

## بررسی اثر غلظت‌های متفاوت سدیم نیتروپروساید در تخفیف صدمات اکسایشی

### ناشی از تنش آبی حاصل از پلی اتیلن گلايکول در گیاه دارویی پونه‌سا

#### بی کرک در شرایط درون شیشه‌ای

رسول نریمانی<sup>۱</sup>، محمد مقدم<sup>۲\*</sup> و دانیال شکوهی<sup>۳</sup>

۱- دانشجوی کارشناس ارشد علوم باغبانی- گیاهان دارویی، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران

۲- \*نویسنده مسئول: دانشیار، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران (m.moghadam@um.ac.ir)

۳- دانشجوی کارشناسی مهندسی کشاورزی، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۰۶/۰۶

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۰۲/۰۶

### چکیده

امروزه کاربرد سدیم نیتروپروساید به‌عنوان آنتی‌اکسیدان و تنظیم‌کننده رشد گیاهی به‌منظور کاهش اثرات منفی ناشی از تنش‌های مختلف مطرح می‌باشد. جهت بررسی این موضوع آزمایشی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در ۵ تکرار در شرایط درون شیشه‌ای در آزمایشگاه دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد انجام شد. فاکتور اول تنش آبی حاصل از پلی اتیلن گلايکول (PEG-6000) در سه سطح (صفر، ۰/۵ و ۱ درصد) و فاکتور دوم غلظت‌های مختلف سدیم نیتروپروساید (صفر، ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ میکرومولار) در محیط پایه MS بود. جهت تهیه ریز نمونه، بذور پونه‌سا بی کرک پس از ضدعفونی در محیط پایه MS کشت شدند. ریز نمونه‌ها پس از رشد تحت تأثیر پلی اتیلن گلايکول و غلظت‌های مختلف سدیم نیتروپروساید موجود در محیط پایه MS قرار گرفتند. بعد از دو هفته میزان رشد، فعالیت آنتی‌اکسیدانی، فنل کل و نشت یونی در نمونه‌ها مورد ارزیابی قرار گرفت. تنش آبی، صفات مربوط به رشد ریز نمونه‌ها شامل: ارتفاع گیاهچه، فاصله میانگره، وزن تر گیاهچه، تعداد گره و تعداد شاخه در هر گیاهچه را کاهش داد. کاربرد غلظت ۲۵ میکرومولار سدیم نیتروپروساید تأثیر بسزایی در بهبود این صفات داشت، به‌طوری که بیشترین مقادیر صفات فوق مربوط به تیمار عدم تنش آبی و کاربرد این غلظت سدیم نیتروپروساید بود. هم‌چنین بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی (۸۵/۱۵ درصد)، میزان فنل کل (۵/۱۵ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) و نشت یونی (۷۴/۹۲ درصد) در تنش آبی حاصل از یک درصد پلی اتیلن گلايکول و عدم کاربرد تخفیف‌دهنده سدیم نیتروپروساید حاصل شد. با کاربرد سدیم نیتروپروساید این صفات بیوشیمیایی کاهش یافتند. نتایج این تحقیق نشان داد کاربرد سدیم نیتروپروساید با غلظت مناسب، می‌تواند در کاهش اثرات سوء تنش آبی در گیاه پونه‌سا بی کرک مفید باشد.

**کلید واژه‌ها:** تنش اکسایشی، فعالیت آنتی‌اکسیدانی، نیتریک اکساید، رادیکال آزاد، شاخص‌های رشدی

### مقدمه

نقاط مختلف آسیا، اروپا و شمال آفریقا یافت می‌شوند. وجود حدود ۲۵۰ گونه از این جنس از نقاط مختلف جهان گزارش شده است. این جنس در ایران، علاوه بر گونه مورد نظر در این مطالعه یعنی پونه‌سا بی کرک (*Nepeta nuda*)، دارای ۶۷ گونه گیاه علفی یک ساله و چند ساله است که ۳۹ گونه آن انحصاری ایران می‌باشند.

کشور ایران به دلیل دارا بودن شرایط مختلف آب و هوایی، دارای گونه‌های گیاهی بسیار متنوعی است که تعداد زیادی از آن‌ها اهمیت دارویی دارند. جنس نپتا با نام فارسی پونه‌سا یا قطرم (از تیره نعنائیان)، حاوی گونه‌های مختلف یک ساله و چند ساله می‌باشد که در

درصد و سرعت جوانه‌زنی، طول ساقچه‌چه و ریشه‌چه، وزن تر ریشه‌چه و ساقچه‌چه و وزن تر دانه رست کاهش یافت. در این گیاه رشد ریشه‌ها کم‌تر از رشد اندام‌های هوایی تحت تأثیر تنش آبی قرار گرفت (Hasani, 2005).

یکی از ترکیباتی که اخیراً به‌منظور کاهش اثرات تنش در گیاهان مورد آزمایش قرار گرفته، سدیم نیتروپروساید است. سدیم نیتروپروساید یک رادیکال نسبتاً پایدار است. در ابتدا این گاز به‌عنوان آلوده‌کننده‌ی محیطی مورد توجه قرار گرفت، هرچند بررسی‌های اخیر نشان داد که NO می‌تواند در فرآیندهای مختلف فیزیولوژیک و نمو مثل جوانه‌زنی دانه، بسته شدن روزنه، پاسخ به عوامل بیماری‌زا و نمو ریشه دخالت نماید (Duan et al., 2007؛ Neill et al., 2003). در بسیاری از مطالعات نشان داده شده است که سدیم نیتروپروساید در انتقال پیام و پاسخ به تنش‌های زیستی و غیرزیستی نیز دخالت دارد (Del Rio et al., 2004). این ترکیب به‌صورت پودری قرمز رنگ بوده و به‌عنوان تنظیم‌کننده در متابولیسم گونه‌های فعال اکسیژن عمل می‌کند (Hung and Kao, 2003؛ Shi et al., 2007). Neill et al. (2008) گزارش کردند که کاربرد خارجی سدیم نیتروپروساید، بسته شدن روزنه را تحریک و سلول‌ها را در برابر تنش اکسیداتیو محافظت می‌کند. هم‌چنین بیان داشتند که محلول‌پاشی این ترکیب نفوذپذیری غشاء، نشت الکترولیت‌ها و میزان  $H_2O_2$  موجود در برگ را کاهش داده است. لذا با عنایت به مزایای ذکر شده سدیم نیتروپروساید، در این آزمایش به بررسی اثر غلظت‌های مختلف سدیم نیتروپروساید بر رشد، میزان فنل کل، فعالیت آنتی‌اکسیدانی و نشت الکترولیت گیاه پونه‌سا بی کرک تحت تنش آبی حاصل از پلی‌اتیلن‌گلایکول در شرایط درون شیشه‌ای پرداخته شده است تا راهکاری برای کاهش صدمات تنش کم‌آبی در گیاه پونه‌سا بی کرک ارائه گردد.

## مواد و روش‌ها

### کشت و اعمال تیمارها

به‌منظور بررسی اثر تنش آبی حاصل از پلی‌اتیلن‌گلایکول

(Mozaffarian, 2006). با مرور تحقیقاتی که تاکنون بر روی جنس پونه‌سا (پتا) به‌عمل آمده است، ملاحظه می‌شود که این جنس بیشتر حاوی ترکیبات فلاونوئیدی (از زیرگروه فلاون‌ها) است (Jamzad et al., 2003). از ترکیبات دیگر این جنس می‌توان به ایریدوئیدها، فنل‌ها و دی‌ترین‌ها اشاره نمود (Fraga et al., 1998؛ Takeda et al., 1998). پژوهش‌های پراکنده‌ای نیز بر روی اثرات حشره‌کشی، اثرات ضدالتهابی، ضددردی و ضداضطرابی این گیاهان انجام شده است (Taskina et al., 2012).

تنش آبی یکی از تنش‌های اصلی است که باعث کاهش تولید محصولات کشاورزی می‌شود. این تنش از فتوسنتز گیاه ممانعت نموده، باعث تغییر در محتوای کلروفیل و صدمه به ساختارهای فتوسنتزی می‌شود. یکی از دلایلی که تنش‌های محیطی مثل تنش آبی، رشد و توانایی فتوسنتزی گیاه را کاهش می‌دهند، اختلال در تعادل میان تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن و مکانیسم‌های دفاعی برطرف‌کننده این رادیکال‌هاست که به تجمع ROS و القای تنش اکسیداتیو، خسارت به پروتئین‌ها، لیپیدهای غشا و سایر اجزای سلولی منجر می‌گردد (Fu and Huang, 2001). ارزیابی درون شیشه‌ای مقاومت به خشکی، برای بسیاری از گیاهان با موفقیت انجام شده است (Molassiotis et al., 2006). برای ایجاد محیط‌های مصنوعی کنترل پتانسیل آب، معمولاً از موادی با جرم مولکولی بالا چون پلی‌اتیلن‌گلایکول به دلیل ایجاد محلول اسمزی با شرایط مشابه طبیعی استفاده می‌شود. این ماده اغلب برای تهیه پتانسیل آب در مطالعه جوانه‌زنی و درون شیشه‌ای برای ارزیابی، تحمل خشکی در محیط کنترل شده به کار می‌رود (Corchete and Guerra, 1986). Dami and Hughes (1995) گزارش کردند که پلی‌اتیلن‌گلایکول<sup>۱</sup> ماده مناسبی برای تحمیل تنش آبی در شرایط درون شیشه‌ای به‌وسیله کاهش در پتانسیل آب محیط کشت می‌باشد که جذب نمی‌شود و سمیت ایجاد نمی‌کند. در گیاه ریحان با کاهش پتانسیل آب توسط پلی‌اتیلن‌گلایکول،

و دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی نگهداری شدند. پس از گذشت دو هفته از اعمال تیمارها، ریز نمونه‌ها از محیط کشت جدا و جهت حذف محیط کشت از آن‌ها با آب مقطر شستشو شدند. این ریز نمونه‌ها جهت اندازه‌گیری شاخص‌های رشدی و بیوشیمیایی مورد استفاده قرار گرفتند.

### ارزیابی شاخص‌های رشدی

صفات مورد ارزیابی شامل؛ ارتفاع گیاهچه، تعداد شاخه در هر گیاهچه، تعداد گره، فاصله میانگره و وزن تر گیاهچه بودند. ارتفاع گیاهچه و فاصله میانگره توسط کولیس و وزن تر گیاهچه با ترازوی دیجیتال (دقت ۰/۰۰۱ گرم) بعد از خارج کردن گیاهچه‌ها از محیط کشت، اندازه‌گیری شد و میانگین داده‌ها در هر تکرار ثبت گردید.

### ارزیابی صفات بیوشیمیایی

برای اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره برگ (Antioxidant activity) ابتدا عصاره‌های متانولی با استفاده از متانول خالص در دمای اتاق تهیه شد و فعالیت آنتی‌اکسیدانی از طریق غیرفعال کردن رادیکال‌های آزاد شده توسط ماده DPPH (2,2-Diphenyl-1-picryl-hydrazul) صورت پذیرفت (Moon and Terao, 1998). جذب محلول‌های حاصل و شاهد (حاوی کلیه مواد غیر از نمونه) در طول موج ۵۱۷ نانومتر توسط اسپکتروفتومتر قرائت شد. درصد بازداری از DPPH با مقایسه نمونه‌های عصاره و نمونه شاهد و استفاده از رابطه زیر به دست آمد.

$$AA(\%): 1 - A517(\text{sample})/A517(\text{control}) \times 100$$

فنل کل در عصاره برگ با معرف فولین سیکالنتو اندازه‌گیری شد (Singleton and Rossi, 1965). مقدار جذب محلول با استفاده اسپکتروفتومتر در طول موج ۷۶۵ نانومتر خوانده شد. از اسید گالیک به عنوان استاندارد استفاده شد و مقدار ترکیبات فنلی کل بر اساس معادل میلی گرم اسید گالیک در میلی گرم بر گرم وزن تر بیان می‌شود.

جهت تعیین پایداری غشاء سلول‌های برگی از شاخص نشست الکترولیت (Electrolyte Leakage) استفاده گردید. برای این آزمایش از روش Lutts et al. (1995)

و تیمار سدیم نیتروپروساید بر گیاهچه‌های پونه‌سا بی کرک (*Nepeta nuda*) در شرایط درون شیشه‌ای آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در آزمایشگاه گروه علوم باغبانی دانشگاه فردوسی مشهد به اجرا درآمد. آزمایش در قالب پنج تکرار صورت پذیرفت که فاکتور اول؛ تنش آبی حاصل از پلی اتیلن گلایکول (PEG-6000) در سه سطح (صفر، ۰/۵ و ۱ درصد) و فاکتور دوم؛ غلظت‌های مختلف سدیم نیتروپروساید (منبع تولیدکننده NO) در چهار سطح (صفر، ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ میکرومولار) بود. گیاه پونه‌سا بی کرک از استان اردبیل جمع‌آوری و شناسایی گردید. نمونه هرباریومی آن در دانشکده علوم دانشگاه فردوسی با کد هرباریومی ۶۳۰۲ نگهداری شد. بذرها سالم و یکنواخت پونه‌سا بی کرک از بوته‌ها جدا شدند. بذور قبل از انجام آزمایش، برای ضدعفونی، در محلول هیپوکلریت سدیم ۵ درصد به مدت ۱ دقیقه و اتانول ۹۶ درصد به مدت ۳۰ ثانیه قرار گرفتند. سپس ۳-۴ بار با آب مقطر شستشو شدند. بذرها ضدعفونی شده در محیط کشت موراشیک و اسکوگ<sup>۱</sup> (۵۰ درصد) pH= ۵/۷، ۸ گرم در لیتر آگار، ۱۵ گرم در لیتر ساکاروز و بدون هورمون کشت داده شدند. بذرها به مدت ۲ هفته در دمای ۲۵-۳۰ درجه سانتی‌گراد و دوره ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی قرار گرفتند تا جوانه‌زده و گیاهچه‌ها تولید شوند. پس از جوانه‌زنی و رشد گیاهچه‌ها، مراحل واکشت آغاز شد. در خصوص ایجاد یکنواخت کردن کشت‌ها، بهترین گیاهچه انتخاب و واکشت‌ها بر روی آن انجام گرفت. زمان هر دوره واکشت ۳۰-۴۰ روز و محیط کشت‌ها نیز MS کامل در نظر گرفته شد. پس از به دست آوردن تعداد کافی ریز نمونه، در مرحله بعدی غلظت‌های مختلف سدیم نیتروپروساید (مولد نیتریک اکساید) و پلی اتیلن گلایکول در محیط پایه MS تهیه گردیدند. از ریز نمونه‌های دارای رشد یکسان برای بررسی اثر تیمارها استفاده شد. برای هر تیمار ۵ تکرار در نظر گرفته شد و در هر تکرار ۳ ریز نمونه قرار داده شد. ریز نمونه‌های کشت شده در دمای ۲۵±۱ درجه سانتی‌گراد

گیاهچه (۱/۲۳ سانتی‌متر) در اعمال تنش آبی با کاربرد ۱ درصد پلی‌اتیلن گلایکول و عدم کاربرد تخفیف‌دهنده سدیم نیتروپروساید حاصل شد. البته کاربرد تخفیف‌دهنده سدیم نیتروپروساید در غلظت پایین (۲۵ میکرومولار) باعث بهبود این صفت گردید (جدول ۲ و شکل ۱). در آزمایشی تنش ایجاد شده توسط پلی‌اتیلن گلایکول (صفر، ۲۰ و ۲۵ درصد) بر روی ریز نمونه‌های تمشک، مشاهده شد که سطوح ۲۰ و ۲۵ درصد این ماده باعث کاهش طول اندام هوایی نسبت به تیمار شاهد شدند (Georgiva et al., 2004). مشخص شده است که نیتریک اکساید به صورت مستقیم و غیرمستقیم بر تقسیم سلولی و طولی شدن آن تأثیر می‌گذارد (Neill et al., 2003).

به‌طور معمول نیتریک اکساید موجب افزایش تقسیم سلولی و طولی شدن گیاهچه می‌شود. اما ممکن است شرایط عکس نیز رخ دهد. همان‌گونه که مشاهده می‌شود در این آزمایش نیتریک اکساید در غلظت‌های بالا بر ارتفاع گیاهچه تأثیر منفی داشته و موجب کاهش آن شده است (شکل ۱).

تعداد گره و فاصله میان گره در گیاهچه‌های پونه‌سای بی‌کرک نیز تحت تأثیر تنش آبی به شدت کاهش یافتند. به‌طوری‌که در شرایط عدم تنش آبی و کاربرد ۲۵ میکرومولار سدیم نیتروپروساید دارای بیشترین تعداد گره (۵/۹۳ در هر بوته) و فاصله میان گره (۱/۱۵ سانتی‌متر) بودند. هم‌چنین کمترین مقدار این صفات در تنش آبی حاصل از کاربرد ۱ درصد پلی‌اتیلن گلایکول با عدم کاربرد سدیم نیتروپروساید به دست آمد (جدول ۲). کمترین مقدار وزن تر گیاهچه مربوط به تنش آبی حاصل از کاربرد ۱ درصد پلی‌اتیلن گلایکول و اعمال ۱۰۰ میکرومولار سدیم نیتروپروساید مشاهده گردید که نشان‌دهنده تأثیر نامطلوب غلظت‌های بالای سدیم نیتروپروساید می‌باشد. در صورتی که اعمال تیمار ۲۵ میکرومولار سدیم نیتروپروساید در سطوح مختلف تنش آبی باعث بهبود عملکرد در صفات فوق گردید (جدول ۲ و شکل ۱).

استفاده شد. در این روش ابتدا قطعات برگ‌گی با اندازه ۲ سانتی‌متر تهیه شد. این قطعات پس از شستشو، همراه با ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر، در داخل شیشه‌های ۵۰ میلی‌لیتری، به مدت ۲۴ ساعت در تاریکی قرار گرفتند. در این مرحله میزان نشت اولیه ( $EC_1$ ) به وسیله دستگاه هدایت‌سنج ( $EC$ ) اندازه‌گیری شد. سپس شیشه‌ها جهت کشته شدن سلول‌های برگ‌گی به اتوکلاو با دمای ۱۲۰ درجه به مدت ۲۰ دقیقه منتقل شدند. پس از سرد شدن محتویات داخل بطری‌ها، میزان نشت ثانویه ( $EC_2$ ) اندازه‌گیری شد. در نهایت نشت الکتروولت از طریق رابطه زیر محاسبه گردید.

$$EL = (EC_1/EC_2) \times 100$$

داده‌های حاصل از آزمایش بر اساس طرح آماری استفاده‌شده، با استفاده از نرم‌افزار JMP8 تجزیه و تحلیل شدند و مقایسه‌ی میانگین‌ها با استفاده از آزمون LSD در سطح احتمال یک درصد صورت گرفت. رسم اشکال و برخی محاسبات با استفاده از نرم‌افزار Excel انجام گرفت.

## نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثرات متقابل تنش آبی و کاربرد سدیم نیتروپروساید (SNP) بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی، فنل کل، نشت یونی، ارتفاع گیاهچه، تعداد گره، فاصله میان‌گره، وزن تر گیاهچه و تعداد شاخه در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شد (جدول ۱).

## ارزیابی شاخص‌های رشدی

ارتفاع گیاهچه به شدت تحت تأثیر غلظت‌های مختلف سدیم نیتروپروساید قرار گرفت. به‌طوری‌که در شرایط عدم تنش افزایش غلظت آن باعث کاهش ارتفاع گیاهچه‌های پونه‌سای بی‌کرک شد. در صورتی که غلظت ۲۵ میکرومولار سدیم نیتروپروساید تفاوت معنی‌داری با شاهد نشان نداد. افزایش تنش آبی تأثیر نامطلوبی بر روی این صفت داشت به‌طوری‌که کمترین میزان ارتفاع

جدول ۱- تجزیه واریانس صفات مورد بررسی در گیاه پونه سا بی کرک تحت شرایط تنش آبی حاصل از پلی اتیلن گلیکول (PEG) و کاربرد سدیم نیتروپروساید (SNP)  
 Table 1. Variance analysis of studied traits in *Nepeta nuda* under water stress condition by polyethylene glycol (PEG) and sodium nitroprusside (SNP) application

میانگین مربعات Mean squares									
نشست یونی Electrical conductivity	فنل کل Total phenol	فعالیت آنتی اکسیدانی Antioxidant activity	تعداد شاخه The number of branches	وزن تر گیاهچه Fresh weight	فاصله میانگره The distance between internodes	تعداد گره The number of nodes	ارتفاع گیاهچه Explant Height	درجه آزادی df	منابع تغییرات S.O.V
6841.63**	3.46**	413.98**	15.18**	0.10**	0.02*	0.40*	8.36**	2	پلی اتیلن گلیکول PEG
290.93**	15.91**	152.69**	132.13**	0.18**	0.96**	22.05**	6.62**	3	سدیم نیتروپروساید SNP
317.05**	9.17**	346.27**	3.81**	0.01**	0.21**	3.93**	2.99**	6	پلی اتیلن گلیکول × سدیم نیتروپروساید SNP × PEG
0.53	0.002	3.59	0.08	0.008	0.004	0.11	0.08	48	خطا Error

\*\* : Represents significance at 1%, respectively.

\*\* : معنی داری در سطح احتمال ۱ درصد را نشان می دهد.

جدول ۲- مقایسه میانگین سطوح مختلف تنش آبی و کاربرد سدیم نیتروپروساید بر صفات مختلف پونه‌سای کرک در کشت درون شیشه‌ای

Table 2. Mean comparison of different levels of water stress and the use of sodium nitroprusside (SNP) on various traits of *Nepeta nuda* under *in vitro* culture condition

نشت یونی (درصد) Electrical conductivity (%)	فنل کل (میلی‌گرم/گرم-وزن تر) Total phenol (mg/g.FW)	فعالیت آنتی‌اکسیدانی (درصد) Antioxidant activity (%)	تعداد شاخه (در هر گیاهچه) The number of branches (in each explant)	وزن تر گیاهچه (میلی‌گرم) Fresh weight (mg)	فاصله میانگره (سانتی‌متر) The distance between internodes (cm)	تعداد گره (در هر گیاهچه) The number of nodes (in each explant)	ارتفاع (سانتی‌متر) Explant height (cm)	سدیم نیتروپروساید (میکرومولار) Sodium nitroprusside ( $\mu$ M)	تنش آبی (درصد) پلی‌اتیلن گلیکول Water stress (PEG%)
22.98 <sup>k</sup>	1.04 <sup>j</sup>	55.83 <sup>g</sup>	0 <sup>h</sup>	280.8 <sup>c</sup>	1.07 <sup>a</sup>	4.93 <sup>b</sup>	4.44 <sup>a</sup>	0	
33.05 <sup>j</sup>	1.30 <sup>h</sup>	75.79 <sup>e</sup>	8.06 <sup>a</sup>	414.8 <sup>a</sup>	1.15 <sup>a</sup>	5.93 <sup>a</sup>	4.59 <sup>a</sup>	25	0
35.82 <sup>i</sup>	1.36 <sup>h</sup>	77.51 <sup>de</sup>	7.19 <sup>b</sup>	233.4 <sup>e</sup>	0.61 <sup>c</sup>	4.13 <sup>de</sup>	3.53 <sup>b</sup>	50	
42.42 <sup>h</sup>	3.63 <sup>c</sup>	82.67 <sup>b</sup>	4.06 <sup>e</sup>	209 <sup>f</sup>	0.39 <sup>e</sup>	1.40 <sup>i</sup>	2.03 <sup>de</sup>	100	
68.78 <sup>c</sup>	4.56 <sup>b</sup>	82.77 <sup>ab</sup>	0 <sup>h</sup>	90.8 <sup>h</sup>	0.47 <sup>de</sup>	3.37 <sup>ef</sup>	3.36 <sup>d</sup>	0	
44.67 <sup>g</sup>	1.15 <sup>i</sup>	71.63 <sup>f</sup>	5.73 <sup>d</sup>	334.4 <sup>b</sup>	1.08 <sup>a</sup>	4.79 <sup>bc</sup>	3.22 <sup>bc</sup>	25	0.5
54.39 <sup>f</sup>	1.45 <sup>g</sup>	77.76 <sup>de</sup>	5.46 <sup>d</sup>	289.4 <sup>c</sup>	0.82 <sup>b</sup>	4.39 <sup>cd</sup>	3.22 <sup>bc</sup>	50	
61.09 <sup>e</sup>	1.57 <sup>f</sup>	81.36 <sup>bc</sup>	1.73 <sup>g</sup>	44.8 <sup>i</sup>	0.69 <sup>c</sup>	2.33 <sup>h</sup>	1.95 <sup>e</sup>	100	
74.92 <sup>a</sup>	5.16 <sup>a</sup>	85.15 <sup>a</sup>	0 <sup>h</sup>	49 <sup>i</sup>	0.49 <sup>d</sup>	2.86 <sup>g</sup>	1.23 <sup>f</sup>	0	
65.65 <sup>d</sup>	3.13 <sup>g</sup>	79.46 <sup>cd</sup>	6.19 <sup>c</sup>	260.4 <sup>d</sup>	1.13 <sup>a</sup>	5.13 <sup>b</sup>	3.13 <sup>c</sup>	25	1
68.72 <sup>c</sup>	1.85 <sup>e</sup>	81.48 <sup>bc</sup>	4.13 <sup>e</sup>	184.4 <sup>g</sup>	0.88 <sup>b</sup>	4.40 <sup>cd</sup>	2.94 <sup>c</sup>	50	
70.79 <sup>b</sup>	2.15 <sup>d</sup>	81.87 <sup>bc</sup>	3.39 <sup>f</sup>	30.4 <sup>j</sup>	0.61 <sup>c</sup>	3.39 <sup>f</sup>	3.38 <sup>d</sup>	100	

در هر ستون میانگین‌های با حروف مشابه در سطح احتمال آماری ۱ درصد بر اساس آزمون LSD اختلاف معنی‌دار ندارند.

Means with same letters in each column are not significantly different at 1 (%) probability levels according to LSD test.



A



C



B



E



D

شکل ۱- A: تأثیر غلظت‌های مختلف سدیم نیتروپروساید در شرایط عدم تنش آبی بر گیاهچه‌های پونه‌سا، B: تنش آبی حاصل از کاربرد ۱ درصد پلی‌اتیلن‌گلایکول و تیمار ۲۵ میکرومولار سدیم نیتروپروساید، C: تنش آبی حاصل از کاربرد ۰/۵ درصد پلی‌اتیلن‌گلایکول و تیمار ۲۵ میکرومولار سدیم نیتروپروساید، D: تنش آبی حاصل از کاربرد ۰/۵ درصد پلی‌اتیلن‌گلایکول و عدم کاربرد سدیم نیتروپروساید، E: تنش آبی حاصل از کاربرد ۰/۵ درصد پلی‌اتیلن‌گلایکول و تیمار ۵۰ میکرومولار سدیم نیتروپروساید

**Figure 1. A: Effect of different concentrations of sodium nitroprusside on Catmint Hairless seedlings without water stress condition, B: Water stress induced by polyethylene glycol 1% and treatment with 25  $\mu$ M sodium nitroprusside, C: Water stress induced by polyethylene glycol 0.5% and treatment with 25  $\mu$ M sodium nitroprusside, D: Water stress induced by polyethylene glycol 0.5% and non-use of sodium nitroprusside, E: Water stress induced by polyethylene glycol 0.5% and treatment with 50  $\mu$ M sodium nitroprusside**

شاخه در گیاهچه در هر سطح تنش آبی مربوط به اعمال ۲۵ میکرومولار سدیم نیتروپروساید بود و افزایش غلظت این تخفیف‌دهنده تأثیر منفی بر روی این صفت داشت (جدول ۲ و شکل ۱).

میانگین تعداد شاخه در هر گیاهچه در شرایط عدم کاربرد سدیم نیتروپروساید صفر بود. به طوری که با کاربرد غلظت‌های مختلف آن، این صفت به شدت تحت تأثیر قرار گرفت و میزان آن افزایش یافت. بیشترین تعداد

Gabler (2002) مطابقت دارد. تنش غیرزیستی باعث تحریک ساخته‌شدن گونه‌های اکسیژن فعال در بافت‌های گیاهی می‌شود. *Sofo et al.* (2005) طی بررسی‌های خود مشاهده کردند که در بافت برگ گیاه *Prunus* با پیشرفت کاهش آب، تنش اکسیداتیو افزایش می‌یابد. در راستای همین نتایج، تنش آبی می‌تواند باعث ایجاد تنش اکسایشی در بافت‌های گیاه پونه‌سا شود که با حضور سدیم نیتروپروساید در غلظت‌های پایین در این شرایط، اندام هوایی رشد بیشتری یافته است.

### ارزیابی صفات بیوشیمیایی

نتایج مقایسه میانگین‌ها نشان داد که میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی و فنل کل تحت تأثیر غلظت‌های مختلف سدیم نیتروپروساید به‌طور معنی‌داری نسبت به تیمار شاهد افزایش یافت. به‌طوری‌که با افزایش غلظت آن، میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی و فنل کل نیز افزایش یافت. اعمال تنش باعث افزایش میزان صفات فوق گردید. به‌طوری‌که بیشترین میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی (۸۵/۱۵ درصد) و فنل کل (۵/۱۵ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) مربوط به تنش آبی حاصل از کاربرد ۱ درصد پلی‌اتیلن‌گلیکول و عدم کاربرد سدیم نیتروپروساید بود. کاربرد تخفیف‌دهنده سدیم نیتروپروساید باعث کاهش این صفات گردید و در سطوح مختلف تنش آبی کاربرد ۲۵ میکرومولار سدیم نیتروپروساید نتایج بهتری نسبت به سطوح بالای آن داشت. هم‌چنین در شرایط عدم تنش آبی کاربرد ۲۵ و ۵۰ میکرومولار از این ماده تفاوت معنی‌داری با هم نداشتند (جدول ۲). *Del Rio et al.* (2004) اظهار داشتند که NO، به‌عنوان واسطه در عمل تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی و متابولیسم ROS شرکت می‌کند. شرایط تنش به‌وجود آمده در غلظت‌های ۵۰ و ۱۰۰ میکرومولار می‌تواند منجر به افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی شود. ترکیبات فنلی به‌طور قابل‌توجهی در ظرفیت آنتی‌اکسیدانی گیاهان نقش دارند (*Maity et al.*, 2013). فنل‌ها می‌توانند رادیکال‌های آزاد را محدود کنند و یون‌های فلزی را که تشکیل رادیکال‌های آزاد را کاتالیز می‌کنند؛ کلاته نمایندند (*Muchuweti et al.*, 2007). از

همگام با افزایش شدت تنش، محتوای آب سلول‌ها کاهش می‌یابد. کاهش در محتوای آب، آب در دسترس برای توسعه سلول‌ها را محدود می‌کند (*Katerji, 1997*). بنابراین کاهش در رشد ریز نمونه‌ها می‌تواند مربوط به کاهش محتوای آب باشد (شکل ۱). هم‌چنین به نظر می‌رسد کاهش وزن تر در گیاهان تحت تنش آبی، به دلیل جلوگیری از توسعه و رشد ناشی از کاهش فشار تورژسانس باشد (*Bhatt and Srinivasa Rao, 2005*). اعتقاد بر این است که نیتریک‌اکساید دارای نقش دوگانه می‌باشد؛ سمی یا حفاظتی و این بستگی به غلظت آن، نوع گیاه، بافت گیاهی، سن گیاه و نوع تنش وارده به گیاه دارد (*Del Rio et al.*, 2004). بنابراین کاهش صفات رشدی ریز نمونه در سطح ۱۰۰ میکرومولار نیتریک‌اکساید می‌تواند به دلیل نقش سمی این ماده باشد که موجب به وجود آمدن شرایط تنشی شده است. *Han et al.* (2009) اظهار داشتند که نیتریک‌اکساید در تقسیم سلولی نقش دارد و از این رو در تکثیر و باززایی شاخساره‌ها موثر بوده است. بنابراین، به کاربرد نیتریک‌اکساید ممکن است ریزازدیادی گونه‌های گیاهی را بهبود ببخشد. در تحقیقی که *Tan et al.* (2013) در کشت بافت وانیل (*Vanilla planifolia*) انجام دادند مشخص شد که کاربرد سدیم نیتروپروساید به‌عنوان دهنده نیتریک‌اکساید موجب افزایش طول گیاهچه و تعداد شاخساره می‌شود. اما در غلظت‌های بالاتر تأثیر نیتریک‌اکساید برعکس بوده و طول گیاهچه و تعداد شاخساره کاهش می‌یابد که با نتایج این تحقیق هم‌خوانی دارد.

وقتی گیاه با خشکی مواجه شود، روزنه‌هایش نیمه بسته یا بسته می‌گردد و این موضوع موجب کاهش جذب دی‌اکسید کربن می‌شود و از طرفی گیاه برای جذب آب، انرژی زیادی مصرف می‌نماید. هم‌چنین گیاه در هنگام تنش، سطح برگ خود را کاهش داده و از شاخه‌های جانبی و ارتفاع خود می‌کاهد و این امر سبب کاهش تولید مواد فتوسنتزی می‌گردد. در این تحقیق نیز به دلیل کاهش مواد فتوسنتزی، شاخص‌های رشدی ریز نمونه‌ها به‌شدت کاهش یافت. این نتیجه با نتایج



آزمایش‌ها بر روی آن‌ها می‌توان سطح این غلظت را تخمین زد. هم‌چنین به نظر می‌رسد که در غلظت‌های پایین، NO به‌عنوان یک پیام‌رسان ثانویه، باعث افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی می‌شود تا گیاهان بهتر بتوانند شرایط تنش را تحمل کنند.

Khazai (2002) گزارش کرد که میزان صدمه به غشاهای سلولی بر اثر تنش خشکی ممکن است از طریق اندازه‌گیری نشت الکترولیت‌ها از سلول سنجیده شود. وی هم‌چنین خاطر نشان کرد که در شرایط تنش رطوبتی، پایداری غشاء سلولی جزء اصلی تحمل به تنش خشکی در گندم است. در طی بررسی اثر تنش خشکی بر روی چهار رقم سورگوم مشخص شد که میزان پایداری غشاء پلاسمایی در بین ارقام مختلف متفاوت بود و با افزایش تنش آبی، کاهش یافت و نیز مشخص شد که پایداری غشاء سیتوپلاسمی تحت تأثیر میزان موم اپی‌کوتیکولی، ضخامت کوتیکول و پتانسیل آب برگ‌ها قرار داشته است (Estill et al., 1991).

بر اساس نتایج به دست آمده در این پژوهش، میزان نشت یونی با افزایش سطح تنش آبی افزایش معنی‌داری داشت به طوری که در تنش آبی حاصل از کاربرد یک درصد پلی‌اتیلین گلایکول به بیشترین مقدار خود یعنی ۷۴/۹۲ درصد رسید. کاربرد سدیم نیتروپروساید باعث کاهش معنی‌دار آن در سطح احتمال یک درصد در سطوح مختلف تنش خشکی گردید به طوری که در سطوح تنشی ۰/۵ و یک درصد خشکی، کاربرد ۲۵ میکرومولار این ماده موثر واقع شد ولی در شرایط بدون تنش با افزایش میزان سدیم نیتروپروساید مقدار نشت یونی نیز افزایش پیدا کرد و در واقع استفاده از سدیم نیتروپروساید در شرایط بدون تنش اثراتی سوء بر نشت یونی داشت (جدول ۲).

### نتیجه‌گیری

در این تحقیق تنش آبی حاصل از پلی‌اتیلین گلایکول باعث کاهش شاخص‌های رشدی پونه‌سایبی کرک و کاربرد سدیم نیتروپروساید سبب افزایش معنی‌دار در رشد گیاهچه‌های این گیاه گردید. می‌توان نتیجه گرفت

این‌رو افزایش ترکیبات فنلی می‌تواند با نقش آنتی‌اکسیدانی خود از شدت تنش به‌وجود آمده بکاهد.

مطالعه‌های اخیر نقش NO در انتقال سیگنال و پاسخ به تنش‌های زیستی و غیرزیستی را تأیید کرده است (Liu et al., 2011; Hayat et al., 2010; Tan et al., 2008). هنگامی که ریشه‌های موی سرخارگل (*Echinacea purpurea*) را با ۱۰۰ میکرومولار سدیم نیتروپروساید (مولد تولید NO)، تحت تیمار قرار دادند، تجمع ترکیبات فنلی، فلاونوئیدها و مشتقات اسید کافیک افزایش نشان داد و این افزایش در متابولیت‌ها با افزایش فعالیت سیستم آنتی‌اکسیدانی نظیر سوپراکسید دیسموتاز، آسکوربات پراکسیداز و اسید آسکوربیک همراه بود (Wu et al., 2007). اگرچه اسید جاسمونیک یا متیل‌استر آن یعنی متیل جاسمونات و اسید سالسیلیک، مولکول‌های سیگنال مطرحی هستند که بخشی از سیستم پاسخ‌های دفاعی گیاه را تشکیل می‌دهند و می‌توانند در گیاه بیوسنتز متابولیت‌های ثانویه را از طریق مسیرهای سیگنالینگ مجزا تحریک نمایند، اما همه آن‌ها در تعامل با NO تولید متابولیت‌های ثانویه را وساطت می‌کنند. به‌عنوان مثال تولید NO در سلول‌های سرخدار چینی با تیمار متیل جاسمونات از ۵۰ تا ۳۰۰ میکرومولار افزایش نشان داد که نشان‌دهنده تحریک وابسته به دوز متیل جاسمونات می‌باشد (Zhao et al., 2005; Wang and Wu, 2005).

در تحقیق حاضر نیز میزان ترکیبات فنلی کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی در شرایط عدم تنش (شاهد) تحت تأثیر غلظت‌های مختلف سدیم نیتروپروساید افزایش نشان داد (جدول ۲). بنابراین، در مطالعه ما بر روی گیاه پونه‌سایبی کرک تحت تنش آبی، به نظر می‌رسد که ماده رهاکننده اکسید نیتریک در غلظت‌های پایین (۲۵ میکرومولار) مانع عملکرد رادیکال‌های آزاد (ROS) می‌شود و خسارات ناشی از این رادیکال‌های اکسیژن کاهش می‌یابد. البته، این نکته را نیز باید مد نظر داشت که غلظت‌های بالای سدیم نیتروپروساید نقش همکاری با رادیکال‌های آزاد داشته و شدت تنش را افزایش می‌دهند. البته، مقدار دقیق غلظت بالا در گیاهان مختلف متفاوت است که با انجام

که سدیم نیتروپروساید تا حد زیادی آثار مضر تنش آبی حاصل از پلی‌اتیلن گلیکول را در گیاه پونه‌سابی کرک کاهش داد و سبب بهبود رشد گیاه در شرایط تنش گردید. لذا در محدوده نتایج حاصل از این پژوهش، می‌توان کاربرد این ماده را روی گیاه پونه‌سابی کرک در شرایط تنش آبی به‌عنوان عاملی برای کاهش شدت تنش و به دنبال آن افزایش رشد و بهبود خصوصیات بیوشیمیایی این گیاه پیشنهاد نمود.

## References

- Bhatt, R.M. and Srinivasa Rao, N.K. (2005). Influence of pod load on response of okra to water stress. *Indian Journal of Plant Physiology*, 10(1): 54-59.
- Corchete, P. and Guerra, H. (1986). Effect of NaCl and polyethylene glycol on solute content and glycosidase activities during germination of lentil seeds. *Plant, Cell & Environment*, 9(7): 589-593.
- Dami, I. and Hughes, H. (1995). Leaf anatomy and water loss of in vitro PEG-treated 'Valiant' grape. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 42(2): 179-184.
- Del Rio, L.A., Corpas, F.J., and Barroso, J.B. (2004). Nitric oxide and nitric oxide synthase activity in plants. *Phytochemistry*, 65(7): 783-792.
- Duan, X., Su, X., You, Y., Qu, H., Li, Y., and Jiang, Y. (2007). Effect of nitric oxide on pericarp browning of harvested longan fruit in relation to phenolic metabolism. *Food Chemistry*, 104(2): 571-576.
- Estill, K., Delaney, R.H., Smith, W.K., and Ditterline, R.L. (1991). Water relations and productivity of alfalfa leaf chlorophyll variants. *Crop Science*. 31(5): 1229-1233.
- Fraga, B.M., Hernández, M.G., Mestres, T., and Arteaga, J. (1998). Abietane diterpenes from *Nepeta teydea*. *Phytochemistry*, 47(2): 251-254.
- Fu, J. and Huang, B. (2001). Involvement of antioxidants and lipid peroxidation in the adaptation of two cool-season grasses to localized drought stress. *Environmental and Experimental Botany*, 45(2): 105-114.
- Gabler, J. (2002). Drought stress and nitrogen effects on *Coriandrum sativum* L. *Journal of Herbs, Spices & Medicinal Plants*, 44: 12-28.
- Georgieva, M., Djilianov, D., Konstantinova, T., and Parvanova, D. (2004). Screening of Bulgarian raspberry cultivars and elites for osmotic tolerance in vitro. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 18(2): 95-98.
- Han, X., Yang, H., Duan, K., Zhang, X., Zhao, H., You, S., and Jiang, Q. (2009). Sodium nitroprusside promotes multiplication and regeneration of *Malus hupehensis* in vitro plantlets. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 96(1): 29-34.
- Hasani, A. (2005). Effect of water stress induced from polyethylene glycol (PEG) on germination factors of basil (*Ocimum basilicum*). *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, 21(4): 535- 543.

- Hayat, S., Hasan, S.A., Mori, M., Fariduddin, Q., and Ahmad, A., (2010). Nitric oxide: chemistry, biosynthesis, and physiological role. In: Nitric Oxide in Plant Physiology. pp: 1-15.
- Hung, KT. and Kao CH. (2003). Nitric oxide counteracts the senescence of rice leaves induced by abscisic acid. *Plant Physiology*, 160(8): 871-879.
- Jamzad, Z., Grayer, R.J., Kite, G.C., Simmonds, M.S., Ingrouille, M., and Jalili, A. (2003). Leaf surface flavonoids in Iranian species of *Nepeta* (Lamiaceae) and some related genera. *Biochemical Systematics and Ecology*, 31(6): 587-600.
- Katerji, N., Van Hoorn, J.W., Hamdy, A., Mastrorilli, M., and Karzel, E.M. (1997). Osmotic adjustment of sugar beets in response to soil salinity and its influence on stomatal conductance, growth and yield. *Agricultural Water Management*, 34(1): 57-69.
- Khazai, H. (2002). Effect of drought stress on yield and physiological characteristics of resistance and sensitive varieties of wheat and introducing the best indicator of drought stress resistance. *Crop Physiology Ph.D Thesis*. Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad. [in Farsi].
- Liu, X., Wang, L., Liu, L., Guo, Y., and Ren, H., 2013. Alleviating effect of exogenous nitric oxide in cucumber seedling against chilling stress. *African Journal of Biotechnology*. 10(21): 4380-4386.
- Lutts, S., Kinet, J.M., and Bouharmont, J. (1995). Changes in plant response to NaCl during development of rice (*Oryza sativa* L.) varieties differing in salinity resistance. *Journal of Experimental Botany*, 46(12): 1843-1852.
- Maity, S., Chatterjee, S., Variyar, P.S., Sharma, A., Adhikari, S., and Mazumder, S. (2013). Evaluation of antioxidant activity and characterization of phenolic constituents of *Phyllanthus amarus* root. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61(14): 3443-3450.
- Molassiotis, A.N., Sotiropoulos, T., Tanou, G., Kofidis, G., Diamantidis, G., and Therios, E. (2006). Antioxidant and anatomical responses in shoot culture of the apple rootstock MM 106 treated with NaCl, KCl, mannitol or sorbitol. *Biologia Plantarum*, 50(1): 61-68.
- Moon, J.H. and Terao, J. (1998). Antioxidant activity of caffeic acid and dihydrocaffeic acid in lard and human low-density lipoprotein. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46(12): 5062-5065.
- Mozaffarian, V.A. (2006). *Dictionary of Iranian Plant Names: Latin-English-Persian*. 4<sup>th</sup> Ed. Farhang Moaser. Tehran. pp: 360. [In Farsi]
- Muchuweti, M., Kativu, E., Mupure, C.H., Chidewe, C., Ndhlala, A.R., and Benhura, M.A.N. (2007). Phenolic composition and antioxidant properties of some spices. *American Journal of Food Technology*, 2(5): 414-420.
- Neill, S., Barros, R., Bright, J., Desikan, R., Hancock, J., Harrison, J., Morris, P., Ribeiro, D., and Wilson, I. (2008). Nitric oxide, stomatal closure, and abiotic stress. *Journal of Experimental Botany*, 59(2):165-176.

- Neill, S.J., Desikan, R., and Hancock, J.T. (2003). Nitric oxide signaling in plants. *New Phytologist*, 159(1): 11-35.
- Shi, Q., Ding, F., Wang, X., and Wei, M., (2007). Exogenous nitric oxide protects cucumber roots against oxidative stress induced by salt stress. *Plant Physiology and Biochemistry*, 45: 542-550.
- Singleton, V.L. and Rossi, J.A., (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16(3): 144-158.
- Sofo, A., Tuzio, A.C., Dichio, B., and Xiloyannis, C. (2005). Influence of water deficit and rewatering on the components of the ascorbate-glutathione cycle in four interspecific *Prunus* hybrids. *Plant Science*, 169(2): 403-412.
- Takeda, Y., Ooiso, Y., Masuda, T., Honda, G., Otsuka, H., Sezik, E., and Yesilada, E. (1998). Iridoid and eugenol glycosides from *Nepeta cadmea*. *Phytochemistry*, 49(3): 787-791.
- Tan, B.C., Chin, C.F., and Alderson, P. (2013). Effects of sodium nitroprusside on shoot multiplication and regeneration of *Vanilla planifolia* Andrews. *In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant*, 49(5): 626-630.
- Tan, J., Zhao, H., Hong, J., Han, Y., Li, H., and Zhao, W. (2008). Effects of exogenous nitric oxide on photosynthesis, antioxidant capacity and proline accumulation in wheat seedlings subjected to osmotic stress. *World Journal of Agricultural Science*, 4(3): 307-313.
- Taskina, A., Javan, M., Sonboli, A., and Semnani, S. (2012). Antinociceptive and anti-inflammatory activities of the essential oil of *Nepeta crispa* Willd. in experimental rat models. *Natural Product Research*, 26(16): 1529-1534.
- Wang, J.W., and Wu, J.Y. (2005). Nitric oxide is involved in methyl jasmonate-induced defense responses and secondary metabolism activities of *Taxus* cells. *Plant and Cell Physiology*, 46(6): 923-930.
- Wu, C.H., Tewari, R.K., Hahn, E.J., and Paek, K.Y. (2007). Nitric oxide elicitation induces the accumulation of secondary metabolites and antioxidant defense in adventitious roots of *Echinacea purpurea*. *Journal of Plant Biology*, 50(6): 636-643.
- Zhao, J., Davis, L.C., and Verpoorte, R. (2005). Elicitor signal transduction leading to production of plant secondary metabolites. *Biotechnology Advances*, 23(4): 283-333.

## The Effect of Different Concentrations of Sodium Nitroprusside in Alleviating Oxidative Damages Caused by Water Stress of Polyethylene Glycol in Medicinal Plant of Catmint Hairless under *In Vitro* Condition

R. Narimani<sup>1</sup>, M. Moghaddam<sup>2\*</sup> and D. Shokouhi<sup>3</sup>

- 1- M.Sc. Student of Horticulture Science-Medicinal Plant, Department of Horticulture Science, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran
- 2- **\*Corresponding Author:** Associate Professor, Department of Horticulture Science, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran (m.moghaddam@um.ac.ir)
- 3- B.Sc. Student of Agriculture Engineering, Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran

Received: 27 August, 2016

Accepted: 26 April, 2017

### Abstract

#### Background and Objectives

Nowadays, the use of sodium nitroprusside as an antioxidant and plant growth regulators to decrease the negative effects of various stresses has been an important consideration.

#### Materials and Methods

This investigation was conducted as a factorial experiment based on a completely randomized design with five replications at the laboratory of Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad. The first factor was water stress in three levels (0, 0.5, 1 %) by polyethylene glycol (PEG), and the second factor was use of different concentrations of sodium nitroprusside (SNP) (0, 25, 50, 100  $\mu$ M), in MS medium. In order to provide the explants, seeds of catmint hairless were disinfected and cultivated in MS medium. When the explants were grown, they were affected by polyethylene glycol and different concentrations of sodium nitroprusside in MS medium. After two weeks, growth characteristics, antioxidant activity, total phenol content and electrical conductivity were measured in explants.

#### Results

Water stress reduced the traits related to explants growth such as explants height, distance between internodes, fresh weight of explants, number of nodes and number of branches in each explant. Concentration of 25  $\mu$ M of sodium nitroprusside had a great impact on improving these traits. The maximum amount of the measured traits was observed in water-stress-conditions using 25  $\mu$ M of sodium nitroprusside and in without-water-stress conditions. Also, antioxidant activity (85.15%), total phenol content (5.15 mg/g FW) and electrical conductivity (74.92%) were in maximum amount in water-stress conditions by 1% polyethylene glycol application and non-use of sodium nitroprusside that decreased with the use of sodium nitroprusside.

#### Discussion

The results showed that using NO as an antioxidant compound reduces the effects of tension generally and the low concentration of nitric oxide (Concentration of 25  $\mu$ M of SNP) seems to be the best concentration for catmint hairless seedlings under severe drought stress conditions which can reduce the adverse effects of stress and increase the probability of tolerance of seedlings in drought stress conditions by effecting on antioxidant activity of the plant.

**Keywords:** *Antioxidant activity, Free radical, Growth characteristics, Nitric oxide, Oxidative stress*