

(مقاله پژوهشی)

تحقیقات غلات

دوره دهم / شماره چهارم / زمستان ۱۳۹۹ (۲۹۸-۲۸۵)

اثر محدودیت آبیاری و کاربرد کودهای زیستی و نانوسیلیکون بر عملکرد و برخی ویژگی‌های بیوشیمیایی گندم

فرناز احمدی نورالدین‌وند^{۱*}، رئوف سیدشریفی^۲، سیدعطاءاله سیادت^۳ و راضیه خلیل‌زاده^۴

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۱۱/۰۴

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۷/۳۰

چکیده

به‌منظور ارزیابی اثر محدودیت آبیاری و کاربرد کودهای زیستی و نانوسیلیکون بر عملکرد و برخی ویژگی‌های بیوشیمیایی گندم، آزمایشی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح پایه بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در مزرعه پژوهشی دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه محقق اردبیلی در سال زراعی ۹۸-۱۳۹۷ اجرا شد. عامل‌های آزمایشی شامل آبیاری در سه سطح (آبیاری کامل به‌عنوان شاهد و قطع آبیاری از مرحله ۵۰ درصد سنبله‌دهی و آبستنی به‌ترتیب به‌عنوان محدودیت ملایم و شدید آبی بر اساس کد ۵۵ و ۴۳ مقیاس BBCH)، محلول‌پاشی نانوسیلیکون (محلول‌پاشی با آب به‌عنوان شاهد، ۳۰ و ۶۰ میلی‌گرم در لیتر به‌ترتیب معادل ۲۲/۵ و ۴۵ میلی‌گرم در مترمربع) و کودهای زیستی (عدم کاربرد به‌عنوان شاهد، کاربرد قارچ میکوریزا (*Glomus mosseae*))، کاربرد باکتری‌های فلاوباکتریوم (*Flavobacterium*) و سودوموناس (*Pseudomonas Putida strain 186*)، کاربرد توأم میکوریزا و باکتری‌ها) بودند. نتایج نشان داد که بیش‌ترین فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و قندهای محلول با کاربرد توأم کودهای زیستی و محلول‌پاشی ۳۰ میلی‌گرم در لیتر نانوسیلیکون تحت شرایط قطع آبیاری در مرحله آبستنی به‌دست آمد. تحت شرایط آبیاری کامل و عدم کاربرد کودهای زیستی و نانوسیلیکون، فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، پراکسیداز و پلی‌فنول‌اکسیداز و میزان قندهای محلول به‌ترتیب ۷۸، ۴۹، ۶۴ و ۷۴ درصد در مقایسه با قطع آبیاری در مرحله آبستنی و کاربرد توأم کودهای زیستی و محلول‌پاشی ۳۰ میلی‌گرم در لیتر نانوسیلیکون کاهش یافت. بیش‌ترین محتوای پروتئین با کاربرد ۶۰ میلی‌گرم در لیتر نانوسیلیکون (۹/۵۰ میکروگرم در گرم وزن تر) و کاربرد توأم کودهای زیستی (۹/۷ میکروگرم در گرم وزن تر) در شرایط قطع آبیاری در مرحله آبستنی (۱۰/۹۷ میکروگرم در گرم وزن تر) به‌دست آمد. میزان پراکسیدهیدروژن نیز تحت شرایط قطع آبیاری در مرحله آبستنی و عدم کاربرد نانوسیلیکون و کودهای زیستی، به‌میزان ۹۰ درصد نسبت به کاربرد ۶۰ میلی‌گرم در لیتر نانوسیلیکون و کاربرد توأم کودهای زیستی در شرایط آبیاری نرمال افزایش یافت. بیش‌ترین عملکرد دانه (۴۵۹۳ کیلوگرم در هکتار) از کاربرد توأم کودهای زیستی و ۳۰ میلی‌گرم در لیتر نانوسیلیکون در شرایط آبیاری کامل به‌دست آمد. نتایج این مطالعه نشان داد که کاربرد توأم کودهای زیستی و نانوسیلیکون به‌واسطه بهبود ویژگی‌های بیوشیمیایی گیاه، می‌تواند عملکرد دانه گندم را تحت شرایط محدودیت آبی افزایش دهد.

واژه‌های کلیدی: آنتی‌اکسیدان‌ها، پراکسید هیدروژن، قطع آبیاری، قندهای محلول، نانوتکنولوژی

۱- دانشجوی دکتری، گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران

۲- استاد، گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران

۳- استاد، گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ایران

۴- دانش‌آموخته دکتری، گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه، ایران

* نویسنده مسئول: farnaz_ahmadi@rocketmail.com

مقدمه

خشکی یکی از مهم‌ترین تنش‌های غیرزیستی موثر در کاهش عملکرد گیاهان زراعی است ولی گیاهان قادرند با ایجاد مکانیسم‌های فیزیولوژیک و بیوشیمیایی در جهت حفظ رشد و جلوگیری از کاهش بیش‌تر عملکرد به‌نحو موثری عمل کنند (Batool et al., 2019). یکی از علایم تغییرات بیوشیمیایی در گیاهان تحت تنش، تولید گونه‌های فعال اکسیژن است. اختلال در انتقال الکترون در کلروپلاست و میتوکندری موجب تولید سوپراکسید (O_2^-) و پراکسید هیدروژن (H_2O_2) می‌شوند که در شرایط مطلوب فیزیولوژیک مضر نیستند، ولی واکنش‌های اکسایش - احیا فلزات (Fe^{3+} و Cu^{2+}) منجر به تولید رادیکال‌های بسیار فعال هیدروکسیل (OH) می‌شوند که موجب آسیب سلولی از طریق پراکسیداسیون غشا، تغییر شکل پروتئین و آسیب DNA می‌شود. برای جلوگیری از تولید این مولکول‌های واکنش‌پذیر، گیاهان از مکانیسم‌های دفاعی ویژه‌ای برخوردارند که از همکاری آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و پراکسیداز و آنتی‌اکسیدان‌های کاروتنوئید، توکوفرول، اسکوربات، گلوکاتایون تشکیل شده‌اند (Bandeoglu et al., 2004). امروزه برخی محققان معتقدند که افزایش میزان آنتی‌اکسیدان‌ها تحمل گیاه به تنش‌های محیطی را افزایش می‌دهد. به نحوی که گزارش شده است در شرایط تنش خشکی افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مانند کاتالاز و پراکسیداز منجر به افزایش مقاومت گیاه نسبت به شرایط تنشی می‌شود (Ghanbari et al., 2021). ستار و همکاران (Sattar et al., 2020) اظهار داشتند که افزایش فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، پراکسیداز، سوپر اکسید دیسموتاز در گندم با تغییر در ویژگی‌های فیزیولوژیک و بیوشیمیایی، موجب افزایش مقاومت گیاه در شرایط تنش خشکی شد.

مدیریت مناسب تغذیه گیاهی در جهت بهبود مقاومت گیاه به محدودیت‌های ناشی از شوری و خشکی، یکی از راهکارهای مناسب برای افزایش عملکرد تحت تغییر شرایط محیطی است (Abdelilah and Boumezzough, 2017). در این راستا استفاده از کودهای زیستی (قارچ‌های میکوریزا و باکتری‌های محرک رشد) به‌عنوان یک راه حل بالقوه برای افزایش رشد و کارایی فتوسنتز، افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و افزایش عملکرد و تحمل به محدودیت‌های

زیست‌محیطی پیشنهاد شده است (Raklami et al., 2019). در واقع کودهای زیستی شامل انواع ریزموجودات آزادزی هستند که توانایی تبدیل عناصر غذایی پرمصرف را از فرم غیر قابل‌دسترس به فرم قابل‌دسترس طی فرآیندهای زیستی دارند و منجر به توسعه سیستم ریشه‌ای و جوانه‌زنی بهتر بذر می‌شوند (Wu et al., 2005). نتایج برخی بررسی‌ها نشان داد که تلقیح بذر گندم و جو با باکتری‌های محرک رشد موجب افزایش فعالیت‌های آنتی‌اکسیدان و تحمل بهتر گیاهان به تنش‌های محیطی و کاهش آثار مخرب تنش‌های اکسایشی شد (Ahmad and Prasad, 2012). خیری‌زاده آروق و همکاران (Kheirizadeh Arough et al., 2016) بیشترین فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، پراکسیداز، پلی‌فنل اکسیداز، محتوای پرولین و قندهای محلول در تریتیکاله را در کاربرد توأم میکوریزا و باکتری در شرایط قطع آبیاری در مرحله آبستنی گزارش کردند. همچنین، تلقیح بذر با کودهای زیستی (قارچ و باکتری‌های محرک رشد) در شرایط تنش خشکی سبب افزایش پروتئین محلول، پراکسیداز و پرولین در گیاه شد (Irakhah et al., 2021). قلی‌نژاد و همکاران (Gholinezhad et al., 2020) گزارش کردند که کمبود آب سبب کاهش عملکرد دانه گندم شد، اما وقتی بذرها این گیاه با قارچ مایکوریزا تلقیح شدند، عملکرد دانه آن به‌دلیل کاهش آثار ناشی از تنش آبی، به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. کاربرد برخی عناصر ریزمغذی در شرایط کمبود آب، راهبردی است که می‌تواند اثر مخرب تنش خشکی بر رشد و عملکرد گیاهان را کاهش دهد. سیلیکون (سیلیسیم) از جمله عناصری است که می‌تواند منجر به افزایش تحمل گیاهان زراعی به تنش‌های مختلف زیستی و غیرزیستی شود (Gong and Chen, 2012). سیلیکون دومین عنصر در پوسته زمین است و عنصر ضروری برای رشد و نمو گیاه محسوب نمی‌شود، ولی به‌دلیل نقش محوری فیزیکی- مکانیکی آن، برای رشد بیش‌تر گیاهان مفید است و فرآیندهای فیزیولوژیک و متابولیکی زیادی را فعال می‌کند (Luyckx et al., 2017). در حال حاضر سیلیکون (Si) به‌عنوان یک عنصر ضروری شناخته نشده است، بلکه به‌عنوان عنصر شبه ضروری برای رشد گیاهان در نظر گرفته می‌شود (Gaur et al., 2020). با توجه به تحقیقات صورت گرفته در خصوص این عنصر و نیز آثار سودمند سیلیکون بر رشد و توسعه گیاهانی که تحت

کشور و اهمیت کودهای زیستی و نانوسیلیکون در تعدیل بخشی از آثار ناشی از محدودیت آبی و بررسی‌های محدود انجام شده در مورد برهمکنش این عوامل، موجب شد تا تحقیق حاضر اجرا شود که هدف از آن بررسی اثر این عوامل بر عملکرد و برخی ویژگی‌های بیوشیمیایی گندم بود.

مواد و روش‌ها

آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح پایه بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در مزرعه پژوهشی دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه محقق اردبیلی با مختصات جغرافیایی ۴۸ درجه و ۲۰ دقیقه طول شرقی و ۳۸ درجه و ۱۵ دقیقه عرض شمالی و ارتفاع ۱۳۵۰ متر از سطح دریا، در سال زراعی ۹۸-۱۳۹۷ اجرا شد. شرایط اقلیمی در طول دوره رشد گندم و نتایج آزمون خاک محل آزمایش به ترتیب در جدول‌های ۱ و ۲ ارائه شده است. رقم گندم مورد استفاده در این آزمایش، رقم میهن بود که دارای تیپ رشد زمستانه، متحمل به زنگ زرد و نیمه‌متحمل به زنگ قهوه‌ای و سیاه است و از مرکز تحقیقات جهاد کشاورزی اردبیل تهیه شد.

شرایط تنش هستند، می‌توان چنین اظهار کرد که سیلیکون عنصری سودمند برای رشد گیاهان در شرایط نامساعد محیطی است، به نحوی که موجب تعدیل اثر تنش خشکی و شوری، بهبود فعالیت فتوسنتز، کاهش سمیت مواد معدنی و افزایش تحمل به تنش‌های غیرزنده می‌شود (Hajiboland *et al.*, 2017). این ماده موجب افزایش محتوای آب برگ در گیاهان تحت تنش خشکی از طریق تشکیل لایه ضخیم در زیر اپیدرم برگ می‌شود (Luyckx *et al.*, 2017). کاربرد سیلیکون می‌تواند سنتز آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان را افزایش و اثر منفی ناشی از تنش خشکی را به شدت کاهش دهد (Shekari *et al.*, 2017). بررسی اثر سیلیکون بر گندم تحت تنش خشکی مشخص کرد که فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز در مقایسه با عدم کاربرد سیلیکون، افزایش یافته و اثر تنش به واسطه کاهش میزان پراکسید هیدروژن، کاهش می‌یابد (Gong *et al.*, 2008). علاوه بر این، محتوای پروتئین نیز در شرایط تنش در مقایسه با تیمار شاهد افزایش یافت و با کاربرد سیلیکون افزایش بیش‌تری در آن مشاهده شد (Haddad and Mokhlesian, 2016).

مواجه شدن بخشی از دوران رشدی به‌ویژه دوران رشد زایشی گندم با محدودیت آبی در مناطق خشک و نیمه‌خشک

جدول ۱- پارامترهای جوی ثبت شده در طول دوره رشد گندم

Table 1. Meteorological parameters recorded during wheat growth period

Month	Rainfall (mm)	Average temperature (°C)	Total sunshine (h)	Average relative humidity (%)
Oct	43.6	11.8	201.3	72
Nov	9.7	11.7	166.5	64
Des	6.5	3	177.3	70
Jan	16.5	4.6	165.4	67
Feb	54.8	0.06	128.7	77
MA	26.5	7	157.5	73
Apr	9.3	9	170.9	66
May	60.3	12.3	196.3	71
Jun	28.2	16.8	148.6	71
Jul	3.9	21.5	344.2	60
Aug	0.9	25.3	255.6	69

Reference: Meteorological organization of Ardabil province (<http://www.ardebilmet.ir/>).

جدول ۲- ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک مزرعه آزمایشی

Table 2. Soil physicochemical properties of the experimental field

Saturated extract	pH	CaCO ₃	Clay	Silt	Sand	Soil texture	Organic carbon	N	P	K	Zn
49	7.8	14.4	23	42	35	Loam	0.62	0.06	8.29	202	1.8

اسپکتروفتومتر تعیین شد. برای سنجش پروتئین محلول از روش برادفورد (Bradford, 1976) و در طول موج ۵۹۵ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد. برای اندازه‌گیری قندهای محلول از روش دابیوس و همکاران (Dubios et al., 1956) و برای استخراج پروتئین از روش بیتس و همکاران (Bates et al., 1973) استفاده شد. محتوای پراکسید هیدروژن (H_2O_2) با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر و در طول موج ۳۹۰ نانومتر اندازه‌گیری شد (Alexieva et al., 2001). میزان پراکسیداسیون لیپیدی (مالون دی آلدئید) براساس روش پیشنهادی استوارت و بولی (Stewart and Beweley, 1980) اندازه‌گیری شد. جهت اندازه‌گیری صفات بیوشیمیایی، نمونه‌برداری‌ها در هنگام صبح و به صورت یک مرحله‌ای در زمان گلدهی گیاه انجام گردید (Mushtaq et al., 2020). عملکرد دانه از دو خط اصلی هر کرت با رعایت اثر حاشیه‌ای از سطحی معادل ۰/۲ متر مربع برآورد شد. برای تجزیه داده‌ها و رسم نمودارها از نرم‌افزارهای SAS (نسخه ۹/۴) و Excel و برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد استفاده شد.

نتایج و بحث

فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی: نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر سطوح آبیاری، کودهای زیستی، نانوسیلیکون و برهمکنش این عوامل بر فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، پراکسیداز و پلی‌فنل‌اکسیداز در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۳). بین رژیم‌های مختلف آبیاری بیش‌ترین فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، پراکسیداز و پلی‌فنول اکسیداز در شرایط قطع آبیاری در مرحله آبستنی به‌ترتیب با مقادیر ۴۴/۷۵، ۸۸/۴۸ و ۵۶/۷۴ تغییرات جذب در میکروگرم پروتئین بر دقیقه به‌دست آمد. در واقع تنش‌های محیطی بر محدوده وسیعی از فعالیت‌های گیاهان نیز تأثیر می‌گذارند و با توجه به نتایج حاصل از این پژوهش تغییر در فعالیت‌های آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی نیز یکی از مکانیسم‌های مهمی است که در شرایط روبه‌رو شدن گیاه با تنش‌های محیطی مثل تنش خشکی برای بالا بردن تحمل گیاه در این شرایط رخ می‌دهد. همچنین بیش‌ترین فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی از کاربرد توأم قارچ مایکوریزا و باکتری‌های محرک رشد و ۳۰

عامل‌های آزمایشی شامل آبیاری در سه سطح (آبیاری کامل به‌عنوان شاهد، قطع آبیاری در ۵۰٪ مراحل سنبله‌دهی و آبستنی به‌ترتیب به‌عنوان محدودیت ملایم و شدید آبی بر اساس کد ۵۵ و ۴۳ مقیاس BBCH)، محلول‌پاشی نانوسیلیکون در سه سطح (محلول‌پاشی با آب به‌عنوان شاهد و ۳۰ و ۶۰ میلی‌گرم در لیتر به‌ترتیب معادل ۲۲/۵ و ۴۵ میلی‌گرم در مترمربع) و کودهای زیستی در چهار سطح (عدم کاربرد به‌عنوان شاهد و کاربرد قارچ مایکوریزا، باکتری‌های محرک رشد و کاربرد توأم قارچ و باکتری) بودند. محلول‌پاشی نانوسیلیکون در دو مرحله ساقه‌دهی و مرحله قبل از آبستنی (به‌ترتیب معادل با کد ۳۰ و ۴۳ مقیاس BBCH) اعمال شد. نانوسیلیکون ($Nano-SiO_2$) با اندازه ذرات ۲۰ تا ۳۰ نانومتر محصول شرکت آمریکایی US Research Nanomaterial بود که از شرکت پیشگامان نانومواد ایرانیان تهیه شد. قارچ مورد استفاده *Glomus mosseae* بود که از شرکت زیست‌فناوران توران تهیه و به‌میزان ۲۰ گرم در هر مترمربع خاک (۲۰۰ کیلوگرم در هکتار) به روش استاندارد و توصیه شده توسط جیانینازی و همکاران (Gianinazzi et al., 2001) استفاده شد. مایه تلقیح باکتری‌های *Pseudomonas Putida* و *Flavobacterium* strain 186 از موسسه تحقیقات خاک و آب تهیه شد. برای تلقیح بذرها از مایه تلقیحی که هر گرم آن دارای 10^8 عدد باکتری زنده و فعال بود استفاده و از محلول صمغ عربی برای چسبندگی بهتر مایه تلقیح به بذرها استفاده شد. این مخلوط به مدت دو ساعت در محل خشک و تاریک قرار داده شد. هر واحد آزمایشی دارای پنج ردیف کاشت با فواصل بین ردیفی ۲۰ سانتی‌متر و تراکم ۴۰۰ بذر در متر مربع (تراکم مطلوب و توصیه شده این رقم) بود. کاشت در ۱۲ آبان ماه انجام شد. اولین آبیاری بعد از کاشت و آبیاری‌های بعدی بسته به شرایط محیطی، نیاز گیاه زراعی و سطوح ذکر شده انجام شد. به‌منظور اطمینان از عدم تداخل آب آبیاری به کرت‌های مجاور، فاصله بین کرت‌ها ۱/۵ متر در نظر گرفته شد. به‌دلیل عدم وجود آفت و بیماری در طول دوره رشد، هیچگونه مبارزه شیمیایی صورت نگرفت. فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، پراکسیداز و پلی‌فنول اکسیداز در برگ پرچم با استفاده از روش کارو و میشر (Karo and Mishra, 1976) و به‌وسیله دستگاه

به نظر می‌رسد که بخشی از افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی ناشی از کاربرد سیلیکون باشد که با محافظت از غشای سلول در برابر پراکسیداسیون لیپیدی، موجب تحمل گیاه به شرایط تنش و افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی همانند کاتالاز و پراکسیداز می‌شود (Shekari *et al.*, 2017). افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در شرایط قطع آبیاری در مرحله آبستنی راه، با کاهش خسارت گونه‌های فعال اکسیژن و محافظت سلول‌ها در برابر تنش اکسیداتیو می‌توانند از آسیب وارده به گیاه را کاهش و منجر به بهبود عملکرد شوند (Young *et al.*, 2013). در این بررسی در ترکیبات تیماری که از سیلیکون استفاده شده بود کاهش عملکرد در تمامی سطوح از محدودیت آبی کمتر بود (شکل ۱). تأثیر این ماده در جلوگیری از تخریب ساختاری و عملکردی غشای سلولی، افزایش پایداری لیپیدها در غشای سلولی برنج در معرض تنش خشکی و گرما نیز توسط دیگر محققان گزارش شده است (Agarie *et al.*, 1998). نتایج مشابهی نیز مبنی بر افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی گندم تلقیح شده با کودهای زیستی گزارش شده است (Chakraborty *et al.*, 2013).

قندهای محلول: نتایج تجزیه واریانس بیانگر معنی‌داری

عامل‌های آزمایشی بر میزان قندهای محلول در سطح احتمال یک درصد است (جدول ۳). همچنین اثرات متقابل هر یک از فاکتورهای آزمایشی در سطح یک درصد معنی‌دار بود. در بین رژیم‌های مختلف آبیاری بیشترین محتوای قند محلول در شرایط قطع آبیاری در مرحله آبستنی مشاهده شد که نسبت به آبیاری در مرحله سنبله‌دهی و آبیاری کامل به ترتیب ۵۹/۸۶ و ۶۵ درصد افزایش داشت. در واقع با افزایش شدت تنش خشکی در هر مرحله از رشد گیاه، محتوای قند محلول نیز افزایش یافت. همچنین در تیمارهای محلول‌پاشی با نانوسیلیکون و تلقیح بذر با کودهای زیستی نیز افزایش محتوای قند محلول مشاهده شد، به نحوی که تلقیح بذر با قارچ میکوریزا و باکتری‌های محرک رشد سبب افزایش ۷۵/۰۵ درصدی محتوای قند محلول نسبت به عدم تلقیح شد. همچنین اعمال ۳۰ میلی‌گرم در لیتر نانوسیلیکون نسبت به ۶۰ میلی‌گرم نانوسیلیکون و عدم اعمال نانوسیلیکون به ترتیب سبب افزایش ۱۵/۱۵ و ۳۱ درصدی محتوای قند محلول شد.

میلی‌گرم در لیتر نانوسیلیکون و کم‌ترین فعالیت آن‌ها از عدم کاربرد این عوامل حاصل شد. همان‌طور که مقایسه میانگین‌ها (جدول ۴) نشان می‌دهد، بیش‌ترین فعالیت این آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در برهمکنش سه‌گانه این عوامل یعنی کاربرد توأم کودهای زیستی و محلول‌پاشی ۳۰ میلی‌گرم در لیتر نانوسیلیکون در شرایط قطع آبیاری در مرحله آبستنی به‌دست آمد، به‌طوری که کاربرد توأم کودهای زیستی و محلول‌پاشی ۳۰ میلی‌گرم در لیتر نانوسیلیکون تحت شرایط قطع آبیاری در مرحله آبستنی موجب افزایش به ترتیب ۷۸، ۴۹ و ۶۴ درصدی فعالیت کاتالاز، پراکسیداز و پلی‌فنل اکسیداز نسبت به شرایط آبیاری کامل و عدم کاربرد کودهای زیستی و نانوسیلیکون شد (جدول ۴).

یکی از دلایل افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در شرایط تنش خشکی می‌تواند ناشی از همزیستی موثر کاربرد کودهای زیستی به‌صورت توأم و یا تک‌تک در مقایسه با عدم کاربرد آنها باشد، زیرا کاربرد کودهای زیستی (قارچ میکوریزا و باکتری‌های محرک رشد) به دلیل افزایش جذب عناصر غذایی توسط گیاه، سبب افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی می‌شود. معمولاً زمانی که گیاهان در معرض تنش‌های مختلف محیطی قرار می‌گیرند، گونه‌های فعال اکسیژن موجب تخریب چربی‌ها، تجزیه کلروفیل، تخریب ساختار پروتئین‌ها و آسیب به نوکلئیک اسیدها می‌شوند (Moller *et al.*, 2007). در این شرایط، پاسخ آنتی‌اکسیدانی فرآیندی مهم برای حفاظت گیاهان در برابر آسیب‌های اکسیداتیوی است که در اثر طیف وسیعی از تنش‌های محیطی مانند خشکی ایجاد می‌شود (Mittler *et al.*, 2004). در این راستا بیان شده است که کاتالاز یکی از آنزیم‌های جمع‌آوری‌کننده پراکسید هیدروژن به‌شمار می‌آید و افزایش فعالیت این آنزیم ضمن بهبود مقاومت گیاه در برابر تنش، به بهبود عملکرد کمک می‌کند (Miri-Hesar *et al.*, 2019). همان‌طور که در این آزمایش نیز مشاهده شد، با افزایش شدت محدودیت آبی، فعالیت این آنزیم افزایش یافت. از طرفی افزایش در فعالیت پراکسیداز و پلی‌فنول اکسیداز در شرایط محدودیت آبی می‌تواند مکانیسم حفاظتی برای کاهش تخریب اکسیداتیو تحریک شده توسط تنش ایجاد شده در گیاهان باشد (Meloni *et al.*, 2003).

تنش خشکی حفظ کنند، از این رو با افزایش محدودیت آبی، میزان نشاسته کاهش و در مقابل، میزان کربوهیدرات‌های محلول افزایش می‌یابد (Selim et al., 2019). کاربرد کودهای زیستی می‌تواند با افزایش محتوای قندهای محلول و پرولین، باعث افزایش ظرفیت اسمزی شود که این امر منجر به افزایش شیب پتانسیل آب و در نتیجه بهبود جذب آب و رشد گیاه در شرایط تنش شود (Asghari et al., 2020). دلیل دیگر برای تأثیر این قارچ‌ها در افزایش محتوای قندهای محلول، افزایش مقدار هورمون‌های سیتوکینین و جیبرلین در گیاهان میکوریزیایی است. افزایش در میزان این هورمون‌ها به‌ویژه سیتوکینین می‌تواند با انتقال یون‌های مؤثر در باز شدن روزنه‌ها و تنظیم سطح کلروفیل، موجب بالا رفتن سرعت فتوسنتز و در نهایت افزایش محتوای کربوهیدرات‌ها در گیاهان شود (Nemat-Alla et al., 2008). آنلی و همکاران (Anli et al., 2020) اظهار داشتند که کاربرد توام قارچ میکوریزا و باکتری‌های محرک رشد در مقایسه با کاربرد این کودهای زیستی به‌صورت منفرد در شرایط تنش خشکی، منجر به تجمع بیش‌تر کربوهیدرات و عمدتاً قندهای محلول می‌شود. کاربرد نانوسیلیکون در شرایط محدودیت آبی نیز جذب آب در ریشه را با تجمع قندهای محلول و اسیدهای آمینه افزایش دهد (Sonobe et al., 2011).

به‌نظر می‌رسد که زیاد شدن قندهای محلول در اثر تنش شدید به‌دلیل افزایش فشار اسمزی درون گیاه است، زیرا گیاه از این طریق می‌تواند مواد غذایی و آب را از خاک جذب کند. همچنین کاربرد کودهای زیستی در شرایط تنش‌های محیطی با افزایش جذب نیتروژن و پتاسیم و نیز افزایش کارایی این دو عنصر در فرآیند فتوسنتز گیاه نقش به‌سزایی را ایفا کرده و باعث افزایش انحلال‌پذیری عناصر در محیط ریشه و جذب مواد غذایی نیز می‌شود و از این طریق میزان فتوسنتز و تولید قند را در گیاه به مراتب افزایش می‌دهد. علاوه بر این سیلیکون با کاهش تنش اکسیداتیو و حفاظت از غشاهای کلروپلاستی و سلولی و حفاظت از ماکرومولکول‌هایی نظیر پروتئین‌ها، باعث افزایش قندهای موجود در گیاه می‌شود. مقایسه میانگین اثر سه‌گانه عامل‌های آزمایشی نشان داد که بیش‌ترین محتوای قندهای محلول از محلول‌پاشی ۳۰ میلی‌گرم در لیتر نانوسیلیکون و کاربرد توأم کودهای زیستی در شرایط قطع آبیاری در مرحله آبستنی (۹۴/۵۶ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) به‌دست آمد که نسبت به آبیاری کامل و عدم کاربرد کودهای زیستی و نانوسیلیکون از افزایش ۷۴ درصدی برخوردار بود (جدول ۴). افزایش قندهای محلول در شرایط تنش خشکی، می‌تواند به‌عنوان یک محافظ معمولی عمل کرده، غشاهای سلولی را تثبیت و فشار تورگر را تحت شرایط

جدول ۳- تجزیه واریانس عملکرد و ویژگی‌های بیوشیمیایی متأثر از کاربرد کودهای زیستی، نانوسیلیکون در شرایط قطع آبیاری

Table 3. Analysis of variance of yield and biochemical traits affected by bio-fertilizer and nano-silicon under irrigation cut-off conditions

Source of variations	df	Mean squares [†]								
		CAT	POD	PPO	Proline	SS	SP	GY	MDH	H ₂ O ₂
Replication	2	16.31	132.82	120.24	19.51	238.49	4.32	919674.88	0.000016	0.00334
Irrigation (I)	2	4037.59**	8669.13**	4197.31**	250.75**	4932.47**	144.66**	10748405.21**	0.1117**	0.00108 ^{ns}
Biofertilizer (B)	3	3884.72**	2251.43**	2313.23**	42.18**	2594.96**	236.90**	7176908.25**	0.000402**	0.1707**
Nanosilicon (N)	2	364.78**	1042.82**	2324.68**	58.26**	993.14**	83.67**	5809863.99**	0.000165**	0.0393**
I×B	6	150.12**	122.76**	443.47**	2.45 ^{ns}	336.19**	1.19 ^{ns}	480148.99**	0.000024 ^{ns}	0.2214**
I×N	4	42.40 ^{ns}	117.60**	555.05**	4.89 ^{ns}	225.93**	3.02 ^{ns}	76486.35 ^{ns}	0.000018 ^{ns}	0.1187**
B×N	6	107.28**	47.68*	249.71**	1.12 ^{ns}	181.14**	2.39 ^{ns}	424995.53**	0.000018 ^{ns}	0.0555**
I×B×N	12	79.38**	51.10**	183.14*	2.39 ^{ns}	127.84**	8.46 ^{ns}	130796.09**	0.000020 ^{ns}	0.0948**
Error	70	30.57	20.29	79.05	20.05	20.05	6.07	58836.63	0.000028	0.00817
CV (%)	-	11.74	4.84	14.76	17.40	12.75	13.76	8.74	6.67	6.27

^{ns}, * and **: Not-significant and significant at 5% and 1% probability levels, respectively.

[†]: The studied traits are: CAT, catalase; POD, peroxidase; PPO, polyphenol oxidase; SS, soluble sugar; SP, soluble protein; GY, grain yield; MDH, malondialdehyde.

جدول ۴- مقایسه میانگین ویژگی‌های بیوشیمیایی گندم در اثر کاربرد کودهای زیستی و نانوسیلیکون تحت شرایط قطع آبیاری
Table 4. Comparison of means of wheat biochemical characteristics affected by bio-fertilizer and nano-silicon under irrigation cut-off conditions

Treatment [†]	Catalase	Peroxidase	Polyphenol oxidase (OD μg Protein/min)	Soluble sugar (mg/ g FW)	H ₂ O ₂ ($\mu\text{mol}/\text{g}$ FW)
I ₁ S ₀ B ₀	20.51 ^q	65.74 ^t	41.93 ^j	24.97 ^m	0.276 ^{kl}
I ₁ S ₀ B ₁	28.22 ^{pq}	70.79 st	47.70 ^{ghij}	28.73 ^{klm}	0.293 ^{jk}
I ₁ S ₀ B ₂	30.04 ^p	71.80 ^{rst}	44.92 ^{ij}	27.11 ^{klm}	0.276 ^{kl}
I ₁ S ₀ B ₃	42.14 ^{ijklmn}	78.43 ^{nopqr}	53.25 ^{fghij}	27.00 ^{lm}	0.246 ^{mn}
I ₁ S ₁ B ₀	35.52 ^{mnp}	74.22 ^{rs}	47.88 ^{ghij}	27.54 ^{klm}	0.294 ^{jk}
I ₁ S ₁ B ₁	29.73 ^p	77.97 ^{pqrs}	52.94 ^{fghij}	35.18 ^{ghijk}	0.238 ^{mn}
I ₁ S ₁ B ₂	35.31 ^{nop}	76.54 ^{qrs}	54.68 ^{efghij}	27.94 ^{klm}	0.233 ^{mno}
I ₁ S ₁ B ₃	40.67 ^{klmno}	86.19 ^{klm}	54.95 ^{efghij}	33.56 ^{hijkl}	0.226 ^{no}
I ₁ S ₂ B ₀	43.28 ^{ijklmn}	78.13 ^{opqr}	47.22 ^{ghij}	27.23 ^{klm}	0.272 ^{kl}
I ₁ S ₂ B ₁	43.32 ^{ijklmn}	85.43 ^{klmno}	54.00 ^{fghij}	31.28 ^{ijklm}	0.256 ^{lm}
I ₁ S ₂ B ₂	32.57 ^{op}	84.07 ^{klmnop}	55.19 ^{efghij}	26.39 ^{lm}	0.222 ^{no}
I ₁ S ₂ B ₃	39.81 ^{klmno}	91.38 ^{ijk}	52.78 ^{fghij}	32.76 ^{hijklm}	0.211 ^o
I ₂ S ₀ B ₀	35.86 ^{lmno}	75.85 ^{qrs}	45.73 ^{hij}	27.97 ^{klm}	0.350 ^{bc}
I ₂ S ₀ B ₁	39.20 ^{lmno}	79.12 ^{mnpqr}	53.77 ^{fghij}	25.81 ^{lm}	0.335 ^{bcdefg}
I ₂ S ₀ B ₂	35.85 ^{op}	85.41 ^{klmno}	49.35 ^{ghij}	26.99 ^{lm}	0.330 ^{cdefghi}
I ₂ S ₀ B ₃	58.52 ^{def}	96.66 ^{fghi}	55.87 ^{efghij}	38.34 ^{fghi}	0.316 ^{ghij}
I ₂ S ₁ B ₀	39.12 ^{lmno}	82.99 ^{lmnopq}	48.02 ^{ghij}	36.90 ^{ghij}	0.332 ^{bcdefgh}
I ₂ S ₁ B ₁	41.24 ^{ijklmno}	96.47 ^{fghi}	57.92 ^{defghi}	31.19 ^{ijklm}	0.313 ^{ghij}
I ₂ S ₁ B ₂	40.51 ^{klmno}	85.75 ^{klmn}	59.14 ^{defghi}	27.62 ^{klm}	0.310 ^{ghij}
I ₂ S ₁ B ₃	60.13 ^{cde}	108.86 ^{cd}	64.01 ^{def}	48.79 ^d	0.306 ^{ij}
I ₂ S ₂ B ₀	48.27 ^{ghijk}	91.38 ^{hijk}	51.17 ^{fghij}	29.14 ^{ijklm}	0.329 ^{cdefghi}
I ₂ S ₂ B ₁	52.71 ^{efgh}	106.65 ^{cde}	60.40 ^{defg}	38.63 ^{efghi}	0.310 ^{hij}
I ₂ S ₂ B ₂	44.38 ^{ghijklm}	87.15 ^{kl}	60.46 ^{defgh}	33.09 ^{hijklm}	0.315 ^{ghij}
I ₂ S ₂ B ₃	57.34 ^{def}	100.39 ^{efg}	60.14 ^{defgh}	46.36 ^{def}	0.331 ^{cdefgh}
I ₃ S ₀ B ₀	44.75 ^{ghijkl}	88.48 ^{ijkl}	56.74 ^{efghi}	40.90 ^{defgh}	0.401 ^a
I ₃ S ₀ B ₁	50.23 ^{fghij}	103.02 ^{def}	56.69 ^{efghi}	45.83 ^{def}	0.349 ^{bcd}
I ₃ S ₀ B ₂	50.04 ^{fghij}	97.01 ^{fghi}	57.56 ^{defghi}	42.16 ^{defg}	0.350 ^{bc}
I ₃ S ₀ B ₃	64.91 ^{bcd}	119.34 ^b	71.37 ^{cd}	47.81 ^d	0.334 ^{bcdefgh}
I ₃ S ₁ B ₀	44.02 ^{ghijklmn}	98.69 ^{fgh}	58.02 ^{defghi}	43.05 ^{defg}	0.345 ^{bcd}
I ₃ S ₁ B ₁	53.39 ^{efg}	112.30 ^{bc}	92.91 ^b	45.47 ^{def}	0.345 ^{bcd}
I ₃ S ₁ B ₂	51.28 ^{efghi}	117.86 ^b	61.57 ^{defg}	46.51 ^{de}	0.321 ^{efghi}
I ₃ S ₁ B ₃	94.99 ^a	128.49 ^a	115.94 ^a	94.56 ^a	0.325 ^{defghi}
I ₃ S ₂ B ₀	68.92 ^{bc}	95.47 ^{ghij}	60.03 ^{defgh}	47.81 ^d	0.356 ^b
I ₃ S ₂ B ₁	68.94 ^{bc}	116.42 ^b	82.17 ^{bc}	66.29 ^c	0.341 ^{bcdef}
I ₃ S ₂ B ₂	60.28 ^{cde}	107.66 ^{cde}	69.07 ^{cde}	48.38 ^d	0.324 ^{efghi}
I ₃ S ₂ B ₃	71.88 ^b	126.69 ^a	111.77 ^a	83.12 ^b	0.319 ^{fghi}

Means followed by similar letter (s) in each column are not significantly different by LSD test at 5% probability level.

[†]: The studied factors are: I₁, I₂ and I₃, irrigation levels (No-stress, mild stress and severe stress, respectively); S₀, S₁ and S₂, nano-silicon levels (0, 30 and 60 mg L⁻¹, respectively); B₀, B₁, B₂ and B₃, bio-fertilizer levels (non-inoculated, inoculated with *Mycorrhiza*, inoculation with bacteria and Co-inoculation of *Mycorrhiza* and bacteria).

کاربرد توأم مایکوریزا و باکتری محرک رشد (۹/۷ میکروگرم بر گرم وزن تر برگ) در شرایط تنش خشکی شدید (۱۰/۹۷ میکروگرم بر گرم وزن تر برگ) به دست آمد (جدول ۵). در واقع با افزایش محدودیت آبی، میزان انباشت پرولین افزایش یافت، به نحوی که محتوای پرولین در قطع آبیاری در مرحله آبه‌تنی نسبت به آبیاری کامل حدود ۴۷ درصد افزایش نشان

پرولین: نتایج تجزیه واریانس نشان دهنده معنی‌داری آثار اصلی آبیاری، محلول‌پاشی نانوسیلیکون و کاربرد کودهای زیستی است، اما برهمکنش عامل‌ها تأثیر معنی‌داری روی این صفت نداشت (جدول ۳). نتایج مقایسه میانگین‌ها نشان داد که بیش‌ترین محتوای پرولین در محلول‌پاشی ۶۰ میلی‌گرم در لیتر نانوسیلیکون (۹/۵ میکروگرم بر گرم وزن تر برگ)،

پروتئین در شرایط محدودیت آبی، نتیجه واکنش پروتئین با رادیکال‌های آزاد و در نتیجه تغییر اسید آمینه، کاهش سنتز پروتئین و نیز تجمع اسیدهای آمینه آزاد از جمله پرولین (جدول ۵) و افزایش فعالیت آنزیم‌های تجزیه کننده پروتئین باشد (Jin *et al.*, 2016). همچنین، کاربرد توأم و منفرد کودهای زیستی موجب افزایش محتوای پروتئین کل نسبت به عدم کاربرد آن‌ها شد، به طوری که محتوای پروتئین کل برگ (۲۱/۸۶ درصد) در کاربرد توأم باکتری‌های محرک رشد و قارچ مایکوریزا افزایش ۳۲ درصدی نسبت به عدم کاربرد آن‌ها نشان داد (جدول ۵). با افزایش کاربرد نانوسیلیکون مقدار پروتئین‌های محلول به طور معنی داری افزایش یافت، اگرچه اختلاف معنی داری بین عدم کاربرد و محلول پاشی ۳۰ میلی گرم در لیتر نانوسیلیکون در سطح احتمال یک درصد وجود نداشت (جدول ۵). افزایش پروتئین‌های محلول در کاربرد سیلیکون احتمالاً با سنتز پروتئین‌های جدید و یا افزایش سطح پروتئین‌های مرتبط با تحمل به تنش نظیر پرولین (جدول ۵) و یا با نقش این عنصر در مقابله با تنش اکسیداتیو در ارتباط باشد (Gong *et al.*, 2008).

پراکسید هیدروژن و مالون‌دی‌آلدئید: نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر اصلی هر یک از عامل‌های آزمایشی بر محتوای مالون‌دی‌آلدئید و برهمکنش آن‌ها بر پراکسید هیدروژن در سطح احتمال یک درصد معنی دار بود (جدول ۳). قطع آبیاری در مرحله آبستنی موجب افزایش ۱۵/۶۵ درصدی فعالیت مالون‌دی‌آلدئید نسبت به شرایط آبیاری کامل شد. افزایش مالون‌دی‌آلدئید در گیاه نشان دهنده این است که تحت شرایط تنش، ساختار غشاء آسیب دیده و لیپیدهای آن آزاد شده و به دلیل وجود ترکیبات ROS که تحت شرایط تنش افزایش می‌یابند، این لیپیدها پراکسید شده و مالون‌دی‌آلدئید تولید می‌شود. به نظر می‌رسد کاربرد سیلیکون و کودهای زیستی با افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی (جدول ۴) و محافظت از غشای سلول در برابر پراکسیداسیون لیپیدی، و همچنین افزایش اسمولیت‌های سازگاری همانند پرولین (جدول ۵) و قندهای محلول (جدول ۴) موجب تحمل بهتر گیاه به شرایط تنش (Shekari *et al.*, 2017) و کاهش محتوای مالون‌دی‌آلدئید می‌شود.

داد. به نظر می‌رسد زمانی که گیاه تحت شرایط تنش خشکی قرار می‌گیرد، مقدار پرولین در سلول‌ها افزایش می‌یابد تا با افزایش غلظت داخل سلول، جذب و نگهداری آب داخل سلول را حفظ کند (Ahmed *et al.*, 2017). مقایسه میانگین‌ها نشان داد که عدم کاربرد کودهای زیستی سبب کاهش ۳۱ درصدی محتوای پرولین برگ گیاه شد (جدول ۵). گزارش شده است که کاربرد مایکوریزا و باکتری‌های محرک رشد میزان پرولین را در گیاهان به طور معنی داری افزایش می‌دهد (Asrar and Elhindi, 2012). لاکسا و همکاران (Laxa *et al.*, 2019) اظهار داشتند که پرولین به عنوان منبع نیتروژن برای گیاهان در شرایط تنش عمل کرده و از ترکیبات سلولی در برابر خسارات تنش خشکی محافظت می‌کند و در تحمل سیتوپلاسمی بسیاری از گیاهان تحت تنش کم‌آبی نقش اساسی دارد. در مطالعه حاضر مشاهده شد که مصرف نانوسیلیکون نسبت به عدم کاربرد آن موجب افزایش ۳۲/۶۸ درصدی محتوای پرولین شد (جدول ۵). از آنجا که پرولین نقش موثری را در جلوگیری از تخریب آنزیم‌ها و تجزیه ماکرومولکول‌ها و حفظ استحکام دیواره سلولی در هنگام وقوع تنش‌های محیطی از جمله تنش خشکی دارد، از این رو به نظر می‌رسد کاربرد سیلیکون و کودهای زیستی (قارچ مایکوریزا و باکتری‌های محرک رشد) با افزایش محتوای پرولین به افزایش تحمل گیاه در برابر تنش خشکی کمک می‌کند. نتایج مشابهی توسط بوخاری و همکاران (Bukhari *et al.*, 2020) مبنی بر افزایش محتوای پرولین در محلول پاشی چهار میلی مولار سیلیکون گزارش شده است. همچنین در طی آزمایشی نانو دی اکسید سیلیکون عملکرد گیاه و تجمع پرولین را بهبود بخشید. در نتیجه افزایش در تجمع پرولین، اسیدهای آمینه آزاد، محتوای عناصر مغذی، فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانت بواسطه نانو دی اکسید سیلیکون، تحمل گیاهان به تنش غیرزنده بهبود یافت (Siddiqui *et al.*, 2015).

پروتئین کل محلول برگ پرچم: آثار اصلی آبیاری، کودهای زیستی و محلول پاشی نانوسیلیکون بر این صفت در سطح احتمال یک درصد معنی دار بود (جدول ۳). مقایسه میانگین‌ها نشان داد که قطع آبیاری در مرحله آبستنی موجب کاهش ۲۰ درصدی پروتئین برگ پرچم نسبت به آبیاری کامل شد (جدول ۵). به نظر می‌رسد که کاهش محتوای

جدول ۵- اثر کاربرد کودهای زیستی و نانوسیلیکون بر میزان پرولین، پروتئین محلول و مالون دی آلدئید گندم تحت شرایط قطع آبیاری
Table 5. Effect of bio-fertilizer and nano-silicon on proline, soluble protein and MDA of wheat under irrigation cut-off conditions

Treatment		Proline ($\mu\text{g/g FW}$)	Soluble protein (mg/g FW)	Malondialdehyde ($\mu\text{mol/g FW}$)
Irrigation	Normal irrigation	5.84 ^c	19.84 ^a	0.0728 ^c
	Moderate stress	7.32 ^b	18.01 ^b	0.0791 ^b
	Severe stress	10.97 ^a	15.84 ^c	0.0842 ^a
Nano-silicon (mg/L)	Control	7.16 ^b	16.57 ^b	0.0807 ^a
	30	7.47 ^b	17.56 ^b	0.0790 ^a
	60	9.50 ^a	19.56 ^a	0.0760 ^b
Bio-fertilizer	Non-inoculated	6.72 ^c	14.82 ^c	0.0844 ^a
	Mycorrhiza	7.61 ^b	16.84 ^b	0.0775 ^b
	PGPR	8.15 ^b	18.06 ^b	0.0774 ^b
	PGPR with Mycorrhiza	9.70 ^a	21.86 ^a	0.0756 ^b

Means followed by the similar letter in each column are not significantly different by LSD test at 5% probability level.

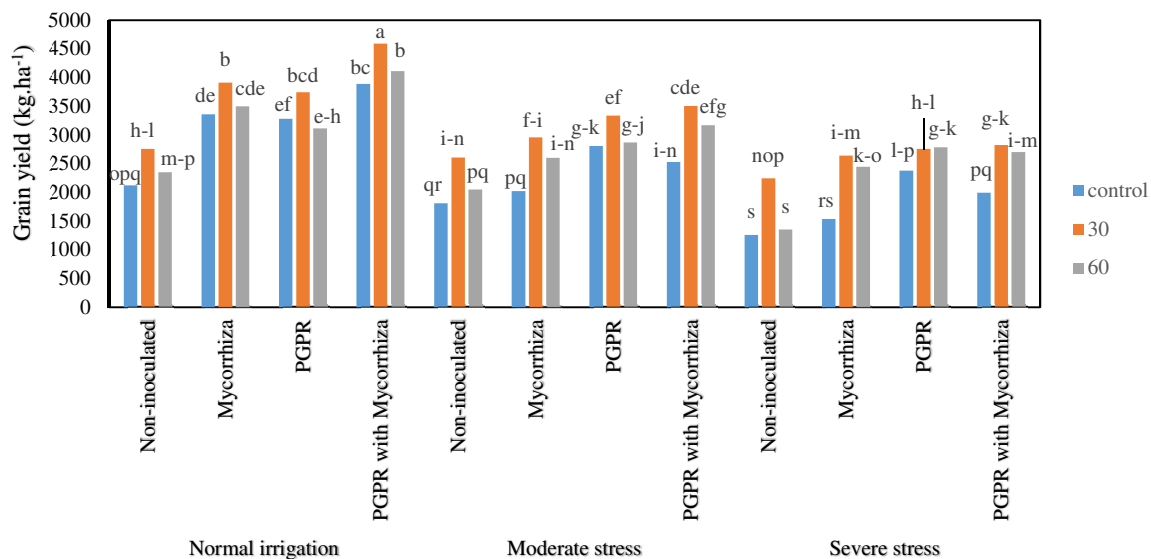
برخی از آنزیم‌های مهم سیستم دفاعی اکسیداتیو مانند کاتالاز و پراکسیداز (جدول ۴) و کاهش محتوای مالون‌دی‌آلدئید (جدول ۵) مرتبط باشد. در این راستا محققان اظهار داشتند که استفاده از سیلیکون سبب افزایش فعالیت برخی آنزیم‌های مهم شرکت کننده در سیستم دفاعی اکسیداتیو مانند کاتالاز و پراکسیداز و کاهش پراکسیدهیروژن و مالون‌دی‌آلدئید در گیاهانی میشود که با محدودیت آبی مواجه هستند (Maghsoudi *et al.*, 2019). از طرفی در شرایط محدودیت آبی، گیاهان تیمار شده با باکتری‌های محرک رشد و قارچ میکوریزا با افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی (جدول ۴) آثار ناشی از تنش اکسیداتیو و با افزایش اسمولیت‌های سازگاری نظیر پرولین (جدول ۵) آثار ناشی از کمبود آب را تا حدود زیادی تعدیل می‌کنند و موجب کاهش محتوای پراکسید هیدرروژن می‌شوند. باتول و همکاران (Batool *et al.*, 2020) نشان دادند که محتوای مالون‌دی‌آلدئید در عدم کاربرد باکتری‌های محرک رشد تحت تنش خشکی ملایم و شدید به ترتیب ۵۰ و ۷۵ درصد افزایش و در کاربرد این باکتری‌ها ۴۱ و ۶۵ درصد کاهش داشت. به نظر می‌رسد تحت تنش خشکی، گیاهان تیمار شده با باکتری‌های محرک رشد و قارچ میکوریزا، با تنظیم مجدد ترکیبات آنتی‌اکسیدانی، مهار ROS و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، تنش اکسیداتیو ناشی از کمبود آب را خنثی می‌کنند، زیرا مشاهده شده است که گیاهان در برابر آسیب‌های ناشی از این تنش اکسیداتیو با مکانیسم سم‌زدایی ROS که می‌تواند آنزیمی و یا غیر آنزیمی باشد، محافظت می‌شوند (Anli *et al.*, 2020).

نتایج مقایسه میانگین‌ها نشان داد که گیاهان برخوردار از سطوح بالای نانوسیلیکون و کاربرد توام کودهای زیستی در مقایسه با عدم کاربرد این عوامل به ترتیب از کاهش ۱/۶ و ۱۱ درصدی مالون‌دی‌آلدئید برخوردار بودند (جدول ۵). کاهش پراکسیداسیون چربی‌ها در گیاهان تیمار شده با سیلیکون بیانگر تقویت مکانیسم‌های مقاومتی (احتمالاً ترشح اسیدهای آلی) در این گیاهان است (Haddad and Mokhlesian, 2016). قلی‌نژاد و همکاران (Gholinezhad *et al.*, 2020) اظهار داشتند که محتوای مالون‌دی‌آلدئید در شرایط قطع آبیاری در مرحله آبستنی نسبت به آبیاری کامل ۲۷ درصد افزایش یافت، اما کاربرد میکوریزا محتوای مالون‌دی‌آلدئید را کاهش داد. ایشان علت آنرا به نقش میکوریزا در پاک‌سازی گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) نسبت دادند. محققان دیگر علت کاهش محتوای مالون‌دی‌آلدئید در گیاهان برخوردار از باکتری‌های محرک رشد را به نقش محافظتی این باکتری‌ها در کاهش تجمع گونه‌های فعال اکسیژن و جلوگیری از پراکسیداسیون لیپیدها نسبت دادند که در نهایت مانع افزایش مالون‌دی‌آلدئید می‌شود (Asghari *et al.*, 2020).

نتایج مقایسه میانگین‌ها نشان داد که قطع آبیاری در مرحله آبستنی و عدم کاربرد کودهای زیستی و نانوسیلیکون، از افزایش ۹۰ درصدی پراکسیدهیروژن نسبت به شرایط آبیاری کامل با کاربرد توأم کودهای زیستی و محلول پاشی ۶۰ میلی‌گرم در لیتر نانوسیلیکون برخوردار بود (جدول ۴). به نظر می‌رسد بخشی از کاهش محتوای پراکسید هیدرروژن در حالت استفاده از سیلیکون و کودهای زیستی با افزایش فعالیت

آنتی‌اکسیدان (جدول ۴)، کاهش محتوای مالون‌دی‌آلدئید و افزایش اسمولیت‌های سازگاری مانند پرولین (جدول ۵) و قندهای محلول (جدول ۴) باشد که موجب تحمل بهتر گیاه به شرایط تنش می‌شود. نتایج مشابهی توسط محققان دیگر نیز گزارش شده است، به طوری که محلول پاشی نانودی‌اکسید سیلیکون با افزایش تجمع آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و افزایش کارایی دستگاه‌های فتوسنتزی (Kalteh *et al.*, 2014)، و باکتری‌های محرک رشد حاوی آنزیم ACC دامیناز با کاهش سطح اتیلن گیاه (Wagar *et al.*, 2004) می‌توانند رشد و عملکرد گیاه را بهبود بخشند.

عملکرد دانه: نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که برهمکنش سه عامل آبیاری × کودهای زیستی × نانو سیلیکون بر عملکرد دانه در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۳). عدم کاربرد نانو سیلیکون و کودهای زیستی در شرایط قطع آبیاری در مرحله آبستنی، سبب کاهش ۵۵ درصدی عملکرد دانه نسبت به محلول پاشی ۳۰ میلی‌گرم در لیتر نانو سیلیکون و تلقیح توأم بذر با باکتری‌های محرک رشد و قارچ مایکوریزا شد (شکل ۱). بخشی از افزایش عملکرد گیاه در اثر کاربرد کودهای زیستی و نانو سیلیکون در شرایط محدودیت آبی می‌تواند ناشی از افزایش فعالیت آنزیم‌های



شکل ۱- اثر سطوح آبیاری، کودهای زیستی و نانو سیلیکون بر عملکرد دانه گندم. PGPR باکتری‌های محرک رشد و Control، ۳۰ و ۶۰ به ترتیب غلظت‌های صفر (شاهد)، ۳۰ و ۶۰ میلی‌گرم در لیتر نانو سیلیکون.

Figure 1. Effect of irrigation levels, bio-fertilizer and nano silicon on wheat grain yield. PGPR, plant growth promoting rhizobacteria and control, 30 and 60, concentrations of 0, 30 and 60 mg/L nano-silicon, respectively.

محرک رشد) به صورت همزمان و یا منفرد ممکن است به دلیل افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و تنظیم اسمزی ناشی از پرولین و قندهای محلول باشد. به نظر می‌رسد که محلول پاشی ۳۰ میلی‌گرم در لیتر نانو سیلیکون همراه با تلقیح توأم بذر با باکتری‌های محرک رشد (فلاوباکتریوم و سودوموناس) و قارچ مایکوریزا، روش مناسبی برای کاهش یا تعدیل اثر محدودیت آبی و افزایش عملکرد دانه گندم باشد.

نتیجه‌گیری کلی

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که تحت شرایط تنش خشکی، حضور سیلیکون و کاربرد کودهای زیستی به صورت توأم و یا منفرد، نقش چشم‌گیری در کاهش محتوای پراکسیداسیون لیپیدی و پراکسید هیدروژن و افزایش عملکرد گندم داشت. بهبود رشد گیاهان در شرایط تنش با کاربرد سیلیکون و کودهای زیستی (قارچ مایکوریزا و باکتری‌های

References

- Agarie, S., Hanaoka, N., Ueno, O., Miyazaki, A., Kubota, F., Agata, W. and Kaufman, P. B. 1998. Effects of silicon on tolerance to water deficit and heat stress in rice plants (*Oryza sativa* L.) monitored by electrolyte leakage. **Plant Production Science** 1 (2): 96-103.
- Ahmad, P. and Prasad, M. N. V. 2012. Abiotic stress responses in plants: Metabolism, productivity and sustainability. Springer, New York.
- Ahmed, M., Hassan, F. U., Qadir, G., Shaheen, F. A. and Aslam, M. A. 2017. Response of proline accumulation in bread wheat (*Triticum aestivum* L.) under rainfed conditions. **Journal of Agricultural Meteorol** 73 (4): 147-155.
- Alexieva, V., Sergiev, I., Mapelli, S. and Karanov, E. 2001. The effect of drought and ultraviolet radiation on growth and stress markers in pea and wheat. **Plant Cell and Environment** 24: 1337-1344.
- Abdelilah, M. and Boumezzough, A. 2017. First detection of potosia opaca larva attacks on *Phoenix dactylifera* and *P. canariensis* in Morocco: Focus on pests control strategies and soil quality of prospected palm groves. **Journal of Entomology and Zoology Studies** 4 (5): 984-991.
- Anli, M., Baslam, M., Tahiri, A., Raklami, A., Symanczik, S., Boutasknit, A., Ait-El-Mokhtar, M., Ben Laouane, R., Toubali, S., Ait Rahou, Y., Ait Chitt, M., Oufdou, K., Mitsui, T., Hafidi, M. and Meddich, A. 2020. Biofertilizers as strategies to improve photosynthetic apparatus, growth, and drought stress tolerance in the date palm. **Frontiers in Plant Science** 11: 1-21.
- Asghari, B., Khademian, R. and Sedaghati, B. 2020. Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) confer drought resistance and stimulate biosynthesis of secondary metabolites in pennyroyal (*Mentha pulegium* L.) under water shortage condition. **Scientia Horticulturae** 263: 109132.
- Asrar, A. W. A. and Elhindi, K. M. 2011. Alleviation of drought stress of marigold (*Tagetes erecta*) plants by using arbuscular mycorrhizal fungi. **Saudi Journal of Biological Sciences** 18: 93-98.
- Bandeoglu, E., Eyidogan, F., Yucel, M. and Oktem, H. A. 2004. Antioxidant responses of shoots and roots of lentil to NaCl-salinity stress. **Plant Growth Regulation** 42: 69-77.
- Bates, I. S., Waldern, R. P. and Teare, I. D. 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. **Journal Plant and Soil** 39: 205-207.
- Batool, A., Akram, N. A., Cheng, Z. G., Lv, G. C., Ashraf, M., Afzal, M., Xiong, J. L., Wang, J. Y. and Xiong, Y. C. 2019. Physiological and biochemical responses of two spring wheat genotypes to non-hydraulic root-to-shoot signalling of partial and full root-zone drought stress. **Plant Physiology and Biochemistry** 139: 11-20.
- Batool, T., Ali, S. and Seleiman, M. F. 2020. Plant growth promoting rhizobacteria alleviates drought stress in potato in response to suppressive oxidative stress and antioxidant enzymes activities. **Scientific Reports** 10: 16975.
- Bradford, M. M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry** 72: 248-254.
- Bukhari, M. A., Ahmad, Z., Ashraf, M. Y., Afzal, M., Nawaz, F., Nafees, M., Jatoi, W. N., Malghani, N. A., Shah, A. N. and Manan, A. 2020. Silicon mitigates drought stress in wheat (*Triticum aestivum* L.) through improving photosynthetic pigments, biochemical and yield characters. **Silicon** 2020. <https://doi.org/10.1007/s12633-020-00797-4>.
- Chakraborty, U., Chakraborty, B. N., Chakraborty, A. P. and Dey, P. L. 2013. Water stress amelioration and plant growth promotion in wheat plants by osmotic stress tolerant bacteria. **World Journal of Microbiology and Biotechnology** 29: 789-803.
- Dubios, M., Gilles, K. A., Hamilton, J. K., Roberts, P. A. and Smith, F. 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. **Annual of chemistry** 28: 350-356.
- Ghanbari, M., Mokhtassi-Bidgoli, A., Mansour Ghanaei-Pashaki, K. and Talebi-Siah Saran, P. 2021. The study of yield and physiological characteristics of pearl millet (*Pennisetum glaucum*) in response to bio-fertilizers and different irrigation regimes. **Journal of Agricultural Science and Sustainable Production** 31 (1): 23-37.
- Gholinezhad, E., Darvishzadeh, R., Siavash Moghaddam, S. and Popovic-Djordjevic, J. 2020. Effect of mycorrhizal inoculation in reducing water stress in sesame (*Sesamum indicum* L.). The assessment

- of agrobiochemical traits and enzymatic antioxidant activity. **Journal of Agricultural Water Management** 238: 106234-106245.
- Gianinazzi, S., Schuepp, H., Barea, J. M. and Haselwandter, K. 2001.** Mycorrhizal technology in agriculture: From genes to bioproducts. Birkhauser, Basel. 296 p. ISBN: 376436858.
- Gong, H. and Chen, K. 2012.** The regulatory role of silicon on water relations, photosynthetic gas exchange, and carboxylation activities of wheat leaves in field drought conditions. **Acta Physiologiae Plantarum** 34: 1589-1594.
- Gong, H. J., Chen, K. M. and Zhao, Z. G. 2008.** Effects of silicon on defense of wheat against oxidative stress under drought at different developmental stages. **Biologia Plantarum** 52: 592-596.
- Gaur, S., Kumar, J., Kumar, D., Chauhan, D. K., Prasad, S. M. and Seivastava, P. K. 2020.** Fascinating impact of silicon and silicon transporters in plants: A review. **Ecotoxicology and Environmental Safety** 202: 110885.
- Haddad, R. and Mokhlesian, S. 2016.** Effect of silicon on the peroxidase gene expression and morphological traits of barley under drought Stress. **Journal of Cell and Tissue** 6 (4): 451-460. (In Persian with English Abstract).
- Hajiboland, R., Cherghvareh, L. and Dashtebani, F. 2017.** Effect of silicon supplementation on wheat plants under salt stress. **Journal of Plant Process and Function** 5 (18): 1-12.
- Irankhah, S., Ganjeali, A., Mashreghi, M. and Lari, Z. 2021.** Mixed inoculum of rhizobacteria and arbuscular mycorrhizal fungus enhance diosgenin contain and phosphorus uptake in fenugreek under drought stress. **Rhizosphere** 18: 100338.
- Jin, R., Wang, Y., Liu, R., Gou, J. and Chan, Z. 2016.** Physiological and metabolic changes of purslane (*Portulaca oleracea* L) in response to drought, heat, and combined stresses. **Frontiers in Plant Sciences** 6: 1123.
- Kalteh, M., Alipour, Z. T., Ashraf, S., Aliabadi, M. M. and Nosratabadi, A. F. 2014.** Effect of silica nanoparticles on basil (*Ocimum basilicum*) under salinity stress. **Journal of Chemical Health Risks** 4 (3): 49-55.
- Karo, M. and Mishra, D. 1976.** Catalase, peroxidase, and polyphenoloxidase activities during rice leaf senescence. **Plant Physiology** 57: 315-319.
- Kheirizadeh Arough, Y., Seyed Sharifi, R. and Seyed Sharifi, R. 2016.** Bio fertilizers and zinc effects on some physiological parameters of triticale under water-limitation condition. **Journal of Plant Interactions** 11 (1): 167-177.
- Laxa, M., Liebthal, M., Telman, W., Chibani, K. and Dietz, K. J. 2019.** The role of the plant antioxidant system in drought tolerance. **Antioxidants** 8 (4): 1-31.
- Luyckx, M., Hausman, J. F., Lutts, S. and Guerriero, G. 2017.** Silicon and plants: Current knowledge and technological perspectives. **Frontiers in Plant Sciences** 8: 411.
- Maghsoudi, K., Emam, Y., Ashraf, M. and Arvin, M. J. 2019.** Alleviation of field water stress in wheat cultivars by using silicon and salicylic acid applied separately or in combination. **Crop and Pasture Science** 70: 36-43.
- Meloni, D., Oliva, M., Martinez, C. and Cambraia, J. 2003.** Photosynthesis and activity of superoxide dismutase, peroxidase and glutathione reductase in cotton under salt stress. **Environmental and Experimental Botany** 49 (1): 69-76.
- Miri-Hesar, K., Dadkhodae, A., Dorostkar, S. and Heidari, B. 2019.** Differential activity of antioxidant enzymes and physiological changes in wheat (*Triticum aestivum* L.) under drought stress. **Notulae Scientia Biologicae** 11 (2): 266-276.
- Mittler, R., Vanderauwera, S., Gollery, M. and Vanbreusegem, F. 2004.** Reactive oxygen gene network of plants. **Trends in Plant Science** 9: 490-498.
- Moller, I. M., Jensen, P. E. and Hansson, A. 2007.** Oxidative modifications to cellular components in plants. **Annual Review of Plant Biology** 58: 459-481.
- Mushtaq, A., Khan, Z., Khan, S., Rizwan, S., Jabeen, U., Bashir, F., Ismail, T., Anjum, S. and Masood, A. 2020.** Effect of silicon on antioxidant enzymes of wheat (*Triticum aestivum* L.) grown under salt stress. **Silicon** 12: 2783-2788.

- Nemat-Alla, M. M., Badawi, A. M., Hassan, N. M., El-Bastawisy, Z. M. and Badran, E. G. 2008.** Effect of metribuzin, butachlor and chlorimuron-ethyl on amino acid and protein formation in wheat and maize seedlings. **Pesticide Biochemistry and Physiology** 90: 8-18.
- Raklami, A., Bechtaoui, N., Tahiri, A., Anli, M., Meddich, A. and Oufdou, K. 2019.** Use of rhizobacteria and mycorrhizae consortium in the open field as a strategy for improving crop nutrition, productivity and soil fertility. **Frontiers in Microbiology** 10: 1106.
- Sattar, A., Sher, A., Ijaz, M., Ul-Allah, S., Rizwan, M. S. and Hussain M. 2020.** Terminal drought and heat stress alter physiological and biochemical attributes in flag leaf of bread wheat. **Plos One** 15 (5): 1-14.
- Selim, D. H., Nassar, R. A., Boghdady, M. S. and Bonfill, M. 2019.** Physiological and anatomical studies of two wheat cultivars irrigated with magnetic water under drought stress conditions. **Plant Physiology and Biochemistry** 135: 480-488.
- Shekari, F., Abbasi, A. and Mustafavi, S. H. 2017.** Effect of silicon and selenium on enzymatic changes and productivity of dill in saline condition. **Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences** 16 (4): 367-374.
- Siddiqui, M. H., Al-Whaibi, M. H., Firoz, M. and Al-Khaishany, M. Y. 2015.** Role of nanoparticles in plants. In: Siddiqui, M. H., Al-Whaibi, M. H. and Firoz, M. (Eds.). *Nanotechnology and plant science*. Springer. pp: 19-35.
- Sonobe, K., Hattori, T., Tsuji, W., Eneji, A. E., Kobayashi, S., Kawamura, Y., Tanaka, K. and Inanaga, S. 2011.** Effect of silicon application on sorghum root responses to water stress. **Journal of Plant Nutrition** 34 (1): 71-82.
- Stewart, R. C. and Beweley, J. D. 1980.** Lipid peroxidation associated with accelerated aging of soybean axes. **Plant Physiology** 65: 245-248.
- Wagar, A., Shahroona, B. Z., Zahir, A. and Arshad, M. 2004.** Inoculation with Acc deaminase containing rhizobacteria for improving growth and yield of wheat. **Pakistan Journal of Agricultural Sciences** 41: 119-124.
- Wu, S. C., Caob, Z. H., Lib, Z. G., Cheunga, K. C. and Wong, M. H. 2005.** Effects of bio-fertilizer containing N-fixer, P and K solubilizers and AM fungi on maize growth: A greenhouse trial. **Journal of Geoderma** 125: 155-166.
- Young, L. S., Hameed, A., Peng, S. Y., Shan, Y. H. and Wu, S. P. 2013.** Endophytic establishment of the soil isolate *Burkholderia* sp. CC-A174 enhances growth and P-utilization rate in maize (*Zea mays* L.). **Applied Soil Ecology** 66: 40-47.



Effect of water limitation and application of bio-fertilizer and nano-silicon on yield and some biochemical traits of wheat

Farnaz Ahmadi Nouraldinvand^{1*}, Raouf Seyed Sharifi², Seyed Ataollah Siadat³ and Razieh Khalilzadeh⁴

Received: October 21, 2020

Accepted: January 23, 2021

Abstract

To study the effect of water limitation and application of bio-fertilizer and nanosilicon on yield and some biochemical characteristics of wheat, a factorial experiment was carried out in a randomized complete block design with three replications in the research field of Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran, in 2018-2019. Experimental factors were included irrigation in three levels (full irrigation as control and irrigation cut-off at 50% of booting and heading stages, based on codes 55 and 43 of the BBCH scale, as moderate and severe water limitation, respectively), foliar application of nano-silicon (water spraying as control, 30 mg/L or 22.5 mg/m² and 60 mg/L or 45 mg/m² nano-silicon) and bio-fertilizer (no application as control, application of mycorrhiza (*Glomus mosseae*), application of *flavobacterium + pseudomonas* strain 186, combined application of mycorrhiza and *flavobacterium + pseudomonas*). The results showed that the highest antioxidant enzymes activity and soluble sugars were obtained by combined application of bio-fertilizers and foliar application of 30 mg/L nano-silicon under the condition of irrigation limitation at booting stage. Under full irrigation condition and non-application of bio-fertilizers and nano-silicon, the activity of catalase, peroxidase and polyphenol oxidase enzymes and soluble sugar content decreased 78, 49, 64 and 74 percent, respectively, compared to severe water limitation at booting stage and combined application of bio-fertilizers and 30 mg/L nano-silicon. Maximum proline content was also obtained by foliar application of 60 mg/L nano-silicon (9.50 µg/g FW) and combined application of bio-fertilizers (9.70 µg/g FW) under severe stress conditions (10.97 µg g Fw⁻¹). Hydrogen peroxide (H₂O₂) content under severe water limitation at booting stage and non-application of bio-fertilizers and nano-silicon was 90% higher than the application of 60 mg/L nano-silicon and combined application of bio-fertilizers under full irrigation condition. The highest grain yield (4593 kg/ha) was obtained from the foliar application of 30 mg/L nano-silicon and combined application of bio-fertilizers under full irrigation conditions. The results of current study showed that the combined application of bio-fertilizers and nano-silicon can increase wheat grain yield under water limitation conditions by improving plant biochemical characteristics.

Keywords: Antioxidant, irrigation withholding, hydrogen peroxide, Nanotechnology, soluble sugars

1. Ph. D. Student, Dept. of Plant Production and Genetic Engineering, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili, Ardebil, Iran
2. Prof., Dept. of Plant Production and Genetic Engineering, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili, Ardebil, Iran
3. Prof., Dept. of Plant Production and Genetic Engineering, Faculty of Agriculture, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Khozestan, Iran
4. Ph. D. Graduate, Dept. of Plant Production and Genetic Engineering, Faculty of Agriculture, University of Urmia, Iran

* Corresponding author: farnaz_ahmadi@rocketmail.com