

Changes induced in physiological indicators and performance of Triticosecale (*X Triticosecale* Wittmack) under water stress by some growth promoting bacteria and nanoparticles

F. Aghaei^{1*}, R. Seyed Sharifi², S. Farzaneh³

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

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

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

Received 12 February 2023; Accepted 6 June 2023

Extended abstract

Introduction

Water limitation is one of the most important abiotic factors that can limit plant growth and yield due to production of reactive oxygen species (ROS) like H₂O₂ and the reduction of chlorophyll content. To protect against oxidative stress, plant cells produce both antioxidant enzymes such as superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and peroxidase (POX), and non-enzymatic antioxidants such as low weight molecules like proline, sugars and ascorbate. Also water limitation disturbs the mineral-nutrient relations in plants through their effects on nutrient availability and numerous of physiological and biochemical destruction in the vegetative and reproductive periods of plant development. Several strategies have been suggested in order to improve yield under abiotic and biotic stresses in plants, among them application of Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR) and nano particles such as nano iron-silicon oxide play a key role in yield improvement. A better understanding of physiological responses under water limitation may help in programs which the objective is to improve the drought resistance of crop. During the course of these stresses, active solute accumulation of compatible solutes such as proline and the activities CAT, POD and PPO enzymes are claimed to be an effective stress tolerance mechanism. Therefore, the aim of this study was to evaluate the effects of bio-fertilizers and nano iron oxide and nano oxide on some physiological and biochemical (i.e., antioxidant enzyme activity, chlorophyll, protein, soluble sugars and proline) responses of triticale under water limitation conditions.

Materials and methods

An experiment was conducted as factorial based on randomized complete block design with three replicates at the research farm of faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili in 2021. The experimental factors were included of irrigation in three levels (full irrigation as control, irrigation withholding at 50% of booting and heading stages as severe and moderate water limitation respectively (BBCH 43 and 55 respectively), application of bio fertilizers in four levels (no application as control, application of Azospirillum, Pseudomonas, both application Azospirillum and

* Corresponding author: Fatemeh Aghaei; E-Mail: f.ghaei1994@gmail.com



Pseudomonas) and nanoparticles foliar application at four levels (foliar application with water as control, nano iron oxide foliar application (1 g.l^{-1}), nano silicon oxide (50 mg.l^{-1}), both application nano iron-silicon oxide). *Pseudomonas* and *Azospirillum* were isolated from the rhizospheres of wheat by Research Institute of Soil and Water, Tehran, Iran. For inoculation seeds were coated with gum Arabic as an adhesive and rolled into the suspension of bacteria until uniformly coated. The strains and cell densities of microorganisms used as PGPR in this experiment were 1×10^8 colony forming units (CFU). In each plot there were 5 rows with 2 m long. In each experimental plot, two marginal rows and 0.5 m from beginning and ending of planting lines were removed data were measured from the middle lines. The used nano silicon-iron oxide had the average particle size less than 30 nm and special surface of particles was more than $30 \text{ m}^2.\text{g}^{-1}$. They were product of Nanomaterial US Research which was provided by Pishgaman Nanomaterials Company of Iran. Nano iron oxide and nano silicon powder added to deionized water and was placed on ultra sonic equipment (100 W and 40 kHz) on a shaker for better solution. Foliar application of nano silicon oxide and putrecine were done in two stages of period growth BBCH 21 and 30.

Results and discussion

The results showed that total chlorophyll content (48.16%), quantum yield (36.05%), relative water content (35.83%) and grain yield (43.28%) increased in dual application of bio fertilizers and nano particles foliar application under full irrigation conditions compared to no application of bio fertilizers and nano particles under irrigation cut off at booting stage. But under such conditions, electrical conductivity, hydrogen peroxide and malondialdehyde content decreased 35.67, 53.16 and 56.32% respectively compared to no application of PGPR and nanoparticles under irrigation withholding in booting stage. Also, the application of PGPR and nanoparticles under irrigation cut off in booting stage increased the activity of catalase, peroxidase and polyphenol oxidase enzymes (47.06, 55.69 and 36.53% respectively), proline and soluble sugars content (45.41 and 46.93% respectively) compared to no application of PGPR and nanoparticles under full irrigation conditions.

Conclusion

Based on the results of this study, the application of plant growth promoting rhizobacteria and nanoparticle can increase grain yield of triticale under water limitation conditions due to improving biochemical and physiological traits.

Keywords: Antioxidant enzymes, Compatible osmolytes, Nano iron oxide, *Pseudomonas*, Relative water content

تغییرات القاء شده در شاخص‌های فیزیولوژیک و عملکرد تریتیکاله (*X Triticosecale* Wittmack) تحت تنش کم‌آبی به‌وسیله برخی تعدیل‌کننده‌های تنش

فاطمه آقائی^{۱*}، رؤف سیدشرفی^۲، سلیم فرزانه^۳

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. دانشیار گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران

مشخصات مقاله	چکیده
واژه‌های کلیدی: آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی اسمولیت‌های سازگار سودوموناس محتوای نسبی آب نانواکسید آهن	به‌منظور بررسی تغییرات القاء شده در شاخص‌های فیزیولوژیک و عملکرد تریتیکاله (<i>Triticosecale Wittmack</i>) تحت تنش کم‌آبی به‌وسیله برخی باکتری‌های محرک رشد و نانوذرات، آزمایشی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار در مزرعه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه محقق اردبیلی در سال ۱۴۰۰ اجرا شد. فاکتورهای مورد بررسی شامل آبیاری در سه سطح (آبیاری کامل (شاهد)، قطع آبیاری در ۵۰٪ مراحل چکمه‌ای شدن (تنش شدید با کد BBCH ۴۳) و سنبله‌دهی (تنش ملایم با کد BBCH ۵۵))، کاربرد باکتری-های محرک رشد در چهار سطح (عدم کاربرد به‌عنوان شاهد، کاربرد آزو اسپریلیوم، سودوموناس، کاربرد توأم آزو اسپریلیوم و سودوموناس) و محلول‌پاشی نانوذرات در چهار سطح (محلول‌پاشی با آب به‌عنوان شاهد، محلول‌پاشی یک گرم در لیتر نانو اکسید آهن، محلول‌پاشی ۵۰ میلی‌گرم در لیتر نانوسیلیکون، محلول‌پاشی توأم نانواکسید آهن و نانو سیلیکون) می‌شدند. نتایج نشان داد کاربرد باکتری‌های محرک رشد و نانو اکسید آهن و نانوسیلیکون در شرایط آبیاری کامل محتوای کلروفیل کل (۴۸/۱۶٪)، عملکرد کوانتومی (۳۶/۰۵٪)، محتوای نسبی آب (۳۵/۸۳٪) و عملکرد دانه (۴۳/۲۸٪) را نسبت به عدم کاربرد باکتری‌های محرک رشد و نانوذرات تحت شرایط قطع آبیاری در مرحله آبستنی افزایش داد. ولی تحت چنین شرایطی هدایت الکتریکی، محتوای پراکسید هیدروژن و مالون دی‌آلدئید به ترتیب ۳۵/۶۷، ۵۳/۱۶ و ۵۶/۳۲ درصد نسبت به عدم کاربرد باکتری‌های محرک رشد و نانوذرات تحت شرایط قطع آبیاری در مرحله آبستنی کاهش یافت. همچنین کاربرد باکتری‌های محرک رشد و نانوذرات تحت شرایط قطع آبیاری در مرحله آبستنی فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، پراکسیداز و پلی‌فنل اکسیداز را (به ترتیب ۴۷/۰۶، ۵۵/۶۹ و ۳۶/۵۳٪) و محتوای پرولین، قندهای محلول (به ترتیب ۴۵/۴۱ و ۴۶/۹۳٪) نسبت به عدم کاربرد باکتری‌های محرک و نانوذرات تحت شرایط آبیاری کامل افزایش داد. بر اساس نتایج این بررسی باکتری‌های محرک رشد و نانوذرات می‌توانند از طریق بهبود صفات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی، عملکرد دانه را در شرایط محدودیت شدید آبی افزایش دهد.

مقدمه

جهت تعدیل اثرات تنش، جلوگیری از پراکسیداسیون لیپیدی و افزایش محتوای مالون دی‌آلدئید ناشی از افزایش گونه‌های فعال اکسیژن (پراکسید هیدروژن)، سازوکارهای آنتی‌اکسیدانی آنزیمی و غیر آنزیمی دارند. از سازوکارهای آنزیمی تحت شرایط محدودیت آبی، می‌توان به افزایش فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، پراکسیداز و پلی‌فنل اکسیداز و از سازوکارهای

خشکی یکی از مهم‌ترین عوامل مؤثر در کاهش عملکرد گیاهان زراعی در بسیاری از مناطق خشک و نیمه‌خشک جهان است (Khatiwada et al., 2020) که ضمن اختلال در فرایند فتوسنتز و افزایش تنش اکسیداتیو (Razi and Muneer, 2021)، به بروز برخی تغییرات مورفولوژیکی، بیوشیمیایی و مولکولی در گیاهان منجر می‌شود. گیاهان

خشکی مؤثر است (Nazari et al., 2022). نظری و همکاران (Nazari et al., 2022) اظهار داشتند محلول‌پاشی نانوسیلیکون تحت شرایط محدودیت آبی با افزایش فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، پراکسیداز و پلی‌فنل‌اکسیداز و اسمولیت-های سازگار (پرولین و قندهای محلول)، موجب کاهش محتوای پراکسید هیدروژن و مالون دی‌آلدئید و افزایش عملکرد دانه تریتیگاله شد.

آهن از مهم‌ترین عناصر ریزمغذی مؤثر در فعالیت بسیاری از آنزیم‌ها همچون نیتروژناز، کاتالاز، پراکسیداز، آسکوربات پراکسیداز، سوپراکسید دیسموتاز و نیترات رداکتاز است و نقش اساسی در سنتز کلروفیل، نمو کلروپلاست، انتقال الکترون، بهبود عملکرد فتوسیستم‌ها، فتوسنتز و متابولیسم گیاهان دارد و کمبود آن ضمن آسیب به کلروفیل و تخریب ساختار کلروپلاست، موجب زردی و رنگ‌پریدگی اندام‌های فتوسنتزی می‌شود (Tawfk et al., 2021). نرمانی و همکاران (Narimani et al., 2020b) بخشی از افزایش عملکرد دانه در شرایط تنش را، به تأثیر نانوآکسید آهن در افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و برخی اسمولیت-های سازگار نسبت دادند.

بابایی و همکاران (Babaei et al., 2017) گزارش کردند که کاربرد نانوآکسید آهن و روی موجب افزایش محتوای پرولین، محتوای کلروفیل، قندهای محلول، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و عملکرد گندم تحت تنش شد. همچنین نتایج آزمایشی بر گیاه جو نشان داد که محلول‌پاشی نانوآکسید آهن در شرایط تنش، موجب بهبود فرایندهای بیوشیمیایی (قندهای محلول، پرولین، آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی) و فیزیولوژیکی (عملکرد کوانتومی و محتوای نسبی آب) و افزایش مقاومت به تنش در این گیاه شد (Dadashzadeh et al., 2018). مصرف آهن به صورت خاکی و برگ‌گی در گلرنگ، موجب بهبود مقدار پروتئین‌های محلول برگ، پرولین، مالون دی‌آلدئید، کربوهیدرات‌های محلول و محتوای آب نسبی برگ تحت شرایط تنش رطوبتی شد (Fathi et al., 2011).

درک بهتر از واکنش‌های بیوشیمیایی و فیزیولوژیک تحت شرایط تنش خشکی ممکن است به برنامه‌هایی کمک کند که هدف آن‌ها ایجاد مقاومت به تنش خشکی در گیاهان است؛ بنابراین هدف از این پژوهش، بررسی اثرات باکتری‌های

غیرآنزیمی برای کمک به جذب آب، می‌توان به تجمع ترکیبات اسمزی همانند کربوهیدرات‌های محلول و پرولین اشاره کرد (Valipour et al., 2021).

یکی از راه‌های افزایش تولید گیاهان زراعی و کاهش اثرات ناشی از تنش‌های محیطی، استفاده از باکتری‌های محرک رشد یا PGPR¹ است. این باکتری‌ها در شرایط محدودیت آبی می‌توانند رشد گیاه را با تنظیم تعادل هورمونی، حفظ وضعیت مواد مغذی و تولید تنظیم‌کننده‌های رشد، افزایش محتوای نسبی آب و رنگ‌دانه‌های فتوسنتزی بهبود بخشیده و محتوای پراکسیداسیون لیپیدی، نشت الکترولیت و گونه‌های فعال اکسیژن تحت شرایط تنش را کاهش دهد (Abdelaal et al., 2021). آقایی و همکاران (Aghaei et al., 2020) طی آزمایشی گزارش کردند که کاربرد این باکتری‌ها در شرایط تنش از طریق افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و کربوهیدرات‌های محلول و پرولین و کاهش گونه‌های فعال اکسیژن و هدایت الکتریکی برگ، موجب افزایش محتوای نسبی آب، عملکرد کوانتومی و عملکرد دانه گندم شد (Aghaei et al., 2021).

امروزه فناوری نانو در همه عرصه‌های علمی مانند بخش‌های مختلف کشاورزی در حال گسترش است (Das et al., 2004). نانوکودها در مقایسه با کودهای شیمیایی رایج، راندمان مصرف بالاتری دارند و می‌توانند به صورت مطلوب در نقطه مناسبی از ناحیه رشد، عناصر غذایی خود را آزاد کنند که این عمل اثر معنی‌داری را در خصوصیات رشدی گیاهان ایجاد می‌کند (Mazaherinia et al., 2012). همچنین افزودن نانوذرات به محلول غذایی گیاهان به‌عنوان کود به دلیل داشتن اثرهای بی‌نظیر آن‌ها مانند نفوذ سریع‌تر و راحت‌تر به درون غشای سلولی، توجه زیادی را به خود جلب کرده است (EL-Ramady et al., 2017). سیلیکون پس از اکسیژن، دومین عنصر فراوان در خاک است که در تعدیل اثرات ناشی از تنش فلزات سنگین، شوری، خشکی و سرما، بهبود فعالیت فتوسنتزی، کاهش سمیت مواد معدنی و افزایش تحمل به تنش‌های محیطی مؤثر است (Etesami and Jeong, 2018). این ماده با افزایش محتوای آب برگ در گیاهان تحت تنش خشکی از طریق تشکیل لایه ضخیم در زیر اپیدرم برگ (Luyckx et al., 2017) و افزایش سنتز آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، در کاهش اثر منفی ناشی از تنش

¹ - Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR)

آبیاری در ۵۰ درصد مراحل چکمه‌ای شدن (آبستنی) و سنبله‌دهی به ترتیب به‌عنوان محدودیت شدید و ملایم آبی بر اساس کد ۴۳ و ۵۵ مقیاس BBCH)، کاربرد کود زیستی در چهار سطح (عدم کاربرد به‌عنوان شاهد، کاربرد آزو اسپریلیوم لیپوفروم استرین^۱ OF، سودوموناس پوتیدا سویه ۲۴، کاربرد توأم آزو اسپریلیوم و سودوموناس) و محلول‌پاشی نانوذرات در چهار سطح (محلول‌پاشی با آب به‌عنوان شاهد، محلول‌پاشی یک گرم در لیتر نانو اکسید آهن، محلول‌پاشی ۵۰ میلی‌گرم در لیتر نانوسیلیکون، محلول‌پاشی توأم نانواکسید آهن و نانوسیلیکون) بود. سویه خالص باکتری‌های محرک رشد از موسسه خاک و آب تهران تهیه شد. نانواکسید آهن از موسسه تجهیزات آزمایشگاهی و شیمیایی جهان شیمیای ارومیه و نانوسیلیکون (SiO₂-Nano) محصول شرکت Nanomaterial US Research بود که از شرکت پیشگامان نانو مواد ایرانیان تهیه و مشخصات آن‌ها در جدول ۲ آورده شده است.

محرک رشد و نانوذرات (نانواکسید آهن و نانوسیلیکون) بر محتوای کلروفیل، محتوای نسبی آب، عملکرد کوانتومی، هدایت الکتریکی و برخی صفات بیوشیمیایی و عملکرد دانه تربیتکاله در شرایط محدودیت آبی است.

مواد و روش‌ها

آزمایش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار در مزرعه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه محقق اردبیلی با مختصات جغرافیایی ۳۸ درجه و ۱۵ دقیقه عرض شمالی و ۴۸ درجه و ۲۰ دقیقه طول شرقی و ارتفاع ۱۳۵۰ متر از سطح دریا در سال ۱۴۰۰ اجرا شد. محل اجرای آزمایش دارای اقلیم نیمه‌خشک و سرد است. نتایج حاصل از تجزیه خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک مزرعه آزمایشی در جدول ۱ آورده شده است.

فاکتورهای موردبررسی شامل آبیاری در سه سطح (آبیاری کامل در طول دوره رشدی به‌عنوان شاهد، قطع

جدول ۱. خصوصیات فیزیکی شیمیایی خاک

Table 1. Soil physico-chemical characteristics

ویژگی Characteristic	Zn	K	P	N	O. C	Sand	Silt	Clay	CaCO ₃	Texture	pH
	-----mg.kg ⁻¹ -----			-----%-----							
مقادیر Amount	1.8	212	8.29	0.06	0.62	35	42	23	14.4	Loamy	7.8

Table 2. Characteristics of nano materials used

نانوذرات Nanoparticles	خلوص Purity (%)	میانگین اندازه ذرات Average particle size (nm)	سطح ویژه ذرات surface of particles specific	رنگ Color
نانواکسید آهن Nano iron oxide	99	<30	>30 m ² .g ⁻¹	پودری قرمز Red powder
نانوسیلیکون Nano silicon	99	20-30	>30 m ² .g ⁻¹	پودری سفید white powder

۳۰ از مقیاس BBCH) انجام شد. فاصله زمانی بین مراحل پنجه‌دهی و ساقه‌دهی حدود ده روز بود. کلیه مراحل محلول-پاشی به هنگام صبح صورت گرفت تا تبخیر از سطوح برگ به حداقل برسد (Askarnejad et al., 2019). در کاربرد توأم، نانوذره آهن و سیلیکون به‌صورت هم‌زمان محلول‌پاشی گردید (Galaktionova et al., 2020; Dawa et al., 2020). مقدار محلول‌پاشی نانواکسید آهن یک گرم در لیتر و

برای تلقیح بذر با باکتری‌های آزو اسپریلیوم و سودوموناس، از مایه تلقیحی که هر گرم آن دارای ۱۰۸ عدد باکتری زنده و فعال بود به همراه 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. محلول‌پاشی نانواکسید آهن و سیلیکون در دو مرحله از دوره رشد رویشی (مراحل پنجه‌دهی و ساقه‌دهی به ترتیب معادل با کد ۲۱ و

² -*Pseudomonas putida* strains 4

¹ -*Azospirillum lipoferum* strain OF

کود شیمیایی دیگری استفاده نشد. هر واحد آزمایشی شامل پنج خط کاشت به طول دو متر با فاصله بین ردیفی ۲۰ سانتی متر و تراکم ۳۸۰ بذر در مترمربع (که تراکم مطلوب و توصیه شده این رقم است) بود. به منظور جلوگیری از نشت آب به کرت‌های مجاور، فاصله بین هر واحد آزمایشی یک متر و نیم در نظر گرفته شد. مشخصات جوی در طول دوره رشدی در جدول ۳ آورده شده است.

نانوسیلیکون ۵۰ میلی گرم در لیتر بود که در کاربرد توأم نانوآکسید آهن و نانوسیلیکون این مقادیر نصف گردید (یعنی ۰/۵ گرم در لیتر نانوآکسید آهن و ۲۵ میلی گرم در لیتر نانوسیلیکون). عملیات کاشت در ۱۵ اردیبهشت و تاریخ برداشت ۳۱ مرداد ۱۴۰۰ به طریقه دستی بود. اولین آبیاری بعد از کاشت و آبیاری‌های بعدی بسته به شرایط محیطی، نیاز گیاه زراعی و سطوح تیمار کم آبیاری انجام شد. در این آزمایش به جز محلول پاشی با تیمارهای فوق‌الذکر از هیچ نوع

جدول ۳. مشخصات جوی در طول دوره رشدی تریبتیکاله

Table 3. Meteorological data during triticale growth

Parameter	پارامتر	فروردین Apr.	اردیبهشت May	خرداد Jun.	تیر Jul.	مرداد Aug.
Rainfall (mm)	بارندگی	5.5	16.8	6.3	3.5	3.5
Average temperature (°C)	میانگین دما	10.6	15.0	19.2	21.3	21.3
Mean of relative humidity	متوسط رطوبت نسبی (درصد)	63	72	63	58	58
Total hours of sunshine	مجموع ساعات آفتابی	226.7	248.2	316.1	309	309

گیری فعالیت آنزیم کاتالاز، ۲/۵ میلی لیتر بافر تریس (۵۰ میلی مولار، pH=۷) و ۰/۳ میلی لیتر آب اکسیژنه (۵ میلی مولار) تهیه شده و سپس ۶۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی در حمام یخ به آن اضافه شد و میزان جذب در طول موج ۲۴۰ نانومتر قرائت شد. برای اندازه گیری فعالیت آنزیم پراکسیداز نیز ۵۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی به ۲/۵ میلی لیتر محلول واکنش شامل تریس کلریدریک ۱۰۰ میلی مولار، آب اکسیژنه ۵ میلی مولار و پیروگال ۱۰ میلی مولار در حمام یخ اضافه شد و میزان تغییرات جذب در طول موج ۴۲۵ نانومتر قرائت شد. برای اندازه گیری فعالیت آنزیم پلی فنول اکسیداز محلول واکنش شامل ۱/۵ میلی لیتر بافر تریس (۵۰ میلی مولار، pH=۷) و ۰/۳ میلی لیتر پیروگال (۵ میلی مولار) تهیه شده و ۱۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی به آن اضافه نموده و سپس محلول حاصل در حمام بن‌ماری به مدت ۵ دقیقه در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. میزان جذب در طول موج ۴۲۰ نانومتر قرائت شد. برای مقایسه فعالیت آنزیم‌ها یک نمونه به‌عنوان شاهد (BLANK) استفاده شد. فعالیت آنزیم‌ها بر اساس میزان تغییرات جذب در میکروگرم پروتئین بر دقیقه محاسبه گردید. میزان قندهای محلول از روش دوبویس و همکاران (Dubios et al., 1956)، محتوای پرولین از روش بیتس و همکاران (Bates et al., 1973)، محتوای مالون دی‌آلدئید از روش استوارت و بیولی (Stewart and

اندازه‌گیری فلورسانس کلروفیل برگ پرچم در مرحله سنبله‌دهی کامل (BBCH۵۹) توسط دستگاه فلورسانس کلروفیل (مدل OS-30p، شرکت OPTI SCIENCES، آمریکا) انجام شد. به این منظور از هر واحد آزمایشی به‌طور تصادفی شش برگ پرچم توسعه یافته (در فاصله زمانی ساعت ۸-۱۰ صبح) انتخاب و بعد از ۱۵ دقیقه تاریکی توسط کلیپس‌های مخصوص، عملکرد کوانتومی یا Fv/Fm اندازه‌گیری شد (Kheirizadeh Arough et al., 2016). برای اندازه‌گیری درصد محتوای نسبی آب برگ پرچم از هر واحد آزمایشی چهار برگ پرچم توسعه یافته در مرحله سنبله‌دهی (BBCH۵۹) به‌طور تصادفی انتخاب و بعد از قرار دادن در فویل‌های آلومینیومی، داخل کیسه‌های پلاستیکی و روی یخ قرار داده شد و خیلی سریع به آزمایشگاه منتقل گردید و با استفاده از رابطه پیشنهادی کوستوپولو و همکاران (Kostopoulou et al., 2010) مقدار آن محاسبه شد. برای اندازه‌گیری هدایت الکتریکی برگ، نمونه‌های برگ پرچم در بشرهای محتوی ۲۵ میلی لیتر آب مقطر در دمای اتاق قرار گرفته و سپس توسط دستگاه EC متر (مدل pet 103، شرکت Atron، ایران) اندازه‌گیری شد.

جهت اندازه‌گیری میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی (کاتالاز، پراکسیداز و پلی فنول اکسیداز) از روش سوداکار و همکاران (Sudhakar et al., 2001) استفاده شد. برای اندازه

نتایج و بحث

محتوای کلروفیل *a*، *b* کل و کارتنوئید

نتایج تجزیه واریانس نشان داد اثر سطوح آبیاری، باکتری‌های محرک رشد و نانوذرات (آهن و نانوسیلیکون) و اثرات متقابل دوگانه و سه‌گانه آن‌ها بر محتوای کلروفیل *a*، *b*، کلروفیل کل و کارتنوئید در سطح یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۴).

(Bewley, 1980)، محتوی پراکسید هیدروژن از روش الکسیوا و همکاران (Alexieva et al., 2001)، محتوی کلروفیل از روش آرنون (Arnon, 1976) استفاده شد. تمامی این صفات بر روی برگ پرچم در مرحله سنبله‌دهی (BBCH59) اندازه‌گیری شدند. عملکرد دانه از سطحی معادل ۰/۲ مترمربع از خطوط اصلی هر کرت بعد از حذف اثر حاشیه‌ای برآورد شد. تجزیه داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS (۹,۱) و مقایسه میانگین‌ها با آزمون LSD انجام شد.

جدول ۴. تجزیه واریانس (میانگین مربعات) اثرات سطوح آبیاری، باکتری‌های محرک و نانوآکسید آهن و سیلیکون بر محتوای کلروفیل و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی تربیتکاله

Table 4. Analysis of variance (Mean Square) of the effects of irrigation levels, PGPR and nano iron-silicon oxide on chlorophyll content and antioxidant enzymes activity of triticale

منابع تغییرات S. O.V	df	کلروفیل a Chlorophyll a	کلروفیل b Chlorophyll b	کلروفیل کل Total Chlorophyll	کارتنوئید Carotenoid	کاتالاز Catalase	پراکسیداز Peroxidase	پلی فنل اکسیداز Polyphenol oxidase
تکرار Replication	2	3.124**	0.455**	2.423**	0.439**	1157**	6741.5**	11356.3**
آبیاری Irrigation (I)	2	6.211**	1.048**	12.362**	0.083**	1225**	4891**	1507.2**
باکتری محرک رشد (B) PGPR	3	1.451**	0.22**	2.502**	0.018**	332.1**	612.6**	558.5**
محلول‌پاشی نانوذرات Foliar application of nanoparticles (N)	3	0.594**	0.092**	1.155**	0.0061**	55.2**	453.8**	187.1**
I×B	6	0.037 ^{ns}	0.007 ^{ns}	0.069 ^{ns}	0.0011 ^{ns}	8.8 ^{ns}	185.9**	14.4 ^{ns}
I×N	6	0.165**	0.03**	0.334**	0.0019**	27.7**	121.4**	10.3 ^{ns}
B×N	9	0.173**	0.026**	0.332**	0.0024**	9.6 ^{ns}	147.1**	21.1 ^{ns}
I×B×N	18	0.129**	0.021**	0.252**	0.0015**	19.9**	155.9**	50.6**
خطا Error	94	0.026	0.005	0.051	0.0005	8.1	31.2	12.6
ضریب تغییرات CV (%)		4.01	5.89	4.29	5.7	5.29	5.85	4.3

ns, * و ** به ترتیب غیر معنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال پنج و یک درصد.

ns, * and ** are non-significant, significant at $p \leq 0.05$ and $p \leq 0.01$, respectively.

شرایط تنش باشد که با تخریب سیستم فتوسنتزی، در نهایت به تجزیه کلروفیل منجر شده است. نتایج مشابهی توسط نریمانی و همکاران (Narimani et al., 2020a) مبنی بر کاهش محتوای کلروفیل بر اثر افزایش محتوای مالون دی‌آلدئید و پراکسیداسیون لیپیدی در اثر تنش خشکی گزارش شده است. کاربرد باکتری‌های محرک رشد و نانوذرات به افزایش قابل توجهی در محتوای کلروفیل *a*، *b*، کل و کارتنوئید حتی در شرایط محدودیت شدید آبی منجر شد. به نظر می‌رسد یکی از دلایل افزایش محتوای کلروفیل با کاربرد باکتری‌های محرک رشد، ناشی از افزایش میزان دسترسی گیاه به

محدودیت آبی موجب کاهش محتوای کلروفیل در مقایسه با گیاهان شاهد شد. کاربرد باکتری‌های محرک رشد و محلول‌پاشی نانوذرات در شرایط آبیاری کامل نسبت به عدم کاربرد باکتری‌های محرک رشد و عدم محلول‌پاشی نانوذرات تحت شرایط قطع آبیاری در مرحله آبستنی، موجب افزایش ۴۴/۶۵، ۶۱/۰۸، ۴۸/۱۶ و ۴۹/۲۸ درصدی به ترتیب در محتوای کلروفیل *a*، *b*، کلروفیل کل و کارتنوئید شد (جدول ۵). به نظر می‌رسد کاهش محتوای کلروفیل در اثر محدودیت شدید آبی می‌تواند ناشی از رادیکال‌های آزاد تولیدی و افزایش تولید پراکسید هیدروژن و مالون دی‌آلدئید (جدول ۷) تحت

سیستم انتقال الکترون در فتوسنتز، به تولید گونه‌های فعال اکسیژن مانند پراکسید هیدروژن (جدول ۷) منجر می‌شود. در چنین شرایطی برخی گیاهان برای مقابله با اثرات نامطلوب گونه‌های فعال اکسیژن، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مانند آنزیم‌های کاتالاز، پراکسیداز و پلی‌فنل اکسیداز را در شرایط محدودیت آبی افزایش می‌دهند (Narimani et al., 2020a) تا ضمن محافظت گیاه در برابر اثرات مخرب H_2O_2 ، نقش مهمی را در افزایش مقاومت به تنش اکسیداتیو بر عهده گیرند. کاربرد توأم باکتری‌های محرک رشد و نانوذرات به افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی منجر شد. بر اساس مقایسه میانگین‌ها بیش‌ترین فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی فوق‌الذکر (به ترتیب افزایش ۰۶/۴۷، ۶۹/۵۵ و ۵۳/۳۶ درصدی فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، پراکسیداز و پلی‌فنل اکسیداز) در کاربرد باکتری‌های محرک رشد و محلول‌پاشی نانوذرات در شرایط قطع آبیاری در مرحله آبستنی نسبت به آبیاری کامل و عدم کاربرد کودهای زیستی و نانوسیلیکون به دست آمد (جدول ۵). یکی دیگر از دلایل افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در شرایط خشکی می‌تواند ناشی از تأثیر باکتری‌های محرک رشد در افزایش جذب عناصر غذایی و افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی باشد (Aghaei et al., 2020). آهن نیز جزء ضروری بسیاری از آنزیم‌ها همچون نیتروژناز، کاتالاز، پراکسیداز، آسکوربات پراکسیداز، سوپراکسید دیسموتاز و نیترات رداکتاز است و نقش اساسی در سنتز کلروفیل، نمو کلروپلاست، انتقال الکترون، فتوسنتز و متابولیسم گیاهان دارد (Ghasemian et al., 2010). غفاری و رزمجو (Ghaffari and Razmjoo, 2015) اظهار داشتند که کاربرد نانوآکسید آهن به دلیل القا شدن بیان ژن کاتالاز و پراکسیداز موجب افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی می‌شود. ضمن آنکه کاربرد سیلیکون نیز با محافظت از غشای سلول در برابر پراکسیداسیون لیپیدی، موجب تحمل گیاه به شرایط تنش و افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی همانند کاتالاز، پراکسیداز و پلی‌فنل اکسیداز می‌شود (جدول ۵). نظری و همکاران (Nazari et al., 2022) نیز کاهش محتوای پراکسید هیدروژن در تربیتکاله تحت تنش خشکی در حضور سیلیکون را، به نقش این عنصر در کاهش آسیب‌های اکسند از طریق افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در گیاهان تحت تنش نسبت دادند.

نیتروژن و فسفر از طریق باکتری‌ها باشد (Valipour et al., 2021).

آهن در فرایندهای اکسیداسیون و احیا نقش دارد. وجود آهن در سنتز پروتئین و ساختار کلروفیل مهم است و کمبود آن به دلیل اختلال در ساختار کلروپلاست و کاهش میزان فتوسنتز (Briat et al., 2015)، موجب کاهش محتوای کلروفیل برگ می‌شود.

نانوسیلیکون نیز اثر منفی محدودیت آبی را کاهش داد (جدول ۵)؛ زیرا کاربرد سیلیکون سیستم آنتی‌اکسیدانی گیاهی را برای سم‌زدایی گونه‌های فعال اکسیژن بهبود می‌بخشد که به نوبه خود به افزایش محتوای کلروفیل در طول تنش‌های غیرزیستی کمک می‌کند و رنگ‌دانه‌های کلروفیل را در شرایط کمبود آب، حفظ می‌کند (Karthik Raja et al., 2021). به نحوی که کاربرد نانوسیلیکون از طریق کاهش تنش اکسیداتیو به پایداری غشا و کاهش محتوای مالون دی‌آلدئید و پراکسید هیدروژن (جدول ۷) و در نهایت بهبود محتوای کلروفیل (جدول ۵) منجر شد. نتایج مشابهی نیز توسط دیگر محققان مبنی بر افزایش محتوای رنگ‌دانه‌های فتوسنتزی در گیاهان زراعی تحت تنش آبی با کاربرد سیلیکون گزارش شده است (Merwad et al., 2018).

آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی (کاتالاز، پراکسیداز، پلی‌فنل اکسیداز)

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثرات سطوح آبیاری، نانوذرات (آهن و نانوسیلیکون) و باکتری‌های محرک رشد و برهمکنش‌های این عوامل بر فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، پراکسیداز و پلی‌فنل اکسیداز در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۴). بیش‌ترین فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، پراکسیداز و پلی‌فنل اکسیداز در شرایط قطع آبیاری در مرحله آبستنی و کاربرد باکتری‌های محرک رشد و محلول‌پاشی نانوذرات نسبت به عدم کاربرد باکتری‌های محرک رشد و نانوذرات تحت شرایط آبیاری کامل به دست آمد (جدول ۵). در شرایط تنش تغییر در فعالیت‌های آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی یکی از مکانیسم‌های مهمی است که معمولاً در افزایش مقاومت گیاه در برابر تنش‌های محیطی رخ می‌دهد. محدودیت آبی با آسیب به محتوای کلروفیل (جدول ۵) و

جدول 5. مقایسه میانگین اثرات سطوح آبیاری، باکتری‌های محرک رشد و نانو اکسید آهن و نانوسیلیکون بر محتوای کلروفیل و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی برگ پرچم تربیتکاله

Table 5. Mean comparison of the effect of irrigation levels, PGPR, nano iron oxide and nano silicon on chlorophyll content and antioxidant enzymes of triticale flag leaves

ترکیب تیماری Treatments	کلروفیل a Chlorophyll a	کلروفیل b Chlorophyll b	کلروفیل کل Total Chlorophyll	کاروتنوئید Carotenoid	کاتالاز Catalase	پراکسیداز Peroxidase	پلی فنل اکسیداز Polyphenol oxidase
	mg.g FW ⁻¹				OD µg Protein.min ⁻¹		
I ₀ ×B ₀ ×N ₀	4.11 ^{n-t}	1.22 ^{h-n}	5.34 ^{m-t}	0.415 ^{k-q}	43.28 ^x	76.56 ^z	69.52 ^{w-z}
I ₀ ×B ₁ ×N ₀	4.47 ^{d-k}	1.38 ^{a-f}	5.85 ^{c-j}	0.458 ^{e-j}	49.63 ^{p-v}	80.26 ^{w-z}	71.75 ^{w-z}
I ₀ ×B ₂ ×N ₀	4.31 ^{h-o}	1.31 ^{c-i}	5.63 ^{g-n}	0.448 ^{g-m}	50 ^{n-u}	102.33 ^{d-j}	75.86 ^{r-y}
I ₀ ×B ₃ ×N ₀	4.59 ^{a-g}	1.41 ^{a-c}	6.01 ^{a-f}	0.486 ^{a-f}	47.85 ^{r-x}	84 ^{s-z}	79.44 ^{l-t}
I ₀ ×B ₀ ×N ₁	4.2 ^{l-r}	1.27 ^{f-i}	5.47 ^{k-r}	0.424 ^{j-p}	44.73 ^{wx}	78.77 ^{x-z}	72.64 ^{u-z}
I ₀ ×B ₁ ×N ₁	3.8 ^{a-u}	1.11 ^{n-s}	4.92 ^{a-u}	0.413 ^q	55.06 ^{h-n}	78.15 ^{yz}	71.29 ^{x-z}
I ₀ ×B ₂ ×N ₁	4.49 ^{c-j}	1.39 ^{a-e}	5.88 ^{b-i}	0.463 ^{e-i}	46.35 ^{u-x}	80.97 ^{w-z}	82.31 ^{h-p}
I ₀ ×B ₃ ×N ₁	4.78 ^{ab}	1.46 ^a	6.24 ^{ab}	0.516 ^{ab}	51.39 ^{m-t}	91.9 ^{l-t}	80.92 ^{i-s}
I ₀ ×B ₀ ×N ₂	4.26 ^{i-q}	1.28 ^{e-k}	5.54 ^p	0.437 ^{h-n}	44.3 ^{wx}	97.17 ^{g-n}	70.54 ^{yz}
I ₀ ×B ₁ ×N ₂	4.67 ^{a-e}	1.43 ^{ab}	6.11 ^{a-d}	0.503 ^{a-d}	46.95 ^{t-x}	81.94 ^{v-z}	82.9 ^{h-p}
I ₀ ×B ₂ ×N ₂	4.62 ^{a-f}	1.42 ^{a-c}	6.05 ^{a-e}	0.494 ^{a-e}	51.78 ^{l-r}	83.05 ^{t-z}	75.17 ^{s-z}
I ₀ ×B ₃ ×N ₂	4.74 ^{a-c}	1.45 ^a	6.2 ^{a-c}	0.511 ^{a-c}	52.98 ^{j-p}	92.69 ^{k-s}	86.48 ^{c-i}
I ₀ ×B ₀ ×N ₃	4.34 ^{g-u}	1.33 ^{b-h}	5.68 ^{f-m}	0.444 ^{g-l}	45.31 ^{v-x}	79.46 ^{w-z}	72.2 ^{v-z}
I ₀ ×B ₁ ×N ₃	4.56 ^{b-h}	1.1 ^{a-d}	5.96 ^{a-g}	0.478 ^{b-g}	49.57 ^{p-v}	94.83 ^{h-q}	81.42 ^{i-r}
I ₀ ×B ₂ ×N ₃	4.7 ^{a-d}	1.45 ^a	6.15 ^{a-d}	0.507 ^{a-c}	50.21 ^{o-u}	86.07 ^{q-y}	77.42 ^{p-w}
I ₀ ×B ₃ ×N ₃	4.84 ^a	1.48 ^a	6.32 ^a	0.521 ^a	54.37 ^{i-o}	97.19 ^{g-n}	84.31 ^{g-m}
I ₁ ×B ₀ ×N ₀	3.54 ^{a-f}	1.01 ^{s-v}	4.55 ^{a-f}	0.381 ^{q-t}	47.14 ^{s-x}	82.56 ^{u-z}	74.64 ^{t-z}
I ₁ ×B ₁ ×N ₀	3.8 ^{a-u}	1.06 ^{p-u}	4.87 ^{b-v}	0.395 ^{o-s}	52.22 ^{k-r}	85.43 ^{r-z}	77.88 ^{o-v}
I ₁ ×B ₂ ×N ₀	3.64 ^{e-z}	1.02 ^{r-v}	4.67 ^{e-z}	0.378 ^{q-t}	56.75 ^{d-k}	88.38 ^{n-w}	80.44 ^{j-s}
I ₁ ×B ₃ ×N ₀	3.93 ^{s-y}	1.13 ^{m-r}	5.07 ^{a-y}	0.402 ^{m-r}	55.4 ^{g-n}	86.98 ^{p-y}	82.48 ^{h-p}
I ₁ ×B ₀ ×N ₁	3.77 ^{b-v}	1.02 ^{r-v}	4.8 ^{c-w}	0.412 ^{m-r}	48.15 ^{q-w}	99.61 ^{f-l}	76.3 ^{q-x}
I ₁ ×B ₁ ×N ₁	4.15 ^{m-t}	1.24 ^{h-m}	5.39 ^{b-s}	0.417 ^{k-q}	47.83 ^{r-x}	91.17 ^{h-u}	78.95 ^{m-t}
I ₁ ×B ₂ ×N ₁	4.23 ^{j-r}	1.27 ^{e-k}	5.51 ^{i-q}	0.431 ^{i-o}	52.67 ^{j-q}	96.59 ^{g-o}	83.84 ^{h-n}
I ₁ ×B ₃ ×N ₁	4.44 ^{e-l}	1.37 ^{a-h}	5.81 ^{d-k}	0.453 ^{f-k}	53.78 ^{i-p}	94.47 ^{i-r}	89.61 ^{a-g}
I ₁ ×B ₀ ×N ₂	3.88 ^{t-z}	1.09 ^{o-t}	4.98 ^{e-z}	0.401 ^{m-r}	52.74 ^{j-p}	87.73 ^{o-x}	78.39 ^{n-u}
I ₁ ×B ₁ ×N ₂	4.28 ^{i-p}	1.29 ^{d-j}	5.57 ^{h-o}	0.443 ^{g-l}	53.67 ^{j-p}	108.41 ^{b-f}	90.17 ^{a-f}
I ₁ ×B ₂ ×N ₂	4.03 ^{p-v}	1.17 ^{k-p}	5.2 ^{p-v}	0.413 ^{l-q}	51.49 ^{l-t}	95.74 ^{g-p}	83.41 ^{h-o}
I ₁ ×B ₃ ×N ₂	3.99 ^{r-w}	1.18 ^{j-p}	5.17 ^{q-v}	0.407 ^q	59.23 ^{a-h}	86.01 ^{q-y}	79.84 ^{k-t}
I ₁ ×B ₀ ×N ₃	3.91 ^{t-z}	1.12 ^{n-s}	5.03 ^{s-z}	0.399 ^{n-r}	51.77 ^{l-s}	90.21 ^{m-v}	79.75 ^{k-t}
I ₁ ×B ₁ ×N ₃	4.18 ^{l-s}	1.31 ^{c-i}	5.49 ^{j-q}	0.399 ^{n-r}	57.12 ^{c-j}	93.48 ^{i-r}	86.63 ^{c-i}
I ₁ ×B ₂ ×N ₃	4.4 ^{f-m}	1.32 ^{c-h}	5.72 ^{e-l}	0.466 ^{d-i}	55.79 ^{f-m}	101.19 ^{e-k}	82.03 ^{h-q}
I ₁ ×B ₃ ×N ₃	4.52 ^{b-i}	1.4 ^{a-d}	5.92 ^{b-h}	0.473 ^{c-h}	59.87 ^{a-g}	110.6 ^{a-d}	91.23 ^{a-d}
I ₂ ×B ₀ ×N ₀	3.35 ^f	0.92 ^v	4.27 ^f	0.349 ^t	53.87 ^{i-p}	94.19 ^{i-r}	82.46 ^{h-p}
I ₂ ×B ₁ ×N ₀	3.42 ^{ef}	0.95 ^{uv}	4.38 ^{ef}	0.357 st	58 ^{b-i}	102.27 ^{d-j}	85.34 ^{e-k}
I ₂ ×B ₂ ×N ₀	4.23 ^{j-r}	1.26 ^{g-l}	5.5 ^{j-q}	0.445 ^{g-l}	53.05 ^{j-p}	103.25 ^{c-i}	81.35 ^{i-r}
I ₂ ×B ₃ ×N ₀	3.72 ^{d-x}	1.04 ^{q-u}	4.76 ^{d-x}	0.386 ^{p-t}	61.07 ^{a-d}	111.84 ^{a-c}	91.86 ^{a-c}
I ₂ ×B ₀ ×N ₁	3.49 ^{c-f}	0.97 ^{t-v}	4.46 ^{c-f}	0.355 ^t	56.12 ^{e-l}	98.01 ^{g-m}	84.76 ^{f-l}
I ₂ ×B ₁ ×N ₁	3.74 ^{c-w}	1.04 ^{q-u}	4.79 ^{d-x}	0.395 ^{o-s}	61.65 ^{a-c}	114.49 ^{ab}	92.42 ^{ab}
I ₂ ×B ₂ ×N ₁	3.54 ^{a-f}	0.99 ^{t-v}	4.54 ^{b-f}	0.363 ^{r-t}	60.3 ^{a-f}	98.89 ^{g-m}	87.63 ^{b-h}
I ₂ ×B ₃ ×N ₁	4.06 ^{o-u}	1.18 ^{j-p}	5.25 ^{o-u}	0.415 ^{k-q}	62.34 ^{ab}	116.52 ^{ab}	93.71 ^a
I ₂ ×B ₀ ×N ₂	3.46 ^{d-f}	0.96 ^{uv}	4.43 ^{d-f}	0.355 ^t	56.83 ^{d-k}	99.59 ^{f-l}	85.85 ^{d-j}
I ₂ ×B ₁ ×N ₂	4.22 ^{k-r}	1.26 ^{g-l}	5.48 ^{j-r}	0.431 ^{i-o}	59.56 ^{a-h}	103.78 ^{c-h}	80.6 ^{j-s}
I ₂ ×B ₂ ×N ₂	3.51 ^{b-f}	0.98 ^{t-v}	4.5 ^{c-f}	0.358 st	61.38 ^{a-d}	95 ^{h-q}	90.65 ^{a-e}
I ₂ ×B ₃ ×N ₂	4 ^{q-w}	1.15 ^{l-q}	5.16 ^{q-w}	0.411 ^{l-q}	62.87 ^a	117.47 ^{ab}	93.1 ^{ab}
I ₂ ×B ₀ ×N ₃	3.56 ^{a-f}	1.01 ^{s-v}	4.58 ^{a-f}	0.365 ^{r-t}	52.74 ^{j-q}	104.15 ^{c-g}	85.11 ^{e-l}
I ₂ ×B ₁ ×N ₃	3.68 ^{e-y}	1.02 ^{r-v}	4.71 ^{e-y}	0.385 ^{p-t}	61.83 ^{ab}	115.67 ^{ab}	92.71 ^{ab}
I ₂ ×B ₂ ×N ₃	3.97 ^{r-x}	1.14 ^{m-q}	5.11 ^{r-x}	0.407 ^q	60.71 ^{a-e}	109.64 ^{b-e}	90.74 ^{a-e}
I ₂ ×B ₃ ×N ₃	4.08 ^{n-t}	1.2 ^{i-o}	5.29 ^{m-t}	0.416 ^{k-q}	63.65 ^a	119.2 ^a	94.92 ^a
LSD	0.266	0.115	0.369	0.039	4.62	9.06	5.76

I₀, I₁ and I₂ به ترتیب آبیاری کامل، قطع آبیاری در مرحله سنبله‌دهی و آبستنی. B₀, B₁, B₂ و B₃ به ترتیب عدم کاربرد کودهای زیستی، کاربرد سودوموناس، کاربرد آزوسپریلیوم و کاربرد توأم سودوموناس و آزوسپریلیوم. N₀, N₁, N₂ و N₃ به ترتیب عدم محلول‌پاشی، محلول‌پاشی نانو اکسید آهن و محلول‌پاشی نانوسیلیکون. میانگین‌های با حروف مشابه در هر ستون اختلاف آماری معنی‌داری بر اساس آزمون LSD با هم ندارند.

I₀, I₁ and I₂ are full irrigation, irrigation withholding at heading and booting stages respectively.

B₀, B₁, B₂ and B₃ are no application of biofertilizers, application of pseudomonas, azospirillum, dual application of azospirillum and pseudomonas. N₀, N₁ and N₂ are no foliar application, nano iron oxide foliar application, nano silicon foliar application, nano iron-silicon foliar application. Means with similar letters in each column are not significantly different based on LSD test.

قندهای محلول و پرولین

سه‌گانه این عوامل بر محتوای پرولین و قندهای محلول در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۶).

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثرات باکتری‌های محرک رشد، نانوذرات و سطوح آبیاری و برهمکنش‌های دوگانه و

جدول ۶. تجزیه واریانس تأثیر سطوح آبیاری، کودهای زیستی، نانو اکسید آهن و نانو سیلیکون بر برخی صفات بیوشیمیایی و عملکرد دانه تریکاله

Table 6. Analysis of variance of the effect of irrigation levels, biofertilizers, nano iron oxide and nano silicon on some biochemical traits and grain yield of triticale biochemical traits and grain yield of triticale

منابع تغییرات S.O.V	df	قندهای محلول		مالون دی	پراکسید	هدایت	محتوای	عملکرد	دانه Grain Yield
		Soluble sugar	Proline	آلدئید MDA	هیدروژن H ₂ O ₂	الکتریکی EC	نسبی آب RWC	کوانتومی Fv/Fm	
تکرار Replication	2	595.8**	17.52**	0.0368**	0.05522**	3189.4**	254.6**	0.00057**	9294.9**
آبیاری Irrigation(I)	2	1114**	17.10**	0.0204**	0.07156**	1838.4**	243.7**	0.0644**	52308.5**
باکتری محرک رشد PGPR(B)	3	320.7**	3.181**	0.00589**	0.03002**	1355.99**	682.15**	0.02911**	5558.4**
محلول‌پاشی نانوذرات Foliar of nanoparticle (N)	3	177.8**	1.401**	0.00378**	0.01744**	433.11**	179.66**	0.02685**	8358.02**
I×B	6	25.4**	0.672**	0.0002*	0.0016**	79.09*	61.89**	0.00702**	2324.67**
I×N	6	12 ^{ns}	0.305**	0.00023**	0.00159**	31.58 ^{ns}	11.38 ^{ns}	0.00553**	1610.9*
B×N	9	43.9**	0.286**	0.00019**	0.00157**	71.86*	18.87*	0.00323**	2495.99**
I×B×N	18	36.6**	0.421**	0.00017**	0.00223**	70.11**	18.93**	0.00216**	2383.89**
Error	خطا 94	8.4	0.098	0.00007	0.0005	30.78	8.63	0.00094	764
CV (%)	ضریب تغییرات	4.59	4.32	4.33	5.26	4.49	4.08	4.11	5.15

ns, * و ** به ترتیب غیر معنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال پنج و یک درصد.

ns, * and ** are non-significant, significant at $p \leq 0.05$ and $p \leq 0.01$, respectively.

در شرایط تنش را به تخریب پروتئین‌ها و انباشت برخی اسیدهای آمینه آزاد در جهت تنظیم اسمزی نسبت داده‌اند (Kazemi Oskuei et al., 2021). گرچه تجمع اسمولیت-های سازگاری همچون پرولین و قندهای محلول در شرایط تنش با توجه به وجود نیتروژن در ساختار آنها موجب تحمیل هزینه کربن و نیتروژن به گیاه می‌شود، ولی به نظر می‌رسد کاربرد باکتری‌های محرک‌های رشد تحت چنین شرایطی با تأمین بخشی از نیتروژن مورد نیاز گیاه، تا حد زیادی موجب افزایش مقدار املاح سازگار به‌ویژه پرولین در گیاه شده و با تنظیم اسمزی و افزایش محتوای نسبی آب برگ (جدول ۷)، موجب کاهش یا تعدیل اثرات ناشی از تنش می‌شود (Kazemi Oskuei et al., 2021).

سیلیکون نیز در شرایط محدودیت آبی از طریق تجمع اسمولیت‌ها (قندهای محلول و پرولین) و تنظیم بیوسنتزی اسمولیت‌ها و برخی هورمون‌های گیاهی، موجب تحمل گیاه به شرایط تنشی می‌شود. از اثرات مثبت اسمولیت‌ها در شرایط

با افزایش شدت تنش کم‌آبی و کاربرد باکتری‌های محرک رشد و نانوذرات محتوای قندهای محلول و پرولین نیز افزایش یافت. کاربرد باکتری‌های محرک رشد و نانوذرات در شرایط قطع آبیاری در مرحله آبستنی موجب افزایش ۴۶/۹۳ و ۴۱/۴۵ درصدی محتوای قندهای محلول و پرولین نسبت به عدم کاربرد باکتری‌های محرک رشد و نانوذرات تحت شرایط آبیاری کامل شد (جدول ۷). در شرایط تنش پرولین و قندهای محلول به‌عنوان محافظ‌های اسمزی نقش اساسی در محافظت از رنگ‌دانه‌های کلروفیل در برابر تخریب ایفا می‌کنند. پرولین علاوه بر نقش اسمولیت، از طریق جذب رادیکال‌های آزاد و افزایش مقاومت گیاه به تنش (Tawfk et al., 2021)، نقش اصلی را در مهار گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) و تأمین انرژی ایفا می‌کند (Islam et al., 2022). به بیانی دیگر افزایش محتوای پرولین و قندهای محلول در گیاهانی که تحت تنش قرار گرفته‌اند، نوعی سازگاری برای غلبه بر شرایط تنش محسوب می‌شود. دلایل تجمع پرولین

دی‌آلدئید و پراکسید هیدروژن در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شد (جدول ۶). نتایج نشان داد محتوای مالون دی‌آلدئید و پراکسید هیدروژن در شرایط عدم کاربرد باکتری-های محرک رشد و نانوذرات تحت شرایط قطع آبیاری در مرحله آبستنی موجب افزایش به ترتیب ۵۶/۳۲ و ۵۳/۱۶ درصدی محتوای مالون دی‌آلدئید و پراکسید هیدروژن نسبت به کاربرد توأم باکتری‌های محرک رشد و نانوذرات تحت شرایط آبیاری کامل شد (جدول ۷). افزایش محتوای مالون دی‌آلدئید و پراکسید هیدروژن در شرایط تنش نشان‌دهنده آن است که ساختار غشاء آسیب‌دیده و لیپیدهای آن آزاد شده و به دلیل وجود ترکیبات ROS که تحت شرایط تنش افزایش می‌یابند، این لیپیدها پراکسیده شده و مالون دی‌آلدئید تولید می‌شود (Tawfk et al., 2021). به نظر می‌رسد کاربرد نانوسیلیکون با افزایش تحریک فعالیت آنزیم‌های آنتی-اکسیدانی (جدول ۵) و محافظت از غشای سلول در برابر پراکسیداسیون لیپیدی و کاهش تشکیل پراکسید هیدروژن و همچنین افزایش اسمولیت‌های سازگاری نظیر پرولین و قندهای محلول (جدول ۷) موجب تحمل بهتر گیاه به شرایط تنش شده (AlKahtani et al., 2021) و محتوای مالون دی‌آلدئید را کاهش داد (جدول ۷). همچنین سیلیکون در کاهش تشکیل ROS تحت تنش‌های غیرزیستی نقش دارد، این کاهش سطح ROS منجر به بهبود فتوسنتز و تقویت سیستم ایمنی گیاه در شرایط منفی می‌شود (AlKahtani et al., 2021). همچنین نانو اکسید آهن با کاهش تجمع H_2O_2 یکپارچگی غشای سلولی را حفظ کرده و با افزایش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی (جدول ۵) موجب مهار گونه‌های فعال اکسیژن می‌شود (Tawfk et al., 2021). محققان علت کاهش محتوای مالون دی‌آلدئید و پراکسید هیدروژن در گیاهان تیمار شده با 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 مالون دی‌آلدئید و پراکسید هیدروژن می‌شود (Aghaei et al., 2021).

هدایت الکتریکی

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثرات سطوح آبیاری، باکتری‌های محرک رشد و نانوذرات (سیلیکون و آهن) و برهمکنش این عوامل بر هدایت الکتریکی در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۶). قطع آبیاری در مرحله

تنش می‌توان به نقش مثبت اسمولیت‌ها در پایداری غشا و جلوگیری از خشکی فیزیولوژیکی سلول‌های گیاهی نسبت داد (Khaled et al., 2020). علاوه بر این، سیلیکون از طریق بالا بردن محتوای کلروفیل (جدول ۵) و کاهش نکرور شدن برگ‌ها تحت شرایط تنش خشکی، موجب افزایش میزان تثبیت دی‌اکسید کربن و در نهایت افزایش تولید قندهای محلول و پرولین (جدول ۷) و تجمع بیش‌تر در گیاه می‌شود (Silva et al., 2012).

نریمانی و همکاران (Narimani et al., 2020b) بیان کردند که محلول‌پاشی نانو اکسید آهن محتوای قندهای محلول و پرولین را تحت تنش خشکی افزایش داد. داداش‌زاده و همکاران (Dadashzadeh et al., 2018) گزارش کردند که محلول‌پاشی نانو اکسید آهن باعث افزایش میزان پرولین و قندهای محلول جو در شرایط تنش شد. محتوای پرولین در درون و بیرون سلول نقش مهمی در مقاومت اسمزی بافت‌های مختلف نسبت به تنش‌ها ایفا می‌کند. در شرایط کمبود آب اغلب بیوسنتز پرولین از گلوتامیک اسید در سیتوزول و کلروپلاست سلول‌های گیاهی اتفاق می‌افتد، بنابراین پرولین در سیتوزول تجمع یافته تا توزیع آب به درون سلول انجام شود. در شرایط نرمال پرولین به اندامک‌ها به‌ویژه واکوئل و پلازمید انتقال می‌یابد ولی در شرایطی که گیاه تحت شرایط تنش خشکی قرار گیرد پرولین از واکوئل به سیتوزول انتقال می‌یابد (Lehmann et al., 2010). از این‌رو گیاهانی که تحت تنش خشکی قرار می‌گیرند مقدار زیادی از منابع کربن و نیتروژن خود را صرف سنتز تنظیم‌کننده‌های اسمزی از قبیل پرولین می‌کنند تا بتوانند فشار تورژسانس سلول‌های خود را حفظ کنند (Aranjuelo et al., 2011). اثر مثبت آهن بر محتوای قندهای محلول از نقش مهم آن در آنزیم‌های کلیدی مسئول متابولیسم قندهای محلول ناشی می‌شود. بنابراین می‌توان اظهار داشت که برای جبران حداقل برخی از اثرات مضر تنش خشکی، نانو اکسید آهن که نقش فزاینده‌ای در فرایند تنظیم اسمزی (به‌واسطه افزایش پرولین و قندهای محلول) ایفا می‌کنند می‌تواند در مقاومت به تنش خشکی گیاه تربیتکاله مؤثر باشد.

محتوای مالون دی‌آلدئید و پراکسید هیدروژن

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثرات سطوح آبیاری، باکتری‌های محرک رشد و نانوذرات (نانوسیلیکون و آهن) و برهمکنش‌های دوگانه و سه‌گانه این عوامل بر محتوای مالون

دی‌آلدئید (جدول ۷) موجب بهبود ساختار غشاء و کاهش هدایت الکتریکی برگ پرچم (جدول ۷) شد. نتایج مشابهی نیز توسط آقایی و همکاران (Aghaei et al., 2021) مبنی بر بهبود پایداری غشای سلولی در گیاه گندم با کاربرد باکتری محرک رشد گزارش شده است.

محتوای نسبی آب برگ

اثرات باکتری‌های محرک رشد، نانوذرات (نانوسیلیکون و آهن) و سطوح مختلف آبیاری و برهمکنش‌های این عوامل بر محتوای نسبی آب در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شد (جدول ۶). خشکی موجب کاهش معنی‌دار محتوای نسبی آب در مقایسه با گیاهان شاهد شد. کاربرد باکتری‌های محرک رشد و محلول‌پاشی نانوذرات در شرایط آبیاری کامل موجب افزایش ۳۵/۸۳ درصدی محتوای نسبی آب نسبت به عدم کاربرد باکتری‌های محرک رشد و نانوذرات تحت شرایط قطع آبیاری در مرحله آبستنی شد (جدول ۷). به نظر می‌رسد علت کاهش محتوای نسبی آب با افزایش تنش، به دلیل کاهش یا محدودیت در جذب آب باشد که تعادل آبی در گیاه را به هم می‌زند (Aghaei et al., 2021).

گیاهان تحت شرایط محدودیت آبی هنگامی که با باکتری‌های محرک رشد و نانوذرات تیمار شدند، افزایش قابل توجهی در محتوای نسبی آب در مقایسه با گیاهان بدون کاربرد باکتری‌های محرک رشد و نانوذرات تحت شرایط قطع آبیاری در مرحله آبستنی نشان دادند (جدول ۷). باکتری‌ها از طریق اثرگذاری بر افزایش تولید متابولیت‌های سازگار در گیاه (پرولین و قند محلول) (جدول ۷) و در نتیجه با کاهش پتانسیل اسمزی در داخل گیاه، شرایط را برای افزایش جذب آب و عناصر غذایی و نیز گسترش ریشه‌ها و به دنبال آن افزایش محتوای نسبی آب برگ فراهم می‌کنند (Kazemi Oskuei et al., 2021). همچنین این باکتری‌ها با بهبود فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان (جدول ۵) و بهبود ساختار غشاء و در نتیجه کاهش هدایت الکتریکی (جدول ۷)، موجب افزایش محتوای نسبی آب برگ پرچم (جدول ۷) شدند. از سویی دیگر، محتوای نسبی آب با محلول‌پاشی نانوذرات (آهن و نانوسیلیکون) تحت شرایط خشکی به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. سیلیکون نقش محافظتی در برابر تنش دارد و به نظر می‌رسد با کمک به افزایش غلظت کلسیم، نقش اساسی در بهبود پایداری غشاء ایفا می‌کند و برخی آنزیم‌ها را برای کاهش تجمع ROS و بهبود زنجیره انتقال الکترون

آبستنی بدون کاربرد باکتری‌های محرک رشد و نانوذرات موجب افزایش ۳۵/۶۷ درصدی هدایت الکتریکی نسبت به کاربرد توأم باکتری‌های محرک رشد و نانوذرات تحت شرایط آبیاری کامل شد (جدول ۷). به بیانی دیگر هدایت الکتریکی در شرایط محدودیت آبی نسبت به آبیاری کامل به‌طور قابل توجهی افزایش یافت (جدول ۷)، این افزایش به دلیل تأثیر نامطلوب محدودیت آبی در آسیب به غشای پلاسمایی، کم‌آبی سیتوپلاسم و پایداری غشاء است که با نتایج آزمایش عبدالعل و همکاران (Abdelaal et al., 2020) در گیاهان جو تحت تنش خشکی مطابقت دارد. بررسی محتوای مالون دی‌آلدئید و پراکسید هیدروژن نشان داد که در همان ترکیب تیماری که محتوای مالون دی‌آلدئید و پراکسید هیدروژن (جدول ۷) حداکثر بود میزان هدایت الکتریکی برگ پرچم نیز افزایش یافت (جدول ۷) که می‌تواند ناشی از آسیب وارده بر غشای سلولی و کاهش مقاومت و یا تولید گونه‌های فعال اکسیژن و القای تنش اکسیداتیو باشد.

استفاده از باکتری‌های محرک رشد و نانوذرات (آهن و نانوسیلیکون) در شرایط قطع آبیاری موجب کاهش هدایت الکتریکی شد (جدول ۷). به نظر می‌رسد نانوآکسید آهن از طریق افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی (کاتالاز، پراکسیداز، پلی‌فنل اکسیداز) (جدول ۵) نقش مهمی را در تعدیل رادیکال‌های آزاد و تخریب آن‌ها در سیستم‌های غشایی ایفا می‌کنند (Narimani et al., 2020b). از این رو محلول‌پاشی آهن با افزایش تحمل گیاه به شرایط تنش خشکی (از راه افزایش تولید آنزیم‌های حذف‌کننده رادیکال‌های آزاد) موجب می‌شود اثر تنش تا حدی تعدیل شود و در نتیجه آن درصد نشت کاهش کند. همچنین به نظر می‌رسد کاهش هدایت الکتریکی با کاربرد سیلیکون با کاهش مالون دی‌آلدئید و بهبود اسمولیت‌های سازگار (پرولین و قندهای محلول) (جدول ۷) مرتبط باشد (AlKahtani et al., 2021). از آنجاکه پرولین نقش مؤثری 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 باکتری‌های محرک رشد و نانوذرات با افزایش محتوای پرولین (جدول ۷) به افزایش مقاومت گیاه در برابر تنش خشکی کمک می‌کند (Ahmadi Nouraldinvand et al., 2021). کاربرد باکتری‌های محرک رشد با افزایش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان (جدول ۵) و کاهش محتوای پراکسید هیدروژن و مالون

شرایط خشکی به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. نریمانی و همکاران (Narimani et al., 2020b) بخشی از افزایش عملکرد کوانتومی در شرایط تنش خشکی در گندم به‌واسطه کاربرد نانوآکسید آهن را، به افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی-اکسیدانی، محتوای پروکلین و قند محلول نسبت دادند. در این بررسی نیز به نظر می‌رسد کاربرد نانوآکسید آهن با افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی (جدول ۵) و محتوای پروکلین و قند محلول (جدول ۷)، موجب بهبود عملکرد کوانتومی (جدول ۷) شده است. مهربان جوانی و همکاران (Mehraban Joubani et al., 2019) اظهار داشتند که کاربرد نانوسیلیکون با بهبود محتوای نسبی برگ و افزایش ظرفیت فتوسنتزی، موجب بهبود عملکرد کوانتومی فتوسیستم II برگ برنج شد.

عملکرد دانه

برهم‌کنش سطوح آبیاری، باکتری‌های محرک رشد، نانوذرات (نانوسیلیکون و آهن) بر عملکرد دانه در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۶). نتایج نشان داد که کاربرد توأم باکتری‌های محرک رشد و محلول پاشی نانوذرات تحت شرایط آبیاری کامل از افزایش ۴۳/۲۸ درصدی عملکرد دانه نسبت به شرایط عدم کاربرد باکتری‌های محرک رشد و نانوذرات تحت شرایط قطع آبیاری در مرحله آبستنی برخوردار بود (جدول ۷). خشکی با اختلال در سیستم فتوسنتزی موجب افزایش محتوای پراکسید هیدروژن و پراکسیداسیون لیپیدی می‌شود (Islam et al., 2022)، تحت چنین شرایطی کاربرد باکتری‌های محرک رشد با افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی-اکسیدانی و بهبود محتوای اسمولیت‌های سازگار، موجب افزایش مقاومت گیاه نسبت به تنش شده و عملکرد دانه را بهبود می‌بخشد (Aghaei et al., 2020). به نظر می‌رسد باکتری‌های محرک رشد، با افزایش فراهمی و دسترسی عناصر غذایی مانند فسفر و نیتروژن موجب بهبود وضعیت تغذیه‌ای گیاه و در نتیجه عملکرد آن می‌شوند. در این راستا آقایی و همکاران (Aghaei et al., 2021) اظهار نمودند که کاربرد باکتری محرک رشد تحت شرایط تنش، با افزایش محتوای نسبی آب و عملکرد کوانتومی و کاهش محتوای پراکسید هیدروژن و مالون دی‌آلدئید ضمن افزایش وزن صد دانه موجب بهبود عملکرد دانه گندم شد.

تحریک می‌کند (Karthik et al., 2021). بابایی و همکاران (Babaei et al., 2017) گزارش کردند در شرایط تنش، محتوای نسبی آب کاهش یافت ولی محلول‌پاشی با نانوآکسید آهن و روی، ضمن تعدیل بخشی از کاهش محتوای آب نسبی در شرایط تنش، موجب افزایش عملکرد دانه شد.

عملکرد کوانتومی

تجزیه واریانس نشان داد که اثر سطوح آبیاری، باکتری‌های محرک رشد، نانوذرات (نانوسیلیکون و آهن) و برهم‌کنش این عوامل بر عملکرد کوانتومی در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شد (جدول ۶). مقایسه میانگین‌ها نشان داد که تلقیح بذر با باکتری‌های محرک رشد و محلول‌پاشی نانوذرات در شرایط آبیاری کامل موجب افزایش ۳۶/۰۵ درصدی عملکرد کوانتومی نسبت به شرایط عدم کاربرد باکتری‌های محرک رشد و نانوذرات تحت شرایط قطع آبیاری در مرحله آبستنی شد (جدول ۷).

خشکی مانند سایر تنش‌های محیطی، بر بسیاری از فرآیندهای فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی همانند فتوسنتز تأثیر منفی می‌گذارد، در نتیجه بسته شدن روزنه‌های برگ در مراحل اولیه خشک‌سالی موجب می‌شود جذب CO_2 محدود شده و فتوسنتز مختل شود. این امر می‌تواند منجر به عدم تعادل بین فعالیت فتوشیمیایی PSII و الکترون‌های موردنیاز برای چرخه کالوین شود که نتیجه آن، جذب بیش از حد انرژی برانگیختگی و متعاقب آن آسیب بازدارنده نوری به مراکز واکنش PSII است. مطالعات متعدد نشان داده‌اند که محدودیت شدید آبی می‌تواند ظرفیت فتوسنتزی گیاهان را به دلیل کاهش محتوای کلروفیل (جدول ۵) و عملکرد کوانتومی (جدول ۷) به میزان قابل‌توجهی کاهش دهد (Wang et al., 2020). به نظر می‌رسد کاربرد باکتری‌های محرک با کاهش محتوای پراکسید هیدروژن (جدول ۷) و مالون دی‌آلدئید (جدول ۷)، ضمن کاهش هدایت الکتریکی برگ (جدول ۷)، موجب افزایش محتوای نسبی آب برگ (جدول ۷) می‌شود که احتمالاً این افزایش محتوای نسبی آب برگ پرچم، عملکرد کوانتومی فتوسیستم II را افزایش داده است (جدول ۷) که با یافته‌های آقایی و همکاران (Aghaei et al., 2021) مطابقت دارد. عملکرد کوانتومی با محلول‌پاشی نانوذرات (آهن و نانوسیلیکون) در گیاهان تربیتکاله تحت

پراکسید هیدروژن و مالون دی‌آلدئید (جدول ۷) و هدایت الکتریکی (جدول ۷) و در نهایت افزایش عملکرد دانه تربیتکاله (جدول ۷) شد.

جدول همبستگی

بر اساس جدول همبستگی کاربرد باکتری‌های محرک رشد و نانوذرات (نانوسیلیکون و آهن) سطوح آبیاری عملکرد دانه و صفات هدایت الکتریکی، مالون دی‌آلدئید، پراکسید هیدروژن و پلی فنول اکسیداز تأثیر منفی معنی‌داری داشت. ولی بین صفات محتوای نسبی آب، عملکرد کوانتومی، کلروفیل a، b، کل و کارتنوئید تأثیر مثبت و معنی‌داری با عملکرد دانه وجود داشت (جدول ۸).

نتیجه‌گیری نهایی

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که تحت شرایط محدودیت آبی، کاربرد باکتری‌های محرک رشد و محلول‌پاشی نانوذرات (نانوسیلیکون و آهن) به‌صورت توأم و یا منفرد، نقش چشم‌گیری در کاهش محتوای پراکسید هیدروژن، مالون دی‌آلدئید، هدایت الکتریکی و افزایش عملکرد کوانتومی، محتوای نسبی آب، محتوای کلروفیل a، b، کلروفیل کل و عملکرد دانه تربیتکاله داشت. بهبود رشد گیاهان در شرایط تنش با کاربرد باکتری‌های محرک رشد و محلول‌پاشی

برخی محققان نیز علت افزایش عملکرد دانه به‌واسطه محلول‌پاشی با عناصر ریزمغذی را به نقش مهم این عناصر در افزایش میزان کلروفیل، حفظ آماس سلولی در گیاه و افزایش پرولین نسبت داده‌اند که موجب می‌شود گیاه عناصر موردنیاز خود را حتی در شرایطی که گیاه با تنش آبی مواجه است به دلیل افزایش اسمولیت‌ها، بهتر و راحت‌تر در اختیار داشته باشد. بدین ترتیب، سلول به فعالیت‌های حیاتی خود حتی تحت شرایط تنش ادامه می‌دهد (Thalooth et al., 2006). نظری و همکاران (Nazari et al., 2022) نیز اظهار داشتند که کاربرد نانوسیلیکون با بهبود فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و محتوای اسمولیت‌های سازگار ضمن کاهش محتوای پراکسید هیدروژن و مالون دی‌آلدئید، موجب افزایش عملکرد دانه تربیتکاله در شرایط تنش خشکی شد. همچنین نریمانی و همکاران (Narimani et al., 2020b) اظهار داشتند که کاربرد نانواکسید آهن با بهبود عملکرد کوانتومی، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، پرولین و قندهای محلول موجب افزایش عملکرد دانه گندم شد. از این‌رو، به نظر می‌رسد کاربرد باکتری‌های محرک رشد و نانوذرات (نانوسیلیکون و آهن) در شرایط قطع آبیاری در مرحله آبستنی با افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی (کاتالاز، پراکسیداز و پلی‌فنل اکسیداز) (جدول ۵)، محتوای اسمولیت‌های سازگار (پرولین و قندهای محلول) (جدول ۷)، محتوای نسبی آب (جدول ۷) و عملکرد کوانتومی (جدول ۷) موجب کاهش محتوای

Table 8. Simple correlation coefficients of studied traits

جدول ۸. ضرایب همبستگی ساده بین صفات مورد بررسی

Trait	صفت	1	2	3	4	5	6	7
1 EC	هدایت الکتریکی	1						
2 RWC	محتوای نسبی آب	-0.463**	1					
3 Fv/Fm	عملکرد کوانتومی	-0.515**	0.433**	1				
4 MDA	مالون دی‌آلدئید	0.285**	-0.187*	-0.557**	1			
5 H ₂ O ₂	پراکسید هیدروژن	0.241**	-0.560**	-0.536**	0.521**	1		
6 Chlorophyll a	کلروفیل a	-0.676**	0.391**	0.597**	-0.660**	-0.335**	1	
7 Chlorophyll b	کلروفیل b	-0.606**	0.605**	0.494**	-0.213**	-0.533**	0.709**	1
8 Total Chlorophyll	کلروفیل کل	-0.699**	0.482**	0.604**	-0.566**	-0.417**	0.976**	0.844**
9 Carotenoid	کارتنوئید	-0.413**	0.039 ^{ns}	0.440**	-0.784**	-0.066 ^{ns}	0.795**	0.151 ^{ns}
10 Proline	پرولین	-0.226**	0.042 ^{ns}	-0.080 ^{ns}	0.147 ^{ns}	0.332**	0.016 ^{ns}	-0.162*
11 Soluble sugar	قندهای محلول	-0.165*	-0.003 ^{ns}	-0.026 ^{ns}	0.057 ^{ns}	0.194**	-0.047 ^{ns}	-0.199**
12 Catalase	کاتالاز	0.389**	0.089 ^{ns}	-0.052 ^{ns}	-0.025 ^{ns}	-0.202**	-0.414**	-0.377**
13 Peroxidase	پراکسیداز	0.35**	0.051 ^{ns}	-0.0140 ^{ns}	-0.068 ^{ns}	-0.134 ^{ns}	-0.261**	-0.29**
14 Polyphenol oxidase	پلی فنول اکسیداز	-0.237**	-0.153 ^{ns}	0.069 ^{ns}	-0.351**	0.374**	0.288**	-0.300**
15 Grain yield	عملکرد دانه	-0.631**	0.452**	0.634**	-0.691**	-0.522**	0.793**	0.630**

Table 8. Continued

جدول ۸. ادامه

Trait	صفت	8	9	10	11	12	13	14
8 Total Chlorophyll	کلروفیل کل	1						
9 Carotenoid	کارتنوئید	0.650**	1					
10 Proline	پرولین	-0.037 ^{ns}	0.108 ^{ns}	1				
11 Soluble sugar	قندهای محلول	-0.097 ^{ns}	0.056 ^{ns}	0.829**	1			
12 Catalase	کاتالاز	-0.430**	-0.245**	0.106 ^{ns}	0.279**	1		
13 Peroxidase	پراکسیداز	-0.287**	-0.111**	0.074 ^{ns}	0.177*	0.755**	1	
14 Polyphenol oxidase	پلی فنول اکسیداز	0.126 ^{ns}	0.626**	0.633**	0.588**	0.041 ^{ns}	0.076 ^{ns}	1
15 Grain yield	عملکرد دانه	0.795**	0.582**	-0.142 ^{ns}	-0.124 ^{ns}	-0.375**	-0.360**	0.126 ^{ns}

ns, * و ** به ترتیب غیر معنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال پنج و یک درصد

ns, * and ** are non-significant, significant at $p \leq 0.05$ and $p \leq 0.01$, respectively

بررسی به نظر می‌رسد که کاربرد باکتری‌های محرک رشد همراه با محلول‌پاشی نانوذرات، روش مناسبی برای افزایش عملکرد دانه و یا کاهش اثر ناشی از محدودیت آبی باشد.

نانوذرات به صورت توأم و یا منفرد ممکن است به دلیل افزایش فعالیت‌های آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و تنظیم اسمزی ناشی از پرولین و قندهای محلول باشد. از این رو بر اساس نتایج این

منابع

- Abdelaal, K.A.A., Attia, K.A., Alamery, S.F., El-Afry, M.M., Ghazy, A.I., Tantawy, D.S., Al-Doss, A.A., El-Shawy, E.S.E., AbuElsaoud, A.M., Hafez, Y.M., 2020. Exogenous application of proline and salicylic acid can mitigate the injurious impacts of drought stress on barley plants associated with physiological and histological characters. *Sustainability*. 12, 1736. <https://doi.org/10.3390/su12051736>
- Abdelaal, K., AlKahtani, M., Attia, K., Hafez, Y., Király, L., Künstler, A., 2021. The Role of Plant growth-promoting bacteria in alleviating the adverse effects of drought on plants. *Biology*. 10, 520. <https://doi.org/10.3390/biology10060520>
- Aghaei, F., Seyed Sharifi, R., Narimani, H., 2020. Effects of uniconazole, mycorrhiza and pseudomonas on activity of some antioxidant enzymes and compatible osmolites of wheat (*Triticum aestivum* L.) under soil salinity conditions. *Iranian Journal of Plant Biology*. 12, 87-104. [In Persian with English Summary] <https://doi.org/10.22108/ijpb.2020.118656.1169>
- Aghaei, F., Seyed Sharifi, R., Narimani, H., 2021. Evaluation of yield and some biochemical traits of wheat under salinity stress in response to uniconazole and bio fertilizers application. *Environmental Stresses in Crop Sciences*. 14, 487-499. [In Persian] <https://doi.org/10.22077/escs.2020.2810.1730>
- Ahmadi Nouraldinvand, F., Seyed Sharifi, R., Siadat, S.A., Khalilzadeh, R., 2021. Effect of water limitation and application of bio-fertilizer and nano-silicon on yield and some biochemical traits of wheat. *Cereal Research*. 4, 285-298. [In Persian with English Summary] <https://doi.org/10.22124/cr.2021.18682.1645>
- Alexieva, V., Sergiev, I., Mapelli, S., 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. <https://doi.org/10.1046/j.1365-3040.2001.00778.x>
- AlKahtani, M.D.F., Hafez, Y.M., Attia, K., Rashwan, E., Al-Husnain, L., Al-Gwaiz, H.I. M., Abdelaal, K. A.A., 2021. Evaluation of silicon and proline application on the oxidative machinery in Drought-stressed sugar beet. *Antioxidants*. 10, 398. <https://doi.org/10.3390/antiox10030398>
- Aranjuelo, I., Molero, G., Erice, G., Christophe Avice, J., Nogues, S., 2011. Plant physiology and proteomics reveals the leaf response to drought in alfalfa (*Medicago sativa* L). *The Journal of Experimental Botany*. 62, 111-123. <https://doi.org/10.1093/jxb/erq249>

- Arnon, A.N., 1967. Method of extraction of chlorophyll in the plants. *Agronomy Journal*. 23, 112-121.
- Askarnejad, M., Sodaeezadeh, H., Mosleh Arani, A., Yazdani Biouki, R., Mavandi, P., 2019. Effect of silicon in improving drought tolerance of stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) under moisture stress. *Environmental Stresses in Crop Sciences*. 12, 847-863. [In Persian] <https://doi.org/10.22077/escs.2019.1559.1349>
- Babaei, K., Seyed Sharifi, R., Pirzad, A., Khalilzade, R., 2017. Effects of bio fertilizer and nano Zn- Fe oxide on physiological traits, antioxidant enzymes activity and yield of wheat (*Triticum aestivum* L.) under salinity stress. *Journal of Plant Interactions*. 12, 381- 389. <https://doi.org/10.1080/17429145.2017.1371798>
- Bates, L.S., Walderen, R.D., Taere, I.D., 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. *Plant and Soil*. 39, 205-207. <https://doi.org/10.1007/bf00018060>
- Briat, J.F., Dubos, C., Gaymard, F., 2015. Iron nutrition, biomass production, and plant product quality. *Trends in Plant Science*. 20, 33-40. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2014.07.005>
- Dadashzadeh, S., Seyed Sharifi, R., Farzaneh, S., 2018. Physiological and biochemical responses of barley to application of bio-fertilizers and nano iron oxide under salinity stress in greenhouse. *Bangladesh Journal of Botany*. 47, 863-875. <https://doi.org/10.3329/bjb.v47i4.47364>
- Das, R., Kiley, P. J., Segal, M., Norville, J., Yu, A.A., Wang, L., Lebedev, N., 2004. Integration of photosynthetic protein molecular complexes in solid-state electronic devices. *Nano Letters*, 4, 1079-1083. <https://doi.org/10.1021/nl049579f>
- Dawa, K.K., Zaghloul, M.M., Ahmed, H.M.I., Hamad, K.H. M., 2020. Impact of foliar application with iron, zinc, silicon nano particles and yeast on growth, yield and water use efficiency of tomato plants under water stress conditions. *Journal of Plant Production*. 11, 523-530. <https://doi.org/10.21608/jpp.2020.106331>
- Dubios, M., Gilles, K. A., Hamilton, J. K., Roberts, P. A., Smith, F., 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Annals of Chemistry*. 28, 350-356. <https://doi.org/10.1021/ac60111a017>
- El-Ramady, H., Alshaal, T., Abowaly, M., Abdalla, N., Taha, H.S., Al-Saeedi, A.H., Sztrik, A., 2017. Nanoremediation for sustainable crop production. In *Nanoscience in Food and Agriculture*. Springer. 5, 335-363. https://doi.org/10.1007/978-3-319-58496-6_12
- Etesami, H., Jeong, B.R., 2018. Silicon (Si): Review and future prospects on the action mechanisms in alleviating biotic and abiotic stresses in plants. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 147, 881-896. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2017.09.063>
- Fathi Amirkhiz, K., Amini Dehaghi, M., Modarres Sanavi, S.A.M., Heshmati, S., 2011. The effects of soil and foliar application of Fe on some biochemical characteristics of safflower (*Carthamus tinctorius* L.) under two irrigation regimes. *Iranian Journal of Field Crop Science*. 42, 509-518. [In Persian] <https://dorl.net/dor/20.1001.1.20084811.1390.42.3.8.8>
- Galaktionova, L.V., Korotkova, A.M., Voskobulova, N.I., Lebedev, S.V., Terehova, N.A., Vershinina, I.A. 2020. Evaluation of the effect of SiO₂ and Fe₃O₄ nanoparticles on *Pisum sativum* seeds in laboratory and field experiments. bioRxiv preprint. <https://doi.org/10.1101/2020.08.31.275859>
- Ghasemian, V., Ghalavand, A., Soroosh zadeh, A., Pirzad, A., 2010. The effect of iron, zinc and manganese on quality and quantity of soybean seed. *Journal of Phytology*. 2, 73-79.
- Ghaffari, H., Razmjoo, J., 2015. Response of durum wheat to foliar application of varied sources and rates of iron fertilizers. *Journal of Agricultural Science and Technology* 17, 321–331. <https://dorl.net/dor/20.1001.1.16807073.2015.17.2.21.4>
- Islam, M.J., Uddin, M.J., Hossain, M.A., Henry, R., Begum, M.K., Sohel, M.A.T., Mou, M.A., Ahn, J., Cheonng, E.J., Lim, Y.S., 2022. Exogenous putrescine attenuates the negative impact of drought stress by modulating physiobiochemical traits and gene expression in sugar beet (*Beta vulgaris* L.). *Plos One*. 17, 262-269. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0262099>
- Karthik Raja, R., Krishna Surendar, K., Ravichandran, V., Kannan, M., Pushpam, R., 2021. Influence of nanosilica on physio-biochemical and antioxidative enzymes in rice

- under drought. The Pharma Innovation Journal. 10, 1318-1323.
- Kazemi Oskuei, B., Bandehagh, A., Sarikhani, M.A., Ghasemzadeh, T., 2021. Effect of enterobacter sp. S16-3 as plant growth-promoting rhizobacteria on drought stress reduction in canola (*Brassica napus*) cultivars. Journal of Agricultural Science and Sustainable Production. 31, 49-65. [In Persian with English Summary] <https://doi.org/10.22034/saps.2021.40180.2498>
- Khaled, A., Abdelaal, A., Yasser, S., Mazrou, A., Yaser, M., Hafez, M., 2020. Silicon foliar application mitigates salt stress in sweet pepper plants by enhancing water status, photosynthesis, antioxidant enzyme activity and fruit yield. Plants. 9, 733. <https://doi.org/10.3390/plants9060733>
- Khatiwada, A., Neupane, I., Sharma, B., Bhetwal, N., Pandey, B., 2020. Effects of drought stress on yield and yield attributing characters of wheat: A Review. Agriways 8, 115-121. <https://doi.org/10.38112/agw.2020.v08i02.009>
- Kheirizadeh Arough, Y., Seyed Sharifi, R., Sedghi, M., Barmaki, M., 2016. Effect of zinc and bio fertilizers on antioxidant enzymes activity, chlorophyll content, soluble sugars and proline in Triticale under salinity condition. Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca. 44, 116-124. <https://doi.org/10.15835/nbha44110224>
- Kostopoulou, P., Barbayiannis, N., Basile, N., 2010. Water relations of yellow sweet clover under the synergy of drought and selenium addition. Plant and Soil. 330, 65-71. <https://doi.org/10.1007/s11104-009-0176-x>
- Lehmann, S., Funck, D., Szabados, L., Rentsch, D., 2010. Proline metabolism and transport in plant development. Amino Acids. 39, 949-962. <https://doi.org/10.1007/s00726-010-0525-3>
- Luyckx, M., Hausman, J. F., Lutts, S., Guerriero, G., 2017. Silicon and plants: Current knowledge and technological perspectives. Frontiers in Plant Sciences. 8, 411. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.00411>
- Mazaherinia, S., Astaraei, A. R., Monshim, A., Fotovat, A., 2012. Comparison of iron oxides (ordinary and nano) and urban solid waste compost effect on nutrition of wheat plant. Agronomy Journal (Pajouhesh and Sazandegi). 96, 103-110. [In Persian with English Summary]
- Mehraban Joubani, P., Barzegar, A., Barzagar Golchini, B., Ramezani Sayyad, A., Abdolzadeh, A., 2019. Comparison of effects of iron excess and application of silicon on fluorescence of chlorophyll in shoot and developmental changes in root of rice seedlings. Iranian Journal of Plant Biology. 11, 41. 17-32. <https://doi.org/10.22108/ijpb.2019.110931.1099>
- Merwad, A. R. M. A., Desoky, E. S. M., Rady, M. M., 2018. Response of water deficit-stressed *Vigna unguiculata* performances to silicon, proline or methionine foliar application. Scientia Horticulturae. 228, 132-144. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2017.10.008>
- Narimani, H., Seyed Sharifi, R., Aghaei, F., 2020a. Effect of methanol on antioxidant enzymes activity, some compatible osmolytes and biochemical traits of wheat (*Triticum aestivum* L.) under irrigation withholding conditions. Journal of Crop Physiology. 12, 99-114. [In Persian with English Summary] <https://dorl.net/dor/20.1001.1.2008403.1399.12.47.6.0>
- Narimani, H., Seyed Sharifi, R., Ebadi, N., 2020b. Effects of nano iron oxide on the yield and some physiological and biochemical traits of wheat (*Triticum aestivum* L.) under rainfed and supplementary irrigation conditions. Journal of Crop Production and Processing. 10, 127-141. [In Persian with English Summary]. <https://doi.org/10.47176/jcpp.10.1.25856>
- Nazari, Zh., Seyed Sharifi, R., Narimani, H., Mohammadi Kale Sarlou, S., 2022. Effect of water limitation, biofertilizers, and nano silicon on compatible osmolytes and biochemical traits of X Triticosecale. Journal of Crops Improvement. 24, 1199-1215. <https://doi.org/10.22059/jci.2022.333768.2639>
- Razi, K., Muneer, S., 2021. Drought stress-induced physiological mechanisms, signaling pathways and molecular response of chloroplasts in common vegetable crops. Critical Reviews in Biotechnology. 41, 1-40. <https://doi.org/10.1080/07388551.2021.1874280>
- Silva, O.N., Lobato, A.K., Avila, F.W., Costa, L., Oliveira, F., Santos, B.G., Martins, A.P., Lemos, R., Pinho, J., Medeiros, M.B., Cardoso,

- M., Andrade, I.P., 2012. Silicon induced increase in chlorophyll is modulated by the leaf water potential in two water deficient tomato cultivars. *Plant, Soil and Environment*. 58, 481-486. <https://doi.org/10.17221/213/2012-PSE>
- Stewart, R.C., Beweley, J.D., 1980. Lipid peroxidation associated with accelerated aging of soybean axes. *Plant Physiology*. 65, 245-248. <https://doi.org/10.1104/pp.65.2.245>
- Sudhakar, C., Lakshmi, A., Giridara Kumar, S., 2001. Changes in the antioxidant enzyme efficacy in two high yielding genotypes of mulberry (*Morus alba* L.) under NaCl salinity. *Plant Science*. 167, 613-619.
- Tawfk, M., Magda, M., Mohamed, H., Sadak Alice, Sh., Thaloorth, T., 2021. Iron oxide nanoparticles effect on growth, physiological traits and nutritional contents of *Moringa oleifera* grown in saline environment. *Bulletin of the National Research Centre*. 45,177. <https://doi.org/10.1186/s42269-021-00624-9>
- Thaloorth, A T., Tawfik, M M., Magda Mohamed, H., 2006. A comparative study on the effect of foliar application of zinc, potassium and magnesium on growth, yield and some chemical constituents of mungbean plants grown under water stress conditions. *World Journal Agricultural Science*. 2, 37-46.
- Valipour, H., Shafagh-Kolvanagh, J., Ghassemi-Golezani, K., Alizadeh-Salteh, S., 2021. Improvement of yield-related traits of spring rapeseed in response to nanosuperabsorbent and bio-fertilizers under water deficit conditi. *Journal of Plant Physiology and Breeding*. 11, 15-32. <https://doi.org/10.22034/JPPB.2021.14414>
- Wang, J., Zhang, X., Han, Z., Feng, H., Wang, Y., Kang, J., Han, X., Wang, L., Wang, C., Li, H., et al., 2022. Analysis of physiological indicators associated with drought tolerance in wheat under drought and re-watering conditions. *Antioxidants*. 11, 2266. <https://doi.org/10.3390/antiox11112266>