اثر نیتریک اکساید بر کاهش تنش اکسیداتیو ناشی از تنش خشکی در گیاه گلرنگ (*Carthamus tinctorius* L.)

مریم چاوشی[1*]، اعظم سلیمی[1]، فرزانه نجفی[1] و سید عبدالحمید انگجی[2]

[1] ایران، **تهران، دانشگاه خوارزمی، دانشکده علوم زیستی، گروه علوم گیاهی**

[2] ایران، **تهران، دانشگاه خوارزمی، دانشکده علوم زیستی، گروه علوم سلولی و ملکولی**

تاریخ دریافت: ۹۶/۸/۱۵ تاریخ پذیرش:۹۷/۴/۱۲

چکیده

نیتریک اکساید مولکول علامتی مهمی است که در رشد و نمو گیاهان به‌عنوان حد واسط عمل می‌کند. خشکی یکی از تنش‌های غیر زیستی است که رشد و تولید محصول گیاه را محدود می‌کند. هدف از پژوهش حاضر تأثیر سدیم نیتروپروساید (SNP) بر کاهش تنش خشکی در گیاه گلرنگ (*Carthamus tinctorius* L.) می‌باشد. بدین منظور اثر غلظت‌های مختلف SNP (۰، ۱۵ و ۲۵ میکرومولار) و سطوح مختلف خشکی ((Field capacity) FC ۱۰۰٪، ۷۵٪، ۵۰٪ و ۲۵٪) بر وزن‌تر و خشک اندام هوایی، طول ساقه، سطح برگ، محتوای نسبی آب (RWC)، فعالیت آنزیم‌های کاتالاز (CAT)، سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، آسکوربات پراکسیداز (APX) و محتوای پرولین برگ و ریشه مورد بررسی قرار گرفت.گیاهان در مرحله سه برگی در معرض محلول‌پاشی SNP قرار گرفتند، پس از ۲۴ ساعت، تیمار خشکی اعمال شد. دومین تیمار SNP، یک هفته پس از اولین مرحله محلول‌پاشی صورت گرفت. پس از دو هفته گیاهان جهت اندازه‌گیری پارامترهای رشد و برخی ویژگی‌های فیزیولوژیکی برداشت شدند. نتایج حاصل نشان داد که تنش خشکی، وزن‌تر و خشک اندام هوایی، طول ساقه، سطح برگ و محتوای نسبی آب برگ را کاهش داده و موجب افزایش محتوای پرولین و فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز و آسکوربات پراکسیداز در برگ و ریشه گیاه گلرنگ شد. درحالی‌که تیمار همزمان خشکی و نیتریک اکساید باعث افزایش پارامترهای رشد و فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی شده، محتوای پرولین و فعالیت آسکوربات پرکسیداز را کاهش داد. بنظر می‌رسد که تیمار نیتریک اکساید با کاهش تنش اکسیداتیو حاصل از تنش خشکی، مقاومت گیاه گلرنگ را افزایش داده است.

واژه های کلیدی: تنش خشکی، سدیم نیتروپروساید، گلرنگ، نیتریک اکساید

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۹۱۳۱۳۶۹۳۹۹ ، پست الکترونیکی: chavoosh_m@yahoo.com

مقدمه

گلرنگ (*Carthamus tinctorius* L.) یکی از گیاهان تیره گل ستاره‌ای‌ها (Asteraceae) می‌باشد که از قدیم در مناطق مختلف کشت شده است. امروزه از دانه‌های این گیاه بعنوان خوراک طیور و از گل‌های آن بدلیل وجود ماده قرمزرنگ کارتامین، در صنعت رنگرزی استفاده می‌شود. میوه گلرنگ دارای مقدار کم پروتئین و حدود ۶۰٪ روغن اشباع نشده است و افراد مبتلا به چربی خون بالا می‌توانند از این روغن استفاده کنند (۱۶).

شرایط نامناسب محیطی در گیاهان باعث القا تنش‌های اولیه و ثانویه می‌شود. سرما، نور زیاد و خشکی، تنش اولیه ایجاد می‌کنند و تداوم و شدت آن سبب بروز تنش ثانویه می‌گردد. تنش ثانویه توسط رادیکال‌های اکسیژن (ROS) ایجاد شده و انتقال الکترون از حالت تعادل خارج می‌شود

که سبب راه افتادن آبشار انتقال علامت می‌گردد. در این آبشار با تولید مولکول‌های پیام‌رسان مانند اینوزیتول تری فسفات، غلظت کلسیم سیتوزولی افزایش یافته و پتانسیل اسمزی محیط سلولی کاهش می‌یابد (۱۰). تنش خشکی یکی از فاکتورهای محیطی است که بر رشد و نمو گیاه اثر دارد. در بسیاری از مناطق کشور ما بدلیل موقعیت جغرافیایی و بارش‌های کم، خشکی باعث کاهش محصولات کشاورزی شده و زراعت در این مناطق با هزینه بالا و بازده کم همراه می‌شود. تنش خشکی باعث کاهش سطح فتوسنتز، هدایت روزنه‌ای، زی‌توده، رشد و درنهایت کاهش عملکرد گیاه می‌شود (۱۷و۲۰). شدت خسارت ناشی از تنش خشکی به طول دوره، شدت کمبود آب، مرحله رشد گیاه و نوع گونه گیاهی بستگی دارد (۳۴). در گلرنگ نیز تنش خشکی باعث کاهش رشد، سطح برگ، تعداد دانه، تعداد گل، کاهش روغن، زردی و ریزش زودرس برگ‌ها می‌شود (۳۷) . در همه سلول‌های گیاهی جهت مقابله با تنش، فعالیت آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی و غیر آنزیمی افزایش می‌یابد. آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی شامل کاتالاز، پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز می‌باشد و برخی از آنتی‌اکسیدان‌های غیر آنزیمی با وزن مولکولی کم شامل آسکوربات، گلوتاتیون،کاروتنوئیدها، آلفا توکوفرول، فلاونوئید و آنتوسیانین‌ها هستند (۱۹).

نیتریک اکساید (NO) یک مولکول گازی کوچک و قابل انتشار و یک رادیکال به نسبت پایدار است که در بسیاری از سیستم‌های بیولوژیکی مانند جانوران، گیاهان و باکتری‌ها ساخته می‌شود (۱۳). ماده مذکور برای پاسخ به عوامل تنش‌زا آبشار پیام‌رسانی را ایجاد می‌کند. پذیرش تنش‌های محیطی توسط پذیرنده‌های غشایی سلول صورت گرفته که باعث ارسال پیامبرهای ثانویه و بدنبال بروز پاسخ‌های دفاعی صورت می‌گردد. از ویژگی‌های مولکول‌های پیامبر ثانویه، ساختار ساده، قطر کوچک و قدرت انتشار بالاست که در نیتریک اکساید مشاهده شده است (۵ و ۲). نیتریک اکساید باعث تنظیم فرایندهای فیزیولوژیک مانند جوانه‌زنی، باز و بسته شدن روزنه و فتوسنتزمی‌شود و در پاسخ به تنش زیستی و غیر زیستی مؤثر است (۳۹). در تحقیقات آزمایشگاهی به‌ندرت از گاز NO استفاده می‌شود و معمولاً ترکیبات رها کننده‌ای بکار می‌روند که بعد از عبور از غشاء در داخل سلول NO تولید کند. یکی از متداولترین رها کننده‌های NO، سدیم نیتروپروساید (SNP) است، که نسبتاً ارزان و قابل‌دسترس است و در pH درون‌سلولی، NO آزاد می‌کند (۳۱). این پژوهش با هدف بررسی مقایسه‌ای برخی پاسخ‌های بیوشیمایی به تنش خشکی انجام شد. بعلاوه اثر سدیم نیتروپروساید بعنوان مولکول دهنده نیتریک اکساید بر بهبود اثرات مضر خشکی در گیاه گلرنگ مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روشها

بذرهای گیاه گلرنگ از مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر کرج بخش دانه‌های روغنی تهیه شد. تعدادی بذر یکنواخت و همگن انتخاب شدند و برای جلوگیری از آلودگی توسط هیپوکلریت سدیم ۵٪ به مدت ۵ دقیقه ضدعفونی شده و سپس چندین بار با آب مقطر شستشو داده شدند. پس‌ازاین مرحله بذرها در درون ظروف پتری حاوی یک‌لایه کاغذ صافی مرطوب قرار داده شدند. بعد از ۴۸ ساعت بذرها جوانه زدند. سپس بذرهای جوانه‌زده به گلدان‌های حاوی ماسه، رس و خاکبرگ به نسبت (۲:۱:۳) منتقل شدند. گیاهان در دمای ۱۸/۲۶°C و دوره نوری ۱۶ ساعت نور و ۸ ساعت تاریکی رشد کردند و در مرحله سه برگی تحت تیمار SNP با غلظت‌های (۰، ۱۵ و ۲۵ میکرومولار) به صورت اسپری برگی و پس از ۲۴ ساعت، تحت تیمار خشکی در ۴ سطح (۲۵، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ درصد FC) به مدت دو هفته قرار گرفتند به گونه‌ای که گلدان‌ها وزن و به اندازه ظرفیت مزرعه‌ای آبیاری شدند. دومین تیمار SNP، یک هفته پس از اولین مرحله محلول‌پاشی برگی صورت گرفت. محلول غذایی هوگلند هم به مدت

یک‌بار در هفته استفاده شد. بعد از پایان تیمار ریشه و اندام‌های هوایی گیاهان برداشت شدند.

ارزیابی پارامترهای رشد: برای اندازه‌گیری وزن‌تر، ابتدا اندام‌های هوایی از ریشه جدا شده و وزن‌تر آن‌ها با استفاده از ترازوی آزمایشگاهی دیجیتال (مدل Sartorius TE313s، آلمان) تعیین شد. طول ساقه از یقه تا جوانه انتهایی با خط‌کش برحسب سانتی‌متر اندازه‌گیری شد. سطح برگ نیز با استفاده از کاغذ شطرنجی محاسبه گردید.

محتوای نسبی آب (RWC): برای تعیین محتوای نسبی ابتدا برگ‌های قطع‌شده از گیاه وزن شدند (FW) ، سپس برگ‌ها در آب مقطر درون پتری دیش دربسته شناور شده برای ایجاد تورژسانس کامل به مدت ۶ ساعت در تاریکی قرار داده شدند. سپس رطوبت سطح برگ‌ها توسط کاغذ صافی گرفته شد و پس از تعیین وزن در تورگر کامل (TW)، نمونه‌ها ۴۸ ساعت در آون ۷۰ درجه سانتی‌گراد برای حصول وزن خشک (DW) قرار گرفتند(۴۲).

RWC از رابطه روبرو محاسبه گردید.

$$RWC\ (\%) = [(FW-DW)/(TW-DW)]\times 100$$

تهیه عصاره آنزیمی: ریشه و برگ تازه گیاهان پس از توزین، با دو میلی‌لیتر بافر فسفات پتاسیم (pH ۶/۸) به صورت هموژن درآمد. پس از همگن‌سازی نمونه‌ها به ویال‌های دو میلی‌لیتری انتقال داده شد و در دمای چهار درجه‌ی سانتی‌گراد در سرعت g ۱۵۰۰۰ به مدت ۱۲ دقیقه سانتریفیوژ شد. سپس فاز بالایی جدا شد که این عصاره‌ها برای سنجش‌های آنزیمی نیز مورد استفاده قرار گرفت.

ارزیابی فعالیت آنزیم کاتالاز: میزان فعالیت آنزیم کاتالاز با بررسی کاهش مقدار پراکسید هیدروژن در ۲۴۰ نانومتر انجام شد. سه میلی‌لیتر مخلوط واکنش که شامل ۲۸۰۰ میکرولیتر بافر فسفات پتاسیم ۵۰ میلی‌مولار (pH ۶/۸)، ۱۰۰ میکرولیتر پراکسید هیدروژن ۱۵ میلی‌مولار و ۱۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی می‌باشد به عصاره‌ی آنزیمی اضافه شد و تغییرات جذب در ۲۴۰ نانومتر به مدت سه دقیقه با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (مدل۲۱۰۰، شرکت unico، آمریکا) ثبت شد. سپس فعالیت آنزیم بر حسب واحد آنزیم به ازای هر میلی‌گرم پروتئین برای همه نمونه ها محاسبه شد (۱۴).

ارزیابی فعالیت آسکوربات پراکسیداز:در این روش مخلوط واکنش حاوی بافر فسفات پتاسیم ۵۰ میلی مولار (pH ۷)، آسکوربات ۰/۵ میلی‌مولار، آب‌اکسیژنه ۰/۱ میلی‌مولار، EDTA ۰/۱ میلی‌مولار و ۱۵۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی بود. فعالیت آسکوربات بر اساس اکسیداسیون آسکوربیک اسید و کاهش در جذب، در طول‌موج ۲۹۰ نانومتر به مدت یک دقیقه با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (مدل۲۱۰۰، شرکت unico، آمریکا) اندازه‌گیری شد. یک واحد فعالیت آنزیمی بعنوان مقدار آنزیمی است که ۱ میکرومول آسکوربیک اسید را در مدت یک دقیقه اکسید کند. سپس فعالیت آنزیم بر حسب واحد آنزیم به ازای هر میلی‌گرم پروتئین برای همه نمونه ها محاسبه شد (۳۰).

ارزیابی فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز: سنجش فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (SOD) با استفاده از سنجش مهار احیاء نوری متیل تیازول تترازولیوم (MTT) در طول‌موج ۵۶۰ نانومتر انجام گرفت. بدین منظور ابتدا محلول بافر فسفات پتاسیم ۵۰ میلی‌مولار (pH ۷/۴) تهیه شد. سپس برای تهیه مخلوط واکنش بترتیب متیونین ۱۳ میلی‌مولار، EDTA ۰/۱ میلی مولار، MTT ۷۵ میکرومولار و ریبوفلاوین ۴ میکرومولار اضافه گردید. سپس از هر نمونه عصاره ۱۰۰ میکرولیتر در هر لوله‌آزمایش ریخته و ۳ میلی‌لیتر از محلول فوق به آن اضافه گردید و با قرار دادن آن‌ها تحت روشنایی لامپ فلورسنت (۴۰W) بلافاصله واکنش آغاز گردید. پس از گذشت ۱۵ دقیقه جذب نمونه‌ها در طول‌موج ۵۶۰ نانومتر خوانده شد. به عنوان شاهد، ۳ میلی‌لیتر از محلول فوق که فاقد عصاره بود، بدون

آن‌که نور ببیند درون کووت ریخته و دستگاه با آن صفر شد. برای سنجش فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز علاوه بر این شاهد، نیاز به نمونه کنترل نیز می‌باشد. این نمونه که شاهد روشنایی نامیده می‌شود، شامل ۳ میلی‌لیتر از محلول واکنش (فاقد عصاره) است که زیر نور فلورسنت قرار گرفت. میزان فعالیت آنزیم SOD در نمونه‌ها در مقایسه با شاهد روشنایی سنجیده شد. به دلیل عدم وجود آنزیم در شاهد روشنایی، احیاء MTT در حضور نور به‌طور ۱۰۰ درصد انجام‌گرفته میزان جذب نمونه شاهد در ۵۶۰ نانومتر نشان‌دهنده ۱۰۰٪ احیاء نوری MTT است و نیمی از آن معادل یک واحد آنزیمی می‌باشد؛ بنابراین یک واحد آنزیمی سوپراکسید دیسموتاز مقدار آنزیمی است که از احیا ۵۰ درصد MTT ممانعت می‌کند. اختلاف جذب نمونه‌ها و شاهد روشنایی در ۵۶۰ نانومتر نشان‌دهنده مهار احیاء نوری MTT در حضور آنزیم SOD موجود در نمونه می‌باشد. با استفاده از این اختلاف جذب، واحد آنزیمی نمونه‌ها محاسبه و فعالیت آنزیمی بر حسب واحد آنزیم به ازای هر میلی‌گرم پروتئین برای همه نمونه‌ها محاسبه گردید (۱۸).

ارزیابی محتوای پرولین: برگ یا ریشه تازه‌ی گیاهان پس از توزین با اسید سولفوسالیسیلیک سه درصد به صورت هموژن درآمد. سپس هموژن حاصل به فالکون ۱۵ میلی‌لیتری منتقل‌شده و با اسید سولفوسالیسیلیک ۳٪ حجم آن‌ها به ۱۰ میلی‌لیتر رسانیده شد و به مدت ۱۰ دقیقه در g ۱۰۰۰۰ سانتریفیوژ شد سپس دو میلی‌لیتر از عصاره حاصل، دو میلی‌لیتر معرف نین هیدرین و دو میلی‌لیتر اسید استیک خالص را در یک فالکون مخلوط کرده و به مدت یک ساعت جوشانده شدند، جهت توقف واکنش نمونه‌ها سریعاً به ظرف محتوی آب و یخ منتقل شدند (به مدت ۲۰ دقیقه) سپس به هر نمونه چهار میلی‌لیتر تولوئن اضافه شد و مخلوط گردید. درنهایت جذب بخش رویی در طول‌موج ۵۲۰ نانومتر خوانده شد. غلظت پرولین نمونه‌ها با استفاده از منحنی استاندارد پرولین محاسبه شده و در نهایت به صورت میکروگرم بر گرم وزن‌تر بیان گردید (۸).

تجزیه و تحلیل آماری: آزمایش بصورت فاکتوریل، در قالب طرح بلوک کامل تصادفی و با سه تکرار انجام شد. برای تجزیه آماری از نرم‌افزارهای Excel وSPSS ویرایش ۱۶ استفاده شد. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد انجام گردید.

نتایج

ارزیابی پارامترهای رشد: نتایج حاصل از تیمارهای خشکی و سدیم نیتروپروساید وزن تر و خشک اندام هوایی نشان داد که وزن تر و خشک اندام هوایی و طول ساقه در تنش خشکی ۲۵٪ و ۵۰٪ نسبت به شاهد کاهش معنی‌داری داشته است. وزن تر و خشک اندام هوایی در تیمار همزمان سدیم نیتروپروساید (۱۵ میکرومولار) و خشکی ۲۵٪ و ۵۰٪ نسبت به شرایط تنش افزایش داشته است. کاربرد سدیم نیتروپروساید (۲۵ میکرومولار) در خشکی ۲۵٪، ۵۰٪ و ۷۵٪ باعث افزایش وزن تر اندام هوایی شده درحالی‌که سدیم نیتروپروساید (۲۵ میکرومولار) در خشکی ۲۵٪ باعث افزایش وزن خشک اندام هوایی شده است. تیمار خشکی ۲۵٪، ۵۰٪ و ۷۵٪ باعث کاهش سطح برگ شده است. سطح برگ درگیاهان تیمار شده با سدیم نیتروپروساید (۱۵ میکرومولار) در شرایط خشکی ۵۰٪ و ۲۵٪ افزایش یافته در حالی افزایش سطح برگ در تیمار (۲۵ میکرومولار) در سه سطح خشکی ۷۵٪، ۵۰٪ و ۲۵٪ نسبت به شرایط تنش مشاهده شده است. طول ساقه درگیاهان تیمار شده با سدیم نیتروپروساید (۱۵ و ۲۵ میکرومولار) و خشکی ۵۰٪ و ۲۵٪ نسبت به شرایط تنش افزایش یافته است. محتوای نسبی آب در تیمار خشکی ۲۵٪ نسبت به شاهد کاهش معنی‌داری داشته است. تیمار همزمان خشکی ۲۵٪ و سدیم نیتروپروساید (۱۵ و ۲۵ میکرومولار) باعث افزایش

محتوای آب برگ نسبت به شرایط تنش شده است (جدول ۱).

ارزیابی فعالیت آنزیم کاتالاز: نتایج حاصل نشان داد که تیمار خشکی ۲۵٪، ۵۰٪ و ۷۵٪ باعث افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز برگ شده است و این در حالی است که در ریشه تنش خشکی ۲۵٪ فعالیت آنزیم کاتالاز را افزایش داده است. فعالیت آنزیم کاتالاز برگ درگیاهان تیمار شده با سدیم نیتروپروساید (۱۵ میکرومولار) در شرایط خشکی ۷۵ ٪ کاهش یافته و در خشکی ۲۵٪ نسبت به شرایط تنش افزایش داشته است. فعالیت آنزیم کاتالاز برگ در تیمار سدیم نیتروپروساید (۲۵ میکرومولار) در خشکی ۲۵٪، نسبت به شرایط تنش تفاوت معنی‌دار نداشته در حالی که فعالیت آنزیم کاتالاز ریشه در تیمار سدیم نیتروپروساید (۲۵ میکرومولار) در خشکی ۲۵٪ کاهش معنی‌داری داشته است (جدول ۲).

ارزیابی فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز: فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز برگ در تنش خشکی ۲۵٪ افزایش داشته در حالی که فعالیت آن در ریشه در تنش خشکی با شاهد تفاوت معنی داری نداشته است. تیمار سدیم نیتروپروساید (۱۵ میکرومولار) در خشکی ۲۵٪ باعث کاهش فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز برگ شده در حالی که سدیم نیتروپروساید (۱۵ میکرومولار) در خشکی ۲۵٪، باعث افزایش فعالیت آنزم آسکوربات پراکسیداز ریشه شده است. فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز برگ و ریشه در تیمار سدیم نیتروپروساید (۲۵ میکرومولار) و خشکی ۲۵٪ نسبت به شرایط تنش تفاوت معنی‌داری نداشته است (جدول ۲).

ارزیابی فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز: نتایج نشان داد که فعالیت سوپراکسید دیسموتاز برگ در تنش خشکی ۲۵٪ و ۵۰٪ افزایش یافته در حالی که کاهش فعالیت آن در ریشه در خشکی ۲۵٪ مشاهده‌شده است. فعالیت سوپراکسیددیسموتاز برگ در تیمار سدیم نیتروپروساید (۱۵ میکرومولار) و خشکی ۲۵٪ و ۵۰٪ نسبت به شرایط تنش کاهش معنی‌داری داشته است. فعالیت سوپراکسیددیسموتاز ریشه در سدیم نیتروپروساید (۱۵ میکرومولار) نسبت به شرایط تنش تفاوت معنی داری نداشته است. تیمار سدیم نیتروپروساید (۲۵ میکرومولار) در خشکی ۵۰٪ فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز برگ را کاهش داده در حالی که در خشکی ۲۵٪ نسبت به شرایط تنش تفاوت معنی‌داری نداشته است. فعالیت سوپراکسیددیسموتاز ریشه در تیمار با سدیم نیتروپروساید (۲۵ میکرومولار) و خشکی ۵۰٪ و ۲۵٪ نسبت به شرایط تنش تفاوت معنی داری نداشته است (جدول ۲).

جدول ۱- اثر تیمار خشکی و سدیم نیتروپروساید بر وزن تر و خشک اندام هوایی، طول ساقه، سطح برگ، محتوای نسبی آب (RWC) در گلرنگ. مقادیر میانگین با سه تکرار $\pm SE$ است. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار با استفاده از آزمون دانکن است.

Treatment	Shoot fresh weight (g)	Shoot dry weight (g)	Shoot length (cm)	Leaf area (cm^2)	RWC (%)
(FC100%)	3.21±0.3 ^{bc}	0.30±0.006 ^{a}	13.2±0.1 ^{ab}	8.2±0. 2 ^{bcd}	93.8±0.5 ^{a}
(FC75%)	2.85±0.2 ^{c}	0.27±0.002 ^{ab}	11.7±0.7 ^{bc}	7.3±0.2 ^{ef}	92.2±0.5 ^{ab}
(FC50%)	2.00±0.1 ^{d}	0.19±0.006 ^{bcd}	10.3±0.0 ^{cd}	5.6±0.2 ^{g}	92.0±0.5 ^{ab}
(FC25%)	2.03±0.5^{d}	0.15±0.004 ^{d}	9.5±0.0 ^{e}	5.2±0.1 ^{g}	87.6±0.1 ^{c}
(FC100%+SNP15µM)	2.07±0.1 ^{d}	0.17±0.005 ^{cd}	12.2±0.1 ^{bc}	5.0±0.002 ^{g}	91.4 ±0.4 ^{ab}
(FC75%+ SNP15µM)	1.99±0.1 ^{d}	0.16±0.009 ^{d}	12.0±0.1 ^{bc}	6.1±0.2 ^{fg}	91.6±0.0 ^{ab}
(FC50%+ SNP15µM)	3.12±0.3 ^{bc}	0.22±0.001 ^{abcd}	12.8±0.3 ^{ab}	9.2±0.2 ^{bc}	92.7±0.6 ^{ab}
(FC25%+ SNP15µM)	2.97±0.3 ^{c}	0.20± 0.003 ^{abcd}	10.0±0.2 ^{d}	7.6±0.05 ^{de}	93.1±0.5 ^{ab}
(FC100%+SNP25µM)	1.64±0.01 ^{d}	0.13±0.005 ^{d}	11.8±0.2 ^{d}	5.4±0.02 ^{g}	90.0±0.4 ^{b}
(FC75%+ SNP25µM)	4.20±0.2 ^{a}	0.22±0.008 ^{abcd}	12.0±0.1 ^{bc}	10.6±0.2 ^{a}	92.6± 0.4^{ab}
(FC50%+SNP25µM)	3.57±0.2 ^{b}	0.26±0.001 ^{abc}	14.3±0.2 ^{a}	9.3±0.1 ^{ab}	92.7±0.6 ^{ab}
(FC25% SNP25µM)	3.07±0.1 ^{bc}	0.27±0.002 ^{ab}	10.7±0.2 ^{cd}	8.8±0.2 ^{bcd}	94.0±0.1 ^{a}

ارزیابی پرولین برگ و ریشه: نتایج حاصل از تیمارهای خشکی و سدیم نیتروپروساید بر پرولین برگ و ریشه در جدول (۲) مشاهده شده است. محتوای پرولین برگ در تنش ۲۵٪ و ۵۰٪ در حالی که در ریشه در تیمار خشکی ۲۵٪، ۵۰٪ و ۷۵٪ نسبت به شاهد افزایش معنی‌داری داشته است. در برگ و ریشه تیمار توأم خشکی ۲۵٪ و سدیم نیتروپروساید (۱۵ میکرومولار) باعث کاهش محتوای پرولین شده، درحالی‌که غلظت سدیم نیتروپروساید (۲۵ میکرومولار) در تنش ۷۵٪ و ۲۵٪ باعث کاهش پرولین برگ و ریشه شده است.

جدول ۲- اثر تیمار خشکی و سدیم نیتروپروساید بر فعالیت کاتالاز (CAT) برگ و ریشه، سوپراکسید دیسموتاز(SOD)، آسکوربات پراکسیداز(APX)، پرولین برگ و ریشه در گلرنگ. مقادیر میانگین با سه تکرار $\pm SE$ است. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار با استفاده از آزمون دانکن است.

Treatment	Leaf CAT activity (Umg^{-1} protein)	Root CAT activity (Umg^{-1} protein)	Leaf SOD activity (Umg^{-1} protein)	Root SOD activity (Umg^{-1} protein)	Leaf APX activity (Umg^{-1} protein)	Root APX activity (Umg^{-1} protein)	Leaf proline content ($\mu g\ g^{-1}$ FW)	Root proline content ($\mu g\ g^{-1}$ FW)
(FC100%)	28.4±3.5 ^{e}	45.5±2.8^{de}	0.027±0.02 ^{ef}	0.041±0.0 ^{e}	0.050±0.0 ^{b}	0.010±0.0^{b}	441±5.1^{de}	371±20 ^{c}
(FC75%)	91.5±1.9 ^{cd}	46.9±2.6^{de}	0.030±0.03^{def}	0.054±0.0 ^{d}	0.018±0.0 ^{b}	0.012±0.0^{b}	779±2 ^{cd}	1020±25^{ab}
(FC50%)	108.0±4.6^{cd}	51.9±1 ^{cd}	0.038±0.03 ^{bc}	0.059±0.0 ^{bcd}	0.121±0.04^{ab}	0.013±0.0^{b}	829±7.3 ^{c}	1040±16^{ab}
(FC25%)	112.0±1.7^{cd}	90.4±3.1 ^{b}	0.042±0.04 ^{ab}	0.068±0.0 ^{abc}	0.218±0.0 ^{a}	0.014±0.0^{b}	1500±4.5^{a}	^{ab} 1200±3
(FC100%+SNP15µM)	12.0±0.1 ^{e}	9.0±0.3 ^{f}	0.034±0.02 ^{cd}	0.066±0.0^{abcd}	0.011±0.01 ^{b}	0.010±0.0^{b}	663±1.7^{cd}	1222±20^{ab}
(FC75%+ SNP15µM)	19.8±4 ^{e}	118±5.6 ^{a}	0.034±0.03 ^{cd}	0.057±0.0 ^{cd}	0.006±0.0 ^{b}	0.008±0.0^{b}	713±9.1^{cd}	1090±25^{ab}
(FC50%+ SNP15µM)	48.9±1 ^{de}	128±9.3 ^{a}	0.030±0.03^{def}	0.064±0.0^{abcd}	0.005 ±0.0^{b}	0.018±0.0^{b}	643±4.2^{cd}	1560±11^{a}
(FC25%+ SNP15µM)	186.5± 1.7^{b}	61.3±1.3^{cd}	0.025±0.03 ^{f}	0.059±0.0 ^{bcd}	0.016±0.0 ^{b}	0.022±0.0^{a}	704±3.2^{cd}	375±28 ^{c}
(FC100%+SNP25µM)	271.1±0.7 ^{a}	27.5±3.2 ^{e}	0.025±0.02 ^{f}	0.079±0.0 ^{a}	0.026±0.01 ^{b}	0.006±0.0^{b}	1200±1.5^{b}	1140±25^{ab}
(FC75%+ SNP25µM)	25.6± 1^{e}	43.8±2.4^{cd}	0.033±0.03^{cde}	0.069±0.0 ^{abc}	0.028±0.04 ^{b}	0.007±0.0^{b}	217±7.3 ^{e}	637±20 ^{c}
(FC50%+SNP25µM)	8.8±5 ^{e}	71.2±6.6 ^{c}	0.032±0.03 ^{de}	0.070±0.0 ^{ab}	0.084±0.0 ^{ab}	0.013±0.0^{b}	558±4 ^{cd}	1050±13^{ab}
(FC25% SNP25µM)	106.3±1.2^{cd}	9.0±3.4 ^{f}	0.046±0.04 ^{a}	0.072±0.0 ^{a}	0.101±0.0 ^{ab}	0.013±0.0^{b}	175±4.2 ^{e}	421±26 ^{c}

بحث و نتیجه گیری

تنش خشکی از طریق ایجاد تغییرات آناتومیک، مولکولی، فیزیولوژیک و بیوشیمیایی بر جنبه‌های مختلف رشد و نمو گیاه اثر گذاشته و باعث کاهش بازدهی و عملکرد آن می‌شود (۱۶و۳۳) بررسی اثر تنش خشکی برای انواع گیاهان ضروریست و بر روی گیاه گلرنگ بدلیل اهمیت اقتصادی از جمله استخراج روغن ضروری‌تر است. نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که تنش خشکی باعث کاهش وزن‌تر و خشک اندام هوایی، طول ساقه و سطح برگ در گیاه گلرنگ شده است. همچنین در بسیاری از گیاهان از جمله ذرت (۶) نخود (۳۳) ، آفتابگردان (۱۲) نشان می‌دهد که تنش خشکی تأثیر معنی‌داری در کاهش وزن‌تر و خشک اندام هوایی داشته است. کاهش رشد گیاه را به کاهش تقسیم و بزرگ شدن سلول نسبت دادند (۲۴و۲۹). نتایج حاصل از بررسی اثر تیمار همزمان خشکی و سدیم نیتروپروساید افزایش پارامترهای رشد را در گیاه گلرنگ نشان داده است که می‌توان علت آن را اثر NO بر رشد سلولی دانست، به‌گونه‌ای که NO باعث افزایش فعالیت اگزو و اندو بتاگلوکاناز سلول‌های دیواره شده و پیوند گلیکوزیدی میان واحدهای گلوکز در دیواره توسط این آنزیم شکسته شده که سست شدن دیواره و گسترش سلولی را بدنبال دارد (۲۲). نتایج حاصل از تیمار همزمان SNP و خشکی در ذرت با نتایج حاصل از پژوهش حاضر منطبق است. نقش SNP بعنوان رها کننده NO باعث حفاظت از فتوسیستم II شده است. SNP اثرات سمی خشکی را در ریشه ذرت کاهش داده و باعث افزایش رشد گیاه ذرت شده است. از طرفی NO رهاشده از SNP، با تجمع در آندودرم سلول‌های ساقه می‌تواند تنظیم‌کننده مسیر اکسین باشد یا با اکسین اثر متقابلی داشته و از این طریق می‌تواند بر رشد گیاه مؤثر باشد (۱۵).

بررسی وضعیت آب برگ گیاه گلرنگ در این پژوهش نشان داد که با افزایش شدت تنش خشکی، محتوای نسبی آب

برگ کاهش یافت. یافته‌های محققین دیگر در ارتباط با تأثیر تنش خشکی بر محتوای نسبی آب برگ در جو (۳۲) با نتایج این مطالعه همخوانی دارد. تغییر محتوای نسبی آب گیاه به جذب آب از خاک و یا توانایی کاهش تلفات آب از طریق روزنه‌ها و یا اختلاف در توانایی آن‌ها برای تجمع و تنظیم اسمزی برای حفظ تورژسانس بافت و افزایش فعالیت‌های فیزیولوژیکی ارتباط دارد. کاهش تورژسانس در بافت‌های گیاهی و کاهش تغییرات محتوای نسبی آب جز اولین اثرات تنش خشکی است که بطور طبیعی رشد سلول و اندازه نهایی آن را تحت تأثیر قرار می‌دهد. تغییرات محتوای نسبی آب در ارقام مختلف به قابلیت حفظ تورگر برگ‌ها تحت شرایط تنش بستگی دارد (۷ و۱۲). تنش خشکی ابتدا هدایت روزنه‌ای کاهش می‌یابد، سپس محتوای نسبی آب برگ و فتوسنتز شروع به کاهش می‌کند. کاهش شدید هدایت روزنه‌ای با تغییر در محتوای آب صورت می گیرد که علت آن سنتز اسید آبسیزیک در ریشه است که بدنبال آن بسته شدن روزنه صورت می‌گیرد (۳۵و ۲۷). رشد به کمبود آب بسیار حساس است، بنابراین تحت تنش خشکی بدلیل کاهش فشار بر دیواره سلولی، تورگر سلول‌ها کاهش یافته و رشد متوقف می‌گردد. بنابراین محتوای نسبی آب برگ مطلوب، باعث گسترش و توسعه مناسب سلول می‌شود (۲۷). محتوای نسبی آب در تیمار همزمان خشکی و سدیم نیتروپروساید افزایش داشته که علت آن اثر NO بر کاهش پتانسیل اسمزی و یا افزایش پتانسیل آب در شرایط تنش اسمزی می‌باشد (۳).

نتایج حاصل از تحقیق حاضر نشان داد که با افزایش تنش خشکی فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در گیاه گلرنگ افزایش می‌یابد. افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز در آفتابگردان (۲۹)، جو و ذرت در تحت تنش خشکی مشاهده شده است (۲۳). همچنین افزایش معنی‌دار فعالیت آنزیم SOD تحت تنش خشکی در بسیاری از گیاهان ازجمله *Archis hypogaea* (۳۸)، سویا (۴۵) مشاهده شده است که با نتایج حاصل از تحقیق حاضر منطبق است. این افزایش ممکن است بدلیل تولید رادیکال‌های سوپراکسید در حین تنش اسمزی باشد (۱۲و۴۱).

در شرایط عادی رشد، بسیاری از فرایندهای متابولیکی در گیاهان باعث تولید گونه‌های فعال اکسیژن می‌شوند اما گیاهان مکانیسم‌های آنتی‌اکسیدانی کارآمدی برای رادیکال‌های اکسیژن‌دارند. در شرایط تنش میزان گونه‌های فعال اکسیژن افزایش یافته (۳۶) و بدنبال افزایش آن فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مانند پراکسیداز، کاتالاز و سوپر اکسید دیسموتاز افزایش می‌یابد (۲۱). عملکرد مشترک کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز، گونه‌های فعال اکسیژن را به آب و اکسیژن مولکولی تبدیل می‌کند و از آسیب سلولی به گیاه تحت شرایط تنش خشکی جلوگیری می‌کند (۲۹). در پژوهش حاضر تیمار همزمان خشکی و SNP باعث افزایش SOD و CAT برگ شده است. SNP با افزایش فعالیت SOD و تبدیل آنیون سوپراکسید به پراکسید هیدروژن، این آنیون را از سلول حذف می‌کند و از طرفی دیگر با القای آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مانند آنزیم کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز سمیت آب اکسیژنه را نیز کاهش می‌دهد این حالت در *Lupinus* مشاهده شده است (۲۵ و ۱۲).

در پژوهش حاضر افزایش فعالیت آنزیم های کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز نشان می دهد که نیتریک اکساید ازیک سو خود بطور مستقیم رادیکال‌ها را جاروب می‌کند و هم بطور غیر مستقیم نیز می‌تواند با تقویت سیستم آنتی اکسیدانی گیاه بخصوص تحریک آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان موجب کاهش غلظت رادیکال‌های آزاد و در نتیجه کاهش تنش اکسیداتیو در گیاه شود. Liu و همکاران بر این عقیده اند که کاربرد خارجی NO باعث افزایش NO درونی می‌شود که بعنوان مولکول علامت دهنده یا جاروب کننده رادیکال‌های آزاد، فعالیت آنتی‌اکسیدانی را تحریک می‌کند (۲۸و ۱). Yamane و همکاران (۲۰۱۰) دلیل افزایش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان را افزایش بیان ژن‌های مربوطه

می‌دانند که باعث می‌شود گیاه بهتر بتواند شرایط تنش را تحمل کند (۴۲).

کاهش آنزیم کاتالاز در تیمار همزمان خشکی و سدیم نیتروپروساید در ریشه گلرنگ نشان‌دهنده کاهش فعالیت آنتی‌اکسیدانی است از طرفی NO می‌تواند به‌طور مستقیم با آنیون سوپر اکسید ترکیب‌شده و با تولید رادیکال پراکسی نیتریت نسبت به رادیکال‌های اکسیژن سمیت و خسارت‌های کم‌تری به سلول وارد می‌شود و سوپر اکسید کمتری به آب‌اکسیژنه تبدیل می‌شود و درنهایت فعالیت آنزیم‌ها هم کاهش می‌یابد (۱۱ و ۹).

تیمار خشکی و سدیم نیتروپروساید تأثیر قابل توجهی بر فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در برگ و ریشه گیاه گلرنگ نداشته است. ممکن است کاهش سطح آب اکسیژنه در گیاه گلرنگ بیشتر تحت تأثیر آنزیم کاتالاز بوده و نتایج حاصل از تیمار خشکی و SNP در ذرت با نتایج این پژوهش مطابقت دارد (۴۴).

نتایج حاصل از بررسی اثر خشکی در گیاه گلرنگ نشان داد که میزان پرولین برگ و ریشه با افزایش تنش خشکی، افزایش یافت. افزایش محتوای پرولین در آفتابگردان، گیاه پنبه و چغندر (۴) در تنش خشکی مشاهده شده است که با نتایج حاصل از این پژوهش همخوانی دارد. تنظیم اسمزی با تجمع مواد محلول سازگار، مانند اسیدآمینه پرولین، پروتئین و کربوهیدرات بعنوان یکی از پاسخ‌های فیزیولوژیکی گیاهان در برابر تنش خشکی می‌باشد. در برگ محتوای پرولین در تیمار همزمان خشکی و SNP کاهش یافته است. این حالت در ذرت (۴۴)، گندم (۲۶). و آفتابگردان (۱۲) نیز مشاهده شده است. پرولین می‌تواند از طریق تداخل با رادیکال‌های آزاد و یا القای آنزیم‌های آنتی اکسیدانی نقش حفاظتی در برابر خشکی داشته باشد. از طرفی پرولین باعث حفظ پتانسیل اسمزی سلول شده که به دنبال آن حفظ محتوای نسبی آب حاصل شده و از سوی دیگر باعث بهبود بخشیدن سلول در شرایط تنش و مسئول تعمیر و نگهداری گیاه است (۴۰).

منابع

۱- علیپور، س. ۱۳۹۳. بررسی اثر غلظت های متفاوت سدیم نیتروپروساید بر صفات فیزیولوژیکی و افزایش عمر گلجایی بریده مریم. مجله پژوهش های گیاهی. جلد۲۷. شماره۵. صفحه ۹۱۴-۹۰۴

۲- نیک روش، م. ۱۳۹۵. اثر سدیم نیتروپروساید بر برخی عوامل فیزیولوژیکی گیاه کلزا تحت تنش خشکی. مجله پژوهش های گیاهی. جلد۲۹. شماره۳. صفحه ۶۴۴-۶۵۸

3- Ahmad P, Latef AAA, Hashem A, Abd-Allah EF, Gucel S, Tran LSP 2016 Nitric oxide mitigates salt stress by regulating levels of osmolytes and antioxidant enzymes in chickpea, Frontiers in Plant Science 7: 1-10.

4- Anjum SA, Xie XY, Wang LC, Saleem MF, Man C, Lei W 2011 Morphological, physiological and biochemical responses of plants to drought stress, African Journal of Agricultural Research 6: 2026-2032.

5- Arasimowicz M, Floryszak-Wieczorek, J 2007 Nitric oxide as a bioactive signalling molecule in plant stress responses, Plant Science 172: 876-887.

6- Ashraf M, Nawazish S, Athar HUR 2007 Are chlorophyll fluorescence and photosynthetic capacity potential physiological determinants of drought tolerance in maize (*Zea mays* L.), Pakistan Journal of Botany 39: 1123-1131.

7- Bansal K, Nagarajan S 1983 Measurement of desiccation tolerance in potato leaves, Indian Journal of Plant Physiology 4: 418-420.

8- Bates L, Waldren R, Teare I 1973 Rapid determination of free proline for water-stress studies, Plant and Soil 39: 205-207.

9- Bavita A, Shashi B, Navtej S 2012 Nitric oxide alleviates oxidative damage induced by high temperature stress in wheat, Indian Journal of Experimental Biology 50: 372-378.

10- Beck EH, Fettig S, Knake C, Hartig K Bhattarai T 2007 Specific and unspecific responses of plants to cold and drought stress, Biosciences 32: 501-510.

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

12- Cechin I, Cardoso GS, Fumis TdF, Corniani N 2015 Nitric oxide reduces oxidative damage induced by water stress in sunflower plants, Bragantia 74(2):200-206.

13- Del Río LA, Corpas FJ, Barroso JB 2004 Nitric oxide and nitric oxide synthase activity in plants, Phytochemistry 65: 783-792.

14- Dhindsa R, Plumb-Dhindsa P, Thorpe 1981 Leaf senescence: correlated with increased levels of membrane permeability and lipid peroxidation, and decreased levels of superoxide dismutase and catalase, Experimental Botany 32: 93-101.

15- Domingos P, Prado AM, Wong A, Gehring C, Feijo JA 2015 Nitric oxide: a multitasked signaling gas in plants, Molecular Plant 8: 506-520.

16- Ekin Z 2005 Resurgence of safflower (*Carthamus tinctorius* L.) utilization: a global view, Agronomy 4: 83-87.

17- Eraslan, F, Inal, A, Savasturk, O, Gunes, A, 2007. Changes in antioxidative system and membrane damage of lettuce in response to salinity and boron toxicity, Scientia Horticulturae 114: 5-10.

18- Giannopolitis CN, Ries SK 1977 Superoxide dismutases I. Occurrence in higher plants, Plant Physiology 59: 309-314.

19- Gill SS, Tuteja N 2010 Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants, Plant Physiology and Biochemistry 48: 909-930.

20- Gunes A, Cicek N, Inal A, Alpaslan M Eraslan F, Guneri E, Guzelordu T 2006 Genotypic response of chickpea (*Cicer arietinum* L.) cultivars to drought stress implemented at pre and post anthesis stages and its relations with nutrient uptake and efficiency, Plant Soil and Environment 52: 368-376.

21- Hayat S, Ali B, Ahmad A 2007 Salicylic acid: biosynthesis, metabolism and physiological role in plants, Salicylic acid: A plant hormone. Springer, pp. 1-14.

22- Hayat S, Yadva S, Alyemeni M, Ahmad A 2014 Effect of sodium nitroprusside on the germination and antioxidant activities of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.), Bulgarian Journal of Agricultural Science 20: 140-144.

23- Karuppanapandian T, Moon JC, Kim C, Manoharan K, Kim W 2011 Reactive oxygen species in plants: their generation, signal transduction, and scavenging mechanisms, Australian Journal of Crop Science 5: 709-725.

24- Khan W, Prithiviraj B, Smith DL 2003 Photosynthetic responses of corn and soybean to foliar application of salicylates, Plant Physiology 160: 485-492.

25- Kopyra M, Gwóźdź EA 2003 Nitric oxide stimulates seed germination and counteracts the inhibitory effect of heavy metals and salinity on root growth of *Lupinus luteus*, Plant Physiology and Biochemistry 41: 1011-1017.

26- Lei Y, Yin C, Ren J, Li C 2007 Effect of osmotic stress and sodium nitroprusside pretreatment on proline metabolism of wheat seedlings, Biologia Plantarum 51: 386-390.

27- Link W, Hocking T, Stoddard F 2007 Evaluation of physiological traits for improving drought tolerance in faba bean (*Vicia faba* L.), Plant and Soil 292: 205-217.

28- Liu S, Dong Y, Xu L, Kong J, Bai X 2013 Roles of exogenous nitric oxide in regulating ionic equilibrium and moderating oxidative stress in cotton seedlings during salt stress, Soil Science and Plant Nutrition 13: 929-941.

29- Manivannan P, Jaleel CA, Sankar B, Kishorekumar A, Somasundaram R, Lakshmanan GA, Panneerselvam R 2007 Growth, biochemical modifications and proline metabolism in *Helianthus annuus* L. as induced by drought stress, Colloids and Surfaces B: Biointerfaces 59: 141-149.

30- Nakano Y, Asada K 1981 Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts, Plant and Cell Physiology 22: 867-880.

31- Neill SJ, Desikan R, Hancock JT 2003 Nitric oxide signalling in plants. New Phytologist 159: 11-35.

32- Oukarroum A, El Madidi S, Schansker G, Strasser RJ 2007 Probing the responses of barley cultivars (*Hordeum vulgare* L.) by chlorophyll a fluorescence OLKJIP under drought stress and rewatering, Environmental and Experimental Botany 60: 438-446.

33- Rahbarian R, Khavari-Nejad RA, Ganjeali A, Bagheri A, Najafi F 2011 Drought stress effects on photosynthesis, chlorophyll fluorescence and water relations in tolerant and susceptible chickpea (*Cicer arietinum* L.) genotypes, Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica 53: 47-56.

34- Rampino P, Spano G, Pataleo S, Mita G, Napier JA, Di Fonzo N, Shewry PR, Perrotta C 2006 Molecular analysis of a durum wheat 'stay green'mutant: expression pattern of photosynthesis related genes, Cereal Science 43: 160-168.

35- Ritchie SW, Nguyen HT, Holaday AS 1990 Leaf water content and gas-exchange parameters of two wheat genotypes differing in drought resistance, Crop Science 30: 105-111.

36- Sadeghipour O, Aghaei P 2012 Impact of exogenous salicylic acid application on some traits of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) under water stress conditions, International Journal of Agriculture and Crop Science 4: 685-690.

37- Sajedi N, Ferasat M, Mirzakhani M, Boojar MMA 2012 Impact of water deficit stress on biochemical characteristics of safflower cultivars, Physiology and Molecular Biology of Plants 18: 323-329.

38- Sankar B, Jaleel CA, Manivannan P, Kishorekumar A, Somasundaram R, Panneerselvam R 2007 Effect of paclobutrazol on water stress amelioration through antioxidants and free radical scavenging enzymes in (*Arachis hypogaea* L.), Colloids and Surfaces B: Biointerfaces 60: 229-235.

39- Siddiqui MH. Al-Whaibi MH, Basalah, MO 2011 Role of nitric oxide in tolerance of plants to abiotic stress, Protoplasma 248: 447-455.

40- Simaei M, Khavarinejad R, Saadatmand S, Bernard F, Fahimi H 2011 Interactive effects of salicylic acid and nitric oxide on soybean plants under NaCl salinity, Russian Journal of Plant Physiology 58: 783-790.

41- Srivalli B, Sharma G, Khanna-Chopra, R 2003 Antioxidative defense system in an upland rice cultivar subjected to increasing intensity of water stress followed by recovery, Physiologia Plantarum 119: 503-512.

42- Yamane K, Mitsuya S, Taniguchi M, Miyake H 2010 Transcription profiles of genes encoding catalase and ascorbate peroxidase in the rice leaf tissues under salinity, Plant Production Science 13: 164-168.

43- Yamasaki S, Dillenburg LR 1999 Measurements of leaf relative water content in *Araucaria angustifolia*, Revista Brasilleira de Fisiologia Vegetal 11: 69-75.

44- Yildiztugay E, Ozfidan-Konakci C, Kucukoduk M 2014 Exogenous nitric oxide (as sodium nitroprusside) ameliorates polyethylene glycol-induced osmotic stress in hydroponically grown maize roots, Plant Growth Regulation 33: 683-696.

45- Zhang M, Duan L, Tian X, He Z, Li J, Wang B, Li Z 2007 Uniconazole-induced tolerance of soybean to water deficit stress in relation to changes in photosynthesis, hormones and antioxidant system, Plant Physiology 164: 709-717.

Effects of nitric oxide on reducing oxidative stress induced by drought stress in safflower (*Carthamus tinctorius* L.)

Chavoushi M.[1], Salimi A.[1], Najafi F.[1] and Angaji S.A.H.[2]

[1] Dept. of Plant Sciences, Faculty of Biological Sciences, Kharazmi University, Tehran, I.R. of Iran

[2] Dept. of Cell and Molecular Biology Sciences, Faculty of Biological Sciences, Kharazmi University, Tehran, I.R. of Iran

Abstract

NO is an important signaling molecule in plants, which mediates growth and developmental processes. Among the different environmental stresses, drought is one of the most important limiting factors for growth and production around the world. In this study the effect of sodium nitroprusside (SNP), as a NO donor on the reduction of drought stress in safflower (*Carthamus tinctorius* L.) was studied. The effect of the concentrations of SNP (0, 15, and 25µM) and water stress (levels 25, 50, 75and 100% FC (Field capacity)) on shoot fresh weight, shoot dry weight, shoot length, leaf area, relative water content (RWC), catalase (CAT), ascorbate peroxidase (APX) superoxidase activities (SOD) and proline content in leaf and root were studied. When plants had three expanded leaves, were treated by SNP and after 24 hours, exposed to drought. After 7 days, plants again were sprayed by SNP. After 2 weeks plants were harvested to evaluate of growth and physiological parameters. The results showed that drought stress reduced shoot fresh weight, shoot dry weight, shoot length, leaf area, RWC and increased CAT and SOD activities and proline content in leaf and root. Interaction of nitric oxide and drought increased growth parameters, CAT and SOD activities and decreased APX activities and proline content. The results showed that the plants treated with NO are more resistance to drought stress.

Key words: Drought stress, Sodium nitroprusside, Safflower, Nitric oxide