دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
پژوهشنامه اصلاح گیاهان زراعی

"مقاله پژوهشی"

پاسخ گیاهچه‌های هیبرید ذرت به تنش شوری با استفاده از سیستم دفاع آنتی‌اکسیدان بر روی ژل پلی آکریلامید

اعظم شکیب آیلار[۱]، سلیم فرزانه[۲]، سجاد محرم‌نژاد[۳]، رئوف سید شریفی[۴] و محمد حسن‌زاده[۵]

۱- گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران
۲- گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران (نویسنده مسوول: salimfarzaneh@yahoo.com)
۳- بخش تحقیقات علوم زراعی و باغی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان اردبیل (مغان)، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، مغان، ایران
۴- گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران
۵- گروه تولیدات گیاهی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی مغان، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران

تاریخ دریافت: ۹۹/۱۱/۱ تاریخ پذیرش: ۹۹/۱۱/۲۰
صفحه: ۱۰۷ تا ۱۱۵

چکیده

به‌منظور ارزیابی پاسخ هیبریدهای ذرت به تنش شوری، آزمایشی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان اردبیل (مغان) در سال ۱۳۹۹ انجام گرفت. فاکتور اول سه سطح شوری صفر، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی مولار سدیم کلراید و فاکتور دوم شش هیبرید ذرت (SC647، TWC647، SC704، SC705، SC706 و SC715) بودند. نتایج حاصل از تجزیه الکتروفورزی روی ژل پلی آکریلامید هشت درصد نشان داد که به‌ترتیب سه، دو و یک ایزوفرم برای آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، پراکسیداز (POX) و کاتالاز (CAT) مشاهده شد و برای هر نوار روی ژل میزان "مساحت × شدت" به‌عنوان فعالیت ایزوفرم آنزیم‌های آنتی‌کسیدان توسط نرم‌افزار MCID مورد بررسی قرار گرفت. نتایج حاصل نشان داد که وزن خشک گیاهچه‌های هیبرید ذرت تحت تنش شوری به‌طور معنی‌دار کاهش یافت. اما میزان مالون دی آلدئید (MDA)، پراکسید هیدروژن (H_2O_2) و فعالیت ایزوفرم‌های SOD، POX و CAT افزایش معنی‌داری داشتند. همبستگی بین وزن خشک گیاهچه با فعالیت POX و CAT مثبت و معنی‌دار بود. تجزیه نشان داد که هیبریدهای ذرت در دو گروه مختلف قرار گرفتند. هیبرید TWC647 با بیشترین وزن خشک گیاهچه، کمترین میزان MDA و بیشترین فعالیت آنزیم‌های آنتی‌کسیدان نسبت به سایر هیبریدهای ذرت مورد مطالعه از مقاومت به شوری نسبی بالایی برخوردار بود. نتایج حاصل نشان می‌دهد که هیبریدهای ذرت مقاوم به شوری از سیستم دفاع آنتی‌کسیدانی بالای برخوردار هستند.

واژه‌های کلیدی: آنزیم، الکتروفورز، ایزوفرم، بیوماس، تنش اکسیداتیو

مقدمه

ذرت بعد از گندم از لحاظ سطح زیر کشت مقام دوم را در بین غلات به خود اختصاص داده است. سطح زیرکشت ذرت در دنیا بیش از۱۳۰ میلیون هکتار گزارش شده است و سهم کشور ایران از این مقدار حدود ۲۰۵ هزار هکتار برآورد شده است (۶).

تنش شوری یکی از مهم‌ترین عوامل محدود کننده رشد و تولید گیاهان زراعی در بیشتر مناطق خشک و نیمه خشک جهان است (۱). افزایش غلظت نمک در محیط باعث عدم تعادل یونی و تنش اسمزی می‌گردد (۱). جیانگ و همکاران (۹) گزارش کردند که با افزایش تنش شوری میزان وزن خشک و طول گیاهچه‌های ذرت به‌طور معنی‌دار کاهش می‌یابد. شوری از مهم‌ترین عوامل ایجاد تنش اکسیداتیو و افزایش گونه‌های فعال اکسیژن (ROS)، از جمله سوپراکسید ($O_2^{\cdot-}$) و پراکسید هیدروژن (H_2O_2) است که تجمع آن‌ها سبب پراکسیداسیون چربی‌ها، انفعال آنزیم‌ها، خسارت به اسیدهای نوکلئیک و تخریب غشاءهای سلول می‌شود (۱۷). بررسی تخریب غشاهای سلولی و تولید مالون دی‌آلدئید (MDA) ناشی از تخریب غشاهای سلولی یکی از معیارهای بررسی واکنش گیاهان به تنش‌های محیطی از جمله شوری است که در سال‌های اخیر مورد توجه قرار گرفته است (۱۶). به‌طور کلی گیاهان برای مقابله با تنش اکسیداتیو از سیستم آنزیمی و غیر آنزیمی استفاده می‌کنند که سیستم آنزیمی شامل سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، پراکسیداز (POX) و کاتالاز (CAT) و سایر آنزیم‌های آنتی‌کسیدان و سیستم غیر آنزیمی شامل گلوتاتیون، آسکوربیک اسید، ساختارهای پلی فنلی و سایر مواد، آنتی‌کسیدان هستند (۸). تنش شوری باعث افزایش میزان MDA و H_2O_2 در گیاه ذرت شد، این میزان افزایش در رقم حساس به مراتب بیشتر از رقم مقاوم به شوری بود (۱۰). همین نتایج در تحقیق دیگر توسط کاراسکو-ریوس و همکران (۳) در گیاه ذرت بیان شده‌است. افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌کسیدان تحت تنش شوری در گیاه ذرت گزارش شده‌است (۲). افزایش بیشتر فعالیت SOD، POX و CAT همبستگی مثبتی با صفات رشدی در جهت کاهش اثرات ناشی از شوری عنوان شده‌است. ژنوتیپ‌های مقاوم به شوری نسبت به ژنوتیپ‌های حساس، سطح آنزیم‌های آنتی‌کسیدان بالایی دارند (۱،۷). تنش شوری سبب تنش اسمزی، بهم خوردن هموستازی سلولی و سمیت یونی در سلول‌های گیاهی می‌شود (۴). تنش شوری یک مشکل جدی و در حال افزایش می‌باشد، بنابراین شناسایی سازوکارهایی جهت بهبود تحمل شوری در گیاهان با تکنولوژی‌های زیست مولکولی از اهمیت خاصی برخوردار است. در این راستا پژوهش حاضر با هدف ارزیابی اثر تنش شوری روی سیستم دفاع آنتی‌کسیدان و بیوماس هیبریدهای ذرت در مرحله گیاهچه‌ای انجام گرفت.

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2025-07-16]

[DOI: 10.52547/jcb.13.38.107]

مواد و روش‌ها

برای ارزیابی اثر تنش شوری روی گیاه ذرت، آزمایشی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی با سه تکرار در دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی مغان در سال ۱۳۹۹ تحت شرایط گلخانه‌ای اجرا شد. عامل اول شامل شش هیبرید ذرت SC647، TWC647، SC704، SC705، SC706 و SC715 (تهیه شده از بخش تحقیقات ذرت و گیاهان علوفه‌ای موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر کرج) و عامل دوم سه سطح شوری سدیم کلراید (صفر، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌مولار) بودند. ابتدا بذور با محلول سه درصد هیپوکلریت سدیم به مدت دو دقیقه ضد عفونی و پنج روز پس از جوانه‌زنی داخل پتری دیش، گیاهچه‌ها به پلاستیک‌های خاص حاوی پرلیت منتقل شدند و بعد از استقرار گیاهچه‌ها، تنش شوری به‌مدت دو هفته تا مرحله سه برگی گیاهچه‌های ذرت توسط محلول نیم هوگلند اعمال گردید. بعد از اعمال تنش شوری جهت اندازه‌گیری وزن خشک گیاهچه‌ها، نمونه‌ها در داخل پاکت‌های مجزا قرار گرفته و در آون تحت دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۴۸ ساعت قرار داده شد و در نهایت وزن خشک آن‌ها توسط ترازو حساس اندازه‌گیری شدند.

میزان مالون دی‌آلدئید (MDA) و پراکسید هیدروژن (H_2O_2)

بعد از اعمال تنش شوری، ابتدا نیم گرم برگ تازه را در محلول ۲۰ درصد تیوکلرو استیک اسید (TCA) که حاوی ۰/۵ درصد تیو باربیتوریک اسید (TBA) کاملاً پودر کرده و آنگاه این مخلوط به مدت ۲۵ دقیقه در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد در حمام بن ماری حرارت داده شد. سپس این مخلوط را در حمام یخ سرد کرده و درنهایت میزان MDA با طول موج‌های ۵۳۲ و ۶۰۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر صورت گرفت (۱۴). به‌منظور تخمین میزان H_2O_2 نمونه‌های تازه برگی هضم شده به همراه تری‌کلرواستیک اسید در دور ۱۲۰۰۰ به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفوژ شد. سپس کمپلکس واکنش حاوی محلول رو شناور، بافر فسفات و یدید پتاسیم تهیه شده و میزان جذب نمونه‌های هیبریدهای ذرت در طول موج ۳۹۰ نانومتر با استفاده از اسپکتروفتومتر قرائت شد (۱۴).

آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان روی ژل پلی آکریلامید

نمونه‌های برگی تازه در بافر استخراج (تریس ۵۰ میلی‌مولار، پنج درصد ساکاروز، ۵۰ میلی مولار اسکوربیک اسید، ۲۰ میلی‌مولار سدیم متابی سولفیت و دو درصد پلی‌اتیلن گلیکول) با pH برابر ۷/۵ حاوی ۰/۱ درصد ۲-مرکاپتواتانول با نسبت وزنی یک از برگ و یک از بافر استخراج، به خوبی هموژنیزه و سپس محلول حاصل به مدت ۱۰ دقیقه در ۱۰۰۰۰ دور و دمای چهار درجه سانتی‌گراد سانتریفوژ شد. عصاره آنزیمی با قطعات بریده شده کاغذ واتمن شماره ۴۲ و مناسب با ابعاد چاهک، جذب و در ژل پلی آکریلامید هشت درصد با ابعاد ۰/۶×۱۲×۱۵ سانتی‌متر بارگذاری شد. برای رنگ آمیزی آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، پراکسیداز (POX) و کاتالاز (CAT) از روش ولیزاده و همکاران (۲۰) استفاده شد.

تجزیه آماری

از نرم‌افزار MCID برای کمی سازی " مساحت × شدت" نوار آنزیمی به عنوان فعالیت دنسیتومتریک ایزوفرم آنزیم‌های آنتی‌کسیدان روی ژل استفاده شد. قبل از تجزیه واریانس داده‌ها آزمون نرمال بودن داده‌ها به روش تست کولموگروف- اسمیرنوف انجام گرفت. مقایسه میانگین‌ها به روش حداقل اختلاف معنی‌دار (LSD) در سطح احتمال پنج درصد با استفاده از نرم‌افزار SPSS انجام شد. همچنین همبستگی، تجزیه خوشه‌ای و نقشه دمایی[1] از نرم‌افزار JMP استفاده گردید.

نتایج و بحث

وزن خشک

تجزیه واریانس داده‌های وزن خشک گیاهچه‌ها نشان داد که بین هیبریدها و سطوح مختلف شوری در سطح احتمال یک درصد اختلاف معنی‌دار وجود داشت. اما بر همکنش هیبرید × شوری برای وزن خشک معنی‌دار نبود (جدول ۱). شوری به‌طور معنی‌دار وزن خشک گیاهچه‌های ذرت را کاهش داد (جدول ۲). مقایسه میانگین هیبریدهای ذرت برای وزن خشک گیاهچه‌ها نشان داد که TWC647 دارای بیشترین وزن خشک گیاهچه‌ای نسبت به سایر هیبریدهای ذرت بود (جدول ۳). چنین به‌نظر می‌رسد که هیبریدهای مختلف ذرت پاسخ متفاوتی به تنش شوری دادند.

تنش شوری باعث کاهش معنی‌دار وزن خشک گیاهچه‌های ذرت می‌شود. به‌طوری‌که این میزان کاهش نسبت به تیمار شاهد در حدود ۲۴ درصد توسط عمرانی و محرم‌نژاد (۱۹) گزارش شده‌است. افزایش غلظت نمک در آب و خاک به دلیل افزایش غلظت سدیم و کلر، باعث کاهش رشد گیاه می‌شود گزاراش‌های متعددی مبنی بر کاهش وزن بیوماس رقم‌های مختلف ذرت تنش شوری شده‌است (۲،۵،۱۵). که با نتایج این تحقیق مطابقت دارد.

1- Heatmap

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2025-07-16]

[DOI: 10.52547/jcb.13.38.107]

جدول ۱- جدول تجزیه واریانس صفات سیستم دفاع آنتی‌کسیدان و وزن خشک گیاهچه‌های هیبرید ذرت تحت تنش شوری

Table 1. ANOVA of antioxidant defense system and seedling dry weight of maize hybrids under salinity stress

منابع تغییر	درجات آزادی	میانگین مربعات								
		وزن خشک	H_2O_2	MDA	SOD_1	SOD_2	SOD_3	POX_1	POX_2	CAT
هیبرید	۵	۳۸/۲**	۱۴۹/۳**	۹۶/۸**	۶۳/۰**	۱۴۷/۴**	۵۶/۸**	۱۰۷/۰**	۶۳۵/۱**	۲۷/۲**
شوری	۲	۲/۴**	۵۹۴/۷**	۱۲۵/۹**	۲۵/۶**	۱۰۸/۴**	۱۵۹/۱**	۹۰/۴**	۳۳۰/۱**	۳۵/۸**
هیبرید× شوری	۱۰	۰/۲^{ns}	۷/۹**	۲/۰**	۰/۶^{ns}	۱/۱^{ns}	۲/۲^{ns}	۶/۱^{ns}	۱۱/۶^{ns}	۲/۴^{ns}
خطا	۳۶	۰/۱	۰/۵	۰/۲	۲/۱	۵/۳	۶/۲	۷/۱	۲۹/۱	۲/۱
ضریب تغییرات (٪)		۷/۳	۲/۴	۲/۰	۲۸/۴	۱۷/۹	۱۶/۴	۲۸/۱	۲۵/۱	۱۷/۹

ns و **: به‌ترتیب غیرمعنی‌دار و معن دار در سطح احتمال یک درصد

H_2O_2: هیدروژن پراکسید، MDA: مالون دی آلدئید، SOD: سوپراکسید دیسموتاز، POX: پراکسیداز و CAT: کاتالاز

جدول ۲- میانگین وزن خشک و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌کسیدان تحت تنش شوری

Table 2. Mean of dry weight and antioxidant enzyme activities under salinity stress

سدیم کلرید (میلی مولار)	وزن خشک (گرم)	SOD_1 (دنسیومتریک)	SOD_2 (دنسیومتریک)	SOD_3 (دنسیومتریک)	POX_1 (دنسیومتریک)	POX_2 (دنسیومتریک)	CAT (دنسیومتریک)
صفر	۳/۰±۹۱/۹۴^{a}	۳/۰±۲۳/۵۶^{c}	۵/۱±۶۵/۳۹^{c}	۶/۱±۳۵/۵۲^{b}	۴/۱±۶۲/۵۵^{c}	۶/۱±۴۹/۷۹^{c}	۳/۰±۴۳/۹۸^{c}
۱۰۰	۳/۰±۸۷/۸۸^{b}	۴/۰±۴۵/۷۲^{b}	۹/۲±۷۱/۶۵^{b}	۱۰/۳±۰۳/۸۲^{a}	۷/۱±۳۲/۷۷^{b}	۱۰/۲±۱۰/۹۹^{b}	۵/۰±۳۹/۸۳^{b}
۲۰۰	۳/۰±۰۰/۶۰^{c}	۵/۰±۶۲/۵۲^{a}	۱۰/۱±۰۶/۳۲^{a}	۱۲/۲±۲۴/۴۲^{a}	۹/۱±۰۷/۹۷^{a}	۱۴/۲±۶۷/۰۸^{a}	۶/۰±۹۱/۹۷^{a}

حروف متفاوت در هر ستون نشانگر اختلاف معنی‌دار بین سطوح شوری

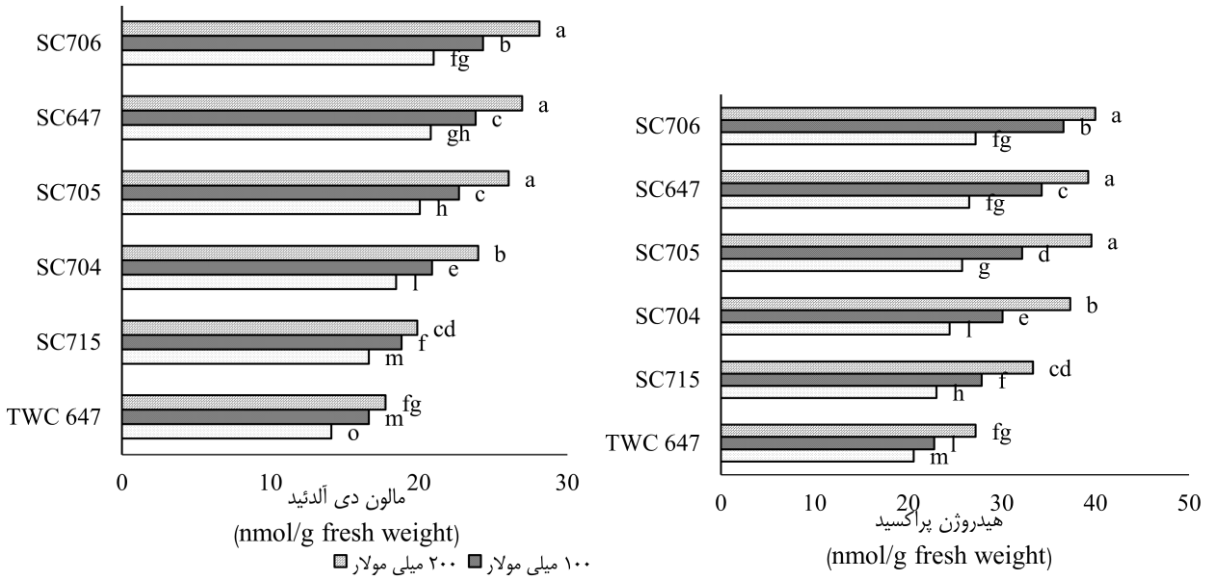
میزان مالون دی آلدنید (MDA) و هیدروژن پراکسید (H_2O_2)

یافته‌های حاصل از تجزیه واریانس داده‌های MDA و H_2O_2 مبین آن است که اثر هیبریدها، شوری و برهمکنش هیبریدها × شوری در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بودند (جدول ۱). تنش شوری باعث افزایش معنی‌دار میزان MDA و H_2O_2 در هیبریدهای ذرت شد، که نشان از القای تنش اسمزی در هیبریدهای ذرت مورد مطالعه بود. مقایسه میانگین برهمکنش هیبرید × شوری برای میزان MDA و H_2O_2 نشان داد که هیبرید SC706 دارای بیشترین مقدار MDA و H_2O_2 در سطح شوری ۲۰۰ میلی مولار سدیم کلرید داشت (شکل ۱). اما TWC647 دارای کمترین میزان MDA و H_2O_2 تحت تنش شوری داشت (شکل ۱).

افزایش MDA با تنش شوری نشان دهنده آسیب رسانی شوری به غشای سلولی است که MDA می‌تواند با اتصال به پروتئین‌های غشا و آنزیم‌ها منجر به آسیب رسانی به ساختار و عمل غشا شود (۱). مینیزیس-بیاوینتی و همکاران (۱۱) با ارزیابی اثر شوری بر آنزیم‌های آنتی اکسیداتیو در اندام هوایی گیاه ذرت بیان داشتند که تنش شوری به‌طور معنی‌دار باعث افزایش میزان MDA و H_2O_2 می‌شود. افزایش میزان MDA و H_2O_2 به دلیل القای تنش اکسیداتیو ناشی از تنش شوری است. افزایش مقدار H_2O_2 باعث تحریک سیستم دفاع آنتی‌کسیدان در گیاه می‌شود (۷).

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2025-07-16]

[DOI: 10.52547/jcb.13.38.107]

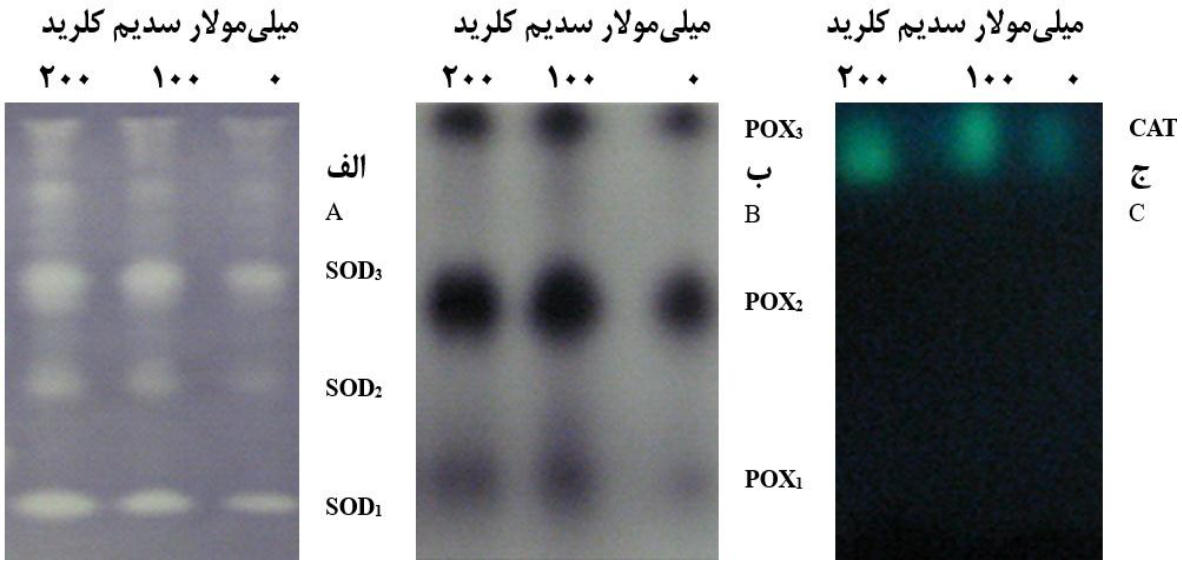


شکل ۱- میانگین مقدار هیدروژن پراکسید و مالون دی آلدئید در هیبریدهای ذرت تحت تنش شوری (حروف متفاوت نشانگر اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد می‌باشد)

Figure 1. Mean of malondialdehyde and peroxide hydrogen in maize hybrids under salinity stress (Various letters indicate significant differences $p<0.05$)

آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز (SOD)، پراکسیداز (POX) و کاتالاز (CAT)

الکتروفورز روی ژل پلی آکریلامید هشت درصد برای آنزیم‌های آنتی‌کسیدان نشان داد که به‌ترتیب سه، دو و یک ایزوفرم برای SOD، POX وCAT وجود داشت (شکل ۲). اثر هیبریدها و شوری برای میزان فعالیت ایزوفرم‌ها در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. اما برهمکنش هیبریدها × شوری معنی‌دار نبود (جدول ۱). تنش شوری به‌طور معنی‌دار باعث افزایش فعالیت ایزوفرم آنزیم‌های آنتی‌کسیدان شد (جدول ۲). مقایسه میانگین فعالیت ایزوفرم آنزیم‌های آنتی‌کسیدان نشان داد که TWC647 و SC715 نسبت به سایر هیبریدهای ذرت بیشترین افزایش را داشتند (جدول ۳).



شکل ۲- الگوی نواری آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (الف)، پراکسیداز (ب) و کاتالاز (ج) در گیاهچه‌های ذرت تحت سطوح مختلف شوری

Figure 2. Superoxide dismutase (A), peroxidase (B) and catalase (c) banding pattern in maize seedlings under different levels of salinity

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2025-07-16]

[DOI: 10.52547/jcb.13.38.107]

جدول ۳- میانگین وزن خشک و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان هیبریدهای ذرت

Table 3. Maize hybrid means of dry weight and antioxidant enzyme activities

هیبرید	وزن خشک (گرم)	SOD_1 (دنسیومتریک)	SOD_2 (دنسیومتریک)	SOD_3 (دنسیومتریک)	POX_1 (دنسیومتریک)	POX_2 (دنسیومتریک)	CAT (دنسیومتریک)
SC647	۲/۰±۳۶/۴۷^{d}	۴/۱±۳۵/۰۰^{c}	۸/۲±۱۵/۰۳^{c}	۹/۱±۰۰/۹۹^{c}	۵/۱±۹۳/۸۶^{cd}	۱۰/۰±۴۰/۹۸^{b}	۵/۰±۴۲/۶۲^{c}
TWC647	۷/۱±۱۱/۰۶^{a}	۶/۱±۴۱/۵۰^{a}	۱۰/۲±۰۱/۰۹^{a}	۱۰/۲±۸۳/۰۹^{a}	۸/۲±۴۰/۹۸^{a}	۱۱/۲±۴۴/۸۷^{a}	۶/۰±۹۳/۷۸^{a}
SC704	۴/۰±۴۸/۹۹^{c}	۵/۱±۰۱/۰۷^{b}	۸/۲±۲۰/۰۵^{c}	۹/۲±۶۶/۰۳^{b}	۷/۱±۲۲/۹۹^{bc}	۱۰/۱±۷۷/۹۵^{b}	۶/۰±۴۲/۷۰^{b}
SC705	۱/۰±۶۹/۳۴^{e}	۴/۱±۴۷/۰۱^{c}	۹/۱±۰۱/۸۹^{b}	۸/۱±۷۰/۳۹^{c}	۵/۱±۷۹/۹۹^{d}	۹/۲±۲۰/۷۹^{c}	۴/۰±۵۱/۶۵^{d}
SC706	۲/۰±۵۳/۴۴^{d}	۴/۱±۳۷/۰۰^{c}	۸/۲±۰۳/۰۹^{c}	۹/۱±۰۵/۹۰^{c}	۶/۱±۵۹/۹۴^{c}	۱۰/۲±۷۶/۹۰^{b}	۵/۰±۰۲/۷۱^{c}
SC715	۵/۱±۱۱/۱۱^{b}	۵/۰±۵۷/۹۸^{b}	۹/۲±۶۸/۰۰^{a}	۱۰/۲±۰۳/۹۸^{b}	۸/۱±۰۷/۸۷^{b}	۱۱/۱±۰۲/۹۵^{a}	۶/۰±۲۲/۷۱^{b}

حروف متفاوت در هر ستون نشانگر اختلاف معنی‌دار بین هیبریدهای ذرت

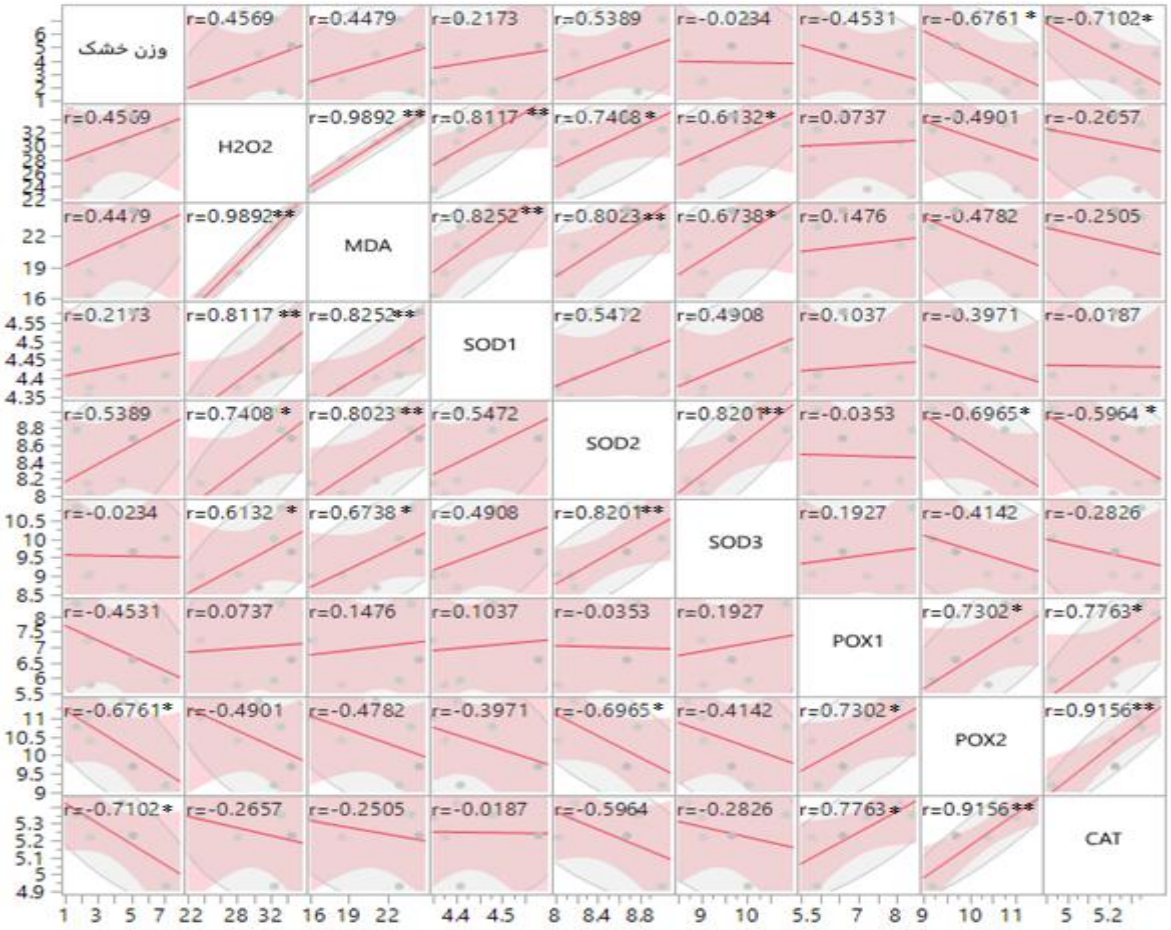
پاسخ آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان به تنش در تمامی گیاهان یکسان نیست و همه آنزیم‌های آنتی‌کسیدان در طی اعمال تنش شوری افزایش پیدا نمی‌کنند، بلکه بسته به عوامل مختلف ازجمله گونه گیاهی، غلظت و نوع نمک، فعالیت آنتی‌اکسیدان‌ها ممکن است افزایش یا کاهش یابد (۱۸). مطالعات مختلفی برای اندازه‌گیری میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌کسیدان در گیاهان مختلف روی ژل پلی آکریلامید انجام گرفته‌است به‌طوری‌که سه ایزوفرم برای SOD، دو ایزوفرم برای POX و یک ایزوفرم برای CAT گزارش شده‌است (۱۴،۲۱). که با نتایج این پژوهش مطابقت داشت. فعال بودن سیستم دفاع آنتی‌کسیدان آنزیمی نشان از القای تنش اکسیداتیو توسط تنش شوری می‌باشد. ایزوفرم‌های مختلف آنزیم‌های آنتی‌کسیدان با قرارگیری در بخش‌های مختلف اندامک‌های سلول مانع از وارد شدن صدمات ناشی از رادیکال‌های آزاد اکسیژن می‌شوند (۱۳). ملازم و بشیرزاده (۱۵) با بررسی فعالیت آنزیم‌های آنتی‌کسیدان و پرولین در ارقام ذرت تحت تنش شوری بیان داشتند که فعالیت SOD، POX و CAT تحت تنش شوری افزایش می‌یابد، که باعث کاهش اثرات تنش اکسیداتیو ناشی از شوری می‌شود. ارقام مختلف ذرت پاسخ متفاوتی در برابر تنش شوری از خود نشان می‌دهند در این رابطه ملازم و بشیرزاده (۱۵) گزارش کردند که رقم SC704 و SC302 با دارا بودن بیشترین فعالیت آنزیم‌های آنتی‌کسیدان با شرایط رشدی مناسب تحت تنش شوری، جزء ارقام متحمل به شوری به شمار می‌روند. جیانگ و همکاران (۹) اظهار کردند که تنش شوری باعث افزایش معنی‌دار فعالیت SOD، POX و CAT در گیاهچه‌های ذرت شد که با نتایج این پژوهش همسویی نشان می‌دهد.

همبستگی

تجزیه همبستگی بین صفات مورد مطالعه نشان داد که بین میزان فعالیت ایزوفرم‌های مختلف ارتباط معنی‌دار وجود داشت (شکل ۳). همچنین ارتباط مثبت و معنی‌دار بین وزن خشک گیاهچه‌ای با میزان فعالیت POX_2 وCAT وجود داشت (شکل ۳). براساس نتایج حاصل چنین به‌نظر می‌رسد که افزایش فعالیت ایزوفرم‌های پراکسیداز و کاتالاز مانع از کاهش بیشتر بیوماس گیاهچه‌ای ذرت‌های مورد مطالعه تحت تنش شوری می‌شوند.

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2025-07-16]

[DOI: 10.52547/jcb.13.38.107]



شکل ۳- همبستگی وزن خشک گیاهچه‌ای با سیستم دفاع آنتی‌کسیدان در هیبریدهای ذرت، * و ** به‌ترتیب معنی‌داری در سطح احتمال پنج و یک درصد (H_2O_2: هیدروژن پراکسید، MDA: مالون دی آلدئید، SOD: سوپراکسید دیسموتاز، POX: پراکسیداز و CAT: کاتالاز)

Figure 3. Correlation between dry weight and oxidative defense system in maize hybrids, * and ** significant differences at 5 and 1% probability respectively (H_2O_2: Hydrogen peroxide, MDA: Malondialdehyde, SOD: Superoxide dismutase, POX: Peroxidase and CAT: Catalase)

جیانگ و همکاران (۹) با ارزیابی القای تنش شوری مبنی بر افزایش فعالیت سیستم دفاع آنتی‌کسیدانی در ذرت اظهار کردند همبستگی معنی‌دار منفی ببین میزان فعالیت SOD و غلظت شوری برقرار بود. اما ارتباط مثبت معنی‌دار بین وزن گیاهچه‌ای ذرت و فعالیت SOD وجود داشت. با افزایش غلظت شوری میزان فعالیت SOD ولیزاده و همکاران (۲۰) با بررسی اثر شوری ۱۲ خانواده ناتنی در یونجه بیان داشتند که همبستگی مثبت و معنی‌دار بین وزن تر، وزن خشک و ایزوفرم‌های آنزیم‌های اکسیدان بود. همچنین محرم‌نژاد و همکاران (۱۴) در ذرت نیز ارتباط مثبت و معنی‌داری بین بیوماس و فعالیت ایزفرم‌های آنزیم‌های آنتی‌کسیدان گزارش کردند. مینیزیس-بیاوینتی و همکاران (۱۱) اظهار داشتند که افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌کسیدان از قبیل SOD و CAT همبستگی مثبتی با افزایش تحمل به تنش شوری در گیاه ذرت وجود دارد به‌طوری‌که افزایش فعالیت آنزیم‌های انتی کسیدان با بیوماس خشک گیاهچه‌های ذرت ارتباط مثبت و معنی‌دار وجود داشت.

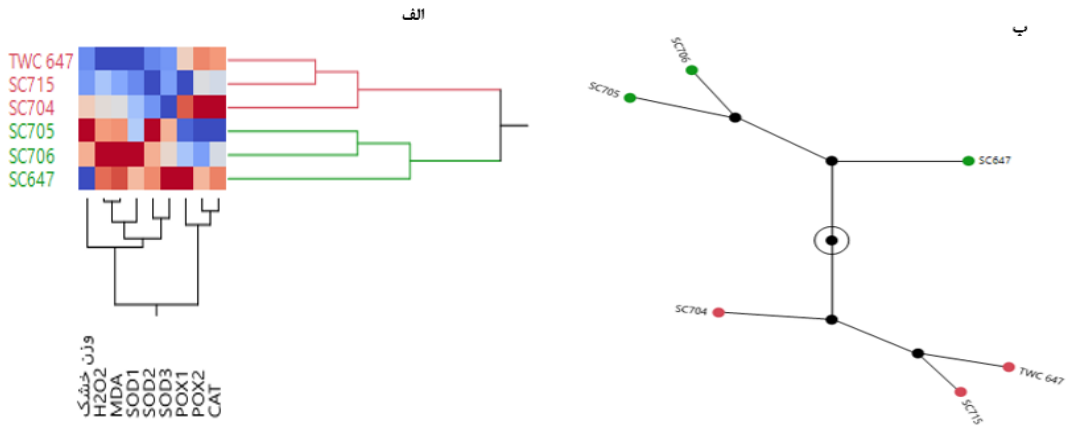
تجزیه خوشه‌ای

نتایج حاصل از تجزیه خوشه ای به روش Ward برای هیبریدهای ذرت با استفاده از سیستم دفاع آنتی‌کسیدان و وزن خشک گیاهچه‌ای نشان داد که دو گروه برای تقسیم‌بندی هیبریدهای ذرت تشکیل شد (شکل ۴ الف). طوری‌که TWC647، SC715 و SC704 در یک گروه و SC705، SC706 وSC647 در گروه دیگر قرار گرفتند. نقشه دمایی برای تعیین تأثیرگذاری صفات مورد ارزیابی در گروه‌بندی هیبریدهای ذرت نشان داد که سهم صفات POX_1، POX_2 و CAT به مراتب بیشتر هستند (شکل ۴ ب).

تجزیه خوشه‌ای در شش ژنوتیپ ذرت تحت تنش شوری توسط خویاوم و گیردمانی (۵) نشان داد که ژنوتیپ‌های ذرت مورد ارزیابی براساس خصوصیات رشدی و فیزیولوژیکی در گروه مختلف قرار گرفتند به‌طوری‌که ژنوتیپ‌های حساس و متحمل به شوری از همدیگر تفکیک شدند. که با نتایج این تحقیق مطابقت داشت.

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2025-07-16]

[DOI: 10.52547/jcb.13.38.107]



شکل ۴- نقشه دمایی و گروهبندی هیبریدهای ذرت براساس بیوماس و سیستم دفاع آنتی کسیدان
Figure 4. Heatmap and cluster of maize hybrids using biomass and antioxidant defense system

نتیجه‌گیری کلی

تنش شوری اعمال شده باعث کاهش معنی‌دار وزن خشک گیاهچه‌های ذرت شد. اما تنش شوری باعث افزایش معنی‌دار میزان MDA وH_2O_2 در هیبریدهای ذرت شد. این نتیجه نشان از القای تنش اکسیداتیو در هیبریدهای ذرت مورد مطالعه بود. تجزیه الکتروفورزی فعالیت آنزیم‌های آنتی‌کسیدان به ترتیب سه، دو و یک ایزوفرم برای SOD، POX وCAT نشان داد. تنش شوری فعالیت ایزوفرم آنزیم-های آنتی‌اکسیدان را به‌طور معنی‌دار افزایش داد. همبستگی مثبت و معنی‌دار بین وزن خشک گیاهچه‌ای با سیستم دفاع آنتی‌کسیدان داشت. تجزیه خوشه‌ای هیبریدهای ذرت بررسی سیستم دفاع آنتی‌کسیدان و وزن خشک گیاهچه‌ای نشان داد که هیبریدها در دو گروه مجزا قرار گرفتند. همچنین به‌نظر می‌رسد که افزایش فعالیت سیستم دفاع آنتی‌کسیدان مانع کاهش بیشتر بیوماس در هیبریدهای ذرت مورد مطالعه گردید.

منابع

1. Ashraf. M. 2009. Biotechnological approach of improving plant salt tolerance using antioxidants as markers. Biotechnology Advance, 27: 84-93.
2. Azevedo Neto, A.D., J.T. Prisco, J. Eneas-Filho, C.E. Braga de Abreu and E. Gomes-Filho. 2006. Effects of salt stress on antioxidative enzymes and lipid peroxidation in leaves and root of salt-tolerant and salt-sensitive maize genotypes. Environmental and Experimental Botany, 56: 87-94.
3. Carrasco-Ríos, L. and M. Pinto. 2014. Effect of salt stress on antioxidant enzymes and lipid peroxidation in leaves in two contrasting corn, 'Lluteño' and 'Jubilee'. Cherian Journal of Agricultural Research, 74: 89-95.
4. Carpici, E.B., N. Celik, G. Bayram and B.B. Asik. 2010. The effects of salt stress on the growth, biochemical parameter and mineral element content of some maize (*Zea mays* L.) cultivars. African Journal of Biotechnology, 9(41): 6937-6942.
5. Cha-um, S. and C. Kirdmanee. 2010. Salt tolerance screening in six maize (*Zea mays* L.) genotypes using multivariate cluster analysis. Philippine Agricultural Scientis, 93: 156-164.
6. FAO, 2019. http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC/visualize.
7. 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(12): 909-930.
8. Gupta, K.J., M. Stoimenova and W.M. Kaiser. 2005. In higher plants, only root mitochondria, but not leaf mitochondria reduce nitrite to NO, *in vitro* and *in situ*. Journal of Experimental Botany, 56: 2601–2609.
9. Jiang, C., C. Zu, D. Lu, Q. Zhu, J. Shen, H. Wang and D. Li. 2017. Effect of exogenous selenium supply on photosynthesis, Na^+ accumulation and antioxidative capacity of maize (*Zea mays* L.) under salinity stress. Scientific Reports, 7: 1-14 (42039).
10. Mansour, M.M.F., K.H.A. Salama, F.Z.M. Ali and A.F. Abou Hadid. 2005. Cell and plant responses to NaCl in *Zea mays* L. cultivars differing in salt tolerance. General and Applied Plant Physiology, 31: 29-41.
11. Menezes-Benavente, L., S.P. Kernodle, M. Margis-Pinheiro and J.G. Scandalios. 2004. Salt-induced antioxidant metabolism defenses in maize (*Zea mays* L.) seedlings. Communications in Free Radical Research, 9: 29-36.

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2025-07-16]

[DOI: 10.52547/jcb.13.38.107]

12. Mittler, R. 2002. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. Trends in Plant Science, 7: 405-410.
13. Moharramnejad. S. and M. Valizadeh. 2019. A key response of grain yield and superoxide dismutase in maize (*Zea mays* L.) to water deficit stress. Journal of Plant Physiology and Breeding, 2: 77-84.
14. Moharramnejad, S., O. Sofalian, M. Valizadeh, A. Asghari, M.R. Shiri and M. Ashraf. 2019. Response of maize to field drought stress: Oxidative defense system, osmolytes' accumulation and photosynthetic pigments. Pakistan Journal of Botany, 51(3): 799-807.
15. Molazem. D. and A. Bashirzadeh. 2017. Investigation of the antioxidant enzymes and proline in varieties of maize (*Zea mays* L.) under salinity stress. Journal of Molecular and Cellular Research, 1: 77-90 (In Persian).
16. Munns, R. 2002. Comparative physiology of salt and water stress. Plant, Cell and Environment, 25: 239-250.
17. Nayyar, H. and D. Gupta. 2006. Differential sensitivity of C3 and C4 plants to water deficit stress: Association with oxidative stress and antioxidants. Journal of Experimental Botany, 58: 106-113.
18. Ngara. R., R. Ndimba, J. Borch-Jensen, O.N. Jensen and B. Ndimba. 2012. Identification and profiling of salinity stress-responsive proteins in Sorghum bicolor seedlings. Journal of Proteomics, 75: 4139-4150.
19. Omrani. B. and S. Moharramnejad. 2018. Study of salinity tolerance in four maize (*Zea mays* L.) hybrids at seedling stage. Journal of Crop Breeding, 9: 79-86 (In Persian).
20. Valizadeh, M., S. Moharamnejad, M. Ahmadi and H. Mohammadzadeh Jalaly. 2013. Changes in activity profile of some antioxidant enzymes in alfalfa half-sib families under salt stress. Journal of Agricultural Science and Technology, 15:801-809.
21. Yusefi. M., V. Nasrollahzadeh Asl and S. Moharramnejad. 2017. Response of oxidative defense system to salt-treat in alfalfa (*Medicago sativa* L.). Fresenius Environmental Bulletin, 8: 5219-5224.

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2025-07-16]

[DOI: 10.52547/jcb.13.38.107]

Response of Maize Hybrids Seedlings to Salinity Stress with Oxidative Defense System on Polyacrylamide Gel

Azam Shakib Aylar[1], Salim Farzaneh[2], Sajjad Moharramnejad[3], Raouf Seyed Sharifi[4] and Mohammad Hasanzadeh[5]

1- Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran
2- Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran, (Corresponding author: salimfarzaneh@yahoo.com)
3- Crop and Horticultural Science Research Department, Ardabil Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, AREEO, Moghan, Iran
4- Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran
5- Department of Plant Production, Faculty of Agriculture and Natural Resources-Moghan, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran
Received: January 20, 2021 Accepted: February 8, 2021

Abstract

To evaluate maize hybrids response to salinity stress, a factorial experiment was performed with three replications at the Ardabil Agricultural and Natural Resources Research and Education Center during 2020. The first factors were six maize hybrids (SC647, TWC647, SC704, SC705, SC706 and SC715), and the second factors were three levels of salinity stress (0, 100 and 200 mM NaCl). Electrophoretic analyses by using 8% slab polyacrylamide gels indicated that three, two and one isoforms for superoxide dismutase (SOD), peroxidase (POX) and catalase (CAT) were observed, respectively, and for each isoform band the "density × area" scores onto gels were evaluated by MCID software as enzymatic activity. The applied salt stress reduced dry weight seedlings, but increased malondialdehyde (MDA), peroxide hydrogen (H_2O_2), and activity of SOD, POX and CAT isoforms. Significant correlations were observed between seedling dry weight and POX and CAT. The cluster analysis based Ward method was classified maize hybrids in two different groups. TWC647 hybrid with high biomass, high oxidative defense system and low MDA was salt-tolerance. The results indicated that salt-tolerance hybrids, which are associated with enhanced oxidative defense system.

Keywords: Biomass, Electrophoresis, Enzyme, Isoform, Oxidative stress

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2025-07-16]

[DOI: 10.52547/jcb.13.38.107]