نسخه پذیرفته شده پیش از انتشار

The Effect of Sodium Nitroprusside on some Morphological and Physiological Traits of Evening Primrose (*Oenothera biennis* L.) under Salt Stress

DOI: 10.22055/ppd.2024.47316.2186

Saeideh Alizadeh Salteh[1]*, Aysan Nourizad Ahmedabad[2], Sahebali Bolandnazar[3], Mina Amani[4]

1. Associate Professor, Department of Horticultural Science and Engineering, Department of Medicinal Plants, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran.

2. Graduated Master of Horticultural Sciences and Engineering, Majoring in Medicinal Plants, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran.

3. Professor of Horticultural Science and Engineering Department, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran.

4. Ph.D. Student in Physiology of Production and Post-Harvest of Horticultural Plants, Department of Horticultural Science and Engineering, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran.

Abstract

Introduction: Salinity is one of the environmental stresses that has a negative effect on the growth and development process and causes oxidative stress in plants. By creating harmful changes in the balance of ions, water status, nutrients, stomatal function and photosynthesis efficiency, salinity causes a decrease in plant growth and development processes such as germination, seedling growth, and finally, a decrease in the amount of crop production in the plant. Sodium nitroprusside is a relatively stable gas radical that prevents the production of reactive oxygen radicals in low concentrations. It has been reported that sodium nitroprusside as a signal conducting molecule in various physiological processes such as seed germination, leaf senescence, ethylene production, stomatal closure and various defense responses to biotic and abiotic stresses such as salinity, drought and UV-B radiation is involved. Also, sodium nitroprusside plays a role in regulating various developmental processes and plant growth, including root growth, respiration, flowering, and cell death. Considering the positive effects of sodium nitroprusside on plants and the importance of evening primrose, the aim of this research was to investigate the effect of sodium nitroprusside on improving the morphological and physiological properties of evening primrose medicinal plant in adjusting salinity stress in greenhouse cultivation.

Materials and methods: In the present experiment, the effect of salinity stress caused by sodium chloride at four levels (0, 4, 8, 12 dS/m) and its modification by sodium nitroprusside as foliar spraying at four concentrations of zero (control), 0.05, 0.1, 0.15 mM as sodium nitroprusside releasing compound in evening primrose was carried out factorially based on a completely randomized design in three replications in the greenhouse of Horticultural Sciences, Faculty of Agriculture, University of Tabriz. Salt treatment (NaCl) was applied after planting in pots and two times in the form of a solution in water and injected into the plant roots, and nitroprusside treatment was applied at four levels and with an interval of two weeks until flowering (mid-spring). It was done to the leaf. To facilitate sodium nitroprusside foliar spraying and also to increase accuracy, a sprayer was used so that foliar spraying is done uniformly on the aerial part of the plant. At first, the test of normality of the data and the uniformity of intra-treatment variances was performed and confirmed. Analysis of the variance of the data was done factorially in the form of a completely randomized design in three

replications. The mean comparison of the treatments was done by Duncan's test at the probability level of 1%. SAS software (Ver. 9.3) was used for data analysis and Excel software was used for drawing graphs.
Results and Discussion: In total, the results of the present experiment showed that the application of salinity treatment caused a significant decrease in fresh and dry weight of leaves, the amount of leaf area and leaf chlorophyll index, while it caused a significant increase in the percentage of ionic electrolyte leakage. The decrease in leaf area due to salt stress is either as a result of a decrease in the number of leaves due to a decrease in photosynthesis or a decrease in leaf size due to a decrease in turgor pressure. So that the highest number (47/08) was obtained in the 4 decisimons treatment and per meter and leaf area (247/95) in the control treatment. Also, the highest percentage of ionic electrolyte leakage (27.5%) was observed at a concentration of 12 deci-siemens/m, but the effect of different concentrations of salinity on the amount of antioxidant activity was not significant. The results showed that sodium nitroprusside treatment caused a significant decrease in leaf dry weight, ion electrolyte leakage percentage. On the other hand, it has caused a significant increase in dry matter percentage, leaf surface, chlorophyll index and antioxidant activity. So that the maximum amount of leaf area, chlorophyll index and antioxidant activity was obtained in the concentration of 0.15 mM sodium nitroprusside. Salinity causes the breaking of chloroplasts and the instability of the pigmented protein compounds and ultimately the reduction of the amount of chlorophyll.
Conclusion: Sodium nitroprusside has a useful and effective role in improving the growth characteristics and function of aerial organs and the quantitative and qualitative characteristics of evening primrose. So that the concentration of 0.15 mM was considered as the optimal concentration for improving the morphological and physiological traits.
Keywords: Antioxidant activity, Electrolyte leakage, Photosynthetic pigments, Sodium nitroprusside.

اثر سدیم نیتروپروساید بر برخی صفات مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی در گیاه دارویی گل مغربی (*Oenothera biennis* L.) تحت تنش شوری

سعیده علیزاده سالطه[1*]، آیسان نوری‌زاد احمدآباد[2]، صاحبعلی بلندنظر[3]، مینا امانی[4]

۱. دانشیار گروه علوم و مهندسی باغبانی، گرایش گیاهان دارویی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران

۲. دانش‌آموخته کارشناسی ارشد علوم و مهندسی باغبانی، گرایش گیاهان دارویی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران.

۳. استاد گروه علوم و مهندسی باغبانی، گرایش گیاهان دارویی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران

۴. دانشجوی دکتری فیزیولوژی تولید و پس از برداشت گیاهان باغی، گروه علوم و مهندسی باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران.

چکیده

امروزه گیاهان دارویی، به صورت خام یا فراوری شده در طب سنتی و مدرن صنعتی مورداستفاده فراوانی دارند. شوری یکی از تنش‌های محیطی است که که با تأثیر منفی بر فرایند رشد و نمو سبب القاء تنش اکسایشی در گیاهان می‌شود. سدیم نیتروپروساید، رادیکال گازی نسبتاً پایداری است که در غلظت‌های کم از تولید رادیکال‌های واکنش‌پذیر اکسیژن جلوگیری

می‌کند. بنابراین هدف از این پژوهش بررسی اثرات تنش شوری و تعدیل تنش شوری توسط سدیم نیتروپروساید بر برخی از صفات مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی گیاه دارویی گل مغربی (*Oenothera biennis* L.) می‌باشد. در آزمایش حاضر اثر تنش شوری ناشی از کلرید سدیم در چهار سطح (۰، ۴، ۸، ۱۲ دسی زیمنس بر متر) و تعدیل آن توسط سدیم نیتروپروساید به صورت محلول پاشی برگی در چهار غلظت صفر (شاهد)، ۰/۰۵، ۰/۱، ۰/۱۵ میلی‌مولار به عنوان ترکیب رهاکننده سدیم نیتروپروساید در گل مغربی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار در گلخانه علوم باغبانی دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز و آزمایشگاه علوم باغبانی در سال ۱۳۹۸ اجرا شد. در مجموع نتایج آزمایش حاضر نشان داد که کاربرد تیمار شوری باعث کاهش معنی‌داری در وزن تر و خشک برگ و مقدار سطح برگ شده، در حالی که باعث افزایش معنی‌داری در درصد نشت الکترولیت یونی داشته است. به طوری که بیشترین مقدار تعداد برگ (۴۷/۰۸) در تیمار ۴ دسی زیمنس بر متر و سطح برگ (۲۴۷/۹۵) در تیمار شاهد به دست آمد. همچنین بیشترین میزان درصد نشت الکترولیت یونی (۲۷/۵ درصد) در غلظت ۱۲ دسی زیمنس بر متر مشاهده شد، ولی اثر غلظت‌های مختلف شوری بر میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی معنی‌دار نبود. نتایج نشان داد که تیمار سدیم نیتروپروساید باعث کاهش معنی‌داری در درصد نشت الکترولیت یونی شد. از طرفی موجب افزایش معنی‌داری در درصد ماده خشک، سطح برگ و فعالیت آنتی‌اکسیدانی شده است. به طوری که بیشترین مقدار سطح برگ و فعالیت آنتی - اکسیدانی در غلظت ۰/۱۵ میلی‌مولار سدیم نیتروپروساید به دست آمد. سدیم نیتروپروساید نقش مفید و مؤثری در بهبود ویژگی‌های رشدی و عملکرد اندام‌های هوایی و خصوصیات کمی و کیفی گل مغربی دارد. به طوری که غلظت ۰/۱۵ میلی مولار به عنوان غلظت بهینه برای بهبود صفات مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی در گل مغربی در نظر گرفته شد.

واژه‌های کلیدی: رنگیزه‌های فتوسنتزی، سدیم نیتروپروساید، فعالیت آنتی‌اکسیدانی، نشت الکترولیت.

مقدمه

تنش شوری، یکی از تنش‌های محیطی است که گیاهان اغلب با آن مواجه هستند و امروزه به عنوان یکی از مهم‌ترین تنش‌های محیطی، رشد گیاهان را تحت تأثیر قرار می‌دهد. اما آنچه که اهمیت این تنش را بیش از سایر تنش‌های محیطی مشخص می‌کند، دائمی بودن اثرات تنش شوری است، از این نظر که برخلاف دیگر تنش‌های محیطی که گیاه در بخشی از دوره رشد خود با آن مواجه می‌شود، در مناطق شور تنش شوری، کل دوره رشدی گیاه را تحت تأثیر قرار می‌دهد (Sairam and Tyagi, 2004). شوری یکی از تهدیدات جدی برای کشاورزی پایدار بوده و همچنین شوری آب آبیاری، یکی از عواملی است که زراعت اکثر گیاهان را با مشکل مواجه می‌کند و می‌تواند بر جنبه‌های مختلف کمی و کیفی رشد و نمو گیاه تأثیر بگذارد و در گیاه دارویی باعث تغییر میزان مواد مؤثره و خاصیت دارویی آن‌ها می‌شود (Moosavi *et al.*, 2012). در اکثر مناطق دنیا، تنش شوری عمده‌ترین تنش محیطی است که از طریق کاهش پتانسیل اسمزی و اختلال در جذب برخی عناصرغذایی رشد و عملکرد محصولات زراعی را محدود می‌کند. شوری علاوه بر سمیت یونی و تنش اسمزی می‌تواند موجب انباشت گونه‌های فعال اکسیژن و القاء تنش اکسیداتیو شود که منجربه پراکسیداسیون تدریجی لیپید، اکسیداسیون پروتئین‌ها و غیرفعال‌سازی فعالیت آنتی‌اکسیدان می‌شود. شوری بر همه جنبه‌های متابولیسم گیاهی اثر گذاشته و تغییراتی را در آناتومی و مورفولوژی گیاه ایجاد می‌کند. شوری با ایجاد تغییرات مضر در تعادل یون‌ها، وضعیت آب، عناصرغذایی، عملکرد روزنه و کارایی فتوسنتز موجب کاهش فرایندهای رشد و نموی گیاه نظیر جوانه‌زنی، رشد گیاهچه و درنهایت

کاهش میزان تولید محصول در گیاه می‌شود (Minazadeh *et al.*, 2018).

گل مغربی با نام علمی (*Oenothera biennis* L.) متعلق به خانواده Onagraceae است. تیره گل مغربی، دارای گیاهان علفی یکساله یا چندساله بەندرت بوته‌ای هستند (Azizian, 2006). روغن استخراج شده از دانه-های گل مغربی سرشار از انواع اسیدهای چرب شامل گامالینولنیک به میزان ۸ تا ۱۲ درصد می‌باشد (Fieldsend and Morison, 2000). آستانه تحمل شوری گل مغربی، ۸ دسی‌زیمنس بر متر است. از این رو این گیاه در گروه گیاهان نیمه مقاوم به شوری طبقه‌بندی می‌شود (Moosavi *et al.*, 2012). گیمیدل و همکاران (Gimidil *et al.*, 2012) با بررسی تنش شوری بر خصوصیات جوانه‌زنی گل مغربی در مناطق خشک و نیمه خشک گزارش کردند که با اعمال سطوح مختلف شوری (صفر، ۲، ۴، ۶، ۸ دسی-زیمنس بر متر)، بیشترین طول گیاهچه در تیمار شاهد و کمترین طول آن در تیمار ۸ دسی‌زیمنس بر متر بەدست آمد، اما در مورد وزن گیاهچه‌های مورد مطالعه در سطوح مختلف تنش شوری اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. در مطالعه مشابهی روی خصوصیات جوانه‌زنی گل مغربی در سطوح شوری صفر، ۲، ۴، ۶، ۸ دسی‌زیمنس بر متر سرعت جوانه‌زنی به‌ترتیب ۴۱/۷، ۴۰، ۲۸/۲، ۳۳/۱ و ۵۴/۸ درصد عنوان شد (Moosavi *et al.*, 2012).

تحقیقات نشان داده است که برخی ترکیبات شیمیایی ازجمله سدیم نیتروپروساید با دخالت در مسیرهای سیگنالی در تعدیل تنش‌ها بەویژه تنش شوری نقش دارند (Minazadeh *et al.*, 2018). سدیم نیتروپروساید یک رادیکال آزاد قابل نفوذ در غشا، خیلی فعال و یک پیام-رسان گسترده درون و برون سلولی با طیف وسیعی از اعمال تنظیمی در بسیاری از فرایندهای فیزیولوژیکی گیاه است (Duan *et al.*, 2007). گزارش شده است که سدیم نیتروپروساید بەعنوان یک مولکول هدایت سیگنال در فرایندهای فیزیولوژیکی مختلفی دخالت دارد از جمله جوانه‌زنی دانه، پیری برگ، تولید اتیلن، بسته شدن روزنه و پاسخ‌های دفاعی مختلف به تنش‌های زیستی و غیرزیستی مثل شوری، خشکی و تابش UV-B. همچنین سدیم نیتروپروساید در تنظیم فرایندهای تکوینی مختلف و رشد گیاه از جمله رشد ریشه، تنفس، گل‌دهی و مرگ سلول نقش دارد (Mohasseli & Sadeghi, 2019). سدیم نیتروپروساید یک رادیکال نسبتاً پایدار و یک ترکیب رهاکننده سدیم نیتروپروساید است که بەعنوان تنظیم‌کننده رشد در گیاهان، در پژوهش‌های مختلف مورد توجه قرار گرفته است (Duan *et al.*, 2007). این ترکیب در انگیزش تندش بذر، تقسیم یاخته‌ای، افزایش مقدار سبزینه و بسیاری از فرایندهای دیگر یاخته دخالت داشته و با واکنش با گونه‌های فعال اکسیژن آسیب ناشی از آن‌ها را کاهش می‌دهد (Corpas *et al.*, 2011; Hayat *et al.*, 2011). سدیم نیتروپروساید یک مولکول فعال زیستی می‌باشد که در گیاهان توسط مسیرهای آنزیمی و غیرآنزیمی تحت شرایط تنش در اندام‌های مختلف گیاه تولید می‌شود و واکنش‌های دفاعی گیاه را تنظیم و تعدیل می‌کند. اثر کاربرد سدیم نیتروپروساید در بهبود رشد گیاهان مختلف تحت تنش‌های محیطی از طریق افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و متابولیت‌های ثانویه توسط پژوهشگران متعددی گزارش شده است (Laspina *et al.*, 2005; Li *et al.*, 2008; Nasibi and Kalantari, 2009; Sandalio *et al.*, 2012). مولکول سدیم نیتروپروساید بەعنوان یک پیام‌رسان ثانویه، باعث افزایش فعالیت آنزیم فنیل‌آلانین‌آمونیالیاز در گیاه گوجه‌فرنگی شده است که این آنزیم با افزایش ساخت ترکیبات فنلی باعث افزایش تحمل گیاه در برابر تنش‌های اسمزی می‌گردد (Nasibi and Kalantari, 2009). فان و همکاران (Fan *et al.*, 2007) در بررسی اثرات کاربرد خارجی سدیم

نیتروپروساید در *Dendrobium Huoshanense* گزارش نمودند که تیمار با ۵۰ میکرومولار سدیم نیتروپروساید محتوای نسبی آب و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت را افزایش داده است، اما غلظت‌های بالاتر آن اثرات تنش را تشدید نموده است. محلول‌پاشی گیاهان با سدیم نیتروپروساید گیاهان را از صدمات اکسیداتیو به وسیله محدودکردن آنیون سوپراکسید و رادیکال لیپید و فعال‌سازی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت و بیان ژن محافظت می‌نماید. نیل و همکاران (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. محلول‌پاشی این ترکیب نفوذپذیری غشاء، نشت الکترولیت‌ها و همچنین میزان H_2O_2 موجود در برگ را کاهش داده است. سدیم نیتروپروساید می‌تواند فرایندهای مرتبط با رشد و نمو را تنظیم کند. لاسپینا و همکاران (Laspina *et al.*, 2005) گزارش کردند که رشد بوته-های آفتابگردان پیش تیمار شده با ۰/۵ میلی‌مولار سدیم نیتروپروساید در شرایط تنش بهتر از گیاهان تیمار نشده بود و علائمی از قبیل کلروزه شدن و لکه‌های نکروزه در برگ‌ها، کاهش در کلروفیل و محتوای نسبی آب برگ با کاربرد این ماده کاهش یافت. باتوجه به اثرات مثبت سدیم نیتروپروساید بر گیاهان و اهمیت گیاه گل مغربی، هدف از این پژوهش، بررسی میزان تأثیر سدیم نیتروپروساید بر بهبود خواص مورفوفیزیولوژیکی گیاه دارویی گل مغربی در تعدیل تنش شوری در کشت گلخانه‌ای بود.

مواد و روش‌ها

این آزمایش در گلخانه تحقیقاتی علوم باغبانی دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز و بررسی‌های آزمایشگاهی نیز در آزمایشگاه تولید و فرآوری گیاهان دارویی، دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز در سال ۱۳۹۸ به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام گرفت. تیمار اول تنش شوری در چهار سطح (۰، ۴، ۸، ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر) و تیمار دوم سدیم نیتروپروساید در چهار سطح (۰، ۰/۰۵، ۰/۱، ۰/۱۵ میلی‌مولار) بود. برای شروع آزمایش، ابتدا بذور گیاه دارویی گل مغربی از کلکسیون گیاهان دارویی مجتمع تحقیقاتی خلعت پوشان دانشگاه تبریز تهیه گردید. به منظور کاشت گیاه دارویی، گلدان‌هایی به قطر ۲۲ و ارتفاع ۱۷ سانتی‌متر مورد استفاده قرار گرفت و بستر کاشت حاوی مخلوط خاک معمولی همراه با کوکوپیت و پرلیت برای گلدان آماده شد. در مرحله بعد نشاءهای گل مغربی به گلدان‌های پلاستیکی منتقل شده و مراقبت‌های لازم شامل آبیاری و وجین علف-های هرز انجام گرفت. نشاءهای گل مغربی در عمق مناسب در اواخر فصل پاییز کشت شدند. بلافاصله پس از کاشت، گیاهان آبیاری شده و در طول رویش بسته به شرایط آب و هوایی و نیاز گیاه انجام گرفت. در طول نگهداری برای تغذیه گیاهان، محلول هوگلند در سه نوبت با فاصله یک هفته انجام شد. اعمال تیمار شوری (NaCl) پس از کاشت در گلدان در چهار سطح (۰، ۴، ۸، ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر) و دو نوبت و به صورت محلول در آب و تزریق در ریشه گیاه انجام شد و تیمار سدیم نیتروپروساید در چهار سطح و با فاصله دو هفته تا زمان گلدهی (اواسط فصل بهار) محلول‌پاشی به برگ انجام شد. برای تسهیل محلول‌پاشی سدیم نیتروپروساید و همچنین افزایش دقت، از سمپاش استفاده شد تا محلول‌پاشی به‌صورت یکنواخت بر روی قسمت هوایی گیاه انجام گیرد. همچنین سدیم نیتروپروساید توسط مگنت حل شد و سپس محلول‌پاشی انجام گرفت.

صفات مورد بررسی و روش‌های اندازه‌گیری

در پایان دوره رشد، بخش‌های هوایی از محل طوقه قطع گردیده و وزن تر آن با استفاده از ترازو با دقت ۰/۰۰۱ گرم تعیین شد. ریشه‌ها نیز پس از بیرون کشیدن از خاک ابتدا با آب معمولی و سپس با آب مقطر شسته شدند.

رطوبت اضافی ریشه‌ها با کاغذ خشک‌کن گرفته شد و سپس وزن تر آن‌ها اندازه‌گیری شد. برای اندازه‌گیری وزن خشک بخش هوایی و ریشه داخل پاکت‌های کاغذی به درون آون منتقل شده و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۷۵ درجه سانتی‌گراد خشک شدند. سپس وزن خشک نمونه‌ها با ترازو اندازه‌گیری شد. همچنین درصد ماده خشک نیز با استفاده از معادله زیر محاسبه گردید.

$$\text{درصد ماده خشک} = \frac{\text{وزن خشک نمونه}}{\text{وزن تر نمونه}} \times 100$$

در انتهای آزمایش و قبل از برداشت گیاهان، تعداد برگ هر نمونه در گلدان شمارش شد، به این صورت که پنج بوته به‌طور تصادفی انتخاب و میانگین پنج داده به‌عنوان تعداد برگ درنظر گرفته شد. سطح برگ گیاه توسط دستگاه اندازه‌گیری سطح برگ (Leaf Area Meter) مدل (Li-Cor-Model Li 1300 USA) اندازه‌گیری شد.

به منظور تعیین درصد نشت الکترولیت یونی، برگ‌های تازه به اندازه ۰/۵ گرم از هر گلدان نمونه‌برداری کرده و در لوله‌های آزمایشگاهی قرار داده شدند. سپس ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر دیونیزه به آن‌ها اضافه شد. لوله‌های آزمایشگاهی با سرپوش پلاستیکی بسته شد و در دمای ثابت ۲۵ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. پس از ۱۲ ساعت هدایت الکتریکی اولیه محیط (EC1) با استفاده از دستگاه EC سنج اندازه‌گیری شد. سپس نمونه‌ها در دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۰ دقیقه توسط دستگاه حمام آب مدل (Water Bath 607B) جوشانده شدند و هدایت الکتریکی ثانویه (EC2) اندازه‌گیری شد و در آخر میزان نشت الکترولیت با استفاده از معادله زیر محاسبه شد.

$$EL = \frac{EC1}{EC2} \times 100$$

میزان کلروفیل a، b، کل و کاروتنوئید با استفاده از روش Porra (2002) با نمونه‌گیری تصادفی از برگ‌های بالغ و عصاره‌گیری با استون ۸۰ درصد اندازه‌گیری شد. برای این کار ابتدا حدود ۰/۲۵ گرم از نمونه برگی هر گلدان به صورت تصادفی جدا شد و در داخل فویل آلومینیومی پیچیده و پس از قرار دادن بر روی یخ، به آزمایشگاه منتقل شدند. سپس ۰/۲۵ گرم نمونه برگی را در هاون چینی با ۵ میلی‌لیتر استون ۸۰ درصد ساییده شد تا به صورت محلول یکنواختی درآمد. نمونه‌ها به لوله‌های سانتریفیوژ منتقل و به مدت ده دقیقه با سرعت ۳۵۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شدند. در مرحله بعد میزان جذب نور محلول با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (مدل Vis 2150 شرکت UNICO آمریکا) در طول موج‌های ۴۷۰، ۶۴۵ و ۶۶۲ نانومتر قرائت گردید. درنهایت مقدار جذب نمونه‌ها در روابط زیر جاگذاری و مقدار کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل و کاروتنوئید محاسبه شد. گزارش نهایی مقادیر برحسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ بیان شده است.

$$Chl_a\ (mg/g) = [(12.25 \times A_{662}) - (2.55 \times A_{645})] \times [V/W]$$

$$Chl_b\ (mg/g) = [(20.31 \times A_{645}) - (4.91 \times A_{662})] \times [V/W]$$

$$Chl_t (mg/g) = Chl_a + Chl_b$$

$$Chl(x+c)(mg/g) = (1000\ A_{470} - 2.27\ C_a - 81.4\ C_b)/227$$

Chl_a: کلروفیل a، Chl_b: کلروفیل b، Chl_t: کلروفیل کل، $Chl_{(x+c)}$: کاروتنوئید (گزانتوفیل + کاروتن)

برای اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی از خاصیت خنثی‌کنندگی رادیکال آزاد DPPH (2,2-Diphenyl-1-Picrylhydrazyl) استفاده شد. بدین منظور ابتدا محلول DPPH، ۵۰۰ میکرومولار (۰/۰۱۹۷ گرم از پودر DPPH را وزن کرده و با متانول ۸۰ درصد به حجم ۱۰۰ میلی‌لیتر رسانده شد) تهیه و سپس برای هر نمونه، میزان ۱۰۰ میکرولیتر از عصاره استخراج شده با متانول برداشته و در لوله فالکون ریخته شد. پس از آن به میزان ۹۰۰ میکرولیتر از محلول DPPH یاد شده به آن اضافه شد. سپس نمونه‌ها به مدت نیم ساعت در محیط تاریک، روی شیکر با ۱۲۰ دور در دقیقه قرار گرفته و درنهایت جذب آن‌ها در طول

موج ۵۱۷ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت شد. از متانول ۸۰ درصد برای صفرکردن دستگاه و از محلول DPPH به‌عنوان محلول کنترل استفاده شد. برای مقایسه جذب نمونه‌ها از محلول DPPH حاوی عصاره گیاهی به مرور زمان کم شده و مقدار جذب آن درمقایسه با محلول DPPH کاهش می‌یابد. هر چقدر قدرت آنتی-اکسیدانی عصاره‌ها بیشتر باشد کاهش رنگ نیز بیشتر خواهد بود. درنهایت فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها به-صورت درصد بازدارندگی DPPH با استفاده از معادله زیر محاسبه گردید (Dehghan and Khoshkam, 2012).

$$\%IC50 = \frac{Abs\ control - Abs\ sample}{Abs\ control} \times 100$$

در این فرمول %IC50 درصد بازدارندگی DPPH (غلظتی که در آن ۵۰ درصد رادیکال DPPH مهار می-شود)، $Abs_{control}$ میزان جذب DPPH و Abs_{sample} میزان جذب (نمونه + DPPH) می‌باشد.

تجزیه و تحلیل آماری

در ابتدا آزمون نرمال بودن داده‌ها و یکنواختی واریانس‌های درون تیماری انجام شده و مورد تأیید قرار گرفت. تجزیه واریانس داده‌ها به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار انجام شد. مقایسه میانگین تیمارها توسط آزمون دانکن و در سطح احتمال یک درصد انجام شد. برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از نرم-افزار SAS (Ver. 9.3) و برای رسم نمودارها از نرم‌افزار اکسل (Excel) استفاده شد.

نتایج و بحث

تعداد و سطح برگ

تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر تنش شوری بر تعداد برگ در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار بود و اثر متقابل شوری و سدیم نیتروپروساید معنی‌دار نبود. باتوجه به شکل ۱ بیشترین تعداد برگ را گیاهان تیمار شده با غلظت شوری ۴ دسی‌زیمنس بر متر (۴۷/۰۸) و کمترین تعداد برگ در گیاهان تیمار شده با شوری غلظت ۱۲ دسی-زیمنس بر متر (۳۲/۲۵) به دست آمد. همچنین اثر شوری بر سطح برگ در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود و سطح برگ در سطح احتمال ۵ درصد تحت تأثیر تیمار سدیم نیتروپروساید قرار گرفته، اما اثر متقابل تنش شوری و سدیم نیتروپروساید بر سطح برگ معنی‌دار نبود. نتایج مقایسه میانگین نشان داد که بیشترین مقدار سطح برگ تحت تنش شوری مربوط به تیمار شاهد (۲۴۷/۹۵ سطح برگ در بوته) و کمترین مقدار (۱۲۴/۰۳ سطح برگ در بوته) مربوط به تیمار شوری سطح ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر مشاهده شد. درنتیجه مقدار سطح برگ در تیمار سطح پایین شوری بالا بوده و به تدریج با افزایش سطح شوری، مقدار سطح برگ کاهش یافت (شکل ۱). باتوجه‌به شکل ۲ در بین غلظت‌های مختلف تیمار سدیم نیتروپروساید بیشترین مقدار سطح برگ مربوط به غلظت ۰/۱۵ میلی‌مولار و کمترین مقدار هم مربوط به غلظت ۰/۰۵ میلی‌مولار بود. کاهش سطح برگ در اثر تنش شوری یا درنتیجه کاهش تعداد برگ به علت کاهش فتوسنتز و یا کاهش اندازه برگ در اثر کاهش فشار توژسانس است (Rawson *et al.*, 1998). افزایش سطح برگ توسط سدیم نیتروپروساید از طریق نقش آن در تنظیم آنزیم‌های β-D-گلوکوناز درونی و بیرونی در دیواره سلولی است (Torabian and Zahedi, 2013). آنزیم‌های گلوکوناز در هیدرولیز پیوندهای گلیکوزیدی بین واحدهای گلوکز داخل دیواره سلول نقش دارد که این باعث شل شدن و افزایش توسعه-پذیری سلول می‌شود (Zhang *et al.*, 2003). محققان گزارش کردند که گیاهان تحت تنش شوری با کاهش دادن سطح برگ، مانع از دست رفتن آب می‌شوند و درنتیجه برگ‌های گیاهان در این گونه محیط‌ها کوچک‌تر و ضخیم‌تر می‌گردد. با افزایش غلظت نمک در محیط رشد، یک نوع خشکی فیزیولوژیکی در گیاه ایجاد می‌شود

که خود عامل اصلی در جلوگیری از رشد و تقسیم سلولی است که درنهایت موجب کاهش سطح برگ در گیاه می‌گردد. همچنین کاهش سطح فتوسنتزکننده گیاه در شرایط شوری بر اثر آبگیری سریع و خشکی زود هنگام برگ‌ها نیز اتفاق می‌افتد که این امر منجر به پیری زودرس برگ‌های مسن‌تر گیاه و حذف آن‌ها می‌گردد. به‌طور کلی سریع‌ترین واکنش درمقابله با تنش شوری کاهش توسعه سطح برگ است و به دنبال آن با افزایش شدت تنش، رشد و توسعه سطح برگ متوقف می‌شود، در صورت خفیف بودن شدت تنش، رشد و توسعه برگ‌ها پس از رهایی از تنش دوباره آغاز می‌شود (Attarzadeh *et al.*, 2014).

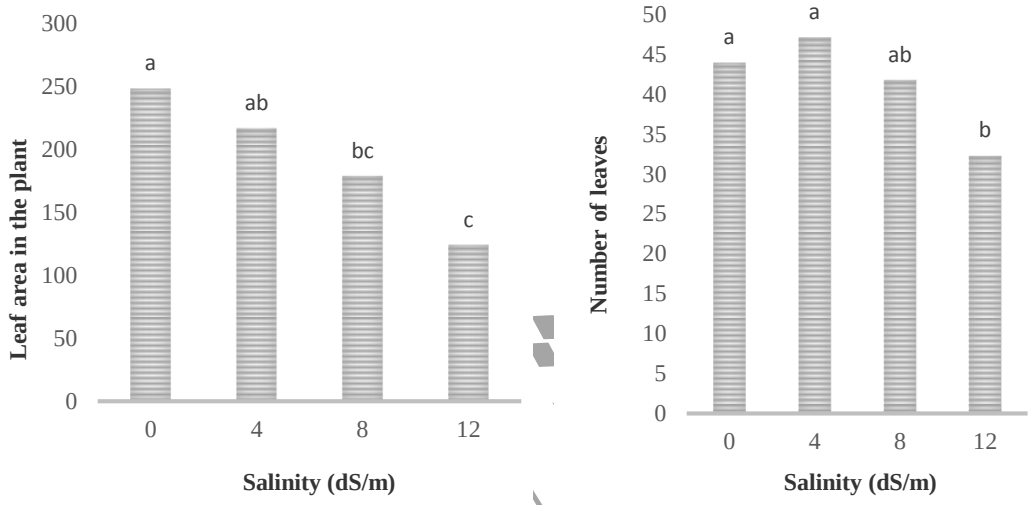

Figure 1- The effect of different concentrations of salinity on the number and leaf area in the plant
Treatments with at least one letter in common do not have a significant difference with each other in Duncan's test at the one percent probability level.

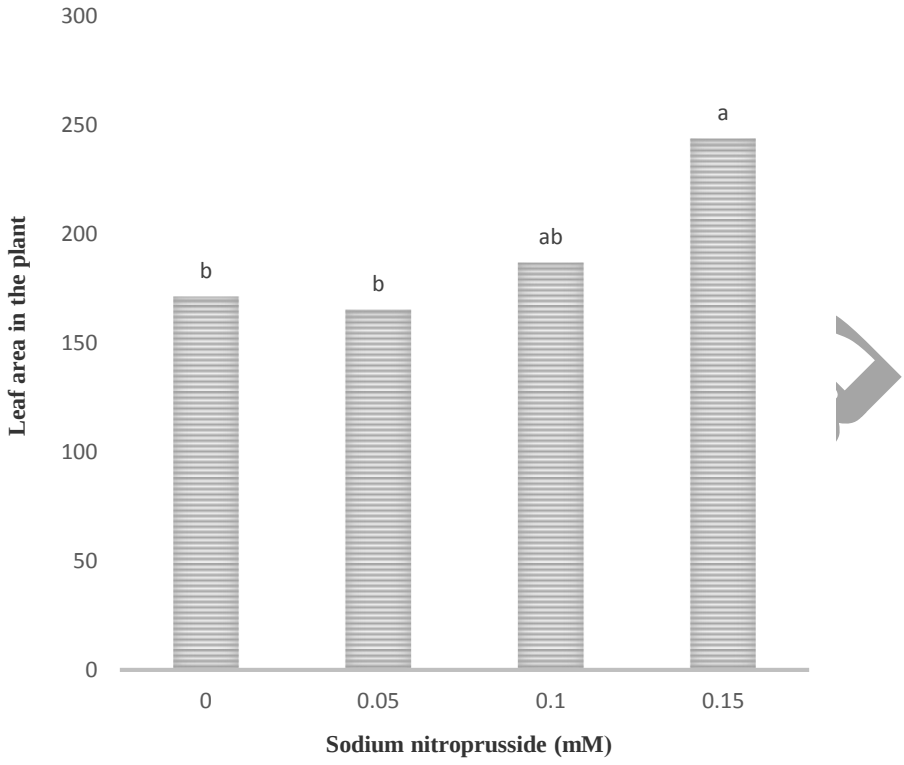

Figure 2- The effect of different concentrations of sodium nitroprusside on the leaf area in the plant
Treatments with at least one letter in common do not have a significant difference with each other in Duncan's test at the one percent probability level.

Table 1- The results of the analysis of variance of the effect of different concentrations of salinity and nitric oxide and the interaction between the two factors on the measured traits

S.O.V	d.f	Mean square										
		Number of leaves	Leaf area	Fresh weight	Dry weight	Dry matter percentage	Percentage of ionic electrolyte leakage	Antioxidant activity	Chlorophyll a	Chlorophyll b	Total chlorophyll	Carotenoid
Salinity stress	3	489.5*	34088.6**	55.9**	1.8**	0.006^{ns}	299.057**	301.5^{ns}	0.716^{ns}	0.734**	0.004**	0.712^{ns}
Sodium nitroprusside	3	147.7^{ns}	15410.5*	2.7^{ns}	0.33*	9.5**	289.788*	1107.5**	1.484**	2.614**	0.013^{ns}	1.317*
Salinity stress * Nitric oxide	9	244.3^{ns}	1769.1^{ns}	3.04^{ns}	0.12^{ns}	0.001^{ns}	80.62^{ns}	1091.8^{ns}	1.497^{ns}	1.801^{ns}	0.050^{ns}	1.390^{ns}
Error	32	147.2	4873.6	3.08	0.1	0.003	97.505	206.7	0.317	0.031	2.228	0.321

نسخه پیش از انتشار

عملکرد وزن تر و خشک برگ و درصد ماده خشک

نتایج جدول تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۱) نشان داد که وزن تر گیاه در سطح احتمال ۱ درصد تحت تأثیر تیمار شوری قرار گرفته است. همچنین میانگین مربعات داده‌ها نشان داد که تیمار سدیم نیتروپروساید و اثر متقابل شوری و سدیم نیتروپروساید تأثیر معنی‌داری روی وزن تر برگ نداشتند. اثرات ساده غلظت‌های مختلف شوری بر وزن تر برگ به گونه‌ای است که به ترتیب بیشترین وزن تر برگ مربوط به تیمار شاهد بدون شوری (۹/۵۷ گرم) بوده و کمترین وزن تر در تیمار شوری سطح ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر (۴/۸۵ گرم) مشاهده شد (شکل ۳).

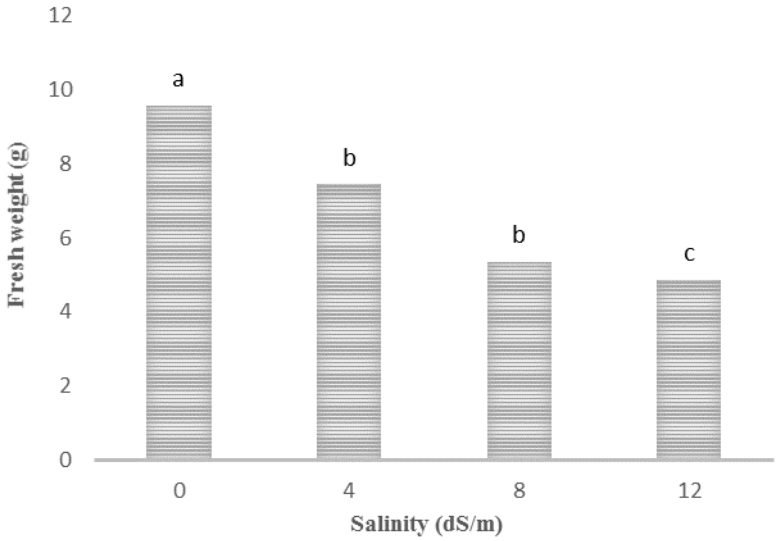

Figure 3- Effect of different salinity concentrations on leaf fresh weight

Treatments with at least one letter in common do not have a significant difference with each other in Duncan's test at the one percent probability level.

نتایج نشان داد که وزن خشک برگ به‌طور معنی‌داری در سطح احتمال ۱ درصد تحت‌تأثیر تیمار شوری و در سطح احتمال ۵ درصد تحت‌تأثیر تیمار سدیم نیتروپروساید قرار گرفته است، درحالی‌که اثر متقابل شوری و سدیم نیتروپروساید تأثیر معنی‌داری روی وزن خشک برگ نداشته است (جدول ۱). مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که با افزایش سطح شوری وزن خشک برگ کاهش یافت و در بین تیمارها بیشترین وزن خشک برگ در تیمار شاهد (۱/۷۴ گرم) و کمترین وزن خشک در تیمار سطح ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر (۰/۸۸ گرم) مشاهده شد که با تیمار شوری با غلظت ۸ دسی‌زیمنس بر متر رابطه معنی‌داری نداشت (شکل ۴). بیشترین وزن خشک گیاه تحت تیمار با سدیم نیتروپروساید مربوط به غلظت ۰/۱ میلی‌مولار (۱/۳۸ گرم) و کمترین وزن خشک هم در غلظت ۰/۱۵ میلی‌مولار (۱/۰۱ گرم) مشاهده شد (شکل ۴).

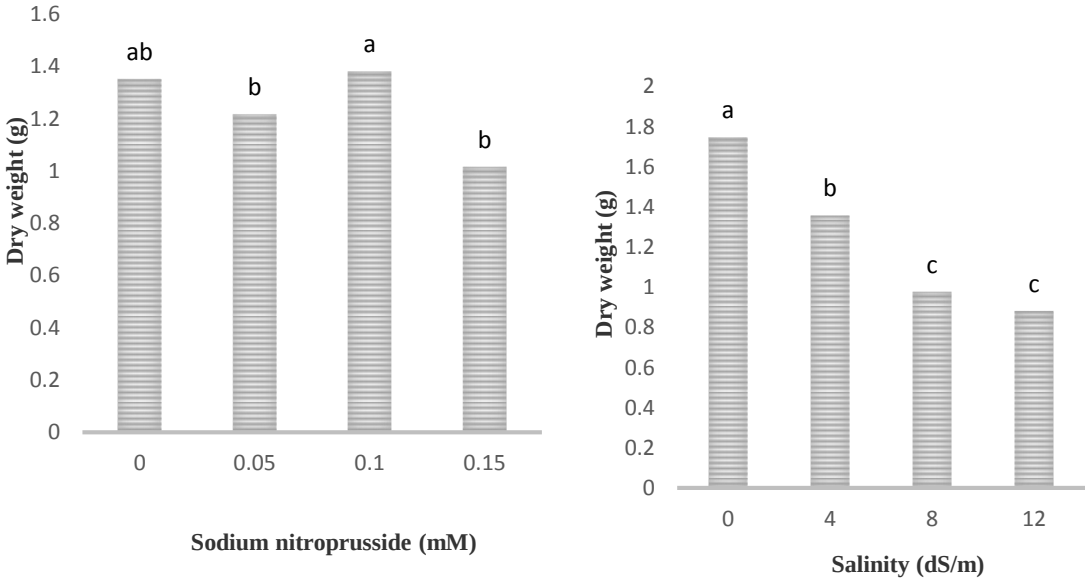

Figure 4- Effect of different concentrations of salinity and sodium nitroprusside on leaf dry weight
Treatments with at least one letter in common do not have a significant difference with each other in Duncan's test at the one percent probability level.

باتوجه‌به جدول ۱ مشاهده شد که درصد ماده خشک به‌طور معنی‌داری در سطح احتمال ۱ درصد تحت تیمار سدیم نیتروپروساید قرار گرفته است و تیمار شوری و اثر متقابل شوری و سدیم نیتروپروساید تأثیر معنی‌داری روی درصد ماده خشک نداشتند. مقایسه میانگین داده‌ها با آزمون دانکن در سطح احتمال ۱ درصد نشان داد که بیشترین میزان درصد ماده خشک مربوط به تیمار سدیم نیتروپروساید در سطح ۰/۱ میلی‌مولار (۱۹/۶۳ درصد) و کمترین میزان درصد ماده خشک هم مربوط به تیمار ۰/۰۵ میلی‌مولار (۱۷/۵۵ درصد) می‌باشد (شکل ۵). مطالعات نشان داده است که گیاهان در محیط شور جهت تحمل تنش ناچار به ساخت مواد آلی مانند پرولین و گلایسین و تجمع املاح معدنی جهت انجام تنظیم اسمزی می‌باشند. باتوجه به اینکه ساخت این مواد نیازمند صرف انرژی است، لذا در این شرایط رشد گیاه با مشکل مواجه شده و ماده خشک کاهش می‌یابد (Azari *et al*., 2012). Seraj and Sinclair(2002) کاهش وزن تر و خشک در گیاه گل مغربی را به هزینه‌ای نسبت داد که این گیاه به منظور بروز پاسخ‌های مقاومت به تنش صرف کرده است. در مطالعه ترابیان و زاهدی Torabian and Zahedi (2013) در بررسی اثر تنش شوری بر آفتابگردان گزارش شد که با افزایش تنش شوری وزن گیاه به شدت کاهش می‌یابد که با نتایج پژوهش حاضر مطابقت دارد. بذر بعد از جذب آب و جوانه‌زنی و قبل از خروج برگ‌های اولیه و شروع فتوسنتز از مواد غذایی اندوخته در درون خود استفاده می‌کند، به‌طوری که بعد از جذب آب و هم زمان با آن یک سری از هورمون‌ها و تعدادی از آنزیم‌های مهم درون بذر ازجمله لیپازها و پروتئازها و آمیلاز تولید شده که منجر به تجزیه مواد غذایی اندوخته در بذر از جمله نشاسته و انحلال آن‌ها در آب می‌شوند که از این طریق انرژی لازم برای خروج ریشه‌چه و ساقه‌چه و رشد آن‌ها فراهم می‌شود. درنتیجه تنفس و مصرف اندوخته غذایی درون بذر وزن خشک کل زیست توده کاهش می‌یابد. بنابراین جذب کمتر آب توسط بذر در محیط شور موجب کاهش رشد و

نمو گیاهچه شده که این کاهش رشد را می‌توان با کاهش اندازه طول ریشه، ساقه‌چه و همچنین کاهش وزن تر و خشک آن‌ها مورد بررسی قرار داد. در این راستا گزارش شده است که وزن خشک گیاه در شرایط تنش شوری در گیاهان مختلف کاهش می‌یابد (Bekhrad *et al.*, 2015).

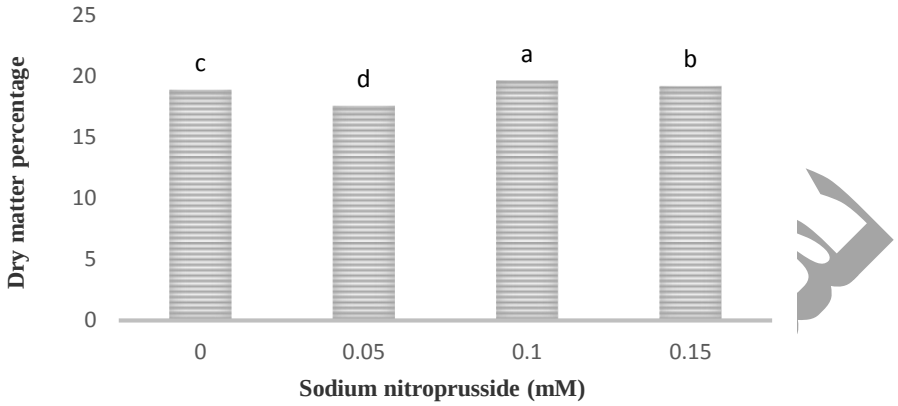

Figure 5- The effect of different concentrations of sodium nitroprusside **on the percentage of dry matter**
Treatments with at least one letter in common do not have a significant difference with each other in Duncan's test at the one percent probability level.

درصد نشت الکترولیت یونی

جدول تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۱) نشان داد که غلظت‌های مختلف تیمار شوری و سدیم نیتروپروساید در سطح احتمال ۵ درصد بر درصد نشت الکترولیت یونی اثر معنی‌داری داشت، درحالی‌که اثر متقابل تیمار شوری و سدیم نیتروپروساید اثر معنی‌داری روی درصد نشت الکترولیت یونی نداشتند. باتوجه‌به شکل ۶ اثرات ساده غلظت‌های مختلف تیمار شوری بر درصد نشت الکترولیت یونی به گونه‌ای بود که بیشترین میزان مربوط به غلظت ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر (۲۷/۵) و کمترین هم مربوط به تیمار شاهد (۱۵/۴۳) مشاهده شد. باتوجه‌به شکل ۶ اثرات ساده غلظت‌های مختلف تیمار سدیم نیتروپروساید بر درصد نشت الکترولیت یونی به گونه‌ای بود که بیشترین میزان مربوط به غلظت ۰/۰۵ میلی‌مولار (۲۷/۳۹) و کمترین هم مربوط به غلظت ۰/۱۵ میلی‌مولار (۱۶/۲۱) مشاهده شد و با افزایش غلظت تیمار سدیم نیتروپروساید، درصد نشت الکترولیت یونی کاهش یافت. تنش‌های محیطی از طریق ایجاد رادیکال‌های آزاد اکسیژن در داخل سلول، موجب کاهش پایداری غشاء و نشت مواد سیتوپلاسمی شده و افزایش نسبت هدایت الکتریکی قبل از اتوکلاو به بعد از آن را به دنبال دارد (Azari *et al.*, 2012). افزایش نشت الکترولیت غشاء در اثر شوری در همیشه بهار (Chaparzadeh *et al.*, 2004) و گوجه‌فرنگی (Stevens *et al.*, 2006) به اثبات رسیده است. همچنین کاربرد سدیم نیتروپروساید به همراه کلرید سدیم در جو نیز باعث کاهش درصد نشت الکترولیت درمقایسه با کاربرد کلرید سدیم به تنهایی شد (Li *et al.*, 2021). سدیم نیتروپروساید می‌تواند باعث بهبود کشش سلول‌های دیواره، لایه فسفولیپیدی و فلاونوئیدهای غشایی شود که این باعث بهترشدن فرایندهای غشایی و رشد بهتر گیاه می‌گردد (Leshem and Hamaraty, 1996). کاهش در پایداری غشاء سلولی در شرایط تنش، در ماریتیغال توسط Keshavarz Afshar *et al.* (2014) نیز گزارش شده است که با نتایج پژوهش حاضر مطابقت دارد.

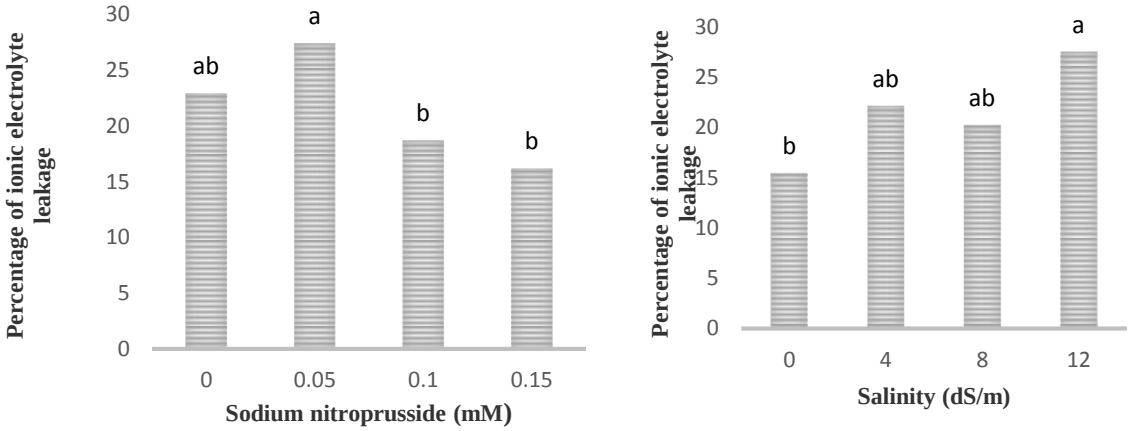

Figure 6- The effect of different concentrations of sodium nitroprusside **and tension on the percentage of ionic electrolyte leakage**

Treatments with at least one letter in common do not have a significant difference with each other in Duncan's test at the one percent probability level.

فعالیت آنتی‌اکسیدانی

نتایج نشان داد که غلظت‌های مختلف تیمار سدیم نیتروپروساید در سطح احتمال ۱ درصد بر میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی اثر معنی‌داری داشت، اما غلظت‌های مختلف تیمار شوری و اثر دو فاکتور شوری و سدیم نیتروپروساید بر سنجش درصد جمع‌آوری رادیکال DPPH معنی‌دار نبود (جدول ۱). شکل ۷ اثر غلظت‌های مختلف تیمار سدیم نیتروپروساید را بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی برگ گل مغربی را نشان می‌دهد. از بین تیمارهای مختلف در این آزمایش کاربرد غلظت ۰/۱۵ میلی‌مولار موجب دستیابی به بیشترین میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی (۸۷/۷۱) گردید، درحالی‌که کمترین میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی مربوط به تیمار ۰/۰۵ میلی‌مولار (۶۵/۰۱) می‌باشد. Bazrafshan and Ehsanzadeh (2016) گزارش کردند که تنش شوری موجب افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان ارقام مختلف کنجد می‌گردد. شرایط تنش موجب تجمع گونه-های فعال اکسیژن در گیاهان می‌شود که باعث صدمات اکسیداتیو به چربی و پروتئین‌ها شده و باعث مرگ گیاه می‌شود (Molassiotis *et al.*, 2006). سدیم نیتروپروساید به‌عنوان یک مولکول سیگنالی سیستم آنتی-اکسیدان سلول را فعال می‌کند و به‌طور مستقیم اکسیژن فعال را به پروکسی نیتریت تبدیل کرده و از سمیت آن به مراتب می‌کاهد، درنتیجه آب سلولی را محدود می‌کند (Martinez *et al.*, 2000).

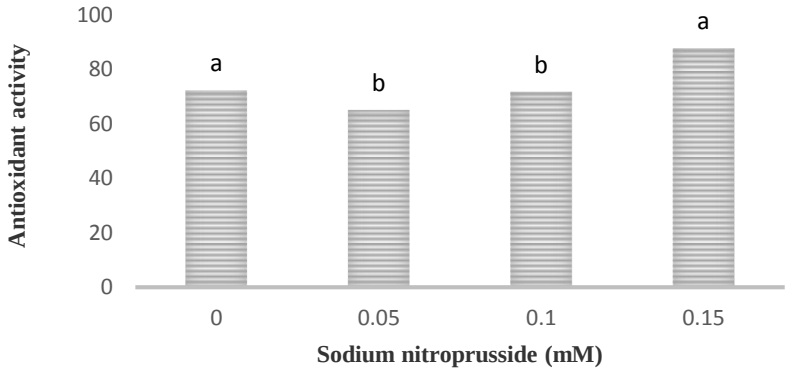

Figure 7- The effect of different concentrations of sodium nitroprusside **on antioxidant activity**
Treatments with at least one letter in common do not have a significant difference with each other in Duncan's test at the one percent probability level.

میزان کلروفیل

نتایج نشان داد که میزان کلروفیل a در سطح احتمال ۱ درصد تحت تأثیر تیمار سدیم نیتروپروساید قرار گرفته است، درحالی‌که اثر غلظت‌های مختلف شوری و همچنین اثر دو فاکتور بر میزان کلروفیل a معنی‌دار نبود. همچنین با-توجه‌به جدول ۱ می‌توان دریافت که غلظت‌های مختف تیمار شوری، سدیم نیتروپروساید در سطح احتمال ۱ درصد بر میزان کلروفیل b معنی‌دار بود. باتوجه‌به جدول تجزیه واریانس داده‌ها در سطح احتمال ۱ درصد مشخص شد که غلظت‌های مختلف تیمار شوری بر میزان کاروتنوئید معنی-دار بود و غلظت‌های مختلف تیمار سدیم نیتروپروساید در سطح احتمال ۵ درصد بر میزان کاروتنوئید اثر معنی‌داری داشت، درحالی‌که اثر متقابل تیمارهای ذکرشده اثر معنی-داری روی میزان کاروتنوئید نداشتند. نتایج نشان داد که غلظت‌های مختلف شوری بر کلروفیل کل اثر معنی‌داری نداشتند، درحالی‌که تیمار سدیم نیتروپروساید در سطح احتمال ۵ درصد روی میزان کلروفیل کل معنی‌دار بود. با-توجه‌به جدول ۲ بیشترین میزان کلروفیل a مربوط به غلظت ۰/۱ میلی‌مولار سدیم نیتروپروساید و کمترین میزان هم در غلظت ۰/۰۵ میلی‌مولار سدیم نیتروپروساید مشاهده شد. بیشترین میزان کلروفیل کل مربوط به گیاهان تیمار شده با غلظت ۰/۱ میلی‌مولار سدیم نیتروپروساید و کمترین میزان کلروفیل کل هم مربوط به گیاهان تیمار شده با غلظت ۰/۰۵ میلی‌مولار می‌باشد (جدول ۲). باتوجه به شکل ۸ مشخص شد که کمترین میزان کلروفیل b مربوط به گیاهان شاهد بوده و بیشترین مقدار مربوط به غلظت ۱۲ دسی-زیمنس بر متر شوری می‌باشد. بدین صورت می‌توان نتیجه گرفت که با افزایش غلظت تیمار شوری میزان کلروفیل b هم افزایش می‌یابد و رابطه مستقیم دارد. بیشترین میزان کلروفیل b مربوط به گیاهان تیمار شده با غلظت ۰/۰۵ میلی‌مولار سدیم نیتروپروساید و کمترین میزان هم مربوط به گیاهان تیمار شده با ۰/۱۵ میلی‌مولار می‌باشد. هرچه غلظت سدیم نیتروپروساید افزایش می‌یابد از میزان کلروفیل b می‌کاهد (جدول ۲). نتایج نشان می‌دهد که از بین غلظت‌های مختلف شوری، غلظت ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر باعث بیشترین میزان کاروتنوئید در گیاه دارویی گل مغربی شده است. بیشترین میزان کاروتنوئید گیاه مربوط به تیمار شاهد بوده است و غلظت‌های مختلف سدیم نیتروپروساید به‌طور یکسانی بر میزان کاروتنوئید تأثیر داشتند (جدول ۲). شوری باعث شکسته شدن کلروپلاست-ها و عدم پایداری ترکیب‌های رنگیزه پروتئینی و درنهایت کاهش میزان کلروفیل می‌گردد. در اثر شوری تشکیل پلاستیدهای جدید کلروفیل a و b کاهش یافته و نسبت کلروفیل a به کلروفیل b تغییر می‌یابد (Singh and

(Dubey, 1995). به نظر می‌رسد که اثر سدیم نیتروپروساید به واکنش آن با گونه فعال اکسیژن برمی-گردد، زیرا رادیکال‌های آزاد اکسیژن اصلی‌ترین عاملی هستند که در شرایط تنش باعث خسارت و شکستن رنگیزه‌های فتوسنتزی و پروتئین‌های ساختاری دستگاه فتوسنتزی می‌شوند (Kim and Lee, 2005; Laspina *et al.*, 2005). علاوه بر این، پروتئین‌هایی که در متابولیسم کلروفیل شرکت می‌کنند نیز می‌توانند هدف ROSها قرار گرفته و تخریب شوند. همچنین در برخی بررسی‌ها گزارش شده است که در حضور NO دسترسی گیاه به آهن بیشتر است و این نیز می‌تواند یکی از نقش‌های سدیم نیتروپروساید در حفظ محتوای کلروفیل گیاه باشد (Beligni and Lamattina, 2000). نتایج مطالعه Arshan *et al.* (2023) نشان داد که بیشترین میزان کلروفیل در نعناع فلفلی در کاربرد سدیم نیتروپروساید ۰/۲ میلی‌مولار در سطح شوری صفر به‌دست آمد.

Table 2- The effect of different concentrations of nitric oxide on photosynthetic pigments

Sodium nitroprusside **(mM)**	**Chlorophyll a**	**Chlorophyll b**	**Total chlorophyll**	**Carotenoid**
0	4.25[a]	1.99[a]	4.35[a]	0.28[a]
0.05	3.62[b]	2.08[a]	3.76[b]	0.20[b]
0.1	4.44[a]	1.74[b]	4.41[a]	0.21[b]
0.15	4.03[ab]	1.04[c]	3.86[b]	0.20[b]

Treatments with at least one letter in common do not have a significant difference with each other in Duncan's test at the one percent probability level.

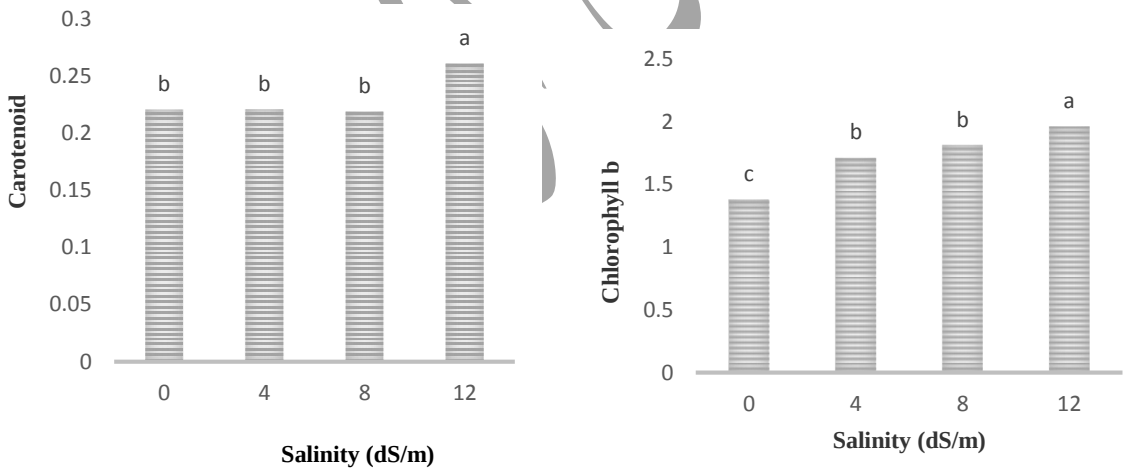

Figure 8- The effect of different concentrations of salinity on chlorophyll b and carotenoid

Treatments with at least one letter in common do not have a significant difference with each other in Duncan's test at the one percent probability level.

نتیجه‌گیری

در مجموع نتایج آزمایش حاضر نشان داد که کاربرد تیمار شوری باعث کاهش معنی‌داری در وزن تر برگ، وزن خشک برگ و میزان کلروفیل برگ شده، درحالی که باعث افزایش معنی‌داری در درصد نشت الکترولیت یونی داشته است. به طوری که کمترین مقدار سطح برگ و شاخص کلروفیل در غلظت ۱۲ دسی زیمنس بر متر مشاهده شده و از طرفی هم بیشترین میزان درصد نشت الکترولیت

یونی هم در غلظت ۱۲ دس زیمنس بر متر مشاهده شد، ولی اثر غلظت‌های مختلف شوری بر میزان فعالیت آنتی-اکسیدانی معنی‌دار نبود. علاوه بر آن کاربرد سدیم نیتروپروساید نقش مؤثری در تعدیل تنش شوری نداشت. در آزمایش حاضر تیمار سدیم نیتروپروساید باعث کاهش معنی‌داری در وزن خشک، درصد نشت الکترولیت یونی شد. از طرفی هم موجب افزایش معنی‌داری در درصد ماده خشک، سطح برگ، شاخص کلروفیل و فعالیت آنتی-اکسیدانی شده است. به طوری که بیشترین مقدار سطح برگ، شاخص کلروفیل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی در غلظت ۰/۱۵ میلی‌مولار سدیم نیتروپروساید دیده شد.

سپاسگزاری

لازم است از دانشگاه تبریز که در فراهم آوردن امکانات لازم جهت اجرای این تحقیق همکاری داشته‌اند، تشکر و قدردانی گردد.

منابع

Arshan, K., Samsampour, D., & Pasalari, H. (2023). Effect of sodium nitroprusside (SNP) on morpho-physiological characteristics of peppermint (*Mentha piperita* L.) under salinity stress. *Journal of Plant Production Research*, *30*(1), 85-102. [In Persian] https://doi.org/10.22069/jopp.2022.20194.2931

Attarzadeh, M., Rahimi, A., Torabi, B., & Dashti, H. (2014). Effect of Ca, K, and Mn Foliar Spray on Vegetative Traits of Safflower (*Carthamus tinctorius* L.) under Salt Stress. *Iranian Journal of Field Crops Research*, *12*(3), 445-453. [In Persian] https://doi.org/10.22067/gsc.v12i3.22057

Azari, A., Modares Sanavi, S.A.M., Askari, H., Ghanati, F., Naji, A.M., & Alizadeh, B. (2012). Effect of salt stress on morphological and physiological traits of two species of rapeseed (*Brassica napus* and B. rapa). *Iranian Journal of Crop Sciences*, *14*(2), 121-135. [In Persian] https://doi.org/10.22092/ijsr.2017.113730

Azizian, D. (2006). Flora of Iran. Publication of Research Institute of Forests and Rangelands. [In Persian]

Bazrafshan, A.H., & Ehsanzadeh, P. (2016). Evidence for differential lipid peroxidation and antioxidant enzyme activities in *Sesamum indicum* L. genotypes under NaCl salinity. *Journal of Agriculture Science and Technology*, *18*, 207-222. [In Persian]

Bekhrad, H., Mahdavi, B., & Rahimi, A. (2015). Effect of seed priming on growth and some physiological characteristics of Sesame (*Sesamum indicum* L.) under salinity stress condition caused by alkali salts. *Iranian Journal of Field Crops Research*, *13*(4), 810-822. https://doi.org/10.22067/gsc.v13i4.36039

Beligni, M.V., Lamattina, L. (2000). Nitric oxide stimulates seed germination and de-etiolation, and inhibits hypocotyl elongation, three light inducible responses in plants. *Planta*, *210*, 215–221. https://doi.org/10.1007/pl00008128

Chaparzadeh, N., Amico, M.D., Khavari-Nejad, R., Izzo, R., & Navari-Izzo, F. (2004). Antioxidative responses of *Calendula officinalis* under salinity conditions. *Plant Physiology and Biochemistry*, *42*, 695–701. https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2004.07.001

Corpas, F.J., Leterrier, M., Valderrama, R., Airaki, M., Chaki, M., Palma, J.M., & Barroso, J.B. (2011). Nitric oxide imbalance provokes a nitrosative response in plants under abiotic stress. *Plant Science*, *181*(5), 604-611. https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2011.04.005

Dehghan, G., & Khoshkam, Z. (2012). Tin (II)–quercetin complex: Synthesis, spectral characterisation and antioxidant activity. *Food Chemistry*, *131*(2), 422-426.

Duan, P., Ding, F., Wang, F., & Wang, B.S. (2007). Priming of seeds with nitric oxide donor sodium nitroprusside (SNP) alleviates the inhibition on wheat seed germination by salt stress. *Journal of Plant Physiology and Molecular Biology*, *33*(3), 244-250.

Fan, H., Guo, S., Jiao, Y., Zhang, R., & Li, J. (2007). Effects of exogenous nitric oxide on growth, active oxygen species metabolism, and photosynthetic characteristics in cucumber seedlings under NaCl stress. *Frontiers of Agriculture in China*, *1*, 308-314. https://doi.org/10.1007/s11703-007-0052-5

Fieldsend, A.F., & Morison J.I.L., 2000. Contrasting growth and dry matter partitioning in winter and spring evening primrose crops (*Oenothera* spp.). *Field Crops Research. 68*, 9-20.

Gimidil, R., Azizi, M., & Shirzad, S. (2012). Investigation the salt stress on germination of evening primrose (*Oenothera biennis* L.) medicinal plant. Regional Knowledge Conference on Sustainable Management of Agriculture and Natural Resources. Gorgan, University of Agricultural Science and Natural Resource. [In Persian] https://doi.org/10.22077/escs.2018.1211.1248

Hayat, S., Yadav, S., Wani, A., Irfan, M., & Ahmad, A. (2011). Nitric Oxide Effects on Photosynthetic Rate, Growth, and Antioxidant Activity in Tomato. *International Journal of Vegetable Science, 17*, 333-348. https://doi.org/10.1080/19315260.2011.563275

Keshavarz Afshar, R., Chaichi, M.R., Assareh, M.H., Hashemi, M., & Liaghat, A. (2014). Interactive effect of deficit irrigation and soil organic amendments on seed yield and flavonolignan production of milk thistle. Ind. *Crop Production, 58*, 166-172. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2014.03.043

Kim, J.H., & Lee, C.H. (2005). In vivo deleterious effects specific to reactive oxygen species on photosystem II afterphotooxidative treatment of rice leaves. *Plant Sciences, 168*, 1115-1125.

Laspina, N.V., Groppa, M.D., Tomaro, M.L., & Benavides, M.P. (2005). Nitric oxide protects sunflower leaves against Cd-induced oxidative stress. *Plant science, 169*(2), 323-330. https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2005.02.007

Leshem, Y.Y., & Hamaraty, E. (1996). Plant aging: the emission of NO and ethylene and effect of NO-releasing compounds on growth of pea (*Pisum sativum* L.) foliage. *Journal of Plant Physiology, 148*, 258–263.

Li, Q., Niud, H., Yind, J., Wanga, M., Shaob, H., Dengd, D., Chend, X., Rend, J., & Li, Y. (2008). Protective role of exogenous nitric oxide against oxidative-stress induced by salt stress in barley (*Hordeum vulgare*). *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 65*, 220–225. https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2008.04.007

Martinez, G.R., Mascio, P.D., Bonini, M.G., Augusto, O., Briviba, K., & Sies, H. (2000). Peroxynitrite does not decompose to singlet oxygen (1gO2) and nitroxyl (NO-). *Proceedings of the National Academy of Sciences, 97*, 10307–10312. https://doi.org/10.1073%2Fpnas.190256897

Minazadeh, R., Karimi, R., & Mohamad Parast, B. (2018) The effect of foliar nutrition of potassium sulfate on morpho-physiological indices of Grapevine under salinity stress. *Iranian Journal of Plant Biology, 10*, 83-106. https://doi.org/10.22108/ijpb.2018.111936.1105

Mohasseli, V., & Sadeghi, S. (2019). Exogenously applied sodium nitroprusside improves physiological attributes and essential oil yield of two drought susceptible and resistant specie of Thymus under reduced irrigation. *Industrial Crops and Products, 130*, 130-136. http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.12.058

Molassiotis, A., Sotiropoulos, T., Tanou, G., Diamantidis, G., & Therios, I. (2006). Boron-induced oxidative damage and antioxidant and nucleolytic responses in shoot tips culture of the apple rootstock EM9 (*Malus domestica* Borkh). *Environmental and Experimental Botany, 56*, 54-62. https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2005.01.002

Moosavi, S.Gh., Seghatoleslami, M.H., Jouyban, Z., & Ansarinia, A. (2012). Germination and growth parameters of seedlings of Oenothera biennis L. as affected by salinity stress. *Technical Journal of Engineering and Applied Sciences, 2*(5), 123-127. http://dx.doi.org/10.22077/escs.2018.1211.1248

Nasibi, F., & Kalantari, K. M. (2009). Influence of nitric oxide in protection of tomato seedling against oxidative stress induced by osmotic stress. *Acta physiologiae plantarum, 31*, 1037-1044. http://dx.doi.org/10.1007/s11738-009-0323-2

Negrão, S., Schmöckel, S.M., & Tester, M.J.A.O.B. (2017). Evaluating physiological responses of plants to salinity stress. *Annals of botany, 119*(1), 1-11. https://doi.org/10.1093%2Faob%2Fmcw191

Neill, S., Barros, R., Bright, J., Desikan, R., Hancock, J., Harrisan, J., Morris, P., Ribeiro, D., & Wilson, I. (2008). Nitric oxide, stomatal closure, and abiotic stress. *Journal of Experimental Botany, 59*, 165-176. https://doi.org/10.1093/jxb/erm293

Porra, R.J. (2002). The chequered history of the development and use of simultaneous equations for the accurate determination of chlorophylls a and b. *Photosynthesis research, 73*(1), 149-156.

Rawson, H.M., Long, M.J., & Munnus, R. (1988). Growth and development in NaCl treated plant. *Journal of Plant Physiology, 15*, 519-527. http://dx.doi.org/10.1071/PP9880519

Roustaie, A. (2015). Evening primrose. *Razi Journal, 26*(1), 19-22. [In Persian] http://dx.doi.org/10.22077/escs.2018.1211.1248

Sánchez, F.J., Manzanares, M., De Andres, E.F., Tenorio, J.L., & Ayerbe, L. (1998) Turgor maintenance, osmotic adjustment and soluble sugar and proline accumulation in 49 pea cultivars in response to water stress. *Field Crops Research, 59*, 225 -235.

Sandalio, L.M., Rodriguez-Serrano, M., Gupta, D.K., Archilla, A., Romero-Puertas, M.C., & del Rio, L.A. (2012). Reactive oxygen species and nitric oxide in plants under cadmium stress: from toxicity to signaling. In: Environmental Adaptations and Stress Tolerance of Plants in the Era of Climate Change (eds. Ahmad, P. and Prasad, M.) Springer, New York, NY. https://doi.org/10.1093%2Fjxb%2Ferad349

Sairam, R.K., & Tyagi, A. (2004) Physiology and molecular biology of salinity stress tolerance in plants. *Current Science, 86*, 407-421.

Seraj, R., & Sinclair, T.R. (2002). Osmolyte accumulation can it really help increase crop yield under drought conditions. *Plant Cell Environ. 25*, 333–341. https://doi.org/10.1046/j.1365-3040.2002.00754.x

Singh, A.K., & Dubey, R.S. (1995). Changes in chlorophyll a and b contents and activities of photosystems 1 and 2 in rice seedlings induced by NaCl. *Photosythetica, 31*, 489–499.

Stevens, J., Senaratna, T., & Sivasithamparam, K. (2006). Salicylic acid induces salinity tolerance in tomato (*Lycopersicon esculentum* cv. Roma): associated changes in gas exchange, water relations and membrane stabilisation. *Plant Growth Regulation, 49*, 77–83.

Torabian, S., & Zahedi, M. (2013). Effects of foliar application of common and nano-sized of iron sulphate on the growth of sunflower cultivars under salinity. *Iranian Journal of Field Crop Science, 44*(1), 109-118. [In Persian] https://doi.org/10.22059/ijfcs.2013.30488

Zhang, M., An, L., Feng, H., Chen, T., Chen, K., Liu, Y., Tang, H., Chang, J., & Wang, X. (2003). The cascade mechanisms of nitric oxide as a second messenger of ultraviolet-B in inhibiting mesocotyl elongations. *Photochemistry and Photobiology, 77*, 219–225. https://doi.org/10.1562/0031-8655(2003)077%3C0219:tcmono%3E2.0.co;2

نسخه پیش از انتشار