

## Evaluation of photosynthetic and biochemical characteristics of oilseed rape under drought stress and MoO<sub>3</sub> nanoparticles application

M. Rostami Hir<sup>1, 2</sup>, P. Sheikhzadeh<sup>3\*</sup>, S. Khomari<sup>4</sup>, N. Zare<sup>4</sup>

1. Ph.D. Student of Agronomy, Department of Plant Production and Genetics, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Mohaghegh Ardabili University, Ardabil, Iran

2. Lecturer at Ardabil University of Applied Sciences, Ardabil, Iran

3. Associate Professor, Department of Plant Production and Genetics, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran

4. Professor, Department of Plant Production and Genetics, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran

Received 21 August 2021; Accepted 5 January 2022

### Extended abstract

#### Introduction

Oilseed rape (*Brassica napus* L.) is one of the most critical oilseed plants ranked third in oil production after soybeans and palm. Drought stress, especially at the end of the growing season, is the most critical environmental stress affecting the growth, development, and production of crop plants. The development of practical strategies for increasing drought tolerance is crucial to sustaining crop production, particularly in arid and semi-arid regions. The utilization of micronutrients such as molybdenum is one of the best strategies to increase drought stress tolerance in plants. This micronutrient is one of the most valuable and practical approaches for improving plant growth and plant adaptation under drought-stress conditions. The present study aimed to investigate the effect of foliar application of molybdenum oxide nanoparticles on the photosynthetic indices and biochemical traits in oilseed rape under end-season drought stress conditions.

#### Materials and methods

To investigate the effect of molybdenum oxide nanoparticles on the photosynthetic indices, some biochemical traits, and grain yield of winter oilseed rape under the end-season drought stress, a split-plot experiment based on randomized complete block design (RCBD) was conducted with three replications at a research farm station of the University of Mohaghegh Ardabili in 2018-2019. The experimental treatments included irrigation (regular irrigation until the end of the season (control) and omitting irrigation from the flowering stage) as the main plots and molybdenum oxide nanoparticles foliar application (0 (control), 25, and 50 mg.L<sup>-1</sup>) as sub-plots. Drought stress was applied through irrigation stopping at the flowering stage (50% flowering). One week after the second spraying, the chlorophyll fluorescence including minimum fluorescence (F<sub>o</sub>), maximum fluorescence (F<sub>m</sub>), variable fluorescence (F<sub>v</sub>), and maximum quantum efficiency of photosystem II (F<sub>v</sub>/F<sub>m</sub>) was measured. Furthermore, chlorophyll pigments (chlorophyll a, chlorophyll b, and total chlorophyll), carotenoid, and proline content, and the activity of antioxidant enzymes (peroxidase and catalase) were measured in the leaf samples of treated and control plants. Analysis of variance and comparison of means was carried

\* Corresponding author: Parisa Sheikhzadeh; E-Mail: [sheikhzadehmp@gmail.com](mailto:sheikhzadehmp@gmail.com)



out using SAS 9.1 software. The means were compared using Duncan's Multiple Range (DMRT) tests at the 5% probability level.

### Results and discussion

The results showed that irrigation and foliar application of molybdenum oxide nanoparticles treatment significantly influenced the photosynthetic and biochemical properties of winter oilseed rape. Furthermore,  $F_o$ ,  $F_v/F_m$ , proline content, and grain yield were significantly influenced by irrigation  $\times$  molybdenum oxide nanoparticles interaction. The end-season drought stress significantly decreased the chlorophyll a, b, and total chlorophyll, carotenoid,  $F_m$ ,  $F_v$ ,  $F_v/F_m$ , and grain yield and increased  $F_o$ , the activity of peroxidase and catalase enzymes, and the proline content in winter oilseed rape leave. Chlorophyll pigments,  $F_m$ ,  $F_v$ ,  $F_v/F_m$ , proline content, and peroxidase and catalase enzyme activity in oilseed rape leaves were increased with the application of different concentrations of molybdenum oxide nanoparticles. Foliar spraying with 25 mg.l<sup>-1</sup> molybdenum oxide nanoparticles caused a significant increase in the content of the photosynthetic pigment, including chlorophyll a, b, total chlorophyll, and carotenoid content (about 25.81, 24.88, 25.57, and 17.78 present, respectively) as compared to the control treatment. Under regular irrigation and drought stress conditions, molybdenum oxide nanoparticles improved the maximum quantum efficiency of photosystem II and grain yield by decreasing the  $F_o$  (about 11.37%) and increasing the  $F_v$  (about 7.22%). The highest activity of the catalase and peroxidase enzymes was obtained with the application of 25 mg.l<sup>-1</sup> molybdenum oxide nanoparticles, which was significantly higher than that of the control. Under drought stress conditions, proline content in the foliar sprayed plants with 25 and 50 mg.l<sup>-1</sup> of molybdenum oxide nanoparticles was significantly higher than that of the control plants.

### Conclusion

The results of the present study showed that end-season drought stress significantly reduced the photosynthetic pigments and chlorophyll fluorescence including  $F_m$ ,  $F_v$ , and  $F_m/F_v$ , and increased  $F_o$  in oilseed rape plants. Molybdenum oxide nanoparticle reduces oxidative damage of drought stress, by improving the enzymatic (activity of catalase and peroxidase enzymes) and non-enzymatic (metabolites) antioxidant systems. Furthermore, molybdenum oxide nanoparticles increased the content of the photosynthetic pigment and decreased the minimum fluorescence ( $F_o$ ) of chlorophyll under drought stress, which ultimately significantly increase the maximum quantum efficiency of photosystem II. Generally, although the foliar application of different concentrations of molybdenum oxide nanoparticles reduced the damage caused by the end-season drought stress oilseed rape, the highest increase in the photosynthetic and biochemical traits was obtained with 25 mg.l<sup>-1</sup> molybdenum oxide nanoparticles. Therefore, the application of 25 mg.L<sup>-1</sup> molybdenum oxide nanoparticles on oilseed rape plants can be used for reducing the destructive effects of drought stress and increasing crop tolerance to end-season drought stress.

**Keywords:** Antioxidant enzymes, Chlorophyll fluorescence, Nanoparticles, Photosynthetic pigments

## بررسی شاخص‌های فتوسنتزی و بیوشیمیایی کلزا در پاسخ به نانوآکسید مولیبدن و رژیم‌های مختلف کم‌آبیاری

میترا رستمی‌هیر<sup>۱</sup>، پریسا شیخ‌زاده<sup>۲\*</sup>، سعید خماری<sup>۳</sup>، ناصر زارع<sup>۴</sup>

۱. دانشجوی دکتری زراعت، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران
۲. مربی دانشگاه جامع علمی کاربردی اردبیل، اردبیل، ایران
۳. دانشیار، گروه تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران
۴. استاد، گروه تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران

مشخصات مقاله	چکیده
واژه‌های کلیدی:	به‌منظور بررسی اثر نانوآکسید مولیبدن بر شاخص‌های فتوسنتزی، صفات بیوشیمیایی و عملکرد کلزای پاییزه تحت تنش خشکی انتهای فصل، آزمایشی به‌صورت کرت‌های خردشده در قالب طرح پایه بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در سال زراعی ۹۸-۱۳۹۷ در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه محقق اردبیلی اجرا گردید. تیمارهای آزمایشی شامل آبیاری (آبیاری کامل و قطع آبیاری از مرحله گلدهی تا انتهای فصل) به‌عنوان کرت اصلی و محلول‌پاشی با نانوآکسید مولیبدن (صفر (شاهد)، ۲۵ و ۵۰ میلی‌گرم در لیتر) به‌عنوان کرت فرعی بودند. نتایج نشان داد که تنش خشکی موجب کاهش معنی‌دار میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی، فلورسانس بیشینه (F <sub>m</sub> )، فلورسانس متغیر (F <sub>v</sub> )، حداکثر کارایی کوانتومی فتوسیستم II (F <sub>v</sub> /F <sub>m</sub> ) و عملکرد دانه و افزایش فلورسانس کمینه (F <sub>0</sub> ) گردید. کاربرد ۲۵ میلی‌گرم در لیتر نانوآکسید مولیبدن سبب شد تا میزان کلروفیل a، b، کلروفیل کل و کاروتنوئید به ترتیب ۲۴/۸۸، ۲۵/۸۱ و ۲۵/۵۷ درصد نسبت به شاهد افزایش یابد. نانوآکسید مولیبدن از طریق کاهش ۱۱/۳۷ درصدی F <sub>0</sub> و افزایش F <sub>v</sub> (۷/۲۲ درصدی)، موجب بهبود حداکثر کارایی کوانتومی فتوسیستم II و عملکرد دانه در شرایط آبیاری کامل و تنش خشکی شد. بیشترین فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز با کاربرد ۲۵ میلی‌گرم در لیتر نانوآکسید مولیبدن حاصل شد که به‌طور معنی‌داری بیشتر از شاهد بود. در شرایط تنش خشکی، محتوای پروتئین بونه‌های محلول‌پاشی شده با غلظت‌های ۲۵ و ۵۰ میلی‌گرم در لیتر نانوآکسید مولیبدن به‌طور معنی‌داری بیشتر از شاهد بود. به‌طور کلی، اگرچه محلول‌پاشی بونه‌های کلزا با غلظت‌های مختلف نانوآکسید مولیبدن در کاهش خسارات ناشی از تنش خشکی انتهای فصل تأثیر مثبت و معنی‌داری داشتند، ولی بیشترین افزایش در صفات فتوسنتزی و بیوشیمیایی در تیمار ۲۵ میلی‌گرم در لیتر نانوآکسید مولیبدن حاصل شد.
تاریخ دریافت:	
۱۴۰۰/۰۵/۳۰	
تاریخ پذیرش:	
۱۴۰۰/۱۰/۱۵	
تاریخ انتشار:	
تابستان ۱۴۰۲	
۳۶۷-۳۴۲ (۲): ۱۶	

### مقدمه

بودن ۴۵-۴۰ درصد روغن و کنجاله آن نیز با حدود ۴۶/۵ درصد پروتئین، ۵/۳ درصد چربی و ۲/۱ درصد فسفر قابل جذب دارای ارزش غذایی فراوانی است (Moradyanfar, 2008).

تنش خشکی یکی از پارامترهای محیطی است که رشد، نمو و تولید گیاهان زراعی را تحت تأثیر قرار می‌دهد (Kottmann et al., 2016). فتوسنتز از اولین فرآیندهایی

کلزا با نام علمی *Brassica napus* L. یکی از مهم‌ترین گیاهان دانه روغنی در جهان است که بعد از سویا دومین گیاه دانه روغنی با تولید سالانه ۲۲/۷ میلیون تن روغن است (Wu et al., 2018). داشتن خصوصیات مناسب زراعی به‌ویژه امکان کشت پاییزه، قرار گرفتن در تناوب با غلات و سازگاری با شرایط مختلف آب و هوایی باعث شده تا دامنه پراکندگی کلزا گسترش یابد (Alyari et al., 2000). بذر کلزا با دارا

گیاهان در شرایط مساعد و نامساعد محیطی می‌شوند (Han- Wens et al., 2010)؛ اما باید این را در نظر داشت که اکسیدهای مختلف نانو در غلظت‌های مختلف اثر متفاوتی دارند و معمولاً در غلظت بالاتر، اثرات سمی نشان می‌دهند (Kahru and Dubourguier, 2010).

مولیبدن (Mo)، یکی از ریزمغذی‌های موردنیاز گیاهان است که با تأثیر ساختاری و کاتالیزوری خود بر فعالیت آنزیم‌هایی مانند نیترات رداکتاز، سولفیت‌اکسیداز، آلدئیداکسیداز و سنتز آسزیک‌اسید نقش مهمی در بهبود رشد و افزایش تحمل گیاهان به تنش‌های محیطی دارد (Imran et al., 2020). کاربرد مولیبدن در شرایط تنش خشکی باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مانند کاتالاز و پراکسیداز شده و از تخریب کلروفیل جلوگیری می‌کند (Wu et al., 2014). همچنین مولیبدن با تأثیر بر ساختار فسفولیکولپیدی بر پایداری غشای تیلاکوئیدها مؤثر است. به‌طوری‌که حفاظت غشای تیلاکوئیدی در برابر تنش‌های محیطی باعث کاهش فلورسانس کلروفیل و در نتیجه افزایش کارایی فتوسیستم II می‌شود (Han et al., 2020). افزایش محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی تحت تأثیر مولیبدن در گندم (Wu et al., 2014) و ذرت (Abdollahi et al., 2017) و افزایش میزان فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز و کاتالاز در سیب‌زمینی (Li and Li, 2002) و سویا (Liu et al., 2005) گزارش شده است.

با توجه به اهمیت کلزا در تولید روغن خوراکی، وجود محدودیت آب آبیاری در مراحل حساس رشد و نمو این گیاه (گلدهی و غلاف‌بندی) به دلیل تلاقی این مراحل با کاشت و آبیاری سایر محصولات کشاورزی در بیشتر مناطق کشور به‌کارگیری راهکارهای افزایش تحمل گیاهان به خشکی و تداوم تولید محصول به‌ویژه در مناطق خشک و نیمه‌خشک و استفاده بهینه از منابع محدود آب‌وخاک از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. با در نظر گرفتن نقش عنصر مولیبدن در مقابله با تنش خشکی و اثرات مثبت استفاده از نانوکودها، بر همین اساس در این پژوهش تلاش شده است تا ضمن بررسی تأثیر سطوح مختلف نانوآکسید مولیبدن در کاهش اثرات منفی ناشی از تنش کم‌آبی انتهای فصل، بهترین غلظت نانوآکسید مولیبدن تحت این شرایط از طریق سنجش شاخص‌های فتوسنتزی در کلزای پاییزه در شرایط مزرعه تعیین گردد.

است که تحت تأثیر تنش خشکی قرار می‌گیرد؛ زیرا این فرآیند به‌طور مستقیم با محتوای کلروفیل در ارتباط بوده و هرگونه تغییر در میزان آن بر فرآیند فتوسنتز مؤثر است (Ahmadi-Lahijani and Emam, 2016)؛ بنابراین، سنجش میزان کلروفیل به‌منظور ارزیابی فعالیت فتوسنتزی برگ و میزان آسیب وارده به آن مورد استفاده قرار می‌گیرد (Hosseinzadeh et al., 2016). جذب انرژی نورانی به‌وسیله رنگیزه‌های فتوسنتزی، موجب برانگیخته شدن الکترون موجود در کلروفیل برگ می‌شود که می‌تواند در فرآیند فتوسنتز مورد استفاده قرار گیرد یا انرژی آن به‌صورت گرما پراکنده شده و یا در طول موج بلندتری بازتاب کند که به آن فلورسانس کلروفیل گفته می‌شود. میزان فلورسانس کلروفیل می‌تواند توانایی گیاه در تحمل به تنش‌های محیطی، سالم بودن غشای تیلاکوئید، کارایی انتقال الکترون از فتوسیستم II به فتوسیستم I و میزان خسارتی که تنش به گیاه وارد می‌کند را به‌خوبی نشان دهد (Baker, 2008). اگر بیشتر انرژی، به‌صورت انرژی گرمایی یا فلورسانس ساطع شود، میزان واکنش‌های فتوشیمیایی کمتر شده در نتیجه تولید و ذخیره فرآورده‌های انتقال الکترون یعنی NADPH و ATP در واکنش‌های نوری فتوسنتز کاهش یافته و لذا حداکثر کارایی کوانتومی فتوسیستم II کم می‌شود (Rahbarian et al., 2013). در شرایط تنش کم‌آبی، فتولیز آب از طریق تجزیه مولکول آب باعث تولید الکترون می‌گردد، اما به دلیل اختلال در انتقال الکترون در فتوسیستم II، این الکترون‌های اضافی، باعث تولید اکسیژن فعال و خسارت به غشای سلولی از طریق پراکسیداسیون چربی‌ها و پروتئین‌ها شده و کاهش محتوای کلروفیل برگ را باعث می‌گردد (Bybordi et al., 2010). تنش خشکی همچنین موجب برهم زدن تعادل تغذیه‌ای در گیاهان می‌شود ولی با کاربرد عناصر غذایی از طریق خاک یا محلول‌پاشی می‌توان وضعیت رشدی گیاه را تا حدودی بهبود بخشید (Pinto et al., 2005). استفاده از عناصر غذایی در ابعاد نانو به دلیل داشتن اندازه کوچک و سطح تماس بالا می‌توانند سریع‌تر جذب شده و تأثیر بسزایی در افزایش عملکرد گیاهان زراعی داشته باشند (Ekinci et al., 2014). از مزایای استفاده از نانوکودها می‌توان به مواردی چون افزایش کارایی مصرف عناصر غذایی، تأثیر بالا، قابلیت انحلال‌پذیری زیاد و کنترل‌پذیری بیشتر اشاره نمود (Koocheki and Khajeh-Hosseini, 2008). نانوکودها همچنین باعث افزایش فتوسنتز، بیوماس و عملکرد

### مواد و روش‌ها

ارتفاع ۱۳۲۰ متر از سطح دریا) در سال زراعی ۹۸-۱۳۹۷ اجرا شد. بر اساس داده‌های هواشناسی در طول زمان اجرای آزمایش حداقل و حداکثر دما به ترتیب ۲ و ۱۵/۳ درجه سانتی‌گراد و مجموع بارندگی ۲۵۰/۱ میلی‌متر بود. خصوصیات شیمیایی و فیزیکی خاک منطقه مورد مطالعه در جدول ۱ ارائه شده است.

به‌منظور بررسی تأثیر محلول‌پاشی نانوآکسید مولیبدن بر صفات بیوشیمیایی، رنگی‌های فتوسنتزی و عملکرد کلزای پاییزه، آزمایشی در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه محقق اردبیلی (با مختصات جغرافیایی ۴۸ درجه و ۱۵ دقیقه طول جغرافیایی و ۳۸ درجه و ۲۳ دقیقه عرض جغرافیایی و به

جدول ۱. خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک مزرعه

Table 1. Physical and chemical characteristics of the farm soil

بافت خاک	شن	سیلت	رس	پتاسیم	فسفر	نیتروژن	کربن آلی	اسیدیته	هدایت الکتریکی
Soil Texture	Sand	Silt	Clay	K	P	N	Organic carbon	pH	EC
	-----%-----			-----ppm-----		-----%-----			dS m <sup>-1</sup>
لومی رسی Clay loam	30.8	53.70	15.5	202.5	11.83	0.06	0.44	7.6	2.68

آبیاری بعد از کاشت بذرها انجام شد و آبیاری‌های بعدی بر اساس شرایط محیطی و نیاز گیاه (آبیاری بر اساس عرف منطقه، تقریباً هر ۲۰ روز یک‌بار تا تاریخ ۱۶ اردیبهشت ۱۳۹۸ صورت گرفت؛ اما در اوایل فصل رشد به دلیل وجود بارندگی و سردی هوا، آبیاری با تأخیر انجام شد) صورت گرفت. کلیه تیمارها به‌طور یکنواخت تا مرحله گلدهی آبیاری شدند. برای اعمال تیمار تنش خشکی، آبیاری در مرحله ۵۰ درصد گلدهی قطع شد، ولی در تیمار عدم تنش، آبیاری تا پایان دوره رشدی بر اساس عرف منطقه (۲۰ روز یک‌بار)، شرایط آب و هوایی و نیاز گیاه انجام گرفت. در مرحله پنجاه‌درصد گلدهی (۱۶ اردیبهشت) برای تیمارهای تنش خشکی، قطع آبیاری تا انتهای دوره رشدی اعمال گردید؛ اما در تیمار آبیاری کامل، بعد از اعمال تنش خشکی، از مرحله گلدهی تا بردن دانه دو بار آبیاری انجام شد. تیمار نانوآکسید مولیبدن با غلظت‌های صفر، ۲۵ و ۵۰ میلی‌گرم در لیتر به‌صورت محلول‌پاشی برگ‌ی در دو نوبت (در مرحله ۸-۶ برگ‌ی در ۱۷ آبان ۱۳۹۷ و مرحله پنجاه‌درصد گلدهی در ۲۳ اردیبهشت ۱۳۹۸) با سم‌پاش پستی ۲۰ لیتری و به‌صورت دستی اعمال گردید. از آب مقطر جهت اعمال تیمار عدم کاربرد نانوآکسید مولیبدن استفاده شد. جهت افزایش راندمان جذب نانوآکسید مولیبدن، محلول‌پاشی هنگام صبح انجام گردید تا رطوبت نسبی هوا بالاتر باشد و همچنین از توئین ۲۰ برای افزایش کارایی محلول‌پاشی و جلوگیری از برگ سوختگی استفاده گردید. از اول دوره آزمایش، عملیات وجین برای کنترل علف‌های هرز در چندین نوبت و به‌صورت دستی انجام شد.

این آزمایش به‌صورت کرت‌های خردشده در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار انجام شد. تیمارهای مورد مطالعه شامل تیمارهای آبیاری به‌عنوان کرت اصلی در دو سطح (آبیاری کامل و قطع آبیاری در مرحله پنجاه‌درصد گل‌دهی تا انتهای دوره رشدی) و محلول‌پاشی با نانوآکسید مولیبدن در سه سطح (شاهد (محلول‌پاشی با آب مقطر)، محلول‌پاشی با غلظت‌های ۲۵ و ۵۰ میلی‌گرم در لیتر) به‌عنوان کرت فرعی در نظر گرفته شدند. نانوآکسید مولیبدن (سایز ذرات: ۸۰-۱۳ نانومتر، خلوص: ۹۹/۹۴ درصد، رنگ نانو پودر: سفید-خاکستری روشن، وزن مولکولی: ۱۴۳/۹۴) مورد استفاده در این تحقیق از شرکت پیشگامان نانو مواد ایرانیان تهیه شده بود.

در اواسط شهریورماه اقدام به آماده‌سازی زمین گردید. برای این منظور عملیات شخم با گاوآهن، دیسک‌زنی و ایجاد جوی و پشته صورت گرفت. فاصله بین کرت‌های اصلی یک متر و فاصله بین کرت‌های فرعی ۵۰ سانتی‌متر در نظر گرفته شد. هر کرت آزمایشی (با ابعاد ۱/۸×۵ متر) شامل ۶ خط کاشت به طول ۵ متر بودند. کاشت بذرها (در ۳۰ شهریور ۱۳۹۷) در عمق ۱/۵ تا ۲ سانتی‌متر از سطح خاک در دو طرف پشته انجام گردید. فاصله بین ردیف‌های کاشت ۳۰ سانتی‌متر و فاصله بذور روی ردیف‌های کاشت ۴ سانتی‌متر در نظر گرفته شد. رقم مورد کشت در این آزمایش رقم گارو (به دلیل مرسوم بودن کشت آن در شهرستان اردبیل) بود که از مدیریت جهاد کشاورزی شهرستان اردبیل تهیه شد. رقم گارو از هیبریدهای آلمانی کلزا و دارای تیپ پاییزه است. اولین

تشکیل دو فاز جداگانه، فاز بالایی رنگی، با دقت جدا و جذب نوری آن در دستگاه اسپکتروفوتومتر در طول موج ۵۲۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. برای اندازه‌گیری میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت کاتالاز (Aebi, 1984) و پراکسیداز (Chance and Maehly, 1955)، عصاره آنزیمی از نمونه‌های گیاهی تهیه گردید. برای تهیه عصاره آنزیمی از روش چانگ و کوا (Chang and Koa, 1988) استفاده شد. به این منظور، ابتدا حدود ۰/۸ گرم ماده تر گیاهی از هر نمونه در داخل نیتروژن مایع و با استفاده از هاون چینی به‌طور کامل پودر شده و سپس شش میلی‌لیتر بافر استخراج (Tris-HCl ۰/۰۵ مولار (pH=۷)،  $MgCl_2$  سه میلی‌مولار و EDTA یک میلی‌مولار) به آن اضافه شد. محلول به مدت ۲۰ دقیقه در ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه و دمای چهار درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ (Eppendorf, Germany) گردید. سپس، محلول رویی برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز مورد استفاده قرار گرفت. برای اندازه‌گیری میزان فعالیت آنزیم کاتالاز به روش ابی (Aebi, 1984) (که بر پایه تجزیه پراکسید هیدروژن توسط آنزیم کاتالاز است)، ابتدا مخلوط واکنش شامل سه میلی‌لیتر بافر فسفات ۵۰ میلی‌مولار (pH=۷)، ۱۰ میکرولیتر پراکسید هیدروژن ۱۵ میلی‌مولار و ۵۰ میکرولیتر عصاره بود، تهیه گردید. پس از اضافه کردن عصاره، کاهش جذب در طول موج ۲۴۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر (Biorad, Smart Spec, USA) اندازه‌گیری شد. از محلول بلانک (جذب زمینه) برای صفر کردن دستگاه اسپکتروفوتومتر استفاده گردید. محلول جذب زمینه شامل تمام مواد واکنش به‌جز عصاره آنزیمی استخراج شده بود.

فعالیت آنزیم پراکسیداز به روش چانس و ماهلی (Chance and Maehly, 1955) بر پایه تشکیل تتراگایاکول از گایاکول در حضور پراکسید هیدروژن و آنزیم گایاکول پراکسیداز اندازه‌گیری شد. مخلوط واکنش شامل سه میلی‌لیتر بافر پتاسیم فسفات ۵۰ میلی‌مولار (pH=۷)، ۵۰ میکرولیتر گایاکول ۲۰ میلی‌مولار، ۵۰ میکرولیتر پراکسید هیدروژن ۱۵ میلی‌مولار و ۵۰ میکرولیتر عصاره بود. پس از اضافه کردن عصاره سلولی، کاهش جذب در طول موج ۴۷۰ نانومتر به مدت یک دقیقه با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر اندازه‌گیری شد. فعالیت آنزیم با استفاده از ضریب خاموشی ( $\epsilon=26.6 \text{ mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$ ) برای تتراگایاکول برحسب واحد در میلی‌لیتر عصاره آنزیمی محاسبه گردید. در

یک هفته بعد از انجام محلول‌پاشی در مرحله گلدهی (نوبت دوم)، میزان فلورسانس کلروفیل شامل میزان فلورسانس کمینه یا حداقل، فلورسانس بیشینه، فلورسانس متغیر و حداکثر کارایی کوانتومی فتوسیستم II با استفاده از دستگاه کلروفیل‌فلورومتر (مدل OPTI-OS-30p SCIENCES, USA) اندازه‌گیری شد. برای این منظور در هر واحد آزمایشی سه بوته و در هر بوته چهار برگ انتهایی انتخاب و بعد از اعمال ۱۵ دقیقه تاریکی توسط کلیپس‌های مخصوص میزان فلورسانس کمینه یا حداقل، فلورسانس بیشینه، فلورسانس متغیر و حداکثر کارایی کوانتومی فتوسیستم II اندازه‌گیری شد.

میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی شامل کلروفیل a, b، کلروفیل کل و کاروتنوئید با استفاده از روش لیچنتنالر (Lichtenthaler, 1987) تعیین گردید. بدین ترتیب که ۰/۱ گرم برگ‌تر گیاه با استون ۸۰ درصد سائیده شد. عمل استخراج تا حصول یک محلول سبزرنگ ادامه یافت. سپس حجم محلول با استون به ۱۰ میلی‌لیتر رسید. پس از سانتریفیوژ در ۴۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ده دقیقه، جذب نوری در طول موج‌های ۶۴۶ و ۶۶۳ نانومتر به‌وسیله دستگاه اسپکتروفوتومتر اندازه‌گیری شد، سپس غلظت آن‌ها بر اساس روابط زیر محاسبه گردید. در نهایت مقادیر این صفات برحسب میلی‌گرم بر گرم برگ تر ( $\text{mg.g}^{-1} \text{ Fw}$ ) بیان شد.

$$[1] \quad Chl. a = (12.25 A663 - 2.79 A646)$$

$$[2] \quad Chl. b = (21.50 A646 - 5.10 A663)$$

$$[3] \quad Total Chl. = 7.15 A663 + 18.71 A646$$

$$[4] \quad Carotenoid = (1000A470 - 1.82Ca - 85.02Cb) / 198$$

استخراج پرولین با استفاده از روش بتیس (Bates, 1973) صورت گرفت. به این ترتیب که مقدار ۰/۱ گرم از نمونه در ۱۰ میلی‌لیتر سولفوسالیسیلیک اسید سه درصد سائیده و به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ گردید. سپس در لوله جداگانه دیگری، به ۲ میلی‌لیتر از عصاره حاصل، ۲ میلی‌لیتر معرف نین هیدرین و ۲ میلی‌لیتر اسید استیک گلاسیال خالص اضافه شد. در ادامه لوله‌ها به مدت ۱ ساعت در بن ماری با دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفته و پس از خارج شدن از بن ماری و اضافه کردن ۴ میلی‌لیتر تولوئن به هر کدام از لوله‌ها، به مدت ۱۵ تا ۲۰ ثانیه ورتکس گردیدند. بعد از

اما کاربرد نانواکسید مولیبدن، میزان کلروفیل a، b و کلروفیل کل در برگ‌های کلزای پاییزی را افزایش داد. در بین تیمارهای مورد مطالعه، بیشترین میزان افزایش کلروفیل a، b و کلروفیل کل در تیمار ۲۵ میلی‌گرم در لیتر نانواکسید مولیبدن به دست آمد که اختلاف معنی‌داری با تیمار عدم کاربرد نانواکسید مولیبدن داشت. افزایش میزان کلروفیل a، b و کلروفیل کل در برگ‌های کلزا با کاربرد ۲۵ میلی‌گرم در لیتر نانواکسید مولیبدن به ترتیب در حدود ۲۵/۸۱، ۲۴/۸۸ و ۲۵/۵۷ درصد نسبت به تیمار شاهد بود. با وجود اینکه بین تیمار عدم کاربرد و غلظت ۵۰ میلی‌گرم در لیتر نانواکسید مولیبدن اختلاف معنی‌داری از نظر آماری مشاهده نگردید، اما میزان کلروفیل a و کلروفیل کل برگ‌های کلزا با کاربرد غلظت ۵۰ میلی‌گرم در لیتر نانواکسید مولیبدن نسبت به تیمار شاهد بیشتر بود (جدول ۳).

یکی از دلایل کاهش میزان کلروفیل در اثر تنش خشکی، افزایش تولید ROS در سلول‌ها است. این رادیکال‌های آزاد سبب پراکسیداسیون و در نتیجه کاهش این رنگیزه‌ها می‌شوند (Sadeghipour and Aghaei, 2012). عامل دیگر کاهش‌دهنده میزان کلروفیل، رقابت آنزیم گلوتامیل کیناز (آنزیم کاتالیز کننده پرولین) و آنزیم گلوتامات لیگاز (اولین آنزیم مسیر بیوسنتز کلروفیل) در شرایط تنش خشکی است که باعث شده است تا پیش‌ساز گلوتامات، بیش‌تر در مسیر بیوسنتز پرولین مصرف شده و در نتیجه بیوسنتز کلروفیل با محدودیت مواجه شود (Ramak et al., 2014). کاهش میزان کلروفیل در شرایط تنش خشکی در لوبیاچیتی

زمان رسیدگی، عملکرد دانه در واحد سطح بعد از حذف دو خط کناری و ۵۰ سانتی‌متر از طرفین از سطحی معادل یک مترمربع اندازه‌گیری شد.

کلید تجزیه‌های آماری و مقایسه میانگین داده‌های پس از اطمینان از نرمال بودن توزیع داده‌ها، با استفاده از نرم‌افزار SAS 9.1 انجام شد. ضرایب همبستگی اسپیرمن بین صفات با استفاده از نرم‌افزار SAS محاسبه گردید. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون حداقل اختلاف معنی‌دار (LSD) در سطح احتمال پنج درصد انجام گردید و جهت رسم شکل از نرم‌افزار Excel (2010) استفاده شد.

## نتایج و بحث

### محتوای کلروفیل a، b و کلروفیل کل

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که تیمارهای آبیاری و محلول‌پاشی با نانواکسید مولیبدن تأثیر معنی‌داری (در سطح احتمال یک درصد) بر میزان کلروفیل a و کلروفیل کل داشت. کلروفیل b نیز به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر تیمار آبیاری (در سطح احتمال یک درصد) و نانواکسید مولیبدن (در سطح احتمال پنج درصد) قرار گرفت (جدول ۲). قطع آبیاری در مرحله گلدهی تا انتهای فصل موجب کاهش معنی‌دار میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی در برگ‌های کلزای پاییزی گردید. تنش خشکی آخر فصل موجب شد تا میزان کلروفیل a، b و کل به ترتیب در حدود ۳۶/۸۱، ۲۵/۸۸ و ۳۳/۰۸ درصد کاهش یابد (جدول ۳). اگرچه تنش خشکی انتهای فصل سبب کاهش معنی‌دار محتوای کلروفیل برگ‌های کلزا گردید،

جدول ۲. تجزیه واریانس تأثیر تیمارهای آبیاری و نانواکسید مولیبدن بر میزان کلروفیل a، b، کلروفیل کل و کاروتنوئید در برگ کلزا  
Table 2. Analysis of variance of the effects of irrigation and molybdenum oxide nanoparticles (Nano-MoO<sub>3</sub>) treatments on chlorophyll a, chlorophyll b, total chlorophyll and carotenoid of oilseed rape leaves

S.O.V	منابع تغییرات	درجه		کلروفیل کل Total chlorophyll	کاروتنوئید Carotenoid
		آزادی df	کلروفیل a Chlorophyll a		
Block	بلوک	2	0.0028	0.015	0.025
Irrigation (I)	آبیاری	1	4.128**	0.551**	0.524**
Error a	خطای اصلی	2	0.055	0.0028	0.025
Nano-MoO <sub>3</sub>	نانواکسید مولیبدن	2	0.378**	0.103*	0.194**
I×Nano-MoO <sub>3</sub>	آبیاری × مولیبدن	2	0.077 <sup>ns</sup>	0.007 <sup>ns</sup>	0.064 <sup>ns</sup>
Error b	خطای فرعی	8	0.018	0.018	0.019
CV (%)	ضریب تغییرات		6.35	11.57	7.61

\*, \*\*, ns: به ترتیب اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد و نبود اختلاف معنی‌دار

\*, \*\*, and ns: significant at a probability level of 5% and 1% and non-significant, respectively

جدول ۳. مقایسه میانگین کلروفیل a، b، کلروفیل کل و کاروتنوئید برگ‌های کلزا تحت تأثیر تیمارهای آبیاری و نانواکسید مولیبدن

Table 3. Mean comparison of chlorophyll a, b, total chlorophyll and Carotenoid content of oilseed rape leaves under irrigation and molybdenum oxide nanoparticles (Nano-MoO<sub>3</sub>) treatments

Treatments	تیمارها	کلروفیل a Chlorophyll a	کلروفیل b Chlorophyll b	کلروفیل کل Total chlorophyll	کاروتنوئید Carotenoid
-----mg g <sup>-1</sup> Fw-----					
Normal irrigation	آبیاری کامل	2.602 <sup>a</sup>	1.352 <sup>a</sup>	3.954 <sup>a</sup>	1.997 <sup>a</sup>
Drought stress	تنش خشکی	1.644 <sup>b</sup>	1.002 <sup>b</sup>	2.646 <sup>b</sup>	1.656 <sup>b</sup>
LSD		0.476	0.107	0.584	0.320
Control	شاهد	1.906 <sup>b</sup>	1.053 <sup>b</sup>	2.960 <sup>b</sup>	1.728 <sup>b</sup>
25 mg.L <sup>-1</sup> Nano-MoO <sub>3</sub>	۲۵ میلی‌گرم در لیتر نانواکسید مولیبدن	2.398 <sup>a</sup>	1.315 <sup>a</sup>	3.717 <sup>a</sup>	2.035 <sup>a</sup>
50 mg.L <sup>-1</sup> Nano-MoO <sub>3</sub>	۵۰ میلی‌گرم در لیتر نانواکسید مولیبدن	2.065 <sup>b</sup>	1.163 <sup>ab</sup>	3.228 <sup>b</sup>	1.718 <sup>b</sup>
LSD		0.176	0.181	0.310	0.185

در هر ستون میانگین‌هایی که در یک حرف مشترک هستند فاقد تفاوت آماری معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ می‌باشند.

In each column, means followed by the same letter are not significantly different at the 5% probability level

تیمار عدم محلول‌پاشی حدود ۱۷/۷۷ درصد بود. بین تیمار عدم محلول‌پاشی و غلظت ۵۰ میلی‌گرم در لیتر نانواکسید مولیبدن اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (جدول ۳). یکی از وظایف کاروتنوئیدها، حفاظت نوری رنگیزه‌های فتوسنتزی است. در شرایط تنش کم‌آبی مقدار کاروتنوئید به دلیل اکسید شدن توسط گونه‌های اکسیژن فعال و تخریب ساختار آن‌ها کاهش یافته و نمی‌تواند نقش حفاظتی خود را انجام دهد (Wang et al., 2010). از دلایل دیگر کاهش کاروتنوئید در شرایط تنش خشکی، تجزیه بتاکاروتن و تشکیل زاتین در چرخه زاتنوفیل است (Kabiri et al., 2014). گزارش‌های مشابهی نیز حاکی از کاهش میزان کاروتنوئید در اثر تنش خشکی در نخود (Hussain et al., 2020) و گندم (Wu et al., 2014) ارائه شده است. قربانلی و همکاران (Ghorbanli et al., 2013) گزارش نمودند که کاربرد مولیبدن میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی افزایش می‌دهد که این افزایش سبب می‌شود تا میزان تخریب کاروتنوئیدها کاهش یابد. همچنین به دلیل تأثیر مثبت مولیبدن در جذب منگنز (Beigi et al., 2011) و نقش عنصر منگنز در فعالیت آنزیم‌های مسیر بیوسنتز کاروتنوئید، سنتز این رنگیزه تحت تأثیر مولیبدن افزایش می‌یابد (Gholami, 2018). مطابق با نتایج این پژوهش افزایش میزان کاروتنوئید در اثر کاربرد مولیبدن در گندم (Wu et al., 2014) و ذرت (Abdollahi et al., 2017) نیز گزارش شده است.

Alizadeh et al. (2019) و نخود (Sorkhi and Fateh, 2019) نیز گزارش شده است. مولیبدن با افزایش فعالیت آنزیم‌های نیترات ردوکتاز و افزایش احیاء نیترات (Rana et al., 2020) و همچنین با تثبیت ساختار کلروپلاست و افزایش تعداد و حجم گرانا سبب افزایش سنتز کلروفیل می‌شود (Han et al., 2020). افزایش میزان کلروفیل b در ذرت (Abdollahi et al., 2017) با مصرف مولیبدن گزارش شده است که با یافته‌های این پژوهش مطابقت دارد.

### کاروتنوئید

مطابق با جدول تجزیه واریانس (جدول ۲)، تیمارهای آبیاری و محلول‌پاشی با نانواکسید مولیبدن تأثیر معنی‌داری بر محتوای کاروتنوئید برگ کلزا در سطح احتمال یک درصد داشتند ولی اثر متقابل آبیاری × نانواکسید مولیبدن بر این صفت معنی‌دار نبود. نتایج مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که قطع آبیاری در مرحله گلدهی موجب کاهش معنی‌دار میزان کاروتنوئید گردید که میزان این کاهش تحت تنش خشکی آخر فصل در حدود ۱۷/۰۷ درصد نسبت به شرایط آبیاری کامل بود (جدول ۳). انجام محلول‌پاشی کلزا با غلظت ۲۵ میلی‌گرم در لیتر نانواکسید مولیبدن سبب شد میزان کاروتنوئید به‌طور معنی‌داری نسبت به تیمار شاهد افزایش یابد. افزایش کاروتنوئید برگ‌های کلزای پاییزه با کاربرد غلظت ۲۵ میلی‌گرم در لیتر نانواکسید مولیبدن نسبت به



## فلورسانس کلروفیل

برازش مدل رگرسیونی نشان داد در هر دو سطح تیمار آبیاری یک رابطه رگرسیونی درجه‌دو و معنی‌دار بین فلورسانس کمینه و غلظت‌های مختلف نانواکسید مولیبدن وجود دارد. به این معنی که در شرایط تنش خشکی و آبیاری کامل، کاربرد نانواکسید مولیبدن تا غلظت ۲۵ میلی‌گرم در لیتر موجب کاهش میزان فلورسانس کمینه گردید اما با افزایش غلظت نانواکسید مولیبدن تا ۵۰ میلی‌گرم در لیتر سبب شد میزان فلورسانس کمینه افزایش یابد. تابع رگرسیون، ۸۱ و ۷۶ درصد تغییرات این صفت را به ترتیب در شرایط تنش خشکی و آبیاری کامل توجیه می‌کند (شکل ۱a).

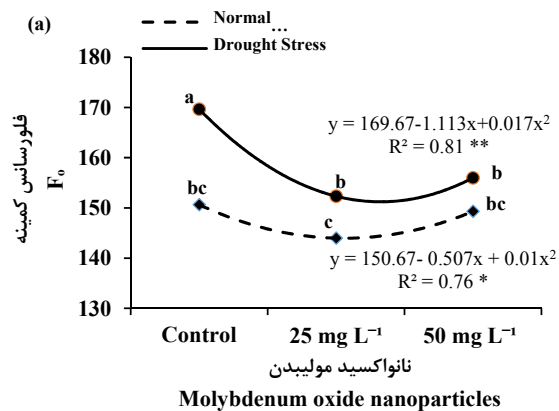
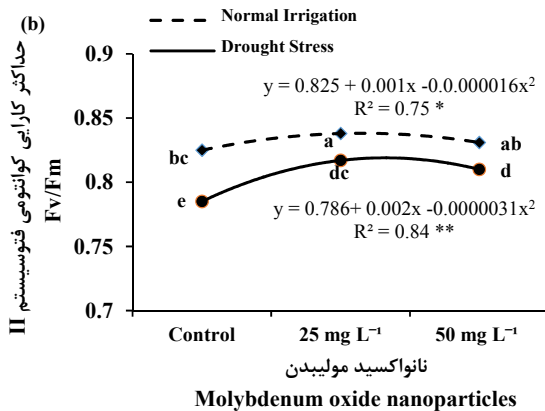
تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد اثر تیمارهای آبیاری و محلول‌پاشی با نانواکسیدمولیبدن بر میزان فلورسانس کمینه ( $F_0$ )، فلورسانس بیشینه ( $F_m$ )، فلورسانس متغیر ( $F_v$ ) و حداکثر کارایی کوانتومی فتوسیستم II ( $F_v/F_m$ ) بسیار معنی‌دار (احتمال یک درصد) بود و فقط صفات فلورسانس حداکثر و حداکثر کارایی کوانتومی فتوسیستم II به‌طور معنی‌داری (احتمال پنج درصد) تحت تأثیر اثرمتقابل آبیاری × نانواکسید مولیبدن قرار گرفتند (جدول ۴).

جدول ۴. تجزیه واریانس تأثیر تیمارهای آبیاری و نانواکسید مولیبدن بر میزان فلورسانس کلروفیل، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت و عملکرد دانه در کلزای پاییزه

Table 4. Analysis of variance of the effects of irrigation and molybdenum oxide nanoparticles (Nano-MoO<sub>3</sub>) treatments on chlorophyll fluorescence, the antioxidant enzymes activity, and grain yield of winter oilseed rape.

S.O.V	منابع تغییرات	درجه آزادی df	فلورسانس	فلورسانس	فلورسانس متغیر	حداکثر کارایی کوانتومی
			کمینه F <sub>0</sub>	بیشینه F <sub>m</sub>	F <sub>v</sub>	فتوسیستم II F <sub>v</sub> /F <sub>m</sub>
Block	بلوک	2	6.16	58.722	33.722	6×10 <sup>-6</sup>
Irrigation (I)	آبیاری	1	587**	18304.2**	25387.5**	33×10 <sup>-4**</sup>
Error a	خطای اصلی	2	22.16	364.05	540.72	88×10 <sup>-6</sup>
Nano-MoO <sub>3</sub>	نانواکسید مولیبدن	2	220.5**	2145.7**	3725.72**	7×10 <sup>-6**</sup>
Nano-MoO <sub>3</sub> × I	آبیاری × مولیبدن	2	67.16*	79.388 <sup>ns</sup>	276.38 <sup>ns</sup>	2×10 <sup>-4*</sup>
Error b	خطای فرعی	8	13.01	109.63	162.38	37×10 <sup>-6</sup>
CV (%)	ضریب تغییرات		2.34	12.3	1.83	7.4

\*, \*\*, and ns: significant at a probability level of 5%, 1%, and non-significant, respectively.



شکل ۱. تأثیر تیمارهای آبیاری و نانواکسید مولیبدن بر فلورسانس کمینه ( $F_0$ ) (a) و حداکثر کارایی کوانتومی فتوسیستم II ( $F_v/F_m$ ) (b) برگ‌های کلزای پاییزه

Fig. 1. The effects of irrigation and molybdenum oxide nanoparticles treatment on initial fluorescence ( $F_0$ ) (a) and maximum quantum yield of photosystem II (b) of winter oilseed rape leaves

لوبیاچیتی در شرایط کمبود آب گزارش شده که میزان فلورسانس کمینه در شرایط تنش خشکی نسبت به آبیاری کامل در حدود ۳۳/۴۳ درصد افزایش یافت. کاربرد مولیبدن در شرایط تنش خشکی باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی شده و از تخریب کلروفیل و پراکسیداسیون غشاهای کلروپلاستی جلوگیری می‌کند (Wu et al., 2014). ویستسو و همکاران (Vistoso et al., 2012) گزارش کردند که کاربرد مولیبدن در گیاه شبدر سفید سبب کاهش ۳۳ درصدی فلورسانس کمینه شد. این محققان بیان داشتند که این کاهش به دلیل افزایش میزان کلروفیل و افزایش جذب نور در اثر کاربرد مولیبدن است.

فلورسانس بیشینه یا حداکثر در اثر تابش فوتون‌های نوری و احیای همه ناقل‌های الکترون و بسته بودن همه مراکز واکنش فتوسیستم II ایجاد می‌شود (Mehta et al., 2010). زمانی که همه مراکز واکنش فتوسیستم II بسته باشد، میزان فلورسانس افزایش و سرعت واکنش‌های فتوشیمیایی کاهش می‌یابد. هرچه سیستم دیرتر بسته شود، یعنی قادر است الکترون بیشتری را پذیرش کند و دارای  $F_m$  بالاتری بوده که این موضوع نشان‌دهنده کارایی بالای سیستم خواهد بود (Afshar Mohamadian et al., 2018). قطع آبیاری در مرحله گلدهی تا انتهای فصل موجب کاهش معنی‌دار میزان فلورسانس بیشینه و متغیر در برگ‌های کلزای پاییزه گردید. تنش خشکی آخر فصل موجب شد تا میزان فلورسانس بیشینه برگ‌های کلزا در حدود ۷/۲۵ درصد و فلورسانس متغیر در حدود ۱۰/۲۳ درصد نسبت به آبیاری کامل کاهش یابد (جدول ۵). تنش خشکی باعث کاهش ظرفیت پذیرش و انتقال الکترون شده در نتیجه سیستم به سرعت به  $F_m$  می‌رسد که نتیجه آن کاهش فلورسانس متغیر یا  $F_v$  خواهد بود. فلورسانس متغیر نشان‌دهنده وضعیت جریان الکترون از بخش فتوسیستم به QA است و از اختلاف فلورسانس حداکثر با فلورسانس حداقل به دست می‌آید (Xia et al., 2004). افشار محمدیان و همکاران (Afshar Mohamadian et al., 2018) با بررسی اثر خشکی بر روی لوبیا نشان دادند که میزان فلورسانس متغیر در تمامی سطوح خشکی مورد مطالعه کاهش یافت که این کاهش می‌تواند به دلیل مهار الکترون و جلوگیری از انتقال الکترون آن از سمت دهنده فتوسیستم II به محل پذیرش الکترون توسط مولکول‌های کوئینون و ممانعت از فتواکسیداسیون فتوسیستم II باشد. کاربرد غلظت‌های مختلف نانوآکسید مولیبدن، سبب افزایش میزان

در اثر تنش خشکی در تمام تیمارهای مورد مطالعه، فلورسانس کمینه برگ‌های کلزای پاییزه به‌طور معنی‌داری در مقایسه با شرایط آبیاری کامل افزایش یافت. به‌طوری‌که کمترین میزان فلورسانس کمینه در شرایط آبیاری کامل و بیشترین آن در شرایط قطع آبیاری به دست آمد (شکل a1). در شرایط آبیاری کامل، انجام محلول‌پاشی برگ‌های کلزای پاییزی با غلظت‌های ۲۵ و ۵۰ میلی‌گرم در لیتر نانوآکسید مولیبدن موجب کاهش فلورسانس کمینه گردید؛ اما بین تیمار عدم کاربرد و تیمارهای محلول‌پاشی از نظر آماری اختلاف معنی‌داری مشاهده نگردید (شکل a1). اگرچه در شرایط آبیاری کامل تأثیر نانوآکسید مولیبدن در کاهش میزان فلورسانس کمینه معنی‌دار نبود، اما انجام محلول‌پاشی با غلظت‌های مختلف نانوآکسید مولیبدن در شرایط تنش خشکی انتهای فصل موجب کاهش معنی‌دار این صفت در مقایسه با تیمار عدم محلول‌پاشی گردید. بیشترین و کمترین میزان فلورسانس کمینه برگ در این شرایط به ترتیب مربوط به تیمار عدم کاربرد و کاربرد غلظت ۲۵ میلی‌گرم در لیتر نانوآکسید مولیبدن بود. بین غلظت‌های مختلف نانوآکسید مولیبدن از نظر آماری اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (شکل a1). اگرچه قطع آبیاری در مرحله انتهای فصل باعث افزایش ۱۲/۶۱ درصدی فلورسانس کمینه در برگ‌ها گردید؛ اما انجام محلول‌پاشی بوته‌ها با غلظت‌های ۲۵ و ۵۰ میلی‌گرم در لیتر نانوآکسید مولیبدن به ترتیب باعث کاهش ۱۰/۲۱ و ۸/۰۵ درصدی فلورسانس کمینه نسبت به تیمار عدم کاربرد در این شرایط شد (شکل a1). بخشی از انرژی نورانی که در فعالیت‌های فتوشیمیایی به مصرف فتوسنتز نمی‌رسد به‌صورت فلورسانس ساطع می‌گردد که به‌عنوان فلورسانس کمینه شناخته می‌شود (Baker, 2008). افزایش فلورسانس کمینه در شرایط تنش نشان‌دهنده تخریب مرکز واکنش فتوسیستم II، دگرگونی ساختار و تغییر در رنگ‌دانه‌های فتوسیستم II است (Havaux, 1999). در شرایط تنش خشکی به دلیل تخریب کلروفیل میزان جذب انرژی نورانی توسط کلروفیل‌های باقیمانده کم می‌شود که این کاهش در میزان جذب، باعث افزایش فلورسانس کمینه می‌گردد (Nemati and Asghari, 2015). رایت و همکاران (Wright et al., 2009) نیز کاهش یکپارچگی غشای تیلاکوئید را دلیل افزایش میزان  $F_0$  تحت شرایط تنش خشکی عنوان کردند. در پژوهش سهیلی موحد و همکاران (Soheili movahhed et al., 2017) بر روی ۴ رقم

فلورسانس حداکثر و متغیر شد. در بین تیمارها، بیشترین میزان فلورسانس بیشینه و متغیر در برگ‌ها با کاربرد غلظت ۲۵ میلی‌گرم در لیتر نانوآکسید مولیبدن و کمترین آن‌ها در شرایط عدم محلول‌پاشی به دست آمد، بین غلظت‌های ۲۵ و ۵۰ میلی‌گرم در لیتر نانوآکسید مولیبدن از نظر این صفات اختلاف معنی‌داری مشاهده نگردید (جدول ۵).

جدول ۵. مقایسه میانگین فلورسانس بیشینه ( $F_m$ ) و فلورسانس متغیر ( $F_v$ ) برگ‌های کلزای پاییزه تحت تأثیر تیمارهای آبیاری و نانوآکسید مولیبدن

**Table 5. Mean comparison of maximum fluorescence ( $F_m$ ) and variable fluorescence ( $F_v$ ) of oilseed rape leaves affected by irrigation and molybdenum oxide nanoparticles (Nano-MoO<sub>3</sub>) treatments**

Treatments	تیمارها	فلورسانس بیشینه $F_m$	فلورسانس متغیر $F_v$
Normal irrigation	آبیاری کامل	880.66 <sup>a</sup>	732.67 <sup>a</sup>
	تنش خشکی	816.8 <sup>b</sup>	657.65 <sup>b</sup>
Drought stress	LSD (5%)	38.7	47.65
	شاهد	827.5 <sup>b</sup>	667.3 <sup>b</sup>
Control	۲۵ میلی‌گرم در لیتر نانوآکسید مولیبدن	863.66 <sup>a</sup>	715.5 <sup>a</sup>
	۵۰ میلی‌گرم در لیتر نانوآکسید مولیبدن	855.16 <sup>a</sup>	702.5 <sup>a</sup>
	LSD (5%)	13.94	16.96

در هر ستون میانگین‌هایی که در یک حرف مشترک هستند فاقد تفاوت آماری معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ می‌باشند.

In each column, means followed by the same letter are not significantly different at the 5% probability level

تمام سطوح آبیاری انجام محلول‌پاشی برگ‌های کلزای پاییزی با غلظت‌های ۲۵ و ۵۰ میلی‌گرم در لیتر نانوآکسید مولیبدن موجب افزایش معنی‌دار میزان  $F_v/F_m$  در مقایسه با تیمار عدم کاربرد شد. در این شرایط، بین غلظت‌های مختلف نانوآکسید مولیبدن اختلاف معنی‌داری وجود نداشت (شکل b1). در بین تیمارهای مورد مطالعه بیشترین میزان  $F_v/F_m$  در شرایط آبیاری کامل و تیمار ۲۵ میلی‌گرم در لیتر نانوآکسید مولیبدن و کمترین آن در تیمار عدم محلول‌پاشی تحت تنش خشکی مشاهده شد (شکل b1). کاهش نسبت  $F_v/F_m$  در شرایط تنش نشان‌دهنده اختلال در انتقال الکترون از فتوسیستم II به فتوسیستم I و افزایش  $F_0$  عنوان شده است (Soheili et al., 2018). به نظر می‌رسد مولیبدن با افزایش تولید کلروفیل و کاروتنوئید (جدول ۳) و همچنین کاهش فلورسانس کمینه (شکل a1) و افزایش فلورسانس بیشینه (جدول ۵) باعث افزایش  $F_v/F_m$  شده است. ویستسو و همکاران (Vistoso et al., 2012) با مطالعه در گیاه شبدر سفید بیان کردند که

محلول‌پاشی با غلظت‌های ۲۵ و ۵۰ میلی‌گرم در لیتر نانوآکسید مولیبدن به ترتیب موجب افزایش فلورسانس بیشینه در حدود ۴/۳۷ و ۳/۳۴ درصد و افزایش فلورسانس متغیر در حدود ۷/۲۲ و ۵/۲۷ درصد شد (جدول ۵).

تجزیه رگرسیونی یک رابطه درجه دو معنی‌داری را بین میزان  $F_v/F_m$  و غلظت‌های مختلف نانوآکسید مولیبدن در شرایط آبیاری کامل ( $R^2 = 0.75$ ) و تنش خشکی ( $R^2 = 0.84$ ) نشان داد. در شرایط آبیاری کامل و تنش خشکی انتهای فصل با افزایش غلظت نانوآکسید مولیبدن از صفر به ۲۵ میلی‌گرم در لیتر، میزان حداکثر کارایی کوانتومی فتوسیستم II روند افزایشی نشان داد. به طوری که بیشترین میزان  $F_v/F_m$  با کاربرد غلظت ۲۵ میلی‌گرم در لیتر به دست آمد؛ اما با افزایش بیشتر غلظت نانوآکسید مولیبدن، حداکثر کارایی کوانتومی فتوسیستم II کاهش یافت (شکل b1). در تمام تیمارهای مورد مطالعه، تنش خشکی در مرحله گلدهی تا انتهای فصل سبب کاهش معنی‌دار حداکثر کارایی کوانتومی فتوسیستم II نسبت به تیمار آبیاری کامل شد. در

افزایش می‌تواند نشانه تحمل نسبی به تنش خشکی باشد. افزایش فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز و کاتالاز در اثر تنش خشکی با نتایج وو و همکاران (Wu et al., 2017) در مورد گیاه گندم همخوانی داشت. آسبیزیک اسید به‌عنوان مولکول انتقال پیام نقش مهمی در فرآیند تولید پروتئین‌های دفاعی از جمله آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی نظیر کاتالاز، آسکوربیک اسید، پراکسیداز و گلوکاتایون رداکتاز دارد (Bellaire et al., 2000). با توجه به اینکه سنتز اسید آسبیزیک نیازمند کوفاکتور مولیبدن است، انتظار می‌رود با افزایش مولیبدن میزان سنتز آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی افزایش یابد (Bittner, 2014). بر اساس مطالعات انجام‌شده، مولیبدن باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی نظیر کاتالاز و پراکسیداز در گندم (Imran et al., 2020) و سویا (Liu et al., 2005) شده است که مطابق با نتایج پژوهش حاضر است.

#### محتوی اسید آمینه پرولین

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر تیمار آبیاری، محلول‌پاشی با نانواکسید مولیبدن و اثر متقابل آبیاری  $\times$  نانواکسید مولیبدن بر میزان پرولین معنی‌دار بود (جدول ۶). مطابق شکل ۲a، برازش رگرسیونی یک رابطه درجه دو و معنی‌داری بین میزان پرولین با غلظت‌های مختلف نانواکسید مولیبدن در شرایط آبیاری کامل و تنش خشکی نشان می‌دهد. با توجه به این رابطه، میزان پرولین با افزایش غلظت نانواکسید مولیبدن از صفر تا ۲۵ میلی‌گرم در لیتر روند افزایشی داشت اما در ادامه روند نزولی با افزایش غلظت نانواکسید مولیبدن تا ۵۰ میلی‌گرم در لیتر مشاهده شد. به‌طوری‌که در شرایط تنش خشکی سیر صعودی و نزولی روند در مدل رگرسیونی، نسبت به تیمار آبیاری کامل چشمگیر است (شکل ۲a). ضریب تبیین مدل رگرسیونی در شرایط تنش خشکی و آبیاری کامل به‌ترتیب برابر با ۹۲ و ۸۰ درصد بود (شکل ۲a).

با اعمال تنش خشکی انتهای فصل، میزان اسید آمینه پرولین برگ‌های کلزای پاییزه به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. در شرایط آبیاری کامل و تنش خشکی انتهای فصل، انجام محلول‌پاشی برگ‌های کلزای پاییزی با نانواکسید مولیبدن موجب افزایش معنی‌دار میزان پرولین در برگ‌های کلزا گردید (شکل ۲a). در تمام سطوح آبیاری، بیشترین محتوای پرولین در تیمار کاربرد غلظت ۲۵ میلی‌گرم در لیتر نانواکسید مولیبدن و کمترین این مقدار در تیمار عدم محلول‌پاشی به

افزایش دسترسی گیاه به مولیبدن، موجب افزایش  $F_v/F_m$  از طریق کاهش فلورسانس کمینه و افزایش فلورسانس بیشینه می‌شود که با نتایج این تحقیق مطابقت دارد.

#### فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی

فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت کاتالاز و پراکسیداز به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر تیمارهای آبیاری و محلول‌پاشی با نانواکسید مولیبدن قرار گرفت اما تأثیر اثر متقابل آبیاری  $\times$  نانواکسید مولیبدن بر این صفات معنی‌دار نگردید (جدول ۶). با اعمال تنش خشکی انتهای فصل میزان فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز به‌طور معنی‌داری نسبت به شرایط آبیاری کامل افزایش یافت. بالاترین میانگین فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز در شرایط تنش و کمترین آن در شرایط آبیاری کامل حاصل شد (جدول ۷).

با محلول‌پاشی غلظت‌های مختلف نانواکسید مولیبدن میزان فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز افزایش یافت، به‌طوری‌که بیشترین میزان فعالیت این آنزیم‌ها با کاربرد غلظت ۲۵ میلی‌گرم در لیتر نانواکسید مولیبدن حاصل شد که به‌طور معنی‌داری بیشتر از تیمار عدم کاربرد نانواکسید مولیبدن بود. بین غلظت‌های مختلف نانواکسید مولیبدن از نظر میزان فعالیت آنزیم کاتالاز اختلاف معنی‌داری وجود نداشت (جدول ۷). محلول‌پاشی بوته‌های کلزای پاییزه با غلظت ۲۵ میلی‌گرم در لیتر نانواکسید مولیبدن سبب شد تا میزان فعالیت آنزیم کاتالاز و پراکسیداز به‌ترتیب در حدود ۳۳/۰۶ و ۳۸/۴۷ درصد نسبت به تیمار عدم محلول‌پاشی افزایش یابد. اگرچه در صفت میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز، بین تیمار شاهد و غلظت ۵۰ میلی‌گرم در لیتر نانواکسید مولیبدن از نظر آماری اختلاف معنی‌داری مشاهده نشده اما با کاربرد همین غلظت از نانواکسید مولیبدن نیز میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز در حدود ۱۵/۹۹ درصد نسبت به عدم محلول‌پاشی مولیبدن افزایش داشت (جدول ۷). گیاهان به‌منظور مقابله با تنش‌های اکسیداتیو ایجادشده در اثر تنش‌های محیطی مانند تنش خشکی، از سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی (آنزیمی و غیرآنزیمی) استفاده می‌کنند به‌این‌ترتیب که با وقوع شرایط نامساعد محیطی میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی افزایش می‌یابد (Kabiri et al., 2014). خودبین و همکاران (Khodabin et al, 2020) نشان دادند که در اثر تنش خشکی، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی از جمله کاتالاز و پراکسیداز در کلزا افزایش می‌یابد که این

شرایط تنش خشکی انتهای فصل باعث شد تا میزان اسیدآمینو پرولین به ترتیب در حدود ۳۵/۶۸ و ۲۴/۶۲ درصد نسبت به شاهد افزایش یابد (شکل ۲a). افزایش پرولین در شرایط تنش خشکی ممکن است به دلیل سنتز بیشتر پرولین نسبت به کلروفیل از پیش‌ساز گلوتامات باشد (Ramak et al., 2014). کاهش میزان کلروفیل (جدول ۳) و افزایش محتوای پرولین (شکل ۲b) در پژوهش حاضر نیز نشان‌دهنده این موضوع است. افزایش محتوای اسیدآمینو پرولین در

دست آمد. در شرایط آبیاری کامل، بین تیمار غلظت‌های مختلف نانوآکسید مولیبدن از نظر آماری اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد، اما در شرایط تنش خشکی انتهای فصل میزان اسیدآمینو پرولین در بوته‌های محلول‌پاشی شده با غلظت ۲۵ میلی‌گرم در لیتر نانوآکسید مولیبدن به‌طور معنی‌داری بیشتر از تیمار کاربرد غلظت ۵۰ میلی‌گرم در لیتر نانوآکسید مولیبدن بود (شکل ۲a). محلول‌پاشی بوته‌های کلزا با غلظت‌های ۲۵ و ۵۰ میلی‌گرم در لیتر نانوآکسید مولیبدن در

جدول ۶. تجزیه واریانس تأثیر تیمارهای آبیاری و نانوآکسید مولیبدن بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت و عملکرد دانه در کلزای پاییزه

Table 6. Analysis of variance of effects of irrigation and molybdenum oxide nanoparticles (Nano-MoO<sub>3</sub>) treatments on the antioxidant enzymes activity and grain yield of winter oilseed rape.

S.O.V	منابع تغییرات	درجه آزادی df	فعالیت آنزیم کاتالاز Catalase enzyme activity	فعالیت آنزیم پراکسیداز Peroxidase enzyme activity	محتوای پرولین Proline content	عملکرد دانه Grain yield
Block	بلوک	2	5.429	1.664	95×10 <sup>-8</sup>	6504.1
Irrigation (I)	آبیاری	1	1289.3**	155.29**	17×10 <sup>-4**</sup>	80264**
Error a	خطای اصلی	2	11.91	5.511	14×10 <sup>-7</sup>	665.16
Nano-MoO <sub>3</sub>	نانوآکسید مولیبدن	2	30.75*	33.351**	3×10 <sup>-5**</sup>	10667**
Nano-MoO <sub>3</sub> × I	آبیاری × مولیبدن	2	0.276 <sup>ns</sup>	2.105 <sup>ns</sup>	11×10 <sup>-6**</sup>	120060*
Error b	خطای فرعی	8	5.786	2.682	47×10 <sup>-8</sup>	20707
CV (%)	ضریب تغییرات		15.05	11.36	4.88	6.22

ns و \*\* و \* به ترتیب معنی‌داری در سطح احتمال پنج درصد، یک درصد و غیر معنی‌دار می‌باشند.

\*, \*\*, and ns: significant at a probability level of 5%, 1%, and non-significant, respectively

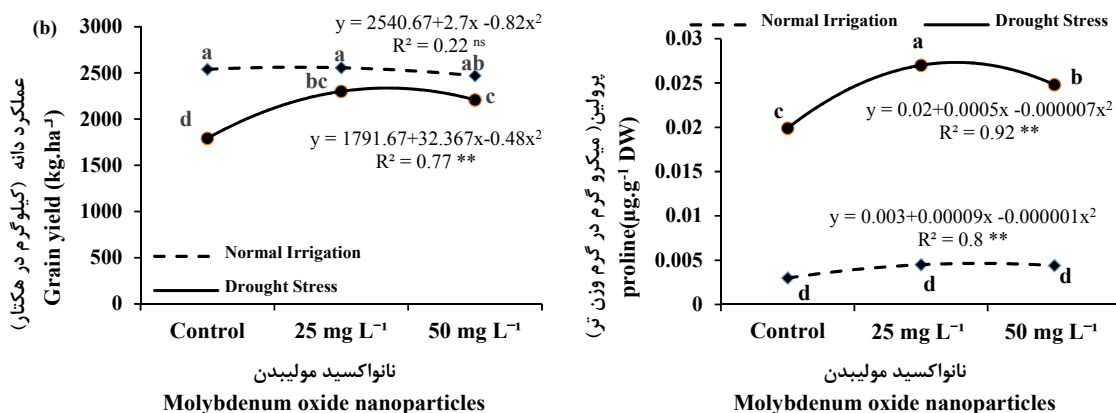
جدول ۷. مقایسه میانگین فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز برگ‌های کلزای پاییزه تحت تأثیر تیمارهای آبیاری و نانوآکسید مولیبدن

Table 7. Mean comparison of activity of catalase and peroxidase enzymes of oilseed rape leaves affected by irrigation and molybdenum oxide nanoparticles (Nano-MoO<sub>3</sub>) treatments

Treatments	تیمارها	فعالیت آنزیم کاتالاز Catalase enzyme activity unit/mg protein	فعالیت آنزیم پراکسیداز Peroxidase enzyme activity unit/mg protein
Normal irrigation	آبیاری کامل	7.51 <sup>b</sup>	11.47 <sup>b</sup>
Drought stress	تنش خشکی	24.43 <sup>a</sup>	17.31 <sup>a</sup>
LSD (5%)		7.002	4.76
Control	شاهد	13.52 <sup>b</sup>	12.19 <sup>b</sup>
25 mg.L <sup>-1</sup> Nano-MoO <sub>3</sub>	۲۵ میلی‌گرم در لیتر نانوآکسید مولیبدن	17.99 <sup>a</sup>	16.88 <sup>a</sup>
50 mg.L <sup>-1</sup> Nano-MoO <sub>3</sub>	۵۰ میلی‌گرم در لیتر نانوآکسید مولیبدن	16.39 <sup>ab</sup>	14.14 <sup>b</sup>
LSD (5%)		3.206	2.18

در هر ستون میانگین‌هایی که در یک حرف مشترک هستند فاقد تفاوت آماری معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ می‌باشند.

In each column, means followed by the same letter are not significantly different at the 5% probability level



شکل ۲. تأثیر تیمارهای آبیاری و نانو اکسید مولیبدن بر محتوی پرولین برگ (a) و عملکرد دانه (b) کلزای پاییزه  
**Fig. 2. The effects of irrigation and molybdenum oxide nanoparticles on proline content (a) and grain yield (b) of winter oilseed rape leaves**

قطع آبیاری در مرحله گلدهی باعث کاهش ۲۴/۳۵ درصدی عملکرد دانه گردید اما محلول پاشی بوته‌های کلزای پاییزه با نانو اکسید مولیبدن سبب افزایش معنی‌دار عملکرد دانه در مقایسه با تیمار عدم محلول پاشی شد. در شرایط تنش خشکی انتهای فصل، بوته‌های محلول پاشی شده با غلظت ۲۵ میلی‌گرم در لیتر نانو اکسید مولیبدن دارای بیشترین عملکرد دانه بودند. محلول پاشی بوته‌های کلزای پاییزه با نانو اکسید مولیبدن اثرات تنش خشکی را تعدیل و منجر به افزایش عملکرد دانه کلزا تحت این شرایط گردید، به طوری که عملکرد دانه در بوته‌های محلول پاشی شده با غلظت‌های ۲۵ و ۵۰ میلی‌گرم در لیتر به ترتیب در حدود ۲۸/۳۷ تا ۲۳/۲۴ درصد نسبت به عملکرد دانه در بوته‌های شاهد افزایش نشان داد (شکل ۲b). با توجه به نتایج به دست آمده می‌توان چنین استنباط کرد که کمبود آب در مرحله گلدهی با تأثیر منفی بر میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی (جدول ۳) و حداکثر کارایی کوانتومی فتوسیستم II (شکل ۲b1) موجب کاهش عملکرد دانه در کلزا می‌شود، زیرا کاهش میزان فتوسنتز، مهم‌ترین عامل کاهش عملکرد دانه در شرایط تنش کم‌آبی است (Qzturk et al., 2008). کلروفیل از مهم‌ترین عوامل تعیین‌کننده میزان فتوسنتز و تولید ماده خشک در گیاه است و کاهش آن در شرایط تنش خشکی، موجب کاهش عملکرد می‌گردد (Amiri et al., 2016). کاهش عملکرد دانه در اثر تنش خشکی لوبیا (Soheili movahhed et al., 2017) نیز مشاهده شده است. محلول پاشی نانو اکسید مولیبدن با تأثیر مثبت بر سنتز کلروفیل (Han et al., 2020) و جلوگیری از تخریب کلروفیل و کاروتنوئید (Ghorbanli et al., 2013)

شرایط تنش خشکی سبب حفظ تورژسانس سلول‌های گیاهی و خنثی‌سازی رادیکال‌های آزاد می‌شود (Maiti et al., 2000). نتایج مشابهی مبنی بر افزایش پرولین در اثر تنش خشکی در لوبیاچیتی (Sorkhi and Fateh, 2019) و گندم (Wu et al., 2014) گزارش شده است. قربانی و همکاران (Ghorbanli et al., 2013) نیز در بررسی اثر غلظت‌های مختلف مولیبدن بر میزان پرولین در گل‌راعی نشان دادند مولیبدن باعث افزایش تدریجی پرولین ریشه و اندام هوایی می‌شود.

#### عملکرد دانه در واحد سطح

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۶) گویای این مطلب است که صفت عملکرد دانه در واحد سطح به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر تیمارهای آبیاری، محلول پاشی با نانو اکسید مولیبدن و اثر متقابل آبیاری × نانو اکسید مولیبدن قرار گرفت. بررسی رابطه رگرسیونی بین عملکرد دانه و غلظت‌های نانو اکسید مولیبدن در شرایط آبیاری کامل و تنش خشکی نشان داد که در شرایط تنش خشکی یک رابطه معنی‌دار ( $R^2 = 0.77$ ) و درجه دو وجود دارد. به این صورت که عملکرد دانه با افزایش غلظت نانو اکسید مولیبدن تا ۲۵ میلی‌گرم در لیتر بیشتر شده اما با افزایش غلظت از ۲۵ به ۵۰ میلی‌گرم در لیتر، عملکرد دانه کاهش یافته است. در تیمار آبیاری کامل، برازش رگرسیونی رابطه معنی‌داری را بین عملکرد دانه و غلظت‌های مختلف نانو اکسید مولیبدن نشان نداد (شکل ۲b2).

رنگیزه‌های فتوسنتزی (کلروفیل a، b، کلروفیل کل و کاروتنوئید)،  $F_v$ ،  $F_m$  و  $F_v/F_m$  داشت. عملکرد دانه بالاترین همبستگی مثبت و معنی‌دار ( $0/90^{**}$ ) را با حداکثر کارایی کوانتومی فتوسیستم II نشان داد. وجود این روابط مثبت و معنی‌دار نشان می‌دهد که با افزایش حداکثر کارایی کوانتومی فتوسیستم II ( $F_v/F_m$ ) از طریق افزایش میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی موجب افزایش عملکرد دانه کلزا گردیده است (جدول ۸).

باعث افزایش عملکرد در شرایط آبیاری کامل و قطع آبیاری می‌گردد. نتایج آزمایش حاضر در ارتباط با افزایش عملکرد دانه در شرایط تنش خشکی با نتایج رانا و همکاران (Rana et al., 2020) مطابقت دارد.

### همبستگی بین صفات

نتایج تجزیه همبستگی صفات (جدول ۸) نشان داد که عملکرد دانه همبستگی مثبت و معنی‌داری با میزان

جدول ۸. ضرایب همبستگی صفات اندازه‌گیری شده

Table 8. Correlation coefficients of measured traits

Traits	صفات	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1. Chlorophyll a	کلروفیل a	1											
2. Chlorophyll b	کلروفیل b	0.90**	1										
3. Total Chlorophyll	کلروفیل کل	0.99**	0.91**	1									
4. Carotenoid	کاروتنوئید	0.78**	0.74**	0.78**	1								
5. $F_0$	فلورسانس کمینه	-0.72**	-0.74**	-0.74**	-0.68**	1							
6. $F_m$	فلورسانس بیشینه	0.86**	0.80**	0.86**	0.65**	-0.88**	1						
7. $F_v/F_m$	$F_v/F_m$	0.78**	0.78**	0.80**	0.67**	0.98**	0.96**	1					
8. $F_v$	فلورسانس متغیر	0.84**	0.80**	-0.84**	0.67**	-0.92**	0.97**	0.98**	1				
9. Proline	محتوای پرولین	-0.81**	-0.67**	-0.78**	-0.58*	-0.51 <sup>ns</sup>	-0.76**	-0.62**	-0.73**	1			
10. Peroxidase	فعالیت آنزیم پراکسیداز	-0.48*	-0.32 <sup>ns</sup>	-0.44 <sup>ns</sup>	-0.32 <sup>ns</sup>	-0.21 <sup>ns</sup>	-0.49*	-0.33 <sup>ns</sup>	-0.44 <sup>ns</sup>	0.84**	1		
11. Catalase	فعالیت آنزیم کاتالاز	-0.74**	-0.65**	-0.73**	-0.46 <sup>ns</sup>	-0.48*	-0.75**	-0.61**	-0.71**	0.96**	0.81**	1	
12. Grain yield	عملکرد دانه	0.73**	0.74**	0.75**	0.59**	-0.86**	0.87**	0.90**	0.88**	-0.88**	-0.39 <sup>ns</sup>	-0.63**	1

\*, \*\*, and <sup>ns</sup>: significant at a probability level of 5%, 1% and non-significant at probability level of 5%, respectively.

که همبستگی مثبت و معنی‌دار بین عملکرد دانه و کلروفیل a، b به ترتیب به میزان ۰/۷۳ و ۰/۷۴ وجود دارد. کاهش میزان کلروفیل سبب کاهش تولید، ذخیره‌سازی مواد فتوسنتزی شده که این موضوع می‌تواند موجب کاهش عملکرد دانه گردد. در گیاه برنج نیز، همبستگی مثبت و معنی‌داری بین میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی و عملکرد دانه گزارش گردید (Amalina et al., 2016). همبستگی حداکثر کارایی کوانتومی فتوسیستم II با عملکرد دانه در واحد سطح

حداکثر کارایی کوانتومی فتوسیستم II ارتباط مستقیم با فعالیت کلروفیل در مرکز فتوسیستم دارد و هرگونه کاهش در میزان کلروفیل سبب کاهش این پارامتر خواهد شد (Moosavifar et al., 2018). در مطالعه حاضر، همبستگی مثبت و معنی‌داری بین حداکثر کارایی کوانتومی فتوسیستم II با میزان کلروفیل a، b، کلروفیل کل و کاروتنوئید نیز مشاهده شد (جدول ۶). در مطالعه آزادی و همکاران (Azadi et al., 2021) در گیاه ذرت تحت تنش خشکی گزارش شد

از تنش خشکی شد. این موضوع موجب افزایش میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی و کاهش میزان فلورسانس در شرایط تنش خشکی گردیده و در نتیجه به بهبود حداکثر کارایی کوانتومی فتوسیستم II و افزایش عملکرد دانه منجر می‌شود. همبستگی مثبت و معنی‌دار بین رنگیزه‌های فتوسنتزی، حداکثر کارایی کوانتومی فتوسیستم II و عملکرد دانه تأیید کننده این مسئله است. اگرچه محلول‌پاشی بوته‌های کلزا با هر دو غلظت (۲۵ و ۵۰ میلی‌گرم در لیتر) از نانواکسید مولیبدن در کاهش خسارات ناشی از تنش خشکی انتهای فصل تأثیر معنی‌داری داشتند، ولی بیشترین تأثیر در تیمار محلول‌پاشی با غلظت ۲۵ میلی‌گرم در لیتر نانواکسید مولیبدن به دست آمد. بر این اساس می‌توان مقادیر کم مولیبدن را به‌عنوان یک راهکار مناسب جهت کاهش خسارت ناشی از تنش خشکی انتهای فصل به کشاورزان توصیه کرد.

قوی‌تر از سایر صفات مورد مطالعه بود. این نتایج نشانگر آن است که  $F_v/F_m$  به‌عنوان شاخص دقیق و قابل‌اعتمادتری نسبت به سایر صفات برای ارزیابی عملکرد دانه در واحد سطح کلزا در مزرعه به شمار می‌رود. به نظر می‌رسد کاربرد نانواکسید مولیبدن از طریق افزایش میزان کلروفیل گیاه باعث بهبود  $F_v/F_m$  شده و در نهایت با افزایش میزان فتوسنتز موجب افزایش عملکرد دانه گردیده است.

### نتیجه‌گیری نهایی

به‌طور کلی نتایج نشان داد اعمال تنش خشکی انتهای فصل موجب کاهش میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی و  $F_m$ ،  $F_v$ ،  $F_v/F_m$  و عملکرد دانه و افزایش میزان  $F_0$  در بوته‌های کلزا گردید. نانواکسید مولیبدن از طریق بهبود سیستم‌های آنتی‌اکسیدانی آنزیمی (فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز) و غیر آنزیمی (کاروتنوئید) باعث کاهش اثرات مخرب تنش اکسیداتیو ناشی

### منابع

- Abdollahi, M., Ghorbani, H., Heidari, M., 2017. Effects of Salinity, molybdenum and mycorrhizal fungi (*Glomus versiform*) on the oxidative enzymes activity and some physiological characteristics in corn. Journal of Plant Research (Iranian Journal of Biology). 30, 607-618. [In Persian with English Summary].
- Aebi, H., 1984. Catalase in vitro. Methods in Enzymology. 105, 121-126.
- Afshar Mohamadian, M., Omidipour, M., Jamal Omid, F., 2018. Effect of different drought stress levels on chlorophyll fluorescence indices of two bean cultivars. Journal of Plant Research (Iranian Journal of Biology). 31, 511-525. [In Persian with English Summary].
- Ahmadi-Lahijani, M.J., Emam, Y., 2016. Post-anthesis drought stress effects on photosynthesis rate and chlorophyll content of wheat genotypes. Journal of Plant Physiology and Breeding. 6, 35-52.
- Alizadeh, M., Armand, N., Rostami, M., Hosseinzadeh, S., 2020. Effect of water deficit stress on photosynthetic indices of three chickpea (*Cicer arietinum* L.) cultivars. Environmental Stresses in Crop Sciences, 13, 85-96. [In Persian with English Summary].
- Alyari, H., Shekari, F., Shekari, F.M., 2000. Oilseeds (Agronomy and Physiology). Amidi Publication. 182 p. [In Persian].
- Amiri, A., Sirousmehr, A.R., Yadollahi, P., Asgharipour, A.R., Esmaeilzadeh Bahbadi, S., 2016. Effect of drought stress and spraying of salicylic acid and hitosan on photosynthetic pigments and antioxidant enzymes in safflower. Agricultural Crop Manegment, 18, 453-466. [In Persian].
- Amalina, N., Zain, M., Razi Ismail, M., 2016. Effects of potassium rates and types on growth, leaf gas exchange and biochemical changes in rice (*Oryza sativa*) planted under cyclic water stress. Agricultural Water Management. 164, 83-90.
- Azadi, M., Shokoohfar, A., Mojadam, M., Lak, S., Alavifazel, M., 2021. Effect of potassium chemical and biological fertilizers on biochemical traits of corn hybrids under drought stress and determination of traits affecting grain yield. Environmental Stresses in Crop Sciences. 14, 27-38. [In Persian with English Summary].
- Baker, N.R., 2008. Chlorophyll fluorescence: a probe of photosynthesis in vivo. Annual Review of Plant Biology. 59, 89-113.



- Bates, L., 1973. Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and Soil*. 39, 205-207.
- Beigi, S., Golchin, A., Shafiei, S., 2011. The effects of different levels of nitrogen and molybdenum in nutrient solution on quantitative and qualitative traits and nitrate concentration of cucumber in hydroponic culture. *Journal of Science and Technology of Greenhouse Culture*. 2, 37-49.
- Bellaire, B.A., Carmody, J., Braud, J., Gossett, D.R., Banks, S.W., Lucas, M.C., Fowler, T.E., 2000. Involvement of abscisic acid-dependent and independent pathways in the upregulation of antioxidant enzyme activity during NaCl stress in cotton callus tissue. *Free Radical Research*. 33, 531-545.
- Bittner, F., 2014. Molybdenum metabolism in plants and crosstalk to iron. *Frontiers in plant science*. 5, 1-6.
- Bybord, A., Tabatabaei, S.J., Ahmadev, A., 2010. Effect of salinity on fatty acid composition of Canola (*Brassica napus* L). *Journal of Food Agriculture and Environment*. 8, 113-115.
- Chance, B., Maehly, A.C., 1955. Assay of catalases and peroxidase. *Methods in Enzymology*. 2, 764-775.
- Chang, C.J., Koa, C.H., 1988. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> metabolism during senescence of rice leaves changes in enzyme activities in light and darkness. *Plant Growth Regulation*. 25, 11-15.
- Ekinci, M., Dursun, A., Yildirim, E., Parlakova, F., 2014. Effects of nanotechnology liquid fertilizers on the plant growth and yield of cucumber (*Cucumis sativus* L.). *Acta Scientiarum Polonorum Hortorum Cultus*. 13, 135-141.
- Gholami, A.A., 2018. Manipulating the pathway for the synthesis of carotenoids to improve the quality of food products through biotechnology. *Journal of Biosafety*. 10, 1-15.
- Ghorbanli, M., Alibabae, A., Payvandi, M., 2013. Effect of different concentrations of molybdenum on some physiological and biochemical parameters in *Hypericum perforatum* L. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research*. 29, 595-604. [In Persian with English Summary].
- Han, Z., Wei, X., Wan, D., He, W., Wang, X., Xiong, Y., 2020. Effect of molybdenum on plant physiology and cadmium uptake and translocation in rape (*Brassica napus* L.) under different levels of cadmium stress. *International Journal of Environmental Research and Public Health*. 17, 2355-2372.
- Han-Wens, S., Jing, H., Shu-Xuan, L., Wei-Jun, K., 2010. Protective role of selenium on garlic growth under cadmium stress. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*. 41, 1195-1204.
- Havaux, M., Niyogi, K.K., 1999. The violoxanthin cycle protects plants from photooxidative damage by more than one mechanism. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 96, 8762-8767.
- Hosseinzadeh, S.R., Amiri, H., Ismaili, A., 2016. Effect of vermicompost fertilizer on photosynthetic characteristics of chickpea (*Cicer arietinum* L.) under drought stress. *Photosynthetica*. 54, 87-92.
- Hussain, I., Rasheed, R., Ashraf, M.A., Mohsin, M., Shah, S.M.A., Rashid, D.A., Akram, M., Nisar, J., Riaz, M., 2020. Foliar applied acetylsalicylic acid induced growth and key-biochemical changes in chickpea (*Cicer arietinum* L.) under drought stress. *Dose-Response*. 18, 1-13.
- Imran, M., Sun, X., Hussain, S., Ali, U., Rana, M.S., Rasul, F., Shaukat, S., Hu, C., 2020. Molybdenum application regulates oxidative stress tolerance in winter wheat under different nitrogen sources. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*. 20, 1827-1837.
- Kabiri, R., Nasibi, F., Farahbakhsh, H., 2014. Effect of exogenous salicylic acid on some physiological parameters and alleviation of water stress in nigella sativa plant under hydroponic culture. *Plant Protection Sciences*. 50, 43-51.
- Kahru, A., Dubourguier, H.C., 2010. From ecotoxicology to nanoecotoxicology. *Toxicology*. 269, 105-119.
- Khodabin, G., Tahmasebi-Sarvestani, Z., Rad, A.H.S., Modarres-Sanavy, S.A.M., 2020. Effect of drought stress on certain morphological and physiological characteristics of a resistant and a sensitive canola cultivar. *Chemistry and biodiversity*. 17, 1-13.
- Koocheki, A., Khajeh-Hosseini, M., 2008. *Modern agriculture*. Mashhad SID Mashhad Publication. 704 p. [In Persian].

- Kottmann, L., Wilde, P., Schittenmhelm, S., 2016. How do timing, duration, and intensity of drought stress affect the agronomic performance of winter rye. *European Journal of Agronomy*. 75, 25-32.
- Li, J., Li, X.D., 2002. Effect of copper and molybdenum on quality in Pakchoi. *Fujian Agricultural Science and Technology*. 3, 13-14.
- Lichtenthaler, H.K., 1987. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. *Methods in Enzymology*. 148, 350-382.
- Liu, P., Yang, Y.S., Xu, G.D., Fang, Y.H., Yang, Y.A., 2005. The response of antioxidant enzymes of three soybean varieties to molybdenum and boron in soil with a connection to plant quality. *Plant, Soil and Environment*. 51, 351-359.
- Maiti, R.K., Moreno-Limon, S., Wesche-Ebeling, P., 2000. Responses of some crops to various abiotic stress factors and its physiological and biochemical basis of resistances. *Agricultural Reviews*. 21, 155-167.
- Mehta, P., Jajoo, A., Mathur, S., Bharti, S., 2010. Chlorophyll a fluorescence study revealing effects of high salt stress on Photosystem II in wheat leaves. *Plant Physiology and Biochemistry*. 48, 16-20.
- Moosavifar, B., Khazaei, H., Kafi, M., 2018. The effect of drought stress on some photosynthetic characteristics of kochia (*Kochia scoparia* L.) in a greenhouse trial. *Environmental Stresses in Crop Sciences*. 11, 603-614. [In Persian with English Summary].
- Moradyanfar, H., 2008. Canola is a valuable and profitable plant. *Journal of Farm*. 29, 32-33.
- Nemati, M., Asghari, A., 2015. Changes in chlorophyll content and fluorescence and total soluble sugars rapeseed cultivars under osmotic stress. *Journal of Agricultural Science and Sustainable Production*. 22, 167-181. [In Persian with English Summary].
- Pinto, A., Mota, M., Varennes, A., 2005. Influence of organic matter on the uptake of zinc, copper and iron by Sorghum plants. *Science of the total environment*. 326, 239-247.
- Qzturk, E., Ozer, H., Potal, T., 2008. Growth and yield of safflower genotypes grown under irrigated and non-irrigated conditions in a highland environment. *Plant and Soil Environment*. 54, 453-460.
- Rahbarian, R., Khavari-Nejad, R., Ganjeali, A., Bagheri, A., Najafi, F., 2013. Drought stress effects on photosynthesis, chlorophyll fluorescence and water relations in tolerant and susceptible chickpea (*Cicer arietinum* L.) genotypes. *Iranian Journal of Pulses Research*. 4, 87-96. [In Persian with English Summary].
- Ramak, P., Khavari-Nejad, R., Hidari Sharifabad, H., Rafiee, M., Khademi, K., 2014. The effect of water stress on dry weight and photosynthetic pigments in two sainfoin species. *Iranian Journal of Rangelands and Forests Plant Breeding and Genetic Research*. 14, 91-80. [In Persian with English Summary].
- Rana, M., Bhandana, P., Sun, X.C., Imran, M., Shaaban, M., Moussa, M., Saleem, M.H., Elyamine, A., Binyamin, R., Alam, M., Afzal, J., 2020. Molybdenum as an essential element for crops: An overview. *Journal of Scientific and Technical Research*. 24, 18535-18547.
- Sadeghipour, O., Aghaei, P., 2012. Response of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) to exogenous application of salicylic acid (SA) under water stress conditions. *Advances in Environmental Biology*. 6, 1160-1168.
- Soheili movahhed, S., Esmaili, M., Jabbari, F., khorramdel, S., Fouladi, A. 2017. Effects of water deficit on relative water content, chlorophyll fluorescence indices and seed yield in four pinto bean genotypes. *Journal of Crop Production*. 10, 169-190. [In Persian with English Summary].
- Sorkhi, F., Fateh, M., 2019. Effect of drought stress on leaf area index, photosynthesis, stomatal conductance and proline content in two pinto bean cultivars (*Phaseolus vulgaris* L.) *Environmental Stresses in Crop Sciences*. 12, 389-399. [In Persian with English Summary].
- Vistoso, E.M., Alfaro, M., Mora, M.L., 2012. Role of molybdenum on yield, quality, and photosynthetic efficiency of white clover as a result of the interaction with liming and different phosphorus rates in Andisols. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*. 43, 2342-2357.
- Wang, L., Fan, L., Loescher, W., Duan, W., Liu, G., Cheng, J., Luo, H., Li S., 2010. Salicylic acid alleviates decreases in photosynthesis under heat stress and accelerates recovery in grapevine leaves. *BMC plant Biologically*. 10 1-10.

- Wright, H., Delong, J., Lada, R., Prange, R., 2009. The relationship between water status and chlorophyll a fluorescence in grapes (*Vitis* spp.). *Postharvest Biology and Technology*. 51, 193-199.
- Wu, S., Hu, C., Tan, Q., Nie, Z., Sun, X., 2014. Effects of molybdenum on water utilization, antioxidative defense system and osmotic-adjustment ability in winter wheat (*Triticum aestivum*) under drought stress. *Plant Physiology and Biochemistry*. 83, 365-374.
- Wu, S., Hu, C., Tan, Q., Xu, S., Sun, X., 2017. Nitric oxide mediates molybdenum-induced antioxidant defense in wheat under drought stress. *Frontiers in Plant Science*. 8, 1-11.
- Wu, W., Ma, B., Whalen, J.K., 2018. Enhancing rapeseed tolerance to heat and drought stresses in a changing climate: perspectives for stress adaptation from root system architecture. *Advances in Agronomy*. 151, 87-157.
- Xia, J., Li, Y., Zou, D., 2004. Effects of salinity stress on PSII in *Ulva lactuca* probed by chlorophyll fluorescence measurements. *Aquatic Botany*. 80, 129-130.