

## اثر پیش‌ تیمار سدیم نیتروپروساید بر بهبود صفات فیزیولوژیکی و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی گیاهچه برنج (*Oryza sativa*) تحت تنش شوری

هانیه سعادت و محمد صدقی\*

گروه تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۱۰/۲۶، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۴۰۳/۰۱/۱۹)

### چکیده

به منظور تعیین اثر پیش‌ تیمار سدیم نیتروپروساید بر بهبود صفات فیزیولوژیکی و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت گیاهچه برنج تحت تنش شوری آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در دانشگاه محقق اردبیلی در سال ۱۴۰۲ انجام شد. تیمارهای آزمایشی شامل چهار سطح شوری (صفر، ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌مولار کلرید سدیم) و سه سطح سدیم نیتروپروساید (صفر (آب‌مقطر)، ۴۰ و ۸۰ میکرومولار) بود. نتایج نشان داد که شوری شاخص‌های جوانه‌زنی شامل درصد جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی، شاخص طولی بینه گیاهچه و شاخص وزنی بینه گیاهچه را کاهش داد، ولی پرایمینگ بذر با سطوح مختلف سدیم نیتروپروساید به‌ویژه سطح ۸۰ میکرومولار این صفات را بهبود بخشید. شوری میانگین مدت جوانه‌زنی را افزایش داد، به‌طوری‌که بیش‌ترین میانگین مدت جوانه‌زنی (۰/۳۷۱ روز) در پرایمینگ با سدیم نیتروپروساید ۴۰ میکرومولار و شوری ۱۵۰ میلی‌مولار بود. فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز در پیش‌ تیمار با سدیم نیتروپروساید ۸۰ میکرومولار و شوری ۱۵۰ میلی‌مولار به ترتیب در حدود ۳۷ و ۴۰ درصد نسبت به شاهد (آب‌مقطر) و بدون شوری بیشتر بود. شوری فعالیت آنزیم پراکسیداز را افزایش داد. به‌طوری‌که کمترین آنزیم پراکسیداز (۵۸/۴۴۴ واحد میلی‌گرم بر پروتئین) در شاهد (بدون شوری) به‌دست آمد. همچنین، فعالیت آنزیم پراکسیداز در پیش‌ تیمار با سدیم نیتروپروساید ۸۰ میکرومولار حدود ۱۴ درصد نسبت به شاهد (آب‌مقطر) افزایش نشان داد. نتایج نشان داد که تیمار بذر با سدیم نیتروپروساید ۸۰ میکرومولار موجب بهبود جوانه‌زنی و صفات بیوشیمیایی بذر برنج در شرایط شور می‌شود و به دلیل کاهش تنش اکسیداتیو می‌تواند اثرات مضر شوری بر برخی صفات در گیاهچه برنج را کاهش داده و رشد گیاهچه را بهبود بخشد.

واژه‌های کلیدی: برنج، پیش‌ تیمار، سدیم نیتروپروساید، کلرید سدیم، هیدروپرایمینگ

### مقدمه

برنج، غنی از کربوهیدرات و حاوی پروتئین، لیپید و کمپلکس‌های ویتامین B مانند ریبولوین، نیاسین و تیامین است (Fresco, 2005). تنش شوری ناشی از فعالیت‌های انسانی بر جوانه‌زنی بذر برنج، رشد گیاهچه، محتوای مواد مغذی و بهره‌وری بعدی تأثیر منفی می‌گذارد (Razzaq et al.,

برنج (*Oryza sativa* (L.)) سومین غله مهم دنیا و منبع مهم تغذیه بیش از، نیمی از جمعیت دنیا با حجم تولید ۵۱۴ میلیون تن در سال است (Wang et al., 2021). این گیاه یکساله و از اهمیت اقتصادی بالایی برخوردار است (Fahad et al., 2019).

\* نویسنده مسؤول، نشانی پست الکترونیکی: m\_sedghi@uma.ac.ir

(Shinozaki, 2019). نیتریک اکسید علاوه بر اینکه فراوانترین گونه فعال نیتروژن در گیاهان است و نقش اساسی در چندین فرآیند فیزیولوژیکی مانند تنظیم رشد و تحمل به شرایط استرسزای زنده یا غیرزیستی دارد (Sanchez-Vicente *et al.*, 2020; Hesami *et al.*, 2019). همچنین، در فرآیندهای رشد و نمو گیاه از جمله جوانه‌زنی بذر، رشد اولیه ریشه، عملکرد میتوکندری، متابولیسم گیاه و مرگ سلولی و در فعالیتهای مختلفی مانند بیان ژن ATPase، حفظ تعادل یونی بین سدیم و پتاسیم، افزایش ژن‌های بیان‌کننده آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت از جمله پراکسیداز، کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز و بهبود تجمع پروتئین نقش دارد (Karthik *et al.*, 2019; Nabaei and Amooaghaie, 2019).

پیش‌تیمار با سدیم نیتروپروساید می‌تواند اثرات سوء ناشی از تنش‌های محیطی از جمله شوری را به‌طور مؤثر کاهش دهد و موجب بهبود ویژگی‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی در گیاهان مختلف شود (ارشان و همکاران، ۱۴۰۲a؛ ارشان و همکاران، ۱۴۰۲b؛ کبیری و همکاران، ۱۴۰۰؛ Maslennikova *et al.*, 2023; Kappen *et al.*, 2022).

هدف از انجام این پژوهش، ارزیابی اثر سطوح مختلف سدیم نیتروپروساید در شرایط آزمایشگاهی و تحت تنش شوری بر میزان صفات فیزیولوژیکی و برخی صفات بیوشیمیایی جهت تعدیل اثرات سوء ناشی از تنش شوری بود.

#### مواد و روش‌ها

این آزمایش در سال ۱۴۰۲ در آزمایشگاه تکنولوژی بذر دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه محقق اردبیلی به‌منظور مطالعه اثر پیش‌تیمار سدیم نیتروپروساید بر بهبود صفات فیزیولوژیکی و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی گیاهچه برنج تحت تنش شوری به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. فاکتورهای آزمایش شامل چهار سطح شوری (صفر، ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌مولار) و سه سطح

افزایش تولید برنج جهت برآوردن نیاز غذایی جمعیت در حال رشد مستلزم اتخاذ استراتژی‌های لازم جهت افزایش عملکرد است (Zhao *et al.*, 2020). در حال حاضر شوری یکی از مشکلات اصلی در جهان است. براساس آمارهای اخیر، شوری در ۸۰ میلیارد هکتار از اراضی مناطق خشک اختلال ایجاد می‌کند و استفاده از زمین برای اهداف کشاورزی را کاهش می‌دهد (Gopalakrishnan and Kumar, 2020). شوری از طریق اختلال در سنتز پروتئین، متابولیسم چربی‌ها و انرژی گیاه مرحله جوانه‌زنی را تحت تأثیر قرار می‌دهد (زینی‌وند و نصر اصفهانی، ۱۴۰۰؛ Salek Mearaji *et al.*, 2019). تنش شوری باعث کاهش شاخص‌های جوانه‌زنی و رشد در برنج می‌شود (سعادت و همکاران، ۱۴۰۲). شوری فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان از جمله کاتالاز، پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز و صفات بیوشیمیایی مانند مقدار مالون دی‌آلدئید را افزایش و فعالیت آنزیم آمیلاز در گیاهان مختلف را کاهش می‌دهد (سعادت و همکاران، ۱۴۰۲؛ Saadat *et al.*, 2023).

روش‌های مختلفی برای بهبود جوانه‌زنی و استقرار گیاهچه وجود دارد (Chaichi *et al.*, 2022). یکی از این روش‌ها تکنیک پرایمینگ است. پرایمینگ یک روش ساده فیزیولوژیک، اقتصادی، سازگار با محیط‌زیست و قابل توصیه به کشاورزان است که سبب افزایش درصد، سرعت و یکنواختی جوانه‌زنی، سبز شدن بذر و استقرار گیاهچه تحت شرایط محیطی مختلف می‌شود (Sen and Puthur, 2020). پیش‌تیمار بذر اثرات منفی انواع تنش‌های زیستی و غیرزیستی از جمله شوری را کاهش می‌دهد (Hussein *et al.*, 2021). بذرهای پرایم‌شده آمادگی جوانه‌زنی و استقرار را قبل از قرارگرفتن در بستر خود به‌دست می‌آورند (بابایی‌پور و همکاران، ۱۴۰۰).

سدیم نیتروپروساید یک ترکیب آزادکننده نیتریک اکسید (NO) است که به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدان در کاهش تنش اکسیداتیو با سم‌زدایی گونه‌های اکسیژن فعال در گیاهان نقش دارد (Yasir *et al.*, 2021). نیتریک اکسید یک مولکول گازی بدون بار و چربی‌دوست است که می‌تواند بر روی برخی از بخش‌های درون سلولی تأثیر بگذارد (Takahashi and

جدول ۱- روابط محاسباتی مورد استفاده برای تعیین برخی صفات گیاهچه برنج

منابع	روابط	صفات
امیدی و همکاران، ۱۳۹۳	$GP = (N \times 100) / M$	درصد جوانه زنی (Germination Percentage)
Ellis and Roberts, 1980	$GR = \sum_{i=1}^N Si / Di$	سرعت جوانه زنی (Germination Rate)
امیدی و همکاران، ۱۳۹۳	$MGT = \sum (Ni) / \sum N$	میانگین مدت جوانه زنی (Mean germination time)
ابراهیمی و همکاران، ۱۳۹۱	$SLVI = SL (mm) \times GP$	شاخص طولی بذر (Seedling Length Vigor Index)
ابراهیمی و همکاران، ۱۳۹۱	$SWVI = SDW (g) \times GP$	شاخص وزنی بذر (Seedling Weight Vigor Index)

N: تعداد بذر جوانه زده، M: تعداد کل بذور، N: تعداد دفعات شمارش، Ni: تعداد بذر جوانه زده در روز، Si: تعداد بذرهای جوانه زده در هر روز، Di: تعداد روز تا شمارش m، GP: درصد جوانه زنی، SL: طول گیاهچه و SDW: وزن خشک گیاهچه.

و به مدت ۱۵ دقیقه با دمای ۴ درجه سلسیوس با سرعت ۱۵۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ شدند. تمامی مراحل در روند تهیه عصاره آنزیمی در دمای ۴-۱ درجه سلسیوس انجام گرفت. جهت پیشگیری از انجماد و ذوب متوالی نمونه‌ها سوپرناتانت حاصل به سه قسمت تقسیم شد و تا زمان اندازه‌گیری آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در دمای ۲۰- درجه سلسیوس نگهداری شدند (Sairam et al., 2002).

**سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز:** سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز طبق روش (Aebi, 1984) اندازه‌گیری شد. مواد شیمیایی مورد نیاز شامل ۰/۵ میلی‌لیتر پراکسید هیدروژن ۷/۵ میلی‌مولار، ۱/۵ میلی‌لیتر بافر فسفات پتاسیم ۱۰۰ میلی‌مولار (pH=۷) و ۵۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی بود که حجم نمونه‌ها با افزودن آب-مقطر به ۳ میلی‌لیتر رسانده شد. با افزودن پراکسید هیدروژن واکنش شروع و تغییرات جذب در طول موج ۲۴۰ نانومتر در مدت یک دقیقه ثبت شد. محلول جذب زمینه برای دستگاه شامل تمام موارد استفاده شده به جز عصاره آنزیمی استخراج شده بود. میزان پراکسید هیدروژن تجزیه‌شده با استفاده از ضریب خاموشی ( $\epsilon = 39/4 \mu M^{-1} cm^{-1}$ ) محاسبه و فعالیت آنزیم کاتالاز براساس میکرومول پراکسید هیدروژن تجزیه‌شده در دقیقه بر میلی‌گرم پروتئین بیان گردید.

**سنجش فعالیت آنزیم پراکسیداز:** سنجش فعالیت آنزیم پراکسیداز طبق روش (Hemeda and Klein, 1990) انجام شد. مخلوط واکنش شامل ۲۵۰ میکرولیتر بافر فسفات ۱۰۰ میلی‌مولار (pH=۷)، ۲۵۰ میکرولیتر گایاکول ۱۰ میلی‌مولار

سدیم نیتروپروساید (صفر (آب‌مقطر)، ۴۰ و ۸۰ میکرومولار) بود. ابتدا بذرها درون محلول‌های پرایمینگ و آب‌مقطر به مدت ۸ ساعت در دمای ۲۵ درجه سلسیوس غوطه‌ور شدند. بعد از پرایمینگ، بذرها به وسیله آب‌مقطر شستشو و در دمای آزمایشگاه خشک شدند. پس از اعمال پرایمینگ، تعداد ۲۵ بذر درون هر پتری جهت کشت قرار گرفت (ISTA, 2013) و به هر پتری محلول شوری (کلرید سدیم) ۵ میلی‌لیتر اضافه شد، سپس پتری‌ها، به داخل ژرمیناتور با دمای ۲۵ درجه سلسیوس منتقل شدند. شمارش بذرهای جوانه زده به صورت روزانه و به مدت هفت روز انجام گردید. برای خشک کردن گیاهچه‌ها از آون استفاده شد. به این صورت که نمونه‌ها در آون با دمای ۷۲ درجه سلسیوس قرار گرفتند. برای محاسبه شاخص‌های مورد مطالعه از روابط جدول ۱ استفاده شد.

جهت تعیین فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در برنج، گیاهچه‌ها در دمای ۲۵ درجه سلسیوس در داخل پتری‌دیش درون ژرمیناتور به مدت ۹ روز رشد داده شدند. پس از باز شدن برگ‌های اولیه از هر تیمار پنج گیاهچه تصادفی انتخاب و بعد از قراردادن در فویل آلومینیومی، به فریزر با دمای ۷۲- درجه سلسیوس منتقل شدند. به منظور استخراج عصاره آنزیمی، ۰/۵ گرم نمونه از هر تیمار توزین و در داخل هاون چینی (که از قبل در یخچال نگهداری شده بود) با استفاده از نیتروژن مایع هموزن شد و بعد از آن ۵ میلی‌لیتر بافر فسفات سرد (pH=۷/۵) حاوی ۰/۵ میلی‌مولار EDTA به هاون افزوده شد. سپس، هموزن‌ها به اپندورف‌های ۲ میلی‌لیتری منتقل شده

۲). سرعت جوانه‌زنی در پیش‌تیمار با سدیم نیتروپروساید ۸۰ میکرومولار و بدون شوری در حدود ۶۸ درصد نسبت به شاهد و شوری ۱۵۰ میلی‌مولار افزایش نشان داد (شکل ۲).

**میانگین مدت جوانه‌زنی:** جدول تجزیه واریانس نشان داد که برهم‌کنش سدیم نیتروپروساید و شوری روی میانگین مدت جوانه‌زنی در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۲). همچنین، نتایج مقایسه میانگین اثر برهم‌کنش بر میانگین مدت جوانه‌زنی نشان داد که بیش‌ترین میانگین مدت جوانه‌زنی (۰/۳۷۱ روز) در پرایمینگ با سدیم نیتروپروساید ۴۰ میکرومولار و شوری ۱۵۰ میلی‌مولار و کم‌ترین آن (۰/۱۰۱ روز) در پیش‌تیمار با نیتروپروساید ۸۰ میکرومولار و شاهد (بدون شوری) حاصل شد (شکل ۳).

**شاخص وزنی و طولی گیاهچه:** جدول تجزیه واریانس نشان داد که برهم‌کنش سدیم نیتروپروساید و شوری روی شاخص وزنی و طولی گیاهچه در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۲). نتایج مقایسه میانگین شاخص وزنی و طولی گیاهچه نشان داد که بیش‌ترین شاخص طولی بنیه گیاهچه (۱۰/۰۹۳) و شاخص وزنی بنیه گیاهچه (۰/۰۲۶۰۵) از پرایمینگ با سدیم نیتروپروساید ۸۰ میکرومولار و بدون شوری مشاهده شد و کمترین شاخص طولی بنیه بذر (۲/۵۹۵) و شاخص وزنی بنیه بذر (۰/۰۰۵۷۲) در شاهد (آب‌مقطر) با شوری ۱۵۰ میلی‌مولار بود (شکل ۴ و ۵).

**فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز:** جدول تجزیه واریانس نشان داد که برهم‌کنش سدیم نیتروپروساید و شوری روی فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۳). نتایج مقایسه میانگین بر روی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان نشان داد که بیش‌ترین فعالیت آنزیم کاتالاز (۲۶/۲۶۷) واحد میلی‌گرم بر پروتئین) و سوپراکسید دیسموتاز (۱۷۱/۵۵۰) واحد میلی‌گرم بر پروتئین) از پرایمینگ با سدیم نیتروپروساید ۸۰ میکرومولار و شوری ۱۵۰ میلی‌مولار به‌دست آمد. و کم‌ترین فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز نیز به ترتیب، ۱۶/۴۶۷ و ۱۰۲/۷۰۰ واحد میلی‌گرم

محلول در آب دوبار تقطیرشده، ۳۴ میکرولیتر پراکسید هیدروژن ۷۰ میلی‌مولار محلول در فسفات پتاسیم ۱۰۰ میلی‌مولار (pH=۷)، ۴۶۷ میکرولیتر آب دو بار تقطیر استریل شده و ۲۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی بود. تغییرات جذب در طول موج ۴۷۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفنومتر اندازه‌گیری شد. در نتیجه فعالیت آنزیم پراکسیداز بر حسب واحد میلی‌گرم بر پروتئین در دقیقه گزارش شد.

**سنجش فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز:** فعالیت آنزیم براساس روش (Giannopolitis and Ries, 1977) مورد سنجش قرار گرفت. مخلوط واکنش شامل بافر ۰/۱ مول در لیتر فسفات (pH=۷/۸) به میزان ۳ میلی‌لیتر که حاوی ۱/۳ میکرومول در لیتر ریبولوآوین، متیونین به میزان ۱۳ میلی‌مول در لیتر، نیتروبلوترازولیوم به میزان ۶۳ میکرومولار و عصاره آنزیمی به میزان ۰/۱ میلی‌لیتر بود. نمونه بلانک در تاریکی به مدت ۱۵ دقیقه قرار گرفت و نمونه‌های شاهد و عصاره آنزیمی در محفظه نوری با دو لامپ فلورسنت ۲۰W به مدت ۱۵ دقیقه و ۱۰۰ دور در دقیقه بر روی شیکر گذاشته شد. سپس، جذب در طول موج ۵۶۰ نانومتر خوانده شد.

## نتایج و بحث

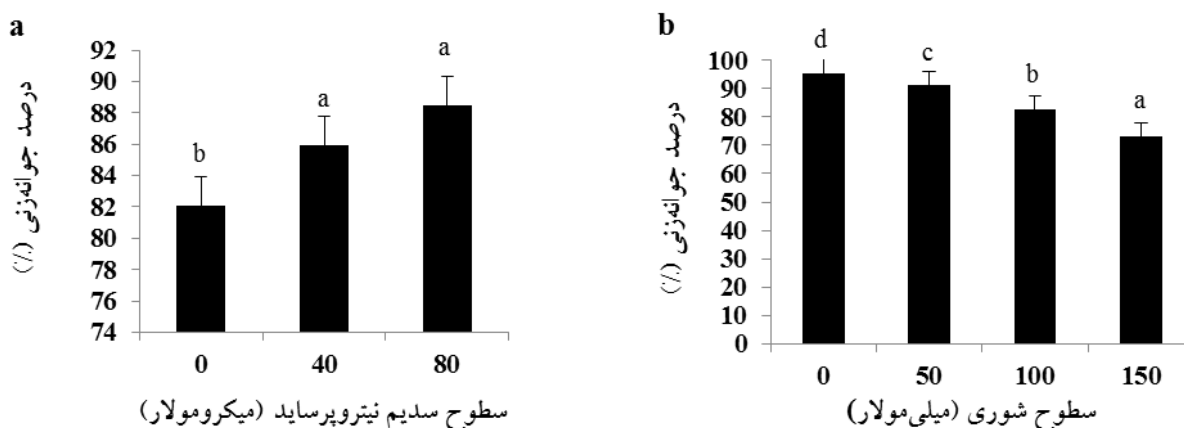
**درصد جوانه‌زنی:** در این تحقیق، اثر ساده سدیم نیتروپروساید و شوری روی درصد جوانه‌زنی در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۲). نتایج مقایسه میانگین اثر ساده تیمارها نشان داد که درصد جوانه‌زنی در پیش‌تیمار با سدیم نیتروپروساید ۸۰ میکرومولار حدود ۸ درصد در مقایسه با شاهد افزایش نشان داد (شکل ۱a). این صفت با تشدید شوری به‌طور معنی‌دار کاهش یافت. به‌طوری‌که بیش‌ترین درصد جوانه‌زنی (۹۵/۴۴ درصد) در شاهد (بدون شوری) و کم‌ترین آن (۷۲/۸۹ درصد) در شوری ۱۵۰ میلی‌مولار به‌دست آمد (شکل ۱b).

**سرعت جوانه‌زنی:** جدول تجزیه واریانس نشان داد که برهم‌کنش سدیم نیتروپروساید و شوری روی سرعت جوانه‌زنی در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول

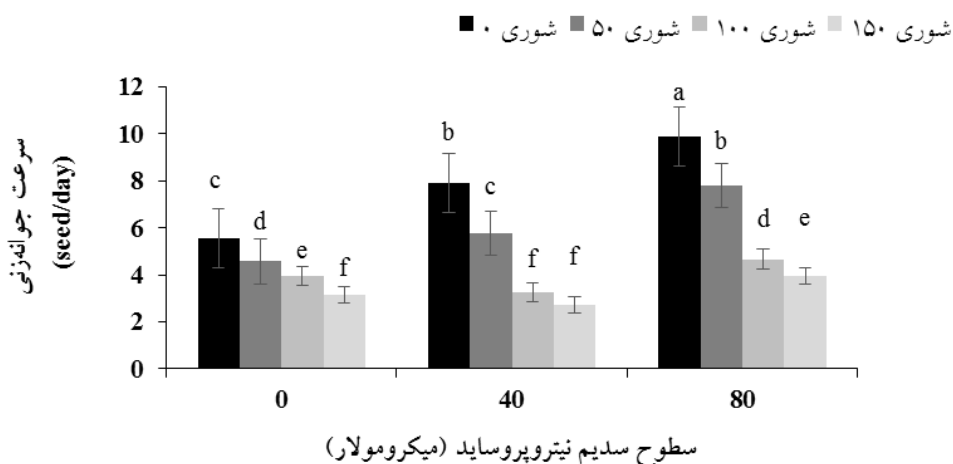
جدول ۲- تجزیه واریانس اثر سدیم نیتروپروساید و شوری بر صفات فیزیولوژیکی در گیاهچه برنج

میانگین مربعات			درجه آزادی		منابع تغییر
شاخص طولی	شاخص طولی	میانگین مدت جوانه زنی	سرعت جوانه زنی	درصد جوانه زنی	
بنیه گیاهچه	بنیه گیاهچه	جوانه زنی			
۰/۰۰۰۲۶۱۷۰**	۳۵/۲۴۷**	۰/۰۱۹۱۰۲۹۰**	۱۶/۶۱۲**	۱۲۵/۰۸۳**	۲ سدیم نیتروپروساید
۰/۰۰۰۲۰۷۵۵**	۳۳/۱۵۴**	۰/۰۵۹۲۲۷۰۸**	۳۷/۷۵۶**	۹۰۰/۰۳۷**	۳ شوری
۰/۰۰۰۰۰۴۰۱**	۰/۵۵۵*	۰/۰۰۲۹۲۳۲۴**	۲/۷۷۲**	۱۷/۸۹۸ <sup>ns</sup>	۶ سدیم نیتروپروساید × شوری
۰/۰۰۰۰۰۰۵۷	۰/۱۰۲	۰/۰۰۰۵۱۱۷۲	۰/۱۰۶	۱۴/۹۶۹	۲۲ خطای آزمایشی
۵/۲۵۱	۵/۵۲۸	۱۰/۲۱۶	۶/۱۹۱	۴/۵۲۵	ضریب تغییر (%)

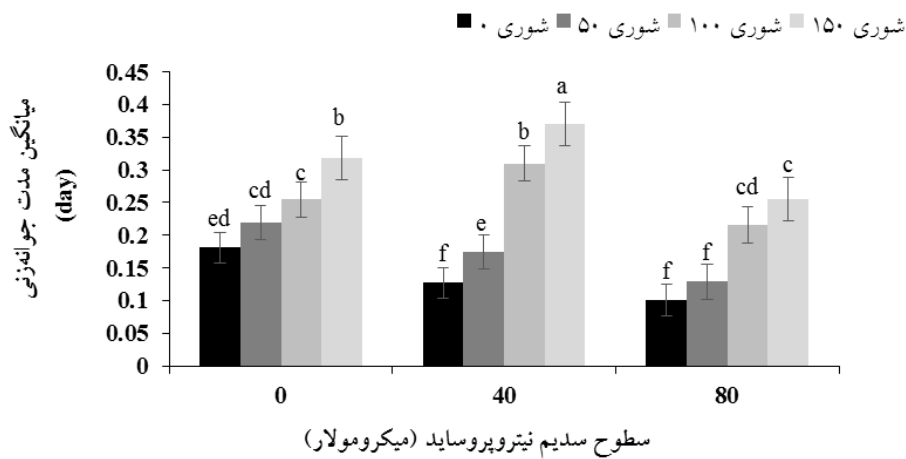
ns و \*\* به ترتیب غیر معنی دار و معنی دار در سطح احتمال ۰/۰۱.



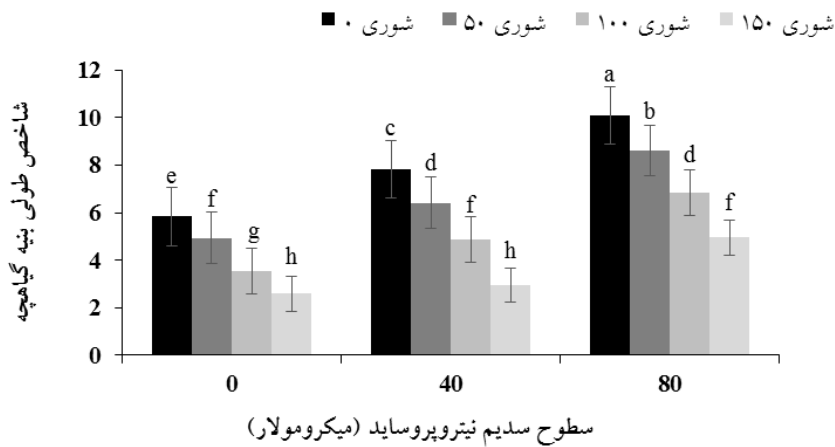
شکل ۱- مقایسه میانگین اثرات ساده شوری (a) و سدیم نیتروپروساید (b) بر درصد جوانه زنی در برنج. حروف متفاوت در هر ستون نشان دهنده تفاوت معنی دار در سطح احتمال یک درصد است.



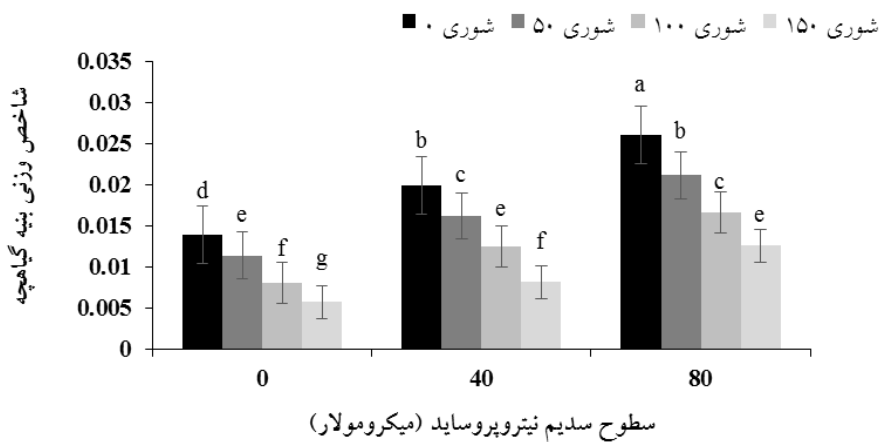
شکل ۲- مقایسه میانگین اثر متقابل سدیم نیتروپروساید و شوری بر سرعت جوانه زنی در برنج. حروف متفاوت در هر ستون نشان دهنده تفاوت معنی دار در سطح احتمال یک درصد است.



شکل ۳- مقایسه میانگین اثر متقابل سدیم نیتروپروساید و شوری بر روی میانگین مدت جوانه‌زنی در برنج. حروف متفاوت در هر ستون نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد است.



شکل ۴- مقایسه میانگین اثر متقابل سدیم نیتروپروساید و شوری بر روی شاخص طولی بنه گیاهیچه در برنج. حروف متفاوت در هر ستون نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد است.

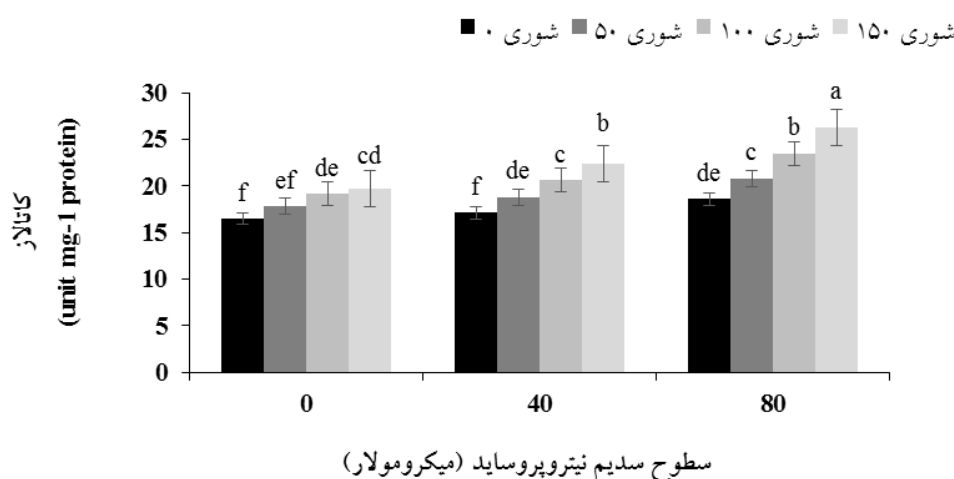


شکل ۵- مقایسه میانگین اثر متقابل سدیم نیتروپروساید و شوری بر روی شاخص وزنی بنه گیاهیچه در برنج. حروف متفاوت در هر ستون نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد است.

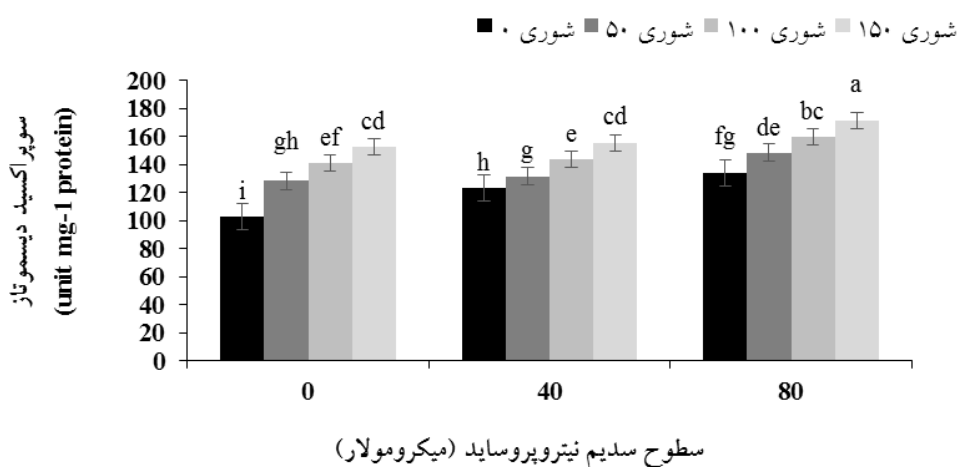
جدول ۳- تجزیه واریانس اثر سدیم نیتروپروساید و شوری بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در گیاهچه برنج

منابع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات	
		کاتالاز	سوپراکسیداز
سدیم نیتروپروساید	۲	۴۹/۳۹۱**	۳۱۷/۶۰۳**
شوری	۳	۴۹/۵۴۶**	۸۷۹/۳۸۵**
سدیم نیتروپروساید × شوری	۶	۲/۸۸۴**	۱۰/۲۱۰ <sup>ns</sup>
خطای آزمایشی	۲۲	۰/۵۶۴	۹/۹۹۷
ضریب تغییر (%)		۳/۷۳۶	۴/۵۰۹
		۲/۷۵۳	۱۴۷۲/۸۷۱**
			۲۵۲۳/۵۴۷**
			۶۴/۲۰۳**
			۱۵/۰۳۸

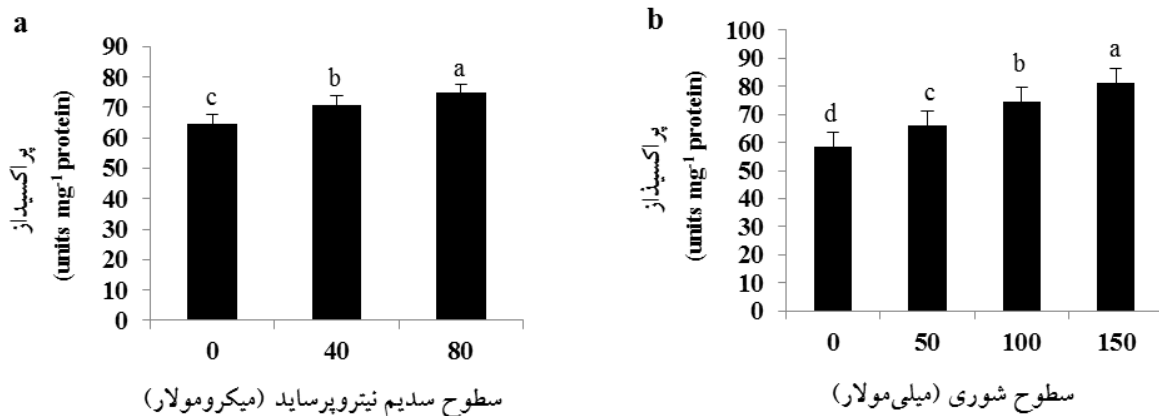
ns و \*\* به ترتیب غیر معنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال ۰/۰۱.



شکل ۶- مقایسه میانگین اثر متقابل سدیم نیتروپروساید و شوری بر روی فعالیت کاتالاز در برنج. حروف متفاوت در هر ستون نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد است.



شکل ۷- مقایسه میانگین اثر متقابل سدیم نیتروپروساید و شوری بر روی فعالیت سوپراکسید دیسموتاز در برنج. حروف متفاوت در هر ستون نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد است.



شکل ۸- مقایسه میانگین اثرات ساده سدیم نیتروپروساید و شوری بر روی فعالیت پراکسیداز در برنج. حروف متفاوت در هر ستون نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد است.

است (Adamu *et al.*, 2018). علاوه بر این، پراکسیداسیون لیپیدی وابسته به گونه‌های فعال اکسیژن و اکسیداسیون پروتئین توسط گونه‌های فعال اکسیژن ناشی از تنش شوری به‌طور مؤثری توسط نیتریک اکسید مهار می‌شود (Fancy *et al.*, 2017). سدیم نیتروپروساید از طریق حفظ تنظیم اسمزی باعث محدود کردن تنش در نتیجه آسیب اکسیداتیو ناشی از آن می‌شود (Ragab and Saad-Allah, 2020). نیتریک اکسید در شرایط تنش به دلیل خاصیت آنتی‌اکسیدانی در سلول‌ها باعث حذف رادیکال‌های آزاد اکسیژن تولیدشده در کلروپلاست می‌شود (Ahmad *et al.*, 2020). کاهش جذب آب تحت تنش شوری روند جوانه‌زنی را تحت تأثیر قرار می‌دهد (Rajabi *et al.*, 2020) که با نتایج این پژوهش نیز تطابق دارد. کاهش سرعت جوانه‌زنی همراه با افزایش سطوح شوری در این پژوهش، ناشی از تنش خشکی فیزیولوژیک است. این تنش به علت کاهش سرعت اولیه جذب آب منجر به کاهش شاخص‌های رشد می‌شود (عطاردی و همکاران، ۱۳۹۰). شوری با ایجاد پتانسیل اسمزی منفی‌تر، نفوذ آب به داخل بذرها محدود کرده و موجب کاهش جوانه‌زنی می‌شود. هم‌چنین غلظت بالای یون‌های سدیم و کلر بذر را مسموم کرده و اجازه جذب آب به آن‌ها را نمی‌دهد (شاکرمی و همکاران، ۱۳۸۹). اثر مثبت پرایمینگ بر درصد جوانه‌زنی ناشی از توسعه جنین و تغییرات بیوشیمیایی لازم جهت شروع

بر پروتئین در شاهد (آب‌مقطر) و بدون شوری مشاهده شد (شکل ۶ و ۷).

**فعالیت آنزیم پراکسیداز:** اثر ساده سدیم نیتروپروساید و شوری بر آنزیم پراکسیداز در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود، ولی اثر متقابل آن‌ها غیرمعنی‌دار شد (جدول ۳). براساس نتایج مقایسه میانگین بیش‌ترین فعالیت آنزیم پراکسیداز (۷۴/۷۸۳ واحد میلی‌گرم بر پروتئین) در تیمار با سدیم نیتروپروساید ۸۰ میکرومولار و کم‌ترین آن (۶۴/۶۰۰ واحد میلی‌گرم بر پروتئین) در شاهد (آب‌مقطر) بود (شکل ۸a). شوری این صفت را افزایش داد، به‌طوری‌که بیش‌ترین فعالیت آنزیم پراکسیداز (۸۱/۱۷۸ واحد میلی‌گرم بر پروتئین) در شوری ۱۵۰ میلی‌مولار و کم‌ترین مقدار آن (۵۸/۴۴۴ واحد میلی‌گرم بر پروتئین) در شاهد (بدون شوری) به‌دست آمد (شکل ۸b).

مطالعات متعدد در گذشته نشان داده‌اند که نیتریک اکسید حاصل از سدیم نیتروپروساید در تحمل شوری نقش داشته و به‌عنوان جاذب گونه‌های فعال اکسیژن، مولکول سیگنال‌دهنده و برهم‌کنش با سایر مولکول‌ها عمل می‌کند (Nabi *et al.*, 2019; Ahmad *et al.*, 2020; Hasanuzzaman *et al.*, 2018). تحقیقات نشان داده است که کاربرد سدیم نیتروپروساید با افزایش بیان ژن‌های مرتبط با آنتی‌اکسیدان در برنج به‌طور قابل توجهی اثر تنش شوری را بر رشد گیاهیچه کاهش داده



جوانه‌زنی مانند هیدرولیز و متابولیسم مواد بازدارنده، جذب آب و فعالیت آنزیم‌ها است (Mussa et al., 1999). یکی از دلایل افزایش درصد جوانه‌زنی بذر پرایم شده، افزایش سوخت و ساز نشاسته و انتقال آن به جنین می‌باشد (Afzal et al., 2012). پرایمینگ بذر با افزایش سرعت و تقسیم سلولی و جذب آب سبب پیشبرد فرآیندهای نظیر سنتز پروتئین، mRNAها، حفظ DNA، افزایش مقدار سطح انرژی سلول‌ها شده در نهایت درصد و سرعت جوانه‌زنی را افزایش می‌دهد (طاهری و همکاران، ۱۳۹۷؛ Varier et al., 2010). سدیم نیتروپروساید با افزایش آنزیم‌های هیدرولیزکننده مانند آلفا و بتا آمیلاز و تبدیل نشاسته به قند و تأثیر بر سیستم آنتی‌اکسیدان و کاهش اثرات آسیب‌زای تنش شوری موجب بهبود درصد جوانه‌زنی بذرها در شرایط تنش شور می‌گردد (Bialecka and Kepczynski, 2010; Zheng et al., 2009). سدیم نیتروپروساید به علت نقش نیتریک اکسید در کاتابولیسم هورمون آبسزیک اسید و تحریک مسیر سیگنال‌دهی هورمون اتیلن درصد جوانه‌زنی را افزایش می‌دهد (Arc et al., 2013). نتایج آزمایشی نشان داد که پرایمینگ با سدیم نیتروپروساید تحت تنش شوری درصد و سرعت جوانه‌زنی را در گیاه کنجد و سیاهدانه افزایش داد (کبیری و همکاران، ۱۴۰۰؛ فتحی و همکاران، ۱۳۹۷). گزارش‌ها نشان داده است که پرایمینگ تأثیر مثبتی بر درصد و سرعت جوانه‌زنی در برنج و لوبیا تحت شرایط شوری دارد (فرهنگجو و همکاران، ۱۴۰۲؛ سعادت و همکاران، ۱۴۰۲؛ سعادت و همکاران، ۱۴۰۱a). افزایش میانگین مدت جوانه‌زنی طی تنش شوری، به دلیل تأخیر در جذب آب توسط بذر است، زیرا فعال‌شدن آنزیم‌های مورد نیاز بذر در فرآیند جوانه‌زنی نیازمند جذب آب برای رسیدن به مرحله دوم جوانه‌زنی هستند و بذرها پرایم‌شده به دلیل گذراندن دو مرحله از سه مرحله جوانه‌زنی، به آب کمتری برای تکمیل فرآیند جوانه‌زنی نیاز دارند (Varier et al., 2010). تغییرات متابولیک و بیوشیمیایی در فرآیند جوانه‌زنی در بذور پرایم‌شده اتفاق می‌افتد. در بذور پرایم‌شده، آنزیم‌های هیدرولیزکننده، پروتئین‌ها و کربوهیدرات را می‌شکنند تا در روند جوانه‌زنی

استفاده شود، در نتیجه باعث جوانه‌زنی سریع و کاهش میانگین مدت جوانه‌زنی می‌شود (Bittencourt et al., 2005). همچنین، پرایمینگ با افزایش فعالیت‌های متابولیکی و سرعت تقسیم سلولی میانگین مدت جوانه‌زنی کاهش می‌دهد، که این فرضیه در پژوهشی که روی برنج انجام گرفته، نشان داده شده است (Basra et al., 2002). افزایش میانگین مدت جوانه‌زنی تحت تنش شوری در تحقیقات دیگر روی برنج و لوبیا نیز گزارش شده است (سعادت و همکاران، ۱۴۰۲؛ سعادت و همکاران، ۱۴۰۱a). تنش شوری از طریق کاهش پتانسیل آب و اثرات متعاقب آن و ایجاد مسمومیت در بذر ناشی از غلظت کاتیون و آنیون (کلر و سدیم) شاخص‌های بنیه گیاهچه را کاهش می‌دهد (مدحج و کربلایی، ۱۳۹۸؛ Chamhidar and Farhoodi, 2019). افزایش شاخص‌های طولی و وزنی بنیه گیاهچه در پرایمینگ با سدیم نیتروپروساید، به دلیل بیشتر بودن درصد جوانه‌زنی و طول گیاهچه بوده است که موجب افزایش تعداد کل بذرها، جوانه‌زده و طول گیاهچه گردیده است زیرا شاخص طولی و وزنی بنیه، حاصل‌ضرب درصد جوانه‌زنی با طول و وزن خشک گیاهچه است، در نتیجه افزایش در این صفات سبب افزایش شاخص طولی و وزنی بنیه گیاهچه می‌گردد. همچنین، دلیل افزایش شاخص‌های بنیه گیاهچه تحت پرایمینگ با سدیم نیتروپروساید می‌تواند ناشی از تحرک ذخایر غذایی، فعالیت و ساخت آنزیم‌ها، بازسازی RNA و DNA، سنتز پروتئین و تقسیم سلولی سریع سلول‌های جنینی در نتیجه برطرف‌شدن موانع جوانه‌زنی طی پرایمینگ باشد (Basra et al., 2003; Ventura et al., 2012). پژوهشگران بیان کردند که تیمار با سدیم نیتروپروساید به دلیل تأثیر سینرژیستی روی پرکسید هیدروژن موجب افزایش سرعت انتقال پروتئین‌های ذخیره‌ای به جنین در حال رشد شده و از این طریق بنیه گیاهچه را افزایش می‌دهد (Qiao et al., 2014). نتایج آزمایشی نشان داد که پرایمینگ با سدیم نیتروپروساید تحت تنش شوری شاخص‌های بنیه گیاهچه در گیاه سیاهدانه و کنجد را افزایش داد (کبیری و همکاران، ۱۴۰۰؛ فتحی و همکاران، ۱۳۹۷). این پژوهش نشان داد که افزایش سطوح

(2007). در واقع، نیتریک اکسید حاصل از سدیم نیتروپروساید روی رادیکال‌های آزاد اثر گذاشته و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان را برای کاهش غلظت رادیکال آزاد تحریک کرده و تنش اکسیداتیو را در گیاه کاهش می‌دهد (Panda et al., 2011). پرایمینگ با سطوح مختلف سدیم نیتروپروساید رونویسی و بیان ژن‌های کلکننده کاتالاز را القا می‌کند (Qiao et al., 2014). اثر حفاظتی نیتریک اکسید ره‌اشده از سدیم نیتروپروساید تحت تنش به علت ترمیم میتوکندری و توانایی نیتریک اکسید در القای فعالیت سوپراکسید دیسموتاز است (روحی و همکاران، ۱۳۹۸). عدم افزایش در فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان سبب کاهش توانایی گیاه جهت مقابله و تحمل آسیب‌های ناشی از تنش شوری می‌شود.

#### نتیجه‌گیری

نتایج این تحقیق نشان داد که شوری می‌تواند اثرات معنی‌داری در کاهش شاخص‌های جوانه‌زنی و افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در گیاهچه برنج در شرایط آزمایشگاه داشته باشد. کاهش شاخص‌های جوانه‌زنی احتمالاً به دلیل تجمع رادیکال‌های اکسیژن و تنش اکسیداتیو ناشی از این تنش است. همچنین، نتایج نشان داد که سطوح مختلف سدیم نیتروپروساید به‌ویژه سطح ۸۰ میکرومولار سبب بهبود شاخص‌های جوانه‌زنی در شرایط شوری می‌شود. به عبارتی جوانه‌زنی بذره‌ای تیمار شده نسبت به بذره‌ای شاهد، در نتیجه شوری محیط سریع‌تر آغاز خواهد شد و نیتریک اکسید حاصل از سدیم نیتروپروساید از راه افزایش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان موجب کاهش اثرات سوء شوری می‌شود.

مختلف شوری، شاخص طولی و وزنی بینه گیاهچه را کاهش داد که مطابق نتیجه به‌دست آمده در سایر پژوهش‌ها بود (سعادت و همکاران، ۱۴۰۲؛ سعادت و همکاران، ۱۴۰۱b). نتایج این تحقیق نشان داد که فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز در شرایط تنش شوری نسبت به عدم اعمال تنش بیشتر می‌شود (فرهنگجو و همکاران، ۱۴۰۲؛ سعادت و همکاران، ۱۴۰۲؛ Saadat et al., 2023) و دلیل این امر می‌تواند کاهش توانایی جذب آب، سمیت یونی، تنش اکسیداتیو، تغییرات فرآیندهای متابولیک، تخریب غشا و یا کاهش تقسیم سلولی تحت تنش شوری باشد (Zhu, 2007). افزایش فعالیت آنزیم پراکسیداز تحت شرایط شوری نقش حفاظتی این آنزیم را در مقابل تنش‌های مختلف نشان می‌دهد. افزایش آنزیم پراکسیداز با توجه به نقش آن در حذف پراکسید هیدروژن، کاهش مالون دی‌آلدئید و حفظ پایداری غشای سلول منطقی است. افزایش فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز با پایین نگه داشته میزان رادیکال سوپراکسید، صدمات اکسیداتیو ناشی از تنش شوری را کاهش می‌دهد (Borzouei et al., 2012). افزایش غلظت پراکسید هیدروژن ناشی فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز باعث افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز جهت تجزیه پراکسید هیدروژن می‌شود (Bowler et al., 1992). افزایش این آنزیم‌ها تخریب غشای سلولی ناشی از اثرات مخرب گونه‌های فعال اکسیژن را کاهش می‌دهند (Pullen and Saeed, 2012). گونه‌های فعال اکسیژن باعث اختلال در لیپیدها، پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک می‌شوند (کافی و همکاران، ۱۳۹۷). استفاده از سدیم نیتروپروساید تولید آنزیم‌های پاک‌کننده گونه‌های فعال اکسیژن را تحریک کرده و جمع‌شدن پراکسید هیدروژن در میتوکندری‌ها تحت تنش را کاهش می‌دهد (Shi et al.,

#### منابع

- ابراهیمی، ام‌البنین، اسمعیلی، مجید محمد، صبوری، حسین، و طهماسبی، ابوالفضل (۱۳۹۱). آثار تنش‌های شوری و خشکی بر روی جوانه‌زنی دو گیاه مرتعی *Agropyron elongatum* و *Agropyron desertrum* مجله مهندس اکوسیستم بیابان، ۱(۱)، ۳۱-۳۸.
- ارشان، کلثوم، صمصام‌پور، داود، و پاسالاری، حسین (۱۴۰۲a). تأثیر سدیم نیتروپروساید بر ویژگی‌های عملکردی، فیتوشیمیایی و فیزیولوژیکی نعناع فلفلی (*Mentha piperita* L.) تحت تنش شوری. فرآیند و کارکرد گیاهی، ۱۲(۵۶)، ۳۱۵-۳۲۴.

DOR: 20.1001.1.23222727.1402.12.56.20.4

ارشان، کلثوم، صمصام پور، داود، و پاسالاری، حسین (۱۴۰۲b). اثر سدیم نیتروپروساید (SNP) بر خصوصیات مورفوفیزیولوژیک گیاه دارویی نعناع فلفلی (*Mentha piperita* L.) تحت تنش شوری. پژوهش‌های تولید گیاهی، ۳۰(۱)، ۸۵-۱۰۲.

DOR: 10.22069/JOPP.2022.20194.2931

امیدی، حشمت، جعفرزاده، لیلا، و نقدی بادی، حسنعلی (۱۳۹۳). بذر گیاهان دارویی و زراعی. انتشارات دانشگاه شاهد، تهران.  
بابایی پور، رسول، عزیزی، خسرو، عیسوند، حمیدرضا، دانشور، ماشاله، و اکبرپور، امیرعلی (۱۴۰۰). اثر هیدروپرایمینگ بذر و محلول‌پاشی نیتروژن و گلیسین بتائین بر عملکرد کمی و کیفی رقم عادل نخود (*Cicer arietinum* L.) در شرایط دیم لرستان.

DOR: 10.30495/JCEP.2021.683380. ۱۷۰-۱۵۳، (۵۸) ۱۵

روحو، حسین‌رضا، مرادی، علی، ثمن، مریم، و شاه‌دراغلو، علیرضا (۱۳۹۸). بهبود کارایی بذرهای زوال‌یافته کدوی پوست کاغذی با استفاده از پیش تیمار نیتروپروساید سدیم تحت تنش خشکی. علوم و فناوری بذر ایران، ۸(۱)، ۸۱-۶۷.

DOR: 10.22034/IJSST.2019.114505.1108

زینی‌وند، مهتاب، و نصر اصفهانی، مریم (۱۴۰۰). اثر پرایمینگ با اسید سالیسیلیک و سدیم هیدروسولفید بر روی مراحل اولیه رشد یونجه (*Medicago sativa* L.) تحت تنش شوری. فصلنامه زیست‌شناسی گیاهی ایران، ۱۳(۳)، ۴۳-۶.

DOR: 10.22108/IJPB.2022.131539.1270

سعادت، طیبه، سید شریفی، رئوف، و فرزانه، سلیم (۱۴۰۱a). تأثیر پرایمینگ با سطوح مختلف کیتوزان، روی برخی ویژگی‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی لوبیا چیتی (*Phaseolus vulgaris* L.) تحت تنش شوری. فن آوری تولیدات گیاهی، ۱۴(۲)، ۷۵-۸۹.

DOR: 10.22084/PPT.2023.26100.2075

سعادت، طیبه، سید شریفی، رئوف، و فرزانه، سلیم (۱۴۰۱b). تأثیر کیتوزان بر شاخص‌های جوانه‌زنی لوبیا چیتی (*Phaseolus vulgaris* L.) در شرایط تنش شوری. پژوهش‌های بذر ایران، ۹(۲)، ۱۵۱-۱۶۲-۱۵۱.

DOR: 10.29252/yujs.9.2.151.۱۶۲-۱۵۱، (۲) ۹

سعادت، هانیه، سلطانی، الیاس، و صدقی، محمد (۱۴۰۲). تأثیر پرایمینگ بذر با کیتوزان بر ویژگی‌های جوانه‌زنی و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در گیاهچه‌های برنج (*Oryza sativa* L.) تحت تنش شوری. فرآیند و کارکرد گیاهی، ۱۲(۵۴)، ۲۳۹-۲۵۸.

<http://jispp.iut.ac.ir/article-1-1728-fa.html>

شاکرمی، بهمن، دیان‌تی تیلکی، قاسمعلی، طبری، مسعود، و بهتری، بهزاد (۱۳۸۹). اثر تیمارهای پرایمینگ بر مقاومت به شوری بذور *Festuca ovina* L. و *Festuca arundinacea* Schreb در مرحله جوانه‌زنی و رشد اولیه. نشریه تحقیقات ژنتیک و اصلاح

گیاهان مرتعی و جنگلی ایران، ۱۸(۲)، ۳۱۸-۳۲۸.

طاهری، شهرام، غلامی، احمد، عباس‌دخت، حمید، و مکاریان، حسن (۱۳۹۷). پاسخ عملکرد، اجزای عملکرد و کیفیت دانه ارقام گلرنگ به تنش کم‌آبی و پرایمینگ بذر. مجله علمی فیزیولوژی گیاهان زراعی، ۱۰(۳۸)، ۳۹-۵۸.

<http://cpj.ahvaz.iau.ir/article-1-1023-fa.html>

عطاردی، هنگامه، ایران‌نژاد، حمید، شیرانی‌راد، امیرحسین، امیری، رضا، و اکبری، غلامعباس (۱۳۹۰). بررسی اثرات اعمال تنش خشکی و تاریخ کاشت روی گیاه مادری، بر بینه و ظهور گیاهچه بذرهای تولیدی برخی ارقام کلزا. مجله علوم گیاهان زراعی

DOR: 20.1001.1.20084811.1390.42.1.8.4 ۸۰-۷۱، (۱) ۴۲، ایران

فتحی، علیرضا، برادران فیروزآبادی، مهدی، و عامریان، محمدرضا (۱۳۹۷). تأثیر نیتریک اکسید بر جوانه‌زنی و فعالیت برخی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی کنجد (*Sesamun indicum*) تحت تنش شوری. علوم و تحقیقات بذر ایران، ۵(۳)، ۷۷-۸۸.

DOR: 10.22124/JMS.2018.2936

فرهنگجو، سیده الهام، خاوری‌نژاد، رمضانعلی، سعادت‌مند، سارا، نجفی، فرزانه، و باباخانی، بابک (۱۴۰۲). تأثیر اسید سالیسیلیک بر برخی صفات مورفولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه برنج (*Oryza sativa* L.) تحت تنش شوری. نشریه پژوهش‌های تولید گیاهی،

DOR: 10.22069/JOPP.2023.20675.2970.۱۸۲-۱۶۳، (۲)۳۰

کافی، محمد، برزویی، اعظم، صالحی، معصومه، کمندی، علی، معصومی، علی، و نباتی، جعفر (۱۳۹۷). فیزیولوژی تنش‌های محیطی در گیاهان، جهاد دانشگاهی واحد مشهد، مشهد.

کبیری، رزیتا، نقی‌زاده، مهدی، و دلفانی، مریم (۱۴۰۰). اثر پیش‌تیمار سدیم نیتروپروساید بر بهبود جوانه‌زنی و رشد اولیه سیاهدانه (*Nigella sativa*) تحت تنش شوری. علوم و تحقیقات بذر ایران، (۲)۸، ۱۹۴-۱۷۷. DOR: 10.22124/jms.2021.5219.

مدحج، عادل، و کربلایی، اعظم (۱۳۹۸). واکنش جوانه‌زنی بذر و رشد گیاهچه ژنوتیپ‌های گندم (*Triticum aestivum* and *Triticum durum* L.) به تنش شوری در رژیم‌های مختلف دمایی. تنش‌های محیطی در علوم زراعی، ۱۲(۱)، ۲۵۱-۲۶۲. <https://doi.org/10.22077/escs.2018.1278.1261>

Adamu, T. A., Mun, B. G., Lee, S. U., Hussain, A., & Yun, B. W. (2018). Exogenously applied nitric oxide enhances salt tolerance in rice (*Oryza sativa* L.) at seedling stage. *Agronomy*, 8(12), 276. <https://doi.org/10.3390/agronomy8120276>

Aebi, H. (1984). Catalase in vitro. *Methods in Enzymology*, 105, 121-126. [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(84\)05016-3](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(84)05016-3)

Afzal, I., But, A., Rehman, H. U., Basra, S. M. A., & Afzal, A. (2012). Alleviation of salt stress in fine aromatic rice by seed priming. *Australian Journal of Crop Science*, 6(10), 1401-1407.

Ahmad, P., Alam, P., Balawi, T. H., Altalayan, F. H., Ahanger, M. A., & Ashraf, M. (2020). Sodium nitroprusside (SNP) improves tolerance to arsenic (As) toxicity in *Vicia faba* through the modifications of biochemical attributes, antioxidants, ascorbate-glutathione cycle and glyoxalase cycle. *Chemosphere*, 244, 125480. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.125480>

Arc, E., Sechet, J., Corbineau, F., Rajjou, L., & Marionpoll, A. (2013). ABA crosstalk with ethylene and nitric oxide in seed dormancy and germination. *Frontiers in Plant Science*, 4(63), 1-19. <https://doi.org/10.3389/fpls.2013.00063>

Basra, S. M. A., Pannu, I. A., & Afzal, I. (2003). Evaluation of seed vigor of hydro and matriprimed wheat (*Triticum aestivum* L.) seeds. *Journal of Agricultural Biological*, 5(2), 121-123.

Basra, S. M. A., Zia, M. N., Mehmood, T., Afzal, I., & Khaliq, A. (2002). Comparison of different invigoration techniques in wheat (*Triticum aestivum* L.) seeds. *Pakistan Journal of Arid Agriculture*, 5, 325-329.

Bialecka, B. & Kepczynski, J. (2010). Germination, alpha-, beta-amylase and total dehydrogenase activities of *Amaranthus caudatus* seeds under water stress in the presence of ethephon or gibberellin A3. *Acta Biologica Cracoviensia. Series Botanica*, 52(1), 7-12. <https://doi.org/10.2478/v10182-010-0001-0>

Bittencourt, M. L. C., Dias, D. C., Dias, L. A., & Araujo, E. F. (2005). Germination and vigour of primed Asparagus seeds. *Scientia Agricola*, 62(4), 319-324. <https://doi.org/10.1590/S0103-90162005000400003>

Borzouei, A., Kafi, M., Akbari-Ghogdi, E., & Mousavi Shalmani, M. (2012). Long term salinity stress in relation to lipid peroxidation, superoxide dismutase activity and proline content of saltsensitive and salt-tolerant wheat cultivars. *Chilean Journal of Agricultural Research*. 72(4), 476-482. <http://dx.doi.org/10.4067/S0718-58392012000400003>

Bowler, C., Montagu, M. V., & Inze, D. (1992). Superoxide dismutase and stress tolerance. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 43, 83-116. <https://doi.org/10.1146/annurev.pp.43.060192.000503>

Chaichi, M., Nemati, A., Dadrasi, A., Heydari, M., Hassanisaadi, M., Yousef, A. R., Baldwin, T. C., & Mastinu, A. (2022). Germination of *Triticum aestivum* L.: Effects of soil-seed interaction on the growth of seedlings. *Soil Systems*, 6(2), 37. <https://doi.org/10.3390/soilsystems6020037>

Chamhidar, H. & Farhoodi, R. (2019). Evaluation of physiological respons of canola cultivars to salt stress at germination and seedling establishment stage. *Environmental Stresses Crop Sciences*, 12(3), 907-921. <https://doi.org/10.22077/escs.2019.1470.1324>

Ellis, R. H. & Roberts, E. H. (1980). Seed physiology and seed quality in soybean. In: *Advances in Legume Science* (eds. Summerfield, R. J. and Bunting, A. H.) Pp. 287-311. Royal Botanic Gardens, United Kingdom.

Fahad, S., Adnan, M., Noor, M., Arif, M., Alam, M., Khan, I. A., Ullah, H., Wahid, F., Mian, I. A., & Jamal, Y. (2019). Major constraints for global rice production. In: *Advances in Rice Research for Abiotic Stress Tolerance* (eds. Hasanuzzaman, M., Fujita, M., Nahar, K. and Biswas, J. K.) Pp. 1-22. Woodhead Publishing, Sawston.

Fancy, N. N., Bahlmann, A. K., & Loake, G. J. (2017). Nitric oxide function in plant abiotic stress. *Plant, Cell & Environment*, 40(4), 462-472. <https://doi.org/10.1111/pce.12707>

Fresco, L. (2005). Rice is life. *Journal of Food Composition and Analysis*, 4, 249-253. <https://doi.org/10.1016/J.JFCA.2004.09.006>

Giannopolitis, C. N. & Ries, S. K. (1977). Sueroxide dismutase. I. Occurrence in higher plants. *Journal of Plant*

- Physiology*, 59(2), 309-314. <https://doi.org/10.1104/pp.59.2.309>
- Gopalakrishnan, T. & Kumar, L. (2020). Modeling and mapping of soil salinity and its impact on paddy lands in Jaffna Peninsula, Sri Lanka. *Sustainability*, 12(20), 8317. <https://doi.org/10.3390/su12208317>
- Hasanuzzaman, M., Oku, H., Nahar, K., Bhuyan, M. B., Mahmud, J. A., Baluska, F., & Fujita, M. (2018). Nitric oxide-induced salt stress tolerance in plants: ROS metabolism, signaling, and molecular interactions. *Plant Biotechnology Reports*, 12(2), 77-92. <https://doi.org/10.1007/s11816-018-0480-0>
- Hemeda, H. M. & Klein, B. P. (1990). Effects of naturally occurring antioxidants on peroxidase activity of vegetable extracts. *Journal of Food Science*, 55, 184-185. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1990.tb06048.x>
- Hesami, M., Tohidfar, M., Alizadeh, M., & Daneshvar, M. H. (2020). Effects of sodium nitroprusside on callus browning of *Ficus religiosa*: An important medicinal plant. *Journal of Forestry Research*, 31(3), 789-796. <https://doi.org/10.3389/fpls.2013.00063>
- Hussein, M. H., Eltanahy, E. G., Albakry, A., & Elsafty, N. (2021). Seaweed extracts as prospective plant growth bio-stimulant and salinity stress alleviator for *Vigna sinensis* and *Zea mays*. *Journal of Applied Phycology*, 33(2), 1-18. <https://doi.org/10.1007/s10811-020-02330-x>
- ISTA. (2013). International Rules for Seed Testing. Bassersdorf, Switzerland: The International Seed Testing Association (ISTA).
- Kappen, L. J., Thomas, D., & Prameela, P. (2022). Chemical seed priming to improve salinity tolerance in rice. *Indian Society of Coastal Agricultural Research*, 40(1), 13-22. <https://doi.org/10.54894/JISCAR.40.1.2022.116327>
- Karthik, S., Pavan, G., Krishnan, V., Sathish, S., & Manickavasagam, M. (2019). Sodium nitroprusside enhances regeneration and alleviates salinity stress in soybean [*Glycine max* (L.) Merrill]. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 19, 101173. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2019.101173>
- Maslennikova, D., Knyazeva, I., Vershinina, O., Titenkov, A., & Lastochkina, O. (2023). Seed treatment with sodium nitroprusside ensures a long-term physiological and protective effect on wheat under salinity. *Life*, 13, 1499. <https://doi.org/10.3390/life13071499>
- Mussa, A. M., Johansen, C., Kumar, J., & Harris, D. (1999). Response of chickpea to seed priming in the high barind tract of Bangladesh. *International Chickpea and Pigeon pea Newsletter*, 6, 20-22. <http://oar.icrisat.org/id/eprint/2992>
- Nabaei, M. & Amooaghaie, R. (2019). Interactive effect of melatonin and sodium nitroprusside on seed germination and seedling growth of *Catharanthus roseus* under cadmium stress. *Russian Journal of Plant Physiology*, 66(1), 128-139. <https://doi.org/10.1134/S1021443719010126>
- Nabi, R. B. S., Tayade, R., Hussain, A., Kulkarni, K. P., Imran, Q. M., Mun, B. G., & Yun, B. W. (2019). Nitric oxide regulates plant responses to drought, salinity, and heavy metal stress. *Environmental and Experimental Botany*, 161, 120-133. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2019.02.003>
- Panda, P., Nath, Sh., Chanu, Th., Sharma, G. D., & Panda, S. K. (2011). Cadmium stress-induced oxidative stress and role of nitric oxide in rice (*Oryza sativa* L.). *Acta Physiologiae Plantarum*, 33(5), 1737-1747. <https://doi.org/10.1007/s11738-011-0710-3>
- Pullen, J. & Saeed, K. (2012). An overview of biodiesel oxidation stability. *Renew Sustainable Energy*, 16(8), 5924-5950. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2012.06.024>
- Qiao, W., Li, C., & Fan, L. M. (2014). Cross-talk between nitric oxide and hydrogen peroxide in plant responses to abiotic stresses. *Environmental and Experimental Botany*, 100, 84-93. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2013.12.014>
- Ragab, G. & Saad-Allah, K. (2020). Seed priming with greenly synthesized sulfur nanoparticles enhances antioxidative defense machinery and restricts oxidative injury under manganese stress in *Helianthus annuus* (L.) seedlings. *Journal of Plant Growth Regulation*, 4(5), 1894-1902. <https://doi.org/10.1007/s00344-020-10240-y>
- Rajabi Dehnavi, A., Zahedi, M., & Ludwiczak, A. (2020). Effect of salinity on seed germination and seedling development of sorghum (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) genotypes. *Agronomy*, 10(6), 859. <https://doi.org/10.3390/agronomy10060859>
- Razzaq, A., Ali, A., Safdar, L. B., Zafar, M. M., Rui, Y., Shakeel, A., Shaukat, A., Ashraf, M., Gong, W., & Yuan, Y. (2020). Salt stress induces physiochemical alterations in rice grain composition and quality. *Journal of Food Science*, 85(1), 14-20. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.14983>
- Saadat, H., Sedghi, M., Seyed Sharifi, R., & Farzaneh, S. (2023). Expression of gibberellin synthesis genes and antioxidant capacity in common bean (*Phaseolus vulgaris* L. cv. Sadri) seeds induced by chitosan under salinity. *Iranian Journal of Plant Physiology*, 13(4), 4715-4728. <https://doi.org/10.30495/IJPP.2023.1978837.1460>
- Sairam, R. K., Rao, K. V., & Srivastava, G. C. (2002). Differential response of wheat genotypes to long term salinity stress in relation to oxidative stress, antioxidant activity and osmolyte concentration. *Plant Science*, 163, 1037-1046. [https://doi.org/10.1016/S0168-9452\(02\)00278-9](https://doi.org/10.1016/S0168-9452(02)00278-9)
- Salek Mearaji, H., Tavakoli, A., Ghanimati, S., & Kathyrlo, P. (2019). The effect of salinity stress on traits related to germination of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.). *Agroecology Journal*, 15(3), 59-69.

- <https://doi.org/10.22034/AEJ.2019.673021>
- Sánchez-Vicente, I., Fernández-Espinoza, M. G., & Lorenzo, O. (2019). Nitric oxide molecular targets: Reprogramming plant development upon stress. *Journal of Experimental Botany*, 70(17), 4441-4460. <https://doi.org/10.1093/jxb/erz339>.
- Sen, A. & Puthur, J. T. (2020). Influence of different seed priming techniques on oxidative and antioxidative responses during the germination of *Oryza sativa* varieties. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 26(3), 551-565. <https://doi.org/10.1007/s12298-019-00750-9>
- Shi, Q., Fei, D., Xiufeng, W., & Min, W. (2007). Exogenous nitric oxide protects cucumber roots against oxidative stress induced by salt stress. *Plant Physiology and Biochemistry*, 45(8), 542-550. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2007.05.005>
- Takahashi, F. & Shinozaki, K. (2019). Long-distance signaling in plant stress response. *Current Opinion in Plant Biology*, 47(1), 106-111. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2018.10.006>
- Varier, A., Vari, A. K., & Dadlani, M. (2010). The subcellular basis of seed priming. *Current Science*, 99(4), 450-456.
- Ventura, L., Dona, M., Macovei, A., Carbonera, D., Buttafava, A., Mondoni, A., Rossi, G., & Balestrazzi, A. (2012). Understanding the molecular pathways associated with seed vigor. *Plant Physiology and Biochemistry*, 60, 196-206. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2012.07.031>
- Wang, Y., Dimkpa, C., Deng, C., Elmer, W. H., Gardea-Torresdey, J., & White, J. C. (2021). Impact of engineered nanomaterials on rice (*Oryza sativa* L.): A critical review of current knowledge. *Environmental Pollution*, 297, 118738. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2021.118738>
- Yasir, T. A., Khan, A., Skalicky, M., Wasaya, A., Rehmani, M. I. A., Sarwar, N., Mubeen, K., Aziz, M., Hassan, M. M., & Hassan, F. A. S. (2021). Exogenous sodium nitroprusside mitigates salt stress in lentil (*Lens culinaris* Medik.) by affecting the growth, yield, and biochemical properties. *Molecules*, 26(9), 2576. <https://doi.org/10.3390/molecules26092576>.
- Zhao, H., Mo, Z., Lin, Q., Pan, S., Duan, M., Tian, H., & Tang, X. (2020). Relationships between grain yield and agronomic traits of rice in southern China. *Chilean journal of agricultural research*, 80(1), 72-79. <http://dx.doi.org/10.4067/S0718-58392020000100072>
- Zheng, C., Jiang, D., Liu, F., Dai, T., Liu, W., Jing, Q., & Cao, W. (2009). Exogenous nitric oxide improves seed germination in wheat against mitochondrial oxidative damage induced by high salinity. *Environmental and Experimental Botany*, 67(1), 222-227. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2009.05.002>
- Zhu, J. K. (2007). Plant salt stress. *Nyclopedia of Life Sciences*, 1-5. <https://doi.org/10.1038/npg.els.0001300>

## Effect of sodium nitroprusside pretreatment on the improvement of physiological traits and antioxidant enzymes in rice seedlings (*Oryza Sativa* L.) under salinity stress

Haniyeh Saadat, Mohammad Sedghi\*

Department of Plant Production and Genetics, Faculty of Agriculture and Natural resources,  
University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran

(Received: 2024/01/16, Accepted: 2024/04/07)

### Abstract

In order to investigate the effect of sodium nitroprusside pretreatment on the improvement of physiological traits and antioxidant enzymes in rice seedlings under salinity stress, a factorial experiment was conducted in a completely randomized design with three replications at Mohaghegh Ardabil University in 2023. Experimental treatments included four salinity levels (0, 50, 100, and 150 Mm) and sodium nitroprusside in three levels (control, 40 and 80  $\mu$ m). The results showed that salinity of growth indices, including germination percentage (GP), germination rate (GR), Seedling Length Vigor Index (SLVI) and Seedling Weight Vigor Index (SWVI), reduced, but seed priming with different levels of sodium nitroprusside, especially the level of 80  $\mu$ m, improved these traits. Salinity increased the Mean Germination Time (MGT), so that the highest MGT was observed at (0.371 days) sodium nitroprusside 40  $\mu$ m and salinity of 150 mM. The Catalase (CAT) and superoxide dismutase (SOD) enzymes activity in pretreatment with sodium Nitroprusside 80  $\mu$ m and a salinity of 150 mM were 37 and 40% higher than the control (distilled water) and without salinity, respectively. Salinity increased the activity of peroxidase enzyme, so that the lowest was observed at peroxidase enzyme (58.444 units  $\text{mg}^{-1}$  protein) in the control (without salinity). Also, the peroxidase activity in pretreatment with sodium nitroprusside 80  $\mu$ m compared with the control (distilled water) showed an increase of about 14%. The results showed that seed treatment with sodium nitroprusside 80  $\mu$ m improves rice seed germination and biochemical traits, it can reduce the harmful effects of salinity on some traits in rice seedlings and improve seedling growth.

**Keywords:** Hydropriming, Pretreatment, Sodium Chloride, Sodium Nitroprusside, Rice

Corresponding author, Email: m\_sedghi@uma.ac.ir