

# ỨNG DỤNG NATRI NITROPRUSSIDE CẢI THIỆN CÁC THUỘC TÍNH HÌNH THÁI VÀ SINH LÝ CỦA ĐẬU TƯƠNG (*Glycine max L.*) TRONG ĐIỀU KIỆN MẶN

Zahra Jabeen, Hafiza Asma Fayyaz, Faiza Irshad, Nazim Hussain, Muhammad Nadeem Hassan, Junying Li, Sidra Rehman, Waseem Haider, Humaira Yasmin, Saqib Mumtaz, Syed Asad Hussain Bukhari, Ahlam Khalofah, Rahmah N. Al-Qthanin, Moodi Saham Alsubeie  
Võ Như Cẩm biên dịch.

## TÓM TẮT

Mặn là một trong những căng thẳng phi sinh học chính ảnh hưởng tiêu cực đến sự tăng trưởng và năng suất của cây trồng. Natri nitroprusside (SNP) - một chất cho oxit nitric (NO) bên ngoài - đã được chứng minh là có hiệu quả trong việc truyền khả năng chịu mặn cho cây trồng. Đậu tương (*Glycine max L.*) được trồng rộng rãi trên thế giới; tuy nhiên, áp lực về mặn cản trở sự tăng trưởng và năng suất của nó. Do đó, nghiên cứu hiện tại đã đánh giá vai trò của SNP trong việc cải thiện các thuộc tính hình thái, sinh lý và sinh hóa của đậu tương dưới điều kiện mặn. Dữ liệu liên quan đến hàm lượng sinh khối, chất diệp lục và malondialdehyd (MDA), hoạt động của các enzym chống oxy hóa khác nhau, hàm lượng ion và phân tích siêu cấu trúc đã được thu thập. Ứng dụng SNP đã cải thiện đáng kể các tác động tiêu cực của stress do mặn bằng cách điều chỉnh cơ chế chống oxy hóa. Chiều dài của rễ và chồi, trọng lượng tươi và khô, hàm lượng chất diệp lục, hoạt động của các enzym chống oxy hóa khác nhau, chẳng hạn như catalase (CAT), superoxide dismutase (SOD), peroxidase (POD) và ascorbate peroxidase (APX) đã được cải thiện bằng cách sử dụng SNP trong điều kiện mặn so với đối chứng. Tương tự như vậy, thực vật được xử lý bằng SNP quan sát thấy ít thiệt hại hơn đối với các bào quan tế bào của rễ và lá dưới áp lực của mặn. Kết quả cho thấy các chức năng then chốt của SNP đối với khả năng chịu mặn của đậu tương, bao gồm sửa chữa thành tế bào, cô lập ion natri trong không bào và duy trì lực turgor bình thường mà không làm phình thylakoid. Sự biến dạng nhỏ của màng tế bào và số lượng lớn các hạt tinh bột cho thấy sự gia tăng hoạt động quang hợp. Do đó, SNP có thể được sử dụng như một chất điều hòa để cải thiện khả năng chống chịu mặn của cây đậu tương trên đất bị nhiễm mặn.

## GIỚI THIỆU

Đậu tương là một loại cây họ đậu quan trọng được trồng trên khắp thế giới để lấy hạt ăn được. Nhu cầu đậu tương đang tăng cao trên khắp thế giới do thành phần hạt độc đáo và giá trị dinh dưỡng tuyệt vời của nó [1]. Hạt đậu tương chứa nhiều chất đạm và dầu, không có cholesterol [2]. Đậu tương được canh tác trong các môi trường khác nhau; tuy nhiên, tính miễn cảm của cây trồng đối với các căng thẳng sinh học và phi sinh học khác nhau ảnh hưởng tiêu cực đến năng suất của nó [3]. Cụ thể hơn, đậu tương nhạy cảm với tình trạng mặn so với các loại cây trồng chính khác, chẳng hạn như gạo, bông và lúa mì. Stress mặn cản trở sự nảy mầm, tạo nốt sần, phát triển cây trồng và năng suất hạt đậu tương [4]. Độ mặn của đất là một vấn đề nghiêm trọng ở các khu vực được tưới tiêu, vì nó làm giảm năng suất và chất lượng của các loại cây trồng trên các hàm chứa bị nhiễm mặn [5]. Căng thẳng thẩm thấu và độc tính ion hóa là một trong những tác động tiêu cực ban đầu do mặn gây ra cho cây trồng [6]. Tuy nhiên, thực vật đã phát triển nhiều cơ chế bảo vệ khác nhau bằng cách tái cấu trúc bộ máy sinh lý, hóa sinh và phân tử để giảm sự mất cân bằng dinh dưỡng và căng thẳng oxy hóa do tích tụ các loại phản ứng oxy (ROS), chẳng hạn như  $H_2O_2$  và  $O_2^-$  dưới áp lực của mặn [7, 8]. Natri ( $Na^+$ ) là một ion hòa tan phổ biến trong đất có hại cho phần lớn cây trồng. Ion  $Na^+$  không cần thiết cho sự phát triển của hầu hết các loại cây; do đó, sự tích tụ  $Na^+$  quá mức trong tế bào làm rối loạn cân

bằng nội môi ion, oxy hóa và thẩm thấu [9, 10]. Do đó, việc ngăn ngừa tích lũy  $\text{Na}^+$  và duy trì tỷ lệ  $\text{K}^+/\text{Na}^+$  thích hợp trong tế bào chất là rất quan trọng đối với sự tăng trưởng và sống sót dưới áp lực của mặn [11, 12].

ROS gây ra thiệt hại đáng kể cho màng và các cấu trúc tế bào khác của đậu tương dưới áp lực của mặn. Khả năng ROS tương tác với nhiều thành phần tế bào ức chế sự phát triển của thực vật [13]. Thực vật kích thích hệ thống phòng thủ nội bào bằng cách tạo ra ROS làm sạch các chất chống oxy hóa enzyme và không enzyme, chẳng hạn như catalase (CAT), superoxide dismutase (SOD), peroxidase (POD) và ascorbate peroxidase (APX) để loại bỏ các phân tử độc hại để đối phó với áp lực do mặn [14–16].

Oxit nitric (NO) là phân tử truyền tín hiệu đa nhiệm và tham gia vào quá trình thích nghi với điều kiện căng thẳng của thực vật. NO đóng một vai trò quan trọng trong các quá trình phát triển của thực vật, bao gồm hạt nảy mầm, phát triển thực vật, quang hợp, chuyển động của khí khổng, phục hồi màng tế bào, ... [17, 18]. Hơn nữa, SNP được chứng minh là một trong những thành phần quan trọng trong phản ứng của thực vật đối với các căng thẳng phi sinh học và sinh học [19–21].

Việc sử dụng SNP để cải thiện khả năng chống chịu căng thẳng của cây trồng gần đây đã được tăng lên. Tuy nhiên, vai trò sinh lý và sinh hóa của SNP đối với khả năng chịu mặn vẫn chưa rõ ràng. Tuy nhiên, hầu như chưa có nghiên cứu nào được thực hiện để suy luận vai trò của SNP trong việc cải thiện khả năng chống chịu mặn của cây đậu tương. Do đó, nghiên cứu này nhằm mục đích suy luận vai trò của việc áp dụng SNP ngoại sinh trong việc cải thiện khả năng chống chịu mặn của cây đậu tương. Người ta đưa ra giả thuyết rằng ứng dụng SNP ngoại sinh sẽ cải thiện các thuộc tính hình thái, sinh lý và sinh hóa của đậu tương khi bị nhiễm mặn. Hơn nữa, hoạt động gia tăng do SNP gây ra của các enzyme chống oxy hóa khác nhau sẽ giúp cây đậu tương chịu mặn tốt hơn so với việc không sử dụng SNP. Kết quả sẽ giúp cải thiện tăng trưởng và năng suất đậu tương ở các khu vực bị ảnh hưởng bởi muối trên thế giới.

## **VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP**

### **Vật liệu thực vật và kỹ thuật canh tác thủy canh**

Hạt của giống đậu tương được trồng rộng rãi có kiểu gen NARC-2 được lấy từ Trung tâm Nghiên cứu Nông nghiệp Quốc gia (NARC) Islamabad, Pakistan. Hạt được khử trùng bề mặt trong dung dịch natri hypoclorit 3% trong 10 phút và rửa ba lần bằng nước cất. Sau đó, hạt được gieo vào khay nảy mầm. Cây con được trồng ở nhiệt độ phòng (25–30°C) với 8 giờ tối và 16 giờ sáng. Cây giống đồng nhất được chuyển từ khay ươm mầm sang dung dịch dinh dưỡng thủy canh (pH: 5,5–6) sau 7 ngày nảy mầm. Các bầu nhựa 1 lít chứa cây con được đặt trong nhà kính điều chỉnh với chu kỳ quang 16 giờ, nhiệt độ ngày/đêm 30/35 và độ ẩm tương đối 75%. Sau một tuần, cây được xử lý bằng dung dịch dinh dưỡng Hoagland đậm đặc. Dung dịch dinh dưỡng được làm mới mỗi tuần trong một tháng. Dung dịch dinh dưỡng được chuẩn bị theo Zahra và cs [22]. Sau một tháng, các phương pháp xử lý bằng NaCl và SNP được bắt đầu và mỗi phương pháp điều trị có ba lần lặp lại. Cây con bốn tuần tuổi được xử lý theo 4 phương pháp xử lý khác nhau, tức là đối chứng  $T_1$  (0 mM NaCl + 0  $\mu\text{M}$  SNP),  $T_2$ -NaCl và SNP (100 mM NaCl + 10  $\mu\text{M}$  SNP),  $T_3$ -SNP (10  $\mu\text{M}$  SNP) và  $T_4$ -NaCl (100 mM NaCl). Thí nghiệm được bố trí theo thể thức hoàn toàn ngẫu nhiên (CRD). Cây được thu hoạch bốn tuần sau khi bắt đầu xử lý để đánh giá tác động của stress do mặn.

### **Đặc điểm sinh trưởng**

Chiều dài của rễ, thân và toàn bộ cây được đo từ tất cả các cây và tính trung bình. Trọng lượng tươi (FW) của rễ, thân và toàn bộ cây từ mỗi lần xử lý được ghi lại trên cân điện tử và sau đó các mẫu này được sấy khô trong lò trong 72 giờ ở 70°C. Trọng lượng khô của các mẫu rễ, thân và cây sau đó được ghi lại để đo trọng lượng khô.

### **Hàm lượng chất diệp lục**

Hàm lượng chất diệp lục được đo theo Gitelson và cs [23]. Tóm lại, lá tươi được tách ra khỏi cây và cắt nhỏ. Sau đó, 10 ml dimethyl sulfoxide (DMSO) được thêm vào 0,05 g mẫu lá. Hỗn hợp thu được được ủ ở 65°C trong 72 giờ trong bể nước. Dịch chiết thu được sau khi ủ được ly tâm trong 5–10 phút với tốc độ 7.000 vòng/phút và thu phần nổi phía trên. Phần nổi phía trên sau đó được đọc ở các bước sóng 663nm, 645nm và 480nm để xác định chất diệp lục a, chất diệp lục b và caroten tương ứng.

### **Ước lượng hàm lượng peroxid hóa lipid/MDA**

Hàm lượng MDA/sự peroxid hóa lipid đã được thử nghiệm bằng cách đo maledaldehyde theo quy trình được mô tả bởi Esfandiari và cs [24]. Các mẫu thực vật được trộn trong 2,5 ml axit trichloroacetic 5% (TCA) và axit thiobarbitaric và 1,5 ml dịch chiết enzyme thô. Chất đồng nhất được gia nhiệt ở 95°C trong 15 phút, làm lạnh trên đá và hỗn hợp được ly tâm ở 4.800 vòng/phút trong 10 phút. Chất nổi phía trên được thu thập và bước sóng được ghi lại ở bước sóng 532nm bằng cách trừ đi độ hấp thụ không đặc hiệu ở bước sóng 600nm.

### **Chiết xuất và xét nghiệm enzyme chống oxy hóa**

Enzyme được chiết xuất theo phương pháp của Esfandiari và cs [24]. Đối với chiết xuất SOD, CAT, APX, POD, PPO, PAL và MDA, 0,5 g mẫu lá và 0,3 g mẫu rễ được nghiền trong dung dịch đệm photphat 0,1 M (pH 7,5) đã được làm lạnh bằng cối và chày đã được làm lạnh trước. Dịch chiết từ mỗi lần xử lý được ly tâm ở tốc độ 8.000 vòng/phút và 4°C trong 20 phút. Supernatant đã được thu thập cho các xét nghiệm enzyme.

Hoạt động SOD được xác định theo Kumar và cs [25] thông qua đo lường sự ức chế nitroblue tetrazolium (NBT) trong quá trình khử ảnh. Dịch chiết chứa 5 $\mu$ M riboflavin, 18,75 $\mu$ M NBT, 32mM methionine và 25 $\mu$ M EDTA trong 250ml nước cất. Hỗn hợp phản ứng chứa 2,75ml dung dịch phản ứng, 0,25ml d.H<sub>2</sub>O + 0,025ml dịch chiết enzym. Phản ứng SOD được thực hiện dưới ánh sáng 4.000 thông lượng ở nhiệt độ phòng trong 20 phút. Bước sóng được ghi lại sau 20 phút ở bước sóng 560nm bằng máy đo quang phổ. Hoạt động CAT được đo theo phương pháp của Kumar và cs [25]. Hỗn hợp dung dịch chứa dung dịch đệm natri photphat 50mM (pH 7,0), chiết xuất enzyme 0,1ml, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 300mM và nước khử ion 0,1ml. Bước sóng được quan sát ở 240nm. Hoạt động POD được đo theo phương pháp của Kumar và cs [25]. Hỗn hợp phản ứng chứa 0,5ml H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 1%, 1,5ml dung dịch đệm pyrogallol phosphat 0,05M (pH 6,8). Dung dịch được ủ trong 10 phút ở nhiệt độ phòng. Độ hấp thụ được ghi lại ở bước sóng 436nm. Hoạt động APX được ước tính theo phương pháp của Siddiq và Dolan [26]. Hỗn hợp phản ứng chứa 0,1 ml axit ascorbic 7,5mM (ASA), 0,1ml H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 300mM, 2,7ml dung dịch đệm photphat 50mM (pH 7,0) và 0,1ml chiết xuất enzyme. Bước sóng được quan sát ở 290nm. Siddiq và Dolan [26] đã được theo dõi để đo lường hoạt động của PPO. Dung dịch phản ứng chứa 1,5ml dung dịch đệm natri photphat 0,1M (pH 6,5), 0,2ml chiết xuất enzyme thô và 0,2ml 0,01M chatecholate. Sau đó, quá trình đọc được đo ở bước sóng 495nm. Gao và cs [27] đã được theo dõi để đo hoạt động PAL. Hỗn hợp dung dịch chứa 0,03ml 150mM

tris-HCL, 0,03ml dịch chiết enzym thô và 0,67ml 3mM L-phenylalanine. Bước sóng được đo ở 270nm.

### **Xác định ion Na<sup>+</sup> và K<sup>+</sup>**

Các ion Na và K được đo theo Pii và cs [28]. Các mẫu lá và rễ được sấy khô ở 80°C và nghiền thành bột mịn bằng máy nghiền. Một lượng bột thu được đã được thêm vào 10ml axit nitric và axit perchloric bên trong tủ hút. Hỗn hợp này được đun sôi trên bếp điện ở nhiệt độ 150–235°C sau khi ủ qua đêm ở nhiệt độ phòng cho đến khi tạo thành hơi. Sau đó, hỗn hợp được làm lạnh trong 2–4 phút và rửa sạch bằng 3ml nước cất. Các mẫu được pha loãng với nước cất đến 50ml. Sau khi lọc bằng giấy Whatman, hàm lượng Na<sup>+</sup> và K<sup>+</sup> được ước tính bằng máy quang phổ ngọn lửa hấp thụ nguyên tử Shimadzu AA-680.

### **Chuyển qua kính hiển vi điện tử (TEM)**

Đối với TEM, các mẫu đầu rễ tươi và các mảnh lá được cố định trong glutaraldehyde 2,5% trong 3 giờ, rửa năm lần với dung dịch đệm natri photphat 0,1M (pH 7,0) và cố định trong 1% OsO<sub>4</sub> trong 1 giờ. Các mẫu sau đó được làm khô hoàn toàn trong một loạt etanol (30–100%) và axeton, và được xử lý thêm theo Zahra và cs [29].

### **Phân tích thống kê**

Dữ liệu thu thập được đã được kiểm tra tính quy tắc bằng cách sử dụng kiểm tra tính quy tắc Shapiro-Wilk, cho thấy phân phối bình thường. Do đó, dữ liệu gốc được sử dụng trong phân tích thống kê. Phân tích phương sai một chiều (ANOVA) đã được sử dụng để kiểm tra ý nghĩa trong dữ liệu. Thử nghiệm khác biệt nhỏ nhất có ý nghĩa (LSD) với xác suất 5% đã được sử dụng để phân tích các phương tiện trong đó ANOVA chỉ ra sự khác biệt đáng kể. Tất cả các tính toán thống kê đã được thực hiện trên phần mềm Statistix 8.1. Dữ liệu được trình bày dưới dạng phương tiện ± sai số chuẩn của phương tiện (SE).

## **KẾT QUẢ**

### **Đặc điểm sinh trưởng**

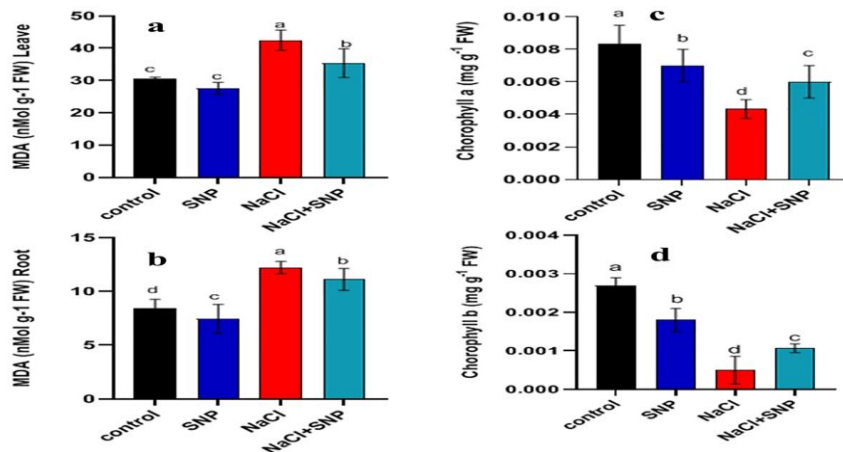
Căng thẳng do mặn làm giảm đáng kể sinh khối rễ, thân và toàn bộ cây trồng so với nghiệm thức đối chứng. Việc giảm sinh khối rễ, thân và toàn bộ cây lần lượt là 40%, 46% và 52% so với đối chứng (Bảng S1 trong Tập S1). Ứng dụng SNP đã hạn chế mức độ giảm của các tính trạng này và nó đã giảm xuống còn 12%, 14% và 21% với ứng dụng 0 μM SNP dưới áp lực của mặn (Bảng S1 trong Tập S1). Áp lực về mặn cũng làm giảm trọng lượng tươi và khô của thân, rễ và toàn bộ cây (Bảng S2 trong Tập S1). Trọng lượng tươi của rễ, thân và toàn bộ cây giảm lần lượt là 46%, 38% và 56% dưới áp lực của mặn so với nghiệm thức đối chứng. Tương tự, trọng lượng khô của rễ, thân và toàn bộ cây giảm lần lượt là 48%, 33% và 34% được ghi nhận ở độ mặn 100mM (Bảng S2 trong Tập S1). Tuy nhiên, ứng dụng 10μM SNP đã làm tăng trọng lượng tươi và khô của rễ, thân và toàn bộ cây lần lượt là 38%, 29%, 75% và 58%, 27% và 29% so với không ứng dụng SNP dưới áp lực của mặn (Bảng S2 trong S1 Tài liệu).

### **Hàm lượng chất diệp lục và MDA**

Căng thẳng về mặn ảnh hưởng xấu đến tính toàn vẹn của màng tế bào khi sự gia tăng được quan sát thấy trong tổn thương màng tế bào. Ứng dụng ngoại sinh của 10μM SNP có xu hướng khắc phục tác động bất lợi của mặn. Hàm lượng MDA trong lá và rễ tăng lần lượt là 38% và 44% dưới áp lực của mặn so với nghiệm thức đối chứng (Hình 1A–

1D). Tuy nhiên, ứng dụng SNP dưới áp lực của mặn gây ra ít thiệt hại hơn đối với chồi (16%) và rễ (10%) so với việc không áp dụng SNP.

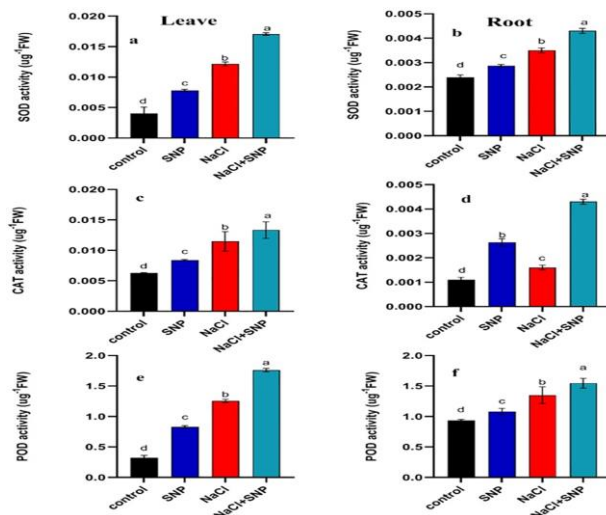
Stress do mặn làm giảm đáng kể hàm lượng diệp lục a và b so với nghiệm thức đối chứng. Mức giảm lần lượt là 48% và 58% được ghi nhận ở diệp lục a và b (Hình 1C và 1D). Tuy nhiên, ứng dụng ngoại sinh của SNP dưới áp lực mặn đã làm tăng tổng hàm lượng chất diệp lục so với không có ứng dụng SNP. Hàm lượng chất diệp lục a (38%) và chất diệp lục b (44%) tăng lên đã được quan sát thấy với ứng dụng SNP với mặn so với mặn đơn thuần (Hình 1C và 1D).



**Hình 1.** Phân tích hàm lượng MDA trong lá và rễ (a, b) và hàm lượng chất diệp lục (c, d) của cây đậu tương được xử lý và đối chứng. Dữ liệu là phương tiện  $\pm$  SD được tính từ ba lần lặp lại.

### Hoạt động của các enzym chống oxy hóa

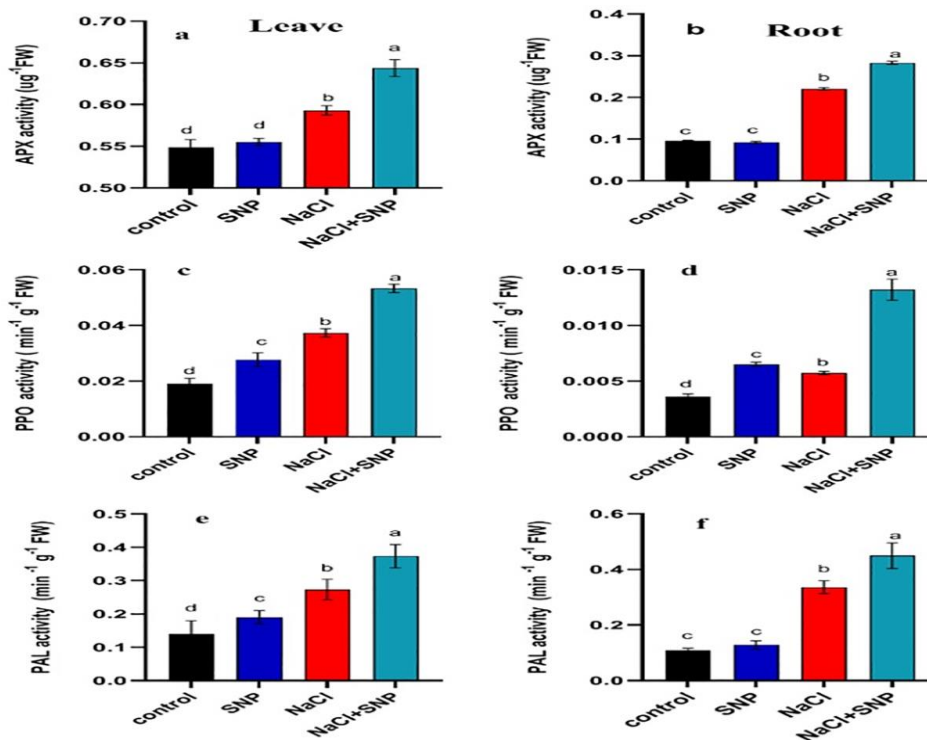
Hoạt động của SOD được tăng lên trong các mô rễ và lá dưới áp lực của mặn so với đối chứng. Hoạt động của SOD đã tăng 67% và 45% ở lá và rễ, tương ứng dưới áp lực 100mM so với mặn 0mM (Hình 2). Ứng dụng SNP ngoại sinh làm tăng mặn hoạt động SOD 40% và 79% ở lá và rễ, tương ứng dưới áp lực của mặn so với không áp dụng SNP trong điều kiện mặn (Hình 2A và 2B).



**Hình 2.** Hoạt động của hàm lượng SOD, CAT và POD trong lá (a, c, e) và rễ (b, d, f) của cây đậu tương được xử lý và đối chứng. Dữ liệu là phương tiện  $\pm$  SD được tính từ ba lần lặp lại.

Hoạt động của CAT tăng lần lượt 60% và 37% ở lá và rễ dưới áp lực của mặn so với đối chứng (Hình 2C và 2D). Ứng dụng SNP dưới điều kiện mặn làm tăng hoạt động của CAT lên 32% ở lá và 62% ở rễ so với không ứng dụng SNP (Hình 2C và 2D). Một sự gia tăng đáng kể trong hoạt động của POD đã được ghi nhận dưới tác động của mặn so với xử lý đối chứng (Hình 2E và 2F). Sự gia tăng 228% trong hoạt động POD của lá và 44% trong rễ được quan sát thấy ở độ mặn 100mM so với không có mặn. Việc áp dụng SNP ngoại sinh trong điều kiện mặn tỏ ra có lợi vì nó làm tăng hoạt động của POD lên 444%

và 71% so với việc không áp dụng SNP trong điều kiện áp suất mặn 100mM (Hình 2E và 2F). Hoạt tính APX tăng lần lượt là 6% ở rễ và 129% ở lá dưới áp lực mặn 100mM so với không có mặn (Hình 3A và 3B). Hoạt tính PPO tăng 28% ở cả lá và 57% ở rễ dưới độ mặn 100mM so với đối chứng (Hình 3C và 3D). Ứng dụng SNP đã nâng cao hoạt tính PPO lên 42% ở lá và 103% ở rễ trong điều kiện mặn 100mM so với không ứng dụng SNP trong điều kiện mặn (Hình 3C và 3D). Hoạt động PAL cao hơn đáng kể ở lá và rễ dưới điều kiện mặn so với đối chứng (Hình 3E và 3F). Ứng dụng ngoại sinh của SNP gây ra sự gia tăng nhiều hơn trong hoạt động PAL dưới độ mặn 100mM so với không có ứng dụng SNP (Hình 3E và 3F).



**Hình 3.** Hoạt động của hàm lượng APX, PPO và PAL trong lá (a, c, e) và rễ (b, d, f) của cây đậu tương được xử lý và đối chứng. Dữ liệu là phương tiện ± SD được tính từ ba lần lặp lại.

### Hàm lượng ion Na<sup>+</sup> và K<sup>+</sup>

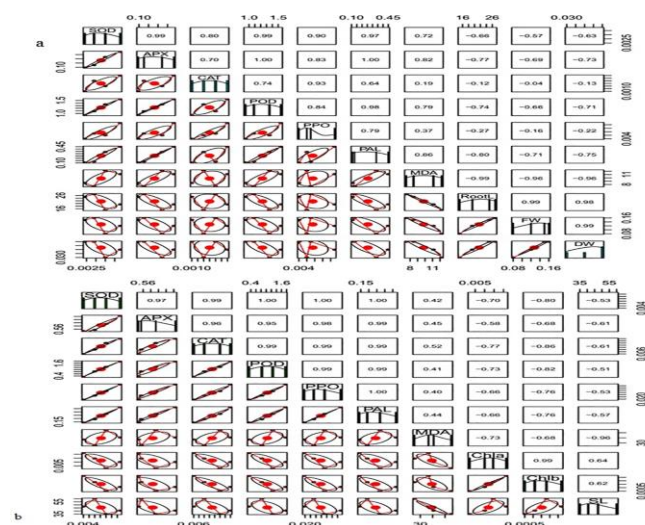
Hàm lượng Na<sup>+</sup> cao cùng với tỷ lệ K<sup>+</sup>/Na<sup>+</sup> thấp hơn được ghi nhận dưới áp lực của mặn. Hàm lượng Na<sup>+</sup> tăng lên 285% và 212%, trong khi đó, hàm lượng K<sup>+</sup> giảm lần lượt là 39% và 43% trong lá và rễ so với xử lý không nhiễm mặn (Bảng 1). Ứng dụng SNP ngoại sinh dẫn đến sự tích lũy hàm lượng Na<sup>+</sup> trong lá (117%) và rễ (119%) ít hơn, trong khi đó, hàm lượng K<sup>+</sup> trong rễ giảm 18% và trong lá giảm 15% so với không ứng dụng SNP (Bảng 1).

**Bảng 1.** Ảnh hưởng của các phương pháp xử lý ứng dụng SNP ngoại sinh và độ mặn khác nhau đối với sự tích lũy Na<sup>+</sup> (ppm), K<sup>+</sup> (ppm) và tỷ lệ Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>

Nghiệm thức	Na <sup>+</sup> /lá	Na <sup>+</sup> /rễ	K <sup>+</sup> /lá	K <sup>+</sup> /rễ	(Na <sup>+</sup> /K <sup>+</sup> )/lá	(Na <sup>+</sup> /K <sup>+</sup> )/rễ
0nM mặn	35±6,8 <sup>c</sup>	41±9,1 <sup>d</sup>	159±2,8 <sup>b</sup>	115±2,7 <sup>b</sup>	0,21±0,005 <sup>c</sup>	0,35±0,07 <sup>c</sup>
SNP và không mặn	30,0±2,9 <sup>c</sup>	53±3,6 <sup>c</sup>	130±4,9 <sup>a</sup>	130±4,9 <sup>a</sup>	0,17±0,018 <sup>c</sup>	0,41±0,01 <sup>c</sup>
100nM mặn	135±4,5 <sup>a</sup>	128±6,8 <sup>a</sup>	65±4,2 <sup>d</sup>	65±4,2 <sup>d</sup>	1,20±0,058 <sup>a</sup>	1,31±0,07 <sup>a</sup>
100nM mặn + SNP	76,7±9,3 <sup>b</sup>	90±8,4 <sup>b</sup>	94±7,0 <sup>c</sup>	94±7,0 <sup>c</sup>	0,56±0,04 <sup>b</sup>	1,07±0,01 <sup>b</sup>

Các giá trị được trình bày là giá trị trung bình ± SD (n=3), giá trị trung bình theo sau bởi các chữ cái khác nhau trên các giá trị cho thấy sự khác biệt có ý nghĩa thống kê tại P ≤ 0,05

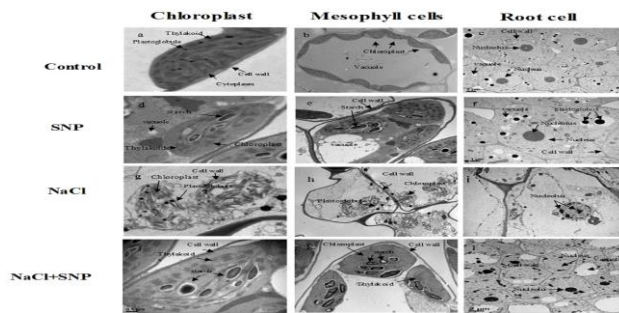
Một mối tương quan thuận mạnh đã được ghi nhận giữa các hoạt động của các enzym chống oxy hóa như SOD, APX, CAT, POD và PAL, trong khi hàm lượng MDA có mối tương quan nghịch với chiều dài rễ, trọng lượng tươi và khô, chất diệp lục a, chất diệp lục b và chiều dài thân (Hình 4A và 4B)



**Hình 4.** Ma trận tương quan của (a) rễ và (b) lá của các đặc điểm sinh hóa và sinh lý của các phương pháp xử lý khác nhau. Tên của các tham số đã được trình bày trên đường chéo. Mặt trên của hình biểu thị hệ số tương quan và mặt dưới của hình biểu thị dữ liệu hai biến.

### Cơ sở hạ tầng của chất diệp lục, lục lạp và tế bào rễ

Các tế bào lục lạp và tế bào diệp lục thực vật được xử lý SNP cho thấy cấu trúc cơ sở hạ tầng bình thường với ít tiêu cầu, các hạt tinh bột nhỏ với các thylakoid được sắp xếp gọn gàng và các ngăn xếp grana được tổ chức tốt có chứa lớp vỏ bên ngoài phát triển tốt. Màng tế bào diệp lục tiếp xúc chặt chẽ với thành tế bào. Ngoài ra, số lượng lục lạp tăng lên trên mỗi tế bào diệp lục đã được quan sát thấy ở cây đối chứng và cây được xử lý SNP trong điều kiện không nhiễm mặn so với cây bị nhiễm mặn (Hình 5A, 5B, 5D và 5E). Tuy nhiên, thực vật phát triển dưới độ mặn 100mM cho thấy những thay đổi siêu cấu trúc rõ ràng bao gồm, sự trương nở của lục lạp, lớp vỏ màng sinh chất bị phân hủy, thylakoids hòa tan với sự giảm xếp chồng grana và một ít plastoglobuli, so với việc kiểm soát và đồng ứng dụng SNP dưới áp lực của mặn. Hơn nữa, chỉ riêng mặn đã dẫn đến sự phân hủy của tế bào diệp lục, lục lạp và màng tế bào (Hình 5G và 5H). Việc áp dụng SNP khi bị ảnh hưởng bởi mặn cho thấy có những thay đổi nhỏ trong các bào quan của tế bào (Hình 5G và 5K) so với việc không áp dụng SNP. Những thay đổi bao gồm lục lạp hơi hình bầu dục với các thylakoid dạng grana xếp sát nhau tương tự như cây đối chứng. Hơn nữa, ít tiêu cầu hơn và số lượng lớn hạt tinh bột đã được quan sát thấy (Hình 5G và 5K). Các tế bào rễ của cây đối chứng và cây được xử lý SNP trong điều kiện không bị nhiễm mặn (Hình 5C và 5D) cho thấy tế bào chất phong phú và các bào quan của tế bào phát triển tốt với các không bào nhỏ hơn, nhân lớn và tròn. Số lượng plastoglobuli nhiều hơn đã được quan sát thấy trong các cây được xử lý bằng SNP trong điều kiện không có mặn. Áp lực về mặn mà không áp dụng SNP cho thấy tổn thương nghiêm trọng đối với các tế bào rễ, vì diện tích của các bào quan tế bào bị thoái hóa rộng hơn với hình dạng tế bào bị biến dạng, cấu trúc nhân bất thường, nhân bị phá vỡ và không bào bị thu hẹp so với các cây được xử lý bằng SNP khi bị áp lực về mặn (Hình 5I). Ứng dụng SNP dưới áp lực của mặn đã ngăn không cho các tế bào rễ bị tổn thương vì các bào quan của tế bào dường như tương tự như các cây đối chứng (Hình 5L).



**Hình 5.** Ảnh qua kính hiển vi điện tử của lục lạp (a, d, g, j), tế bào trung mô (b, e, h, k) và rễ (c, f, i, l) của cây đối chứng và cây được xử lý. Thanh = 0,5 $\mu$ m, 1 $\mu$ m và 2 $\mu$ m.

## THẢO LUẬN

Mặn ảnh hưởng tiêu cực đến các đặc tính hình thái, sinh lý và sinh hóa của đậu tương. Ứng dụng ngoại sinh của SNP, theo giả thuyết, đã cải thiện các đặc tính hình thái, sinh lý và sinh hóa của đậu tương khi bị nhiễm mặn. Esim và Atici [30] đã báo cáo rằng SNP là một phân tử tín hiệu chính có khả năng cải thiện sự tăng trưởng và chức năng sinh lý của thực vật dưới nhiều áp lực phi sinh học và sinh học. Nghiên cứu này cho thấy rằng sự căng thẳng về mặn đã cản trở quá trình sản xuất sinh khối và tăng trưởng của cây đậu tương. Tác động tiêu cực tương tự của mặn đã được quan sát thấy ở một số loại cây trồng, bao gồm cà chua [31], gạo [32], ngô [33], lúa mạch [34] và lúa mì [35]. Ứng dụng SNP (10  $\mu$ M) đã cải thiện đáng kể sinh khối của thực vật bị nhiễm mặn trong nghiên cứu hiện tại, phù hợp với báo cáo trước đó của Tian và cs [36] cho lúa mì. Tuy nhiên, có báo cáo rằng ứng dụng SNP có thể làm giảm thế năng hòa tan, đồng thời nâng cao thế năng nước dưới áp lực thẩm thấu [37], đây có thể là lý do chính đáng để tăng sinh khối đậu tương trong nghiên cứu hiện tại. Người ta quan sát thấy sự giảm sinh khối và tăng trưởng của thực vật dưới áp lực của mặn, điều này có thể là do sự ức chế tăng trưởng của thực vật do tổn thương oxy hóa đối với các tế bào khi không có nước [37–39].

Nghiên cứu của chúng tôi cho thấy rằng stress do mặn ảnh hưởng đến cấu trúc lục lạp và làm giảm hàm lượng chất diệp lục dẫn đến giảm khả năng quang hợp. Hơn nữa, tốc độ quang hợp giảm có thể là do hoạt động bị xáo trộn của các enzym tham gia vào quá trình sinh tổng hợp chất diệp lục, độ dẫn của khí khổng và nồng độ CO<sub>2</sub> giữa các tế bào [15, 40]. Tuy nhiên, việc giảm hàm lượng chất diệp lục đã được cải thiện đáng kể nhờ ứng dụng SNP, điều này có thể là do sự ức chế sản xuất ROS hoặc duy trì sự ổn định của cơ chế quang hợp [36]. Kết quả của nghiên cứu hiện tại phù hợp với kết quả của Muthulakshmi và cs [41], người đã chỉ ra rằng ứng dụng SNP có thể cải thiện hàm lượng chất diệp lục, tốc độ thoát hơi nước và hiệu quả quang hợp dưới áp lực của mặn. Ứng dụng SNP dưới áp lực của mặn đã cải thiện các sắc tố quang hợp bằng cách bảo vệ bào quan màng tế bào có chứa chất diệp lục chống lại độc tính ion do mặn gây ra [42, 43].

Rễ và lá tích lũy hàm lượng MDA cao hơn do đó làm tăng rò rỉ chất điện phân. Kaya và cs [44] cho rằng hàm lượng MDA tăng lên là do sự phá hủy màng tế bào do tổn thương oxy hóa. Ứng dụng SNP làm giảm hàm lượng MDA và rò rỉ chất điện giải dưới tác động của mặn, điều này phù hợp với các quan sát trước đó [45, 46]. Do đó, ứng dụng SNP có thể là một cách hiệu quả để ngăn chặn thực vật khỏi bị hư hại do oxy hóa dưới áp lực của mặn [47–49].

Các hoạt động gia tăng của CAT, SOD, APX, POD, PAL và PPO đã được quan sát thấy dưới áp lực của mặn. Những phát hiện tương tự về hoạt động gia tăng của các enzym này được báo cáo bởi Manai và cs [50] ở *S. lycopersicum*. Bai và cs [51] đã báo cáo rằng các enzyme chống oxy hóa thường được gọi là chất làm sạch ROS ở thực vật dưới áp lực của mặn. Hơn nữa, ứng dụng SNP trong điều kiện mặn làm tăng hoạt động của CAT, SOD,



APX, POD, PAL và PPO phù hợp với những phát hiện trước đây được báo cáo cho cây lúa [19, 52]. Việc áp dụng SNP có thể kích thích sự biểu hiện gen liên quan đến các enzym chống oxy hóa có thể giúp thực vật chống chịu với tình trạng nhiễm mặn [38, 53].

Mohsenzadeh và Zohrabi [54] đã báo cáo rằng SNP có thể tăng các hoạt động của POD, SOD, APX và CAT bằng cách giảm thiểu thiệt hại và tăng cường khả năng loại bỏ các gốc tự do cùng với việc giảm hàm lượng MDA [55–58]. Hơn nữa, nghiên cứu của chúng tôi cho thấy rằng mặn làm tăng hàm lượng  $\text{Na}^+$  và giảm hàm lượng  $\text{K}^+$  trong rễ và lá của cây đậu tương. Hàm lượng  $\text{Na}^+$  cao làm gián đoạn tỷ lệ  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ , điều này có thể là do dòng  $\text{Na}^+$  tăng lên [59, 60]. Ji và cs [60] cho rằng việc giảm  $\text{K}^+$  và tăng  $\text{Na}^+$  có thể là do sự cạnh tranh giữa sự hấp thụ ion  $\text{K}^+$  và  $\text{Na}^+$  của rễ cây. Tích lũy  $\text{Na}^+$  tăng dẫn đến  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  cao hơn, làm biến dạng cân bằng nội môi ion bằng cách giảm hàm lượng Mn, Zn và Mg. Ứng dụng SNP dưới áp lực mặn làm tăng hàm lượng  $\text{K}^+$  và giảm  $\text{Na}^+$ . Dong và cs [61] đã báo cáo rằng ứng dụng SNP dưới áp lực mặn có thể làm tăng sự hấp thụ các ion  $\text{K}^+$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Ca}^{2+}$  và giảm hàm lượng  $\text{Na}^+$ , điều này có thể là do SNP hạn chế sự hấp thụ các ion Na vào mô thực vật. Tác dụng giảm thiểu của SNP khi bị áp lực mặn cũng được quan sát qua kính hiển vi điện tử trong nghiên cứu hiện tại. Các tế bào lục lạp và diệp lục của ứng dụng SNP và không có mặn trong điều kiện không có mặn cho thấy cơ sở hạ tầng lục lạp bình thường không có thay đổi rõ ràng, trong khi sự sưng phồng của thylakoids, sự biến dạng của các ngăn xếp grana dưới áp lực mặn là do sự thay đổi thành phần nguyên tố của stroma, phá hủy bộ máy quang hợp, sự lão hóa của lá và độc tính của ion [62, 63]. Trong nghiên cứu hiện tại, ứng dụng SNP dưới áp lực mặn đóng vai trò bảo vệ trong việc duy trì lục lạp bình thường mà không làm phình thylakoid, biến dạng nhẹ màng tế bào và số lượng lớn hạt tinh bột. Điều này dẫn đến tăng hoạt động quang hợp, điều hòa thích hợp các chất thẩm thấu và giảm độc tính của ion  $\text{Na}^+$ , điều này cũng đã được báo cáo trong các nghiên cứu trước đó [2, 29, 64]. Tổn thương tế bào rễ dưới áp lực của mặn chủ yếu là do không thể hấp thụ nước, ngăn các ion  $\text{Na}^+$  và  $\text{Cl}^-$  trong không bào do giảm độ căng của thành tế bào và giảm kích thước không bào như đã báo cáo trong các nghiên cứu trước đó [22, 65, 66]. Người ta cũng biết rằng số lượng plastoglobuli cao hơn dưới áp lực của mặn là do sự phá vỡ màng [67]. Tuy nhiên, chúng tôi quan sát thấy rằng ứng dụng SNP dưới tác động của mặn đã ngăn chặn các tế bào rễ bị tổn thương. SNP đóng vai trò then chốt trong việc sửa chữa rễ và thành tế bào, ít tổn thương màng hơn và/hoặc cô lập ion  $\text{Na}^+$  trong không bào, điều này thường liên quan đến việc tăng cường hệ thống phòng thủ chống oxy hóa [66].

## KẾT LUẬN

Căng thẳng do mặn gây ra những tác động tiêu cực đến sự tăng trưởng và các đặc tính sinh lý và hoạt động của các enzym chống oxy hóa. Tuy nhiên, ứng dụng SNP đã cải thiện các tác động bất lợi của mặn bằng cách tăng hoạt động của các enzym chống oxy hóa. Dựa trên các kết quả, người ta kết luận rằng SNP có thể đóng một vai trò quan trọng trong việc nâng cao hoạt động của các enzyme chống oxy hóa để đối phó với áp lực do mặn. Do đó, tác động độc hại của mặn đã được loại bỏ một phần bằng ứng dụng ngoại sinh của SNP. Do đó, SNP có thể được sử dụng để cải thiện tốc độ tăng trưởng và năng suất của cây đậu tương trên đất bị nhiễm mặn.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bellaloui N, Hu Y, Mengistu A, Kassem MA, & Abel CA. Effects of foliar boron application on seed composition, cell wall boron, and seed  $\delta^{15}\text{N}$  and  $\delta^{13}\text{C}$  isotopes in

- water-stressed soybean plants. *Frontiers in Plant Science*. 2013; 4–270. pmid:23355843  
[View Article](#)      [PubMed/NCBI](#)      [Google Scholar](#)
2. Kim YH, Hwang SJ, Waqas M, Khan AL, Lee JH, Lee JD và cs Comparative analysis of endogenous hormones level in two soybean (*Glycine max L.*) lines differing in waterlogging tolerance. *Frontiers in Plant Science*. 2015; 6–714 pmid:25657654  
[View Article](#)      [PubMed/NCBI](#)      [Google Scholar](#)
3. Zhang XK, Zhou QH, Cao JH, & Yu BJ. Differential Cl<sup>-</sup>/Salt Tolerance and NaCl induced alternations of tissue and cellular ion fluxes in *Glycine max*, *Glycine soja* and their hybrid seedlings. *J Agron Crop Sci*. 2011; 197: 329–339.  
[View Article](#)      [Google Scholar](#)
4. Do TD, Chen H, Hien VT, Hamwieh A, Yamada T, Sato T, và cs Nacl synchronously regulates Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, and Cl<sup>-</sup> in soybean and greatly increases the grain yield in saline field conditions. *Scientific Reports*. 2016; 6–19147. pmid:28442741  
[View Article](#)      [PubMed/NCBI](#)      [Google Scholar](#)
5. Volkov V, Salinity tolerance in plants. Quantitative approach to ion transport starting from halophytes and stepping to genetic and protein engineering for manipulating ion fluxes. *Frontiers in Plant Science* 2015; 6–873. pmid:25657654  
[View Article](#)      [PubMed/NCBI](#)      [Google Scholar](#)
6. Gharsallah C, Fakhfakh H, Grubb D, & Gorsane F. Effect of salt stress on ion concentration, proline content, antioxidant enzyme activities and gene expression in tomato cultivars. *AoB Plants*. 2016; 8. pmid:27543452  
[View Article](#)      [PubMed/NCBI](#)      [Google Scholar](#)
7. Gupta B, & Huang B, Mechanism of salinity tolerance in plants: physiological, biochemical, and molecular characterization. *International Journal of Genomics*. 2014; 1–18.  
[View Article](#)      [Google Scholar](#)
8. Caverzan A, Casassola A, & Brammer SP. Reactive oxygen species and antioxidant enzymes involved in plant tolerance to stress. Shanker AK, Shanker C, In *Abiotic and biotic stress in plants-recent advances and future perspectives*. In Tech; 2016. <https://doi.org/10.1590/1678-4685-GMB-2015-0109> pmid:27007891
9. Porcel R, Aroca R, Azcon R, & Ruiz-Lozano JM. Regulation of cation transporter genes by the arbuscular mycorrhizal symbiosis in rice plants subjected to salinity suggests improved salt tolerance due to reduced Na<sup>+</sup> root-to-shoot distribution. *Mycorrhiza*. 2016; 26: 673–684. pmid:27113587  
[View Article](#)      [PubMed/NCBI](#)      [Google Scholar](#)
10. Almeida DM, Oliveira MM, & Saibo NJ. Regulation of Na<sup>+</sup> and K<sup>+</sup> homeostasis in plants: towards improved salt stress tolerance in crop plants. *Genetics Molecular Biology*. 2017; 401: 326–345.  
[View Article](#)      [Google Scholar](#)
11. Wu H, Shabala L, Liu X, Azzarello E, Zhou M, Pandolfi C, và cs Linking salinity stress tolerance with tissue-specific Na<sup>+</sup> sequestration in wheat roots. *Frontiers in Plant Science*. 2015; 671.  
[View Article](#)      [Google Scholar](#)
12. Zhao X, Wei P, Liu Z, Yu B, & Shi H. Soybean Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> antiporter *GmsSOS1* enhances antioxidant enzyme activity and reduces

Na<sup>+</sup> accumulation in Arabidopsis and yeast cells under salt stress. *Acta Physiologiae Plantarum*. 2017; 39–19.

[View Article](#) [Google Scholar](#)

**13.** Bela K, Horváth E, Gallé Á, Szabados L, Tari I, & Csiszár J. Plant glutathione peroxidases: emerging role of the antioxidant enzymes in plant development and stress responses. *Journal of Plant Physiology*. 2015; 176: 192–201. pmid:25638402

[View Article](#) [PubMed/NCBI](#) [Google Scholar](#)

**14.** Reddy PS, Jogeswar G, Rasineni GK, Maheswari M, Reddy AR, Varshney RK, và cs Proline over-accumulation alleviates salt stress and protects photosynthetic and antioxidant enzyme activities in transgenic sorghum. *Plant Physiology and Biochemistry*. 2015; 94: 104–113. pmid:26065619

[View Article](#) [PubMed/NCBI](#) [Google Scholar](#)

**15.** Taïbi K, Taïbi F, Abderrahim LA, Ennajah A, Belkhodja M, & Mulet JM. Effect of salt stress on growth, chlorophyll content, lipid peroxidation and antioxidant defence systems in *Phaseolus vulgaris* L. *South African Journal of Botany* 2016; 105: 306–312.

[View Article](#) [Google Scholar](#)

**16.** Dilfuza E, Stephan W, Sonoko D, Bellingrath K, Jitendra M, Naveen K. Arora Salt-tolerant plant growth promoting rhizobacteria for enhancing crop productivity of saline soils. *Frontier in Microbiology*. 2019; 10: 2791.

[View Article](#) [Google Scholar](#)

**17.** Liu H, Song J, Dong L, Wang D, Zhang S, & Liu J. Physiological responses of three soybean species (*Glycine soja*, *G. gracilis*, and *G. max* cv. *Melrose*) to salinity stress. *International Journal of Plant Research*. 2017; 130: 723–733.

[View Article](#) [Google Scholar](#)

**18.** Santa-Cruz DM, Pacienza NA, Zilli CG, Tomaro ML, Balestrasse KB, & Yannarelli GG. Nitric oxide induces specific isoforms of antioxidant enzymes in soybean leaves subjected to enhanced ultraviolet-B radiation. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*. 2014; 141: 202–209.

[View Article](#) [Google Scholar](#)

**19.** Khan MN, Siddiqui MH, Mohammad F, & Naeem M. Interactive role of nitric oxide and calcium chloride in enhancing tolerance to salt stress. *Nitric Oxide*. 2012; 274: 210–218. pmid:22884961

[View Article](#) [PubMed/NCBI](#) [Google Scholar](#)

**20.** Simaei M, Khavari-Nejad RA, & Bernard F. Exogenous application of salicylic acid and nitric oxide on the ionic contents and enzymatic activities in NaCl-stressed soybean plants. *American Journal of Plant Sciences*. 2012; 3–1495.

[View Article](#) [Google Scholar](#)

**21.** Ahmad P, Abdel Latef A A, Hashem A, Abd\_Allah E F, Gucel S & Tran LSP. Nitric oxide mitigates salt stress by regulating levels of osmolytes and antioxidant enzymes in chickpea. *Frontiers in Plant Science*. 2016; 7–347. pmid:26870046

[View Article](#) [PubMed/NCBI](#) [Google Scholar](#)

**22.** Zahra J, Hussain N, Wu D, Han Y, Shamsi I, Wu F. Difference in physiological and biochemical responses to salt stress between Tibetan wild and cultivated barleys. *Acta Physiologiae Plantarum*. 2015; 37–180.

[View Article](#) [Google Scholar](#)

23. Gitelson AA, Vina A, Ciganda V, Rundquist DC, & Arkebauer TJ. Remote estimation of canopy chlorophyll content in crops. *Geophys Research Letter*. 2005; 32(8).  
[View Article](#) [Google Scholar](#)
24. Esfandiari E, Shakiba MR, Mahboob SA, Alyari H, & Toorchi M. Water stress, antioxidant enzyme activity and lipid peroxidation in wheat seedling. *Journal of Food, Agriculture and Environment*. 2007; 51–149.  
[View Article](#) [Google Scholar](#)
25. Kumar P, Tewari RK, & Sharma PN. Cadmium enhances generation of hydrogen peroxide and amplifies activities of catalase, peroxidases and superoxide dismutase in maize. *Journal of Agronomy and Crop Science*. 2008; 1941: 72–80.  
[View Article](#) [Google Scholar](#)
26. Siddiq M, & Dolan K.D. Characterization of polyphenol oxidase from blueberry. *Food Chemistry*. 2017; 218: 216–220. pmid:27719900  
[View Article](#) [PubMed/NCBI](#) [Google Scholar](#)
27. Gao S, Ou-yang C, Tang L, Zhu JQ, Xu Y, Wang SH, và cs Growth and antioxidant responses in *Jatropha curcas* seedling exposed to mercury toxicity. *Journal of Hazardous Materials* 2010; 182(1–3): 591–597. pmid:20655143  
[View Article](#) [PubMed/NCBI](#) [Google Scholar](#)
28. Pii Y, Cesco S, & Mimmo T. Shoot ionome to predict the synergism and antagonism between nutrients as affected by substrate and physiological status. *Plant Physiology and Biochemistry*. 2015; 94: 48–56. pmid:26004913  
[View Article](#) [PubMed/NCBI](#) [Google Scholar](#)
29. Zahra J, Nazim H, Cai S, Han Y, Wu D, Zhang B, và cs The influence of salinity on cell ultrastructure and photosynthetic apparatus of barley genotypes differing in salt stress tolerance. *Acta Physiologiae Plantarum*. 2014; 36(5): 1261–1269.  
[View Article](#) [Google Scholar](#)
30. Esim N, & Atici O. Nitric oxide improves chilling tolerance of maize by affecting apoplastic antioxidative enzymes in leaves. *Plant Growth Regulators*. 2014; 721: 29–38.  
[View Article](#) [Google Scholar](#)
31. Rubio MB, Hermosa R, Vicente R, Gómez-Acosta FA, Morcuende R, Monte E, và cs The combination of trichodermaharzianum and chemical fertilization leads to the deregulation of phytohormone networking, preventing the adaptive responses of tomato plants to salt stress. *Frontiers in Plant Science*. 2017; 8–294. pmid:28149305  
[View Article](#) [PubMed/NCBI](#) [Google Scholar](#)
32. Farooq MA, Saqib ZA, Akhtar J, Bakhat HF, Pasala RK, & Dietz KJ. Protective role of silicon (Si) against combined stress of salinity and boron (B) toxicity by improving antioxidant enzymes activity in rice. *Silicon*. 2015; 1–5.  
[View Article](#) [Google Scholar](#)
33. Lee Y, Krishnamoorthy R, Selvakumar G, Kim K, & Sa T. Alleviation of salt stress in maize plant by co-inoculation of arbuscular mycorrhizal fungi and *Methylobacterium oryzae* CBMB 20. *Journal of the Korean Society for Applied Biological Chemistry*. 2015; 58:533–540.  
[View Article](#) [Google Scholar](#)
34. Suarez C, Cardinale M, Ratering S, Steffens D, Jung S, Montoya AMZ, và cs Plant growth-promoting effects of *Hartmannibacter diazotrophicus* on summer barley under salt stress. *Applied Soil Ecology* 2015; 95: 23–30.

[View Article](#) [Google Scholar](#)

**35.** Abbas T, Rizwan M, Ali S, Adrees M, Zia-ur-Rehman M, Qayyum M.F, và cs Effect of biochar on alleviation of cadmium toxicity in wheat grown on Cd-contaminated saline soil. *Environmental Science and Pollution Research* 2017; 1–13. pmid:28397121

[View Article](#) [PubMed/NCBI](#) [Google Scholar](#)

**36.** Tian X, He M, Wang Z, Zhang J, Song Y, He Z, và cs Application of nitric oxide and calcium nitrate enhances tolerance of wheat seedlings to salt stress. *Plant Growth Regulation*. 2015; 77: 343–356.

[View Article](#) [Google Scholar](#)

**37.** Ke X, Cheng Z, Ma W, & Gong M. Nitric oxide enhances osmoregulation of tobacco cultured cells under phenylethanoid glycosides (PEG) 6000 stress by regulating proline metabolism. *African Journal of Biotechnology*. 2013; 1211: 1257–1266.

[View Article](#) [Google Scholar](#)

**38.** Ahmad P, Hashem A, Abd-Allah EF, Alqarawi AA, John R, Egamberdieva D, và cs Role of *Trichoderma harzianum* mitigating NaCl stress in Indian mustard through antioxidative defense system. *Frontiers in Plant Science*. 2015; 6–868. pmid:25657654

[View Article](#) [PubMed/NCBI](#) [Google Scholar](#)

**39.** Egamberdieva D, Wirth S, Jabborova D, Räsänen LA, & Liao H. Coordination between bradyrhizobium and pseudomonas alleviate salt stress in soybean through altering root system architecture. *Journal of Plant Interaction*. 2017; 121: 100–107.

[View Article](#) [Google Scholar](#)

**40.** Dinler BS, Antoniou C, & Fotopoulos V. Interplay between GST and nitric oxide in the early response of soybean plants to salinity stress. *Journal of Plant Physiology*. 2014; 17118:1740–1747. pmid:25238654

[View Article](#) [PubMed/NCBI](#) [Google Scholar](#)

**41.** Muthulakshmi S, Santhi M, & Lingakumar K. Effect of sodium nitroprusside (SNP) on physiological and biochemical responses of *Sorghum vulgare* Pres under salt stress. *International Journal of Applied Research*. 2017; 3: 33–37.

[View Article](#) [Google Scholar](#)

**42.** Sánchez-Romera B, Porcel R, Ruiz-Lozano JM, & Aroca R. Arbuscular mycorrhizal symbiosis modifies the effects of a nitric oxide donor (sodium nitroprusside; SNP) and a nitric oxide synthesis inhibitor (N $\omega$ -nitro-L-arginine methyl ester; L-NAME) on lettuce plants under well-watered and drought conditions. *Symbiosis*. 2018; 74: 11–20.

[View Article](#) [Google Scholar](#)

**43.** Dong YJ, Jinc SS, Liu S, Xu LL, & Kong J. Effects of exogenous nitric oxide on growth of cotton seedlings under NaCl stress. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*. 2014; 141: 1–13.

[View Article](#) [Google Scholar](#)

**44.** Kaya C, Akram NA, Ashraf M. Influence of exogenously applied nitric oxide on strawberry (*Fragaria*  $\times$  *Ananassa*) plants grown under iron deficiency and/or saline stress. *Physiologia Plantarum*. 2019; 165(2):247–263. pmid:30091474

[View Article](#) [PubMed/NCBI](#) [Google Scholar](#)

**45.** Liu S, Dong Y, Xu L, & Kong J. Effects of foliar applications of nitric oxide and salicylic acid on salt-induced changes in photosynthesis and antioxidative metabolism of cotton seedlings. *Plant Growth Regulation*. 2014; 73: 67–78.

[View Article](#) [Google Scholar](#)

- 46.** Yadu S, Dewangan TL, Chandrakar V, & Keshavkant S. Imperative roles of salicylic acid and nitric oxide in improving salinity tolerance in *Pisum sativum* L. *Physiology and Molecular Biology of Plants*. 2017; 23: 43–58. pmid:28250583  
[View Article](#) [PubMed/NCBI](#) [Google Scholar](#)
- 47.** Mostofa M G, Fujita M, & Tran LSP. Nitric oxide mediates hydrogen peroxide- and salicylic acid-induced salt tolerance in rice seedlings. *Plant Growth Regulation*. 2015; 77: 265–277.  
[View Article](#) [Google Scholar](#)
- 48.** Rizwan M, Mostofa MG, Ahmad MZ, Imtiaz M, Mehmood S, Adeel M, & cs Nitric oxide induces rice tolerance to excessive nickel by regulating nickel uptake, reactive oxygen species detoxification and defense-related gene expression. *Chemosphere*. 2018; 191: 23–35. pmid:29028538  
[View Article](#) [PubMed/NCBI](#) [Google Scholar](#)
- 49.** Dong YJ, Wang ZL, Zhang JW, Liu S, He ZL., & He MR. Interaction effects of nitric oxide and salicylic acid in alleviating salt stress of *Gossypium hirsutum* L. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*. 2015; 153: 561–573.  
[View Article](#) [Google Scholar](#)
- 50.** Manai J, Gouia H, Corpas FJ. Redox and nitric oxide homeostasis are affected in tomato (*Solanum lycopersicum*) roots under salinity-induced oxidative stress. *Journal of Plant Physiology*. 2014; 171: 1028–1035. pmid:24974329  
[View Article](#) [PubMed/NCBI](#) [Google Scholar](#)
- 51.** Bai XY, Dong YJ, Wang QH, Xu LL, Kong J & Liu S. Effects of lead and nitric oxide on photosynthesis, antioxidative ability, and mineral element content of perennial ryegrass. *Biologia plantarum*. 2015; 591: 163–170.  
[View Article](#) [Google Scholar](#)
- 52.** Chawla S, Jain S, & Jain V. Salinity induced oxidative stress and antioxidant system in salt-tolerant and salt-sensitive cultivars of rice. *Journal of Plant Biochemistry & Physiology*. 2013; 221: 27–34.  
[View Article](#) [Google Scholar](#)
- 53.** Xue Z, Zhao S, Gao H, & Sun S. 2014. The salt resistance of wild soybean under NaCl stress is mainly determined by Na<sup>+</sup> distribution in the plant. *Acta Physiologiae Plantarum*. 2014; 36: 61–70.  
[View Article](#) [Google Scholar](#)
- 54.** Mohsenzadeh S, & Zohrabi M. Auxin and sodium nitroprusside effects on wheat antioxidants in salinity. *Russian Journal of Plant Physiology*. 2018; 65: 651–657.  
[View Article](#) [Google Scholar](#)
- 55.** Parvin S, Lee OR, Sathiyaraj G, Khorolragchaa A, Kim YJ, & Yang DC. Spermidine alleviates the growth of saline-stressed ginseng seedlings through antioxidative defense system. *Gene*. 2014; 537: 70–78. pmid:24365592  
[View Article](#) [PubMed/NCBI](#) [Google Scholar](#)
- 56.** Khoshbakht D, Asghari MR, & Haghighi M. Effects of foliar applications of nitric oxide and spermidine on chlorophyll fluorescence, photosynthesis and antioxidant enzyme activities of citrus seedlings under salinity stress. *Photosynthetica*. 2018; 564: 1313–1325.  
[View Article](#) [Google Scholar](#)

- 57.** Groß F, Durner J, & Gaupels F. Nitric oxide, antioxidants and prooxidants in plant defence responses. *Frontiers in Plant Science*. 2013; 4–419. pmid:23355843  
[View Article](#)      [PubMed/NCBI](#)      [Google Scholar](#)
- 58.** Samsampour D, Sadeghi F, Asadi M, & Ebrahimzadeh A. Effect of nitric oxide (NO) on the induction of callus and antioxidant capacity of *Hyoscyamus niger* under in vitro salt stress. *Journal of applied botany and food quality* 2018; 91: 24–32.  
[View Article](#)      [Google Scholar](#)
- 59.** Rahman A, Nahar K, Hasanuzzaman M, & Fujita M. Calcium supplementation improves Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> ratio, antioxidant defense and glyoxalase systems in salt-stressed rice seedlings. *Frontiers in Plant Science* 2016; 7–609. pmid:26870046  
[View Article](#)      [PubMed/NCBI](#)      [Google Scholar](#)
- 60.** Ji T, Li S, Huang M, Di Q, Wang X, Wei M, và cs Overexpression of Cucumber Phospholipase D alpha Gene (CsPLD $\alpha$ ) in tobacco enhanced salinity stress tolerance by regulating Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> balance and lipid peroxidation. *Frontiers in Plant Science*. 2017; 8–499.  
[View Article](#)      [Google Scholar](#)
- 61.** Dong Y, Xu L, Wang Q, Fan Z, Kong J, & Bai X. Effects of exogenous nitric oxide on photosynthesis, antioxidative ability, and mineral element contents of perennial ryegrass under copper stress. *Journal of Plant Interaction*. 2014; 91: 402–411.  
[View Article](#)      [Google Scholar](#)
- 62.** Austin JR, Frost E, Vidi PA, Kessler F, Staehelin LA. Plastoglobules are lipoprotein subcompartments of the chloroplast that are permanently coupled to thylakoid membranes and contain biosynthetic enzymes. *Plant Cell* 2006; 18: 1693–1703. pmid:16731586  
[View Article](#)      [PubMed/NCBI](#)      [Google Scholar](#)
- 63.** Fatma M, Khan NA. Nitric oxide protects photosynthetic capacity inhibition by salinity in Indian mustard. *Journal of Functional and Environmental Botany* 2014; 4: 106–116.  
[View Article](#)      [Google Scholar](#)
- 64.** Zhang S, Chen F, Peng S, Ma W, Korpelainen H, Li C. Comparative physiological, ultrastructural and proteomic analyses reveal sexual differences in the responses of *Populus cathayana* under drought stress. *Proteomics*.2010; 10: 2661–2677. pmid:20455211  
[View Article](#)      [PubMed/NCBI](#)      [Google Scholar](#)
- 65.** Pajerowski JD, Dahl KN, Zhong FL, Sammak PJ, Discher DE. Physical plasticity of the nucleus in stem cell differentiation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2007; 104: 15619–15624. pmid:17893336  
[View Article](#)      [PubMed/NCBI](#)      [Google Scholar](#)
- 66.** Pokhrel L, Dubey B. Silver and zinc oxide nanoparticles cause developmental anomalies in the crop plants. *Science of the Total Environment*. 2013; 252–453.  
[View Article](#)      [Google Scholar](#)
- 67.** Ladygin VG. Photosystem damage and spatial architecture of thylakoids in chloroplasts of pea chlorophyll mutants. *Biology Bulletin Reviews*. 2004; 31: 268–276. pmid:15354959  
[View Article](#)      [PubMed/NCBI](#)      [Google Scholar](#)