اثر سدیم نیتروپروساید (SNP) بر برخی عوامل فیزیولوژیکی گیاه کلزا (*Brassica napus* L.) تحت تنش خشکی

معصومه نیک‌روش،[۱] بهمن خلدبرین[۲*]، طاهر نژادستاری[۱] و فرزانه نجفی[۳]

[۱] تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات، دانشکده علوم پایه، گروه زیست‌شناسی

[۲] شیراز، دانشگاه شیراز، دانشکده علوم، گروه زیست‌شناسی

[۳] تهران، دانشگاه خوارزمی، دانشکده علوم زیستی، گروه علوم گیاهی

تاریخ دریافت: ۹۴/۷/۹ تاریخ پذیرش: ۹۵/۲/۷

چکیده

خشکی با اثرات تنش اسمزی، رشد گیاهان و تولید محصولات کشاورزی را کاهش می‌دهد. نیتریک اکسید یک رادیکال گازی پایدار است که به‌عنوان یک مولکول پیام‌رسان در گیاهان عمل می‌کند و در بسیاری از فرایندهای فیزیولوژیکی، نموی و همچنین پاسخ‌های گیاهان به تنش‌های محیطی شرکت می‌کند. در این پژوهش از نیتروپروساید سدیم (SNP) به‌عنوان رهاکننده NO استفاده شد. گیاهچه‌های کلزا به مدت ۲۱ روز در معرض مقادیر رطوبتی خاک شامل ۱۰۰٪، ۶۰٪ و ۳۰٪ ظرفیت زراعی (FC) در ترکیب با SNP (۰، ۲۵، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ میکرومولار) و بدون SNP قرار گرفتند. نتایج نشان داد که تنش خشکی به تنهایی سبب کاهش وزن خشک اندام‌های هوایی و ریشه می‌گردد. مقادیر پرولین، قندهای محلول، آنتوسیانین، فلاونوئیدها و فنل کل در گیاهان تحت تنش خشکی افزایش معنی‌داری نشان دادند. در بین غلظت‌های مختلف SNP تیمار ۲۵ میکرومولار، عملکرد رشد و مقادیر پرولین، قندهای محلول، آنتوسیانین، فلاونوئیدها و فنل کل را تحت تنش خشکی افزایش داد. غلظت‌های زیاد SNP (۷۵ و ۱۰۰ میکرومولار) تحت تنش خشکی سبب آسیب‌های اکسیداتیو در گیاهچه‌های کلزا شد.

واژه‌های کلیدی: تنش خشکی، کلزا، نیتریک اکسید

* نویسنده مسئول، تلفن: ۳۲۲۸۹۱۶-۰۷۱، پست الکترونیکی: bkholdeb@biology.susc.ac.ir

مقدمه

تنش‌های محیطی ازجمله خشکی عوامل محدود کننده محصولات زراعی هستند. بیش از ۴۵ درصد زمین‌های کشاورزی بطور دائم در معرض خشکی قرار دارند و ۳۸ درصد جمعیت دنیا در آن مناطق ساکن هستند (۱۷). کمبود آب به‌عنوان عدم وجود رطوبت کافی برای رشد طبیعی و تکمیل چرخه زندگی گیاهان تعریف می شود (۴۰). محدودیت آب و افزایش رو به رشد تقاضا برای مواد غذایی اثرات خشکی را تشدید می‌کنند (۱۷).

در تنش خشکی به علت بسته شدن روزنه‌ها، غلظت CO_2 در بافت مزوفیل برگ کاهش می‌یابد، بنابراین محصول واکنش‌های نوری فتوسنتز ازجمله NADPH مصرف نمی‌شود. از آنجایی که در این شرایط NADPH اکسید نمی‌شود، از این‌رو مقدار $NADP^+$ برای دریافت الکترون کاهش می‌یابد. در این صورت اکسیژن به‌عنوان پذیرنده الکترون از زنجیره انتقال الکترون در فتوسنتز عمل می‌کند و گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) مانند رادیکال سوپراکسید (O_2^-)، پراکسید هیدروژن (H_2O_2) و رادیکال هیدرروکسیل (OH^-) تولید می‌شوند. گونه‌های فعال اکسیژن به شدت واکنش‌پذیر هستند و بعکس اکسیژن اتمسفری می‌توانند

ترکیبات سلولی مانند پروتئین‌ها، لیپیدها، DNA و RNA را اکسید کنند. اکسید شدن نامحدود ترکیبات سلولی سرانجام منجر به مرگ سلول و گیاه می‌شود (۳۱).

مهمترین عوامل فیزیولوژیکی برای تحمل به خشکی، تنظیم اسمزی، تولید آنتی اکسیدان‌ها و رباینده‌های ROS هستند. هنگام تنش خشکی، تنظیم اسمزی می‌تواند سبب کاهش آسیب به سلول شود. تجمع مواد آلی قابل حل در سیتوپلاسم، پتانسیل اسمزی سلول را منفی‌تر کرده و با افزایش شیب جریان آب به سمت سلول به حفظ تورژسانس سلول کمک می‌کند (۵۱). ترکیبات دارای فعالیت اسمزی شامل قندهای محلول، قندهای الکلی، پرولین و اسیدهای آلی می‌باشند (۴۸). پرولین مهمترین نوع اسمولیت است و تجمع آن در سازگاری به خشکی در بسیاری از گیاهان گزارش شده است (۲۸). پرولین علاوه بر تنظیم اسمزی به‌عنوان محافظ در برابر تنش‌های اکسیداتیو عمل می‌کند و با ماکرومولکول‌ها اثر متقابل داشته و سبب حفظ شکل و ساختار آنها در زمان تنش می شود (۲۸). تجمع قندها در زمان تنش سبب تنظیم فشار اسمزی، کاهش اتلاف آب سلولی و نگهداری تورژسانس می‌شود (۴۶).

عدم تحرک در گیاهان سبب توسعه سازوکارهایی در آنها شده است تا بتوانند در مقابل شرایط نامطلوب محیطی مقاومت نمایند. از جمله این سازوکارها سنتز متابولیت‌های ثانویه مانند ترکیبات فنلی است (۵). ترکیبات فنلی در میان مواد دارای ظرفیت آنتی‌اکسیدانی، یکی از مهمترین گروه‌ها هستند. ترکیبات فنلی در سلسله گیاهی با داشتن حداقل یک حلقه آروماتیک و وجود یک یا بیشتر از یک گروه هیدروکسیل متصل به آن مشخص می شوند و بر پایه تعداد و ترتیب اتم‌های کربن آنها به فلاوونوئیدها (فلاوونول‌ها، فلاوون‌ها، آنتوسیانین‌ها) و غیر فلاوونوئیدها (اسیدهای فنولیک، هیدروکسی سینامات‌ها، استیلبن‌ها) تقسیم می‌شوند که معمولا به قندها و اسیدهای آلی متصل می‌گردند (۱۳). در گونه‌های *Brassica* بیشتر پلی فنل‌ها از نوع فلاوونوئیدها (فلاونول‌ها و آنتوسیانین‌ها) و اسیدهای هیدروکسی سینامیک هستند (۱۰). ترکیبات فنلی می توانند سبب برداشتن گروه‌های ROS شوند (۲) و مانع فعالیت آنزیم‌های مسئول واکنش‌های اکسیژناسیون می‌شوند (۱۵). فلاونوئیدها از انتشار ROS ممانعت می‌کنند و می‌توانند با پاک سازی آنها از تنش‌های اکسیداتیو جلوگیری کنند (۵). آنتوسیانین‌ها رنگیزه‌های محافظتی هستند که به عنوان گیرنده‌های رادیکال‌های آزاد عمل می‌کنند و موجب محافظت گیاهان در برابر تنش‌های اکسیداتیو می‌شوند (۳۵). افزایش آنتوسیانین در شرایط تنش به علت نقش حفاظت نوری آنها در حذف مستقیم ROS در هنگام تنش اکسیداتیو می‌باشد (۵۴).

نیتریک اکسید (NO) یکی از مولکول‌هایی است که اخیرا توسط محققان گیاهی مورد توجه بسیاری قرار گرفته است (۱۶). NO یک رادیکال گازی و قابل انتشار است که بصورت درون‌زا در گیاهان تولید می‌شود (۳). NO نه تنها در مناطق آب‌دوست سلول مانند سیتوپلاسم حرکت می-کند، بلکه آزادانه از داخل فاز لیپیدی غشاءها نیز انتشار می‌یابد (۳). گزارش‌های زیادی مبنی بر نقش‌های متنوع نیتریک اکسید مانند القاء جوانه زنی بذر، تنظیم متابولیسم در پیری و پاسخ به تنش‌های زیستی و غیر زیستی وجود دارد (۲۹).

نیتریک اکسید در بیشتر تنش‌ها در گیاهان حضور دارد. کاربرد نیتروپروساید سدیم (SNP) به‌عنوان رها کننده NO مقاومت گیاه به تنش خشکی را از طریق بستن روزنه‌ها و در نتیجه کاهش تعرق افزایش می‌دهد (۱۹). NO به‌عنوان پیامبر ثانویه در سلول‌های گیاهی عمل می‌کند و بیان ژن را نیز القاء می‌نماید (۲۴). کاربرد SNP فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و میزان آب نسبی (RWC) را در برگ‌های گندم که در معرض تنش خشکی قرار گرفته بودند افزایش داده است (۵۰). همچنین کاربرد SNP به‌عنوان رها کننده

NO سبب افزایش پرولین در گیاهچه‌های خیار تحت تنش شوری شده است (۱۶).

کلزا (*Brassica napus* L.) یکی از مهمترین محصولات زراعی اقتصادی است که به‌دلیل داشتن دانه‌های روغنی سهم مهمی در تأمین روغن خوراکی در ایران دارد. خشکی یکی از عوامل محیطی است که در کشت این گیاه روغنی مشکلاتی ایجاد کرده است. این بررسی با هدف مطالعه تأثیر تیمار NO بر برخی عوامل فیزیولوژیکی گیاه کلزا در رابطه با تحمل آن به تنش خشکی انجام شده است.

مواد و روشها

گیاه مورد مطالعه در این تحقیق، کلزا (*Brassica napus* L.) رقم Okapy می‌باشد. بذر مورد نظر از اتحادیه دانه‌های روغنی استان فارس تهیه شد. با استفاده از ترازوی دیجیتالی در هر گلدان دو کیلوگرم خاک زراعی ریخته شد. سپس بذرها به مدت ۱۰ دقیقه در محلول هیپوکلریت سدیم ۲٪ ضد عفونی شدند و چند بار با آب معمولی و یکبار با آب مقطر آبکشی گردیدند. بذرها در گلدان ها به فاصله ۲/۵ سانتیمتری از هم کاشته شدند. گلدان‌ها در گلخانه با دمای۲±۲۲ درجه سانتی گراد و دوره نوری ۱۶ ساعت نور و ۸ ساعت تاریکی قرار گرفتند. تنش آبی و تیمارهای نیتریک اکسید ۴ هفته بعد از شرایط مطلوب آبیاری در مرحله چهار برگی گیاهان شروع شد. برای اعمال تنش خشکی و تیمار SNP گیاهان به ۳ گروه تقسیم شدند. گیاهان گروه اول به مدت سه هفته در شرایط آبیاری ۶۰،۱۰۰ و۳۰ درصد ظرفیت زراعی قرار گرفتند. اعمال تنش خشکی به روش وزنی انجام شد که قبل از آن باید ظرفیت زراعی را محاسبه کرد. برای به دست آوردن ظرفیت زراعی ابتدا سه گلدان از خاک خشک پر گردید و وزن اولیه آنها یادداشت شد. سپس تا حد خروج آب، گلدان‌ها آبیاری شدند. روی گلدان‌ها با پلاستیک پوشانده شد تا تبخیر انجام نشود. پس از ۴۸ ساعت و خروج کامل آب از گلدان‌ها تحت نیروی ثقل، وزن ثانویه گلدان‌ها تعیین شد. با محاسبه اختلاف وزن اولیه و ثانویه گلدان‌ها، ظرفیت زراعی محاسبه گردید. برگ‌های گیاهان گروه دوم بصورت یک روز در میان و به مدت سه هفته با غلظت‌های ۰، ۲۵، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ میکرومولار نیتروپروساید سدیم محلول‌پاشی شدند و همزمان تحت رژیم‌های آبیاری ۱۰۰، ۶۰ و ۳۰ درصد ظرفیت زراعی قرار گرفتند. برگ‌های گیاهان گروه سوم بصورت یک روز در میان و به مدت ۳ هفته با غلظت‌های ۰،۲۵، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ میکرومولار نیتروپروساید سدیم محلول‌پاشی شدند. در همه تیمارها از Tween-20 ۰/۰۱ درصد به عنوان روکنشگر (Surfactant) استفاده گردید. در مورد گیاهان شاهد، برگ‌های گیاهان با آب مقطر حاوی Tween-20 ۰/۰۱ درصد محلول‌پاشی شدند. پس از ۲۱ روز اعمال تنش خشکی، گیاهان برداشت شدند. ریشه‌ها و اندام‌های هوایی از هم جدا شده، نمونه-های مورد استفاده برای تعیین وزن خشک در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت در آون خشک شدند. برای مطالعه پاسخ های فیزیولوژیکی، تعدادی از نمونه ها پس برداشت در نیتروژن مایع منجمد شدند و در دمای ۲۰- درجه سانتی گراد نگهداری گردیدند.

سنجش میزان پرولین: مقدار پرولین بر اساس روش Bates و همکاران (۱۹۷۳) (۶) با استفاده از نین هیدرین تعیین شد. در این روش نمونه‌ها با اسیدسولفوسالیسیلیک ۳٪ هموژنه گردید و بعد به مدت ۱۰ دقیقه در 3000g سانتریفوژ شدند. بعد از اضافه کردن اسید استیک و معرف نین هیدرین، محتوای لوله‌های آزمایش به مدت یک ساعت در حمام آب‌گرم (۷۸ درجه سانتی‌گراد) قرار گرفتند و بعد جذب نوری نمونه‌ها به وسیله اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۲۰ نانومتر خوانده شد. مقدار پرولین با استفاده از منحنی استاندارد محاسبه و بر حسب میکرومول بر گرم وزن تر بیان گردید.

سنجش میزان قندهای محلول: مقدار قندهای محلول با روش نلسون(۱۹۴۴) اندازه گیری شد(۴۲). ۲۰۰ میلی گرم

بافت مورد آزمایش به مدت ۴۸ ساعت در ظروف محتوای ۱۰ میلی لیتر اسیدسولفوسالیسیلیک ۳٪ قرار گرفت. سپس به ۰/۱ میلی لیتر از نمونه‌ها ۰/۹ میلی لیتر آب مقطر و یک میلی لیتر محلول مس قلیایی اضافه شد. پس از قرار گرفتن نمونه‌ها به مدت ۲۰ دقیقه در حمام آب گرم (۷۸°C)، یک میلی لیتر آرسنومولیبدات و ۷ میلی لیتر آب مقطر به هر لوله اضافه و مخلوط گردید. بعد از ۱۰ دقیقه جذب نوری مخلوط واکنش به وسیله اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۲۰ نانومترخوانده شد. مقدار قندهای محلول با استفاده از منحنی استاندارد گلوکز محاسبه و بر حسب میکروگرم بر گرم وزن تر بیان گردید.

سنجش میزان آنتوسیانین: غلظت آنتوسیانین به روش Wagner (۱۹۷۹) تعیین شد (۵۲). ابتدا ۰/۱ گرم بافت تر در هاون با ۱۰ میلی لیتر متانول اسیدی (۹۹ به ۱ به ترتیب متانول و اسید کلریدریک) ساییده شد. عصاره حاصل به مدت ۲۴ ساعت در تاریکی در دمای اتاق نگهداری شد و بعد به مدت ۱۰ دقیقه با دور ۴۰۰۰g سانتریفوژ گردید. جذب روشناور در طول موج ۵۵۰ نانومتر توسط اسپکتروفتومتر خوانده شد. برای محاسبه غلظت آنتوسیانین از رابطه $A=\varepsilon BC$ استفاده گردید. در این فرمول A میزان جذب در طول موج ۵۵۰ نانومتر، ضریب خاموشی برابر ۳۳۰۰ $mMCm^{-1}$، B قطر کووت (۱Cm) وC غلظت کمپلکس برحسب mM می‌باشد.

سنجش میزان فلاونوئیدها: اندازه گیری فلاونوئیدها با اسپکتروفتومتر و با استفاده از روشKrizek و همکاران (۱۹۹۸) انجام شد (۳۰). ۰/۱ بافت تازه در هاون چینی با ۱۰ میلی لیتر اتانول اسیدی (الکل اتیلیک و اسید استیک گلاسیال به نسبت حجمی ۱:۹۹) ساییده شد. پس از سانتریفوژ، عصاره با دور ۸۰۰۰g به مدت ۱۰ دقیقه در حمام آب گرم با دمای ۸۰ درجه سانتیگراد به مدت ۱۰ دقیقه قرار گرفت. میزان فلاونوئیدها با استفاده از فرمول زیر بر حسب درصد محاسبه شد.

$$Fla= ABS\ (300nm)\ \frac{V}{700} \times 100$$

V: حجم عصاره ، ABS: جذب نوری ، Fla: فلاونوئید

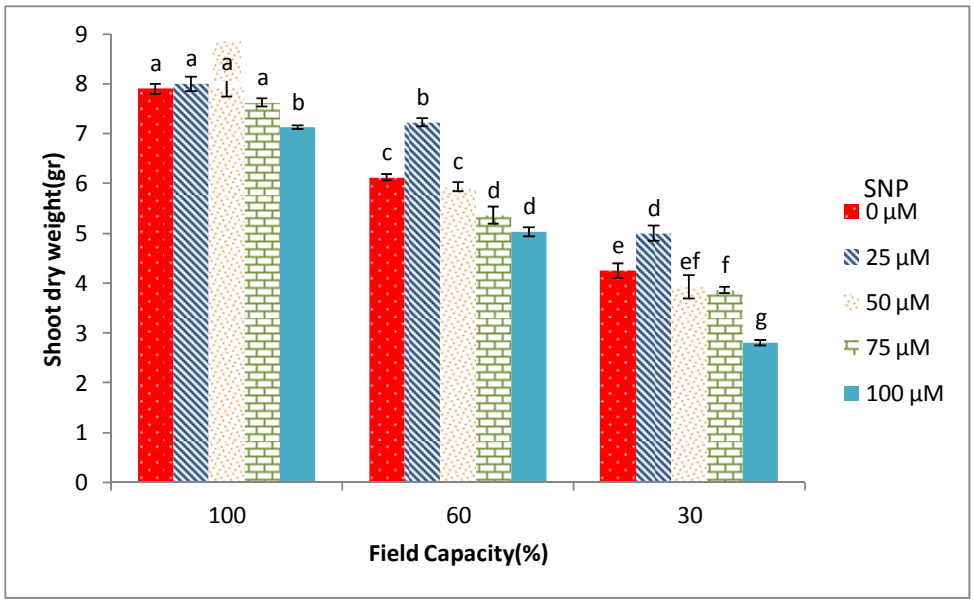
سنجش فنل کل: ۰/۱ گرم از بافت تازه برگ در ۱۰ میلی لیتر اتانول ۸۰ درصد قرار داده شدند و به مدت ۱۵ دقیقه درحمام آب گرم جوشانده شد. پس از سانتریفوژ، نمونه‌ها در دور ۳۰۰۰g به مدت ۱۵ دقیقه، محلول رویی با الکل ۸۰ درصد به حجم ۱۰ میلی لیتر رسانده شد. سپس ۵ میلی لیتر از این محلول با ۵ میلی لیتر فولین و ۱۰ میلی لیتر کربنات سدیم اشباع مخلوط و نمونه‌ها به مدت ۱۵ دقیقه با دور ۴۰۰۰g سانتریفوژ شد. جذب محلول رویی در طول موج ۶۴۰ نانومتر در مقابل شاهد خوانده شد. برای تعیین غلظت ترکیبات فنلی از منحنی استاندارد اسید گالیک با غلظت‌های مختلف استفاده و مقدار این ترکیبات برحسب میلی گرم در گرم وزن تر نمونه ها محاسبه گردید (۴۱).

تحلیل آماری: در این مطالعه، آزمایشها براساس طرح فاکتوریل در قالب بلوک‌های کاملا تصادفی و سنجش‌ها در سه تکرار انجام شد. داده‌های حاصل از اندازه گیری‌ها به وسیله نرم افزارآماری SPSS مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت و مقایسه میانگین داده‌ها در سطح خطای 5 درصد ($P\leq0.05$) با آزمون Duncan و رسم نمودارها با نرم افزار Excel انجام شد.

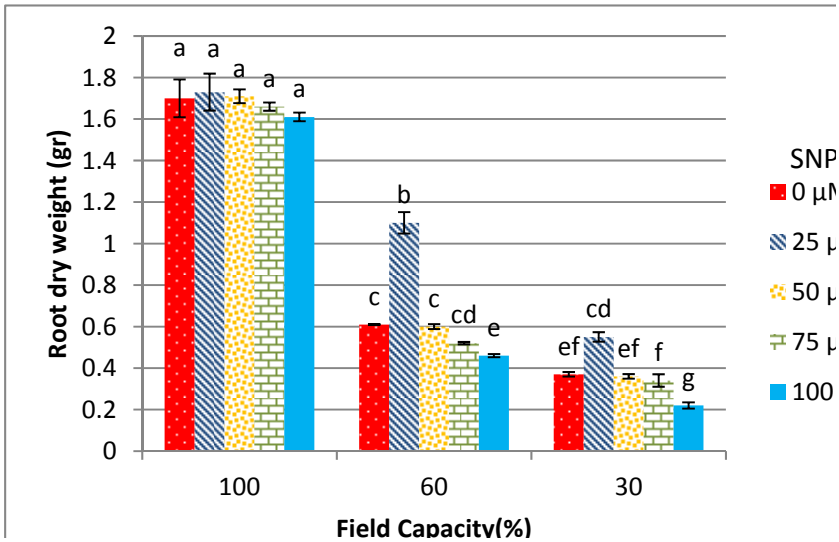
نتایج

اثر غلظت‌های مختلف SNP بر وزن خشک اندام‌های هوایی و ریشه گیاه کلزا تحت تنش خشکی: تنش خشکی سبب کاهش وزن خشک اندام‌های هوایی و ریشه گیاهان کلزا گردید (شکل های ۱و۲). محلول پاشی SNP با غظت ۲۵ میکرومولار وزن خشک اندام‌های هوایی و ریشه گیاهان کلزا را تحت تنش خشکی (۶۰٪FC و ۳۰٪FC) افزایش داد. غلظت‌های زیاد SNP (۷۵ و ۱۰۰ میکرومولار) و تنش خشکی (۶۰٪FC و ۳۰٪FC) باعث کاهش وزن خشک ریشه و اندام‌های هوایی گردید. در شرایط مطلوب

آبیاری فقط غلظت ۱۰۰ میکرومولار SNP، سبب کاهش معنی دار در رشد اندام های هوایی کلزا شد (شکل های ۱ و ۲).



شکل ۱- اثر تیمارهای مختلف نیتروپروساید سدیم بر وزن خشک اندام‌های هوایی گیاه کلزا تحت تنش کم آبی داده‌ها میانگین سه تکرار ± انحراف معیار است. میانگین داده‌ها با استفاده از آزمون دانکن ($P < 0/05$) مقایسه شدند.



شکل ۲- اثر تیمارهای مختلف نیتروپروساید سدیم بر وزن خشک ریشه گیاه کلزا تحت تنش کم آبی داده‌ها میانگین سه تکرار ± انحراف معیار است. میانگین داده‌ها با استفاده از آزمون دانکن ($p<0/05$) مقایسه شدند.

جدول ۱- برهم‌کنش تنش SNP و تنش خشکی، SNP به تنهایی و خشکی به تنهایی بر برخی شاخصهای فیزیولوژیکی گیاه کلزا

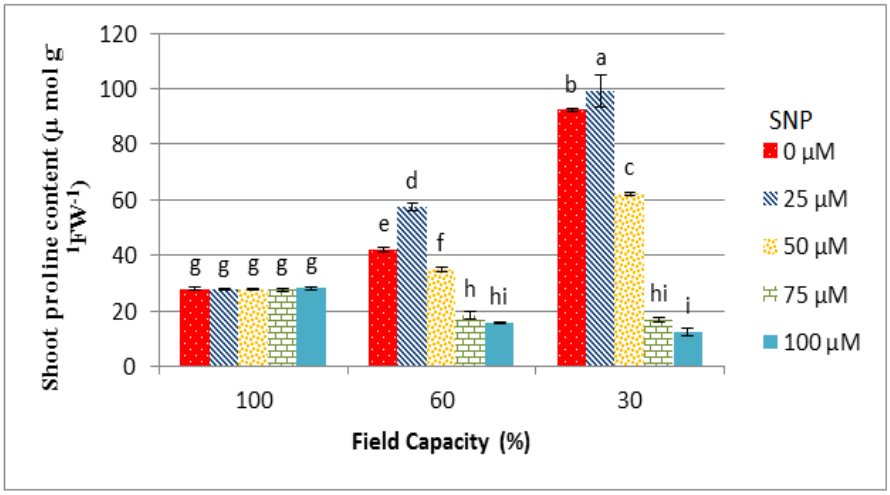
تیمارها	وزن خشک اندامهای هوایی (gr)	وزن خشک ریشه (gr)	پرولین اندامهای هوایی ($\mu mol\ g^{-1}FW^{-1}$)	پرولین ریشه ($\mu mol\ g^{-1}FW^{-1}$)
FC(%100)+0 SNP(µM)	7/91±0/1a	1/7±0/091a	27/8±0/55g	20/2±0/3fg
FC(%100)+25 SNP(µM)	8/0±0/152a	1/73±0/089a	27/46±0/28g	20/26±1/28fg
FC(%100)+50 SNP(µM)	7/93±0/185a	1/71±0/033a	27/53±0/28g	20/30±1/27fg
FC(%100)+75 SNP(µM)	7/63±0/088a	1/66±0/02a	27/5±0/51g	20/33±0/14fg
FC(%100)+100 SNP(µM)	7/13±0/013b	1/61±0/021a	28/2±0/55g	20/7±1/18fg
FC(%60)+0 SNP(µM)	6/12±0/063c	0/61±0/003c	41/83±0/77e	35/36±0/44e
FC(%60)+25 SNP(µM)	7/23±0/088b	1/1±0/052b	1/21±1/21d	51/1±3/1d
FC(%60)+50 SNP(µM)	5/93±0/088c	0/6±0/012c	34/93±0/93f	23/1±2/22g
FC(%60)+75 SNP(µM)	5/36±0/17d	0/52±0/006cd	18/2±1/30h	16/4±1/69f
FC(%60)+100 SNP(µM)	5/03±0/088d	0/46±0/008e	15/53±0/32hi	11±0/58h
FC(%30)+0 SNP(µM)	4/26±0/145e	0/37±0/011ef	92/26±0/56b	78/96±0/76b
FC(%30)+25 SNP(µM)	5/0±0/152d	0/55±0/023cd	99/03±5/74a	90/0±2/36a
FC(%30)+50 SNP(µM)	3/93±0/233ef	0/36±0/011ef	62/3±0/51c	55/6±2/53c
FC(%30)+75 SNP(µM)	3/86±0/066f	0/34±0/03f	16/83±0/95hi	10/73±0/86h
FC(%30)+100 SNP(µM)	2/8±0/057g	0/22±0/015g	12/2±1/25i	5/46±0/23i

میانگینهای دارای حروف مشترک در هر ستون، ،در سطح احتمال ۵ درصد آزمون دانکن دارای اختلاف معنی‌دار نمی‌باشند.

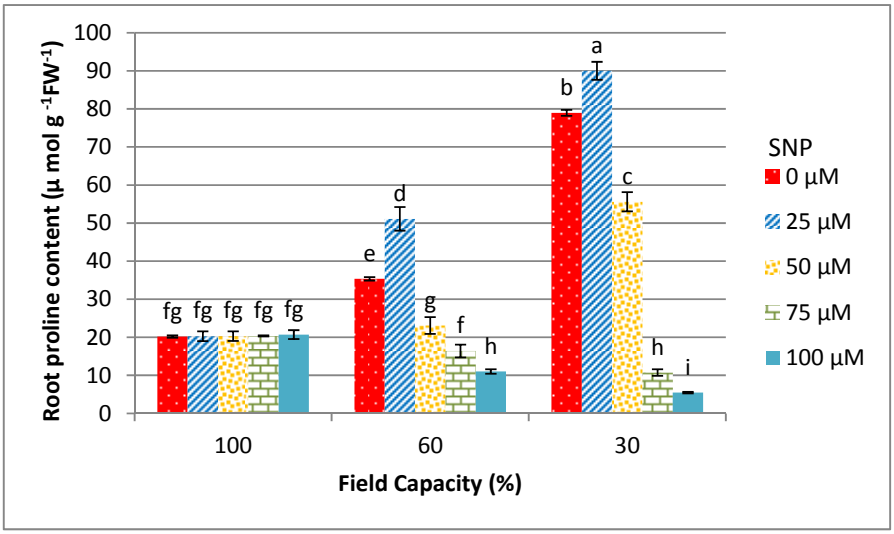
ادامه جدول ۱-

تیمارها	قندهای محلول اندامهای هوایی ($\mu g\ g^{-1}FW^{-1}$)	آنتوسیانین ($mg\ g^{-1}FW^{-1}$)	فلاونوئید (%)	فنل ($mg\ g^{-1}FW^{-1}$)
FC(%100)+0 SNP(µM)	35/43±1/27f	0/43±0/011e	3/46±0/20f	12/8±0/11fg
FC(%100)+25 SNP(µM)	35/76±1/05f	0/42±0/011ef	3/66±0/08ef	12/73±0/08fg
FC(%100)+50 SNP(µM)	35/33±1/31f	0/43±0/017e	3/43±0/12fg	12/66±0/33fg
FC(%100)+75 SNP(µM)	36/1±0/87f	0/41±0/015ef	3/6±0/20efg	13/06±0/14f
FC(%100)+100 SNP(µM)	36/5±0/98f	0/40±0/011efg	3/63±0/27efg	13/06±0/12f
FC(%60)+0 SNP(µM)	54/36±2/34e	0/53±0/008c	4/7±0/11d	24/46±0/2c
FC(%60)+25 SNP(µM)	62/76±0/81d	0/62±0/011b	5/76±0/08bc	31/86±0/95b
FC(%60)+50 SNP(µM)	51±2/17e	0/51±0/012cd	4/1±0/11e	21/86±1/01d
FC(%60)+75 SNP(µM)	30/83±0/28g	0/38±0/008fg	3/76±0/14ef	11/26±0/32g
FC(%60)+100 SNP(µM)	25/26±1.61h	0/37±0/011gh	3/13±0/08gh	9/5±0/25h
FC(%30)+0 SNP(µM)	73/13±1/52b	0/65±0/012b	6/13±0/14b	30/53±0/49b
FC(%30)+25 SNP(µM)	83/3±1/47a	0/73±0/018a	7/73±0/12a	39/30±0/46a
FC(%30)+50 SNP(µM)	66/7±1/47c	0/48±0/015d	5/36±0/08c	17/86±1/01e
FC(%30)+75 SNP(µM)	20/36±0/38i	0/33±0/012h	2/83±0/20h	9/46±0/43h
FC(%30)+100 SNP(µM)	15/33±0/62j	0/28±0/008i	2/3±0/20i	8/03±0/14h

اثر غلظت‌های مختلف SNP بر میزان پرولین برگ و ریشه گیاه کلزا تحت تنش خشکی: نتایج به‌دست آمده از اندازه‌گیری اسیدآمینه پرولین در برگ و ریشه گیاهان کلزا به ترتیب در شکل های ۳و۴ نشان داده شده است.



شکل ۳- اثر تیمارهای مختلف نیتروپروساید سدیم بر محتوای پرولین اندام هوایی گیاه کلزا تحت تنش کم آبی داده‌ها میانگین سه تکرار ± انحراف معیار است. میانگین داده‌ها با استفاده از آزمون دانکن ($p < 0/05$) مقایسه شدند.



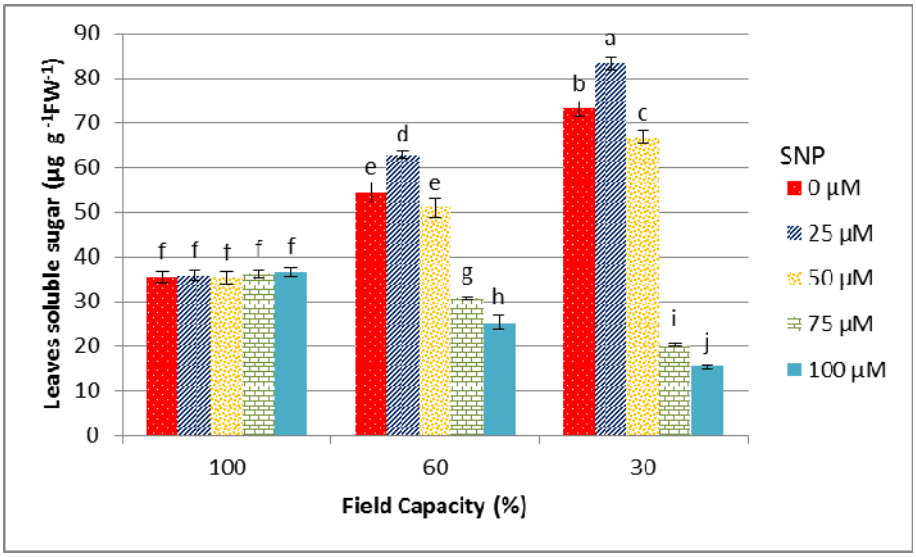
شکل ۴- اثر تیمارهای مختلف نیتروپروساید سدیم بر محتوای پرولین ریشه گیاه کلزا تحت تنش کم آبی داده‌ها میانگین سه تکرار ± انحراف معیار است. میانگین داده‌ها با استفاده از آزمون دانکن ($P < 0/05$) مقایسه شدند.

تنش خشکی (۶۰٪FC و ۳۰٪FC) سبب افزایش قابل توجهی در محتوای پرولین برگ و ریشه در مقایسه با گیاه شاهد (۱۰۰٪ FC) شد. تیمار گیاهان با سدیم نیتروپروساید (۲۵ میکرومولار) باعث افزایش محتوای پرولین در شرایط تنش خشکی (۶۰٪ FC و ۳۰٪ FC) گردید. غلظت های ۷۵ و ۱۰۰ میکرو مولار سدیم نیترو پروساید سبب کاهش محتوای پرولین در برگ و ریشه گیاهان کلزا در شرایط تنش خشکی شد. تیمارهای مختلف سدیم نیتروپروساید به

تنهایی اثری بر مقدار پرولین برگ و ریشه در شرایط آبیاری مطلوب (FC ۱۰۰٪) نداشت.

اثر غلظت‌های مختلف SNP بر میزان قندهای محلول برگ گیاه کلزا تحت تنش خشکی: داده‌های حاصل از سنجش مقدار قندهای محلول در شکل ۵ نشان می‌دهد که با افزایش خشکی میزان قندهای محلول افزایش می‌یابد و در ظرفیت زراعی ۳۰ ٪ به حداکثر می‌رسد. به‌طوری‌که مقدار آن از ۳۵/۴۳ میکرو گرم بر گرم وزن تر در شاهد به ۷۳/۱۳ میکرو گرم بر گرم وزن تر در ظرفیت زراعی ۳۰٪ افزایش می یابد. تیمار گیاهان با ۲۵ میکرومولار SNP سبب افزایش محتوای قندهای محلول تحت تنش خشکی گردید. غلظت های بالای SNP (۷۵ و ۱۰۰ میکرومولار) سبب کاهش محتوای قندهای محلول گیاهان در تنش خشکی شده است. تیمارهای مختلف سدیم نیتروپروساید به تنهایی اثری بر مقدار قندهای محلول اندام‌های هوایی در شرایط آبیاری مطلوب (FC ۱۰۰٪) نداشته است.

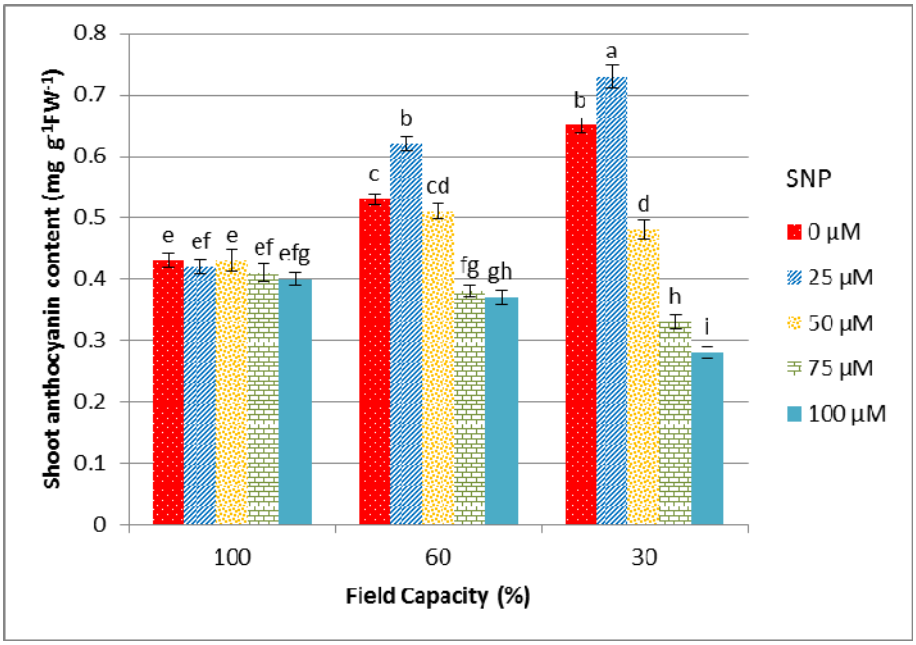
اثر غلظت‌های مختلف SNP بر میزان آنتوسیانین برگ گیاه کلزا تحت تنش شوری: محتوای آنتوسیانین در برگ-های گیاهان تحت تنش خشکی در شکل ۶ نشان داده شده است. با افزایش تنش خشکی میزان آنتوسیانین به طور معنی داری افزایش یافته که این افزایش در ۶۰٪و ۳۰٪ ظرفیت مزرعه به ترتیب۲۷ و۵۸ درصد نسبت به شاهد (ظرفیت زراعی۱۰۰٪) می‌باشد. محلول‌پاشی برگ ها با SNP (25µM) به طور معنی داری میزان آنتوسیانین را تحت تنش خشکی افزایش داده است. تیمارهای مختلف سدیم نیتروپروساید به تنهایی اثری بر مقدار آنتوسیانین اندام‌های هوایی در شرایط آبیاری مطلوب (FC ۱۰۰٪) نداشت.



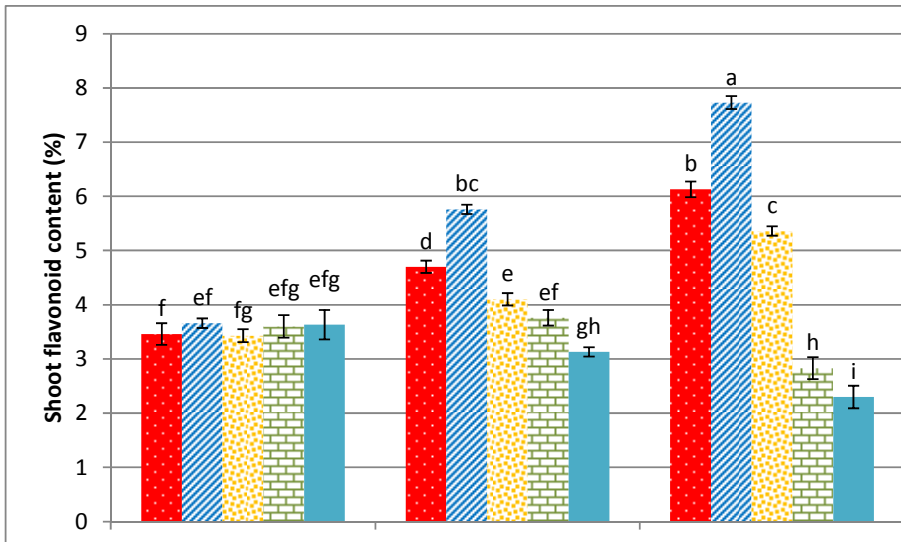
شکل ۵- اثر تیمارهای مختلف نیتروپروساید سدیم بر میزان قندهای محلول اندام هوایی گیاه کلزا تحت تنش کم آبی داده‌ها میانگین سه تکرار ± انحراف معیار است. میانگین داده‌ها با استفاده از آزمون دانکن ($P < 0.05$) مقایسه شدند.

اثر غلظت‌های مختلف SNP بر میزان فلاونوئیدهای برگ گیاه کلزا تحت تنش خشکی: تحت تنش خشکی افزایش معنی داری در مقدار فلاونوئیدهای گیاهان کلزا مشاهده شد (شکل ۷). این افزایش در ۶۰٪ و ۳۰٪ ظرفیت مزرعه به‌ترتیب ۳۵ درصد و۷۷ درصد در مقایسه با شاهد (ظرفیت زراعی ۱۰۰٪) بوده است. کاربرد SNP (۲۵ میکرومولار) سبب افزایش فلاونوئیدها تحت تنش خشکی گردید (شکل ۷). تیمارهای مختلف سدیم نیتروپروساید به

تنهایی اثری بر مقدار فلاونوئید اندام‌های هوایی در شرایط آبیاری مطلوب (FC ۱۰۰٪) نداشته است.



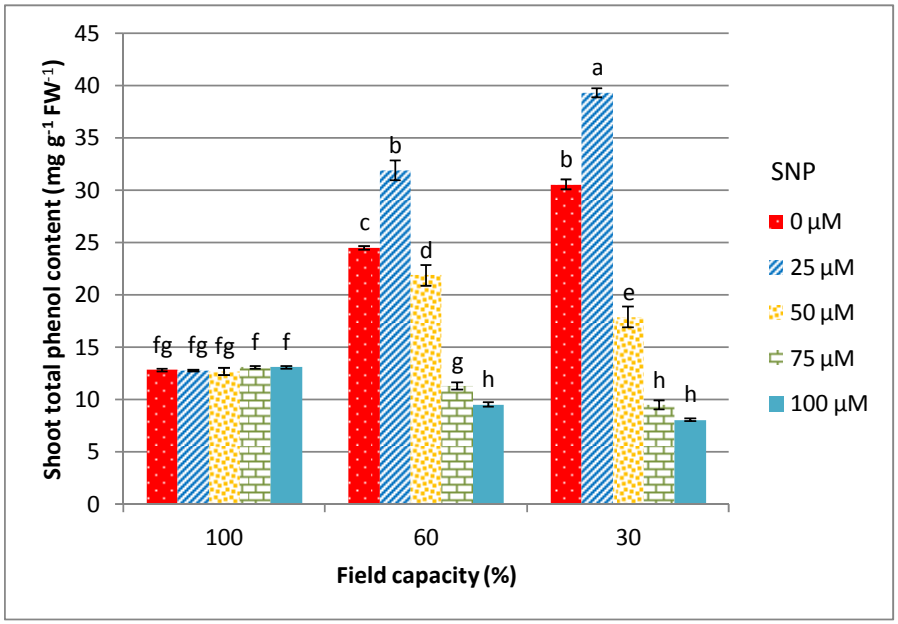
شکل ۶- اثر تیمارهای مختلف نیتروپروساید سدیم بر میزان آنتوسیانین اندام هوایی گیاه کلزا تحت تنش کم آبی داده‌ها میانگین سه تکرار ± انحراف معیار است. میانگین داده‌ها با استفاده از آزمون دانکن ($P < 0/05$) مقایسه شدند.



شکل ۷- اثر تیمارهای مختلف نیتروپروساید سدیم بر میزان فلاونویید اندام هوایی گیاه کلزا تحت تنش کم آبی داده‌ها میانگین سه تکرار ± انحراف معیار است. میانگین داده‌ها با استفاده از آزمون دانکن ($P < 0/05$) مقایسه شده‌اند.

اثر غلظت‌های مختلف SNP بر میزان ترکیبات فنلی برگ گیاه کلزا تحت تنش خشکی: افزایش ترکیبات فنلی تحت تنش خشکی (FC۳۰٪ و FC۶۰٪) در مقایسه با شاهد در شکل ۸ نشان داده شده است. محلول پاشی برگ‌ها با SNP (۲۵ میکرومولار) تحت تنش خشکی، محتوای فنل کل را به طور معنی داری افزایش داده است. غلظت‌های بالای

SNP (۷۵ و ۱۰۰ میکرومولار) محتوای ترکیبات فنلی برگ‌ها را کاهش داد. تیمارهای مختلف سدیم نیتروپروساید به تنهایی اثری بر مقدار ترکیبات فنلی اندام-های هوایی در شرایط آبیاری مطلوب (FC ۱۰۰٪) نداشته است.



شکل ۸- اثر تیمارهای مختلف نیتروپروساید سدیم بر مقدار فنل کل اندام هوایی گیاه کلزا تحت تنش کم آبی داده‌ها میانگین سه تکرار ± انحراف معیار است. میانگین داده‌ها با استفاده از آزمون دانکن ($P < 0/05$) مقایسه شدند.

بحث

با توجه به نتایج به‌دست آمده مصرف نیترو پروساید سدیم (۲۵ میکرومولار) سبب بهبود رشد گیاهان کلزا تحت تنش خشکی شده است. رادیکال‌های آزاد اکسیژن در شرایط تنش سبب شکستن رنگیزه‌ها و پروتئین‌های دستگاه فتوسنتزی می‌شوند. احتمالا نیتریک اکسید با اثرات ربایندگی گونه‌های واکنش کننده اکسیژن (ROS) تولید شده در تنش موجب بهبود وضعیت کلروفیل سلول های گیاهی می‌شود (۳۳) و با افزایش فتوسنتز مقدار ماده خشک گیاه نیز افزایش می یابد. از طرف دیگر، غلظت‌های زیاد SNP با تولید گونه‌های فعال نیتروژن اثرات بازدارندگی ROS را شدیدتر کرده و احتمالا به دستگاه فتوسنتزی گیاه آسیب رسانده و منجر به کاهش رشد گیاه می شود (۲۷).

نتایج به‌دست آمده در این پژوهش نشان داد که تنش خشکی سبب افزایش میزان پرولین در برگ و ریشه کلزا شده است. تنظیم اسمزی مهمترین سازوکاری است که جذب آب از خاک را توسط گیاه بهبود می‌بخشد و سبب برقراری تورژسانس سلول در شرایط تنش خشکی می‌گردد (۱۷). یک چنین فرایند تنظیم اسمزی، از طریق ترکیبات سازگار با متابولیسم مانند پرولین، قندهای محلول، گلیسین بتایین و اسیدهای آلی در گیاهان اعمال می‌گردد (۳۷). در بسیاری از گیاهان پرولین به‌عنوان یک اسیدآمینه چندمنظوره در پاسخ به تنش غیرزیستی تجمع می‌یابد. پرولین به‌عنوان یک اسمولیت، سازگاری مناسبی با آنزیم‌ها و ماکرومولکول‌های سلول دارد و از ساختار پروتئین‌ها و غشاء سلول‌ها محافظت می‌کند (۴۹). پرولین همچنین به‌عنوان رباینده رادیکال هیدروکسیل عمل می‌کند (۱۲).

تیمار گیاهان با سدیم نیتروپروساید (۲۵ میکرومولار) باعث افزایش مقدار پرولین تحت تنش خشکی شده است که می‌تواند به دلیل افزایش سنتز این اسید آمینه باشد (شکل ۱و۲). پیرولین ۵- کربوکسیلات سنتتاز (P5CS) آنزیم کلیدی در بیوسنتز پرولین است که فعالیت آن با تیمار سدیم نیتروپروساید افزایش می‌یابد. نتایج این پژوهش با مطالعات دیگران در مورد افزایش فعالیت این آنزیم توسط نیتریک اکسید تحت تنش خشکی مطابقت دارد (۳۴). در غلظت‌های زیاد SNP همانطور که اشاره شد با تولید گونه-های فعال نیتروژن (پراکسی‌نیتریت) تنش نیتروزاتیو ایجاد می شود که اثرت آسیب‌رسانی ROS را تشدید می کند (۲۷).

افزایش محتوای قندهای محلول تحت تنش خشکی احتمالا به علت افزایش فعالیت آنزیم آمیلاز، هیدرولیز نشاسته به قندهای ساده‌تر و کاهش انتقال قندها از برگ به سایر قسمت‌های گیاه می‌باشد(۵۴). تحت تنش خشکی قندهای محلول به‌عنوان عوامل اسمزی و محافظت کننده اسمزی عمل می کنند (۷). قند های محلول با کاهش پتانسیل اسمزی سلول به تداوم جذب آب و حفظ تورژسانس کمک می‌کنند. نقش محافظت اسمزی قندها در پایداری غشاءها و پروتئین‌ها از طریق تشکیل باندهای هیدروژنی با دنباله‌های قطبی پلی پپتیدها (۱۴) و گروه‌های فسفات فسفولیپیدهای غشاء گزارش شده است (۴۷). همچنین قندهای محلول در گیاهان می توانند فعالیت آنتی-اکسیدانی داشته باشند (۳۲). در این پژوهش محلول پاشی برگ‌ها به وسیله SNP (25µM) در گیاهان کلزا تحت شرایط خشکی مقدار قندهای محلول را در مقایسه با گیاهان شاهد (خشکی تنها) افزایش داده است (شکل۵). بررسی‌های پژوهشگران دیگر نشان داده است که کاربرد SNP تحت تنش خشکی محتوای قندهای محلول را در گیاهان کتان (۳۹) افزایش می دهد. در تحقیقات Liao و همکاران (۲۰۱۲) مشخص شد که تیمار SNP انجام فتوسنتز در برگ‌ها را بهبود می‌بخشد و اثرات منفی خشکی بر تجمع کربوهیدرات‌ها و ترکیبات نیتروژنی را در *Tagetes erecta* کاهش می‌دهد (۳۶).

آنتوسیانین‌ها رنگدانه‌های محلول در آب و از خانواده فلاونوئیدها هستند که از مسیر شیکمیک اسید ساخته می-شوند (۲۶). آنتوسیانین ها دارای خاصیت آنتی اکسیدانی هستند، و به‌عنوان گیرنده رادیکال های آزاد عمل می‌کنند و گیاهان را در برابر تنش‌های اکسیداتیو محافظت می‌کنند (۳۵). بررسی‌های پیشین نشان داده است که در برگ‌های گیاه *Brachystegia spiciformis* تجمع آنتوسیانین سبب کاهش پتانسیل اسمزی برگ‌ها و در نتیجه کاهش پتانسیل آب برگ و کاهش هدایت روزنه ای می‌شود(۱۱). در سیب زمینی همانند کلزا با افزایش تنش خشکی میزان تولید فلاونوئیدها افزایش یافته است(۵۳). همچنین انباشتگی آنتوسیانین در برگ گیاه *Craterostigma* در شرایط آبگیری گزارش شده است(۲۵). این نتایج نشان دهنده افزایش مسیر تولید فلاونوئید است که منجر به تولید آنتوسیانین می شود (۵۳). محلول‌پاشی برگ‌ها با SNP (25µM) بطور معنی‌داری میزان آنتوسیانین را تحت تنش خشکی افزایش داده است. در این راستا، Ganjewala و همکاران (۲۰۰۸) گزارش کردند که تیمار SNP مقدار آنتوسیانین را در برگ‌های نخود افزایش می‌دهد که احتمالا از طریق بازدارندگی مصرف قندهای تولید شده در فتوسنتز و تبدیل آنها به آنتوسیانین‌ها می باشد (۱۸). مولکول زیستی NO ممکن است القاء کننده بیوسنتز متابولیت‌های ثانویه مانند آنتوسیانین باشد که به‌عنوان پالاینده ROS برای کاهش تنش اکسیداتیو عمل می‌کنند (۲۲).

بررسی‌های پیشین در گیاه کلزا (*Brassica napus*) در شرایط تنش خشکی نشان داده است که محتوای فلاونوئیدها به عنوان متابولیت های ثانویه افزایش می‌یابد (۴۴). با ایجاد تنش اکسیداتیو بیان ژن‌های آنتی اکسیدان (۵۰) و مسیر فنیل پروپانوئید به ویژه بیوسنتز فلاونوئیدها افزایش می‌یابد (۳۸). فلاونوئیدها آنتی اکسیدان‌هایی هستند

که می‌توانند بطور مستقیم از طریق انتقال یک پروتون موجود در حلقه خود سبب پاک سازی رادیکال‌های آزاد شوند(۹). همچنین فلاونوئیدها با کلاته کردن کاتیون‌های Fe^{2+} و Fe^{3+} می توانند پراکسیداسیون لیپیدهای وابسته به این دو شکل عنصر آهن را متوقف کنند (۴). بررسی‌های پژوهشگران نشان داده است که فلاونوئیدها با کاهش سیالیت غشاءها، آنها را نسبت به عوامل اکسیداتیو مقاوم کرده و از انتشار رادیکال‌های آزاد از خلال آنها جلوگیری می‌کنند (۲۳). همچنین فلاونوئیدها با بازدارندگی آنزیم-های سیکلواکسیژناز، لیپواکسیژناز، مونواکسیژناز میکروزومی و گزانتین اکسیداز از تشکیل رادیکال آزاد اکسیژن ممانعت می‌کنند (۸). کاربرد SNP (۲۵ میکرومولار) سبب افزایش فلاونوئیدها تحت تنش خشکی گردید (شکل ۷). تنش خشکی سبب افزایش فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیا لیاز می‌شود که آنزیم کلیدی در مسیر بیوسنتز فلاونوئیدها و آنتوسیانین هاست (۲۱). احتمالا NO نیز به همین روش بر مقدار این ترکیبات آنتی اکسیدانی می‌افزاید. البته غلظت‌های بالای SNP (۷۵ و ۱۰۰ میکرومولار) تحت تنش خشکی سبب کاهش محتوای فلاونوئید شده است (شکل ۷) که احتمالا به علت اختلال در سیستم دفاعی گیاه در این شرایط است و نیاز به بررسی بیشتر دارد.

افزایش مقدار فنل احتمالا ناشی از فعالیت مسیر هگزوز مونو فسفات و مسیر استات و رها شدن فنل‌ها توسط آنزیم‌های هیدرولیزکننده می باشد(۴۵). پژوهش-های Sakihama و همکاران (۲۰۰۲) نشان داده است که ترکیبات فنلی با دادن الکترون به آنزیم‌های نوع پراکسیداز و سم زدایی آب اکسیژنه تولید شده می توانند در سلول به عنوان آنتی اکسیدان عمل کنند (۴۳). محلول پاشیSNP (۲۵ میکرومولار) تحت تنش خشکی محتوای فنل کل را به طور معنی داری افزایش داده است(شکل ۸) که این نتایج با تحقیق نصیبی و همکاران (۱۳۹۰) مطابقت دارد (۱). غلظت‌های بالای SNP (۷۵ و ۱۰۰ میکرومولار) محتوای ترکیبات فنلی برگ‌ها را کاهش داد. پیش ماده اصلی برای سنتز فنل در بافت‌های گیاهی کربوهیدرات‌ها مخصوصا کربوهیدرات‌های محلول هستند که منجر به تشکیل مواد ضروری مورد احتیاج برای سنتز پلی‌فنل‌ها می شود(۲۰)، بنابراین کاهش ترکیبات فنلی مشاهده شده در غلظت های ۷۵ و ۱۰۰ میکرومولار SNP تحت تنش خشکی ممکن است ناشی از کاهش در محتوای قندهای محلول در این شرایط باشد.

کاهش عملکرد گیاه کلزا در غلظت های زیاد SNP و تحت تنش خشکی در کلیه پارامتر های بررسی شده در این پژوهش مشهود است. نیتریک اکسید عملکرد دو گانه دارد و می تواند به عنوان اکسیدانت قوی و نیز به صورت آنتی اکسیدانت مؤثر عمل کند. نقش دوگانه نیتریک اکسید به غلظت آن و وضعیت محیط به عنوان عامل تنش بستگی دارد (۲۴).

نتیجه‌گیری کلی

بررسی‌های انجام شده در این پژوهش نشان داد که نیتریک‌اکسید در غلظت‌های پایین می‌تواند آسیب اکسیداتیو ناشی از تنش خشکی را در گیاهان کلزا کاهش دهد. نیتریک اکسید از طریق مقابله با ROS سبب بهبود عملکرد رشد، افزایش اسمولیت‌ها و پارامترهای دفاعی گیاه در مقابل تنش خشکی می‌شود و این امر به مقاومت گیاه در مقابل تنش خشکی کمک می‌کند. کاربرد غلظت‌های زیاد SNP در گیاه کلزا نقش همکاری (synergism) با ROS داشته و آسیب اکسیداتیو ناشی از تنش خشکی را تشدید می‌کند. محلول پاشی گیاهان با ترکیبات تولید کننده نیتریک اکسید مانند سدیم نیتروپروساید در هنگام تنش کم آبی می توانند با بستن روزنه ها از هدر رفتن بیشتر آب در تعرق توسط گیاه جلوگیری کنند و همزمان با فعال کردن سیستم دفاعی آنتی اکسیدان گیاه، از تنش‌های اکسیداتیو بر روی گیاهان ممانعت کنند.

منابع

۱- نصیبی، ف.، منوچهری کلانتری، خ. و یعقوبی، م. ۱۳۹۰. مقایسه اثر پیش تیمار سدیم نیتروپروساید و آرژینین بر برخی پاسخ‌های فیژیولوژیکی گیاه گوجه فرنگی(*Lycopersicum* L.) تحت تنش آبی. مجله زیست شناسی ایران. ۲۴: ۸۳۳-۸۴۷.

2- Amarowicz, R., Weidner, S., Wojtowicz, I., Karmac, M., Kosin´ska, A. and Rybarczyk, A. 2010. Influence of low-temperature stress on changes in the composition of grapevine leaf phenolic compounds and their antioxidant properties. Funct. Plant Sci. Biotechnol. 4: 90–96.

3- Arasimowicz-Jelonek M., Floryszak-Wieczorek, J. and J. Kubis, J. 2009. Interaction between polyamine and nitric oxide signaling in adaptive responses to drought in cucumber. J. Plant Growth Reg. 28: 177-186.

4- Arora, A., Nair, M.G. and Strasburg, G.M. 1998. Structure-activity relationships for antioxidant activities of a series of flavonoids in a liposomal system. Free Radic. Biol. Med. 24: 1355–1363.

5- Arora, A., T. M., Byrem, Nair, M.G. and Strasburg, G.M. 2000. Modulation of liposomal membrane fluidity by flavonoids and isoflavonoids. Arch. Biochem. Biophys. 373: 102–109.

6- Bates, L. S., Walderen, R.P. and Thane, I.D. 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. Plant Soil. 39: 205-208.

7- Bohnert, H. J., Nelson, D.E. and Jensen, R.G. 1995. Adaptations to environmental stresses. Plant Cell. 7: 1099-1111.

8- Brown, J. E., Khodr, H., Hider, R.C. and Rice-Evans, C. A. 1998. Structural dependence of flavonoid interactions with Cu^{2+} ions: Implications for their antioxidant properties. Biochem. J. 330: 1173-1178.

9- Cao, G., Sofic, E. and Prior, R.L. 1997. Antioxidant and prooxidant behavior of flavonoids: Structure-activity relationships. Free Radic. Biol. Med. 22: 749–760.

10- Cartea, M. E., Francisco, M., Soengas, P. and Velasco, P. 2011. Phenolic compounds in Brassica vegetables. Molecules. 16: 251-280.

11- Choinski, J. S. and Johnson, M. 1993. Changes in photosynthesis and water ststus of developing leaves of *Brachystegia spiciformis* Benth. Tree Physiol. 13: 17-27.

12- Claussen,W. 2005. Proline as a measure of stress in tomato plants. Plant Sci.168: 241-248.

13- Crozier, A., Jaganath, I.B. and Clifford, M.N. 2006. Phenols, polyphenols and tannins: An overview. In Plant Secondary Metabolites: Occurrence, Structure and Role in the Human Diet. Eds.; Blackwell: Oxford, UK. pp. 1-24.

14- Crowe, J. H., Hoekstra, F.A. and Crowe, L.M. 1992. Anhydrobiosis. Ann. Rev. Physiol.54: 579-599.

15- Elavarthi, S. and Martin, B. 2010. Spectrophotometric assays for antioxidant enzymes in plants. Methods Mol. Biol. 639: 273–281.

16- Fan, H., Du, C. and Guo, S. 2012. Effect of nitric oxide on proline metabolism in cucumber seedlings under salinity stress. J. American Society Horticul. Sci.137: 127-133.

17- Farooq, M., Wahid, A., Kobayashi, N., Fujita, D., Basra, S.M.A. 2009. Plant drought stress: effects, mechanisms and management. Agron. Sustain. Develop. 29: 185-212.

18- Ganjewala, D., Boba, S. and Raghavendra, A,S. 2008. Sodium nitroprusside affects the level of anthocyanin and flavonol glycosides in pea (*Pisum sativum* L. cv. *Arkel*) leaves. Acta Biol. Szegediensis. 52: 301-305.

19- Garcia-Mata, C. and Lamattina, L. 2001. Nitric oxide induces stomatal closure and enhances the adaptive plant responses against drought stress. Plant Physiol. 126: 1196-1204.

20- Gebaly, S.G. 2007. Effect of foliar application of methanol under two levels of irrigation regime on cotton productivity. Egypt J. Agri. Research. 85(2): 615-628

21- Guidi, L., Deglinnocenti, E., Remorini, D., Massai, R. and Tattini, M. 2008. Interactions of water stress and solar irradiance on the physiology and biochemistry of *Ligustrum vulgare*. Tree Physiol. 28: 873–883.

22- Hala Ezzat, M. A. and Ghada Saber, M.I. 2014. Tomato fruit quality as influenced by salinity and nitric oxide.Turkish J. Bot. 38: 122-129.

23- Harborne, J. B. and Williams, C.A. 2000. Advances in flavonoid research since 1992. Phytochem. 55: 481-504.

24- Hayat, S., Hasan, S.A., Mori, M., Fariduddin, R., Ahmad, A. 2010. Nitric oxide in plant physiology, Eds. Hayat S., Mori M., Pichtel J., Ahmad A. Wiley-VCH GmBH and Co, KGaH, Weinheim, pp.: 1-16.

25- Hoekstra, F.A, Golovina, E.A. and Buitink, J., 2001 .Mechanisms of plant desiccation tolerance. Trendsin Plant Science, 6(9): 431-438

26- Holton, T. A. and Cornish, E.C. 1995. Genetics and biochemistry of anthocyanin biosynthesis. Plant Cell. 9: 1071-1083.

27- Jasid, S., Simontacchi, M., Bartoli, C.G., Pantarulo, S. 2006. Chloroplasts as a nitric oxide cellular source. Effect of reactive nitrogen species on chloroplastic lipids and proteins. Plant Physiology. 142: 1246-1255.

28- Koc E., İslek, C. and Üstun, A.S. 2010. Effect of cold on protein, proline, phenolic compounds and chlorophyll content of two pepper (*Capsicum annuum* L.) varieties. Gazi University J. Sci, 23: 1-6.

29- Kopyra, M. and Gwozdz, E.A. 2004. The role of nitric oxide in plant growth regulation and responses to abiotic stress. Acta Physiol. Plant. 26: 459-472.

30- Krizek, D. T., Britz, S.J. and Mirecki, R.M. 1998. Inhibitory effects of ambient levels of solar UV-A and UV-B radiation on growth of cv. new red fire lettuce. Physiol. plant. 103: 1-7.

31- Kumar Shunker, A. and Venkateswarlu, B. 2011. Abiotic stress in plants: Mechanisms and adaptations, Academia.edu. ISBN: 9533073942.

32- Lang-Mladek, C., Popova, O., Kiok, K. Berlinger, M., Rakic, B. and Aufastez, W. 2010. Transgenerational inheritance and resetting of stress-induced loss of epigenetic in Arabidopsis. Mol. Plant. 3: 594-602.

33- Laspina, N.V., Groppa, M.D., Tomaro, M.L. and Benavides, M. P. 2005. Nitric oxide protects sunflower leaves against Cd-induced oxidative stress. Plant Sciences. 169: 323-330.

34- Lei, y. B., Yin, C.Y. and C.Y. Li. 2007. Adaptive responses of *Populus przewalskii* to drought stress and SNP application. Acta Physiol Plant. 29: 519-526.

35- Lin-Wang, K., Bolitho, K., Grafton, K., Kortstee, A., Karunairetnam S., Mc Ghie, T., Espley, R., Hellens, R. and Allan, A. 2010. An R2R3 MYB transcription factor associated with regulation of the anthocyanin biosynthetic pathway in Rosaceae. Plant Biol. 10: 50.

36- Liao, W.B., Yu, J.H., Zhang, M.L., 2012. Nitric oxide and hydrogen peroxide alleviate drought stress in marigold explants and promote its adventitious root development.Plant Physiol. Biochem. 58: 6-15.

37- Liu, C., Liu, Y., Guo, K., Fan, D., Li, G., Zheng, Y., Yu, L. and Yang, R. 2011. Effect of drought on pigments, osmotic adjustment and antioxidant enzymes in six woody plant species in karst habitats of southwestern China. Environ. Exp. Bot. 71: 174-183.

38- Mackerness, S. A. H., John, C.F., Jordan, B. and Thomas, B. 2001. Early signaling components in ultraviolet-B responses: distinct role for different reactive oxygen species and nitric oxide. FEBS Lett. 489: 237-242.

39- Magdy, A. S., Hazem, M.M.H., Alia, A.M.N. and Alshaimaa, A.I. 2012. Effect of sodium nitroprusside, putrescine and glycine betaine on alleviation of drought stress in cotton plant. American-Eurasian J. Agric. Environ. Sci., 12(9): 1252-1265.

40- Manivannan, P., Abdul Jaleel, C. Somasundaram, R., Panneersel Vam, R. 2008. Osmoregulation and antioxidant metabolism in drought- stressed *Helianthus annuus* under triadimefon drenching. Comptes Rendus Biologies.331: 418-425.

41- Matta, A.J. and Giai, I. 1969. Accumulation of phenol in tomato plant is affected by different forms of *Fusarium oxysporum*. Planta Medica, 50: 512-513.

42- Nelson, N. 1994. A photometric adaption of the Somogi method for the determination of glucose. J. Biol. Chem. 153: 375-380.

43- Sakihama, Y., Coheno, M., **G**race, S. and Yamasaki, H. 2002. Plant phenolic antioxidant and prooxidant activities phenolic-induced oxidative damage mediated by metals in plant. Toxicol. 177: 67-80.

44- Sangtarash, M. H., Qaderi, M.M., Chinnappa, C.C. and Reid, D.M. 2009. Differential sensitivity of canola (*Brassica napus*) seedlings to ultraviolet-B radiation, water stress and abscisic acid. Environ. Exp. Bot. 66: 212-219.

45- Shehab, G.G., Ahmad, O.K. and EL- Beltagi, H.S. 2010. Effects of various chemical agents for alleviation of drought stress in rice plants. Not. Bot. Hort. Agrobot. 38(1): 130-148.

46- Slama, I., Ghnaya, T., Hessini, K., Messedi, D., Savoure, A. and Abdelly, C. 2007. Comparative study of the effects of manitol and PEG osmotic stress on growth and solute accumulation in

Sesuvium portulacastrum. Environ. Exp. Bot. 61: 10-17.

47- Strauss, G. and Hauser, H. 1986. Stabilization of lipid bilayer vesicles by sucrose during freezing. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 83: 2422-2426.

48- Subbarao, G.V., Nam, N. H. Chauhan, Y.S. and Johansen, C. 2000. Osmotic adjustment, water relations and carbohydrate remobilization in pigeonpea under water deficits. J. Plant Physiol. 157: 651-659.

49- Szabados, L. and Savoure, A. 2009. Proline: a multifunctional amino acid. Trends Plant Sci.15: 89-97.

50- Tan, J., Zhao, H., Y. Hong, Y., Li, H. and Zhao, W. 2008. Effects of exogenous nitric oxide on photosynthesis, antioxidant capacity and proline accumulation in wheat seedling subjected to osmotic stress. World J. Agri. Sci. 4: 307-313.

51- Vinyard, P. G., Moody, C. J. and Jacob, C. 2005. Oxidative activation of antioxidant defense. Trends Biochem. Sci. 8: 453-461.

52- Wagner, G.J. 1979. Content and vacuole / extra vacuole distribution of neutral sugars, free amino acids anthocyanins in protoplasts. Plant Physiol. 64: 88-93.

53- Watkinson, J. I., Hendricks, L., Sioson, A.A., Vasquez-Robinet, C., Verlyn, S., Heath, L.S., Schuler, M., Bohnert, H. H. J., onierbale, M. and Grene, R. 2006. Accessions of *Solanum toberosum* spp. Andigena show differences in photosynthetic recovery after drought stress as reflected in gene expression profiles. Plant Sci. 171(6):745-758.

54- Zhang, K. M., Yu, H. J., Shi, K., Zhou, Y. H., Yu, J. Q. and Xia, X. J. 2010. Photoprotective roles of anthocyanins in *Begonia semperflorens*. Plant Sci. 179(3): 202-208.

Effect of sodium nitroprusside (SNP) on some physiological parameters in oilseed rape (*Brassica napus* L.) seedlings under drought stress

Nikravesh M.[1], Kholdebarin B.[2], Nejadsattari T.[1] and Najafi F.[3]

[1] Biology Dept., Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, I.R. of Iran

[2] Biology Dept., College of Sciences, Shiraz University, Shiraz, I.R. of Iran

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

Abatract

Drought with its osmotic stress effects inhibits plants growth and limits agricultural crops production. Nitric oxide (NO) is a stable free radical gas which acts as a signaling molecule in plants and participates in various plants physiological and developmental processes and also in plants responses to environmental stresses. In this study sodium nitroprusside (SNP) was used as NO donor. Oilseed rape seedlings were subjected to various soil moisture contents including, 100%, 60% and 30% field capacity (FC) with and without SNP (0, 25, 50, 75 and 100 µM) for a period of 21 days. Results showed that drought stress alone reduces both shoots and roots dry weight. The amounts of proline, soluble sugars, anthocyanin, flavonoids and total phenols were significantly higher in seedlings subjected to drought stress. Of the various concentrations of SNP used, treatments containing 25 µM, increased both growth and the amounts of proline, soluble sugars, anthocyanin, flavonoids and total phenols under drought stress. Higher concentrations (75 and 100 µM) of SNP caused oxidative damages to the seedlings.

Key words: Drought stress; Nitric Oxide; Oilseed Rape