



Evaluation of water deficit stress on physiological and biochemical traits of corn lines and hybrids

Mehdi Rahimi¹✉

¹ Department of Biotechnology, Institute of Science and High Technology and Environmental Sciences, Graduate University of Advanced Technology, Kerman, Iran. E-mail: mehdi83ra@yahoo.com

ABSTRACT

Introduction: Water deficit stress is one of the most common environmental stresses which has limited agricultural production. So, research on the water deficit tolerance in crops is very important.

Materials and methods: In this study, 15 corn genotypes (five parents and 10 hybrids resulting from their crossing) were evaluated in two separate experiments including normal conditions (irrigation cycle of 5 days) and water deficit (irrigation cycle of 8 days) based on randomized complete blocks design with two replications in the Research Farm of Graduate University of Advanced Technology, Kerman, Iran during 2017. The chlorophylls a and b, proline, protein, and reducing sugars traits were estimated in normal and water deficit conditions.

Results: The results of combined variance analysis showed a significant difference at the probability level of 1% for all the studied traits between genotypes (parents and hybrids) and also between two stress conditions. The interaction effect of genotype×stress was significant for all traits, which means that genotypes have shown different reactions under water deficit stress. The water deficit stress caused a significant decrease in chlorophylls a and b, carotenoids, reducing sugars and protein, and an increase in the amount of proline. The highest amount of carotenoids was related to genotype 8 (1.80 mg/gfw) under normal conditions, and the highest amount of carotenoids was related to genotype 3 (2.96 mg/gfw) under water deficit conditions. The mean comparison results showed that the amount of protein was affected by water deficit stress, that the highest amount of protein in normal conditions was related to Genotype 5 (0.00668 mg/gfw) and the water deficit conditions, the same genotype (Genotype 5) also had the highest value (0.0070 mg/gfw). The grouping of genotypes under water deficit conditions was performed by Ward's method, and the cophenetic coefficient of this method was equal to 0.77 and categorized the genotypes into three groups. Also, based on the average traits, the grouping of corn genotypes by the UPGMA method and Cophenetic coefficient equal to 0.72 was able to place the genotypes in two groups.

Conclusion: The intolerance of corn genotypes to water deficit stress can be due to the destruction of chlorophyll, the reduction of reducing sugars and protein, as well as the insufficient increase of proline, and these biochemical changes have caused the sensitivity of corn genotypes to water deficit. Also, genotypes 4, 5, 9, and 11 could be investigated in future breeding programs due to their greater water deficit tolerance.

Keywords: Corn line, Hybrids, Drought stress, Carotenoid, Proline, Reducing sugars.

Article Type: Research Article

Article history: Received: 01/07/2022, Revised: 16/09/2022, Accepted: 20/09/2022, Published online: 29/09/2022

Cite this article: Rahimi, M. (2022). Evaluation of water deficit stress on physiological and biochemical traits of corn lines and hybrids. *Cereal Biotechnology and Biochemistry*. 1 (3). 375-389. DOI: [10.22126/cbb.2022.8323.1019](https://doi.org/10.22126/cbb.2022.8323.1019)



© The Author(s).

[10.22126/cbb.2022.8323.1019](https://doi.org/10.22126/cbb.2022.8323.1019)

Publisher: Razi University



بیوتکنولوژی و بیوشیمی غلات

شاپا الکترونیکی: ۵۱۷۰-۲۷۸۳



بیوتکنولوژی و بیوشیمی غلات

Homepage: <https://cbb.razi.ac.ir>

ارزیابی تنش کم آبی بر صفات بیوشیمیایی و فیزیولوژیک لاین‌ها و هیبریدهای ذرت

مهدی رحیمی^۱ ✉

^۱ گروه بیوتکنولوژی، پژوهشگاه علوم و تکنولوژی پیشرفته و علوم محیطی، دانشگاه تحصیلات تکمیلی صنعتی و فناوری پیشرفته، کرمان، ایران. رایانامه:

mehdi83ra@yahoo.com

چکیده

مقدمه: تنش کم آبی یکی از رایج‌ترین تنش‌های محیطی است که موجب محدود شدن تولیدات کشاورزی شده است. بنابراین، انجام تحقیقات پیرامون بررسی تحمل کم آبی در گیاهان زراعی، دارای اهمیت بالایی است.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه ۱۵ ژنوتیپ ذرت (پنج والد و ۱۰ هیبرید حاصل از تلاقی آن‌ها) در دو آزمایش جداگانه شامل شرایط نرمال (دور آبیاری پنج روز) و کم آبی (دور آبیاری هشت روز) در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با دو تکرار در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه تحصیلات تکمیلی صنعتی و فناوری پیشرفته کرمان در سال ۱۳۹۶ مورد ارزیابی قرار گرفتند. صفات مقادیر کلروفیل‌های a و b، پروتئین، پروتئین و قندهای احیاکننده در دو شرایط نرمال و کم آبی اندازه‌گیری شدند.

یافته‌ها: نتایج تجزیه واریانس مرکب برای تمامی صفات مورد مطالعه، اختلاف معنی‌داری را در سطح احتمال یک درصد بین ژنوتیپ‌ها (والدین و هیبریدها) و همچنین بین دو سطح آبیاری نشان داد. اثر متقابل ژنوتیپ × تنش برای تمامی صفات معنی‌دار بود و بدین معنی است که ژنوتیپ‌ها واکنش‌های متفاوتی تحت تنش کم آبی نشان داده‌اند. تنش کم آبی باعث کاهش معنی‌دار کلروفیل‌های a و b و کارتنوئید، قندهای احیاکننده و پروتئین و افزایش میزان گریدید. بیشترین میزان کارتنوئید مربوط به ژنوتیپ ۸ (۱/۸۰ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) تحت شرایط نرمال بود و در شرایط تنش کم آبی، بیشترین میزان کارتنوئید مربوط به ژنوتیپ ۳ (۲/۹۶ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) بود. نتایج به دست آمده از مقایسه میانگین‌ها نشان داد که میزان پروتئین تحت تأثیر سطوح مختلف تنش کم آبی قرار گرفته است که بیشترین میزان پروتئین در شرایط نرمال مربوط به ژنوتیپ ۵ (۰/۰۶۶۸ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) بود و در شرایط تنش همان ژنوتیپ (ژنوتیپ ۵) بیشترین مقدار (۰/۰۷۰ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) را داشت. گروه‌بندی لاین‌ها و هیبریدها در شرایط تنش کم آبی با روش وارد انجام شد و ضریب کوفنتیک این روش برابر با ۰/۷۷ بود و ژنوتیپ‌ها را در سه گروه قرار داد. همچنین بر اساس میانگین صفات، گروه‌بندی ژنوتیپ‌های ذرت با روش UPGMA و ضریب کوفنتیک برابر با ۰/۷۲، توانست ژنوتیپ‌ها را در دو گروه قرار دهد.

نتیجه‌گیری: عدم تحمل ژنوتیپ‌های ذرت نسبت به تنش کم آبی می‌تواند به دلیل تخریب کلروفیل، کاهش قندهای احیاکننده و پروتئین و همچنین افزایش ناکافی میزان پروتئین صورت گرفته باشد که این تغییرات بیوشیمیایی، باعث ایجاد حساسیت ژنوتیپ‌های ذرت به تنش کم آبی شده است. همچنین ژنوتیپ‌های ۴، ۵، ۹ و ۱۱ می‌توانند به دلیل تحمل بیشتر کم آبی در برنامه‌های به‌نژادی آینده مورد بررسی بیشتر قرار گیرند.

واژه‌های کلیدی: ذرت، تنش کم آبی، کارتنوئید، پروتئین، قندهای احیاکننده

نوع مقاله: مقاله پژوهشی

نوع مقاله: دریافت: ۱۴۰۱/۰۴/۱۰ اصلاح: ۱۴۰۱/۰۶/۲۵ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۶/۲۹ انتشار آنلاین: ۱۴۰۱/۰۷/۰۷

استناد: رحیمی، م. (۱۴۰۱). ارزیابی تنش کم آبی بر صفات بیوشیمیایی و فیزیولوژیک لاین‌ها و هیبریدهای ذرت. بیوتکنولوژی و بیوشیمی غلات. ۱ (۳).

DOI: [10.22126/cbb.2022.8323.1019](https://doi.org/10.22126/cbb.2022.8323.1019) ۳۷۵-۳۸۹



© نویسندگان.

ناشر: دانشگاه رازی

مقدمه

ذرت (*Zea mays* L) با توجه به مقادیر بالای نشاسته و پروتئین، از جمله مهم‌ترین گیاهان زراعی به شمار می‌رود. این گیاه از مهم‌ترین محصولات مناطق معتدله گرم و نیمه‌گرمسیری است. با وجود اهمیت اقتصادی ذرت، مطالعات محدودی روی ژنتیک و ارزیابی منابع ژنتیکی آن صورت گرفته است (Egert & Tevini, 2002). یکی از اهداف اساسی برنامه‌های اصلاحی ذرت، توسعه کشت ارقام مقاوم به تنش کم آبی است (Johari-Pireivatlou, 2010). تنش کم آبی یکی از رایج‌ترین تنش‌های محیطی است که موجب محدود شدن تولیدات کشاورزی شده است. امروزه مشکل کمبود آب در جهان، یکی از مشکلات عمده کشاورزی است و بنابراین هر نوع تحقیقی پیرامون بررسی تحمل به کم آبی دارای اهمیت بالایی است. گیاهان با توجه به این که در چه مرحله‌ای از رشد خود قرار دارند، تحت تأثیر تنش کم آبی قرار می‌گیرند (Kafi & Mahdavi, 2003). اکثر فعالیت‌های فیزیولوژیکی گیاهان تحت شرایط وجود آب انجام می‌گردد و شرایط تنش یا کمبود آب، منجر به مختل شدن یا عدم فعالیت آن‌ها در گیاهان می‌شود (Keshavarznia et al., 2013). ذرت در مرحله گلدهی بسیار حساس به تنش کم آبی است. سالانه حدود ۲۰ درصد عملکرد ذرت به دلیل تنش کم آبی کاهش می‌یابد. از این‌رو، به‌نژادگران دست به اصلاح ارقام متحمل به کم آبی برای بهبود این مشکل زده‌اند (Kramer, 1969).

تنش کم آبی با کاهش سطح برگ، انسداد روزنه‌ها، کاهش فعالیت‌های پروتوپلاسمی و تثبیت گاز کربنیک، کاهش سنتز پروتئین و کلروفیل سبب تقلیل فرآیند فتوسنتز می‌گردد (Imam, 2004). در شرایط تنش شدید، تنفس، جذب گاز کربنیک، انتقال مواد فتوسنتزی و انتقال مواد خام در آوندهای چوبی به سرعت به حد بسیار کم نزول کرده و این در حالی است که فعالیت آنزیم‌های هیدرولیزکننده افزایش می‌یابد. کاهش مواد فتوسنتزی موجب اشباع برگ‌ها از این مواد می‌گردد. در نهایت کاهش فتوسنتز و بروز گرسنگی را در پی خواهد داشت (Koochaki & Alizadeh, 1986).

بویر اظهار داشته که تنش رطوبتی موجب کاهش فتوسنتز، پیری زودرس و ریزش برگ‌های پایین در غلات می‌گردد (Boyer, 1995). در شرایط تنش، کاهش ماده خشک می‌تواند به دلیل فشار آماس سلول ناشی از کاهش سطح برگ گیاه و همچنین کاهش نرخ فتوسنتزی به دلیل محدودیت‌های بیوشیمیایی ناشی از کمبود آب از قبیل کاهش رنگدانه‌های فتوسنتزی به خصوص کلروفیل‌ها باشد (Lawlor, 2002).

در مطالعه‌ای، نتایج بررسی اثر تنش کم آبی روی هیبرید سینگل کراس ۷۰۴ ذرت نشان داد که تنش کم آبی باعث کاهش عملکرد دانه و میزان کلروفیل (a+b) و در مقابل باعث افزایش میزان پروتئین و قندهای محلول در برگ‌ها گردید (Yusefi et al., 2017). همچنین در مطالعه‌ای

جداگانه به صورت نرمال (دور آبیاری پنج روز) و تنش کم آبی (دور آبیاری هشت روز) در شرایط مزرعه در سال ۱۳۹۶ مورد بررسی قرار گرفتند. عملیات مزرعه‌ای در ایستگاه تحقیقاتی دانشگاه تحصیلات تکمیلی صنعتی و فناوری پیشرفته واقع در ۲۵ کیلومتری جنوب شرقی شهر کرمان در شهر ماهان (طول جغرافیایی ۵۷ درجه و ۳۳ دقیقه، عرض جغرافیایی ۲۲ درجه و ۵۳ دقیقه و ارتفاع از سطح دریا ۱۸۹۵/۴ متر) انجام شد. تیمار آبیاری در دو سطح آبیاری نرمال و تنش کم آبی به ترتیب در ظرفیت مزرعه ۸۵ و ۶۰ درصد رطوبت قابل استفاده اعمال گردیدند. صفات بیوشیمیایی و فیزیولوژیک مورد ارزیابی شامل صفات کلروفیل‌های a، b و کل، کارتنوئید، پرولین، پروتین و قندهای احیاکننده بودند. تجزیه واریانس داده‌ها بر اساس تجزیه ادغام شده (پس از برقراری مفروضات تجزیه واریانس و یکنواخت بودن خطای آزمایش دو آزمایش بر اساس آزمون بارتلت) بر پایه طرح بلوک‌های کامل تصادفی صورت پذیرفت و برای مقایسه میانگین از آزمون دانکن در سطح احتمال یک درصد استفاده گردید.

دیگر اثر کاربرد هیومیک اسید بر ذرت بر شاخص کلروفیل و صفات عملکرد و اجزای آن در شرایط کم آبی معنی‌دار بود (Ragh Ara & Moosavi, 2018). بررسی سه هیبرید ذرت در شرایط تنش کم آبی نشان داد که تنش کم آبی باعث کاهش عملکرد دانه و میزان کلروفیل (a+b) و در مقابل باعث افزایش میزان پرولین و قندهای محلول شده است (Nasrollahzade Asl et al., 2017). در مطالعه‌ای، ۵۱ لاین ذرت بر اساس صفات بیوشیمیایی و زراعی در دو سال با تجزیه خوشه‌ای گروه‌بندی شدند و در چهار گروه قرار گرفتند (Kumar et al., 2015). در مطالعه‌ای، ۱۵۳ ژنوتیپ ذرت از ژاپن، چین و پاکستان بر اساس صفات کمی و کیفی با تجزیه خوشه‌ای و تجزیه به مؤلفه‌های اصلی گروه‌بندی شدند. نتایج نشان که هر دوی این روش‌ها توانستند ژنوتیپ‌ها را در پنج گروه قرار دهند (Iqbal et al., 2015a).

هدف از این تحقیق، گروه‌بندی و شناسایی لاین‌ها و هیبریدهای مطلوب و نامطلوب ذرت با استفاده از صفات بیوشیمیایی تحت تنش کم آبی و همچنین شناسایی صفات مطلوب جهت گزینش ژنوتیپ‌های ذرت بود.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه، ۱۵ ژنوتیپ (پنج لاین اصلاح شده S7 ذرت و ۱۰ هیبرید حاصل از تلاقی آن‌ها (جدول ۱)) در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با دو تکرار در دو شرایط آزمایشی

جدول ۱- نام لاین‌ها و هیبریدهای مورد استفاده در این مطالعه.

Table 1. Names of lines and hybrids used in this study.

شماره	نام	شماره	نام
No.	Name	No.	Name
1	KSC704-S7-2	9	KSC704-S7-3×KSC704-S7-9
2	KSC704-S7-2×KSC704-S7-3	10	KSC704-S7-5
3	KSC704-S7-2×KSC704-S7-5	11	KSC704-S7-5×KSC704-S7-7
4	KSC704-S7-2×KSC704-S7-7	12	KSC704-S7-5×KSC704-S7-9
5	KSC704-S7-2×KSC704-S7-9	13	KSC704-S7-7
6	KSC704-S7-3	14	KSC704-S7-7×KSC704-S7-9
7	KSC704-S7-3×KSC704-S7-5	15	KSC704-S7-9
8	KSC704-S7-3×KSC704-S7-7		

۴۷۰ نانومتر به دست آمد. غلظت رنگیزه‌ها برحسب میکروگرم بر گرم وزن تر با استفاده از معادله‌های زیر محاسبه گردید (Sudhakar *et al.*, 2016).

سنجش میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی در برگ، شامل کلروفیل a، b، کلروفیل کل و کاروتنوئیدها، با دستگاه اسپکتروفتومتر Carry 50 در طول موج‌های ۶۴۵، ۶۶۳

$$mg \text{ chlorophyll } a/g \text{ tissue} = (12.7(A663) - 2.69(A645)) \times \frac{v}{1000 \times w} \quad (1)$$

$$mg \text{ chlorophyll } a/g \text{ tissue} = (22.9(A645) - 4.68(A663)) \times \frac{v}{1000 \times w} \quad (2)$$

$$mg \text{ total chlorophyll } /g \text{ tissue} = (20.2(A645) - 8.02(A663)) \times \frac{v}{1000 \times w} \quad (3)$$

$$mg \text{ total carotenoids } /g \text{ tissue} = [4480 + (0.114 \times A663) - (0.638 - A645)] \times \frac{v}{1000} \times w \quad (4)$$

جایی که A: جذب در طول موج مورد نظر، V: حجم نهایی محلول استخراج کلروفیل و W: وزن تازه بافت استخراج شده است.

نتایج و بحث

تجزیه واریانس

نتایج تجزیه واریانس برای تمامی صفات مورد مطالعه اختلاف معنی‌داری را در سطح احتمال یک درصد برای اثرات کم آبی و ژنوتیپ نشان داد (جدول ۲) و این حاکی از تفاوت معنی‌دار بین ژنوتیپ‌ها بود. اثر متقابل ژنوتیپ در تنش برای تمامی صفات معنی‌دار بود که نشان می‌دهد ژنوتیپ‌ها واکنش‌های متفاوتی تحت تنش کم آبی نشان داده‌اند.

به نظر می‌رسد که میزان کارتونیید و همچنین انواع کلروفیل با توجه به ضریب تغییرات فنوتیپی (جدول ۲) بیشتر از سایر صفات تحت تأثیر محیط قرار گرفتند. در نتیجه با توجه به تنوع موجود، این صفات می‌توانند مورد توجه به‌نژادگر قرار گیرند اما صفات دیگر با ضریب تغییرات فنوتیپی پایین از شانس کمتری جهت انتخاب برخوردار هستند. تأثیر سطوح مختلف تنش کم آبی بر میزان کلروفیل a معنی‌دار بود. بیشترین میزان کلروفیل a در شرایط نرمال مربوط به ژنوتیپ ۶ (۸/۹۴ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) و در شرایط تنش کم آبی مربوط به ژنوتیپ ۱۵ (۵/۳۲ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) بود در حالی که بیشترین میزان کلروفیل b در شرایط نرمال مربوط به ژنوتیپ ۲ (۳/۵۹ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) و در شرایط تنش مربوط به ژنوتیپ ۹ (۴/۳۷ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) بود و همچنین بیشترین میزان

قند احیا با روش سوموگی (Somogyi, 1952) مورد اندازه‌گیری قرار گرفت. غلظت پروتئین با دستگاه اسپکتوفتومتر در طول موج ۵۹۵ نانومتر و براساس روش برادفورد (Bradford, 1976) اندازه‌گیری شد. همچنین برای اندازه‌گیری محتوای پرولین از روش بیز و همکاران (Bates et al., 1973) استفاده شد.

به منظور گروه‌بندی لاین‌ها، از تجزیه خوشه‌ای بر اساس صفات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی استفاده گردید. گروه‌بندی ژنوتیپ‌های ذرت بر اساس روش‌های مختلف تجزیه خوشه‌ای (متوسط فاصله بین کلاسترها، دورترین همسایه‌ها، متوسط فاصله بین و درون کلاسترها، نزدیک‌ترین همسایه‌ها، مرکزی، میانه‌ای و حداقل واریانس وارد) و معیارهای فاصله متفاوت (معیارهای فاصله اقلیدسی، پیرسون، مینکوسکی، چبی‌چف، کوساین و سیتی بلوک برای تعیین فاصله بین ژنوتیپ‌ها) انجام شده و روش و معیار فاصله‌ای که بیشترین ضریب همبستگی کوفنتیک را داشت، انتخاب و گروه‌بندی بر اساس آن انجام شد. از روش بیشترین گسیختگی و ریشه دوم تعداد افراد برای تعیین تعداد خوشه‌ها استفاده شد. در نهایت، برای تشخیص صحیح‌ترین گروه‌بندی حاصل از روش‌های تعیین تعداد خوشه، از روش تجزیه تابع تشخیص به روش خطی فیشر استفاده شد. تجزیه‌ها با استفاده از نرم‌افزارهای SAS ver.9.4 (Sas-Institute-Inc, 2014) و PAST (Hammer et al., 2001) انجام گردید.

کلروفیل کل تحت شرایط نرمال مربوط به ژنوتیپ ۴ (۱۱/۸۲ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) و در شرایط تنش مربوط به ژنوتیپ ۹ (۷/۶۰ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) بود (جدول ۳). تخریب رنگدانه‌های فتوسنتزی، کاهش مقدار کلروفیل برگ و تخریب تشکیلات فتوسنتزی، از جمله صدمات بارز تنش کم آبی هستند (Shakeel *et al.*, 2011). به دلیل پیری زودرس برگ‌ها در اثر اختلال هورمونی ناشی از تنش کم آبی، سوخت و ساز کلروفیل در شرایط کم آبی افزایش می‌یابد (Keshavarznia *et al.*, 2013).

جدول ۲- تجزیه واریانس مرکب صفات فیزیولوژیک در ژنوتیپ‌های ذرت تحت تنش کم آبی.

Table 2. Combined analysis of variance for physiologic traits in corn lines under water deficit stress.

منابع تغییرات S.O.V.	درجه آزادی d.f.	میانگین مربعات MS	کلروفیل a Chla	کلروفیل b Chlb	کلروفیل کل Chlt	کارتونوئید Caratenoied	قندهای احیاکننده Redusing sugare	پروتئین کل Total poroteien	پرولین Prolin
کم آبی Water deficit	1	59.63**	2.41**	86.033**	28.86**	0.0016**	574**	0.00006**	
تکرار/کم آبی Repeat/Water deficit	2	0.0007 ^{ns}	0.017 ^{ns}	0.017 ^{ns}	0.68**	0.000001 ^{ns}	2.61 ^{ns}	0.00000001*	
ژنوتیپ Genotype	14	5.28**	1.91**	4.72**	3.162**	0.00008**	4.68**	0.00005**	
کم آبی × ژنوتیپ Water deficit × Genotype	14	6.54**	1.80**	7.23**	0.54**	0.00003**	1.19**	0.000002**	
خطا Error	28	0.000004	0.016	0.016	0.0000001	0.00000001	2.83	0.00000001	
درصد ضریب تغییرات Percent of coefficient of variatio		0.05	5.37	1.98	0.11	0.04	0.25	0.19	
درصد ضریب تغییرات فنوتیپی Percent of phenotypic coefficient of variation		47.92	40.44	31.98	55.97	14.54	2.30	29.66	

^{ns}، * و ** به ترتیب غیرمعنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد.

^{ns}، * and **: Non-significant and significant at the 1% and 5% probability levels, respectively.

جدول ۳- مقایسه میانگین اثر متقابل (ژنوتیپ × کم آبی) برای صفات فیزیولوژیک.

Table 3. Mean comparison of interactions effects (water deficit × genotype) for physiological traits.

پروآمینو اسید وزن (میلی‌گرم/گرم وزن) (تر)	پروتئین کل (میلی‌گرم/گرم وزن) (تر)	قندهای احیاکننده (میلی‌گرم/گرم وزن تر) (تر)	کارتنوئید (میلی‌گرم/گرم وزن) (تر)	کلروفیل کل (میلی‌گرم/گرم وزن) (تر)	کلروفیل b (میلی‌گرم/گرم وزن تر) (تر)	کلروفیل a (میلی‌گرم/گرم وزن تر) (تر)	ژنوتیپ‌ها
prolin amino acid (mg/gfw)	Total poroteien (mg/gfw)	Redusing sugare (mg/gfw)	Caratenoied (mg/gfw)	chl (mg/gfw)	chl b (mg/gfw)	chl a (mg/gfw)	Genotypes
0.0055 ^b	0.0066 ^b	0.053 ^b	1.12 ^d	6.62 ^j	2.79 ^g	3.82 ^k	1
0.0024 ^k	0.0066 ^b	0.0547 ^a	0.39 ^l	8.15 ^e	3.59 ^a	4.56 ^h	2
0.0045 ^h	0.0065 ^c	0.0438 ^h	0.21 ⁿ	6.96 ^h	2.20 ^l	4.57 ^g	3
0.0023 ^l	0.0066 ^b	0.0505 ^c	1.41 ^c	11.82 ^a	2.91 ^f	8.91 ^b	4
0.0049 ^e	0.0067 ^a	0.0436 ⁱ	0.64 ^h	7.90 ^f	3.43 ^c	4.46 ⁱ	5
0.0048 ^f	0.0066 ^b	0.0432 ^j	1.01 ^f	11.64 ^b	2.69 ⁱ	8.94 ^a	6
0.0052 ^d	0.0066 ^b	0.051 ^c	0.56 ⁱ	9.39 ^c	1.5 ^m	7.88 ^c	7
0.0057 ^a	0.0066 ^b	0.0432 ^j	1.80 ^a	6.75 ⁱ	1.31 ^o	5.44 ^e	8
0.00325 ⁱ	0.00665 ^{ab}	0.0508 ^d	0.52 ^j	6.15 ^l	2.71 ^h	3.43 ^l	9
0.0025 ^j	0.00665 ^{ab}	0.0431 ^k	1.71 ^b	6.09 ^m	3.08 ^d	3.007 ⁿ	10
0.00535 ^c	0.0066 ^b	0.0455 ^g	1.11 ^e	5.85 ^o	3.50 ^b	2.34 ^o	11
0.00485 ^f	0.0065 ^c	0.046 ^f	0.86 ^g	6.08 ⁿ	3.03 ^e	3.04 ^m	12
0.0047 ^g	0.0065 ^c	0.0431 ^k	0.32 ^m	8.43 ^d	1.4 ⁿ	7.02 ^d	13
0.0048 ^f	0.0064 ^d	0.0455 ^g	0.47 ^k	6.48 ^k	2.62 ^j	3.85 ^j	14
0.0052 ^d	0.0064 ^d	0.0455 ^g	1.41 ^c	7.52 ^g	2.29 ^k	5.22 ^f	15
0.0059 ^g	0.0067 ^c	0.0778 ^a	2.41 ^h	2.41 ^h	1.14 ^{fg}	1.27 ^o	1
0.0052 ⁱ	0.00655 ^{de}	0.0657 ^b	2.38 ^j	6.02 ^{cd}	3.25 ^b	2.76 ^h	2
0.00475 ^j	0.0066 ^d	0.0546 ⁱ	2.96 ^a	7.23 ^a	4.30 ^a	2.92 ^g	3
0.00765 ^d	0.0068 ^c	0.0555 ^f	2.89 ^c	5.73 ^{de}	1.05 ^g	4.67 ^c	4
0.0061 ^e	0.0070 ^a	0.0553 ^g	2.39 ⁱ	5.35 ^e	2.35 ^c	2.99 ^f	5
0.0060 ^f	0.0068 ^c	0.0553 ^g	2.90 ^b	3.53 ^g	1.29 ^{d-g}	2.24 ⁿ	6
0.0059 ^g	0.0068 ^c	0.0505 ^l	2.55 ^e	5.41 ^e	3.15 ^b	2.25 ^l	7
0.00585 ^a	0.0068 ^c	0.0579 ^c	1.94 ^l	3.88 ^{fg}	1.23 ^{e-g}	2.57 ⁱ	8
0.0034 ^k	0.0069 ^b	0.0553 ^g	1.13 ^o	7.60 ^a	4.37 ^a	3.23 ^e	9
0.0061 ^e	0.0068 ^c	0.0548 ⁱ	2.17 ^k	6.31 ^c	1.63 ^{de}	4.67 ^b	10
0.0087 ^b	0.0067 ^c	0.0575 ^e	2.52 ^g	6.26 ^c	1.71 ^d	4.65 ^d	11
0.0085 ^c	0.0069 ^b	0.055 ^h	1.5 ^{m8}	4.12 ^f	1.58 ^{de}	2.53 ^j	12
0.00545 ^h	0.0069 ^b	0.0545 ^k	2.54 ^f	3.60 ^g	1.3 ^{d-g}	2.24 ^m	13
0.0059 ^g	0.00655 ^{de}	0.0503 ^m	1.16 ⁿ	5.62 ^{de}	3.15 ^b	2.47 ^k	14
0.0077 ^d	0.0065 ^e	0.0577 ^d	2.83 ^d	6.83 ^b	1.5 ^{d-f}	5.32 ^a	15

نرمال
Normal

کم آبی
Water deficit

در هر ستون، میانگین‌هایی که حروف مشترک دارند، از لحاظ آماری اختلاف معنی‌داری با هم ندارند.

Means with the similar letters in each column are not significantly different.

کاهش یافته و آب بیشتری برای حفظ تورژانس تحت تنش کم آبی داخل سلول باقی بماند (Somogyi, 1952). نتایج به دست آمده از تجزیه واریانس مرکب نشان داد که میزان پروتئین تحت تأثیر سطوح مختلف تنش قرار گرفته است. بیشترین میزان پروتئین در شرایط نرمال مربوط به ژنوتیپ ۵ (۰/۰۰۶۶۸ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) و در شرایط تنش مربوط به ژنوتیپ ۵ (۰/۰۰۷۰ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) بود (جدول ۳). این داده‌ها با نتایج برخی مطالعات که گزارش کردند با افزایش دور آبیاری، میزان پروتئین برگ به‌طور معنی‌داری کاهش می‌یابد، مطابقت دارد (Keshavarznia *et al.*, 2013).

نتایج مربوط به میزان پرولین نشان داد که تأثیر تنش سبب افزایش میزان پرولین شده است. در شرایط نرمال ژنوتیپ ۱ (۰/۰۰۵۷ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) و در شرایط تنش ژنوتیپ ۸ (۰/۰۰۵۸۵ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) بیشترین میزان پرولین را نشان دادند (جدول ۳). نتایج این پژوهش با دیگر نتایج مبنی بر افزایش پرولین با افزایش تنش کم آبی هم‌راستا می‌باشد (Kafi & Mahdavi Damghani, 2003; Mohammadi, 2013).

افزایش پرولین با کاهش پتانسیل آب برگ آغاز می‌شود، که این افزایش منجر به حفظ تورم و کاهش خسارت غشاء در گیاهان می‌شود. به این ترتیب، با روش تنظیم اسمزی تحمل

همان‌طور که در جدول ۳ مشاهده می‌شود، بیشترین میزان کارتنوئید تحت شرایط نرمال مربوط به ژنوتیپ ۸ (۱/۸۰ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) و در شرایط تنش مربوط به ژنوتیپ ۳ (۲/۹۶ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) بود که این امر نشان می‌دهد این ژنوتیپ‌ها در مقابل تنش کم آبی واکنش بهتری نسبت به سایر ژنوتیپ‌ها داشتند. در بافت‌های فتوسنتزی، کارتنوئیدها به عنوان رنگیزه کمکی عمل می‌کنند اما دارای نقش آنتی‌اکسیدانی و جمع‌کنندگی رادیکال‌های آزاد اکسیژن نیز می‌باشند (Egert & Tevini, 2002). در تنش کم آبی، کاهش میزان کارتنوئید به علت نداشتن مقاومت بوته‌ها به این سطح تنش می‌باشد.

نتایج این پژوهش برای اثر متقابل میزان قندهای احیاء تحت تأثیر سطوح مختلف تنش در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود؛ به طوری که بیشترین میزان آن در شرایط نرمال مربوط به ژنوتیپ ۲ (۰/۰۵۴ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) و در شرایط تنش مربوط به ژنوتیپ ۱ (۰/۰۷۷ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) بود (جدول ۳).

از جمله راهبردهای حفاظتی گیاهان در مقابله با تنش، می‌توان به تجمع اسمولیت‌هایی مثل پرولین، قندهای احیاء و راهبردهای آنزیمی و غیرآنزیمی در برابر تنش اشاره کرد (Majnon Hoseini, 2007; Maralian *et al.*, 2010).

تجمع قندهای محلول داخل سلول‌ها در تنظیم اسمزی نقش مهم ایفا نموده و کمک می‌کند تا پتانسیل آب سلول

ژنوتیپ‌های ۴ و ۶ در گروه اول، ژنوتیپ‌های ۱۳ و ۷ در گروه دوم، ژنوتیپ‌های ۱۵، ۲، ۳، ۵ و ۸ در گروه سوم و در گروه آخر ژنوتیپ‌های ۱، ۱۰، ۹، ۱۱، ۱۲ و ۱۴ قرار داشتند. محققین دیگر نیز با روش‌های مختلف تجزیه خوشه‌ای بر اساس صفات بیوشیمیایی و زراعی، ارقام و ژنوتیپ‌های ذرت را در گروه‌های مختلفی قرار دادند (Iqbal *et al.*, 2015a; Iqbal *et al.*, 2015b; Kumar *et al.*, 2015).

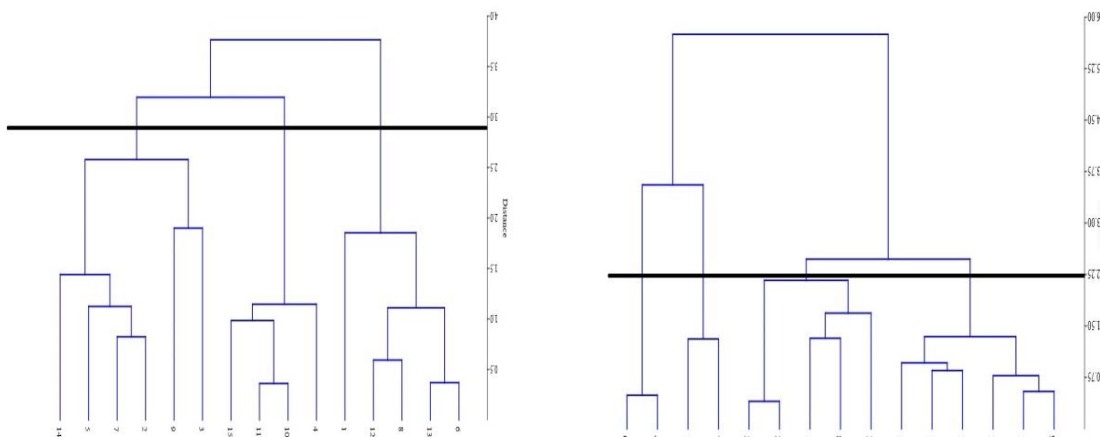
ژنوتیپ‌ها در شرایط تنش خشکی با روش وارد و ضریب کوفنتیک ۰/۷۷، در سه گروه قرار گرفتند (شکل ۲). در نهایت، ژنوتیپ‌های ذرت براساس میانگین صفات در دو شرایط با روش UPGMA و ضریب کوفنتیک ۰/۷۲، در دو گروه قرار گرفتند (شکل ۳). مقایسه گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها در شرایط نرمال، تنش کم آبی و میانگین هر دو شرایط نشان داد که ژنوتیپ‌ها در گروه‌های تقریباً مشابه‌ای قرار گرفته‌اند و درصد شباهت گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها در این سه روش متفاوت (شرایط نرمال، تنش کم آبی و میانگین هر دو شرایط) در حد خوبی بود. بنابراین، از ژنوتیپ‌هایی که بیشترین مقدار صفات را داشتند، می‌توان در برنامه‌های اصلاحی برای بهبود تحمل کم آبی استفاده نمود. همچنین ژنوتیپ‌های ۴، ۵، ۹ و ۱۱ می‌توانند به عنوان ژنوتیپ‌های متحمل مورد بررسی بیشتری قرار گیرند.

به تنش کم آبی افزایش می‌یابد (Smallwood *et al.*, 1999).

تجزیه خوشه‌ای ژنوتیپ‌های ذرت در شرایط نرمال و تنش کم آبی

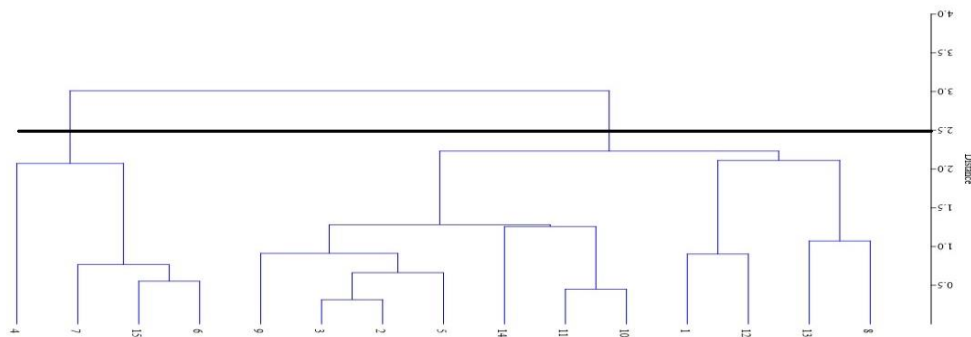
محققین برای دستیابی به حداکثر هتروزیس در پی ارقام یا ژنوتیپ‌هایی هستند که معمولاً از نظر ژنتیکی از هم دور باشند و به عنوان والدین در هر تلاقی انتخاب شوند (Flint-Garcia *et al.*, 2009). این امر مهم می‌تواند از طریق بررسی فاصله ژنتیکی موجود بین ژنوتیپ‌ها بر اساس صفات فنوتیپی و با استفاده از روش تجزیه خوشه‌ای به دست آید. لاین‌هایی که در گروه‌های دور از هم قرار می‌گیرند، در برنامه‌های اصلاحی و دورگ‌گیری به عنوان والدین در انجام تلاقی‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرند تا تنوع ژنتیکی بیشتری حاصل شود (Kokab *et al.*, 2016). از روش‌های مختلف تجزیه خوشه‌ای با معیار مختلف فاصله برای تعیین میزان تنوع بین ژنوتیپ‌های مورد مطالعه استفاده می‌شود (Saed-Moucheshi *et al.*, 2013).

نتایج نشان داد که روش UPGMA بیشترین مقدار ضریب همبستگی کوفنتیک (۰/۸۳) را برای گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها در شرایط نرمال داشت و بنابراین تجزیه خوشه‌ای با این روش انجام شد. تجزیه خوشه‌ای، ژنوتیپ‌های ذرت را در شرایط نرمال به چهار گروه تقسیم نمود (شکل ۱).



شکل ۱- دندروگرام تجزیه خوشه‌ای ژنوتیپ‌های ذرت در شرایط نرمال. شکل ۲- دندروگرام تجزیه خوشه‌ای ژنوتیپ‌های ذرت در شرایط تنش کم آبی.

Figure 1. Dendrogram of cluster analysis of corn genotypes under normal conditions. Figure 2. Dendrogram of cluster analysis of corn genotypes under water deficit conditions.



شکل ۳- دندروگرام تجزیه خوشه‌ای ژنوتیپ‌های ذرت بر اساس میانگین صفات در هر دو شرایط.

Figure 3. Dendrogram of cluster analysis of corn lines based on the average traits in both conditions.

نتیجه‌گیری

در این مطالعه با توجه به بررسی صفات فیزیولوژیک و بیوشیمیایی در دو شرایط نرمال و کم آبی، می‌توان بیان کرد که کمبود آب سبب مختل شدن فرآیندهای بیوشیمیایی گیاه ذرت و در نهایت منجر به تغییرات ریخت‌شناسی در این گیاه گردیده است. در این بررسی میزان کلروفیل a ، کلروفیل b، کلروفیل کل، کارتنوئید، قندهای احیاء و

پروتئین تحت تنش کم آبی کاهش یافته و میزان پرولین افزایش پیدا کرد. با انجام این پژوهش مشخص گردید که عدم تحمل ژنوتیپ‌های ذرت به تنش کم آبی، به احتمال زیاد به دلیل تخریب کلروفیل، کاهش میزان قندهای احیاء، کاهش پروتئین و افزایش ناکافی میزان پرولین صورت گرفته است که در نتیجه این تغییرات بیوشیمیایی باعث حساسیت این گیاه به تنش کم آبی شده است.

References

- Bates, L., Waldren, R., & Teare, I. 1973. Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and Soil*, 39, 205-207.
- Boyer, J.S. 1995. Biochemical and biophysical aspects of water deficits and the predisposition to disease. *Annual Review of Phytopathology*, 33, 251-274.
- Bradford, M.M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72, 248-254.
- Egert, M., & Tevini, M. 2002. Influence of drought on some physiological parameters symptomatic for oxidative stress in leaves of chives (*Allium schoenoprasum*). *Environmental and Experimental Botany*, 48, 43-49.
- Flint-Garcia, S.A., Buckler, E.S., Tiffin, P., Ersoz, E., & Springer, N.M. 2009. Heterosis is prevalent for multiple traits in diverse maize germplasm. *PLoS one*, 4, e7433.
- Hammer, Ø., Harper, D., & Ryan, P. 2001. PAST: Paleontological statistics software package for education and data analysis. *Palaeontologia Electronica*, 4, e4.
- Imam, E. 2004. Grain Farming. Publications of Shiraz University, Shiraz, Iran. [In Persian].
- Iqbal, J., Shinwari, Z.K., & Rabbani, M.A. 2015a. Maize (*Zea mays* L.) germplasm agro-morphological characterization based on descriptive, cluster and principal component analysis. *Pakistan Journal of Botany*, 47, 255-264.
- Iqbal, J., Shinwari, Z.K., Rabbani, M.A., & Khan, S.A. 2015b. Genetic divergence in maize (*Zea mays* L.) germplasm using quantitative and qualitative traits. *Pakistan Journal of Botany*, 47, 227-238.
- Johari-Pireivatlou, M. 2010. Effect of soil water stress on yield and proline content of four wheat lines. *African Journal of Biotechnology*, 9, 36-40.
- Kafi, M.A., & Mahdavi Damghani, M. 2003. Mechanisms of Environmental Stress Resistance in Plants. Ferdosi University of Mashhad Press, Iran. [In Persian].
- Keshavarznia, R., Nargesi, B., & Abasi, A. 2013. The study of genetic variation of bean (*Phaseolus vulgaris* L.) based on morphological traits under normal and stress conditions. *Iranian Journal of Field Crop Science*, 44, 305-315 [In Persian].
- Kokab, S., Hatami Maleki, H., Alizadeh, K., & Rahimi, M. 2016. Evaluation of genotypic variation of sunflower inbred lines for agronomic traits under cold rainfed conditions using multiple factor analyses. *Iranian Dryland Agronomy Journal*, 5, 157-169 [In Persian].
- Koochaki, A.H., & Alizadeh, A. 1986. The principles of agriculture in arid regions. (Translation). Astan Quds Razavi publications, Mashhad, Iran. [In Persian].
- Kramer, P.J. 1969. Plant and soil water relationships: A modern synthesis. Mc Grow-Hill Book Co New York.
- Kumar, A., Kumari, J., Rana, J., Chaudhary, D., Kumar, R., Singh, H., Singh, T., & Dutta, M. 2015. Diversity among maize landraces in North West Himalayan region of India assessed by agro-morphological and quality traits. *Indian Journal of Genetics and Plant Breeding*, 75, 188-195.
- Lawlor, D.W. 2002. Limitation to photosynthesis in water-stressed leaves: stomata vs. metabolism and the role of ATP. *Annals of Botany*, 89, 871-885.
- Majnon Hoseini, N. 2007. Common Bean Planting and Production. Tehran Jahad e Daneshgahi Press, Tehran, Iran. [In Persian].
- Maralian, H., Ebadi, A., & Haji-Eghrari, B. 2010. Influence of water deficit stress on wheat grain yield and proline accumulation rate. *African Journal of Agricultural Research*, 5, 286-289.
- Mohammadi, D. 2013. Antioxidant activity and morphometric black bean genotypes in normal conditions and water stress. Ilam University, Ilam, Iran. 131p.
- Nasrollahzade Asl, V., Shiri, M.R., Moharramnejad, S., Yusefi, M., & Baghbani, F. 2017. Effect of drought tension on agronomy and biochemical traits of three maize hybrids (*Zea mays* L.). *Crop Physiology Journal*, 8, 45-60 [In Persian].
- Ragh Ara, H., & Moosavi, S.G.R. 2018. Effect of water deficit stress and application of humic and salicylic acid on physiological traits, yield and yield components of corn. *Journal of Iranian Plant Ecophysiological Research*, 13, 88-101 [In Persian].

- Saed-Moucheshi, A., Fasihfar, E., Hasheminasab, H., Rahmani, A., & Ahmadi, A. 2013. A review on applied multivariate statistical techniques in agriculture and plant science. *International Journal of Agronomy and Plant Production*, 4, 127-141.
- Sas-Institute-Inc. 2014. *Base SAS 9.4 Procedures Guide: Statistical Procedures, Third Edition*. SAS Institute Inc., Cary, NC, USA.
- Shakeel, A.A., Xiao-Yu, X., Long-Chang, W., Muhammad, F.S., Chen, M., & Wang, L. 2011. Morphological, physiological and biochemical responses of plants to drought stress. *African Journal of Agricultural Research*, 6, 2026-2032.
- Smallwood, M., Calvert, C., & Bowles, D. 1999. *Plant responses to environmental stress*. BIOS Scientific Pub, Oxford UK.
- Somogyi, M. 1952. Notes on sugar determination. *Journal of Biological Chemistry*, 195, 19-23.
- Sudhakar, P., Latha, P., & Reddy, P. 2016. *Phenotyping crop plants for physiological and biochemical traits*. Academic Press.
- Yusefi, M., Nasrollahzade Asl, V., & Moharramnejad, S. 2017. Grain yield, chlorophyll content, osmolyte accumulation, total phenolics and catalase activity in maize (*Zea mays* L.) under drought stress. *Journal of Iranian Plant Ecophysiological Research*, 12, 1-14 [In Persian].