

نقش محلول پاشی سدیم نیتروپروساید بر القای فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی گیاه نرگس (*Narcissus tazetta L.*) در واکنش به آبیاری با آب شور

رها تبریزی دوز^۱، سپیده کلاته‌جاری^{۱*}، داود نادری^۲، مرضیه قنبری جهرمی^۱، حسینعلی اسدی قارنه^۳

^۱ گروه علوم باغبانی و زراعی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

^۲ گروه علوم باغبانی و عضو باشگاه پژوهشگران جوان دانشگاه آزاد اسلامی واحد اصفهان (خوراسگان)، اصفهان، ایران

^۳ گروه علوم باغبانی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد اصفهان (خوراسگان)، اصفهان، ایران

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۵/۰۱، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۴۰۱/۰۷/۱۲)

چکیده

آزمایش حاضر با هدف بررسی بهبود تحمل به شوری گیاه نرگس با محلول پاشی سدیم نیتروپروساید به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک کاملاً تصادفی با سه تکرار در گلخانه پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد اصفهان (خوراسگان) طی سال‌های ۱۳۹۸ و ۱۳۹۹ اجرا شد. تیمارهای آزمایشی شامل آبیاری با آب شور در دو سطح ۴ و ۸ دسی‌زیمنس بر متر و شاهد (عدم شوری) و سدیم نیتروپروساید در چهار سطح (صفر، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میکرومولار) بود. نتایج نشان داد که تنش شوری بالا باعث ایجاد تنش اکسیداتیو، از جمله افزایش تولید ۱۱۸ درصدی پراکسید هیدروژن و ۸۲ درصدی مالون دی‌آلدئید در گیاهان شد. تنش شوری شدید باعث کاهش صفات مورفولوژیکی از جمله کاهش ۴۰ درصدی عمر گل روی بوته و ۴۹ درصدی دوره گلدهی گل نرگس نسبت به شرایط عدم تنش شد. تنش شوری منجر به تغییر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در غلظت‌های مختلف شد. فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز با تیمار شوری همبستگی مثبت داشت و تا ۲۳ درصدی افزایش نشان داد. درحالی‌که آنزیم کاتالاز تا سطح ۴ دسی‌زیمنس بر متر شوری ۸۷ درصد افزایش یافت و سپس در غلظت بالاتر در برگ کاهش یافت. با این وجود، کاربرد سدیم نیتروپروساید آسیب اکسیداتیو در گیاهان را با بهبود فعالیت آنزیم‌های آنتی-اکسیدانی، پرولین و فلاونوئید گل، مانع کاهش زیست توده گیاه شد. در نهایت، نتایج این مطالعه نشان داد کاربرد سدیم نیتروپروساید به ویژه غلظت ۲۰۰ میکرومولار تحمل به تنش شوری در گل نرگس را از طریق کاهش جذب سدیم تا ۱۶ درصد و پراکسیداسیون لیپیدهای غشا تا ۱۷ درصد بهبود داد.

کلمات کلیدی: دوره گلدهی، سمیت یونی، مالون دی‌آلدئید، فلاونوئید گل

مقدمه

رشد می‌کنند. گیاهی سوخ‌دار و چندساله، با پوشش گل مسطح و تاج گل نیمه کروی است که به عنوان گل بریده، گلدانی و باغچه‌ای در فضای سبز مورد استفاده قرار می‌گیرد (Li et al., 2012).

نرگس (*Narcissus tazetta L.*) یکی از مهم‌ترین گیاهان زینتی و دارویی از خانواده نرگسیان (Amaryllidaceae) است و گونه‌های مختلف آن در سرتاسر جهان بجز مناطق گرمسیری

* نویسنده مسئول، نشانی پست الکترونیکی: kalatejari@yahoo.com

گیاهان برای مقابله با اثرات مضر شوری، سازگاری‌های مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی زیادی ایجاد می‌کنند (Motos *et al.*, 2017). از آنجایی که کلرید سدیم (NaCl) محلول‌ترین و رایج‌ترین نمک است، به‌طور معمول گیاهان مکانیسم‌هایی را برای تنظیم تجمع NaCl ایجاد می‌کنند (Munns, 2005). اسیدهای آمینه آزاد در کاهش تنش اسمزی ناشی از غلظت بالای نمک نقش دارند (Ashrafijou *et al.*, 2010)، از جمله افزایش محتوای پرولین در سلول‌های گیاهی یک عامل مهم در جلوگیری از بروز اثرات منفی در سطح سلولی (Saxena *et al.*, 2013) از طریق حفظ فشار تورگر، محتوای نسبی آب و هدایت روزنه‌ای است (Ghaffari *et al.*, 2019). برای از بین بردن سطوح بالای ROS، سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانی غیرآنزیمی کارآمد (مانند آسکوربات، فلاونوئیدها، گلوکاتینون، توکوفرول‌ها و فنولیک‌ها) و آنزیمی (مانند کاتالاز (CAT)، پراکسیداز (POD)، آسکوربات پراکسیداز (APX) و سوپراکسید دیسموتاز (SOD)) درگیر هستند (Ma *et al.*, 2020). حفظ سطح بالایی از فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیداتیو با افزایش ظرفیت گیاهان میزبان در برابر آسیب اکسیداتیو کمک زیادی به کاهش تنش شوری می‌کند. بنابراین، توانایی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان برای حذف ROS و کاهش اثرات مخرب، ارتباط نزدیکی با مقاومت به تنش شوری دارد (Ma *et al.*, 2020). در آزمایشی که بر روی ارقام گل نرگس تحت سطوح شوری صورت گرفت نشان داده شد که افزایش سطح شوری، نسبت سدیم به پتاسیم اندام هوایی را افزایش داد و در نهایت بیوماس گیاه کاهش یافت (Wang *et al.*, 2013). Veatch-Blohm *et al.*, 2013) و همکاران (۲۰۱۹) با مطالعه بر سه وارسته نرگس *N. pseudonarcissus* نشان دادند که تنش ملایم شوری باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های SOD و POD شد، درحالی‌که با افزایش شدت تنش فعالیت این آنزیم‌ها کاهش یافتند و همچنین با وجود افزایش پرولین و قندهای محلول، به دلیل آسیب جدی به غشای پلاسما و انباشت زیادی از مالون دی‌آلدئید، صدمات وارد شده به گیاه بالا بود. در این راستا نصری‌مقدم و همکاران (۱۳۹۹) در

تنش شوری باعث کاهش خصوصیات رشدی و گلدهی این گونه گیاهی می‌شود (ناصری مقدم و همکاران، ۱۳۹۹). شوری خاک به عنوان یکی از مهم‌ترین مشکلات کشاورزی در طول تاریخ به شمار می‌رود (Nandal and Hooda, 2013). شوری به دلیل مشکلاتی مانند استفاده نادرست از زمین‌های کشاورزی، کمبود باران، تبخیر زیاد، عدم زهکشی رخ می‌دهد. بیش از ۸۰۰ میلیون هکتار از اراضی کشاورزی در جهان تحت تأثیر منفی شوری قرار دارند. این نسبت بیش از ۶ درصد از کل زمین‌های کشاورزی جهان را تشکیل می‌دهد (Yildiz *et al.*, 2020). طبق آخرین آمار، وسعت خاک‌های شور در ایران در حدود ۳۴ میلیون هکتار است که معادل ۲۰ درصد از اراضی کشور است (FAO, 2019). شوری با آسیب رساندن به تعادل یونی و اسمزی در گیاهان باعث ایجاد تنش می‌شود. تنش اسمزی ناشی از افزایش مقدار نمک در خاک، میزان آب مصرفی گیاه را کاهش داده و در نتیجه خشکی فیزیولوژیکی رخ می‌دهد. یون‌های سدیم و کلر (Na^+ و Cl^-) که در محیط با تنش یونی افزایش می‌یابد، در رقابت با عناصر غذایی ضروری مانند پتاسیم (K^+)، کلسیم (Ca^{2+}) و منیزیم (Mg^{2+}) منجر به کمبود عناصر غذایی در گیاه می‌شود (Botella *et al.*, 2007). علاوه بر این، شوری می‌تواند بر بخش‌های مختلف درون سلولی (به عنوان مثال، کلروپلاست، واکوئل، سیتوپلاسم و هسته)، اندام‌های سلولی و سطح کل گیاه تأثیر منفی بگذارد (Rahdari *et al.*, 2012)، در نتیجه باعث کاهش زیست‌توده و سلامت گیاه می‌شود.

گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) مانند پراکسید هیدروژن (H_2O_2)، رادیکال‌های سوپراکسید (O_2^-)، هیدروکسیل (OH^-) و اکسیژن تکی ($^1\text{O}_2$) در سلول‌های گیاهی در کلروپلاست و میتوکندری تولید می‌شوند (Abbasi *et al.*, 2014). گونه‌های فعال اکسیژن با ایجاد آسیب اکسیداتیو به لیپیدها که منجر به تجزیه پروتئین و پراکسیداسیون لیپید غشایی می‌شود، به‌طور جدی بر فعالیت‌های متابولیک گیاه تأثیر می‌گذارد (Suo *et al.*, 2017).

سدیم نیتروپروساید باعث کاهش نشت الکترولیت‌های غشا، پراکسیداسیون لیپیدها و تولید H_2O_2 در گیاه گوجه‌فرنگی (*Solanum lycopersicum*) شد. این محققان همچنین بیان کردند که این ترکیب باعث القای سیستم آنتی‌اکسیدانی و افزایش سنتز بتائین، فلاونوئید، پرولین و گلیسین تحت تیمارهای تنش شوری شد.

با توجه به اینکه گل نرگس یکی از محصولات مهم اقتصادی از نظر زینتی و دارویی در ایران است و از طرف دیگر بحران شوری آب و خاک از مشکلات جدی بخش تولید در کشاورزی است. همچنین با توجه به بررسی‌های انجام شده تاکنونی تحقیق جامع و کاملی در زمینه مکانیسم تأثیر شوری با کاربرد سدیم نیتروپروساید بر گیاه گل نرگس گزارش نشده است، از این رو آگاهی از میزان تحمل گیاه نرگس به شرایط تنش شوری با کاربرد سدیم نیتروپروساید و بررسی واکنش‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی این گیاه امری مهم است.

مواد و روش‌ها

به منظور بررسی اثر سدیم نیتروپروساید بر کاهش صدمات ناشی از شرایط تنش شوری در گل نرگس، آزمایشی در گلخانه پژوهشی دانشگاه آزاد واحد اصفهان (خوراسگان) با دمای روز و شب به ترتیب 25 ± 3 و 15 ± 3 درجه سانتی‌گراد، میزان رطوبت ۷۰-۶۰ درصد و شرایط نور طبیعی طی دو دوره رشد در سال‌های ۱۳۹۸ و ۱۳۹۹ طراحی و اجرا شد.

سوخ‌های درشت و سالم نرگس (با محیط ۱۵-۱۷ سانتی‌متر) از مرکز تحقیقات گل و گیاه محلات خریداری شدند. اواخر مهر و اوایل آبان در گلدان‌های پلاستیکی به قطر دهانه ۲۰ سانتی‌متر و حجم ۳ لیتر حاوی ۷۰ درصد کوکوپیت و ۳۰ درصد پرلیت یک عدد سوخ کاشته شد. پس از کاشت، گلدان‌ها بلافاصله آبیاری شدند و به صورت منظم و هر ۱۵-۱۰ روز یکبار به صورت یکسان و دستی آبیاری صورت گرفت، به گونه‌ای که آب کل حجم گلدان را در بر گرفت و حدود ۱۰ تا ۲۰ درصد آب مورد استفاده از گلدان خارج شد.

مطالعه تأثیر تنش شوری بر گل نرگس *N. tazzeeta* نشان دادند که تنش شوری در سطح ۶ دسی‌زیمنس بر متر باعث افزایش ۱۹ درصدی میزان فلاونوئید گل نسبت به تیمار شاهد شد. از سوی دیگر، تنش شوری باعث افزایش فاصله زمانی از کاشت تا گلدهی و کاهش تعداد روز از گلدهی تا پیری گل نرگس می‌شود (ناصری‌مقدم و همکاران، ۱۳۹۹). بنابراین شوری یک عامل محدودکننده غیرزیستی مهم برای رشد است و دستیابی به ترکیباتی جهت کاهش اثرات منفی تنش شوری امری ضروری و لازم است.

سدیم نیتروپروساید (SNP) یک ترکیب آزادکننده نیتریک اکساید (NO) است. نیتریک اکساید یک مولکول گازی کوچک، قابل حل در آب و چربی و نسبتاً پایدار است که به عنوان یک مولکول پیام‌رسان و یک تنظیم‌کننده رشد شناخته می‌شود. این مولکول بسته به غلظت، موقعیت آن در سلول‌های گیاهی، نوع و شدت تنش و نوع گونه گیاهی اثرات دو جانبه سمی یا حفاظتی را نشان دهد (Del Rio et al., 2004). نیتریک اکساید می‌تواند از طریق پاکسازی مستقیم و جلوگیری از تشکیل رادیکال‌های آزاد اکسیژن (رضاپور و همکاران، ۱۳۹۸)، کنترل مرگ برنامه‌ریزی شده سلول (Belenghi et al., 2007) و اثر بر بیان ژن‌ها (Shi et al., 2005) باعث بهبود مقاومت به شوری در گیاهان شود. مشاهدات Mosiichuk (۲۰۱۵) نشان داد که پیش‌تیمار با سدیم نیتروپروساید می‌تواند صدمات ناشی از نمک را در گیاهان آرابیدوپسیس (*Arabidopsis thaliana*) از طریق تنظیم فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و کاهش پراکسیداسیون لیپیدها کاهش دهد. همچنین، محمدی و همکاران (۱۳۹۷) اثر غلظت‌های صفر، ۰/۱، ۰/۲ و ۰/۴ میلی‌مولار سدیم نیتروپروساید را بر مقاومت به تنش شوری با غلظت‌های صفر، ۷۵ و ۱۵۰ میلی‌مولار کلرید سدیم بر گیاه دارویی سرخارگل (*Echinacea angustifolia*) بررسی کردند و به این نتیجه رسیدند که سدیم نیتروپروساید با غلظت ۰/۲ میلی‌مولار موجب افزایش قابل توجه آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در گیاه شد. مطالعات انجام‌شده توسط Ahmad و همکاران (۲۰۱۸) بیانگر این است که NO به عنوان ترکیب ره‌اشده از

جدول ۱- ترکیبات مورد استفاده در محلول هوگلند

مواد شیمیایی	نیترات	نیترات	منوفسفات	سولفات	اسید	کلرید	سولفات	سولفات	اسید
	کلسیم	پتاسیم	آمونیم	منیزیم	بوریک	منگنز	روی	مس	مولیبدیک
گرم در ۱۰۰ لیتر آب	۱۱۸۱	۵۰۵/۵	۱۱۵	۴۳۹	۲/۸	۱/۱۸	۰/۲۲	۰/۰۸	۰/۰۲

گلدان‌ها به مدت ۲-۳ هفته آبیاری شدند و از هفته چهارم از محلول غذایی هوگلند (جدول ۱) نیز استفاده شد.

تیمارهای آزمایشی شامل سدیم نیتروپروساید (Sigma Company, USA) در سه سطح و با غلظت‌های ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میکرومولار به صورت محلول‌پاشی و تیمار شاهد (محلول‌پاشی با آب مقطر)، در مرحله دو برگی گیاه و طی دو مرحله و در فواصل ۱۵ روز بر روی شاخساره گل نرگس اعمال شد. تیمار شوری به صورت آبیاری با آب شور در دو سطح با غلظت‌های ۴ و ۸ دسی‌زیمنس بر متر و تیمار شاهد (۲ دسی‌زیمنس بر متر) (Guo et al., 2022) یک هفته بعد از محلول‌پاشی مرحله اول سدیم نیتروپروساید همراه با آب آبیاری صورت گرفت. جهت اعمال تیمار شوری از نمک NaCl برند Merc به میزان ۳۰۰-۲۵۰ سی‌سی برای هر گلدان استفاده شد. پس از هر ۳-۲ بار اعمال تیمار شوری جهت حفظ و تثبیت شوری به صورت تصادفی EC زه‌آب خروجی تعدادی از گلدان‌ها اندازه‌گیری شد و اگر از دو برابر EC اعمال شده بیشتر بود در دور بعدی، آبیاری بدون تیمار شوری انجام گرفت. اعمال تیمارها تا زمان پایان گلدهی ادامه داشت. گلدهی و پیری به‌صورت روزانه بررسی شدند.

صفات گلدهی: در پایان آزمایش فاکتورهای رویشی شامل تعداد گل در هر بوته، تاریخ شکفتن گل‌ها و اولین گلی که شروع به پیر شدن می‌کند (گلی که شادابی خود را از دست داد و مات می‌گردد پیر محسوب می‌شود) جهت تعیین عمر گل روی بوته (تعداد روزها از بازشدن اولین گلچه تا پژمردگی گلچه‌ها) و دوره گلدهی (تعداد روزها از بازشدن اولین گلچه تا بازشدن آخرین گلچه روی بوته) ثبت شد.

نمونه‌های گل، اندام هوایی و ریشه بعد از برداشت وزن شدند و سپس به مدت ۴۸ ساعت درون آون ۷۰ درجه سانتی‌گراد (Maren et al., 2019) قرار گرفتند و سپس وزن

خشک نمونه‌ها اندازه‌گیری شدند. تمام اندازه‌گیری‌های وزن به‌وسیله ترازوی دیجیتال انجام گرفت.

صفات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی: صفات فیزیولوژیکی

و بیوشیمیایی در مرحله گلدهی اندازه‌گیری شدند.

محتوای پرولین: نمونه برگ تر (۱۰۰ میلی‌گرم) به همراه

۱۰ میلی‌لیتر سولفوسالسیلیک اسید ۳ درصد درون هاون چینی ساییده شد و از کاغذ صافی عبور داده شد. سپس ۲ میلی‌لیتر از محلول رویی به ۲ میلی‌لیتر ناین‌هیدرین و ۲ میلی‌لیتر اسید استیک اضافه شد. سپس نمونه‌ها به مدت یک ساعت در حمام آب گرم در دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. پس از آن نمونه‌ها در ظرف یخ قرار گرفتند. در انتها ۴ میلی‌لیتر تولوئن به هریک از نمونه‌ها اضافه شد و به مدت ۲۰-۱۵ ثانیه ورتکس شدند. میزان جذب نمونه‌ها با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (U-1800 Hitachi, Japan) در طول موج ۵۲۰ نانومتر خوانده شدند (Bates et al., 1973).

ارزیابی پراکسیداسیون لیپیدهای غشا (MDA): اندازه-

گیری مالون دی‌آلدئید به عنوان فرآورده نهایی پراکسیداسیون لیپیدی غشا براساس روش Madhava و Sresty (۲۰۰۰) انجام گرفت. ابتدا نمونه تر گیاهی (۰/۱ گرم) در ۲/۵ میلی‌لیتر محلول تری کلرواستیک اسید (TCA) ۰/۵ درصد درون هاون چینی سائیده و مخلوط حاصله به مدت ۵ دقیقه با دور ۳۰۰۰ سانتریفیوژ شد. میزان یک میلی‌لیتر از محلول رویی به میزان ۲/۲۵ میلی‌لیتر در محلول TCA - TBA اضافه شد و به مدت ۳۰ دقیقه روی حمام بن‌ماری با دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. پس از این زمان به‌منظور متوقف کردن واکنش، نمونه‌ها بلافاصله در یخ قرار داده شدند. سپس نمونه‌ها مجدداً در دور ۳۰۰۰ سانتریفیوژ شدند و محلول سانتریفیوژ شده به لوله آزمایش منتقل شد و مقدار جذب نور در دو طول موج

سپس ۲/۹ میلی‌لیتر از مخلوط حاصل را داخل تیوب استریل ریخته، بلافاصله پس از افزودن ۲ میکرومول ریوفلاوین و ۰/۱ میلی‌لیتر عصاره آنزیمی، به مدت ۱۵ دقیقه زیر نور لامپ فلورسانس ۶×۱۵ وات قرار داده شد. مخلوط حاصل جهت تعیین میزان فعالیت آنزیم از دستگاه اسپکتروفوتومتر (U-1800 Hitachi, Japan) در طول موج ۵۶۰ نانومتر طیف‌سنجی گردید.

محتوای فلاونوئید گل: محتوای فلاونوئید گل با روش رنگ‌سنجی ارزیابی شد (Chang *et al.*, 2002). عصاره با غلظت ۱۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر تهیه شد. به این صورت که ۰/۵ میلی‌لیتر از عصاره در ۱/۵ میلی‌لیتر متانول حل و ۰/۱ میلی‌لیتر آلومینیوم کلراید ۱۰ درصد به آن اضافه شد. سپس ۰/۱ میلی‌لیتر محلول پتاسیم استات یک مولار و ۲/۸ میلی‌لیتر آب مقطر به این مخلوط اضافه شده و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق نگهداری شدند. جذب مخلوط حاصل در طول موج ۴۱۵ نانومتر توسط اسپکتروفوتومتر (U-1800 Hitachi, Japan) اندازه‌گیری گردید. میزان فلاونوئید با استفاده از منحنی استاندارد براساس میلی‌گرم کوئرستین در گرم عصاره گزارش شد.

غلظت سدیم و پتاسیم برگ و سوخ: اندازه‌گیری غلظت عناصر در اندام هوایی و سوخ با استفاده از روش خاکسترگیری خشک انجام شد (Page *et al.*, 1982). برای این کار مقدار ۰/۵ گرم از نمونه‌های گیاهی خشک‌شده در آن پودر شد و سپس داخل کوزه‌های چینی ریخته شدند، سپس کوزه‌های چینی حاوی نمونه‌های گیاهی، درون کوره با دمای ۵۵۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۸ ساعت قرار داده شدند. سپس به هر یک از نمونه‌ها ۱۰ میلی‌لیتر HCl دو نرمال اضافه، و در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند تا خاکستر به‌طور کامل هضم شود. محتویات داخل کوزه چینی را از کاغذ صافی عبور داده و در نهایت، به حجم رسانده شدند. برای اندازه‌گیری سدیم و پتاسیم به روش شعله‌سنجی و با استفاده از دستگاه فلیم‌فوتومتر (Jenway Flame Photometer PFP7) انجام شد.

غلظت کلر برگ و سوخ: پس از تهیه عصاره گیاهی، ابتدا یک میلی‌لیتر از آن با استفاده از پیت به داخل ارلن منتقل شد

۵۳۲ و ۶۰۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر (U-1800 Hitachi, Japan) اندازه‌گیری شد. تفاوت جذب در این دو طول‌موج غلظت مالون دی‌آلدئید را در محلول نشان داد.

ارزیابی پراکسید هیدروژن (H₂O₂): ابتدا اندام هوایی گیاه در حمام یخ با تری کلرواستیک ۰/۱ سائیده شد. عصاره در سانتریفوژ یخچال دار با ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه برای ۱۵ دقیقه در ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفوژ گردید. سپس ۰/۵ میلی‌لیتر از محلول بالای به ۰/۵ میلی‌لیتر بافر فسفات پتاسیم ۱۰ میلی‌مولار (pH= ۷) و یک میلی‌لیتر یدور پتاسیم یک مولار اضافه شد و جذب در طول‌موج ۳۹۰ نانومتر با دستگاه اسپکتروفوتومتر (U-1800 Hitachi, Japan) خوانده شد (Velikova *et al.*, 2000).

تهیه عصاره آنزیمی: برای تهیه عصاره آنزیمی، ۰/۱ گرم از نمونه پودر شد و سپس به آن ۳ میلی‌لیتر بافر فسفات سدیم ۵۰ میلی‌مولار (اتیلن دی‌آمین تتراسید (EDTA))، یک میلی‌مولار فینیل متان سولفونیل فلورید (PMSF)، یک میلی‌مولار پلی‌وینیل پیرولیدون (PVP) یک درصد اضافه شد. عصاره حاصل به مدت ۳۰ دقیقه با دور ۱۴۰۰۰ سانتریفوژ شد. از محلول رویی برای سنجش فعالیت آنزیم‌ها استفاده گردید (Nakano and Asada, 1981).

فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT) (EC 1.11.1.6): فعالیت آنزیم کاتالاز پس از اضافه کردن آب‌اکسیژنه موجود در عصاره آنزیمی در طول‌موج ۲۴۰ نانومتر به مدت یک دقیقه با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر (U-1800 Hitachi, Japan) اندازه‌گیری شد (Aebi, 1984).

فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (EC 1.15.1.1) (SOD): سنجش فعالیت سوپراکسید دیسموتاز با روش sairam و همکاران (۲۰۰۲) صورت گرفت. برای تهیه ترکیب واکنش از ۱۳ میلی‌مول متیونین، ۲۵ میکرومول نیتروبلوتترازولیوم (NBT = Nitro Blue Tetrazolium)، ۶ میکرومول محلول ۰/۵ مولار EDTA، ۱/۵ میلی‌لیتر از محلول یک مولار بافر فسفات ۷/۸ pH، ۶۰ میکرومول ریوفلاوین یک میلی‌مولار و ۵۰ میلی‌مول سدیم بیکربنات استفاده شد.

دسی‌زیمنس بر متر بود و کمترین محتوای پرولین مربوط به شرایط عدم تنش بود. بین سطوح سدیم نیتروپروساید در شرایط عدم تنش تفاوت معنی‌داری وجود نداشت (جدول ۳). پرولین مهم‌ترین اسیدآمین در گیاهان است که تحت تنش‌های محیطی مانند شوری به مقدار بیشتری تجمع می‌یابد (Ghaffari et al., 2021). پرولین از طریق عملکردهای متعدد مانند تثبیت پروتئین‌ها و غشاهای، پاک‌کننده رادیکال‌های آزاد، محافظ آنزیم‌ها و تأمین‌کننده NAD^+ و $NADP^+$ برای حفظ تنفس و فرآیندهای فتوسنتز، تحمل گیاهان به تنش شوری را افزایش می‌دهد (Ahmadi et al., 2018) و همچنین تجمع Na^+ و Cl^- را کاهش می‌دهد (Singh et al., 2015). در این مطالعه با افزایش سطح شوری H_2O_2 افزایش یافت، مشخص شده است که H_2O_2 نه تنها قادر به تحریک سنتز پرولین است بلکه با کاهش فعالیت پرولین هیدروژناز نیز تخریب آن را عقب می‌اندازد (Ghaffari et al., 2019) و این می‌تواند دلیلی بر افزایش پرولین در این مطالعه باشد. مطالعات انجام‌شده توسط Lei و همکاران (۲۰۰۷) نشان داد ترکیب NO باعث ایجاد و افزایش فعالیت پیرویلین-۵-کربوکسیلات سنتتاز (P5Cs) در سنتز پرولین و کاهش آنزیم دهیدروژناز در گندم (*Triticum aestivum*) تحت تنش خشکی می‌شود. همچنین NO به عنوان پیام‌رسان احتمالاً پایین دست مسیر پیام‌رسان ABA عمل کرده و تولید پرولین را تحریک می‌کند (رضاپور و همکاران، ۱۳۹۸). افزایش محتوای پرولین تحت تنش شوری و سدیم نیتروپروساید در تمشک (*Rubus idaeus*) (Ghadakchiasl et al., 2017) و آفتابگردان (*Helianthus annuus*) (Ramadan et al., 2019) گزارش شده است که مطابق با نتایج حاصل از این پژوهش هستند.

محتوای پراکسید هیدروژن و مالون دی‌آلدئید برگ:

محتوای پراکسید هیدروژن و مالون دی‌آلدئید در سطح تنش شوری ۸ دسی‌زیمنس بر متر افزایش یافتند، درحالی‌که سدیم نیتروپروساید باعث کاهش این صفات در این شرایط شد. سدیم نیتروپروساید در شرایط عدم تنش تأثیری بر پراکسید هیدروژن و همچنین در سطح ۴ دسی‌زیمنس بر متر شوری بر

و سپس ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر جهت تشخیص بهتر رنگ به آن اضافه گردید. با اضافه کردن ۳-۴ قطره کرومات پتاسیم ۵ درصد، رنگ محلول به زرد تغییر یافت که اضافه نمودن تدریجی محلول تیتراسیون (نیترات نقره ۰/۰۱ نرمال)، در نهایت موجب تغییر رنگ محلول به قرمز آجری شد. غلظت کلر در ماده خشک گیاهی براساس حجم نیترات نقره مصرف شده در حجم عصاره استفاده شده برحسب میلی‌گرم بر گرم وزن خشک محاسبه شد (Johnson and Ulrich, 1959).

تجزیه و تحلیل داده‌ها به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک کاملاً تصادفی با سه تکرار با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS انجام گرفت. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد صورت گرفت.

نتایج و بحث

صفات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی: تیمار شوری تأثیر معنی‌داری بر صفات محتوای پرولین، پراکسید هیدروژن، مالون دی‌آلدئید، فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و سوپراکسید دسموتاز و فلاونوئید گل در سطح یک درصد داشت. تمامی این صفات تحت تأثیر تیمار سدیم نیتروپروساید در سطح یک درصد قرار گرفتند و تنها صفات مالون دی‌آلدئید در سطح پنج درصد معنی‌دار بود (جدول ۲). اثر برهمکنش تیمارهای شوری و سدیم نیتروپروساید در سطح یک درصد بر صفت پراکسید هیدروژن و همچنین در سطح پنج درصد بر صفات پرولین، مالون دی‌آلدئید، آنزیم‌های کاتالاز و سوپراکسید دسموتاز و فلاونوئید گل معنی‌دار بود (جدول ۲). اثر سال، برهمکنش سال در تیمارهای آزمایشی برای هیچ کدام از صفات معنی‌دار نبود (جدول ۲).

محتوای پرولین برگ: مقایسه میانگین اثر برهمکنش

تیمارهای شوری و سدیم نیتروپروساید نشان داد محتوای پرولین با کاربرد سدیم نیتروپروساید در شرایط شوری افزایش نشان داد. بالاترین محتوای پرولین مربوط به کاربرد ۲۰۰ و ۴۰۰ میکرومولار سدیم نیتروپروساید به ترتیب با ۱۱/۰۸ و ۱۰/۷۱ میکرومول بر گرم وزن تر برگ تحت شوری ۸

جدول ۲- نتایج تجزیه واریانس مرکب صفات محتوای پرولین، پراکسید هیدروژن، مالون دی آلدئید، آنزیم‌های کاتالاز، سوپراکسید دسموتاز برگ و فلاونوئید گل نرگس تحت سطوح شوری و سدیم نیتروپروساید

میانگین مربعات							درجه آزادی	منبع تغییرات
فلاونوئید گل	سوپراکسید دسموتاز	کاتالاز	مالون دی آلدئید	پراکسید هیدروژن	پرولین	پرولین		
۰/۰۶۱ ^{ns}	۸/۰۰ ^{ns}	۰/۰۱۸ ^{ns}	۰/۳۳۶ ^{ns}	۰/۰۱۳ ^{ns}	۰/۰۱۰ ^{ns}	۱	سال	
۰/۰۷۱	۹/۵۳	۰/۰۰۷	۱/۹۴۴	۰/۰۰۸	۰/۱۹۷	۴	خطای سال	
۵/۲۸۷ ^{**}	۱۷۵/۲۲ ^{**}	۱/۰۰۸ ^{**}	۱۵۲/۷۴۸ ^{**}	۶/۴۸۴ ^{**}	۲۵/۷۹۲ ^{**}	۲	شوری	
۰/۰۶۱ ^{ns}	۸/۰۰ ^{ns}	۰/۰۱۰ ^{ns}	۲۱/۸۵۸ ^{ns}	۰/۰۰۱ ^{ns}	۰/۰۳۹ ^{ns}	۲	سال × شوری	
۰/۷۲۱ ^{**}	۱۰۸/۵۰ ^{**}	۰/۰۶۸ ^{**}	۲۷/۲۹۵ [*]	۰/۱۰۲ ^{**}	۶/۳۶۸ ^{**}	۳	سدیم نیتروپروساید	
۰/۱۵۹ ^{ns}	۱۰/۷ ^{ns}	۰/۰۰۵ ^{ns}	۱/۰۷۵ ^{ns}	۰/۰۰۰۲ ^{ns}	۰/۰۲ ^{ns}	۳	سال × سدیم نیتروپروساید	
۰/۱۸۸ [*]	۲۲/۶۷ [*]	۰/۰۱۲ [*]	۱۹/۲۲۴ [*]	۰/۰۳۷ ^{**}	۱/۹۰۷ [*]	۶	شوری × سدیم نیتروپروساید	
۰/۱۱۷ ^{ns}	۴/۶۷ ^{ns}	۰/۰۰۶ ^{ns}	۱/۰۷۵ ^{ns}	۰/۰۰۰۲ ^{ns}	۰/۰۱۳ ^{ns}	۶	سال × شوری × سدیم نیتروپروساید	
۰/۰۸۱	۱۰/۳۰	۰/۰۰۵	۸/۱۵۳	۰/۰۰۷	۰/۲۳۵	۴۴	خطا	
۵/۶۳	۴/۹۲	۹/۳۰	۸/۵۸	۵/۱۸	۷/۲۵		ضریب تغییرات (درصد)	

^{ns}، * و ** به ترتیب غیر معنی دار، معنی دار در سطح احتمال پنج و یک درصد

جدول ۳- مقایسه میانگین برهمکنش شوری و سدیم نیتروپروساید بر محتوای پرولین، پراکسید هیدروژن، مالون دی آلدئید، آنزیم‌های کاتالاز و سوپراکسید دسموتاز برگ و فلاونوئید گل نرگس

شوری	سدیم نیتروپروساید	پرولین	پراکسید هیدروژن	مالون دی آلدئید	کاتالاز	سوپراکسید دسموتاز	فلاونوئید گل
(دسی‌زیمنس بر متر)	(میکرومولار)	میکرومول بر گرم وزن تر برگ	نانومول بر گرم وزن تر برگ	واحد بر میلی‌گرم پروتئین	میلی‌گرم کوئرستین در گرم عصاره		
	۰	۳/۷۴ ^g	۱/۰۲ ^a	۲۵/۰۲ ^a	۰/۴۵ ^f	۵۶/۵۰ ⁱ	۳/۵۹ ^f
۲ (عدم تنش)	۱۰۰	۳/۶۹ ^g	۱/۰۱ ^a	۲۵/۴۲ ^a	۰/۶۳ ^d	۵۷/۵۰ ^{hi}	۳/۶۳ ^f
	۲۰۰	۳/۷۶ ^g	۱/۰۳ ^a	۲۵/۲۹ ^a	۰/۵۹ ^{de}	۵۸/۵۰ ^{hi}	۳/۶۸ ^f
	۴۰۰	۳/۷۱ ^g	۱/۰۲ ^a	۲۵/۵۱ ^a	۰/۵۴ ^e	۵۶/۵۰ ⁱ	۳/۵۶ ^f
	۰	۵/۳۰ ^f	۱/۶۹ ^c	۳۳/۹۹ ^b	۰/۸۴ ^c	۶۱/۰۰ ^{gh}	۶/۱۸ ^c
۴	۱۰۰	۶/۱۴ ^e	۱/۶۱ ^c	۳۲/۹۳ ^b	۰/۹۵ ^b	۶۵/۰۰ ^{ef}	۶/۴۱ ^{bc}
	۲۰۰	۶/۹۲ ^d	۱/۴۷ ^b	۳۲/۴۴ ^b	۱/۰۵ ^a	۷۶/۰۰ ^{de}	۶/۶۷ ^{ab}
	۴۰۰	۶/۴۲ ^{de}	۱/۶۳ ^c	۳۳/۷۲ ^b	۰/۹۲ ^{bc}	۶۳/۳۳ ^{fg}	۶/۷۶ ^a
	۰	۸/۵۶ ^c	۲/۲۳ ^g	۴۵/۴۵ ^e	۰/۸۴ ^c	۶۹/۵۰ ^{cd}	۴/۵۹ ^e
۸	۱۰۰	۱۰/۱۹ ^b	۲/۱۰ ^f	۴۱/۵۲ ^d	۰/۸۴ ^c	۷۲/۵۰ ^{bc}	۵/۰۹ ^d
	۲۰۰	۱۱/۰۸ ^a	۱/۸۹ ^d	۳۷/۷۱ ^c	۰/۹۳ ^b	۷۹/۵۰ ^a	۵/۳۴ ^d
	۴۰۰	۱۰/۷۱ ^a	۲/۰۱ ^e	۴۰/۲۷ ^{cd}	۰/۸۶ ^{bc}	۷۵/۵۰ ^b	۵/۲۴ ^d

میانگین‌های حداقل دارای یک حرف مشترک، براساس آزمون حداقل تفاوت معنی دار (LSD) در سطح ۵ درصد اختلاف معنی داری ندارد.

میلی گرم پروتئین بود (جدول ۳). همزمان با افزایش سطوح شوری و کاربرد سدیم نیتروپروساید، آنزیم سوپراکسید دیسموتاز افزایش یافت. بالاترین فعالیت این آنزیم مربوط به کاربرد ۲۰۰ میکرومولار سدیم نیتروپروساید تحت شوری ۸ دسی‌زیمنس بر متر بود و کمترین میزان نیز در شرایط عدم تنش مشاهده شد (جدول ۳).

سوپراکسید دیسموتاز به عنوان اولین سیستم دفاعی در برابر ROSها در نظر گرفته می‌شود، زیرا روی رادیکال‌های آزاد O_2^- ، که در بخش‌های مختلف سلول تولید می‌شوند و پیش‌سازهای سایر ROSها است، عمل می‌کند (Malar et al., 2014). سوپراکسید دیسموتاز باعث تبدیل O_2^- به H_2O_2 و O_2 می‌شود و بر این اساس O_2^- را از بین می‌برد، و سپس مستقیماً مقدار ROSها را تعدیل می‌کند (Gobinathan et al., 2009). آنزیم مهم دیگر در برابر تنش اکسیداتیو کاتالاز است که قادر به تجزیه H_2O_2 تولیدشده توسط آنزیم سوپراکسید دیسموتاز به H_2O و O_2 است (Afkar and Sharifi, 2015). در نتیجه این آنزیم‌ها پراکسیداسیون لیپیدها را کاهش می‌دهند و نقش حیاتی در حفظ پایداری غشا با کاهش نشت الکترولیت‌ها دارند. این مطالعه نیز با افزایش تیمار تنش شوری، فعالیت این آنزیم‌ها در مقایسه با شاهد در برگ گل نرگس افزایش یافتند. با این حال فعالیت آنزیم کاتالاز در بالاترین سطح تنش (۸ دسی‌زیمنس بر متر) کمی کاهش یافت که احتمالاً به دلیل غیر فعال شدن این آنزیم در سطح بالای تنش به دلیل تولید بیش از حد H_2O_2 است (جدول ۳). تغییرات در فعالیت کاتالاز ممکن است به گونه، رشد و وضعیت متابولیکی گیاه و همچنین به مدت و شدت تنش بستگی داشته باشد (Gao et al., 2008). با افزایش سطح تنش، تجمع اکسیژن فعال در گیاه فراتر از توانایی تنظیم آنزیم‌ها در گیاه می‌شود، بنابراین فعالیت آنزیم کاتالاز را مهار می‌کند و توانایی آن برای کاهش پراکسید هیدروژن کاهش می‌یابد (جدول ۳). علاوه بر این، از آنجایی که تنش شوری باعث کاهش جذب یکسری عناصر غذایی از جمله آهن در بافت‌های گیاهی می‌شود، و با دانستن اینکه آنزیم کاتالاز حاوی آهن در ساختار خود می‌باشد، این کاهش

محتوای مالون دی‌آلدئید نداشت (جدول ۳). بیشترین محتوای پراکسید هیدروژن و مالون دی‌آلدئید مربوط به تیمار شاهد در شرایط شوری ۸ دسی‌زیمنس بر متر به ترتیب با ۲/۲۳ میکرومول بر گرم وزن تر برگ و ۴۵/۴۵ نانومول بر گرم وزن تر برگ بود (جدول ۳). در سطح شوری ۴ دسی‌زیمنس بر متر، محلول‌پاشی ۲۰۰ میکرومولار سدیم نیتروپروساید باعث کاهش پراکسید هیدروژن شد، در حالی که بین سطوح سدیم نیتروپروساید در این سطح شوری بر صفت مالون دی‌آلدئید تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد (جدول ۳). در سطح شوری ۸ دسی‌زیمنس بر متر، کاربرد ۲۰۰ میکرومولار سدیم نیتروپروساید باعث کاهش ۱۵ و ۱۷ درصدی به ترتیب صفات پراکسید هیدروژن و مالون دی‌آلدئید نسبت به تیمار شاهد در همین سطح شوری شد (جدول ۳).

مالون دی‌آلدئید از تجزیه اسیدهای چرب غیراشباع در غشای سلولی تولید می‌شود و با پراکسیداسیون لیپیدها همراه است و اغلب به عنوان شاخص تنش اکسیداتیو شناخته می‌شود (Ghaffari et al., 2019). تنش شوری باعث تجمع مالون دی‌آلدئید و پراکسید هیدروژن می‌شود که به نوبه خود می‌تواند به غشای سلولی آسیب برساند. با توجه به نتایج Ahmadi و همکاران (۲۰۱۸)، تنش شوری باعث کاهش رشد گیاه، افزایش تجمع H_2O_2 و پراکسیداسیون لیپیدها و در نتیجه از بین رفتن یکپارچگی غشا می‌شود. همچنین، Ahmad و همکاران (۲۰۱۸) گزارش کردند که کاربرد NO باعث کاهش اثرات منفی تنش شوری بر گیاه گوجه‌فرنگی از طریق کاهش چشمگیر در نشت الکترولیت‌های غشا، پراکسیداسیون لیپیدها و تولید H_2O_2 شدند. نقش این ترکیب در کاهش پراکسیداسیون لیپیدهای غشایی توسط Hsu و Kao (۲۰۰۴) و Laspina و همکاران (۲۰۰۵) گزارش شده است.

فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز برگ:

بالاترین فعالیت آنزیم کاتالاز مربوط به کاربرد ۲۰۰ میکرومولار سدیم نیتروپروساید در سطح شوری ۴ دسی‌زیمنس بر متر با ۱/۰۵ واحد بر میلی‌گرم پروتئین بود و کمترین فعالیت این آنزیم در تیمار شاهد در شرایط عدم تنش با ۰/۴۵ واحد بر

مختلف از جمله کلروپلاست و هسته نیز یافت می‌شوند (Khlestkina, 2013). گزارش‌هایی وجود دارد که نشان می‌دهد که فلاونوئیدهای واکوئل احتمالاً در سم‌زدایی H_2O_2 که به این بخش منتقل می‌شود، دخالت دارند (Gould and Lister, 2006). البته کاهش محتوای فلاونوئیدهای تحت تنش شدید، ممکن است به دلیل مصرف زیاد این مواد برای اهداف آنتی-اکسیدانی باشد (Yastreba et al., 2016). همچنین کاربرد NO باعث افزایش سنتز بتائین، فلاونوئید، پرولین و گلیسین تحت شرایط تنش شوری در گیاه گوجه‌فرنگی شدند (Ahmad et al., 2018).

غلظت عناصر سدیم، کلر و پتاسیم برگ و سوخ: جدول

نتایج تجزیه واریانس داده‌های عناصر در برگ و سوخ نرگس نشان داد غلظت سدیم برگ و سوخ، کلر برگ و سوخ و همچنین پتاسیم برگ و سوخ به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی شوری و سدیم نیتروپروساید قرار گرفتند. اثر برهمکنش تیمارهای شوری و سدیم نیتروپروساید تنها برای سدیم برگ و سوخ معنی‌دار بود (جدول ۴). اثر سال، و اثر برهمکنش‌های سال در تیمارهای آزمایشی برای هیچ کدام از صفات معنی‌دار نبود (جدول ۴).

اثر برهمکنش تیمارهای شوری و سدیم نیتروپروساید بر غلظت سدیم برگ و سوخ نشان داد که با افزایش سطح شوری تا ۸ دسی‌زیمنس بر متر، این صفات به ترتیب ۷۲ و ۶۵ درصد افزایش یافتند، درحالی‌که محلول پاشی سدیم نیتروپروساید باعث کاهش این صفات در هر دو سطح شوری شد. بالاترین غلظت سدیم برگ و سوخ مربوط به تیمار عدم محلول پاشی در شرایط شوری ۸ دسی‌زیمنس بر متر به ترتیب با ۴/۶۲ و ۳/۶۶ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک بود (جدول ۵). در سطح شوری ۸ دسی‌زیمنس بر متر، کاربرد ۲۰۰ و ۴۰۰ میکرومولار سدیم نیتروپروساید با کاهش ۲۱ و ۱۳ درصدی بیشترین تأثیر را در کاهش سدیم برگ داشتند. برای سدیم سوخ، در هر دو سطح ۴ و ۸ دسی‌زیمنس بر متر، محلول پاشی ۲۰۰ میکرومولار سدیم نیتروپروساید بیشترین تأثیر را در کاهش این صفت

احتمالاً ناشی از کمبود آهن برای بیوسنتز این آنزیم در سطوح بالای تنش شوری باشد (Kumar et al., 2018)، درحالی‌که NO جذب آهن را توسط گیاه در شرایط تنش افزایش می‌دهد که می‌تواند دلیل افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز تحت تیمار سدیم نیتروپروساید نسبت به تیمار شاهد در این پژوهش باشد (Ashraf and Bashir, 2003). سدیم نیتروپروساید، NO را آزاد می‌کند که خود به‌طور مستقیم با آنیون‌های O_2^- ترکیب می‌شود تا رادیکال پراکسی نیتریک ($ONOO^-$) را تولید کند که سمیت کمتری دارد و بنابراین نسبتاً کمتر از آنیون‌های سوپراکسید اولیه آسیب می‌رساند (Beligni et al., 2002). مطالعه انجام‌شده توسط Du و همکاران (۲۰۱۵) نشان داد که NO با افزایش فعالیت آنزیم‌های SOD، CAT و POD و در نتیجه کاهش آسیب اکسیداتیو ناشی از شوری، تحمل به تنش شوری و بهبود کیفیت تغذیه‌ای در اسفناج (*Spinacia oleracea*) را افزایش داد.

محتوای فلاونوئید گل: محتوای فلاونوئید گل با کاربرد

سدیم نیتروپروساید در شرایط تنش شوری افزایش یافت، با این وجود بالاترین میزان در این صفت مربوط به سطح ۴ دسی‌زیمنس بر متر و محلول پاشی ۴۰۰ میکرومولار سدیم نیتروپروساید با ۶/۷۶ میلی‌گرم کوئرستین در گرم عصاره بود (جدول ۳). در بین سطوح تنش شوری، در سطح ۸ دسی‌زیمنس بر متر، هر سه سطح ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میکرومولار سدیم نیتروپروساید باعث افزایش فلاونوئید گل نرگس شدند و بین آن‌ها تفاوت معنی‌داری وجود نداشت (جدول ۳).

پاسخ‌های سازگاری گیاهان به تنش‌های زیستی و غیرزیستی اغلب با بیوسنتز و تجمع مواد با وزن مولکولی کم مانند پرولین و فلاونوئیدها در بافت‌های گیاهی همراه است، بنابراین این ترکیبات معمولاً تحت تنش شوری افزایش می‌یابند (Ku and Juvik, 2013; Khlestkina, 2013). در واقع، متابولیت‌های ثانویه از جمله فلاونوئیدها و پلی‌فنول‌ها، گیاهان را در برابر ROSها با افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی و حفظ غشاها محافظت می‌کنند (Ku and Juvik, 2013). فلاونوئیدها عمدتاً در واکوئل تجمع می‌یابد، اما این ترکیبات در بخش‌های

جدول ۴- نتایج تجزیه واریانس مرکب صفات سدیم، کلرو پتاسیم برگ و سوخ گل نرگس تحت سطوح شوری و سدیم نیتروپروساید

منبع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات				سدیم نیتروپروساید	
		سدیم برگ	سدیم سوخ	کلر برگ	کلر سوخ	پتاسیم برگ	پتاسیم سوخ
سال	۱	۰/۰۰۰۳ ^{ns}	۰/۰۰۰۸ ^{ns}	۰/۰۲۶ ^{ns}	۰/۰۳۶ ^{ns}	۰/۰۱۳ ^{ns}	۰/۰۰۰۸ ^{ns}
خطای سال	۴	۰/۱۹۶۴	۰/۰۰۲۳	۰/۰۲۰	۰/۰۴۱	۰/۰۲۱	۰/۰۰۲۸
شوری	۲	۱/۹۱۳ ^{**}	۸/۷۲۰ ^{**}	۱۲/۰۵۵ ^{**}	۱۱/۹۹۴ ^{**}	۴/۰۲۵ ^{**}	۰/۲۶۲۰ ^{**}
سال × شوری	۲	۰/۰۰۲۲ ^{ns}	۰/۰۰۰۲ ^{ns}	۰/۰۰۷ ^{ns}	۰/۰۵۱ ^{ns}	۰/۰۱۷ ^{ns}	۰/۰۰۰۲ ^{ns}
سدیم نیتروپروساید	۳	۰/۷۲۵۲ ^{**}	۰/۱۴۱۹ ^{**}	۰/۱۷۵ [*]	۰/۱۲۳ ^{ns}	۰/۳۹۹ ^{**}	۰/۰۱۸۱ ^{**}
سال × سدیم نیتروپروساید	۳	۰/۰۰۳۰ ^{ns}	۰/۰۰۰۱ ^{ns}	۰/۰۱۰ ^{ns}	۰/۱۸۶ ^{ns}	۰/۰۱۲ ^{ns}	۰/۰۰۰۳ ^{ns}
شوری × سدیم نیتروپروساید	۶	۰/۳۴۶۲ ^{**}	۰/۰۵۱۹ [*]	۰/۱۰۳ ^{ns}	۰/۰۴۸ ^{ns}	۰/۰۹۲ ^{ns}	۰/۰۰۲۳ ^{ns}
سال × شوری × سدیم نیتروپروساید	۶	۰/۰۰۱۲ ^{ns}	۰/۰۰۰۳ ^{ns}	۰/۰۱۷ ^{ns}	۰/۰۶۱ ^{ns}	۰/۰۴۳ ^{ns}	۰/۰۰۰۵ ^{ns}
خطا	۴۴	۰/۰۹۷۴	۰/۰۱۷۲	۰/۰۷۶	۰/۰۶۶	۰/۰۷۱	۰/۰۰۳۷
ضریب تغییرات (درصد)		۹/۵۹	۴/۶۷	۵/۷۱	۶/۵۲	۵/۸۰	۴/۵۹

^{ns}، * و ** به ترتیب غیرمعنی دار، معنی دار در سطح احتمال پنج و یک درصد

جدول ۵- مقایسه میانگین برهمکنش شوری و سدیم نیتروپروساید بر سدیم برگ و سوخ گل نرگس

شوری	سدیم نیتروپروساید	سدیم برگ	سدیم سوخ
(دسی زیمنس بر متر)	(میکرو مولار)	میلی گرم بر گرم وزن خشک	سدیم سوخ
	۰	۲/۶۹ ^a	۲/۲۲ ^a
۲ (عدم تنش)	۱۰۰	۲/۶۷ ^a	۲/۲۶ ^a
	۲۰۰	۲/۶۷ ^a	۲/۲۴ ^a
	۴۰۰	۲/۷۹ ^a	۲/۲۶ ^a
	۰	۳/۳۲ ^b	۲/۸۸ ^d
۴	۱۰۰	۲/۶۲ ^a	۲/۷۱ ^{bc}
	۲۰۰	۲/۷۴ ^a	۲/۶۱ ^b
	۴۰۰	۲/۵۸ ^a	۲/۸۰ ^{cd}
	۰	۴/۶۲ ^d	۳/۶۶ ^g
۸	۱۰۰	۴/۴۳ ^d	۳/۴۶ ^f
	۲۰۰	۳/۸۷ ^c	۳/۲۶ ^e
	۴۰۰	۴/۰۸ ^c	۳/۴۲ ^f

میانگین‌های حداقل دارای یک حرف مشترک، براساس آزمون حداقل تفاوت معنی‌دار (LSD) در سطح ۵ درصد اختلاف معنی‌داری ندارد.

داشت، که به ترتیب کاهش ۱۰ و ۱۱ درصدی را نشان دادند (جدول ۵). بین سطوح سدیم نیتروپروساید در شرایط عدم تنش، تفاوت معنی‌داری برای هر دو اندام برگ و سوخ وجود نداشت و کمترین غلظت سدیم را دارا بودند (جدول ۵).

جدول ۶- مقایسه میانگین اثرات شوری و سدیم نیتروپروساید بر کلر و پتاسیم برگ و سوخ گل نرگس

تیمارها/ صفات				
کلر برگ	کلر سوخ	پتاسیم برگ	پتاسیم سوخ	میلی گرم بر گرم وزن خشک
شوری (دسی‌زیمنس بر متر)				
۴/۱۹ ^a	۳/۲۷ ^a	۵/۹۷ ^a	۱/۴۲ ^a	۲ (عدم تنش)
۴/۷۲ ^b	۳/۸۵ ^b	۴/۴۶ ^b	۱/۳۴ ^b	۴
۵/۶۰ ^c	۴/۶۸ ^c	۳/۳۷ ^c	۱/۲۱ ^c	۸
سدیم نیتروپروساید (میکرومولار)				
۰ (عدم کاربرد سدیم نیتروپروساید)				
۴/۹۶ ^b	۴/۰۵ ^b	۴/۳۹ ^b	۱/۲۹ ^b	۱۰۰
۴/۸۳ ^{ab}	۳/۸۸ ^{ab}	۴/۶۰ ^a	۱/۳۴ ^a	۲۰۰
۴/۷۲ ^a	۳/۸۶ ^a	۴/۶۹ ^a	۱/۳۵ ^a	۴۰۰
۴/۸۴ ^{ab}	۳/۹۳ ^{ab}	۴/۷۲ ^a	۱/۳۰ ^b	

میانگین‌های حداقل دارای یک حرف مشترک، بر اساس آزمون حداقل تفاوت معنی‌دار (LSD) در سطح ۵ درصد اختلاف معنی‌داری ندارد.

میانگین تیمارهای شوری و سدیم نیتروپروساید بر غلظت کلر و پتاسیم برگ و سوخ نشان داد همزمان با افزایش سطح شوری، غلظت کلر برگ و سوخ افزایش یافتند. شوری ۸ دسی‌زیمنس بر متر با بیشترین تأثیر به ترتیب باعث افزایش ۳۴ و ۴۳ درصدی کلر برگ و سوخ نرگس شد (جدول ۶). از سوی دیگر، محلول پاشی سدیم نیتروپروساید باعث کاهش غلظت کلر برگ و سوخ شد، به طوری که غلظت ۲۰۰ میکرومولار باعث بیشترین کاهش در هر دو اندام شد (جدول ۶). غلظت پتاسیم برگ با افزایش شوری، کاهش یافت. شوری ۸ دسی‌زیمنس بر متر باعث کاهش ۴۴ و ۱۵ درصدی به ترتیب پتاسیم برگ و سوخ شد. محلول پاشی سدیم نیتروپروساید باعث افزایش پتاسیم در هر دو اندام شد. بین سطوح ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میکرومولار برای پتاسیم برگ تفاوتی وجود نداشت و به ترتیب باعث افزایش ۵، ۷ و ۸ درصدی این صفت شدند و کاربرد ۲۰۰ و ۴۰۰ میکرومولار به ترتیب باعث افزایش ۴ و ۵ درصدی پتاسیم سوخ شدند (جدول ۶).

تنش شوری به دلیل تجمع مقادیر بالای یون‌های Na^+ و Cl^- در خاک رخ می‌دهد و باعث سمیت یونی و کاهش فتوسنتز در گیاهان می‌شوند. به طوری که وجود بیش از حد Na^+ باعث عدم

تعادل مواد غذایی می‌شود (Shahzad et al., 2019). غلظت بالای یون Na^+ زودتر از یون Cl^- سمیت ایجاد می‌کند (Munns and Tester, 2008). عنصر پتاسیم یکی از حیاتی‌ترین عناصر برای گیاهان است به همین دلیل یون‌های Na^+ برای ورود به سلول با یون‌های K^+ رقابت می‌کنند. Na^+ با مسدود کردن هجوم K^+ به سلول، تنش ایجاد می‌کند (Yildiz et al., 2020). از سوی دیگر، تیمار سدیم نیتروپروساید با خنثی کردن اثرات مخرب تنش اکسیداتیو در غشا باعث افزایش تحمل به تنش در گیاهان می‌شود و انتقال یون Na^+ از ریشه به اندام هوایی را کاهش می‌دهد (Guo et al., 2009). در این راستا، Manshoori و همکاران (۲۰۱۹) بیان کردند که سدیم نیتروپروساید می‌تواند اثرات مهاری و تحریکی بر سطح پتاسیم داشته باشد. در واقع در شرایط تنش شوری، جذب سدیم باعث افزایش کلسیم و کاهش پتاسیم می‌شود. در چنین شرایطی، افزودن مقادیر مناسب سدیم نیتروپروساید، جذب سدیم را کاهش می‌دهد و جذب پتاسیم، منیزیم و کلسیم را افزایش می‌دهد. با افزایش نسبت پتاسیم به سدیم، فعالیت آنزیم H^+ -ATPase نیز افزایش می‌یابد. علاوه بر این، اثرات محافظتی سدیم نیتروپروساید در شرایط تنش شوری ممکن

جدول ۷- تجزیه واریانس مرکب صفات وزن تر و خشک گل، تعداد و عمر گل، دوره گلدهی، نسبت وزن تر و خشک اندام هوایی به ریشه گل نرگس تحت سطوح شوری و سدیم نیتروپروساید. میانگین مربعات

منبع تغییرات	درجه آزادی	وزن تر گل	وزن خشک گل	تعداد گل	عمر گل	دوره گلدهی	نسبت وزن تر اندام هوایی به ریشه	نسبت وزن خشک اندام هوایی به ریشه
سال	۱	۰/۰۰۰۲ ^{ns}	۰/۰۰۰۰۴ ^{ns}	۰/۸۹ ^{ns}	۰/۰۵۶ ^{ns}	۰/۳۴۷ ^{ns}	۰/۰۰۰۰۲ ^{ns}	۰/۰۰۳۸ ^{ns}
خطای سال	۴	۰/۰۰۲۱	۰/۰۰۰۰۲	۰/۶۴	۲/۲۷۸	۰/۴۴۴	۰/۰۰۳۶۹	۰/۰۷۴۵
شوری	۲	۰/۰۸۱۱ ^{**}	۰/۰۰۱۱۲ ^{**}	۶۷/۳۹ ^{**}	۲۵/۵۰ ^{**}	۲۲/۱۲۵ ^{**}	۰/۰۷۷۱۲ ^{**}	۲/۲۵۹ ^{**}
سال × شوری	۲	۰/۰۰۰۲ ^{ns}	۰/۰۰۰۰۱ ^{ns}	۰/۳۹ ^{ns}	۱/۰۵۶ ^{ns}	۱/۸۴۷ ^{ns}	۰/۰۰۰۰۱ ^{ns}	۰/۰۰۳۸ ^{ns}
سدیم نیتروپروساید	۳	۰/۰۱۵۷ ^{**}	۰/۰۰۰۳۱ ^{**}	۵/۵۶ ^{**}	۱۷/۳۳۳ ^{**}	۱۷/۴۵۸ ^{**}	۰/۰۰۱۴۳ ^{ns}	۰/۱۴۹۸ [*]
سال × سدیم نیتروپروساید	۳	۰/۰۰۰۱ ^{ns}	۰/۰۰۰۰۸ ^{ns}	۰/۲۲ ^{ns}	۰/۹۴۴ ^{ns}	۰/۱۲۵ ^{ns}	۰/۰۰۰۰۲ ^{ns}	۰/۰۰۴۲ ^{ns}
شوری × سدیم نیتروپروساید	۶	۰/۰۰۳۸ ^{ns}	۰/۰۰۰۰۲ ^{ns}	۱/۳۹ ^{ns}	۱/۸۳۳ ^{ns}	۰/۹۵۸ ^{ns}	۰/۰۰۰۰۷۳ ^{ns}	۰/۰۴۱۳ ^{ns}
سال × شوری × سدیم نیتروپروساید	۶	۰/۰۰۰۵ ^{ns}	۰/۰۰۰۰۳ ^{ns}	۰/۷۲ ^{ns}	۳/۲۷۸ ^{ns}	۱/۷۹۱ ^{ns}	۰/۰۰۰۰۹ ^{ns}	۰/۰۰۷۷ ^{ns}
خطا	۴۴	۰/۰۰۲۰	۰/۰۰۰۰۳	۰/۶۸	۲/۲۷۸	۱/۴۹۰	۰/۰۰۱۹۶	۰/۰۷۰۰
ضریب تغییرات (درصد)		۱۱/۸۸	۱۱/۰۶	۱۶/۱۹	۱۱/۴۶	۱۲/۸۰	۷/۸۱	۱۳/۵۲

^{ns}، * و ** به ترتیب غیر معنی دار، معنی دار در سطح احتمال پنج و یک درصد

و برهمکنش تیمارهای شوری و سدیم نیتروپروساید و سال بر هیچ کدام از این صفات معنی دار نبود (جدول ۷).

وزن تر و خشک گل: میانگین اثرات تیمارهای آزمایشی نشان داد با افزایش شدت تنش شوری، وزن تر و خشک گل نرگس کاهش یافت. شوری ۴ و ۸ دسی‌زیمنس بر متر به ترتیب باعث کاهش ۷ و ۲۶ درصدی وزن تر گل، ۹ و ۲۴ درصدی وزن خشک گل نرگس نسبت به شرایط عدم تنش (۲ دسی‌زیمنس بر متر) شدند (جدول ۸). تیمارهای سدیم نیتروپروساید باعث افزایش وزن تر و خشک گل نرگس شدند که بیشترین میزان مربوط به تیمار ۲۰۰ میکرومولار سدیم نیتروپروساید به ترتیب با ۰/۴۱ و ۰/۰۵۳ گرم بود که افزایش ۲۱ و ۲۳ درصدی نسبت به تیمار شاهد (عدم کاربرد سدیم نیتروپروساید) داشتند (جدول ۸).

تعداد گل: تعداد گل با افزایش شوری کاهش یافت و شوری ۴ و ۸ دسی‌زیمنس بر متر به ترتیب باعث کاهش ۱۴ و ۵۰ درصدی این صفت نسبت به شرایط عدم تنش شدند،

است با افزایش تنظیم اسمزی مرتبط با تخلیه نمک همراه باشد (Manshoori *et al.*, 2019). نتایج مطالعه Poor و همکاران (۲۰۱۵) نشان داد کاربرد اهداکنندگان NO مانند سدیم نیتروپروساید با وزن مولکولی پایین در شرایط شوری بالا، توانایی گیاه را در تعادل هموستازی یونی بهبود می‌بخشد و کاربرد ۱۰۰ میکرومولار سدیم نیتروپروساید به طور قابل توجهی پتاسیم، کلسیم، نیتروژن و فسفر را افزایش داده و سطح سدیم را در گونه‌های حرا (*Kanadelia obovate*) کاهش می‌دهد.

صفات فنولوژیک: نتایج تجزیه واریانس صفات مربوط به گل نشان داد وزن تر و خشک گل، تعداد گل، عمر گل و دوره گلدهی تحت تأثیر تیمار شوری و محلول پاشی سدیم نیتروپروساید در سطح احتمال یک درصد قرار گرفتند (جدول ۷). صفات نسبت وزن تر اندام هوایی به ریشه تنها تحت تأثیر تیمار شوری و نسبت وزن خشک اندام هوایی به ریشه تحت هر دو تیمار شوری و سدیم نیتروپروساید قرار گرفتند. اثر سال

جدول ۸- مقایسه میانگین اثرات شوری و سدیم نیتروپروساید بر وزن تر و خشک گل، تعداد و عمر گل، دوره گلدهی، نسبت وزن تر و خشک اندام هوایی به ریشه گل نرگس

تیمارها/ صفات	وزن تر		وزن خشک گل	تعداد گل	عمر گل	دوره گلدهی	نسبت وزن تر اندام هوایی به ریشه	نسبت وزن خشک اندام هوایی به ریشه
	گل	گرم						
شوری (دسی‌زیمنس بر متر)								
۲ (عدم تنش)	۰/۴۲ ^a	۰/۰۵۴ ^a	۶/۵۰ ^a	۱۵/۷۵ ^a	۱۲/۲۵ ^a	۰/۶۳ ^a	۲/۲۱ ^a	
۴	۰/۳۹ ^b	۰/۰۴۹ ^b	۵/۵۸ ^b	۱۴/۲۵ ^b	۱۰/۳۸ ^b	۰/۵۴ ^b	۲/۰۴ ^b	
۸	۰/۳۱ ^c	۰/۰۴۱ ^c	۳/۲۵ ^c	۹/۵۰ ^c	۶/۲۵ ^c	۰/۵۳ ^b	۱/۶۲ ^c	
سدیم نیتروپروساید (میکرو مولار)								
۰ (عدم کاربرد سدیم نیتروپروساید)	۰/۳۴ ^c	۰/۰۴۳ ^c	۴/۸۳ ^b	۱۲/۱۷ ^b	۸/۶۷ ^c	۰/۵۷ ^a	۱/۸۷ ^b	
۱۰۰	۰/۳۸ ^b	۰/۰۴۹ ^b	۴/۸۳ ^b	۱۳/۱۷ ^b	۹/۵۰ ^b	۰/۵۶ ^a	۱/۹۳ ^{ab}	
۲۰۰	۰/۴۱ ^a	۰/۰۵۳ ^a	۵/۹۴ ^a	۱۴/۵۰ ^a	۱۱/۰۰ ^a	۰/۵۸ ^a	۲/۰۸ ^a	
۴۰۰	۰/۳۷ ^b	۰/۰۴۸ ^b	۴/۸۳ ^b	۱۲/۸۳ ^b	۹/۳۳ ^{bc}	۰/۵۶ ^a	۱/۹۵ ^{ab}	

میانگین‌های حداقل دارای یک حرف مشترک، بر اساس آزمون حداقل تفاوت معنی‌دار (LSD) در سطح ۵ درصد اختلاف معنی‌داری ندارد.

این سطح شوری باعث کاهش ۴۰ درصدی عمر گل و ۴۹ درصدی دوره گلدهی گل نرگس نسبت به شرایط عدم تنش شد. با این وجود، محلول پاشی سدیم نیتروپروساید باعث افزایش این صفات شدند. در بین سطوح محلول پاشی، کاربرد

کاربرد ۲۰۰ میکرومولار با بیشترین تأثیر باعث افزایش ۱۱ درصدی این صفت نسبت به تیمار شاهد شد (جدول ۸).

در مطالعه حاضر، تنش شوری باعث اختلال در صفات کیفی گل نرگس شد، که این ناشی از کاهش فشار اسمزی، عدم تعادل در تغذیه، سمیت یون و همچنین تنش اکسیداتیو است و از این طریق رشد گیاه را مهار کرده و باعث کاهش کیفیت صفات گلدهی و کاهش نسبت وزن اندام هوایی به ریشه در این مطالعه شد (جدول ۸). مطابق با نتایج ما، Fazeli و Naderi (۲۰۱۹) گزارش کردند که تنش شوری باعث کاهش قابل توجهی در وزن تر گل یاسمن زمستانی (*Jasminum nudiflorum* L.) شد. از طرفی شوری می‌تواند باعث کاهش

درحالی‌که کاربرد ۲۰۰ میکرومولار سدیم نیتروپروساید با ۵/۹۴ گل این صفت را افزایش داد، تفاوت معنی‌داری بین سایر سطوح سدیم نیتروپروساید برای این صفت وجود نداشت (جدول ۸).

عمر گل و دوره گلدهی: عمر گل و دوره گلدهی کاهش چشمگیری تحت شرایط شوری ۸ دسی‌زیمنس بر متر داشتند، ۲۰۰ میکرومولار سدیم نیتروپروساید، بیشترین عمر گل و دوره گلدهی را داشت که افزایش ۱۹ درصدی عمر گل و ۲۷ درصدی دوره گلدهی مشاهده شد (جدول ۸).

نسبت وزن تر و خشک اندام هوایی به ریشه: نتایج مقایسه میانگین جدول ۳ نشان می‌دهد با افزایش سطح شوری، نسبت وزن تر و خشک اندام هوایی به ریشه کاهش می‌یابد. سطح شوری ۸ دسی‌زیمنس بر متر باعث کاهش ۱۶ و ۲۷ درصدی به ترتیب نسبت وزن تر و خشک اندام هوایی به ریشه شد. محلول پاشی سدیم نیتروپروساید باعث افزایش نسبت وزن خشک اندام هوایی به ریشه گل نرگس شد و

نتیجه گیری

نتایج نشان داد که وزن تر و خشک گل، ویژگی‌های گلدهی گل نرگس و نسبت وزن تر و خشک اندام هوایی به ریشه در شرایط تنش شوری به دلیل افزایش جذب سدیم و کلر و کاهش جذب پتاسیم در هر دو اندام برگ و ساق به‌طور قابل توجهی کاهش یافتند. محلول‌پاشی سدیم نیتروپروساید در بهبود رشد این گیاه تحت تنش شوری مؤثر بود و باعث افزایش بیوماس گیاه شد. علاوه بر این، کاربرد سدیم نیتروپروساید با کاهش اثرات بازدارنده تنش شوری در گل نرگس با افزایش محتوای پرولین، فلاونوئید و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی منجر به کاهش پراکسید هیدروژن و مالون دی‌آلدئید برگ به ویژه در سطح ۸ دسی‌زیمنس بر متر شد. از سوی دیگر، نتایج نشان می‌دهد اثر محلول‌پاشی ممکن است در تنش‌های شدید به اندازه تنش‌های متوسط نباشد. در واقع، این‌طور نیست که هر چه تنش شدید شود، محلول‌پاشی اثرات آن را جبران کند و محتوای فلاونوئید گل و فعالیت آنزیم کاتالاز تحت تنش شدید با وجود تیمار سدیم نیتروپروساید کاهش یافتند. محلول‌پاشی ۲۰۰ میکرومولار سدیم نیتروپروساید با کاهش جذب سدیم در شرایط تنش شوری می‌تواند بهترین تیمار برای بهبود رشد گل نرگس باشد.

سریع رشد شاخساره‌ها در مقایسه با رشد ریشه شود و موجب افزایش نسبت ریشه به ساقه می‌گردد (جدول ۸). همچنین، Ahmadi و همکاران (۲۰۱۸) گزارش کردند تنش شوری به طور قابل توجهی وزن تر و خشک اندام هوایی کلزا را کاهش داد و تأثیر بیشتری در رشد اندام هوایی نسبت به رشد ریشه داشت و باعث کاهش شدید نسبت اندام هوایی به ریشه شد. در این پژوهش کاربرد سدیم نیتروپروساید نسبت به تیمار شاهد بر بهبود شاخص‌های گلدهی، وزن تر و خشک گل، نسبت وزن اندام‌های هوایی به ریشه مؤثر بود (جدول ۳)، در این راستا، Shabanian و همکاران (۲۰۱۸) بیان کردند بهبود عملکرد ارقام گل ژبربا (*Gerbera jamesonii*) تحت تیمار با سدیم نیتروپروساید را می‌توان با افزایش کل محتویات فنل و فلاونوئید نسبت داد که ناشی از کاهش فعالیت پلی‌فنول اکسیداز و افزایش فعالیت فنیل‌آلانین آمونیاپاز بود که مشابه نتایج حاصل از این تحقیق می‌باشد. با توجه به مشاهدات Shi و همکاران (۲۰۱۶)، کاربرد ۲۰۰ میکرومولار سدیم نیتروپروساید، بیشترین تأثیر را در افزایش عمر گل کلم بروکلی (*Brassica oleracea* var.) داشت، این ترکیب با بیوستراتیلن باعث تأخیر در رسیدگی، پیری و افزایش مقاومت گیاه به شرایط تنش و حفظ بیوماس گیاه می‌شود.

منابع

- رضاپور، ر.، گنجعلی، ع. و ابریشم‌چی، پ. (۱۳۹۸) بررسی اثر متقابل سدیم نیتروپروساید (SNP) و تنش شوری بر برخی صفات گیاه کلزا (*Brassica napus* L.). مجله پژوهش‌های گیاهی ۳۲: ۱-۱۲.
- محمدی، م.، رامنه، و.، گرامی، م.، اسدی صنم، س. و خوش روز، م. (۱۳۹۷) اثر سدیم نیترو پروساید بر برخی ویژگی‌های بیوشیمیایی گیاه دارویی سرخارگل تحت تنش شوری. فرآیند و کارکرد گیاهی ۷: ۱۳۹-۱۲۳.
- ناصری‌مقدم، ع.، بیات، ح.، امینی‌فرد، م. ح. و مرادی‌نژاد، ف. (۱۳۹۹) اثر تنش‌های خشکی و شوری بر کیفیت گل، تغییرات زیست-شیمیایی و غلظت یون‌ها در گل نرگس شهلا (*Narcissus tazetta* cv. Shahla). نشریه پژوهش‌های تولید گیاهی ۲۷: ۲۲۱-۲۰۷.
- Abbasi, G. H., Javaid, A., Ul-haq, M. A., Ali, S., Chen, Z. H. and Malik, W. (2014) Exogenous potassium differentially mitigates salt stress in tolerant and sensitive maize hybrids. *Pakistan Journal of Botany* 46: 135-146.
- Aebi, H. (1984) Catalase in vitro. *Methods Enzymol* 105: 121-126.
- Afkar, S. and Sharifi, M. (2015) Effect of foliar application with methyl jasmonate on physiological behavior of *Mentha piperita*. *Journal of Medicinal plants and By-product* 2: 155-160.
- Ahmad, P., Ahanger, M. A., Alyemeni, M. N., Wijaya, L., Alam, P. and Ashraf, M. (2018) Mitigation of sodium chloride toxicity in *Solanum lycopersicum* L. by supplementation of jasmonic acid and nitric oxide. *Journal of Plant Interactions* 13: 64-72.

- Ahmadi, F. I., Karimi, K. and Struik, P. C. (2018) Effect of exogenous application of methyl jasmonate on physiological and biochemical characteristics of *Brassica napus* L. cv. Talaye under salinity stress. *South African Journal of Botany* 115: 5-11.
- Ashraf, M. and Bashir, A. (2003) Salt stress induced changes in some organic metabolites and ionic relations in nodules and other plant parts of two crop legumes differing in salt tolerance. *Flora* 198: 486-498.
- Ashrafijou, M., Izadi, A., Sadat-Noori, S. A. and Saghafi, S. (2010) Effect of salinity and radiation on proline accumulation in seeds of Canola (*Brassica napus* L.). *Plant, Soil and Environment* 56: 312-317.
- Bates, L. S., Waldran, R. P. and Teare, I. D. (1973) Rapid determination of freeproline for water studies. *Plant and Soil Journal* 39: 205-208.
- Belenghi, B., Romero-Puertas, M. C., Vercammen, D., Brackener, A., Inze, D., Delledonne, M. and Van Breusegem, F. (2007) Metacaspase activity of *Arabidopsis thaliana* is regulated by S-nitrosylation of a critical cysteine residue. *Biological Chemistry* 282: 1352-1358.
- Beligni, M. V., Fath, A., Bethke, P. C., Lamattina, L. and Jones, R. L. (2002) Nitric oxide acts as an antioxidant and delays programmed cell death in barley aleurone layers. *Plant Physiology* 129: 1642-1650.
- Botella, M. A., Rosado, A., Bressan, R. and Hasegawa, P. M. (2007) Plant adaptive responses to salinity stress. In: *Plant Abiotic Stress* (eds. Jenks, M. A. and Hasegawa, P. M.) Pp. 37-70. Iowa: Blackwell Publishing, USA.
- Chang, Y. L., Kim, D. O., Lee, K. W., Lee, H. J. and Lee, C. Y. (2002) Vitamin C equivalent anti-oxidant capacity (VCEAC) of phenolic phytochemicals. *Journal of Agricultural and food chemistry* 50: 3713-3717.
- Del Rio, L. A., Corpas, F. J. and Barroso, J. B. (2004) Nitric oxide and nitric oxide synthase activity in plants. *Phytochemistry* 65: 783-792.
- Du, S. T., Liu, Y., Zhang, P., Liu, H. J., Zhang, X. Q. and Zhang, R. R. (2015) Atmospheric application of trace amounts of nitric oxide enhances tolerance to salt stress and improves nutritional quality in spinach (*Spinacia oleracea* L.). *Food Chemistry* 173: 905-911.
- FAO. (2019) FAO STAT Agricultural Statistic. Available online at: <http://www.Fao.Org>.
- Fazeli, M. and Naderi, D. (2019) Effects of 6-benzylaminopurine and salinity stress on flowering and biochemical characteristics of winter jasmine (*Jasminum nudiflorum* L.). *Journal of Ornamental Horticulture* 9: 41-53.
- Gao, S., Ouyang, C., Wang, S., Xu, Y., Tang, L. and Chen, F. (2008) Effects of salt stress on growth, antioxidant enzyme and phenylalanine ammonia-lyase activities in *Jatropha curcas* L. seedlings. *Plant, Soil and Environment* 54: 374-381.
- Ghadakchiasl, A., Mozafari, A. A. and Ghaderi, N. (2017) Mitigation by sodium nitroprusside of the effects of salinity on the morpho-physiological and biochemical characteristics of *Rubus idaeus* under in vitro conditions. *Physiology and Molecular Biology of Plants* 23: 73-83.
- Ghaffari, H., Tadayon, M. R., Bahador, M. and Razmjoo, J. (2021) Investigation of the proline role in controlling traits related to sugar and root yield of sugar beet under water deficit conditions. *Agricultural Water Management* 243: 106448.
- Ghaffari, H., Tadayon, M. R., Nadeem, M., Cheema, M. and Razmjoo, J. (2019) Proline-mediated changes in antioxidant enzymatic activities and the physiology of sugar beet under drought stress. *Acta Physiologiae Plantarum* 41: 23.
- Gould, K. S. and Lister, C. (2006) Flavonoids: Chemistry, biochemistry, and applications. In: *Flavonoid Functions in Plants* (eds. Andersen, O. M. and Markham, K. R.) Pp.397-442. Taylor and Francis Group, Boca Raton.
- Gobinathan, P., Sankar, B., Murali, P. V. and Panneerselvam, R. (2009) Interactive effects of calcium chloride on salinity-induced oxidative stress in *Pennisetum typoides*. *Botany Research International* 2: 143-148.
- Guo, J., Shan, C., Zhang, Y., Wang, X., Tian, H., Han, G., Zhang, Y. and Wang, B. (2022) Mechanisms of salt tolerance and molecular breeding of salt-tolerant ornamental plants. *Frontiers in Plant Science* 13: 854116.
- Guo, Y., Tian, Z., Yan, D., Zhang, J. and Qin, P. (2009) Effects of nitric oxide on salt stress tolerance in *Kosteletzkya virginica*. *Life Science Journal* 6: 67-75.
- Hsu, Y. T. and Kao, C. H. (2004) Cd toxicity is reduced by nitric oxide in rice leaves. *Plant Growth Regulation* 42: 227-238.
- Johnson, C. M. and Ulrich, A. (1959) California agriculture. II. Analytical methods for use in plant analysis. California. *Journal of Agriculture Experiment Station Bulletin* 766: 26-27.
- Khlestkina, E. K. (2013) The adaptive role of flavonoids: Emphasis on cereals: Review. *Cereal Research Communications* 41: 185-198.
- Ku, K. M. and Juvik, J. A. (2013) Environmental stress and methyl jasmonate-mediated changes in flavonoid concentrations and antioxidant activity in broccoli florets and kale leaf tissues. *HortScience* 48: 996-1002.
- Kumar, M., Kumar, R., Jain, V. and Jain, S. (2018) Differential behavior of the antioxidant system in response to salinity induced oxidative stress in salt-tolerant and salt-sensitive cultivars of *Brassica juncea* L. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology* 13: 12-19.

- Laspina, N., Groppa, M., Tomaro, M. and Benavides, M. (2005) Nitric oxide protects sunflower leaves against Cd-induced oxidative stress. *Plant Science* 169: 323-330.
- Lei, Y., Yin, C., Ren, J. and Li, C. (2007) Effect of osmotic stress and sodium nitroprusside pretreatment on proline metabolism of wheat seedlings. *Biologia Plantarum* 516: 386-390.
- Li, X. F., Shao, X. H., Deng, X. J., Wang, Y., Zhang, X. P., Jia, L. Y. and Xu, L. (2012) Necessity of high temperature for the dormancy release of *Narcissus tazetta* var. *Chinensis*. *Journal of Plant Physiology* 169: 1340-1347.
- Ma, Y., Dias, M. C. and Freitas, H. (2020) Drought and salinity stress responses and microbe-induced tolerance in plants. *Frontiers in Plant Science* 11: 591911.
- Madhava, K. V. and Sresty, T. V. S. (2000) Antioxidative parameters in the seedlings of pigeonpea in response to Zn and Ni stresses. *Plant Science* 157: 113-128.
- Malar, S., Vikram, S. S., Favas, P. and Perumal, V. (2014) Lead heavy metal toxicity induced changes on growth and antioxidative enzymes level in water hyacinths [*Eichhornia crassipes* (Mart.)]. *Botanical Studies* 55: 54.
- Manshoori, F., Armin, M. and Marvi, H. (2019) Role of sodium nitroprusside on mitigation of salt stress in sweet corn. *Communications Faculty of Sciences University of Ankara Series* 28: 196-210.
- Maren, E., Veatch, B., Bernadette, M. R. and Sweeney, T. (2019) The effect of bulb weight on salinity tolerance of three common *Narcissus* cultivars. *Scientia Horticulturae* 248: 62-69.
- Mosiichuk, N. (2015) Effects of sodium nitroprusside on salt stress tolerance of tocopherol-deficient *Arabidopsis thaliana* plants. *Journal of Vasyi Stefanyk Precarpathian National University* 2: 122-131.
- Motos, J. A., Ortuno, M. F., Vivancos, P. D., Vicente, A. B., Hernandez, J. A. and Sanchez, B. M. (2017) Plant responses to salt stress: Adaptive mechanisms. *Agronomy* 7: 18.
- Munns, R. and Tester, M. (2008) Mechanisms of salinity tolerance. *The Annual of Plant Biology* 59: 651-681.
- Munns, R. (2005) Genes and salt tolerance: Bringing them together. *New Phytologist* 167: 645-663.
- Nakano, Y. and Asada, K. (1981) Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. *Plant and Cell Physiology* 22: 867-880.
- Nandal, M. and Hooda, R. (2013) Salt tolerance and physiological response of plants to salinity: A review. *International Journal of Scientific and Engineering Research* 4: 44-67.
- Page, A. L., Miller, R. H. and Keeney, D. R. (1982) *Method of Soil Analysis*. Madison, WI, USA.
- Poor, P., Laskay, G. and Tari, I. (2015) Role of nitric oxide in salt stress-induced programmed cell death and defense mechanisms. In: *Nitric Oxide Action in Abiotic Stress Responses in Plants* (eds. Khan, M. N., Mobin, M., Mohammad, F. and Corpas, F. J.) Pp. 193-219. Springer International Publishing Switzerland, Cham.
- Rahdari, P., Hoseini, S. M. and Tavakoli, S. (2012) The studying effect of drought stress on germination, proline, sugar, lipid, protein and chlorophyll content in Purslane (*Portulaca oleraceae* L.) leaves. *Journal of Medicinal Plants Research* 6: 1539-1547.
- Ramadan, A., Elhamid, E. M. A. and Sadak, M. S. (2019) Comparative study for the effect of arginine and sodium nitroprusside on sunflower plants grown under salinity stress conditions. *Bulletin of the National Research Center* 43: 118.
- Sairam, R. K. and Tyagi, A. (2004) Physiology and molecular biology of salinity stress tolerance in plants. *Current Science* 86: 407-421.
- Saxena, S. C., Kaur, H., Verma, P., Prakash, B., Rao, V. and Majee, M. (2013) Osmoprotectants: Potential for crop improvement under adverse conditions. In: *Plant Acclimation to Environmental Stress* (eds. Tuteja, N. and Gill, S. S.) Pp. 197-232. Springer.
- Shabaniyan, S., Naser Esfahani, M., Karamian, R. and Tran, L. P. (2018) Physiological and biochemical modifications by postharvest treatment with sodium nitroprusside extend vase life of cut flowers of two gerbera cultivars. *Postharvest Biology and Technology* 137: 1-8.
- Shahzad, B., Fahad, S., Tanveer, M., Khan, B. A. and Saud, S. (2019) Plant responses and tolerance to salt stress: Profiling and counteraction. In: *Approaches for Enhancing Abiotic Stress Tolerance in Plants*. (eds. Hasanuzzaman, M., Nahar, K., Fujita, M., Oku, H. and Islam, T.) Pp. 61-78. CRC Press.
- Shi, J., Gao, L., Zuo, J., Wang, Q., Wang, Q. and Fan, L. (2016) Exogenous sodium nitroprusside treatment of broccoli florets extends shelf life, enhances antioxidant enzyme activity, and inhibits chlorophyll-degradation. *Postharvest Biology and Technology* 116: 98-104.
- Shi, S., Wang, G., Wang, Y., Zhang, L. and Zhang, L. (2005) Protective effect of nitric oxide against oxidative stress under ultraviolet-B radiation. *Nitric Oxide* 13: 1-9.
- Singh, M., Kumar, J., Singh, S., Singh, V. P. and Prasad, S. M. (2015) Roles of osmoprotectants in improving salinity and drought tolerance in plants. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology* 14: 407-426.
- Suo, J., Zhao, Q., Chen, S., Dai, S. and David, L. (2017) Salinity response in chloroplasts: Insights from gene characterization. *International Journal of Molecular Sciences* 18: 1011.
- Veatch-Blohm, M. E., Chen, D. and Hasset, M. (2013) *Narcissus* cultivar differences in response to saline irrigation when application began either pre- or post-emergence. *Horticultural Science* 48: 322-329.

- Velikova, V., Yordanov, I. and Edreva, A. (2000) Oxidative stress and some antioxidant systems in acid rain-treated bean plants: Protective role of exogenous polyamines. *Plant Science* 151: 59-66.
- Wang, J., Qiao, Q. and Tao, J. (2019) The physiological response of three *Narcissus pseudonarcissus* under NaCl stress. *American Journal of Plant Sciences* 10: 447-461.
- Yastreb, T. O., Kolupaev, Y. E., Lugovaya, A. A. and Dmitriev, A. P. (2016) Content of osmolytes and flavonoids under salt stress in *Arabidopsis thaliana* plants defective in jasmonate signaling. *Applied Biochemistry and Microbiology* 52: 210-215.
- Yildiz, M., Poyraz, I., Cavdar, A., Ozgen, Y. and Beyaz, R. (2020) Plant Responses to Salt Stress. In: *Plant Breeding - Current and Future Views* (eds. Abdurakhmonov, I. Y.) Pp. 1-18.

Role of foliar application of sodium nitroprusside on induction of antioxidant enzyme activities of narcissus (*Narcissus tazetta* L.) in response to saline water irrigation

Raha Tabrizi Dooz¹, Sepideh Kalateh Jari^{1*}, Davood Naderi², Marzieh Ghanbari Jahromi¹, Hossein Ali Asadi Gharneh³,

¹ Department of Horticultural Sciences and Agronomy, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

² Young Researchers and Elite Club, Isfahan (Khorasgan) Branch, Islamic Azad University, Isfahan, Iran

³ Department of Horticultural Sciences, Isfahan (Khorasgan) Branch, Islamic Azad University, Isfahan, Iran

(Received: 23/07/2022, Accepted: 04/10/2022)

Abstract

The present experiment was aimed to investigate the improvement of salt tolerance in narcissus by exogenous application of sodium nitroprusside (SNP) in a factorial complete randomized block design with three replications at the Research Greenhouse, Islamic Azad University, Isfahan (Khorasgan) Branch during 2019-2020. Experimental treatments included irrigation by saline water at two levels 4 and 8 dS m⁻¹ and control (without saline), as well as SNP (0, 100, 200, and 400 μM). The results indicated that elevated salt stress levels induce oxidative stress, including an increase in the hydrogen peroxide by 82% and malondialdehyde by 118% in plants. Severe salt stress reduced morphological traits, including a 40% decrease in flower longevity on the plant and a 49% decrease in the flowering duration of narcissus compared to non-stress conditions. The salt stress led to the change of antioxidant enzymes activities at different concentrations. The activity of superoxide dismutase enzyme positively correlated with salt treatment and increased up to 23%. While catalase enzyme increased up to 4 dS m⁻¹ treatment by 87% and then decreased at a higher concentration in the leaves. However, SNP reduced oxidative damage in plants by improving antioxidant enzymes, proline and flavonoid content, ultimately, preventing the reduction of plant biomass. Finally, the present study showed that the exogenous application of SNP, especially at a concentration of 200 μM, improved narcissus tolerance to salinity stress by reducing the uptake of Na by 16%, as well as decreasing membrane lipid peroxides by 17%.

Keywords: Flowering duration, Ionic toxicity, Malondialdehyde, Flavonoid content of flowers

Corresponding author, Email: kalatejari@yahoo.com