مقاله پژوهشی

تأثیر محلول‌پاشی سدیم نیتروپروساید بر پارامترهای رشد، میزان کلروفیل کل، محتوای آهن و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در گیاه خیار (*Cucumis sativus* L.) تحت تنش کمبود آهن

زیبا شهابی و ناصر عباسپور*

گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

(تاریخ دریافت:۱۳۹۹/۰۵/۱۸، تاریخ پذیرش نهایی:۱۴۰۱/۰۲/۱۷)

چکیده

در این پژوهش تأثیر محلول‌پاشی سدیم نیتروپروساید (۱۰۰ میکرومولار) به‌عنوان دهنده نیتریک اکسید بر تعدیل تنش کمبود آهن در گیاه خیار بررسی شد. نتایج نشان داد که تنش کمبود آهن باعث کاهش پارامترهای رشد، محتوای کلروفیل کل، محتوای آهن و فعالیت آنزیم-های آنتی‌اکسیدان کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز و گایاکول پراکسیداز گردید. تیمار برگی سدیم نیتروپروساید منجر به بهبود پارامترهای رشد، محتوای کلروفیل کل، محتوای آهن و افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان گردید. این نتایج، اثرات تعدیلی نیتریک اکسید بر بهبود دسترسی آهن گیاه و خسارات ناشی از کمبود آن را تأیید می‌کند.

واژه‌های کلیدی: آنتی‌اکسیدان‌ها، خیار، تعدیل تنش کمبود آهن، تیمار برگی، نیتریک اکسید

مقدمه

آهن در همه موجودات زنده به‌عنوان یک کوفاکتور مهم در مسیرهای متابولیکی زیستی نقش تعیین‌کننده‌ای دارد (Kaya *et al*., 2019). آهن از عناصر ضروری برای همه گیاهان است که کمبود آن سبب کاهش قابل‌توجه رشد گیاه می‌شود. Bityutskii و همکاران (۲۰۲۰) گزارش کرده‌اند که رشد و فتوسنتز در گیاه خیار تحت تنش کمبود آهن کاهش می‌یابد. کمبود آهن باعث اختلال در بیوسنتز کلروفیل و نمو کلروپلاست در گیاهان تک لپه و دو لپه نیز می‌شود و همچنین باعث القای تنش اکسیداتیو می‌گردد (Kaya *et al*., 2019; Zhang *et al*., 2014).

نیتریک اکسید (NO) به‌عنوان یک مولکول سیگنالینگ کلیدی است که عملکردهای فیزیولوژیکی مختلف و پاسخ‌های دفاعی در برابر تنش‌های زیستی و غیرزیستی را وساطت می‌کند (Zhang *et al*., 2014). این عملکردها شامل تنظیم جوانه‌زنی دانه، توسعه ریشه، گلدهی، رسیدن میوه، پیری و پاسخ سازشی به تنش‌های غیرزیستی مثل خشکی، شوری، سرما، گرما و پاسخ‌های دفاعی در برابر تنش‌های زیستی است (Wimalasekera *et al*., 2011). NO همچنین نقش مهمی در جذب و هموستازی عناصر غذایی به‌خصوص آهن دارد (Simontacchi *et al*., 2015). گزارش شده است که NO دسترسی گیاهان به آهن را افزایش می‌دهد (Kaya *et al*., 2019). NO هم به‌عنوان جاروب‌کننده گونه‌های واکنش‌گر اکسیژن و هم به‌عنوان تنظیم‌کننده فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در کاهش خسارات اکسیداتیو نقش دارد (Mostofa *et al*., 2015). برخی نتایج نشان می‌دهد که NO

*نویسنده مسؤل، نشانی پست الکترونیکی: nabbaspour03@yahoo.com

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-10-31]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1401.11.51.9.6]

می‌تواند با گلوتاتیون ترکیب شده و S- نیتروزوگلوتاتیون را تشکیل بدهد، که این ترکیب با آهن تشکیل کمپلکس می‌دهد و در افزایش دسترسی به آهن در بافت‌های گیاهی شرکت می‌کند (Koen *et al.*, 2012). یک گزارش جالب در مورد نقش سدیم نیتروپروساید (SNP) در بهبود علائم کمبود آهن بدون تغییر در محتوای آهن کل در گیاه ذرت جهش‌یافته *ys1* و *ys3* (فاقد ناقل آهن- فیتوسیدروفور) از طریق تشکیل کمپلکس بین آهن و NO وجود دارد (Graziano and Lamattina, 2007).

در مورد نقش NO در بهبود محتوای آهن در گیاهان تحت تنش کمبود آهن گزارشات متفاوتی وجود دارد که برخی افزایش محتوای آهن را در بادام زمینی گزارش کرده‌اند (Zhang *et al.*, 2014) و برخی عدم‌تغییر در محتوای آهن را در گیاه ذرت مشاهده کرده‌اند (Graziano *et al.*, 2002) و پیشنهاد کرده‌اند که NO در بهبود کارایی مصرف آهن نقش دارد. اما گزارشی در مورد تأثیر NO در تعدیل تنش کمبود آهن در گیاه خیار موجود نیست.

گیاه خیار از صیفی‌جات پرمصرف است که تنش کمبود آهن باعث کاهش محصول این گیاه می‌شود. توجه بیشتر به کشت خیار در کشور و فراهم‌کردن امکانات در این زمینه می‌تواند به رونق کشاورزی و بهبود اقتصاد در کشور کمک کند. استفاده از ترکیبات مفیدی که باعث افزایش مقاومت گیاه به تنش‌های محیطی بگردد، از اهمیت زیادی برخوردار است. با توجه به نقش‌های ذکرشده برای NO، در این پژوهش هدف ما بررسی اثر محلول‌پاشی SNP بر رشد، محتوای کلروفیل کل و آهن و پارامترهای اکسیداتیو در گیاه خیار تحت تنش کمبود آهن در شرایط کشت هیدروپونیک بود.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه از گیاه خیار (*Cucumis sativus* L.) واریته Beit Alpha تهیه‌شده از شرکت Emerald Seeds، استفاده گردید. بذرها ابتدا به‌مدت ۵ دقیقه در هیپوکلریت سدیم ۱۰ درصد ضدعفونی و سپس با آب‌مقطر کاملاً شسته شدند. سپس بذرها در پتری‌دیش‌های با قطر ۱۵ سانتی‌متر حاوی کاغذ صافی مرطوب به‌منظور جوانه‌زنی قرار داده شدند. در مرحله بعد دانه‌رست‌های هم‌اندازه پنج روزه انتخاب و به محیط‌کشت هیدروپونیک انتقال داده شدند. هر تشتک چهار لیتری حاوی چهار دانه‌رست بود. محلول استفاده‌شده برای کشت، محلول هوگلند (جدول ۱) بود که براساس تیمار آهن (کلات آهن) تعدیل شد. گیاهان به دو گروه شاهد با میزان آهن ۰/۱۶۷ گرم بر لیتر و گیاهان دارای کمبود آهن با میزان آهن ۰/۰۸۳ گرم بر لیتر، در محلول هوگلند تقسیم شدند. در کل این پژوهش در قالب یک طرح کاملاً تصادفی با تیمارهای: (حاوی آهن ۰/۱۶۷ گرم بر لیتر+ بدون SNP)، (حاوی آهن ۰/۱۶۷ گرم بر لیتر+ اسپری ۱۰۰ میکرومولار SNP)، (حاوی آهن ۰/۰۸۳ گرم بر لیتر+ بدون SNP) و (حاوی آهن ۰/۰۸۳ گرم بر لیتر+ اسپری ۱۰۰ میکرو مولار SNP) با سه تکرار و چهار گیاه در هر تکرار اجرا گردید. پس از رسیدن گیاهان به مرحله چهار برگی، که گیاه دارای شرایط مناسبی برای تیمار و سنجش‌ها از نظر رشد و وزن است، به‌مدت هفت روز تیمار شدند. تیمار شامل محلول SNP با غلظت ۱۰۰ میکرومولار بود که روزی یک بار به‌صورت محلول‌پاشی بر سطح زیرین و رویی برگ‌ها اسپری شد (غلظت SNP در آزمایش‌های مقدماتی بهینه شد). گیاهان تیمار بدون SNP نیز به‌عنوان شاهد با آب‌مقطر اسپری گردیدند. در مدت هفت روز، ترکیب SNP جذب سطح شده و در بافت برگی تجمع می‌یابد. اسیدیته محلول غذایی به‌صورت روزانه بین ۵/۵ تا ۶ با اسید هیدروکلریدریک و باز هیدروکسید سدیم تنظیم گردید. هوادهی ظروف کشت به صورت مداوم صورت گرفت و در طول‌مدت کشت هفته‌ای دو بار محلول غذایی تعویض شد. رشد گیاهان در اتاق کشت با شرایط نوری ۱۶ ساعت روشنایی، ۸ ساعت تاریکی، دمای بیشینه ۲۷ درجه سانتی‌گراد، دمای کمینه ۲۰ درجه سانتی‌گراد و شدت نور ۱۵۰ $\mu mol.m^{-2}.s$ انجام گرفت. گیاهان هفت روز بعد از محلول‌پاشی توسط SNP برای بررسی رشد و آنالیزهای بعدی برداشت شدند.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-10-31]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1401.11.51.9.6]

جدول ۱- درشت مغذی و ریزمغذی‌های مورد استفاده جهت تهیه محلول غذایی تمام قدرت

Micro nutrients	gr/l	Macro nutrients	مولار	به‌ازای هر لیتر
H_3BO_3	۲/۸۵ gr	KNO_3	۱ M	۱ ml
$MnCl_2.7H_2O$	۱/۸۱ gr	Calcium Nitrate	۱ M	۱ ml
$ZnSO_4.7H_2O$	۰/۲۲ gr	$MgSO_4.7H_2O$	۱ M	۰/۴ ml
$CuSO_4.5H_2O$	۰/۰۸ gr	KH_2PO_4	۱ M	۰/۲ ml
$Na_2MoO_4.2H_2O$	۰/۰۵ gr			

برای تهیه ریزمغذی‌ها، مقدار معین از عناصر مورد نیاز که در جدول ۱ آمده با آب‌مقطر به حجم یک لیتر رسانده شد و برای هر لیتر محلول تمام قدرت مقادیر ذکرشده از هر نمک در جدول اضافه گردید (برای رشد گیاه از محلول نیم قدرت هوگلند استفاده گردید).

اندازه‌گیری طول، وزن تر و خشک ریشه و اندام هوایی و حجم ریشه: پس از برداشت نمونه‌های شاهد و تیمار طول بلندترین ریشه از ناحیه یقه تا نوک ریشه و طول بلندترین اندام هوایی از یقه تا نوک برگ با استفاده از خط‌کش اندازه‌گیری شد. سپس وزن هر یک را با استفاده از ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۰۱ گرم اندازه‌گیری شدند. سپس نمونه‌ها در آون در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۷۲ ساعت قرار داده شدند. پس از مدت زمان ذکرشده وزن خشک نمونه‌ها اندازه‌گیری شد.

اندازه‌گیری مقدار کلروفیل کل: ۰/۱ گرم از برگ‌های تازه گیاه در هاون چینی حاوی ۱۵ میلی‌لیتر استون ۸۰ درصد سائیده شد و پس از صاف‌کردن، جذب آن با دستگاه اسپکتروفتومتر UV-Visible (WPA S2100, UK) در طول موج‌های ۶۶۳/۲ و ۶۴۶/۸ نانومتر خوانده شد (Lichtenthaler, 1987). غلظت کلروفیل با استفاده از رابطه‌های زیر محاسبه گردید. از مجموع کلروفیل a و b کلروفیل کل بدست آمد.

Chl a = (12.25A663.2 – 2.79A646.8) × volume of supernatant (mL) × dilution factor/sample mass (g)

Chl b = (21.21A646.8 – 5.1 A663.2) × volume of supernatant (mL) × dilution factor/sample mass (g)

اندازه‌گیری محتوای آهن احیاشده (Fe^{2+}): ۰/۵ گرم بافت خشک گیاهی (پودرشده) به ۷/۵ میلی‌لیتر اسید نیتریک ۶۵ درصد و ۲/۵ میلی‌لیتر HCL ۳۶ درصد اضافه می‌کنیم. سپس به‌مدت ۱۲ ساعت در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد تا نمونه گیاهی به‌خوبی در اسید حل شود. بعد از این مدت محصول به‌دست آمده را گرم کرده برای دو ساعت در ۱۰۵ درجه سانتی‌گراد تا بخارات اسیدی از محلول خارج شوند. سپس حجم محلول را به ۵۰ میلی‌لیتر رسانده و از کاغذ صافی عبور داده شد. محلول به‌دست آمده جهت اندازه‌گیری در دستگاه جذب اتمی SHIMDZU, AA-6300 جهت تعیین غلظت عناصر استفاده شد، محلول استاندارد هر عنصر قبل از اندازه‌گیری نمونه‌ها برای کالیبراسیون دستگاه استفاده شد. سپس غلظت نمونه‌ها برحسب میلی‌گرم بر لیتر به‌دست آمد و پس از انجام محاسبات برحسب وزن خشک گیاه ارائه گردید.

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، تهیه عصاره پروتئینی: ۰/۵ گرم از بافت تازه گیاه در ۵ میلی‌لیتر بافر پتاسیم فسفات ۵۰ میلی‌مولار (pH=۷/۵) که حاوی پلی‌وینیل پیرولیدین (PVP) یک درصد و EDTA یک میلی‌مولار بود سائیده شد. تمام مراحل استخراج روی یخ انجام گرفت سپس عصاره‌ها به‌مدت ۲۰ دقیقه در g ×۵۰۰۰ و در دمای ۴ °C سانتریفوژ شدند. از محلول شفاف رویی برای سنجش فعالیت آنزیم استفاده شد.

سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT) (EC 1.11.1.6): فعالیت کاتالاز با روش اسپکتروفتومتری و براساس کاهش جذب پراکسید هیدروژن در مدت ۳۰ ثانیه در طول‌موج ۲۴۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. مقدار پراکسید هیدرژن تجزیه‌شده با استفاده از ضریب خاموشی معادل $40\ mM^{-1}\ cm^{-1}$ محاسبه گردید (Dhindsa *et al.*, 1981).

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-10-31]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1401.11.51.9.6]

سنجش فعالیت آسکوربات پراکسیداز (EC 1.11.1.11) (APX): فعالیت آسکوربات پراکسیداز با استفاده از اسپکتروفتومتر و براساس اکسیداسیون آسکوربات اندازه‌گیری شد. مخلوط واکنش حاوی بافر فسفات پتاسیم ۵۰ میلی‌مولار (pH=۷)، آسکوربات ۰/۵ میلی‌مولار، آب اکسیژنه ۰/۱ میلی‌مولار و ۱۵۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی بود. فعالیت آنزیم APX براساس کاهش جذب آسکوربات در مدت یک دقیقه در طول‌موج ۲۹۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. در این روش مقدار آسکوربات اکسیدشده با استفاده از ضریب خاموشی معادل ۲/۸ $mM^{-1}\ cm^{-1}$ محاسبه شد (Nakano and Asada, 1981).

سنجش فعالیت گایاکول پراکسیداز (EC1.11.1.7) (GPX): فعالیت آنزیم پراکسیداز با استفاده از پیش‌ماده گایاکول اندازه‌گیری شد. در این روش ۳ میلی‌لیتر مخلوط واکنش حاوی ۲/۷۷ میلی‌لیتر بافر پتاسیم فسفات ۵۰ میلی‌مولار (pH=۷)، ۱۰۰ میکرولیتر آب اکسیژنه ۱ درصد، ۱۰۰ میکرولیتر گایاکول ۴ درصد و ۳۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی بود. افزایش جذب به‌دلیل اکسیداسیون گایاکول در طول‌موج ۴۷۰ نانومتر به‌مدت ۳ دقیقه اندازه‌گیری شد. با استفاده از ضریب خاموشی تتراگایاکل (۲۵/۵ $mM^{-1}\ cm^{-1}$)، مقدار تتراگایاکل تشکیل‌شده محاسبه گردید (Plewa *et al.*, 1991).

این پژوهش در قالب یک طرح کاملاً تصادفی انجام شد. برای هر تیمار سه تکرار در نظر گرفته شد. داده‌های حاصل از اندازه‌گیری پارامترها، با استفاده از نرم‌افزار SPSS تحت آنالیز واریانس یک طرفه قرار گرفتند و میانگین داده‌ها با آزمون دانکن مقایسه شدند. $P \leq ۰/۰۵$ به‌عنوان اختلاف معنی‌دار در نظر گرفته شد.

نتایج و بحث

پارامترهای رشد و محتوای کلروفیل کل: با توجه به جدول ۱ تنش کمبود آهن موجب کاهش طول ساقه، وزن تر قسمت هوایی، وزن خشک قسمت هوایی و ریشه و محتوای کلروفیل کل گیاه خیار در شرایط تنش گردید. تیمار SNP تأثیر معنی‌داری بر وزن تر ریشه در شرایط تنش نداشت. اما در شرایط کنترل تیمار SNP تنها وزن خشک اندام هوایی را افزایش داد و بر سایر پارامترها تأثیر معنی‌دار نداشت (شکل ۱).

رشد بهترین شاخص برای ارزیابی پاسخ گیاه به تنش‌های محیطی است. آهن یکی از عناصر ضروری برای رشدونمو گیاه است، بنابراین کاهش محتوای آهن در گیاه، کاهش رشد را به‌دنبال دارد (Sun *et al.*, 2007). مطابق با نتایج گزارش‌شده در این مطالعه کاهش پارامترهای رشد به‌ترتیب در گیاه گوجه‌فرنگی و خیار تحت تنش کمبود آهن نیز گزارش شده است (Graziano and Lamattina, 2007; Bityutskii *et al.*, 2020). در این مطالعه تأثیر کمبود آهن بر پارامترهای رشد ریشه نسبت به قسمت هوایی کمتر بود که احتمالاً به‌دلیل تلاش گیاه برای افزایش سطح جذب‌کننده مواد غذایی است. تیمار برگی SNP باعث بهبود پارامترهای رشد گردید. مشابه نتایج ما گزارش شده است که کاربرد بیرونی SNP در گیاه بادام‌زمینی تحت تنش کمبود آهن پارامترهای رشد را بهبود می‌بخشد (Zhang *et al.*, 2014).

میزان کلروفیل در گیاهان از فاکتورهای مهم حفظ ظرفیت فتوسنتزی است. کاهش محتوای کلروفیل در شرایط کمبود آهن، به‌نظر می‌رسد به‌دلیل تولید رادیکال‌های واکنش‌گر اکسیژن (ROS) باشد. ROS باعث پراکسیداسیون و نهایتاً تجزیه این رنگیزه می‌گردد (Mazaherinia *et al.*, 2010). همچنین کاهش میزان کلروفیل کل در این بررسی تحت تنش کمبود آهن می‌تواند به‌دلیل نیاز به آهن برای ساخت مولکول‌های پیش‌ساز کلروفیل مانند آمینولوولینیک اسید و پروتوکلروفیلید باشد (marschner, 1995). تیمار SNP در این بررسی باعث بهبود محتوای کلروفیل کل گردید. مطابق با نتایج ما بهبود محتوای کلروفیل توسط تیمار SNP در گیاه توت‌فرنگی تحت تنش کمبود آهن نیز گزارش شده است (Kaya *et al.*, 2019). افزایش محتوای کلروفیل توسط تیمار

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-10-31]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1401.11.51.9.6]

جدول ۲- تجزیه واریانس: SL (طول ساقه)، RL (طول ریشه)، SFW (وزن تر ساقه)، RFW (وزن تر ریشه)، SDW (وزن خشک ساقه)، RDW (وزن خشک ریشه)، TCh (کلروفیل کل)، LFC (محتوای آهن برگ)،RFC (محتوای آهن ریشه)، LCAT (کاتالاز برگ)، RCAT (کاتالاز ریشه)، LAPX (آسکوربات پراکسیداز برگ)، RAPX (آسکوربات پراکسیداز ریشه)، LGPX (گایاکول پراکسیداز برگ) و RGPX (گایاکول پراکسیداز ریشه)

منابع تغییر	درجه آزادی	میانگین مجموع مربعات						
		SL	RL	SFW	RFW	SDW	RDW	TCh
تیمار	۳	۸/۹۷*	۷۳/۳۰**	۲/۶۶**	۰/۴۷ns	۰/۰۸**	۰/۰۰۱*	۴۹۲/۳۹*
خطا	۸	۱/۴۰	۹/۳۵	۰/۳۱	۰/۲۱	۰/۰۰۱	۰/۰۰۰	۶۹/۵۱

*** معنی‌داری در سطح ۰/۰۵، ** معنی‌داری در سطح ۰/۰۱ و ns معنی‌دار نبودن را نشان می‌دهد.**

ادامه جدول ۲-

منابع تغییر	درجه آزادی	میانگین مجموع مربعات						
		LFC	RFC	LCAT	RCAT	LAPX	RAPX	LGPX	RGPX
تیمار	۳	۰/۰۲۹**	۰/۳۳**	۳۳۰/۵۶**	۶۴۹/۷۱**	۱۰۳۴/۷۵**	۴۹۱/۸۲**	۷۶۸/۶۵**	۵۴۰/۸۲**
خطا	۸	۰/۰۰۱	۰/۰۰۶	۳۲/۶۰	۶۴/۷۹	۳۶/۲۱	۳۶/۲۲	۳۳/۳۲	۲۳/۳۶

*** معنی‌داری در سطح ۰/۰۵، ** معنی‌داری در سطح ۰/۰۱ و ns معنی‌دار نبودن را نشان می‌دهد.**

NO می‌تواند به تخفیف تنش اکسیداتیو (افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان) و افزایش محتوای آهن نسبت داده شود.

غلظت آهن: آنالیز نتایج حاصل از داده‌ها نشان می‌دهد که میزان آهن در ریشه و برگ گیاه خیار تحت تنش کمبود آهن کاهش می‌یابد. تیمار SNP باعث افزایش غلظت آهن در ریشه و برگ گیاه خیار در شرایط تنش گردید، اما تأثیر معنی‌داری بر غلظت آهن گیاه در شرایط کنترل نداشت (شکل ۲).

بهبود میزان آهن کاهش پیدا کرده در گیاه خیار تحت تنش کمبود آهن توسط تیمار SNP می‌تواند دلیل بهبود پارامترهای رشد و محتوای کلروفیل در این پژوهش نیز باشد. گزارشات زیادی در مورد تأثیر مثبت NO بر افزایش میزان آهن و بهبود علائم کمبود آهن در گیاهان مختلف وجود دارد. از جمله دلایل بهبود غلظت آهن توسط تیمار SNP که در مطالعات مختلف عنوان شده است می‌توان تنظیم بیان ژن‌های مربوط به جذب و هموستازی آهن (Garcia *et al.*, 2010)، افزایش تولید ریشه-های جانبی و تارهای کشنده (افزایش سطح جذب) (Graziano and Lamattina, 2007) و تشکیل کمپلکس با گلوتاتیون (این کمپلکس آهن را از ریشه‌ها به سایر اندام‌های گیاه انتقال و تحویل می‌دهد) (Koen *et al.*, 2012) را نام برد. در این بررسی افزایش پارامترهای رشد ریشه با تیمار SNP به وضوح مشاهده شد.

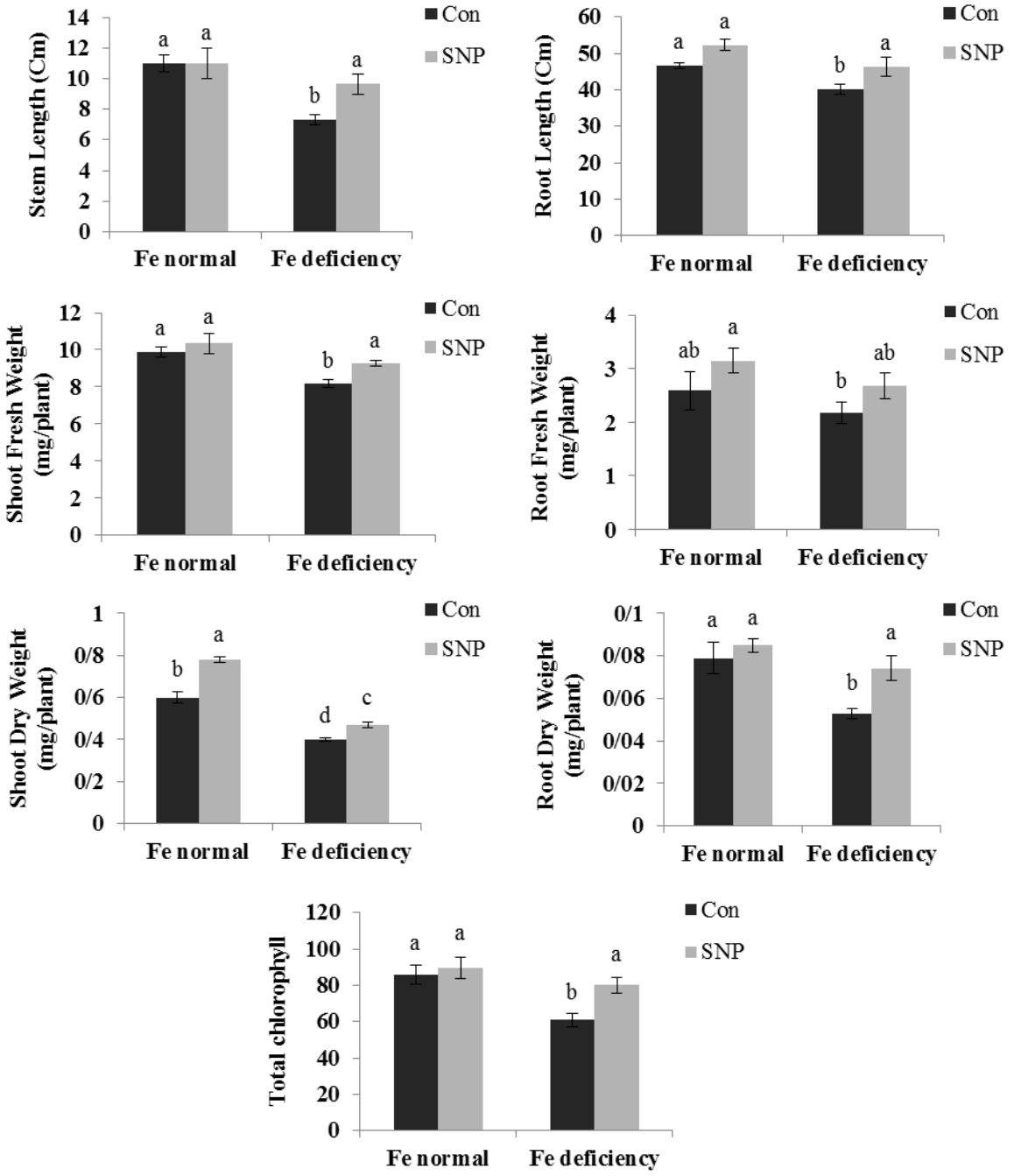
آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان: شکل ۳ نتایج حاصل از اندازه-گیری فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان گیاه خیار را در شرایط کنترل و تنش نشان می‌دهد. همان‌طور که در شکل مشاهده می‌شود تنش کمبود آهن فعالیت هر سه آنزیم CAT، APX و GPX را کاهش داد. اما تأثیر معنی‌داری بر فعالیت آنزیم GPX ریشه نداشت. تیمار برگی SNP فعالیت این سه آنزیم آنتی-اکسیدان را در شرایط تنش افزایش داد. تیمار SNP به تنهایی تأثیر

معنی‌داری بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان نداشت (شکل ۳).

یکی از مهم‌ترین تغییرات بیوشیمیایی که در گیاهان تحت تنش اتفاق می‌افتد، تولید ROS است که به مولکول‌های زیستی مانند لیپیدها، پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک آسیب وارد

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-10-31]

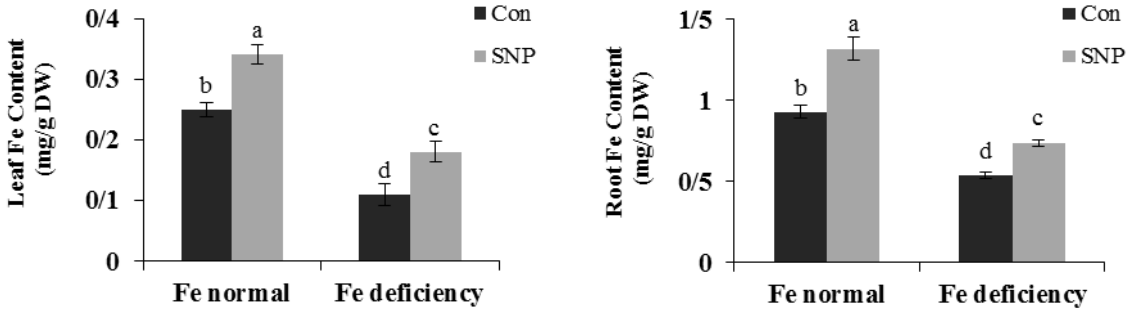
[DOR: 20.1001.1.23222727.1401.11.51.9.6]



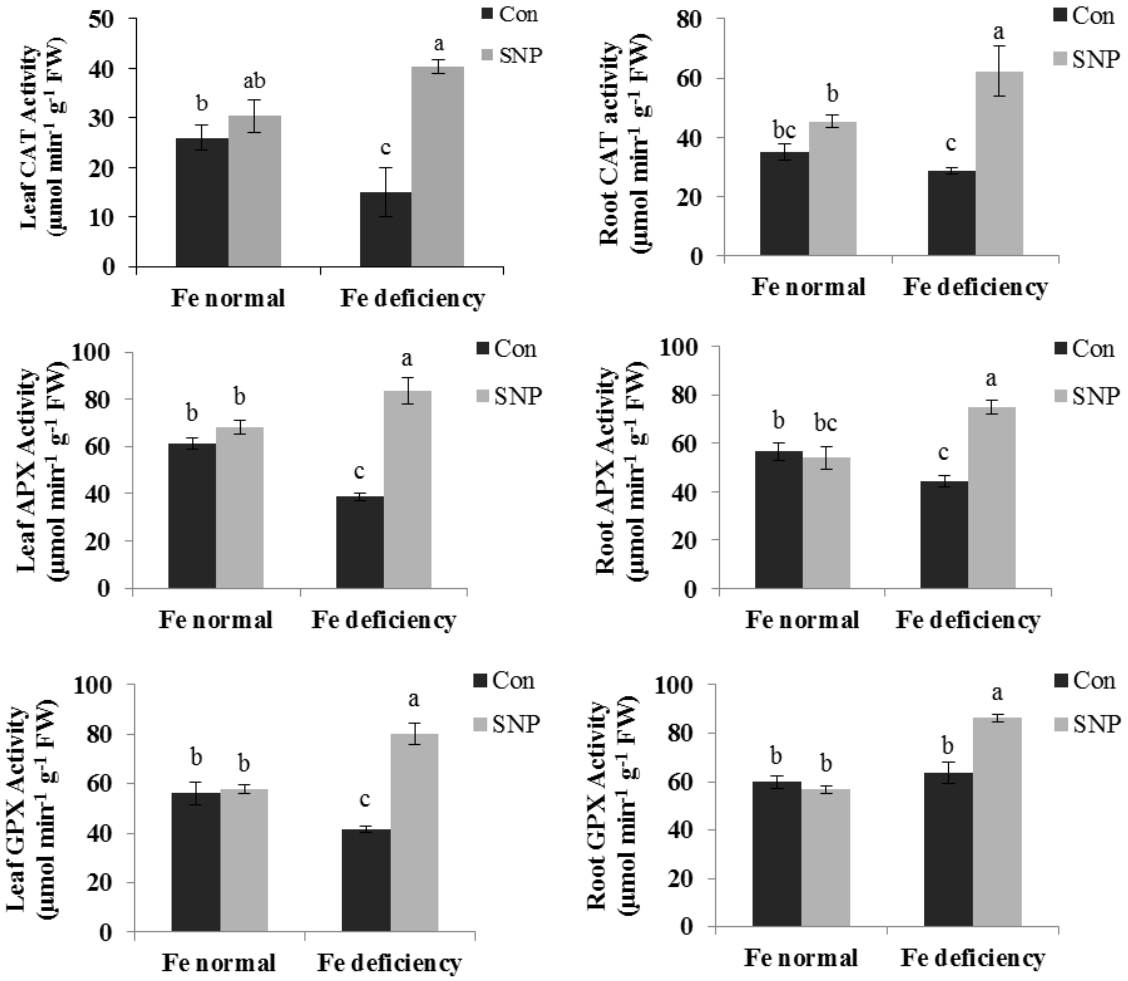
شکل ۱- اثر پیش‌تیمار با SNP بر پارامترهای رشد قسمت هوایی و ریشه و محتوای کلروفیل کل گیاه خیار در شرایط کنترل و تنش کمبود آهن. مقادیر، میانگین سه تکرار ± SE است. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌داری در سطح ۰/۰۵ > P است.

می‌کند. گیاهان مکانیسم‌های آنتی‌اکسیدانی برای سم‌زدایی و حذف ROSها دارند. سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی شامل آنتی‌اکسیدان‌های غیرآنزیمی و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان است (Sminorff, 1993). در یک مطالعه (Ding *et al.*, 2008) بر روی کلم‌چینی (*Brassica chinensis*) نشان داده شد کمبود آهن موجب کاهش در رشد، غلظت رنگیزه‌های فتوسنتزی، سرعت فتوسنتز خالص و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان شامل CAT و APX گردید. با این‌حال با کاربرد SNP (ماده دهنده NO) عوارض ناشی از کمبود آهن به‌طور معنی‌داری برطرف گردید. این در حالی است که Molassiotis و همکاران (۲۰۰۵)

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-10-31]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1401.11.51.9.6]



شکل ۲- اثر پیش‌تیمار با SNP بر غلظت آهن در برگ و ریشه گیاه خیار در شرایط کنترل و تنش کمبود آهن. مقادیر، میانگین سه تکرار ± SE است. حروف یکسان بیانگر عدم‌اختلاف معنی‌داری در سطح P < ۰/۰۵ است.



شکل ۳- اثر پیش‌تیمار با SNP بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز و گایاکول پراکسیداز در برگ و ریشه گیاه خیار در شرایط کنترل و تنش کمبود آهن. مقادیر، میانگین سه تکرار ± SE است. حروف یکسان بیانگر عدم‌اختلاف معنی‌داری در سطح P < ۰/۰۵ است.

نشان دادند که در گلابی (Prunus) و در کمبود آهن فعالیت آنزیم‌های SOD، POD وCAT افزایش یافت. نتایج متفاوت بدست آمده می‌تواند ناشی از: شدت کمبود آهن، طول دوره تیماردهی و یا گونه گیاهی باشد. در تحقیق حاضر فعالیت

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-10-31]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1401.11.51.9.6]

آنزیم کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز و گایاکول پراکسیداز تحت تنش کمبود آهن کاهش یافت. گزارش شده است که کمبود آهن به‌عنوان یک تنش غیرزیستی بر بیان و فعالیت ایزوآنزیم-های خاص پراکسیداز تأثیر می‌گذارد و منجر به تنش ثانویه اکسیداتیو در گونه‌های دولپه‌ای می‌گردد (Ranieri *et al.*, 2001). همانند نتایج بدست آمده در تحقیق حاضر، Sun و همکاران (۲۰۰۷) گزارش کردند که به موازات افزایش میزان H_2O_2 و O_2^{-*} در گیاه فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز و پراکسیداز در برگ‌های ذرت تحت تنش کمبود آهن کاهش یافت. با بکارگیری SNP میزان پراکسید هیدروژن و رادیکال پراکسید کاهش و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان افزایش یافت. به‌دلیل وجود الکترون جفت‌نشده در مولکول، NO می‌تواند به‌صورت مستقیم با برخی از ROSها وارد واکنش شود مثل: H_2O_2، O_2^{-*} و HO^*. واکنش NO با O_2^{-*} تولید پراکسی نیتریت ($ONOO^-$) می‌کند که ترکیب بسیار سمی است. با این‌حال پراکسی نیتریت بعد از ترکیب با پروتون‌ها می‌تواند به یک آنیون نیترات و یک پروتون تجزیه و یا می‌تواند بعد از واکنش با H_2O_2 تولید آنیون نیتریت و O_2 نماید (Martinez *et al.*, 2000). ضمناً NO می‌تواند در واکنش با رادیکال‌های لیپیدآلکوکسیل (LO^*) و پراکسیل (LOO^*) که در طی پراکسیداسیون تولید می‌شوند پراکسیداسیون چربی‌ها را متوقف کند. واکنش بین NO و رادیکال‌های فوق سریع و مستقیم است (Beligni and Lamattina 1999). به‌نظر می‌رسد افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان به‌وسیله NO می‌تواند ناشی از بهبود شرایط گیاه از نظر دسترسی به آهن باشد. همچنین افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان نقش مهمی در از بین‌بردن مستقیم ROSها دارا است. گزارش شده است که یک ارتباط قوی بین حضور آهن و فعالیت متالوآنزیم‌ها وجود دارد، حفظ سطوح عادی آهن برای تضمین فعالیت چند آنزیم آنتی‌اکسیدان ضروری است. آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز پروتئین هم (آهن) هستند و گزارش شده است که کاهش فعالیت آنها در گیاه *Borago officinalis* تحت تنش کمبود آهن منعکس‌کننده میزان کم آهن است (Mohamed and Aly, 2004). بنابراین کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در مطالعه حاضر می‌تواند به‌دلیل کاهش محتوای آهن نیز باشد که در شکل ۲ نشان داده شده است.

تیمار SNP باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز و گایاکول پراکسیداز گردید (شکل ۳). افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان توسط تیمار SNP احتمالاً به‌دلیل بهبود محتوای آهن است. نتایج ما با نتایج Sun و همکاران (۲۰۰۷) که افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان را در گیاه ذرت تحت تنش کمبود آهن توسط تیمار SNP گزارش کرده‌اند، مطابقت دارد.

گزارشات متعددی در مورد نقش کاربرد برون‌زای SNP در افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان تحت تنش‌های مختلف مانند شوری (Hasanuzzaman *et al.*, 2011)، گرما (Bavita *et al.*, 2012)، فلز سنگین (Ahmad *et al.*, 2017) و غیره وجود دارد. این موضوع اهمیت این ترکیب را در تخفیف تنش اکسیداتیو نشان می‌دهد.

نتیجه‌گیری

در این مطالعه مولکول سیگنالینگ NO از طریق بهبود پارامترهای رشد، محتوای کلروفیل کل و آهن و افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان نقش دفاعی خود را در شرایط تنش کمبود آهن اعمال می‌کند.

تشکر و قدردانی

از سرکار خانم مینا محمدزاده کارشناس آزمایشگاه فیزیولوژی گیاهی به‌خاطر همکاری در تهیه مواد و استفاده از دستگاه‌ها تشکر و قدردانی می‌شود.

منابع

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-10-31]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1401.11.51.9.6]

Ahmad, P., Ahanger, M. A., Alyemeni, M. N., Wijaya, L. and Alam, P. (2017) Exogenous application of nitric oxide modulates osmolyte metabolism, antioxidants, enzymes of ascorbate-glutathione cycle and promotes growth under cadmium stress in tomato. Protoplasma 1-15.

Bavita, A., Shashi, B. and Navtej, S. B. (2012) Nitric oxide alleviates oxidative damage induced by high temperature stress in wheat. Indian Journal of Experimental Biology 50: 372-378.

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

Bityutskii, N. P., Yakkonen, K. L., Lukina, K. A., Semenov, K. N. and Panova, G. G. (2020) Fullerenol can ameliorate Iron deficiency in Cucumber grown hydroponically. Journal of Plant Growth Regulation 1-15.

Dhindsa, R. S., Dhindsa, P. and Thorpe, A. T. (1981) Leaf senescence correlated with increased levels of membrane permeability and lipid peroxidation and decrease levels of superoxide dismutase and catalase. Journal of Experimental Botany 32: 93-101.

Ding, F., Wang, X. F., Shi, Q. H., Wang, M. L., Yang, F. J. and Gao, Q. H. (2008) Exogenous nitric oxide alleviated the inhibition of photosynthesis and antioxidant enzyme activities in iron-deficient chinese cabbage (*Brassica chinensis* L.). Agric Sciences in China 7: 168-179.

Garcia, M. J., Lucena, C., Romera, F. J., Alcantara, E. and Perez-Vicente, R. (2010) Ethylene and nitric oxide involvement in the up-regulation of key genes related to iron acquisition and homeostasis in Arabidopsis. Journal of Experimental Botany 61: 3885-3899.

Graziano, M., Beligni, M. V. and Lamattina, L. (2002) Nitric oxide improves internal iron availability in plants. Plant Physiology 130: 1852-1859.

Graziano, M. and Lamattina, L. (2007) Nitric oxide accumulation is required for molecular and physiological responses to iron deficiency in tomato roots. The Plant Journal 52: 949-960.

Hasanuzzaman, M., Hossain, M. A. and Fujita, M. (2011) Nitric oxide modulates antioxidant defense and the methylglyoxal detoxification system and reduces salinity-induced damage of wheat seedlings. Plant Biotechnology Reports 5: 353.

Kaya, C., Akram, N. A. and Ashraf, M. (2019) Influence of exogenously applied nitric oxide on strawberry (*Fragaria ananassa*) plants grown under iron deficiency and/or saline stress. Physiologia Plantarum 165: 247-263.

Koen, E., Szymanska, K., Klinguer, A., Dobrowolska, G., Besson-Bard, A. and Wendehenne, D. (2012) Nitric oxide and glutathione impact the expression of iron uptake-and iron transport-related genes as well as the content of metals in *A. thaliana* plants grown under iron deficiency. Plant Signaling and Behavior 7: 1246-1250.

Lichtenthaler, H. K. (1987) Chlorophyll and carotenoids: Pigments photosynthetic of biomembranes. Method Enzymol 148: 350-382.

Marschner, H., Kirkby, E. A. and Cakmak, I. (1995) Effect of mineral nutritional status on shoot-root partitioning of photoassimilates and cycling of mineral nutrients. Journal of Experimental Botany 47: 1255-1263.

Martinez, G. R., Mascio, P. D., Bonini, M. G., Augusto, O., Briviba, K. and Sies, H. (2000) Peroxynitrite does not decompose to singlet oxygen ($^1\Delta gO_2$) and nitroxyl (NO^-). Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 97: 10307-10312.

Mazaherinia, S., Astaraei, A. R., Fotovat, A. and Monshi, A. (2010) Nano iron oxide particles efficiency on Fe, Mn, Zn and Cu concentrations in wheat plant. World Applied Sciences Journal 7: 36-40.

Mohamed, A. A. and Aly, A. A. (2004) Iron deficiency stimulated some enzymes activity, lipid peroxidation and free radicals production in *Borage officinalis* induced in vitro. International Journal of Agriculture and Biology 6: 179-184.

Molassiotis, A., Therios, I., Dimassi, K., Diamantidis, G. and Chatzissavvidis, C. (2005) Induction of Fe(III)-chelate reductase activity by ethylene and salicylic acid in iron-deficient peach rootstock explants. Journal of Plant Nutrition 28: 669-682.

Mostofa, M. G., Fujita, M. and Tran, L. S. P. (2015) Nitric oxide mediates hydrogen peroxide-and salicylic acid-induced salt tolerance in rice (*Oryza sativa* L.) seedlings. Plant Growth Regulation 77: 265-277.

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

Plewa, M. J., Smith, S. R. and Wanger, E. D. (1991) Diethyldithiocarbamate suppresses the plant activation of aromatic amines into mutagens by inhibiting tobacco cell peroxidase. Journal of Mutation Research 247: 57-64.

Ranieri, A., Castagna, A., Baldan, B. and Soldatini, G. F. (2001) Iron deficiency differently affects peroxidase isoforms in sunflower. Journal of Experimental Botany 52: 25-35.

Simontacchi, M., Galatro, A., Ramos-Artuso, F. and Santa-Maria, G. E. (2015) Plant survival in a changing environment: the role of nitric oxide in plant responses to abiotic stress. Frontiers in Plant Science 6.

Sminorff, N. (1993) The role of active oxygen in the response of plants to water deficit and desiccation. New Phytologist 125: 27-58.

Sun, B., Jing, Y., Chen, K., Song, L., Chen, F. and Zhang, L. (2007) Protective effect of nitric oxide on iron deficiency-induced oxidative stress in maize (*Zea mays*). Journal of Plant Physiology 164: 536-543.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-10-31]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1401.11.51.9.6]

Wimalasekera, R., Tebartz, F. and Scherer, G. F. E. (2011) Polyamines, polyamine oxidases and nitric oxide in development, abiotic and biotic stresses. Plant Science 181: 593-603.

Zhang, X., Dong, Y., Kong, J., Liu, Z. and Wang, Q. (2014) Effects of nitric oxide on iron-deficiency stress alleviation of peanut. Journal of Plant Nutrition 37: 2108-2127.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-10-31]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1401.11.51.9.6]

Effect of foliar spray of sodium nitroprusside (nitric oxide donor) on growth parameters, total chlorophyll content, iron content and antioxidant enzymes activity in cucumber (*Cucumis sativus* L.) under iron deficiency stress

Ziba Shahabi and Naser Abbaspour*

Department of Biology, Faculty of Sciences, Urmia University, Urmia, Iran
(Received: 08/08/2020, Accepted: 07/05/2022)

Abstract

In this study, the effect of foliar spray of sodium nitroprusside (100 μM) as a nitric oxide donor on iron deficiency stress alleviation in cucumber plant was investigated. The results indicated that iron deficiency stress reduced growth parameters, total chlorophyll content, Fe content and antioxidant enzymes activity of catalase, ascorbate peroxidase as well as guaiacol peroxidase. Sodium nitroprusside foliar spray resulted in improvement of growth parameters, total chlorophyll content, Fe content and increased activity of antioxidant enzymes. Therefore, these results support the biological function of nitric oxide to improve iron availability and damage caused by its deficiency.

Keywords: Antioxidant enzymes, Iron deficiency stress, Cucumber plant, Iron content

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-10-31]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1401.11.51.9.6]

Corresponding author, Email: nabbaspour03@yahoo.com