

Effect of salicylic acid, zinc Nano-oxide and sodium nitroprusside on pigments and fluorescence amount of sweet violet under water-deficit stress conditions

Hamideh Bagheri¹, Davood Hashemabadi², Bahman Pasban Eslam³,
Shahram Sedaghatthoor⁴, Behzad Kaviani^{5*}

1- Ph.D. Student, Department of Horticultural Science, Rasht Branch, Islamic Azad University, Rasht, Iran.
(h_bagheri00@yahoo.com)

2- Associate Professor, Department of Horticultural Science, Rasht Branch, Islamic Azad University, Rasht, Iran
(davoodhashemabadi@yahoo.com)

3- Associate Professor of Crop and Horticultural Science Research Department, East Azarbaijan Agricultural
and Natural Resources Research and Education Center, AREEO, Tabriz, Iran
(b.pasbaneslam@areeo.ac.ir)

4- Associate Professor, Department of Horticultural Science, Rasht Branch, Islamic Azad University, Rasht, Iran
(sedaghatthoor@yahoo.com)

5- Corresponding Author, Associate Professor, Department of Horticultural Science, Rasht Branch, Islamic
Azad University, Rasht, Iran. (kaviani@iaurasht.ac.ir)

Received Date: 27/12/2021

Accepted Date: 28/09/2022

Abstract

Introduction: Sweet violet (*Viola odorata*) is a perennial herbaceous plant with ornamental and medicinal properties. Water scarcity is one of the most effective environmental limiting factors for plants. The use of anti-stress compounds, such as a variety of secondary metabolites, is some way to reduce the harmful effects of water-deficit. Salicylic acid (SA) is a plant growth regulator from the phenol group and is effective as a signal molecule in regulating many physiological processes (Idress et al., 2013; Harrison et al., 2014). Sodium nitroprusside is involved in the action of plant growth regulators and is involved in the transmission of messages and responses to biological and non-biological stresses (Fan et al., 2012). Zinc oxide nanoparticles are among the nanoparticles used in agricultural research that have a very high specific surface area (Idress et al., 2013). The aim of the present study was to investigate the effect of different levels of water-deficit stress and foliar application of anti-stress compounds (SA, sodium nitroprusside and nano zinc oxide) on some pigments and the fluorescence of sweet violet.

Material and methods: A factorial experiment in completely randomized design was performed with two factors; water-deficit stress at three levels (55, 65 and 85% of field capacity (FC) and foliar spraying including SA (200 and 300 mg/l), zinc nano-oxide (1000 and 1500 mg/l) and sodium nitroprusside (200 and 300 µM) in three replications. In two weeks after establishing the plantlets in the cultivation bed, two weeks apart, foliar applications were made and distilled water was applied as control treatment. The application of water-deficit stress started one week after the second stage of foliar application based on substrate FC by weighting method and continued until the end of the experiment, which coincided with the yellowing of the leaves. Leaf and petal pigments and chlorophyll fluorescence were measured. Data analysis was performed using SAS_{9.2} statistical software and graphs were drawn using Excel software. LSD test at 5% probability level was used to compare the mean of the data.

Results and discussion: he results showed that the highest chlorophyll a (9.72 mg/g F.W.) and b (4.15 mg/g F.W.) concentrations were related to the treatment of 1000 mg/l Nano-zinc oxide and 200 µM sodium nitroprusside both at water-deficit stress of 55% of field capacity, respectively. The highest leaf carotenoid concentrations in leaf (14 µg/g F.W.) and petal (8.36 µg/g F.W.) were obtained at levels of 200 µM sodium nitroprusside and 300 mg/l SA, respectively, under water-deficit stress of 55% FC. The highest maximum (5.31) and variable (4.27) fluorescence was related to the treatment of 1000 mg/l zinc nano-oxide at water-deficit stress of 85% FC. The highest photofoliar spraying efficiency of photosystem II (4.4) and quantum yield of photosystem 2 (0.81) were obtained at water-deficit stress of 85% of field capacity together with 300 mg/l salicylic acid treatment. The highest effective photofoliar spraying quantum efficiency of the photosystem 2 (0.56) was related to water-deficit stress treatment of 65% FC and 300 µM sodium nitroprusside treatment. The effect of treatment with these substances on the change of biofoliar spraying and physiological processes, especially during the response to various biological and non-biological stresses such as drought in plants (*Ricinus communis* and *sunflower hybrids*) was shown (Balabanova et al., 2016; Esparham et al., 2017).

Conclusions: With increasing water-deficit, the concentration of chlorophyll and carotenoid pigments in leaves and petals increased. Zinc nanoparticles increased the maximum and variable fluorescence and salicylic acid also increased the fluorescence ratio, non-photofoliar spraying quicent and regulated and unregulated quantum efficiency of photosystem II. Sodium nitroprusside showed a positive effect on changing the minimum fluorescence and the effective quantum efficiency of photosystem II.

Keywords: Acid salicylic, Sodium nitroprusside, Chlorophyll fluorescence, Ornamental-medicinal plant, Nano zinc oxide.

اثر اسید سالیسیلیک، نانو اکسید روی و سدیم نیتروپروساید بر رنگدانه‌ها و میزان فلورسنس بنفشه معطر در شرایط تنش کم آبی

حمیده باقری^۱، داود هاشم‌آبادی^۲، بهمن پاسبان اسلام^۳، شهرام صداقت حور^۲، بهزاد کاویانی^{*۲}

۱- دانشجوی دکتری تخصصی، گروه باغبانی، واحد رشت، دانشگاه آزاد اسلامی، رشت، ایران
(h_bagheri00@yahoo.com)

۲- دانشیار، گروه باغبانی، واحد رشت، دانشگاه آزاد اسلامی، رشت، ایران
(davoodhashemabadi@yahoo.com)

۳- دانشیار بخش تحقیقات علوم زراعی و باغی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان آذربایجان شرقی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تبریز، ایران

(b.pasbaneslam@areeo.ac.ir)

۴- دانشیار، گروه باغبانی، واحد رشت، دانشگاه آزاد اسلامی، رشت، ایران

(sedaghathoor@yahoo.com)

۵- نویسنده مسئول، دانشیار، گروه باغبانی، واحد رشت، دانشگاه آزاد اسلامی، رشت، ایران

kaviani@iaurasht.ac.ir

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۷/۰۶

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۱۰/۰۶

چکیده

بنفشه معطر به عنوان یک گیاه زینتی-دارویی با داشتن مواد مؤثره مورد استفاده در صنایع داروسازی و تولید داروهای گیاهی، آینده نوید بخشی دارد. پژوهش حاضر به صورت فاکتوریل بر پایه طرح بلوک‌های کامل تصادفی با دو فاکتور تنش کم آبی با سه سطح (۵۵، ۶۵ و ۸۵ درصد ظرفیت زراعی (FC) خاک گلدان) و محلول‌پاشی‌ها شامل: اسید سالیسیلیک، نانو اکسید روی و سدیم نیتروپروساید در سه تکرار در مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی آذربایجان شرقی انجام شد. نتایج نشان داد که بیشترین غلظت کلروفیل a و کلروفیل کل در تیمار ۱۰۰۰ میلی گرم در لیتر نانو اکسید روی در تنش کم آبی ۵۵ درصد FC به دست آمد. بیشترین غلظت کاروتنوئید برگ و کلروفیل b در تیمار ۲۰۰ میکرومولار در لیتر سدیم نیتروپروساید در تنش کم آبی ۵۵ درصد FC با ۲۹/۷ و ۲۶/۲۶ درصد افزایش، به دست آمد. بیشترین فلورسنس حداکثر (۵/۳۲) و فلورسنس متغیر (۴/۲۷) در تیمار ۱۰۰۰ میلی گرم در لیتر نانو اکسید روی در تنش کم آبی ۸۵ درصد FC حاصل شد. در کارایی کوانتومی فتوشیمیایی مؤثر فتوسیستم II، تیمار ۳۰۰ میکرومولار در لیتر سدیم نیتروپروساید در تنش کم آبی ۶۵ درصد FC باعث افزایش ۱/۶ برابری نسبت به کمترین مقدار شد. تیمار اسید سالیسیلیک نیز کارایی کوانتومی تنظیم‌شده فتوسیستم II و کارایی کوانتومی تنظیم‌نشده فتوسیستم II و خاموشی غیر فتوشیمیایی و کارایی فتوشیمیایی فتوسیستم II را افزایش داد. لذا پیشنهاد می‌شود تولیدکنندگان بنفشه معطر به مقاصد دارویی و زینتی در شرایط محدودیت منابع آبی از محلول‌پاشی نانو اکسید روی به دلیل تعدیل اثرات منفی تنش کم آبی استفاده نمایند.

کلمات کلیدی: اسید سالیسیلیک، سدیم نیتروپروساید، فلورسانس کلروفیل، گیاه زینتی-دارویی و نانو اکسید روی.

مقدمه

بنفشه معطر (*Viola odorata*) از خانواده Violaceae 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 می‌باشد. این گیاه به طور عمده در نواحی شمالی ایران و منطقه البرز رویش دارد (Solgi and Taghizadeh, 2015).

کم‌آبی یکی از اثرگذارترین عوامل محدودکننده محیطی برای گیاهان می‌باشد که بیش از هر عامل محیطی دیگر رشد گیاهان را تحت تأثیر قرار می‌دهد. کاهش عملکرد گیاهان تحت تنش کم‌آبی از طریق سه مکانیسم کلی؛ کاهش جذب تشعشع فعال فتوسنتزی، کاهش کارایی مصرف نور و کاهش آبی در تبادل دی اکسید کربن به ازای واحد نور جذب شده اعمال می‌شود (Vafabakhsh et al., 2008). تغییر در فرآیندهای بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی، از مکانیزم‌های دفاعی گیاهان در برابر تنش کم‌آبی یا خشکی است (Harrison et al., 2014). بنابراین، به منظور کاهش اثرات منفی ناشی از تنش کم‌آبی، کاربرد مواد تنظیم‌کننده رشد گیاهی و روش‌های صحیح تغذیه معدنی گیاهان می‌تواند به عنوان رویکردهایی برای جلوگیری از اثرات مخرب تنش خشکی مؤثر باشند و زمینه سازگاری گیاه را فراهم آورند (Azooz and Ahmad, 2015).

تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی به طور وسیع در محصولات کشاورزی به عنوان عاملی برای بهبود عملکرد محصولات به کار برده می‌شوند و گزارش‌های موفقی از کاربرد برخی از این مواد در مقابله با اثرات نامطلوب تنش در گیاهان ارائه شده است (et al, 2003 Metwally). اسید سالیسیلیک (SA) یا اورتو هیدروکسی بنزوئیک اسید یک تنظیم‌کننده رشد گیاهی از گروه فنل‌ها است و به عنوان یک مولکول سیگنال در تنظیم فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی نقش مهمی در مواجهه گیاهان با تنش‌های زنده و غیر زنده ایفا

می‌کند. به نظر می‌رسد SA با تنظیم فرآیندهای فیزیولوژیک در مواجهه با تنش‌های زیستی و غیر زیستی، باعث افزایش قابل توجهی 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). همچنین تیمار با SA منجر به تجمع اسید آبسزیک (ABA) و ساخت پروتئین‌های ضد تنش می‌شود. یکی از موادی است که به منظور کاهش اثرات تنش‌ها در گیاهان مورد آزمایش قرار گرفته است سدیم نیتروپروساید می‌باشد که به عنوان واسطه در عمل تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی شرکت می‌کند و در انتقال پیام و پاسخ به تنش‌های زیستی و غیر زیستی دخالت دارد (Fan et al., 2012).

در سال‌های اخیر، نقش برخی نانو ذرات در بهبود رشد و بهره‌وری گیاهان تحت شرایط نامساعد محیطی نشان داده شده است. نانو اکسید روی از جمله نانو ذرات مورد استفاده در پژوهش‌های کشاورزی است که دارای سطح ویژه بسیار بالایی می‌باشد. عنصر روی نقش مهمی در برخی فعالیت‌های متابولیسمی از جمله تنظیم میزان باز بودن 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. بنابراین، کمبود این عنصر می‌تواند منجر به کاهش فتوسنتز و کاهش تولید کربوهیدرات‌ها شود (Marschner, 2012). تیمار نانو اکسید روی در غلظت ۱۰ میلی گرم بر لیتر باعث افزایش کلروفیل و کاروتنوئید در گیاه کرچک شد (Esparham et al., 2017) و این افزایش نتیجه نقش کلیدی عنصر روی در تحریک فعالیت‌های فتوسنتزی و افزایش میزان فرآورده‌های گیاهی می‌باشد (Fusconi et al., 2007).

در گیاهان تحت تنش کاهش کلروفیل می‌تواند به افزایش فعالیت آنزیم تخریب‌کننده کلروفیل (کلروفیلاز)

مربوط باشد. بر اثر تابش فوتون‌های نوری، همه ناقل‌های الکترون به فرم احیاء در می‌آیند و تمامی مراکز واکنشی بسته می‌شوند. فلورسنس کلروفیل در این زمان، نشانگر فلورسنس حداکثر است (Mehta et al., 2010). کاهش استفاده از انرژی در یکی از مسیرها، هدر رفت انرژی توسط سایر مسیرها را افزایش می‌دهد. از این رو، تغییر در گسیل فلورسنس، نشان‌دهنده تغییر در عملکرد فتوشیمیایی است. کاهش حداکثر کارایی کوانتومی فتوسیستم II و افزایش هدر رفت گرمایی در گیرنده‌های فتوسیستم II با هدر رفت انرژی در هر مرکز واکنش فتوسیستم II در ارتباط می‌باشد (Balabanova et al., 2016). فلورسنس حداکثر در اثر تابش فوتون‌های نوری و احیای همه ناقل‌های الکترون و بسته‌بودن همه مراکز واکنش ایجاد می‌شود (et al., 2010). تحقیقات نشان داده‌اند که افزایش فلورسنس نسبی از صفر تا ۲ میلی‌ثانیه پس از نوردهی، به علت اختلال در مبادله انرژی بین گیرنده‌های فتوسیستم II و انتقال آن به مراکز واکنش است. تنش باعث تغییراتی در کلروفیل‌های آنتن می‌شود و این کلروفیل‌ها نمی‌توانند انرژی را به خوبی دریافت و به مرکز واکنش انتقال دهند (Mehta et al., 2010).

بنفشه معطر از لحاظ دارویی، زینتی و خوراکی حائز اهمیت است و تاکنون پژوهشی در رابطه با تأثیر تنش خشکی بر خصوصیات کمی و کیفی بنفشه معطر انجام نشده است. برای بهره‌مندی از مزایای دارویی این گونه گیاهی، بررسی واکنش این گیاه نسبت به تنش‌های محیطی جهت تولید وسیع و تجاری در خارج از زیستگاه طبیعی ضرورت دارد (Azooz and Ahmad, 2015). بنابراین، هدف از انجام این پژوهش، معرفی یک گیاه بومی به عنوان یک گیاه زینتی-دارویی و تلاش برای تولید انبوه بنفشه معطر جهت بهبود ارزش تجاری آن، کاهش اثرات نامطلوب تنش کم‌آبی و بررسی اثرات تنش کم‌آبی بر خصوصیات فیزیولوژیک بنفشه معطر با استفاده از محلول‌پاشی اسید سالیسیلیک، سدیم نیتروپروپوساید و

نانو اکسید روی بود.

مواد و روش‌ها

نمونه گیاهی، موقعیت جغرافیایی و زمانی اجرای طرح

نشا‌های بنفشه معطر در مرحله ۴-۲ برگ (شکل ۱A) در تاریخ ۸ فروردین ۱۳۹۷ از دره مکیدی واقع در شهرستان کلبر 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 گردیدند و در گلدان‌ها کاشته شدند. آزمایش در فروردین سال ۱۳۹۷ در مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان آذربایجان شرقی شهر تبریز با عرض جغرافیایی ۳۸ درجه و ۰۸ دقیقه شمالی و طول جغرافیایی ۴۶ درجه و ۳۱ دقیقه با ارتفاع ۱۴۵۶ متر از سطح دریا انجام شد. همچنین اطلاعات هواشناسی شهر تبریز سال ۱۳۹۷ در جدول ۱ قرار داده شد.

طرح آزمایشی و تیمارهای مورد استفاده

این آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار اجرا شد. تیمارهای آزمایشی شامل تنش کم‌آبی در ۳ سطح (۵۵، ۶۵ و ۸۵ درصد ظرفیت زراعی یا FC) به عنوان فاکتور اول و محلول‌پاشی در ۷ سطح شامل شاهد، نانو اکسید روی در ۲ سطح (۱۰۰۰ و ۱۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر)، SA در ۲ سطح (۲۰۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر) و سدیم نیتروپروپوساید در ۲ سطح (۲۰۰ و ۳۰۰ میکرومولار در لیتر) به عنوان فاکتور دوم بودند (جدول ۲). آزمایش در مجموع با ۲۱ تیمار، ۳ تکرار، ۶۳ پلات و در هر پلات ۴ گلدان و در مجموع ۲۵۲ گلدان در فضای باز انجام شد (شکل ۱B). دو هفته پس از استقرار بوته‌ها در بستر کشت، محلول‌پاشی در دو مرحله به فاصله یک هفته از یکدیگر انجام شد و برای تیمار شاهد از آب مقطر برای محلول‌پاشی استفاده شد. اعمال تنش کم‌آبی،

یک هفته پس از دومین مرحله محلول پاشی بر اساس FC
پایان آزمایش (۱۸ مهر ۱۳۹۷) که همزمان با زرد شدن
(۸۵، ۶۵ و ۵۵ درصد) بستر به روش وزنی آغاز شد و تا
برگ‌ها بود ادامه یافت.

جدول ۱. اطلاعات هواشناسی شهر تبریز

Table 1. Meteorological information of Tabriz city

Month	Average minimum temperature (C°)	Average maximum temperature (C°)	Average temperature (C°)	Absolute minimum temperature (C°)	Absolute maximum temperature (C°)	Rain (mm)	Evaporation (mm)	Humidity (%)	Radiation (MJ/m/day)
Apr	6.9	18.9	12.9	0.2	24.2	43.4	108.4	48	62447
May	9.7	20.5	15.1	3.0	26.8	52.6	170.9	58	67171
Jun	14.8	28.0	21.4	10.6	31.2	36.2	274.6	45	86893
Jul	22.4	36.2	29.3	17.2	40.8	0.0	450.7	27	92288
Aug	22.1	35.2	28.7	16.6	41.0	0.0	427.2	35	79824
Sep	18.0	31.2	24.6	14.0	36.2	9.9	329.8	34	71740
Oct	11.9	24.6	18.3	5.4	29.8	7.3	164.9	47	51133
Nov	5.4	14.7	10.1	0.8	23.0	7.8	95.0	58	32536
Dec	2.0	8.8	5.4	-2.3	13.4	85.7	17.0	80	17303
Jan	-2.9	4.9	1.0	-8.4	10.0	22.5	-	73	26352
Feb	-2.0	6.8	2.4	-8.6	12.6	61.5	-	72	32149
Mar	-0.1	9.4	4.7	-4.2	15.6	34.1	-	64	42161



شکل ۱. گیاه بنفشه معطر در مرحله گلدهی (A) و نحوه پیاده‌کرن طرح (B).

Figure 1. Sweet violet plant at the flowering stage (A), and project design condition (B).

جدول ۲. تیمارهای آزمایشی و نماد آنها

Table 2. Experimental treatments and their symbol

Treatments	Symbols
85% FC + cotrol	A ₁ B ₁
85% FC + 1000 mg/l nano-zinc oxide	A ₁ B ₂
85% FC + 1500 mg/l nano-zinc oxide	A ₁ B ₃
85% FC + 200 mg/l SA	A ₁ B ₄
85% FC + 300 mg/l SA	A ₁ B ₅
85% FC + 200 mM Na-nitroprusside	A ₁ B ₆
85% FC + 300 mM Na-nitroprusside	A ₁ B ₇
65% FC + cotrol	A ₂ B ₁
65% FC + 1000 mg/l nano-zinc oxide	A ₂ B ₂
65% FC + 1500 mg/l nano-zinc oxide	A ₂ B ₃
65% FC + 200 mg/l SA	A ₂ B ₄
65% FC + 300 mg/l SA	A ₂ B ₅
65% FC + 200 mM Na-nitroprusside	A ₂ B ₆
65% FC + 300 mM Na-nitroprusside	A ₂ B ₇
55% FC + cotrol	A ₃ B ₁
55% FC + 1000 mg/l nano-zinc oxide	A ₃ B ₂
55% FC + 1500 mg/l nano-zinc oxide	A ₃ B ₃
55% FC + 200 mg/l SA	A ₃ B ₄
55% FC + 300 mg/l SA	A ₃ B ₅
55% FC + 200 mM Na-nitroprusside	A ₃ B ₆
55% FC + 300 mM Na-nitroprusside	A ₃ B ₇

A: سطوح آبیاری و B: تیمارهای محلول پاشی
A: Irrigation levles, and B: Spray treatments

عملیات کاشت

صورت گرفت. ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک بستر

کاشت در جدول ۳ ارائه شده است. در هر پلات، ۴ گلدان و در هر گلدان یک بوته کاشته شد. همچنین در طی مراحل رشد، وجین علف‌های هرز نیز انجام شد.

پس از آماده‌سازی بستر (خاک باغچه با بافت لوم شنی) در گلدان‌های با قطر دهانه ۱۵ سانتی‌متر و ارتفاع ۱۴ سانتی‌متر، عملیات انتقال نشاهای بنفشه معطر زینتی

جدول ۳. ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک بستر کشت

Table 3. Physio-foliar spraying properties of cultivation bed soil

Clay (%)	Silt (%)	Sand (%)	Absorbable potassium (p.p.m.)	Absorbable phosphorus (p.p.m.)	Total nitrogen (%)	Organic carbon (%)	Natural materials (%)	pH	EC (ds/m)
12	32	56	375	51.60	0.34	3.39	7.25	7.35	4.54

روش وزنی تعیین رطوبت FC

برای تعیین درصد رطوبت در حالت FC، یک گلدان حاوی خاک (مقدار خاک در تمام گلدان‌های آزمایش یکسان بود) در یک تشت پلاستیکی قرار داده شد و با استفاده از آب مقطر که در داخل تشت تا ارتفاع دو سوم گلدان ریخته شده بود اشباع گردید. برای این منظور، ۱۲ ساعت اجازه داده شد تا خاک گلدان به حالت اشباع برسد. گلدان حاوی خاک اشباع به آرامی از آب خارج شد و بلافاصله برای تعیین درصد رطوبت در حالت اشباع توزین گردید. سپس سطح گلدان جهت جلوگیری از تبخیر آب از سطح خاک با پلاستیک پوشانده شد و فقط اجازه داده شد تا آب ثقیلی از سوراخ‌های ته گلدان خارج شود. مدت ۱۲ ساعت بعد، گلدان حاوی خاک، توزین گردید و عدد یادداشت شد و این عمل با فواصل زمانی ۲ ساعت تکرار شد و زمانی که در ۳ قرائت متوالی، وزن گلدان به حالت ثابت رسید؛ نمونه دست‌نخورده‌ای با استفاده از استوانه نمونه‌برداری از خاک گلدان تهیه شد. نمونه مذکور در دمای ۱۰۵ درجه سلسیوس به مدت ۲۴ ساعت در آون قرار داده شد تا رطوبت خاک خشک شود. از رابطه زیر درصد رطوبت وزنی در حالت FC محاسبه گردید و از روی میزان درصد رطوبت FC، مقدار رطوبت در تیمارهای (۵۵، ۶۵ و ۸۵ درصد FC) محاسبه و اعمال گردید (Smith and Mullins, 1991).

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

اندازه‌گیری صفات**کلروفیل a, b و کل**

در پایان آزمایش، نمونه‌ها از برگ‌های بالغ (نه جوان و نه پیر) انتخاب گردیدند. نمونه‌های برگ‌گی در فویل آلومینومی پیچیده شدند و در ازلت مایع منجمد گردیدند. ابتدا ۰/۵ گرم از برگ‌ها توزین گردید و با ۵۰ میلی‌لیتر حلال استون ۸۰ درصد (۸۰ میلی‌لیتر استون و ۲۰ میلی‌لیتر

آب مقطر) در هاون چینی ساییده شدند. محلول به دست آمده از کاغذ صافی عبور داده شد و عصاره به دست آمده توسط دستگاه اسپکتروفتومتر مدل APEL PD-303 UV در طول موج ۶۴۳ و ۶۶۰ نانومتر قرائت شد. سپس اعداد قرائت‌شده توسط دستگاه، در روابط زیر قرار داده شدند و میزان کلروفیل بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر به دست آمد (Mazumdar and Majumder, 2003).

$$a \text{ کلروفیل} = 9.93 (A_{660}) - 0.777 (A_{643})$$

$$b \text{ کلروفیل} = 17.6 (A_{643}) - 2.81 (A_{660})$$

$$\text{کلروفیل کل} = 7.12 (A_{660}) + 16.8 (A_{643})$$

کاروتنوئید برگ و گلبرگ

در پایان آزمایش، نمونه‌ها از برگ‌های بالغ و گلبرگ‌ها برداشته شدند. ابتدا ۰/۵ گرم از برگ و گلبرگ به طور جداگانه در هاون چینی به همراه ۵۰ میلی‌لیتر استون ۸۰ درصد ساییده شد. محلول به دست آمده از کاغذ صافی عبور داده شد و توسط دستگاه اسپکتروفتومتر مدل APEL PD-303 UV در ۳ طول موج ۴۴۰، ۶۴۵ و ۶۶۳ نانومتر قرائت گردید. اعداد به دست آمده در فرمول زیر قرار داده شدند و میزان کاروتنوئید بر حسب میکروگرم در گرم وزن تر به دست آمد (Mazumdar and Majumder, 2003).

= میزان کاروتنوئید برگ و گلبرگ

$$4.69 \times A_{440} - 0.268 (20.2) A_{645} + (8.02) (A_{663})$$

فلورسنس کلروفیل

پس از اعمال تنش کم‌آبی و محلول‌پاشی‌ها، اندازه‌گیری فلورسنس کلروفیل با استفاده از دستگاه فلورومتر مدل PAM 2500-WALZ, Germany از آخرین برگ‌های توسعه‌یافته در حالت روشنائی صورت گرفت. شاخص‌های فلورسنس روشنائی بدون در نظر گرفتن تاریکی (مقادیر ناچیز ناشی از سایه لحظه‌ای) روی برگ مورد سنجش قرار گرفتند (Yaghoubian et al., 2016).

تجزیه و تحلیل داده‌ها

تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری

SAS انجام شد و نمودارها به وسیله نرم‌افزار Excel رسم گردید. برای مقایسه میانگین داده‌ها از آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد استفاده گردید.

نتایج و بحث

کلروفیل a, b و کل

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثرات اصلی تنش کم‌آبی، محلول‌پاشی و برهمکنش آن‌ها بر غلظت کلروفیل a, b و کل معنی‌دار شد (جدول ۴). مقایسه میانگین برهمکنش تنش کم‌آبی و محلول‌پاشی مشخص کرد که با افزایش تنش کم‌آبی، غلظت کلروفیل‌ها در تیمار

شاهد افزایش یافت و بیشترین غلظت کلروفیل a (۹/۷۲ میلی‌گرم در گرم وزن تر) و کلروفیل کل (۱۳/۶۴ میلی‌گرم در گرم وزن تر) در تیمار ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر نانو اکسید روی در تنش کم‌آبی ۵۵ درصد FC به دست آمد که نسبت به کمترین غلظت، ۲۹/۳ و ۲۷/۱۹ درصد افزایش نشان داد (جدول ۵). بالاترین غلظت کلروفیل b به میزان ۲۶/۲۶ درصد نسبت به کمترین مقدار مربوط به تیمار ۲۰۰ میکرومولار در لیتر سدیم نیتروپروساید با ۴/۱۵ میلی‌گرم در گرم وزن تر در تنش کم‌آبی ۵۵ درصد FC بود (جدول ۵) و نسبت به کمترین غلظت به ترتیب ۲۹/۳ و ۲۵/۵ درصد افزایش داشت.

جدول ۴. واریانس اثر نانو اکسید روی، اسید سالیسیلیک و سدیم نیتروپروساید روی پارامترهای اندازه‌گیری شده در بنفشه معطر
Table 4. Variance of the effect of nano-zinc oxide, SA and Na-nitroprusside on measured parameters in sweet violet

Source of variances	df	Mean of squares				
		Petal carotenoid	Leaf carotenoid	Total chlorophyll	Chlorophyll b	Chlorophyll a
Repeat	2	14.70**	1.85**	1.01 ^{ns}	0.03 ^{ns}	0.74 ^{ns}
Water-deficit stress (A)	2	2.99**	3.07**	9.74**	0.78**	5.05**
Sprays (B)	6	0.86**	4.43**	2.59*	0.30*	1.50*
B × A	12	1.08**	4.49**	3.12**	0.33*	1.62*
Error	40	0.06	0.35	1.37	0.15	0.81
C.V. (%)	-	3.48	5.08	10.07	11.15	11.20

^{ns}, * و ** به ترتیب غیر معنی‌دار، معنی‌دار در $P \leq 0.05$ و $P \leq 0.01$ ، ns, * and ** non-significant, significant at $P \leq 0.05$ and $P \leq 0.01$, respectively

جدول ۴. ادامه

Table 4. Continued

Source of variances	df	Mean of squares								
		Y _(II)	Y _(NPQ)	Y _(NO)	NPQ	F _v /F _m	F _v /F ₀	F ₀	F _v	F _m
Repeat	2	0.0043 ^{ns}	0.0019 ^{ns}	0.0019 ^{ns}	0.048 ^{ns}	0.00031 ^{ns}	0.048 ^{ns}	0.002 ^{ns}	0.05 ^{ns}	0.00 ^{ns}
Water-deficit stress (A)	2	0.0137*	0.0037 ^{ns}	0.0511**	1.245**	0.00092 ^{ns}	0.69**	0.005 ^{ns}	0.70**	0.65**
Sprays (B)	6	0.0166*	0.0096**	0.0359**	3.165**	0.00153*	0.71**	0.026**	0.10*	0.05 ^{ns}
B × A	12	0.0109*	0.0175**	0.0415**	3.096**	0.001633*	0.35**	0.022**	0.28**	0.35**
Error	40	0.00428	0.00190	0.00190	0.04762	0.00090	0.047	0.002	0.05	0.10
C.V. (%)	-	13.49	19.26	13.60	20.94	3.80	5.58	4.52	5.82	6.70

^{ns}, * و ** به ترتیب غیر معنی‌دار، معنی‌دار در $P \leq 0.05$ و $P \leq 0.01$ ، ns, * and ** non-significant, significant at $P \leq 0.05$ and $P \leq 0.01$, respectively

جدول ۵. مقایسه میانگین اثر نانو اکسید روی، اسید سالیسیلیک و سدیم نیتروپروساید روی پارامترهای اندازه‌گیری شده در بنفشه معطر

Table 5. Mean comparison of the effect of nano-zinc oxide, SA and Na-nitroprusside on measured parameters in sweet violet

Treatments	Symbols	Leaf carotenoid (μg/g F.W.)	Petal carotenoid (μg/g F.W.)	Total chlorophyll (mg/g F.W.)	Chlorophyll b (mg/g F.W.)	Chlorophyll a (mg/g F.W.)
(Control + 85% FC)	A ₁ B ₁	10.93 f-h	6.186 h	10.84 e-g	3.633 a-e	8.8467 a-c
(1000 mg L ⁻¹ ZnO + 85% FC)	A ₁ B ₂	11.80 d-f	6.793 e-g	10.26f g	3.947 ab	8.47 a-d
(1500 mg L ⁻¹ ZnO + 85% FC)	A ₁ B ₃	11.73 d-f	6.420 gh	11.65 b-g	3.817 a-c	8.0467 b-e
(200 mg L ⁻¹ SA + 85% FC)	A ₁ B ₄	10.50 hi	7.570 b	12.29 a-e	3.180 c-e	7.0833 de
(300 mg L ⁻¹ SA + 85% FC)	A ₁ B ₅	10.37 hi	7.036 de	12.79 a-d	3.480 b-e	7.3567 de
(200 μM SNP + 85% FC)	A ₁ B ₆	11.74 d-f	7.233 b-d	11.91 a-f	3.653 a-e	8.2367 b-e
(300 μM SNP + 85% FC)	A ₁ B ₇	10.93 f-h	7.453 bc	11.79 a-g	3.437 b-e	8.02 b-e
(Control + 65% FC)	A ₂ B ₁	12.33 c-e	6.463 gh	9.93 g	3.423 b-e	8.06 b-e
(1000 mg L ⁻¹ ZnO + 65% FC)	A ₂ B ₂	13.03 a-c	6.460 gh	10.15 fg	3.350 b-e	7.9733 b-e
(1500 mg L ⁻¹ ZnO + 65% FC)	A ₂ B ₃	11.64 e-g	6.143 h	10.15 fg	3.523 a-e	8.26 a-e
(200 mg L ⁻¹ SA + 65% FC)	A ₂ B ₄	9.84 i	7.180 b-e	12.01 a-f	3.060 e	6.9967 de
(300 mg L ⁻¹ SA + 65% FC)	A ₂ B ₅	10.20 hi	6.890 d-f	11.57 c-g	3.070 e	6.87 e
(200 μM SNP + 65% FC)	A ₂ B ₆	10.98 f-h	6.946 d-f	11.41 d-g	3.947 ab	7.08 de
(300 μM SNP + 65% FC)	A ₂ B ₇	11.63 e-g	7.023 de	11.13 d-g	3.150 de	7.78 c-e
(Control + 55% FC)	A ₃ B ₁	13.59 ab	6.966 d-f	10.86 e-g	3.813 a-c	9.4067 ab
(1000 mg L ⁻¹ ZnO + 55% FC)	A ₃ B ₂	12.22 c-e	6.616 fg	13.64 a	3.977 ab	9.7233 a
(1500 mg L ⁻¹ ZnO + 55% FC)	A ₃ B ₃	12.67 b-d	7.050 c-e	11.94 a-f	3.920 ab	8.13 b-e
(200 mg L ⁻¹ SA + 55% FC)	A ₃ B ₄	10.75 g-i	8.166 a	11.04 d-g	3.777 a-d	7.63 c-e
(300 mg L ⁻¹ SA + 55% FC)	A ₃ B ₅	10.11 hi	8.360 a	13.42 a-c	3.127 de	7.6133 c-e
(200 μM SNP + 55% FC)	A ₃ B ₆	14.00 a	7.250 b-d	13.56 ab	4.153 a	9.4433 ab
(300 μM SNP + 55% FC)	A ₃ B ₇	13.33 ab	8.210 a	11.41 d-g	3.557 a-e	7.7333 c-e

ns, * و ** به ترتیب غیر معنی‌دار، معنی‌دار در $P \leq 0.05$ و $P \leq 0.01$

*, ** and ns: Significant at $P \leq 0.05$, $P \leq 0.01$ and insignificant, respectively.

منبع شناخته می‌شود، زیرا غلظت کلروفیل برگ‌ها یکی از عوامل کلیدی در تعیین سرعت فتوسنتز و تولید ماده خشک می‌باشد، لذا کاهش آن در شرایط تنش خشکی می‌تواند به عنوان یک عامل محدود کننده غیر روزنه‌ای در فتوسنتز به حساب آید (Arazmjoo et al., 2009). افزایش سطح تنش خشکی در آفتاب‌گردان (Nematollahi et al., 2013)، ذرت علوفه‌ای (Mehrabian Moghadam et al., 2011)، گلرنگ (Amiri et al., 2015)، پروانش (Abdalla and El-Munne-Bosch et al., 2007)، مریم‌گلی (

کلروفیل‌ها از جمله عمده‌ترین ماکرومولکول‌هایی هستند که در تنش‌های محیطی مانند خشکی، شوری، حرارت و فلزات سنگین آسیب می‌بینند. افزایش در مقدار کلروفیل a، تقویت سیستم فتوسنتزی گیاه را به دنبال خواهد داشت. کاهش میزان کلروفیل a در اثر تنش کم‌آبی مربوط به افزایش تولید ROS در سلول‌ها می‌باشد. همچنین دوام فتوسنتز و حفظ کلروفیل برگ در شرایط تنش از شاخص‌های فیزیولوژیک مقاومت به تنش می‌باشد. غلظت کلروفیل برگ به عنوان یک شاخص برای ارزیابی قدرت

ادامه جدول ۵
Table 5. Continued

Treatments	Symbols	Y _(II)	Y _(NPQ)	Y _(NO)	NPQ	F _v /F _m	F _v /F ₀	F ₀	F _v	F _m
(Control + 85% FC)	A ₁ B ₁	0.528 a-d	0.202 d-f	0.268 fg	0.845 c-g	0.745 bc	4.31 a-c	0.875 fg	3.77 b-d	4.645 b-e
(1000 mg L ⁻¹ ZnO + 85% FC)	A ₁ B ₂	0.456 a-e	0.238 c-e	0.285 d-g	1.042 b-d	0.808 a	4.138 a-e	1.034 bc	4.27 a	5.316 a
(1500 mg L ⁻¹ ZnO + 85% FC)	A ₁ B ₃	0.435 d-f	0.258 c-e	0.306 b-e	0.915 c-f	0.794 ab	3.857 d-f	1.041 b	4.01 a-c	5.058 ab
(200 mg L ⁻¹ SA + 85% FC)	A ₁ B ₄	0.548 ab	0.154 fg	0.296 b-g	0.577 f-h	0.801 a	4.016 b-e	0.953 de	3.82 b-d	4.779 b-d
(300 mg L ⁻¹ SA + 85% FC)	A ₁ B ₅	0.424 d-f	0.31 a-c	0.264 g	1.319 ab	0.815 a	4.406 a	0.858 gh	3.78 b-d	4.639 b-e
(200 μM SNP + 85% FC)	A ₁ B ₆	0.502 a-e	0.186 e-g	0.312 b-d	0.635 e-h	0.802 a	4.05 a-e	0.961 de	3.89 bc	4.853 a-d
(300 μM SNP + 85% FC)	A ₁ B ₇	0.406 ef	0.303 bc	0.290 c-g	1.175 bc	0.791 ab	3.781 d-g	1.073 b	4.05 ab	5.13 ab
(Control + 65% FC)	A ₂ B ₁	0.498 a-e	0.202 d-f	0.299 b-g	0.729 d-h	0.798 a	3.958 c-e	0.944 d-f	3.73 b-d	4.683 b-e
(1000 mg L ⁻¹ ZnO + 65% FC)	A ₂ B ₂	0.529 a-d	0.165 fg	0.305 b-e	0.589 f-h	0.785 ab	3.645 e-g	0.959 de	3.49 de	4.454 d-f
(1500 mg L ⁻¹ ZnO + 65% FC)	A ₂ B ₃	0.545ab	0.149 fg	0.305 b-e	0.537 gh	0.798 a	3.95 cde	0.934 d-f	3.68 cd	4.624 b-e
(200 mg L ⁻¹ SA + 65% FC)	A ₂ B ₄	0.488 a-e	0.215 d-f	0.296 b-g	0.826 c-g	0.780 ab	3.543 fg	1.068 b	3.78 b-d	4.852 a-d
(300 mg L ⁻¹ SA + 65% FC)	A ₂ B ₅	0.536 a-c	0.377 a	0.371 a	1.617 a	0.812 a	4.31 a-c	0.944 d-f	4.06 ab	5.011 a-c
(200 μM SNP + 65% FC)	A ₂ B ₆	0.448 b-e	0.255 c-e	0.293 b-g	0.960 b-e	0.801 a	4.027 b-d	1.001 b-d	4.03 a-c	5.033 ab
(300 μM SNP + 65% FC)	A ₂ B ₇	0.56a	0.117 g	0.322 bc	0.390 h	0.804 a	4.094 a-d	0.791 h	3.23 ef	4.028 f
(Control + 55% FC)	A ₃ B ₁	0.464 a-e	0.262 b-d	0.273 c-g	1.054 b-d	0.804 a	4.096 a-d	0.942 d-f	3.85 b-d	4.8 a-d
(1000 mg L ⁻¹ ZnO + 55% FC)	A ₃ B ₂	0.461 a-e	0.259 cd	0.279 d-g	1.050 b-d	0.781 ab	3.571 fg	0.927 e-g	3.31 ef	4.239 ef
(1500 mg L ⁻¹ ZnO + 55% FC)	A ₃ B ₃	0.336 f	0.334 ab	0.328 b	1.183 bc	0.720 c	2.566 h	1.191 a	3.05 f	4.246 ef
(200 mg L ⁻¹ SA + 55% FC)	A ₃ B ₄	0.543 a-c	0.152 fg	0.304 b-f	0.543 gh	0.777 ab	3.487 g	1.003 b-d	3.49 de	4.502 c-f
(300 mg L ⁻¹ SA + 55% FC)	A ₃ B ₅	0.542 a-c	0.159 fg	0.298 b-g	0.584 f-h	0.798 a	4.079 a-d	0.908 e-g	3.7 b-d	4.642 b-e
(200 μM SNP + 55% FC)	A ₃ B ₆	0.494 a-e	0.221 d-f	0.284 d-g	0.860 c-g	0.796 a	3.894 d-f	0.967 c-e	3.76 b-d	4.731 b-e
(300 μM SNP + 55% FC)	A ₃ B ₇	0.449 b-e	0.24 c-e	0.310 b-d	0.846 c-g	0.813 a	4.348 ab	0.913 e-g	3.96 a-c	4.883 a-d

ns, * و ** به ترتیب غیر معنی‌دار، معنی‌دار در $P \leq 0.05$ و $P \leq 0.01$

*, ** and ns: Significant at $P \leq 0.05$, $P \leq 0.01$ and insignificant, respectively.

است (Magdy et al., 2012). در کرچک استفاده از غلظت مناسب نانو اکسید روی باعث افزایش میزان کلروفیل a شد (Esparham et al., 2017).

کاروتنوئید گلبرگ و برگ

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر اصلی تنش کم‌آبی، محلول‌پاشی و برهمکنش آن‌ها بر کاروتنوئید برگ و گلبرگ در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شد (جدول ۴). مقایسه میانگین اثر برهمکنش تنش کم‌آبی و محلول‌پاشی نشان داد که با افزایش تنش کم‌آبی، غلظت کاروتنوئید گلبرگ و برگ در تیمار شاهد افزایش یافت و محلول‌پاشی‌های اسید سالیسیلیک در دو سطح ۲۰۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر و تیمار ۳۰۰ میکرومولار در لیتر سدیم نیتروپروساید، هر سه در تنش کم‌آبی ۵۵ درصد FC به دست آمد (جدول ۵). بیشترین غلظت کاروتنوئید برگ در تیمار ۲۰۰ میکرومولار در لیتر سدیم نیتروپروساید در ۵۵ درصد FC به دست آمد. همچنین غلظت کاروتنوئید برگ در تیمارهای ۳۰۰ میکرومولار در لیتر سدیم نیتروپروساید و شاهد در ۵۵ درصد FC نیز بالا بود (جدول ۵).

در شرایط تنش خشکی، به علت کاهش آسیمیلسیون کربن و افزایش ROS، گیاه دچار تنش اکسیداتیو می‌شود و نقش کاروتنوئیدها در دفاع آنتی‌اکسیدانی بسیار مهم می‌باشد و گونه‌هایی که دارای کاروتنوئیدهای بالاتری می‌باشند در برابر تنش اکسیداتیو ناشی از تنش کم‌آبی، دفاع مؤثرتری خواهند داشت و تحمل بهتری در برابر تنش خشکی نشان خواهند داد. تحقیقات نشان داده است که ارتباط قوی بین تحمل به تنش‌های اکسیداتیو که به دلیل تنش‌های محیطی ایجاد می‌شود و افزایش در غلظت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در گیاهان فتوسنتزکننده وجود دارد و فعالیت آنزیم‌های ضد اکسنده و کاهش میزان ROS در سلول‌های گیاهی موجب حفاظت گیاه در برابر تنش‌های محیطی می‌شود (Sairam et al., 2002). تنش کم‌آبی می‌تواند باعث ایجاد تنش اکسیداتیو شود. این فرآیند می‌تواند نقش ویژه‌ای در

(2001) و نخود (Mafakheri et al., 2011)، میزان کلروفیل a، b و کلروفیل کل برگ را کاهش داد. کاهش مقدار کلروفیل احتمالاً می‌تواند به دلیل اختلال در جذب عناصر غذایی، افزایش تخریب اکسیداتیو کلروفیل، تخریب ساختار کلروپلاست و دستگاه فتوسنتزی، واکنش آن با رادیکال تک الکترون و یا افزایش فعالیت آنزیم کلروفیلاز تحت شرایط تنش باشد.

کاربرد اسید سالیسیلیک تحت تنش شوری، موجب افزایش رنگدانه‌های فتوسنتزی در گیاه همیشه‌بهار شد و غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر اسید سالیسیلیک موجب افزایش بیشتر کلروفیل a، b و کل به ترتیب به میزان ۲۰، ۲۱ و ۲۸ درصد نسبت به تیمار شاهد شد (et al., 2016; Dehghan Nairi).

استفاده از SA منجر به افزایش تثبیت CO₂ می‌شود که احتمالاً به علت تأثیر این ماده در فرآیندهای مختلف فتوسنتز شامل افزایش رنگدانه‌های فتوسنتزی و کاروتنوئیدها، افزایش کارایی فتوسیستم II، غلظت و فعالیت بیشتر آنزیم روبیسکو و در نهایت تأمین بیشتر ATP و NADPH برای تثبیت کربن و تولید بیشتر آسیمیلات می‌باشد. SA به دلیل تأثیر بر ساخت کلروفیل‌ها و اثر محرک بر ظرفیت فتوسنتزی، از راه انگیزش فعالیت آنزیم روبیسکو در افزایش سطح عملکرد فتوسنتز نقش دارد.

سدیم نیتروپروساید از طریق کاهش میزان پراکسیداسیون لیپیدی و کاهش صدمه به رنگیزه‌ها در مقابل تنش اکسیداتیو از گیاهان محافظت می‌کند و باعث حفظ کلروفیل‌ها می‌شود. سدیم نیتروپروساید سبب افزایش کلروفیل b در گیاه پنبه و مرزه شد (Arab et al., 2015; Magdy et al., 2012).

اثر مثبت عنصر روی در افزایش ویژگی‌های رشدی گیاه به این دلیل است که عنصر روی در متابولیسم نیتروژن نقش حیاتی دارد و با توجه به این که نیتروژن یک بخش ضروری از کلروفیل است می‌توان نتیجه گرفت که عنصر روی به طور غیر مستقیم در محتوای کلروفیل تأثیرگذار

۱۰۰۰ میلی گرم بر لیتر، میزان کاروتنوئیدها در کرچک یک روند کاهشی نشان داد هر چند در غلظت ۱۰ میلی گرم بر لیتر افزایش معنی داری در میزان کاروتنوئیدها نسبت به تیمار شاهد مشاهده شد (Esparham et al., 2017).

فلورسنس کلروفیل

فلورسنس حداکثر یا بیشینه (F_m)

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر اصلی تنش کم آبی و برهمکنش تنش کم آبی و محلول پاشی روی فلورسنس حداکثر (F_m) در سطح احتمال یک درصد معنی دار شد و اثر اصلی محلول پاشی (SA)، سدیم نیتروپروساید و نانو اکسید روی) بر این صفت معنی دار نشد (جدول ۴). تاثیر برهمکنش تنش کم آبی و محلول-پاشی نشان داد که بیشترین فلورسنس حداکثر (۵/۳۱) مربوط به تنش کم آبی ۸۵ درصد FC در تیمار ۱۰۰۰ میلی گرم در لیتر نانو اکسید روی و کمترین آن (۴/۰۲) در تنش کم آبی ۶۵ درصد FC در تیمار ۳۰۰ میکرومولار در لیتر سدیم نیتروپروساید به دست آمد و افزایش ۲۴/۲۹ درصدی را نشان داد (جدول ۵).

مقدار فلورسنس کلروفیل می تواند توانایی گیاه در تحمل به تنش های محیطی، سالم بودن غشای تیلاکوئیدی، کارایی نسبی انتقال الکترون از فتوسیستم II به فتوسیستم I و میزان خسارتی که تنش به گیاه وارد می کند را به خوبی نشان دهد. نتایج پژوهش حاضر نشان داد که با افزایش سطوح تنش خشکی، پارامترهای F_m و حداکثر کارایی کوانتومی فتوسیستم II برای تبدیل انرژی نور جذب شده به انرژی شیمیایی کاهش یافت. بیشینه فلورسنس در اثر تابش فوتون های نوری و احیای همه ناقل های الکترون و بسته بودن (اشباع) همه مراکز واکنشی ایجاد می شود (et al., 2010). تنش کم آبی با اثر سویی که بر انتقال کربن می گذارد، ظرفیت پذیرش و انتقال الکترون را کاهش می دهد و در نتیجه سیستم به سرعت به F_m می رسد و باعث کاهش فلورسنس حداکثر می شود. تنش کم آبی بعد

تخریب سامانه فتوستتزی، تخریب غشای سلولی و کلروپلاستی، کاهش مقدار کلروفیل a, b و متعاقب آن کاهش توانایی فتوستتزر گردد. گیاهان قادر هستند با تولید ترکیبات آنتی اکسیدانی نظیر ترکیبات فنلی و کاروتنوئیدها از ساختار سلولی در برابر رادیکال های تولید شده در برابر تنش محافظت کنند. تنش کم آبی با تولید ROS ها در تیلاکوئیدها، تراکم کلروفیل ها و کاروتنوئیدها را کاهش می دهد.

آرزمجو و همکاران (Arazmjoo et al., 2010) در مطالعات خود روی بابونه گزارش کردند که با افزایش تنش کم آبی از میزان کلروفیل a و b کاسته شد ولی کاروتنوئید برگ افزایش یافت. در تحقیقی روی گیاه آنیسون نیز با کاهش کلروفیل ها، میزان کاروتنوئیدها افزایش یافت (Asadi Kavan et al., 2009). در آفتاب گردان، با افزایش سطوح تنش خشکی، محتوای کاروتنوئیدها به طور معنی داری کاهش یافت (et al., 2013). در شرایط تنش، القای سنتز کاروتنوئیدها می تواند به علت نقش حافظتی آنها در برابر دامنه های مخرب امواج نور در تشکیلات فتوستتزی باشد. مقدار کاروتنوئید در شرایط تنش در گلرنگ بهاره کاهش یافت (Arab et al., 2015). محلول پاشی با SA باعث افزایش غلظت کاروتنوئید در گلبرگ بنفشه معطر شد. نتیجه مشابه در نخود گزارش گردید (Ramezan Nejad et al., 2013). همچنین تیمار با SA (در غلظت های کم تا متوسط) باعث افزایش کاروتنوئیدها در دو رقم کلزا (بهاره و حساس به سرما) شد. SA با افزایش توان آنتی اکسیدانی از جمله کاروتنوئیدها موجب کاهش پراکسایش لیپیدها و کاهش مقدار آب اکسیژنه و محافظت بیشتر از غشاهای سلولی و فتوستتزی و رنگیزه های فتوستتزی می شود و از کاتابولیسم کلروفیل جلوگیری می کند و باعث افزایش مقاومت گیاه در برابر خسارت اکسیداتیو می شود (Keshavarz et al., 2011). محلول پاشی نانو اکسید روی نیز کاروتنوئید برگ را افزایش داد. با افزایش غلظت نانو اکسید روی از ۱۰۰ تا

از مرحله گلدهی، میزان فلورسنس حداکثر را در لوبیاجیتی (Rasti Sani et al., 2014) و چغندر قند (Mohammadian et al., 2003) کاهش داد. در سورگوم علوفه‌ای، با افزایش شدت تنش، از مقدار F_m کاسته شد (Ghahramani et al., 2015). افت F_m ممکن است با کاهش فعالیت کمپلکس آنزیم تجزیه‌کننده آب و همچنین چرخه انتقال الکترون در درون یا اطراف فتوسیستم II مرتبط باشد. نتایج به دست آمده در گیاه همیشه‌بهار نشان داد که تنش موجب کاهش F_m شد (Dehghan Nairi et al., 2016). افزودن عنصر روی باعث جذب بیشتر نیتروژن می‌شود و این عنصر به عنوان یک بخش ضروری از مولکول کلروفیل به طور غیرمستقیم در مقدار فلورسنس کلروفیل مؤثر می‌باشد (Mousavi et al., 2013).

فلورسنس متغیر (F_v)

نتایج مقایسه میانگین اثر برهمکنش تنش کم‌آبی و محلول‌پاشی نشان داد که در تیمار شاهد با افزایش تنش کم‌آبی، میزان فلورسانس متغیر افزایش یافت. بیشترین فلورسنس متغیر ($4/27$) در تنش کم‌آبی 85 درصد FC در تیمار 1000 میلی‌گرم در لیتر نانو اکسید روی با افزایش $28/57$ درصد نسبت به کمترین مقدار (1500 میلی‌گرم در لیتر نانو اکسید روی در تنش کم‌آبی 55 درصد FC) به دست آمد (جدول ۵).

F_v نشانگر احیای کامل پذیرنده‌های الکترون کینون می‌باشد. وقتی کینون در حالت احیای کامل باشد، فلورسنس کلروفیل زیاد است، بنابراین فلورسنس متغیر نیز زیاد است، اما وقتی کینون در حالت اکسید باشد، مقدار فلورسنس، حداقل است و مقدار F_v نیز کاهش می‌یابد. در شرایط تنش کم‌آبی، کینون در حال اکسیده شدن است. میزان F_v در تمام سطوح تنش کاهش یافت که این کاهش می‌تواند به دلیل مهار کردن الکترون و جلوگیری از انتقال آن از سمت دهنده فتوسیستم II به محل پذیرش الکترون توسط مولکول‌های کینون و ممانعت از فتواکسیداسیون

فتوسیستم II باشد، در نتیجه میزان کارایی کوانتومی فتوستنز خالص، کاهش می‌یابد (Mehta et al., 2010). در لوبیاجیتی، تنش کم‌آبی، مقدار F_v را در کلیه ارقام کاهش داد و بیشترین F_v در تیمار آبیاری نرمال و کمترین آن در تنش کم‌آبی در رقم صدری مشاهده شد (et al., 2017). تنش‌های محیطی مقدار F_v را به علت ممانعت از فتواکسیداسیون فتوسیستم II کاهش می‌دهند. از آنجا که F_v نشانگر احیای کامل کینون می‌باشد، بنابراین می‌توان استنباط کرد که تنش کم‌آبی در انتقال الکترون به فتوسیستم I اختلال ایجاد می‌کند. کاربرد خارجی 100 میکرومولار در لیتر سدیم نیتروپروساید، سرعت فتوستنز را در گیاه مارتیغال در شرایط تنش کم‌آبی نسبت به عدم کاربرد آن بهبود بخشید (Zangani, 2017).

فلورسنس حداقل یا کمینه یا اولیه (F_0)

مقایسه میانگین برهمکنش تنش کم‌آبی و محلول‌پاشی نشان داد که بیشترین F_0 ($1/191$) مربوط به تیمار تنش کم‌آبی 55 درصد FC در تیمار 1500 میلی‌گرم در لیتر نانو اکسیدروی و کمترین مقدار ($0/79$) در تنش 65 درصد FC و تیمار 300 میکرومولار در لیتر سدیم نیتروپروساید به دست آمد و تیمارهای 1000 و 1500 میلی‌گرم در لیتر نانو اکسید روی در سه سطح تنش کم‌آبی مقدار فلورسانس حداقل را نسبت به تیمار شاهد افزایش دادند (جدول ۵).

هنگامی که نور در سطح متوسط باشد بخش غالب آن در فعالیت‌های فتوشیمیایی به مصرف فتوستنز می‌رسد و بخش کمی از انرژی نورانی به صورت فلورسنس ساطع می‌گردد که به عنوان F_0 شناخته می‌شود. F_0 بیانگر سطحی از فلورسنس در زمانی است که پذیرنده کینون آ (Q_A) در بالاترین مقدار شرایط اکسیداسیونی قرار دارد (مرکز فتوسیستم II باز است). در حقیقت F_0 هر چقدر کم‌تر باشد، بدین معناست که فعالیت‌های فتوستنزی به نحو مطلوب‌تری در جریان هستند و تثبیت کربن و یا به عبارتی انتقال الکترون سریع‌تر آغاز شده است و F_0 بالا، نشان از

کم‌آبی ۵۵ درصد FC باعث افزایش مقدار F_v/F_m شد و کمترین مقدار ($0/72$) در تیمار تنش کم‌آبی ۵۵ درصد FC در تیمار ۱۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر نانو اکسید روی به دست آمد (جدول ۵).

نسبت F_v/F_m ، حداکثر عملکرد کوانتومی فتوسیستم II را نشان می‌دهد و پارامتر مهمی برای تعیین وضعیت دستگاه فتوسنتزی می‌باشد. تنش‌های محیطی که کارایی فتوسیستم II را تحت تأثیر قرار می‌دهند باعث کاهش نسبت F_v/F_m می‌شوند. در گیاه گلرنگ مشاهده شد که با افزایش تنش شوری، میزان F_v/F_m در شرایط سازگار با تاریکی که نشان‌دهنده ظرفیت انتقال الکترون در فتوسیستم II می‌باشد در مرحله رویشی کاهش یافت (et al., 2013). نتایج این تحقیق با نتایج ژائو و همکاران (Zhao et al., 2007) در گندم مبنی بر کاهش F_v/F_m در اثر افزایش تنش مطابقت دارد. کاهش F_v/F_m ، به طور عمده به خاطر وجود آشفته‌گی در کلروپلاست است و کاهش میزان محتوای کلروفیل این موضوع را تأیید می‌کند.

تحقیقات در لوبیاچیتی نشان داد که مقدار F_v/F_m در شرایط تنش روند کاهشی داشت (Soheili Movahed et al., 2017). همچنین تنش شوری باعث کاهش F_v/F_m در برگ‌های ذرت و سورگوم (Netondo et al., 2004) شد. در شرایط تنش کم‌آبی، تجمع Q_B غیراحیاء افزایش می‌یابد که این اثر نشان‌دهنده عدم انتقال الکترون از Q_A احیا به Q_B است. در چنین شرایطی تجمع Q_A نیز افزایش می‌یابد. در آزمایشی، نسبت F_v/F_m در ژنوتیپ‌های نخود تحت تنش کم‌آبی به صورت معنی‌داری کاهش یافت و ژنوتیپ‌های نخود که به تنش کم‌آبی حساس بودند، نسبت F_v/F_m کمتری در مقایسه با ژنوتیپ‌های مقاوم از خود نشان دادند (Rahbarian et al., 2011). کاهش نسبت F_v/F_m در ارقام لوبیا قرمز، لوبیا چیتی و لوبیا سفید در اثر تنش کم‌آبی گزارش شده است (Ghanbari et al., 2013). در پژوهش دیگری، با افزایش تنش کم‌آبی و شوری، F_v/F_m در گیاه سویا کاهش یافت (Bahrololoumi, 2012). بر اساس

آسیب به زنجیره انتقال الکترون در فتوسیستم II در اثر کاهش ظرفیت Q_A و عدم اکسیداسیون کامل آن به دلیل جریان کند الکترون در طول مسیر فتوسیستم II می‌باشد. افزایش F_0 تحت تنش کم‌آبی در ارقامی از لوبیاچیتی گزارش شد (Soheili Movahed et al., 2017). در سورگوم علوفه‌ای بیشترین فعالیت F_0 در تنش شدید و کمترین میزان آن در سطح شاهد مشاهده شد (et al., 2015). افزایش F_0 در اثر تنش کم‌آبی توسط پژوهشگران دیگر نیز گزارش شده است (et al., 2012). در لوبیا قرمز، تیمار آبیاری نرمال (بدون تنش) با میانگین $131/73$ کم‌ترین مقدار و تنش کم‌آبی شدید با میانگین $157/43$ بیشترین مقدار F_0 را دارا بود (et al., 2015). این نتیجه بیانگر تخریب مرکز واکنش فتوسیستم II در شرایط تنش کم‌آبی می‌باشد. در شرایط تنش شوری، کاربرد SA سبب کاهش مقدار F_0 شد و کاربرد ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر SA کاهش ۱۰ و ۶ درصدی F_0 را نسبت به تیمار شاهد نشان داد (Dehghan, 2016). (Nairi et al., 2016)

کارایی فتوشیمیایی فتوسیستم II (F_v/F_0)

مقایسه میانگین برهمکنش تنش کم‌آبی و محلول‌پاشی نشان داد که بیشترین مقدار F_v/F_0 ($4/4$) در تنش کم‌آبی ۸۵ درصد FC در تیمار ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر اسید سالیسیلیک به دست آمد و باعث افزایش $1/5$ برابری نسبت به تیمار ۱۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر نانو اکسید روی ($2/56$) در تنش کم‌آبی ۵۵ درصد FC شد. همچنین سدیم نیتروپروساید مقدار F_v/F_0 را نسبت به تیمار شاهد افزایش داد (جدول ۵).

عملکرد کوانتومی فتوسیستم II (F_v/F_m)

مقایسه میانگین برهمکنش تنش کم‌آبی و محلول‌پاشی بر F_v/F_m نشان داد که با افزایش تنش کم‌آبی مقدار F_v/F_m در تیمار شاهد افزایش پیدا کرد و محلول‌پاشی‌ها به جز تیمار ۱۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر نانو اکسید روی در تنش

کارایی کوانتومی غیرفتوشیمیایی تنظیم نشده**فتوسیستم II $Y(NO)$**

مقایسه میانگین برهمکنش تنش کم آبی و محلول پاشی نشان داد که بیشترین $Y(NO)$ (۰/۳۷) مربوط به تیمار تنش کم آبی ۶۵ درصد FC در تیمار ۳۰۰ میلی گرم در لیتر اسید سالیسیلیک به دست آمد و کمترین مقدار (۰/۲۶) در تنش کم آبی ۸۵ درصد FC در تیمار ۳۰۰ میلی گرم در لیتر اسید سالیسیلیک به دست آمد و نانو اکسید روی و سدیم نیتروپروساید نیز تأثیر مثبتی در افزایش مقدار $Y(NO)$ نسبت به تیمار شاهد نشان داد (جدول ۵).

حسینی و همکاران (Hassani et al., 2014) و بهاری ساروی و همکاران (Bahari Sarvai et al., 2019) نشان دادند که تنش کم آبی اثر معنی داری بر $Y(NO)$ نشان داد و باعث افزایش $Y(NO)$ شد. کاهش $Y(NO)$ نشانگر افزایش نسبت نور استفاده شده در فرآیند فتوشیمیایی و کاهش اتلاف انرژی و به دنبال آن افزایش در سرعت آسیمیلایسیون CO_2 می باشد (Lei et al., 2008).

کارایی کوانتومی غیرفتوشیمیایی تنظیم شده**فتوسیستم II $Y(NPQ)$**

مقایسه میانگین برهمکنش تنش کم آبی و محلول پاشی نشان داد که بیشترین $Y(NPQ)$ (۰/۳۷) مربوط به تیمار تنش کم آبی ۶۵ درصد FC در تیمار ۳۰۰ میلی گرم در لیتر اسید سالیسیلیک به دست آمد و باعث افزایش ۳/۳۶ برابری نسبت به کمترین مقدار (تیمار تنش کم آبی ۶۵ درصد FC و تیمار ۳۰۰ میکرومولار در لیتر سدیم نیتروپروساید) شد. همچنین محلول پاشی ها تأثیر مثبتی در افزایش مقدار $Y(NPQ)$ نشان دادند (جدول ۵).

$Y(NPQ)$ ، هدر رفت گرمایی مربوط به سیستم حفاظت نوری است. افزایش پارامتر $Y(NPQ)$ در گیاه ذرت تحت شرایط تنش سرما (Fracheboud et al., 1999) و در خیار تحت تنش کم آبی (Lei et al., 2008) گزارش شد. حسینی و همکاران (Hassani et al., 2014) نشان دادند که تنش کم آبی در گیاه برنج اثر معنی داری بر صفت $Y(NPQ)$ داشت

گزارش (Vazan, 2000)، تنش کم آبی موجب کاهش عملکرد کوانتومی در ژنوتیپ های مختلف چغندر قند شد. نتایج داده ها در لوبیا قرمز نشان داد که بیشترین F_v/F_m مربوط به آبیاری نرمال (بدون تنش) با میانگین ۰/۷۱ و کمترین مقدار مربوط به تیمار تنش شدید با میانگین ۰/۶۴ بود و با افزایش تنش کم آبی F_v/F_m کاهش نشان داد (Habibpour Kashefi et al., 2015). در آزمایشی اثر اصلی تنش کم آبی و ژنوتیپ در سورگوم علوفه ای نشان داد که با افزایش تنش کم آبی F_v/F_m روند کاهشی نشان داد، به طوری که تیمار ۲۵ درصد FC، کمترین مقدار (۰/۶۴) و تیمار ۸۵ درصد FC، بیشترین (۰/۸۶) مقدار F_v/F_m را به خود اختصاص دادند (Ghahramani et al., 2015).

خاموشی غیرفتوشیمیایی (NPQ)

مقایسه میانگین برهمکنش تنش کم آبی و محلول پاشی نشان داد که با افزایش تنش کم آبی، مقدار NPQ در تیمار شاهد افزایش یافت. بیشترین مقدار NPQ (۱/۶۱) در تیمار ۳۰۰ میلی گرم در لیتر اسید سالیسیلیک در تنش کم آبی ۶۵ درصد FC به دست آمد و نسبت به کمترین مقدار (۳۰۰ میکرومولار در لیتر سدیم نیتروپروساید در ۶۵ درصد FC) ۴/۱ برابر افزایش نشان داد (جدول ۵).

NPQ در واقع شاخص مربوط به هدر رفت گرمایی است و گستره معمول آن برای گیاه بین ۰/۵ تا ۳/۵ می باشد. افزایش این پارامتر بیانگر ظرفیت بالای چرخه گزانتوفیل و توانایی گیاه در دفع تنش از طریق هدر دادن انرژی به صورت گرما می باشد. در شرایط تنش، فعالیت چرخه گزانتوفیل سبب افزایش اتلاف انرژی به صورت گرما و ازدیاد NPQ می شود ولی با افزایش سطوح تنش، ممکن است افزایش در NPQ برای مصرف انرژی مازاد و حفظ اکسیداسیون پذیرنده های الکترون فتوسیستم II ناکافی باشد. لی و همکاران (Li et al., 2004) در گیاه توتون تحت تنش کم آبی و عبده شاهیان و همکاران (Abdeshahian al., 2010) در گیاه گندم تحت تنش شوری، افزایش NPQ را گزارش کردند.

plants. International Journal of Chemistry and Biological Engineering, 3 (4): 184-186.

Amiri, A., Sirus Mehr, A., and Esmailzadeh Bahabadi. S. 2015. Effect of salicylic acid and chitosan foliar application on safflower yield under water stress conditions. Journal of Plant Research (Iranian Journal of Biology). 28 (4): 712-725.

Arab, P., Firoozabadi, M., Asghari, H., Gholami, A., and Rahimi, M. 2015. The effect of ascorbic acid and sodium nitroprusside foliar application on seed yield, oil and some agronomical traits of safflower (*Carthamus tinctorius* L.) under water deficit stress. Journal of Environmental Stress in Crop Sciences, 9 (1): 15-27.

Arazmjoo, A., Heidari, M., Ghanbari, A., Siah Sar, B., and Ahmadian, A. 2010. The effect of three sources of fertilizers on the percentage of essential oil, photosynthetic pigments and osmoregulators in chamomile under drought stress conditions. Journal of Environmental Stresses in Crop Sciences, 3 (1): 23-33.

Arazmjoo, A., Heydari, M., and Ghanbari, A. 2009. The effect of water stress and three sources of fertilizers on flower yield, physiological parameters and nutrient uptake in chamomile (*Matricaria chamomilla* L.). Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research, 25 (4): 494-482.

Asadi Kavan, J., Ghorbanli, M., and Saati, A. 2009. Effect of drought stress and external ascorbate on photosynthetic pigments, flavonoids, phenolic compounds and lipid peroxidation rate in *Pimpinella anisum* L. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research, 25 (4): 456-469.

Azooz, M.M., Ahmad, P. 2015. Legumes under Environmental Stress: Yield, Improvement and Adaptations, Published by John Wiley and Sons, Ltd.

Bahari Sarvai, S.H., Gholami, A., Pirdashti, H., Firoozabadi, M., and Asghari, H. 2019. The effects of endophyte symbiosis and spermidine foliar application on chlorophyll fluorescence and photosynthetic pigments of stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) medicinal plant under salinity conditions. Journal of Plant Process and Function, 8 (33): 48-65.

Bahrololoumi, S.M.J. 2012. Study of effect of salt and water stresses on production reactive oxygen species (ROS) and fluorescence characteristics of soybean (*Glycine max* L.). M.Sc. Dissertation, Crop Sciences Faculty. Sari Agriculturul Sciences and Natural Reasources University.

و باعث افزایش آن شد.

کارایی کوانتومی فتوشیمیایی مؤثر فتوسیستم II (Y_{II})

مقایسه میانگین برهمکنش تنش کم آبی و محلول پاشی نشان داد که بیشترین Y_{II} (۰/۵۶) مربوط به تیمار تنش کم آبی ۶۵ درصد FC در تیمار ۳۰۰ میکرومولار در لیتر سدیم نیتروپروساید و کمترین مقدار (۰/۳۳) در تنش کم آبی ۵۵ درصد FC و تیمار ۱۵۰۰ میلی گرم در لیتر نانو اکسید روی به دست آمد و باعث افزایش ۱/۶ برابری نسبت به کمترین مقدار شد (جدول ۵).

نتیجه گیری کلی

استفاده از ترکیبات ضد تنش به صورت محلول پاشی، قادر به تعدیل اثرات منفی تنش کم آبی شدند و تیمارهای نانو اکسید روی و پس از آن سدیم نیتروپروساید، بیشترین تأثیر را در افزایش رنگدانه‌های فتوسنتزی و فلورسانس کلروفیل در گیاه بنفشه معطر نشان دادند.

پیشنهادها

پیشنهاد می شود تولیدکنندگان بنفشه معطر به مقاصد دارویی و زینتی در شرایط محدودیت منابع آبی از محلول پاشی نانو اکسید روی استفاده نمایند.

سپاسگزاری

بدینوسیله از دانشگاه آزاد اسلامی واحد رشت قدردانی می شود.

منابع

Abdalla, M.M., and El-Khoshiban N.H. 2007. The influence of water stress on growth, relative water content, photosynthetic pigments, some metabolic and hormonal contents of two *Triticum aestivum* cultivars. Journal of Applied Sciences Research, 3 (12): 2062-2074.

Abdeshahian, M., Nabipour, M., and Meskarbashee, M. 2010. Chlorophyll fluorescence as criterion for the diagnosis salt stress in wheat (*Triticum aestivum*)

- (*Phasaeolus vulgaris* L.) under drought stress. Journal of Crop Physiology, 7(2): 19-32.
- 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(3): 867-878.
- Hassani, Z., Pirdashti, H., Yaghoobian, Y., and Nouri, M.Z. 2014. Using chlorophyll fluorescence technique to assess tolerance of rice (*Oryza sativa* L.) genotypes to air and water cold stresses. Journal of Cell and Tissue Research, 5 (2): 195-206.
- 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, 3(5): 367-374.
- Javadipour, Z., Mohoodi Dehnavi, M., and Baluchi, H. 2013. Evaluation of photosynthesis parameters, chlorophyll content and fluorescence of safflower cultivars under saline condition. Electronic Journal of Crop Production, 6 (2): 35-56.
- Javadipour, Z., Movahhedi Dehnavi, M., and Balouchi, H.R. 2012. Evaluation of photosynthesis parameters, chlorophyll content and fluorescence of safflower cultivars under saline condition. Electronic Journal of Crop Production, 6 (2): 35-56.
- Keshavarz, H., Modares Sanavi Seyed, A.M., Zarinkamar, F., Dolat Abadian, A., Panahi, M., and Sadat Asilan, K. 2011. Study of foliar application of salicylic acid on some biofoliar spraying properties of two canola cultivars (*Brassica napus* L.) under cold stress condition. Iranian Journal of Field Crop Science (Iranian Journal of Agricultural Sciences), 42 (4): 723-734.
- Lei, Z., Su, M.Y., Wu, X., Liu, C., Qu, C.X., Chen, L., Huang, H., Liu, X. Q., and Hong, F.S. 2008. Antioxidant stress is promoted by nano-anatase in spinach chloroplasts under UV-Beta radiation. Biology Trace Elements Research, 121(1): 69-79.
- Li, X.G., Duan, W., Meng, Q.W., Zou, Q., and Zhao, S.J. 2004. The function of chloroplastic NAD(P)H dehydrogenase in tobacco during chilling stress under low irradiance. Plant Cell Physiology, 45 (1): 103-108.
- Mafakheri, A., Siosemardeh, A., Bahramnejad, B., Struik, P.C., and Sohrabi, Y. 2011. Effect of drought stress and subsequent recovery on protein, carbohydrate contents, catalase and peroxidase activities in three chickpeas (*Cicer arietinum* L.) cultivars. Australian Journal of Crop Science, 5(10): 115-122.
- Balabanova, D.A., Paunov, M., Goltsev, V., Cuypers, A., Vangronsveld, J., and Vassilev, A. 2016. Photosynthetic performance of the imidazolinone resistant sunflower exposed to single and combined treatment by the herbicide imazamox and an amino acid extract. Frontiers in Plant Science, 25 (7): 15-59.
- 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 (9): 984-987.
- 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 (2): 193-202.
- Esparham, E., Saeidisar, S., Mahmoodzadeh, H., and Hadi, M.R. 2017. The effects of zinc oxide (ZnO) nanoparticles on the germination, biofoliar spraying and ultrastructural cell characteristics of *Ricinus communis*. Journal of Cell and Tissue, 8(2): 151-164.
- Fan, H-F., Du, C-X., and Guo, S. 2012. Effect of nitric oxide on proline metabolism in cucumber seedlings under salinity stress. Journal of American Society for Horticultural Science, 137(3): 127-133.
- Fracheboud, Y., Haldimann, P., Leipner, J., and Stamp, P. 1999. Chlorophyll fluorescence as a selection tool for cold tolerance of photosynthesis in maize (*Zea mays* L.). Journal of Experimental Botany, 50(1): 1533-1540.
- 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(1): 9-19.
- Ghahramani, M., Ebadi, A., Parmon, Q., and Jahanbakhsh, S. 2015. The effect of drought stress on photosynthetic indices and forage yield of Sorghum bicolor genotypes. Crop Physiology Journal, 7 (25): 59-74.
- Ghanbari, A.A., Shakiba, M.R., Toorchi, M., and Choukan, R. 2013. Morphophysiological responses of common bean leaf to water deficit stress. European Journal of Experimental Biology, 3 (1): 487-492.
- Habibpour Kashefi, A., Qaryneh, M., Shafeinia, A., and Roozrok, M. 2015. Effect of zeolite levels on fluorescence of chlorophyll in red beans

- Rahbarian, R., Khavari-nejad, R.A., Ganjeali, A., Bagheri, A.R., and Najafi, F. 2011. Drought stress effects on photosynthesis, chlorophyll fluorescence and water relations in tolerant and susceptible chickpea (*Cicer arietinum* L.) genotypes. *Acta Biologica Craco Serie Botany*, 53(1): 47-56.
- Ramezan Nejad, R. Lahouti, M., and Ganjali, A. 2013. Effect of salicylic acid on physiological and biofoliar spraying parameters on resistant and sensitive chickpea (*Cicer arietinum* L.) genotypes under drought stress. *Journal of Plant Ecophysiology*, 5 (12): 24-36.
- Rasti Sani, M., Lahouti, H., and Ganjali, A. 2014. The effect of drought stress on morphophysiological traits and chlorophyll fluorescence of red bean seedlings (*Phaseolus vulgaris* L.). *Iranian Journal of Pulses Research*, 5 (1): 103-116.
- 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(5): 1037-1046.
- Shibli, R.A., Kushad, M., Yousef, G.G., and Lila, M.A. 2007. Physiological and biofoliar spraying responses of tomato micro shoots to induced salinity stress with associated ethylene accumulation. *Plant Growth Regulation*, 51(2): 159-169.
- Smith, K.A., and Mullins, C.E. 1991. *Soil and Environmental Analysis: Physical Methods*. Mullins-2nd ed., Review and Expanded.
- Soheili Movahed, S., Ismaili, M., Jabbari, F., Khorram Del, S., and Fooladi, A. 2017. Effects of water deficit on relative water content, chlorophyll fluorescence indices and seed yield in four pinto bean genotypes. *Journal of Crop Production*, 10 (1): 169-190.
- 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*, 5(17): 357-349.
- Vafabakhsh, J., Nasiri Mahalati, M., and Kouchaki, A. 2008. Effects of drought stress on radiation use efficiency and yield of winter canola (*Brassica napus* L.). *Iranian Journal of Field Crops Research*, 6(1): 193-204.
- Vazan, S. 2000. Evaluation of chlorophyll fluorescence and photosynthesis efficiencies in *Beta vulgaris* genotypes under drought and non drought stress. Ph.D. Thesis, Islamic Azad University, Oloum Tahghighat Tehran.
- 1255-1260.
- Magdy, A.S., Hazem, M.M., Alia, A.M., and Alshaima, A.I. 2012. Effect of sodium nitroprusside, putrescine and glycine betaine on alleviation of drought stress in cotton plant. *American Eurasian Journal of Agriculture and Environment Science*, 12 (9): 1252-1265.
- Marschner, H. 2012. *Marschner's Mineral Nutrition of Higher Plants*. Academic Press, 214-225.
- Mazumdar, B.C., and Majumder, K. 2003. *Methods on physcofoliar spraying analysis of fruits*. University College of Agriculture, Calcutta University, 136-150.
- Mehrabian Moghadam, N., Arvin, M., Khajouinejad, Gh., and Maghsoudi, K. 2011. Effect of salicylic acid on growth and forage and grain yield of maize under drought stress in field conditions. *Seed and Plant Production Journal*, 2-27 (1): 41-55.
- Mehta, P., Jajoo, A., Mathur, S., and Bharti, S. 2010. Chlorophyll a fluorescence study revealing effects of high salt stress on Photosystem II in wheat leaves. *Plant Physiology and Biochemistry*, 48 (1): 16-20.
- Metwally, A., Finkemeier, I., Georgi, M., Dietz, K.J. (2003). Salicylic acid alleviates the cadmium toxicity in barley seedlings. *Plant Physiol.* 132(1): 272-281.
- Mohammadian, R., Rahimian, H., Moghaddam, M., and Sadeghian, S.Y. 2003. Effect of early drought stress on sugar beets chlorophyll fluorescence. *Pakistan Journal of Biology Science*, 6(1): 1763-1769.
- Mousavi, S.R., Galavi, M., and Rezaei, M. 2013. Zinc (Zn) importance for crop production, A review. *International Journal of Agronomy and Plant Production*, 4 (1): 64-68.
- Munne-Bosch, S., Jubany-Mari, T., and Alegre, L. 2001. Drought-induced senescence is characterized by a loss of antioxidant defences in chloroplasts. *Plant, Cell Environment*, 24(12): 1319-1327.
- 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 (Arsanjan Branch)*, 5 (12): 37-51.
- Netondo, G.W., Onyango, J.C., and Beck, E. 2004. Sorghum and salinity Response of growth, water relations, and ion accumulation to NaCl salinity. *Crop Science*, 44(3): 797-805.

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 (4): 93-110.

Zhao, G.Q., Ma, B.L., and Ren, C.Z. 2007. Growth, gas exchange, chlorophyll fluorescence, and ion content of naked oat in response to salinity. Journal of Crop Science, 41(1): 123-131.

Yaghoubian, Y., Siadat, S., Telavat, M.M., and Pirdashti, H. 2016. Quantify the response of purslane plant growth, photosynthesis pigments and photosystem II photochemistry to cadmium concentration gradients in the soil. Russian Journal of Plant Physiology, 63 (1): 77-84.

Zangani, A., Andalibi, B., and Zamani, A. 2017. Effects of sodium nitroprusside foliar application on the activity of antioxidant enzymes and the performance of the active ingredient of *Silybum marianum* under drought stress. Journal of Plant Research, 24 (4): 93-110.