



واکنش‌های بیوشیمیایی برگ و ریشه ذرت به تنش هم‌زمان شوری و خشکی

سعیده مرزوان^۱، *محمدحسین محمدی^۲ و فرید شکاری^۳

^۱دانش آموخته دکتری گروه علوم خاک، دانشگاه زنجان، ^۲دانشیار گروه علوم خاک، دانشگاه تهران،

^۳دانشیار گروه علوم خاک، دانشگاه زنجان

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۵/۲۲، تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۸/۱۸

چکیده

سابقه و هدف: مدیریت آبیاری و استفاده از آبیاری بخشی ریشه تحت شرایط شور یکی از راه‌کارهای تولید پایدار در کشاورزی محسوب می‌شود. تولید گونه‌های فعال اکسیژن و تجمع سیتوپلاسمی اسمولیت‌ها یکی از عمومی‌ترین واکنش‌های گیاهی در پاسخ به تنش‌های شوری و کم‌آبی در این شرایط می‌باشد. با این وجود مطالعات اندکی در زمینه سازوکارهای گیاهی از جمله تغییرات آنزیم‌ها و تنظیم‌کننده‌های اسمزی سلولی، تحت سطوح یکسان پتانسیل اسمزی و ماتریک بر دو سمت ریشه گیاه در شرایط تنش هم‌زمان شوری و کم‌آبی و تفاوت آن با شرایط تنش مجزا صورت گرفته است. هدف از این مطالعه بررسی اثر مدیریت آبیاری بخشی بر تغییرات فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز و کاتالاز و محتوی پرولین در برگ و ریشه تحت مقادیر متفاوت از سطوح یکسان پتانسیل‌های اسمزی و ماتریک، در آبیاری بخشی ریشه ذرت رقم فجر (سینگل کراس ۲۶۰)، می‌باشد.

مواد و روش‌ها: آزمایش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار با دو فاکتور شامل، نوع تنش (تنش شوری، تنش خشکی و تنش توأم) و سطح پتانسیل (۱۱۲-، ۱۱۹- و ۳۶۳- کیلوپاسکال)، تحت شرایط گلخانه‌ای انجام شد. بستر کشت در تیمارهای توأم توسط نایلون ضخیم و ناتراوا به دو قسمت برابر برای پخش یکنواخت و مساوی ریشه گیاه تقسیم گردید. در تنش توأم نیمی از ریشه تحت تنش شوری و نیم‌دیگر تحت تنش خشکی (در سطوح متناظر و برابر پتانسیل اسمزی و ماتریک) قرار گرفت. به جهت زهکشی در تیمارهای شوری از تانسومترهای دست‌ساز استفاده شد. اندازه‌گیری آنزیم کاتالاز، آنزیم پراکسیداز، پروتئین کل و پرولین در دو سمت اندام هوایی و دو سمت ریشه صورت گرفت. هم‌چنین وزن خشک کل و ریشه گیاه ذرت محاسبه گردید.

یافته‌ها: نتایج نشان داد با کاهش سطح پتانسیل، فعالیت آنزیم پراکسیداز و کاتالاز ریشه فقط در تیمارهای خشکی مجزا و بخش خشکی از تیمار توأم، دارای روند مشابه (افزایشی) بود. در بخش خشکی از تیمار توأم نسبت به تیمار خشکی مجزا، با کاهش سطح پتانسیل، فعالیت آنزیم پراکسیداز ریشه ۱۸/۵ درصد افزایش و فعالیت آنزیم کاتالاز ریشه ۶/۲۸ درصد کاهش یافت. در سطح پتانسیلی ۳۶۳- کیلوپاسکال، وزن خشک ریشه در تیمار خشکی به ترتیب ۴۸/۳ و ۳۱ درصد نسبت به تیمار شوری و توأم افزایش یافت. با وجود تغییرات متفاوت در مقدار صفت‌های اندازه‌گیری‌شده در تنش‌های شوری، خشکی و توأم، در یک پتانسیل یکسان، تفاوت معنی‌داری در وزن خشک کل مشاهده نگردید.

* مسئول مکاتبه: mhmohmad@ut.ac.ir

نتیجه‌گیری: گیاه ذرت با وجود سطوح پتانسیل اسمزی و ماتریک یکسان در هر دو سمت ریشه، رفتارهای فیزیولوژیکی و مورفولوژیکی یکسانی را از خود نشان نداد. در سطوح پایین پتانسیل اسمزی، استفاده از سیستم آبیاری بخشی ریشه با آب شور در تیمار توأم، تنش کمتری را نسبت به تیمار مجزای شوری به گیاه وارد خواهد کرد. به نظر می‌رسد تعدیل در واکنش‌های بیوشیمیایی گیاه یکی از علل موفقیت روش آبیاری بخشی ریشه با آب شور باشد. بنابراین در حال حاضر با توجه به کمبود منابع آب‌های شیرین، سیستم آبیاری بخشی ریشه با آب شور به‌عنوان یک سیستم تقریباً مطلوب نسبت به سایر سیستم‌های آبیاری کامل ریشه با آب شور توصیه می‌شود.

واژه‌های کلیدی: پتانسیل اسمزی، تانسومتر، شوری خاک، متابولیت‌های ثانویه

مقدمه

شور شدن خاک بر عملکرد زیست‌محیطی خاک اثر گذاشته و رشد گیاهان را تحت‌تأثیر قرار می‌دهد (۳۶). انباشت انتخابی یا حذف یون‌ها، کنترل جذب یون‌ها توسط ریشه‌ها و انتقال به برگ‌ها، جداسازی یون‌ها در سطوح سلولی در کل گیاه، ساخت محلول‌های سازگار، تغییر در مسیر فتوسنتز، تغییر در ساختار غشاء، القاء آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و هورمون گیاهی از جمله روش‌های بیوشیمیایی است که گیاه در مقابله با تنش شوری در پیش می‌گیرد (۲۷).

تحت تنش شوری، انباشتگی سدیم در بافت‌ها سبب سمیت یونی و تغییر در جذب برخی از عناصر شده و نیز از طریق خسارت به سلول‌های برگ و ریشه گیاهانی هم‌چون ذرت که دارای دیواره نازک اپیدرم و سلول‌های مزوفیل برگ و پارانشیم کورتکس ریشه هستند، موجب آسیب به آناتومی اندام‌های گیاهی می‌شود (۱۳). افزایش غلظت کلرید سدیم در منطقه ریشه، پتانسیل آب را کاهش داده و سبب تنش اسمزی می‌گردد (۱). گیاه با تولید ترکیباتی مانند Polyols, Betaine, قندها و آمینو اسیدهایی مانند پرولین پتانسیل درون سلولی خود را کاهش می‌دهد (۲۰). تنش اسمزی به نوبه خود باعث ایجاد گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) و در نهایت تنش اکسیداتیو می‌شود (۲۵). گونه‌های فعال اکسیژن با ایجاد اختلال

در هم‌نوشتازی سلولی، آسیب به پروتئین‌ها، چربی‌ها و DNA سبب مرگ سلول و متعاقب آن از بین رفتن بافت‌های گیاهی خواهند شد (۳۴ و ۳۸).

پراکسید هیدروژن (H_2O_2) به‌عنوان یک از مهم‌ترین گونه‌های فعال اکسیژن که در اثر متابولیسم‌های غیرهوازی در گیاهان تولید می‌شود، در غلظت کم، به‌عنوان یک ملکول سیگنالی تنظیم‌کننده فرآیندهای بیولوژیکی و فیزیولوژیکی در شرایط تنش‌های زنده و غیرزنده عمل می‌کند (۳۳). تنش شوری به‌عنوان یک تنش غیرزنده سبب تغییرات بیان ژن کاتالاز و پراکسیداز نیز می‌شود (۴۰). آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز مهم‌ترین ترکیبات حذف‌کننده H_2O_2 محسوب می‌شوند (۲۲). از سوی دیگر کاهش مقدار کاتیون‌های تک‌ظرفیتی در سیتوسول سبب سنتز پرولین به جهت کم کردن تنش‌های اکسیداتیو وارد شده بر گیاه می‌گردد (۲۳ و ۳۷). افزایش مقدار پرولین تحت تنش شوری، که در مطالعات بسیاری گزارش گردیده است (۱۴، ۲۹ و ۳۲) سبب کاهش ROSها (۱۲) نیز خواهد شد.

گونه‌های فعال اکسیژن علاوه بر نقش پیام‌رسانی خود در تنش، با برهم‌زدن عملکرد غشا، آنزیم‌ها و دیواره سلولی سبب آسیب به بافت ریشه و اندام هوایی گیاهان می‌گردند (۲۴). با این حال هنگامی که فقط بخشی از ریشه گیاه در خاکی با شوری زیاد قرار

سانتی‌متر که برای تیمارهای توأم توسط یک غشای نایلونی ضخیم و غیرقابل نفوذ از قسمت میانی به دو بخش مساوی تقسیم شده بودند-کاشته شد. خاک مورد مطالعه دارای بافت لوم شنی و از عمق ۰ تا ۱۵ سانتی‌متری مزرعه دانشگاه زنجان با قابلیت هدایت الکتریکی ۰/۳۹ دسی‌زیمنس بر متر، واکنش خاک ۷/۶، نیتروژن کل ۰/۸ درصد، فسفر قابل استفاده ۲۲/۶ میلی‌گرم بر کیلوگرم، پتاسیم قابل استفاده ۲۴۴/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم، کربن آلی ۷/۳ گرم بر کیلوگرم و جرم مخصوص ظاهری ۱/۳۸ گرم بر سانتی‌مترمکعب بوده که بعد از عبور از الک ۶ میلی‌متر (جهت حفظ ویژگی‌های خاک مزرعه از جمله ساختمان و جرم مخصوص ظاهری خاک در گلدان‌ها و تشابه این ویژگی‌ها در مزرعه و خاک گلدان) مورد استفاده قرار گرفت. ۸/۵ کیلوگرم خاک در هر بخش گلدان ریخته شد. سپس مقداری خاک به ارتفاع حدود ۵ سانتی‌متر بر روی مرز بین دو بخش گلدان قرار گرفت و چهار عدد بذر ذرت بر روی این مرز کشت شد، تا پس از رشد، بخشی از ریشه به سمت راست و بخشی دیگر به سمت چپ هدایت گردد (شکل ۱). تا قبل از اعمال تیمار هر بخش از گلدان روزانه با ۴۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر آبیاری می‌گردید. با توجه به وجود تانسیومترهای دست‌ساز در داخل گلدان‌ها و قرارگیری تمامی گلدان‌ها در ارتفاع ۱۰۰ سانتی‌متری از سطح زمین (مکش ماتریک برابر)، آب مازاد بر نیاز گیاه توسط شیلنگ اتصال (شکل ۲) در بطری‌های مدرج هر تانسیومتر خارج می‌شد. تمامی گلدان‌ها بر روی سکوهایی مرتفع با طول تقریبی ۱۰۰ سانتی‌متر قرار گرفتند. با توجه به وجود تانسیومترهای دست‌ساز و تنظیم ارتفاع سطح کلاهک تانسیومتر (در داخل گلدان) تا سطح آب داخل بطری‌های مدرج در پایین سکو به ۱۰۰ سانتی‌متر، مکش ماتریک ۰/۱ بار در خاک تیمارها به‌طور مداوم برقرار بود. بنابراین با

بگیرد (تنش یا آبیاری بخشی ریشه)، گیاه آسیب کم‌تری را در مقایسه با زمانی که کل ریشه در معرض خاکی با شوری کم قرار دارد، متحمل می‌شود (۱۷). دی‌کاسیا آلوز و همکاران (۲۰۱۸) مشاهده کردند که مقدار پرولین گیاه در روش آبیاری بخشی ریشه تغییری نمی‌کند اما مقدار آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز افزایش می‌یابد (۱۰). این درحالی است که برخی مطالعات افزایش و برخی دیگر کاهش مقدار پرولین را تحت شوری و یا خشکی مجزا گزارش نموده‌اند (۱ و ۱۱). مطالعات بسیاری در مورد تغییرات آنزیم‌های اکسیداتیو و متابولیت‌های ثانویه در تنش‌های مجزای شوری و خشکی صورت گرفته است (۱۴، ۱۵ و ۲۵). با این حال عدم بررسی کافی تغییرات آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در سیستم‌های آبیاری بخشی ریشه و همچنین وجود گزارش‌های متفاوت و در برخی موارد متناقض، از تغییرات این فاکتورها در شرایط تنش مجزا و توأم شوری و خشکی، ضرورت بررسی علل این تغییرات را ایجاب می‌کند. هدف از مطالعه حاضر بررسی تغییرات آنزیم‌های پراکسیداز و کاتالاز، پرولین در دو بخش ریشه و اندام هوایی، تغییرات ریشه و عملکرد در سیستم‌های آبیاری بخشی ریشه گیاه ذرت است، در شرایطی که بخشی از ریشه تحت تنش شوری و بخشی دیگر تحت تنش خشکی قرار گرفته است.

مواد و روش‌ها

محیط و شرایط کشت: این پژوهش در گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه زنجان (۳۱' ۳۰" ۴۸° طول شرقی و ۵۸' ۴۰" ۳۶° عرض شمالی) با دامنه دمایی ۲۵ تا ۳۵ درجه سانتی‌گراد در روز و ۱۰ تا ۱۵ درجه سانتی‌گراد در شب انجام شد. چهار بذر ذرت دانه‌ای سینگل کراس رقم ۲۶۰ در گلدان‌های استوانه‌ای شکل به‌ترتیب با ارتفاع ۲۵ و شعاع ۱۲/۵

صورت وجود کمبود رطوبت خاک، آب از داخل بطری‌های مدرج توسط شیلنگ انتقال تانسومتر از طریق کلاهک به دلیل اختلاف پتانسیل آب، وارد خاک می‌شد.

افزایش هر مقدار از حجم آب وارد شده، تانسومترها بلافاصله مکش ماتریک خاک گلدان‌ها را به میزان مشخص می‌رساندند. از طرفی همواره در بطری مدرج انتهای تانسومتر مقدار مشخصی آب وجود داشت. در



(الف) (a)



(ج) (c)



(ب) (b)

شکل ۱- الف) چگونگی آماده‌سازی و پر کردن خاک در گلدان‌ها (ب) نحوه کاشت بذرها (ج) کلاهک تانسومتر دست‌ساز و شیلنگ اتصال.

Figure 1. a) How to prepare and fill the soil in pots b) How to plant seeds c) Handmade tensiometer cap and connecting hose.

۳۶۳- کیلوپاسکال و سه تکرار مورد مطالعه قرار گرفتند. اعمال تیمار از مرحله چهار برگی به مدت ۵۹ روز تا رسیدن گیاهان به مرحله تولید گل‌آذین نر (تاسل) انجام گرفت. برداشت از تمامی گیاهان پس از ظهور تاسل انجام گرفت و سپس اندام هوایی به مدت ۲۴ ساعت و ریشه‌ها به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد در آون خشک گردید.

تیمارهای پتانسیل اسمزی: با توجه به ویژگی‌های تحمل به شوری در ذرت (شیب کاهش عملکرد 12 dam.S^{-1} - آستانه کاهش $1/7 \text{ dS.m}^{-1}$) از سطوح

پس از رسیدن گیاهان به مرحله دو برگی، خاک اطراف ریشه بر روی میله به آرامی کنار زده شد تا از ریشه‌دوانی گیاه به دو سمت گلدان اطمینان حاصل گردد. سپس تنها یک گیاه با شرایط مطلوب‌تر برای اعمال تیمار در هر گلدان حفظ گردید.

تیمارهای آزمایشی: تیمارهای آزمایشی شامل (۱) تیمارهای پتانسیل اسمزی (تنش شوری)، (۲) تیمارهای پتانسیل ماتریک (تنش خشکی) و (۳) تیمارهای توأم پتانسیل اسمزی و ماتریک (تنش هم‌زمان شوری و خشکی) بودند که در سه سطح پتانسیل ۱۱۲، ۱۹۱- و

(۱)

$$OP = RT \frac{n_s}{V}$$

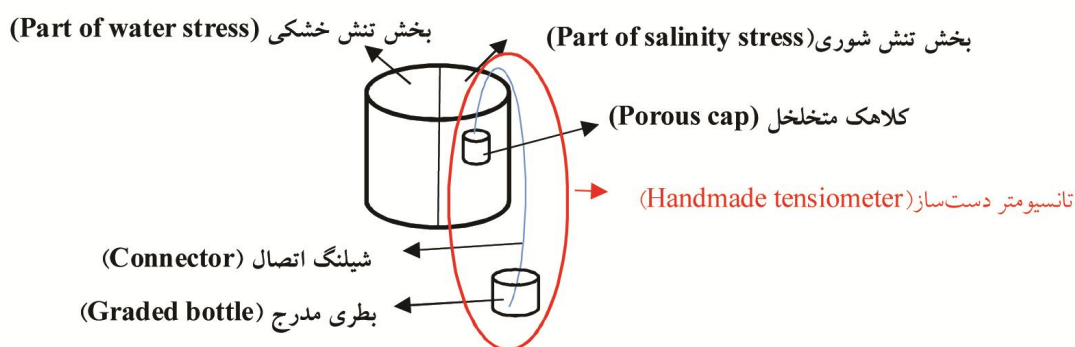
که در آن، OP فشار اسمزی بر حسب مگاپاسکال n_s تعداد مول‌های ماده حل شونده، V حجم حلال بر حسب مترمکعب، R ثابت جهانی گازها (۰/۰۸۲۰۶ MPa/K.mol) و T دمای مطلق بر حسب کلوین می‌باشد. طبق رابطه ۱ پتانسیل اسمزی معادل سطوح شوری ۳، ۵ و ۹ دسی‌زیمنس بر متر، به ترتیب برابر ۱۱۲، ۱۹۱- و ۳۶۳- کیلوپاسکال محاسبه گردید. سپس منحنی مشخصه آب خاک مورد مطالعه (داده‌های رطوبت خاک ($m^3.m^{-3}$) در برابر مکش ماتریک خاک (cm water) در مکش‌های ماتریک ۳۰ تا ۱۰۰ کیلو پاسکال توسط صفحات فشاری و در مکش‌های بالاتر از ۱۰۰ کیلو پاسکال توسط غشای فشاری اندازه‌گیری گردید (۹). رطوبت معادل با پتانسیل ماتریک ۱/۱۲-، ۱/۹۱- و ۳/۶۳- بار از روی منحنی رطوبتی خاک، تعیین گردید، که به ترتیب معادل ۱۶، ۱۳/۸ و ۹ درصد جرمی بود. در تیمارهای تنش خشکی، گلدان‌ها به صورت روزانه توزین و توسط آب مقطر آبیاری گردید تا درصد رطوبت مورد نظر در تیمارها در طول دوره آزمایش حفظ گردند. بدین صورت که با داشتن جرم خاک خشک اولیه و وزن گلدان، درصد رطوبت جرمی به صورت روزانه برای هر تیمار محاسبه گردید. درصد رطوبت جرمی تنش مورد نظر در هر تیمار از درصد جرمی رطوبت روزانه خاک کاسته شده و مقدار کمبود درصد رطوبت مورد نظر به دست آمد. مقدار حجم آب مورد نیاز برای رساندن درصد خاک به تنش خشکی مورد نظر محاسبه شده و آب مورد نظر به خاک گلدان‌ها اضافه می‌گردید.

شوری ۳، ۵ و ۹ دسی‌زیمنس بر متر استفاده گردید (۳۵). جهت اعمال تنش شوری از ترکیب دو نمک کلرید سدیم و کلرید کلسیم با نسبت ۲ به ۱ استفاده گردید (۸). سپس با استفاده از محلول فوق به عنوان محلول مادر، محلول‌هایی با قابلیت هدایت الکتریکی ۳، ۵ و ۹ دسی‌زیمنس بر متر ساخته شد. بدین ترتیب که مقدار ۱۱/۶۸۸ گرم کلرید سدیم (جرم ملکولی ۵۸/۴۴ گرم) و ۱۴/۷۰۲ گرم کلرید کلسیم آبدار (جرم ملکولی ۱۴۷/۰۲ گرم) در مقداری آب مقطر حل و به حجم یک لیتر رسانده شد. سپس ۳۵ میلی‌لیتر از محلول فوق به ۵۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر اضافه گردید هدایت الکتریکی محلول فوق ۳ دسی‌زیمنس بر متر بود. جهت تهیه محلول‌هایی با شوری ۵ و ۹ دسی‌زیمنس بر متر نیز به ترتیب ۶۳ و ۱۳۵ میلی‌لیتر از محلول مادر به ۵۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر اضافه گردید. تیمارهای تنش شوری به صورت روزانه توسط محلول‌های شور آبیاری شدند. جهت شستشوی خاک، زهکشی آب اضافی، ثابت نگه داشتن EC خاک و اندازه‌گیری مقدار آب جذب شده توسط گیاه، در تیمارهای تنش شوری از تانسیموترهای دست‌ساز استفاده گردید (شکل ۱). تانسیموترهای فوق شامل یک کلاهک سفالی متخلخل، شیلنگ اتصال و مخزن مدرج جهت اندازه‌گیری آب خروجی از گلدان بود جزئیات بیش‌تر در (۲۱) آمده است. این تانسیموترها با اعمال مکش، آب اضافی محیط ریشه را به سرعت خارج و مکش خاک را به ۰/۱ بار می‌رسانند. و به این ترتیب هم مکش و هم شوری خاک (توام با آبیاری‌های متوالی) را تثبیت می‌کنند.

تیمارهای پتانسیل ماتریک: جهت تعیین سطوح پتانسیل ماتریک برابر با پتانسیل اسمزی، ابتدا سطوح پتانسیل اسمزی معادل شوری‌های ۳، ۵ و ۹ دسی‌زیمنس بر متر با استفاده از رابطه وانت هوف به صورت زیر محاسبه گردید:

قطر دهانه گلدان عبور داده و قسمت انتهایی میله در دو سمت گلدان ثابت گردید. نایلونی که از دو سمت بسته بود و شکافی به صورت نیمه در وسط آن ایجاد شده بود، بر روی میله به صورت خورجینی قرار گرفت تا بستر کشت با نایلون پوشش داده شده و به دو قسمت مجزا تقسیم شود.

تیمارهای توأم پتانسیل اسمزی و ماتریک: تیمارهای توأم توسط یک غشای نایلونی ضخیم و غیرقابل نفوذ از قسمت میانی به دو بخش مساوی تقسیم شدند (شکل ۲). بدین ترتیب که ابتدا میله‌ای فلزی به قطر ۲ میلی‌متر را در ارتفاع ۲۲ سانتی‌متری به صورت افقی از



شکل ۲- نمایی از تیمارهای توأم با دو بخش مجزای تنش شوری و خشکی و اجزای تانسیومترهای مورد استفاده.

Figure 2. View of mix treatments with two separate sections of salinity and drought stress and components of tensiometers used.

استخراج عصاره آنزیمی و سنجش آنزیم کاتالاز و پراکسیداز: نمونه‌برداری بافت تازه گیاهی جهت اندازه‌گیری آنزیم‌ها، پروتئین و پرولین در مرحله ظهور سنبله از آخرین برگ تکامل‌یافته انجام شد و بلافاصله پس از برداشت از قسمت میانی طول ریشه نمونه‌برداری صورت گرفت. برای استخراج عصاره آنزیمی ۰/۱ گرم از بافت گیاهی تازه توسط ۲ میلی‌لیتر نیتروژن مایع خرد شده و به آن ۱ میلی‌لیتر بافر ۵۰ میلی‌مولار فسفات سدیم (شامل $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ و $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) با pH برابر ۷ اضافه گردید. مخلوط مورد نظر دمای چهار درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه با دور ۱۴۰۰۰ rpm سانتریفیوژ گردید. از محلول رویی حاصل از سانتریفیوژ جهت اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های

به عبارت دیگر، در این شرایط بخش تنش شوری روزانه با شوری‌های مورد نظر آبیاری شده و حجم آب خالص مصرفی از تفاضل آب آبیاری و زهکشی محاسبه گردید و سپس معادل آن حجم به بخش دیگر ریشه آب مقطر اضافه گردید. با توجه به این‌که بخش تحت تنش شوری نسبت به حالت بدون تنش (نیاز آبی واقعی) آب کم‌تری مصرف می‌کند، بنابراین اضافه کردن این مقدار آب به بخش دیگر ریشه، نیاز آبی ریشه را تأمین نکرده و آن را با تنش خشکی مواجه می‌سازد. شایان ذکر است که در این تیمارها، تانسیومترهای دست‌ساز صرفاً در بخش تنش شوری مورد استفاده قرار گرفتند. بنابراین بخش تنش خشکی در تیمار توأم و هم‌چنین تیمارهای پتانسیل ماتریک فاقد تانسیومترهای دست‌ساز بودند.

قرائت گردید. نتایج بر حسب میلی گرم برگرم وزن تر گزارش گردید.

طرح آزمایشی و تحلیل داده‌ها: آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با دو فاکتور انجام گرفت. فاکتور اول نوع تنش شامل (۱) تنش شوری، (۲) تنش خشکی و (۳) تنش توأم (هم‌زمان شوری و خشکی) و فاکتور دوم سطح پتانسیل در سه سطح شامل ۱۲۱-، ۱۱۹- و ۳۶۳- کیلوپاسکال در سه تکرار انجام گرفت. نرمال بودن داده‌ها توسط آزمون Shapiro-wilk انجام شد. سپس مقایسه میانگین‌ها به روش دانکن در سطح پنج درصد توسط نرم‌افزار SAS 9.4 مورد آزمون قرار گرفت.

نتایج و بحث

مقایسه تغییرات صفات اندازه‌گیری شده در تیمارهای شوری، خشکی و توأم: نتایج تجزیه واریانس (جدول ۱) نشان داد که تأثیر سطوح پتانسیلی مورد مطالعه و نوع تنش بر فعالیت آنزیم کاتالاز و پراکسیداز در برگ و ریشه گیاه ذرت و اثر متقابل آن‌ها در سطح یک درصد معنی‌دار است. نتایج برش‌دهی اثر متقابل سطوح پتانسیل در تنش‌های شوری و خشکی بر فعالیت ویژه آنزیم‌های پراکسیداز (POX) و کاتالاز (CAT) برگ و ریشه (جدول ۲) نشان داد که تحت تنش شوری با کاهش سطح پتانسیل تغییر معنی‌داری در فعالیت آنزیم POX برگ ایجاد نمی‌گردد، در حالی که با کاهش سطح پتانسیل از ۱/۱۲- تا ۳/۶۳- بار، مقدار این آنزیم در تیمارهای خشکی و توأم به ترتیب ۳۸ و ۲۴/۱۸ درصد افزایش یافت.

پراکسیداز، کاتالاز و پروتئین استفاده گردید (۲). بررسی میزان فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT) در محلول آزمایش با حجم نهایی ۳ میلی‌لیتر، شامل: بافر فسفات سدیم ۵۰ میلی‌مولار (pH=۷)، ۵۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی، ۱۵ میلی‌مولار پراکسید هیدروژن انجام شد. کاهش مقدار پراکسید هیدروژن در طول موج ۲۴۰ نانومتر به مدت یک دقیقه ثبت شد (۲). بررسی میزان اندازه‌گیری فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز (GPX)، در محلول آزمایش با حجم نهایی ۳ میلی‌لیتر، شامل: بافر فسفات سدیم ۵۰ میلی‌مولار (pH=۷) و ۱۵ میلی‌مولار پراکسید هیدروژن و ۱۰ میلی‌مولار گایاکول و ۵۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی تعیین گردید. افزایش جذب به وسیله تشکیل تترایاکول در طول موج ۴۷۰ نانومتر به مدت دو دقیقه ثبت شد. سپس فعالیت آنزیم به صورت تغییرات جذب در دقیقه به‌ازای هر گرم وزن تر در دقیقه بیان گردید (۷). جهت سنجش غلظت پروتئین کل از روش بردفورد (۱۹۷۶) استفاده گردید (۵). رسم منحنی استاندارد پروتئین، با استفاده از آلبومین گاوی انجام گرفت.

سنجش پرولین: محتوی پرولین برگ و ریشه به روش بتس و همکاران (۱۹۷۳) تعیین گردید (۴). در این روش نمونه‌برداری از برگ ۵ روز قبل از برداشت و نمونه‌برداری از ریشه بلافاصله پس از برداشت صورت گرفت. عصاره‌گیری توسط اسید Ninhydrin انجام گرفت و سپس محتوی پرولین توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (UV/VIS Perkin elmetr - Lambada 25-USA) در طول موج ۵۲۰ نانومتر

جدول ۱- تجزیه واریانس فعالیت ویژه آنزیم پراکسیداز (POX) و کاتالاز (CAT)، پرولین در برگ و ریشه، وزن خشک ریشه و وزن خشک کل (میانگین مربعات) گیاه ذرت در سطوح پتانسیلی مختلف تنش‌های شوری، خشکی و توأم.

Table 1. Analysis of variance of specific activity of peroxidase (POX) and catalase (CAT), proline in leaf and root, root dry weight and total dry weight (Mean square) of maize plant in different potential level of salinity, drought and mixed stress.

وزن خشک برگ	وزن خشک ریشه	پروکلین ریشه	پروکلین برگ	کاتالاز ریشه	پراکسیداز ریشه	کاتالاز برگ	پراکسیداز برگ	df	منابع
Total dry weight	Root dry weight	Root proline	Leaf proline	Root CAT	Root POX	Leaf CAT	Leaf POX		Sources
43.3*	1.38	1.38	9.2**	458.3**	$4.93^{**} \times 10^{-5}$	13.23**	$2.6^{**} \times 10^{-4}$	2	پتانسیل Potential
28.1	3.66**	3.66**	6.4**	103	$1.5^{**} \times 10^{-7}$	9.5**	$5.8^{**} \times 10^{-4}$	2	تنش Stress
8.53	3.05**	3.05**	0.63	$3.8^{**} \times 10^{-4}$	$8.2^{**} \times 10^{-5}$	4.7**	$7.8^{**} \times 10^{-3}$	4	پتانسیل × تنش Potential × Stress
9.2	0.5	0.5	0.31	75	10.04×10^{-5}	0.52	350.23	27	خطا Error
13.21	15.19	15.19	16.64	10.1	7.52	9	5.32		ضریب تغییرات CV

** و * به ترتیب معنی دار در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد می باشد.

** and * significant at 1 and 5%, respectively.

جدول ۲- مقایسه میانگین بردهی اثر متقابل سطوح مختلف پتانسیل در تنش‌های شوری، خشکی و توأم بر تغییرات فعالیت ویژه آنزیم پراکسیداز (POX) برگ و کاتالاز (CAT) در برگ و ریشه، پرولین ریشه و وزن خشک ریشه (میانگین مربعات) در گیاه ذرت.

Table 2. Compare means of slicing interaction different potential level of salinity, drought and mixed stress of specific activity of peroxidase (POX) and catalase (CAT) in leaf and root, root proline and root dry weight (Mean square) of maize plant.

وزن خشک ریشه	پروکلین ریشه	کاتالاز ریشه	پراکسیداز ریشه	کاتالاز برگ	پراکسیداز برگ	تنش	پتانسیل
Root dry weight	Root proline	Root CAT	Root POX	Leaf CAT	Leaf POX	Stress	Potential (KPa)
4.83 ^{abc}	0.86 ^d	126.42 ^a	3145 ^e	6.6 ^c	322.4 ^c	Salinity	
4.51 ^{bc}	3.1 ^b	62.55 ^c	4604.1 ^{bc}	6.3 ^c	239 ^d	Drought	-112
5.46 ^{ab}	2.71 ^{bc}	79 ^{bc}	3072.1 ^e	7.93 ^{bc}	355 ^{bc}	Mixed	
4.45 ^{bc}	1.23 ^{cd}	77.44 ^{bc}	3473.3 ^e	7.05 ^c	325.2 ^c	Salinity	
5.26 ^{ab}	5.2 ^a	74.3 ^{bc}	5338 ^b	7.3 ^{bc}	263.4 ^d	Drought	-191
4.62 ^{bc}	2.31 ^{bcd}	84.1 ^b	4269.3 ^{cd}	9.95 ^a	467 ^a	Mixed	
3.01 ^d	0.73 ^d	63 ^c	3685 ^{de}	10.22 ^a	342.2 ^{bc}	Salinity	
5.82 ^a	5.58 ^a	119.1 ^a	6652.5 ^a	7.91 ^{bc}	384 ^b	Drought	-363
4.02 ^{cd}	2.33 ^{bcd}	86.32 ^b	4312 ^{cd}	8.92 ^{ab}	468 ^a	Mixed	

حروف مشابه نشان دهنده عدم معنی داری در سطح ۵ درصد در هر ستون برای هر سطح پتانسیل می باشد.

Similar letters indicate no significance at 5% level in each column for each potential.

مشاهده نگردید. این در حالی است که در سطح ۱۱۲- و همچنین در سطح ۱۹۱- کیلوپاسکال مقدار آنزیم کاتالاز در تیمار توأم افزایش بیشتری نسبت به تیمارهای شوری و خشکی داشته است. بنابراین در سطوح پتانسیلی مورد بررسی، روند افزایش آنزیم CAT برگ در تیمارهای تنش شوری نسبت به تیمارهای تنش خشکی و توأم بیش تر بوده است. با کاهش سطح پتانسیل از ۱۱۲- تا ۳۶۳- کیلوپاسکال، مقدار آنزیم CAT ریشه در تیمار شوری ۵۰/۳۷ درصد کاهش و در تیمار خشکی ۴۷/۴۶ درصد افزایش داشت. با این حال اعمال همزمان دو تنش شوری و خشکی در تیمار توأم، با کاهش سطح پتانسیل از ۱۱۲- تا ۱۹۱-، ۲۰/۳ درصد افزایش و سپس با کاهش سطح پتانسیل به ۳۶۳- کیلوپاسکال تغییر معنی داری ($P \leq 0/05$) در مقدار آنزیم CAT برگ مشاهده نشد. گیاهان از طریق افزایش آنزیمهای متابولیزه کننده H_2O_2 مانند کاتالاز، تحت شرایط استرسزا، آسیبهای شدید ناشی از تنش را کاهش می دهند (۳۳). احتمالاً کاهش درصد افزایش این آنزیم با کاهش سطح پتانسیل در تیمار توأم، نسبت به تنشهای مجزای شوری و خشکی به دلیل کاهش استرس وارده به گیاه تحت شرایط آبیاری بخشی ریشه (به دلیل جذب آب غیرشور از سمت دیگر ریشه) بوده است. وجود آب غیرشور در نیمی از ریشه با وجود افزایش سطح شوری در نیم دیگر ریشه به گیاه کمک خواهد کرد تا با بهبود وضعیت ریشه در بخش شوری تا حدودی بر شرایط نامساعد محیطی غلبه کند، هرچند آب غیر شور نیمه‌ای از گیاه دارای مکش برابر با نیم دیگر ریشه (بخش واقع در شوری) باشد (۱۸).

با این حال در برخی از موارد عدم معنی داری و یا حتی کاهش این آنزیمها نیز گزارش گردیده است

بیشترین مقدار آنزیم POX برگ در هر سه سطح پتانسیلی مورد بررسی در تیمار توأم مشاهده شد. همچنین با کاهش سطح پتانسیل از ۱۱۲- تا ۳۶۳- کیلوپاسکال مقدار آنزیم POX ریشه در تیمارهای خشکی و توأم به ترتیب ۳۰/۷۹ و ۲۸/۷۵ درصد افزایش داشت. مقدار فعالیت آنزیم POX ریشه به طور قابل توجهی نسبت به برگ بیش تر است. اصولاً در محاسبه فعالیت آنزیمها، مقدار آنزیم بر مقدار پروتئین گزارش می گردد. در این مطالعه، مقادیر پروتئین اندازه گیری شده در برگ بسیار بیش تر از مقادیر اندازه گیری شده در ریشه بود این امر سبب گردید تا مقادیر آنزیم پراکسیداز ریشه در محاسبات بیش از مقادیر این آنزیم در برگ گردد.

احتمالاً افزایش مقدار آنزیمهای آنتی اکسیدان با افزایش مقدار تنشها به جهت حذف گونه‌های فعال اکسیژن صورت گرفته است. ژانگ و کیرکهام (۱۹۹۴) دریافتند که تحت تنش خشکی بین تولید رادیکالهای آزاد و واکنشهای دفاعی آنزیمی یک تعادل وجود دارد (۴۱). عدم تغییر معنی دار این آنزیم در برگ با کاهش پتانسیل اسمزی و افزایش مقدار آن در ریشه در مطالعات حسینی سالکده و نصرآبادی (۱۳۹۰) نیز گزارش گردیده است (۱۵). آنها با بررسی پروتئوم ریشه و برگ برنج مشاهده کردند که ساخت آنزیم پراکسیداز در ریشه، یکی از واکنشهای دفاعی گیاه در در سم زدایی و حذف رادیکالهای آزاد در پاسخ به تنش شوری است در حالی که این آنزیم در برگ مشاهده نگردید.

با کاهش سطح پتانسیل از ۱۱۲- تا ۳۶۳- کیلوپاسکال مقدار آنزیم CAT برگ در تیمارهای شوری ۳۵/۶۲ درصد افزایش یافت. اما تفاوتی در مقدار آنزیم CAT برگ در تنشهای خشکی و توأم

با این حال وزن خشک کل گیاه فقط تحت تأثیر سطوح مختلف پتانسیل قرار گرفت. با کاهش سطح پتانسیل از ۱۱۲- به ۳۶۳- کیلوپاسکال، وزن خشک ریشه در تیمار شوری ۳۷/۶۸ درصد کاهش یافته است. تفاوت معنی داری با کاهش سطح پتانسیل در وزن خشک ریشه در تیمارهای خشکی و توأم مشاهده نگردید. در سطوح ۱۱۲- و ۱۹۱- کیلوپاسکال تفاوتی در وزن خشک ریشه در تیمارهای شوری، خشکی و توأم مشاهده نشد اما با کاهش سطح پتانسیل به ۳۶۳- کیلوپاسکال وزن خشک ریشه در تیمار خشکی افزایش و در تیمار شوری کاهش یافت. در این سطح پتانسیلی وزن خشک ریشه در تیمار خشکی به ترتیب ۴۸/۳ و ۳۱ درصد نسبت به تیمار شوری و توأم افزایش داشت. رشد ریشه در تیمار شوری با کاهش سطح پتانسیل اسمزی محدود می شود. نیومن (۱۹۹۵) عنوان کرد که شوری با ایجاد محدودیت بیوفیزیکی تنظیم شده‌ای در دیواره سلول‌های ریشه از گسترش آن‌ها جلوگیری می‌کند (۲۶). احتمالاً افزایش رشد ریشه در تیمارهای تنش خشکی با هدف جذب آب از سایر قسمت‌های خاک صورت پذیرفته است. افزایش نسبت ریشه به اندام هوایی در تنش خشکی یکی از راه‌های اجتناب از خشکی در گیاهان محسوب می‌گردد. مطالعات آجیتکومار و پرنسلوم (۲۰۱۴) بر روی *Panicum sumatrense* نیز نشان داد که تحت تنش خشکی طول ریشه در طول دوره رشد افزایش می‌یابد این در حالی است که ارتفاع گیاه نسبت به شاهد کاهش می‌یابد (۳). در هر صورت عدم تغییر معنی دار در وزن خشک کل تیمار توأم با وجود تنش هم‌زمان شوری و خشکی، احتمالاً به دلیل تغییرات کم‌تر رشد ریشه (کاهش روند صعودی رشد ریشه در بخش خشکی و روند نزولی رشد ریشه در

به‌عنوان مثال مزودی و همکاران (۱۹۹۷) کاهش آنزیم کاتالاز در ریشه و عدم تغییر معنی دار آن در برگ و ساقه را به‌عنوان پاسخ آنتی‌اکسیداتیو سمیت مس در گیاه گوجه‌فرنگی گزارش نمودند (۱۹).

نتایج تجزیه واریانس (جدول ۱) نشان داد که سطح پتانسیل و نوع تنش در تیمارهای مجزا، بر غلظت پرولین برگ مؤثر است. اما اثر متقابل پتانسیل در تنش بر غلظت پرولین تأثیر معنی داری نداشت. غلظت پرولین ریشه در تیمارهای مجزا تحت تأثیر سطح پتانسیل، نوع تنش و اثر متقابل آن‌ها قرار گرفت. هم‌چنین تأثیر سطح پتانسیل و نوع تنش و اثر متقابل آن‌ها بر غلظت پرولین برگ و ریشه در تیمارهای توأم، در سطح یک درصد معنی دار است. محتوی پرولین ریشه با کاهش سطح پتانسیل از ۱۱۲- به ۳۶۳- کیلوپاسکال، در تیمار خشکی ۴۴/۴۴ درصد افزایش یافت، با این حال تفاوت معنی داری در مقدار پرولین ریشه، با کاهش سطح پتانسیل از بار ۱۱۲- در تیمارهای تنش شوری و توأم مشاهده نگردید (جدول ۲).

در تیمار خشکی، افزایش مقدار پرولین در ریشه نسبت به برگ احتمالاً در اثر انتقال پرولین از شاخساره به ریشه انجام گرفته است. جونپور و همکاران (۲۰۱۸) نیز با بررسی تغییرات مقدار پرولین در برگ و ریشه تحت تنش خشکی مشاهده کردند که سیگنال‌هایی از ریشه به اندام هوایی و بالعکس، تولید پرولین در گیاه را کنترل می‌کند (۱۶). در برخی شرایط نیز گیاه برای تنظیم اسمزی پرولین را از شاخساره به سمت ریشه انتقال می‌دهد (۶).

نتایج تجزیه واریانس (جدول ۱) نشان داد که نوع تنش و اثر متقابل سطح پتانسیل و نوع تنش بر وزن خشک ریشه در سطح یک درصد معنی دار است.

توأم مؤثر است. اثر متقابل پتانسیل در تنش بر فعالیت ویژه آنزیم POX ریشه در تیمار توأم معنی دار بوده اما فعالیت ویژه این آنزیم در برگ معنی دار نبود. فعالیت ویژه آنزیم CAT برگ در تیمار توأم نیز تحت تأثیر سطح پتانسیل و نوع تنش و اثر متقابل آنها قرار گرفت. سطح پتانسیل و نوع تنش بر مقدار فعالیت ویژه آنزیم CAT ریشه تأثیرگذار نبوده اما اثر متقابل سطح پتانسیل و نوع تنش بر فعالیت این آنزیم در سطح یک درصد معنی دار است. فعالیت آنزیم POX ریشه در بخش خشکی از تیمار توأم با کاهش سطح پتانسیل ۴۹/۲۸ درصد افزایش می یابد (جدول ۴)، در حالی که مقدار این آنزیم با کاهش سطح پتانسیل در تیمار خشکی مجزا ۳۰/۷۹ درصد افزایش داشت (جدول ۲).

بخش شوری) در پتانسیل های پایین در تیمار توأم نسبت به تیمارهای مجزای شوری و خشکی و همچنین ایجاد تعادل آنزیمی در دو بخش ریشه بوده است. کاهش تغییرات رشد ریشه در تیمار توأم احتمالاً به دلیل جذب آب مناسب از یک سمت ریشه و متعادل نمودن اثرات ناشی از تنش شوری بخش دیگر ریشه در کل اندام هوایی می باشد. یوسفی و همکاران (۱۳۹۲) نیز با بررسی تناوب آبیاری شور و شیرین بیان داشتند که ریشه با جذب آب معمولی اثرات اسمزی ناشی از آب شور را تعدیل می نماید (۳۹).

مقایسه تغییرات صفات اندازه گیری شده در بخش شوری و خشکی از تیمار توأم: نتایج تجزیه واریانس (جدول ۳) نشان داد که سطح پتانسیل و نوع تنش بر فعالیت ویژه آنزیم POX در برگ و ریشه در تیمار

جدول ۳- تجزیه واریانس فعالیت ویژه آنزیم پراکسیداز (POX) و کاتالاز (CAT)، پرولین در برگ و ریشه، وزن خشک ریشه و وزن خشک کل (میانگین مربعات) گیاه ذرت در سطوح پتانسیلی مختلف بخش تنش های شوری و خشکی از تیمار توأم.

Table 3. Analysis of variance of specific activity of peroxidase (POX) and catalase (CAT), proline in leaf and root, root dry weight and total dry weight (Mean square) of maize plant in different potential level of salinity and drought of mixed treatment.

منابع	df	پراکسیداز برگ	کاتالاز برگ	پراکسیداز ریشه	کاتالاز ریشه	پرولین برگ	پرولین ریشه
Sources		Leaf POX	Leaf CAT	Root POX	Root CAT	Leaf proline	Root proline
پتانسیل	2	$3.4^{**} \times 10^{-4}$	8.22**	$4^{**} \times 10^{-6}$	120.68	1.8*	0.47**
Potential							
تنش	2	$2.62^{**} \times 10^{-4}$	125.4**	$1.3^{*} \times 10^{-6}$	215.88	4.7**	2.97**
Stress							
پتانسیل × تنش	2	2.9×10^{-3}	9.91**	$7.1^{**} \times 10^{-6}$	$3^{**} \times 10^{-3}$	1.3*	0.81**
Potential × Stress							
خطا	18	1.23×10^{-3}	1.36	2×10^{-5}	184.42	0.35	0.05
Error							
ضریب تغییرات		8.2	13.1	11.46	16.35	14.84	9.15
CV							

** و * به ترتیب معنی دار در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد می باشد.

** and * significant at 1 and 5%, respectively.

جدول ۴- مقایسه میانگین برش‌دهی اثر متقابل سطوح مختلف پتانسیل بخش تنش‌های شوری و خشکی از تیمار توأم بر تغییرات فعالیت ویژه آنزیم پراکسیداز (POX) برگ و کاتالاز (CAT) و پرولین در برگ و ریشه (میانگین مربعات) در گیاه ذرت.

Table 4. Compare means of slicing interaction different potential level of salinity and drought parts of mixed treatment of specific activity of root peroxidase (POX), catalase (CAT) and proline in leaf and root (Mean square) of maize plant.

پرویلین ریشه Root proline	پرویلین برگ Leaf proline	کاتالاز ریشه Root CAT	پراکسیداز ریشه Root POX	کاتالاز برگ Leaf CAT	تنش Stress	پتانسیل Potential (KPa)
2 ^c	3.33 ^b	97.81 ^a	3546.31 ^b	10.32 ^a	Salinity	-112
3.42 ^a	3.66 ^b	59.73 ^b	2597.93 ^b	5.53 ^c	Drought	
2.03 ^c	3.86 ^b	71.30 ^{ab}	5296.44 ^a	13.29 ^a	Salinity	-191
2.58 ^b	4.38 ^{ab}	96.89 ^a	3242.25 ^b	6.61 ^c	Drought	
2.36 ^{bc}	3.52 ^b	71.08 ^{ab}	3506.75 ^b	10.04 ^b	Salinity	-363
2.36 ^{bc}	5.32 ^a	101.56 ^a	5122.17 ^a	7.79 ^{bc}	Drought	

حروف مشابه نشان‌دهنده عدم معنی‌داری در سطح ۵ درصد در هر ستون برای هر سطح پتانسیل می‌باشد.

Similar letters indicate no significance at 5% level in each column for each potential.

مشاهده گردد، در دو بخش شوری و خشکی تیمار توأم نیز این اختلاف قابل مشاهده بوده اما شدت این اختلاف در دو تنش (شوری و خشکی)، در تیمار توأم کم‌تر است. همچنین وجود روند مشخص (افزایش یا کاهش) تغییرات آنزیم با کاهش سطح پتانسیل (از ۱۱۲- تا ۳۶۳- کیلوپاسکال) در تنش‌های مجزای شوری و خشکی، در بخش‌های شوری و خشکی تیمار توأم نیز با شدت کم‌تر مشاهده می‌گردد. تحت شرایط توأم دو بخش ریشه با یکدیگر در ارتباط بوده و اثرات ناشی از تنش هم‌چون مقادیر آنزیم‌های CAT و POX ترشح شده در دو سمت اندام هوایی و ریشه تعدیل می‌گردد، اما زمانی که تغییرات مقدار آنزیم در پاسخ به یک تنش مجزا زیاد باشد، اثر این تعدیل در دو بخش اندام هوایی و ریشه تیمارهای توأم به دلیل ارسال بیش‌تر سیگنال‌های موازی (حاصل دو تنش هم‌زمان خشکی و شوری) کاهش می‌یابد. سولم و همکاران (۲۰۱۶) بیان داشتند زمانی که گیاهان تحت‌تأثیر چندین تنش قرار می‌گیرند، در پاسخ به هر دو تنش به تولید گونه‌های فعال اکسیژن می‌پردازد، اما با وجود تداخل و هم‌پوشانی در

تغییر معنی‌داری با کاهش سطح پتانسیل در فعالیت آنزیم POX ریشه در بخش شوری از تنش توأم همانند تنش شوری مجزا، مشاهده نگردید. در سطوح پتانسیلی ۱۱۲- و ۱۹۱- کیلوپاسکال فعالیت آنزیم CAT برگ در بخش شوری تیمار توأم نسبت به بخش خشکی به ترتیب ۴۹ و ۵۰/۳ درصد افزایش یافت (جدول ۴).

در حالی‌که تیمار تنش شوری مجزا، تنها در سطح ۳۶۳- کیلوپاسکال، فعالیت آنزیم CAT برگ، ۲۲/۶ درصد نسبت به تنش خشکی مجزا افزایش داشت (جدول ۲). روند نزولی فعالیت ویژه آنزیم CAT ریشه در بخش تنش شوری و روند صعودی این آنزیم در تنش خشکی، با کاهش سطح پتانسیل در تیمارهای شوری و خشکی مجزا نیز مشاهده گردید (جدول‌های ۲ و ۴). با این حال روند ملایم‌تری از افزایش و کاهش فعالیت این آنزیم در بخش شوری و خشکی تیمار توأم نسبت به تیمارهای مجزا مشاهده می‌شود.

در تنش‌های مجزای شوری و خشکی، زمانی که در یک سطح پتانسیل مشخص، اختلاف زیادی در فعالیت یک آنزیم در دو تنش شوری و خشکی مجزا

گردیده است (۲۸). آن‌ها با بررسی ژن‌های نشان‌دار شوری در دو سمت ریشه و پاسخ‌های متفاوت فیزیولوژیکی و مورفولوژیکی سمتی از ریشه که تحت تنش قرار نگرفته بود ارتباط دو سمت ریشه با یکدیگر را تأیید کردند.

نتیجه‌گیری کلی

تحت سطوح متناظر پتانسیل اسمزی و ماتریک، تغییرات آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز و پرولین در برگ و ریشه گیاه ذرت در تیمارهای شوری و خشکی مشابه نیست. با کاهش سطح پتانسیل، فقط فعالیت آنزیم پراکسیداز برگ و ریشه در تیمار توأم و خشکی روند مشابهی (افزایشی) را نشان داد. پتانسیل‌های اسمزی و ماتریک یکسان در تیمار توأم نیز نشان داد که با کاهش سطح پتانسیل اسمزی و ماتریک تنها روند فعالیت آنزیم پراکسیداز و کاتالاز ریشه در تیمارهای خشکی مجزا، مشابه با بخش خشکی از تیمار توأم بودند و در سایر موارد با کاهش سطح پتانسیل، تغییرات متفاوتی در تیمارهای مجزا و توأم مشاهده گردید. با وجود کاهش وزن خشک ریشه با افزایش سطح شوری، و افزایش وزن خشک ریشه در سطح پایین پتانسیل، در تیمار خشکی نسبت به تیمارهای شوری و توأم، تفاوتی در وزن خشک کل تیمارها در هیچ‌یک از سطوح پتانسیلی مشاهده نگردید. که این امر بیانگر ارتباط سیگنالی دو بخش ریشه با یکدیگر در روش‌های آبیاری بخشی می‌باشد. تحت پتانسیل اسمزی و ماتریک برابر، با کاهش سطح پتانسیل، شوری تنش بیش‌تری را نسبت به خشکی بر ریشه گیاه وارد می‌کند. این در حالی است که در روش آبیاری بخشی، تنش وارده بر دو سمت ریشه تعدیل می‌گردد. شاید استفاده از سطوح کم‌تر پتانسیل ماتریک در حدی که گیاه را با تنش خشکی شدید مواجه کند، اطلاعات بیش‌تری را در مقایسه‌های تنش هم‌زمان شوری و خشکی در اختیار پژوهشگران قرار دهد.

مسیرهای تنظیم‌کننده تنش‌ها، در نهایت پاسخ‌های متفاوتی را به هر یک از تنش‌ها خواهند داد (۳۰).

احتمالاً محدودیت رشد ریشه تحت تنش شوری و گسترش توسعه ریشه در تنش خشکی در دو بخش تیمار توأم نسبت به تغییرات رشد ریشه در تنش‌های مجزای شوری و خشکی کم‌تر است و شاید این امر یکی دیگر از علل موفقیت سیستم‌های آبیاری بخشی ریشه محسوب گردد.

نتایج مقایسه میانگین جدول ۴ نشان داد که با کاهش سطح پتانسیل محتوی پرولین برگ در بخش خشکی از تیمار توأم ۳۱/۲ درصد افزایش یافت و تفاوت معنی‌داری در محتوی پرولین برگ بخش شوری از تیمار توأم مشاهده نگردید. در بخش شوری از تیمار توأم با کاهش سطح پتانسیل به ۳۶۳- کیلوپاسکال، محتوی پرولین ریشه تغییر معنی‌داری نداشت. مقدار پرولین ریشه در بخش خشکی از تیمار توأم با کاهش سطح پتانسیل ۳۱ درصد کاهش یافت. این در حالی است که مقدار پرولین ریشه در تنش خشکی مجزا با کاهش سطح پتانسیل، ۴۴/۴۴ درصد افزایش داشت. افزایش مقدار پرولین برگ و کاهش مقدار پرولین ریشه در بخش خشکی از تیمار توأم احتمالاً به دلیل ارتباط و اثر متقابل بین واکنش‌های بیوشیمیایی (مانند ترشح پرولین) اندام هوایی و ریشه بوده است. تحت شرایط تنش‌زا در گیاهان، پرولین ابتدا در برگ‌ها ساخته شده و در صورت نیاز به ریشه و سایر اندام‌های گیاهی منتقل خواهد شد (۳۱). از سوی دیگر رفتار متفاوت تغییرات پرولین با کاهش سطح پتانسیل در بخش‌های شوری و خشکی در تیمار توأم نسبت به تیمارهای مجزای شوری و خشکی، احتمالاً به دلیل ارسال سیگنال‌های ناشی از تنش و پاسخ‌های دفاعی گیاه از یک سمت ریشه به سمت دیگر آن و ارتباط دو بخش ریشه و اندام هوایی گیاه با یکدیگر است. ارسال چنین سیگنال‌هایی از ریشه در مطالعات ردوان و همکاران (۲۰۱۷) نیز گزارش

منابع

1. AbdElgawad, H., Zinta, G., Hegab, M.M., Pandey, R., Asard, H., and Abuelsoud, W. 2016. High salinity induces different oxidative stress and antioxidant responses in maize seedlings organs. *Frontiers in Plant Science*. 276: 1-11.
2. Aebi, H. 1984. Catalase in vitro. *Methods in Enzymology*. Academic Press. 105: 121-126.
3. Ajithkumar, I.P., and Panneerselvam, R. 2014. ROS scavenging system, osmotic maintenance, pigment and growth status of *Panicum sumatrense* roth under drought stress. *Cell biochemistry and Biophysics*. 68: 587-595.
4. Bates, L.S., Waldren, R.P., and Teare, I.D. 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. *Plant Soil*. 39: 1. 205-207.
5. Bradford, M.M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*. 72: 248-254.
6. Bundig, C., Vu, T.H., Meise, P., Seddig, S., Schum, A., and Winkelmann, T. 2016. Variability in osmotic stress tolerance of starch potato genotypes (*Solanum tuberosum* L.) as revealed by an in vitro screening: role of proline, osmotic adjustment and drought response in pot trials. *Journal of Agronomy and Crop Science*. 203: 206-218.
7. Chance, B., and Maehly, A. 1955. Assay of catalases and peroxidases. *Methods in Enzymology*. 2: 764-775.
8. Çiçek, N., and Çakırlar, H. 2002. The effect of salinity on some physiological parameters in two maize cultivars. *Bulgarian Journal of Plant Physiology*. 28: 1-2. 66-74.
9. Dane, J.H., and Hopmans, J.W. 2002. *Methods of Soil Analysis: Part 4 Physical Methods*. Soil Science Society of America, Inc, Madison, Wisconsin, USA.
10. de Cássia Alves, R., de Medeiros, A.S., Nicolau, M.C.M., Neto, A.P., Lima, L.W., Tezotto, T., and Gratão, P.L. 2018. The partial root-zone saline irrigation system and antioxidant responses in tomato plants. *Plant Physiology and Biochemistry*. 127: 366-379.
11. Fariduddin, Q., Mir, B.A., and Ahmad, A. 2012. Physiological and biochemical traits as tools to screen sensitive and resistant varieties of tomatoes exposed to salt stress. *Brazilian Journal of Plant Physiology*. 24: 4. 281-292.
12. Gupta, B., and Huang, B. 2014. Mechanism of Salinity Tolerance in Plants: Physiological, Biochemical, and Molecular Characterization. *International Journal of Genomics*. 2014: 1-18.
13. Hasana, R., and Miyake, H. 2017. Salinity Stress Alters Nutrient Uptake and Causes the Damage of Root and Leaf Anatomy in Maize. *KnE Life Sciences*. 3: 4. 219-225.
14. Hmidi, D., Abdelly, C., Ashraf, M., and Messedi, D. 2018. Effect of salinity on osmotic adjustment, proline accumulation and possible role of ornithine- δ -aminotransferase in proline biosynthesis in *Cakile maritima*. *Physiology and molecular biology of plants: International Journal of Functional Plant Biology*. 24: 6. 1017-1033.
15. Hosseini Salkade, Gh., and Nasr Abadi, D. 2012. Proteomic Analysis of Root and Leaf in Rice under Salinity Stress. *Journal of Crop Biotechnology*. 1: 1. 1-11. (In Persian)
16. Júnior, D.F., Gaion, L.A., Júnior, G.S., Santos, D.M.M., and Carvalho, R.F. 2018. Drought-induced proline synthesis depends on root-to-shoot communication mediated by light perception. *Acta Physiologiae Plantarum*. 40: 1. 1-15.
17. Martorello, A.S.Q., Gyenge, J.E., and Fernández, M.E. 2017. Morpho-physiological response to vertically heterogeneous soil salinity of two glycophyte woody taxa, *Salix matsudana* \times *S. alba* and *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh. *Plant Soil*. 416: 1-2. 343-360.
18. Marzvan, S., Mohammadi, M.H., and Shekari, F. 2018. The Effect of Equal Osmotic and Matric Potential on Water Uptake and Yield of Corn in Complete and Partial Root Irrigation System. *Iranian Journal of Soil and Water Research*. 50: 4. 793-806. (In Persian)

19. Mazhoudi, S., Chaoui, A., Ghorbal, M.H., and El Ferjani, E. 1997. Response of antioxidant enzymes to excess copper in tomato (*Lycopersicon esculentum*, Mill.). *Plant Science Journal*. 127: 2. 129-137.
20. McNeil, S.D., Nuccio, M.L., and Hanson, A.D. 1999. Betaines and related osmoprotectants. Targets for metabolic engineering of stress resistance. *Plant Physiology*. 120: 4. 945-949.
21. Meskini-Vishkaee, F., Mohammadi, M.H., Neyshabouri, M.R., and Shekari, F. 2015. Evaluation of canola chlorophyll index and leaf nitrogen under wide range of soil moisture. *International Agrophysics*. 29: 1. 83-90.
22. Mittler, R., Vanderauwera, S., Gollery, M., and Van Breusegem, F. 2004. Reactive oxygen gene network of plants. *Trends in Plant Science*. 9: 10. 490-498.
23. Molinari, H.B.C., Marur, C.J., Daros, E., de Campos, M.K.F., de Carvalho, J., Bessalho, J.C., Pereira, L.F.P., and Vieira, L.G.E. 2007. Evaluation of the stress-inducible production of proline in transgenic sugarcane *Physiol. Mol. Biol. Plants (Saccharum spp.): osmotic adjustment, chlorophyll fluorescence and oxidative stress. Physiologia Plantarum*. 130: 218-229.
24. Munns, R., and Gilliam, M. 2015. Salinity tolerance of crops—what is the cost? *New Phytologist*. 208: 3. 668-673.
25. Murshed, R., Lopez-Lauri, F., and Sallanon, H. 2014. Effect of salt stress on tomato fruit antioxidant systems depends on fruit development stage. *Physiology and molecular biology of plants: International Journal of Functional Plant Biology*. 20: 15-29.
26. Neumann, P.M. 1995. Inhibition of root growth by salinity stress: Toxicity or an adaptive biophysical response? P 299-304. *Proceeding of fourth international Symposium in structure and function of roots*. June, 20-26.
27. Parida, A.K., and Das, A.B. 2005. Salt tolerance and salinity effects on plants: a review. *Ecotoxicol. Ecotoxicology and Environmental Safety*. 60: 3. 324-349.
28. Redwan, M., Spinelli, F., Marti, L., Bazihizina, N., Azzarello, E., Mancuso, S., and Masi, E. 2017. Investigation of root signaling under heterogeneous salt stress: A case study for *Cucumis sativus* L. *Environmental and Experimental Botany*. 143: 20-28.
29. Seki, M., Umezawa, T., Urano, K., and Shinozaki, K. 2007. Regulatory metabolic networks in drought stress responses. *Current Opinion in Plant Biology*. 10: 3. 296-302.
30. Sewelam, N., Kazan, K., and Schenk, P.M. 2016. Global Plant Stress Signaling: Reactive Oxygen Species at the Cross-Road. *Frontiers in Plant Science*. 7: 187-187.
31. Singh, T.N., Paleg, I.G., and Aspinall, D. 1973. Stress metabolism I. Nitrogen metabolism and growth in the barley plant during water stress. *Australian Journal of Biological Sciences*. 26: 1. 45-56.
32. Slama, I., Abdelly, C., Bouchereau, A., Flowers, T., and Savoure, A. 2015. Diversity, distribution and roles of osmoprotective compounds accumulated in halophytes under abiotic stress. *Annals of Botany*. 115: 3. 433-447.
33. Sofo, A., Scopa, A., Nuzzaci, M., and Vitti, A. 2015. Ascorbate peroxidase and catalase activities and their genetic regulation in plants subjected to drought and salinity stresses. *International Journal of Molecular Sciences*. 16: 6. 13561-13578.
34. Stolfa, I., Maronić, D.Š., Pfeiffer, T.Ž., and Lončarić, Z. 2016. Glutathione and Related Enzymes in Response to Abiotic Stress. In *Redox State as a Central Regulator of Plant- Cell Stress Responses*. Springer International Publishing. Pp: 183-211.
35. Tanji, K.K., and Kielen, N.C. 2002. *Agricultural drainage water management in arid and semi-arid areas*. FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, Italy. 186p.
36. Wang, Q., Huo, Z., Zhang, L., Wang, J., and Zhao, Y. 2016. Impact of saline water irrigation on water use efficiency and soil salt accumulation for spring maize in arid regions of China. *Agricultural Water Management*. 163: 125-138.

37. Weimberg, R., Lerner, H.R., and Poljakoff-Mayber, A. 1982. A relationship between potassium and proline accumulation in salt-stressed *Sorghum bicolor*. *Physiologia Plantarum*. 55: 1. 5-10.
38. Yasar, F., Uzal, O., and Yasar, O. 2016. Antioxidant enzyme activities and lipid peroxidation amount of pea varieties (*Pisum sativum* sp. *arvense* L.) under salt stress. *Fresenius Environmental Bulletin*. 25: 37-42.
39. Yousefi, M., Tabatabaei, S.J., Hajilu, J., and Mahna, N. 2013. Effect of non-uniform salinity on part of root on photosynthesis intensity and nutrient concentration of strawberry Cv. Kamarosa. *Journal of Horticultural Science*. 27: 2. 178-184. (In Persian)
40. Zhang, H., Han, B., Wang, T., Chen, S., Li, H., Zhang, Y., and Dai, S. 2012. Mechanisms of Plant Salt Response: Insights from Proteomics. *Journal of Proteome Research*. 11: 49-67.
41. Zhang, J., and Kirkham, M.B. 1994. Drought-stress-induced changes in activities of superoxide dismutase, catalase, and peroxidase in wheat species. *Plant & Cell Physiology*. 5: 5. 785-791.



Biochemical reactions of maize leave and roots to simultaneous salinity and drought stress

S. Marzvan¹, *M.H. Mohammadi² and F. Shekari³

¹Ph.D. Graduate, Dept. of Soil Science, University of Zanjan,

²Associate Prof., Dept. of Soil Science, University of Tehran,

³Associate Prof., Dept. of Soil Science, University of Zanjan

Received: 08.12.2020; Accepted: 11.08.2020

Abstract

Background and Objectives: Irrigation management and use of partial root irrigation under saline conditions is one of the sustainable production strategies in agriculture. The production of reactive oxygen species and the cytoplasmic accumulation of smolites is one of the most common plant reactions to salinity stress and dehydration under these conditions. However, few studies have been performed on the variation of enzymes and cellular osmotic regulators in similar salinity and water stresses under the same osmotic and matric potential levels on the two sides of the root and its differences with separate stress conditions. The aim of this study was investigated the effect of partial irrigation management on activity of peroxidase and catalase enzymes, proline content variation under different levels of similar osmotic and matric potentials, in leaves and roots of maize in Fajr cultivar (KSC 260), in greenhouse conditions.

Materials and Methods: A factorial experiment with two factors; stress type (salinity, drought and mix stress) and potential levels in three values (-112, -191, and -363 KPa) was performed on the basis of completely randomized design with 3 replications. The culture media was subdivided into two equal sections by nylon for uniform and same distribution of the root in the mixed treatments. At mixed stress, half of the roots were subjected to salinity stress and the other half to drought stress (at corresponding levels equal to the osmotic and matrix potentials). Handmade tensiometers were used for drainage in salinity treatments. Catalase, peroxidase, total protein and proline were measured in both shoots and roots. Also, total dry weight and root of corn plant were calculated.

Results: The results showed that with decreasing the potential level, the activity of root peroxidase and catalase had a similar trend (increase) only in individual drought treatments and the drought part of the mixed treatment. In the drought part of the mixed treatment compared to the individual drought treatment, with decreasing the potential level, the activity of root peroxidase increased by 18.5% and the activity of root catalase decreased by 6.28%. At the potential level of -363 bar, the dry weight of roots in drought treatment, compared to salinity and mixed treatment increased by 48.3% and 31%, respectively. Despite different changes in the amount of traits measured in salinity, drought and mixed stresses, at the same potential, no significant difference in total dry weight was observed.

Conclusion: Maize plant under the same osmotic and matric potential levels exhibits different physiological and morphological behaviors. The use of partial root irrigation system with saline water in mix treatment will cause less stress than salinity treatment at low levels of osmotic potential to the plant. It seems, modification of plant biochemical reactions is one of the successes of root irrigation method with saline water. Therefore, due to the scarcity of freshwater resources, partial root irrigation with saline water is recommended as a nearly desirable system compared to other full root irrigation systems.

Keywords: Osmotic potential, Secondary metabolites, Soil salinity, Tensiometer

* Corresponding Author; Email: mhmohmad@ut.ac.ir

