اثر سدیم نیتروپروساید (SNP) بر برخی ویژگی‌های بیوشیمیایی گیاه دارویی سرخارگل [*Echinaceae purpurea* (L.) Moench] تحت تنش شوری

سیده محدثه محمدی[۱]، ولی‌اله رامئه[۲]، مهیار گرامی[۱]، سمانه اسدی صنم*[۳] و مجید خوش‌روز[۱]

[۱] مؤسسه آموزش عالی غیرانتفاعی سنا، ساری، ایران، [۲] بخش تحقیقات زراعی و باغی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی مازندران، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، ساری، ایران و [۳] بخش تحقیقات گیاهان دارویی، مؤسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۰۲/۳۰، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹۵/۰۶/۰۷)

چکیده:

به منظور بررسی اثر سدیم نیتروپروساید (SNP) بر کاهش تنش اکسیداتیو گیاهچه‌های سرخارگل تحت بستر شور، آزمایشی در سال ۱۳۹٤ در گلخانه پژوهشی دانشگاه غیرانتفاعی سنا- ساری، به صورت فاکتوریل و در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار به اجرا در آمد. در این پژوهش، اثر چهار سطح SNP به عنوان منبع آزادکننده نیتریک‌اکساید (NO) (صفر، ۰/۱، ۰/۲ و ۰/٤ میلی‌مولار SNP) و سه سطح تنش شوری (صفر، ۷۵ و ۱۵۰ میلی‌مولار کلریدسدیم) مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج نشان داد که برهم‌کنش SNP و شوری بر وزن خشک و تر ریشه و برگ، محتوای کاروتنوئید، مقدار مالون‌دی‌آلدهید (MDA) و آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، پراکسیداز (POD) و آسکوربات پراکسیداز (APX) معنی‌دار بود. با افزایش شوری، مقدار وزن تر و خشک ریشه کاهش یافت، در حالی‌که تیمار ۰/۲ میلی‌مولار SNP توانست موجب افزایش مقدار این دو شاخص در شرایط شور شود. محتوای کلروفیل‌های a، b و کل با افزایش شوری کاهش نشان داد در حالی‌که، بیشترین مقدار کاروتنوئید در تیمار ۰/٤ میلی‌مولار SNP در تنش شوری به‌دست آمد. بیشترین مقدار MDA (۳۳ نانومول بر گرم بافت تازه) مربوط به سطح صفر SNP و ۱۵۰ میلی‌مولار تنش بود. بیشترین فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی SOD، POD و APX در تیمار برهم‌کنش ۷۵ میلی‌مولار کلریدسدیم و ۰/۲ میلی‌مولار SNP به‌دست آمد. بیشترین فعالیت آنزیم کاتالاز (٦/۵۰ میکرومول بر گرم بافت تازه در دقیقه) در غلظت ۰/۲ میلی‌مولار SNP با ۹۰ درصد افزایش نسبت به تیمار شاهد اندازه‌گیری شد. محتوای پروتئین کل، ۵/٤ درصد تحت تنش شوری کاهش نشان داد. بیشترین مقدار فنل کل نیز، ۸/٦۸ میلی‌گرم گالیک اسید بر گرم بافت تازه در بالاترین سطح شوری مشاهده شد. به‌طور کلی می‌توان نتیجه گرفت که NO حاصل از پیش‌تیمار SNP توانست از راه افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی موجب افزایش تحمل گیاهچه‌های سرخارگل تحت تنش شوری شود.

واژه‌های کلیدی: آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، پروتئین، فنل کل، مالون‌دی‌آلدهید، نیتریک‌اکساید

مقدمه:

با توجه به سابقه‌ی استفاده از گیاهان دارویی و نیز تغییر نگرش در خصوص استفاده از این گیاهان در درمان بیماری‌ها، ضرورت دارد تا در مورد گیاهان دارویی پژوهش‌های جامعی صورت گیرد (Hayouni *et al.*, 2008). در بخش تولیدات گیاهان دارویی، هدف بهبود رشد و نمو برای افزایش مقدار

*نویسنده مسؤل، نشانی پست الکترونیکی:asadisanam@rifr-ac.ir

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-17]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1397.7.23.6.9]

زیست‌توده و محتوای دارویی با استفاده از روش‌های به‌زراعی و به‌نژادی برای تولید حداکثر مواد مؤثره است (امیدبیگی، ۱۳۸٤). سرخارگل با نام علمی *Echinaceae purpurea* متعلق به تیره گل‌ستاره (Asteraceae) است که منشأ آن آمریکای شمالی گزارش شده است (McGrogor, 1968). این گیاه، علفی و چندساله با ریزوم‌های کوتاه، ریشه‌های مستقیم و کم و بیش منشعب می‌باشد. سرخارگل در مکان‌های مرطوب، پرنور و در خاک‌های با بافت متوسط، حاصل‌خیز و غنی از ترکیبات هوموسی و دارای مقدار مناسب نیتروژن می‌روید (دادمان و همکاران، ۱۳۸٤). این گیاه دارای ترکیبات مؤثره، آلکیل‌آمیدی، پلی‌ساکاریدی و نیز اسانس است (Bauer and Rimiger, 1989). ترکیبات ثانویه سرخارگل، خاصیت ضد میکروبی، ضد سرطان، ضد عفونت‌های معمولی داشته (Melchert and Line, 1994) و موجب تقویت سیستم ایمنی بدن از راه پیش‌گیری و درمان سرماخوردگی معمولی، درمان سرفه، برونشیت و عفونت‌های ریوی می‌شود و مقاومت بدن را در برابر بیماری‌ها افزایش می‌دهد (Bauer, 1999).

شوری یکی از مهم‌ترین تنش‌های غیرزیستی در کشاورزی است که بهره‌برداری اقتصادی از زمین‌ها را برای تولید گیاهان زراعی محدود می‌کند و موجب کاهش رشد و باروری گیاهان می‌شود. در بیشتر گونه‌های گیاهی، حساس‌ترین مرحله رشد به تنش شوری، مراحل اولیه رشد شناخته شده و بیشتر پژوهش‌ها هم، در همین مرحله از رشد انجام گرفته است. تحت شرایط شور به دلیل کاهش تعداد و اندازه برگ، سطح فتوسنتز کننده گیاه کم شده و در نهایت تولید ماده خشک اندام‌های رویشی گیاه در گیاهان کاهش می‌یابد (Zekri and Parsons, 1990).

سدیم‌نیتروپروساید (SNP) یک ترکیب رهاکننده نیتریک‌اکساید (NO) است که نقش آن در گیاهان موضوع پژوهش‌های مهم بی‌شماری است. NO یک رادیکال آزاد فعال زیستی و یک مولکول پیام‌رسان است که در بسیاری از واکنش‌های گیاهان مانند واکنش به پاتوژن‌ها (Klessig *et al.*, 2000)، جوانه‌زنی دانه، رسیدگی میوه و پیری (Beligni and Lamattina, 2000) نقش برجسته‌ای دارد. نقش مؤثر NO برون‌زاد در پاکسازی رادیکال‌های آزاد و کاهش پراکسیداسیون لیپیدها به وسیله Zhang و همکاران (۲۰۰۹)، Tian و Li (۲۰۰۷) در گندم و Li و همکاران (۲۰۰۸) در جو، گزارش شده است. پژوهش‌ها همچنین نشان داده‌اند که تیمار با دهنده NO می‌تواند طی واکنش با ROSها و افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، نقش مهمی در محافظت گیاهان از تنش‌های اکسیداتیو داشته باشد (Zhang *et al.*, 2009).

ترکیبات فنلی جزیی از مواد محلول سلولی هستند که اثر خسارت‌زای تنش را تعدیل می‌کنند. تجمع این ترکیبات در گیاهان متحمل به شوری، از راهکارهای مهار فعالیت رادیکال‌های فعال اکسیژن و محافظت غشای سلول از آسیب‌های تنش شوری محسوب می‌شود (Singh, 2004). تنش شوری تولید مالون‌دی‌آلدهید (MDA) و تخریب غشای سلولی را در گیاهان افزایش می‌دهد (Bandeoglu *et al.*, 2004). با این‌حال، NO برون‌زاد می‌تواند نفوذپذیری غشا و پراکسیداسیون لیپیدهای غشا را کاهش داده و از نشت الکترولیت‌ها جلوگیری کند که این امر حاکی از آن است که NO دارای عملکردهای بازسازی و حفاظت از غشای سلولی جهت کاهش خسارت در سیستم غشای سلولی می‌باشد (Lei et al., 2007). خسارت به پروتئین‌ها هم، شامل تغییرات اسیدهای آمینه در جایگاه‌های ویژه، قطعه قطعه شدن زنجیر پپتیدی، تغییر بارالکتریکی و در نهایت مستعد شدن پروتئین برای پروتئولیز نیز در نتیجه تنش شوری ایجاد می‌شود (Noctor and Foyer, 1998). تیمار گیاهان با SNP، نقش بسزایی در حفاظت پروتئین‌ها در شرایط تنش دارد (نصیبی، ۱۳۹۰).

در تنش شوری، مقدار گونه‌های اکسیژن واکنش‌گر (ROS) مانند رادیکال‌های سوپراکسید (O_2) و رادیکال‌های هیدروکسیل (OH) افزایش یافته که به دنبال آن آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان مانند سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، پراکسیداز (POD)، کاتالاز (CAT) و پلی‌فنول‌اکسیداز (PPO) در جهت مهار ROSها و کاهش اثرات سمی افزایش پیدا می‌کنند (Mittler, 2002). هم‌چنین بیان شده است که NO تحت تنش

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-17]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1397.7.23.6.9]

شوری سبب افزایش معنی‌دار فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی می‌شود و سطح این آنزیم‌ها به طور معنی‌داری در تیمارهای بدون SNP کمتر می‌باشد که نشان دهنده دخالت مستقیم NO به عنوان یک آنتی‌اکسیدان در کاهش سطح ROSها می‌باشد (Yoqi *et al*., 2009). در این راستا در پژوهش‌های انجام شده بر سرخارگل (*E. purpurea*)، Sabra و همکاران (۲۰۱۲) در بررسی پاسخ‌های بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی سرخارگل در شرایط شور (۰، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ میلی‌مولار)، افزایش فعالیت آنزیم‌های SOD، APX و کاهش فعالیت آنزیم CAT را در همه‌ی سطوح شوری نشان دادند. Yadolahi Zadeh و همکاران (۲۰۱۵) هم در بررسی جوانه‌زنی سرخارگل به سطوح مختلف شوری (۰، ۲۰، ٤۰، ٦۰ و ۸۰ میلی‌مولار کلریدسدیم)، حساسیت بالای گیاه به شوری در مرحله جوانه‌زنی را بیان کردند. Miri و Mirjalili (۲۰۱۳) در بررسی اثر تنش شوری بر جوانه‌زنی بذر و برخی ویژگی‌های فیزیولوژیک در مراحل اولیه رشد سرخارگل، پیش‌تیمار اولیه بذر را توصیه کردند. با این وجود، اطلاعات اندکی در زمینه بررسی اثر کاربرد تیمارهای شیمیایی به منظور کاهش اثرات نامطلوب شوری در دسترس است. بنابراین، پژوهش کنونی به منظور بررسی تأثیر NO خارجی به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدان مؤثر و تأثیر مطلوب آن در کاهش تنش اکسیداتیو و افزایش مقاومت گیاهچه‌های سرخارگل در بستر شور، اجرا شد.

مواد و روش‌ها:

این پژوهش با هدف بررسی اثر NO خارجی به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدان مؤثر و تأثیر آن بر کاهش تنش اکسیداتیو گیاهچه‌های سرخارگل در بستر شور، به صورت یک آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار در گلخانه پژوهشی دانشگاه غیرانتفاعی سنا- ساری در بهار سال ۱۳۹٤ به اجرا درآمد. تیمارهای آزمایشی شامل چهار سطح سدیم نیتروپروساید (SNP) با غلظت‌های صفر، ۰/۱، ۰/۲و ۰/٤ میلی‌مولار SNP و سه سطح شوری صفر، ۷۵ و ۱۵۰ میلی‌مولار محلول کلرید سدیم (NaCl) بود. از آب خالص استریل هم، به عنوان شاهد برای سطح صفر SNP و سطح صفر شوری (بستر غیر شور) استفاده شد. در این آزمایش، نشاهای سه ماهه گیاه سرخارگل از پژوهشکده گیاهان دارویی جهاد دانشگاهی کرج تهیه شد. شش گیاهچه سرخارگل در هر تکرار و برای هر تیمار، در گلدان‌های پلاستیکی یک لیتری حاوی پرلیت نشاکاری شدند و به گلخانه با ۱۸ ساعت روشنایی (۸۰۰۰ تا ۱۰۰۰۰ لوکس نور) و شش ساعت تاریکی، رطوبت نسبی ٦۰ درصد و میانگین دمایی ۳ ± ۲۵ درجه سلسیوس منتقل شدند. ۲۰ میلی‌لیتر محلول غذایی هوگلند نیز دوبار در هفته برای تأمین مواد غذایی به گلدان‌ها اضافه شد. پس از سازگاری گیاهچه‌ها برای سه هفته در بستر پرلیت، غلظت صفر، ۷۵ و ۱۵۰ میلی‌مولار نمک کلریدسدیم برای ایجاد بستر غیرشور و شور به همراه سطوح مختلف SNP به گیاهان اضافه شد. اعمال تیمارها این‌گونه بود که پس از آماده‌سازی محلول‌ها برای هر تیمار، ۱۰ میلی‌لیتر از محلول هوگلند را با ۱۰ میلی‌لیتر از تیمار مورد نظر ترکیب و به حجم ۲۰ میلی‌لیتر رسانده و سپس یک روز در میان به گیاهان اضافه شدند. پس از دو هفته از اعمال تیمارها، برگ و ریشه گیاهچه‌ها برای اندازه‌گیری ماده خشک در آون تهویه‌دار در دمای ۱۰۵ درجه سلسیوس خشک شده و سپس با ترازوی دقیق توزین شدند. برگ‌های یکنواخت گیاهچه‌ها در هر تکرار نیز، برای ارزیابی ویژگی‌های بیوشیمیایی جمع‌آوری و پس از شستشو به سرعت در نیتروژن مایع قرار گرفتند. برگ‌های جمع‌آوری شده پس از خروج از نیتروژن مایع در فریزر ۸۰- درجه سلسیوس نگهداری شدند تا مقدار کلروفیل و کاروتنوئید برگ، پراکسیده شدن لیپیدها (MDA)، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی سوپراکسیددیسموتاز (SOD)، پراکسیداز (POD)، آسکوربات‌پراکسیداز (APX) و کاتالاز (CAT) موجود در آن‌ها، محتوای پروتئین کل و فنل کل اندازه‌گیری شد.

تعیین کلروفیل و کاروتنوئید برگ: برای تعیین مقدار کلروفیل و کاروتنوئید برگ از روش Arnon (۱۹٦۷) استفاده گردید. ابتدا مقدار ۰/۰۵ گرم از بافت تازه برگ گیاه با کمک نیتروژن مایع در هاون چینی آسیاب شده و با یک میلی‌لیتر

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-17]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1397.7.23.6.9]

استون ۸۰ درصد مخلوط شد. سپس، مخلوط به‌دست آمده به مدت ۱۰ دقیقه با دستگاه سانتریفیوژ مدل (Ependorf 5417 R) در ۶۰۰۰ rpm سانتریفیوژ شد و در نهایت عصاره استونی شفاف را جدا کرده و پس از نیم ساعت تاریکی، اندازه‌گیری کلروفیل در دو طول موج ۶۶۳ و ۶۴۵ نانومتر و اندازه‌گیری کاروتنوئید در طول موج ۴۷۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر مدل (PG Instrument+T80) انجام گرفت. برای تعیین مقدار کلروفیل‌های a، b و کاروتنوئید از فرمول‌های ۱، ۲، ۳ استفاده شد:

$$Chla = (19.3 \times A663 - 0.86 \times A645)\, V/100W \quad (۱)$$

$$Chlb = (19.3 \times A645 - 3.6 \times A663)\, V/100W \quad (۲)$$

(۳):

$$Carotenoids = 100\,(A470) - 3.27(mg\ chla) - 104\,(mg\ Chlb)/227$$

که در روابط بالا، $A_{۶۶۳}$، $A_{۶۴۵}$ و $A_{۴۷۰}$ به ترتیب جذب نور در طول موج‌های ۶۶۳، ۶۴۵ و ۴۷۰ می‌باشد. V: حجم عصاره صاف شده و W: وزن تر نمونه بر حسب گرم است.

سنجش مالون‌دی‌آلدهید (MDA): در سنجش پراکسیداسیون لیپیدهای غشا، غلظت مالون‌دی‌آلدهید (MDA) به عنوان محصول پراکسیده شدن اسیدهای چرب غشاها به روش Heath و Packer (۱۹۶۸) صورت گرفت. در ابتدا ۰/۵ گرم از بافت تازه برگی با نیتروژن مایع در هاون چینی آسیاب گردید و به آن پنج میلی‌لیتر تری‌کلرو استیک اسید (TCA) یک درصد اضافه شد. عصاره به‌دست آمده به‌مدت ۲۰ دقیقه با دستگاه سانتریفیوژ در ۱۴۰۰۰ rpm در دمای چهار درجه سلسیوس سانتریفیوژ شد. سپس به یک میلی‌لیتر از محلول رویی، پنج میلی‌لیتر محلول ۲۰ درصد TCA حاوی ۰/۵ درصد تیوباربیتوریک‌اسید (TBA) اضافه شد. مخلوط حاصل به‌مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۹۵ درجه سلسیوس قرار گرفت و بلافاصله در یخ، سرد شد. سپس نمونه‌ها مجدداً در ۱۰۰۰۰ rpm به‌مدت پنج دقیقه سانتریفیوژ شدند. ماده قرمز رنگ مالون‌دی‌آلدهید تیوباربیوتریک‌اسید (MDA-TBA) تولید شده در طول موج ۵۳۲ نانومتر با استفاده از اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد و جذب سایر رنگیزه‌های اختصاصی در ۶۰۰ نانومتر خوانده شد. غلظت مالون‌دی‌آلدهید بر حسب نانومول بر گرم بافت تازه محاسبه شد.

استخراج و سنجش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی: ۰/۵ گرم بافت تازه برگ با کمک نیتروژن مایع در هاون چینی آسیاب شده و پس از آن به بافت آسیاب شده، یک میلی‌لیتر بافر فسفات ۵۰ میلی‌مولار حاوی ETDA ۰/۵ مولار و پلی‌وینیل‌پلی‌پیرولیدون (Polyvinylpyrrolidone) (PVPP) دو درصد اضافه و در دمای چهار درجه سلسیوس به مدت ۲۰ دقیقه در ۱۴۰۰۰ rpm سانتریفیوژ شد. سپس محلول رویی برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های SOD، POD، CAT، APX و هم‌چنین، محتوای پروتئین کل با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر مورد استفاده قرار گرفت.

سنجش فعالیت آنزیم SOD با استفاده از روش Giannopolotis و Reis (۱۹۷۷) انجام شد. محلول واکنش آنزیمی شامل ۹۳۵ میکرولیتر بافر فسفات ۵۰ میلی‌مولار حاوی اتیلن دی‌آمین تترااستیک اسید (EDTA) ۰/۱ میلی‌مولار، متیونین ۱۳ میلی‌مولار و نیتروبلوتترازولیم کلراید (NBT) ۷۵ میکرومولار، به علاوه ۱۵ میکرولیتر ریبوفلاوین ۰/۱۲ میلی‌مولار و ۵۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی استخراج شده بود. کووت‌های حاوی مخلوط واکنش، به‌مدت ۱۵ دقیقه درحالی‌که به‌آرامی تکان داده می‌شدند در معرض نور فلورسانس قرار گرفتند و سپس جذب نمونه‌ها در طول موج ۵۶۰ نانومتر قرائت شد. برای سنجش فعالیت این آنزیم، علاوه بر کووت‌های نمونه و بلانک از کووت شاهد نیز استفاده شد. برای خواندن نمونه‌ها، کووت شاهد همراه با نمونه‌ها در معرض نور قرار گرفته و کووت بلانک در تاریکی قرار داده شد. سپس جذب آن، با دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۶۰ نانومتر خوانده شده و فعالیت آنزیمی بر حسب میکرومول بر گرم بافت تازه محاسبه شد.

برای سنجش فعالیت آنزیم POD از روش In و همکاران (۲۰۰۷) استفاده شد. به این منظور ۴۹۰ میکرولیتر آب‌اکسیژنه ۲۲۵ میلی‌مولار و ۴۹۰ میکرولیتر محلول گایاکول ۴۵ میلی‌مولار با هم مخلوط گردید و به آن ۲۰ میکرولیتر عصاره

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-17]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1397.7.23.6.9]

آنزیمی اضافه شد. تغییرات جذب در طول موج ٤٧٠ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شد. در محلول بلانک به‌جای عصاره آنزیمی، بافر فسفات ۵۰ میلی‌مولار استفاده شد. فعالیت آنزیمی بر حسب میکرومول بر گرم بافت تازه در دقیقه محاسبه شد.

برای سنجش فعالیت آنزیم APX از روش Nakano و Asada (۱۹۸۱) استفاده شد. به این منظور ۷۷۰ میکرولیتر بافر فسفات ۵۰ میلی‌مولار با pH هفت با ۱۰۰ میکرولیتر EDTA ۰/۱ میلی‌مولار، ۱۰۰ میکرولیتر آسکوربیک اسید پنج میلی‌مولار و ۱۰ میکرولیتر آب‌اکسیژنه ۰/۱ میلی‌مولار مخلوط شدند. سپس، با اضافه کردن ۲۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی، منحنی تغییرات جذب در طول موج ۲۹۰ نانومتر خوانده شد. فعالیت آنزیمی بر حسب میکرومول بر گرم بافت تازه در دقیقه محاسبه شد.

برای سنجش فعالیت آنزیم CAT از روش Luck (۱۹۷٤) با اندکی تغییرات استفاده شد: ۲۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی با ۹۸۰ میکرولیتر از بافرفسفات حاوی آب‌اکسیژنه دو میلی‌مولار مخلوط و تغییرات جذب آن‌ها در طول موج ۲٤۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شد. فعالیت آنزیمی بر حسب میکرومول بر گرم بافت تازه در دقیقه محاسبه شد.

سنجش پروتئین کل: مقدار پروتئین کل محلول به روش Bradford (۱۹۷٦) در طول موج ۵۹۵ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر تعیین شد. در نهایت، غلظت پروتئین نمونه‌ها با استفاده از رسم منحنی استاندارد (سرم آلبومین) محاسبه شد.

استخراج و سنجش فنل کل: یک گرم از بافت برگ با استفاده از نیتروژن مایع آسیاب شد و به آن ۱۰ میلی‌لیتر محلول متانول ۸۰ درصد اضافه گردید. پس از هموژنیزه کردن با کمک ورتکس، نمونه‌ها در ۱۰۰۰۰ دور به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شدند. پس از جدا کردن فاز رویی، سنجش فنل کل با روش Folin-Ciocalteu انجام گرفت (Meyers *et al.*, 2003). در این روش عصاره متانولی استخراج شده را با ۱۲۵ میکرولیتر معرف فولین (۱۰ درصد) مخلوط کرده و پس از پنج دقیقه در دمای ۳۵ درجه سلسیوس، ۱۰۰ میکرولیتر محلول هفت درصد بی‌کربنات سدیم به آن اضافه شد. مقدار جذب مخلوط واکنش، پس از ۱۲۰ دقیقه نگهداری در شرایط بدون نور در طول موج ۷٦۵ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شد. مقدار فنل کل از روی منحنی استاندارد گالیک اسید بر حسب میلی‌گرم گالیک اسید در گرم بافت تازه بیان شد.

تجزیه آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS نسخه ۹/۱ (SAS Institute, 2002) و مقایسه میانگین تیمارها با آزمون حداقل تفاوت معنی‌دار (LSD) و در سطح احتمال پنج درصد ($p\leq$۰/۰۵) انجام شد. نمودارها با نرم افزار Excel رسم شد.

نتایج و بحث:

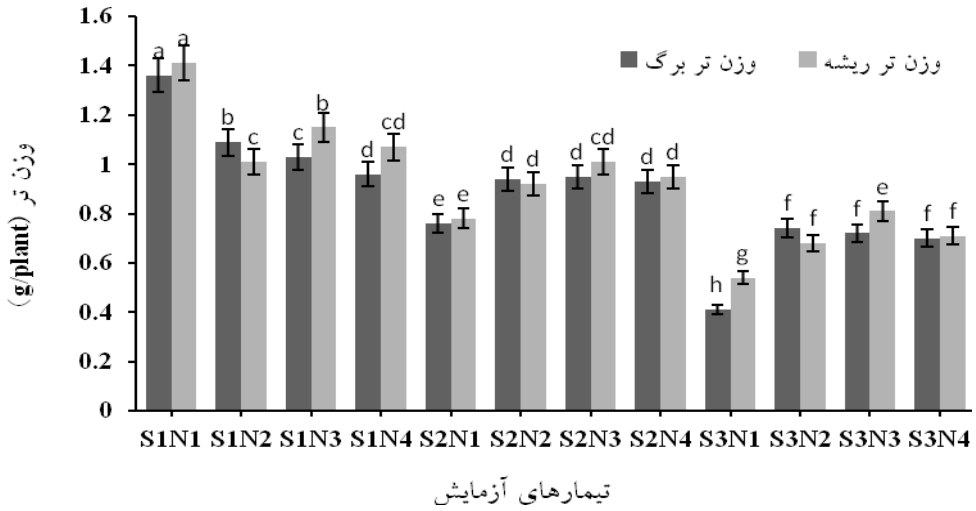
پژوهش‌های انجام شده در ارتباط با تأثیر تنش شوری بر ویژگی‌های زراعی گیاهان، حاکی از اثر منفی و کاهنده شوری بر میزان وزن تر و خشک بخش هوایی و سیستم ریشه گیاهان است (Ashraf, 2001). نتایج تجزیه واریانس داده‌های آزمایش حاضر (جدول ۱) نشان داد که برهم‌کنش شوری و SNP بر صفات وزن تر برگ، وزن تر ریشه، وزن خشک برگ و وزن خشک ریشه در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود.

وزن تر برگ و ریشه: با توجه به نتایج آزمایش، با افزایش سطوح شوری مقدار وزن تر برگ و ریشه کاهش یافت (شکل ۱)؛ با این وجود سطوح مختلف تیمار SNP توانست موجب افزایش مقدار وزن تر برگ و ریشه در شرایط شور شود. در این آزمایش، بیشترین مقدار وزن تر برگ در تیمار شاهد (۱/۳٦ گرم در واحد بوته) و کمترین مقدار آن (۰/٤۱ گرم در واحد بوته) در سطح ۱۵۰ میلی‌مولار شوری و صفر SNP به‌دست آمد (شکل ۱). هم‌چنین تیمار ۰/۲ میلی‌مولار SNP دارای اثربخشی بیشتری در افزایش مقدار وزن تر ریشه در شرایط شور نسبت به سایر سطوح SNP بوده است (شکل ۱).

وزن خشک برگ و ریشه: در این آزمایش، اثر برهم‌کنش شوری و SNP بر وزن خشک برگ و ریشه معنی‌دار بود (جدول ۱). با توجه به شکل (۲)، با افزایش سطوح شوری، میزان وزن خشک برگ و ریشه کاهش معنی‌داری نشان داد. با این وجود، کاربرد تیمار ۰/۲ میلی‌مولار SNP توانست بیش

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-17]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1397.7.23.6.9]



شکل ۱- اثر برهم‌کنش تیمارهای شوری و SNP بر وزن تر برگ و ریشه. مقادیر، میانگین سه تکرار ± SE (خطای معیار) است. حروف متفاوت بیانگر اختلاف معنی‌دار با استفاده از آزمون LSD است. (S1 تا S3 به ترتیب سطح صفر، ۷۵ و ۱۵۰ میلی‌مولار محلول NaCl؛ N1 تا N4 به ترتیب سطح صفر، ۰/۱، ۰/۲ و ۰/٤ میلی‌مولار محلول SNP)

جدول ۱- تجزیه واریانس اثرات شوری و SNP بر زیست‌توده گیاهچه سرخارگل

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات						
		وزن تر برگ	وزن تر ریشه	وزن خشک برگ	وزن خشک ریشه	کلروفیل a	کلروفیل b	کلروفیل کل	کاروتنوئید
شوری (S)	۲	۰/۳۹۸**	۰/۰٥٤**	۰/۰۱۹**	۰/۰۱۳**	۷٥۲/٥**	۸۱٥/۲**	۳۰۳۹/۷**	۲٤٦/۹**
سدیم نیتروپروساید (N)	۳	۰/۲۰۸**	۰/۱۷۱**	۰/۰۱۷**	۰/۰۱٦**	٦۳/٥^{ns}	٦۱۷/۹**	۱۰٤۱/۸**	٥٥۱/٦**
S × N	٦	۰/۰۲۲**	۰/۱۰۱**	۰/۰۱٤**	۰/۰۰۹**	۱۰/۰۰^{ns}	٦۳/٦^{ns}	۹۷/٦^{ns}	٤۰۹/۲**
خطای آزمایش	۲٤	۰/۰۰۱	۰/۰۰۲	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱	۳۳/٥	۲٤/۷	٦۳/۰٦	٥۸/۰٤
ضریب تغییرات (درصد)		٦/۷	۸/۰۷	۱٥/۳	۱٥/۳	۷/٤	٦/۷	٥/۲	٤/٦

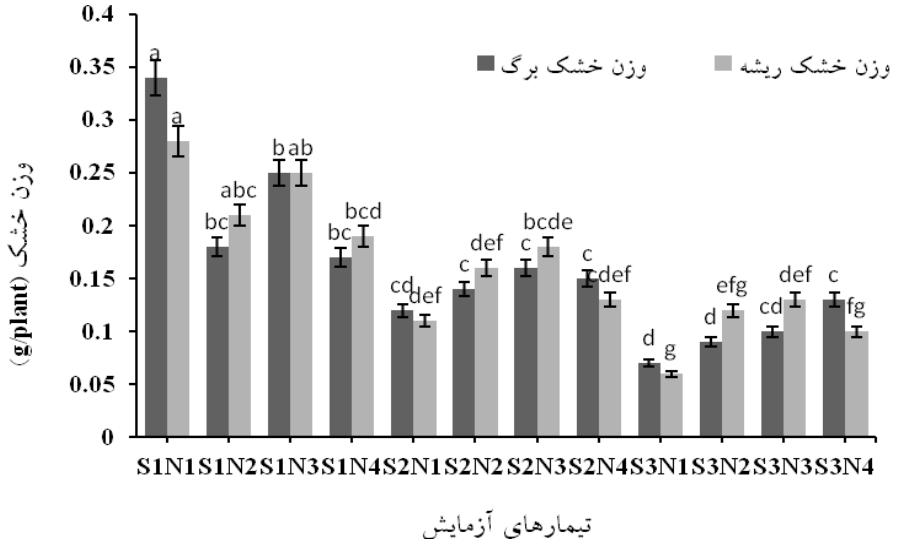
**= اختلاف معنی‌دار در سطح یک درصد.

ترین مقدار وزن خشک برگ و ریشه را در شرایط شور ثبت کند. این نتایج با یافته‌های کوهی‌فایق و همکاران (۱۳۹۲) در گیاه زیتون تلخ (*Melia azedarach*) مطابقت دارد. در نتایج آن‌ها با افزایش شوری (٥، ۱۰ و ۲۰ دسی‌زیمنس بر متر)، وزن خشک ریشه در همه غلظت‌ها کاهش معنی‌داری نشان داد و کاربرد SNP توانست باعث افزایش و بهبود وزن خشک ریشه به ویژه در شوری ۲۰ دسی‌زیمنس بر متر شود.

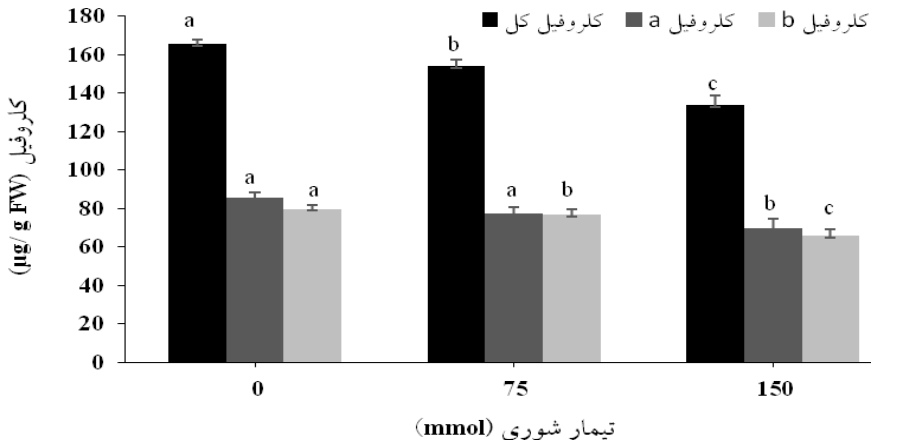
به نظر می‌رسد ماده مذکور به علت نقش اساسی در کاهش مقدار پراکسیداسیون لیپیدی و خسارت به رنگیزه‌ها در مقابل تنش اکسیدانی و هم‌چنین تقویت فعالیت‌های بیولوژیکی مانند رشد و نمو، فتوسنتز، جذب و انتقال یون‌ها و تغییر فعالیت برخی آنزیم‌های مهم (El-Tayeb, 2005) موجب بهبود ماده خشک گیاهچه‌های سرخارگل در بستر شور شده باشد.

کلروفیل و کارتنوئید برگ: با توجه به نتایج تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۱)، برهم‌کنش اثر شوری و SNP بر محتوای کاروتنوئید برگ سرخارگل معنی‌دار شد ولی اثر آن بر محتوای کلروفیل برگ گیاهچه‌ها معنی‌دار نبود. با این‌حال، اثر ساده شوری بر مقدار کلروفیل a، b و کلروفیل کل معنی‌دار بود(جدول ۱). نتایج هم‌چنین نشان می‌دهد که اثر ساده تیمار SNP تنها بر مقدار کلروفیل a معنی‌دار نشده است (جدول ۱).

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-17]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1397.7.23.6.9]



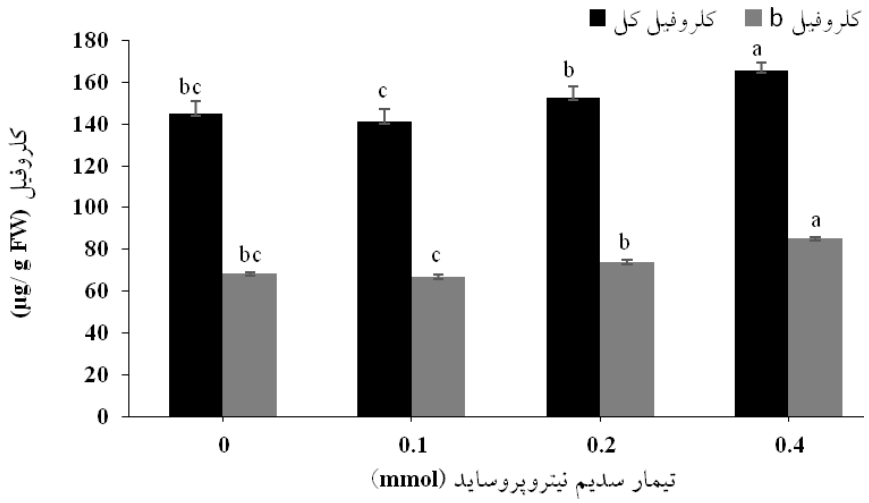
شکل ۲- اثر برهم‌کنش تیمارهای شوری و SNP بر وزن خشک برگ و ریشه. مقادیر، میانگین سه تکرار ± SE (خطای معیار) است. حروف متفاوت بیانگر اختلاف معنی‌دار با استفاده از آزمون LSD است. (S1 تا S3 به ترتیب سطح صفر، ۷۵ و ۱۵۰ میلی‌مولار محلول NaCl؛ N1 تا N4 به ترتیب سطح صفر، ۰/۱، ۰/۲ و ۰/٤ میلی‌مولار محلول SNP)



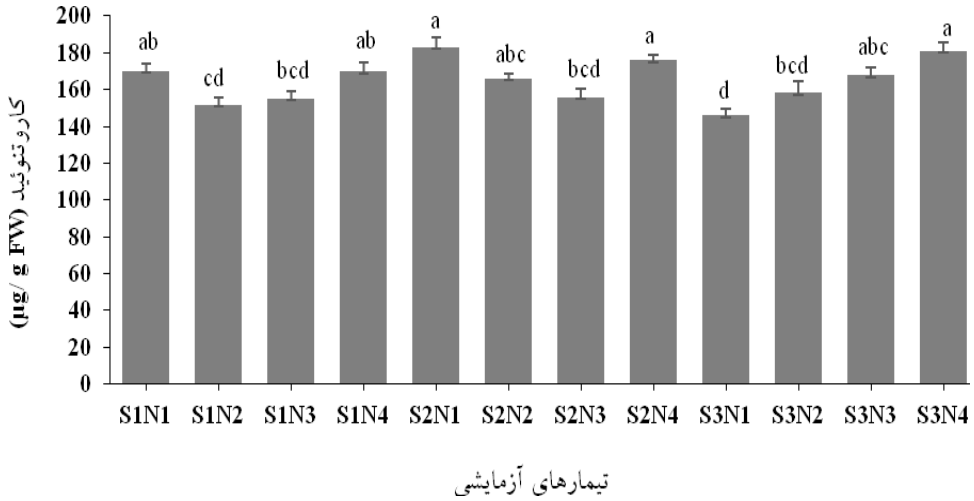
شکل ۳- اثر ساده سطوح شوری بر محتوای کلروفیل a، b و کل برگ سرخارگل. مقادیر، میانگین سه تکرار ± SE (خطای معیار) است. حروف متفاوت بیانگر اختلاف معنی‌دار با استفاده از آزمون LSD است.

با توجه به نتایج اثر ساده شوری در این آزمایش، بیشترین محتوای کلروفیل را تیمار شاهد (بستر غیر شور) نشان داد و با افزایش سطح شوری مقدار کلروفیل کل، a و b کاهش یافت (شکل ۳). این نتیجه موافق با نتایج Kaya و همکاران (۲۰۱۳) در گیاه ذرت، Jamil و همکاران (۲۰۰۵) در گیاه شب‌بو (*Matthiola incena*) و دهقانی و مستاجران (۱۳۸۹) در گیاه زنجبیل (*Zingiber officinal*) است که کاهش محتوای کلروفیل برگ را در شرایط شور گزارش کردند. در این آزمایش، با افزایش سطوح SNP، مقدار کلروفیل کل و b افزایش یافت به طوری‌که بیشترین مقدار آن‌ها در سطح ۰/٤ میلی‌مولار SNP ثبت شد (شکل ٤). کاربرد SNP تحت شرایط شور در مطالعه Boyatshinov و Asafova (۲۰۱۱)، توانست مقدار کلروفیل برگ گندم را افزایش دهد. هم‌چنین، Li و همکاران (۲۰۰۷) با کاربرد غلظت ۰/۲ میلی‌مولار SNP، افزایش مقدار کلروفیل و Tu و همکاران (۲۰۰۳) با استفاده از ترکیب ۰/۱ میلی‌مولار SNP، جلوگیری از تخریب کلروفیل

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-17]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1397.7.23.6.9]



شکل ٤- اثر ساده سطوح SNP بر محتوای کلروفیل b و کل برگ سرخارگل. مقادیر، میانگین سه تکرار ± SE (خطای معیار) است. حروف متفاوت بیانگر اختلاف معنی‌دار با استفاده از آزمون LSD است.



شکل ٥- اثر برهم‌کنش تیمارهای شوری و SNP بر محتوای کاروتنوئید برگ سرخارگل. مقادیر، میانگین سه تکرار ± SE (خطای معیار) است. حروف متفاوت بیانگر اختلاف معنی‌دار با استفاده از آزمون LSD است. (S1 تا S3 به ترتیب سطح صفر، ۷۵ و ۱۵۰ میلی‌مولار محلول NaCl؛ N1 تا N4 به ترتیب سطح صفر، ۰/۱، ۰/۲ و ۰/٤ میلی‌مولار محلول SNP)

و تأخیر در پیری برگ‌های گندم را گزارش کردند.

در این آزمایش، تیمار ۰/٤ میلی‌مولار SNP توانست اثر خسارت‌زای شوری را بهبود بخشد و بیشترین محتوای کاروتنوئید را در بین تیمارهای تنش‌دیده پس از شاهد (سطح صفر SNP) نشان دهد (شکل ٥). در بین رنگدانه‌های فتوسنتزی، کاروتنوئیدها نقش حفاظتی مهمی در مقابل تنش اکسیداتیو القا شده دارند؛ کاهش این رنگدانه‌ها در تنش شوری و نیز عدم عملکرد صحیح روزنه‌ها با افزایش سدیم در محیط رشد گیاه می‌تواند در نهایت منجر به کاهش فتوسنتز و رشد گیاهچه‌ها شود (Netondo *et al*., 2004). با این‌حال، ترکیب SNP استفاده شده در این آزمایش احتمالاً می‌تواند از راه کاهش خسارت به رنگریزه‌ها در مقابل تنش اکسیداتیو از گیاهچه‌ها محافظت نموده (نصیبی و همکاران، ۱۳۹۰) و در حفظ رنگیزه‌ها نقش مؤثری داشته باشد.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-17]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1397.7.23.6.9]

جدول ۲- تجزیه واریانس اثر شوری و SNP بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، تغییرات فنل کل، غلظت MDA و پروتئین کل در برگ سرخارگل

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات					
		SOD	POD	APX	CAT	MDA	پروتئین کل	فنل کل
شوری (S)	۲	۵۸/۸۰**	۹/۴۱**	۸۸/۲۱**	۴/۷۰**	۴۰۰/۳**	۲۷/۴**	۲۴/۴**
سدیم نیتروپروساید (N)	۳	۲۰/۸۴**	۱/۶۶**	۱۶۱۲/۳۵**	۱۵/۴۶**	۱۸۶/۳**	۶/۰۷**	۰/۵۱**
S × N	۶	۶/۸۱**	۱/۱۲**	۱۱۶/۶۴**	۱/۱۰^{ns}	۵۵**	۱/۵۵^{ns}	۰/۲۸^{ns}
خطای آزمایش	۲۴	۱/۵۳	۰/۰۹	۴/۴۱	۰/۶۳	۲/۱۲	۰/۸۰	۱/۲۲
ضریب تغییرات (درصد)		۱۰	۸/۷	۸/۴	۶/۱	۸/۳	۲/۴	۱۵/۰۵

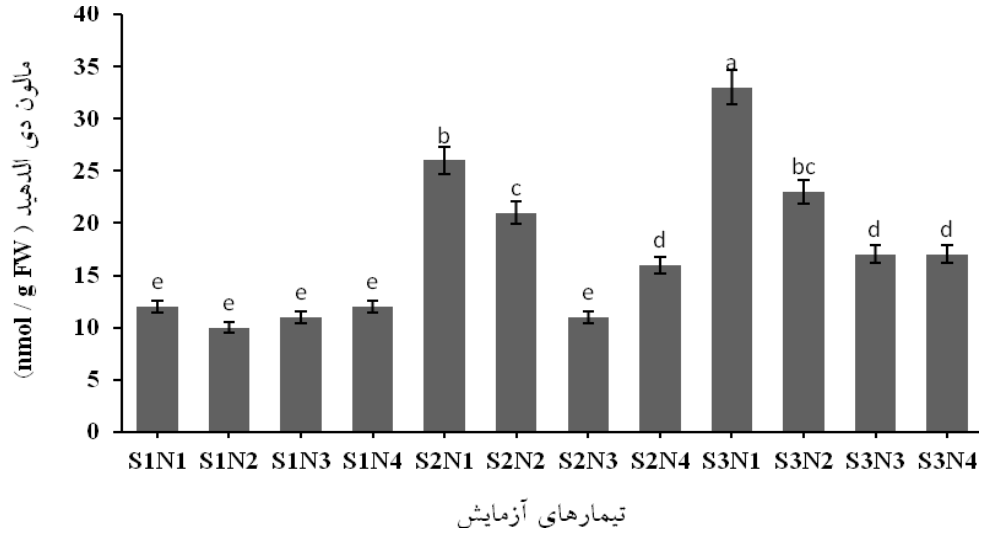
SOD: آنزیم سوپراکسید دیسموتاز، POD: آنزیم پراکسیداز، APX: آنزیم آسکوربات پراکسیداز، CAT: آنزیم کاتالاز. **= اختلاف معنی‌دار در سطح یک درصد و ns= عدم وجود اختلاف معنی‌دار.

مالون‌دی‌آلدهید (MDA): تنش شوری سبب کاهش یکپارچگی غشای سلولی، آزاد شدن الکترولیت‌ها و مواد درون سلول می‌شود. بر اساس نتایج پژوهش حاضر، برهم‌کنش شوری و SNP بر مقدار MDA برگ سرخارگل معنی‌دار ($p\leq$۰/۰۱) بود (جدول ۲). نتایج این پژوهش نشان می‌دهد که روند تغییرات MDA ناشی از افزایش مقدار SNP در هر یک از سطوح شوری، روند کاهشی مشابه داشت؛ به طوری‌که بیشترین مقدار MDA (۳۳ نانومول بر گرم بافت تازه) در سطح ۱۵۰ میلی‌مولار کلریدسدیم و تیمار عدم کاربرد SNP مشاهده شد (شکل ۶). در شرایط عدم شور هم، همه سطوح SNP در یک گروه آماری قرار گرفتند که دارای اختلاف معنی‌دار نبودند (شکل ۶). این نتایج با یافته‌های احمدپور دهکردی و بلوچی (۱۳۹۱ در گیاهچه‌های سیاهدانه (*Nigella sativa*) و Bor و همکاران (۲۰۰۳) در چغندر قند (*Beta Vulgaris*) مطابقت دارد که افزایش مقدار MDA برگ را با افزایش غلظت نمک کلریدسدیم گزارش کردند. در پژوهشی هم که بر گیاه ویرجینیکا (*Kosteletzkya virginica*) تحت تنش شوری (صفر، ۱۰۰، ۲۰۰، ۳۰۰ و ۴۰۰ میلی‌مولار) انجام شد، مقدار MDA در شرایط شور افزایش نشان داد و تیمار گیاه با ۰/۰۶ میلی‌مولار ترکیب SNP توانست موجب مهار افزایش MDA در برگ و ریشه‌های گیاه شود (Yuqi *et al*., 2009). با توجه به نتایج، این‌طور به نظر می‌رسد که نقش NO در جلوگیری از پراکسیداسیون لیپیدها، مربوط به توانایی NO در واکنش با رادیکال‌های آزاد و در نتیجه، توقف زنجیره پراکسیداسیون لیپیدها باشد (Lei *et al*., 2007).

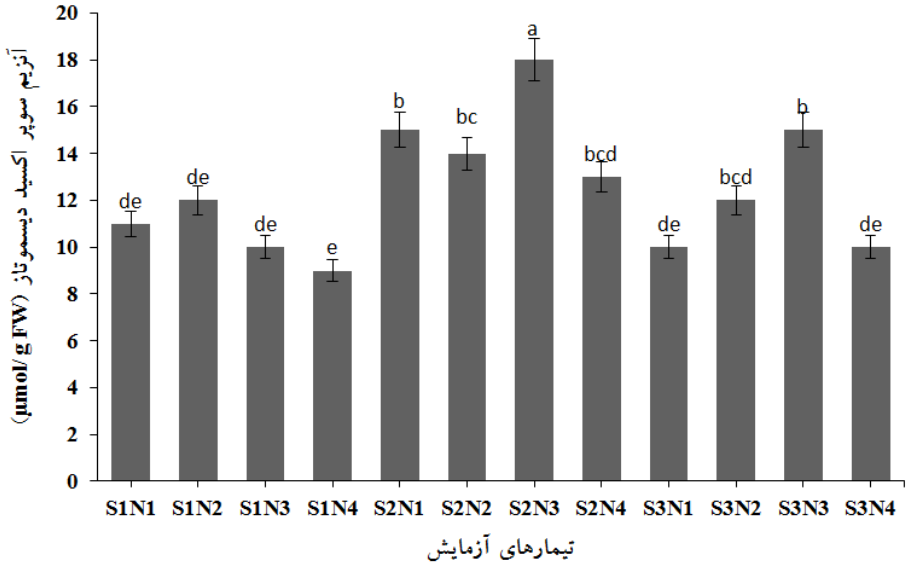
آنزیم‌های آنتی‌آکسیدان: بر پایه نتایج به دست آمده از جدول تجزیه واریانس، برهم‌کنش شوری و SNP بر مقدار فعالیت آنزیم‌های SOD، POD و APX معنی‌دار بود اما این برهم‌کنش بر مقدار فعالیت آنزیم CAT معنی‌دار نبود (جدول ۲). فعالیت آنزیم SOD در سلول‌ها، در پاسخ به شرایط مختلف محیطی و تنش‌های غیرزیستی مانند نور بالا، شوری و خشکی افزایش پیدا می‌کند (Kiraly and Czovek, 2002). با توجه به نتایج به‌دست آمده از آزمایش حاضر، مشاهده شد که تیمار ۰/۲ میلی‌مولار SNP توانست اثر خسارت‌زای تنش شوری را بهبود ببخشد به طوری‌که بیشترین فعالیت آنزیم SOD (۱۸/۲ میکرومول بر گرم بافت تازه) در غلظت ۰/۲ میلی مولار SNP در شوری ۷۵ میلی‌مولار به‌دست آمد (شکل ۷). این نتیجه مشابه با نتایج Yuqi و همکاران (۲۰۰۹) روی گیاه ویرجینیکا بود که افزایش فعالیت آنزیم SOD را در تیمار با SNP در شرایط شور نشان دادند. ترکیب SNP به عنوان دهنده NO، از طرفی با تبدیل آنیون سوپراکسید به پراکسیدهیدروژن، این آنیون را از سلول حذف می‌کند و از طرفی دیگر با القای آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان مانند آنزیم APX، سمیت آب اکسیژنه را کاهش می‌دهد (Beligni and Lamattina, 2001).

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-17]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1397.7.23.6.9]



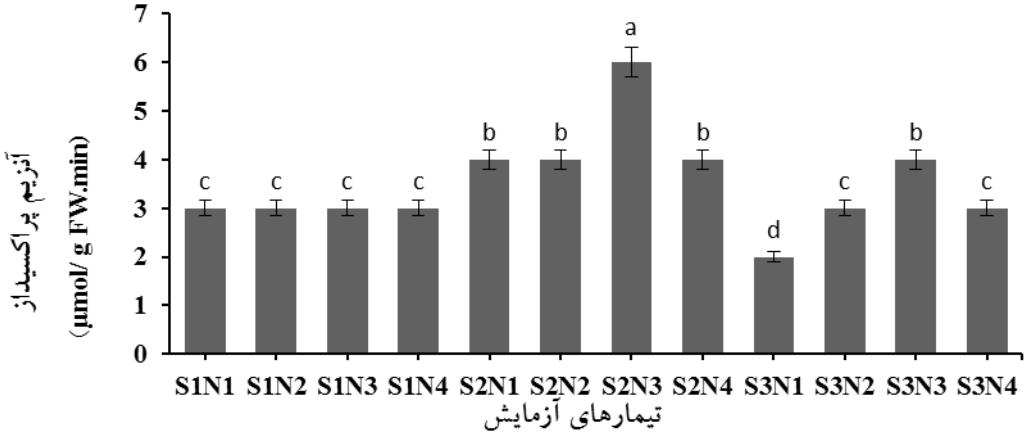
شکل ٦- اثر برهم‌کنش سطوح شوری و SNP بر تغییرات مالون‌دی‌آلدهید (MDA) برگ سرخارگل. مقادیر، میانگین سه تکرار ± SE (خطای معیار) است. حروف متفاوت بیانگر اختلاف معنی‌دار با استفاده از آزمون LSD است. (S1 تا S3 به ترتیب سطح صفر، ۷۵ و ۱۵۰ میلی‌مولار محلول NaCl؛ N1 تا N4 به ترتیب سطح صفر، ۰/۱، ۰/۲ و ۰/٤ میلی‌مولار محلول SNP)



شکل ۷- اثر برهم‌کنش سطوح شوری و SNP بر فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز (SOD) در برگ سرخارگل. مقادیر، میانگین سه تکرار ± SE (خطای معیار) است. حروف متفاوت بیانگر اختلاف معنی‌دار با استفاده از آزمون LSD است. (S1 تا S3 به ترتیب سطح صفر، ۷۵ و ۱۵۰ میلی‌مولار محلول NaCl؛ N1 تا N4 به ترتیب سطح صفر، ۰/۱، ۰/۲ و ۰/٤ میلی‌مولار محلول SNP)

با توجه به نتایج تجزیه واریانس، برهم‌کنش شوری و SNP بر فعالیت آنزیم POD معنی‌دار بود (جدول ۲). روند تغییرات فعالیت این آنزیم ناشی از افزایش مقدار SNP در هر یک از سطوح شوری، روند افزایشی و مشابه بود (شکل ۸). همان‌گونه که مشاهده می‌شود گیاهچه‌های تیمار شده با SNP تحت شوری ۷۵ میلی‌مولار دارای بیشترین فعالیت آنزیم POD نسبت به بقیه تیمارها بودند به طوری که تیمار ۰/۲ میلی‌مولار SNP بیشترین فعالیت این آنزیم را با ۵/٦۳ میکرومول بر گرم بافت تازه در دقیقه نشان داد (شکل ۸). در تشابه با نتایج این آزمایش، افزایش فعالیت آنزیم POD تحت تنش شوری در پژوهش Ashraf و Ali (۲۰۰۸) در برگ کلزا و اسدی صنم و همکاران (۱۳۹۳) در برگ جو هم، مشاهده می‌شود. در مطالعه

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-17]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1397.7.23.6.9]



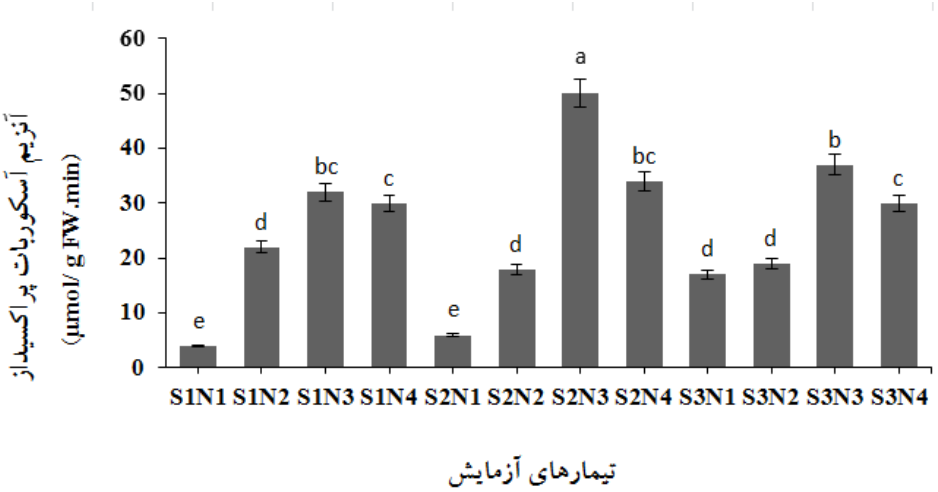
شکل ۸- اثر برهم‌کنش سطوح شوری و SNP بر فعالیت آنزیم پراکسیداز (POD) در برگ سرخارگل. مقادیر، میانگین سه تکرار ± SE (خطای معیار) است. حروف متفاوت بیانگر اختلاف معنی‌دار با استفاده از آزمون LSD است. (S1 تا S3 به ترتیب سطح صفر، ۷۵ و ۱۵۰ میلی‌مولار محلول NaCl؛ N1 تا N4 به ترتیب سطح صفر، ۰/۱، ۰/۲ و ۰/٤ میلی‌مولار محلول SNP).

اسدی صنم و همکاران (۱۳۹۳)، کاربرد ۰/۱ میلی‌مولار SNP توانست با دارا بودن خواص آنتی‌اکسیدانی و با دخالت پاک سازی یون سوپراکسید، تولید پراکسیدهیدروژن درون‌سلولی را در شرایط تنش کاهش دهد و سبب افزایش فعالیت آنزیم POD شود؛ در حالی‌که افزایش غلظت SNP به ۰/۲ میلی‌مولار، سبب کاهش فعالیت آنزیمی در شرایط شور و حتی نسبت به تیمار شاهد شد.

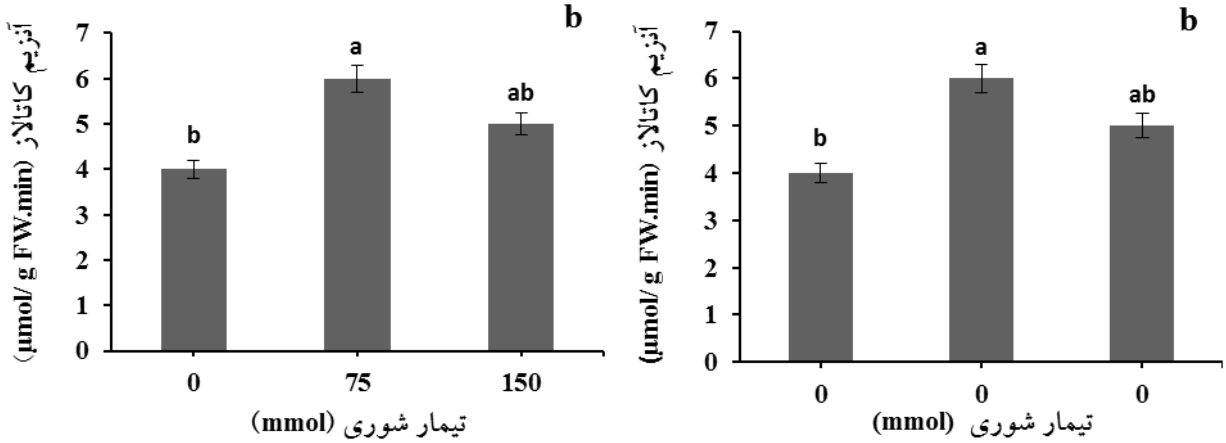
آنزیم APX یکی از آنتی‌اکسیدان‌های قوی می‌باشد که در بیشتر سلول‌های گیاهی و اندامک‌هایی مانند کلروپلاست و آپوپلاست وجود دارد (Detullio *et al.*, 1999). بر مبنای نتایج تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۲)، برهم‌کنش شوری و SNP در گیاهچه‌های سرخارگل موجب افزایش معنی‌دار فعالیت آنزیم APX شده است. نتایج مقایسه میانگین ها نشان دهنده روند افزایشی و مشابه تغییرات فعالیت آنزیم APX ناشی از افزایش مقدار SNP در هر یک از سطوح شوری بوده است (شکل ۹). با توجه به نتایج این آزمایش، تیمار ۰/۲ میلی‌مولار SNP توانست فعالیت آنزیم APX را در هر سه سطح شوری افزایش دهد (شکل ۹). بیشترین فعالیت آنزیم APX هم، مشابه با فعالیت دو آنزیم SOD و POD در غلظت ۷۵ میلی‌مولار نمک کلریدسدیم اندازه‌گیری شد (شکل ۹). افزایش فعالیت آنزیم APX تحت تیمارهای SNP در پژوهش اسدی صنم و همکاران (۱۳۹۳) تحت تنش کلریدسدیم و هم‌چنین Chen و همکاران (۲۰۱۰) تحت تنش کلریدکلسیم در گیاهچه‌های جو نیز مشاهده شد. افزایش فعالیت آنزیم APX در شرایط تنش می‌تواند احتمالاً تولید ROS را به مقدار زیادی کاهش دهد و موجب افزایش تحمل شوری شود (Zhu, 2002).

بر اساس نتایج مقایسه میانگین اثر ساده تیمار SNP (شکل ۱۰- a)، بیشترین فعالیت آنزیم CAT (٦/٥٠ میکرومول بر گرم بافت تازه در دقیقه) در تیمار ۰/۲ میلی‌مولار SNP و کمترین فعالیت آن (۳/٤۲ میکرومول بر گرم بافت تازه در دقیقه) در تیمار شاهد اندازه‌گیری شد. در شرایط تنش شوری هم، مقدار فعالیت آنزیم CAT به مانند دیگر آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مورد مطالعه در این آزمایش (SOD، POD و APX) در غلظت ۷۵ میلی‌مولار کلریدسدیم افزایش نشان داد (شکل ۱۰- b). در مطالعه گیاه ویرجینیکا در شرایط شور نیز فعالیت آنزیم CAT در ریشه‌ها و برگ‌ها نسبت به تیمار شاهد کاهش نشان داد و کاربرد تیمار ۰/۰٦ میلی‌مولار SNP موجب شد که فعالیت این آنزیم افزایش جزیی پیدا کند (Yuqi *et al.*, 2009)؛ به عبارتی، کاربرد SNP تا حدی موجب پاک‌سازی رادیکال‌های آزاد و بهبود تحمل شوری شده است. هم‌چنین در آزمایش Tu و همکاران (۲۰۰۳)، برگ‌های گندم تیمار شده با SNP از طریق فعال‌سازی آنزیم CAT، فرایند پیرشدن برگ‌ها را به تأخیر

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-17]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1397.7.23.6.9]



شکل ۹- اثر برهم‌کنش سطوح شوری و SNP بر فعالیت آنزیم آسکوربات‌پراکسیداز (APX) در برگ سرخارگل. مقادیر، میانگین سه تکرار ± SE (خطای معیار) است. حروف متفاوت بیانگر اختلاف معنی‌دار با استفاده از آزمون LSD است. (S1 تا S3 به ترتیب سطح صفر، ۷۵ و ۱۵۰ میلی‌مولار محلول NaCl؛ N1 تا N4 به ترتیب سطح صفر، ۰/۱، ۰/۲ و ۰/٤ میلی‌مولار محلول SNP)

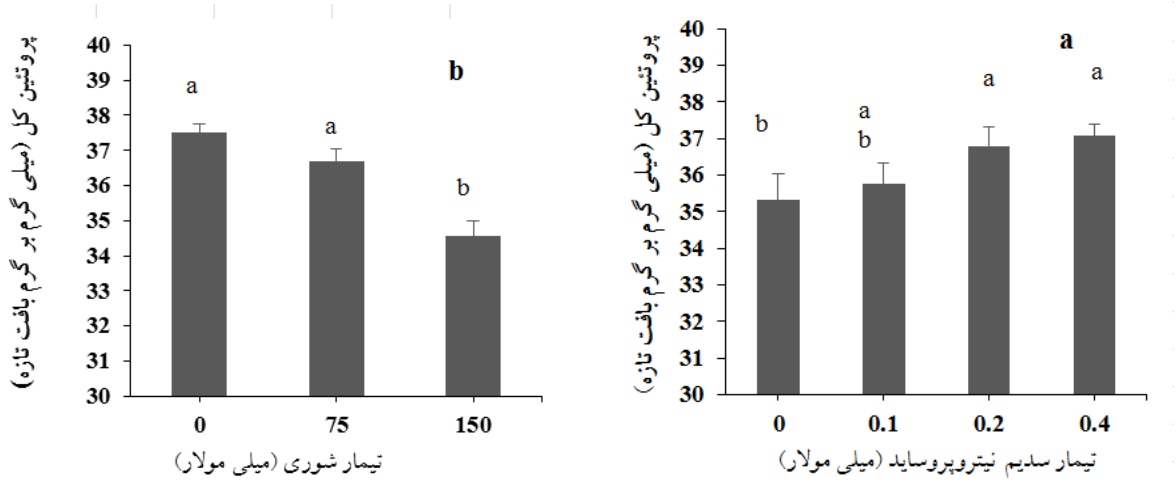


شکل ۱۰-a) اثر ساده تیمارهای SNP بر فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT) b) اثر ساده تیمارهای شوری بر فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT) در برگ سرخارگل. مقادیر، میانگین سه تکرار ± SE (خطای معیار) است. حروف متفاوت بیانگر اختلاف معنی‌دار با آزمون LSD است.

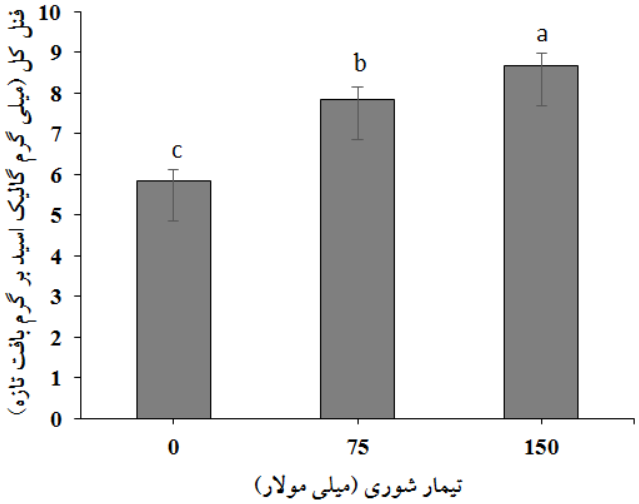
انداخت. Huaifu و همکاران (۲۰۰۷) هم افزایش معنی‌دار و قابل‌توجه فعالیت آنزیم CAT را با تیمار NO در شرایط شور نشان دادند.

پروتئین کل: بر مبنای نتایج تجزیه واریانس (جدول ۲)، برهم‌کنش شوری و SNP بر مقدار پروتئین کل معنی‌دار نشد اما اثر ساده شوری و SNP بر مقدار پروتیئن کل در برگ‌های سرخارگل در سطح یک درصد معنی‌دار بود. نتایج مربوط به تیمار SNP (شکل ۱۱- a) نشان داد که بیشترین مقدار پروتئین برگ‌ها (۳۷ میلی‌گرم بر گرم بافت تازه) مربوط به تیمار ۰/۲ میلی‌مولار SNP بود که با تیمار ۰/٤ میلی‌مولار SNP در یک گروه آماری قرار گرفت. کمترین مقدار پروتئین برگ‌ها (۳۵ میلی‌گرم بر گرم بافت تازه) مربوط به تیمار شاهد (سطح صفر SNP) بود که نشان‌دهنده این است که تیمار SNP موجب بهبود محتوای پروتئین برگ‌ها در گیاهچه‌های سرخارگل می شود (شکل ۱۱- a). هم‌چنین با افزایش شوری، مقدار پروتئین برگ‌های سرخارگل کاهش یافت که بیشترین کاهش در غلظت ۱۵۰ میلی‌مولار کلریدسدیم ثبت شد (شکل ۱۱- b). در آزمایشی که اسدی صنم و همکاران (۱۳۹۳) بر گیاهچه‌های

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-17]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1397.7.23.6.9]



شکل ۱۱- a) اثر ساده SNP بر تغییرات پروتئین کل برگ سرخارگل b) اثر ساده شوری بر تغییرات پروتئین کل برگ سرخارگل. مقادیر، میانگین سه تکرار ± SE (خطای معیار) است. حروف متفاوت بیانگر اختلاف معنی‌دار با استفاده از آزمون LSD است.



شکل ۱۲- اثر ساده سطوح شوری بر تغییرات فنل کل برگ سرخارگل. مقادیر، میانگین سه تکرار ± SE (خطای معیار) است. حروف متفاوت بیانگر اختلاف معنی‌دار با استفاده از آزمون LSD است.

جو انجام دادند، مقدار پروتئین برگ‌های جو تحت تأثیر معنی‌دار برهم‌کنش شوری و SNP قرار گرفت. در آزمایش این پژوهش‌گران، مقدار پروتئین موجود در عصاره نمونه‌هایی که با SNP در دو سطح ۰/۱ و ۰/۲ میلی‌مولار در شرایط شور تیمار شدند، افزایش معنی‌داری نسبت به تیمار شاهد (گیاهچه‌هایی که تیمار آن‌ها با آب خالص بوده است) نشان داد که این افزایش برای غلظت ۰/۱ میلی‌مولار SNP در مقایسه با آب خالص بیشتر از ۵۰ درصد بود.

فنل کل: با توجه به نتایج تجزیه واریانس، برهم‌کنش تیمار شوری و SNP بر مقدار فنل کل برگ سرخارگل معنی‌دار نبود (جدول ۲). با این‌وجود تجزیه واریانس داده‌ها، افزایش معنی‌دار اثر ساده تنش شوری بر محتوای فنل کل برگ سرخارگل را نشان داد به طوری‌که بیشترین مقدار فنل کل در بالاترین سطح شوری (۱۵۰ میلی‌مولار کلریدسدیم) به‌دست آمد (شکل ۱۲). این نتیجه مشابه با نتایج رضایت‌مند و همکاران (۱۳۹۲) بود که افزایش فنل کل گیاه درمنه کوهی (*Artemisia aucheri*) را تحت تنش شوری نشان دادند. بسیاری از ترکیبات فنلی از پالاینده‌های بسیار کارآمد پراکسید هیدروژن و رادیکال‌های هیدروکسیل و متوقف کننده زنجیره‌های پراکسیداسیون لیپید هستند. افزایش مقدار این

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-17]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1397.7.23.6.9]

ترکیب، احتمالا به دلیل نقش آنتی‌اکسیدانی آن‌ها در برابر ROSهاست.

نتیجه‌گیری کلی:

با توجه به یافته‌های به‌دست آمده از این آزمایش می‌توان چنین استنباط کرد که شوری ایجاد شده توسط نمک کلریدسدیم موجب ایجاد خسارت‌هایی به گیاهچه‌های سرخارگل می‌شود که احتمالاً مربوط به تجمع رادیکال‌های اکسیژن و تنش اکسیداتیو می‌باشد. از بین تیمارهای اعمال شده، تیمار ۰/۲ میلی‌مولار SNP در تنش ۷۵ میلی‌مولار کلریدسدیم توانست موجب افزایش ماده خشک گیاهچه و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در گیاهان تنش‌دیده شود. در کل به نظر می‌رسد که NO حاصل از پیش‌تیمار SNP توانست از راه افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی موجب کاهش خسارت رادیکال‌های آزاد و در نتیجه افزایش تحمل گیاهچه‌های سرخارگل و بهبود نسبی آن‌ها تحت تنش شوری شود.

منابع:

احمدپور دهکردی، س. و بلوچی، ح. ر. (۱۳۹۱) اثر پرایمینگ بذر بر آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و پراکسیداسیون لیپید غشای سلول گیاهچه‌های سیاهدانه (*Nigella sativa* L.) تحت تنش شوری و خشکی، مجله الکترونیک تولید گیاهان زراعی ۵: ۸۵-۶۳.

اسدی صنم، س.، زواره، م.، پیردشتی، ه. ا. و هاشم‌پور، ا. (۱۳۹۳) اثر سدیم‌نیتروپروساید (SNP) بر برخی ویژگی‌های بیوشیمیایی گیاهچه‌های جو در تنش شوری، نشریه پژوهش‌های تولید گیاهی ۳: ۱۸۹-۱۷۱.

امیدبیگی، ر. (۱۳۸٤) تولید و فراوری گیاهان دارویی. انتشارات استان قدس رضوی ۱: ۳٤۷ صفحه.

دادمان، ب.، کبودانی، م . و امیدبیگی، ر. (۱۳۸٤) بررسی تولید و مراحل فنولوژیکی گیاه دارویی سرخارگل به عنوان ماده اولیه تولید داروهای تقویت کننده سیستم دفاعی، چهارمین کنگره علوم باغبانی ایران، مشهد: ۳۷-۲۵.

دهقانی، ا. و مستاجران، ا. (۱۳۸۹) اثر تنش شوری بر رشد رویشی و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و دفاعی در گیاه زنجبیل (*Zingiber officinal* Roscoe)، مجله داروهای گیاهی ۱: ۸-۱.

رضایت‌مند، ز.، خاوری‌نژاد، ر. ع. و اصغری، غ. ر. (۱۳۹۲) اثر سالیسیلیک بر برخی شاخص‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه درمنه کوهی (*Artemisia aucheri* Boiss) تحت تنش شوری، زیست‌شناسی گیاهی ایران ۵: ۷۰-۵۷.

کوهی‌فایق، ش.، حکیمی، م. ح.، مصلح ارانی، ا.، میرشمسی، ه. ا. و کیانی، ب. (۱۳۹۲). بررسی اثرات سدیم‌نیتروپروساید و اسید سالیسیلیک بر برخی خصوصیات فیزیولوژیکی زیتون تلخ تحت تنش شوری، دو فصلنامه علمی پژوهشی خشک بوم ۳: ۷۱-٦۲.

نصیبی، ف.، منوچهری کلانتری، خ. و خداشناس، م. (۱۳۸۸) اثر پیش تیمار سدیم‌نیتروپروساید (SNP) بر برخی عوامل بیوشیمیایی گیاهچه گوجه فرنگی (*Lycopersicum esculentum*) تحت تنش خشکی، مجله علوم کشاورزی و منابع طبیعی ۱٦: ۱٤-۱.

Arnon, A. N. (1967) Method of extraction of chlorophyll in the plants. Agronomy Journal 23: 112-121.

Ashraf, M. (2001) Relationships between growth and gas exchange characteristics in some salt tolerante amphidiploids *Brassica* species in relation to their diploid parents. Environmental and Experimental Botany 45: 155-163.

Ashraf, M. and Ali, Q. (2008) Relative membrance permeability and activities of some antioxidant enzymes as the key determinants of salt tolerance in canola (*Brassica napus* L.). Environmental and Experimental Botany 63: 267-273.

Bandeoglu, E., Eyidogan, F., Yucel, M., and Oktem, H. A. (2004) Antioxidant response of shoots and roots of lentil to NaCl salinity stress. Plant Growth Regulation 42: 69-77.

Bauer, R. (1999) Chemistry, analysis and immunological investigations of *Echinacea* phytopharma-ceuticals. In: Immunomodulatory Agents from Plants (eds. Wagner, H.) Pp. 41-88. Birkhäuser. Basel, Switzerland.

Bauer, R. and Remiger, P. (1989) TLC and HPLC analysis of alkylamides in *Echinaceae* drugs. Planta Medica 55: 3167-371.

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

Beligni, M. V. and Lamattina, L. (2001) Nitric oxide in plants the history is just begining. Plant Cell and Environment 24: 267-278.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-17]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1397.7.23.6.9]

Bor, M. O., Zdemir, F. and Turkan, I. (2003) The effect of salt stress on lipid peroxdation and antioxidants in leaves of sugar beet (*Beta vulgaris* L.) and wild beet (*B. maritima* L.). Plant Science 164: 77-84.

Boyatshinov, A. V. and Asafova, E. V. (2011) Stress responses of wheat leaves to dehydration participation of endogenous NO and effect of sodium nitrpprusside. Russian Journal of Plant Physiology 58: 1034-1039.

Bradford, M. M. (1976) Rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein dye binding. Analytical. Biochemistry 72: 248-254.

Chen, F., Wang, F., Cai., Y. and Mao, W. (2010) Genotype-dependent effect of exogenous nitric oxide on Cd-induced changes in antioxidative metabolism, ultrastructure, and photosynthetic performance in barley seedling (*Hordeum vulgare*). Journal of Plant Growth Regulation 4: 394-408.

Detullio, M. C., Paciolla, C., Dalla Vecchia, F., Rascio, N., Damrco, S., De Gara, L. and Liso, R. (1999) Change in onion root development induced by the inhibition of the ascorbate system on cell division and elongation. Planta 209: 424-434.

EI-Tayeb, M. A. (2005) Response of barley grains to the interactive effect of salinity and salicylic acid. Journal of plant Growth Regulation 46: 215-225.

Giannopolotis, C. N. and Reis, S. K. (1997) Superoxide dismutase. I. Occurrence in higher plants. Plant physiology 59: 309- 314.

Hayouni, E. A., Chraief, I., Abedrabna, M., Bouir, M., Lereau, J.Y., Mohammwd, H. and Hamidi., M. (2008) Tunisian *Salvia officinalis* L. and *Schinus Molle* L. essential oils: Their chemical composition and their preservative effects against Salmonella inoculated in minced beef meat. International Journal of Food Microbiology 125: 242-251.

Heat, R. L. and packer, L. (1968) Photoperoxidation in isolated chloroplasts. I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidantion. Archives of Biochemistry and Biophysics 125: 189-198.

Huaifu, F., Shirong, G., Yansheng, J., Runhua, Z. and Juan, L. (2007) Effect of exogenous nitric oxide on growth, active oxygen species metabolism and photosynthetic characteristics in cucumber seedling under NaCl stress. Frontiers of Agriculture in China 1: 308-314.

In, B. C., Motomura, S., Inamoto, K., Doi, M. and Mori, G. (2007) Multivariente analysis of relation between praharvest environmental factors, postharvest morphological and physiological factors and vase life of cut "Asomi Red" roses. Journal of the Japanese Society for Horticultural Science 76: 66-72.

Jamil, M., Chunlee, C., Rehman, S. U., Baelee, D., Ashraf, M. and Tha, E. S. (2005) Salinity (NaCl) tolerance of *Brassica* species at germination and early seedling growth. Ejeafch 4: 970-976.

Kaya, C., Sonmez, O., Aydemir, S. and Dikilitas, M. (2013) Mitigation effect of glycinebetaine on oxidative stress and some key growth parmeters of maize exposed to salt stress. Turkish Journal of Agriculture and Forestry 7: 188-194.

Kiraly, I. and Czovek, P. (2002) Changes of MDA level and O_2 scavenging enzyme activities in wheat varieties as a result of PEG treatment. Proceeding of the Hungarian on Plant physiology 46: 105-106.

Klessig, D. F., Durner, J., Noud, R., Navarre, D. A., Wandehenne, D., Kumar, D., Zhou, J.M., Shah, J., Zhang, S. and Kachroo, P. (2000) Nitric oxide and salicylic acid signaling inplant defense. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United 97: 8849-8855.

Lei, y., Yin, C., Ren, J. and Li, C. (2007) Effect of osmotic stress and sodium nitroprusside pretreatmeat on proline metabolism of wheat seedlings. Biologis plantarum 516: 386-390.

Li, Q.Y., Niu, H. B., Yin, J., Wang, M.B., Shao, H.B., Deng, D.Z., Chen, X.X., Ren, J.P. and Li, Y.C. (2008) Protective role of exogenous nitric oxide against oxidative-stress induced by salt stress in barley (*Hordeum vulgare*). Colloids and and Surfaces B. Biointerfaces 56: 220-225.

Luck, H. (1974) In: Methods in enzymatic analysis (Ed Beemeyer). Academic press New york 1: 885.

Melchart, D. and Linda, K. (1994) Immunomodulstion with *Echinaceae*, a systematic review of controlled clinical trial. Phytomed 1: 254-255.

Meyers K. J., Watkins C. B., Pritts M. P. and Hai-Liu R., (2003) Antioxidant and antiproliferative activities of strawberries. Agricultural and Food Chemistry 51: 6887-6892.

McGrogor, R. L. (1968) The taxonomy of the genus *Echinaceae* (Compositae). University Science Bulletin 48:113-142.

Miri, Y. and Mirjalili, S. A. (2013). Effects of salinity stress on seed germination and some physiological traits in primary stages of growth in purple coneflower (*Echinacea purpurea*). International Journal of Agronomy and Plant Production 4: 142-146.

Misra, N. and Gupta, A. K. (2006) Effect of salinity and defferent nitrogen sources on the activity of antioxidant enzymes and indole alkaloid content in *Catharanthus roseus* seedling. Journal of Plant Physiology 163: 11-18.

Mittler, R. (2002) Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. Trends in Plant Science 7: 405-410.

Munns, R., Hare, R. A., James, R. A. and Rebetzke, G. J. (2000) Genetic variation for improving the salt resistance of durum wheat. Austrialian Journal of Agriculture Research 51: 69-74.

Nakano, Y. and Asada, K. 1981. Hydrogen proxide is scaveaged by ascorbate specific proxidase in choloroplasts. Plant cell physiology 22: 867-880.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-17]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1397.7.23.6.9]

Netondo, G. W., Onyango, J. C. and Beck, E. (2004) Sorghum and salinity Response of growth, water relations, and ion accumulation to NaCl salinity. Crop Science 44: 797-805.

Noctor, G. and Foyer, C. H. (1998) Ascorbate and glutathione: keeping active oxygen under control. Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology 49: 249-279.

Saqib, M., Akhtar, J. and Qureshi, R. H. (2005) Na^+ exclusion and salt resistance of wheat (*triricum aestivum*) in saline-waterlogged conditions are improved by the development of adventitous nodal roots and cortical root aerenchyma. Plant Science 169: 125-130.

SAS Institute. (2002) SAS/STAT user's Guide, Release G. 12. SAS Institute Cary. North Carolina. USA.

Sabra, A., Daayf, F. and Renault, S. (2012). Differential physiological and biochemical response of three *Echinacea* spesies to salinity stress. Scientia Horticulturae 135: 23-31.

Singh, A. K. (2004) The physiology of salt tolerance in four genotypes of chickpea during germination. Journal of Agricultural Science and Technology 6: 87-93.

Tian, X. and Li, Y. (2007) Nitric oxide treatment alleriates drought stress in wheat seed lings. Biologia plantarum 50: 775-778.

Tu, J., Shen, W. B. and Xu, L. L. (2003) Regulation of nitric oxide on the aging process of wheat leaves. Acta Botanica Sinica 45: 1055-1062.

Yadolahi Zadeh, S., Ramin, A. A. and Baninasab, B. (2015). Effect of gibberellic acid, stratification and salinity on seed germination of *Echinacea purpurea* cv. Magnus. Herba Polonica 61: 13-22.

Yuqi, G., Zengyuan, T., Daoliang, Y., Jie, Z. and Pei, Q. (2009) Effects of nitric oxide on salt stress tolerance in *Kosteletzkya virginica*. Life Science Journal 6: 67-57.

Zekri, M. and Parsons, C. R. (1990) Comparative effect of NaCl and polyethel glycol on root distribution growth and stomatal conductance of sour orange seedling. Plant and soil 129: 137-143.

Zheng, C., Jiang, D., Liu, F., Dai, T., Liu, W., Jing, Q. and Cao, W. (2009) Exogenous nitric oxide improves seed germination in wheat against mitochondrial oxidative damage induced by high salinity. Environmental and Experimental Botany 67: 222-227.

Zhu, J. K. (2002) Salt and drought stress signal transduction in plants. Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology 53: 247-273.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-17]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1397.7.23.6.9]

Effect of sodium nitroprusside (SNP) on some of biochemical characteristics of purple coneflower [*Echinacea purpurea* (L.) Moench] under salinity stress

Seyede Mohadeseh Mohammadi[1], Valiollah Rameeh[2], Mahyar Gerami[3], Samaneh Asadi-Sanam[4*], Majid Khosh rooz[5]

[1] Ms.c graduated of medical plants, [2]Department of Agronomic and Horticulture Crops Research, Mazandaran Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, AREEO, Sari, Iran, [3] Department of Plant Physiology, Sana Institute of Higher Education, Mazandaran, Sari, [4]* Department of Medicinal Plants, Research Institute of Forests and Rangelands, AREEO, Tehran, Iran, [5]Department of Plant Biotechnology, Sana Institute of Higher Education, Mazandaran, Sari.

(Received: 19/05/ 2016, Accepted: 28/08/2016)

Abstract:

In order to evaluate the effect of sodium nitroprusside (SNP) in reducing oxidative stress in purple coneflower (*Echinacea purpurea*) seedlings under saline condition, a factorial experiment with arrange of completely randomized design with four replications was conducted in research greenhouse at Sana Institute of Higher Education in 2015. In this study, the effect of the SNP as doner of nitric oxide (NO) at 4 levels (0, 0.1, 0.2 and 0.4 mM) and 3 levels of salinity stress (0, 75 and 150 mM of NaCl) were evaluated. The results showed that the interaction between SNP and salinity on fresh and dry weight of root and leaf, carotenoid and malondialdehyde (MDA) contents, enzyme activities of superoxide dismutase (SOD), peroxidase (POD) and ascorbate peroxidase (APX) were significant. With increasing of salinity concentration, root fresh and dry weights were decreased, whereas the traits were increased by 0.2 mM of SNP under salinity. The chlorophyll a, b and total chlorophyll contents were decreased with increasing of salinity, whereas the highest amount of carotenoid were measured in 0.4 mM SNP under salinity conditions. The maximum level of MDA (33 nm g^{-1} FW) was related to 0 mM SNP and 150 mM of NaCl. The highest activities of antioxidant enzymes SOD, POD and APX were measured in 0.2 mM SNP and 75 mM of NaCl. The highest CAT activity (6.50 µM g^{-1} FW. Min.) was measured in 0.2 mM SNP that showed 90 % increasing compared with the control treatment. Total protein content was decreased 5.4 % under salinity stress. The highest content of total phenol (8.68 mg gallic acid g^{-1}FW) was also observed in the highest level of salinity. Overall, it seemed that SNP pre-treatment increased resistance of *Echinacea* seedlings under salinity stress by increasing of antioxidant enzymes activity caused.

Keywords: Antioxidant enzymes, Malondialdehyde, Protein, Total phenol, Nitric oxide.

*Corresponding Author, Email: asadisanam@rifr-ac.ir

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-17]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1397.7.23.6.9]