

بررسی تحمل به تنش کم آبی ۱۱ هیبرید ذرت (*Zea mays* L.) در مرحله گیاهچه‌ای با

اندازه‌گیری سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی و صفات فیزیولوژیکی

سجاد محرم‌نژاد*

استادیار پژوهش، 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.

*نویسنده مسئول: sm.chakherlo@yahoo.com

تاریخ پذیرش: ۹۸/۰۸/۲۹

تاریخ دریافت: ۹۸/۰۵/۲۶

چکیده

کمبود آب یکی از مهم‌ترین تنش محیطی که باعث کاهش رشد گیاه می‌شود. این آزمایش در قالب طرح پایه بلوک‌های کامل تصادفی به روش کرت‌های یک‌بار خرد شده با سه تکرار در ایستگاه تحقیقات کشاورزی مغان در سال زراعی ۱۳۹۸ اجرا شد. دو سطح آبیاری عادی و قطع آبیاری در مرحله گیاهچه‌ای (قطع آبیاری بعد از سبز شدن بوته‌ها به مدت ۲۱ روز اعمال گردید) در کرت‌های اصلی و ۱۱ هیبرید ذرت در کرت‌های فرعی مقایسه شد. نتایج نشان داد که تنش کم‌آبی ارتفاع بوته، وزن خشک، محتوای کلروفیل و رطوبت نسبی آب برگ هیبریدهای ذرت را به‌طور معنی‌دار کاهش داد. مقدار مالون دی‌آلدئید تحت تنش کم‌آبی افزایش یافت. این در حالی است که تنش کم‌آبی اثر معنی‌داری روی میزان پلی‌فنول کل و هیدروژن پراکسید نداشت. تجزیه الکتروفورزی فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان روی ژل پلی‌آکرلامید هشت درصد نشان داد که به ترتیب دو و یک ایزوفرم برای پراکسیداز و کاتالاز در هیبریدهای ذرت مورد مطالعه مشاهده شد. تنش کم‌آبی به‌طور معنی‌دار موجب افزایش فعالیت ایزوفرم‌های پراکسیداز و کاتالاز شد. می‌توان چنین نتیجه گرفت که گیاه ذرت از طریق افزایش فعالیت سیستم دفاع آنتی‌اکسیدان و فتوسنتزی اثر تنش کم‌آبی را کاهش می‌دهد. بر اساس نتایج حاصل هیبرید $KLM77021/4-1-2-1-2-4-1 \times K47/3$ نسبت به هیبریدهای ذرت مورد مطالعه، جزء هیبرید متحمل به کم‌آبی شناسایی شد.

واژه‌های کلیدی: الکتروفورز، پراکسیداز، پلی‌فنول و فتوسنتز.

مقدمه

یکی از مهم‌ترین تنش‌های محیطی که گیاهان زراعی با آن درگیر هستند تنش کم‌آبی می‌باشد. با افزایش دمای زمین و به دنبال آن کاهش میزان بارندگی، اصلاح و تولید ارقام پایدار با عملکرد بالا از اهمیت بیشتری برخوردار است (Killi *et al.*, 2017). استفاده از منابع گیاهی با قابلیت سازگار و متحمل به کم‌آبی از اصلی‌ترین روش کاهش تولید کشاورزی در مناطق خشک می‌باشد. همچنین شناسایی ساز و کار افزایش تحمل به کم‌آبی در گیاه و تعیین شاخص‌های اندازه‌گیری آن از اهمیت بالایی در گیاه محسوب می‌شود (Tolk *et al.*, 2016). ذرت (*Zea mays* L.) یکی از مهم‌ترین گیاهان زراعی است که از لحاظ تولید مقام اول را در بین غلات به خود اختصاص داده است (FAO, 2017). تنش کم‌آبی یکی از عوامل محدود کننده تولید در گیاهان زراعی از جمله ذرت است. برخی از مراحل رشدی گیاهان حساسیت بالایی به کمبود آب دارند. به طوری که در ذرت مرحله گیاهچه‌ای، گرده افشانی و پر شدن دانه حساسیت بیشتری به کم‌آبی دارند (Lobell *et al.*, 2014). تنش کم‌آبی در حقیقت کاهش پتانسیل آب خاک است. در چنین شرایطی گیاه به منظور ادامه جذب آب، از طریق تجمع ترکیبات اسمزی از جمله کربوهیدرات محلول و پرولین، پتانسیل اسمزی خود را کاهش می‌دهد و به عبارت دیگر تنظیم اسمزی صورت می‌گیرد (Moharramnejad *et al.*, 2019). در فرایند تنظیم اسمزی، تورژانس و فرایندهای وابسته به آن تحت شرایط کمبود آب ادامه می‌یابد. در این راستا تنظیم اسمزی به توسعه سلولی و رشد گیاه در تنش کمبود آب کمک می‌کند (مرعشی و همکاران، ۱۳۹۵). Aslam و همکاران (۲۰۱۵) بیان کرد که تنش کم‌آبی طی مراحل مختلف رشد ذرت عملکرد آن را در درجات متفاوت کاهش می‌دهد که شدت کاهش عملکرد نه تنها به شدت تنش بلکه به مرحله رشدی گیاه نیز وابسته است. Fahad و همکاران (۲۰۱۷) عنوان کردند که تنش کم‌آبی در مرحله رویشی و گلدهی به ترتیب باعث کاهش ۲۸ و ۲۹ درصد عملکرد دانه نسبت به شرایط عادی در ذرت می‌شود. Tolk و همکاران (۲۰۱۶) با ارزیابی ارقام ذرت از نظر کارایی مصرف آب، عملکرد و اجزای عملکرد دانه در سطوح مختلف تنش کم‌آبی گزارش کردند که دلیل کاهش ۲۴ درصدی عملکرد دانه در ارقام حساس به تنش کم‌آبی مربوط به کمتر بودن تعداد دانه در بلال و وزن بلال می‌باشد و عملکرد دانه بیشتر در ارقام متحمل به تنش مربوط به توانایی بهتر برای جذب آب از خاک نبوده، بلکه بالاتر بودن کارایی مصرف آب در این ارقام می‌باشد. ارتباط قوی بین محتوای کلروفیل برگ و سرعت فتوسنتز آن وجود دارد، به طوری که محتوای پایین کلروفیل تحت تنش کم‌آبی از نشانه وجود تنش اکسیداتیو است که سبب اکسیداسیون نوری رنگدانه‌ها و تخریب کلروفیل می‌شود (Anjum *et al.*, 2017). یکی از عواملی که تنش‌های محیطی از قبیل کم‌آبی، رشد و توانایی گیاه را کاهش می‌دهند، اختلال در تعادل میان تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن و مکانیسم‌های

دفاعی برطرف کننده این رادیکال‌ها می‌باشد که به تجمع گونه‌های فعال اکسیژن^۱ (ROS)، القای تنش اکسیداتیو، خسارت به پروتئین‌ها، لیپیدهای غشای و سایر اجزای سلولی منجر می‌گردد (Shalaby and Horwitz, 2015). گیاهان دارای سیستم دفاع آنتی‌اکسیدان از قبیل فعالیت‌های آنزیمی و غیرآنزیمی که باعث غیر فعال شدن گونه‌های فعال اکسیژن و موجب کاهش خسارت‌های آن می‌شود. یکی از مهم‌ترین سد دفاعی آنتی‌اکسیدان آنزیمی شامل پراکسیداز^۲ و کاتالاز^۳ هستند که نقش کلیدی برای مهار هیدروژن پراکسید^۴ به‌شمار می‌رود و هم‌چنین یکی از مهم‌ترین ترکیبات آنتی‌اکسیدان غیر آنزیمی پلی‌فنول می‌باشد (Shalaby and Horwitz, 2015). افزایش فعالیت سیستم دفاع آنتی‌اکسیدان در ارقام محتمل به کم‌آبی در ذرت گزارش شده است (Ashraf *et al.*, 2015; Moharramnejad *et al.*, 2019). در این راستا هدف از مطالعه حاضر، ارزیابی و شناسایی هیپریدهای ذرت متحمل به کم‌آبی در مرحله گیاهچه‌ای با استفاده از سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی، برخی صفات رشدی و فیزیولوژیکی بود.

مواد و روش‌ها

پژوهش حاضر در ایستگاه تحقیقات کشاورزی مغان مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان اردبیل با طول جغرافیایی ۳۹ درجه و ۴۱ دقیقه و عرض جغرافیایی ۴۷ درجه و ۳۲ اجرا شد. بر اساس آمار آب و هوایی ایستگاه هواشناسی سینوپتیک پارس آباد، این منطقه جزء اقلیم نیمه بیابانی خفیف بوده، دارای زمستان‌های ملایم و تابستان‌های گرم و مرطوب می‌باشد. ویژگی خاک محل آزمایش به‌صورت بافت خاکی لومی رسی با ماده آلی ۱/۴ درصد بود (جدول ۱).

جدول ۱: ویژگی فیزیکی و شیمیایی خاک زمین زراعی مورد مطالعه

بافت خاک	اسیدیته عصاره اشباع خاک	درصد اشباع خاک	فسفر قابل جذب خاک	پتاسیم قابل جذب خاک	نیتروژن کل (درصد)	ماده آلی (درصد)
لومی - رسی	۸	۴۶	۳۰	۴۴۸/۴	۰/۱	۱/۴

آزمایش در قالب طرح پایه بلوک‌های کامل تصادفی به روش کرت‌های یک بار خرد شده با سه تکرار اجرا شد. دو سطح آبیاری عادی و قطع آبیاری در مرحله گیاهچه‌ای در کرت‌های اصلی و ۱۱ هیپرید ذرت (جدول ۲) در کرت‌های فرعی مقایسه شد. بعد از کاشت جهت تسهیل جوانه‌زنی، کرت‌ها به‌طور یکنواخت آبیاری شدند. تنش کم‌آبی پس از استقرار

1- Reactive oxygen species

2- Peroxidase

3- Catalase

4- H₂O₂

کامل بوته‌ها، از مرحله دو برگی شروع و تا مرحله چهار الی پنج برگی به مدت ۲۱ روز اعمال گردید. عملیات تهیه بستر کشت شامل شخم برگردان، رتیواتور، دیسک و تسطیح در فصل پاییز انجام گرفت. پس از تحلیل نتایج آزمون خاک، قبل از کاشت حدود ۳۰۰ کیلوگرم در هکتار فسفات آمونیوم و ۳۰۰ کیلوگرم در هکتار اوره که نیمی از آن قبل از کاشت و باقی‌مانده در مراحل مختلف رشدی گیاه ذرت به صورت کود سرک توزیع گردید. هر کرت آزمایشی شامل چهار خط به فاصله ۷۵ سانتی‌متر و به طول ۵/۶ متر (روی هر خط ۱۶ کپه، فاصله هر کپه از هم ۳۵ سانتی‌متر و میزان تراکم حدود ۶۷ هزار بوته در هکتار) در ۲۰ اردیبهشت ماه ۱۳۹۸ کاشت شد. وجین علف‌های هرز از مرحله ابتدایی کاشت تا مراحل نهایی به صورت دستی انجام گرفت.

جدول ۲: شجره هیبریدهای ذرت مورد مطالعه

ترکیب هیبرید	شماره هیبرید
K47/2-2-1-2-2-1-1-1× MO17	۱
K47/2-2-1-4-1-1-1× MO17	۲
K47/2-2-1-4-2-1-1-1× MO17	۳
K47/2-2-1-4-1-1-1-1 × K3640/3	۴
KLM82010 × K3640/3	۵
KLM82010 × K3640/3	۶
KLM77021/4-1-2-1-2-4-1× K47/3	۷
K47/2-2-1-2-2-1-1-1×K18(SC715B)	۸
SC647	۹
TWC647	۱۰
SC704	۱۱

ارتفاع بوته و وزن خشک

بعد از اعمال تنش کم آبی در مرحله گیاهچه‌ای، به طور تصادفی از هر کرت آزمایشی برای اندازه‌گیری ارتفاع بوته و وزن خشک گیاهچه‌ها نمونه‌برداری صورت گرفت. نخست ارتفاع بوته هیبریدهای ذرت در هر دو شرایط آبیاری عادی و تنش کم آبی با استفاده از خط‌کش به طور دقیق اندازه‌گیری شد. سپس نمونه‌ها در داخل پاکت‌های مجزا قرار گرفته و در آن تحت دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت قرار داده شد و در نهایت وزن خشک آن‌ها توسط ترازو حساس اندازه‌گیری شد.

محتوای کلروفیل و رطوبت نسبی برگ^۱ (RWC)

محتوای کلروفیل برگ هیبریدهای ذرت با استفاده از دستگاه SPAD-502Plus در هر دو سطح کم آبی اندازه‌گیری شد. همچنین برای اندازه‌گیری رطوبت نسبی برگ از هر برگ هیبریدهای ذرت تحت شرایط عادی و تنش کم آبی، چهار

1- Water relative content

دیسک برگي به قطر یک سانتی‌متر به‌وسیله استوانه لبه تیز تهیه شد. بر اساس فرمول زیر مقدار رطوبت نسبی برگ محاسبه شد (مجدوم و همکاران، ۱۳۹۵):

$$RWC = [(FW - DW) / (TW - DW)] \times 100 \quad \text{رابطه ۱:}$$

که FW وزن تر، DW وزن خشک، TW وزن برگ در حالت تورژسانس کامل است.

میزان پلی فنول کل، مالون دی آلدئید^۱ و هیدروژن پراکسید

برای تعیین میزان پلی‌فنول کل نمونه‌های تازه برگ هیبریده‌های ذرت بعد از اعمال تنش کم‌آبی از روش Moharramnejad و همکاران (۲۰۱۵) با طول موج ۷۵۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر استفاده شد. میزان مالون دی‌آلدئید برگ‌های هیبرید ذرت بعد از اعمال تنش کم‌آبی بر اساس روش Moharramnejad و همکاران (۲۰۱۹) با طول موج‌های ۵۳۲ و ۶۰۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد. به منظور تخمین میزان هیدروژن پراکسید نمونه‌های تازه برگي هضم شده به همراه تری‌کلرواستیک اسید در دور ۱۲۰۰۰ به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفوژ گردید. سپس کمپلکس واکنش حاوی محلول رو شناور، بافر فسفات و یدید پتاسیم تهیه شده و میزان جذب نمونه‌های هیبریده‌های ذرت در هر دو شرایط عادی و تنش کم‌آبی در طول موج ۳۹۰ نانومتر با استفاده از اسپکتروفتومتر قرائت شد (Moharramnejad *et al.*, 2019).

استخراج و رنگ‌آمیزی آنزیم پراکسیداز (POX) و کاتالاز (CAT)

نمونه‌های برگي تازه در بافر استخراج (تریس ۵۰ میلی‌مولار، پنج درصد ساکاروز، ۵۰ میلی‌مولار اسکوربیک اسید، ۲۰ میلی‌مولار سدیم متابی‌سولفیت و دو درصد پلی‌اتیلن‌گلیکول) با اسیدیته برابر ۷/۵ حاوی ۰/۱ درصد ۲- مرکاپتو اتانول با نسبت وزنی یک از برگ و یک از بافر استخراج، به‌خوبی هموژنیزه و سپس محلول حاصل به‌مدت 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 پلی‌آکرلامید هشت درصد با ابعاد ۱۵×۱۲×۰/۶ سانتی‌متر بارگذاری شد. برای رنگ‌آمیزی آنزیم پراکسیداز و کاتالاز از روش Moharramnejad و همکاران (۲۰۱۹) استفاده شد.

تجزیه تحلیل آماری

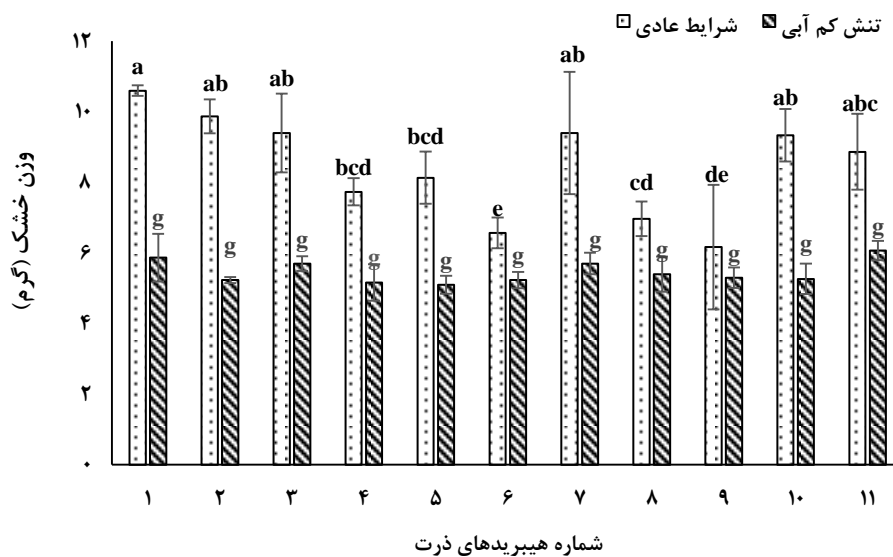
از نرم‌افزار MCID برای کمی‌سازی مساحت × شدت نوار آنزیمی به عنوان فعالیت دنسیتومتریکی پراکسیداز و کاتالاز روی ژل پلی‌آکرلامید استفاده شد. قبل از تجزیه واریانس داده‌ها آزمون نرمال بودن داده‌ها به روش تست کولموگروف -

اسمیرنوف انجام گرفت. مقایسه میانگین داده‌ها توسط آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد صورت گرفت. تجزیه‌های آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۵ انجام گرفت.

نتایج و بحث

ارتفاع بوته و وزن خشک

تجزیه واریانس داده‌ها برای ارتفاع بوته و وزن خشک هیبریدهای ذرت نشان داد که اثر تنش کم آبی در سطح احتمال ۱ معنی‌دار بود (جدول ۳). همچنین بین هیبریدهای ذرت مورد مطالعه برای صفات ارتفاع بوته و وزن خشک به ترتیب در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد اختلاف معنی‌داری وجود داشت (جدول ۴). برهم‌کنش تنش کم آبی و هیبریدهای ذرت فقط برای صفت وزن خشک در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار بود. تنش کم آبی ارتفاع بوته و وزن خشک هیبریدهای ذرت را به‌طور معنی‌دار کاهش داد (شکل ۱). مقایسه میانگین ارتفاع بوته در بین هیبریدهای ذرت نشان داد که هیبرید شماره هفت (K47/3 × KLM77021/4-1-2-1-2-4-1) بیشترین ارتفاع بوته را به خود اختصاص داد (جدول ۵). مقایسه میانگین برهم‌کنش تنش کم آبی و هیبریدهای ذرت برای صفت وزن خشک نشان داد که هیبرید شماره یک (K47/2-2-1-2-2-1-1) بیشترین وزن خشک را در شرایط عادی داشت (شکل ۱).



شکل ۱: مقایسه میانگین برهم‌کنش تنش کم آبی و هیبریدهای ذرت بر وزن خشک

ستون‌های دارای حرف مشترک بر اساس آزمون مقایسه میانگین‌ها فاقد اختلاف آماری معنی‌دار می‌باشند.

جدول ۳: میانگین مجذورات و سطح معنی دار بودن صفات رشدی، فیزیولوژیکی و سیستم دفاع آنتی اکسیدان در ۱۱ هیبرید ذرت تحت تنش کم آبی

منابع تغییر	درجات آزادی	میانگین مربعات									
		وزن خشک	ارتفاع بوته	محتوای کلروفیل	رطوبت نسبی برگ	پلی فنول کل	مالون دی آلدئید	هیدروژن پراکسید	پراکسیداز (POX ₁)	پراکسیداز (POX ₂)	کاتالاز
تکرار	۲	۳/۳۰*	۵/۰۹ ^{ns}	۵۶/۳۶**	۱۰/۷۳ ^{ns}	۰/۴۱ ^{ns}	۰/۳۱ ^{ns}	۰/۰۳ ^{ns}	۰/۰۷ ^s	۰/۲۰ ^{ns}	۰/۳۴ ^{ns}
کم آبی	۱	۷۶۷/۰۵**	۷۲۵۵/۵۱**	۲۷۲/۱۸**	۲۵۹۴/۵۲**	۰/۵۱ ^{ns}	۱/۷۲*	۰/۵۶ ^{ns}	۲/۳۱**	۱/۵۳*	۱/۰۲*
تکرار کم آبی	۲	۲/۴۳	۲۲/۲۹	۶/۶۰	۲۱/۹۵	۰/۳۰	۰/۱۱	۰/۴۲	۰/۵۹	۰/۲۴	۰/۳۵
هیبرید	۱۰	۵/۸۰**	۶۵/۹۸*	۲۶/۰۳**	۱۵۸/۹۰ ^{ns}	۰/۲۰ ^{ns}	۰/۸۷ ^{ns}	۱/۴۲ ^{ns}	۱/۰۸ ^{ns}	۱/۹۳ ^{ns}	۱/۰۳ ^{ns}
کم آبی هیبرید	۱۰	۴/۱۶*	۳۱/۸۷ ^{ns}	۲/۱۲ ^{ns}	۷۲/۳۹ ^{ns}	۰/۵۱ ^{ns}	۰/۹۶ ^{ns}	۰/۸۹ ^{ns}	۱/۸۵ ^{ns}	۱/۵۱ ^{ns}	۰/۵۵ ^{ns}
خطا	۴۰	۱/۵۲	۲۸/۶۱	۷/۵۹	۹۸/۸۸	۰/۳۰	۰/۴۳	۰/۹۷	۰/۹۴	۱/۰۱	۰/۹۰
ضرب تغییرات (%)		۲۵/۳۱	۱۳/۲۳	۶/۰۹	۱۰/۰۶	۴/۸۱	۵/۸۹	۶/۲۱	۱/۴۵	۱/۱۴	۳/۴۷

ns، * و **: به ترتیب غیرمعنی دار و معنی دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد می باشد.

جدول ۴: مقایسه میانگین صفات ارتفاع بوته، محتوای کلروفیل، رطوبت نسبی برگ، سیستم دفاع آنتی اکسیدان در شرایط عادی و تنش کم آبی

سطوح تنش	ارتفاع بوته (سانتی متر)	محتوای کلروفیل (SPAD)	رطوبت نسبی برگ (%)	مالون دی آلدئید (nmol/g fresh weight)	پراکسیداز (POX ₁) (دنسیتومتریک)	پراکسیداز (POX ₂) (دنسیتومتریک)	کاتالاز (دنسیتومتریک)
شرایط عادی	۵۰/۸۹ ^a	۴۷/۲۶ ^a	۵۸/۱۵ ^a	۹/۲۴ ^b	۶۰/۳۴ ^b	۸۴/۰۷ ^b	۲۰/۰۷ ^b
تنش کم آبی	۳۰/۰۰ ^b	۴۳/۲۰ ^b	۴۵/۶۱ ^b	۱۳/۰۳ ^a	۷۳/۵۶ ^a	۹۲/۸۴ ^a	۳۴/۶۳ ^a

ستون‌های دارای حرف مشترک بر اساس آزمون مقایسه میانگین‌ها فاقد اختلاف آماری معنی دار می باشند.

گزارشات متعدد در گیاه ذرت تحت شرایط کم آبی نشان داد که ارتفاع بوته و ماده خشک به طور معنی‌دار کاهش می‌یابد (Anjum *et al.*, 2017; Fahad *et al.*, 2017). در مدیریت مزرعه هرچه طول دوره سبزمانی برگ‌ها زیادتر باشد، هیدرات کرین بیشتری به دانه منتقل خواهد شد. تنش کم‌آبی با کاستن از طول دوره سبزمانی برگ در مراحل پایانی رشد، موجب افت شدید تولید مواد پرورده توسط اندام‌های فتوسنتزی می‌شود (نصراله‌زاده اصل و همکاران، ۱۳۹۵). تنش کم‌آبی در مرحله رشد رویشی به‌طور معنی‌دار ارتفاع بوته گیاه ذرت را کاهش می‌دهد، زیرا تنش کم‌آبی در این مرحله ممکن است به آغازهای بلال در مراحل اولیه آسیب برساند (Tolk *et al.*, 2016).

محتوای کلروفیل و رطوبت نسبی برگ

اثر تنش کم‌آبی برای صفات محتوای کلروفیل و رطوبت نسبی برگ در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود (جدول ۳). همچنین اثر اصلی هیبرید فقط برای صفت محتوای کلروفیل در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود. برهم‌کنش تنش کم‌آبی و هیبریدهای ذرت برای صفات محتوای کلروفیل و رطوبت نسبی برگ معنی‌دار نبود. نتایج حاصل نشان داد که تنش کم‌آبی محتوای کلروفیل و رطوبت نسبی برگ را به ترتیب $8/6$ و $21/6$ درصد نسبت به شرایط عادی کاهش داد (جدول ۴). مقایسه میانگین هیبریدهای ذرت برای صفت محتوای کلروفیل نشان داد که هیبرید شماره هفت (-KLM77021/4-1) $47/3 \times 1-2-4-1$ بیشترین محتوای کلروفیلی را داشت (جدول ۵). به نظر می‌رسد گیاه در مراحل اولیه تنش کم‌آبی سعی در تکمیل چرخه حیاتی خود دارد، بدین ترتیب با افزایش مقدار کلروفیل سعی در تولید ماده فتوسنتزی بیشتر و انتقال آن به دانه دارد (Aslam *et al.*, 2015). تفاوت بین هیبریدهای ذرت از لحاظ محتوای کلروفیل تحت تنش کم‌آبی به دلیل تفاوت در پتانسیل ژنتیکی آن‌ها باشد (جدول ۵). در این آزمایش نیز بین هیبریدهای ذرت از نظر میزان محتوای کلروفیل اختلاف معنی‌داری وجود داشت و کاهش محتوای کلروفیل احتمالاً به‌واسطه اثر کلروفیل‌لاز و در نتیجه تجزیه کلروفیل می‌باشد (Ye *et al.*, 2016). Moharramnejad و همکاران (۲۰۱۵) در گیاهچه‌های لاین‌های ذرت تحت تنش کم‌آبی عنوان کردند که تنش کم‌آبی به‌طور معنی‌دار رنگدانه‌های کلروفیل را کاهش می‌دهد. میزان و تعادل آب سلول و گیاه به‌وسیله از بین رفتن آب در فرآیند تعرق و جذب از خاک تعیین می‌شود (فرخی و همکاران، ۱۳۹۸). مادح‌خاکسار و همکاران (۱۳۹۳) اظهار کردند که قطع آبیاری در مرحله هشت برگی باعث کاهش میزان فتوسنتز در ذرت علوفه‌ای شد. گیاهان تنش دیده با منفی کردن هرچه بیشتر پتانسیل اسمزی در شیره سلولی برگ باعث تنظیم اسمزی می‌شوند (Goodarzian Ghahfarokhi *et al.*, 2015). کاهش میزان رطوبت نسبی برگ در ذرت تحت تنش کم‌آبی توسط Yan و همکاران (۲۰۱۵) گزارش شده است که با نتایج این تحقیق مطابقت دارد.

جدول ۵: مقایسه میانگین ارتفاع بوته و محتوای کلروفیل ۱۱ هیبرید ذرت

شماره هیبرید	ترکیب هیبرید	ارتفاع بوته (سانتی‌متر)	محتوای کلروفیل (SPAD)
۱	K47/2-2-1-2-2-1-1-1× MO17	۴۲/۵۰ ^{ab}	۴۴/۰۰ ^{bc}
۲	K47/2-2-1-4-1-1-1× MO17	۴۴/۰۰ ^a	۴۴/۴۰ ^{bc}
۳	K47/2-2-1-4-2-1-1-1× MO17	۴۲/۶۷ ^{ab}	۴۵/۷۱ ^{ab}
۴	K47/2-2-1-4-1-1-1-1 × K3640/3	۴۰/۲۵ ^{ab}	۴۸/۳۹ ^a
۵	KLM82010 × K3640/3	۴۰/۵۰ ^{ab}	۴۴/۱۷ ^{bc}
۶	KLM82010 × K3640/3	۳۵/۶۷ ^b	۴۱/۸۷ ^c
۷	KLM77021/4-1-2-1-2-4-1× K47/3	۴۴/۵۰ ^a	۴۸/۵۳ ^a
۸	K47/2-2-1-2-2-1-1-1×K18(SC715B)	۳۵/۵۰ ^b	۴۵/۹۸ ^{ab}
۹	SC647	۳۵/۹۱ ^b	۴۶/۹۱ ^{ab}
۱۰	TWC647	۴۲/۴۱ ^{ab}	۴۳/۷۰ ^{bc}
۱۱	SC704	۴۰/۵۸ ^{ab}	۴۳/۸۷ ^{bc}

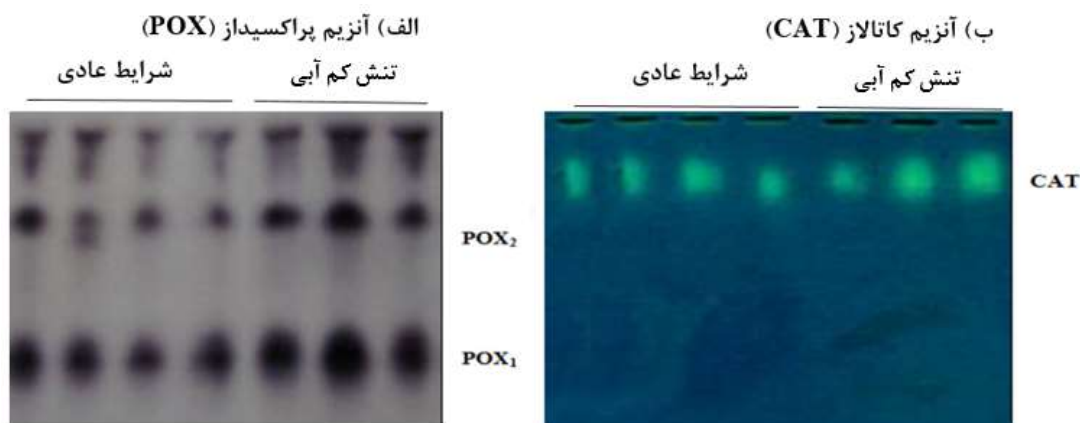
ستون‌های دارای حرف مشترک بر اساس آزمون مقایسه میانگین‌ها فاقد اختلاف آماری معنی‌دار می‌باشند.

میزان پلی فنول کل، مالون دی آلدئید و هیدروژن پراکسید

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر تنش کم‌آبی، هیبریدهای ذرت و برهم‌کنش آن‌ها برای صفات پلی فنول کل و هیدروژن پراکسید معنی‌دار نبود، اما برای صفت مالون دی آلدئید فقط اثر تنش کم‌آبی در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار بود (جدول ۳). تنش کم‌آبی به‌طور معنی‌دار باعث افزایش ۴۱/۰۱ درصدی میزان مالون دی آلدئید فقط در هیبریدهای ذرت مورد مطالعه شد. احتمالاً بیانگر تخریب غشاء سلولی هیبریدهای ذرت تحت تنش کم‌آبی باشد. عدم تامین آب کافی در مرحله رشد رویشی ذرت بر استقرار بوته، توسعه و رشد ساقه تاثیر گذاشته و تجمع مواد در این اندام‌ها را کاهش می‌دهد (Aslam *et al.*, 2015). یوسفی و همکاران (۱۳۹۶) در بررسی اثر تنش کم‌آبی روی هیبریدهای ذرت ذرت اظهار کردند که تنش کم‌آبی باعث افزایش غلظت پلی فنول کل شد. تنش کم‌آبی باعث القای تنش اکسیداتیو در گیاه شده که به دنبال آن میزان گونه‌های فعال اکسیژن از قبیل سوپراکسید و هیدروژن پراکسید افزایش می‌یابد (Anjum *et al.*, 2017). Moharramenjad و همکاران (۲۰۱۵) اظهار کردند که تنش خشکی به‌طور معنی‌دار باعث افزایش میزان مالون دی آلدئید، هیدروژن پراکسید و پلی فنول کل در لاین‌های ذرت شد. گزارش‌های متعددی مبنی بر افزایش میزان مالون دی آلدئید در گیاه ذرت تحت تنش کم‌آبی شده است (Aslam *et al.*, 2014; Ashraf *et al.*, 2015) که با نتایج تحقیق حاضر مطابقت دارد.

فعالیت آنزیم پراکسیداز و کاتالاز

نتایج حاصل از بررسی فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان روی ژل پلی‌آکرلامید نشان داد که به ترتیب دو و یک ایزوفرم برای آنزیم پراکسیداز و کاتالاز مشاهده شد (شکل ۲). بر اساس تجزیه واریانس داده‌ها، فقط اثر تنش کم‌آبی برای فعالیت دنسیتومتریک ایزوفرم‌های پراکسیداز و کاتالاز معنی‌دار بود (جدول ۳). تنش کم‌آبی به ترتیب ۲۱/۹، ۱۰/۴ و ۳۲/۶ درصد موجب افزایش فعالیت دنسیتومتریک ایزوفرم‌های پراکسیداز (POX_1)، پراکسیداز (POX_2) و کاتالاز شد (جدول ۴ و شکل ۲). Anjum و همکاران (۲۰۱۷) با بررسی اثر تنش خشکی در ذرت اظهار کردند که تنش خشکی به‌طور معنی‌دار موجب افزایش میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز و کاتالاز در هیبریدهای ذرت می‌شود، به‌طوری که این میزان افزایش در رقم متحمل نسبت به رقم حساس بیشتر بود. افزایش بیش از حد هیدروژن پراکسید در گیاه مانع از فعالیت پراکسیداز می‌شود، لذا فعالیت کاتالاز به احتمال زیاد در جهت نگهداری فعالیت پراکسیداز تحت تنش شدید مطلوب باشد (Sofa *et al.*, 2015). Moharramnejad و همکاران (۲۰۱۹) در لاین‌های ذرت به ترتیب دو و یک ایزوفرم برای پراکسیداز و کاتالاز گزارش کردند. گزارش‌های متعددی مبنی بر افزایش فعالیت پراکسیداز و کاتالاز در ذرت شده است (Ashraf *et al.*, 2015; Goodrazian Ghahfarokhi *et al.*, 2015; Anjum *et al.*, 2017) که با نتایج این تحقیق مطابقت دارد.



شکل ۲: فعالیت ایزوفرم‌های پراکسیداز و کاتالاز هیبریدهای ذرت تحت شرایط عادی و تنش کم‌آبی روی ژل پلی‌آکرلامید

نتیجه‌گیری

نتایج این آزمایش نشان داد که تنش کم‌آبی به‌طور معنی‌دار موجب کاهش ارتفاع بوته، وزن خشک، محتوای کلروفیلی و رطوبت نسبی برگ هیبریدهای ذرت مورد مطالعه شد، اما میزان مالون دی‌آلدئید و فعالیت ایزوفرم‌های پراکسیداز و کاتالاز تحت تنش کم‌آبی افزایش یافت. همچنین تنش کم‌آبی تاثیر معنی‌دار روی میزان پلی‌فنول کل و هیدروژن پراکسید

هیبریدهای ذرت مورد مطالعه نداشت. با توجه به نتایج حاصل از این پژوهش، یک سیستم دفاع آنتی اکسیدانی کارآمد با فعالیت فتوسنتزی بالا می‌تواند نقش مهمی در جهت افزایش تحمل به تنش کم‌آبی در گیاه ذرت ایفا کند. بر اساس نتایج حاصل هیبرید K47/3 × KLM77021/4-1-2-1-2-4-1 نسبت به هیبریدهای ذرت مورد مطالعه جزء هیبرید متحمل به کم‌آبی شناسایی شد.

منابع

- فرخی، غ.، معاونی، پ.، مظفری، ح.، مجیدی هروان، ا. و ثانی، ب. ۱۳۹۸. بررسی اثر قطع آبیاری در دوره‌های مختلف آبیاری بر عملکرد و شاخص‌های فیزیولوژیک چهار رقم ذرت. نشریه فیزیولوژی گیاهان زراعی. ۱۱ (۴۳): ۲۵-۴۵.
- مادح‌خاکسار، ا.، نادری، ا.، آینه‌بند، ا. و لک، ش. ۱۳۹۳. برهم‌کنش کم‌آبیاری و قطع آب بر توزیع مجدد مواد ذخیره‌ای، فتوسنتز جاری و رابطه آن با عملکرد ذرت دانه‌ای. نشریه فیزیولوژی گیاهان زراعی. ۶ (۲۲): ۵۳-۶۸.
- مجدم، م.، پاینده، خ.، لک، ش. و مرعشی، ک. ۱۳۹۵. اثر پلیمر سوپر جاذب بر عملکرد دانه و برخی ویژگی‌های فیزیولوژیکی ذرت بهاره (*Zea mays* L.) در شرایط تنش کمبود آب. نشریه فیزیولوژی گیاهان زراعی. ۸ (۳۲): ۶۱-۷۳.
- مرعشی، ک.، بهداروند، پ.، مجدم، م. و ساکی‌نژاد، ط. ۱۳۹۵. بررسی اثر سطوح مختلف آبیاری، نیتروژن و رقابت علف‌های هرز بر شاخص‌های رشد و عملکرد دانه ذرت (هیبرید SC.704). نشریه فیزیولوژی گیاهان زراعی. ۸ (۳۱): ۶۱-۷۵.
- نصراله‌زاده اصل، و.، شیرینی، م.، محرم‌نژاد، س.، یوسفی، م. و باغبانی، و. ۱۳۹۵. اثر تنش خشکی بر خصوصیات زراعی و بیوشیمیایی سه هیبرید ذرت (*Zea mays* L.). نشریه فیزیولوژی گیاهان زراعی. ۸ (۳۲): ۴۵-۶۰.
- یوسفی، م.، نصراله‌زاده اصل، و. و محرم‌نژاد، س. ۱۳۹۶. پاسخ عملکرد دانه، مواد اسمولیتی، پلی فنول کل و فعالیت آنزیم کاتالاز در ذرت (*Zea mays* L.) به تنش کم‌آبی. نشریه فیزیولوژی محیطی گیاهی. ۱۲ (۴۶): ۱-۱۴.

Anjum, S. A., Ashraf, U., Tanveer, M., Khan, I., Hussain, S., Shahzad, B., Zohaib, A., Abbas, F., Saleem, M. F. and Ali, I. 2017. Drought induced changes in growth, osmolyte accumulation and antioxidant metabolism of three maize hybrids. *Frontiers in PlantScience*. 8: 1-12.

Ashraf, M. A., Rasheed, R., Hussain, I., Iqbal, M., Haider, M. Z., Parveen, S. and Sajid, M. A. 2015. Hydrogen peroxide modulates antioxidant system and nutrient relation in maize (*Zea mays* L.) under water-deficit conditions. *Archives of Agronomy and Soil Science*. 61: 507-523.

Aslam, M., Zamir, M., Anjum, S., Khan, I. and Tanveer, M. 2014. An investigation into morphological and physiological approaches to screen maize (*Zea mays* L.) hybrids for drought tolerance. *Journal of Cereal research communications*. 43: 41-51.

Aslam, M., Maqbool, M. A. and Cengiz, R. 2015. Effects of Drought on Maize. In "Drought Stress in Maize (*Zea mays* L.). Springer Publish. pp. 5-17.

Fahad, S., Bajwa, A. A., Nazir, U., Anjum, S. A., Farooq, A., Zohaib, A., Sadia, S., Nasim, W., Adkins, S. and Saud, S. 2017. Crop production under drought and heat stress: plant responses and management options. *Frontiers in Plant Science*. 8: 1-16.

FAO. 2017. <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC/visualize>.

Goodarzian Ghahfarokhi, M., Mansurifar, S., Taghizadeh-Mehrjardi, R., Saeidi, M., Jamshidi, A. M., Ghasemi, E. and Science, S. 2015. Effects of drought stress and rewatering on antioxidant systems and relative water content in different growth stages of maize (*Zea mays* L.) hybrids. *Archives of Agronomy and Soil Science*. 61: 493-506.

Killi, D., Bussotti, F., Raschi, A. and Haworth, M. 2017. Adaptation to high temperature mitigates the impact of water deficit during combined heat and drought stress in C3 sunflower and C4 maize varieties with contrasting drought tolerance. *Journal of Physiologia Plantarum*. 159: 130-147.

Lobell, D. B., Roberts, M. J., Schlenker, W., Braun, N., Little, B. B., Rejesus, R. M. and Hammer, G. L. 2014. Greater sensitivity to drought accompanies maize yield increase in the US Midwest. *Science*. 344: 516-519.

Moharramnejad, S., Sofalian, O., Valizadeh, M., Asgari, A. and Shiri, M. 2015. Proline, glycine betaine, total phenolics and pigment contents in response to osmotic stress in maize seedlings. *Journal of Bioscience and Biotechnology*. 4: 313-319.

Moharramnejad, S., Sofalian, O., Valizadeh, M., Asghari, A., Shiri, M. R. and Ashraf, M. 2019. Response of maize to field drought stress: Oxidative defense system, osmolytes' accumulation and photosynthetic pigments. *Pakistan Journal of Botany*. 51: 799-807.

Shalaby, S. and Horwitz, B. A. 2015. Plant phenolic compounds and oxidative stress: integrated signals in fungal-plant interactions. *Current Genetics*. 61: 347-357.

Sofa, A., Scopa, A., Nuzzaci, M. and Vitti, A. 2015. Ascorbate peroxidase and catalase activities and their genetic regulation in plants subjected to drought and salinity stresses. *International Journal of Molecular Sciences*. 16: 13561-13578.

Tolk, J. A., Evett, S. R., Xu, W. and Schwartz, R. C. 2016. Constraints on water use efficiency of drought tolerant maize grown in a semi-arid environment. *Field Crops Research*. 186: 66-77.

Yan, W., Zhong, Y. and Shanguan, Z. 2015. Evaluation of physiological traits of summer maize under drought stress. *Acta Agriculturae Scandinavica, Section B: Soil & Plant Science*. 66: 133-140.

Ye, J., Wang, S., Deng, X., Yin, L., Xiong, B. and Wang, X. 2016. Melatonin increased maize (*Zea mays* L.) seedling drought tolerance by alleviating drought-induced photosynthetic inhibition and oxidative damage. *Acta Physiologiae Plantarum*. 38 (2): 48.

Investigation of tolerance to water deficit tension of 11 corn hybrids (*Zea mays* L.) in the seedling stage by measuring antioxidant defense system and physiological traits

S. Moharramnejad*

Research Assistant Professor, Crop and Horticultural Sciences Research Department, Ardabil Agricultural and Natural Resources Research and Education Center (Moghan), Agricultural Research, Training and Promotion Organization, Moghan, Iran.

*Corresponding author: sm.chakherlo@yahoo.com

Received date: 2019.08.17

Accepted date: 2019.11.20

Abstract

Water deficit is one of the most important environment tensions that reduce plant growth. The present experiment was conducted based on split plots based on complete randomized blocks design with three replications during 2019 cropping year at Moghan Agricultural Research Station. Two levels of irrigations as regular irrigation and irrigation cut in the seedling stage (irrigation cut applied during 21 days after plant germination) in the main plots and 11 maize hybrids in the sub-plots were compared. The results indicated that water deficit tension reduced plant height, dry weight, chlorophyll content and water related content in all maize hybrids. The amount of malondialdehyde increased under water deficit tension. However, water deficit tension did not have a significant effect on total polyphenols and hydrogen peroxide. Analysis of electrophoresis activity of antioxidant enzymes on polyacrylamide gel eight percent showed that two and one isoforms for peroxidase and catalase, respectively, in the studied corn hybrids, was observed. Water deficit tension significantly increased the activity of peroxidase and catalase isoforms. It can be concluded that the corn plant reduces the effect of water deficit tension by increasing the activity of the antioxidant and photosynthetic defense system. Based on the obtained results KLM77021 / 4-1-2-1-2-2-4-1 × K47/3 hybrid was identified as the hybrid tolerated to water deficit, compared to the studied corn hybrids.

Keywords: Electrophoresis, Peroxidase, Polyphenol and Photosynthesis.