



دانشگاه گیلان
دانشکده علوم کشاورزی

تحقیقات غلات

دوره ششم / شماره چهارم / زمستان ۱۳۹۵ (۵۳۱-۵۲۱)

تأثیر تنش کم آبی بر صفات زراعی و فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در سه هیبرید ذرت (*Zea mays L.*)

سجاد محرم‌نژاد^{۱*}، مصطفی ولیزاده^۲، امید سفالیان^۲، محمدرضا شیری^۴ و علی اصغری^۳

تاریخ دریافت: ۹۳/۱۱/۱۳

تاریخ پذیرش: ۹۵/۲/۱۰

چکیده

به منظور بررسی اثر تنش کم آبی بر سه هیبرید ذرت (SC704، SC740 و NS640)، آزمایشی به صورت کرت‌های خرد شده در قالب بلوک‌های کامل تصادفی با چهار تکرار تحت شرایط بدون تنش و تنش کم آبی (قطع آبیاری قبل از گلدهی) در ایستگاه تحقیقات کشاورزی دانشگاه تبریز در سال زراعی ۹۲-۱۳۹۱ اجرا شد. تجزیه الکتروفورزی برای فعالیت سوپراکسید دیسموتاز (Mn-SOD) با استفاده از ژل‌های پلی‌آکرلامید هشت درصد انجام گرفت و میزان "مساحت × شدت" نوارهای روی ژل با استفاده از نرم‌افزار MCID ارزیابی و به عنوان فعالیت آنزیمی ثبت شد. میزان مالون دی‌آلدئید (MDA) نیز تحت دو شرایط آزمایشی در هیبریدهای مورد مطالعه به عنوان شاخص اکسیداسیون سلولی ارزیابی شد. نتایج نشان داد که تنش کم آبی به طور معنی‌داری سبب کاهش صفات عملکرد دانه، وزن صد دانه، طول بلال، قطر بلال، ارتفاع بوته، قطر بوته، دمای برگ، شاخص کلروفیل، تعداد شاخه کاکل و طول کاکل در هیبریدهای مورد مطالعه شد. با افزایش تنش کم آبی، شاخص اکسیداسیون سلولی (MDA) در سینگل کراس ۷۰۴ افزایش نشان داد. میزان فعالیت دنسیومتریک Mn-SOD نیز در سینگل کراس ۷۰۴ تحت تنش کم آبی افزایش یافت که نشان‌دهنده افزایش رادیکال‌های آزاد اکسیژن تحت تنش کم آبی بود. نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که سینگل کراس ۷۰۴ متحمل به تنش کم آبی است.

واژه‌های کلیدی: اکسیداسیون سلولی، الکتروفورز ژل پلی‌آکرلامید، عملکرد دانه

۱- دانشجوی دکتری، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده علوم کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران

۲- استاد، گروه به‌نژادی و بیوتکنولوژی گیاهی، دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز، تبریز، ایران

۳- دانشیار، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده علوم کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران

۴- استادیار پژوهش، موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران

* نویسنده مسئول: sm.chakherlo@yahoo.com

مقدمه

ذرت (*Zea mays* L.) یکی از گیاهان زراعی مهم ایران به‌شمار می‌رود که سطح زیر کشت آن طی دهه گذشته به‌شدت افزایش یافته است. پیش‌بینی می‌شود تا سال ۲۰۱۱ سطح زیر کشت آن در ایران دو برابر شود (Choukan *et al.*, 2006).

خشکی یکی از عوامل محدود کننده تولید در گیاهان زراعی از جمله ذرت است. به‌طور کلی، آثار زیان‌بار خشکی در سلول‌ها و بافت‌هایی که در مراحل رشد و توسعه سریع هستند، بیشتر از سایر مراحل رشدی است. بعضی از دوره‌های رشدی در گیاهان حساسیت بیشتری به تنش آب دارند، به‌طوری‌که تنش آب در زمان گرده‌افشانی ذرت باعث لقاح تعداد کم‌تری از تخمک‌ها می‌شود و یا هیچ‌یک از آن‌ها تلقیح نمی‌شوند و در نتیجه بلال ذرت بدون دانه می‌ماند (Makumbi *et al.*, 2011). ریپ (Reep, 2004) تحت شرایط بدون تنش و تنش آب در ذرت اظهار کرد که تنش، میزان فتوسنتز خالص، سرعت رشد نسبی، شاخص سطح برگ، درصد رطوبت نسبی، عملکرد دانه و شاخص برداشت را کاهش می‌دهد. بروس و همکاران (Bruce *et al.*, 2002) اظهار داشتند که آثار زیان‌بار کم‌آبی نه تنها به شدت آن، بلکه به زمان وقوع آن نیز در طول فصل رشد گیاه بستگی دارد. دن‌مید و شاو (Denmead and Shaw, 1960) با استفاده از لایسیمتر، اثر کمبود رطوبت را در سه مرحله از رشد ذرت بر عملکرد دانه مورد مطالعه قرار دادند و مشاهده کردند که بروز تنش خشکی در مراحل رشد رویشی، گلدهی و پرشدن دانه‌ها به‌ترتیب ۲۵ درصد، ۵ درصد و ۲۱ درصد از عملکرد دانه را کاهش داد. داوونی (Downey, 1977) نیز اظهار داشت که تنش کمبود آب به‌مدت ۲۰ روز در دوره زایشی و دانه‌بندی ذرت، موجب کاهش عملکرد دانه به‌میزان ۴۷ درصد شد، در صورتی‌که همین تاخیر در اوایل دوره رشد رویشی تاثیری بر عملکرد نهایی نداشت.

همبستگی بالایی بین محتوای کلروفیل برگ و سرعت فتوسنتز آن وجود دارد. محتوای پایین کلروفیل تحت شرایط تنش خشکی از نشانه‌های وجود تنش اکسیداتیو است که ممکن است باعث اکسیداسیون نوری رنگدانه‌ها و تخریب کلروفیل شود. کاهش و یا عدم تغییر در سطح کلروفیل طی تنش خشکی در بیشتر گونه‌ها گزارش شده که وابسته به مدت و شدت خشکی است (Giancarla *et al.*, 2013). راهکارهایی که سبب سازگاری گیاه به

تنش‌هایی مانند خشکی می‌شوند، بر رشد و تولید گیاه اثر می‌گذارند. گیاه در پاسخ به این تنش‌ها با سازوکارهای مختلف مانند تغییر در ویژگی‌های مورفولوژیک و الگوی نموی خود و نیز پاسخ‌های فیزیولوژیک و بیوشیمیایی سازگار می‌شود (Sarapatka *et al.*, 2004).

مسیرهای مختلفی در گیاهان در پاسخ به تنش‌ها وجود دارد که باعث سازگاری و دفاع گیاه در برابر تنش می‌شوند و اثر آن را کاهش می‌دهند. اولین اندام گیاهی که محدودیت آب را تشخیص می‌دهد، ریشه است که پیام‌هایی را به برگ‌ها می‌فرستد. با ارسال پیام به برگ، روزنه‌ها بسته می‌شوند (Cruz de Carvalho, 2008). کاهش در سطح دی‌اکسید کربن درون سلولی به‌خاطر ادامه فتوسنتز، باعث نشت الکترون به مولکول اکسیژن می‌شود که تولید گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) را به دنبال دارد. سوپراکسید (O_2^-)، هیدروژن پراکسید (H_2O_2) و یون هیدروکسیل (OH^-) از جمله انواع ROS هستند. به‌منظور مقابله با تولید مداوم و کاهش صدمات ROS، گیاهان از آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی و غیرآنزیمی به‌عنوان سیستمی بسیار موثر و هماهنگ استفاده می‌کنند. اولین آنزیم پاک‌ساز یا سم‌زدا، سوپراکسید دیسموتاز (SOD) است که سوپراکسید را به‌سرعت به پراکسید هیدروژن تبدیل می‌کند (Mittler *et al.*, 2004). سوپراکسید دیسموتاز دارای سه ایزوفرم است که بر مبنای مکان استقرار و عامل فلزی همراه آن‌ها طبقه‌بندی می‌شوند. ایزوفرم Mn-SOD در میتوکندری، Fe-SOD در کلروپلاست و Cu/Zn-SOD در سیتوسل و کلروپلاست قرار دارند. این ایزوفرم‌ها حساسیت‌های متفاوتی به پراکسید هیدروژن دارند. هر سه ایزوفرم در هسته رمز می‌شوند. حساسیت ژن‌های SOD به تنش‌های محیطی به واسطه افزایش ROS می‌باشد (Gill and Tuteja, 2010). گزارش‌های متعددی مبنی بر افزایش فعالیت Mn-SOD در گیاهان مختلف تحت تنش اکسیداتیو وجود دارد و به دنبال این افزایش فعالیت، تحمل گیاه به تنش خشکی افزایش می‌یابد (Wang *et al.*, 2004; Melchiorre *et al.*, 2009; Yang *et al.*, 2009; Moharramnejad *et al.*, 2016).

هدف از این تحقیق، ارزیابی اثر تنش کم‌آبی بر صفات زراعی، مالون‌دی‌آلدئید و فعالیت آنزیم Mn-SOD با استفاده از ژل‌های پلی‌آکرلامید در هیبریدهای ذرت و شناسایی هیبریدهای متحمل به تنش بود.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی این تحقیق، سه هیبرید ذرت شامل SC704، SC740 و NS640 بود که به‌صورت اسپلیت پلات در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با چهار تکرار تحت دو شرایط آزمایشی آبیاری عادی (بهینه) و قطع آبیاری در مرحله قبل از گلدهی (Derera *et al.*, 2008) در سال زراعی ۹۲-۱۳۹۱ در مزرعه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز مورد بررسی قرار گرفتند. صفات مزرعه‌ای ارزیابی شده شامل عملکرد دانه، وزن صد دانه، طول بلال، قطر بلال، ارتفاع بوته، قطر بوته، شاخص کلروفیل، دمای برگ، طول کاکل و تعداد شاخه کاکل بودند که در مزرعه مورد اندازه‌گیری قرار گرفتند. شاخص کلروفیل توسط دستگاه کلروفیل‌متر دستی (SPAD-502, Minolta) در چهارمین برگ جوان اندازه‌گیری شد. دمای برگ نیز با دماسنج مادون قرمز روی سه نمونه اندازه‌گیری شد.

مالون‌دی‌آلدئید (MDA)

نمونه‌های گیاهی به اندازه یک گرم از برگ‌های تازه ذرت برای اندازه‌گیری شاخص اکسیداسیون سلولی در طول موج‌های ۵۳۲ و ۶۰۰ نانومتر از روش سلولی (Noreen and Ashraf, 2009) استفاده شد.

استخراج آنزیم

نمونه‌های برگ‌های تازه در بافر استخراج (شامل تریس ۵۰ میلی‌مولار، ساکاروز ۵ درصد، آسکوربیک اسید ۵۰ میلی‌مولار، سدیم متابی‌سولفیت ۲۰ میلی‌مولار و پلی‌اتیلن گلیکول ۲ درصد، ۲-مرکاپتو اتانول ۰/۱ درصد، pH=۷) با نسبت وزنی یک به یک برای برگ و بافر استخراج، به‌خوبی هموژنیزه شدند. محلول حاصل در ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه و دمای چهار درجه سلسیوس به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ شد. عصاره آنزیمی با قطعات بریده شده کاغذ واتمن شماره ۳ و مناسب با ابعاد چاهک، جذب و در ژل‌های پلی‌آکریلامید هشت درصد با ابعاد ۱۵×۱۲×۰/۶ سانتی‌متر بارگذاری و سپس دستگاه الکتروفورز با آمپراژ کمتر از ۳۰ میلی‌آمپر راه‌اندازی شد (Valizadeh *et al.*, 2013). حدود چهار ساعت پس از راه‌اندازی دستگاه، زمانی که آبی بروموفنول با حرکت ۸-۱۰ سانتی‌متری به انتهای ژل رسید، ژل برای برش و رنگ‌آمیزی آماده شد. برای خنک کردن ژل و حفظ دمای پایین هنگام الکتروفورز از ظرف واجد استفاده شد.

رنگ‌آمیزی سوپراکسید دیسموتاز (Mn-SOD)

ابتدا محلول Tris-HCl با pH مساوی ۸ (۰/۳۰۲ گرم تریس در ۵۰ میلی‌لیتر آب دوبار تقطیر) تهیه شد. یک میلی‌گرم EDTA، یک میلی‌گرم ربیوفلاوین، ۱/۵ میلی‌گرم NBT، سه میلی‌مولار KCN و پنج میلی‌مولار H₂O₂ همزمان داخل محلول Tris-HCl ریخته شد. ژل در داخل ۵۰ میلی‌لیتر از Tris-HCl حاوی ترکیبات بالا به مدت نیم ساعت در تاریکی و سپس نیم ساعت در نور شدید قرار داده شد تا نوارهای روشن تشکیل شوند.

تجزیه‌های آماری داده‌ها

از نرم‌افزار MCID جهت کمی‌سازی نوارهای آیزوژیمی "مساحت × شدت" به‌عنوان ارزیابی فعالیت دنسیومتریکی آنزیمی روی ژل استفاده شد. پس از آزمون نرمال بودن داده‌ها و یکنواختی واریانس‌ها، تجزیه آماری داده‌های صفات مورد مطالعه با استفاده از نرم‌افزار SPSS 16.0 انجام شد.

نتایج و بحث

تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که صفات عملکرد دانه، وزن صد دانه، طول بلال، قطر بلال، ارتفاع بوته، قطر بوته، دمای برگ، شاخص کلروفیل، تعداد شاخه کاکل، طول کاکل، MDA و Mn-SOD کم‌آبی اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد در بین سطوح تنش داشت. بین هیبریدهای ذرت مورد مطالعه نیز از نظر عملکرد دانه و Mn-SOD در سطح احتمال یک درصد و صفات قطر بوته، تعداد شاخه کاکل و طول کاکل در سطح احتمال پنج درصد اختلاف معنی‌داری وجود داشت. در مقابل، برهمکنش تنش کم‌آبی × هیبرید فقط برای MDA (در سطح احتمال پنج درصد) و Mn-SOD (در سطح احتمال یک درصد) اختلاف معنی‌داری را نشان داد (جدول ۱).

میانگین صفات مطالعه‌شده در شرایط عادی و تنش کم‌آبی به‌همراه درصد کاهش صفات در جدول ۲ و میانگین هیبریدها در جدول ۳ ارائه شده است. مقایسه صفات عملکرد دانه، وزن صد دانه، طول بلال، قطر بلال، ارتفاع بوته، قطر بوته، دمای برگ، شاخص کلروفیل، تعداد شاخه کاکل و طول کاکل بین دو شرایط عادی و تنش کم‌آبی نشان داد که میانگین تمام این صفات در شرایط تنش کم‌آبی کمتر از شرایط عادی بود (جدول ۲).

جدول ۱- تجزیه واریانس صفات مورد مطالعه در هیبریدهای ذرت تحت تنش کم‌آبی

Table 1. Analysis of variance of the studied traits in maize hybrids under water deficit stress

منابع تغییرات Source of variation	درجه آزادی df	میانگین مربعات [†] Mean square [†]											
		TL	TBN	CI	LT	PD	PH	EH	ED	100GW	GY	MDA	SOD
تکرار Replication	3	2.22 ^{ns}	0.48 ^{ns}	0.72 ^{ns}	4.98 ^{ns}	8.47 ^{ns}	49.98 ^{ns}	0.16 ^{ns}	4.21 ^{ns}	14.34 ^{ns}	39.90 ^{ns}	0.25 ^{ns}	0.02 ^{ns}
تنش کم‌آبی Water deficit	1	42.68 ^{**}	12.41 ^{**}	61.30 ^{**}	42.81 ^{**}	32.26 ^{**}	2097 ^{**}	274.95 ^{**}	27.80 ^{**}	113.30 ^{**}	2485 ^{**}	0.27 ^{**}	1.80 ^{**}
تکرار × تنش کم‌آبی Replication × Water deficit	3	1.99	0.85	1.05	1.81	3.49	20.53	21.46	2.67	9.14	45.43	0.04	0.05
هیبرید Hybrid	2	13.01 [*]	7.94 [*]	3.85 ^{ns}	1.28 ^{ns}	12.90 [*]	218.02 ^{ns}	32.16 ^{ns}	0.37 ^{ns}	20.73 ^{ns}	3814 ^{**}	0.05 ^{ns}	10.67 ^{**}
تنش کم‌آبی × هیبرید Water deficit × Hybrid	2	5.74 ^{ns}	0.37 ^{ns}	0.69 ^{ns}	1.05 ^{ns}	0.74 ^{ns}	35.06 ^{ns}	5.28 ^{ns}	0.88 ^{ns}	11.79 ^{ns}	120.29 ^{ns}	2.90 [*]	1.11 ^{**}
خطای آزمایش Error	12	2.42	1.13	2.89	2.38	2.21	102.28	21.81	0.72	21.41	367.39	0.69	0.02
ضریب تغییرات (درصد) CV (%)	-	3.78	8.86	5.08	6.28	8.64	5.47	11.75	6.59	14.21	16.69	13.33	13.26

[†] صفات مورد مطالعه عبارت‌اند از: TL طول کاکل، TBN تعداد شاخه کاکل، CI شاخص کلروفیل، LT دمای برگ، PD قطر بوته، PH ارتفاع بوته، EH طول بلال، ED قطر بلال، 100GW وزن صد دانه، GY عملکرد دانه، MDA مالون‌دی‌آلدئید و SOD سوپراکسید دیسموتاز.

^{ns}، * و **: به ترتیب غیرمعنی‌دار و معنی‌دار در سطوح احتمال ۵٪ و ۱٪.

[†] The traits studied are including: TL, tassel length; TBN, tassel branch number; CI, chlorophyll index; LT, leaf temperature; PD, plant diameter; PH, plant height; EH, ear diameter; 100GW, 100 grain weight; GY, grain yield; MDA, malondialdehyde and SOD, superoxid dismutase.

^{ns}, * and **: Not-significant and significant at 5% and 1% probability levels, respectively.

میزان کاهش عملکرد دانه، وزن صد دانه، طول بلال، قطر بلال، ارتفاع بوته، قطر بوته، شاخص کلروفیل، دمای برگ، تعداد شاخه کاکل و طول کاکل در شرایط کم‌آبی به ترتیب ۵۲/۵۵، ۱۵/۱۴، ۱۴/۴۴، ۱۷/۹۴، ۱۱/۹۸، ۱۳/۷۱، ۱۲/۱۰، ۱۱/۲۰، ۱۳/۲۳ و ۷/۲۱ درصد بود (جدول ۲). مقایسه هیبریدهای ذرت مورد مطالعه نیز نشان داد که سینگل کراس ۷۰۴ بیشترین میانگین عملکرد دانه، قطر بوته، تعداد شاخه کاکل و طول کاکل را به خود اختصاص داد (جدول ۳).

آبیاری پس از تخلیه ۱۰۰ درصد رطوبت قابل دسترس در مقایسه با آبیاری کامل و آبیاری پس از تخلیه ۷۵ درصد رطوبت قابل دسترس، باعث کاهش معنی‌دار ماده خشک کل، قطر ساقه، شاخص سطح برگ، سرعت رشد گیاه، تعداد برگ، طول دوره گلدهی و ارتفاع بوته شد (Karimi et al., 2008). با کاهش پتانسیل آب در اثر تنش خشکی طول‌شدن سلول‌ها کاهش و در نتیجه فاصله میانگره‌ها و ارتفاع بوته کاهش می‌یابد (Nezami et al., 2008). تنش خشکی در مرحله پرشدن دانه باعث کاهش طول و تعداد شاخه کاکل در ژنوتیپ‌های مختلف ذرت می‌شود (Chen et al., 2010; Khalili et al., 2010). تنش خشکی تاثیر مستقیم بر کاهش شاخص کلروفیل برگ و عملکرد گیاه دارد، به طوری که ساقه‌ها مهم‌ترین منبع کربوهیدرات‌ها در زمان پر شدن دانه‌ها هستند. با کاهش فتوسنتز در شرایط تنش خشکی، میزان این ذخایر کم شده و ضمن تاثیر بر قطر ساقه، بر پرشدن دانه و در نتیجه وزن دانه‌ها و در نهایت بر عملکرد دانه اثر منفی می‌گذارد. کاهش تولیدات فتوسنتزی در مرحله زایشی می‌تواند کاهش طول و قطر بلال را به دنبال داشته باشد (Adebayo et al., 2014).

آبیاری پس از تخلیه ۱۰۰ درصد رطوبت قابل دسترس در مقایسه با آبیاری کامل و آبیاری پس از تخلیه ۷۵ درصد رطوبت قابل دسترس، باعث کاهش معنی‌دار ماده خشک کل، قطر ساقه، شاخص سطح برگ، سرعت رشد گیاه، تعداد برگ، طول دوره گلدهی و ارتفاع بوته شد (Karimi et al., 2008). با کاهش پتانسیل آب در اثر تنش خشکی طول‌شدن سلول‌ها کاهش و در نتیجه فاصله میانگره‌ها و ارتفاع بوته کاهش می‌یابد (Nezami et al., 2008). تنش خشکی در مرحله پرشدن دانه باعث کاهش طول و تعداد شاخه کاکل در ژنوتیپ‌های مختلف ذرت می‌شود (Chen et al., 2010; Khalili et al., 2010). تنش خشکی تاثیر مستقیم بر کاهش شاخص کلروفیل برگ و عملکرد گیاه دارد، به طوری که ساقه‌ها مهم‌ترین منبع کربوهیدرات‌ها در زمان پر شدن دانه‌ها هستند. با کاهش فتوسنتز در شرایط تنش خشکی، میزان این ذخایر کم شده و ضمن تاثیر بر قطر ساقه، بر پرشدن دانه و در نتیجه وزن دانه‌ها و در نهایت بر عملکرد دانه اثر منفی می‌گذارد. کاهش تولیدات فتوسنتزی در مرحله زایشی می‌تواند کاهش طول و قطر بلال را به دنبال داشته باشد (Adebayo et al., 2014).

میزان مالون دی‌آلئید (MDA) تحت شرایط عادی و تنش کم‌آبی در هیبریدهای مطالعه شده در شکل ۳ ارائه شده است. تنش کم‌آبی باعث کاهش حدود ۱/۰۲ درصدی میزان MDA در هیبریدهای مورد مطالعه شد. میزان MDA نیز تحت دو شرایط عادی و تنش کم‌آبی در بین هیبریدهای ذرت متفاوت بود، به طوری که در سینگل کراس ۷۴۰ میزان MDA تحت شرایط عادی نسبت به شرایط تنش کم‌آبی بیشتر بود، در حالی که این وضعیت در سینگل کراس ۷۰۴ متفاوت و میزان MDA تحت شرایط تنش کم‌آبی نسبت به شرایط عادی بیشتر بود (شکل ۲).

میزان مالون دی‌آلئید (MDA) تحت شرایط عادی و تنش کم‌آبی در هیبریدهای مطالعه شده در شکل ۳ ارائه شده است. تنش کم‌آبی باعث کاهش حدود ۱/۰۲ درصدی میزان MDA در هیبریدهای مورد مطالعه شد. میزان MDA نیز تحت دو شرایط عادی و تنش کم‌آبی در بین هیبریدهای ذرت متفاوت بود، به طوری که در سینگل کراس ۷۴۰ میزان MDA تحت شرایط عادی نسبت به شرایط تنش کم‌آبی بیشتر بود، در حالی که این وضعیت در سینگل کراس ۷۰۴ متفاوت و میزان MDA تحت شرایط تنش کم‌آبی نسبت به شرایط عادی بیشتر بود (شکل ۲).

از بین ژنوتیپ‌های ذرت مورد آزمون (Moghaddam and Hadizadeh, 2002)، سینگل کراس ۷۰۴ با پتانسیل عملکرد بالا، بیشتر مناسب شرایط بدون تنش و هیبرید SC704M بیشتر مناسب شرایط تنش است. محتوای پایین کلروفیل تحت شرایط تنش خشکی از نشانه‌های وجود تنش اکسیداتیو است که ممکن است باعث اکسیداسیون نوری رنگدانه و تخریب کلروفیل شود. کاهش و یا عدم تغییر سطح کلروفیل طی تنش خشکی در بیشتر گونه‌ها گزارش شده است که وابسته به مدت و شدت تنش خشکی است (Giancarla et al., 2013).

از بین ژنوتیپ‌های ذرت مورد آزمون (Moghaddam and Hadizadeh, 2002)، سینگل کراس ۷۰۴ با پتانسیل عملکرد بالا، بیشتر مناسب شرایط بدون تنش و هیبرید SC704M بیشتر مناسب شرایط تنش است. محتوای پایین کلروفیل تحت شرایط تنش خشکی از نشانه‌های وجود تنش اکسیداتیو است که ممکن است باعث اکسیداسیون نوری رنگدانه و تخریب کلروفیل شود. کاهش و یا عدم تغییر سطح کلروفیل طی تنش خشکی در بیشتر گونه‌ها گزارش شده است که وابسته به مدت و شدت تنش خشکی است (Giancarla et al., 2013).

جدول ۲- میانگین و خطای استاندارد صفات مورد مطالعه در ذرت تحت شرایط عادی و تنش کم‌آبی

Table 2. Mean and standard error of the studied traits in maize under normal and water deficit conditions

شرایط آبیاری Irrigation condition	عملکرد دانه Grain yield (t.ha ⁻¹)	وزن صد دانه 100-grain weight (g)	طول بلال Ear length (cm)	قطر بلال Ear diameter (cm)	ارتفاع بوته Plant height (cm)
شرایط عادی Normal condition	11.01±0.94	33.14±0.97	43.57±1.59	17.21±0.27	180.18±2.24
تنش کم‌آبی Water stress	6.70±0.85	28.12±1.72	35.75±1.27	14.73±0.44	158.59±3.91
درصد کاهش Decreasing percentage	52.55	15.14	14.44	17.94	11.98

Table 2. Continued

جدول ۲- ادامه

شرایط آبیاری Irrigation condition	طول کاکل Tassel length (cm)	تعداد شاخه کاکل Tassel branch number	دمای برگ Leaf temperature (°C)	شاخص کلروفیل Chlorophyll index	قطر بوته Plant diameter (mm)
شرایط عادی Normal condition	42.74±0.56	12.55±0.48	27.53±0.60	30.50±0.44	19.52±0.65
تنش کم‌آبی Water stress	39.66±0.76	10.89±0.39	24.44±0.45	26.81±0.49	16.85±0.73
درصد کاهش Decreasing percentage	7.21	13.23	11.20	12.10	13.71

جدول ۳- میانگین عملکرد دانه، قطر بوته، تعداد شاخه کاکل و طول کاکل در هیبریدهای ذرت

Table 3. Mean of grain yield, plant diameter, branch number and tassel up in maize hybrids

هیبرید Hybrid	تعداد شاخه کاکل Tassel branch number	قطر بوته Plant diameter (mm)	عملکرد دانه Grain yield (t.ha ⁻¹)	طول کاکل Tassel length (cm)
SC704	12.93	19.66	10.10	42.64
NS640	10.64	16.72	9.40	41.27
SC740	11.60	18.18	8.60	39.69
LSD _{1%}	1.02	1.14	0.90	1.50

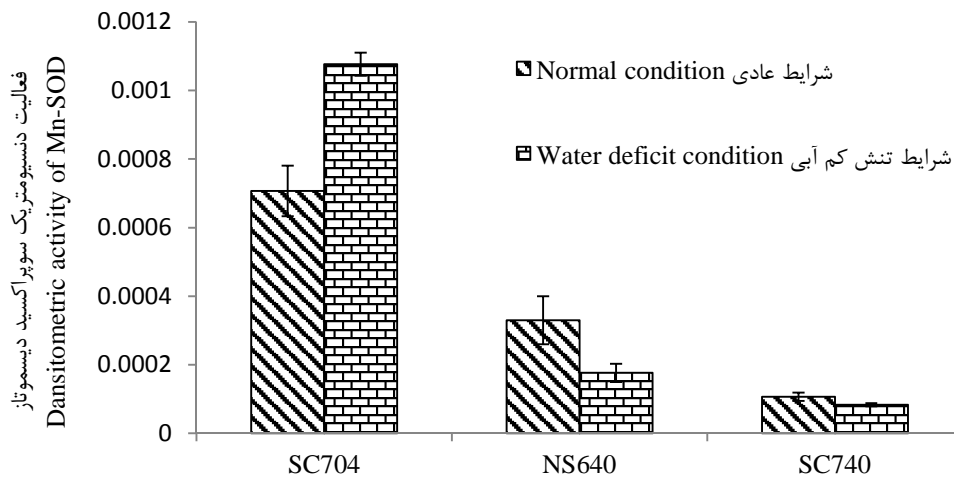
است که بر مبنای مکان استقرار و عامل فلزی همراه آن‌ها طبقه‌بندی می‌شوند. ایزوفرم Mn-SOD در میتوکندری، Fe-SOD در کلروپلاست و Cu/Zn-SOD در سیتوسل و کلروپلاست قرار دارند. این ایزوفرم‌ها حساسیت متفاوتی به پراکسید هیدروژن دارند. هر سه ایزوفرم در هسته رمز می‌شوند (Cruz de Carvalho, 2008). Mn-SOD یک آنزیم هموترامریک میتوکندریایی با وزن مولکولی ۸۵ کیلودالتونی است و از توتون، آرابیدوپسیس، گندم و برنج جداسازی شده است (Breusegem *et al.*, 2002).

سوپراکسید تولید شده در سیستم نوری (PSI) I توسط Cu/Zn-SOD که متصل به تیلاکوئید است، به هیدروژن پراکسید احیا و سپس توسط آنزیم آسکوربات پراکسیداز متصل به تیلاکوئید به آب احیا می‌شود. مولکول‌های سوپراکسید و هیدروژن پراکسید که ممکن است تحت تاثیر این فرآیند قرار نگرفته باشند و فرار کنند که بسیار آسیب‌رسان هستند، ممکن است به‌وسیله Mn-SOD و پراکسیداز تجزیه شوند (Gill and Tuteja, 2010). سوپراکسید دیسموتاز (SOD) دارای سه ایزوفرم

گزینش در شرایط تنش خشکی بر اساس فاصله بین گرده افشانی، ظهور کاکل و روزهای تا ظهور رشته‌های ابریشمی کوتاه‌تر و در مقابل، درصد پوشش سبز و تعداد دانه در ردیف بیشتر در راستای اصلاح هیبریدهای مقاوم به خشکی ذرت توصیه می‌شود. فعالیت SOD در ارقام ذرت متحمل به خشکی به‌طور معنی‌داری افزایش می‌یابد، طوری که فعالیت مکانیسم دفاعی آنتی‌اکسیدان برای تحمل به تنش اکسیداتیو ناشی از خشکی با صفات ژنوتیپ‌های متحمل به خشکی ارتباط معنی‌دار دارد (Chugh *et al.*, 2011). در این تحقیق، سینگل کراس ۷۰۴ تا حدودی با افزایش فعالیت Mn-SOD به‌همراه برخی از صفات زراعی مورد مطالعه، تحت تنش کم آبی بیشترین عملکرد دانه را به خود اختصاص داد.

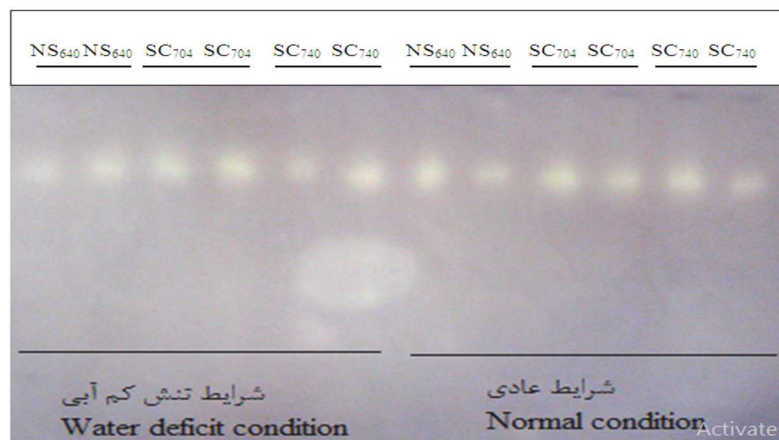
ضرایب همبستگی بین صفات زراعی در سه هیبرید ذرت مورد ارزیابی در جدول ۴ ارائه شده است. همان‌طور که این جدول نشان می‌دهد، عملکرد دانه با تمام صفات زراعی مورد مطالعه به‌جز MDA و Mn-SOD همبستگی مثبت و معنی‌داری داشت.

بولانوس و ادمدس (Bolanos and Edemedes, 1996) با انجام آزمایشی در ذرت، همبستگی بین عملکرد دانه را با وزن دانه، تعداد دانه در بوته و ارتفاع گیاه مثبت و با تعداد شاخه‌های گل‌تاجی منفی گزارش کردند. این همبستگی بالا اهمیت پارامترهای گلدهی را در تعیین عملکرد نشان می‌دهد که تنش در این مراحل باعث کاهش شدید عملکرد می‌شود. خلیلی و همکاران (Khalili *et al.*, 2010) اظهار کردند که عملکرد هیبریدهای ذرت تحت تنش خشکی کاهش می‌یابد.



شکل ۱- میانگین فعالیت دنسیومتریک Mn-SOD در هیبریدهای ذرت تحت دو شرایط عادی و تنش کم آبی

Figure 1. Mean of densitometric activity of Mn-SOD in maize hybrids under normal and water deficit conditions



شکل ۲- الگوی نواری Mn-SOD در هیبریدهای ذرت تحت شرایط عادی و تنش کم آبی

Figure 2. Mn-SOD banding pattern in maize hybrids under normal and water deficit conditions

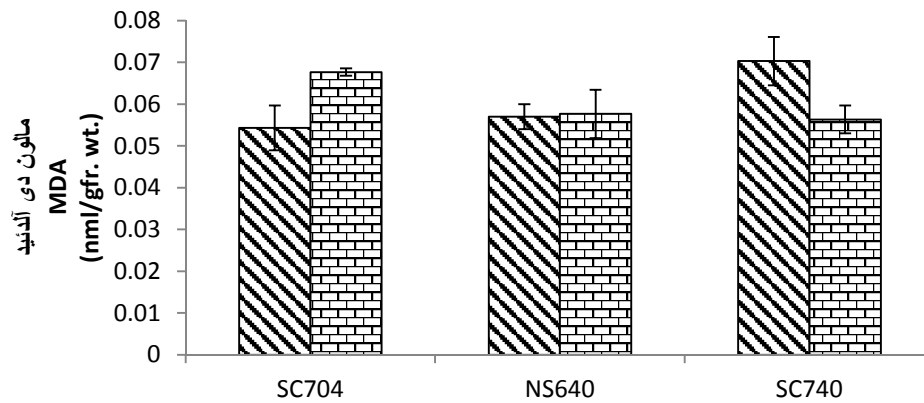
جدول ۴- ضرایب همبستگی بین صفات مورد مطالعه در سه هیبرید ذرت

Table 4. Correlations coefficients among the studied traits in three maize hybrids

صفات مطالعه شده The studied traits	عملکرد دانه Grain yield	وزن صد دانه 100-grain weight	طول بلال Ear length	قطر بلال Ear diameter	ارتفاع بوته Plant height	قطر بوته Plant diameter	دمای برگ Leaf temperature	شاخص کلروفیل Chlorophyll index	تعداد شاخه کاکل Tassel branch number	طول کاکل Tassel length	مالون دی آلدئید MDA
وزن صد دانه 100-grain weight	0.67**	1									
طول بلال Ear length	0.57*	0.30 ^{ns}	1								
قطر بلال Ear diameter	0.75**	0.67**	0.49 ^{ns}	1							
ارتفاع بوته Plant height	0.81**	0.62**	0.58*	0.81**	1						
قطر بوته Plant diameter	0.78**	0.74**	0.34 ^{ns}	0.58*	0.59*	1					
دمای برگ Leaf temperature	0.65**	0.38 ^{ns}	0.42 ^{ns}	0.61**	0.67**	0.48 ^{ns}	1				
شاخص کلروفیل Chlorophyll index	0.72**	0.35 ^{ns}	0.75**	0.63**	0.84**	0.44 ^{ns}	0.57*	1			
تعداد شاخه کاکل Tassel branch number	0.61**	0.43 ^{ns}	0.31 ^{ns}	0.73**	0.76**	0.54*	0.54*	0.71**	1		
طول کاکل Tassel length	0.79**	0.46 ^{ns}	0.31 ^{ns}	0.49 ^{ns}	0.60*	0.72**	0.57*	0.55*	0.45 ^{ns}	1	
مالون دی آلدئید MDA	-0.02 ^{ns}	0.44 ^{ns}	-0.20 ^{ns}	-0.06 ^{ns}	0.14 ^{ns}	0.14 ^{ns}	0.07 ^{ns}	-0.03 ^{ns}	0.15 ^{ns}	0.10 ^{ns}	1
سوپراکسید دیسموتاز Mn-SOD	0.37 ^{ns}	0.25 ^{ns}	-0.27 ^{ns}	0.15 ^{ns}	0.25 ^{ns}	0.41 ^{ns}	0.12 ^{ns}	0.13 ^{ns}	0.38 ^{ns}	0.44 ^{ns}	0.12 ^{ns}

^{ns}, * and **: Not-significant and significant at 5% and 1% probability levels, respectively.

^{ns}, * و **: به ترتیب غیرمعنی‌دار و معنی‌داری در سطوح احتمال ۵٪ و ۱٪.



شکل ۳- میانگین مالون‌دی‌آلدئید (MDA) در هیبریدهای ذرت تحت دو شرایط عادی و تنش کم‌آبی
Figure 3. Mean of MDA in maize hybrids under normal and water deficit conditions

آن در SC704 تحت شرایط تنش و برعکس در SC704 تحت شرایط بدون تنش افزایش یافت و این در حالی بود که تغییری در NS640 تحت دو شرایط آبیاری مشاهده نشد. میزان فعالیت دنسیومتریک Mn-SOD نیز در SC704 تحت تنش کم‌آبی افزایش چشم‌گیری نشان داد. در مجموع با توجه به نتایج این تحقیق، می‌توان SC704 را به‌عنوان یک هیبرید متحمل به تنش کم‌آبی معرفی کرد.

نتیجه‌گیری کلی

به‌طور کلی نتایج این تحقیق نشان داد که تمامی صفات زراعی اندازه‌گیری شده در هیبریدهای ذرت مورد مطالعه به‌طور معنی‌داری تحت تاثیر شرایط آبیاری قرار گرفتند، به‌طوری‌که میانگین تمامی این صفات تحت تنش کم‌آبی کاهش یافت. بررسی شاخص اکسیداسیون سلولی (MDA) نشان داد که تغییر میزان MDA در هیبریدها تحت دو شرایط آزمایشی متفاوت بود، به‌طوری‌که میزان

References

- Adebayo, M. A., Menkir, A., Blay, E., Gracen, V., Danquah, E. and Hearne, S. 2014. Genetic analysis of drought tolerance in adapted \times exotic crosses of maize inbred lines under managed stress conditions. *Euphytica* 196: 261-270.
- Bolanos, J. and Edemedes, G. O. 1996. The importance of the anthesis-silking interval inbreeding for drought. Tolerance in tropical maize. *Field Crops Research* 48: 65-80.
- Breusegem, F. V., Montagu, M. V. and Inzé, D. 2002. Engineering stress tolerance in maize. In: Inzé, D. and Montagu, M. V. (Eds.). *Oxidative stress in plants*. Taylor and Francis Publishers, New York, USA. pp: 191-215.
- Bruce, W. B., Edmeades, G. O. and Barker, T. C. 2002. Molecular and physiological approaches to maize improvement for drought tolerance. *Journal of Experimental Botany* 53: 13-25.
- Chen, J., Xu, W., Velten, J., Xin, Z. and Stout, J. 2012. Characterization of maize inbred lines for drought and heat tolerance. *Journal of Soil and Water Conservation* 67: 354-364.
- Choukan, R., Abdolhadi, H., Ghanadha, M. R., Warburton, M. L., Talei, A. L. and Mohammadi, S. A. 2006. Use of SSR data to determine relationships and potential heterotic groupings within medium to late maturing Iranian maize inbred lines. *Field Crop Research* 95: 212-222.
- Chugh, V., Kaur, N. and Gupta, A. K. 2011. Evaluation of oxidative stress tolerance in maize (*Zea mays* L.) seedlings in response to drought. *Indian Journal Biochemistry and Biophysics* 48: 47-53.
- Cruz de Carvalho, H. M. 2008. Drought stress and reactive oxygen species. *Plant Signaling and Behavior* 3: 156-165.
- Denmead, O. T. and Shaw, R. H. 1960. The effects of soil moisture stress at different stages of growth on the development and yield of corn. *Agronomy Journal* 52: 272-274.

- Derera, J., Tongoona, P., Vivek, B. S. and Laing, M. D. 2008.** Gene action controlling grain yield and secondary traits in southern African maize hybrids under drought and non-drought environments. **Euphytica** 162: 411-422
- Downey, L. A. 1977.** Effect of gypsum and drought stress on maize (*Zea mays* L.) I. Growth, light absorption and yield. **Agronomy Journal** 63: 569-572.
- Giancarla, V., Madosa, E., Ciulca, S., Coradini, R., Iuliana, C., Mihaela, M. and Lazar, A. 2013.** Influence of water stress on the chlorophyll content in barley. **Journal of Horticulture, Forestry and Biotechnology** 17: 223-228.
- Gill, S. S. and Tuteja, N. 2010.** Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. **Plant Physiology and Biochemistry** 48: 909-930.
- Karimi, M., Esfahani, M., Bigluei, M. H., Rabiei, B. and Kafi Ghasemi, A. 2008.** Effect of deficit irrigation treatments on morphological traits and growth indices of corn forage in the Rasht climate. **Electronic Journal of Crop Protection** 2: 91-110. (In Persian with English Abstract).
- Khalili, M., Moghaddam, M., Kazemi, M. R., Shakiba, H., Kanooni, H. and Choukan, R. 2010.** Effect of drought stress on different maize genotypes. **Journal of Agriculture Science** 20: 67-84. (In Persian with English Abstract).
- Makumbi, D., Betraun, J. F., Baunziger, M. and Ribaut, J. M. 2011.** Combining ability, heterosis and genetic diversity in tropical maize (*Zea mays* L.) under stress and non-stress conditions. **Euphytica** 180: 143-162.
- Melchiorre, M., Robert, G., Trippi, V., Racca, R. and Lascano, H. R. 2009.** Superoxide dismutase and glutathione reductase overexpression in wheat protoplast: photooxidative stress tolerance and changes in cellular redox state. **Plant Growth Regulation** 57: 57-68.
- Mittler, R., 2002.** Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. **Trends in Plant Science** 7: 405-410.
- Mittler, M., Vanderauwera, S., Gollery, M. and Breusegem, F. V. 2004.** Reactive oxygen gene network of plants. **Trends in plant Science** 9: 405-410.
- Moghaddam, A. and Hadizadeh, M. 2002.** Response of corn hybrids and their parental lines to drought using different stress tolerance indices. **Seed and Plant Improvement Journal** 18: 255-272. (In Persian with English Abstract).
- 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., Asgari, A. and Shiri, M. 2016.** Response of antioxidant defense system to osmotic stress in maize seedlings. **Fresenius Environmental Bulletin** 25: 805-811.
- Nezami, A., Khazaei, H. R., Boroumand, R. Z. and Null, N. 2008.** Effects of drought stress and defoliation on sunflower. **Desert** 12: 99-104.
- Noreen, A. and Ashraf, M. 2009.** Assessment of variation in antioxidative defense system in salt-treated pea (*Pisum sativum*) cultivars and its putative use as salinity tolerance markers. **Journal of Plant Physiology** 166: 1764-1774.
- Reep, C. 2004.** Effect of water stress at different development stages on vegetative and reproductive growth of corn. **Field Crops Research** 89: 1-16.
- Sarapatka, B., Dudova, L. and Kroskova, M. 2004.** Effect of pH and phosphate supply on acid phosphatase activity in cereal roots. **Biologia Bratislava** 59: 127-131.
- Schlemmer, M. R., Francis, D. D., Shanahan, J. F. and Schepers, J. S. 2005.** Remotely measuring chlorophyll content in corn leaves with differing nitrogen levels and relative water content. **Agronomy Journal** 97: 110-120.
- Valizadeh, M., Moharamnejad, S., Ahmadi, M. and Mohammadzadeh Jalaly, H. 2013.** Changes in activity profile of some antioxidant enzymes in alfalfa half-sib families under salt stress. **Journal of Agricultural Science and Technology** 15 (4): 801-809.
- Wang, Y., Ying, Y., Chen, J. and Wang, X. C. 2004.** Transgenic Arabidopsis overexpressing Mn-SOD enhanced salt-tolerance. **Plant Science** 167: 671-677.
- Yang, Z., Wu, Y., Li, Y., Ling, H. Q. and Chu, C. 2009.** OsMT1a, a type 1 metallothionein, plays the pivotal role in zinc homeostasis and drought tolerance in rice. **Plant Molecular Biology** 70: 219-229.



University of Guilan
Faculty of Agricultural
Sciences

Cereal Research
Vol. 6, No. 4, Winter 2017 (521-531)

Effect of water deficit stress on agronomic traits and superoxide dismutase (Mn-SOD) activity in three maize (*Zea mays* L.) hybrids

Sajjad Moharramnejad^{1*}, Mostafa Valizadeh², Omid Sofalian³, Mohammadreza Shiri⁴ and Ali Asgari³

Received: February 2, 2015

Accepted: April 29, 2016

Abstract

To study the effects of water deficit stress on three maize hybrids (SC_{704} , SC_{740} and NS_{640}), an experiment was conducted in split plot based on randomized complete block design with four replications under non-stress and water deficit stress conditions at the Agricultural Research Station of University of Tabriz, Tabriz, Iran, in 2013. Electrophoretic analysis was performed to evaluate the enzymatic activity of superoxide dismutase (Mn-SOD) by using 8% slab polyacrylamide gels and “density \times area” values of the electrophoretic bands onto gels were scored as enzymatic activity using MCID software. Malondialdehyde (MDA) content was also evaluated as cellular oxidation index in the studied hybrids under normal and water deficit stress. The results indicated that water deficit stress significantly decreased grain yield, 100-grain weight, ear diameter, ear length, plant height, plant diameter, leaf temperature, chlorophyll index, tassel branch number and tassel length. The cellular oxidation level (MDA) increased in SC_{704} by increasing water deficit stress. The Mn-SOD activity also increased in SC_{704} under water deficit showing an increase in oxygen free radicals. The results of this study showed that SC_{704} was tolerant to water deficit stress.

Keywords: Cellular oxidation index, Grain yield, Polyacrylamide gel electrophoresis

-
1. Ph. D. Student, Dept. of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agricultural Sciences and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran
 2. Prof., Dept. of Plant Breeding and Biotechnology, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran
 3. Assoc. Prof., Dept. of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agricultural Sciences and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran
 4. Research Assist. Prof., Seed and Plant Improvement Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Karaj, Iran

* Corresponding author: sm.chakherlo@yahoo.com