نشریه پژوهش‌های تولید گیاهی
جلد بیست و یکم، شماره سوم، ۱۳۹۳
http://jopp.gau.ac.ir

اثر سدیم نیتروپروساید (SNP) بر برخی ویژگی‌های بیوشیمیایی گیاهچه‌های جو در تنش شوری

سمانه اسدی‌صنم[۱]، *محسن زواره[۲]، همت‌اله پیردشتی[۳] و ابوذر هاشم‌پور[۴]

[۱]دانشجوی دکتری گروه زراعت، دانشگاه گیلان، [۲]استادیار گروه زراعت، دانشگاه گیلان، [۳]دانشیار گروه زراعت، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، [۴]دانشجوی دکتری گروه باغبانی، دانشگاه گیلان

تاریخ دریافت: ۹۱/۱۱/۱۱ ؛ تاریخ پذیرش: ۹۳/۱/۱۷

چکیده

با هدف بررسی نقش سدیم نیتروپروساید در کاهش تنش اکسیداتیو ناشی از تنش شوری در گیاهچه‌های جو، آزمایشی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۳ تکرار در آزمایشگاه زراعت دانشکده علوم کشاورزی دانشگاه گیلان انجام شد. تیمارهای آزمایشی شامل ۲ سطح ۰/۱ و ۰/۲ میلی‌مول سدیم نیتروپروساید (SNP) به‌عنوان دهنده نیتریک‌اکساید (NO) و آب مقطر به‌عنوان شاهد و ۲ سطح شوری (صفر و ۳۰۰ میلی‌مول نمک کلریدسدیم) بودند. در روز هفتم پس از اعمال تیمارها، فعالیت آنزیم‌های سوپراکسیددیسموتاز (SOD)، پراکسیداز (POD)، کاتالاز (CAT)، آسکوربات پراکسیداز (APX) و پلی‌فنل‌اکسیداز (PPO)، پراکسیده‌شدن لیپیدها و اکسیداسیون پروتئین‌های برگ‌ها اندازه‌گیری شد. نتایج آزمایش نشان داد که در تیمار ۰/۱ میلی‌مول SNP و در شرایط شور، آنزیم‌های POD و CAT به‌ترتیب با ۷/۰۷ و ۱۷/٦ میکرومول بر گرم بافت تازه در دقیقه بیش‌ترین فعالیت را داشته‌اند. اثر تنش شوری بر فعالیت آنزیم APX معنی‌دار نبود با این‌حال، بیش‌ترین فعالیت دو آنزیم SOD و APX، در تیمار ۰/۱ میلی‌مول SNP به‌دست آمد. همچنین، NO تأثیر معنی‌داری بر فعالیت آنزیم PPO نداشت. علاوه‌بر این، استفاده از NO خارجی به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدان، پراکسیده شدن لیپیدهای غشا را کاهش داد و سبب تأخیر در تجزیه پروتئین‌ها شد. در کل، به‌نظر می‌رسد که غلظت ۰/۱ میلی‌مولار نیتریک‌اکساید، بهترین غلظت برای گیاهچه‌های جو در شوری شدید است که می‌تواند با تأثیر بر سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانی گیاه، سبب کاهش اثرات نامطلوب تنش و افزایش احتمالی تحمل گیاهچه‌ها در شرایط شور شود.

واژه‌های کلیدی: نیتریک‌اکساید، آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، مالون‌دی‌آلدهید، پروتئین

* مسئول مکاتبه: mzavareh@guilan.ac.ir

مقدمه

شوری یکی از مهم‌ترین تنش‌های غیرزیستی در کشاورزی امروز است (ماهاجان و توتجا، ۲۰۰۵) که بهره‌برداری اقتصادی از زمین‌ها برای تولید گیاهان زراعی را محدود می‌کند و سبب کاهش رشد و باروری گیاهان می‌شود (فراری و همکاران، ۲۰۱۰). کمبود در باروری گیاه به‌علت شوری، در نتیجه اختلال در برخی فرآیندهای فیزیولوژیک و بیوشیمیایی گیاه از جمله رابطه‌های آبی، تبادلات گازی و خودپایداری یون می‌باشد (مانز و تستر، ۲۰۰۸).

گیاه جو در بین غلات دانه‌ریز و به‌طورکلی در بین گیاهان شیرین‌روی، متحمل‌ترین گیاه در برابر شوری با آستانه تحمل ۸ دسی‌زیمنس بر متر است (کاترجی و همکاران، ۲۰۰٦) که با سطح زیرکشتی نزدیک به ۱/٦ میلیون هکتار و تولیدی برابر ۳ میلیون تن، دومین رتبه را پس از گندم در کشور به خود اختصاص داده است (سازمان خواروبار جهانی، ۲۰۱۰). با وجود این‌که جو دارای ژنوتیپ‌های مختلف با سطح تحمل‌های متفاوتی به شوری است، اما دیده شده که عملکرد زیست‌توده ژنوتیپ‌های مختلف آن در غلظت ۱۵۰ مول بر مترمکعب کلریدسدیم (یعنی کم‌تر از یک‌سوم غلظت کلریدسدیم در آب دریا) کاهش قابل‌توجهی (حدود ۵۵ درصد) می‌یابد (گارثوایت و همکاران، ۲۰۰۵).

اثرات تنش شوری بر فیزیولوژی گیاه به‌خوبی تأیید شده است. شوری زیاد می‌تواند موجب سمیت یونی، تنش اسمزی و تنش اکسیداتیو شود که منجر به پراکسیداسیون تدریجی لیپید، اکسیداسیون پروتئین‌ها و غیرفعال‌سازی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان می‌شود (تانو و همکاران، ۲۰۰۹). تنش اکسایشی ناشی از شوری زیاد و درنتیجه آن انباشت گونه‌های فعال اکسیژن (ROS)، از تغییرات بیوشیمیایی متداولی است که در سلول‌های گیاهان در برابر تنش شوری روی می‌دهد (دسچن و همکاران، ۱۹۹۱). عمده‌ترین دلیل سمیت ROSها، تولید رادیکال‌های واکنش‌پذیر هیدروکسیل (OH) می‌باشد (مانز و تستر، ۲۰۰۸).

ترکیب آلدهیدی به‌دست آمده از پراکسیده‌شدن لیپیدهای غشا، با اندازه‌گیری مالون‌دی‌آلدهید (MDA)، قابل سنجش و برآورد است (داکوستا و هیانگ، ۲۰۰۷؛ زو و همکاران، ۲۰۰۸). خسارت اکسیداتیو به پروتئین‌ها هم، شامل تغییرات اسیدهای آمینه در جایگاه‌های ویژه، قطعه‌قطعه شدن زنجیر پپتیدی، تغییر بار الکتریکی و در نهایت مستعد شدن پروتئین برای پروتئولیز گزارش شده است (نوکتور و فویر، ۱۹۹۸). با این‌حال، گیاهان برای کاهش این اثرات مخرب، سازوکارهای مختلفی را در خود ایجاد کرده و توسعه داده‌اند که نمونه‌ای از آن‌ها تولید آنزیم‌های حذف‌کننده ROSها است (تانو

و همکاران، ۲۰۰۹). از جمله این آنزیم‌ها که به‌طور مستقیم در حذف ROSها نقش دارند، می‌توان به سوپراکسیددیسموتاز (SOD)، کاتالاز (CAT) و پراکسیدازهای متنوعی از جمله آسکوربات‌پراکسیداز (APX) اشاره کرد.

آنزیم SOD، رادیکال آزاد اکسیژن (O_2^-) را به آب‌اکسیژنه (H_2O_2) و اکسیژن (O_2) تبدیل می‌کند که اولین واکنش در سمیت‌زدایی ROS می‌باشد. در گام بعدی، آب‌اکسیژنه تولید شده توسط آنزیم کاتالاز و چندین پراکسیداز دیگر حذف می‌شود (داکوستا و هیانگ، ۲۰۰۷). بنابراین، می‌توان گفت که سمیت‌زدایی ROSها می‌تواند یکی از مکانیزم‌های سلولی برای مقابله با تنش شوری باشد. در این‌صورت، یافتن روشی که بتواند با تحریک فعالیت این مکانیزم، گیاهان را از انباشت ROS و خسارت‌های اکسیداتیو بعدی محافظت کند، از اهمیت ویژه‌ای برخوردار خواهد بود.

سدیم نیتروپروساید (SNP) یک ترکیب رهاکننده نیتریک‌اکساید (NO) است که نقش آن در گیاهان موضوع پژوهش‌های مختلفی بوده است (ژنگ و همکاران، ۲۰۰۹؛ لی و همکاران، ۲۰۰۸؛ یوچیدا و همکاران، ۲۰۰۲). نیتریک‌اکساید، خود یک گونه فعال نیتروژن است که تصور می‌شود بتواند به‌عنوان یک مولکول پیام‌رسان در پاسخ‌های سازشی به تنش‌های زیستی و غیرزیستی در گیاهان میانجی‌گری کرده و به‌عنوان یک عامل آنتی‌اکسیدان، ROSها را جمع‌آوری و از بین ببرد (لی و همکاران، ۲۰۰۸؛ آراسیمویز و همکاران، ۲۰۰۷). گرچه NO در کارکردهای گیاهی کم‌تر شناخته شده است، اما پیشرفت‌های اخیر، نقش برجسته آن را در تنظیم بسیاری از کارکردهای رشد گیاهی، نمو و پاسخ به پیام‌های محیطی تأثیرگذار بر ریخت‌زایی نوری، انتقال پیام، جوانه‌زنی دانه، رشد ریشه، تشکیل شاخساره، رسیدگی میوه و پیری نشان داده‌اند (ژنگ و همکاران، ۲۰۰۹؛ بسون- بارد و همکاران، ۲۰۰۸). پژوهش‌ها همچنین، نشان داده‌اند که تیماردهنده NO می‌تواند با واکنش با ROSها و با افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، نقش مهمی در محافظت گیاهان از تنش‌های اکسیداتیو داشته باشد (ژنگ و همکاران، ۲۰۰۹؛ لی و همکاران، ۲۰۰۸). با این‌حال، نقش حفاظتی NO در گیاهان بستگی به غلظت NO، نوع بافت، سن و گونه گیاهی و نوع تنش دارد (بلیگنی و لاماتینا، ۲۰۰۱).

در رابطه با اثر NO در کاهش اثرات تنش شوری، مشاهده شده که کاربرد سدیم نیتروپروساید به‌عنوان دهنده NO، اثرات نامطلوب شوری را کاهش داده است (لوپزکاریون و همکاران، ۲۰۰۸). یوچیدا و همکاران (۲۰۰۲) با کاربرد غلظت یک میکرومولار SNP در گیاهچه‌های برنج و لی و همکاران (۲۰۰۸) با کاربرد غلظت ۰/۲ میلی‌مولار SNP در گیاهچه‌های جو، محافظت در برابر

خسارت اکسیداتیو و افزایش تحمل به تنش اسمزی را گزارش کردند. همچنین، در گیاهچه‌های ۸ روزه برنج، پیش‌تیمار یک میکرومولار سدیم‌نیتروپروساید (SNP) در طول دو روز، موجب افزایش تحمل نمک کلریدسدیم (NaCl) (۱۰۰ میلی‌مولار) شد (یوچیدا و همکاران، ۲۰۰۲). برخی پژوهش‌ها هم، نشان داده‌اند که NO با جانشینی اثر نور و یا شکست خواب بذر سبب افزایش جوانه‌زنی شده است (بسون- بارد و همکاران، ۲۰۰۸).

با وجود پژوهش‌های مختلفی که روی غلات انجام شده، گزارش مدونی روی ارقام ایرانی جو دیده نشد. بنابراین، این آزمایش با هدف بررسی نقش سدیم نیتروپروساید (SNP) به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدان مؤثر و با تأثیرات مطلوب، در کاهش تنش اکسیداتیو ناشی از قرار گرفتن گیاهچه‌های جو در شرایط شور، طراحی و اجرا شد.

مواد و روش‌ها

این مطالعه در تابستان سال ۱۳۹۰ به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در آزمایشگاه زراعت دانشکده کشاورزی دانشگاه گیلان اجرا شد. بذرهای جو "رقم صحرا" پس از ضدعفونی با محلول ۲/۵ درصد هیپوکلریت سدیم به‌مدت ۱۰ دقیقه، در گلدان‌های شامل پرلیت جوانه‌دار شده و به اتاقک رشدی با رژیم ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی، رطوبت نسبی ۶۰ درصد و دمای ۲۳ درجه سلسیوس منتقل شدند. گیاهچه‌ها در این شرایط، به‌مدت ۱۴ روز رشد کرده و هر ۳ روز یک‌بار با ۲۰ میلی‌لیتر از محلول یوشیدا (۱۹۷۶) آبیاری شدند. در طول آزمایش، اسیدیته بستر گیاهچه‌ها بین ۵/۵-۵/۴ حفظ شد. گیاهچه‌های ۱۴ روزه سپس، با دو مقدار سدیم نیتروپروساید (SNP0.1: ۰/۱ و SNP0.2: ۰/۲ میلی‌مول سدیم نیتروپروساید) و با ۲ سطح شوری متفاوت (صفر و ۳۰۰ میلی‌مول کلریدسدیم) تیمار شدند. در این آزمایش، از آب مقطر به‌عنوان شاهد برای سدیم نیتروپروساید (SNP0) استفاده شد. هر تیمار حداقل با ۵۰ گیاهچه و دارای ۳ تکرار بود. در روز هفتم پس از شروع تیمارها، برگ‌های یکنواخت گیاهچه‌های جو جمع‌آوری و به‌سرعت در نیتروژن مایع قرار گرفت. برگ‌های جمع‌آوری شده پس از خروج از نیتروژن مایع، در یخچال ۸۰- درجه سلسیوس نگهداری شد تا میزان پراکسیده شدن لیپیدها، اکسیداسیون پروتئین‌ها و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی سوپراکسیددیسموتاز (SOD)، پراکسیداز (POD)، کاتالاز (CAT)، آسکوربات پراکسیداز (APX) و پلی‌فنل‌اکسیداز (PPO) موجود در آن‌ها، اندازه‌گیری شود.

سنجش میزان پراکسیداسیون لیپیدهای غشا: بـرای سـنجش پراکـسیداسیون لیپیـدهای غـشا، غلظـت مالون‌دی‌آلدهید به‌عنوان محصول پراکسیده شدن اسیدهای چرب غشاها به‌روش هیث و پـاکر (۱۹٦۸) اندازه‌گیری شد. به‌طور خلاصه، در ابتدا ۰/۵ گرم از بافت تازه برگی با نیتروژن مـایع در هـاون چینـی آسیاب گردید و به آن ۵ میلی‌لیتر اسید تری‌کلرو استیک (TCA) ۱ درصد اضافه شد. عصاره به‌دسـت آمده به‌مدت ۲۰ دقیقه با دستـگاه سانتریفیـوژ مـدل (Ependorf 5417 R) در ۱٤۰۰۰ rpm در دمای ٤ درجه سلیسیوس سانتریفیوژ شد. سپس، به ۱ میلی‌لیتر از محلول رویی، ۵ میلی‌لیتر محلول ۲۰ درصد TCA شامل ۰/۵ درصد اسید تیوباربیتوریک (TBA) اضافه شد. مخلوط حاصل به‌مدت ۳۰ دقیقـه در دمای ۹۵ درجه سلسیوس قرار گرفت و بلافاصله در یخ، سرد شـد. سـپس نمونـه‌هـا دوبـاره در rpm ۱۰۰۰۰ به‌مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ شدند. مـاده قرمـز رنـگ مـالون‌دی‌آلدهیـد- اسـید تیوباربیوتریـک (MDA-TBA) تولید شده در طول موج ۵۳۲ نانومتر با استفاده از اسپکتروفتومتر (PG Instrument +80) انـدازه‌گیـری شـد و جـذب سـایر رنگیـزه‌هـای اختـصاصی در ٦۰۰ نـانومتر خوانـده شـد. غلظـت مالون‌دی‌آلدهید بر حسب نانومول بر گرم بافت تازه محاسبه شد.

استخراج و سنجش پروتئین: ۰/۵ گرم بافت تازه برگ با کمک نیتروژن مایع در هاون چینـی آسـیاب شد و پس از آن به بافت آسیاب شده، ۱ میلی‌لیتـر بـافر فـسفات ۵۰ میلـی‌مـولار (اسـیدیته ۷) شـامل EDTA ۰/۵ مولار و PVPP ۲ درصد اضافه گردید. محلـول حاصـل در دمـای ٤ درجـه سلـسیوس به‌مدت ۲۰ دقیقه در rpm ۱٤۰۰۰ سانتریفیوژ شد. سپس محلول رویی، برای سنجش غلظت پـروتئین محلول با استفاده از روش برادفورد (۱۹۷٦) و معرف بیوره و همچنـین، بررسـی فعالیـت آنـزیم‌هـای SOD، POD، CAT، APX و PPO مورد استفاده قرار گرفت.

تهیه بیوره: ۰/۱ گرم کوماسی بریلیانت بلو $G_{۲۵۰}$ را در ۵۰ میلی‌لیتر اتانول ۹۵ درصد بـه‌مـدت حـداقل ۱ ساعت حل شد و پس از اضافه کردن ۱۰۰ میلی‌لیتر اسید فسفریک ۸۵ درصـد بـه آن، قطـره قطـره حجم کل با آب مقطر به ۱ لیتر افزایش یافت؛ محلول حاصل با کاغذ صافی واتمـن شـماره ۱ صـاف شد. ۱۰۰ میکرولیتر از هر عصاره گیاهی به لوله شامل ۵ میلی‌لیتر معرف بیوره افزوده و بـه‌سـرعت بـا ورتکس به‌هم زده و پس از ۲۵ دقیقه، جذب با دسـتگاه اسـپکتروفتومتر در طـول مـوج ۵۹۵ نـانومتر خوانده شد.

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌ها

فعالیت آنزیم SOD: سنجش فعالیت آنزیم SOD با استفاده از روش گیانوپولیتیس و رایس (۱۹۷۷) اندازه‌گیری شد. محلول واکنش آنزیمی شامل ۹۳۵ میکرولیتر بافر فسفات ۵۰ میلی‌مولار شامل EDTA ۰/۱ میلی‌مولار، متیونین ۱۳ میلی‌مولار و NBT ۷۵ میکرومولار و ۱۵ میکرولیتر ریبوفلاوین ۰/۱۲ میلی‌مولار و ۵۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی استخراج شده بود. کووت‌های شامل مخلوط واکنش، به‌مدت ۱۵ دقیقه در حالی‌که به‌آرامی تکان داده می‌شدند در معرض نور فلورسانس قرار گرفتند و سپس جذب نمونه‌ها در طول موج ٥٦٠ نانومتر قرائت شد. برای سنجش فعالیت این آنزیم، علاوه‌بر 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 می‌شود. سپس جذب آن، با دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ٥٦٠ نانومتر خوانده شده و فعالیت آنزیمی بر حسب میکرومول بر گرم بافت تازه محاسبه شد.

فعالیت آنزیم POD: برای سنجش فعالیت آنزیم POD از روش یین و همکاران (۲۰۰۷) استفاده شد: ٤٩٠ میکرولیتر آب‌اکسیژنه ۲۲۵ میلی‌مولار و ٤٩٠ میکرولیتر محلول گایاکول ٤٥ میلی‌مولار در دمای پایین (ظرف شامل یخ) با هم مخلوط گردید و به آن ۲۰ میکرولیتر عصاره 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.

فعالیت آنزیم CAT: برای سنجش فعالیت آنزیم CAT از روش لاک (١٩٧٤) استفاده شد: ۲۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی با ۹۸۰ میکرولیتر از بافر فسفات شامل آب‌اکسیژنه ۲ میلی‌مولار مخلوط شدند و تغییرات جذب آن‌ها در طول موج ٢٤٠ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شد. فعالیت آنزیمی بر حسب میکرومول بر گرم بافت تازه در دقیقه محاسبه شد.

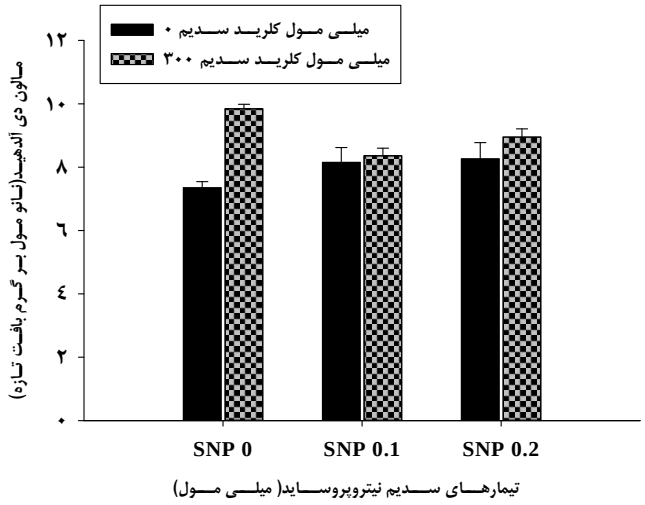
فعالیت آنزیم APX: برای سنجش فعالیت آنزیم APX از روش ناکانو و آسادا (۱۹۸۱) استفاده شد: ۷۷۰ میکرولیتر بافر فسفات ۵۰ میلی‌مولار با اسیدیته ۷ با ۱۰۰ میکرولیتر EDTA ۰/۱ میلی‌مولار، ۱۰۰ میکرولیتر اسید آسکوربیک ۵ میلی‌مولار و ۱۰ میکرولیتر آب‌اکسیژنه ۰/۱ میلی‌مولار مخلوط شدند. سپس، با اضافه کردن ۲۰ میکرولیتر 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.

فعالیت آنزیم PPO: سنجش فعالیت آنزیم PPO با استفاده از روش شاتا و ال- شامعی (۱۹۹۹) با کمی تغییر اندازه‌گیری شد: ٤۹۰ میکرولیتر بافر فسفات ۰/۵ مولار و ٤۹۰ میکرولیتر پیروکاتکول ۰/۰۲ مولار به ۲۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی اضافه شد و سپس منحنی تغییرات جذب در طول موج ٤۲۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شد. فعالیت آنزیمی بر حسب میکرومول بر گرم بافت تازه در دقیقه محاسبه شد.

برای تجزیه آماری داده‌های به‌دست آمده، از رویه‌های نرم‌افزار SAS نسخه ۹ استفاده شد. مقایسه میانگین تیمارها، با آزمون LSD انجام شد. P<۰/۰۵ به‌عنوان سطح معنی‌دار بودن اختلاف‌ها در نظر گرفته شد. نمودارها، با نرم‌افزار SigmaPlot نسخه ۱۲ رسم شد.

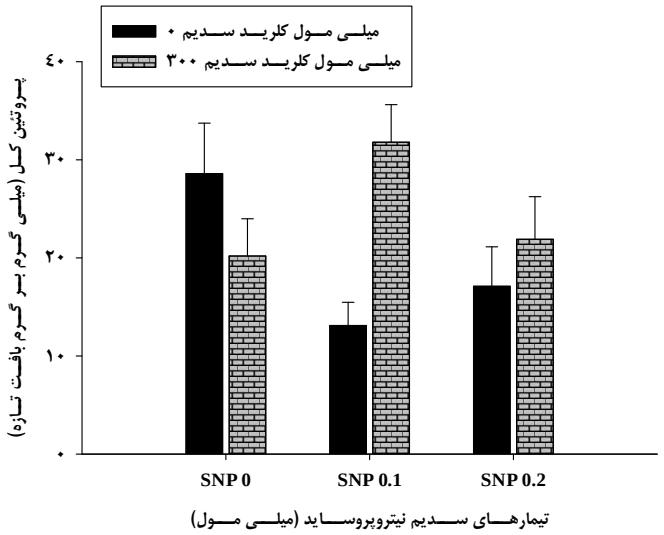
نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس این آزمایش، تأثیر معنی‌دار شوری و برهم‌کنش آن با نیتریک‌اکساید بر مقدار MDA به‌عنوان محصول نهایی پراکسیداسیون لیپیدی غشا را در گیاهچه‌های جو نشان داد (جدول ۱). مقایسه میانگین‌ها نشان داد که بیشترین محتوای MDA (۹/۸ نانومول بر گرم بافت تازه) مربوط به گیاهچه‌های روییده در غلظت ۳۰۰ میلی‌مول کلرید سدیم و استفاده نکردن از SNP است (شکل ۱) که به احتمال زیاد ناشی از افزایش تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن در شوری زیاد است. این رادیکال‌ها بسیار واکنش‌گر بوده و می‌توانند با خارج کردن H^+ از فسفولیپیدها، موجب تشکیل رادیکال فعال اسید چرب شوند؛ رادیکال‌هایی که در حضور اکسیژن با تولید پراکسید اسید چرب می‌توانند سبب تخریب چربی‌ها و غشای سلولی شوند (لی و همکاران، ۲۰۰۸). مقایسه میانگین‌ها همچنین، نشان داد که کاربرد نیتریک‌اکساید خارجی سبب کاهش اکسیداسیون لیپیدهای غشای سلول و محتوای مالون‌دی‌آلدهید در برگ‌های گیاهچه‌های جو شده است زیرا با اعمال غلظت‌های ۰/۱ و ۰/۲ میلی‌مولار SNP در شرایط شور، مقدار MDA در مقایسه با تیمار شاهد (استفاده نکردن از SNP) کاهش یافت (شکل ۱)؛ بیش‌ترین کاهش (۸/۳٦ نانومول بر گرم بافت تازه) مربوط به غلظت ۰/۱ میلی‌مولار SNP بود که به‌طور معنی‌داری پایین‌تر از تیمار شاهد (SNP0) قرار داشت (شکل ۱).



شکل ۱- اثر برهم‌کنش غلظت‌های SNP و شوری بر تغییرات MDA برگ‌های جو.

مقدار خطای معیار با علامت میله‌ای نشان داده شده است. مقدار LSD (P<۰/۰۵) برای برهمکنش SNP × شوری: ۰/۷۲



شکل ۲- اثر برهم‌کنش غلظت‌های SNP و شوری بر تغییرات پروتئین برگ‌های جو.

مقدار خطای معیار با علامت میله‌ای نشان داده شده است. مقدار LSD (P<۰/۰۵) برای برهمکنش SNP × شوری: ۸/۷۳

این‌گونه به‌نظر می‌رسد که نقش NO در غلظت پایین (۰/۱ میلی‌مولار) در جلوگیری از پراکسیداسیون لیپیدها، مربوط به توانایی NO در واکنش با رادیکال‌های آلکوکسیل (LO) و لیپید پراکسیل (LOO) و در نتیجه، توقف زنجیره پراکسیداسیون لیپیدها باشد (لی و همکاران، ۲۰۰۷). از طرفی، تصور می‌شود در غلظت‌های بالای SNP به‌ویژه ۰/۲ میلی‌مولار، NO با تولید بیش از حد رادیکال پراکسی‌نیتریت ($ONOO^-$)، ایجاد تنش نیتروزاتیو کند و با رادیکال‌های اکسیژن در تخریب سلول به‌صورت همکاری عمل نماید. نقش مؤثر نیتریک‌اکساید برون‌زاد در پاک‌سازی رادیکال‌های آزاد و کاهش پراکسیداسیون لیپیدها به‌وسیله ژنگ و همکاران (۲۰۰۹) و تیان و لی (۲۰۰۷) در گندم و لی و همکاران (۲۰۰۸) در جو هم، تأکید شده است.

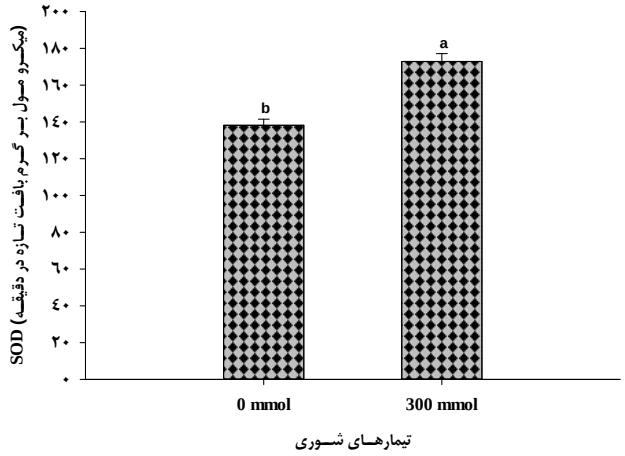
در این آزمایش، مقدار پروتئین برگ‌ها هم تحت‌تأثیر معنی‌دار برهم‌کنش شوری × نیتریک‌اکساید قرار گرفت (جدول ۱). در شرایط شور و بدون استفاده از SNP، مقدار پروتئین برگ‌ها کاهش یافت (شکل ۲) اما مقدار پروتئین موجود در عصاره نمونه‌هایی که با نیتریک‌اکساید در شرایط شور تیمار شدند، نسبت به گیاهچه‌هایی که تیمار آن‌ها با آب خالص بوده است، افزایش معنی‌داری (جدول ۱؛ $P<۰/۰۵$) نشان می‌دهد؛ این افزایش برای غلظت ۰/۱ سدیم نیتروپروساید در مقایسه با آب خالص (SNP0) ۵۷/٤ درصد بود (شکل ۲).

کاهش در میزان پروتئین تحت تنش شوری و در شرایط استفاده نکردن از SNP برون‌زاد می‌تواند به‌علت کاهش در سنتز پروتئین، تسریع پروتئولیز و واسرشت پروتئین‌ها، اکسیداسیون اسیدهای آمینه به گروه‌های کربونیل، افزایش نیترات، آمونیوم و اسیدهای آمینه آزاد، کاهش فعالیت آنزیم‌های نیترات ردوکتاز و گلوتامین سنتتاز و تجزیه آنزیم‌های درگیر در سنتز پروتئین‌ها باشد (شارما و دیتز، ۲۰۰۹). به‌نظرمی‌رسد تیمار گیاهان با SNP، نقش به‌سزایی در حفاظت پروتئین‌ها در شرایط تنش داشته باشد. افزایش مقدار پروتئین‌ها در گیاهچه‌های تیمار شده با SNP، می‌تواند از یک‌سو به‌علت کاهش آسیب‌های اکسیداتیو ناشی از شوری و از سوی دیگر به‌علت القای سنتز برخی آنزیم‌ها مانند آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی باشد. در واقع، در شرایط تنش، NO در غلظت پایین توانست در گیاه به‌عنوان پیامبر ثانویه عمل کند و سبب افزایش فعالیت و یا القای بیان برخی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مانند APX شود و به گیاه در تحمل تنش کمک کند (نصیبی، ۲۰۱۰). از طرفی، افزایش مقدار پروتئین در شرایط تنش می‌تواند به احتمال زیاد به سبب تولید برخی پروتئین‌های خاص و یا کاهش مقدار رطوبت نسبی گیاه و افزایش غلظت پروتئین باشد. با این‌حال، کاهش مقدار پروتئین در شرایط طبیعی رشد گیاه

می‌تواند به‌دلیل ترکیب NO با رادیکال سوپراکسید و تولید رادیکال سمی $ONOO^-$ باشد که سمی بودن این ترکیب در مقایسه با یون سوپراکسید و پراکسید هیدروژن بسیار کم‌تر است (بلیگنی و لاماتینا، ۲۰۰۱). بنابراین، با توجه به این یافته‌ها به‌نظر می‌رسد که نیتریک‌اکساید برون‌زاد توانسته به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدان مؤثر موجب تأخیر در تجزیه پروتئین‌ها و افزایش تحمل شوری در گیاهچه‌های جو شود (شکل ۲)؛ این نتیجه با نتایج شی و همکاران (۲۰۰۷) در خیار و لی و همکاران (۲۰۰۸) در جو در بررسی نقش حفاظتی SNP در تنش شوری، همخوانی دارد.

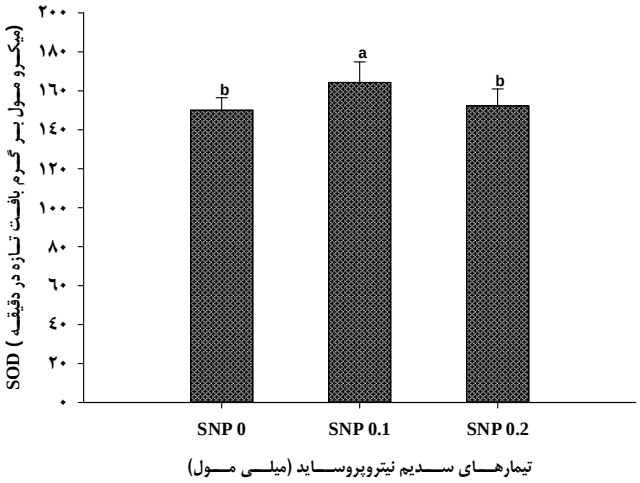
با توجه به نتایج به‌دست آمده از این آزمایش، تنش شوری افزایش معنی‌داری بر فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز (جدول ۱؛ P<۰/۰۱ و شکل ۳) داشته است. تنش شوری موجب اختلال در وضعیت آبی سلول و کاهش پتانسیل آب آن، کاهش رشد گیاه، افزایش تولید یون‌های مخرب از جمله آنیون‌های سوپراکسید و خسارت اکسیداتیو در سلول می‌شود. در چنین شرایطی، فعالیت آنزیم SOD به‌عنوان یک آنزیم از بین‌برنده یون سوپراکسید افزایش می‌یابد (میتوا و همکاران، ۲۰۰٤). تیمار سدیم نیتروپروساید هم، بر فعالیت SOD تأثیر معنی‌دار داشت (جدول ۱ و شکل ٤). بیش‌ترین فعالیت آنزیم SOD (۱٦٤/۳ میکرومول بر گرم بافت تازه در دقیقه) در غلظت ۰/۱ میلی‌مولار SNP به‌دست آمد (شکل ٤)؛ این افزایش فعالیت، می‌تواند سمیت‌زدایی یون سوپراکسید را افزایش داده و سبب کاهش آسیب‌های اکسیداتیو به‌دست آمده از آن شود. با افزایش غلظت NO (SNP0.2)، فعالیت این آنزیم تا حالت عدم وجود تفاوت معنی‌دار با شاهد (SNP0) کاهش یافت (شکل ٤).

شی و همکاران (۲۰۰۷) هم نقش NO در کاهش تنش اکسیداتیو را مربوط به توانایی NO در القای آنزیم SOD و تبدیل یون سوپراکسید به پراکسیدهیدروژن و اکسیژن مولکولی می‌دانند و بیان می‌کنند که اگر پراکسیدهیدروژن تولید شده به‌موقع از سلول دفع نشود، آنیون‌های سوپراکسید واکنش داده و تولید رادیکال هیدروکسیلی می‌کنند که بسیار سمی و واکنش‌پذیر هستند. از طرفی، NO با تبدیل آنیون سوپراکسید به پراکسیدهیدروژن، این آنیون را از سلول حذف می‌کند و از طرفی دیگر با القای آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان مانند آنزیم آسکوربات‌پراکسیداز، سمیت آب‌اکسیژنه را نیز کاهش می‌دهد (کوپیرا و گودز، ۲۰۰۳). همچنین، NO می‌تواند به‌طور مستقیم با آنیون سوپراکسید ترکیب شده و تولید رادیکال پراکسی‌نیتریت ($ONOO^-$) کند که سمیت و خسارت‌های آن به سلول بسیار کم‌تر از رادیکال‌های اکسیژن است (بلیگنی و لاماتینا، ۲۰۰۱). در تأیید این نتایج، بسیاری از پژوهش‌ها کارکرد نیتریک‌اکساید را در کاهش تنش اکسیداتیو به القای فعالیت آنزیم‌های حذف‌کننده رادیکال‌های آزاد نسبت داده‌اند (لی و همکاران، ۲۰۰۸؛ ژنگ و همکاران، ۲۰۰۹؛ یوچیدا و همکاران، ۲۰۰۲).



شکل ۳- اثر تیمارهای شوری بر فعالیت آنزیم SOD.

مقدار خطای معیار با علامت میله‌ای نشان داده شده است.



شکل ٤- اثر غلظت‌های SNP بر فعالیت آنزیم SOD.

مقدار خطای معیار با علامت میله‌ای نشان داده شده است.

جدول ۱- نتایج تجزیه واریانس تأثیر تیمارهای آزمایشی بر ویژگی‌های بیوشیمیایی مورد مطالعه

منابع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات						
		MDA	PRO	SOD	POD	CAT	APX	PPO
SNP	۲	۰/۱۷۰ns	۳٦/٤ns	۳٥۲/۹*	۱۱/۱ ns	٤٤/۱*	۱۰٥۷۳/۷**	۰/۰۱٥ ns
شوری	۱	٤/۷۱**	۱٥/٥ ns	٥٤۳۲/۳**	۱٥/۲*	۹/۰۲ ns	۹۰٥/۲ ns	۰/۲٤۷**
SNP×شوری	۲	۲/٦٥**	۳۲٦/٦*	۱٦۷/۲ ns	۲/۷۳*	۳۹/۹*	۱۸٤٦/۱ ns	۰/۰۳۳ ns
خطای آزمایش	۱۲	۰/۳۳	٤۸/۲	۸۹/۷	۰/۳۹	۸/٥٦	۷٤۰/۱	۰/۰۱٦
ضریب پراکندگی		٦/۷	۲٥/۷	٦/۱	۱۱/۱	۲٤/٥	۲٤/٤	۹/٦

ns= عدم تفاوت معنی‌دار، * و **= به‌ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ٥ و ۱ درصد

MDA: مالون‌دی‌آلدهید، PRO: پروتئین، SOD: آنزیم سوپراکسیددیسموتاز، POD: آنزیم پراکسیداز، CAT: آنزیم کاتالاز، APX: آنزیم آسکوربات پراکسیداز، PPO: آنزیم پلی‌فنل‌اکسیداز، SNP: سدیم نیتروپروساید.

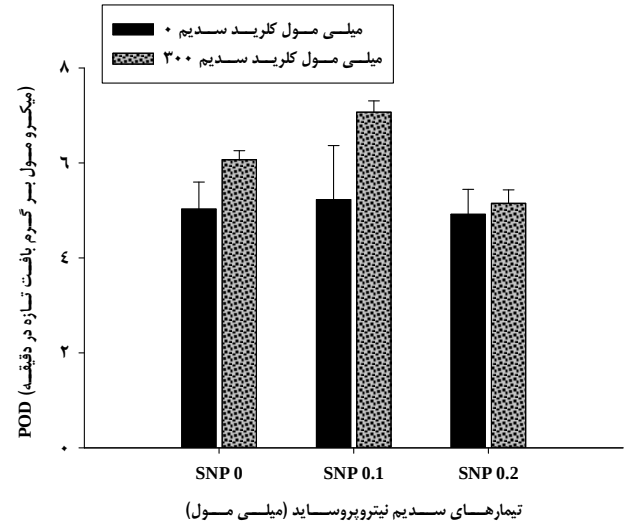
طبق نتایج به‌دست آمده، تنش شوری فعالیت آنزیم POD را هم در برگ‌های جو نسبت به شاهد افزایش داد (جدول ۱ و شکل ٥). بیشینه فعالیت این آنزیم (۷/۰۷ میکرومول برگرم بافت تازه در دقیقه) مربوط به گیاهچه‌های تیمار شده با نیتریک‌اکساید ۰/۱ میلی‌مولار و شوری ۳۰۰ میلی‌مول کلریدسدیم بود (شکل ٥) در حالی‌که افزایش غلظت نیتریک‌اکساید به ۰/۲ میلی‌مولار، سبب کم‌ترین فعالیت آنزیمی (٥/۱٥ میکرومول بر گرم بافت تازه در دقیقه) در شرایط شور و حتی نسبت به شاهد (SNP0) شد (شکل ٥). پراکسیدازها مسئول حذف مقادیر اضافی پراکسیدهیدروژن می‌باشند (کوپیرا و گودز، ۲۰۰۳). در این پژوهش، تیمار نیتریک‌اکساید در غلظت ۰/۱ میلی‌مولار، احتمالاً توانسته با دارا بودن خواص آنتی‌اکسیدانی و با دخالت در پاک‌سازی یون سوپراکسید، تولید پراکسیدهیدروژن درون‌سلولی را در شرایط تنش کاهش دهد و سبب افزایش فعالیت آنزیم POD شود.

فعالیت آنزیم CAT تحت‌تأثیر برهم‌کنش معنی‌دار SNP × شوری قرار گرفت (جدول ۱ و شکل ٦). اثر مثبت تیمار NO در شرایط شور بر فعالیت آنزیم CAT هم، در غلظت ۰/۱ میلی‌مولار SNP به‌دست آمد (شکل ٦). فعالیت این آنزیم با افزایش غلظت SNP در شرایط شور کاهش یافت ولی دارای اختلاف معنی‌داری نسبت به تیمار شاهد (استفاده نکردن از SNP) بود (شکل ٦). براساس نتایج این آزمایش، کاربرد NO تاحدی موجب پاک‌سازی رادیکال‌های آزاد و بهبود تحمل شوری در گیاهچه‌های جو شده است.

در این آزمایش، اثر تنش شوری (۳۰۰ mmol NaCl) بر فعالیت آنزیم APX معنی‌دار نبود (جدول ۱) ولی با کاربرد SNP، مشاهده شد که تیمار ۰/۱ میلی‌مولار SNP فعالیت آنزیم APX را به‌طور بسیار معنی‌داری القا کرد (جدول ۱ و شکل ۷) به‌طوری‌که، به بالاترین مقدار خود (۱۲۰/٦ میکرومول بر گرم بافت تازه در دقیقه) در بین تیمارهای SNP رسید. نتایج مشابه در ریشه کدو تحت تیمار شوری و ریشه لوبیا تحت تیمار کادمیوم (Cd) (کوپیرا و گودز، ۲۰۰۳) و همچنین، در برگ گوجه‌فرنگی تحت تیمار خشکی (نصیبی، ۲۰۱۰) گزارش شده است. فعالیت این آنزیم هم، در تیمار ۰/۲ میلی‌مولار SNP تا حد شاهد بدون استفاده از SNP کاهش یافت (شکل ۷).

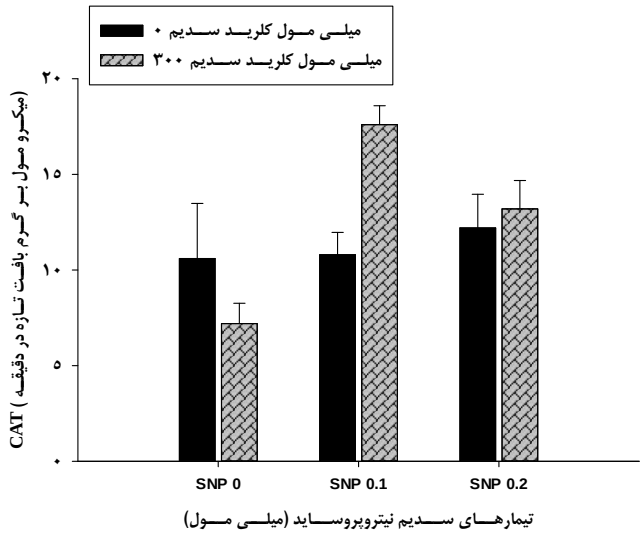
در بیش‌تر موارد مشاهده شده در این بررسی، افزایش غلظت NO به ۰/۲ میلی‌مولار، فعالیت آنزیم‌ها را نسبت به غلظت ۰/۱ میلی‌مولار آن کاهش داده است که، به‌علت عدم توانایی گیاهچه‌ها در حفاظت پروتئین‌ها در برابر رادیکال‌های آزاد اکسیژن و غلظت بالای رادیکال پراکسی‌نیتریت تولید شده در طی تنش شوری است. از طرفی، این نکته قابل ذکر است که احتمالاً غلظت‌های بالای SNP در گیاهچه‌های جو، نقش همکاری با ROS داشته و شدت تنش را افزایش داده اند که مقدار دقیق حد غلظت بالا در گیاهان مختلف، متفاوت است. در مطالعات دیگر هم، کاهش فعالیت برخی آنزیم‌ها مانند SOD، POD و APX در غلظت‌های بالای NO گزارش شده است که پژوهش‌گران این اثر را، به تنش نیتروزاتیو ایجاد شده در این غلظت‌ها مربوط دانسته‌اند (نصیبی، ۲۰۱۰؛ وندهن و همکاران، ۲۰۰۱).

ترکیبات فنلی توسط آنزیم PPO و POD اکسید می‌شوند (سوسا و همکاران، ۲۰۰۲). در این آزمایش، فعالیت آنزیم PPO تنها تحت‌تأثیر معنی‌دار شوری قرار گرفت و افزایش یافت (جدول ۱ و شکل ۸). آنزیم PPO، موجب تبدیل ترکیبات منوفنل به دی‌فنل و یا تبدیل دی‌فنل به کینون می‌گردد (هایرولا و تونسر، ۲۰۰۳)؛ بنابراین، احتمالاً افزایش فعالیت این آنزیم در شرایط تنش (شکل ۸) در جهت کاهش فنل‌های اسیدی می‌باشد. گزارش شده است که ترکیبات فنلی با دادن الکترون به آنزیم‌های تیپ پراکسیداز و سم‌زدایی آب‌اکسیژنه تولید شده، می‌توانند در سلول به‌عنوان آنتی‌اکسیدان عمل کنند (ساکیهاما و همکاران، ۲۰۰۲). با این‌وجود، در این پژوهش اثر تیمار NO بر فعالیت این آنزیم معنی‌دار نبوده است (جدول ۱).



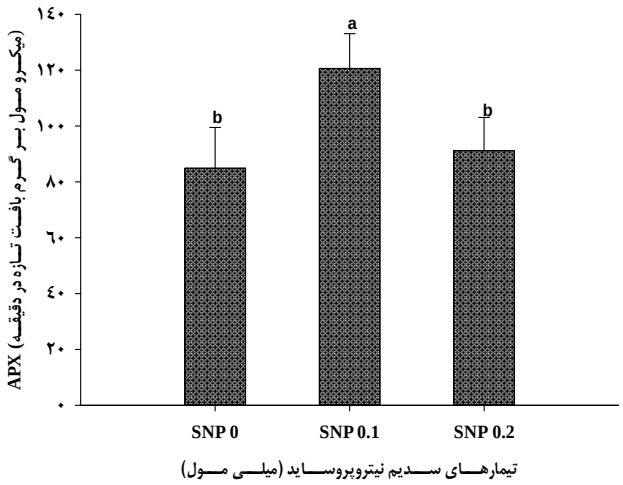
شکل ۵- اثر برهم‌کنش غلظت‌های SNP و شوری بر فعالیت آنزیم POD در برگ‌های جو.

مقدار خطای معیار با علامت میله‌ای نشان داده شده است. مقدار LSD (P<۰/۰۵) برای برهمکنش SNP × شوری: ۰/۷۹



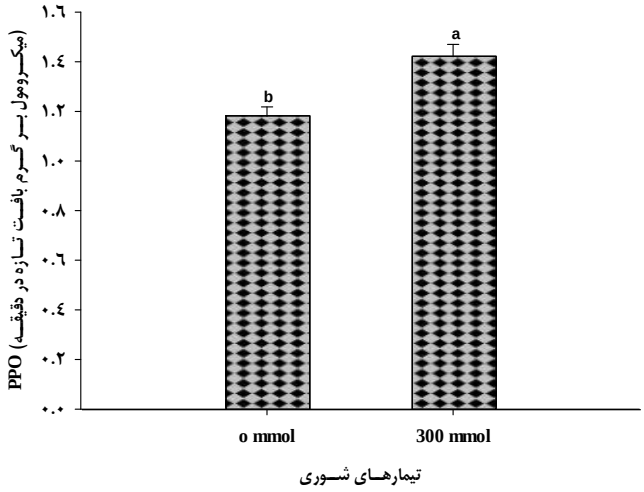
شکل ٦- اثر برهم‌کنش غلظت‌های SNP و شوری بر فعالیت آنزیم CAT در برگ‌های جو.

مقدار خطای معیار با علامت میله‌ای نشان داده شده است. مقدار LSD (P<۰/۰۵) برای برهمکنش SNP × شوری: ۳/٦۸



شکل ۷. اثر غلظت‌های SNP بر فعالیت آنزیم APX.

مقدار خطای معیار با علامت میله‌ای نشان داده شده است.



شکل ۸. اثر تیمارهای شوری بر فعالیت آنزیم PPO.

مقدار خطای معیار با علامت میله‌ای نشان داده شده است.

نتیجه‌گیری

به‌طورکلی، با توجه به یافته‌های این آزمایش، به‌نظر می‌رسد که SNP در غلظت‌های پایین (۰/۱ میلی‌مولار) مانع عملکرد ROSها می‌شود و در نتیجه، خسارت‌های ناشی از این رادیکال‌ها را کاهش می‌دهد. ازطرفی، غلظت‌های پایین SNP در گیاهان به‌عنوان یک پیام‌بر ثانویه، سبب افزایش فعالیت و یا القای بیان برخی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان می‌شود که به گیاه کمک می‌کند تا بهتر بتواند شرایط تنش را تحمل کند. به بیان دیگر، نتایج این آزمایش نشان داد که NO با اثراتی که بر انباشت پروتئین و افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان بر جای گذاشت، توانست به‌طور مؤثری سبب کاهش خسارت به اسیدهای چرب و پروتئین‌ها شده و با تأثیر بر سامانه دفاعی آنتی‌اکسیدانی گیاه سبب کاهش اثرات نامطلوب تنش در شرایط شوری شدید شود. بررسی‌های بیش‌تر در مورد کارکرد اثر SNP بر گیاهان و بهبود تحمل آن‌ها به شوری لازم است.

منابع

1. Arasimowicz, M., and Floryszak-Wieczorek, J. 2007. Nitric oxide as a bioactive signaling molecule in plant stress responses. Plant Sci. 172: 876-887.
2. Beligni, M.V., and Lamattina, L. 2001. Nitric oxide in plants: the history is just beginning. Plant, Cell Environ. 24: 267-278.
3. Besson-Bard, C., Courtois, A., Gauthier, A., Dahan, J., Dobrowolska, G., Jeandroz, S., Pugin, A., and Wendehenne, D. 2008. Nitric oxide in plants: production and cross-talk with Ca^{2+} signalling. Molcular Plant. 1: 218-228.
4. Bradford, M.M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of micro gram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Analytical Biochem. 72: 248-254.
5. DaCosta, M., and Huang, B. 2007. Changes in antioxidant enzyme activities and lipid peroxidation for bent grass species in response to drought stress. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 132: 319-326.
6. Deschene, A., Paliyath, G., Lougheed, E.C., Dumbroff, E.B., and Thompson, J.E. 1991. Membrane deterioration during postharvest senescence of broccoli florets: modulation by temperature and controlled atmosphere. Postharvest Biol. Technol. 1: 19-31.
7. FAOSTAT. 2010. FAO statistical database *available at www.fao.org*.
8. Frary, A., Gol, D., Keles, D., Okmen, B., Pinar, H., Sigva, H., Yemenicioglu, A., and Doganlar, S. 2010. Salt tolerance in *Solanum pennellii*: antioxidant response and related QTL. BMC Plant Biol. 10: 1-58.
9. Garthwaite, A., Bothmer, R., and Colmer, T. 2005. Salt tolerance in wild Hordeum species is associated with restricted entry of Na^{+} and Cl^{-} into the shoots. J. Exp. Bot. 56: 2365-2378.

10.Giannopolitis, C., and Ries, S. 1977. Superoxide dismutase. I. Occurrence in higher plant. Plant Physiol. 59: 309-314.
11.Heath, L.R., and Packer, L. 1968. Photoperoxidation in isolated chloroplasts. I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. Arch. Biochem. Biophy. 125: 189-198.
12.In, B.C., Motomura, S., Inamoto, K., Doi, M., and Mori, G. 2007. Multivariente analysis of relation between preharvest environmental factors, postharvest morphological and physiological factors and vase life of cut Asomi Red Roses. Japan. Soc. Hort. Sci. 76: 66-72.
13.Katerji, N., Van Hoorn, J.W., Hamdy, A., Mastrorilli, M., and Fares, C. 2006. Classification and salt tolerance analysis of barley varieties. Agri. Water Manag. 85: 1-2. 184-192.
14.Kopyra, M., and Gwozdz, E.A. 2003. Nitric oxide stimulates seed germination and counteracts the inhibitory effect of heavy metals and salinity on root growth of *Lupinus luteus*. Plant Physiol. Biochem. 41: 1011-1017.
15.Laspina, N.V., Groppa, M.D., Tomaro, M.L., and Benavides, M.P. 2005. Nitric oxide protects sunflower leaves against Cd-induced oxidative stress. Plant Sci. 169: 323-330.
16.Lei, Y., Yin, C., Ren, J., and Li, C. 2007. Effect of osmotic stress and sodium nitroprusside pretreatment on proline metabolism of wheat seedlings. Biologia Plantarum. 516: 386-390.
17.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 Surfaces B:Biointerfaces. 56: 220-225.
18.Lopez-Carrion, A.I., Castellano, R., Rosales, M.A., Ruiz, J.M., and Romero, L. 2008. Role of nitric oxide under saline stress: implications on proline metabolism. Biol. Plant. 52: 587-591.
19.Luck, H. 1974. In: Methods in Enzymatic Analysis (Ed Bergmeyer). Academic Press New York. 1: 885.
20.Mahajan, S., and Tuteja, N. 2005. Cold, salinity and drought stressed: an overview. Arch. Biochem. Biophy. 444: 139-158.
21.Mittova, V., Guy, M., Tal, M., and Volokita, M. 2004. Salinity up-regulates the antioxidative system in root mitochondria and peroxisomes of the wild salt-tolerant tomato species *Lycopersicon pennellii*. J. Exp. Bot. 55: 1105-1113.
22.Munns, R., and Tester, M. 2008. Mechanisms of salinity tolerance. Ann. Rev. Plant Biol. 59: 651-681.
23.Nasibi, F., Manochehri Kalantari, Kh., and Khodashenas, M. 2010. Effect of sodium nitroprusside (SNP) on some biochemical characteristics of tomato seedlings (*Lycopersicum esculentum*) under drought stress. J. Agric. Sci. Natur. Resour. 16: 2. 16. (In Persian)
24.Nakano, Y., and Asada, K. 1981. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-

specific peroxidase in spinach chloroplasts. Plant Cell Physiol. 22: 867-880.
25. Noctor, G., and Foyer, C.H. 1998. Ascorbate and glutathione: keeping active oxygen under control. Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Molecular Biol. 49: 249-279.
26. Sakihama, Y., Cohen, M., Grace, S., and Yamasaki, H. 2002. Plant phenolic antioxidant and prooxidant activities phenolic-induced oxidative damage mediated by metals in plant. Toxicol. 177: 67-80.
27. Sharma, S.S., and Dietz, K.J. 2009. The relationship between metal toxicity and cellular redox imbalance. Trends Plant Sci. 14: 43-50.
28. Shatta, A., and EI-Shamei, Z. 1999. Differentiation of eggplant (*Solanum melongena* L.) polyphenoloxidase, laccase and peroxidase using selective substrates and inhibitors. Adv. Food Sci. 21: 79-83.
29. Shi, Q., Ding, F., Wang, X., and Wei, M. 2007. Exogenous nitric oxide protects cucumber roots against oxidative stress induced by salt stress. Plant Physiol. Biochem. 45: 542-550.
30. Sosa, M.R., Juan, M.R., and Luis, R. 2002. Resistance to cold and heat stress: accumulation of phenolic compounds in tomato and watermelon plants. Plant Sci. 160: 315-321.
31. Tanou, G., Molassiotis, A., and Diamantidis, G. 2009. Induction of reactive oxygen species and necrotic death-like destruction in strawberry leaves by salinity. Environ. Exp. Bot. 65: 270-281.
32. Tian, X., and Li, Y. 2007. Nitric oxide treatment alleviates drought stress in wheat seedlings. Biologia Plantarum. 50: 775-778.
33. Uchida, A., Jagendorf, A.T., Hibino, T., Takabe, T., and Takabe, T. 2002. Effects of hydrogen peroxide and nitric oxide on both salt and heat stress tolerance in rice. Plant Sci. 163: 515-523.
34. Wendehenne, D., Pugin, A., Klessig, D., and Durner, J. 2001. Nitric oxide: comparative synthesis and signaling in animal and plant cells. Trends Plant Sci. 6: 77-183.
35. Xu, Q., Xu, X., Zhao, Y., Jiao, K., Herbert, S.J., and Hao, L. 2008. Salicylic acid, hydrogen peroxide and calcium-induced saline tolerance associated with endogenous hydrogen peroxide homeostasis in naked oat seedlings. Plant Growth Reg. 54: 249-259.
36. Yoshida, S., Forno, A.D., Cook, J.H., and Gomes, K.A. 1976. Routine procedure for growing rice plants in culture solution. In: Laboratory Manual for Physiological Studies of Rice, 3rd ed. The International Rice Research Institute, Los Baños, Laguna, Philippines. Pp: 61-65.
37. Zheng, C., Jiang, D., Liu, F., Dai, T., Liu, W., Jing, Qi., and Cao, W. 2009. Exogenous nitric oxide improves seed germination in wheat against mitochondrial oxidative damage induced by high salinity. Environ. Exp. Bot. 67: 222-227.

Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources
J. Plant Prod. Res. Vol. 21 (3), 2014
http://jopp.gau.ac.ir

Effect of sodium nitroprusside (SNP) on some biochemical characteristics of barley seedlings under salinity stress

S. Asadi-Sanam[1], *M. Zavareh[2], H. Pirdashti[3] and A. Hashempour[4]
[1]Ph.D. Student, Dept. Agronomy, University of Guilan, Rasht, [2]Assistant Prof., Dept. Agronomy, University of Guilan, Rasht, [3]Associate Prof., Dept. Agronomy, Sari University of Agricultural Sciences and Natural Resources, [4]Ph.D. Student, Dept. Horticultural Science, University of Guilan, Rasht
Received: 01/30/2013; Accepted: 04/06/2014

Abstract

To find the effect of sodium nitroprusside (SNP) in reducing oxidative damage induced by salinity stress in barley seedlings, a CRD based factorial experiment with three replications was conducted in agronomy laboratory of the faculty of agricultural sciences, university of Guilan, in 2012. The experimental design consisted of two SNP levels (0.1 and 0.2 mM SNP; as nitric oxide (NO) donor) and two amount of NaCl (0 as control and 300 mM NaCl). Seven days after the onset of the experiment, Superoxide dismutase (SOD), peroxidase (POD), catalase (CAT), ascorbate peroxidase (APX) and polyphenol oxidase (PPO) activities, lipid peroxidation (MDA) and oxidation of proteins content in leaves were measured. Results revealed that the highest POD (7.07 µM g^{-1} FW. Min.) and CAT (17.6 µM g^{-1} FW. Min.) activity was related to the treatment SNP0.1 in saline condition. No significant effect of salinity stress was seen on APX enzyme activity; however, highest of the SOD and APX activity was attained in SNP0.1. No significant effect of NO treatment was seen on PPO enzyme. Exogenous NO, as an antioxidant, also reduced peroxidation of membrane lipids (MDA) and delayed the oxidation of proteins. Overall, it seems that the concentration of 0.1 mM NO is the best concentration for barley seedlings under saline conditions which could increase resistance seedlings through the reduction salinity stress adverse effects by influence on the plant antioxidant defense system.

Keywords: Nitric oxide, Antioxidant enzymes, Malondialdehyde, Protein

* Corresponding Author; Email: mzavareh@guilan.ac.ir