



## اثر محلول پاشی و مصرف خاکی نانوذرات کیتوزان بر برخی صفات فیزیولوژیک گیاه جو (*Hordeum vulgare* L.) تحت تنش خشکی

فریده بهبودی<sup>۱</sup>، زین العابدین طهماسبی سروستانی<sup>۲\*</sup>، محمد زمان کسایی<sup>۳</sup>، سیدعلی محمد مدرس ثانوی<sup>۴</sup> و علی سروش زاده<sup>۲</sup>

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۱۱/۱۴

تاریخ بازنگری: ۱۳۹۶/۹/۴

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۴/۲۵

### چکیده

کیتوزان یک پلی ساکارید گلوزامین مشتق شده از کیتین است که به عنوان الیسیتور زیستی برای بهبود بخشیدن بیوسنتز متابولیست‌های ثانویه و به عنوان کود در کنترل آزادسازی ترکیبات شیمیایی سموم و تحریک جوانه زنی و رشد گیاه استفاده می‌شود. بنابراین، اثر نانوذرات کیتوزان بر گیاه جو تحت تنش خشکی آخر فصل، پژوهشی به صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار در شرایط گلدانی مورد بررسی قرار گرفت. فاکتورهای آزمایش شامل غلظت نانوذرات در ۴ سطح (۰، ۳۰، ۶۰ و ۹۰ پی‌پی‌ام)، روش مصرف در ۲ سطح (محلول پاشی و خاک مصرف) و رژیم آبیاری در ۲ سطح (آبیاری کافی و قطع آبیاری ۱۵ روز بعد از گرده افشانی) بودند. برای انجام آزمایش پس از کاشت بذور جو، محلول نانوذرات کیتوزان آماده شده در سه مرحله رشدی گیاه (پنجه‌دهی، ساقه‌دهی و سنبله‌دهی) به صورت خاک مصرف و محلول پاشی مصرف گردیدند. نتایج نشان داد که تنش خشکی به طور معنی‌داری میزان کاروتنوئید، کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل، فتوسنتز، هدایت روزنه‌ای، تعرق، عملکرد دانه و بیوماس را کاهش و میزان کربوهیدرات محلول، گلوکز، ساکارز، فروکتوز، غلظت CO<sub>2</sub> زیر روزنه (C<sub>i</sub>) و کارایی مصرف آب فتوسنتزی (WUE) را افزایش داد. همچنین، مصرف نانوذرات کیتوزان در هر دو رژیم آبیاری، موجب افزایش معنی‌دار کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل و گلوکز شد. مصرف ۶۰ و ۹۰ پی‌پی‌ام نانوذرات کیتوزان موجب افزایش معنی‌دار عملکرد دانه نسبت به شاهد شد. در بیشتر صفات مورد مطالعه، تفاوت معنی‌دار بین دو روش مصرف نانوذرات مشاهده نشد. در مجموع، کاربرد نانوذرات کیتوزان موجب کاهش اثرات مضر تنش خشکی و بهبود رشد و عملکرد گیاه جو گردید.

**واژگان کلیدی:** عملکرد دانه، کربوهیدرات، کلروفیل، فتوسنتز.

۱- دانشجوی دکتری دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران.

۲- دانشیار دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران.

۳- استاد دانشکده علوم پایه، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران.

۴- استاد دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران.

## مقدمه

ایران با میانگین نزولات آسمانی ۲۴۰ میلی‌متر در سال بر طبق تعریف آمبرژه جزو مناطق خشک و نیمه خشک به حساب می‌آید و بر طبق الگوی فصلی بارندگی مدیترانه‌ای که شامل بسیاری از مناطق ایران (به‌ویژه مناطق جنوبی) نیز می‌شود، بیشترین بارندگی در زمستان اتفاق می‌افتد و محصولات زراعی پاییزه (از قبیل گندم و جو) معمولاً از زمان گلدهی تا مرحله رسیدگی فیزیولوژیک با خشکی مواجه می‌شوند ( Yazdchi, 2008). تنش خشکی از مهم‌ترین عوامل محدود کننده رشد و تولید محصولات کشاورزی در مناطق خشک و نیمه خشک جهان است و انتظار می‌رود تغییرات اقلیمی، اثرات شدیدی روی شدت و فراوانی خشکی‌ها در آینده داشته باشند ( Kar et al., 2007). پاسخ گیاهان به خشکی متفاوت و تا حد زیادی بسته به گونه و شدت تنش می‌باشد. گیاهان با استفاده از راهکارهای فیزیولوژیک و بیوشیمیایی به همراه ویژگی‌های آناتومیک می‌توانند از اثرات منفی تنش خشکی بکاهند ( Hefny, 2011). برای مثال، کاهش دسترسی به رطوبت خاک منجر به تخصیص سهم بیشتری از مواد فتوسنتزی به ریشه و افزایش نسبت ریشه به ساقه می‌شود (Ma et al., 2006). همچنین، گیاهان با تنظیم اسمزی و افزایش ترکیبات آنتی‌اکسیدانی با خشکی مقابله می‌نمایند ( Martin et al., 1993). قندهای محلول از مهم‌ترین ترکیبات دخیل در تنظیم اسمزی محسوب می‌شوند (Sanchez et al., 2003). محدودیت آبیاری اراضی جو آبی به خصوص در آخر فصل (به دلیل رقابت زراعت‌های بهاره با آبیاری جو در مرحله بحرانی دانه بندی گیاه) موجب نقصان عملکرد ارقام جو در شرایط تنش انتهایی گردید

(Krcsek et al., 2008). کبیری و نقی‌زاده ( Kabiri and Naghizadeh, 2015) اظهار داشتند تنش خشکی باعث کاهش معنی‌دار محتوی نسبی آب، تعداد سنبله بارور در متر مربع، تعداد دانه در سنبله، وزن هزار دانه، عملکرد دانه و بیوماس و نیز افزایش نشت یونی، مقدار پرولین، فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و گایاکول‌پراکسیداز برگ پرچم گردید. امروزه، استفاده از محرک‌های زیستی از جمله کیتوزان، یکی از راهکارهای کاهش اثرات تنش‌های زیستی و غیرزیستی و افزایش عملکرد و کیفیت محصول می‌باشد (Gornik et al., 2008). کیتوزان نوعی گلوکان است که همانند کیتین، مونومرهای آن گلوکوزامین می‌باشد و پس از سلولز فراوان‌ترین پلی ساکارید موجود در طبیعت است (Dutta et al., 2004). کیتوزان می‌تواند با افزایش رنگیزه‌های فتوسنتزی و حفظ آنها تحت شرایط تنش شوری و فعال نمودن فعالیت تعدادی از آنزیم‌ها نظیر سوپر اکسیداز دیسموتاز و کاتالاز، مقاومت گیاه را در شرایط تنش افزایش دهد (Mahdavi and Rahimi, 2013). همچنین، کیتوزان می‌تواند فتوسنتز، رشد گیاه، تحریک جذب مواد غذایی، جوانه‌زنی و سبز شدن گیاهانی از قبیل پنبه، ذرت، بذر سیب‌زمینی، سویا، چغندر قند، گوجه‌فرنگی و گندم را از طریق تاثیر بر رشد ریشه، افزایش سطح برگ، افزایش فعالیت آنزیم‌های مؤثر در جوانه‌زنی افزایش دهد (Smiley et al., 2002; Deepmala et al., 2014). در گیاهان تحت تنش خشکی محلول پاشی کیتوزان توانست خسارت ناشی از تنش خشکی را با افزایش تنظیم‌کننده های اسمزی مانند پرولین و کاهش پراکسیداسیون لیپیدی غشا جبران نماید و تراوایی غشای سلول را کاهش دهد. در واقع کیتوزان با نقش حفاظتی خود می‌تواند باعث

استفاده شد (هر تکرار شامل ۳۲ گلدان). برای تهیه‌ی محلول نانوذرات کیتوزان، مقادیر مشخص این نانوذرات در اسید استیک یک درصد (حجمی-حجمی) حل و سپس با آب مقطر رقیق و در روی هیتر به مدت ۲ ساعت در دمای ۹۰ درجه سلسیوس با ۱۴۰۰ دور قرار داده شدند و اسیدیته محلول با سدیم هیدروکسید ۱٪ به اسیدیته ۶/۵ تنظیم گردید (Li et al., 2008). بذرهای مورد نظر توسط قارچ کش مانکوزب به نسبت ۳ در هزار ضدعفونی شدند. کلیه گلدان‌ها با مخلوطی از خاک مزرعه و کود به مقدار مورد نیاز با توجه به نتایج تجزیه‌ی خاک و توصیه کودی موسسه‌ی تحقیقات خاک و آب با وزن یکسان پر شدند. کود نیتروژن از منبع اوره به مقدار ۱/۳ گرم در هر گلدان در دو مرحله (همزمان با کاشت و ساقه‌دهی) در آب آبیاری حل و مصرف شد. خاک مصرفی از نظر سایر عناصر ماکرو و میکرو نیازی کودی برای گیاه نداشت. بذور ضدعفونی شده داخل گلدان‌های مورد نظر به تعداد ۱۰ عدد در هر گلدان کشت گردیدند که پس از استقرار گیاهچه‌ها به ۴ گیاهچه در هر گلدان تنک شدند. پس از کشت بذور، محلول نانوذرات آماده شده در غلظت‌های مورد نظر در سه مرحله رشدی (پنجه‌دهی، ساقه‌دهی و سنبله‌دهی) به صورت خاک مصرف و محلول‌پاشی (پیش از اعمال تنش خشکی) مصرف گردیدند. مصرف خاکی نانوذرات به صورت مصرف در آب آبیاری بود. محلول‌پاشی در هنگام غروب آفتاب انجام شد. محلول‌پاشی به نحوی صورت گرفت که تمام سطح برگ با محلول مورد نظر کاملاً خیس شد. گیاهان شاهد با آب مقطر محلول‌پاشی شدند. زمان اعمال تنش خشکی ۱۵ روز بعد از گرده‌افشانی گیاهان بود و تا قبل از آن تمامی گیاهان به صورت مطلوب آبیاری

پایداری بیشتر غشاها گردد (Emami Bistgani et al., 2017).

هدف این پژوهش با توجه به کمبود منابع تحقیقاتی در خصوص اثر نانوذرات کیتوزان بر گیاهان تحت تنش خشکی، تعیین اثرات این نانوذرات بر گیاه جو تحت تنش خشکی آخر فصل بود.

### مواد و روش‌ها

این بررسی در سال ۱۳۹۴ به صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه فاکتور غلظت نانوذرات (۰، ۳۰، ۶۰ و ۹۰ پی‌پی‌ام)، روش مصرف (محلول‌پاشی و خاک مصرف) و رژیم آبیاری (آبیاری کافی و قطع آبیاری ۱۵ روز بعد از گرده افشانی) در ۳ تکرار در دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس انجام شد. بذر جو رقم ریحانه از مؤسسه تهیه و اصلاح نهال و بذر کرج تهیه گردید. کیتوزان ساخت شرکت مرک آلمان بود که در دانشگاه تربیت مدرس نانوذره شد. نانوذرات کیتوزان طوسی رنگ با خلوص ۹۸/۵ درصد، متوسط اندازه ذرات کمتر از ۷۰ نانومتر و سطح ویژه بیشتر از ۸۰ متر مربع بر گرم بودند. تصویر میکروسکوپ الکترونی روبشی گسیل میدانی این نانوذرات توسط شرکت دی پترونیک گرفته شده که در شکل ۱ نشان داده شده است. خاک مورد استفاده دارای بافت لومی شنی، اسیدیته ۷/۳، هدایت الکتریکی ۰/۶۳ دسی‌زیمنس بر متر، میزان نیتروژن کل ۰/۱۱٪، فسفر و پتاسیم قابل جذب به ترتیب ۶۹/۴۶ و ۶۱۶/۰۸ میلی‌گرم بر کیلوگرم بود. میزان آهن، روی و مس نیز به ترتیب ۷/۷۶، ۰/۷ و ۰/۶۸ میلی‌گرم بر کیلوگرم بود. جهت انجام آزمایش، از گلدان‌هایی به قطر ۲۶ و ارتفاع ۲۷ سانتی‌متر با زهکش مناسب و گنجایش ۱۰ کیلوگرم خاک خشک

همراه جذب کربوهیدرات کل نمونه با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۴۹۰nm اندازه گیری شد.

تفکیک قندهای ساکارز، گلوکز و فروکتوز در برگ با استفاده از دستگاه HPLC (Knauer, Germany)، دکتور RI و فاز متحرک آب میلی کیو با واکنش شیمیایی ۲ با جریان ۰/۷ میلی لیتر بر دقیقه انجام گردید. بدین منظور، ۲۰ میکرولیتر از عصاره شناور حاصل از سانتریفیوژ را از فیلتر تترافلوئورو اتیلن ۰/۴۵ عبور داده و سپس به ستون HPLC با مشخصات H Kat EURO از جنس پلیمر تزریق گردید (Peiris et al., 1999).

برای سنجش کلروفیل و کاروتنوئید، ۰/۲ گرم از بافت تازه برگ با استون ۸۰٪ به تدریج در هاون چینی ساییده شد. سپس حجم محلول با استون ۸۰٪ به ۲۵ میلی لیتر رسانده شد. محلول حاصل به مدت ۱۰ دقیقه در ۴۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ و بعد جذب نوری محلول رویی در طول موجهای ۶۶۳، ۶۴۵ و ۴۷۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت گردید. مقدار کلروفیل و کاروتنوئید طبق معادله های زیر به دست آمد (Arnon, 1967).

$$a = \frac{[12.7(D_{663}) - 2.29(D_{645})] \times V}{(1000 \times W)}$$

$$b = \frac{[22.9(D_{645}) - 4.68(D_{663})] \times V}{(1000 \times W)}$$

$$\text{کلروفیل کل} = \frac{[2.0/2(D_{645}) - 8.0/2(D_{663})] \times V}{(1000 \times W)}$$

$$\text{کاروتنوئید} = \frac{[1000(D_{470}) - 1/82(a)] \times V}{(1000 \times W)}$$

$$(b) \text{ (کلروفیل)}$$

D: طول موج، V: حجم نهایی فالكون و W: وزن نمونه برگی می باشد.

در زمان رسیدگی محصول، بوته ها برداشت و سپس عملکرد دانه و بیوماس اندازه گیری

شدند. به منظور جلوگیری از ایجاد اختلال توسط بارندگی از یک سایبان متحرک استفاده شد. هفت روز بعد از اعمال تنش خشکی، برای اندازه گیری کربوهیدرات محلول، قندهای محلول و کلروفیل از هر گیاه سه نمونه برگ پرچم به طور تصادفی برداشت و به سرعت در نیتروژن مایع منجمد گردیدند. سپس نمونه ها در دمای ۸۰- درجه سلسیوس تا زمان انجام آزمایش های لازم نگهداری شدند. اندازه گیری فتوسنتز، هدایت روزنه ای، تعرق و غلظت CO<sub>2</sub> زیر روزنه (C<sub>i</sub>) با استفاده از دستگاه فتوسنتز متر ایرگا مدل (LI-COR 6400, LI-COR Inc., Lincoln, NB, USA) و در ساعات ۱۰ الی ۱۲ صبح انجام گردید. عدد مربوطه برای برگ پرچم، در هر بوته انتخاب شده به طور تصادفی در هر گلدان، ثبت و میانگین آنها محاسبه گردید. کارآیی مصرف آب فتوسنتزی (WUE) نیز از تقسیم فتوسنتز به میزان تعرق برآورد شد (Singh and Singh, 2001).

اندازه گیری کربوهیدرات محلول با استفاده از فنل اسیدسولفوریک به روش دابویوس و همکاران (Dubois et al., 1956) انجام گردید. بدین منظور، نمونه های منجمد به میزان ۰/۱ گرم در ۳ میلی لیتر الکل اتیلیک عصاره گیری شدند. نمونه های همگن حاصل به کمک قیف و کاغذ صافی صاف گردید. سپس، به ۵۰ میکرولیتر نمونه های همگن صاف شده ۰/۵ میلی لیتر فنل ۵ درصد و ۲/۵ میلی لیتر اسید سولفوریک ۹۸ درصد اضافه گردید. بعد از افزودن اسید، مخلوط واکنش برای ۱۰ دقیقه در دمای ۲۷ درجه سلسیوس ماند تا خنک شود. منحنی استاندارد با استفاده از غلظت های مختلف گلوکز از صفر تا ۲۰ میکروگرم در میلی لیتر ترسیم گردید. جذب استانداردها به

خشکی اثر معنی‌داری بر این صفت نداشت؛ هرچند در شرایط بدون تنش موجب کاهش تعرق گردید. تنش خشکی موجب افزایش کارایی مصرف آب فتوسنتزی (WUE) به میزان ۳۵/۸۹ درصد گردید (شکل ۲d). نتایج برهمکنش غلظت نانوذرات و رژیم آبیاری نشان داد که تنش خشکی موجب کاهش میزان تعرق نسبت به شرایط بدون تنش گردید (جدول ۳). همچنین، مصرف نانوذرات موجب کاهش میزان تعرق به‌خصوص در شرایط بدون تنش گردید. بیشترین و کمترین میزان غلظت CO<sub>2</sub> زیر روزنه (C<sub>i</sub>) به‌ترتیب با محلول‌پاشی ۳۰ پی‌پی‌ام نانوذرات در شرایط تنش خشکی و محلول‌پاشی ۹۰ پی‌پی‌ام نانوذرات در شرایط بدون تنش به‌دست آمد. مصرف نانوذرات به‌خصوص غلظت ۹۰ پی‌پی‌ام در هر دو رژیم آبیاری موجب کاهش معنی‌دار غلظت CO<sub>2</sub> زیر روزنه نسبت به عدم مصرف نانوذرات شد. همچنین، تنش خشکی موجب افزایش معنی‌دار این صفت نسبت به شرایط بدون تنش گردید (جدول ۳). عوامل محدود کننده فتوسنتز شامل دو نوع روزنه‌ای و غیرروزنه‌ای می‌باشند. در زمانی که عامل محدود کننده روزنه‌ای باشد با کاهش آب در سلول‌های برگ، روزنه‌ها بسته می‌شوند. در این حالت به دلیل کاهش هدایت روزنه‌ای، انتشار CO<sub>2</sub> به فضای بین سلولی کاهش یافته و فعالیت فتوسنتزی کم و یا متوقف می‌شود. در مواقعی که عامل محدودکننده غیرروزنه‌ای باشد، به دلیل اختلال در واکنش‌های بیوشیمیایی گیاه، غلظت CO<sub>2</sub> زیر روزنه (C<sub>i</sub>) افزایش می‌یابد و موجب اشباع برگ‌ها از مواد فتوسنتزی می‌گردد که ممکن است عملکرد دستگاه فتوسنتز را محدود نماید (Ahmadi and

گردیدند. عملکرد دانه بر اساس ده درصد رطوبت، توسط ترازوی دیجیتالی تعیین گردید.

تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS و مقایسه میانگین صفات با آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵٪ انجام گردید.

### نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر روش مصرف و رژیم آبیاری بر فتوسنتز و نیز اثر رژیم آبیاری بر هدایت روزنه‌ای و کارایی مصرف آب فتوسنتزی (WUE) معنی‌دار بود (جدول ۱). برهمکنش اثرات متقابل نانوذرات × روش مصرف، نانوذرات × رژیم آبیاری و رژیم آبیاری × روش مصرف بر میزان کلروفیل a، کلروفیل کل و گلوکز معنی‌دار بود (جدول ۱ و ۲). برهمکنش اثر متقابل نانوذرات × رژیم آبیاری × روش مصرف بر غلظت CO<sub>2</sub> زیرروزنه (C<sub>i</sub>)، میزان کلروفیل b، فروکتوز و ساکارز معنی‌دار بود (جدول ۱ و ۲). همچنین، برهمکنش غلظت نانوذرات × روش مصرف نانوذرات و برهمکنش غلظت نانوذرات × رژیم آبیاری بر میزان کاروتنوئید برگ معنی‌دار بود (جدول ۲). برهمکنش غلظت نانوذرات × رژیم آبیاری بر میزان تعرق و کربوهیدرات محلول (جدول ۲). اثر نانوذرات و رژیم آبیاری بر عملکرد دانه و برهمکنش رژیم آبیاری × روش مصرف نانوذرات بر بیوماس معنی‌دار بود (جدول ۲).

### پارامترهای فتوسنتزی

نتایج مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که میزان فتوسنتز در روش محلول‌پاشی ۱۰/۰۸ درصد بیشتر از روش خاک مصرف بود (شکل ۲a). تنش خشکی به‌طور معنی‌داری میزان فتوسنتز و هدایت روزنه‌ای را به‌ترتیب ۶۴/۱۴ و ۲۲ درصد نسبت به شرایط بدون تنش کاهش داد (شکل‌های ۲b و ۲c). مصرف نانوذرات در شرایط تنش

شدید در هدایت روزنه‌ای را می‌توان به کاهش ظرفیت فتوسنتزی کلروپلاست‌ها و یا کاهش بازده کربوکسیلاسیون نسبت داد (Luo, 1991). کاهش غلظت  $CO_2$  زیرروزنه در شرایط تنش ملایم و افزایش آن در تنش‌های شدید در گیاهان مختلف گزارش شده است (Tilahun and Seven, 2003; Hamim, 2005). از طرفی، مصرف نانوذرات کیتوزان به‌خصوص محلول پاشی آنها موجب افزایش معنی‌دار میزان فتوسنتز و کاهش تعرق در گیاهان رشد کرده در شرایط بدون تنش و غلظت  $CO_2$  زیرروزنه ( $C_i$ ) در هر دو رژیم آبیاری گردید. لیمپانavech و همکاران (Limpanavech et al., 2008) دریافتند که کیتوزان در افزایش کلروفیل و فتوسنتز نقش دارد و علاوه بر این، آنها ثابت کردند که کیتوزان بیان ژن کلروپلاست برگ را تحت تأثیر قرار می‌دهد. به‌طوری‌که تغییرات در اندازه کلروپلاست ممکن است عامل تحریک کننده رشد گیاهان باشد. میزان فتوسنتز در روش محلول پاشی بیشتر از روش خاک مصرف بود که به نظر می‌رسد به دلیل جذب بهتر این نانوذرات در روش محلول پاشی باشد. همچنین، کیتوزان اثر مستقیمی بر بیان برخی از ژن‌های دخیل در مسیر سنتز جازمونیک اسید دارد که این ترکیب فعالیت مشابهی با هورمون گیاهی آبسزیک اسید ایفا می‌نماید (Bittelli et al., 2000). بدین ترتیب، تغییر در مسیر انتقال سیگنال آبسزیک اسید موجب کاهش آب مصرفی در گیاهان، از طریق کاهش گشودگی روزنه‌ها و تعرق، می‌گردد (Ramachandra et al., 2004). در توافق با نتایج ما، گزارش شده است که کیتوزان موجب افزایش هدایت روزنه‌ای و کاهش تعرق و در نتیجه افزایش فتوسنتز، ارتفاع گیاه، طول ریشه‌ها و مقدار زیست توده گیاهی گردید

(Baker, 2000). در این رابطه گزارش شده است که عامل اصلی محدود کننده فتوسنتز کاهش هدایت مزوفیلی است (Fisher et al., 1998). میزان کمتر فتوسنتز و فرآوری  $CO_2$  در حضور مقادیر بالای غلظت  $CO_2$  زیرروزنه به مفهوم پایین بودن میزان هدایت مزوفیلی و عدم توانایی سلول‌های مزوفیل در استفاده از  $CO_2$  است. تجمع  $CO_2$  در برگ در شرایط تنش نشان‌دهنده عدم توانایی گیاه در فرآوری  $CO_2$  علی‌رغم عبور آن از مقاومت روزنه‌ای است. با توجه به نتایج (شکل ۲c و جدول ۲)، هر دو عامل روزنه‌ای و غیرروزنه‌ای موجب کاهش فتوسنتز در شرایط تنش خشکی گردید. در توافق با نتایج ما، برخی محققین بیان نمودند که با افزایش شدت تنش خشکی در انتهای فصل رشد میزان فتوسنتز، پتانسیل آبی برگ و عملکرد دانه در ارقام جو کاهش یافت (Samarah et al., 2009). تنش خشکی موجب کاهش میزان کلروفیل و رطوبت نسبی برگ و افزایش تخریب غشاهای سلولی و در نهایت کاهش فتوسنتز در گیاه سویا گردید (Ribas-Carbo et al., 2005). همچنین، نتایج نشان داد که تنش خشکی با کاهش گشودگی روزنه‌ها موجب کاهش ۲۲ درصدی هدایت روزنه‌ای و تعرق در گیاه جو گردید که با نتایج گزارش شده توسط برخی محققین مشابهت دارد (Rahbarian et al., 2011; Saeedi et al., 2010).

کارایی مصرف آب فتوسنتزی (WUE) شاخصی است که میزان فتوسنتز را به ازای هر واحد هدایت روزنه‌ای و تعرق نشان می‌دهد. چنین به نظر می‌رسد که با کاهش تعرق در اثر تنش خشکی گیاه توانسته است به ازای هر مول آب میزان فتوسنتز بیشتری را انجام دهد. همچنین، افزایش غلظت  $CO_2$  زیر روزنه با وجود کاهش

یکی از مهم‌ترین دلایل کاهش کلروفیل در گیاهان تحت تنش، تخریب آنها توسط گونه‌های اکسیژن فعال و افزایش فعالیت آنزیم کلروفیلاز می‌باشد (Schutz and Fangmeir, 2001). همچنین، کاهش کارایی استفاده از کربن و افزایش تولید اتانول و لاکتات در اثر تنش خشکی موجب کاهش سنتز کاروتنوئیدها و کلروفیل‌ها می‌شود (Oliviera-Neto *et al.*, 2009). کاهش مقادیر کلروفیل a، b و کاروتنوئید تحت تأثیر تنش خشکی در برخی از گونه‌های گیاهی گزارش شده است (Xiao *et al.*, 2008; Gautam *et al.*, 2011).

از طرفی، مقادیر رنگیزه‌های کلروفیل و کاروتنوئید، با افزایش کاربرد کیتوزان در هر دو رژیم آبیاری، به‌طور معنی‌داری افزایش یافتند (جدول ۲). لیمپارچ و همکاران (Limpanavech *et al.*, 2008) دریافتند که کیتوزان در افزایش محتوی کلروفیل نقش دارد و می‌تواند بیان ژن کلروپلاست برگ را تحت تأثیر قرار دهد، به‌طوری‌که موجب تغییرات در اندازه و توسعه کلروپلاست گردد. در همین راستا نتایج برخی تحقیقات نشان داد که مصرف کیتوزان باعث افزایش کلروفیل a، b، کل و کاروتنوئید گردید (Sheikha and AL-Malki, 2011; Dzung *et al.*, 2011). علاوه بر این، محققان اعلام کردند که کاربرد کیتوزان باعث کاهش اثر منفی تنش خشکی بر کلروفیل و افزایش رنگیزه‌های فتوسنتزی در گیاه انگور گردید (Gornik *et al.*, 2008) که با نتایج این آزمایش مطابقت دارد.

#### کربوهیدرات‌ها

نتایج مقایسه میانگین داده‌ها در جدول ۴ نشان داد که تنش خشکی موجب افزایش

(Bittelli *et al.*, 2000). همچنین، محلول‌پاشی گیاهان برنج با کیتوزان قبل از تنش کم آبی، موجب بسته شدن روزنه‌ها و کاهش تعرق گردید (Boonlertnirunt *et al.*, 2007).

#### رنگیزه‌های فتوسنتزی

بیشترین میزان کلروفیل a و کل با محلول پاشی ۹۰ پی‌پی‌ام نانوذرات به‌دست آمد (جدول ۵). همچنین، میزان کاروتنوئید با محلول‌پاشی ۹۰ پی‌پی‌ام و مصرف خاکی نانوذرات به‌طور معنی‌داری نسبت به عدم مصرف نانوذرات افزایش یافت. مصرف نانوذرات در هر دو رژیم آبیاری به‌طور معنی‌داری موجب بهبود میزان کلروفیل a و کل نسبت به شرایط عدم مصرف نانوذرات گردید (جدول ۳). تنش خشکی موجب کاهش معنی‌دار میزان کلروفیل a و کل گردید (شکل‌های ۲b و ۳a). در گیاهان تحت تنش خشکی، مصرف خاکی نانوذرات اثر بهتری بر کلروفیل a نسبت به روش محلول‌پاشی داشت. در مقابل، محلول‌پاشی نانوذرات در گیاهان رشد کرده در شرایط بدون تنش خشکی بهتر از روش خاک مصرف بود. همچنین، روش مصرف نانوذرات در گیاهان تحت تنش خشکی اثر معنی‌داری بر میزان کلروفیل کل برگ نداشت و در شرایط بدون تنش روش محلول‌پاشی بهتر از روش دیگر بود. برهمکنش غلظت نانوذرات، روش مصرف و رژیم آبیاری نشان داد که بیشترین میزان کلروفیل b با محلول‌پاشی ۹۰ پی‌پی‌ام نانوذرات در گیاهان رشد کرده تحت شرایط بدون تنش به‌دست آمد (جدول ۴). تنش خشکی موجب کاهش میزان کلروفیل b گردید. همچنین، تنش خشکی موجب کاهش معنی‌دار کاروتنوئید و مصرف غلظت بالای نانوذرات موجب افزایش معنی‌دار این صفت گردید (جدول ۳).

فروکتوز و ساکارز گردید. افزایش محتوای قندهای محلول تحت تیمار نانوذرات کیتوزان احتمالاً به دلیل هیدرولیز نشاسته به قندهای محلول نظیر گلوکز، فروکتوز و ساکارز می باشد که یک نوع مکانیسم تطابقی و سازگار یافته برای حفظ و نگهداری پتانسیل اسمزی تحت تیمار این نانوذرات می باشد. همچنین، واحد ساختاری کیتوزان گلوکز آمین است که با برداشتن گروه آمین به گلوکز تبدیل خواهد شد (Pariser and Lombardi, 1988). این مونوساکارید نیز به راحتی قادر است به فروکتوز تبدیل شود. نتایج برخی تحقیقات نشان داد که میزان قندهای محلول تحت تأثیر تیمار کیتوزان افزایش یافت (Khajeh and Naderi, 2014; Mahdavi *et al.*, 2011).

#### عملکرد دانه و بیوماس

مصرف ۶۰ و ۹۰ پی پی ام نانوذرات کیتوزان موجب افزایش معنی دار عملکرد دانه نسبت به شاهد شد (شکل ۵a). تنش خشکی موجب کاهش ۲۷ درصدی عملکرد دانه نسبت به شرایط بدون تنش شد (شکل ۵b). همچنین، تنش خشکی موجب کاهش معنی دار بیوماس گیاه شد (شکل ۶). در گیاهان رشد کرده در شرایط بدون تنش، محلول پاشی نانوذرات بهتر از مصرف خاکی نانوذرات بود. در مقابل در گیاهان تحت تنش خشکی، مصرف خاکی نانوذرات بهتر از روش دیگر بود. یکی از اثرات مضر تنش خشکی بر گیاهان زراعی کاهش عملکرد دانه و بیوماس است (Farooq *et al.*, 2009). انتظار می رود در شرایط تنش خشکی، از یک سو جذب عناصر غذایی محدود شود و از سوی دیگر در چنین شرایطی گیاهان برای کاهش تعرق اقدام به بسته نمودن روزنه های خود نمایند که نتیجه آن ممانعت از

معنی دار غلظت ساکارز و فروکتوز گردید. در هر دو رژیم آبیاری، مصرف نانوذرات موجب افزایش معنی دار غلظت ساکارز و فروکتوز نسبت به عدم مصرف نانوذرات گردید. بیشترین میزان فروکتوز (۷۹/۰۷ میلی گرم بر گرم وزن تازه) و ساکارز (۷۴/۸۵ میلی گرم بر گرم وزن تازه) با محلول پاشی ۹۰ پی پی ام نانوذرات در گیاهان تحت تنش خشکی به دست آمد. همچنین، در هر دو رژیم آبیاری، مصرف نانوذرات موجب افزایش معنی دار میزان گلوکز نسبت به عدم مصرف نانوذرات گردید (جدول ۳). تنش خشکی موجب افزایش معنی دار غلظت کربوهیدرات محلول گردید (جدول ۳). بیشترین میزان گلوکز با محلول پاشی ۹۰ پی پی ام نانوذرات و کمترین با عدم مصرف نانوذرات به دست آمد (جدول ۵). همچنین، تنش خشکی موجب افزایش معنی دار میزان گلوکز گردید (شکل ۴). در گیاهان رشد کرده در شرایط بدون تنش، محلول پاشی نانوذرات موجب افزایش معنی دار میزان گلوکز نسبت به روش دیگر شد. در اثر تنش خشکی غلظت قندهای محلول و کربوهیدرات محلول افزایش یافت. احتمالاً دلیل افزایش ساکارز در گیاهان تحت تنش خشکی به این دلیل هیدرولیز نشاسته به ساکارز می باشد (Kovacik *et al.*, 2009). همچنین، افزایش قندهای محلول در اثر تنش خشکی ممکن است ناشی از کاهش نیاز به مواد فتوسنتزی به دلیل کاهش رشد، سنتز این ترکیبات از مسیرهای غیرفتوسنتزی و همچنین تخریب کربوهیدرات های نامحلول باشد (Ehdaie *et al.*, 2006). نتایج با یافته های برخی محققین مطابقت دارد (Arazmjo *et al.*, 2010; Jie *et al.*, 2010). از طرفی، مصرف نانوذرات کیتوزان به ویژه غلظت ۹۰ پی پی ام در هر دو رژیم آبیاری موجب افزایش میزان گلوکز،

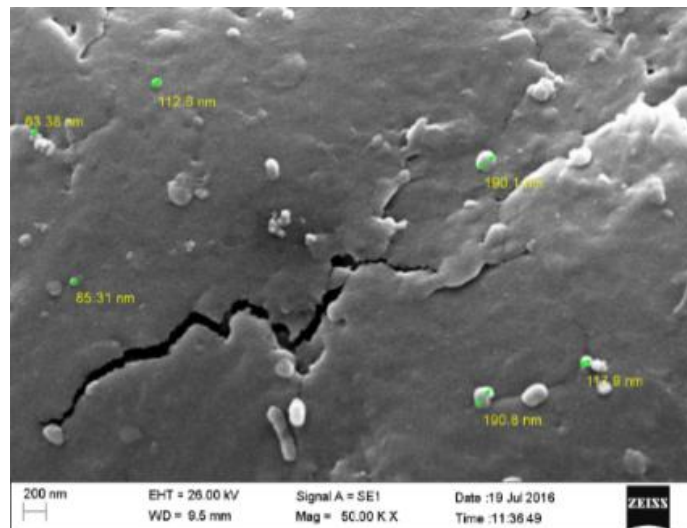


افزایش دهد (Uthairatanakij *et al.*, 2007). برخی محققین گزارش کردند کاربرد غلظت‌های مختلف کیتوزان در گیاه لوبیا منجر به افزایش وزن خشک ساقه و ریشه نسبت به شاهد شد (Sheikha and AL-Malki, 2011).

### نتیجه‌گیری کلی

نتایج به‌دست آمده نشان داد که مصرف نانوذرات کیتوزان به‌ویژه غلظت ۹۰ پی‌پی‌ام در هر دو رژیم آبیاری منجر به تغییرات معنی‌داری در بیشتر صفات مورد بررسی نسبت به شاهد (بدون مصرف نانوذرات) گردید که این حاکی از اثربخشی این ترکیب طبیعی به‌خصوص در شرایط تنش خشکی می‌باشد. بنابراین، تجاری نمودن این ترکیب برای مصرف گسترده‌ی آن در گیاهان به‌خصوص در شرایط تنش خشکی نیاز به آزمایش‌های تکمیلی در این خصوص دارد.

ورود  $CO_2$  و کاهش فتوسنتز خواهد بود (Lecoeur and Sinclair, 1996). بروز این رویدادها منجر به کاهش عملکرد و گسترش اندام هوایی در گیاه می‌شود. کاهش عملکرد دانه و بیوماس در شرایط تنش خشکی در بسیاری از گیاهان مشاهده شده است (Webber *et al.*, 2006). از طرفی افزایش عملکرد دانه تحت تاثیر غلظت بالای نانوذرات کیتوزان احتمالاً به‌دلیل جذب بیشتر و تاثیر آن بر تحریک فرآیندهای فیزیولوژیکی، بهبود رشد رویشی و افزایش تثبیت  $CO_2$  می‌باشد. نتایج برخی گزارش‌ها نشان دادند که مصرف کیتوزان در گیاهان سویا (Luan *et al.*, 2006) و برنج (Nitar *et al.*, 2004) سبب افزایش عملکرد دانه گردید. علاوه بر این، نانوذرات کیتوزان ممکن است رشد و نمو گیاه را توسط بعضی مسیرهای سیگنالینگ مربوط به بیوسنتز اکسین، از طریق مسیر وابسته به تریپتوفان،



شکل ۱- تصویر میکروسکوپ الکترونی روبشی گسیل میدانی (FE-SEM) نانوذرات کیتوزان

**Figure 1**- Images of chitosan NPs by field Emission-Scanning electron Microscope (FE-SEM)

**جدول ۱-** تجزیه واریانس اثر غلظت نانوذرات کیتوزان، رژیم آبیاری و روش مصرف بر برخی صفات اندازه‌گیری شده در جو  
**Table 1-** Analysis of variance for the effect of chitosan NPs concentration, irrigation regime and application method on some measured traits of barley

منابع تغییر S.O.V	درجه آزادی df	میانگین مربعات Mean square						
		فتوسنتز Photosynthesis	هدایت روزنه‌ای Stomatal conductance	تعرق Transpiration	غلظت CO <sub>2</sub> زیر روزنه Intercellular CO <sub>2</sub> concentration	کارایی مصرف آب فتوسنتزی WUE	کلروفیل a Chlorophyll a	کلروفیل b Chlorophyll b
بلوک Block	2	0.24	0.009	0.002	184.14	1.01	0.1010	0.01202
غلظت نانوذرات NPs concentration (A)	3	6.07 <sup>ns</sup>	0.012 <sup>ns</sup>	0.396 <sup>ns</sup>	26436.60 <sup>**</sup>	3.02 <sup>ns</sup>	0.0082 <sup>**</sup>	0.00169 <sup>**</sup>
روش‌ها Methods (B)	1	13.93 <sup>*</sup>	0.001 <sup>ns</sup>	0.086 <sup>ns</sup>	5238.16 <sup>**</sup>	9.06 <sup>ns</sup>	0.0004 <sup>ns</sup>	0.00008 <sup>**</sup>
رژیم آبیاری Irrigation regime (C)	1	1105.92 <sup>**</sup>	0.150 <sup>**</sup>	147.00 <sup>**</sup>	12117.88 <sup>**</sup>	39.67 <sup>*</sup>	0.1171 <sup>**</sup>	0.01778 <sup>**</sup>
A×B	3	1.24 <sup>ns</sup>	0.002 <sup>ns</sup>	0.043 <sup>ns</sup>	9683.35 <sup>**</sup>	0.92 <sup>ns</sup>	0.0015 <sup>**</sup>	0.00003 <sup>**</sup>
A×C	3	3.49 <sup>ns</sup>	0.013 <sup>ns</sup>	0.719 <sup>**</sup>	30198.82 <sup>**</sup>	4.13 <sup>ns</sup>	0.0014 <sup>**</sup>	0.00047 <sup>**</sup>
B×C	1	3.31 <sup>ns</sup>	0.003 <sup>ns</sup>	0.367 <sup>ns</sup>	5008.00 <sup>**</sup>	6.42 <sup>ns</sup>	0.0063 <sup>**</sup>	0.00011 <sup>**</sup>
A×B×C	1	5.59 <sup>ns</sup>	0.001 <sup>ns</sup>	0.046 <sup>ns</sup>	3211.69 <sup>**</sup>	1.33 <sup>ns</sup>	0.0002 <sup>ns</sup>	0.00001 <sup>**</sup>
اشتباه Error	30	2.23	0.009	0.141	2136.85	5.52	0.0002	0.000004
CV (%)	-	14.68	6.71	12.93	12.87	13.42	6.12	3.75

ns: non-significant, \*\* and \* significant at the 1% , 5% probability levels, respectively

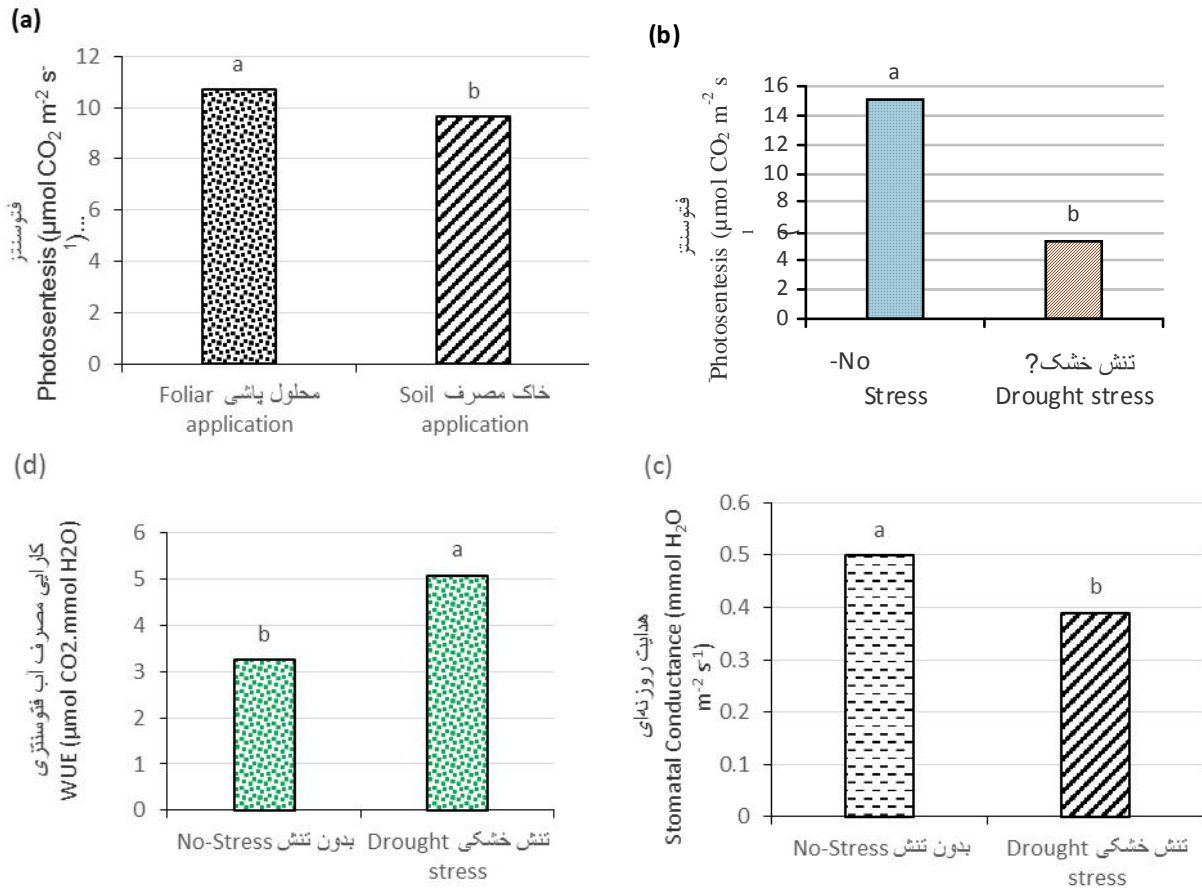
ns: non- significant, \*\* and \* significant at the 1% , 5% probability levels, respectively

**جدول ۲-** تجزیه واریانس اثر غلظت نانوذرات کیتوزان، رژیم آبیاری و روش مصرف بر برخی صفات اندازه‌گیری شده در جو  
**Table 2-** Analysis of variance for the effect of chitosan NPs concentration, irrigation regime and application method on some measured traits of barley

منابع تغییر S.O.V	درجه آزادی df	میانگین مربعات Mean square							
		کلروفیل کل Total chlorophyll	کاروتنوئید Carotenoid	گلوکز Glucose	ساکارز Sucrose	فروکتوز Fructose	کربوهیدرات محلول Soluble carbohydrate	عملکرد دانه Grain yield	بیوماس Biomass
بلوک Block	2	0.0939	0.0000253	338.23	821.69	136.35	1963.49	18.66	9.36
غلظت نانوذرات NPs concentration (A)	3	0.0168 <sup>**</sup>	0.0000586 <sup>**</sup>	107.14 <sup>**</sup>	104.23 <sup>**</sup>	180.08 <sup>**</sup>	1278.13 <sup>**</sup>	46.78 <sup>**</sup>	25.13 <sup>*</sup>
روش‌ها Methods (B)	1	0.0008 <sup>ns</sup>	0.0000440 <sup>*</sup>	4.83 <sup>**</sup>	0.74 <sup>ns</sup>	0.38 <sup>ns</sup>	1.54 <sup>ns</sup>	0.66 <sup>ns</sup>	1.43 <sup>ns</sup>
رژیم آبیاری Irrigation regime (C)	1	0.2264 <sup>**</sup>	0.0015870 <sup>**</sup>	4709.43 <sup>**</sup>	10671.08 <sup>**</sup>	21919.63 <sup>**</sup>	382696.94 <sup>**</sup>	784.16 <sup>**</sup>	653.94 <sup>**</sup>
A×B	3	0.0018 <sup>**</sup>	0.0000439 <sup>**</sup>	1.50 <sup>*</sup>	3.43 <sup>*</sup>	2.35 <sup>ns</sup>	13.95 <sup>ns</sup>	2.28 <sup>ns</sup>	4.19 <sup>ns</sup>
A×C	3	0.0016 <sup>**</sup>	0.0000233 <sup>*</sup>	28.65 <sup>**</sup>	33.98 <sup>**</sup>	87.79 <sup>**</sup>	622.30 <sup>**</sup>	10.73 <sup>ns</sup>	6.35 <sup>ns</sup>
B×C	1	0.0047 <sup>**</sup>	0.0000007 <sup>ns</sup>	1.76 <sup>*</sup>	9.07 <sup>**</sup>	6.73 <sup>*</sup>	39.34 <sup>ns</sup>	11.22 <sup>ns</sup>	297.95 <sup>**</sup>
A×B×C	3	0.0003 <sup>ns</sup>	0.0000221 <sup>ns</sup>	0.65 <sup>ns</sup>	2.96 <sup>*</sup>	2.95 <sup>*</sup>	13.30 <sup>ns</sup>	2.50 <sup>ns</sup>	4.24 <sup>ns</sup>
اشتباه Error	30	0.0002	0.000007	0.36	0.84	0.94	31.79	4.22	7.97
CV (%)	-	5.30	5.81	2.04	11.97	8.07	6.22	8.19	5.18

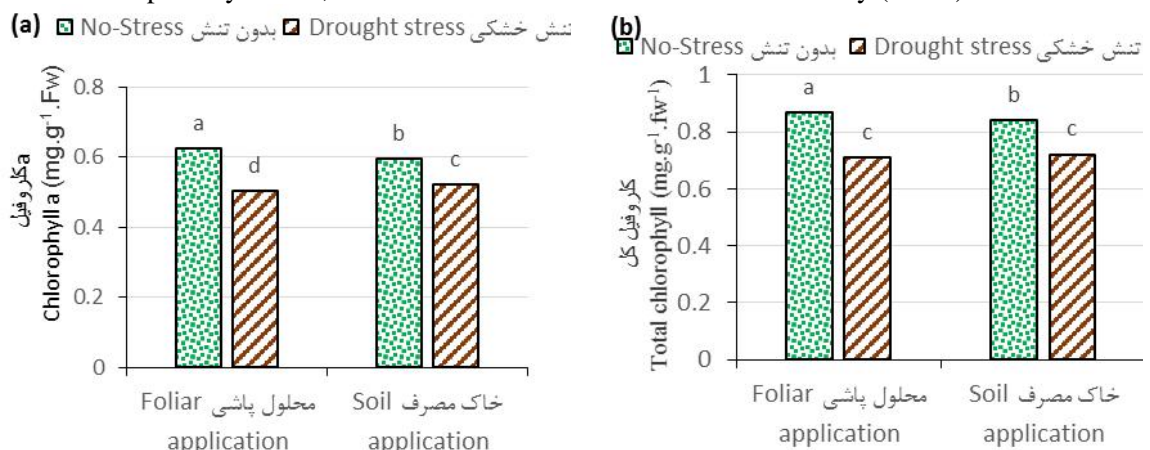
ns: non-significant, \*\* and \* significant at the 1% , 5% probability levels, respectively

ns: non - significant, \*\* and \* significant at the 1% , 5% probability levels, respectively



شکل ۲- مقایسه میانگین اثر روش مصرف نانوذرات کیتوزان و رژیم آبیاری بر میزان فتوسنتز، هدایت روزنه‌ای و کارایی مصرف آب فتوسنتزی

**Figure 2-** Mean comparison the effect of chitosan NPs application and irrigation regimes on photosynthesis, stomatal conductance and water use efficiency (WUE)



شکل ۳- مقایسه میانگین برهمکنش روش مصرف نانوذرات و رژیم آبیاری بر رنگیزه‌های فتوسنتزی

**Figure 3-** Mean comparison the effect of chitosan NPs application and irrigation regimes pigment. interaction on photosynthesis

میانگین‌هایی که در یک حرف مشترک هستند بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ ندارند.

Means by the uncommon letter are significantly different according to Duncan tests ( $p < 0.05$ ).

## جدول ۳- مقایسه میانگین اثر غلظت نانوذرات کیتوزان و رژیم آبیاری بر برخی صفات اندازه‌گیری شده در جو

Table 3- Mean comparison the effect of chitosan NPs concentration and irrigation regime for some measured traits of barley

رژیم آبیاری Irrigation regime	غلظت نانوذرات NPs (ppm)	میزان تعرق Transpiration Rate (mmol H <sub>2</sub> O.m <sup>-2</sup> .s <sup>-1</sup> )	کلروفیل a Chlorophyll a (mg.g <sup>-1</sup> F.W)	کلروفیل کل Total chlorophyll (mg.g <sup>-1</sup> F.W)	کاروتنوئید Carotenoid (mg.g <sup>-1</sup> F.W)	گلوکز Glucose (mg.g <sup>-1</sup> F.W)	کربوهیدرات محلول Soluble carbohydrate (mg.g <sup>-1</sup> F.W)
بدون تنش No-Stress	0	5.27 <sup>a</sup>	0.571 <sup>c</sup>	0.805 <sup>c</sup>	0.38 <sup>b</sup>	17.83 <sup>h</sup>	63.72 <sup>e</sup>
	30	4.58 <sup>b</sup>	0.591 <sup>b</sup>	0.827 <sup>b</sup>	0.40 <sup>b</sup>	18.88 <sup>g</sup>	65.91 <sup>e</sup>
	60	4.32 <sup>b</sup>	0.638 <sup>a</sup>	0.884 <sup>a</sup>	0.37 <sup>b</sup>	19.79 <sup>f</sup>	68.49 <sup>e</sup>
	90	4.44 <sup>b</sup>	0.645 <sup>a</sup>	0.894 <sup>a</sup>	0.44 <sup>a</sup>	21.24 <sup>e</sup>	70.92 <sup>e</sup>
تنش خشکی Drought stress	0	1.20 <sup>c</sup>	0.488 <sup>c</sup>	0.674 <sup>f</sup>	0.25 <sup>d</sup>	34.55 <sup>d</sup>	225.29 <sup>d</sup>
	30	1.06 <sup>c</sup>	0.512 <sup>d</sup>	0.713 <sup>e</sup>	0.27 <sup>dc</sup>	37.11 <sup>c</sup>	239.39 <sup>c</sup>
	60	1.24 <sup>c</sup>	0.516 <sup>d</sup>	0.714 <sup>e</sup>	0.30 <sup>c</sup>	40.25 <sup>b</sup>	252.54 <sup>b</sup>
	90	1.12 <sup>c</sup>	0.532 <sup>d</sup>	0.76 <sup>d</sup>	0.32 <sup>c</sup>	45.07 <sup>a</sup>	266.15 <sup>a</sup>

میانگین‌هایی در هر ستون که حداقل در یک حرف مشترک هستند بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ ندارند.  
Means by the uncommon letter are significantly different according to Duncan tests (p<0.05).

## جدول ۴- مقایسه میانگین غلظت نانوذرات، روش مصرف و رژیم آبیاری بر برخی صفات اندازه‌گیری شده در گیاه جو

Table 4- Mean comparison the effect of NPs concentration, irrigation regime and application method on some measured traits of barley

تیمارها Treatments	غلظت نانوذرات NPs (ppm)	غلظت CO <sub>2</sub> زیر روزنه Intercellular (Ci) CO <sub>2</sub> concentration (Ci) (μmol CO <sub>2</sub> . mol <sup>-1</sup> )	کلروفیل b Chlorophyll b (mg.g <sup>-1</sup> F.W)	فروکتوز Fructose (mg.g <sup>-1</sup> F.W)	ساکارز Sucrose (mg.g <sup>-1</sup> F.W)	
محلول پاشی Foliar application	بدون تنش No-Stress	0	259.13 <sup>g</sup>	0.235 <sup>f</sup>	27.77 <sup>h</sup>	43.28 <sup>g</sup>
	30	234.42 <sup>i</sup>	0.237 <sup>e</sup>	28.76 <sup>gh</sup>	45.04 <sup>f</sup>	
	60	210.59 <sup>j</sup>	0.244 <sup>d</sup>	29.46 <sup>fgh</sup>	46.35 <sup>f</sup>	
	90	188.83 <sup>k</sup>	0.251 <sup>a</sup>	30.98 <sup>f</sup>	46.47 <sup>f</sup>	
	تنش خشکی Drought stress	0	512.00 <sup>a</sup>	0.188 <sup>n</sup>	64.14 <sup>e</sup>	68.93 <sup>e</sup>
	30	514.39 <sup>a</sup>	0.207 <sup>j</sup>	69.11 <sup>d</sup>	74.03 <sup>c</sup>	
	60	421.93 <sup>c</sup>	0.200 <sup>k</sup>	72.90 <sup>c</sup>	75.26 <sup>c</sup>	
	90	310.37 <sup>e</sup>	0.228 <sup>h</sup>	78.78 <sup>a</sup>	78.73 <sup>b</sup>	
خاک مصرف Soil application	بدون تنش No-Stress	0	262.91 <sup>g</sup>	0.235 <sup>f</sup>	27.68 <sup>h</sup>	43.03 <sup>g</sup>
	30	232.17 <sup>i</sup>	0.233 <sup>g</sup>	28.04 <sup>h</sup>	43.29 <sup>g</sup>	
	60	232.48 <sup>i</sup>	0.249 <sup>b</sup>	28.89 <sup>gh</sup>	45.02 <sup>f</sup>	
	90	243.36 <sup>h</sup>	0.248 <sup>c</sup>	30.08 <sup>fg</sup>	45.32 <sup>f</sup>	
	تنش خشکی Drought stress	0	497.49 <sup>b</sup>	0.182 <sup>o</sup>	63.29 <sup>e</sup>	68.82 <sup>e</sup>
	30	311.09 <sup>e</sup>	0.194 <sup>m</sup>	69.87 <sup>d</sup>	72.23 <sup>d</sup>	
	60	329.90 <sup>d</sup>	0.198 <sup>l</sup>	76.41 <sup>b</sup>	77.84 <sup>b</sup>	
	90	291.33 <sup>f</sup>	0.226 <sup>i</sup>	79.07 <sup>a</sup>	80.53 <sup>a</sup>	

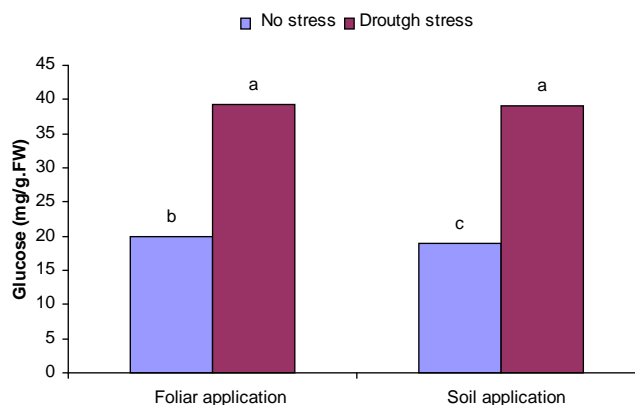
میانگین‌هایی در هر ستون که حداقل در یک حرف مشترک هستند بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ ندارند.  
Means by the uncommon letter in each row and column are significantly different according to Duncan tests (p<0.05).

جدول ۵- مقایسه میانگین اثر روش مصرف و غلظت نانوذرات کیتوزان بر برخی صفات اندازه‌گیری شده در گیاه جو

**Table 5-** Mean comparison the effect of application method and chitosan NPs concentration on some measured traits in barley

روش مصرف Consumption methods	غلظت نانوذرات NPs (ppm)	کلروفیل a Chlorophyll a (mg.g <sup>-1</sup> F.W)	کلروفیل کل Total chlorophyll (mg.g <sup>-1</sup> F.W)	کاروتنوئید Carotenoid (mg.g <sup>-1</sup> F.W)	گلوکز Glucose (mg.g <sup>-1</sup> F.W)
محلول پاشی Foliar application	0	0.519 <sup>f</sup>	0.751 <sup>e</sup>	0.31 <sup>bc</sup>	26.25 <sup>f</sup>
	30	0.549 <sup>de</sup>	0.776 <sup>cd</sup>	0.35 <sup>ab</sup>	28.46 <sup>d</sup>
	60	0.563 <sup>cd</sup>	0.785 <sup>c</sup>	0.34 <sup>b</sup>	30.11 <sup>c</sup>
	90	0.600 <sup>a</sup>	0.84 <sup>a</sup>	0.38 <sup>a</sup>	33.91 <sup>a</sup>
خاک مصرف Soil application	0	0.554 <sup>ef</sup>	0.764 <sup>de</sup>	0.28 <sup>c</sup>	26.12 <sup>f</sup>
	30	0.54 <sup>e</sup>	0.728 <sup>f</sup>	0.34 <sup>b</sup>	27.53 <sup>e</sup>
	60	0.59 <sup>ab</sup>	0.813 <sup>b</sup>	0.33 <sup>b</sup>	30.03 <sup>c</sup>
	90	0.577 <sup>bc</sup>	0.814 <sup>b</sup>	0.36 <sup>ab</sup>	32.41 <sup>b</sup>

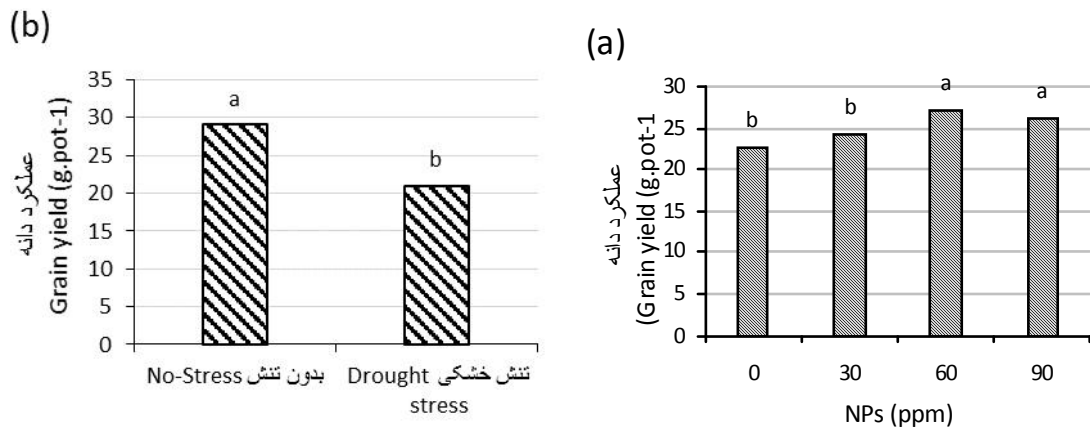
میانگین‌هایی در هر ستون که حداقل در یک حرف مشترک هستند بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ ندارند. Means by the uncommon letter are significantly different according to Duncan tests ( $p < 0.05$ ).



شکل ۴- مقایسه میانگین برهمکنش رژیم آبیاری و روش مصرف بر میزان گلوکز

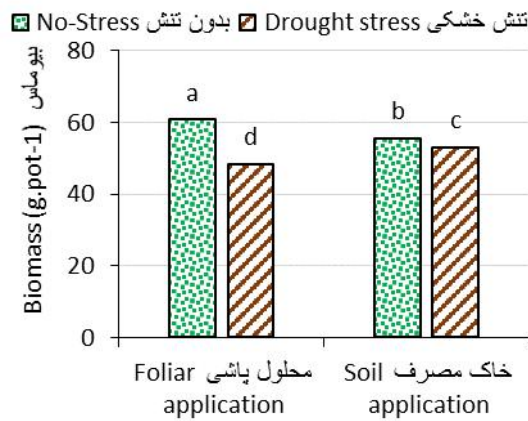
**Figure 4-** Mean comparison the irrigation regimes and application methods interaction on glucose

میانگین‌هایی که حداقل در یک حرف مشترک هستند بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ ندارند. Means by the uncommon letter are significantly different according to Duncan tests ( $p < 0.05$ ).



شکل ۵- مقایسه میانگین اثر غلظت نانوذرات و رژیم آبیاری بر عملکرد دانه

**Figure 5-** Mean comparison the effect of NPs concentration and irrigation regime on grain yield



شکل ۶- مقایسه میانگین برهمکنش رژیم آبیاری و روش مصرف بر بیوماس

**Figure 6-** Mean comparison the irrigation regimes and application methods interaction on biomass

میانگین هایی که حداقل در یک حرف مشترک هستند بر اساس آزمون چند دامنه ای دانکن اختلاف معنی دار در سطح احتمال ۵٪ ندارند. Means by the uncommon letter are significantly different according to Duncan tests ( $p < 0.05$ ).

## References

## منابع مورد استفاده

- Ahmadi, A., and D.A. Baker. 2000. Stomatal and no stomatal limitations of photosynthesis under water stress conditions in wheat plant. *Iranian Journal of Agricultural Science*. 31(4): 813-825. (In Persian).
- Arazmjo, A., M. Heidari, and A. Ghorbani. 2010. The effect of water stress and three sources of fertilizers on flower yield, physiological parameters and nutrient uptake in chamomile (*Matricaria chamomilla* L.). *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*. 25 (4): 482-494.
- Arnon, D.I. 1967. Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. *Plant Physiology*. 24(1):1-150.
- Bittelli, M., M. Flury, G.S. Campbell, and E.J. Nichols. 2000. Reduction of transpiration through foliar application of chitosan. *Jornal of Agricultural and Forest Meteorology*. 107: 167-175.
- Boonlertnirunt, S., E.D. Sarobol, S. Meechoui, and I. Sooksathan. 2007. Drought recovery and grain yield potential of rice after chitosan application. *Kasetsart Journal*. 41: 1-6.
- Deepmala, K., A. Hemantaranjan, S. Bharti, and A. Nishant Bhanu. 2014. A future perspective in crop protection: chitosan and its oligosaccharides. *Advances in Plants and Agriculture Research*. 1 (1): 23-30.
- Dubois, M., K.A. Gilles, J.K. Hamilton, P.A. Rebers, and F. Smith. 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analls Chemistry*. 28 (3): 350-356.
- Dutta, P.K., J. Dutta, and V.S. Tripathi. 2004. Chitin and chitosan: chemistry, properties and applications. *Journal of Scientific and Industrial Research*. 63: 20-31.
- Dzung, N.A., V.T. Phuong Khanh, and T.T. Dzung. 2011. Research on impact of chitosan oligomers on biophysical characteristics, growth, development and drought resistance of coffee. *Carbohydrate Polymer*. 84: 751-755.
- Ehdaie, B., G.A. Alloush, M.A. Madore, and J.G. Waines. 2006. Genotypic variation for stem reserves and mobilization in wheat. *Crop Science*. 46 (2): 735-746.
- Emami Bistgani, Z., S.A. Siadat, A. Bakhshandeh, and A. Ghasemi Pirbalouti. 2017. The effect of drought stress and elicitor of chitosan on photosynthetic pigments, proline, soluble sugars and lipid peroxidation in *Thymus deanensis Celak* in Shahrekord climate. *Environmental Stresses in Crop Sciences*. 10(1): 12-19.
- Farooq, M., A. Wahid, D.J. Lee, O. Ito, and K.H.M. Siddique. 2009. Advance in drought resistance of rice. *Critical Reviews in Plant Sciences*. 4: 199-217.
- Fisher, R., D. Rees, K. Sayre, Z. Lu, A. Candon, and A. Saavedra. 1998. Wheat yield progress associated with higher stomata conductance and photosynthetic rate, and cooler canopies. *Crop Science*. 38:1467-1475.
- Gautam, P.P., A.K. Fritz, M.B.K. Kirkham, and B. Gill. 2011. Response of aegilops species to drought stress during reproductive stages of development. *Fundamental for Life. Soil, Crop and Environmental Sciences. International Annual Meetings*. Pp: 16-19.

- Gornik, K., M. Grzesik, and B.R. Duda. 2008. The effect of chitosan on rooting of grapevine cuttings and on subsequent plant growth under drought and temperature stress. *Journal of Fruit and Ornamental Plant Research*. 16: 333-343.
- Hamim, H. 2005. Photosynthesis of C<sub>3</sub> and C<sub>4</sub> species in response to increased CO<sub>2</sub> concentration and drought stress. *Hayati Journal of Biosciences*. 12 (4): 131-138.
- Hefny, M.M. 2011. Agronomical and biochemical responses of white lupin *Lupinus albus* L. genotypes to contrasting water regimes and inoculation treatments. *Journal of American Science*. 7 (3): 187-198.
- Jie, Z., Y. Yuncong, J. Streeter, and D. Ferree. 2010. Influence of soil drought stress on photosynthesis, carbohydrates and the nitrogen and phosphorus absorb in different section of leaves and stem of Fuji/M.9EML, a young apple seedling. *African Journal of Biotechnology*. 9: 5320-5325.
- Kabiri, R., and M. Naghizadeh. 2015. Exogenous acetylsalicylic acid stimulates physiological changes to improve growth, yield and yield components of barley under water stress condition. *Journal of Plant Physiology and Breeding*. 5 (1): 35-45.
- Kalefetoglu Macar, T., and Y. Ekmekci. 2009. Alterations in photochemical and physiological activities of chickpea (*Cicer arietinum* L.) cultivars under drought stress. *Journal of Agronomy and Crop Science*. 195: 335-346.
- Kar, G., A. Kumar, and M. Martha. 2007. Water use efficiency and crop coefficients of dry season oilseed crops. *Agriculture Water Management*. 87: 73-82.
- Khajeh, H., and S. Naderi. 2014. The effect of chitosan on some antioxidant enzymes activity and biochemistry characterization in Melissa (*Melissa officinalis*). *Research Journal of Crop Science in Arid Area*. 1: 100-116. (In Persian)
- Kovacic, J., M. Backor, M. Strnad, and M. Repcak. 2009. Salicylic acid-induced changes to growth and phenolic metabolism in *Matricaria chamomilla* plants. *Plant Cell Report*. 28: 135-143.
- Kreck, M., P. Slamka, K. Olsovska, M. Brestic, and M. Bencikova. 2008. Reduction of drought stress effect in spring barley (*Hordeum vulgare* L.) by nitrogen fertilization. *Plant, Soil, Environment*. 54 (1): 7-13.
- Lecoeur, J., and T.R. Sinclair. 1996. Field pea transpiration and leaf growth in response to soil water deficits. *Crop Science*. 36: 331-335.
- Li, B., X. Wang, R. Chen, W.G. Huangfu, and G.L. Xie. 2008. Antibacterial activity of chitosan solution against *Xanthomonas* pathogenic bacteria isolated from *Euphorbia pulcherrima*. *Carbohydrat Polymer*. 72: 287-292.
- Limpanavech, P., S. Chaiyasuta, R. Vongpromek, R. Pichyangkura, C. Khunwasi, and S. Chadchawan. 2008. Chitosan effects on floral production, gene expression, and anatomical changes in the Dendrobium orchid. *Science Horticulture*. 116: 65-72.
- Luan, L.Q., N. Nagasawa, and M. Tamada. 2006. Enhancement of plant growth activity of irradiated chitosan by molecular weight fractionation. *Radioisotopes*. 55: 21-27.
- Luo, Y. 1991. Changes of Ci/Ca in association with stomatal or no stomatal limitation to photosynthesis in water stressed *Abutilon theophrasti*. *Journal of Photosynthetic*. 25: 273-279.



- Ma, Q.SH., R. Niknam, and D.W. Turner. 2006. Response of osmotic adjustment and seed yield of *Brassica napus* and *Brassica jounce* to soil water deficit at different growth stages. *Australian Journal of Agricultural Research*. 57: 221-226.
- Mahdavi, B., and A. Rahimi. 2013. Seed priming with chitosan improves the germination and growth performance of ajowan (*Carum copticum*) under salt stress. *Eurasian Journal Bioscience*. 7: 69-76.
- Mahdavi, B., S.A.M. Modarres Sanavy, M. Aghaalikhani, and M. Sharifi. 2011. Effect of water stress and chitosan on germination and proline of seedling in safflower (*Carthamus tinctorius* L.). *Journal of Crop Improvement*. 25: 728-741.
- Martin, M., F. Micell, J.A. Morgan, M. Scalet, and G. Zerbi. 1993. Synthesis of osmotically active substances in winter wheat leaves as related to drought resistance of different genotypes. *Journal of Agronomy and Crop Science*. 171: 176-184.
- Nitar, N., S. Chandkrachang, and W.F. Stevens. 2004. Application of chitosan in Myanmar's agricultural sector. In proceedings of sixth asia-pacific: chitin and chitosan symposium, E. Khor, D. Hutmacher, L. L.Yong (eds.), Singapore.
- Oliviera-Neto, C.F., A.K. Silva-Lobato, M.C. Goncalves-Vidigal, R.C.L. Costa, B.G. Santos Filho, and G.A.R. Alves. 2009. Carbon compounds and chlorophyll contents in sorghum submitted to water deficit during three growth stages. *Science and Technology*. 7: 588-593.
- Pariser, E.R., and D.P. Lombardi. 1988. A guide to the research literature chitin. Source book. Plenum press, New York. USA, 560, P.
- Peiris, H.S., G.C. Dull, R.G. Leffler, and S.J. Kays. 1999. Spatil variability of soluble solids or drymatter content within individual fruits, bulbs, or tubers: implication for the development and use of NIR spectrometric techniques. *Horticultural Science*. 34: 114-118.
- Rahbarian, R., R. Khavari nejad, A. Ganjeali, A.R. Bagheriand, and F. Najafi. 2011. Drought stress effects on photosynthesis, chlorophyll fluorescence and water. *Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica*. 53: 47-56.
- Ramachandra, R.A., K.V. Choityana, and A. Ivekanadan. 2004. Drought-induced response to photosynthesis and antioxidant metabolism in higher plants. *Journal of Plant Physiology*. 161: 1189-1202.
- Ribas-Carbo, M., N. Taylor, L. Giles, S. Busquets, P.M. Finnegan, and D.A. Day. 2005. Effects of water stress on respiration in soybean leaves. *Plant Physiology*. 139: 466-473.
- Saedi, M., F. Moradi, A. Ahmadi, R. Sepehri, G. Najafiyan, and A. Shabani. 2010. Effect of terminal drought stress on physiological characteristics and source-sink relations in two bread wheat cultivars (*Triticum aestivum* L.). *Iranian Journal of Crop Sciences*. 12 (4): 392-408. (In Persian).
- Samarah, N.H., A.M. Alqudah, J.A. Amayreh, and G.M. Mcandrews. 2009. The effect of late-terminal drought stress on yield components of four barley cultivars. *Journal of Agronomy and Crop Science*. 195: 427-441.
- Sanchez, F.J., E.F. De Andres, J.L. Tenorio, and L. Ayerbe. 2003. Growth of epicotyls, turgor maintenance and osmotic adjustment in pea plants (*Pisum sativum* L.) subjected to water stress. *Field Crops Research*. 86: 81-90.

- Schutz, M., and E. Fangmeir. 2001. Growth and yield responses of spring wheat (*Triticum aestivum* L. cv. Minaret) to elevated CO<sub>2</sub> and water limitation. *Environmental Pollution*. 114: 187-194.
- Sheikha, S.A.K., and F.M. AL-Malki. 2011. Growth and chlorophyll responses of bean plants to the chitosan applications. *European Journal of Scientific Research*. 50 (1): 124-134.
- Singh, B., and B.K. Singh. 2001. Ribulose-1, 5-biphosphate carboxylase content and activity in wheat, rye and triticale. *Biologia Plantarum*. 44: 427-430.
- Smiley, R., R.J. Cook, and T. Pauliz. 2002. Seed treatment for sample grain cereals. Oregon State University, EM 8797.
- Tilahun, A., and S. Seven. 2003. Mechanisms of drought resistance in grain: PSII stomatal regulation and root growth. *Ethiopian Journal of Science*. 26: 137-144.
- Uthairatanakij, A., J.A. Teixeira da Silva, and K. Obsuwan. 2007. Chitosan for improving orchid production and quality. *Orchid Science and Biotechnology*. 1(1): 1-5.
- Webber, M., J. Barnett, B. Finlayson, and M. Wang. 2006. Pricing China's irrigation water. *Global Environmental Chang*. 18: 617-625.
- Xiao, X., X. Xu, and F. Yang. 2008. Adaptive responses to progressive drought stress in two *Populus cothayana* populations. *Silva Fennica*. 42: 705-719.
- Yazdchi, S. 2008. Evaluation of yield and some characteristics of ten spring barley (*Hordeum vulgare*) varieties under limited and non-limited irrigation. *Research Journal of Biological Sciences*. 3 (12): 1456-1459.

## Effect of Foliar and Soil Application of Chitosan Nanoparticles on some of Physiological Characteristics of Barley (*Hordeum vulgare* L.) under Drought Stress

Faride Behboudi<sup>1</sup>, Zeinolabedin Tahmasebi Sarvestani<sup>2\*</sup>, Mohamad Zaman Kassaei<sup>3</sup>,  
Seyed Ali Mohamad Modares Sanavi<sup>4</sup>, and Ali Sorooshzadeh<sup>2</sup>

Received: July 2017, Revised: 25 November 2017, Accepted: 3 February 2018

### Abstract

Chitosan is a glucosamine polysaccharide deacetylated form of chitin species and could be used as biotic elicitor to improve secondary metabolites and as a fertilizer it controls the release of chemical compounds of toxins and stimulates germination and plant growth. Thus, to evaluate the effect of chitosan NPs on barley plants under late season drought stress, a factorial pot experiment was performed based on a randomized complete block design with three replications. The experimental factors were NPs concentrations at 4 levels (0, 30, 60 and 90 ppm), method of usage at 2 levels (foliar and soil application) and irrigation regimes at 2 levels (normal irrigation and with-holding irrigation 15 days after pollination). Experimental procedure consisted of planting seeds, preparing chitosan NPs solution, and using solutions through soil and foliar application at three plant growth stages (tillering, stem elongation and heading). Results indicated that drought stress significantly decreased contents of carotenoid, chlorophyll a, the chlorophyll b, the total chlorophyll, rate of photosynthesis, stomatal conductance, transpiration, grain yield, as well as, biomass. Results also showed that contents of soluble carbohydrate, glucose, sucrose, fructose, intercellular CO<sub>2</sub> concentration (C<sub>i</sub>) and photosynthetic water use efficiency (WUE) were increased. Also, under both irrigation regimes, application of chitosan NPs significantly increased the chlorophyll a, the chlorophyll b, the soluble chlorophyll and the glucose. Application of 60 and 90 ppm NPs significantly increased grain yield as compared to that of control. Significant differences for some traits under study between two usage methods of NPs were not observed. In general, application of chitosan NPs reduced negative effects of drought stress for barley plants and improved its growth and seed yield.

**Key words:** Carbohydrate, Chlorophyll, Grain yield, Photosynthesis.

1- Ph.D. Student, Department of Agronomy, Faculty of Agriculture, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran.,

2- Associate Professor, Department of Agronomy, Faculty of Agriculture, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran.

3- Professor, Department of Chemistry, Collage of Sciences, Tarbiat Modares University, Jalal-Al Ahmad Highway, Nasr Bridge, Tehran, Iran.

4- Professor, Department of Agronomy, Faculty of Agriculture, Tarbiat Modares University, Jalal-Al Ahmad Highway, Nasr Bridge, Tehran, Iran.

\* Corresponding Author: tahmaseb@modares.ac.ir

