

## The Effect of Foliar Application of Nitric Oxide in Alleviating of Salt Stress in Bidaneh Sefid Grapevine Cultivar

Monir Ebrahimi<sup>1</sup>, Rouholah Karimi<sup>1\*</sup>, Masoomeh Amerian<sup>2</sup>

<sup>1</sup>. Department of Landscape Engineering, Faculty of Agriculture, Malayer University, Iran

<sup>2</sup>. Department of Production Engineering and Plant Genetics, Faculty of Science and Agriculture Engineering, Razi University, Kermanshah, Iran

### Abstract

Salinity is one of the environmental stresses with negatively impact on growth and development process which can leads in oxidative stress induction in plants. Nitric oxide is a relatively stable gas radical and at low concentrations, prevents the production of active oxygen species. The phytochemical changes were investigated in response to application of nitric oxide (0 and 100  $\mu$ M) in Bidaneh Sefid grapevine plants under different concentrations of sodium chloride (0, 25, 50 and 100 mM). The experiment was done in a factorial experiment based on a completely randomized design with three replications in greenhouse conditions. According to the results, Nitric oxide application increased the chlorophyll, proline, total soluble sugar, total phenol, total flavonoid, soluble protein concentration and likewise significantly increased the activity of antioxidant enzymes of grapevine leaves. Nitric oxide increased the tolerance of grapevine plants under salinity stress conditions with effect on compatible osmolytes, antioxidant enzymes, potassium and magnesium. Consequently, 100  $\mu$ M of nitric oxide is recommended for increasing salinity stress tolerance (up to 100 mM of NaCl).

**Keywords:** Antioxidant enzymes, Grapes, Compatible solutions, Nutrients, *Vitis vinifera*

---

\* Corresponding Author: rouholahkarimi@gmail.com

زیست‌شناسی گیاهی ایران، سال یازدهم، شماره سی و نهم، بهار ۱۳۹۸، صفحه ۶۴-۵۹

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۷/۰۹/۲۶

تاریخ بررسی مجدد: ۱۳۹۷/۱۲/۱۰ و ۱۳۹۷/۱۲/۲۶

تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹۷/۱۲/۲۷

## اثر کاربرد برگی اکسیدنیتریک بر تعدیل تنش شوری در انگور رقم بی‌دانه سفید

منیر ابراهیمی<sup>۱</sup>، روح‌الله کریمی<sup>۱\*</sup>، معصومه عامریان<sup>۲</sup>

<sup>۱</sup> گروه مهندسی فضای سبز، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ملایر، ملایر، ایران

<sup>۲</sup> گروه تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده علوم و مهندسی کشاورزی، دانشگاه رازی، کرمانشاه، ایران

### چکیده

شوری یکی از تنش‌های محیطی است که با تأثیر منفی بر فرایند رشد و نمو سبب القای تنش اکسایشی در گیاهان می‌شود. اکسیدنیتریک رادیکال گازی نسبتاً پایدار است که در غلظت‌های کم از تولید رادیکال‌های واکنش‌پذیر اکسیژن جلوگیری می‌کند. پژوهش حاضر با هدف بررسی تغییرات فتوشیمیایی ایجاد شده در پاسخ به کاربرد برگی اکسیدنیتریک (صفر و ۱۰۰ میکرومولار) در بوته‌های انگور رقم بی‌دانه سفید در معرض غلظت‌های مختلف (صفر، ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم) شوری در شرایط گلخانه به شکل آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شد. نتایج نشان دادند کاربرد اکسیدنیتریک به افزایش غلظت کلروفیل، پروتئین، قند محلول کل، فنول کل، فلاونوئید کل، پروتئین‌های محلول، منجر و سبب افزایش معنادار فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی می‌شود. اکسیدنیتریک با تأثیر بر اسمولیت‌های سازگار، آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و میزان پتاسیم و منیزیم تحمل بوته‌های انگور را نسبت به شرایط تنش شوری افزایش داد. با توجه به نتایج، غلظت ۱۰۰ میکرومولار اکسیدنیتریک برای افزایش تحمل به تنش شوری (تا غلظت ۱۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم) پیشنهاد می‌شود.

**واژه‌های کلیدی:** آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، محلول‌های سازگار، عناصر غذایی، *Vitis vinifera*

\* نگارنده مسئول: نشانی پست الکترونیک: rouholahkarimi@gmail.com شماره تماس: ۰۸۱۳۲۳۵۵۳۸۰

## مقدمه

کاهش آسیب‌های ناشی از گونه‌های واکنش‌پذیر اکسیژن به سامانه‌های محافظت‌کننده آنزیمی از جمله سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز، گایاکول پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز و متابولیت‌های غیر آنزیمی نظیر آسکوربیک اسید، ترکیبات فنولی و گلوکاتیون مجهز شده‌اند (Minazadeh *et al.*, 2018).

استفاده از ترکیباتی که باعث هومئوستازی متابولیسم سلول و پایداری غشاهای زیستی در شرایط تنش می‌شوند، یکی از روش‌های مدیریت گیاهان در معرض تنش شوری است (Minazadeh *et al.*, 2018).

اکسیدنیتریک رادیکال نسبتاً پایدار است که ابتدا به‌عنوان آلوده‌کننده محیط شایان توجه قرار گرفت؛ هرچند بررسی‌های اخیر نشان داده‌اند به‌شکل مولکول در پدیده انتقال پیام در گیاهان و در فرایندهای مختلف فیزیولوژیک، پاتوفیزیولوژیک و نمو مانند جوانه‌زنی بذر، بسته‌شدن روزنه، پاسخ به عوامل بیماری‌زا و نمو ریشه دخالت می‌کند (Duan *et al.*, 2007). اکسیدنیتریک به‌عنوان واسطه در عمل تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی و متابولیسم گونه‌های واکنش‌پذیر اکسیژن شرکت می‌کند و در بسیاری از مطالعه‌ها نشان داده شده است در انتقال پیام و پاسخ به تنش‌های زیستی و غیرزیستی دخالت دارد (Del Rio *et al.*, 2004). مقدار زیاد اکسیدنیتریک با اکسیژن ترکیب می‌شود و رادیکال پراکسی‌نیتريت را تولید می‌کند؛ بنابراین، اعتقاد بر اینست که اکسیدنیتریک نقش دوگانه

شوری یکی از تنش‌های محیطی مهم است که با آسیب به غشاهای زیستی و برهم‌زدن سازوکار طبیعی سلول سبب کاهش رشد و عملکرد و در نهایت مرگ تدریجی گیاه می‌شود (Sairam and Tyagi, 2004). آثار تنش شوری در گیاه به غلظت نمک، مدت زمان قرارگیری در معرض تنش شوری، ژنوتیپ گیاه و سایر عوامل محیطی بستگی دارند (Roy *et al.*, 2014). یکی از پیامدهای مضر تنش شوری، تجمع یون‌های سدیم و کلر در بافت گیاهان قرار گرفته در معرض خاک دارای غلظت زیاد کلرید سدیم است (Hu and Schmidhalter, 2005). ورود این یون‌ها به سلول باعث برهم‌خوردن تعادل عناصر، تجمع زیاد یون سدیم و در پی آن، اختلالات فیزیولوژیکی درخوردن توجه می‌شود. در این شرایط، معمولاً تنش اکسایشی به‌علت تغییر موازنه بین نور دریافت‌شده و کارایی جذب نور در برگ طی فرایند فتوسنتز رخ می‌دهد و با افزایش نشت الکترولیت‌ها، تشکیل گونه‌های واکنش‌پذیر اکسیژن از جمله سوپراکسید ( $O_2^-$ )، پراکسید هیدروژن ( $H_2O_2$ )، رادیکال‌های هیدروکسیل ( $OH^\cdot$ ) و اکسیژن منفرد ( $O^-$ ) همراه است (Foyer and Noctor, 2003). تنش شوری با افزایش گونه‌های واکنش‌پذیر اکسیژن در سلول‌های گیاه سبب ایجاد تنش اکسایشی در گیاه می‌شود و با افزایش فشار اسمزی محلول خاک، تخریب، فتوسنتز و جذب عناصر غذایی توسط گیاه را مختل می‌کند (Negrao *et al.*, 2017). گیاهان به‌منظور غلبه بر تنش شوری و

## مواد و روش‌ها

پژوهش حاضر به شکل آزمایش فاکتوریل در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی اجرا شد. تنش شوری در چهار سطح (صفر، ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم) و اکسیدنیتریک در دو سطح (صفر و ۱۰۰ میکرومولار) در سه تکرار اعمال شد. پس از تهیه قلمه‌های یک‌ساله انگور در اواسط فصل زمستان (۲۴ بهمن ۱۳۹۵) از باغ تحقیقاتی شماره ۱ پژوهشکده انگور و کشمش دانشگاه ملایر، قلمه‌ها به گلخانه آموزشی- تحقیقاتی دانشگاه منتقل شدند. پس از ضدعفونی کردن قلمه‌ها با بنومیل (۱/۵ درصد وزنی)، قلمه‌ها به منظور تسهیل کردن ریشه‌زایی با هورمون ایندول ۳- بوتیریک اسید (IBA) ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر به مدت ۵ ثانیه تیمار شدند. قلمه‌ها پس از ریشه‌دار شدن (در ماسه مرطوب) به گلدان‌های ۱۰ لیتری با ترکیب کوکوپیت و پرلیت (۱:۱) منتقل شدند. پس از رسیدن گیاهان به مرحله ۱۰ برگی، تیمارهای شوری همراه با آب آبیاری اعمال و گلدان‌ها دو بار در هفته با محلول غذایی هوگلند حاوی غلظت‌های مختلف (صفر، ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم) شوری آبیاری شدند؛ هم‌زمان با اعمال تیمار شوری، تیمار اکسیدنیتریک (در دو سطح صفر و ۱۰۰ میکرومولار سدیم‌نیتروپروپوساید به عنوان ترکیب رهاکننده اکسیدنیتریک) به شکل محلول‌پاشی برگی طی نخستین هفته از اعمال تنش شوری و در دو مرحله به فاصله ۳ روز انجام شد. پس از گذشت شش هفته از آغاز تیمار شوری، نمونه‌های برگ‌برداشت (Minazadeh *et al.*, 2018) و برای سنجش شاخص‌های فیزیولوژیکی به آزمایشگاه تحقیقاتی علوم باغبانی دانشگاه ملایر منتقل شدند.

(سمی یا حفاظتی) دارد و این نقش به غلظت آن در گیاه، نوع بافت، سن گیاه و نوع تنش وارد شده به گیاه بستگی دارد. (Beligni and Lamattina, 1999; Del Rio *et al.*, 2004) در برخی گیاهان، کاربرد خارجی اکسیدنیتریک باعث کاهش خسارت ناشی از برخی تنش‌ها مانند فلزات سنگین، علف‌کش‌ها، سرما، اشعه ماورابنفش و تنش شوری می‌شود. (Arasimowicz and Floryszak-wieczorek, 2007).

انگور (*Vitis vinifera* L.) از مهم‌ترین محصولات باغی در دنیا و ایران است که به علت داشتن فراورده‌های جانبی متعدد در بیش از ۹۰ کشور دنیا کشت می‌شود؛ این سطح کشت وسیع باعث روبه‌رو شدن درختچه‌های انگور با تنش‌های محیطی مختلف از جمله تنش شوری شده است. کاربرد بی‌رویه کودهای شیمیایی، برهم خوردن ساختمان خاک، گرمای هوا و کم‌آبی از جمله دلایل افزایش غلظت نمک‌ها در آب و خاک به شمار می‌آیند؛ بنابراین، افزایش تحمل شوری ارقام انگور کشت شده (دست‌کم از طریق کاربرد ترکیبات محافظت‌کننده‌های بیرونی) به منظور داشتن تولید پایدار بیش‌ازپیش ضروری به نظر می‌رسد. پژوهشی درباره تأثیر تیمارهای اکسیدنیتریک در گیاه انگور قرار گرفته در معرض تنش شوری انجام نشده است؛ از این رو، هدف بررسی حاضر مطالعه سازوکارهای فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی اثر اکسیدنیتریک در تخفیف تنش شوری بود که روی بوته‌های انگور رقم بی‌دانه سفید در شرایط گلخانه ارزیابی شد.

در طول موج‌های ۶۶۳ نانومتر (حداکثر جذب نوری کلروفیل a)، ۶۴۵ نانومتر (حداکثر جذب نوری کلروفیل b) و ۴۷۰ نانومتر (حداکثر جذب نوری کاروتنوئید) با دستگاه اسپکتروفتومتر (مدل Spekol 2000، شرکت Analytic Jena، آلمان) و با استفاده از استون ۸۰ درصد (شاهد) خوانده شد. غلظت هریک از رنگیزه‌ها در عصاره بر حسب میلی‌گرم در لیتر محاسبه شد (Lichtenthaler, 1987):

$$\text{Chl}_a \text{ (mg/L)} = (12.7 \times A_{663}) - (2.69 \times A_{645})$$

$$\text{Chl}_b \text{ (mg/L)} = (25.8 \times A_{645}) - (4.68 \times A_{663})$$

$$\text{Chl}_{\text{total}} \text{ (mg/L)} = (20.21 \times A_{645}) + (8.02 \times A_{663})$$

$$\text{Car} \text{ (mg/L)} = [(1000 \times A_{470} - 2.27 \times \text{Chl}_a - 81.4 \text{Chl}_b) / 227]$$

میلی لیتر تولوئن به هر نمونه اضافه و کاملاً تکان داده شد تا پرولین وارد فاز تولوئن شود. پس از نیم ساعت، میزان جذب فاز تولوئن هر نمونه با دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۱۵ نانومتر تعیین شد (Bates et al., 1973). غلظت پرولین بر اساس منحنی استاندارد پرولین خالص تعیین و بر حسب میکرومول در گرم وزن تر برگ بیان شد.

استخراج قندهای محلول مشابه با استخراج پرولین انجام شد. به منظور اندازه‌گیری قندهای محلول، ۰/۱ میلی لیتر از عصاره الکلی به دست آمده با ۳ میلی لیتر آنترون تازه تهیه شده (۱۵۰ میلی گرم آنترون + ۱۰۰ میلی لیتر سولفوریک اسید ۷۲ درصد) مخلوط شد. برای شروع واکنش رنگ‌گیری، لوله‌ها به مدت ۱۰ دقیقه در حمام آب‌گرم ۹۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند و پس از سرد شدن لوله‌ها، میزان جذب نمونه‌ها با دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۶۲۵ نانومتر خوانده

به منظور اندازه‌گیری غلظت رنگیزه‌های فتوسنتزی از جمله کلروفیل a، کلروفیل b و کاروتنوئید، ۰/۱۲۵ گرم بافت برگ تازه با ۱۰ میلی لیتر استون ۸۰ درصد در هاون چینی ساییده شد تا به شکل توده‌ای یکنواخت درآمد؛ این عمل در نور کم و محیط خنک انجام شد. عصاره حاصل به مدت ۱۰ دقیقه در ۶۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ (مدل R 320 Universal، شرکت Hettich، آلمان) شد؛ سپس محلول رویی برداشته و جذب نوری آن

رابطه ۱

رابطه ۲

رابطه ۳

رابطه ۴

به منظور استخراج پرولین، ابتدا ۰/۵ گرم از بافت منجمد شده برگ با ۵ میلی لیتر اتانول ۹۵ درصد در هاون چینی ساییده و بخش بالایی محلول جدا شد. عمل استخراج یک بار دیگر با افزودن ۵ میلی لیتر اتانول ۷۰ درصد به رسوبات قبلی تکرار شد. عصاره استخراج شده به مدت ۱۵ دقیقه با سرعت ۶۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. برای اندازه‌گیری پرولین هر نمونه، ۱ میلی لیتر عصاره با ۹ میلی لیتر آب مقطر رقیق شد و به آن، ۵ میلی لیتر معرف نین‌هیدرین (شامل ۰/۱۲۵ گرم نین‌هیدرین + ۲ میلی لیتر فسفریک اسید ۶ مولار + ۳ میلی لیتر استیک اسید گلاسیال) به همراه ۵ میلی لیتر استیک اسید گلاسیال اضافه شد و پس از تکان دادن جزئی، نمونه به مدت ۴۵ دقیقه درون حمام بخار (مدل WNB14، شرکت Memmert، آلمان) با دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. پس از خنک کردن نمونه‌ها در آب یخ، ۴

دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۷۲۵ نانومتر خوانده و میزان فنول با استفاده از نمودار استاندارد گالیک اسید بر حسب میلی گرم گالیک اسید بر وزن تر تعیین شد (Velioglu, et al., 1998).

به منظور سنجش میزان فلاونوئید کل از روش رنگ‌سنجی کلرید آلومینیوم استفاده شد (Chang et al., 2002)؛ در این روش، ابتدا ۰/۱ میلی لیتر کلرید آلومینیوم ۱۰ درصد درون لوله‌های آزمایش ریخته شد، ۰/۱ میلی لیتر استات پتاسیم ۱ مولار به لوله‌ها اضافه و با محتویات آنها مخلوط شد، سپس ۲/۸ میلی لیتر آب مقطر به لوله‌ها اضافه شد و در مرحله آخر، ۰/۵ میلی لیتر از محلول عصاره متانولی برگ به مخلوط یادشده اضافه شد. نمونه‌ها به مدت ۳۰ دقیقه در محیط تاریک قرار گرفتند و سپس جذب نوری نمونه‌ها در طول موج ۴۱۵ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر تعیین شد. مقدار فلاونوئید کل برای هر کدام از عصاره‌ها بر حسب میلی گرم کوئرستین بر گرم وزن تر محاسبه شد.

به منظور اندازه‌گیری محتوای آب نسبی برگ، ابتدا قطعه‌های برگ به شعاع ۱ سانتی‌متر تهیه و وزن تر آنها تعیین شد. پس از قرارگیری قطعه‌های برگ درون آب مقطر (۲۴ ساعت در یخچال)، وزن آماس برگ‌ها تعیین شد. به منظور اندازه‌گیری وزن خشک، قطعه‌های برگ به مدت ۲۴ ساعت در آون (مدل ۳۵ لیتری هوشمند، شرکت شیماز، ایران) با دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد خشک و سپس وزن شدند. محتوای آب نسبی بر حسب درصد از رابطه ۵ به دست آمد (Ritchie et al., 1990):

$$\text{رابطه ۵} \quad 100 \times (\text{وزن خشک} - \text{وزن آماس}) / (\text{وزن خشک} - \text{وزن تر}) = \text{محتوای آب نسبی (درصد)}$$

شد (Irigoyen et al., 1992). غلظت قندهای محلول بر اساس منحنی استاندارد گلوکز تعیین و بر حسب میلی گرم در گرم وزن تر بیان شد.

به منظور سنجش محتوای پروتئین‌های محلول، ۰/۵ گرم بافت تازه برگ با ۵ میلی لیتر بافر استخراج (تریس با غلظت ۱ میلی مولار و اسیدیته ۷) درون هاون چینی کاملاً له شد و این مخلوط به مدت ۲۰ دقیقه با سرعت ۶۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ شد؛ سپس ۱۰۰ میکرولیتر از محلول شفاف رویی با ۵ میلی لیتر معرف بیورد [۱۰ درصد استیک اسید گلاسیال+۲۵ درصد اتانول+۶۵ درصد آب مقطر+۰/۱ درصد (حجم/وزن) محلول کوماسی بریلیانت بلو جی ۲۵۰] مخلوط و جذب آن با دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۹۵ نانومتر خوانده شد (Bradford, 1979). غلظت پروتئین‌های محلول با استفاده از منحنی استاندارد تهیه‌شده بر اساس غلظت‌های مختلف آلبومین گاوی بر حسب میلی گرم در گرم وزن تر محاسبه شد.

به منظور اندازه‌گیری محتوای فنول کل موجود در برگ‌ها، ابتدا ۰/۵ گرم نمونه تازه برگ به طور کامل در ۴ میلی لیتر اتانول کوبیده شد تا محلولی همگن حاصل شد و پس از ۲۰ دقیقه سانتریفوژ در ۹۵۰۰ دور در دقیقه، محلول شفاف رویی جدا شد. میزان ۳۰۰ میکرولیتر عصاره با ۱۲۰۰ میکرولیتر کربنات سدیم ۷ درصد و ۰/۵ میلی لیتر فولین ۱۰ درصد مخلوط و به مدت ۲۰ دقیقه در محل تاریک قرار داده شد. پس از طی شدن مدت زمان یادشده، میزان جذب با

رابطه ۵

آلمان) خوانده شد (هدایت الکتریکی اولیه). قوطی‌های حاوی قطعه‌های برگ به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد اتوکلاو (مدل ۷۵ لیتری، شرکت ریحان طب، ایران) شدند؛ پس از سرد شدن تدریجی، هدایت الکتریکی آنها دوباره خوانده (هدایت الکتریکی ثانویه) و در نهایت، درصد نشت یونی از رابطه ۶ محاسبه شد (Sairam and Tyagi, 2004).

$100 \times (\text{هدایت الکتریکی ثانویه} / \text{هدایت الکتریکی اولیه}) = \text{درصد نشت یونی}$

ثبت شد. هر واحد از فعالیت آنزیم کاتالاز، مقداری از آنزیم در نظر گرفته شد که موجب کاهش ۱ میکرومول پراکسید هیدروژن در دقیقه می‌شود. میزان فعالیت آنزیم بر حسب واحد در میلی‌گرم پروتئین برگ بیان شد (Bergmeyer, 1970).

به منظور اندازه‌گیری فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز، ابتدا مقدار ۵۰ میکرولیتر از عصاره گیاهی با ۳ میلی‌لیتر بافر استخراج حاوی فسفات سدیم ۵۰ میلی‌مولار (اسیدیته ۷) و ۲ میلی‌مولار اتیلن‌دی‌آمین تتراسیتیک اسید آمیخته و واکنش آنزیم گایاکول پراکسیداز با اضافه کردن ۵ میکرولیتر پراکسید هیدروژن ۳۰ درصد و مقدار ۵ میکرولیتر ماده گایاکول به این مخلوط آغاز شد. ثبت تغییرات جذب نوری نمونه‌ها در طول موج ۴۶۵ نانومتر که بیان‌کننده میزان تخریب و کاهش غلظت پراکسید هیدروژن است به مدت ۱ دقیقه انجام شد. هر واحد از فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز، مقداری از آنزیم در نظر گرفته شد که موجب کاهش ۱ میکرومول پراکسید هیدروژن در هر دقیقه می‌شود. میزان فعالیت آنزیم بر حسب واحد در میلی‌گرم

به منظور اندازه‌گیری نشت یونی، نمونه‌های برگ (به اندازه دایره‌ای با شعاع ۱ سانتی‌متر) در قوطی‌های حاوی ۳۰ میلی‌لیتر آب مقطر غوطه‌ور و به مدت ۲۰ ساعت روی دستگاه شیکر (مدل KS260 digital، شرکت IKA، آلمان) با سرعت ۱۲۰ دور در دقیقه تکان داده شدند. پس از این مدت، هدایت الکتریکی محلول حاوی نمونه‌ها با دستگاه هدایت سنج (مدل Cond 720، شرکت WTW، رابطه ۶

به منظور اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، ابتدا عصاره آنزیمی تهیه شد؛ به این ترتیب که ابتدا بافت منجمد شده برگ در حضور ازت مایع در هاون چینی آسیاب شد و مقدار ۰/۱ گرم از آن به تیوب پلاستیکی حاوی ۱ میلی‌لیتر بافر استخراج اضافه و هم زده شد. نمونه از صافی عبور داده شد و عصاره تهیه شده به مدت ۱۵ دقیقه با سرعت ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ و محلول شفاف رویی به آرامی جدا شد؛ محلول حاصل برای اندازه‌گیری فعالیت هریک از آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان به شرح زیر استفاده شد:

به منظور تعیین میزان فعالیت آنزیم کاتالاز، ابتدا مقدار ۵۰ میکرولیتر از عصاره گیاهی با ۳ میلی‌لیتر بافر استخراج شامل فسفات سدیم ۵۰ میلی‌مولار (اسیدیته ۷) و ۲ میلی‌مولار اتیلن‌دی‌آمین تتراسیتیک اسید آمیخته و واکنش آنزیم کاتالاز با اضافه کردن ۵ میکرولیتر پراکسید هیدروژن ۳۰ درصد به این مخلوط آغاز شد. تغییرات جذب نوری نمونه‌ها در طول موج ۲۴۰ نانومتر به مدت ۱ دقیقه

آمریکا) اندازه گیری شد. غلظت یون نترات با دستگاه اسپکتروفتومتر (مدل Spekol 2000، شرکت Analytic Jena، آلمان) و با استفاده از ۰/۵ گرم پودر مخلوطی شامل ۳۷ گرم سیتریک اسید، ۵ گرم سولفات منگنز مونوهیدرات، ۲ گرم سولفانیل آمید، ۱ گرم ان-۱- نفتیل اتیل دی آمین دی هیدروکلراید و ۱ گرم پودر روی به عنوان شناساگر که به عصاره اضافه شد، اندازه گیری شد (Abdel-Shafey *et al.*, 1994). به منظور اندازه گیری کلر، ۱۰۰ میلی گرم از بافت گیاهی پودر شده درون لوله فالدون ریخته شد و عصاره گیری پس از افزودن ۱۰ میلی لیتر نیتریک اسید ۰/۵ مولار و قراردعی آن به مدت ۱ ساعت در دمای ۸۰ درجه سانتی گراد خشک کن انجام شد. مقدار ۱ میلی لیتر از عصاره برای خواندن کلر طبق روش رنگ سنجی در طول موج ۴۸۰ نانومتر با دستگاه اپوچ (مدل LMS-1003، USA) استفاده شد (Munns *et al.*, 2010).

تجزیه و تحلیل داده ها با نرم افزار SAS نسخه ۹/۱ انجام و برای مقایسه میانگین داده ها از آزمون چنددامنه ای دانکن ( $P \leq 0.01$ ) استفاده شد. پیش از انجام تجزیه و تحلیل آماری، آزمون نرمالیته برای همه داده ها انجام شد.

### نتایج و بحث

**اثر شوری و اکسیدنیتریک بر رنگبزه های برگ انگور:** در هر دو سطح اکسیدنیتریک، میزان کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل و کاروتنوئید با افزایش غلظت کلرید سدیم کاهش یافت (جدول ۱). نتایج نشان دادند تنش شوری باعث کاهش غلظت کلروفیل a، کلروفیل b و کلروفیل کل برگ

پروتئین برگ بیان شد (Herzog and Fahimi, 1973).

به منظور اندازه گیری فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز، ابتدا مقدار ۵۰ میکرولیتر از عصاره گیاهی با ۳ میلی لیتر بافر استخراج حاوی فسفات سدیم ۵۰ میلی مولار (اسیدیته ۷)، ۲ میلی مولار اتیلن دی آمین تتراسیتیک اسید، پلی وینیل پیرولیدین-۴۰ ۱ درصد (وزن به حجم)، تریتون-۱۰۰ ۰/۱ (حجم به حجم) و آسکوربات ۱ میلی مولار آمیخته شد. واکنش آنزیم کاتالاز با اضافه کردن ۴/۵ میکرولیتر پراکسید هیدروژن ۳۰ درصد به مخلوط یاد شده آغاز شد. تغییرات جذب نوری نمونه ها در طول موج ۲۹۰ نانومتر که بیان کننده میزان اکسیداسیون و کاهش غلظت آسکوربات است به مدت ۱ دقیقه ثبت شد. هر واحد فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز، مقداری از آنزیم در نظر گرفته شد که موجب اکسیده شدن ۱ میکرومول آسکوربات در هر دقیقه می شود. میزان فعالیت آنزیم بر حسب واحد در میلی گرم پروتئین برگ بیان شد (Nakano and Asada, 1981).

به منظور استخراج و اندازه گیری غلظت عناصر، نمونه های برگی سالم از برگ های میانی شاخه ها جمع آوری و در آزمایشگاه با آب مقطر شستشو شدند. نمونه های برگ به مدت ۷۲ ساعت در دمای ۷۵ درجه سانتی گراد خشک و سپس آسیاب شدند. پس از تهیه عصاره به روش هضم تر با استفاده از نیتریک اسید غلیظ (۶۵ درصد)، غلظت عناصر پتاسیم و سدیم به روش نشر شعله ای و با دستگاه فلیم فتومتر (مدل 405 G، شرکت Crouse، آلمان) و غلظت عناصر منیزیم و کلسیم با دستگاه جذب اتمی (مدل AANALYST70، شرکت Perkin Elmer



سلول می‌شود (Cuin and Shabala, 2007)؛ به عبارتی، اختلال ضمنی در جذب عناصر دخیل در ساختار کلروفیل مانند منیزیم و آهن یکی از دلایل کاهش کلروفیل در برگ بوته‌های در معرض تنش شوری است (Munns and Tester, 2008) که این نقصان با کاربرد خارجی اکسیدنیتریک رفع می‌شود. در مطالعه حاضر، کاربرد اکسیدنیتریک باعث پایداری بیشتر کلروفیل در برگ بوته‌های انگور در معرض تنش شوری شد که گویای نقش این ترکیب در راه‌اندازی مسیرهای متابولیکی است و نشان می‌دهد این ترکیب با تأثیر بر سیستم فتوسنتزی گیاه موجب تداوم فعالیت فیزیولوژیکی کلروفیل و پایداری گیاه می‌شود (García López-Carrión *et al.*, 2008).

انگور می‌شود؛ به طوری که این اثر به غلظت وابسته است و غلظت این رنگیزه فتوسنتزی در شوری ۱۰۰ میلی‌مولار کلریدسدیم به حداقل می‌رسد (جدول ۱). با افزایش شوری، از میزان کلروفیل کل نیز کاسته شد و شیب کاهش آن در تیمار صفر میکرومولار اکسیدنیتریک بیشتر از ۱۰۰ میکرومولار بود (جدول ۱)؛ این یافته با گزارش‌های پیشین درباره اثر شوری بر محتوای کلروفیل انگور مطابقت دارد (Ahmed *et al.*, 2015; Doulati Baneh, 2016; Azizi *et al.*, 2017). کاهش کلروفیل در شرایط تنش شوری از تخریب کلروپلاست، تغییر نسبت لیپید به پروتئین، افزایش فعالیت آنزیم‌های کلروفیلاز و رویسکو ناشی می‌شود. اثر سمیت برخی یون‌ها در شرایط تنش شوری مانع فعالیت آنزیمی و سنتز کلروفیل در

جدول ۱- مقایسه میانگین اثر ترکیبی تیمارهای شوری و اکسیدنیتریک بر میزان کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل و کاروتنوئید برگ انگور بی‌دانه سفید

کاروتنوئید	کلروفیل کل	کلروفیل b	کلروفیل a	شوری	اکسیدنیتریک
میلی‌گرم بر گرم وزن تر					
۰/۹۵۳ <sup>b</sup>	۲/۵۵۱ <sup>a</sup>	۰/۶۳۶ <sup>a</sup>	۱/۶۱۸ <sup>a</sup>	۰	۰
۰/۷۸۰ <sup>cd</sup>	۲/۴۱۳ <sup>b</sup>	۰/۶۳۰ <sup>a</sup>	۱/۵۱۶ <sup>b</sup>	۲۵	۰
۰/۶۹۰ <sup>d</sup>	۲/۲۵۰ <sup>c</sup>	۰/۵۵۵ <sup>b</sup>	۱/۴۲۶ <sup>c</sup>	۵۰	۰
۰/۵۶۰ <sup>f</sup>	۱/۸۰۵ <sup>e</sup>	۰/۴۴۶ <sup>d</sup>	۱/۱۵۶ <sup>d</sup>	۱۰۰	۰
۱/۰۳۱ <sup>a</sup>	۲/۵۹۱ <sup>a</sup>	۰/۶۴۶ <sup>a</sup>	۱/۷۰۸ <sup>a</sup>	۰	۱۰۰
۰/۸۱۰ <sup>c</sup>	۲/۵۱۳ <sup>b</sup>	۰/۶۴۰ <sup>a</sup>	۱/۵۶۶ <sup>b</sup>	۲۵	۱۰۰
۰/۷۲۳ <sup>d</sup>	۲/۳۵۰ <sup>c</sup>	۰/۵۷۵ <sup>b</sup>	۱/۴۷۷ <sup>c</sup>	۵۰	۱۰۰
۰/۶۱۱ <sup>e</sup>	۲/۰۷۵ <sup>d</sup>	۰/۴۹۶ <sup>c</sup>	۱/۲۵۶ <sup>d</sup>	۱۰۰	۱۰۰

\*حرف‌های یکسان عدم اختلاف معنادار در سطح احتمال  $P < 0.05$  را نشان می‌دهند.

تنش شوری مشاهده شد (جدول ۱). میزان این ترکیب با افزایش شوری کاهش یافت و در شوری ۱۰۰ میلی‌مولار کلریدسدیم بدون تیمار

بیشترین میزان کاروتنوئید (۱/۰۳۱) میلی‌گرم بر گرم وزن تر) در برگ انگور بی‌دانه سفید تیمار شده با صفر میکرومولار اکسیدنیتریک بدون

اکسیدنیتریک همراه با ۱۰۰ میلی مولار کلرید سدیم و کمترین میزان پرولین برگ (۱۰/۶۱ میکرومول بر گرم وزن تر) در تیمار صفر میکرومولار اکسیدنیتریک همراه با صفر میلی مولار کلرید سدیم مشاهده شد (البته اختلاف معناداری با مقدار پرولین برگ بوته‌های تیمار شده با ۱۰۰ میکرومولار اکسیدنیتریک در ترکیب با صفر میلی مولار کلرید سدیم نداشت) (جدول ۲). پژوهش‌ها نشان می‌دهند اعمال تنش شوری در توت‌فرنگی (Turhan and Eris, 2004)، انگور (Fozouni et al., 2012; Doulati Baneh et al., 2013) و گوجه‌فرنگی (Zarei et al., 2018) نیز محتوای پرولین را در برگ نهال‌ها افزایش می‌دهد که تأییدی بر نتایج مطالعه حاضر است. افزایش غلظت پرولین ممکن است به علت وجود پیش‌ماده مشترک با کلروفیل (گلوتامین) باشد؛ در نتیجه، طی شرایط تنش و به‌علت ساخت پرولین برای تعدیل اثر اسمزی شوری، میزان کلروفیل کمتری ساخته می‌شود (Fozouni et al., 2012). مشاهده شده است کاربرد برگی اکسیدنیتریک در دانهای برنج در معرض تنش شوری باعث افزایش معنادار غلظت پرولین برگ دانهاها می‌شود که با افزایش رونویسی ژن کلیدی بیوسنتز پرولین یعنی دلتا پیرولین ۵ کربوکسیلات سنتاز همراه است (Uchida et al., 2002). پرولین داخل سلول که طی تنش انباشته شده است، امکان تحمل به تنش را فراهم می‌کند و به‌شکل نیتروژن آلی طی دوران بهبود از تنش ذخیره می‌شود (Strizhov et al., 1997; Fozouni et al., 2012).

اکسیدنیتریک به کمترین مقدار خود (۰/۵۶۰ میلی گرم بر گرم وزن تر) رسید که گویای اثر منفی و معنادار سدیم بر این ترکیب است. کاروتنوئیدها یکی از رنگیزه‌های فتوسنتزی‌اند که میزان آنها تحت تأثیر تنش شوری به‌شدت و به‌طور معنادار کاهش می‌یابد (Parida and Das, 2005; Alavi et al., 2016). مقایسه دو سطح تیمار اکسیدنیتریک نشان داد این ماده بر میزان کاروتنوئید اثر معناداری دارد و موجب افزایش این ترکیب در همه سطوح شوری می‌شود (جدول ۱). بیشترین اثر اکسیدنیتریک بر میزان کاروتنوئید (افزایش ۲۱ درصدی) در شوری ۲۵ میلی مولار کلرید سدیم (۰/۸۱۰ میلی گرم بر گرم وزن تر) مشاهده شد؛ نقش تعدیل‌کنندگی اکسیدنیتریک با افزایش شوری کم‌رنگ‌تر شد و در شوری ۱۰۰ میلی مولار کلرید سدیم، مقدار کاروتنوئید به کمترین مقدار خود (۰/۶۱۱ میلی گرم بر گرم وزن تر) رسید.

#### اثر شوری و اکسیدنیتریک بر برخی ویژگی‌های فیزیولوژیکی برگ انگور

**پرولین:** نتایج مقایسه میانگین‌ها (جدول ۲) نشان دادند در سطح صفر میکرومولار اکسیدنیتریک، میزان پرولین برگ با افزایش غلظت کلرید سدیم افزایش می‌یابد و در سطح ۱۰۰ میکرومولار اکسیدنیتریک، میزان پرولین برگ با افزایش غلظت نمک تا ۵۰ میکرومولار افزایش می‌یابد و در غلظت ۱۰۰ میلی مولار کلرید سدیم کاهش نشان می‌دهد. بیشترین میزان پرولین برگ (۲۲/۹۰ میکرومول بر گرم وزن تر) در تیمار صفر میکرومولار

جدول ۲- مقایسه میانگین اثر ترکیبی تیمارهای شوری و اکسیدنیتریک بر برخی ویژگی‌های فیزیولوژیکی برگ انگور بی دانه سفید

پرولین	قند محلول کل	پروتئین محلول کل	فنل کل	فلاونوئید	اکسیدنیتریک	شوری
میکرومول بر گرم وزن تر	میلی گرم بر گرم وزن تر	میلی گرم بر گرم وزن تر	میلی گرم گالیک اسید بر گرم وزن تر	میلی گرم کوئرستین بر گرم وزن تر	۰	۰
۱۰/۶۱ <sup>c</sup>	۱۷/۳۶ <sup>c</sup>	۳/۱۳ <sup>c</sup>	۱۶/۲۵ <sup>g</sup>	۰/۶۳ <sup>c</sup>	۰	۰
۱۵/۵۳ <sup>d</sup>	۱۷/۹۱ <sup>c</sup>	۳/۹۶ <sup>b</sup>	۱۹/۱۷ <sup>c</sup>	۰/۶۱ <sup>c</sup>	۲۵	۰
۱۸/۰۰ <sup>c</sup>	۲۰/۶۲ <sup>bc</sup>	۳/۴۶ <sup>bc</sup>	۲۳/۱۴ <sup>d</sup>	۱/۲۹ <sup>b</sup>	۵۰	۰
۲۱/۳۰ <sup>b</sup>	۲۴/۶۱ <sup>ab</sup>	۲/۲۳ <sup>d</sup>	۲۵/۱۰ <sup>c</sup>	۱/۱۴ <sup>b</sup>	۱۰۰	۰
۱۱/۲۳ <sup>c</sup>	۱۸/۴۱ <sup>c</sup>	۳/۹۶ <sup>b</sup>	۱۷/۶۵ <sup>f</sup>	۰/۵۲ <sup>d</sup>	۰	۱۰۰
۱۶/۰۳ <sup>d</sup>	۲۲/۶۶ <sup>abc</sup>	۵/۲۰ <sup>a</sup>	۲۲/۷۳ <sup>d</sup>	۱/۱۱ <sup>b</sup>	۲۵	۱۰۰
۲۰/۶۰ <sup>b</sup>	۲۵/۷۰ <sup>ab</sup>	۵/۱۰ <sup>a</sup>	۲۶/۹۲ <sup>b</sup>	۱/۱۳ <sup>b</sup>	۵۰	۱۰۰
۲۲/۹۰ <sup>a</sup>	۲۸/۱۴ <sup>a</sup>	۵/۱۶ <sup>a</sup>	۲۸/۷۱ <sup>a</sup>	۱/۵۳ <sup>a</sup>	۱۰۰	۱۰۰

\*حرف‌های یکسان عدم اختلاف معنادار در سطح احتمال  $P < 0.05$  را نشان می‌دهند.

#### قند محلول کل: نتایج مقایسه میانگین‌ها (جدول ۲)

نشان دادند در سطح صفر میکرومولار اکسیدنیتریک، میزان قند محلول کل برگ با افزایش غلظت نمک افزایش می‌یابد؛ از سویی در سطح ۱۰۰ میکرومولار اکسیدنیتریک، میزان قند محلول کل برگ با افزایش غلظت نمک تا سطح ۱۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم به بیشترین مقدار (۲۸/۱۴ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) می‌رسد (جدول ۲). در بررسی تحمل شوری چهار رقم انگور یاقوتی، عسگری، رشه و سرقله مشخص شده است تجمع قندهای محلول در برگ با افزایش شوری افزایش می‌یابد و رابطه مستقیمی بین تحمل شوری و میزان تجمع قند محلول کل مشاهده می‌شود (Doulati Baneh et al., 2013). همچنین در بررسی تغییرات عناصر غذایی، ویژگی‌های رشدی و فیزیولوژیکی چند رقم و دوره‌گه بین‌گونه‌ای انگور مشاهده شده است میزان رشد، وزن خشک ریشه و ساقه و محتوای نسبی آب با افزایش تنش شوری ناشی از کلرید سدیم کاهش ولی میزان پرولین و قندهای محلول افزایش می‌یابد

#### بیوسنتز و تجمع

محلول‌های سازگاری از جمله قندها یکی از واکنش‌های تنظیمی مهم گیاهان در پاسخ به تنش شوری است (Gupta and Huang, 2014). به این ترتیب که گیاه محلول‌های سازگار از جمله قندهای محلول را در واکنش و سیتوپلاسم انباشته می‌کند تا با حفاظت و تعدیل اسمزی بتواند ادامه جذب آب، ذخیره کربن و نیتروژن و پالایندگی رادیکال‌های آزاد اکسیژن را انجام دهد؛ اما این امر با افزایش شوری و آثار تخریبی آن متوقف و گیاه متحمل آسیب‌های جبران‌ناپذیر می‌شود (Sivritepe and Eriş, 1999; Parida and Das, 2005).

#### پروتئین محلول کل: نتایج مقایسه میانگین‌ها

(جدول ۲) نشان دادند در سطح صفر میکرومولار اکسیدنیتریک، میزان پروتئین برگ با افزایش غلظت نمک تا سطح ۵۰ میلی‌مولار کلرید سدیم افزایش و در غلظت ۱۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم کاهش می‌یابد. کمترین میزان پروتئین برگ (۲/۲۳ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) در تیمار صفر میکرومولار

درون‌زاد در دانه‌های تیمار شده با اکسیدنیتریک همراه بود که تأییدی بر یافته‌های مطالعه حاضر است. **فنول کل:** نتایج نشان دادند (جدول ۲) میزان فنول کل برگ با افزایش غلظت نمک در هر دو سطح صفر و ۱۰۰ میکرومولار اکسیدنیتریک افزایش می‌یابد. بیشترین (۲۸/۷۱ میلی‌گرم گالیک‌اسید بر گرم وزن تر) و کمترین (۱۶/۲۵ میلی‌گرم گالیک‌اسید بر گرم وزن تر) میزان فنول کل به ترتیب در تیمارهای ۱۰۰ میکرومولار اکسیدنیتریک همراه با ۱۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم و شاهد (صفر میکرومولار اکسیدنیتریک همراه با صفر میلی‌مولار کلرید سدیم) مشاهده شد. کاربرد برگی اکسیدنیتریک ۱۰۰ میکرومولار به‌طور چشمگیری محتوای فنول کل را در انگورهای تیمار شده افزایش داد؛ به طوری که میزان فنول کل در مقایسه با انگورهای تیمار نشده (صفر میکرومولار اکسیدنیتریک) حدود ۴۰ درصد افزایش داشت (جدول ۲).

در مطالعه حاضر، کاربرد اکسیدنیتریک به تجمع فنول کل بیشتر در شرایط تنش شوری نسبت به انگورهای تیمار نشده منجر شد. افزایش ترکیبات فنولی در این انگورها نوعی سازوکار سازگاریست که برای غلبه بر تنش اکسایشی ناشی از شوری عمل می‌کند. کاربرد برگی اکسیدنیتریک در انگور، تحمل به تنش سرما را از طریق افزایش ترکیبات فنولی افزایش می‌دهد (Siddiqui *et al.*, 2010) که گویای دخالت این ماده در مسیرهای ساخت ترکیبات فنولی به‌ویژه در گیاهان در معرض تنش است. در پژوهش Zhou و Peng (۲۰۰۹) نیز ترکیبات فنولی موجب

اکسیدنیتریک همراه با ۱۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم مشاهده شد. در سطح ۱۰۰ میکرومولار اکسیدنیتریک، میزان پروتئین برگ با افزایش غلظت نمک افزایش یافت؛ هرچند تفاوت معناداری بین سطوح بالای نمک از نظر میزان پروتئین برگ وجود نداشت. محتوای پروتئین‌های محلول یکی از شاخص‌های مهم نشان‌دهنده وضعیت فیزیولوژیکی در سلول‌های گیاهی است. در مطالعه حاضر، محتوای پروتئین‌های محلول پس از اعمال تنش شوری افزایش یافت؛ این افزایش یکی از معمول‌ترین تغییرات بیوشیمیایی است که باعث محافظت گیاه در برابر آسیب‌های کشنده آب‌کشیدگی می‌شود (Koç *et al.*, 2010). پروتئین محلول همانند پرولین از جمله محلول‌های سازگاریست و از عوامل ارتقای مقاومت گیاه در برابر تنش شوری محسوب می‌شود؛ بنابراین با افزایش شوری، گیاه از طریق تولید پروتئین محلول تا حدی بر شرایط تنش فائق می‌آید. محتوای پروتئین‌های محلول برگ در انگورهای تیمار شده با اکسیدنیتریک ۱۰۰ میکرومولار به همراه سطوح شوری ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌مولار (بدون اختلاف معنادار باهم) در مقایسه با بوته‌های محلول‌پاشی شده با اکسیدنیتریک ۱۰۰ میکرومولار بدون شوری به‌طور معناداری افزایش داشت (جدول ۲). در مطالعه Uchida و همکاران (۲۰۰۲) روی دانه‌های برنج، کاربرد اکسیدنیتریک باعث بیان بیشتر ژن پروتئین‌های مرتبط با تنش از جمله پروتئین‌های شوک حرارتی شد. در مطالعه یادشده، سازگاری به تنش شوری با تولید کمتر پراکسید هیدروژن

(Ranjbar *et al.*, 2017) و پسته (Azizi *et al.*, 2017) در شرایط تنش شوری مطابقت دارند؛ البته محتوای نسبی آب در تاک‌های تیمار شده با اکسیدنیتریک در سطح بالاتری حفظ می‌شود. شوری موجب کاهش پتانسیل آب بستر کشت می‌شود، میزان جذب آب توسط ریشه‌های انگور را تحت تأثیر قرار می‌دهد و در نهایت موجب کاهش محتوای نسبی آب می‌شود. یکی از نقش‌های احتمالی اکسیدنیتریک، القای بسته‌شدن روزنه‌هاست که با کنترل آب‌سزیک‌اسید انجام می‌شود (Neill *et al.*, 2003)؛ بسته‌شدن روزنه‌ها باعث حفظ محتوای آب بیشتر در شرایط تنش شوری می‌شود.

**نشت یونی:** نتایج نشان دادند (شکل ۱، ب) میزان نشت یونی برگ با افزایش غلظت نمک در هر دو سطح اکسیدنیتریک افزایش می‌یابد و بیشترین میزان نشت یونی برگ (۵۳/۸۰ درصد) در تیمار صفر میکرومولار اکسیدنیتریک همراه با ۱۰۰ میلی‌مولار کلریدسدیم و کمترین میزان نشت یونی برگ (۱۷/۲۵ درصد) در تیمار ۱۰۰ میکرومولار اکسیدنیتریک همراه با صفر میلی‌مولار کلریدسدیم مشاهده می‌شود. پژوهش‌ها نشان می‌دهند در بوته‌های توت‌فرنگی (Turhan and Eris, 2004) و انگور (Ahmed *et al.*, 2015; Bybordi, 2012) نیز نشت یونی با افزایش شوری افزایش می‌یابد. افزایش نشت یونی طی تنش شوری از تنش اکسایشی ناشی و به ایجاد تغییرات در نفوذپذیری انتخابی غشاهای زیستی، نشت مواد از غشا و تغییر فعالیت آنزیم‌های متصل به غشا منجر می‌شود؛ بنابراین، اندازه‌گیری نشت یونی شاخصی از اندازه‌گیری میزان آسیب اکسایشی وارد شده به غشا

افزایش توانایی گیاه سویا در جاروب کردن رادیکال‌های آزاد طی شرایط تنش شدند.

#### فلاونوئید کل: نتایج مقایسه میانگین‌ها (جدول

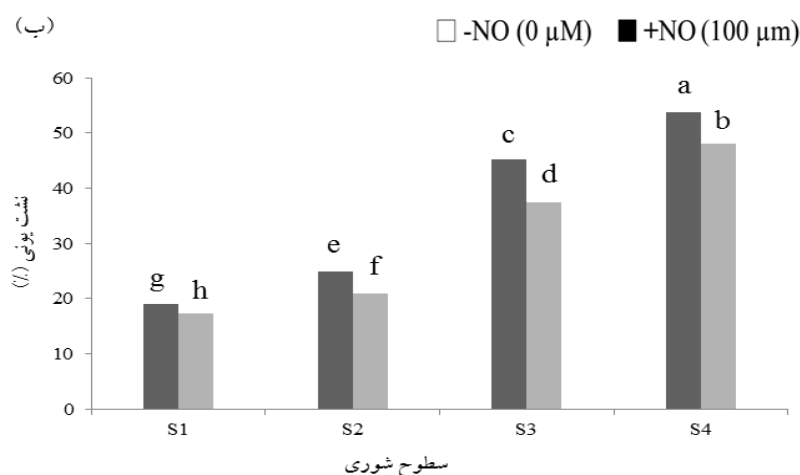
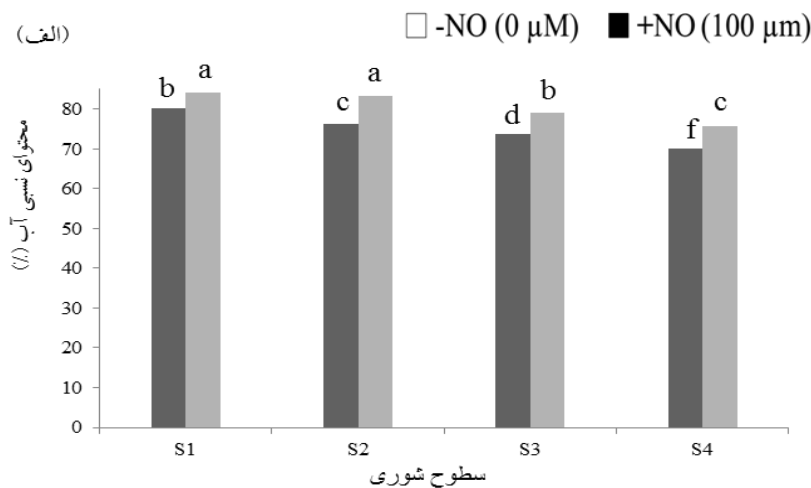
۲) نشان دادند با افزایش غلظت نمک در هر دو سطح اکسیدنیتریک، میزان فلاونوئید از نظم خاصی پیروی نمی‌کند و بیشترین میزان فلاونوئید برگ (۱/۵۳ میلی‌گرم کوئرستین بر گرم وزن تر) در تیمار ۱۰۰ میکرومولار اکسیدنیتریک همراه با ۱۰۰ میلی‌مولار کلریدسدیم و کمترین میزان فلاونوئید (۰/۵۲ میلی‌گرم کوئرستین بر گرم وزن تر) در تیمار ۱۰۰ میکرومولار اکسیدنیتریک همراه با صفر میلی‌مولار کلریدسدیم مشاهده می‌شود. اهمیت فلاونوئیدها به علت نقشی است که در سیستم‌های دفاع غیر آنزیمی دارند (Apel and Hirt, 2004). عوامل محیطی تأثیر بسزایی در فعالیت فلاونوئیدها دارند و هنگامی که گیاه وجود تنش را احساس کند، سیستم دفاعی گیاه از جمله فلاونوئیدها برای مقابله با تنش فعال می‌شوند و افزایش می‌یابند (Munns and Tester, 2008).

#### محتوای نسبی آب: نتایج مقایسه میانگین‌ها

(شکل ۱، الف) نشان دادند محتوای نسبی آب برگ با افزایش غلظت نمک در هر دو سطح اکسیدنیتریک کاهش می‌یابد و کمترین محتوای نسبی آب (۶۹/۹۸ درصد) در تیمار ۱۰۰ میکرومولار اکسیدنیتریک همراه با ۱۰۰ میلی‌مولار کلریدسدیم و بیشترین محتوای نسبی آب (۸۳/۹۹ درصد) در تیمارهای ۱۰۰ میکرومولار اکسیدنیتریک همراه با صفر میلی‌مولار کلریدسدیم و ۱۰۰ میکرومولار اکسیدنیتریک همراه با ۲۵ میلی‌مولار کلریدسدیم مشاهده می‌شود. نتایج حاضر با پژوهش‌های انجام شده در زمینه انگور

سدیم نیتروپروساید (دهنده اکسیدنیتریک) به کاهش نشت یونی برگ در گیاه جو (Li *et al.*, 2008) و خردل (Khan *et al.*, 2012) طی تنش شوری منجر می‌شود. افزایش پایداری غشا و ممانعت از تنش اکسایشی ناشی از نمک بر غشا علت کاهش نشت یونی با مصرف اکسیدنیتریک است. ظرفیت گیاهان برای حذف رادیکال‌های آزاد اکسیژن یکی از سازوکارهای مهم گیاهان برای پایداری غشا، حفظ فعالیت فیزیولوژیکی آن و در نتیجه دوام در شرایط شوری است (Khan *et al.*, 2012).

و سلول است (Campos *et al.*, 2003; Karimi, 2017). شکل ۱، ب نشان می‌دهد با افزایش غلظت نمک در هر دو سطح اکسیدنیتریک، میزان نشت یونی برگ افزایش می‌یابد. بیشترین میزان نشت یونی برگ در تیمار صفر میکرومولار اکسیدنیتریک همراه با ۱۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم و کمترین میزان نشت یونی برگ در تیمار ۱۰۰ میکرومولار اکسیدنیتریک همراه با صفر میلی‌مولار کلرید سدیم مشاهده شد (شکل ۱، ب). هم‌راستا با مطالعه حاضر، پژوهش‌ها نشان می‌دهند کاربرد



شکل ۱- اثر غلظت‌های مختلف (صفر و ۱۰۰ میکرومولار) اکسیدنیتریک بر محتوای نسبی آب (الف) و نشت یونی (ب) برگ انگور بی‌دانه سفید در شرایط تنش شوری (S<sub>۱</sub>: کلرید سدیم صفر میلی‌مولار، S<sub>۲</sub>: کلرید سدیم ۲۵ میلی‌مولار، S<sub>۳</sub>: کلرید سدیم ۵۰ میلی‌مولار، S<sub>۴</sub>: کلرید سدیم ۱۰۰ میلی‌مولار). میانگین‌های دارای حرف‌های مشترک در هر نمودار اختلاف معناداری (در سطح ۵ درصد) باهم ندارند.

شوری نشان می‌دهد. فعالیت اندک آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان نشان‌دهنده شرایط طبیعی محیط برای رشد گیاه است؛ بنابراین افزایش آنها در این جهت است که به شکل اسمولیت سازگاری و آنزیم ضدرادیکال‌های آزاد اکسیژن، ضمن محافظت از ماکرومولکول‌ها و غشاهای سلول، آسیب‌های ناشی از رادیکال‌های آزاد اکسیژن را که در اثر ازدیاد یون سدیم به وجود آمده‌اند خنثی کنند (Gupta and Huang, 2014). افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، سازوکار حفاظت‌کننده دستگاه فتوسنتزی در رویارویی با تنش اکسایشی است (Bornman et al., 1997).

**آسکوربات‌پراکسیداز:** نتایج مقایسه میانگین‌ها (جدول ۳) نشان دادند در سطح صفر میکرومولار اکسیدنیتریک، میزان فعالیت آنزیم آسکوربات‌پراکسیداز برگ با افزایش غلظت نمک تا سطح ۵۰ میلی‌مولار کلریدسدیم افزایش و در سطح ۱۰۰ میلی‌مولار کلریدسدیم کاهش می‌یابد. همین مشاهده شد در سطح ۱۰۰ میکرومولار اکسیدنیتریک، میزان فعالیت آنزیم آسکوربات‌پراکسیداز برگ با افزایش غلظت نمک افزایش می‌یابد. بیشترین میزان فعالیت آنزیم آسکوربات‌پراکسیداز برگ (۱۸/۳۷) واحد در میلی‌گرم پروتئین) در تیمارهای ۱۰۰ میکرومولار اکسیدنیتریک همراه با ۱۰۰ میلی‌مولار کلریدسدیم و ۱۰۰ میکرومولار اکسیدنیتریک همراه با ۵۰ میلی‌مولار کلریدسدیم و کمترین میزان فعالیت آنزیم آسکوربات‌پراکسیداز برگ (۵/۳۹) واحد در میلی‌گرم پروتئین) در تیمار شاهد (صفر

## اثر شوری و اکسیدنیتریک بر میزان برخی از آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی

**کاتالاز:** نتایج مقایسه میانگین‌ها (جدول ۳) نشان دادند در سطح صفر میکرومولار اکسیدنیتریک، میزان فعالیت آنزیم کاتالاز برگ با افزایش غلظت نمک تا ۵۰ میلی‌مولار کلریدسدیم افزایش می‌یابد و در غلظت ۱۰۰ میلی‌مولار کلریدسدیم کاهش نشان می‌دهد. در سطح ۱۰۰ میکرومولار اکسیدنیتریک مشاهده شد میزان فعالیت آنزیم کاتالاز با افزایش غلظت نمک افزایش می‌یابد. بیشترین (۸/۳۶) واحد در میلی‌گرم پروتئین) و کمترین (۲/۱۲) واحد در میلی‌گرم پروتئین) میزان فعالیت آنزیم کاتالاز به ترتیب در تیمارهای ۱۰۰ میکرومولار اکسیدنیتریک همراه با ۱۰۰ میلی‌مولار کلریدسدیم و تیمار شاهد (صفر میکرومولار اکسیدنیتریک همراه با صفر میلی‌مولار کلریدسدیم) مشاهده شد.

**گایاکول‌پراکسیداز:** نتایج نشان دادند (جدول ۳) میزان فعالیت آنزیم گایاکول‌پراکسیداز برگ با افزایش غلظت نمک در هر دو سطح اکسیدنیتریک افزایش می‌یابد و بیشترین (۱۵/۲۳) واحد در میلی‌گرم پروتئین) و کمترین (۴/۳۱) واحد در میلی‌گرم پروتئین) میزان فعالیت آنزیم گایاکول‌پراکسیداز به ترتیب در تیمارهای ۱۰۰ میکرومولار اکسیدنیتریک همراه با ۱۰۰ میلی‌مولار کلریدسدیم و تیمار شاهد (صفر میکرومولار اکسیدنیتریک همراه با صفر میلی‌مولار کلریدسدیم) مشاهده می‌شود. این واکنش، پاسخ انطباقی و تنظیم محافظتی گیاه را در برابر تنش

سیستم پیام‌رسانی سلولی دخالت دارند و به شکل پیام‌رسان ثانویه باعث القای دفاع آنتی‌اکسیدانی در شرایط تنش می‌شوند (Zheng *et al.*, 2009).

پژوهش‌ها نشان می‌دهند کاربرد خارجی اکسیدنیتریک در جو (Li *et al.*, 2008) و برنج (Uchida *et al.*, 2002) باعث کاهش تولید پراکسیداکسیژن می‌شود که با نتایج مطالعه حاضر مطابقت دارد. تجمع گونه‌های واکنش‌پذیر اکسیژن در غشاها و ایجاد پراکسیداسیون لیپیدهای غشا یکی از آثار سوء تنش شوری است و همان‌طور که در نتایج مطالعه حاضر مشخص شد میزان پراکسیدهیدروژن در بوته‌های انگور در معرض تنش شوری افزایش می‌یابد. در مطالعه Abdelgawad و همکاران (۲۰۱۶) اعمال تیمار شوری از صفر تا ۱۴۰ میلی‌مولار کلریدسدم ضمن ایجاد تنش اکسایشی در دانه‌های ذرت به افزایش تدریجی غلظت پراکسیدهیدروژن در برگ گیاهان در معرض تنش منجر شد. فعال‌سازی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان از جمله پراکسیداز، کاتالاز و آسکوربات‌پراکسیداز یکی از نقش‌های مهم اکسیدنیتریک است (Uchida *et al.*, 2002) که در مطالعه حاضر اثبات شد. یافته‌ها نشان می‌دهند تجمع سدیم در بافت‌های گیاهان در معرض تنش شوری به افزایش شاخص‌های تنش اکسایشی از جمله نشت یونی، پراکسیداسیون لیپیدهای غشا و تولید گونه‌های واکنش‌پذیر اکسیژن منجر می‌شود (Abdelgawad *et al.*, 2016) که با نتایج مطالعه حاضر همخوانی دارد.

میکرومولار اکسیدنیتریک همراه با صفر میلی‌مولار کلریدسدم مشاهده شد. درحقیقت، روند تغییرات آسکوربات‌پراکسیداز با تیمارهای شوری و اکسیدنیتریک بسیار شبیه کاتالاز است؛ زیرا این ترکیب همانند کاتالاز یکی از آنتی‌اکسیدان‌های اصلی و مهم گیاهی محسوب می‌شود. این ترکیب نقش سیستم جاروب‌کننده رادیکال‌های آزاد را دارد و سلول‌های گیاهی آن را در شرایط تنش برای حفاظت در برابر آسیب‌های اکسیداتیو تولید می‌کنند.

نتایج پژوهش حاضر نشان دادند اکسیدنیتریک فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، گایاکول‌پراکسیداز و آسکوربات‌پراکسیداز را در انگورهای در معرض تنش شوری به‌طور چشمگیری افزایش می‌دهد. در پژوهش Uchida و همکاران (۲۰۰۲) کاربرد اکسیدنیتریک در دانه‌های برنج در معرض تنش شوری به افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی منجر شد و این افزایش با کاهش تولید نشانگرهای تخریب غشا از جمله تولید مالون‌دآلدئید، پراکسیداکسیژن و در نهایت نشت یونی کمتر همراه بود؛ یافته‌های یادشده با نتایج مطالعه حاضر همخوانی دارند. تغییرات متابولیکی ایجادشده در اثر اکسیدنیتریک به تغییر سطوح رادیکال‌های آزاد اکسیژن منجر می‌شود و این تغییرات زمینه‌ساز القای سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی است (Tanou *et al.*, 2009). به نظر می‌رسد اکسیدنیتریک و گونه‌های واکنش‌پذیر اکسیژن به‌ویژه پراکسیدهیدروژن در



جدول ۳- مقایسه میانگین اثر ترکیبی تیمارهای شوری و اکسیدنیتریک بر میزان برخی از آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی برگ انگور بی‌دانه سفید

آسکوربات پراکسیداز	گایاکول پراکسیداز واحد در میلی گرم پروتئین	کاتالاز	شوری	اکسیدنیتریک Nitric oxide
۵/۳۹ <sup>f</sup>	۴/۳۱ <sup>e</sup>	۲/۱۲ <sup>f</sup>	۰	۰
۹/۶۷ <sup>de</sup>	۸/۹۶ <sup>e</sup>	۳/۱۸ <sup>e</sup>	۲۵	۰
۱۲/۰۲ <sup>c</sup>	۱۱/۵۷ <sup>d</sup>	۴/۰۷ <sup>d</sup>	۵۰	۰
۱۰/۵۱ <sup>d</sup>	۱۲/۴۵ <sup>c</sup>	۳/۲۰ <sup>e</sup>	۱۰۰	۰
۸/۶۷ <sup>c</sup>	۶/۷۲ <sup>f</sup>	۳/۸۶ <sup>d</sup>	۰	۱۰۰
۱۵/۹۰ <sup>b</sup>	۸/۷۴ <sup>e</sup>	۵/۹۰ <sup>c</sup>	۲۵	۱۰۰
۱۸/۳۷ <sup>a</sup>	۱۴/۰۷ <sup>b</sup>	۷/۵۹ <sup>b</sup>	۵۰	۱۰۰
۱۸/۷۳ <sup>a</sup>	۱۵/۲۳ <sup>a</sup>	۸/۳۶ <sup>a</sup>	۱۰۰	۱۰۰

\* حرف‌های یکسان عدم اختلاف معنادار در سطح احتمال  $P < 0.05$  را نشان می‌دهند.

در محلول خاک برای جذب توسط ریشه گیاه نسبت داده می‌شود؛ به این ترتیب که با افزایش شوری و غلظت یون کلر، گیاه برای جذب نترات با مشکل روبه‌رو می‌شود و قادر نیست این یون را به میزان کافی و بهینه از خاک جذب کند. گسترش ریشه‌ها نیز با افزایش شوری کاهش می‌یابد و بنابراین، از میزان جذب آب و به تبع آن، جذب عناصر غذایی به‌ویژه عناصر پرمصرف به‌شدت کاسته می‌شود (Grattana and Grieve, 1999). در تاک‌های تیمار شده با غلظت‌های مختلف کلرید سدیم، غلظت نترات برگ روند کاهشی نشان داد؛ ولی با کاربرد اکسیدنیتریک، غلظت این یون تا تیمار ۵۰ میلی‌مولار کلرید سدیم افزایش و سپس در غلظت ۱۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم کاهش یافت و به حد غلظت نترات برگ در تاک‌های تیمار شده با اکسیدنیتریک بدون تنش شوری رسید.

#### محتوای عناصر غذایی در برگ: نتایج مقایسه

میانگین‌ها (جدول ۴) نشان دادند با افزایش غلظت نمک در هر دو سطح اکسیدنیتریک، میزان نترات برگ کاهش می‌یابد. بیشترین میزان نترات برگ (۰/۰۶۹) میلی‌گرم برگ‌گرم وزن خشک) در تیمار ۱۰۰ میکرومولار اکسیدنیتریک همراه با ۲۵ میلی‌مولار کلرید سدیم مشاهده شد (اختلاف معناداری با غلظت ۵۰ میلی‌مولار کلرید سدیم نداشت) و کمترین میزان نترات (۰/۰۳۶) میلی‌گرم برگ‌گرم وزن خشک) در تیمار صفر میکرومولار اکسیدنیتریک همراه با ۱۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم دیده شد. نتایج نشان دادند شوری موجب کاهش غلظت نترات برگ انگور بی‌دانه سفید می‌شود و کمترین غلظت نترات (۰/۰۳۶) و ۰/۰۴۵ درصد به ترتیب برای صفر و ۱۰۰ میکرومولار اکسیدنیتریک) به شوری ۱۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم مربوط است (جدول ۴). علت این امر به رقابت یون کلر با نترات موجود

جدول ۴- مقایسه میانگین اثر ترکیبی تیمارهای شوری و اکسیدنیتریک بر غلظت عناصر غذایی برگ انگور بی دانه سفید

اکسیدنیتریک	شوری	نیترات	کلسیم	منیزیم	پتاسیم	سدیم	کلر
(میلی گرم بر گرم وزن خشک)							
.	.	۰/۰۵۰ <sup>c</sup>	۱/۸۴۰ <sup>a</sup>	۱/۹۴۳ <sup>a</sup>	۲/۱۰۳ <sup>a</sup>	۰/۵۴۰ <sup>e</sup>	۱/۱۴۰ <sup>g</sup>
.	۲۵	۰/۰۴۸ <sup>c</sup>	۱/۵۵۰ <sup>c</sup>	۱/۴۷۳ <sup>d</sup>	۱/۸۱۳ <sup>c</sup>	۰/۶۳۶ <sup>d</sup>	۱/۳۴۳ <sup>e</sup>
.	۵۰	۰/۰۴۷ <sup>c</sup>	۱/۳۵۳ <sup>d</sup>	۱/۱۵۶ <sup>f</sup>	۱/۵۴۳ <sup>c</sup>	۰/۷۱۳ <sup>c</sup>	۱/۶۱۳ <sup>b</sup>
.	۱۰۰	۰/۰۳۶ <sup>g</sup>	۰/۹۶۶ <sup>e</sup>	۰/۹۷۰ <sup>g</sup>	۱/۳۰۶ <sup>f</sup>	۰/۹۱۰ <sup>a</sup>	۱/۹۰۲ <sup>a</sup>
۱۰۰	.	۰/۰۶۶ <sup>b</sup>	۱/۸۵۶ <sup>a</sup>	۱/۸۷۰ <sup>b</sup>	۲/۰۴۵ <sup>a</sup>	۰/۳۸۳ <sup>f</sup>	۱/۱۴۵ <sup>g</sup>
۱۰۰	۲۵	۰/۰۷۲ <sup>a</sup>	۱/۷۴۳ <sup>b</sup>	۱/۸۱۰ <sup>c</sup>	۱/۹۲۰ <sup>b</sup>	۰/۴۶۶ <sup>e</sup>	۱/۲۲۰ <sup>f</sup>
۱۰۰	۵۰	۰/۰۶۹ <sup>a</sup>	۱/۵۰۳ <sup>c</sup>	۱/۴۲۶ <sup>d</sup>	۱/۶۷۰ <sup>d</sup>	۰/۶۰۶ <sup>cd</sup>	۱/۴۷۰ <sup>d</sup>
۱۰۰	۱۰۰	۰/۰۶۵ <sup>b</sup>	۱/۳۷۶ <sup>d</sup>	۱/۳۶۰ <sup>e</sup>	۱/۵۱۰ <sup>e</sup>	۰/۷۶۰ <sup>b</sup>	۱/۵۴۳ <sup>c</sup>

\* حرف های یکسان عدم اختلاف معنادار در سطح احتمال  $P < 0.05$  را نشان می دهند.

کلسیم است؛ به این ترتیب که با افزایش سطح شوری از صفر به ۱۰۰ میلی مولار- هم در بوته های تیمار شده با اکسیدنیتریک ۱۰۰ میکرومولار و هم در بوته های تیمار نشده با این تنظیم کننده رشد- غلظت منیزیم برگ روند کاهشی نشان می دهد؛ با این تفاوت که در بوته هایی که تیمار اکسیدنیتریک ۱۰۰ میکرومولار را دریافت کرده بودند، غلظت این عنصر در سطح بالاتری بود (جدول ۴). بیشترین (۱/۹۴ میلی گرم بر گرم وزن خشک) و کمترین (۰/۹۷۰ میلی گرم بر گرم وزن خشک) میزان منیزیم به ترتیب در تیمارهای صفر میکرومولار اکسیدنیتریک همراه با صفر میلی مولار کلرید سدیم و صفر میکرومولار اکسیدنیتریک همراه با ۱۰۰ میلی مولار کلرید سدیم مشاهده شد. در شوری های زیاد به ویژه غلظت زیاد یون سدیم و متعادل نبودن غلظت عناصر در خاک، جایگاه های اتصال به علت تشابه حامل های جذب منیزیم و سدیم در ریشه عمدتاً توسط سدیم اشغال می شوند و در نتیجه، منیزیم کمتری به داخل سلول های ریشه انتقال می یابد (Yildirim et al., 2009). این موضوع ممکن است با افزایش توان تحمل گیاهان تیمار شده

نتایج نشان دادند (جدول ۴) میزان کلسیم برگ با افزایش غلظت نمک در هر دو سطح اکسیدنیتریک کاهش می یابد. بیشترین میزان کلسیم برگ (۱/۸ میلی گرم بر گرم وزن خشک) در تیمارهای صفر میکرومولار اکسیدنیتریک همراه با صفر میلی مولار کلرید سدیم و ۱۰۰ میکرومولار اکسیدنیتریک همراه با صفر میلی مولار کلرید سدیم و کمترین میزان کلسیم برگ (۰/۹۶۶ میلی گرم بر گرم وزن خشک) در تیمار صفر میکرومولار اکسیدنیتریک همراه با ۱۰۰ میلی مولار کلرید سدیم مشاهده شد (جدول ۴). در توت فرنگی نیز غلظت کلسیم اندام هوایی با افزایش شوری کاهش می یابد (Turhan and Eris, 2004). کمترین غلظت کلسیم موجود در برگ (۰/۹۶ درصد) به شوری ۱۰۰ میلی مولار و اکسیدنیتریک صفر میکرومولار مربوط بود؛ این در حالیست که در همین سطح شوری و تیمار ۱۰۰ میکرومولار اکسیدنیتریک، غلظت کلسیم برابر ۱/۳۲ درصد بود و افزایش ۲۷ درصدی داشت.

نتایج (جدول ۴) نشان دادند روند تغییرات غلظت منیزیم در پاسخ به اکسیدنیتریک بسیار شبیه

سطح اکسیدنیتریک افزایش می‌یابد؛ هرچند تفاوت معناداری بین سطوح پایین نمک از نظر میزان سدیم برگ مشاهده نمی‌شود. بیشترین میزان سدیم برگ (۰/۹۱ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک) در تیمار صفر میکرومولار اکسیدنیتریک همراه با ۱۰۰ میلی‌مولار کلریدسدیم و کمترین میزان سدیم برگ (۰/۳۸۳ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک) در تیمارهای ۱۰۰ میکرومولار اکسیدنیتریک همراه با صفر و ۲۵ میلی‌مولار کلریدسدیم مشاهده شد. همان‌طور که انتظار می‌رود با افزایش سطح شوری از صفر به ۱۰۰ میلی‌مولار کلریدسدیم، غلظت سدیم برگ روند افزایشی نشان می‌دهد و در غلظت ۱۰۰ میلی‌مولار کلریدسدیم به حداکثر می‌رسد (جدول ۴). محتمل است اکسیدنیتریک با تأثیر بر جذب یون پتاسیم، جذب سدیم را کاهش دهد؛ بنابراین، کاربرد اکسید نیتریک تا حدی می‌تواند از غلظت زیاد و سمیت یون سدیم بکاهد. بهبود وضعیت جذب عناصر ماکرو و کاهش جذب سدیم در اثر کاربرد اکسیدنیتریک در کاهو نیز مشاهده شده است (García López-Carrión *et al.*, 2008) که با نتایج پژوهش حاضر همخوانی دارد.

نتایج مقایسه میانگین‌ها (جدول ۴) نشان دادند با افزایش غلظت نمک در هر دو سطح اکسیدنیتریک، میزان کلر برگ افزایش می‌یابد. بیشترین میزان کلر (۱/۹۰ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک) در تیمار صفر میکرومولار اکسیدنیتریک همراه با ۱۰۰ میلی‌مولار کلریدسدیم و کمترین میزان کلر (۱/۱۴ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک) در تیمارهای صفر و ۱۰۰ میکرومولار اکسیدنیتریک همراه با صفر میلی‌مولار کلریدسدیم مشاهده شد.

با اکسیدنیتریک در شرایط تنش شوری نیز مرتبط باشد که ضمن افزایش پتانسیل اسمزی بافت‌های گیاه از طریق تجمع بیشتر محلول‌های سازگاری در این شرایط تا حدی به بهبود جذب آب و عناصر غذایی از جمله نترات، منیزیم و دیگر عناصر منجر می‌شود (Cakmak, 2005; Gupta and Huang, 2014).

نتایج مقایسه میانگین‌ها (جدول ۴) نشان دادند میزان پتاسیم برگ با افزایش غلظت نمک در هر دو سطح اکسیدنیتریک کاهش می‌یابد. بیشترین میزان پتاسیم برگ (۲/۱ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک) در تیمارهای صفر و ۱۰۰ میکرومولار اکسیدنیتریک همراه با صفر میلی‌مولار کلریدسدیم و کمترین میزان پتاسیم برگ (۱/۳ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک) در تیمارهای صفر و ۱۰۰ میکرومولار اکسیدنیتریک همراه با ۱۰۰ میلی‌مولار کلریدسدیم مشاهده شد. غلظت پتاسیم برگ طی تنش شوری روند کاهشی داشت و با افزایش غلظت کلریدسدیم تا ۱۰۰ میلی‌مولار به حداقل رسید (جدول ۴). محتوای یون پتاسیم در بافت‌های گیاهی بیان‌کننده وجود کاتیون مهمی است که یکی از اجزای مهم تنظیم اسمزی سلول‌ها و حفظ آماس سلولی به شمار می‌رود (Mengel, 2007). پتاسیم یکی از مهم‌ترین عناصری است که در تعادل آنیون و کاتیون درون سلول نقش دارد؛ همچنین این عنصر اثر معناداری بر جذب سایر عناصر توسط ریشه دارد و به رفع آثار سوء بی‌تعادلی برخی عناصر غذایی در خاک کمک می‌کند (Karimi, 2017).

نتایج مقایسه میانگین‌ها (جدول ۴) نشان دادند میزان سدیم برگ با افزایش غلظت نمک در هر دو

Azizi, H., Hassani, A., Rasouli Sadaghiani, M. H., Abbaspour, N. and Doulati Baneh, H. (2017) Effect of foliar application of potassium silicate and zinc sulphate on some physiological parameters of two grapevine cultivars under salt stress conditions ranian. *Journal of Horticultural Science* 47: 797-810 (in Persian).

Bates, L., Waldren, R. P. and Teare, I. D. (1973) Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and Soil* 13: 39-250.

Beligni, M. V. and Lamattina, L. (1999) Is nitric oxide toxic or protective? *Trends in Plant Sciences* 4: 299-300.

Bergmeyer, H. U. (1970) *Methods of enzymatic analysis*. Akademie Verlag, Berlin.

Bornman, J. F., Reuber, S., Cen, Y. P. and Weissenböck, G. (1997) Ultraviolet radiation as a stress factor and the role of protective pigments. In: *Plants and UV-B: Responses to environmental change* (Ed. Lumsden, J.) 157-168. Cambridge University Press, Cambridge.

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.

Bybordi, A. (2012) Study effect of salinity on some physiological and morphological properties of two grape cultivars. *Life Science Journal* 9: 1092-1101.

Cakmak, I. (2005) The role of potassium in alleviating detrimental effects of abiotic stresses in plants. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science* 168: 521-530.

Campos, P. S., Quartin, V., Ramalho, J. C. and Nunes, M. A. (2003) Electrolyte leakage and lipid degradation account for cold sensitivity in leaves of *Coffea* sp. *Plants. Plant Physiology* 160: 283-292.

## نتیجه گیری کلی

بر اساس نتایج، اکسیدنیتریک میزان تحمل بوته های انگور در معرض تنش شوری را با تأثیر بر محلول های سازگاری، آنزیم های آنتی اکسیدانی، میزان پتاسیم و منیزیم افزایش می دهد؛ در نتیجه، سطح ۱۰۰ میکرومولار اکسیدنیتریک برای افزایش تحمل به تنش شوری (۱۰۰ میلی مولار کلرید سدیم) انگور رقم بی دانه سفید پیشنهاد می شود.

## References

AbdElgawad, H., Zinta, G., Hegab, M. M., Pandey, R., Asard, H. and Abuelsoud, W. (2016) High salinity induces different oxidative stress and antioxidant responses in Maize seedlings organs. *Frontiers in Plant Science* 7: 276.

Abdel-Shafey, H. I., Hegemann, W. and Teiner, A. (1994) Digestion with concentrated  $\text{HNO}_3$  and  $\text{H}_2\text{O}_2$ . *Environment Management and Health* 5: 21-24.

Ahmed, F. F., Abdel Aal, A. M. K. A., Mervat, A. and Ahmed, S. E. A. (2015) Tolerance of some Grapevine cultivars to salinity and calcium carbonate in the soil. *Stem Cell* 6: 45-64.

Alavi Matin, S. M., Rahnama, A. and Meskarbashi, M. (2016) Effect of potassium supply on the activity of some antioxidant enzymes of two durum Wheat cultivars under salt stress. *Journal of Plant Productions (Scientific Journal of Agriculture)* 38(4): 1-12.

Apel, K. and Hirt, H. (2004) Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress, and signal transduction. *Annual Review of Plant Biology* 55: 373-399.

Arasimowicz, M. and Floryszak-Wieczorek, J. (2007) Nitric oxide as a bioactive signaling molecule in plant stress responses. *Plant Sciences* 172: 876-887.

- Chang, C., Yang, M., Wen, H. and Chern, J. (2002) Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. *Journal of Food Drug Analysis* 10: 178-182.
- Cuin, T. A. and Shabala, S. (2007) Compatible solutes reduce ROS induced potassium efflux in *Arabidopsis* roots. *Plant, Cell and Environment* 30: 875-885.
- Del Rio, L. A., Corpas, F. J. and Barroso, J. B. (2004) Nitric oxide and nitric oxide synthase activity in plants. *Phytochemistry* 65(7): 783-792.
- Doulati Baneh, H., Attari, H., Hassani, A., and Abdollahi, R. (2013) Salinity effects on the physiological parameters and oxidative enzymatic activities of four Iranian grapevines (*Vitis vinifera* L.) cultivar. *International Journal of Agriculture and Crop Sciences* 5: 1022.
- Doulati Baneh, H. (2016) Salinity effects on plant tissue nutritional status as well as growth and physiological factors in some cultivars and interspecies hybrids of grape. *Iranian Journal of Horticultural Science* 47: 33-44 (in Persian).
- Duan, P., Ding, F., Wang, F. and Wang, B. S. (2007) Priming of seeds with nitric oxide donor sodium nitroprusside (SNP) alleviates the inhibition on Wheat seed germination by salt stress. *Europe PMC* 33(3): 224-250.
- Fozouni, M., Abbaspour, N. and Doulati Baneh, H. (2012) Short term response of Grapevine grown hydroponically to salinity: Mineral composition and growth parameters. *Vitis* 51, 95-101.
- Foyer, C. H. and Noctor, G. (2003) Redox sensing and signalling associated with reactive oxygen in chloroplasts, peroxisomes and mitochondria. *Physiologia Plantarum* 119: 355-364.
- García López-Carrión, 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. *Biologia Plantarum* 52: 587-591.
- Grattana, S. R. and Grieve, C. M. (1999) Salinity- mineral nutrient relations in horticultural crop. *Scientia Horticulturae* 78: 127-157.
- Gupta, B. and Huang, B. (2014) Mechanism of salinity tolerance in plants: physiological, biochemical, and molecular characterization. *International Journal of Genomics* 20: 596-701.
- Herzog, V. and Fahimi, H. D. (1973) Determination of the activity of peroxidase. *Analytical Biochemistry* 55: 554-562.
- Hu, Y. and Schmidhalter, U. (2005) Drought and salinity: A comparison of their effects on mineral nutrition of plants. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science* 168: 541-549.
- Irigoyen, J. J., Emerich, D. W. and Sanchez-Diaz, M. (1992) Water stress induced changes in concentrations of proline and total soluble sugars in nodulated alfalfa (*Medicago sativa* L.) plants. *Physiologia Plantarum* 84: 55-60.
- Karimi, R. (2017) Potassium-induced freezing tolerance is associated with endogenous abscisic acid, polyamines and soluble sugars changes in grapevine. *Scientia Horticulturae* 215: 184-194.
- Khan, M. N., Siddiqui, M. H., Mohammad, F. and Naeem, M. (2012) Interactive role of nitric oxide and calcium chloride in enhancing tolerance to salt stress. *Nitric Oxide* 27(4): 210-218.
- Koç, E., İşlek, C., and Üstün, A. S. (2010) Effect of cold on protein, proline, phenolic compounds and chlorophyll content of two pepper (*Capsicum annum* L.) varieties. *Gazi University Journal of Science* 23: 1-6.
- Li, Q., Niud, H., Yind, J., Wanga, M., Shaob, H., Dengd, D., Chend, X., Rend, J. and Li, Y. (2008) Protective role of exogenous nitric oxide against oxidative-stress induced by salt stress in barley (*Hordeum vulgare*). *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 65: 220-225.

- Lichtenthaler, H. K. (1987) Chlorophylls and carotenoids: Pigments of photosynthetic biomembranes. *Methods Enzymology* 148: 350-382.
- Mengel, K. (2007) Potassium. In: *Handbook of plant nutrition* (Eds. Barker, A. V. and Pilbeam, D. J.) 91-120. CRC Press, New York.
- Minazadeh, R., Karimi, R. and Mohamad Parast, B. (2018) The effect of foliar nutrition of potassium sulfate on morpho-physiological indices of Grapevine under salinity stress. *Iranian Journal of Plant Biology* 10: 83-106 (in Persian).
- Munns, R. and Tester, M. (2008) Mechanisms of salinity tolerance. *Annual Review of Plant Biology* 59: 651-681.
- Munns, R., Wallace, P. A., Teakle, N. L. and Colmer, T. D. (2010) Measuring soluble ion concentrations ( $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Cl}^-$ ) in salt-treated plants. In: *Plant stress tolerance, methods in molecular biology* (Ed. Sunkar, R.) 371-382. Humana Press, New York.
- Nakano, Y. and Asada, K. (1981) Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate specific peroxidase in spinach chloroplasts. *Plant Cell Physiology* 22: 867-880.
- Negrao, S., Schmockel, S. M. and Tester, M. (2017) Evaluating physiological responses of plants to salinity stress. *Annals of Botany* 119(1): 1-11.
- Neill, S. J., Desikan, R. and Hancock, J. T. (2003) Nitric oxide signaling in plants. *New Phytologist* 159.
- Parida, A. K. and Das, A. B. (2005) Salt tolerance and salinity effects on plants: a review. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 60: 324-349.
- Peng, Q. and Zhou, Q. (2009.) Antioxidant capacity of flavonoid in Soybean seedlings under the joint actions of rare earth element La (III) and ultraviolet-B stress. *Biological Trace Element Research* 127: 69-80.
- Ranjbar, M., Esmaeilzadeh, M., Karimi, H. R. and Shamshiri, M. H. (2017) Study of foliar application effect of silicon and potassium elements on some biochemical and ecophysiological traits of *Pistachio seedlings* cv. Badami E-Riz Zarand Kerman under salinity stress. *Iranian Journal of Horticultural Science* 47: 739-752 (in Persian).
- Ritchie, S. W., Nguyen, H. T. and Holaday, A. S. (1990) Leaf water content and gas-exchange parameters of two wheat genotypes differing in drought resistance. *Crop Science* 30: 105-111.
- Roy, S. J., Negrao, S. and Tester, M. (2014) Salt resistant crop plants. *Current Opinion in Biotechnology* 26: 115-124.
- Sairam, R. K. and Tyagi, A. (2004) Physiology and molecular biology of salinity stress tolerance in plants. *Current Science* 86: 407-421.
- Siddiqui, M. H., Al-Wahaibi, M. H. and Basalah, M. O. (2010) Role of nitric oxide in tolerance of plants to abiotic stress. *Protoplasma* 248: 447-455
- Sivritepe, N. and Eriş, A. (1999) Determination of salt tolerance in some grapevine cultivars (*Vitis vinifera* L.) under in vitro conditions. *Turkish Journal of Biology* 23: 473-486.
- Strizhov, N., Abraham, E., Okresz, L., Blickling, S., Zilberstein, A., Schell, J., Koncz, C. and Szabados, L. (1997) Differential expression of two P5CS genes controlling proline accumulation during salt stress requires ABA and is regulated by ABA1, ABI1 and AXR2 in *Arabidopsis*. *Plant Journal* 12: 557-569.
- Tanou, Georgia, Athanassios Molassiotis. and Grigorios Diamantidis. (2009) Hydrogen peroxide-and nitric oxide-induced systemic antioxidant prime-like activity under NaCl-stress and stress-free conditions in citrus plants. *Journal of Plant Physiology* 166(17): 1904-1913.
- Turhan, E. and Eris, A. (2004) Effects of sodium chloride applications and different growth media on ionic composition in Strawberry plant. *Journal*

- of Plant Nutrition and Soil Science 27: 1653-1665.
- Uchida, A., Andre, T. J., Takashi, H., Teruhiro, T. and Tetsuko T. (2002) Effects of hydrogen peroxide and nitric oxide on both salt and heat stress tolerance in Rice. *Plant Science* 163(3): 515-523.
- Velioglu, Y. S., Mazza, G., Gao, L. and Oomah, B. D. (1998) Antioxidant activity and total phenolics in selected fruits, vegetables and grain products. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 46:4113-4117.
- Yildirim, E., Karlidag, H. and Turan, M. (2009) Mitigation of salt stress in Strawberry by foliar K, Ca and Mg nutrient supply. *Plant, Soil and Environment* 55: 213-221.
- Zarei, L., Koushesh, M., Vafae, Y. and Javadi, T. (2018) Effect of gamma-amino-butyric acid foliar application on physiological characters of Tomato (cv. Namib) under salinity stress. *Journal of Plant Productions (Scientific Journal of Agriculture)* 41(1): 15-28 (in Persian).
- Zheng, Ch., Dong, J., Fulai, L., Tingbo, D., Weicheng, L., Qi, J. and Weixing, C. (2009) Exogenous nitric oxide improves seed germination in wheat against mitochondrial oxidative damage induced by high salinity. *Environmental and Experimental Botany* 67(1): 222-227.