

ارزیابی امکان تخفیف اثر تنش شوری در گندم با کاربرد سیلیکات پتاسیم و ملاتونین

علی طاهری^۱، محمد کافی^{۲*}، فرنوش فلاح پور^۳، جعفرنباتی^۴

^۱ دانشجوی دکتری، گروه آگروتکنولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد رایانامه:

taheriali7621@yahoo.com

^۲ نویسنده مسئول، استاد، گروه آگروتکنولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد رایانامه:

m.kafi@um.ac.ir

^۳ دانشیار، گروه آگروتکنولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد رایانامه: agro11000@gmail.com

^۴ دانشیار، گروه آگروتکنولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد رایانامه:

jafarnabati@ferdowsi.um.ac.ir

چکیده

سابقه و هدف: تنش شوری به عنوان یکی از مهم ترین تنش های غیر زیستی در کشاورزی به شمار می رود که موجب کاهش تولید محصولات زراعی و تهدیدی برای امنیت غذایی در مقیاس جهانی است. برای مقابله با شوری، گیاهان در پاسخ به تنش از راهکارهای مختلف همچون تنظیم اسمزی، هموستازی یونی، افزایش ساخت آنتی اکسیدان های آنزیمی و غیر آنزیمی و غیره استفاده می کنند. ترکیبات کاهش دهنده اثرات منفی تنش نظیر سیلیکات پتاسیم و ملاتونین از طریق کمک به تسهیل واکنش های فیزیولوژیکی در شرایط تنش های محیطی می توانند اثرات تنش بر رشد و عملکرد گیاهان زراعی را کاهش دهند.

مواد و روشها: این پژوهش به صورت کرت های خرد شده بر پایه طرح بلوک های کامل تصادفی با سه تکرار در گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد، در سال ۱۴۰۴ روی رقم پیشگام گندم در شرایط تنش شوری انجام شد. تیمارهای شوری در دو سطح ۰/۵ و ۱۰ دسی زیمنس بر متر در گلدان هایی به حجم ده لیتر با خاک لوم سیلتی با استفاده از کلرید سدیم اعمال شد. سطوح سیلیکات پتاسیم (۰/۵، ۱ و ۲ میلی مولار) و ملاتونین (۱۰۰، ۱۵۰، ۲۰۰ میکرو مولار) و شاهد به صورت محلول پاشی و در سه مرحله اعمال شد. شاخص های رشدی، و پارامترهای بیوشیمیایی مانند میزان پرولین، مالون دی آلدئید و فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی اندازه گیری شدند.

یافته ها: نتایج نشان داد که تنش شوری موجب کاهش بقا، وزن خشک اندام هوایی، شاخص پایداری غشا و رنگ دانه های فتوسنتزی در گندم شد. با کاربرد دو میلی مولار سیلیکات پتاسیم و ۲۰۰ میکرومولار ملاتونین به ترتیب درصد بقا (۴۴/۶۵ درصد)، وزن خشک اندام هوایی (۱۱/۱۵ درصد)، شاخص پایداری غشا (۵۹/۶۱ درصد)، رنگ دانه های فتوسنتزی (۳۳/۳۵ درصد)، فعالیت کاتالاز (۲۲/۱۶ درصد) و آسکوربات پراکسیداز (۲۸/۱۶ درصد) در تنش شوری افزایش یافت. از طرف دیگر محتوای پرولین و مالون دی آلدئید در این تیمارها کاهش یافت. ضرایب همبستگی نشان داد که وزن خشک اندام هوایی (** $r=0/82$)، محتوای کل رنگ دانه های فتوسنتزی (** $r=0/87$)، شاخص پایداری غشا (** $r=0/76$)، ارتفاع بوته (** $r=0/77$) و سطح برگ (** $r=0/69$) همبستگی مثبت و معنی داری با بقای بوته دارند.

نتیجه گیری: بر اساس نتایج به دست آمده کاربرد ترکیبات تخفیف دهنده تنش می تواند اثرات منفی تنش شوری را کاهش دهند. در بین دو ترکیب مورد استفاده، مصرف سیلیکات پتاسیم در مقایسه با ملاتونین نتایج مطلوبتری داشت و سبب بهبود شاخص های رشدی نظیر ارتفاع بوته، بقای بوته و برگ، سطح برگ، رنگیزه های فتوسنتزی و افزایش تحمل گندم به تنش های اکسیداتیو گردید. این نتایج می تواند در برنامه های مدیریتی اراضی شور برای افزایش تحمل به شوری و پایداری تولید در اقلیم های خشک و نیمه خشک مورد استفاده قرار گیرند.

مقدمه

شوری آب و خاک از مهم‌ترین عوامل محدود کننده و تاثیرگذار بر رشد و عملکرد گیاهان زراعی در مناطق خشک و نیمه خشک محسوب می‌شود (۱). از یک سو تنش اسمزی ناشی از تنش شوری باعث منفی شدن پتانسیل آب سلول و کاهش جذب آب توسط ریشه می‌گردد و از سوی دیگر سمیت یونی در نتیجه تجمع یون‌های سدیم و کلر منجر به کاهش هدایت روزنه ای، کاهش تثبیت دی اکسید کربن و تعرق از سطح برگ و تجمع رادیکال‌های آزاد اکسیژن می‌گردد (۲).

گندم (*Triticum aestivum* L.) جزء سازگارترین گونه‌های غلات به شرایط محیطی به شمار می‌رود و در گستره وسیعی از شرایط اقلیمی جهان کشت می‌شود. سطح زیر کشت سالانه گندم حدود ۲۲۱ میلیون هکتار و تولید سالیانه آن بیش از ۷۶۰ میلیون تن است (۳). گندم جزو گیاهان نیمه متحمل به شوری بوده و شوری از طریق تاثیر بر فرآیندهای جوانه‌زنی، فتوسنتز و قابلیت دسترسی به آب، سبب کاهش رشد و عملکرد آن می‌شود (۴). از مهم‌ترین سازوکارهای تحمل گندم به تنش شوری می‌توان به تنظیم اسمزی، توسعه سازوکار آنتی‌اکسیدانی و تعادل هورمونی اشاره نمود (۵). روش‌های مختلفی برای سازگار نمودن گیاه به شرایط نامساعد محیطی و بهبود رشد و عملکرد آن تحت تنش وجود دارد. یکی از امیدوارکننده‌ترین روش‌ها، کاربرد خارجی ترکیبات شیمیایی نظیر سیلیکات پتاسیم و ملاتونین از طریق پرایمینگ بذر یا محلول‌پاشی برگ است (۶).

کاربرد تخفیف دهنده‌های تنش، تاثیر منفی تنش شوری به گیاه را تعدیل و واکنش آن بهبود می‌بخشند (۷). سیلیکات پتاسیم نقش اساسی در بسیاری از فرآیندهای فیزیولوژیک مانند ساخت پروتئین‌ها، تشکیل قندها، نشاسته و تقسیم سلولی و بهبود وضعیت آب در بافت‌های گیاهی ایفا می‌کند (۸). محلول‌پاشی برگ با سیلیکات پتاسیم (K_2SiO_3) با منبع سیلیکون و پتاسیم رویکرد مهمی است که می‌تواند به عنوان یک تعدیل کننده تنش برای گیاه مورد استفاده قرار گیرد (۹). فقه‌نابی و همکاران (۲۰۲۲) گزارش کردند که محلول‌پاشی گندم با سیلیکات پتاسیم سبب افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و کاهش گونه‌های فعال اکسیژن تحت تنش شوری می‌گردد (۱۰).

یکی دیگر از ترکیبات تخفیف دهنده تنش شوری ملاتونین می‌باشد، این ترکیب که از نظر شیمیایی با نام N-acetyl-5-methoxytryptamine شناخته می‌شود، یک مولکول پلی‌تروپیک مشتق شده از تریپتوفان است (۱۱) که به دلیل ساختار کوچک آمفوفیلیک خود به آسانی می‌تواند از غشاهای سلولی عبور کند و به هسته سلول و میتوکندری دسترسی پیدا کند (۱۲). ملاتونین به صورت طبیعی در گیاه ساخته شده و به عنوان یک تنظیم‌کننده رشد و آنتی‌اکسیدان، نقش مهمی در تنظیم رشد ریشه، ساقه، جوانه‌زنی بذر، به تاخیر انداختن پیری برگ، فتوسنتز و کاهش تنش‌های زیستی و غیرزیستی ایفا می‌کند (۱۳). نتایج پژوهش احمد و همکاران (۲۰۲۲) نشان داد که محلول پاشی ملاتونین تحت تنش شوری به طور معنی‌داری صفات رشدی و فیزیولوژیکی گندم را بهبود داد (۱۴). طلعت و شاکی (۲۰۲۲) گزارش کردند که در نتیجه کاربرد ملاتونین در شرایط شور بر گیاه گندم، محتوای رادیکال سوپراکسید، نشت الکترولیت، فعالیت لیپوکسیژناز کاهش و فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز، پراکسیداز و پلی فنول اکسیداز، محتوای نسبی آب برگ، شاخص پایداری غشاء و تجمع آمینواسیدهای آزاد افزایش یافت (۱۵). کاربرد ملاتونین در شرایط تنش شوری فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی گندم را افزایش و سطوح گلوتاتیون را کاهش داد و بیان ژن‌های ناقل Na^+ را تنظیم کرد (۱۶).

باتوجه به اهمیت گیاه گندم به عنوان یک محصول مهم و تعیین کننده در امنیت غذایی و افزایش جمعیت جهانی و تقاضا و نیز لزوم بهره‌وری و استفاده از آب‌های نامتعارف و همچنین با توجه به اثرات ترکیبات تخفیف دهنده تنش به عنوان اسمولیت‌های سازگار در ایجاد مقاومت در شرایط تنش شوری این پژوهش با هدف بررسی اثرات بهبود دهنده سیلیکات پتاسیم و ملاتونین بر صفات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه گندم و تبیین روابط این صفات با درصد بقا در شرایط تنش شوری طراحی و اجرا شد.

مواد و روش‌ها

این آزمایش به صورت کرت‌های خرد شده بر پایه طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد، طی سال ۱۴۰۴ روی رقم پیشگام گندم در شرایط تنش شوری انجام شد. شوری آب آبیاری با هدایت الکتریکی ۱۰ دسی زیمنس بر متر با استفاده از کلرید سدیم تامین شد و تیمار شاهد آب شرب شهر مشهد با هدایت الکتریکی ۰/۵ دسی زیمنس بر متر بود. تیمارهای سیلیکات پتاسیم (۰/۵، ۱ و ۲ میلی مولار) و ملاتونین (۱۰۰، ۱۵۰، ۲۰۰

میکرو مولار) هر کدام در سه غلظت و شاهد (آب مقطر) اعمال شد. بذور گندم رقم پیشگام در گلدان‌های پلاستیکی با ظرفیت ۱۰ کیلوگرم، قطر ۲۰ و ارتفاع ۳۰ سانتی‌متر در عمق دو سانتی متری از سطح خاک به تعداد ۱۰ بذر در هر گلدان کشت شدند. خاک مورد استفاده از مزرعه دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد منتقل شد که خصوصیات فیزیکی و شیمیایی آن در جدول یک آورده شده است.

جدول ۱ ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی خاک مورد استفاده در گلدان‌ها

Table 1. Physico-chemical characteristics of soil used in the pots.

پتاسیم Potassium (ppm)	فسفر Phosphorous (ppm)	نیتروژن Nitrogen(%)	کربن آلی Organic Carbon (%)	pH	شوری Salinity (dS/m)	بافت Texture
۱۲۳	۱۰/۲	۰/۰۸	۰/۵۱	۷/۶۵	۲/۳	سیلتی لومی Silty- loam

پس از استقرار، گیاهچه‌ها در مرحله دو برگگی تعداد بوته‌های هر گلدان به پنج بوته کاهش یافتند. گیاهچه‌ها ابتدا با آب معمولی (۰/۵ دسی‌زیمنس بر متر) آبیاری شدند و تنش شوری ۱۰ روز پس از سبز شدن گیاهچه‌ها اعمال شد. محلول‌پاشی سیلیکات پتاسیم و ملاتونین در سه مرحله، به صورت محلول‌پاشی در سه مرحله قبل از اعمال تنش شوری، ۱۰ و ۲۰ روز پس از اعمال تنش شوری صورت پذیرفت. تیمار غلظت‌های مختلف سیلیکات پتاسیم و ملاتونین به صورت جداگانه اعمال گردیده و تیمار ترکیبی با هر دو ماده در این طرح اجرا نگردید. برای جلوگیری از تجمع بیش از حد نمک در خاک، آبیاری با آب شور به نحوی انجام شد که ۲۰ درصد آب آبیاری به صورت زه‌آب و به منظور آشنویی از گلدان خارج شد. گیاهان به مدت ۴۲ روز با دور آبیاری چهار روز در شرایط نور طبیعی با طول روز ۱۶ ساعت و رطوبت نسبی 65 ± 5 درصد در دمای ۲۷ و ۱۸ (± 2) درجه سانتی‌گراد (روز و شب) نگهداری شدند.

اندازه‌گیری‌ها

چهار هفته پس از اعمال تنش از برگ گیاهان در تیمارهای مختلف نمونه برداری انجام و ویژگی‌های بیوشیمیایی، فیزیولوژیک، مورفولوژیک آن‌ها اندازه‌گیری شد. به منظور تعیین برخی ویژگی‌های فیزیولوژیک و بیوشیمیایی از جواترین برگ کاملاً توسعه یافته نمونه‌گیری انجام شد.

درصد بقا بوته و برگ

چهار هفته پس از اعمال تنش شوری درصد بقای گیاهچه و درصد بقای برگ با استفاده از معادله (۱) اندازه‌گیری شد.

$$\text{معادله (۱)} \quad \text{بقا (\%)} = \frac{N1}{N2} \times 100$$

در این معادله N1 تعداد گیاهچه زنده چهار هفته بعد از اعمال تنش شوری و N2 تعداد گیاهچه قبل از اعمال تنش شوری یا تعداد کل گیاه تولید شده در گیاهان شاهد چهار هفته پس از اعمال تنش شوری بود.

پایداری غشاء

میزان پایداری غشاء با روش سایرام و همکاران (۲۰۰۲) با استفاده از اندازه‌گیری میزان نشت الکترولیت برگ با دستگاه هدایت سنج (Jenwey 4510 UK) اندازه‌گیری شد (۱۷).

رنگ‌دانه‌های فتوسنتزی

به‌منظور اندازه‌گیری رنگ‌دانه‌های فتوسنتزی از روش در و همکاران (1998) استفاده شد (۱۸). برای این منظور ۱۰۰ میلی‌گرم برگ تازه از برگ‌های جوان کاملاً توسعه‌یافته استفاده و رنگ‌دانه‌ها با استفاده از اتانول ۹۶ درصد استخراج شد. میزان جذب با استفاده از اسپکتروفتومتر در طول‌موج‌های ۶۴۸، ۶۶۴ و ۴۷۰ نانومتر انجام شد. بر اساس معادله‌های (۲ و ۳) محتوای کلروفیل‌های a و b محاسبه گردید. به‌منظور اندازه‌گیری محتوای رنگ‌دانه کل از جمع محتوای کلروفیل‌ها استفاده شد (معادله ۴).

$$\text{Chla} = 13.36 \times A664 - 5.19 \times A648$$

(۲)

$$\text{Chlb} = 27.43 \times A648 - 8.12 \times A664$$

(۳)

$$C(x + c) = (1000 \times A470 - 2.13 \times \text{Chla} - 97.64 \times \text{Chlb}) / 209 \quad (۴)$$

محتوای پرولین، مالون دی آلدئید

اندازه‌گیری محتوای پرولین، بر اساس روش بیتس و همکاران (۱۹۷۳) انجام شد. (۱۹). ۵۰۰ میلی گرم از بافت گیاهی با ۱۰ میلی لیتر سولفوسالیسیلیک اسید ۳ درصد هموزنایز شده، دو میلی لیتر از محلول گیاهی با دو میلی لیتر ناین‌هیدرین و اسید استیک گلاسیال مخلوط شدند و به مدت یک ساعت در بن مارین قرار گرفتند. پس از مدت ۲۰ دقیقه جذب نوری در طول موج ۵۲۰ نانومتر قرائت گردید. در ادامه مطابق رابطه (۵) با استفاده از منحنی استاندارد، غلظت پرولین در محلول محاسبه گردید. برای پی بردن به پراکسیداسیون لیپیدها محتوای مالون دی آلدئید به روش هیس و پاکر (1968) اندازه‌گیری شد (۲۰).

$$\left(\frac{\mu\text{g proline}}{\text{ml}} \times \frac{\text{ml toloen}}{115.5(\mu\text{g}/\mu\text{mol})} \right) / \frac{\text{gr sample}}{5} \quad (5)$$

فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی

برای تعیین فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان مقدار ۱۰۰ میلی‌گرم از برگ تازه گیاه گندم در بافر فسفات پتاسیم (pH 7/8) حاوی ۰/۱ مولاز EDTA هموزنایز شد. نمونه‌ها به مدت ۲۰ دقیقه در ۱۲۰۰۰g در دمای چهار درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ گردید. از عصار به دست آمده برای سنجش فعالیت کاتالاز از روش ولیکوا (2000) و آسکوربات پراکسیداز از روش دازی و همکاران (2008) با استفاده از اسپکتروفتومتر (Jenway UV-Visible Spectrophotometer Model 6305, UK) انجام شد (۲۱ و ۲۲). هم‌چنین چهار هفته پس از اعمال تنش شوری ارتفاع بوته و وزن خشک اندام هوایی اندازه‌گیری شد.

تجزیه تحلیل آماری

تجزیه واریانس داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری Minitab20 انجام پذیرفت و میانگین‌ها با استفاده از آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد مقایسه شد. برای همبستگی صفات، تجزیه خوشه‌ای و ترسیم نمودارهای دو بعدی نیز از نرم افزار SPSS19 استفاده شد.

نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر شوری، ترکیبات ضد تنش و برهمکنش شوری و ترکیبات ضد تنش بر ارتفاع بوته، بقای بوته، بقای برگ و سطح برگ معنی‌دار بود (جدول 2).

جدول 2- تجزیه واریانس اثرات تنش شوری و ترکیبات ضد تنش بر درصد بقا و صفات مورفولوژیک گندم

Table 2- ANOVA of salinity stress and anti-stress effects on survival percentage and morphological traits in wheat

منابع تغییرات S.O.V.	درجه آزادی df	میانگین مربعات Mean squares				
		ارتفاع بوته Plant height	بقا Survival	بقای برگ Leaf survival	سطح برگ Leaf area	وزن خشک Dry weight
Block بلوک	2	0.758 ^{ns}	0.200 ^{ns}	139 ^{ns}	2.29 ^{ns}	0.0003 ^{ns}
Salinity (A) شوری	1	787 ^{**}	16987 ^{**}	13509 ^{**}	7917 ^{**}	1.92 ^{**}
Error a خطا a	2	0.634	0.200	4.10	2.18	0.009
Anti-stress (B) ضد تنش	6	31.9 ^{**}	553 ^{**}	139 ^{**}	302 ^{**}	0.015 ^{**}
A × B شوری*ضد تنش	6	6.62 ^{**}	553 ^{**}	171 ^{**}	156 ^{**}	0.004 ^{**}
Error خطا	28	0.599	0.300	11.5	2.25	0.0001
C.V(%) ضریب تغییرات		14.7	21.2	22.3	30.1	25.6

***, ** و ns به ترتیب بیانگر تفاوت معنی دار در سطح احتمال یک درصد، پنج درصد و عدم تفاوت معنی دار می‌باشند.

***, ** and ns represent significant differences at the 5% and 1% probability levels, and non-significant differences, respectively.

مقایسه میانگین برهمکنش شوری و ترکیبات ضد تنش نشان داد که ارتفاع بوته با افزایش میزان شوری به طور معنی داری کاهش یافت. از طرفی کاربرد ترکیبات ضد تنش سبب افزایش ارتفاع بوته در شرایط تنش شوری شد و کاهش ارتفاع بوته ناشی از تنش شوری را به طور قابل توجهی جبران نمود به طوری که ارتفاع بوته نزدیک به تیمار بدون تنش شوری شد (جدول 3). تحت شرایط تنش شوری بیشترین ارتفاع بوته در تیمار ملاتونین با غلظت ۲۰۰ میکرو مولار مشاهده شد که نسبت به تیمار شاهد ملاتونین افزایش ۳۰ درصدی نشان داد.

جدول ۳- برهمکنش تنش شوری و ترکیبات ضد تنش بر درصد بقا و صفات مورفولوژیک گندم

Table ۳- The interaction effect of salinity and anti-stress on survival percentage and morphological traits of wheat .

شوری Salinity (dSm ⁻¹)	ترکیب ضد تنش Anti-stress	ارتفاع بوته Plant height (cm)	بقای گیاهچه Plant Survival (%)	بقای برگ Leaf survival (%)	سطح برگ Leaf area (cm ² . Plant ⁻¹)	وزن خشک Dry weight (g. plant ⁻¹)
0.5	Control	32.1 ^{d-c}	100 ^a	100 ^a	58.3 ^d	0.798 ^d
	Si 0.5 (mM)	33.1 ^{d-c}	100 ^a	100 ^a	56.8 ^d	0.877 ^{bc}
	Si 1.0 (mM)	36.3 ^b	100 ^a	100 ^a	73.1 ^{b-c}	0.947 ^{ab}
	Si 2.0 (mM)	34.7 ^{b-d}	100 ^a	100 ^a	83.7 ^{a-b}	0.990 ^a
	MT 100(μM)	35.2 ^{b-c}	100 ^a	100 ^a	50.0 ^{d-e}	0.830 ^c
	MT 150(μM)	36.2 ^b	100 ^a	100 ^a	57.9 ^d	0.890 ^{bc}
	MT 200(μM)	38.7 ^a	100 ^a	100 ^a	79.1 ^b	0.933 ^{ab}

	Control	24.1 ^{k-o}	47.5 ^{e-f}	56.7 ^d	32.7 ^h	0.443 ^g
	Si 0.5 (mM)	26.7 ^{l-o}	69.8 ^c	74.4 ^c	31.8 ^h	0.489 ^f
	Si 1.0 (mM)	27.9 ^{l-o}	68.2 ^c	76.3 ^{bc}	37.2 ^f	0.496 ^{e-f}
10	Si 2.0 (mM)	26.3 ^{m-o}	78.9 ^b	78.2 ^{bc}	40.1 ^{e-f}	0.511 ^e
	MT 100(μM)	28.9 ^{l-n}	50.5 ^e	55.7 ^{h-i}	30.2 ^h	0.487 ^f
	MT 150(μM)	27.7 ^{l-p}	55.1 ^d	65.5 ^{d-h}	34.2 ^{f-g}	0.489 ^f
	MT 200(μM)	31.4 ^{f-h}	68.5 ^c	73.6 ^{c-d}	37.1 ^f	0.504 ^e

MT ملاتونین، Si سیلیکات پتاسیم، میانگین‌های دارای حروف مشابه در هر صفت در سطح احتمال پنج درصد بر اساس آزمون حداقل اختلاف معنی‌دار (LSD) تفاوت معنی‌داری ندارند.

MT Melatonin, Si Potassium silicate. Means with the same letters in each variable are not significantly different at the five percent probability level based on the least significant difference (LSD) test.

بقای بوته و برگ نیز چهار هفته بعد از اعمال تنش به‌طور معنی‌داری کاهش یافت. با ایجاد تنش شوری در تیمار بدون کاربرد ترکیبات ضد تنش بقا بوته به ۴۷ درصد و بقا برگ به ۵۶ درصد کاهش یافت، از طرفی با افزایش با غلظت کاربرد ترکیبات ضد تنش درصد بقا بوته و برگ نسبت به شاهد افزایش پیدا نمود، در تیمارهای سیلیکات پتاسیم دو میلی مولار و ملاتونین ۲۰۰ میکرو مولار درصد بقا بوته به ترتیب حدود ۶۵ درصد و ۴۴ درصد و بقا برگ به ترتیب ۳۸ و ۲۹ درصد نسبت به شاهد افزایش داشتند (جدول ۳). سطح برگ نیز تحت تنش شوری، ۴۴ درصد نسبت به شاهد کاهش یافت. با کاربرد ترکیبات ضد تنش سطح برگ در شرایط تنش شوری بهبود یافت. بین ترکیبات ضد تنش از نظر این صفت تفاوت معنی‌داری وجود داشت به‌طوری‌که بیشترین سطح برگ در تیمار سیلیکات پتاسیم دو میلی مولار با تفاوت ۱۸ درصدی نسبت به تیمار بدون کاربرد ترکیبات ضد تنش مشاهده گردید (جدول ۳).

نتایج مقایسه میانگین برهمکنش شوری و ترکیبات ضد تنش بر وزن خشک اندام هوایی نشان داد که از نظر این صفت بین ترکیبات ضد تنش در تمامی تیمارها تفاوت معنی‌داری وجود دارد و اعمال ترکیبات ضد تنش سبب افزایش وزن خشک نسبت به شاهد گردید (جدول ۳). تحت تنش شوری وزن خشک اندام هوایی نسبت به شاهد در تیمار بدون کاربرد ترکیبات ضد تنش با کاهش ۳۳ درصدی رو به رو شد، با افزایش غلظت ترکیبات ضد تنش در محیط شور روند افزایشی و معنی‌داری مشاهده شد به‌طوری‌که بیشترین میزان وزن خشک در تیمار سیلیکات پتاسیم دو میلی مولار مشاهده گردید (جدول ۳).

ارتفاع بوته و سطح برگ جز اولین صفات کاهش‌ی تحت تنش شوری می‌باشند، تنش شوری با اثرگذاری بر روابط آبی و افزایش پتانسیل اسمزی موجب اختلال در انتقال مواد فتوسنتزی شده و بر رشد گیاه و طول شدن سلول‌ها اثر منفی می‌گذارد

(۲۳). در گیاهان تحت تنش شوری تخصیص مواد فتوسنتزی به مکانیسم‌های مقابله با تنش و کوتاه شدن طول فصل رشد مانع از رشد سلول و افزایش ارتفاع بوته می‌شود (۲۴). از طرفی تجمع یون‌های سدیم و کلر و آسیب‌های وارده به غشای پلاسمایی در نتیجه تجمع رادیکال‌های آزاد اکسیژن در نهایت کاهش رشد و مرگ سلول را در پی دارد و سبب کاهش بقا در شرایط تنش شوری می‌گردد (۲۵).

سیلیسم به عنوان یکی از عناصر موجود در دیواره سلولی شناخته شده است، سیلیکات پتاسیم که از دو عنصر سیلیس و پتاسیم تشکیل شده است سبب افزایش کارایی مصرف آب، بهبود وضعیت آبی سلول و افزایش فعالیت آنزیم‌های درگیر در رشد و تقسیمات سلولی می‌شود (۲۶). نتایج فراهانی (۲۰۲۱) نشان داد که کاربرد سیلیکات پتاسیم در گل محمدی (*Rosa damascene*) سبب افزایش کارایی مصرف آب شد (۲۷). محلول‌پاشی سیلیکات پتاسیم در گندم در شرایط تنش خشکی موجب بهبود صفات رشدی گیاه گردید (۲۸). ملاتونین به عنوان یک تنظیم کننده رشد گیاه نقش مهمی در رشد و توسعه برگ دارد و پیری برگ را به تاخیر می‌اندازد. لی و همکاران (۲۰۱۵) گزارش دادند که کاربرد ملاتونین به صورت محلول‌پاشی سبب بهبود ارتفاع بوته، سطح و تعداد برگ گیاه جو (*Hordeum vulgare*) در شرایط تنش شوری گردید (۲۹). نتایج جیایو و همکاران (۲۰۱۶) نیز حاکی از آن بود که کاربرد ملاتونین تحت تنش شوری سطح برگ و طول شاخه‌های جانبی انگور (*Vitis vinifera*) را بهبود داد (۳۰). تحت تنش شوری سطح برگ و ارتفاع بوته نیز در گیاه سویا با کاربرد ملاتونین افزایش یافت که با نتایج گرفته شده از این پژوهش مطابقت دارد (۳۱).

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر تنش شوری، ترکیبات ضد تنش و برهمکنش تنش شوری و ترکیبات ضد تنش بر پایداری غشا و محتوای رنگ‌دانه‌های فتوسنتزی معنی‌دار بود (جدول ۴).

جدول ۴- تجزیه واریانس اثر تنش شوری و ترکیبات ضد تنش بر صفات فیزیولوژیک گندم

Table ۴- ANOVA of salinity stress and anti-stress effects on physiological traits in wheat

منابع تغییرات S.O.V	درجه آزادی df	میانگین مربعات Mean squares			
		شاخص پایداری غشا MSI	کلروفیل a Chlorophyll a	کلروفیل b Chlorophyll b	کل رنگ‌دانه‌های فتوسنتزی Total pigments
Block خطا	2	1.54 ^{ns}	0.0003 ^{ns}	0.003 ^{ns}	0.001 ^{ns}
Salinity (A)	1	1704 ^{**}	0.015 ^{**}	2.51 ^{**}	1.25 ^{**}

شوری					
Error a				0.020	0.0001
خطا	2	40.4	0.0003		
Anti-stress (B)		210*	0.098**	0.046**	0.025**
ضدتنش	6				
A × B		185**	0.063**	0.092**	0.002**
شوری*ضدتنش	6				
Error		14.0	0.010	0.009	0.0001
خطا	28				
C.V(%)		14.6	21.7	21.0	21.1
ضریب تغییرات					

***، * و ns به ترتیب بیانگر تفاوت معنی دار در سطح احتمال یک درصد، پنج درصد و عدم تفاوت معنی دار می‌باشند.

***, * and ns represent significant differences at the 5% and 1% probability levels, and non-significant differences, respectively.

شاخص پایداری غشا تحت تنش شوری نسبت به شاهد در تیمار بدون کاربرد ترکیبات ضد تنش ۹۹ درصد کاهش نشان داد. در شرایط بدون تنش کاربرد ترکیبات ضد تنش تاثیر معنی داری بر شاخص پایداری غشا نداشت اما در شرایط شور اعمال ترکیبات ضد تنش منجر به افزایش این شاخص گردید (جدول ۵). در شرایط شور بیشترین میزان شاخص پایداری غشا در تیمارهای سیلیکات پتاسیم دو میلی مولار و ملاتونین ۲۰۰ میکرو مولار به ترتیب با ۶۱ و ۵۹ درصد تفاوت نسبت به شاهد مشاهده گردید (جدول ۵).

جدول ۵- برهمکنش تنش شوری و ترکیبات ضد تنش بر صفات فیزیولوژیک گندم

Table ۵- The interaction effect of Salinity and Anti stress on physiological traits of wheat .

Salinity (dS.m ⁻¹)	Anti-stress	شاخص پایداری غشا MSI (%)	کلروفیل a Chlorophyll a (mg.gFW ⁻¹)	کلروفیل b Chlorophyll b (mg.gFW ⁻¹)	کل رنگدانه ها Total pigments (mg.gFW ⁻¹)
0.5	Control	95.2 ^{a-b}	0.337 ^f	0.586 ^c	0.922 ^d
	Si 0.5 (mM)	96.5 ^a	0.379 ^d	0.594 ^{b-c}	0.973 ^c
	Si 1.0 (mM)	80.8 ^{c-d}	0.390 ^{b-c}	0.620 ^{a-b}	1.010 ^{ab}
	Si 2.0 (mM)	96.9 ^a	0.406 ^a	0.637 ^a	1.043 ^a
	MT 100 (μM)	84.8 ^c	0.370 ^c	0.606 ^{b-c}	0.976 ^{bc}
	MT 150 (μM)	91.6 ^b	0.391 ^{b-c}	0.622 ^{a-b}	1.013 ^a
	MT 200 (μM)	95.6 ^{a-b}	0.396 ^b	0.624 ^{a-b}	1.020 ^a
10	Control	47.8 ^g	0.203 ^l	0.343 ^h	0.546 ^l
	Si 0.5 (mM)	66.8 ^e	0.257 ⁱ	0.419 ^f	0.676 ^{gh}
	Si 1.0 (mM)	73.7 ^{d-e}	0.274 ^{g-h}	0.433 ^e	0.708 ^{e-g}
	Si 2.0 (mM)	77.0 ^d	0.288 ^g	0.450 ^d	0.738 ^e
	MT 100 (μM)	56.0 ^{h-n}	0.253 ⁱ	0.411 ^{f-g}	0.664 ^h
	MT 150 (μM)	62.5 ^f	0.271 ^h	0.425 ^e	0.696 ^{f-h}

MT 200 (μM)	76.1 ^d	0.277 ^{g-h}	0.446 ^d	0.723 ^{ef}
MT ملاتونین، Si سیلیکات پتاسیم، میانگین‌های دارای حروف مشابه در هر صفت در سطح احتمال پنج درصد بر اساس آزمون حداقل اختلاف معنی‌دار (LSD) تفاوت معنی‌داری ندارند.				

MT Melatonin, Si Potassium silicate..Means with the same letters in each variable are not significantly different at the five percent probability level based on the least significant difference (LSD) test.

افزایش شدت تنش شوری موجب کاهش محتوای رنگ‌دانه‌های فتوستتزی شد. کاربرد ترکیبات ضد تنش در تمامی تیمارها (تنش شوری و شاهد) موجب افزایش محتوای رنگ‌دانه‌های فتوستتزی شد، میزان افزایش محتوای کل رنگ‌دانه‌های فتوستتزی در تیمار بدون تنش شوری بیشتر از تیمارهای تحت تنش بود، تحت تنش شوری بیشترین محتوای رنگ‌دانه‌های فتوستتزی در تیمار سیلیکات پتاسیم دو میلی مولار مشاهده شد با این حال تفاوت معنی‌داری بین بالاترین سطوح غلظت سلیکات پتاسیم و ملاتونین از نظر این صفت مشاهده نشد (جدول ۵). رنگ‌دانه‌های فتوستتزی در بهبود وضعیت فتوستتزی نقش ویژه‌ای دارند. تحت تنش شوری سطوح آنزیم کلروفیل‌از که مسئول تخریب کلروفیل و آسیب به سیستم فتوستتزی می‌باشد افزایش می‌یابد و میزان کلروفیل برگ کاهش می‌یابد (۳۲). همچنین تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن ناشی از تنش شوری منجر به تخریب ساختار کلروپلاست و فتواکسیداسیون رنگ‌دانه‌های فتوستتزی می‌شود (۳۳). از دلایل مهم افزایش رنگ‌دانه‌های فتوستتزی در شرایط تنش می‌توان به نقش مهم ترکیبات ضد تنش در محافظت از سیستم فتوستتزی و مهار رادیکال‌های آزاد اکسیژن اشاره نمود (۳۴). آویستن و همکاران (۲۰۲۱) افزایش محتوای کلروفیل را در نتیجه کاربرد سیلیکات پتاسیم در توت فرنگی گزارش کرد (۳۵). در مطالعاتی آرنو و همکاران (۲۰۱۹) نقش ملاتونین را در افزایش محتوای رنگ‌دانه‌های فتوستتزی و افزایش فتوستتزی در نتیجه مهار اکسیدان‌ها را گزارش نمودند (۱۲). در گزارشی دیگر نیز با کاربرد ملاتونین محتوای کلروفیل برگ تحت تنش شوری در گیاه خیار افزایش یافت (۳۶) که همسو با نتایج این پژوهش بود.

نتایج تجزیه واریانس حاکی از آن بود که اثر تنش شوری، ترکیبات ضد تنش و برهمکنش شوری و ترکیبات کاهش دهنده تنش بر مقدار و فعالیت مالون دی آلدئید، پرولین، کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز معنی‌دار بود (جدول ۶).

جدول ۶- تجزیه واریانس اثرات تنش شوری و ترکیبات ضد تنش بر صفات بیوشیمیایی گندم

Table ۶- ANOVA of salinity stress and anti-stress effects on biochemical traits in wheat

منابع تغییرات S.O.V.	درجه آزادی df	میانگین مربعات Mean squares			
		پرولین Proline	مالون دی آلدئید MDA	کاتالاز CAT	آسکوربات پراکسیداز APX
Block بلوک	2	0.0001 ^{ns}	0.00001 ^{ns}	597 ^{ns}	18.7 ^{ns}
Salinity (A) شوری	1	0.432*	0.005**	412367**	2171**
Error a خطا	2	0.0003	40.4	1.75	0.389
Anti-stress (B) ضد تنش	6	0.0002**	0.00002**	4307**	3.21**
A × B شوری* ضد تنش	6	0.002**	0.0002**	178**	12.4**
Error خطا	28	0.0001	0.00001	18	1.67
C.V.(%) ضریب تغییرات		25.6	29.2	29.1	22.3

**، * و ns به ترتیب بیانگر تفاوت معنی دار در سطح احتمال یک درصد، پنج درصد و عدم تفاوت معنی دار می باشند.

** , *and ns represent significant differences at the 5% and 1% probability levels, and non-significant differences, respectively.

در تیمار عدم اعمال شوری کاربرد ترکیبات ضد تنش تاثیر معنی داری بر محتوای پرولین نداشت، اما محتوای پرولین تحت تاثیر معنی دار تنش شوری قرار گرفت به طوری که چهار هفته پس از اعمال تنش شوری محتوای پرولین برگ با افزایش شدت تنش نسبت به شاهد در تیمار عدم کاربرد ترکیبات ضد تنش ۷۳ درصد افزایش یافت، از طرفی با افزایش غلظت ترکیبات ضد تنش محتوای پرولین برگ در شرایط شور کاهش یافت. کمترین محتوای پرولین تحت تنش شوری در تیمار ملاتونین ۲۰۰ میکرو مولار مشاهده شد (جدول ۷).

یکی از راه های مقایله با تنش شوری توسط گیاه افزایش ساخت اسمولیت های نظیر پرولین است. افزایش محتوای پرولین منجر به کاهش تنش اکسیداتیو و افزایش پایداری غشا می گردد (۳۷). ترکیبات ضد تنش از طریق بهبود فعالیت آنزیم های تاثیرگذار در ساخت پرولین می توانند سبب بهبود محتوای پرولین گردند (۳۸). موسی و همکاران (۲۰۰۶) اثرات مثبت سیلیکات پتاسیم در افزایش محتوای پرولین گیاه ذرت را گزارش نمودند (۳۹). در مطالعه ای دیگر اثر کاربرد ملاتونین بر افزایش محتوای پرولین تحت تنش شوری در گیاه میخک گزارش شد (۴۰). در مطالعه حاضر با اعمال ترکیبات ضد تنش در شرایط شور میزان افزایش محتوای پرولین نسبت به تیمار شاهد کمتر شد، این امر احتمالاً بیانگر کاهش اثرات تنش شوری در گیاه و عدم نیاز به افزایش ساخت پرولین در شرایط تنش بوده است.

محتوای مالون دی آلدئید تحت تنش شوری نیز به طور معنی داری نسبت به کنترل افزایش پیدا نمود. کاربرد ترکیبات کاهنده تنش محتوای مالون دی آلدئید را کاهش داد، کمترین محتوای مالون دی آلدئید در شرایط شور در تیمار ملاتونین ۲۰۰ میکرو مولار با کاهش ۳۵ درصدی نسبت به شاهد بدون شوری ملاحظه گردید (جدول ۷).

سنجش مقدار مالون دی آلدئید به عنوان یک شاخص مهم و تعیین کننده در پایداری غشا شناخته می شود. در شرایط شور کاهش محتوای رنگ دانه های فتوسنتزی به عنوان گیرنده های اصلی الکترون و بروز اختلال در فرایند انتقال الکترون، منجر به افزایش مقدار رادیکال های آزاد اکسیژن، افزایش پراکسیداسیون لیپدها و در نهایت افزایش سطوح مالون دی آلدئید و از بین رفتن پایداری غشا می گردد (۴۱). به نظر می رسد ترکیبات کاهنده تنش از طریق افزایش فعالیت آنتی اکسیدانی و مهار رادیکال های آزاد اکسیژن سبب کاهش محتوای مالون دی آلدئید و افزایش یکپارچگی غشا شده اند.

جدول ۷- برهمکنش تنش شوری و ترکیبات ضد تنش بر صفات بیوشیمیایی گندم

Table 7- The interaction effect of Salinity and Anti stress on biochemical traits of wheat.

Salinity (dS.m ⁻¹)	Anti-stress	پرولین Proline (mg.gfw ⁻¹)	مالون دی آلدئید MDA (nm.gfw ⁻¹)	کاتالاز CAT (unit.gfw ⁻¹)	آسکوربات پراکسیداز APX (unit.gfw ⁻¹)
0.5	Control	0.285 ^e	0.029 ^g	192 ⁱ	24.5 ^a
	Si 0.5 (mM)	0.290 ^{ef}	0.030 ^g	210 ^h	26.7 ^{ab}
	Si 1.0 (mM)	0.292 ^{ef}	0.031 ^g	233 ^{fg}	27.5 ^{ab}
	Si 2.0 (mM)	0.298 ^{ef}	0.033 ^{fg}	253 ^c	29.8 ^{ab}
	MT 100 (μM)	0.260 ^g	0.036 ^{e-g}	211 ^h	25.6 ^{ab}
	MT 150 (μM)	0.281 ^e	0.035 ^{fg}	229 ^g	27.1 ^{ab}
	MT 200 (μM)	0.287 ^e	0.031 ^g	243 ^{ef}	24.7 ^a
10	Control	0.494 ^a	0.065 ^a	368 ^d	36.7 ^c
	Si 0.5 (mM)	0.488 ^{ab}	0.054 ^{ab}	402 ^c	39.7 ^{cd}
	Si 1.0 (mM)	0.469 ^{bc}	0.049 ^{bc}	409 ^c	42.6 ^d
	Si 2.0 (mM)	0.455 ^{cd}	0.044 ^{c-e}	427 ^b	42.5 ^d
	MT 100 (μM)	0.495 ^{ab}	0.057 ^{ab}	401 ^c	37.4 ^c
	MT 150 (μM)	0.481 ^{bc}	0.049 ^{bc}	423 ^b	38.6 ^{cd}
	MT 200 (μM)	0.443 ^d	0.042 ^{c-e}	450 ^a	47.0 ^e

MT ملاتونین، Si سیلیکات پتاسیم، MDA مالون دی آلدئید، CAT کاتالاز، APX آسکوربات پراکسیداز، میانگین های دارای حروف مشابه در هر صفت در سطح احتمال پنج درصد بر اساس آزمون حداقل اختلاف معنی دار (LSD) تفاوت معنی داری ندارند.

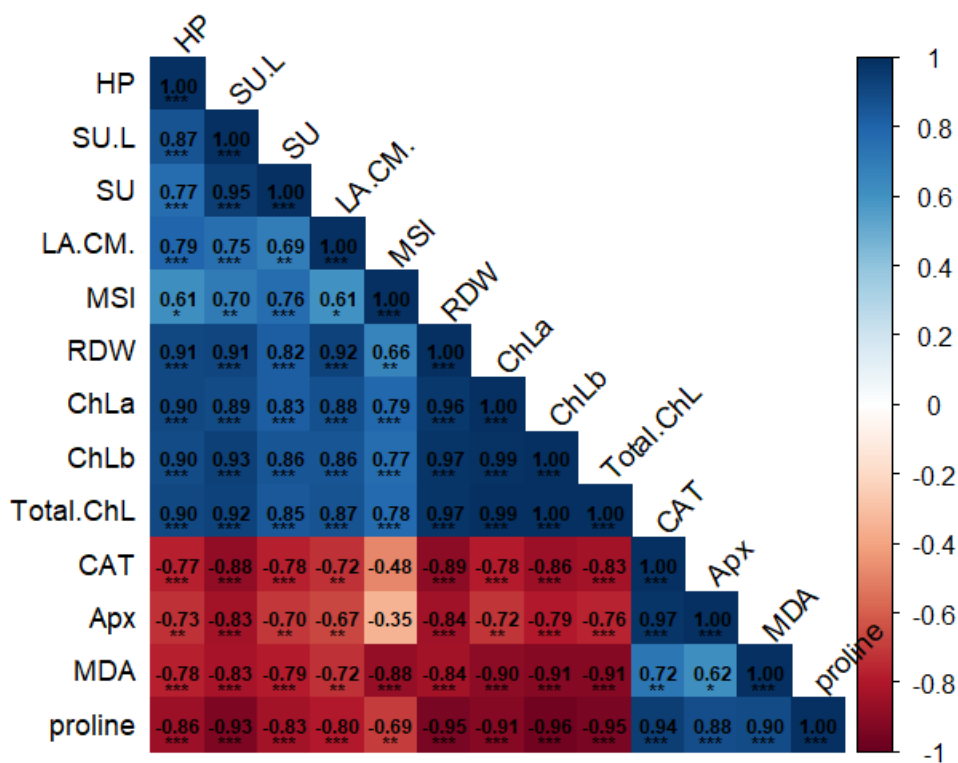
MT Melatonin, Si Potassium silicate, MDA Malondialdehyde, CAT Catalase, APX Ascorbate peroxidase. Means with the same letters in each variable are not significantly different at the five percent probability level based on the least significant difference (LSD) test.

تنش شوری باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در این مطالعه شد، در شرایط تنش فعالیت کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز به ترتیب ۹۲ و ۵۰ درصد افزایش نسبت به شاهد در تیمار بدون کاربرد ترکیبات ضد تنش را نشان داد. با افزایش غلظت ترکیبات ضد تنش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی تقویت گردید به طوری که بیشترین فعالیت آنزیمی در شرایط شور در تیمار ملاتونین ۲۰۰ میلی مولار مشاهده گردید (جدول ۷). اختلال در فعالیت‌های فتوسنتزی در نتیجه تنش شوری منجر به برهم خوردن تعادلات بین تولید و مصرف الکترون و تولید گونه‌های فعال اکسیژن می‌گردد (۴۲). گیاه به منظور مقابله با رادیکال‌های آزاد اکسیژن از سیستم‌های آنتی‌اکسیدانی آنزیمی و غیر آنزیمی بهره می‌برد (۴۳). مشابه این یافته‌ها، افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در گیاهان مختلف تحت تنش شوری گزارش شده است. مارتینز و همکاران (۲۰۱۸) افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی در نتیجه کاربرد ملاتونین را در گیاه گوجه‌فرنگی (*Solanum lycopersicum* L.) تحت تنش شوری گزارش دادند (۴۴). کاربرد ملاتونین به صورت محلول پاشی روی یونجه (*Medicago sativa* L.) افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی تحت تنش شوری را در پی داشت (۴۵) که همسو با نتایج این مطالعه بود.

ضرایب همبستگی

درک روابط بین بقا و زیست‌توده و سایر صفات فیزیولوژیک و مورفولوژیک از اهمیت بالایی برخوردار است. بررسی ضرایب همبستگی نشان داد بقا به عنوان شاخصی مهم در شرایط شور با صفاتی مانند ارتفاع بوته ($r=0/77$)، شاخص پایداری غشا ($r=0/76$)، وزن خشک اندام هوایی ($r=0/82$)، محتوای کل رنگدانه‌های فتوسنتزی ($r=0/87$)، سطح برگ ($r=0/69$) و بقا برگ ($r=0/95$) همبستگی مثبت و معنی‌داری مشاهده شد (شکل ۱). از طرف دیگر بین بقا و محتوای پرولین و مالون دی آلدئید برگ همبستگی منفی ($r=0/83$ و $r=0/79$) و معنی‌داری مشاهده شد (شکل ۱). نباتی و همکاران (۲۰۲۱) همبستگی مثبت و معنی‌داری بین بقا و وزن خشک اندام هوایی، رنگدانه‌های فتوسنتزی را گزارش کردند (۴۶). نتایج نظامی و همکاران (۲۰۲۴) نیز همبستگی مثبت و معنی‌داری بین بقا و ارتفاع بوته را نشان داد (۴۷). این روابط نشان می‌دهد که افزایش غلظت ترکیبات کاهنده تنش در گیاه موجب حفاظت از سلول‌ها در شرایط تنش و افزایش محتوای رنگدانه‌های فتوسنتزی و فعالیت‌های فتوسنتزی، افزایش پایداری

غشا و در نهایت زیست توده شود. همچنین بین وزن خشک اندام هوایی و محتوای کل رنگدانه‌های فتوسنتزی همبستگی مثبت ($r=0/97$) و معنی داری وجود داشت، که نشان می‌دهد افزایش محتوای رنگدانه‌های فتوسنتزی (مانند کلروفیل) با افزایش زیست توده اندام هوایی همراه است، این امر احتمالاً به دلیل بهبود ظرفیت فتوسنتزی است. بین محتوای پرولین و وزن خشک اندام هوایی همبستگی منفی قوی ($r=0/95$) و معنی داری وجود داشت. که همسو با نتایج نصیری و همکاران (۲۰۲۱) بود (۴۸). این همبستگی نشان می‌دهد که با افزایش وزن خشک اندام هوایی، محتوای پرولین کاهش می‌یابد. پرولین معمولاً به عنوان یک محافظ اسمزی در شرایط تنش تجمع می‌یابد؛ بنابراین کاهش آن ممکن است نشان‌دهنده بهبود شرایط رشد و کاهش نیاز به تجمع پرولین باشد. فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و وزن خشک اندام هوایی همبستگی منفی ($r=0/89$)، ($r=0/84$) و معنی داری داشتند. همبستگی منفی بین این دو متغیر نیز بیانگر این است که با افزایش وزن خشک اندام هوایی، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی کاهش می‌یابد. این ممکن است به این معنا باشد که در شرایطی که رشد اندام هوایی بهبود می‌یابد، نیاز به فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی کاهش می‌یابد.

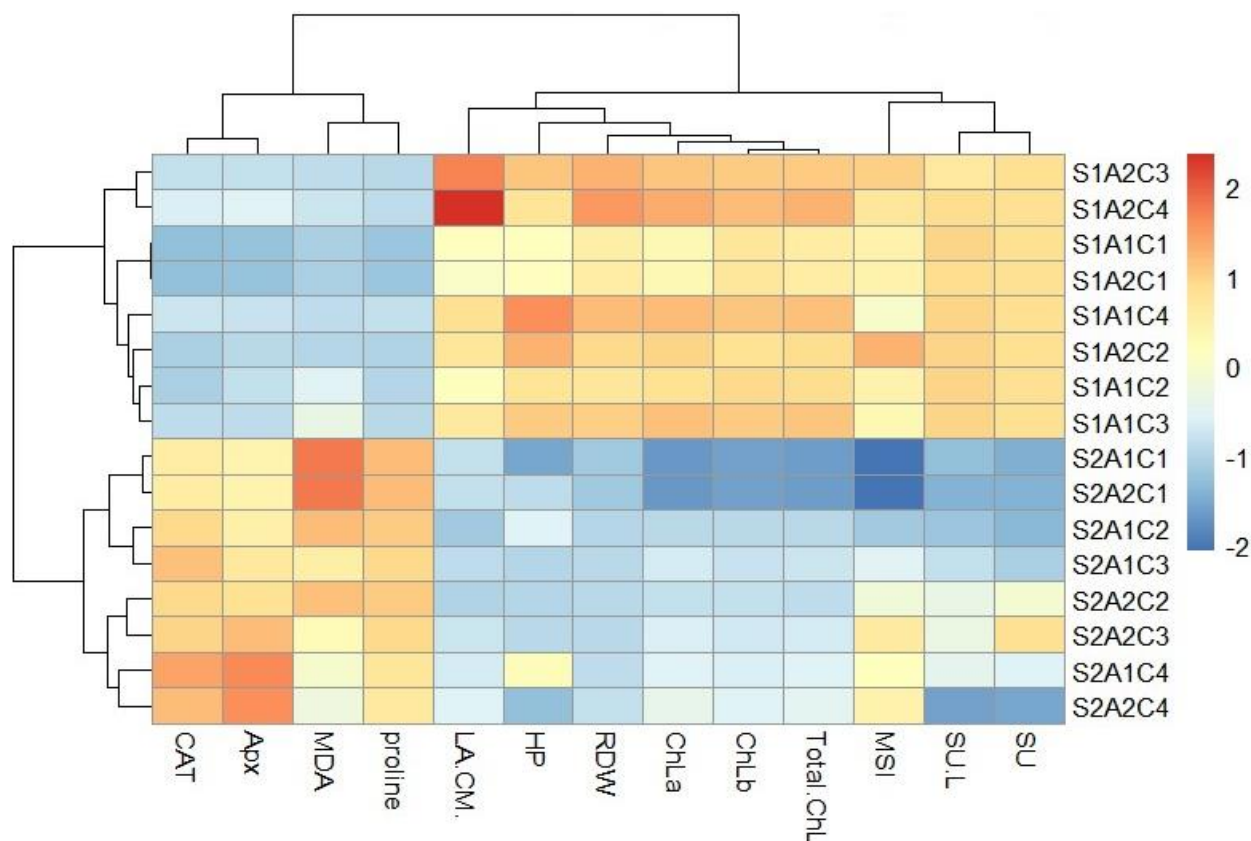


شکل ۱- ضرایب همبستگی پیرسون صفات مورد بررسی در گندم تحت تنش شوری و ترکیبات ضد تنش. PH ارتفاع بوته، LSU بقا برگ، SU بقا بوته، LA سطح برگ، MSI شاخص پایداری غشا، RDW زیست توده، Chla کلروفیل a، Chlb کلروفیل b، Total Chl کل رنگدانه های فتوسنتزی، CAT کاتالاز، APX آسکوربات پراکسیداز، MDA مالون دی آلدئید، Proline پرولین.

Fig1. Pearson correlation matrix for 13 quantitative variables of wheat under salinity stress. PH Plant height, LSU Leaf survival, S survival, LA Leaf area, MSI membrane stability index, RDW Biomass, Chla Chlorophyll a, Chlb Chlorophyll b, TP total chlorophyll, CAT catalase, APX ascorbate peroxidase, MDA Malonodialdehyde, Proline proline content.

خوشه بندی تیمارها و اثرات متقابل شوری و ترکیبات ضد تنش

نقشه حرارتی خوشه بندی تیمارهای آزمایشی بر اساس صفات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی در شکل ۲ ارائه شده است. تیمارهای مختلف به دو گروه مجزا تقسیم بندی شدند، تیمار شاهد و شوری ۱۰ دسی زیمنس بر متر از نظر الگوی پاسخی به صفات کاملاً متمایز بودند که این امر بیانگر تاثیر قابل توجه شوری بر صفات مورد مطالعه بود. شوری ۱۰ دسی زیمنس بر متر بیشترین تاثیر منفی را بر صفاتی همچون بقا، شاخص پایداری غشا، ارتفاع بوته و محتوای رنگدانه های فتوسنتزی داشتند، با این حال افزایشی در صفات کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز، مالون دی آلدئید و پرولین مشاهده شد (شکل ۲). همان طور که در شکل آمده است افزایش سطوح غلظت ترکیبات کاهنده تنش سبب بهبود نسبی برخی از صفات شد و به خوبی توانسته اثرات منفی تنش شوری را تعدیل نماید به طوری که که کاربرد سیلیکات پتاسیم دو میلی مولار و ملاتونین ۲۰۰ میکرو مولار سبب بهبود فعالیت آنزیمی و فتوسنتزی، افزایش درصد بقا، پایداری غشا شد. از طرفی دیگر نیز محتوای پرولین و مالون دی آلدئید کاهش یافت (شکل ۲). این تغییرات حاکی از نقش این ترکیبات در کاهش اثرات منفی شوری از طریق کاهش تنش اکسیداتیو، افزایش پایداری غشا و حفظ بقا می باشد.



شکل ۲- خوشه‌بندی تیمارها با نقشه حرارتی تحت تنش شوری. PH ارتفاع بوته، LSU بقا برگ، SU بقا بوته، LA سطح برگ، MSI شاخص پایداری غشا، RDW زیست توده، Chla کلروفیل a، Chlb کلروفیل b، Total Chl کل رنگدانه‌های فتوسنتزی، CAT کاتالاز، APX آسکوربات پراکسیداز، MDA مالون دی آلدئید. S1 شوری ۰/۵ دسی زیمنس بر متر، S2 شوری ۱۰ دسی زیمنس بر متر، سیلیکات پتاسیم (شاهد) A1C1، سیلیکات پتاسیم (۰/۵ میلی مولار) A1C2، سیلیکات پتاسیم (۱ میلی مولار) A1C3، سیلیکات پتاسیم (۲ میلی مولار) A1C4، ملاتونین (شاهد) A2C1، ملاتونین (۱۰۰ میکرو مولار) A2C2، ملاتونین (۱۵۰ میکرومولار) A2C3، ملاتونین (۲۰۰ میکرو مولار) A2C4.

Fig 2. Hierarchical clustering with heat map treatment variable relationships under salinity stress. PH Plant height, LSU Leaf survival, S plant survival, LA Leaf area, MSI membrane stability index, RDW root dry weight, Chla Chlorophyll a, Chlb Chlorophyll b, TP total chlorophyll, CAT catalase, APX ascorbate peroxidase, MDA Malonodialdehyde, Proline proline content. S1 Salinity 0.5 (dS.m⁻¹) S2 Salinity 10 (dS.m), A1C1 Potassium Silicate (control), A1C2 Potassium Silicate (0.5mM), A1C3 Potassium Silicate (1mM), A1C4 Potassium Silicate (2 mM), A2C1, Melatonin (control) A2C2, Melatonin (100µM) A2C3, Melatonin (150µM) A2C4, Melatonin (200µM).

نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان داد که تنش شوری از طریق تاثیر بر فرآیندهای فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی، سبب کاهش ارتفاع بوته، سطح برگ، بقا، وزن خشک اندام هوایی، پایداری غشای سلولی، و رنگدانه‌های فتوسنتزی در گندم گردید. با این حال، تیمارهای ترکیبات کاهنده تنش به ویژه سیلیکات پتاسیم (دو میلی مولار) و ملاتونین (۲۰۰ میکرومولار) به طور معنی‌داری توانستند اثرات سوء تنش شوری را از طریق بهبود پایداری غشا، تعادل یونی و تقویت سیستم‌های آنتی‌اکسیدانی خنثی نمایند. بر این اساس، به نظر می‌رسد کاربرد ترکیبات کاهنده تنش به عنوان یک رویکرد مؤثر برای کاهش اثرات تنش شوری در گندم تأیید گردد و این راهکار می‌تواند به طور ویژه در برنامه‌های مدیریت اراضی شور، پایداری تولید مفید واقع شود.

سپاسگزاری

نویسندگان بر خود لازم میدانند از معاونت پژوهشی دانشگاه فردوسی مشهد به خاطر حمایت مالی از پروژه رساله

دکتری آقای مهندس علی طاهری سپاسگزاری نمایند

References

1. Dagar, J.C., Yadav, R.K., & Sharma, P.C. (2019). Research developments in saline agriculture Springer.
2. Kibria, M. G., Hoque, M. A. (2019). A Review on plant responses to soil salinity and amelioration strategies. *Journal of Soil Science*, 9, 211-219.
3. Khammari, I., Sarani, S., Dahmardeh, M. (2007). The effect of salinity on seed germination and growth in six medicinal plants. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research*, 23, 331-339
4. FAOSTAT. (Statistics Division of Food and Agriculture Organization of the United Nations).
5. Foyer, H., Noctor, G. (2003). Redox sensing and signalling associated with reactive oxygen in chloroplasts, peroxisomes and mitochondria. *Physiology of Plants*, 119: 355-364.
6. Hassan, N., Ebeed, H., Aljaarany, A. (2020). Exogenous application of spermine and putrescine mitigate adversities of drought stress in wheat by protecting membranes and chloroplast ultra-structure. *Physiology And Molecular Biology Of Plants*, 26, 233–245.
7. Yu, Z., Duan, X., Luo, L., Dai, S., Ding, Z., Xia, G. (2020). How plant hormones mediate salt stress responses. *Trends in plant science*, 25, 1117-1130.
8. Ghazi, D.A., El-Sherpiny, M.A., Elmahdy, S.M. (2021). Effect of Soil Amendments and Foliar Application of Potassium Silicate on Wheat Plants Grown under Sodcity Conditions. *Journal of Soil Sciences and Agricultural Engineering* 12, 409 - 416.
9. Rodrigues, F.A., Duarte, H.S.S., Domiciano, G.P., Souza, C.A., Korndorfer, G.H., Zambolim, L. (2009). Foliar application of potassium silicate reduces the intensity of soybean rust. *Austral. Plant Pathology*, 38, 366–372.

10. Feghhenabi, F., Hadi, H., Khodaverdiloo, H., van Genuchten, M., Pessarakli, M. (2022). Improving wheat (*Triticum aestivum* L.) antioxidative defense mechanisms against salinity stress by exogenous application of potassium silicate. *Journal of Plant Nutrition*, 45, 1-19.
11. Guo, X., Shi, Y., Zhu, G., and Zhou, G. (2023). Melatonin mitigated salinity stress on alfalfa by improving antioxidant defense and osmoregulation. *Plant Crop Biology and Biochemistry*, 13, 17-27.
12. Arnao, M.B. and J. Hemández-Ruiz. (2019). Protective effect of melatonin against chlorophyll degradation during the senescence of barley leaves. *Journal of Pineal Research*, 46, 58–63.
13. Wang, Y., Reiter, R. J., and Chan, Z. (2018). Phytomelatonin: a universal abiotic stress regulator. *Journal of Experimental Botany*, 69, 963–974.
14. Ahmad, I., Munsif, F., Mihoub, A. (2022). Beneficial Effect of Melatonin on Growth and Chlorophyll Content in Wheat (*Triticum aestivum* L.) Grown Under Salt Stress Conditions. *Journal of Crop Health* 74, 997–1009.
15. Talaat, N.B. (2021). application of melatonin and salicylic acid counteracts salt stress-induced damage in wheat (*Triticum aestivum* L.) photosynthetic machinery. *J. Soil Sci. Plant Nutr*, 21, 2893–2906.
16. Khan, S., Alvi, A.F., Fatma, M., Al-Hashimi A., Sofo A., Khan N.A. (2024). Relative effects of melatonin and hydrogen sulfide treatments in mitigating salt damage in wheat. *Front. Journal of Plant Science*, 15. 1406092.
17. Sairam, R.K, Rao, KV., Srivastava, G. (2002). Differential response of wheat genotypes to long term salinity stress in relation to oxidative stress, antioxidant activity and osmolyte concentration. *Plant Science*, 163,1037–1046.
18. Dere, S., Gunes, T., Sivaci, R. (1998). Spectrophotometric determination of chlorophyll-A, B and totalcarotenoid contents of some algae species using different solvents. *Turkish Journal of Botany*, 22, 13–18
19. Bates, L.S., Waldren, R., Teare, I. (1973). Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Journal of Plant and Soil*, 39,205–207.
20. Heath, R. L., Packer, L. (1968). Photoperoxidation in isolated chloroplasts: I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 125,189–198.
21. Velikova, V., Yordanov, I., Edreva, A.,(2000). Oxidative stress and some antioxidant systems in acid rain-treated bean plants: protective role of exogenous polyamines. *Plant Science*, 151,59–66.
22. Dazy, M, Jung, V., Féraud, J.F., Masfaraud, J.F.(2008). Ecological recovery of vegetation on a coke-factory soil role of plant antioxidant enzymes and possible implications in site restoration. *Chemosphere*,74,57–63.
23. Kanawapee, N., Sanitchon, J., Lontom, W., Threerakulpisut, P. (2012). Evaluation of salt tolerance at the seedling stage in rice genotypes by growth performance, ion accumulation, proline and chlorophyll content. *Journal of Plant and Soil*, 358, 235-249.
24. Doraki, G.R., Zamani, G.R., Sayyari, M.H. (2018). Effect of salt stress on yield and yield components in chickpea (*Cicer arietinum*). *Iranian Journal Pulses Research*, 9, 57-68.
25. Soren, K.R., Madugula, P., Kumar, N., Barmukh, R., Sengar, M.S., Bharadwaj, C., Varshney, R.K. (2020). Genetic dissection and identification of candidate genes for salinity tolerance using Axiom® CicerSNP array in chickpea. *International Journal of Molecular Sciences*, 21, 50-58.
26. Gomaa, OM., Abd El Kareem, H., Selim, N. (2021). Nitrate modulation of *Bacillus* sp. biofilm components: a proposed model for sustainable bioremediation. *Biotechnology Letters*, 43,2185-2197.

27. Farahani,H., Sajedi,N., Madani,H., Changizi,M., Naeini,M. (2021).effect of potassium silicate on water use efficiency, quantitative traits and essential oil yield of damask rose (*Rosa damascena Miller*) under water deficit stress. *Iranian Journal of Horticultural Science*, 52, 171-182.
28. Gong, H., K, Chen. (2012). The regulatory role of silicon on water relations, photosynthetic gas exchange and carboxylation activities of wheat leaves in field drought conditions. *Journal of Physiologiae Plantarum*, 34, 1589-1594.
29. Li, C., Tan, D. X., Liang, D., Chang, C., Jia, D. & Ma, F. (2015). Melatonin mediates the regulation of ABA metabolism, free-radical scavenging, and stomatal behavior in two *Malus* species under drought stress. *Journal of Experimental Botany*, 66, 669-680.
30. Jiao, J., Ma, Y., Chen, S., Liu, C., Song, Y., Qin, Y., Liu, Y. (2016). Melatonin producing endophytic bacteria from grapevine roots promote the abiotic stress-induced production of endogenous melatonin in their hosts. *Journal of Plant Science*, 7, 233-249.
31. Zhang, T., Yan, X., Pang, Q.(2018). Transcriptomic and proteomic feature of salt stress-regulated network in Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus L.*) root based on de novo assembly sequencing analysis. *Journal of Planta*, 247, 715-732.
32. Pan, Y., Kang, P., Tan, M., Hu, J., Zhang, Y., Zhang, J., Song, N., Li, X. (2022). Root exudates and rhizosphere soil bacterial relationships of *Nitraria tangutorum* are linked to k-strategists bacterial community under salt stress. *Journal of Plant Science*, 13, 991-999.
33. Radi, A. F. (2013). Physiological and biochemical responses of salt tolerant and salt-sensitive wheat and bean cultivars to salinity. *Journal of Biology and Earth Sciences*, 3, 72-88.
34. XD, X. S. (2010). Effects of exogenous melatonin on active oxygen metabolism of cucumber seedlings under high temperature stress. *Journal of Ying Yong ShengTai Xue Bao*, 21, 1295-1300.
35. Avestan, S., Ghasemnezhad, M., Esfahani, M., Barker, A.V. (2021). Effects of nanosilicon dioxide on leaf anatomy, chlorophyll fluorescence and mineral element composition of strawberry under salinity stress. *Journal of Plant Nutrition*, 44, 3005-3019.
36. Wang, L., Liu, J. L., Wang, W., Sun, Y. (2016). Exogenous melatonin improves growth and photosynthetic capacity of cucumber under salinity-induced stress. *Journal of Photosynthetica*, 54, 19-27.
37. Rahimi, Tashi, T., Niknam, V. (2015). Effect of salicylic acid priming on some physiological and biochemical responses of wheat (*Triticum aestivum L.*) under salinity stress. *Plant Research Journal*, 28, 297–306.
38. Hafez, E.M., Osman, H.S., El-Razek, U.A.A., Elbagory, M., Omara, A.E.D., Eid, M.A., Gowayed, S.M. (2021). Foliar-applied potassium silicate coupled with plant growth-promoting rhizobacteria improves growth, physiology, nutrient irrigated with saline water in salt-affected soil Plants uptake and productivity of faba bean (*Vicia faba.*). *Journal of Plant Nutrition*, 10, 894-512
39. Mussa, H. R. (2006). Influence of exogenous application of silicon on physiological response of salt-stressed maize (*Zea mays*). *Agriculture and Biology Journal*, 11, 297-293.
40. Sahar, K., Amin, B., Taher, N. M. (2011). The salicylic acid effect on the *Salvia officianlis L.* sugar, protein and proline contents under salinity (NaCl) stress. *Journal of Stress Physiology & Biochemistry*, 7, 80-87.
41. Demiral, T., Turkan, B. (2005). Comparative lipid peroxidation, antioxidant defense system and proline content in root of two rice cultivars differing in salt tolerance. *Environmental and Experimental Botany*, 53, 247-257.

42. Ullah, I., Al-Johny, B.O., Al-Ghamdi, K.M., Al-Zahrani, H.A.A., Anwar, Y., Firoz, A., Al-Kenani, N., Almatry, M.A.A. (2019). Endophytic bacteria isolated from (*Solanum nigrum L.*) alleviate cadmium (Cd) stress response by their antioxidant potentials, including SOD synthesis by *sodA* gene. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 174, 197–207.
43. Choi, S. D. (2011). Melatonin protects against oxidative stress in granular corneal dystrophy type 2 corneal fibroblasts by mechanisms that involve membrane melatonin receptors. *Journal of Pineal Research* 51, 94-103.
44. Martinez, V., Nieves-Cordones, M., Lopez-Delacalle, M., Rodenas, R. (2018). Tolerance to stress combination in tomato plants, new insights in the protective role of melatonin. *Molecules. Journal of molecules*, 23,535.
45. Cen, H., Wang, T., Liu, H., Tian, D. (2020). Melatonin application improves salt tolerance of alfalfa(*Medicago sativa L.*) by enhancing antioxidant capacity. *Journal of Plants*, 9, 220.
46. Nabati, J., Kahrom, N., Nezami, A. (2022). Evaluation and grouping of lentil genotypes to salinity stress in the greenhouse. *Iranian Journal of Field Crop Science*, 54, 115-133.
47. Nezami, A., Nabati, J., Kafi, M., Boroumand Rezazadeh, E. (2024). Screening 215 Lentil Genotypes under Salinity Stress During the Seedling Stage in Greenhouse Conditions. *Journal of Crop Breeding*, 16, 112-128.
48. Nasiri, Z., Nabati, j., Nezami, A., Kafi, M. (2020). Selection of salinity tolerance of Kabuli chickpea genotypes under field conditions. *Environmental Stresses in Agricultural Sciences*. 14, 4, 1055-1060.

Evaluation of the possibility of alleviating the effects of salt stress in wheat by using potassium silicate and melatonin

Ali Taheri¹, Mohammad Kafi^{2*}, Farnoosh Fallahpour³, Jafar Nabati⁴

¹PhD Student, Department of Agrotechnology, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad
Email: taheriali7621@yahoo.com

^{2*} Corresponding Author, Professor, Department of Agrotechnology, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad Email: m.kafi@um.ac.ir

³ Assistant Professor, Department of Agrotechnology, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad Email: agrol1000@gmail.com

⁴ Associate Professor, Department of Agrotechnology, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad Email: jafarnabati@ferdowsi.um.ac.ir

ABSTRACT

Background and objectives: Salinity stress is considered one of the most important abiotic stresses in agriculture, which reduces crop production and threatens food security on a global scale. To cope with salinity, plants use various strategies in response to stress, such as osmotic regulation, ionic homeostasis, increased production of antioxidants, etc. Stress-reducing compounds such as potassium silicate and melatonin can be discussed by helping to facilitate physiological responses under stress conditions. This

experiment was conducted to evaluate the effect of different concentrations of melatonin and potassium silicate on growth performance of wheat plants.

Materials and methods: This study was conducted in split plots based on a randomized complete block design with three replications in the research greenhouse of the Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, in 1404 on wheat cultivar Pishgam under salt stress conditions. Salinity treatments were considered at two levels of 0.5 (as control) and 10 dS/m, potassium silicate levels (0.5, 1.0, and 2.0 mM) and melatonin levels (100, 150, 200 μ M) and control. Morphologic parameters including plants and leaf survival indices, leaf area and dry matter accumulation were recorded. Growth indices and biochemical parameters such as chlorophyll content, proline, membrane stability index, and antioxidant enzyme activity were measured.

Results: The results showed that salinity stress significantly reduced plant and leaf survival, shoot dry weight, membrane stability index and photosynthetic pigments. With the application of 2 mM potassium silicate and 200 mM melatonin, the plant survival percentage (44.65%), shoot dry weight (11.15%), membrane stability index (59.61%), photosynthetic pigments (33.35%), anti oxidant enzyme activity including catalase activity (22.16%) and ascorbate peroxidase (28.16%) increased under salinity stress, respectively. Conversely, the application of melatonin and potassium silicate significantly reduced the contents of proline and malondialdehyde. Conversely, the decreased accumulation of proline and malondialdehyde following melatonin and potassium silicate application suggests an alleviation of osmotic and oxidative stress, indicating that treated plants experienced a substantially lower stress level than the untreated controls. Correlation coefficients showed that shoot dry weight ($r=0.82^{**}$), total photosynthetic pigment content ($r=0.87^{**}$), membrane stability index ($r=0.76^{**}$), plant height ($r=0.77^{**}$), and leaf area ($r=0.69^{**}$) had a positive and significant correlation with plant survival.

Conclusion: In general, the results showed that the application of stress-mitigating compounds can reduce the negative effects of salt stress and improve growth indices such as plant height, leaf area, and increase wheat resistance to oxidative stress, and can be used in saline land management programs to increase salt tolerance and production sustainability in arid regions.

Keywords: Catalase, Malondialdehyde, Proline, Shoot Dry Weight, Survival