بررسی تاثیر عوامل کاهش دهنده تنش خشکی (باکتری تیوباسیلوس، بتائین گلایسین، تیوفول و اسید سالیسیلیک) بر عملکرد و صفات فیزیولوژیک کلزا (*Brassica napus* L.) در شرایط قطع آبیاری

Effects of drought stress reducing agents (bacteria Thiobacillus, glycine betaine, Thiofol and salicylic acid) on yield and physiological traits of rapeseed (*Brassica napus* L.) in terms of water deficit irrigation

داود سلیمانی[۱]، محمد نصری[۲*] و میثم اویسی[۱]

۱- گروه زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد ورامین- پیشوا، ورامین، تهران – ایران.
۲- مرکز تحقیقات فنآوری‌های نوین تولید غذای سالم، واحد ورامین- پیشوا، دانشگاه آزاد اسلامی، ورامین، تهران، ایران.

نویسنده مسوول مکاتبات: dr.nasrsi@ yahoo.com

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۱/۲۰ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۵/۱۲

چکیده

به‌منظور بررسی اثرات تنش قطع آبیاری بر عملکرد و صفات فیزیولوژیک کلزا رقم زرقام، تحقیقی در مزرعه پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد ورامین – پیشوا، در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با نه تیمار و چهار تکرار در سال زراعی ۹۴- ۱۳۹۳ اجرا شد. تیمارهای مورد بررسی عبارتند از: ۱- قطع آبیاری در مرحله گلدهی، ۲- قطع آبیاری در مرحله گلدهی+ گلاسین بتائین به‌صورت محلول‌پاشی (غلظت ۱/۵ لیتر در هزار). ۳- قطع آبیاری در مرحله گلدهی + گلاسین بتائین به‌صورت محلول‌پاشی (غلظت ۲/۵ لیتر در هزار). ۴- قطع آبیاری در مرحله گلدهی + تیوفول به‌صورت محلول‌پاشی (غلظت ۱/۵ لیتر در هزار) . ۵- قطع آبیاری در مرحله گلدهی + تیوفول به‌صورت محلول‌پاشی (غلظت ۲ لیتر در هزار) . ۶- قطع آبیاری در مرحله گلدهی + سالسیلیک اسید به‌صورت محلول‌پاشی (غلظت ۰/۵ میلی‌مولار). ۷- قطع آبیاری در مرحله گلدهی + سالسیلیک اسید به‌صورت محلول‌پاشی (غلظت ۱ میلی‌مولار). ۸- مصرف کود زیستی تیوباسیلیوس به‌صورت اختلاط با بذر و قطع آبیاری در مرحله گلدهی. ۹- آبیاری کامل. نتایج نشان داد که افزایش عملکرد دانه در تیمارهای مصرف تیوفول، اسید سالسیلیک و گلیسین و تیوباسیلیوس را می‌توان به‌علت افزایش هورمون اکسین و نهایتا افزایش انتقال متابولیت‌ها از برگ‌ها به دانه دانست و علت دیگر افزایش عملکرد دانه و صفاتی مانند محتوای آب نسبی و کلروفیل در شرایط قطع آبیاری با استفاده از این مواد می‌توان، تاثیر آن‌ها بر مسدود شدن و یا کاهش اندازه روزنه و تولید آنزیم‌های آنتی اکسیدات مانند سوپر اکسید دیسموتاز دانست که باعث افزایش آسیمیلات‌های تولیدی شده و در نهایت عملکرد افزایش می‌یابد. عملکرد دانه از ۱۲۷۳/۸ کیلوگرم در هکتار در تیمار قطع آبیاری در مرحله گلدهی با افزایشی معادل ۷۴ درصد به ۴۸۷۵/۵ کیلوگرم در هکتار آبیاری کامل رسید که با تیمارهای هشت و شش تفاوت معنی‌داری نداشت و هر سه در تیمار آماری a جای گرفتند.

واژگان کلیدی: قطع آبیاری، کلزا، عملکرد، آنزیم ها و بیومارکر تخریب.

مقدمه

شناخت اثرات تنش‌های مختلف محیطی بر فیزیولوژیک گیاهان زراعی به‌منظور آگاهی از ساز و کارهای تحمل و بقای گیاهان و انتخاب روش‌های اصلاحی به‌منظور افزایش تحمل در برابر تنش ضرورت دارد. درک کامل و دقیق واکنش‌های فیزیولوژیک و عکس‌العمل گیاهان در مقابل تنش‌های محیطی به‌منظور گسترش روش‌های علمی جدید جهت کاهش اثرات تنش لازم و از راهکارهای اساسی می‌باشد (اویسی، ۱۳۸۹). در همین راستا دانه‌های روغنی به‌دلیل تولید روغن‌های با کیفیت بالا و درصد زیادی از اسیدهای چرب مرغوب از اهمیت شایانی در تغذیه انسان برخوردارند (آلیاری و همکاران، ۱۳۷۹). کلزا به با داشتن بیش از ۴۰ درصد روغن در دانه و در حدود ۴۰ درصد پروتئین در کنجاله از لحاظ زراعی می‌تواند در تناوب با غلات که زراعت عمده کشور می‌باشد، قرار گیرد و سهم ارزنده‌ای را در رفع کمبود روغن گیاهی مورد نیاز کشور ایفا کند (احمدی، ۱۳۷۸). بنابراین یکی از راهکارهای افزایش عملکرد کلزا استفاده از تنظیم کننده‌های رشد گیاهی مخصوصا در شرایط کمبود آب است.

اسید سالسیلیک به‌عنوان یک فنل طبیعی تنظیم کننده رشد بود و مراحل فیزیولوژیک گیاه را تنظیم می‌کند. بیشتر مطالعات انجام شده در مورد نقش اسید سالسیلیک در گیاهان، مربوط به اثر این ترکیب در بهبود دادن یا تخفیف دادن اثر ناشی از تنش‌ها می‌باشد. مثلا اسید سالسیلیک رشد، تقسیم و مرگ سلولی را تنظیم می‌کند. در واقع بین رشد و پیری تعادل ایجاد می‌نماید (Popova *et al*., 2005). تیمار گیاهان با اسید سالسیلیک تقسیم سلولی را در مریستم راس ریشه افزایش داد و رشد گیاه را بالا می‌برد (Shakirova *et al*., 2003). گزارش شد که کاربرد سالسیلیک اسید در گوجه فرنگی می‌تواند با برطرف کردن تنش خشکی وضعیت گیاه را بهبود بخشد (Senaratna *et al*., 2010). گلیسین ساده‌ترین اسید آمینه در تمام یاخته‌های زنده است. این آمینو اسید غیرقطبی و آب دوست هست و ساده‌ترین آمینو اسید در بین آمینو اسیدهاست. همچنین به‌عنوان یک پیش ساز در تشکیل گروه‌های پیرول و در سنتز کلروفیل نقش دارد (Sato *et al*., 2004). تیوفول محرک رشد (استیل- تیوپرولاین و فولیک اسید) بود و بسیار مناسب برای گیاه است که از منابع طبیعی استخراج شد. تیوفول عمدتا به‌صورت محلول‌پاشی استفاده می‌شود و در صورت نیاز می‌توان آن را در سیستم آب- کود نیز مصرف کرد. در بررسی اثر استعمال خارجی پرولین – گلایسین – بتائین – اسید سالیسیلیک و اسید اسکوروبیک بر کاهش اثرات تنش خشکی در گیاه سورگوم طی سه مرحله محلول‌پاشی برگی مشخص شد که پرولین و اسید سالیسیلیک بهترین تاثیر را در کاهش تنش داشتند (ریاحی و همکاران،۱۳۹۰). باکتری جنس تیوباسیلیوس از مهم‌ترین و رایج‌ترین انواع باکتری‌های اکسید کننده گوگرد در بیش‌تر خاک‌های زراعی هستند (Besharaty *et al*., 2002). این باکتری‌ها با اکسید کردن گوگرد ضمن تامین سولفات مورد نیاز گیاه، با کاهش اسیدیته خاک در اطراف ریشه‌ها باعث افزایش حلالیت عناصر ریز مغذی در خاک می‌شوند. باکتری‌های جنس تیوباسیلیوس به‌عنوان موادی کاملا طبیعی با توجه به ویژگی‌های منحصر به فردشان از قبیل جذب انتخابی و آزادسازی کنترل شده مواد غذائی از آنها، می‌توانند اثرگذاری عناصر موجود در خاک را بیشتر کرد و باعث مصرف بهینه آنها شوند و در نهایت از مصرف بی‌رویه کودهای شیمیائی و اتلاف و سرازیر شدن این مواد شیمیائی به منابع طبیعی و آلوذگی محیط زیست جلوگیری کنند و این می‌تواند اولین قدم در راستای کاهش مصرف نهاده‌های شیمیائی و در نهایت حرکت به سمت کشاورزی پایدار باشد.

پژوهش حاضر به منظور بررسی مواد ضد تنش خشکی بر خصوصیات زراعی و فیزیولوژیک کلزا رقم زرفام در شرایط تنش قطع آبیاری در منطقه ورامین صورت پذیرفت.

مواد و روش‌ها

به‌منظور بررسی اثرات قطع آبیاری بر عملکرد و صفات فیزیولوژیک کلزا رقم زرقام، تحقیقی در مزرعه پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد ورامین - پیشوا

با مختصات جغرافیایی ´۳۹ و ۵۱ طول شرقی و ´۱۹، °۳۵ عرض شمالی و ارتفاع از سطح دریا ۸۹۰ متر، در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با نه تیمار و چهار تکرار در سال زراعی ۹۴- ۱۳۹۳ اجرا شد. تیمارهای مورد بررسی عبارتند از: ۱- قطع آبیاری در مرحله گلدهی. ۲- قطع آبیاری در مرحله گلدهی+ گلاسین بتائین به‌صورت محلول‌پاشی (غلظت ۱/۵ لیتر در هزار). ۳- قطع آبیاری در مرحله گلدهی + گلاسین بتائین به‌صورت محلول‌پاشی (غلظت ۲/۵ لیتر در هزار). ۴- قطع آبیاری در مرحله گلدهی + تیوفول به‌صورت محلول‌پاشی (غلظت ۱/۵ لیتر در هزار) . ۵- قطع آبیاری در مرحله گلدهی + تیوفول به‌صورت محلول‌پاشی (غلظت ۲ لیتر در هزار). ۶- قطع آبیاری در مرحله گلدهی + سالسیلیک اسید به‌صورت محلول‌پاشی (غلظت ۰/۵میلی مولار). ۷- قطع آبیاری در مرحله گلدهی + سالسیلیک اسید به‌صورت محلول‌پاشی (غلظت ۱میلی‌مولار). ۸- مصرف کود زیستی تیوباسیلیوس به‌صورت اختلاط با بذر و قطع آبیاری در مرحله گلدهی. ۹- آبیاری معمول. قبل از کاشت عملیات شخم و دیسک جهت آماده شدن بستر بذر انجام گردید و کودهای پرمصرف براساس توصیه آزمون خاک مصرف شد (جدول یک). کاشت در تاریخ ۲۰ مهرماه ۱۳۹۳ انجام پذیرفت. مقدار ۱۰۰ گرم در هکتار باکتری سودوموناس گونه *putida* برای شش کیلوگرم بذر کلزا رقم زرفام در هنگام کاشت تلقیح گردید. هر کرت شامل هشت خط کاشت روی چهار پشته است. طول هر کرت پنج متر و فاصله بوته‌ها روی ردیف پنج سانتی‌متر و فاصله خطوط کاشت از یکدیگر روی هر پشته ۳۰ سانتی‌متر و فاصله بین ردیف‌ها ۶۰ سانتی‌متر بود. در طول دوره رشد مراقبت‌های زراعی لازم انجام شد. در شروع رشد سریع (مرحله ساقه‌دهی) محلول‌پاشی تیمارهای مورد بررسی صورت پذیرفت. ابتدا برای حذف اثر حاشیه‌های از هر واحد آزمایشی نیم متر از ابتدا و انتهای کرت و دو ردیف کناری برای کلیه تیمارها به‌طور مساوی حذف گردید. برای محاسبه عملکرد دانه در مرحله رسیدگی فیزیولوژیک، شش مترمربع از هر کرت برداشت گردید و عملکرد پس از رسیدن رطوبت دانه به ۱۴ درصد محاسبه گردید. برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز از عصاره پروتئینی استخراج شده از روش چنس و ماهلی (Chance and Maehly, 1995) استفاده شد. برای سنجش بیومارکر تخریب مالون دی آلدئید از روش کروماتوگرافی HPLC براساس روش استون (Steven, 1978) استفاده گردید. با استفاده از روش هسیائو (Hsiao, 2000) اندازه‌گیری کلروفیل کل و محتوای آب نسبی صورت پذیرفت. در پایان آزمایش نتایج هر کدام از تیمار-ها توسط برنامه نرم افزاری SAS مورد تجزیه و تحلیل قرارگرفت و مقایسه میانگین‌های هر صفت با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح یک و پنج درصد انجام شد.

جدول ۱- خصوصیات فیزیک و شیمیایی خاک مزرعه محل اجرای طرح

Table 1. Physical and chemical properties of the soil

نمونه خاک	روی	آهن	فسفر	پتاسیم	نیتروژن	شن	لای	رس	اسیدیته
Soil properties Type of test	Zink p.p.m Atomic	Iron p.p.m Atomic	Phosphorus p.p.m Spectrophot ometric	potassium p.p.m Film (Photometer)	Nitrogen % Kjeldahl	Sand % Hydro meter	Mud % Hydro meter	Clay % Hydro meter	Acidity
Results	0.9	1.1	7.6	221.2	0.5	35	31	34	7.5

نتایج و بحث

عملکرد دانه

عملکـرد بهینه مهم‌ترین هدف کشت کلـزا به‌شمار می‌رود همبستگی مثبت و معنی‌دار میان عملکرد دانه، تعداد خورجین در بوته، تعداد دانه درخورجین و وزن هزار دانه نشان می‌دهد که تغییرات عملکرد دانه هم جهت با تغییرات این صفات است، کاهش یا افزایش هر یک از این صفات بر اثر عوامل گوناگون، به شدت بر عملکرد دانه تاثیرگذار خواهد بود (Ozar and Oral, 2008). با توجه به نتایج جدول تجزیه واریانس مشخص گردید عملکرد دانه تحت تاثیر اثرات تیمارهای مختلف قرارگرفت و اختلافات به‌وجود آمده از نظر آماری در سطح یک درصد معنی‌دار بود (جدول دو). براساس نتایج جدول مقایسه میانگین اثرات تیمارها، بالاترین میزان عملکرد دانه با متوسط ۴۸۷۵/۵ کیلوگرم در هکتار از تیمار آبیاری کامل به‌دست آمد که با تیمارهای مصرف تیوباسیلیوس و محلول‌پاشی اسید سالسیلیک ۰/۵ میلی‌مولار اختلاف معنی‌داری نداشت که با تیمار قطع آبیاری در مرحله گلدهی با ۱۲۷۳/۴ کیلوگرم در هکتار که کم‌ترین میزان را به‌دست آورد، کاهشی معادل ۷۴ درصدی داشت (جدول سه). طبق پژوهش‌های سایر محققان تنش خشکی در هنگام تشکیل خورجین، گلدهی و نمو خورجین به ترتیب عملکرد دانه را به‌میزان ۱۵ درصد ۵۸ درصد و ۷۷ درصد کاهش می‌دهد (Ozar and Oral, 2008). زیرا با کمبود آب در زمان گلـدهی تعـداد زیادی از گـل‌هـا ریختـه و به‌علت پسابیدگی دانه‌های گرده از تعداد دانه‌ها کاسته می‌شود، سقط دانه و نارسایی خورجین‌ها، صورت می‌گیرد و به‌علت کمبود آسیمیلات‌ها، دانه‌ها نیز دچار کاهش وزن شد و در نهایت عملکرد دانه کاهش چشمگیری می‌یابد. بر طبق نظریه ولتی و همکاران (Voleti *et al*., 2005) گیاهان تیمار شده با مواد ضد تنش می‌توانند فتوسنتز خالص خود را افزایش دهند و عملکرد خود را بهبود بخشند. آن‌ها همچنین اعلام کردندکه محلول‌پاشی با اسیدهای آمینه، سبب افزایش بازده تبدیل کربن می‌شود. پرولیـن در مقـایـسـه با مولکولCo_2 کوچـک‌تر است که می‌تواند به‌راحتی توسط گیاهان سه کربنه برای افزایش عملکرد ماده خشک و به‌عنوان منبع کربن درون گیاه مورد استفاده قرار گیرد (Ramirez *et al*., 2006). گزارش‌هایی نیز وجود دارد که نشان می‌دهد افزایش رشد و عملکرد گیـاهـان در اثـر کاربرد محلول‌های ضد تنش بر روی قسمت‌های هوایی ناشی از اثر آن‌ها به‌عنوان یک بازدارنده تنفس نوری است. همچنین اسید سالسیلیک و تیوفول با تاخیر در پیری برگ‌ها سبب فعالیت فتوسنتزی بیش‌تر در برگ‌ها شد و این مساله سبب افزایش عملکرد می‌شود (Zbiec *et al*., 2003). در واقـع در ایـن بررسـی چنیـن می‌توان نتیجه گرفت که استفاده از مواد ضد تنش در شـرایـط بـروز تنـش خشکـی، سبب افـزایش فعـالیت باکتـری‌های متیلـوتروفیـک می‌شـود، ایـن باکتـری‌هـا تولید کننده‌ی هورمون‌هایی نظیر اکسین می‌باشند و انتقال مواد فتوسنتزی به‌صورت راس‌گرا در امتداد مسیر آوند آبکشی به‌وسیله‌ی اثر مستقیم اکسین بر فرایند انتقال افزایش می‌یابد (Lee *et al*., 2006). بهمین خاطر می‌توان افزایش عملکرد دانه در تیمارهای مصرف تیوفول، اسید سالسیلیک و گلیسین و تیوباسیلیوس را به‌علت افزایش هورمون اکسیـن و نهایتا افزایش انتقال متابولیت‌ها از برگ‌ها به دانه دانست و علت دیگر افزایش عملکرد دانه در شرایط تنش خشکی با استفاده از این مواد می‌توان، تاثیر آن‌ها بر مسدود شدن و یا کاهش اندازه روزنه دانست بدین ترتیب از میزان تعریق و تعرق کاسته می‌شود و میزان دی اکسید کربن و آب در گیاه افزایش یافت و این مساله باعث افزایش آسیمیلات‌های تولیدی شد و در نهایت عملکرد دانه افزایش می‌یابد.

کلروفیل کل

تنـش خشکـی موجب خشک‌شـدن برگ‌هـا و مانـع ساختـه‌شـدن کلـروفیـل می‌شـود و حتی بـاعث تخـریب کلروفیل موجود در برگ می‌شود که از عوامل آن قهوه‌ای شدن گیاه در طی دوره خشکی است. تنش خشکی با کاهش کلروفیل بر روی فتوسنتز تاثیرگذاشت و باعث کاهش فتوسنتز می‌شود (اویسی ۱۳۸۹). داده‌های جدول تجزیه واریانس مشخص نمود صفت کلروفیل کل تحت تاثیر اثرات تیمارهای مورد بررسی (در سطح یک درصد) قرارگرفت (جدول دو). نتـایج جدول مقایسه میانگین نشـان داد کـه بالاتـریـن میـزان کلـروفیل کل بـا ۲/۸۳۷ میلی‌گرم بر گرم وزن تازه از تیمار آبیاری کامل به‌دست آمد کـه بـا تیمـار محلـول‌پاشـی اسیـد سـالسیلیـک یک میلـی‌مولار (۲/۶۳۱)، بـذرمال تیـوبـاسیلیوس (۲/۵۴۹) و محلـول‌پـاشـی اسیـد سـالسیک ۰/۵ میلی‌مولار (۲/۴۸۳)

اختلاف معنی‌داری نداشت و کم‌ترین میزان کلروفیل کل از تیمار قطع آبیاری در مرحله گلدهی با ۱/۶۹۲ میلی‌گرم بر گرم وزن تازه حاصل شد که اختلاف ۴۰ درصدی بین گروه اول و آخر از نظر آماری مشهود است.

به اعتقاد کانچوا و همکاران (Kancheva *et al*., 2007) محتوای کلروفیل مقیاسی برای کارآیی فتوسنتز است و می‌تواند به‌عنوان شاخصی برای ارزیابی سلامت گیاه و شناخت عکس‌العمل گیاه به تنش خشکی مورد استفاده قرار گیرد. تمام عوامل تنش زای گیاهی به‌طور مستقیم و یا غیرمستقیم دستگاه فتوسنتزی و محتوی کلروفیل را تحت تاثیر قرارمی‌دهند. تنش خشکی باعث تسریع در پیری برگ شده، میزان کلروفیل را کاهش داد. به‌نظر می‌رسد که دلیل کاهش میزان کلروفیل در شرایط تنش آبی، افزایش تخریب این رنگریزه‌ها و یا کاهش ساخت آن‌ها و نیز، اختلال در فعالیت آنزیم‌های مسوول سنتز رنگدانه‌های فتوسنتزی باشد (Voleti *et al*., 2005). وزان (Vazan *et al*., 2002) بیان کرد یکی از عوامل تاثیرگذار تنش خشکی بر فتوسنتز، کاهش میزان کارآیی فتوسنتز از طریق افزایش فلورسانس کلروفیل است. از آن‌جایی‌که در زمان تنش دسترسی به آب و بالطبع آن مواد معدنی از جمله آهن و نیتروژن کاهش می‌یابد. میزان ساخت کلروفیل کم شد و در نهایت منجر به نکروزه و از بین رفتن برگ می‌شود. این نتایج با نتایج آزمایشی که نصری (۱۳۸۳) مطابقت دارد. در زمان بروز قطع آبیاری، کلروفیل تجزیه می‌شود. همچنین گلوتامات که پیش ماده کلروفیل و پرولین است در اثر تنش خشکی به پرولین تبدیل شده و در نتیجه از محتوی کلروفیل می‌کاهد. با توجه به این که میزان کلروفیل در برگ به‌طور مستقیم با فراهمی نیتروژن در ارتباط است و همچنین با استفاده تیوباسیلیوس علاوه بر تامین گوگرد باعث افزایش جذی نیتروژن در شرایط خشکی می‌شود، از کاهش کلروفیل تا حد زیادی جلوگیری کرد. نتایج به دست آمده با نتایج نظرعلی و زردشتی (Nazar ali and Zardashti, 2010) مطابقت دارد. کاربرد مواد ضد تنش تأثیر قابل ملاحظه‌ای در رشد، شادابی و سبزی رنگ برگ‌ها داشت، این مواد با قراردادن آب و مواد غذایی بیش‌تر و مناسب‌تر دراختیار گیاه توانسته، میزان ساخت رنگیزه‌ها را افزایش داده و انتقال مواد فتوسنتزی را در گیاه راحت‌تر نمایند به‌همین دلیل در این تحقیق، اختلاف معنی‌داری بین تیمار آبیاری کامل با تیمارهای استفاده از تیوباسیلیوس و اسید سالسیلیک مشاهده نشد.

محتوی نسبی آب برگ

نتایج جدول تجزیه واریانس نشان داد که صفت محتوی نسبی آب برگ تحت تاثیر تیمار قطع آبیاری و کاربرد مواد ضد تنش قرارگرفت و اختلافات به‌وجود آمده از نظر آماری در سطح یک درصد معنی‌دار شد (جدول دو). نتایج جدول مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که بالاترین میزان محتوی نسبی آب برگ از تیمار آبیاری کامل (۸۵/۹٪) به‌دست آمد که با تیمارهای بذرمال تیوباسیلیوس در شرایط قطع آبیاری در زمان گلدهی (۸۳/۸٪)، و محلول‌پاشی اسید سالسیلیک ۰/۵ میلی‌مولار (۷۹/۱٪) اختلاف معنی‌داری نداشت و تیمار قطع آبیاری در زمان گلدهی با ۵۶/۸ درصد کم‌ترین میزان محتوای نسبی آب برگ را به‌دست آورد (جدول سه). نتایج مشخص نمود که کاربرد تیوباسیلیوس و سالسیلیک اسید موجب افزایش تبادل مواد فتوسنتزی و افزایش جذب عناصر درگیر در لایه‌های خاک و میزان جذب آب و افزایش فشار اسمزی در گیاه شده و تیمارهایی که از این مواد ضد تنش استفاده نمودند توانستند محتوی نسبی آب برگ خود را در سطح مطلوبی حفظ نمایند ولی در تیمار قطع آبیاری در مرحله گلدهی، سرعت تجزیه دیواره سلولی افزایش یافته فشار آماس کاسته شد و در نهایت محتوی نسبی آب برگ به شدت کاهش داشت. که این مساله نشان دهنده حساسیت دیواره سلولی و پایین بودن پایداری غشای سیتوپلاسمی سلول در این تیمار می‌باشد با پایین بودن ظرفیت تبادل کاتیونی میزان فشار آماس نشان داد و از محتوی نسبی آب برگ کاسته گردید و گیاه در مقابل تنش، تحمل کم‌تری داشت و در نهایت عملکرد دانه کاهش داشت (نصری، ۱۳۸۳ و اویسی، ۱۳۸۹). از آن جایی که آماس غشای سلول‌های محافظ روزنه‌ها، بستگی به مقدار آب دارد و این عکس‌العمل در مقدار گاز کربنیک جذب شده از طریق برگ، موثر بوده و فتوسنتز را به‌طور مستقیم کنترل می‌نماید. در نتیجه نقش بسیار مهمی در تولید دارد. از این طریق بر تمامی واکنش‌های گیاه تاثیرگذار می‌باشد که در این پژوهش کاملا مشهود است. علت افزایش محتوی نسبی آب برگ در تیمارهایی که از مواد

ضد تنش استفاده نمودند را می‌توان بدلیل بالا به خاطر تجمع قندهای محلول و کاهش پتانسیل اسمزی عنوان نمود. به‌طورکلی تنظیم تورژسانس و حفظ محتوای آب نسبی بالا، نقش مهمی را در نگهداری فتوسنتز در طول تنش خشکی ایفا می‌کند (نصری و خلعتبری، ۱۳۹۵).

آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز

از جمله آنزیم‌های مهم که در مقابله تنش‌های محیطی نقش مهمی را ایفا می‌نماید سوپر اکسید دیسموتاز است. با کاهش آب قابل دسترس برای گیاه و ایجاد محیط تنش، نقش مهم این آنزیم جهت مقابله با رادیکال‌های آزاد اکسیژن ایجاد شده مشخص می‌شود. بنابراین از آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز به عنوان یکی از اجزای مهم سازوکار دفاعی گیاه نام برده می‌شود (Foyer and Noctor, 2003). بر اساس نتایج جدول تجزیه واریانس مشخص گردید که اثرات تیمارهای مورد بررسی بر آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز تاثیر معنی‌داری در سطح یک درصد داشت (جدول دو). نتایج جدول مقایسه میانگین (جدول سه) نشان داد که بیش‌ترین میزان آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز از تیمار قطع آبیاری در مرحله گلدهی ۱۵/۲۱ نانو مول بر میلی‌گرم پروتئین و کم‌ترین میزان آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز از تیمار آبیاری کامل با ۷/۴۸ نانومول بر میلی‌گرم پروتئین حاصل شد که اختلاف معنی‌داری با تیمار بذرمال تیوباسیلیوس در شرایط قطع آبیاری در مرحله گلدهی نداشت.

تنش اکسیداتیو می‌تواند منجر به ممانعت فتوسنتز و فرآیند تنفس و رشد گیاه شود. گیاهان سیستم آنزیمی و غیرآنزیمی را در مقابله با انواع اکسیژن فعال ساخته‌اند (Foyer and Noctor, 2003). سازوکارهایی که بتوانند کاهنده تنش اکسیداتیو در گیاه باشند می‌توانند نقش ثانویه مهمی را در تحمل به خشکی بازی کنند (Bowler *et al*., 1992). سوپر اکسید دیسموتاز برای زنده بودن و فعالیت ریزسازواره‌ها، عامل حیاتی به‌حساب میآید. این آنزیم، رادیکال‌های سمی را که دائماً به‌عنوان محصولات هوازی شکل می‌گیرد، جمع‌آوری می‌کند. فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز در گیاه با تنش خشکی افزایش می‌یابد. نتایج حاصل از این بررسی نشان دهنده افزایش میزان سوپر اکسید دیسموتاز در شرایط تنش می‌باشد با قطع آبیاری در مرحله گلدهی میزان این آنزیم افزایش داشت ولی در تیمارهایی که قطع آبیاری در مرحله گلدهی همراه با مصرف مواد ضد تنش وجود داشت، میزان این آنزیم به‌طرز چشمگیری کاهش یافت، همچنین در شرایط قطع آبیاری میزان فعالیت این آنزیم نسبت به شرایط معمول بیش‌تر بود. همچنین همبستگی منفی بین آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز و عملکرد وجود دارد به‌طوری‌که افزایش عملکرد سبب کاهش فعالیت این آنزیم می‌شود علت این است که در تنش خشکی مسلما عملکرد کاهش می‌یابد و این زمانی است که میزان فعالیت این آنزیم جهت مبارزه با تنش افزایش یافت در حالی‌که در شرایط معمول که میزان عملکرد افزایش می‌یابد، میزان فعالیت این آنزیم کاهش نشان داد (نصری و خلعتبری، ۱۳۹۵). مطالعات بر روی مواد ضد تنش حاکی از این است که مصرف این مواد با کاهش قطع آبیاری، فعالیت این آنزیم را کاهش داد علت این است که گیاه در در زمان بروز کم آبی سعی دارد با افزایش فعالیت این آنزیم میزان رادیکال‌های آزاد تولیدی و تخریب ناشی از آن‌ها را کاهش دهد و از آن‌جا که این مواد باعث کاهش تنش می‌شوند پس میزان فعالیت آنزیم-ها نیز کاهش می‌یابد.

مالون دی آلدئید

هنگامی‌که تنش اکسیداتیو رخ می‌دهد پراکسیداسیون اسیدهای چرب غیراشباع لیپیدها افزایش می‌یابد و در اثر حمله رادیکال‌های آزاد به لیپیدها، آلدئیدهای گوناگونی از جمله مالون دی آلدئید ایجاد می‌شود. مالون دی آلدئید یکی از مهم‌ترین بیومارکرهای استفاده شده جهت دستیابی به یک شاخص کلی سطح پراکسیداسیون لیپیدی و یکی از محصولات فرعی آن است. تنش خشکی می‌تواند منجر به تجمع رادیکال‌های آزاد اکسیژن در سلول‌ها گردد و این رادیکال‌ها می‌توانند به‌طور مستقیم به غشای چربی‌ها، پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک صدمه زند و با غیرفعال نمودن فعالیت آنزیم‌های متابولیکی منجر به مرگ سلولی شوند (Ben Amor *et al*., 2007). نتایج جدول تجزیه واریانس نشان داد که مالون دی آلدئید تحت تاثیر تیمارهای مورد بررسی قرارگرفت و اختلافات به‌وجود آمده از لحاظ آماری معنی‌دار شد (جدول دو). نتایج مقایسه میانگین نشان داد (جدول سه) که بیش‌ترین میزان مالون دی آلدئید از

تیمار قطع آبیاری در مرحله گلدهی با ۲۷/۳۲ نانومول بر میلی‌گرم پروتئین به‌دست آمد که با کاربرد مواد ضد تنش و افزایش دیواره سلولی و پایداری غشای سیتوپلاسمی از میزان بیومارکر تخریب کاست و از لحاظ آماری با تیمار آبیاری معمول (۱۳/۲۵ نانومول بر میلی‌گرم پروتئین) اختلاف معنی‌داری نداشت. زمانی‌که دفاع آنتی‌اکسیدانتی کاهش می‌یابد یا تشکیل رادیکال‌های آزاد افزایش می‌یابد، در این گونه موارد حالتی موسوم به تنش اکسیداتیو پدید می‌آید. تنش اکسیداتیو منجر به آسیب بافتی می‌شود. هنگامی که تنش اکسیداتیو رخ می‌دهد پراکسیداسیون اسیدهای چرب غیراشباع لیپیدها افزایش می‌یابد و در اثر حمله رادیکال‌های آزاد به لیپیدها، آلدئیدهای گوناگونی از جمله مالون دی آلدئید ایجاد می‌شود.

جدول ۲- تجزیه واریانس صفات مورد بررسی در کلزا با اعمال تیمارها در شرایط قطع آبیاری

Table 2. Analysis of variance of studied traits by application under cut irrigation conditions in rapeseed

			میانگین مربعات M. S				
S.O.V	منابع تغییرات	درجه آزادی df	مالون دی آلدئید MDA	سوپر اکسید دیسموتاز SOD	محتوی نسبی آب برگ R.W.C	کلروفیل کل Total chlorophyll	عملکرد دانه Seed Yield
Blok	تکرار	3	0.33 ^{ns}	0.09 ^{ns}	15.05 ^{ns}	3.05^{ns}	1073041.6^{ns}
Treatment	تیمار	8	8.987 **	21.45**	112.34 **	32.7**	11854061.7**
Error	خطا	24	0.11	0.022	6.54	1.22	580462.3
C.v (%)	ضریب تغییرات		6.54	4.37	14.21	5.92	16.7

*، ** و ns به‌ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد، یک درصد و غیرمعنی‌دار

*,** significant at 0.05 and 0.01 probability levels, respectively. ns; non-significant.

نتیجه‌گیری نهایی

نتایج نشان داد که قطع آبیاری خصوصا در مرحله گلدهی باعث کاهش علمکرد واجزای عملکرد خصوصا تعداد دانه درخورجین می‌شود. بر اساس نتایج این تحقیق به‌نظر می‌رسد می‌توان با استفاده از موادی شامل اسید سالسیلیک، تیوفول، بتائین گلاسین و خصوصا باکتری تیوباسیلیوس از اثرات تنش کاست. استفاده از باکتری زیستی تیوباسیلیوس در هنگام کاشت با توجه به نقشی که در آزاد کردن گوگرد و نیتروژن در خاک گذاشت توانست از اثرات منفی قطع آبیاری در مرحله گلدهی بکاهد و از نظر تولید بذر با آبیاری معمول اختلاف معنی‌داری نداشت و در یک کلاس آماری جای گرفتند.

جدول ۳ : مقایسه میانگین صفات مورد بررسی در کلزا با اعمال تیمارها در شرایط قطع آبیاری

Table 3: Comparison of the mean **of studied traits by application under cut irrigation conditions in rapeseed**

	تیمارها	مالون دی آلدئید	سوپر اکسید دیسموتاز	محتوی نسبی آب برگ	کلروفیل کل	عملکرد دانه
Treatments		MDA (u mg protein^{-1})	SOD (u mg protein^{-1})	R.W.C (٪)	Total chlorophyll (mg.gFw)	Seed Yield (kg.ha^{-1})
cut irrigation in flowering stage (A_1)	قطع آبیاری در مرحله گلدهی	27.32 ^{a}	15.21 ^{a}	56.8 ^{d}	1.692 ^{c}	1273.84^{e}
1.5 lit in 1000 Foliar glaysin+A_1 (A_2)	A_1* گلاسین بتائین (۱/۵ لیتر در هزار)	16.19 ^{bc}	12.32 ^{b}	67.2 ^{bc}	2.286 ^{b}	3243.2 ^{d}
2.5 lit in 1000 Foliar glaysin+A_1 (A_3)	A_1* گلاسین بتائین (۲/۵ لیتر در هزار)	14.36 ^{bcd}	9.21 ^{c}	69.6 ^{bc}	2.391 ^{b}	4268.6 ^{bc}
1.5 litre in thousand tionol *A_1(A_4)	A_1* تیوفول(۱/۵ لیتر در هزار)	18.24 ^{b}	11.28 ^{bc}	65.4 ^{c}	2.067 ^{b}	3744.8 ^{c}
2 in thousand tionol *A_1 (A_5)	A_1* تیوفول(۲ لیتر در هزار)	17.38 ^{b}	9.65 ^{c}	68.9 ^{bc}	2.189 ^{b}	3896.2 ^{c}
Salicylic acid 0.5 milli molar *A_1 (A_6)	A_1* سالسیلیک اسید (۰/۵میلی‌مولار).	14.97 ^{cd}	8.97 ^{d}	79.1 ^{a}	2.483 ^{ab}	4719.8 ^{a}
Salicylic acid 1 milli molar *A_1 (A_7)	A_1* سالسیلیک اسید (۱میلی‌مولار).	16.32 ^{bcd}	9.38 ^{c}	73.6 ^{b}	2.631 ^{a}	4158.6 ^{bc}
Tiobaselions *A_1 (A_8)	A_1 *تیوباسیلیوس	15.68 ^{cd}	8.11 ^{d}	83.8 ^{a}	2.549 ^{a}	4659.2 ^{a}
Normal irrigation(A_9)	آبیاری معمول	13.25 ^{d}	7.41 ^{d}	85.9 ^{a}	2.837 ^{a}	4875.5 ^{a}

میانگین‌هایی که حداقل در یک حرف مشترک‌اند، اختلاف آماری معنی داری در آزمون چند دامنه ای دانکن در سطح احتمال پنج درصد ندارند.

Means followed by different lower-case letters are significantly different at (P< 0.05) by the Duncan's Multiple Range Test

منابع **References**

اویسی، م. ۱۳۸۹. بررسی اثر میزان و زمان حذف برگ بر صفات مرفوفیزیولوژیک، توزیع و تسهیم ماده خشک ذرت دانه‌ای رقم KSC704 در شرایط کم‌آبی. رساله دکتری زراعت. دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران. ۱۲۰ صفحه.

آلیاری، ه. و شکاری، ف. ۱۳۷۹. دانه‌های روغنی (زراعت و فیزیولوژی). انتشارات عمیدی. ۱۸۲ صفحه.

احمدی، م.ر. ۱۳۷۸. کیفیت و کاربرد دانه‌های روغنی. نشر آموزش کشاورزی. صفحه۱۱۳.

ریاحی، ن.، ج. فرحبخش و ا. پسندی پور. ۱۳۹۰. اثر استعمال خارجی پرولین، گلایسین، بتائین سالیسیلیک اسید و اسکوربیک اسید بر کاهش اثرات تنش خشکی در گیاه سورگوم. سایت http://civilica.com .

نصری، م. ۱۳۸۳. بررسی تاثیر متقابل عناصرغذایی و تنش خشکی بر جنبه‌های فیزیولوژیک لاین‌ها و ارقام کلزا. رساله دکتری رشته زراعت. دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات. تهران. ۲۰۰ صفحه.

نصری، م. و خلعتبری، م. ۱۳۹۵. اثر باکتری تیوباسیلوس و گوگرد بر عملکرد و ویژگی‌های بیوشیمیایی ذرت دانه‌ای (هیبرید ماکسیما) در شرایط کم‌آبیاری در منطقه ورامین. مجله علمی پژوهشی فیزیولوژی گیاهان زراعی. ۸(۲۹): ۱۰۳-۸۹.

Besharaty, H., Khavazi, K., and Saleh-Rastin, N. 2002. Evaluation of some carriers for *Thiobacillus* inoculants used along with sulphur to increase uptake of some nutrients by corn and improve its performance .Biomedical and life Sciences, Plant Nutrition . Developments in Plant and Soil Sciences, (92) 9: 672-673.

Ben Amor, N., Jimenez, A., Megdiche, W., Lundqvist, M., Sevilla, F., Abdelly, C. 2007. Kinetics of the anti-oxidant response to salinity in the halophyte *Cakile maritime*. J. Integr. Plant Biol., 49, 982-992.

Bowler, C., Van Motago, M., and Inze, D. 1992. Super oxide dismotase and stress tolerence, Ann. Rev. Plant Physiology. 43: 83-116.

Chance, B,. and Maehly, A.C. 1995. Assay of catalase and peroxidase. In: Colowick, S. P. and Kaplan, N. D. (ends) Methods in Enzymology. Academic Press. New York, 2: 764-791.

Foyer, C.H., Noctor, G. 2003. Redox sensing and signaling associated with reactive oxygen in chloroplasts, peroxisomes and mitochondria. Physiol. Plant., 119, 355-364.

Hsiao, T.C. 2000. Plant response to water stress. Ann. Rev. P .Physiol. 24: 519-570.

Kancheva, R.H., Bprisova, D.S., and Lliev, I.T. 2007. Chlorophyll fluorescence as plant stress indicator. Bulgaria Academic of Sciences. 301-306.

Lee, H.S., Madhaiyan, M., Kim, C.W., Choi, S.J., Chungand, K.Y., Sa, T.M. 2006. Physiological enhancement f early growth of rice seedlings (*Oryza sativaL.*) by production of phytohormone of N_2-fixing methylotrophic isolates.Bio.Ferti. Soils. 42:402-408.

Nazar ali, H., Zardashti, M.R. 2010. The effect of drought stress and super absorbent polymer (a200) on agronomical traits of sunflower (*Helianthus annuus* L.) Under field condition. Cercetări Agronomice în Moldova. 3 (143) :112-121.

Popova, L., Pacheva, T. and Uzunova, A. 2005. Salisilic acid: Properties, Biosyn thesis and physiological role. Plant physiology. 23:85-93.

Ozar, H., Oral, E. 2008. Relationships between yield and yield components on currently improve spring rape seed cultivars .Tr. J. of Agriculture and forestry. 23: 603-607.

Ramirez, I., Dorta, F., Espinoza, V., Jimenez, E., Mercado, A., and Pen a Cortes, H. 2006. Effects of foliar and root applications of methanol on the growth of Arabidopsis, tobacco and tomato plants. J. Plant Growth Regul.25: 30-44.

Sato, F., Yoshioka, H., Fujiwara, T., Higashio, H., Uragami, A., Tokuda, S. 2004. Physiological responses of cabbage plug seedlings to water stress during low-temperature storage in darkness. Science Horticulturae. 101:349-357.

Senaratna, T., Touchell, D., Bunn, E., and Dixon, K. 2010. Acetyl salicylic acid (Aspirin) and salicylic acid induce multiple stress tolerance in bean and tomato plants. Plant Growth Regul, 161-157, 30.

Shakirova, M.F., Sakhabutdinova, A.R., Bezrukova, M.V., Fatkhutdinova, R.A., and Fatkhutdinova, D.R. 2003. Changes in the hormonal status of wheat seedlings induced by salicylic acid and salinity. Plant Science 164(3): 317-322.

Steven, A K,. and Joseph, M.H. 1978. Lipid peroxidase in sample as measured by liquid chromatography separation. Interference testing in clinical chemistry. 32: 217-220.

Vazan, S., Ranji, Z., Tehrani, M., Ghalavand, A., Saaneyi, M. 2002. Drought stress effects on ABA accumulation and stomatal conductivity of sugar beet. Iranian journal of agricultural sciences. No3.176-180(in Farsi).

Voleti, S.R., Singh, V.P., and Uprety, P.C. 2005. Chlorophyll and praline as affected by moisture stress in young and mature leaf tissues of *Brassica carinata* hybrids and their plants. J. Agron and Crop Sci. 180(2): 123-126.

Zbiec, L., Karczmarczyk, S., and Podsiadlo, C. 2003. Response of some cultivated plants to methanol as compared to supplemental irrigation. Elec. J. Polish Agri.Univer., Agronomy.6(1):1-7