دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان
نشریه پژوهش‌های تولید گیاهی
جلد بیست و ششم، شماره اول، ۱۳۹۸
http://jopp.gau.ac.ir
DOI: 10.22069/jopp.2019.14488.2299
۱۵۵-۱۶۷

اثر سدیم نیتروپروساید بر پاسخ‌های فیزیولوژیک و زیست- شیمیایی سیب‌زمینی رقم آگریا (*Solanum tuberosum*) به تنش شوری در شرایط درون‌شیشه‌ای

ژیلا محمدی[۱]، علیرضا مطلبی‌آذر[۲]، فریبرز زارع نهندی[۲]، علیرضا تاری‌نژاد[۳] و *غلامرضا گوهری[۴]

[۱]دانش‌آموخته کارشناسی‌ارشد گروه علوم و مهندسی باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران،
[۲]دانشیار گروه علوم و مهندسی باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران،
[۳]دانشیار گروه بیوتکنولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید مدنی آذربایجان، تبریز، ایران،
[۴]استادیار گروه علوم و مهندسی باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه مراغه، مراغه، ایران

تاریخ دریافت: ۹۶/۱۰/۲۶ ؛ تاریخ پذیرش: ۹۷/۰۵/۰۴

چکیده

سابقه و هدف: تنش‌های محیطی از جمله شوری به‌شدت پراکنش و عملکرد گیاهان را کاهش و تولید محصولات کشاورزی را در سراسر جهان محدود می‌کنند. اکسید نیتریک یک مولکول فعال زیستی می‌باشد که در گیاهان توسط مسیرهای آنزیمی و غیرآنزیمی تحت شرایط تنش در اندام‌های مختلف گیاه تولید می‌شود و واکنش‌های دفاعی گیاه را تنظیم و تعدیل می‌کند. این پژوهش با هدف بررسی اثر سدیم نیتروپروساید به‌عنوان ترکیب آزادکننده اکسید نیتریک بر ویژگی‌های ریخت‌شناختی و فیزیولوژیک سیب‌زمینی رقم آگریا تحت تنش شوری در شرایط درون‌شیشه‌ای انجام شد.

مواد و روش‌ها: این آزمایش در آزمایشگاه‌های کشت بافت گیاهی و تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی گروه علوم باغبانی دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز انجام شد. در این آزمایش از ریزنمونه‌های حاصل از کشت قطعات تک‌جوانه‌ای ساقه سیب‌زمینی رقم آگریا استفاده شد. به‌منظور اعمال تیمار قطعات تک‌جوانه‌ای ساقه سیب‌زمینی رقم آگریا در محیط کشت MS با نصف غلظت عناصر پرمصرف و کم‌مصرف دارای چهار سطح سدیم نیتروپروساید (۰، $۱۰^{-۳}$، $۱۰^{-٤}$ و $۱۰^{-٥}$ میلی‌مولار) و دو سطح شوری (صفر و ۷۰ میلی‌مولار کلرید سدیم) کشت گردیدند. آزمایش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار اجرا گردید.

یافته‌ها: نتایج حاصل نشان داد که تحت تنش شوری تعداد برگ، ارتفاع، وزن تر و خشک گیاهچه‌های سیب‌زمینی کاهش یافت، همچنین میزان کلروفیل‌ها، کاروتنوئیدها، پروتئین و فنل گیاهچه‌ها را نیز کاهش معنی‌داری نشان داد. استفاده از سدیم نیتروپروساید با غلظت‌های مختلف در محیط کشت به‌عنوان ترکیب آزادکننده NO تأثیر معنی‌داری در مقدار کلروفیل‌ها و کارتنوئیدهای گیاهچه‌های سیب‌زمینی داشت. به‌طوری‌که بیش‌ترین مقدار کلروفیل a و کلروفیل b در تیمار $۱۰^{-٤}$ میلی‌مولار سدیم نیتروپروساید در شرایط بدون تنش حاصل شد و غلظت‌های $۱۰^{-٤}$ و $۱۰^{-۳}$ میلی‌مولار نقش معنی‌داری در افزایش مقدار این صفات تحت تنش شوری در گیاهچه‌های سیب‌زمینی داشتند و باعث افزایش مقدار کلروفیل a و b در تیمار دارای شوری در حد تیمار شاهد گردیدند. بر اساس نتایج مقایسه میانگین در این بررسی بیش‌ترین مقدار فنل (۰/۷۶۱ میلی‌گرم در گرم وزن تر گیاه)

* مسئول مکاتبه: gholamreza.gohari@gmail.com

در تیمار 10^{-4} میلی‌مولار SNP به‌دست آمد و غلظت 10^{-3} میلی‌مولار در افزایش مقدار فنل در گیاهچه‌های تحت تنش در مقایسه با سایر غلظت‌ها مؤثرتر بود. تنش شوری به‌طور معنی داری موجب افزایش میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی و محتوای گلایسین بتائین در بافت‌های گیاهچه‌های درون‌شیشه‌ای سیب‌زمینی گردید. استفاده از سدیم نیتروپروساید در محیط کشت باعث بهبود شاخص‌های رشدی، فیزیولوژیکی و زیست- شیمیایی تحت تنش شوری گردید.

نتیجه‌گیری: کاربرد سدیم نیتروپروساید موجب بهبود رشد و افزایش مقدار پروتئین و فنل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاهان در شرایط تنش و غیرتنش شد. میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاهچه‌های درون‌شیشه‌ای با اعمال تنش شوری افزایش یافت و تیمار با سدیم نیتروپروساید باعث تعدیل تنش و کاهش فعالیت آنتی‌اکسیدانی گردید. بنابراین چنین به‌نظر می‌رسد که کاربرد این ماده در مناطق خشک و نیمه‌خشک می‌تواند با کاهش اثرات زیانبار شوری و جلوگیری از کاهش عملکرد به بهبود اقتصاد کشاورزان کمک نماید.

واژه‌های کلیدی: فعالیت آنتی‌اکسیدانی، کلرید سدیم، گلایسین بتائین، اکسید نیتریک

مقدمه

شوری خاک یکی از عوامل مهم محدودکننده تولید گیاهان در سراسر جهان می‌باشد. بارندگی کم، تبخیر بالا، آبیاری با آب شور و عملیات زراعی نامناسب مهم‌ترین عوامل گسترش شوری هستند. عمده‌ترین عامل شوری در سطح جهان کلرید سدیم می‌باشد. سایر نمک‌ها نیز اثرات مشابهی را در سطح سلولی دارند، اما اثرات آن‌ها کم‌تر از کلرید سدیم است. در ایران بر اساس نقشه خاک منتشر شده در سال‌های اخیر خاک‌های با شوری کم تا متوسط ۲۵/۵ میلیون هکتار و خاک‌های با شوری بالا ۸/۵ میلیون هکتار هستند (۲).

شوری از فعالیت آنزیم‌ها، تقسیم و توسعه سلولی جلوگیری می‌کند و موجب اختلال در سازماندهی غشا و موازنه یونی شده و در نهایت منجر به کاهش شدید رشد می‌شود. عدم توازن متابولیکی ایجاد شده به‌وسیله سمیت یونی، تنش اسمزی و کمبود عناصر غذایی تحت شرایط شور منجر به تنش اکسیداتیو می‌شود (۲٤). گیاهان از طریق افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی (سوپراکسید دیسموتاز، آسکوربات پراکسیداز، پراکسیداز، کاتالاز)، مقدار ترکیبات آنتی‌اکسیدانی (فنل، اسید آسکوربیک) و ترکیبات تعدیل‌کننده وضعیت اسموتیکی سلول (گلایسین بتائین، پرولین) در برابر تنش‌های محیطی مقابله می‌کنند. از طرف دیگر پژوهشگران روش‌های مختلفی برای افزایش مقاومت گیاهان در مواجهه با شرایط تنش به‌کار می‌برند. یکی از این راهکارها، غلبه بر بی‌نظمی‌های فیزیولوژیکی ایجاد شده در گیاهان تحت تنش شوری با استفاده از تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی می‌باشد (۲۷).

سدیم نیتروپروساید (SNP)[1]، یک ترکیب رهاکننده نیتریک اکسید (NO)[2] است که به‌عنوان تنظیم‌کننده رشد در گیاهان، در پژوهش‌های مختلف مورد توجه قرار گرفته است. اکسید نیتریک یک مولکول فعال زیستی می‌باشد که در گیاهان توسط مسیرهای آنزیمی و غیرآنزیمی تحت شرایط تنش در اندام‌های مختلف گیاه تولید می‌شود و واکنش‌های دفاعی گیاه را تنظیم و تعدیل می‌کند (۱٦). اثر کاربرد سدیم نیتروپروساید در بهبود رشد گیاهان مختلف تحت تنش‌های محیطی از طریق افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و

1- Sodium nitroprusside (SNP)
2- Nitric oxide (NO)

متابولیت‌های ثانوی توسط پژوهشگران متعددی گزارش شده است (۱۵، ۱۷، ۲۱ و ۳۰). مولکول اکسید نیتریک به‌عنوان یک پیام‌رسان ثانویه، باعث افزایش فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیالیاز (PAL)[1] در گیاه گوجه‌فرنگی شده که این آنزیم با افزایش ساخت ترکیبات فنلی باعث افزایش تحمل گیاه در برابر تنش‌های اسمزی می‌گردد (۲۱). به‌نظر می‌رسد اکسید نیتریک با افزایش تولید متابولیت‌های دفاعی از جمله ترکیبات فنلی در گیاه موجب افزایش مقاومت در برابر تنش‌های مختلف محیطی می‌گردد (۱۵).

سیب‌زمینی با نام علمی *Solanum tuberosum* L. گیاهی است یک‌ساله از تیره بادمجان (Solanaceae) و یکی از با ارزش‌ترین محصولات کشاورزی در جهان می‌باشد. سیب‌زمینی به‌عنوان یک محصول بسیار مهم غذایی، نقش مهمی در حل بحران غذا و رفع سوءتغذیه ایفا می‌کند و از نظر تولید و ارزش غذایی مقام چهارم را پس از گندم، برنج و ذرت کسب کرده است. اگرچه کاهش کمی و کیفی عملکرد سیب‌زمینی در شرایط تنش شوری به اثبات رسیده است، اما ارقام مختلف سیب‌زمینی واکنش‌های متفاوتی در رابطه با تحمل شوری دارند (۳۲). در رابطه با واکنش ارقام مختلف سیب‌زمینی به تنش شوری، پژوهش‌های جامع کم‌تری انجام گرفته است. کشت‌های درون‌شیشه‌ای یک محیط یکنواخت و منظم را برای بررسی میزان مقاومت به تنش شوری در گیاهان و اثرات تنظیم‌کننده‌های رشد در تعدیل اثرات تنش را فراهم می‌کنند. این گونه کشت‌ها یک محیط جایگزین مؤثر برای جلوگیری از برهم‌کنش‌های پیچیده محیط و خاک است که موجب بررسی دقیق‌تر واکنش‌های فیزیولوژیکی و زیست- شیمیایی گیاه به شرایط تنش‌زا و تنظیم‌کننده‌های رشد مختلف می‌گردد (۳). بر همین اساس، این پژوهش با هدف ارزیابی اثرات سدیم نیتروپروساید به‌عنوان ترکیب آزادکننده اکسید نیتریک بر برخی تغییرات رشدی، فیزیولوژیکی و آنتی‌اکسیدانی سیب‌زمینی رقم آگریا تحت تنش شوری در شرایط درون شیشه‌ای انجام گردید.

مواد و روش‌ها

این آزمایش در سال ۱۳۹۶ در آزمایشگاه‌های کشت بافت گیاهی و تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی گروه علوم باغبانی دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز انجام شد. در این آزمایش از ریزنمونه‌های حاصل از کشت قطعات تک‌جوانه‌ای ساقه سیب‌زمینی رقم آگریا استفاده شد.

تهیه محیط کشت و اعمال تیمار: در این پژوهش از محیط کشت MS جامد (۱۹) با نصف غلظت عناصر پرمصرف و کم‌مصرف جهت پرآوری ریزنمونه‌های سیب‌زمینی و اعمال تیمارهای مورد بررسی استفاده گردید. بدین‌ترتیب که غلظت همه مواد به غیر از میواینوزیتول به نصف کاهش یافت و به جای آهن $FeSo_4.7H_2O$ از آهن سکوسترون (FeEDDHA) استفاده شد. همچنین غلظت ویتامین‌های نیکوتنیک اسید، تیامین و پیرودوکسین به‌ترتیب به ۰/۰۱، ۰/۰۵ و ۰/۰۰۵ میلی‌گرم در لیتر تغییر یافت. به‌منظور تهیه یک لیتر محیط کشت نهایی، ابتدا در یک ارلن یک لیتری مقداری آب ریخته و پس از برداشتن مقادیر لازم از هر نمک و افزودن ۳۰ گرم در لیتر ساکارز، هورمون‌های اسید جیبرلیک و نفتالین اسید استیک به‌ترتیب به مقدار ۰/۵ و ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر به محلول محیط کشت اضافه گردید. حجم نهایی محلول با آب مقطر به ۱۰۰۰ میلی‌لیتر رسانده شد. جهت حل شدن اجزای محیط کشت، ارلن روی هیتر هم‌زن‌دار قرار داده شد. آن گاه پس از کالیبره کردن دستگاه pH متر، pH محیط کشت با افزودن چند قطره هیدروکسید سدیم (NaOH) یا اسید کلریدریک

1- Phenylalanine ammonia lyase (PAL)

(HCl) یک نرمال در ۰/۳± ۵/۷ تنظیم و پس از آن ۸ گرم آگار اضافه گردید. به‌منظور حل شدن آگار، محلول محیط کشت در داخل دستگاه ماکروویو حرارت داده شد. تیمارهای مورد بررسی شامل چهار سطح سدیم نیتروپروساید (۰، $۱۰^{-۳}$، $۱۰^{-٤}$ و $۱۰^{-٥}$ میلی‌مولار) و دو سطح شوری (۰ و ۷۰ میلی‌مولار) با استفاده از کلرید سدیم بود. در هر ظرف یک ریز نمونه از قطعات تک‌جوانه‌ای ساقه سیب‌زمینی کشت گردید. نمونه‌های کشت شده به اتاقک رشد تحت شرایط ١٦ ساعت روشنائی و ۸ ساعت تاریکی و درجه حرارت ۲±۲۵ درجه سانتی‌گراد منتقل گردیدند. غلظت‌های مختلف سدیم نیتروپروساید با استفاده از فیلتر کاغذی استریل و به محیط‌های کشت اتوکلاو شده اضافه شد. چهار هفته بعد از اعمال تیمارها، صفات رشدی گیاهچه‌های حاصل یادداشت‌برداری شد. نمونه‌ها بلافاصله بعد از برداشت داخل فویل‌های آلومینیومی پیچیده شده و توسط نیتروژن مایع منجمد و در فریز ۸۰- درجه سانتی‌گراد تا زمان اندازه‌گیری صفات فیزیولوژیکی و زیست- شیمیایی نگهداری شدند.

ویژگی‌های رشدی: تعداد برگ، ارتفاع گیاهچه، وزن تر و خشک اندام‌های هوایی به‌عنوان شاخص‌های رشدی گیاهچه‌های درون‌شیشه‌ای سیب‌زمینی مورد ارزیابی قرار گرفت. وزن تر گیاهچه‌ها با توزین مستقیم آن‌ها به‌دست آمد و وزن خشک گیاهچه‌ها از طریق قرار دادن آن‌ها در آون در دمای ٦٠ درجه سانتی‌گراد اندازه‌گیری شد.

ویژگی‌های فیزیولوژیکی: به‌عنوان معیاری از میزان فتوسنتز مقدار کلروفیل a، کلروفیل b و کارتنوئیدهای گیاهچه‌های سیب‌زمینی با استفاده از روش لیچستر (۱۹۸۷) اندازه‌گیری شد (۱۸). ۰/۱ گرم از بافت برگ با استون ۸۰ درصد به‌تدریج ساییده شد تا کلروفیل وارد محلول استونی شود، سپس حجم محلول با استون ۸۰ درصد به ۱۰ میلی‌لیتر رسانده شد. محلول حاصل به‌مدت ۲۰ دقیقه در ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ گردید. سپس جذب نوری محلول رویی در چهار طول موج ٤٧٠، ٦٤٥، ٦٦٢ و ٧١٠ نانومتر توسط اسپکتروفتومتر قرائت شد.

ویژگی‌های زیست- شیمیایی

فعالیت آنتی‌اکسیدانی: فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاهچه‌های درون‌شیشه‌ای سیب‌زمینی به روش توصیف شده توسط برند ویلیامز و همکاران (۱۹۹۵) با استفاده از ترکیب DPPH[1] اندازه‌گیری شد (۵). برای این منظور ۰/۵ گرم نمونه گیاهی با ازت مایع کاملاً هضم شد و سپس با ۵ میلی‌لیتر متانول اسیدی عصاره‌گیری گردید. عصاره حاصل با دور ۱۲۰۰۰ و به‌مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ و محلول رویی مورد ارزیابی قرار گرفت. برای خوانش ۱۹۰۰ میکرولیتر از محلول متانولی DPPH (٤٠ میلی‌گرم در لیتر) در داخل کووت ریخته و جذب آن در طول موج ٥١٥ نانومتر قرائت شد، سپس ۱۰۰ میکرولیتر از عصاره تهیه شده از هر نمونه به آن اضافه و پس از ۲۰ دقیقه نگهداری در تاریکی و دمای اتاق مجدداً جذب آن قرائت شد. فعالیت آنتی‌اکسیدانی هر عصاره با استفاده از رابطه زیر محاسبه گردید:

$$AA= [(A_B-A_A)/A_B] \times 100 \qquad (۱)$$

که در آن، AA فعالیت آنتی‌اکسیدانی، A_B جذب محلول متانولی DPPH بدون نمونه، A_A جذب عصاره متانولی DPPH پس از اضافه نمودن نمونه.

عصاره‌گیری جهت سنجش پروتئین محلول و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان: برای اندازه‌گیری مقدار پروتئین محلول و سنجش فعالیت آنزیم‌های

1- 2,2-Di Phenyl-1-Picryll Hydrazyl (DPPH)

آنتی‌اکسیدان، عصاره‌گیری نمونه‌های گیاهی با بافر فسفات پتاسیم ۰/۱ مولار انجام شد. برای عصاره‌گیری ۰/۵ گرم نمونه گیاهی با ازت مایع کاملاً هضم گردید و ۵ میلی‌لیتر بافر فسفات پتاسیم به آن اضافه شد و سپس با دور ۱۲۰۰۰ به‌مدت ۲۰ دقیقه در دمای ٤ سانتی‌گراد سانتریفیوژگردید.

پروتئین محلول کل: از عصاره‌های تهیه شده با بافر فسفات پتاسیم برای سنجش غلظت پروتئین محلول در بافت‌های گیاهی استفاده گردید. ۱۰۰ میکرولیتر عصاره همراه با ۳۲۰ میکرولیتر معرف بردفورد و ۱۵۸۰ میکرولیتر بافر فسفات پتاسیم با همدیگر مخلوط شده و پس از ۳ دقیقه نگهداری در تاریکی جذب در طول موج ۵۹۵ قرائت گردید. برای محاسبه مقدار پروتئین نمونه‌ها از آلبومین سرم گاوی به‌عنوان استاندارد استفاده گردید (٤).

آسکوربات پراکسیداز: سنجش فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز بر اساس روش ناکانو و آسادا (۱۹۸۱) با استفاده از عصاره‌های تهیه شده با بافر فسفات انجام شد (۲۰). ۲۰۰ میکرولیتر H_2O_2 به محلول واکنش شامل ۲۰۰ میکرولیتر EDTA[1] یک میلی‌مولار، ۱۲۰۰ میکرولیتر بافر فسفات پتاسیم ۰/۱ مولار، ۲۰۰ میکرولیتر اسید آسکوربیک ۵ میلی‌مولار و ۲۰۰ میکرولیتر عصاره اضافه گردید. سپس جذب محلول حاصل به‌مدت ٦۰ ثانیه و به فاصله زمانی ۵ ثانیه از یکدیگر در طول موج ۲۹۰ نانومتر قرائت شد.

سوپر اکسید دیسموتاز: از عصاره‌های تهیه شده با بافر فسفات به‌منظور سنجش فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز استفاده گردید. برای خوانش ۲۰۰ میکرولیتر NBT[2] ٦۳۰ میکرومولار، ۲۰۰ میکرولیتر متیونین ۱۳ میلی‌مولار، ۲۰ میکرولیتر ریبوفلاوین ۱۳۰ میکرومولار، ٦٦۰ میکرولیتر کربنات سدیم ۵۰ میلی‌مولار، ۲۰۰ میکرولیتر عصاره و ۷۲۰ میکرولیتر آب مقطر با همدیگر مخلوط شد. محلول واکنش در فاصله ۳۰ سانتی‌متری از یک منبع نوری ٤۰ وات قرار داده شد تا واکنش آغاز گردد. پس از ۱۵ دقیقه جذب نمونه‌ها در طول موج ٥٦۰ نانومتر قرائت شد (۹).

فنل کل: برای اندازه‌گیری فنل کل نمونه‌های مورد مطالعه، مقدار ۰/۵ گرم نمونه گیاهی با ازت مایع پودر گردید، سپس با افزودن ۵ میلی‌لیتر متانول اسیدی به آن عصاره‌گیری شد. عصاره حاصل با دور ۱۲۰۰۰ و به‌مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ گردید. از محلول رویی، مقدار ۲۰۰ میکرولیتر داخل ظرف ریخته و ۳۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر به آن اضافه گردید. مقدار ۲/۵ میلی‌لیتر فولین سیو کالچو۱۰ درصد نیز به محلول اضافه شد. پس از نگهداری به‌مدت ۱۰-٦ دقیقه در تاریکی، مقدار ۲ میلی‌لیتر کربنات سدیم ۷/۵ درصد به آن افزوده گردید. محلول حاصل به‌مدت ۱/۵ ساعت در تاریکی و دمای اتاق نگهداری شد. در انتها جذب نوری آن در طول موج ۷٦۰ نانومتر با اسپکتروفوتومتر قرائت گردید (۲۹). غلظت فنل کل در نمونه‌های مورد بررسی با استفاده از محلول‌های استاندارد تهیه شده از گالیک اسید محاسبه شد.

گلایسین بتائین: میزان گلایسین بتائین به روش گریو و گراتان (۱۹۸۳) اندازه‌گیری گردید (۱۰). نمونه‌ها ابتدا خشک شد و سپس به ۰/۵ گرم از برگ خشک شده ۲۰ میلی‌لیتر آب مقطر اضافه و به‌مدت ٤۸ ساعت در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد بر روی شیکر قرار داده شد. یک میلی‌لیتر از عصاره حاصل با یک میلی‌لیتر اسید سولفوریک ۲ نرمال مخلوط و در حمام آب یخ قرار گرفت و در نهایت ۰/۲ میلی‌لیتر از یدید پتاسیم و ید را به مخلوط واکنش اضافه شد. سپس به‌مدت ۱۵ دقیقه در دمای صفر درجه سانتی‌گراد با ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. مقدار جذب

1- Ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA)
2- Nitroblue tetrazolium (NBT)

محلول حاصل در طول موج ۳۶۵ نانومتر قرائت گردید. از بتائین به‌عنوان استاندارد برای محاسبه مقدار گلایسین بتائین نمونه‌های مورد مطالعه استفاده شد.

این پژوهش به‌صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار و در هر تکرار با چهار ریز نمونه اجرا شد. تجزیه واریانس داده‌ها پس از کنترل مفروضات تجزیه واریانس، شامل نرمال بودن توزیع خطای آزمایشی با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS (Ver, 20) انجام شده و مقایسه بین میانگین‌ها با استفاده از آزمون چنددامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد انجام گرفت و برای رسم نمودارها از نرم‌افزار Excel استفاده گردید.

نتایج و بحث

ویژگی‌های ریخت‌شناختی: بر اساس نتایج تجزیه واریانس تیمارهای شوری و سدیم نیتروپروساید و اثر متقابل آن‌ها به‌طوری معنی‌داری رشد گیاهچه‌های درون‌شیشه‌ای سیب‌زمینی را تحت‌تأثیر قرار دادند (جدول ۱).

بر اساس نتایج به‌دست آمده در این آزمایش تیمار شوری باعث کاهش معنی‌دار همه صفات رشدی اندازه‌گیری‌شده گردید به‌طوری‌که کم‌ترین تعداد برگ، ارتفاع گیاه و وزن تر و وزن خشک در گیاهان تیمار شده با ۷۰ میلی‌مولار کلرید سدیم مشاهده گردید. کاهش رشد گیاه تحت تنش شوری می‌تواند نتیجه تأثیر تنش شوری بر فرایندهای دخیل در تولید انرژی مثل فتوسنتز و تنفس باشد (۲۳). کاهش معنی‌دار رشد گیاهچه‌های سیب‌زمینی تحت‌تأثیر سطوح مختلف شوری در شرایط درون‌شیشه‌ای توسط پژوهشگران متعددی گزارش شده است (۱۳ و ۳۲). تیمار سدیم نیتروپروساید باعث افزایش معنی‌دار تعداد برگ گیاهچه‌های درون‌شیشه‌ای سیب‌زمینی در هر دو حالت معمولی و تحت تنش نسبت به نمونه شاهد گردید. بیش‌ترین تعداد برگ (۱۵/۰۸) در تیمار 10^{-4} میلی‌مولار سدیم نیتروپروساید در شرایط بدون تنش شوری حاصل شد و تیمار 10^{-3} میلی‌مولار سدیم نیتروپروساید تأثیر بیش‌تری در افزایش تعداد برگ تحت تنش شوری نشان داد. نتایج حاصل از اندازه‌گیری ارتفاع گیاهچه‌های درون‌شیشه‌ای سیب‌زمینی نشان‌دهنده این است که با کاربرد غلظت‌های متفاوت سدیم نیتروپروساید افزایش معنی‌داری در ارتفاع گیاهچه‌ها حاصل گردید، به‌طوری‌که بالاترین ارتفاع گیاهچه (۱۷/۲۳ سانتی‌متر) در تیمار 10^{-3} میلی‌مولار سدیم نیتروپروساید در شرایط بدون تنش حاصل شد. تیمار سدیم نیتروپروساید باعث افزایش معنی‌دار وزن تر و خشک اندام‌های هوایی گیاهچه‌های سیب‌زمینی در هر دو حالت بدون تنش و تنش شوری گردید به‌طوری‌که در حالت تنش بالاترین غلظت سدیم نیتروپروساید توانست از بالاترین وزن تر و خشک برخوردار باشد (جدول ۲). سدیم نیتروپروساید نقش مؤثری در کاهش آسیب‌های اکسایشی (کاهش پراکسیداسیون لیپید و مقدار پراکسیدهیدروژن در گیاهان تحت تنش را دارد، همچنین یک پیام‌رسان ثانویه یا القاکننده برای فعال‌تر شدن آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی گیاه جهت مقابله با تنش‌های محیطی و نیز بهبود ویژگی‌های رویشی گیاه محسوب می‌شود (۲۸).

جدول ۱- تجزیه واریانس اثر سدیم نیتروپروساید بر صفات ریخت‌شناسی و محتوای رنگیزه‌های گیاهچه‌های سیب‌زمینی تحت تنش شوری.

Table 1. Analysis of variance of the effect of sodium nitroprusside on morphological characters and pigments content of potato plantlets under salinity stress.

منبع تغییرات S.O.V	درجه آزادی df	میانگین مربعات MS							
		تعداد برگ Leaf Number	ارتفاع گیاهچه Plantlet Height (mm)	وزن تر Fresh weight (g)	وزن خشک Dry Weight (g)	کلروفیل a Chlorophyll (a)	کلروفیل b Chlorophyll (b)	کلروفیل کل Total Chlorophyll	کاروتنوئیدها Carotenoids (mg/g FW)
شوری Salinity (mM)	1	62.940 **	113.13 **	0.841 **	0.007 **	681.707 **	192.569 **	1598.915 **	542.793 **
سدیم نیترو پروساید Sodium Nitroproside (mM)	3	15.938 **	30.845 **	0.065 **	0.001 **	251.169 **	23.716 **	361.926 **	0.789 **
شوری * سدیم نیترو پروساید Sodium Nitroproside * salinity	3	2.432 **	1.454 **	0.003 **	1.653 **	72.338 **	0.456 *	77.013 **	2.1 **
خطا Error	16	0.006	0.028	2.333	1.029	0.084	0.129	0.364	0.117

* و ** به‌ترتیب تفاوت غیرمعنی‌دار، تفاوت معنی‌دار در سطوح احتمال ۵ و ۱ درصد.

* and ** indicate significant at P<0.05 and P<0.01, respectively.

جدول ۲- اثر سدیم نیتروپروساید بر صفات ریخت‌شناختی و محتوای رنگیزه‌های گیاهچه‌های سیب‌زمینی تحت تنش شوری.

Table 2. The effect of sodium nitroprusside on morphological characters and pigments content of potato plantlets under salinity stress.

سدیم نیتروپروساید sodium nitroprusside (mM)	شوری Salinity (mM)	تعداد برگ Leave No.	ارتفاع گیاه Plantlet height (mm)	وزن تر Fresh weight (g)	وزن خشک Dry weight (g)	کلروفیل (a) Chlorophyll a (mg/g FW)	کلروفیل (a) Chlorophyll b (mg/g FW)	کارتنوئید Carotenoids (mg/g FW)
0	0	11.07[d*]	12.27[d]	0.691[d]	0.072[d]	36.07[d]	24.19[c]	23.27[c]
10^{-5}		12.05[c]	13.07[c]	0.707c	0.081[c]	40.34[c]	25.09[b]	23.19[c]
10^{-4}		15.08[a]	15.20[b]	0.911[a]	0.095[b]	42.04[b]	28.21[a]	24.33[b]
10^{-3}		14.06[b]	17.23[a]	0.890[b]	0.099[a]	57.06[a]	28.35[a]	25.03[a]
0	70	8.14[g]	7.13[f]	0.31[h]	0.04[g]	29.29[f]	18.38[f]	14.22[e]
10^{-5}		9.07[f]	9.13[e]	0.39[g]	0.05[f]	31.24[e]	20.23[e]	15.08[d]
10^{-4}		10.05[e]	12.05[d]	0.49[f]	0.06[e]	36.16[d]	22.32[d]	14.27[e]
10^{-3}		12.04[c]	12.05[d]	0.51[e]	0.06[e]	36.19[d]	22.24[d]	14.20[e]

* در هر صفت و گروه مقایسه شده، تیمارهای با حروف یکسان اختلاف معنی‌داری ندارند.

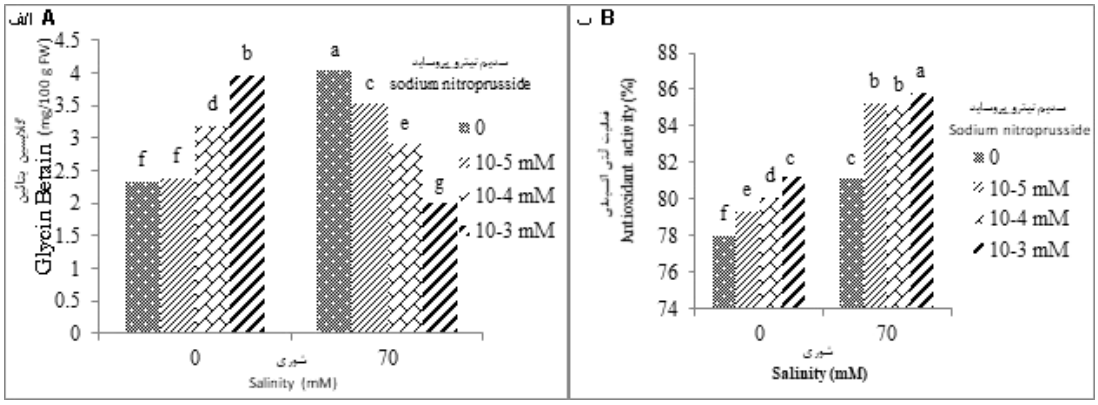
* Values followed by the same letter within a column indicate they are not significantly different.

استفاده از سدیم نیتروپروساید با غلظت‌های مختلف در محیط کشت به‌عنوان ترکیب آزادکننده NO تأثیر معنی‌داری در بهبود رشد گیاهچه‌های درون‌شیشه‌ای سیب‌زمینی داشت. تأثیر کاربرد سدیم نیتروپروساید در بهبود رشد گوجه‌فرنگی (۲۱)، گندم (۱۶ و ۳۰) و برنج (۸) تحت تنش‌های مختلف محیطی گزارش شده است. اثر حفاظتی یا سمی NO در سوخت‌وساز گیاه مربوط به غلظت این مولکول، تولید، انتقال و کارایی برداشت آن می‌باشد. به‌طوری‌که غلظت پایین NO به‌طور مستقیم روی اجزاء دیواره سلول اثر کرده و موجب توسعه سلول و رشد گیاه می‌شود. در مقابل غلظت‌های بالای NO با اکسیداسیون لیپیدهای غشایی باعث تخریب و آسیب غشاء می‌گردند (۳۱).

ویژگی‌های فیزیولوژیک: استفاده از سدیم نیتروپروساید با غلظت‌های مختلف در محیط کشت به‌عنوان ترکیب آزادکننده NO تأثیر معنی‌داری در مقدار کلروفیل‌ها و کارتنوئیدهای گیاهچه‌های سیب‌زمینی داشت. در این مطالعه بیش‌ترین مقدار کلروفیل a (۵۷/۰۶ میلی‌گرم در گرم وزن تر گیاه) و کلروفیل b (۲۵/۳۵ میلی‌گرم در گرم وزن تر گیاه) در تیمار $۱۰^{-٤}$ میلی‌مولار سدیم نیتروپروساید در شرایط بدون تنش حاصل شد و غلظت‌های $۱۰^{-٤}$ و $۱۰^{-۳}$ میلی‌مولار نقش معنی‌داری در افزایش مقدار این صفات تحت تنش شوری در گیاهچه‌های سیب‌زمینی داشتند (جدول ۲). در کلروپلاست‌ها، کاروتنوئیدها به‌عنوان رنگیزه کمکی عمل می‌کنند و نقش مهم آنتی‌اکسیدانی نیز دارند. این رنگیزه‌ها مسئول دفع اکسیژن یکتایی و جلوگیری از پراکسیداسیون لیپیدها و تنش اکسیداتیو می‌باشند (۱٤). افزایش رشد و فتوسنتز تحت‌تأثیر غلظت‌های مختلف سدیم نیتروپروساید در گیاهان مختلف گزارش شده است (۱۵ و ۱٦). اثر مثبت تیمار سدیم نیتروپروساید بر میزان رنگیزه‌ها تحت تنش شوری در ارتباط با اثر NO در واکنش با رادیکال‌های آزاد اکسیژن تولید شده تحت تنش می‌باشد، زیرا رادیکال‌های آزاد اکسیژن اصلی‌ترین عاملی هستند که

در شرایط تنش باعث خسارت و شکستن رنگیزه‌های فتوسنتزی و پروتئین‌های ساختاری دستگاه فتوسنتزی می‌شوند (۲۱).

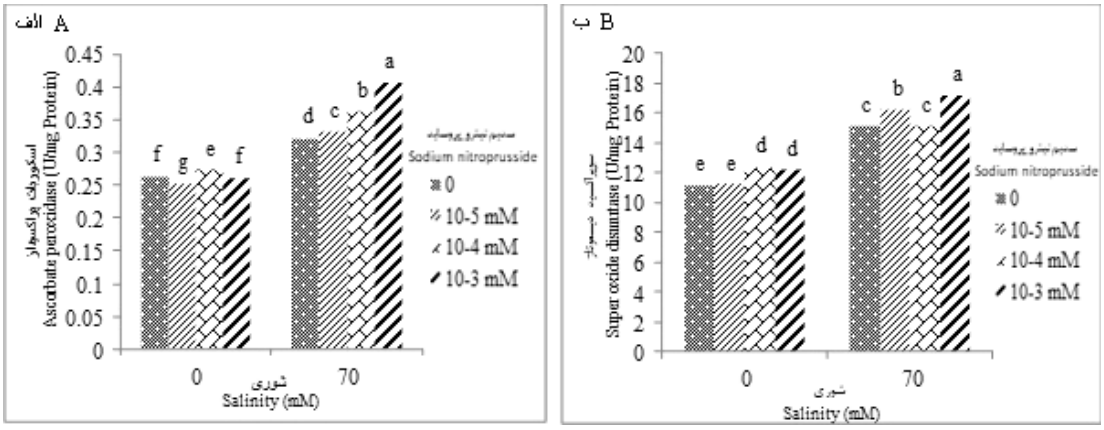
ویژگی‌های زیست- شیمیایی: تیمارهای شوری و سدیم نیتروپروساید و اثر متقابل آن‌ها به‌طور معنی‌داری فعالیت آنتی‌اکسیدانی و مقدار پروتئین، فنل کل و گلایسین بتائین را تحت‌تأثیر قرار دادند. در این بررسی میزان گلایسین بتائین تحت تنش شوری افزایش معنی‌داری داشت و استفاده از سدیم نیتروپروساید مقدار این متغیر را کاهش داد و تحت تنش شوری بدون استفاده از سدیم نیتروپروساید بیش‌ترین مقدار گلایسین بتائین حاصل شد (شکل ۱ الف). گلایسین بتائین در شرایط تنش‌زا در گیاه تولید می‌شود و به‌عنوان یک محلول تنظیم اسمزی مؤثر در گیاهان محسوب می‌گردد و با رشد گیاهان در محیط‌های خشک و شور همبستگی بالایی دارد (۱۱). گلایسین بتائین علاوه بر تنظیم اسمزی، از فعالیت ترکیبات پیچیده پروتئینی فتوسیستم دو که منتهی به تولید اکسیژن می‌شود، محافظت می‌نماید و به این ترتیب در بهبود و افزایش فتوسنتز گیاه تحت شرایط تنش بسیار مؤثر می‌باشد. عملکرد زیستی گلایسین بتائین در تعدادی از گیاهان عالی از جمله اسفناج، چغندرقند، جو و ذرت به‌طور گسترده مورد مطالعه قرار گرفته است (۷ و۲۵). گزارش‌های موجود نشان می‌دهد در گیاهان تراریخت با توانایی ذخیره‌سازی گلایسین بتائین مقاومت قابل‌توجهی به انواع متفاوت تنش‌های غیرزیستی نشان می‌دهند (۷ و ۲٦). در این مطالعه بر اساس نتایج حاصل از اثرات متقابل تیمارها (شکل ۱ الف) بیش‌ترین مقدار گلایسین بتائین (٤/۰۳ میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم وزن تر گیاه) تحت تنش شوری و بدون استفاده از سدیم نیتروپروساید حاصل شد و کم‌ترین مقدار آن (۲ میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم وزن تر گیاه) در تنش شوری و در بالاترین غلظت سدیم نیتروپروساید ثبت گردید. استفاده از این ترکیب تنها در شرایط بدون تنش اثر مثبت در افزایش تجمع گلایسین بتائین در گیاهچه‌های سیب‌زمینی داشت و استفاده از سدیم نیتروپروساید تحت تنش شوری، اثر منفی بر تولید گلایسین بتائین نشان داد. بر اساس نتایج حاصل از اثرات متقابل تیمارها بالاترین میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی (۸۵/۸۳ درصد) در تیمار 10^{-3} میلی‌مولار سدیم نیتروپروساید در گیاهچه‌های تحت تنش شوری ثبت گردید و کم‌ترین مقدار آن نیز در گیاهان شاهد مشاهده شد (شکل ۱ ب).



شکل ۱- اثر سدیم نیتروپروساید بر میزان گلایسین بتائین (الف) و فعالیت آنتی‌اکسیدانی (ب) گیاهچه‌های سیب‌زمینی تحت تنش شوری.

Fig. 1. The effect of sodium nitroprusside on Glycine betaine (A) and antioxidant activity (B) of potato plantlets under salinity stress.

فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز تحت‌تأثیر تنش شوری افزایش یافت و هر سه غلظت مورد استفاده از سدیم نیتروپروساید در این آزمایش اثر مثبتی بر افزایش فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز تحت تنش شوری داشت. بر اساس نتایج به‌دست آمده نیز مشخص گردید که فعالیت آنزیم سوپراکسیداز دیسموتاز در هر سه غلظت به‌کار برده شده از سدیم نیتروپروساید تحت شرایط تنش افزایش یافت، همچنین با افزایش میزان شوری و نیز غلظت سدیم نیتروپروساید فعالیت آنزیم اسکوربات پراکسیداز نیز افزایش داشت (شکل ۲ ب). رادیکال‌های آزاد اکسیژن تولید شده تحت تنش بسیار واکنش‌پذیر هستند و سوخت‌وساز طبیعی گیاه را از طریق صدمات اکسیداتیو به لیپیدها، پروتئین‌ها و دیگر مولکول‌های بزرگ تخریب می‌کنند. استفاده از ترکیبات آزادکننده NO موجب افزایش فعالیت آنزیم‌های مختلف آنتی‌اکسیدانی می‌شود، دلیل این امر می‌تواند میل ترکیبی بالای NO با آنزیم‌های حاوی آهن باشد و بیش‌تر آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان دارای مراکز با کاتیون‌های مختلف آهن هستند (۸). باید در نظر داشت که اثر NO وابسته به غلظت بوده و در غلظت‌ها و شرایط محیطی مختلف دارای اثرات فیزیولوژیکی متفاوتی است (۲۸).

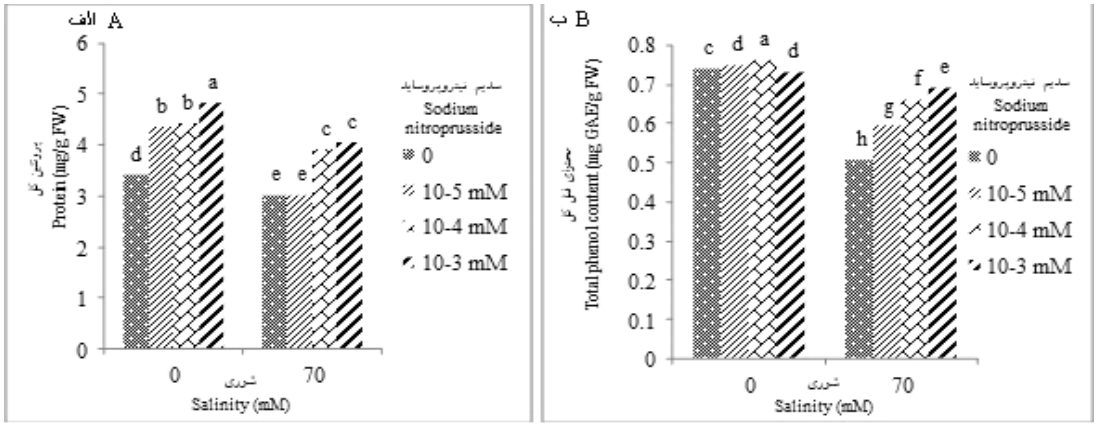


شکل ۲- اثر سدیم نیتروپروساید بر فعالیت آنزیم‌های آسکوربات پراکسیداز (الف) و سوپر اکسید دیسموتاز (ب) گیاهچه‌های سیب‌زمینی تحت تنش شوری.

Fig. 2. The effect of sodium nitroprusside on ascorbate peroxidase and super oxide dismutase activity of potato plantlets under salinity stress.

در این بررسی مقدار پروتئین گیاهچه‌های سیب‌زمینی تحت‌تأثیر تنش شوری کاهش یافت (شکل ۳ الف). کاهش مقدار پروتئین در گیاهان حساس به شوری توسط بروریا و اوریا (۱۹۹۸) گزارش شده است (٦). اکسیداسیون و تخریب پروتئین‌ها به دنبال اعمال تنش خشکی در گیاه گوجه‌فرنگی توسط نصیبی و کلانتری (۲۱) گزارش شده است. شی (۲۰۰۷) نقش NO را در کاهش اکسیداسیون پروتئین‌ها مربوط به توانایی NO در القاء فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز و تبدیل آنیون سوپراکسید به پراکسید هیدروژن و اکسیژن مولکولی گزارش کرده‌اند که در حفاظت سلولی بسیار مهم است (۲۸). از طرف دیگر اکسید نیتریک خود مستقیماً می‌تواند با آنیون سوپراکسید واکنش داده و تولید رادیکال پراکسی نیتریت کند که سمّیت و خسارت آن به سلول‌ها کم‌تر از رادیکال‌های اکسیژن است (۲۱).

در این پژوهش مقدار ترکیبات فنلی تحت تنش شوری در گیاهچه‌های سیب‌زمینی کاهش یافت. کاهش ترکیبات فنلی در شرایط تنش شوری در گیاهچه‌های درون‌شیشه‌ای سیب‌زمینی نیز توسط خنیفی و همکاران (۲۰۱۱) گزارش شده است (۱۳). در این بررسی بیش‌ترین مقدار فنل (۰/۷۶۱ میلی‌گرم در گرم وزن تر گیاه) در تیمار $۱۰^{-٤}$ میلی‌مولار SNP به‌دست آمد و غلظت $۱۰^{-۳}$ میلی‌مولار در افزایش مقدار فنل در گیاهچه‌های تحت تنش در مقایسه با سایر غلظت‌ها مؤثرتر بود (شکل ۳ ب). در گزارش اسماعیل‌زاده بهابادی و همکاران (۲۰۱۵) میزان ترکیبات فنلی کل تحت‌تأثیر غلظت‌های مختلف سدیم نیتروپروساید افزایش یافت (۱). به‌نظر می‌رسد که رادیکال نیتروژن آزاد شده از سدیم نیتروپروساید به‌طور غیرمستقیم با تحت‌تأثیر قرار دادن سوخت‌وساز کربوهیدرات‌ها، این ترکیبات را به‌سمت تولید ترکیبات فنلی هدایت می‌کند (۲۱).



شکل ۳- اثر سدیم نیتروپروساید بر محتوای پروتئین (الف) و فنل کل (ب) و گیاهچه‌های سیب‌زمینی تحت تنش شوری.

Fig. 3. The effect of sodium nitroprusside on protein contents (A) and total phenol (B) of potato plantlets under salinity stress.

نتیجه‌گیری

تنش شوری موجب کاهش ویژگی‌های رشدی، مقدار پروتئین و فنل و افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی و مقدار گلایسین بتائین در بافت‌های سیب‌زمینی درون‌شیشه‌ای گردید. کاربرد سدیم نیتروپروساید موجب بهبود رشد و افزایش مقدار پروتئین و فنل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاهان در شرایط تنش و غیرتنش شد. کاربرد سدیم نیتروپروساید در شرایط غیرتنش موجب افزایش مقدار گلایسین بتائین گردید ولی تحت شرایط تنش شوری اثر منفی بر مقدار این ترکیب داشت. سدیم نیتروپروساید، اثرات منفی تنش را از طریق افزایش مقدار آنتی‌اکسیدان‌های غیرآنزیمی (فنل) و افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان (آسکوربات پراکسیداز و سوپر اکسید دیسموتاز) تعدیل نمود. بنابراین چنین به‌نظر می‌رسد که کاربرد این ماده در مناطق خشک و نیمه‌خشک می‌تواند با کاهش اثرات زیانبار شوری و جلوگیری از کاهش عملکرد به بهبود اقتصاد کشاورزان کمک نماید.

منابع

1. Esmaeilzadeh Bahabadi, S., Rezaei, A. and Najafi, S.H. 2015. Nitric oxide Effect on growth and some physiological parameters of *In vitro* cultured lemon balm (*Melissa officinalis* L.). J. Cell. Tissue. 6: 195-203.
2. Almodares, A., Hadi, M.R. and Dosti, B. 2008. The effect of salt stress on growth parameters and carbohydrate contents in sweet sorghum. Res. J. Environ. Sci. 2: 298-304.
3. Aqueel Ahmad, M.S., Javed, F. and Ashraf, M. 2007. Iso osmotic effect of NaCl and PEG on growth, cations and free proline accumulation in callus tissue of two indica rice (*Oryza sativa* L.) genotypes. Plant. Growth. Regul. 53: 53-63.
4. Bradford, M.M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Anal. Biochem. 72: 248-54.
5. Brand-Williams, W., Cuvelier, M.E. and Berset, C. 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. Lebenson. Wiss. Technol. 28: 25-30.
6. Bruria, H. and Arie, N. 1998. Physiological response of potato plants to soil salinity and water deficit. Plant. Sci. 137: 43-51.
7. Chen, T.H.H. and Murata, N. 2002. Enhancement of tolerance to abiotic stress by metabolic engineering of betaines and other compatible solutes. Curr. Opin. Plant. Biol. 5: 250-257.
8. Farooq, M., Wahid, A., Kobayashi, N., Fujita, D. and Basra, S.M.A. 2009. Plant drought stress: effects, mechanisms and management. Agron. Sustain. Dev. 29: 185-212.
9. Giannopolitis, C. and Ries, S. 1977. Superoxide dismutase. I. Occurrence in higher plants. Plant Physiol. 59: 309-314.
10. Grieve, C.M. and Grattan, S.R. 1983. Rapid assay for determination of water soluble quaternary ammonium compounds. Plant. Soil. 70: 303-307.
11. Hanson, A.D., May, A., Grumet, M.R., Bode, J., Jamieson, G.C. and Rhods, D. 2007. Betaine synthesis in chenopods: Localization in chloroplasts. Proc. Natl. Acad. Sci. U S A. 82: 3678-3682.
12. Khan, M.A., Ungar, I.A. and Showalters, A.M. 2000. The effect of salinity on the growth, water status, and ion content of a leaf succulent perennial halophyte, *Suaeda fruticosa* (L.). Forssk. J. Arid. Environ. 45: 73-84.
13. Khenifi, M.L., Boudjeniba, M. Kameli, A. 2011. Effects of salt stress on micropropagation of potato (*Solanum tuberosum* L.). Afr. J. Biotechnol. 10: 7840-7845.
14. Koyro, H.W. 2006. Effect of salinity on growth, photosynthesis, water relations and solute composition of potential cash crop halophyte *Plantago coronopus* L. Environ. Exp. Bot. 56: 136-149.
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. Biol. Plant. 51: 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: Biointerfa. 56: 220-225.
18. Lichtenthaler, H.K. 1987. Chlorophylls and carotenoids: Pigments of photosynthetic bio membranes. Methods. Enzymo. 148: 350-382.
19. Murashige, T. and Skoog, F. 1962. A revised medium for rapid growth and bios assay with tobacco tissue culture. Plant. Physiol. 15: 473-497.
20. Nakano, Y. and Asada, K. 1981. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. Plant. Cell. Physiol. 22: 867-280.
21. Nasibi, F. and Kalantari, K.M. 2009. Influence of nitric oxide in protection of tomato seedling against oxidative stress induced by osmotic stress. Acta. Physiol. Planta. 31: 1037-1044.

22.Navarro, J.M., Flores, P., Garrido, C. and Martinez, V. 2006. Changes in the contents of antioxidant compounds in pepper fruits at different ripening stages, as affected by salinity. Food. Chem. 96: 66-73.
23.Parida, A.K. and Das, A.B. 2005. Salt tolerance and salinity effects on plants: A review. Ecotoxicol. Environ. Saf. 60: 324-349.
24.Rahimi, A.R., Mashayekhi, K., Hemati, K.H. and Dordipour, E. 2009. Effect of salicylic acid and mineral nutrition on fruit yield and yield components of Coriander (*Coriandrum sativum* L.). J. Agric. Sci. Nat. Resour. 16: 149-156.
25.Rhodes, D. and Hanson, A.D. 1993. Quaternary ammonium and tertiary sulfonium Compounds in higher-plants. Annu. Rev. Plant. Physiol. Plant. Mol. Biol. 44: 357-384.
26.Sakamoto, A. and Murata, N. 2000. Genetic engineering of glycine betaine synthesis in plants: current status and implications for enhancement of stress tolerance. J. Exp. Bot. 51: 81-88.
27.Saleh, J. and Maftoun, M. 2008. Interactive effect of NaCl levels and zinc sources and levels on the growth and chemical composition of rice. J. Agric. Sci. Technol. 10: 325-336.
28.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.
29.Slinkard, K. and Singleton, V.L. 1977. Total phenol analyses: Automation and comparison with manual methods. Am. J. Enol. Vitic. 28: 49-55.
30.Tian, X. and Li, Y. 2006. Nitric oxide treatment alleviates drought stress in wheat seedlings. Biol. Planta. 50: 775-778.
31.Xu, J., Yin, H., Wang, W., Mi, Q. and Xiaojing, L. 2009. Effects of sodium nitroprusside on callus induction and shoot regeneration in micropropagated *Dioscorea opposite*. Plant. Growth. Regul. 59: 279-285.
32.Zaman, M.S., Ali, G.M., Muhammad, A., Farooq, K. and Hussain, I. 2015. In vitro screening of salt tolerance in potato (*Solanum tuberosum* L.) varieties Sarhad. J. Agric. 31: 106-113.