مقاله پژوهشی

بررسی پیش‌تیمار سالیسیلیک اسید، نانواکسید روی و سدیم نیتروپروساید بر برخی پارامترهای فیزیولوژیک و فعالیت آنزیمی بنفشه معطر در شرایط تنش کم‌آبی

حمیده باقری[۱]، داود هاشم‌آبادی[۱*]، بهمن پاسبان اسلام[۲]، شهرام صداقت‌حور[۱] و بهزاد کاویانی[۱]

[۱] گروه باغبانی، واحد رشت، دانشگاه آزاد اسلامی، رشت

[۲] بخش تحقیقات علوم زراعی و باغی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان آذربایجان شرقی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تبریز

(تاریخ دریافت:۱۴۰۰/۰۸/۱۴، تاریخ پذیرش نهایی:۱۴۰۱/۰۱/۲۳)

چکیده

بنفشه معطر (*Viola odorata*) گیاهی علفی چندساله با ویژگی‌های زینتی و دارویی است. هدف از آزمایش حاضر، بررسی اثر سطوح مختلف تنش کم‌آبی و محلول‌پاشی با سالیسیلیک اسید، سدیم نیتروپروساید و نانواکسید روی بر پارامترهای فیزیولوژیک، متابولیت‌های ثانویه و فعالیت آنزیمی بنفشه معطر بود. آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با دو فاکتور؛ تنش کم‌آبی در سه سطح (۵۵، ۶۵ و ۸۵ درصد ظرفیت زراعی یا FC خاک گلدان) و محلول‌پاشی‌ها شامل سالیسیلیک اسید (۲۰۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر)، نانواکسید روی (۱۰۰۰ و ۱۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر) و سدیم نیتروپروساید (۲۰۰ و ۳۰۰ میکرومولار) در سه تکرار انجام شد. نتایج نشان داد که با افزایش تنش کم‌آبی، میزان ترکیبات فنلی، پرولین و فیتول، همچنین درصد متابولیت‌های ثانویه، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و پایداری غشای پلاسمایی افزایش یافت. بیشترین ترکیبات فنلی (۵۷/۰۷ میلی‌گرم در اسید گالیک در هر گرم وزن خشک) و میزان پرولین (۵۲/۴۷ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن تر)، در تیمار ۳۰۰ میکرومولار سدیم نیتروپروساید در ۵۵ درصد FC بدست آمد. بیشترین فعالیت آنزیم کاتالاز (۰/۱۹۸ واحد آنزیم بر میلی‌گرم بر پروتئین بر دقیقه) و پلی‌فنل اکسیداز (۰/۲۴۸ واحد آنزیم بر میلی‌گرم بر پروتئین بر دقیقه)، به‌ترتیب در تیمارهای ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر سالیسیلیک اسید و ۲۰۰ و ۳۰۰ میکرومولار سدیم نیتروپروساید، هر سه در ۵۵ درصد FC، بدست آمد. بیشترین مقدار فیتول (۲/۸۷ درصد) متعلق به تیمار شاهد در ۵۵ درصد FC بود. بیشترین میزان عناصر سدیم (۲۸/۶۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و فسفر (۰/۶۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) در گیاهان شاهد در تنش ۵۵ درصد و پتاسیم (۴/۲۹ میلی‌گرم بر کیلوگرم)، آهن (۳۰۶ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن خشک) و درصد ماده خشک شاخساره (۲۶/۲۳) و ریشه (۲۷/۶۰)، به‌ترتیب در محلول‌پاشی با ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر نانواکسید روی در تنش ۸۵ درصد، ۱۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر نانواکسید روی در تنش ۶۵ درصد، ۲۰۰ میکرومولار سالیسیلیک اسید در تنش ۸۵ درصد و ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر نانواکسید روی در تنش ۵۵ درصد مشاهده شد. در مجموع، استفاده از ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر سالیسیلیک اسید به‌صورت محلول‌پاشی علاوه بر بهبود شرایط رشدونموی گیاه بنفشه معطر، اثرات منفی تنش کم‌آبی را تعدیل کرد و مقاومت گیاه در برابر تنش کم‌آبی را افزایش داد.

واژه‌های کلیدی: آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، ذرات نانو، گیاهان زینتی- دارویی، متابولیت‌های ثانویه

*نویسنده مسؤل، نشانی پست الکترونیکی: davoodhashemabadi@yahoo.com

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-05-09]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1401.11.50.11.6]

مقدمه

بنفشه معطر (*Viola odorata*) از خانواده ویولاسه (Violaceae) به‌عنوان یک گیاه با ارزش تجاری در نظر گرفته می‌شود. گیاه علفی، چندساله با ریزوم‌های خزنده منشعب و شاخه‌های خزنده زیرزمینی که بالغ بر ۲۰/۰۰۰ رقم دارد. بنفشه معطر یکی از مهم‌ترین گیاهان زینتی بومی مناطق سردسیر است و به دلایل مختلف از جمله توانایی گلدهی در طول سال و تنوع در رنگ و شکل گلبرگ و برگ، محبوبیت زیادی دارد. منشأ اصلی بنفشه معطر، نواحی مرطوب و سایه‌دار اروپا و آسیا است. این گیاه به‌طور عمده در نواحی شمالی ایران و منطقه البرز رویش دارد (Solgi and Taghizadeh, 2015).

کم‌آبی یکی از اثرگذارترین عوامل محدودکننده محیطی برای گیاهان است، که بیش از هر عامل محیطی دیگر رشد گیاهان را تحت تأثیر قرار می‌دهد. یکی از اثرات تنش کم‌آبی، برهم‌زدن تعادل تغذیه‌ای در گیاه است. به‌عنوان مثال، تنش کم‌آبی اثر معنی‌داری بر تغییر غلظت عناصر کم‌مصرف مانند سدیم، آهن، روی و مس در گیاه مریم‌گلی (*Salvia macrosiphon*) داشت (Sodaeizadeh and Mansouri, 2014). یکی دیگر از مضرات تنش‌ها در سیستم گیاهی، تولید انواع گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) از جمله رادیکال‌های سوپراکسید (O^-)، رادیکال‌های هیدروکسیل (OH^-)و پراکسید هیدروژن (H_2O_2) است. تغییر در فرآیندهای بیوشیمیایی، فیزیولوژیکی، آناتومیکی و مورفولوژیکی، مقاومت، تحمل، جبران و اجتناب از خشکی (توانایی بالا نگه‌داشتن پتانسیل آب)، زودگلدهی (تغییر مراحل فنولوژیک) و زود خفتگی، از مکانیزم‌های دفاعی گیاهان در برابر تنش کم‌آبی یا خشکی است (Harrison *et al*., 2014). استفاده از روش‌های صحیح تغذیه معدنی و استفاده از ترکیبات ضدتنش مانند انواع متابولیت‌های ثانویه، برخی راهکارهای دیگر کاهش اثرات زیان‌بار تنش کم‌آبی است. استفاده از سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی از جمله آنزیم‌هایی مانند کاتالاز (CAT)، آسکوربات پراُکسیداز (APX)، سوپراکسید دیسموتاز (SOD) و گایاکول پراکسیداز (GPX) از دیگر رویکردهای دفاعی گیاهان در برابر انواع تنش‌ها است (De Oliveira *et al*., 2018).

متابولیت‌های ثانویه از جمله ترکیبات فنلی با داشتن خاصیت آنتی‌اکسیدانی، نقش دفاعی در برابر انواع تنش‌های زیستی و غیرزیستی دارند (Shibli *et al*., 2007). سالیسیلیک اسید (SA) یا اورتوهیدروکسی بنزوئیک اسید یک تنظیم‌کننده رشد گیاهی از گروه فنل‌ها است و به‌عنوان یک مولکول علامت (سیگنال) در تنظیم فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی و بسیاری از فرآیندهای فیزیولوژیک مؤثر است. این ماده نقش مهمی در مواجه گیاهان با تنش‌های زنده و غیرزنده ایفا می‌کند. گزارش‌های اولیه بیانگر نقش تنظیم‌کنندگی آن در تنش‌های اکسیداتیو می‌باشد (Sivaci and Elmas, 2012). سالیسیلیک اسید باعث تغییر برخی صفات مورفولوژیک و فیزیولوژیک از جمله میزان پرولین و اسانس در پروانش (*Catharanthus roseus* L.) (Idress *et al*., 2013) و چمن ژاپنی (*Zoysia species*) (Beiraghdar *et al*., 2014) شد. به‌نظر می‌رسد SA با تنظیم فرآیندهای فیزیولوژیک و بیوشیمیایی در مواجه با تنش‌های زنده و غیرزنده، باعث افزایش قابل‌توجهی در عملکرد گیاه می‌شود و با تأثیر مثبت روی فتوسنتز و رشد گیاه در شرایط تنش، تجمع پرولین را افزایش می‌دهد و باعث تسریع در بهبود رشد گیاه می‌شود (Shibli *et al*., 2007). تیمار با SA منجر به تجمع آبسیزیک اسید (ABA) و ساخت پروتئین‌های ضدتنش می‌شود (Sivaci and Elmas, 2012). سطوح مختلف تنش شوری اثر نامساعدی روی صفات رویشی و زایشی گیاه همیشه‌بهار (*Calendula officinalis* L.) داشت، درحالیکه کاربرد SA باعث تعدیل این اثرات منفی شد (Kamkari *et al*., 2016).

سدیم نیتروپروساید (SNP) یکی دیگر از موادی است که اخیراً به‌منظور کاهش اثرات تنش‌ها در گیاهان مورد آزمایش قرار گرفته است. این ماده به‌عنوان واسطه در عمل تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی شرکت می‌کند و در انتقال پیام و پاسخ به تنش‌های زیستی و غیرزیستی دخالت دارد. این ماده به‌عنوان یک ترکیب رهاکننده اکسید نیتریک (NO) نقش

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-05-09]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1401.11.50.11.6]

غیرمستقیم بسیار مهمی در مقابله با تنش‌ها ایفا می‌کند (Fan *et al*., 2012). سدیم نیتروپروساید از طریق کاهش نشت یونی و سرعت تنفس موجب بسته‌شدن روزنه‌ها و افزایش مقاومت روزنه‌ای و تحمل گیاه به تنش‌های کم‌آبی و اکسیداتیو می‌شود (Tian and Li, 2007). بوته‌های آفتاب‌گردان (*Helianthus annuus*) تیمارشده با ۰/۵ میلی‌مولار SNP در شرایط تنش، رشد بهتری نسبت به گیاهان تیمارنشده داشتند و علایم کاهش کلروز و نکروز برگی و کاهش محتوای آب نسبی در برگ‌ها با کاربرد این ماده مشاهده شد (Laspina *et al*., 2005). تیمار ۵۰ میکرومولار SNP در دندروبیوم (*Dendrobium huoshanense*)، محتوای آب نسبی برگ‌ها و میزان آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان را افزایش داد، اما غلظت‌های بالاتر این ماده، اثرات تنش را تشدید کرد (Fan *et al*., 2012). سدیم نیتروپروساید در مارتیغال (*Silybium marianum*) قرارگرفته در شرایط کم‌آبی، با افزایش پایداری غشای سلول، اثرات منفی ناشی از تنش را کاهش داد (Zangani *et al*., 2017).

عنصر روی به‌عنوان کوآنزیم در ساختار و فعال‌سازی بسیاری از آنزیم‌های گیاهی نقش دارد و عنصر ضروری برای ساخت این آنزیم‌ها (به‌ویژه آنزیم‌های مسیر بیوسنتز متابولیت‌های ثانویه) به‌شمار می‌رود (Zare Dehabadi *et al*., 2010). کمبود این عنصر می‌تواند منجر به کاهش فتوسنتز و کاهش میزان کربوهیدرات و پروتئین شود که درنهایت کاهش عملکرد گیاه را به‌دنبال دارد. بنابراین، با افزایش میزان عنصر روی در گیاه، فعالیت برخی آنزیم‌ها و تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی افزایش می‌یابد (Fusconi *et al*., 2007). عنصر روی نقش مهمی در برخی فعالیت‌های متابولیسمی دیگر از جمله تنظیم میزان بازبودن روزنه‌ها، سنتز پروتئین‌ها، RNA و DNA، فتوسنتز، تبدیل قند به نشاسته، متابولیسم اکسین، حفظ غشاهای زیستی، تولید کلروفیل، عملکرد دانه گرده، باروری و جوانه‌زنی بذر و مقاومت به برخی عوامل بیماری‌زا دارد (Cakmak, 2000; Zare Dehabadi *et al*., 2010; Esparham *et al*., 2017).

در سال‌های اخیر، نقش برخی ذرات نانو در بهبود رشد و بهره‌وری گیاهان تحت شرایط نامساعد محیطی نشان داده شده است. نانواکسید روی (ZnO) از جمله نانوذرات مورد استفاده در پژوهش‌های کشاورزی است که دارای سطح ویژه بسیار بالایی است. تیمار نانو ZnO در نعناع فلفلی (*Mentha spicata*) باعث افزایش میزان عنصر روی در گیاه و افزایش شاخص‌های رشدی شد (Zare Dehabadi *et al*., 2010). Burman و همکاران (۲۰۱۴) و Das و Roychoudhury (۲۰۱۴) نشان دادند که نانو ZnO، عملکرد گیاه نخودفرنگی (*Pisum sativum* L.) را افزایش داد. تیمار نانو ZnO در غلظت ۱۰ میلی‌گرم بر لیتر باعث افزایش کلروفیل و کاروتنوئید در گیاه کرچک (*Ricinus communis*) شد (Esparham *et al*., 2017). احتمالاً یکی از دلایل کاهش محتوای کلروفیل در غلظت‌های بالا، ایجاد تنش اکسیداتیو و تخریب آن‌ها به‌وسیله انواع ROS است. غلظت‌های بالای نانو ZnO باعث کاهش رنگدانه‌های فتوسنتزی می‌شود (Lin and Aarts, 2012). استفاده از عنصر روی در لوبیا (*Phaseolus vulgaris*) با افزایش کربوهیدرات‌های محلول بر میزان ماده خشک گیاه افزود و این افزایش نتیجه نقش کلیدی عنصر روی در تحریک فعالیت‌های فتوسنتزی و افزایش میزان فرآورده‌های گیاهی بود (Fusconi *et al*., 2007).

بنفشه معطر از لحاظ دارویی، زینتی و خوراکی حائز اهمیت است و به‌دلیل داشتن مواد مؤثره، به یک گیاه دارویی منحصر به فرد تبدیل شده است. تا کنون پژوهشی در رابطه با تأثیر تنش کم‌آبی بر پارامترهای مورفولوژیک، فیزیولوژیک و بیوشیمیایی (مانند متابولیت‌های ثانویه) در بنفشه معطر انجام نشده است. بنابراین، هدف از پژوهش حاضر، بررسی اثر سطوح مختلف تنش کم‌آبی و محلول‌پاشی با ترکیبات ضدتنش (SA، SNP و ZnO) بر غلظت برخی عناصر، پارامترهای فیزیولوژیک، متابولیت‌های ثانویه و فعالیت آنزیمی بنفشه معطر بود.

مواد و روش‌ها

تهیه و کاشت نمونه گیاهی: آزمایش در فروردین سال ۱۳۹۷ در مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-05-09]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1401.11.50.11.6]

جدول ۱- خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک بستر کشت

هدایت الکتریکی EC × 10^3	اسیدیته کل اشباع pH	کربنات کلیسم معادل T.N.V	درصد کربن آلی O.C	درصد ازت کل T.N	فسفر قابل جذب p.p.m.	پتاسیم قابل جذب p.p.m.	درصد شن	درصد سیلت	درصد رس
۴/۵۴	۷/۳۵	۷/۲۵	۳/۳۹	۰/۳۴	۵۱/۶	۳۷۵	۵۶	۳۲	۱۲

آذربایجان شرقی شهر تبریز با عرض جغرافیایی ۳۸ درجه و ۸ دقیقه شمالی و طول جغرافیایی ۴۶ درجه و ۳۱ دقیقه با ارتفاع ۱۴۵۶ متر از سطح دریا انجام شد. نشاهای بنفشه‌معطر در مرحله ۴-۲ برگی در تاریخ ۸ فروردین ۱۳۹۷ از دره مکیدی واقع در شهرستان کلیبر استان آذربایجان شرقی با مختصات طول جغرافیایی ۳۸ درجه و ۵۲ دقیقه شمالی و عرض جغرافیایی ۴۷ درجه و ۲ دقیقه شرقی با ارتفاع ۱۱۴۴ متر از سطح دریا جمع‌آوری شدند و در گلدان‌های پرشده با خاک باغچه دارای بافت لوم- شنی کاشته شدند. پس از آماده‌سازی بستر در گلدان‌های با قطر دهانه ۱۵ سانتی‌متر و ارتفاع ۱۴ سانتی‌متر، عملیات انتقال نشاهای بنفشه‌معطر زینتی صورت گرفت. خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک بستر کاشت در جدول ۱ ارائه شده است. در هر پلات، چهار گلدان و در هر گلدان یک بوته کاشته شد. همچنین در طی مراحل رشد، وجین علف‌های هرز نیز انجام شد.

طرح آزمایشی و تیمارهای مورد استفاده: این آزمایش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک کاملاً تصادفی در سه تکرار اجرا شد. تیمارهای آزمایشی شامل؛ تنش کم‌آبی در سه سطح (۵۵، ۶۵ و ۸۵ درصد ظرفیت زراعی یا FC) به‌عنوان فاکتور اول و محلول‌پاشی در هفت سطح شامل شاهد، ZnO در دو سطح (۱۰۰۰ و ۱۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر)، SA در دو سطح (۲۰۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر) و SNP در دو سطح (۲۰۰ و ۳۰۰ میکرومولار) به‌عنوان فاکتور دوم بودند.

طرز تهیه تیمارهای آزمایشی: برای تیمار ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر ZnO، ۱/۸ گرم از پودر نانو ZnO (Merck, Germany) در ۱۰ میلی‌لیتر اتانول حل شد و به حجم ۱۸۰۰ میلی‌لیتر رسانده شد. برای تیمار ۱۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر ZnO، ۲/۷ گرم از پودر ZnO در ۱۰ میلی‌لیتر اتانول حل شد و به حجم ۱۸۰۰ میلی‌لیتر رسانده شد. برای تیمار ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر SA، مقدار ۰/۳۶ گرم از پودر SA (Merck, Germany) در آب‌مقطر حل شد و به حجم ۱۸۰۰ میلی‌لیتر رسانده شد. برای تیمار ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر SA، مقدار ۰/۵۴ گرم از پودر SA در آب‌مقطر حل شد و به حجم ۱۸۰۰ میلی‌لیتر رسانده شد. برای تیمار ۲۰۰ میکرومولار SNP، مقدار ۰/۰۶ گرم از پودر SNP (Merck, Germany) در ۱۰ میلی‌لیتر حلال اتانول حل شد و به حجم ۱۰۰۰ میلی‌لیتر رسانده شد. از همه محلول‌های تهیه‌شده فوق، روی هر گلدان مقدار ۵۰ میلی‌لیتر اسپری گردید.

آزمایش در مجموع با ۲۱ تیمار، سه تکرار، ۶۳ پلات و در هر پلات چهار گلدان و در مجمع با ۲۵۲ گلدان در فضای باز انجام شد. دو هفته پس از استقرار بوته‌ها در بستر کشت، محلول‌پاشی به میزان ۵۰ میلی‌لیتر برای هر گلدان در دو مرحله به فاصله یک هفته از یکدیگر انجام شد و برای تیمار شاهد از آب‌مقطر برای محلول‌پاشی استفاده گردید. اعمال تنش کم‌آبی، یک هفته پس از دومین مرحله محلول‌پاشی براساس FC بستر به روش وزنی آغاز شد و تا زمان زردشدن برگ‌ها که مقارن با پایان آزمایش بود ادامه یافت (Sadeghian *et al.*, 2013). گیاهان در محیط باز و در معرض تغییرات دمایی و نوری، در دامنه قابل‌قبول، قرار داده شدند. شرایط برای همه گیاهان و تیمارها یکسان بود و تغییرات نیز اثرات یکسانی داشتند و هرگز با اثرات تیمارهای مورد مطالعه تداخل نداشتند. برداشت نمونه‌ها چهار ماه پس از اعمال تنش کم‌آبی و در پایان آزمایش انجام شد و اعمال تنش کم‌آبی تا پایان آزمایش ادامه داشت.

روش وزنی تعیین رطوبت FC: یک گلدان حاوی خاک در یک تشت پلاستیکی که دو سوم آن با آب پر شده بود قرار داده شد. گلدان حاوی خاک اشباع به آرامی از آب خارج شد و بلافاصله برای تعیین درصد رطوبت در حالت اشباع توزین

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-05-09]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1401.11.50.11.6]

گردید. گلدان، بعد از گذشت ۱۲ ساعت مجدداً توزین گردید. این عمل با فواصل زمانی ۲ ساعت تکرار شد و زمانی که در ۳ قرائت متوالی، وزن گلدان به حالت ثابت رسید، خاک گلدان در دمای ۱۰۵ درجه سانتی‌گراد آون به‌مدت ۲۴ ساعت خشک شد. از رابطه زیر درصد رطوبت وزنی در حالت FC در تیمارهای ۵۵، ۶۵ و ۸۵ درصد محاسبه گردید (Smith and Mullins, 1991).

$$\theta_{FC} = \left(\frac{\text{وزن خاک خشک آون} - \text{وزن خاک مرطوب}}{\text{وزن خاک خشک آون}}\right) \times 100$$

درصد ماده خشک شاخساره و ریشه: در پایان آزمایش، بوته‌ها به‌طور کامل از گلدان خارج گردیدند و از قسمت طوقه بریده شدند. شاخساره‌ها و ریشه‌های تهیه‌شده، در پاکت قرار داده شدند و به‌مدت ۲۴ ساعت در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد در آون الکتریکی خشک شدند. سپس با ترازوی دیجیتال توزین و درصد ماده خشک شاخساره طبق فرمول زیر بدست آمد.

$$\text{درصد ماده خشک شاخساره و ریشه} = \frac{\text{وزن خشک}}{\text{وزن تر}} \times ۱۰۰$$

ترکیبات فنلی: برای ارزیابی محتوای کل ترکیبات فنولی، از معرف Folin-Ciocalteau استفاده شد. به این ترتیب، ۰/۵ میلی‌لیتر از این معرف به ۰/۵ میلی‌لیتر عصاره استخراج‌شده گیاهی و استانداردهای گالیگ اسید اضافه گردید و سپس به مخلوط حاصل ۴ میلی‌لیتر سدیم کربنات یک مولار اضافه شد. پس از ۱۵ دقیقه نگهداری در دمای محیط، جذب نمونه‌ها در طول‌موج ۷۶۵ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (HACH, DR 6000) خوانده شد. نتایج به‌صورت میلی‌گرم هم‌ارز گالیگ اسید بر گرم وزن خشک گزارش گردید (Ordonez *et al.*, 2006). برای تهیه عصاره آنزیمی، ۰/۱ گرم از بافت تازه برگ گیاه در نیتروژن مایع سائیده شد و در یک میلی‌لیتر بافر سدیم فسفات ۵۰ میلی‌مولار (pH=۷) حاوی یک میلی‌مولار EDTA حل گردید. ترکیب حاصل در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۰ دقیقه با سرعت ۱۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ شد. از محلول شفاف رویی که حاوی عصاره آنزیمی بود، جهت تعیین ترکیبات فنلی و میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان کاتالاز (CAT) و پلی‌فنل اکسیداز (PPO) استفاده شد.

پرولین: برای اندازه‌گیری پرولین برگ از روش Bates و همکاران (۱۹۷۳) استفاده شد. بدین منظور، ۰/۱ گرم از برگ گیاه وزن گردید و در هاون چینی به‌همراه ۳ میلی‌لیتر سولفو سالیسیلیک اسید ۳ درصد به‌طور کامل ساییده شد و سپس با دستگاه سانتریفیوژ (HERMLE, Z 207, Germany) با دور ۱۲۰۰۰ در دقیقه به‌مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ شد. سپس ۲ میلی‌لیتر از عصاره بالایی محلول سانتریفیوژ شده، داخل فالکون ریخته شد و به آن ۲ میلی‌لیتر معرف ناین‌هیدرین و ۲ میلی‌لیتر استیک اسید گلاسیل اضافه گردید. سپس فالکون‌ها به‌مدت یک ساعت در حمام بن‌ماری در دمای ۱۰۰ درجه سلسیوس قرار داده شدند. در مرحله بعد، نمونه‌ها در حمام یخ به‌مدت ۳۰ دقیقه نگه‌داری شدند. در مرحله آخر، ۴ میلی‌لیتر تولوئن به محتوای هر فالکون اضافه گردید و به‌مدت ۳۰ دقیقه توسط دستگاه لرزا (شیکر) مخلوط شد. در این مرحله، محلول به دو فاز تبدیل شد، لایه رویی که به رنگ صورتی تا قرمز بود، برداشت گردید و میزان جذب لایه فوقانی که حاوی پرولین و تولوئن بود با دستگاه اسپکتروفتومتر در طول‌موج ۵۲۰ نانومتر خوانده شد. برای محاسبه مقدار پرولین (میکرومول پرولین بر گرم وزن تر) از منحنی استاندارد پرولین و فرمول زیر استفاده شد.

$$\text{پرولین} = \frac{\text{میلی‌لیتر تولوئن} \times \text{میکروگرم پرولین بر میلی‌لیتر}}{115.13 \text{ میکروگرم بر میکرومول}} / \frac{\text{گرم نمونه}}{5}$$

از پرولین خالص برای تهیه غلظت‌های ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میکرومولار پرولین و تهیه منحنی استاندارد استفاده شد.

پایداری غشای سلول: از هر واحد آزمایشی، ۲۰ دیسک برگی تهیه شد. تعداد پنج نمونه از دیسک‌ها (شاهد) در ۱۰ میلی‌لیتر آب‌مقطر و پنج نمونه دیگر (تیمار خشکی) در ۱۰ میلی‌لیتر محلول ۶۰۰۰ PEG (پلی‌اتیلن گلیکول) (۴۰ درصد) قرار داده شد. پس از ۲۴ ساعت، مواد محلول دور ریخته شد و به هر دو دسته از نمونه‌ها، ۱۰ میلی‌لیتر آب‌مقطر اضافه شد و پس از ۲۴ ساعت، هدایت الکتریکی آب محتوی نمونه‌ها با

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-05-09]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1401.11.50.11.6]

استفاده از EC متر برحسب µs/cm تعیین شد. سپس نمونه‌ها به‌مدت ۱۵ دقیقه در اتوکلاو قرار داده شدند و هدایت الکتریکی نمونه‌ها مجدداً خوانده شد. درصد خسارت ناشی از تنش کم‌آبی با توجه به رابطه درصد خسارت به پایداری غشای سلولی تعیین گردید (Blum and Ebercon, 1981).

$$\text{درصد خسارت به پایداری غشای سلول} = 1 - [(1 - (T_1/T_2)) / (1 - (C_1 - C_2))] \times 100$$

در فرمول بالا؛ C_1 و C_2 به‌ترتیب هدایت الکتریکی نمونه‌های شاهد در قرائت‌های اول و دوم و T_1 و T_2 به‌ترتیب هدایت الکتریکی نمونه‌های تیمارشده با PEG در قرائت‌های اول و دوم برحسب µs/cm است.

کاتالاز: مقدار ۰/۲۵ گرم بافت تازه برگ با کمک نیتروژن مایع در هاون چینی آسیاب شد و به بافت آسیاب‌شده، یک میلی‌لیتر بافر فسفات ۵۰ میلی‌مولار (pH=۷) حاوی ۰/۵ مولار EDTA و PVPP دو درصد اضافه گردید. محلول حاصل در دمای ۴ درجه سلسیوس به‌مدت ۲۰ دقیقه در ۱۴۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ (HERMLE, Z 207, Germany) شد. سپس محلول رویی برای سنجش فعالیت آنزیم‌های SOD، POD و CAT مورد استفاده قرار گرفت (Chance and Maehly, 1955). پس از آماده‌سازی عصاره پروتئینی، به‌منظور سنجش فعالیت سینتیکی آنزیم CAT، ۲/۵ میلی‌لیتر بافر فسفات (۰/۰۵ و pH=۷) با ۰/۳ میلی‌لیتر آب اکسیژنه ۳ درصد در حمام یخ با یکدیگر مخلوط شدند و بلافاصله ۰/۲ میلی‌لیتر عصاره آنزیمی به آن افزوده شد. منحنی تغییرات جذب در طول‌موج ۲۴۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (HACH, DR 6000) خوانده شد. فعالیت آنزیمی برحسب تغییرات واحد جذب در دقیقه به‌ازای هر میلی‌گرم پروتئین براساس تغییرات واحد جذب در دقیقه محاسبه گردید (Chance and Maehly, 1955).

پلی‌فنل اکسیداز: برای تعیین مقدار PPO از روش Lowry و همکاران (۱۹۵۱) استفاده شد. مخلوط واکنش شامل ۲۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی و ۱۰۰۰ میکرولیتر بافر فسفات پتاسیم و ۸۰۰ میکرولیتر متیل کوکتل ۰/۰۲ مولار تهیه شد و مقدار جذب نوری در طول‌موج ۴۱۰ نانومتر در فواصل زمانی ۵ ثانیه‌ای به‌مدت ۲ دقیقه خوانده گردید و منحنی تغییرات جذب نور در مدت ۲ دقیقه رسم شد. سپس فعالیت آنزیمی برحسب تغییرات واحد جذب در دقیقه به‌ازای هر میلی‌گرم پروتئین براساس تغییرات واحد جذب در دقیقه محاسبه شد.

عناصر معدنی: مقدار ۱/۲۵ گرم از نمونه‌های گیاهی در دمای ۴۸۰ درجه سلسیوس به‌مدت ۲ ساعت خشک شد. پس از خارج‌کردن نمونه‌ها از کوره، ۱۰ میلی‌لیتر از محلول اسید رقیق (۳۰۰ میلی‌لیتر HCl غلیظ و ۱۰۰ میلی‌لیتر HNO_3 غلیظ که مجموعاً با آب‌مقطر به حجم یک لیتر رسانده شد) به آن اضافه گردید و در دمای ۱۰۰ درجه سلسیوس به‌مدت ۳۰ دقیقه حرارت داده شد و از خشک‌شدن آن جلوگیری گردید. پس از سردشدن، محتویات بوته چینی با استفاده از کاغذ صافی شماره ۴۲ به داخل بالن ۲۵ میلی‌لیتری صاف گردید و با آب‌مقطر به حجم رسانده شد (Westerman, 1990). برای نمونه‌هایی با ماده خشک کم، ۰/۵ گرم از نمونه گیاهی توزین شد و پس از برداشتن از کوره با ۵ میلی‌لیتر از مخلوط دو اسید حرارت داده شد و در پایان به حجم نهایی ۱۰ میلی‌لیتر رسانده شد. در داخل این عصاره، غلظت عناصر فسفر، سدیم و آهن اندازه‌گیری گردید (Wolf *et al*., 2003). درنهایت غلظت سدیم برحسب گرم بر کیلوگرم ماده خشک محاسبه شد (Waling *et al*., 1989). اندازه‌گیری آهن در عصاره‌های گیاهی با جذب اتمی (SHIMADZU, AA-6300, USA) صورت گرفت (Waling *et al*., 1989). اندازه‌گیری غلظت فسفر عصاره‌های گیاهی با روش وانادومولیبدو فسفریک اسید یا روش زرد انجام شد (Olsen and Sommers, 1982). اندازه‌گیری پتاسیم به روش نشر شعله‌ای (فلیم‌فتومتری) انجام گردید (Waling *et al*., 1989).

آلکالوئید ویولین: برای عصاره‌گیری از روش Kern و همکاران (۱۹۹۸) و Milo و همکاران (۱۹۸۸) استفاده شد. مقدار یک گرم از بافت گیاهی پودرشده با ۴۰ میلی‌لیتر استیک اسید ۲/۵ درصد به‌مدت ۲۰ دقیقه به‌وسیله سونیکاتور عصاره‌گیری شد. بعد از سانتریفوژ (HERMLE, Z207 A,

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-05-09]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1401.11.50.11.6]

Germany) و صاف‌کردن، عصاره‌گیری برای بار دوم تکرار شد. محلول‌ها صاف گردیدند و ترکیب شدند. سپس فاز آبی، به‌منظور چربی‌زدایی، با ۲۸ میلی‌لیتر هگزان مخلوط گردید و تکان داده شد. دو فاز تشکیل‌شده به‌وسیله قیف جداکننده از هم جدا گردیدند. در مرحله بعد، pH فاز آبی با آمونیاک قلیایی و بعد فاز آبی به‌وسیله کلروفرم – پروپانول (به نسبت ۳ به ۱) سه بار و هر بار با ۴۵ میلی‌لیتر عصاره‌گیری شد و توسط روتاری تغلیظ گردید. مقدار ۲/۵ میلی‌لیتر متانول به باقیمانده محلول اضافه شد و به‌وسیله کاغذ صافی ۰/۴۵ میکرومولار صاف گردید. برای آنالیز عصاره، از دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (High Performance Liquid Chromatography, HPLC) (Agilent 1200, Germany) استفاده شد. میزان جریان (Flow rate) برابر ۰/۸ میلی‌لیتر در دقیقه و ترکیب فاز متحرک به‌کار برده شده، استونیتریل و بافر استات سدیم با pH= ۳/۲ (یک گرم استات سدیم در ۳۹۰ میلی‌لیتر آب) بود. نوع ماده پرکننده، C_{18} Reversed 390 و طول ستون، ۲۵ سانتی‌متر و اندازه ذرات پایه، ۵ میکرومتر بود. دتکتور استفاده‌شده، UV با طول‌موج ۲۸۰ نانومتر و حجم هر بار تزریق، برابر ۲۰ میکرولیتر بود. دمای اتاق برای انجام آزمایش، ۲۵ درجه سانتی‌گراد در نظر گرفته شد.

فیتول: مقدار ۰/۲ گرم از گیاه خشک آسیاب‌شده به میکروتیوپ منتقل گردید و برای استخراج اولیه از ۲ میلی‌لیتر حلال (شامل ۸۵ درصد متانول و ۱۵ درصد استیک اسید به مدت ۲۴ ساعت) استفاده شد. بعد از ۲۴ ساعت، نمونه‌ها به مدت ۱۵ دقیقه در معرض ارتعاشات فراصوتی قرار گرفتند. سپس نمونه‌ها در دمای صفر درجه و ۱۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۲۰ دقیقه سانتریفیوژ (HERMLE, Z207 A, Germany) شدند. فاز رویی جدا شد و روی بقیه، هگزان نرمال ریخته شد و به‌مدت ۱۰ دقیقه در دمای صفر درجه و ۱۰۰۰ دور در دقیقه درون سانتریفیوژ قرار داده شد. سپس، با سرنگ ترکیب‌های پلی‌فنلی (فاز زیرین) کشیده شد و پس از عبور از فیلتر ۰/۲۲ میکرومتر تا زمان آنالیز با دستگاه HPLC (Agilent 1200, Germany) در دمای ۲۰– درجه سانتی‌گراد در فریزر نگهداری شد (Justesen *et al.*, 1998). از استانداردهای گالیک اسید، کاتچین، کافئیک اسید، کلرژنیک اسید و کوئرستین برای اندازه‌گیری ترکیب‌ها در گستره غلظت (۰/۰۰۰۱ تا یک میلی‌گرم بر لیتر) و به روش استاندارد خارجی استفاده شد. منحنی کالیبراسیون از ترسیم سطح زیر پیک استانداردها برحسب غلظت محلول‌های استاندارد بدست آمد.

تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS نسخه ۹/۲ انجام شد و برای مقایسه میانگین داده‌ها از آزمون حداقل تفاوت معنی‌دار (LSD)، در سطح احتمال پنج درصد استفاده گردید. نمودارها به‌وسیله نرم‌افزار Excel رسم شدند.

نتایج و بحث

درصد ماده خشک ریشه: نتایج تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۲) نشان داد که اثر ساده تنش کم‌آبی، محلول‌پاشی (SA، SNP و ZnO) و اثر متقابل این دو فاکتور بر درصد ماده خشک ریشه بنفشه‌معطر در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. نتایج مقایسه میانگین اثر متقابل تنش کم‌آبی و محلول‌پاشی نشان داد که با افزایش تنش کم‌آبی، درصد ماده خشک ریشه بنفشه‌معطر افزایش یافت و ZnO در هر سه سطح FC و سپس تیمار SNP، درصد ماده خشک ریشه را افزایش دادند. بیشترین درصد ماده خشک ریشه (۲۷/۶۰ درصد) در تیمار ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر ZnO در ۵۵ درصد FC بدست آمد (شکل ۱).

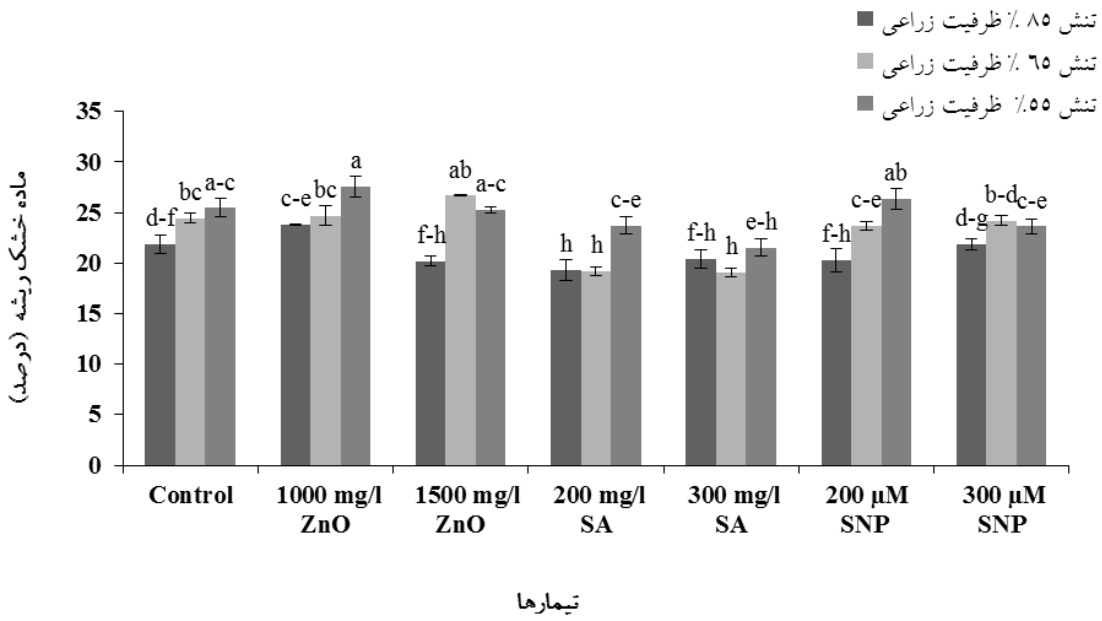
ریشه به‌عنوان اندام اصلی گیاه در استقرار و پایداری آن اهمیت ویژه‌ای دارد. اثرهای نامطلوب تنش کم‌آبی بر رشد گیاه می‌تواند با توسعه ریشه، جبران و باعث افزایش جذب آب توسط گیاه شود (Turner, 1986). در این آزمایش، SNP با کاهش اثرات منفی تنش کم‌آبی، باعث افزایش ماده خشک ریشه در گیاه بنفشه‌معطر شد و بیشترین ماده خشک ریشه مربوط به تیمار ZnO بود. محلول‌پاشی با غلظت ۲۵ میکرومولار SNP تحت تنش کم‌آبی، باعث افزایش وزن خشک ریشه و اندام هوایی در گیاه کلزا (*Brassica napus* L.) شد (Nikravesh *et al.*, 2016). این ماده در شرایط تنش کم‌آبی، به‌عنوان یک مولکول پیام‌آور، با بستن روزنه‌ها و کاهش

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-05-09]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1401.11.50.11.6]

جدول ۲- آنالیز واریانس اثر سالیسیلیک اسید، نانواکسید روی و سدیم نیتروپروساید همراه با تنش کم‌آبی روی ماده خشک شاخساره و ریشه، پرولین و عناصر معدنی در بنفشه‌معطر

منبع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات						
		ماده خشک شاخساره	ماده خشک ریشه	پرولین برگ	سدیم	آهن	فسفر	پتاسیم
تکرار	۲	۴۴/۲۰**	۹/۹۰*	۹/۳۳ns	۳۰۴۷۶/۰۰ns	۴۷۶/۰۰ns	۰/۰۰۲ns	۳۸۵۷۱۴۲ ns
تنش کم‌آبی (A)	۲	۲/۱۵ns	۱۷/۱۰**	۵۹۰/۰۰**	۹۴۱۱۴/۰۰*	۳۱۵۸/۰۰**	۰/۰۰۳ns	۴۹۱۶۷۱۴۲**
محلول‌پاشی‌ها (B)	۶	۷/۲۰**	۱۹/۵۲**	۸۸۳/۹۹**	۲۰۳۲۰۰/۰۰**	۳۱۹۶/۰۰**	۰/۰۵*	۴۳۱۰۶۱۹۰**
A × B	۱۲	۸/۵۲**	۲۱/۳۳**	۲۱۰/۰۰**	۳۸۱۷۱۴/۰۰**	۲۱۷۲/۰۰**	۰/۰۰۸ns	۱۸۷۳۵۴۷۶**
خطا	۴۰	۳/۵۴	۲/۳۴	۹/۳۳	۳۰۴۷۶/۱۹	۴۷۶/۱۹	۰/۰۱	۳۸۵۷۱۴۳**
ضریب تغییرات (C.V.)	-	۹/۱۷	۶/۶۴	۱۱/۳۴	۸/۳۱	۹/۳۱	۱۸/۸۴	۵/۲۷

ns، * و **: به‌ترتیب تفاوت غیرمعنی‌دار و تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال یک و ۵ درصد

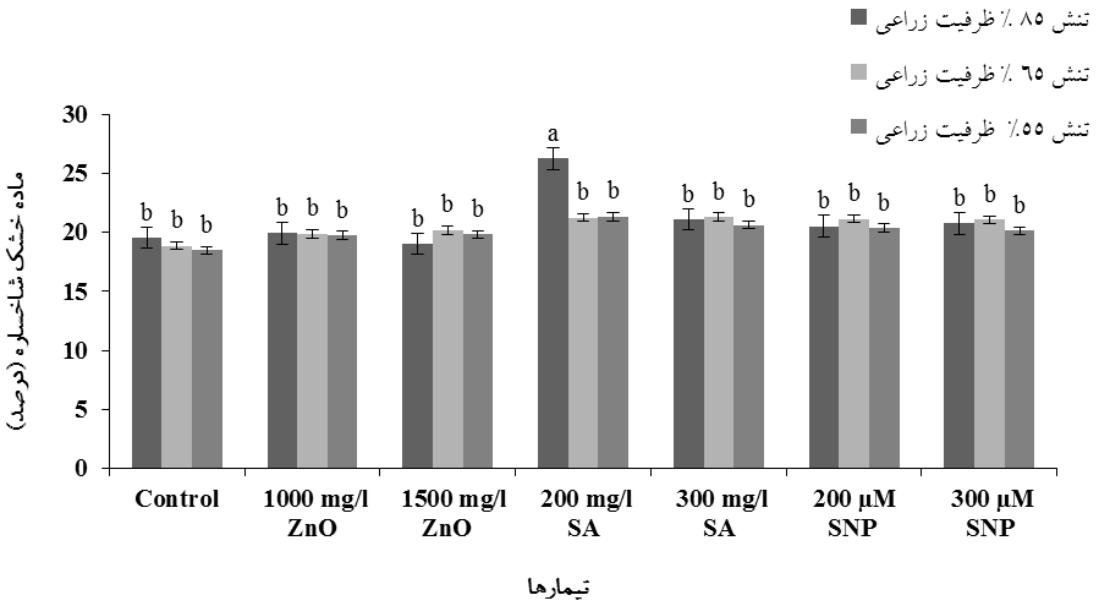


شکل ۱- مقایسه میانگین اثر متقابل ترکیبات ضدتنش (سالیسیلیک اسید، نانواکسید روی و سدیم نیتروپروساید) و تنش کم‌آبی بر ماده خشک ریشه در گیاه بنفشه‌معطر. ZnO: نانواکسید روی، SA: سالیسیلیک اسید، SNP: سدیم نیتروپروساید. در هر ستون میانگین‌های دارای حروف مشابه براساس آزمون LSD در سطح ۵ درصد تفاوت معنی‌داری ندارند.

تعرق و نیز افزایش توسعه ریشه‌های نابه‌جا، باعث افزایش طول ریشه‌ها شد و ماده خشک ریشه را افزایش داد (Yildiztugay *et al*., 2014). همچنین، محلول‌پاشی نانواکسید روی در گیاه کرچک (۱۰ میلی‌گرم بر لیتر) طول ریشه را در مقایسه با تیمار شاهد افزایش داد و در سطوح بالا نیز به‌علت ایجاد تنش اکسیداتیو و سمیت شدید نانواکسید روی می‌تواند اثر بازدارنده داشته باشد (Esparham *et al*., 2017) که با نتایج بدست آمده در این تحقیق مطابقت دارد.

درصد ماده خشک شاخساره: نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر ساده محلول‌پاشی و اثر متقابل تنش کم‌آبی و

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-05-09]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1401.11.50.11.6]



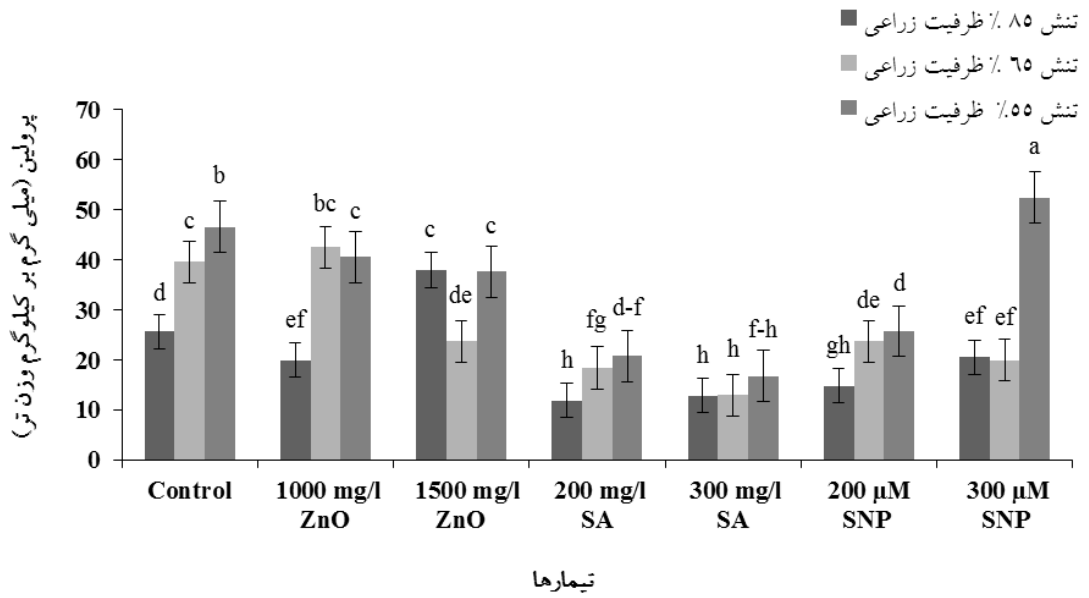
شکل ۲- مقایسه میانگین اثر متقابل ترکیبات ضدتنش (سالیسیلیک اسید، نانواکسید روی و سدیم نیتروپروساید) و تنش کم‌آبی بر ماده خشک شاخساره در گیاه بنفشه‌معطر. ZnO: نانواکسید روی، SA: سالیسیلیک اسید، SNP: سدیم نیتروپروساید. در هر ستون میانگین‌های دارای حروف مشابه براساس آزمون LSD در سطح ۵ درصد تفاوت معنی‌داری ندارند.

محلول‌پاشی بر درصد ماده خشک شاخساره در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شد، ولی اثر ساده تنش کم‌آبی معنی‌دار نشد (جدول ۲). مقایسه میانگین اثر متقابل تنش کم‌آبی و محلول‌پاشی نشان داد که با افزایش تنش کم‌آبی مقدار ماده خشک شاخساره کاهش یافت؛ ولی محلول‌پاشی‌ها درصد ماده خشک شاخساره را نسبت به تیمار شاهد افزایش دادند. تیمار SA در هر سه سطح تنش کم‌آبی باعث افزایش درصد ماده خشک شاخساره نسبت به تیمار شاهد شد. بیشترین افزایش (۲۶/۲۳ گرم) در تیمار ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر SA در ۸۵ درصد FC به‌دست آمد (شکل ۲).

تنش کم‌آبی علاوه بر این که رشدونمو گیاهان را کاهش می‌دهد، باعث تغییر در مسیر برخی از فرآیندهای متابولیسم گیاه نیز می‌شود. این تغییرات می‌تواند گیاه را در مقابل تنش کم‌آبی مقاوم سازد (Oukarroum *et al.*, 2009). در آزمایشی تأثیر سطوح مختلف تنش کم‌آبی در گیاه اطلسی (*Petunia*) نشان داد که با کاهش میزان آبیاری، وزن خشک شاخساره کاهش یافت. به‌طوریکه، بیشترین (۱۵ گرم) و کمترین (۷/۱۴ گرم) درصد ماده خشک شاخساره، به‌ترتیب در تیمار ۱۰۰ و ۲۵ درصد FC بدست آمد (Zadeh Bagheri *et al.*, 2014). با کاهش رطوبت خاک، پسابیدگی پروتوپلاسم توأم با کاهش آماس سلولی اتفاق می‌افتد و اندازه سلول و سرعت تقسیم سلول کاهش پیدا می‌کند (Kafi *et al.*, 2001). همچنین، کمبود رطوبت خاک، باعث کاهش انتقال مواد غذایی به سطح ریشه شده و جذب مواد غذایی کاهش پیدا می‌کند. لذا، گیاه علاوه بر کمبود آب از کمبود مواد غذایی نیز رنج می‌برد (Mirnia and Habibzadeh, 2006). در این آزمایش نیز تیمار با SA تحت تنش کم‌آبی، درصد ماده خشک شاخساره را در بنفشه‌معطر افزایش داد و تیمار با SA تحت تـنش کم‌آبی با جذب عناصر غذایی در گیاه آفتاب‌گردان (Nematollahi *et al.*, 2013) و همیشه‌بهار (Dehghan Nairi *et al.*, 2016) باعث افزایش وزن خشک شاخساره شد، که با نتایج تحقیق حاضر همخوانی دارد.

پرولین برگ: نتایج تجزیه واریانس داده‌های پرولین نشان داد که اثر ساده تنش کم‌آبی، محلول‌پاشی و اثر متقابل تنش کم‌آبی و محلول‌پاشی در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شد (جدول ۲). نتایج مقایسه میانگین اثر متقابل تنش کم‌آبی و محلول‌پاشی نشان داد که با افزایش تنش کم‌آبی میزان پرولین

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-05-09]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1401.11.50.11.6]



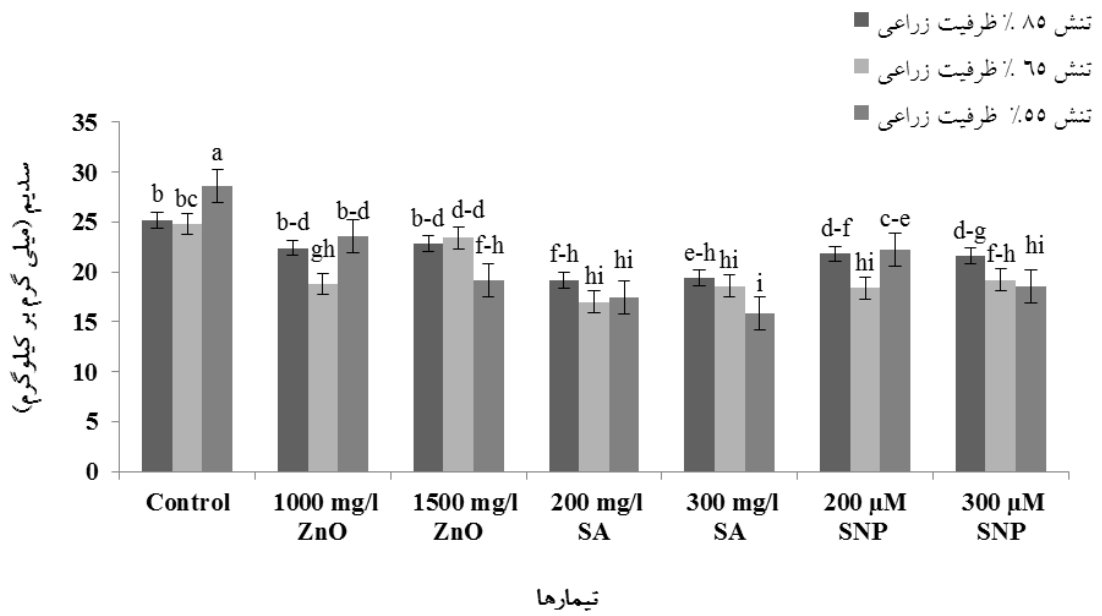
شکل ۳- مقایسه میانگین اثر متقابل ترکیبات ضدتنش (سالیسیلیک اسید، نانواکسید روی و سدیم نیتروپروساید) و تنش کم‌آبی بر میزان پرولین برگ در گیاه بنفشه‌معطر. ZnO: نانواکسید روی، SA: سالیسیلیک اسید، SNP: سدیم نیتروپروساید. در هر ستون میانگین‌های دارای حروف مشابه براساس آزمون LSD در سطح ۵ درصد تفاوت معنی‌داری ندارند.

افزایش یافت. تیمار ۳۰۰ میکرومولار در لیتر SNP در ۵۵ درصد FC، میزان پرولین بیشتری (۵۲/۴۷ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن تر) را نسبت به سایر تیمارها و شاهد تحریک کرد (شکل ۳).

پرولین در گیاهان تحت تنش، به‌ویژه تنش‌های شوری و خشکی به‌عنوان یک اسمولیت، نقش مهمی در حفظ فشار اسمزی سلول ایفا می‌کند (Samadi *et al*., 2016) و تنظیم فشار اسمزی باعث برقراری تورژسانس سلول‌های گیاهی در برابر تنش کم‌آبی می‌شود (Farooq *et al*., 2009). پرولین علاوه بر تنظیم اسمزی، به‌عنوان محافظ نیز در برابر تنش عمل می‌کند و به‌طور مستقیم یا غیرمستقیم با ماکرومولکول‌ها اثر متقابل دارد و به حفظ شکل و ساختار طبیعی آن‌ها در شرایط تنش کمک می‌کند (Koc *et al*., 2010). افزایش غلظت پرولین، عمومی‌ترین عکس‌العملی است که به محض کمبود آب یا کاهش پتانسیل اسمزی در گیاهان مشاهده می‌شود (Chretien and Guillot, 2000). Ebrahimi و همکاران (۲۰۱۷) نشان دادند که تنش کم‌آبی باعث افزایش میزان پرولین در گیاه همیشه‌بهار شد. اگر چه، تنش کم‌آبی باعث کاهش پایداری غشای سلول می‌شود ولی با افزایش میزان پرولین، خسارت به غشا کاهش پیدا می‌کند درنتیجه با روش تنظیم اسمزی، تحمل به تنش کم‌آبی افزایش می‌یابد (Pandey and Agarwal, 1998). مطالعه روی گوجه‌فرنگی (*Solanum lycopersicum*) نشان داد که، پیش‌تیمار با ۱۰۰ میکرومولار SNP یا کمتر می‌تواند از طریق القای آنزیم‌های اکسیداتیو نقش حفاظتی در برابر تنش کم‌آبی داشته باشد (Nasiby, 2011). در این آزمایش نیز تیمار با SA و SNP کمترین مقدار پرولین را در گیاه بنفشه‌معطر نشان دادند و غلظت‌های زیاد SNP با تولید گونه-های فعال نیتروژن (پراکسی نیتریت) تنش نیتروزاتیو ایجاد می‌کند و اثرات آسیب‌رسانی ROS را تشدید می‌نمایند (Nasiby, 2011; Nikravesh *et al*., 2016; Gorgini Shabankareh and Khorasaninejad, 2017).

سدیم: نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر ساده محلول‌پاشی و اثر متقابل تنش کم‌آبی و محلول‌پاشی در سطح احتمال یک درصد و اثر ساده تنش کم‌آبی در سطح احتمال ۵ درصد آماری روی میزان تغییر غلظت سدیم معنی‌دار بود (جدول ۲). نتایج مقایسه میانگین اثر متقابل تنش کم‌آبی و محلول‌پاشی

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-05-09]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1401.11.50.11.6]



شکل ۴- مقایسه میانگین اثر متقابل ترکیبات ضدتنش (سالیسیلیک اسید، نانواکسید روی و سدیم نیتروپروساید) و تنش‌کم آبی بر میزان سدیم در گیاه بنفشه‌معطر. ZnO: نانواکسید روی، SA: سالیسیلیک اسید، SNP: سدیم نیتروپروساید. در هر ستون میانگین‌های دارای حروف مشابه براساس آزمون LSD در سطح ۵ درصد تفاوت معنی‌داری ندارند.

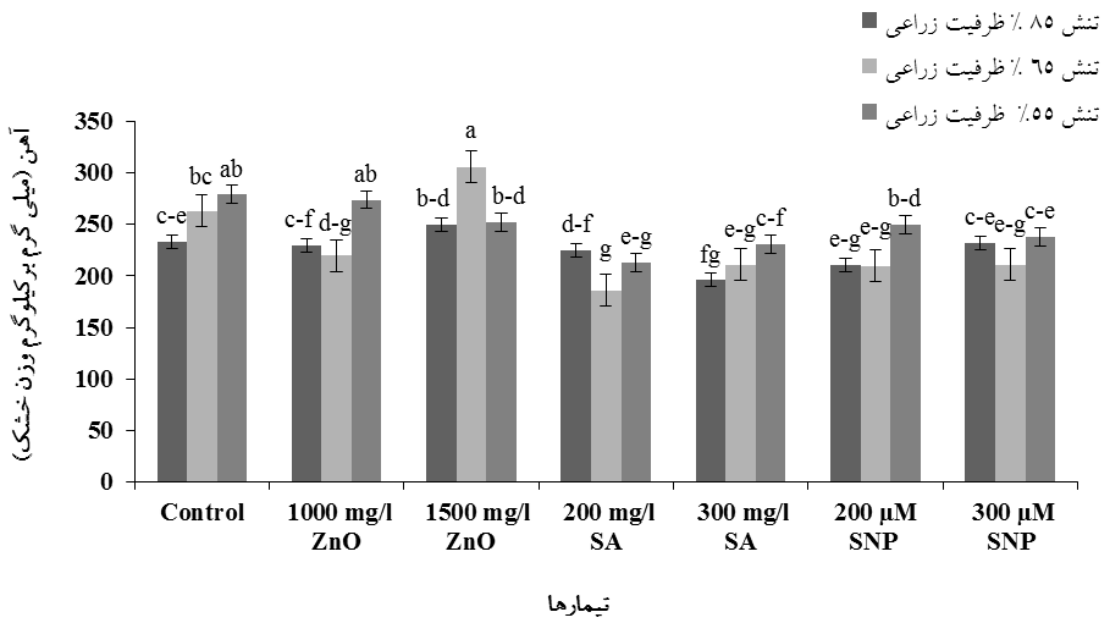
نشان داد که با افزایش تنش کم‌آبی، غلظت سدیم افزایش یافت و تیمارهای ZnO و SNP در افزایش غلظت سدیم تأثیرگذار بودند (شکل ۴). بیشترین غلظت سدیم (۲۸/۶۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) در گیاه بنفشه‌معطر در تیمار شاهد در تنش کم‌آبی ۵۵ درصد FC بدست آمد.

میزان عناصر موجود در بافت‌ها به‌ویژه سدیم، یکی از روش‌های بررسی میزان تحمل بافت‌ها به تنش‌ها است. گیاه با جذب سدیم و حفظ تعادل اسمزی، آب بیشتری جذب می‌نماید. در گیاه مریم‌گلی، با افزایش تنش کم‌آبی، میزان جذب سدیم افزایش یافت (Sodaeizadeh and Mansouri, 2014). در گیاه ریحان سبز (*Ocimum basilicum*)، با افزایش تنش شوری، میزان سدیم برگ افزایش یافت اما در طی تیمار با SA این مقدار کاهش یافت (Delavari Parizi *et al*., 2012). همچنین در آزمایش دیگری، تنش شوری باعث افزایش سدیم در گیاه ذرت (*Zea mays* L.) شد، در صورتیکه کاربرد SA باعث افزایش نیتروژن و کاهش یون‌های فسفر و سدیم تحت تنش کم‌آبی شد (Momeni *et al*., 2013) که با نتایج تحقیق حاضر، مطابقت دارد.

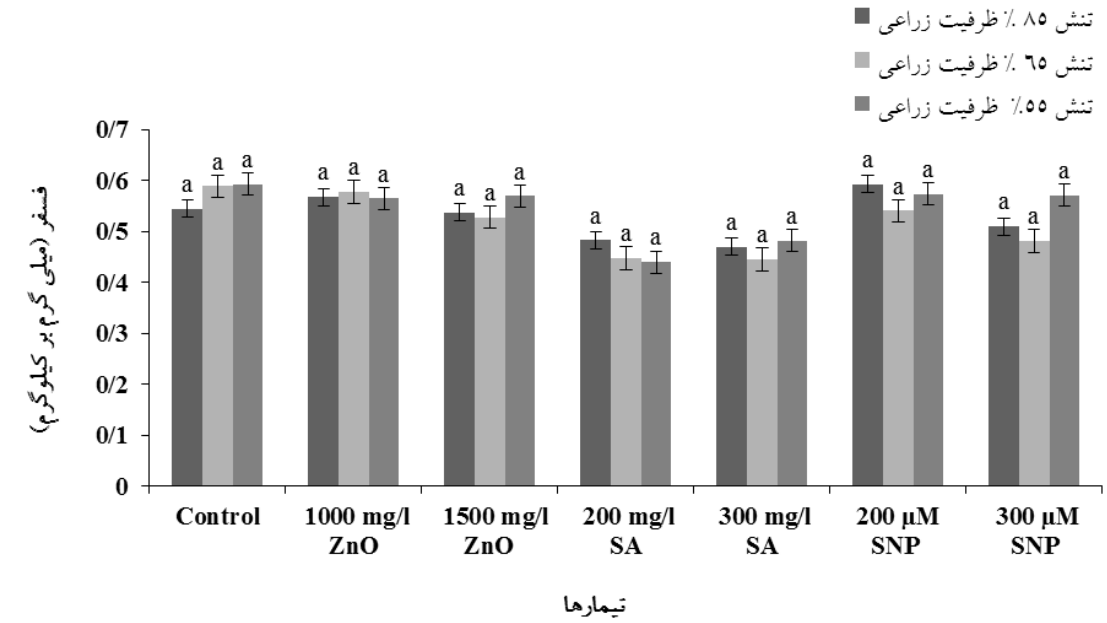
آهن: نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر ساده تنش کم‌آبی، محلول‌پاشی و اثر متقابل تنش کم‌آبی و محلول‌پاشی بر غلظت آهن برگ در سطح احتمال یک درصد آماری معنی‌دار بود (جدول ۲). مقایسه میانگین اثر متقابل تنش کم‌آبی و محلول‌پاشی نشان داد که در اغلب تیمارها با افزایش تنش کم‌آبی، غلظت آهن نیز افزایش یافت. بیشترین غلظت آهن (۳۰۶ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن خشک) در تیمار ۱۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر ZnO در تنش کم‌آبی ۶۵ درصد FC بدست آمد (شکل ۵).

Kong و همکاران (۲۰۱۴) نشان دادند که SNP در حفظ تعادل عناصر غذایی و کاهش تنش اکسیداتیو ناشی از تنش و کمبود آهن نقش مؤثری دارد. همچنین محققان، بهبود جذب و انتقال و فعال‌سازی آهن را در برخی غلات با کاربرد SA و SNP گزارش کردند (Cakmak, 2000). در آزمایشی، افزایش تنش کم‌آبی سبب افزایش غلظت آهن در برگ گلرنگ (*Carthamus tinctorius*) شد و بیشترین غلظت در سطح رطوبتی ۳۰ درصد FC بدست آمد (Azizabadi *et al*., 2014). همچنین، در آزمایش دیگری، افزودن عنصر روی موجب

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-05-09]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1401.11.50.11.6]



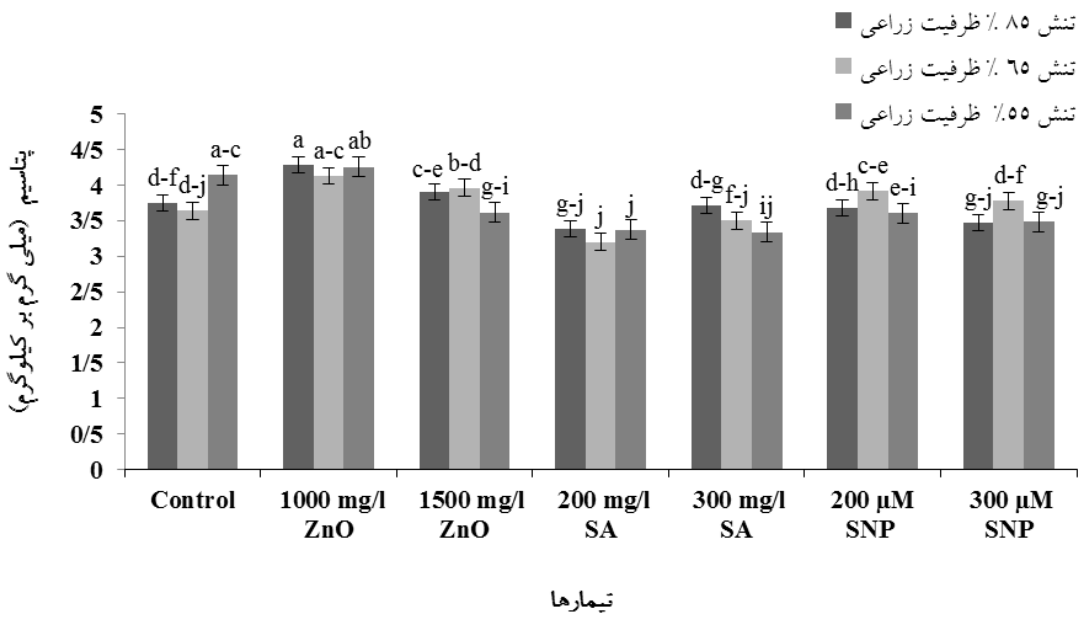
شکل ۵- مقایسه میانگین اثر متقابل ترکیبات ضدتنش (سالیسیلیک اسید، نانواکسید روی و سدیم نیتروپروساید) و تنش کم‌آبی بر میزان آهن در گیاه بنفشه‌معطر. ZnO: نانواکسید روی، SA: سالیسیلیک اسید، SNP: سدیم نیتروپروساید. در هر ستون میانگین‌های دارای حروف مشابه براساس آزمون LSD در سطح ۵ درصد تفاوت معنی‌داری ندارند.



شکل ۶- مقایسه میانگین اثر متقابل ترکیبات ضدتنش (سالیسیلیک اسید، نانواکسید روی و سدیم نیتروپروساید) و تنش کم‌آبی بر میزان فسفر در گیاه بنفشه‌معطر. ZnO: نانواکسید روی، SA: سالیسیلیک اسید، SNP: سدیم نیتروپروساید. در هر ستون میانگین‌های دارای حروف مشابه براساس آزمون LSD در سطح ۵ درصد تفاوت معنی‌داری ندارند.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-05-09]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1401.11.50.11.6]



شکل ۷- مقایسه میانگین اثر متقابل ترکیبات ضدتنش (سالیسیلیک اسید، نانواکسید روی و سدیم نیتروپروساید) و تنش کم‌آبی بر میزان پتاسیم در گیاه بنفشه‌معطر. ZnO: نانواکسید روی، SA: سالیسیلیک اسید، SNP: سدیم نیتروپروساید. در هر ستون میانگین‌های دارای حروف مشابه براساس آزمون LSD در سطح ۵ درصد تفاوت معنی‌داری ندارند.

کاهش غلظت عنصر آهن در برخی غلات شد (Cakmak, 2000). یکی از علت‌های تغییر در غلظت عناصر، اثر تضاد (آنتاگونیسم) بین آنها است.

فسفر: نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر ساده محلول‌پاشی در سطح احتمال ۵ درصد روی میزان فسفر معنی‌دار بود (جدول ۲). با افزایش تنش کم‌آبی، غلظت فسفر افزایش یافت، به‌طوریکه بیشترین غلظت فسفر (۰/۶ میلی‌گرم بر کیلوگرم) در تنش کم‌آبی ۵۵ درصد محاسبه شد (شکل ۶). بررسی اثر ساده محلول‌پاشی‌ها نشان داد که از بین تمام تیمارها، بیشترین غلظت فسفر (۰/۵۷ درصد) در تیمار ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر SA بدست آمد.

با افزایش سطوح تنش خشکی در آفتاب‌گردان، درصد فسفر برگ به‌طور معنی‌داری کاهش یافت ولی محلول‌پاشی با غلظت ۱۰۰ میکرومولار SA با افزایش جذب عناصر غذایی ماکرو (نیتروژن، فسفر و پتاسیم) و رنگدانه‌های فتوسنتزی، سبب کاهش خسارت ناشی از تنش خشکی شد (Nematollahi *et al.*, 2013). در آزمایش حاضر نیز اثر ساده محلول‌پاشی با SA باعث افزایش غلظت فسفر در برگ بنفشه‌معطر شد. لذا، این ماده به‌عنوان مولکول پیام‌رسان با تغییر ویژگی‌های غشای پلاسمایی منجر به تعادل عناصر غذایی در گیاهان تحت تنش می‌شود (EI-Tayeb, 2005). این نتایج با نتایج بدست آمده در پژوهش حاضر مطابقت دارد.

پتاسیم: نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر ساده تنش کم‌آبی، محلول‌پاشی و اثر متقابل تنش کم‌آبی و محلول‌پاشی در غلظت پتاسیم برگ بنفشه‌معطر در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شد (جدول ۲). نتایج مقایسه میانگین اثر متقابل تنش کم‌آبی و محلول‌پاشی نشان داد که تنش کم‌آبی غلظت پتاسیم را افزایش داد و تیمار ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر ZnO در هر سه سطح تنش کم‌آبی باعث افزایش غلظت پتاسیم شد. همچنین SNP نیز در افزایش غلظت پتاسیم نقش مثبتی نشان داد (شکل ۷).

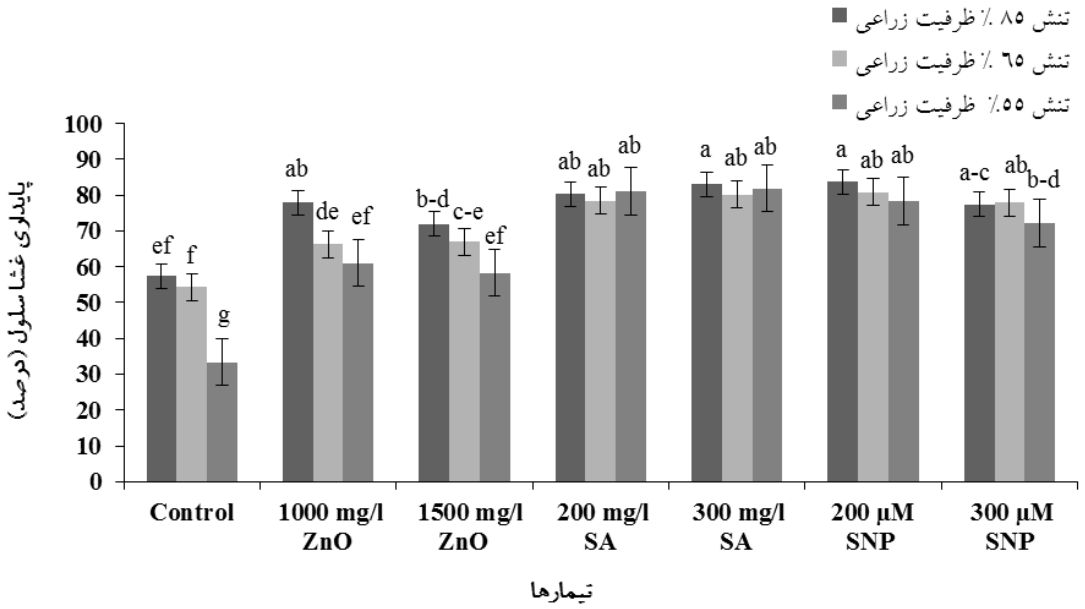
پتاسیم با کاهش اتلاف آب از گیاه از طریق تبخیر و تعرق، باعث مقاومت گیاه به تنش کم‌آبی می‌شود و موجب افزایش عملکرد گیاه در شرایط تنش رطوبتی می‌گردد. تأثیر سطوح مختلف تنش کم‌آبی در برگ اطلسی نشان داد که با کاهش میزان آبیاری، میزان پتاسیم برگ افزایش یافت و بیشترین پتاسیم برگ مربوط به تیمار ۲۵ درصد FC و کمترین میزان مربوط به

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-05-09]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1401.11.50.11.6]

جدول ۳- آنالیز واریانس اثر سالیسیلیک اسید، نانواکسید روی و سدیم نیتروپروساید همراه با تنش کم‌آبی روی پایداری غشای پلاسمایی، کاتالاز، پلی‌فنل اکسیداز، ترکیبات فنلی، آلکالوئید ویولین و فیتول در بنفشه‌معطر

منبع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات					
		پایداری غشای پلاسمایی	کاتالاز	پلی‌فنل اکسیداز	ترکیبات فنلی	آلکالوئید ویولین	فیتول
تکرار	۲	۴۲/۸۰ ns	۰/۰۰۰۵ns	۰/۰۰۱۹ ns	۱۹/۰۴ns	۰/۱۶ns	۰/۰۲ns
تنش کم‌آبی (A)	۲	۴۱۸/۰۰**	۰/۰۰۷**	۰/۰۰۷۹ *	۱۱۱/۰۰**	۲/۲۱ns	۱/۹۰**
محلول‌پاشی‌ها (B)	۶	۱۱۲/۰۰*	۰/۰۱۳**	۰/۰۱۷۳ **	۱۹۰/۲۰**	۴/۲۸**	۰/۹۰**
A × B	۱۲	۶۷۶/۰۰**	۰/۰۰۶**	۰/۰۰۸۳۵ **	۷۴/۵۰**	۱/۹۲*	۰/۲۹*
خطا	۴۰	۴۲/۸۵	۰/۰۰۰۵	۰/۰۰۱۹۰۴۸	۱۹/۰۵	۰/۸۷	۰/۱۵
ضریب تغییرات (C.V.)	-	۹/۱۴	۱۷/۹۰	۲۹/۴	۹/۱۷	۱۳/۹۰	۲۲/۰۲

ns، * و **: به‌ترتیب تفاوت غیرمعنی‌دار و تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال یک و ۵ درصد



شکل ۸- مقایسه میانگین اثر متقابل ترکیبات ضدتنش (سالیسیلیک اسید، نانواکسید روی و سدیم نیتروپروساید) و تنش کم‌آبی بر پایداری غشای سلول در گیاه بنفشه‌معطر. ZnO: نانواکسید روی، SA: سالیسیلیک اسید، SNP: سدیم نیتروپروساید. در هر ستون میانگین‌های دارای حروف مشابه براساس آزمون LSD در سطح ۵ درصد تفاوت معنی‌داری ندارند.

تیمار۱۰۰ درصد FC بود (Zadeh Bagheri *et al*., 2014). در آزمایش حاضر نیز استفاده از ZnO و SNP باعث افزایش غلظت پتاسیم در برگ بنفشه‌معطر شد و NO از طریق تأثیر بر افزایش طول ریشه و تعداد ریشه‌های جانبی، باعث افزایش جذب عناصر غذایی از جمله پتاسیم می‌شود. همچنین این ماده از طریق تعامل با ABA در کنترل فعالیت کانال‌های درگیر در انتقال پتاسیم در روزنه‌ها نقش دارد و از این طریق موجب حفظ و افزایش تحمل گیاه در مقابل تنش کم‌آبی می‌شود (Majeed *et al*., 2020).

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-05-09]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1401.11.50.11.6]

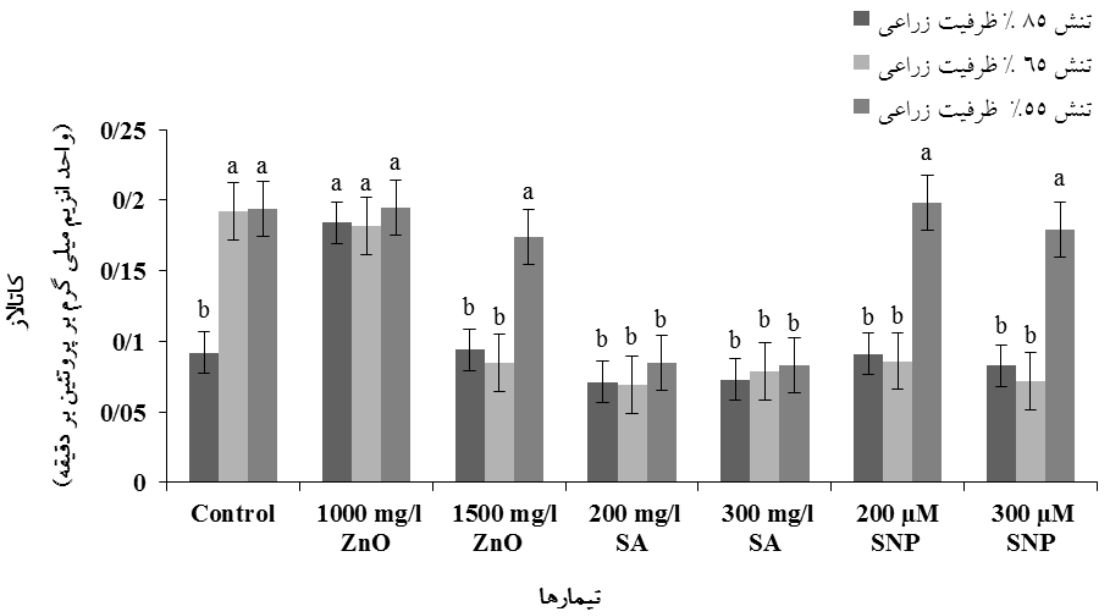
پایداری غشای سلول: نتایج تجزیه واریانس داده‌ها بر پایداری غشای سلول نشان داد که اثر ساده تنش کم‌آبی و اثر متقابل تنش کم‌آبی و محلول‌پاشی، در سطح احتمال یک درصد و اثر ساده محلول‌پاشی در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار بود (جدول ۳). نتایج مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که با افزایش تنش کم‌آبی، پایداری غشای سلول کاهش یافت. همه تیمارهای محلول‌پاشی در هر سه سطح FC تأثیر مثبتی بر پایداری غشای سلول نسبت به تیمار شاهد نشان دادند. بیشترین مقدار پایداری غشا (۸۳/۷۰ و ۸۳/۱۰ درصد)، به‌ترتیب مربوط به تیمارهای ۲۰۰ میکرومولار SNP و SA در ۸۵ درصد FC بود (شکل ۸).

عمل غشا یک فرآیند فیزیولوژیکی است و در بسیاری از تنش‌های محیطی به‌صورت مستقیم و یا از طریق تولید گونه‌های فعال اکسیژن آسیب شدیدی می‌بیند. تحقیقات نشان داده است که در شرایط تنش، پایداری غشا کاهش می‌یابد (Sairam *et al*., 2002). در پژوهش حاضر نیز محلول‌پاشی با SA و SNP نسبت به ZnO باعث افزایش پایداری غشای سلول در برگ بنفشه‌معطر شد. در آزمایشی، محلول‌پاشی با SA باعث پایداری غشای سلول در شرایط تنش کم‌آبی شد و این ماده باعث کاهش اثرات مخرب ناشی از تنش کم‌آبی گردید (Ibrahim, 2016). همچنین، اعمال ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر SA در سطوح مختلف تنش کم‌آبی باعث بهبود پایداری غشای سلول در گیاه گندم (*Triticum sativum*) شد و اثر دیگر این ماده در بهبود رشد گیاه، انسجام و پایداری غشا از طریق کاهش H_2O_2 (Agrawal *et al*., 2005)، کاهش تنش اکسیداتیو و جلوگیری از پراکسیداسیون غشای سلول است (Fazeli Kakhki and Goldani, 2014). در مطالعه دیگری گزارش شد که این ماده با جلوگیری از پراکسیداسیون لیپیدها باعث پایداری غشای سلول شد و تحمل گیاه را به شرایط تنش افزایش داد (Joseph and Sujatha, 2010). همچنین، کاربرد SA بر غالب واکنش‌های متابولیسمی گیاهان تأثیر می‌گذارد و از طریق افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و افزایش میزان پلی‌آمین‌ها در گیاهان، خسارت ناشی از ROS را کاهش می‌دهد (Acosta-Motos *et al*., 2017). در رابطه با SNP نیز نتایج نشان داد که در گیاه مارتیغال با قطع آبیاری از مرحله ساقه‌روی و گرده‌افشانی تا پایان دوره رشد، پایداری غشای سلول به‌طور معنی‌داری کاهش یافت و کاهش در مرحله تنش گرده‌افشانی بیشتر از تنش ساقه‌روی بود (Zangani *et al*., 2017). لذا کاربرد SNP در غلظت مناسب با کاهش H_2O_2 از نشت بیشتر یون در شرایط تنش جلوگیری می‌کند و این امر نشان می‌دهد که کاربرد خارجی NO می‌تواند کشسانی دیواره سلولی و سیالیت غشاها را بهبود ببخشد و رشد گیاه را افزایش دهد (Shojaei and Makarian, 2015). بنابراین، کاهش در نشت الکترولیت‌ها با کاربرد SNP ممکن است بر پایه نقش این ماده در کمک به کارکرد غشا از طریق القاء مکانیسم‌های آنتی‌اکسیدانی و بالابردن جذب یونی باشد (Li *et al*., 2013).

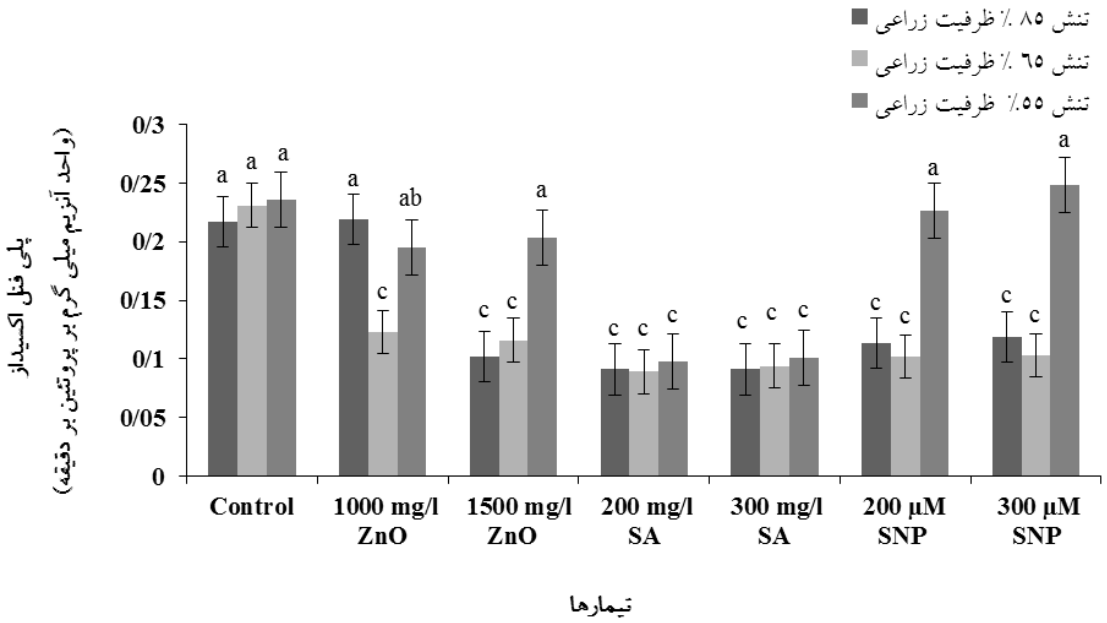
کاتالاز: نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر ساده تنش کم‌آبی، محلول‌پاشی و اثر متقابل تنش کم‌آبی و محلول‌پاشی در غلظت آنزیم CAT در گیاه بنفشه‌معطر در سطح احتمال یک درصد آماری معنی‌دار بود (جدول ۳). نتایج مقایسه میانگین اثر متقابل تنش کم‌آبی و محلول‌پاشی نشان داد که با افزایش تنش کم‌آبی، فعالیت آنزیم CAT افزایش یافت. بیشترین فعالیت آنزیم CAT (۰/۱۹۸، ۰/۱۹۵ و ۰/۱۹۴ واحد آنزیم بر میلی‌گرم پروتئین بر دقیقه)، به‌ترتیب در تیمار ۲۰۰ میکرومولار SNP، ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر ZnO و شاهد هر سه در تنش ۵۵ درصد FC حاصل شد (شکل ۹).

افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، عمومی‌ترین واکنش گیاهان در مواجه با صدمات ناشی از تنش اکسیداتیو است. تغییر در فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی به‌طور گسترده در بسیاری از گیاهان تحت تنش، گزارش شده است و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی نقش مهمی در پاک‌سازی ROS از طریق یک‌سری واکنش‌های پیچیده ایفا می‌کنند (Javani *et al*., 2008). در شرایط تنش، میزان تولید ROS از ظرفیت جاروب‌کردن آن‌ها توسط سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی بیشتر می‌شود و درنتیجه تنش اکسیداتیو رخ می‌دهد. بنابراین، برای مقابله با تنش اکسیداتیو، تغییر ظرفیت سیستم آنتی‌اکسیدانی

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-05-09]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1401.11.50.11.6]



شکل ۹- مقایسه میانگین اثر متقابل ترکیبات ضدتنش (سالیسیلیک اسید، نانواکسید روی و سدیم نیتروپروساید) و تنش کم‌آبی بر فعالیت آنزیم کاتالاز در گیاه بنفشه‌معطر. ZnO: نانواکسید روی، SA: سالیسیلیک اسید، SNP: سدیم نیتروپروساید. در هر ستون میانگین‌های دارای حروف مشابه براساس آزمون LSD در سطح ۵ درصد تفاوت معنی‌داری ندارند.



شکل ۱۰- مقایسه میانگین اثر متقابل ترکیبات ضدتنش (سالیسیلیک اسید، نانواکسید روی و سدیم نیتروپروساید) و تنش کم‌آبی بر فعالیت آنزیم پلی‌فنل اکسیداز در گیاه بنفشه‌معطر. ZnO: نانواکسید روی، SA: سالیسیلیک اسید، SNP: سدیم نیتروپروساید. در هر ستون میانگین‌های دارای حروف مشابه براساس آزمون LSD در سطح ۵ درصد تفاوت معنی‌داری ندارند.

ضروری است (Moller *et al.*, 2007). در پژوهش حاضر، تیمار SNP و سپس ZnO باعث افزایش غلظت CAT در برگ بنفشه‌معطر شد. محلول‌پاشی با ۲۰۰ میکرومولار SNP، فعالیت آنزیم‌های CAT، POD، SOD و APX را تحت تنش گرمایی

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-05-09]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1401.11.50.11.6]

در گیاه داودی (*Chrysanthemum*) افزایش داد (Yang *et al*., 2010). اکسید نیتریک به‌عنوان یک پیام‌رسان ثانویه، باعث افزایش فعالیت یا القای برخی از آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان مانند CAT و APX گردید و درنتیجه مانع عملکرد ROSها گردید و باعث افزایش تحمل گیاهان به شرایط تنش کم‌آبی شد (Zangani *et al*., 2017). همچنین، نتایج داده‌ها در ارتباط با تأثیر نانوذرات بر غلظت آنزیم CAT، Moaveni و همکاران (۲۰۱۱) طی تحقیقی روی گیاه همیشه‌بهار به این نتیجه رسیدند که بیشترین میانگین فعالیت آنزیم CAT، در تیمار ۰/۰۳ درصد نانواکسید تیتانیوم و کمترین میانگین در تیمار شاهد بدست آمد و سطوح مختلف تنش کم‌آبی و غلظت‌های مختلف نانو ZnO و همچنین اثر متقابل تیمارها بر میزان فعالیت آنزیم CAT در گیاه سویا در سطح احتمال یک و ۵ درصد معنی‌دار شد (Cakmak, 2008). بنابراین، می‌توان چنین استنباط کرد که در زمان تنش کم‌آبی، تیمار ZnO توانسته است با افزایش فعالیت آنزیم‌ها، گیاه را در سطح مطلوب‌تری نگه دارد و باعث محافظت گیاه در برابر آسیب‌های اکسیداتیو شود (Huang *et al*., 2012).

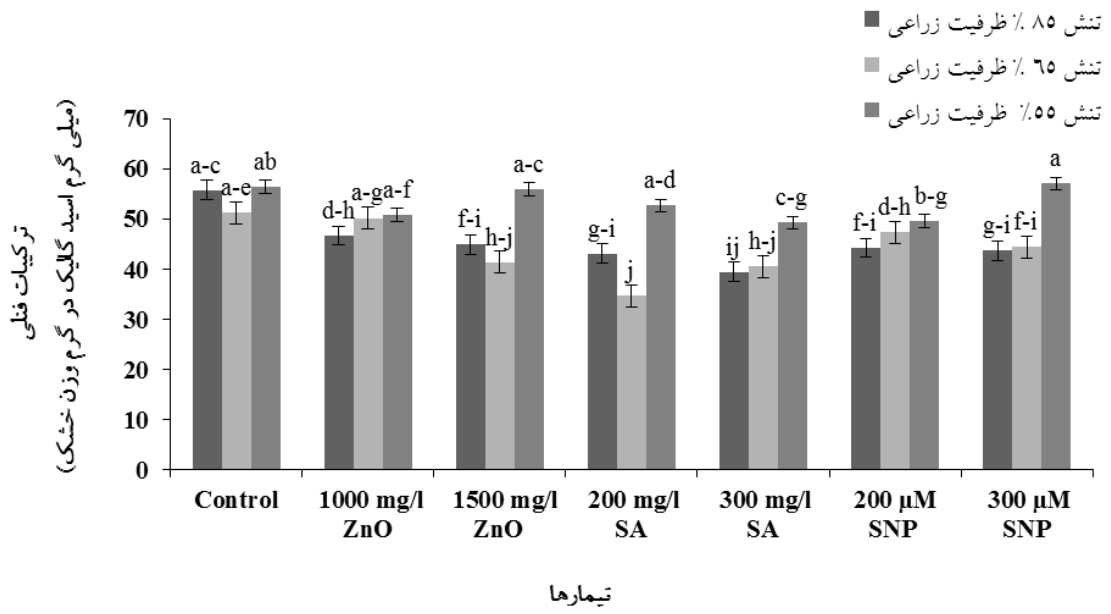
پلی‌فنل اکسیداز: نتایج تجزیه واریانس (جدول ۳) آشکار کرد که اثر ساده محلول‌پاشی و اثر متقابل تنش کم‌آبی و محلول‌پاشی در سطح احتمال یک درصد و اثر ساده تنش کم‌آبی در سطح احتمال ۵ درصد روی فعالیت آنزیم PPO در گیاه بنفشه‌معطر معنی‌دار بود. اثر متقابل تنش کم‌آبی و محلول‌پاشی نشان داد که با افزایش تنش کم‌آبی فعالیت PPO افزایش یافت. بیشترین فعالیت (۰/۲۴۸ واحد آنزیم بر میلی‌گرم پروتئین بر دقیقه) در تیمار ۳۰۰ میکرومولار SNP در تنش کم‌آبی ۵۵ درصد FC اندازه‌گیری شد (شکل ۱۰). هر دو غلظت SA (۲۰۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر) در هر سه سطح تنش کم‌آبی باعث تحریک کمترین فعالیت آنزیم PPO شد.

پلی‌فنل اکسیدازها به‌عنوان گروهی از آنزیم‌ها، در اکسیداسیون فنل‌ها به کینون‌ها و تشکیل لیگنین در سلول‌های گیاهی، نقش مهمی ایفا می‌کنند و افزایش فعالیت آنزیم PPO، افزایش واکنش‌های دفاعی گیاه را به‌دنبال دارد و تنش کم‌آبی شدید (۳۵ درصد FC) در گیاه جو بهاره، باعث افزایش فعالیت آنزیم PPO شد (Movludi *et al*., 2014). در آزمایش دیگری، محلول‌پاشی با SA باعث تعدیل اثرات تنش کم‌آبی در گیاه به‌لیمو (Dianat *et al*., 2016) و در گوجه‌فرنگی و لوبیا باعث مقاومت گیاهان به تنش کم‌آبی شد (Bezrukova *et al*., 2001) که با نتایج تحقیق حاضر مطابقت دارد. سدیم نیتروپروساید، اثرات منفی تنش کم‌آبی را در کدوی پوست کاغذی (*Cucurbita pepo* L.) کاهش داد (Yadollahi and Asgharpour, 2014). لذا، ارتباط تنگاتنگی بین فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و افزایش مقاومت گیاهان در مقابل تنش کم‌آبی و شوری وجود دارد (Yang *et al*., 2010; Dianat *et al*., 2016).

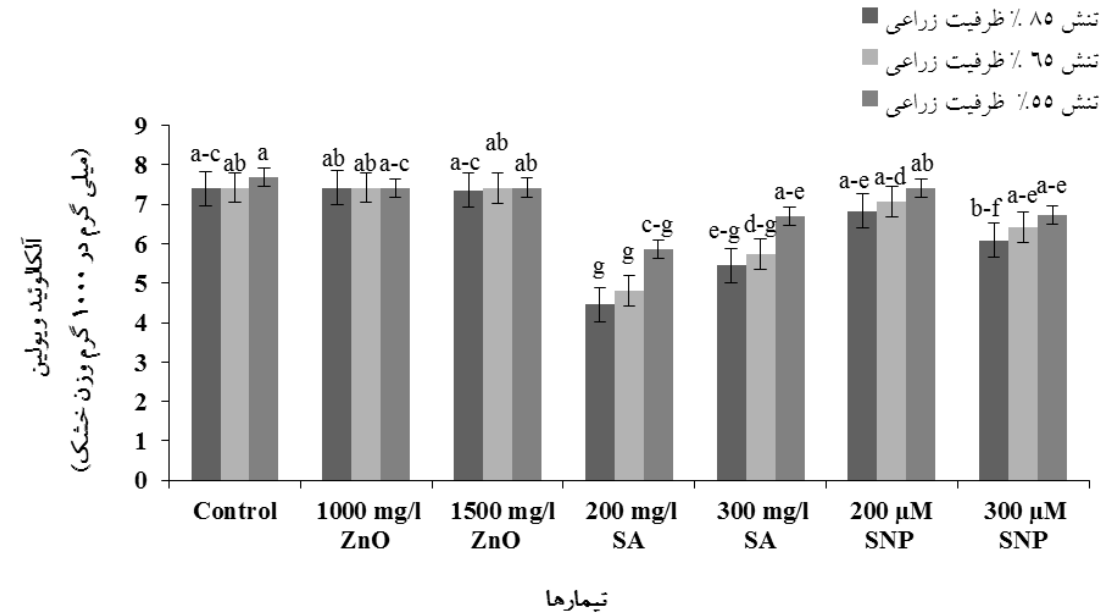
ترکیبات فنلی: نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثرات ساده تنش کم‌آبی و محلول‌پاشی و اثر متقابل تنش کم‌آبی و محلول‌پاشی در ترکیبات فنلی در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شد (جدول ۳). مقایسه میانگین اثر متقابل تنش کم‌آبی و محلول‌پاشی نشان داد که در تیمار شاهد و همه تیمارها، بالاترین مقدار ترکیبات فنلی، در شرایط تنش کم‌آبی ۵۵ درصد FC بدست آمد. نتایج نشان داد که در مجموع تیمارها، بالاترین مقدار ترکیبات فنلی (۵۷/۰۷ میلی‌گرم اسید گالیک در گرم وزن خشک) مربوط به تیمار ۳۰۰ میکرومولار SNP در ۵۵ درصد ظرفیت زراعی بود (شکل ۱۱).

ترکیبات فنولی از مهم‌ترین گروه‌ها در میان مواد دارای ظرفیت آنتی‌اکسیدانی هستند (Crozier *et al*., 2006). ترکیبات فنلی جزیی از مواد محلول سلولی هستند که تأثیر خسارت‌زای تنش را تعدیل می‌کنند. تجمع این ترکیبات در گیاهان از راهکارهای مهار فعالیت رادیکال‌های فعال اکسیژن و محافظت از غشای سلول در برابر آسیب‌های تنش محسوب می‌شود (Singh, 2004). در آزمایشی، افزایش ترکیبات فنلی در فلفل (Koc *et al*., 2010) و رازیانه تحت تنش کم‌آبی گزارش شده است (Salarpour Ghoraba and Farahbakhsh, 2014). همچنین، در گیاه بومادران تحت تنش کم‌آبی (۵۰ درصد FC) میزان ترکیبات فنلی به میزان ۴۰ درصد نسبت به تیمار شاهد

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-05-09]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1401.11.50.11.6]



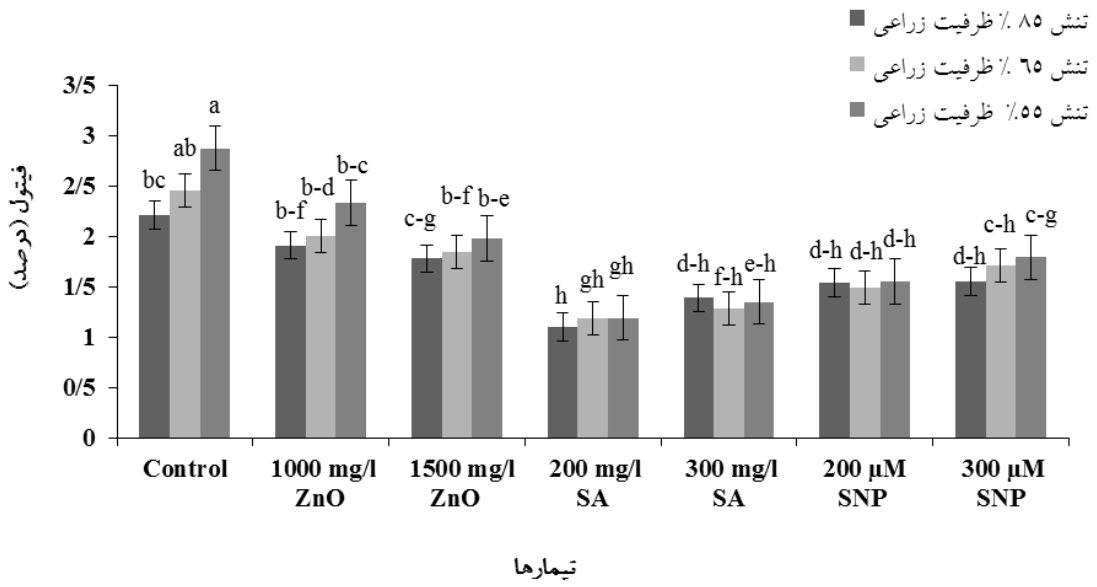
شکل ۱۱- مقایسه میانگین اثر متقابل ترکیبات ضدتنش (سالیسیلیک اسید، نانواکسید روی و سدیم نیتروپروساید) و تنش کم‌آبی بر صفت ترکیبات فنلی در گیاه بنفشه‌معطر. ZnO: نانواکسید روی، SA: سالیسیلیک اسید، SNP: سدیم نیتروپروساید. در هر ستون میانگین‌های دارای حروف مشابه براساس آزمون LSD در سطح ۵ درصد تفاوت معنی‌داری ندارند.



شکل ۱۲- مقایسه میانگین اثر متقابل ترکیبات ضدتنش (سالیسیلیک اسید، نانواکسید روی و سدیم نیتروپروساید) و تنش کم‌آبی بر مقدار آلکالوئید ویولین در گیاه بنفشه‌معطر. ZnO: نانواکسید روی، SA: سالیسیلیک اسید، SNP: سدیم نیتروپروساید. در هر ستون میانگین‌های دارای حروف مشابه براساس آزمون LSD در سطح ۵ درصد تفاوت معنی‌داری ندارند.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-05-09]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1401.11.50.11.6]



شکل ۱۳- مقایسه میانگین اثر متقابل ترکیبات ضدتنش (سالیسیلیک اسید، نانواکسید روی و سدیم نیتروپروساید) و تنش کم‌آبی بر مقدار فیتول در گیاه بنفشه‌معطر. ZnO: نانواکسید روی، SA: سالیسیلیک اسید، SNP: سدیم نیتروپروساید. در هر ستون میانگین‌های دارای حروف مشابه براساس آزمون LSD در سطح ۵ درصد تفاوت معنی‌داری ندارند.

افزایش نشان داد (Gharibi *et al.*, 2016). بنابراین، افزایش فنل در شرایط تنش کم‌آبی با توجه به این موضوع امری بدیهی بود و مطابق با نتایج مطالعه حاضر است. در آزمایش انجام‌شده، بیشترین ترکیبات فنلی در گیاه بنفشه‌معطر در تیمار با نانو اکسید روی و SNP بدست آمد. بسیاری از ترکیبات فنلی، از پالاینده‌های بسیار کارآمد پراکسید هیدروژن، رادیکال‌های هیدروکسیل و متوقف‌کننده زنجیره‌های پراکسیداسیون لیپید است (Hayat *et al.*, 2010). محلول‌پاشی با ۲۵ میکرومولار SNP تحت تنش کم‌آبی محتوای فنل کل را در گیاه کلزا به‌طور معنی‌داری افزایش داد ولی غلظت‌های بالای این ماده (۷۵ و ۱۰۰ میکرومولار) باعث کاهش ترکیبات فنلی شد (Nikravesh *et al.*, 2016). لذا، ترکیبات فنلی با دادن الکترون به آنزیم‌های تیپ POD و سم‌زدایی H_2O_2 می‌توانند به‌عنوان آنتی‌اکسیدان در برابر ROSها عمل کنند (Sakihama *et al.*, 2002).

آلکالوئید ویولین: بررسی جدول تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر ساده محلول‌پاشی در سطح احتمال یک درصد و اثر متقابل تنش کم‌آبی و محلول‌پاشی، در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار شد و اثر ساده تنش کم آبی معنی‌دار نشد (جدول ۳). مقایسه میانگین اثر متقابل تیمارهای آزمایشی نشان داد که اعمال تنش کم‌آبی باعث افزایش مقدار آلکالوئید ویولین در برگ بنفشه‌معطر شد. کمترین مقدار ویولین (۴/۴۶ میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم وزن خشک) در تیمار ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر SA در FC ۸۵ درصد و بیشترین مقدار (۷/۶۸ میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم وزن خشک) در تیمار شاهد در FC ۵۵ درصد بدست آمد که از نظر آماری با تیمارهای شاهد در FC ۸۵ و ۶۵ درصد و سطوح مختلف SNP و ZnO در هر سه سطح FC اختلاف معنی‌داری نشان نداد (شکل ۱۲).

فیتول: نتایج تجزیه واریانس داده‌ها در مقدار فیتول برگ بنفشه‌معطر نشان داد که اثر ساده تنش کم‌آبی و اثر ساده محلول‌پاشی، در سطح احتمال یک درصد و اثر متقابل تنش کم‌آبی و محلول‌پاشی، در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار شد (جدول ۳). مقایسه میانگین اثر متقابل تنش کم‌آبی و محلول‌پاشی نشان داد که با افزایش تنش کم‌آبی، درصد فیتول برگ افزایش یافت و بیشترین مقدار فیتول (۲/۸۷ درصد) در تیمار شاهد در ۵۵ درصد FC بدست آمد که از نظر آماری با تیمار شاهد در ۶۵ درصد FC اختلاف معنی‌داری نشان نداد.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-05-09]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1401.11.50.11.6]

پس از تیمار شاهد، تیمارهای نانواکسید روی و سدیم نیتروپروساید نیز درصد فیتول برگ را افزایش دادند و کمترین درصد (۱/۱۰ درصد) را تیمار ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر SA در ۸۵ درصد FC نشان داد (شکل ۱۳).

متابولیت‌های ثانویه را افزایش می‌دهد (Gorgini Shabankareh *et al*., 2015). تنش کم‌آبی، سبب افزایش روغن‌های فرار در گیاهان بادرنجبویه (*Melissa officinalis* L.) (Aliabadi Farahani *et al*., 2009) و زیره سیاه (*Carum carvi* L.) (Laribi *et al*., 2009) شد. یکی از ترکیباتی که در انتقال پیام و پاسخ به تنش‌های زیستی و غیرزیستی دخالت دارد، SNP است. در آزمایشی روی گیاه مرزه (*Satureja khuzestanica*)، نتایج داده‌ها نشان داد که بیشترین درصد اسانس (۱/۵۸ درصد)، از تیمار ترکیبی ۴۰ درصد FC و ۱۰۰ میلی‌مولار SNP بدست آمد (Gorgini Shabankareh and Fakheri, 2015). سدیم نیتروپروساید نقش دهنده نیتروژن را دارد و کاربرد نیتروژن در گیاهان دارویی و معطر سبب افزایش فتوسنتز، میزان کلروفیل، رشد، توسعه برگ و عملکرد اسانس می‌شود. افزایش میزان اسانس به‌دلیل نقش مهم نیتروژن در توسعه و تقسیم سلول‌های جدید حاوی اسانس، کانال‌های اسانس، مجاری ترشحی و کرک‌های ترشحی است که این اثرات را می‌توان به ترکیب نیتروژن رهاشده از SNP نسبت داد (Nasiby, 2011). در پژوهش حاضر، تیمار ZnO باعث افزایش متابولیت‌های ثانویه در گیاه بنفشه‌معطر شد. گیاهان بادرشبو (*Dracocephalum moldavica* L.) محلول‌پاشی‌شده با غلظت ۵۰۰ میلی‌گرم بر لیتر نانوذرات روی، بیشترین درصد اسانس را داشتند، درحالیکه کمترین میزان درصد اسانس مربوط به گیاهان محلول‌پاشی‌نشده بود (Esmaielpour *et al*., 2020). مطابق با نتایج این آزمایش، El-Tohamy و همکاران (۲۰۰۹) گزارش محدودیت آب در بسیاری از موارد باعث افزایش محتوای متابولیت‌های ثانویه مانند آلکالوئیدها و اسانس‌ها می‌شود و هر کمبودی که رشد را بیش از فتوسنتز محدود کند، تولید کردند که محلول‌پاشی پیاز (*Allium cepa* L.) با نانو ذرات روی منجر به افزایش درصد اسانس گردید. همچنین، محلول‌پاشی ۲۵۰ میلی‌گرم بر لیتر روی در شرایط تنش شوری منجر به افزایش محتوا و عملکرد اسانس ریحان (*Ocimum basilicum* L.) گردید (Said-Al Ahl and Mahmoud, 2010). در بسیاری از موارد، گزارش شده است که محلول‌پاشی گیاهان با کودهای حاوی روی می‌تواند منجر به افزایش خصوصیات کمی گیاهان دارویی مانند نعناع فلفلی، رزماری (*Salvia farinacea*) و مریم‌گلی شود (Nahed and Balbaa, 2007) که با نتایج بدست آمده در این پژوهش مطابقت دارد، به‌طوریکه محلول‌پاشی با ZnO منجر به افزایش عملکرد متابولیت‌های ثانویه در گیاه بنفشه‌معطر شد.

نتیجه‌گیری

استفاده از ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر سالیسیلیک اسید به‌صورت محلول‌پاشی علاوه بر بهبود صفات کمی و کیفی گیاه بنفشه معطر، قادر به تعدیل اثرات منفی تنش کم‌آبی شده و با توجه به ارزان‌بودن و در دسترس‌بودن، استفاده از این ترکیب به‌صورت محلول‌پاشی امکان کشت در مناطق خشک و کم‌آب را فراهم می‌کند و باعث مقاومت گیاه در برابر تنش کم‌آبی می‌شود.

منابع

Acosta-Motos, J. R., Ortuno, M. F., Bernal-Vicente, A., Diaz-Vivancos, P., Sanchez-Blanco, M. J. and Hernandez, J. A. (2017) Plant responses to salt stress: Adaptive mechanisms. Agronomy 7: 1-18.

Agrawal, S., Sairam, R. K., Srivastava, G. C. and Meena, R. C. (2005) Changes in antioxidant enzymes activity and oxidative stress by abscisic acid and salicylic acid in wheat genotypes. Biologia Plantarum 49: 541-550.

Aliabadi Farahani, H., Valadabadi, S. A., Daneshian, J. and Khalvati, M. A. (2009) Evaluation changing of essential oil of balm (*Melissa officinalis* L.) under water deficit stress conditions. Journal of Medical Plant Research 3: 329-333.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-05-09]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1401.11.50.11.6]

Azizabadi, E., Golchin, A. and Delavar, M. A. (2014) Effect of potassium and drought stress on growth indices and mineral content of safflower leaf soil and plant interactions. Journal of Science and Technology of Greenhouse Culture 5: 1-12.

Bates, L. S., Waldren, R. P. and Teare, I. D. (1973) Rapid determination of free proline in water-stress studies. Plant and Soil 39: 205-207.

Beiraghdar, M., Yazdanpoor, S., Naderi, D. and Zakerin, A. (2014) The effects of various salicylic acid treatments on morphological and physiological features of Zoysia grass (*Zoysia species*). Journal of Novel Applied Sciences 3: 984-987.

Bezrukova, M., Sakhabutdinova, V., Fatkhutdinova, R., Kyldiarova, R. A., Shakirova, I. and Sakhabutdinova, F. A. R. (2001) The role of hormonal changes in protective action of salicylic acid on growth of wheat seedlings under water deficit. Agrochemiya (Russ) 2: 51-54 .

Blum, A. and Ebercon, A. (1981) Cell membrane stability as a measure of drought and heat tolerance in wheat. Crop Sciences 21: 43-47.

Burman, R., Gunasekera, S., Stromstedt, A. A. and Goransson, U. (2014) Chemistry and biology of cyclotides: Circular plant peptides outside the box. Journal of Natural Products 77: 724-736.

Cakmak, I. (2000) Possible roles of zinc in protecting plant cells from damage by reactive oxygen species. New Phytologist 146: 185-205.

Cakmak, I. (2008) Enrichment of cereal grains with zinc: Agronomic or genetic biofortification? Plant and Soil 1-2: 1-17.

Chance, B. and Maehly, A. C. (1955) Assay of catalase and peroxidase. Methods in Enzymology 2: 764-775.

Chretien, D. and Guillot, T. (2000) Lipid and protein changes in jojoba under salt stress. Physiology of Plant 85: 372-380.

Crozier, A., Jaganath, I. B. and Clifford, M. N. (2006) Phenols, Polyphenols and Tannins: An overview. In Plant Secondary Metabolites: Occurrence, Structure and Role in the Human Diet. Blackwell, Oxford UK.

Das, K. and Roychoudhury, A. (2014) Reactive oxygen species (ROS) and response of antioxidants as ROS-scavengers during environmental stress in plants. Frontiers in Environmental Science 2: 1-13.

De Oliveira, W. F., Dos Santos, S., Marcelino, P., Breitenbach Barroso Coelho, L. C., dos Santos, C. and Tereza, M. (2018) Plant antioxidants and mechanisms of action. Letters in Drug Design and Discovery 15: 1103-1115.

Dehghan Nairi, F., Saffari, H. and Maghsoudi Maud, A. (2016) Salicylic acid effects on stomatal characteristics and some growth of calendula plants (*Calendula officinalis* L.) under salt stress. Iranian Journal of Horticultural Sciences 47: 193-202.

Delavari Parizi, M., Baghizadeh, A., Enteshari, Sh. and Manouchehri Kalantari, Kh. (2012) The study of the interactive effects of salicylic acid and salinity stress on induction of oxidative stress and mechanisms of tolerance in *Ocimum basilicum*. Iranian Journal of Plant Biology 4: 25-36.

Dianat, M., Saharkhi, M. J. and Tavassolian, I. (2016) Salicylic acid mitigates drought stress in *Lippia citriodora* L.: Effects on biochemical traits and essential oil yield. Biocatalysis and Agricultural Biotechnology 8: 286-293.

Ebrahimi, M., Zamani, Gh. and Alizadeh, Z. (2017) A study on the effect of water deficit stress on physiological and yield-related traits of pot marigold (*Calendula officinalis* L.). 33: 492-508.

EI-Tayeb, M. A. (2005) Response of barley grains to the interactive effect of salinity and salicylic acid. Journal of Plant Growth Regulation 46: 215-225.

El-Tohamy, W. A., Khalid, A. Kh., El-Abagy, H. M. and Abou-Hussein, S. D. (2009) Essential oil, growth and yield of onion (*Allium cepa* L.) in response to foliar application of some micronutrients. Australian Journal of Basic and Applied Sciences 3: 201-205.

Esmaielpour, B., Shiekhalipour, M. and Torabi-Giglo, M. (2020) Effects of zinc nanoparticles on growth, some physiological characteristics, and essential oil yield of *Dracocephalum moldavica* L. under salinity stress conditions. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research 36: 867-884.

Esparham, E., Saeidisar, S., Mahmoodzadeh, H. and Hadi, M. R. (2017) The effects of zinc oxide (ZnO) nanoparticles on the germination, biochemical and ultrastructural cell characteristics of *Ricinus communis*. Journal of Cell and Tissue 8: 151-165.

Fan, H., Li, T., Guan, L., Li, Z., Cai, Y. and Lin, Y. (2012) Effect of exogenous nitric oxide on antioxidant and DNA methylation of *Dendrobium huoshanense* grown under drought stress. Plant Cell, Tissue and Organs Culture 109: 307-314.

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.

Fazeli Kakhki, S. F. and Goldani, M. (2014) Effect of salicylic acid on drought stress through improving some morphological, physiological and yield components traits of mustard plant (*Brassica compestris* var. parkland). Journal of Environmental Stresses in Crop Sciences 7: 65-77.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-05-09]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1401.11.50.11.6]

Fusconi, A., Gallo, C. and Camusso, W. (2007) Effect of cadmium on root apical meristems of *Pisum sativum* L.: Cell viability, cell proliferation and microtubule pattern as suitable markers for assessment of stress pollution. Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis 632: 9-19.

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.

Gorgini Shabankareh, H. and Khorasaninejad, S. (2017) Effects of sodium nitroprusside on physiological and biochemical characteristics of savory (*Satureja khuzestanica*) under deficit water regimes. Journal of Plant Production (Journal of Agricultural Sciences and Natural Resources) 24: 55-70.

Gorgini Shabankareh, H. and Fakheri, B. (2015) The effect of different levels of salinity and drought stresses on growth indices and the essential oil of lemon balm (*Melissa officinalis* L.). Iranian Journal of Field Crop Science 46: 686-673.

Harrison, M. T., Tardieu, F., Dong, Z., Messina, C. D. and Hammer, G. L. (2014) Characterizing drought stress and trait influence on maize yield under current and future conditions. Global Change Biology 20: 867-878.

Hayat, Q., Hayata, S. H., Irfan, M. and Ahmad, A. (2010) Effect of exogenous salicylic acid under changing environment: A review. Environmental and Experimental Botany 68: 14-25.

Huang, G. T., Ma, S. L., Bai, L. P., Zhang, L., Ma, H., Jia, P., Zhong, M. and Guo, Z. F. (2012) Signal transduction during cold, salt, and drought stresses in plants. Molecular Biology Reports 39: 969-987.

Ibrahim, E. A. (2016) Seed priming to alleviate salinity stress in germinating seeds. Journal of Plant Physiology 192: 38-46.

Idress, M., Naeem, M., Aftab, T., Masroor, M., Khan, A. and Moinuddin, M. (2013) Salicylic acid restrains nickel toxicity, improves antioxidant defence system and enhances the production of anticancer alkaloids in *Catharanthus roseus* (L.). Journal of Hazardous Materials 15: 252-253.

Javani, F., Abd Almaleki, P. and Ghanati, F. (2008) Investigation on the effect of static magnetic field on the activity of antioxidant enzymes and flavonoid content of broad bean (*Vicia faba* L.). Research Journal of University of Isfahan "Science 35: 195-208.

Joseph, B., Jini, D. and Sujatha, S. (2010) Insight into the role of exogenous salicylic acid on plants grown under salt environment. Asian Journal of Crop Science 2: 226-235.

Justesen, U., Knuthsen, P. and Leth, T. (1998) Quantitative analysis of flavonols, flavones and flavanons in fruits, vegetables and beverages by HPLC with photodiode array and mass spectrometric detection. Journal of hromatography A 799: 101-110.

Kafi, M., Zand, A., Kamkar, B., Sharifi, H. and Goldani, M. (2001) Plant physiology (translation). University Jihad of Mashhad Publications 379: 2.

Kamkari, B., Asgharzadeh, A. and Azimzadeh, M. (2016) Effects of salt stress and salicylic acid on vegetative and reproductive traits of pot marigold. Institute of Integrative Omics and Applied Biotechnology 7: 34-41.

Kern, L., Glantschnig, S. and Sorgner, U. (1998) Determination of the five major opium alkaloids by reversed-phase high-performance liquid chromatography on a base-deactivated stationary phase. Chromatographia 47: 21-24.

Koc, E., Islek, C. and Ustun, A. S. (2010) Effect of cold on protein, proline, phenolic compounds and chlorophyll content of two pepper (*Capsicum annuum* L.) varieties. Gazi University Journal of Science 23: 1-6.

Kong, J., Dong, Y., Xu, L., Liu, S. and Bai, X. (2014) Effects of foliar application of salicylic acid and nitric oxide in alleviating iron deficiency induced chlorosis of *Arachis hypogaea* L. Botanical Studies 55, 9: 1-12.

Laribi, B., Bettaieb, I., Kouki, K., Sahli, A., Mougou, A. and Marzouk, B. (2009) Water deficit effects on caraway (*Carum carvi* L.) growth, essential oil and fatty acid composition. Industrial Crops and Products 30: 372-379.

Laspina, N. V., Groppa, M. D., Tomaro, M. L. and Benavides, M. P. (2005) Nitric oxide protects sunflower leaves against Cd-induced oxidative stress. Plant Science 169: 323-330.

Li, G. L., Wu, H. X., Sun, Y. Q. and Zhang, S. Y. (2013) Response of chlorophyll Fluorescence parameters to drought stress in sugar beet seedlings. Russian Journal of Plant Physiology 60: 337-342.

Lin, Y. F. and Aarts, M. G. (2012) The molecular mechanism of zinc and cadmium stress response in plants. Cellular and Molecular Life Sciences 69: 3187-3206.

Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L. and Randall, R. J. (1951) Protein measurement with the folin phenol reagent. Journal of Biological Chemistry 193: 265-75.

Majeed, S., Nawaz, F., Naeem, M., Ashraf, M. Y., Ejaz, S., Ahmad, K. S., Tauseef, S., Farid, Gh., 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.

Milo, J., Levy, A. and Palevitch, D. (1988) High performance liquid chromatographic analysis of the alkaloid spectrum in the roots and capsules of the species and hybrids of *Papaver bracteatum* section *oxytona*. Journal of Chromatography B 452: 563-570.

Mirnia, S. and Habibzadeh, F. (2006) Plant Nutrition Guide. Takrang Publications, Tehran.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-05-09]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1401.11.50.11.6]

Moaveni, P., Aliabadi Farahani, H. and Maroufi, K. (2011) Effect of TiO_2 nanoparticles spraying on wheat (*Triticum aestivum* L.) under field condition. Advances in Environmental Biology 5: 2208-2210.

Moller, I. M., Jensen, P. E. and Hansson, A. (2007) Oxidative modifications to cellular components in plants. Annual Review of Plant Biology 58: 459-481.

Momeni, N., Arvin, M. J., Khagoei Negad, Gh., Keramat, B. and Daneshmand, F. (2013) Effects of sodium chloride and salicylic acid on some photosynthetic parameters and mineral nutrition in maize (*Zea mays* L.) plants. Iranian Journal of Plant Biology 5: 15-30.

Movludi, A., Ebadi, A., Jahanbakhsh, S., Davari, M. and Parmoon, Gh. (2014) The effect of water deficit and nitrogen on the antioxidant enzymes activity and quantum yield of barley (*Hordeum vulgare* L.). Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca 42: 398-404.

Nahed, G. and Balbaa, L. K. (2007) Influence of tyrosine and zinc on growth, flowering and chemical constituents of *Salvia farinacea* plants. Journal Application Science 3: 1479-1489.

Nasiby, P. (2011) The effect of different concentrations of sodium nitroprusside (SNP) at a discount oxidative damage induced by drought stress in tomato plants. Journal of Plant Biology 2: 74-63.

Nematollahi, E., Jafari, A. and Bagheri, A. (2013) Effect of drought stress and salicylic acid on photosynthesis pigments and macronutrients absorption in two sunflower (*Helianthus annuus* L.) cultivars. Plant Ecophysiology 5: 37-51.

Nikravesh, M., Kholdebarin, B., Nejadsattari, T. and Najafi, F. (2016) Effect of sodium nitroprusside (SNP) on some physiological parameters in oilseed rape (*Brassica napus* L.) seedlings under drought stress. Journal of Plant Research 29: 658-644.

Olsen, S. R. and Sommers, L. E. (1982) Phsphorus. In: Methods of Soil Analysis. (eds. Page, *et al*.) Pp. 403-430. ASA, SSSA, Madison. WI. USA.

Ordonez, A. A. L., Gomez, J. D., Vattuone, M. A. and Isla, M. I. (2006) Antioxidant activities of *Sechium edule* (Jacq.) Swartz extracts. Food Chemistry 97: 452-458.

Oukarroum, A., Schansker, G. and Strasser, R. J. (2009) Drought stress effects on photosystem I content and photosystem II thermotolerance analyzed using Chl a fluorescence kinetics in barley varieties differing in their drought tolerance. Physiology of Plant 137: 188-199.

Pandey, R. and Agarwal, R. M. (1998) Water stress-induced change in praline contents and nitratereductase activity in rice under light and dark condition. Physiology and Molecular Biology of Plants 4: 53-59.

Sadeghian, F., Hadian, J., Hadavi, M., Mohamadi, A., Ghorbanpour, M. and Ghafarzadegan, R. (2013) Effects of exogenous salicylic acid application on growth, metabolic activities and essential oil composition of *Satureja khuzistanica* Jamzad. Journal of Medicinal Plants 12: 1-13.

Said-Al Ahl, H. A. H. and Mahmoud, A. A. (2010) Effect of zinc and/or iron foliar application on growth and essential oil of sweet basil (*Ocimum basilicum* L.) under salt stress. Ozean Journal of Applied Sciences 3: 97-111.

Sairam, R. K., Veerabhadra Rao, K. and Srivastava, G. C. (2002) Differential response of wheat genotypes to long term salinity stress in relation to oxidative stress, antioxidant activity and osmolyte concentration. Plant Science 163: 1037-1046.

Sakihama, Y., Cohen, M., Grace, S. and Yamasaki, H. (2002) Plant phenolic antioxidant and prooxidant activities phenolic-induced oxidative damage mediated by metals in plant. Toxicology 177: 67-80.

Salarpour Ghoraba, F. and Farahbakhsh, H. (2014) Effects of drought stress and salicylic acid on morphological and physiological traits of (*Foeniculum vulgare* mill.). Journal of Crops Improvement (Journal of Agriculture) 16: 765-778.

Samadi, S., Qasem Nejad, A., Alizadeh, M. and Aflame, M. (2016) Photosynthetic pigments variability, chlorogenic acid, caffeic acid and proline of *Cynara scolymus* callus under the influence of metabolic stimuli. Iran Horticultural Sciences 47: 435-443.

Shibli, R. A., Kushad, M., Yousef, G. G. and Lila, M. A. (2007) Physiological and biochemical responses of tomato micro shoots to induced salinity stress with associated ethylene accumulation. Plant Growth Regulation 51: 159-169.

Shojaei, H. and Makarian, H. (2015) The effect of nano and non-nano zinc oxide particles foliar application on yield and yield components of mungbean (*Vigna radiate*) under drought stress. Iranian Journal of Field Crops Research 12: 727-737.

Singh, A. K. (2004) The physiology of salt tolerance in four genotypes of chickpea during germination. Journal of Agricultural Science and Technology 6: 87-93.

Sivaci, A. and Elmas, E. (2012) The combined effects of cadmium and salinity on some pigments and total phenolic compounds of *Myriophyllum heterophyllum* Michx. and *Potamogeton crispus* L. Agricultural Research 7: 3813-3818.

Smith, K. A. and Mullins, C. E. (1991) Soil and Environmental Analysis: Physical Methods. 2nd Ed. Revised and Expanded, Marcel Dekker, Inc. New York, Basel.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-05-09]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1401.11.50.11.6]

Sodaeizadeh, H. and Mansouri, F. (2014) Effects of drought stress on dry matter accumulation, nutrient concentration and soluble carbohydrate of *Salvia macrosiphon* as a medicinal plant. Arid Biom Scientific and Research Journal 4: 1-9.

Solgi, M. and Taghizadeh, M. (2015) Disinfection of African violet *in vitro* culture by using silver nanoparticles by plant extracts. Journal Processing of Agricultural and Horticultural Crops 17: 357-349.

Tian, X. and Li, Y. (2007) Nitric oxide treatment alleviates drought stress in wheat seedlings. Biologia Plantarum 50: 775-778.

Turner, N. C. (1986) Adaptation to water deficit: A changing perspective. Australian Journal of Plant Physiology 13: 90-175.

Waling, I., Vark, W. V., Houba, V. J. G. and Van der Lee, J. J. (1989) Soil and Plant Analysis, A Series of Syllabi. Part 7. Plant Analysis Procedures, Wageningen Agriculture University, Netherland.

Westerman, L. Z. (1990) Soil Testing and Plant Analysis. Soil Science Society of America, INC. Madison, Wisconsin, USA.

Wolf, A., Watson, M. and Wolf, N. (2003) Digestion and dissolution methods for P, K, Ca, Mg and trace elements. Journal of Environmental Protection 30-38.

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 6.

Yang, W., Sun, Y., Chen, S., Jlang, J., Chen, F., Fang, W. and Liu, Z. (2010) The effect of exogenously applied nitric oxide on photosynthesis and antioxidant activity in heat stressed *Chrysanthemum*. Biologia Plantarum 54: 1-4.

Yildiztugay, E., Ozfidan-Konakci, C. and Kucukoduk, M. (2014) Exogenous nitric oxide (as sodium nitroprusside) ameliorates polyethylene glycol-induced osmotic stress in hydroponically grown maize roots. Journal of Plant Growth Regulation 33: 683-696.

Zadeh Bagheri, F., Al Boali, F., Sadeghi, H. and Javanmardi, Sh. (2014) The effect of distant irrigation on ionic changes, relative water content, prolin level, and some general characteristics of petunia. Journal of Horticulture Science 28: 259-347.

Zangani, E., Zehtab Salmasi, S., Andalibi, B. and Zamani, A. A. (2017) Exogenous sodium nitroprusside application on the antioxidant enzymes activity and active substance yield in milk thistle under drought stress. Journal of Plant Production 24: 93-110.

Zare Dehabadi, S., Asrar, Z. and Mehrabani, M. (2010) Biochemical changes in terpenoid compounds of *Mentha spicata* essential oils in response to excess zinc supply. Iranian Journal of Plant Biology 2: 25-34.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-05-09]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1401.11.50.11.6]

Evaluation of salicylic acid, zinc Nano-oxide and sodium nitroprusside pre-treatments on some physiologic parameters and enzymatic activity of sweet violet under water-deficit stress conditions

Hamideh Bagheri[1], Davood Hashemabadi[1*], Bahman Pasban Eslam[2], Shahram Sedaghathoor[1] and Behzad Kaviani[1]

[1] Department of Horticultural Science, Rasht Branch, Islamic Azad University, Rasht
[2] Crop and Horticultural Science Research Department, East Azarbaijan Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, AREEO, Tabriz
(Received: 05/11/2021, Accepted: 12/04/2022)

Abstract

Sweet violet (*Viola odorata*) is a perennial herbaceous plant with ornamental and medicinal properties. The purpose of this study was to investigate the effect of different levels of water-deficit and spraying with salicylic acid, sodium nitroprusside and zinc Nano-oxide on physiological parameters, secondary metabolites and enzymatic activity of sweet violet. Factorial experiment in completely randomized design was performed with two factors; water-deficit stress at 3 levels (55, 65 and 85% of field capacity or FC of pot soil) and sprays including salicylic acid (200 and 300 mg/l), zinc Nano-oxide (1000 and 1500 mg/l) and sodium nitroprusside (200 and 300 µM) in three replications. The results showed that with increasing water-deficit stress, the amount of phenolic compounds, proline and phytol, as well as the percentage of secondary metabolites, antioxidant enzyme activity and plasma membrane stability increased. The highest phenolic compounds (57.07 mg/galic acid/g D.W.) and proline content (52.47 mg/kg F.W.) were obtained in the treatment of 300 µM sodium nitroprusside at 55% of field capacity. The highest activity of superoxide dismutase (1.94 EU/mg/pro./min), catalase (0.198 EU/mg/pro./min) and polyphenol oxidase (0.248 EU/mg/pro./min) were obtained in treatments of 200 mg/l salicylic acid and 200 and 300 µM sodium nitroprusside, respectively, in 55% FC. The highest amount of phytol (2.87%) belonged to the control treatment in 55% of FC. The highest amount of sodium (28.60 mg/kg) and phosphorus (0.60 mg/kg) in control plants in 55% stress and potassium (4.29 mg/kg), iron (306 mg/kg F.W.) and dry matter percentage of shoots (26.23) and roots (27.60) was observes in spraying with 1000 mg/l of zinc nanoparticles in stress 85%, 1500 mg/l zinc oxide in stress 65%, 200 µM salicylic acid in stress 85% and 1000 mg/l of zinc Nano-oxide in 55% stress, respectively. Totally, the use of 200 mg/l of salicylic acid as spray, in addition to improving the growth and developmental conditions of sweet violet, decreased the negative effects of water-deficit stress and increased plant resistance to water-deficit.

Keywords: Salicylic acid, Sodium nitroprusside, Zinc oxide nanoparticle, Water stress, Sweet violet, Secondary metabolites, Antioxidant enzymes

Corresponding author, Email: davoodhashemabadi@yahoo.com

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-05-09]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1401.11.50.11.6]