Archive of SID

دوماهنامه علمی- پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران
شناسه دیجیتال (DOI): 10.22092/ijmapr.2017.108603.1906
جلد ۳۳، شماره ۴، صفحه ۶۴۸-۶۳۶ (۱۳۹۶)

اثرات کاربرد خارجی سدیم نیترو پروساید در افزایش تحمل به خشکی در دو ژنوتیپ ماریتیغال (*Silybium marianum* (L.) Gaertn.)

اسماعیل زنگانی[1*]، سعید زهتاب سلماسی[2]، بابک عندلیبی[3] و عباسعلی زمانی[4]

۱*- نویسنده مسئول، دانشجوی دکترا، گروه اکوفیزیولوژی گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران

پست الکترونیک: zangani@znu.ac.ir

۲- استاد، گروه اکوفیزیولوژی گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز، تبریز،ایران

۳- استادیار، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان، زنجان، ایران

۴- استادیار، گروه محیط‌زیست، دانشکده علوم، دانشگاه زنجان، زنجان، ایران

تاریخ دریافت: آذر ۱۳۹۵ تاریخ اصلاح نهایی: خرداد ۱۳۹۶ تاریخ پذیرش: مرداد ۱۳۹۶

چکیده

به‌منظور بررسی اثرات سدیم نیتروپروساید بر افزایش تحمل به خشکی در ماریتیغال (*Silybium marianum* (L.) Gaertn.)، آزمایشی به‌صورت کرت‌های دو بار خرد شده در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه زنجان در سال ۱۳۹۳ انجام شد. در این آزمایش سدیم نیتروپروساید (SNP) در سه سطح صفر، ۱۰۰ و ۲۰۰ میکرومول در لیتر به‌عنوان فاکتور اصلی، تنش خشکی در سه سطح شاهد و قطع آبیاری از مرحله ساقه‌روی و گرده‌افشانی تا پایان دوره رشد به‌عنوان فاکتور فرعی و دو ژنوتیپ ماریتیغال (مجاری و ساری) به‌عنوان فاکتور فرعی فرعی در نظر گرفته شدند. با افزایش شدت خشکی سرعت فتوسنتز برگ حدود ۴۵٪ نسبت به شاهد در هر دو ژنوتیپ کاهش معنی‌داری نشان داد، در صورتی‌که با کاربرد ۱۰۰ میکرومولار سدیم نیتروپروساید، فتوسنتز برگ تا حدود ۸۰٪ و ۱۰۰٪ به‌ترتیب در رقم مجاری و اکوتیپ ساری نسبت به عدم کاربرد آن در تنش ساقه‌روی افزایش معنی‌داری یافت. قطع آبیاری سبب کاهش معنی‌دار رنگریزه‌های فتوسنتزی در اکوتیپ ساری گردید، در صورتی‌که این کاهش در زمان تنش ساقه‌روی با کاربرد سدیم نیتروپروساید بهبود یافت. تنش خشکی در هر دو مرحله قطع آبیاری سبب کاهش عملکرد دانه در هر دو ژنوتیپ گردید، در حالی‌که با کاربرد خارجی ۱۰۰ میکرومولار سدیم نیتروپروساید این کاهش به‌ویژه در اکوتیپ ساری جبران شد. همچنین قطع آبیاری عملکرد ماده مؤثره را کاهش داد ولی این کاهش به‌ویژه در مرحله تنش گرده‌افشانی با افزایش درصد سیلیمارین و عملکرد دانه تحت محلول‌پاشی با ۱۰۰ میکرومولار SNP جبران گردید. نتایج این تحقیق نشان داد که غلظت ۱۰۰ میکرومولار سدیم نیتروپروساید در محافظت از گیاه ماریتیغال با افزایش شدت خشکی و کشت این گیاه در سیستم‌های کمبود آب مؤثر می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: اکسید نیتریک، سرعت فتوسنتز، سیلیمارین، قطع آبیاری، محتوای نسبی آب.

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

ماریتیغال (*Silybium marianum* L.) گیاهیست یک‌ساله یا دوساله از تیره کاسنی که بومی مدیترانه بوده ولی در بسیاری از مناطق دنیا به‌ویژه نواحی خشک و گرم رشد می‌کند (Morazzoni & Bombard, 1995). مواد مؤثره ماریتیغال تحت عنوان سیلیمارین شناخته می‌شود که در میوه‌های این گیاه تجمع می‌یابند (Kvasnicka *et al.*, 2003). این مواد مؤثره در درمان مشکلات کبدی و برخی بیماری‌های دیگر مؤثر می‌باشند (Flora *et al.*, 1998).

تنش های محیطی ازجمله خشکی، متابولیت های ثانویه تولیدی گیاهان دارویی را تحت تأثیر قرار می دهند، اگرچه متابولیت های ثانویه به‌طور مستقیم تحت فرایندهای متابولیکی اولیه مانند فتوسنتز، تنفس و تعرق قرار نمی‌گیرند (Belitz & Sams, 2007) اما عملکرد مواد مؤثره تولیدی تحت تأثیر عملکرد اقتصادی گیاه و در نتیجه تابع شرایط محیطی می‌باشد. Hammouda و همکاران (۱۹۹۳) نشان دادند که سطوح سیلیمارین و ترکیب های تشکیل‌دهنده آن به‌وسیله آب قابل دسترس متأثر شده‌است. به‌طور کلی تنش خشکی اثرات زیان‌آوری روی فرایندهای متابولیکی گیاه ازجمله روابط آبی، جذب مواد غذایی، فتوسنتز و توزیع اسیمیلات‌ها دارد (Egilla *et al.*, 2005). در سطح گیاه کامل اثرات کمبود آب معمولاً به صورت کاهش در فتوسنتز و رشد گیاه نمایان می گردد (Tan *et al.*, 2008؛ Garcia-Mata & Lamattina, 2001)؛ در سطح مولکولی، اثرات منفی تنش مرتبط با زیان اکسیداتیو به سلول‌های گیاهی به دلیل عدم توازن بین تولید گونه های فعال اکسیژن (ROS) و سازوکارهای دفاعی آنتی‌اکسیدانی می‌باشد (Sharma & Dubey, 2005). رشد گیاه اگرچه به‌وسیله فرایندهای فیزیولوژیکی، بیوشیمیایی و مولکولی کنترل می شود اما فتوسنتز یک پدیده کلیدی است که در رشد و نمو گیاه شرکت می‌کند (Ashraf & Harris, 2013)؛ به‌عنوان مثال در پنبه، کاهش در عملکرد لینت تحت تنش کمبود آب به‌دلیل عواملی مانند کاهش در میانگین کارایی فتوسنتزی می‌باشد (Chastain *et al.*, 2014). یک راهبرد برای بهبود عملکرد گیاهان دارویی، تولید گیاهانیست که نسبتاً به خشکی مقاوم هستند و تحت تنش تولید بیشتری نشان می دهند. در گیاهان دارویی یکی از کاربردهای مؤثر القای خشکی، افزایش کیفیت در گیاهان یا افزایش مواد مؤثره می‌باشد (Selmar & Kleinwächter, 2013). البته اگرچه محتوای متابولیت‌های ثانویه در برخی از گیاهان دارویی ممکن است تحت تنش خشکی افزایش نشان دهد، اما عملکرد ماده مؤثره تولیدی تحت شرایط تنش کاهش می یابد. Alkire و همکاران (۱۹۹۳) اثرات آبیاری کافی را در افزایش رشد و میزان اسانس گیاه نعناع گزارش و بیان کردند که تیمارهای آبیاری هیچگونه تأثیری در نوع اجزاء تشکیل‌دهنده اسانس نداشت.

امروزه کاربرد مولکول‌های پیام‌رساننده مانند اکسید نیتریک (NO) یک توانی برای بهبود تحمل به تنش در گیاهان ایجاد کرده است. اکسید نیتریک (Nitric Oxide) یک مولکول گازی نسبتاً پایدار کوچک، قابل حل در آب و چربی و به‌عنوان یک مولکول پیام‌بر زیستی مهم در گیاهان می‌باشد که از طریق غشاءها انتشار می‌یابد (Misra *et al.*, 2011). اکسید نیتریک در تنظیم خیلی از فرایندهای فیزیولوژیکی گیاه از تحریک جوانه‌زنی (Sarath *et al.*, 2006) تا تنظیم فتوسنتز و گلدهی (Tan *et al.*, 2008؛ Simpson, 2005) وارد عمل می‌شود، اخیراً مشخص شده که NO به‌عنوان یک مولکول پیام‌رسان کلیدی در واکنش گیاه به تنش‌های زنده و غیرزنده به‌عنوان واسطه و انتقال پیام در عمل تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی شرکت می‌کند (Xiong *et al.*, 2012). مطالعات نشان می‌دهد که NO برخی اثرات محافظتی را برای گیاهان تحت تنش خشکی ایجاد می‌کند که مرتبط با دفاع آنتی‌اکسیدانی می‌باشد (Arasimowicz & Floryszak-Wieczorek, 2007). گزارش شده که کاربرد خارجی NO بستن روزنه‌ها را تحریک و سلول‌ها را علیه تنش‌های اکسیداتیو محافظت می‌کند (Neill *et al.*, 2008). در آزمایشی بر روی برنج مشخص شد که محلول‌پاشی با NO کارایی بیشتری نسبت به

www.SID.ir

Archive of SID

پرایمینگ بذری داشته و نیز غلظت ۱۰۰ میکرومولار تأثیر بیشتری در افزایش فتوسنتز، تبادلات گازی و رشد گیاهچه در شرایط تنش داشته است (Farooq *et al.*, 2009). بنابراین در ارتباط با مطالعات قبلی در مورد اثرات SNP در گیاهان در شرایط تنش، فرض بر این است که کاربرد خارجی‌دهنده‌های اکسید نیتریک می‌توانند در تعدیل کاهش عملکرد ماریتیغال در سیستم‌های کمبود آب مؤثر باشند. البته گرچه راهبردهای مختلفی در مورد بهبود اثرات منفی تنش در گیاهان ارائه شده است، اما در مورد نقش فیزیولوژیکی NO در تعدیل تنش خشکی در گیاه ماریتیغال هیچ مطالعه‌ای انجام نشده است. در این مطالعه نقش سدیم نیتروپروساید (SNP) به‌عنوان دهنده اکسید نیتریک در بهبود تحمل به خشکی در گیاه ماریتیغال بر پایه برخی تغییرات فیزیولوژیکی و عملکرد کمّی و کیفی دانه در سطح مزرعه مورد بررسی قرار گرفته است.

مواد و روش‌ها

این تحقیق در مزرعه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه زنجان (با عرض جغرافیایی ۴۱: ۳۶ شمالی، طول جغرافیایی ۲۴: ۴۸ شرقی و با ارتفاع ۱۶۲۰ متر از سطح دریا) اجرا شد. خصوصیات خاک محل تحقیق در جدول ۲ نشان داده شده است. این منطقه جزء مناطق نیمه‌خشک بوده و میانگین دمای ۵۰ ساله ۱۱/۲°C و بارندگی ۳۰۰ میلی‌متر می‌باشد. آزمایش به‌صورت فاکتوریل (۲×۳×۳) با سه تکرار در قالب طرح کرت‌های دوبار خرد شده اجرا شد. محلول‌پاشی با سدیم نیتروپروساید (SNP) به‌عنوان دهنده اکسید نیتریک (NO) در سه سطح صفر، ۱۰۰ و ۲۰۰ میکرومول در لیتر به‌عنوان عامل اصلی، تنش خشکی در سه سطح شاهد (بدون قطع آبیاری تا پایان دوره رشد)، تنش ساقه‌روی (قطع آبیاری در اواسط ساقه‌روی تا پایان دوره رشد) و تنش گرده‌افشانی (قطع آبیاری در مرحله تشکیل دانه تا پایان دوره رشد) به‌عنوان عامل فرعی و دو ژنوتیپ ماریتیغال به‌عنوان عامل فرعی فرعی در نظر گرفته شدند. بذرهای ماریتیغال شامل یک اکوتیپ داخلی (توده بومی ساری) و یک رقم با منشأ خارجی (رقم مجاری) از شرکت پاکان بذر اصفهان تهیه گردید. کاشت بذرها در تاریخ ۹۳/۱/۸ انجام شد. هر کرت فرعی فرعی شامل شش خط چهار متری با فاصله ۵۰ سانتی‌متر و تراکم هشت بوته در مترمربع تنظیم گردید. آبیاری مزرعه هر هفت روز یک‌بار به‌طور یکنواخت در کلیه کرت‌ها تا زمان شروع تیمارهای قطع آبیاری و با استفاده از نوارهای آبیاری با شیرهای قابل کنترل انجام شد. برای اعمال سطوح تنش خشکی، آب آبیاری از اواسط ساقه‌روی (۷۰ روز پس از کاشت) تا برداشت و دیگری از اواسط گلدهی (۸۴ روز پس از کاشت) تا برداشت گیاه قطع گردید. گیاهان شاهد نیز با توجه به نیازشان به حداقل کمبود آب تا ۱۰ روز قبل از رسیدگی فیزیولوژیکی آبیاری شدند. پس از قطع آبیاری بارندگی مؤثری در منطقه نبارید. در این تحقیق تیمارهای قطع آبیاری بر پایه نتایجی از مطالعه قبلی در شرایط مزرعه که نشان می‌دهد عملکرد مطلوب ماریتیغال زمانی که ۷۵٪ آب مورد نیاز خود را دریافت می‌کند انتخاب گردید (Hammouda *et al.*, 1993). مقدار کود مصرفی با توجه به نتایج آزمون خاک در حدود ۶۰ کیلوگرم نیتروژن خالص در هکتار (از منبع اوره، ۵۰٪ قبل از کاشت و ۵۰٪ قبل از ساقه‌روی) بود. محلول‌پاشی با SNP (حجم محلول‌پاشی ۷۰۰ لیتر در هکتار)، پنج روز بعد از قطع آبیاری در اواسط ساقه‌روی بر روی کل گیاه، اوایل صبح و بعد از غروب آفتاب، در تیمارهای مورد نظر انجام و یک هفته بعد نیز تکرار شد (در زمان گرده‌افشانی).

سرعت فتوسنتز

سرعت اسیمیلاسیون خالص CO_2 برگ (Pn)، ۲۰ روز پس از قطع آبیاری از زمان ساقه‌روی (حدود هشت روز پس از قطع آبیاری از زمان گرده افشانی) از برگ‌های کاملاً باز شده بالغ مربوط به ابتدای ساقه اصلی با استفاده از یک دستگاه فتوسنتزی پرتابل بر پایه آنالیز گاز مادون قرمز (Lci, ADC-Co. U.K.) بر روی ۹ بوته در هر تیمار اندازه‌گیری شد. داده‌ها در ساعت ۹ تا ۱۱ صبح در تشعشع فعال فتوسنتزی ۱۸۰۰–۱۶۰۰ میکرومول بر متر مربع بر ثانیه ثبت گردید.

www.SID.ir

Archive of SID

اندازه‌گیری رنگریزه‌های برگ

غلظت رنگریزه‌های برگ از روش ارائه شده توسط Meidner (۱۹۸۱) با اندکی تغییرات تعیین شد. ۰/۱ گرم نمونه برگی در چهار میلی‌لیتر استون خالص هموژنیزه شده و پس از ورتکس شدن سه میلی‌لیتر آب مقطر و بعد سه میلی‌لیتر دی اتیل‌اتر به آن اضافه گردید. پس از سانتریفیوژ یک میلی‌لیتر از محلول رویی با ۹ میلی‌لیتر استون خالص رقیق شد. میزان جذب عصاره در طول موج‌های ۶۶۳، ۶۴۵ و ۴۷۰ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر UV-Vis (مدل Perkin Elmer; Lambada25-USA) قرائت و با استفاده از معادلات زیر (Ashraf *et al*., 1994) غلظت کلروفیل a، b و کاروتنوئیدها بر حسب میلی‌گرم در گرم وزن تر محاسبه گردید.

میلی‌گرم کلروفیل a در گرم وزن تر = [۱۲/۷(A663) – ۲/۶۹ (A645)] × V/ (۱۰۰۰ × W)

میلی‌گرم کلروفیل b در گرم وزن تر = [۲۲/۹(A645) – ۴/۶۹ (A663)] × V/ (۱۰۰۰ × W)

میلی‌گرم کاروتنوئید در گرم وزن تر = [۱۰۰۰(A470)–۱/۹۰ (Chla)-۶۳/۱۴ (Chlb)]/ ۲۱۴ × V/(۱۰۰۰ × W)

در روابط فوق A: نشان‌دهنده میزان جذب محلول، V: حجم نهایی محلول و W: وزن تر نمونه گیاهی است.

سنجش محتوای نسبی آب برگ

محتوای نسبی آب برگ (RWC)، ۲۰ روز پس از قطع آبیاری از زمان ساقه‌روی تعیین گردید. برای این منظور پس از اندازه‌گیری وزن تازه برگ‌ها، وزن اشباع آنها پس از ۸ ساعت غوطه‌ور شدن در آب مقطر تعیین و در نهایت وزن خشک برگ‌ها اندازه‌گیری و با استفاده از فرمول زیر (رابطه ۱) محتوای نسبی آب برگ محاسبه شد:

$$RWC(\%) = (FW-DW) / (SW-DW) \times 100 \qquad \text{(رابطه ۱)}$$

در این رابطه، FW وزن تازه برگ، SW وزن اشباع برگ و DW وزن خشک برگ می‌باشد.

استخراج سیلیمارین کل

به‌منظور استخراج سیلیمارین، از هر تیمار ۶ نمونه ۳/۵ گرمی پس از آسیاب شدن در دستگاه سوکسله با استفاده از حلال اترنفت (پترولیوم اتر) و به‌مدت ۸ ساعت برای استحصال روغن سوکسله شدند. سپس نمونه‌های چربی‌زدایی شده به‌مدت ۱۰ ساعت با استفاده از حلال متانول سوکسله شدند. محلول متانولی حاصل در آون در دمای ۵۰°C به‌مدت ۳ ساعت قرار گرفت. پس از تبخیر متانول، پودر زردرنگ الی شرابی رنگ حاصل گردید که شامل سیلیمارین می‌باشد.

اندازه‌گیری سیلیمارین به روش اسپکتروفتومتری

پودر حاصل از مرحله استخراج در متانول حل شده و در یک بالن ۵۰ میلی‌لیتری به حجم رسانیده شد. یک میلی‌لیتر از محلول نمونه به داخل بالن ژوژه ۱۰ میلی‌لیتری منتقل شده و بعد ۲ میلی‌لیتر محلول ۲و۴– دی نیترو فنیل هیدرازین سولفوریک اسید به آن اضافه و به‌مدت ۵۰ دقیقه در حمام آب گرم در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. پس از سرد شدن بالن حجم آن با افزودن پتاس متانولی ۱۰٪ به ۱۰ میلی‌لیتر رسانده شد و بعد ۰/۱ میلی‌لیتر از آن به یک لوله آزمایش منتقل و ۲ میلی‌لیتر متانول به آن اضافه و با ۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ گردید. محلول رویی حاصل از سانتریفیوژ به یک فالکون منتقل و در نهایت محتویات فالکون توسط متانول به حجم ۵ میلی‌لیتر رسانیده شد و میزان جذب محلول متانولی حاصل با دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۴۹۰ نانومتر قرائت گردید و بعد درصد سیلیمارین (محاسبه شده به‌عنوان سیلی‌بینین) با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد (Stoiljkovic *et al*., 2007).

www.SID.ir

Archive of SID

$$X = (A / 585) \times (25\times10^{3} / G \times d)$$

X: محتوی سیلیمارین، محاسبه شده به‌عنوان (٪) سیلی‌بینین، d: ضخامت کووت دستگاه اسپکتروفتومتر [cm]=۱، A: جذب محلول آزمایش در ۴۹۰ نانومتر، ۵۸۵: ضریب مخصوص جذب [A 1 % 1 cm=585] و G: وزن نمونه اندازه‌گیری شده است.

عملکرد سیلیمارین

عملکرد سیلیمارین از حاصل‌ضرب عملکرد دانه هر تیمار در محتوای سیلیمارین آن بدست آمد و برحسب کیلوگرم در هکتار گزارش شد.

عملکرد دانه

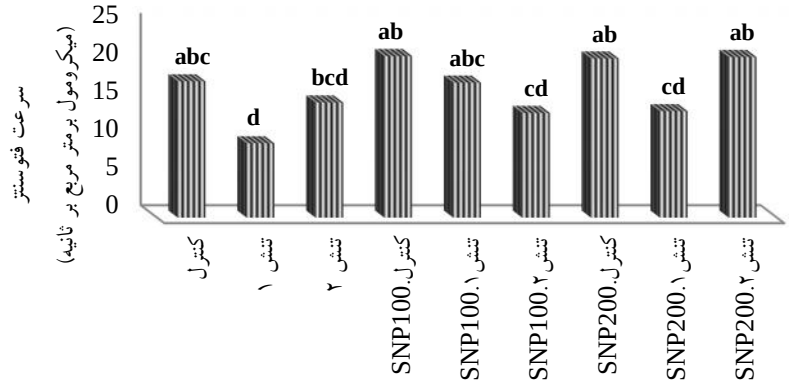
پس از رسیدگی فیزیولوژیکی بذرها، زمانی که ۵۰٪ پاپوس‌های گل‌آذین آشکار شدند، عملکرد دانه پس از حذف حاشیه، از سطح ۴ مترمربع در تاریخ ۹۳/۵/۱۶ برداشت و برحسب کیلوگرم در هکتار گزارش گردید. با توجه به اینکه تا حدودی غیریکنواختی در رسیدگی کاپیتول بوته‌ها وجود داشت، برای جلوگیری از ریزش دانه‌ها، برداشت کاپیتول‌ها در دو مرحله زمانی تا برداشت اصلی انجام شد.

داده‌های بدست‌آمده از آزمایش با نرم‌افزار آماری SAS (ANOVA,Version 9.1) تجزیه واریانس شده و مقایسات میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح ۵٪ انجام شد. همچنین خطای استاندارد (SD) برای محتوای نسبی آب محاسبه گردید.

نتایج

سرعت فتوسنتز گیاه

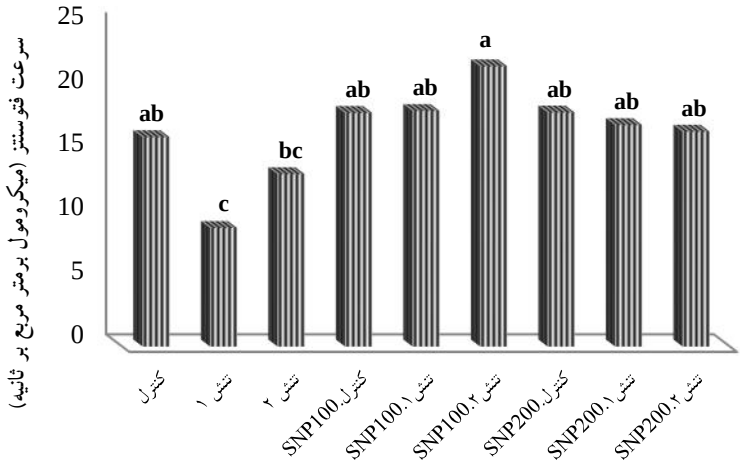
قطع آبیاری از مرحله ساقه‌روی و گرده‌افشانی سرعت فتوسنتز برگ را کاهش داد. این کاهش در مرحله تنش ساقه‌روی حداکثر ۴۵٪ و در مرحله تنش گرده‌افشانی حداکثر تا ۱۸٪ در هر دو ژنوتیپ نسبت به شاهد بود (شکل‌های ۱ و ۲). البته این کاهش فقط در مرحله تنش ساقه‌روی از نظر آماری معنی‌دار بود. در مقابل کاربرد خارجی SNP تأثیر مثبتی در افزایش میزان فتوسنتز و کاهش اثرات منفی آن در شرایط تنش داشت. به‌نحوی که محلول‌پاشی گیاهان با ۱۰۰ میکرومولار SNP در رقم مجاری توانست سرعت فتوسنتز برگ را در مرحله تنش ساقه‌روی ۸۵٪ نسبت به عدم کاربرد آن در شرایط تنش افزایش دهد (شکل ۱)، در اکوتیپ ساری نیز کاربرد ۱۰۰ میکرومولار SNP میزان فتوسنتز را ۱۰۰٪ و ۶۰٪ به‌ترتیب از مرحله تنش ساقه‌روی و گرده‌افشانی نسبت به عدم کاربرد آن افزایش داد (شکل ۲). از طرف دیگر کاربرد ۲۰۰ میکرومولار SNP نیز فقط در اکوتیپ ساری توانست افزایش معنی‌داری را در فتوسنتز گیاه به‌ویژه در مرحله تنش ساقه‌روی ایجاد کند (شکل ۲).



شکل ۱- تأثیر سدیم نیتروپروساید (SNP) بر سرعت فتوسنتز در رقم مجاری تحت تنش خشکی با آزمون دانکن ۵٪
(تنش ۱: قطع آبیاری از مرحله ساقه‌روی و تنش ۲: قطع آبیاری از مرحله گرده‌افشانی)

www.SID.ir

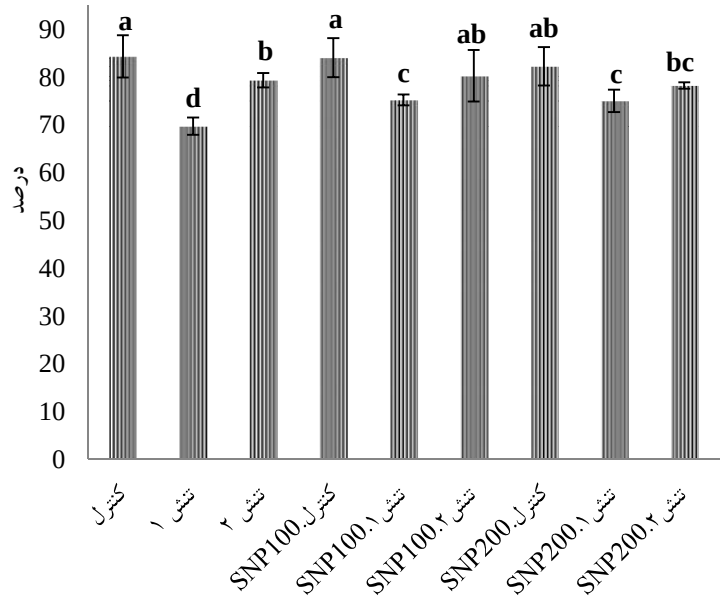
Archive of SID



شکل ۲- تأثیر سدیم نیتروپروساید (SNP) بر سرعت فتوسنتز در اکوتیپ ساری تحت تنش خشکی با آزمون دانکن ۵٪
(تنش ۱: قطع آبیاری از مرحله ساقه‌روی و تنش ۲: قطع آبیاری از مرحله گرده‌افشانی)

محتوای نسبی آب برگ (RWC)

قطع آبیاری از مرحله ساقه‌روی و گرده‌افشانی محتوای نسبی آب برگ را نسبت به گیاهان آبیاری شده کاهش معنی‌داری داد (شکل ۳)، و از این نظر تفاوتی بین دو ژنوتیپ وجود نداشت. در مقابل تیمار گیاهان با SNP در این آزمایش توانست از اُفت بیشتر محتوای نسبی آب در شرایط خشکی جلوگیری کرده، به‌نحوی که توانست محتوای نسبی آب برگ را نسبت به گیاهانی که فقط تحت تیمار خشکی از مرحله تنش ساقه‌روی بودند افزایش معنی‌داری دهد (شکل ۳). اما در تنش گرده‌افشانی این افزایش با کاربرد ۱۰۰ میکرومولار SNP معنی‌دار نبود.



شکل ۳- تأثیر سدیم نیتروپروساید (SNP) بر محتوای نسبی آب برگ (RWC) تحت تنش خشکی با آزمون دانکن ۵٪
(تنش ۱: قطع آبیاری از مرحله ساقه‌روی و تنش ۲: قطع آبیاری از مرحله گرده‌افشانی)

میله‌های عمودی= خطای استاندارد

www.SID.ir

Archive of SID

محتوای رنگریزه‌های فتوسنتزی برگ

تنش خشکی محتوای کلروفیل و کاروتنوئیدها را در هر دو ژنوتیپ کاهش داد (جدول ۱)، اما از نظر آماری این کاهش فقط در اکوتیپ ساری معنی‌دار بود، به‌طوری که در این اکوتیپ قطع آبیاری از مرحله ساقه‌روی سبب کاهش محتوای رنگریزه‌ها گردید، ولی در مرحله تنش گرده‌افشانی کاهش کلروفیل b معنی‌دار نبود. در مقابل محلول‌پاشی گیاهان با ۱۰۰ میکرومولار SNP در رقم مجاری باعث افزایش معنی‌دار کلروفیل a و کاروتنوئیدها نسبت به عدم کاربرد آن در مرحله تنش گرده‌افشانی گردید، ولی افزایش غلظت SNP در همین زمان باعث کاهش معنی‌دار رنگدانه‌ها نسبت به عدم محلول‌پاشی شد. اما در اکوتیپ ساری محلول‌پاشی در هر دو غلظت ۱۰۰ و ۲۰۰ میکرومولار SNP توانست اثرات منفی تنش در مرحله ساقه‌روی را کاهش داده، به‌نحوی که میزان کلروفیل a، b و کاروتنوئیدها را نسبت به عدم محلول‌پاشی در همین سطح افزایش معنی‌داری داد (جدول ۱).

درصد سیلیمارین دانه

خشکی سبب افزایش نسبی در ماده مؤثره ماریتیغال در هر دو ژنوتیپ گردید ولی این افزایش معنی‌دار نبود (جدول ۲). درصد سیلیمارین در اکوتیپ ساری در هر دو مرحله قطع آبیاری بیشتر از رقم مجاری بود، به‌طوری که این اختلاف بین دو ژنوتیپ معنی‌دار بود. کاربرد NO از طریق محلول‌پاشی با ۱۰۰ میکرومولار SNP توانست سبب افزایش معنی‌دار ۲۶ و ۳۰ درصدی در محتوای سیلیمارین دانه در رقم مجاری به‌ترتیب در تیمار شاهد و تیمار تنش ساقه‌روی نسبت به عدم کاربرد آن گردد، ولی این افزایش در اکوتیپ ساری از نظر آماری معنی‌دار نبود. همچنین کاربرد ۲۰۰ میکرومولار SNP تأثیر منفی در سیلیمارین دانه اکوتیپ ساری در زمان تنش گرده‌افشانی داشت (جدول ۲).

جدول ۱– مقایسات میانگین تأثیر سدیم نیتروپروساید بر محتوای کلروفیل a، b و کاروتنوئید تحت تنش خشکی

تیمار		رقم مجاری	اکوتیپ ساری	رقم مجاری	اکوتیپ ساری	رقم مجاری	اکوتیپ ساری
سدیم نیتروپروساید	تنش خشکی	کلروفیل a (mg/g/Fw)		کلروفیل b (mg/g/Fw)		کاروتنوئید (mg/g/Fw)	
	شاهد	۱/۹۲ b-e	۲/۴۵ ab	۰/۶۷ a-d	۰/۸۱ ab	۰/۵۹ a-g	۰/۷۶ ab
صفر میکرومولار	تنش ساقه‌روی	۱/۳۵ e-h	۱/۰۹ h	۰/۴۷ d-f	۰/۳۷ f	۰/۴۵ e-h	۰/۳۳ h
	تنش گرده‌افشانی	۱/۸۷ b-f	۱/۸۲ c-g	۰/۶۳ a-e	۰/۶۴ a-e	۰/۵۷ b-g	۰/۵۴ c-g
	شاهد	۲/۱۷ a-c	۱/۷۷ c-g	۰/۷۲ a-c	۰/۵۹ b-f	۰/۶۷ a-d	۰/۵۵ b-g
۱۰۰ میکرومولار	تنش ساقه‌روی	۱/۴۸ e-h	۱/۸۳ c-g	۰/۵۲ c-f	۰/۶۲ b-e	۰/۵۰ d-h	۰/۵۹ a-g
	تنش گرده‌افشانی	۲/۵۷ a	۲/۲۸ a-c	۰/۸۶ a	۰/۷۷ ab	۰/۸۰ a	۰/۷۲ a-c
	شاهد	۲/۰۳ a-d	۱/۸۱ c-g	۰/۶۸ a-d	۰/۵۸ b-f	۰/۶۳ a-e	۰/۵۵ b-g
۲۰۰ میکرومولار	تنش ساقه‌روی	۱/۳۰ f-h	۱/۷۸ c-g	۰/۴۷ d-f	۰/۶۵ a-e	۰/۴۱ f-h	۰/۶۰ a-f
	تنش گرده‌افشانی	۱/۲۵ gh	۱/۸۹ b-f	۰/۴۲ ef	۰/۶۴ a-e	۰/۳۸ gh	۰/۵۸ b-g

میانگین‌هایی که در هر ستون و ردیف در هر صفت دارای حروف مشابه می‌باشند اختلاف معنی‌داری با آزمون دانکن ۵٪ ندارند.

عملکرد سیلیمارین

قطع آبیاری از مرحله ساقه‌روی عملکرد سیلیمارین را در هر دو ژنوتیپ نسبت به شاهد کاهش داد (جدول ۳). از طرف دیگر محلول‌پاشی با ۱۰۰ میکرومولار SNP سبب بهبود عملکرد سیلیمارین در هر دو ژنوتیپ در شرایط تنش گرده‌افشانی (نزدیک به ۵۰٪) نسبت به عدم کاربرد آن

www.SID.ir

Archive of SID

گردید، ولی این افزایش در عملکرد سیلیمارین در مرحله تنش ساقه‌روی معنی‌دار نبود. بیشترین عملکرد سیلیمارین با کاربرد ۱۰۰ میکرومولار SNP در شرایط آبیاری کامل و کمترین آن با کاربرد ۲۰۰ میکرومولار SNP در مرحله تنش گرده‌افشانی در اکوتیپ ساری بدست آمد (جدول ۲).

عملکرد دانه

اعمال تنش خشکی از مرحله ساقه‌روی و گرده‌افشانی عملکرد دانه را در هر دو ژنوتیپ کاهش معنی‌داری داد، این کاهش در تنش ساقه‌روی به‌طور میانگین حداکثر تا ۴۲٪ و در تنش گرده‌افشانی حداکثر تا ۳۱٪ بود (جدول ۳). کاربرد خارجی NO، از طریق محلول‌پاشی با ۱۰۰ میکرومولار SNP در شرایط تنش، عملکرد دانه را در هر دو ژنوتیپ در مقایسه با عدم کاربرد آن افزایش داد و این بهبود در کاهش عملکرد در اکوتیپ ساری مؤثرتر از رقم مجاری بود، به‌نحوی‌که کاربرد ۱۰۰ میکرومولار SNP در اکوتیپ ساری در زمان تنش ساقه‌روی ۴۱٪ و در زمان تنش گرده‌افشانی ۳۷٪ عملکرد دانه را نسبت به گیاهانی که فقط تحت تیمار خشکی بودند افزایش معنی‌داری داد. در صورتی که در رقم مجاری کاربرد همین سطح SNP فقط در زمان تنش گرده‌افشانی سبب افزایش معنی‌دار ۲۳ درصدی در عملکرد دانه گردید. کاربرد ۲۰۰ میکرومولار SNP نیز در هر دو زمان قطع آبیاری تأثیر معنی‌داری بر عملکرد دانه در هر دو ژنوتیپ نداشت (جدول ۲).

جدول ۲– مقایسات میانگین تأثیر سدیم نیتروپروساید بر درصد و عملکرد سیلیمارین و عملکرد دانه تحت تنش خشکی

تیمار			رقم مجاری	اکوتیپ ساری	رقم مجاری	اکوتیپ ساری	رقم مجاری	اکوتیپ ساری
سدیم نیتروپروساید	تنش خشکی		محتوای سیلیمارین دانه (٪)		عملکرد سیلیمارین (kg/ha)		عملکرد دانه (kg/ha)	
		شاهد	۳/۴۱ d	۳/۸۵ b-d	۸۰/۵۷ c-e	۹۶/۸۵ bc	۲۳۴۱/۵ a-c	۲۵۱۶/۵ ab
صفر میکرومولار	تنش ساقه‌روی		۳/۴۶ cd	۴/۶۳ ab	۴۹/۰۹ fg	۶۷/۱۵ d-f	۱۴۲۳/۵ g	۱۴۵۲/۶ g
	تنش گرده‌افشانی		۳/۳۸ d	۴/۳۹ ab	۶۲/۹۸ d-f	۷۵/۰۵ c-e	۱۸۵۲/۹ d-g	۱۷۰۶/۳ d-g
	شاهد		۴/۳۱ ab	۴/۶۸ ab	۸۷/۸۴ b-d	۱۲۵/۳۵ a	۲۰۴۲/۹ c-f	۲۶۷۸/۲ a
۱۰۰ میکرومولار	تنش ساقه‌روی		۴/۴۹ ab	۳/۸۴ b-d	۷۲/۴۸ c-f	۷۸/۵۷ c-e	۱۶۱۷/۰ fg	۲۰۴۹/۰ c-f
	تنش گرده‌افشانی		۴/۱۲ a-d	۴/۷۰ a	۹۴/۲۰ bc	۱۰۸/۷۲ ab	۲۲۸۵/۳ a-c	۲۳۳۳/۱ a-c
	شاهد		۳/۸۸ a-d	۳/۹۶ a-d	۸۲/۱۵ c-e	۸۳/۶۹ c-e	۲۱۲۳/۹ b-d	۲۱۰۷/۴ b-e
۲۰۰ میکرومولار	تنش ساقه‌روی		۴/۲۷ a-c	۳/۹۸ a-d	۷۱/۵۰ c-f	۵۹/۷۷ e-g	۱۶۸۰/۳ e-g	۱۵۰۶/۷ g
	تنش گرده‌افشانی		۳/۸۸ a-d	۲/۱۲ e	۷۸/۷۹ c-e	۳۷/۹۹ g	۲۰۴۲/۸ c-f	۱۷۳۳/۸ d-g

میانگین‌هایی که در هر ستون و ردیف در هر صفت دارای حروف مشابه می‌باشند اختلاف معنی‌داری با آزمون دانکن ۵٪ ندارند.

بحث

خشکی تعادل بین گونه‌های فعال اکسیژن و دفاع آنتی‌اکسیدانتی را بهم زده و سبب تجمع گونه‌های اکسیژن واکنش‌گر می‌شود که تنش‌های اکسیداتیو را در پروتئین‌ها، لیپیدهای غشاء و دیگر ترکیب‌های سلولی القاء می‌کند (Reddy *et al.*, 2004). با کاهش مقدار آب در دسترس، گیاهان روزنه‌ها را بسته که کاهش در ورود CO_2 انجام می‌شود. کاهش CO_2 نه فقط موجب کاهش فتوسنتز از طریق کاهش کربوهیدرات می‌گردد (Perez *et al.*, 2007) بلکه الکترون‌های بیشتری را برای تشکیل ROS هدایت می‌کند. البته کاهش در سرعت فتوسنتز گیاه در ماریتیغال تحت تنش خشکی توسط Keshavarz Afshar و همکاران

www.SID.ir

Archive of SID

(۲۰۱۶) نیز گزارش شده است. در این مطالعه سطح ۱۰۰ میکرومولار SNP سرعت فتوسنتز را در شرایط تنش نسبت به عدم کاربرد آن افزایش معنی‌داری داد (شکل‌های ۱ و ۲)، به‌طوری که توانست اثرات منفی کاهش فتوسنتز را در شرایط تنش جبران کند.

کاربرد دهنده‌های NO مانند SNP با افزایش فعالیت سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز از پراکسیداسیون لیپیدی جلوگیری کرده و فتوسنتز خالص را در برگ‌های در معرض تنش اسمزی افزایش می‌دهد (Tan *et al*., 2008). همچنین کاربرد خارجی NO می‌تواند کشسانی دیواره سلولی را بهبود داده، روی دو لایه فسفولیپیدها عمل کرده و با بهبود سیالیّت غشاءها منجر به بهبود رشد گیاه گردد (Leshem & Haramaty, 1996). از طرف دیگر طبق نتایج حاصل از این آزمایش، افزایش فتوسنتز تحت تنش خشکی با کاربرد NO ممکن است مرتبط با افزایش محتوای رنگدانه‌های فتوسنتزی به‌وسیله تیمار با NO باشد (Gan *et al*., 2015). نتایج این تحقیق با یافته‌های برخی محققان در افزایش سرعت فتوسنتز با کاربرد ۱۰۰ میکرومولار SNP تحت تنش آبی در برنج، گندم و جو مطابقت دارد (Farooq *et al*., 2009؛ Gan *et al*., 2015؛ Tan *et al*., 2008).

البته کاهش محتوای نسبی آب برگ با افزایش شدت خشکی در خیلی از گیاهان گزارش شده‌است (Xiong *et al*., 2012؛ Tan *et al*., 2008). تحقیقات نشان می‌دهد که کاربرد خارجی NO در شرایط تنش بستن روزنه‌ها را القاء کرده (Neill *et al*., 2008)، در نتیجه تعرق و هدایت روزنه‌ای را کاهش می‌دهد (Farooq *et al*., 2009؛ Garcia-Mata & Lamattina, 2001) که این امر در حفظ محتوای آب برگ مؤثر می‌باشد، به‌طوری که برخی محققان نیز بهبود در رشد و عملکرد در اثر کاربرد SNP در شرایط تنش خشکی را ناشی از حفظ محتوای رطوبت نسبی برگ و کاهش ROS نتیجه گرفتند (Tian & Lei, 2006). نتایج بدست آمده از این آزمایش همچنین در توافق با گزارش‌های برخی محققان در بهبود محتوای نسبی آب برگ در برنج و جو با کاربرد ۱۰۰ میکرومولار SNP می‌باشد (Farooq *et al*., 2009؛ Gan *et al*., 2015). کاهش در محتوای کلروفیل یک پدیده عمومی مشاهده شده تحت تنش خشکی در بسیاری از گیاهان و ازجمله ماریتیغال می‌باشد (Keshavarz Afshar *et al*., 2016؛ Din *et al*., 2011). در کاهش کلروفیل در شرایط تنش خشکی می‌توان به تخریب غشاءهای تیلاکوئید کلروپلاست، اکسیداسیون نوری کلروفیل در اثر گونه‌های اکسیژن واکنش‌گر و بر هم زدن تعادل در بازگشت پروتئین‌های کمپلکس سیستم نوری دو (Alonso *et al*., 2001؛ Kim & Lee, 2005؛ Laspina *et al*., 2005) و افزایش فعالیت آنزیم کلروفیلاز (Fan *et al*., 2007) اشاره کرد. نتایج این تحقیق نشان داد که در شرایط محدودیت رطوبت، کاربرد ۱۰۰ میکرومولار SNP اثرات منفی کاهش کلروفیل را مرتفع کرد (جدول ۱). نتایج این تحقیق با گزارش‌های ارائه شده در گیاه ذرت (Graziano *et al*., 2002)، گندم (Tu *et al*., 2003) و گوجه‌فرنگی (Nasibi, 2011) مطابقت دارد. اثر NO در پایداری کلروفیل در شرایط تنش به واکنش آن با ROS برمی‌گردد، زیرا رادیکال‌های آزاد اکسیژن در شرایط تنش باعث خسارت و شکستن رنگریزه‌های فتوسنتزی و پروتئین‌های ساختاری دستگاه فتوسنتزی می‌شوند (Kim & Lee, 2005؛ Laspina *et al*., 2005)، همچنین گزارش شده در حضور NO دسترسی گیاه به آهن بیشتر است و این عامل نیز می‌تواند سبب حفظ محتوی کلروفیل شود (Neill *et al*., 2003). در این مطالعه محتوی کاروتنوئیدها در گیاهان تیمار شده با SNP بیشتر از عدم کاربرد آن در شرایط تنش بود. کاروتنوئیدها نه فقط الکترون‌ها را جذب و انتقال می‌دهند، بلکه درگیر در خنثی‌سازی اکسیژن منفرد، آنیون سوپراکسید و دیگر رادیکال‌های آزاد بوده و احتمالاً به محافظت از گیاه بر علیه صدمات اکسیداسیون نوری کمک می‌کنند (Yang *et al*., 2010).

تنش خشکی سبب افزایش درصد سیلیمارین دانه گردید ولی این افزایش معنی‌دار نبود (جدول ۳). در صورتی‌که عملکرد سیلیمارین در مرحله تنش ساقه‌روی کاهش معنی‌داری نسبت به شاهد نشان داد (جدول ۳). Keshavarz

www.SID.ir

Archive of SID

Afshar و همکاران (۲۰۱۵) گزارش کردند که تنش شدید عملکرد سیلیمارین را تا ۱۳٪ کاهش داده ولی تنش ملایم کاهش معنی‌داری نسبت به شاهد ایجاد نکرده است که با نتایج این آزمایش مطابقت دارد. Belitz و Sams (۲۰۰۷) نیز در بررسی تنش آبی در ماریتیغال نتیجه گرفتند که بین تیمارها از نظر محتوی سیلیمارین کل تفاوت معنی‌داری وجود ندارد. همچنین Hammouda و همکاران (۱۹۹۳) گزارش کردند که بالاترین سطح سیلیمارین در گیاهان رشد کرده در ظرفیت زراعی ۶۰٪ حاصل شده است و تیمارهای ۷۵٪ و ۴۰٪ ظرفیت زراعی از محتوی سیلیمارین پایین‌تر و کاملاً مشابه برخوردار می‌باشند. در صورتی‌که Hendawy و همکاران (۲۰۱۳) در تحقیقات خود بیان کردند که با افزایش فواصل آبیاری، سیلیمارین کل و نیز اجزای تشکیل‌دهنده آن افزایش یافته است. افزایش در مواد مؤثره توسط Abreu و Mazzafera (۲۰۰۵) در *Hypericum brasiliense* گزارش گردید. در برخی از گیاهان دارویی، تنش خشکی درصد تولیدات ثانویه را افزایش می‌دهد، زیرا در اثر تنش، به‌دلیل کاهش رشد، تثبیت کربن در طی فتوسنتز صرف تولید متابولیت‌های ثانویه شده و افزایش این مواد سبب جلوگیری از اکسیداسیون درون سلول‌ها می‌گردد (Selmar & Kleinwächter, 2013)، اما عملکرد متابولیت‌های ثانویه تحت تنش خشکی به‌دلیل کاهش بیوماس تولیدی کاهش می‌یابد (Hendawy *et al.*, 2013). کاربرد NO در سطح ۱۰۰ میکرومولار SNP موجب افزایش نسبی درصد سیلیمارین و نیز عملکرد معنی‌دار سیلیمارین در واحد سطح و به‌ویژه در شرایط تنش گرده‌افشانی گردید (جدول ۳). کاربرد NO با کاهش گونه‌های اکسیژن واکنش‌گر و افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت، سرعت فتوسنتز را افزایش و با کاهش بسته شدن روزنه‌ها کارایی مصرف آب را بالا برده، در نتیجه مواد فتوسنتزی (اسیمیلات) بیشتری صرف تولید متابولیت‌های ثانویه می‌گردد. با توجه به بهبود عملکرد دانه با کاربرد NO در شرایط تنش، عملکرد سیلیمارین نیز که تابع عملکرد دانه و درصد سیلیمارین دانه می‌باشد تحت تنش افزایش نشان داد. Geneva و همکاران (۲۰۰۸) نیز در بررسی اثرات تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی در ماریتیغال گزارش کردند که محلول‌پاشی برگی در مرحله روزت با این تنظیم کننده‌ها، مقدار سیلیمارین کل را با افزایش عملکرد دانه در هکتار افزایش داده است.

عملکرد دانه ماریتیغال در هر دو ژنوتیپ به‌طور منفی متأثر از قطع آبیاری شد. کمبود آب سبب یک سری تغییرات در گیاهان شامل کاهش در سطح برگ (Wahid & Rasul, 2005)، بستن روزنه‌ها و کاهش تعرق (Garcia-Mata & Lamattina, 2001)، اختلال در جذب آب و مواد غذایی (Garg, 2003) و برهم خوردن تعادل بین ROS و سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی (Reddy *et al.*, 2004) می‌شود، در نتیجه مواد فتوسنتزی منتقل شده به دانه کاهش یافته (Moussavi-Nik *et al.*, 2011) و این امر سبب کاهش عملکرد نهایی در شرایط مزرعه می‌گردد. البته کاهش در عملکرد دانه ماریتیغال با افزایش کمبود آب توسط برخی محققان نیز گزارش شده است (Keshavarz Afshar *et al.*, 2014؛ Hendawy *et al.*, 2013). کاربرد خارجی SNP تأثیر مثبتی در بهبود عملکرد دانه ماریتیغال تحت تنش خشکی داشت. اکسیدنیتریک به‌ویژه در سطح ۱۰۰ میکرومولار SNP با کاهش هدایت روزنه‌ای و تعرق، کاهش ROS به‌ویژه پراکسید هیدروژن و افزایش فعالیت آنزیم‌های آسکوربات پراکسیداز، کاتالاز و پراکسیداز (داده‌ها گزارش نشده است) سبب کاهش پراکسیداسیون لیپیدی و در نتیجه افزایش فتوسنتز و کارایی مصرف آب و تجمع ماده خشک گردیده (Gan *et al.*, 2015؛ Farooq *et al.*, 2009) و با انتقال بیشتر مواد به دانه بهبود عملکرد دانه در شرایط تنش را موجب شده‌است. افزایش در عملکرد دانه در واحد سطح با کاربرد ۱۰۰ میکرومولار SNP در گلرنگ نیز گزارش شده است (Arab *et al.*, 2016). پژوهش بالا مشخص کرد اگرچه ماریتیغال گیاهی نسبتاً مقاوم به خشکی می‌باشد اما قطع آبیاری از مرحله ساقه‌روی و گرده‌افشانی سبب کاهش عملکرد کمّی و کیفی دانه گردید، در صورتی‌که کاربرد سدیم نیتروپروساید در سطح ۱۰۰ میکرومولار با افزایش محتوای نسبی آب و بهبود کلروفیل و کاروتنوئیدهای برگ در شرایط

www.SID.ir

Archive of SID

تنش خشکی، سرعت فتوسنتز برگ را افزایش و از اُفت عملکرد دانه و سیلیمارین در شرایط مزرعه جلوگیری کرد.

منابع مورد استفاده

- Abreu, I.N. and Mazzafera, P., 2005. Effect of water and temperature stress on the content of active constituents of *Hypericum brasiliense* Choisy. Plant Physiology and Biochemistry, 43(3): 241-248.
- Alkire, B.H., Simon, J.E., Palevtich, D. and Putievsky, E., 1993. Water management for Midwestern peppermint (*Mentha piperita* L.) growing in highly organic soils, Indiana, USA. Acta Horticulture, 344: 544-556.
- Alonso, R., Elvira, S., Castillo, F.J. and Gimeno, B.S., 2001. Interactive effects of ozone and drought stress on pigments and activities of antioxidative enzymes in *Pinus helepensis*. Plant Cell Environment, 24: 905-916.
- Arab, S., Baradaran Firouzabadi, M. and Asghari, H.R., 2016. The effect of ascorbic acid and sodium nitroprusside foliar application on photosynthetic pigments and some traits of spring safflower under water deficit stress. Journal of Plant Production, 38(4): 93-104.
- Arasimowicz, M. and Floryszak-Wieczorek, J., 2007. Nitric oxide as a bioactive signaling molecule in plant stress responses. Plant Science, 172: 876-887.
- Ashraf, M. and Harris, P.J.C., 2013. Photosynthesis under stressful environments: an overview. Photosynthica, 51(2): 163-190.
- Ashraf, M.Y., Azim, A.R., Khan, A.H. and Ala, S.A., 1994. Effect of water stress on total phenols, peroxidase activity and chlorophyll content in wheat. Acta Physiologia Plantarum, 16: 185-191.
- Belitz, A.R. and Sams, C.E., 2007. The effect of population density on growth, yield, & flavonolignan content in milk thistle (*Silybum marianum*). Acta Horticulture, 756: 251-257.
- Chastain, D.R., Snider, J.L., Collins, G.D., Perry, C.D., Whitaker, J. and Byrd, S.A., 2014. Water deficit in field-grown *Gossypium hirsutum* primarily limits net photosynthesis by decreasing stomatal conductance, incr. Journal of Plant Physiology, 171(17): 1576-1585.
- Din, J., Khan, S.U., Ali, I. and Gurmani, A.R., 2011. Physiology and agronomic response of canola varieties to drought stress. Journal of Animal and Plant Science, 21: 78-82.
- Egilla, J.N., Davies, J.R. and Boutton, T.W., 2005. Drought stress influences leaf water content, photosynthesis, and water-use efficiency of *Hibiscus rosa-sinensis* at three potassium concentrations. Photosynthetica, 43: 135-140.
- Fan, H.F., Guo, Sh., Jiao, Y., Zhang, R. and Li, J., 2007. Effect of exogenous nitric oxide on growth, active oxygenspecies metabolism, and photosynthetic characteristics in cucumber seedlings under NaCl stress. Frontiers of Agriculture in China, 1: 308-314.
- Farooq, M., Basra, S.M.A., Wahid, A. and Rehman, H., 2009. Exogenously applied nitric oxide enhances the drought tolerance in fine grain aromatic rice. Journal of Agronomy & Crop Science, 195: 254-261.
- Flora, K., Hahn, M., Rosen, H. and Benner, K., 1998. Milk thistle (*silybum marianum*) for the therapy of liver disease. American Journal of Gastroenterology, 93(2): 139-143.
- Gan, L., Wu, X. and Zhong, Y., 2015. Exogenously applied nitric oxide enhances the drought tolerance in hulless barley. Plant Production Science, 18(1): 52-56.
- Garcia-Mata, C. and Lamattina, L., 2001. Nitric oxide induces stomatal closure and enhances the adaptive plant responses against drought stress. Plant Physiology, 126: 1196-1204.
- Garg, B.K., 2003. Nutrient uptake and managment under drought: nutrient-moisture interaction. Current Agriculture, 27: 1-8.
- Geneva, M., Zehirov, G., Stancheva, I., Iliev, L. and Georgiev, G., 2008. Effect of soil fertilizer, foliar fertilizer, and growth regulator application on milk thistle development, seed yield, and silymarin content. Communications in soil science and plant analysis, 39: 17-24.
- Graziano, M., Beligni, M.V. and Lamattina, L., 2002. Nitric oxide improves internal iron availability in plants. Plant Physiology, 16: 1852-1859.
- Hammouda, F.M., Ismail, S.I., Hassan, N.M., Zaki, A.K. and Kamel, A., 1993. Evaluation of the silymarin content in *Silybum marianum* Gaertn. cultivated under different agriculture conditions. Phytotherapy Research, 7: 90-91.
- Hendawy, S.F., Hussein, M.S., Youssef, A.A. and EL-Mergawi, R.A., 2013. Respnse of *Silybum marianum* plant to irrigation intervals combined with fertilization. Nusant Ara Bioscience, 5: 22-29.
- Keshavarz Afshar, R., Chaichi, M.R., Ansari, M., Jahanzad, E. and Hashemi, M., 2015. Accumulation of silymarin in milk thistle seeds under drought stress. Planta, 242(3): 539-543.
- Keshavarz Afshar, R., Chaichi, M.R., Assareh, M.H., Hashemi, M. and Liaghat, A., 2014. Interactive effect of deficit irrigationand soil organic amendments on seed yield and flavonolignan

www.SID.ir

Archive of SID

seedlings during drought stress and recovery. Annals of Botany, 100: 335-345.
- Reddy, A.R., Chaitanya, K.V. and Vivekanandan, M., 2004. Drought-induced responses of photosynthesis and antioxidant metabolism in higher plants. Journal of Plant Physiology, 161: 1189-1202.
- Sarath, G., Bethke, P.C., Jones, J., Baird, L.M., Hou, G. and Mitchell, R.B., 2006. Nitric oxide accelerates seed germination in warm-season grasses. Planta, 223: 1154-1164.
- Selmar, D. and Kleinwächter, M., 2013. Influencing the product quality by deliberately applying drought stress during the cultivation of medicinal plants. Industrial Crops and Products, 42: 558-566.
- Sharma, P. and Dubey, R.S., 2005. Drought induces oxidative stress and enhances the activities of antioxidant enzymes in growing rice seedlings. Plant Growth Regulation, 46: 209-221.
- Simpson, G.G., 2005. No flowering. Bioessays, 27: 239-245.
- Stoiljkovic, Z., Petrovic, S.D. and Ilic, B.S., 2007. Examination of localization of silymarin and fatty oil in *Silybum marianum* (L.) Gaertn. Fruit. Chemical Industry and Chemical Engineering Quarterly, 13(2): 55-59.
- Tan, J., Zhao, H., Hong, J., Han, Y. and Zhao, W., 2008. Effects of exogenous nitric oxide on photosynthesis, antioxidant capacity and proline accumulation in wheat seedlings subjected to osmotic stress. World Journal of Agricultural Sciences, 4(3): 307-313.
- Tian, X. and Lei, Y., 2006. Nitric oxide treatment alleviates drought stress in wheat seedlings. Biologia Plantarum, 50: 775-778.
- Tu, J., Shen, W.B. and Xu, L.L., 2003. Regulation of nitric oxide on aging processes of wheat leaves. Acta Botanica Sinica, 45: 1057-1061.
- Wahid, A. and Rasul, E., 2005. Photosynthesis in leaf, stem, flower and fruit: 479-497. In: Pessarakli, M., (Ed.). Handbook of Photosynthesis. CRC Press, Boca Raton, 952p.
- Xiong, J., Zhang, L., Fu, G., Yang, Y., Zhu, C. and Tao, L., 2012. Drought-induced proline accumulation isuninvolved with increased nitric oxide, which alleviates drought stress by decreasing transpiration in rice. Journal of Plant Research, 125: 155-164.
- Yang, W., Sun, Y., Chen, S., Jlang, J., Chen, F., Fang, W. and Liu, Z., 2010. The effect of exogenously applied nitric oxide on photosynthesis and antioxidant activity in heat stressed chrysanthemum. Biologia Plantarum, 54: 1-4.

production of milk thistle. Industrial Crops and Products, 58:166-172.
- Keshavarz Afshar, R, Hashemi, M., DaCosta, M., Spargo, J. and Sadeghpour, A., 2016. Biochar application and drought stress effect on physiological characteristics of *silybum marianum*. Communications in Soil Science and Plant Analysis, 47(6): 743-752.
- Kim, J.H. and Lee, C.H., 2005. In vivo deleterious effects specific to reactive oxygen species on photosystem II. after photooxidative treatment of rice leaves. Plant Science, 168: 1115-1125.
- Kvasnicka, F., Biba, B., Sevick, R., Voldrich, M. and Kratka, J., 2003. Analysis of the active components of silymarin. Journal of Chromatography A, 990: 239-245.
- 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 Science, 169: 323-330.
- Leshem, Y.Y. and Haramaty, E., 1996. The characterization and contrasting effects of the nitric oxide free radical in vegetative stress and senescence of *Pisum sativum* L. foliage. Journal of Plant Physiology, 148: 258-263.
- Meidner, H., 1981. Class Experiments in Plant Physiology. British Library Catalogaing in Publication Data, Londan, 169p.
- Misra, A.N., Misra, M. and Singh, R., 2011. Nitric oxide ameliorates stress responses in plants. Plant Soil Environment, 57(3): 95-100.
- Morazzoni, P. and Bombard, E., 1995. *Silybum marianum* (Carduusmarianus). Fitoterapia, 66: 3-42.
- Moussavi-Nik, S.M., Salari, M., Mobasser, H.R. and Bijeh keshavarzi, M.H., 2011. The effect of different irrigation intervals and mineral nutrition on seed yield of Ajowan (*Trachyspermum ammi*). Annals of Biological Research, 2(6): 692-698.
- Nasibi, F., 2011. Effect of different concentrations of sodium nitroprusside (SNP) pretreatment on oxidative damages induced by drought stress in tomato plant. Iranian Journal of Plant Biology, 3(9): 63-74.
- Neill, S., Barros, R., Bright, J., Desikan, R., Hancock, J., Harrison, J., Morris, P., Rieeiro, D. and Wilson, I., 2008. Nitic oxide, stomatal closure and abiotic stress. Journal of Experimental Botany, 59: 165-176.
- Neill, S., Desikan, R. and Hancock, J.T., 2003. Nitric oxide signalling in plants. New Phytologist, 159: 11-35.
- Perez, J.G., Syvertsen, J.P., Botia, P. and Garcia-sanchez, F., 2007. Leaf water relations and net gas exchange responses and salinized zocarricitrange

www.SID.ir

Archive of SID

Enhancement of drought stress tolerance in two genotypes of milk thistle (*Silybium marianum* (L.) Gaertn.) by exogenous application of sodium nitroprusside

E. Zangani[1*], S. Zehtab Salmasi[2], B. Andalibi[3] and A.A. Zamani[4]

1*- Corresponding author, Ph.D. Student, Department of Plant Ecophysiology, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran, E-mail: zangani@znu.ac.ir
2- Department of Plant Ecophysiology, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran
3- Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, University of Zanjan, Zanjan, Iran
4- Department of Environmental Science, Faculty of Sciences, University of Zanjan, Zanjan, Iran

Received: December 2016 Revised: June 2017 Accepted: July 2017

Abstract

To evaluate the effects of sodium nitroprusside (SNP) on tolerance enhancement towards drought in Milk thistle (*Silybium marianum* (L.) Gaertn.), an experiment was conducted in a split split plot restriction in a randomized complete block design with three replications. The study was conducted in the research field of the University of Zanjan in 2014. Sodium nitroprusside at three levels of 0, 100 and 200 µmol l^{-1} was considered as the main factor, while drought stress at three levels of control and withholding irrigation at stem elongation and anthesis stages were regarded as sub factors. Finally, two genotypes of milk thistle (Hungarian and sari) comprised sub-sub factors. With increasing drought severity, leaf photosynthesis rate decreased significantly up to 45 percent compared with the control in both genotypes. Application of 100 µM SNP increased the leaf photosynthesis during stem elongation by roughly 80 and 100 percent in the Hungarian cultivar and Sari ecotype, respectively compared to non-application of SNP. Drought stress significantly decreased the pigment content in Sari ecotype, while this decrease was compensated by applying SNP during stem elongation. Drought stress in both stages of irrigation withholding reduced the grain yield in both genotypes. However, the exogenous application of 100 µM SNP compensated the reduction of grain yield, particularly in Sari ecotype. In addition, withholding of irrigation reduced the active ingredient yield; however, this reduction was compensated by increasing the content of silymarin and grain yield especially in the stage of anthesis stress with application of 100 µM SNP. Research findings showed that concentration of 100 µM SNP was more efficient to protect the milk thistle with increasing drought severity and cultivation of this plant in the water deficit systems.

Keywords: Nitric oxide, photosynthesis rate, silymarin, withholding irrigation, relative water content.

www.SID.ir