مقایسه اثر پیش تیمار سدیم نیترو پروساید و آرژینین بر برخی پاسخهای فیزیولوژیکی گیاه گوجه فرنگی (*Lycopersicun esculentum*) تحت تنش کم آبی

فاطمه نصیبی[1*]، خسرو منوچهری کلانتری[1] و محمد مهدی یعقوبی[2]

[1] کرمان، دانشگاه شهید باهنر، دانشکده علوم، گروه زیست شناسی

[2] کرمان، مرکز بین المللی علوم، تکنولوژی پیشرفته و علوم محیطی

تاریخ دریافت: ٨٨/٣/٢٦ تاریخ پذیرش: ٨٩/٦/٢

چکیده

کم آبی یکی از فاکتورهای مهم محیطی است که رشد و نمو گیاهان را تحت تأثیر قرار داده و تولید گیاهان را محدود می کند. نیتریک اکسید یک رادیکال گازی نسبتاً پایدار است که توسط آنزیم نیتریک اکسید سنتتاز از L- آرژینین تولید می شود. تولید NO در غلظتهای پایین با ممانعت از تولید رادیکالهای فعال اکسیژن مانع خسارات آنها می گردد. در این بررسی اثر پیش تیمار SNP و Arg بر تخفیف تنش خشکی در گیاه گوجه فرنگی مطالعه و مقایسه گردید. نتایج نشان داد که تنش کم آبی باعث افزایش مقدار MDA، پراکسید هیدروژن وگروههای کربونیل به عنوان شاخص تنش اکسیداتیو می گردد. همچنین مقدار ترکیبات فنلی، پرولین، امینواسیدهای آزاد و قندهای محلول در گیاهان تحت تنش افزایش معنی داری داشت. پیش تیمار Arg و SNP باعث کاهش معنی دار مقدار MDA و H_2O_2 گردید. پیش تیمار SNP همچنین مقدار گروههای کربونیل پروتئینها را نیز کاهش داد اما Arg تأثیر معنی داری براین پارامتر نداشت. پیش تیمار گیاهان با SNP باعث افزایش فنلها گردید اما بر مقدار پرولین و اسیدهای آمینه آزاد اثر معنی داری نداشت. از طرف دیگر پیش تیمار Arg بر مقدار فنلها اثر معنی داری نداشت اما مقدار پرولین و اسیدهای آمینه آزاد را افزایش داد. هیچیک ار پیش تیمارهای آرژینین و SNP اثر معنی داری بر رنگیزه های فتوسنتزی و قندهای محلول نداشتند. با استفاده از بازدارنده های هر یک از پیش تیمارها به نظر می رسد که اثر پیش تیمار SNP مربوط به رهاسازی NO باشد ولی در مورد آرژینین مسیرهای دیگرمتابولیسم آرژینین مثل سنتز پلی آمینها و پرولین برمسیر سنتز نیتریک اکسید ارجحیت دارد.

واژه های کلیدی: تنش کم آبی، سدیم نیتروپروساید، آرژینین، *Lycopersicun esculentum*، اکسیداسیون پروتئین، پرولین، قندهای محلول، فنلها

* نویسنده مسئول، تلفن: ٠٣٤١-٣٢٢٢٠٣٢، پست الکترونیکی: nasibi2002@yahoo.com

مقدمه

کم آبی یکی از فاکتورهای مهم محیطی است که رشد و نمو گیاهان را تحت تأثیر قرار داده و تولید گیاهان را محدود می کند. گیاهان با تغییر در متابولیسم سلولی و القاء مکانیسمهای دفاعی به این تنش پاسخ داده یا با آن سازگاری می یابند (٥). سازگاری با کم آبی نتیجه یک سری واکنشهای بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی است که به حفظ آب، کلروپلاست و نگهداری هموستازی یونها کمک می کند (٥ و ٢٣). یکی از اثرات تنش کم آبی ممانعت از فتوسنتز و تغییر در محتوی کلروفیل و خسارت به دستگاه فتوسنتزی است. این تنش همچنین فعالیت فتوشیمیایی را باز داشته و فعالیت آنزیمهای چرخه کالوین را کاهش می دهد (٣٤). یکی از تغییرات بیوشیمیایی که در گیاه تحت

Archive of SID
www.SID.ir

تنش ایجاد می شود تجمع گونه های فعال اکسیژن است که محصول اجتناب ناپذیر متابولیسم طبیعی سلول می باشد (١٤ و ٥١). کلروپلاست و میتوکندری سلولهای گیاهی از مهمترین تولیدکننده های گونه های فعال اکسیژن هستند. الکترونهای نشت کرده از زنجیره انتقال الکترون می توانند با اکسیژن مولکولی حاصل از متابولیسم طبیعی گیاه، ترکیب شده و تولید گونه های فعال اکسیژن مثل سوپر اکسید، پراکسید هیدروژن و رادیکال هیدروکسیل کند. این گونه های اکسیژن سمی و بسیار واکنش پذیرند و در غیاب مکانیسمهای حفاظتی می توانند متابولیسم طبیعی سلول را به میزان زیادی مختل کنند (١٣ و ٤٤). این رادیکالها از طریق پراکسیداسیون لیپیدها و در نتیجه تخریب غشاء (٤)، تخریب پروتئینها (٣٥، ٤٥ و ٥٠)، غیر فعال کردن آنزیمها (٤٦)، از بین بردن رنگیزه ها (٣١) و اختلال در عملکرد DNA (٤٦) تنش ثانویه اکسیداتیو ایجاد می کنند که منجر به خسارات جدی به ساختارهای سلولی و گیاه می گردد. گیاهان در مقابله با تنش خشکی مکانیسمهای حفاظتی متفاوتی را در پیش می گیرند که از آن جمله می توان به تجمع اسمولیتهایی مثل پرولین (١٠ و ٣٧) و قندهای محلول (١٨، ٢٤ و ٣٦) و مکانیسمهای آنزیمی و غیر آنزیمی در برابر تنش اکسیداتیو ناشی از خشکی (٦، ٢٣، ٤٦، ٤٧ و ٤٩) اشاره کرد.

نیتریک اکسید (NO) یک رادیکال گازی نسبتاً پایدار است که توسط آنزیم نیتریک اکسید سنتتاز از L- آرژینین تولید می شود. آنزیمهای نیتریک اکسید سنتتاز، آرژیناز و آرژینین دکربوکسیلاز سه مسیر اصلی متابولیسم آرژینین را کاتالیز می کنند. آنزیم نیتریک اکسید سنتتاز (NOS) آرژینین را به نیتریک اکسید و سیترولین هیدرولیز می کند در حالی که محصولات اصلی مسیر های وابسته یه آرژیناز و آرژینین دکربوکسیلاز ترکیبات پلی آمین و پرولین است (٧). با استفاده از بازدارنده های آنزیم NOS جانوری، فعالیت آنزیم نیتریک اکسید سنتتاز وابسته به آرژینین، در گیاهان اثبات شده است (٩ و ١١). در مطالعات اخیر گزارش شده است که آنزیم NOS گیاهی از آنزیم NOS جانوری متفاوت بوده و با وجودی که به بازدارنده های NOS جانوری پاسخ می دهد اما از نظر توالی پروتئینی شباهتی با آنزیم جانوری ندارد (١٦). فعالیت آنزیم NOS در ریشه و گره های گیاه *Lupinus albus* مشاهده شده و گزارش شده است که این فعالیت با به کاربردن ماده LNAM که بازدارنده آنزیم NOS در جانوران است، بازداشته می شود (٩). دو مکانیسم احتمالی برای نقشNO مقابله با تنشها پیشنهاد شده است: اولاً نیتریک اکسید ممکن است با روبش مستقیم گونه های فعال اکسیژن مثل رادیکال سوپر اکسید، به عنوان یک آنتی اکسیدان عمل کرده و با تولید رادیکال پروکسی نیتریت که سمیت بسیار کمتری نسبت به رادیکالهای پراکسید دارد صدمه وارد به سلولها را کاهش دهد. ثانیاً نیتریک اکسید می تواند به عنوان یک مولکول علامتی عمل کند و باعث تغییر در بیان برخی ژنهای دفاعی شود (٢٦). با وجود آن برخی از محققان معتقدند که NO یک عامل ایجاد تنش است (٢٨)، برخی دیگر نقشهای حفاظتی آن را در برابر تنشها گزارش کرده اند (٤ و ٢٠). نقش نیتریک اکسید در کاهش تنش شوری در گیاه آرابیدوپسیس (٥٢)، در افزایش مقاومت گیاهک گندم به تنش خشکی (٤٦) و در کاهش تنش کادمیوم در گیاه برنج(٢٠) و آفتابگردان (٢٧) گزارش شده است. البته نقش حفاظتی NO به غلظتNO، بافت و سن گیاه و نوع تنش بستگی دارد. گزارش شده است که تولید NO در غلظتهای پایین به سرعت باعث از بین رفتن رادیکالهای پراکسید می شود و با ممانعت از تولید رادیکالهای فعال اکسیژن مانع خسارات آنها می گردد. نیتریک اکسید همچنین با القاء بیان و افزایش فعالیت آنزیمهای آنتی اکسیدان، سلولها را از صدمات تنشهای غیر زیستی حفاظت می کند (٢, ٨ و ٢٦).

در این پژوهش پراکسیداسیون لیپیدهای غشایی، محتوی پراکسید هیدروژن، اکسیداسیون پروتئینها و محتوی پرولین و اسید های آمینه آزاد، فنلهای کل، قندها و رنگیزه های فتوسنتزی تحت تنش خشکی بررسی گردید و اثر پیش

Archive of SID
www.SID.ir

تیمار سدیم نیتروپروساید (ترکیب رها کننده NO) و آرژینین (گهرمایه آنزیم نیتریک اکسید سنتتاز) در تخفیف این صدمات در گیاه گوجه فرنگی مطالعه و مقایسه گردید. مقایسه این اثرات در درک نقش فیزیولوزیکی و بیوشیمیایی این ترکیبات در سازگاری گیاه به خشکی مؤثر خواهد بود.

مواد و روشها

گیاه مورد مطالعه در این پژوهش، گیاه گوجه فرنگی *Lycopersicun esculentum* واریته Alicante بود. بذرهای گیاه مورد نظر از کمپانی تامپسون و مورگان کشور انگلستان تهیه گردید. بذرها در خزانه های حاوی گیاه خاک خالص کشت و روزانه آبیاری شدند. پس از اینکه برگهای لپه ای کاملاً توسعه پیدا کردند، هفته ای یکبار با محلول غذاییLong Ashtone با غلظت ۱/۲ آبیاری شدند. گیاهان به مدت ٤ هفته در اتاق کشت با دمای ۲۲ درجه سانتی گراد / ۲۵ درجه سانتی گراد، شب/ روز و دوره نوری ١٦/٨ساعت تاریکی/ نور، رطوبت نسبی ٤٥ درصد و شدت نور تقریباً ۱۰۰۰۰ لوکس رشد کردند.

گیاهان پس از ٤ هفته رشد برای اعمال تیمار از خزانه خارج شدند ریشه های آنها با آب خوب شسته شده و در شیشه های حاوی محلول غذایی قرار گرفتند. در زمان اعمال تیمارها، محلول غذایی شیشه ها روزانه تعویض گردید. در این پژوهش گیاهان در دو گروه جداگانه تحت تیمار قرار گرفتند. گروه اول (٢٤ گیاه) برای تیمار با محلول سدیم نیتروپروساید (SNP) به عنوان ترکیب رها کننده نیتریک اکسید (NO) و گروه دوم برای تیمار با محلول آرژینین به عنوان گهرمایه آنزیم نیتریک اکسید سنتتاز (NOS) در نظر گرفته شدند. در این تحقیق در هر گروه ۸ تیمار و در هر تیمار ۳ تکرار در نظر گرفته شد. در گروه اول، برگ گیاهان در دو نوبت به صورت یک روز در میان با حدود ۱۰میلی لیترمحلول ۱۰۰میکرومولارSNP و محلول ۲۰۰ میکرومولار روبنده NO، (PTIO) اسپری شدند. برگ گیاهان گروه دوم نیز به صورت مشابه با ۱۰میلی لیتر محلول آرژینین ۱ میلی مولار و L-NAM ۲ میلی مولار (بازدارنده آنزیم NOS)، اسپری گردیدند. در این پژوهش برای مشاهده نقش NO در شرایط کنترل و تنش در برخی تیمارها ترکیب رها کننده NO همراه با ترکیب روبنده NO همزمان استفاده شد در ضمن در همه تیمارها از Tween-20 ۰/۰۱ درصد به عنوان روکنشگر (Surfactant)استفاده گردید. در مورد گیاهان کنترل، برگ گیاهان با آب مقطر حاوی Tween-20 ۰/۰۱ درصد اسپری شدند. در روز سوم برای اعمال تنش آبی، گیاهان در محلول۱۱/۲ درصد PEG 6000 (معادل با پتانسیل اسمزی 0.2 MPa) قرار گرفتند. پس از ٢٤ ساعت اعمال تنش خشکی ، برگهای دوم گیاهان در نیتروژن مایع فریزر گردیدند و برای اندازه گیریهای بعدی در فریزر ۸۰- قرار داده شدند.

سنجش میزان پراکسیداسیون لیپیدها: اندازه گیری غلظت مالون دآلدئید(MDA) به روشHeath & Packer (١٩٨٦) انجام شد. برای محاسبه غلظت MDA از ضریب خاموشی معادل $1.55\times10^{5}\ M^{-1}\ Cm^{-1}$ بر اساس فرمول $A=\varepsilon bc$ استفاده شد. در این فرمول A برابر با جذب خوانده شده، ε ضریب خاموشی مورد نظر، b قطر کووت و مساوی ۱ و c غلظت ماده مورد نظر می باشد. نتایج حاصل از اندازه گیری بر حسب میکرو مول در گرم وزن خشک محاسبه و ارائه گردید(١٩).

اندازه گیری مقدار پراکسید هیدروژن: مقدار پراکسید هیدروژن براساس واکنش پراکسید هیدروژن با یدور پتاسیم انجام شد. در این روش ۰/۵ گرم از بافت تازه برگ در TCA ۰/۱ درصد سرد سائیده شد. عصاره حاصل به مدت ۱۵ دقیقه در ۱۲۰۰۰g سانتریفوژ گردید. سپس به ۵۰۰ میکرولیتر از محلول رویی، ۵۰۰ میکرولیتر بافر فسفات پتاسیم ۱۰۰میلی مولار (pH=7) و ۲ میلی لیتر یدور پتاسیم ۱مولار اضافه گردید. مخلوط واکنش به مدت ۱ ساعت در

Archive of SID
www.SID.ir

تاریکی در دمای اتاق قرار داده شد و سپس جذب نور نمونه ها در ۳۹۰ نانومتر اندازه گیری شد. برای محاسبه غلظت پراکسید هیدروژن از منحنی استاندارد استفاده گردید (۱) و نتایج بر حسب میکرو مول بر گرم وزن خشک ارائه شد.

اندازه گیری گروههای کربونیل متصل به پروتئین به عنوان شاخص اکسیداسیون پروتئینها: ۰/۱ گرم برگ تر گیاه در ۲ میلی لیتر بافر فسفات پتاسیم ۵۰ میلی مولار (٤/ pH = ۷) حاوی ۱ میلی مولار EDTA سائیده شد. عصاره حاصل به مدت ۲۰ دقیقه در ۱۵۰۰۰g سانتریفیوژ گردید و از محلول رویی برای سنجش مقدار گروههای کربونیل استفاده شد. برای محاسبه غلظت گروههای کربونیل از ضریب خاموشی معادل $22000\ M^{-1}\ Cm^{-1}$ (برای آلیفاتیک هیدرازون) استفاده شد.

در این آزمایش جذب هر نمونه در مقابل شاهد خودش خوانده شد و نتایج با استفاده از رابطه A=εbc و برحسب میکرومول کربونیل برگرم پروتئین گزارش گردید (۲۹).

اندازه گیری مقدار رنگیزه های فتوسنتزی : سنجش میزان کلروفیل و کاروتنوئید بر طبق روش Lichtenthaler (۱۹۸۷) انجام گردید (۳۰).

در این روش رنگیزه ها با استفاده ار استون ۸۰ درصد استخراج شدند وغلظت آنها بر اساس روابط زیر محاسبه گردید.

$$Chl.a = (۱۲/۲۵A_{۶۶۳/۲} - ۲/۷۹A_{۶٤۸/۸}) \quad (۱)$$

$$Chl.b = (۲۱/۲۱A_{۶٤۶/۸} - ۵/۱\ A_{۶۶۳/۲}) \quad (۲)$$

$$Chl.T = Chl.a + Chl.b \quad (۳)$$

$$Car = [(۱۰۰۰A_{٤۷۰} - ۱/۸\ Chl.a - ۸۵/۰۲Chl.b)/۱۹۸] \quad (٤)$$

سنجش ترکیبات فنلی: محتوای فنلهای محلول کل با استفاده از معرف فولین اندازه گیری شد (٤۳). ۰/۱ گرم از بافت گیاهی در ۱ میلی لیتر اتانول ۸۰ درصد سائیده شد. عصاره حاصل به مدت ٢٤ ساعت در دمای اتاق قرار داده شد و سپس به مدت ۱۰ دقیقه در ۲۰۰۰g سانتریفیوژ گردید. ازمحلول رویی برای سنجش فنلهای محلول استفاده شد. برای محاسبه غلظت فنلهای محلول از منحنی استاندارد گالیک اسید استفاده گردید و نتایج بر حسب میلی گرم در گرم وزن خشک ارائه شد.

اندازه گیری مقدار پرولین: مقدار پرولین با استفاده از معرف نین هیدرین و بر اساس روشBates (۱۹۷۳) مورد اندازه گیری قرار گرفت(۲). در این روش از معرف نین هیدرین و اسید استیک گلاسیال برای اندازه گیری پرولین استفاده شد و نتایج بر حسب میکرو مول بر گرم وزن خشک گزارش گردبد.

اندازه گیری مقدار اسیدهای آمینه آزاد(FAA): محتوی اسیدهای آمینه آزاد با روش رنگ سنجی و استفاده از معرف نین هیدرین اندازه گیری شد.

۰/۲ گرم بافت تازه برگی در ۵ میلی لیتر بافر فسفات پتاسیم سرد ۵۰ میلی مولار (pH= ٦/۸) سائیده شد. همگنای حاصل به مدت ۲۰ دقیقه در ۱۸۰۰۰g سانتریفیوژ گردید. ازمحلول رویی برای سنجش اسیدهای آمینه آزاد استفاده شد. برای محاسبه مقداراسیدهای آمینه آزاد از منحنی استاندارد گلیسین استفاده شد (۲۲) و نتایج بر حسب میلی گرم بر گرم وزن خشک محایبه گردید .

اندازه گیری مقدار قندهای محلول: محتوای قند محلول نمونه ها با استفاده از معرف آنترون و بر اساس روشRoe، (۱۹۵۵) تعیین گردید. ۰/۱ گرم بافت تر برگ در ۲/۵ میلی لیتر اتانول ۸۰ درصد در دمای ۹۵ درجه سانتی گراد به مدت ٦۰ دقیقه قرار گرفت و کربوهیدراتهای محلول استخراج شدند. عصاره حاصل با استفاده از کاغذ صافی صاف گردید و سپس الکل آن تبخیر شد. رسوب حاصل در ۲/۵ میلی لیتر آب مقطر حل گردید. ۲۰۰ میکرولیتر از هر نمونه در یک لوله آزمایش ریخته شد و ۵ میلی لیتر معرف آنترون به آن اضافه گردید. پس از مخلوط شدن به

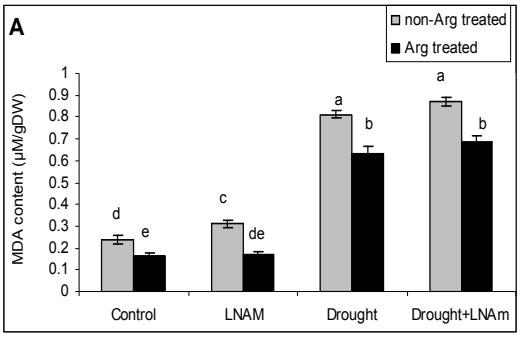
Archive of SID
www.SID.ir

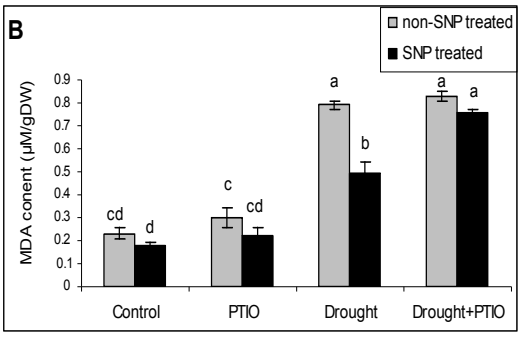
مدت ١٧ دقیقه در بن ماری ٩٠ سانتی گراد قرار گرفت و پس از سرد شدن، جذب نمونه ها در ٦٢٥ نانومتر خوانده شد. برای محاسبه مقدار قند از منحنی استاندارد گلوکز استفاده شد (٣٨) و نتایج بر حسب میلی گرم بر گرم وزن خشک ارائه گردید.

تجزیه و تحلیل آماری: تجزیه و تحلیل آماری داده ها طبق طرح کاملاً تصادفی صورت گرفت و تمام آزمایشها با سه تکرار انجام شد. داده ها تحت آنالیز واریانس یک طرفه قرار گرفتند و اختلاف میانگینها با آزمون دانکن (٠/٠٥ ≥ سطح معنی دار) مقایسه شدند.

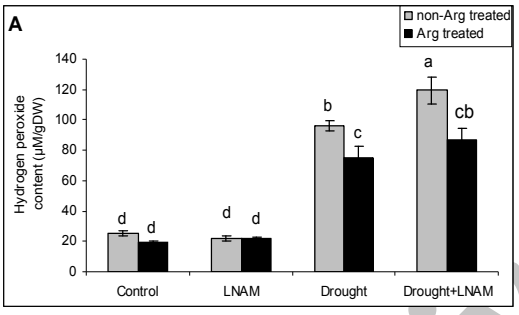
نتایج

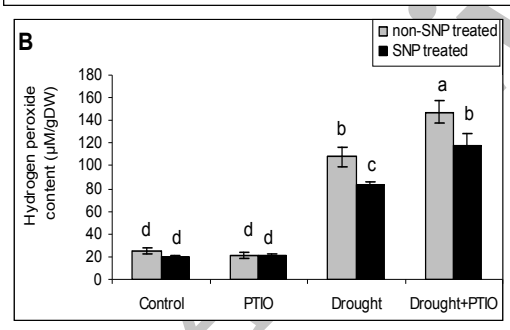
نتایج حاصل از سنجش مقدار مالون دآلدئید: همان طور که در نمودار ١ نشان داده شده است تنش خشکی باعث افزایش معنی دار مقدار مالون دآلدئید در برگهای گیاه مورد آزمایش گردید. کاربرد Arg و Arg+LNAM موجب کاهش چشمگیر مقدار مالون دآلدئید و بالطبع کاهش معنی دار پراکسیداسیون لیپید در گیاهان تحت تیمار خشکی در مقایسه با همان تیمار بدون Arg و Arg+LNAM شد. پیش تیمار گیاهان شاهد با Arg و Arg+LNAM نیز محتوای MDA را کاهش داد (نمودار١-A). پیش تیمار گیاهان با SNP نیز باعث کاهش مقدار مالون دآلدئید در گیاهان تحت تنش خشکی گردید، اما پیش تیمار گیاهان با SNP توام با PTIO اثر معنی داری بر مقدار MDA تحت تنش خشکی نداشت (نمودار١-B).





نمودار ١- اثر پیش تیمار Arg، Arg+LNAM (A)و SNP، SNP+PTIO (B) بر مقدار مالون دآلدهید به عنوان شاخص پراکسیداسیون غشاء در برگهای گیاه گوجه فرنگی تحت شرایط کنترل و تنش خشکی. داده ها تحت آنالیز واریانس قرار گرفتند و میانگینها با ازمون دانکن مقایسه شدند. P<0.05 بعنوان اختلاف معنی دار در نظر گرفته شد. حروف متفاوت نشانه معنی دار بودن و حروف مشابه نشانه معنی دار نبودن داده ها در مقایسه با یکدیگر است.

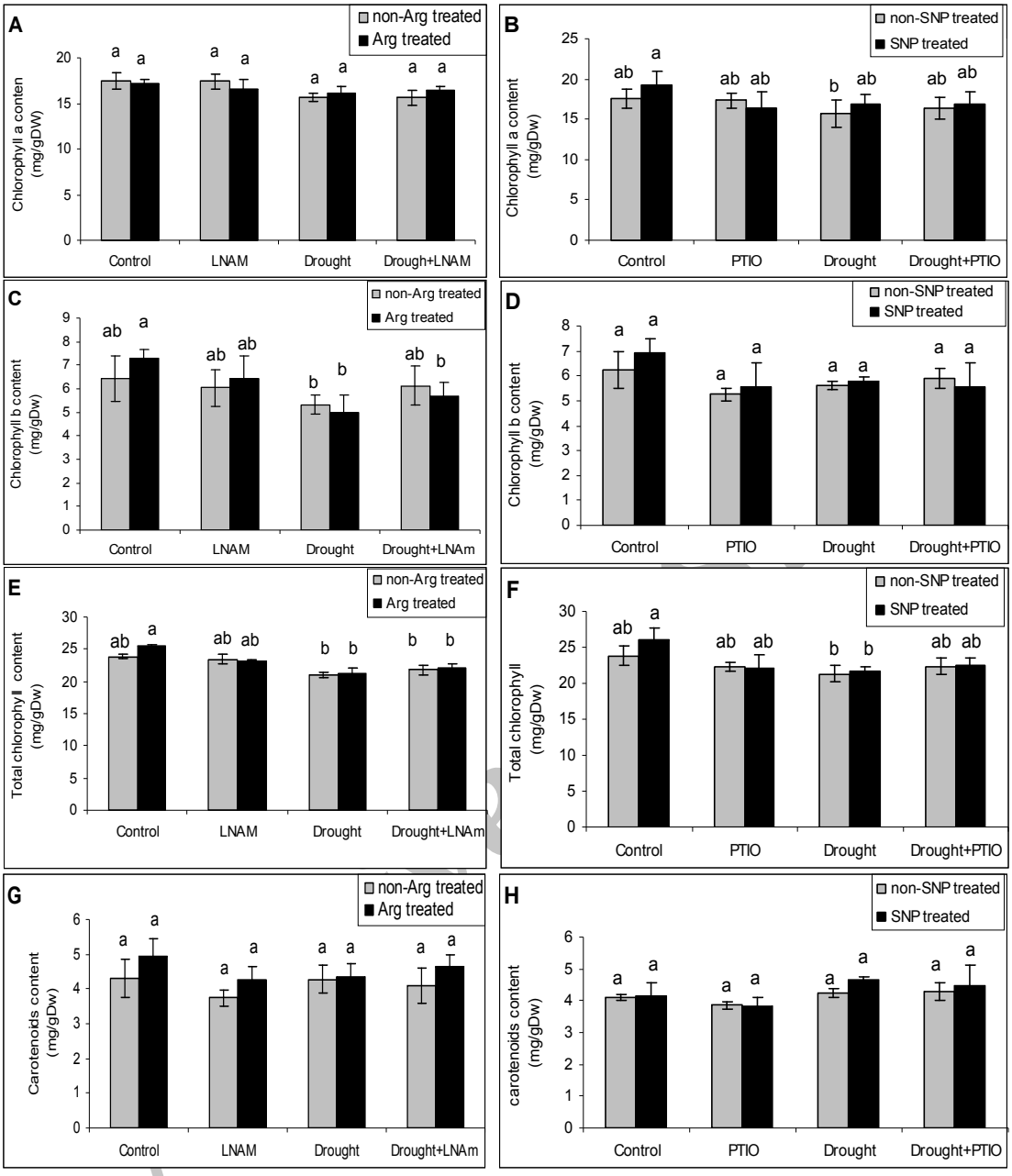




نمودار ٢- اثر پیش تیمار Arg، Arg+LNAM (A)و SNP، SNP+PTIO (B) بر مقدار پراکسید هیدروژن در برگهای گیاه گوجه فرنگی تحت شرایط کنترل و تنش خشکی. داده ها تحت آنالیز واریانس قرار گرفتند و میانگینها با ازمون دانکن مقایسه شدند. P<0.05 بعنوان اختلاف معنی دار در نظر گرفته شد. حروف متفاوت نشانه معنی دار بودن و حروف مشابه نشانه معنی دار نبودن داده ها در مقایسه با یکدیگر است.

پیش تیمار با SNP یا SNP توام با PTIO در شرایط کنترل بر مقدار MDA اثر معنی داری نداشت.

Archive of SID
www.SID.ir



نمودار ٤- اثر پیش تیمار Arg، Arg+LNAM و SNP، SNP+PTIO بر کلروفیل a (A و B)، کلروفیلb (C وD) ، کلروفیل کل (E و F) و کاروتنوئیدها (G و H) در برگهای گیاه گوجه فرنگی تحت شرایط کنترل و تنش خشکی. داده ها تحت آنالیز واریانس قرار گرفتند و میانگینها با ازمون دانکن مقایسه شدند. $P<0.05$ بعنوان اختلاف معنی دار در نظر گرفته شد. حروف متفاوت نشانه معنی دار بودن و حروف مشابه نشانه معنی دار نبودن داده ها در مقایسه با یکدیگر است.

نتایج حاصل از اندازه گیری محتوای پراکسید هیدروژن:

داده های حاصل از تأثیر تیمار خشکی بر مقدار پراکسید هیدروژن در گیاهان مورد آزمایش، نشان داد که تیمار خشکی موجب افزایش معنی دار مقدار پراکسید هیدروژن نسبت به گیاهان شاهد شده است (نمودار ٢). پیش تیمار با Arg و SNP، تأثیر معنی داری در کاهش مقدار پراکسید هیدروژن درگیاهان تحت تنش خشکی داشت (نمودار ٢ A - B,) در حالی که با استفاده از Arg+LNAM و SNP توأم با PTIO تغییر معنی داری در مقدار پراکسید هیدروژن در گیاهان تحت تنش مشاهده نشد.

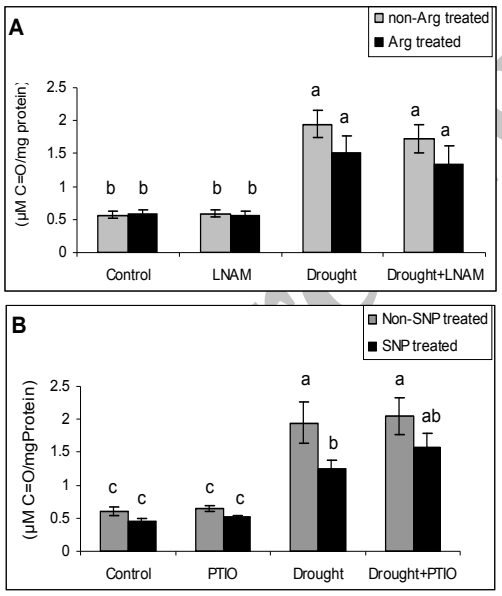
www.SID.ir

نتایج حاصل از اندازه گیری گروههای کربونیل: همان طور که در نمودار ٣ مشاهده می شود تنش خشکی باعث افزایش حدود ٤ برابر در مقدار گروههای کربونیل پروتئینها گردید. پیش تیمار گیاهان با Arg و Arg+LNAM اثر معنی داری در مقدار گروههای کربونیل پروتئین گیاهان شاهد و تحت تیمار خشکی نداشت (نمودار٣- A). اما پیش تیمار گیاهان با SNP باعث کاهش معنی دارگروههای کربونیل در گیاهان تحت تنش شد. هر چند بیش تیمار با SNP توام با PTIO نیز اثر معنی داری در کاهش گروههای کربونیل گیاهان تحت تنش نداشت (نمودار ٣- B).

نتایج حاصل از اندازه گیری رنگیزه های فتو سنتزی: نتایج حاصل از تأثیر خشکی بر مقدار کلروفیل a ، کلروفیلb ، کلروفیل کل و کاروتنوئیدها به ترتیب در نمودارهای A-٤، B-٤، C-٤، D-٤، E-٤، F-٤، G-٤ و H-٤ آورده شده است. همان طور که در نمودارها مشاهده می شود خشکی در این پژوهش تأثیر معنی داری بر مقدار کلروفیل a (نمودار A-٤ وB) ، کلروفیلb (C-٤ و D) ، کلروفیل کل (E-٤ و F) و کاروتنوئیدها (G-٤و H) نداشت. همچنین پیش تیمار گیاهان با Arg وSNP در شرایط کنترل و تحت تنش خشکی اثر معنی داری بر محتوای این رنگیزه ها نداشت.

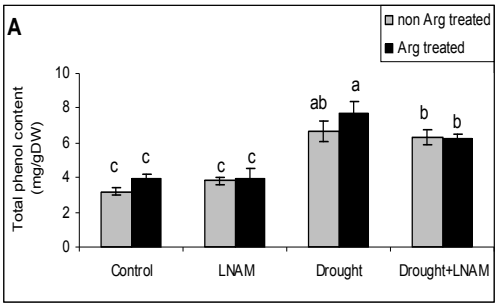
نتایج حاصل از اندازه گیری ترکیبات فنلی: همان طور که در نمودار ٥ مشاهده می شود تیمار ٢٤ ساعته خشکی باعث افزایش معنی دار ترکیبات فنلی در مقایسه با گیاهان شاهد شد. پیش تیمار گیاهان با Arg در شرایط کنترل و تنش خشکی اثر معنی داری بر محتوای فنلها نداشت (نمودار ٥- A) اما در شرایط تنش، گیاهان تیمار شده با SNP مقدار فنلهای بیشتری در مقایسه با گیاهان تیمار نشده با SNP تحت این شرایط داشتند (نمودار ٥-B). تیمار توأم SNP+ PTIO اثر SNP را در افزایش محتوای فنلها کاهش داد.

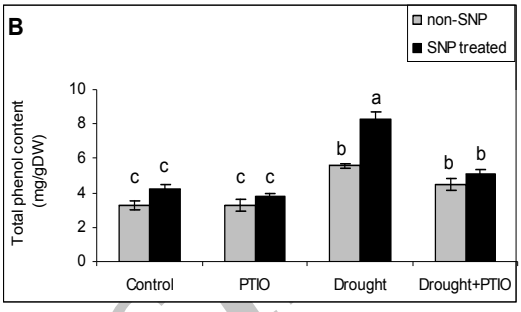
نتایج حاصل از اندازه گیری پرولین و اسیدهای آمینه آزاد: داده های حاصل از سنجش مقدار پرولین نشان داد که تنش کم آبی باعث افزایش حدود ٤ برابری مقدار پرولین در برگ گیاهان گوجه شده است (نمودار ٦). در شرایط تنش خشکی مقادیر پرولین در برگهای گیاهانی که باArg یا Arg+LNAM تیمار شده بودند بیشتر از گیاهانی بود که Arg یا Arg+LNAM دریافت نکرده بودند. پیش تیمار با Arg یا Arg+LNAM در شرایط کنترل اثری بر مقدار پرولین برگها نداشت (نمودار ٦- A). استفاده از پیش تیمار SNP در تنش خشکی باعث افزایش مقدار برولین در مقایسه با گیاهانی شد که با SNP تیمار نشده بودند اما این افزایش از نظر آماری معنی دار نبود (نمودار ٦- B). علاوه بر این مقدار پرولین در گیاهان تحت تنش خشکی که با SNP+ PTIO پیش تیمار شده بودند کمتر از گیاهانی بود که فقط با SNP تنها پیش تیمار شده بودند.



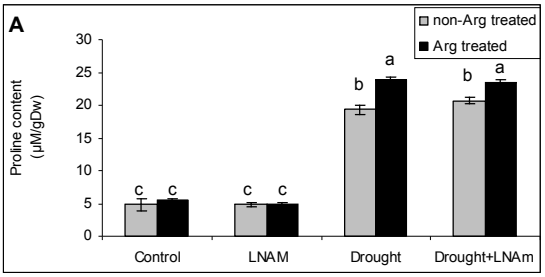
نمودار ٣- اثر پیش تیمار Arg، Arg+LNAM (A)وSNP، SNP+PTIO (B) بر مقدار گروههای کربونیل پروتئینها به عنوان شاخص اکسیداسیون پروتئینها در برگهای گیاه گوجه فرنگی تحت شرایط کنترل و تنش خشکی. داده ها تحت آنالیز واریانس قرار گرفتند و میانگینها با ازمون دانکن مقایسه شدند. $P<0.05$ بعنوان اختلاف معنی دار در نظر گرفته شد. حروف متفاوت نشانه معنی دار بودن و حروف مشابه نشانه معنی دار نبودن داده ها در مقایسه با یکدیگر است.

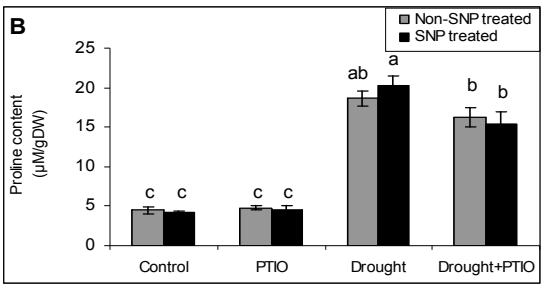
www.SID.ir



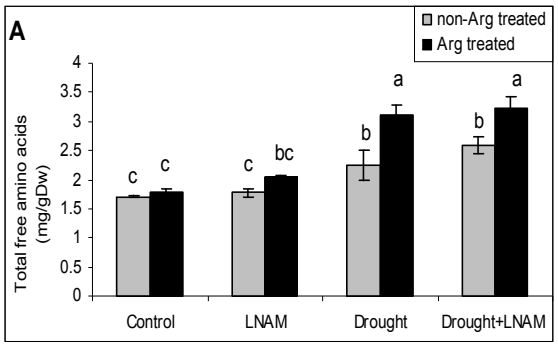


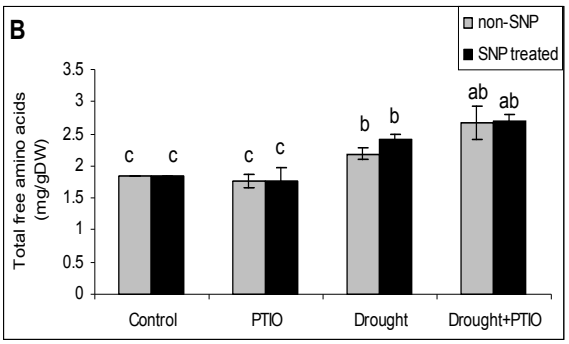
نمودار ٥- اثر پیش تیمار Arg، Arg+LNAM (A)و SNP، SNP+PTIO (B) بر مقدار ترکیبات فنلی برگهای گیاه گوجه فرنگی تحت شرایط کنترل و تنش خشکی . داده ها تحت آنالیز واریانس قرار گرفتند و میانگینها با ازمون دانکن مقایسه شدند. $P<0.05$ بعنوان اختلاف معنی دار در نظر گرفته شد. حروف متفاوت نشانه معنی دار بودن و حروف مشابه نشانه معنی دار نبودن داده ها در مقایسه با یکدیگر است.





نمودار ٦- اثر پیش تیمار Arg، Arg+LNAM (A)و SNP، SNP+PTIO (B) بر مقدار پرولین برگهای گیاه گوجه فرنگی تحت شرایط کنترل و تنش خشکی .داده ها تحت آنالیز واریانس قرار گرفتند و میانگینها با ازمون دانکن مقایسه شدند. $P<0.05$ بعنوان اختلاف معنی دار در نظر گرفته شد. حروف متفاوت نشانه معنی دار بودن و حروف مشابه نشانه معنی دار نبودن داده ها در مقایسه با یکدیگر است.



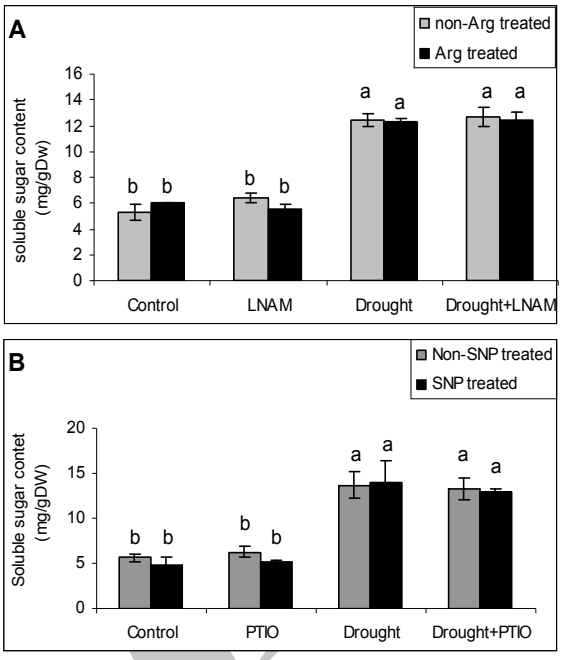


نمودار ٧- اثر پیش تیمار Arg، Arg+LNAM (A)و SNP، SNP+PTIO (B) بر مقدار آمینواسیدهای آزاد در برگهای گیاه گوجه فرنگی تحت شرایط کنترل و تنش خشکی. داده ها تحت آنالیز واریانس قرار گرفتند و میانگینها با ازمون دانکن مقایسه شدند. $P<0.05$ بعنوان اختلاف معنی دار در نظر گرفته شد. حروف متفاوت نشانه معنی دار بودن و حروف مشابه نشانه معنی دار نبودن داده ها در مقایسه با یکدیگر است.

همان طور که در نمودار ٧ مشاهده می شود، خشکی باعث افزایش معنی دار مقادیر اسیدهای آمینه آزاد در برگهای گیاه گوجه فرنگی شد. پیش تیمار گیاهان با Arg و Arg+LNAM باعث افزایش معنی دار اسیدهای آمینه آزاد شد (نمودار ٧- A). اما پیش تیمار گیاهان با SNP یا SNP توأم با PTIO اثر معنی داری بر مقدار اسیدهای آمینه آزاد تحت تنش خشکی نداشت (نمودار ٧-B). هیچیک از پیش تیمارهای به کار رفته در این آزمایش اثری بر محتوی اسید های آمینه آزاد در گیاهان شاهد نداشت.

Archive of SID

www.SID.ir



نمودار ٨- اثر پیش تیمار Arg، Arg+LNAM (A) و SNP، SNP+PTIO (B) بر مقدار قندهای محلول برگهای گیاه گوجه فرنگی تحت شرایط کنترل و تنش خشکی . داده ها تحت آنالیز واریانس قرار گرفتند و میانگینها با ازمون دانکن مقایسه شدند. $P<0.05$ بعنوان اختلاف معنی دار در نظر گرفته شد. حروف متفاوت نشانه معنی دار بودن و حروف مشابه نشانه معنی دار نبودن داده ها در مقایسه با یکدیگر است.

نتایج حاصل از اندازه گیری مقدار قندهای محلول: نتایج حاصل از اندازه گیری مقدار قندهای محلول در نمودار ٨ آورده شده است. این نتایج نشان داد که مقدار قندهای محلول تحت تنش خشکی در حدود ٢ برابر افزایش یافتند. پیش تیمار گیاهان با Arg ، Arg+LNAM ، SNP و SNP+ PTIO در شرایط کنترل و خشکی هیچ اثری بر مقدار قندهای محلول نداشت (نمودار A, B-٨).

بحث و نتیجه گیری

در شرایط عادی رشد، بسیاری از فرآیندهای متابولیکی در گیاهان باعث تولید گونه های فعال اکسیزن می شوند اما گیاهان مکانیسمهای آنتی اکسیدانی کارآمدی برای از بین بردن گونه های فعال اکسیژن دارند (٢٣). تحت شرایط تنش این تعادل به هم خورده و مقدار گونه های فعال اکسیژن افزایش می یابند. حضور این گونه های فعال برای گیاه مضر بوده و موجب آسیب به ساختارهای سلولی مثل غشاء، پروتئینها و اسیدهای نوکلئیک می شوند (٢٧). افزایش مقدار پراکسید هیدروژن تحت شرایط تنش خشکی در این مطالعه نیز احتمالاً نتیجه اختلال در این تعادل است. پیش تیمار گیاهان با SNP به عنوان رها کننده NO ، مقدار پراکسید هیدروژن را به میزان معنی داری کاهش داد. اما استفاده توام از SNP+PTIO اثرSNP را بر کاهش مقدار پراکسید هیدروژن ، کم کرد. این مطلب نشان دهنده این است که NO نقش مستقیمی در برطرف کردن H_2O_2 تحت شرایط تنش خشکی دارد، زیرا با به کاربردن PTIO و حذف NO از محیط، H_2O_2 افزایش می یابد. در گیاه خیار گزارش شده است که در شرایط تنش شوری مقدار پراکسید هیدروژن افزایش می یابد اما وقتی تنش شوری همراه با ٥٠ میکرومولار SNP اعمال شده است مقدار پراکسید هیدروژن در مقایسه با گیاهان تحت تنش کاهش یافته است (٤١). Hsu و Kao (٢٠٠٤) نیز گزارش کردند که تنش کادمیوم باعث افزایش مقدار آب اکسیژنه در برگهای برنج گردیده است و برگهایی که تحت تنش کادمیوم توأم با SNP قرار گرفتند دارای مقدار H_2O_2 کمتری نسبت به برگهای تحت تنش بودند اما کاربرد cPTIO توأم با SNP ، مقدار آب اکسیژنه را در گیاهان تحت تنش Cd افزایش داد (٢٠). در گیاهک گندم نیز گزارش شده است که تیمار با ٢٠٠ میکرومولار SNP مقدار H_2O_2 را تحت تنش خشکی به میزان معنی داری کاهش داده است (٤٦). گیاهان پیش تیمار شده با Arg نیز مقدار پراکسید هیدروژن به میزان معنی داری کاهش یافت. پیش تیمار Arg+LNAM نیز اثر تقریباً مشابهی با پیش تیمار Arg به تنهایی دارد و این نشان می دهد که نقش Arg در کاهش پراکسید هیدروژن احتمالاً غیر مستقیم و از طریق سنتز پلی آمینها و یا پرولین باشد.

یکی از آسیبهای جدی تنش خشکی خسارت به غشاء و رهاسازی یونها از سلول به فضای بین سلولی است (١٧).

Archive of SID
www.SID.ir

این پدیده نتیجه تجمع رادیکالهای آزاد اکسیژن است که منجر به پراکسیداسیون لیپید، نفوذ پذیری غشاء و خسارت به سلول می شود (٣٩). اندازه گیری محصولات پراکسیداسیون لیپید یکی از معمول ترین و قابل قبول ترین روشهای اندازه گیری صدمات اکسیداتیو به غشاء است (٤٢). همان طور که در نمودار ١ مشاهده می شود تنش خشکی مقدار MDA را در گیاهان مورد آزمایش افزایش داد و این نشان می دهد که تنش خشکی تحت شرایط آزمایش منجر به خسارت به غشاء گردیده و پراکسیداسیون لیپیدها را تشویق نموده است. افزایش غلظت MDA در گیاهان گندم و پیاز به ترتیب در تنشهای شوری و خشکی گزارش شده است (١٢، ٤٦).

نتایج مشابه در گیاهان گندم، برنج، آفتابگردان و خیار به ترتیب در تنشهای خشکی (٤٦) ، کادمیوم (٢٠ و ٢٧) و شوری (٤١) گزارش شده است. در این گیاهان نیز کاربرد SNP به عنوان ترکیب رها کننده NO باعث کاهش مقدار MDA تحت تنش شده است و زمانی که cPTIO به عنوان ترکیب روبنده NO به کار رفته اثر NO در کاهش مقدار MDA خنثی گردیده است.

در این آزمایش وقتی گیاهان با Arg و یا SNP پیش تیمار شدند، مقدار مالون دآلدئید به طور چشمگیری کاهش یافت. این اثر به خصوص در مورد پیش تیمار با SNP کاملاً محسوس بود. (نمودار ١- A). اما وقتی SNP توأم با PT1O به کار رفت از اثر SNP در کاهش پراکسیداسیون لیپید، کاسته شد و این موید نقش NO رها شده از SNP تحت شرایط تنش است. زیرا وقتی روبنده NO (PT1O) استفاده گردید اثرNO کاهش یافت. تأثیر پیش تیمار با Arg به تنهایی و Arg توأم با LNAM در کاهش مقدارMDA تقریباً یکسان بود. کاربرد LNAM به عنوان بازدارنده مسیر بیوسنتز NO، اثر معنی داری در کاهش اثر Arg در مقدار محصولات پراکسیداسیون نداشت (١-B). گزارش شده است که نقش NO در جلوگیری از پراکسیداسیون لیپید مربوط به توانایی NO در واکنش با رادیکالهای لیپید آلکوکسیل ($LO^{\bullet}$) و لیپید پراکسیل ($LOO^{\bullet}$) و توقف زنجیره پراکسیداسیون است (٣)، که با نتایج مشاهده شده در این پژوهش که در آن مقدار مالون دآلدئید کاهش نشان داد مطابقت دارد. نقش NO در کاهش میزان پراکسیداسیون لیپید قبلاً توسط Laspina و همکاران (٢٠٠٥) (٢٧) و Hsu and Kao (٢٠٠٤) (٢٠)، در تنش فلز سنگین کادمیوم نیز گزارش شده است. Tian و Li (٢٠٠٦) نیز اثر NO را در کاهش پراکسیداسیون لیپیدها درگیاهچه گندم تحت تنش خشکی گزارش کردند(٤٦). اما در مورد پیش تیمار با Arg به نظر می رسد که مکانیسمهای دیگری غیر ازNO نیز در کاهش پراکسیداسیون لیپید نقش داشته باشد. نتایج تقریباً یکسان در پیش تیمار با Arg و Arg+LNAM در شرایط تنش خشکی این فرضیه را تأیید می کند.

نتایج به دست آمده از آنالیز رنگیزه های فتوسنتزی نشان داد که مقادیر کلروفیل a، b، کلروفیل کل و کاروتنوئیدها تحت شرایط تنش خشکی تغییر معنی داری نداشته است. در بسیاری از گونه ها تحت تنش خشکی کاهش مقدار رنگیزه های گیاهی گزارش شده است (٢٣)، اما در بعضی دیگر نیز مشاهده شده که مقدار کلروفیل تحت تنش خشکی تغییر معنی داری ندارد (١٢ و ٣٣). برای مثال مشاهده شده که ٥ روز تنش خشکی تغییر معنی داری در مقدار کلروفیل گیاه *Aeluropus lagopoides* ایجاد نکرده اما ١١ روز تنش مقدار کلروفیل را کاهش داده است (٣٣). در گیاه *Allium schoenoprasum* نیز گزارش شده است که تنش خشکی به مدت ٩ روز تأثیر معنی داری در مقدار کلروفیل در مقایسه با گیاه شاهد نداشته است (١٢). پیش تیمار گیاهان گوجه با SNP و یا آرژنین در این پژوهش نیز تأثیر معنی داری بر محتوای کلروفیلها و کاروتنوئید تحت این شرایط نداشت.

اکسیداسیون پروتئینها نیز مانند پراکسیداسیون لیپید ها از اصلی ترین صدمات اکسیداتیوی و جز شاخصهای اولیه

Archive of SID
www.SID.ir

تنش اکسیداتیو محسوب می گردد (٤٠). بیشترین مطالعه انجام شده در مورد اکسیداسیون پروتئینها مربوط به تشکیل گروههای کربونیل می شود که در نتیجه برخورد رادیکالهای اکسیژن به خصوص هیدروکسیل با اسیدهای آمینه جانبی پروتئینها شکل می گیرد. گروههای کربونیل به راحتی با ماده دی نیتروفنیل هیدرازین (DNPH) واکنش می دهد و قابل تشخیص و اندازه گیری است (٤٢). خشکی با تولید رادیکالهای سوپراکسید یا هیدروکسیل باعث اکسیداسیون اسیدهای آمینه به گروههای کربونیل می شود و به ساختار پروتئین و عملکرد آن آسیب وارد می کند. پروتئینهای تغییر شکل یافته بیشتر تحت تأثیر پروتئازهای سلولی قرار گرفته و واسرشت می شوند (٣٥).

افزایش گروه کربونیل در گیاه گوجه فرنگی تحت تنش خشکی نشان دهنده آسیب به پروتئینها تحت این شرایط است و به نظر می رسد که پیش تیمار گیاهان با SNP و Arg نقش به سزایی در حفاظت پروتئینها تحت شرایط تنش داشته است (نمودارهای٣-A و ٣-B). Takeda و همکاران (١٩٩٥) گزارش کردند که پراکسید هیدروژن حتی در غلظتهای بسیار پایین باعث اکسیداسیون آنزیمهای چرخه کالوین مثل گلیسرآلدئید دهیدروژناز و فروکتوز بیس فسفاتاز شده و فعالیت آنها را باز می دارد (٤٥). در این مطالعه نیز افزایش پراکسید هیدروژن تحت تنش خشکی کاملاً معنی دار است و افزایش اکسیداسیون پروتئینها احتمالاً به همین دلیل است. نقش پیش تیمار SNP احتمالاً مربوط به NO رها شده از آن می باشد Shi و همکاران نیز گزارش کردند که نقش NO در کاهش اکسیداسیون پروتئینها مربوط به توانایی NO در القاء آنزیم SOD و تبدیل آنیون سوپراکسید به پراکسید هیدروژن و اکسیژن مولکولی است که در حفاظت سلولی بسیار مهم است (٤١). NO با تبدیل سوپراکسید به پراکسید هیدروژن این آنیون را از سلول حذف می کند و از طرف دیگر با القای آنزیمهای آنتی اکسیدان مثل APX، سمیت آب اکسیژنه را نیز کاهش می دهد (٢٥). نیتریک اکسید همچنین می تواند با آنیون سوپراکسید مستقیماً واکنش داده و تولید رادیکال پراکسی نیتریت کند که سمیت و خسارت آن به سلولها کمتر از رادیکالهای اکسیژن است (٢).

اما اثر حفاظتی پیش تیمار با Arg در کاهش اکسیداسیون پروتئینها احتمالاً مربوط به سنتز پلی آمینها و پرولین می باشد که می توانند نقش آنتی اکسیدانی در گیاه بازی نمایند علاوه بر این پلی آمینها به دلیل خاصیت پلی کاتیونی که دارند می توانند تثبیت کننده پروتئینها در برابر رادیکالهای آزاد اکسیژن باشند (٣٢). در مطالعه بر روی گیاه *Eruca sativa* گزارش شده است که کاربرد آرژینین و اسید اوریک برون زا باعث افزایش تحمل گیاه به تنش شوری شده است (٤٨). استفاده از Arg و Arg +LNAM در حفظ پروتئینها و کاهش گروههای کربونیل در گیاه گوجه تحت تنش خشکی مشابه بود و این مؤید این مطلب است که احتمالاً نقش NO در این میان ضعیف است و مسیر اصلی متابولیسم Arg به طرف پلی آمینها و پرولین است و از این طریق حفاظت خود را اعمال می کنند. علاوه بر این در مطالعات زیادی نقش پلی آمینها در القاء سنتز آنزیمهای آنتی اکسیدان به کرات گزارش شده است. شاید پیش تیمار با Arg در این مطالعه منجر به سنتز پلی آمین ها شده و پلی آمینها نقش خود را از این طریق اعمال کرده اند.

نتایج حاصل از آنالیز ترکیبات فنلی نشان داد که خشکی باعث افزایش مقدار این ترکیبات می گردد و پیش تیمار SNP در تنش خشکی این مقدار را افزایش می دهد (نمودار ٥). اما پیش تیمار گیاهان با Arg تأثیر معنی داری در مقدار فنلها در گیاهان شاهد و تحت تنش نداشت. افزایش مقدار این ترکیبات احتمالاً به دلیل نقش آنتی اکسیدانی آنها در برابر ROS هاست. بسیاری از ترکیبات فنلی از پالاینده های بسیار کارآمد پراکسید هیدروژن، رادیکالهای هیدروکسیل و پراکسیل هستند و به همین دلیل می توانند متوقف کننده زنجیره پراکسیداسیون لیپید و

Archive of SID
www.SID.ir

باعث ثبات غشاها باشند (٦، ١٥ و ٤٩). در این واکنش فنلها به رادیکال فنوکسیل اکسیده می شوند که این رادیکالها توسط آسکوربات دوباره احیاء می گردند. آسکوربات اکسید شده توسط سیکل آسکوربات-گلوتاتیون مجدداً بازسازی می گردد (٤٩). نقش نیتریک اکسید در افزایش ترکیبات فنلی در این بررسی احتمالاً مربوط به افزایش فعالیت PAL است. زیرا القای فعالیت PAL توسط NO در برخی مطالعات گزارش شده است (٢٠ و ٤٦). در مورد کاربرد Arg به نظر نمی رسد که مسیر بیوسنتزی NO مسیر اصلی و فعال در متابولیسم آرژینین تحت تنش خشکی باشد زیرا در گیاهانی که فقط با Arg پیش تیمار شده بودند تغییر معنی داری در مقدار فنلها مشاهده نشد و کاربرد LNAM توأم با Arg نیز نتایج مشابه Arg در گیاهان تحت تنش داشت بنابراین می توان نتیجه گرفت که تولید NO در شرایط تیمار Arg بسیار کم بوده است (نمودار٥).

نتایج حاصل از سنجش پرولین و اسیدهای آمینه آزاد در گیاه گوجه فرنگی نشان داد که میزان این ترکیبات تحت تنش خشکی افزایش معنی داری داشته اند (نمودار٦و٧). پرولین تحت تنش خشکی تقریباً ٣ برابر شد و پیش تیمار Arg و Arg+LNAM باعث افزایش مقدار پرولین تحت تنش خشکی گردید. پیش تیمار گیاهان با SNP نیز باعث افزایش پرولین تحت تنش خشکی گردید (نمودار ٦-B) که این امر می تواند به دلیل افزایش سنتز پرولین باشد زیرا در مطالعات قبلی آلقاء و افزایش فعالیت آنزیم ٥-کربوکسیلات سنتتاز (P5Cs) در مسیر سنتز پرولین توسط NO در گندم تحت تنش خشکی (٤٦) گزارش شده است. علاوه بر این استفاده از PT1O و حذف NO از محیط، اثر SNP را در این پژوهش کاهش داد که خود دلیلی محکم بر نقش NO در افزایش پرولین است. در مورد پیش تیمار با آرژینین به نظر می رسد که با کمک مسیری مستقل از NO باعث افزایش بیوسنتز پرولین شده باشد. زیرا در حضور بازدارنده سنتز NO (LNAM) باز هم افزایش در بیوسنتز پرولین دیده می شود. Yaghi و Al-Abdulkareem (٢٠٠٦) نیز گزارش کردند که پیش تیمار گیاه *Eruca* با آرژینین برون زا باعث افزایش تحمل گیاه به تنش شوری شده است در این گیاه نیز افزایش سنتز پرولین و اسیدهای آمینه آزاد گزارش شده است (٤٨). در تنشهای محیطی اسیدهای آمینه اغلب نقش اسمولیت برای گیاه داشته و در حفظ و نگهداری آب گیاه کمک می کنند. افزایش اسیدهای آمینه در این پژوهش نیز احتمالاً به همین دلیل است.

قندهای محلول از دیگر اسمولیتهای مهمی هستند که افزایش آن در پاسخ به تنش خشکی گزارش شده است. نتایج ضد و نقیضی در مورد اثر تنش خشکی و شوری بر تجمع قند در گیاهان وجود دارد. برخی محققان گزارش کرده اند که محتوای قند تحت تنش افزایش می یابد (٢٤)، برخی دیگر معتقدند که محتوای قند کاهش می یابد (١٨) و یا ثابت باقی می ماند (٣٦). در این بررسی افزایش محتوای قند های محلول تحت تنش خشکی مشاهده شد که احتمالاً به دلیل هیدرولیز نشاسته و افزایش قندهای محلول حاصل از آن است. پیش تیمار SNP و Arg در این مطالعه اثر معنی داری بر مقدار قندهای محلول در گیاهان شاهد و تحت تنش نداشت و به نظر می رسد که NO نقش مستقیمی در بیوسنتز قندها در شرایط تنش ندارد.

در مطالعه حاضر نقش پیش تیمار SNP و Arg در کاهش صدمات ناشی از خشکی مطالعه و مقایسه گردید و مشاهده شد که اثرات حفاظتی SNP مستقیماً به رهایش NO ار آن وابسته بود و با به کاربردن ترکیب روبنده NO نقش SNP کاهش یافته یا کاملاً محو گردید اما در مورد پیش تیمار Arg، به نظر می رسد که گیاهان با دریافت آرژینین سایر مسیرهای متابولیسمی مثل مسیر بیوسنتز پلی آمینها یا پرولین را بر مسیر بیوسنتز نیتریک اکسید ترجیح می دهند زیرا درصورت استفاده توام از آرژینین و LNAM و جلوگیری ار سنتز نیتریک اکسید اختلالی در اثر حفاظتی آرژینین مشاهده نشد.

Archive of SID

www.SID.ir

منابع

1. Alexieva,V., Sergiev, I., Mapelli, S., Karanov, E (2001) The effect of drought and ultraviolet radiation on growth and stress markers in pea and wheat. Plant. Cell Environ. 24: 1337-1344.
2. Bates, L.S (1973) Rapid determination of free proline for water stress studies. Plant Soil. 39: 205-207.
3. Beligni MV, Lamattina L (2001) Nitric oxide in plants: the history is just beginning. Plant Cell Environ 24: 267-278
4. Beligni, M.V., Lamattina, L (1999) Nitric oxide counteracts cytotoxic processes mediated by reactive oxygen species in plant tissues. Planta. 208, 337-344
5. Bohner, H.J., and Jensen, R.G (1996) Strategies for engineering water- stress tolerance in plants. Trends. Biotech. 14: 89-97.
6. Chang, W.C., Kim, S.C., Hwang, S.S., Choi, B.K., and Kim, S.K (2002) Antioxidant activity and free radical scavenging capacity between Korean medicinal plants and flavonoids by assay-guided comparison. Plant. Sci. 163: 1161-1168.
7. Chen, H., Mc Carig, B., Melotto, M., Yang He, S., Howe, G.A (2004) Regulation of plant arginase by wounding, Jasmonate and the phytotoxin coronatine. J. Biol. Chem. 279, 45998-46007
8. Cheng, F.Y., Hsu, S.Y., Kao, C.H (2002) Nitric oxide counteract the senescence of detached rice leaves induced by dehydration and polyethylene glycol but not by sorbitol. Plant.Growth. Regul. 38, 265-272.
9. Cueto, M., Herandez-Perea, O., Martin, R., Bentura, M.L., Rodrigo, J., Lama, S., Golvano, M.P (1996) Presence of nitric oxide synthase activity in root and nodules of *Lupinus albus*. FEBS.Lett. 398, 159-164
10. Delauney, A.J., and Verma, D.P.S (1993) Proline biosynthesis and degradation in plants. Plant. J. 4: 215-223.
11. Durner, J., Klessig, D.F (1999) Nitric oxide as a signal in plants. Curr. Opin. Plan Biol. 2, 369-374
12. Egert M, Tevini M (2002) Influence of drought on some physiological parameters symptomatic for oxidative stress in leaves of chives (*Allium schoenoprasum*). Environ Exp Bot 48: 43-49
13. Foyer, C.H., and Halliwell, B (1976) The presence of glutathione and glutathione reductase in chloroplast: a proposed role in ascorbic acid metabolism. Planta. 133: 21-25.
14. Fu, J., and Huang, B (2001) Involvement of antioxidant and lipid peroxidation in the adaptation of two cool-season grasses to localized drought stress. Env. Exp. Bot. 45: 105-114.
15. Gao, X., Ohlander, M., Jeppsson, N., Bjork, L., and Trajkovski, V (2000) Changes in antioxidant effects and their relationship to phytonutrients in fruit of sea buckthourn (*Hippophae rhamnoides.L*) during maturation. J. Agri. Food Chem. 48: 1458-1490.
16. Guo, F.Q (2003) Identification of a plant nitric oxide synthase gene involved in hormonal signaling. Sci. 302, 100-103
17. Halliwel B, Gutteridge JM (1984) Oxygen toxicity, oxygen radicals, transition metal and disease. Biol Chem J 219: 1-14
18. Hanson, A.D., and Hitz, W.D (1982) Metabolic responses of plant water deficit. Annu. Rev. Plant. Physiol. 23: 163-203.
19. Heath, R.L., and Packer, L (1968) Photoperoxidation in isolated chloroplast, kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. Arch. Biochem. Biophy. 125: 189-198.
20. Hsu, Y.T., Kao, C.H (2004) Cd toxicity is reduced by nitric oxide in rice leaves. Plant.Growh. Regul. 42, 227-238
21. Huang, X., Rad, UV., Durner, J (2002) Nitric oxide induces transcriptional activation of the nitric oxide-tolerant alterative oxidase in Arabidopsis suspension cells. Planta. 215, 914-923
22. Hwang, M., and Ederer, G.M. 1975. Rapid hippurate hydrolysis method for presumptive identification of group B streptococci. J. Clin. Microbiol. 1: 114-117.
23. Iturbe-ormaetxe, I., Escuredo, P.R., Arrese-Igor, C., and Becana, M (1998) Oxidative damage in pea plant exposed to water deficit or paraquat. Plant. Physiol.116: 173-181.

Archive of SID

www.SID.ir

24. Jones, M.M., and Turner, N.C (1980) Osmotic adjustment in expanding and fully expanded leaves of sunflower in response to water deficits. Aust. J. Plant. Physiol. 7: 181-192.

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

26. Lamattina , L., Garcia-Mata, C., Graziano, M., Pagnussat, G (2003) Nitric oxide: the versatility of an extensive signal molecule .Ann .Rev .Plant. Biol. 54, 109-136

27. Laspina NV, Groppa MD, Tomaro ML, Benavides MP (2005) Nitric oxide protects sunflower leaves against Cd-induced oxidative stress. Plant Sci 169: 323-330.

28. Leshem, Y.Y (1996) Nitric oxide in biological systems. Plant.Growth. Regul. 18, 155-159

29. Levine, R.L., Willians, J,A., Stadtman, E.R., and Shacter, E (1994) Carbonyl assay for determination of oxidative modified proteins. Method. Enzym. 233: 346-363.

30. Lichtenthaler, H.K (1987) Chlorophyll and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. Method Enzym. 148: 350-382.

31. Loggini, B., Scartazza, A., brugnol, E., and Navari-Lzzo, F (1999) Antioxidativ defense system, Pigment composition and photosynthetic efficiency in two wheat cultivars subjected to drought. Plant. Physiol. 119: 1091-1099

32. Matysik J, Alia B, halu B, Mohanty P (2002) Molecular mechanisms of quenching of reactive oxygen species by proline under stress in plants. Current Sci 82: 525-532

33. Mohsenzadeh S, Malboobi MA, Razavi K, Farrahi-Ashtiani (2006) Physiological and molecular responses of *Aeluropus lagopoides* (poaceae) to water stress. Environ Exp Bot 56: 314-322

34. Monakhova, O.F., and Chernyad´ev, I.I (2002) Protective role of kartolin-4 in wheat plants exposed to soil drought. App.Biochem.Microbiol. 38: 373-380.

35. Moran, J.F., Becana, M., Iturbe-ormaetxe, I., Frechilla, S., Klucas, R.V., and Aparicio-Tejo, P (1994) Drought induces oxidative stress in pea plants. Planta.194: 346-352.

36. Morgan, J.M (1992) Osmotic components and properties associated with genotypic differences in osmoregulation in wheat. Aust. J. Plant .Physiol. 19: 67-76.

37. Nayyar, H (2003) Acclimation of osmolytes and osmotic adjastmant in water-stressed wheat and maiz as affected by calcium and its antagonists. Env. Exp. Bot. 50: 253-264.

38. Roe, J.H (1955) The determination of sugar in blood and spinal fluid with anthrone reagent. J. Biol. Chem. 212: 335-343.

39. Scandadalius JG (1993) Oxygen stress and superoxide dismutase. Plant. Physiol 101: 7-12

40. Sharma, P., and Dubey, R. S (2005) Drought induces oxidative stress and enhances the activities of antioxidant enzymes in growing rice seedlings. Plant. Growth. Regul. 46: 209-221.

41. Shi Q, Ding F, Wang X, Wei M (2007) Exogenous nitric oxide protect cucumber roots against oxidative stress induced by salt stress. Plant Physiol Biochem 1-9

42. Shulaev V, Oliver DJ (2006) Metabolic and proteomic markers for oxidative stress. New tools for reactive oxygen species research. Plant Physiol 141: 367-372.

43. Singleton, V. L., and Rossi, J. A (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. Am. J. Enolo. Viticul. 16: 144-153.

44. Smirnoff, N (1993) The role of active oxygen in the response of plants to water deficit and desiccation. New Phytol. 125: 27-58.

45. Takeda, T., Yokota, A., and Shigeoka, S (1995) Resistance of photosynthesis to hydrogen peroxide in algae. Plant. Cell. Physiol. 36: 1089-1095.

46. Tian, X., and Li, Y (2006) Nitric oxide treatment alleviates drought stress in wheat seedlings. Biol. Plant. 50: 775-778.

47. Tu, J., Shen, W.B., and Xu, L.L (2003) Regulation of nitric oxide on the aging process of wheat leaves. Act. Bot.Sin.45: 1055-1062.

48. Yagi, M. I., and Al-Abdulkareem, S. S (2006) Effects of exogenous arginine and uric acid on *Eruca sativa* Mill growth under saline condition. J. Sc. Tech. 7: 1-10.

49. Yamasaki, H., Sakihama, Y., and Ikehara, N (1997) Flavonoid-peroxidase reaction as a detoxification mechanism of plant cells against H_2O_2. Plant Physiol. 115: 1405-1412.

50. Youssefian, S., Nakamura, M., Orudgev, E., Kondo, N (2001) Increased cysteine biosynthesis capacity of transgenic tobacco

Archive of SID

www.SID.ir

over expressing an O-acetylserine (thiol) lyase modifies plant responses to oxidative stress. Plant Physiol. 126: 1001-1011.

51. Zhang, J., and Kirkham, M.B (1995) Water relations of water-stressed, split-root C_4 (*sorghum bicolor*; Poaceae) and C_3 (Helianthus annus; Asteraceae) plants. Am. J. Bot. 82: 1220-1229.

52. Zhao, M., Tian, Q., Zhang, W (2007) Nitric oxide synthase-dependent nitric oxide production is associated with salt tolerance in Arabidopsis. Plant Physiol. 144: 206-217.

Comparison the effects of sodium nitroprusside and arginine pretreatment on some physiological responses of tomato plant *(Lycopersicun esculentum)* under water stress

Nasibi F.[1], Manouchehri Kalantari Kh.[1] and Yaghoobi M.M.[2]

[1] Biology Dept., Shahid Bahonar University, Kerman, I.R. of IRAN

[2] International Center for Science, High Technology & Environmental sciences, Kerman, I.R. of IRAN

Abstract

Water deficit is one of the most important environmental factors that regulate plant growth and development, and limits plant production. Nitric oxide (NO) is a diffusible gaseous free radical which is produced from L-arginine by Nitric oxide synthase (NOS). Low concentrations of NO inhibit the production of reactive oxygen species and protect plants against ROS damages. In this research the effects of Arg and SNP pretreatment on alleviation of drought stress in tomato plants, were studied and compared. In this research water stress induced the increment of MDA, hydrogen peroxide and carbonyl groups as indicator of oxidative stress. Results showed that total polyphenols, proline, free amino acids and soluble sugar increased significantly under water stress. Pretreatment of plants with Arg and SNP reduced MDA and H_2O_2 content significantly. Pretreatment of plants with SNP reduced the carbonyl groups however the Arg pretreatment had no effects in this parameter. SNP pretreatment increased the total phenol content but had no significant effect on proline and free amino acids. However Arg pretreatment had no significant effects on total polyphenols, but increased the proline and free amino acids content. Both Arg and SNP pretreatment had no effects on photosynthetic pigments and soluble sugars. The application of the Arg and SNP inhibitors showed that the effect of SNP related to NO releasing and in the case of Arg, it seems that other pathways of Arg metabolism such as polyamines and proline biosynthesis rather than NOS may activate

Keywords: SNP, Arginine, protein oxidation, proline, soluble sugars

Archive of SID

www.SID.ir