

## تأثیر غلظت‌های مختلف سدیم نیتروپرووسید بر برخی ویژگی‌های مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه آهار (*Zinnia elegans*) تحت تنش شوری

مریم جبارزاده<sup>۱</sup>، علی تهرانی فر<sup>۱\*</sup>، جعفر امیری<sup>۲</sup> و بهرام عابدی<sup>۱</sup>

<sup>۱</sup> گروه علوم باغبانی دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی، مشهد، <sup>۲</sup> گروه علوم باغبانی دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه، ارومیه

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۰۹/۲۴، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹۵/۰۲/۱۵)

### چکیده:

شوری از تنش‌های محیطی است که بر استقرار و رشد گیاهان تأثیر می‌گذارد. پژوهش‌ها نشان داده است که برخی از تنظیم‌کننده‌های رشد مانند نیتریک اکسید، باعث ایجاد مقاومت در گیاهان نسبت به تنش‌های محیطی مانند شوری، گرما، سرما و خشکی می‌شود. سدیم نیتروپرووسید به عنوان یک ترکیب رها کننده نیتریک اکسید در گیاهان محسوب می‌شود. هدف از این پژوهش، بررسی نقش سدیم نیتروپرووسید در تحمل به شوری گیاه آهار و تأثیر آن بر برخی ویژگی‌های مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی این گیاه بود. این پژوهش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با پنج سطح شوری، (شاهد)، ۲۵، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم و چهار سطح سدیم نیتروپرووسید (محلول‌پاشی برگساره‌ای)، (شاهد)، ۰/۲۵، ۰/۵ و ۰/۷۵ میلی‌مولار با سه تکرار انجام شد. در سطح شوری ۵۰ میلی‌مولار، میزان کاهش طول ساقه و طول ریشه، به ترتیب ۴۱/۲۶ و ۲۹/۶۳ درصد در مقایسه با شاهد بود. در سطح شوری ۵۰ میلی‌مولار، کاربرد سدیم نیتروپرووسید در غلظت ۰/۵ میلی‌مولار، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی را ۱/۹۳ برابر، میزان گلیسین بتائین را ۳/۹۸ برابر، میزان پرولین را ۲/۱۲ برابر، همچنین فعالیت آنزیم‌های آسکوربات پراکسیداز، کاتالاز و گایاکول پراکسیداز را به ترتیب به میزان ۵/۱۵، ۴/۶۹ و ۲/۷۸ برابر در مقایسه با شاهد افزایش داد. یافته‌های این پژوهش، نشان داد که در شرایط تنش شوری، کاربرد سدیم نیتروپرووسید (به ویژه در سطوح شوری کمتر از ۵۰ میلی‌مولار) می‌تواند برخی از اثرات منفی ناشی از تنش شوری را در آهار تعدیل نماید.

کلمات کلیدی: آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، آهار، پرولین، تنش شوری، نیتریک اکسید.

### مقدمه:

تنش شوری، تنش‌های اسمزی و یونی را نیز شامل می‌شود، توقف رشد به طور مستقیم به میزان نمک‌های محلول و یا پتانسیل اسمزی آب خاک مربوط می‌شود (Greenway and Munns, 1980). در تنش شوری تولید گونه‌های اکسیژن فعال در محیط سلول، موجب ایجاد تنش ثانویه‌ای به نام تنش اکسیداتیو نیز می‌گردد (Chinnusamy et al., 2005). ترکیبات آنتی‌اکسیدانی، برای محافظت سلول‌ها در برابر تأثیرهای خطرناک گونه‌های اکسیژن فعال وارد عمل می‌شوند.

براساس گزارش فائو بیش از ۴۰ درصد از اراضی تحت آبیاری ایران در معرض شوری قرار دارند. وسعت خاک‌های شور در ایران در حدود ۲۴ میلیون هکتار است که معادل ۱۵ درصد از اراضی کشور است (FAO, 2009). تنش شوری باعث کاهش پتانسیل آب، عدم تعادل یونی و نیز ایجاد سمیت یونی در گیاهان می‌شود. تغییر وضعیت آبی گیاهان باعث می‌شود که رشد، کاهش یافته و تولید گیاهان محدود گردد. از آن جایی که

گیاهان، سیستم‌های سلولی و زیر سلولی خود را از تاثیر گونه های اکسیژن فعال به وسیله آنتی اکسیدان‌های آنزیمی از قبیل سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز، پراکسیداز، گلوکاتایون ردوکتاز و پلی فنل اکسیداز و آنتی اکسیدان های غیر آنزیمی نظیر آسکوربات و گلوکاتایون محافظت می‌کنند (Agarwal and Pandey, 2004).

در مطالعات قبلی مشخص شده است که شوری باعث کاهش شاخص‌های رشدی در گل‌های میمون، مریم گلی، اطلسی، بنفشه (Villarino and Mattson, 2011)، آهار (Bizhani et al., 2013)، تاج خروس (Carter et al., 2005) و در همیشه بهار (Chaparzadeh et al., 2004) می‌گردد. همچنین، افزایش نشت یونی در اثر افزایش سطوح شوری در آهار (Bizhani et al., 2013)، تاج خروس (Carter et al., 2005) و همیشه بهار (Chaparzadeh et al., 2004) مشاهده گردیده است. نیتریک اکسید، رادیکال آزاد گازی است که به سه شکل رادیکال نیتریک اکسید ( $NO^-$ )، کاتیون نیتروزونیوم ( $NO^+$ ) و آنیون نیتروکسیل ( $NO^-$ ) دیده می‌شود. مولکول دو اتمی نیتریک اکسید، دارای قابلیت انتشار بالایی بوده و آب دوست می‌باشد، بنابراین این مولکول نه تنها در قسمت‌های آب دوست سلول، نظیر سیتوپلاسم به راحتی انتشار می‌یابد، بلکه می‌تواند از بخش لیپیدی غشاء سلولی به صورت آزاد نیز نفوذ نماید (Hayat et al., 2010). نیتریک اکسید از انواع رادیکال‌های فعال می‌باشد که در صورت وجود اکسیژن، بلافاصله به فرم های دیگر نظیر دی‌اکسید نیتروژن ( $NO_2$ )، دی نیتروژن تری اکسید ( $N_2O_3$ ) و دی نیتروژن تتروکسید ( $N_2O_4$ ) تبدیل شده و سپس احتمال دارد که اکسیدهای به وجود آمده با آمین‌های سلولی و تیول‌ها واکنش نشان دهند و یا به یون‌های دی اکسید نیتروژن ( $NO_2^-$ ) و یون نیترات ( $NO_3^-$ ) هیدرولیز گردند (Wendehenne et al., 2001).

یکی از مهمترین ویژگی‌های نیتریک اکسید که بیشتر مورد توجه بوده، این است که هم به عنوان اکسید کننده قوی و هم آنتی اکسیدانی مؤثر عمل می‌کند. این نقش دوگانه نیتریک

اکسید مربوط به غلظت آن در محیط است (Mittler, 2002). در شرایط تنش شوری، نیتریک اکسید سبب افزایش رشد گیاه می‌شود. این پدیده ناشی از حفظ فعالیت فتوسیستم دو و همچنین افزایش فعالیت آنزیم های آنتی اکسیداتیو توسط نیتریک اکسید صورت می‌گیرد. نیتریک اکسید بیان ژن‌های ویژه مقاومت در مقابل تنش شوری را تحریک می‌کند (جلیلی مرندی، ۱۳۸۹). از طرفی نیتریک اکسید در غلظت‌های نسبتاً زیاد، متابولیسم عادی گیاهان را مختل و باعث آسیب به غشاء ها، پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک سلول‌های گیاهی می‌شود (Yamasaki, 2000). گزارش شده است که نیتریک اکسید به سرعت به وسیله انواع تنش‌های محیطی، شیمیایی و مکانیکی در گونه‌های گیاهی مختلف تولید می‌شود. در همه تنش‌ها، رادیکال‌های آزاد اکسیژن و اکسید کننده‌های دیگر در اندامک‌هایی مانند کلروپلاست، میتوکندری و پراکسی زوم تولید شده که منجر به تنش اکسیداتیو و یا به عبارتی باعث افزایش سطوح انواع گونه‌های اکسیژن فعال در سلول‌های گیاهی می‌شوند (Qiao and Fan, 2008). براساس گزارش Sheokand و همکاران (۲۰۱۰)، کاربرد سدیم نیترو پروسید روی برگ‌های گیاه نخود در شرایط تنش شوری، باعث افزایش میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مانند سوپراکسید دسموتاز، کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز و گلوکاتایون ردوکتاز گردید. در پژوهشی کاربرد سدیم نیترو پروسید در دو رقم از گوجه فرنگی تحت تنش شوری، باعث بهبود شاخص‌های رشدی و افزایش میزان قندهای محلول و فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دسموتاز، گایاکول پراکسیداز، کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز شد (Wu et al., 2011). در پژوهش دیگری مشاهده گردید که کاربرد سدیم نیتروپروسید، در غلظت ۱۰۰ میکرومول بر روی دانه‌های خیار در شرایط تنش شوری می‌تواند باعث بهبود شاخص‌های رشدی، کاهش آسیب به دانه‌ها شده و همچنین میزان کلروفیل، پرولین و میزان آنزیم‌های آنتی اکسیدانی را افزایش دهد (Fan et al., 2007).

با توجه به پژوهش‌های مختلفی که بر روی تاثیر سدیم نیتروپروسید به عنوان ترکیب رها کننده نیتریک اکسید در

با توجه به اهمیت این ترکیب در اکسید کننده قوی و هم آنتی اکسیدانی مؤثر عمل می‌کند. این نقش دوگانه نیتریک

فیزیولوژیک و بیوشیمیایی گیاه آهار مورد ارزیابی قرار گرفت. اندازه گیری سطح برگ با استفاده از دستگاه اندازه گیری سطح برگ سنج (Leaf area meter AM 200) و تعداد برگ با شمارش دستی و طول ریشه و ساقه با کمک خط کش انجام گرفت. برای اندازه گیری نشت یونی غشاء برگ، از هر تکرار تعدادی برگ نمونه گیری شده و به قطعه‌های یک سانتیمتری تقسیم شدند. قطعه‌ها سه مرتبه با آب مقطر شسته شده، سپس بمدت ۲۴ ساعت در دمای اتاق (C ۲۵ °) و در دستگاه شیکر گذاشته و EC<sub>1</sub> خوانده شد. سپس همان نمونه‌ها را در اتوکلاو در دمای C ۱۲۰ ° و به مدت ۲۰ دقیقه قرار داده و EC<sub>2</sub> نیز قرائت شد. هدایت الکتریکی به صورت درصد با استفاده از روش زیر محاسبه گردید (Luttes et al., 1995):

$$100 \times [EC_1 / EC_2] = \text{نشت یونی غشاء برگ } (\%)$$

برای اندازه‌گیری محتوای نسبی آب برگ، از هر تکرار ۱۰ دیسک برگ تهیه کرده و وزن تازه آنها (FW) اندازه گیری شد. سپس نمونه‌ها ۴ ساعت در آب مقطر قرار داده شدند و پس از آبیگری نمونه‌ها، وزن آماس (TW) بدست آمد، سپس نمونه‌ها به آون با دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد و به مدت ۲۴ ساعت انتقال یافته و وزن خشک دیسک‌ها (DW) دوباره قرائت گردید و در نهایت محتوای نسبی آب برگ‌ها (RWC) از فرمول زیر بدست آمد (Turner, 1981):

$$RWC (\%) = [ (FW - DW) / (TW - DW) ] \times 100$$

برای اندازه‌گیری پرولین، مقدار ۰/۵ گرم از برگ گیاهان را توزین کرده و در ۱۰ میلی لیتر محلول ۳/۳٪ اسید سولفوسالسیلیک ساییده و سپس نمونه‌ها صاف گردید. آنگاه به روش Bates و همکاران (۱۹۷۳) مقدار پرولین اندازه گیری شد. برای اندازه‌گیری گلیسین بتائین، ابتدا نمونه‌ها را در آون در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۷۲ ساعت خشک نموده سپس ۰/۵ گرم از پودر برگ را توزین کرده و آن را در ارلن ریخته و ۲۰ میلی لیتر آب دیونیزه به آن اضافه گردید و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد روی شیکر قرار داده شد. سپس از روش Grieve و Grattan (۱۹۸۳) برای اندازه گیری گلیسین بتائین استفاده شد.

شرایط تنش شوری انجام شده، گزارش مدونی از تأثیر سدیم نیتروپروسید بر روی گیاهان زینتی فصلی دیده نشد. با توجه به این که شوری از عوامل محدود کننده رشد در بسیاری از گیاهان محسوب می‌شود، بنابراین، این آزمایش با هدف بررسی نقش سدیم نیتروپروسید به عنوان یک آنتی اکسیدان موثر و با تأثیرات مطلوب، در کاهش تنش اکسیداتیو ناشی از قرار گرفتن گل آهار در شرایط تنش شوری، طراحی و اجرا شد.

### مواد و روش‌ها:

گیاه مورد مطالعه در این پژوهش، گیاه آهار *Zinnia elegans* 'Magellan Cherry' بود. این بررسی به صورت یک آزمایش گلدانی در گلخانه‌های تحقیقاتی فضای سبز شهر ارومیه در تابستان ۱۳۹۲، به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار اجرا گردید. بذور ابتدا در سینی‌های کشت تویی کشت شدند و سپس در مرحله چهار برگی به گلدان‌های سفالی با قطر دهانه ۱۴ سانتی‌متر و ارتفاع ۱۲ سانتی‌متر، با محیط کشتی که شامل ۲ قسمت خاک مزرعه، ۱ قسمت ماسه و ۱ قسمت خاکبرگ بود، منتقل شدند. در گلخانه دمای روز و شب به ترتیب ۲۵±۳ و ۱۵±۳ درجه سانتی‌گراد، شرایط نور طبیعی و میزان رطوبت نسبی ۷۰-۶۰ درصد بود.

پس از استقرار کامل گیاهان در گلدان (در مرحله ۸-۶ برگی) از نمک کلرید سدیم به منظور اعمال تنش شوری در پنج غلظت صفر (شاهد)، ۲۵، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ میلی مولار استفاده گردید. آبیاری گیاهان با محلول‌های شور تا پایان دوره آزمایش ادامه یافت. از شروع تا پایان تیمار شوری ۱۴ روز طول کشید. برای تیمار شاهد، فقط آبیاری با آب مقطر انجام گرفت. همزمان با شروع تنش شوری، تیمار نیتریک اکسید در ۴ غلظت صفر (شاهد)، ۰/۲۵، ۰/۵ و ۰/۷۵ میلی مولار به صورت محلول‌پاشی برگ در دو مرحله (مرحله اول در زمان شروع اعمال تیمارهای شوری و مرحله بعدی ۹ روز بعد از اعمال اولین تیمار شوری) صورت گرفت. برای گیاهان شاهد فقط محلول‌پاشی با آب مقطر انجام شد. پس از اتمام تیمارهای شوری (از روز چهاردهم به بعد) ویژگی‌های مورفولوژیک،

میانگین ها با استفاده از آزمون چند دامنه ای دانکن در سطح احتمال ۱ درصد انجام گرفت.

### نتایج و بحث:

نتایج مربوط به تعداد برگ نشان داد که بین غلظت‌های متفاوت شوری و بر همکنش شوری و سدیم نیتروپرووسید اختلاف معنی داری در سطح احتمال ۱ درصد وجود داشت. در مورد سطح برگ، سطوح مختلف شوری در سطح احتمال ۱ درصد و اثر متقابل این دو فاکتور در سطح احتمال ۵ درصد معنی دار بود. در این پژوهش کلیه گیاهان تحت تاثیر تیمارهای شوری ۷۵ و ۱۰۰ میلی مولار از بین رفتند. با افزایش شوری از صفر تا ۵۰ میلی مولار، تعداد و سطح برگ کاهش یافت. بیشترین کاهش تعداد و سطح برگ در شوری ۵۰ میلی مولار در مقایسه با شاهد مشاهده شد اما با کاربرد ۰/۲۵ و ۰/۵ میلی مولار سدیم نیتروپرووسید، میزان کاهش تعداد برگ در شوری ۵۰ میلی مولار به ترتیب ۴۵/۷۸، ۵۳/۵۱ درصد در مقایسه با شاهد بود اما با کاربرد ۰/۵ میلی مولار سدیم نیتروپرووسید، میزان کاهش سطح برگ به ۳۹/۹۱ درصد رسید (جدول ۱). نتایج این پژوهش نشان داد که اثرات ساده شوری و سدیم نیتروپرووسید و اثر متقابل بین شوری و سدیم نیتروپرووسید بر روی طول ساقه و طول ریشه در سطح احتمال ۱ درصد معنی دار بود. با افزایش شوری تا غلظت ۵۰ میلی مولار، طول ساقه و ریشه کاهش یافت. در شوری ۲۵ میلی مولار بدون کاربرد سدیم نیتروپرووسید طول ساقه و ریشه به ترتیب ۲۸/۹۱ و ۱۷/۹۲ درصد در مقایسه با شاهد کاهش یافت اما با کاربرد ۰/۵ میلی مولار سدیم نیتروپرووسید در همین سطح شوری این میزان کاهش طول ساقه و ریشه به ترتیب به ۱۲/۸۳ و ۶/۸۷ درصد رسید. میزان کاهش طول ساقه و ریشه بدون کاربرد سدیم نیتروپرووسید در سطح شوری ۵۰ میلی مولار در مقایسه با شاهد به ترتیب ۴۱/۲۶ و ۲۹/۶۳ درصد بود اما اختلاف آماری معنی داری بین غلظت‌های مختلف سدیم نیتروپرووسید در شوری ۵۰ میلی مولار بر روی طول ساقه و ریشه مشاهده نشد (جدول ۱). کاهش رشد در اثر شوری ممکن است به دلیل اثرات

برای اندازه‌گیری میزان قندهای محلول، ۰/۵ گرم از بافت تازه برگ (برگ‌های توسعه یافته انتهایی) به همراه ۱۰ میلی‌لیتر اتانول ۹۶٪ در داخل هاون چینی کوبیده و له شد. برای اندازه‌گیری قندهای محلول، از روش Irigoyen و همکاران (۱۹۹۲) استفاده شد و نهایتاً میزان جذب نمونه‌ها، در طول موج ۶۲۵ نانومتر، با دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت گردید.

برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌ها ابتدا استخراج عصاره گیاهی با روش Kang و Saltiveit (۲۰۰۲) با اندکی تغییرات صورت گرفت، ۰/۵ گرم بافت تر برگ توزین و به داخل هاون سرد منتقل شد، سپس توسط ۳ میلی لیتر بافر استخراج (شامل بافر تریس-اسید کلریدریک ۵۰ میلی مولار با pH=۷/۵، ۳ میلی مولار MgCl<sub>2</sub>، ۱ میلی مولار EDTA) به خوبی ساییده شد. بافر استخراجی جهت اندازه‌گیری فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز شامل ۰/۲ میلی مولار آسکوربات نیز بود. سپس هموژنات به مدت ۲۰ دقیقه در ۵۰۰۰ ×g سانتیفریوژ قرار داده شد. محلول رویی به عنوان عصاره خام برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های کاتالاز (CAT)، گایاکول پراکسیداز (GPX) و آسکوربات پراکسیداز (APX) استفاده شد. سنجش فعالیت فعالیت آنزیم CAT با استفاده از روش Aebi (۱۹۸۴) و فعالیت آنزیم GPX با استفاده از روش Updhyaya و همکاران (۱۹۸۵) و فعالیت آنزیم APX با استفاده از روش Nakano و Asada (۱۹۸۱) انجام شد.

برای اندازه‌گیری ظرفیت آنتی اکسیدانی بافت تر برگ با اتانول ۹۶٪ همگن و سپس سانتیفریوژ گردید. مایع رویی حاصل با رادیکال آزاد ۱،۱ دی فنیل ۲- پیکریل هیدرازیل (DPPH) مخلوط و بعد از ۵۰ دقیقه قرارگیری در تاریکی، میزان جذب در ۵۱۷ نانومتر اندازه‌گیری شد. برای محاسبه ظرفیت آنتی اکسیدانی از رابطه زیر استفاده و نتیجه بر حسب درصد گزارش گردید (Celep et al., 2013).

جذب نمونه شاهد) = % ظرفیت آنتی اکسیدانی

×۱۰۰ [جذب نمونه شاهد/ (جذب نمونه مورد ارزیابی) -

برای انجام تجزیه واریانس و مقایسه میانگین صفات مورد بررسی، از نرم افزار SAS سری 9.1 استفاده شد. مقایسه

جدول ۱- نتایج مقایسه میانگین اثرات متقابل شوری و سدیم نیتروپرووسید بر برخی صفات مورفولوژیک و فیزیولوژیک مورد ارزیابی در آهار

کلرید سدیم (mM)	سدیم نیتروپرووسید (mM)	تعداد برگ	سطح برگ (cm <sup>2</sup> )	طول ریشه (cm)	طول ساقه (cm)	نشت یونی (%)	محتوای نسبی آب برگ (%)
۰	۰	۴۷/۳۳ <sup>a</sup>	۱۶/۶۶ <sup>a</sup>	۲۴/۱۶ <sup>b</sup>	۲۶/۷۳ <sup>a</sup>	۱۷/۷۳ <sup>fg</sup>	۹۲/۳۹ <sup>a</sup>
۰/۲۵	۰/۲۵	۴۴ <sup>ab</sup>	۱۷/۶۵ <sup>a</sup>	۲۱/۶۶ <sup>c-e</sup>	۲۵/۵ <sup>ab</sup>	۱۹/۸۷ <sup>f</sup>	۹۴/۳۸ <sup>a</sup>
۰/۵	۰/۵	۳۹/۳۳ <sup>b-d</sup>	۱۵/۸۳ <sup>ab</sup>	۲۶/۳۳ <sup>a</sup>	۲۴/۲۳ <sup>a-c</sup>	۱۶/۴۵ <sup>g</sup>	۹۵/۴۳ <sup>a</sup>
۰/۷۵	۰/۷۵	۴۱/۳۳ <sup>bc</sup>	۱۶/۶۴ <sup>a</sup>	۲۳ <sup>bc</sup>	۲۲/۱۳ <sup>cd</sup>	۲۰/۲۰ <sup>f</sup>	۹۳/۷۳ <sup>a</sup>
۲۵	۲۵	۳۳ <sup>e</sup>	۱۱/۸۱ <sup>c-e</sup>	۱۹/۸۳ <sup>ef</sup>	۱۹ <sup>ef</sup>	۲۸/۴۸ <sup>d</sup>	۷۹/۰۱ <sup>b</sup>
۰/۲۵	۰/۲۵	۳۵ <sup>de</sup>	۱۰/۸۴ <sup>d-f</sup>	۲۱/۳۳ <sup>c-e</sup>	۲۱/۳۶ <sup>c-e</sup>	۳۱/۲۱ <sup>cd</sup>	۸۱/۱۶ <sup>b</sup>
۰/۵	۰/۵	۳۸ <sup>cd</sup>	۱۳/۷۲ <sup>bc</sup>	۲۲/۵ <sup>b-d</sup>	۲۳/۱ <sup>b-d</sup>	۱۹/۹۱ <sup>f</sup>	۹۲/۲۸ <sup>a</sup>
۰/۷۵	۰/۷۵	۳۶ <sup>de</sup>	۱۲/۱۶ <sup>cd</sup>	۲۱ <sup>de</sup>	۲۰/۶ <sup>de</sup>	۲۳/۸۵ <sup>e</sup>	۹۰/۴۹ <sup>a</sup>
۵۰	۵۰	۲۰/۶۶ <sup>h</sup>	۷/۶۸ <sup>g</sup>	۱۷ <sup>gh</sup>	۱۵/۷ <sup>g</sup>	۴۲/۸۳ <sup>a</sup>	۵۹/۳۶ <sup>c</sup>
۰/۲۵	۰/۲۵	۲۸ <sup>f</sup>	۸/۶۱ <sup>fg</sup>	۱۷/۳۳ <sup>gh</sup>	۱۶/۳ <sup>fg</sup>	۴۴/۱۴ <sup>a</sup>	۵۷/۰۸ <sup>c</sup>
۰/۵	۰/۵	۲۵/۶۶ <sup>fg</sup>	۱۰/۵۱ <sup>d-f</sup>	۱۸/۶۶ <sup>fg</sup>	۱۷ <sup>fg</sup>	۳۳/۲۷ <sup>c</sup>	۶۲/۸۵ <sup>c</sup>
۰/۷۵	۰/۷۵	۲۲ <sup>gh</sup>	۹/۷۶ <sup>e-g</sup>	۱۶/۳۳ <sup>h</sup>	۱۵/۱۶ <sup>g</sup>	۳۶/۴۶ <sup>b</sup>	۶۰/۰۵ <sup>c</sup>

میانگین‌هایی که در هر ستون دارای حروف مشترک می باشند، از نظر آماری در سطح احتمال ۱ درصد طبق آزمون دانکن اختلاف معنی داری ندارند. ( در این پژوهش کلیه گیاهان تحت تاثیر تیمارهای شوری ۷۵ و ۱۰۰ میلی مولار از بین رفتند).

همکاران (۲۰۱۳) در آهار، Carter و همکاران (۲۰۰۵) در تاج خروس گزارش شده است. افزایش سطح برگ توسط سدیم نیتروپرووسید از طریق نقش آن در تنظیم آنزیم‌های  $D-\beta$ -گلوکوناز درونی و بیرونی در دیواره سلولی است (An et al., 2005; Song et al., 2006). آنزیم‌های  $D-\beta$ -گلوکوناز در هیدرولیز پیوندهای گلیکوزیدی بین واحدهای گلوکز داخل دیواره سلول نقش دارند که این باعث شل شدن و افزایش توسعه پذیری سلول می شود (Zhang et al., 2003). در مطالعات قبلی نشان داده شده که کاربرد سدیم نیتروپرووسید باعث بهبود شاخص‌های رشدی در خیار (Fan et al., 2007) و در گوجه فرنگی (Hayat et al., 2011) می‌شود.

نتایج مربوط به نشت یونی نشان داد که بین غلظت‌های مختلف شوری و سدیم نیتروپرووسید و برهمکنش شوری و سدیم نیتروپرووسید اختلاف معنی‌داری در سطح ۱ درصد وجود داشت. با افزایش شوری، نشت یونی در آهار افزایش یافت. کاربرد ۰/۵ و ۰/۷۵ میلی مولار سدیم نیتروپرووسید تا حدودی توانست از اثرات منفی شوری بر روی نشت یونی

منفی پتانسیل اسمزی شدید محلول خاک باشد که جذب آب و عناصر غذایی را کاهش داده و در نهایت باعث کاهش رشد ریشه و بخش‌های هوایی می شود (Mohammad et al., 2003). براساس گزارش Bohnert و همکاران (۱۹۹۵) پتانسیل شیمیایی در محیط‌های شور در ابتدا باعث عدم تعادل پتانسیل آب میان آپوپلاست و سیم پلاست شده و در نهایت باعث کاهش در فشار سلولی و کاهش رشد رویشی می گردد. تنش اسمزی ناشی از شوری باعث کاهش پتانسیل تورژسانس شده در نتیجه از رشد سلولی جلوگیری کرده و منجر به کاهش توسعه برگ می شود (جلیلی مرندی، ۱۳۸۹).

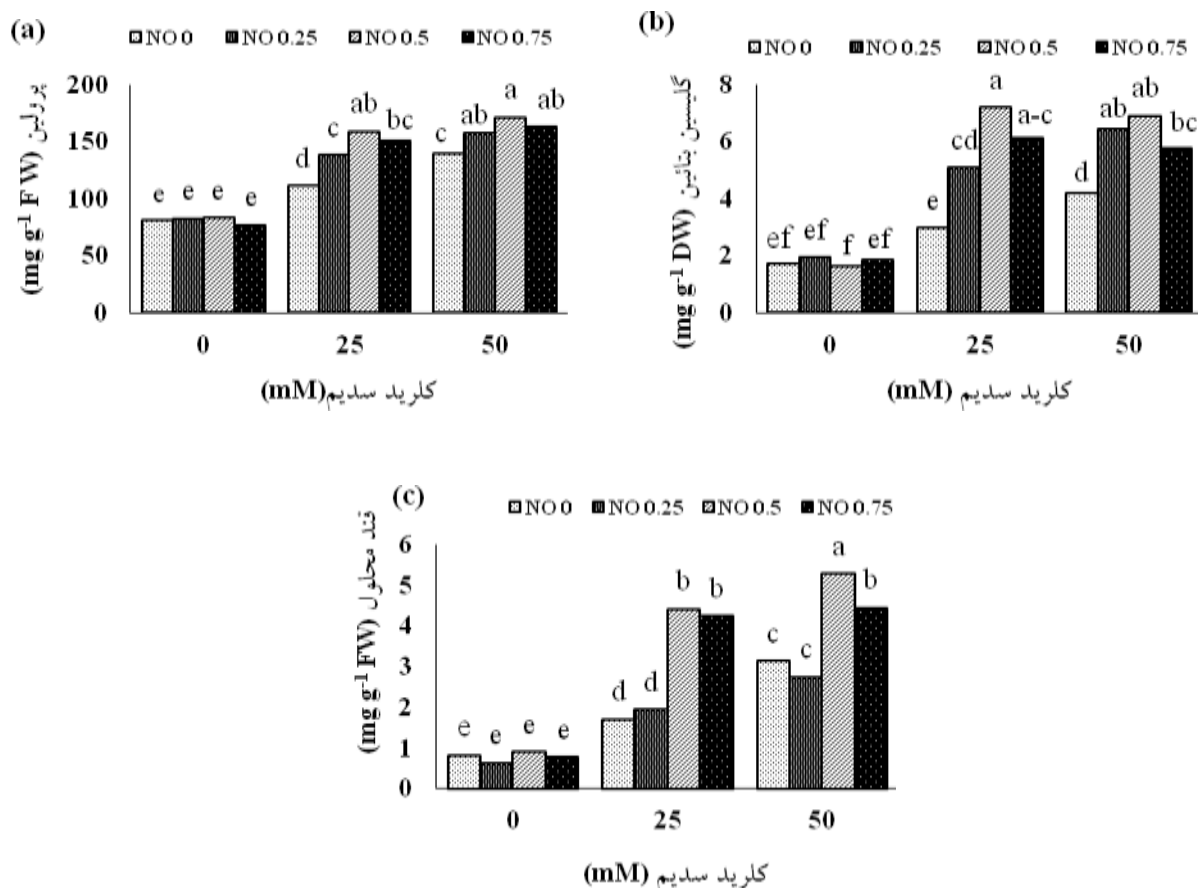
با افزایش شوری خاک، سلول‌های برگ به طور موقت آب خود را از دست می‌دهند. در نتیجه با گذشت زمان سرعت تقسیم و طویل شدن سلول‌ها کاهش یافته و منجر به کوچک شدن اندازه نهایی برگ‌ها خواهد شد (Munns, 2002). کاهش تعداد و سطح برگ در شرایط شوری توسط Ibrahim و همکاران (۱۹۹۱) در حسن یوسف و مریم گلی، Chparzadeh و همکاران (۲۰۰۴) در همیشه بهار، Bizhani و

سلول های برگ بکاهد، به طوری که کمترین درصد نشت یونی در تیمار ۲۵ میلی مولار کلرید سدیم با کاربرد ۰/۵ میلی مولار سدیم نیتروپرووسید با ۷۶/۰۲ درصد کاهش نسبت به شاهد بود (جدول ۱). در غلظت های بالای شوری، نفوذپذیری غشا یاخته ای افزایش یافته و در نتیجه پایداری غشاء کاهش می یابد و در نهایت منجر به نشت یونی می گردد (Kaya et al., 2007). افزایش نشت یونی با افزایش شوری، با پژوهش های Chaparzadeh و همکاران (۲۰۰۴) در همیشه بهار، Carter و همکاران (۲۰۰۵) در تاج خروس، Bizhani و همکاران (۲۰۱۳) در آهار مطابقت داشت. کاربرد سدیم نیتروپرووسید ۵ / ۰ میلی مولار در آهار، در کاهش میزان نشت یونی غشاء یاخته ای، تا حدودی موثر بود، اما در بالاترین سطح شوری، کاربرد این ترکیب تاثیر معنی داری بر کاهش نشت یونی غشاء نداشت. نیتریک اکسید به عنوان یک مولکول سیگنال دهنده باعث افزایش فعالیت سیستم های آنتی اکسیدانی گیاه می شود (Shi et al., 2007). در این پژوهش احتمال دارد که کاربرد سدیم نیترو پرووسید با افزایش فعالیت آنتی اکسیدانی، باعث حذف رادیکال های آزاد مخرب غشا یاخته ای گردیده و در نتیجه از نشت یونی غشا یاخته ای برگ کاسته است. همچنین نیتریک اکسید می تواند باعث بهبود کشش دیواره سلولی، لایه فسفولیپیدی و فلاونوئیدهای غشایی شود که این باعث بهتر شدن فرایندهای غشایی و رشد بهتر گیاه می شود (Leshem and Hamaraty, 1996). در مطالعات قبلی نیز اثرات مفید سدیم نیتروپرووسید در کاهش نشت یونی گیاهان تحت تنش شوری نشان داده شده است. بطوریکه پیش تیمار ذرت با ۱۰۰ میکرومول سدیم نیتروپرووسید در شرایط تنش شوری باعث کاهش نشت یونی شد (Zhang et al., 2006). همچنین براساس مشاهدات Yun Li و همکاران (۲۰۰۸) کاربرد سدیم نیتروپرووسید با غلظت ۵۰ میکرومول صدمات ناشی از شوری را در جو کاهش داد به طوری که توانست میزان نشت یونی را کاهش دهد.

نتایج مربوط به محتوای نسبی آب برگ نشان داد که بین غلظت های مختلف شوری و سدیم نیتروپرووسید در سطح

احتمال ۱ درصد و برهمکنش بین دو فاکتور در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف آماری معنی داری وجود داشت. محتوای نسبی آب برگ، بدون کاربرد سدیم نیتروپرووسید در شوری ۵۰ میلی مولار، ۳۵/۷۵ درصد در مقایسه با شاهد کاهش یافت. تیمارهای ۰/۵ و ۰/۷۵ میلی مولار سدیم نیتروپرووسید در شوری ۲۵ میلی مولار تا حدودی باعث افزایش محتوای نسبی آب برگ در مقایسه با شاهد شدند (جدول ۱). در شرایط تنش شوری مقدار آب مصرفی گیاه کاهش می یابد که ناشی از کاهش پتانسیل آب در محیط ریشه و کاهش توان گیاه در جذب آب می باشد. گیاهانی که پتانسیل اسمزی خود را سریع تر کاهش می دهند قادرند سریعاً خود را به شوری وفق دهند و با جذب آب، محتوای نسبی آب برگ های خود را حفظ کنند ( جلیلی مرندی، ۱۳۸۹). براساس گزارش Duan و همکاران (۲۰۰۷) کاربرد نیتریک اکسید، باعث بسته شدن روزنه های برگ می شود. به این ترتیب کاربرد سدیم نیتروپرووسید نیز تاثیر مثبتی بر حفظ محتوای نسبی آب برگ داشت؛ همچنین Mata و Lamattina (۲۰۰۱) گزارش کردند که کاربرد بیرونی سدیم نیتروپرووسید در باقلا، باعث بسته شدن روزنه ها و کاهش تعرق و از این طریق باعث حفظ محتوای نسبی آب برگ می شود.

در این پژوهش، اثرات ساده شوری و سدیم نیتروپرووسید بر همکنش دو تیمار مورد بررسی بر روی میزان پرولین و گلیسین بتائین در سطح احتمال ۱ درصد معنی دار بود. با افزایش شوری، میزان پرولین و گلیسین بتائین افزایش یافت. کاربرد سدیم نیتروپرووسید در غلظت های ۰/۲۵، ۰/۵ و ۰/۷۵ میلی مولار در شوری ۲۵ میلی مولار به ترتیب ۱/۷۱، ۱/۹۷ و ۱/۸۶ برابر و در شوری ۵۰ میلی مولار نیز به ترتیب ۱/۹۴، ۲/۱۲ و ۲/۰۱ برابر میزان پرولین برگ را در مقایسه با شاهد افزایش داد (شکل A-۱). کاربرد سدیم نیتروپرووسید با غلظت های ۰/۵ و ۰/۷۵ میلی مولار در شوری ۲۵ میلی مولار به ترتیب ۴/۱۵، ۳/۵۳، برابر و همچنین کاربرد غلظت های ۰/۵ و ۰/۷۵ میلی مولار سدیم نیتروپرووسید در شوری ۵۰ میلی مولار به ترتیب ۳/۹۸ و ۳/۳۲ برابر میزان گلیسین بتائین را در مقایسه



شکل ۱- مقایسه میانگین اثر متقابل کلرید سدیم و سدیم نیتروپرووسید بر میزان پرولین (a) و گلیسین بتائین (b) و میزان قند های محلول (c) در آهار. حروف مشابه بیانگر عدم اختلاف معنی داری در سطح احتمال ۵ درصد است.

پیرولین-۵-کربوکسیلات سنتتاز (P5Cs) می باشد که در نهایت باعث افزایش پرولین می شود (Misra and Saxena, 2009). در پژوهشی بر روی خیار مشاهده شد که کاربرد سدیم نیتروپرووسید به میزان ۱۰۰ میکرومول باعث افزایش میزان پرولین شد (Fan *et al.*, 2007). براساس گزارش Wu و همکاران (۲۰۱۱) کاربرد نیتریک اکسید در شرایط تنش شوری در دو رقم گوجه فرنگی باعث افزایش میزان پرولین گردید. با توجه به نتایج بدست آمده در این پژوهش با افزایش میزان شوری، میزان گلیسین بتائین نیز مانند پرولین افزایش یافت. اسمولیت‌ها می توانند اثر سمی ناشی از گونه‌های اکسیژن فعال بر ناقل های پتاسیم و در نتیجه آسیب های ناشی از تنش شوری را بکاهند (Cuin and Shabala, 2008). گیاه از این طریق می تواند نسبت بالای  $K^+/Na^+$  را در سیتوپلاسم حفظ کرده و در

با شاهد افزایش داد (شکل B-۱). پرولین در مقایسه با سایر اسمولیت‌های سازگار به ویژه قندها و قندهای الکلی از کارایی بالاتری برای حفاظت در برابر تنش برخوردار است. پرولین علاوه بر اثر مستقیم در ثبات بخشیدن به ماکرومولکول‌ها و لایه‌های هیدراسیون آنها، به علت خواص آنتی اکسیدانی خود یک عمل حفاظتی غیر مستقیم نیز بروز می دهد (Bohnert and Jensen, 1996).

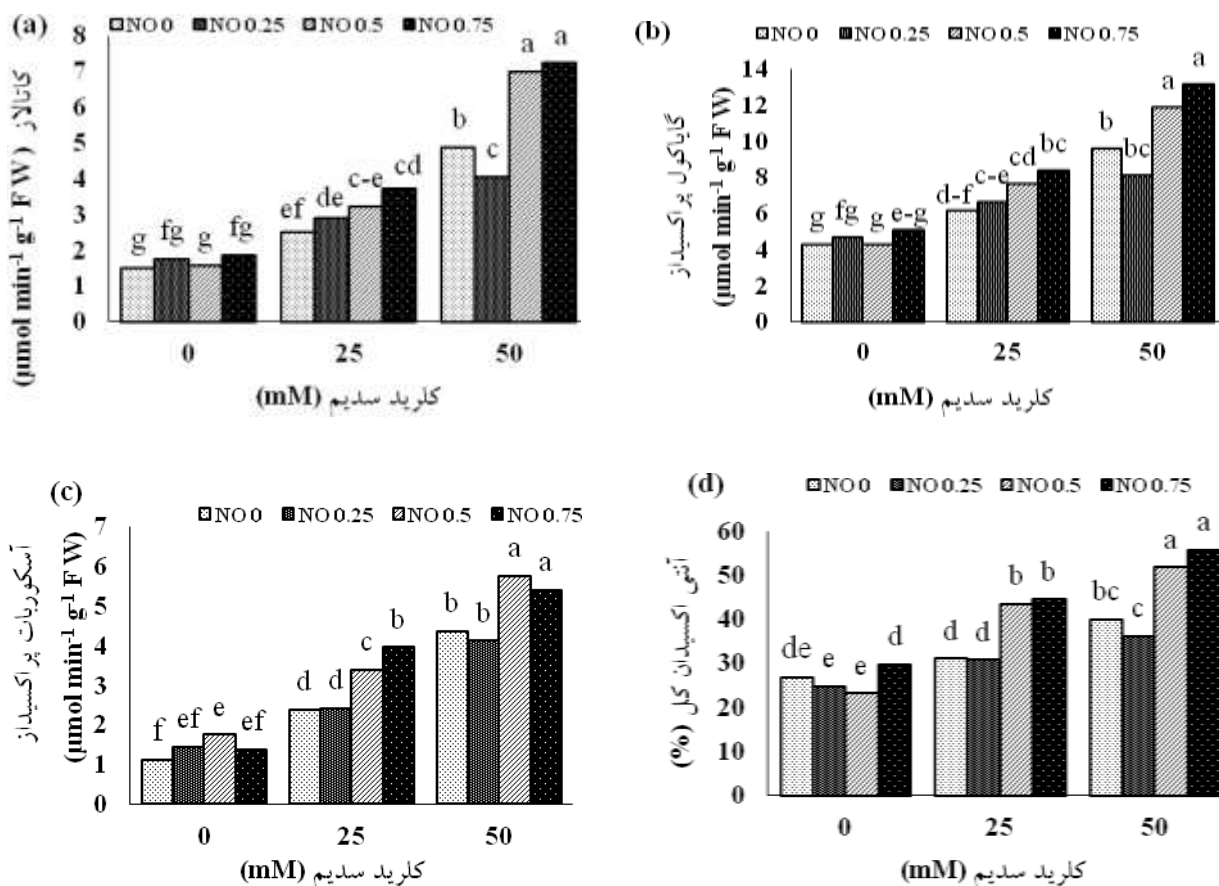
به نظر می رسد افزایش تجمع پرولین در شرایط تنش شوری، باعث افزایش فعالیت آنتی اکسیدانی گیاه و از این طریق باعث حفظ سلامتی غشاء سلولی می شود. افزایش تجمع پرولین در شرایط شوری را می توان به کاهش میزان پرولین اکسیداز نسبت داد که باعث تجزیه پرولین می گردد و از دلایل دیگر افزایش پرولین، افزایش در میزان فعالیت آنزیم

برابر شوری مقاومت کند (Shabala and Cuin, 2007). همچنین با کاربرد سدیم نیتروپرووسید میزان گلکسین بتائین افزایش یافت، به نظر می‌رسد که این به دلیل افزایش فعالیت سیستم آنتی اکسیدانی از طریق حذف رادیکال‌های آزاد اکسیژن باشد.

نتایج نشان می‌دهد که سطوح مختلف شوری و سدیم نیتروپرووسید و اثر متقابل این دو فاکتور بر میزان قندهای محلول، تاثیر معنی‌داری در سطح احتمال ۱ درصد دارد. با افزایش شوری از صفر به ۵۰ میلی مولار، میزان قندهای محلول افزایش یافت. در سطوح شوری ۲۵ میلی مولار، کاربرد سدیم نیتروپرووسید در غلظت‌های ۰/۵ و ۰/۷۵ میلی مولار باعث شد که میزان قندهای محلول به ترتیب ۵/۴۳، ۵/۲۳ برابر و در شوری ۵۰ میلی مولار ۶/۵۱، ۵/۴۴ برابر در مقایسه با شاهد باشد (شکل C-۱). گیاهان به منظور حفظ وضعیت آبی خود با انباشتن متابولیت‌هایی نظیر پرولین و قندهای محلول و برخی یونها از طریق مکانیسم تنظیم اسمزی با شوری مقابله می‌کنند (Morgan, 2003). افزایش قندهای محلول در پاسخ به تنش شوری می‌تواند به جابجایی کمتر آن‌ها از برگ، مصرف کمتر آن‌ها در برگ و ریشه در اثر کاهش رشد و تغییرات دیگری چون هیدرولیز نشاسته نسبت داده شود (Sanchez et al., 2005). Munns و همکاران (۲۰۰۳) معتقدند که افزایش کربوهیدرات‌ها در پاسخ به تنش شوری احتمالاً ناشی از کاهش رشد است. یافته‌های ما نیز با چنین تفسیری هماهنگی دارد. کاربرد سدیم نیتروپرووسید در دو رقم گوجه فرنگی (Wu و همکاران (۲۰۱۱) و گندم Zheng و همکاران (۲۰۰۹) تحت تنش شوری نیز باعث افزایش قندهای محلول شد. اما در حال حاضر مکانیسم تاثیر سدیم نیتروپرووسید در تغییرات میزان قندهای محلول در سلول‌های گیاهی به طور دقیق مشخص نیست.

با توجه به نتایج این پژوهش، اثرات ساده شوری و سدیم نیتروپرووسید و اثرات متقابل این دو فاکتور در رابطه با آنزیم‌های کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز و ظرفیت آنتی اکسیدانی کل در سطح احتمال ۱ درصد و در رابطه با آنزیم گایاکول پراکسیداز به ترتیب در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد معنی دار

بود. با افزایش غلظت شوری تا ۵۰ میلی مولار، فعالیت همه آنزیم‌ها و ظرفیت آنتی اکسیدانی کل افزایش یافت. در شوری ۲۵ میلی مولار، کاربرد سدیم نیتروپرووسید در غلظت‌های ۰/۵ و ۰/۷۵ میلی مولار به ترتیب باعث افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز به میزان ۲/۱۶، ۲/۵ برابر، فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز در این غلظت‌های سدیم نیتروپرووسید به ترتیب ۱/۷۸، ۱/۹۶ برابر و همچنین فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز به ترتیب به میزان ۳/۰۴، ۳/۵۴ برابر افزایش یافت، اما در سطوح شوری ۵۰ میلی مولار، کاربرد سدیم نیتروپرووسید با غلظت‌های ۰/۵ و ۰/۷۵ میلی مولار به ترتیب باعث افزایش آنزیم کاتالاز به میزان ۴/۶۹، ۴/۸۵ برابر، آنزیم گایاکول پراکسیداز به میزان ۲/۷۸، ۳/۰۸ برابر و آنزیم آسکوربات پراکسیداز به میزان ۵/۱۵، ۳/۸۳ برابر در مقایسه با شاهد شد. کاربرد سدیم نیتروپرووسید همچنین باعث افزایش ظرفیت آنتی اکسیدانی شد، به طوری که در شوری ۵۰ میلی مولار، کاربرد سدیم نیتروپرووسید در غلظت‌های ۰/۵ و ۰/۷۵ میلی مولار به ترتیب ۱/۹۳، ۲/۰۸ برابر ظرفیت آنتی اکسیدانی را در مقایسه با شاهد افزایش داد (شکل A, B, C, D۲). تنش‌هایی مثل شوری باعث تنش اسمزی و عدم تعادل یونی و تنش اکسیداتیو می‌شوند که در نتیجه آن اکسیژن فعال (ROS) در گیاهان تحت تنش تجمع می‌یابد (Rubio et al., 2002). ROS باعث پراکسیداسیون لیپیدها می‌شود که منجر به آسیب غشاء سلولی، تخریب پروتئین‌ها، غیر فعال شدن آنزیم‌ها و تخریب DNA خواهد شد (Alscher et al., 2002). گیاهان از طریق دو سیستم آنتی‌اکسیدانی آنزیمی (پراکسیدازها، کاتالاز و غیره) و غیر آنزیمی (کارتنوئیدها،  $\alpha$ -توکوفرول، اسید آسکوربیک و غیره) سلول‌ها و سیستم‌های زیرسلولی را در برابر اثرات سمی رادیکال‌های آزاد محافظت می‌کنند که مجموع این دو سیستم فعالیت آنتی‌اکسیدانی کل را در بر می‌گیرد (El\_Tayeb, 2006). میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی، تحت تنش شوری افزایش می‌یابد، اما میزان افزایش آنها، بین گونه‌های گیاهی و حتی درون گونه‌های مشابه به میزان زیادی متفاوت است (Molassiotis et al., 2006). تاثیر نیتریک اکسید بر فعالیت



شکل ۲- مقایسه میانگین اثر متقابل کلرید سدیم و سدیم نیتروپروسید بر روی فعالیت آنزیم‌های کاتالاز (A)، گایاکول پراکسیداز (B)، آسکوربات پراکسیداز (C) و آنتی اکسیدان کل (D) در آهار. حروف مشابه بیانگر عدم اختلاف معنی داری در سطح احتمال ۱ درصد است.

در گیاهان نسبت به تنش‌های محیطی مانند شوری، گرما، سرما و خشکی می‌شود. سدیم نیتروپروسید به‌عنوان یک ترکیب رها کننده نیتریک اکسید در گیاهان محسوب می‌شود. نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که شوری باعث کاهش شاخص‌های رشدی و محتوای نسبی آب برگ شده و میزان نشت یونی غشاء را افزایش داد. کاربرد تیمارهای مختلف سدیم نیتروپروسید توانست تا حدودی اثرات منفی شوری (به‌ویژه در سطوح شوری کمتر از ۵۰ میلی مولار) را بر شاخص‌های رشدی کاهش دهد و میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز، گایاکول پراکسیداز و نیز ظرفیت آنتی اکسیدانی کل را افزایش دهد. ولی تیمارهای استفاده شده تأثیر چندانی بر روی گیاه در غلظت‌های بالای شوری نداشت زیرا کلیه گیاهان مورد تیمار در غلظت‌های ۷۵ و ۱۰۰ میلی مولار کلرید سدیم در اثر شوری بالا از بین رفتند.

سیستم آنتی اکسیدانی گیاهان، بستگی به زمان تیمار، ژنوتیپ و نوع اندام بکار رفته دارد (Wu *et al.*, 2011). همچنین در پژوهش‌های دیگری ثابت شد که استفاده از نیتریک اکسید باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی از طریق حذف رادیکال‌های آزاد اکسیژن شده است (Kopyra and Gwozdz, 2003; Tanou *et al.*, 2009) ما با نتایج Wu و همکاران (۲۰۱۱) در گوجه فرنگی، Zhang و همکاران (۲۰۰۷) در ذرت، Shi و همکاران (۲۰۰۷) در خیار و Tan و همکاران (۲۰۰۸) در گندم مطابقت داشت.

### نتیجه‌گیری:

تنش شوری از جمله عوامل مهم محیطی است که موجب کاهش رشد و عملکرد گیاهان بویژه در مناطق خشک و نیمه خشک جهان گردیده است. نیتریک اکسید، باعث ایجاد مقاومت

جلیلی مرندی، ر. ۱۳۸۹. فیزیولوژی تنش های محیطی و مکانیسم های مقاومت در گیاهان باغی. جلد اول. انتشارات جهاد دانشگاهی ارومیه. ۶۳۶ صفحه.

- Aebi, H. (1984) Catalase *in vitro*. Method in Enzymology 105: 121-126.
- Agarwal, S. and Pandey, V. (2004) Antioxidant enzyme responses to NaCl stress in *Cassia angustifolia*. *Biologia Plantarum* 48: 555-560.
- Alscher, R. G., Erturk, N. and Heath, L. S. (2002) Role of superoxide dismutase (SODs) in controlling oxidative stress in plants. *Journal of Experimental Botany* 53: 1331-1341.
- An, L., Liua, Y., Zhang, M., Chen, T. and Wang, X. (2005) Effects of nitric oxide on growth of maize seedling leaves in the presence or absence of ultra violet-B radiation. *Journal of Plant Physiology* 162: 317-326.
- Bates, L. S., Waldran, R. P. and Teare, I. D. (1973) Rapid determination of free proline for water stress studies. *Plant and Soil* 39: 205-207.
- Bizhani, S., Jowkar, A. and Abdolmaleki, M. (2013) Growth and antioxidant response of *Zinnia elegans* under salt stress conditions. *Technical Journal of Engineering and Applied Sciences* 3: 1285-1292.
- Bohnert, H. and Jensen, R. (1996) Strategies for engineering water stress tolerance in plants. *Trends in Biotechnology* 14: 89-97.
- Carter, C. T., Grieve, C. M., Poss, J. A. and Suarez, D. L. (2005) Production and ion uptake of *Celosia argentea* irrigated with saline waste waters. *Scientia Horticulturae* 106: 381-394.
- Celep, E., Aydin, A., Kirmizibekmez, H. and Yesilada, E. (2013) Appraisal of *in vitro* and *in vivo* antioxidant activity potential of cornelian cherry leaves. *Food and Chemical Toxicology* 62: 448-455.
- Chaparzadeh, N., D'Amico, M., Khavari-Nejad, R., Izzo, R. and Navari-Izzo, F. (2004) Antioxidative responses of *Calendula officinalis* under salinity conditions. *Plant Physiology and Biochemistry* 42: 695-701.
- Chinnusamy, V., Jagendorf, A. and Zhu, J. K. (2005) Understanding and improving salt tolerance in plants. *Crop Science* 45: 437-448.
- Cuin, T.A. and Shabala, S. (2008) Compatible solutes mitigate damaging effects of salt stress by reducing the impact of stress-induced reactive oxygen species. *Plant Signaling Behavior* 3: 207-208.
- Duan, X., Su, X., You, Y., Qu, H., Li, Y. and Jiang, Y. (2007) Effects of nitric oxide on pericarp browning of harvested longan fruit in relation to phenolic metabolism. *Food Chemistry* 104: 571-576.
- El-Tayeb, M. A. (2005) Response of barley grains to the interactive effect of salinity and salicylic acid. *Plant Growth Regulation* 45: 215-224.
- Fan, H., Guo, S., Jiao, Y. and Zhang, R., L. (2007) Effects of exogenous nitric oxide on growth, active oxygen species metabolism and photosynthetic characteristics in cucumber seedlings under NaCl stress. *Frontiers of Agriculture in China* 1: 308-314.
- FAO. (2009) FAO STAT Agricultural Statistic. Available online at: <http://www.Fao.Org>.
- Greenway, H. and Munns, R. (1980) Mechanisms of salt tolerance in non halophytes. *Annual Review of Plant Physiology* 31: 149-190.
- Grieve, C. M. and Grattan. S. R. (1983) Rapid assay for determination of water soluble quaternary ammonium compounds. *Plant and Soil* 70: 303-307.
- Hayat, S., Mori, M., Pichtel, J. and Ahmad, A. (2010) Nitric Oxide in Plant Physiology. Wiley Black Well 210p.
- Hayat, S., Yadav, S., Wani, A., Irfan, M., and Ahmad, A. (2011) Nitric oxide effects on photosynthetic rate, growth, and antioxidant activity in tomato. *International Journal of Vegetable Science* 17: 333-348.
- Ibrahim, K. M., Collins, J. C. and Collin, H. A. (1991) Effects of salinity on growth and ionic composition of *Coleus blumei* and *Salvia splendens*. *Journal of Horticultural Science* 66: 215-222.
- Irigoyen, J. J., Emerich, D. W. and Sánchez-Díaz, M. (1992) Water stress induced changes in concentrations of proline and total soluble sugars in nodulated alfalfa (*Medicago sativa*) plants. *Physiologia Plantarum* 84: 55-60.
- Kang, H. M. and Saltveit, M. E. (2002) Chilling tolerance of maize, cucumber and rice seedling (leaves and roots) and differentially affected by salicylic acid. *Physiologia Plantarum* 115: 577-576.
- Kaya, C., Tuna, A. L., Ashraf, M. and Altunlu, H. (2007) Improved salt tolerance of melon (*Cucumis melo* L.) by the addition of proline and potassium nitrate. *Environmental and Experimental Botany* 60: 397-403.
- Kopyra, M. and Gwozdz, E. (2003) Nitric oxide stimulates seed germination and counteracts the inhibitory of heavy metals and salinity on root growth of *Lupinus luteus*. *Plant Physiology and Biochemistry* 41: 1011-1017.
- Leshem, Y.Y., and Hamaraty, E. (1996) Plant aging: the emission of NO and ethylene and effect of NO-releasing compounds on growth of pea (*Pisum sativum* L.) foliage. *Journal of Plant Physiology* 148: 258-263.
- Luttes, S., Kinet, J.M. and Bouharmont, J. (1995) Changes in plant response to NaCl during development of rice (*Oryza sativa* L.) varieties differing in salinity resistance. *Journal of Experimental Botany* 46: 1843-1852.
- Mata, C. and Lamattina, L. (2001) Nitric oxide induces stomatal closure and enhances the plant adaptive responses against drought stress. *Plant Physiology* 126: 1196-1204.
- Misra, N. and Saxena, P. (2009) Effect of salicylic acid on proline metabolism in lentil grown under salinity stress.

- Plant Science 177: 181-189.
- Mittler, R. (2002) Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. Trends in Plant Science 7: 405-410.
- Mohammad, M., Malkawi, H. and Shibili, R. (2003) Effects of arbuscular mycorrhizal fungi and phosphorus fertilization on growth and nutrient uptake of barley grown on soils with different levels of salts. Journal of Plant Nutrition 26(1): 125-137.
- Molassiotis, A.N., Sotiropoulos, T., Tanou, G., Kofidis, G., Diamantidis, G. and Therios, I. (2006) Antioxidant and anatomical responses in shoot culture of the apple rootstock MM106 treated with NaCl, KCl, manitol or sorbitol. Biologia Plantarum 50: 61- 68.
- Morgan, J. M. (2003) Osmoregulation and water stress in higher plants. Plant Physiology 35: 299-319.
- Munns, R. (2002) Comparative physiology of salt and water stress. Plant Cell Environment 25: 239-250.
- Munns, R., Samarakoon, A. S. and Gifford, R .M. (2003) Elevated CO<sub>2</sub> improves the growth of *Zea mays* under salinity. Journal of Plant Physiology 20: 341-360.
- Nakano, Y. and Asada, K. (1981) Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate specific peroxidase in spinach chloroplasts. Journal of Plant Cell Physiology 22: 867-880.
- Qiao, W., and Fan, L. M. (2008) Nitric oxide signaling in plant responses to abiotic stresses. Journal of Integrative Plant Biology 50: 1238-1246.
- Rubio, M. C., Minchin, F. R., Webb, K. J., Ramos, J. and Becana, M. (2002) Effects of water stress on antioxidant enzyme of leaves and nodules of transgenic alfalfa overexpressing superoxide dismutase. Plant Physiology 115: 531-540.
- Sanchez, M., Revilla, G. and Zarra, L. (2005) Changes in peroxidase activity associated with cell during pine hypocotyls growth. Annals of Botany 75: 415-419.
- Shabala, S. and Cuin, T. A. (2007) Potassium transport and plant salt tolerance. Physiologia Plantarum 133: 651-669.
- Sheokand, S., Kumari. A. and Sawhney, V. (2010) Ameliorative effect of exogenous nitric oxide on oxidative metabolism in NaCl treated chickpea plants. Brazilian Journal of Plant Physiology 22: 81-90.
- Shi, Q., Ding, F., Wang, X. and Wei, M. (2007) Exogenous nitric oxide protect cucumber roots against oxidative stress induced by salt stress. Plant Physiology and Biochemistry 45: 542-550.
- Song, L. L., Ding, W., Zhao, M. G., Sun, B. T. and Zhang, L. X. (2006) Nitric oxide protects against oxidative stress under heat stress in the calluses from two ecotypes of reed. Plant Science 171: 449-458.
- Tan, J., Zhao, H., Hang, J., Han, Y., Li, H. and Zhao, W. (2008) Effects of exogenous nitric oxide on photosynthesis, antioxidant capacity and proline accumulation in wheat seedlings subjected to osmotic stress. World Journal of Agricultural Sciences 4: 307-313.
- Tanou, G., Molassiotis, A. and Diamantidis, G. (2009) Hydrogen peroxide and nitric oxide induced systemic antioxidant prime-like activity under NaCl stress and stress free conditions in citrus plants. Journal of Plant Physiology 166: 1904-1913.
- Turner, N. C. (1981) Techniques and experimental approaches for the measurement of plant water status. Plant and Soil 58: 339-366.
- Updhaya, A., Sankhla, D., Davis, T. D. Sankhla, N. and Smidh, B. N. (1985) Effect of paclobutrazol on the activities of some enzymes of activated oxygen metabolism and lipid peroxidation in senescing soybean leaves. Journal of Plant Physiology 121: 453-461.
- Villarino, G. H. and Mattson, N. S. (2011) Assessing tolerance to sodium chloride salinity in fourteen floriculture species. HortTechnology 21: 539-545.
- Wendehenne, D., Pugin, A., Klessig, D. F. and Durner, J. (2001) Nitric oxide: Comparative synthesis and signaling in animal and plant cells. Trends in Plant Science 6: 177-183.
- Wu, X., Zhu, W., Zhang, H., Ding, H. and Zhang, H. J. (2011) Exogenous nitric oxide protects against salt-induced oxidative stress in the leaves from two genotypes of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.). Acta Physiologica Plantarum 33: 1199-1209.
- Yamasaki, H. (2000) Nitrite-dependent nitric oxide production pathway: implications for involvement of active nitrogen species in photo inhibition *in vivo*. Philosophical Transactions of the Royal Society Biological Sciences 355: 1477-1488.
- Yun, Li, Q., Niu, H. B., Yin, J., Wang, M. B., Shao, H. B., Deng, D., Chen, X. and Ren, J.p. (2008) Protective role of exogenous nitric oxide against oxidative-stress induced by salt stress in barley (*Hordeum vulgare*). Colloids and Surfaces B: Biointerfaces 220-225.
- Zhang, F., Wang, Y., Yang, Y., Wu, H., Bi, W. and Liu, J. (2007) Involvement of hydrogen peroxide and nitric oxide in salt resistance in the calluses from *Populus euphratica*. Plant Cell Environment 30: 775-785.
- Zhang, M., An, L., Feng, H., Chen, T., Chen, K., Liu, Y., Tang, H., Chang, J. and Wang, X. (2003) The cascade mechanisms of nitric oxide as a second messenger of ultraviolet-B in inhibiting mesocotyl elongations. Photochemistry and Photobiology 77: 219-225.
- Zhang, Y., Wang, L., Liu, Y., Zhang, Q., Wei, Q. and Zhang, W. (2006) Nitric oxide enhances salt tolerance in maize seedlings through increasing activities of proton-pump and Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> antiport in the tonoplast. Planta 224: 545-555.

