

اثر محلول پاشی نانودی اکسید تیتانیوم و اسید آسکوربیک بر وزن بلال و برخی از صفات بیوشیمیایی ذرت شیرین (*Zea mays var saccharata*) در شرایط تنش کمبود آب

صابر شهیم گرمی^۱، فرهاد فرحوش^{۲*}، بهرام میرشکاری^۳، ابراهیم خلیلوند بهروزیار^۴ و مهرداد یارنیا^۵

۱، ۲، ۳، ۴ و ۵) گروه زراعت و اصلاح نباتات، واحد تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران.

* نویسنده مسئول: farahvash@iaut.ac.ir

این مقاله برگرفته از رساله دکتری می باشد.

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۱۱/۰۵

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۸/۰۳

چکیده

به منظور بررسی اثر محلول پاشی نانو دی اکسید تیتانیوم و اسید آسکوربیک بر وزن بلال و برخی از صفات بیوشیمیایی ذرت شیرین (*Zea mays var saccharata*) در شرایط تنش کمبود آب، این آزمایش به صورت کرت های دو بار خرد شده در قالب طرح بلوک های کامل تصادفی در سه تکرار در ایستگاه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز طی دو سال زراعی ۱۳۹۵ و ۱۳۹۶ به اجرا درآمد. تیمارهای آزمایشی عبارت از عامل اصلی تنش کمبود آب در سه سطح (آبیاری در سطح ظرفیت زراعی، آبیاری تا ۷۵ درصد ظرفیت مزرعه ای و آبیاری تا ۵۰ درصد ظرفیت مزرعه ای)، عامل فرعی محلول پاشی اسید آسکوربیک در دو سطح صفر، ۰/۰۵ درصد و عامل فرعی محلول پاشی نانو دی اکسید تیتانیوم در سه سطح صفر، ۰/۰۲ و ۰/۰۴ درصد بودند. نتایج این پژوهش نشان داد که محلول پاشی ۰/۰۵ درصد اسید آسکوربیک و ۰/۰۲ درصد نانو دی اکسید تیتانیوم تحت شرایط آبیاری تا ۵۰ درصد رطوبت مزرعه ای موجب افزایش فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز شد. هم چنین محلول پاشی با ۰/۰۲ درصد نانو دی اکسید تیتانیوم در شرایط آبیاری تا ۵۰ درصد ظرفیت مزرعه ای موجب افزایش آنزیم سوپراکسید دیسموتاز شد. نانو کود دی اکسید تیتانیوم و اسید آسکوربیک با کاهش اثر منفی تنش کمبود آب توانست وزن بلال را در تمام تیمارهای مورد مطالعه افزایش دهد که این موضوع نشان از اثر مثبت این ترکیب در گیاه دارد. محلول پاشی با ۰/۰۲ درصد نانو دی اکسید تیتانیوم و ۰/۰۵ درصد اسید آسکوربیک با میانگین ۱۸۳/۲ گرم در بوته بیشترین و عدم محلول پاشی هر دو ترکیب با میانگین ۱۶۳/۱ گرم بر بوته کمترین وزن بلال را داشتند که موجب افزایش ۱۲ درصدی وزن بلال نسبت به عدم محلول پاشی ترکیبات فوق شد.

واژه های کلیدی: آنزیم، اسید آسکوربیک، وزن بلال، محلول پاشی و نانودی اکسید تیتانیوم.

مقدمه

ذرت شیرین^۱ یک گیاه تغییر یافته ژنتیکی از ذرت معمولی است که با انجام جهش ژنتیکی در مکان Su از کروموزوم شماره چهار ذرت معمولی حاصل شده است. این تغییرات ژنتیکی باعث تجمع قندها و پلی ساکاریدهای محلول در آندوسپرم دانه می شود. ذرت شیرین^۲ به عنوان غذای تازه انسان مورد مصرف قرار می گیرد و از سبزی ها به شمار می آید که در حال حاضر یکی از پر مصرف ترین سبزی ها در نقاط مختلف جهان است که به علت خوشمزه گی و غنی بودن از ویتامین ها مصرف آن روبه افزایش است (هاشمی دزفولی و همکاران، ۱۳۸۰). کمبود آب یکی از مهم ترین عوامل محدود کننده محیطی است که رشد و عملکرد گیاهان زراعی را تحت تاثیر قرار می دهد (Mohammadi *et al.*, 2016). در بسیاری از گیاهان زراعی، عملکرد به دلیل تنش های محیطی کمتر از ۱۰ تا ۲۰ درصد پتانسیل عملکرد آنان است (حبیب پور و همکاران، ۱۳۹۴). شایع ترین واکنش گیاهان به تنش کمبود آب علاوه بر کاهش رشد رویشی و تغییر در ساختارهای آناتومیکی گیاه، بسته شدن روزنه ها و سنتز انواع متابولیت های ثانویه به منظور ممانعت از آسیب های تخریبی و اکسیداتیو است (Sharma *et al.*, 2012). سلول های گیاهی برای مقابله با اثر منفی ناشی از انواع اکسیژن فعال به ساز و کارهای دفاعی ویژه ای متشکل از آنتی اکسیدان های غیر آنزیمی (آسکوربات، گلوکاتایون، آنتوسیانین، ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی و...) و آنتی اکسیدان های آنزیمی (کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز، آسکوربات پراکسیداز، پراکسیداز و برخی دیگر) مجهز هستند (Esfandiari *et al.*, 2009). در این بین لزوم تغییر نگرش جدی نسبت به مدیریت بخش کشاورزی در سطح جهان و به کارگیری فناوری های جدید در صنعت کشاورزی به منظور کاهش خسارت تنش های محیطی پیش از هر زمان دیگری آشکارتر می سازد (سلطانی و همکاران، ۱۳۹۳). طی دهه گذشته پیشرفت های گسترده ای در فناوری نوین (نانو، زیست فناوری، فناوری اطلاعات و فناوری وابسته به علوم شناختی) در شمار زیادی از کشورها به وقوع پیوسته است. در مرکز این فناوری های نوین و آینده ساز، علوم و فناوری که توجه پژوهشگران به آن معطوف شده است نانو قرار دارد که به عنوان یک فناوری نوین بین رشته ای و پیش نیاز رفع مشکلات و کمبودها در بسیاری از عرصه های علمی و صنعتی، امیدهای زیادی را برای رفع کمبودها و توسعه بخش کشاورزی ایجاد نموده است (Scrins and Lyons, 2007). نانو ذره دی اکسید تیتانیوم^۳ به عنوان یکی از نانو بلورهای نیمه هادی اکسید فلزی، جایگاه ویژه ای در جهان صنعتی امروز یافته و به علت ویژگی های الکتریکی، نوری و فوتوکاتالیستی خوبی که دارد توجه بسیاری از دانشمندان در حوزه های مختلف از جمله کشاورزی را به خود جلب کرده است (Khan *et al.*, 2017). این ترکیب از جمله موادی می باشد که امروزه خواص آن

1- *Zea mays* var *saccharata*

2- Sweet corn

3- TiO₂

مبنی بر کاهش اثرات مخرب تنش خشکی گزارش شده است. نانودی‌اکسیدتیتانیوم با افزایش فعالیت احیایی نوری فتوسیستم II، آزادسازی اکسیژن، فعالیت فسفوریلاسیون نوری کلروپلاست، آنزیم روبیسکو، فعالیت آنزیم نیتراترداکتاز، آنزیم کاتالاز و پراکسیداز و بهبود محتوای برخی از عناصر ضروری در بافت‌های گیاهی عملکرد محصولات مختلف را افزایش می‌دهد (Khater, 2015). هم‌چنین با کاهش رادیکال آزاد اکسیژن و مالون دی‌آلدئید و افزایش آنزیم‌های آنتی-اکسیدانی باعث کاهش اثر منفی تنش می‌شود (Yang et al., 2006). در این خصوص خلیل‌وند بهروزیار و همکاران (۱۳۹۸) در آزمایشی بر روی ذرت سینگل کراس ۷۰۴ نشان دادند که محلول‌پاشی با نانو دی‌اکسید تیتانیوم با غلظت ۰/۰۱ درصد در شرایط ۵۰ درصد رطوبت قابل دسترس بیش‌ترین فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز و کم‌ترین مقدار پراکسید هیدروژن را داشت. هم‌چنین محلول‌پاشی با غلظت ۰/۰۱ درصد نانو دی‌اکسید تیتانیوم تحت شرایط آبیاری کامل در مقایسه با عدم محلول‌پاشی این ترکیب تحت شرایط ۵۰ درصد رطوبت قابل دسترس و شاهد عملکرد بلال را به‌ترتیب ۵۸ و ۸/۱ درصد افزایش داد. مزارعی و همکاران (۱۳۹۸) نیز در بررسی اثر محلول‌پاشی دی‌اکسید تیتانیوم بر برخی از خصوصیات فیزیولوژیکی مریم‌گلی تحت تنش خشکی گزارش کردند که بیشترین غلظت پرولین (۵/۱۵ میلی‌گرم بر وزن تر) و فعالیت ترکیبات آنتی‌اکسیدانی شامل مقدار فنل کل (۴۹/۱۴ میلی‌گرم بر وزن تر)، آنزیم‌های پراکسیداز (۴/۴۸ میلی‌گرم بر وزن تر)، آسکوربات پراکسیداز (۰/۶۰ میلی‌گرم بر وزن تر)، گایاکول پراکسیداز (۰/۶۰ میلی‌گرم بر وزن تر)، سوپراکسید دیسموتاز (۵/۵۳ میلی‌گرم بر وزن تر) و کاتالاز (۵/۶۵ میلی‌گرم بر وزن تر) در گیاهان آبیاری شده پس از تخلیه ۷۵ درصد رطوبت ظرفیت زراعی و محلول‌پاشی شده با غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر نانو تیتانیوم حاصل شد. اسید آسکوربیک یک مولکول کوچک قابل حل در آب است که دارای ویژگی آنتی‌اکسیدانی بالایی بوده و به‌عنوان سوبسترای اولیه در مسیرهای چرخه‌ای، برای سمیت‌زدایی و خنثی کردن رادیکال‌های سوپراکسید و اکسیژن منفرد نقش دارد. هم‌چنین به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدان ثانویه در باز چرخ آلفا توکوفرول و دیگر آنتی‌اکسیدان‌های چربی‌دوست نقش ایفا می‌کند. این مولکول آنتی‌اکسیدان همراه دیگر ترکیبات سیستم آنتی‌اکسیدانی، سلول‌های گیاهی را در برابر آسیب‌های اکسیداتیو ناشی از متابولیسم‌های هوازی فتوسنتز و تنفس و حتی آلودگی‌ها حفظ می‌نماید (Noctor and Foyer, 1998). Farooq و همکاران (۲۰۰۹) در بررسی اثر پیش تیمار بذر با اسید آسکوربیک بر ویژگی‌های رشدی گندم تحت شرایط تنش خشکی گزارش نمودند پیش تیمار بذر با اسید آسکوربیک موجب افزایش جوانه‌زنی، افزایش سطح برگ، شاخص کلروفیل، طول ریشه و وزن خشک گیاه شد. هم‌چنین پیش تیمار بذر با اسید آسکوربیک توانست اثر تنش خشکی را با فعالیت آنتی‌اکسیدانی، افزایش میزان تجمع پرولین، افزایش میزان آب بافت، پایداری غشای سلولی و تسریع رشد گیاهچه بهبود بخشد. کلانتر احمدی و همکاران (۱۳۹۵) در بررسی اثر تنش خشکی و محلول‌پاشی تنظیم‌کننده‌های رشد بر

محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی و عملکرد دانه کلزا گزارش کردند که حداکثر عملکرد دانه (۴۴۹۳ کیلوگرم در هکتار) در شرایط آبیاری مطلوب با محلول پاشی ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر اسید آسکوربیک و حداقل عملکرد دانه (۱۹۶۸ کیلوگرم در هکتار) نیز در تیمار قطع آبیاری در مرحله گلدهی و محلول پاشی با آب مقطر (شاهد) به دست آمد. با توجه به مزایای بالقوه‌ای که برای کاشت ذرت شیرین وجود دارد، انجام تحقیقات همه‌جانبه اعم از به‌زراعی و به‌نژادی در این گیاه ضروری به نظر می‌رسد. با عنایت به این‌که بخش وسیعی از زمین‌های زیر کشت در ایران دارای شرایط آب و هوایی نیمه‌خشک است و به دلیل موقعیت خاص جغرافیایی، در اکثر نقاط آن تنش‌های مهم غیرزنده مانند خشکی، شوری و دما موجب کاهش عملکرد و در مواردی نیز موجب عدم موفقیت در کشاورزی گردیده است، از این‌رو حصول بالاترین میزان عملکرد با مصرف حداقل آب ممکن در کوتاه‌ترین زمان با کاربرد نانو ترکیباتی چون دی اکسید تیتانیوم در مقابل روش‌های به‌نژادی که اغلب بلندمدت و هزینه‌بر هستند ضروری به نظر می‌رسد که پژوهش حاضر نیز در راستای نیل به اهدافی چون ارزیابی و شناسایی صفات مهم فیزیولوژیکی مؤثر بر عملکرد ذرت شیرین در شرایط تنش کمبود آب و کاربرد ترکیب فوق صورت می‌گیرد.

مواد و روش‌ها

این آزمایش طی دو سال زراعی ۹۶-۱۳۹۵ در ایستگاه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه آزاد اسلامی واقع در تبریز، با طول جغرافیایی ۴۶ درجه و ۱۷ دقیقه شرقی، عرض جغرافیایی ۳۸ درجه و پنج دقیقه شمالی و ارتفاع ۱۳۶۰ متر از سطح دریا به صورت مزرعه‌ای اجرا گردید. تحقیق حاضر بر روی رقم چلنجر ذرت شیرین به صورت کرت‌های دو بار خرد شده در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار اجرا شد. کشت هر دو سال در تاریخ بیستم اردیبهشت ماه بود. عامل اصلی کمبود آب در سه سطح آبیاری در سطح ظرفیت زراعی، آبیاری تا ۷۵ درصد ظرفیت مزرعه‌ای و آبیاری تا ۵۰ درصد ظرفیت مزرعه‌ای، عامل فرعی محلول پاشی اسید آسکوربیک در دو سطح صفر، ۰/۰۵ درصد و عامل فرعی فرعی محلول پاشی نانو دی اکسیدتیتانیوم در سه سطح صفر، ۰/۰۲ و ۰/۰۴ درصد در نظر گرفته شد. هر کرت شامل چهار ردیف کاشت به طول چهار متر، فاصله بین ردیف‌ها ۷۵ سانتی‌متر و فاصله بوته‌ها روی ردیف ۲۵ سانتی‌متر بود. فاصله هر کرت فرعی با کرت فرعی دیگر یک خط نکاشت و فاصله کرت‌های اصلی از هم به دلیل وجود تنش آبی ۳ متر در نظر گرفته شد. محلول پاشی روی اندام هوایی سه بار طی فصل رشد و در مراحل ۱۰-۸ برگی (BBCH-18-20)، ظهور تاسل (BBCH-51-53) و پر شدن دانه‌ها (BBCH-71-73) انجام شد. جهت تعیین زمان آبیاری در تیمارهایی که تنش در آن‌ها اعمال گردید، ابتدا ظرفیت مزرعه‌ای خاک اندازه‌گیری شده و سپس شاهد بر اساس ظرفیت مزرعه‌ای و سایر تیمارها بر اساس سطوح تنش‌ها آبیاری شدند. آبیاری بر حسب نیاز کانوپی و بسته به شرایط آب و هوایی منطقه انجام و از مرحله ۱۰-۸

برگی به بعد با توجه به فواصل دور آبیاری تیمارها اعمال شدند. جدول ۱ مشخصات خاک مورد کشت و جدول ۲ آمار هواشناسی منطقه مورد آزمایش را نشان می دهد.

جدول ۱: مشخصات خاک مزرعه مورد آزمایش

اسیدیته	هدایت الکتریکی (دسی زیمنس بر متر)	کربن (درصد)	نیتروژن (میلی گرم بر کیلوگرم)	فسفر (میلی گرم بر کیلوگرم)	پتاسیم (میلی گرم بر کیلوگرم)	شن	سیلت (درصد)	رس
۷/۸-۸/۹	۱/۵۷	۰/۹۲	۰/۱۳۳	۴۸	۶۰۰	۶۸	۱۸	۱۴

جدول ۲: آمار هواشناسی منطقه مورد آزمایش

میانگین دما حداکثر ماهانه (سلسیوس)	میانگین دما حداقل ماهانه (سلسیوس)	مجموع بارش ماهانه (میلی متر)	ماه
۲۳	۹/۵	۴۶/۱	اربیبهشت ماه ۱۳۹۵
۲۷/۹	۱۳/۲	۲۹/۸	خرداد ماه ۱۳۹۵
۳۳	۱۹/۴	۱۰/۳	تیر ماه ۱۳۹۵
۳۵/۵	۲۱/۷	-	مرداد ماه ۱۳۹۵
۳۱/۸	۱۷/۱	۲۴/۵	شهریور ماه ۱۳۹۵
۲۳/۶	۱۰/۱	۱۳/۵	اردیبهشت ماه ۱۳۹۶
۲۹/۴	۱۴/۷	۱۴/۸	خرداد ماه ۱۳۹۶
۳۴/۶	۲۱/۳	-	تیر ماه ۱۳۹۶
۲۶/۳	۲۲/۴	۱۵	مرداد ماه ۱۳۹۶
۳۴/۳	۱۹/۳	-	شهریور ماه ۱۳۹۶

برای تعیین ظرفیت مزرعه‌ای از دستگاه صفحات فشار استفاده شد. بدین ترتیب که نمونه‌هایی از خاک مزرعه برداشت و سپس نمونه‌های خاک اشباع شده در دستگاه صفحه فشار روی صفحات سرامیکی قرار داده شدند. سپس به آهستگی هوای داخل محفظه افزایش یافت تا به فشار یک سوم بار (۰/۳ بار) رسید. پس از رسیدن رطوبت به حالت تعادل و زمانی که دیگر از لوله‌ها آبی خارج نمی‌شود هوای محفظه خالی و نمونه‌های خاک بلافاصله در آزمایشگاه به وسیله ترازوی حساس با دقت ۰/۰۱ گرم توزین شد. سپس نمونه‌ها در دمای ۱۰۵ درجه سلسیوس به مدت ۲۴ ساعت در آون قرار گرفته و پس از توزین خاک خشک شده مقدار رطوبت وزنی خاک در حالت ظرفیت مزرعه‌ای با استفاده از رابطه ۱ محاسبه شد (Khan *et al.*, 2017).

$$\theta_m = \frac{M_w - M_s}{M_s} \times 100$$

رابطه ۱:

در این رابطه θ_m مقدار رطوبت وزنی، M_w وزن خاک مرطوب و M_s وزن خاک خشک بر حسب گرم می باشد. بعد از مشخص شدن رطوبت وزنی خاک در حالت ظرفیت مزرعهای، مقدار رطوبت نقطه پژمردگی نیز در فشار ۱۵ بار به همان ترتیب اندازه گیری و تفاضل رطوبت ظرفیت مزرعهای و رطوبت نقطه پژمردگی، به عنوان رطوبت قابل دسترس در نظر گرفته شد (Khan et al., 2017). پس از مشخص شدن میزان رطوبت قابل دسترس، هر روز از خاک نمونه برداری شده و میزان رطوبت وزنی خاک تعیین شد و فواصل دور آبیاری در تیمارهای مختلف به دست آمد. تمامی صفات مورد بررسی در بوته های برداشت شده از هر تیمار اندازه گیری و میانگین آن ها مدنظر قرار گرفت.

اندازه گیری فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز

برای اندازه گیری فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز از روش Giannopolities و Ries (۱۹۷۷) استفاده شد. ۳ میلی لیتر محلول واکنش شامل ۱۳ میلی مول متیونین، ۷۵ میکرومول نیتروبلو تترازولیوم کلراید (NBT)، ۲ میکرومول ریپوفلاوین، ۵۰ میلی مول بافر فسفات و ۰ تا ۵۰ میکرو لیتر آنزیم استخراجی بود. واکنش با روشن کردن لامپ فلورسنت شروع گردید. محلول واکنش به مدت ۱۰ دقیقه زیر دو لامپ فلورسنت ۱۵ وات با ارتفاع ۲۰ سانتی متر با شدت نور ۱۰۰۰ لوکس قرار داده شد و با خاموش کردن لامپها واکنش خاتمه یافت. سپس محلول واکنش تا اندازه گیری جذب، توسط پارچه سیاه پوشانده شد. جذب در طول موج ۵۶۰ نانومتر با اسپکتروفوتومتر اندازه گیری شد. به یکی از ظروف آنزیمی اضافه نگردید و در نتیجه حداکثر رنگ ایجاد گردید. یکی از ظروف نیز تحت تابش نور قرار نگرفته و هیچ رنگی ایجاد نشده و به عنوان بلانک در نظر گرفته شد. یک واحد فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز به عنوان مقدار آنزیم لازم برای ۵۰ درصد ممانعت از احیاء فتوشیمیایی نیتروبلو تترازولیوم کلراید در نظر گرفته و محاسبه شد.

اندازه گیری فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز

سنجش فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز بر طبق روش Ghanati و همکاران (۲۰۰۲) تعیین گردید. مخلوط واکنش، شامل ۱۰۰ میکرو لیتر از عصاره آنزیمی، ۵۰۰ میکرو لیتر آب اکسیژنه ۵ میلی مولار و ۵۰۰ میکرو لیتر متیل کاتکول ۰/۰۲ مولار در ۱۹۰۰ میکرو لیتر بافر پتاسیم فسفات است. افزایش در جذب در طول موج ۴۱۰ نانومتر محاسبه و فعالیت آنزیمی به میلی گرم پروتئین در دقیقه بیان شد.

اندازه گیری فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز

برای اندازه گیری فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز از روش Dazy و همکاران (۲۰۰۸) استفاده شد. محیط واکنش شامل بافر پتاسیم فسفات ۲۵ میلی مولار (pH ۶/۸) و پراکسید هیدروژن ۴۰ میلی مولار و گایاکول ۲۰ میلی مولار تهیه

گردید. واکنش با افزودن ۱۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی در حجم نهایی ۳ میلی لیتر آغاز گردید. افزایش جذب به وسیله تشکیل تترا گایاکول در طول موج ۴۷۰ نانومتر به مدت ۳ دقیقه ثبت شد.

تعیین میزان کلروفیل برگ

در انتهای مرحله گلدهی (BBCh-69)، برای سنجش کلروفیل، بافت تازه برگ‌های وسطی تهیه شد. ۰/۲ گرم از بافت برگ را با استن ۸۰ درصد به تدریج ساییده تا کلروفیل وارد محلول استنی شود. در نهایت حجم محلول با استن ۸۰ درصد توسط بالن ژوژه به ۲۵ میلی لیتر رسانده شد. محلول حاصل به مدت ۱۰ دقیقه در ۴۰۰۰ دور سانتریفیوژ و سپس جذب نوری محلول رویی در طول موج‌های ۶۴۵ و ۶۶۳ توسط اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری خواهد شد. بر اساس رابطه‌های ۲، ۳ و ۴، کلروفیل a، کلروفیل b و کلروفیل کل محاسبه شدند (Porra, 2002):

$$\text{Chl a } (\mu\text{g/ml}) = 12.25 \text{ E663} - 2.55 \times \text{E645} \quad \text{رابطه ۲:}$$

$$\text{Chl b } (\mu\text{g/ml}) = 20.31 \text{ E645} - 4.91 \times \text{E663} \quad \text{رابطه ۳:}$$

$$\text{Total Chl } (\mu\text{g/ml}) = 17.76 \text{ E645} + 7.34 \times \text{E663} \quad \text{رابطه ۴:}$$

اندازه‌گیری محتوای نسبی آب برگ

برای اندازه‌گیری محتوای نسبی آب برگ، یک برگ مشخص از هر بوته در هر تیمار برداشت و بلافاصله وزن تر برگ توزین شد. سپس با استفاده از آب مقطر نمونه مورد نظر در داخل لوله‌های آزمایشی به مدت ۵ ساعت به حالت اشباع در آورده شده و بار دیگر توزین شد. در ادامه نمونه را در داخل آون ۷۵ درجه سلسیوس به مدت ۲۴ ساعت قرار داده و پس از خشک شدن، وزن خشک برگ تعیین و با رابطه ۵ محتوای نسبی آب برگ محاسبه گردید:

$$\text{رابطه ۵:} \quad \text{محتوای نسبی آب برگ} = \frac{\text{وزن خشک - وزن تر}}{\text{وزن خشک - وزن اشباع}} \times 100$$

در مرحله شیری - خمیری دانه‌ها (BBCh-83) نیز میانگین مجموع دانه‌ها در بلال‌های انتخابی به عنوان تعداد دانه در بلال محاسبه گردید. با توجه به اینکه اندام قابل فروش در ذرت شیرین بلال است، از این‌رو در مرحله شیری - خمیری (BBCh-83)، برداشت از دو خط وسط با حذف اثر حاشیه انجام و عملکرد بلال محاسبه گردید. قبل از تجزیه آماری، تست نرمال بودن داده‌ها انجام و سپس تجزیه و تحلیل آماری داده‌های به دست آمده از اندازه‌گیری صفات مورد نظر با استفاده از

نرم افزار Mstat-c انجام شد. برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون دانکن در سطح احتمال پنج درصد استفاده شد. برای ترسیم شکل‌ها از نرم‌افزار Excel استفاده گردید.

نتایج و بحث

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که برهم‌کنش محلول پاشی اسید آسکوربیک و نانودی اکسیدتیتانیوم در شرایط کمبود آب بر صفت فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز، کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل و محتوای نسبی آب برگ معنی‌دار بود. همچنین اثر محلول پاشی اسید آسکوربیک در صفت وزن بلال و فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز نیز معنی‌دار بود. برهم‌کنش محلول پاشی اسید آسکوربیک و محلول پاشی نانودی اکسیدتیتانیوم در صفات فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز و وزن بلال، برهم‌کنش تنش و محلول پاشی نانودی اکسیدتیتانیوم و برهم‌کنش تنش و محلول پاشی اسید آسکوربیک نیز در صفت فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز معنی‌دار بود. اثر تنش کمبود آب بر صفت فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز نیز معنی‌دار بود (جدول ۳).

فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز

بر اساس نتایج محلول پاشی با ۰/۰۲ درصد نانودی اکسیدتیتانیوم در شرایط آبیاری تا ۵۰ درصد ظرفیت مزرعه‌ای فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز را افزایش داد در حالی که عدم محلول پاشی در شرایط آبیاری کامل (۱۰۰ درصد ظرفیت مزرعه‌ای) فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز را کاهش داد (شکل ۱). سوپر اکسید دیسموتاز نوعی آنتی‌اکسیدان قوی است که اولین ماده تولید شده از احیای یک ظرفیتی اکسیژن، یعنی رادیکال سوپر اکسید را از بین می‌برد بنابراین به سوپر اکسید دیسموتاز دفاع اولیه در مقابل رادیکال‌های آزاد اکسیژن اطلاق می‌شود (Alscher *et al.*, 2002). تنش خشکی با کوتاه کردن دوره رشد گیاه و پیری زودرس برگ، ظرفیت فتوسنتزی را تحت تأثیر قرار داده و با تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن همچون پراکسید هیدروژن باعث ایجاد تنش اکسیداتیوی در سلول‌های گیاهی شده که خود منجر به تخریب سامانه فتوسنتزی، مهار فرآیندهای متابولیکی، پراکسیداسیون لیپیدها، تغییر در نفوذپذیری غشاء و نشت یون‌ها می‌گردد (Gregersen *et al.*, 2013). در مقابل گیاهان با دارا بودن سیستم‌های ضد اکسایشی آنزیمی و غیر آنزیمی در برابر تنش اکسایشی تا حدودی مقاومت می‌کنند (Wei *et al.*, 2015). با کاهش فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز مقدار رادیکال سوپر اکسید در سلول افزایش می‌یابد که برآیند آن آسیب به ساختار سلول‌های گیاهی و بروز اختلالات متابولیسمی و در نهایت مرگ برنامه‌ریزی شده سلول می‌باشد (Breusegem *et al.*, 2001). عباسی و همکاران (۱۳۹۷) نشان دادند که بیش‌ترین فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز برگ در گندم مربوط به افشانه کردن نانودی تیتانیوم ۲ درصد در شرایط اعمال تنش ۵۰ درصد آب در دسترس و کم‌ترین مقدار فعالیت آن نیز مربوط به تیمار عدم کاربرد نانودی ذرات در

شرایط بدون تنش بود که ۵۸ درصد افزایش نشان می‌داد. هم‌چنین نتایج نشان داد که محلول‌پاشی با ۰/۰۵ درصد اسید آسکوربیک در شرایط آبیاری تا ۵۰ درصد ظرفیت مزرعه‌ای فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز را کاهش داد در حالی که عدم محلول‌پاشی این ترکیب در شرایط آبیاری تا ۵۰ درصد ظرفیت مزرعه‌ای بیشترین فعالیت این آنزیم را داشت که با تیمارهای عدم محلول‌پاشی اسید آسکوربیک در شرایط آبیاری تا ۱۰۰ و ۷۵ درصد ظرفیت مزرعه‌ای نداشت (شکل ۲). به‌طور کلی می‌توان نتیجه گرفت که کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، ناشی از مصرف آسکوربیک اسید، به اثر غیرمستقیم آن بر روی آنزیم‌ها بر می‌گردد. بدین ترتیب اسید آسکوربیک با کاهش اثر مخرب تنش از افزایش فعالیت آنزیم‌ها جلوگیری کرده است (چنارانی و همکاران، ۱۳۹۴). نتایج این مطالعه نشان داد که اسید آسکوربیک سبب کاهش این آنزیم در شرایط تنش کم آبی می‌شود. این کاهش فعالیت آنزیم در گیاهان تنش دیده را می‌توان به اثر خنثی‌سازی مستقیم یون سوپراکسید توسط اسید آسکوربیک نسبت داد (Noctor and Foyer, 1998). بر اساس نتایج عدم محلول‌پاشی با اسید آسکوربیک و ۰/۰۲ نانو دی اکسید تیتانیوم فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز را افزایش داد در حالی که عدم محلول‌پاشی این دو ترکیب فوق‌کمترین فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز را داشت (شکل ۳). وجود اسید آسکوربیک به علت اثر خنثی‌سازی مستقیم یون سوپراکسید توسط اسید آسکوربیک موجب کاهش فعالیت این آنزیم شد در حالی که نانو دی اکسید تیتانیوم موجب افزایش فعالیت این آنزیم شد. هم‌چنین دی اکسید تیتانیوم در غلظت‌های بالا و در تمامی تیمارها با وجود تأثیرگذاری بر میزان فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز نسبت به شاهد اثرات بازدارنده داشته است. آسکوربیک اسید یک آنتی‌اکسیدان اولیه است که به‌طور مستقیم با رادیکال هیدروکسیل، سوپراکسید و اکسیژن یکتایی واکنش می‌دهد. آسکوربیک اسید نقش مهمی در حفظ فعالیت آنزیم‌هایی دارد که گروه پروستتیک آن‌ها درای فلزات واسطه است. مشخص شده است که آسکوربیک اسید با از بین بردن گونه‌های فعال اکسیژن می‌تواند مقاومت گیاه را در برابر تنش افزایش دهد و باعث تعدیل فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان گردد (Afzali et al., 2006).

فعالیت آنزیم پلی‌فنل‌اکسیداز

محلول‌پاشی با ۰/۰۵ درصد اسید آسکوربیک و ۰/۰۲ درصد نانو دی‌اکسیدتیتانیوم در شرایط آبیاری ۵۰ درصد رطوبت قابل دسترس بیشترین فعالیت آنزیم پلی‌فنل‌اکسیداز را داشت در حالی که تیمار عدم محلول‌پاشی اسید آسکوربیک و عدم محلول‌پاشی نانو دی‌اکسیدتیتانیوم تحت شرایط آبیاری رطوبت مزرعه‌ای کمترین فعالیت این آنزیم را داشت (جدول ۴). پلی‌فنل‌اکسیداز در سلول‌های گیاهی نقش مهمی در اکسیداسیون فنل‌ها به کئینون‌ها و تشکیل لیگنین داشته و در واکنش‌های دفاعی و فوق حساسیت گیاه در مقابل ویروس‌ها، باکتری‌ها و قارچ‌ها دخالت دارد. نقش کئینون‌ها در مقاومت گیاهان به عوامل بیماری‌زا ثابت شده است (Mohammadi et al., 2002). اهمیت پلی‌فنل‌اکسیداز به دلیل وجود

هماهنگی در تنظیم میزان فعالیت پلی فنل اکسیداز و سنتز فنیل پروپانوئید می باشد. وقتی که سلولی آسیب می بیند، در نتیجه فعالیت این آنزیم، ترکیبات فنلی به کئینون تبدیل می شود که در القا مرگ برنامه ریزی شده سلولی موثر می باشد و هم چنین ترکیبات فنلی پلی مریزه شده را برای جلوگیری از آلودگی های بعدی مهیا می سازد (Newman *et al.*, 2011). شرقی و خلیلوند بهروزیار (۱۳۹۸) در بررسی اثر محلول پاشی نانو دی اکسیدتیتانیوم و سالیسیلیک اسید بر برخی ویژگی های بیوشیمیایی و تولید دانه ذرت سینگل کراس ۷۰۴ تحت رژیم های آبیاری گزارش کردند که تحت شرایط آبیاری ۵۰ درصد رطوبت قابل دسترس، محلول پاشی با ۰/۰۱ درصد نانو دی اکسیدتیتانیوم فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز را افزایش داد که این تیمار اختلاف معنی داری با محلول پاشی با ۰/۰۳ درصد نانو دی اکسیدتیتانیوم نداشت در حالی که آبیاری کامل و عدم کاربرد نانو دی اکسیدتیتانیوم فعالیت این آنزیم را کاهش داد.

فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز

نتایج نشان داد که با افزایش سطح تنش کمبود آب سطح فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز نیز افزایش می یابد به طوری که در آبیاری تا ۵۰ درصد رطوبت قابل دسترس بیشترین و در شرایط آبیاری تا ۱۰۰ درصد ظرفیت مزرعه ای کمترین سطح فعالیت این آنزیم وجود داشت (شکل ۴). پراکسیدازها گلیکوپروتئین های حاوی هم هستند که توسط یک خانواده چندزنی رمزگذاری می شوند. این آنزیم ها اکسایش و کاهش بین هیدروژن و کاهنده های گوناگون را بر عهده دارند. گایاکول پراکسیداز، از مهم ترین گروه های پراکسیداز است که گایاکول را به عنوان یک سوپسترای کاهنده، اکسید می کند. واکنش گایاکول با پراکسید هیدروژن به تولید ترکیبی بنام تترا گایاکوکوئینون می شود (Amiri *et al.*, 2011). بررسی اثر تنش خشکی بر آنزیم های آنتی اکسیدان گیاه کلزا نشان داد که تنش خشکی سبب افزایش فعالیت در چندین آنزیم آنتی اکسیدان از جمله گایاکول پراکسیداز می شود. افزایش گایاکول پراکسیداز می تواند عاملی مهم برای تجزیه پراکسید هیدروژن به ویژه به هنگام غیرفعال شدن کاتالاز باشد (Abedi and Pakniyat, 2012).

کلروفیل a, b و کلروفیل کل

محلول پاشی با ۰/۰۲ درصد نانو دی اکسیدتیتانیوم و ۰/۰۵ درصد اسید آسکوربیک تحت آبیاری کامل بیشترین محتوای کلروفیل a, b و کلروفیل کل را داشت. عدم کاربرد نانو دی اکسیدتیتانیوم و محلول پاشی ۰/۰۵ درصد اسید آسکوربیک تحت آبیاری ۵۰ درصد رطوبت قابل دسترس نیز کمترین محتوای کلروفیل a, b و کلروفیل کل را داشت (جدول ۴). کاهش میزان کلروفیل می تواند به واسطه کاهش سنتز کلروفیل و هم چنین ناشی از تخریب آن باشد. تخریب مولکولی کلروفیل به علت جدا شدن زنجیره فیتولی از حلقه پورفیرین در اثر رادیکال های آزاد اکسیژن و یا آنزیم کلروفیلاز صورت می گیرد (Parvaiz and Satyawati, 2008). تنش کمبود آب با بستن روزنه ها و تخریب کلروفیل و کلروپلاست

باعث کاهش فتوسنتز می‌شود (Waraich *et al.*, 2011). نوری و همکاران (۱۳۹۶) در بررسی اثر محلول‌پاشی نانو ذرات دی‌اکسیدتیتانیوم بر کلروفیل، عملکرد و اجزای عملکرد عدس نشان دادند که تیمار نانو ذرات تیتانیوم با مقادیر ۰/۰۵ درصد و ۰/۰۲ درصد به ترتیب بیشترین و کمترین تأثیر را بر میزان کلروفیل a داشت. همچنین مصرف نانو ذرات تیتانیوم در مرحله ۵۰ درصد گلدهی و ۶۰ درصد ساقه‌دهی عدس به ترتیب بیشترین و کمترین اثر را بر میزان کلروفیل a داشته است. بر اساس همین تحقیق تیمارهای شاهد دارای بیشترین میزان کلروفیل b در هر دو مرحله بودند و کمترین میزان کلروفیل b نیز در تیمار ۰/۰۱ درصد نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم در مرحله ۶۰ درصد ساقه‌روی مشاهده شد. نتایج Morteza و همکاران (۲۰۱۳) در گیاه ذرت دلیل افزایش این رنگیزه‌ها نسبت به تیمار شاهد را تثبیت غشای کلروپلاست و محافظت کلروپلاست از پیری در زمان گلدهی گیاه ذرت توسط نانو ذرات دی‌اکسیدتیتانیوم عنوان کردند و علت تجمع کلروفیل در غلظت ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر دی‌اکسید تیتانیوم در شرایط آبیاری معمولی را به اثرات مکمل موادمغذی منیزیم، آهن و گوگرد بیان کردند. استفاده از نانودی‌اکسیدتیتانیوم می‌تواند ساختار کلروفیل را بهبود بخشد، جذب نور را افزایش دهد و تشکیل کلروفیل را آسان‌تر کند. نتایج Mohammadi و همکاران (۲۰۱۶) نشان داد که میزان کلروفیل در ۱۰ میلی‌گرم در کیلوگرم نانودی‌اکسیدتیتانیوم کاهش می‌یابد. اسیدآسکوربیک از فعالیت آنتی‌اکسیدانی جهت پاکسازی گونه‌های فعال اکسیژن در شرایط تنش برخوردار است، بنابراین کاهش تخریب کلروفیل دور از انتظار نیست (Ashraf, 2009).

محتوای نسبی آب برگ

بر اساس نتایج این تحقیق بیش‌ترین محتوای نسبی آب برگ تحت شرایط آبیاری در ظرفیت مزرع‌های و محلول‌پاشی با ۰/۰۲ درصد نانو دی‌اکسید تیتانیوم و عدم محلول‌پاشی اسید آسکوربیک بود (جدول ۴). بدیهی است که گیاهان با محتوای نسبی آب برگ بیشتر، از توان حفظ آب بالاتری برخوردار خواهند بود و از این‌رو به فتوسنتز ادامه خواهند داد. مقدار نسبی آب برگ یکی از صفات درگیر در تحمل به تنش کمبود آب در گیاهان می‌باشد (Ghaffari and haji, 2013). در شرایط تنش کمبود آب مقدار نسبی آب برگ با هدایت روزه‌ای همبستگی داشته و کاهش مقدار آن در شرایط کمبود آب، منجر به کاهش هدایت روزه‌ای و جذب دی‌اکسیدکربن شده و در نهایت سبب افت فتوسنتز می‌گردد (Mailer *et al.*, 2002). بر اساس تحقیق خلیلوند (۱۳۹۶) بیش‌ترین مقدار نسبی آب برگ در تیمار ۱۰۰ درصد رطوبت قابل دسترس در کلزا با میانگین ۷۴/۷۷ درصد و کم‌ترین آن نیز در تیمار ۲۵ درصد رطوبت قابل دسترس با میانگین ۵۴/۶۶ درصد بود. در شرایط تنش خشکی، با بسته شدن روزه‌ها از اتلاف بیشتر آب موجود در گیاه از طریق تعرق جلوگیری می‌شود. در نتیجه، ورود دی‌اکسید کربن به برگ نیز کاهش یافته که منجر به کاهش فتوسنتز می‌شود (Yang *et al.*, 2006).

تعداد دانه در بلال

آبیاری در ۱۰۰ درصد ظرفیت مزرعه‌ای با میانگین ۴۹۴ دانه در بلال بیش‌ترین تعداد دانه در بلال را داشت. هم‌چنین آبیاری تا ۵۰ درصد ظرفیت مزرعه‌ای با میانگین ۴۳۹ دانه کم‌ترین تعداد دانه در بلال را داشت که با تیمار آبیاری تا ۷۵ درصد ظرفیت مزرعه‌ای با میانگین ۴۴۰ دانه تفاوت معنی‌داری نداشت (شکل ۵). بر اساس نتایج محلول‌پاشی با ۰/۰۲ درصد نانو دی‌اکسیدتیتانیوم با میانگین ۴۷۶ دانه بیش‌ترین و عدم محلول‌پاشی نانو دی‌اکسیدتیتانیوم با میانگین ۴۴۵ دانه کم‌ترین تعداد دانه در بلال را به خود اختصاص دادند (شکل ۶). بر اساس تحقیق تدین و نوروزی (۱۳۹۴) در بررسی تأثیر نانو اکسیدتیتانیوم، نانو روی و نانو تیوب کربنی چند جداره بر عملکرد و اجزای عملکرد ماش، در صفت تعداد دانه در غلاف، تیمار غلظت ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر نانو ذرات روی و سپس تیمار نانو اکسیدتیتانیوم بیش‌ترین تعداد دانه در غلاف به ترتیب با میانگین ۱۰/۷۸ و ۱۰/۶۷ دانه در هر غلاف ماش به خود اختصاص دادند.

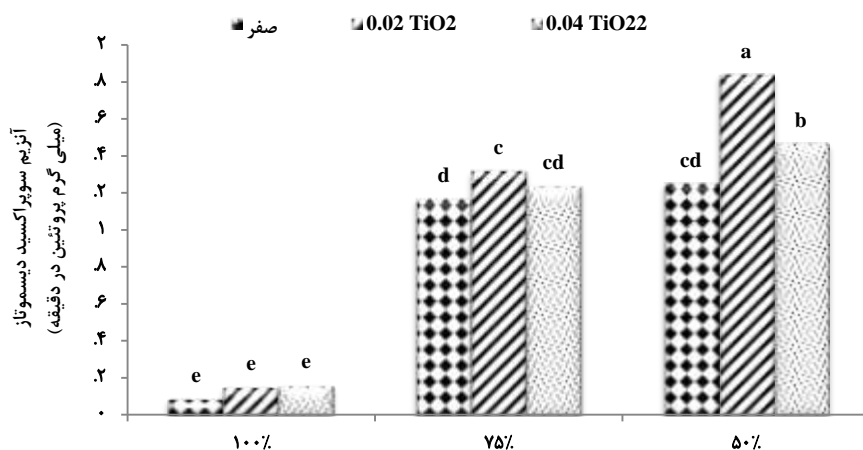
وزن بلال

محلول‌پاشی با ۰/۰۲ درصد نانو دی‌اکسیدتیتانیوم و ۰/۰۵ درصد اسید آسکوربیک با میانگین ۱۸۳/۲ گرم در بوته بیش‌ترین و عدم محلول‌پاشی هر دو ترکیب با میانگین ۱۶۳/۱ گرم در بوته کم‌ترین وزن بلال را داشتند که کاهش معادل ۱۲ درصد را نشان داد (شکل ۷). بر اساس نتایج احتمالاً کاربرد نانو ذرات دی اکسید تیتانیوم با تأثیر بر فتوسنتز گیاه موجب افزایش عملکرد بلال شده است (Khater, 2015). جابرزاده و همکاران (۱۳۸۹) گزارش کردند که محلول‌پاشی نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم باعث افزایش ارتفاع، وزن سنبله و عملکرد دانه گندم در شرایط تنش خشکی شده است. تیتانیوم با افزایش محتوای آمونیوم، افزایش فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز و همچنین آنزیم‌های درگیر در جذب و تحلیل آمونیوم باعث افزایش رشد می‌گردد (Yang et al., 2006). اکبری و ملکی (۱۳۹۶) در بررسی تأثیر محلول‌پاشی اسید آسکوربیک و اسید سالیسیلیک بر خصوصیات رویشی، عملکرد و اجزا عملکرد لوبیا چشم بلبلی تحت تنش خشکی گزارش کردند که بیش‌ترین عملکرد دانه در تیمار عدم تنش و در حالت مصرف توام اسید سالیسیلیک و اسید آسکوربیک با میانگین ۲۴۲۵/۱ کیلوگرم در هکتار به‌دست آمد. در بررسی تأثیر نانو ذرات دی‌اکسیدتیتانیوم (۰/۰۱، ۰/۰۲ و ۰/۰۳ درصد) و دی‌اکسیدتیتانیوم غیر نانویی بر روی گیاه جو، نتایج نشان داد که تمام صفات عملکرد دانه، تعداد خوشه و شاخص برداشت در همه تیمارهای کاربرد نانو ذرات دی‌اکسیدتیتانیوم بیشتر از شاهد بود به‌طوری‌که عملکرد دانه در تیمار ۰/۰۳ درصد نانو دی‌اکسیدتیتانیوم به‌میزان ۳۲/۲۱ درصد بیشتر از شاهد بود (Moaveni et al., 2011). نانو اکسیدتیتانیوم با اسپری برگی و تغذیه از طریق ریشه باعث افزایش جذب عناصر غذایی به‌خصوص نیتروژن شده و به‌دلیل تسریع فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز، سبب افزایش سنتز اسیدهای آمینه، پروتئین و فتوسنتز در گیاه اسفناج می‌گردد (صابر و همکاران، ۱۳۹۲)..

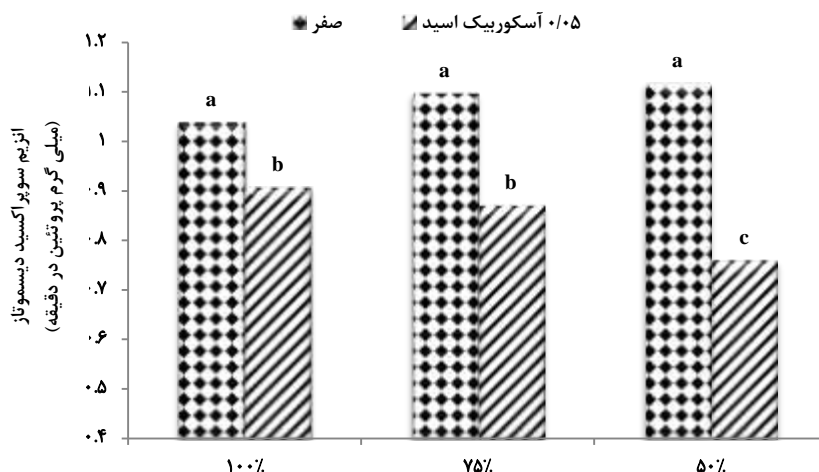
جدول ۳: تجزیه واریانس اثر محلول پاشی نانو دی اکسید تیتانیوم و اسید آسکوربیک بر صفات مورد مطالعه

منابع تغییر	درجه آزادی	سوپر اکسید دیسموتاز	پلی فنل اکسیداز	گایاکول پراکسیداز	کلروفیل a	کلروفیل b	کلروفیل کل	محتوای نسبی آب برگ	تعداد دانه در بلال	وزن بلال
سال	۱	۰/۰۰۱ ns	۰/۰۰۰۰۰۵ ns	۰/۰۰۰۰۲ ns	۰/۳۳۳ ns	۰/۰۰۶ ns	۰/۲۵۱ ns	۲/۵۳۶ ns	۳۴/۴۵۴ ns	۰/۹۵۰ ns
خطا	۴	۰/۰۱۳	۰/۰۰۷	۰/۰۱	۲/۱۳۸	۰/۰۷۶	۱۹/۷۰	۳۴/۷۵۵	۲۴۹۳	۳۷۱
تنش کمبود آب	۲	۱۹/۳۴ **	۰/۳۲۱ **	۰/۱۰۵ **	۲۴۶ *	۱/۵۵۸ ns	۲۵۰ **	۴۰۴/۰۷ ns	۳۶۱۵۶ *	۱۱۶۹۵ ns
سال × تنش کمبود آب	۲	۰/۰۰۴ ns	۰/۰۰۰۰۰۳ ns	۰/۰۰۰۰۶ ns	۰/۰۲۴ ns	۰/۰۰۰ ns	۰/۰۳۰ ns	۱/۱۹۸ ns	۸۳/۴۵ ns	۲/۷۲۲ ns
اشتباه	۸	۰/۰۱۸۲	۰/۰۰۲	۰/۰۰۰۶	۳۱/۲۸	۱/۵۸۵	۲۸/۶۲	۰/۲۱۳	۶۱۲۱	۲۹۵۷
محلول پاشی اسید آسکوربیک	۱	۰/۳۲ **	۰/۱۰۴ **	۰/۰۲۳ **	۲۴/۴۵ ns	۱/۱۷۲ *	۳۶/۳۳ *	۱۰۸ ns	۳۲۲۸۶۱ **	۱۷۹۳ *
سال × محلول پاشی اسید آسکوربیک	۱	۰/۰۳۸ ns	۰/۰۰۰۰۴ ns	۰/۰۰۰۱ ns	۰/۰۰۱ ns	۰/۰۱۸ ns	۰/۰۲۸ ns	۲/۶۷۳ ns	۱۰۶ ns	۲۶/۵۷ ns
تنش × محلول پاشی اسید آسکوربیک	۲	۰/۰۷۹ *	۰/۰۲۵ **	۰/۰۰۲ ns	۴/۵۴ ns	۰/۴۱۵ ns	۷/۶۹۸ ns	۱۱۶ *	۲۰۸ ns	۲۵۵ ns
سال × تنش × محلول پاشی اسید آسکوربیک	۲	۰/۰۲۰ ns	۰/۰۰۰۰۸ ns	۰/۰۰۰۰۸ ns	۰/۴۸۳ ns	۰/۰۰۸ ns	۰/۴۲۴ ns	۰/۶۳۳ ns	۱۹/۷۸ ns	۷/۷۲۱ ns
اشتباه	۱۲	۰/۰۱۸	۰/۰۰۳	۰/۰۰۲۱	۵/۷۲۲	۰/۱۹۳	۷/۱۷۲ ns	۲۹/۸۴	۸۵۹۹	۲۶۱
محلول پاشی نانو دی اکسید تیتانیوم	۲	۰/۶۶۴ **	۰/۰۶۶ **	۰/۰۰۴۱ ns	۲۳/۱۰۱ **	۰/۵۹۱ ns	۳۰/۹۹ **	۳۱/۶۲ ns	۹۴۷۲ *	۸۴۳ ns
سال × نانو دی اکسید تیتانیوم	۲	۰/۰۲۹ ns	۰/۰۰۰۰۱ ns	۰/۰۰۰۶۳ ns	۰/۰۸۲ ns	۰/۰۰۸ ns	۰/۰۴۰ ns	۰/۵۰۳ ns	۱۱۰ ns	۵/۰۵۸ ns
تنش × نانو دی اکسید تیتانیوم	۴	۰/۲۵۳ **	۰/۰۲۱ *	۰/۰۰۲۲۳ ns	۲/۴۱۲ ns	۰/۴۱۷ ns	۲/۵۸۹ ns	۳۰/۲۲ ns	۱۳۵۶ ns	۲۴۲ ns
سال × تنش کمبود آب × TiO ₂	۴	۰/۰۱۷ ns	۰/۰۰۰۰۱ ns	۰/۰۰۰۱۴ ns	۰/۰۸۴ ns	۰/۰۲۴ ns	۰/۰۶۷ ns	۰/۸۱۴ ns	۷۴/۰۶ ns	۱/۱۴۴ ns
اسید آسکوربیک × TiO ₂	۲	۰/۰۵۴ *	۰/۰۱ **	۰/۰۰۰۴ ns	۱/۴۷۰ ns	۰/۵۹۵ ns	۳/۲۵۳ ns	۲۵/۵۱ ns	۳۴۲۷ ns	۱۳۲۶ *
سال × اسید آسکوربیک × TiO ₂	۲	۰/۰۱۷ ns	۰/۰۰۰۰۱ ns	۰/۰۰۰۱۵ ns	۰/۰۳۶ ns	۰/۰۰۱ ns	۰/۰۲۴ ns	۰/۴۶۱ ns	۴۲/۵۹ ns	۶/۶۶۵ ns
تنش × اسید آسکوربیک × TiO ₂	۴	۰/۰۲۹ ns	۰/۰۰۳ **	۰/۰۰۱۴ ns	۴/۵۷۵ *	۰/۶۴۰ *	۷/۳۲۳ *	۴۷/۵۳ *	۸۰۸ ns	۶۰۲ ns
سال × تنش × اسید آسکوربیک × TiO ₂	۴	۰/۰۰۳ ns	۰/۰۰۰۰۴ ns	۰/۰۰۰۰۳ ns	۰/۱۲۴ ns	۰/۰۰۵ ns	۰/۱۴۷ ns	۶/۰۴۹ ns	۱۱۰ ns	۱۲/۶۵۶ ns
خطا	۴۸	۰/۰۱۵	۰/۰۰۰۰۱	۰/۰۰۳	۱/۴۶۷	۰/۲۴۳	۲/۱۴۸	۱۵/۱۲	۲۸۰۷	۳۱۸
ضریب تغییرات %	-	۱۲/۷۲	۵/۶	۱۹/۹۸	۱۷/۳۲	۳۸/۵۷	۱۷/۷۲	۴/۵۳	۱۱/۵۷	۱۰/۶۲

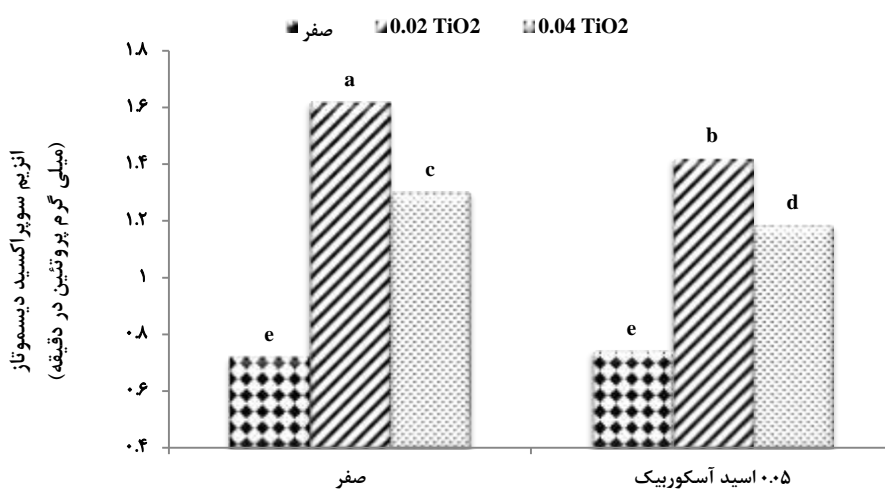
ns, **, * به ترتیب معنی دار در سطوح احتمال ۵ درصد و ۱ درصد و غیرمعنی دار.



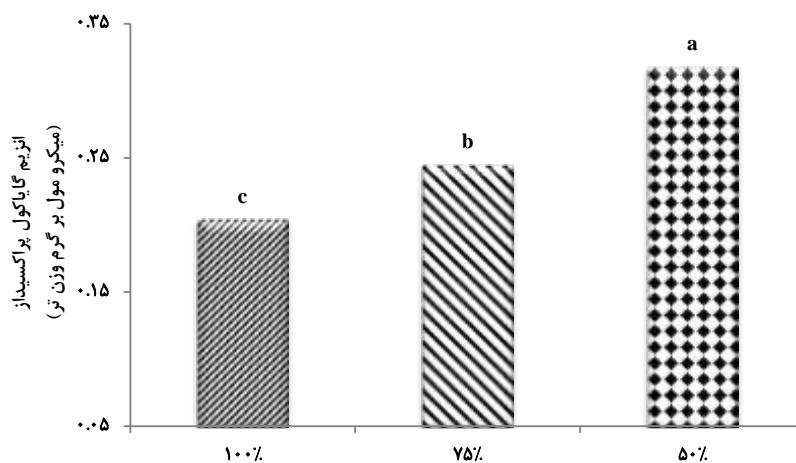
شکل ۱: اثرات محلول پاشی نانودی اکسید تیتانیوم تحت تنش کمبود آب بر فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز



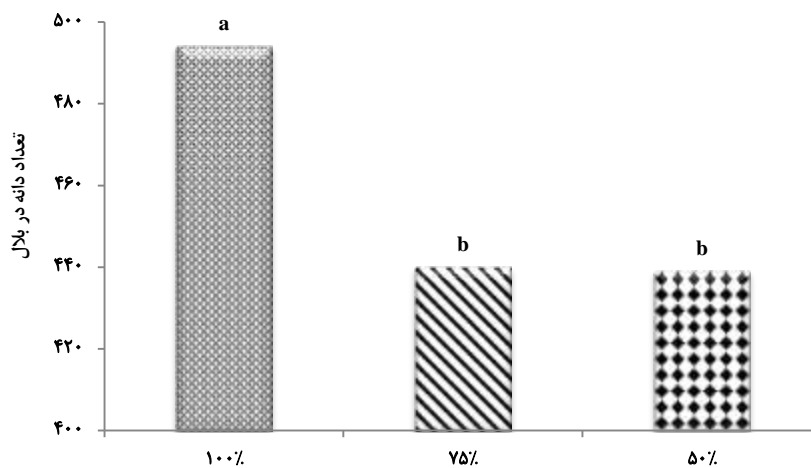
شکل ۲: اثرات محلول پاشی اسید آسکوربیک تحت تنش کمبود آب بر فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز



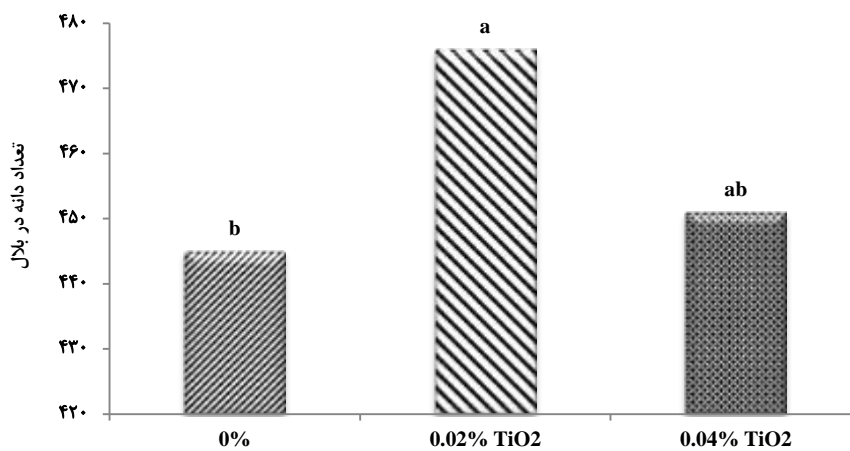
شکل ۳: اثرات محلول پاشی اسید آسکوربیک و نانودی اکسید تیتانیوم بر فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز



شکل ۴: اثرات تنش کمبود آب بر فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز



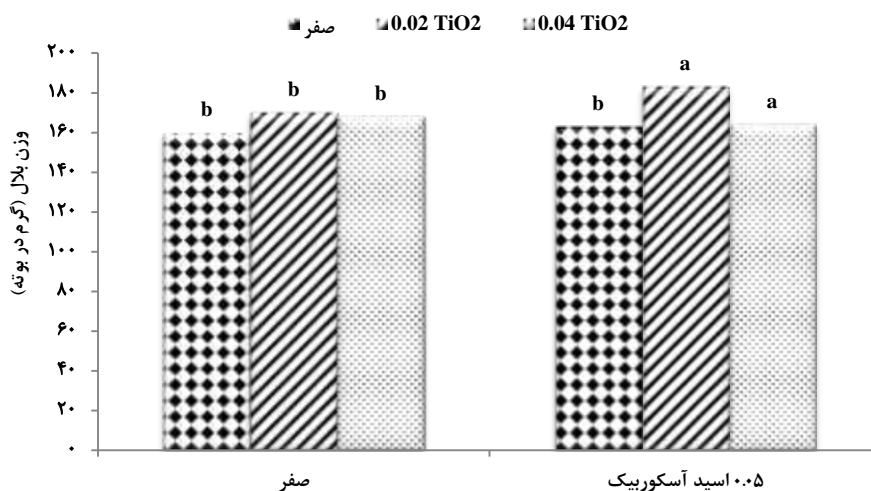
شکل ۵: اثرات تنش کمبود آب بر تعداد دانه در بلال



شکل ۶: اثرات محلول پاشی نانو دی اکسید تیتانیوم بر تعداد دانه در بلال

جدول ۴: میانگین تیمارهای اثر متقابل محلول پاشی آسکوربیک اسید و نانودی اکسید تیتانیوم تحت تنش کمبود آب

تنش کمبود آب	اسید آسکوربیک	نانو دی اکسید تیتانیوم	پلی فنل اکسیداز (میلی گرم پروتئین در دقیقه)	کلروفیل a (میلی گرم بر گرم وزن تر)	کلروفیل b (میلی گرم بر گرم وزن تر)	کلروفیل a+b (میلی گرم بر گرم وزن تر)	محتوای نسبی آب برگ (درصد)
آبیاری تا ۱۰۰ درصد ظرفیت مزرعه‌ای	صفر	صفر	۰/۲۰۴ f	۷/۴۶۴ c	۰/۹۸۲۵ bcd	۸/۴۴۶ d	۹۱/۶۶ab
	صفر	٪ ۰/۰۲	۰/۲۱۶۵ f	۹/۲۹۱ ab	۱/۳۶۲ bc	۱۰/۶۵ abc	۹۳/۱۶ a
	صفر	٪ ۰/۰۴	۰/۲۰۵۰ f	۷/۸۱۱ bc	۱/۳۸۰ bc	۹/۱۹۱ cd	۸۹/۴۰ a-d
آبیاری تا ۷۵ درصد ظرفیت مزرعه‌ای	صفر	صفر	۰/۲۰۹۳ f	۹/۶۵۰ a	۲/۱۴ a	۱۱/۷۹ ab	۸۵/۷۲ c-g
	صفر	٪ ۰/۰۲	۰/۲۱۲۲ f	۱۰/۸۵ a	۱/۶۴۹ ab	۱۲/۵۰ a	۸۳/۴۶e-h
	صفر	٪ ۰/۰۴	۰/۲۱۱۸ f	۹/۳۲۴ ab	۱/۲۸۴ bcd	۱۰/۶۱ bc	۹۰/۲۴ abc
آبیاری تا ۵۰ درصد ظرفیت مزرعه‌ای	صفر	صفر	۰/۲۰۴۷ f	۷/۲۹۹ c	۰/۶۳۵۴ d	۷/۹۳۵ de	۸۳/۸۱ fgh
	صفر	٪ ۰/۰۲	۰/۳۱۹۰ e	۷/۹۵۲ bc	۱/۱۳۴ bcd	۹/۰۸۶ cd	۸۰/۷۱ gh
	صفر	٪ ۰/۰۴	۰/۳۱۵۸ e	۷/۷۲۹ c	۱/۳۳۸ bc	۹/۰۶۷ cd	۷۹/۳۶ h
آبیاری تا ۵۰ درصد ظرفیت مزرعه‌ای	صفر	صفر	۰/۳۴۸۸ d	۷/۲۲۰ c	۰/۸۴۶۳ cd	۸/۰۶۶ d	۸۲/۷۲ fgh
	صفر	٪ ۰/۰۲	۰/۳۸۷۷bc	۱۰/۳۰ a	۱/۴۷۵ bcd	۱۱/۷۷ ab	۸۴/۴۷ d-h
	صفر	٪ ۰/۰۴	۰/۳۵۰۷ d	۶/۶۵۳ c	۰/۸۹۹۷ cd	۷/۵۵۳ def	۸۲/۷۶e-h
آبیاری تا ۵۰ درصد ظرفیت مزرعه‌ای	صفر	صفر	۰/۲۲۳۸ f	۲/۹۲۹ e	۱/۳۰۲ bcd	۴/۲۳۱ h	۸۹/۸۷ abc
	صفر	٪ ۰/۰۲	۰/۴۱۴۸ b	۴/۴۶۸ d	۱/۴۴ bc	۵/۹۰۸ fgh	۸۸/۰۰ b-e
	صفر	٪ ۰/۰۴	۰/۴۰۲۳ b	۳/۷۰۷ de	۰/۹۹۴۵ bcd	۴/۷۰۲ gh	۸۶/۱۱ c-ef
آبیاری تا ۵۰ درصد ظرفیت مزرعه‌ای	صفر	صفر	۰/۳۷۲۷cd	۳/۸۱۱ de	۱/۲۹۸ bcd	۵/۱۰۹ gh	۸۶/۲۵ c-f
	صفر	٪ ۰/۰۲	۰/۴۰۰۷ a	۴/۵۵۹ d	۱/۴۹۷ bc	۶/۰۵۷ fgh	۸۷/۱۹b-e
	صفر	٪ ۰/۰۴	۰/۴۸۰۸ a	۴/۸۵۱ d	۱/۳۵۴ bc	۶/۲۰۵ efg	۸۱/۲۵ fgh



شکل ۷: اثرات محلول پاشی اسید آسکوربیک و نانودی اکسید تیتانیوم بر وزن بلال

نتیجه گیری

نتایج این پژوهش نشان داد که محلول پاشی ۰/۰۵ درصد اسید آسکوربیک و ۰/۰۲ درصد نانودی اکسید تیتانیوم تحت

شرایط آبیاری تا ۵۰ درصد رطوبت مزرعه‌ای موجب افزایش فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز شد. هم چنین محلول پاشی با

۰/۰۲ درصد نانو دی‌اکسیدتیتانیوم در شرایط آبیاری تا ۵۰ درصد ظرفیت مزرعه‌ای موجب افزایش آنزیم سوپراکسید دیسموتاز شد. محلول پاشی با ۰/۰۲ درصد نانو دی‌اکسید تیتانیوم تعداد دانه در بلال را در مقایسه عدم محلول پاشی ۶/۹ درصد افزایش داد. نانو کود دی‌اکسیدتیتانیوم و اسید آسکوربیک با کاهش اثر منفی تنش کمبود آب توانست وزن بلال را در تمام تیمارهای مورد مطالعه افزایش دهد که این موضوع نشان از تأثیرات مثبت این ترکیب در گیاه دارد. محلول پاشی با ۰/۰۲ درصد نانو دی‌اکسید تیتانیوم و ۰/۰۵ درصد اسید آسکوربیک موجب افزایش ۱۲ درصدی وزن بلال نسبت به عدم محلول پاشی ترکیبات فوق شد. با توجه به اهداف پژوهش می‌توان گفت کاربرد نانو دی‌اکسید تیتانیوم و اسید آسکوربیک به منظور افزایش عملکرد تحت شرایط مصرف حداقل آب می‌تواند جایگزین خوبی در مقابل روش‌های به نژادی که اغلب بلندمدت و هزینه‌بر هستند می‌باشد.

منابع

- اکبری، ژ. و ملکی، ع. ۱۳۹۶. تأثیر محلول پاشی اسید آسکوربیک و اسید سالیسیلیک بر خصوصیات رویشی، عملکرد و اجزاء عملکرد لوبیا چشم بلبلی تحت تنش خشکی. نشریه تحقیقات کاربردی اکوفیزیولوژی گیاهی. ۴ (۲): ۱۸۰-۱۵۹.
- تدین، م. ر. و نوروزی، س. ۱۳۹۴. تأثیر نانو اکسید تیتانیوم، نانو روی و نانو تیوب کربنی چند جداره بر عملکرد و اجزای عملکرد ماش. نشریه به زراعی کشاورزی. ۱۷ (۱): ۱۸۲-۱۶۹.
- جابرزاده، ا.، معاونی، پ.، توحیدی مقدم، ح. ر. و مرادی، ا. ۱۳۸۹. بررسی اثر محلول پاشی نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم بر برخی خصوصیات زراعی در گندم تحت شرایط تنش خشکی. نشریه علمی پژوهشی اکوفیزیولوژی گیاهان زراعی. ۲ (۴): ۳۰۱-۲۹۵.
- چنارانی، م.، صفی پور افشار، ا. و سعید نعمت پور، ف. ۱۳۹۴. پاسخ‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه نخود (*Cicer arietinum* L.) به آسکوربیک اسید در تنش شوری. نشریه فیزیولوژی و بیوشیمی گیاهی ایران. ۱ (۱): ۷۶-۶۳.
- حبیب پور، س. س.، نادری، ا.، لک، ش.، فرجی، ه. و مجدم، م. ۱۳۹۴. اثر سالیسیلیک اسید بر عملکرد و برخی ویژگی‌های فیزیولوژیکی هیبریدهای ذرت شیرین در شرایط تنش کمبود آب. نشریه فیزیولوژی و بیوشیمی گیاهی ایران. ۱ (۲): ۱-۱۵.
- خلیل‌وند بهروزیار، ا. ۱۳۹۶. پیش تیمار بذر با متانول، اتانول، بُر و منگنز و اثر آن‌ها بر برخی از صفات مورفوفیزیولوژیک کلزا (*Brassica Napus* L.) تحت تنش کمبود آب. نشریه اکوفیزیولوژی گیاهان زراعی. ۴ (۴۴): ۸۲۰-۸۰۵.

- خلیلوند بهروزیار، ا.، یارنیا، م. و قاسمی، ع. ۱۳۹۸. اثر محلول پاشی نانو ذرات دی اکسید تیتانیوم بر عملکرد بلال و برخی از آنزیم‌های آنتی اکسیدانی ذرت شیرین (*Zea mays var saccharata*) در شرایط تنش کمبود آب. نشریه فیزیولوژی گیاهان زراعی. دانشگاه آزاد اسلامی واحد اهواز. ۱۱(۴۴): ۱۰۵-۱۱۸.
- سلطانی، م.، معاونی، پ. و نوری، ح. ۱۳۹۳. بررسی اثر محلول پاشی نانو ذرات دی اکسید تیتانیوم بر عملکرد و اجزای عملکرد و فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی در گیاه عدس (*Medik culinaris Lens*). نشریه پژوهش‌های اکوفیزیولوژی گیاهی ایران. ۹: ۷۸-۸۸.
- شرقی، ف. و خلیلوند بهروزیار، ا. ۱۳۹۸. اثر محلول پاشی نانو دی اکسید تیتانیوم و سالیسیلیک اسید بر برخی ویژگی‌های بیوشیمیایی و تولید دانه ذرت سینگل کراس ۷۰۴ تحت رژیم‌های آبیاری. نشریه اکوفیزیولوژی گیاهان زراعی. ۱۳ (۵۱): ۴۳۰-۴۱۳.
- صابر، س.، قسیم‌ی حق، ز. و مصطفوی، ش. ۱۳۹۲. تأثیر مکانیسم نانو اکسید تیتانیوم بر فرایندهای فیزیولوژی گیاه اسفناج. دومین همایش ملی و توسعه پایدار کشاورزی و محیط زیست سالم. ص ۱۶-۱.
- عباسی، ا.، لطفی، ر. و جان محمدی، م. ۱۳۹۷. پاسخ مکانیسم دفاعی آنتی اکسیدانی و تغییرات عملکردی گندم به تنش خشکی با کاربرد غلظت‌های مختلف نانو سیلیکون و نانو تیتانیوم. نشریه زراعت دیم ایران. ۷(۱): ۷۹-۱۰۹.
- کلاتر احمدی، س.ا.، عبادی، ع.، دانشیان، ج.، سیادت، س.ع. و جهانبخش، س. ۱۳۹۵. اثر تنش خشکی و محلول پاشی تنظیم کننده‌های رشد بر محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی و عملکرد دانه کلزا (*Brassica napus L.*) رقم هایولا ۴۰۱. نشریه علوم زراعی ایران. ۱۸ (۳): ۲۱۷-۱۹۶.
- مزارعی، ا.، موسوی نیک، س. م.، قنبری، ا. و فهمیده، ل. ۱۳۹۸. اثر محلول پاشی دی اکسید تیتانیوم بر برخی خصوصیات فیزیولوژیکی مریم گلی (*Slavia officinalis L.*) تحت تنش خشکی. نشریه تنش‌های محیطی در علوم زراعی. ۱۲ (۲): ۵۳۹-۵۵۳.
- نوری، ح.، سلطانی، م. و معاونی، پ. ۱۳۹۶. اثر محلول پاشی نانو ذرات دی اکسید تیتانیوم بر کلروفیل، عملکرد و اجزای عملکرد عدس (*Lens culinaris Medik*). نشریه پژوهش‌های حبوبات ایران. ۸ (۲): ۶۸-۵۷.
- هاشمی دزفولی، ا.، عالم، س. و سیادت، ع. ۱۳۸۰. اثر تاریخ کاشت بر پتانسیل عملکرد دو رقم ذرت شیرین در شرایط آب و هوایی خوزستان. نشریه علوم کشاورزی ایران. ۳۲ (۴): ۶۸۹-۶۸۱.

Abedi, T. and Pakniyat, H. 2012. Antioxidant enzyme changes in response to drought stress in ten cultivar of oilseed rap (*Brassica napus L.*). *Genetics and Plant Breeding*. 46(4): 27-34.

Afzali, I., Basra, S.M.A., Farooq, M. and Nawaz, A. 2006. Alleviation of salinity stress in spring wheat by hormonal priming with ABA, salicylic acid and ascorbic acid. *International Journal of Agriculture and Biology*. 8(1): 23-28.

Amiri, A., Parsa, S.R., Nezami, M. and Ganjeali, A. 2011. The effects of drought stress at different phenological stages on growth indices of chickpea (*Cicer arietinum* L.) in greenhouse conditions. *Pulses Research*. 1: 69-84.

Ashraf, M. 2009. Biotechnological approach of improving plant salt tolerance using antioxidants as markers. *Biotechnology Advances*. 27: 84-93.

Alscher, R.G., Erturk, N. and Heath, L.S. 2002. Role of superoxide dismutase in controlling oxidative stress in plants. *Journal of Experimental Botany*. 53: 1331-1341.

Breusegem, F.V., Vranova, E., Dat, J.F. and Inze, D. 2001. The role of active oxygen species in plant signal transduction. *Plant Science*. 161: 405-414.

Dazy, M., Jung, V., Ferard, J.F. and Masfarau, J.F. 2008. Ecological recovery of vegetation on a cokefactory soil: role of plant antioxidant enzymes and possible implication in site restoration. *Chemosphere*. 74: 57-63.

Esfandiari, E.A., Shakiba, M.R., Mahboob, S.A., Alyari, H. and Shahabivand, S. 2009. The effect of water stress on the antioxidant content, protective enzyme activities, proline content and lipid peroxidation in wheat seedling. *Pakistan Journal of Biological Sciences*. 11: 1916-1922.

Farooq, M., Wahid, A., Kobayashi, N., Fujita, D. and Basra, S. 2009. Review article Plant drought stress: Effects, mechanisms and management. *Agronomy for Sustainable Development*. 29: 185-212.

Ghaffari, M. and Haji Hoseinlou, S. 2013. Seed yield determinants of sunflower under drought stressed and well-watered conditions. *International Journal of Agronomy and Plant Production*. 4 (S): 3816-3823.

Ghanati, F., Morita, A. and Yokota, H. 2002. Induction of suberin and increase of lignin content by excess Boron in Tobacco cell. *Soil Science. Plant Nutrition*. 48 (3): 357-364.

Giannopolitis, C. N. and Ries, S.K. 1977. Superoxide dismutase. I. Occurrence in higher plants. *Plant Physiology*. 59: 309-314.

Gregersen, P. L., Culetic, A., Boschian, L. and Krupinska, K. 2013. Plant senescence and crop productivity. *Plant Molecular Biology*. 82: 603-622.

Khan, M.N., Mobin, M., Abbas, Z.K., AlMutairim K.A. and Siddiqui, Z.H. 2017. Role of nanomaterials in plants under challenging environments. *Plant Physiology Biochemistry*. 110: 194-209.

Khater, M.S. 2015. Effect of Titanium Nanoparticles (TiO₂) on Growth, Yield and Chemical Constituents of Coriander Plants. Arab Journal of Nuclear Science and Applications. 48(4): 187-194.

Mailer, P., Baltensperger, D., Clayton, G., Johnson, A., Lafond, G., Mc Conkey, B., Schat, B. and Starica, J. 2002. Pulse crop adaptation and impact across the Northern Great Plains. Agronomy Journal. 94: 261-272.

Moaveni, P., Talebi, R., Farahani, H.A. and Maroufi, K. 2011. Study of TiO₂ nano particles spraying effect on the some physiological parameters in barley (*Hordem Vulgare* L.). Advances in Environmental Biology. 5(7): 1663-1667.

Mohammadi, H., Esmailpour, M. and Gherampaye, A. 2016. Effects of TiO₂ nanoparticles and water-deficit stress on morpho-physiological characteristics of dragonhead (*Dracocephalum moldavica* L.) plants. Acta Agriculturae Slovenica. 107 (2): 385-396.

Mohammadi, M. and Kazemi, H. 2002. Changes in peroxidase and polyphenol oxidase activities in susceptible and resistant wheat heads inoculated with *Fusarium graminearum* and induced resistance. Plant Science. 162: 491-498.

Morteza, E., Moaveni, M. Aliabadi Farahani, H. and Kiyani, M. 2013. Study of photosynthetic pigments changes of maize (*Zea mays* L.) under nano Tio₂ spraying at various growth stages. Springer Plus. 2 (247): 1-5.

Newman, S., Tantasawat, D. and Steffens, J. 2011. Tomato Polyphenol Oxidase B is spatially and temporally regulated during development. Molecules. 6: 493-517.

Noctor, G. and Foyer, C. H. 1998. Ascorbate and glutathione: Keeping active oxygen under control. Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology. 49: 249-279.

Parvaiz, A. and Satyawati, S. 2008. Salt stress and Phyto-biochemical responses of plants. Plant Soil Environment. 54: 89-99.

Porra, R.J. 2002. The chequered history of the development and use of simultaneous equations for the accurate determination of chlorophylls a and b. Photosynthesis Research. 73: 149-156.

Scrinis, G. and Lyons, K. 2007. The emerging nanocorporate paradigm: Nanotechnology and the transformation of nature, food and Agri-food systems. International Journal of Sociology of Food and Agriculture. 15: 22-44.

Sharma, P., Jha, A., Dubey, R. and Pessarakli, M. 2012. Reactive oxygen species, oxidative damage, and antioxidative defense mechanism in plants under stressful conditions. Journal of Botany. 14: 1-26.

Waraich, E.A., Amad, R. Ashraf, M.Y. and Ahmad, M. 2011. Improving agricultural water use efficiency by nutrient management. *Acta Agriculture Scandinavica. Section B, Soil and Plant Science*. 61(4): 291-304.

Wei, P., Yang, Y., Wang, F. and Chen, H. 2015. Effects of drought stress on the antioxidant systems in three species of *Diospyros L.* *Horticulture Environment and Biotechnology*. 56: 597–605.

Yang, F., Hong, F.S. and You, W.J. 2006. Influences of nano-anatase TiO_2 on the nitrogen metabolism of growing spinach. *Biological Trace Element Research*. 110: 179–190.