19th Iranian Soil Science Congress
2-4 December, 2025

نوزدهمین کنگره علوم خاک ایران
۱۱ تا ۱۳ آذرماه ۱۴۰۴

مدیریت جامع‌نگر و هوشمند خاک و آب
Holistic and Smart Soil and Water Management
دانشکدگان کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران
College of Agriculture & Natural Resources, University of Tehran

۰۴۲۵۰-۳۲۰۳۱

تاثیر قارچ میکوریز و محلول‌پاشی پرولین بر برخی خصوصیات رشدی و بیان ژن P5CS در ذرت تحت تنش توام شوری و خشکی

فاطمه افتخاری[۱]*، مهدی سرچشمه‌پور[۲]، ناصر برومند[۲]، آزاده لهراسبی‌نژاد[۳]

۱- دانشجوی دکتری بخش علوم و مهندسی خاک، دانشگاه شهید باهنر کرمان، f.eftekhari9272@agr.uk.ac.ir

۲- دانشیار بخش علوم و مهندسی خاک، دانشگاه شهید باهنر کرمان

۳- دانشیار بخش بیوتکنولوژی، پژوهشکده افضلی‌پور، دانشگاه شهید باهنر کرمان

چکیده

تنش هم‌زمان شوری و خشکی از عوامل اصلی محدودکننده رشد و عملکرد گیاهان زراعی است. این پژوهش با هدف بررسی اثر محلول‌پاشی پرولین و کاربرد قارچ میکوریز آربوسکولار **(AMF)** بر ویژگی‌های رشدی و بیان ژن **P5CS** در ذرت ***(Zea mays)*** تحت تنش ترکیبی شوری–خشکی در شرایط گلخانه‌ای انجام شد. آزمایش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی اجرا شد. تیمارها شامل میکوریز (تلقیح یا عدم تلقیح)، پرولین (عدم کاربرد و محلول‌پاشی ۳۰ میلی‌مولار در دو نوبت) و دو تیمار تنش (شاهد و تنش توأم شوری با **EC=12 dS/m** و خشکی با **FC=35%** بودند. نتایج نشان داد تنش ترکیبی باعث کاهش معنی‌دار شاخص‌های رشدی شد **(P<0.001)** ، اما کاربرد هم‌زمان پرولین و میکوریز به‌طور معنی‌داری موجب افزایش وزن خشک اندام هوایی، حجم ریشه و وزن خشک ریشه شد. **(P<0.001)** کلنیزاسیون ریشه در تیمارهای دارای میکوریز بیش از ٪۸۵ بود. بیان ژن **P5CS** در پاسخ به تیمار "تنش + میکوریز" بیش از ۲۸۰۰۰ برابر افزایش یافت. پرولین نیز بیان ژن را افزایش داد، اما در ترکیب با میکوریز تحت تنش، کاهش نسبی نشان داد. ترکیب پرولین و میکوریز با بهبود هم‌زمان پاسخ‌های فیزیولوژیکی و مولکولی، راهکاری مؤثر برای افزایش تحمل ذرت به تنش‌های اسمزی است.

واژگان کلیدی: محرک زیستی، پاسخ‌های فیزیولوژیک، تنش اسمزی، تحمل تنش

مقدمه

تنش‌های غیرزنده از جمله خشکی و شوری از مهم‌ترین عوامل محدودکننده رشد و عملکرد گیاهان زراعی در سراسر جهان محسوب می‌شوند (Zhu, 2021). این تنش‌ها به طور جداگانه یا به صورت توأم منجر به اختلالات فیزیولوژیکی، کاهش جذب آب و عناصر غذایی و ایجاد آسیب‌های اکسیداتیو در سلول‌های گیاهی می‌گردند (Hasanuzzaman et al., 2022). تنش همزمان شوری و خشکی تأثیرات شدیدتری را نسبت به تنش‌های منفرد بر گیاهان اعمال می‌کند. این وضعیت منجر به اختلال شدید در روابط آبی، کاهش هدایت روزنه‌ای، افت قابل توجه در فتوسنتز، کاهش انتقال مواد غذایی از ریشه به بخش‌های هوایی و نهایتاً کاهش رشد، عملکرد و کیفیت محصول می‌شود (Fahad et al., 2021). تنش توأم شوری و خشکی از طریق تولید بیش از حد گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) در سلول‌ها باعث آسیب‌های جدی به غشاهای سلولی، پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک می‌شود و موجب کاهش ظرفیت فتوسنتزی و متابولیسمی گیاهان می‌شود (Kumar et al., 2022). این آسیب‌ها در نهایت به کاهش قابل ملاحظه بهره‌وری منجر می‌شوند.

میکوریز یک رابطه هم‌زیستی بین گیاه و قارچ می‌باشد که در ناحیه ریشه گیاه شکل می‌گیرد و از طریق گسترش هیف‌های خود در داخل خاک، سطح جذب آب و عناصر غذایی نظیر فسفر و نیتروژن را تا چندین برابر افزایش می‌دهد (Begum et al., 2023). در تنش خشکی، شبکه میکوریز با افزایش ظرفیت ذخیره آب و انتقال آن به گیاه، مانع از افت پتانسیل آب در ریشه

می‌شود؛ همچنین در تنش شوری، میکوریز با جداسازی یون‌های سدیم و حمایت از جذب یون‌های پتاسیم، به حفظ تعادل یونی کمک می‌کند (Smith and Read، 2020). تحقیقات نشان داده‌اند که میکوریز ضمن تحریک تولید هورمون‌های رشد مانند اکسین و سیتوکینین، بیان ژن‌های مرتبط با تحمل تنش از جمله P5CS و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان مانند سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز را نیز تنظیم می‌کند (Aroca et al., 2013).

پرولین به عنوان یک اسمولیت سازگار و یک آنتی‌اکسیدان طبیعی، نقش مهمی در بهبود تحمل گیاهان به تنش شوری و خشکی دارد. تجمع پرولین در سلول‌های گیاهی علاوه بر حفظ تعادل اسمزی، از طریق محافظت از ساختار پروتئین‌ها و غشاها و پاک‌سازی رادیکال‌های آزاد، میزان آسیب اکسیداتیو را کاهش می‌دهد (Hayat et al., 2023). مسیر بیوسنتز پرولین توسط آنزیم-Δ1 پیرولین-۵-کربوکسیلات سنتتاز (P5CS) کنترل می‌شود که در نقاط حساس تنظیمی گیاه مانند پلاستیدهای کلروپلاست قرار دارد.

ژن P5CS در ذرت شامل چند ایزوفرم است که هر یک دارای نواحی خاصی در پاسخ به هورمون‌های ABA و تنش‌های اکسیداتیو می‌باشند، بنابراین بیان آن تحت تأثیر سیگنال‌های استرس تنظیم می‌شود (Szabados and Savouré, 2010). افزایش بیان ژنP5CS به معنای القاء مسیر بیوسنتزی پرولین و ارتقاء ظرفیت گیاه برای تولید اسمولیت‌های سازگار است.

ذرت (Zea mays L.) به عنوان یکی از مهم‌ترین گیاهان زراعی، به طور گسترده تحت تأثیر تنش‌های محیطی قرار دارد و بنابراین مطالعه روش‌هایی جهت افزایش تحمل به تنش در این گیاه از اهمیت بالایی برخوردار است (Raza et al., 2023). بنابراین، هدف از پژوهش حاضر بررسی اثرات مستقل و متقابل قارچ میکوریز و محلول‌پاشی پرولین بر خصوصیات رشدی و بیان ژن P5CS در گیاه ذرت در شرایط تنش توأم شوری و خشکی است. این مطالعه با رویکرد ترکیبی در مقیاس گلخانه‌ای، تلاش دارد تا با تحلیل داده‌های مورفولوژیک و مولکولی، راهکاری کارآمد برای ارتقاء تحمل گیاهان زراعی به تنش‌های پیچیده محیطی پیشنهاد دهد.

مواد و روش‌ها

نمونه‌برداری و تهیه مایه تلقیح

نمونه‌ها از ریشه و خاک ریزوسفر گیاهان غیرزراعی استان کرمان با توزیع و پراکندگی کافی در سطح استان، جمع‌آوری شد. نمونه‌ها به آزمایشگاه بیولوژی دانشگاه شهید باهنر منتقل گردید، از نمونه‌های خاک بعد از هوا خشک شدن، گل اشباع تهیه گردید و سپس pH و EC آن‌ها قرائت گردید. نمونه‌های با EC بیشتر از ۷ds/m و درصد کلنیزاسیون بالاتر از ۸۵٪ جهت مایه تلقیح میکوریز انتخاب گردید. درصد کلنیزاسیون ریشه نمونه‌ها به روش koske و Gemma (1997) تعیین شد. مایه تلقیح میکوریز با استفاده از کشت گیاه سورگوم به مدت سه ماه در شرایط گلخانه‌ای تهیه گردید.

کشت گلخانه‌ای

آزمایش گلخانه‌ای به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی با چهار تکرار انجام شد. فاکتورها شامل دوتیمار تنش [شاهد بدون تنش (S0D0)، ترکیب شوری و خشکی(S1D1)] و دو تیمار تلقیح میکروبی [شاهد بدون تلقیح (AMF)، تلقیح با میکوریز (Non-AMF)] و دو تیمار محرک زیستی [بدون پرولین (P0) و محلول‌پاشی پرولین (P1)] بودند. آزمایش مجموعا شامل ۳۲ گلدان بود که در گلخانه دانشکده کشاورزی دانشگاه شهید باهنر کرمان انجام شد. ابتدا بذرهای ذرت را به مدت ده دقیقه در محلول هیپوکلریت سدیم ده درصد قرار داده و سپس سه بار و هر بار به‌مدت ۱۵ دقیقه با آب مقطر استریل شسته شدند. کشت گیاه درون گلدان‌های پلاستیکی حاوی چهار کیلوگرم خاک صورت گرفت. به هر گلدان میکوریزی، ۱۵۰ گرم مایه تلقیح میکوریز در دو لایه اضافه گردید. تیمار تنش شوری و

خشکی دو هفته پس از کاشت و تیمار پرولین به صورت دو بار محلول‌پاشی، بار اول همزمان با اعمال تنش و بار دوم سه هفته پس از مرحله اول، با غلظت ۳۰ میلی‌مولار اعمال شد. تنش شوری با محلول نمکی شامل $NaCl, CaCl_2, MgCl_2$ تا رسیدن به شوری dS/m ۱۲ اعمال شد. شوری گلدان‌های بدون تنش شوری برابر با یک د سی زیمنس بود. نسبت مولی یون‌های مختلف در محلول نمکی برابر با (Na:Ca:Mg) 70.5:20:9.5 بود. تنش خشکی از طریق توزین روزانه هر یک از گلدان‌ها و آبیاری تا حد رطوبتی مد نظر (FC ٪ ۳۵ برای تیمار تنش و FC ٪ ۸۰ برای تیمارهای بدون تنش خشکی) اعمال شد. گیاهان پس از ۷۵ روز، برداشت و وزن خشک اندام هوایی، وزن خشک ریشه ، حجم ریشه و درصد کلنیزاسیون ریشه اندازه‌گیری شد.

اندازه‌گیری بیان ژن P5CS

در این مرحله ابتدا RNA کل با استفاده از کیت ستونی (SinaPure ™ RNA) شرکت SINACOLON از بافت گیاه ذرت، مطابق با دستورالعمل ذکر شده در کیت استخراج گردید. کیفیت و کمیت RNA استخراج شده به ترتیب با استفاده از ژل الکتروفورز آگارز یک درصد و دستگاه نانو دراپ تعیین گردید. برای سنتز cDNA، از کیت Easy™ cDNA Synthesis Kit(شرکت پارس طوس) طبق پروتکل شرکت سازنده استفاده شد. نمونه‌های سنتز شده در دمای ۲۰- نگهداری شدند تا در مراحل بعدی برای انجام qPCR مورد استفاده قرار گیرند.

تجزیه و تحلیل آماری

پردازش و تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم افزار SAS نسخه ۹,۴ و رسم نمودارها با استفاده از نرم افزار sigmaplot انجام گردید.

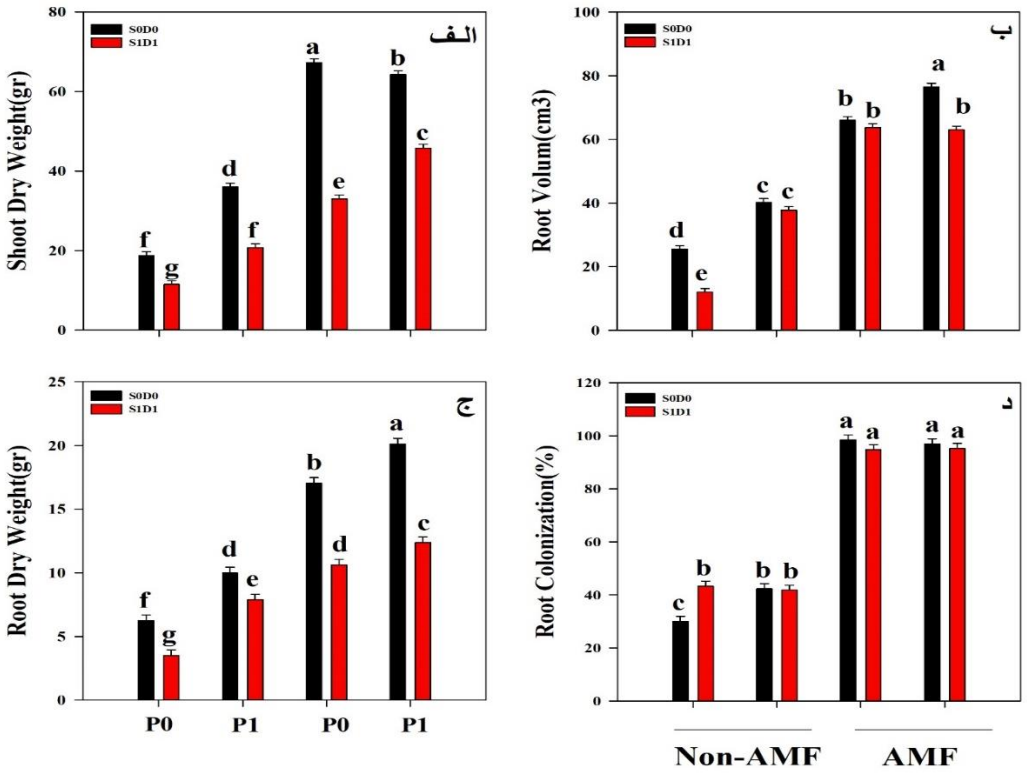
نتایج و بحث

نتایج این مطالعه نشان داد که تیمارهای قارچ میکوریز و پرولین تأثیر معنی‌داری بر بهبود رشد گیاه ذرت در شرایط بدون تنش و همچنین تحت تنش ترکیبی شوری و خشکی دارند (جدول-۱). شاخص‌های مورفولوژیک شامل وزن خشک اندام هوایی، حجم ریشه ، وزن خشک ریشه و درصد کلنیزاسیون به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر تیمارها قرار گرفتند. در شرایط بدون تنش (S0D0) ، بیشترین عملکرد رشدی در تیمار ترکیبی قارچ میکوریز و پرولین مشاهده شد، به‌طوری‌که وزن خشک اندام هوایی در این تیمار نسبت به تیمار شاهد فاقد قارچ و پرولین افزایش ۲۴ درصدی داشت. در شرایط تنش (S1D1) ، هر سه شاخص رشد کاهش معنی‌داری را نشان دادند ($p < 0.001$) ، با این حال، تیمار ترکیبی میکوریز و پرولین در مقایسه با سایر تیمارها توانست بیشترین مقادیر وزن خشک اندام هوایی (شکل ۱- الف)، حجم ریشه (شکل ۱-ب) و وزن خشک ریشه (شکل ۱- ج) را حفظ کند. قارچ میکوریز با گسترش شبکه هیف‌های بیرونی، سطح جذب آب و عناصر غذایی (به‌ویژه فسفر و نیتروژن) را افزایش داده و موجب بهبود کارایی سیستم ریشه، به‌خصوص در شرایط تنش‌های اسمزی می‌شود (Begum et al., 2019, Smith and Read,2008) .در این مطالعه نیز تیمار میکوریز حتی در غیاب پرولین، باعث بهبود معنی‌دار در عملکرد ریشه و اندام هوایی شد، که نقش مستقل و مؤثر همزیستی میکوریزی را در بهبود مقاومت گیاهان نسبت به تنش‌های محیطی تأیید می‌کند. پرولین به‌عنوان یک اسمولیت کلیدی، علاوه بر تنظیم فشار اسمزی سلولی، در تثبیت غشاها، تعادل یونی و کاهش تولید گونه‌های فعال اکسیژن نیز نقش دارد (Hayat et al., 2024). در نتایج این پژوهش، کاربرد پرولین حتی بدون حضور میکوریز نیز تفاوت معنی‌داری در صفات رشدی ایجاد کرد، هرچند تاثیر آن کمتر از تیمارهای همراه با میکوریز بود. این نتیجه نشان می‌دهد که پرولین به‌تنهایی نیز قابلیت تعدیل آثار منفی تنش را دارد، اما اثربخشی آن در حضور میکوریز به حداکثر می‌رسد. در رابطه با

پارامتر حجم ریشه (شکل ۱- ب)، تیمار پرولین در گیاهان میکوریزی تحت تنش، تأثیر افزایشی قابل‌توجهی نداشت. این موضوع احتمالاً بیانگر رسیدن به سقف فیزیولوژیکی توسعه ریشه تحت محدودیت‌های محیطی توسط هیف‌های قارچی است که با نتایج Zhou و همکاران (2023) هم‌خوانی دارد که نشان داد در گیاهان میکوریزی، در شرایط تنش، سهم هیف‌های قارچی در جذب آب نسبت به ریشه‌ها بیشتر می‌شود و در نتیجه، توسعه فیزیکی ریشه محدود می‌گردد. از سوی دیگر، در مورد شاخص‌های وزن خشک اندام هوایی (شکل ۱- الف) و وزن خشک ریشه (شکل ۱- ج)، تیمار ترکیبی میکوریز و پرولین تحت شرایط تنش، سطوح عملکردی نسبتاً بالایی را ایجاد کرد که به‌طور معنی‌داری بیشتر از سایر تیمارها بود. این اثر افزایشی ممکن است ناشی از ترکیب دو مکانیسم مکمل یکدیگر شامل بهبود جذب آب و عناصر غذایی توسط میکوریز و تقویت پایداری سلول توسط پرولین باشد (Hashem et al., 2021). در خصوص درصد کلنیزاسیون ریشه (شکل ۱- د)، مشاهده شد که تنها تیمارهای حاوی قارچ میکوریز درصد بالایی از کلنیزاسیون را ایجاد کردند و تفاوت معنی‌داری با تیمارهای فاقد قارچ داشتند. تأثیرات تنش و پرولین به‌تنهایی بر میزان کلنیزاسیون معنی‌دار نبودند. این یافته با مطالعات پیشین نیز هم‌راستا می‌باشد که نشان می‌دهد درصد کلنیزاسیون عمدتاً وابسته به نوع قارچ تلقیح‌شده است و کمتر تحت تاثیر سایر تیمارها می‌باشد. از این‌رو، می‌توان نتیجه گرفت که حضور قارچ تلقیح شده عامل اصلی کلنیزاسیون ریشه‌ها است (Smith and Read, 2008; Miransari, 2010). همچنین، پایداری بالای کلنیزاسیون حتی در شرایط تنش، بیانگر سازگاری قارچ مورد استفاده با محیط و توان همزیستی پایدار در شرایط نامطلوب است (Wang et al., 2010 ؛ Ruiz-Lozano et al., 2016).

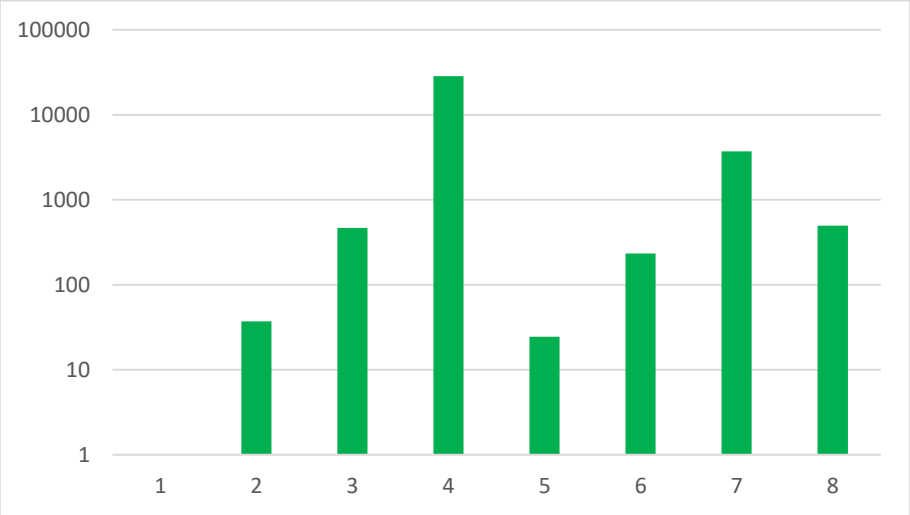
جدول۱- نتایج تجزیه واریانس تاثیر تیمارهای تنش، میکوریز و پرولین بر برخی خصوصیات مورفولوژیکی گیاه ذرت

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات			
		وزن خشک اندام هوایی	حجم ریشه	وزن خشک ریشه	درصد کلنیزاسیون ریشه
میکوریز	۱	۷۵۹۵,۲۸***	۱۱۸۱۹,۵۳***	۵۲۹,۹۱***	۲۶۰۴۹,۰۳***
تنش	۱	۲۸۳۱,۲۸***	۵۰۴,۰۳***	۱۸۱,۵۴***	۲۶,۲۸ns
پرولین	۱	۶۵۷,۰۳***	۱۲۶۲,۵۳***	۸۳,۹۱۶***	۴۷,۵۳ns
میکوریز*محرک	۱	۱۴۰,۲۸***	۴۷۲,۷۸***	۵,۴۲**	۶۹,۰۳*
میکوریز*تنش	۱	۴۵۷,۵۳***	۰,۰۳ns	۴۳,۲۹***	۱۶۶,۵۳**
پرولین*تنش	۱	۳۰,۰۳***	۰,۰۳ns	۰,۲۴ns	۶۹,۰۳*
میکوریز*پرولین*تنش	۱	۲۸۲,۰۳***	۲۴۷,۵۳***	۱,۹۱ns	۱۲۴,۰۳**
خطا	۲۴	۳,۷۸	۵,۵۱	۰,۷۶	۱۴,۷۸
ضریب تغییرات	-	۵,۲۳	۴,۸۸	۷,۹۶	۵,۶۶



شکل ۱- نتایج مقایسه میانگین اثرات متقابل تیمارهای تنش، میکوریز و پرولین بر وزن خشک اندام هوایی (الف)، حجم ریشه (ب)، وزن خشک ریشه (ج) و درصد کلنیزاسیون (د) در گیاه ذرت. در هر ستون میانگین‌های دارای حروف مشترک فاقد تفاوت معنی‌دار آماری با آزمون دانکن در سطح ۵ درصد می‌باشند.

بیان ژن P5CS، که در سنتز پرولین نقش کلیدی دارد، به‌طور قابل‌توجهی در پاسخ به میکوریز و تنش افزایش یافت و در تیمار "تنش + میکوریز" به اوج خود (۲۸،۳۲۹ برابر) رسید (شکل۲). این افزایش کاملاً با شاخص‌های رشد هماهنگ بود. تیماری که بیشترین میزان بیان ژن را داشت، بیشترین وزن خشک اندام هوایی و بیشترین حجم ریشه را نیز نشان داد. نکته قابل توجه این است که محلول‌پاشی پرولین در این شرایط، باعث کاهش چشمگیر بیان ژن (۴۹۴ برابر) شد، بدون آن‌که تأثیری منفی بر رشد گیاه داشته باشد. این موضوع احتمالاً به دلیل وجود فیدبک منفی در مسیر سنتز درونی پرولین است و نشان می‌دهد که پرولین خارجی برای حفظ تعادل اسمزی گیاه کافی بوده است. میکوریز می‌تواند از طریق دو مکانیسم متفاوت به بهبود وضعیت گیاه کمک کند، نخست با فعال‌سازی مسیرهای دفاعی مانند سنتز پرولین و دوم با افزایش کارایی جذب عناصر غذایی که به حفظ رشد گیاه منجر می‌شود (Hayat et al., 2024، Wang et al., 2022). بنابراین، تنظیم هم‌زمان شاخص‌های مولکولی و فیزیولوژیکی توسط میکوریز، نقطه قوت پاسخ گیاه به تنش‌های اسمزی است.



شکل ۲- تغییرات بیان ژن P5CS در تیمارهای میکوریز (M0,M1)، تنش توام شوری با خشکی (S0D0,S1D1) و محلول‌پاشی پرولین (P0,P1)

1=P0 (S0D0) M0,2= P0(S0D0) M1, 3=P0(S1D1) M0, 4=P0(S1D1) M1, 5=P1(S0D0) M0, 6=P1(S0D0) M1, 7=P1(S1D1) M0, 8=P1(S1D1) M1

نتیجه‌گیری

تنش ترکیبی شوری و خشکی یکی از شدیدترین عوامل محدودکننده رشد و عملکرد گیاهان زراعی به‌شمار می‌رود، چرا که با افزایش فشار اسمزی، اختلال در تعادل یونی، القاء استرس اکسیداتیو، فرآیندهای فیزیولوژیک و بیوشیمیایی گیاه را به‌شدت مختل می‌سازد. نتایج این پژوهش نشان داد که هم‌زیستی با قارچ میکوریز و محلول‌پاشی پرولین می‌تواند اثرات مخرب این تنش را تا حد زیادی کاهش دهد. قارچ میکوریز با افزایش چشمگیر بیان ژن P5CS (مسئول سنتز پرولین) و تحریک مکانیسم‌های تنظیم اسمزی، مقاومت گیاه را به شکل مؤثری افزایش داد، به‌طوری که میزان بیان ژن را در شرایط تنش به میزان (۲۸،۳۲۹ برابر) افزایش یافت و باعث بهترین شاخص‌های رشد گردید. اگرچه محلول‌پاشی پرولین در این شرایط باعث کاهش نسبی بیان ژن (۴۹۴ برابر) شد اما به رشد گیاه کمک کرد که احتمالاً ناشی از تأمین مستقیم پرولین مورد نیاز سلول‌ها بود. در مجموع، یافته‌ها نشان می‌دهند که ترکیب میکوریز و پرولین با ایجاد تعامل بین مکانیسم‌های جذب و تنظیم اسمزی، راهکاری مؤثر و پایدار برای افزایش تحمل ذرت به تنش‌های اسمزی محسوب می‌شود.

فهرست منابع

Aroca, R., Porcel, R., & Ruiz-Lozano, J. M. (2013). Regulation of root water uptake under abiotic stress conditions. *Journal of Experimental Botany*, 64(2), 371–384.

Begum, N., Qin, C., Ahanger, M. A., Raza, S., Khan, M. I., Ashraf, M., & Ahmed, N. (2023). Role of arbuscular mycorrhizal fungi in mitigating drought and salinity stress in plants. *Journal of Plant Growth Regulation*, 42(1), 1–18.

Fahad, S., Bajwa, A. A., Nazir, U., Anjum, S. A., Farooq, A., Zohaib, A., ... & Huang, J. (2021). Crop production under drought and heat stress: Plant responses and management options. *Frontiers in Plant Science*, 12, 734541.

Hasanuzzaman, M., Bhuyan, M. H. M. B., Zulfiqar, F., Raza, A., Mohsin, S. M., Al Mahmud, J., ... & Fujita, M. (2022). Reactive oxygen species and antioxidant defense in plants under abiotic stress: Revisiting the crucial role of a universal defense regulator. *Antioxidants*, 11(5), 877.

Hashem, A., Al-Arjani, A. B. F., Alqarawi, A. A., Radhakrishnan, R., & Abd_Allah, E. F. (2020). Arbuscular mycorrhizal fungi regulate the physiological and biochemical mechanisms of drought tolerance in maize. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 27(12), 3381–3386.

Hayat, S., Ahmad, H., & Hasanuzzaman, M. (2023). Proline in plants: Metabolism, regulation, and protective role under abiotic stress. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 29(2), 281–298.
Hayat, S., Ahmad, H., & Khan, M. I. R. (2024). Proline–Mycorrhiza interaction in osmotic stress tolerance. *Environmental and Experimental Botany*, 213, 105346.
Kumar, V., Shriram, V., & Khare, T. (2022). Abiotic stress responses in plants: Current knowledge and future perspectives. *Plant Physiology and Biochemistry*, 182, 312–324.
Miransari, M. (2010). Contribution of arbuscular mycorrhizal symbiosis to plant growth under different types of soil stress. *Plant Biology, 12*(4), 563–569. https://doi.org/10.1111/j.1438-8677.2009.00391.x
Raza, A., Charagh, S., Zahid, Z., Saleem, M. H., Danish, S., & Ahmed, N. (2023). Genetic regulation of drought and salinity stress responses in maize (Zea mays L.). *Frontiers in Genetics*, 14, 1123786.
Ruiz-Lozano, J. M., Aroca, R., & Zamarreño, A. M. (2016). Arbuscular mycorrhizal symbiosis induces systemic changes in root hydraulic properties in plants subjected to drought stress. *Mycorrhiza, 26*(1), 35–45. https://doi.org/10.1007/s00572-015-0644-4
Smith, S. E., & Read, D. J. (2020). *Mycorrhizal symbiosis* (4th ed.). Academic Press.
Smith, S. E., & Read, D. J. (2008). *Mycorrhizal symbiosis* (3rd ed.). Academic Press.
Szabados, L., & Savouré, A. (2010). Proline: A multifunctional amino acid. *Trends in Plant Science*, 15(2), 89–97.
Wang, Y., Zhang, X., & Liu, B. (2022). Arbuscular mycorrhizal fungi enhance plant salt tolerance by regulating antioxidant and osmotic balance. *Applied Soil Ecology*, 177, 104475.
Wang, B., Yeun, L. H., Xue, J. Y., Liu, Y., Ané, J. M., & Qiu, Y. L. (2010). Presence of three mycorrhizal genes in the common ancestor of land plants suggests a key role of symbiosis in plant colonization of land. *New Phytologist, 186*(2), 514–525. https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2009.03137.x
Zhou, Q., Zhang, X., Chen, Y., & Wang, H. (2023). Influence of arbuscular mycorrhizal fungi on root development and water uptake under drought conditions. *Mycorrhiza*, 33(1), 25–38.
Zhu, J. K. (2021). Abiotic stress signaling and responses in plants. *Cell*, 167(2), 313–324.

The Effect of Mycorrhizal Fungi and Proline Foliar Application on Growth Characteristics and P5CS Gene Expression in Maize Under Combined Salinity and Drought Stress

Fatemeh Eftekhari[1*], Mehdi SarcheshmehPour[2], Naser Boroomand[2], Azadeh Lohrasbi-Nejad[3]
[1] Ph.D. Candidate, Department of Soil Science, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran
f.eftekhari9272@agr.uk.ac.ir
[2] Associate Professor, Department of Soil Science, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran
[3] Associate Professor, Department of System Biotechnology, Afzalipour Research Institute (ARI), Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran

Abstract

Concurrent salinity and drought stress represents a principal abiotic constraint limiting the growth and yield of agricultural crops. This study aimed to elucidate the interactive effects of exogenous proline foliar application and arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) inoculation on growth parameters and *P5CS* gene expression in maize (*Zea mays*) under combined salinity–drought stress in controlled greenhouse conditions. A factorial experiment was conducted based on a completely randomized design (CRD), with treatments comprising: (i) mycorrhizal inoculation (inoculated vs. non-inoculated), (ii) proline application (none vs. 30 mM foliar spray applied in two intervals), and (iii) stress conditions (non-stressed control vs. combined salinity stress at EC = 12 dS/m and drought stress at FC = 35%).

Results demonstrated that the combined stress significantly impaired growth indices ($P < 0.001$), while co-application of proline and AMF markedly enhanced shoot dry weight, root volume, and root dry mass ($P < 0.001$). Root colonization rates in AMF-treated plants exceeded 85%. Notably, *P5CS* gene expression was upregulated by over 28,000-fold under the "stress + AMF" treatment, indicating a pronounced molecular response. Although proline alone elevated gene expression, its combination with AMF under stress resulted in a relatively attenuated expression profile. The integrative application of proline and mycorrhiza, by synergistically modulating both physiological and molecular responses, emerges as a promising strategy to enhance maize resilience to osmotic stress conditions.

Keywords: Biostimulant, Physiological responses, Reactive oxygen species (ROS), Plant stress tolerance, Osmolyte