

اثر تنش خشکی بر خصوصیات زراعی و بیوشیمیایی سه هیبرید ذرت (*Zea mays* L.)

وحید نصراله‌زاده اصل^۱، محمدرضا شیرینی^۲، سجاد محرم‌نژاد^{۳*}، مهری یوسفی^۴ و فرهاد باغبانی^۵

۱، ۴ و ۵) گروه علوم کشاورزی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران

۲) مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران.

۳) گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران.

* نویسنده مسئول: sm.chakherlo@yahoo.com

تاریخ پذیرش: ۹۵/۰۵/۰۳

تاریخ دریافت: ۹۵/۰۲/۰۷

چکیده

به‌منظور بررسی عملکرد دانه، وزن صد دانه، شاخص تحمل به خشکی (STI)، غلظت کلروفیل ($a+b$)، میزان پروتئین و قندهای محلول هیبریدهای ذرت در پاسخ به تنش خشکی، این آزمایش به‌صورت کرت‌های خردشده در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در چهار تکرار طی دو سال ۱۳۹۰ و ۱۳۹۱ در مزرعه ایستگاه تحقیقاتی مغان اجرا شد. عامل اصلی آبیاری در دو سطح (آبیاری عادی و قطع آبیاری در مرحله پر شدن دانه) و عامل فرعی هیبریدهای ذرت (سینگل کراس ۷۰۰، سینگل کراس KLM و سینگل کراس ۷۰۴) بودند. تجزیه مرکب داده‌ها نشان داد که تنش خشکی بر همه صفات اثر معنی‌داری داشت. تنش خشکی باعث کاهش ۳۲/۶۷ درصدی عملکرد دانه، ۱۸/۵۹ وزن صد دانه و ۱۵/۷۱ درصدی غلظت کلروفیل ($a+b$) شد؛ اما تنش خشکی باعث افزایش ۸۸/۷۷ درصدی میزان پروتئین و ۴۵/۵۱ درصدی میزان قندهای محلول گردید. مقدار STI برای سینگل کراس ۷۰۴، سینگل کراس KLM و سینگل کراس ۷۰۰ به ترتیب ۱/۰۱، ۰/۷۰ و ۰/۵۰ بودند. بیش‌ترین مقدار عملکرد دانه، وزن صد دانه، غلظت کلروفیل ($a+b$)، میزان پروتئین و کم‌ترین مقدار قندهای محلول مربوط به سینگل کراس ۷۰۴ بود. بر اساس نتایج حاصل سینگل کراس ۷۰۴، سینگل کراس KLM و سینگل کراس ۷۰۰ مورد مطالعه به ترتیب جزء ارقام متحمل، نیمه متحمل و حساس به تنش خشکی شناسایی شدند.

واژه‌های کلیدی: تنش خشکی، ذرت، و قندهای محلول.

مقدمه

آب از مهم‌ترین عوامل محدود کننده رشد و تولید گیاهان به‌ویژه در مناطق خشک است. هر سال خسارت زیادی از طریق خشکی در مناطق کشت ذرت به این گیاه وارد می‌شود. در مناطق گرمسیری عملکرد دانه ذرت به طور متوسط در حدود ۱۷ درصد کاهش می‌یابد، اما بسته به شدت تنش و زمان وقوع آن کاهش عملکرد می‌تواند به ۸۰ درصد هم برسد (Ribaut *et al.*, 2012). عملکرد ذرت تحت اثر شرایط محیطی، پتانسیل ژنتیکی و برهم کنش آن‌ها قرار می‌گیرد. اگر چه همه تنش‌های محیطی زنده و غیر زنده از عوامل تهدیدکننده تولید ذرت به حساب می‌آیند، اما در حال حاضر تنش کم آبی مهم‌ترین عامل محدود کننده برای تولید موفق ذرت در ایران و جهان به شمار می‌رود (شیری و بهرامپور، ۱۳۹۴).

واکنش گیاهان به تنش خشکی به ماهیت کمبود آب وابسته است و پاسخ گیاهان به تنش خشکی می‌تواند به صورت پاسخ کوتاه مدت، پاسخ میان مدت و پاسخ بلند مدت طبقه‌بندی شود. پاسخ کوتاه مدت به تنش کم آبی با کاهش حداکثر جذب CO₂ همراه است. از جمله واکنش‌های میان مدت به تنش خشکی، تنظیم اسمزی به وسیله تجمع نمک‌ها و پاسخ بلندمدت به خشکی شامل الگوهای ژنتیکی تسهیم زیست‌توده می‌باشد (Zaltev and Lidon, 2012). تنش خشکی 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. در فرایند تنظیم اسمزی، تورژسانس و فرایندهای وابسته به آن تحت شرایط کمبود آب ادامه می‌یابد. از این رو تنظیم اسمزی به توسعه سلولی و رشد گیاه در تنش آبی کمک می‌کند. تحمل به خشکی صفتی پیچیده‌ای است که ظهور آن به عوامل مختلفی از جمله ویژگی‌های مرفولوژی، فیزیولوژی و بیوشیمیایی و برهمکنش بین آنها بستگی دارد. Ashraf (۲۰۱۰) معتقد است شناخت اساس فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی تحمل به خشکی و استفاده از آن‌ها در بهبود تحمل به خشکی بسیار مهم است. به دلیل غیر یکنواخت بودن محیط خاک و مشکل بودن کنترل عوامل محیطی در شرایط مزرعه-ای، ارزیابی آزمایشگاهی در برآورد تحمل به خشکی ژنوتیپ‌ها اهمیت ویژه‌ای دارد.

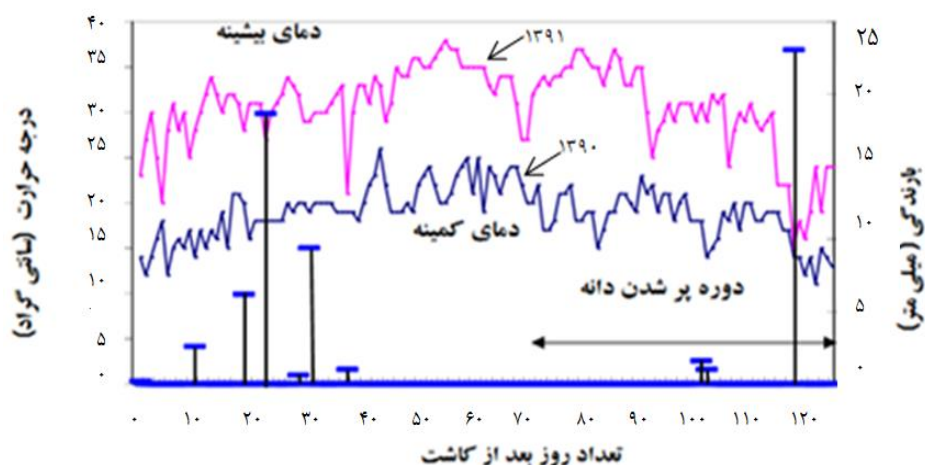
Makumbi و همکاران (۲۰۱۰) تحت شرایط بدون تنش و تنش خشکی در ذرت اظهار کردند که، میزان فتوسنتز خالص، سرعت رشد نسبی، شاخص سطح برگ، درصد رطوبت نسبی، عملکرد دانه و شاخص برداشت در اثر تنش کاهش می‌یابد. Kaman و همکاران (۲۰۱۱) با اعمال تنش خشکی در مرحله رشد رویشی در ذرت به این نتیجه رسیدند که تنش شدید در این مرحله باعث کاهش معنی‌دار ارتفاع ساقه، ارتفاع بلال از سطح خاک، تعداد برگ، تعداد گره و میان‌گره، وزن خشک پوشش بلال و طول بلال می‌گردد. تنش ملایم و شدید خشکی باعث کاهش معنی‌دار وزن خشک نهایی ساقه، برگ و شاخساره و افزایش معنی‌دار شاخص برداشت و کارایی استفاده از آب شد. عملکرد دانه به میزان هفت درصد کاهش یافت.

بنابراین، به نظر می‌رسد که کاهش جزئی اندازه مبدأ فیزیولوژیک در زمان رشد رویشی در اثر تنش خشکی، لزوماً باعث افت عملکرد دانه نشود. بنابراین، تخصیص مقداری از آب مصرفی ذرت در زمان رشد رویشی برای مصرف در زراعت‌های دیگر امکان‌پذیر است. بین محتوای کلروفیل برگ و سرعت فتوسنتز آن همبستگی بالایی وجود دارد. 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 در سطح کلروفیل در طی تنش خشکی در بیشتر گونه‌ها گزارش شده است که وابسته به مدت و شدت خشکی است (Giancarla *et al.*, 2013).

القای سنتز اسید آمینه پرولین از نخستین پاسخ‌های گیاه به تنش‌های محیطی محسوب می‌شود. افزایش پرولین باعث سازش بیشتر سلول با شرایط تنش و حفاظت از آنزیم‌های موجود در سیتوزول و ساختارهای سلولی می‌شود. تجمع آسیمیلات‌ها در سیتوزول امکان تعدیل فشار اسمزی را در سلول فراهم می‌کند و همچنین باعث پایداری آنزیم‌ها در حضور یون‌ها می‌شود. تحت شرایط تنش، پرولین اثرات بیولوژیکی متعددی از جمله کنترل بیان ژن، غیرفعال کردن رادیکال‌های آزاد، منبع نیتروژن ذخیره‌ای، منبع کربن، محافظت ماکرومولکول‌ها، غشاء و تنظیم‌کننده‌های اسمزی را سبب می‌شود که در اعمال حفاظتی و تعدیل اسمزی تظاهر می‌یابند. آنزیم‌ها نیز به دلیل ساختمان پروتئینی خود تحت اثر سازوکار حفاظتی پرولین قرار گرفته و محافظت می‌شوند. پرولین می‌تواند همانند سازی DNA و نسخه‌برداری از آن را آسان نموده و بنابراین اثر قابل ملاحظه‌ای بر زنده ماندن ریز جانداران تحت شرایط تنش داشته که همه این فرآیندها سبب بقاء گیاه در شرایط تنش و تولید عملکرد مناسب را به دنبال دارد (Ashraf and Foolad, 2007). نتایج آزمایش‌ها نشان داده است که تجمع پرولین و کربوهیدرات محلول در جهت تنظیم اسمزی در صورتی روی می‌دهد که پتانسیل آب بیش از یک مگا پاسکال کاهش یابد (Ashraf, 2010). با این حال در برخی از گزارش‌ها نیز قید شده است که ارقام متحمل به تنش همیشه میزان پرولین بالایی ندارند و حتی مشاهده شده است که ارقام حساس به تنش پرولین بیشتری نسبت به ارقام متحمل دارند (Gill and Tuteja, 2010). وحید نصراله‌زاده اصل و همکاران (۱۳۹۶) بیان کردند که تنش خشکی در مرحله بعد از گل‌دهی به‌طور معنی‌دار باعث کاهش عملکرد دانه هیبریدهای ذرت مورد مطالعه گردید. محرم‌نژاد و همکاران (۱۳۹۵) در بررسی اثر تنش خشکی در مرحله پر شدن دانه در هیبریدهای ذرت اظهار داشتند که تنش خشکی به‌طور معنی‌دار باعث کاهش عملکرد دانه و میزان کلروفیل و افزایش میزان پرولین و قندهای محلول در هیبریدهای ذرت مورد مطالعه شد. هدف از این پژوهش مطالعه نحوه پاسخ هیبریدهای ذرت به تنش خشکی از طریق صفات عملکرد دانه، وزن صد دانه، شاخص تحمل به خشکی (STI)، غلظت کلروفیل ($a+b$)، میزان پرولین و غلظت قندهای محلول بود.

مواد و روش ها

این تحقیق طی دو سال ۱۳۹۰ و ۱۳۹۱ در ایستگاه تحقیقات کشاورزی مغان واقع در شمالی‌ترین نقطه استان اردبیل (بین ۳۹ درجه و ۴۱ دقیقه عرض شمالی و ۴۷ درجه و ۳۲ دقیقه طول شرقی و ارتفاع ۴۵ تا ۵۰ متر از سطح دریای آزاد) اجرا شد. ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک محل آزمایش در جدول ۱ ارائه شده است.



شکل ۱: مقادیر دمای بیشینه، دمای کمینه و میزان بارندگی (میله های عمودی) در طی سال‌های اجرای آزمایش (۱۳۹۰ و ۱۳۹۱) در طول دوره رشد هیبریدهای مورد مطالعه در منطقه مغان

براساس آمار آب و هوایی ایستگاه هواشناسی سینوپتیک پارس آباد، این منطقه جزء اقلیم نیمه بیابانی خفیف بوده، دارای زمستان‌های ملایم و تابستان‌های گرم می‌باشد. در سال اول اجرای آزمایش (سال ۱۳۹۰)، میانگین دمای بیشینه، دمای کمینه، رطوبت نسبی و کل بارندگی به ترتیب برابر با ۲۰/۷ سانتی گراد، ۹/۸ سانتی گراد، ۷۰/۳ درصد و ۲۱۶/۸ میلی متر بود. این اعداد در طول دوره رشد ذرت (از زمان کاشت تا رسیدن فیزیولوژیکی) به ترتیب برابر با ۳۰/۶ سانتی گراد، ۱۸/۹ سانتی گراد، ۶۳/۹ درصد و ۶۴/۴ میلی متر بود. در این سال حدود ۷۰ درصد بارندگی سالانه در خارج از دوره رشد ذرت و ۳۰ درصد آن در طول دوره رشد ذرت اتفاق افتاده است. از ۳۰ درصد بارندگی اتفاق افتاده در محدوده زمانی رشد ذرت، تنها ۱۲ درصد آن در طول دوره پر شدن دانه بوده است (شکل ۱). در سال ۱۳۹۱ وضعیت مشابهی با سال ۱۳۹۰ در منطقه مغان مشاهده شد. به دلیل شرایط اقلیمی منطقه، زراعت ذرت به میزان زیادی به آبیاری احتیاج دارد.

عملیات تهیه بستر شامل شخم برگردان، رتیواتور، دیسک و تسطیح بهاره بود. قبل از کاشت، معادل ۳۰۰ کیلوگرم در هکتار فسفات آمونیوم و ۳۰۰ کیلوگرم در هکتار اوره که نیمی از آن قبل از کاشت و مابقی در مرحله ۸ تا ۱۰ برگی به عنوان کود سرک توزیع شد و سپس آبیاری صورت گرفت. هر کرت آزمایشی شامل چهار خط به فاصله ۷۵ سانتی متر و به طول ۵ متر بود که در روی هر خط جهت اطمینان از سبز شدن دو بذر در ۲۵ نقطه به فاصله ۲۰ سانتی متر به صورت

دستی کاشته شد. پس از تنک کردن در مرحله ۵-۴ برگی (حدود ۱۸ روز بعد از کاشت) فقط یک بوته در هر نقطه نگه داشته شد. وجین علف‌های هرز از مرحله ابتدایی کاشت تا مراحل نهایی به صورت دستی انجام شد.

در این بررسی تعداد سه هیبرید (سینگل کراس KLM، سینگل کراس ۷۰۰ و سینگل کراس ۷۰۴) در دو شرایط آبیاری کامل (دور آبیاری بر اساس نیاز گیاه بین هفت تا ۱۰ روز) و شرایط قطع آبیاری در دوره پر شدن دانه (قطع آبیاری بعد از اتمام گرده افشانی تا آخر دوره رشد) به صورت کرت‌های خرد شده و در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با چهار تکرار مورد ارزیابی قرار گرفتند.

میزان کلروفیل

برای تعیین میزان کلروفیل بر اساس روش پیشنهادی Porra و همکاران (۱۹۸۹) در هر کرت آزمایشی، به‌طور تصادفی تعداد پنج برگ از پنج بوته برداشت و از هر برگ تعداد سه حلقه (در هر کرت ۱۵ حلقه) به قطر ۰/۵ سانتی‌متر از پهنک برگ تهیه شد. سپس نمونه‌های برگ به لوله‌های آزمایشی استریل شده که یکی حاوی پلی اتیلن گلایکول و دیگری آب خالص بود، منتقل شدند. بعد از نگهداری به مدت ۲۴ ساعت در دمای اتاق، نمونه‌های برگ از لوله‌های آزمایشی خارج و در کاغذ صافی خشک شدند. سپس نمونه‌های برگ خشک شده را در لوله آزمایشی محتوی پنج میلی لیتر دی اتیل اتر (Diethylethe) ۹۰ درصد قرار داده و در شرایط دمای اطاق به مدت پنج روز تا زمانی که همه کلروفیل‌ها از نمونه‌های برگ جدا شدند، نگهداری گردیدند. پس از آن لوله‌های آزمایشی محتوی کلروفیل نمونه برگ در داخل دستگاه اسپکتروفتومتر گذاشته و غلظت محلول در طول موج‌های E₆₆₅ و E₆₄₉ نانومتر قرائت شد و نهایتاً میزان کلروفیل (a+b) با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد (شیری و همکاران، ۱۳۹۴).

$$\text{Chlorophyll}_{a+b} (\mu\text{g/ml}) = 6.10 E_{665} + 20.04 E_{649} \quad \text{رابطه ۱:}$$

شاخص تحمل به خشکی (STI)

به منظور شناسایی هیبریدهای متحمل بر اساس عملکرد دانه از شاخص تحمل به خشکی (STI) پیشنهادی Fernandez (۱۹۹۲) استفاده گردید. ارقامی که دارای STI بیشتر، جزء ارقام متحمل به خشکی شناسایی می‌شوند.

$$STI = \left(\frac{Y_P \times Y_S}{Y_P} \right) \quad \text{رابطه ۲:}$$

در برآورد این شاخص از عملکرد هیبریدها در شرایط آبیاری کامل (Y_P) و عملکرد هیبریدها در شرایط تنش خشکی در مرحله پر شدن دانه (Y_S) استفاده گردید.

پرولین

جهت استخراج و سنجش پرولین از روش Bates و همکاران (۱۹۷۳) استفاده شد. بدین منظور مقدار ۰/۵ گرم از بافت برگ به همراه ۱۰ میلی لیتر اسید سو لفوسالیسیلیک ۳ درصد در هاون چینی ساییده و محلول حاصل توسط کاغذ صافی واتمن شماره دو صاف شد و از آن برای سنجش پرولین استفاده گردید. دو میلی لیتر از محلول حاصل با دو میلی لیتر معرف نین هیدرین و دو میلی لیتر اسید استیک گلاسیال در یک لوله آزمایش مخلوط شدند. لوله های آزمایش به مدت یک ساعت در حمام آب گرم ۱۰۰ درجه سلسیوس قرار گرفته و بلافاصله به ظرف حاوی یخ منتقل شدند تا واکنش خاتمه یابد و پس از آن به دمای اتاق منتقل شدند. سپس، به محتویات داخل لوله آزمایش مقدار چهار میلی لیتر تولوئن افزوده و به مدت ۳۰ ثانیه به شدت مخلوط شدند. این عمل موجب دو فازه شدن محتویات لوله شد (فاز تولوئن رنگی حاوی پرولین در بالا و فاز آبی شفاف در پایین) پس از مدت ۲۰ دقیقه، جذب نوری محلول فوقانی با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۲۰ نانومتر اندازه گیری شد.

قندهای محلول

برای اندازه گیری میزان کربوهیدرات محلول در برگ، ابتدا مقدار ۰/۵ گرم از بافت سبز برگ فریز شده در داخل ۵ میلی لیتر اتانول ۹۵ درصد در هاون کاملاً له و به لوله های آزمایش درب دار منتقل گردید و به مدت ۳۰ ثانیه به آرامی به هم زده شد. بعد مایع رویی جدا و به لوله درب دار به حجم ۲۰ سی سی منتقل شد. سپس دو بار و هر بار ۵ میلی لیتر اتانول ۷۰ درصد به بخش جامد باقی مانده اضافه و کاملاً شستشو گردید. کلیه مراحل فوق در یخ و نور کم انجام گرفت. سپس بخش مایع رویی به لوله آزمایش منتقل شد. در نهایت ۱۵ میلی لیتر از عصاره به دست آمده به مدت ۱۵ دقیقه با ۳۵۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. قسمت محلول زلال به دست آمده جدا و به ۰/۱ میلی لیتر از آن، مقدار ۳ میلی لیتر محلول آنترون (۰/۱۵ گرم آنترون + ۱۰۰ میلی لیتر اسید سولفوریک اضافه گردید. لوله های حاوی محلول های فوق به مدت ۱۰ دقیقه در حمام آب گرم قرار داده و سپس میزان جذب آنها را با دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۶۲۵ نانومتر قرائت شد (Schegel, 1956).

تجزیه تحلیل آماری

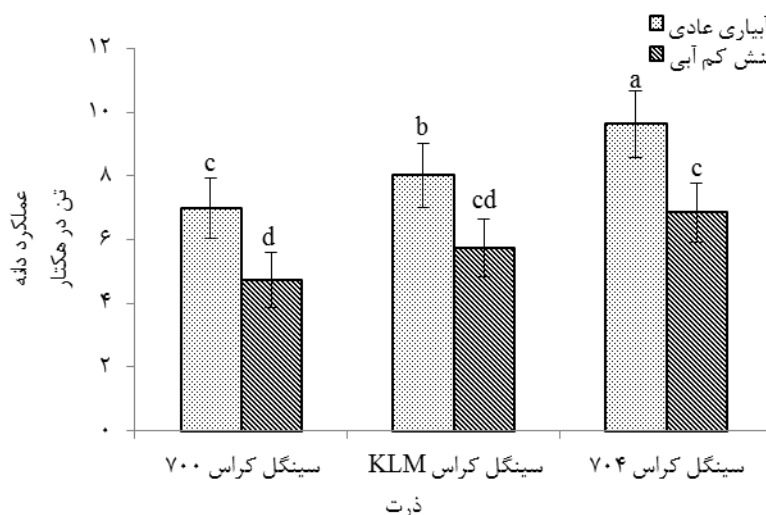
آزمون نرمال بودن داده ها قبل از تجزیه واریانس مرکب توسط تست کولموگروف- اسمیرنوف انجام گرفت. مقایسه میانگین داده ها توسط آزمون دانکن در سطح احتمال پنج درصد صورت گرفت. تجزیه های آماری و تست نرمال بود با استفاده از نرم افزار SPSS 16.0 به اجرا در آمد.

نتایج و بحث

عملکرد دانه

براساس نتایج تجزیه جدول ۲ اثر ساده و برهمکنش تنش خشکی و هیبرید بر عملکرد دانه ذرت در سطح احتمال یک درصد معنی دار بود. تنش خشکی باعث کاهش ۳۲/۶۷ درصد عملکرد دانه هیبریدهای مورد مطالعه نسبت به شرایط آبیاری عادی گردید. مقایسه میانگین برهمکنش تنش خشکی × هیبرید عملکرد دانه ذرت نشان داد که سینگل کراس ۷۰۴ و سینگل کراس ۷۰۰ به ترتیب بیشترین و کمترین عملکرد دانه‌ای را در هر دو شرایط آبیاری داشتند (شکل ۲). درصد کاهش عملکرد دانه تحت تنش خشکی نسبت به شرایط آبیاری عادی در سینگل کراس ۷۰۰، سینگل کراس KLM و سینگل کراس ۷۰۴ به ترتیب ۳۲/۲۸، ۲۸/۳۴ و ۲۸ بود.

کلامیان و همکاران (۱۳۸۴) اظهار کردند که کاهش شدیدتر عملکرد دانه در مورد هیبریدهای میان رس و دیررس سینگل کراس ۶۴۷ و سینگل کراس ۷۰۴ در صورت اعمال تنش خشکی وجود دارد. در حالی که هیبرید سینگل کراس ۳۰۱، کاهش کمتری در عملکرد دانه داشت. تنش خشکی در مراحل گل‌دهی و پر شدن دانه به ترتیب موجب کاهش ۲۹/۲ و ۱۸/۱ درصدی عملکرد دانه می‌شود (شیری و بهرامپور، ۱۳۹۴). کاهش عملکرد دانه ذرت در اثر تنش خشکی در مراحل زایشی به کاهش کارایی فتوسنتز و کوتاه شدن طول دوره رشد بستگی دارد (Ribaut *et al.*, 2012). بیشترین بخش وزن دانه از فتوسنتز بوته پس از مرحله گل‌دهی تأمین می‌شود. بنابراین، در مدیریت مزرعه هرچه طول دوره سبزمانی برگ‌ها زیادتر باشد، هیدرات کربن بیشتری به دانه منتقل خواهد شد. تنش آبی با کاستن از طول دوره سبزمانی برگ در مراحل پایانی رشد، موجب افت شدید تولید مواد پرورده توسط اندام‌های فتوسنتزی می‌شود (Ashraf, 2010). عملکرد بالای دانه در تیمار اعمال تنش خشکی در مرحله پرشدن دانه در مقایسه با مرحله گل‌دهی را می‌توان به انتقال مجدد مواد پرورده نسبت داد. اعمال تنش‌های محیطی (خشکی) به گیاه در هنگام پر شدن دانه، سهم مواد پرورده را در انتقال مجدد در پر شدن دانه بیشتر می‌کند (Ribaut *et al.*, 2012). در رابطه با اثر تنش خشکی بعد از گل‌دهی بر عملکرد ذرت، Yan و همکاران (۲۰۱۶) گزارش کردند که عملکرد دانه حدود ۱۸ درصد در مقایسه با شاهد کاهش داشت. شیری و بهرامپور (۱۳۹۴) با بررسی پایداری هیبریدهای مختلف ذرت براساس عملکرد دانه تحت تنش خشکی طی دو سال زراعی اظهار کردند که سینگل کراس ۷۰۴ بیشترین پایداری و عملکرد دانه را داشت. ربانی و امام (۱۳۹۰) گزارش کردند که سینگل کراس ۷۰۴ تغییرات کمتری نسبت به اعمال تنش خشکی در مراحل مختلف داشته که با نتایج این پژوهش مطابقت دارد. به نظر می‌رسد این هیبرید در شرایط تنش خشکی دارای عملکرد و تحمل بیشتری نسبت به سایر هیبریدها باشد.



شکل ۲: میانگین اثر تنش خشکی و هیبریدها بر عملکرد دانه ذرت طی دو سال زراعی (ستون‌های دارای حرف مشترک براساس آزمون مقایسه میانگین‌ها فاقد اختلاف آماری معنی‌دار می‌باشند).

جدول ۲: تجزیه واریانس مرکب عملکرد دانه، وزن صد دانه، غلظت کلروفیل ($a+b$)، میزان پروتئین و قندهای محلول در سه هیبرید ذرت تحت تنش خشکی طی دو سال زراعی

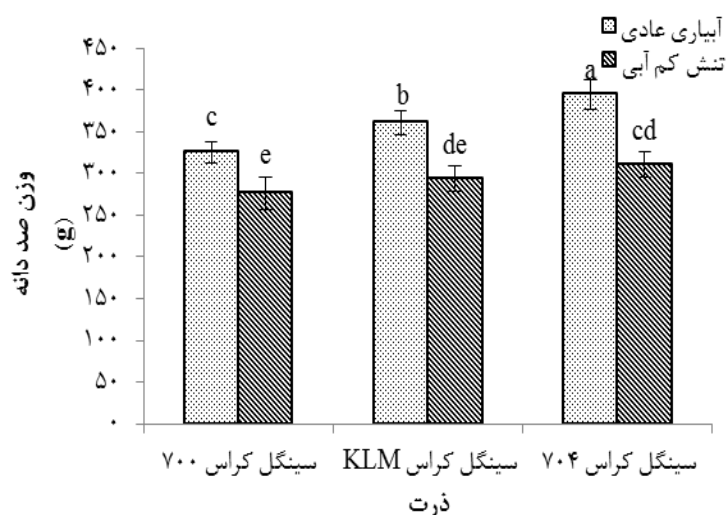
منابع تغییر	درجات آزادی	میانگین مربعات			
		عملکرد دانه	وزن صد دانه	کلروفیل ($a+b$)	پروتئین
سال	۱	۵۴/۲ ^{ns}	۴۲/۵ ^{ns}	۱/۶ ^{ns}	۶/۷ ^{ns}
سال/تکرار	۶	۷۰/۴	۴۶/۷	۰/۳	۵/۶
خشکی	۱	۹۰/۱۵ ^{**}	۵۰۹/۱ ^{**}	۶/۱ ^{**}	۱۸/۹ ^{**}
سال × خشکی	۱	۱۰/۳ ^{ns}	۹/۱ ^{ns}	۰/۸ ^{ns}	۶/۴ ^{ns}
خطای اصلی	۶	۱۰۰/۷	۹۰/۶	۳/۱	۱۲/۶
هیبرید	۲	۴۱۰/۱۸ ^{**}	۱۲۱۱/۳ ^{**}	۲۰/۱ [*]	۲۰/۱ ^{ns}
سال × هیبرید	۲	۵۴۱/۳ ^{ns}	۱۴۵/۷ ^{ns}	۴/۳ ^{ns}	۱۳/۳ ^{ns}
هیبرید × خشکی	۲	۱۱۱/۷ ^{**}	۲۰۰/۵ ^{**}	۴/۲ ^{**}	۴۲/۷ ^{**}
سال × خشکی × هیبرید	۲	۲۰/۳ ^{ns}	۳۰/۳ ^{ns}	۰/۶ ^{ns}	۷/۲ ^{ns}
خطای فرعی	۳۰	۸۹/۹	۹۳/۷	۱/۱	۹/۳
ضریب تغییرات (%)		۲۵/۴	۱۷/۳	۲۵/۴	۱۲/۳

ns، * و **: به ترتیب غیرمعنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال پنج و یک درصد.

وزن صد دانه

اثرات اصلی تنش و هیبرید بر وزن صد دانه هیبریدهای مورد مطالعه در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. بین برهمکنش تنش × هیبرید اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد برای وزن صد دانه وجود داشت (جدول ۲). افت وزن صد دانه ناشی از تنش آبی نسبت به تیمار شاهد ۱۸/۵۹ درصد بود. مقایسه میانگین برهمکنش تنش خشکی × هیبرید وزن صد دانه ذرت نشان داد که سینگل کراس ۷۰۴ بیش‌ترین وزن صد دانه را در شرایط آبیاری عادی به خود اختصاص داد (شکل ۳). درصد کاهش عملکرد دانه تحت تنش خشکی نسبت به شرایط آبیاری عادی در سینگل کراس ۷۰۰، سینگل کراس KLM و سینگل کراس ۷۰۴ به ترتیب ۳۲/۲۸، ۲۸/۳۴ و ۲۸ به دست آمد.

تنش آبی با اثر بر فرایند باز شدن روزنه‌ها، کاهش فعالیت آنزیم‌های چرخه کالوین، می‌تواند میزان تولید مواد پرورده را به میزان زیادی کاهش داده و به طور مستقیم موجب کاهش وزن دانه‌ها (ظرفیت مقصد فیزیولوژیک) می‌شود (Zaltev and Lidon, 2012; Yan et al., 2016). کاهش معنی‌دار وزن هزار دانه در تیمار تنش آبی در مرحله پر شدن دانه را می‌توان به تولید دانه‌های چروکیده با وزن کم‌تر نسبت داد (Kaman et al., 2011). کمبود آب در این مرحله موجب کاهش فتوسنتز جاری گیاه، مواد پرورده و در نتیجه چروکیدگی دانه‌های ذرت خواهد شد. به علاوه، کوتاه شدن دوره رشد دانه و در نتیجه زودرسی در اثر تنش کم آبی یکی دیگر از دلایل احتمالی کاهش وزن هزار دانه در تیمارهای اعمال تنش آبی در مرحله پر شدن دانه است (Ribaut et al., 2012). در پژوهش ربانی و امام (۱۳۹۰) سینگل کراس ۷۰۴ بیش-ترین وزن صد دانه را در بین هیبریدهای ذرت مورد مطالعه در شرایط تنش کم آبی را داشت و هیبریدهای که وزن صد دانه بیش‌تری داشتند از پتانسیل عملکرد دانه و شاخص برداشت بالاتری برخوردار بودند.

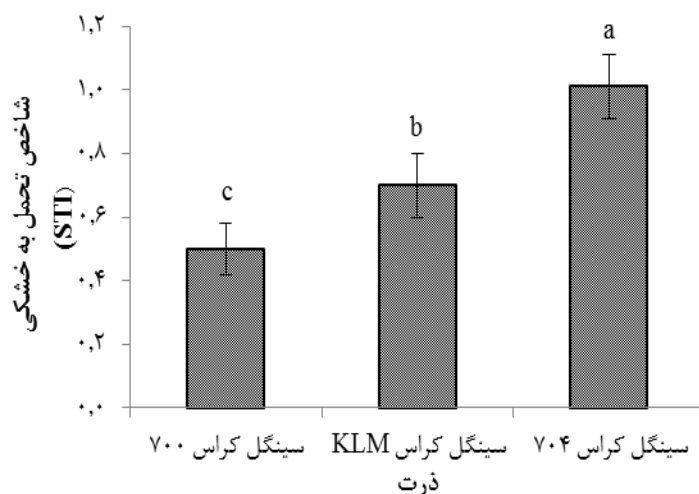


شکل ۳: میانگین اثر تنش خشکی و هیبریدها بر وزن صد دانه ذرت طی دو سال زراعی (ستون‌های دارای حرف مشترک براساس آزمون مقایسه میانگین‌ها فاقد اختلاف آماری معنی‌دار می‌باشند).

شاخص تحمل به خشکی (STI)

مقدار بالای شاخص STI برای سینگل کراس ۷۰۴ حاکی از تحمل بیش‌تر این هیبریدها به تنش خشکی است (شکل ۴). براساس نتایج حاصل از STI سینگل کراس KLM و سینگل کراس ۷۰۰ نسبت به سینگل کراس ۷۰۴ به ترتیب می‌توان به گروه نیمه متحمل و حساس به تنش خشکی در این مطالعه تقسیم بندی کرد (شکل ۴). علیپور و همکاران (۱۳۹۳) در ارزیابی برخی هیبریدهای ذرت تحت تنش خشکی بیان کردند که هیبرید حاصل از تلاقی L1×k1263/1 با عملکرد دانه ۹/۰۳ تن در هکتار از طریق شاخص STI بیش‌ترین تحمل به تنش خشکی را در شرایط آب و هوایی مشهد از

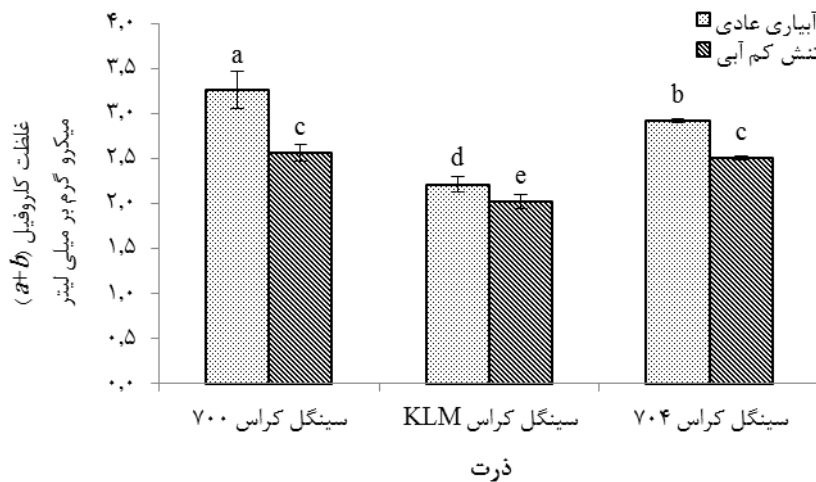
خود نشان داد. حاجی بابایی و عزیز (۱۳۹۰) با ارزیابی شاخص‌های تحمل به تنش خشکی در برخی هیبریدهای ذرت، بیان داشتند که هیبرید KSC700 بیش‌ترین عملکرد دانه را در بین هیبریدهای مورد مطالعه براساس شاخص STI داشت.



شکل ۴: میانگین شاخص تحمل به تنش (STI) هیبریدهای ذرت طی دو سال زراعی

میزان کلروفیل

نتایج حاصل از تجزیه واریانس مرکب مقدار کلروفیل ($a+b$) نشان داد که بین سطوح مختلف خشکی و هیبریدهای ذرت به ترتیب در سطح احتمال یک و پنج درصد اختلاف معنی‌دار وجود داشت و همچنین برهمکنش خشکی \times هیبرید برای مقدار کلروفیل ($a+b$) در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۲). یکی از روش‌های ارزیابی و پیش‌بینی تحمل گیاهان زراعی به تنش خشکی، مطالعه میزان تغییراتی است که در سنتز کلروفیل ($a+b$) برگ در اثر کمبود آب اتفاق می‌افتد. در زمان تنش خشکی روزانه برگ‌ها به طور کامل یا جزئی بسته می‌شود و این فرآیند طبیعی فتوسنتز را مختل می‌کند. تنش خشکی باعث کاهش میزان کلروفیل ($a+b$) در هیبریدهای مورد مطالعه طی دو سال شد. به طوری که این میزان کاهش نسبت به شرایط آبیاری عادی در بین هیبریدهای ذرت ۱۵/۷۱ درصد بود. مطابق شکل ۵ سینگل کراس ۷۰۰ در شرایط آبیاری عادی بیش‌ترین مقدار معنی‌داری کلروفیل ($a+b$) را داشت. سینگل کراس ۷۰۴ و سینگل کراس KLM از لحاظ کلروفیل ($a+b$) کم‌تر تحت اثر تنش خشکی قرار گرفتند ولی سینگل کراس ۷۰۰ به طور معنی‌دار تحت اثر تنش خشکی قرار گرفت (شکل ۵). به طوری که میزان کاهش کلروفیل ($a+b$) تحت شرایط تنش خشکی در سینگل کراس ۷۰۴، سینگل کراس KLM و سینگل کراس ۷۰۰ به ترتیب ۱۴/۳۸، ۸/۵۹ و ۲۱/۴۷ درصد نسبت به شرایط آبیاری عادی بود.



شکل ۵: میانگین اثر تنش خشکی و هیبریدها بر کلروفیل $a+b$ ذرت طی دو سال زراعی (ستون‌های دارای حرف مشترک براساس آزمون مقایسه میانگین‌ها فاقد اختلاف آماری معنی‌دار می‌باشند).

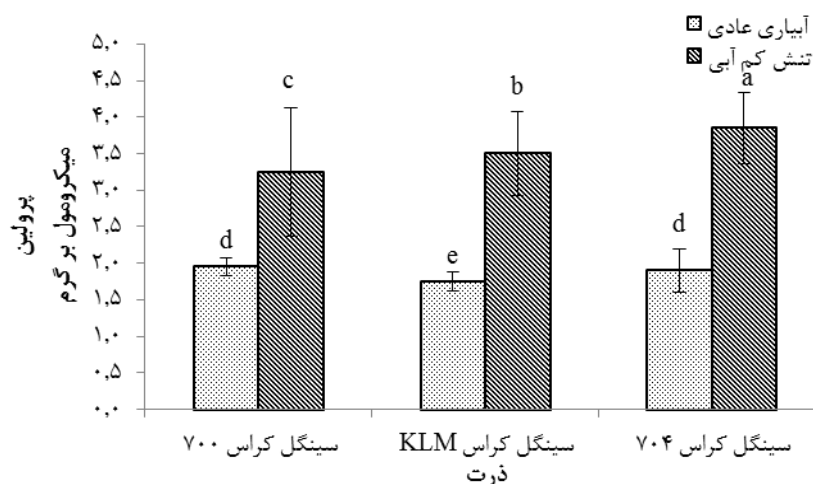
تنش خشکی تاثیر مستقیم بر کاهش شاخص کلروفیل برگ گیاه دارد. طوری که ساقه‌ها مهم‌ترین منبع کربوهیدرات‌ها در زمان پر شدن دانه‌ها هستند. با کاهش فتوسنتز در شرایط تنش خشکی میزان این ذخایر کم شده و ضمن اثر بر قطر ساقه، بر پر شدن دانه و در نتیجه وزن دانه‌ها و در نهایت بر عملکرد دانه اثر منفی می‌گذارد. کاهش تولیدات فتوسنتزی در مرحله زایشی برای کاهش طول و قطر بلال ذکر شده است (Adebayo *et al.*, 2014). Moharramnejad و همکاران (۲۰۱۵) با بررسی اثر تنش اسمزی (-۶MPa) در لاین‌های ذرت اظهار کردند که تنش خشکی باعث کاهش معنی‌دار کلروفیل a ، کلروفیل b و کلروفیل $a+b$ می‌شود. به طوری که این میزان کاهش نسبت به تیمار شاهد حدود ۴۰ درصد گزارش کردند.

مقدار پرولین

نتایج حاصل از تجزیه واریانس مرکب مقدار پرولین نشان داد که بین سطوح مختلف خشکی در سطح احتمال یک اختلاف معنی‌دار وجود داشت و همچنین برهمکنش خشکی × هیبرید برای مقدار کلروفیل $(a+b)$ در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۲). نتایج حاصله از اندازه‌گیری میزان تجمع اسید آمینه پرولین در سینگل کراس ۷۰۰، سینگل کراس KLM و سینگل کراس ۷۰۴ به تنش خشکی نشان داد که در شرایط آبیاری عادی سینگل کراس ۷۰۰ بیش‌ترین میزان تجمع پرولین را در برگ‌های خود دارد. براساس شکل ۶ میزان پرولین در شرایط عادی در سینگل کراس ۷۰۰ و سینگل کراس ۷۰۴ با همدیگر هیچ اختلاف معنی‌داری ندارد. تنش خشکی به طور معنی‌داری باعث افزایش میزان پرولین در هیبریدهای مورد مطالعه طی دو سال شد. طوری که سینگل کراس ۷۰۴ و سینگل کراس ۷۰۰ در شرایط تنش کم‌آبی

به ترتیب بیشترین و کمترین مقدار پرولین را به خود اختصاص دادند (شکل ۶). این نتایج نشان می‌دهد که با افزایش درجه تحمل به خشکی در هیبریدها توانایی تجمع اسید آمینه در آنها نیز افزایش می‌یابد.

Chaum و همکاران (۲۰۱۰) اثر سطوح مختلف تنش خشکی را بر میزان تجمع پرولین در دو هیبرید حساس و متحمل به تنش خشکی در ذرت بررسی کردند. میزان تجمع پرولین در سلول با افزایش شدت خشکی اعمال شده افزایش یافت. با این حال میزان افزایش در هیبرید متحمل به خشکی به مراتب بیش‌تر از هیبرید حساس به تنش خشکی بود. این نشان می‌دهد این مواد در تعیین نحوه پاسخ به شرایط تنش نقش مهمی دارند. Anjum و همکاران (۲۰۱۱) در بررسی اثر تنش خشکی بر میزان تجمع پرولین در هیبریدهای ذرت به این نتیجه رسیدند که در اثر تنش خشکی ژنوتیپ‌های متحمل به خشکی به سرعت میزان پرولین خود را افزایش می‌دهند. Moharramnejad و همکاران (۲۰۱۶) با بررسی تنش اسمزی روی لاین‌های ذرت گزارش کردند که تنش خشکی باعث افزایش معنی‌دار در بین لاین‌های ذرت مورد مطالعه گردید. به طوری که لاین متحمل به تنش خشکی نسبت به لاین حساس ذرت مقدار پرولین بیش‌تری داشت. Ashraf and Foolad (۲۰۰۷) در شرایط کمبود آب مشاهده نمودند میزان تجمع پرولین در ناحیه رشد ریشه گیاهچه‌های ذرت در مقایسه با سایر اسیدهای آمینه به خصوص در مقایسه با گلايسين به سرعت افزایش می‌یابد. این نشان می‌دهد پرولین احتمالاً در شرایط تنش خشکی نقش تحریک کننده رشد ریشه را بازی می‌کند.



شکل ۶: میانگین اثر تنش خشکی و هیبریدها بر پرولین ذرت طی دو سال زراعی (ستون‌های دارای حرف مشترک بر اساس آزمون مقایسه میانگین‌ها فاقد اختلاف آماری معنی‌دار می‌باشند).

میزان قندهای محلول

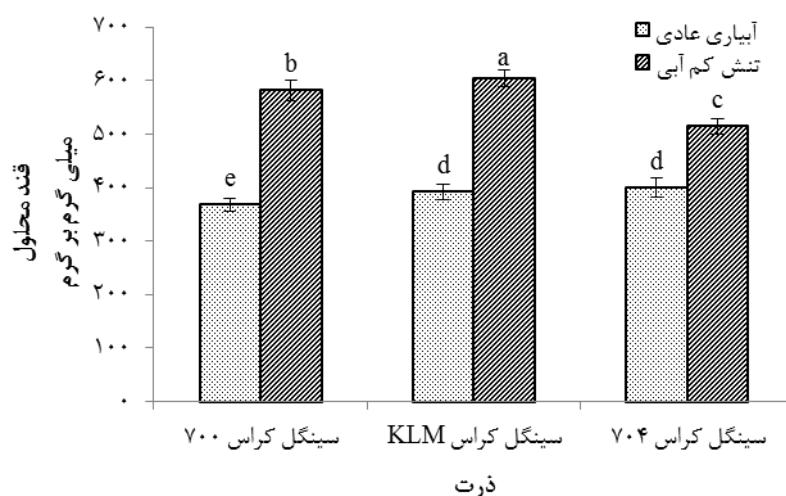
نتایج حاصل از تجزیه واریانس مرکب مقدار پرولین نشان داد که بین سطوح مختلف خشکی در سطح احتمال یک اختلاف معنی‌دار وجود داشت و همچنین اثر متقابل خشکی × هیبرید برای مقدار کلروفیل ($a+b$) در سطح احتمال یک

درصد معنی‌دار بود (جدول ۲). میزان تجمع قندهای محلول در هیبریدهای ذرت مورد مطالعه با یکدیگر متفاوت بود به طوری که در شرایط آبیاری عادی بیش‌ترین میزان تجمع قندهای محلول در سینگل کراس ۷۰۴ در تنش کم‌آبی با ۴۰۰/۵۰ میلی‌گرم بر گرم و کم‌ترین میزان تجمع در سینگل کراس ۷۰۰ با ۳۶۸ میلی‌گرم بر گرم بود. سینگل کراس KML با ۳۹۲/۵۰ میلی‌گرم بر گرم در وضعیت بینابین قرار داشت. در شرایط تنش خشکی بیش‌ترین میزان تجمع قندهای محلول در سلول از سینگل کراس KLM با ۶۰۵ میلی‌گرم بر گرم و کم‌ترین میزان تجمع از سینگل کراس ۷۰۴ با ۵۱۴/۵۰ میلی‌گرم بر گرم به‌دست آمد و سینگل کراس ۷۰۰ با ۵۸۱/۵۰ میلی‌گرم بر گرم از نظر میزان تجمع قندهای محلول در سلول در بین دو هیبرید فوق‌تر قرار گرفت (شکل ۷). به‌طوری که میزان افزایش قند محلول تحت شرایط تنش خشکی در سینگل کراس ۷۰۴، سینگل کراس KLM و سینگل کراس ۷۰۰ به‌ترتیب ۲۸/۴۶، ۵۴/۱۴ و ۵۸ درصد نسبت به شرایط آبیاری عادی بود. این نتایج نشان می‌دهد با افزایش درجه تحمل به خشکی در هیبریدها توانایی تجمع قندهای محلول در آن‌ها نیز کاهش می‌یابد. نتایج مطالعه نشان می‌دهد که تحت شرایط تنش خشکی، با افزایش مقدار قندهای محلول در هیبریدهای مورد مطالعه میزان عملکرد دانه آن‌ها کاهش یافته است. این احتمال وجود دارد که افزایش مقدار قندهای محلول در شرایط تنش خشکی، ناشی از تجزیه نشاسته باشد. بنابراین کاهش کربوهیدرات‌های ذخیره (نشاسته) در نهایت منجر به کاهش عملکرد دانه می‌شود. قندهای محلول از جمله آسیمیلات‌های سازگار هستند که در شرایط تنش بر مقدار آن‌ها افزوده می‌شود و تجمع آن‌ها سبب تنظیم اسمزی و تورژسانس سلول‌ها شده و از طرف دیگر سبب حفاظت و پایداری غشاها و پروتئین‌ها در شرایط تنش می‌گردد. زیرا که افزایش قندهای محلول یکی از سازوکارهای افزایش فشار اسمزی داخل سلول است که گیاه سعی دارد در شرایط کم‌آبی فشار اسمزی محیط را خنثی نموده و آب بیش‌تری را از خاک جذب نماید (Pessarkli, 1999). تجمع قندهای محلول داخل سلول‌ها در تنظیم اسمزی نقش مهم ایفاء نموده و کمک می‌کند تا پتانسیل آب سلول کاهش یافته و آب بیش‌تری برای حفظ تورگر تحت تنش کم‌آبی داخل سلول باقی بماند. این مکانسیم موجب پایداری غشای زیستی، پروتئین‌ها، افزایش فتوسنتز و مقاومت به خشکی می‌شود. افزایش تجمع قندهای محلول در سلول در شرایط تنش خشکی به منظور تنظیم فشار اسمزی در ذرت به کرات توسط پژوهشگران مختلف گزارش شده بود (Johari-Pireivatlou, 2010).

نتیجه‌گیری

نتایج این آزمایش در دو سطح تنش خشکی (آبیاری عادی و تنش آبی) نشان داد که قطع آبیاری در دوره پر شدن دانه باعث کاهش معنی‌دار عملکرد دانه، وزن صد دانه و غلظت کلروفیل برگ نسبت به حالت آبیاری عادی شد. ولی تنش کم-آبی باعث افزایش معنی‌دار میزان کل پروتئین و قندهای محلول در هیبریدهای ذرت مورد مطالعه گردید. براساس نتایج

حاصل از STI طی دو سال (۱۳۹۰-۱۳۹۱) چنین برداشت می‌شود که سینگل کراس ۷۰۴، سینگل کراس KLM و سینگل کراس ۷۰۰ نسبت به همدیگر به ترتیب جزء هیبرید متحمل، نیمه متحمل و حساس به تنش کم‌آبی می‌باشند. سینگل کراس ۷۰۴ با داشتن بالاترین کلروفیل، پرولین و STI، همچنین کم‌ترین میزان قندهای محلول در برگ و بیشترین عملکرد دانه و وزن صد دانه را تحت شرایط تنش خشکی در بین هیبریدهای ذرت مورد مطالعه به خود اختصاص داد. لذا از این صفات و شاخص می‌توان برای شناسایی ارقام متحمل استفاده کرد.



شکل ۷: میانگین اثر تنش خشکی و هیبریدها بر قندهای محلول ذرت طی دو سال زراعی (ستون‌های دارای حرف مشترک بر اساس آزمون مقایسه میانگین‌ها فاقد اختلاف آماری معنی‌دار می‌باشند).

منابع

حاجی بابایی، م. و عزیزی، ف. ۱۳۹۰. پاسخ ارقام هیبرید جدید ذرت علوفه‌ای به تنش خشکی با استفاده از شاخص-

های تحمل به خشکی. مجله تولید گیاهان زراعی. ۴ (۳): ۱۵۵-۱۳۹.

رسانی، ج. و امام، ی. ۱۳۹۰. پاسخ عملکرد دانه هیبریدهای ذرت به تنش خشکی در مراحل مختلف رشد. مجله تولید

و فراوری محصولات زراعی و باغی. ۱ (۲): ۶۶-۷۶.

شیری، م. ر. و بهرامپور، ت. ۱۳۹۴. تجزیه اثر متقابل ژنوتیپ × محیط با استفاده از روش GGE بای پلات در

هیبریدهای ذرت دانه‌ای تحت شرایط مختلف آبیاری. مجله تحقیقات غلات. ۵ (۱): ۹۴-۸۳.

شیری، م. ر. و چوگان، ر. علی اف، ت. ۱۳۹۴. تاثیر تنش خشکی بر اثر ژن و قابلیت ترکیب لاین‌های ذرت دانه‌ای.

مجله به‌نژادی نهال و بذر. ۱-۳۱ (۳): ۴۴۰-۴۲۱.

علیپور، م.، رنجبر، غ.ع.، خاوری، س. و بابائیان جلودار، ن. ع. ۱۳۹۳. ارزیابی تحمل به تنش خشکی در هیبریدهای سینگل کراس ذرت دانه‌ای. پژوهشنامه اصلاح گیاهان زراعی. ۶ (۱۴): ۴۱-۵۳.

کلامیان، س.، مدرس ثانوی، س. ع. م. و سپهری، ع. ۱۳۸۴. اثر تنش کمبود آب در مراحل رشد رویشی و زایشی در هیبریدهای پربرگ و تجاری ذرت. پژوهش کشاورزی آب، خاک و گیاه در کشاورزی. ۵ (۳): ۳۸-۵۳.

محرم‌نژاد، س.، ولیزاده، م.، سفالیان، ا.، شیری، م. ر. و اصغری، ع. ۱۳۹۵. اثر تنش کم‌آبی بر صفات زراعی و فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (Mn-SOD) در گیاه ذرت. مجله تحقیقات غلات. ۶ (۴): ۲۹۰-۳۰۰.

نصراله‌زاده اصل، و.، محرم‌نژاد، س.، یوسفی، م.، بنده‌حق، ع.، ابراهیمی، ل. ۱۳۹۶. ارزیابی پایداری عملکرد دانه ذرت تحت تنش کم‌آبی. نشریه دانش کشاورزی و تولید پایدار. ۲۷ (۲): ۳۰۰-۳۱۵.

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.

Anjum, S. A., Wang, L. C., Farooq, M., Hussain, M., Xue, L. L. and Zou, C. M. 2011. Brassinolide application improves the drought tolerance in maize through modulation of enzymatic antioxidants and leaf gas exchange. *Journal of Agronomy of Crop Science* 197: 177-185.

Ashraf, M. 2010. Inducing drought tolerance in plants: some recent advances. *Biotechnology Advances* 28: 169-183.

Ashraf, M. and Foolad, M. R. 2007. Roles of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance. *Environmental and Experimental Botany* 59: 206-216.

Bates, S., Waldern, R. P. and Teare, E. D. 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. *Plant and Soil* 39: 205-207.

Chaum, S., Siringam, K., Juntawong, J. and Kirdmanee, C. 2010. Water relations, pigment stabilization, photosynthetic abilities and growth improvement in salt stressed rice plants treated with exogenous potassium nitrate application. *International journal of Plant Production* 4: 187-198.

Cruz de Carvalho, M. H. 2008. Drought stress and reactive oxygen species. *Plant Signal Behavior* 3: 156-165.

Fernandez, G. C. J. 1992. Effective selection criteria for assessing plant stress tolerance. *Proceeding of the international symposium on adaptation of vegetables and other food crop in temperature and water stress.* Taiwan P: 257-270.

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.

Johari, M. 2010. Effect of soil water stress on yield and proline content of four wheat lines *African Journal of Biotechnology* 9: 36-40

Kaman, H., Kirda, C. and Sesveren, S. 2011. Genotypic differences of maize in grain yield response to deficit irrigation. *Agricultural Water Management* 98: 801-807.

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.

Moharramnejad, S., Sofalian, O., Valizadeh, M., Asgari, A. and Shiri, M. R. 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. R. 2016. Response of antioxidant defense system to osmotic stress in maize seedlings. *Fresenius Environmental Bulletin*. 25: 805-811.

Porra, R. J., Thompson, W. A. and Kriedemann, P. E. 1989. Determination of accurate extinction coefficients and simultaneous equations for assaying chlorophyll *a* and *b* extracted with four different solvents: verification of the concentration of chlorophyll standards by atomic absorption spectroscopy. *Acta Biochemistry and Biophysics* 975: 384-394.

Ribaut, J. M., Betran, J., Monneveux, P. and Setter, T. 2012. Drought tolerance in maize. In: Bennetzen, J.L., Hake, S.C. (Eds.), *Handbook of Maize: Its Biology*. Springer, New York, pp. 11–34.

Schlegel, H. G. 1956. Die verwertung organischer sauren durch chlorella in lincht. *Planta* 47: 510-520.

Yan, W., Zhong, Y. and Shanguan, Z. 2016. Evaluation of physiological traits of summer maize under drought stress. *Acta Agriculturae Scandinavica, Section B-Soil and Plant Science* 66: 133-140.

Zlatev, Z. and Lidon, F. C. 2012. An overview on drought induced changes in plant growth, water relations and photosynthesis. *Emirates Journal of Food and Agriculture* 24: 57-72.