تنش‌های محیطی در علوم زراعی
Environmental Stresses in Crop Sciences
جلد چهاردهم، شماره چهارم، زمستان ۱۴۰۰
۱۱۱۵-۱۱۲۵
http://dx.doi.org/10.22077/escs.2020.3412.1856

مقاله پژوهشی

اثر پیش‌تیمار بذر با هیومیک اسید و روی بر برخی صفات مورفوفیزیولوژیک گیاهچه ذرت (*Zea mays* L.) تحت شرایط شور

عاطفه رشیدی فرد[1*]، مصطفی چرم[2]، مجتبی نوروزی مصیر[3]، حبیب اله روشنفکر[4]
۱. دانشجوی دکتری علوم خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز
۲. استاد گروه علوم خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز
۳. استادیار گروه علوم خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز
۴. دانشیار گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز

تاریخ دریافت: ۹۹/۰۲/۳۰؛ تاریخ پذیرش: ۹۹/۰۴/۲۳

چکیده

هدف از انجام این پژوهش بررسی تأثیر پیش‌تیمار بذر ذرت با هیومیک اسید و عنصر روی بر برخی صفات مورفوفیزیولوژیک گیاهچه ذرت تحت تنش شوری خاک بود. بدین منظور آزمایشی به‌صورت کرت‌های خردشده در قالب بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در گلخانه اجرا شد. تیمارهای آزمایش شامل شوری خاک (خاک غیرشور و شور به ترتیب با هدایت الکتریکی ۲/۲ و ۸ دسی‌زیمنس بر متر) به‌عنوان فاکتور اصلی و پیش‌تیمار بذر در ۴ سطح (شامل محلول‌های ۲۵۰ میلی‌گرم بر لیتر هیومیک اسید [HA]، ۴ میلی‌مولار سولفات روی [Zn]، محلول ۲۵۰ میلی‌گرم بر لیتر هیومیک اسید+۴ میلی‌مولار سولفات روی [HA+Zn] و عدم پیش‌تیمار بذر به‌عنوان شاهد [Co]) به‌عنوان فاکتور فرعی بودند. بعد از عمل آغشته‌سازی بذرها با تیمارهای موردنظر، بذور در خاک‌ها کشت شدند و پس از گذشت شش هفته، کلیه گیاهچه‌ها به‌صورت تخریبی برداشت و برخی صفات مورفوفیزیولوژیک آن‌ها اندازه‌گیری شد. نتایج نشان داد که شوری باعث کاهش معنی‌دار طول و وزن خشک اندام هوایی و ریشه، سطح برگ، کلروفیل a، b و افزایش مقدار آنزیم‌های کاتالاز و سوپراکسیددیسموتاز و مقدار پرولین در گیاهچه ذرت شد اما پیش‌تیمار بذور با هیومیک اسید و روی باعث افزایش معنی‌دار این صفات شد. در بین تیمارهای موردبررسی، تیمار HA+Zn بیشترین تأثیر را در بهبود شاخص‌های رشد گیاهچه ذرت در هر دو خاک شور و غیرشور داشت. بیشترین میزان فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و سوپراکسیددیسموتاز و نیز مقدار پرولین در شرایط تنش شوری و استفاده از تیمار [HA+Zn] نسبت به سایر تیمارها مشاهده شد و همچنین تأثیر پیش‌تیمار بذور با هیومیک اسید نیز بیشتر از تأثیر پیش‌تیمار بذور با استفاده از سولفات روی بود.

واژه‌های کلیدی: **ارتفاع گیاه، پرولین، سطح برگ، سوپراکسیددیسموتاز، کاتالاز، کلروفیل**

مقدمه

تولید محصولات کشاورزی در سرتاسر جهان با انواع مختلفی از تنش‌های غیرزیستی نظیر شوری و خشکی مواجه است (Qadir et al., 2014). شوری از مهم‌ترین تنش‌های مهم غیرزیستی می‌باشند که بیش از ۳۰ درصد محصولات آبی و ۷ درصد از زمین‌های دیم کشاورزی را در سراسر جهان تحت تأثیر قرار داده‌اند (Schroeder et al., 2013). ازآنجایی‌که شوری یک مشکل جدی و مهم در کشاورزی است، بنابراین تنش شوری می‌تواند رشد را کاهش دهد. در حقیقت شوری رشد گیاه را به‌واسطه اثرات یونی و اسمزی در محلول خاک کاهش می‌دهد (Munns, 2002). هم‌چنین شوری از جنبه-های زیادی بر متابولیسم و تجمع محلول‌های آلی متعددی که در پایداری و آماس دیواره سلولی دخالت دارند، نظیر

* نگارنده پاسخگو: عاطفه رشیدی فرد. پست الکترونیک: rashidifardatefeh95@gmail.com

پرولین و قندهای محلول، اثر می‌گذارد. در خاک‌های شور، حلالیت عناصر غذایی کم‌مصرف نظیر مس، آهن، منگنز، مولیبدن و روی کاهش می‌یابد و گیاهان تحت کشت در این خاک‌ها دارای کمبود این عناصر غذایی می‌باشند (Page et al., 1990). یکی از روش‌های بهبود عملکرد گیاهان تحت شرایط تنش، پیش‌تیمار است (Martinez-Medina et al., 2016). پیش‌تیمار بذر باعث فعال شدن آنزیم‌های محافظتی یا آنتی‌اکسیدانی و انباشت پرولین، قند محلول و پروتئین محلول می‌شود و از این طریق باعث کاهش خطرات اکسیداتیو ناشی از گونه‌های اکسیژنی می‌شود. هم‌چنین بذور پیش‌تیمار شده پس از قرار گرفتن در بستر خود سریع‌تر جوانه زده و در طی زمان کوتاه‌تری سیستم ریشه‌ای خود را گسترش داده و با جذب مطلوب‌تر آب و مواد غذایی، سریع‌تر به تولید بخش‌های سبز فتوسنتزکننده و مرحله اتوتروفی می‌رسند (Nazar et al., 2011). مهم‌ترین روش‌های پیش‌تیمار بذور هیدروپرایمینگ، اسموپرایمینگ، پرایمینگ شیمیایی، پرایمینگ هورمونی و پرایمینگ بیولوژیکی می‌باشند (Iqbal and Ashraf, 2005). اخیراً ترکیبات حاوی عنصر روی (Zn) و نیز مواد هیومیکی برای بهبود کیفیت و کمیت محصولات کشاورزی به‌طور گسترده‌ای مورداستفاده قرارگرفته‌اند (Sheteiwy et al., 2016; Mohamed et al., 2017). عنصر روی در فتوسنتز، تقسیم سلولی و طویل شدن سلول، حفظ ساختمان و عملکرد غشای سلولی، افزایش هورمون تحریک‌کننده رشد و باروری گیاهان و تولید آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی نقش بسیار مهمی ایفا می‌کند (Bady and Jini, 2011). هیومیک اسید نیز از طریق تسریع در رشد ریشه و کاهش تعرق در گیاهان باعث افزایش بازده مصرف آب در گیاهان تحت تنش خشکی می‌شود. اثرات مثبت کاربرد هیومیک اسید در کاهش اثرات منفی تنش شوری از طریق افزایش گسترش سیستم ریشه‌ای و درنتیجه افزایش جذب عناصر غذایی و نیز رشد گیاهان است (Mahmoudi et al., 2014). این اسید به‌واسطه افزایش جذب آب توسط دانه و درنتیجه ازدیاد سنتز آنزیم‌ها، درصد جوانه‌زنی را افزایش می‌دهد (Moghadam, 2013). با توجه به اهمیت ذرت و افزایش سطح زیر کشت این محصول در کشور و با توجه به اهمیت و حساسیت این گیاه زراعی به شوری آب‌وخاک، این تحقیق با هدف بررسی تأثیر کاربرد هیومیک اسید و روی به‌صورت پیش‌تیمار بذر بر برخی صفات مورفوفیزیولوژیک گیاهچه ذرت تحت شرایط تنش شوری خاک انجام گرفت.

مواد و روش‌ها

این مطالعه گلدانی در دو سطح شوری خاک (۲/۲ و ۸ دسی‌زیمنس بر متر) در سال ۱۳۹۸ در گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه شهید چمران اهواز انجام شد. خاک مورداستفاده در این مطالعه از لایه سطحی (۳۰-۰ سانتی‌متری) مزرعه دانشکده کشاورزی دانشگاه شهید چمران اهواز که دارای قابلیت هدایت الکتریکی ۲/۲ (دسی‌زیمنس بر متر) بود، تهیه گردید و پس از هوا خشک‌کردن و عبور از الک ۲ میلی‌متری، برخی خصوصیات فیزیکی و شیمیایی آن اندازه‌گیری شد (جدول ۱). جهت تهیه خاک با شوری ۸ (دسی‌زیمنس بر متر)، با اضافه کردن مقادیر متفاوت NaCl به‌صورت محلول به یک کیلوگرم خاک و اندازه‌گیری شوری عصاره اشباع، ابتدا یک رابطه خطی بین مقدار NaCl اضافه‌شده و شوری عصاره اشباع در خاک موردمطالعه به دست آمد و سپس از روی رابطه به‌دست‌آمده، مقادیر موردنیاز NaCl برای رسیدن به سطح شوری موردنظر، به خاک اضافه گردید (Mass and Hoffman,1997).

جدول ۱. برخی ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک استفاده‌شده

Table 1. Some physical and chemical properties of the used soil

نیتروژن کل Total Nitrogen	فسفر قابل‌استفاده Available Phosphorus	پتاسیم قابل‌تبادل Exchangeable K	کربنات کلسیم معادل CCE[1]	کربن آلی Organic Carbon	pH	EC	بافت خاک Soil Texture	رس Clay	سیلت Silt	شن Sand
%	---------- mg kg^{-1}----------		---------- % ----------			dS.m^{-1}		---------- % ----------		
0.07	13.5	98	43.88	0.4	7.6	2.2	Loam	21.4	38	40.6

[1]Calcium Carbonate Equivalent

بذر مورداستفاده، رقم ذرت هیبرید سینگل کراس ۷۰۴ (KCSC704) بود که از مرکز تحقیقات کشاورزی اهواز تهیه شد و با استفاده از اتانول و هیپوکلریت سدیم ضدعفونی شده و درنهایت با آب مقطر استریل شستشو شدند (Khomari et al., 2019). تیمارهای مربوط به پیش‌تیمار بذور شامل آغشته کردن بذرهای ذرت در محلول ۲۵۰ میلی‌گرم بر لیتر هیومیک اسید (HA) (Mohamed et al., 2017)، محلول ۴ میلی‌مولار سولفات روی (Zn) (Imran et al., 2013)، ۲۵۰ میلی‌گرم بر لیتر هیومیک اسید + ۴ میلی‌مولار سولفات روی (HA+Zn) و تیمار شاهد بدون آغشته سازی (Co) بودند. منبع هیومیک اسید مورداستفاده در این پژوهش از منبع پودر هیومکس (شامل ۸۰ درصد هیومیک اسید و ۲۰ درصد فولویک اسید) و منبع روی از نمک سولفات روی Merck بود. پیش‌تیمار بذرها به این صورت انجام شد که بذرها در شرایط اتاق تاریک و در دمای ۱۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت در معرض تیمارهای موردنظر (HA، Zn، HA+Zn و Co) قرار گرفتند. سپس برای رسیدن رطوبت بذرها به حدود ۱۲-۱۳ درصد رطوبت اولیه، بذرها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد اتاق، هوا خشک شدند (Sheteiwy et al., 2016) و درنهایت ۱۰ بذر به‌صورت تصادفی در گلدان‌هایی از جنس پلاستیک با قطر دهانه ۳۰ سانتی‌متر، ارتفاع ۳۰ سانتی‌متر و دارای زهکشی مناسب که در حدود ۸ کیلوگرم خاک گنجایش داشتند، کشت شدند و بعد از رسیدن به مرحله ۴-۳ برگی، تراکم در هر گلدان به ۴ بوته کاهش پیدا کرد.

در طول دوره رشد، جهت جلوگیری از تنش تغذیه‌ای و با توجه به نتایج آزمون خاک توصیه کودی انجام گردید. هم‌چنین آبیاری گلدان‌ها در طول دوره رشد، روزانه و به‌صورت وزنی با استفاده از آب مقطر (بدون ایجاد زهاب به‌منظور عدم خروج املاح از خاک) در حدود ۸۰ درصد ظرفیت زراعی نگه داشته شد (Ramoliya et al., 2004; Patel and Pandey, 2007). همچنین جهت جلوگیری از شوک نمک، هر دو آبیاری یک‌بار EC خاک در دو عمق ۷ و ۱۴ سانتی‌متری گلدان کنترل گردید و با مشاهده تغییر شوری در عمق خاک به‌منظور ایجاد شوری یکنواخت در گلدان، با قرار دادن زیرگلدان‌های پلاستیکی به ارتفاع پنج سانتی‌متر، یک‌بار آبیاری با آب مقطر با ایجاد زهاب صورت گرفت و جهت جلوگیری از اتلاف املاح زهاب تولیدی دوباره به گلدان برگردانده شد (Pirzad et al., 2013). در هفته ششم، کلیه گیاهان به‌صورت تخریبی برداشت و به دو بخش اندام هوایی و ریشه تفکیک شدند. طول اندام هوایی گیاهچه‌ها با استفاده از خط‌کش، وزن خشک اندام هوایی و ریشه به روش خشک‌کردن در آون (Valentovic et al., 2006)، سطح برگ با استفاده از روش وزنی (Adl, 2007; Alinejadian Bidabadi et al., 2018)، مقدار کلروفیل‌ها به روش آرنون (Arnon, 1949) سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT) به روش دهیندزا (Dhindsa et al., 1981)، سنجش فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز (SOD) به روش گیانوپولیتیس و ریس (Giannopolitis and Ries, 1997) و استخراج و اندازه‌گیری مقدار پرولین با استفاده از روش بیتس و همکاران (Bates et al., 1973) انجام شد.

این مطالعه به‌صورت کرت‌های خردشده در قالب طرح بلوک‌های تصادفی (عامل شوری و پیش‌تیمار بذور به ترتیب به‌عنوان عنوان کرت اصلی و فرعی) در سه تکرار انجام شد. تجزیه واریانس داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS v9.4 و مقایسه میانگین صفات با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵٪ انجام شد. هم‌چنین رسم شکل‌ها با کمک نرم‌افزار Word و Excel انجام شد. در ضمن برش‌دهی اثر متقابل در هر سطح تیمار خاک شور و غیرشور با استفاده از نرم‌افزار SAS v9.4 صورت گرفت و مقایسه میانگین سطوح پیش‌تیمار بذور و رتبه‌بندی آن‌ها در هر سطح تیمار خاک شور و غیرشور به‌طور مجزا انجام شد.

نتایج و بحث

نتایج حاصل از تجزیه واریانس تأثیر شوری بر روی صفات مورفوفیزیولوژیک گیاهچه ذرت نشان داد که شوری اثر معنی‌داری بر روی اکثر پارامترهای موردبررسی دارد (جدول ۲). به‌طوری‌که با اعمال شوری، مقادیر طول اندام هوایی، وزن خشک اندام هوایی و وزن خشک ریشه به ترتیب ۴۲/۶، ۳۸/۹ و ۵۵/۹ درصد و مقادیر سطح برگ، کلروفیل a و کلروفیل b به ترتیب ۳۳/۹، ۵۱/۷ و ۴۸/۱ درصد نسبت به مقدار این صفات در خاک غیرشور کاهش یافتند؛ اما در رابطه با فعالیت آنزیمی و مقدار پرولین مشاهده شد که با افزایش شوری، مقادیر فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز و نیز مقدار پرولین گیاهچه ذرت از ۰/۰۳۷، ۱۹/۶۶ و ۰/۳۵۶ در خاک غیر شور به ترتیب به ۰/۱۴، ۳۰/۵۴ و ۱/۳۹ در خاک شور افزایش یافتند (جدول ۳). پژوهش‌های مختلف نشان داده‌اند که تنش شوری، صفات رویشی گیاهچه‌های ذرت را

به‌طور قابل‌توجهی تحت تأثیر قرار می‌دهد (Kaya et al., 2013b). یکی از دلایل کاهش تجمع ماده خشک در گیاه تحت تنش شوری، کاهش غلظت کلروفیل و سطح برگ و درنتیجه کاهش ساخت مواد فتوسنتزی لازم جهت رشد است. شوری از طریق کاهش فشار تورژسانس سبب کاهش رشد و توسعه سلول‌ها خصوصاً در ساقه و برگ‌ها می‌گردد و به همین دلیل اولین اثر شوری بر روی گیاهان به‌صورت تعداد کمتر برگ‌ها و ارتفاع کمتر گیاهان و لذا کاهش مقادیر سطح برگ، کلروفیل‌های a و b مشاهده می‌شود؛ کاهش کلروفیل a و b همراه با اعمال تنش شوری، سبب ناتوانی برگ‌ها در انجام فتوسنتز و تشدید آسیب‌های ناشی از تنش می‌شود.

جدول ۲. تجزیه واریانس اثرات تنش شوری و پیش‌تیمار بذر بر صفات رویشی، فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی در گیاهچه ذرت

Table 2. Variance analysis of salinity Stress and priming on vegetative, physiological and biochemical traits of maize seedlings

منبع تغییرات S.O.V	درجه آزادی df	طول اندام هوایی Shoot Length	وزن خشک اندام هوایی Shoot Dry-Weight	وزن خشک ریشه Root Dry Weight	سطح برگ Leaf Area
تکرار Replication (R)	2	12.43	0.001	0.006	250.87
شوری Salinity (S)	1	1765.93**	16.17**	2.57**	13737.73**
تکرار × شوری R× S	2	0.072	0.013	0.008	56.12
پیش‌تیمار Priming (P)	3	309.97**	1.6**	0.152**	2003.47**
شوری × پیش‌تیمار S × P	3	13.72**	0.2612**	0.012ns	11.03ns
خطا Error	12	0.33	0.025	0.0019	12.98
ضریب تغییرات CV (%)		*1.27*	*5.81*	*4.87*	*2.61*

Table 2. Continued **جدول ۲. ادامه**

منبع تغییرات S.O.V	درجه آزادی df	Chlorophyll a	Chlorophyll b	فعالیت کاتالاز CAT Activity	فعالیت SOD SOD Activity	پرولین Proline
تکرار Replication (R)	2	0.005	0.00006	0.0003	1.37	0.0009
شوری Salinity (S)	1	1.062**	0.114**	0.2762**	662.34**	13.11**
تکرار × شوری R× S	2	0.006	0.0001	0.00009	0.489	0.0009
پیش‌تیمار Priming (P)	3	0.1994**	0.016**	0.0247**	165.23**	0.4084**
شوری × پیش‌تیمار S × P	3	0.0004ns	0.0009ns	0.0092**	0.1776ns	0.1368**
خطا Error	12	0.0027	0.0007	0.0003	1.006	0.0048
ضریب تغییرات CV (%)		*5.95*	*10.06*	*10.25*	*3.08*	*5.6*

ns و**: به ترتیب غیر معنی‌دار و معنی‌دار در سطح ۱٪

ns and **: Non-significant and significant at 1% probability level, respectively

جدول ۳. مقایسه میانگین اثر پیش‌تیمار بذر بر صفات رویشی، فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاهچه ذرت در خاک‌های غیرشور و شور (برش‌دهی در هر سطح شوری)

Table 3. Mean comparison of the seed priming on vegetative, physiological and biochemical traits of maize seedlings in non-saline and saline soils (slice by salinity)

		طول اندام هوایی Shoot Length	وزن خشک اندام هوایی Shoot Dry-Weight	وزن خشک ریشه Root Dry Weight	سطح برگ Leaf Area
		cm	---------- g pot^{-1} ----------		cm^2
خاک غیر شور Non-Saline Soil	C_0	47.335 d	2.596 c	0.945 c	135.290 d
	HA	59.335 b	3.837 ab	1.326 a	170.133 b
	Zn	52.366 c	3.503 b	1.236 b	160.068 c
	HA + Zn	62.270 a	4.227 a	1.390 a	179.773 a
خاک شور Saline Soil	C_0	27.144 d	1.582 c	0.416 c	89.31 c
	HA	40.651 b	1.950 b	0.580 b	119.033 b
	Zn	39.136 c	1.666 c	0.566 b	115.401 b
	HA + Zn	45.770 a	2.392 a	0.723 a	130.754 a

جدول ۳. ادامه **Table 3. Continued**

		Chlorophyll a	Chlorophyll b	فعالیت کاتالاز CAT Activity	فعالیت SOD SOD Activity	پرولین Proline
		----------g g^{-1}FW----------		----------U.mg^{-1} protein----------		mg g^{-1}FW
خاک غیر شور Non-Saline Soil	C_0	0.854 c	0.27 b	0.037 c	19.665 c	0.356 d
	HA	1.966 a	0.376 a	0.084 b	27.653 b	0.543 b
	Zn	1.061 b	0.286 b	0.085 b	29.4799 b	0.483 c
	HA + Zn	1.256 a	0.396 a	0.093 a	32.076 a	0.623 a
خاک شور Saline Soil	C_0	0.413 c	0.146 c	0.140 c	30.541 d	1.396 c
	HA	0.773 a	0.213 ab	0.326 b	37.774 c	2.156 b
	Zn	0.663 b	0.176 bc	0.306 b	40.195 b	2.101 b
	HA + Zn	0.831 a	0.240 a	0.386 a	42.407 a	2.346 a

میانگین های دارای حروف مشترک در هر ستون و در هر سطح شوری بر اساس آزمون چند دامنه ای دانکن اختلاف معنی‌داری ($p \leq ۰/۰۵$) ندارند.

Means with similar letter(s) in each column and each level of salinity are not significantly different ($P \leq 0.05$), according to the Duncan's multiple range test at 5% probability level

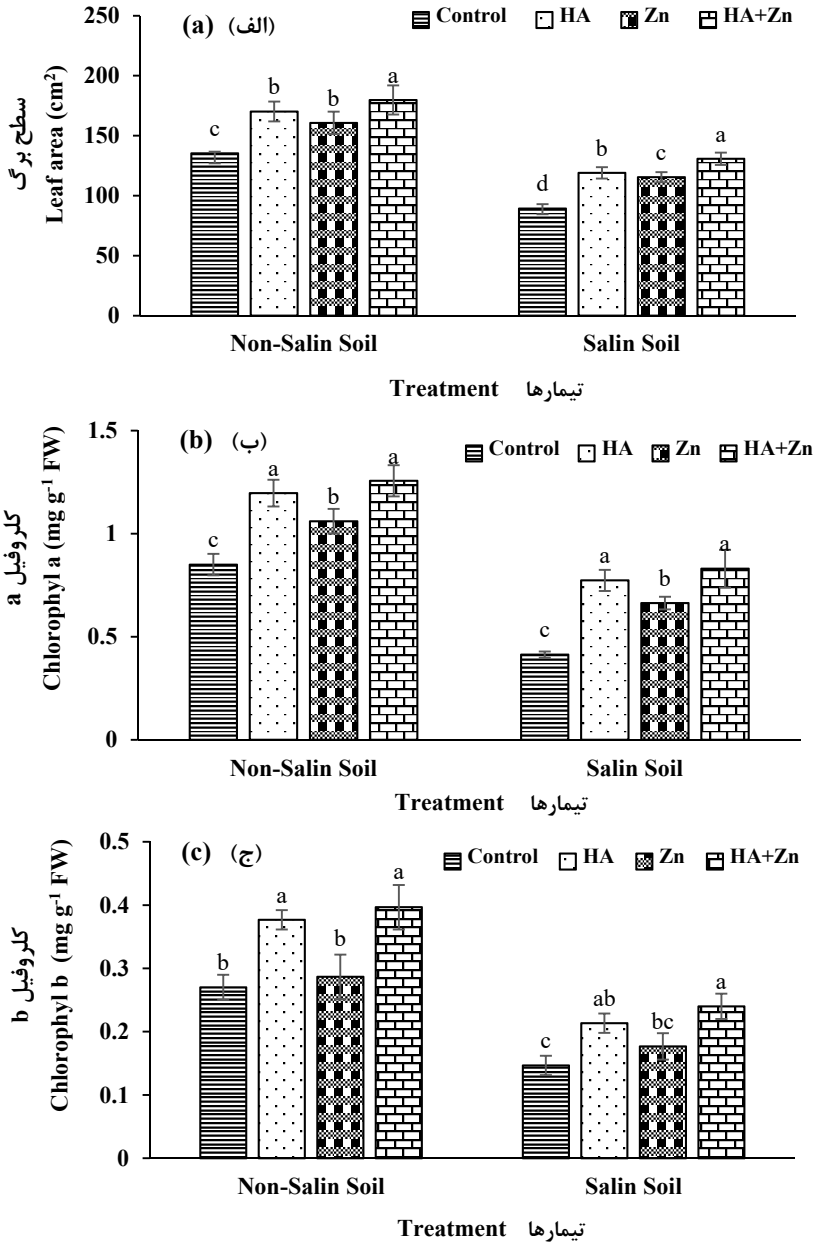
نماپور و همکاران (Nematpour et al., 2015) نیز مشاهده نمودند که با افزایش غلظت شوری، میزان کلروفیل-های a و b به ترتیب ۴۱/۳ و ۳۷/۷ درصد نسبت به تیمار غیرشور کاهش یافتند. در رابطه با افزایش فعالیت‌های آنزیمی در اثر تنش شوری می‌توان بیان کرد که گیاهان در شرایط تنش‌های محیطی نظیر شوری، با صرف انرژی بیشتر، باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی نظیر کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز می‌شوند و این آنزیم‌ها با تبدیل O_2 به H_2O_2، به‌عنوان مهارکننده گونه‌های فعال اکسیژن عمل می-کنند (Costa et al., 2005; Nazar et al., 2011). کایا و همکاران (Kaya et al., 2013) نیز افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز را در شرایط تنش شوری در ذرت گزارش کردند. همچنین افزایش مقدار پرولین در اثر تنش شوری، پاسخی است از طرف گیاه به کاهش پتانسیل آب در محیط ریشه. در این زمان پرولین با کم کردن پتانسیل اسمزی سلول‌های ریشه، شرایط لازم برای جذب آب و عناصر غذایی را فراهم می‌کند (Aliu et al., 2015).

نتایج تجزیه واریانس اثر شوری و پیش‌تیمار بذر بر برخی صفات مورفوفیزیولوژیک گیاهچه ذرت نشان داد که هر دو عامل شوری و پیش‌تیمار بذور و اثرات متقابل آن‌ها تأثیر معنی‌داری بر صفات رویشی گیاهچه ذرت دارند (جدول ۲). اعمال تنش شوری باعث کاهش معنی‌دار طول و وزن خشک اندام هوایی و ریشه گیاهچه ذرت در مقایسه با تیمار شاهد شد. این در حالی است که پیش‌تیمار بذر ذرت باعث افزایش معنی‌دار صفات رویشی گیاهچه‌ها در هر دو خاک شور و غیرشور گردید. بر اساس نتایج، مقدار وزن خشک ریشه که در اثر اعمال شوری به‌طور معنی‌داری کاهش یافته بود (۵۵/۹ درصد)، با استفاده از پیش‌تیمارهای HA، Zn و HA+Zn به ترتیب ۳۸/۱، ۳۳/۱ و ۷۱/۱ درصد (نسبت به بذرهای پیش‌تیمار نشده در خاک شور) افزایش یافت. همچنین در

خاک شور در اثر اعمال تیمارهای HA، Zn و HA+Zn، طول اندام هوایی به ترتیب ۴۹/۷، ۴۴/۱ و ۶۸/۶ درصد و وزن خشک اندام هوایی به ترتیب ۲۳/۴، ۵ و ۵۱ درصد، نسبت به بذرهای تیمار نشده، افزایش یافتند. نتایج مقایسه میانگین تأثیر پیش‌تیمارهای مختلف نشان داد که پیش‌تیمار بذور با استفاده از ترکیب هیومیک اسید و روی (HA + Zn) بیشترین تأثیر را بر روی رشد طولی و وزن خشک اندام هوایی داشت و پس‌ازآن به ترتیب تیمارهای هیومیک اسید (HA) و روی (Zn) بالاترین تأثیر را داشتند (جدول ۳). دلیل تأثیر مثبت هیومیک اسید بر رشد صفات رویشی گیاهچه ذرت را می‌توان به خاصیت شبه هورمونی این ماده، شبیه اکسین و جیبرلین و نیز تأثیر هیومیک اسید بر روی افزایش قابلیت جذب عناصر غذایی توسط گیاه و رشد بیشتر اندام هوایی و ریشه گیاهان نسبت داد (Nardi et al., 2002). همچنین، نشان داده شده است که هیومیک اسید باعث افزایش سنتز پروتئین، فعالیت‌های آنزیمی و افزایش فتوسنتز و درنتیجه رشد بیشتر گیاه در شرایط تنش‌های اکسیداتیو می‌شود (Muscolo et al., 1998). گزارش شده است که عنصر روی باعث افزایش جوانه‌زنی و رشد گیاهچه‌ها می‌شود. این عنصر به‌عنوان پیش‌فاکتور برای سنتز DNA و RNA و آنزیم‌های کربوکسی پپتیداز عمل می‌کند که باعث افزایش ذخیره پروتئینی بذر می‌شوند. ریزوان و همکاران (Rizwan et al.,2015) مشاهده کردند که پیش‌تیمار بذر با روی و آهن باعث افزایش خصوصیات رشدی گیاه از قبیل ارتفاع، وزن تر و خشک ریشه و اندام هوایی گردید. احتمال می‌رود که عنصر روی از طریق تأثیر بر سیستم‌های آنزیمی و نیز تنظیم سرعت واکنش‌های متابولیکی اثرات مثبت خود را بر روی این شاخص‌ها اعمال می‌کند (Sheteiwy et al., 2016). همچنین، مواد هومیکی می‌توانند از طریق تشکیل کمپلکس-های پایدار با عناصر ریزمغذی به‌صورت کلات، زیست‌فراهمی و قابلیت جذب این عناصر را توسط گیاه افزایش دهند که این امر می‌تواند دلیل تأثیر بیشتر تیمار HA+Zn نسبت به تیمارهای HA و Zn به‌صورت انفرادی شود (Pérez-Novo et al., 2008).

نتایج تجزیه واریانس اثر شوری بر برخی صفات فیزیولوژیک برگ گیاهچه ذرت نشان داد که اثر تیمارهای مربوط به شوری و پیش‌تیمار بذر و نیز اثرات متقابل آن‌ها بر روی سطح برگ و مقدار کلروفیل‌های a و b در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بودند (جدول ۲). با اعمال شوری، مقادیر سطح برگ، کلروفیل a و کلروفیل b به ترتیب از ۱۳۵/۲۹ (cm^2)، ۰/۸۵ ($mg\ g^{-1}FW$) و ۰/۲۷ ($mg\ g^{-1}FW$) در خاک غیر شور به ۸۹/۳۱، ۰/۴۱ و ۰/۱۴ در خاک شور کاهش یافتند که حاکی از کاهش ۳۳/۹، ۵۱/۷ و ۴۸/۱ درصدی آن‌ها در اثر اعمال شوری است (جدول ۳). نتایج حاصل از تأثیر تیمارهای پیش‌تیمار بذر بر روی شاخص‌های فیزیولوژیکی برگ در گیاهچه ذرت نشان می‌دهد که پیش‌تیمار بذر ذرت با تیمارهای HA، Zn و HA+Zn باعث افزایش معنی‌دار شاخص‌های فیزیولوژیکی برگ در هر دو خاک غیر شور و شور نسبت به تیمار شاهد (Co) شدند (شکل ۲). به‌طوری‌که تیمارهای HA، Zn و HA+Zn به ترتیب باعث افزایش ۳۳/۲۷، ۲۹/۲۱ و ۴۶/۴ درصدی سطح برگ، افزایش ۸۷/۱۶، ۶۰/۵۳ و ۱۰۱ درصدی کلروفیل a و افزایش ۴۵/۸۹، ۲۰/۵۴ و ۶۴/۸۳ درصدی در مقدار کلروفیل b در خاک شور (نسبت به تیمار شاهد) شدند. یکی از مهم‌ترین دلایل کاهش کلروفیل، تخریب آن‌ها به‌وسیله گونه‌های اکسیژن فعال است (Ashraf and Harris, 2013). دلایل افزایش مقدار شاخص‌های فیزیولوژیکی در اثر پیش‌تیمار بذور ذرت توسط هیومیک اسید و روی را می‌توان به عوامل مختلفی از قبیل افزایش رشد ریشه و قابلیت جذب عناصر غذایی به‌ویژه نیتروژن (که تأثیر زیادی بر افزایش مقدار کلروفیل گیاه دارد)، بهبود متابولیسم نیتروژن و تولید پروتئین¬های محافظت‌کننده (Haghighi et al., 2012) و یا افزایش نفوذپذیری غشای سلولی، جذب اکسیژن، تنفس، فتوسنتز، جذب فسفات و افزایش طول ریشه (Russo and Berlyn, 1990) نسبت داد.

نتایج تجزیه واریانس اثر شوری بر برخی صفات بیوشیمیایی برگ گیاهچه ذرت نشان داد اثر تیمارهای شوری و پیش‌تیمار بذر و نیز اثرات متقابل آن‌ها بر مقدار آنزیم‌های کاتالاز، سوپراکسیددیسموتاز و پرولین در سطح ۱ درصد معنی‌دار است (جدول ۲).

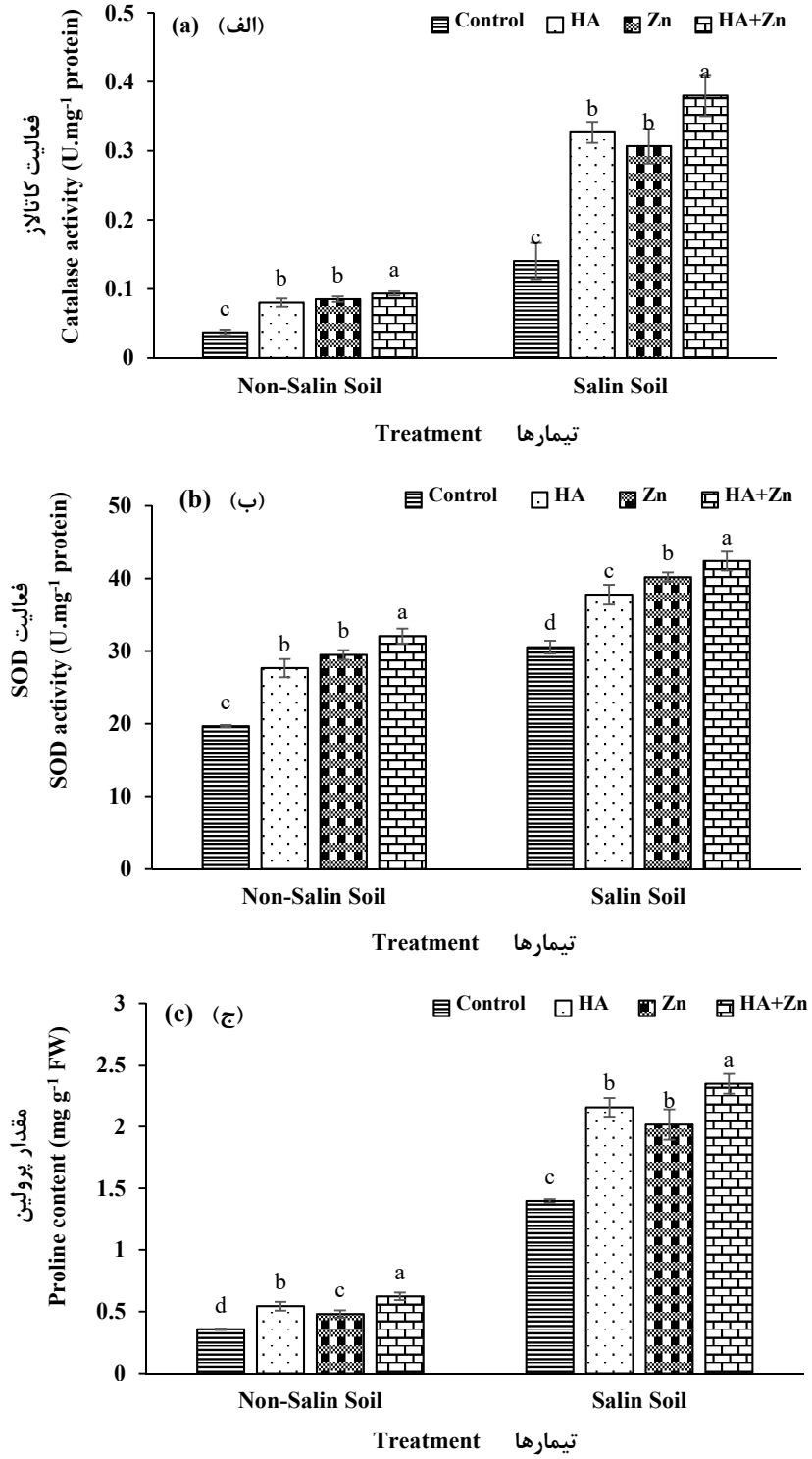


شکل ۲. اثر شوری خاک و پیش‌تیمار بذر ذرت بر (الف) سطح برگ، (ب) کلروفیل a و (ج) کلروفیل b (برش‌دهی در هر سطح شوری). میانگین‌های دارای حروف مشترک در هر سطح تنش شوری بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن اختلاف معنی‌داری ($P\geq$۰/۰۵) ندارند.

Fig. 2. Effect of soil salinity and seed priming of maize on (a) leaf area, (b) chlorophyll a and (c) chlorophyll b (slice by salinity). Means with similar letter(s) in each each level of salinity are not significantly different, according to the Duncan's -test at 5% probability level.

همان‌طور که در شکل ۳ مشاهده می‌شود با اعمال شوری، مقادیر آنزیم‌های کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز به ترتیب از ۰/۰۳۷ و ۱۹/۶۶ $U.mg^{-1}$ protein به ۰/۱۴ و ۳۰/۵۴ $U.mg^{-1}$ protein و مقدار پرولین از ۰/۳۵۶ $mg\ g^{-1}FW$ در خاک غیرشور و ۱/۳۹ در خاک شور افزایش یافت. پیش‌تیمار بذرهای ذرت با هیومیک اسید و روی باعث افزایش معنی‌دار مقادیر آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و نیز پرولین در هر دو خاک شور و غیر شور شد. نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که تیمار شوری باعث افزایش میزان محتوای آنتی‌اکسیدان‌ها می‌شود. تیمارهای هیومیک اسید و روی در این شرایط به این افزایش کمک می‌کنند؛ لذا گیاهان تیمار شده با هیومیک اسید و روی در شرایط تنش شوری نسبت به گیاهان تیمار نشده و نیز

گیاهان کشت‌شده در خاک غیرشور فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالاتر و محتوای پرولین بالاتری دارند.



شکل ۳. اثر شوری خاک و پیش‌تیمار بذر بر (الف) فعالیت آنزیم کاتالاز، (ب) فعالیت آنزیم SOD و (ج) مقدار پرولین (برش‌دهی در هر سطح شوری). میانگین‌های دارای حروف مشترک در هر سطح شوری بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن اختلاف معنی‌داری (P≤۰/۰۵) ندارند.

Fig. 3. Effect of soil salinity and seed priming on (a) catalase activity, (b) SOD activity and (c) proline content (slice by salinity). Means with similar letter(s) in each level of salinity are not significantly different, according to the Duncan's -test at 5% probability level.

همان‌طور که قبلاً گفته شد افزایش مقدار آنزیم‌های کاتالاز، سوپراکسیددیسموتاز و پرولین در گیاهان به هنگام تنش، نوعی سازوکار دفاعی است. گیاهان از طریق دو سیستم آنتی‌اکسیدانی آنزیمی (پراکسیدازها و کاتالاز) و غیرآنزیمی (کارتنوئیدها، اسیدآسکوربیک، پرولین) سلول‌ها و سیستم‌های زیرسلولی را در برابر اثرات سمی گونه‌های فعال اکسیژن محافظت می‌کنند که مجموع این دو سیستم فعالیت آنتی‌اکسیدانی کل را در برمی‌گیرد (Aliu et al., 2015). در پژوهش حاضر مشاهده شد که با کاربرد هیومیک اسید و روی، میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی افزایش می‌یابد و بیشترین افزایش فعالیت اکسیدانی در اثر استفاده هم‌زمان هیومیک اسید و روی صورت گرفت که این افزایش به‌نوعی بیانگر تأثیر هیومیک اسید و روی بر فعال شدن سیستم آنتی‌اکسیدانی برای از بین بردن گونه‌های فعال اکسیژن در مواجه احتمالی گیاه با تنش‌ها است. محمد و همکاران (Mohamed et al., 2017) در مطالعه‌ای به بررسی تأثیر پیش‌تیمار بذر با استفاده از هیومیک اسید بر روی کاهش اثرات سمی ناشی از آلودگی روی، با تمرکز بر روی پارامترهای فیزیولوژیکی و مولکولی گیاه، در برنج پرداختند. نتایج این مطالعه نشان داد که پیش‌تیمار بذر به‌وسیله هیومیک اسید توانست تا حد زیادی از اثرات منفی آلودگی بکاهد و رشد بذرهای آلوده را در مقایسه با بذرهای تیمار نشده با هیومیک اسید افزایش دهد. هیومیک اسید از طریق افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی باعث سمیت‌زدایی گونه‌های فعال اکسیژن شده درنتیجه باعث افزایش مقاومت گیاهان می‌شود. همچنین روی نیز در متابولیسم پروتئین، بیان ژن، کنترل نفوذپذیری غشای سلول‌های ریشه، تنظیم روزنه‌ها و ساخت تریپتوفان و فعال‌سازی آنزیم سوپراکسیددیسموتاز نقش بسزایی دارد (Askari et al., 2016). تغذیه مناسب و کافی Zn، جذب سدیم اضافی را توسط ریشه تحت تنش شوری کاهش داده و تحمل گیاه را در برابر سمیت NaCl افزایش می‌دهد. روی یکی از عناصر مهم متابولیسم کربوهیدرات‌ها است. تعداد زیادی از آنزیم‌های دخیل در متابولیسم کربوهیدرات‌ها به‌وسیله روی فعال می‌شوند. همچنین عنصر روی ظرفیت جذب و انتقال آب در گیاهان را تحت تأثیر قرار دهد و اثرات زیان‌آور تنش شوری و گرما را کاهش می‌دهد (Tavallali et al., 2010). بر اساس نظر آیاس و گالسر (Ayas and Gulser, 2005) هیومیک اسید از طریق ایجاد شرایط مناسب برای افزایش در جذب عناصر غذایی، باعث سنتز بیشتر ترکیبات آلی پروتئینی می‌شود. درنتیجه احتمال می‌رود که با کاربرد هیومیک اسید و افزایش سنتز ترکیبات آلی، میزان پرولین در گیاه نیز افزایش یابد.

نتیجه‌گیری نهایی

نتایج این آزمایش نشان داد که پیش‌تیمار بذور با هیومیک اسید و روی به‌ویژه ترکیب این دو در زمان بروز تنش شوری باعث کاهش خسارت شوری و افزایش صفات طول اندام هوایی، سطح برگ، وزن خشک اندام هوایی و ریشه و رنگ‌دانه‌های فتوسنتزی در گیاهچه ذرت شد. به‌طوری کلی به نظر می‌رسد پیش‌تیمار بذور با هیومیک اسید و روی به‌ویژه ترکیب این دو در شرایط تنش شوری با تحریک فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز و افزایش پرولین موجب تحمل گیاه به تنش شوری شده است.

منابع

Aliu, S., Rusinovci, I., Fetahu, S., Gashi, B., Simeonovska, E., Rozman, L., 2015. The effect of salt stress on the germination of maize (*Zea mays* L.) seeds and photosynthesis pigments. Acta Agriculture Slovenia. 105, 85-94.

Arnon, D.T., 1949, Copper enzymes in isolation chloroplast phenoloxidase in *Beta vulgaris*. Plant Physiology. 24, 1-15.

Ashraf, M., Harris, P.J.C., 2013. Photosynthesis under stressful environments: An overview. Photosynthetica. 51, 163–190.

Adl, H.R., 2007, Estimation of leaf biomass and area index of two major species in Yasuj forests. Iranian Journal of Forest and Poplar Research 15, 417–426. [In Persian with English summary].

Alinejadian Bidabadi, A., Hasani, M., Maleki, A., 2018. The effect of amount and salinity of water on soil salinity and growth and nutrients concentration of spinach in a pot experiment. Iranian Journal of Soil and Water Research. 49, 641-651. [In Persian with English summary].

Askary, M., Amini, F., Hosseinpour, L., 2016. Study of variability in growth, antioxidant defense system and protein content by zinc element application in periwinkle (*Catharanthus roseus* L.) G. Don.) under salinity stress. Iranian Journal of Medical and Aromatic Plants 32, 35-46. [In Persian with English summary].

Baby, J., Jini, D., 2011. Development of salt stress-tolerant plants by gene manipulation of antioxidant enzymes. Asian Journal of Agricultural Research. 5, 17-27.

Bates, S., Waldern, R.P., Teare, E.D., 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. Plant and Soil. 39, 205-207

Chamani, F., Habibi, D., Khodabandeh, N., Davoodifar, M., Asgharzadeh, A., 2012. Effects of salinity stress on yield and yield components of inoculated wheat by plant growth promoting bacteria (*Azotobacter chroocccum*, *Azospirillum lipoferum*, and *Pseudomonase putida*) and humic acid. Iranian Journal of Agronomy and Plant Breeding. 8, 39-55[In Persian with English summary].

Dhinds, R.S., Plumb-Dhinds, D., Thorpe, T.A., 1981. Leaf Senescence correlated with increased levels of membrane permeability and lipid peroxidation and decreased levels of superoxide dismutase and catalase. Journal of Experimental Botany. 32, 93-101.

Giannopolitis, C., Ries, S., 1997. Superoxide Desmotase. I. Occurrence in higher plant. Plant Physiology. 59, 309-314.

Haghighi, M., Kafi, M., Fang P., 2012. Photosynthetic activity and N metabolism of lettuce as affected by humic acid. International Journal of Vegetable Science. 18, 182-189.

Imran, M., Mahmood, A., Neuman, V., 2013. Nutrient see priming improves seedling development of maize exposed to low root zone temperatures during early growth. European Journal of Agronomy. 49, 141– 148.

Iqbal M., Ashraf M., 2005. Changes in growth, photosynthetic capacity and ionic relations in spring wheat (*Triticum aestivum* L.) due to presowing seed treatment with polyamines. Plant Growth Regulation. 46, 19–30.

Kaya, C., Ashraf, M., Dikilitas, M., Tuna, A.L., 2013a. Alleviation of salt stress-induced adverse effects on maize plants by exogenous application of indoleacetic acid (IAA) and inorganic nutrients– A field trial. Australian Journal of Crop Science. 7, 249-254.

Kaya, C., Sonmez, O., Aydemir, S., Dikilitas, M., 2013b. Mitigation effects of glycinebetaine on oxidative stress and some key growth parameters of maize exposed to salt stress. Turkish Journal of Agriculture and Forestry. 37, 188-194.

Mahmoudi, M., Samavat, S., Khalighi, A., Cherati, A., 2014. The effect of humic acid and proline on morphological properties of *Actindia Deliciosa* cv. Hayward under salinity. Journal of Applied Science and Agriculture. 9, 261-267.

Martinez-Medina, A., Flors, V., Heil, M., Mauch-Mani, B., Pieterse, C.M., Pozo, M.J., Ton, J., van Dam, N.M., Conrath, U., 2016. Recognizing plant defense priming. Trends in Plant Science. 21, 818–822.

Mass, E.V., Hoffman, G.J., 1997. Crop salt tolerance current assessment Journal of Irrigation and Drainage Division. 103, 115-134.

Moghadam, H.R.T., 2013. Humic acid as an ecological pathway to protect corn plants against oxidative stress. Biological Forum. 7, 1704–1709.

Mohamed, S., Sheteiwy, D.Q., Jianyu, A., Song, W., Guan, Y., He, F., Huang, Y., Hu, J., 2017. Regulation of ZnO nanoparticles-induced physiological and molecular changes by seed priming with humic acid in *Oryza sativa* seedlings. Plant Growth Regulation. 83, 27–41.

Munns, R., 2002. Comparitive physiology of salt water stress. Plant, Cell and Environment. 25, 239-250.

Muscolo, A., Cutrupi, S., Nardi, S., 1998. IAA detection in humic substances. Soil Biology and Biochemistry. 30, 1199–1201.

Nardi, S., Pizzeghello, D., Muscolo, A., Vianello, A., 2002. Physiological effects of humic substances on higher plants. Soil Biology and Biochemistry. 34, 1527–1536.

Nazar, R., Iqbal, N., Syeed, S., Khan, N.A., 2011. Salicylic acid alleviates decreases in photosynthesis under salt stress by enhancing nitrogen and sulfur assimilation and antioxidant metabolism. Journal of plant physiology. 168, 807-815

Nematpour, A., Kazemeini, S.A.R., Adalat, M., 2015. Effect of salinity on some growth and physiological characteristics of two cultivars of sweet corn (*Zea mays* var. saccharta). Iranian

Journal of Plant Production Technology 15(2), 153-165. [In Persian with English summary].

Page, A., Chang, A., Adriano, D., 1990. Deficiencies and toxicities of trace elements. Agricultural Salinity Assessment and Management, Chapter 7, ASCE Manuals and Reports on Eng. Practice No. 71, ASCE, p 138-160.

Patel, A.D., Pandey, A.N., 2007. Effect of soil salinity on growth, water status and nutrient accumulation in seedlings of *Cassia montana* (Fabaceae). Journal of Arid Environments. 70, 174-182.

Pérez-Novo, C., Pateiro-Moure, M., Osorio, F., Nóvoa-Muñoz, J.C., López-Periago, E., Arias-Estéve, M., 2008. Influence of organic matter removal on competitive and noncompetitive adsorption of copper and zinc in acid soil. Journal of Colloid and Interface Science. 322, 33–40.

Pirzad, A., Ghadernajad Azar, R., Hadi, H., Tousi, P., 2013. Effect of soil salinity stress on some vegetative and reproductive traits of sunflower cultivars in Mahabad conditions. Journal of Agronomy Science. 6, 55-66. [In Persian with English summary].

Qadir, M., Quille´rou, E., Nangia, V., Murtaza, G., Singh, M., Thomas, R.J., Drechsel, P., Noble, A.D., 2014. Economics of salt-induced land degradation and restoration. Natural Resources Forum. 38, 282-295.

Ramoliya, P. J., Patel, H. M., Pandey, A.N., 2004. Effect of salinization of soil on growth and macro-and micro-nutrient accumulation in seedlings of *Salvadora persica* (Salvadoraceae). Forest Ecology and Management. 202(1-3), 181-193.

Rizwan, M., Ali, SH., Ali, B., Adrees, M., Arshad, M., Hassain, A., Rehman, M.Z., Waris, A.A., 2019. Zinc and iron oxide nanoparticles improved the plant growth and reduced the oxidative stress and cadmium concentration in wheat. Chemosphere. 6535, 31776-4.

Russo, R.O., Berlyn, G.P., 1990. The use of organic biostimulants to help low input sustainable agriculture. Journal of Sustainable Agriculture. 1, 19-42.

Schroeder, J.I., Delhaize, E., Frommer, W., Guerinot, M.L., Herrera-Estrella, L., Horie, T., Kochian, L.V., Munns, R., Nishizawa, N.K., Tsay, Y.F., Sanders D., 2013. Using membrane transporters to improve crops for sustainable food production. Nature. 497, 60–66.

Sheteiwy, M.S., Fu, Y., Hu, Q., Nawaz, A., Guan, Y., Li, Z., Huang, Y., Hu, J., 2016. Seed priming with polyethylene glycol induces antioxidative defense and metabolic regulation of rice under nano-ZnO stress. Environmental Science and Pollution Research. 23, 19989–20002.

Tavallali, V., Rahemi, M., Eshghi, S., kholdebarin, B., Ramezanian, A., 2010. Zinc alleviates salt stress and increases antioxidant enzyme activity in the leaves of pistachio (*Pistacia vera* L. Badami) seedlings. Turkish Journal Agriculture Forestry. 34, 349-359.

Valentovic, P., Luxova, M., Kolarovic, L., Gasparikova, O., 2006. Effect of osmotic stress on compatible solutes content, membrane stability and water relations in two maize cultivars. Plant, Soil and Environment. 52, 186–191.