

واکنش برخی صفات فیزیولوژیکی ذرت دانه‌ای به تنش خشکی و کاربرد هورمون‌های سیتوکینین و اکسین

علی ماهرخ^{۱*}، مجید نبی‌پور^۲، حبیب‌الله روشنفکر^۲، رجب چوکان^۴

۱. استادیار مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران

۲. استاد گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشگاه شهید چمران اهواز

۳. دانشیار گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشگاه شهید چمران اهواز

۴. استاد بازنشسته مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران

تاریخ دریافت: ۹۶/۰۸/۲۲؛ تاریخ پذیرش: ۹۶/۰۹/۱۹

چکیده

این مطالعه به منظور تعیین پاسخ برخی صفات فیزیولوژیکی ذرت دانه‌ای در هیبرید سینگل کراس ۷۰۴ به تغییرات هورمون‌های سیتوکینین و اکسین در شرایط تنش خشکی اجرا شد. آزمایش در سه محیط جداگانه، شامل محیط بدون تنش خشکی، تنش خشکی در مرحله رشد رویشی و تنش خشکی در مرحله رشد زایشی انجام شد. هورمون‌های سیتوکینین در سه سطح (شاهد، محلول پاشی در مرحله پنچ تا شش برگگی و هشت تا ده برگگی) و اکسین در سه سطح (شاهد، محلول پاشی در مرحله ظهور ابریشم و ۱۵ روز پس از ظهور ابریشم) در هر محیط در سه تکرار به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در مزرعه مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر کرج در سال زراعی ۱۳۹۲ اجرا شد. بیشترین شاخص سطح برگ، هدایت روزنه‌ای و کارایی کوانتوم فتوسنتزی و کمترین دمای کانوپی با محلول پاشی هورمون سیتوکینین در مرحله هشت تا ده برگگی به دست آمد. بیشترین میزان کلروفیل برگ، کارایی کوانتوم فتوسنتزی و روند تأخیری در پیر شدن برگ با مصرف هورمون اکسین در مرحله ظهور ابریشم و کمترین مقاومت روزنه‌ای و دمای کانوپی با مصرف هورمون اکسین در زمان ۱۵ روز پس از ظهور ابریشم حاصل شد. اثر متقابل تنش خشکی و مصرف هورمون‌ها بر شاخص سطح برگ و کاهش دمای کانوپی معنی‌دار بود و تأثیرگذاری مصرف هورمون‌ها در گیاه ذرت در شرایط تنش‌زایشی به دلیل برقراری تعادل روابط هورمونی مختل شده نسبت به محیط عدم تنش و تنش رویشی مؤثرتر بود.

واژه‌های کلیدی: دمای برگ، کارایی کوانتوم فتوسنتزی، هدایت روزنه‌ای، هیبرید ۷۰۴

مقدمه

هدایت روزنه‌ای می‌شود و دی‌اکسید کربن در دسترس گیاه کاهش یافته و در نتیجه میزان فتوسنتز ذرت کاهش می‌یابد (Martinez et al., 2007). تنش خشکی باعث تخریب غشاء سلولی و افزایش نفوذپذیری یون‌ها در اثر افزایش حلالیت و پراکسیداسیون چربی‌های غشاء در علف گندمی (*Agrostis palustris* Huds) می‌شود (Saneok et al. 2004). بنابراین باعث اختلال در ساختار و عملکرد غشاء می‌شود. خشکی باعث تغییرات زیاد فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی در گیاهان مانند کاهش سطح برگ، توسعه ساقه و تکثیر ریشه،

در حال حاضر تنش خشکی به علت کمبود جهانی منابع آبی، تبدیل به عامل اصلی محدودیت تولید گیاهان زراعی در عرصه جهانی شده است. همچنین، خشکی مهم‌ترین عامل محدودیت تولید ذرت است (Sallah et al., 2002). تخمین زده شده است که خشکی باعث کاهش بیشتر از ۵۰ درصد از عملکرد ذرت در سراسر جهان می‌شود. تنش خشکی باعث کاهش محتوای نسبی آب برگ، افزایش مقاومت روزنه‌ای و کاهش فتوسنتز در گیاهان عالی می‌شود (Lawlor, 2002). کاهش پتانسیل آب خاک باعث کاهش محتوای نسبی آب و

اطلاعات کمی درباره ارتباط مقدار هورمون‌های داخلی گیاه و آسیب سلول در شرایط تنش خشکی در ذرت وجود دارد (Blackman and Davies, 1984).

علامت‌دهی^۱ هورمون‌ها (سیگنالینگ هورمونی) برای کنترل رشد اندام‌ها و تمایز آن‌ها ضروری است و مؤثرترین این هورمون‌ها گیاهی، اکسین و سیتوکینین هستند (Ahmadi and Baker, 1999). سیتوکینین‌ها و اکسین‌ها نقش مهمی را در تنظیم رشد و نمو گیاه بازی می‌کنند. سیتوکینین باعث تجمع کلروفیل و تبدیل اتیوپلاست به کلروپلاست و تأخیر پیری برگ می‌شود. بنابراین این امکان وجود دارد که در پاسخ به شرایط محیطی نامطلوب دخیل باشند (Brault and Maldiney, 1999). سیتوکینین‌ها با هماهنگی و یا تضاد با سایر هورمون‌های گیاهی باعث تقسیم سلولی و فرایندهای مرتبط به رشد گیاه می‌شوند. مقدار سیتوکینین داخلی گیاه به‌وسیله سایر هورمون‌ها به‌ویژه اکسین تنظیم می‌شود (Zazimalova et al., 1999).

در شرایط تنش خشکی در گیاهان، سنتز سیتوکینین‌ها در ریشه‌ها و تحویل آن به برگ‌ها به‌طور معمول کاهش می‌یابد و ممکن است تجزیه سیتوکینین‌ها افزایش یابد و متعاقب آن، تجزیه سیتوکینین در برگ‌ها مشاهده شود (Pospisilova et al., 2000). تجزیه سیتوکینین در شرایط خشکی در یونجه گزارش شده است (Goicoehea et al., 1997). سیتوکینین‌ها ممکن است با تحریک تنظیم اسمزی باعث کاهش اثرات تنش خشکی شوند. این موضوع در نخود با کاربرد بنزیل آدنین (سیتوکینین) مشاهده شد (Yadav et al., 1997). در ذرت، سیتوکینین عکس هورمون ABA در وساطت در بسته شدن روزنه‌ها در برگ‌های جوان و پیر عمل می‌کنند (Blackman and Davies, 1984). ممکن است مکانیسم عمل سیتوکینین در سلول‌های نگهبان روزنه به‌طور مستقیم در القاء قطبی شدن غشاء دخیل باشد که باعث تحریک پمپ پروتون، تحریک فعالیت چرخه آدنیلات و افزایش ارتباط سیستم کلسیم - کالمودولین می‌شود (Pharmawati et al., 1998).

سیتوکینین‌ها نقش حیاتی در جهت افزایش تقسیم سلولی، بیوسنتز کلروفیل و تعدیل غالبیت انتهایی در گیاهان دارند (Taiz and Zeiger, 2006). کاربرد سیتوکینین در شرایط تنش‌های غیر زیستی می‌تواند پیری برگ را به‌وسیله

کاهش کارایی مصرف آب (Farooq et al., 2009) کاهش فعالیت‌های متابولیکی (Lawlor and Cornic, 2002)، بازدارندگی در فعالیت‌های آنزیمی (Ashraf et al., 1995) عدم تعادل یونی و اختلال در تجمع مواد محلول (Khan et al., 1999) یا ترکیبی از تمام این عوامل می‌شود. در شرایط کمبود آب، افزایش دمای برگ منجر به کاهش تعرق می‌شود و اثرات خنک‌کنندگی تعرق به دلیل عدم دسترسی به آب، از بین می‌رود. در ذرت و سایر گیاهان در شرایط تنش خشکی شدید، دمای برگ و کانوبی افزایش می‌یابد که منجر به توقف تعرق و افزایش مقاومت لایه‌مرزی می‌شود (Hirayama et al., 2006).

اگرچه، آب ناکافی یکی از اصلی‌ترین محدودیت‌های رشد گیاهان زراعی است ولی، تأثیرات کمبود آب در مراحل مختلف رشد گیاهان متفاوت است (Claassen and Shaw, 1970). گزارش شده است که ذرت به کمبود آب در مرحله رشد رویشی و رسیدگی متحمل است و بیشترین کاهش عملکرد دانه در اثر کمبود رطوبت خاک در طی دوره گل‌دهی رخ می‌دهد (Doorenbos and Kassam, 1979).

کاهش رشد گیاه در شرایط تنش خشکی نتیجه بر هم خوردن تعادل هورمون‌ها است، بنابراین کاربرد خارجی تنظیم‌کننده‌های رشد در شرایط تنش خشکی می‌تواند عاملی در جهت معکوس کردن تنش‌های غیرزنده باشد (Satvir et al., 2000). در بعضی مطالعات نشان داده شده است که تنش خشکی باعث تغییر سطوح هورمون‌های گیاهی می‌شود (Morgan, 1990). کاهش مقدار سیتوکینین و جیبرلیک اسید و افزایش آبسزیک اسید در شرایط تنش گزارش شده است (Miyagi et al., 1990).

تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهان به‌طور گسترده‌ای به‌صورت طبیعی و سنتزی در محصولات کشاورزی به‌عنوان وسیله‌ای در جهت بهبود گیاهان زراعی استفاده شده است. مدرکی دال بر افزایش تحمل به خشکی در گیاهان در اثر مصرف تنظیم‌کننده‌های رشد گیاه وجود دارد که نشان می‌دهد این تنظیم‌کننده‌ها از طریق سم‌زدایی گونه‌های فعال اکسیژن باعث افزایش تحمل به تنش می‌شوند (Boucaud and Unger, 1976). هورمون‌های گیاهی به‌عنوان عاملی در جهت سازگاری گیاهان به تنش‌های خشکی و نقش مهم آن‌ها در رشد و نمو گیاهان شناخته شده هستند ولی هنوز هم

¹. signaling

در اثر کاربرد خارجی هورمون‌های سیتوکینین و اکسین طراحی شد.

مواد و روش‌ها

آزمایش در مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر کرج، در سال زراعی ۱۳۹۲ به اجرا درآمد. این مزرعه در کرج با ارتفاع ۱۳۲۱ متر از سطح دریا بین ۳۵ درجه و ۴۸ دقیقه عرض شمالی و ۵۱ درجه طول شرقی واقع شده است. میزان متوسط بارندگی سالیانه ۲۷۵ میلی‌متر بوده که با زمستان‌های سرد جزو مناطق سرد کم باران به شمار می‌رود. عملیات تهیه بستر شامل شخم برگردان، رتیواتور، دیسک و تسطیح بهاره بود. براساس آزمون خاک، قبل از کاشت، به ترتیب حدود ۲۰۰ و ۳۰۰ کیلوگرم در هکتار اوره و فسفات آمونیوم مصرف شد و در مرحله ۸-۶ برگی نیز معادل ۲۰۰ کیلوگرم در هکتار اوره به صورت سرک توزیع شد. به دلیل کفایت میزان پتاسیم خاک این نوع کود استفاده نشد (جدول ۱).

بعد از آماده‌سازی بستر مناسب بذر، از قبیل شخم، دیسک و لولر سه آزمایش مستقل به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در هر محیط اجرا شد. در این آزمایش هیبرید KSC 704 در سه سطح تنش، شامل شاهد یا بدون تنش خشکی (آبیاری پس از رسیدن رطوبت خاک به ۷۵ درصد ظرفیت مزرعه)، محیط دو: تنش خشکی در مرحله رشد رویشی (در مرحله V4 تا ظهور گل تاجی، آبیاری پس از رسیدن رطوبت خاک به ۵۰ درصد ظرفیت مزرعه صورت گرفت ولی از مرحله گرده‌افشانی تا رسیدگی فیزیولوژیک آبیاری پس از رسیدن رطوبت خاک به ۷۵ درصد ظرفیت مزرعه صورت گرفت) و محیط سه: تنش خشکی در مرحله رشد زایشی (از مرحله V4 تا ظهور گل تاجی آبیاری پس از رسیدن رطوبت خاک به ۷۵ درصد ظرفیت مزرعه صورت گرفت ولی در مرحله گرده‌افشانی تا رسیدگی فیزیولوژی آبیاری پس از رسیدن رطوبت خاک به ۵۰ درصد ظرفیت مزرعه صورت گرفت) و هورمون اکسین (در سه زمان مصرف: شاهد یا عدم مصرف، ظهور ابریشم و ۱۵ روز پس از ظهور ابریشم) و هورمون سیتوکینین (در سه زمان مصرف: شاهد یا عدم مصرف، تشکیل جوانه بلال یعنی مرحله V5-V6 و مرحله V8-V10) به صورت فاکتوریل در هر محیط، به شکل تصادفی مورد ارزیابی قرار گرفت. کاشت به صورت جوی و پشته، فاصله پشته‌ها از هم ۷۵ سانتیمتر و فاصله بوته‌ها پس از تنک کردن حدود ۱۸ سانتیمتر (تراکم کاشت حدود

جمع‌آوری رادیکال‌های آزاد به تعویق اندازد (Grossman and Leshem, 2006) و باعث افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانت‌ها و جمع‌آوری محصولات ROS ها و نهایتاً کاهش آسیب به غشاء و افزایش پایداری آن شود (Sayd et al., 2010). در آزمایشی سیتوکینین سنتزی بنزیل آمینو پورین (BAP) به صورت محلول پاشی برگی بر گیاهچه‌های ذرت در شرایط سطوح متفاوت خشکی (۷۵ و ۵۰ درصد ظرفیت مزرعه) بکار رفت. محلول پاشی به طور قابل توجهی باعث بهبود سطح برگ گیاه، ارتفاع گیاه، وزن خشک و تر ریشه، پایداری غشاء سلول و مقدار کلروفیل a و b شد (Brault and Maldiney, 1999).

گزارش شده است که همراه با افزایش اکسین در گیاه ذرت مقدار DNA در هسته و میانگین قطر هسته افزایش یافت که می‌تواند در تحمل گیاه در تنش‌های غیر زیستی مؤثر باشد (Lur and Setter, 1993). در آزمایشی دیگر (Boothby and Wright, 1962) مصرف اکسین در رطوبت ۵۰ درصد ظرفیت مزرعه توانست عملکرد قابل قبولی تولید کند. در این آزمایش در دو رقم ذرت حساس به خشکی، محلول پاشی هورمون‌ها باعث افزایش عملکرد به میزان بیشتر از شاهد در شرایط کاهش رطوبت تا ۷۰ درصد ظرفیت مزرعه شد. همچنین، عملکرد در شرایط استفاده از هورمون IAA تا کاهش رطوبت تا ۵۰ درصد ظرفیت مزرعه و شرایط آبیاری نرمال (رطوبت در حد ۹۰ درصد ظرفیت مزرعه) یکسان بود. هنگامی که رطوبت خاک به ۳۰ درصد ظرفیت مزرعه رسید هیچ عملکردی حاصل نشد ولی در شرایط استفاده از هورمون‌ها در همین مقدار رطوبت خاک مقدار مناسبی از عملکرد حاصل شد. در آزمایشی دیگر (Blackman and Davies, 1984) گیاهچه‌های ذرت در روز دوم اعمال تنش خشکی شروع به پژمرده شدن کردند درحالی که علائم پژمردگی در گیاهچه‌های ذرت که با هورمون‌های سیتوکینین تیمار شده بودند تا روز پنجم اعمال تنش خشکی مشاهده نشد. بنابراین، پیشنهاد شد که هورمون‌های سیتوکینین با کاهش نشت الکترولیت‌ها می‌تواند آسیب سلولی در مواجهه با تنش خشکی در گیاهچه‌های ذرت را کاهش دهد.

بر این اساس این آزمایش برای ارزیابی پاسخ‌های فیزیولوژی گیاه ذرت در شرایط تنش خشکی در دو فاز متفاوت رویشی و زایشی که باعث برهم خوردن تعادل هورمون‌های مؤثر رشد می‌شود و بازسازی تعادل مختل شده

هورمون‌های اکسین و سیتوکینین به ترتیب در کرت‌های موردنظر به مقدار ۱۰ و ۵۰ میلی‌گرم در لیتر بود (Shaddad et al., 2011).

۷/۵ بوته در مترمربع)، هر کرت آزمایشی شامل ۵ خط کاشت به طول ۶ متر بود. از ایندول بوتریک اسید و بنزیل آدنین (تهیه‌شده از نمایندگی شرکت مرک آلمان) به ترتیب به‌عنوان هورمون‌های اکسین و سیتوکینین استفاده شد. غلظت مصرف

جدول ۱. خصوصیات شیمیایی و فیزیکی خاک

Table 1. Physical and chemical properties of the soil

سال آزمایش Experimental yield	درصد نیترژن کل Total nitrogen content (%)	فسفر قابل‌استفاده (میلی‌گرم بر کیلوگرم) Available phosphorus (mg/kg)	پتاسیم قابل‌استفاده (میلی‌گرم بر کیلوگرم) Available potassium (mg/kg)	بافت خاک Soil texture	جرم مخصوص ظاهری (گرم بر سانتیمتر مکعب) pb(g/cm ³)	هدایت		ظرفیت زراعی (درصد) Field capacity (%)
						pH	EC (ds/m)	
2013	0.11	8.72	231.1	Sandy clay	1.36	7.5	0.7	26

در معادله‌های ۱ و ۲، H نشان‌دهنده ارتفاع آب داخل کرت، ρb جرم مخصوص ظاهری خاک، $\theta_{F.C}$ رطوبت خاک در حد ظرفیت مزرعه، θ_m رطوبت جرمی کرت موردنظر در زمان آبیاری، D عمق توسعه ریشه، V حجم آب آبیاری در کرت و A مساحت کرت است.

برای مبارزه با علف‌های هرز قبل از کاشت از علف‌کش ارادیکان معادل ۶ لیتر در هکتار و پس از کاشت نیز، یک‌بار و جین دستی در مرحله ۴-۶ برگگی صورت گرفت. برای مبارزه با آفات ذرت در همین مرحله از حشره‌کش سویین به میزان ۳ لیتر در هکتار استفاده شد. اندازه‌گیری پارامترهای فیزیولوژیکی موردنظر بر اساس دستورالعمل زیر صورت گرفت:

شاخص سطح برگ (LAI)

اندازه‌گیری سطح برگ در مرحله شیری شدن دانه در تمامی برگ‌های موجود در ۶ بوته متوالی از هر کرت صورت گرفت (Sallah et al., 2002) و شاخص سطح برگ با دستگاه دیجیتال مدل Li-3100 c بر اساس تراکم ۷/۵ بوته در مترمربع برآورد شد.

پایداری غشاء سلول (CMS)

پایداری غشاء سلول با استفاده از اندازه‌گیری نفوذپذیری نسبی غشاء صورت گرفت (Zhao, et al., 1992). بدین ترتیب، تعدادی نمونه به‌اندازه ۱ سانتی‌مترمربع از برگ بلال

به‌منظور جذب بیشتر هورمون از ماده سورفکتانت توین ۲۰ (تهیه‌شده از نمایندگی شرکت مرک آلمان) استفاده شد و محلول‌پاشی در عصر پس از غروب خورشید انجام شد. همچنین جهت افزایش حلالیت بیشتر هورمون در آب از اتانول ۷۰ درصد استفاده شد. برای از بین بردن اثرات آب و اتانول، در کرت‌های شاهد به‌طور هم‌زمان ترکیب آب و اتانول محلول‌پاشی شد. برای تعیین زمان آبیاری از اندازه‌گیری رطوبت وزنی خاک در هر محیط استفاده شد و تیمارهای مختلف تنش خشکی متناسب با هر محیط آزمایش و بر اساس مراحل فنولوژیکی گیاه اعمال شد. برای تعیین حجم آب مصرفی در هر آبیاری در هر محیط، قبل از آبیاری نمونه‌برداری از خاک محیط موردنظر تا عمق توسعه ریشه انجام شد و درصد رطوبت وزنی خاک تعیین شد. رطوبت خاک در زمان اعمال تنش و عدم تنش به ترتیب ۱۳ و ۱۹/۵ درصد وزنی (۵۰ و ۷۵ درصد رطوبت خاک در حد ظرفیت مزرعه) بود. حجم آب آبیاری با استفاده از معادله‌های ۱ و ۲ در هر آبیاری تعیین گردید (Doorenbos and Kassam, 1979). مقدار آب مصرفی با استفاده از کنتور که در ابتدای فلکه اصلی قرار داده‌شده بود، کنترل گردید. آبیاری نیز به‌صورت جوی و پشته و با استفاده از لوله‌های هیدروفلوم و دریچه‌هایی که در ابتدای خطوط کاشت تعبیه‌شده بود صورت گرفت.

$$H = \rho b(\theta_{F.C} - \theta_m).D \quad [1]$$

$$V = H \times A \quad [2]$$

لیزری مدل TM_958 در شش بوته متوالی تخمین زده شد و کاهش دمای کانوپی از تفاضل دمای محیط و میانگین این اعداد به دست آمد (Hirayama et al., 2006).

کارایی کوانتوم فتوسنتزی (فلورسانس کلروفیل)

کارایی کوانتوم فتوسنتز II با استفاده از دستگاه فلورسانس متر مدل Opti-Sciences در مرحله شیری شدن دانه برآورد شد. بدین ترتیب با استفاده از گیره تاریکی، به شش برگ متوالی در هر کرت، به مدت ۲۰ دقیقه تاریکی داده شد، سپس پس از قرار دادن دستگاه داخل گیره و باز کردن روزنه و ایجاد روشنائی بلافاصله میزان F_v/F_m (کارایی کوانتوم فتوسنتزی) تخمین زده شد (Lawlor, 2002).

پیر شدن برگ (LS)

پیر شدن برگ در دو مرحله به فاصله ۷-۱۰ روز در بخش پایانی پیر شدن دانه از یک تا ده امتیازبندی شد. بدین ترتیب، در امتیاز ۱ ده درصد سطح برگ مرده است و در امتیاز ده، صد درصد سطح برگ مرده است (Banziger et al., 2000). پس از انجام آزمون بارتلت، نتایج هر سه محیط به صورت مرکب تجزیه شدند. برای محاسبه تجزیه واریانس داده‌ها از نرم‌افزار SAS نسخه ۹/۱ استفاده گردید و میانگین عوامل آزمایش با استفاده از انحراف استاندارد نمونه‌های سه تکرار حاصل از سه محیط مورد مقایسه قرار گرفتند.

نتایج و بحث

شاخص سطح برگ

در شرایط تنش خشکی در مرحله رشد رویشی شاخص سطح برگ تفاوت چندانی با تیمار بدون تنش نداشت ولی تنش خشکی در مرحله رشد زایشی باعث کاهش سطح برگ به میزان ۲۶/۰۶ درصد نسبت به شرایط عدم تنش خشکی شد (شکل ۱). بیشترین شاخص سطح برگ با میانگین ۴/۶۸ به شرایط بدون تنش تعلق داشت (شکل ۱). در شرایط کاهش رطوبت خاک و شروع تنش در گیاه، تقسیم سلولی تحت تأثیر قرار خواهد گرفت و کاهش تقسیم سلولی در سلول‌های میزستی برگ منجر به کاهش سطح برگ و کاهش سطح دریافت تشعشع فعال خورشیدی و نهایتاً کاهش فتوسنتز خواهد شد. به نظر می‌رسد ذرت در مرحله رشد رویشی به تنش خشکی تا حدودی متحمل باشد و یا ممکن است با

در مرحله شیری شدن دانه تهیه شد و در لوله‌آزمایش حاوی ۲۰ میلی‌لیتر آب مقطر دو بار تقطیر قرار گرفت. پس از ورتکس نمونه‌ها به مدت ۳ ثانیه، هدایت الکتریکی (EC_0) هر محلول در لوله‌آزمایش اندازه‌گیری شد. سپس نمونه‌ها در سردخانه با دمای ۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت قرار گرفت و هدایت الکتریکی هر محلول در لوله‌آزمایش (EC_1) اندازه‌گیری شد. سپس نمونه‌ها به مدت ۱۵ دقیقه در دستگاه اتوکلاو قرار داده شد و پس از سرد شدن در دمای اتاق، هدایت الکتریکی هر محلول در لوله‌آزمایش (EC_2) اندازه‌گیری شد و نفوذپذیری نسبی غشاء سلول از طریق رابطه [۳] محاسبه شد. رابطه نفوذپذیری غشاء و پایداری غشاء سلول به صورت معکوس است.

$$[3] \text{ = نفوذپذیری نسبی غشاء سلول (درصد)} \\ [(EC_1 - EC_0) / (EC_2 - EC_0)] \times 100$$

شاخص کلروفیل برگ (CCI)

در مرحله شیری شدن دانه اندازه‌گیری شاخص کلروفیل برگ (CCI) با استفاده از دستگاه کلروفیل‌متر مدل Opti-Sciences CCM-200 انجام شد. بدین ترتیب که شش بوته به‌طور تصادفی انتخاب و عدد کلروفیل‌متر در برگ گل تاجی و برگ بلال در سه ناحیه نوک، وسط و قاعده در یک‌طرف رگبرگ اصلی قرائت شد و میانگین این اعداد به‌عنوان میزان کلروفیل برگ در هر کرت در نظر گرفته شد (Lawlor, 2002).

هدایت روزنه‌ای (SC)

هدایت روزنه‌ای برگ بلال با استفاده از دستگاه پرومتر مدل DELTA-DEVICES در مرحله شیری شدن دانه برآورد شد. بدین ترتیب، در ساعات ۱۱ تا ۱۳ پس از عمود شدن نور خورشید، کالیبراسیون دستگاه در هر محیط تنش با استفاده از صفحه کالیبراسیون برای شش قطر متفاوت روزنه صورت گرفت سپس اعداد به‌دست‌آمده از برگ بلال در شش بوته با استفاده از دستگاه پرومتر و اعداد حاصل از صفحه کالیبراسیون در معادله خط رگرسیون قرار گرفت و مقاومت روزنه‌ای برحسب ثانیه بر سانتی‌متر تخمین زده شد (Lawlor, 2002).

کاهش دمای کانوپی (CTD)

دمای کانوپی برگ بلال در مرحله شیری شدن دانه در ساعات ۱۱ تا ۱۳ در فاصله یک متری از کانوپی با دماسنج مادون‌قرمز

محلول‌پاشی هورمون سیتوکینین و محلول‌پاشی در مرحله پنج تا شش برگگی افزایش یافت، ولی در شرایط بدون تنش خشکی و تنش در مرحله رشد رویشی هورمون سیتوکینین مؤثر نبود (شکل ۲). احتمالاً در شرایط تنش‌زایی تعادل هورمونی گیاه مختل شده و در این شرایط افزایش غلظت هورمون سیتوکینین توانسته در برقراری تعادل هورمونی در گیاه مؤثر باشد ولی در شرایط بدون تنش و تنش رویشی گیاه، روابط هورمونی متعادل بوده است. ساتویر و همکاران (Satvir et al., 2000) نیز گزارش کردند که کاهش رشد گیاه در شرایط تنش خشکی نتیجه بر هم خوردن تعادل هورمون‌ها است.

پایداری غشاء سلول

پایداری غشاء سلول با نشت الکترولیت‌ها و نفوذپذیری غشاء رابطه عکس دارد. کمترین میزان نشت الکترولیت‌ها در محیط بدون تنش خشکی به مقدار ۰/۰۸ درصد ایجاد شد (شکل ۳). در شرایط تنش خشکی در مراحل رشد رویشی پایداری غشاء سلول کاهش یافت و نفوذپذیری غشاء به ۹/۰۷ درصد رسید و این مقدار با نفوذپذیری غشاء در شرایط تنش‌زایی معنی‌دار نبود (شکل ۳). به نظر می‌رسد که پایداری غشاء سلول در تنش‌ها با سنتز پروتئین‌های شوک گرمایی و ویژگی‌های سیستم فتوسنتزی، از جمله آنزیم‌های کلیدی و غشاء‌های تیلاکوئیدی مرتبط باشد (Zhao et al., 1992). در نتایج مشابهی گزارش شد که تنش خشکی باعث تخریب غشاء سلولی و افزایش نفوذپذیری یون‌ها در اثر افزایش حلالیت و پراکسیداسیون چربی‌های غشاء می‌شود (Saneok et al., 2004).

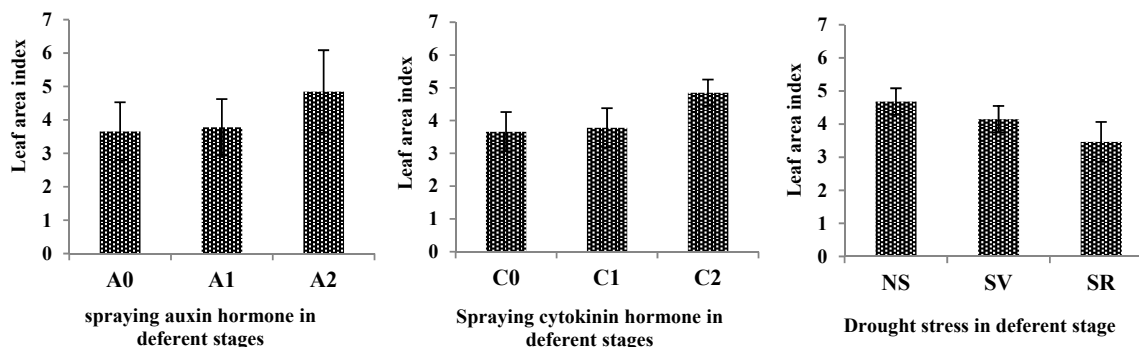
محلول‌پاشی هورمون سیتوکینین در مرحله پنج تا شش برگگی باعث افزایش پایداری غشاء سلول شد و نفوذپذیری نسبی غشاء به کمترین مقدار (۵/۱۶ درصد) رسید، ولی این مقدار با عدم مصرف هورمون معنی‌دار نبود (شکل ۳). مصرف هورمون اکسین نیز نتوانست در پایداری غشاء سلول تأثیر قابل‌ملاحظه‌ای ایجاد کند (جدول ۳). در برخی مطالعات اعلام شد که کاربرد سیتوکینین در شرایط تنش‌های غیر زیستی می‌تواند پیری برگ را به وسیله جمع‌آوری رادیکال‌های آزاد به تعویق اندازد (Grossman and Leshem, 2006) و باعث افزایش فعالیت آن‌تی اکسیدانت‌ها و جمع‌آوری محصولات ROSها و نهایتاً کاهش آسیب به غشاء و افزایش پایداری غشاء سلول CMS شود (Sayd et al., 2010).

ایجاد تنش در مرحله رشد رویشی و فراهمی رطوبت در مرحله گرده‌افشانی و پس‌از آن منجر به ایجاد یک سیستم ریکاوری مناسب در این گیاه شود، ولی احتمالاً تنش خشکی در مرحله رشد زایشی باعث کاهش تقسیم سلول‌های مرستمی برگ‌های جوان و یا ریزش و مرگ برگ‌های پیر شود و باعث کاهش سطح برگ به‌طور معنی‌داری شد. برخی محققان نیز بیان کردند که تنش خشکی از طریق کاهش تولید و رشد برگ‌ها (Cakir, 2004)، افزایش پیری برگ‌ها و کاهش تقسیم سلولی (Wolf et al., 1988) شاخص سطح برگ را کاهش می‌دهد.

محلول‌پاشی هورمون سیتوکینین در مرحله هشت تا ده برگگی باعث افزایش سطح برگ به میزان ۳۲/۵۵ درصد شد و شاخص سطح برگ از ۳/۶۶ به ۴/۸۵ رسید (شکل ۱)، ولی محلول‌پاشی هورمون سیتوکینین در مرحله پنج تا شش برگگی تأثیری بر میزان سطح برگ نداشت (شکل ۱). به نظر می‌رسد حساسیت سلول‌های مرستمی برگ به هورمون سیتوکینین در این مرحله پایین باشد و در مرحله هشت تا ده برگگی این حساسیت افزایش می‌یابد و یا ممکن است در مرحله پنج تا شش برگگی تقسیم سلول‌های مرستمی به‌اندازه کافی زیاد باشد و افزایش غلظت هورمون سیتوکینین بر افزایش آن بیش از این مقدار بی‌تأثیر باشد (Brault and Maldiney, 1999). در آزمایشی توسط براولت و مالدینی (Brault and Maldiney, 1999) اعلام شد که سیتوکینین سنتزی بنزیل آمینو پورین (BAP) به‌صورت محلول‌پاشی برگگی بر گیاهچه‌های ذرت در شرایط سطوح متفاوت خشکی (۷۵ و ۵۰ درصد ظرفیت مزرعه) به‌طور قابل‌توجهی باعث بهبود سطح برگ گیاه شد.

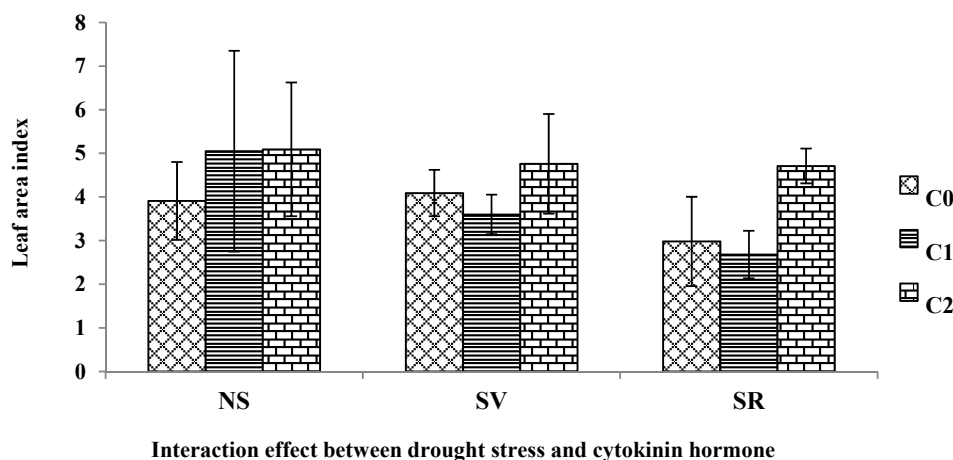
هورمون اکسین در مرحله ۱۵ روز پس از ظهور ابریشم به دلیل افزایش تأخیر در پیری برگ و افزایش دوام برگ باعث افزایش سطح برگ شد که این مقدار معنی‌دار نبود (شکل ۱). به نظر می‌رسد هورمون اکسین نمی‌تواند به‌اندازه هورمون سیتوکینین در افزایش سطح برگ مؤثر باشد.

احتمالاً هورمون سیتوکینین در شرایط تنش خشکی در مرحله رشد زایشی نسبت به محیط بدون تنش و تنش خشکی در مرحله رشد رویشی تأثیر بیشتری بر افزایش سطح برگ داشته باشد (شکل ۲)، یعنی در شرایط تنش قابلیت محلول‌پاشی هورمون‌ها محسوس‌تر است. با مصرف هورمون سیتوکینین در مرحله هشت تا ده برگگی در شرایط تنش خشکی در مرحله زایشی سطح برگ نسبت به عدم



شکل ۱. تأثیر تنش خشکی و محلول‌پاشی هورمون‌های سیتوکینین و اکسین در مراحل مختلف بر شاخص سطح برگ. NS، SV و SR به ترتیب نشان‌دهنده محیط بدون تنش خشکی، تنش خشکی در مرحله رشد رویشی و تنش خشکی در مرحله رشد زایشی است. C0، C1 و C2 به ترتیب نشان‌دهنده عدم محلول‌پاشی و محلول‌پاشی هورمون سیتوکینین در مرحله پنج تا شش برگ و هشت تا ده برگ است و A0، A1 و A2 به ترتیب نشان‌دهنده عدم محلول‌پاشی و محلول‌پاشی هورمون اکسین در مرحله ظهور ابریشم و ۱۵ روز پس از ظهور ابریشم است. میانگین‌ها و \pm SD نمونه‌های ۳ تکرار می‌باشند.

Fig. 1. The effect of drought stress and spraying cytokinin and auxin hormones in deferent stages on leaf area index. NS, SV and SR have shown as control, drought stress in vegetative stage and drought stress in reproductive stage respectively. C0, C1 and C2 have shown as control, spraying cytokinin hormone in V5-6 and spraying cytokinin hormone in V8-10 stages. A0, A1 and A2 have shown as control, spraying auxin hormone in silking emergence and spraying auxin hormone in 15 days after silking emergence stages. Means and \pm SD were samples from three replications.



شکل ۲. اثر متقابل تنش خشکی و محلول‌پاشی هورمون سیتوکینین در مراحل مختلف بر شاخص سطح برگ. NS، SV و SR به ترتیب نشان‌دهنده محیط بدون تنش خشکی، تنش خشکی در مرحله رشد رویشی و تنش خشکی در مرحله رشد زایشی است. C0، C1 و C2 به ترتیب نشان‌دهنده عدم محلول‌پاشی و محلول‌پاشی هورمون سیتوکینین در مرحله پنج تا شش برگ و هشت تا ده برگ است. میانگین‌ها و \pm SD نمونه‌های ۳ تکرار می‌باشند.

Fig. 2. The interaction effect between drought stress and spraying cytokinin hormone in deferent stages on leaf area index. NS, SV and SR have shown as control, drought stress in vegetative stage and drought stress in reproductive stage respectively. C0, C1 and C2 have shown as control, spraying cytokinin hormone in V5-6 and spraying cytokinin hormone in V8-10 stages. Means and \pm SD were samples from three replications.

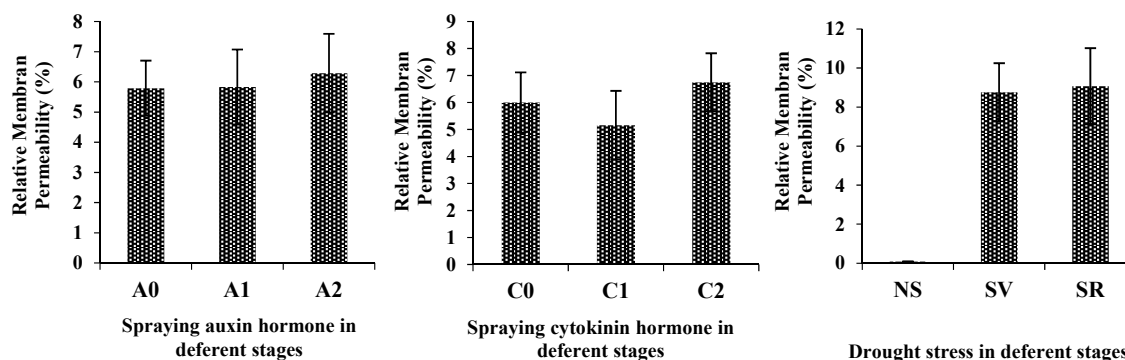
تنش رویشی تقریباً یکسان بود (شکل ۴). به نظر می‌رسد که گیاه ذرت پس از طی تنش خشکی در مرحله رویشی و ایجاد شرایط مطلوب رطوبتی پس از ظهور گل تاجی بتواند بازیابی

میزان کلروفیل برگ (CCI)

بیشترین میزان عدد کلروفیل برگ از شرایط بدون تنش خشکی با میانگین ۴۶/۸۰ به دست آمد که این مقدار با شرایط

شرایط تنش خشکی توسط سیستم دفاعی گیاه مهار شده باشند ولی این سیستم تا زمان رشد زایشی کارا نبوده است و در این مرحله افت معنی‌داری در میزان کلروفیل مشاهده شد (Sayd et al., 2010). در پژوهش مشابهی گزارش شده است که ذرت به کمبود آب در مرحله رشد رویشی متحمل است (Doorenbos and Kassam, 1979).

مناسبی داشته باشد و میزان سبزی‌نگی برگ‌های خود را همانند شرایط محیط بدون تنش خشکی ترمیم نماید، ولی در شرایط تنش‌زایشی میزان سبزی‌نگی و کلروفیل برگ ۵۵/۴۴ درصد افت کرد و به ۲۱/۳۲ رسید (شکل ۴). احتمالاً تنش خشکی در مرحله زایشی در ذرت با کاهش سبزی‌نگی و کلروفیل باعث کاهش مقدار و مدت فتوسنتز شود. این امکان وجود دارد که در مرحله رویشی آنتی‌اکسیدان‌های تولیدی در



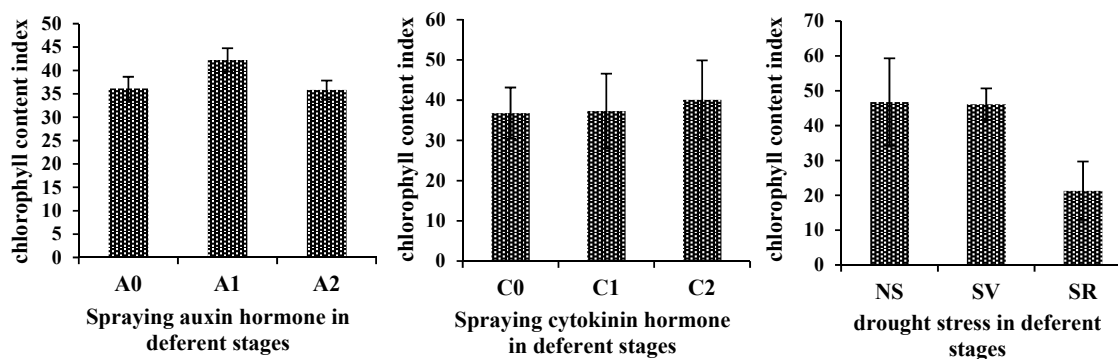
شکل ۳. تأثیر تنش خشکی و محلول‌پاشی هورمون‌های سیتوکینین و اکسین در مراحل مختلف بر نفوذپذیری نسبی غشاء. NS، SV و SR به ترتیب نشان‌دهنده محیط بدون تنش خشکی، تنش خشکی در مرحله رشد رویشی و تنش خشکی در مرحله رشد زایشی است. C0، C1 و C2 به ترتیب نشان‌دهنده عدم محلول‌پاشی و محلول‌پاشی هورمون سیتوکینین در مرحله پنج تا شش برگی و هشت تا ده برگی است و A0، A1 و A2 به ترتیب نشان‌دهنده عدم محلول‌پاشی و محلول‌پاشی هورمون اکسین در مرحله ظهور ابریشم و ۱۵ روز پس از ظهور ابریشم است. میانگین‌ها و \pm SD نمونه‌های ۳ تکرار می‌باشند.

Fig. 3. The effect of drought stress and spraying cytokinin and auxin hormones in deferent stages on relative membrane permeability. NS, SV and SR have shown as control, drought stress in vegetative stage and drought stress in reproductive stage respectively. C0, C1 and C2 have shown as control, spraying cytokinin hormone in V5-6 and spraying cytokinin hormone in V8-10 stages. A0, A1 and A2 have shown as control, spraying auxin hormone in silking emergence and spraying auxin hormone in 15 days after silking emergence stages. Means and \pm SD were samples from three replications.

(۴۲/۲۵) رسید، به نظر می‌رسد مصرف هورمون اکسین با تأخیر در روند پیری برگ با مهار اقسام فعال اکسیژن و افزایش دوام برگ در میزان سبزی‌نگی برگ مؤثر بوده است، ولی مصرف هورمون اکسین در ۱۵ روز پس از ظهور ابریشم در میزان کلروفیل برگ بی‌تأثیر بود (شکل ۴). به نظر می‌رسد در مرحله ۱۵ روز پس از ظهور ابریشم هورمون اکسین بدلیل کاهش حساسیت بافت موردنظر به هورمون نتواند به مکانیسم دفاعی گیاه کمک نماید.

با مصرف هورمون سیتوکینین تفاوت قابل‌ملاحظه‌ای در میزان کلروفیل برگ ایجاد نشد (شکل ۴). این احتمال وجود دارد که افزایش سطح برگ در اثر مصرف هورمون سیتوکینین (شکل ۱) باعث کاهش ضخامت برگ و در نهایت کاهش سبزی‌نگی برگ شود (Wolf et al., 1988) ولی در آزمایشی برخلاف این نظریه اعلام شد که سیتوکینین باعث تجمع کلروفیل و تبدیل اتیوپلاست به کلروپلاست می‌شود (Brault and Maldiney, 1999).

با مصرف هورمون اکسین در مرحله ظهور ابریشم میزان کلروفیل برگ افزایش یافت و به بیشترین مقدار خود



شکل ۴. تأثیر تنش خشکی و محلول‌پاشی هورمون‌های سیتوکینین و اکسین در مراحل مختلف بر عدد کلروفیل برگ. NS، SV و SR به ترتیب نشان‌دهنده محیط بدون تنش خشکی، تنش خشکی در مرحله رشد رویشی و تنش خشکی در مرحله رشد زایشی است. C0، C1 و C2 به ترتیب نشان‌دهنده عدم محلول‌پاشی و محلول‌پاشی هورمون سیتوکینین در مرحله پنج تا شش برگ و هشت تا ده برگ است و A0، A1 و A2 به ترتیب نشان‌دهنده عدم محلول‌پاشی و محلول‌پاشی هورمون اکسین در مرحله ظهور ابریشم و ۱۵ روز پس از ظهور ابریشم است. میانگین‌ها و \pm SD نمونه‌های ۳ تکرار می‌باشند.

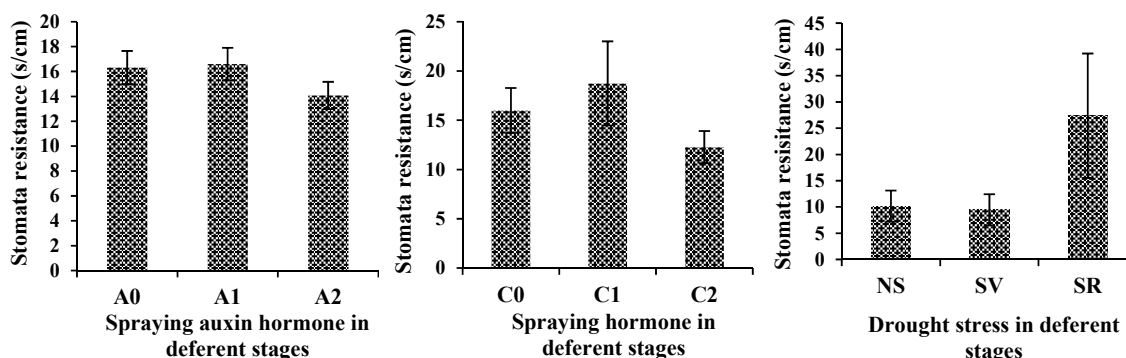
Fig. 4. The effect of drought stress and spraying cytokinin and auxin hormones in deferent stages on chlorophyll content index. NS, SV and SR have shown as control, drought stress in vegetative stage and drought stress in reproductive stage respectively. C0, C1 and C2 have shown as control, spraying cytokinin hormone in V5-6 and spraying cytokinin hormone in V8-10 stages. A0, A1 and A2 have shown as control, spraying auxin hormone in silking emergence and spraying auxin hormone in 15 days after silking emergence stages. Means and \pm SD were samples from three replications.

مقاومت روزنه‌ای

شدید، دمای برگ و کانوبی افزایش یافت که منجر به توقف تعرق و افزایش مقاومت لایه‌مرزی و بسته شدن روزنه‌ها شد (Hirayama et al., 2006).

با محلول‌پاشی هورمون سیتوکینین در مرحله پنج تا شش برگی باز و بسته شدن روزنه نسبت به عدم مصرف هورمون تغییر معنی‌داری نداشت (شکل ۵)، ولی با مصرف این هورمون در مرحله هشت تا ده برگی مقاومت روزنه‌ای ۲۳/۲۶ درصد کاهش یافت و روزنه‌ها تمایلی بیشتری برای بازماندن داشتند و یا این احتمال نیز وجود دارد که افزایش سطح برگ در مصرف هورمون سیتوکینین در این مرحله (شکل ۱) باعث افزایش تعداد روزنه‌ها در سطح برگ بیشتر شده باشد، که این امر در نهایت می‌تواند باعث افزایش تعرق، خنک شدن دمای کانوبی و افزایش تثبیت CO₂ شود (Blackman and Davies, 1983). در ذرت، سیتوکینین عکس هورمون ABA در وساطت بسته شدن روزنه‌ها در برگ‌های جوان و پیر عمل می‌کنند (Blackman and Davies, 1984). ممکن است مکانیسم عمل سیتوکینین در سلول‌های نگهبان روزنه به‌طور مستقیم در القاء قطبی شدن غشاء دخیل باشد که باعث تحریک پمپ پروتون و بازماندن روزنه‌ها می‌شود (Pharmawati et al., 1998).

در شرایط فراهمی آب در محیط بدون تنش خشکی هدایت هیدرولیکی روزنه‌ها در حداکثر مقدار خود بود (شکل ۵). احتمالاً در این شرایط انتقال هورمون سیتوکینین از ریشه به اندام‌های هوایی از طریق آوندهای چوبی عاملی مثبت برای بازماندن روزنه‌هاست. در شرایط بدون تنش خشکی مقاومت روزنه‌ای ۱۰/۱۸ سانتیمتر بر ثانیه بود (شکل ۵). در شرایط تنش رویشی نیز مقاومت روزنه‌ای کاهش یافت، که این امر با توجه به اندازه‌گیری مقاومت روزنه‌ای در مرحله شیرگی شدن دانه (مرحله زایشی) بدیهی به نظر می‌رسد؛ اما در شرایط تنش‌زایشی، میزان مقاومت روزنه‌ای نسبت به محیط بدون تنش و تنش رویشی افزایش معنی‌داری یافت (شکل ۵). به نظر می‌رسد در شرایط تنش‌زایشی با کمبود رطوبت در خاک هورمون ABA به‌عنوان مکانیسم سیگنالینگ هورمونی وارد اندام‌های هوایی شده و به‌عنوان یک سیستم هشداردهنده اولیه عمل نموده و باعث بسته شدن روزنه‌ها شده است. در این شرایط گیاه می‌خواهد با بسته شدن روزنه‌های خود به حفظ رطوبت و جلوگیری از اتلاف آب کمک کند ولی افزایش دمای کانوبی و کاهش تثبیت CO₂ تاوان این عمل خواهد بود. در آزمایشی در ذرت بیان شد که در شرایط تنش خشکی



شکل ۵. تأثیر تنش خشکی و محلول‌پاشی هورمون‌های سیتوکینین و اکسین در مراحل مختلف بر مقاومت روزنه‌ای. NS، SV و SR به ترتیب نشان‌دهنده محیط بدون تنش خشکی، تنش خشکی در مرحله رشد رویشی و تنش خشکی در مرحله رشد زایشی است. C₁، C₀ و C₂ به ترتیب نشان‌دهنده عدم محلول‌پاشی و محلول‌پاشی هورمون سیتوکینین در مرحله پنج تا شش برگگی و هشت تا ده برگگی است و A₀، A₁ و A₂ به ترتیب نشان‌دهنده عدم محلول‌پاشی و محلول‌پاشی هورمون اکسین در مرحله ظهور ابریشم و ۱۵ روز پس از ظهور ابریشم است. میانگین‌ها و \pm SD نمونه‌های ۳ تکرار می‌باشند.

Fig. 5. The effect of drought stress and spraying cytokinin and auxin hormones in deferent stages on stomata resistance. NS, SV and SR have shown as control, drought stress in vegetative stage and drought stress in reproductive stage respectively. C₀, C₁ and C₂ have shown as control, spraying cytokinin hormone in V5-6 and spraying cytokinin hormone in V8-10 stages. A₀, A₁ and A₂ have shown as control, spraying auxin hormone in silking emergence and spraying auxin hormone in 15 days after silking emergence stages. Means and \pm SD were samples from three replications.

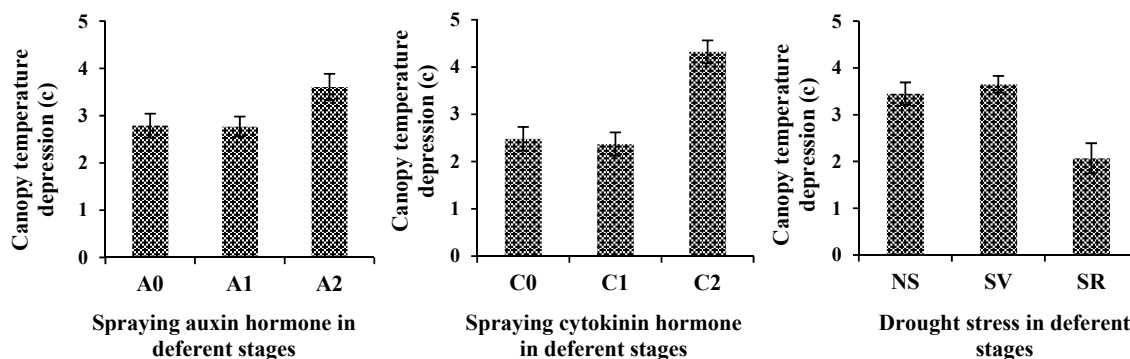
تنش‌زایی و در پاسخ به افزایش ABA ارسالی از ریشه به سمت اندام‌های هوایی روزنه‌های برگ برای جلوگیری از اتلاف رطوبت گیاه بسته‌شده‌اند و دمای کانوپی افزایش یافت. در شرایط کمبود آب، افزایش دمای برگ منجر به کاهش تفرق می‌شود و اثرات خنک‌کنندگی تفرق به دلیل عدم دسترسی به آب، از بین می‌رود. در ذرت و سایر گیاهان در شرایط تنش خشکی شدید، دمای برگ و کانوپی افزایش می‌یابد که منجر به توقف تفرق و افزایش مقاومت لایه‌مرزی می‌شود (Hirayama et al., 2006).

محلول‌پاشی هورمون سیتوکینین در مرحله پنج تا شش برگگی بر دمای کانوپی با هماهنگی با مقاومت روزنه‌ای (شکل ۵) معنی‌دار نبود ولی در مرحله هشت تا ده برگگی احتمالاً بدلیل اثر معکوس این هورمون با هورمون ABA و باز نگه‌داشتن روزنه‌ها باعث افزایش سیستم خنک‌کنندگی تفرق شده است و یا با افزایش تعداد روزنه‌ها به دلیل افزایش سطح برگ (شکل ۱) و افزایش تفرق، دمای کانوپی حدود ۲ درجه سانتی‌گراد کاهش یافت (شکل ۶). گزارش شده است که سیتوکینین در سلول‌های نگهبان با افزایش قطبیت غشاء باعث تحریک پمپ پروتون شده و این حالت باعث تداوم در بازماندن روزنه و افزایش تفرق و کاهش دمای برگ می‌شود (Pharmawati et al., 1998).

مصرف هورمون اکسین در مرحله ظهور ابریشم با عدم مصرف هورمون در باز و بسته شدن روزنه مؤثر نبود ولی مصرف این هورمون در ۱۵ روز پس از ظهور ابریشم باعث کاهش مقاومت روزنه‌ای و افزایش باز شدن روزنه‌ها به میزان ۱۳/۷۲ درصد شد (شکل ۵). به نظر می‌رسد هورمون سیتوکینین در این مرحله برخلاف جهت هورمون ABA در باز و بسته شدن روزنه‌ها عمل نموده که این نظریه توسط سایر محققین نیز به اثبات رسیده است (Blackman and Davies, 1984). بنابراین مصرف هورمون سیتوکینین و اکسین به ترتیب در مرحله هشت تا ده برگگی و ۱۵ روز پس از ظهور ابریشم باعث بیشتر بازماندن روزنه‌ها و افزایش تفرق، کاهش دمای کانوپی و افزایش بیشتر ورود CO₂ به درون کانوپی برگ خواهد شد.

کاهش دمای کانوپی

دمای کانوپی در محیط بدون تنش و تنش رویشی تقریباً یکسان بود ولی در محیط تنش‌زایی افزایش یافت (شکل ۶). میزان کاهش دمای کانوپی در محیط تنش‌زایی نسبت به محیط عدم تنش ۱/۳۸ درجه سانتی‌گراد با هماهنگی با مقاومت روزنه‌ای (شکل ۵) به‌طور معنی‌داری بیشتر بود (شکل ۶). به نظر می‌رسد، در شرایط کاهش رطوبت خاک در



شکل ۶. تأثیر تنش خشکی و محلول‌پاشی هورمون‌های سیتوکینین و اکسین را در مراحل مختلف بر کاهش دمای کانوپی. NS، SV و SR به ترتیب نشان‌دهنده محیط بدون تنش خشکی، تنش خشکی در مرحله رشد رویشی و تنش خشکی در مرحله رشد زایشی است. C₀، C₁ و C₂ به ترتیب نشان‌دهنده عدم محلول‌پاشی و محلول‌پاشی هورمون سیتوکینین در مرحله پنج تا شش برگه و هشت تا ده برگه است و A₀، A₁ و A₂ به ترتیب نشان‌دهنده عدم محلول‌پاشی و محلول‌پاشی هورمون اکسین در مرحله ظهور ابریشم و ۱۵ روز پس از ظهور ابریشم است. میانگین‌ها و \pm SD نمونه‌های ۳ تکرار می‌باشند.

Fig. 6. The effect of drought stress and spraying cytokinin and auxin hormones in deferent stages on canopy temperature depression. NS, SV and SR have shown as control, drought stress in vegetative stage and drought stress in reproductive stage respectively. C₀, C₁ and C₂ have shown as control, spraying cytokinin hormone in V5-6 and spraying cytokinin hormone in V8-10 stages. A₀, A₁ and A₂ have shown as control, spraying auxin hormone in silking emergence and spraying auxin hormone in 15 days after silking emergence stages. Means and \pm SD were samples from three replications.

کارایی کوانتوم فتوسنتزی (F_v/F_m)

بیشترین کارایی کوانتوم فتوسنتزی و به عبارتی کمترین میزان فلورسانس در شرایط عدم تنش خشکی با میانگین 0.856 حاصل شد (شکل ۸). در شرایط تنش رویشی میزان کارایی کوانتوم فتوسنتزی افت کرد و به 0.843 رسید ولی این مقدار معنی‌دار نبود (شکل ۸). ولی در شرایط تنش‌زایشی کارایی کوانتوم فتوسنتزی بشدت افت کرد و به 0.686 رسید (شکل ۸). احتمالاً در شرایط تنش خشکی در مرحله زایشی مرکز واکنش PSI و PSII بسته‌شده و میزان فلورسانس افزایش‌یافته است و این عامل باعث کاهش کارایی کوانتوم فتوسنتزی شد و به دنبال آن احتمالاً افزایش بازدارندگی نوری در مرکز واکنش PSII و کاهش انتقال الکترون و تولید ATP و NADPH رخ خواهد داد (Lawlor, 2002).

با مصرف هورمون سیتوکینین در مرحله پنج تا شش برگه تأثیری بر میزان کارایی کوانتوم فتوسنتزی (F_v/F_m) حاصل نشد ولی با مصرف این هورمون در مرحله هشت تا ده برگه میزان F_v/F_m افزایش یافت و به 0.852 رسید (شکل ۸). احتمالاً با مصرف هورمون سیتوکینین در مرحله هشت تا ده برگه و افزایش سطح برگ (شکل ۱) تعداد رنگیزه‌های برداشت‌کننده نور افزایش‌یافته که این امر باعث جذب بیشتر

محلول‌پاشی هورمون اکسین در مرحله ۱۵ روز پس از ظهور ابریشم نیز در هماهنگی با مقاومت روزنه‌ای (شکل ۵) بر دمای کانوپی مؤثر بود و باعث خنک شدن کانوپی تا حدود ۱ درجه سانتی‌گراد شد (شکل ۶). به نظر می‌رسد هورمون اکسین نیز برخلاف جهت هورمون ABA باعث بازنگه‌داشتن بیشتر روزنه‌ها شود و با افزایش تعرق باعث کاهش دمای کانوپی شود.

به نظر می‌رسد مصرف هورمون اکسین بر دمای کانوپی در شرایط تنش‌زایشی که تعادل هورمونی مختل شده، مؤثر باشد (شکل ۷). احتمالاً در شرایط تنش‌زایشی نسبت و روابط هورمون‌های اکسین، سیتوکینین و ABA نامتعادل می‌شود و افزایش غلظت اکسین در این شرایط می‌تواند در متعادل کردن این نسبت‌ها مؤثر باشد. ولی در شرایط عدم تنش و تنش رویشی (که به نظر می‌رسد گیاه ذرت در این مرحله تحمل نسبی دارد) نسبت به شرایط عدم مصرف هورمون تأثیرگذاری کمتری دارد (شکل ۷). همچنین، در شرایط بدون تنش و تنش رویشی هورمون اکسین در مرحله ۱۵ روز پس از ظهور ابریشم بر کاهش دمای کانوپی مؤثر نبود ولی در شرایط تنش‌زایشی مصرف هورمون اکسین در مرحله ظهور ابریشم بر کاهش دمای کانوپی مؤثر بود (شکل ۷).

برگ‌ها افزایش یابد. احتمالاً در شرایط تنش رویشی با تولید اقسام فعال اکسیژن، سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانت نیز افزایش یافته و توانسته با مهار اکسیدان‌ها، آسیب به غشاء سلولی و مرگ سلولی برگ را کنترل نماید ولی در شرایط تنش‌زایی میزان سطح اکسیدان‌ها بیشتر از آنتی‌اکسیدان‌ها بوده و یا آنتی‌اکسیدان‌ها قابلیت سیستم دفاعی خود را از دست داده‌اند و مرگ برگ و پیر شدن گیاه تسریع شده است (Saneoka et al., 2004).

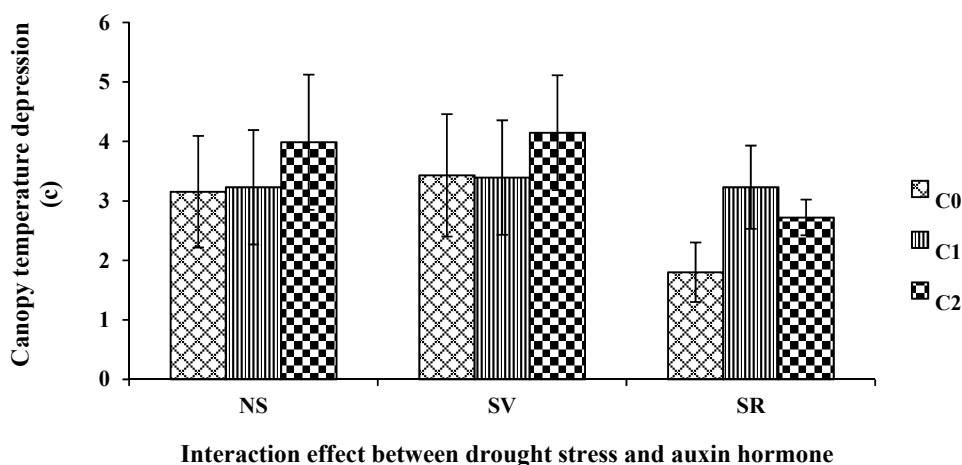
با مصرف هورمون سیتوکینین تفاوتی از لحاظ پیری برگ رخ نداد ولی مصرف هورمون اکسین در مرحله ظهور ابریشم توانست باعث کند شدن روند پیری برگ شود (شکل ۹). به نظر می‌رسد هورمون اکسین با تولید آنتی‌اکسیدان‌های مفید در مهار رادیکال‌های آزاد اکسیژن توانسته آسیب سلولی به غشاء تیلاکوئید و پیری برگ را به تعویق اندازد (Sayd et al., 2010). در مرحله ۱۵ روز پس از ظهور ابریشم هورمون اکسین نتوانست در تأخیر روند پیری برگ مؤثر باشد. احتمالاً

نور و کاهش میزان فلورسانس و افزایش کارایی کوانتوم فتوسنتزی شد (Lawlor, 2002).

با مصرف هورمون اکسین در مرحله ظهور ابریشم کارایی کوانتوم فتوسنتزی افزایش یافت و از ۰/۷۹۰ به ۰/۸۲۱ رسید (شکل ۸). به نظر می‌رسد هورمون اکسین در این مرحله با افزایش میزان کلروفیل برگ (شکل ۴) باعث افزایش میزان رنگیزه‌های برداشت نور شده و این امر منجر به کاهش فلورسانس و افزایش ارتباط PSI و PSII (Lawlor, 2002) و نهایتاً میزان FV/Fm افزایش یافت (شکل ۸). مصرف هورمون اکسین ۱۵ روز پس از ظهور ابریشم تأثیری بر کارایی کوانتوم فتوسنتزی نداشت (شکل ۸).

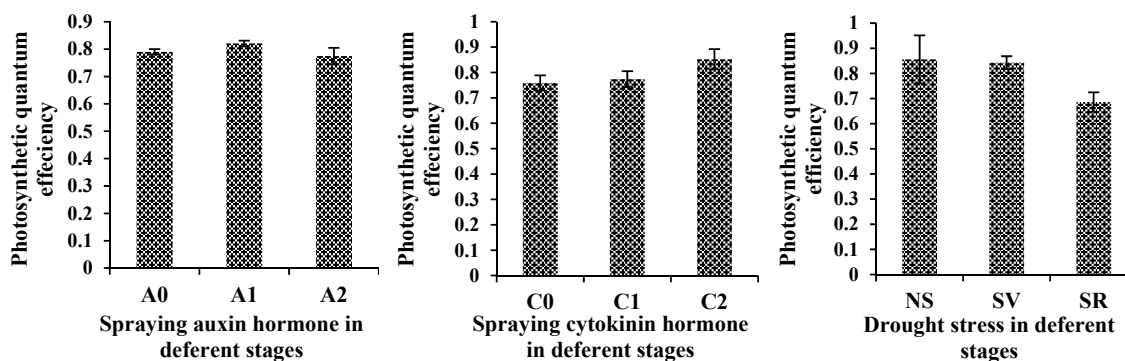
پیر شدن برگ

برگ‌ها در شرایط بدون تنش خشکی نسبت به تنش‌زایی جوان‌تر بودند و تفاوت آن‌ها با تنش رویشی معنی‌دار نبود (شکل ۹)، ولی در شرایط تنش‌زایی پیر شدن برگ سریع‌تر بود و به بیشترین مقدار خود رسید. به نظر می‌رسد در شرایط تنش‌زایی تولید ROS ها افزایش یافته و به دنبال آسیب غشاء تیلاکوئید و نشت الکترولیت‌ها (شکل ۳)، پیری و مرگ



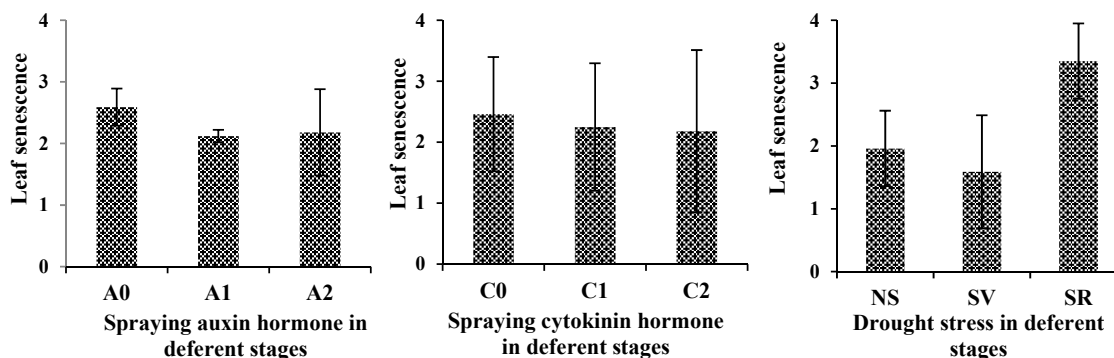
شکل ۷. اثر متقابل تنش خشکی و محلول‌پاشی هورمون اکسین در مراحل مختلف بر کاهش دمای کانوپی. NS، SV و SR به ترتیب نشان‌دهنده محیط بدون تنش خشکی، تنش خشکی در مرحله رشد رویشی و تنش خشکی در مرحله رشد زایشی است. A0، A1 و A2 به ترتیب نشان‌دهنده عدم محلول‌پاشی و محلول‌پاشی هورمون اکسین در مرحله ظهور ابریشم و ۱۵ روز پس از ظهور ابریشم است. میانگین‌ها و \pm SD نمونه‌های ۳ تکرار می‌باشند.

Fig. 7. The interaction effect between drought stress and auxin hormones on canopy temperature depression. NS, SV and SR have shown as control, drought stress in vegetative stage and drought stress in reproductive stage respectively. A0, A1 and A2 have shown as control, spraying auxin hormone in silking emergence and spraying auxin hormone in 15 days after silking emergence stages. Means and \pm SD were samples from three replications.



شکل ۸. تأثیر تنش خشکی و محلول‌پاشی هورمون‌های سیتوکینین و اکسین در مراحل مختلف بر کارایی کوانتوم فتوسنتزی. NS، SV و SR به ترتیب نشان‌دهنده محیط بدون تنش خشکی، تنش خشکی در مرحله رشد رویشی و تنش خشکی در مرحله رشد زایشی است. C₀، C₁ و C₂ به ترتیب نشان‌دهنده عدم محلول‌پاشی و محلول‌پاشی هورمون سیتوکینین در مرحله پنج تا شش برگه و هشت تا ده برگه است و A₀، A₁ و A₂ به ترتیب نشان‌دهنده عدم محلول‌پاشی و محلول‌پاشی هورمون اکسین در مرحله ظهور ابریشم و ۱۵ روز پس از ظهور ابریشم است. میانگین‌ها و \pm SD نمونه‌های ۳ تکرار می‌باشند.

Fig. 8. The effect of drought stress and spraying cytokinin and auxin hormones in deferent stages on photosynthetic quantum efficiency. NS, SV and SR have shown as control, drought stress in vegetative stage and drought stress in reproductive stage respectively. C₀, C₁ and C₂ have shown as control, spraying cytokinin hormone in V5-6 and spraying cytokinin hormone in V8-10 stages. A₀, A₁ and A₂ have shown as control, spraying auxin hormone in silking emergence and spraying auxin hormone in 15 days after silking emergence stages. Means and \pm SD were samples from three replications.



شکل ۹. تأثیر تنش خشکی و محلول‌پاشی هورمون‌های سیتوکینین و اکسین در مراحل مختلف بر پیر شدن برگ. NS، SV و SR به ترتیب نشان‌دهنده محیط بدون تنش خشکی، تنش خشکی در مرحله رشد رویشی و تنش خشکی در مرحله رشد زایشی است. C₀، C₁ و C₂ به ترتیب نشان‌دهنده عدم محلول‌پاشی و محلول‌پاشی هورمون سیتوکینین در مرحله پنج تا شش برگه و هشت تا ده برگه است و A₀، A₁ و A₂ به ترتیب نشان‌دهنده عدم محلول‌پاشی و محلول‌پاشی هورمون اکسین در مرحله ظهور ابریشم و ۱۵ روز پس از ظهور ابریشم است. میانگین‌ها و \pm SD نمونه‌های ۳ تکرار می‌باشند.

Fig. 9. The effect of drought stress and spraying cytokinin and auxin hormones in deferent stages on photosynthetic quantum efficiency. NS, SV and SR have shown as control, drought stress in vegetative stage and drought stress in reproductive stage respectively. C₀, C₁ and C₂ have shown as control, spraying cytokinin hormone in V5-6 and spraying cytokinin hormone in V8-10 stages. A₀, A₁ and A₂ have shown as control, spraying auxin hormone in silking emergence and spraying auxin hormone in 15 days after silking emergence stages. Means and \pm SD were samples from three replications.

سیتوکینین در شرایط تنش‌های غیر زیستی می‌تواند پیری برگ را به وسیله جمع‌آوری رادیکال‌های آزاد به تعویق اندازد (Grossman and Leshem, 2006) و باعث افزایش فعالیت

در این زمان آسیب به غشاء سلولی برگ وارد شده و یا هورمون اکسین در این مرحله بر تولید آنتی‌اکسیدان‌ها بی‌تأثیر است ولی در آزمایش‌های متعدد گزارش شده است که کاربرد

باعث صرفه‌جویی در مصرف آب بدون کاهش معنی‌دار پارامترهای فیزیولوژیکی شود. همچنین، به دلیل بالاتر بودن شاخص سطح برگ، هدایت روزنه‌ای و کارایی کوانتوم فتوسنتزی و کمتر بودن دمای کانویی با محلول‌پاشی هورمون سیتوکینین در مرحله پنچ تا شش برگی این مرحله به‌عنوان بهترین زمان مصرف هورمون سیتوکینین تشخیص داده شد و میزان کلروفیل برگ، کارایی کوانتوم فتوسنتزی و روند تأخیری در پیر شدن برگ با مصرف هورمون اکسین در مرحله ظهور ابریشم و مقاومت روزنه‌ای و دمای کانویی با مصرف هورمون اکسین در زمان ۱۵ روز پس از ظهور ابریشم کمتر بود. معنی‌دار شدن اثر متقابل تنش خشکی و مصرف هورمون بر شاخص سطح برگ و کاهش دمای کانویی نشان داد که تأثیرگذاری مصرف هورمون‌ها در گیاه ذرت در شرایط تنش‌زایی به دلیل برقراری تعادل روابط هورمونی مختل شده نسبت به محیط عدم تنش و تنش رویشی تأثیرگذاری بیشتری دارد.

آنتی‌اکسیدانت‌ها و جمع‌آوری اقسام فعال اکسیژن و نهایتاً کاهش آسیب به غشاء سلولی و افزایش پایداری آن شود (Sayd et al., 2010).

نتیجه‌گیری

بر اساس نتایج حاصل از این آزمایش، با توجه به یکسان بودن اکثر پارامترهای فیزیولوژیکی ذرت دانه‌ای در شرایط بدون تنش خشکی و تنش رویشی، شاید بتوان گیاه ذرت را در مرحله رشد رویشی گیاهی متحمل به خشکی دانست و یا ممکن است تنش خشکی در مرحله رشد رویشی باعث گستردگی بیشتر ریشه نسبت به محیط بدون تنش شده باشد و سپس ایجاد شرایط رطوبتی مطلوب در مرحله رشد زایشی باعث استفاده آب با کارایی بالاتر در این شرایط شود. بنابراین در مناطقی که با کمبود آب آبیاری مواجه هستند، آبیاری پس از رسیدن رطوبت خاک به ۵۰ درصد ظرفیت مزرعه در مرحله رشد رویشی و پس از ظهور گل تاجی آبیاری پس از رسیدن رطوبت خاک به ۷۵ درصد ظرفیت مزرعه می‌تواند

منابع

- Ahmad, A., Baker D.A., 1999. Effects of abscisic acid (ABA) on grain filling processes in wheat. *Plant Growth Regulation*. 28, 187–197.
- Ashraf, M.Y., Azmi, A.R., Khan, A.H., Naqvi, S.S.M., Ala, S.A., 1995. Effect of water stress on different enzymatic activities in wheat. *Acta Physiologiae Plantarum*. 17, 615–620.
- Bänziger, M., Edmeades, G.O., Beck, D., Bellon, M., 2000. Breeding for Drought and Nitrogen Stress Tolerance in Maize: From Theory to Practice. Mexico, D.F., CIMMYT.
- Blackman, P.G., Davies, W.J., 1983. The effect of cytokinins and ABA on stomatal behaviour of maize and *Commelina*. *Experimental Botany*. 34, 1619-1626.
- Blackman, P.G., Davies, W.J., 1984. Age-related changes in stomatal response to cytokinins and abscisic acid. – *Annals of Botany*. 54, 121-125.
- Boothby D and Wright S.T.C., 1962. Effect of kinetin and other growth regulators on starch degradation. *Nature*. 196, 389–390.
- Boucaud, J., Unger, I.A., 1976. Hormonal control of germination under saline conditions of three halophytic taxa in genus *Suaeda*. *Physiologia Plantarum*. 37(2), 143-148.
- Brault, M. and Maldiney, R., 1999. Mechanisms of cytokinin action. *Plant Physiology and Biochemistry*. 37, 403-412.
- Cakir, R., 2004. Effect of water stress at different development stages on vegetative and reproductive growth of corn. *Field Crops Research*. 89, 1-16.
- Claassen, M.M., Shaw, R.H., 1970. Water deficit effects on corn. II. Grain components. *Agronomy Journal*. 62, 652-655.
- Doorenbos, J., Kassam, A.K., 1979. Yield response to water. *Irrigation and Drainage Paper 33*. FAO, United Nations, Rome. 176 p.
- Farooq, M., Wahid, A., Kobayashi, N., Fujita, D., Basra, S.M.A., 2009. Plant drought stress, effects, mechanisms and management. *Agronomy for Sustainable Development*. 29, 185–212.
- Goicoechea, N., Antolín, M.C., Sánchez-Díaz, M., 1997. Gas exchange is related to the hormonal balance in mycorrhizal or nitrogen-fixing alfalfa subjected to drought. *Physiologia Plantarum*. 100: 989-997.
- Grossman, S., Leshem, Y., 2006. Lowering of endogenous lipoxygenase activity in *Pisum*

- sativum* foliage by cytokinin as related to senescence. *Physiologia Plantarum*. 43, 359–362.
- Hirayama, H., Wada Y., Neato, H., 2006. Estimation of drought tolerance based on leaf temperature in upland rice breeding. *Breeding Science*. 56, 47–54.
- Khan, A.H., Mujtaba, S.M., Khanzada, B., 1999. Response of growth, water relation and solute accumulation in wheat genotypes under water deficit. *Pakistan Journal of Botany*. 31, 461–468.
- Lawlor, D.W., Cornic, G., 2002. Photosynthetic carbon assimilation and associated metabolism in relation to water deficits in higher plants. *Plant, Cell and Environment*. 25, 275–294.
- Lawlor, D.W., 2002. Limitation to photosynthesis in water-stressed leaves: stomata vs. metabolism and role of ATP. *Annals of Botany*. 89, 871–885.
- Lur', H.S., Setter. T., 1993. Role of auxin in maize endosperm development' timing of nuclear DNA endoreduplication, zein expression, and cytokinin. *Plant Physiology*. 103, 273–280.
- Martinez, J.P., Silva, H., Ledent, J.F., Pinto, M., 2007. Effect of drought stress on the osmotic adjustment, cell wall elasticity and cell volume of six cultivars of common beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *European Journal of Agronomy*. 26, 30–38.
- Miyagi, M., Oku, H., Chinen I., 1990. Purification and action pattern on soluble starch of α -amylase from sugarcane leaves. *Agricultural and Biological Chemistry*. 54, 849–885.
- Morgan, P.W., 1990. Effects of abiotic stresses on plant hormone systems. In: Alschler, R.G., Cumming, J.R., (eds.), *Stress Responses in Plants: Adaptation and Acclimation Mechanism*. New York: Wiley-Liss.
- Pharmawati, M., Billington, T., Gehring, C.A., 1998. Stomatal guard cell responses to kinetin and natriuretic peptides are cGMP-dependent. *Cellular and Molecular Life Science*. 54, 272–276.
- Pospíšilová, J., Synková, H., Rulcová, J., 2000. Cytokinins and water stress. *Biological of Plant*. 43, 321–328.
- Sallah, P.Y.K., Antwi K.O., Ewool, M.B., 2002. Potential of elite maize composites for drought tolerance in stress and non-drought stress environments. *African Crop Science Journal*. 10, 1–9.
- Saneoka, H., Moghaieb, R.E.A., Premachandra, G.S., Fujita, K., 2004. Nitrogen nutrition and water stress effects on cell membrane stability and leaf water relations in *Agrostis palustris* Huds. *Environmental and Experimental Botany*. 52, 131–138.
- Satvir, K., Anil, G.K., Narinder, K., 2000. Effect of GA₃, kinetin and indole acetic acid on carbohydrate metabolism in chickpea seedlings germinating under water stress. *Plant Growth Regulation*. 30, 61–70.
- Sayd, S.S., Taie, A.A.H., Taha, L.S., 2010. Micropropagation, antioxidant activity, total phenolics and flavonoids content of *Gardenia jasminoides* ellis as affected by growth regulators. *International Journal of Academic Research*. 2, 184–191.
- Shaddad, M.A.K., Hamdia Abd El-Samad, M., Mohammad, H.T., 2011. Interactive effects of drought stress and phytohormones or polyamines on growth and yield of two maize genotypes (*Zea mays* L.). *American Journal of Plant Sciences*, 2, 790–807.
- Taiz, L., Zeiger, E., 2006. *Plant Physiology*, 4th edition. Sinauer Associates Inc. Publishers, Massachusetts, USA
- Wolf, D.W., Henderson, D.W., Hsiao, T.C., Alvino, A., 1988. Interactive water and nitrogen effects on senescence of maize. I. Leaf area duration, nitrogen distribution and yield. *Agronomy Journal*. 80, 859–864.
- Yadav, N., Gupta, V., Yadav, V.K., 1997. Role of benzyl adenine and gibberellic acid in alleviating water-stress effect in gram (*Cicer arietinum*). *Indian Journal of Agriculture Science*. 67, 381–387.
- Zažímalová, E., Kamínek, M., Březinová, A., Motyka, V., 1999. Control of cytokinin biosynthesis and metabolism. - In: Hooykaas, P.J.J., Hall, M.A., Libbenga, K.R., (ed.): *Biochemistry and Molecular Biology of Plant Hormones*. Pp. 141–160. Elsevier, Amsterdam.
- Zhao, Y., Aspinall, D., Paleg, L.G., 1992. Protection of membrane integrity in *Medicago sativa* L. by glycinebetaine against the effects of freezing. *Journal of Plant Physiology*. 140, 541–543.