

مقاله پژوهشی

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

عطیه اورعی، علی تهرانی فر* و زهرا قربانی

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

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

چکیده

نش کشکی از مهم‌ترین عواملی است که رشد نمو گیاهان زیستی را در سراسر جهان به مخاطره می‌اندازد. بدیهی است که به کارگیری ترکیباتی که مقاومت به خشکی را در گیاهان افزایش دهد در کاهش ضررها اقتصادی بر گیاهان زیستی 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 میلی مولار) به صورت محلول پاشی تیمار شدند، سپس یک ماه در معرض کم آبیاری (۶۰، ۷۰، ۸۰ و ۹۰ درصد ظرفیت زراعی) قرار گرفتند. با افزایش نش 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 متabolیک‌های ثانویه (فنل و فلاونوئید) و تنظیم کننده اسمزی (پرولین) کاهش داد و غلظت ۱ میلی مولار باعث افزایش مقاومت به نش شد. نشت یونی با کاربرد هیدروسولفید سدیم در سطوح شدیدتر کم آبیاری کاهش یافت. ۱ میلی مولار هیدرو سولفید سدیم با افزایش فعالیت آنتی اکسیدانی 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 متabolیک‌های ثانویه، تنظیمات اسمزی، و فعالیت آنتی اکسیدانی اثر منفی کم آبیاری را بر صفات رشدی گیاه تاج خروس کاهش داد. به طور کلی، نتایج نشان داد که کاربرد هیدروسولفید سدیم به عنوان تولید کننده سولفید هیدروژن می‌تواند به عنوان یک راهبرد برای حفظ رشد گیاهان زیستی در شرایط کم آبیاری در نظر گرفته شود.

واژه‌های کلیدی: نش، گیاه زیستی، سولفید هیدروژن، متabolیک‌های ثانویه

به عنوان گل حاشیه‌ای بوده که به ویژه در سطح وسیعی در فصل

مقدمه

تابستان در فضای سبز کشت می‌گردد (Dole and Wilkins, 2004). روش تکثیر گیاهان خانواده تاج خروس با استفاده از بذر و بسیار آفتتاب دوست است، نیاز به خاک‌های قوی و حاصلخیز دارد. در روزهای گرم و آفتابی مرطوب نگهداشتن خاک به

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

می‌گیرد (Lisjak *et al.*, 2011). تنش محیطی باعث افزایش گونه‌های فعال اکسیژن در سلول گیاهی می‌شوند و انباست 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 Frederickson-Matika and Loake, 2014; Kohli *et al.*, 2019 غیرآنزیمی هست (). H_2S فعالیت آنتی‌اکسیدان‌ها را تنظیم می‌کند تا سطح ROS داخل سلولی را تحت تنش زیست محیطی کاهش دهند. با این حال، 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 (Zhang *et al.*, 2010)، سویا (Jin *et al.*, 2017) و مرکبات (Chen *et al.*, 2015) و مربکات (Ziogas *et al.*, 2016) افزایش داده است. محتوای H_2S درون‌زا در طول جوانه‌زنی افزایش می‌یابد. در حالی که تیمار غوطه‌وری بذور با هیدروسولفید سدیم سبب تجمع سولفید هیدروژن درونی می‌گردد، که به‌نوبه خود جوانه‌زن بذر را از آسیب با افزایش فعالیت آمیلاز و استراز، آسیب اکسیداتیو، جلوگیری از جذب یون‌های فلزی و تغییرات سیگنان آبسیزیک 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 تاج‌خرروس تحت تنش کم‌آبیاری اجرا شد.

مواد و روش‌ها

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

داشتند 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). به تازگی، اثرات مثبت این ماده در پاسخ به چند نوع تنش غیرزنده در گیاهان مانند خشک‌سالی، شوری و گرمابه اثبات رسیده است (Chen *et al.*, 2016; Jia *et al.*, 2018; Li *et al.*, 2014). در سلول‌های گیاهی، سولفید هیدروژن از طریق مسیرهای آنزیمی مربوط به متابولیسم سیستئین تولید می‌شود. آنزیم‌های ال-سیستئین دی‌سولفیدراز (D-CYSTEINE DESULFHYDRASE) و دی‌سیستئین دی‌سولفیدراز (D-CYSTEINE DESULFHYDRASE) سبب تبدیل سیستئین به پیروات سولفید هیدروژن و آمونیوم می‌شوند که مسئول انتشار سولفید هیدروژن به درون سلول هستند (Kopriva, 2006).

Savvides و همکاران (۲۰۱۶) دریافتند که تیمار گیاه با مواد شیمیایی مانند نیتروپروسید سدیم (که اکسید نیتریک $[NO]$ را آزاد می‌کند)، پراکسید هیدروژن (H_2O_2 ، هیدروسولفید سدیم (که H_2S را آزاد می‌کند)، سبب آزادشدن 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 گلوتاتیون 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 به شمار می‌آید توسط سولفید هیدروژن بر میزان آبسیزیک اسید تحت تأثیر قرار

FC، A و B به ترتیب، میزان رطوبت وزنی برای ظرفیت زراعی، وزن خاک مرطوب پس از خروج آب تقلیل 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 شدنده و میزان کمبود آب در هر گلدان افزوده شد. با توجه به طول مدت تنش کمآبیاری، افزایش وزن گیاهان با استفاده از نمونههایی مجزا اندازه‌گیری گردید (نمونههای گیاهی در گلدانهایی مجزا به منظور بررسی افزایش وزن گیاه بر تیمارهای تنش کمآبیاری کشت شدنده 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 کمآبیاری خصوصیات فیزیولوژیکی (فنل، فلاونونید، پرولین، نشت الکترولیت، مالون دی‌آلدئید، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و محتوای نسبی آب) و مورفو‌لولوژیکی (ارتفاع گیاه، تعداد برگ و وزن خشک) اندازه‌گیری شد. برگ‌های کاملاً توسعه‌یافته جمع‌آوری شدنده و بالافاصله 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 ۲۴ یال‌های حاوی ۵۰ میلی‌لیتر آب دو بار تقطیر به مدت ساعت در دمای آزمایشگاه قرار داده شد. سپس نشت اولیه با استفاده از دستگاه EC متر اندازه‌گیری شد (EC₁). ویال‌ها به مدت ۲۰ دقیقه در اتوکلاو (با فشار ۱/۲ بار و دمای ۱۲۰ درجه سانتی‌گراد) قرار داده شدنده و بعد از خنک شدن نمونه‌ها، نشت نهایی (EC₂) 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 خشی‌کنندگی رادیکال‌های آزاد DPPH صورت گرفت. در این روش ۰/۱ میلی‌لیتر عصاره (صد میلی‌گرم ماده برگی تازه را در نیتروژن مایع به صورت کامل هموژنایز کرده و عصاره گیری با ۵ میلی‌لیتر اتانول ۹۶ درصد انجام شد. جهت جداسازی مواد

(هر تکرار شامل دو مشاهده و هر گلدان شامل یک گیاه) بود. بذر تاج خروس به منظور جوانه‌زنی سریع در پتری دیش به ژرمنیاتوری با دمای ۲۴ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۶۵ درصد به مدت ۴۸ ساعت منتقل شدند. بذرهای جوانه‌زده بلافاصله در بستر گلدان‌هایی متشكل از پست، ورمیکولیت و پرلیت (۱:۱:۲ 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 کمآبیاری: گیاهان با هیدرو‌سولفید سدیم به ترتیب دو بار در مرحله رویشی (چهار تا پنج برگ) و ابتدای مرحله گلدهی (هشت تا نه برگ) محلول پاشی شدند. سه غلطت (صفر آب مقطر)، ۰/۵، و ۱ میلی‌مolar برای هیدرو‌سولفید سدیم استفاده گردید. گیاهان در صبح محلول پاشی شدند و به منظور جلوگیری از آلودگی خاک اطراف گیاهان با ورقه آلومینیومی پوشانده شد. تنش کمآبیاری بعد از مرحله چهار و پنج برگی تا پایان آزمایش اعمال گردید. تیمار تنش کمآبیاری به روش وزنی در چهار سطح اعمال گردید (۱) شاهد ۹۰ درصد ظرفیت گلدانی، (۲) تنش کمآبیاری ۸۰ و ۷۰ 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 وزن‌تر اندازه‌گیری شد و وزن خشک آن نیز پس از قرار گیری 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. درنهایت محتوای نسبی آب با فرمول زیر محاسبه شد (Turner, 2018).

$$\text{RWC (\%)} = \frac{((\text{FW}-\text{DW}))}{((\text{TW}-\text{DW}))} \times 100$$

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

سنجد 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 میلی لیتر 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 میلی لیتر از عصاره صاف شده برداشته و در یک لوله آزمایش ریخته سپس به هر لوله ۲ میلی لیتر معرف نینهیدرین و ۲ میلی لیتر اسید استیک اضافه شد. لوله های آزمایش در بن ماری با دمای ۱۰۰ درجه سانتی گراد به مدت یک ساعت قرار داده شدند، پس از یک ساعت لوله ها جهت خاتمه واکنش در داخل حمام یخ گذاشته شدند. پس از سرد شدن لوله ها، به آنها ۴ میلی لیتر تولوئن افزوده شد و ۳۰ ثانیه به هم زده شدند و پس از تشکیل دو فاز مجزا قسمت رنگی برداشته شد و توسط اسپکترو فوتومتر 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 نمونه ها براساس میکرومول بر گرم وزن خشک برگ محاسبه شد (Bates et al., 1973).

سنجد فتل و فلاونوئید: به منظور سنجد فتل، به ۰/۱ از عصاره مтанولی (عصاره حاصل از ۰/۵ گرم برگ تازه با ۱۰ میلی لیتر میانول) هر کدام از نمونه ها، ۴/۵ میلی لیتر آب مقطر و ۱/۰ میلی لیتر معرف فولین-سیکالتو اضافه شد. پس از ۳ دقیقه به محلول، ۰/۳ میلی لیتر محلول بی کربنات سدیم دو درصد اضافه شد و نمونه ها به مدت ۱۲۰ دقیقه در تاریکی قرار گرفتند. جذب در طول موج ۷۶۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکترو فوتومتر (Shimadzu UV-160A) خوانده شد. برای رسم منحنی استاندارد از غلظت های مختلف گالیک اسید صفر، ۳، ۵، ۸، ۱۰ و ۱۲ میلی گرم در لیتر استفاده شد و معادله ای $Y=0.0908X+0.0241$ 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 میلی لیتر DPPH (۵۰۰ میکرومولار در متابول) 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).

$$\text{DPPH} = \frac{\text{A}_{0}-\text{A}_{1}}{\text{A}_{0}} \times 100$$

$\text{DPPH} = \text{درصد تخریب رادیکال های A}_0 = \text{جذب نمونه شاهد، A}_1 = \text{جذب نمونه مورد ارزیابی}$

برای سنجد پرکسیداسیون لیپیدهای غشا، غلظت مalon دی آلدئید (MDA) به عنوان محصول پرکسیده شدن اسیدهای چرب غشاهای اندازه گیری شد. در ابتدا ۰/۱ گرم از بافت تازه برگ با نیتروژن مایع آسیاب و به آن پنج میلی لیتر تری کلرو 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 میلی لیتر از محلول رویی، پنج میلی لیتر محلول ۲۰ درصد TCA حاوی ۰/۵ درصد تیوباربیوتیک اسید (TBA) اضافه شد. محلول حاصل به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۹۵ درجه سانتی گراد قرار گرفت و سپس نمونه ها مجدداً سانتریفیوژ شدند. ماده قرمز رنگ مalon دی آلدئید تیوباربیوتیک اسید (MDA-TBA) تولید شده، با استفاده از دستگاه اسپکترو فوتومتر در طول موج ۵۳۲ نانومتر اندازه گیری شد و جذب سایر رنگی های اختصاصی نیز، در طول موج ۶۰۰ نانومتر خوانده شد. تعیین غلظت مalon دی آلدئید از ضریب خاموشی معادل $155 \text{ cm}^{-1} \text{ mM}^{-1}$ ، برحسب نانومول بر گرم بافت تازه محاسبه شد (Heath and Parker, 1968).

سنجد محتوای نسبی آب: برای ارزیابی محتوای نسبی آب برگ بعد از اعمال تنفس کم آبیاری، وزن تر برگ، وزن آماس و وزن خشک نمونه های برگی تهیه گردید. از گیاهان نمونه هایی با قطر هشت میلی متر تهیه و با استفاده از ترازو تو زین گردیدند (FW). سپس نمونه ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای اتاق در داخل آب مقطر غوطه ور گردیده و پس از آن وزن آماس آنها اندازه گیری شد (TW). سپس نمونه ها را به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۷۵ درجه سانتی گراد در داخل آون حرارت

نتایج و بحث

نشت الکتروولیت، مالون دی‌آلدئید و فعالیت آنتی‌اکسیدانی: میزان نشت الکتروولیت، مالون دی‌آلدئید و فعالیت آنتی‌اکسیدانی به طور معنی‌داری تحت تأثیر غلظت‌های مختلف هیدروسلوفید سدیم و تنش کم‌آبیاری قرار گرفت (جدول ۱). کاربرد هیدروسلوفید سدیم سبب کاهش نشت الکتروولیت در برگ گیاهان بدون تنش، ترکیب ۱ میلی‌مولار هیدروسلوفید سدیم به ترتیب، سبب افزایش ۵۸ و ۵۶ درصد ظرفیت زراعی و شرایط بدون تنش، تنش کم‌آبیاری ۶۰ درصد ظرفیت زراعی و شرایط شد. در تنش کم‌آبیاری ۶۰ درصد ظرفیت زراعی و شرایط گیاهان تیمارشده با غلظت‌های مختلف هیدروسلوفید سدیم تحت شرایط تنش ۶۰ و ۷۰ درصد ظرفیت زراعی تفاوت معنی‌داری از لحاظ میزان نشت الکتروولیت نداشتند. بیشترین میزان نشت الکتروولیت (۱۹-۱۸ درصد) در گیاهان شاهد تحت شرایط تنش ۷۰ و ۶۰ درصد ظرفیت زراعی به ثبت رسید (شکل a).

بیشترین میزان مالون دی‌آلدئید در گیاهان تحت تنش کم‌آبیاری ۶۰ درصد ظرفیت زراعی شاهد و اسپری شده با ۰/۵ میلی‌مولار هیدروسلوفید سدیم (۱۱/۵-۱۰/۸ نانومول بر گرم وزن‌تر) به دست آمد. غلظت ۱ میلی‌مولار هیدروسلوفید سدیم موجب کاهش ۲۰ و ۱۳ درصد مالون دی‌آلدئید در گیاهان تحت تنش کم‌آبیاری ۶۰ و ۷۰ درصد ظرفیت زراعی نسبت به گیاهان شاهد شد. در شرایط تنش کم‌آبیاری ۸۰ درصد ظرفیت زراعی، عدم کاربرد هیدروسلوفید سدیم در گیاهان تفاوت معنی‌داری از نظر مالون دی‌آلدئید با شاهد ایجاد نکرد (شکل b). افزایش تنش کم‌آبیاری فعالیت آنتی‌اکسیدانی را افزایش داد. کاربرد غلظت‌های مختلف هیدروسلوفید سدیم تفاوت معنی‌داری در شرایط تنش کم‌آبیاری ۶۰ درصد ظرفیت زراعی بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی ایجاد نکردند اما بیشترین میزان این شاخص (۳۷-۳۸ درصد) را به خود اختصاص دادند. تیمار ۱ میلی‌مولار هیدروسلوفید سدیم تحت شرایط ۹۰ و ۷۰ درصد ظرفیت زراعی روندی صعودی را نسبت به گیاهان بدون محلول‌پاشی هیدروسلوفید سدیم به ثبت رسانید. در گیاهان

به جای ۷ قرار گرفتند. میزان فنل کل براساس میلی‌گرم گالیک اسید بر میلی‌گرم وزن خشک محاسبه شد (Singleton and Rossi, 1965).

مقداری فلاونوئیدها در نمونه عصاره‌های گیاهی به روش Pourmorad و همکاران (۲۰۰۶) اندازه‌گیری شدند. جهت تهیه عصاره از نمونه‌های برگ مقدار ۲۰۰ میلی‌گرم وزن شد، توسط ۲ میلی‌لیتر 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 سانتی‌فیوژ شدند، درنهایت قسمت بالایی محلول که شفاف بود جدا شد و برای انجام آزمایش‌ها درون لوله‌های جدید ریخته شد. سپس ۰/۱ میلی‌لیتر کلرید آلمینیوم ۱۰ درصد را با ۱/۱ میلی‌لیتر استات پتابسیم یک مولار مخلوط کرده و سپس به آن‌ها ۲/۸ میلی‌لیتر آب مقطر دو بار تقطیر اضافه شد. در مرحله بعد ۰/۵ میلی‌لیتر از محلول هر عصاره که با ۱/۵ میلی‌لیتر اتانول مخلوط گردیده بود، به مخلوط کلرید آلمینیوم، استات پتابسیم و آب اضافه گردید. مخلوط نهایی حاصل برای هر عصاره (با حجم ۵ میلی‌لیتر) برای مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق قرار داده شد. سپس جذب مخلوط واکنش در طول موج ۴۱۵ نانومتر توسط اسپکتروفوتومتر Shimadzu UV-160A (اندازه‌گیری شد. برای رسم منحنی استاندارد از غلظت‌های مختلف صفر، ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰، ۲۰۰، ۲۵۰ میلی‌گرم کوئرستین استفاده شد و پس از رسم نمودار و به دست آمدن معادله $Y = 930.4X - 5.483$ ، داده‌های خوانده شده به جای ۷ قرار گرفتند. مقدار فلاونوئید کل به صورت معادل میلی‌گرم کوئرستین بر گرم وزن خشک محاسبه و بیان شد.

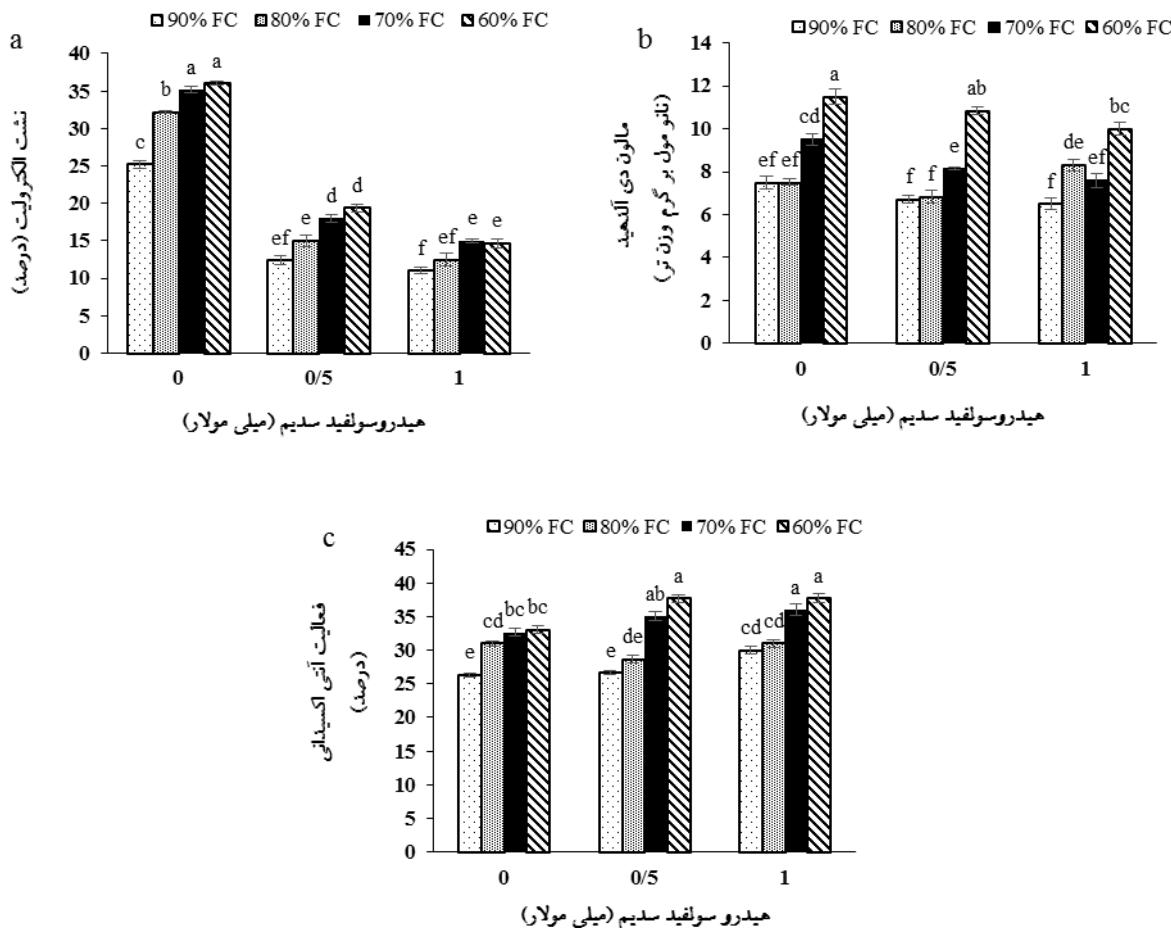
سنجهش صفات رویشی: تعداد برگ در هر بوته محاسبه گردید و همچنین ارتفاع گیاه با خطکش اندازه‌گیری شد. وزن خشک گیاهان با قراردادن کل گیاه در آون در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت به دست آمد.

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 معنی‌داری LSD انجام شد.

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

وزن خشک	میانگین مربعات						درجه آزادی	منابع تغییر
	فلاؤنونید	فنل	پرولین	محتوای آب	فعالیت آنتی‌اکسیدانی	مالون دی‌آلدید		
۸/۱۷**	۵۴۰ **	۳/۱۴**	۱۲/۴**	۲۴**	۱۳/۱**	۳/۱۲**	۱۲۷۹**	۲ هیدروسلفید هیدروژن (A)
۹۶/۱**	۳۴۶۰ **	۲۲۵**	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)
۰/۱۲۵	۸۲/۲	۰/۶۶۷	۰/۸۸۹	۰/۴۱۳	۱	۰/۲۰۴	۰/۸۵	۲۴ خطای
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. ns از لحاظ آماری معنی‌دار نیست.



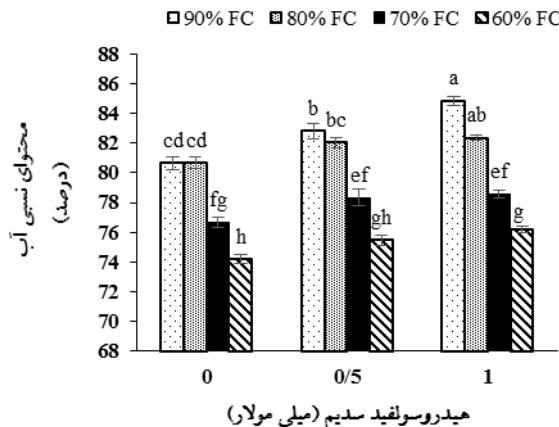
شکل ۱- اثر متقابل هیدروسلفید سدیم و تنفس خشکی بر نشت الکتروولیت (a)، مالون دی‌آلدید (b) و فعالیت آنتی‌اکسیدانی (c) تاج خروس. (حروف مشترک نشان‌دهنده عدم معنی‌داری در سطوح متناظر با آزمون LSD است. مقادیر شامل میانگین سه گیاه ± خطای استاندارد)

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 غلظت های 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 غلظت های مختلف هیدروسولفید سدیم مشاهده نشد. بیشترین میزان محتوای نسبی آب (۸۵-۸۲ 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).

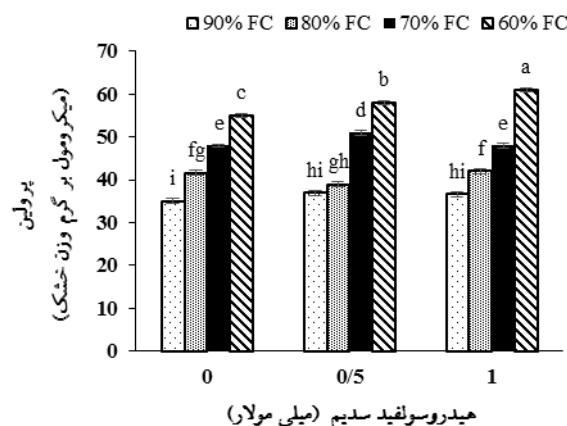
تنش خشکی با کمبود آب، رشد گیاه را محدود می کند. گزارش شده است که مهار از دست دادن آب برگ ها یک راهبرد مؤثر برای سازگاری گیاه با خشکی است (Ma et al., 2016). در این مطالعه تنش خشکی به طور قابل توجهی محتوای نسبی آب را کاهش داد. پیش تیمار سولفید هیدروژن سبب حفظ محتوای نسبی آب در شرایط تنش خشکی گردید. مکانیسم عمل سولفید هیدروژن در حفظ محتوای نسبی آب از طریق تنظیم روزنه هست. Hou و همکاران (۲۰۱۳) دریافتند که کاربرد دی اکسید سولفور در برگ های آرایید و پسیس با تغییر مسیرهای سیگنال دهی سولفید هیدروژن سبب بسته شدن روزنها در برگ گردید. علاوه بر این، GarcoAa-Mata و Lamattina (۲۰۱۰) گزارش کردند که سولفید هیدروژن انتقال دهنده آب سیزیک اسید (ATP-binding cassette) را تنظیم می کند و این عمل باعث بسته شدن روزنها گیاهان باقلا گردید.

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

خشکی مداوم منجر به اثرات نامطلوب شدید می شود زیرا از طریق آن تنش اکسیداتیو ایجاد می شود. تولید بیش از حد ROS باعث پراکسیداسیون لیپیدهای غشا می شود و منجر به آسیب به بخش های سلولی، پروتئین ها و مولکول های RNA و DNA می شود (Sade et al., 2011). مطالعه حاضر همچنین سطوح بالایی از نشت الکتروولیت در گیاهان تاج خروس تحت تنش نشان داد. گیاهان با فعل کردن سیستم آنتی اکسیدانی با تنش اکسیداتیو مقابله می کنند. با این حال، هیدروسولفید سدیم دهنده سولفید هیدروژن فعالیت های آنزیم ها را افزایش می دهد. افزایش آنزیم های آنتی اکسیدانی به میزان کافی برای مقابله با تولید بیش از حد ROS، منجر به بهبود محتوای نسبی آب، کاهش از دست دادن آب سلولی می گردد (Shan et al., 2011). Fu و همکاران (۲۰۱۹)، مشاهده کردند که کاربرد خارجی هیدروسولفید سدیم باعث کاهش H_2O_2 و O_2 ، نشت الکتروولیت، و تحمل تنش القایی می گردد. اثر مثبت سولفید هیدروژن خارجی بر کاهش آسیب های اکسیداتیو با افزایش فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان به اثبات رسیده است، به طوری که، Kaya و همکاران (۲۰۱۸) گزارش کردند که سولفید هیدروژن با افزایش فعالیت های آنتی اکسیدانی به طور قابل ملاحظه ای آسیب های 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 دی آلدئید در گندم منعکس می شود که نتایج آنها با آزمایش حاضر همسو هست. کاهش آسیب اکسیداتیو گیاهان تحت خشکی تاج خروس را می توان به افزایش فعالیت آنتی اکسیدان نسبت داد. هیدروسولفید هیدروژن فعالیت آنتی اکسیدانی را در گیاه تاج خروس تقویت کرد و درنتیجه 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 معنی‌داری در سطوح متناظر با آزمون LSD است. مقادیر شامل میانگین سه گیاه ± خطای استاندارد)



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

پرولین یک محافظ اسمزی ضروری با عملکردهای متنوع است. به عنوان مثال، می‌تواند ROS را سوزدایی نماید، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی را در تنش خشکی افزایش دهد و از سلول‌ها در برابر سمیت آمونیوم 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 قابل توجهی 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).

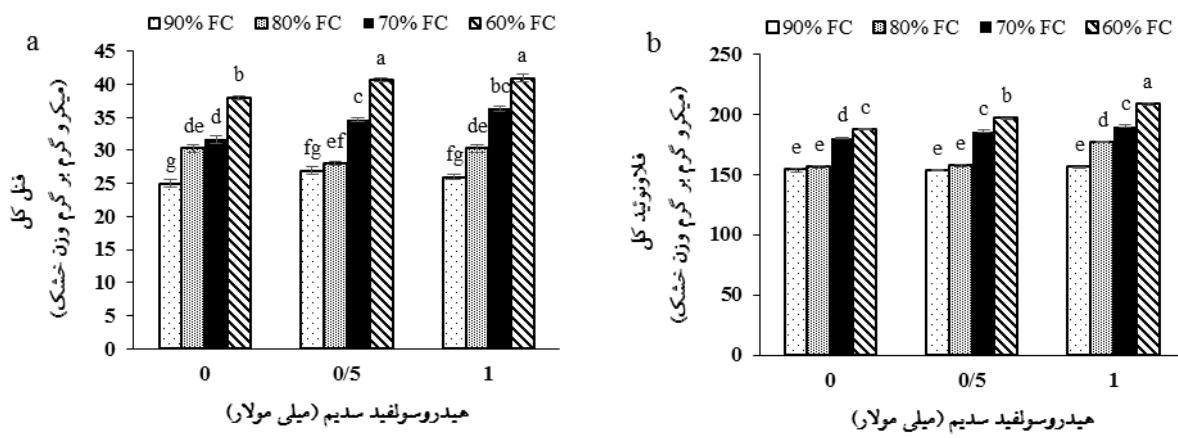
پرولین: هیدرو سولفید سدیم و تنش خشکی اثر معنی‌داری بر میزان پرولین برگی داشتند (جدول ۱)، بهنحوی که ترکیب ۱ ملی مولار هیدروسولفید سدیم سبب افزایش ۴/۷۶ درصد میزان پرولین در گیاهان بدون تنش و ۱۰/۹ درصد در گیاهان تحت تنش خشکی ۶۰ درصد ظرفیت زراعی نسبت به گیاهانی هیدروسولفید سدیم دریافت نکرده بودند، گردید.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

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

جمع ترکیبات فنلی در گیاهان در شرایط خشکی چندین برابر افزایش می‌یابد (Albergaria *et al.*, 2020). نتایج ما همچنین افزایش قابل توجهی در محتوای فنلی گیاهان تاج خروس تحت تنش خشکی را نشان داد. این نتایج در Hodaei *et al.*, 2019 (Jafari *et al.*, 2019) و داودی (2018) به اثبات رسیده است. فلاونوئیدها نیز متابولیت‌های ثانویه پلی‌فنلیک هستند. فلاونوئیدها با وزن مولکولی کم، سیستم دفاعی، رشد و نمو و تولید مثل را بهبود می‌بخشند، تنش خشکی در گیاهان منجر به افزایش قابل توجهی در جمع برخی فلاونوئیدها در گیاهان می‌شود (Ma *et al.*, 2014). نتایج مطالعه ما همچنین افزایش قابل توجهی در جمع فلاونوئیدها در تاج خروس را نشان داد. تیمار سولفید هیدروژن محتوای فلاونوئید را در شرایط خشکی در گیاه آفتاگردان افزایش داد (Amir *et al.*, 2021) که همسو با نتایج ما بود. افزایش فنل‌ها و فلاونوئیدها در گیاهان تیمارشده با سولفید هیدروژن در شرایط خشکی به جمع قابل توجهی 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 بیوسنتر قند را در گیاهان تنظیم می‌کند (Shan and Sun, 2012). مکانیسم القای جمع ترکیبات فلاونوئیدی در برگ‌های گیاهان تحت تأثیر کاربرد خارجی سولفید هیدروژن و عوامل تنش زا به‌ندرت مورد مطالعه قرار گرفته است. احتمالاً سنتز فلاونوئیدها ناشی از سولفید هیدروژن به عنوان 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. جمع 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 بیوسنتر فلاونوئیدها بهم است با این حال، ظاهراً به دلیل آنزیم‌ها و تنظیم

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

متabolیت‌های ثانویه: نتایج نشان داد که میزان فنل و فلاونوئید به طور معنی‌داری تحت تأثیر 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 اسپری شده 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 به طور معنی‌داری در گیاهان اسپری شده با ۱ میلی‌مولار هیدروسولفید سدیم نسبت به گیاهان شاهد ۱۴/۷ درصد افزایش داد، اما تفاوت معنی‌داری از نظر فنل بین غلاظت‌های مختلف در گیاهان شاهد مشاهده نشد (شکل ۴ a). غلاظت‌های 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 به ترتیب، سبب افزایش ۵/۵۵ و ۱۱/۲



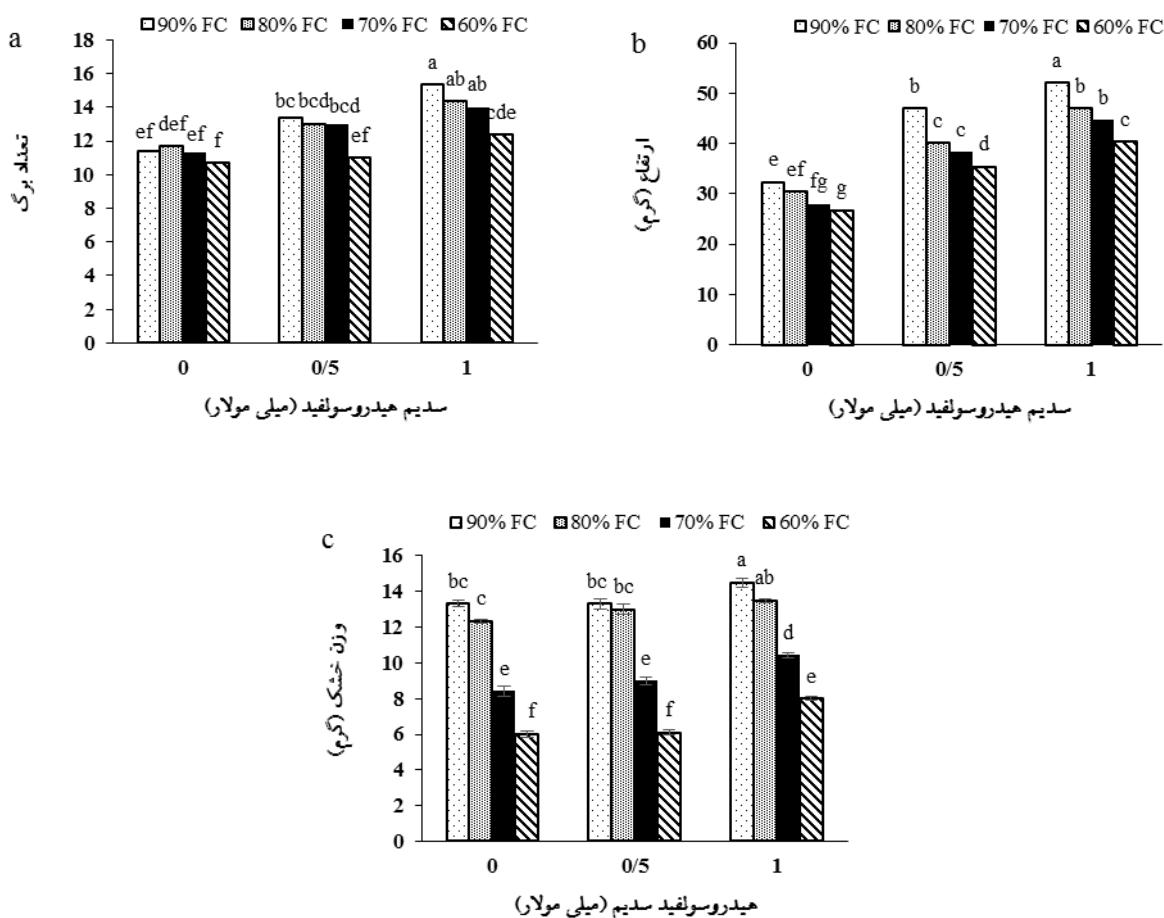
شکل ۴- اثر متقابل هیدروسولفید سدیم بر فنل (a) و فلاونوئید (b) برگ تاج خروس در شرایط تنفس خشکی. (حرروف مشترک نشان دهنده عدم معنی داری در سطوح متناظر با آزمون LSD است. مقادیر شامل میانگین سه گیاه \pm خطای استاندارد)

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

گیاهان ممکن است تحت سطوح مختلف خشکی عملکرد متغّری داشته باشند، و تفاوت‌های گیاهان در تحمل به خشکی می‌تواند به توانایی گیاهان در سازگاری و القای متفاوت مکانیسم‌های دفاعی تحت تنفس آب نسبت داده می‌شود (Ors et al., 2021). سولفید هیدروژن یک مولکول گازی ضروری است که به طور قابل توجهی فعالیت‌های زیستی کلیدی را تنظیم می‌کند. علاوه بر این، گیاهان با پیش‌تیمار سولفید هیدروژن بقای قابل توجهی 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 تاج خروس تیمار شده با هیدروسولفید هیدروژن خارجی تحت خشکی صورت گرفته است و صفات رویشی گیاهان تحت تنفس ۶۰ درصد ظرفیت زراعی در تیمار ۱ میلی مولار نسبت به گیاهان بدون محلول پاشی افزایش یافت. Zhang و همکاران (۲۰۱۰) افزایش زیست‌توده گیاهی در سویا با پیش‌تیمار سولفید هیدروژن تحت تنفس خشکی را گزارش کردند. به طور مشابه، کاهش ناشی از خشکی در رشد گندم به طور 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 معنی داری 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 میلی مولار هیدروسولفید سدیم در شرایط شاهد (۹۰ درصد ظرفیت زراعی)، به ثبت رسید، اما با افزایش تنفس خشکی، از مقدار صفات رویشی گیاهان کاهش یافت (شکل ۵). تعداد برگ در گیاهان تیمار شده با ۰/۵ و ۱ میلی مولار با کاهش تنفس خشکی تا ۷۰ درصد ظرفیت تفاوت معنی داری با ۹۰ درصد ظرفیت زراعی نداشت اما افزایش بیشتر تنفس تا ۶۰ درصد ظرفیت زراعی سبب کاهش تعداد برگ شد. کمترین میزان ارتفاع در گیاهان بدون محلول پاشی تحت تنفس خشکی ۶۰ درصد ظرفیت زراعی به ثبت رسید (شکل a). با افزایش تنفس خشکی از ۹۰ به ۶۰ درصد ظرفیت زراعی از وزن گیاهان تیمار شده با ۰/۵ و ۱ میلی مولار به ترتیب ۵۴ و ۴۵ درصد کاسته شد. تیمار ۱/۵ میلی مولار هیدروسولفید سدیم سبب افزایش ۹ درصد وزن خشک گیاهان نسبت به گیاهان شاهد گردید. کاربرد ۰/۵ میلی مولار نسبت به شاهد تفاوت معنی داری در



شکل ۵- اثر هیدروسولفید سدیم بر تعداد برگ (a)، ارتفاع (b) و وزن خشک (c) تاج خروس در شرایط تنفس خشکی. (حرروف مشترک نشان دهنده 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 به صورت محلول پاشی قبل از تنفس 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 تنفس خشکی گردید. از طرفی غلظت ۱ میلی مولار بیشترین تأثیر را بر تجمع اسماولیت‌های سازگار مانند پروولین، متابولیت‌های ثانویه نظری فلاونوئید و فلول در گیاهان تحت تنفس خشکی ۷۰ و ۶۰ درصد زراعی داشت. کاربرد این ماده با غلظت‌های ۰/۵ و ۱ میلی مولار از کاهش محتوای نسبی گیاهان تحت تنفس جلوگیری نمود. هیدروسولفید هیدروژن اثر منفی تنفس خشکی را بر وزن خشک گیاهان تاج خروس کاهش داد. به طور کلی، نتایج نشان

نسبی آب می‌شد که به طور قابل توجهی رشد و نمو 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 تحت تیمار سولفید هیدروژن به دلیل افزایش جذب برخی عناصر مانند پتاسیم و کلسیم تحت تنفس 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، به دلیل کاهش مالون دی‌آلدئید در شرایط تنفس خشکی و همچنین تأثیر بر متابولیسم چندین آنزیم نظری کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز و گلوتاتیون اکسیداز است (Ocvirk *et al.*, 2021).

زیستی در شرایط خشکی در نظر گرفته شود.

داد که کاربرد هیدروسولفید سدیم به عنوان تولیدکننده سولفید هیدروژن می‌تواند به عنوان یک راهبرد برای حفظ رشد گیاهان

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 Baily, C. (2016) The significance of hydrogen sulfide for arabiopsis 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 Scince* 7: 1173.
- Cicevan, R., Hassan, M. A., Sestrás, A. F., Prohens, J., Vicente, O., Sestrás, 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). 2nd 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 Scince* 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*. *Scicentific 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., Krstic, M., Hancock, J. T., Teklic, T. and Lisjak, M. (2021) The effects of seed priming with sodium hydrosulphide 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) H₂S: a novel gasotransmitter that signals by sulphydrylation. Trends in Biochemical Sciences 40: 687-700.
- Pourmorad, F., Hosseiniemehr, 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., Soylu, S. and Soylu, 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 Physiologiae 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