

## اثر هیدروسولفید سدیم بر صفات فیزیولوژیک و مورفولوژی گیاه تاج خروس (*Amaranthus tricolor*) تحت تنش کم آبیاری

عطیه اورعی، علی تهرانی فر\* و زهرا قربانی

گروه علوم باغبانی و مهندسی فضای سبز، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۱/۱۵، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۴۰۱/۰۳/۲۴)

### چکیده

تنش خشکی از مهم‌ترین عواملی است که رشد و نمو گیاهان زینتی را در سراسر جهان به مخاطره می‌اندازد. بدیهی است که به‌کارگیری ترکیباتی که مقاومت به خشکی را در گیاهان افزایش دهد در کاهش ضررهای اقتصادی بر گیاهان زینتی فضای سبز از اهمیت فراوانی برخوردار است. بدین منظور پژوهشی با هدف ارزیابی اثرات هیدروسولفید سدیم بر گیاه تاج خروس (*Amaranthus tricolor* 'Early splendor') تحت کم آبیاری به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی اجرا شد. گیاهان تاج خروس در مرحله رشد رویشی در گلخانه، به مدت سه هفته با تیمار هیدروسولفید سدیم (صفر، ۰/۵، ۱ میلی‌مولار) به صورت محلول‌پاشی تیمار شدند، سپس یک ماه در معرض کم آبیاری (۹۰، ۸۰، ۷۰ و ۶۰ درصد ظرفیت زراعی) قرار گرفتند. با افزایش تنش میزان محتوای نسبی آب کاهش یافت، به نحوی که، کم آبیاری (۶۰ درصد ظرفیت زراعی) سبب کاهش محتوای نسبی آب به میزان ۷۸/۹ درصد شد. هیدروسولفید سدیم تأثیر منفی کم آبیاری را بر متابولیک‌های ثانویه (فنل و فلاونوئید) و تنظیم‌کننده اسمزی (پرولین) کاهش داد و غلظت ۱ میلی‌مولار باعث افزایش مقاومت به تنش شد. نشأت یونی با کاربرد هیدروسولفید سدیم در سطوح شدیدتر کم آبیاری کاهش یافت. ۱ میلی‌مولار هیدرو سولفید سدیم با افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی سبب کاهش مالون دی‌آلدئید به ترتیب، به میزان ۲۳/۴ و ۲۳ درصد در شرایط کم آبیاری ۶۰ و ۷۰ درصد ظرفیت زراعی گردید. کاربرد هیدروسولفید سدیم با افزایش متابولیت‌های ثانویه، تنظیمات اسمزی، و فعالیت آنتی‌اکسیدانی اثر منفی کم آبیاری را بر صفات رشدی گیاه تاج خروس کاهش داد. به‌طور کلی، نتایج نشان داد که کاربرد هیدروسولفید سدیم به‌عنوان تولیدکننده سولفید هیدروژن می‌تواند به‌عنوان یک راهبرد برای حفظ رشد گیاهان زینتی در شرایط کم آبیاری در نظر گرفته شود.

واژه‌های کلیدی: تنش، گیاه زینتی، سولفید هیدروژن، متابولیت‌های ثانویه

### مقدمه

به‌عنوان گل حاشیه‌ای بوده که به‌ویژه در سطح وسیعی در فصل تابستان در فضای سبز کشت می‌گردد (Dole and Wilkins, 2004). روش تکثیر گیاهان خانواده تاج خروس با استفاده از بذر و بسیار آفتاب‌دوست است، نیاز به خاک‌های قوی و حاصلخیز دارد. در روزهای گرم و آفتابی مرطوب ننگه‌داشتن خاک به

تاج خروس با نام علمی *Amaranthus tricolor* از خانواده آمارانتاسه، بومی نقاط گرمسیر آسیا و آفریقا و جزء گل‌های یک‌ساله فصل گرم به‌شمار می‌آید. این گیاه با ارتفاع ۳۰ تا ۹۰ سانتی‌متر و با تولید برگ‌هایی به رنگ‌های زرد، قرمز و ارغوانی

\* نویسنده مسؤل، نشانی پست الکترونیکی: tehranifar@um.ac.ir

داشتن گل‌های درشت کمک می‌کند (کافی و قهساره، ۱۳۹۴).

سولفید هیدروژن ( $H_2S$ )، ماده‌ای است با محلولیت در آب ضعیف که نقش مهمی در جوانه‌زنی بذر، بسته‌شدن روزنه و رشد ریشه دارد (Baudouin *et al.*, 2016; Jia *et al.*, 2015; Paul and Snyder, 2015). به‌تازگی، اثرات مثبت این ماده در پاسخ به چند نوع تنش غیرزنده در گیاهان مانند خشک‌سالی، شوری و گرما به اثبات رسیده است (Chen *et al.*, 2016; Jia *et al.*, 2014; Li *et al.*, 2014; Li *et al.*, 2018). در سلول‌های گیاهی، سولفید هیدروژن از طریق مسیرهای آنزیمی مربوط به متابولیسم سیستمین تولید می‌شود. آنزیم‌های ال-سیستئین دی‌سولفیدراز ( $D$ -CYSTEINE DESULFHYDRASE) و دی‌سیستئین دی‌سولفیدراز ( $D$ -CYSTEINE DESULFHYDRASE) سبب تبدیل سیستمین به پیرووات سولفید هیدروژن و آمونیوم می‌شوند که مسئول انتشار سولفید هیدروژن به درون سلول هستند (Kopriva, 2006).

Savvides و همکاران (۲۰۱۶) دریافته‌اند که تیمار گیاه با مواد شیمیایی مانند نیتروپروپیل سدیم (که اکسید نیتریک  $[NO]$  را آزاد می‌کند)، پراکسید هیدروژن ( $H_2O_2$ )، هیدرو سولفید سدیم (که  $H_2S$  را آزاد می‌کند)، سبب آزاد شدن ملاتونین و پلی‌آمین‌ها می‌شوند که تحمل گیاه به تنش‌های مختلف زیستی را افزایش داده و سبب بهبود رشد گیاه تحت شرایط تنش می‌گردد. سولفید هیدروژن از طریق تغییرات رونویسی سبب کاهش گونه‌های فعال اکسیژن ( $ROS$ ) در شرایط تنش‌زا می‌گردد (Chen *et al.*, 2016). به‌غیر از پاسخ‌های خاص، در اغلب موارد، استفاده از سولفید هیدروژن خارجی سبب بهبود بیان ژن آنزیم‌های مرتبط با مقاومت، مانند کاتالاز ( $CAT$ )، سوپراکسید دیسموتاز ( $SOD$ ) می‌شود. همچنین سبب افزایش بیان ژن‌های مرتبط با اجزای آنزیمی چرخه آسکوربات گلوکوتاتیون می‌شود که میزان پراکسید هیدروژن و میزان پراکسیداسیون لیپید را کاهش می‌دهد (Xuan *et al.*, 2020). از طرفی در هنگام تنش، باز و بسته‌شدن روزنه‌ها که پاسخ مهمی در هنگام تنش به‌شمار می‌آید توسط سولفید هیدروژن بر میزان آبسزیک اسید تحت‌تأثیر قرار

می‌گیرد (Lisjak *et al.*, 2011).

تنش محیطی باعث افزایش گونه‌های فعال اکسیژن در سلول گیاهی می‌شوند و انباشت بیش از حد  $ROS$  به سلول‌های گیاهی آسیب می‌رساند. سلول گیاهی از طریق سیستم‌های آنتی‌اکسیدان  $ROS$  را سرکوب می‌کنند. سیستم‌های آنتی‌اکسیدانی گیاهی شامل آنزیمی و سیستم‌های آنتی‌اکسیدان غیرآنزیمی هست (Frederickson-Matika and Loake, 2014; Kohli *et al.*, 2019).  $H_2S$  فعالیت آنتی‌اکسیدان‌ها را تنظیم می‌کند تا سطح  $ROS$  داخل سلولی را تحت تنش زیست محیطی کاهش دهند. باین‌حال، برخی مکانیزم مولکولی که توسط آن سولفید هیدروژن تنظیم فعالیت آنتی‌اکسیدانی هنوز ناشناخته است (Kaya *et al.*, 2018; Yang *et al.*, 2018).

سولفید هیدروژن خارجی تحمل خشک‌سالی را در چندین محصول مانند گندم (Kolupaev *et al.*, 2019)، آرابیدوپسیس (Jin *et al.*, 2017)، سویا (Zhang *et al.*, 2010)، اسفناج (Ziogas *et al.*, 2015) و مرکبات (Chen *et al.*, 2016) افزایش داده است. محتوای  $H_2S$  درون‌زا در طول جوانه‌زنی بذر افزایش می‌یابد. درحالی‌که تیمار غوطه‌وری بذر با هیدروسولفید سدیم سبب تجمع سولفید هیدروژن درونی می‌گردد، که به‌نوبه خود جوانه‌زدن بذر را از آسیب با افزایش فعالیت آمیلاز و استراز، آسیب اکسیداتیو، جلوگیری از جذب یون‌های فلزی و تغییرات سیگنال آبسزیک اسید محافظت می‌کند (Xuan *et al.*, 2020).

تاکنون گزارشی مبنی بر کاربرد این ماده در افزایش مقاومت به تنش خشکی در گیاهان بستری وجود ندارد. بنابراین مطالعه حاضر باهدف بررسی تأثیر سولفید هیدروژن بر ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و متابولیت‌های ثانویه و صفات رویشی گیاه تاج‌خروس تحت تنش کم‌آبیاری اجرا شد.

#### مواد و روش‌ها

**تهیه نمونه‌های گیاهی:** آزمایش حاضر به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی اجرا شد. تیمارهای آزمایش شامل سه غلظت هیدروسولفید سدیم و چهار تیمار کم‌آبیاری با سه تکرار

FC، A و B به ترتیب، میزان رطوبت وزنی برای ظرفیت زراعی، وزن خاک مرطوب پس از خروج آب ثقلی و وزن خاک خشک شده در دمای ۱۰۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت است. درصد رطوبت وزنی خاک استفاده شده ۲۴ درصد بود. در طول مدت آزمایش نیز روزانه گلدان‌ها وزن شدند و میزان کمبود آب در هر گلدان افزوده شد. با توجه به طول مدت تنش کم‌آبایی، افزایش وزن گیاهان با استفاده از نمونه‌هایی مجزا اندازه‌گیری گردید (نمونه‌های گیاهی در گلدان‌هایی مجزا به منظور بررسی افزایش وزن گیاه بر تیمارهای تنش کم‌آبایی کشت شدند و هر دو روز یکبار نمونه‌ها از گلدان خارج و وزن‌تر نمونه‌ها محاسبه شد و از وزن گلدان‌های اصلی کم شد). بعد از یک ماه تنش کم‌آبایی خصوصیات فیزیولوژیکی (فنل، فلاونوئید، پرولین، نشت الکترولیت، مالون دی‌آلدئید، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و محتوای نسبی آب) و مورفولوژیکی (ارتفاع گیاه، تعداد برگ و وزن خشک) اندازه‌گیری شد. برگ‌های کاملاً توسعه یافته جمع‌آوری شدند و بلافاصله نمونه‌ها در نیتروژن مایع و سپس در دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد منجمد شدند.

اندازه‌گیری‌های فیزیولوژیکی، سنجش نشت الکترولیت، مالون دی‌آلدئید و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی: پنج قطعه برگ در ویال‌های حاوی ۵۰ میلی‌لیتر آب دو بار تقطیر به مدت ۲۴ ساعت در دمای آزمایشگاه قرار داده شد. سپس نشت اولیه با استفاده از دستگاه EC متر اندازه‌گیری شد ( $EC_1$ ). ویال‌ها به مدت ۲۰ دقیقه در اتوکلاو (با فشار ۱/۲ بار و دمای ۱۲۰ درجه سانتی‌گراد) قرار داده شدند و بعد از خنک شدن نمونه‌ها، نشت نهایی ( $EC_2$ ) اندازه‌گیری شد. درصد نشت الکترولیت‌ها با استفاده از معادله زیر محاسبه شد (Reddy et al., 2004).

$$EL\% = \frac{EC_1}{EC_2} \times 100$$

ظرفیت آنتی‌اکسیدانی نمونه‌ها با استفاده از خاصیت خنثی‌کنندگی رادیکال‌های آزاد DPPH صورت گرفت. در این روش ۰/۱ میلی‌لیتر عصاره (صد میلی‌گرم ماده برگ تازه را در نیتروژن مایع به صورت کامل هم‌وزن‌نیز کرده و عصاره‌گیری با ۵ میلی‌لیتر اتانول ۹۶ درصد انجام شد. جهت جداسازی مواد

(هر تکرار شامل دو مشاهده و هر گلدان شامل یک گیاه) بود. بذر تاج‌خروس به منظور جوانه‌زنی سریع در پتری‌دیش به ژرمیناتوری با دمای ۲۴ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۶۵ درصد به مدت ۴۸ ساعت منتقل شدند. بذرها را جوانه‌زده بلافاصله در بستر گلدان‌هایی متشکل از پیت، ورمیکولیت و پرلیت (۲:۱:۱ حجمی) کشت شدند و در گلخانه قرار گرفتند. دما در طول روز ۲۰-۲۱ و در شب ۱۵ درجه سانتی‌گراد بود. هنگامی که برگ‌های سوم رشد کردند، نهال‌های یکنواخت در گلدان‌های پلاستیکی سایز چهارده (۱۴ سانتی‌متر دهانه، و ۱۰ سانتی‌متر ارتفاع) حاوی خاک مزرعه و کود گاوی (۱:۳ حجمی) کاشته شدند.

#### تیمار گیاهان با هیدروسولفید سدیم و اعمال تنش

کم‌آبایی: گیاهان با هیدروسولفید سدیم به ترتیب دو بار در مرحله رویشی (چهار تا پنج برگ) و ابتدای مرحله گلدهی (هشت تا نه برگ) محلول‌پاشی شدند. سه غلظت (صفر (آب مقطر)، ۰/۵، و ۱ میلی‌مولار) برای هیدروسولفید سدیم استفاده گردید. گیاهان در صبح محلول‌پاشی شدند و به منظور جلوگیری از آلودگی خاک اطراف گیاهان با ورقه آلومینیومی پوشانده شد. تنش کم‌آبایی بعد از مرحله چهار و پنج برگ تا پایان آزمایش اعمال گردید. تیمار تنش کم‌آبایی به روش وزنی در چهار سطح اعمال گردید (۱) شاهد (۹۰ درصد ظرفیت گلدانی)، (۲) تنش کم‌آبایی (۷۰، ۸۰ و ۶۰ درصد ظرفیت گلدانی). ابتدا چندین گلدان به طور کامل آبیاری شدند تا آب از تمامی خلل و فرج آن به طور کامل خارج گردید. سپس پلاستیکی روی هر گلدان جداگانه کشیده شد تا تبخیر و تعرق حذف گردد. گلدان‌ها وزن شدند تا زمانی که وزن گلدان‌ها در دو اندازه‌گیری متوالی یکسان شد، سپس با استفاده از استوانه فلزی مخصوص نمونه‌گیری خاک، نمونه‌ای تهیه شد و به آزمایشگاه منتقل گردید و وزن تر اندازه‌گیری شد و وزن خشک آن نیز پس از قرارگیری در آون ۱۰۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت محاسبه گردید. درصد رطوبت وزنی برای وضعیت زراعی براساس معادله زیر محاسبه شد (Campbell and Mulla, 1990).

$$FC = (A-B/B) \times 100$$

داده و وزن خشک (DW) آن‌ها تعیین گردید. در نهایت محتوای نسبی آب با فرمول زیر محاسبه شد (Turner, 2018).

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

که در آن FW وزن تر برگ، DW وزن خشک برگ، TW وزن آماس برگ است.

**سنجش پرولین:** ابتدا ۰/۵ گرم از نمونه گیاهی وزن کرده و همراه ازت مایع در هاون چینی کاملاً پودر گردید. سپس پودر حاصل را درون لوله آزمایش ریخته و ۱۰ میلی‌لیتر اسید سولفوسالسیلیک به آن اضافه کرده و ۲۰ دقیقه شیکر نموده و بعد ۱۰ دقیقه با سرعت ۲۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ کرده سپس ۲ میلی‌لیتر از عصاره صاف‌شده برداشته و در یک لوله آزمایش ریخته سپس به هر لوله ۲ میلی‌لیتر معرف نین‌هیدرین و ۲ میلی‌لیتر اسید استیک اضافه شد. لوله‌های آزمایش در بن‌ماری با دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد به مدت یک ساعت قرار داده شدند، پس از یک ساعت لوله‌ها جهت خاتمه واکنش در داخل حمام یخ گذاشته شدند. پس از سرد شدن لوله‌ها، به آن‌ها ۴ میلی‌لیتر تولوئن افزوده شد و ۳۰ ثانیه به هم زده شدند و پس از تشکیل دو فاز مجزا قسمت رنگی برداشته شد و توسط اسپکتروفتومتر میزان جذب آن‌ها در طول موج ۵۲۰ نانومتر خوانده گردید. منحنی کالیبراسیون با استفاده از استاندارد ال-پرولین (وزن مولکولی ۱۱۵/۳ گرم) رسم و میزان پرولین آزاد نمونه‌ها براساس میکرومول بر گرم وزن خشک برگ محاسبه شد (Bates et al., 1973).

**سنجش فنل و فلاونوئید:** به منظور سنجش فنل، به ۰/۱ از عصاره متانولی (عصاره حاصل از ۰/۵ گرم برگ تازه با ۱۰ میلی‌لیتر متانول) هر کدام از نمونه‌ها، ۴/۵ میلی‌لیتر آب مقطر و ۰/۱ میلی‌لیتر معرف فولین-سیکالتو اضافه شد. پس از ۳ دقیقه به محلول، ۰/۳ میلی‌لیتر محلول بی‌کربنات سدیم دو درصد اضافه شد و نمونه‌ها به مدت ۱۲۰ دقیقه در تاریکی قرار گرفتند. جذب در طول موج ۷۶۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (Shimadzu UV-160A) خوانده شد. برای رسم منحنی استاندارد از غلظت‌های مختلف گالیک اسید صفر، ۳، ۵، ۸، ۱۰ و ۱۲ میلی‌گرم در لیتر استفاده شد و معادله‌ای  $Y=0.0908X+0.0241$  به دست آمد و اعداد خوانده شده را

جامد نامحلول به مدت ۲ دقیقه با دور ۲۰۰۰ در دقیقه سانتریفیوژ انجام شد. پس از سانتریفیوژ به یک میلی‌لیتر DPPH (۵۰۰ میکرومولار در متانول) افزوده شد. پس از ۳۰ دقیقه در تاریکی و دمای اتاق میزان جذب نور در طول موج ۵۱۷ نانومتر خوانده شد و براساس معادله زیر محاسبه شد (Yi et al., 2008).

$$DPPH = \frac{A_0 - A_1}{A_0} \times 100$$

DPPH = درصد تخریب رادیکال‌های،  $A_0$  = جذب نمونه

شاهد،  $A_1$  = جذب نمونه مورد ارزیابی

برای سنجش پراکسیداسیون لیپیدهای غشا، غلظت مالون دی‌آلدئید (MDA) به عنوان محصول پراکسیده شدن اسیدهای چرب غشاها اندازه‌گیری شد. در ابتدا ۰/۱ گرم از بافت تازه برگ با نیتروژن مایع آسیاب و به آن پنج میلی‌لیتر تری‌کلرو استیک اسید (TCA) یک درصد اضافه شد. عصاره به مدت ۲۰ دقیقه با دستگاه سانتریفیوژ دور ۱۴۰۰ در دمای چهار درجه سلسیوس سانتریفیوژ شد سپس، به یک میلی‌لیتر از محلول رویی، پنج میلی‌لیتر محلول ۲۰ درصد TCA حاوی ۰/۵ درصد تیوباربیتریک اسید (TBA) اضافه شد. مخلوط حاصل به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت و سپس نمونه‌ها مجدداً سانتریفیوژ شدند. ماده قرمز رنگ مالون دی‌آلدئید تیوباربیتریک اسید (MDA-TBA) تولیدشده، با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۳۲ نانومتر اندازه‌گیری شد و جذب سایر رنگیزه‌های اختصاصی نیز، در طول موج ۶۰۰ نانومتر خوانده شد. تعیین غلظت مالون دی‌آلدئید از ضریب خاموشی معادل  $1.55 \text{ cm}^{-1} \text{ mM}^{-1}$ ، برحسب نانومول بر گرم بافت تازه محاسبه شد (Heath and Parker, 1968).

**سنجش محتوای نسبی آب:** برای ارزیابی محتوای نسبی آب برگ بعد از اعمال تنش کم‌آبایی، وزن تر برگ، وزن آماس و وزن خشک نمونه‌های برگی تهیه گردید. از گیاهان نمونه‌هایی با قطر هشت میلی‌متر تهیه و با استفاده از ترازو توزین گردیدند (FW). سپس نمونه‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای اتاق در داخل آب مقطر غوطه‌ور گردیده و پس از آن وزن آماس آن‌ها اندازه‌گیری شد (TW). سپس نمونه‌ها را به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۷۵ درجه سانتی‌گراد در داخل آون حرارت

### نتایج و بحث

نشت الکترولیت، مالون دی آلدئید و فعالیت آنتی اکسیدانی: میزان نشت الکترولیت، مالون دی آلدئید و فعالیت آنتی اکسیدانی به طور معنی داری تحت تأثیر غلظت‌های مختلف هیدروسولفید سدیم و تنش کم آبیاری قرار گرفت (جدول ۱). کاربرد هیدرو سولفید سدیم سبب کاهش نشت الکترولیت در برگ گیاهان شد. در تنش کم آبیاری ۶۰ درصد ظرفیت زراعی و شرایط بدون تنش، ترکیب ۱ میلی مولار هیدروسولفید سدیم به ترتیب، سبب افزایش ۵۸ و ۵۶ درصد نسبت به گیاهان شاهد شد. گیاهان تیمار شده با غلظت‌های مختلف هیدروسولفید سدیم تحت شرایط تنش ۶۰ و ۷۰ درصد ظرفیت زراعی تفاوت معنی داری از لحاظ میزان نشت الکترولیت نداشتند. بیشترین میزان نشت الکترولیت (۱۸-۱۹ درصد) در گیاهان شاهد تحت شرایط تنش ۷۰ و ۶۰ درصد ظرفیت زراعی به ثبت رسید (شکل ۱ a).

بیشترین میزان مالون دی آلدئید در گیاهان تحت تنش کم آبیاری ۶۰ درصد ظرفیت زراعی شاهد و اسپری شده با ۰/۵ میلی مولار هیدروسولفید سدیم (۱۰/۸-۱۱/۵ نانومول بر گرم وزن تر) به دست آمد. غلظت ۱ میلی مولار هیدروسولفید سدیم موجب کاهش ۲۰ و ۱۳ درصد مالون دی آلدئید در گیاهان تحت تنش کم آبیاری ۶۰ و ۷۰ درصد ظرفیت زراعی نسبت به گیاهان شاهد شد. در شرایط تنش کم آبیاری ۸۰ درصد ظرفیت زراعی، عدم کاربرد هیدروسولفید سدیم در گیاهان تفاوت معنی داری از نظر مالون دی آلدئید با شاهد ایجاد نکرد (شکل ۱ b). افزایش تنش کم آبیاری فعالیت آنتی اکسیدانی را افزایش داد. کاربرد غلظت‌های مختلف هیدروسولفید سدیم تفاوت معنی داری در شرایط تنش کم آبیاری ۶۰ درصد ظرفیت زراعی بر فعالیت آنتی اکسیدانی ایجاد نکردند اما بیشترین میزان این شاخص (۳۷-۳۸ درصد) را به خود اختصاص دادند. تیمار ۱ میلی مولار هیدروسولفید سدیم تحت شرایط ۹۰ و ۷۰ درصد ظرفیت زراعی روندی صعودی را نسبت به گیاهان بدون محلول پاشی هیدروسولفید سدیم به ثبت رسانید. در گیاهان

به جای Y قرار گرفتند. میزان فنل کل بر اساس میلی گرم گالیک اسید بر میلی گرم وزن خشک محاسبه شد (Sigleton and Rossi, 1965).

مقادیر فلاونوئیدها در نمونه عصاره‌های گیاهی به روش Pourmorad و همکاران (۲۰۰۶) اندازه‌گیری شدند. جهت تهیه عصاره از نمونه‌های برگ مقدار ۲۰۰ میلی گرم وزن شد، توسط ۲ میلی لیتر متانول استخراج عصاره صورت پذیرفت. سپس عصاره‌ها به مدت ۴۲ ساعت روی شیکر قرار داده شدند و بعد از ۲۴ ساعت، ۱۰ دقیقه با دور ۶۰۰۰ سانتریفیوژ شدند، در نهایت قسمت بالایی محلول که شفاف بود جدا شد و برای انجام آزمایش‌ها درون لوله‌های جدید ریخته شد. سپس ۰/۱ میلی لیتر کلرید آلومینیوم ۱۰ درصد را با ۰/۱ میلی لیتر استات پتاسیم یک مولار مخلوط کرده و سپس به آن‌ها ۲/۸ میلی لیتر آب مقطر دو بار تقطیر اضافه شد. در مرحله بعد ۰/۵ میلی لیتر از محلول هر عصاره که با ۱/۵ میلی لیتر اتانول مخلوط گردیده بود، به مخلوط کلرید آلومینیوم، استات پتاسیم و آب اضافه گردید. مخلوط نهایی حاصل برای هر عصاره (با حجم ۵ میلی لیتر) برای مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق قرار داده شد. سپس جذب مخلوط واکنش در طول موج ۴۱۵ نانومتر توسط اسپکتروفتومتر (Shimadzu UV-160A) اندازه‌گیری شد. برای رسم منحنی استاندارد از غلظت‌های مختلف صفر، ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰، ۲۰۰، ۲۵۰ میلی گرم کوئرستین استفاده شد و پس از رسم نمودار و به دست آمدن معادله  $Y = 930.4X - 5.483$ ، داده‌های خوانده شده به جای Y قرار گرفتند. مقدار فلاونوئید کل به صورت معادل میلی گرم کوئرستین بر گرم وزن خشک محاسبه و بیان شد.

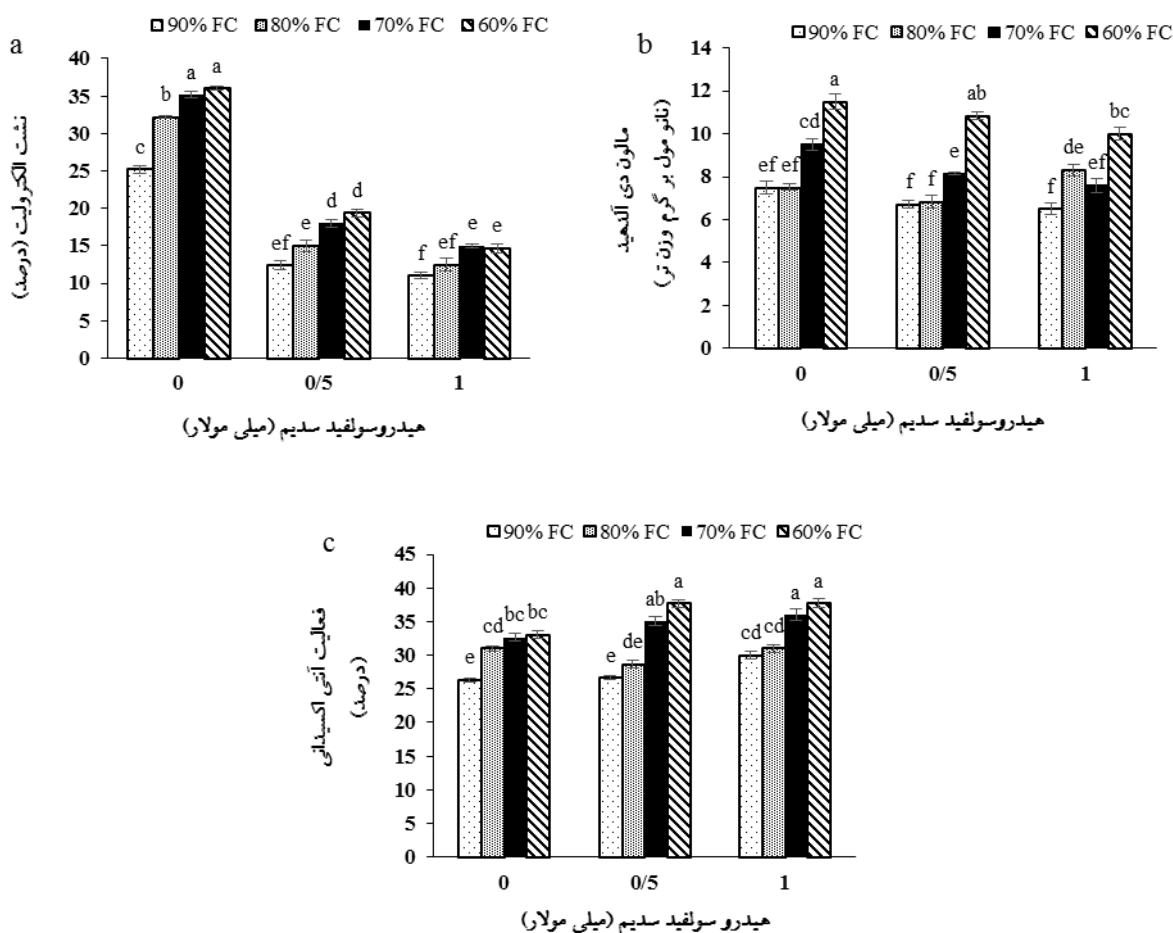
**سنجش صفات رویشی:** تعداد برگ در هر بوته محاسبه گردید و همچنین ارتفاع گیاه با خط‌کش اندازه‌گیری شد. وزن خشک گیاهان با قرار دادن کل گیاه در آون در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت به دست آمد.

آنالیز آماری داده‌ها با نرم‌افزار SAS نسخه ۹/۲ و رسم نمودارها با نرم‌افزار Excel صورت گرفت. مقایسه میانگین داده‌ها نیز با آزمون حداقل اختلاف معنی داری LSD انجام شد.

جدول ۱- تجزیه واریانس تأثیر کاربرد هیدروسولفید هیدروژن بر برخی ویژگی‌های فیزیولوژیک و رشدی تاج خروس در شرایط تنش کم‌آبیاری

وزن خشک	میانگین مربعات							درجه آزادی	منابع تغییر
	فلاونوئید	فنل	پرولین	محتوای نسبی آب	فعالیت آنتی‌اکسیدانی	مالون دی آلدئید	نشست الکترولیت		
۸/۱۷**	۵۴۰**	۳/۱۴**	۱۲/۴**	۲۴**	۱۳/۱**	۳/۱۲**	۱۲۷۹**	۲	هیدروسولفید هیدروژن (A)
۹۶/۱**	۳۴۶۰**	۳۲۵**	۸۲۴**	۱۰۲**	۱۷۲**	۲۶**	۸۸**	۳	کم‌آبیاری (B)
۰/۳۴۰*	۷۷/۱**	۶/۳۳**	۱۱/۷**	۱/۱۱*	۴/۶۶**	۱/۲۹**	۱۰/۱**	۶	(B) × (A)
۰/۱۳۵	۸۳/۲	۰/۶۶۷	۰/۸۸۹	۰/۴۱۳	۱	۰/۲۰۴	۰/۸۵	۲۴	خطا
۱۷/۸	۱۲/۷	۱۰/۷	۱۶/۹	۱۸/۶	۱۹/۷	۴/۱	۴/۴۷		درجه تغییرات

\*\* و \* به ترتیب در سطح ۱ و ۵ درصد معنی‌دار است. <sup>ns</sup> از لحاظ آماری معنی‌دار نیست.



شکل ۱- اثر متقابل هیدروسولفید سدیم و تنش خشکی بر نشست الکترولیت (a)، مالون دی‌آلدئید (b) و فعالیت آنتی‌اکسیدانی (c) تاج خروس. (حروف مشترک نشان‌دهنده عدم معنی‌داری در سطوح متناظر با آزمون LSD است. مقادیر شامل میانگین سه گیاه ± خطای استاندارد)

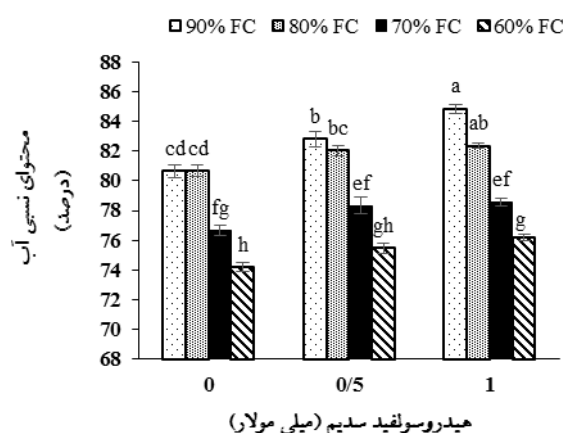
کم آبیاری را کاهش داد.

**محتوای نسبی آب برگ:** نتایج نشان داد که محتوای نسبی آب به طور معنی داری تحت تأثیر هیدروسولفید سدیم و تنش کم آبیاری قرار گرفتند (جدول ۱). کمترین محتوای نسبی آب در گیاهان بدون پاشش برگی هیدروسولفید سدیم، تحت شرایط تنش کم آبیاری ۶۰ درصد ظرفیت زراعی به ثبت رسید (۷۴/۲ درصد) و کاربرد غلظت‌های ۰/۵ و ۱ میلی مولار هیدروسولفید سدیم سبب افزایش این شاخص در برخی تیمارهای تنش خشکی گردید. تحت شرایط تنش خشکی ۹۰ و ۸۰ درصد ظرفیت زراعی تفاوت معنی داری بین محتوای نسبی آب در غلظت‌های مختلف هیدروسولفید سدیم مشاهده نشد. بیشترین میزان محتوای نسبی آب (۸۲-۸۵ درصد) در گیاهان تیمار شده با ۱ میلی مولار هیدروسولفید سدیم تحت تیمار شاهد و ۸۰ درصد ظرفیت زراعی مشاهده شد. میزان این شاخص در گیاهان بدون تنش، تیمار شده با ۱ میلی مولار هیدروسولفید سدیم ۵/۱۶ درصد نسبت به گیاهان شاهد (بدون پاشش برگی تحت تیمار ۹۰ درصد ظرفیت زراعی) افزایش یافت (شکل ۲).

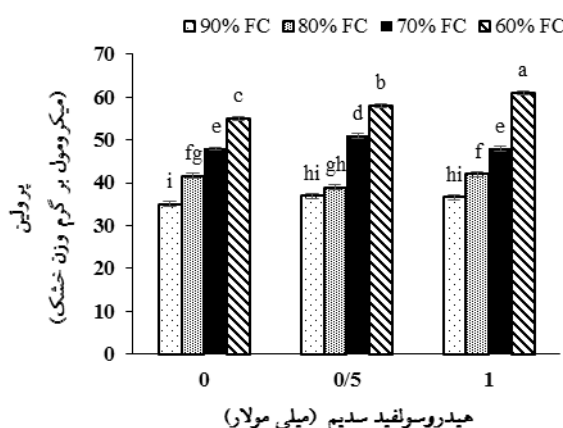
تنش خشکی با کمبود آب، رشد گیاه را محدود می‌کند. گزارش شده است که مهار از دست دادن آب برگ‌ها یک راهبرد مؤثر برای سازگاری گیاه با خشکی است (Ma et al., 2016). در این مطالعه تنش خشکی به طور قابل توجهی محتوای نسبی آب را کاهش داد. پیش تیمار سولفید هیدروژن سبب حفظ محتوای نسبی آب در شرایط تنش خشکی گردید. مکانیسم عمل سولفید هیدروژن در حفظ محتوای نسبی آب از طریق تنظیم روزه هست. Hou و همکاران (۲۰۱۳) دریافتند که کاربرد دی‌اکسید سولفور در برگ‌های آراییدوپسیس با تغییر مسیرهای سیگنال‌دهی سولفید هیدروژن سبب بسته شدن روزه‌ها در برگ گردید. علاوه بر این، GarcoAa-Mata و Lamattina (۲۰۱۰) گزارش کردند که سولفید هیدروژن انتقال‌دهنده آبسزیک اسید (ATP-binding cassette) را تنظیم می‌کند و این عمل باعث بسته شدن روزه گیاهان باقلا گردید.

تیمار شده با ۰/۵ میلی مولار هیدروسولفید سدیم تحت تنش ۶۰ درصد ظرفیت زراعی، افزایش ۱۵/۱ درصد فعالیت آنتی‌اکسیدانی نسبت به گیاهان بدون محلول پاشی هیدروسولفید سدیم مشاهده شد (شکل ۱ c).

خشکی مداوم منجر به اثرات نامطلوب شدیدی می‌شود زیرا از طریق آن تنش اکسیداتیو ایجاد می‌شود. تولید بیش از حد ROS باعث پراکسیداسیون لیپیدهای غشا می‌شود و منجر به آسیب به بخش‌های سلولی، پروتئین‌ها و مولکول‌های RNA و DNA می‌شود (Sade et al., 2011). مطالعه حاضر همچنین سطوح بالایی از نشت الکترولیت در گیاهان تاج خروس تحت تنش نشان داد. گیاهان با فعال کردن سیستم آنتی‌اکسیدانی با تنش اکسیداتیو مقابله می‌کنند. با این حال، هیدروسولفید سدیم دهنده سولفید هیدروژن فعالیت‌های آنزیم‌ها را افزایش می‌دهد. افزایش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی به میزان کافی برای مقابله با تولید بیش از حد ROS، منجر به بهبود محتوای نسبی آب، کاهش از دست دادن آب سلولی می‌گردد (Shan et al., 2011). Fu و همکاران (۲۰۱۹)، مشاهده کردند که کاربرد خارجی هیدروسولفید سدیم باعث کاهش  $H_2O_2$  و  $O_2$  نشت الکترولیت، و تحمل تنش القایی می‌گردد. اثر مثبت سولفید هیدروژن خارجی بر کاهش آسیب‌های اکسیداتیو با افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان به اثبات رسیده است، به طوری که، Kaya و همکاران (۲۰۱۸) گزارش کردند که سولفید هیدروژن با افزایش فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی به طور قابل ملاحظه‌ای آسیب‌های اکسیداتیو را در گیاهان فلفل کاهش داد. Sun و همکاران (۲۰۱۳) کاهش قابل توجهی در آسیب اکسیداتیو گیاه پده (*Populus euphratica*) گزارش کردند. Kolupaev و همکاران (۲۰۱۹) گزارش کردند که کاهش صدمات اکسیداتیو با حداقل تجمع  $H_2O_2$  و مالون دی‌آلدئید در گندم منعکس می‌شود که نتایج آن‌ها با آزمایش حاضر همسو هست. کاهش آسیب اکسیداتیو گیاهان تحت خشکی تاج خروس را می‌توان به افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدان نسبت داد. هیدروسولفید هیدروژن فعالیت آنتی‌اکسیدانی را در گیاه تاج خروس تقویت کرد و در نتیجه آسیب اکسیداتیو تحت تنش



شکل ۲- اثر متقابل هیدروسولفید سدیم بر محتوای نسبی آب برگ تاج خروس در شرایط تنش خشکی. (حروف مشترک نشان‌دهنده عدم معنی داری در سطوح متناظر با آزمون LSD است. مقادیر شامل میانگین سه گیاه  $\pm$  خطای استاندارد)



شکل ۳- اثر متقابل هیدروسولفید سدیم بر میزان پرولین برگ تاج خروس در شرایط تنش خشکی. (حروف مشترک نشان‌دهنده عدم معنی داری در سطوح متناظر با آزمون LSD است. مقادیر شامل میانگین سه گیاه  $\pm$  خطای استاندارد)

پرولین یک محافظ اسبزی ضروری با عملکردهای متنوع است. به‌عنوان مثال، می‌تواند ROS را سم‌زدایی نماید، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی را در تنش خشکی افزایش دهد و از سلول‌ها در برابر سمیت آمونیم محافظت کند (Xiong et al., 2012). تجمع پرولین در گیاهانی که در شرایط خشکی قرار دارند بسیار گزارش شده است (Ghaffari et al., 2021; Li and Yi, 2022). پاسخ دفاعی گیاهان تجمع قابل‌توجهی از اسمولیت‌هایی مانند گلیسین بتائین و پرولین است که برای بهبود تورژسانس سلولی و جلوگیری از آسیب به غشای سلولی و پروتئین‌ها در اثر تنش اکسیداتیو ناشی از خشکی هست (Ashraf and Foolad, 2007). تجمع بیشتر پرولین منجر

پرولین: هیدرو سولفید سدیم و تنش خشکی اثر معنی‌داری بر میزان پرولین برگی داشتند (جدول ۱)، به‌نحوی که ترکیب ۱ میلی‌مولار هیدروسولفید سدیم سبب افزایش ۴/۷۶ درصد میزان پرولین در گیاهان بدون تنش و ۱۰/۹ درصد در گیاهان تحت تنش خشکی ۶۰ درصد ظرفیت زراعی نسبت به گیاهانی هیدروسولفید سدیم دریافت نکرده بودند، گردید. کاربرد غلظت‌های مختلف این ماده تأثیر معنی‌داری بر میزان پرولین در گیاهان شاهد (۹۰ درصد ظرفیت زراعی) نداشتند، اما این تیمارها در شرایط تنش‌های ۸۰، ۷۰ و ۶۰ درصد ظرفیت زراعی سبب افزایش میزان پرولین نسبت به شاهد شدند (شکل ۳).

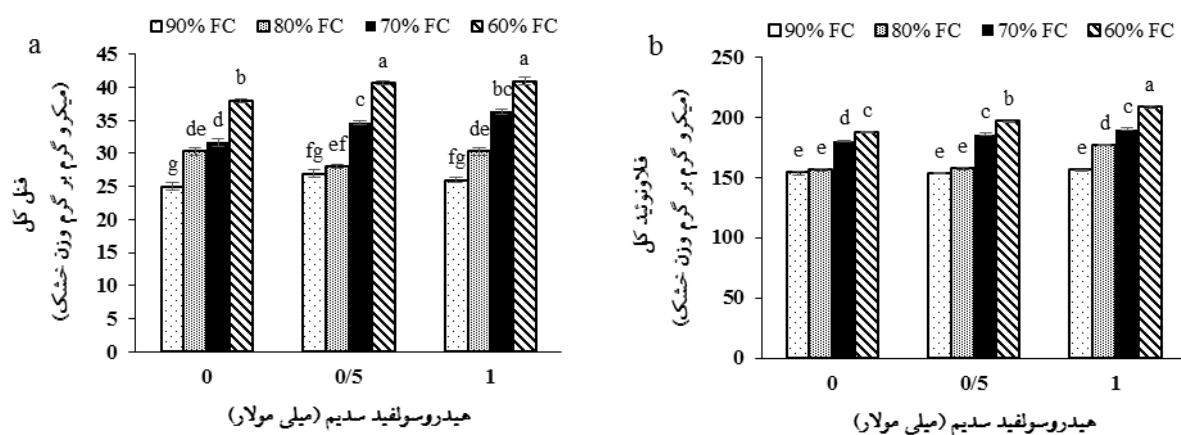


درصد میزان فلاونوئید نسبت به گیاهان شاهد شدند (شکل ۴ b).

تجمع ترکیبات فنلی در گیاهان در شرایط خشکی چندین برابر افزایش می‌یابد (Albergaria *et al.*, 2020). نتایج ما همچنین افزایش قابل‌توجهی در محتوای فنلی گیاهان تاج‌خروس تحت تنش خشکی را نشان داد. این نتایج در شب‌بو (Jafari *et al.*, 2019) و داودی (Hodaei *et al.*, 2018) به اثبات رسیده است. فلاونوئیدها نیز متابولیت‌های ثانویه پلی‌فنلیک هستند. فلاونوئیدها با وزن مولکولی کم، سیستم دفاعی، رشدونمو و تولیدمثل را بهبود می‌بخشند، تنش خشکی در گیاهان منجر به افزایش قابل‌توجهی در تجمع برخی فلاونوئیدها در گیاهان می‌شود (Ma *et al.*, 2014). نتایج مطالعه ما همچنین افزایش قابل‌توجهی در تجمع فلاونوئیدها در تاج‌خروس را نشان داد. تیمار سولفید هیدروژن محتوای فلاونوئید را در شرایط خشکی در گیاه آفتابگردان افزایش داد (Amir *et al.*, 2021) و فلاونوئیدها در گیاهان تیمار شده با سولفید هیدروژن در شرایط خشکی به تجمع قابل‌توجهی از کربوهیدرات‌های محلول نسبت داده می‌شوند. در گیاهان تحت تنش خشکی حداقل انتقال قندهای محلول را از برگ‌ها نشان می‌دهند. سولفید هیدروژن در تنش خشکی، بیان ژن‌های بیوسنتز قند را در گیاهان تنظیم می‌کند (Shan and Sun, 2012). مکانیسم القای تجمع ترکیبات فلاونوئیدی در برگ‌های گیاهان تحت‌تأثیر کاربرد خارجی سولفید هیدروژن و عوامل تنش‌زا به‌ندرت مورد مطالعه قرار گرفته است. احتمالاً، سنتز فلاونوئیدها ناشی از سولفید هیدروژن به‌عنوان یکی از اجزای سیستم‌های جلوگیری از تنش اکسیداتیو در گیاهان شناخته می‌شود. با این وجود، فلاونوئیدهایی که در واکوئل وجود دارند پراکسید هیدروژن را سم‌زدایی می‌کنند. تجمع فلاونوئیدها در بافت‌ها ممکن است یک مؤلفه مهم تنظیم اسمزی در شرایط تنش خشکی باشد (Khlestkina, 2013). لازم به ذکر است که نقش سولفید هیدروژن در تنظیم بیوسنتز فلاونوئیدها مبهم است با این‌حال، ظاهراً به‌دلیل آنزیم‌ها و تنظیم

به تحمل به خشکی در حنا (Safari *et al.*, 2022)، شب‌بو (Jafari *et al.*, 2019)، و جعفری (Cicevan *et al.*, 2013) شد. نتایج حاصل از این پژوهش نیز حاکی از افزایش شدید در محتویات پرولین در شرایط خشکی و کاربرد سولفید هیدروژن بود. سولفید هیدروژن فعالیت پیرولین-۵-کربوکسیلات سنتاز (P5CS) و فعالیت پرولین دهیدروژناز را تنظیم می‌کند. گیاهان ذرت پیش‌تیمار شده با سولفید هیدروژن افزایش قابل‌توجهی در محتوای پرولین نشان دادند. سولفید هیدروژن فعالیت‌های P5CS را افزایش داد و فعالیت‌های PDH (پرولین دهیدروژناز) را به میزان قابل‌توجهی کاهش داد. پیرولین-۵-کربوکسیلات سنتاز در سنتز پرولین نقش دارد، درحالی‌که فعالیت PDH پرولین را تخریب می‌کند (Li *et al.*, 2013).

**متابولیت‌های ثانویه:** نتایج نشان داد که میزان فنل و فلاونوئید به‌طور معنی‌داری تحت‌تأثیر هیدروسولفید سدیم و تنش خشکی قرار گرفتند (جدول ۱). تیمار ۹۰ درصد ظرفیت زراعی موجب افزایش ۸ درصدی میزان فنل در گیاهان اسپری شده با ۱ میلی‌مولار هیدروسولفید سدیم نسبت به گیاهان بدون پاشش برگی هیدروسولفید سدیم شد. بیشترین میزان فنل در گیاهان اسپری‌شده با ۰/۵ و ۱ میلی‌مولار هیدروسولفید سدیم (۲۷ میکروگرم بر گرم وزن خشک) به ثبت رسید. تنش خشکی ۷۰ درصد ظرفیت زراعی میزان این شاخص را به‌طور معنی‌داری در گیاهان اسپری‌شده با ۱ میلی‌مولار هیدروسولفید سدیم نسبت به گیاهان شاهد ۱۴/۷ درصد افزایش داد، اما تفاوت معنی‌داری از نظر فنل بین غلظت‌های مختلف گیاهان شاهد مشاهده نشد (شکل ۴ a). غلظت‌های مختلف هیدروسولفید سدیم هم در شرایط تنش و هم در شرایط بدون تنش سبب افزایش میزان فلاونوئید برگی شدند. تیمار ۱ میلی‌مولار هیدروسولفید سدیم سبب افزایش ۲۱/۴ درصد فلاونوئید در گیاهان تحت تنش خشکی ۶۰ درصد ظرفیت زراعی نسبت به گیاهان شاهد (۹۰ درصد) شد. در شرایط تنش ۷۰ و ۶۰ درصد ظرفیت زراعی، ترکیب ۱ میلی‌مولار هیدروسولفید سدیم به‌ترتیب، سبب افزایش ۵/۵۵ و ۱۱/۲



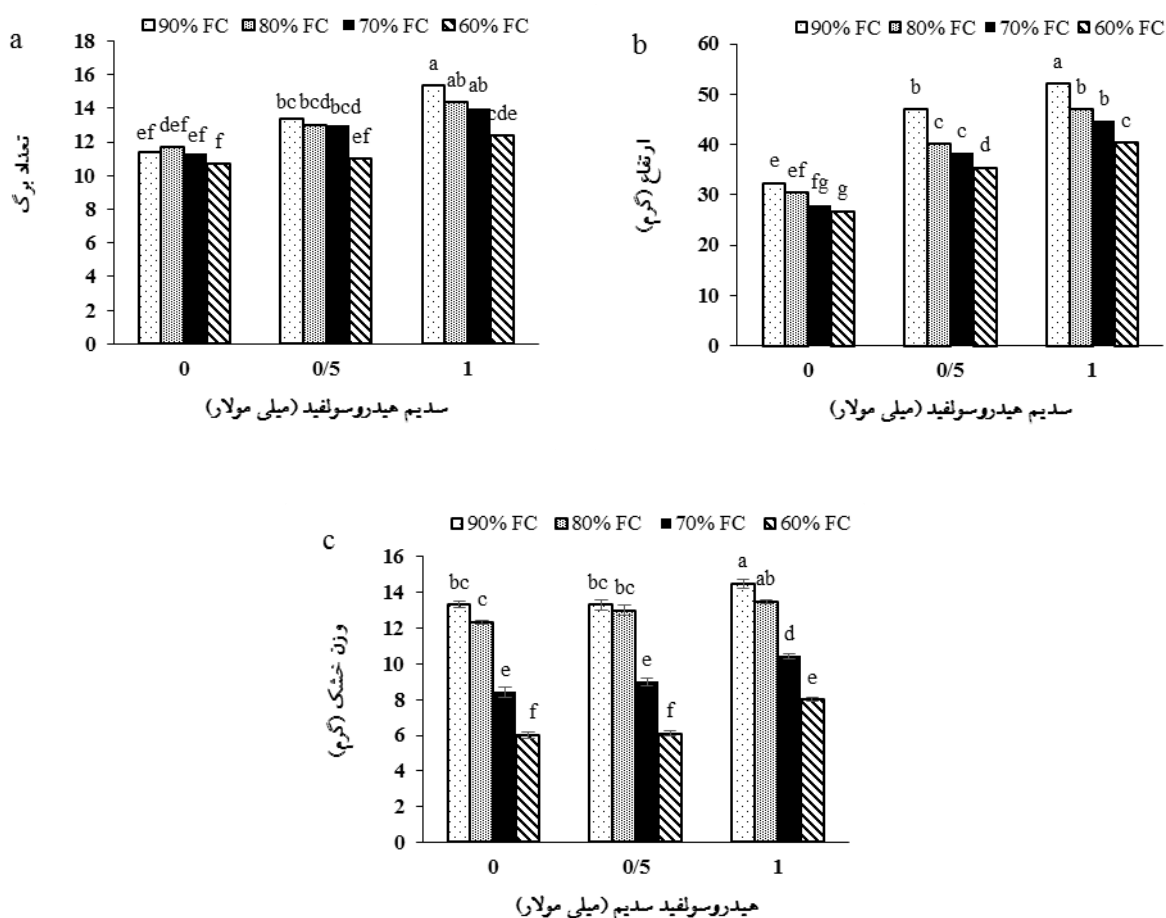
شکل ۴- اثر متقابل هیدروسولفید سدیم بر فنل (a) و فلاونوئید (b) برگ تاج خروس در شرایط تنش خشکی. (حروف مشترک نشان دهنده عدم معنی داری در سطوح متناظر با آزمون LSD است. مقادیر شامل میانگین سه گیاه  $\pm$  خطای استاندارد)

شرایط مختلف آبیاری بر وزن خشک گیاهان نداشت (شکل b ۵).

گیاهان ممکن است تحت سطوح مختلف خشکی عملکرد متفاوتی داشته باشند، و تفاوت‌های گیاهان در تحمل به خشکی می‌تواند به توانایی گیاهان در سازگاری و القای متفاوت مکانیسم‌های دفاعی تحت تنش آب نسبت داده می‌شود (Ors *et al.*, 2021). سولفید هیدروژن یک مولکول گازی ضروری است که به‌طور قابل توجهی فعالیت‌های زیستی کلیدی را تنظیم می‌کند. علاوه بر این، گیاهان با پیش‌تیمار سولفید هیدروژن بقای قابل توجه بهتری را در شرایط سرما، شوری و خشکی نسبت به گیاهان تیمار نشده نشان می‌دهند (Shi *et al.*, 2013; Amir *et al.*, 2021). نتایج این تحقیق نشان داد که بهبود قابل توجهی در صفات رویشی نظیر تعداد برگ، ارتفاع، و وزن خشک گیاهان تاج‌خروس تیمار شده با هیدروسولفید هیدروژن خارجی تحت خشکی صورت گرفته است و صفات رویشی گیاهان تحت تنش ۶۰ درصد ظرفیت زراعی در تیمار ۱ میلی‌مولار نسبت به گیاهان بدون محلول‌پاشی افزایش یافت. Zhang و همکاران (۲۰۱۰) افزایش زیست‌توده گیاهی در سویا با پیش‌تیمار سولفید هیدروژن تحت تنش خشکی را گزارش کردند. به‌طور مشابه، کاهش ناشی از خشکی در رشد گندم به‌طور قابل توجهی توسط تیمار خارجی این ماده حذف شد (Kolupaev *et al.*, 2019).

پروتئین‌هایی که در این فرآیند عمل می‌کنند نقش چندگانه‌ای دارند (Kolupaev *et al.*, 2015).

**صفات رویشی:** تعداد برگ، ارتفاع، و وزن خشک گیاهان به‌طور معنی‌داری در سطح احتمال پنج درصد، تحت تأثیر خشکی و هیدروسولفید سدیم قرار گرفتند. بیشترین میزان تعداد برگ، ارتفاع، و وزن خشک (به ترتیب، ۱۵/۳، ۵۳ سانتی‌متر، ۱۴/۵ گرم) در گیاهان تیمار شده با غلظت ۱ میلی‌مولار هیدروسولفید سدیم در شرایط شاهد (۹۰ درصد ظرفیت زراعی)، به ثبت رسید، اما با افزایش تنش خشکی، از مقدار صفات رویشی گیاهان کاهش یافت (شکل ۵). تعداد برگ در گیاهان تیمار شده با ۰/۵ و ۱ میلی‌مولار با کاهش تنش خشکی تا ۷۰ درصد ظرفیت تفاوت معنی‌داری با ۹۰ درصد ظرفیت زراعی نداشت اما افزایش بیشتر تنش تا ۶۰ درصد ظرفیت زراعی سبب کاهش تعداد برگ شد. کمترین میزان ارتفاع در گیاهان بدون محلول‌پاشی تحت تنش خشکی ۶۰ درصد ظرفیت زراعی به ثبت رسید (شکل a ۵). با افزایش تنش خشکی از ۹۰ به ۶۰ درصد ظرفیت زراعی از وزن گیاهان تیمار شده با ۰/۵ و ۱ میلی‌مولار به ترتیب ۵۴ و ۴۵ درصد کاسته شد. تیمار ۱/۵ میلی‌مولار هیدروسولفید سدیم سبب افزایش ۹ درصد وزن خشک گیاهان نسبت به گیاهان شاهد گردید. کاربرد ۰/۵ میلی‌مولار نسبت به شاهد تفاوت معنی‌داری در



شکل ۵- اثر هیدروسولفید سدیم بر تعداد برگ (a)، ارتفاع (b) و وزن خشک (c) تاج خروس در شرایط تنش خشکی. (حروف مشترک نشان‌دهنده عدم معنی داری در سطوح متناظر با آزمون LSD است. مقادیر شامل میانگین سه گیاه  $\pm$  خطای استاندارد)

### نتیجه‌گیری

از مطالعه حاضر می‌توان نتیجه گرفت که کاربرد هیدروسولفید هیدروژن به‌صورت محلول‌پاشی قبل از تنش خشکی، سبب افزایش تعداد برگ و ارتفاع گیاه تاج خروس شد. همچنین با افزایش فعالیت آن‌تی‌اکسیدانی و کاهش میزان مالون دی‌آلدئید سبب کاهش نشت الکترولیت در گیاهان تحت تنش خشکی گردید. از طرفی غلظت ۱ میلی‌مولار بیشترین تأثیر را بر تجمع اسمولیت‌های سازگار مانند پرولین، متابولیت‌های ثانویه نظیر فلاونوئید و فنل در گیاهان تحت تنش خشکی ۷۰ و ۶۰ درصد زراعی داشت. کاربرد این ماده با غلظت‌های ۰/۵ و ۱ میلی‌مولار از کاهش محتوای نسبی گیاهان تحت تنش جلوگیری نمود. هیدروسولفید هیدروژن اثر منفی تنش خشکی را بر وزن خشک گیاهان تاج‌خروس کاهش داد. به‌طورکلی، نتایج نشان

نسبی آب می‌شود که به‌طور قابل‌توجهی رشدونمو گیاهان را کاهش می‌دهد (Blum, 2017). همچنین اثرات مشابهی از خشکی بر رشد مریم‌گلی (Govahi *et al.*, 2015) و حنا (Safari *et al.*, 2022) گزارش شده است که همسو با نتایج این آزمایش بود. حفظ وزن خشک گیاهان تحت‌تیمار سولفید هیدروژن به‌دلیل افزایش جذب برخی عناصر مانند پتاسیم و کلسیم تحت تنش خشکی هست که این عناصر تنظیمات اسمزی را به عهده دارند (Amiri *et al.*, 2021). از طرفی تأثیر مثبت این ماده بر صفات رویشی این گیاه، به‌دلیل کاهش مالون دی‌آلدئید در شرایط تنش خشکی و همچنین تأثیر بر متابولیسم چندین آنزیم نظیر کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز و گلوکاتایون اکسیداز است (Ocvirk *et al.*, 2021).

داد که کاربرد هیدروسولفید سدیم به‌عنوان تولیدکننده سولفید  
 هیدروژن می‌تواند به‌عنوان یک راهبرد برای حفظ رشد گیاهان  
 زینتی در شرایط خشکی در نظر گرفته شود.

### منابع

کافی، م. و قهساره، م. (۱۳۹۴) گلکاری علمی و عملی. ناشر گلبن.

- Albergaria, E. T., Oliveira, A. F. M. and Albuquerque, U. P. (2020) The effect of water deficit stress on the composition of phenolic compounds in medicinal plants. *South African Journal of Botany* 131: 12-17.
- Amiri, S. B., Rasheed, R., Ashraf, M. A., Hussain, I. and Iqbal, M. (2021) Hydrogen sulfide mediates defense response in safflower by regulating secondary metabolism, oxidative defense, and elemental uptake under drought. *Physiologia Plantarum* 172: 795-808.
- Ashraf, M. and Foolad, M. R. (2007) Roles of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance. *Environmental and Experimental Botany* 59: 206-216.
- Bates, L. S., Waldren, R. P. and Teare, I. D. (1973) Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and Soil* 39: 205-207.
- Baudouin, E., Poilevey, A., Hewage, N. I., Cochet, F., Puyaubert, J. and Bailly, C. (2016) The significance of hydrogen sulfide for arabidopsis seed germination. *Frontiers in Plant Science* 7: 930.
- Blum, A. (2017) Osmotic adjustment is a prime drought stress adaptive engine in support of plant production. *Plant, Cell and Environment* 40: 4-10.
- Campbell, G. S. and Mulla, D. J. (1990) Measurement of soil water content and potential. In: *Irrigation of Agricultural Crops*. (eds. Stewart, B. A. and Nielsen, D. R.) Pp 127-142. American Society of Agronomy, Madison, USA.
- Chen, J., Shang, Y. T., Wang, W. H., Chen, X. Y., He, E. M., Zheng, H. L. and Shangguan, Z. (2016) Hydrogen sulfide-mediated polyamines and sugar changes are involved in hydrogen sulfide-induced drought tolerance in *Spinacia oleracea* seedlings. *Frontiers in Plant Science* 7: 1173.
- Cicevan, R., Hassan, M. A., Sestras, A. F., Prohens, J., Vicente, O., Sestras, R. E. and Boscaiu, M. (2013) Screening for drought tolerance in cultivars of the ornamental genus *Tagetes* (Asteraceae). *PeerJ* 4: e2133.
- Dole, J. M. and Wilkins, H. F. (2004) *Floriculture: Principles and Species* (Hardback). 2<sup>nd</sup> Ed. Pearson Education (US). ISBN: 9780130462503.
- Frederickson-Matika, D. E. and Loake, G. J. (2014) Redox regulation in plant immune function. *Antioxidants Redox Signal* 21: 1373-1388.
- Fu, M. M., Dawood, M., Wang, N. H. and Wu, F. (2019) Exogenous hydrogen sulfide reduces cadmium uptake and alleviates cadmium toxicity in barley. *Plant Growth Regulation* 89: 227-237.
- Fu, M. M., Dawood, M., Wang, N. H. and Wu, F. (2019) Exogenous hydrogen sulfide reduces cadmium uptake and alleviates cadmium toxicity in barley. *Plant Growth Regulation* 89: 227-237.
- GarcoAa-Mata, C. and Lamattina, L. (2010) Hydrogen sulphide, a novel gasotransmitter involved in guard cell signaling. *New Phytologist* 188: 977-984.
- Ghaffari, H., Tadayon, M. R., Bahador, M. and Razmjoo, J. (2021) Investigation of the proline role in controlling traits related to sugar and root yield of sugar beet under water deficit conditions. *Agricultural Water Management* 243: 106448.
- Govahi, M., Ghalavand, A., Nadjafi, F. and Sorooshzadeh, A. (2015) Comparing different soil fertility systems in Sage (*Salvia officinalis*) under water deficiency. *Industrial Crops and Product* 74: 20-27.
- Heath, R. L. and Packer, L. (1968) Photoperoxidation in isolated chloroplasts. I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 125: 189-198.
- Hodaei, M., Rahimmalek, M., Arzani, A. and Talebi, M. (2018) The effect of water stress on phytochemical accumulation, bioactive compounds and expression of key genes involved in flavonoid biosynthesis in *Chrysanthemum morifolium* L. *Industrial Crops and Products* 120: 295-304.
- Hou, Z., Wang, L., Liu, J., Hou, L. and Liu, X. (2013) Hydrogen sulfide regulates ethylene-induced stomatal closure in *Arabidopsis thaliana*. *Journal of Integrative Plant Biology* 55: 277-289.
- Jafari, S., Garmdareh, S. E. H. and Azadegan, B. (2019) Effects of drought stress on morphological, physiological, and biochemical characteristics of stock plant (*Matthiola incana* L.). *Scientia Horticulturae* 253: 128-133.
- Jia, H., Chen, S., Liu, D., Liesche, J., Shi, C., Wang, J., Ren, M., Wang, X., Yang, J., Shi, W. and Li, J. (2018) Ethylene-induced hydrogen sulfide negatively regulates ethylene biosynthesis by persulfidation of ACO in tomato under osmotic stress. *Frontiers in Plant Science* 9: 1517.
- Jia, H., Hu, Y., Fan, T. and Li, J. (2015) Hydrogen sulfide modulates actin-dependent auxin transport via regulating ABPs results in changing of root development in *Arabidopsis*. *Scientific Reports* 5: 8251.

- Jin, Z., Wang, Z., Ma, Q., Sun, L., Zhang, L., Liu, Z., Liu, D., Hao, X. and Pei, Y. (2017) Hydrogen sulfide mediates ion fluxes inducing stomatal closure in response to drought stress in *Arabidopsis thaliana*. *Plant and Soil* 419: 141-152.
- Kaya, C., Ashraf, M. and Akram, N. A. (2018) Hydrogen sulfide regulates the levels of key metabolites and antioxidant defense system to counteract oxidative stress in pepper (*Capsicum annuum* L.) plants exposed to high zinc regime. *Environmental Science and Pollution Research International* 25: 12612-12618.
- Khlestkina, E. K. (2013) The adaptive role of flavonoids: Emphasis on cereals, *Cereal Research Communications* 41: 185-198.
- Kohli, S. K., Khanna, K., Bhardwaj, R., Abd\_Allah, E. F., Ahmad, P. and Corpas, F. J. (2019) Assessment of subcellular ROS and NO metabolism in higher plants: multifunctional signaling molecules. *Antioxidants* 8: 641.
- Kolupaev, Y. E., Firsova, E. N., Yastreb, T. O., Ryabchun, N. I. and Kirichenko, V. V. (2019) Effect of hydrogen sulfide donor on antioxidant state of wheat plants and their resistance to soil drought. *Russian Journal of Plant Physiology* 66: 59-66.
- Kopriva, S. (2006) Regulation of sulfate assimilation in *Arabidopsis* and beyond. *Annals of Botany* 97: 479-495.
- Li, L. and Yi, H. (2022) Enhancement of drought tolerance in *Arabidopsis* plants induced by sulfur dioxide. *Ecotoxicology* 1-12.
- Li, Z. G., Ding, X. J. and Du, P. F. (2013) Hydrogen sulfide donor sodium hydrosulfide-improved heat tolerance in maize and involvement of proline. *Journal of Plant Physiology* 170: 741-747.
- Lisjak, M., Teklic, T., Wilson, I. D., Wood, M., Whiteman, M. and Hancock, J. T. (2011) Hydrogen sulfide effects on stomatal apertures. *Plant Signaling and Behavior* 6: 1444-1446.
- Ma, D., Ding, H., Wang, C., Qin, H., Han, Q., Hou, J., Lu, H., Xie, Y. and Guo, T. (2016) Alleviation of drought stress by hydrogen sulfide is partially related to the abscisic acid signaling pathway in wheat. *PLoS One* 11: e0163082.
- Ma, D., Sun, D., Wang, C., Li, Y. and Guo, T. (2014) Expression of flavonoid biosynthesis genes and accumulation of flavonoid in wheat leaves in response to drought stress. *Plant Physiology and Biochemistry* 80: 60-66.
- Ocvirk, D., Spoljarevic, M., Kristic, M., Hancock, J. T., Teklic, T. and Lisjak, M. (2021) The effects of seed priming with sodium hydrosulfide on drought tolerance of sunflower (*Helianthus annuus* L.) in germination and early growth. *Annals of Applied Biology* 178: 400-413.
- Ors, S., Ekinci, M., Yildirim, E., Sahin, U., Turan, M. and Dursun, A. (2021) Interactive effects of salinity and drought stress on photosynthetic characteristics and physiology of tomato (*Lycopersicon esculentum* L.) seedlings. *South African Journal of Botany* 137: 335-339.
- Paul, B. D. and Snyder, S. H. (2015) H<sub>2</sub>S: a novel gasotransmitter that signals by sulfhydration. *Trends in Biochemical Sciences* 40: 687-700.
- Pourmorad, F., Hosseinimehr, S. J. and Shahabimajd, N. (2006) Antioxidant activity, phenol and flavonoid contents of some selected Iranian medicinal plants. *African Journal of Biotechnology* 5: 1142-1145.
- Reddy, A. R., Chaitanya, K. V. and Vive Kanandan, M. (2004) Drought-induced responses of photosynthesis and antioxidant metabolism in higher plants. *Journal of Plant Physiology* 161: 1189-1202.
- Sade, B., Soyly, S. and Soyly, E. (2011) Drought and oxidative stress. *African Journal of Biotechnology* 10: 11102-11109.
- Safari, M., Mousavi-Fard, S., Rezaei Nejad, A., Sorkheh, K. and Sofo, A. (2022) Exogenous salicylic acid positively affects morpho-physiological and molecular responses of *Impatiens walleriana* plants grown under drought stress. *International Journal of Environmental Science and Technology* 19: 969-984.
- Savvides, A., Ali, S., Tester, M. and Fotopoulos, V. (2016) Chemical priming of plants against multiple abiotic stresses: Mission possible? *Trends in Plant Science* 21: 329-340.
- Shan, C. J., Zhang, S. L., Li, D. F., Zhao, Y. Z., Tian, X. L., Zhao, X. L., Wu, Y. X., Wei, X. Y. and Liu, R. Q. (2011) Effects of exogenous hydrogen sulfide on the ascorbate and glutathione metabolism in wheat seedlings leaves under water stress. *Acta Physiologiae Plantarum* 33(6): 2533-2540.
- Shan, C., Dai, H. and Sun, Y. (2012) Hydrogen sulfide protects wheat seedlings against copper stress by regulating the ascorbate and glutathione metabolism in leaves. *Australian Journal of Crop Science* 6: 248-254.
- Shi, H., Ye, T. and Chan, Z. (2013) Exogenous application of hydrogen sulfide donor sodium hydrosulfide enhanced multiple abiotic stress tolerance in bermudagrass (*Cynodon dactylon* (L.) Pers.). *Plant Physiology and Biochemistry* 71: 226-234.
- Sigleton, V. L. and Rossi, J. A. (1965) Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture* 16: 144-158.
- Sun, J., Wang, R., Zhang, X., Yu, Y., Zhao, R., Li, Z. and Chen, S. (2013) Hydrogen sulfide alleviates cadmium toxicity through regulations of cadmium transport across the plasma and vacuolar membranes in *Populus euphratica* cells. *Plant Physiology and Biochemistry* 65: 67-74.
- Turner, N. C. (2018) Turgor maintenance by osmotic adjustment – 40 years of progress. *Journal of Experimental Botany* 69: 3223-3233.

- Xiong, J., Zhang, L., Fu, G., Yang, Y., Zhu, C. And Tao, L. (2012) Drought-induced proline accumulation is uninvolved with increased nitric oxide, which alleviates drought stress by decreasing transpiration in rice. *Journal of Plant Research* 125: 155-164.
- Xuan, L., Li, J., Wang, X. and Wang, C. (2020) Crosstalk between hydrogen sulfide and other signal molecules regulates plant growth and development. *International Journal of Molecular Sciences* 21: 4593.
- Yang, L., Zeng, J., Wang, P. and Zhu, J. (2018) Sodium hydrosulfide alleviates cadmium toxicity by changing cadmium chemical forms and increasing the activities of antioxidant enzymes in salix. *Environmental and Experimental Botany* 156: 161-169.
- Yi, Z., Yu, Y., Liang, Y. and Zeng, B. (2008) In vitro antioxidant and antimicrobial activities of the extract of *Pericarpium citri Reticulatae* of a new citrus cultivar and its main flavonoids. *LWT – Food Science and Technology* 41: 597-603.
- Zhang, H., Jiao, H., Jiang, C. X., Wang, S. H., Wei, Z. J., Luo, J. P. and Jones, R. L. (2010) Hydrogen sulfide protects soybean seedlings against drought-induced oxidative stress. *Acta Physiology and Plantarum* 32: 849-857.
- Ziogas, V., Tanou, G., Belghazi, M., Filippou, P., Fotopoulos, V., Grigorios, D. and Molassiotis, A. (2015) Roles of sodium hydrosulfide and sodium nitroprusside as priming molecules during drought acclimation in citrus plants. *Plant Molecular Biology* 89: 433-450.

## Effect of sodium hydrosulfide on physiological and morphological traits of *Amaranthus tricolor* under deficit irrigation

Atiyeh Oreee, Ali Tehranifar \*, Zahra Ghorbani

Department of Horticultural Science and Landscape, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad  
(Received: 04/04/2022, Accepted: 14/06/2022)

### Abstract

Drought stress is one of the most important factors threatening the growth and development of ornamental plants around the world. Clearly, the use of active ingredients that increase drought resistance in plants is very important to reduce the economic losses of ornamental plants in landscapes. For this aim, a study was conducted to evaluate the effects of sodium hydrochulfide on *Amaranthus* plant (*Amaranthus tricolor*' early splendor') under deficit irrigation in a factorial design in the form of complete random design. Plants were treated with sodium bisulfide (0, 0.5, 1.5 mM) in the greenhouse for three weeks and then subjected to deficit irrigation (90, 80, 70, and 60% of field capacity). As the drought stress increased, the relative water content decreased, such that deficit irrigation (60% FC) reduced the relative water content by 78.9%. Sodium hydrochulfide reduced the negative effects of deficit irrigation on secondary metabolites (phenol and flavonoid) as well as osmotic regulator (proline), and a concentration of 1 mM increased stress resistance. Ion leakage was reduced by the use of sodium hydrochulfide during high deficit irrigation. 1 mM sodium hydrogen sulfide, with increased antioxidant activity, reduced malondialdehyde by 23.4% and 23% under deficit irrigation conditions 60 and 70% FC, respectively. The application of sodium hydrogen sulfide reduced the negative effects of deficit irrigation on *Amaranthus* growth traits by increasing secondary metabolites, osmotic adjustment, and antioxidant activity. Overall, our results suggested that the application of sodium hydrosulfide as a producer of hydrogen sulfide could be considered as a strategy to maintain the growth of ornamental plants under deficit irrigation.

**Keywords:** Stress, Ornamental plant, Sulfide hydrogen, Secondary metabolites

Corresponding author, Email: tehranifar@um.ac.ir