

اثر محلول پاشی برگی سدیم نیتروپروساید روی برخی از ویژگی‌های مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه همیشه‌بهار تحت رژیم‌های مختلف آبیاری

Effect of Foliar Application of Sodium Nitroprusside on some Morphological, Physiological and Biochemical Properties of Marigold Plant (*Calendula officinalis* L.) under Different Irrigation Regimes

زهرا ایزدی^{۱*} و ناصر میرازی^۲

تاریخ دریافت: ۹۹/۰۶/۳۱ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۱/۳۰
(مقاله پژوهشی)

چکیده

به منظور بررسی اثرات محلول پاشی برگی سدیم نیتروپروساید به عنوان یک تولیدکننده نیتریک اکسید روی برخی از ویژگی‌های مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه همیشه‌بهار (*Calendula officinalis* L.)، آزمایشی گلخانه‌ای تحت سه رژیم آبیاری به صورت فاکتوریل (دارای دو فاکتور) در قالب طرح کاملاً تصادفی و در سه تکرار انجام شد. فاکتور اول میزان آبیاری در سه سطح شامل ۱۰۰، ۶۵ و ۳۰ درصد ظرفیت زراعی و فاکتور دوم محلول پاشی برگی سدیم نیتروپروساید در غلظت‌های صفر (شاهد)، ۲۰۰ و ۴۰۰ میکرومولار بودند. نتایج نشان داد که بیش‌ترین وزن خشک ریشه و نسبت وزن خشک ریشه به بخش هوایی به ترتیب از تیمارهای شاهد و آبیاری در ۳۰ درصد ظرفیت زراعی حاصل شد. غلظت کلروفیل‌های a و کل در شرایط کمبود آب (۳۰ درصد ظرفیت زراعی) کاهش یافت، در حالی که درصد نشت الکترولیت‌ها از برگ افزایش نشان داد. بیش‌ترین میزان فنل از تیمار آبیاری در ۶۵ درصد ظرفیت زراعی به دست آمد. اثر محلول پاشی برگی سدیم نیتروپروساید بر صفات وزن خشک ریشه و میزان کلروفیل‌های a و کل معنی‌دار بود و این تأثیر در غلظت ۴۰۰ میکرومولار به حداکثر خود رسید. غلظت‌های ۲۰۰ و ۴۰۰ میکرومولار سدیم نیتروپروساید به همراه تیمار آبیاری در ۶۵ درصد ظرفیت زراعی، فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز را افزایش دادند. در تمامی تیمارهای آبیاری، محلول پاشی با ۲۰۰ میکرومولار سدیم نیتروپروساید موجب افزایش محتوای نسبی آب برگ گردید. غلظت ۴۰۰ میکرومولار سدیم نیتروپروساید به همراه تیمار آبیاری در ۳۰ درصد ظرفیت زراعی بیش‌ترین درصد اسانس را نشان داد. بر اساس نتایج به دست آمده، محلول پاشی برگی سدیم نیتروپروساید گیاه همیشه‌بهار را در شرایط کمبود آب محافظت کرد و باعث کاهش خسارت ناشی از آن گردید.

واژه‌های کلیدی: نیتریک اکسید، فنل، اسانس، نشت الکترولیت، فعالیت آنتی‌اکسیدانی

۱. استادیار، گروه علوم و مهندسی باغبانی، مجتمع آموزش عالی نهاوند، دانشگاه بوعلی‌سینا، همدان، ایران
۲. استاد، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه بوعلی‌سینا، همدان، ایران
*: نویسنده مسئول
Email: armaghan_iza_2004@yahoo.com

مقدمه

گیاه همیشه بهار یکی از گیاهان دارویی و زینتی مهم است که گیاهی علفی و یک ساله با ساقه‌ای منشعب می‌باشد. منشأ این گیاه نواحی مدیترانه‌ای گزارش شده و به خانواده کاسنی^۱ تعلق دارد (امیدبگی، ۱۳۹۲). یکی از هدف‌های کشت آن، استخراج مواد مؤثره موجود در گل‌ها و به‌ویژه در گلبرگ‌ها جهت تولید دارو می‌باشد (جان و جان^۲، ۲۰۱۷). از مواد مؤثره موجود در این گیاه می‌توان به فلاونوئیدها، گلیکوزیدها، کارتنوئیدها و همچنین اسانس‌های ترپنی اشاره کرد. گل‌های نارنجی و زرد رنگ این گیاه افزون بر مصرف خوراکی (به‌عنوان طعم‌دهنده و رنگ‌دهنده غذاهای مختلف)، در صنعت (به‌منظور تهیه رنگ‌های نقاشی) و در داروسازی (برای تهیه انواع کرم‌ها و لوسیون‌ها) کاربرد دارد (جیانگ و هوانگ^۳، ۲۰۰۱؛ باسکارن^۴، ۲۰۱۷؛ فاستینو^۵ و همکاران، ۲۰۱۷).

تنش خشکی یکی از مهم‌ترین عوامل اصلی محدودکننده تولیدات کشاورزی به‌شمار می‌رود که مانع رسیدن گیاه به حداکثر توان محصول‌دهی می‌گردد (سلمار و کلین‌واچر^۶، ۲۰۱۳). گزارش‌های زیادی مبنی بر تأثیر تنش کمبود آب^۷ (از تنش ملایم و کوتاه‌مدت تا تنش‌های شدید و طولانی‌مدت) در رابطه با مختل شدن فرایندهای فیزیولوژیکی گیاهان و تغییر در متابولیسم کربوهیدرات‌ها و نیتروژن، تغییر در ساختمان پروتئین‌ها و فعالیت آنزیم‌ها و تجمع پرولین وجود دارد و این تغییرات فیزیولوژیکی در نهایت به تغییرات مورفولوژیکی در برگ، شاخساره و ارتفاع گیاه منجر می‌گردد (کافی و همکاران، ۱۳۸۸). رضائی و همکاران (۱۳۹۷) گزارش نمودند که تنش آبی روی کلیه پارامترهای رشد در همیشه‌بهار تأثیر داشت و با کاهش میزان آب خاک، ارتفاع بوته، قطر ساقه، تعداد و سطح برگ کاهش یافت. تنش کمبود آب از جمله تنش‌های محیطی است که افزون بر رشد رویشی و تغییر در ساختارهای بیرونی گیاه با ایجاد تنش ثانویه مانند تنش اکسیداتیو سبب تغییر در مسیرهای ساخت ترکیب‌ها و متابولیت‌های ثانویه می‌گردد (غریبی^۸ و همکاران، ۲۰۱۶). بسته شدن روزنه‌ها طی تنش کمبود آب معمولاً تثبیت دی‌اکسیدکربن را کاهش داده، زنجیره انتقال الکترون را مختل می‌سازد و باعث تولید مقادیر زیادی از گونه‌های واکنشگر اکسیژن^۹ در کلروپلاست و

میتوکندری می‌گردد. گونه‌های واکنشگر اکسیژن از طریق صدمه اکسیداتیو به لیپیدهای غشاء، پروتئین‌ها، اسیدهای نوکلئیک، رنگیزه‌ها و آنزیم‌های فتوسنتزی متابولیسم عادی سلول و گیاه را مختل می‌سازند (فاروق^{۱۰} و همکاران، ۲۰۰۹). گیاه با استفاده از مکانیسم‌های آنتی‌اکسیدانی آنزیمی و غیرآنزیمی می‌تواند غلظت گونه‌های واکنشگر اکسیژن را کاهش دهد و از این طریق از اثرات مخرب آن بکاهد. دستگاه دفاعی آنتی‌اکسیدانی شامل آنزیم‌های مختلف و آنتی‌اکسیدان‌های غیرآنزیمی شامل فلاونوئیدها، آنتوسیانین‌ها و سایر ترکیب‌های فنلی، آسکوربات، آلفا-توکوفرول و بتا-کاروتن است (خانپور اردستانی^{۱۱} و همکاران، ۲۰۱۳؛ قربان‌پور^{۱۲} و همکاران، ۲۰۱۳).

اخیراً استفاده از مولکول‌های پیام‌رسان مانند نیتریک اکسید^{۱۳} به‌منظور کاهش اثرهای تنش کمبود آب و سایر تنش‌های غیرزیستی رایج شده است. نیتریک اکسید یک مولکول گازی نسبتاً پایدار کوچک و به‌عنوان یک مولکول پیام‌رسان زیستی مهم ارزان و بدون تأثیر سوء زیست محیطی در گیاهان گزارش شده است (میسرا^{۱۴} و همکاران، ۲۰۱۱). شبکه اندوپلاسمی به عنوان منبع اصلی سنتز درونی نیتریک اکسید شناخته شده‌اند (مگدی^{۱۵} و همکاران، ۲۰۱۲). ماده مذکور عامل پیام‌رسان در پاسخ به عوامل تنش‌زا است. تنش‌های محیطی تحت تأثیر پذیرنده‌های غشایی سلول دریافت می‌شوند که باعث ارسال پیامبرهای ثانویه و بدنبال بروز پاسخ‌های دفاعی صورت می‌گیرد از ویژگی‌های مولکول‌های پیامبر ثانویه، ساختار ساده، قطر کوچک و قدرت انتشار بالاست که در نیتریک اکسید مشاهده شده است (نیک روش، ۱۳۹۵). نیتریک اکسید تنظیم خیلی از فرایندهای فیزیولوژیکی گیاه از تحریک جوانه زنی تا تنظیم فتوسنتز و گل‌دهی وارد عمل می‌شود (تان^{۱۶} و همکاران، ۲۰۰۸). در تحقیقات آزمایشگاهی به‌ندرت از گاز نیتریک اکسید استفاده می‌شود و معمولاً ترکیبات رهاکننده‌ای به‌کار می‌روند که بعد از عبور از غشاء در داخل سلول نیتریک اکسید تولید کند. یکی از متداول‌ترین ترکیبات رهاکننده نیتریک اکسید، سدیم نیتروپروساید^{۱۷} است. در پژوهشی که روی کدوی تخم کاغذی^{۱۸} تحت شرایط کم آبیاری انجام شد، مشخص گردید که کاربرد سدیم نیتروپروساید توانست اثرات منفی خشکی را کاهش دهد، به‌طوری‌که محتوی نسبی آب

10. Farooq
11. Khanpour Ardestani
12. Ghorbanpour
13. Nitric oxide
14. Misra
15. Magdy
16. Tan
17. Sodium nitroprusside
18. *Cucurbita pepo* L.

1. Asteraceae
2. Jan and John
3. Jiang and Huang
4. Baskaran
5. Faustino
6. Selmar and Kleinwachter
7. Water deficit stress
8. Gharibi
9. Reactive Oxygen Species

۲/۵ سانتی‌متری از هم کاشته شدند. آبیاری با آب معمولی انجام می‌شد و بعد از سبز شدن، در طی چندین مرحله بوته‌ها تنک شدند و درون هر گلدان پنج بوته نگهداری شد. برای هر واحد آزمایشی ۹ گلدان در نظر گرفته و در مجموع ۸۱ گلدان برای کشت استفاده شد. اعمال تیمارهای تنش بر اساس روش وزنی انجام شد که قبل از آن باید ظرفیت زراعی را محاسبه نمود. برای به‌دست آوردن ظرفیت زراعی ابتدا سه گلدان از خاک خشک پر و وزن اولیه آن‌ها یادداشت گردید. سپس با افزودن آب، خاک هر گلدان به درجه اشباع رسانده شد. روی گلدان‌ها با پلاستیک پوشانده شد تا تبخیر انجام نشود و به‌مدت ۴۸ ساعت جهت خروج کامل آب از گلدان‌ها تحت نیروی ثقل، روی سطح مشبک قرار داده و سپس وزن ثانویه گلدان‌ها تعیین گردید. با محاسبه اختلاف وزن اولیه و ثانویه گلدان‌ها، ظرفیت زراعی محاسبه گردید. تا ۴۰ روز پس از کاشت (مرحله ۴ تا ۶ برگی شدن بوته‌ها)، گلدان‌ها به‌صورت یکسان آبیاری شدند و بعد از این مرحله برای تعیین تیمارهای آبیاری به‌طور روزانه رطوبت از هر کدام از گلدان‌ها اندازه‌گیری و تیمارهایی که درصد وزنی رطوبت خاک به درصد موردنظر می‌رسید، آبیاری صورت گرفت. سدیم نیتروپروساید طی هشت مرحله به‌صورت هفتگی و به‌صورت اسپری بر روی گیاهان محلول‌پاشی شد (مقادیر ۰/۰۵۹ و ۰/۱۱۹ گرم در لیتر). در مورد گیاهان شاهد، برگ‌های گیاهان با آب مقطر محلول‌پاشی شدند.

در پایان آزمایش (بعد از گذشت هشت هفته از اعمال تیمارها)، صفات مرفولوژیکی (ارتفاع بوته، تعداد شاخه جانبی، تعداد برگ و گل‌های باز شده در بوته و وزن تر و خشک ریشه و اندام هوایی)، فیزیولوژیکی (محتوای نسبی آب برگ) و بیوشیمیایی (غلظت رنگیزه‌ها، نشت الکترولیت‌های برگ^۴، میزان غلظت فنل برگ، فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز و درصد اسانس) اندازه‌گیری شد و در نهایت تجزیه آماری داده‌ها به‌وسیله نرم‌افزار SAS نسخه ۹/۲ صورت گرفت. تبدیل درصد اسانس سر شاخه‌های گلدان به توزیع نرمال با استفاده از رابطه $\text{Arc sin } \sqrt{x}$ انجام شد و جهت مقایسه میانگین‌ها از آزمون چنددامنه‌ای دانکن استفاده شد. رسم نمودارها نیز با کمک نرم‌افزار Excel صورت گرفت.

وزن تر و خشک ریشه و اندام هوایی و نسبت وزن خشک

ریشه به بخش هوایی

پس از خارج کردن گیاهان از گلدان‌ها، ریشه‌ها و اندام‌های هوایی از هم جدا و وزن تر ریشه‌ها اندازه‌گیری شد، سپس نمونه‌های مورد استفاده برای تعیین وزن خشک در دمای ۷۰

برگ‌ها، میزان کلروفیل، پرولین و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان را در شرایط تنش کمبود آب افزایش و میزان نشت یونی سلول‌ها را کاهش داد (یدالهی و اصغرپور^۱، ۲۰۱۴). همچنین کاربرد این ماده در گل جعفری^۲ در شرایط تنش کمبود آب باعث افزایش رشد ریشه و مقدار کلروفیل‌های a و b گردید (وی بیائو^۳ و همکاران، ۲۰۱۲).

محدودیت منابع آب به‌دلیل موقعیت جغرافیایی و اقلیم کشور ایران از یک‌سو و رشد روزافزون جمعیت و نیاز آن به محصولات کشاورزی از سوی دیگر، مسئله کم‌آبی و بحران آب را به گونه‌ای بسیار جدی فراروی کشور قرار داده است. بنابراین، بررسی امکان کشت گیاهان دارویی در مناطق مختلف کشور که با کمبود بارش مواجه هستند، از اهمیت خاصی برخوردار است. همچنین به‌منظور کاهش اثرهای زیانبار تنش کمبود آب می‌توان از موادی همانند سدیم نیتروپروساید استفاده نمود که در مورد اثر این ماده روی همیشه‌بهار در شرایط کمبود آب اطلاعاتی وجود ندارد. از این رو این پژوهش با هدف ارزیابی اثرات سدیم نیتروپروساید به‌عنوان ترکیب آزادکننده نیتریک اکسید بر برخی ویژگی‌های مرفولوژیکی، فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه همیشه‌بهار تحت رژیم‌های مختلف آبیاری انجام گردید.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در سال ۱۳۹۸ در گلخانه تحقیقاتی گروه علوم و مهندسی باغبانی دانشگاه نهاوند به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی در سه تکرار اجرا شد. تیمارهای آزمایش شامل میزان آبیاری در سه سطح شامل ۱۰۰، ۶۵ و ۳۰ درصد ظرفیت زراعی و محلول‌پاشی برگ سدیم نیتروپروساید در غلظت‌های صفر (شاهد)، ۲۰۰ و ۴۰۰ میکرومولار بودند. برای انجام این آزمایش، بذر همیشه‌بهار (رقم کم پر، سال تولید ۱۳۹۶) از شرکت پاکان بذر اصفهان با درجه خلوص ۹۵ و قوه نامیه ۹۸ درصد تهیه شد و سدیم نیتروپروساید (به‌صورت پودر با درجه خلوص ۱۰۰ درصد و اندازه بسته ۱۰۰ گرم) از شرکت سیگما خریداری گردید. محیط کشت شامل مخلوط دو قسمت خاک، یک قسمت ماسه و یک قسمت کود دامی پوسیده بود و با استفاده از ترازو به‌صورت هم وزن در گلدان‌هایی به ارتفاع ۲۰ و قطر دهانه ۲۰ سانتی‌متر ریخته شد. جهت زهکشی در کف هر گلدان نیز به مقدار مساوی سنگریزه استفاده گردید. بذرها در گلدان‌ها به فاصله

1. Yadollahi and Asgharpour
2. *Tagetes minuta* L.
3. Wei-Biao

در این فرمول‌ها Chl_a ، Chl_b ، A ، V و W به ترتیب غلظت کلروفیل‌های a ، b ، میزان جذب محلول، حجم نهایی محلول و وزن تر نمونه گیاهی است.

نشت الکترولیت‌های برگ

برای تعیین درصد نشت الکترولیت، ۱۰۰ میلی‌گرم برگ درون ویال‌های شیشه‌ای حاوی ۲۰ میلی‌لیتر آب مقطر ریخته و درب آن‌ها کاملاً بسته شد و پس از ۲۴ ساعت در دمای آزمایشگاه میزان نشت اولیه (EL_1) با دستگاه هدایت‌سنج (JENWAY 4510) تعیین شد و همین نمونه‌ها به مدت یک ساعت درون آب جوش قرار گرفتند و میزان نشت نهایی آن‌ها (EL_2) نیز تعیین گردید و آنگاه با استفاده از معادله ۴ درصد نشت محاسبه گردید (ولنتوویک^۳ و همکاران، ۲۰۰۶).

$$\%EL = (EL_1 / EL_2) \times 100 \quad \text{رابطه ۴:}$$

میزان غلظت فنل برگ

به منظور تهیه عصاره متانولی جهت اندازه‌گیری غلظت فنل برگ، یک گرم از برگ خشک جدا شد و سپس ۱۰ میلی‌لیتر متانول ۸۰ درصد به آن اضافه گردید و به مدت ۲۴ ساعت روی شیکر قرار داده و از کاغذ صافی عبور داده شد (شهاب^۴ و همکاران، ۲۰۱۰).

برای تعیین غلظت فنل نمونه‌ها مقدار ۴۰۰ میکرولیتر از عصاره درون لوله آزمایش درب‌دار ریخته شده و پس از افزودن سه میلی‌لیتر معرف فولین سیوکالتو (رقیق شده با آب به نسبت ۱:۱۰)، در بن ماری با دمای ۲۲ درجه سانتی‌گراد به مدت پنج دقیقه قرار داده شد. سپس به آن سه میلی‌لیتر محلول بی کربنات سدیم شش درصد افزوده و مجدداً در بن ماری با دمای ۲۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۹۰ دقیقه قرار داده شد. پس از گذشت این زمان، جذب نمونه‌ها توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۷۲۵ نانومتر در مقابل بلانک آب اندازه‌گیری شد. شایان ذکر است که بلانک نیز مانند نمونه تهیه شد با این تفاوت که به جای عصاره، ۴۰۰ میکرولیتر آب مقطر درون لوله آزمایش ریخته شد. این روش روی هر یک از محلول‌های استاندارد اسید گالیک با غلظت‌های ۰/۰۲۵، ۰/۰۵، ۰/۱، ۰/۲۵ و ۰/۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر نیز انجام شد و منحنی کالیبراسیون در برابر جذب رسم گردید. اعداد جذب به دست آمده از اسپکتروفتومتر را در رابطه ۵ قرار داده و میزان غلظت

درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت در آن خشک شدند. نسبت ریشه به بخش هوایی نیز از تقسیم وزن خشک ریشه به بخش هوایی حاصل شد.

محتوای نسبی آب برگ

اندازه‌گیری محتوای نسبی آب برگ بر اساس روش ریتچی و آرنون^۱ (۱۹۹۰) با استفاده از پنج برگ از پنج بوته تصادفی (بالاترین برگ کاملاً توسعه یافته) تعیین شد. در آزمایشگاه، قطعاتی از برگ (از قسمت میانی پهنک و بدون رگبرگ اصلی) انتخاب و وزن تر آن‌ها با ترازو با دقت ۰/۰۱ گرم تعیین گردید. به منظور تعیین وزن برگ در حالت تورژسانس، قطعات برگ به مدت ۲۴ ساعت در دمای چهار درجه سانتی‌گراد در تاریکی در داخل آب مقطر قرار گرفتند تا سلول‌های داخل برگ آب جذب نموده و به حالت تورژسانس درآیند. سپس، قطعات آماس یافته با احتیاط کامل دوباره وزن شدند. به دنبال آن، برگ‌ها در دمای ۷۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت خشک شده و وزن خشک آن‌ها نیز اندازه‌گیری شد و در نهایت محتوای نسبی آب برگ (برحسب درصد) با استفاده از رابطه ۱ به دست آمد.

$$\%RWC = (Fw - Dw) / (Tw - Dw) \times 100 \quad \text{رابطه ۱:}$$

که Fw ، Dw و Tw به ترتیب وزن تر برگ، وزن خشک برگ و وزن برگ در حالت تورژسانس می‌باشد.

غلظت رنگیزه‌ها

مقادیر کلروفیل‌های a ، b و کل طبق روش گزارش شده توسط آرنون^۲ (۱۹۴۹) صورت گرفت. برای این منظور ۰/۱۲۵ گرم بافت برگ تازه با ۱۰ میلی‌لیتر استون ۸۰٪ و ۰/۱ گرم کربنات کلسیم ($CaCO_3$) در یک هاون چینی ساییده شد تا به صورت توده یکنواختی درآمد. پس از سانتریفیوژ کردن عصاره حاصل، محلول رویی برداشته شد و جذب نور توسط آن در طول موج-های ۶۶۳ نانومتر (حداکثر جذب نور کلروفیل a) و ۶۴۵ نانومتر (حداکثر جذب نور کلروفیل b) توسط دستگاه اسپکتروفتومتر Varian، مدل CARY-100 و با استفاده از استون ۸۰٪ به عنوان blank قرائت گردید و مقدار کلروفیل‌های a و b بر اساس روابط زیر برحسب میلی‌گرم در گرم وزن تر محاسبه گردید.

$$Chl_a \text{ (mg/g.F.w)} = [(12.7 \times A_{663}) - (2.69 \times A_{645})] \times V / (1000 \times W) \quad \text{رابطه ۲:}$$

$$Chl_b \text{ (mg/g.F.w)} = [(22.9 \times A_{645}) - (4.69 \times A_{663})] \times V / (1000 \times W) \quad \text{رابطه ۳:}$$

زراعی به همراه غلظت ۴۰۰ میکرومولار غلظت‌های مؤثرتری برای افزایش هر دو صفت بودند (جدول ۲). کاهش ارتفاع، نشان‌دهنده کاهش تقسیم و رشد سلولی این گیاه می‌باشد. علت کاهش ارتفاع با افزایش میزان محدودیت آب، کاهش فشار تورژسانس و متعاقب آن کاهش تقسیم و بزرگ شدن سلولی در شرایط کمبود آب می‌باشد (اسماعیل پور^۶ و همکاران، ۲۰۱۳). در شرایط تنش کمبود آب، جذب مواد غذایی موجود در خاک کاهش یافته و رشد و نمو برگ‌ها محدود می‌شود. از این رو با کاهش سطح برگ، جذب نور نیز کاهش یافته و ظرفیت فتوسنتزی کل کاهش می‌یابد. به دنبال کاهش تولید فرآورده‌های فتوسنتزی در شرایط کمبود آب، رشد گیاه کاهش می‌یابد (سچین^۷ و همکاران، ۲۰۱۵). کاربرد سدیم نیتروپروساید در شرایط کمبود آب توانست اثرهای نامطلوب تیمار آبیاری در ۳۰ درصد ظرفیت زراعی را به صورت معنی‌داری کاهش دهد. نتایج این تحقیق با نتایج محمدی و همکاران (۱۳۹۶) روی چچم و آمون^۸ و همکاران (۲۰۱۴) در همیشه‌بهار مطابقت دارد. سدیم نیتروپروساید با جلوگیری از تخریب سبزینه، پیری برگ‌ها را به تأخیر می‌اندازد و احتمالاً با طولانی کردن دوره فتوسنتزی سبب افزایش وزن خشک اندام هوایی می‌گردد (سچین و همکاران، ۲۰۱۵).

تعداد شاخه جانبی، برگ و گل

همان‌گونه که در جدول ۱ مشاهده می‌شود، اثر رژیم آبیاری و محلول‌پاشی برگی سدیم نیتروپروساید و اثر متقابل آن دو بر تعداد شاخه جانبی، برگ و گل در بوته همیشه‌بهار در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. مقایسه میانگین اثر متقابل آبیاری و محلول‌پاشی سدیم نیتروپروساید (جدول ۲) نشان داد که بیش‌ترین تعداد شاخه جانبی (۵/۷۴ عدد)، برگ (۳۲/۶۴ عدد) و گل (۸/۴۷ عدد) در گیاهان شاهد و محلول‌پاشی شده با غلظت ۲۰۰ میکرومولار از سدیم نیتروپروساید حاصل شد. با افزایش شدت کمبود آب تعداد شاخه جانبی، برگ و گل کاسته شد. تیمار آبیاری در ۳۰ درصد ظرفیت زراعی و غلظت صفر سدیم نیتروپروساید تعداد شاخه جانبی، برگ و گل را در مقایسه با تیمار شاهد و محلول‌پاشی شده با غلظت ۲۰۰ میکرومولار از سدیم نیتروپروساید به ترتیب برابر ۷۶/۱۰، ۸۰/۹۷ و ۸۵/۴۷ درصد کاهش داد (جدول ۲).

در هر سه سطح آبیاری، تیمار سدیم نیتروپروساید در غلظت ۲۰۰ میکرومولار سبب بیش‌ترین تعداد شاخه جانبی، برگ و

فنل موجود در نمونه‌ها برحسب میلی‌گرم اسید گالیک در گرم نمونه خشک محاسبه گردید (رضایی^۱ و همکاران، ۲۰۱۹).

$$Y = 0.0042x + 0.009 \quad R^2 = 98.2$$

رابطه ۵:

فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان

فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز به روش اسپکتروفتومتری و بر اساس قابلیت بازدارندگی آن از احیای فتوشیمیایی نیترو بلو تترازولیوم (NBT)^۲ در طول موج ۵۶۰ نانومتر اندازه‌گیری گردید (بیچامپ و فریدوویچ^۳، ۱۹۷۱). فعالیت آنزیم کاتالاز طبق روش اسپکتروفتومتری ارائه شده توسط دهیندز^۴ و همکاران (۱۹۸۱) و بر اساس میزان ناپدید شدن آب اکسیژنه (H₂O₂) در طول موج ۲۴۰ نانومتر اندازه‌گیری شد.

درصد اسانس

برای استخراج و اندازه‌گیری اسانس، سرشاخه‌های گلدار بوته‌ها در مرحله گل‌دهی کامل برداشت شدند و در دمای اتاق (حدود ۲۵ درجه سانتی‌گراد) و در سایه خشک گردیدند. سپس، از هر نمونه خشک شده ۱۵۰ گرم آسیاب شده و برای کاهش تلفات اسانس، بلافاصله با روش تقطیر با آب و دستگاه کلونجر اسانس‌گیری انجام شد (فاستینو^۵ و همکاران، ۲۰۱۷).

نتایج و بحث

ارتفاع و وزن خشک بخش هوایی بوته

نتایج جدول تجزیه واریانس نشان داد که تأثیر رژیم آبیاری، محلول‌پاشی برگی سدیم نیتروپروساید و اثر متقابل آن‌ها بر ارتفاع و وزن خشک بخش هوایی بوته در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۱). بیش‌ترین ارتفاع (۳۱/۱۲ سانتی‌متر) و وزن خشک بخش هوایی بوته (۱۱/۳۶ گرم) از تیمار شاهد و محلول‌پاشی شده با غلظت ۲۰۰ میکرومولار سدیم نیتروپروساید حاصل گردید، درحالی‌که کم‌ترین مقادیر این دو صفت مربوط به تیمار آبیاری در ۳۰ درصد ظرفیت زراعی و گیاهان شاهد (اسپری با آب مقطر) به ترتیب با میانگین‌های ۱۰/۲۶ سانتی‌متر و ۳/۹۴ گرم مشاهده شد (جدول ۲). هم‌چنین مشخص گردید با افزایش میزان تنش کمبود آب غلظت‌های بیش‌تر سدیم نیتروپروساید مؤثر بودند، به طوری که تیمار آبیاری در ۶۵ درصد ظرفیت زراعی به همراه غلظت ۲۰۰ میکرومولار و تیمار آبیاری در ۳۰ درصد ظرفیت

1. Rezaei
2. Nitrobluetetrazolium (NBT)
3. Beauchamp and Fridovich
4. Dhindsa
5. Faustino

6. Esmailpour
7. Cechin
8. Amoon

بیشترین وزن خشک ریشه با میانگین ۲/۷۱ گرم در بوته متعلق به تیمار شاهد بود. تیمار آبیاری در ۳۰ درصد ظرفیت زراعی کمترین وزن خشک ریشه را داشت (شکل ۱).

همچنین نتایج نشان داد که سدیم نیتروپروساید باعث افزایش وزن تر و خشک ریشه گردید، اگرچه تفاوت معنی داری بین غلظت‌های ۲۰۰ و ۴۰۰ میکرومولار سدیم نیتروپروساید مشاهده نگردید (شکل ۲).

گسترش ریشه علاوه بر وجود رطوبت و اکسیژن کافی در خاک، به تأمین مواد فتوسنتزی که به‌طور روزانه توسط اندام‌های هوایی ساخته می‌شود، نیز بستگی دارد (تایز و زایگر^۴، ۲۰۰۶). بخشی از کاهش رشد به دلیل مصرف انرژی بیشتر جهت هیدرولیز کربوهیدرات‌ها و بخش دیگر کاهش، از نرخ فتوسنتز و سطح برگ نشأت می‌گیرد (عرب و همکاران، ۱۳۹۴). فاروق و همکاران (۲۰۰۹) نیز کاهش وزن تر و خشک ریشه را در اثر کمبود آب گزارش کردند. این محققان در آزمایش‌های خود به این نتیجه رسیدند که وجود رطوبت مناسب و کافی رشد ریشه را افزایش داد و با فاصله از مقدار بهینه رطوبت، رشد ریشه کاهش یافت.

از لحاظ نسبت وزن خشک ریشه به بخش هوایی تیمارهای آبیاری در دو گروه جداگانه قرار گرفتند، بیشترین نسبت وزن خشک ریشه به بخش هوایی متعلق به تیمار آبیاری در ۳۰ درصد ظرفیت زراعی و کمترین مقدار آن متعلق به تیمارهای شاهد و آبیاری در ۶۵ درصد ظرفیت زراعی بود. بنابراین نتایج نشان داد که گیاه همیشه‌بهار با تشدید شرایط کم آبی، مواد فتوسنتزی بیشتری به ریشه‌ها می‌فرستد و باعث رشد بیشتر ریشه‌ها نسبت به بخش هوایی می‌گردد و این یکی از راه‌های عبور از بحران تنش کمبود آب به حساب می‌آید. تحقیقات نشان داده است که در شرایط کمبود آب، نسبت وزن خشک ریشه به بخش هوایی افزایش می‌یابد (قربانلی و همکاران، ۱۳۹۰). این افزایش می‌تواند دلالت بر این داشته باشد که در شرایط کمبود آب، رشد ریشه‌ها نسبت به بخش هوایی کم‌تر تحت تأثیر قرار می‌گیرد و تحت این شرایط مواد فتوسنتزی بیشتری به ریشه‌ها اختصاص داده می‌شود. این مسئله می‌تواند به دلیل حساسیت کم‌تر ریشه‌ها نسبت به ABA باشد. بنابراین برخی گیاهان در پاسخ به تنش کمبود آب، میزان جذب آب را از طریق حفظ نسبی رشد ریشه و افزایش نسبت ریشه به بخش هوایی، افزایش داده و از این طریق آب قابل دسترس بیشتری در اختیار گیاه قرار می‌دهند.

گل‌گردید. احتمالاً تأثیر مثبت سدیم نیتروپروساید مربوط به کاهش ازدست رفتن آب است که منجر به حفظ تعادل آبی در گیاهانی که با این ماده تیمار شده‌اند، می‌گردد و از این طریق سبب بهبود رشد همیشه‌بهار می‌شود (خان^۱ و همکاران، ۲۰۲۰). شاخه‌دهی زیاد تحت شرایط کمبود آب به علت مصرف بیهوده رطوبت خاک، یک صفت نامطلوب می‌باشد. خان و همکاران (۲۰۲۰) میزان شاخه‌دهی در گیاه باقلا^۲ را تحت شرایط تنش کمبود آب بررسی کردند، آن‌ها گزارش نمودند که با افزایش کمبود آب میزان شاخه‌دهی کاهش یافت و این کاهش را به‌عنوان یک ساز و کار سازگاری در نظر گرفتند که به وسیله آن، گیاه تلاش می‌کند تا آب را برای مراحل بحرانی‌تر نمو نظیر مرحله گل‌دهی حفظ نماید. بنابراین در این تحقیق نیز کاهش تعداد شاخه جانبی در تیمارهای آبیاری در ۶۵ و ۳۰ درصد ظرفیت زراعی را شاید بتوان به‌عنوان یک ساز و کار سازگاری برای گیاه همیشه‌بهار نیز در نظر گرفت.

یکی از راهکارهای گیاه در زمان وقوع کمبود آب، کاهش سطح تعرق می‌باشد. برگ به‌عنوان واحد فتوسنتزی نقش ویژه‌ای در گیاه دارد. گیاهان با تعداد برگ بیشتر در شرایط تنش توان فتوسنتزی بالاتری دارند، اما در این شرایط این موضوع با تعرق بیشتر گیاه در تقابل است. از این‌رو، باید بین کاهش میزان تعرق و سطح بحرانی برگ به‌منظور فتوسنتز تعادل پایداری وجود داشته باشد. زمانی که این تعادل حاصل نمی‌شود، مزیت کاهش تعرق به‌وسیله عدم دسترسی کافی به مواد جذب‌شونده از بین می‌رود (کافی و همکاران، ۱۳۸۸). زنگانی^۳ و همکاران در سال ۲۰۱۸ در گیاه خارمریم گزارش کردند که تحت شرایط کمبود آب تعداد گل در این گیاه کاهش یافت، علت آن کاهش ماده فتوسنتزی به‌علت کاهش سطح برگ و انتقال کم‌تر ماده‌ی آسیمیلایونی به سمت گل‌ها، گزارش شد.

خصوصیات ریشه (وزن تر و خشک و نسبت وزن خشک ریشه به بخش هوایی)

براساس نتایج به‌دست‌آمده اثر رژیم آبیاری و محلول پاشی برگی سدیم نیتروپروساید بر وزن تر و خشک ریشه در سطح احتمال یک درصد و اثر رژیم آبیاری بر نسبت وزن خشک ریشه به بخش هوایی همیشه‌بهار در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار شدند (جدول ۱). تیمارهای شاهد و آبیاری در ۶۵ درصد ظرفیت زراعی بیشترین وزن تر ریشه را داشتند (شکل ۱).

1. Khan
2. *Vicia faba* L.
3. Zangani

4. Taiz and Zeiger

محتوای نسبی آب برگ

مشاهده نگردید (شکل ۳). هم‌چنین بیش‌ترین میزان کلروفیل‌های *a* و کل به‌ترتیب با میانگین‌های ۳/۹۸ و ۶/۷۹ میلی‌گرم بر گرم وزن تر در هنگام استفاده از ۴۰۰ میکرومولار سدیم نیتروپروساید و کم‌ترین مقدار آن‌ها در گیاهانی که تحت غلظت صفر سدیم‌نیتروپروساید قرار گرفتند، حاصل گردید (شکل ۴).

کاهش محتوای کلروفیل تحت شرایط کمبود آب در بسیاری از گیاهان گزارش شده است (صالحی^۵ و همکاران، ۲۰۱۶؛ شرفی^۶ و همکاران، ۲۰۱۸). کمبود آب منجر به پیری زودرس برگ، تخریب کلروپلاست و اکسیداسیون نوری می‌شود. گونه‌های واکنشگر اکسیژن با افزایش فعالیت آنزیم کلروفیل‌از سبب ایجاد تنش اکسیداتیو لیپیدها و پروتئین‌های کلروپلاست می‌گردند، هم‌چنین مشخص شده است که کمبود آب از طریق افزایش غلظت تنظیم‌کننده‌های رشد مانند اسید آبسزیک و اتیلن نیز می‌تواند باعث تحریک آنزیم کلروفیل‌از شود و در نهایت تجزیه کلروفیل را ایجاد کند (کشاورز/افشار^۷ و همکاران، ۲۰۱۶). کایا^۸ و همکاران (۲۰۱۹) گزارش کردند که سدیم نیتروپروساید به‌عنوان تنظیم‌کننده رشد و نمو گیاهی با کاهش تولید اتیلن می‌تواند فرایند پیری را به تأخیر بیندازد. لی^۹ و همکاران (۲۰۱۰) گزارش کردند که تأثیر سدیم نیتروپروساید در افزایش پایداری کلروفیل به‌دلیل ممانعت از فعالیت ACC سنتتاز و کاهش تولید اتیلن می‌باشد. احتمالاً سدیم نیتروپروساید از طریق تبدیل آکونیتاز (یکی از ترکیبات چرخه کربس) به IRP₁ (پروتئین تنظیم‌کننده آهن)، دسترسی گیاه به آهن را زیاد کرده و از این طریق منجر به حفظ محتوای کلروفیل می‌گردد (نیل^{۱۰} و همکاران، ۲۰۰۳).

بر اساس نتایج حاصل از تجزیه واریانس اثر رژیم آبیاری، محلول‌پاشی برگی سدیم نیتروپروساید و اثر متقابل این دو عامل در سطح احتمال یک درصد بر محتوای نسبی آب برگ معنی‌دار گردید (جدول ۱). مقایسه میانگین‌ها نشان داد که مقدار محتوای نسبی آب برگ به‌دنبال کمبود آب، کاهش یافت و در هر سه سطح تنش، بیش‌ترین مقدار محتوای نسبی آب برگ در گیاهان تیمار شده با غلظت ۲۰۰ میکرومولار سدیم نیتروپروساید حاصل شد (جدول ۲). نتایج مشابهی در گیاهان گل مریم^۱ (علیپور و همکاران، ۱۳۹۳) و جو^۲ (گان^۳ و همکاران، ۲۰۱۵) به‌دست‌آمده است. محتوای نسبی آب بالاتر به معنای توانایی برگ در حفظ مقادیر بیش‌تر آب در شرایط کمبود آب است و در صورت کاهش آن سبب تغییر در غشای سلول و در نهایت افزایش نشت الکترولیت‌ها از یاخته‌ها می‌گردد (ایزدی و همکاران، ۱۳۸۸). گونه‌های مقاوم در مواجهه با کمبود آب محتوای آب سلول‌های خود را در حد بالاتری حفظ می‌کنند (کافی و همکاران، ۱۳۸۸). گزارش شده است که گیاهانی که توانایی بستن روزنه‌هایشان را دارا می‌باشند، می‌توانند محتوای آب برگ‌هایشان را در مقادیر بالاتری حفظ نمایند. نشان داده شده است سدیم نیتروپروساید باعث بسته شدن موقتی روزنه‌ها می‌گردد، در نتیجه تعرق و هدایت روزنه‌ای را کاهش داده و بدین طریق از کاهش محتوای نسبی آب برگ پیشگیری می‌کند (حیات^۴ و همکاران، ۲۰۱۱). در تحقیق دیگری که توسط فاروق و همکاران (۲۰۰۹) انجام شد، مشخص گردید که سدیم نیتروپروساید از طریق از بین بردن رادیکال‌های آزاد، باعث بهبود فتوسنتز، توسعه غشای سلولی و محتوای نسبی آب برگ می‌گردد.

غلظت رنگیزه‌ها

همان‌گونه که در جدول ۳ مشاهده می‌شود، اثر رژیم آبیاری و محلول‌پاشی برگی سدیم‌نیتروپروساید فقط بر میزان کلروفیل‌های *a* و کل در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شدند. اثر متقابل دو تیمار بر کلروفیل‌های *a*، *b* و کل معنی‌دار نگردید. با افزایش شدت کمبود آب از میزان کلروفیل‌های *a* و کل کاسته شد. بیش‌ترین میزان کلروفیل‌های *a* و کل به‌ترتیب با میانگین ۴/۵۷ و ۶/۲۱ میلی‌گرم بر گرم وزن تر در تیمار شاهد حاصل گردید، هرچند بین این تیمار و تیمار آبیاری در ۶۵ درصد ظرفیت زراعی اختلاف معنی‌داری از لحاظ این دو صفت

5. Salehi
6. Ashrafi
7. Keshavarz Afshar
8. Kaya
9. Li
10. Neill

1. *Polianthes tuberosa* L.
2. *Hordeum vulgare* L.
3. Gan
4. Hayat

جدول ۱: نتایج تجزیه واریانس اثر رژیم‌های آبیاری و محلول پاشی برگ سدیوم نیتروپروساید روی برخی ویژگی‌های مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی گیاه همیشه بهار

Table 1: Analysis of variance results of the effect of irrigation regimes and foliar application of sodium nitroprusside on some morphological and physiological characteristics of marigold plant

میانگین مربعات Mean square									درجه آزادی df	منابع تغییرات Sources of Variations
محتوای نسبی آب برگ Relative leaf water content	نسبت وزن خشک ریشه به بخش هوایی Root to aerial organ dry weight ratio	وزن تر ریشه Root fresh weight	وزن خشک ریشه Root dry weight	تعداد گل Flower number	تعداد برگ Leaf number	تعداد شاخه جانبی Number of lateral aerial organ	وزن خشک اندام هوایی Aerial organ dry weight	ارتفاع بوته Plant height		
62.35**	0.1247*	102.56**	75.72**	101.23**	763.12**	47.23**	3672.30**	1398.36**	2	رژیم آبیاری Irrigation regime
101.71**	0.00057 ^{ns}	32.17**	25.42**	45.95**	1013.26**	37.16**	1543.63**	278.98**	2	سدیوم نیتروپروساید Sodium nitroprusside
18.32**	0.00058 ^{ns}	0.56 ^{ns}	0.97 ^{ns}	39.36**	945.49**	26.72**	963.21**	149.44**	4	رژیم آبیاری × سدیوم نیتروپروساید Irrigation regime × Sodium nitroprusside
1.11	0.0008	0.41	0.87	14.31	19.37	6.47	86.36	28.16	18	خطا Error
2.14	7.86	9.19	8.65	21.03	7.60	26.95	13.6	9.4	-	ضریب تغییرات (درصد) CV (%)

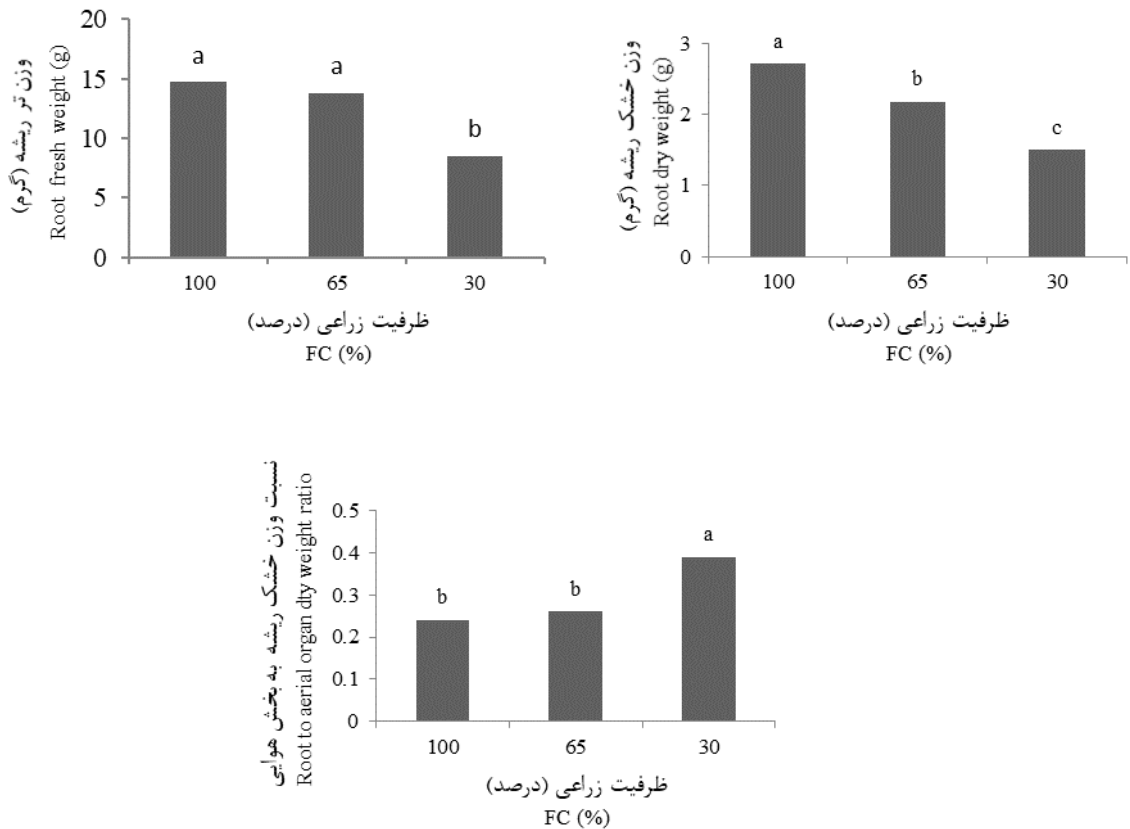
*, ** و ns: به ترتیب معنی دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد و غیر معنی دار
*, ** and ns: Significant at 5 and 1% probability level and non-significant, respectively

جدول ۲: نتایج مقایسه میانگین‌های اثر رژیم‌های آبیاری و محلول‌پاشی برگی سدیم‌نیتروپروساید روی برخی ویژگی‌های مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه همیشه‌بهار

Table 2: Mean comparison results of the effect of irrigation regimes and foliar application of sodium nitroprusside on some morphological, physiological and biochemical characteristics of marigold plant

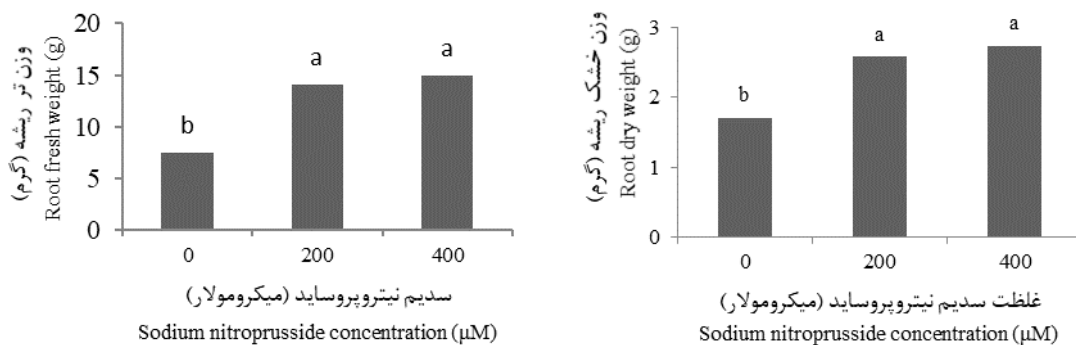
خصوصیات اندازه‌گیری شده Measured properties										تیمارها Treatments	
درصد اسانس Essential oil percentage	فعالیت آنزیم کاتالاز (واحد در میلی‌گرم پروتئین) Catalase activity (U mg ⁻¹ protein)	فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (واحد در میلی‌گرم پروتئین) Superoxide dismutase activity (U mg ⁻¹ protein)	نشت الکترولیت‌ها (درصد) Electrolyte leakage (%)	محتوای نسبی آب برگ (درصد) Relative leaf water Content (%)	تعداد گل Flower number	تعداد برگ Leaf number	تعداد شاخه جانبی Number of lateral aerial organ	وزن خشک بخش هوایی (گرم) Aerial organ dry weight (g)	ارتفاع بوته (سانتی‌متر) Plant height (cm)	غلظت سدیم نیتروپروساید (میکرومولار) Sodium nitroprusside concentration (μM)	ظرفیت زراعی (درصد) FC (%)
0.20 ^f	3.01 ^e	36.42 ^d	52.52 ^{de}	64.39 ^d	5.73 ^d	21.32 ^d	5.12 ^b	8.48 ^c	20.13 ^c	0	
0.31 ^e	3.35 ^d	39.56 ^c	34.61 ^f	78.12 ^a	8.47 ^a	32.64 ^a	5.74 ^a	11.36 ^a	31.12 ^a	200	100 (شاهد) 100 (Control)
0.40 ^d	3.88 ^c	41.12 ^c	36.98 ^f	71.37 ^b	7.06 ^b	28.97 ^b	5.52 ^{ab}	10.14 ^b	26.47 ^b	400	
0.49 ^c	4.24 ^b	52.97 ^b	64.87 ^c	54.25 ^e	3.25 ^f	17.24 ^f	2.79 ^e	7.01 ^e	15.39 ^d	0	
0.54 ^{bc}	4.78 ^a	57.31 ^{ab}	49.58 ^e	68.43 ^c	7.76 ^b	27.05 ^c	4.16 ^c	8.78 ^c	25.24 ^b	200	65
0.59 ^b	4.89 ^a	60.28 ^a	55.21 ^d	61.76 ^c	6.43 ^c	19.68 ^c	3.11 ^d	7.84 ^d	17.31 ^d	400	
0.62 ^b	2.17 ^h	20.79 ^g	73.28 ^a	44.18 ⁱ	1.23 ^g	6.21 ⁱ	1.37 ^g	3.94 ^g	10.26 ^f	0	
0.67 ^{ab}	2.32 ^g	27.11 ^f	65.63 ^c	58.31 ^f	5.20 ^d	9.12 ^g	2.91 ^e	6.63 ^f	14.74 ^e	200	30
0.71 ^a	2.60 ^f	32.54 ^e	69.47 ^b	50.99 ^h	4.34 ^e	7.21 ^h	2.48 ^f	6.85 ^f	15.17 ^e	400	

در هر ستون میانگین‌های که دارای حروف مشترک هستند، در سطح احتمال پنج درصد تفاوت معنی‌دار ندارند
Means in each column followed by similar letter (s) are not significantly different at 5% probability level



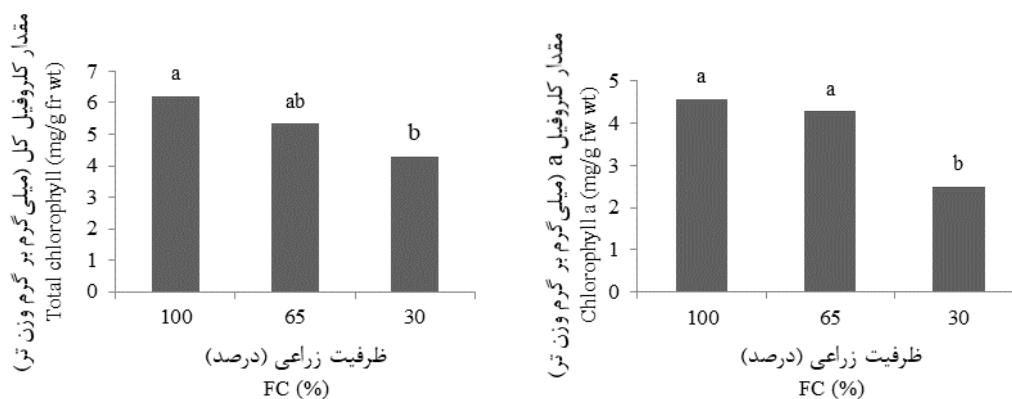
شکل ۱: اثر رژیم‌های آبیاری در قالب ظرفیت زراعی بر وزن تر و خشک ریشه و نسبت وزن خشک ریشه به بخش هوایی گیاه همیشه‌بهار. میانگین‌هایی دارای حروف مشترک، در سطح احتمال ۵٪ آزمون دانکن تفاوت معنی‌دار ندارند

Fig. 1: The effect of irrigation regimes based on the field capacity (FC) on root fresh and dry weight and root to aerial organ dry weight ratio of marigold plant. Means with the same letters are not significantly different at 5% Duncan test



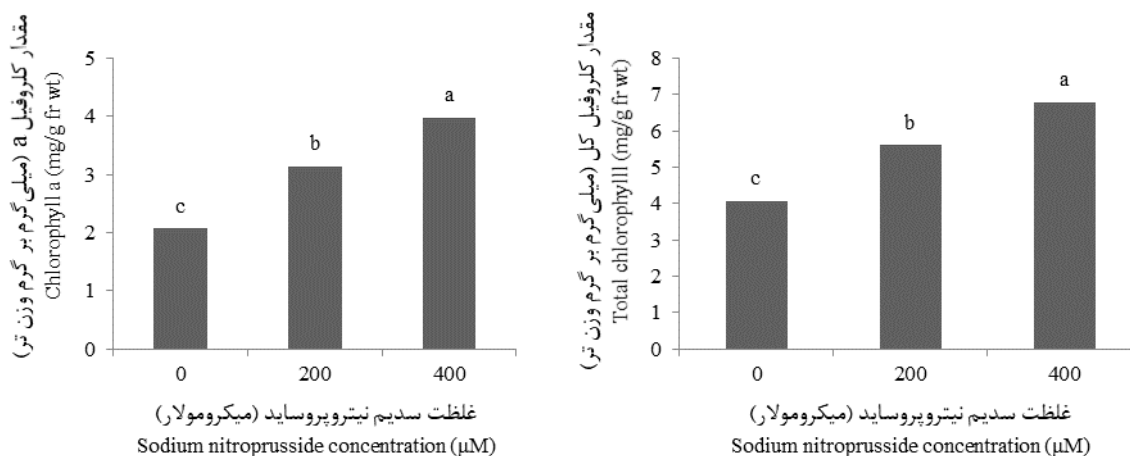
شکل ۲: اثر غلظت‌های سدیم نیتروپروساید (میکرومولار) بر وزن خشک و تر ریشه گیاه همیشه‌بهار. میانگین‌هایی دارای حروف مشترک، در سطح احتمال ۵٪ آزمون دانکن تفاوت معنی‌دار ندارند

Fig. 2: The effect of sodium nitroprusside concentration (μM) on root fresh and dry weight of marigold plant. Means with the same letters are not significantly different at 5% Duncan test



شکل ۳: اثر رژیم‌های آبیاری در قالب ظرفیت زراعی بر میزان کلروفیل‌های a و کل گیاه همیشه‌بهار. میانگین‌هایی دارای حروف مشترک، در سطح احتمال ۵٪ آزمون دانکن تفاوت معنی‌دار ندارند

Fig. 3: The effect of irrigation regimes based on the field capacity (FC) on chlorophyll a and total chlorophyll of marigold plant. Means with the same letters are not significantly different at 5% Duncan test



شکل ۴: اثر غلظت‌های سدیم‌نیتروپروساید (میکرومولار) بر میزان کلروفیل‌های a و کل گیاه همیشه‌بهار. میانگین‌هایی دارای حروف مشترک، در سطح احتمال ۵٪ آزمون دانکن تفاوت معنی‌دار ندارند

Fig. 4: The effect of sodium nitroprusside concentration (µM) on chlorophyll a and total chlorophyll of marigold plant. Means with the same letters are not significantly different at 5% Duncan test

نشت یونی را افزایش می‌دهد (مگدی و همکاران، ۲۰۱۲). زیرمیر-پرادوس^۱ و همکاران (۲۰۱۴) گزارش نمودند که سدیم نیتروپروساید احتمالاً از طریق از بین بردن رادیکال‌های آزاد به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدان عمل می‌کند و همچنین این ماده به‌عنوان یک مولکول پیام‌رسان باعث تغییر در بیان برخی ژن-های دفاعی (فنیل آلانین آمونیلایز و پراکسیداز) می‌گردد و از این دو طریق باعث کاهش درصد نشت می‌شود. نتایج این تحقیق با نتایج سچین و همکاران (۲۰۱۵) در آفتابگردان و زنگانی و همکاران (۲۰۱۸) در خار مریم هم‌خوانی داشت.

نشت الکترولیت‌های برگ

نشت الکترولیت‌های برگ همیشه‌بهار تحت در سطح یک درصد و اثر متقابل این دو عامل در سطح احتمال پنج درصد قرار گرفت (جدول ۳). بیش‌ترین درصد نشت را گیاهانی نشان دادند که تحت آبیاری در ۳۰ درصد ظرفیت زراعی و غلظت صفر سدیم‌نیتروپروساید قرار گرفتند (جدول ۲). کم‌ترین درصد آن نیز در تیمار شاهد و محلول‌پاشی شده با غلظت‌های ۲۰۰ و ۴۰۰ میکرومولار از سدیم نیتروپروساید حاصل گردید (جدول ۲). کمبود آب با ایجاد تنش اکسیداتیو و تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن منجر به پراکسیداسیون اسیدهای چرب غشاهای سلولی گشته و از این طریق نفوذپذیری غشا و

فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان

تأثیر رژیم آبیاری و محلول پاشی برگ‌ی سدیم نیتروپروساید بر فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز در برگ‌های همیشه‌بهار در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۳). مقایسه میانگین‌ها نشان داد که بیش‌ترین فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز در تیمار آبیاری در ۶۵ درصد ظرفیت زراعی و محلول پاشی شده با غلظت‌های ۲۰۰ و ۴۰۰ میکرومولار از سدیم نیتروپروساید حاصل گردید (جدول ۲). کم‌ترین فعالیت آنزیم‌ها نیز متعلق به تیمار آبیاری در ۳۰ درصد ظرفیت زراعی و گیاهان تیمار شده با غلظت صفر سدیم نیتروپروساید بود. محلول پاشی گیاهان با غلظت‌های ۲۰۰ و ۴۰۰ میکرومولار سدیم نیتروپروساید در هر سطح آبیاری باعث افزایش میزان فعالیت این آنزیم‌ها نسبت به شاهد گردید (جدول ۲). هنگام مواجهه گیاهان با تنش‌های محیطی از جمله کمبود آب، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان دستگاه فتوسنتزی گیاه را در برابر آسیب‌های اکسیداتیو محافظت می‌نماید (دسیکن^۱ و همکاران، ۲۰۰۴). میوناوار^۲ و همکاران (۲۰۱۹) گزارش کردند که تحت شرایط کمبود آب، آنزیم‌های کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز به‌صورت مشترک گونه‌های فعال اکسیژن را به آب و اکسیژن مولکولی تبدیل می‌کنند و از این طریق از آسیب سلولی گیاه جلوگیری می‌نمایند. در تایید نتایج پژوهش حاضر، مجید^۳ و همکاران (۲۰۲۰) گزارش کردند که سدیم نیتروپروساید با افزایش فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز و تبدیل آنیون سوپراکسید به پراکسید هیدروژن (H_2O_2)، این آنیون را حذف نموده و در نهایت باعث القای سایر آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مانند کاتالاز می‌گردد. کاتالاز نیز H_2O_2 تولید شده در مسیر تنفس نوری در داخل پروکسی‌زوم‌ها را از بین می‌برد (ونگ^۴ و همکاران، ۲۰۰۹).

غلظت فنل کل برگ و اسانس گیاه

بر اساس جدول شماره ۳، فقط اثر رژیم آبیاری بر میزان فنل کل همیشه‌بهار در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شد. هم چنین اثر رژیم آبیاری و محلول پاشی برگ‌ی سدیم نیتروپروساید بر درصد اسانس این گیاه در سطح احتمال یک درصد و اثر متقابل این دو عامل نیز در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار گردید (جدول ۳). بیش‌ترین مقدار فنل کل از تیمار آبیاری در ۶۵ درصد ظرفیت زراعی با میانگین $104/35$ میلی‌گرم گالیک اسید در گرم ماده خشک حاصل شد، درحالی‌که کم‌ترین میزان

آن $49/78$ میلی‌گرم گالیک اسید در گرم ماده خشک متعلق به تیمار آبیاری در ۳۰ درصد ظرفیت زراعی بود که نسبت به تیمار ۶۵ درصد، $52/29$ درصد کاهش نشان داد (شکل ۵). در پژوهش حاضر افزایش میزان غلظت فنل کل برگ بر اثر افزایش شدت تنش تا سطح ۶۵ درصد ظرفیت زراعی مشاهده شد و با افزایش بیش‌تر شدت تنش، میزان این ترکیبات کاهش معنی‌داری نشان داد. به نظر می‌رسد علت کاهش تیمار آبیاری در ۳۰ درصد ظرفیت زراعی، مربوط به تخریب این مواد در اثر واکنش با ترکیبات اکسیداتیو در شرایط کمبود آب باشد. یکی از مکانیسم‌های دفاع غیرآنزیمی برای مقابله با تنش اکسیداتیو القاء شده توسط تنش کمبود آب در گیاهان، تجمع ترکیبات آنتی‌اکسیدانی نظیر فلاونوئیدها، آنتوسیانین‌ها و ترکیب‌های فنلی است.

این ترکیبات به‌عنوان گیرنده رادیکال‌های آزاد عمل کرده و سبب ثبات غشاهای سلولی و مانع از پراکسیداسیون لیپیدها می‌شوند و از این طریق باعث مقاومت گیاهان در برابر تنش اکسیداتیو می‌گردند (چانگ^۵ و همکاران، ۲۰۰۲). نتایج این تحقیق با نتایج کایاپرو^۶ و همکاران (۲۰۱۹) در گیاه نعناع فلفلی^۷ مطابقت داشت.

مقایسه میانگین تیمارها نشان داد که با افزایش کمبود آب و سطوح سدیم نیتروپروساید درصد اسانس افزایش یافت، به‌طوری‌که بیش‌ترین درصد اسانس در تیمار ۳۰ درصد ظرفیت زراعی و محلول پاشی با غلظت ۴۰۰ میکرومولار ($0/71$ درصد) و کم‌ترین درصد آن در تیمار شاهد و گیاهان اسپری شده با آب مقطر ($0/20$ درصد) حاصل شد (جدول ۲). هم‌چنین در هر سطح تنش کمبود آب، افزایش غلظت سدیم نیتروپروساید سبب افزایش درصد اسانس گردید. در گیاهان دارویی میزان اسانس علاوه بر کنترل ژنتیکی، تحت تأثیر عوامل مختلف محیطی قرار می‌گیرد. میزان آب قابل دسترس مهم‌ترین عامل محیطی است که درصد اسانس را تحت تأثیر قرار می‌دهد. احتمالاً افزایش مقدار اسانس تحت شرایط کمبود آب را بتوان با دو فرضیه توجیه نمود که مورد اول آن موازنه کربن-عناصر غذایی بوده و عنوان می‌کند هنگامی که عناصر غذایی در دسترس باشند، گیاه کربن را به‌منظور رشد اختصاص می‌دهد، اما در صورتی که کمبود عناصر غذایی پیش آید، رشد بیش‌تر از فتوسنتز تحت تأثیر قرار گرفته و این امر منجر به تشکیل هیدرات‌های کربنی می‌گردد که باعث بیوسنتز متابولیت‌های کربن‌دار می‌شوند.

5. Chang

6. Chiappero

7. *Mentha piperita* L.

1. Desican

2. Munawar

3. Majeed

4. Wang

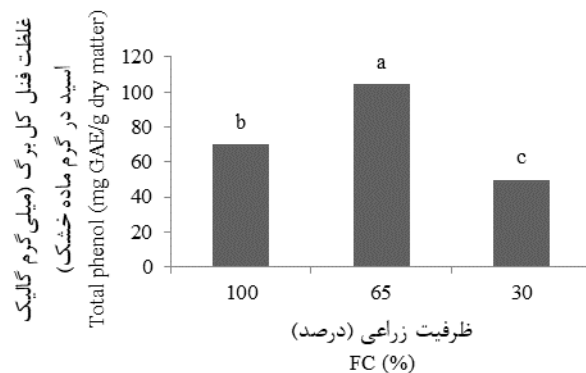
جدول ۳: نتایج تجزیه واریانس اثر رژیم‌های آبیاری و محلول‌پاشی برگی سدیم نیتروپروساید روی برخی ویژگی‌های بیوشیمیایی گیاه همیشه‌بهار

Table 3: Analysis of variance results of the effect of irrigation regimes and foliar application of sodium nitroprusside on some biochemical characteristics of marigold plant

میانگین مربعات Mean Square								درجه آزادی df	منابع تغییرات Sources of Variations
درصد اسانس Essential oil percentage	فنل کل Total phenol	فعالیت آنزیم کاتالاز Catalase activity	فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز Superoxide dismutase activity	نشت الکترولیت‌ها Electrolyte leakage	کلروفیل کل Total chlorophyll	کلروفیل b Chlorophyll b	کلروفیل a Chlorophyll a		
0.0097**	0.2570**	99.64**	823.34**	148.32**	0.976**	0.136 ^{ns}	0.823**	2	رژیم آبیاری Irrigation regime
0.0084**	0.00091 ^{ns}	101.39**	741.77**	98.87**	0.841**	0.098 ^{ns}	0.624**	2	سدیم نیتروپروساید Sodium nitroprusside
0.0011*	0.00047 ^{ns}	59.25**	88.56**	43.21*	0.127 ^{ns}	0.014 ^{ns}	0.023 ^{ns}	4	رژیم آبیاری × سدیم نیتروپروساید Irrigation regime × Sodium nitroprusside
0.00001	0.0004	7.01	15.17	10.85	0.186	0.017	0.014	18	خطا Error
1.16	8.77	6.34	4.62	8.52	17.74	8.41	12.63	-	ضریب تغییرات (درصد) CV (%)

*, **, ns: به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد و غیر معنی‌دار

*, ** and ns: Significant at 5 and 1% probability level and non-significant, respectively



شکل ۵: اثر رژیم‌های آبیاری در قالب ظرفیت زراعی بر میزان غلظت فنل کل برگ گیاه همیشه‌بهار. میانگین‌هایی دارای حروف مشترک، در سطح احتمال ۵٪ آزمون دانکن تفاوت معنی‌دار ندارند

Fig. 5: The effect of irrigation regimes based on the field capacity (FC) on total phenol of marigold plant. Means with the same letters are not significantly different at 5% Duncan test

فرضیه دوم موازنه رشد- تمایز است که مادامی که شرایط محیطی اجازه رشد و تقسیم سلولی را به گیاه دهد کربن به منظور رشد صرف می‌شود، اما با وقوع کمبود آب رشد متوقف شده و گیاه کربن را به منظور تولید متابولیت‌های ثانویه اختصاص می‌دهد (لوریو^۱، 1986). محصلی و صادقی^۲ (2019) بیان نمودند که سدیم نیتروپروساید سبب رها شدن نیتروژن گشته و از طریق افزایش میزان نیتروژن سبب افزایش فتوسنتز، توسعه برگ و نهایتاً افزایش مقدار اسانس می‌گردد.

نتیجه‌گیری کلی

نتایج این تحقیق نشان داد که تنش کمبود آب موجب کاهش ارتفاع بوته، وزن تر و خشک، تعداد شاخه جانبی و تعداد برگ و گل، محتوای نسبی آب برگ و غلظت کلروفیل‌های a و کل گردید. کاربرد ۲۰۰ میکرومولار سدیم نیتروپروساید موجب بهبود رشد در شرایط تنش و غیرتنش گردید. بیش‌ترین درصد

منابع

- امیدیگی، ر. ۱۳۹۲. تولید و فرآوری گیاهان دارویی. چاپ دوم. انتشارات آستان قدس رضوی. ۴۱۵ صفحه.
- ایزدی، ز.، اثنی‌عشری، م. و احمدوند، گ. ۱۳۸۸. تأثیر تنش خشکی بر عملکرد، میزان پرولین، قندهای محلول، کلروفیل، محتوای نسبی آب و میزان اسانس در نعنای فلفلی (*Mentha piperita L.*). مجله علوم و فنون باغبانی ایران، ۱۰: ۲۲۳-۲۳۴.
- رضائی، ر.، ولدآبادی، س. ع.، شیرانی راد، ا.، سیف زاده، س. و حدیدی ماسوله، ا. ۱۳۹۷. اثرات کاربردی کودهای بیولوژیک و مقادیر متفاوتی از انواع کود اوره در شرایط تنش کم‌آبی بر عملکرد، کارایی مصرف نیتروژن و مواد مؤثره گیاه دارویی همیشه‌بهار. مجله تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران، ۳۴ (۴): ۵۴۷-۵۶۴.
- عرب، ص.، برادران فیروزی، م. و اصغری، ح. ۱۳۹۴. تأثیر محلول پاشی اسید آسکوربیک و سدیم نیتروپروساید بر رنگیزه‌های فتوسنتزی و برخی صفات گلرنگ بهاره در شرایط کم‌آبیاری. مجله تولیدات گیاهی، ۳۸: ۱۰۳-۹۳.
- علیپور، س.، نصیبی، ف. و فرهمند، ه. ۱۳۹۳. بررسی اثر غلظت‌های متفاوت سدیم نیتروپروساید بر صفات فیزیولوژیکی و افزایش عمر گل شاخه بریده مریم (*Polianthes tuberosa L.*). مجله پژوهش‌های گیاهی (مجله زیست‌شناسی ایران)، ۲۷: ۹۱۴-۹۰۴.
- قربانلی، م.، بخشی خانیکی، غ. و ذاکری، ا. ۱۳۹۰. بررسی اثر تنش خشکی بر ترکیبات آنتی‌اکسیدانی در گیاه دارویی کتان. مجله تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران، ۲۷ (۴): ۶۴۷-۶۵۸.
- کافی، م.، برزوئی، ا.، صالحی، م.، کمندی، ع.، معصومی، ع. و نباتی، ج. ۱۳۸۸. فیزیولوژی تنش‌های محیطی در گیاهان. انتشارات جهاد دانشگاهی مشهد. چاپ اول. ۵۰۲ صفحه.
- محمدی، ر.، ارغوانی، م.، مرتضوی، س. ن. ا. و اعلائی، م. ۱۳۹۶. اثر سدیم نیتروپروساید بر تحمل به خشکی چچم چندساله در مرحله جوانه زنی و رشد اولیه دانه‌ها. مجله به‌زراعی کشاورزی، ۱۹ (۲): ۳۳۵-۳۴۶.
- نیک روش، م. ۱۳۹۵. اثر سدیم نیتروپروساید بر برخی عوامل فیزیولوژیکی گیاه کلزا تحت تنش خشکی. مجله پژوهش‌های گیاهی، ۲۹ (۳): ۶۴۴-۶۵۸.

- Amoon, S. A., Ramah, G. H. and Radmehr, P. R. A. 2014. Outcomes of irrigation regimes and nitrogen fertilizer on seed yield of calendula (*Calendula officinalis L.*). International Scholars Journals, 2: 144-147.
- Arnon, D. I. 1949. Copper enzymes in isolated chloroplasts, polyphenoloxidases in *Beta vulgaris*. Plant Physiology, 24: 1-15.
- Ashrafi, M., Azimi-Moqadam, M. R., Moradi, P., Mohsenifard, E., Shekari, F. and Kompany-Zareh, M. 2018. Effect of drought stress on metabolite adjustments in drought tolerant and sensitive thyme. Plant Physiology and Biochemistry, 132: 391-399.

- Baskaran, K. 2017. Pharmacological activities of *Calendula officinalis*. International Journal of Science and Research, 6 (5): 43-47.
- Beauchamp, C. and Fridovich, I. 1971. Superoxide dismutase improved assays and an assay applicable to acrylamide gels. Analytical Biochemistry, 44 (1): 276-287.
- Cechin, I., Cardoso, G. S., Fumis, T. d. F. and Corniani, N. 2015. Nitric oxide reduces oxidative damage induced by water stress in sunflower plants. Bragantia, 74 (2): 200-206.
- Chang, W. C., Kim, S. C., Hwang, S. S., Choi, B. K. and Kim, S. K. 2002. Antioxidant activity and free radical scavenging capacity between Korean medicinal plants and flavonoids by assay-guided comparison. Plant Science, 163: 1161-1168.
- Chiappero, J., Cappellari, L. R., Sosa Alderete, L. G., Palermo, T. B. and Banchio, E. 2019. Plant growth promoting rhizobacteria improve the antioxidant status in *Mentha piperita* grown under drought stress leading to an enhancement of plant growth and total phenolic content. Industrial Crops and Products, 139: 1-9.
- Desikan, R., Cheung, M. K., Bright, J., Henson, D., Hancock, J. T. and Neill, S. J. 2004. ABA, Hydrogen peroxide and nitric oxide signaling in stomatal guard cell. Journal of Experimental Botany, 55: 205-212.
- Dhindsa, R. S., Plumb-Dhindsa, P. and Thorpe, 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: 93-101.
- Esmailpour, B., Hadian, J. and Jalilvand, P. 2013. Effects of drought stress and mycorrhiza on morphophysiological and yield of summer savory (*Satureja hortensis* L.). Journal of Agroecology, 5: 169-177.
- Farooq, M., Basra, S. M. A., Wahid, A. and Rehman, H. 2009. Exogenously applied nitric oxide enhances the drought tolerance in fine grain aromatic rice. Journal of Agronomy and Crop Science, 195: 254-261.
- Faustino, M. V., Seca, A. M. L., Silveira, P., Silva, A. M. S. and Pinto, D. C. G. A. 2017. Gas chromatography-mass spectrometry profile of four *Calendula* L. taxa: A comparative analysis. Industrial Crops and Products, 104: 91-98.
- Gan, L., Wu, X. and Zhong, Y. 2015. Exogenously applied nitric oxide enhances the drought tolerance in hullless barley. Plant Production Science, 18: 52-56.
- Gharibi, S., Tabatabaei, B. E. S., Saeidi, G. and Goli, S. A. H. 2016. Effect of drought stress on total phenolic, lipid peroxidation, and antioxidant activity of *Achillea* species. Applied Biochemistry and Biotechnology, 178: 796-809.
- Ghorbanpour, M., Hatani, M. and Khavazi, K. 2013. Role of plant growth promoting rhizobacteria on antioxidant enzyme activities and tropane alkaloid production of *Hyoscyamus niger* under water deficit stress. Turkish Journal of Biology, 37: 350-360.
- Hayat, S., Yadav, S., Wani, A., Irfan, M. and Ahmad, A. 2011. Nitric oxide effects on photosynthetic rate, growth and antioxidant activity in tomato. International Journal of Vegetable Science, 17: 333-348.
- Jan, N. and John, R. 2017. *Calendula officinalis* an important medicinal plant with potential biological properties. Proceedings of the Indian National Science Academy, 83: 769-787.
- Jiang, Y. and Huang, N. 2001. Drought and heat stress injury to two cool-season turfgrasses in relation to antioxidant metabolism and lipid peroxidation. Crop Science, 41: 436-442.
- Kaya, C., Ashraf, M., Wijaya, L. and Ahmad, P. 2019. The putative role of endogenous nitric oxide in brassinosteroid-induced antioxidant defence system in pepper (*Capsicum annum* L.) plants under water stress. Plant Physiology and Biochemistry, 143: 119-128.
- Keshavarz Afshar, R., Hashemi, M., DaCosta, M., Spargo, J. and Sadeghpour, A. 2016. Biochar application and drought stress effect on physiological characteristics of *Silybum marianum*. Communications in Soil Science and Plant Analysis, 47: 743-752.
- Khan, M. N., AlSolami, M. A., Basahi, R. A., Siddiqui, M. H., Al-Huqail, A. A., Abbas, Z. K., Siddique, Z. H., Ali, H. M. and Khan, F. 2020. Nitric oxide is involved in nano-titanium dioxide-induced activation of antioxidant defense system and accumulation of osmolytes under water-deficit stress in *Vicia faba* L. Ecotoxicology and Environmental Safety, 190: 1-13.
- Khanpour Ardestani, N., Sharifi, M. and Bahmansh, M. 2013. The effect of methyl jasmonate on the activity of antioxidant enzymes, phenolic compounds and flavonoids in *Scrophularia straita* Boiss culture cells. Journal of Plant Research, 27 (5): 840-853.
- Li, Q., Niu, Y., Yin, H. B., Wang, J., Shao, M. B., Deng, H. B., Chen, D. Z., Ren, X. X. and Li, Y. C. 2010. Protective role of exogenous nitric oxide against oxidative stress induced by salt stress in barley (*Hordeum vulgare*). Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 56: 220-225.
- Lorio, P. L. 1986. Growth-differentiation balance: A basis for understanding southern pin beetle-tree interactions. Forest Ecology and Management, 14 (4): 259-273.
- Magdy, A. S., Hazem, M. M., Alia, A. M. and Alshaima, A. I. 2012. Effect of sodium nitroprusside, putrescine and glycine betaine on alleviation of drought stress in cotton plant. Journal of American-Eurasian Agricultural and Environmental Sciences, 12 (9): 1252-1265.
- Majeed, S., Nawaz, F., Naem, M., Ashraf, M. Y., Ejaz, S., Shafique Ahmad, K., Tauseef, S., Farid, G., Khalid, I. and Mehmood, K. 2020. Nitric oxide regulates water status and associated enzymatic pathways to inhibit nutrients imbalance in maize (*Zea mays* L.) under drought stress. Plant Physiology and Biochemistry, 155: 147-160.
- Misra, A. N., Misra, M. and Singh, R. 2011. Nitric oxide ameliorates stress responses in plants. Plant Soil and Environment, 57 (3): 95-100.

- Mohasseli, V. and Sadeghi, S. 2019. Exogenously applied sodium nitroprusside improves physiological attributes and essential oil yield of two drought susceptible and resistant specie of *Thymus* under reduced irrigation. *Industrial Crops and Products*, 130: 130-136.
- Munawar, A., Akram, N. A., Ahmad, A. and Ashraf, M. 2019. Nitric oxide regulates oxidative defense system, key metabolites and growth of broccoli (*Brassica oleracea* L.) plants under water limited conditions. *Scientia Horticulturae*, 254: 7-13.
- Neill, J., Radhika, D. and Hancock, J. 2003. Nitric oxide signaling in plant. *New Phytologists*, 159: 11-35.
- Rezaei, M., Razmjoo, J., Ehtemam, M. H., Karimmojeni, H. and Zahedi, M. 2019. The interaction between shade and drought affects essential oil quantity and quality of *Vitex agnus-castus* L. leaves and seeds. *Industrial Crops and Products*, 137: 460-467.
- Ritchie, S. and Nguyen, H. 1990. Leaf water content and gas exchange parameters of two wheat genotype differing in drought resistance. *Crop science*, 30: 105-111.
- Salehi, A., Tasdighi, H. and Gholamhoseini, M. 2016. Evaluation of proline, chlorophyll, soluble sugar content and uptake of nutrients in the German chamomile (*Matricaria chamomilla* L.) under drought stress and organic fertilizer treatments. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 6(10): 886-891.
- Selmar, D. and Kleinwachter, M. 2013. Influencing the product quality by deliberately applying drought stress during the cultivation of medicinal plants. *Industrial Crops and Products*, 42: 558-566.
- Shehab, G. G., Ahmed, O. K. and El-Beltagi, H. S. 2010. Effects of various chemical agents for alleviation of drought stress in rice plants (*Oryza sativa* L.). *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 38: 139-148.
- Taiz, L. and Zeiger, E. 2006. *Plant physiology*. 4th edition. Sinauer Associates, Inc., publishers Sunderland, Massachusetts, USA. 56.
- Tan, J., Zhao, H., Hong, J., Han, Y. and Zhao, W. 2008. Effects of exogenous nitric oxide on photosynthesis, antioxidant capacity and proline accumulation in wheat seedlings subjected to osmotic stress. *World Journal of Agricultural Sciences*, 4 (3): 307-313.
- Valentovic, P., Luxova, M., Kolarovic, L. and Gasparikova, O. 2006. Effect of osmotic stress on compatible solutes content, membrane stability and water relations in two maize cultivars. *Plant Soil Environment*, 52 (4): 186-191.
- Wang, W. B., Kim, Y. H., Lee, H. S., Kim, K. Y., Deng, X. P. and Kwak, S. S. 2009. Analysis of antioxidant enzyme activity during germination of alfalfa under salt and drought stresses. *Plant Physiology and Biochemistry*, 47: 570-577.
- Wei-Biao, L., Gao-Bao, H., Ji-Hua, Y. and Mei-Ling, Z. 2012. Nitric oxide and hydrogen peroxide alleviate drought stress in marigold explants and promote its adventitious root development. *Plant Physiology Biochemistry*, 58: 6-15.
- Yadollahi, P. and Asgharpour, M. R. 2014. The effect of sodium nitroprusside and ascorbic acid on the growth, morphological characteristics and performance parchment pumpkin (*Cucurbita pepo* L.) under irrigated conditions. *Journal of Crop Production Research (Environmental Stresses in Plant Sciences)*, 6 (2): 119-130.
- Zangani, E., Zehtab-Salmasi, S., Andalibi, B. and Zamani, A. A. 2018. Protective effects of nitric oxide on photosynthetic stability and performance of *Silybum marianum* under water deficit conditions. *Crop Ecology and Physiology*, 110 (2): 555-564.
- Zimmer-Prados, L. M., Moreira, A. S., Magalhaes, J. R. and Franca, M. G. 2014. Nitric oxide increases tolerance responses to moderate water deficit in leaves of *Phaseolus vulgaris* and *Vigna unguiculata* bean species. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 20 (3): 295-301.

Effect of Foliar Application of Sodium Nitroprusside on some Morphological, Physiological and Biochemical Properties of Marigold Plant (*Calendula officinalis* L.) under Different Irrigation Regimes

Izadi^{1*}, Z. and Mirazi², N.

Abstract

In order to investigate the effect of irrigation as well as foliar application of sodium nitroprusside as a nitric oxide donor compound on some morphological, physiological and biochemical characteristics in marigold (*Calendula officinalis* L.), an experiment was conducted in a greenhouse and has been carried out as factorial (two factors) based on a completely randomized design with three replications. Experimental factors included different irrigation levels 100, 65 and 30% FC and foliar application of sodium nitroprusside at three concentration levels 0 (control), 200 and 400 μM . The results showed that the highest root dry weight and root to aerial organ dry weight ratio belonged to control and 30% FC, respectively. Chlorophyll a and total concentration were reduced under water deficit stress, while the electrolyte leakage percentage was increased. The highest amount of total phenol content was belonged to 65% FC. Sodium nitroprusside had significant effects on the root dry weight and chlorophyll a and total concentration that this effects was maximum in 400 μM . The concentrations of 200 and 400 μM sodium nitroprusside with 65% FC treatment increased the activity of superoxide dismutase and catalase enzymes. In all irrigation treatments, foliar application of 200 μM sodium nitroprusside increased the relative leaf water content. The concentration of 400 μM sodium nitroprusside with 30% FC showed the highest essential oil percentage. Based on the results obtained, sodium nitroprusside treatment protected marigold plant from water deficit stress and decreased its damages.

Keywords: Nitric oxide, Phenol, Essential oil, Electrolyte leakage, Antioxidant activity

1. Assistant Professor, Department of Horticultural Sciences and Engineering, Nahavand Higher Education Complex, Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran

2. Professor, Department of Biology, Faculty of Basic Sciences, Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran

*: Corresponding author Email: armaghan_iza_2004@yahoo.com