

اثر متقابل تنش خشکی و نیترات پتاسیم بر برخی پاسخ‌های فیزیولوژیک گیاه توتون (*Nicotiana tabacum* L.)

اکبر نورسته‌نیا* و ملیحه فرجادی

دریافت: ۱۳۹۴/۰۷/۱۹ پذیرش: ۱۳۹۴/۱۱/۲۶

گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه گیلان، رشت

* مسئول مکاتبات: norasteh@guilan.ac.ir

چکیده. در این تحقیق تنش خشکی از طریق پلی اتیلن گلیکول با غلظت ۲۰ درصد اعمال شد. ۴۸ ساعت پس از اعمال تنش و به منظور ارتقای مقاومت در برابر تنش، تیمار نمونه‌ها به وسیله نیترات پتاسیم در سه غلظت ۵، ۱۰، ۱۵ میلی مولار طی ۹ روز انجام گرفت. تغییرات مقدار پرولین، پروتئین کل، رنگیزه‌های فتوسنتزی، بتاکاروتن، آنتوسیانین، مالون‌دی‌آلدهید، فنل، فلاونول، فلاونوئید، قندهای محلول و پتاسیم برگ اندازه‌گیری شد. نتایج نشان داد که گیاه توتون در مواجهه با تنش خشکی به منظور حفظ فشار اسمزی داخلی، از تجمع اسمولیت‌هایی مانند پرولین، قندهای محلول و پتاسیم کمک می‌گیرد. همچنین تنش خشکی باعث ایجاد تنش اکسایشی در گیاه توتون می‌شود و تولید فرم‌های فعال اکسیژن را افزایش می‌دهد. در نتیجه سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی غیر آنزیمی گیاه توتون شامل آنتوسیانین، فلاونوئید، فلاونول و بتاکاروتن برای مقاومت در برابر خشکی افزایش می‌یابد. نتایج همچنین نشان داد که کاربرد نیترات پتاسیم به ویژه غلظت ۱۵ میلی مولار به طور محسوسی توانست برخی از پیامدهای مضر تنش، همچون کاهش رنگیزه‌های فتوسنتزی و پروتئین را بهبود ببخشد. همچنین نیترات پتاسیم توانسته سطوح MDA و بتاکاروتن را به سطح معادل آن در گیاهان کنترل برساند. در نتیجه به نظر می‌رسد کاربرد پتاسیم می‌تواند در مقاومت گیاه به خشکی مؤثر باشد و در کاهش برخی اثرهای مضر تنش خشکی نقش مهمی را ایفا کند.

واژه‌های کلیدی. آنتی‌اکسیدان‌های غیر آنزیمی، پلی اتیلن گلیکول، تنش خشکی، مالون دی‌آلدهید، نیترات پتاسیم

The effect of the interaction between water stress and potassium nitrate on some of the physiological responses of *Nicotiana tabacum* L.

Akbar Norastehnia* and Maliheh Farjadi

Received 11.10.2015 / Accepted 15.02.2016

Department of Biology, Faculty of Sciences, University of Guilan, Rasht, Iran

Correspondent author: norasteh@guilan.ac.ir

Abstract. In this study, water stress was applied by polyethylene glycol at a concentration of 20 percentage. To improve the resistance of the plants, the samples were treated by potassium nitrate at concentrations 5, 10, and 15 mM within 9 days. Changes in proline, total protein, photosynthetic pigments, carotene, anthocyanin, malondialdehyde, phenols, flavonols, flavonoids, soluble sugars and potassium ion were examined. The results showed that tobacco plants which had been exposed to drought used the accumulation of osmolytes such as proline, soluble sugars and potassium in order to balance their osmotic pressure. Drought stress also caused oxidative stress and increased the production of active forms of oxygen. As a result, non-enzymatic antioxidant defense system of tobacco plants including anthocyanins, flavonoids, flavonols and beta-carotene increased, which could be considered to be a major step for resistance to drought. The results also showed that the concentration of 15 mM potassium nitrate in particular, could significantly improve some of the harmful effects of stress and reduced photosynthetic pigments and proteins. Potassium nitrate could also bring down the MDA and beta-carotene levels to equivalent levels in control plants. As a result, it seems that using potassium can affect plant resistance to drought and plays an important role to reduce some harmful effects of stress.

Keywords. nonenzymatic antioxidants, polyethylene glycol, drought stress, malondialdehyde, potassium nitrate

مقدمه

بخش عمده کشت توتون در ایران به صورت دیم است (Ahifar, 1995). خشکی یکی از مهم‌ترین عواملی است که بر خصوصیات کیفی توتون تأثیرگذار است و لذا تعیین مقاومت نسبی به خشکی در توتون از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. با ارزیابی ژنوتیپ‌ها و ارقام مقاوم از هر گیاه، می‌توان آنها را با اطمینان بیشتری در مناطق خشک و نیمه‌خشک کاشت. تنش خشکی می‌تواند باعث ایجاد تنش اکسیداتیو شود (Chaves et al., 2004) که این فرآیند می‌تواند در کاهش مقدار رنگیزه‌های کلروفیلی a و b (Oliviera-Neto et al., 2009) و متعاقب آن کاهش توانایی فتوسنتز نقش ویژه‌ای ایفا کند (Ort et al., 2001). گیاهان قادرند با تولید ترکیبات آنتی‌اکسیدانی نظیر ترکیبات فنلی و کارتنوئیدها، از ساختارهای سلولی خود در برابر رادیکال‌های فعال تولید شده در وضعیت تنش محافظت کنند (Rebey et al., 2012). همچنین پرولین اسید آمینه‌ای است که افزایش غلظت آن متداول‌ترین و عمومی‌ترین پاسخی است که به محض ایجاد تنش مشاهده می‌شود (Suriyan & Chalermopol, 2009). پرولین علاوه بر تنظیم اسمزی، همچون محافظ در برابر تنش نیز عمل می‌کند. بدین ترتیب که به طور مستقیم و یا غیرمستقیم با ماکرومولکول‌ها اثر متقابل دارد و از این طریق به حفظ شکل و ساختار طبیعی آن‌ها در موقعیت تنش کمک می‌کند (Koc et al., 2010). شکستن سریع پرولین بعد از پایان یافتن تنش، ممکن است خود تأمین‌کننده عوامل ضروری برای فسفوریلاسیون اکسیداتیو ATP و ترمیم صدمات ناشی از تنش باشد. پرولین همچنین به وسیله عمل متقابل میان فسفولیپیدها، موجب پایداری غشای سلول‌ها می‌شود. افزون بر این، به منزله جاروب‌کننده رادیکال‌های هیدروکسیل و نیز منبع نیتروژن و ذخیره انرژی استفاده می‌شود (Vendruscolo et al., 2007). قندهای محلول نیز اسمولیت‌هایی هستند که با افزایش فشار اسمزی و نگهداری تورژسانس در تحمل تنش خشکی به گیاه کمک می‌کنند (Fayez & Bazaid, 2014). قندها هنگام تنش کم‌آبی با درشت‌مولکول‌ها پیوندهای هیدروژنی برقرار می‌کنند و از ایجاد پیوندهای هیدروژنی درون‌مولکولی، که می‌تواند باعث آسیب برگشت‌ناپذیر ساختار

سه‌بعدی پروتئین شود، جلوگیری می‌کنند (Garg et al., 2002). طولانی‌شدن تنش خشکی در یاخته‌های گیاهان به شکل‌گیری تنش اکسیداتیو، افزایش رادیکال‌های فعال اکسیژن (ROS) و پراکسیداسیون لیپیدی منتهی می‌شود. اسیدهای چرب غیراشباع موجود در فسفولیپیدهای غشا به حمله OH و دیگر اکسیدان‌ها بسیار حساس هستند. زمانی که اسیدهای چرب غیراشباع غشا اکسید می‌شوند، انواع آلدئیدها را ایجاد خواهند کرد که به شدت فعال هستند (Singh & Tuteja, 2010). در چنین وضعیتی، غالباً سنتز ترکیبات فنلی شامل فلاون‌ها، فلاونوئیدها، تانن‌ها و لیگنین‌ها و حتی اسیدهای آمینه حلقوی مانند تریپتوفان، تیروزین نیز افزایش می‌یابد. این ترکیب‌ها دارای نقش‌های متعدد اکولوژیکی و فیزیولوژیکی نظیر نقش‌های دفاعی و آنتی‌اکسیدانی دارند (Andre et al., 2009). مقدار آنتوسیانین نیز در هنگام تنش افزایش می‌یابد. این افزایش به علت نقش حفاظت نوری آنتوسیانین‌ها از طریق حذف مستقیم ROSها در طول تنش اکسیداتیو است (Zhang et al., 2010). همچنین وجود پتاسیم در نگهداری آب بافت‌های گیاهی اهمیت خاصی دارد و گزارش‌های زیادی در باب تجمع آن در هنگام تنش اسمزی وجود دارد (Saeed-Akram et al., 2009). این کاتیون در تنظیم فشار اسمزی و کنترل روزنه‌ای نقش ایفا می‌کند (حمیدی و صفرنژاد، ۱۳۸۱). پتاسیم همچنین فعال‌کننده بسیاری از آنزیم‌های دخیل در فتوسنتز و تنفس است (Wind et al., 2004). با توجه به حاصل‌خیزی کم خاک‌ها، محدودیت گسترش زمین‌های کشاورزی و وسعت زیاد مناطق خشک و نیمه‌خشک در بسیاری از مناطق دنیا و از-جمله ایران و نیز با توجه به وقوع کمبود هم‌زمان چندین عنصر در خاک در وضعیت تنش خشکی انجام پژوهش در زمینه مدیریت تغذیه گیاهان در هنگام خشکی، بسیار ضروری به نظر می‌رسد. بنابراین در این پژوهش، استفاده از پتاسیم به مثابه یک عنصر پرمصرف و به منظور ارزیابی تأثیر آن بر برخی ویژگی‌های فیزیولوژیک گیاه توتون و افزایش میزان تحمل تنش خشکی تحت بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

در این تحقیق از بذرهای توتون، رقم کوکر ۳۴۷ استفاده شد که از مرکز تحقیقات دخانیات گیلان تهیه شد. این رقم متعلق به توتون‌های برگ درشت تیپ غربی (ویرجینیا) است که از تلاقی بین کوکر ۳۱۹ و کوکر ۲۵۸ حاصل شده و یک رقم تجاری مناسب با وضعیت آب و هوایی استان‌های شمال کشور است. دوهفته پس از کاشت بذر توتون در پتری‌دیش‌ها، دانه رست‌های به‌دست آمده به محیط کشت هیدروپونیک منتقل و با محلول هوگلند تغذیه شدند (در وضعیت ۱۶ ساعت روشنایی، ۸ ساعت تاریکی، ۶۰-۸۰ درصد رطوبت و ۳۰۰۰ لوکس روشنایی). پس از گذشت ۵۰ روز وقتی اندازه گیاهان به حدود ۳۰ سانتی-متر رسید، اولین نمونه‌برداری انجام شد؛ به طوری که از سه گلدان مختلف به طور تصادفی ۶ برگ در فاصله میان‌گره‌های دوم و سوم به عنوان نمونه شاهد قبل از تنش برداشت شد. برای ایجاد تنش خشکی در گیاهچه‌های توتون، براساس روش Caruso و همکاران (2008) محلول پلی‌اتیلن گلیکول (PEG 6000) ۲۰ درصد تهیه شد و گلدان‌ها به مدت ۴۸ ساعت تحت تنش خشکی قرار گرفتند. پس از ۴۸ ساعت تنش خشکی، تیماردهی به گلدان‌ها به مدت ۹ روز انجام شد. به این صورت که به گلدان‌های شاهد محلول هوگلند و به دیگر گلدان‌ها محلول نیتراپتاسیم در سه غلظت ۵، ۱۰ و ۱۵ میلی‌مولار به همراه محلول هوگلند داده شد. پس از اتمام دوره تنش دومین نمونه‌برداری انجام شد. دیگر نمونه‌برداری‌ها پس از تنش در انتهای روزهای سوم، ششم و نهم (که به ترتیب برداشت اول، برداشت دوم و برداشت سوم نامیده می‌شود) از هر یک از تیمارها صورت گرفت. اولین نمونه‌برداری قبل از اعمال تنش خشکی و به عنوان "شاهد تنش ندیده" (به منظور اطمینان از بهینه بودن وضعیت قبل از اعمال تنش) صورت گرفت که از این پس "شاهد ۱" نامیده می‌شود. پس از اتمام تنش، دومین نمونه‌برداری به عنوان "شاهد تنش دیده" (به منظور سنجش تغییرات عوامل مورد اندازه‌گیری پس از ۴۸ ساعت تنش و قبل از اعمال تیمار نیتراپتاسیم) انجام شد که پس از این "شاهد ۲" نامیده می‌شود. برای هر یک از برداشت‌های روزهای سوم، ششم و نهم نیز یک نمونه "شاهد

تیمارنشده با نیتراپتاسیم" (برای مقایسه پاسخ طبیعی گیاه با پاسخ گیاهان تیمار یافته با نیتراپتاسیم) برداشت و "شاهد ۳" نامیده شد. نمونه‌ها پس از منجمدشدن داخل ازت مایع، به فریزر ۷۰- درجه سانتی‌گراد منتقل و تا زمان آنالیز نگهداری شدند.

مقدار پرولین با استفاده از معرف نین هیدرین و براساس روش Bates (1973) اندازه‌گیری شد. محتوای پروتئین کل به روش Bradford (1976) و با استفاده از سرم آلبومین گاوی BSA به منزله منحنی استاندارد در طول موج ۵۹۵ نانومتر به وسیله اسپکتروفتومتر مدل Cam Spec M501 Single Beam اندازه‌گیری شد. رنگیزه‌های فتوستتری به روش Lichtenthaler (1987) استخراج شدند. اندازه‌گیری مالون دی‌آلدهید با استفاده از روش Heath و Packer (1969) انجام شد. سنجش مقدار فنل کل با استفاده از روش Gao و همکاران (2013) با به کارگیری معرف Folin-Ciocalteu و استاندارد گالیک اسید انجام شد. به منظور استخراج عصاره جهت سنجش بتاکاروتن، از روش Nagata و Yamashita (1992) و برای سنجش آنتوسیانین از روش Masukasu و همکاران (2003) استفاده شد. برای سنجش فلاونول تام در عصاره‌های برگ از روش رنگ سنجی (Venskutonis et al., 2010 and 2004) و برای سنجش فلاونوئید کل از روش Krizek و همکاران (1998) استفاده شد. اندازه‌گیری قندهای محلول با استفاده از روش Irigoyen و همکاران (1992) انجام شد. غلظت یون پتاسیم، به وسیله دستگاه فلیم امیشن اسپکترومتر (C ۳۱۰ Digital) و منحنی استاندارد پتاسیم تعیین شد.

تحلیل آماری

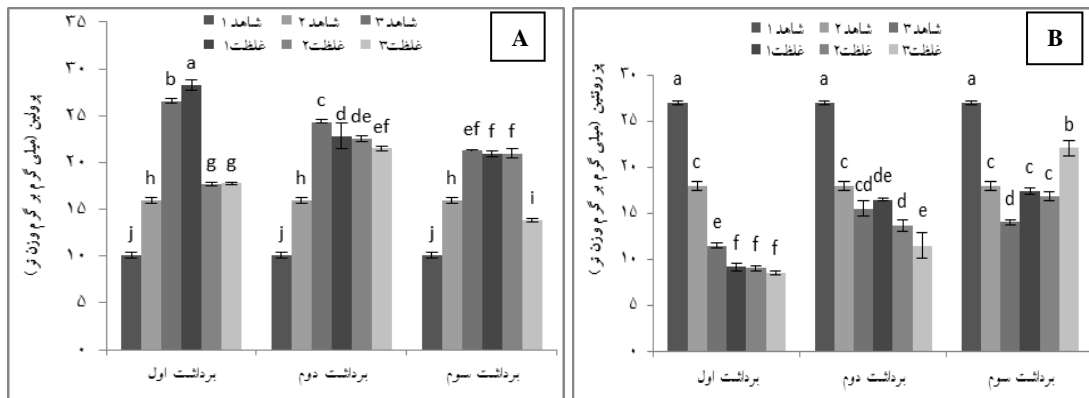
برای بررسی آماری داده‌ها از نرم‌افزار SPSS (16.0) و برای مقایسه میانگین داده‌ها از آزمون دانکن استفاده شد. انحراف از میانگین داده‌ها به وسیله خطای استاندارد نشان داده شد. جهت رسم نمودارها از نرم‌افزار Excel 2007 استفاده شد.

نتایج

نشان داد و مقادیر پرولین را حتی به پایین‌تر از نمونه شاهد ۲ رساند (شکل ۱A). مقادیر پروتئین در نمونه‌های تنش دیده نسبت به نمونه شاهد ۱ به طور معنی‌داری کاهش یافت. نمونه‌های تیماریافته با نیترات پتاسیم نیز کاهش معنی‌دار مقادیر پروتئین را حتی نسبت به شاهد ۳ نشان دادند. در برداشت دوم، افت شدید مقادیر پروتئین در همه نمونه‌ها تا حدودی جبران شد و با شیبی ملایم ارتقا یافت. شیب افزایش مقدار پروتئین در نمونه‌های برداشت سوم نیز تداوم یافت و ارتقای محسوس مقدار پروتئین در همه نمونه‌ها قابل توجه بود، ولی غلظت ۱۵ میلی‌مولار نیترات پتاسیم بیشترین افزایش پروتئین را موجب شد (شکل ۱B).

نتایج سنجش محتوای پرولین و پروتئین کل

مقادیر پرولین در نمونه‌های شاهد ۲ تحت تأثیر تنش خشکی افزایش معنی‌داری نشان داد. افزایش مقدار پرولین، با گذشت سه روز و با وجود حذف تنش خشکی، در نمونه‌های شاهد ۳ و تمام نمونه‌های تیماریافته پس از تنش نیز ادامه یافت. اما در برداشت سوم، روند افزایش پرولین برای نمونه‌های تیماریافته متوقف و برای نمونه‌های شاهد ۳ معکوس شد. اما غلظت ۱۵ میلی‌مولار نیترات پتاسیم در برداشت سوم بهترین عملکرد را



شکل ۱- میانگین تغییرات مقادیر پرولین (A) و پروتئین (B) در برداشت اول، دوم و سوم. داده‌ها میانگین سه تکرار \pm خطای معیار (SE) هستند. حروف متفاوت نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار میان تیمارها بر اساس مقایسه میانگین‌ها با آزمون دانکن و حروف مشترک بیانگر عدم وجود اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال $p < 0.05$ است.

Fig. 1. Average changes in the quantities of proline (A) and protein (B) in the first, second and third harvests. The data represents the average of three replicates \pm standard error (SE), respectively. Different letters indicate significant differences among treatments according to Duncan's test with $p < 0.05$.

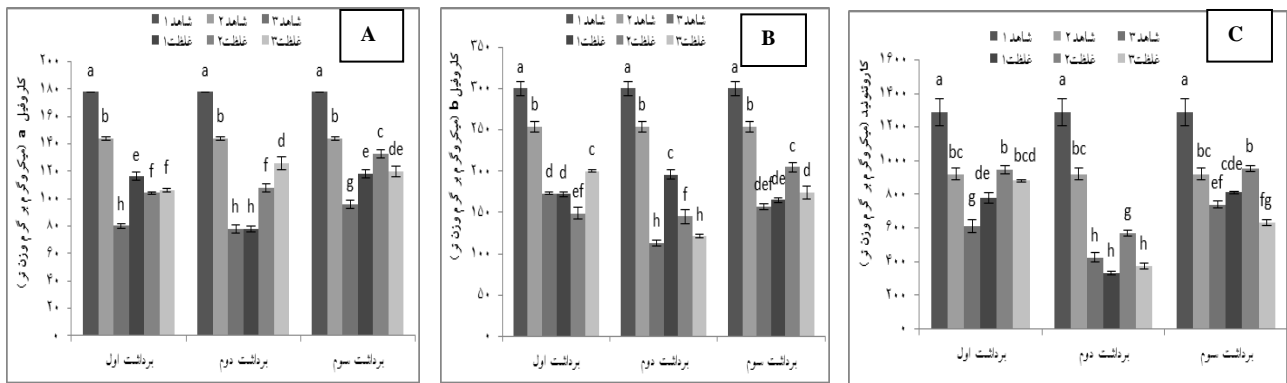
ولی محتوای کلروفیلی را در هنگام تنش خشکی در سطوح بالاتری نسبت به نمونه‌های تیمارنندیده نگه داشت. مقادیر کاروتنوئید در برداشت اول در نمونه‌های شاهد ۲ نیز کاهش معنی‌داری نشان داد که حاصل اثر تنش خشکی است. به‌طوری‌که در برداشت‌های اول و دوم، مقادیر کاروتنوئید در همه نمونه‌های تیمار شده و تیمار نشده شیب نزولی داشت و در برداشت سوم، با طولانی‌تر شدن زمان تیماردهی، مقادیر کاروتنوئید در همه نمونه‌ها افزایش یافت. با اعمال تنش خشکی مقادیر بتاکاروتن نیز در نمونه‌های تنش دیده شاهد ۲ به طور

نتایج اندازه‌گیری رنگیزه‌های فتوسنتزی

همان‌طور که در نمودارهای شکل ۲ (A, B و C) مشاهده می‌شود، خشکی اثر معنی‌داری بر مقدار کلروفیل a، کلروفیل b و کاروتنوئیدها داشت. اما با گذشت زمان و به ترتیب در برداشت‌های اول تا سوم، تیمار نمونه‌های تنش دیده به وسیله غلظت‌های مختلف نیترات پتاسیم، افزایش سریع‌تر مقادیر کلروفیل‌های a و b نسبت به شاهد ۳ مشاهده شد. اگرچه تیمار با نیترات پتاسیم نتوانست مقادیر کلروفیل‌ها را به سطح قبل از تنش بازگرداند،

پتاسیم در هیچ یک از نمونه‌های آزمایشی معنی‌دار نبود (داده‌ها نشان داده نشده است).

معنی‌داری کاهش یافت. افزایش دوباره مقادیر بتاکاروتن تحت اثر تیمار نمونه‌های تنش‌دیده با غلظت‌های مختلف نیترات



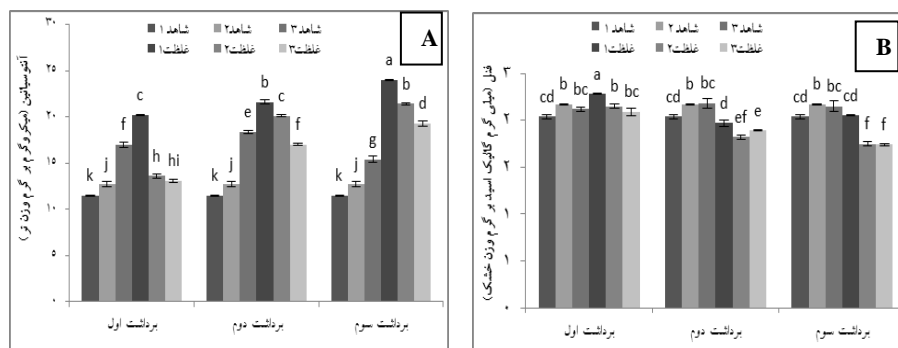
شکل ۲- میانگین تغییرات مقادیر کلروفیل a (A) و کلروفیل b (B) و مقادیر کاروتنوئید (C) در برداشت اول، دوم و سوم. داده‌ها میانگین سه تکرار \pm خطای معیار (SE) هستند. حروف متفاوت نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار میان تیمارها براساس مقایسه میانگین‌ها با آزمون دانکن و حروف مشترک بیانگر فقدان اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال $p < 0.05$ است.

Fig. 2. Average changes in the amount of Chlorophyll a (A), chlorophyll b (B) and carotenoid (C) in the first, second and third harvests. The data represents the average of three replicates \pm standard error (SE), respectively. Different letters indicate significant differences among treatments according to Duncan's test with $p < 0.05$.

تحت تیمار با نیترات پتاسیم، کاهش درخور توجه فنل نسبت به برداشت اول مشاهده شد. مقادیر آنتوسیانین نیز در برداشت اول در نمونه‌های شاهد ۲ افزایش معنی‌داری را نسبت به نمونه‌های تنش‌ندیده نشان داد، اما افزایش مقدار آنتوسیانین با وجود حذف تنش خشکی در نمونه‌های شاهد ۳ و تمام نمونه‌های تیماریافته ادامه یافت (شکل ۳).

نتایج اندازه‌گیری ترکیبات فنلی

مقدار فنل تحت تأثیر تنش خشکی و در برداشت اول در تمام نمونه‌ها افزایش معنی‌داری را نسبت به شاهد ۱ نشان داد. در برداشت دوم و سوم، مقدار فنل برای نمونه‌های فاقد تیمار نیترات پتاسیم در همان سطح برداشت اول باقی ماند، اما در نمونه‌های



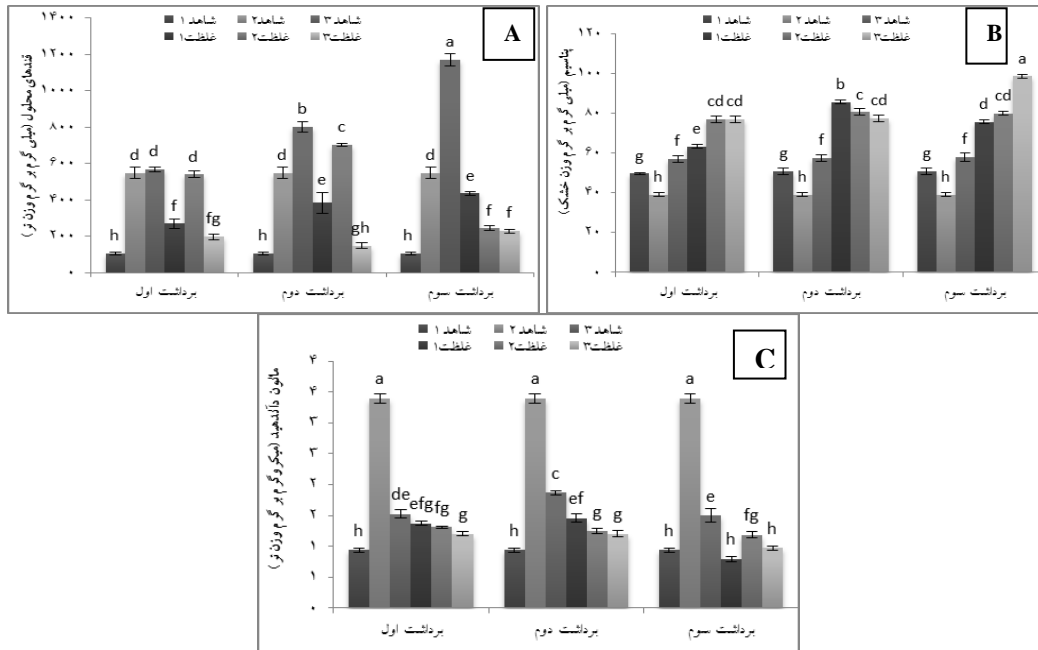
شکل ۳- میانگین تغییرات مقادیر آنتوسیانین (A) و فنل (B) در برداشت اول، دوم و سوم. داده‌ها میانگین سه تکرار \pm خطای معیار (SE) هستند. حروف متفاوت نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار میان تیمارها براساس مقایسه میانگین‌ها با آزمون دانکن و حروف مشترک بیانگر فقدان اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال $p < 0.05$ است.

Fig. 3. Average changes in the amount of anthocyanin (A) and phenol (B) in the first, second and third harvests. The data represents the average of three replicates \pm standard error (SE), respectively. Different letters indicate significant differences among treatments according to Duncan's test with $p < 0.05$.

مقادیر قندهای محلول همچنان بالا باقی ماند؛ درحالی‌که با شروع تیماردهی نمونه‌های تنش‌دیده به وسیله نیترات پتاسیم، کاهش مقادیر قند نسبت به شاهد ۳ مشاهده شد (شکل ۴A). همچنین با قرارگرفتن نمونه‌ها در وضعیت تنش، مقادیر پتاسیم کاهش معنی‌داری یافت (شکل ۴B).

نتایج اندازه‌گیری قندهای محلول، پتاسیم و مالون دآلدئید در برگ

تنش خشکی مقادیر قند را در نمونه‌های شاهد ۲ به طور محسوسی نسبت به شاهد ۱ افزایش داد. خروج از وضعیت تنشی برای نمونه‌های شاهد ۳ نیز تغییری در این وضعیت ایجاد نکرد و



شکل ۴- میانگین تغییرات مقادیر قندهای محلول (A)، پتاسیم (B) و مالون دی‌آلدئید (C) در برداشت اول، دوم و سوم. داده‌ها میانگین سه تکرار \pm خطای معیار (SE) هستند. حروف متفاوت نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار میان تیمارها براساس مقایسه میانگین‌ها با آزمون دانکن و حروف مشترک بیانگر فقدان اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال $p < 0.05$ است.

Fig. 4. Average changes in the amounts of soluble sugars (A), potassium (B) and malondialdehyde (C) in the first, second and third harvests. The data represents the average of three replicates \pm standard error (SE), respectively. Different letters indicate significant differences among treatments according to Duncan's test with $p < 0.05$.

پراکسیداسیون لیپیدی را به اندازه نمونه‌های تیماریافته با نیترات پتاسیم کاهش دهند (شکل ۴C).

بحث

تنش خشکی از طریق افزایش بیان آنزیم‌های بیوسنتزکننده پرولین و کاهش فعالیت آنزیم‌های تخریب پرولین باعث افزایش میزان پرولین در گیاه می‌شود (Serraj & Sinclair 2002). نمونه‌های شاهد ۳ نیز مطابق انتظار پس‌از مواجهه با تنش خشکی، میزان پرولین را بلافاصله پس‌از تنش و در همان برداشت اول به مقدار درخور توجهی افزایش دادند، اما کاهش مقادیر پرولین در نمونه‌های تیماریافته برداشت دوم حاکی از

افزایش مقادیر نیترات پتاسیم در محیط رشد گیاهچه‌ها، موجب افزایش معنی‌دار مقادیر پتاسیم در تمام نمونه‌های تیمار شده و در هر سه برداشت شد.

تحت تنش خشکی، در مقدار مالون‌دی‌آلدئید مربوط به نمونه‌های شاهد ۲ افزایش زیادی حاصل شد، اما با شروع تیماردهی به وسیله غلظت‌های مختلف نیترات پتاسیم، روند کاهش درخور توجه مالون‌دی‌آلدئید نسبت به شاهد ۲ در نمونه‌های تنش‌دیده در هر سه برداشت اول، دوم و سوم مشاهده شد. نمونه‌های شاهد ۳ اما نتوانستند در وضعیت بهتری قرار بگیرند و میزان

سنتز پروتئین، تنظیم اسمزی، تعادل کاتیونی-آنیونی و تحمل تنش دارد (Marschner, 2012).

کاهش مشاهده شده در مقادیر کلروفیل a و b در وضعیت تنش خشکی، همان گونه که قبلاً نیز در باره گیاه توتون گزارش شده (Pastori & Trippi, 1993)، به علت تخریب بیشتر کلروفیل نسبت به سنتز آن است (Thalooth et al., 2006). از دلایل دیگر کاهش مقدار رنگیزه‌های فتوسنتزی در وضعیت تنش، می‌توان عمدتاً به موارد تخریب ساختمان کلروپلاست و دستگاه فتوسنتزی، فتواکسیداسیون کلروفیل‌ها، واکنش آنها با اکسیژن یکتایی، تخریب پیش‌ماده‌های سنتزکننده کلروفیل و ممانعت از بیوسنتز کلروفیل‌های جدید و فعال شدن آنزیم‌های تجزیه‌کننده کلروفیل از جمله کلروفیل‌از و اختلالات هورمونی اشاره کرد (Neocleous et al., 2007). تفاوت مقدار کلروفیل a در بین گیاهان تحت تیمار و شاهد در برداشت‌های اول تا سوم نشان داد که تیمار نمونه‌ها با نیترا تپتاسیم موجب افزایش سریع‌تر این رنگیزه نسبت به نمونه شاهد می‌شود و بازسازی کلروفیل a را تسریع می‌کند (شکل ۲A). مقایسه تغییرات مقادیر کلروفیل a و b نشان داد که در اثر تنش خشکی، میزان کاهش کلروفیل b بیشتر از میزان کاهش کلروفیل a است. در گیاه توتون، تیماردهی نمونه‌های تحت تنش خشکی با نیترا تپتاسیم می‌تواند در بازیابی کلروفیل‌ها نقش داشته باشد. تأثیر نیترا تپتاسیم می‌تواند به دلیل نقش پتاسیم در سنتز پیش‌ماده رنگیزه‌های کلروفیلی و کاهش گونه‌های فعال اکسیژن باشد (Liu et al., 2014).

کمبود ملایم آب باعث افزایش کاروتنوئیدها می‌شود (Jeyaramraja et al., 2005)؛ درحالی‌که کمبود شدید آب موجب کم شدن کاروتنوئیدها می‌شود (Munne-Bosch & Penuelas, 2004). کاروتنوئیدها انرژی زیادی را از فتوسنتز (I) و (II) به صورت گرما یا واکنش‌های شیمیایی بی‌ضرر دفع می‌کنند و می‌توانند غشاهای کلروپلاستی را حفظ کنند (Koyro, 2006). با تیمار نمونه‌های تنش دیده به وسیله نیترا تپتاسیم و تنها در آخرین نمونه برداری (برداشت سوم) روند کاهشی کاروتنوئیدها متوقف می‌شود و مقادیر آنها نسبت به

تأثیر مثبت نیترا تپتاسیم بر روند بهبودی و کاهش شدت تنش در این نمونه‌ها نسبت به نمونه‌های تیمار نشده است. به نظر می‌رسد که در برداشت سوم زمان کافی برای کاستن از شدت تنش در اختیار گیاهچه‌ها بوده و سیستم دفاعی نمونه‌های تنش دیده توان کافی برای سازگاری با اوضاع نامساعد محیطی را پیدا کرده و سطح پرولین را نسبت به برداشت اول و دوم بیشتر کاهش داده‌اند. تغییر مقادیر پرولین در نمونه‌های تحت تنش که با نیترا تپتاسیم تیمار شدند به این دلیل است که پتاسیم با افزایش فعالیت آنزیم‌ها از تولید رادیکال آزاد جلوگیری می‌کند (Ma et al., 2004). یکی از راه‌های افزایش مقدار پرولین افزایش فعالیت آنزیم گاما-گلوتامیل کیناز است که به افزایش میزان پرولین منجر می‌شود (Manivannan et al., 2007). از طرف دیگر از طریق کمک به جذب بیشتر آب در گیاه منجر به تنظیم فشار اسمزی می‌انجامد (Kanai et al., 2007).

گزارش‌های زیادی وجود دارد که کاهش مقدار پروتئین را نتیجه تنش در گیاه توتون (Parry et al., 2002; Liu et al., 2014) نشان می‌دهند. کاهش میزان پروتئین‌های محلول در گیاه تحت تنش خشکی را می‌توان به افت شدید فرآیند فتوسنتز و متعاقب آن کاهش پیش‌ماده‌های تولیدکننده پروتئین نیز نسبت داد. تنش خشکی بیان ژن‌های کدکننده پروتئین‌های درون سلولی را القا می‌کند و سبب تجزیه پروتئین‌ها و تحرک مجدد نیتروژن و متعاقب آن سنتز مواد محلول سازگار می‌شود. از این رو به نظر می‌رسد کاهش محتوای پروتئین تحت تنش خشکی با کاهش سنتز پروتئین و افزایش فعالیت آنزیم‌های تجزیه‌کننده پروتئین مرتبط باشد (Feller, 2004). در برداشت اول پس از رفع تنش، از آنجا که زمان کافی برای واکنش مناسب سیستم دفاعی گیاهچه‌های توتون وجود نداشت، افزایش مقدار پروتئین در هیچ‌یک از تیمارها مشاهده نشد، اما برخی غلظت‌های نیترا تپتاسیم در برداشت‌های دوم و سوم موجب ارتقای بهتر مقادیر پروتئین در نمونه‌های تیماریافته نسبت به نمونه‌های شاهد ۳ شدند. در هنگام پروتئین‌سازی، دخالت پتاسیم در فرایندهایی مانند جابه‌جایی اسیدهای آمینه و اتصال tRNA به ریبوزوم دلیل افزایش پروتئین تحت تنش بیان شده است (Ruiz & Romero, 1999). پتاسیم نقش اساسی در فعال‌سازی آنزیمی،

گونه‌های واکنشگر اکسیژن عمل می‌کنند و در نتیجه سبب ثبات غشاهای سلولی و مانع پراکسیداسیون لیپیدها می‌شوند (Chang *et al.*, 2002). فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی فنل‌ها به دلیل تمایل به کلاته کردن فلزات است. فنل‌ها می‌توانند یون‌های آهن را کلاته و مشتقات سوپراکسید را به وسیله واکنش فنتون غیرفعال کنند. واکنش فنتون از مهم‌ترین منابع تولید گونه‌های ROS است (Rispaill *et al.*, 2005). در بررسی اثر تنش خشکی ناشی از پلی‌اتیلن گلایکول در گیاه گندم نیز مشخص شد که علت بالارفتن سطوح ترکیبات فنلی، افزایش فعالیت و میزان آنزیم بیوسنتزکننده فنل‌ها، یعنی فنیل آلانین آمونیاک است (Tian & Li, 2006). ترکیبات فنلی حتی می‌توانند از طریق تأثیر بر برخی ویژگی‌های مورفولوژیکی برگ (تعداد روزنه، ضریب هدایت روزنه‌ای) تعرق را کاهش و بر مقاومت گیاه در برابر خشکی بیافزایند (Buttery, 1993). آنتوسیانین‌ها نیز مشابه فلاونوئیدها، رنگیزه محافظ هستند و گیاه را در برابر تنش محافظت می‌کنند (Chalker-Scott, 2002). افزایش آنتوسیانین به علت نقش حفاظت نوری آنتوسیانین از طریق حذف مستقیم ROSها در طول تنش اکسیداتیو است (Zhang *et al.*, 2010). با اعمال تنش خشکی میزان آنتوسیانین در نمونه‌های تنش دیده نسبت به نمونه شاهد ۱ به طور معنی‌داری افزایش نشان داد. حذف تنش و برداشت نمونه‌ها پس از سه روز (برداشت اول) نشان داد که افزایش مقدار آنتوسیانین در همه نمونه‌های تیمار شده و تیمارنشده با نیترات پتاسیم نسبت به شاهد ۲ همچنان ادامه داشته است و موجب افزایش مقدار آنتوسیانین‌ها شده است. این روند به طور مشابه در برداشت‌های دوم و سوم نیز ادامه یافت و موجب تداوم سنتز افزایش یافته آنتوسیانین در همه نمونه‌ها شد. به نظر می‌رسد تیمار نمونه‌های تنش دیده در این مطالعه با نیترات پتاسیم قادر به مهار سنتز افزایش یافته آنتوسیانین نبوده یا به دلیل حساسیت بالای آنتوسیانین‌ها به تحریکات تنشی، کاهش آنتوسیانین صورت نگرفته است. این نتایج با مشاهدات Zhang و همکاران در باره بگونیا (2010) مطابقت دارد.

نتایج تحقیق حاضر نیز نشان داد که مقدار قندهای محلول تحت تأثیر تنش خشکی افزایش می‌یابد. شوک شدید حاصل از این افزایش نه تنها در برداشت اول، بلکه در برداشت دوم نیز برای

نمونه شاهد ۳ به طور معنی‌داری افزایش می‌یابد. به نظر می‌رسد که کاربرد نیترات پتاسیم سبب القای سنتز کاروتنوئیدها تحت تنش می‌شود. افزایش کاروتنوئیدها علاوه بر بهبود کیفیت فتوسنتز، به ارتقای توان مقاومت آنتی‌اکسیدانی سلول کمک می‌کند و موجب کاهش صدمه‌های ناشی از تنش اکسیداتیو می‌شود؛ زیرا به دلیل نقش حفاظتی کاروتنوئیدها در تشکیلات فتوسنتزی، گونه‌هایی که کاروتنوئیدهای بالاتری دارند، در تنش اکسیداتیو ناشی از خشکی دفاع مؤثرتری خواهند داشت؛ زیرا این رنگیزه‌ها مسئول خاموش کردن اکسیژن یکتایی و جلوگیری از پراکسیداسیون لیپیدها در هنگام تنش اکسیداتیو هستند (Koyro, 2006).

در طی تیمار نمونه‌های تنش دیده با نیترات پتاسیم در برداشت اول و دوم و سوم، کاهش معنی‌دار میزان مالون‌دی‌آلدئید نسبت به شاهد ۲ مشاهده شد که حاکی از مؤثر بودن تیمار نیترات پتاسیم بر کاهش تنش است. به نظر می‌رسد که تیماردهی نمونه‌های تحت تنش با نیترات پتاسیم، با حذف ROSها، تا حد زیادی از پراکسیداسیون لیپیدی جلوگیری می‌کند و میزان MDA را کاهش می‌دهد. در نتیجه کنترل تنش اکسیداتیو در گیاه توتون سبب موفقیت این گیاه در تحمل تنش خشکی است.

نتایج برداشت اول نشان می‌دهد که خشکی میزان ترکیبات فنلی را در نمونه‌های تنش دیده نسبت به شاهد ۱ افزایش داد. این داده‌ها مشابه یافته‌های قبلی در توتون (Andersen *et al.*, 2001) است. همچنین نتایج نشان داد که در برداشت اول نه تنها نمونه‌های تیمارنشده با نیترات پتاسیم (شاهد ۳) نتوانسته‌اند در طی سه روز پس از حذف تنش، اوضاع بهتری برای رشد ایجاد نموده و میزان فنل را به منزله پاسخی تنشی کاهش دهند، بلکه نمونه‌های تیمار شده با نیترات پتاسیم هم در این فرصت کوتاه چنین توانی را نداشته‌اند، اما نمونه‌های مربوط به برداشت دوم و سوم به تدریج توانسته‌اند سنتز افزایش یافته فنل را متوقف کند و حتی به طور درخور توجهی کاهش دهند. از جمله سازوکارهای آنتی‌اکسیدانی گیاهان تحت تنش خشکی، افزایش سطوح ترکیبات فنلی است (Rebey *et al.*, 2011; Bettaieb *et al.*, 2011)، چراکه این گونه ترکیبات همچون پالاینده‌های

تمام نمونه‌ها موجب افزایش قندهای محلول شد. برای افزایش کربوهیدرات‌های محلول در وضعیت خشکی عوامل متعددی ذکر شده است. براساس گزارش‌های حاضر افزایش در غلظت قندهای محلول ممکن است نتیجه تجزیه نشاسته (Li et al., 2013) یا افزایش فعالیت آنزیم ساکارز فسفات سنتاز در هنگام تنش (Plaue et al., 2004) باشد. همچنین کاهش انتقال ساکارز به خارج از برگ‌ها به افزایش کربوهیدرات‌های محلول منجر می‌شود. چنین فرآیندی تحت کمبود کوتاه‌مدت و بلندمدت آب مشاهده شده است (Pereira et al., 1993). یکی دیگر از دلایل افزایش قندهای محلول در هنگام تنش، افزایش فعالیت آنزیم ساکارز فسفات سنتاز است (Plaue et al., 2004)، اما با تیمار نمونه‌ها به وسیله غلظت‌های مختلف نترات پتاسیم، این سیر صعودی متوقف می‌شود و حتی موجب کاهش مقدار قند در نمونه‌های تیمار یافته می‌شود که مطابق یافته‌های Fayeز و Bazaid (2014) است. همچنین پیشنهاد شده است که پتاسیم دارای نقش مهمی در انتقال قندها به منطقه انتهایی ریشه است (Saftner & Wyse, 1980)، بنابراین افزایش پتاسیم می‌تواند با تسهیل نقل و انتقال قندهای محلول، نقش مهمی در تنظیم اسمزی سلول‌های منطقه ریشه و در جهت حفظ آماس سلولی منطقه ریشه و کاهش تجمع قندهای محلول در برگ برعهده داشته باشد.

بررسی محتوای پتاسیم نشان داد که نمونه‌های شاهد ۲ نسبت به شاهد ۱ و دیگر نمونه‌های تنش دیده، حاوی کمترین مقدار پتاسیم هستند. Cakmak (2005) و همچنین Eskandari (2011) براساس بررسی‌های خود گزارش کردند که کاهش پتاسیم یکی از علائم تنش خشکی است. احتمالاً علت کاهش پتاسیم در تنش خشکی، کاهش میزان حلال‌گری پتاسیم و متعاقباً کاهش جذب آن از طریق ریشه‌های گیاه است. درحالی‌که تیماردهی نمونه‌های تنش دیده با نترات پتاسیم در برداشت اول و دوم و سوم باعث افزایش معنی‌دار مقادیر پتاسیم نسبت به نمونه شاهد ۱ و شاهد ۲ و شاهد ۳ شد. به نظر می‌رسد که افزایش دوره تیماردهی موجب افزایش محتوای داخلی نترات پتاسیم می‌شود و در نتیجه تغییراتی که در پارامترهای اندازه‌گیری شده

در این بررسی گزارش شده است، تحت تأثیر افزایش درون-سلولی پتاسیم اتفاق افتاده است. نتایج مربوط به تغییر محتوای پتاسیم می‌تواند بخش مهمی از کاهش نشانه‌های تنش را در نمونه‌های مربوط به برداشت‌های دوم و سوم و تحت اثر غلظت-های نترات پتاسیم، که در بخش‌های قبلی به آنها اشاره شد، توجیه کند.

نتیجه‌گیری

باتوجه به نتایج در این بررسی، می‌توان اظهار کرد که گیاه توتون در مواجهه با تنش خشکی سعی در حفظ فشار اسمزی خود دارد و این کار را با افزایش اسمولیت‌هایی از جمله پرولین و قندهای محلول و تجمع پتاسیم انجام می‌دهد که به حفظ فشار اسمزی و تورژسانس سلول‌های گیاه کمک می‌کنند. از آنجایی که تنش خشکی باعث ایجاد تنش اکسایشی شده است و تولید ROSها را افزایش داده است، گیاه توتون با افزایش آنتی-اکسیدان‌های غیرآنزیمی از جمله افزایش ترکیبات فنلی، آنتوسیانین و کاروتنوئیدها به تنش خشکی پاسخ داد. کاربرد نترات پتاسیم به خصوص غلظت ۱۵ میلی‌مولار نسبت به غلظت-های ۱۰ و ۵ میلی‌مولار به طور محسوس تری توانسته است برخی پیامدهای مضر تنش، همچون کاهش رنگیزه‌های فتوسنتزی و پروتئین را بهبود ببخشد. نترات پتاسیم توانست سطوح MDA را به سطح معادل با مقادیر آن در گیاهان تنش ندیده برساند و با افزایش پروتئین تا حدودی پیامدهای مخرب ناشی از تنش خشکی را بکاهد که نشانه آن کاهش مقادیر ترکیبات فنلی و مقدار پرولین در برابر غلظت‌های مختلف نترات پتاسیم است. پتاسیم نقش مهمی در کاتالیز کردن فرآیندهای متابولسمی و حفظ آماس سلولی در گیاه برعهده دارد و موجب می‌شود تا گیاه عناصر ضروری خود برای افزایش اسمولیت‌ها را بهتر و راحت‌تر به دست آورد. بدین ترتیب سلول بهتر می‌تواند در وضعیت تنش به فعالیت‌های حیاتی خود ادامه دهد و در نهایت عملکرد پذیرفتنی‌تری در هنگام تنش خواهد داشت. پس برای جبران حداقل برخی اثرهای مضر تنش خشکی و کمک به گیاه در جهت بازگشت به رشد طبیعی بعد از آبیاری مجدد، به-

سپاسگزاری

نگارندگان این مقاله ضمن سپاس فراوان از مرکز دخانیات استان گیلان بابت تأمین بذره‌های توتون و از دانشگاه گیلان به خاطر حمایت مالی قدردانی می‌کنند.

کاربردن پتاسیم می‌تواند بسیار مؤثر باشد و نقش مهمی در مقاومت در مقابل تنش در گیاه ایفا کند.

منابع/References

- حمیدی، ح. و صفرنژاد، ا. ۱۳۸۱. بررسی خصوصیات مورفولوژیک و بیوشیمیایی کالوس یونجه و بازسازی در برابر تنش اسمزی. - پژوهش و سازندگی ۵۸: ۸۴-۸۹
- Ahifar, H.** 1995. Comparison of morphological, physiological and quantitative and qualitative performance of Tiklak and Trabzon varieties. Tirtash tobacco Research Institute, Research Workbook. - Iranian Tobacco Company. pp: 26-16.
- Andersen, R.A., Lowe, R. and Vaughn, T.A.** 2001. Plant phenols and polyphenol oxidase in *Nicotiana tabacum* during greenhouse growth, field growth and air-curing. - *Phytochemistry* 8: 2139-2147.
- Andre, C.M., Schafleitner, R., Legay, S., Lefèvre, I, Hausman, J.F., Larondelle, Y and Evers, D.** 2009. Gene expression changes related to the production of phenolic compounds in potato tubers grown under drought stress. - *Phytochemistry* 70: 1107-1116.
- Bates, L.S.** 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. - *Plant Soil* 39: 205-207.
- Bettaieb, I., Hamrouni-Sellami, I., Bourgou, S., Limam F. and Marzouk, B.** 2011. Drought effects on polyphenol composition and antioxidant activities in aerial parts of *Salvia officinalis* L. - *Acta Physiologiae Plantarum* 33:1103-1111.
- Bradford, M.M.** 1976. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of prot utilizing the principle of protein dye-binding. - *Annal Biochemistry* 38: 248-252.
- Buttery, R.B.T., Buzzel, C.S., Gayron, J.D. and Matarish, D.C.** 1993. Stomatal number of soybean and response to water stress. - *Plant Soil* 149: 283-288.
- Cakmak, I.** 2005. The role of potassium in alleviating detrimental effects of abiotic stresses in plants. - *The Journal of Plant Nutrition and Soil Science* 168: 521-530.
- Caruso, A., Chefdor, F., Carpin, S., Depierreux, C., Delmotte, F.M., Kahlem, G. and Morabito, D.** 2008. Physiological characterization and identification of genes differentially expressed in response to drought induced by PEG 6000 in *Populus canadensis* leaves. - *Plant Physiology* 165: 932-941.
- Chalker-Scott, L.** 2002. Do anthocyanins function as osmoregulators in leaf tissues? - *Advances in Botanical Research* 37: 103-106.
- 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 Science* 163: 1161-1168.
- Chaves, M.M. and M.M. Oliveira.** 2004. Mechanisms underlying plant resilience to water deficits: prospects for water-saving agriculture. - *Journal of Experimental Botany* 55: 2365-2384.
- Fayez, K.A. and Bazaid, S.A.** 2014. Improving drought and salinity tolerance in barley by application of salicylic acid and potassium nitrate. - *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences* 13: 45-55.
- Feller, U.** 2004. Proteolysis. In: *Plant Cell Death Processes*. - Elsevier. pp. 107-123.
- Gao, T., Jelle, B.P., Sandborg, L.I.C. and Gustavsen, A.** 2013. Monodisperse hollow silica nanospheres for nano insulation materials: synthesis, characterization and life cycle assessment. - *ACS Applied Materials & Interfaces* 5: 761-767.
- Garg, A.K., Kim, J.K., Owens, T.G., Ranwala, A.P., Choi, Y.D., Kochian, L.V., and Wu, R.J.** 2002. Trehalose accumulation in rice plants confers high tolerance levels to different abiotic stresses. -

Proceeding of the National Academy of Sciences USA 99: 15898-15903.

Heath, R.L. and Packer, L. 1969. Photoperoxidation in isolated chloroplast kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. – Archives of Biochemistry and Biophysics 125: 189-198.

Irigoyen, J.J., Emerich, D.W. and Sanchez-Diaz, M., 1992. Water stress induced changes in concentrations of proline and total soluble sugars in nodulated alfalfa (*Medicago sativa*) plants. – Plant Physiology 84: 55-60.

Jeyaramraja, P.R., Meenakshi, S.N., Kumar, R.S., Joshi, S.D. and Ramasubramanian, B. 2005. Water deficit induced oxidative damage in tea (*Camellia sinensis*) plants. – Plant Physiology 162: 413-419.

Kanai, S., Ohkura K., Adu-Gyamfi, J. Mohapatra, P. Saneoka, H. and Fujita, K. 2007. Depression of sink activity precedes the inhibition of biomass production in tomato plants subjected to potassium deficiency stress. – Journal of Experimental Botany 58: 2917-2928.

Koc, E., İslak, C. and Üstun, A.S. 2010. Effect of cold on protein, proline, phenolic compounds and chlorophyll content of two pepper (*Capsicum annum* L.) varieties. – Gazi University Journal of Science 23: 1-6.

Koyro, H.W. 2006. Effect of salinity on growth, photosynthesis, water relations and solute composition of potential cash crop halophyte *Plantago coronopus* (L.). – Environmental and Experimental Botany 56: 136-149.

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. – Physiologia Plantarum 103: 1-7.

Li, M.H., Cherubini, P., Dobbertin, M., Arend, M., Xiao, W.F. and Rigling, A. 2013. Responses of leaf nitrogen and mobile carbohydrates in different Quercus species/provenances to moderate climate changes. – Plant Biology 15: 177-184.

Lichtenthaler, H.K. 1987. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. – Methods in Enzymology 148: 350-382.

Liu, J., Li, J., Su, X. and Xia, Z. 2014. Grafting improves drought tolerance by regulating antioxidant enzyme activities and stress-responsive gene expression in tobacco. – Environmental and Experimental Botany 107: 173-179.

Ma, Q., Turner, D.W., Levy, D. and Cowling, W. 2004. Solute accumulation and osmotic adjustment in leaves of Brassica oilseeds in response to soil water deficit. – Australian Journal of Agricultural Research 55: 939-945.

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

Marschner, P. 2012. Marschner's mineral nutrition of higher plants. 3rd ed. Academic Press, London, UK. pp: 178-189.

Masukasu, H., Karin, O. and Kyoto, H. 2003. Enhancement of anthocyanin biosynthesis by sugar in radish (*Raphanus sativus*) hypocotyls. – Plant Science 164: 259-265.

Munne-Bosch, S. and Alegre, L. 2004. Die and let live: leaf senescence contributes to plant survival under drought stress. – Functional Plant Biology 31: 203-216.

Nagata, M. and Yamashita, I. 1992. Simple method for simultaneous determination of chlorophyll and carotene in tomato fruit. – The Japanese Society for Food Science and Technology-Nippon Shok 39: 925-928.

Neocleous, D. and Vasilakakis, M. 2007. Effects of NaCl stress on red raspberry (*Rubus idaeus* L. 'Autumn Bliss'). – Scientia Horticulturae 112: 282-289.

Oliviera-Neto, C.F., Silva-Lobato, A.K., Goncalves-Vidigal, M.C., Costa, R.C.L., Santos-Filho B.G., Alves G.A.R., Silva-Maia, W.J.M., Cruz, F.J.R., Neres, H.K.B. and Santos-Lopes, M.J. 2009. Carbon compounds and chlorophyll contents in sorghum submitted to water deficit during three growth stages. – Science and Technology 7: 588-593.

Ort, D.R. 2001. When there is too much light. – Plant Physiology 125: 29-32.

Parry, A.D., Tiller, S.A. and Edward, R. 1994. The effects of heavy metals and root immersion on isoflavonoid metabolism in alfalfa (*Medicago sativa* L.). – Plant Physiology 106: 195-203.

Pastori, G.M. and Trippi, V.S. 1993. Cross resistance between water and oxidative stress in wheat leaves. – Journal of Agricultural Science 20: 289 -294.

Pereira, J.S. and Chaves, M.M. 1993. Plant water deficits in mediteranian ecosystems. In: Water Deficits and Plant Growth. Eds. By Kozlowski, T.T. – Academic Press, New York. pp: 237.

Plaue, Z., Grava, A., Yehezkel, Ch. and Matan, E. 2004. How do salinity and water stress affect transport of water, assimilates and ions to tomato fruits? – Physiologia Plantarum 122: 429-442.

Rebey, I.B., Bourgou, S., Debez, I.B.S., Karoui, I.J., Sellami, I.H., Msaada, K., Limam, F. and Marzouk, B. 2011. Effects of extraction solvents and provenances on phenolic contents and antioxidant activities of

Cumin (*Cuminum cyminum* L.) seeds. – Food and Bioprocess Technology 5: 2827-2836.

Rebey, I.B., Jabri-Karoui, I., Hamrouni-Sellami, I., Bourgou, S., Limam, F. and Marzouk B. 2012. Effect of drought on the biochemical composition and antioxidant activities of cumin (*Cuminum cyminum* L.) seeds. – Industrial Crops and Products 36: 238-245.

Rispail, N., Morris, P. and Webb, K.J. 2005. Phenolic compounds: Extraction and Analysis. In A. J. Marquez, ed. *Lotus japonicus* Handbook. – Springer, pp: 349-355.

Ruiz, J.M. and Romero, L. 1999. Nitrogen efficiency and metabolism in grafted melon. – Scientia Horticulturae 81: 113-123.

Saeed-Akram, M., Ashraf, M. and Aisha Akram, N. 2009. Effectiveness of potassium sulfate in mitigating salt-induced adverse effects on different physio-biochemical attributes in sunflower (*Helianthus annuus* L.). – Flora 204: 471-483.

Saftner, R.A. and Wyse, R.E. 1980. Alkali cation/sucrose cotransport in the root sink of sugar beet. – Plant Physiology 66: 884-889.

Serraj, R. and Sinclair, T.R. 2002. Osmolyte accumulation: Can it really help increase crop yield under drought conditions? – Plant Cell and Environment 25: 333-341.

Singh, G.S. and Tuteja, N. 2010. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. – Plant Physiology and Biochemistry 48: 909-930.

Suriyan, Ch. and Chalernpol, K. 2009. Proline accumulation, photosynthetic abilities and growth characters of sugarcane (*Saccharum officinarum* L.) plantlets in response to iso-osmotic salt and waterdeficit stress. – Agricultural Sciences in China 8: 51-58.

Thalooth, A.T., Tawfik, M.M. and Magda Mohamed, H. 2006. A comparative study on the effect of foliar application of zinc, potassium and magnesium on growth, yield and some chemical constituents of mungbean plant grown under water stress conditions. – World Journal of Agricultural Sciences 2: 37- 46.

Tian, X. and Li, Y. 2006. Nitric oxide treatment alleviates drought stress in wheat seedlings. - Biologia Plantarum 50: 775-778.

Vendruscolo, A.C.G., Schuster, I., Pileggi, M., Scapim, C.A., Molinari, H.B.C., Marur, C.J. and Vieira, L.G.C. 2007. Stress-induced synthesis of proline confers tolerance to water deficit in transgenic wheat. – Journal of Plant Physiology 164: 1367-1376.

Venskutonis, P.R., Miliauskas, G. and Van Beek, T.A. 2004. Screening of radical scavenging activity of so medicinal and aromatic plant extracts. – Food Chemistry 85: 231-237.

Wind, W., Arend, M. and Fromm, J. 2004. Potassium-dependent cambial growth in poplar. – Plant Biology 6: 30-37.

Zhang, K.M., Yu, H.J., Shi, K., Zhou, Y.H., Yu, J.Q. and Xia, X.J. 2010. Photoprotective roles of in *Begonia semperflorens*. – Plant Science 179: 202-208.

Norastehnia, A. and Farjadi, M. 2016. The effect of the interaction between water stress and potassium nitrate on some of the physiological responses of *Nicotiana tabacum* L. – Nova Biologica Reperta 2: 260-271.

نورسته‌نیا، ا. و فرجادی، م. ۱۳۹۴. اثر متقابل تنش خشکی و نیترات پتاسیم بر برخی پاسخ‌های فیزیولوژیک گیاه توتون (*Nicotiana tabacum* L.). – یافته‌های نوین در علوم زیستی ۲: ۲۶۰-۲۷۱.