

## افزایش شاخص‌های رشد، رنگیزه و برخی متابولیت‌های اولیه در گیاهچه‌های شاهی (*Lepidium*

### *sativum* L.) تحت شرایط تنش شوری با کاربرد بتاکاروتن و گالیک اسید

مرضیه بابایی<sup>۱</sup>، لیلا شبانی<sup>۲\*</sup>، شهلا هاشمی شهرکی<sup>۳</sup>

#### چکیده

در مطالعه حاضر، از اسپری محلول پاشی دو آنتی‌اکسیدان بتاکاروتن و گالیک اسید قبل از تنش، برای مطالعه اثر متقابل آنتی‌اکسیدان‌ها و تنش شوری در گیاهچه‌های شاهی (*Lepidium sativum* L.) استفاده شد. نتایج نشان دادند که شاخص‌های رشد، میزان محتوای نسبی آب (RWC)، میزان کلروفیل *a* کلروفیل *b* و نسبت کلروفیل *a/b* به طور منفی تحت تأثیر ۲۵ میلی‌مولار قرار گرفت. نتایج به دست آمده در این مطالعه، اثرات مفید پیش‌تیمارهای دو آنتی‌اکسیدان را در گیاهچه‌های شاهی تحت شرایط تنش و بدون تنش با توجه به افزایش وزن خشک ریشه، محتوای نسبی آب، رنگدانه‌های فتوسنتزی و محتوای کربوهیدرات و کاهش معنی‌دار محتوای  $H_2O_2$  و مالون‌دی‌آلدئید (MDA) نشان داد. بنابراین، استفاده از ترکیبات آنتی‌اکسیدان به صورت پیش‌تیمار در تنش شوری ممکن است برای افزایش بیوماس و تنظیم اسمزی در گیاه شاهی مفید باشد.

واژه‌های کلیدی: بتاکاروتن، شاهی، کلرید سدیم، گالیک اسید

۱. دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران

۲. دانشیار، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران \* نویسنده مسئول: [lshabani@gmail.com](mailto:lshabani@gmail.com)

۳. استادیار، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه سیستان و بلوچستان، زاهدان، ایران

## مقدمه

گیاه شاهی با نام علمی *Lepidium sativum* L. متعلق به خانواده Brassicaceae است. این گیاه ابتدا در مناطق شرق آفریقا شناخته شده و سپس در سراسر جهان گسترش یافته است (Falana et al., 2014). جنس *Lepidium* شامل حدود ۱۵۰ گونه است که در سراسر جهان توزیع شده‌اند (Falana et al., 2014). شاهی بومی جنوب‌غربی آسیا است که قرن‌ها پیش به اروپای غربی گسترش یافت. این گیاه توسط مصریان باستان به عنوان یک منبع غذایی مورد استفاده قرار گرفت و در نقاط مختلف اروپا از جمله انگلیس، فرانسه، ایتالیا و آلمان گسترش یافت (Mirza & Najafpour, 2006). از طرف دیگر، تنش شوری عامل اصلی محیطی محدود کننده رشد و عملکرد گیاه است. وقتی گیاهان در معرض تنش شوری قرار می‌گیرند، تنش اسمزی و سمیت یون باعث کاهش رشد می‌شود (Munns, 1993). به‌طور کلی تأثیرات تنش شوری بر فرآیندهای فیزیولوژیکی گیاه شامل افزایش سرعت تنفس و سمیت یون، تغییرات در رشد گیاه، توزیع مواد معدنی، بی‌ثباتی غشا ناشی از جانشینی  $Ca^{2+}$  به وسیله  $Na^{+}$ ، نفوذپذیری غشا و کاهش کارایی فتوسنتز است. تنش شوری می‌تواند منجر به بسته شدن روزنه شود، که باعث کاهش میزان  $CO_2$  در برگ‌ها و مهار تثبیت کربن می‌شود. همچنین کلروپلاست‌ها را در معرض انرژی برانگیخته زیادی قرار می‌دهند که به نوبه خود باعث افزایش تولید گونه‌های اکسیژن فعال (ROS) مانند سوپراکسید، پراکسید هیدروژن ( $H_2O_2$ )، رادیکال هیدروکسیل و اکسیژن یکتایی می‌شود. ROSها بسیار واکنش‌پذیر هستند و ممکن است تنش اکسیداتیو از طریق اکسیداسیون لیپیدها، پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک ایجاد شود (Ahmad et al., 2010). برای بهبود اثرات ناشی از شرایط تنش، پیش تیمار مواد شیمیایی مانند ترکیبات آنتی‌اکسیدان در گیاهان یک روش مؤثر است (Makoi & Ndakidemi, 2012). در بین آنتی‌اکسیدان‌ها، ترکیبات فنولی می‌توانند در جوانه‌زنی، رشد و نمو گیاهان نقش داشته باشند (Maqbool et al., 2013). این ترکیبات در پاکروبی رادیکال‌های آزاد و مهار پراکسیداسیون لیپیدها در غشای سلولی نقش دارند. فعالیت آنتی‌اکسیدانی ترکیبات فنولی عمدتاً به دلیل خاصیت ردوکس آن‌هاست که می‌توانند نقش مهمی در جذب و خنثی سازی رادیکال‌های آزاد، فرونشاندن اکسیژن یکتایی یا تجزیه پراکسیدها داشته باشند (Michalak, 2006). گالیک اسید (۳، ۴ و ۵ تری هیدروکسی بنزوئیک اسید) یک ترکیب تری فنولیک طبیعی با وزن مولکولی کم و دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی در گیاهان مختلف به‌ویژه در چای سبز، انگور، انبه، گردو است (Yousuf & Vellaichamy, 2015). گالیک اسید به دلیل ویژگی پاکروبی گونه‌های اکسیژن فعال مانند آنیون‌های سوپراکسید، پراکسید هیدروژن و رادیکال‌های هیدروکسیل، اثرات منفی تنش اکسیداتیو را بهبود می‌بخشد (Reckziegel et al., 2016). بتاکاروتن آنتی‌اکسیدان مهم دیگری است. بتاکاروتن یک متابولیت ثانویه سنتز شده توسط گیاهان است و به یک گروه از ترکیبات اکسید نشده از کاروتنوئیدها تعلق دارد. بتاکاروتن یک ترکیب آلی، با فرمول  $C_{40}H_{56}$  دارای زنجیره بلندی از پیوندهای دوگانه است (Fратиanni et al., 2010). مطالعات اخیر نشان داده‌اند که کاربرد ترکیبات آنتی‌اکسیدان

برون زا در فعال‌سازی سیستم دفاعی گیاهان در برابر بسیاری از تنش‌ها مانند فلزات سنگین (Gokul *et al.*, ; Sharma *et al.*, 2021) و سرما (Ozfidan-Konakci *et al.*, 2019) و تنش شوری (Azooz *et al.*, 2013; Liu *et al.*, 2016) نقش دارد. نجارخدابخش و چاپارزاده (۱۹۹۴) نشان دادند که تنش شوری منجر به ایجاد تنش اکسیداتیو در گیاه شاهی شده و کاربرد آگزوزن آسکوربیک اسید به عنوان آنتی‌اکسیدان اثرات مضر و تنش اکسیداتیو حاصل از شوری را بهبود بخشیده است. همچنین احسانپور و اسکندری (۱۳۹۴) نشان دادند که بتاکاروتن (۶ میلی‌گرم در لیتر) قابلیت افزایش تحمل به تنش شوری گیاه گوجه‌فرنگی را از طریق افزایش ریشه‌دهی داشته است. با توجه به اینکه تنش شوری از عوامل محدود کننده در تولید محصولات کشاورزی محسوب می‌شود، بنابراین تحقیق بر روی مکانیزم مقاومت گیاهان به تنش شوری حائز اهمیت است. در این میان استفاده از ترکیبات آنتی‌اکسیدانی در بهبود و رفع آثار تنش شوری سودمند است. در این پژوهش تاثیر پیش تیمار آنتی‌اکسیدان‌های گالیک اسید و بتاکاروتن در شرایط تنش شوری بر رشد، رنگیزه و برخی ترکیبات اولیه در گیاهچه‌های شاهی مورد بررسی قرار گرفت.

## مواد و روش‌ها

این پژوهش در سال‌های ۹۷-۹۸ در آزمایشگاه گیاهشناسی دانشکده علوم دانشگاه شهرکرد انجام شد. جهت تعیین غلظت آستانه شوری و همچنین مناسب‌ترین غلظت ترکیبات فنولیک که بهترین تاثیر را بر شاخص‌های رشد گیاه شاهی داشته باشد، تیمار اولیه بذرهای گیاه شاهی با غلظت‌های مختلف کلرید سدیم و غلظت‌های مختلف اسید گالیک و بتاکاروتن، انجام شد. بنابراین از نتایج آزمایش اولیه غلظت ۲۵ میلی‌مولار کلرید سدیم، غلظت ۰/۵ میلی‌مولار بتاکاروتن و ۵ میلی‌مولار گالیک اسید برای انجام این پژوهش استفاده شد.

برای ضدعفونی کردن بذرها به مدت یک دقیقه در محلول هیپوکلریت سدیم ۱ درصد قرار داده شدند. سپس سه‌بار با آب مقطر شستشو داده و تعداد ۳۰ بذر در هر ظرف کشت که از قبل کف آن‌ها با کاغذ صافی پوشانده شده بود، قرار داده شدند. سپس ظرف‌های کشت به اتاقک رشد با شرایط ۱۶ ساعت روشنایی، ۸ ساعت تاریکی و دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد منتقل و بذرها با آب مقطر آبیاری شدند. بعد از گذشت پنج روز، سه گیاهچه یکسان و یک فرم انتخاب و در سینی‌های حاوی پرلیت کشت شدند. برای آبیاری محلول غذایی هوگلند ۲۵ درصد استفاده شد. پس از کاشت، آبیاری سه روزی یک‌بار (۷ میلی‌لیتر) انجام شد. کشت‌ها در گلخانه با شرایط رطوبت نسبی ۷۰ درصد، ۱۶ ساعت روشنایی، ۸ ساعت تاریکی در دمای  $25 \pm 3$  درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. محلول بتاکاروتن با غلظت ۰/۵ میلی‌مولار و محلول گالیک اسید با غلظت ۵ میلی‌مولار (هر کدام به حجم ۵ میلی‌لیتر برای هر چاهک سینی)، در سه روز متوالی و هر روز سه بار (صبح، ظهر، عصر) بر روی گیاهچه‌های شاهی برگپاشی شد. سپس

گیاهچه‌های هشت روزه با محلول هوگلند ۲۵ درصد حاوی کلرید سدیم ۲۵ میلی‌مولار تیمار شد. پس از گذشت یک هفته گیاهچه‌ها برداشت و برای آنالیز به آزمایشگاه منتقل شدند و شاخص‌های فیزیولوژیک و رشد شامل وزن تر و وزن خشک ریشه و اندام هوایی و محتوای نسبی آب برگ اندازه‌گیری شد.

### سنجش محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی

#### اندازه‌گیری کلروفیل و کاروتنوئیدها

براساس این روش ۰/۱ گرم بافت تازه برگ با ۱۰ میلی‌لیتر استون ۸۰ درصد در هاون چینی ساییده شد. روش Arnon (۱۹۴۹) برای اندازه‌گیری کلروفیل  $a$  و  $b$  و روش Lichtenthaler (۱۹۸۷) برای اندازه‌گیری کاروتنوئید استفاده شد. از استون ۸۰ درصد به عنوان محلول بلانک استفاده شد.

### سنجش محتوای پرولین و کربوهیدرات‌های محلول

اندازه‌گیری محتوای پرولین به روش Troll و Lindsley (۱۹۵۵) انجام شد. در ابتدا ۰/۰۵ گرم از بافت تازه گیاه در هاون سرد شده با ۱ میلی‌لیتر اتانول ۷۰ درصد سائیده شد. پس از قرار گرفتن عصاره حاصل در ۴ درجه سانتی‌گراد برای ۲۴ ساعت، به مدت ۵ دقیقه در  $g \times 14000$  سانتریفیوژ شد. ۲۵۰ میکرولیتر از محلول رویی، با ۴۷۰ میکرولیتر اتانول ۷۰ درصد و ۱ میلی‌لیتر مخلوط واکنش (شامل: استیک اسید، اتانول، نین‌هیدرین و آب مقطر که دور از نور نگهداری شد) رقیق گردید و از این محلول برای سنجش پرولین استفاده شد. جذب نوری نمونه‌ها در طول موج ۵۲۰ نانومتر خوانده شد. اندازه‌گیری کربوهیدرات‌های محلول با روش Villar و Pooter (۱۹۹۷) انجام شد. این روش بر اساس اسپکتروفوتومتری و سنجش شدت رنگ ایجاد شده از واکنش قندها با معرف آنترون استوار است. برای آماده‌سازی نمونه ابتدا ۰/۱ گرم از نمونه‌های تر برگ در ۲/۵ میلی‌لیتر اتانول ۸۰ درصد در یک هاون به خوبی ساییده و همگن شدند. عصاره به دست آمده در حمام آب گرم با دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ دقیقه قرار داده شد. سپس عصاره‌های حاصل در دور ۴۵۰۰ rpm به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شدند. رسوب حاصل مجدداً در ۲/۵ میلی‌لیتر اتانول ۸۰ درصد حل و در حمام آب گرم با دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ دقیقه قرار گرفت. مقدار جذب نمونه‌ها در طول موج ۶۲۵ نانومتر خوانده شدند.

## سنجش میزان $H_2O_2$ و مالون‌دی‌آلدئید

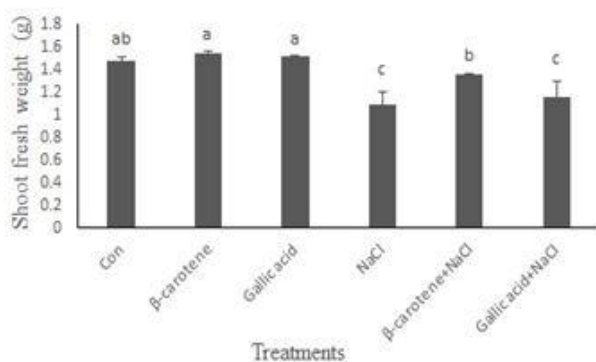
برای اندازه‌گیری  $H_2O_2$  از روش Alexieva و همکاران (۲۰۰۱) استفاده شد. برای عصاره‌گیری ۰/۱ گرم بافت فریز شده برگ در هاون سرد شده با ۱/۵ میلی‌لیتر TCA ۰/۱ درصد سائیده شد. عصاره تهیه شده به مدت ۱۵ دقیقه با سرعت  $g * 12000$  در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شد. ۵۰۰ میکرولیتر از محلول رویی سانتریفیوژ شده به ۵۰۰ میکرولیتر بافر فسفات ۱۰ میلی‌مولار و ۱ میلی‌لیتر محلول ۱ مولار KI اضافه شد. میزان جذب توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۳۹۰ نانومتر قرائت گردید و از محلول TCA ۰/۱ درصد به عنوان بلانک استفاده شد. برای محاسبه مقدار  $H_2O_2$  از منحنی استاندارد استفاده شد. برای اندازه‌گیری مالون‌دی‌آلدئید کیت اندازه‌گیری پراکسیداسیون لیپیدی (شماره کاتالوگ KMDA96، ایران) خریداری شده از شرکت کیازیست مورد استفاده قرار گرفت. از TBA جهت معرف مالون‌دی‌آلدئید استفاده شد. جذب نوری نمونه‌ها در طول موج ۵۳۲ تا ۵۶۰ خوانده شد.

## تجزیه و تحلیل آماری

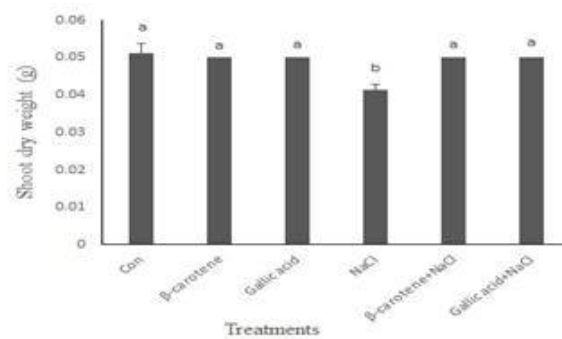
این تحقیق طبق طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار تکنیکی به ازای هر تیمار انجام شد. تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS نسخه ۱۶ و آزمون ANOVA انجام شد. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد و رسم نمودارها با استفاده از نرم‌افزار Excel انجام شد.

## نتایج

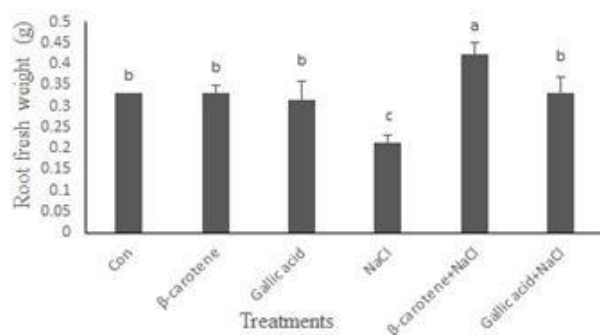
مطابق شکل ۱ (الف) تنش شوری منجر به کاهش وزن تر اندام هوایی گیاهچه‌ها به میزان ۲۷ درصد نسبت به نمونه‌های شاهد شد. تیمار بتاکاروتن و گالیک اسید به ترتیب به میزان ۵ درصد و ۲ درصد منجر به افزایش وزن تر اندام هوایی گیاهچه‌ها در مقایسه با نمونه‌های شاهد شدند. وزن تر گیاهچه‌های تحت تیمار بتاکاروتن + کلرید سدیم در مقایسه با گیاهچه‌های تحت تیمار کلرید سدیم ۲۵ درصد افزایش نشان داد. ترکیب گالیک اسید + کلرید سدیم تأثیر معنی‌داری بر وزن تر گیاهچه‌های شاهی در مقایسه با گیاهچه‌های تحت تیمار کلرید سدیم نداشت. مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که بیشترین وزن تر اندام هوایی مربوط به گیاهچه‌های تحت تیمار بتاکاروتن و گالیک اسید بود و کمترین میزان این شاخص در گیاهچه‌های تحت تیمار کلرید سدیم و ترکیب گالیک اسید + کلرید سدیم مشاهده شد.



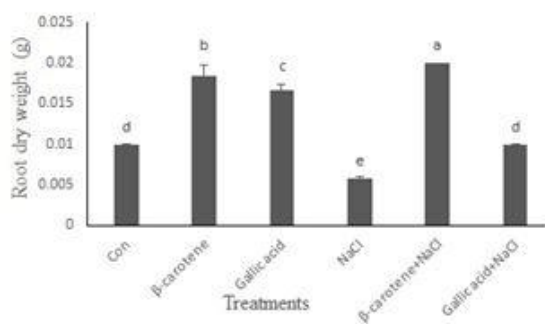
(الف)



(ب)



(ج)



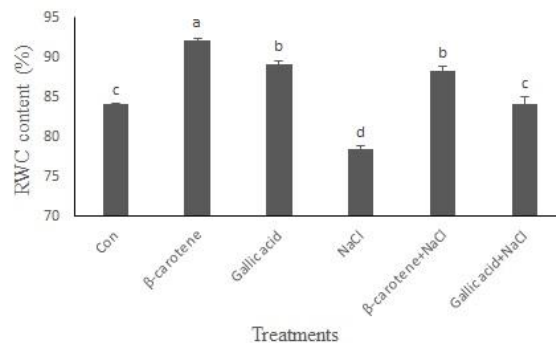
(د)

شکل ۱: تأثیر بتاکاروتن (۵/۰ میلی‌مولار) و گالیک اسید (۵ میلی‌مولار)، کلرید سدیم (۲۵ میلی‌مولار)، ترکیب بتاکاروتن (۵/۰ میلی‌مولار) + کلرید سدیم (۲۵ میلی‌مولار) و گالیک اسید (۵ میلی‌مولار) + کلرید سدیم (۲۵ میلی‌مولار) بر وزن تر اندام هوایی (الف)، وزن خشک اندام هوایی (ب)، وزن تر ریشه (ج)، وزن خشک ریشه (د) گیاهچه‌های شاهی (حروف غیریکسان بیانگر اختلاف معنی‌دار میانگین‌ها در سطح ۰/۰۵ با آزمون Duncan است).

مطابق شکل ۱ (ب) تنش کلرید سدیم منجر به کاهش وزن خشک اندام هوایی گیاهچه‌ها به میزان ۱۹ درصد در مقایسه با شاهد شد. تیمار بتاکاروتن و گالیک اسید تأثیر معنی‌داری بر وزن خشک اندام هوایی گیاهچه‌ها نداشتند. تیمارهای بتاکاروتن+کلرید سدیم و گالیک اسید+کلرید سدیم هر دو به میزان ۲۱ درصد منجر به افزایش وزن خشک اندام هوایی در مقایسه با گیاهچه‌های تحت تیمار کلرید سدیم شدند. نتایج شکل ۱ (ج) نشان داد که تیمار کلرید سدیم منجر به کاهش وزن تر ریشه به میزان ۳۵ درصد در مقایسه با شاهد شد. تیمار بتاکاروتن و گالیک اسید تأثیر معنی‌داری بر وزن تر ریشه گیاهچه‌های شاهی نداشتند. تیمار

بتاکاروتن+کلرید سدیم منجر به افزایش وزن تر ریشه به میزان ۹۸ درصد در مقایسه با کلرید سدیم شد. وزن تر ریشه تحت تیمار گالیک اسید + کلرید سدیم در مقایسه با کلرید سدیم ۵۳ درصد افزایش نشان داد. تیمار کلرید سدیم منجر به کاهش وزن خشک ریشه به میزان ۴۲ درصد در مقایسه با شاهد شد. تیمار بتاکاروتن و گالیک اسید منجر به افزایش وزن خشک ریشه به ترتیب به میزان ۸۳ درصد و ۶۷ درصد در مقایسه با شاهد شدند. تیمار بتاکاروتن + کلرید سدیم منجر به افزایش وزن خشک ریشه به میزان ۳/۴۷ برابر نسبت به کلرید سدیم شد. وزن خشک ریشه تحت تیمار گالیک اسید + کلرید سدیم در مقایسه با کلرید سدیم ۷۴ درصد افزایش یافت (شکل ۱ (د)).

نتایج شکل ۲ نشان داد که تیمار کلرید سدیم منجر به کاهش معنی‌دار محتوای نسبی آب در مقایسه با شاهد شد. تیمار بتاکاروتن و گالیک اسید منجر به افزایش معنی‌دار محتوای نسبی آب (RWC) گیاهچه‌ها به ترتیب به میزان ۱۰ درصد و ۶ درصد در مقایسه با شاهد شدند. تیمار بتاکاروتن + کلرید سدیم و گالیک اسید + کلرید سدیم منجر به افزایش محتوای نسبی آب به ترتیب به میزان ۱۳ درصد و ۷ درصد در مقایسه با کلرید سدیم شدند.



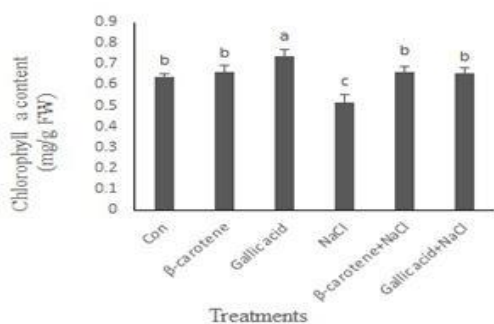
شکل ۲: تأثیر بتاکاروتن (۵/۰ میلی‌مولار) و گالیک اسید (۵ میلی‌مولار)، کلرید سدیم (۲۵ میلی‌مولار)، ترکیب بتاکاروتن

(۵/۰ میلی‌مولار) + کلرید سدیم (۲۵ میلی‌مولار) و گالیک اسید (۵ میلی‌مولار) + کلرید سدیم (۲۵ میلی‌مولار) بر شاخص محتوای

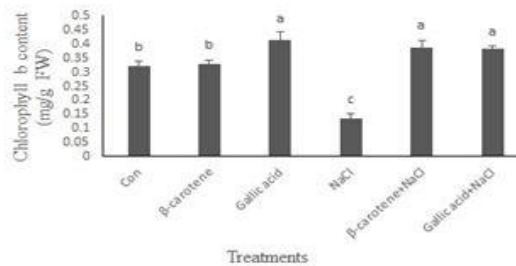
نسبی آب (RWC) گیاهچه‌های شاهی (حروف غیریکسان بیانگر اختلاف معنی‌دار میانگین‌ها در سطح ۰/۰۵ با آزمون Duncan است).

نتایج شکل ۳، میزان کلروفیل *a* (الف) تحت تیمار کلرید سدیم ۲۰ درصد کاهش در مقایسه با شاهد را نشان داد. تیمار بتاکاروتن تأثیر معنی‌داری بر میزان کلروفیل *a* نداشت و تیمار گالیک اسید ۱۵ درصد افزایش در مقایسه با شاهد را نشان داد. تیمارهای بتاکاروتن + کلرید سدیم و گالیک اسید + کلرید سدیم منجر به افزایش میزان کلروفیل *a* به میزان ۲۸ درصد در مقایسه با تیمار کلرید سدیم شدند. میزان کلروفیل *b* (ب) تیمار کلرید سدیم منجر به کاهش میزان کلروفیل *b* به میزان ۵۹ درصد در مقایسه با

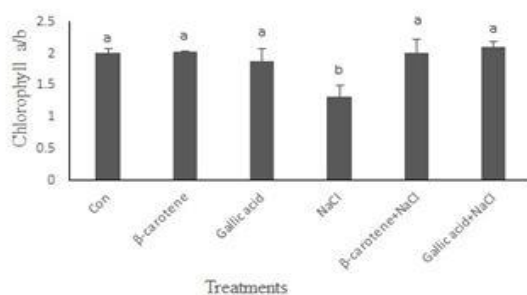
شاهد شد. تیمار بتاکاروتن تأثیر معنی‌داری بر میزان کلروفیل *b* نداشت و تحت تیمار گالیک اسید ۲۹ درصد افزایش یافت. میزان کلروفیل *b* تحت تیمارهای بتاکاروتن + کلرید سدیم و گالیک اسید + کلرید سدیم به ترتیب ۲/۹۱ و ۲/۸۷ برابر در مقایسه با کلرید سدیم افزایش یافت. نسبت کلروفیل *a/b* (ج) تحت تیمار کلرید سدیم به میزان ۳۴ درصد در مقایسه با شاهد کاهش یافت. تیمارهای بتاکاروتن + کلرید سدیم و گالیک اسید + کلرید سدیم منجر به افزایش نسبت کلروفیل *a/b* به ترتیب به میزان ۵۳ درصد و ۶۰ درصد در مقایسه با کلرید سدیم شدند. میزان کاروتنوئید (د) تحت تیمار گالیک اسید و تیمار بتاکاروتن+کلرید سدیم به ترتیب به میزان ۲۵ درصد و ۲۰ درصد افزایش یافت. سایر تیمارها تأثیر معنی‌داری بر میزان کاروتنوئید نداشتند.



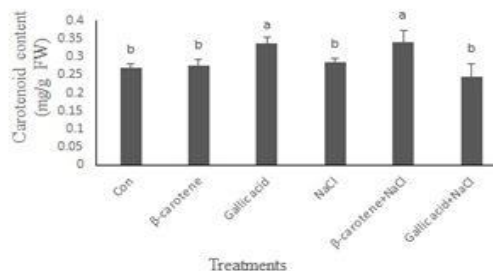
(الف)



(ب)



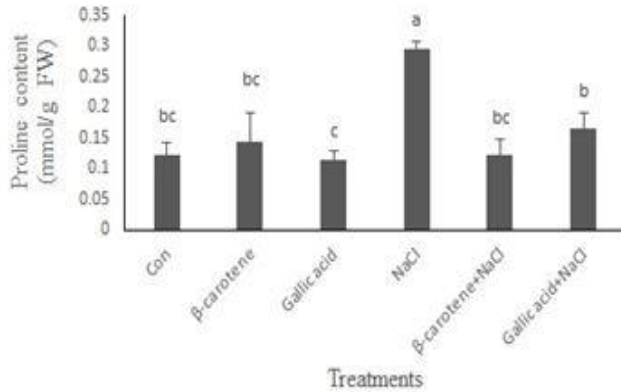
(ج)



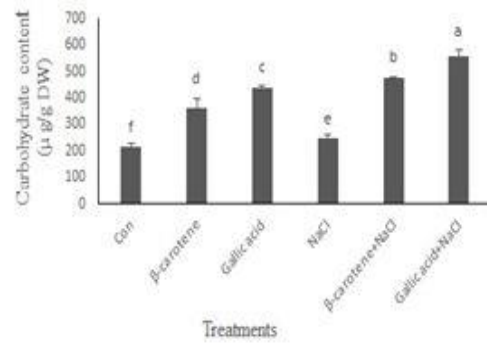
(د)

شکل ۳: تأثیر بتاکاروتن (۵/۰ میلی‌مولار) و گالیک اسید (۵ میلی‌مولار)، کلرید سدیم (۲۵ میلی‌مولار)، ترکیب بتاکاروتن (۵/۰ میلی‌مولار) + کلرید سدیم (۲۵ میلی‌مولار) و گالیک اسید (۵ میلی‌مولار) + کلرید سدیم (۲۵ میلی‌مولار) بر مقدار کلروفیل *a* (الف)، کلروفیل *b* (ب)، نسبت کلروفیل *a/b* (ج) و کاروتنوئید (د) در گیاهچه‌های شاهی (حروف غیر یکسان بیانگر اختلاف معنی‌دار میانگین‌ها در سطح ۰/۰۵ با آزمون Duncan است).

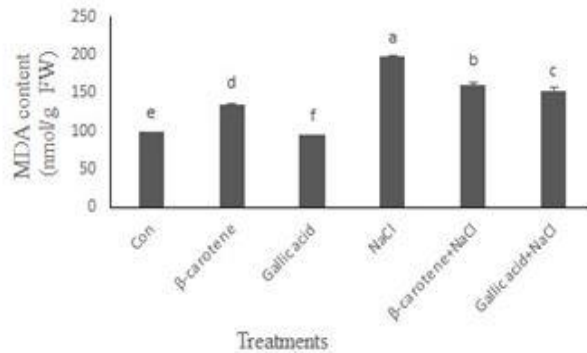




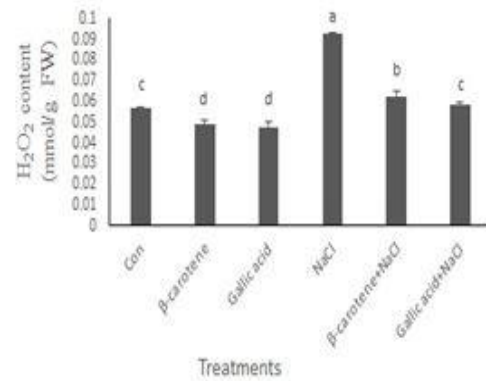
(الف)



(ب)



(ج)



(د)

شکل ۴: تأثیر بتاکاروتن (۵/۰ میلی‌مولار) و گالیک اسید (۵ میلی‌مولار)، کلرید سدیم (۲۵ میلی‌مولار)، ترکیب بتاکاروتن (۵/۰ میلی‌مولار) + کلرید سدیم (۲۵ میلی‌مولار) و گالیک اسید (۵ میلی‌مولار) + کلرید سدیم (۲۵ میلی‌مولار) بر میزان پرولین (الف)، کربوهیدرات (ب)، مالون‌دی‌آلدئید (ج)،  $H_2O_2$  (د) در گیاهچه‌های شاهی (حروف غیریکسان بیانگر اختلاف معنی‌دار میانگین‌ها در سطح ۰/۰۵ با آزمون Duncan است).

مطابق نتایج شکل ۴ (الف) بیشترین محتوی پرولین در گیاهچه‌های تحت تیمار کلرید سدیم مشاهده شد، به طوری که تیمار کلرید سدیم منجر به افزایش میزان پرولین به میزان ۲/۴۳ برابر نسبت به شاهد شد. تیمارهای بتاکاروتن + کلرید سدیم و گالیک اسید + کلرید سدیم منجر به کاهش مقدار پرولین گیاه به ترتیب به میزان ۵۸ درصد و ۴۴ درصد در مقایسه با کلرید سدیم شدند. نتایج شکل ۴ (ب) نشان داد که میزان کربوهیدرات‌های محلول طی تیمار کلرید سدیم، در مقایسه با شاهد، به میزان ۱۵ درصد افزایش داشت.

تحت تیمار بتاکاروتن به میزان ۶۷ درصد و تحت تیمار گالیک اسید به میزان ۲/۰۱ برابر نسبت به شاهد افزایش یافتند. همچنین تیمارهای بتاکاروتن + کلرید سدیم و گالیک اسید + کلرید سدیم منجر به افزایش میزان کربوهیدرات‌های محلول به ترتیب به میزان ۱/۹۱ و ۲/۲۴ برابر نسبت به کلرید سدیم شدند. همانطور که در شکل ۴ (ج) نیز نشان داده شده میزان مالون‌دی‌آلدئید تحت تیمار کلرید سدیم ۹۹ درصد افزایش نسبت به شاهد مشاهده شد. تحت تیمار بتاکاروتن ۳۶ درصد افزایش و در تیمار گالیک اسید ۵ درصد کاهش در میزان مالون‌دی‌آلدئید در مقایسه با شاهد مشاهده شد. تیمارهای بتاکاروتن + کلرید سدیم و گالیک اسید + کلرید سدیم میزان مالون‌دی‌آلدئید را در مقایسه با کلرید سدیم به ترتیب ۱۹ درصد و ۲۲ درصد کاهش دادند. نتایج شکل ۴ (د) نشان داد که تیمار کلرید سدیم منجر به افزایش محتوی  $H_2O_2$  به میزان ۶۳ درصد در مقایسه با شاهد شد. میزان  $H_2O_2$  تحت تیمارهای بتاکاروتن و گالیک اسید به ترتیب ۱۳ درصد و ۱۷ درصد در مقایسه با شاهد کاهش یافت. تیمارهای بتاکاروتن + کلرید سدیم و گالیک اسید + کلرید سدیم منجر به کاهش  $H_2O_2$  به میزان ۳۳ درصد و ۳۷ درصد نسبت به کلرید سدیم شدند.

## بحث و نتیجه‌گیری

در این مطالعه تیمار کلرید سدیم منجر به کاهش شاخص‌های رشد در مقایسه با شاهد شد. تیمارهای بتاکاروتن و اسید گالیک به تنهایی و بتاکاروتن + کلرید سدیم و گالیک اسید + کلرید سدیم منجر به افزایش معنی‌دار شاخص‌های رشد در مقایسه با تیمار کلرید سدیم شدند. مطابق با این مشاهدات Mekawy و همکاران (۲۰۱۸) گزارش کردند که تیمار شوری از رشد گیاهچه برنج به طور قابل توجهی جلوگیری کرده است و افزودن آبی ژنین، اثرات تنش شوری را بهبود داده است. آبی ژنین می‌تواند طول و وزن خشک گیاهچه برنج را افزایش دهد. دلیل افزایش رشد ناشی از تیمار آبی ژنین نه تنها افزایش توانایی پاکروبی ROS، بلکه همچنین افزایش محتوای کلروفیل، کاروتنوئید و فعالیت آنزیم‌های اکسیداز در گیاهچه برنج بود. همچنین Singh و همکاران (۲۰۱۷) گزارش کردند که پیش تیمار بذرهای برنج با گالیک اسید و روتین موجب افزایش جوانه‌زنی و پارامترهای رشد گیاهچه‌های برنج شده است. نقش بتاکاروتن در افزایش مقاومت به شوری برخی گونه‌های جلبک *Dunaliella* نیز گزارش شده است. برای مثال گونه *D. salina* وقتی در شرایط تنشی مثل افزایش شوری، درجه حرارت، نور شدید، کمبود مواد غذایی قرار بگیرد، بتاکاروتن زیادی تولید می‌کند که با افزایش مقاومت جلبک نسبت به این تنش‌ها همراه است (Coesel et al., 2008). بهبود وزن تر و خشک در اثر افزودن بتاکاروتن و اسید گالیک تحت تنش شوری می‌تواند به دلیل آن باشد که آن‌ها به عنوان یک آنتی‌اکسیدان غیر آنزیمی عمل می‌کند و قادر به پاکسازی واسطه‌گرهای اکسیژنی و رادیکال‌های آزاد می‌باشند (Telfer, 2014). وزن تر اندام هوایی در تیمار بتاکاروتن تحت تنش

شوری بیشتر از تیمار اسید گالیک تحت تنش شوری است. نویسندگان پیشنهاد می‌کنند این افزایش می‌تواند به دلیل افزایش بالاتری از شاخص RWC در تیمار بتاکاروتن تحت تنش شوری نسبت به تیمار اسید گالیک تحت تنش شوری باشد.

در این تحقیق، RWC تحت تنش کلرید سدیم به طور قابل توجهی کاهش یافت که تیمار با بتاکاروتن و گالیک اسید توانستند این کاهش را بهبود بخشند. افزایش شاخص RWC پس از کاربرد بتاکاروتن و گالیک اسید در برگ‌های گیاهچه‌های شاهی تحت تیمار کلرید سدیم توسط القاء تجمع اسمولیت‌هایی مانند کربوهیدرات است. این نتایج با یافته‌ها در مورد خیار در معرض اسید فولیک به همراه تنش اسمزی PEG سازگار است (Li *et al.*, 2013). Li و همکاران (۲۰۱۳) پیشنهاد کردند که اسید فرولیک با افزایش محتوای پرولین و قندهای محلول باعث افزایش مقادیر RWC گیاهچه‌های دارای تنش اسمزی PEG شد.

در این تحقیق، کلرید سدیم منجر به کاهش معنی‌دار میزان کلروفیل  $a$  و  $b$  و نسبت کلروفیل  $a/b$  شد. احتمالاً تنش شوری با افزایش رادیکال‌های آزاد اکسیژن مانند  $H_2O_2$  باعث تخریب کلروفیل ناشی از آسیب اکسیداتیو می‌شود. بتاکاروتن و گالیک اسید توانستند اثرات منفی تنش شوری بر میزان کلروفیل‌ها را بهبود بخشند، بنابراین احتمال می‌رود بتاکاروتن و گالیک اسید به لحاظ نقش آنتی‌اکسیدانی از تخریب کلروفیل در تنش شوری جلوگیری کرده باشند. قابل ذکر است که بتاکاروتن به دلیل نقش در چرخه گزانتوفیل نیز می‌تواند نقش آنتی‌اکسیدانی خود را ایفا کند. Singh و همکاران (۲۰۱۷) مشاهده کردند که مقدار کلروفیل کل و کاروتنوئیدها در گیاهچه‌های برنج پرایم شده با گالیک اسید و روتین به طور معنی‌داری افزایش یافته است. طبق مشاهدات آن‌ها افزایش کلروفیل کل و کاروتنوئیدها در تیمار گالیک اسید به ترتیب  $2/2$  و  $2/26$  برابر و در تیمار روتین به ترتیب  $1/53$  و  $1/26$  برابر در مقایسه با شاهد بوده است.

یکی از مهم‌ترین شاخصه‌های شرایط شوری، محتوای پرولین است که در شرایط شوری غلظت آن افزایش یافته و سبب تعدیل پتانسیل اسمزی می‌گردد. پرولین در مواجهه با تنش‌های اسموتیک دارای نقش‌های محافظتی در سلول‌ها مانند حفظ پایداری مولکول‌ها و ساختارهای سلولی، جمع نمودن رادیکال‌های آزاد و تنظیم اسمزی است. در سلول‌های گوجه فرنگی در محیط‌هایی با پتانسیل آب پایین، تجمع پرولین به عنوان یک ویژگی در افزایش تحمل به کار می‌رود. گزارش شده که سنتز پرولین در طول تنش القاء می‌شود. افزایش پرولین منجر به افزایش مقاومت گیاه به شوری شده، این تغییر بستگی به گونه گیاه دارد. گاهی مقدار آن در گیاه تحت تنش به ۱۰۰ برابر گیاه شاهد می‌رسد زیرا تجمع آن نقش سازشی در گیاه داشته و به عنوان یک اسمولیت ذخیره کننده کربن و نیتروژن عمل می‌کند (Heuer, 2010). در مطالعه حاضر تیمار کلرید سدیم منجر به افزایش محتوای پرولین گیاهچه شاهی در مقایسه با شاهد شد. پیش تیمارهای بتاکاروتن و گالیک اسید تأثیر چندانی بر محتوای پرولین نداشتند. تیمارهای بتاکاروتن + کلرید سدیم و گالیک اسید + کلرید سدیم منجر به کاهش محتوای پرولین در مقایسه با گیاهچه‌های تحت تنش کلرید سدیم شدند.

بنابراین به‌نظر می‌رسد، اثر بهبود تنش شوری توسط بتاکاروتن و گالیک اسید از طریق پرولین نبوده است. احسانپور و اسکندری (۱۳۹۴) گزارش کردند که محتوای پرولین گیاهچه‌های گوجه‌فرنگی تحت تنش شوری به طور معنی‌داری افزایش یافته است. آن‌ها همچنین گزارش کردند که افزودن بتاکاروتن به محیط کشت حاوی نمک موجب افزایش میزان پرولین در اندام هوایی گیاه گوجه‌فرنگی می‌شود. تجمع قندهای محلول نیز همانند تجمع پرولین در پاکروبی گونه‌های اکسیژن فعال، تسهیل جذب آب و تنظیم اسمزی سلول‌های گیاهی نقش مهمی را بر عهده دارد. قندهای محلول نظیر گلوکز، فروکتوز، ساکارز و ... سبب تنظیم اسمزی و پایداری غشا و پروتئین‌های موجود در سلول می‌شوند. این عمل می‌تواند از طریق تشکیل پیوندهای هیدروژنی بین گروه‌های کربوکسیل قندها و زنجیره‌های قطبی پروتئین‌ها و بالاخره پایدارسازی پروتئین‌ها صورت گیرد. برای مثال تجمع ساکارز موجب حفظ فسفولیپیدهای غشا شده و از تغییرات ساختاری در پروتئین‌های محلول سلول جلوگیری می‌کند (Nuccio *et al.*, 1999). در این تحقیق، تیمار کلرید سدیم منجر به افزایش میزان کربوهیدرات‌های محلول در مقایسه با شاهد شد، کاملاً محتمل است که کربوهیدرات‌های محلول در پاسخ به تنش شوری به عنوان اسمولیت‌های سازگار تجمع یافته‌اند تا به‌عنوان محافظ اسمزی عمل نمایند. همچنین پیش تیمارهای بتاکاروتن و گالیک اسید و تیمارهای بتاکاروتن + کلرید سدیم و گالیک اسید + کلرید سدیم محتوای کربوهیدرات‌های محلول را به طور معنی‌داری افزایش دادند. به‌نظر می‌رسد، بتاکاروتن و گالیک اسید، سطح کربوهیدرات‌های محلول را از طریق افزایش محتوای کلروفیل و فتوسنتز تقویت کرده است. محتوای مالون‌دی‌آلدئید و  $H_2O_2$  نمونه‌هایی از تأثیرات تنش اکسیداتیو تنش شوری است. ROS‌هایی مثل  $H_2O_2$  و  $O_2^-$  در گیاهان معمولاً به عنوان محصولات سمی متابولیسم هوازی تولید می‌شوند که وقتی گیاهان در معرض انواع تنش‌های زیستی و غیرزیستی قرار می‌گیرند غلظت آن‌ها افزایش می‌یابد (Singh *et al.*, 2017). تنش اکسیداتیو بوجود آمده در نتیجه شوری منجر به تشکیل رادیکال‌های آزاد اکسیژن، رادیکال‌های هیدروکسیل، پراکسید هیدروژن و سوپر اکسید می‌گردد (Noctor & Foyer, 1998). برخلاف سایر انواع اکسیژن فعال پراکسید هیدروژن قادر به انتشار از طریق غشاها است. سمیت زیستی پراکسید هیدروژن از طریق اکسیداسیون گروه‌های SH مدت‌هاست که شناخته شده است. پراکسید هیدروژن یک بازدارنده قوی چرخه کلونین است. پراکسید هیدروژن در حضور کاتالیزورهای فلزی خاص یا کلات‌های فلزی از طریق واکنش‌های Haber-Weiss یا Fenton تولید رادیکال بسیار فعال هیدروکسیل می‌نماید و سمیت خود را افزایش می‌دهد (Sudhakar *et al.*, 2001). اثر دیگر پراکسید هیدروژن و رادیکال‌های آزاد دیگر پراکسیداسیون لیپیدها است. از این پراکسیداسیون موادی مانند مالون‌دی‌آلدئید تولید می‌شود. معمولاً پراکسیداسیون لیپیدها ناشی از رادیکال‌های آزاد مربوط به اسیدهای چرب غیر اشباع مثل لینولئیک اسید و لینولنیک اسید است (Dash & Panda, 2001). حفظ یکپارچگی غشاهای سلولی در شرایط تنش یکی از اجزای مقاومت در برابر تنش‌هایی نظیر شوری و خشکی است (Masood *et al.*, 2006).

در این تحقیق، محتوای  $H_2O_2$  و MDA در گیاهچه‌های تحت تیمار کلرید سدیم افزایش یافت، که نشان می‌دهد سیستم‌های آنتی‌اکسیدانی گیاه شاهی در شرایط تنش برای پاکروبی محتوای MDA کافی نبوده است. کاهش میزان MDA در گیاهچه‌های پیش‌تیمار شده با گالیک اسید و همچنین گیاهچه‌های تحت تیمار بتاکاروتن + کلرید سدیم و گالیک اسید + کلرید سدیم نشان می‌دهد آنتی‌اکسیدان‌های اگزوزن نیز می‌توانند گونه‌های اکسیژن فعال را پاکروبی کرده و پراکسیداسیون لیپید را خاتمه دهند، که می‌تواند آسیب‌های تنش شوری را بهبود بخشند. مطابق با نتایج این پژوهش Singh و همکاران (۲۰۱۷) گزارش کردند که میزان MDA در گیاهچه‌های پیش‌تیمار شده با گالیک اسید کاهش یافته است. پیشنهاد شده است که کاهش میزان MDA می‌تواند ناشی از کاهش سطح ROS و رادیکال‌های آزاد مانند  $H_2O_2$  و  $O_2^-$  باشد که به دلیل افزایش فنولیک کل و فلاونوئیدها و تحریک آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در تیمار گالیک اسید است.

### نتیجه‌گیری کلی

تیمار گیاهچه‌های شاهی با ۲۵ میلی‌مولار NaCl باعث کاهش رشد گیاه از طریق کاهش وزن تر و خشک، محتوای نسبی آب، رنگیزه‌های فتوسنتزی و افزایش پراکسیداسیون لیپید غشاء و پراکسید هیدروژن شد. نتایج این پژوهش نشان داد که کاهش پراکسیداسیون لیپید غشاء و پراکسید هیدروژن، افزایش محتوای کلروفیل، تجمع اسمولیت‌هایی مانند کربوهیدرات‌های محلول در طی پیش‌تیمار گیاهچه‌های شاهی با ترکیبات بتاکاروتن و گالیک اسید باعث افزایش مقاومت گیاه در شرایط تنش شوری شد. بنابراین کاربرد آنتی‌اکسیدان‌های بتاکاروتن و گالیک اسید به‌عنوان موادی نسبتاً ارزان و در دسترس می‌تواند در شرایط شوری با حفظ و تنظیم مکانیزم‌های مذکور به بقای بیشتر گیاه منجر گردند.

### منابع

احسانپور، ع. ا. و اسکندری، ه. (۱۳۹۴). اثر بتاکاروتن بر ریشه‌دهی و برخی از شاخص‌های فیزیولوژیک گیاه گوجه‌فرنگی (*Lycopersicon esculentum* Mill) تحت تنش شوری در شرایط کشت درون شیشه‌ای. خشکبوم، ۵، ۱-۹.

نجارخدابخش، آ. و چاپارزاده، ن. ۱۳۹۴. نقش آسکوربیک اسید در تقلیل اثرات اکسیداتیو شوری روی گیاه شاهی. مجله پژوهش‌های

- Ahmad, P., Jaleel, C. and Sharma, S. (2010). Antioxidant defense system, lipid peroxidation, proline metabolizing enzymes, and biochemical activities in two *Morus alba* genotypes subjected to NaCl stress. *Russian Journal of Plant Physiology*, 57:509-517.
- Alexieva, V., Sergiev, I., Mapelli, S. and Karanov, E. (2001). The effect of drought and ultraviolet radiation on growth and stress markers in pea and wheat. *Plant, Cell Environment*, 24: 1337-134.
- Arnon, D. (1949). Determination of chlorophyll concentration in leaf tissues of plants. *Plant Physiol.* 24.
- Azooz, M. M., Alzahrani, A. M. Youssef, M. M. (2013). The potential role of seed priming with ascorbic acid and nicotinamide and their interactions to enhance salt tolerance in broad bean (*Vicia faba* L.). *Australian Journal of Crop Science*, 7: 2091-2100.
- Coesel, S. N., Baumgartner, A. C., Teles, L. M., Ramos, A. A., Henriques, N. M., Cancela, L. and Varela, J. C. S. (2008). Nutrient limitation is the main regulatory factor for carotenoid accumulation and for Psy and Pds steady state transcript levels in *Dunaliella salina* (Chlorophyta) exposed to high light and salt stress. *Marine Biotechnology*, 10: 602-612.
- Dash, M. and Panda, S. (2001). Salt stress induced changes in growth and enzyme activities in germinating *Phaseolus mungo* seeds. *Biologia Plantarum*, 44: 587-589.
- Falana, H., Nofal, W. and Nakhleh, H. (2014). A review article *Lepidium sativum* (Garden cress). Pharm-D Program, College of Nursing, Pharmacy and Health Professions, Birzeit University, 1-8.
- Fратиanni, A., Cinquanta, L. and Panfili, G. (2010). Degradation of carotenoids in orange juice during microwave heating. *LWT-Food Science and Technology*, 43: 867-871
- Gokul, A.; Fahiem Carelse, M.; Niekerk, L.-A.; Klein, A.; Ludidi, N.; Mendoza-Cozatl, D.; Keyster, M. (2021). Exogenous 3,30-Diindolylmethane improves vanadium stress tolerance in *Brassica napus* seedling shoots by modulating antioxidant enzyme activities. *Biomolecules*, 11: 436.

- Heuer, B. (2010). Role of proline in plant response to drought and salinity. Handbook of Plant and Crop Stress. CRC Press, Boca Raton, 213-238.
- Li, D.M., Nie, Y.X., Zhang, J., Yin, J.S., Li, Q., Wang, X.J. and Bai, J.G. (2013). Ferulic acid pretreatment enhances dehydration-stress tolerance of cucumber seedlings. *Biologia Plantarum*, 57:711-717.
- Lichtenthaler, H. K. (1987). Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. *Methods in Enzymology*. Elsevier, 148: 349-382.
- Liu, Y., Hou, L.-Y., Li, Q.-M., Jiang, Z.-P., Liu, D. Zhu, Y. (2016). The effects of exogenous antioxidant germanium (Ge) on seed germination and growth of *Lycium ruthenicum* Murr subjected to NaCl stress. *Environmental Technology*, 37: 909-919.
- Makoi, J. H. and Ndakidemi, P. A. (2012). Allelopathy as protectant, defence and growth stimulants in legume cereal mixed culture systems. *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science*, 40: 161-186.
- Maqbool, N., Wahid, A., Farooq, M., Cheema, Z. and Siddique, K. (2013). Allelopathy and abiotic stress interaction in crop plants. *Allelopathy*. Springer, Berlin, Heidelberg, 451-468.
- Masood, A., Shah, N. A., Zeeshan, M. and Abraham, G. (2006). Differential response of antioxidant enzymes to salinity stress in two varieties of *Azolla* (*Azolla pinnata* and *Azolla filiculoides*). *Environmental and Experimental Botany*, 58: 216-222.
- Mekawy, A.M.M., Abdelaziz, M.N. and Ueda, A. 2018. Apigenin pretreatment enhances growth and salinity tolerance of rice seedlings. *Plant Physiology and Biochemistry*, 130: 94-104.
- Michalak, A. (2006). Phenolic compounds and their antioxidant activity in plants growing under heavy metal stress. *Polish Journal of Environmental Studies*, 15(4): 523-530.
- Mirza, M., and N.M. Najafpour. (2006). Essential oil composition of *Lepidium sativum* L. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, 4(30):481-488

- Munns, R. (1993). Physiological processes limiting plant growth in saline soils: some dogmas and hypotheses. *Plant, Cell & Environment*, 16:15-24.
- Noctor, G. and Foyer, C. H. (1998). Ascorbate and glutathione: keeping active oxygen under control. *Annual Review of Plant Biology*, 49: 249-279.
- Nuccio, M. L., Rhodes, D., Mcneil, S. D. and Hanson, A. D. (1999). Metabolic engineering of plants for osmotic stress resistance. *Current Opinion in Plant Biology*, 2: 128-134.
- Ozfidan-Konakci, C., Yildiztugay, E., Yildiztugay, A. Kucukoduk, M. (2019). Cold stress in soybean (*Glycine max* L.) roots: exogenous gallic acid promotes water status and increases antioxidant activities. *Botanica Serbica*, 43: 59-71.
- Pooter, H. and Villar, R. 1997. The fate acquire carbon in plants: chemical composition and constructions costs. *Plant Resource Allocation*. 39-72.
- Reckziegel, P., Dias, V.T., Benvegnú, D.M. , Bouffleur, N., Barcelos, R.C.S. , Segat, H.J., Pase, C.S., Dos Santos, C.M.M., Flores, É.M.M. and Bürger, M.E. (2016). Antioxidant protection of gallic acid against toxicity induced by Pb in blood, liver and kidney of rats. *Toxicology reports*, 3:351-356.
- Sharma, P., Gautam, A., Kumar, V., Khosla, R., Guleria, P. (2021). Naringenin reduces Cd-induced toxicity in *Vigna radiata* (mungbean). *Plant Stress* 1: 100005
- Singh, A., Gupta, R. and Pandey, R. (2017). Exogenous application of rutin and gallic acid regulate antioxidants and alleviate reactive oxygen generation in *Oryza sativa* L. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 23: 301-309.
- Sudhakar, C., Lakshmi, A. and Giridarakumar, S. (2001). Changes in the antioxidant enzyme efficacy in two high yielding genotypes of mulberry (*Morus alba* L.) under NaCl salinity. *Plant Science*, 161: 613-619
- Telfer, A.( 2014). Singlet oxygen production by PSII under light stress: mechanism, detection and the protective role of  $\beta$ -carotene. *Plant and Cell Physiology*, 55: 1216-1223.



Troll, W. and Lindsley, J. (1955). A photometric method for the determination of proline. *Journal of Biological Chemistry*, 215: 655-660.

Yousuf, M. J. and Vellaichamy, E. (2015). Protective activity of gallic acid against glyoxal-induced renal fibrosis in experimental rats. *Toxicology Reports*, 2: 1246-1254.

## Increase of growth parameters, pigmentation and some primary metabolites in *Lepidium sativum* L. seedlings under salinity stress using $\beta$ -carotene and Gallic acid

M. Babaei<sup>1</sup>, L. Shabani<sup>2\*</sup>, S. Hashemi Shahraki<sup>3</sup>

Received: 2021.2.23

Accepted: 2021.9.4

### Abstract

In the present study, foliar spray of two antioxidant compounds ( $\beta$ -carotene and gallic acid) before the stress was used to study the interactive effect of antioxidants and salinity stress in seedlings of *Lepidium sativum* L. Our results showed growth indices, relative water content (RWC), chlorophyll *a*, chlorophyll *b*, and chlorophyll *a/b* were negatively affected by 25 mM NaCl. The results obtained in the present study showed the beneficial effects of the pre-treatments of two antioxidants in *Lepidium sativum* L. seedling under stress and non-salinity stress condition with respect to increasing root dry weight, RWC, photosynthetic pigments, the content of carbohydrate and significant reduction of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and malondialdehyde (MDA) content. Therefore, usage of antioxidant compounds as a pretreatment under salinity stress may be the advantageous for increasing biomass and osmotic adjustment in *Lepidium sativum* L. seedlings.

**Keywords:**  $\beta$ -carotene, Gallic acid, *Lepidium sativum* L., Sodium chloride

---

<sup>1</sup>MSc Graduate, Department of Biology, Faculty of Science, University of Shahrekord, Shahrekord, Iran

<sup>2</sup> Associate Professor, Department of Biology, Faculty of Science, University of Shahrekord, Shahrekord, Iran \*Email (corresponding author: lshabani@gmail.com)

<sup>3</sup>Assistance Professor, Department of Biology, Faculty of Science, University of Sistan and Baluchestan, Zahedan, Iran