

The Effect of Using Salicylic Acid and Sodium Nitroprusside on the Physiological Characteristics of Henna (*Lawsonia inermis* L.) under Drought Stress

F. Chamani¹, H. Farahbakhsh^{1*}, M. N. Alavi¹, A. Pasandi Pour¹

1- Genetic and Plant Production Department, Faculty of Agriculture, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran

(* - Corresponding Author Email: Hfarahbakhsh@uk.ac.ir)

Received: 06 March 2024
Revised: 09 October 2024
Accepted: 06 September 2024
Available Online: 01 March 2025

How to cite this article:

Chamani, F., Farahbakhsh, H., Alavi, M. N., & Pasandi Pour, A. (2025). The Effect of Using Salicylic Acid and Sodium Nitroprusside on the Physiological Characteristics of Henna (*Lawsonia inermis* L.) under Drought Stress. *Iranian Journal of Field Crops Research*, 23(1), 19-30. (In Persian with English abstract).
<https://doi.org/10.22067/jcsc.2024.87158.1312>

Introduction

Henna (*Lawsonia inermis* L.) is a perennial, dicotyledonous plant native to North Africa and Southeast Asia. This plant is cultivated in tropical regions as an ornamental species and for its dye production (Singh, Luqman, & Mathur, 2015). Drought stress directly affects a range of physiobiochemical and phytochemical processes, as well as molecular responses (Farooq, Wahid, Kobayashi, Fujita, & Basra, 2009; Rady, Belal, Gadallah, & Semida, 2020). Salicylic acid is a phenol-based phytohormone that regulates vital physiological activities within the plant, including water uptake, ion transport, transpiration, and photosynthesis (Klessig, Choi, & Dempsey, 2018). Sodium nitroprusside is a nitric oxide-releasing compound (Farouk & Al-Huqail, 2020). Nitric oxide inhibits free radicals by inducing gene expression and enhancing the activity of antioxidant enzymes, thereby protecting cells from damage caused by abiotic stresses (Ahmad *et al.*, 2016).

Materials and Methods

This experiment was conducted in 2021 on a farm located in Qaleganj City, Kerman Province. The climate of Qaleganj is classified as semi-desert according to the dry amber method. The characteristics of the soil at the test site are detailed in Table 1. The experiment was carried out in the form of split plots based on a randomized complete block design with four replications. The main factor included three levels of irrigation (50%, 75%, and 95% of crop capacity), while the secondary factor involved foliar spraying with growth regulators (control, salicylic acid, sodium nitroprusside, and a combination of salicylic acid and sodium nitroprusside). The seeds of the henna plant (*Lawsonia inermis* L.) were obtained from the Faculty of Agriculture at Bahonar University, Kerman, Iran. The planting date for the henna plant was April 1, and the harvesting date was November 5.

Results and Discussion

The results showed that drought stress caused a decrease in traits such as plant height, leaf area index, and yield. Additionally, drought stress increased traits such as malondialdehyde concentration, ascorbate peroxidase enzyme activity, catalase enzyme activity, and phenylalanine ammonialyase enzyme activity. The application of the combination of salicylic acid and sodium nitroprusside enhanced the leaf surface index, ascorbate peroxidase



©2025 The author(s). This is an open access article distributed under [Creative Commons Attribution 4.0 International License \(CC BY 4.0\)](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/), which permits use, sharing, adaptation, distribution and reproduction in any medium or format, as long as you give appropriate credit to the original author(s) and the source.

<https://doi.org/10.22067/jcsc.2024.87158.1312>

enzyme activity, catalase enzyme activity, and phenylalanine ammonialyase enzyme activity. The highest seed yield from the treatment with the combination of salicylic acid and sodium nitroprusside was 3546.66 kg.ha⁻¹ under irrigation conditions of 95% of crop capacity, while the lowest seed yield, from the treatment without growth regulator application, was 2243.33 kg ha⁻¹ under 50% crop capacity conditions.

Conclusion

When faced with drought stress, the henna plant employs osmotic regulation mechanisms by increasing the accumulation of proline, thereby tolerating water deficit conditions to some extent. Spraying the combination of salicylic acid and sodium nitroprusside resulted in an increase in antioxidant enzymes, leaf surface index, and leaf density per hectare, helping to mitigate the destructive effects of stress. Based on the results of this research, it is recommended to use a salicylic acid and sodium nitroprusside solution under drought stress conditions to maintain performance in henna plants.

Keywords: Antioxidant defense system, Leaf area index, Malondialdehyde, Proline

تأثیر کاربرد اسید سالیسیلیک و سدیم نیتروپروساید بر ویژگی‌های فیزیولوژیک گیاه حنا (*Lawsonia inermis* L.) تحت تنش خشکی

فرامرز چمنی^۱، حسن فرح بخش^{۱*}، مهدی ناصر علوی^۱، امین پسندی پور^۱

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۱۲/۱۶

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۷/۱۸

چکیده

جهت ارزیابی تأثیرپذیری برخی از صفات فیزیولوژیک و عملکرد گیاه دارویی حنا از محلول‌پاشی با اسید سالیسیلیک و سدیم نیتروپروساید تحت شرایط تنش آزمایشی به صورت کرت‌های خردشده بر پایه طرح بلوک‌های کامل تصادفی با چهار تکرار در شهرستان قلعه گنج استان کرمان در سال زراعی ۱۴۰۰ اجرا گردید. در این آزمایش، عامل اصلی شامل سه سطح آبیاری (۵۰ درصد، ۷۵ درصد و ۹۵ درصد از ظرفیت زراعی) و عامل فرعی شامل محلول‌پاشی تنظیم‌کننده رشد (شاهد، اسید سالیسیلیک، سدیم نیتروپروساید، و ترکیب اسید سالیسیلیک و سدیم نیتروپروساید) بود. در این آزمایش، صفاتی از قبیل ارتفاع بوته، شاخص سطح برگ، محتوای پروتئین، غلظت مالون دی‌آلدئید، فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز، فعالیت آنزیم کاتالاز، فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیا لیاز، و در نهایت، عملکرد برگ گیاه حنا ارزیابی شدند. نتایج نشان داد که تنش خشکی باعث کاهش صفاتی مانند ارتفاع بوته (۳۷/۰۴ درصد) و شاخص سطح برگ (۵۰/۱۴ درصد) گیاه حنا شد. همچنین، تنش خشکی سبب افزایش صفاتی نظیر غلظت مالون دی‌آلدئید (۴۵/۹۴ درصد)، فعالیت آنزیم کاتالاز (۵۷/۱۴ درصد) و فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیا لیاز (۵۷/۱۴ درصد) گردید. استفاده از ترکیب اسید سالیسیلیک و سدیم نیتروپروساید منجر به افزایش صفاتی نظیر شاخص سطح برگ (۱۳/۴۴ درصد)، فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز (۱۳/۶۳ درصد)، فعالیت آنزیم کاتالاز (۱۸/۷۵ درصد)، و فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیا لیاز (۲۵ درصد) شد. بیشترین عملکرد برگ در تیمار محلول‌پاشی ترکیب اسید سالیسیلیک و سدیم نیتروپروساید به میزان ۲۹۸۴/۴۴ کیلوگرم در هکتار به دست آمد.

واژه‌های کلیدی: پروتئین، سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی، شاخص سطح برگ، مالون دی‌آلدئید

مقدمه

صورت می‌گیرد (Singh, Luqman, & Mathur, 2015). در پزشکی سنتی، حنا برای درمان مشکلات متنوعی از جمله روماتیسم، برونشیت، اختلالات قاعدگی و هموروئید به کار می‌رود (Farahbakhsh & Pasandi Pour, 2018). خشکی یکی از تنش‌های محیطی است که مهم‌ترین عامل محدودکننده رشد و عملکرد گیاهان زراعی بوده و ۴۰ تا ۶۰ درصد اراضی کشاورزی جهان را تحت تأثیر قرار می‌دهد (Rouhani, Zamani, & Fotovat, 2015). تنش خشکی مستقیماً بر فرآیندهای فیزیولوژیکی، فیتوشیمیایی و پاسخ‌های مولکولی اثر می‌گذارد (Rady et al., 2020). مهم‌تر از همه، تنش خشکی با ایجاد گونه‌های اکسیژن فعال سبب خسارت‌های سلولی و اختلال در فرایندهای بیوشیمیایی و مولکولی گیاهان می‌شود. گیاهان، به منظور مقابله با تنش کمبود آب، از سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی بهره برده تا گونه‌های اکسیژن فعال را

در سال‌های اخیر، رویکردی همه‌جانبه برای استفاده از داروهای با منشأ طبیعی و به‌ویژه گیاهی در جوامع مختلف جهان پدید آمده است (Salarpour & Farahbakhsh, 2016). گیاه حنا با نام علمی *Lawsonia inermis* L. گونه‌ای چندساله و دولپه است که کشت آن در مناطق گرمسیری شمال آفریقا و جنوب شرقی آسیا متداول است. این گیاه به‌عنوان یک گیاه زینتی در مناطق گرمسیری کشت می‌شود و بهره‌مندی از رنگ طبیعی آن به‌منظورهای مختلف نظیر رنگ‌آمیزی

۱- گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان، ایران
* - نویسنده مسئول:

(Email: Hfarahbakhsh@uk.ac.ir)

<https://doi.org/10.22067/jcsc.2024.87158.1312>

با معرفی راهکار مؤثر از عوارض ناشی از تنش جلوگیری به عمل آورد.

مواد و روش‌ها

در سال ۱۴۰۰، یک آزمایش مزرعه‌ای در استان کرمان، شهرستان قلعه گنج اجرا شد. آب‌وهوای این شهرستان به‌روش آمبرژه خشک نیمه‌بیابانی است. ویژگی‌های خاک محل انجام آزمایش در جدول ۱ آورده شده است. آزمایش به‌صورت کرت‌های خردشده بر پایه طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار صورت گرفت. تنش خشکی با سه سطح (۵۰، ۷۵ و ۹۵ درصد ظرفیت زراعی) به‌عنوان فاکتور اصلی و محلول‌پاشی تنظیم‌کننده رشد (شاهد (اسپری آب)، اسید سالیسیلیک (۰/۲۵ میلی‌مولار)، سدیم نیتروپروساید (۵۰ میکرومولار) و ترکیب اسید سالیسیلیک (۰/۲۵ میلی‌مولار) و سدیم نیتروپروساید (۵۰ میکرومولار) به‌عنوان فاکتور فرعی در نظر گرفته شدند. بذر گیاه حنا از دانشکده کشاورزی دانشگاه باهنر کرمان تهیه شد که این بذر از اکتوبر رودبار بود. کاشت در تاریخ اول فروردین ماه سال ۱۴۰۰ و برداشت در تاریخ پنجم آبان ماه سال ۱۴۰۰ انجام گرفت. کشت به‌صورت مستقیم در زمین اصلی انجام و تراکم بوته به‌میزان ۲۰ بوته در مترمربع لحاظ گردید. ابعاد هر کرت‌ها ۳×۲ متر بود. در مزرعه، کرتی به ابعاد یک متر در یک متر در نظر گرفته شد و خاک آن اشباع گردید. سپس سطح خاک برای جلوگیری از تبخیر سطحی با نایلون پوشانده شد. در بازه‌های زمانی ۱۲ ساعت، از خاک نمونه‌برداری گردید و رطوبت آن به‌روش وزنی تعیین شد. پس از ۴۸ ساعت، تفاوت رطوبت بین دو بازه متوالی محاسبه و به‌عنوان رطوبت ظرفیت زراعی تعیین گردید. هم‌زمان، رطوبت نیز توسط دستگاه TDR تعیین گردید. طی زمان کاشت نیز رطوبت با استفاده از دستگاه TDR اندازه‌گیری شد. حجم آب مورد نیاز با استفاده از رابطه‌های (۱) و (۲) در هر آبیاری تعیین گردید. حجم آب مصرفی با استفاده از کنتور آب کنترل شد.

$$H = \rho b(\theta_{FC} - \theta_m) \times D \quad (1)$$

$$V = H \times A \quad (2)$$

که در آن‌ها، H: نشان‌دهنده ارتفاع آب داخل کرت، ρb : جرم مخصوص ظاهری خاک، θ_{FC} : رطوبت در حد C ظرفیت مزرعه، θ_m : رطوبت جرمی کرت مورد نظر در زمان آبیاری، D: عمق توسعه ریشه، V: حجم آب آبیاری در کرت و A: مساحت کرت است. محلول‌پاشی تنظیم‌کننده رشد در مرحله پنج برگی گیاه صورت گرفت. اعمال تیمار آبیاری تا زمان برداشت ادامه داشت و تیمار محلول‌پاشی فقط در مرحله پنج برگی اعمال گردید، مرحله قبل از مرحله گل‌دهی، سطح برگ گیاه با استفاده از دستگاه سطح برگ‌سنج، اندازه‌گیری شد. برای تعیین ارتفاع بوته در هنگام برداشت ۱۰ بوته به‌طور تصادفی از هر

مهار کنند. این سیستم شامل آنزیم‌ها و عوامل غیر آنزیمی است که در برابر اثرات آسیب‌زای اکسیژن فعال، گیاه را محافظت می‌کنند. (Farouk & Al-Huqail, 2020). تنظیم‌کننده‌های رشد گیاه، ترکیبات آلی، طبیعی یا مصنوعی هستند که می‌توانند حداقل یک فرآیند فیزیولوژیکی خاص را در گیاه تغییر داده یا کنترل کنند (Kreuser, 2015). اسید سالیسیلیک یک فیتوهورمون مبتنی بر فنل است و فعالیت‌های فیزیولوژیکی حیاتی درون گیاه از جمله جذب آب، انتقال یون، تعرق و فتوسنتز را تنظیم می‌کند (Klessig et al., 2018). استفاده از اسید سالیسیلیک، می‌تواند به حفظ بهتر پتانسیل آب گیاه در شرایط تنش منجر شود. این اثرات با تولید محلول‌های سازگار و تنظیم اسمزی، حفظ بازدهی فتوسنتز در سطح بهینه (با جلوگیری از تجزیه رنگدانه‌های فتوسنتزی و تنظیم هدایت روزنه‌ای)، حفظ پایداری غشاء سلولی (با ممانعت از پراکسیده شدن لیپیدها) و افزایش فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی سلولی (سیستم‌های آنتی‌اکسیدانی آنزیمی و غیر آنزیمی) در گندم (*Triticum aestivum* L.) به رشد بهینه و عملکرد مطلوب گیاه منجر می‌شود (Khalvandi, Siosemardeh, Roohi, & Keramati, 2021). تحقیقات متعدد بیان می‌کنند که محلول‌پاشی اسید سالیسیلیک موجب افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و کاهش خسارت اکسیداتیو در مقابله با شرایط تنش می‌شود (Pirasteh-Anosheh & Emam, 2018). سدیم نیتروپروساید به‌عنوان یک ترکیب رهاکننده نیتریک اکسید شناخته می‌شود (Farouk & Al-Huqail, 2020). نیتریک اکسید با افزایش بیان ژن و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، منجر به مهار رادیکال‌های آزاد شده و این اقدام باعث حفاظت از سلول در مقابل آسیب‌های ناشی از تنش‌های غیر زیستی می‌شود (Ahmad et al., 2016). در یک تحقیق انجام‌شده روی گیاه مرزنجوش، اثر پاشش محلول سدیم نیتروپروساید سبب تقویت سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی گیاه در شرایط تنش خشکی شد. این تقویت از طریق افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی اتفاق افتاد و به عبارتی، باعث کاهش میزان پراکسیداسیون لیپیدهای غشایی شد (Farouk & Al-Huqail, 2020). مطالعات انجام‌شده توسط محصلی و صادقی (Mohasseli & Sadeghi, 2019) نشان دادند که استفاده از سدیم نیتروپروساید در شرایط تنش خشکی باعث تجمع پرولین در برگ‌ها می‌شود و این افزایش تراکم پرولین، منجر به افزایش تحمل گیاه آویشن (*Thymus serpyllum*) به تنش خشکی شده است.

آب به‌عنوان یک منبع اقتصادی مهم در بسیاری از نقاط جهان به‌خصوص مناطق خشک و نیمه‌خشک مطرح است. گیاه حنا در کشور ایران به‌طور عمده در نواحی خشک و نیمه‌خشک کشت می‌گردد. لذا تحقیق حاضر ضمن قرار دادن گیاه حنا در شرایط مختلف رژیم‌های آبی و استفاده از تنظیم‌کننده‌های رشد، پاسخ‌های فیزیولوژیک و در نهایت، میزان عملکرد برگ گیاه حنا را مورد ارزیابی قرار داده است تا

کرت انتخاب و ارتفاع بوته محاسبه گردید. برای تعیین عملکرد برگ موجود برداشت و عملکرد برگ تعیین گردید. پس از حذف اثر حاشیه‌ای، به ابعاد یک در یک متر مربع بوته‌های

جدول ۱- خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک
Table 1- Physical and chemical properties of soil

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

۱۰۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. شدت جذب این محلول در طول موج ۵۳۲ نانومتر ثبت شد.

سنجش میزان پرولین برگ

جهت سنجش پرولین، برگ‌های جوان و تازه گیاه در دوره قبل از گل‌دهی تهیه و در دمای ۸۰- سانتی‌گراد قرار داده شد. سنجش پرولین با استفاده از روش بیتس و همکاران (Bates et al., 1973) انجام شد. برای اجرای این فرآیند، ۵۰۰ میلی‌گرم نمونه از برگ گیاه حنا با ۱۰ میلی‌لیتر از محلول سولفوسالیسیلیک اسید سه درصد ترکیب شد. سپس مخلوط حاصل با کاغذ صافی صاف گردید. سپس دو میلی‌لیتر از عصاره به‌دست‌آمده به لوله آزمایش منتقل شد. در ادامه، دو میلی‌لیتر اسید استیک گلاسیال و دو میلی‌لیتر از معرف ناین هیدرین اضافه شد. سپس، لوله آزمایش در حمام آب گرم با دمای ۱۰۰ درجه سانتیگراد به‌مدت یک ساعت قرار گرفت تا رنگ صورتی گلی ظاهر شود. نمونه برای توقف واکنش‌ها داخل ظرف حاوی یخ قرار گرفت و پس از سرد شدن، به لوله آزمایش چهار میلی‌لیتر از محلول تولوئن اضافه گردید. در این مرحله، دو فاز تشکیل شد: فاز روئی شامل کمپلکس رنگی (قرمز) بود که برای اندازه‌گیری میزان پرولین، مورد استفاده قرار گرفت و میزان جذب در طول موج ۵۲۰ نانومتر اندازه‌گیری شد.

فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز (APX)

مخلوط واکنش شامل بافر فسفات پتاسیم ۵۰ میلی‌مولار EDTA (pH=7)، آسکوربات ۰/۵ میلی‌مولار، H₂O₂ ۰/۱۵ میلی‌مولار، EDTA ۰/۱ میلی‌مولار و ۵۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی بود. تغییرات جذب در طول موج ۲۹۰ نانومتر ثبت گردید (Nakano & Asada, 1981).

سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز

مخلوط واکنش (سه میلی‌لیتر) شامل ۱۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی، بافر پتاسیم فسفات ۵۰ میلی‌مولار (pH=7) و آب اکسیژنه ۱۵ میلی‌مولار بود. با افزودن آب اکسیژنه به مخلوط واکنش، واکنش شروع گردید و کاهش در جذب آب اکسیژنه در مدت ۳۰ ثانیه در طول موج ۲۴۰ نانومتر ثبت شد (Dhindsa, Plumb-dhindsa, & Thorpe, 1981).

سنجش فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیا لایاز (PAL)

محاسبه فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیا لایاز به‌روش کواچیک و کلیدوس (Kováčik & Klejdus, 2012) انجام گردید. ۰/۰۵ گرم از بافت تازه در دو میلی‌لیتر از بافر استخراج (بافر پتاسیم فسفات با pH=8) هموزن شد. سپس هموزن در دمای چهار درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۲۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. سپس، ۱۵۰ میکرولیتر از عصاره استخراج‌شده، ۲۰۰ میکرولیتر فنیل آلانین ۰/۱ مولار در بافر پتاسیم فسفات با اسیدیته هشت و ۶۵۰ میکرولیتر بافر پتاسیم فسفات ۰/۱ مولار با اسیدیته هشت اضافه شد. سپس مخلوط به‌دست‌آمده به‌مدت یک ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد، که اوج فعالیت فنیل آلانین آمونیا لایاز است، قرار گرفت. سپس ۵۰ میکرولیتر HCL شش مولار برای غیر فعال کردن فنیل آلانین آمونیا لایاز به مخلوط افزوده شد. پس از آن، نمونه در جریان هوا تبخیر گردید و به رسوب حاصل، یک

سنجش غلظت مالون دی‌آلدئید

برای اندازه‌گیری میزان مالون دی‌آلدئید از روش والتووویچ (Valentovič, Luxová, Kolarovič, & Gašpariková, 2006) استفاده گردید. در این روش، ۰/۲ گرم از بافت گیاه با پنج میلی‌لیتر تری‌کلرو استیک اسید ۰/۱ درصد سائیده شد. سپس عصاره به‌دست‌آمده، به‌مدت پنج دقیقه در ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. به یک میلی‌لیتر از محلول روئی حاصل از سانتریفیوژ، چهار میلی‌لیتر محلول تری‌کلرو استیک اسید ۲۰ درصد که حاوی ۰/۵ درصد اسید تیوباربتوریک است افزوده شد. مخلوط حاصل به‌مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد در حمام آب گرم گذاشته شد، سپس بلافاصله در یخ سرد گردید و دوباره مخلوط به‌مدت ۱۰ دقیقه در

که بین ارتفاع بوته با میزان پرولین، مالون دی‌آلدئید و فعالیت آنزیم‌های آسکوربات پراکسیداز، کاتالاز و فنیل آلانین آمونیا لیاژ همبستگی منفی و معنی‌داری وجود دارد (جدول ۵). رشد از طریق تقسیم سلولی، بزرگ شدن و تمایز سلولی انجام می‌شود و شامل رویدادهای ژنتیکی، فیزیولوژیکی، بوم‌شناختی و ریخت‌شناختی و برهم‌کنش‌های پیچیده آن‌ها می‌باشد. کیفیت و کمیت رشد گیاه به این رویدادها بستگی دارد که تحت تأثیر کمبود آب قرار می‌گیرند. رشد سلولی یکی از حساس‌ترین فرآیندهای فیزیولوژیکی به خشکی به دلیل کاهش فشار تورگر است (Yang et al., 2021).

شاخص سطح برگ (LAI)

بر اساس نتایج جدول تجزیه واریانس، تأثیر تنش خشکی با احتمال یک درصد و محلول‌پاشی تنظیم‌کننده رشد با احتمال پنج درصد بر شاخص سطح برگ به‌طور معنادار است (جدول ۲). با افزایش سطح خشکی، شاخص سطح برگ از ۳/۴۱ در تیمار با ۹۵ درصد ظرفیت زراعی به ۱/۷۰ در تیمار با ۵۰ درصد ظرفیت زراعی کاهش یافت (جدول ۳). تغییرات در شاخص سطح برگ به واکنش به سطوح مختلف تنظیم‌کننده رشد نشان می‌دهد که استفاده از ترکیب اسید سالیسیلیک و سدیم نیتروپروساید به‌طور معناداری باعث افزایش شاخص سطح برگ نسبت به شاهد می‌شود و بیشترین مقدار شاخص سطح برگ (۲/۷۰) با استفاده از محلول‌پاشی ترکیب اسید سالیسیلیک و سدیم نیتروپروساید به‌دست آمده است (جدول ۴).

میلی‌لیتر سدیم هیدروکسید با غلظت ۰/۰۵ مولار اضافه گردید. غلظت اسید سینامیک با اندازه‌گیری مقدار جذب در طول موج ۲۹۰ نانومتر و با استفاده از استاندارد اسید سینامیک تعیین شد. یک واحد از فنیل آلانین آمونیا لیاژ برابر با یک میکروگرم از اسید سینامیک تولیدشده در ساعت است.

محاسبات آماری

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

نتایج و بحث

ارتفاع بوته

با توجه به تحلیل واریانس، مشخص شد که سطوح مختلف آبیاری به‌طور معنی‌داری در سطح پنج درصد بر ارتفاع بوته تأثیرگذار بودند (جدول ۲). با افزایش میزان تنش خشکی، ارتفاع بوته به‌طور چشمگیری کاهش پیدا کرد. به عبارت دیگر، ارتفاع بوته در سطح آبیاری با ۵۰ درصد ظرفیت زراعی، ۳۷/۰۴ درصد کمتر از ارتفاع بوته در سطح آبیاری با ۹۵ درصد ظرفیت زراعی بود (جدول ۳). نتایج همبستگی نشان داد که بین ارتفاع بوته با شاخص سطح برگ و عملکرد همبستگی مثبت و معنی‌داری وجود دارد، اما مشاهده گردید

جدول ۲- نتایج تجزیه واریانس صفات فیزیولوژیک گیاه حنا

Table 2- Results of variance analysis of physiological traits of henna plant

منابع تغییرات S.O.V	درجه آزادی df	ارتفاع بوته Plant height (cm)	شاخص سطح برگ Leaf area index	پرولین Proline ($\mu\text{mol g}^{-1}$ FW)	مالون دی‌آلدئید MDA ($\mu\text{mol g}^{-1}$ FW)	آسکوربات پراکسیداز APX ($\mu\text{M min}^{-1}$ mg ⁻¹ protein)	کاتالاز CAT ($\mu\text{M min}^{-1}$ mg ⁻¹ protein)	فنیل آلانین آمونیا لیاژ PAL ($\mu\text{M min}^{-1}$ mg ⁻¹ protein)	عملکرد برگ Leaf yield (kg ha ⁻¹)	
Block	بلوک	2	8.11	0.16	0.99	2.92	0.004	0.000007	1011225	
Drought (a)	دور آبیاری (a)	2	7925.02**	8.73**	5.11 ^{ns}	0.10*	21.53**	0.01*	0.004**	3492558**
Error (a)	خطای (ا)	4	131.11	0.14	0.79	0.41	0.0004	0.00002	281758	
PGR (b)	تنظیم‌کننده رشد (b)	3	102.11 ^{ns}	0.17*	0.01 ^{ns}	0.005**	0.39**	0.002**	0.003**	33943.51**
Interaction a × b	اثر متقابل a × b	6	64.02 ^{ns}	0.06 ^{ns}	0.05 ^{ns}	0.0003 ^{ns}	0.09 ^{ns}	0.00004 ^{ns}	0.00002 ^{ns}	7399.07 ^{ns}
Error (b)	خطای (ب)	18	34.11	0.03	0.04	0.0004	0.04	0.00004	0.00004	2236.11
C.V. (%)	ضریب تغییرات	5.3	7.8	3.5	4.7	8.0	3.6	7.2	16.3	

ns و ** در سطح احتمال یک درصد و پنج درصد و غیر معنی‌داری می‌باشد.

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

جدول ۳- مقایسه میانگین اثر سطوح مختلف تنش خشکی بر ویژگی‌های فیزیولوژیک گیاه حنا

Table 3- Comparison of the average effect of different levels of drought stress on the physiological characteristics of henna plant

سطوح تنش خشکی Drought treatments	ارتفاع بوته Hight plant (cm)	شاخص سطح برگ Leaf area index	پرولین Proline ($\mu\text{mol g}^{-1}\text{FW}$)	مالون دی‌آلدئید MDA ($\mu\text{mol g}^{-1}\text{FW}$)	آسکورات پراکسیداز APX ($\mu\text{M min}^{-1}\text{mg}^{-1}\text{protein}$)	کاتالاز CAT ($\mu\text{M min}^{-1}\text{mg}^{-1}\text{protein}$)	فنیل آلانین آمونیا لیاز PAL ($\mu\text{M min}^{-1}\text{mg}^{-1}\text{protein}$)	عملکرد برگ Leaf yield (kg ha ⁻¹)
95 %FC	137.00a*	3.41a	5.44	0.37b	1.35c	0.14c	0.07c	3411.67a
75 % FC	104.58b	2.50b	6.53	0.41b	4.03a	0.17b	0.09b	2945.00b
50 %FC	86.25c	1.70c	6.61	0.54a	2.77b	0.22a	0.11a	2335.83c

* در هر ستون میانگین‌های دارای حروف مشترک، فاقد اختلاف معنی‌دار براساس آزمون دانکن در سطح احتمال پنج درصد می‌باشد

* In each column, averages with common letters have no significant difference based on Duncan's test at the five percent probability level.

پرولین

نتایج تحلیل واریانس نشان داد که تأثیر تنش خشکی و محلول‌پاشی برگی به‌عنوان تنظیم‌کننده رشد، همچنین اثرات متقابل آن‌ها بر میزان پرولین معنی‌دار نیستند (جدول ۲). تحلیل روند تغییرات میزان پرولین نشان می‌دهد که با بالا رفتن شدت تنش خشکی، مقدار پرولین افزایش می‌یابد؛ اما تفاوت معنی‌داری با سطوح آبیاری دیگر مشاهده نمی‌شود (جدول ۳). همچنین کاربرد ترکیب اسید سالیسیلیک و سدیم نیتروپروساید سبب افزایش میزان پرولین گردید، اما تفاوت معنی‌داری با دیگر سطوح محلول‌پاشی نداشت (جدول ۴). نتایج همبستگی نشان داد که بین میزان پرولین با ارتفاع بوته، شاخص سطح برگ و عملکرد همبستگی منفی و معنی‌داری وجود دارد، اما بین میزان پرولین با میزان مالون دی‌آلدئید و فعالیت آنزیم‌های آسکورات پراکسیداز، کاتالاز و فنیل آلانین آمونیا لیاز همبستگی مثبت و معنی‌داری وجود دارد (جدول ۵).

همبستگی مثبت و معنی‌داری بین شاخص سطح برگ با ارتفاع بوته و عملکرد مشاهده گردید و بین شاخص سطح برگ و میزان پرولین، مالون دی‌آلدئید و فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و فنیل آلانین آمونیا لیاز همبستگی منفی و معنی‌داری مشاهده گردید (جدول ۵). شاخص سطح برگ به‌عنوان بهترین معیار برای ارزیابی ظرفیت فتوسنتز گیاهان با توجه به مساحت اشغال‌شده توسط جمعیت گیاهی در نظر گرفته می‌شود (Breda, 2003). هنگام بروز تنش خشکی از رشد سلولی و نرخ تقسیم سلولی کاسته می‌شود، در نتیجه منجر به کم شدن شاخص سطح برگ می‌شود. در این شرایط، جذب نور خورشید و میزان فتوسنتز گیاه نیز کاهش می‌یابد، که در نتیجه، باعث کاهش میزان ماده خشک گردید (Ahmed, Yu, Yang, & Jiang, 2014). کاربرد اسید سالیسیلیک توانست با کاهش اثرات تنش، شاخص سطح برگ و سرعت رشد گیاهان گندم را افزایش دهد. استفاده از اسید سالیسیلیک باعث تجمع تریتوفان می‌شود، این اسید آمینه پیش‌ساز هورمون اکسین می‌باشد. این تجمع باعث رشد سریع و بهبود رشد کلی گیاه می‌شود (Munsif et al., 2022).

جدول ۴- مقایسه میانگین اثر PGR بر ویژگی‌های فیزیولوژیک گیاه حنا

Table 4- Comparison of the average effect of PGR on the physiological characteristics of henna plant

سطوح تنظیم‌کننده رشد PGR	شاخص سطح برگ Leaf area index	مالون دی‌آلدئید MDA ($\mu\text{mol g}^{-1}\text{FW}$)	آسکورات پراکسیداز APX ($\mu\text{M min}^{-1}\text{mg}^{-1}\text{protein}$)	کاتالاز CAT ($\mu\text{M min}^{-1}\text{mg}^{-1}\text{protein}$)	فنیل آلانین آمونیا لیاز PAL ($\mu\text{M min}^{-1}\text{mg}^{-1}\text{protein}$)	عملکرد برگ Leaf yield (kg ha ⁻¹)
Control	2.38c*	0.47a	2.42b	0.16c	0.08c	2446.67b
SA	2.46bc	0.44b	2.77a	0.17b	0.09bc	2895.56b
SNP	2.60ab	0.44b	2.92a	0.17b	0.09ab	2863.33b
SA+SNP	2.70a	0.41c	2.75a	0.19a	0.10a	2984.44a

* در هر ستون میانگین‌های دارای حروف مشترک، فاقد اختلاف معنی‌دار براساس آزمون دانکن در سطح احتمال پنج درصد می‌باشد.

* In each column, averages with common letters have no significant difference based on Duncan's test at the five percent probability level.

جدول ۵- ضرایب همبستگی ساده بین صفات مورد بررسی
Table 5- Simple correlation coefficients between investigated traits

عملکرد برگ	فنیل آلانین آمونیاپالاز PAL ($\mu\text{M min}^{-1}\text{ mg}^{-1}\text{ protein}$)	کاتالاز CAT ($\mu\text{M min}^{-1}\text{ mg}^{-1}\text{ protein}$)	آسکورات پراکسیداز APX ($\mu\text{M min}^{-1}\text{ mg}^{-1}\text{ protein}$)	مالون دی‌آلدئید MDA ($\mu\text{mol g}^{-1}\text{ FW}$)	پرولین Proline ($\mu\text{mol g}^{-1}\text{ FW}$)	شاخص سطح برگ Leaf area index	ارتفاع بوته High plant (cm)
عملکرد برگ	-0.916**	-0.874**	-0.439	-0.949**	-0.829**	0.974**	0.950**
فنیل آلانین آمونیاپالاز PAL ($\mu\text{M min}^{-1}\text{ mg}^{-1}\text{ protein}$)	1	0.949**	0.563	0.793**	0.840**	-0.869**	-0.882**
کاتالاز CAT ($\mu\text{M min}^{-1}\text{ mg}^{-1}\text{ protein}$)	0.949**	1	0.466	0.766**	0.790**	-0.840**	-0.833**
آسکورات پراکسیداز APX ($\mu\text{M min}^{-1}\text{ mg}^{-1}\text{ protein}$)	0.563	0.466	1	0.208	0.816**	-0.515	-0.626*
مالون دی‌آلدئید MDA ($\mu\text{mol g}^{-1}\text{ FW}$)	0.793**	0.766**	0.208	1	0.663*	-0.931**	-0.886**
پرولین Proline ($\mu\text{mol g}^{-1}\text{ FW}$)	0.840**	0.790**	0.816**	0.663*	1	-0.847**	-0.904**
شاخص سطح برگ Leaf area index	-0.869**	-0.840**	-0.515	-0.931**	-0.847**	1	0.984**
ارتفاع بوته High plant (cm)	-0.882**	-0.833**	-0.626*	-0.886**	-0.904**	0.984**	1

*, **, ns: به ترتیب معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد و پنج درصد و غیر معنی‌داری می‌باشد.

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

مالون دی‌آلدئید (MDA)

نتایج تجزیه و تحلیل واریانس داده‌های مرتبط با اندازه‌گیری مالون دی‌آلدئید نشان می‌دهد که تأثیر تنش خشکی (در سطح احتمال پنج درصد) و محلول‌پاشی به‌عنوان تنظیم‌کننده رشد (در سطح احتمال یک درصد) بر مقدار مالون دی‌آلدئید معنی‌دار بود؛ اما اثر متقابل بین تنش خشکی و محلول‌پاشی تنظیم‌کننده رشد بر پراکسیداسیون لپیدها معنی‌دار نبود (جدول ۲). میزان مالون دی‌آلدئید در سطوح ۹۵ درصد و ۷۵ درصد ظرفیت زراعی تغییر معنی‌داری نکرد، اما با افزایش شدت تنش خشکی از تنش متوسط به تنش شدید، میزان این صفت به نسبت ۴۵/۹۴ درصد افزایش یافت (جدول ۳). محلول‌پاشی ترکیب اسید سالیسیلیک و سدیم نیتروپروساید سبب کاهش ۱۲/۷۶ درصدی میزان مالون دی‌آلدئید نسبت به شاهد گردید (جدول ۴). براساس همبستگی بین صفات، میزان مالون دی‌آلدئید همبستگی مثبت و معنی‌داری با فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و فنیل آلانین آمونیاپالاز داشت، درحالی‌که میزان مالون دی‌آلدئید همبستگی منفی و معنی‌داری با ارتفاع بوته، شاخص سطح برگ و عملکرد برگ داشت (جدول ۵). مالون دی‌آلدئید در اثر اکسیداسیون غشاء تولید می‌شود و به‌عنوان یک شاخص برای تخمین میزان صدمه به غشاء سلولی در صورت

وقوع تنش خشکی اهمیت دارد (Rezayian, Ebrahimzadeh, & Niknam, 2020). کاربرد اسید سالیسیلیک باعث کاهش تجمع سلولی محتوای مالون دی‌آلدئید در گیاهان تحت تنش می‌شود، که آسیب به غشاء را کاهش داده و در نتیجه، کاهش اثرات مضر بر اندامک‌های داخلی گیاه منجر می‌شود (Fayez & Bazaid, 2014). از طرف دیگر، کاربرد سدیم نیتروپروساید در گیاهان تحت تأثیر خشکی تا حدی تنش اکسیداتیو را با کاهش تولید مالون دی‌آلدئید کاهش داده و سبب حفاظت از یکپارچگی غشاء سلولی شد (Bhuyan et al., 2020).

آنزیم آسکورات پراکسیداز (APX)

با توجه به نتایج به‌دست آمده، اثر تنش خشکی و تنظیم‌کننده رشد بر فعالیت آنزیم آسکورات پراکسیداز در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود، اما اثر متقابل بین تنش خشکی و تنظیم‌کننده رشد بر فعالیت آنزیم آسکورات پراکسیداز معنی‌دار نبود (جدول ۲). بیشترین میزان فعالیت آنزیم آسکورات پراکسیداز مربوط به سطح آبیاری ۷۵ درصد ظرفیت زراعی بود و کمترین میزان فعالیت این آنزیم مربوط به سطح آبیاری ۹۵ درصد ظرفیت زراعی بود (جدول ۳). همچنین تیمار

آزاد ناشی از شرایط تنش افزایش پیدا کرد (Hosseini, Samsampour, Ebrahimi, Abadía, & Khanahmadi, 2018). کاربرد اسید سالیسیلیک به بیان ژن‌های درگیر در تولید آنتی‌اکسیدان‌ها و در نتیجه، افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی منجر شده، که این فرآیند باعث ایجاد اثرات ضد تنشی می‌شود (Wang, Wang, Li, & Hao, 2019). استفاده از نیتریک اکسید با فعال‌سازی آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی و غیر آنزیمی، و همچنین افزایش سطح پرولین، تأثیرات مخرب ROS اضافی را کاهش داده و آسیب اکسیداتیو را به کمترین میزان رساند (Rezayian et al., 2020).

آنزیم فنیل آلانین آمونیلایز

فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیلایز در سطح احتمال یک درصد تحت تأثیر رژیم‌های مختلف آبیاری و سطوح مختلف تنظیم‌کننده رشد قرار گرفت (جدول ۲). با افزایش شدت تنش خشکی، فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیلایز نیز افزایش یافت، به گونه‌ای که بیشترین فعالیت این آنزیم مربوط به سطح آبیاری ۵۰ درصد ظرفیت زراعی بود و کمترین فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیلایز مربوط به سطح آبیاری ۹۵ درصد ظرفیت زراعی بود (جدول ۳). استفاده از محلول‌پاشی ترکیب اسید سالیسیلیک و سدیم نیتروپروساید منجر به افزایش ۲۵ درصدی فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیلایز شد، با این حال تفاوت معنی‌داری با تیمار محلول‌پاشی سدیم نیتروپروساید مشاهده نشد (جدول ۴). نتایج جدول همبستگی نشان داد که فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیلایز با میزان پرولین، مالون دی‌آلدئید و فعالیت آنزیم کاتالاز همبستگی مثبت و معنی‌داری دارد، اما با ارتفاع بوته، شاخص سطح برگ و عملکرد همبستگی منفی و معنی‌دار دارد (جدول ۵). فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیلایز در برابر تنش‌های زیستی و غیر زیستی افزایش می‌یابد و با افزایش فعالیت ویژه این آنزیم، تولید متابولیت‌های ثانویه نیز افزایش می‌یابد. اسید سالیسیلیک قادر است با تولید گونه‌های اکسیژن فعال و القای آنزیم‌های فنیل آلانین آمونیلایز و تیروزین آمونیلایز، میزان متابولیت‌های ثانویه را تنظیم کند (Dokhanieh, Aghdam, Fard, & Hassanpour, 2013). کاربرد نیتریک اکسید فعالیت فنیل آلانین آمونیلایز را در شرایط تنش خشکی بالا برد (Rezayian et al., 2020).

عملکرد برگ

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که تأثیر تنش خشکی و تنظیم‌کننده رشد بر عملکرد برگ گیاه حنا در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۲). بیشترین مقدار عملکرد برگ در سطح آبیاری ۹۵ درصد ظرفیت زراعی (۳۴۱۱/۶۷ کیلوگرم در هکتار) به دست آمده است. همچنین کمترین مقدار عملکرد برگ (۲۳۳۵/۸۳)

محلول‌پاشی سدیم نیتروپروساید موجب افزایش ۱۳/۶۳ درصد در فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز نسبت به شاهد شد، که با تیمارهای اسید سالیسیلیک و ترکیب اسید سالیسیلیک و سدیم نیتروپروساید تفاوت معنی‌داری نداشت (جدول ۴). نتایج همبستگی بین صفات نشان داد که فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز همبستگی منفی و معنی‌داری با ارتفاع بوته و همبستگی مثبت و معنی‌داری با میزان پرولین داشت (جدول ۵). آنزیم آسکوربات پراکسیداز به عنوان جاذب رادیکال‌های آزاد تولیدشده در شرایط تنش عمل می‌کند (Hossain, Nouri, & Komatsu, 2012). تغییر در فعالیت آسکوربات پراکسیداز در برگ‌ها بیشتر از ریشه‌های فیبری است، زیرا آسکوربات پراکسیداز عمدتاً در کلروپلاست و سیتوپلاسم وجود دارد و یک آنزیم حیاتی برای از بین بردن پراکسید هیدروژن در کلروپلاست است (Caverzan, Casassola, & Patussi Brammer, 2016). استفاده از اسید سالیسیلیک روی گیاه فلفل (*Capsicum annuum* L.) منجر به بالا رفتن فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در گیاهان فلفل در معرض کمبود آب می‌شود (Khazaei & Estaji, 2020). در یک تحقیق روی گیاه سویا (*Glycine max*) نشان داده شد که استفاده از نیتریک اکسید باعث القای آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مانند آسکوربات پراکسیداز و کاتالاز می‌شود که در سرکوب گونه‌های اکسیژن فعال نقش دارند. به طور کلی، اثر مثبت نیتریک اکسید بر رشد گیاه سویا (*Glycine max* L.) ممکن است به دلیل حفظ تعادل بین تولید و مصرف رادیکال‌های آزاد باشد (Rezayian et al., 2020).

آنزیم کاتالاز

نتایج نشان داد که تأثیر تنش خشکی و تنظیم‌کننده رشد به ترتیب در سطح احتمال پنج درصد و یک درصد معنی‌دار بودند (جدول ۲). نتایج مقایسه میانگین نشان داد که بین سطوح تنش، بیشترین فعالیت آنزیم کاتالاز متعلق به تیمار ۵۰ درصد ظرفیت زراعی بود (جدول ۳). میزان فعالیت کاتالاز با افزایش سطح تنش خشکی افزایش پیدا کرد و میزان این افزایش در سطوح ۷۵ درصد و ۵۰ درصد ظرفیت زراعی به ترتیب ۲۹/۴۱ درصد و ۵۷/۱۴ درصد بود (جدول ۳). تیمار پاشش محلول ترکیب اسید سالیسیلیک و سدیم نیتروپروساید، باعث افزایش ۱۸/۷۵ درصد در فعالیت آنزیم کاتالاز نسبت به شاهد شد (جدول ۴). فعالیت آنزیم کاتالاز همبستگی مثبت و معنی‌دار با میزان پرولین، مالون دی‌آلدئید و فعالیت آنزیم‌های فنیل آلانین آمونیلایز نشان داد. در حالی که با ارتفاع بوته و شاخص سطح برگ همبستگی منفی و معنی‌داری نشان داد (جدول ۵). بالا رفتن فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی را می‌توان به عنوان یک نشانگر برای عمل آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و حفاظت گیاه در مواجهه با شرایط خشکی دانست (Kukreja et al., 2005). فعالیت آنزیم کاتالاز در برگ‌های شیرین‌بیان (*Glycyrrhiza glabra* L.) به منظور مهار رادیکال‌های

مولکول سیگنال‌دهنده اصلی شناخته می‌شود که توانایی بهبود رشد و عملکرد فیزیولوژیکی گیاهان را تحت تأثیر تنش‌های مختلف، همچون تنش‌های غیر زنده و زیستی، دارد. (Esim, Atici, & Mutlu, 2014). اثرات تقویتی نیتریک اکسید بر رشد گیاه ممکن است به دلیل عوامل مختلف باشد. این اثرات ممکن است از طریق افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی، تجمع اسمولیت‌های سازگار و جلوگیری از نشت یون در گیاه ایجاد شود. بنابراین، به نظر می‌رسد که استفاده از نیتریک اکسید در گیاهان سویا تحت شرایط خشکی، منجر به تقویت آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی و آنتی‌اکسیدان‌های غیر آنزیمی شده و به این ترتیب رشد گیاهان افزایش یابد (Rezayian et al., 2020). استفاده از سدیم نیتروپروساید به‌طور قابل توجهی زیست‌توده گیاهان سویا (*Glycine max L.*) تحت تنش را افزایش داد (Jabeen et al., 2021).

نتیجه‌گیری

استفاده از ترکیب اسید سالیسیلیک و سدیم نیتروپروساید منجر به افزایش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی گردیده و شاخص سطح برگ و عملکرد برگ در هکتار را افزایش داده است. این تدابیر از اثرات مخرب تنش خشکی ممانعت به عمل آورد. با توجه به دستاوردهای حاصل از این گزارش، پیشنهاد می‌شود که در شرایط تنش خشکی از محلول‌پاشی ترکیب اسید سالیسیلیک و سدیم نیتروپروساید برای بهبود عملکرد گیاه حنا استفاده شود.

کیلوگرم در هکتار) در سطح آبیاری ۵۰ درصد ظرفیت زراعی حاصل شده است (جدول ۳). کاربرد ترکیب اسید سالیسیلیک و سدیم نیتروپروساید سبب افزایش عملکرد برگ نسبت به سایر تیمارهای محلول‌پاشی گردید (جدول ۴). عملکرد بوته با ارتفاع بوته و شاخص سطح برگ همبستگی مثبت نشان داد، درحالی‌که با میزان پرولین، مالون دی‌آلدئید و فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و فنیل آلانین آمونیلایز همبستگی منفی و معنی‌دار نشان داد (جدول ۵). تنش خشکی از مهم‌ترین تنش‌های محیطی است که می‌تواند اثرات منفی بر رشد و عملکرد محصول بگذارد (Liu et al., 2016). در شرایط کمبود آب، فعالیت آنزیم‌هایی از جمله فسفوانول‌پیرووات کربوکسیلاز (PEPCK)، رابیسکو، پیرووات ارتوفسفات دی‌کیناز، فروکتوز ۱ و ۶ بیس فسفات و همچنین پتانسیل آب برگ کاهش می‌یابد. در نتیجه کاهش فعالیت این آنزیم‌ها و پتانسیل آب برگ می‌تواند منجر به کاهش فعالیت فتوسنتز گیاه شده و در نهایت به محدودیت رشد و عملکرد گیاه منجر گردد (Farooq et al., 2009). تحقیقات نشان داده است که تولید ماده خشک ارتباط مستقیمی با سطح برگ و سرعت فتوسنتز برگ دارد. جهت حصول میزان بیشتر در تولید ماده خشک، ضروری است که سرعت فتوسنتز در طول فصل رشد افزایش یابد و همچنین سطح برگ در تمام طول دوره رشد حفظ گردد (Tadashi & Theodore, 1999). کاربرد اسید سالیسیلیک سبب افزایش تعداد برگ‌های تشکیل‌شده در گیاهان گردید، لذا سطح برگ گیاهان تیمار شده با اسید سالیسیلیک، ۱۰ درصد بیشتر از گیاهان شاهد افزایش یافته است (Martín-Mex, Villanueva-Couoh, Herrera-Campos, & Larqué-Saavedra, 2005). سدیم نیتروپروساید به‌عنوان یک

References

- Ahmad, P., Latef, A. A. A., Hashem, A., Abd Allah, E. F., Gucel, S., & Tran, L. S. P. (2016). Nitric oxide mitigates salt stress by regulating levels of osmolytes and antioxidant enzymes in chickpea. *Frontiers in Plant Science*, 7(347), 1-11. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00347>
- Ahmed, A. F., Yu, H., Yang, X., & Jiang, W. (2014). Deficit irrigation affects growth, yield, vitamin C content, and irrigation water use efficiency of hot pepper grown in soilless culture. *HortScience*, 49(6), 722-728. <https://doi.org/10.21273/hortsci.49.6.722>
- Bates, L. S., Waldren, R. P., & Teare, I. D. (1973). Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and Soil*, 39(1), 205-207. <https://doi.org/10.1007/BF00018060>
- Bhuyan, M. H. M. B., Hasanuzzaman, M., Parvin, K., Mohsin, S. M., Al Mahmud, J., Nahar, K., & Fujita, M. (2020). Nitric oxide and hydrogen sulfide: two intimate collaborators regulating plant defense against abiotic stress. *Plant Growth Regulation*, 90(3), 409-424. <https://doi.org/10.1007/s10725-020-00594-4>
- Breda, N. J. J. (2003). Ground-based measurements of leaf area index: A review of methods, instruments and current controversies. *Journal of Experimental Botany*, 54, 2403-2417.
- Caverzan, A., Casassola, A., & Patussi Brammer, S. (2016). Reactive oxygen species and antioxidant enzymes involved in plant tolerance to stress. *Abiotic and Biotic Stress in Plants - Recent Advances and Future Perspectives*, 20(5), 463-480. <https://doi.org/10.5772/61368>
- Dhindsa, R. S., Plumb-dhindsa, P., & Thorpe, T. A. (1981). Leaf senescence: Correlated with increased levels of membrane permeability and lipid peroxidation, and decreased levels of superoxide dismutase and catalase. *Journal of Experimental Botany*, 32(1), 93-101. <https://doi.org/10.1093/jxb/32.1.93>
- Dokhanieh, A. Y., Aghdam, M. S., Fard, J. R., & Hassanpour, H. (2013). Postharvest salicylic acid treatment enhances antioxidant potential of cornelian cherry fruit. *Scientia Horticulturae*, 154, 31-36. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2013.01.025>

9. Esim, N., Atici, O., & Mutlu, S. (2014). Effects of exogenous nitric oxide in wheat seedlings under chilling stress. *Toxicology and Industrial Health*, 30(3), 268-274. <https://doi.org/10.1177/0748233712457444>
10. Farahbakhsh, H., & Pasandi Pour, A. (2018). Physiological response of henna, medicinal-industrial plant, to application of salicylic acid under drought stress. *Plant Process and Function*, 6(19), 233-246. (in Persian with English abstract).
11. Farooq, M., Wahid, A., Kobayashi, N., Fujita, D., & Basra, S. M. A. (2009). Plant drought stress: effects, mechanisms and management. *Agronomy for Sustainable Development*, 29(1), 185-212. <https://doi.org/10.1051/agro:2008021>
12. Farouk, S., & Al-Huqail, A. A. (2020). Sodium nitroprusside application regulates antioxidant capacity, improves phytopharmaceutical production and essential oil yield of *marjoram herb* under drought. *Industrial Crops and Products*, 158, 1-11. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2020.113034>
13. Fayez, K. A., & Bazaid, S. A. (2014). Improving drought and salinity tolerance in barley by application of salicylic acid and potassium nitrate. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*, 13(1), 45-55. <https://doi.org/10.1016/j.jssas.2013.01.001>
14. Hossain, Z., Nouri, M. Z., & Komatsu, S. (2012). Plant cell organelle proteomics in response to abiotic stress. *Journal of Proteome Research*, 11(1), 37-48. <https://doi.org/10.1021/pr200863r>
15. Hosseini, M. S., Samsampour, D., Ebrahimi, M., Abadía, J., & Khanahmadi, M. (2018). Effect of drought stress on growth parameters, osmolyte contents, antioxidant enzymes and glycyrrhizin synthesis in licorice (*Glycyrrhiza glabra* L.) grown in the field. *Phytochemistry*, 156, 124-134. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2018.08.018>
16. Jabeen, Z., Fayyaz, H. A., Irshad, F., Hussain, N., Hassan, M. N., Li, J., Rehman, S., Haider, W., Yasmin, H., Mumtaz, S., Bukhari, S. A. H., Khalofah, A., Al-Qthanin, R. N., & Alsubeie, M. S. (2021). Sodium nitroprusside application improves morphological and physiological attributes of soybean (*Glycine max* L.) under salinity stress. *Plos One*, 16(4), 1-15. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0248207>
17. Khalvandi, M., Siosemardeh, A., Roohi, E., & Keramati, S. (2021). Salicylic acid alleviated the effect of drought stress on photosynthetic characteristics and leaf protein pattern in winter wheat. *Heliyon*, 7(1), 1-11. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2021.e05908>
18. Khazaei, Z., & Estaji, A. (2020). Effect of foliar application of ascorbic acid on *sweet pepper* (*Capsicum annum*) plants under drought stress. *Acta Physiologiae Plantarum*, 42(118), 1-12. <https://doi.org/10.1007/s11738-020-03106-z>
19. Klessig, D. F., Choi, H. W., & Dempsey, D. A. (2018). Systemic acquired resistance and salicylic acid: Past, present, and future. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 31(9), 871-888. <https://doi.org/10.1094/MPMI-03-18-0067-CR>
20. Kováčik, J., & Klejduš, B. (2012). Tissue and method specificities of phenylalanine ammonia-lyase assay. *Journal of Plant Physiology*, 169(13), 1317-1320. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2012.04.008>
21. Kreuser, B. (2015). Effective use of plant growth regulators on golf putting greens. *Green Section Record*, 53(7), 1-10.
22. Kukreja, S., Nandwal, A. S., Kumar, N., Sharma, S. K., Sharma, S. K., Unvi, V., & Sharma, P. K. (2005). Plant water status, H₂O₂ scavenging enzymes, ethylene evolution and membrane integrity of *Cicer arietinum* roots as affected by salinity. *Biologia Plantarum*, 49(2), 305-308. <https://doi.org/10.1007/s10535-005-5308-4>
23. Liu, X., Chen, J., Wang, G. H., Wang, W. H., Shen, Z. J., Luo, M. R., Gao, G. F., Simon, M., Ghoti, K., & Zheng, H. L. (2016). Hydrogen sulfide alleviates zinc toxicity by reducing zinc uptake and regulating genes expression of antioxidative enzymes and metallothioneins in roots of the cadmium/zinc hyperaccumulator *Solanum nigrum* L. *Plant and Soil*, 400(2), 177-192. <https://doi.org/10.1007/s11104-015-2719-7>
24. Martín-Mex, R., Villanueva-Couoh, E., Herrera-Campos, T., & Larqué-Saavedra, A. (2005). Positive effect of salicylates on the flowering of African violet. *Scientia Horticulturae*, 103(4), 499-502. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2004.06.020>
25. Mohasseli, V., & Sadeghi, S. (2019). Exogenously applied sodium nitroprusside improves physiological attributes and essential oil yield of two drought susceptible and resistant specie of *Thymus* under reduced irrigation. *Industrial Crops and Products*, 130, 130-136. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.12.058>
26. Munsif, F., Shah, T., Arif, M., Jehangir, M., Afridi, M. Z., Ahmad, I., Jan, B. L., & Alansi, S. (2022). Combined effect of salicylic acid and potassium mitigates drought stress through the modulation of physio-biochemical attributes and key antioxidants in wheat. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 29(6), 1-15. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2022.103294>
27. Nakano, Y., & Asada, K. (1981). Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. *Plant and Cell Physiology*, 22(5), 867-880. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.pcp.a076232>
28. Pirasteh-Anosheh, H., & Emam, Y. (2018). Modulation of oxidative damage due to salt stress using salicylic acid in *Hordeum vulgare*. *Archives of Agronomy and Soil Science*, 64(9), 1268-1277. <https://doi.org/10.1080/03650340.2018.1423556>
29. Rady, M. M., Belal, H. E. E., Gadallah, F. M., & Semida, W. M. (2020). Selenium application in two methods

- promotes drought tolerance in *Solanum lycopersicum* plant by inducing the antioxidant defense system. *Scientia Horticulturae*, 266(10), 1-18. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2020.109290>
30. Rezayian, M., Ebrahimzadeh, H., & Niknam, V. (2020). Nitric oxide stimulates antioxidant system and osmotic adjustment in soybean under drought stress. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 20(3), 1122-1132. <https://doi.org/10.1007/s42729-020-00198-x>
 31. Rouhani, L., Zamani, M. J., & Fotovat, R. (2015). Variation in stomatal size and density of barley genotypes under drought stress and normal conditions. *Plant Research Journal (Iranian Biology Journal)*, 28(5), 986-993. (in Persian with English abstract).
 32. Salarpour, F., & Farahbakhsh, H. (2016). Effects of salicylic acid on some physiological traits, yield and yield components of fennel (*Foeniculum vulgare Mill.*) under drought stress. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, 32(2), 216-230. (in Persian with English abstract).
 33. Singh, D. K., Luqman, S., & Mathur, A. K. (2015). *Lawsonia inermis* L. - A commercially important primaeval dying and medicinal plant with diverse pharmacological activity: A review. *Industrial Crops and Products*, 65, 269-286. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2014.11.025>
 34. Tadashi, H., & Theodore, C. H. (1999). Some characteristics of reduced leaf photosynthesis at midday in maize growing in the field. *Field Crops Research*, 62, 53-62.
 35. Valentovič, P., Luxová, M., Kolarovič, L., & Gašparíková, O. (2006). Effect of osmotic stress on compatible solutes content, membrane stability and water relations in two maize cultivars. *Plant, Soil and Environment*, 52(4), 186-191. <https://doi.org/10.17221/3364-pse>
 36. Wang, Y. Y., Wang, Y., Li, G. Z., & Hao, L. (2019). Salicylic acid-altering arabidopsis plant response to cadmium exposure: Underlying mechanisms affecting antioxidation and photosynthesis-related processes. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 169, 645-653. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2018.11.062>
 37. Yang, X., Lu, M., Wang, Y., Wang, Y., Liu, Z., & Chen, S. (2021). Response mechanism of plants to drought stress. *Horticulturae*, 7(3), 1-36. <https://doi.org/10.3390/horticulturae7030050>