Cereal Biotechnology and Biochemistry
Online ISSN: 2783-5170
Homepage: https://cbb.razi.ac.ir

Effect of foliar application of Zinc and exogenous application of proline on yield and grain Zn and P content in a wheat durum cultivar Saji under drought stress condition

Mohammad Javad Zarea[1] ✉

[1] Department of Agronomy and Crop Breeding, Faculty of Agriculture, Ilam University, Ilam, Iran.
✉Corresponding author. E-mail: mj.zarea@ilam.ac.ir

ABSTRACT

Introduction: Heat and dry stress events during the wheat-growing season, particularly during wheat grain filling, are among the prevalent environmental constraints that adversely affect wheat growth and productivity worldwide. Because people in developing countries are highly dependent on cereal-based diets, they are prone to Zn-related diseases. The situation becomes worse when the crop is grown in soil with low Zn content. Studies have shown that the application of Zinc (Zn) successfully increased wheat grain yield and grain Zn content and improved wheat tolerance to drought. The present studies are designed to provide a better understanding and further information on the response of wheat to Zn application under drought conditions.

Materials and methods: The present study included two experiments: a preliminary experiment that aimed to elucidate the effect of the application of Zn via foliar or seed priming on wheat tolerance to drought stress and a field study that was designed to investigate the effect of exogenous proline and foliar application of Z on wheat yield and grain nutrient. A preliminary experiment detected the effects of the Zn application method on the biochemical and molecular characteristics of drought-stressed wheat. Proline-biosynthesis-related gene [Δ1-pyrroline-5-carboxylate reductase (P5CS)] expression, proline accumulation, and malondialdehyde content were determined four days after drought stress was imposed. A subsequent field experiment (Experiment 2) was also conducted to elucidate the effect of foliar application of Zn [0, 0.1, 0.2 and 0.3% (w/v)] individually and in all possible combinations with proline (0 and 15 µ mole) on wheat performance under post-anthesis drought stress condition. The foliar application was applied at anthesis. All plants were exposed to drought stress by withholding irrigation for 21 days. The field experiment was conducted in 2021/22 during the wheat-growing season at a commercial wheat-grown farm. The experiment site is located in Sirvan County, Ilam Province. A durum wheat cultivar, 'Saji', was used in both experiments.

Results: Zn application, mainly when applied via foliar, increased P5CS mRNA accumulation and proline content and decreased malondialdehyde content in the leaf compared to the control treatment. Results of the field experiment showed that the combined application of Zn and proline successfully biofortified field wheat with Zn and could ameliorate the adverse effect of post-anthesis drought stress. Under field conditions and compared with the control plant, treated plants with 0.1%, 0.2%, and 0.3% (w/v) of ZnSO4.7H2O solution significantly increased grain yield by 1.7%, 7.24%, and 3.62%, respectively. Compared with the control treatment, exogenously applied proline increased grain yield by up to 4.4%. Results showed that the foliar application of Zn at 0.2% (w/v) in combination with proline (15 mM) had a more significant effect on increased grain yield. Foliar-applied Zn at 0.1%, 0.2% and 0.3% (w/v) of ZnSO4 solution decreased grain P content by 8.3%, 14.7% and 18.1%, respectively, as compared with the control. Foliar Zn application of 0.1%, 0.2%, and 0.3% (w/v) of ZnSO4.7H2O solution increased Zn content in grain by 6.3%, 11.9%, and 19.1%, respectively, to control plants.

Conclusion: Regarding the cost for farmers, foliar application of Zn at a concentration of 0.3% at the anthesis stage can be suggested as the best treatment to improve both the quantity and quality of wheat.

Keywords: Gene expression, malondialdehyde, Plant stress, Zn application.

Article Type: Research Article

Article history: Received: 12 Jul 2023, **Revised:** 04 Aug 2023, **Accepted:** 08 Sept 2023, **Published online:** 23 Sept 2023

Cite this article: Zarea, M. J. (2023). Effect of foliar application of Zinc and exogenous application of proline on yield and grain Zn and P content in a wheat durum cultivar Saji under drought stress condition. *Cereal Biotechnology and Biochemistry*, *2*(3), 269-287. DOI: 10.22126/cbb.2024.9987.1061

© The Author(s).
10.22126/cbb.2024.9987.1061

Publisher: Razi University

بیوتکنولوژی و بیوشیمی غلات
شاپا الکترونیکی: ۵۱۷۰-۲۷۸۳
Homepage: https://cbb.razi.ac.ir

تأثیر محلول پاشی روی و پرولین بر عملکرد و محتوای روی و فسفر دانه در گندم دوروم رقم ساجی تحت شرایط تنش خشکی

محمدجواد زارع [۱]

[۱] گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده علوم و مهندسی کشاورزی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه رازی، کرمانشاه ایران.
نویسنده مسئول. رایانامه: mj.zarea@ilam.ac.ir

چکیده

مقدمه: رخداد تنش خشکی و حرارتی در طول دوره رشد و به ویژه در مرحله پرشدن دانه جزو مهمترین عامل‌های محدود کننده محیطی رشد و تولید گندم به خصوص در مناطق خشک و نیمه خشک جهان محسوب می‌گردد. علاوه بر این، جمعیت جهانی و مخصوصاً آن بخشی که ساکن کشورهای در حال توسعه هستند و غلات جزو رژیم غذایی اصلی آن‌ها محسوب می‌شود، در معرض بیماری‌های مختلف ناشی از کمبود روی قرار دارند و اگر محصولات تولیدی غلات این کشورها ماحصل اراضی زراعی با خاک‌های فقیر از روی باشد، این مسئله حادتر است. مطالعات انجام گرفته نشان داده که مصرف روی نه تنها موجب افزایش محتوای روی و عملکرد دانه در گندم گردیده، بلکه تحمل تنش خشکی را نیز بهبود بخشیده است. پژوهش حاضر به جهت فهم بهتر و کسب اطلاعات بیشتر در خصوص نقش عنصر روی در گیاه گندم طراحی گردید.

مواد و روش‌ها: پژوهش حاضر در قالب دو آزمایش انجام شد. آزمایش اول با هدف بررسی مقدماتی تأثیر کاربرد روی به روش پرایم بذر و محلول‌پاشی برگی بر ویژگی-های بیوشیمیایی و مولکولی مرتبط با تحمل خشکی در گندم و تحت شرایط اتاقک رشد انجام شد و در آزمایش دوم تأثیر محلول‌پاشی روی در غلظت‌های مختلف (صفر، ۰/۱، ۰/۲ و ۰/۳ درصد وزن حجمی) در تلفیق با پرولین (عدم کاربرد و کاربرد ۱۵ میکرومولار) تحت شرایط مزرعه مورد ارزیابی قرار گرفت. چهار روز پس از اعمال تنش، میزان تغییرات در بیان ژن مرتبط با سنتز آنزیم پرولین [Δ1-pyrroline-5-carboxylate reductase (*P5CS*)]، محتوای پرولین و نیز میزان مالون دی آلدهید مورد بررسی قرار گرفت. آزمایش مزرعه‌ای در بخش سیروان استان ایلام و در مزرعه گندم انجام گرفت. محلول پاشی‌ها در مرحله گرده‌افشانی (گلدهی) انجام و سپس گیاهان با قطع آبیاری به مدت ۲۱ روز تحت تنش خشکی قرار گرفتند. در هر دو آزمایش از رقم ساجی استفاده گردید.

یافته‌ها: در مقایسه با گیاهان شاهد، کاربرد روی به ویژه از طریق محلول پاشی برگی آن، موجب افزایش میزان بیان ژن *P5CS*، افزایش محتوای پرولین و کاهش میزان مالون دی آلدهید در برگ گردید. نتایج مزرعه‌ای نشان‌دهنده تأثیر معنی‌دار محلول‌پاشی روی بر افزایش محتوای روی دانه بود. تلفیق روی با پرولین و نیز کاربرد به تنهایی پرولین تأثیری معنی‌دار بر محتوای روی دانه نداشت. اثر روی بر میزان عملکرد دانه معنی‌دار گردید. تیمار با غلظت‌های مختلف ۰/۱، ۰/۲ و ۰/۳ درصد (نسبت وزنی به حجمی) سولفات روی به ترتیب عملکرد دانه را به‌ترتیب به میزان ۱/۷، ۷/۲۴ و ۳/۶۲ درصد در مقایسه با تیمار شاهد بهبود بخشید. نتایج بیشتر این بررسی نشان داد که کاربرد توأمان پرولین و روی در غلظت ۰/۲ درصد بر افزایش عملکرد دانه موثرتر از سایر تیمارها بود. محلول‌پاشی با روی میزان محتوای فسفر دانه را به صورت معنی‌داری تغییر داد به گونه‌ای که غلظت‌های ۰/۱، ۰/۲ و ۰/۳ درصد سولفات روی به ترتیب فسفر دانه را به میزان ۸/۳، ۱۴/۷ و ۱۸/۱ درصد در مقایسه با گیاهان شاهد کاهش داد. تأثیر محلول‌پاشی با روی بر محتوای روی دانه نیز معنی‌دار گردید. محلول‌پاشی با غلظت‌های مختلف روی (۰/۱، ۰/۲ و ۰/۳ درصد) محتوای روی دانه را بین ۶/۳ تا ۱۹/۱ درصد افزایش داد.

نتیجه‌گیری: با لحاظ نمودن جنبه‌های اقتصادی و نیز در نظر داشتن افزایش محتوای روی و عملکرد دانه، استفاده از غلظت ۰/۳ درصد روی به صورت محلول‌پاشی در مرحله گرده‌افشانی ضمن افزایش محتوای روی دانه، می‌تواند موجب حصول عملکرد بالاتری در گندم گردد.

واژه‌های کلیدی: بیان ژن، تنش، کاربرد روی، مالون دی آلدهید.

نوع مقاله: مقاله پژوهشی

نوع مقاله: دریافت: ۱۴۰۲/۰۴/۲۱ **اصلاح:** ۱۴۰۲/۰۵/۱۳ **پذیرش:** ۱۴۰۲/۰۶/۱۷، **انتشار آنلاین:** ۱۴۰۲/۰۷/۰۱

استناد: حدیدی، م.، قبادی، م.، سعیدی، م. و قبادی، م. ا. (۱۴۰۲). تأثیر محلول پاشی روی و پرولین بر عملکرد و محتوای روی و فسفر دانه در گندم دوروم رقم ساجی تحت شرایط تنش خشکی. *بیوتکنولوژی و بیوشیمی غلات*، ۲(۳)، ۲۶۹-۲۸۷. DOI: 10.22126/cbb.2024.9987.1061

ناشر: دانشگاه رازی

© نویسندگان.

مقدمه

گندم از مهمترین غلات مناطق خشک و نیمه‌خشک جهان و نیز یکی از محصولات بنیادی اغلب کشورهای جهان به شمار می‌آید. کشورهایی که غلات جزو سبد اصلی غذایی آن‌ها محسوب می‌گردد، از یک طرف با مشکل فقر عناصر در غلات تولید شده مواجه هستند و از سویی دیگر به علت تغییرات اقلیمی، با کمبود منابع آبی جهت تولید مواجه هستند. جمعیت جهانی، به‌خصوص آن‌هایی که ساکن کشورهای در حال توسعه هستند و گندم یکی از رژیم‌های غذایی آن‌ها می‌باشد، با فقر عناصر غذایی بخصوص عنصر روی مواجه هستند (Desta *et al.*, 2023). گزارش گردیده است که حدود ۳۰ درصد جمعیت جهان به دلیل فقر روی در رژیم غذایی روزانه با کمبود دریافت روی مورد نیاز بدن مواجه هستند (Wessells & Brown, 2012; Poblaciones & Rengel, 2017; Nguyen *et al.*, 2019). سالیانه تعداد قابل توجهی از جمعیت انسانی در اثر فقر روی در رژیم غذایی از بین می‌روند که سهم کودکان زیر پنج سال قابل توجه می‌باشد (Xia *et al.*, 2018). بیان گردیده که خاک میلیون هکتار از اراضی کشاورزی جهان با کمبود روی مواجه است (Cakmak, 2008). تنش گرما و خشکی از مهمترین عوامل محدود کننده رشد و تولید گندم در مناطق خشک و نیمه‌خشک جهان محسوب می‌گردند که در طول رشد گندم به دفعات و زمان‌های مختلف اتفاق می‌افتد. در سال‌های اخیر روش‌های مختلفی به منظور افزایش محتوای روی دانه در غلات پیشنهاد شده است که شاید سریعترین راهکار برای بالابردن سطح روی دانه غلات استفاده از روش‌های زراعی مانند پرایم و به خصوص محلول‌پاشی با روی باشد (Praharaj *et al.*, 2021).

پرایم بذر و محلول پاشی با عنصر روی از روش‌های مؤثر، ساده و اقتصادی به جهت افزایش محتوای روی دانه می‌باشند. گزارش شده است که عنصر روی زمانی که از طریق محلول پاشی برگی در اختیار گیاه قرار داده شود، به سرعت از طریق برگ جذب و سپس به سایر بخش‌های گیاه منتقل می‌گردد (Haslett *et al.*, 2001). تحقیقی دیگر نشان داد که محلول‌پاشی برگی با روی از منبع سولفات روی به میزان ۶۸۰ گرم در هکتار منجر به افزایش میزان روی دانه گندم گردید (Ozturk *et al.*, 2006). کاربرد خاکی و محلول‌پاشی با روی تأثیر بیشتری در مقایسه با کاربرد به تنهایی آن‌ها در افزایش محتوای روی دانه برنج داشت و همچنین موجب کاهش نسبت فیتات به روی در دانه گردید (Saha *et al.*, 2020). هرچند اکثر تحقیقات تأثیر مثبت کاربرد روی در افزایش محتوای آن و نیز عملکرد دانه را مورد تأکید قرار داده‌اند، اما گزارش گردیده که کاربرد مقادیر بالای این عنصر می‌تواند تأثیری منفی بر میزان فتوسنتز و عملکرد گندم

داشته باشد (Li *et al.*, 2020). علاوه بر نقش عنصر روی در خصوص افزایش ارزش تغذیه‌ای گیاه، مطالعات اخیر بیانگر بهبود تحمل خشکی در گندم در اثر محلول‌پاشی با این عنصر بوده است (Dhaliwal *et al.*, 2022; Sattar *et al.*, 2022; Pavia *et al.*, 2019). گزارش شده است که محلول‌پاشی با عنصر روی در گندم تحت تنش خشکی نه تنها موجب بهبود عملکرد گندم گردیده، بلکه باعث افزایش محتوای روی دانه نیز شده است (Zarea & Karimi, 2023a).

پرولین یکی از مهمترین تنظیم کننده‌های اسمزی سلول در گیاه تحت تنش می‌باشد. غلظت پرولین در پاسخ به تنش‌های مختلف محیطی مانند خشکی، افزایش می‌یابد (Yang *et al.*, 2021). پرولین موجب حفظ یکپارچگی غشاهای سلولی و نیز ثبات کارکرد آن‌ها می‌گردد (Yang *et al.*, 2021). آنزیم کلیدی که در سنتز پرولین در گیاه نقش دارد آنزیم دلتا-۱-۵-کربکوسیلاز سینتاز نام دارد. میزان سنتز این آنزیم تحت کنترل ژن کد کننده آن یعنی دلتا-۱-۵-کربکوسیلاز می‌باشد. گزارش شده میزان بیان این ژن می‌تواند تحت تأثیر خشکی افزایش یابد (Bahramnejad *et al.*, 2015; Maghsoudi *et al.*, 2018; Zarea & Karimi, 2023b).

هدف پژوهش حاضر بررسی نقش عنصر روی در کاهش تنش خشکی در گندم دوروم رقم ساجی بود. رقم ساجی جزو گندم‌های دورم می‌باشد و مناسب برای مناطق پرباران تحت اقلیم‌های معتدل سرد و معتدل گرم دیم و شرایط آبیاری تکمیلی معرفی شده است (Mohammadi *et al.*, 2010). میزان متوسط عملکرد دانه آن در مناطق و سال‌های مختلف تحت شرایط دیمکاری ۲۶۱۴ کیلوگرم در هکتار و تحت آبیاری تکمیلی تا ۳۰۸۱ کیلوگرم در هکتار گزارش شده است (Mohammadi *et al.*, 2010). بدین منظور یک آزمایش مقدماتی ارتباط بین تغذیه گیاه با عنصر روی (پرایم بذر و محلول پاشی برگی) بر میزان تجمع پرولین و فعالیت ژن مسئول سنتز پرولین بررسی و سپس در آزمایش مزرعه‌ای، اثر کابرد تلفیقی و به تنهایی عنصر روی و پرولین بر میزان عملکرد دانه و نیز محتوای روی، نیتروژن و فسفر دانه مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

پژوهش حاضر در دو بخش آزمایشگاهی (تحت اتاقک رشد) و مزرعه‌ای به ترتیب به منظور بررسی تأثیر کاربرد عنصر روی از طریق محلول‌پاشی برگی بر صفات مختلف مولکولی و بیوشیمایی (آزمایش اول) و بهبود عملکرد و محتوای روی دانه (آزمایش دوم) طراحی گردید. رقم مودر استفاده رقم ساجی ابود. در آزمایش اول تأثیر نوع کاربرد روی (پرایم با بذر و محلول‌پاشی برگی) بر میزان بیان ژن کدکننده پرولین و محتوای پرولین و مالون دی آلدهید تحت شرایط تنش خشکی بررسی گردید. با توجه به نتایج آزمایش اول در ارتباط با تأثیر بخشی کاربرد روی از طریق محلول‌پاشی بر افزایش میزان پرولین برگ، آزمایشی

مزرعه‌ای و تکمیلی به منظور ارزیابی تأثیر محلول‌پاشی روی در تلفیق با پرولین انجام گرفت. با توجه به اینکه در آزمایش مقدماتی محلول‌پاشی روی موجب افزایش میزان پرولین گردیده بود، هدف آزمایش دوم در پاسخ به این پرسش بود که آیا اثربخشی روی محدود به تأثیر آن بر محتوای پرولین است و یا خیر. از طرفی، فرض بر این بود که می‌تواند بین میزان غلظت روی و پرولین ارتباطی وجود داشته باشد. بنابراین در آزمایشی مزرعه‌ای از سطوح مختلف عنصر روی استفاده گردید.

مطالعه مقدماتی

آزمایش مقدماتی تحت شرایط کنترل شده در اتاقک رشد انجام گرفت و تأثیر کاربرد روی به دو روش محلول‌پاشی و پرایم با بذر بر میزان بیان ژن کد کننده سنتز پرولین [Δ1-pyrroline-5-carboxylate reductase, *P5CS*]، میزان پرولین و مالون دی آلدهید مورد مطالعه قرار گرفت. آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی و در چهار تکرار انجام گرفت که یک تکرار از آن جهت سنجش میزان جذب روی محلول‌پاشی شده به برگ مورد استفاده قرار گرفت.

به جهت جلوگیری از آلودگی در مراحل پرایم و کاشت در ابتدا نسبت به ضدعفونی سطحی بذر اقدام گردید. بذور ابتدا به مدت یک دقیقه با الکل (۹۵٪)، سپس به مدت زمان سه دقیقه با هیپوکلرید سدیم (۱۰ درصد) ضدعفونی و در انتها چندین مرتبه با آب استریل شستشو داده شدند. در ادامه بذور به سه قسمت مساوی (بر اساس وزنی) تقسیم و یک گروه از بذور در محلول روی ۰/۳ درصد (وزن به حجم) غوطه‌ور گردیدند (پرایم بذر). غلظت روی مورد استفاده بر اساس آزمایشات قبلی (Harris *et al.*, 2008) جهت تعیین بهترین غلظت روی برای رشد و عملکرد گندم انتخاب شده بود. از سولفات روی (هپتا هیدرات[1]) به عنوان منبع روی استفاده گردید که از شرکت مرک آلمان تهیه شده بود. از گلدان‌های پلاستیکی با گنجایش سه کیلوگرم خاک جهت کشت استفاده گردید. در ابتدا تعداد ده عدد بذر در هرگلدان کشت و سپس به تعداد پنج عدد در گلدان کاهش داده شد. تمام گلدان‌ها به مدت ۲۱ روی تحت آبیاری مطلوب (۸۵ درصد ظرفیت نگهداری آب) قرار داده شدند. سپس اعمال تنش خشکی با قطع آبیاری انجام گرفت. دو روز قبل از اعمال تنش نسبت به محلول‌پاشی با روی با غلظت ۰/۳ درصد اقدام گردید. به منظور افزایش جذب بیشتر روی به برگ، از توئین-۲۰ با غلظت ۰/۰۲ درصد به عنوان مویان استفاده گردید. گیاهان حاصل از پرایم و گیاهان شاهد با آب مقطر حاوی توئین-۲۰ محلول‌پاشی گردیدند. محلول‌پاشی با غلظت ۰/۳ درصد در ابتدای صبح انجام گرفت. در آزمایش حاضر محتوای روی برگ گیاه قبل و بعد از اعمال محلول پاشی نیز مورد سنجش قرار گرفت. دو روز پس از اعمال محلول‌پاشی، نمونه‌هایی از برگ گیاهان شاهد و گیاهانی که با روی محلول‌پاشی شده بودند به جهت تعیین میزان محتوای روی برگ گرفته شد. لازم به ذکر است نمونه‌های برگی قبل از سنجش میزان

[1] $ZnSO_4.7H_2O$

تغییرات روی با آب مقطر شستشو داده شده بودند تا رسوبات روی برگ در محاسبه لحاظ نگرد. اندازه‌گیری محتوای روی برگ در آزمایشگاه مرکزی دانشگاه رازی کرمانشاه انجام گرفت.

اندازه‌گیری محتوای پرولین و مالون دی آلدهید برگ و نیز استخراج RNA کل برای بررسی میزان بیان ژن *P5CS*، چهار روز پس از اعمال تنش خشکی انجام گرفت. با توجه به متحمل بودن نسبی رقم مورد استفاده به خشکی و نیز مدت زمان لازم جهت کاهش محتوای آب گلدان‌ها، اندازه گیری‌ها چهار روز پس از اعمال تنش انجام گرفت. به جهت استخراج RNA کل، از کیت شرکت سیناکلون (RNX Plus) استفاده گردید. حذف آلودگی‌های gDNA با استفاده از کیت DNase I انجام شد. غلظت و خلوص RNA استخراج شده با استفاده از نانودراپ (Nanodrop 1000 Spectrophotometer) آزمایشگاه مرکزی دانشگاه ایلام انجام گرفت. به جهت مشاهده پیوستگی RNA استخراج شده، نمونه‌هایی متشکل از سه میکرولیتر از کل نمونه‌های استخراج شده روی ژل آگارز، انتقال داده شد. از تمام نمونه‌های استخراج شده، سنتز cDNA با استفاده از کیت (M-MLV Reverse Transcriptase (SMOBIO انجام گرفت. از تکنیک Real-time quantitative Polymerase Chain Reaction (qPCR) جهت کمی سازی میزان بیان ژن هدف و ژن مرجع به عنوان کنترل داخلی استفاده گردید. برای محاسبه میزان بیان ژن مورد نظر (*P5CS*) از فرمول $2^{-\Delta\Delta Ct}$ استفاده گردید (Livak and Schmittgen, 2001). اندازه‌گیری میزان پرولین در برگ بر اساس روش مبتنی بر استفاده از محلول نایِن‌هیدرین انجام گرفت (Bates *et al.*, 1973). به این منظور، نمونه‌های برگی با اسید سولفوسالیسیلیک در هاون له گردیدند. سپس نمونه‌های استخراج شده با معرف نایِن‌هیدرین مخلوط و به مدت یک ساعت در حمام آب گرم انکوبه گردیدند. واکنش با قرار دادن نمونه‌ها بر یخ متوقف گردید و تولوئن به نمونه‌ها اضافه گردید. پس از شیک کردن نمونه‌های حاوی تولوئن، غلظت پرولین با استفاده از منحنی استاندارد پرولین در طول موج ۵۲۰ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتری خوانش گردید. مالون دی آلدهید در نمونه‌های برگی به وزن ۰/۵ گرم توزین گردید (Stewart & Bewley, 1980). ابتدا نمونه‌های برگی در آب استریل له گردیدند و سپس پنج میلی‌لیتر Thiobarbituric acid حل شده در Trichloroacetic acid با غلظت ۲۰ درصد به نمونه‌ها اضافه گردید. به علت پایین بودن حلالیت Thiobarbituric acid از اتانول و نیز گرما دادن به مدت یک ساعت در دمای ۵۰ درجه سانتیگراد استفاده گردید. نمونه‌ها در دمای ۹۵ درجه سانتیگراد قرار داده شدند و سپس توقف واکنش با قرار دادن نمونه‌ها بر یخ به اتمام رسید. در پایان، نمونه‌ها سانتریفوژ و از محلول رویی جهت سنجش مالون دی آلدهید استفاده گردید. سنجش میزان جذب در طول موج‌های ۵۳۲ و ۶۰۰ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر انجام گرفت. میزان مالون دی آلدهید بر اساس نانومول در گرم وزن تازه برگ محاسبه گردیدند.

تجزیه آماری داده‌ها با استفاده از نرم افزار SAS انجام گرفتند. در صورت معنی‌دار بودن اثر ساده و یا اثر متقابل، مقایسه بین تیمارها با استفاده از آزمون حداقل اختلاف معنی‌دار و در سطح احتمال پنج درصد انجام گرفت. از آزمون t (سطح احتمال پنج درصد) برای مقایسه میزان روی در گیاهان شاهد و گیاهان محلول پاشی شده با روی استفاده گردید.

بخش مزرعه‌ای

آزمایش مزرعه‌ای در یکی از مزارع گندم (رقم ساجی) کشاورزان بخش سیروان استان ایلام (,33°36′N 46°40′E) در فصل زراعی ۱۴۰۱-۱۴۰۰ انجام گرفت. میانگین بارش ماهیانه و متوسط دماهای بیشینه و کمینه در طول فصل رشد گندم در منطقه در جدول ۱ نشان داده شده است. آزمایش به صورت طرح فاکتوریل بر پایه بلوک کامل تصادفی با سه تکرار انجام گرفت. تیمارهای اصلی شامل سطوح غلظت‌های مختلف روی و پرولین بود. آزمایش مزرعه‌ای در قطعه زمینی که از قبل زیر کشت گندم برده شده بود، انجام گرفت. بنابراین به جهت طراحی طرح آزمایشی (بلوک و واحدهای آزمایش) اقدام به حذف تعدادی از ردیف‌های کاشت گردید به طوری که فاصله بین بلوک‌ها به تعداد ده خط و بین واحدهای آزمایشی به تعداد پنج خط کاشت بود که بوته‌های آن حذف گردیده بودند. همچنین جهت ایجاد فاصله مناسب بین بلوک‌های طراحی شده کل بوته‌های ۱۰ خط کاشت، حذف شدند. ابعاد واحدهای آزمایشی دو متر در یک متر بود. تیمار محلول پاشی در مرحله گرده‌افشانی و در هنگام عصر انجام شد و سپس به مدت ۲۱ روز با قطع آبیاری تنش خشکی اعمال گردید. حجم محلول پاشی به میزان ۱۰۰۰ لیتر در هکتار تنظیم گردید. سه غلظت ۰/۱، ۰/۲ و ۰/۳ درصد محلول سولفات‌روی ($ZnSO_4.7H_2O$) تهیه و به میزان ۱۰۰ میلی‌لیتر در مترمربع محلول پاشی انجام گرفت. جهت گیاهان شاهد از آب مقطر استفاده شد. پرولین در دو غظت صفر و ۱۵ میلی‌مولار با حجم محلول پاشی ۱۰۰۰ لیتر در هکتار استفاده گردید. در تمام محلول‌ها از توئین-۲۰ با غلظت ۰/۰۲ درصد به عنوان مویان استفاده شد. تعداد کل تیمارها هشت تیمار بود که در سه تکرار مطالعه شدند. برداشت از یک مترمربع و به صورت دستی بود. سه بوته از هر واحد آزمایشی به جهت تعیین اجزاء عملکرد از ردیف‌های داخلی و به صورت تصادفی محاسبه گردید. عملکرد دانه بر اساس تن در هکتار، وزن سنبله بر اساس گرم، وزن دانه بر اساس وزن هزار دانه و تعداد دانه در سنبله مشخص شدند.

جهت اندازه‌گیری محتوای روی مقدار یکسانی از بذرها در دمای 500 درجه سانتیگراد در کوره الکتریکی خاکستر شدند، هضم در مخلوطی اسیدی (اسید نیتریک و اسید کلرریدریک) انجام و در مرحله بعد با روش اسپکتروفتومتری جذب اتمی در طول موج ۵۴۶ نانومتر قرائت گردید. اندازه‌گیری فسفر بعد از هضم خشک (قرار دادن یک گرم از نمونه‌های دانه در آون با دمای ۷۰ درجه سانتیگراد و آسیاب کردن و قرار دادن نمونه‌های آسیاب شده به مدت ۶ ساعت در دمای ۵۰۰ درجه سانتیگراد در

کوره الکتریکی) و عصاره‌گیری با مخلوط اسید کلریدریک و اسید نیتریک با دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۴۵۰ نانومتر قرائت شد (Jones 2001).

جدول ۱- میانگین بارش ماهیانه و متوسط درجه حرارت‌های کمینه و بیشینه در طول فصل رشد گندم

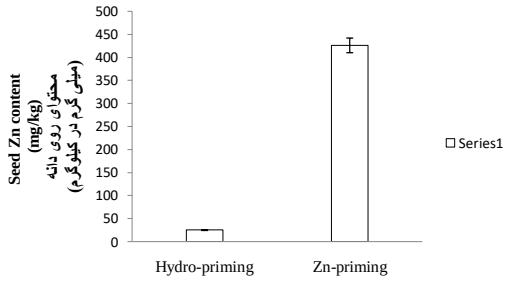
Table 1. Average monthly rainfall and average monthly maximum and minimum temperatures during wheat growing season

ماه Month	دما Temperature (°C)		بارندگی Rainfall (mm)
	کمینه Minimum	بیشینه Maximum	
آبان November	10.7	26.2	7.3
آذر December	6.1	19.7	64.5
دی January	2.4	14	22.8
بهمن February	1.4	15.5	69.8
اسفند March	6	20	21.2
فروردین April	11.1	29	1.3
اردیبهشت May	15.3	31.3	30.4
خرداد June	23.1	42.1	0
تیر July	26.5	45.8	0

نتایج و بحث

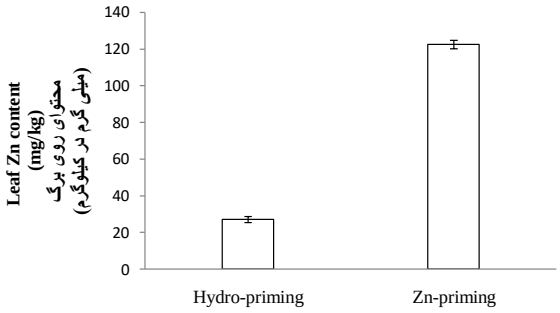
میزان محتوای روی دانه قبل از اعمال پرایم با عنصر روی، ۲۵/۲۸ میلی‌گرم در کیلوگرم بود (شکل ۲). اعمال پرایم با بذر در محلول ۰/۳ درصد روی به مدت ۱۰ ساعت، موجب افزایش محتواب روی دانه به ۴۲۶ میلی‌گرم در کیلوگرم گردید (شکل ۲). بنابراین محتوای روی دانه در حدود ۱۵ برابر در اثر پرایم بذر با عنصر روی افزایش پیدا کرده بود (شکل ۲). برداشت روی از محلول پرایم به وسیله دانه در مراحل جذب آب اتفاق می‌افتد. البته میزان نهایی جذب آب توسط بذر می‌تواند در افزایش میزان روی تأثیرگذار باشد. دانه‌هایی که مقدار بیشتری آب جذب می‌کنند قادر به برداشت مقدار بیشتری روی از محلول پرایم خواهند بود. به عنوان مثال پس از اعمال پرایم دانه‌های نخود در مقایسه با دانه‌های گندم از میزان محتوای روی بیشتری برخوردار بودند (Harris *et al.*, 2008). میزان جذب روی از محلول پرایم توسط بذر ذرت بسته به غلظت روی در محلول پرایم و مدت زمان پرایم بین ۲۹۷ تا ۹۰۶ میلی‌گرم در کیلوگرم گزارش شده است (Choukri *et al.*, 2022). همچین در گندم گزارش شده است که میزان روی جذب شده از محلول پرایم، بستگی به غلظت روی داشته و محتوای روی دانه‌های پرایم شده بین ۳۳۰ تا ۶۰۶ میلی‌گرم در کیلوگرم بوده است (Harris *et al.*,

2008). پرایم دانه با محلول ۰/۰۶ درصد روی موجب افزایش محتوای روی دانه به میزان ۹۹۰ میلی‌گرم در کیلوگرم شده است (Harris *et al*., 2008). میزان روی در تیمار شاهد ۲۷ و در گیاهان محلول پاشی شده ۱۲۲ میلی‌گرم در کیلوگرم بود (شکل ۳). میزان انتقال روی از سطح به داخل بافت برگ در کاربرد روی به صورت محلول پاشی بستگی به نوع ماده شیمیایی حاوی روی و به خصوص سطح برگ دارد (Kamran *et al*., 2023; Read *et al*., 2020). میزان انتقال روی از سطح برگ به داخل برگ در گیاه گندم و بسته به نوع رقم بین ۰/۷۸ تا ۱/۰۷ درصد گزارش گردیده است (Kamran *et al*., 2023). در مطالعه اشاره شده (Kamran *et al*., 2023) همانند آزمایش حاضر از سولفات روی به عنوان منبع روی استفاده شده بود.



شکل ۲- میزان محتوای روی دانه پس از اعمال پرایم با روی و آب مقطر

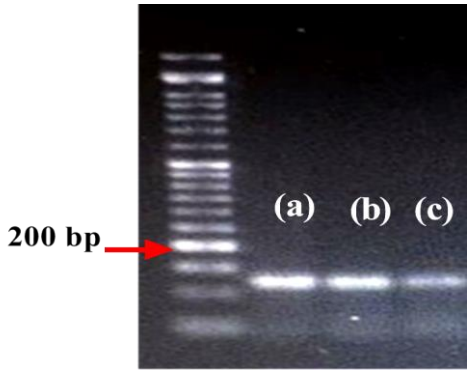
Figure 2. Zn content in seeds after priming with Zn and distilled water



شکل ۳- میزان محتوای روی برگ پس از اعمال محلول پاشی با محلول روی

Figure 3. Zn content in leaves after foliar application of Zn solution

شکل ۴ الگوی تشکیل باند محصول حاصل از PCR با تعداد چرخه ۲۵ دور را برای ژن Δ1-pyrroline-5-carboxylate reductase در گیاهان پرایم شده و محلول پاشی شده با روی در مقایسه با تیمار شاهد را روی ژل آگارز نشان می‌دهد. میزان بیان ژن (*P5CS*) در تیمار شاهد و گیاهان تیمار شده با روی تفاوت معنی‌داری داشت (جدول ۲). چهار روز پس از اعمال تنش خشکی گیاهان محلول پاشی شده با روی از میزان بیشتر بیان ژن در مقایسه با گیاهان حاصل از پرایم برخوردار بودند (جدول ۳). علت این افزایش در گیاهان محلول پاشی شده با روی را می‌توان مرتبط با دو عامل دانست: یکی نقش القاء کنندگی روی بر افزایش بیان ژن که تاکنون مکانیسم اثر آن گزارش نشده است و علت بعدی می‌تواند مربوط به وضعیت محتوای آب نسبی برگ در گیاهان پرایم شده باشد. به عبارت دیگر وضعیت آبی گیاه می‌تواند زمان پاسخ‌گویی گیاه به تنش خشکی را تحت تأثیر قرار دهد. در مطالعه حاضر محتوای آب گلدان در زمان نمونه‌برداری جهت تعیین الگوی بیان ژن و نیز پرولین در تیمارهای مختلف به حدود ۲۵ درصد کاهش یافته بود. همچنین در بررسی انجام گرفته مشخص گردید که غلظت روی در گیاهان پرایم شده تقریباً نزدیک به گیاهان شاهد بود (داده‌ها نشان داده نشده‌اند). به عبارتی، ممکن است که روی جذب شده از طریق پرایم بذر به صورت کامل به بخش‌های هوایی گیاه منتقل نگردد و یا بخشی از آن داخل دانه باقی بمانده و یا اینکه به علت تأثیر مثبت پرایم بر رشد اولیه گیاه، عنصر روی در بخش بیشتری از گیاه توزیع شده باشد. هرچند در مطالعات انجام گرفته تأثیر محلول پاشی با عنصر روی بر افزایش تحمل به تنش خشکی در گیاه گندم گزارش گردیده است (Anwar *et al.*, 2021; Moitazedi *et al.*, 2022)، اما مطالعات در خصوص نقش تنظیم کنندگی این عنصر در ژن‌های مرتبط با خشکی کمتر مورد بررسی قرار گرفته است.



شکل ۴- *PCR* آنالیز نیمه کمی بیان ژن *P5CS* بر ژل آگارز در گیاهان محلول پاشی شده با روی (a)، گیاهان پرایم شده با روی (b) و گیاهان شاهد (c)

Figure 4. Semi-quantitative RT-PCR agarose gel analysis of *P5CS* gene expression in Zn foliar-applied plants (a), Zn-primed plants (b) and water-sprayed (control) plant (c)

جدول ۲- میانگین مربعات تأثیر کاربرد روی به دو روش محلول پاشی و پرایم با بذر بر صفات مورد مطالعه

Table 2. Mean squares for the effect of foliar applied Zn and seed priming with Zn on studied traits

منابع تغییرات S.O.V	درجه آزادی df	بیان ژن *P5CS* *P5CS* gene expression	میزان پرولین Proline content	میزان مالون دی آلدهید Malondialdehyde content
تکرار Replication	2	0.0188^{ns}	5.46*	0.416^{ns}
تیمار Treatment	2	2.335**	21.37**	21.17**
خطا Error	4	0.080	0.505	0.64
ضریب تغییرات (درصد) CV. (%)		13.91	7.37	11.84

*، ** و ns: به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد و عدم تفاوت معنی‌دار

*, ** and ns: significant at 5%, 1% probability levels, and non-significant, respectively

جدول ۳- مقایسه میانگین صفات مورد مطالعه در تیمارهای شاهد، پرایمینگ و محلول‌پاشی

Table 3- Mean comparison of the studied traits in the control, priming and foliar application.

تیمار Treatment	بیان ژن *P5CS* *P5CS* gene expression	میزان پرولین (میکرو مول در گرم وزن تازه) Proline content (µmole/g fw)	میزان مالون دی آلدهید (نانومول در گرم وزن تازه) Malondialdehyde content (nmole/g fw.)
شاهد Control	1.1009 ± 0.286	7.19 ± 1.09	9.66±0.348
پرایم با روی Zn priming	2.176 ± 0.19	9.24 ± 0.758	6.26±0.510
محلول پاشی foliar application	2.850 ± 0.246	12.49 ± 0.625	4.42±0.432
حداقل اختلاف معنی‌دار LSD	0.644	1.61	1.82

اعداد نشان دهنده میانگین‌ها ± خطای استانداردها می‌باشند

Means ± SD values

نتایج تجزیه آنالیز تیمارهای پرایم و محلول پاشی با روی بر میزان پرولین در جدول ۲ نشان داده شده است. تأثیر تیمار روی بر میزان تجمع پرولین در برگ معنی‌دار بود (جدول ۲). بر اساس مقایسه میانگین تیمارها، روند افزایش پرولین در گیاهان تحت تیمارهای به کاربرده شده مشابه پاسخ به بیان ژن *P5CS* بود (جدول ۳). پرولین جزو اسملیت‌های سازگار گیاه است که تجمع آن در سطح سلول حتی در غلظت‌های بالا ایجاد سمیت نمی‌کند. گیاه در پاسخ به تنش خشکی اقدام به تجمع پرولین به جهت حفظ پتانسیل اسمزی می‌نماید. در مطالعه حاضر میزان تجمع پرولین در گیاهان محلول پاشی شده با روی بیش از گیاهان حاصل از بذور پرایم، و در گیاهان حاصل از

پرایم بیش از گیاهان شاهد بود (جدول ۳). تاثیر القاء کنندگی روی بر افزایش تحمل گیاه به خشکی و افزایش پرولین در کاربرد آن به صورت محلول‌پاشی قبلاً گزارش شده است (Shemi *et al.*, 2021). هر چند مکانیسم تأثیر روی بر افزایش میزان محتوای پرولین مشخص نگردیده است.

مالون دی آلدهید منعکس کننده میزان شدت خسارت تنش به بافت‌های گیاه است. روش کاربرد روی (پرایم و یا محلول پاشی) تأثیری معنی‌دار بر میزان تولید مالون دی آلدهید در برگ داشت (جدول ۲). در این آزمایش میزان مالون دی آلدهید در گیاهان محلول پاشی شده با روی به صورت معنی‌داری کمتر از گیاهان شاهد و گیاهان حاصل از پرایم بود (جدول ۳). قبلاً گزارش گردیده که محلول پاشی با روی در گندم منجر به کاهش اثرات سوء تنش خشکی شده است و گیاهان محلول پاشی از میزان مالون دی آلدهید کمتر، اما پرولین بیشتری برخوردار بوده‌اند (Shemi *et al.*, 2021).

جدول ۴ نتایج تجزیه واریانس تأثیر محلول‌پاشی روی و کاربرد پرولین را بر عملکرد و اجزاء عملکرد دانه گندم رقم ساجی نشان می‌دهد. اثر روی، پرولین و اثر متقابل متقابل آن‌ها تأثیری معنی‌دار بر وزن تک سنبله نداشتند (جدول ۴). تعداد دانه در سنبله فقط تحت تأثیر محلول‌پاشی با روی معنی‌دار گردید (جدول ۴). اما تأثیر روی، پرولین و اثر متقابل آن‌ها بر وزن هزار دانه و عملکرد دانه معنی‌دار بود (جدول ۴). اثر روی بر محتوای روی و فسفر دانه معنی‌دار اما پرولین و اثر متقابل پرولین و روی تأثیری معنی‌دار بر میزان محتوای فسفر و روی دانه نداشتند (جدول ۴). بیشترین عملکرد دانه از کاربرد سطح سوم روی (۰/۳ درصد) و در ترکیب با پرولین (۱۵ میلی‌مولار) حاصل گردید (جدول ۵). این ترکیب تیماری به علت تاثیری که بر افزایش وزن هزار داشت موجب حصول بالاترین عملکرد دانه در بین تیمارها گردید (جدول ۵). در عدم کاربرد پرولین، بیشترین عملکرد از سطح دوم روی (۰/۲) حاصل گردید و با افزایش روی در محلول اسپری شده، تأثیری منفی بر عملکرد دانه حاصل گردید (جدول ۵). تاثیر مثبت کاربرد بیرونی پرولین در کاهش اثرات سوء تنش در مقاله‌ای مروری تشریح شده است (Hosseinifard *et al.*, 2022). به نظر می‌رسد غلظت‌های بالای روی تأثیری سمی بر گیاه داشته و کاهش وزن هزار دانه در این غلظت استفاده شده می‌تواند تأییدی بر این فرضیه باشد. گزارش گردیده که افزایش غلظت روی در برگ باعث محدودیت در میزان فتوسنتزی گیاه، کاهش هدایت روزنه‌ای، کاهش تعرق و کاهش غلظت دی‌اکسیدکربن فضای بین سلولی در برگ گردیده است (Andrejic *et al.*, 2018). اثر متقابل پرولین به تنهایی و یا در ترکیب با روی منجر به تغییری معنی‌دار بر تعداد دانه در سنبله و وزن تک سنبله نگردید اما کاربرد به تنهایی روی تاثیری معنی‌دار بر هر دو صفت اندازه‌گیری شده داشت (جدول ۴) و آنها افزایش داد (جدول ۵). تعداد دانه نشان دهنده قدرت مخزن در گندم می‌باشد که تحت تأثیر منبع (فتوسنتز جاری و مواد ذخیره شده فتوسنتزی) واقع می‌گردد (Zhang *et al.*,

2019). بیان گردیده عنصر روی منجر به افزایش میزان فتوسنتز خالص می‌گردد (Luo *et al.*, 2019) و بنابراین به این طریق می‌تواند موجب افزایش انتقال مواد ساخته شده فتوسنتزی بیشتری به سمت دانه گردد. افزایش وزن هزار دانه در نتیجه کاربرد روی در این آزمایش می‌تواند تأیید کننده نقش این عنصر در بهبود فتوسنتز گیاه باشد. نتایج حاصل از تجزیه داده‌های آزمایش، نشان‌دهنده تأثیر معنی‌دار کاربرد روی در قالب محلول‌پاشی بر محتوای دو عنصر روی و فسفر دانه بود (جدول ۴). تأثیر محلول پاشی با پرولین و همچنین اثر متقابل پرولین و روی بر محتوای فسفر و روی دانه معنی‌دار نگردید (جدول ۴). بر اساس آزمون مقایسه میانگین تفاوت بین غلظت‌های مختلف استفاده شده روی مشخص گردید که افزایش غلظت روی تا سطح ۰/۳ درصد تأثیر افزایندگی بر افزایش محتوای روی دانه داشته؛ به طوریکه بالاترین محتوای روی دانه از کاربر بالاترین سطح روی (۰/۳ درصد) حاصل گردید (جدول ۵). افزایش محتوای روی دانه در اثر محلول‌پاشی با روی با نتایج سایر محققین مطابقت دارد (Cakmak *et al.*, 1999; Ozturk *et al.*, 2006; Doolette *et al.*, 2020; Ivanović *et al.*, 2021). قبلاً گزارش گردیده است که عنصر روی در گیاه متحرک می‌باشد و قابلیت جابجایی از بخش‌های رویشی (مانند ساقه، ریشه و برگ‌های در حال زوال) به سمت دانه را دارد؛ که این ادعا در گیاه گندم اثبات گردید (Pearson and Rengel, 1995; Pearson *et al.*, 1995, 1996). مطالعات انجام گرفته در خصوص محلول پاشی روی در گندم نشان داد که میزان قابل توجهی از روی وارد شده به برگ به سمت دانه‌ها بارگیری می‌شود و محلول‌پاشی روی بر اساس غلظت مورد استفاده آن محتوای روی دانه را از ۴۵ میلی‌گرم در کیلوگرم به ۷۰ میلی‌گرم در کیلوگرم دانه گندم افزایش داده است (Ozturk *et al.*, 2006). در مطالعات قبلی نشان داده شده محلول پاشی گندم با روی در زمان گرده‌افشانی (Zarea and Karimi, 2023a) و تا ۱۰ روز پس از اتمام گرده‌افشانی تأثیری معنی‌دار بر افزایش محتوای روی دانه داشته است (Ozturk *et al.*, 2006). محلول‌پاشی گندم با روی در مرحله شیری شدن میزان روی دانه را از ۲۸ میلی‌گرم در کیلوگرم به ۵۸ میلی‌گرم در کیلوگرم افزایش داده است (Cakmak *et al.*, 1999). هرچند مطالعات قبلی نشان داده است که کاربرد پرولین باعث افزایش تحمل به تنش خشکی گردیده است (Hosseinifard *et al.*, 2022) اما در این تحقیق پرولین تأثیری معنی‌دار بر تجمع دو عنصر فسفر و روی در دانه نداشت. در ارتباط با عنصر فسفر روند تغییرات محتوای فسفر معکوس بود: با افزایش سطوح روی از صفر درصد به ۰/۳ درصد در محلول اسپری شده از میزان فسفر دانه به میزان ۱۸ درصد کاسته گردید (جدول ۵). کاهش محتوای فسفر دانه در اثر محلول‌پاشی با روی تأیید کننده مطالعه اخیر انجام گرفته در خصوص تأثیر کاهشی محلول پاشی روی بر فسفر دانه گندم است (Xia *et al.*, 2018). معمولاً روابط بین فسفر و روی در گندم منفی عنوان شده است (Wang *et al.*, 2017). گزارش شده هرچند محلول پاشی با روی منجر به افزایش

محتوای روی در دانه گندم شده، اما کاربرد توأمان محلول پاشی با فسفر و روی منجر به کاهش تجمع کمتر روی در دانه گندم شده است (Wang *et al.*, 2017) که نشان دهنده اثرات متقابل بازدارندگی بین این دو عنصر در دانه گندم است. به عبارتی، زمانی که فسفر گیاه افزایش پیدا می‌کند، مقدار کمتری از روی به سمت دانه منتقل می‌گردد.

نتیجه‌گیری

در تحقیق انجام شده، نقش روی در تحمل به تنش خشکی از طریق القاء تولید پرولین و کاهش میزان مالون دی آلدهید و نیز بیان ژن *P5CS* در گندم تحت تنش خشکی بررسی گردید. در این ارتباط، دو روش کاربرد روی (پرایم و محلول پاشی) با گیاهان هیدروپرایم شده مقایسه گردیدند. قابلیت استفاده از روی به صورت محلول پاشی در ارتباط با افزایش تولید پرولین و بیان ژن مرتبط با آن (*P5CS*) و کاهش مالون دی آلدهید مورد تأیید قرار گرفت. همچنین تحت شرایط مزرعه نیز تأثیر مثبت محلول‌پاشی روی در مرحله گرده‌افشانی بر عملکرد دانه مورد تأیید قرار گرفت. نتایج بیشتر این پژوهش بیانگر این بود که تأثیر محلول‌پاشی با روی در مقایسه با پرولین در افزایش عملکرد دانه و محتوای روی دانه موثرتر بود. نتایج این مطالعه نشان داد کاربرد مقدار کم روی به صورت محلول‌پاشی نه تنها می‌تواند منجر به افزایش تحمل گندم به تنش خشکی در مرحله پرشدن دانه گردد، بلکه موجب افزایش محتوای روی دانه نیز می‌شود. هرچند محلول پاشی با پرولین تا حدودی موجب بهبود عملکرد دانه تحت تنش اعمال شده در مرحله پر شدن دانه گردید، اما با در نظر گرفتن هزینه‌ها، استفاده آن در ترکیب با روی پیشنهاد نمی‌گردد.

تشکر و قدردانی

مطالعه حاضر بخشی از نتایج حاصل از طرح تحقیقاتی مصوب شورای پژوهشی و فناوری دانشگاه ایلام می‌باشد. از مطالعه دقیق و پیشنهادات ارزنده داوران محترم و دبیر تخصصی بر مقاله حاضر قدردانی می‌گردد.

جدول ۴– میانگین مربعات تأثیر محلول پاشی با روی و کاربرد بیرونی پرولین بر اجزاء عملکرد، عملکرد و محتوای روی و فسفر در دانه گندم

Table 4. Mean squares for the effect of foliar applied Zn and exogenous application of proline on yield components, grain weight per spike, grain yield and Zn and P concentrations of wheat

محتوای فسفر دانه Grain P content	محتوای روی دانه Grain Zn content	عملکرد دانه Grain yield	وزن هزار دانه 1000-seed wt.	تعداد دانه در سنبله Seed no	وزن تک سنبله Spike weight	s.o.v.	منابع تغییر
0.302 ^{ns}	2.220^{ns}	3.9**	27.6**	2.44	58.2**	Replication	تکرار
0.432**	28.68**	0.1*	2.2*	3.8*	15.2^{ns}	Zn	روی
0.041 ^{ns}	0.0104^{ns}	0.2*	6.1**	1.0 ^{ns}	6.5 ^{ns}	Proline	پرولین
0.010 ^{ns}	0.0372^{ns}	0.08*	3.1*	1.5 ^{ns}	1.2 ^{ns}	Zn × Proline	روی × پرولین
0.300	9.538	0.02	0.603	1.1 ^{ns}	8.2 ^{ns}	Error	خطا
4.05	2.82	3.94	1.78	2.85	12.9 ^{ns}	CV. (%)	ضریب تغییرات (درصد)

*، ** و ^{ns}: به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد و عدم تفاوت معنی‌دار

*, ** and ns: significant at 5%, 1% probability levels, and non-significant, respectively

جدول ۵- مقایسه میانگین صفات مورد مطالعه در تیمارهای محلول پاشی با روی و کاربرد بیرونی پرولین

Table 5. Mean comparison of the studied traits in the foliar applied Zn and exogenous application of proline

محتوای فسفر دانه (میلی گرم در کیلوگرم) Grain P content (g per kg)	محتوای روی دانه (میلی گرم در کیلوگرم) Grain Zn content (mg/kg)	عملکرد دانه (تن در هکتار) Grain yield (t/ha)	وزن هزار دانه (گرم) 1000-seed wt. (g)	تعداد دانه در سنبله Seed no (per spike)	وزن تک سنبله (گرم) Spike weight (g/spike)	محلول پاشی پرولین (میلی مولار) Exogenous proline (mM)	محلول پاشی روی Zn application (Zn application)
3.9	26.7	4.6	42.4	36.4	20.1	0	0
3.6	28.4	4.7	43.6	36.5	21.6	0	10
3.4	29.9	4.9	43.7	37.9	23.9	0	20
3.3	31.8	4.5	42.4	36.6	22.4	0	30
		4.7	43.1		22.1	15	0
		4.8	43.2		21.3	15	10
		5.1	44.5		25.2	15	20
		5.12	45.5		22.4	15	30
0.18	1.0	0.2	1.3	1.0	5.0		حداقل اختلاف معنی دار (0.05) LSD

References

Andrejic, G., Gajic, G., Prica, M., Dželetović, Ž., & Rakić, T. 2018. Zinc accumulation, photosynthetic gas exchange, and chlorophyll a fluorescence in Zn-stressed Miscanthus × giganteus plants. Photosynthetica, 56, 1249-1258. https://doi.org/10.1007/s11099-018-0827-3.

Anwar, M. Y., Kayani, Z. N., & Hassan, A. 2021. An insight of physical and antibacterial properties of Au-doped ZnO dip coated thin films. Optical Materials, 118, 111276. https://doi.org/10.1016/j.optmat.2021.111276

Bates, L. S., Waldran, R. P., & Teare, I. D. 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. Plant and Soil, 39, 205-208. https://doi.org/10.1007/BF00018060.

Cakmak, I, 2008. Enrichment of cereal grains with zinc: Agronomic or genetic biofortification?. Plant and Soil, 302, 1-17. https://doi.org/10.1007/s11104-007-9466-3.

Cakmak, I., Kalayc, M., Ekiz, H., Braun, H., Kılınç, Y., & Yılmaz, A. 1999. Zinc deficiency as a practical problem in plant and human nutrition in Turkey: a NATO-science for stability project. Field Crops Research, 60, 175–188. https://doi.org/10.1016/S0378-4290(98)00139-7.

Choukri, M., Abouabdillah, A., Bouabid, R., Abd-Elkader, O. H., Pacioglu, O., Boufahja, F., & Bourioug, M. 2022. Zn application through seed priming improves productivity and grain nutritional quality of silage corn. Saudi Journal of Biological Sciences, 29(12), 103456.https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2022.103456.

Desta, M. K., Broadley, M. R., McGrath, S. P., Hernandez-Allica, J., Hassall, K. L., Gameda, S., Amedem T., & Haefele, S. M. 2023. Linking oil adsorption-desorption characteristics with grain zinc concentrations and uptake by teff, wheat and maize in different landscape positions in Ethiopia. Frontire in Agronomy, 5, 1285880. https://doi.org/10.3389/fagro.2023.1285880

Dhaliwal, S. S., Sharma, V., Shukla, A. K., Verma, V., Behera, S. K., Singh, P., & Singh, H. 2022. Foliar zinc application for zinc biofortification in diverse wheat genotypes under low Zn soil. Cereal Research Communications, 50, 1269-1277. https://doi.org/10.1007/s42976-022-00251-8.

Doolette, C., Read, T., Howell, N., Cresswell, T., & Lombi, E. 2020. Zinc from foliar-applied nanoparticle fertilizer is translocated to wheat grain: a 65Zn radiolabelled translocation study comparing conventional and novel foliar fertilizers. Science of the Total Environment, 749, 142369. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.142369.

Harris, D., Rashid, A., Miraj, G., Arif, M., & Yunas, M. 2008. 'On-farm' seed priming with zinc in chickpea and wheat in Pakistan. Plant and Soil, 306, 3-10. https://doi.org/10.1007/s11104-007-9506-z.

Haslett, B. S., Reid, R. J., & Rengel, Z. 2001. Zinc mobility in wheat: uptake and distribution of zinc applied to leaves or roots. Annals of Botany, 87, 379-386. https://doi.org/10.1006/anbo.2000.1349.

Hosseinifard, M., Stefaniak, S., Ghorbani Javid, M., Soltani, E., Wojtyla, Ł., Garnczarska, M. 2022. Contribution of Exogenous Proline to Abiotic Stresses Tolerance in Plants: A Review. International Journal of Molecular Sciences, 23, 5186. https://doi.org/10.3390/ijms23095186.

Ivanović, D., Dodig, D., Đurić, N., Kandić, V., Tamindžić, G., Nikolić, N., & Savić, J. 2021. Zinc biofortification of bread winter wheat grain by single zinc foliar application. Cereal Research Communications, 49, 673-679. https://doi.org/10.1007/s42976-021-00144-2

Jones, J. N. 2001. Laboratory guide for conducting soil tests and plant analysis. CRC Press.

Kamran, A., Ghazanfar, M., Khan, J. S., Pervaiz, S., Siddiqui, M. H., & Alamri, S. A. 2023. "Zinc absorption through leaves and subsequent translocation to the grains of bread wheat after foliar spray. Agriculture, 9, 1775. https://doi.org/10.3390/agriculture13091775.

Li, G., Li, C., Rengel, Z., Liu, H., & Zhao, P. 2020. Excess Zn-induced changes in physiological parameters and expression levels of TaZips in two wheat genotypes.

Environmental and Experimental Botany, 177, 104133. https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2020.104133.

Livak, K. J., & Schmittgen, T. D. 2001. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2-ΔΔCT Method. Methods. 25, 402-8. https://doi.org/10.1006/meth.2001.1262.2

Luo, H., Du, B., He, L., He, J., Hu, L., Pan, S., & Tang, X. 2019. Exogenous application of zinc (Zn) at the heading stage regulates 2-acetyl-1-pyrroline (2-AP) biosynthesis in different fragrant rice genotypes. Scientific Report, 9, 19513. https://doi.org/10.1038/s41598-019-56159-7.

Maghsoudi, K., Emam, Y., Niazi, A., Pessarakli, M., & Arvin, M. J. 2018. P5CS expression level and proline accumulation in the sensitive and tolerant wheat cultivars under control and drought stress conditions in the presence/absence of silicon and salicylic acid. Journal of Plant Interactions, 13, 461-471. https://doi.org/10.1080/17429145.2018.1506516.

Mohammadi, R., Aghaee Sarbarze, M., Haghparast, R., Armion,M., SadeghzadehAhari, D., & Roustaii, M. 2010. Saji, A New Durum Wheat Cultivar Adapted to Rainfed and Supplementary Irrigation Conditions of Moderate Cold and Moderate Warm Areas of Iran. Seed and Plant Journal, 26, 561-565. https://doi.org/10.22092/spij.2017.111043.

Nguyen, T. D., Cavagnaro, T. R. & Watts-Williams, S. J. 2019. The effects of soil phosphorus and zinc availability on plant responses to mycorrhizal fungi: a physiological and molecular assessment. Science Report, 9, 14880. https://doi.org/10.1038/s41598-019-51369-5.

Ozturk, L., Yazici, M. A., Yucel, C., Torun, A. A., Çekiç, C., Bağci, A., Özkan, H., Braun, H., Sayers, Z., & Cakmak, I. 2006. Concentration and localization of zinc during seed development and germination in wheat. Physiologia Plantarum, 128, 144-152. https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.2006.00737.x.

Pavia, I., Roque, J., Rocha, L., Ferreira, H., Castro, C., Carvalho, A., Silva, E., Brito, C., Gonçalves, A., Lima-Brito, J., & Correia, C. 2019. Zinc priming and foliar application enhances photoprotection mechanisms in drought-stressed wheat plants during anthesis. Plant Physiology and Biochemistry, 140, 27-42. https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2019.04.028.

Pearson, J. N, Rengel, Z., Jenner, C. F., & Graham, R. D.1996. Manipulation of xylem transport affects Zn and Mn transport into developing wheat grains of cultured ears. Physiologia Plantarum, 98, 229-234. https://doi.org/10.1034/j.1399-3054.1996.980202.x.

Pearson, J. N., & Rengel, Z. 1995. Uptake and distribution of 65Zn and 54Mn in wheat grown at sufficient and deficient levels of Zn and Mn II. during grains development. Journal of Experimental Botany, 46, 841-845. https://doi.org/10.1093/jxb/46.7.841.

Pearson, J. N., Rengel, Z., Jenner, C. F., & Graham, R. D. 1995 Transport of zinc and manganese to developing wheat grains. Physiologia Plantarum, 95, 449-455. https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1995.tb00862.x.

Poblaciones, M. J., & Rengel, Z. 2017. Combined foliar selenium and zinc biofortification in field pea (Pisum sativum): accumulation and bioavailability in raw and cooked grains. Crop and Pasture Science, 68, 265-271. https://doi.org/10.1071/CP17082.

Praharaj, S., Skalicky, M., Maitra, S., Bhadra, P., Shankar, T., Brestic, M., Hejnak, V., Vachova, P., & Hossain, A. 2021. Zinc Biofortification in food crops could alleviate the zinc malnutrition in human health. Molecules. 26, 3509. https://doi.org/ 10.3390/molecules26123509.

Read, T. L., Doolette, C. L., Li, C., Schjoerring, J. K., Kopittke, P. M., Donner, E., & Lombi, E. 2020. Optimising the foliar uptake of zinc oxide nanoparticles: Do leaf surface properties and particle coating affect absorption? Physiologia Plantarum, 170, 384-397. https://doi.org/10.1111/ppl.13167.

Saha, B. N., Saha, S., Saha, S., Deb Roy, P., Bhowmik, A., & Hazra, G. C. 2020. Zinc (Zn) application methods influences Zn and iron (Fe) bioavailability in brown rice. Cereal Research Communications, 48, 293-299. https://doi.org/10.1007/s42976-020-00038-9.

Sattar, A., Wang, X., Ul-Allah, S., Sher, A., Ijaz, M., Irfan, M., Abbas, T., Hussain, S., Nawaz, F., Al-Hashimi, A., Al Munqedhi, B. M., & Skalicky, M. 2022. Foliar application

of zinc improves morpho-physiological and antioxidant defense mechanisms, and agronomic grain biofortification of wheat (Triticum aestivum L.) under water stress. Saudi Journal of Biological Sciences, 29, 1699-1706. https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2021.10.061.

Shemi, R., Wang, R., Gheith, E. S. M. S., Hussain, H. A., Cholidah, L., Zhang, K., Zhang, S, & Wang, L. 2021. Role of exogenous-applied salicylic acid, zinc and glycine betaine to improve drought-tolerance in wheat during reproductive growth stages. BMC Plant Biology, 21, 1-15. https://doi.org/10.1186/s12870-021-03367-x

Stewart, R. R. C., & Bewley, J. D. 1980. Lipid peroxidation associated aging of soybean axes. Plant Physiology, 65, 245-248. https://doi.org/10.1104/pp.65.2.245.

Wang, S., Li, M., Liu, K., Tian, X., Li, S., Chen, Y., & Jia, Z. 2017. Effects of Zn, macronutrients, and their interactions through foliar applications on winter wheat grain nutritional quality. PloS One, 12, e0181276. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0181276

Wessells, K. R., & Brown, K. H. 2012. Estimating the global prevalence of zinc deficiency: results based on zinc availability in national food supplies and the prevalence of stunting. PLoS One, 7, e50568. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0050568

Xia, H., Xue, Y., Liu, D., Kong, W., Xue, Y., Tang, Y., Li, J., Li, D., & Mei, P. 2018. Rational application of fertilizer nitrogen to soil in combination with foliar Zn spraying improved Zn nutritional quality of wheat grains. Frontiers in Plant Science, 9, 677. https://doi.org/10.3389/fpls.2018.00677

Yang, D., Ni, R., Yang, S., Pu, Y., Qian, M., Yang, Y., & Yang, Y. 2021. Functional characterization of the Stipa purpurea P5CS gene under drought stress conditions. International Journal of Molecular Sciences, 22, 9599. https://doi: 10.3390/ijms22179599.

Zarea, M. J., & Karimi, N. 2023a. Grain yield and quality of wheat are improved through post-flowering foliar application of zinc and 6-benzylaminopurine under water deficit condition. Frontiers in Plant Science, 13, 1068649. https://doi.org/10.3389/fpls.2022.1068649.

Zarea, M. J., & Karimi, N. 2023b. Zinc-Regulated P5CS and sucrose transporters SUT1B expression to enhance drought stress tolerance in wheat. Journal of Plant Growth Regulation, 42, 5831-5841. https://doi.org/10.1007/s00344-023-10968-3.

Zhang, H., Richards, R. A., Riffkin, P., Berger, J. D., Christy, B., O'Leary, G., Acuña, T., & Merry, A. 2019. Wheat grain number and yield: The relative importance of physiological traits and source-sink balance in southern Australia. European Journal of Agronomy, 110, 125935. https://doi.org/10.1016/j.eja.2019.125935