249>
- Phondani, P. C., Bhatt, I. D., Negi, V. S., Kothiyari, B. P., Bhatt, A., & Maikhuri, R. K. (2016). Promoting medicinal plants cultivation as a tool for biodiversity conservation and livelihood enhancement in Indian Himalaya. *Journal of Asia-Pacific Biodiversity*, 9(1), 39-46. <https://doi.org/10.1016/j.japb.2015.12.001>
- Rahdari, P., Hosseini, S. M & ,Tavakoli, S. (2012). The studying effect of drought stress on germination, proline, sugar, lipid, protein and chlorophyll content in purslane (*Portulaca oleracea* L.) leaves. *Journal of Medicinal Plants Research*, 6, 1539-1547 . <https://doi.org/10.5897/JMPR11.698>
- Raoof, M. (2023). *The effect of different levels of drought stress on the growth and phytochemical characteristics of mountain Kakuti (Z. clinopodioides)*. (Master's thesis, University of Tehran, Tehran) (in Persian).
- Razmjoue, D., & Zarei, Z. (2015). The review of ecological features effects (soil and height) on the essential oil chemical compounds of *Z. clinopodioides* Lam. medicinal plant in Fars Province, Iran. *Journal of Biodiversity and Environmental Sciences (JBES)*, 6(6), 391-406 .
- Rechinger, K. H. (1974). *Flora Iranica* (Vol. 106): Akademische Druck- und Verlagsanstalt Graz.
- Roohani Rankouhi, S., Mohammad Nejad, M., Faghani Langrodi, H., & Aghaei Moghadam, A. (2021). Effects of dietary supplementation of Kakuti, *Z. clinopodioides*, extract on enzymatic and antioxidant parameters of the plasma of common carp, *Cyprinus carpio*. *Iranian Journal of Fisheries Sciences*, 20(2), 385-395. <https://doi.org/10.22092/ijfs.2021.123834>
- Rustioni, L., & Bianchi, D. (2021). Drought increases chlorophyll content in stems of *Vitis* interspecific hybrids. *Theoretical and Experimental Plant Physiology*, 33(1), 69-78. <https://doi.org/10.1007/s40626-021-00195-0>
- Safaii, L., Najafpoor navaii, M., sharifi ashoorabadi, E., Mirza, M., & Aminazarm, D. (2021). The study of yield traits and oil components in three populationa of *Z. tenuir* L. cultivated in Esfahan. *Journal of Crop Production*, 14(4), 141-155. <https://doi.org/10.22069/ejcp.2022.18570.2375>

- Safaii, L., Sharifi ashoorabadi, E., & Amin Azarm, D. (2022). The study of vegetative traits and oil components in three populationa of *Z. clinopodioides* L. in Esfahan. *Iranian Journal of Field Crops Research*, 20(1), 81-92. <https://doi.org/10.22067/jcesc.2021.72239.1082>
- Schippmann, U., Leaman, D., & Cunningham, A. (2006). A comparison of cultivation and wild collection of medicinal and aromatic plants under sustainability aspects. In *Medicinal and Aromatic Plants: Agricultural, Commercial, Ecological, Legal, Pharmacological and Social Aspects*. edited by Bogers, R., Craker, L., Lange, D. Dordrecht: Springer.
- Schlegel, H. G. (1956). Die Verwertung organischer Säuren durch Chlorella im Licht. *Planta*, 47(5), 510-526. <https://doi.org/10.1007/BF01935418>
- Selmar, D., & Kleinwächter, M. (2013). Influencing the product quality by deliberately applying drought stress during the cultivation of medicinal plants. *Industrial Crops and Products*, 42, 558-566. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2012.06.020>
- Senejoux, F., Demougeot, C., Kerram, P., Aisa, H. A., Berthelot, A., Bévalot, F., & Girard-Thernier, C. (2012). Bioassay-guided isolation of vasorelaxant compounds from *Z. clinopodioides* Lam. (Lamiaceae). *Fitoterapia*, 83(2), 377-382. <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2011.11.023>
- Shabbir, A., Batool, S. A., Basheer, M. I., Shahzad, M., Sultana, K., Tareen, R. B., . . . Saeed ul, H. (2018). *Z. clinopodioides* ameliorated rheumatoid arthritis and inflammatory paw edema in different models of acute and chronic inflammation. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 97, 1710-1721. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2017.11.118>
- Shahbazi, Y., Karami, N., & Shavisi, N. (2018). Effect of *Z. clinopodioides* essential oil on shelf life and fate of *Listeria monocytogenes* and *Staphylococcus aureus* in refrigerated chicken meatballs. *Journal of Food Safety*, 38(1), e12394. <https://doi.org/10.1111/jfs.12394>
- Shahinfar, R., Khanzadi, S., Hashami, M., Azizzadeh, M., & Bostan, A. (2017). Sensory analysis of fish burgers containing *Z. clinopodioides* essential oil and nisin: the effect of natural preservatives and microencapsulation. *Iranian Journal of Chemistry and Chemical Engineering*, 36(5), 77-88. <https://doi.org/10.30492/ijcce.2017.26640>
- Shakour, N., Khoshkhoo, Z., Basti, A. A., Khanjari, A., & Shotorbani, P. M. (2021). Integration of nanochitosan and *Z. clinopodioides* essential oil into poly lactic acid films; a new method for extending the shelf life of *Oncorhynchus mykiss* fillets. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 15(4), 2922-2931. <https://doi.org/10.1007/s11694-020-00779-5>
- Shaltouki, M., Nazeri, V., Shokrpour, M., Tabrizi, L., & Aghaei, F. (2021). Phenotypic and genotypic assessment of some Iranian *Z. clinopodioides* Lam. Ecotypes. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 23(3), 645-660 .
- Singleton, V. L., & Rossi, J. A. (1965). Colorimetry of Total Phenolics with Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16(3), 144. <https://doi.org/10.5344/ajev.1965.16.3.144>
- Talebi, E., Rowghani Haghighi Fard, E., Navabi, M., & Eatemadi, M. (2021). Evaluating the effect of two types of thyme essential oils (*Zataria multiflora* & *Z. clinopodioides* Lam) on some productive traits and blood

Parameters in Broilers. *Poultry Science Journal*, 9(1), 107-119.
<https://doi.org/10.22069/PSJ.2021.18831.1668>

Ulusu, F., Tümer, K., & Ulus, Y. (2022). Antioxidant responses to drought stress in pennyroyal (*M. pulegium* L.). *Journal of Scientific Reports-A*(051), 26-48 .

Wang, H., Zhou, Y., Gilmer, S., Whitwill, S., & Fowke, L. C. (2000). Expression of the plant cyclin-dependent kinase inhibitor ICK1 affects cell division, plant growth and morphology. *The Plant Journal*, 24(5), 613-623. doi:10.1046/j.1365-3113x.2000.00899.x

Zhang, J., Yan, X., Xu, S., Wang, D., & Liu, H. (2021). High-performance thin-layer chromatographic quantification of four active compounds in total flavonoids of *Z. clinopodioides* Lam. and TLC–DPPH test for screening antioxidant components. *JPC – Journal of Planar Chromatography – Modern TLC*, 34(6), 481-492. <https://doi.org/10.1007/s00764-021-00147-z>

Zhang, X.-M., An, D.-Q., Guo, L.-L., Yang, N.-H., & Zhang, H. (2019). Identification and screening of active components from *Z. clinopodioides* Lam. in regulating autophagy. *Natural product research*, 33(17), 2549-2553. <https://doi.org/10.1080/14786419.2018.1452002>

پایه علمی نشریات