

تأثیر محلول پاشی اسید آسکوربیک بر ویژگی‌های کمتی، کیفی و برخی تغییرپذیری‌های بیوشیمیایی برگ ذرت دانه‌ای در شرایط تنش کم آبی

حمیدرضا توحیدی مقدم*

استادیار گروه زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد ورامین - پیشوا، ورامین، ایران

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۱۰/۲۱ - تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۴/۳)

چکیده

به منظور ارزیابی تأثیر تنش کمبود آب و محلول پاشی اسید آسکوربیک، بر ویژگی‌های زراعی، فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی ذرت آزمایشی در سال ۱۳۹۳ در مزرعه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه آزاد اسلامی واحد ورامین صورت پذیرفت. این تحقیق به صورت کرت های خرد شده (اسپلیت پلات) در قالب طرح پایه بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار انجام گرفت. عامل آبیاری به عنوان عامل اصلی در چهار سطح (آبیاری بنا بر عرف منطقه، قطع آبیاری در مرحله هشت برگ، قطع آبیاری در مرحله ظهور کاکل و قطع آبیاری در مراحل هشت برگ و ظهور کاکل در بلال به طور توأم) و عامل فرعی شامل محلول پاشی اسید آسکوربیک در سه سطح (محلول پاشی با آب خالص، محلول پاشی با غلظت ۵۰ قسمت در میلیون (پی پی ام) و محلول پاشی با غلظت ۱۰۰ قسمت در میلیون) در نظر گرفته شد. نتایج به دست آمده از این بررسی نشان داد که قطع آبیاری در مراحل مختلف رشد ذرت سبب کاهش معنی داری در عملکرد دانه و عملکرد زیست توده (بیوماس)، شاخص برداشت، درصد روغن و پروتئین دانه، عملکرد روغن و پروتئین دانه و محتوای سبزینه (کلروفیل) برگ و افزایش میزان پرولین و فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز شد. محلول پاشی با اسید آسکوربیک توانست از کاهش عملکرد کمی و کیفی و محتوای سبزینه برگ و همچنین افزایش میزان پرولین و فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز جلوگیری کند. به طور کلی با توجه به بهبود کمی و کیفی صفات مورد بررسی می‌توان نتیجه گرفت که کاربرد اسید آسکوربیک با از بین بردن رادیکال‌های آزاد سبب کاهش فعالیت آنزیم‌های پاداکسنده (آنتی‌اکسیدانت) و تجمع پرولین شده و به طور غیرمستقیم با بهبود شرایط رشد سبب افزایش عملکرد و کیفیت دانه ذرت می‌شود.

واژه‌های کلیدی: آنزیم سوپراکسید دیسموتاز، پروتئین دانه، پرولین، قطع آبیاری.

Effect of foliar application of ascorbic acid on quantitative and qualitative traits as well as some biochemical changes in leaves of grain corn (*Zea mays* L.) under water deficit stress

Hamidreza Towhidi Moghaddam*

Assistant Professor, Faculty of Agriculture, Islamic Azad University, Varamin-Pishva Branch, Varamin, Iran
(Received: Jan. 11, 2016 - Accepted: Jun. 23, 2016)

ABSTRACT

In order to study the effects of water deficit stress and foliar application of ascorbic acid on some agronomic, physiologic and biochemical traits of corn, an experiment was conducted in research field of Agriculture Faculty of Islamic Azad University, Varamin Branch in Iran during 2014 growing season. The experimental design was laid out in a randomized complete block arranged in split plots with three replicates. Irrigation at four levels (normal irrigation according to the region, irrigation withholding at eight leafy stage, irrigation withholding at silking stage and irrigation withholding at eight leaf stage and silking stages) as the main factor and ascorbic acid foliar application at three levels (0, 50 and 100 ppm) as the sub-factor were allocated to main and sub plots, respectively. The results showed that irrigation withholding at different growth stages significantly decreased seed yield and biological yield, harvest index, oil and protein percentage, oil and protein yield, total chlorophyll content, increased proline content and superoxide dismutase activity in the leaves. Foliar application of ascorbic acid could prevent quantitative and qualitative yield loss and chlorophyll degradation. In addition, ascorbic acid foliar application decreased proline accumulation and superoxide dismutase activity in the leaves. In general, considering the qualitative and quantitative improvement in studied traits, it can be concluded that ascorbic acid application can scavenge reactive oxygen species and reduce antioxidant enzyme activity and proline accumulation, which in turn, leads to increased seed yield and quality with improving growth conditions.

Keywords: Grain protein, irrigation withholding, proline, superoxide dismutase enzyme.

* Corresponding author E-mail: hamid_tohidi2008@yahoo.com

مقدمه

تنش کم‌آبی عاملی است که به‌طور جدی تولید محصولات زراعی را در مناطق مختلف از جمله مناطق خشک و نیمه‌خشک محدود میکند. به‌طور کلی تنش‌های مختلف محیطی شامل تنش‌های زنده و غیرزنده سبب تولید گونه‌های فعال اکسیژن می‌شوند. از جمله این تنش‌ها می‌توان به تنش نور شدید، تنش خشکی، شوری و حتی عامل‌های بیماری‌زا اشاره کرد (Karpinski *et al.*, 2003). در حقیقت تنش خشکی به‌عنوان یک عامل مؤثر در رشد و عملکرد ژنوتیپ‌های مختلف گیاهان شناخته شده است (Bannayan *et al.*, 2008).

تنش کم‌آبی سبب ایجاد واکنش‌های بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی متفاوتی در گیاهان می‌شود. یکی از اثرگذاری‌های تنش کم‌آبی، همسان دیگر تنش‌های محیطی، ایجاد آسیب‌های اکسایشی (اکسیداتیو) است که توسط گونه‌های فعال اکسیژن مانند یون سوپراکسید، پراکسید هیدروژن و یون هیدروکسیل صورت می‌گیرد (Zhu, 2000). تولید گونه‌های فعال اکسیژن سبب پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء (Chen *et al.*, 2000)، تخریب پروتئین‌ها (Jiang & Zhang, 2001) اسیدهای نوکلئیک می‌شود (Hagar *et al.*, 1996). گیاهان برای رویارویی با گونه‌های فعال اکسیژن سامانه دفاعی پاداکسنده (آنتی‌اکسیدان) هستند. این سامانه شامل سامانه آنزیمی و غیر آنزیمی است (Agarwal & Pandey, 2004). مهم‌ترین ترکیب‌های پاداکسنده، شامل گلوکاتایون، توکوفرول، فلاوونوئیدها و آسکوربات هستند که در پاک‌سازی گونه‌های فعال اکسیژن به‌طور مستقیم نقش دارند. همچنین آنزیم‌های پاداکسنده مانند کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز، پراکسیداز، پلی فنل اکسیداز و آسکوربات پراکسیداز در پاک‌سازی گونه‌های فعال اکسیژن در یاخته نقش دارند (Dolatabadian *et al.*, 2009). یکی از راهکارهای افزایش مقاومت، بالا بردن سطح بستره (سوپسترا)های آنزیم‌های پاداکسنده و مواد پاداکسنده درون‌یاخته‌ای مانند اسید آسکوربیک است (Dolatabadian *et al.*, 2008). اسید آسکوربیک یک مولکول کوچک قابل‌حل در آب است که خاصیت

پاداکسندگی بالایی داشته و به‌عنوان بستره اولیه در مسیرهای چرخه‌ای، برای سمیت زدایی و خنثی کردن گونه‌های فعال اکسیژن مانند سوپراکسید و اکسیژن منفرد نقش دارد (Noctor & Foyer, 1998). کاربرد خارجی اسید آسکوربیک سبب افزایش مقاومت به تنش خشکی و کاهش تأثیر زیانبار تنش‌های اکسایشی می‌شود (Shalata & Neumann, 2001). افزون بر این مشخص شده است که اسید آسکوربیک مجموعه‌ای از نقش‌ها را در رشد گیاهان مانند تقسیم و بزرگ شدن یاخته، گسترش دیواره یاخته‌ای و دیگر فرآیندهای نموی ایفاء می‌کند (Pignocchi & Foyer, 2003). همچنین نتایج بررسی‌های دیگر محققان نیز نشان داده است، اسید آسکوربیک سبب کاهش فعالیت آنزیم‌های پاداکسنده می‌شود. این کاهش فعالیت آنزیم در گیاهان تنش دیده را می‌توان به تأثیر پاداکسندگی اسید آسکوربیک در خنثی‌سازی مستقیم یون سوپراکسید نسبت داد (Noctor & Foyer, 1998). تحقیقات صورت گرفته در رابطه با اسید آسکوربیک گویای آن است که کاربرد خارجی اسید آسکوربیک سبب تعدیل اثر تنش شوری در گیاه گندم می‌شود (Athar *et al.*, 2008). رقم‌های ذرت در طول دوره رشد خود ممکن است با شرایط تنش کم‌آبی روبه‌رو شوند و از عملکرد آن‌ها کاسته شود. تأثیر اسید آسکوربیک در کاهش پراکسیداسیون لیپیدی آفتابگردان در شرایط تنش گزارش شده است (Zhang & Kirkham, 1996). چنانچه اسید آسکوربیک بتواند در مراحل گیاه دچار تنش شده است سبب افزایش مقاومت و یا بهبود رشد آن شود، می‌توان با کاربرد این ماده از کاهش عملکرد جلوگیری کرد. هدف از انجام این آزمایش ارزیابی و بررسی تأثیر تنش کم‌آبی بر میزان فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز، محتوای روغن و پروتئین، میزان سبزینه (کلروفیل) و پرولین، عملکرد دانه و زیست توده (بیوماس) است.

مواد و روش‌ها

این آزمایش در سال ۱۳۹۳ در مزرعه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه آزاد اسلامی واحد ورامین به‌منظور بررسی اثر محلول پاشی اسید آسکوربیک بر

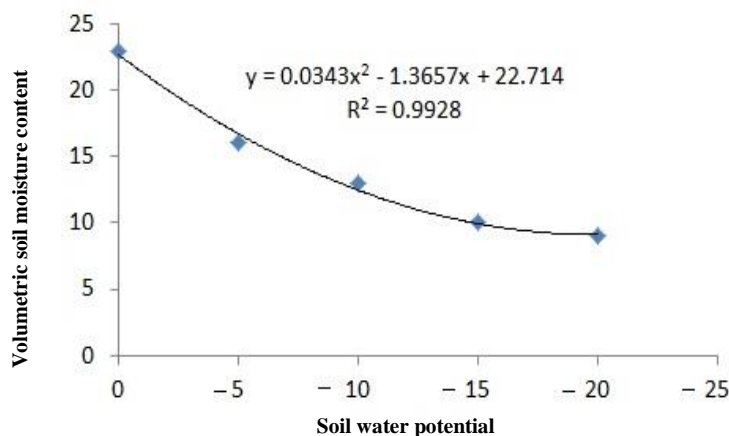
اینکه در هر کرت فرعی پنج خط کاشت وجود داشت و طول هر خط ۵ متر بود. آبیاری با استفاده از نوارهای قطره‌ای انجام پذیرفت. تیمارهای قطع آبیاری و ثبت رطوبت خاک با دستگاه TDR (Time Domain Reflectometry) مدل Trime FM ساخت دانمارک با هدف اعمال تنش یکسان در مراحل مختلف صورت گرفت. بدین منظور در آغاز نمونه‌های خاک به‌منظور تعیین منحنی رطوبتی به آزمایشگاه برده شد، نمونه‌های خاک اشباع شد و با ایجاد مکش به‌وسیله دستگاه صفحه‌های فشاری خاک تحت فشارهای مختلف قرار گرفت، بدین ترتیب در خاک پتانسیل‌های مختلف آبی ایجاد شد (۳- بار به‌عنوان بدون تنش و ۱۲- بار به‌عنوان تنش در نظر گرفته شد) و در هر پتانسیل میزان رطوبت خاک تعیین شد، در یک محور داده‌های پتانسیل آب و در محور دیگر داده‌های رطوبت حجمی قرار گرفتند تا رابطه بین آن‌ها به دست آید (شکل ۱). حال با استفاده از این معادله و دستگاه TDR که رطوبت حجمی را اندازه می‌گیرد، پتانسیل آب خاک با استفاده از دستگاه TDR محاسبه شد.

ویژگی‌های زراعی، فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی ذرت صورت پذیرفت. این تحقیق به‌صورت کرت‌های خرد شده (اسپیلیت) پلات در قالب طرح پایه بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار انجام گرفت. آبیاری به‌عنوان عامل اصلی در چهار سطح، آبیاری بنا بر عرف منطقه (شاهد، بدون تنش)، قطع آبیاری در مرحله رویشی (مرحله هشت برگی)، قطع آبیاری در مرحله زایشی (مرحله ظهور ابریشم در بلال) و قطع آبیاری در مرحله رویشی (هشت برگی) و زایشی (ظهور ابریشم در بلال) و محلول‌پاشی به‌عنوان عامل فرعی در سه سطح شامل محلول‌پاشی با آب خالص، محلول‌پاشی با محلول آسکوربیک اسید با غلظت ۵۰ قسمت در میلیون (پی‌پی‌ام) و محلول‌پاشی با محلول آسکوربیک اسید با غلظت ۱۰۰ قسمت در میلیون تیمارهای آزمایشی را تشکیل دادند. پیش از تهیه بستر نمونه‌های خاک برای تجزیه فیزیکی و شیمیایی به آزمایشگاه خاکشناسی ارسال شدند. نتایج در جدول ۱ ارائه شده است. پس از آماده‌سازی کرت‌ها و با تعیین فاصله بین دو ردیف ۷۵ سانتی‌متر و فاصله بین دو بوته ۲۰ سانتی‌متر اقدام به کشت شد. شایان توجه

جدول ۱. نتایج تجزیه خاک محل آزمایش

Table 1. Soil properties of the experimental site

Depth	EC (ds m ⁻¹)	pH	O.C (%)	T.N.V (%)	K (ppm)	P (ppm)	Total N (%)	Texture
0-30 cm	3.5	7.1	0.71	<10	285	25.9	0.079	Clay loam



شکل ۱. منحنی رطوبتی خاک. ترسیم‌شده با استفاده از داده‌های پتانسیل آب خاک به‌دست‌آمده از دستگاه صفحات فشاری و رطوبت حجمی به‌دست‌آمده از دستگاه TDR

Figure 1. (a) Soil moisture curve. Depicted by soil water potential data obtained from pressure plate device and volumetric water content obtained by TDR

مخلوط شدن کامل، در دستگاه طیف‌سنج نوری قرار داده شد و جذب محلول در طول موج ۵۹۵ نانومتر ثبت شد. غلظت پروتئین برحسب میلی‌گرم بر گرم بافت تازه توسط منحنی استاندارد که با استفاده از غلظت‌های مختلف آلبومین سرم گاوی تهیه شده بود محاسبه شد.

به منظور بررسی میزان فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز نیز از روش (Giannopolitis & Ries (1977) استفاده شد. بدین منظور ۰/۲ گرم نمونه در ۳ میلی‌لیتر بافر HEPES-KOH pH ۷/۸ حاوی ۰/۱ میلی‌مولار EDTA عصاره‌گیری شد. همگن‌های به دست آمده در دور ۱۵۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۴ درجه سلسیوس سانتریفیوژ و بخش رویی برای سنجش فعالیت سوپراکسید دیسموتاز استفاده شد مخلوط واکنش شامل HEPES-KOH ۵۰ میلی‌مولار بافر با pH ۷/۸ حاوی EDTA ۰/۱ میلی‌مولار، کربنات سدیم ۵۰ میلی‌مولار با pH ۱۰/۲، Nitro Blue L-methionine ۱۲ میلی‌مولار، Tetrazolium ۷۵ میکرومولار، ریبوفلاوین ۱ میکرومولار و ۲۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی بود. نمونه‌ها به مدت ۱۵ دقیقه در معرض نور قرار داده شدند و پس از این مدت جذب آن‌ها در طول موج ۵۶۰ نانومتر با استفاده از دستگاه طیف‌سنج نوری خوانده شد. همچنین از یک لوله آزمایش حاوی مخلوط واکنش به جزء عصاره آنزیمی به عنوان شاهد استفاده شد. یک واحد فعالیت سوپراکسید دیسموتاز به عنوان میزان آنزیمی در نظر گرفته شد که منجر به مهار ۵۰ درصد احیای نوری نیترو بلو تترازولیوم (NBT) می‌شود.

برای اندازه‌گیری محتوای آسکوربات در برگ، از روش (Law et al. (1983) استفاده شد. بدین منظور ۰/۲ گرم بافت گیاه در ۳ میلی‌لیتر اسید سولفوسالیسیلیک ۵ درصد عصاره‌گیری شد و پس از سانتریفیوژ و جدا کردن محلول رویی pH آن با اضافه کردن ۸۰۰ میکرولیتر بافر پتاسیم فسفات (pH=۶/۴) ۱۵۰ میلی‌مولار و ۳۳ میکرولیتر NaOH ۵ مولار، روی ۵/۵ تا ۶/۵ تنظیم گشت. سپس مواد زیر به ترتیب به نمونه‌های به دست آمده و محلول شاهد اضافه شد. ۱۰۰

اعمال تیمار محلول پاشی اسید آسکوربیک در پایان تنش (۱۱/۲۸ درصد حجمی یا ۱۲- بار) در هر مرحله توسط سم‌پاش انجام شد. نمونه برداری ۲۴ ساعت پس از محلول پاشی انجام گرفت و نمونه‌های گردآوری شده بی‌درنگ توسط نیتروژن مایع فریز شدند و برای تجزیه بیوشیمیایی در فریزر در دمای ۸۰- درجه سلسیوس نگهداری شدند. به منظور تعیین میزان کود مورد نیاز آزمایش تجزیه خاک انجام شد و پس از آن بنا بر اطلاعات به دست آمده کودهای مورد نیاز به زمین اضافه شد. رقم ذرت مورد بررسی 640 ns که متعلق به گروه زودرس با طول دوره رویش ۹۰ تا ۱۰۰ روز بود. در زمان رسیدگی کامل و پس از حذف خطوط حاشیه در هر کرت آزمایشی و ۰,۵ متر از آغاز و انتهای هر خط کاشت، دیگر بوته‌ها کف بر شده و سپس وزن و عملکرد زیست توده محاسبه شد. سپس در مرحله بعد دانه‌ها جدا شده و وزن دانه‌های هر کرت آزمایشی محاسبه شد و عملکرد دانه تعیین شد. از تقسیم عملکرد دانه بر عملکرد زیست توده، شاخص برداشت تعیین شد. به منظور به دست آوردن درصد روغن، نمونه‌های ۱۰۰ گرمی از دانه‌ها تهیه شد و با استفاده از دستگاه (NMR Nuclear Magnetic Resonance) بخش تحقیقات دانه‌های روغنی، مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر مدل NMR-500MHz Spectrometry -Bruker Germany درصد روغن آن‌ها محاسبه شد. از حاصلضرب درصد روغن دانه در عملکرد دانه، عملکرد روغن دانه محاسبه شد. به منظور محاسبه درصد پروتئین دانه از روش کج‌لدال با استفاده از دستگاه کج‌لدال مدل SH220، مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر استفاده شد و از حاصلضرب درصد پروتئین دانه در عملکرد دانه، عملکرد پروتئین دانه محاسبه شد. میزان سبزینه برگ نیز به وسیله دستگاه طیف‌سنج نوری (اسپکتروفوتومتر) از روش (Arnon (1949) اندازه‌گیری شد. محتوای پرولین برگ نیز با روش (Bates et al. (1973) محاسبه شد.

پروتئین محلول برگ با روش (Bradford (1976) تعیین شد. بدین منظور ۱ میلی‌لیتر از محلول معرف به همراه ۱۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی پس از

مراحل هشت برگی و ظهور کاکل نسبت به شرایط محلول‌پاشی با آب مقطر در همین شرایط افزایش دهد. همچنین نتایج نشان داد که بالاترین میزان عملکرد زیست توده مربوط به سطح آبیاری معمول بود (شکل ۲). قطع آبیاری در مراحل مختلف رشد سبب کاهش عملکرد زیست توده شد. کمترین میزان عملکرد زیست توده مربوط به قطع آبیاری در مراحل هشت برگی و ظهور کاکل بود. تنش کم‌آبی سبب کاهش ۱۱ تا ۴۰ درصدی کاهش زیست‌توده بین ژنوتیپ‌های مختلف ماش می‌شود. که این موضوع به دلیل کاهش تبادل گازی برگ‌ها در شرایط تنش کم‌آبی است (Anyia & Herzog, 2004). همچنین بیشترین عملکرد زیست توده نیز مربوط به کاربرد اسید آسکوربیک با غلظت ۱۰۰ قسمت در میلیون بود (شکل ۳). افزون بر این مشخص شده است که اسید آسکوربیک مجموعه‌ای از نقش‌ها را در رشد گیاهان مانند تقسیم و بزرگ شدن یاخته، توسعه دیواره یاخته‌ای و دیگر فرآیندهای نموی بازی می‌کند (Pignocchi & Foyer, 2003). بنابراین محلول‌پاشی اسید آسکوربیک می‌تواند عملکرد زیست توده گیاه را از راه افزایش ارتفاع بوته و سطح برگ گیاه پس از خروج از شرایط تنش افزایش دهد. همچنین نتایج نشان داد که قطع آبیاری در مراحل مختلف رشد سبب کاهش شاخص برداشت می‌شود. در شرایط قطع آبیاری عملکرد اقتصادی از راه کاهش عامل‌های مؤثر در رشد مانند سرعت رشد محصول و اندازه نهایی برگ کاهش یافته و همین امر سبب کاهش شاخص برداشت می‌شود. محلول‌پاشی با اسید آسکوربیک در مراحل مختلف قطع آبیاری توانست از راه افزایش عملکرد اقتصادی سبب افزایش شاخص برداشت شود (جدول ۳). همان‌گونه که در جدول مقایسه میانگین‌های اثر متقابل دیده می‌شود (جدول ۳) قطع آبیاری در مرحله هشت برگی، ظهور کاکل و در مراحل هشت برگی و ظهور کاکل به ترتیب سبب کاهش درصد روغن به میزان ۹، ۲۱ و ۳۳ درصد نسبت به شرایط آبیاری معمول شد. کاهش عملکرد روغن می‌تواند ناشی از کاهش وزن دانه‌ها است. Rudra naik *et al.* (2001) در نتایج بررسی‌های خود گزارش

میکرولیتر آب مقطر، ۲۰۰ میکرولیتر تری‌کلرواستیک اسید ۱۰ درصد، ۲۰۰ میکرولیتر H_3PO_4 ۴۴ درصد، ۲۰۰ میکرولیتر بی‌پیریدیل ۴ درصد (حل شده در اتانول ۷۰ درصد) و ۱۰۰ میکرولیتر $FeCl_3$ ۳ درصد. پس از آن نمونه‌ها به مدت ۶۰ دقیقه در دمای ۳۰ درجه سلسیوس قرار داده شدند پس از گذشت ۳۰ دقیقه جذب نمونه‌ها در طول موج ۵۲۵ نانومتر برای محاسبه غلظت آسکوربات خوانده شد. غلظت آسکوربات برحسب میلی‌گرم بر گرم بافت تازه برگ با استفاده از منحنی استاندارد تعیین شد. در نهایت داده‌های آزمایشی با استفاده از نرم افزار SAS تجزیه واریانس شد (SAS Institute, 2002). به منظور مقایسه میانگین‌ها نیز از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح ۵ درصد استفاده شد.

نتایج و بحث

تأثیر آبیاری در مراحل مختلف رشد و محلول‌پاشی با اسید آسکوربیک بر ویژگی‌های مورد بررسی در سطح ۱ درصد معنی‌دار شد. همچنین اثر متقابل آبیاری در مراحل مختلف رشد در محلول‌پاشی با اسید آسکوربیک نیز بر همه ویژگی‌های مورد بررسی به جز عملکرد زیست توده و میزان فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز در سطح ۱ درصد معنی‌دار شد (جدول ۲). همچنین با توجه به جدول مقایسه میانگین اثر متقابل (جدول ۳)، قطع آبیاری در مرحله هشت برگی، ظهور کاکل و در مراحل هشت برگی و ظهور کاکل به ترتیب سبب کاهش عملکرد دانه به میزان ۳۰، ۴۷ و ۵۹ درصد نسبت به شرایط آبیاری معمول شد. کاهش در میزان عملکرد دانه در نتیجه کاهش در اجزای عملکرد به‌ویژه وزن دانه‌ها پیش‌ازین نیز گزارش شده است (Unger, 1992). از سویی دیگر کاهش عملکرد دانه نیز می‌تواند در نتیجه کاهش میزان نورساخت یا فتوسنتز (Hegedus *et al.*, 2001) و کاهش شمار دانه در بلال است. محلول‌پاشی با اسید آسکوربیک با غلظت ۱۰۰ قسمت در میلیون توانست میزان عملکرد دانه را به ترتیب به میزان ۱۲، ۲۸ و ۳۲ درصد در شرایط قطع آبیاری در مرحله هشت برگی، مرحله ظهور کاکل و همچنین در مراحل قطع آبیاری در

دیگر ارتباط زیادی با طول مدت تنش و شدت آن دارد (Rensburg & Kruger, 1994; Kyparissis *et al.*, 1995; Zhang & Kirkham, 1996). تغییر در محتوای سبزینه در شرایط تنش خشکی ممکن است که در نتیجه پراکسیداسیون آن‌ها توسط گونه‌های فعال اکسیژن باشد (Zhang *et al.*, 2003) از آنجایی که اسید آسکوربیک به‌عنوان یک پاداکسنده عمل می‌کند، در این شرایط می‌تواند سبب خنثی‌سازی گونه‌های فعال اکسیژن شده و از آسیب آن‌ها به سبزینه جلوگیری کند و سبب افزایش محتوای آن شود. از سوی دیگر نتایج نشان داد که بالاترین محتوای پرولین در برگ مربوط به تیماری است که در شرایط قطع آبیاری در مراحل هشت برگی و ظهور کاکل با اسید آسکوربیک محلول پاشی نشده بود. از سوی دیگر محلول پاشی اسید آسکوربیک با غلظت ۱۰۰ قسمت در میلیون محتوای پرولین برگ را کاهش داد (جدول ۳). پرولین یک اسید آمینه قابل حل در آب است. تجمع پرولین یک پاسخ متابولیکی گیاه در برابر شرایط سخت است و به‌عنوان یک نشانگر سازگاری نسبت به شرایط دشوار به شمار می‌آید (Bian *et al.*, 1988). پرولین‌ها همچنین غشاء را در برابر غلظت‌های بالای یون‌ها محافظت کرده و ممکن است که به‌عنوان جاروب گر گونه‌های فعال اکسیژن عمل کنند (Kavi *et al.*, 1995). در این بررسی قطع آبیاری در مراحل مختلف رشد، محتوای پرولین برگ را افزایش داد، درحالی‌که محلول پاشی با اسید آسکوربیک توانست گونه‌های فعال اکسیژن را خنثی کرده و از این روش از زیست‌ساخت (بیوسنتز) پرولین اضافی در برگ‌ها جلوگیری کند. همچنین به نظر می‌رسد که کاربرد اسید آسکوربیک با بهبود شرایط رشد و تسکین اثر تنش کم‌آبی بر تنظیم اسمزی یاخته اثر گذاشته و تولید پرولین به‌منظور تنظیم فشار اسمزی یاخته را کاهش داده است. غلظت این متابولیت به‌طور معمول در پاسخ به تنش کمبود آب افزایش می‌یابد (Nandwal *et al.*, 2000). در این پژوهش گیاهان تحت تأثیر قطع آبیاری در مراحل مختلف رشد افزایش معنی‌داری را در میزان فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز نشان دادند (شکل ۴). این آنزیم به‌عنوان

کرده‌اند که تنش کمبود آب سبب کاهش وزن دانه‌ها و درصد روغن دانه گلرنگ می‌شود. کاربرد اسید آسکوربیک با غلظت ۱۰۰ قسمت در میلیون سبب افزایش درصد روغن دانه شد (جدول ۳). از آنجایی که عملکرد روغن از حاصلزرب عملکرد دانه در درصد روغن به دست می‌آید، بنابراین عملکرد روغن با قطع آبیاری در مراحل مختلف رشد کاهش یافته و با محلول پاشی اسید آسکوربیک با غلظت ۱۰۰ قسمت در میلیون در شرایط قطع آبیاری در مراحل مختلف رشد افزایش می‌یابد. همچنین نتایج نشان داد که بالاترین درصد پروتئین دانه متعلق به تیمارهای آبیاری کامل بود (جدول ۳). درصد پروتئین دانه در اثر قطع آبیاری در مراحل مختلف رشد کاهش یافت. به‌طوری‌که کمترین درصد پروتئین در تیمار قطع آبیاری در مراحل هشت برگی و ظهور کاکل در بلال به‌طور توأم مشاهده شد. کمبود رطوبت سبب تسریع در رسیدگی گیاه شده و سبب کاهش دوام سطح برگ در گیاه نیز می‌شود. در این شرایط با کاهش رطوبت در دسترس گیاه انتقال دوباره نیتروژن از برگ‌ها به سمت مقصدهای فیزیولوژیک نیز کاهش یافته و سبب کاهش درصد پروتئین در دانه‌ها می‌شود. کاهش در محتوای پروتئین دانه در نتیجه تنش کم‌آبی نیز توسط Germchi *et al.* (2010) گزارش شده است. محلول پاشی با اسید آسکوربیک توانست درصد پروتئین دانه را نسبت به تیمار بدون محلول پاشی در همین شرایط افزایش دهد. از آنجایی که عملکرد پروتئین دانه از حاصلزرب عملکرد دانه در درصد پروتئین به دست می‌آید، بنابراین عملکرد پروتئین با قطع آبیاری در مراحل مختلف رشد کاهش یافته و با محلول پاشی اسید آسکوربیک با غلظت ۱۰۰ قسمت در میلیون در شرایط قطع آبیاری در مراحل مختلف رشد افزایش یافت (جدول ۳). همچنین قطع آبیاری در مراحل مختلف رشد محتوای سبزینه برگ را کاهش داد. محلول پاشی اسید آسکوربیک با غلظت ۱۰۰ قسمت در میلیون در همین شرایط سبب افزایش محتوای سبزینه برگ شد (جدول ۳). محتوای سبزینه برگ یک عامل مهم در ظرفیت نورساخت به شمار می‌آید. کاهش یا تغییر در سطوح سبزینه در گونه‌های

گیاه شد به طوری که کمترین میزان مربوط به سطح قطع آبیاری هم در مرحله هشت برگی و هم ظهور کاکلها به طور توأم بود. گیاه در این تیمار بالاترین میزان تنش را دیده و کاهش محتوای آسکوربات در نتیجه کاربرد آن برای رویارویی با تنش مؤید همین موضوع است. کاهش آسکوربات در نتیجه تنش در گندم (Zhang & Kirkham, 1994) و ذرت (Jiang & Zhang, 2002) پیشتر گزارش شده است. در شرایط تنش های اکسایشی آسکوربات به وسیله گونه های فعال اکسیژن به دهیدروآسکوربات اکسید شده و به این ترتیب در پاک سازی گونه های فعال اکسیژن نقش ایفا می کند (شکل ۶). همچنین محلول پاشی با اسید آسکوربیک سبب افزایش میزان آسکوربات در گیاه شد به طوری که بالاترین میزان آسکوربات در گیاه در غلظت ۱۰۰ قسمت در میلیون به دست آمد (شکل ۷).

یکی از آنزیم های سامانه پاداکسندگی در گیاه عمل می کند. به این ترتیب که رادیکال آزاد O_2^- را به H_2O_2 تبدیل کرده و سپس این ترکیب به وسیله آنزیم کاتالاز به اکسیژن و آب تبدیل می شود (Hegedus *et al.*, 2001). افزایش در میزان فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز در گونه های مقاوم برنج با سماتی توسط محققان دیگری نیز گزارش شده است (Singh *et al.*, 2007). محلول پاشی با اسید آسکوربیک میزان فعالیت این آنزیم را کاهش داد (شکل ۵). این کاهش فعالیت آنزیم در گیاهان تنش دیده را می توان به تأثیر پاداکسندگی اسید آسکوربیک در خنثی سازی مستقیم یون سوپر اکسید نسبت داد (Noctor & Foyer, 1998) که همین امر منجر به کاهش فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز می شود. از سویی قطع آبیاری در مراحل مختلف رشد سبب کاهش آسکوربات در

جدول ۲. جدول تجزیه واریانس ویژگی های مورد بررسی ذرت در شرایط قطع آبیاری در مراحل مختلف رشد و محلول پاشی با اسید آسکوربیک

Table 2. Analysis of variance on corn attributes affected by irrigation withholding in different growth stages and foliar application of ascorbic acid

S.O.V	d.f	Seed yield	Biomass yield	Harvest index	Oil percentage	Oil yield	Protein percentage	Protein yield	Total chlorophyll	Proline	Superoxide dismutase	Ascorbate
R	2	18365025.00	39380033.30	108.46	0.48	42055.44	0.001	99999.17	0.009	0.00001	101.85	0.0005
Water stress (w)	3	61146718.50**	56771577.80**	850.02**	2.25**	230823.54**	2.52**	506791.70**	119.40**	0.0007**	103213.99**	0.006**
Error (a)	6	441488.00	1938022.20	2.96	0.05	4089.22	0.007	3796.48	0.11	0.00001	34.89	0.001
Ascorbic acid (a)	2	7740158.30**	3387225.00**	132.99**	0.78**	32614.03**	0.96**	69732.11**	40.41**	0.0005**	132109.52**	0.06**
w×a	6	508932.40**	260380.60ns	14.26**	0.20**	2880.93**	0.18**	4552.32**	5.66**	0.0001**	3319.34ns	0.001ns
Error (b)	16	114259.70	360683.30	2.38	3.62	311.44	0.001	708.01	0.03	0.00001	3865.37	0.005
C.V (%)		4.27	2.70	3.76	3.62	4.69	0.55	4.50	0.61	15.99	7.70	19.11

*, **, ns: به ترتیب معنی دار در سطح ۵، ۱ درصد و بدون اختلاف معنی دار.

*, **, ns: Significant at 0.05 and 0.01 probability levels, and nom significant, respectively.

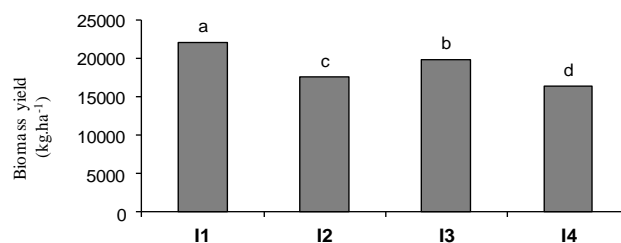
جدول ۳. مقایسه میانگین های اثر متقابل قطع آبیاری در مراحل مختلف رشد محلول پاشی اسید آسکوربیک روی برخی از ویژگی های ذرت

Table 3. Interaction between irrigation withholding in different growth stages and foliar application of ascorbic acid on some attributes of corn

Irrigation	Ascorbic acid ppm	Seed yield (kg.ha ⁻¹)	Harvest index (%)	Oil percentage (%)	Oil yield (kg.ha ⁻¹)	Protein percentage (%)	Protein yield (kg.ha ⁻¹)	Total chlorophyll (mg.lit ⁻¹)	Proline (mg.g ⁻¹ FW)
Complete Irrigation	0	11143.3a	50.97ab	5.20a	579.63a	8.04a	897.28a	36.65b	0.013ef
	50	11166.7a	50.92ab	5.13ab	574.18a	8.00a	898.05a	36.71b	0.016def
	100	11866.7a	53.06a	5.11ab	611.48a	7.95a	948.72a	37.33a	0.010f
Irrigation withholding at 8-leaf Stage	0	7756.7c	45.37d	4.73cd	367.66c	7.15e	554.89c	32.48e	0.023d
	50	8180.0bc	46.63cd	4.83bcd	395.25bc	7.25d	593.05c	32.99d	0.020de
	100	8793.3b	48.88bc	4.96abc	436.44b	7.67b	674.65b	34.43c	0.020de
Irrigation withholding at silks appearance stage	0	5803.3d	29.87f	4.13fg	239.99de	6.79g	394.91ef	27.35h	0.040b
	50	6250.0d	31.06f	4.33ef	269.92d	6.90f	431.83de	29.42f	0.030c
	100	8080.0bc	39.67e	4.86abcd	392.90bc	7.40c	599.06c	32.75de	0.020de
Irrigation withholding at both 8-leaf and silks appearance stages	0	4463.3e	28.50f	3.50h	155.41f	6.29h	281.02g	26.22i	0.046a
	50	4946.7e	30.05f	3.90g	192.99ef	6.71g	332.15fg	27.94g	0.033c
	100	6550.0d	37.90e	4.60de	299.44d	7.41c	485.72d	32.50e	0.020de

میانگین های داده شده در ستون که حرف های مشترک دارند، تفاوتشان از نظر آماری در سطح ۵ درصد دانکن معنی دار نیست.

Treatment means followed by the same letter within each common are not significantly different ($P < 0.05$) according to Duncan's Multiple Range test.

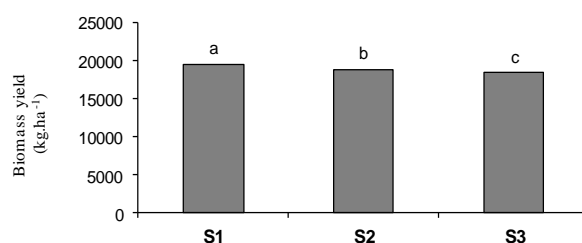


شکل ۲. اثر اصلی قطع آبیاری بر عملکرد زیست توده.

I1, I2, I3 & I4: قطع آبیاری در مرحله هشت برگ، قطع آبیاری در مرحله ظهور کاکل و قطع آبیاری در مراحل هشت برگ و ظهور کاکل در بلال به طور توأم.

Figure 2. The effect of irrigation withholding on bioma yield.

I1, I2, I3 & I4: Complete Irrigation, Irrigation withholding at 8 leaf, Irrigation with holding at silks appearance stage & Irrigation with holding at 8 leaf and silks appearance stage.

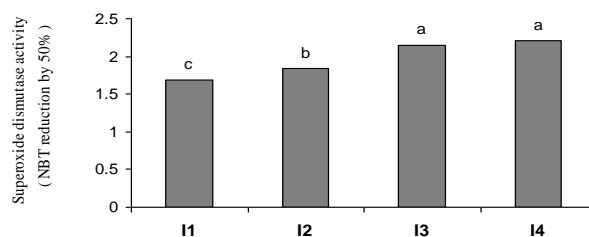


شکل ۳. تأثیر محلول پاشی اسید آسکوربیک بر عملکرد زیست توده

S1, S2 & S3: ۰، ۵۰ و ۱۰۰ قسمت در میلیون محلول پاشی اسید آسکوربیک

Figure 3. The effect of ascorbic acid on biomass yield.

S1, S2 & S3: 0ppm, 50ppm & 100ppm foliar application of ascorbic acid

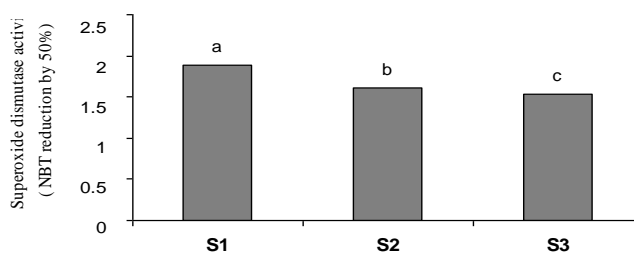


شکل ۴. اثر اصلی قطع آبیاری بر فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز

I1, I2, I3 & I4: قطع آبیاری در مرحله هشت برگ، قطع آبیاری در مرحله ظهور کاکل و قطع آبیاری در مراحل هشت برگ و ظهور کاکل در بلال به طور توأم

Figure 4. The effect of irrigation withholding on super oxide dismutase activity

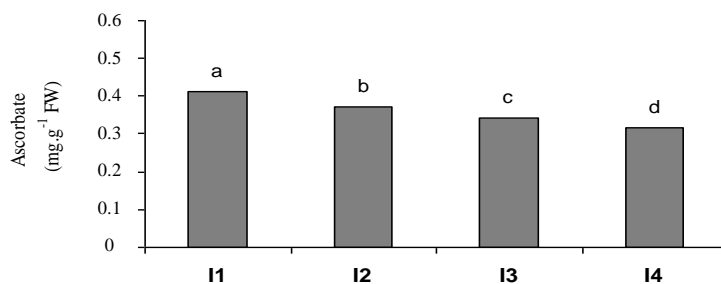
I1, I2, I3 & I4: Complete Irrigation, Irrigation withholding at 8 leaf, Irrigation with holding at silks appearance stage & Irrigation with holding at 8 leaf and silks appearance stage.



شکل ۵. تأثیر محلول پاشی اسید آسکوربیک بر فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز

S1, S2 & S3: ۰، ۵۰ و ۱۰۰ قسمت در میلیون محلول پاشی اسید آسکوربیک

Figure 5. The effect of ascorbic acid on super oxide dismutase activity

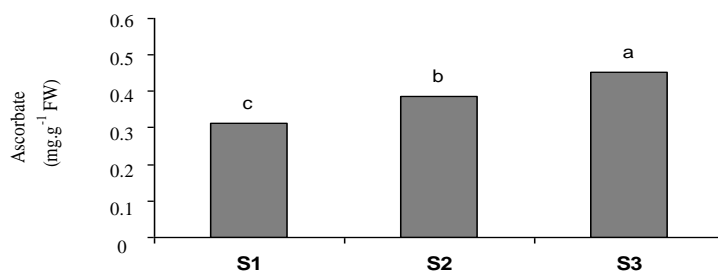


شکل ۶. اثر اصلی قطع آبیاری بر میزان آسکوربات

I1, I2, I3 & I4: قطع آبیاری در مرحله هشت برگی، قطع آبیاری در مرحله ظهور کاکل و قطع آبیاری در مراحل هشت برگی و ظهور کاکل در بلال به طور توأم

Figure 6. The effect of ascorbic acid on leaf Ascorbate

I1, I2, I3 & I4: Complete Irrigation, Irrigation with holding at 8 leaf, Irrigation with holding at silks appearance stage & Irrigation with holding at 8 leaf and silks appearance stage.



شکل ۷. تأثیر محلول پاشی اسید آسکوربیک بر میزان آسکوربات.

S1, S2 & S3: ۰، ۵۰ و ۱۰۰ قسمت در میلیون محلول پاشی اسید آسکوربیک

Figure 7. The effect of ascorbic acid on leaf Ascorbate

S1, S2 & S3: 0ppm, 50ppm&100ppm foliar application of ascorbic acid.

شرایط نشد. در رابطه با محتوای پرولین برگ و همچنین آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز نیز قطع آبیاری در مراحل مختلف رشد سبب افزایش آن‌ها شد. به طور کلی می‌توان نتیجه گرفت محلول پاشی با اسید آسکوربیک به عنوان یک پاداکسنده سبب کاهش تأثیر زیانبار ناشی از تولید گونه‌های فعال اکسیژن در گیاه شد و سبب بهبود رشد گیاه شد. بنابراین در این شرایط گیاه اسید آسکوربیک را به عنوان یک پاداکسنده نسبت به افزایش فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز ترجیح داده و از این رو می‌توان پیشنهاد کرد که کاربرد این ماده در گیاهان تنش دیده می‌تواند سبب کاهش و یا رفع آن شده و سبب بهبود عملکرد در گیاهان در شرایط تنش باشد.

نتیجه‌گیری کلی

به طور کلی می‌توان نتیجه گرفت که قطع آبیاری در مراحل مختلف رشد سبب کاهش عملکرد دانه، شاخص برداشت، درصد روغن و پروتئین دانه، عملکرد روغن و پروتئین دانه و محتوای سبزینه برگ شد به طوری که کمترین میزان این ویژگی‌ها مربوط به تیمار قطع آبیاری در مراحل هشت برگی و هم ظهور گل کاکل به صورت توأم بود. محلول پاشی با اسید آسکوربیک با غلظت ۱۰۰ قسمت در میلیون افزایش ویژگی‌های یاد شده شد. تیمار محلول پاشی با اسید آسکوربیک با غلظت ۵۰ قسمت در میلیون سبب افزایش این ویژگی‌ها نسبت به تیمار شاهد در همین

REFERENCES

1. Agarwal, S. & Pandey, V. (2004). Antioxidant enzyme responses to NaCl stress in *Cassia angustifolia*. *Plant Biology*, 48, 555-560.
2. Anyia, A. O. & Herzog, H. (2004). Water-use efficiency, leaf area and leaf gas exchange of cowpeas under mid-season drought. *European Journal of Agronomy*, 20, 327-339.
3. Arnon, D. I. (1949). Copper enzymes in isolated chloroplasts, polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. *Plant Physiology*, 24, 1-150.

4. Athar, H.R., Khan, A. & Ashraf, M. (2008). Exogenously applied ascorbic acid alleviates salt-induced oxidative stress in wheat. *Environmental and Experimental Botany*, 63, 224-231.
5. Bannayan, M., Nadjafi, F., Azizi, M., Tabrizi, L. & Rastgoo, M. (2008). Yield and seed quality of *Plantago ovata* and *Nigella sativa* under different irrigation treatments. *Industrial Crops and Products*, 27, 11-16.
6. Bates, L. S., Waldern, R. P. & Teave, I. D. (1973). Rapid determination of free proline for water stress studies. *Plant and Soil*, 39, 205-207.
7. Bian, Y. M., Chen, S. Y., Liu, S. K. & Xie, M. Y. (1988). Effects of HF on praline of some plants. *Plant Physiology*, 6, 19-21.
8. Bradford, M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72, 248-254.
9. Chen, W. P., Li, P. H. & Chen, T. H. H. (2000). Glycine betaine increases chilling tolerance and reduces chilling-induced lipid peroxidation in *Zea mays* L. *Plant Cell. Cell Environ*, 23, 609-618.
10. Dolatabadian, A., Modarres Sanavy, S. A. M. & Sharif, M. (2009). Alleviation of Water Deficit Stress Effects by Foliar Application of Ascorbic Acid on *Zea mays* L. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 195, 347-355.
11. Dolatabadian, A., Modarres Sanavy, S. A. M. & Chashmi, N. A. (2008). The Effects of Foliar Application of Ascorbic Acid (Vitamin C) on Antioxidant Enzymes Activities, Lipid Peroxidation and Proline Accumulation of Canola (*Brassica napus* L.) under Conditions of Salt Stress. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 194(3), 206-213.
12. Germchi, S., Shekari, F., Hassanpooraghdam, M. B., Khorshidi, B. & Shekari, F. (2010). Water deficit stress affects growth and some biochemical characteristics of rapeseed (*Brassica napus* L.). *Journal of Food, Agriculture & Environment*, 8(3&4), 1126-1129.
13. Giannopolitis, C. & Ries, S. (1977). Superoxide dismutase occurrence in higher plant. *Plant Physiology*, 59, 309-314.
14. Hagar, H., Ueda, N. & Shal, S. V. (1996). Role of reactive oxygen metabolites in DNA damage and cell death in chemical hypoxic injury LLC-PK1 cells. *American Journal of Physiology*, 271, 209-215.
15. Hegedus, A., Erdei, S. & Horvath, G. (2001). Comparative studies of H₂O₂ detoxifying enzymes in green and greening barley seedlings under cadmium stress. *Plant Science*, 160, 1085-1093.
16. Jiang, M. & Zhang, J. (2001). Effect of abscisic acid on active oxygen species, antioxidative defense system and oxidative damage in leaves of maize seedlings. *Plant Cell Physiology*, 42, 1265-1273.
17. Jiang, M. Y. & Zhang, J. H. (2002). Role of abscisic acid in water stress-induced antioxidant defense in leaves of maize seedlings. *Free Radical Research*, 36, 1001-1015.
18. Karpinski, S., Gabrys, H., Mateo, A., Karpinska, B. & Mullineaux., P. M. (2003). Light perception in plant disease defense signaling. *Current Opinion in Plant Biology*, 6, 390-396.
19. Kavi Kishor, P. B., Hong, Z. L., Miao, G. H., HU., C. A. A. & Verma, D. P. S. (1995). Over expression of 1-pyrroline5-carboxylate synthetase increases praline production and confers osmotolerance in transgenic plants. *Plant Physiology*, 108, 1378-1394.
20. Kyparissis, A., Petropoulun, Y. & Manetas, Y. (1995). Summer survival of leaves in a soft-leaved shrub (*Phlomis fruticosa* L., Labiatae) under Mediterranean field conditions: Avoidance of photoinhibitory damage through decreased chlorophyll contents. *Journal of Experimental Botany*, 461, 1825-1831.
21. Law, M. Y., Charles, S. A. & Halliwell, B. (1983). Glutathione and ascorbic acid in spinach (*Spinacia oleracea*) chloroplast. The effect of hydrogen peroxide and of paraquat. *Biochemical Journal*, 253, 109-116.
22. Nandwal, A. S., Godara, M., Sheokand, S., Kamboj, D. V., Kundu, B. S. & Kuhad, M. S. (2000). Salinity induced changes in plant water status nodule functioning and ionic distribution in phenotypically differing genotype of *Vigna radiate* L. *Journal of Plant Physiology*, 156, 352-359.
23. Noctor, G. & Foyer, C. H. (1998). Ascorbate and glutathione: Keeping active oxygen under control. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 49, 249-279.
24. Pignocchi, C. & Foyer, C. H. (2003). Apoplastic ascorbate metabolism and its role in the regulation of cell signaling. *Current Opinion in Plant Biology*, 6, 379-389.
25. Rensburg, L. V. & Kruger, G. H. J. (1994). Evaluation of components of oxidative stress metabolism for use selection of drought tolerant cultivars of *Nicotiana tabacum* L. *Journal of Plant Physiology*, 143, 730-737.
26. Rudra naik, V., Gulganji, G. G., Mallapupr, C. P. & Raju, S. G. (2001). Association analysis in safflower under rainfed condition. *5th International Safflower Conference, Montana, USA*, July, 23-27.
27. SAS Institute Inc. (2002). The SAS System for Windows, Release 9.0. *Statistical Analysis Systems Institute, Cary, NC, USA*.

28. Shalata, A. & Neumann, P. M. (2001). Exogenous ascorbic acid (vitamin C) increases resistance to salt stress and reduces lipid peroxidation. *Journal of Experimental Botany*, 52, 2207-2211.
29. Singh, M. P. & Singh, D. K. & Rai, M. (2007). Assessment of growth, physiological and biochemical parameters and activities of antioxidative enzymes in salinity tolerant and sensitive basmati rice varieties. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 193, 398-412.
30. Unger, P. W. (1992). Time and frequency of irrigation effects on sunflower production and water use. *Soil Soil Science Society of America Journal*, 46, 1072-1076.
31. Zhang, J. X. & Kirkham, M. B. (1994). Drought stress-induced changes in activities of superoxide dismutase, catalase, and peroxidase in wheat species. *Plant Cell Physiology*, 35, 785-79.
32. Zhang, J. X. & Kirkham, M. B. (1996). Lipid peroxidation in sorghum and sunflower seedlings as affected by ascorbic acid, benzoic acid and propyl gallate. *Journal of Plant Physiology*, 149, 489-493.
33. Zhang, S., Weng, J., Pan, J., Tu, T., Yao, S. & Xu, C. (2003). Study on the photo generation of superoxide radicals in Pho tosystem II with EPR spin trapping techniques. *Photosynthesis Research*, 75, 41-48.
34. Zhu, J. K. (2000). Genetic analysis of plant salt tolerance using Arabidopsis, *Plant Physiology*, 124, 941-948.