Crop Science Research in Arid Regions

homepage: https://cropscience.uoz.ac.ir/

Research Article
Volume 7, Issue 3, 2025, P. 627-637

Reaction of the henna plant (*Lawsonia inermis* L.) to salicylic acid and sodium nitroprusside as growth stimulants under drought stress

Faramarz Chamani [a], Hassan Farahbakhsh [*b], Amin Pasandi Pour [c]

[a] Ph.D. Student, Genetic and Plant Production Department, Faculty of Agriculture, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran
[b] Genetic and Plant Production Department, Faculty of Agriculture, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran
[c] Ph.D. Graduated, Genetic and Plant Production Department, Faculty of Agriculture, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran

[*]Corresponding Author: Hfarahbakhsh@uk.ac.ir

Received: 9 October 2024 Accepted: 11 December 2024 **DOI: 10.22034/CSRAR.2025.482681.1442**

How to cite this article:
Chamani, F., Farahbakhsh, H. and Pasandi Pour, A., 2025. Reaction of the henna plant (*Lawsonia inermis* L.) to salicylic acid and sodium nitroprusside as growth stimulants under drought stress. *Crop Science Research in Arid Regions*, *7*(3), 627-637.
https://doi.org/10.22034/csrar.2025.482681.1442

Abstract

Introduction: Henna, or *Lawsonia inermis* L., is a plant native to Southwest Asia and North Africa from the Lythraceae family that possesses many biological properties, including antifungal, antibacterial, and antioxidant activities. Henna is a valuable medicinal and ornamental plant with various applications in the cosmetic, pharmaceutical, and dyeing industries. Drought stress is one of the most significant factors limiting the growth and survival of plants in various regions of Iran, as it affects the physiological and biochemical activities of plants by reducing soil water capacity. The phytohormone salicylic acid, which is based on phenols, regulates several essential physiological functions of plants, including transpiration, photosynthesis, ion transport, and water uptake. Sodium nitroprusside is a nitric oxide-releasing chemical. Nitric oxide is a small gaseous signaling molecule in plants that is crucial for growth and development under both biotic and abiotic stress conditions, as well as in natural physiological settings.
Materials and Methods: This experiment was conducted in Qaleh Ganj city, Kerman province, using a split-plot design based on a randomized complete block design with three replications in 2021. The main factor included three levels of drought stress (50%, 75%, and 95% of field capacity), while the sub-factor involved foliar spraying (control, salicylic acid, sodium nitroprusside, and a combination of salicylic acid and sodium nitroprusside). Seeds of the henna plant (Roodbar ecotype) were obtained from the Faculty of Agriculture at Bahonar University. Table 1 presents the soil characteristics of the experimental site. Planting was carried out directly in the main field, with a density of 20 plants per square meter. The growth regulator solution was sprayed at the five-leaf stage of the plants. Drought stress treatment continued until harvest, and the foliar treatment was applied only at the five-leaf stage. After removing the marginal effects, the existing plants were harvested, and the leaf yield was

©2024 The author(s). This is an open access article distributed under Creative Commons Attribution 4.0 International License (CC BY 4.0).

determined. The planting date for the henna plant was April 1, and the harvesting date was November 5.

Results and Discussion: Drought stress reduced the number of leaves per plant, as well as biological and leaf yields, while increasing the activity of polyphenol oxidase and superoxide dismutase, along with the levels of total phenolic compounds and anthocyanins in henna plants. The combined application of salicylic acid and sodium nitroprusside significantly affected most of the traits studied. The application of this combination increased the number of leaves per plant by 10.07%, the activity of the polyphenol oxidase enzyme by 22.22%, the total phenolic content by 7.18%, biological yield by 8.54%, and leaf yield by 21.97%. Using the combination of salicylic acid and sodium nitroprusside enhanced the antioxidant defense system of the henna plant.

Conclusion: In general, the results of this study indicated that drought stress negatively affected the metabolism of the henna plant, resulting in a decrease in the number of leaves per plant, as well as biological and leaf yields. Drought stress also increased the activity of the enzymes polyphenol oxidase and superoxide dismutase, along with the levels of total phenolic compounds and anthocyanins. However, the application of a combination of salicylic acid and sodium nitroprusside increased the number of leaves per plant, enhanced antioxidant enzyme activity, and improved phenolic content, biological yield, and leaf yield.

Keywords: Anthocyanin, Leaf yield, Superoxide dismutase, Total phenolic

تحقیقات علوم زراعی در مناطق خشک/ جلد هفتم، شماره سوم، پاییز ۱۴۰۴، ص ۶۳۷-۶۲۷

مقاله پژوهشی

واکنش گیاه حنا (*Lowsonia inermis* L.) به محرک‌های رشدی اسید سالیسیلیک و سدیم نیتروپروساید تحت تنش خشکی

فرامرز چمنی[۱]، حسن فرح بخش[*۲]، امین پسندی پور[۳]

۱- دانشجوی دکتری، گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان، ایران

۲- گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان، ایران

۳- دانش آموخته دکتری، گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان، ایران

[*] مسئول مکاتبه: Hfarahbakhsh@uk.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۷/۱۸ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۹/۲۱ **DOI: 10.22034/CSRAR.2025.482681.1442**

چکیده

برای بررسی تأثیر اسید سالیسیلیک و سدیم نیتروپروساید بر صفات مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی، بیوشیمیایی و عملکرد گیاه حنا تحت تنش خشکی، یک آزمایش به صورت کرت‌های خرد شده بر پایه طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در شهرستان قلعه گنج استان کرمان در سال زراعی ۱۴۰۰ اجرا شد. در این آزمایش، عامل اصلی شامل سه سطح تنش خشکی (۵۰، ۷۵ و ۹۵ درصد ظرفیت زراعی) و عامل فرعی شامل محلول پاشی (شاهد، اسید سالیسیلیک، سدیم نیتروپروساید و ترکیب اسید سالیسیلیک و سدیم نیتروپروساید) در نظر گرفته شد. تنش خشکی شدید موجب کاهش تعداد برگ در بوته (۲۴/۲۲ درصد)، عملکرد بیولوژیک (۳۷/۴۵ درصد) و عملکرد برگ (۳۱/۵۳ درصد) گردید، همچنین تنش شدید باعث افزایش فعالیت آنزیم پلی‌فنول اکسیداز (۵۰ درصد)، میزان فنول (۳۸/۰۲ درصد) و آنتوسیانین (۳۱/۲۹ درصد) در گیاهان حنا شد. کاربرد اسید سالیسیلیک به همراه سدیم نیتروپروساید تعداد برگ در بوته (۱۰/۰۷ درصد)، فعالیت آنزیم پلی‌فنول اکسیداز (۲۲/۲۲ درصد)، میزان فنول (۷/۱۸ درصد)، عملکرد بیولوژیک (۸/۵۴ درصد) و عملکرد برگ (۲۱/۹۷ درصد) را افزایش داد. نتایج به‌دست آمده نشان داد که کاربرد ترکیب اسید سالیسیلیک و سدیم نیتروپروساید می‌تواند سبب تقویت سیستم دفاع آنتی اکسیدانی آنزیمی و غیر آنزیمی گیاه حنا شود. لذا استفاده توام اسید سالیسیلک و سدیم نیتروپروساید را می‌توان به‌عنوان یک تنظیم‌کننده بالقوه رشد جهت کشت حنا در شرایط محدودیت آب پیشنهاد کرد.

واژه‌های کلیدی: آنتوسیانین، سوپراکسید دیسموتاز، فنول، عملکرد برگ

مقدمه

حنا با نام علمی (*Lawsonia inermis* L.) گیاهی چندساله و دولپه است که منشا آن شمال آفریقا و جنوب‌شرقی آسیا می‌باشد. این گیاه در مناطق گرمسیری به عنوان گیاه زینتی کشت می‌شود و از برگ‌های آن رنگی طبیعی به‌دست می‌آید. گیاه حنا دارای برگ‌های زیاد و بدون کرک است. برگ‌های حنا کوچک، بیضوی و نوک تیز هستند که به‌صورت متقابل روی شاخه‌ها قرار دارند. برگ‌های حنا همانند برگ‌های درخت چای به صورت سه چین در سال برداشت می‌گردند. مرغوب‌ترین و با کیفیت‌ترین چین حنا، چین نخست می‌باشد. زمان برداشت حنا با توجه به اقلیم منطقه و تعداد دفعات چین تفاوت دارد و از تیرماه تا آبان ماه می‌باشد (Farahbakhsh and Pasandi pour, 2018).

جمعیت رو به رشد انسانی یک عامل کلیدی برای افزایش استفاده جامع از منابع طبیعی (زمین، هوا و آب) و در نتیجه باعث کمبود آب در سراسر جهان شده است. در نتیجه، دسترسی به آب شیرین تا ۲۰ درصد کاسته شده و برآورد شده است که حدود ۳/۲ میلیارد نفر در شرایط کمبود آب زندگی کنند (Cheeseman, 2016). علاوه بر این، کیفیت آب موجود نیز در این مناطق رو به وخامت است. تغییر ناگهانی عوامل محیطی باعث کاهش آب قابل دسترس و ایجاد تنش خشکی در سیستم‌های کشاورزی می‌شود (FAO, 2020). گیاهان در طول دوره رشد خود با تنش‌های مختلف محیطی مواجه می‌شوند. هرکدام از این تنش‌ها می‌توانند با توجه به میزان حساسیت گیاه و مرحله رشدی آن، بر رشد و عملکرد گیاه اثرات گوناگونی بگذارند. تنش خشکی یکی از مهم‌ترین تنش‌های محیطی است که به‌خصوص در مناطق خشک و نیمه‌خشک جهان، می‌تواند به‌طور قابل توجهی روند رشد و عملکرد بسیاری از گیاهان

زراعی، باغی و دارویی را کاهش دهد (Heidari and Minaei, 2014).

اسید سالیسیلیک یک ترکیب فنولی است که به‌عنوان یک تنظیم‌کننده هورمونی شناخته شده است و نقش حیاتی در راهبردهای دفاعی در مقابله با تنش‌های زیستی و غیر زیستی را بر عهده دارد. استفاده از اسید سالیسیلیک به‌صورت خارجی می‌تواند باعث افزایش تحمل گیاهان در مواجهه با تنش‌های خشکی و شوری شود (Zafar *et al.*, 2021). اسید سالیسیلیک نقشی بنیادین در تنظیم فرآیندهای فیزیولوژیکی گیاهان دارد. از جمله این فرآیندها می‌توان به رشد و نمو گیاه، فتوسنتز و جوانه‌زنی، رسیدگی و پاسخ‌های دفاعی به شرایط محیطی اشاره کرد (Miura and Tada, 2014). اسید سالیسیلیک با افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی، از پراکسیداسیون لیپیدهای غشا کاسته و در نتیجه از پایداری غشا در برابر تنش‌های مختلف، محافظت می‌کند (Hassan and Ali, 2014).

اکسیدنیتریک رها شده از سدیم نیتروپروساید به عنوان یک مولکول مهم انتقال پیام درون‌زا در بسیاری از فرآیندهای مختلف رشد و نمو گیاه از جمله خواب بذر، جوانه زنی بذر، رشد اولیه ریشه، گلدهی، حرکات روزنه‌ای، فتوسنتز، عملکرد میتوکندری، پیری، متابولیسم گیاه و مرگ سلولی نقش دارد (Nabaei and Amooaghaie, 2019). همچنین، اکسید نیتریک در فعالیت‌های مختلف مانند نگهداری آب در برگ، بیان ژن ATPase، حفظ تعادل یونی بین K^+ و Na^+، افزایش بیان ژن‌های آنتی اکسیدانت مانند آسکوربات پراکسیداز، پراکسیداز، کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز، گلوتاتیون پراکسیداز و بهبود تجمع پرولین و کاهش تولید و تجمع پراکسید هیدروژن دخالت دارد (Karthik *et al.*, 2019). حنا یک گیاه دارویی و زینتی است که به داشتن تحمل در برابر تنش خشکی شناخته شده است، اما مکانیسم‌های زیربنایی سازگاری آن به‌خوبی شناخته نشده است. بنابراین، مطالعه پاسخ‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی حنا به تنش خشکی می‌تواند بینشی در مورد استراتژی‌ها و مسیرهای دخیل در تحمل به تنش گیاهی ارائه دهد. اسید سالیسیلیک و سدیم نیتروپروساید به‌عنوان مولکول‌های سیگنال‌دهنده و تعدیل‌کننده‌های سیستم‌های دفاعی گیاهان شناخته می‌شوند. با این حال، تا آنجا که ما می‌دانیم، اثرات آنها بر حنا پیش از این گزارش نشده است.

بنابراین، هدف اصلی این مطالعه بررسی این موضوع بود که آیا اسید سالیسیلیک و سدیم نیتروپروساید می‌توانند تحمل به خشکی حنا را با تعدیل ویژگی‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی افزایش دهند.

مواد و روش‌ها

این آزمایش در شهرستان قلعه گنج استان کرمان به صورت کرت‌های خرد شده بر پایه طرح بلوک‌های کامل تصادفی با ۳ تکرار در سال ۱۴۰۰ اجرا شد. عامل اصلی شامل سه سطح تنش خشکی (۵۰، ۷۵ و ۹۵ درصد ظرفیت زراعی) و عامل فرعی شامل محلول پاشی (شاهد، اسید سالیسیلیک، سدیم نیتروپروساید و ترکیب اسید سالیسیلیک و سدیم نیتروپروساید) بود. بذر گیاه حنا (اکوتیپ رودبار) از دانشکده کشاورزی دانشگاه باهنر کرمان تهیه شد. کاشت در تاریخ اول فروردین ماه سال ۱۴۰۰ و برداشت در تاریخ ۵ آبان ماه سال ۱۴۰۰ انجام گرفت. ویژگی‌های خاک محل انجام آزمایش در جدول ۱ آورده شده است. کشت به‌صورت مستقیم در زمین اصلی انجام و تراکم بوته به میزان ۲۰ بوته در متر مربع لحاظ گردید. ابعاد هر کرت ۲×۳ متر بود. در مزرعه کرتی به ابعاد یک متر در یک متر در نظر گرفته شد و خاک آن اشباع گردید. سپس سطح خاک برای جلوگیری از تبخیر سطحی با نایلون پوشانده شد. در بازه‌های زمانی دوازده ساعت از خاک نمونه‌برداری گردید و رطوبت آن به روش وزنی تعیین شد. پس از ۴۸ ساعت تفاوت رطوبت بین دو بازه متوالی محاسبه و به‌عنوان رطوبت ظرفیت زراعی تعیین گردید. همزمان با دستگاه TDR هم رطوبت تعیین گردید. طی زمان کاشت با استفاده از دستگاه TDR رطوبت اندازه‌گیری شد. حجم آب مورد نیاز با استفاده از رابطه‌های ۱ و ۲ در هر آبیاری تعیین گردید. حجم آب مصرفی با استفاده از کنتور آب کنترل شد.

$$H = \rho b(\theta_{FC} - \theta_m)\times D \quad (۱)$$

$$V = H \times A \quad (۲)$$

در رابطه ۱ و ۲، H نشان‌دهنده ارتفاع آب داخل کرت، ρb جرم مخصوص ظاهری خاک، θ_{FC} رطوبت در حد ظرفیت زراعی، θ_m رطوبت جرمی کرت مورد نظر در زمان آبیاری، D عمق توسعه ریشه، V حجم آب آبیاری در کرت و A مساحت کرت است. محلول پاشی تنظیم‌کننده رشد در مرحله، پنج

برگی گیاه صورت گرفت. اعمال تیمار آبیاری تا زمان برداشت ادامه داشت و تیمار محلول پاشی فقط در مرحله ۵ برگی اعمال گردید. برای تعیین عملکرد برگ پس از حذف اثر حاشیه ای به ابعاد یک در یک متر مربع بوته‌های موجود برداشت شد و عملکرد برگ تعیین گردید.

سنجش فعالیت آنزیم پلی فنول اکسیداز (PPO)

برای انجام این آزمایش، مخلوط واکنش شامل ۰/۲ میلی‌لیتر عصاره آنزیمی، ۱ میلی‌لیتر کاتکول با غلظت ۰/۰۴ میلی‌مولار و ۴۰ میکرولیتر بافر فسفات سدیم با غلظت ۵۰ میلی‌مولار (PH=6/8) بود. میزان جذب نور در طول موج ۴۱۰ نانومتر به مدت ۳ دقیقه ثبت شد و فعالیت آنزیمی به ازای یک واحد وزن تر بر حسب گرم فرآورده خشک بیان گردید. از محلول حاوی تمام مواد مذکور به جز عصاره خام به‌عنوان بلنک استفاده شد (Raymond *et al.*, 1993).

سنجش فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز

فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز به روش (Giannopolitis and Ries, 1977) اندازه‌گیری شد. برای این منظور، ۲۵ سی‌سی از فسفات پتاسیم با PH=7/8 تهیه شد. به این محلول ۱۳ میلی‌مولار میتیونین، ۷۵ میکرومولار NBT، ۲ میکرومولار ریبوفلاوین و ۰/۱ میلی‌مولار EDTA به حجم ۲۵۰ سی‌سی اضافه گردید. سپس جذب نور در طول موج ۵۶۰ نانومتر محاسبه شد.

سنجش فنل کل

مخلوط واکنش از ۱۲/۵ میکرولیتر عصاره متانولی رقیق شده با ۲۰۰ میکرولیتر آب مقطر و ۱۲/۵ میکرولیتر معرف (Folin-Ciocalteu ۵۰ درصد) تهیه شد و به مدت سه دقیقه در دمای اتاق نگهداری شد. سپس ۲۵ میکرولیتر Na_2CO_3 به مخلوط فوق افزوده شد. سپس مخلوط حاصل به مدت یک ساعت در تاریکی قرار داده شد. میزان جذب در طول موج ۷۶۰ نانومتر ثبت گردید (Su *et al.*, 2019).

آنتوسیانین

برای اندازه‌گیری میزان آنتوسیانین از روش واگنر استفاده شد (Wagner, 1979). ۰/۱ گرم از برگ گیاه در هاون با ۱۰ میلی‌لیتر متانول اسیدی کاملا سائیده شد. بعد عصاره حاصل در لوله‌های آزمایش ریخته شد و به مدت ۲۴ ساعت در تاریکی و دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. سپس به مدت ۱۰ دقیقه در ۴۰۰۰g سانتریفوژ و جذب محلول بالایی در طول موج ۵۵۰ نانومتر ثبت گردید.

محاسبات آماری

محاسبات آماری با استفاده از نرم افزار SAS نسخه ۹/۱ انجام‌گرفت و میانگین‌ها با استفاده از آزمون دانکن در سطح احتمال پنج درصد با یکدیگر مقایسه آماری شدند. نرمالیته داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار مینی‌تب بررسی شد.

نتایج و بحث

تعداد برگ در بوته

تأثیر تنش خشکی و محلول پاشی تنظیم‌کننده‌های رشد بر تعداد برگ در بوته در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود، اما اثر متقابل تنش خشکی و تنظیم‌کننده رشد معنی‌دار نبود (جدول ۲). بیشترین تعداد برگ در بوته به سطح آبیاری ۹۵ درصد ظرفیت زراعی با ۲۱۹/۰۸ برگ در بوته اختصاص داشت، در حالی که کمترین تعداد برگ در بوته مربوط به سطح آبیاری ۵۰ درصد ظرفیت زراعی با ۱۶۶ برگ در بوته بود (جدول ۳). استفاده از ترکیب اسید سالیسیلیک و سدیم نیتروپروساید سبب افزایش ۱۰/۰۷ درصدی تعداد برگ در بوته نسبت به شاهد گردید (جدول ۴). با ادامه پیدا کردن تنش خشکی، هورمون اتیلن افزایش می‌یابد و در نتیجه برگ‌ها به سرعت پیر شده و از بوته ریزش می‌کنند که این امر منجر به کاهش تعداد برگ در گیاه می‌شود (Taiz and Zeiger, 2010). در تحقیقی روی گیاه گوار نشان دادند که کاربرد اسید سالیسیلیک باعث کاهش عوارض ناشی از تنش خشکی شده و در نتیجه تعداد برگ در بوته را بهبود بخشید (Chamani *et al.*, 2018).

استفاده از نیتریک اکسید در سویا با افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی، تجمع اسمولیت‌های سازگار و جلوگیری از نشت یون، نتایج مفیدی را در پی داشت. در نتیجه با کاهش اثرات منفی تنش خشکی سبب رشد بهتر گیاه گردید (Rezayian *et al.*, 2020).

آنزیم پلی‌فنول اکسیداز (PPO)

بر اساس تجزیه و تحلیل واریانس مشخص شد که تأثیر سطوح مختلف آبیاری و تنظیم‌کننده رشد روی فعالیت آنزیم پلی فنول اکسیداز در سطح احتمال ۱ درصد معنادار است (جدول ۲). فعالیت آنزیم پلی‌فنول اکسیداز با افزایش سطح تنش خشکی افزایش یافت، به‌طوری‌که در سطوح ۷۵ و ۵۰ درصد ظرفیت زراعی، میزان فعالیت این آنزیم به ترتیب ۲۵ و ۵۰ درصد نسبت به سطح آبیاری ۹۵ درصد ظرفیت زراعی افزایش یافت (جدول ۳). همچنین، استفاده از تیمار محلول‌پاشی ترکیب اسید سالیسیلیک و سدیم نیتروپروساید، منجر به افزایش ۲۲/۲۲ درصدی فعالیت آنزیم پلی‌فنول اکسیداز در مقایسه با تیمار شاهد شد (جدول ۴). همزمان با افزایش تنش خشکی روزنه‌ها بسته می‌شوند، در نتیجه میزان جذب CO_2 کاهش پیدا می‌کند. این امر منجر به افزایش انرژی داخلی می‌شود و ظرفیت انتقال الکترون در فتوسنتز به سمت تجمع افزایش می‌یابد. این افزایش باعث افزایش غلظت گونه‌های اکسیژن فعال می‌شود که منجر به تخریب پروتئین‌ها و اکسیداسیون DNA و پراکسیداسیون لیپیدها می‌شود. در نتیجه، سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی به‌ویژه آنزیم پلی‌فنول اکسیداز فعال‌تر خواهد شد (Farahbakhsh and Pasandi Pour, 2018). تحقیقات نشان داده است که استفاده از اسید سالیسیلیک با کاهش نشت الکترولیت سبب حفاظت از ساختار غشای سلولی در برابر اکسیداسیون می‌شود. این امر نشان‌دهنده بهبود فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی (مانند آنزیم‌های پلی‌فنول اکسیداز و سوپر اکسید دیسموتاز) در برابر گونه‌های اکسیژن فعال می‌باشد (Khalvandi *et al.*, 2021). کاربرد نیتریک اکسید روی گیاهان سویا با تقویت سیستم آنتی اکسیدانی آنزیمی منجر به مهار رادیکال‌های آزاد و در نتیجه کاهش عوارض زیان‌بار ناشی از تنش خشکی بر گیاهان گردید (Rezayian *et al.*, 2020).

آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز (SOD)

تأثیر تنش خشکی در سطح احتمال ۱ درصد بر فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز به صورت معنادار مشاهده شد (جدول ۲). بیشترین فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز در سطح آبیاری ۵۰ درصد ظرفیت زراعی مشاهده شد، در حالی که کمترین فعالیت این آنزیم در سطح آبیاری ۹۵ درصد ظرفیت زراعی بود (جدول ۳). در یک تحقیق بر روی انواع مختلف سیب‌زمینی گزارش شده است که در شرایط تنش، عملکرد آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز (SOD) باعث کنترل تولید گونه‌های اکسیژن فعال از جمله اکسیژن مولکولی (O_2) و پراکسید هیدروژن (H_2O_2) می‌شود (Shi *et al.*, 2015).

جدول ۱- مختصات جغرافیایی و خصوصیات شیمیایی خاک محل انجام آزمایش

Table 1- Geographical coordinates and soil chemical characteristics of the experimental site

موقعیت Location	عرض جغرافیایی Latitude	طول جغرافیایی Longitude	بافت خاک Soil texture	نیتروژن N (%)	فسفر P (ppm)	پتاسیم K (ppm)	اسیدیته pH	هدایت الکتریکی EC (dS m^{-1})	مواد آلی SOM (%)
Qaleh Ganj, Kerman, Iran	27.52350880 N	57.87933420 E	Loam-sand	0.08	15.8	280	7.8	1.8	0.05

آنتوسیانین

مشاهده شد که میزان آنتوسیانین به طور معنادار تحت تأثیر تنش خشکی قرار گرفته است (جدول ۲). میزان آنتوسیانین در سطوح ۹۵ و ۷۵ درصد ظرفیت زراعی تغییر معنی‌داری نکرد، اما با افزایش شدت تنش خشکی از تنش متوسط به تنش شدید، میزان این صفت به نسبت ۳۳/۱۰ درصد افزایش یافت (جدول ۳). آنتوسیانین‌ها گروهی از فلاونوئیدهای محلول در آب هستند که به‌طور قابل توجهی در پاسخ به استرس‌های محیطی تجمع می‌یابند. این تجمع نشان‌دهنده این است که آنتوسیانین‌ها نقش‌های بیولوژیکی متنوعی در پاسخ به تنش‌های محیطی دارند (Chanoca *et al.*, 2015).

فنول کل

با استناد به نتایج تجزیه و تحلیل واریانس، مشخص شد که تنش خشکی و تنظیم‌کننده رشد بر میزان فنول تأثیر معنی‌داری داشتند (جدول ۲). با بالا رفتن شدت تنش خشکی میزان فنول افزایش یافت، به گونه‌ای که بیشترین میزان فنول مربوط به سطح آبیاری ۵۰ درصد ظرفیت زراعی بود و کمترین

میزان فنول مربوط به سطح آبیاری ۹۵ درصد ظرفیت زراعی بود (جدول ۳). استفاده از محلول‌پاشی ترکیب اسید سالیسیلیک و سدیم نیتروپروساید منجر به افزایش ۷/۱۸ درصدی میزان فنول شد (جدول ۴). یکی از مکانیسم‌های دفاعی غیر آنزیمی گیاهان در مقابل تنش اکسیداتیو برآمده از تنش خشکی، ترکیبات آنتی اکسیدانی نظیر فلاونوئیدها، آنتوسیانین‌ها و ترکیبات فنولی هستند. این ترکیبات به عنوان مهارکننده گونه‌های اکسیژن فعال عمل کرده و سبب ثبات غشاهای سلولی می‌شوند، از پراکسیداسیون لیپیدها ممانعت به عمل‌آورده و باعث ارتقای مقاومت گیاهان در برابر تنش اکسیداتیو می‌گردند (Izadi and Mirazi, 2021). کاربرد اسید سالیسیلیک موجب افزایش تجمع ترکیباتی نظیر فنول‌ها، پروتئین‌ها و دی‌ساکاریدها در برگ‌ها می‌شود، که این اقدام منجر به حفاظت گیاه در مقابل تنش می‌شود (Khan *et al.*, 2019). نتایج تحقیقات بر روی گیاه مرزنجوش نشان می‌دهد که استفاده از سدیم نیتروپروساید هنگام تنش خشکی سبب افزایش ترکیبات فنولی می‌شود (Farouk and Al-Huqail, 2020).

جدول ۲- نتایج تجزیه واریانس برای صفات مورفولوژیک و فیزیولوژیک گیاه حنا

Table 2- Results of Variance Analysis for morphological and physiological traits of the Henna plant

منابع تغییر SOV	درجه آزادی df	تعداد برگ در بوته Number of leaves per plant	آنزیم پلی فنول اکسیداز ppo ($\mu M\ min^{-1}\ mg^{-1}$ protein)	آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز SOD ($\mu M\ min^{-1}\ mg^{-1}$ protein)	فنل کل Total Phenolic (mg g^{-1} FW)	آنتوسیانین Anthocyanin ($\mu mol\ g^{-1}$ FW)	عملکرد بیولوژیک Biological yield (kg/ha)	عملکرد برگ Leaf yield (kg/ha)
بلوک Block	2	1.08	0.000009	0.03	0.07	0.001	2541229	1011225
تنش خشکی (a) Drought stress	2	8458.58**	0.003**	1.31**	10.06**	0.008*	24585231*	3492558.33**
خطای (الف) Error (a)	4	32.66	0.00001	0.014	0.077	0.0007	2791053.83	281758.33
تنظیم کننده رشد (ب) PGRs (b)	3	560.62**	0.0003**	0.009ns	0.23**	0.0001ns	480920*	33943.51**
اثر متقابل (الف ب) Interaction (a×b)	6	15.76ns	0.00001ns	0.004ns	0.06ns	0.0001ns	71334ns	7399.07ns
خطای (ب) Error (b)	18	36.91	0.00002	0.002	0.01	0.00002	169058	2236.11
ضریب تغییرات C.V. (%)		3.16	4.65	10.51	5.14	2.98	6.68	16.32

**،* و ns به ترتیب معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد و ۵ درصد و غیر معنی‌داری می‌باشند.

*, **, and ns are significant at 5% and 1% probability levels and non-significant, respectively.

عملکرد بیولوژیک

با توجه به نتایج به‌دست آمده از تجزیه و تحلیل واریانس داده‌ها، تأثیر تنش خشکی و تنظیم‌کننده رشد بر عملکرد بیولوژیک در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار گردید (جدول ۲). میزان عملکرد بیولوژیک در سطوح ۹۵ و ۷۵ درصد ظرفیت زراعی اختلاف معنی‌داری با یکدیگر نداشت اما تنش خشکی شدید منجر به کاهش ۴۵/۳۷ درصدی عملکرد بیولوژیک نسبت به تیمار شاهد گردید (جدول ۳).

کاربرد ترکیب اسید سالیسیلیک و سدیم نیتروپروساید سبب افزایش عملکرد بیولوژیک گردید اما تفاوت معنی‌داری با تیمارهای محلول پاشی با سدیم نیتروپروساید و اسید سالیسیلیک نداشت (جدول ۴). با توجه به کاهش طول دوره

رشـــد گیاه و پیری زودرس برگ هنگام وقوع تنش خشـــکی، ظرفیت فتوســـنتزی برگ کاهش می‌یابد که در نتیجه، عملکرد ماده خشـــک نیز کاهش می‌یابد (Shoushi Dezfuli *et al.*, 2022).

جدول ۳- مقایسه میانگین اثرات سطوح مختلف تنش خشکی بر خصوصیات مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی گیاه حنا

Table 3- Comparison of the Average Effects of Different Levels of Drought Stress on the Morphological and Physiological Characteristics of the Henna Plant.

تنش خشکی Drought stress	تعداد برگ در بوته Number of leaves per plant	آنزیم پلی فنول اکسیداز PPO (µM min^{-1} mg^{-1} protein)	آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز SOD (µM min^{-1} mg^{-1} protein)	فنل کل Phenolic (mg g^{-1} FW)	آنتوسیانین Anthocyanin (µmol g^{-1} FW)	عملکرد بیولوژیک Biological yield (kg/ha)	عملکرد برگ Leaf yield (kg/ha)
95 %FC	219.08a	0.08c	0.16c	4.76c	0.147b	7629.43a	3411.67a
75 % FC	191.42b	0.10b	0.45b	5.46b	0.145b	6052.18a	2945b
50 %FC	166c	0.12a	0.82a	6.57a	0.193a	4771.86b	2335.83c

در هر ستون میانگین‌هایی که دارای حروف مشترک هستند، بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد تفاوت معنی‌داری ندارند.

Means in each column followed by the same letter(s) are not significantly different at the 5% probability level, according to Duncan's test.

جدول ۴- تأثیر سطوح تنظیم کننده رشد روی صفات مورفولوژیک و فیزیولوژیک گیاه حنا.

Table 4- Effects of growth regulator levels on morphological and physiological traits of the Henna plant.

سطوح تنظیم کننده رشد PGRs	تعداد برگ در بوته Number of leaves per plant	آنزیم پلی فنول اکسیداز PPO (µM min^{-1} mg^{-1} protein)	فنل کل Total Phenolic (mg g^{-1} FW)	عملکرد بیولوژیک Biological yield (kg/ha)	عملکرد برگ Leaf yield (kg/ha)
Control	182c	0.09c	5.43b	5845.58b	2446.67b
SA	195.89b	0.10b	5.59b	6099.56ab	2895.56b
SNP	190.44ab	0.10b	5.55b	6314.18a	2863.33b
SA+SNP	200.33a	0.11a	5.82a	6345.30a	2984.44a

در هر ستون میانگین‌هایی که دارای حروف مشترک هستند، بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد تفاوت معنی‌داری ندارند.

Means in each column followed by the same letter(s) are not significantly different at the 5% probability level, according to Duncan's test..

کاربرد اســـید ســـالیســـیلیک موجب ازدیاد فعالیت آنتی اکســـیدانی در غشـــای ســـلولی می‌گردد، که این اقدام منجر به افزایش تجمع لیگنین در ســـاختار دیواره ســـلولی می‌گردد. این عمل احتمال دارد نقش مهمی در افزایش وزن ماده خشک گیاه در شـــرایط تنش کمبود آب ایفا نماید (Nasiri Kaleibar *et al.*, 2022). در مطالعه‌ای روی ذرت، نشان دادند که استفاده از اسید سالیسیلیک منجر به ازدیاد شاخص سطح برگ می‌شود. با افزایش شاخص سطح برگ دریافت نور خورشید بیشتر می‌شود و در نتیجـه، عملکرد بیولوژیـک ذرت افزایش پیـدا می‌کنـد (Tohidi and Falahi, 2016).

عملکرد برگ

نتایج تجزیه واریانس نشـــان داد که تأثیر تنش خشـــکی و تنظیم‌کننده رشـــد بر عملکرد برگ گیاه حنا در ســـطح احتمال یک درصـــد معنی‌دار بود (جدول ۲). بیشـــترین مقدار عملکرد برگ در ســـطح آبیاری ۹۵ درصـــد ظرفیت زراعی (۳۴۱۱/۶۷ کیلوگرم در هکتار) بـه‌دســـت آمـد. هم‌چنین کمترین مقـدار عملکرد برگ (۲۳۳۵/۸۳ کیلوگرم در هکتار) در ســـطح آبیاری ۵۰ درصد ظرفیت زراعی حاصل شـد (جدول ۳). کاربرد ترکیب اسید سالیسیلیک و سدیم نیتروپروساید سبب افزایش عملکرد برگ نسبت به سایر تیمارهای محلول پاشی گردید (جدول ۴). کاهش زیست توده در شرایط تنش خشکی شدید ممکن است ناشـی از تأثیرات چندگانه در زمینه‌های مختلف باشـد، از جمله تأثیرات بر رشـد و رویش گیاه، عملکرد سـیسـتم فتوسـنتزی، جذب عناصر غذایی، متابولیسـم نیتروژن و فشـار آماس سـلولی که به دلیل کاهش سـطح برگ ایجاد می‌گردند (Bandurska, 2022).

در آزمایشـی گلدانی با محلول‌پاشـی اسـید سـالیسـیلیک به

شـــاخ و برگ گیاهان گندم نتیجه گرفتند که به دلیل بهبود در تمام ویژگی‌های رشـــد از جمله ارتفاع گیاه، تعداد و مســـاحت برگ‌های سبز و قطر ساقه، عملکرد افزایش پیدا کرد (Hussein *et al.*, 2007). اســـتفاده از ســـدیم نیتروپروســـاید به طرز چشـــمگیری زیســـت توده گیاهان گندم تحت شـــرایط تنش را بهبود بخشید (Jabeen *et al.*, 2021).

نتیجه‌گیری

نتایج حاصـل از این پژوهش نشـان داد که تنش خشـکی بر متابولیســم گیاه حنا اثر منفی گذاشــته و منجر به کاهش تعداد برگ در بوته، عملکرد بیولوژیک و عملکرد برگ در هکتار شـده اسـت. تنش خشـکی همچنین سـبب افزایش فعالیت آنزیم‌های پلی‌فنول اکسـیداز و سـوپراکسـید دیسـموتاز شـد و میزان فنول و آنتوسیانین را افزایش داد. استفاده از ترکیب اسید سالیسیلیک و سـدیم نیتروپروسـاید سـبب افزایش تعداد برگ در بوته، فعالیت آنزیم‌های آنتی اکســـیدانی، میزان فنول، عملکرد بیولوژیک و عملکرد برگ گردید. کاربرد ترکیب اسـید سـالیسـیلیک و سـدیم نیتروپروساید باعث بهبود وضعیت برخی صفات اندازه‌گیری شده در گیاهان حنا تحت تنش خشکی شد که حاکی از مکانیسم‌های تاثیرگذاری آن‌ها در برابر تنش خشـــکی می‌باشـــد. در مجموع چنین می‌توان نتیجـه‌گیری کرد کـه کـاربرد ترکیـب اســـیـد سالیسیلیک و سدیم نیتروپروساید با حفاظت گیاه در برابر تنش اکسـیداتیو باعث بهبود رشـد و افزایش مقاومت به تنش خشـکی می‌گردند و در نهایت با توجه به ارزان و در دسـترس بودنشـان، اســـتفاده از این دو محرک رشـــد در مناطق خشـــک و کم آب توصیه می‌گردد.

References

Bandurska, H., 2022. Drought stress responses: Coping strategy and resistance. *Plants*, *11*(7), 922. https://doi.org/10.3390/plants11070922

Chamani, F., Tohidi Nejad, E. and Mohayeji, M., 2018. Effect of drought tension and salicylic acid on some morphophysiological and agronomic traits of guar (*Cyamopsis tetragonoloba* L.). *Crop Physiology Journal*, *10*(40), pp.5-18. [In Persian].

Chanoca, A., Kovinich, N., Burkel, B., Stecha, S., Bohorquez-Restrepo, A., Ueda, T., Eliceiri, K.W., Grotewold, E. and Otegui, M.S., 2015. Anthocyanin vacuolar inclusions form by a microautophagy mechanism. *Plant Cell*, *27*, pp.2545-2599. https://doi.org/10.1105/tpc.15.00589

Cheeseman, J., 2016. Food security in the face of salinity, drought, climate change, and population growth. In *Halophytes Food Security Dry Lands* (pp.111-123). https://doi.org/10.1016/b978-0-12-801854-5.00007-8

FAO., 2020. *The State of Food And Agriculture 2020: Overcoming Water Challenges in Agriculture.* FAO, Rome.

Farahbakhsh, H. and Pasandi Pour, A., 2018. Physiological response of henna, medicinal-industrial plant, to application of salicylic acid under drought stress. *Plant Process and Function*, *6*(19), pp.233-246. [In Persian]. http://dorl.net/dor/20.1001.1.23222727.1396.6.19.17.5

Farouk, S. and Al-Huqail, A.A., 2020. Sodium nitroprusside application regulates antioxidant capacity, improves phytopharmaceutical production and essential oil yield of marjoram herb under drought. *Industrial Crops and Products*, *158*. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2020.113034

Giannopolitis, C.N. and Ries, S.K., 1977. Superoxide dismutases: I. Occurrence in higher plants. *Plant Physiology*, *59*, pp.309-314. https://doi.org/10.1104/pp.59.2.309

Hassan, F.A.S. and Ali, E.F., 2014. Protective effects of 1-methylcyclopropene and salicylic acid on senescence regulation of gladiolus cut spikes. *Scientia Horticulturae (Amsterdam)*, *179*, pp.146-152. https://doi.org/10.1016/j.scienta.2014.09.025

Heidari, M. and Minaei, M., 2014. Effects of drought stress and humic acid application on flower yield and content of macro-elements in medical plant borage (*Borago officinalis* L.). *Journal of Plant Production Research, 21*(1), pp.167-182. [In Persian]. http://dorl.net/dor/20.1001.1.23222050.1393.21.1.9.9

Hussein, M.M., Balbaa, L.K. and Gaballah, M.S., 2007. Salicylic acid and salinity effects on growth of maize plants. *Research Journal of Agriculture and Biological Sciences, 3*, pp.321-328.

Izadi, Z. and Mirazi, N., 2021. Effect of foliar application of sodium nitroprusside on some morphological, physiological and biochemical properties of marigold plant (*Calendula officinalis* L.) under different irrigation regimes. *Plant Production Technology, 21*(1), pp.1-17. https://doi.org/10.22084/ppt.2021.22615.2018

Jabeen, Z., Fayyaz, H.A., Irshad, F., Hussain, N., Hassan, M.N., Li, J., Rehman, S., Haider, W., Yasmin, H., Mumtaz, S., Bukhari, S.A.H., Khalofah, A., Al-Qthanin, R.N. and Alsubeie, M.S., 2021. Sodium nitroprusside application improves morphological and physiological attributes of soybean (*Glycine max* L.) under salinity stress. *PLoS One, 16*(4), e0248207. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0248207

Karthik, S., Pavan, G., Krishnan, V., Sathish, S. and Manickavasagam, M., 2019. Sodium nitroprusside enhances regeneration and alleviates salinity stress in soybean [*Glycine max* (L.) Merrill]. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology, 19*, 101173.. https://doi.org/10.1016/j.bcab.2019.101173

Khalvandi, M., Siosemardeh, A., Roohi, E. and Keramati, S., 2021. Salicylic acid alleviated the effect of drought stress on photosynthetic characteristics and leaf protein pattern in winter wheat. *Heliyon, 7*. https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2021.e05908

Khan, N., Bano, A. and Babar, M.A., 2019. Metabolic and physiological changes induced by plant growth regulators and plant growth promoting rhizobacteria and their impact on drought tolerance in *Cicer arietinum* L. *PLoS One, 14*, 1-21. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0213040

Miura, K. and Tada, Y., 2014. Regulation of water, salinity, and cold stress responses by salicylic acid. *Frontiers in Plant Science, 5*. https://doi.org/10.3389/fpls.2014.00004

Nabaei, M. and Amooaghaie, R., 2019. Interactive effect of melatonin and sodium nitroprusside on seed germination and seedling growth of Catharanthus roseus under cadmium stress. *Russian Journal of Plant Physiology, 66*, pp.128-139. https://doi.org/10.1134/s1021443719010126

Nasiri Kaleibar, A., Salteh, S.A., Zaare Nahandi, F. and Adlipour, M., 2022. Salicylic acid and fulvic acid foliar application influence on growth, some physiological responses and essential oil content of *Thymus vulgaris* L. *Agricultural Science and Sustainable Production, 32*(4), pp.165-178. https://doi.org/10.22034/saps.2022.44931.2654

Raymond, J., Rakariyatham, N., Azanza, J.L., 1993. Purification and some properties of polyphenoloxidase from sunflower seeds. *Phytochemistry*. *34*(4), pp.927-931. https://doi.org/10.1016/s0031-9422(00)90689-7

Rezayian, M., Ebrahimzadeh, H. and Niknam, V., 2020. Nitric oxide stimulates antioxidant system and osmotic adjustment in soybean under drought stress. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition, 20*, pp.1122-1132. https://doi.org/10.1007/s42729-020-00198-x

Shi, S., Fan, M., Iwama, K., Li, F., Zhang, Z. and Jia, L., 2015. Physiological basis of drought tolerance in potato grown under long-term water deficiency. *International Journal of Plant Production*, *9*, pp.305-320.

Shoushi Dezfuli, A., Khoramian, M. and Assareh, A., 2022. Effect of drought stress on photosynthetic parameters, yield and yield components of tropical alfa alfa genotypes. *Plant Production*, *44*(4), pp.545-558. [In Persian]. https://doi.org/10.22055/ppd.2021.35110.1942

Su, Z., Hu, M., Gao, Z., Li, M., Yun, Z., Pan, Y., Zhang, Z. and Jiang, Y., 2019. Apple polyphenols delay senescence and maintain edible quality in litchi fruit during storage. *Postharvest Biology and Technology*, *157*, 110976. https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2019.110976

Taiz, L. and Zeiger, E., 2010. *Plant Physiology*. (5th ed.). Massachusetts: Sinauer Associates, Inc.

Tohidi, M. and Falahi, R., 2016. Evaluation of yield and yield components of maize by foliar application of salicylic acid. *Journal of Crop Ecophysiology*, *3*(39), pp.645-656. [In Persian]. https://sanad.iau.ir/en/article/956837

Wagner, G.J., 1979. Content and vacuole/extravacuole distribution of neutral sugars, free amino acids, and anthocyanin in protoplasts. *Plant Physiology*, *64*, pp.88-93. https://doi.org/10.1104/pp.64.1.88

Zafar, Z., Rasheed, F., Atif, R.M., Maqsood, M. and Gailing, O., 2021. Salicylic acid-induced morpho-physiological and biochemical changes triggered water deficit tolerance in *Syzygium cumini* L. saplings. *Forests*, *12(4)*, 491. https://doi.org/10.3390/f12040491