بررسی اثر متقابل سدیم نیتروپروساید (SNP) و تنش شوری بر برخی صفات گیاه کلزا (*Brassica napus* L.)

ریحانه رضاپور، علی گنجعلی* و پروانه ابریشم چی

ایران، مشهد، دانشگاه فردوسی مشهد، دانشکده علوم، گروه زیست شناسی

تاریخ دریافت: ۹۵/۶/۲۵ تاریخ پذیرش: ۹۶/۴/۱۰

چکیده

مطالعات قبلی نشان داده است که سدیم نیتروپروساید (SNP) در پاسخ گیاه به تنش‌شوری نقش مهمی را ایفا می‌نماید. لذا بمنظور بررسی اثر کاربرد خارجی غلظت‌های مختلف سدیم نیتروپروساید (SNP) بر رشد، صفات فیزیولوژیکی و فعالیت آنزیم-های پاد اکسیدان گیاهان کلزای (*Brassica napus* L.cv.Modena) مواجه با تنش‌شوری، آزمایشی طی سال ۱۳۹۴ انجام شد. گیاهان مورد بررسی در غلظت‌های متفاوت شوری شامل صفر، ۱۲۰ و ۲۴۰ میلی‌مولار (Nacl) قرارگرفتند و سپس با سطوح مختلف سدیم نیتروپروساید شامل: ۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میکرومولار تیمار شدند، به این‌ترتیب آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در شرایط کنترل‌شده اجرا شد. نتایج این مطالعه نشان داد که تنش‌شوری باعث کاهش معنی‌دار وزن‌تر و خشک گیاهان کلزا و افزایش معنی‌دار محتوای پرولین، پراکسیدهیدروژن و فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز شد اما بر محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی و فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز اثر معنی‌داری نداشت. کاربرد SNP تاثیر معنی‌داری بر وزن-تر، خشک، محتوای کلروفیلb و مقدار تجمع پرولین در سطح شوری ۱۲۰ میلی‌مولار داشت و محتوای پراکسیدهیدروژن و فعالیت آنزیم‌های پاداکسیدان را درگیاهان تحت تأثیر تنش‌شوری به صورت معنی‌داری کاهش داد ($P\leq ۰/۰۵$) که نهایتاً نشان-دهنده تاثیر مهم SNP بر افزایش تحمل گیاه کلزا در شرایط تنش‌شوری می‌باشد.

واژه های کلیدی: تنش‌شوری، سدیم نیتروپروساید، کلروفیل، آنزیم‌های پاداکسیدان و کلزا.

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۵۱۱۸۷۹۷۰۲۲، پست الکترونیکی: ganjeali@um.ac.ir

مقدمه

در بین تنش‌های غیرزیستی، شوری خاک یکی از مخربترین آن‌ها است. شوری به معنای حضور بیش از اندازه نمک‌های قابل حل و عناصر معدنی در محلول خاک است که منجر به تجمع نمک در ناحیه ریشه شده و گیاه را در جذب آب کافی از محلول خاک با اشکال رو به رو می‌کند (۴۶). تغییر در خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک و همچنین تغییر جمعیت ریزاندامگان خاک از اثرات بعدی شوری‌های زیاد خاک می‌باشد (۲۹). افزایش هدایت الکتریکی در خاک‌های شور باعث کاهش پایداری ساختمان خاک شده و سدیم اضافه موجود در خاک‌های شور، موجب کاهش نفوذپذیری و قابلیت دسترسی به آب می‌شود (۳۰). این تغییرات با ایجاد سمیت و برهم زدن تعادل مواد غذایی محلول، ممکن است بر رشد محصولات کشاورزی تأثیر بگذارند (۲۳). اثرات اولیه شوری بر گیاهان شامل تنش اسمزی و سمیت یونی است. تجمع زیاد یون سدیم در سیتوسل، اثرات سمی مستقیمی بر غشای سلول دارد که نتیجه آن نشت الکترولیت‌ها و اختلال در فعالیت‌های متابولیکی سلول است (۳۵). علاوه براین تولید گونه‌های واکنش‌گر اکسیژن (ROS= Reactive oxygen species) ، سبب آسیب‌های سلولی و تنش ثانویه اکسیداتیو می‌شود که منجر به اکسیداسیون درشت مولکول‌های زیستی نظیر اسیدهای نوکلئیک، لیپیدها و پروتئین‌ها و در

نهایت پیری زودرس برگ، کاهش کارایی فتوسنتز، کاهش تثبیت کربن و کاهش بازده محصول خواهد شد. بنابراین حیات سیستم در شرایط تنشی وابسته به تعادل بین تولید و سم‌زدایی گونه‌های واکنش‌گر اکسیژن به وسیله پاداکسیدان‌های مختلف است (۲۱).

در بین گیاهان زراعی، کلزا (*Brassica napus* L.) در گروه گیاهان متحمل به شوری قرار دارد (۹). علی‌رغم این که گیاهان در میزان تحمل به شوری متفاوت می‌باشند، اما در نهایت شوری سبب کاهش رشد آن‌ها خواهد شد. این کاهش به طور عمده در ارتباط با افت ظرفیت فتوسنتزی بوده که خود می‌تواند معلول کاهش در محتوای کلروفیل باشد (۵۰). اگرچه اثر عمومی شوری بر محتوای رنگدانه‌ها کاهش مقدار آن‌ها است، ولی بسته به گونه گیاهی اثر افزایشی نیز دیده شده است (۳۸). در گونه‌های مختلف سرده براسیکا (*Brassica*) نیز گزارش‌هایی از اثر افزایشی (۲۷) و کاهشی رنگیزه‌ها (۴۴) ارائه شده است.

پرولین یکی از تنظیم کننده‌های اسمزی است و به‌طور معمول در پاسخ به شرایط تنشی در بسیاری از گیاهان به مقدار زیاد تجمع می‌یابد. پس از پایان تنش شکستن سریع پرولین ممکن است خود تأمین کننده عوامل مورد نیاز فسفریلاسیون اکسیداتیو میتوکندریایی و تولید ATP برای ترمیم صدمات ناشی از تنش باشد (۱۰). در گیاهان خانواده براسیکا نیز تجمع پرولین یکی از راه‌کارهای تحمل تنش شوری عنوان شده است (۹).

یکی از اثرات مخرب تنش شوری تولید گونه‌های واکنش‌گر اکسیژن مانند پراکسیدهیدروژن (H_2O_2) در محیط سلولی است که می‌تواند به ملکول‌های زیستی، غشاءهای سلولی و رنگیزه‌های فتوسنتزی آسیب جدی وارد کرده و حتی منجر به مرگ سلول شود (۵).

گیاهان قادرند با تولید انواع ترکیبات آنزیمی پاداکسیدان نظیر سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز، گلوتاتیون‌ردوکتاز و آسکوربات پراکسیداز و ترکیبات پاداکسیدان غیر آنزیمی نظیر کاروتنوئید و آلفا توکوفرول (Alpha tocopherol) اقدام به حذف گونه‌های واکنش‌گر اکسیژن و اثر سمی آن‌ها کنند (۳۴). در ارقام مختلف کلزا نیز گزارش‌هایی مبنی بر افزایش آنزیم‌های پاداکسیدان در پاسخ به تنش شوری وجود دارد (۶ و ۱۶) .

سدیم نیتروپروساید (SNP= Sodium nitroprusside) یک ترکیب رهاکننده نیتریک اکساید (NO) است که در حالت محلول به نور حساس بوده و تجزیه آن توسط اکسیژن و دمای زیاد تسریع می‌شود (۵۲). از این ماده در پژوهش‌های زیستی به عنوان منبع نیتریک اکساید برون‌زاد استفاده می‌شود.

نیتریک اکساید (NO) یک مولکول گازی کوچک، قابل حل در آب و چربی و نسبتاً پایدار می‌باشد که به عنوان یک مولکول علامتی و یک تنظیم کننده رشد معرفی شده است. این مولکول می‌تواند بسته به غلظت، موقعیت آن در سلول گیاهی، نوع تنش، نوع گیاه و سن آن اثرات دوجانبه سمی یا حفاظتی را نشان دهد (۱۲و ۱۷).

چند مکانیسم احتمالی برای نقش حفاظتی نیتریک اکساید در مقابله با تنش‌ها عنوان شده است : ۱- نیتریک اکساید در غلظت‌های کم می‌تواند با پاک‌سازی مستقیم گونه‌های واکنش‌گر اکسیژن، مثل رادیکال سوپراکسید و جلوگیری از تشکیل رادیکال‌های بسیار سمی و مخرب هیدروکسیل، از طریق ممانعت از واکنش فنتون (Fenton reaction)، به عنوان یک پاداکسیدان عمل کند و صدمه وارد به سلول‌ها را کاهش دهد (۵۳)؛ ۲- نیتریک اکساید می‌تواند به عنوان یک مولکول علامتی عمل کند (احتمالاً به وسیله القای تغییرات ساختاری در پروتئین‌ها در نتیجه S-نیتروزیلاسیون یا نیتراسیون) و باعث تغییر در بیان ژن‌های دفاعی، آنزیم‌های پاداکسیدان (۴۷) و آنزیم‌های مسیر بیوسنتز گلوتاتیون (۲۴) شود؛ ۳- نیتریک اکساید قادر است فعالیت آنزیم متاکاسپاز- ۹ (Metacaspase 9) را مهار نموده و از این طریق مرگ برنامه ریزی شده سلول را

کنترل نماید (۱۱).

بررسی‌ها مؤید این است که نیتریک‌اکساید در شرایط تنش شوری می‌تواند با افزایش بیان ژن پادبر Na^+/K^+ در غشای پلاسمایی (۴۰) و ژن‌های H^+-ATPase و H^+-PPas واکوئلی (۵۵) و ژن H^+-ATPase غشای پلاسمایی (۵۶) که برای هموستازی یون سدیم و کسب پتاسیم مورد نیاز هستند، باعث بهبود مقاومت گیاه به شوری شود.

در زمینه تأثیر تنش شوری بر جوانه‌زنی، شاخص‌های رشد ، شاخص‌های فیزیولوژیک و بیوشیمیایی گیاه کلزا گزارش‌هایی وجود دارد اما اطلاعات در رابطه با استفاده از تنظیم کننده‌های رشد بمنظور کاهش اثرات ناشی از تنش شوری محدود است، لذا این پژوهش با هدف بررسی تأثیر سدیم نیتروپروساید بر برخی صفات مورفولوژیک و فیزیولوژیک گیاه کلزا در شرایط تنش شوری انجام شد.

مواد و روشها

بذرهای گیاه کلزا رقم مودنا (*Brassica napus* L.cv.Modena) از بانک بذر جهادکشاورزی خراسان شمالی تهیه شد و پس از ضدعفونی به‌وسیله هیپوکلریت سدیم ۰/۱ درصد در گلدان‌های پلاستیکی به قطر ۱۵ سانتی‌متر، حاوی پرلیت دانه متوسط کاشته شدند. برای هر تیمار ۳ گلدان به عنوان ۳ تکرار در نظر گرفته شد و در هر گلدان ۳ بذر کاشته شد، سپس گلدان‌ها به اتاقک رشد با دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد و طول دوره ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی منتقل شدند و به صورت یک روز در میان با محلول هوگلند کامل آبیاری شدند. ۳ هفته پس از کاشت، تنش شوری به وسیله آبیاری با هوگلند دارای نمک، شامل غلظت‌های ۰، ۱۲۰ و ۲۴۰ میلی‌مولار به صورت یک روز در میان اعمال شد. همزمان با اعمال تنش، تیمار مصرف سدیم نیتروپروساید در غلظت‌های ۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میکرومولار در محلول هوگلند به صورت هفتگی آغاز شد و ۹ هفته پس از کاشت، گیاهان در مرحله رشد رویشی بمنظور انجام بررسی‌ها برداشت شدند.

اندازه‌گیری وزن‌تر و خشک: بمنظور تعیین وزن‌تر، گیاهان از گلدان خارج شده، ریشه‌ها به دقت شسته شدند، سپس توسط ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۰۱ وزن شدند. بمنظور تعیین وزن‌خشک، گیاهان به مدت ۴۸ ساعت در آون ۷۰ درجه قرار گرفته و سپس توزین شدند.

سنجش رنگیزه‌های فتوسنتزی: بمنظور اندازه‌گیری محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی مقدار ۰/۲۵ گرم برگ با ۸ میلی‌لیتر استون ۸۰ درصد به خوبی ساییده شد، سپس محلول حاصل به مدت ۵ دقیقه در ۳۰۰۰ دور سانتریفوژ شد. محلول رویی جدا شد و با استون ۸۰ درصد به حجم ۲۵ میلی‌لیتر رسید، سپس جذب این محلول در طول موج‌های ۴۷۰، ۶۴۷ و۶۶۳ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر(Jasco Model 7800) قرائت شد (۳۱). برای محاسبه محتوای رنگیزه‌ها از معادله‌های زیر استفاده شد.

$$Chl_a\ (mg/g\ F.W.) = [(12.25A_{663}) - (2.79A_{647})] \times V/(W \times 1000)$$

$$Chl_b\ (mg/g\ F.W.) = [(21.50A_{647}) - (5.1A_{663})] \times V/(W \times 1000)$$

$$Chl_T\ (mg/g\ F.W.) = Chl_a + Chl_b$$

$$Carotenoid\ (mg/g\ F.W.) = ([(1000A_{470}) - (1.82Chl_a) - (85.02Chl_b)] / 198) \times V/(W \times 1000)$$

سنجش محتوای پرولین: برای اندازه‌گیری محتوای پرولین ۰/۲ گرم برگ در ۴ میلی‌لیتر اسید سولفوسالیسیلیک آبدار ۳ درصد(W/V) به طور کامل ساییده شد، سپس همگنای حاصل به مدت ۱۵ دقیقه در ۳۰۰۰ دور سانتریفوژ شد. ۲ میلی‌لیتر از محلول رویی با ۲ میلی‌لیتر معرف نین‌هیدرین و ۲ میلی‌لیتر اسید استیک گلاسیال در لوله‌های آزمایش مخلوط شد و به مدت ۱ ساعت در حمام آب ۱۰۰ درجه قرار گرفتند، سپس لوله‌ها به ظرف حاوی یخ منتقل شدند تا واکنش خاتمه یابد. پس از هم دما شدن لوله‌ها با دمای اتاق، ۴ میلی لیتر تولوئن به هر لوله اضافه شد و به خوبی مخلوط شد. پس از گذشت ۲۰ دقیقه جذب محلول فوقانی

در ۵۲۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (Jasco Model 7800) خوانده شد و با استفاده از منحنی استاندارد، غلظت پرولین در محلول محاسبه شد و در نهایت غلظت پرولین بر اساس میکرومول در گرم وزن‌تر نمونه گیاهی محاسبه شد (۱۰).

سنجش فعالیت آنزیم‌های پاداکسیدان: برای استخراج عصاره آنزیمی ۰/۵ گرم بافت‌تر برگ با ۱۰ میلی‌لیتر بافر فسفات پتاسیم به خوبی ساییده شد. همگنای حاصل درون میکروتیوپ ریخته شد و به مدت ۲۴ دقیقه در ۱۲۰۰۰ دور و دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفوژ شد. سپس محلول روشناور در میکروتیوپ‌های سترون توزیع شد و در فریزر ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

جهت اندازه‌گیری فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز ابتدا بافر فسفات پتاسیم ۰/۵ مولار با اسیدیته ۷/۵ تهیه شد سپس جداره ظرف به خوبی پوشانده شد و ترکیبات لازم برای تهیه مخلوط واکنش شامل EDTA ۰/۱ میلی‌مولار، NBT (نیتروبلوتترازولیوم) ۷۵ میکرومولار، متیونین ۱۳ میلی‌مولار و ریبوفلاوین ۴ میکرومولار بترتیب به بافر افزوده شدند. برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم مقدار ۱۰۰ میکرولیتر از هر نمونه در لوله آزمایش ریخته شد و ۳ میلی‌لیتر از مخلوط فوق به آن اضافه شد، سپس لوله‌ها به سرعت در معرض تابش نور لامپ فلورسنت (۴۰ وات) با فاصله ۵۰ سانتی‌متر به مدت ۱۵ دقیقه قرار گرفتند. سپس جذب این نمونه‌ها در طول موج ۵۶۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (Jasco Model 7800) خوانده‌شد و فعالیت آنزیمی بر حسب واحد آنزیم در میلی‌گرم پروتئین بیان شد. یک واحد آنزیمی سوپراکسید دیسموتاز مقدار آنزیمی در نظر گرفته شد که موجب ۵۰٪ ممانعت از احیاء نوری NBT شد (۲۲).

بمنظور اندازه‌گیری فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز مقدار ۶۰۰ میکرولیتر بافر فسفات پتاسیم ۵۰ میلی‌مولار با اسیدیته ۷ با ۱۰۰ میکرولیتر محلول EDTA، ۱ میلی‌مولار، ۱۰۰ میکرولیتر آسکوربات ۵ میلی‌مولار و ۱۰۰ میکرولیتر پراکسید هیدروژن ۰/۱ میلی‌مولار در حمام یخ با یکدیگر مخلوط شدند و بلافاصله ۱۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی به آن افزوده شد و منحنی تغییرات جذب در ۲۹۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (Shimadzu uv-120-02) به مدت ۳ دقیقه در فواصل زمانی ۳۰ ثانیه رسم شد و فعالیت آنزیم بر حسب تغییر جذب در دقیقه به ازای ۱ میلی‌گرم پروتئین محاسبه شد (۳۶).

سنجش محتوای پراکسید هیدروژن: بمنظور اندازه‌گیری محتوای پراکسید هیدروژن، ۰/۵ گرم بافت تر برگ با ۵ میلی‌لیتر تری کلرو استیک اسید ۱ درصد (W/V) در حمام یخ کاملاً ساییده و همگن شد. همگنای حاصل به مدت ۱۵ دقیقه در ۱۲۰۰۰ دور سانتریفوژ شد. سپس ۰/۵ میلی‌لیتر از محلول روشناور به لوله آزمایش منتقل و به آن ۰/۵ میلی-لیتر بافر فسفات پتاسیم ۱۰ میلی‌مولار با اسیدیته ۷ و ۱ میلی‌لیتر یدید پتاسیم ۱ مولار اضافه شد (تمام مراحل در حمام یخ انجام شد) سپس جذب نمونه‌ها در طول موج ۳۹۰ نانومتر به کمک دستگاه اسپکتروفتومتر (Jasco Model 7800) تعیین شد و براساس منحنی استاندارد پراکسید هیدروژن غلظت آن در نمونه‌ها بر حسب میکرومول به گرم وزن‌تر برگ محاسبه شد (۷).

تجزیه تحلیل آماری داده‌ها: این تحقیق در قالب یک طرح فاکتوریل کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها به کمک نرم‌افزار SPSS16 و براساس آزمون دانکن انجام شد. بعد از مشخص شدن معنی‌دار بودن اختلاف بین میانگین‌ها، برای رتبه‌بندی آن‌ها از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح معنی‌داری $P\leq ۰/۰۵$ استفاده شد.

نتایج

وزن تر و خشک: بر اساس نتایج حاصل از مقایسه میانگین‌ها، وزن‌تر گیاه در تمام سطوح شوری در مقایسه با تیمار شاهد کاهش معنی‌داری نشان داد، به طوری‌که

کم‌ترین وزن‌تر گیاه در شوری ۲۴۰ میلی‌مولار مشاهده شد (جدول۱). تأثیر برهم‌کنش شوری و SNP بر وزن‌تر گیاه تنها در تنش ۱۲۰ میلی‌مولار نمک و غلظت ۲۰۰ میکرومولار SNP نسبت به تیمار شوری به تنهایی معنی‌دارشد (P≤۰/۰۵) (جدول۱).

بر اساس نتایج حاصل از مقایسه میانگین‌ها کاهش وزن خشک تنها در شوری ۲۴۰ میلی‌مولار در مقایسه با شاهد معنی‌دار بود (جدول۱). تأثیر برهم‌کنش شوری و SNP بر وزن خشک گیاه نیز تنها در سطح شوری ۱۲۰ میلی‌مولار و غلظت ۱۰۰ میکرومولار SNP در مقایسه با شاهد افزایش معنی‌دار نشان داد (P≤۰/۰۵) (جدول۱).

رنگیزه‌های فتوسنتزی: با توجه به جدول ۱ تنش شوری تأثیر معنی‌داری بر محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی نداشت. کاربرد سدیم نیتروپروساید نیز فقط بر محتوای کلروفیلb در سطح تنش ۱۲۰ میلی‌مولار مؤثر واقع شد و در سایر سطوح تنش و بر محتوای رنگیزه‌های دیگر از جمله کلروفیلa و کاروتنوئیدها اثر معنی‌داری نداشت (P≤۰/۰۵) (جدول ۱).

جدول ۱- مقایسه میانگین اثر شوری و تیمار SNP بر وزن‌تر، خشک ومحتوای رنگیزه‌ها

سطوح شوری(mM)	سطوح SNP(µM)	وزن‌تر (g)	وزن خشک (g)	کلروفیلa (mg/g leaf)	کلروفیلb (mg/g leaf)	کاروتنوئید (mg/g leaf)
۰	۰	۷۰/۳۲±۶/۰۱^{a}	۵/۲۶±۰/۵۶^{abc}	۰/۹۵±۰/۲۱^{ab}	۰/۴۳±۰/۱۰^{bc}	۲۶/۷۱±۴/۷۸^{a}
	۱۰۰	۶۷/۵۵±۵/۲۵^{ab}	۵/۸۰±۰/۲۶^{ab}	۰/۶۴±۰/۲^{b}	۰/۲۹±۰/۹۲^{c}	۱۷/۹۵±۵/۸۳^{a}
	۲۰۰	۷۵/۸۵±۲/۱۳^{a}	۶/۰۸±۰/۴۷^{a}	۰/۹۳±۰,۴^{ab}	۰/۴۰±۰/۱۵^{bc}	۲۶/۴۳±۱۱/۰۶^{a}
۱۲۰	۰	۴۹/۸۳±۵/۰۵^{de}	۴/۶۷±۰/۷۵^{bcd}	۱/۴۵±۰/۲^{a}	۰/۶۰±۰/۱۰^{b}	۲۷/۵۲±۲/۵۸^{a}
	۱۰۰	۵۵/۹۸±۴/۵۳^{cd}	۶/۰۴±۰/۲۹^{a}	۱/۳۵±۰/۲۹^{a}	۰/۹۶±۰/۰۶^{a}	۲۴/۱۶±۵/۶۰^{a}
	۲۰۰	۵۹/۸۴±۵/۲۲^{bc}	۵/۸۲±۱/۰۹^{ab}	۱/۱۲±۰/۲۳^{ab}	۱/۱۰±۰/۱۱^{a}	۱۹/۸۳±۳/۸۱^{a}
۲۴۰	۰	۳۹/۱۴±۵/۵۳^{f}	۳/۸۴±۰/۵۲^{d}	۱/۰۴±۰/۲۶^{ab}	۰/۴۱±۰/۱۰^{bc}	۱۷/۷۲±۳/۴۴^{a}
	۱۰۰	۴۶/۶۴±۰/۸۴^{ef}	۴/۸۷±۰/۱۴^{bcd}	۱/۱۷±۰/۳۳^{ab}	۰/۴۵±۰/۱۳^{bc}	۲۱/۱۲±۶/۷۰^{a}
	۲۰۰	۴۲/۷۸±۶/۹۵^{ef}	۴/۴۰±۰/۷۸^{cd}	۱/۳۵±۰/۳۱^{a}	۰/۵۱±۰/۱۲^{b}	۲۳/۵۹±۵/۲۴^{a}

داده‌ها به‌صورت میانگین ± انحراف نمایش داده شده است. حروف a-f نشان دهنده معنی‌دار بودن تفاوت میانگین‌ها با استفاده از آزمون دانکن در سطح P<۰/۰۵ می‌باشد.

پرولین: با افزایش سطح تنش شوری محتوای پرولین برگ‌ها به صورت معنی‌دار افزایش یافت. کاربرد غلظت‌های مختلف سدیم نیتروپروساید تنها در سطح تنش ۱۲۰ میلی‌مولار و غلظت ۱۰۰ میکرومولار SNP در مقایسه با شاهد معنی‌دار بود (P≤۰/۰۵) (جدول ۲).

آنزیم‌های پاد اکسیدان: میزان فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در پاسخ به تنش شوری افزایش یافت که این افزایش تنها در سطح تنش ۲۴۰ میلی‌مولار معنی‌دار بود. کاربرد همزمان سدیم نیتروپروساید منجر به کاهش فعالیت این آنزیم شد که تنها در سطح تنش ۲۴۰ میلی‌مولار اثر معنی‌دار نشان داد. (P≤۰/۰۵) (جدول ۲).

میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در پاسخ به سطوح مختلف تنش شوری افزایش یافت که در سطح معنی‌دار نبود اما کاربرد همزمان سدیم نیتروپروساید منجر به کاهش فعالیت این آنزیم شد که این کاهش فعالیت تنها در سطح تنش ۲۴۰ میلی‌مولار در سطح معنی‌دار بود (P≤۰/۰۵) (جدول ۲).

جدول ۲- مقایسه میانگین اثر شوری و تیمار SNP برمحتوای پرولین، پراکسید هیدروژن و فعالیت آنزیم‌های پاداکسیدانی

سطوح شوری(mM)	سطوح SNP(µM)	پرولین (µmol/g leaf)	سوپراکسیددیسموتاز Umg^{-1}(protein)	آسکوربات‌پراکسیداز Umg^{-1}(protein)	پراکسیدهیدروژن (µmol/g leaf)
	۰	۵/۵۲±۰/۸۱^{d}	۲۶/۹۱±۴/۱۵^{b}	۷/۹۳±۰/۵۲^{ab}	۲۷/۱۸±۰/۹۰^{e}
۰	۱۰۰	۲۶/۸۳±۶/۹۵^{d}	۳۴/۱۴±۳/۳۰^{b}	۸/۸۰±۸/۸۰^{a}	۲۱/۳۹±۲/۱۷^{f}
	۲۰۰	۲۹/۶۶±۸/۹۳^{d}	۲۵/۵۵±۳/۴۸^{b}	۵/۶۴±۱/۰۱^{bcd}	۱۸/۷۸±۲/۱۷^{f}
	۰	۱۴۸/۲۳±۲۴/۲۷^{c}	۳۰/۴۲±۷/۳۳^{b}	۷/۵۲±۱/۳۹^{abc}	۴۸/۴۹±۳/۳۲^{b}
۱۲۰	۱۰۰	۲۰۳/۱۶±۴/۳۴^{b}	۲۱/۷۵±۲/۵۴^{b}	۴/۸۶±۱/۴۲^{cd}	۳۱/۶۸±۲/۲۳^{cde}
	۲۰۰	۱۷۳/۸۵±۳۴/۹۹^{bc}	۳۳/۲۱±۶/۲۴^{b}	۶/۶۰±۱/۴۱^{abcd}	۲۸/۷۸±۰/۴۳^{de}
	۰	۳۶۰/۲۵±۳۳/۶۴^{a}	۶۱/۶۳±۱۳/۹۸^{a}	۹/۰۷±۱/۳۷^{a}	۵۴/۴۳±۶/۷۹^{a}
۲۴۰	۱۰۰	۳۹۹/۲۵±۲۲/۳۰^{a}	۲۸/۴۷±۱۲/۴۷^{b}	۴/۵۸±۲/۳۸^{d}	۳۶/۶۰±۳/۰۴^{c}
	۲۰۰	۴۰۷/۱۱±۵۵/۲۷^{a}	۲۵/۲۳±۲/۳۵^{b}	۴/۸۸±۲/۱۱^{cd}	۳۴±۱/۸۹^{cd}

داده‌ها به‌صورت میانگین ± انحراف نمایش داده شده است. حروف a-f نشان دهنده معنی‌دار بودن تفاوت میانگین‌ها با استفاده از آزمون دانکن در سطح $P<۰/۰۵$ می‌باشد.

پراکسید هیدروژن: محتوای پراکسید هیدروژن در برگ‌های گیاهان مورد بررسی با افزایش سطح تنش شوری به صورت معنی‌داری افزایش یافت که نشان دهنده بروز تنش ثانویه اکسیداتیو در این گیاهان می‌باشد. کاربرد سدیم نیتروپروساید در همه سطوح تنش منجر به کاهش معنی‌دار پراکسید هیدروژن شد اما اختلاف معنی‌داری بین کاربرد غلظت‌های مختلف این ماده وجود نداشت ($P\leq۰/۰۵$) (جدول ۲).

بحث

با توجه به نتایج حاصل از این مطالعه وزن‌تر و خشک گیاه با افزایش سطح تنش شوری کاهش یافت. اثرات منفی شوری بر رشد گیاه به علت پتانسیل اسمزی پایین محلول خاک، اثرات ویژه یونی، عدم تعادل عناصر غذایی یا مجموعه‌ای از این عوامل ایجاد می‌شود (۲۸). افزایش سطح شوری همچنین می‌تواند منجر به کاهش فتوسنتز شود که این امر می‌تواند نتیجه هدایت روزنه‌ای کمتر، حذف مراحل متابولیکی خاص در جذب کربن، کاهش ظرفیت فتوسنتزی، عدم شکل‌گیری کامل و صحیح کلروپلاست، عدم ثبات کمپلکس‌های پروتئینی رنگدانه‌ای، به هم ریختن ساختمان کلروفیل و تغییراتی در تعداد و ترکیب کاروتنوئیدها باشد (۹)، در نتیجه کاهش وزن گیاه مورد انتظار است. از سوی دیگر بمنظور حفظ آماس سلولی و تنظیم اسمزی در شرایط تنش شوری، گیاهان مواد خاصی مانند پرولین، مانیتول و غیره را می‌سازند و به خاطر صرف انرژی زیاد جهت تنظیم اسمزی، رشد اندام‌های هوایی کاهش می‌یابد (۳۹).

برهم‌کنش شوری و SNP نیز در سطح شوری ۱۲۰ میلی‌مولار تأثیر معنی‌داری بر وزن‌تر و خشک گیاهان کلزا داشت که امر می‌تواند به دلیل افزایش محتوای کلروفیلb، پرولین و کاهش پراکسیدهیدروژن در این گیاهان در مقایسه با گیاه شاهد باشد. در این رابطه افزایش وزن خشک کلوئوپتیل گیاهچه‌های گندم (*Triticum aestivum*) به وسیله کاربرد غلظت ۰/۱ میلی‌مولار SNP تحت شرایط تنش شوری (۳۰۰ میلی‌مولار) گزارش شده است که علت آن به افزایش سرعت تنفس، مقدار ATP، افزایش نسبت K^{+}/Na^{+}، و کاهش مقدار پراکسیدهیدروژن نسبت داده شده است (۵۷). تیمار با غلظت ۱۰۰ میکرومولار SNP در گیاه خیار (*Cucumis sativus*) در شرایط تنش شوری (۵۰ میلی‌مولار) نیز توانست باعث افزایش وزن‌تر و خشک ریشه و بخش هوایی این گیاه شود که با افزایش فعالیت

آنزیم پیرولین-۵-دکربوکسیلات سنتتاز (آنزیمی که در مسیر بیوسنتز پرولین دخالت دارد) و کاهش فعالیت آنزیم پرولین دهیدروژناز (آنزیم مؤثر در تجزیه پرولین) همراه بود (۱۸).

نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد تنش شوری تأثیر معنی‌داری بر محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی نداشت. برخی محققین گزارش‌هایی مبنی بر کاهش رنگیزه‌های فتوسنتزی در شرایط تنش شوری در ارقام کلزا ارائه داده‌اند به گونه‌ای که این کاهش در ارقام مقاوم‌تر، کمتر بوده است (۲). محققین دیگر گزارش‌هایی مبنی افزایش رنگیزه‌های فتوسنتزی در گیاهان کلزا در شرایط تنش شوری ارائه نموده‌اند (۲۶) و حتی گزارش‌هایی مبنی بر عدم تأثیر تنش شوری بر محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی ارقام کلزا ارائه شده است (۱). به نظر می‌رسد در ارقام مقاوم کلزا افزایش رنگیزه‌های فتوسنتزی یکی از راه‌کارهای گیاه برای حفظ شدت فتوسنتز و مقابله با اثرات منفی تنش شوری باشد. تفاوت‌های مشاهده شده در میزان سنتز کلروفیل در گیاهان مختلف در هنگام شوری نتیجه عملکرد مسیرهای مختلف سنتز کلروفیل می باشد که با آنزیم‌های متفاوت همراه بوده و این آنزیم‌ها نیز پاسخ های متفاوتی به شوری می‌دهند (۲۵).

کاربرد SNP در سطح شوری ۱۲۰ میلی‌مولار توانست باعث افزایش کلروفیلb در مقایسه با گیاه شاهد شود. احتمالاً SNP به عنوان ماده رهاکننده نیتریک اکساید، توانسته است به دلیل خواص پاداکسیدانی از تجزیه کلروفیل جلوگیری کرده و با افزایش پایداری کلروپلاست‌ها به افزایش کلروفیل در گیاهان تحت تنش کمک نماید. و از آن جا که حساسیت کلروفیلb نسبت به کلروفیلa در شرایط تنش کمتر است کاربرد SNP تأثیر بیشتری بر محتوای این نوع کلروفیل داشته است. در این رابطه مطالعه صورت گرفته بر روی گیاهان آرابیدوپسیس (*Arabidopsis thaliana*) جهش‌یافته دچار کمبود NO (*nos1/noa1*) نشان می‌دهد که نیتریک اکساید یک تنظیم کننده منفی مسیر تجزیه کلروفیل بوده (به وسیله ممانعت از فعالیت آنزیم کلروفیلاز) و دارای عملکردی مثبت در حفظ ثبات غشاهای تیلاکوئیدی در طی فرآیند پیری برگ است (۳۳). بررسی اثر کاربرد SNP با غلظت ۲۰۰ میکرومولار در برهم‌کنش با تنش شوری در گیاه خردل (*Brassica juncea* L.) نشان داد کاربرد این ماده منجر به افزایش محتوای کلروفیل در مقایسه با گیاه شاهد شد (۳۷). گزارشات متعدد دیگری نیز اثر مثبت SNP بر محتوای کلروفیل گیاهان تحت تنش شوری را آشکار ساخته است (۱۲، ۳۲ و ۳۷).

پرولین آمینواسیدی است که می‌تواند مانند یک مولکول تنظیمی و علامتی مقاومت گیاهان تحت تنش شوری را افزایش دهد (۸). در گیاهان تیره چلیپائیان نیز تجمع پرولین یکی از راه‌کارهای مقابله با تنش شوری عنوان شده است (۹). در بین ارقام مختلف کلزا ارقام دارای مقاومت بیشتر به تنش شوری قادر به تجمع مقادیر بالاتری از اسید آمینه پرولین می‌باشند (۱۶). در این بررسی نیز محتوای پرولین برگ‌های کلزا با افزایش سطح تنش شوری افزایش معنی‌داری نشان داد که می‌تواند به دلیل افزایش تولید آن برای مقابله با اثرات منفی شوری باشد.

SNP نیز در سطح شوری ۱۲۰ میلی‌مولار توانست مقدار تجمع پرولین را افزایش دهد که می‌تواند به دلیل اثر این ماده به عنوان یک مولکول علامتی بر بیان ژن‌ها و یا فعالیت آنزیم‌ها باشد. در این زمینه گزارش شده است که تیمار گیاه خیار با غلظت ۱۰۰ میکرومولار SNP باعث افزایش فعالیت آنزیم پیرولین- ۵- دکربوکسیلات سنتتاز و کاهش فعالیت آنزیم پرولین دهیدروژناز شده است (۱۹). کاربرد SNP در غلظت ۰/۱ میلی‌مولار بر روی گیاه گندم در شرایط تنش شوری توانست باعث افزایش تجمع پرولین در برگ گیاهچه‌های گندم شود در این بررسی مشخص شد که نیتریک اکساید به عنوان مولکول علامتی

احتمالاً پایین‌دست مسیر علامت رسانی ABA عمل کرده و تولید پرولین را تحریک می‌کند (۴۲). کاربرد غلظت ۲۵ میکرومولار SNP در شرایط تنش‌خشکی نیز باعث افزایش محتوای پرولین در ریشه و برگ‌های گیاه کلزا شد (۴). گیاهان طیف وسیعی از تنش‌های محیطی را که درنهایت منجر به بروز تنش اکسیداتیو می‌شود، درک می‌کنند. در شرایط تنش، عدم توازن بین فرآیند جذب انرژی و مصرف آن توسط اندام فتوسنتزی باعث تولید گونه‌های واکنش‌گر اکسیژن و ناتوانی گیاه در مهار آن می‌شود که در نهایت منجر به بروز تنش در غشای سلول و علایم ناشی از صدمات اکسیداتیو خواهد شد (۱۵). پراکسید هیدروژن یکی از انواع گونه‌های واکنش‌گر اکسیژن می‌باشد که مقدار آن عموماً در برگ‌های گیاهانی که تحت تأثیر تنش شوری بوده‌اند افزایش نشان می‌دهد (۴۳ و ۲۰).

گیاهان با تولید انواع ترکیبات پاداکسیدان آنزیمی و غیر-آنزیمی اقدام به حذف گونه‌های واکنش‌گر اکسیژن و اثر سمی آن‌ها می‌کنند (۳۴).

در این بررسی نیز با بروز تنش شوری و افزایش سطح تنش، مقدار پراکسیدهیدروژن به میزان معنی‌داری افزایش یافت. محتوای پراکسیدهیدروژن که یکی از انواع گونه‌های واکنش‌گر اکسیژن می‌باشد عموماً در برگ‌های گیاهانی که تحت تأثیر تنش شوری بوده‌اند افزایش می‌یابد و به عنوان نشانه‌ای از بروز تنش اکسیداتیو تلقی می‌شود (۲۰). اما در سال‌های اخیر گزارش شده است که پراکسیدهیدروژن به عنوان یک کلید تنظیمی در فرآیندهای فیزیولوژیکی مانند پیری، تنفس نوری، فتوسنتز، حرکات روزنه‌ای، چرخه سلولی و رشد و نمو نیز عمل می‌کند (۱۵ و ۴۱).

فعالیت آنزیم‌های پاداکسیدان، سوپراکسید دیسموتاز و آسکوربات پراکسیداز نیز در پاسخ به تنش شوری افزایش نشان داد که این افزایش در سطح تنش ۲۴۰ میلی‌مولار بیشتر بود و خود نشان دهنده وجود تنش اکسیداتیو و تولید بیشتر گونه‌های واکنش‌گر اکسیژن در محیط سلول‌های برگ می‌باشد در چنین شرایطی گیاه با افزایش فعالیت آنزیم‌های پاداکسیدان با اثرات منفی ناشی از تنش اکسیداتیو مقابله می‌کند. در شرایط تنش شوری عدم توازن بین جذب انرژی و مصرف آن توسط اندام فتوسنتزی باعث تولید انواعی از گونه‌های واکنش‌گر اکسیژن و ناتوانی گیاه در مهار آن، و در نهایت بروز تنش در غشاهای سلولی و بروز علایم ناشی از صدمات اکسیداتیو در گیاه می‌شود (۱۵). فرآیند تنفس نوری نیز از دیگر فرآیندهای مهم تولید کننده گونه‌های واکنش‌گر اکسیژن در گیاهان C_3 است. با قرارگیری گیاهان C_3 در شرایط تنش شوری فرآیند تنفس نوری به طور معنی‌داری افزایش می‌یابد (۲۱). افزایش تولید گونه‌های واکنش‌گر اکسیژن در فرآیند تنفس نوری ناشی از افزایش فعالیت اکسیژنازی روبیسکو در شرایط تنش شوری است (۴۹). افزایش مقدار رادیکال‌های آزاد باعث می‌شود تا گیاه برای کاهش اثرات سمی ناشی از تنش اکسیداتیو حاصل از تنش‌شوری مکانیسم‌های متنوعی را فعال کند. در این شرایط میزان پاداکسیدان‌ها افزایش یافته و آنزیم‌های مهار کننده گونه‌های واکنش‌گر اکسیژن در جهت کاهش اثرات سمی ناشی از تنش اکسیداتیو حاصل از تنش شوری افزایش پیدا می‌کنند (۳).

نتایج حاصل نشان داد کاربرد SNP منجر به کاهش تجمع پراکسیدهیدروژن و فعالیت آنزیم‌های پاداکسیدانی نظیر سوپراکسید دیسموتاز و آسکوربات پراکسیداز، در برگ گیاهان تحت تأثیر تنش شوری شد.

نیتریک اکساید دارای خواص پاداکسیدانی بوده و می‌تواند با رادیکال سوپراکسید یا پراکسیدهیدروژن واکنش دهد و منجر به تولید پراکسی نیتریت شود، ماده‌ای که سمیت کمتری نسبت به پراکسیدها داشته و آسیب‌های سلولی را کاهش می‌دهد (۴۵). شواهدی نیز مبنی بر کاهش تولید گونه‌های واکنش‌گر اکسیژن در محیط سلولی بدون افزایش فعالیت آنزیم‌های پاداکسیدان در گیاهان تحت تنش در پاسخ به تیمار با سدیم نیتروپروساید وجود دارد که این امر

می‌تواند به توانایی نیتریک اکساید در پاک‌سازی مستقیم گونه‌های واکنش‌گر اکسیژن از محیط سلول از طریق واکنش با آن‌ها مربوط باشد. این نتیجه در گیاه جو (*Hordeum vulgare*) و سیب‌زمینی (*Solanum tuberosum*) با کاربرد غلظت‌های ۱ میکرومولار تا ۱ میلی‌مولار SNP در شرایط تنش اکسیداتیو به دست آمده‌است (۱۳ و ۱۴). کاربرد غلظت ۲۰۰ میکرومولار SNP در محیط کالوس گیاه پنبه (*Gossypium hirsutum*) در شرایط تنش شوری (۲۵۰ میلی‌مولار) نیز منجر به کاهش فعالیت آنزیم‌های پاداکسیدان شد (۵۱). همچنین در برخی پژوهش‌ها افزایش مقاومت گیاه به تنش ناشی از فلزات سنگین از طریق کاهش فعالیت آنزیم‌های پاداکسیدان در پاسخ به تیمار با سدیم نیتروپروساید حاصل شده است (۵۴ و ۴۸).

نتیجه گیری

در این بررسی تیمار گیاهان تحت تنش شوری با سدیم نیتروپروساید منجر به افزایش وزن‌تر و خشک در سطح شوری ۱۲۰ میلی‌مولار و افزایش محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی شد اما این افزایش فقط در محتوای کلروفیل b معنی‌دار شد. سطح پرولین برگ‌ها نیز با کاربرد سدیم نیتروپروساید افزایش نشان داد که در سطح شوری ۱۲۰ میلی‌مولار معنی دار بود. همچنین در گیاهان تیمار شده با سدیم نیتروپروساید میزان تولید پراکسیدهیدروژن و فعالیت آنزیم‌های پاداکسیدان کاهش یافت که نشان دهنده اثر این تیمار بر کاهش تنش ثانویه اکسیداتیو می‌باشد.

نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد تیمار با سدیم نیتروپروساید در گیاهان کلزای تحت تنش شوری به دلیل آزاد کردن نیتریک اکساید که یک ملکول علامتی بوده و دارای خواص پاداکسیدانی است تا حدودی باعث القای سازگاری‌های مناسب برای ایجاد درجاتی از تحمل به تنش شد.

از این مطالعه و سایر پژوهش‌های مشابه می‌توان نتیجه گرفت که نیتریک اکساید می‌تواند احتمالاً از طریق کاهش تجمع گونه‌های واکنش‌گر اکسیژن، افزایش تجمع پرولین و سایر ترکیبات با وزن ملکولی پایین که به عنوان تعدیل کننده اسمزی عمل می‌کنند و همچنین تعدیل فتوسنتز مقاومت گیاهان تحت شرایط تنش شوری را بدون افزایش فعالیت آنزیم‌های پاداکسیدان، نسبت به شرایط تنش بهبود دهد.

سپاسگزاری

هزینه‌های اجرای این پروژه از محل اعتبارات متمرکز معاونت پژوهشی دانشگاه‌فردوسی‌مشهد (کد طرح ۳۰۱۲۹) تامین شده است که بدین وسیله تشکر و سپاسگزاری می شود.

منابع

۱- آذری، آ.، مدرس ثانوی، س.، عسگری، ح.، قناتی، ف.، ناجی، ا و علیزاده، ب. ۱۳۹۱. اثر تنش شوری بر صفات مورفولوژیک و فیزیولوژیک دو گونه کلزا و شلغم روغنی (*Brassica napus* and *B. rapa*). مجله علوم زراعی ایران. ۱۴(۲): ۱۳۵-۱۲۱.

۲- عمو آقایی، ر.، قربان نژاد نی ریزی، ه و مستأجران، ا. ۱۳۹۳. بررسی اثر شوری بر رشد گیاهچه، میزان کلروفیل، محتوای نسبی آب و پایداری غشا در دو رقم کلزا. مجله پژوهشهای گیاهی. ۲۷(۲): ۲۶۸-۲۵۶.

۳- کافی، م.، کامـــکار، ب. و مهدوی دامغانی، ع. ۱۳۸۲. واکنش گیاهان زراعی به محیط رشد (ترجمه). انتشارات د انشگاه فردوسی مشهد. ۲۹۷ص.

۴- نیک روش، م.، خلدبرین، ب.، نژادستاری، ط و نجفی، ف. ۱۳۹۵. اثر سدیم نیتروپروساید (SNP) بر برخی عوامل فیزیولوژیکی گیاه کلزا (*Brassica napus* L.) **تحت تنش خشکی**. مجله پژوهشهای گیاهی. ۲۹(۳): ۶۵۸-۶۴۴.

5- Abdul Jaleel, C., Riadh, K., Gopi, R., Manivannan, P., Ines, J., Al-Juburi, H.J., Chang-

Xing, Z. and Panerselvam, R. 2009. Antioxidant defense responses: physiological plasticity in higher plants under abiotic constrains. Acta Physiologia Plantarum 31: 427-436.

6- Abili, J and Zare, S. 2014. Evaluation of antioxidant enzymes activity in canola under salt stress. International Journal of Farming and Allied Sciences. 3(7): 767-771.

7- Alexieva, V., Sergiev, I., Mapelli, S., and Karanov, E. 2001. The effect of drought and ultraviolet radiation on growth and stress markers in pea and wheat. Plant, Cell and Environment. 24: 1337-1344.

8- Ali, G., Srivastava, P.S, and Iqbal, M. 1999. Proline accumulation, protein pattern and photosynthesis in regenereants grown under NaCl stress. Biologia Plantarum. 42: 89-95.

9- Ashraf, M. and T, McNeilly. 2004. Salinity tolerance in *Brassica* oilseeds. Critical Reviews in Plant Sciences. 23(2): 157-174.

10- Bates, L.S., Waldren, R.P. and Teare, I.K. 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. Plant Soil. 39: 205–208.

11- Belenghi, B., Romero-Puertas, M.C., Vercammen, D., Brackenier, A., Inze, D., Delledonne, M. and Van Breusegem, F. 2007. Metacaspase activity of *Arabidopsis thaliana* is regulated by S-nitrosylation of a critical cysteine residue. Biological Chemistry. 282: 1352-1358.

12- Beligni, M.V. and Lamattina, L. 1999. Is nitric oxide toxic or protective? Trends in. Plant Sciences. 4: 299-300.

13- Beligni, M., Fath, A., Bethke, P.C., Lamattina, L., Jones, R. 2002. Nitric oxide acts as an antioxidant and delays programmed cell death in barley aleuron cells. Plant Physiology. 129: 1642–1650.

14- Beligni, M., Lamattina, L., 2002. Nitric oxide interferes with plant photooxidative stress by detoxifying reactive oxygen species. Plant Cell Environ. 25: 737-748.

15- Blokhina, O., Violainen, E. and Fagerstedt, K.V. 2003. Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress: a review. Annals of Botany. 91: 179–194.

16- Bybordi, A., S.J, Tabatabaei and Ahmedov, A. 2010. The influence of salinity stress on antioxidant activity in canola cultivars (*Brassica napus* L.). Journal of Food, Agriculture & Environment. 8(1): 122–127.

17- Del Rio, L. A., Corpas, F. J. and Barroso, J.B. 2004. Nitric oxide and nitric oxide synthase activity in plants. Phytochemistry. 65: 783-792.

18- Fan, H.F, Du, C.X., and Guo, S.R. 2012. Effect of nitric oxide on proline metabolism in cucumber seedlings under salinity stress. Journal of the American Society for Horticultural Science. 137:127–133.

19- Fan, H.F., Du, C.X., Ding, L., and Xu, Y.L. 2013. Effects of nitric oxide on the germination of cucumber seeds and antioxidant enzymes under salinity stress. Acta Physiologiae Plantarum. 35: 2707-2719.

20- Fedina, I. S., Grigorova, I. D. and Georgieva, K. M. 2003. Response of barley seedlings to UV-B radiation as affected by NaCl. Journal of Plant Physiology. 160: 205-208.

21- Foyer, C.H. and Noctor, G. 2000. Oxygen processing in photosynthesis: regulation and Signaling. New Phytologist. 146: 59–388.

22- Giannopolitis, C. and Ries, S. 1977. Super oxid dismutase: I. Occurrence in higher plant. Plant Physiology. 59:309-314.

23- Hafsi1, C., Lakhdhar1, A., Rabhi1, M., Debez, A., Abdelly1, C. and Ouerghi, Z. 2007. Interactive effects of salinity and potassium availability on growth, water status, and ionic composition of *Hordeum maritimum*. Journal of Plant Nutrition and Soil Science, 170: 469-473.

24- Innocenti, G., Pucciariello, C., Le Gleuher, M., Hopkins, J., de Stefano, M,. Delledonne, M., Puppo, A., Baudouin, E. and Frendo, P. 2007. Glutathione synthesis is regulated by nitric oxide in *Medicago truncatula* roots. Planta .225: 1597–1602.

25- Iyengar, E.R.R. and Reddy, M.P. 1996. Photosynthesis in highly salt-tolerant plants. In: Pessarakli, M. (eds). Handbook of photosynthesis. Chapman and Hall, London. pp: 897-909.

26- Jamil, M., Lee, C. C., Rehman, S. U., Lee, D. B., Ashraf, M. and Rha, E. S. 2005. Salinity (NaCl) tolerance of *Brassica* species at germination and early seedling growth. Electronic Journal of Environmental, Agricultural and Food Chemistry. 4: 970-976.

27- Jamil, M., Rehman, S. H. and Rha, E. S. 2007. Salinity effect on plant growth, PSII photochemistry and chlorophyll content in sugar beet (*Beta Vulgaris* L.) and cabbage (*Brassica Oleracea Capitata* L.). Pakistan Journal of Botany. 39: 753-760.

28- Khan, M. A., Shirazi, M. U., Khan, M. A.,

Mujtaba, S. M., Islam, E., Mumtaz, S., Shereen, A,. Ansari R. U. and. Ashraf. M. Y. 2009. Role of proline, K^+/Na^+ ratio and chlorophyll content in salt tolerance of wheat. Pakistan Journal of Botany. 41(2): 633- 638.

29- Lakhdar, A., Rabhi, M., Ghnaya, T., Montemurro, F., Jedidi, N. and Abdelly, C. 2009. Effectiveness of compost use in salt-affected soil. Hazardous Materials. 171: 29-37.

30- Lauchli, A., Epstein, E. 1990. Plant responses to saline and sodic conditions. agricultural salinity assessment and management. American Society of Civil Engineers, New York, 71:113-137.

31- Lichtenthaler, H.K. 1987. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. Methods in Enzymology. 148: 350-382.

32- Liu, Y., Wu, R., Wan, Q., Xie, G. and Bi, Y. 2007. Glucose-6-phosphate dehydrogenase plays a pivotal role in nitric oxide-involved defense against oxidative stress under salt stress in red kidney bean roots. Plant Cell Physiology. 48: 511–522.

33- Liu, F., and Guo, F.Q. 2013. Nitric oxide deficiency accelerates chlorophyll breakdown and stability loss of thylakoid membranes during dark-induced leaf senescence in arabidopsis. Plos One. 8(2): 1-12.

34- Meloni, D. A., M. A. Oliva, C. A. Martinez and J. Cambraia. 2003. Photosynthesis and activity of superoxide dismutase, peroxidase and glutathione reductase in cotton under salt stress. Brazilian Journal of Plant Physiology. 15(2): 12-21.

35- Munns, R., James, R.A., and Lauchli, A.2006. Approaches to increasing the salt tolerance of wheat and other cereals. Journal of Experimental Botany. 57: 1025-1043.

36- Nakano, Y. and Asada, K. 1981. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. Plant Cell Physiology. 22: 867-880.

37- Nasir Khan, M., Siddiqui, M.H., Mohammad, F., and Ghauri N. 2012. Interactive role of nitric oxide and calcium chloride in enhancing tolerance to salt stress. Nitric Oxide. 27: 210–218.

38- Parida, A. K. and Das, A. B. 2005. Salt tolerance and salinity effects on plants: a review. Ecotoxicology and Environmental Safety. 60: 324-349.

39- Penuelas, J., Isla, R., Filella, I., and Araus, J.L. 1997. Visible and near- infrared reflectance assessment of salinity effects on barley. Crop Science. 37: 198-202.

40- Qiao, W., and Fan, L.M. 2008. Nitric oxide signaling in plant responses to abiotic stresses. Integrative. Plant Biology. 50(10): 1238–1246.

41- Quan, L.J., Zhang, B., Shi, W.W., and Li, H.Y. 2008. Hydrogen peroxide in plants: a versatile molecule of the reactive oxygen species network. Journal of Integrative Plant Biology. 50: 2–18.

42- Ruan, H.H., Shen, W.B., and Xu, L.L. 2004. Nitric oxide modulates the activities of plasma membrane ATPase and PPase in wheat seedling roots and promotes the salt tolerance against salt stress. Acta Botanica Sinica. 46: 415–422.

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

44- Shah, S. H. 2007. Effects of salt stress on mustard as affected by gibberellic acid application. General and applied. Plant Physiology. 33: 97-106.

45- Scheel, D. 1998. Resistance response physiology and signal transduction. Current Opinion in Plant Biology. 1: 305–310.

46- Shannon, M. C. and Grieve, C. M. 1998. Tolerance of vegetable crops to salinity. Scientia Horticulturae. 78: 5-38.

47- Shi, S., Wang, G., Wang, Y., Zhang, L. and Zhang, L. 2005. Protective effect of nitric oxide against oxidative stress under ultraviolet-B radiation. Nitric Oxide. 13: 1-9.

48- Singh, H. P., Batish, D. R., Kaur. G., Arora. K., Kohli, R. K. 2008. Nitric oxide (as sodium nitroprusside) supplementation ameliorates Cd toxicity in hydroponically grown wheat roots. Environmental and Experimental Botany 63: 158-167.

49- Vaidyanathan, H., Sivakumar, P., Chakrabarty, R., and Thomas, G. 2003. Scavenging of reactive oxygen species in NaCl-Stressed rice (*Oryza sativa* L.) differential response in salt-tolerant and sensitive varieties. Plant Science. 165: 1411-1418.

50- Viera Santos, C. 2004. Regulation of chlorophyll biosynthesis and degradation by salt

stress in sunflower leaves. Scientia Horticulturae. 103(1): 93-99.

51- Vital S. A., Fowler, R.W., Virgen, A., Gossett, D. R., Banks, S.W., Rodriguez, J. 2008. Opposing roles for superoxide and nitric oxide in the NaCl stress-induced. Environmental and Experimental Botany. 62: 60–68.

52- Wieczorek, J. F., Milczarek, G., Arasimovicz, M. and Ciszewski, A. 2006. Do nitric oxide donors mimic endogenous NO-related response in plants? Planta. 224: 1363-1372.

53- Wink, D.A., Cook, J.A., Pacelli, R., Liebmann, J., Krishna, M.C. and Mitchell, J.B. 1995. Nitric oxide (NO) protects against cellular damage by reactive oxygen species. Toxicology Letters. 82-83: 221-226.

54- Yu. C. C., Hung. K. T., Kao. C. H. 2005. Nitric oxide reduces Cu toxicity and Cu-induced $NH4^+$ accumulation in rice leaves. Journal of Plant Physiology. 162: 1319-1330.

55- Zhang, Y., Wang, L., Liu, Y., Zhang, Q., Wei, Q., and Zhang, W. 2006. Nitric oxide enhances salt tolerance in maize seedlings through increasing activities of proton-pump and Na^+/H^+ antiport in the tonoplast. Planta. 224: 545–555.

56- Zhao, L., Zhang, F., Guo, J., Yang , Y., Li, B., and Zhang, L. 2004. Nitric oxide functions as a signal in salt resistance in the calluses from two ecotypes of reed. Plant Physiology. 134: 849–857.

57- Zheng, C., Jiang, D., Liu, F., Dai, T., Liu, W., Jing, Q., and Cao, W. 2009. Exogenous nitric oxide improves seed germination in wheat against mitochondrial oxidative damage induced by high salinity. Environmental and Experimental Botany. 67:222–227.

Study of sodium nitroprusside (SNP) and salt stress interaction on some traits of canola plant (*Brassica napus* L.cv.Modena)

Rezapour R., Ganjeali A. and Abrishamchi P.

Dept., of Biology Faculty of Sciences, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, I.R. of Iran

Abstract

Previous studies have shown that sodium nitroprusside (SNP) plays an important role in the response of plants subjected to salt stress. Therefore an experiment was conducted during 2015 in controlled condition to investigate the impact of exogenous sodium nitroprusside on the growth, morpho-physiological traits and antioxidant activity of canola plants (*Brassica napus* L.cv.Modena) grown under salinity stress. Different concentrations of sodium nitroprusside (SNP) contains: 0, 100 and 200 µM, were applied on canola plants exposed to different levels of salinity (0, 120 and 240 mM Nacl), so experiment was conducted as a factorial based on completely random design with three replications. The result showed that salinity decreased fresh and dry weight and had a significant increase in proline and hydrogen peroxide content and superoxide dismutase activity, but had no significant effect on photosynthetic pigments content and Ascorbate peroxidase activity. SNP had a significant increase on fresh weight, dry weight, chlorophyll b and proline content in 120 mM of salinity. H_2O_2 content and antioxidant enzymes activity of plants under salt stress significantly reduced ($P < 0.05$). Finally results showed that SNP significantly improved salinity tolerance of canola plants.

Key words: Salinity stress , Sodium nitroprusside, Chlorophyll, Antioxidant enzymes and Canola.