به‌زراعی کشاورزی
دوره ۲۴ ■ شماره ۱ ■ بهار ۱۴۰۱
صفحه‌های ۱۴-۱
DOI: 10.22059/jci.2021.307719.2432

مقاله پژوهشی:

محلول‌پاشی برخی ترکیبات شیمیایی بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و فلورسانس کلروفیل آفتابگردان در شرایط رطوبتی مختلف

محمد یزداندوست همدانی[۱]، مختار قبادی[۲*]، محمد اقبال قبادی[۲]، سعید جلالی هنرمند[۲]، محسن سعیدی[۲]
۱. دانش‌آموخته دکتری، گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه رازی، کرمانشاه، ایران
۲. دانشیار، گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه رازی، کرمانشاه، ایران.
تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۹/۰۸/۱۸ تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۹/۱۰/۲۳

چکیده

به‌منظور ارزیابی اثر محلول‌پاشی برخی ترکیبات شیمیایی بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و فلورسانس کلروفیل آفتابگردان در شرایط مختلف آبیاری و با هدف شناسایی ترکیبات مؤثر در تخفیف اثرات خشکی، آزمایشی به‌صورت کرت‌های خردشده بر پایه بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار در مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان همدان به‌مدت دو سال (۱۳۹٤ و ۱۳۹۵)، اجرا شد. تیمارهای آبیاری شامل ٦۰، ۸۰ و ۱۰۰ درصد نیاز آبی گیاه و تیمارهای محلول‌پاشی شامل آبسیزیک‌اسید، سلنیوم، سالیسیلیک‌اسید، سدیم نیتروپروساید، گلیسین بتائین و شاهد بودند. نتایج نشان داد که با کاهش میزان آب آبیاری، فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز، پراکسیداز و کاتالاز به‌صورت معنی‌داری افزایش، درحالی‌که حداکثر کارایی فتوشیمیایی فتوسیستم II و عملکرد دانه کاهش یافتند. اثر متقابل آبیاری× محلول‌پاشی بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و عملکرد دانه معنی‌دار و بر فلورسانس کلروفیل غیرمعنی‌دار بود. محلول‌پاشی ترکیبات شیمیایی در شرایط کم‌آبیاری، میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان را در مقایسه با تیمار شاهد به‌صورت معنی‌داری افزایش داد. کاربرد سالیسیلیک‌اسید در شرایط آبیاری مختلف، باعث افزایش معنی‌دار حداکثر کارایی فتوشیمیایی فتوسیستم II و عملکرد دانه شد. در شرایط آبیاری ٦۰، ۸۰ و ۱۰۰ درصد تأمین نیاز آبی گیاه، کاربرد سالیسیلیک‌اسید به‌ترتیب ۲٤/۳، ۱۰/۱ و ٤/۹ درصد عملکرد دانه را افزایش داد.

کلیدواژه‌ها: آبسیزیک‌اسید، سالیسیلیک‌اسید، سدیم نیتروپروساید، سلنیوم، گلیسین بتائین.

The Effect of Foliar Application of Some Chemical Compounds on Antioxidant Enzymes Activity and Chlorophyll Fluorescence of Sunflower in Different Irrigation Conditions

Mohammad Yazdandoost Hamedani[1], Mokhtar Ghobadi[2*], Mohammad Eghbal Ghobadi[2], Saeid Jalali-Honarmand[2], Mohsen Saeidi[2]
1. Former Ph.D. Student, Department of Plant Production and Genetic Engineering, Campus of Agriculture and Natural Resources, Razi University, Kermanshah, Iran
2. Associate Professor, Department of Plant Production and Genetic Engineering, Campus of Agriculture and Natural Resources, Razi University, Kermanshah, Iran
Received: November 08, 2020 Accepted: January 12, 2021

Abstract

In order to evaluate the effect of foliar application of some chemicals on antioxidant enzymes activity and chlorophyll fluorescence of sunflower in different irrigation conditions as well as identifying compounds' effectiveness in reducing the adverse effects of drought stress, this experiment has been conducted at the Agricultural Research Center of Hamedan, Iran, between 2015 and 2016. Three irrigation and six foliar application treatments are evaluated in a split plot experiment based on randomized complete block design with three replications. Irrigation treatments consist of 60%, 80%, and 100% plant water requirement and foliar application treatments include abscisic acid 40 µM, Selenium 20 mg/L, Salicylic acid 500 µM, SNP 100 µM, Glycine betaine 100 mM, and the control. Results show that by decreasing the irrigation water, the activity of superoxide dismutase, peroxidase, and catalase enzymes rise sharply, while the maximum photochemical efficiency of photosystem II and grain yield decline. The interaction effect of irrigation × foliar application on the activity of antioxidant enzymes and grain yield is significant, but not so on chlorophyll fluorescence. In deficit irrigation treatments, foliar application of all chemical compounds significantly boost the activity of antioxidant enzymes, compared to the control. Application of salicylic acid raises the maximum photochemical efficiency of photosystem II and grain yield, at all irrigation conditions. Under 60%, 80%, and 100% irrigation conditions, salicylic acid application increases grain yield by 24.3%, 10.1%, and 4.9%, respectively.

Keywords: Abscisic acid, glycine betaine, salicylic acid, selenium, sodium nitroprusside.

* نویسنده مسئول
Email: ghobadi.m@razi.ac.ir

۱. مقدمه

در بین عوامل محیطی تنش‌زا، خشکی یکی از مهم‌ترین تنش‌های غیرزنده است که با توجه به کمبود منابع آب، به مهم‌ترین عامل محیطی در محدودکردن تولید محصولات زراعی در سطح جهان تبدیل شده است (Hussain *et al*., 2010). برای مواجهه با کمبود آب و تخفیف اثرات خشکی، کاربرد خارجی ترکیبات شیمیایی مختلف از قبیل محلول‌های سازگار، تنظیم‌کننده‌های رشد و ملکول‌های پیام‌رسان تنش در سالیان اخیر مورد توجه پژوهش‌گران قرار گرفته است (Hussain *et al*., 2010; Farooq *et al*., 2010). تنش‌های غیرزنده باعث افزایش تولید انواع گونه‌های اکسیژن فعال[1] (ROS) از جمله سوپراکسید (O_2^-)، پراکسید هیدروژن (H_2O_2) و رادیکال هیدروکسیل (OH^-) می‌شوند. در شرایط طبیعی رشد گیاه، گونه‌های اکسیژن فعال به‌وسیله سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی گیاه، که شامل اجزای آنزیمی و غیرآنزیمی است، خنثی می‌شوند (Gaber Gomaa *et al*., 2010; Faroog *et al*., 2010). تنش‌های محیطی ممکن است منجر به عدم تعادل بین تولید گونه‌های اکسیژن فعال و سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی گیاه و در نتیجه باعث بروز تنش اکسیداتیو شوند (Proietti *et al*., 2013). گونه‌های اکسیژن فعال، چندین فرایند تخریبی اکسیداتیو را آغاز کرده و هم‌چنین مسیرهای سیگنالی مختلفی را به راه می‌اندازند و یکی از مهم‌ترین عوامل آسیب‌رسان به سیستم فتوسنتزی می‌باشند (Neill *et al*., 2003). تجمع گونه‌های اکسیژن فعال، باعث بروز صدماتی مانند اکسیداسیون لیپیدها و خسارت شدید به ساختمان و فعالیت غشاهای سلول، تخریب پروتئین‌ها، DNA، رنگدانه‌های فتوسنتزی و غیرفعال‌کردن آنزیم‌ها می‌شود که در نهایت به مرگ تدریجی سلول منجر شده و باعث ایجاد محدودیت در رشد و تولید گیاه می‌شود (Proietti *et al*., 2013). گیاهان برای کاهش اثرات مخرب گونه‌های اکسیژن فعال، سازوکارهای متفاوتی دارند و از طریق سیستم آنتی‌اکسیدانی آنزیمی (سوپراکسیددیسموتاز، پراکسیدازها، کاتالاز و غیره) و غیرآنزیمی (کاروتنوئیدها، α-توکوفرول، آسکوربیک اسید و غیره) سلول‌ها را در برابر اثرات مخرب رادیکال‌های آزاد (گونه‌های اکسیژن فعال) محافظت می‌کنند (El-Tayeb, 2005).

آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان مانند سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، کاتالاز (CAT)، آسکوربات پراکسیداز (APX)، پراکسیداز (POD) و گلوتاتیون رداکتاز (GR) سیستمی برای به حداقل‌رساندن غلظت سوپراکسید و پراکسیدهیدروژن هستند. سوپراکسید دیسموتاز اولین آنزیم خنثی‌کننده گونه‌های اکسیژن فعال است که تبدیل سوپراکسید به اکسیژن و پراکسیدهیدروژن را کاتالیز می‌کند. پراکسیدازها، پراکسیدهیدروژن را با استفاده از سوبستراهای مختلف اهداکننده الکترون، به آب احیا می‌کنند و کاتالاز، پراکسید هیدروژن را به آب و اکسیژن تبدیل می‌کند (Peltzer *et al*., 2002).

افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در ارقام آفتابگردان تحت تنش خشکی در مطالعات مختلف گزارش شده است (Nooraniazad & Choobineh, 2008; Dadnia, 2012). از طرف دیگر، به‌منظور افزایش توانایی گیاهان در تحمل تنش اکسیداتیو، لازم است ظرفیت حذف گونه‌های اکسیژن فعال در آن‌ها افزایش یابد. در این راستا، براساس مطالعات انجام‌شده، استفاده از ترکیباتی نظیر سلنیوم (Proietti *et al*., 2013; Nawaz *et al*., 2015)، سالیسیلیک‌اسید (Noreen *et al*., 2009)، سدیم نیتروپروساید (Lu *et al*., 2009; Gaber Goma *et al*., 2010) و آبسیزیک اسید (Lu *et al*., 2009) می‌تواند فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان مانند کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز را افزایش داده و با تقویت سیستم

1. Reactive oxygen species

آنتی‌اکسیداتیو، تحمل گیاه به تنش‌های غیرزیستی را ارتقا دهد.

به‌منظور ارزیابی اثر تنش خشکی بر سیستم فتوسنتزی گیاه از پارامترهای فلورسانس کلروفیل نیز استفاده می‌شود. در واقع اندازه‌گیری فلورسانس کلروفیل تخمینی از نحوه عمل فتوسنتز را در اختیار می‌گذارد (Ghahremani *et al.*, 2015) فلورسانس کلروفیل مؤلفه‌های مختلفی دارد، یکی از آن‌ها میزان عملکرد کوانتومی فتوسیستم II یا حداکثر کارایی فتوشیمیایی فتوسیستم II است که با نسبت (Fv/Fm) نشان داده می‌شود. در این رابطه، Fm فلورسانس حداکثر، بعد از تابیده‌شدن نور اشباع بر روی برگ سازگارشده با تاریکی و Fv فلورسانس متغیر و برابر با (Fv=Fm-F0) است. F0 مقدار فلورسانس حداقل یا اولیه بعد از تابیده‌شدن نور تعدیل شده و ضعیف بر روی برگ سازگارشده با تاریکی می‌باشد. مقدار Fv/Fm نشان‌دهنده ظرفیت انتقال الکترون و به‌عبارت دیگر نشان‌دهنده کارایی فتوسیستمII است و برای ارزیابی خسارت وارده به فتوسیستمII استفاده شده است. کاهش Fv/Fm نشان‌دهنده کاهش در فعالیت فتوشیمیایی فتوسیستمII می‌باشد (Habibi, 2017). در مطالعات مختلف گزارش شده است که تنش خشکی باعث کاهش کارایی فتوشیمیایی فتوسیستمII شده است (Taherabadi, 2011; Habibi, 2013; Ghahremani *et al.*, 2015)، اما در برخی مطالعات نیز تنش خشکی اثر معنی‌داری بر کارایی فتوشیمیایی فتوسیستمII نداشت که این موضوع به نقش حفاظتی کاروتنوئیدها در پراکنش غیر تشعشعی انرژی اضافی نسبت داده شده است (Heidari & Karami, 2013; Ghobadi, 2018).

این مطالعه با هدف بررسی محتوای آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و فلورسانس کلروفیل در شرایط آبیاری معمول و کم‌آبیاری و اثر کاربرد ترکیبات شیمیایی مختلف بر این صفات و هم‌چنین شناسایی بهترین ترکیب شیمیایی در جهت تخفیف اثرات خشکی در گیاه آفتابگردان اجرا شد.

۲. مواد و روش‌ها

این آزمایش به‌مدت دو سال ۱۳۹٤ و ۱۳۹۵ در مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی همدان، با مختصات عرض جغرافیایی ۳٤ درجه و ۵۲ دقیقه شمالی و طول جغرافیایی ٤۸ درجه و ۳۲ دقیقه شرقی و با ارتفاع ۱۷۵۸ متر از سطح دریا انجام شد. خاک مزرعه آزمایشی دارای بافت لوم شنی، pH برابر ۷/۵ و میزان کربن آلی ۰/٤۲ درصد بود. سه تیمار آبیاری و شش تیمار محلول‌پاشی به‌صورت کرت‌های یک‌بار خردشده بر پایه طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار مورد ارزیابی قرار گرفتند. تیمارهای آبیاری شامل تأمین ٦۰، ۸۰ و ۱۰۰ درصد نیاز آبی گیاه به‌عنوان سطوح عامل اصلی و تیمارهای محلول‌پاشی شامل کاربرد آبسیزیک اسید با غلظت ٤۰ میکرومولار (Hussain *et al.*, 2012)، سلنیوم از منبع سلنات سدیم با غلظت ۲۰ میلی‌گرم بر لیتر (Dadnia, 2012)، سالیسیلیک‌اسید با غلظت ۵۰۰ میکرومولار (Hussain *et al.*, 2008)، سدیم نیتروپروساید با غلظت ۱۰۰ میکرومولار (Cechin *et al.*, 2015)، گلیسین‌بتائین با غلظت ۱۰۰ میلی‌مولار (Hussain *et al.*, 2008) و تیمار شاهد (محلول‌پاشی با آب) به‌عنوان سطوح عامل فرعی در نظر گرفته شدند. به‌منظور تهیه محلول‌های مورد نیاز با غلظت‌های تعیین‌شده، ابتدا با توجه به وزن مولکولی ترکیبات شیمیایی مقادیر موردنیاز از هر ماده توزین شده و در مقدار کمی آب یا اتانول (در مورد سالیسیلیک‌اسید و آبسیزیک اسید) حل شدند. سپس محلول حاصل با افزودن آب به حجم نهایی رسیده و غلظت موردنظر تهیه شد.

هر کرت آزمایشی شامل پنج ردیف کاشت با فاصله

۶۰ سانتی‌متر و به‌طول هفت متر بود. بین کرت‌های اصلی و فرعی به‌ترتیب دو و یک خط نکاشت و بین تکرارها دو متر فاصله در نظر گرفته شد. بوته‌ها در روی خطوط کشت با فاصله ۲۰ سانتی‌متر کشت شدند. رقم مورداستفاده در این آزمایش، هیبرید زودرس قاسم بود. کشت بذور در سال اول و دوم به‌ترتیب در تاریخ‌های ۲۹ و ۳۰ خردادماه، به‌صورت دستی در روی پشته و در عمق سه تا چهار سانتی‌متری انجام شد. اعمال تیمارهای آبیاری براساس روش پیشنهادی Chimenti *et al*., (2002) از مرحله شش‌برگی، آغاز شد و تا پایان دوره رشد ادامه داشت. آبیاری به‌روش نشتی با استفاده از لوله‌های پلی‌اتیلن اختصاصی برای هر تکرار و شیرهای انشعاب فرعی برای هر خط کاشت انجام شد. به‌منظور تعیین میزان آب آبیاری، ابتدا با استفاده از داده‌های هواشناسی روزانه، میزان تبخیر و تعرق گیاه مرجع (ETo) بر پایه مدل پنمن مانتیث فائو برآورد شد (Allen *et al*., 1998). سپس با تعیین ضریب گیاهی (Kc) آفتابگردان در مراحل مختلف رشد، میزان نیاز آبی یا تبخیر و تعرق روزانه گیاه زراعی (میلی‌متر در روز) محاسبه شد. پس ازآن مجموع نیاز آبی در دوره‌های آبیاری هشت روزه (فاصله بین آبیاری قبلی تا آبیاری مورد نظر) تعیین گردید. با درنظرگرفتن مساحت کرت‌های آزمایشی و راندمان آبیاری برابر ۹۰ درصد، حجم آب مورداستفاده برای هر تیمار محاسبه شد و با استفاده از کنتور حجمی با دقت یک لیتر اندازه‌گیری و کنترل شد. حجم آب آبیاری برای تیمارهای ۶۰، ۸۰ و ۱۰۰ درصد نیاز آبی گیاه در سال اول و دوم آزمایش به‌ترتیب برابر (۳۸۰۳/۵، ۴۶۱۴/۸ و ۵۴۲۶/۳) و (۴۱۷۶/۰، ۵۱۰۷/۰ و ۶۰۳۹/۵) متر مکعب در هکتار بود. محلول‌پاشی ترکیبات شیمیایی موردنظر در اوائل گلدهی بر روی دو خط وسط از هر کرت آزمایشی و با حجم محلول ۱۰۰۰ لیتر در هکتار انجام شد. به‌منظور اطمینان از جذب مواد، عمل محلول‌پاشی به‌مدت سه روز متوالی و در زمان غروب آفتاب (Unyayar *et al*., 2004) انجام شد. از ماده تووین ۲۰ (Tween 20) با غلظت ۰/۱ درصد به‌عنوان مویان استفاده شد. برای گیاهان شاهد، محلول‌پاشی با آب مقطر انجام شد.

به‌منظور بررسی فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، سه تا چهار روز پس از انجام محلول‌پاشی از واحدهای آزمایشی نمونه برگی تهیه شد. نمونه‌ها بلافاصله در فویل آلومینیومی پیچیده شده و در نیتروژن مایع قرار گرفتند و پس از انتقال به آزمایشگاه، تا زمان اندازه‌گیری صفات موردنظر در فریزر ۸۰- درجه سانتی‌گراد (KW Apparecchi Scientifici، ساخت ایتالیا) نگهداری شدند. برای استخراج آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، ابتدا مقداری نمونه برگ درون هاون چینی حاوی نیتروژن مایع پودر شد و سپس مقدار ۲۵۰ میلی‌گرم از پودر برگ توزین شد، سپس مقدار یک میلی‌لیتر بافر استخراج (Tris-HCl) به آن اضافه شد. نمونه‌ها هموژنیزه شده و با استفاده از سانتریفیوژ یخچال‌دار به‌مدت ۱۵ دقیقه با سرعت ۱۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شدند. از محلول شفاف رویی جهت اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان استفاده شد (Ramachandra *et al*., 2004).

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز با استفاده از روش Beauchamp & Fridovich (1971) انجام شد. این روش براساس توانایی آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در متوقف‌کردن احیای فتوشیمیایی نیتروبلوتترازولیوم توسط رادیکال‌های سوپراکسید، حاصل از تخریب نوری ریبوفلاوین، می‌باشد. بدین ترتیب که در اثر برخورد نور، ریبوفلاوین تخریب و رادیکال سوپراکسید تولید می‌شود. این رادیکال، نیتروبلو تترازولیوم را احیا می‌کند. آنزیم سوپراکسید دیسموتاز با غیرفعال‌کردن رادیکال سوپراکسید از این واکنش

جلوگیری می‌کند. یک واحد فعالیت آنزیمی معادل مقدار آنزیمی است که ۵۰ درصد بازدارندگی ایجاد کند. میزان جذب نوری محلول نهایی با استفاده از دستگاه الیزا (مدل Bio Tek Powerwave XS2، ساخت آمریکا) در طول موج ٥٦٠ نانومتر قرائت شد. برای اندازه‌گیری سرعت فعالیت آنزیم پراکسیداز از روش Chance & Maehly (1995) استفاده شد که در آن اندازه‌گیری براساس میزان اکسیدشدن گایاکول توسط آنزیم پراکسیداز و تشکیل تتراگایاکول انجام می‌گیرد. آنزیم پراکسیداز برای تجزیه پراکسید هیدروژن از گایاکول به‌عنوان دهنده الکترون استفاده می‌کند و تتراگایاکول تشکیل می‌شود. میزان جذب نوری محلول نهایی با استفاده از دستگاه الیزا در طول موج ٤٧٠ نانومتر قرائت شد. اندازه‌گیری فعالیت آنزیم کاتالاز با استفاده از روش Sinha (1972) و براساس احیای دی‌کرومات پتاسیم محلول در اسیداستیک به کرومیک‌استات و تشکیل پرکرومیک‌اسید سبز رنگ در حضور پراکسیدهیدروژن و حرارت انجام شد. میزان جذب نوری محلول نهایی با استفاده از دستگاه الیزا در طول موج ۵۷۰ نانومتر قرائت شد. در نهایت میزان فعالیت آنزیم‌ها بر حسب واحد بر میلی‌گرم پروتئین بیان شد. به‌منظور اندازه‌گیری حداکثر کارایی فتوشیمیایی فتوسیستم II (Fv/Fm) از دستگاه فلوریمتر (مدل[1] Pocket PEA، ساخت انگلستان) استفاده شد. اندازه‌گیری‌ها یک هفته پس از اعمال تیمارهای محلول‌پاشی، بر روی بالاترین برگ کاملاً توسعه یافته در هر واحد آزمایشی، در ساعت ۱۰ تا ۱۲ ظهر صورت گرفت.

پس از انجام آزمون یکنواختی واریانس‌ها، تجزیه واریانس مرکب داده‌های دو سال با درنظرگرفتن سال به‌صورت اثر تصادفی و آزمون F براساس امید ریاضی انجام شد. میانگین‌ها به‌روش آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال پنج درصد مورد مقایسه قرار گرفتند. به‌منظور انجام تجزیه و تحلیل‌های آماری و مقایسات میانگین از نرم‌افزار آماری SAS (v8.2) و برای رسم شکل‌ها از نرم‌افزار Excel استفاده شد.

۳. نتایج و بحث

۳. ۱. سوپراکسید دیسموتاز

اثر تیمارهای آبیاری و اثر متقابل آبیاری× محلول‌پاشی بر فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در سطح احتمال یک درصد بسیار معنی‌دار بود (جدول ۱). مقایسه میانگین اثرات متقابل آبیاری× محلول‌پاشی (شکل ۱-الف) نشان داد که به‌طور کلی با کاهش میزان آب آبیاری میانگین فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز افزایش یافت. به‌طوری‌که در شرایط آبیاری کامل (تأمین ۱۰۰ درصد نیاز آبی گیاه)، متوسط فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز برابر با ۰/۷۵٦ واحد بر میلی‌گرم پروتئین بود و در تیمارهای آبیاری ۸۰ و ٦۰ درصد تأمین نیاز آبی گیاه به‌ترتیب با ۸۲/۹ و ۲۰۸/۹ درصد افزایش به ۱/۳۸۳ و ۲/۳۳۵ واحد بر میلی‌گرم پروتئین رسید. افزایش فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در گیاهان مختلف و در شرایط تنش خشکی گزارش شده است (Sing & Usha, 2003; Lu *et al*., 2009; Gaber Goma *et al*, 2010; Farooq *et al*, 2010; Habibi, 2013). افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در شرایط تنش خشکی نشان‌دهنده افزایش فعالیت سلول‌های گیاه برای حفاظت در برابر آسیب‌های اکسیداتیو ناشی از تنش خشکی می‌باشد (Nooraniazad & Choobineh, 2008). سوپراکسید دیسموتاز اولین آنزیم خنثی‌کننده گونه‌های اکسیژن فعال است که سوپراکسید را به اکسیژن و پراکسید هیدروژن تبدیل می‌کند (Peltzer *et al*., 2002).

1. Plant Efficiency Analyzer

جدول ۱. تجزیه واریانس کارایی فتوشیمیایی فتوسیستم II، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و عملکرد دانه در شرایط مختلف آبیاری و محلول‌پاشی ترکیبات شیمیایی

منابع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات				
		سوپراکسید دیسموتاز	پراکسیداز	کاتالاز	کارایی فتوشیمیایی فتوسیستم II	عملکرد دانه
سال	۱	۰/۲۰۱ n.s	۰/۱۳۷ n.s	۰/۰۰۰۲۶ n.s	۰/۰۰۱۹ n.s	۶۹۶۰۰۰ n.s
تکرار (سال)	٤	۰/۰۳۳	۰/۰۲۱	۰/۰۰۰۰۸	۰/۰۰۱۸	۲۶۵۱۱۲
آبیاری	۲	۲۲/۷۵**	۱۹/۱۸**	۰/۰۷۱۱*	۰/۰۶۸**	۳۲۹۸۶٤۳۸**
سال× آبیاری	۲	۰/۰۹۳ n.s	۰/۱۲۹ n.s	۰/۰۰۰۸*	۰/۰۰۰۷ n.s	۱۲۸۵۲۶ n.s
خطای a	۸	۰/۰۲۸	۰/۰۵۸	۰/۰۰۰۲	۰/۰۰٤۹	۷۲۱۰۲
محلول‌پاشی	۵	۰/۳٤۷ n.s	۰/۰۳۸۳*	۰/۰۰۱۲*	۰/۰۰۱۲ n.s	۱۹۸۷۸٤ n.s
آبیاری× محلول‌پاشی	۱۰	۰/۱۲٤**	۰/۱۰۶**	۰/۰۰۰۲*	۰/۰۰۰۶ n.s	۱۰۳۳۲۸**
سال× محلول‌پاشی	۵	۰/۰۰۲ n.s	۰/۰۰۵ n.s	۰/۰۰۰۰۶ n.s	۰/۰۰۰۰۷ n.s	٤۶٤۵ n.s
سال× آبیاری× محلول‌پاشی	۱۰	۰/۰۰۳ n.s	۰/۰۱۶ n.s	۰/۰۰۰۰۷ n.s	۰/۰۰۰۳ n.s	۸۳۲۳ n.s
خطای b	۶۰	۰/۰۲۹	۰/۰۲۹	۰/۰۰۰۲	۰/۰۰۳	۸۰۰۳۶
ضریب تغییرات (درصد)		۱۱/۵۰	۱۱/۲۶	۱۱/۰۶	۷/۹٤	۱۰/۷۷

*، ** وns: به‌ترتیب معنی‌دار در سطوح احتمال ۵ و یک درصد و غیرمعنی‌دار.

بررسی میانگین اثرات متقابل آبیاری× محلول‌پاشی (شکل ۱- الف) هم‌چنین نشان داد که نحوه اثر تیمارهای محلول‌پاشی در هر یک از سطوح آبیاری متفاوت بود. در شرایط آبیاری کامل (تأمین ۱۰۰ درصد نیاز آبی گیاه)، کاربرد ترکیبات شیمیایی تأثیر معنی‌داری بر میزان فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز نداشت و اختلاف معنی‌داری با تیمار شاهد ایجاد نشد. اما در شرایط کم‌آبیاری، محلول‌پاشی کلیه ترکیبات شیمیایی میزان فعالیت سوپراکسیددیسموتاز را در مقایسه با تیمار شاهد به‌صورت معنی‌داری افزایش داد. در شرایط آبیاری ۸۰ و ۶۰ درصد تأمین نیاز آبی گیاه، بیش‌ترین فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز مربوط به سالیسیلیک‌اسید بود که اختلاف آن با تیمار شاهد و با سایر ترکیبات شیمیایی معنی‌دار بود. در هر دو شرایط کم‌آبیاری، گلیسین بتائین کم‌ترین تأثیر را بر فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز داشت. با این‌حال، اختلاف آن با تیمار شاهد معنی‌دار بود (شکل ۱- الف).

Noreen *et al.* (2009) گزارش کردند که محلول‌پاشی غلظت‌های مختلف سالیسیلیک‌اسید در دو هیبرید آفتابگردان در شرایط تنش شوری، باعث افزایش قابل توجه فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز شد. در مطالعه Sing & Usha (2003) کاربرد سالیسیلیک‌اسید در شرایط تنش رطوبتی و بدون تنش، فعالیت سوپراکسید دیسموتاز در گیاهچه‌های گندم را افزایش داد. در مطالعه دیگری گزارش شده است که در شرایط تنش خشکی، محلول‌پاشی سلنیوم در اوایل گلدهی میزان فعالیت سوپراکسید دیسموتاز را در پنج رقم آفتابگردان بین ۲۰ تا ۲۷ درصد افزایش داد (Dadnia, 2012). تأثیر مثبت کاربرد سلنیوم در شرایط تنش خشکی بر فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در جو بهاره نیز گزارش شده است

(Habibi, 2013). در یک مطالعه Lu *et al.* (2009)گزارش کردند که در شرایط تنش خشکی، فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز در نتیجه کاربرد آبسیزیک‌اسید در برموداگراس افزایش یافت. به‌عقیده این پژوهش‌گران آبسیزیک‌اسید باعث تولید مولکول‌های پیام‌رسان H_2O_2 و NO شد و با واسطه این مولکول‌ها فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان مانند سوپراکسیددیسموتاز افزایش یافت. آبسیزیک‌اسید از طریق NADPH oxidase تولید H_2O_2 را القا می‌کند و H_2O_2 تولیدشده ناشی از آبسیزیک‌اسید، تولید NO را از طریق فعالیت نیتریک‌اکسید سینتاز[1] (NOS) و نیترات رداکتاز[2] (NR) وساطت می‌کند. نیترات رداکتاز مولکول نیتریت را به NO احیا کرده و NO آنزیم[3] (MAPK) را فعال می‌کند و باعث تنظیم بیان ژن آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان می‌شود.

نتایج حاصل از مطالعه Gaber Goma *et al.* (2010) نشان داد که محلول‌پاشی سدیم نیتروپروساید در شرایط خشکی، فعالیت سوپراکسید دیسموتاز را در برنج به‌طور معنی‌داری افزایش داد. هم‌چنین در برموداگرس گزارش شده است که در نتیجه کاربرد سدیم نیتروپروساید، میزان فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز ۳۸ درصد افزایش یافت (Lu *et al.*, 2009). سدیم نیترو پروساید یک ترکیب تولیدکننده نیتریک‌اکسید (NO) در گیاهان است و افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در نتیجه کاربرد سدیم نیتروپروساید ناشی از اثر نیتریک اکسید بود. در مطالعه دیگری محلول‌پاشی گلیسین بتائین، سالیسیلیک‌اسید و سدیم نیتروپروساید بر روی بوته‌های برنج و در شرایط تنش خشکی، باعث افزایش فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز شد که می‌تواند منجر به کاهش خسارت اکسیداتیو شود (Farooq *et al.*, 2010).

1. Nitric oxide synthase
2. Nitrate reductase
3. Mitogen-activated protein kinase

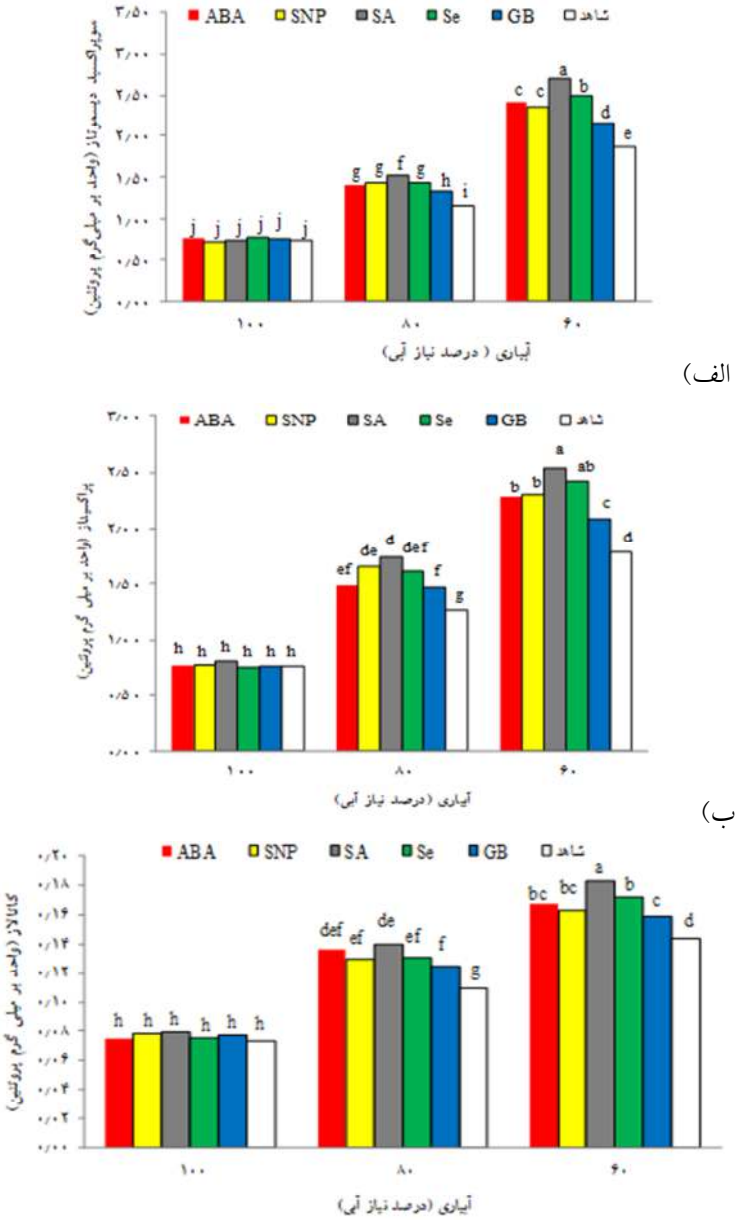
۳. ۲. پراکسیداز

اثر تیمارهای مختلف آبیاری و اثر متقابل آبیاری× محلول‌پاشی در سطح احتمال یک درصد و اثر محلول‌پاشی ترکیبات شیمیایی در سطح احتمال پنج درصد بر فعالیت آنزیم پراکسیداز معنی‌دار بودند (جدول ۱). مقایسه میانگین اثرات متقابل آبیاری× محلول‌پاشی بر فعالیت آنزیم پراکسیداز (شکل ۱- ب) نشان داد که با کاهش میزان آب آبیاری، میانگین فعالیت آنزیم پراکسیداز افزایش یافت. به‌طوری‌که در شرایط آبیاری کامل (تأمین ۱۰۰ درصد نیاز آبی گیاه)، متوسط فعالیت آنزیم پراکسیداز برابر با ۰/۷۷۸ واحد بر میلی‌گرم پروتئین بود و با کاهش میزان آب آبیاری در شرایط ۸۰ و ٦۰ درصد تأمین نیاز آبی گیاه، فعالیت آنزیم پراکسیداز به‌ترتیب ۹۷/۹ و ۱۸۷/۷ درصد افزایش پیدا کرد و به ۱/٥٤ و ۲/۲۳۸ واحد بر میلی‌گرم پروتئین رسید (شکل ۱- ب).

افزایش میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز در اثر تنش خشکی در آفتابگردان (Nooraniazad & Choobineh, 2008; Dadnia, 2012) و در سایر گیاهان نظیر جو (Habibi, 2013)، برنج (Farooq *et al.*, 2010) و ذرت (Ghobadi, 2018) گزارش شده است. رادیکال سوپراکسید، اولین رادیکال آزاد تشکیل شده در سلول است که به‌واسطه فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز به اکسیژن و پراکسید هیدروژن تبدیل می‌شود. پراکسید هیدروژن توسط پراکسیدازها و کاتالاز خنثی می‌شود. پراکسیدازها گروهی از آنزیم‌ها هستند که با استفاده از سوبستراهای مختلف اهداکننده الکترون، پراکسید هیدروژن را به آب احیا می‌کنند (Peltzer *et al.*, 2002). در صورتی‌که فعالیت این آنزیم‌ها برای حذف پراکسید هیدروژن مؤثر نباشد، منجر به تجمع پراکسید هیدروژن خواهد شد. واکنش پراکسید هیدروژن با رادیکال سوپراکسید، باعث تولید رادیکال هیدروکسیل می‌شود که

بسیار سمی‌تر بوده و شدت تنش اکسیداتیو افزایش می‌یابد (Ahmadi *et al*., 2009).

بررسی میانگین اثرات متقابل آبیاری× محلول‌پاشی هم‌چنین نشان داد که تیمارهای محلول‌پاشی در هر یک از سطوح آبیاری اثر متفاوتی داشتند. در شرایط آبیاری کامل (تأمین ۱۰۰ درصد نیاز آبی گیاه)، محلول‌پاشی ترکیبات شیمیایی، تغییر معنی‌داری در میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز ایجاد نکرد.



شکل ۱. اثر متقابل آبیاری× محلول‌پاشی بر فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز (الف)، پراکسیداز (ب) و کاتالاز (ج).

ستون‌های داری حروف مشترک براساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی‌دار ندارند.

اما در شرایط کم‌آبیاری و تأمین ۸۰ و ٦۰ درصد نیاز آبی گیاه، محلول‌پاشی ترکیبات مختلف شیمیایی میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز را به‌طور معنی‌داری و به درجات مختلف نسبت به تیمار شاهد افزایش داد. در شرایط آبیاری ۸۰ درصد تأمین نیاز آبی گیاه، سالیسیلیک‌اسید، سدیم نیتروپروساید و سلنیوم و در شرایط آبیاری ٦۰ درصد تأمین نیاز آبی گیاه، سالیسیلیک‌اسید و سلنیوم بیش‌ترین میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز را داشتند که اختلاف آن‌ها با یکدیگر غیرمعنی‌دار و با تیمار شاهد معنی‌دار بود (شکل ۱- ب). در مطالعه‌ای با پنج رقم آفتابگردان، Dadnia (2012) گزارش کرد که در شرایط تنش خشکی کاربرد سلنیوم در اوایل گلدهی، میزان فعالیت گلوتاتیون پراکسیداز را ۱۷ تا ۲۵ درصد افزایش داد و بیان کرد که افزایش سطح فعالیت این آنزیم، مانع از پراکسید شدن چربی‌های غشای سلولی تحت شرایط خشکی می‌شود. نتایج مشابهی از افزایش فعالیت پراکسیدازها در نتیجه محلول‌پاشی سلنیوم در جو نیز گزارش شده است (Habibi, 2013). سلنیوم یکی از اجزای ضروری برای فعالیت گلوتاتیون پراکسیداز است و بدون سلنیوم گیاه نمی‌تواند سیستم آنتی‌اکسیدانی را به‌اندازه کافی فعال نماید. گلوتاتیون پراکسیداز حاوی سلنیوم در ترکیب با اسیدآمینه سیستئین (سلنوسیستئین) می‌باشد که برای فعالیت آنزیم‌ها ضروری است. گلوتاتیون پراکسیداز، احیای پراکسید هیدروژن را با استفاده از گلوتاتیون احیاشده (GSH) کاتالیز می‌کند (Timothy, 2001). در مطالعه‌ای با دو هیبرید آفتابگردان گزارش شد که محلول‌پاشی غلظت‌های مختلف سالیسیلیک‌اسید در شرایط تنش شوری، باعث افزایش قابل توجه فعالیت آنزیم پراکسیداز شد (Noreen *et al*., 2009). هم‌چنین گزارش شده است که محلول‌پاشی گلیسین بتائین، سالیسیلیک‌اسید و سدیم نیتروپروساید بر روی بوته‌های برنج و در شرایط تنش خشکی، باعث افزایش فعالیت آسکوربات پراکسیداز و کاهش خسارت اکسیداتیو شد (Farooq *et al*., 2010).

۳. ۳. کاتالاز

اثر تیمارهای آبیاری، محلول‌پاشی ترکیبات شیمیایی و اثر متقابل آبیاری× محلول‌پاشی بر فعالیت آنزیم کاتالاز در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار بود (جدول ۱). مقایسه میانگین اثر متقابل آبیاری× محلول‌پاشی (شکل ۱- ج) نشان داد که کاهش میزان آب آبیاری، به‌طورکلی باعث افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز شد. کم‌ترین میزان فعالیت آنزیم کاتالاز (۰/۰۷٦۳ واحد بر میلی‌گرم پروتئین) در شرایط آبیاری کامل وجود داشت و با کاهش میزان آب آبیاری در تیمارهای ۸۰ و ٦۰ درصد تأمین نیاز آبی گیاه، فعالیت آنزیم کاتالاز به‌طور متوسط به‌ترتیب ٦۸/۷ و ۱۱۵/۸ درصد افزایش یافت. نتایج مشابهی از اثر تنش خشکی بر افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز در برگ‌های آفتابگردان (Nooraniazad & Choobineh, 2008; Dadnia, 2012) و گیاهان دیگری نظیر گندم (Nawaz *et al*., 2015)، جو (Habibi, 2013)، برموداگراس (Lu *et al*., 2009) و برنج (Farooq *et al*., 2010) نیز گزارش شده است.

در شرایط تنش خشکی پراکسید هیدروژن از منابع مختلفی مانند فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز و تبدیل رادیکال سوپراکسید به پراکسیدهیدروژن (Peltzer *et al*., 2002) و یا فعالیت آنزیم آبسیزیک اسید (Lu *et al*., 2009) در داخل سلول تولید می‌شود. تجمع پراکسیدهیدروژن در داخل سلول ممکن است باعث واکنش آن با رادیکال سوپراکسید و تولید رادیکال هیدروکسیل شود که بسیار سمی‌تر بوده و می‌تواند شدت تنش اکسیداتیو را افزایش دهد (Ahmadi *et al*., 2009). پراکسید هیدروژن به‌وسیله کاتالاز و پراکسیدازها

سم‌زدایی می‌شود. کاتالاز پراکسید هیدروژن را به آب و اکسیژن تبدیل می‌کند (Peltzer *et al*., 2002).

بررسی اثر متقابل آبیاری× محلول‌پاشی (شکل ۱- ج) هم‌چنین نشان داد که اثر محلول‌پاشی ترکیبات شیمیایی بر فعالیت آنزیم کاتالاز تحت تأثیر شرایط آبیاری بود. در شرایط آبیاری کامل (تأمین ۱۰۰ درصد نیاز آبی گیاه)، محلول‌پاشی ترکیبات شیمیایی مورد نظر، تأثیر معنی‌داری بر فعالیت آنزیم کاتالاز نداشت و اختلاف معنی‌داری با تیمار شاهد مشاهده نشد. در حالی‌که در تیمارهای کم‌آبیاری کاربرد ترکیبات شیمیایی تأثیر متفاوتی داشت. در شرایط آبیاری ۸۰ درصد تأمین نیاز آبی گیاه، سالیسیلیک‌اسید، آبسیزیک اسید، سدیم نیتروپروساید و سلنیوم، بدون اختلاف معنی‌دار، بیش‌ترین افزایش را در فعالیت آنزیم کاتالاز ایجاد کردند. در شرایط آبیاری ٦۰ درصد تأمین نیاز آبی گیاه، سالیسیلیک‌اسید، بیش‌ترین تأثیر را داشت و اختلاف آن با سایر تیمارهای محلول‌پاشی معنی‌دار بود. تأثیر افزایشی سایر ترکیبات شیمیایی بر فعالیت آنزیم کاتالاز از سالیسیلیک‌اسید کم‌تر بود، اما نسبت به تیمار شاهد قابل توجه و معنی‌دار بود (شکل ۱- ج). در برخی مطالعات دیگر نیز به اثر مثبت محلول‌پاشی ترکیبات شیمیایی بر بهبود فعالیت آنزیم کاتالاز اشاره شده است. در این زمینه، Dadnia (2012) گزارش کرد که در شرایط تنش خشکی، با کاربرد سلنیوم در اوایل گلدهی، میزان فعالیت کاتالاز در پنج رقم آفتابگردان بین ۱۹ تا ۲۸ درصد افزایش یافت. نتیجه مشابهی نیز در گندم (Nawaz *et al*., 2015) و جو (Habibi, 2013) گزارش شده است.

Lu *et al*. (2009) گزارش کردند که کاربرد آبسیزیک‌اسید در شرایط تنش خشکی، فعالیت آنزیم کاتالاز را در برموداگراس افزایش داد. این پژوهش‌گران بیان کردند که آبسیزیک‌اسید باعث تولید مولکول‌های پیام‌رسان H_2O_2 و NO شد و با واسطه این مولکول‌ها، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز افزایش یافت. علاوه بر این، با کاربرد سدیم نیتروپروساید نیز فعالیت آنزیم کاتالاز ٦۰ درصد افزایش یافت. سدیم نیتروپروساید یک ترکیب تولیدکننده نیتریک‌اکسید (NO) در گیاهان است و نتیجه‌گیری شد که افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در نتیجه کاربرد سدیم نیتروپروساید ناشی از نیتریک‌اکسید بود. در مطالعه دیگری گزارش شد که محلول‌پاشی گلیسین بتائین، سالیسیلیک‌اسید و سدیم نیتروپروساید بر روی بوته‌های برنج و در شرایط تنش خشکی، باعث افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز شد (Farooq *et al*., 2010).

۳. ٤. حداکثر کارایی فتوشیمیایی فتوسیستم II

آبیاری تأثیر بسیار معنی‌داری، در سطح احتمال یک درصد، بر حداکثر کارایی فتوشیمیایی فتوسیستم II داشت، اما اثر محلول‌پاشی و اثر متقابل آبیاری× محلول‌پاشی بر آن معنی‌دار نبود (جدول ۱). مقایسه میانگین تیمارهای آبیاری نشان داد که بیش‌ترین مقدار حداکثر کارایی فتوشیمیایی فتوسیستم II مربوط به تیمار آبیاری کامل بود (۰/۷۸۳) و با کاهش آب آبیاری در تیمارهای ۸۰ و ٦۰ درصد تأمین نیاز آبی گیاه، حداکثر کارایی فتوشیمیایی فتوسیستم II به‌ترتیب به ۰/۷۳۵ و ۰/٦۹٦ رسید که اختلاف آن‌ها با تیمار شاهد و با یکدیگر معنی‌دار بود. در مطالعه ویژگی‌های فیزیولوژیک ارقام مختلف آفتابگردان در شرایط تنش خشکی گزارش شد که کارایی کوانتومی فتوسیستم II (Fv/Fm) در شرایط تنش شدید تا حد ۳۹/۱ درصد کاهش یافت (Taherabadi, 2011). نتیجه مشابهی در جو (Habibi, 2013) و سورگوم (Ghahremani *et al*., 2015) گزارش شده است. کاهش کارایی فتوسیستم II نشانه آسیب به فتوسیستم II در اثر تنش خشکی می‌باشد.

گزارش شده است که تنش‌های محیطی مانند خشکی و دما با خسارت به مرکز واکنش فتوسیستم II موجب افزایش شدید فلورسانس اولیه (F0) می‌شوند، افزایش فلورسانس اولیه باعث کاهش مقدار Fv می‌شود و در نتیجه نسبت (Fv/Fm) کاهش یافته و بنابراین از کارایی فتوسنتز کاسته شده و میزان فلورسانس کلروفیل افزایش پیدا می‌کند (Araus *et al*., 1998; Yordanov *et al*., 2003). با این‌حال، Habibi (2013) اظهار داشت که کاهش حداکثر کارایی فتوشیمیایی فتوسیستم II در شرایط تنش خشکی فقط به‌دلیل تخریب دستگاه فتوسنتزی نبوده و ممکن است بخشی از آن ناشی از محدودیت‌های روزنه‌ای باشد.

در برخی مطالعات دیگر در آفتابگردان (Heidari & Karami, 2013) و ذرت (Ghobadi, 2018) گزارش شده است که کارایی کوانتومی فتوسیستم II (Fv/Fm) تحت تأثیر تنش خشکی قرار نگرفت، این موضوع به عدم کاهش محتوای کاروتنوئیدها و نقش حفاظتی آن‌ها در پراکنش غیر تشعشعی انرژی اضافی نسبت داده شده است.

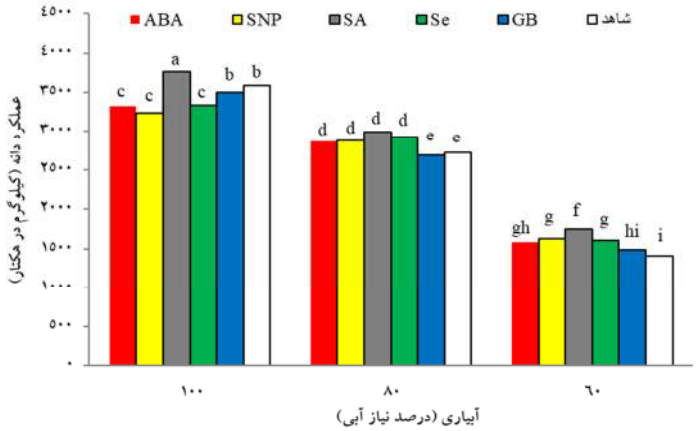
مقایسه میانگین تیمارهای محلول‌پاشی نشان داد که در بین ترکیبات شیمیایی مورداستفاده، بیش‌ترین مقدار حداکثر کارایی فتوشیمیایی فتوسیستم II (۰/۷۵۱) از کاربرد سالیسیلیک‌اسید به‌دست آمد که نسبت به تیمار شاهد (۰/۷۲۷) اختلاف معنی‌داری داشت. کاربرد سایر ترکیبات شیمیایی اختلاف معنی‌داری با شاهد ایجاد نکرد. در مطالعه‌ای در جو گزارش شد که کاربرد سلنیوم در شرایط مطلوب رطوبتی تأثیر معنی‌داری بر میزان حداکثر عملکرد کوانتومی فتوسیستم II (Fv/Fm) نداشت، اما در شرایط تنش رطوبتی حداکثر عملکرد کوانتومی فتوسیستم II (Fv/Fm) را افزایش داد (Habibi, 2013). همین پژوهش‌گر در مطالعه دیگری گزارش کرد که کاربرد سلنیوم باعث افزایش معنی‌دار Fv/Fm در آفتابگردان در شرایط شوری شد (Habibi, 2017).

۳. ۵. عملکرد دانه

اثر تیمارهای آبیاری و اثر متقابل آبیاری× محلول‌پاشی بر عملکرد دانه در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۱). بررسی میانگین اثر متقابل آبیاری× محلول‌پاشی (شکل ۲) نشان داد که با کاهش میزان آب آبیاری، میانگین عملکرد دانه به‌طورکلی کاهش یافت. در شرایط آبیاری کامل (تأمین ۱۰۰ درصد نیاز آبی گیاه) متوسط عملکرد دانه (۳٤٥٦ کیلوگرم در هکتار) بود که در تیمارهای کم‌آبیاری و تأمین ۸۰ و ٦۰ درصد نیاز آبی گیاه در مقایسه با تیمار آبیاری کامل، به‌ترتیب در حدود ۱۷/۷ و ٥٤/۳ درصد کاهش یافت. کمبود آب در مرحله رشد رویشی باعث کاهش رشد اندام‌ها، کاهش توسعه سطح برگ و قطر طبق و در مرحله رشد زایشی با تأثیر منفی بر اجزاء عملکرد مانند تعداد دانه در طبق و وزن دانه در نهایت باعث افت عملکرد دانه می‌شود که توسط محققین دیگر نیز گزارش شده است (Hussain *et al*., 2008; Taherabadi, 2011; Heidari & Karami, 2013).

بررسی میانگین اثر متقابل آبیاری× محلول‌پاشی (شکل ۲) هم‌چنین نشان داد که اثر محلول‌پاشی ترکیبات شیمیایی مختلف تحت تأثیر شرایط رطوبتی گیاه و وضعیت آبیاری متفاوت بود. در شرایط آبیاری کامل، کاربرد سالیسیلیک‌اسید عملکرد دانه را به‌طور معنی‌داری نسبت به تیمار شاهد افزایش داد.

گلیسین بتائین تغییر معنی‌داری در عملکرد دانه ایجاد نکرد، اما محلول‌پاشی آبسیزیک‌اسید، سدیم نیتروپروساید و سلنیوم باعث کاهش معنی‌دار عملکرد دانه شد. در تیمارهای آبیاری ۸۰ و ٦۰ درصد تأمین نیاز آبی گیاه، محلول‌پاشی گلیسین بتائین با تیمار شاهد اختلاف معنی‌داری نداشت، اما کاربرد سایر ترکیبات شیمیایی، عملکرد دانه را نسبت به تیمار شاهد به‌طور معنی‌داری افزایش داد.



شکل ۲. اثر متقابل آبیاری× محلول‌پاشی بر عملکرد دانه

ستون‌های داری حروف مشترک بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی‌دار ندارند.

با توجه به این نتایج، کاربرد سالیسیلیک‌اسید در شرایط مختلف آبیاری باعث افزایش عملکرد دانه شد و همواره بیش‌ترین عملکرد دانه و بیش‌ترین افزایش عملکرد نسبت به شاهد، از کاربرد این ترکیب به‌دست آمد. در شرایط آبیاری ٦٠، ٨٠ و ١٠٠ درصد تأمین نیاز آبی گیاه، کاربرد سالیسیلیک‌اسید به‌ترتیب ٢٤/٣، ١٠/١ و ٤/٩ درصد عملکرد دانه را افزایش داد. اثر مثبت سالیسیلیک‌اسید در افزایش عملکرد دانه به بهبود وضعیت آبی گیاه و افزایش فتوسنتز و در نهایت افزایش وزن دانه، هم‌چنین به افزایش تلقیح گل‌ها و ایجاد دانه بیش‌تر نسبت داده شده است (Dolat Abadi *et al*., 2013). هم‌چنین گزارش شده است که سالیسیلیک‌اسید از طریق افزایش فعالیت آنزیم روبیسکو و افزایش کلروفیل، میزان فتوسنتز کل را افزایش می‌دهد (Sing & Usha, 2003). افزایش فتوسنتز باعث بهبود وضعیت رویشی گیاه، تجمع بیش‌تر ماده خشک و افزایش اجزای عملکرد می‌شود که در نهایت بر عملکرد دانه تأثیرگذار است.

٤. نتیجه‌گیری

در این مطالعه تیمارهای آبیاری تأثیر قابل‌ملاحظه‌ای بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان داشتند و با کاهش میزان آب آبیاری، فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز، پراکسیداز و کاتالاز افزایش یافت که نشان‌دهنده فعال‌شدن سیستم آنزیمی دفاع آنتی‌اکسیدانی در گیاه است. محلول‌پاشی ترکیبات شیمیایی در شرایط مختلف آبیاری، اثر متفاوتی بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان داشت. به‌طوری‌که در شرایط آبیاری کامل، کاربرد ترکیبات شیمیایی اثر معنی‌داری بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان نداشت، اما در شرایط کم‌آبیاری، میزان فعالیت سوپراکسید دیسموتاز، پراکسیداز و کاتالاز را به‌صورت معنی‌داری افزایش داد. بیش‌ترین افزایش در فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در تیمارهای کم‌آبیاری از کاربرد سالیسیلیک‌اسید به‌دست آمد. کارایی فتوشیمیایی فتوسیستم II با کاهش آب آبیاری کاهش یافت که نشانه آسیب به فتوسیستم II می‌باشد. اثر متقابلی بین محلول‌پاشی ترکیبات شیمیایی با تیمارهای آبیاری وجود نداشت و کاربرد سالیسیلیک‌اسید در شرایط آبیاری مختلف، حداکثر کارایی فتوشیمیایی فتوسیستم II را به‌صورت معنی‌داری افزایش داد. با کاهش میزان آب آبیاری، عملکرد دانه نیز به‌طور معنی‌داری کاهش یافت.

اثر محلول‌پاشی ترکیبات شیمیایی بر عملکرد دانه وابسته به شرایط آبیاری بود. با این‌حال کاربرد سالسیلیک اسید بیش‌ترین تأثیر مثبت را بر عملکرد دانه داشت. با توجه به نتایج حاصل از این مطالعه به نظرمی‌رسد که محلول‌پاشی سالیسیلیک‌اسید، به‌دلیل اثر مثبت بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و تقویت سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی گیاه و هم‌چنین بهبود کارایی فتوشیمیایی فتوسیستم II و تقویت ظرفیت فتوسنتزی گیاه، می‌تواند خسارت اکسیداتیو ناشی از تنش خشکی را تعدیل کرده و باعث افزایش تحمل به خشکی و تخفیف اثرات نامطلوب خشکی شود و عملکرد دانه در شرایط کمبود آب را بهبود بخشد.

۵. تشکر و قدردانی

از حمایت و مساعدت مدیریت، اساتید و سایر پرسنل پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه رازی و هم‌چنین مدیریت و پرسنل مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان همدان در اجرای این پایان نامه، تشکر و قدردانی می‌گردد.

٦. تعارض منافع

هیچ‌گونه تعارض منافع توسط نویسندگان وجود ندارد.

۷. منابع

Ahmadi, A., Ehsanzadeh, P., & Jabbari, F. (2009). *Introduction to plant physiology*. Vol. 1. Translation. University of Tehran press, Tehran, Iran. 4th Edition. 516 pp. (in Persian).

Allen, R. G., Pereira, L. S., Raes, D., & Smith, M. (1998). Crop evapotranspiration: guidelines for computing crop water requirements. FAO Irrigation and Drainage Paper No. 56. FAO, Rome, Italy. 300p.

Araus, J. L., Amaro, T., Voltas, J., Nakkoul, H., & Nachit, M. M. (1998). Chlorophyll fluorescence as a selection criterion for grain yield in durum wheat under Mediterranean conditions. *Field Crops Research, 55*, 209-223.

Beauchamp, C., & Fridovich, I. (1971). Superoxide dismutase: Improved assays and an assay applicable to acrylamide Gels. *Analytical Biochemistry*, *44*(1), 276-87.

Cechin, I., Cardoso, G. S., Fumis, T. F., & Corniani, N. (2015). Nitric oxide reduces oxidative damage induced by water stress in sunflower plants. *Bragantia*, *74*(2), 200-206.

Chance, B., & Maehly, A.C. (1995). Assay of catalase and peroxidase. *Methods in Enzymology*, *2*, 764-775.

Chimenti, C.A., J. Pearson, J., & Hall, A.J. (2002). Osmotic adjustment and yield maintenance under drought in sunflower. *Field Crop Research*, *75*, 235-246.

Dadnia, M. R. (2012). Study the effect of water deficit stress and selenium foliar application on activity of some antioxidant enzymes in oil sunflower cultivars. *Crop Physiology*, *4*(14), 71-81. (in Persian).

Dolat Abadi, S., Armin, M., & Fileh Kesh. E. (2013). Effect of salicylic acid foliar application time on yield and yield components of sunflower under drought stress conditions. *Journal of Crop Production Research*, 5(2), 177-188. (in Persian).

El-Tayeb, M. A. (2005). Response of barley Gains to the interactive effect of salinity and salicylic acid. *Plant Growth Regulation*, *4,* 215-225.

Farooq, M., Wahid, A., Lee, D.J., Cheema, S. A., & Aziz, T. (2010). Drought stress: comparative time course action of the foliar applied Glycine betaine, Salicylic acid, Nitrous oxide, Brassinosteroids and Spermine in improving drought resistance of rice. *Journal of Agronomy and Crop Science*, *196* (5), 336-345.

Gaber Gomaa, S., Osama Kansowa, A., & Hossam Saad, E. (2010). Effects of various chemical agents for alleviation of drought stress in rice plants (*Oryza sativa* L.). *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, *38*(1), 139-148.

Ghahremani, M., Ebadi, A., Parmoon, G., Jahanbakhsh, S. (2015). Investigation the effect of water deficiency tension on photosynthetic indices and yield of genotypes forage sorghum (*Sorghum bicolor* L.). *Crop Physiology Journal*, *7*(25), 59-74. (in Persian).

Ghobadi, R. (2018). *Interaction effects of water and nitrogen on echophysiological traits and gap of corn yield*. Ph. D. Thesis in crop physiology. Razi University. Kermanshah. Iran. 194 pp. (in Persian)

Habibi, Gh. (2013). Effect of drought stress and selenium spraying on photosynthesis and antioxidant activity of spring barley. *Acta agriculturae Slovenica*, *101*(1), 31-39.

Habibi, Gh. (2017). Physiological, photochemical and ionic responses of sunflower seedlings to exogenous selenium supply under salt stress. *Acta Physiol Plant*, *39*, 213-225.

Heidari, M., & Karami, V. (2013). Effects of water stress and different mycorrhiza species on grain yield, yield components, chlorophyll content and biochemical components of sunflower. *Environmental Stresses in Crop Sciences*, *6*(1), 17-26. (in Persian).

Hussain, M., Malik, M. A., Farooq, M., Ashraf, M. Y., & Cheema, M. A. (2008). Improving drought tolerance by exogenous application of glycinebetaine and salicylic acid in sunflower. *Journal of Agronomy and Crop Science*, *194*(3), 193-199.

Hussain, S., Saleem, M.F., Ashraf, M. Y., Cheema, M. A., & Haq, M. A. (2010). Abscisic acid, a stress hormone helps in improving water relations and yield of sunflower (*Helianthus annuus* L.) hybrids under drought. *Pakistan Journal of Botany*, *42*, 2177-2189.

Hussain, S., Ali, A., Ibrahim, M., Saleem, M. F., Alias Haji, M. A., & Bukhsh, A. (2012). Exogenus application of abscisic acid for drought tolerance in sunflower (*Helianthus annuus* L.): A review. *Journal of Animal and Plant Science*, *22*(3), 806-826.

Lu, S., Su, W., Li, H., & Guo, Z. (2009). Abscisic acid improves drought tolerance of triploid bermudagrass and involves H_2O_2- and NO-induced antioxidant enzyme activities. *Plant Physiology and Biochemistry*, *47*, 132-138.

Nawaz, F., Ahmad, R., Ashraf, M. Y., Waraich, E. A., & Khan, S. Z. (2015). Effect of selenium foliar spray on physiological and biochemical processes and chemical constituents of wheat under drought stress. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, *113*, 191-200.

Neill, S.J., Desikan, R., & Hancock, J.T. (2003). Nitric oxide signalling in plants. *New phytologist*, *159*, 11-35.

Nooraniazad, H., & Choobineh, D. (2008). Study of water stress on biomass, soluble sugars, proline, enzymes and ions in sunflower plant (*Helianthus annus* L.). *Iranian Journal of Biological Sciences*, *3*(2), 19-26. (in Persian).

Noreen, S., Ashraf, M., Hussain, M., & Jamil, A. (2009). Exogenous application of salicylic acid enhances antioxidative capacity in salt stressed sunflower (*Helianthus annus* L.) plants. *Pakistan Journal of Botany*, *41*(1), 473-479.

Peltzer, D., Dreyer, E., & Polle, A. (2002). Differential temperature dependencies of antioxidative enzymes in two contrasting species: *Fagus sylvatica* and *Coleus blumei*. *Plant Physiology and Biochemistry*. *40*, 141-150.

Proietti, P., Nasini, L., Del Buono, D., D'Amato, R., Tedeschini, E., & Businelli, D. (2013). Selenium protects olive (*Olea europaea* L.) from drought stress. *Scientia Horticulturae*, *164*, 165-171.

Ramachandra, A., Chaitanya., K. V., Jutur, P.P., & Sumithra, K. (2004). Differential antioxidative responses to water stress among five mulberry (*Morus alba* L.) cultivars. *Environmental and Experimental Botany*, *52*(1), 33-42.

Singh, B., & Usha, K. 2003. Salicylic acid induced physiological and biochemical changes in wheat seedlings under water stress. *Plant Growth Regulators*, *39*, 137-141.

Sinha, A.K. (1972). Colorimetric assay of catalase. *Analytical Biochemistry*, *47*(2), 389-394.

Taherabadi, Sh. (2011). *Effect of drought stress at different growth stages on physiological indices of sunflower cultivars*. M. Sc. thesis. in agronomy. Razi University. Kermanshah. Iran. 120 pp.

Timothy, P. (2001). Glutathione–Related enzymes and Selenium status: Implication for oxidative stress. *Biochemical Pharmacology*. *62*, 273-280.

Unyayar, S., Keles, Y., & Unal, E. (2004). Proline and ABA Levels in two sunflower genotypes subjected to water stress. *Bulgarian Journal of Plant Physiology*, *30*(3-4), 34-37.

Yordanov, I., Velikova, V., & Tsonev, T. (2003). Plant response to drought and stress tolerance. *Bulgarian Journal of Plant Physiology*, (Special Issue), 187-206.