نشریه علمی اکوفیزیولوژی گیاهان زراعی، جلد هجدهم، شماره ۱(۶۹)، بهار ۱۴۰۳، صفحه ۵۶-۳۷

مقاله پژوهشی DOI:

تغییرات برخی از صفات بیوشیمیایی و فیزیولوژیک جو در پاسخ به کاربرد بیوچار و متیل جاسمونات در شرایط تنش خشکی

سجاد نصیری[1*]، بابک عندلیبی[2]، افشین توکلی[2] و محمدامیر دلاور[3]

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۴/۲۰ تاریخ بازنگری: ۱۴۰۱/۶/۱۲ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۶/۲۰

چکیده

این آزمایش به‌منظور بررسی اثرات استفاده از سطوح مختلف بیوچار معدنی و محلول‌پاشی متیل جاسمونات بر برخی خصوصیات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی جو بهاره تحت شدت‌های مختلف تنش خشکی به صورت گلخانه‌ای انجام شد. در این آزمایش سطوح تنش، شامل آبیاری کامل (شاهد)، تنش ملایم (۶۰ درصد ظرفیت زراعی) و تنش شدید (۳۰ درصد ظرفیت زراعی)، سطوح بیوچار شامل صفر (شاهد)، ۱/۵ درصد وزن خاک و ۳ درصد وزن خاک و سطوح محلول‌پاشی متیل جاسمونات شامل صفر (شاهد)، ۷۵ و ۱۵۰ میکرومول بر لیتر بود. تنش خشکی هم در سطح ملایم و هم در سطح شدید باعث اختلاف معنی‌دار در صفات مورد مطالعه شد. اعمال تنش خشکی باعث کاهش سرعت فتوسنتز، هدایت روزنه‌ای، کارایی مصرف آب فتوسنتزی، شاخص سبزینگی و همچنین افزایش غلظت مالون‌دی‌آلدئید، پرولین و کربوهیدرات محلول شد اما استفاده از سطوح مختلف بیوچار در خاک و همچنین محلول‌پاشی متیل جاسمونات باعث بهبود این شاخص‌ها و صفات شدند. همچنین، استفاده از سطوح بالاتر این مواد، در بعضی از صفات و شاخص‌ها، اثرات مثبت قابل توجهی ایجاد نکرد. به نظر می‌رسد که استفاده از این مواد ضد تنش، روشی مطلوب در جهت مقابله با تنش کمبود آب باشد اما استفاده از سطوح بالاتر از مطلوب باعث ایجاد اثرات منفی خواهد شد.

واژگان کلیدی: تعرق، تنش خشکی، فتوسنتز، کربوهیدرات محلول، محتوای نسبی آب.

۱- دانش‌آموخته دکتری، گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان، زنجان، ایران.

۲- دانشیار گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان، زنجان، ایران.

۳- استاد گروه علوم خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان، زنجان، ایران.

(نگارنده مسئول) sajjadnasiri1989@yahoo.com

مقدمه

تنش خشکی می‌تواند به‌عنوان کمبود آب تعریف شود که باعث ایجاد اثرات مختلف مخرب بر خصوصیات مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی، بیوشیمیایی و در نهایت عملکرد گیاه شود (Sallam *et al*., 2019). حدود ۳۵ درصد از کشورهای در حال توسعه دارای شرایط اقلیمی نیمه خشک هستند که کمبود آب مانعی برای تولید محصولات زراعی می‌باشد (Naderi Zarnagh and Fotovat, 2017). این مشکل بزرگ محیطی می‌تواند باعث محدود شدن تولید گیاهان و کمبود منابع غذایی کافی برای جمعیت رو به رشد شود به نحوی که برخی محققان، کاهش عملکرد سالانه ناشی از خشکی را در جهان حدود ۱۷ درصد ذکر کرده‌اند که تا بیش از ۷۰ درصد در سال می‌تواند افزایش یابد (Kafi *et al*., 2010). خشکی، نه تنها روابط آبی گیاه را از طریق کاهش محتوای آب، کاهش فشار آماس و کاهش پتانسیل آبی کل تحت تاثیر قرار می‌دهد، بلکه موجب بسته شدن روزنه‌ها، کاهش محتوی نسبی آب، محدودیت تبادل گازی، کاهش تعرق و کاهش جذب کربن و در نهایت افت فتوسنتز نیز می‌شود (Guo *et al*., 2010). به‌عنوان یک پاسخ کلی، در شرایط تنش خشکی، گیاه جهت حفظ آب سلول اندام‌های مختلف روزنه‌های خود را می‌بندد و در نتیجه میزان فتوسنتز به‌دلیل کمبود میزان دی اکسید کربن کاهش می‌یابد و در چنین وضعیتی میزان تشکیل انواع اکسیژن فعال نظیر رادیکال سوپراکسید در کلروپلاست افزایش می‌یابد (Gill and Tuteia, 2010). انواع اکسیژن فعال باعث تخریب ماکرومولکول‌ها و پراکسیداسیون لیپیدهای غشا شده و بدین ترتیب تنش اکسیداتیو ناشی از وضعیت نامساعد خشکی به تسریع در پیری گیاهان منجر می‌شود (Sharma and Dubey, 2005).

جو با نام علمی (*Hordeum vulgare* L.) به عنوان یکی از مهم‌ترین غلات در سراسر دنیا کشت می‌شود که از نظر تولید در رتبه چهارم مهم‌ترین غلات بعد از ذرت، برنج و گندم قرار دارد. اهمیت جو به‌دلیل استفاده آن در سراسر جهان به‌عنوان یکی از منابع مهم تغذیه برای انسان‌ها و حیوان‌ها می‌باشد (Sallam *et al*., 2019). در ایران از لحاظ سطح زیرکشت جو بعد از گندم در رتبه دوم قرار دارد و میزان تولید جو در ایران در سال ۲۰۲۰ حدود سه میلیون و ۷۵۰ هزار تن با سطح زیر کشت حدود ۲ میلیون هکتار تخمین زده می‌شود (Anonymus, 2021). با وجود اینکه جو نسبت به سایر غلات دانه‌ریز به تنش خشکی متحمل‌تر است اما این گیاه در طی دوره رشد خود در دو مرحله ساقه روی و پس از گلدهی به تنش خشکی حساس‌تر بوده و کمبود آب در این مراحل باعث کاهش عملکرد می‌شود (Dolatpanah *et al*., 2013). تنش خشکی با کوتاه کردن دوره پرشدن دانه، باعث کاهش وزن هزار دانه، کاهش تعداد دانه و در نهایت کاهش عملکرد در جو می‌شود و بیشترین تاثیر آن در دوره پر شدن دانه است. در آزمایش منجم و همکاران (Monajem *et al*., 2011) اعمال تنش خشکی در مرحله گلدهی در کلزا باعث کاهش فتوسنتز، CO_2 اتاقک زیر روزنه، تعرق، هدایت روزنه‌ای و کارایی مصرف آب فتوسنتزی شد و با تشدید تنش خشکی میزان کاهش در این شاخص‌ها بیشتر بود. فاتح و همکاران (Fateh *et al*., 2012) نیز گزارش کردند که تعرق در مقایسه با فتوسنتز خالص حساسیت کمتری به تنش خشکی در جو نشان می‌دهد و پس از آبیاری

مجدد تعرق دوباره به حالت اولیه خود برمی‌گردد اما فتوسنتز خالص، کارایی مصرف آب فتوسنتزی و هدایت روزنه‌ای به شدت تحت تاثیر تنش خشکی قرار می‌گیرند.

بیوچار جسمی جامد، کربنی و متخلخل است که به‌واسطه تبدیل حرارتی- شیمیایی مواد آلی در یک محیط با محدودیت اکسیژن به‌وجود آمده و دارای خصوصیات فیزیکوشیمیایی مناسب برای ذخیره‌سازی امن و طولانی مدت کربن در محیط زیست و اصلاح خاک است (Karve *et al*., 2011). نتایج تحقیقات نشان داده که به‌دلیل خصوصیات بی‌نظیر فیزیکی، بیولوژیکی و بیوشیمیایی موجود در بیوچار میانگین زمان اقامت این ماده در خاک از صدها تا هزاران سال است (Verheijen *et al*., 2009). نتایج تحقیقات گویلی و همکاران (Gavili *et al*., 2016) نشان داد که در شرایط تنش خشکی با استفاده از بیوچار می‌توان باعث کاهش اثرات منفی تنش شد به‌نحوی که با افزایش شدت تنش، سطح برگ، وزن تر و وزن خشک کاهش یافت ولی با استفاده از بیوچار در سطح ۱/۲۵ درصد ضمن بهبود وضعیت این شاخص‌ها افزایش در عملکرد نسبت به شاهد بدون بیوچار نیز مشاهده شد. در مطالعه‌ای توسط اینال و همکاران (Inal *et al*., 2019) بر روی تاثیر بیوچار و میکوریزا در تعدیل اثرات تنش خشکی در گیاه نخود مشخص شد که تنش خشکی اثر معنی‌داری بر طول ساقه و ریشه، تعداد شاخه‌های اولیه و ثانویه و سطح برگ نسبت به شاهد بدون بیوچار داشته و این شاخص‌ها را به شدت کاهش داد اما استفاده از بیوچار در تمامی صفات مورفولوژیک باعث بهبود وضعیت رشدی نسبت به شرایط تنش بدون بیوچار شد.

جاسمونات‌ها یک خانواده از اکسی لیپین‌ها هستند که در نتیجه اکسیژناسیون آنزیمی اسیدهای چرب غیراشباع ۱۶ و ۱۸ کربنی به وجود می‌آیند و همچنین می‌توانند توسط تعدادی از قارچ‌ها ساخته شوند (Wasternack, 2007). نتایج تحقیقات نشان داده‌اند که جاسمونات و مشتقات آن در طی زمان وقوع تنش خشکی تجمع پیدا می‌کنند (Andrade *et al*., 2017) و تولید و سیگنالینگ آن باعث تسریع پاسخ به تنش خشکی می‌شود (Seo *et al*., 2011). استفاده از انواع جاسمونات‌ها در شرایط تنش‌های محیطی مانند شوری و خشکی، باعث کاهش هدایت روزنه‌ای و افزایش مقاومت گیاه می‌شود (Salimi *et al*., 2015). نتایج تحقیقات فوگیت و همکاران (Fugate *et al*., 2018) نشان داد تیمار با متیل جاسمونات در سطح ۱ تا ۱۰ میکرومول می‌تواند اثرات تنش متوسط و شدیدی را بر محتوای نسبی آب، فتوسنتز خالص، کربن زیر روزنه و کارایی مصرف آب در چغندر قند کاهش داده و باعث تعدیل تاخیر در پسابیدگی و حفظ کارکرد دستگاه فتوسنتزی در شرایط تنش خشکی شود.

با توجه به اهمیت حیاتی در جهت یافتن راهی برای مقابله با شرایط تنش خشکی در گیاهان استراتژیک مانند گندم و جو و فراهم آوردن امنیت غذایی پایدار در وضعیت کمبود منابع آب، این آزمایش به‌منظور بررسی تاثیر کاربرد سطوح مختلف بیوچار معدنی و محلول پاشی هورمون متیل جاسمونات بر تغییرات صفات فتوسنتزی، بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی جو تحت تنش خشکی انجام شد.

مواد و روش‌ها

به‌منظور بررسی اثرات بیوچار معدنی و هورمون متیل جاسمونات در شرایط تنش خشکی

ملایم و شدید بر برخی خصوصیات بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی جو رقم آبیدر، آزمایشی به‌صورت فاکتوریل ۳ عاملی در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در ۵ تکرار در سال زراعی ۹۹-۱۳۹۸ در گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه زنجان به‌اجرا درآمد. در این آزمایش سه سطح تنش خشکی شامل شرایط بدون تنش با ۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی (شاهد)، تنش متوسط (۶۰ درصد ظرفیت زراعی) و تنش شدید (۳۰ درصد ظرفیت زراعی)، سه سطح استفاده از بیوچار در خاک (بدون بیوچار به‌عنوان شاهد، ۱/۵ ٪ و ۳ ٪ وزن خاک خشک) و سه سطح محلول‌پاشی متیل جاسمونات (صفر، ۷۵ و ۱۵۰ میکرومول بر لیتر) استفاده شد. بر این اساس وزن یک هکتار خاک را طبق وزن مخصوص ظاهری خاک (۱/۴۵ گرم بر سانتی‌متر مکعب) منطقه به‌دست آورده و با نسبت و تناسب مقدار بیوچار لازم برای استفاده در ۱۰ کیلو خاک محاسبه گردید. کشت در گلدان‌های ۱۰ کیلویی با ارتفاع ۳۰ و قطر ۲۵ سانتی‌متر انجام و با در نظر گرفتن تراکم ۳۵۰ بوته در متر مربع تراکم مطلوب هر گلدان ۱۷ بوته تنظیم شد. صفات سرعت فتوسنتز (میکرومول CO_2 بر مترمربع در ثانیه)، غلظت CO_2 اتاقک زیر روزنه، سرعت تعرق (میلی‌مول H_2O بر مترمربع درثانیه) و هدایت روزنه‌ای (مول CO_2 بر مترمربع در ثانیه) با دستگاه فتوسنتزمتر IRGA (مدل LCA4) اندازه‌گیری شدند. بدین‌منظور در روز نمونه‌برداری از ساعت ۹ تا ۱۱ صبح اندازه‌گیری صفات از برگ پرچم صورت گرفت. برگ پرچم در اتاقک دستگاه قرار داده شده و پس از ثابت شدن پارامترها اعداد مؤلفه‌های فتوسنتزی یادداشت شد.

برای اندازه‌گیری محتوای نسبی آب (RWC) در ساعات اولیه صبح از آخرین برگ‌های بوته، به‌طور تصادفی نمونه‌برداری انجام شد. برگ‌های جدا شده از هر بوته به‌طور جداگانه در فویل آلومنیومی قرار داده شده و برای جلوگیری از تلفات آب، نمونه‌ها روی تکه‌های یخ به سرعت به آزمایشگاه منتقل و وزن تر آنها اندازه‌گیری شد. سپس برگ‌ها در آب مقطر به‌مدت ۲۴ ساعت در دمای اتاق و نور کم برای محاسبه وزن اشباع غوطه‌ور شدند و پس از این مدت نمونه‌ها به سرعت و با دقت با دستمال کاغذی خشک و وزن اشباع آنها اندازه‌گیری شد. نهایتاً برای اندازه‌گیری وزن خشک، نمونه‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۷۰ درجه سلسیوس در آون قرار گرفت و محتوای نسبی آب برگ طبق رابطه زیر به‌دست آمد:

$$RWC= (FW-DW / TW-DW) \times 100$$

در این معادله DW وزن نمونه خشک برگ، FW وزن تر برگ و TW وزن آماس است.

اندازه‌گیری شاخص سبزینگی با استفاده از دستگاه کلروفیل‌متر (مدل CCM-200) صورت گرفت به‌نحوی که شاخص سبزینگی برگ‌های پرچم از سه بوته مختلف از هر گلدان که به صورت تصادفی انتخاب شدند اندازه‌گیری و با میانگین‌گیری، عدد نهایی سبزینگی ثبت شد. جهت اندازه‌گیری میزان پرولین از روش بیتز (Bates, 1973) استفاده شد. برای این منظور، از تمامی گلدان‌ها مقداری برگ در مرحله گلدهی برداشت و در فریزر منفی ۸۰ درجه سلسیوس نگهداری شد. سپس با استفاده از ۱۰ میلی‌لیتر محلول اسید سولفوسالیسیلیک ۳ درصد نمونه‌های برگی کوبیده و پودر شدند. عصاره حاصل با دستگاه سانتریفیوژ با سرعت ۱۳۰۰۰ دور در دقیقه در دمای چهار درجه سلسیوس به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ شد. سپس ۲ سی‌سی از عصاره به لوله آزمایش انتقال و به لوله‌ها ۲ سی‌سی

محلول نین‌هیدرین و ۲ سی‌سی اسید استیک اضافه شد. برای تهیه محلول نین‌هیدرین ۲/۵ گرم نین‌هیدرین با ۶۰ سی‌سی اسید استیک و ۴۰ سی‌سی محلول اسید ارتوفسفریک مخلوط شد. پس از جوشاندن به‌مدت یک ساعت و سرد شدن دوباره نمونه‌ها، ۴ میلی‌لیتر تولوئن به فالکون‌های حاوی عصاره اضافه و در طول موج ۵۲۰ نانومتر جذب نمونه‌ها قرائت گردید. میزان نهایی پرولین با استفاده از رسم نمودار خطی استاندارد و به دست آوردن معادله استاندارد به‌دست آمد. اندازه گیری غلظت کربوهیدرات محلول با استفاده از روش سوموگی (Somogyi, 1952) انجام شد که در آن ۰/۲ گرم نمونه تازه برگی برداشت شده از برگ‌های میانی بوته با نیتروژن مایع هضم شده و ۳ سی‌سی اتانول ۹۵ درصد به آن اضافه و پس از مدتی با خالی کردن محلول رویی نمونه مقداری اتانول ۷۰ درصد به فالکون اضافه شد تا حجم آن به ۱۰ سی‌سی برسد و بعد از آن نمونه‌ها در ۲۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شده و پس از برداشت ۱۰۰ میکرولیتر از عصاره ایجاد شده همراه با ۳ میلی‌لیتر محلول آنترون و اسید سولفوریک میزان جذب نمونه در طول موج ۶۲۵ نانومتر قرائت شد.

غلظت مالون دی‌آلدهید (MDA) نیز با روش هیث و پیکر (Heath and Packer, 1968) اندازه گیری شد. برای این منظور با محلول TBA (تیوباربیتوریک اسید) و TCA (تری کلرواستیک اسید) محلول‌های معرف آماده شد. برای ساخت محلول معرف ۱/۵ گرم TBA با ۶۰ گرم TCA در ۳۰۰ سی‌سی آب مقطر حل شد. یک محلول جداگانه TCA یک درصد با نسبت ۱ گرم TCA در ۱۰۰ سی‌سی آب مقطر حل شده و آماده گردید. ۰/۲ گرم نمونه برگی کوبیده شده و ۵ سی‌سی TCA یک درصد اضافه گردید. سپس عصاره‌های استخراج شده سانتریفیوژ شده و ۱ سی‌سی از عصاره سانتریفیوژ شده با ۴ سی‌سی از محلول ترکیبی TBA و TCA حل شد. فالکون-های حاوی عصاره، جوشانده شده و بعد از سرد شدن جذب در طول موج ۵۳۲ و ۶۰۰ نانومتر قرائت شد. برای محاسبه غلظت نهایی از ضریب خاموشی مالون‌دی‌آلدهید ($۱۵۵\ mM^{-1}.cm^{-1}$) استفاده شد. واحد مالون دی آلدئید میکروگرم بر گرم وزن تر می‌باشد.

داده‌های به‌دست آمده به کمک نرم‌افزار SAS مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد.

نتایج و بحث

بررسی‌ها نشان داد که اثر متقابل تنش در متیل جاسمونات، باعث ایجاد تغییرات معنی‌دار در سرعت فتوسنتز، هدایت روزنه‌ای و هدایت مزوفیلی، کارایی مصرف آب فتوسنتزی، شاخص سبزینگی، پرولین، مالون‌دی‌آلدهید و کربوهیدرات محلول در سطح احتمال یک درصد شد اما تاثیری بر میزان محتوای نسبی آب برگ، دی‌اکسید کربن اتاقک زیر روزنه، تعرق و کارایی لحظه‌ای مصرف آب نداشت. اثر متقابل تنش و بیوچار تغییراتی معنی‌دار در سرعت فتوسنتز، هدایت روزنه‌ای، هدایت مزوفیلی، کارایی لحظه‌ای و فتوسنتزی مصرف آب، میزان پرولین و کربوهیدرات محلول در سطح یک درصد ایجاد کرد و باعث ایجاد تغییرات معنی‌دار در شاخص سبزینگی در سطح احتمال پنج درصد گردید. بررسی داده‌های حاصل از آنالیز اثر متقابل بیوچار و متیل جاسمونات نشان داد که صفات فتوسنتز، هدایت روزنه‌ای و هدایت مزوفیلی، شاخص سبزینگی و محتوای

پرولین تحت تاثیر معنی‌دار اثر متقابل بیوچار و متیل جاسمونات در سطح احتمال یک درصد قرار گرفتند و اثر متقابل بیوچار در متیل جاسمونات بر کارایی فتوسنتزی مصرف آب در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار بود. اثر متقابل سه گانه تنش، بیوچار و متیل جاسمونات باعث ایجاد تغییرات معنی‌دار در سرعت فتوسنتز و کارایی مصرف آب فتوسنتزی در سطح احتمال پنج درصد و بر هدایت مزوفیلی و محتوای پرولین در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود اما بر بقیه صفات مورد مطالعه اثر معنی‌دار نداشت (جداول ۱ و ۲).

در این آزمایش نتایج مقایسه میانگین اثر متقابل تنش خشکی و متیل جاسمونات نشان داد که کاهش فراهمی آب باعث کاهش هدایت روزنه-ای نسبت به شرایط شاهد شد و با افزایش شدت تنش از سطح ملایم به شدید کاهش هدایت روزنه‌ای بیشتر شد، اما محلول‌پاشی ۷۵ میکرومول بر لیتر متیل جاسمونات باعث کاهش اثرات تنش خشکی گردید، به‌نحوی که کمترین هدایت روزنه-ای در ۳۰ درصد ظرفیت زراعی و بدون مصرف متیل جاسمونات مشاهده شد (۰/۰۲۴میلی‌مول بر مترمربع در ثانیه) در حالی‌که بیشترین هدایت روزنه‌ای در شرایط آبیاری نرمال و با محلول‌پاشی ۷۵ میکرومول بر لیتر متیل جاسمونات مشاهده شد (۰/۰۸۲ میلی‌مول بر مترمربع در ثانیه). استفاده از غلظت بالاتر از متیل جاسمونات برای محلول‌پاشی (۱۵۰ میکرومول بر لیتر) اثرات چندان مثبتی بر این صفت نداشت (جدول ۳). کاهش هدایت روزنه‌ای در اثر تنش خشکی در آزمایش‌های مختلفی گزارش شده است (Jalalvand *et al*., 2018; Fateh *et al*., 2012., Roohi *et al*., 2013). در آزمایش سلام و همکاران (Sallam *et al*., 2019) در خصوص تاثیر تنش خشکی بر خصوصیات فتوسنتزی و رشدی جو و گندم اعلام کردند با اعمال تنش خشکی هدایت روزنه‌ای و هدایت مزوفیلی کاهش می‌یابند. این موضوع به خاطر این است که در شرایط تنش خشکی گیاهان روزنه‌های خود را جهت جلوگیری از اتلاف آب می‌بندند و این موضوع باعث کاهش فراهمی مداوم دی‌اکسیدکربن برای گیاه، کاهش فتوسنتز، کاهش متابولیسم مواد و کاهش آسیمیلاسیون دی‌اکسیدکربن شده و توانایی گیاهان برای تولید ماده خشک را کاهش می‌دهد (Centritto *et al*., 2009; Noman *et al*., 2018). با توجه به کاهش فتوسنتز در شرایط تنش خشکی و کاهش شدیدتر هدایت مزوفیلی در مقایسه با هدایت روزنه‌ای می‌توان گفت که اثر محدود کنندگی مقاومت روزنه‌ای در شرایط تنش، کمتر از مقاومت مزوفیلی بوده است، بنابراین در صورتی که کاهش فتوسنتز با افزایش یا ثبات غلظت دی‌اکسیدکربن درون روزنه‌ای همراه باشد می‌توان گفت که عوامل غیرروزنه‌ای محدود کننده فتوسنتز هستند (Andalibi and Noori, 2014). در آزمایش دانش و همکاران (Danish *et al*., 2020)، استفاده از بیوچار باعث بهبود هدایت روزنه‌ای به میزان ۱۰۴ درصد بیشتر از گیاهان تیمار نشده با بیوچار در شرایط تنش خشکی شد. در آزمایش فوگیت و همکاران (Fugate *et al*., 2018) مشاهده شد که استفاده از متیل جاسمونات باعث افزایش هدایت روزنه‌ای گردید لذا به‌عنوان تعدیل کننده و پیشگیری‌کننده از اثرات منفی تنش خشکی معرفی شد اما در همین آزمایش در بعضی از موارد مشاهده شد که استفاده از متیل جاسمونات تاثیری بر هدایت روزنه‌ای گیاهان مورد مطالعه در شرایط تنش خشکی نداشت. در همین آزمایش هرچند تنش

خشکی باعث کاهش اندازه روزنه‌ها، هدایت روزنه-ای و سرعت تعرق شد اما محلول‌پاشی متیل جاسمونات باعث کاهش اثرات تنش خشکی و بهبود کارایی گیاه از لحاظ میزان تعرق، غلظت دی‌اکسیدکربن اتاقک زیر روزنه و محتوای نسبی آب برگ شد. هرچند که صدیق‌پور (Sedighpour, 2018) در آزمایش خود مشاهده کرد که استفاده از متیل جاسمونات باعث کاهش هدایت روزنه‌ای در گیاهان تنش دیده نخود می‌شود، این امر نشان‌دهنده اثر این ماده در جلوگیری از قرار گرفتن گیاهان در معرض تنش است و این اثرات متناقض به استفاده از سطوح و غلظت‌های مختلف از این ماده ربط داده شده است. اثر متقابل تنش در بیوچار نیز باعث تغییرات جالبی در هدایت روزنه‌ای شد به‌نحوی که مشاهده شد که هر چند با وقوع تنش خشکی کاهش هدایت روزنه‌ای اتفاق افتاد، اما تیمار گیاهان با بیوچار هم در شرایط آبیاری نرمال و هم در شرایط تنش خشکی باعث بهبود هدایت روزنه‌ای گردید و بالاترین هدایت روزنه‌ای در شرایط آبیاری کامل و با تیمار ۱/۵ درصد وزن خاک بیوچار مشاهده شد، درحالی‌که کمترین هدایت روزنه‌ای در شرایطی ایجاد شد که گیاهان تحت تنش ۳۰ درصد ظرفیت زراعی قرار گرفتند و هیچ مقداری از بیوچار را دریافت نکردند (جدول ۴). در آزمایش دانش و همکاران (Danish *et al.*, 2020) استفاده از بیوچار باعث بهبود هدایت روزنه‌ای به میزان ۱۰۴ درصد بیشتر از گیاهان تیمار نشده با بیوچار در شرایط تنش خشکی شد. اثر متقابل بیوچار در متیل جاسمونات نیز باعث تغییرات معنی‌دار در هدایت روزنه‌ای شد، به‌نحوی‌که استفاده همزمان از ۱/۵ درصد وزن خاک بیوچار و ۷۵ میکرومول بر لیتر باعث ثبت بالاترین هدایت روزنه‌ای (۰/۰۷۴ میلی‌مول بر مترمربع در ثانیه) گردید (جدول ۵).

اعمال تنش باعث کاهش شاخص سبزینگی (SPAD) در گیاهان شد اما استفاده از تیمار بیوچار و متیل جاسمونات اثر منفی تنش‌های شدید و ملایم را تا حدودی خنثی کرد. مقایسه میانگین اثر متقابل تنش خشکی و متیل جاسمونات نشان داد که با افزایش سطح تنش خشکی شدت کاهش سبزینگی بیشتر می‌شود اما استفاده از متیل جاسمونات باعث کاهش سرعت این روند شده و این شاخص را بهبود می‌دهد به نحوی‌که بیشترین شاخص سبزینگی در شرایط آبیاری نرمال و با استفاده از محلول‌پاشی ۷۵ میکرومول بر لیتر متیل‌جاسمونات ایجاد شد (۴۲/۹۱) و کمترین مقدار زمانی به‌دست آمد که گیاهان تحت تنش شدید (۳۰ درصد ظرفیت زراعی) قرار گرفته و محلول‌پاشی نشدند (جدول ۳). مقایسه میانگین اثر متقابل تنش خشکی و بیوچار نیز نشان داد که استفاده از بیوچار می‌تواند به‌صورت مؤثری در جلوگیری از اثر تنش خشکی حتی در شرایط تنش‌های شدید بر شاخص سبزینگی عمل کند (جدول ۴). اثر متقابل بیوچار در متیل جاسمونات نیز باعث بهبود سطح شاخص سبزنگی شد و بیشترین مقدار این شاخص زمانی به‌دست آمد که ۷۵ میکرومول بر لیتر متیل جاسمونات همراه با ۱/۵ درصد وزن خاک بیوچار به‌صورت توام به کار برده شد (جدول ۵). نتایج این آزمایش با نتایج حاصل از مشاهدات حیدری و همکاران (Heydari *et al.*, 2014) مطابقت دارد. گفته می‌شود که کاهش میزان محتوای کلروفیل در شرایط تنش آبی، احتمالاً به‌دلیل افزایش تخریب این رنگیزه‌ها و یا کاهش ساخت آنها و همچنین، اختلال در فعالیت آنزیم‌های مسئول

تولید رنگدانه‌های فتوسنتزی است. در آزمایش صدیق‌پور (Sedighpour, 2018) مشاهده شد که تحت تنش خشکی محتوای کلروفیل برگ در گیاهان تنش دیده نخود به میزان ۴۴ درصد نسبت به گیاهان شاهد تنش ندیده کاهش یافت اما محلول‌پاشی متیل جاسمونات باعث افزایش محتوای کلروفیل تحت تنش خشکی شد. در بسیاری از گیاهان زراعی و باغی مشاهده شده است که تنش خشکی از طریق فعالیت آنزیم کلروفیلاز باعث کاهش غلظت کلروفیل می‌شود (Mohamed and Latif, 2017; Sheteiwy *et al*., 2018). اما استفاده از متیل جاسمونات از طریق جلوگیری از بروز تنش یا کاهش اثرات آن باعث افزایش محتوای کلروفیل گیاه در شرایط تنش خشکی می‌شود که این موضوع در آزمایش‌های زیادی به‌اثبات رسیده است (Wu *et al*., 2012; Abdelgawad *et al*., 2014; Mohamed and Latif, 2017).

مقایسه میانگین اثر متقابل تنش خشکی در متیل جاسمونات نشان داد که تنش خشکی باعث افزایش چشم‌گیر غلظت مالون‌دی‌آلدهید شد، اما استفاده از متیل جاسمونات سطح این ماده را هم در شرایط آبیاری نرمال و هم در شرایط تنش خشکی ملایم و شدید کاهش داد، به‌نحوی‌که بیشترین غلظت مالون‌دی‌آلدهید در شرایط تنش خشکی شدید (۲/۰۲ نانومول بر گرم وزن‌تر) و کمترین مقدار در شرایط شاهد بدون تنش و با استفاده از ۷۵ میکرومول بر لیتر متیل جاسمونات به‌دست آمد (جدول ۳). نتایج مطالعه گنجی و همکاران (Ganji *et al*., 2015) در خصوص تغییرات خصوصیات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی ژنوتیپ‌های جو در شرایط تنش خشکی نشان داد که با اعمال تنش خشکی میزان غلظت مالون‌دی آلدهید افزایش می‌یابد و با افزایش شدت تنش مقدار غلظت این ماده بیشتر هم می‌شود. افزایش نسبی غلظت MDA در شرایط تنش متوسط نشان‌دهنده وقوع تنش اکسیداتیو و افزایش شدید آن در تنش‌های شدید نشان‌دهنده کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی است که این موضوع به معنای این است که در شرایط تنش متوسط انواع اکسیژن فعال به‌طور مؤثر توسط سیستم دفاع آنتی اکسیدانی جمع‌آوری می‌شوند و در دوره‌هایی از استرس شدیدتر میزان تولید انواع اکسیژن فعال بر میزان جمع‌آوری آنها توسط مکانیسم‌های دفاعی غلبه کرده و در نهایت منجر به بروز تنش اکسیداتیو به سلول‌ها آسیب می‌رسد (Shadmand and Afkari, 2018). محققین افزایش غلظت مالون‌دی‌آلدهید را در شرایط تنش در گیاهان مختلف گزارش کرده‌اند (Ahmed *et al*., 2013). فوگیت و همکاران (Fugate *et al*., 2018) بیان کردند که استفاده از محلول‌پاشی متیل جاسمونات هم در گیاهان تنش ندیده (آبیاری نرمال) و هم در گیاهان تحت تنش ملایم و شدید باعث کاهش پراکسیداسیون چربی‌های غشا شد.

مقایسه میانگین اثر متقابل تنش خشکی در متیل جاسمونات نشان داد که تنش خشکی باعث افزایش شدید قندهای محلول در گیاهان تنش دیده می‌شود به‌نحوی‌که بیشترین سطح کربوهیدرات محلول در شرایط تنش شدید مشاهده شد (۲۵۰/۵۳ میلی‌گرم بر گرم) اما با استفاده از متیل جاسمونات مقدار غلظت قندهای محلول هم در گیاهان تنش دیده و هم شاهد کاهش داشت و کمترین تجمع قندهای محلول (۹۳/۵۶ میلی‌گرم بر گرم) در شرایط آبیاری نرمال و استفاده از ۷۵ میکرومول بر لیتر متیل جاسمونات ایجاد شد (جدول ۳). کربوهیدرات‌ها

به‌عنوان مولکول‌های سیگنال عمل می‌کنند و در سازوکارهای سازگاری گیاه نقش دارند و باعث تغییر بیان بسیاری از ژن‌های متابولیکی می‌گردند و افزایش کربوهیدرات‌های محلول ممکن است ناشی از کاهش نیاز به مواد فتوسنتزی به‌دلیل کاهش رشد، سنتز این ترکیبات از مسیرهای غیرفتوسنتزی و همچنین تخریب کربوهیدرات‌های نامحلول باشد (Ehdaei *et al.*, 2006). در شرایط تنش، افزایش غلظت کربوهیدرات‌های محلول در آب باعث حفظ تورژسانس سلول‌های برگ، حفاظت غشای سلولی و بازداری از تخریب پروتئین‌ها می‌شود، همچنین، از طریق تأمین انرژی مورد نیاز گیاه از مرگ حتمی آن جلوگیری می‌کند (Xue *et al.*, 2015). مقایسه میانگین اثر تنش خشکی در بیوچار نیز باعث ایجاد تغییرات معنی‌دار در غلظت کربوهیدرات محلول شد و هر چند با وقوع تنش خشکی مقدار غلظت قندهای محلول افزایش می‌یابد اما در گیاهان تیمار شده با بیوچار کاهش قابل توجهی در غلظت این مواد دیده شد (جدول ۴). در آزمایش حافظ و همکاران (Hafez *et al.*, 2020) مشاهده شد که غلظت کربوهیدرات محلول، ساکارز و نشاسته در جو در شرایط وقوع تنش خشکی به‌شدت افزایش و با استفاده از بیوچار این شاخص‌ها کاهش یافت. این امر نشان‌دهنده اثر بیوچار در تقلیل اثرات تنش خشکی در گیاهان می‌باشد.

در این آزمایش مقایسه میانگین اثر متقابل تنش خشکی و بیوچار نشان داد که تنش خشکی باعث کاهش کارایی لحظه‌ای مصرف آب شد و با افزایش شدت تنش از ملایم به شدید این کاهش بیشتر بود. کمترین کارایی لحظه‌ای مصرف آب (۱/۶۷ $\mu mol\ CO_2.mmol\ H_2O^{-1}$) در شرایط تنش شدید در اثر استفاده از بیوچار ۱/۵ درصد وزن خاک مشاهده شد در صورتی‌که بیشترین مقدار (۲/۶۰ $\mu mol\ CO_2.mmol\ H_2O^{-1}$) مربوط به شرایط شاهد بدون تنش و استفاده از ۱/۵ درصد وزن خاک بیوچار بود (جدول ۴). در آزمایش جلالوند و همکاران (Jalalvand *et al.*, 2018) نیز همین نتایج مشاهده شد که به‌دلیل کاهش هر دو شاخص سرعت فتوسنتز و هدایت روزنه‌ای در شرایط تنش خشکی می‌باشد اما به نظر می‌رسد که از آنجایی‌که استفاده از بیوچار باعث حفظ آب در خاک و منطقه توسعه ریشه و در نتیجه جلوگیری از وقوع تنش خشکی می‌شود، بنابراین با افزایش سطح فتوسنتز و بهبود هدایت روزنه‌ای این شاخص بهبود می‌یابد.

به‌طورکلی، تنش خشکی باعث کاهش سرعت فتوسنتز در دو سطح تنش ملایم و تنش شدید شد، اما کاهش سرعت فتوسنتز در اثر تنش خشکی با استفاده از بیوچار و محلول‌پاشی متیل جاسمونات تعدیل گردید. بیشترین سرعت فتوسنتز در شرایط بدون تنش و با استفاده از ۱/۵ درصد بیوچار بر وزن خاک و محلول‌پاشی ۱۵۰ میکرومول بر لیتر متیل جاسمونات به‌دست آمد (۱۰/۵۹ $\mu mol\ CO_2.m^{-2}.sec^{-1}$). کمترین سرعت فتوسنتز نیز در شرایط تنش شدید (۳۰ درصد ظرفیت زراعی) و بدون استفاده از بیوچار و متیل جاسمونات ایجاد شد (۰/۹۶ $\mu mol\ CO_2.m^{-2}.sec^{-1}$). در این آزمایش مشاهده شد که استفاده از بیوچار و متیل جاسمونات باعث بهبود سرعت فتوسنتز هم در شرایط آبیاری نرمال و هم در شرایط تنش ملایم و شدید شد (شکل ۱). در آزمایش فاتح و همکاران (Fateh *et al.*, 2012) مشاهده شد که تنش خشکی باعث کاهش سرعت فتوسنتز برگ پرچم در جو شد که مشابه این نتایج در بسیاری از آزمایش‌های دیگر گزارش شده

است (Stiller *et al*., 2005; Ratnayaka and Kincaid, 2005). گفته شده است که یکی از دلایل کاهش سرعت فتوسنتز در شرایط تنش خشکی تسریع پیری برگ و انتقال مجدد نیتروژن از برگ به دانه است که منجر به کاهش ظرفیت فتوسنتزی گیاهان می‌شود (Rohi and Siosemardeh., 2008). دانش و همکاران (Danish *et al*., 2020) مشاهده کردند که با استفاده از بیوچار سرعت فتوسنتز گیاهان تنش دیده بهبود یافته و به میزان ۳۳ درصد افزایش یافت. نتایج آزمایش هاشم و همکاران (Hashim *et al*., 2019) نشان داد که استفاده از بیوچار باعث بهبود شاخص‌های هدایت روزنه‌ای، تراکم روزنه‌ای و سرعت فتوسنتز در نخود در شرایط شاهد شد و کاهش این شاخص‌ها را در اثر تنش خشکی به حد قابل توجهی تعدیل کرده و باعث بهبود سرعت فتوسنتز در گیاهان مورد مطالعه شد. همچنین افزایش سرعت فتوسنتز در بادام‌زمینی در اثر مصرف بیوچار در شرایط تنش خشکی در آزمایش ژو و همکاران (Xu *et al*., 2015) نیز گزارش شده است که دلیل آن افزایش تثبیت کربن و نیتروژن در اثر استفاده از بیوچار، افزایش تولید رنگیزه‌های فتوسنتزی از جمله کلروفیل و افزایش ظرفیت نگهداری آب در خاک عنوان شده است (Rao and Chaitanya, 2016). ما و همکاران (Ma *et al*., 2014) گزارش کردند که محلول‌پاشی متیل جاسمونات در شرایط تنش خشکی باعث بهبود خصوصیات فتوسنتزی در گندم از جمله هدایت روزنه‌ای، تعرق و فتوسنتز شده و اثرات منفی تنش خشکی را تعدیل می‌کند. مشخص شده که استفاده از متیل جاسمونات باعث تحریک بسته شدن روزنه ها شده و این عامل باعث کاهش اثرات تنش می‌شود (Ma *et al*., 2014). در آزمایش فوگیت و همکاران (Fugate *et al*., 2018) علی‌رغم کاهش ۶۰ درصدی سرعت فتوسنتز تحت تنش خشکی، محلول‌پاشی متیل جاسمونات باعث بهبود سرعت فتوسنتز در شرایط تنش خشکی در چغندرقند شد.

بیشترین هدایت مزوفیلی در شرایط شاهد بدون تنش و با استفاده از ۱۵۰ میکرومول بر لیتر متیل جاسمونات و ۱/۵ درصد بیوچار در خاک مشاهده شد و کمترین مقدار در شرایطی ایجاد شد که گیاهان تحت تنش شدید قرار گرفته و هیچ مقادیری از بیوچار و محلول‌پاشی متیل جاسمونات را دریافت نکردند (شکل ۲). نتایج آزمایش‌ها نشان داده است که تنش خشکی باعث کاهش میزان هدایت مزوفیلی می‌شود که مربوط به کاهش سرعت فتوسنتز است (Jalalvand *et al*., 2018) که مشخصاً با افزایش سرعت فتوسنتز از طریق اعمال تیمارهای بیوچار و متیل جاسمونات، هدایت مزوفیلی نیز بهبود می‌یابد.

کارایی مصرف آب فتوسنتزی در اثر تنش خشکی دچار کاهش شد و این کاهش هم در شرایط تنش ملایم و هم در شرایط تنش شدید مشاهده و بالاترین کارایی مصرف آب فتوسنتزی در بدون تنش و با استفاده از ۳ درصد بیوچار در خاک و ۱۵۰ میکرومول بر لیتر متیل جاسمونات دیده شد و کمترین مقدار در شرایطی حاصل شد که گیاهان دچار تنش شدید بوده و ۳ درصد وزن خاک بیوچار دریافت کرده بودند (شکل ۳).

تنظیم اسمزی یکی از مولفه‌های اصلی فیزیولوژیکی در گیاهان در پاسخ به تنش خشکی است. افزایش مواد اسمزی به دو صورت جذب مواد معدنی به‌ویژه پتاسیم و یا تولید ترکیبات آلی مانند برخی از اسیدهای آمینه مانند پرولین امکان پذیر است که در شرایط تنش غلظت این مواد

افزایش می‌یابد و انباشت آنها در شرایط تنش علاوه بر تامین انرژی و جلوگیری از مرگ گیاه، باعث کاهش پتانسیل اسمزی سلول شده و از طریق تنظیم اسمزی باعث بالاتر نگهداشته شدن میزان آب نسبی در گیاه تنش و به این ترتیب باعث مقاومت نسبی به شرایط تنش می‌شود (Hafez *et al*., 2020). در این آزمایش، تنش خشکی باعث افزایش شدید محتوای پرولین هم در شرایط تنش ملایم و هم در تنش شدید شد اما با استفاده از بیوچار و متیل جاسمونات این افزایش تعدیل شد (شکل ۴). بالاترین غلظت پرولین در شرایط تنش شدید و بدون استفاده از بیوچار و متیل جاسمونات ایجاد شد در حالی‌که کمترین مقدار زمانی مشاهده شد که گیاهان تحت آبیاری نرمال قرار گرفته و ۱/۵ درصد بیوچار به همراه ۱۵۰ میکرومول بر لیتر متیل جاسمونات دریافت کرده بودند. نتایج این آزمایش با نتایج حاصل از مشاهدات شادمند و افکاری (Shadmand and Afkari, 2018) مطابقت دارد. در آزمایش حافظ و همکاران (Hafez *et al*., 2020) نیز مشاهده شد که استفاده از بیوچار باعث کاهش تجمع پرولین در شرایط تنش شد. به نظر می‌رسد که متیل جاسمونات پس از تحریک اولیه تولید پرولین و در پی کاهش شدت تنش، با مهار القای آنزیم‌های تولید کننده پرولین اثر کاهشی خود را القا کرده و تجزیه پرولین یا کاهش تولید آن در پی کاهش تنش ممکن است خود تامین کننده عوامل مورد نیاز فسفوریلاسیون اکسیداتیو میتوکندریایی و تولید ATP برای ترمیم صدمات ناشی از تنش باشد). فوگیت و همکاران (Fugate *et al*., 2018) گزارش کردند که مقدار غلظت پرولین تحت تنش خشکی ۳۳۵ درصد افزایش یافت اما استفاده از غلظت‌های مختلف متیل جاسمونات باعث کاهش اثرات تنش و کاهش تجمع پرولین در گیاهان مورد مطالعه شد اما در شرایط عدم تنش هیچ‌کدام از غلظت‌های متیل جاسمونات تاثیری برمیزان تجمع پرولین نداشتند.

نتیجه‌گیری کلی

با توجه به نتایج به‌دست آمده در این مطالعه، مشخص شد که تنش خشکی چه در سطوح ملایم و چه در سطوح شدید باعث اثرات مخرب بر کارکرد دستگاه فتوسنتزی، صفات بیوشیمیایی و وضعیت فیزیولوژیکی گیاه دارد. همان‌طور که عنوان شد تنش خشکی باعث افزایش غلظت پرولین، کربوهیدرات محلول و مالون‌دی‌آلدهید و کاهش محتوای نسبی آب برگ شد و همچنین موجب اختلال در عملکرد دستگاه فتوسنتزی گردید. اما استفاده از مقادیر بهینه محلول‌پاشی متیل جاسمونات و مصرف خاکی ۱/۵ درصد وزن خاک بیوچار، باعث بهبود شرایط برای گیاهان تنش دیده در هر دو سطح ملایم و شدید تنش خشکی شد. هرچند مشاهده شد که با افزایش سطوح استفاده از این مواد ضد تنش، اثرات نه چندان قوی و بلکه در بعضی از موارد اثرات منفی در گیاهان ایجاد شد. بنابراین، می‌توان از نتایج این آزمایش در جهت ترویج کاربرد از بیوچار در خاک و محلول‌پاشی متیل جاسمونات در زمان گلدهی در شرایط مواجهه با کمبود آب جهت جلوگیری از اثرات منفی تنش خشکی و کاهش عملکرد اقتصادی استفاده کرد، هر چند این توصیه، نیازمند آزمایش‌های بیشتر در گیاهان مختلف و با سطوح کاربرد مختلف از بیوچار و متیل جاسمونات می‌باشد.

جدول ۱- نتایج تجزیه واریانس اثر تنش، متیل جاسمونات و بیوچار بر صفات فتوسنتزی

Table 1- Analysis of variance of effects of stress, methyl Jasmonate and Biochar on photosynthetic characteristics

منابع تغییرات S.O.V.	درجه آزادی df	فتوسنتز photosyntesis	دی اکسید کربن اتاقک زیر روزنه Ci	تعرق E	هدایت روزنه‌ای Gs	هدایت مزوفیلی Mc	کارایی لحظه ای مصرف آب Instant water use efficiency	کارایی مصرف آب فتوسنتزی Photothyntetic water use efficiency
بلوک (block)	4	0.21^{ns}	211.42^{ns}	0.14^{ns}	0.0001^{ns}	0.0000^{ns}	0.29^{ns}	55.09^{ns}
تنش (stress)	2	345.81**	78568.80**	37.21**	0.0177**	0.0126**	6.17**	32496.65**
متیل جاسمونات (Methyl Jasmonat)	2	22.85**	21095.82**	3.07**	0.0025**	0.0019**	2.66**	1516.82**
بیوچار (Biochar)	2	31.15**	32808.07**	5.40**	0.0035**	0.0029**	0.34^{ns}	899.85**
تنش× متیل جاسمونات (S × mJ)	4	3.19**	1569.99^{ns}	0.25^{ns}	0.0009**	0.0003**	0.16^{ns}	749.68**
تنش × بیوچار(S×B)	4	2.34**	111.53^{ns}	0.08^{ns}	0.0004**	0.0006**	0.46**	587.03**
بیوچار× متیل جاسمونات (B × mJ)	4	2.99**	1152.39^{ns}	0.14^{ns}	0.0007**	0.0005**	0.20^{ns}	413.40*
تنش× متیل جاسمونات×بیوچار S × Mj × B	8	0.60*	713.39^{ns}	0.14^{ns}	0.0001^{ns}	0.0001**	0.20^{ns}	348.71*
خطا (Error)	104	1.92	2694.42	0.34	0.0002	0.0002	0.33	231.70
ضریب تغییرات ٪ (C.V.)		13.57	17.14	18.80	19.98	18.55	17.02	15.40

ns،* و ** به ترتیب نشاندهنده فاقد تفاوت معنی دار و معنی دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد می‌باشد.

ns, * and ** are non-significant and significant at 5% and 1% probability levels.

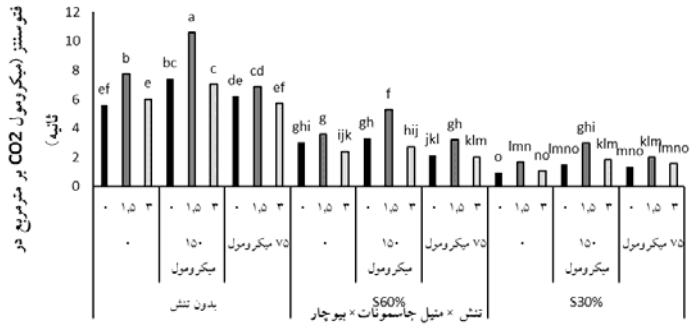
جدول ۲- نتایج تجزیه واریانس اثر تنش، متیل جاسمونات و بیوچار بر برخی از صفات بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی

Table 2- Analysis of variance of effects of drought stress, methyl Jasmonate and Biochar on some of biochemical and physiological characteristics

منابع تغییرات S.O.V.	درجه آزادی df	شاخص سبزینگی SPAD	محتوای نسبی آب RWC	پرولین Proline	مالون دی آلدهید MDA	کربوهیدرات محلول Soluble carbohydrate
بلوک (block)	4	119.96 ^{ns}	52.84^{ns}	0.10^{ns}	0.02^{ns}	1378.84 ^{ns}
تنش (stress)	2	2542.34**	2146.67**	62.36**	13.26**	182467.14**
متیل جاسمونات (Methyl Jasmonat)	2	417.15**	390.51**	2.53**	0.74**	9013.95**
بیوچار (Biochar)	2	382.66**	611.12**	4.34**	0.89**	20629.00**
تنش× متیل جاسمونات (S × mJ)	4	75.75**	65.04^{ns}	1.21**	0.12**	4800.71**
تنش × بیوچار(S×B)	4	62.30*	28.01^{ns}	1.60**	0.05^{ns}	4385.89**
بیوچار× متیل جاسمونات (B × mJ)	4	150.26**	85.15^{ns}	0.24**	0.04^{ns}	834.19 ^{ns}
تنش× متیل جاسمونات×بیوچار S × Mj × B	8	16.19^{ns}	9.40^{ns}	0.34**	0.02^{ns}	441.17 ^{ns}
خطا (Error)	104	20.42	61.50	0.26	0.02	590.51
ضریب تغییرات ٪ (C.V.)	-	14.29	11.64	18.65	12.45	15.05

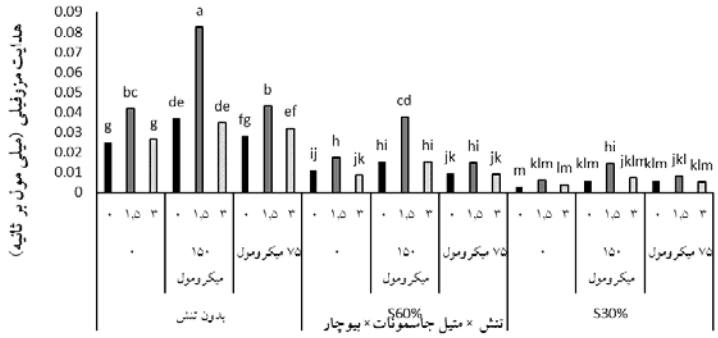
ns،* و ** به ترتیب نشاندهنده فاقد تفاوت معنی دار و معنی دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد می‌باشد.

ns, * and ** are non-significant and significant at 5% and 1% probability levels.



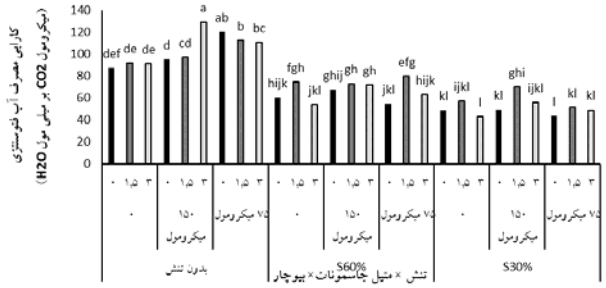
شکل ۱- تغییرات سرعت فتوسنتز در شرایط تنش خشکی با استفاده از بیوچار و محلول‌پاشی متیل جاسمونات

Figure 1- Changes in net photosynthesis rate of barley under drought stress using biochar and methyl Jasmonate



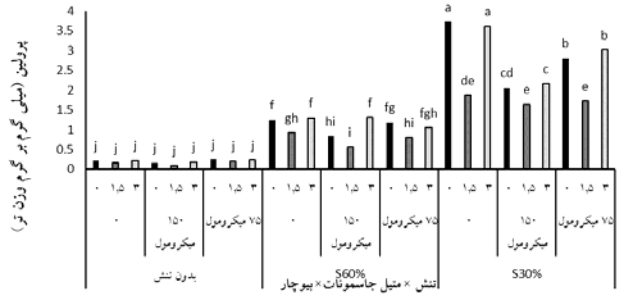
شکل ۲- تغییرات هدایت مزوفیلی در جو در شرایط تنش خشکی با استفاده از بیوچار و محلول پاشی متیل جاسمونات

Figure 2- Changes in stomatal conductance of barley under drought stress using biochar and methyl Jasmonate



شکل ۳- تغییرات کارایی مصرف آب فتوسنتزی در جو در شرایط تنش خشکی با استفاده از بیوچار و محلول‌پاشی متیل جاسمونات

Figure 3- Changes in photosynthetic water use efficiency of barley under drought stress using biochar and methyl Jasmonate



شکل ۴- تغییرات محتوای پرولین در جو در شرایط تنش خشکی با استفاده از بیوچار و محلول‌پاشی متیل جاسمونات

Figure 4- Changes in proline content of barley under drought stress using biochar and methyl Jasmonate

جدول ۳- مقایسه میانگین اثرات متقابل تنش و متیل جاسمونات بر برخی از صفات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه

Table 3- Comparison of the mean interaction of drought stress and methyl Jasmonate on some physiological and biochemical parameters

تنش stress	متیل جاسمونات Methyl Jasmonate	هدایت روزنه‌ای Gs ($cm.sec^{-1}$)	شاخص سبزینگی SPAD	مالون دی آلدهید MDA ($nmol.g^{-1}$ FW)	کربوهیدرات Carbohydrate ($mg.g^{-1}$ FW)
Regular Irrigation	Control	0.071a	38.16b	0.73f	97.23f
	75 µmol/liter	0.082a	42.91a	0.60g	93.56f
	150 µmol/liter	0.055b	35.43b	0.78f	97.06f
S 60% - FC	Control	0.045bc	30.37c	1.31d	159.51d
	75 µmol/liter	0.052b	35.73b	1.10e	147.73e
	150 µmol/liter	0.035cd	30.47c	1.27d	188.25d
S 30% - FC	Control	0.024d	19.54e	2.02a	250.53a
	75 µmol/liter	0.034cd	26.61d	1.60c	193.96c
	150 µmol/liter	0.033d	25.35d	1.74b	224.93b

میانگین‌های با حروف مشابه در هر ستون بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی‌داری ندارند.

Means with similar letters based on Duncan test showed no significant difference at 5% probability level.

جدول۴- مقایسه میانگین اثرات متقابل تنش و بیوچار بر برخی از صفات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه

Table 4- Comparison of the mean interaction of drought stress and Biochar on some physiological and biochemical parameters

تنش stress	بیوچار Biochar ($g.kg^{-1}$)	هدایت روزنه‌ای Gs ($cm.sec^{-1}$)	کارایی لحظه ای مصرف آب IWUE ($\mu molCO_2.mol\ H_2O^{-1}$)	شاخص سبزینگی SPAD	کربوهیدرات Carbohydrate ($mg.g^{-1}$ FW)
Regular Irrigation	control	0.065b	2.53ab	37.63b	96.69d
	1.5%	0.085a	2.60a	42.90a	91.53e
	3%	0.059bc	2.43b	35.97b	99.63d
S 60% - FC	control	0.042d	1.71de	28.30c	168.31b
	1.5%	0.053c	2.02c	36.98b	140.64c
	3%	0.037de	2.08c	31.29c	186.54b
S 30% - FC	control	0.027e	1.80d	23.79d	239.22a
	1.5%	0.036de	1.67e	24.98d	180.24b
	3%	0.029e	2.05c	22.73d	249.95a

میانگین‌های با حروف مشابه در هر ستون بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی‌داری ندارند.

Means with similar letters based on Duncan test showed no significant difference at 5% probability level.

جدول ۵- مقایسه میانگین اثرات متقابل متیل جاسمونات و بیوچار بر برخی از صفات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه

Table 5- Comparison of the mean interaction of methyl Jasmonate and Biochar on some physiological and biochemical parameters

متیل جاسمونات Methyl Jasmonate	بیوچار Biochar ($g.kg^{-1}$)	شاخص سبزینگی SPAD	هدایت روزنه‌ای Gs ($cm.sec^{-1}$)
Control	control	29.71bc	0.043bc
	1.5%	30.19bc	0.053b
	3%	28.18c	0.047bc
75 µmol/liter	control	29.65bc	0.052b
	1.5%	42.15a	0.074a
	3%	32.44b	0.042bc
150 µmol/liter	control	29.30bc	0.039c
	1.5%	32.52b	0.047bc
	3%	29.43bc	0.038c

میانگین‌های با حروف مشابه در هر ستون بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی‌داری ندارند.

Means with similar letters based on Duncan test showed no significant difference at 5% probability level.

References منابع مورد استفاده

- Abdelgawad, Z.A., A.A. Khalafaallah, and M.M. Abdallah. 2014. Impact of methyl jasmonate on antioxidant activity and some biochemical aspects of maize plant grown under water stress condition. *Journal of Agricultural Sciences.* 5: 1077-1088.
- Andalibi, B., and F. Noori. 2014. Effect of cycocel on photosynthetic activity and essential oil of fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.) under drought stress. *Iranian Journal of Plant Biology.* 6(22): 91-104. (In Persian).
- Andrade, A., M. Escalante, A. Vigliocco, M.D.C. Tordable, and S. Alemano. 2017. Involvement of jasmonates in responses of sunflower (*Helianthus annuus*) seedlings to moderate water stress. *Journal of Plant Growth Regulation*. 83: 501–511.
- Anonymus. 2021. Barley production quantity. 2021. https://knoema.com/atlas/Iran/topics/Agriculture/Crops-Production-Quantity-tonnes/Barley-production
- Bates, L. 1973. Rapid determination of free Prolin for water stress studies. *Plant and Soil*. 39:205-207.
- Centritto, M., M. Lauteri, M.C. Monteverdi, and R. Serraj. 2009. Leaf gas exchange, carbon isotope discrimination, and grain yield in contrasting rice genotypes subjected to water deficits during the reproductive stage. *Journal of Experimental Botany.* 60: 2325–2339.
- Danish, S., M. Zafar-ul-hye, S. Fahad, S. Saud, M. Brtnicky, T. Hammerschmiedt, and R. Datta. 2020. Drought stress alleviation by ACC Deaminase producing achromobacter xylosoxidans and enterobacter cloacae, with and without timber waste biochar in maize. *Journal of Sustainability*. 12: 1-17.
- Dolatpanah, T., M. Roustaii, F. Ahakpaz, and N. Moheb Alipour. 2013. Effect of drought stress on grain yield and yield components of winter and facultative barley genotypes in maragheh region. *Journal of Seed and Plant Improvement.* 29(2): 257-275. (In Persian).
- Farooq, M., A. Wahid, N. Kobayashi, D. Fujita, and S.M. Basra. 2009. Plant drought stress: effects, mechanisms and management. *Agronomy for Sustainable Development*. 29: 185-212
- Fateh, H., A. Siosemardeh, M. Karimpoor, and S. Sharifi. 2012. Effect of drought stress on photosynthesis and physiological characteristics of barley. *International Journal of Farming and Allied Sciences*. 1(2): 33-41
- Fugate, K.K., A.M. Lafta, D.J. Eide, G. Li, E.C. Lulai, L.L. Olson, E.L. Deckard, M.F.R. Khan, and L.F. Finger. 2018. Methyl jasmonate alleviates drought stress in young sugar beet (*Beta vulgaris* L.). *Journal of Plants*. 204: 566-576.
- Gavili, E., S.A.A. Mousavi, and A.A. Kamgar Haghighi. 2016. Effect of Cattle manure biochar and drought stress on the growth characteristics and water use efficiency of Spinach under greenhouse conditions. *Iranian Journal of Water Research in Agriculture*. 30(2): 243-259. (In Persian).
- Gill, S.S., and N. Tuteja. 2010. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant PHysiology and Biochemistry*. 48: 909-930.

- Guo, X.Y., X.S. Zhang, and Z.Y. Huang. 2010. Drought tolerance in three hybrid poplar clones submitted to different watering regimes. *Journal of Plant Ecology*. 3: 79–87.
- Hafez, Y., K. Attia, S. Alamery, A. AL-Doss, E. Ibrahim, E. Rashwan, L. El-Maghrraby, A. Awad, and K.H. Abdelaal. 2020. Beneficial efects of biochar and chitosan on antioxidative capacity, osmolytes accumulation, and anatomical characters of water-stressed barley plants. *Journal of Agronomy.* 10(630): 1-18.
- Hashem, A., A. Kumar, A.M. Al-Dbass, A.A. Alqarawi, A. Al-Arjani, G. Singh, M. Farooq, and E.F. Abd-Allah. 2019. Arbuscular mycorrhizal fungi and biochar improves drought tolerance in chickpea. *Saudi Journal of Biological Sciences*. 26: 614-624.
- Heath, R.L., and L. Packer. 1968. Photoperoxidation in isolated chloroplasts: I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 125: 189-198.
- Heydari, N., M. Pouryousef, and A. Tavakoli. 2014. Effects of drought stress on photosynthesis, its parameters and relative water content of anise (*Pimpinella anisum* L.). *Iranian Journal of Biology.* 27(5): 829-840. (In Persian).
- Inal, A., A. Gunes, O. Sahin, M.B. Taskin, and E.C. Kaya. 2019. Impacts of biochar and processed poultry manure, applied to a calcareous soil, on the growth of bean and maize. *Soil Use Manage*. 31: 106–113
- Jalalvand, A., B. Andalibi, A. Tavakoli, and P. Moradi. 2018. Evaluation the effects of cycocel and salicylic acid on some physiological characteristic and essential oil under normal and drought conditions in medical plant dragonhed (*Dracocephalum moldavica* L.). *Journal of Plant Production*. 24(4): 111-128. (In Persian).
- Kafi, M., A. Zand, B. Kamkar, A. Mahdavidamghani, and F. Abbasi. 2010. Plant physiology (Translation). Second Edition. Publication of Jahad Daneshgahi of Mashhad. 568p.
- Karve, P., S. Shackley, S. Carter, P. Anderson, R. Prabunhe, A. Cross, S. Haszeldine, S. Haefele, T. Knowles, J. Field, and P. Tanger. 2011. Biochar for carbon reduction, sustainable agriculture and soil management (biocharm). A Report for the APN (Asia Pacific Network for Climate Change Research).
- Keshavarznia, R., M. Shahbazi, V. Mohammadi, G. Hosseini Salekdeh, A. Ahmadi, and A. Mohseni Fard. 2015. The impact of barley root structure and physiological traits on drought response. *Iranian Journal of Field Crop Science.* 45(4): 553-563. (In Persian).
- Ma, C., Z.Q. Wang, L.T. Zhang, M.M. Sun, and T.B. Lin. 2014. Photosynthetic responses of wheat (*Triticum aestivum* L.) to combined effects of drought and exogenous methyl jasmonate. *Journal of Photosynthetica.* 52(3): 377-385.
- Mohamed, H.I., and H.H. Latif. 2017. Improvement of drought tolerance of soybean plants by using methyl jasmonate. *Physiology and Molecular Biology of Plants*. 23(3): 545-556.
- Monajem, S., A. Ahmadi, and V. Mohammadi. 2011. Effect of drought stress on photosynthesis, partitioning of photo-assimilates and grain yield in Rapeseed cultivars. *Iranian Journal of Crop Sciences.* 13(3): 533-547. (In Persian).
- Naderi Zarnagh, R., and R. Fotovat. 2017. Evaluation of drought tolerance of some winter wheat genotypes. *Journal of Crop Ecophysiology*. 10: 945-958. (In Persian).

- Noman, A., Q. Ali, J. Naseem, M.T. Javed, H. Kanwal, W. Islam, M. Aqeel, N. Khalid, S. Zafar, and M. Tayyeb. 2018. Sugar beet extract acts as a natural bio-stimulant for physio-biochemical attributes in water stressed wheat (*Triticum aestivum* L.). *Acta Physiolgy Plantarum.* 40: 1-17.
- Rao, D.E., and K.V. Chaitanya. 2016. Photosynthesis and antioxidative defense mechanisms in deciphering drought stress tolerance of crop plants. *Biologia Plantarum*. 60 (2): 201–218.
- Ratnayaka, H.H., and D. Kincaid. 2005. Gas exchange and leaf ultrastructure of tinnevelly senna, *Cassia angustifolia*, under drought and nitrogen stress. *Crop Science*. 45: 840–7.
- Riemann, M., R. Dhakerey, M. Hazman, B. Miro, A. Hohli, and P. Nick. 2015. Exploring jasmonates in the hormonal network of drought and salinity responses. *Frontiers in Plant Science. 6:* 1-16.
- Rivelli, A.R., R.A. James, R. Munns, and A.G. Condon. 2002. Effects of salinity on water relations and growth of wheat genotypes with corresponding sodium uptake. *Functional Plant Biology*. 24:16-129.
- Roohi, E., Z. Tahmasebi-Sarvestani, S.A.M. Modarres-Sanavy, A. Siosemardeh. 2013. Comparative study on the effect of soil water stress on photosynthetic function of triticale, bread wheat, and barley. *Journal of Agricultural Science and Technology*. 15: 215-228.
- Rouhi, A., and A. Siosemardeh. 2008. Study on gas exchange in different wheat (*Triticum aestivum* L.) genotypes under moisture stress conditions. *Journal of Seed and Plant*. 24 (1): 45 – 62. (In Persian).
- Sairam, R.K., and G.C. Srivastava. 2001. Water stress tolerance of wheat (*Triticum aestivum* L.) variations in hydrogen peroxide accumulation and antioxidant activity in tolerant and susceptible genotypes. *Journal of Agronomy and Crop Science*. 186: 63-70.
- Salimi, F., F. Shekari, and J. Hamzei. 2015. Effect of salinity stress and foliar application of methyl jasmonate on photosynthetic rate, stomatal conductance, water use efficiency and yield of German chamomile. *Iranian Journal of Field Crop Research*. 12(2): 328-334. (In Persian).
- Sallam, A., A. Alqudah, M. Dawood, P. Baenziger, and A. Borner. 2019. Drought stress tolerance in wheat and barley. *Advances in Physiology, Breeding and Genetics Research.* 20(3137): 1-36.
- Sedighpour, O. 2018. Drought tolerance of cowpea enhanced by exogenous application of methyl jasmonate. *Internatonal Journal of Modern Agriculture.* 7(4): 59-51.
- Seo, J.S., J. Joo, M.J. Kim, Y.K. Kim, B.H. Nahm, S.I. Song, and Y.D. Choi. 2011. OsbHLH148, a basic helix-loop-helix protein, interacts with OsJAZ proteins in a jasmonate signaling pathway leading to drought tolerance in rice. *The Plant Journal*. 65: 907–921.
- Shadmand, H., and A. Afkari. 2018. The effect of superabsorbent polymer application on some biochemical traits and relative water content of bean cultivars under drought tension. *Journal of Crop Physiology*. 10(39): 61-77. (In Persian).

- Sharma, P., and R.S. Dubey. 2005. Drought induces oxidative stress and enhances the activities of antioxidant enzymes in growing rice seedlings. *Journal of Plant Growth Regualtion.* 46: 209-221.
- Sheteiwy, M.S., D. Gonga, Y. Gaoa, R. Pana, J. Hua, and Y. Guana. 2018. Priming with methyl jasmonate alleviates polyethylene glycol-induced osmotic stress in rice seeds by regulating the seed metabolic profile. *Environmental and Experimental Botany.* 153: 236-248.
- Somogyi, M. 1952. Notes on sugar determination. *Journal of Biological Chemistry*. 195: 19–23.
- Stiller, W.N., J.J. Read, G.A. Constable, and P.E. Reid. 2005. Selection for water use efficiency traits in a cotton breeding program cultivar differences. *Crop Science*. 45: 1107–13.
- Verheijen, F.G.A., S. Jeffery, A.C. Bastos, M. van der Velde, and I. Diafas. 2009. Biochar application to soils - A Critical Scientific Review of Effects on Soil Properties, Processes and Functions. EUR 24099 EN, Office for the Official Publications of the European Communities, Luxembourg, pp. 149.
- Wang, H., R.L. Liu, and J.Y. Jin. 2009. Effects of zinc and soil moisture on photosynthetic rateand chlorophyll fluorescence parameters of maize. *Biologia Plantarum*. 53(1): 191-194.
- Wasternack, C. 2007. Jasmonates: an update on biosynthesis, signal transduction and action in plant stress response, growth and development. *Annual Botany*. 100: 681–697.
- Wu, H., X. Wu, Z. Li, L. Duan, and M. Zhang. 2012. Physiological evaluation of drought stress tolerance and recovery in cauliflower (*Brassica oleracea* L.) seedlings treated with methyl jasmonate and coronatine. *Journal of Plant Growth Regulation.* 31: 113-123.
- Xu, C.Y., S. Hosseini-Bai, Y. Hao, R.C. Rachaputi, H. Wang, Z. Xu, and H. Wallace. 2015. Effect of biochar amendment on yield and photosynthesis of peanut on two types of soils. Environmental Science and Pollution Research. 22 (8): 6112–6125
- Yokota, A., S. Kawasaki, and M. Iwano. 2002. Citrulline and DRIP-1 protein (ArgE Homologue) in drought tolerance of wild watermelon. *Annual Botany*. 89: 825-832.

Research Article DOI:

Changes in some of the Biochemical and Physiological Characterisctics of Barley in Response to Application of Biochar and Methyl Jasmonate under Drought Stress

Sajjad Nasiri [1*], Babak Andalibi[2], Afshin Tavakkoli[3] and Mohammad Amir Delavar[4]

Received: July 2022 , Revised: 3 September 2022, Accepted: 11 September 2022

Abstract

This experiment was conducted in order to investigation the effects of using different quantities of mineral biochar and spraying of methyl Jasmonate on some of the physiological and biochemical characteristics of spring barley under moderate and severe levels of drought stress at the experimental greenhouse of the university of Zanjan as a factorial experiment in randomized complete block design in pots in five replications in 2019-2020. In this experiment levels of stress included in three levels of drought stress (100% FC as the none stressed, 60% FC as the mild stress and 30% FC as the severe stress), biochar application before cultivation in three levels (without biochar, 1.5 % and 3% of the soil weight) and foliar spraying of methyl Jasmonate in three levels (0, 75 and 150 µmol per liter). Results showed that drought both in moderate and in severe levels caused significant difference in studied factors. Drought led to reduction in photosynthesis, stomatal conductance, photosynthetic water use efficiency, SPAD index as well as increasing in concentration of MDA, proline and soluble carbohydrate but using different levels of biochar in soil and spraying Methyl Jasmonate caused enhancement in these characteristics. Although using higher levels of these materials didn't have considerable positive effects on studied factors. Moreover, application of higher levels of these materials, did not make considerable positive effects in some attributes and indexes. It seems that using these anti-stress substances, can be a stimulating approach against lack of water, however, utilization of higher levels can be more disastrous for crop plants.

Key words: Drought stress, Photosynthesis, Relative water content, Soluble carbohydrate, Transpiration.

1- Ph.D. Department of Production and plant genetics, Faculty of Agriculture, University of Zanjan, Zanjan, Iran.
2- Associate Prof., Department of Plant Production and Genetic, Faculty of Agriculture, University of Zanjan, Zanjan, Iran.
3- Prof., Department of Soil Sience, Faculty of Agriculture, University of Zanjan, Zanjan, Iran.
**Corresponding Authors: sajjadnasiri1989@yahoo.com*