

بررسی عملکرد دانه، میزان کلروفیل، مواد اسمولیتی، پلی فنول کل و فعالیت آنزیم کاتالاز ذرت (*Zea mays L.*) در پاسخ به تنش خشکی

مهری یوسفی^۱، وحید نصراله‌زاده اصل^{۱*}، سجاد محرم‌نژاد^۲

^۱گروه علوم کشاورزی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران

^۲گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران.

تاریخ دریافت: ۹۶/۱/۲۰ تاریخ پذیرش: ۹۶/۵/۲۵

چکیده

به منظور بررسی عملکرد دانه، غلظت کلروفیل ($a+b$)، میزان گلایسین بتائین، پرولین، قندهای محلول، پلی فنول کل و فعالیت آنزیم کاتالاز در هیبریدهای ذرت در پاسخ به تنش خشکی، آزمایشی به صورت کرت‌های خردشده در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در چهار تکرار طی دو سال زراعی ۱۳۹۰ و ۱۳۹۱ در مزرعه ایستگاه تحقیقاتی مغان اجرا شد. عامل اصلی تنش خشکی در دو سطح (آبیاری عادی و قطع آبیاری در مرحله پر شدن دانه) و عامل فرعی هیبریدهای ذرت (NS640، SC704 و SC720) بودند. تجزیه مرکب داده‌ها نشان داد که تنش خشکی بر همه صفات اثر معنی‌داری داشت. تنش خشکی باعث کاهش ۳۰/۷ درصدی عملکرد دانه و ۱۴/۷ درصدی غلظت کلروفیل ($a+b$) شد. اما تنش خشکی باعث افزایش میزان گلایسین بتائین، پرولین، قندهای محلول، پلی فنول کل و فعالیت کاتالاز در برگ‌های هیبرید ذرت مورد مطالعه شد. سینگل کراس ۷۰۴ دارای بیشترین عملکرد دانه و مواد اسمولیتی را در بین هیبریدهای ذرت مورد مطالعه به خود اختصاص داد. براساس نتایج حاصل، می‌توان از عملکرد دانه، میزان کلروفیل، مواد اسمولیتی (گلایسین بتائین و پرولین)، قندهای محلول، پلی فنول کل و فعالیت آنزیم کاتالاز برای بررسی نحوه پاسخ هیبریدهای ذرت به تنش خشکی و شناسایی ارقام متحمل استفاده کرد.

واژه‌های کلیدی: پرولین، تنش خشکی، ذرت، فعالیت کاتالاز، قندهای محلول، عملکرد دانه.

مقدمه

هکتار مقام پنجم کشور را به خود اختصاص داده

است (Ahmadi et al., 2015).

خشکی یکی از عوامل محدود کننده تولید در گیاهان زراعی از جمله ذرت می‌باشد. اثرات زیان آور خشکی، به‌طور کلی در سلول‌ها و بافت‌هایی که در مراحل رشد و توسعه سریع قرار گرفته‌اند، بیشتر مشخص است. بعضی از دوره‌های رشد گیاهان بیشترین حساسیت را نسبت به تنش آب دارند. به‌عنوان مثال، تنش آب در زمان گرده افشانی ذرت باعث لقاح مقدار کمی از تخمک‌ها شده و یا هیچ یک

ذرت (*Zea mays L.*) یکی از مهم‌ترین گیاهان زراعی است که بعد گندم و برنج مقام سوم را در بین غلات به خود اختصاص داده است. سطح زیر کشت ذرت در دنیا بیش از ۱۳۰ میلیون هکتار گزارش شده است و سهم کشور ایران از این مقدار حدود ۲۳۴ هزار هکتار برآورد شده است، طوریکه استان اردبیل با سطح زیر کشت ذرت دانه‌ای حدود ۱۲/۵ هزار

*نویسنده مسئول: vnasrollah@yahoo.com

کلروفیل تحت شرایط تنش خشکی از نشانه‌های وجود تنش اکسیداتیو است که ممکن است باعث اکسیداسیون نوری رنگدانه و تخریب کلروفیل شود (Ribaut et al., 2012). 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).

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، گلیسین بتائین 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 تنش خشکی ادامه می‌یابد (Ashraf, 2010). از این رو تنظیم اسمزی به توسعه سلولی و رشد گیاه در تنش خشکی کمک می‌کند. تحمل به خشکی صفتی پیچیده‌ای است که ظهور آن به عوامل مختلفی از جمله ویژگی‌های مرفولوژی، فیزیولوژی و بیوشیمیایی و اثر متقابل بین آنها بستگی دارد (Ribaut et al., 2012). مطالعات بیوشیمیایی نشان داده است که در گیاهان تحت تنش خشکی تعدادی از ترکیبات آلی سازگار کننده تجمع می‌یابند. این ترکیبات تداخلی در فرایندهای شیمیایی گیاه وارد نمی‌کنند. از این ترکیبات می‌توان به انواعی از کربوهیدرات‌های محلول (مانیتول، ساکارز، رافینوز و الیگوساکارید) و ترکیبات نیتروژنه (اسید آمینه، پرولین و گلیسین بتائین) اشاره کرد. ترکیبات سازگار کننده نقش مهمی در بهبود تنظیم اسمزی در گیاهان تحت تنش دارند (Ashraf and Foolad, 2007). تجمع گلیسین بتائین، پرولین و کربوهیدرات محلول در جهت تنظیم اسمزی در گیاه ذرت تحت تنش خشکی افزایش می‌یابد (Ashraf, 2010). میزان پرولین و گلیسین بتائین در

از آن‌ها تلقیح نمی‌شوند و در نتیجه عملکرد دانه کاهش می‌یابد (Shiri and Bahrampour, 2015). 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). Kaman و همکاران (۲۰۱۱) با اعمال تنش خشکی در مرحله پر شدن دانه در ذرت بیان کردند که تنش خشکی باعث کاهش معنی‌دار عملکرد و اجزای عملکرد دانه ذرت می‌گردد. Makumbi و همکاران (۲۰۱۰) در بررسی تاثیر سطوح مختلف تنش خشکی در ذرت اظهار کردند که تنش خشکی در مرحله رویشی، عملکرد دانه را حدود هفت کاهش می‌دهد. به نظر می‌رسد که کاهش جزئی اندازه مبدأ فیزیولوژیک در زمان رشد رویشی در اثر تنش خشکی، لزوماً باعث افت عملکرد دانه نشود. پس، تخصیص مقداری از آب مصرفی ذرت در زمان رشد رویشی برای مصرف در زراعت‌های دیگر امکان پذیر است (Ribaut et al., 2012).

مقدار کلروفیل و رنگدانه‌های فتوسنتزی از مهم‌ترین عوامل موثر در ظرفیت فتوسنتزی گیاهان هستند. زیرا، بطور مستقیم بر سرعت و میزان فتوسنتز و در نهایت تولید زیست توده موثر هستند (Zaltev and Lidon, 2012). به طور کلی مواد فتوسنتزی ذخیره شده در دانه از دو منبع فتوسنتز جاری و مواد ذخیره شده در اندام‌های رویشی تامین می‌شود. همچنین خشکی نه تنها باعث کاهش فتوسنتز می‌شود، بلکه باعث کاهش هدایت متابولیسم به سمت تشکیل مولکول‌هایی با وزن مولکولی کم مانند هگزوز، آلانین و اسید مالیک می‌شود (Cruz de Carvalho, 2008). بین محتوای کلروفیل برگ و سرعت فتوسنتز آن همبستگی بالایی وجود دارد طوریکه محتوای پایین

Yang et al.,) و برنج (Moharrmnejad et al., 2016) (2009) تحت تنش خشکی شده است. در این راستا هدف از پژوهش حاضر، بررسی نحوه پاسخ عملکرد دانه، غلظت کلروفیل ($a+b$)، گلاسیسین بتائین، پرولین، قندهای محلول، پلی فنول کل و فعالیت روی ژل پلی آکریلامید کاتالاز به تنش خشکی در سه هیبرید ذرت طی دو سال زراعی ۱۳۹۰ و ۱۳۹۱ در منطقه مغان بود.

مواد و روش ها

شرایط آزمایش و مواد گیاهی: این تحقیق طی دو سال زراعی ۱۳۹۰ و ۱۳۹۱ در ایستگاه تحقیقات کشاورزی مغان واقع در شمالی ترین نقطه استان اردبیل (۳۹ درجه و ۴۱ دقیقه عرض شمالی و ۴۷ درجه و ۳۲ دقیقه طول شرقی و ارتفاع ۴۵ متر از سطح دریای آزاد) اجرا شد. خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک زمین زراعی مورد مطالعه در جدول (۱) ارائه شده است. براساس آمار آب و هوایی ایستگاه هواشناسی سینوپتیک پارس آباد، این منطقه دارای زمستان های ملایم و تابستان های گرم می باشد. بیشینه دما با متوسط ۳۴/۶ درجه سلسیوس در مرداد ماه و متوسط بارندگی سالانه منطقه مورد مطالعه نیز ۳۸۹/۵ میلی متر گزارش شده است (Shiri and Bahrapour, 2015).

لاین های ذرت (B_{73} و MO_{17}) تحت تنش خشکی بیشتر از شرایط عادی است. به طوری که میزان مواد اسمولیتی در لاین MO_{17} بیشتر از لاین B_{73} بود (Moharrmnejad et al., 2015).

یکی از دلایلی که تنش های محیطی مثل خشکی، رشد و توانایی گیاه را کاهش می دهند، اختلال در تعادل میان تولید رادیکال های آزاد اکسیژن و مکانیسم های دفاعی برطرف کننده این رادیکال هاست که به تجمع گونه های فعال اکسیژن (ROS)، القای تنش اکسیداتیو، خسارت به پروتئین ها، لیپیدهای غشای و سایر اجزای سلولی منجر می گردد (Gill and Tuteja, 2010). گیاهان دارای سیستم های آنتی اکسیدانی آنزیمی و غیر آنزیمی هستند که باعث غیر فعال شدن ROS شده و خسارت های اکسیداتیو ناشی از فعالیت آن ها را کاهش می دهند. یکی از مهم ترین سد دفاعی آنتی اکسیدانی آنزیمی کاتالاز که نقش کلیدی برای مهار هیدروژن پراکسید (H_2O_2) به شمار می رود و یکی از مهم ترین ترکیبات غیر آنزیمی آنتی اکسیدانی پلی فنول می باشد (Cruz de Carvalho, 2008). کاتالاز آنزیمی با وزن مولکولی بالا و با ساختار پلیمری در پراکسی زوم مستقر است (Gill and Tuteja, 2010). گزارش های متعددی مبنی بر افزایش فعالیت CAT روی ژل پلی آکریلامید در ذرت

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

شن (درصد)	سلیت (درصد)	رس (درصد)	بافت خاک	pH	درصد اشباع خاک	فسفر قابل جذب خاک (ppm)	پتاسیم قابل جذب خاک (ppm)	نیترژن کل (درصد)	ماده آلی (درصد)
۱۷	۴۲	۴۱	لومی رسی	۸	۴۶	۳۰	۴۴۸/۴	۰/۱	۱/۴

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 پنج 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

شرایط مزرعه و اعمال تنش خشکی: 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

جذب نمونه‌ها در طول موج ۵۲۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شد. میزان پرولین بر حسب میلی گرم بر گرم بافت تازه، با استفاده از منحنی استاندارد پرولین تعیین شد.

سنجش قندهای محلول: برای تعیین مقدار قندهای محلول برگ گیاه ذرت از روش Schegel (۱۹۵۶) استفاده شد. جذب نمونه‌ها در طول موج ۶۲۵ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شد. میزان قندهای محلول بر حسب میلی گرم بر گرم بافت تازه، با استفاده از منحنی استاندارد قندهای محلول تعیین شد.

سنجش پلی فنول کل: برای تعیین میزان پلی فنول کل برگ گیاه ذرت از روش Noreen و Ashraf (۲۰۰۸) استفاده شد. جذب نمونه‌ها در طول موج ۷۵۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شد و میزان پلی فنول کل بر حسب میلی گرم بر گرم بافت تازه با استفاده از منحنی استاندارد محاسبه گردید.

استخراج و رنگ آمیزی آنزیم کاتالاز (CAT): نمونه‌های برگ گیاه تازه در بافر استخراج (تریس ۵۰ میلی مولار، پنچ درصد ساکاروز، ۵۰ میلی مولار اسکوربیک اسید، ۲۰ میلی مولار سدیم متابی سولفیت و دو درصد پلی اتیلن گلیکول) با pH برابر ۷/۵ حاوی ۰/۱ درصد ۲-مرکاپتواتانول با نسبت وزنی یک از برگ و یک از بافر استخراج، به خوبی هموژنیزه و سپس محلول حاصل به مدت ۱۰ دقیقه در ۱۰۰۰۰ دور و دمای چهار درجه سانتی گراد سانتریفوژ شد. عصاره آنزیمی با قطعات بریده شده کاغذ واتمن شماره ۳ و مناسب با ابعاد چاهک، جذب و در ژل پلی آکرلامید هشت درصد با ابعاد ۱۵×۱۲×۰/۶ سانتی متر بارگذاری شد (Valizadeh et al., 2013). برای رنگ آمیزی آنزیم CAT از روش Soltis و Soltis (۱۹۹۰) استفاده شد.

از نرم افزار MCID برای کمی سازی "مساحت × شدت" نوار آنزیمی به عنوان فعالیت دنسیتومتریک

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 سه هیبرید (SC704، NS640 و SC720) در دو سطح خشکی (شرایط آبیاری عادی و قطع آبیاری در دوره پر شدن) به صورت کرت‌های خرد شده و در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با چهار تکرار مورد ارزیابی قرار گرفت. برداشت محصول برای اندازه‌گیری عملکرد دانه پس از حذف دو ردیف کناری هر کرت و ۲۵ سانتی متر از ابتدا و انتهای هر خط کاشت به عنوان حاشیه، فقط از دو خط وسط هر کرت انجام شد. تمام نمونه برداری‌ها برای اندازه‌گیری صفات بیوشیمیایی بعد از اعمال تنش خشکی در هیبریدهای ذرت طی دو سال زراعی انجام گرفت.

سنجش کلروفیل: برای تعیین میزان کلروفیل بر اساس روش پیشنهادی Porra و همکاران (۱۹۸۹) از هر کرت آزمایشی در مرحله ظهور گل تاجی، به طور تصادفی تعداد پنج برگ از پنج بوته برداشت شد. سپس محتوی کلروفیل نمونه برگ در داخل دستگاه اسپکتروفتومتر گذاشته شده و غلظت محلول در طول موج‌های E665 و E649 نانومتر قرائت شد و نهایتاً میزان کلروفیل $(a+b)$ با استفاده از فرمول (۱) محاسبه شد.

$$\text{Chlorophyll}_{a+b} (\mu\text{g/ml}) = 6.10E665 + 20.04 E649 \quad (1)$$

سنجش گلاسیسین بتائین: برای تعیین میزان گلاسیسین بتائین برگ گیاه ذرت از روش Grieve و Grattan (۱۹۸۳) استفاده شد. جذب نمونه‌ها در طول موج ۳۶۵ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شد و میزان گلاسیسین بتائین بر حسب میلی گرم بر گرم ماده خشک با استفاده از منحنی استاندارد محاسبه گردید.

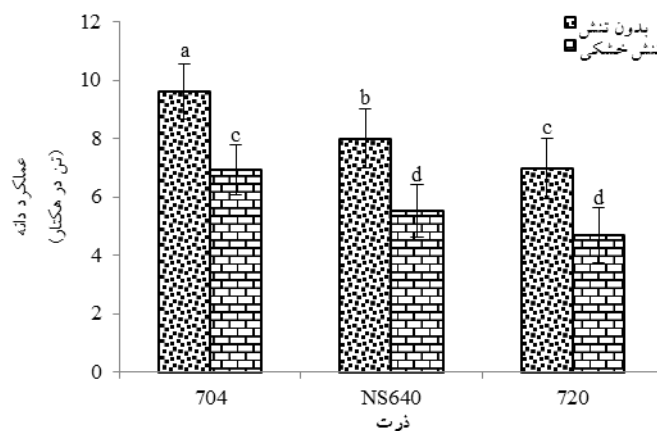
سنجش پرولین: برای تعیین مقدار پرولین برگ گیاه ذرت از روش Bates و همکاران (۱۹۷۳) استفاده شد.

کاتالازروزی ژل استفاده شد. آزمون نرمال بودن داده‌ها به روش تست کولموگروف- اسمیرنوف انجام گرفت. تجزیه واریانس مرکب در دو سال زراعی ۱۳۹۰ و ۱۳۹۱ برای تمام صفات مورد مطالعه انجام گرفت. همچنین مقایسه میانگین داده‌ها توسط آزمون دانکن در سطح احتمال پنج درصد صورت گرفت. تجزیه‌های آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS 19.0 اجرا شد.

نتایج

عملکرد دانه: براساس نتایج تجزیه واریانس مرکب جدول (۲) اثر ساده و برهمکنش تنش خشکی و هیبرید بر عملکرد دانه ذرت در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. تنش خشکی باعث کاهش ۳۰/۷ درصد عملکرد دانه هیبریدهای مورد مطالعه نسبت به شرایط بدون تنش خشکی گردید. مقایسه میانگین برهمکنش تنش خشکی × هیبرید عملکرد دانه ذرت نشان داد که سینگل کراس ۷۰۴ و سینگل کراس ۷۲۰ به ترتیب بیشترین و کمترین عملکرد دانه‌ای را در هر دو شرایط تنش خشکی و بدون تنش خشکی داشتند (شکل ۱). درصد کاهش عملکرد دانه تحت تنش خشکی نسبت به شرایط بدون تنش در سینگل کراس ۷۰۴، سینگل کراس NS640 و سینگل کراس ۷۲۰ به ترتیب ۲۸، ۳۱/۶، ۳۲/۸ بود.

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 × هیبرید برای مقدار کلروفیل $(a+b)$ در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۲). به طوری که، این میزان کاهش نسبت به شرایط بدون تنش خشکی در بین هیبریدهای ذرت ۱۴/۷ درصد بود. سینگل کراس NS640 در شرایط آبیاری عادی بیشترین مقدار معنی‌داری کلروفیل $(a+b)$ را داشت (شکل 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 روزه برگ‌ها به‌طور 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، میزان کاهش کلروفیل $(a+b)$ تحت شرایط تنش خشکی در سینگل کراس ۷۰۴، سینگل کراس NS640 و سینگل کراس ۷۲۰ به ترتیب ۱۴/۴، ۸/۹ و ۲۰/۷ درصد نسبت به شرایط آبیاری عادی بود.

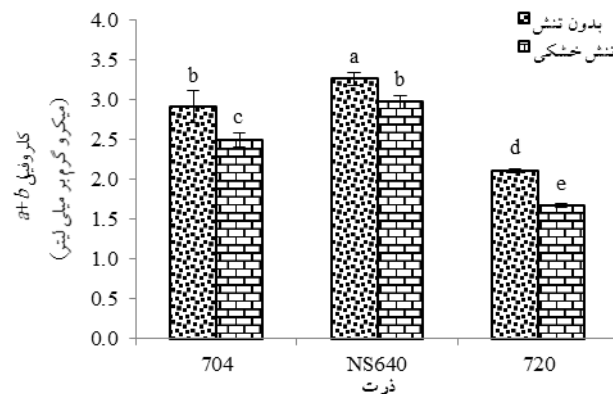


شکل ۱: میانگین اثر تنش خشکی و هیبریدها بر عملکرد دانه ذرت طی دو سال زراعی (ستون‌های دارای حرف مشترک براساس آزمون مقایسه میانگین‌ها فاقد اختلاف آماری معنی‌دار می‌باشند)

جدول ۲: تجزیه واریانس مرکب سال برای عملکرد دانه، میزان کلروفیل ($a+b$)، میزان پرولین، گلايسين بتائين، فندهای محلول، پلی فنول کل و فعالیت آنزیم کاتالاز در سه هیبرید ذرت تحت تنش خشکی

میانگین مربعات							درجات	منابع تغییر
فعالیت کاتالاز	پلی فنول کل	فندهای محلول	پرولین	گلايسين بتائين	کلروفیل ($a+b$)	عملکرد دانه	آزادی	
۰/۳ ^{ns}	۰/۴ ^{ns}	۳۰/۳ ^{ns}	۵/۶ ^{ns}	۶/۷ ^{ns}	۰/۶ ^{ns}	۴۲/۵ ^{ns}	۱	سال
۰/۱۱	۰/۳	۲۱/۲	۶/۵	۵/۶	۰/۳	۴۶/۷	۶	سال/تکرار
۵/۴ ^{**}	۰/۸ ^{**}	۷۰۲/۳ ^{**}	۱۹/۸ ^{**}	۱۸/۹ ^{**}	۱۰/۱ ^{**}	۵۰۹/۱ ^{**}	۱	خشکی
۰/۷ ^{ns}	۰/۲ ^{ns}	۶۳/۴ ^{ns}	۵/۶ ^{ns}	۶/۴ ^{ns}	۱/۸ ^{ns}	۹/۱ ^{ns}	۱	سال × خشکی
۰/۵	۰/۲	۹۸/۱	۱۱/۵	۱۲/۶	۳/۱	۹۰/۶	۶	خطای اصلی
۰/۲ ^{ns}	۰/۶ ^{ns}	۱۱۰/۶ ^{ns}	۱۵/۲ ^{ns}	۲۰/۱ ^{ns}	۱۹/۸ [*]	۱۲۱۱/۲ ^{**}	۲	هیبرید
۰/۲ ^{ns}	۰/۲ ^{ns}	۱۳۰/۶ ^{ns}	۱۰/۴ ^{ns}	۱۳/۲ ^{ns}	۴/۳ ^{ns}	۱۴۵/۷ ^{ns}	۲	سال × هیبرید
۰/۱ ^{ns}	۱/۹ ^{ns}	۷۶۰/۷ ^{**}	۵۳/۶ ^{**}	۴۲/۷ ^{**}	۵/۶ ^{**}	۲۰۰/۵ ^{**}	۲	هیبرید × خشکی
۰/۱ ^{ns}	۱/۷ ^{ns}	۸۸/۷ ^{ns}	۶/۹ ^{ns}	۷/۲ ^{ns}	۰/۷ ^{ns}	۳۰/۲ ^{ns}	۲	سال × خشکی × هیبرید
۰/۱	۰/۷	۷۸/۱	۱۰/۹	۹/۳	۰/۹	۹۳/۷	۳۰	خطای فرعی
۱۰/۹	۸/۴	۱۴/۱	۱۱/۴	۱۲/۳	۱۰/۴	۱۸/۷		ضریب تغییرات (%)

^{ns}، * و **: به ترتیب غیرمعنی دار و معنی دار در سطح احتمال پنج و یک درصد



شکل ۲: تاثیر تنش خشکی و هیبریدها بر کلروفیل $a+b$ طی دو سال زراعی

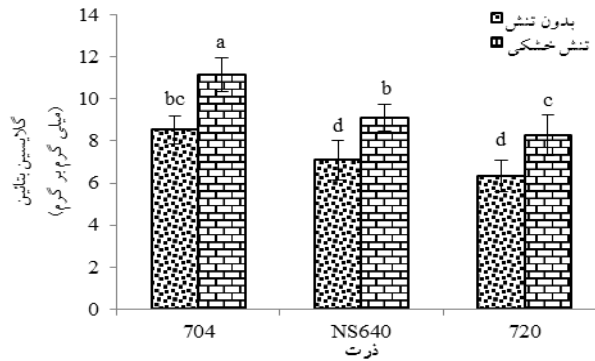
(ستون‌های دارای حرف مشترک براساس آزمون مقایسه میانگین‌ها فاقد اختلاف آماری معنی دار می‌باشند)

طوری که، این میزان افزایش گلايسين بتائين نسبت به شرایط بدون تنش خشکی حدود ۳۰/۲ درصد بود. مطابق شکل ۳ مقایسه میانگین برهمکنش خشکی × هیبرید، سینگل کراس ۷۰۴ نسبت به دو هیبرید ذرت در هر دو شرایط بدون تنش خشکی و تنش خشکی بیشترین مقدار گلايسين بتائين را داشت. که اهمیت این صفت در شرایط تنش اسمزی را نشان می‌دهد،

مقدار گلايسين بتائين: تجزیه واریانس مرکب میزان گلايسين بتائين نشان داد که بین سطوح مختلف تنش خشکی در سطح احتمال یک درصد اختلاف معنی دار وجود داشت. برهمکنش خشکی × هیبرید نیز در سطح احتمال یک درصد معنی دار بود (جدول ۲). تنش خشکی باعث افزایش معنی دار میزان گلايسين بتائين در هیبریدهای ذرت مورد مطالعه گردید. به

سینگل کراس NS640 و سینگل کراس ۷۲۰ به ترتیب ۳۲/۲، ۲۸/۳ و ۳۰ درصد نسبت به شرایط آبیاری عادی بود.

افزایش میزان گلايسين بتائين نوعی پاسخ در برابر تنش اسمزی است. میزان افزایش گلايسين بتائين تحت شرایط تنش خشکی در سینگل کراس ۷۰۴،

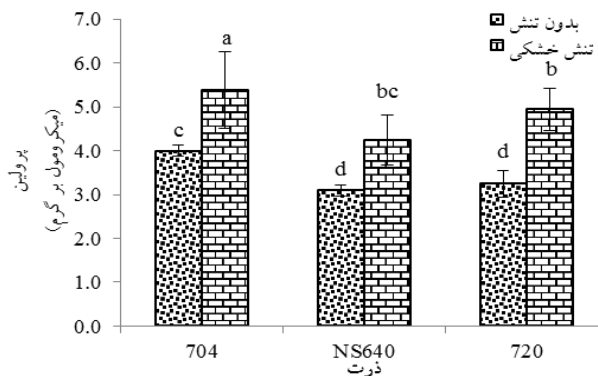


شکل ۳: تاثیر تنش خشکی و هیبریدها بر گلايسين بتائين طی دو سال زراعی

(ستون‌های دارای حرف مشترک براساس آزمون مقایسه میانگین‌ها فاقد اختلاف آماری معنی‌دار می‌باشند)

میزان پرولین در هیبریدهای مورد مطالعه طی دو سال شد. طوری که، سینگل کراس ۷۰۴ و سینگل کراس NS640 و سینگل کراس ۷۲۰ در شرایط تنش کم‌آبی به ترتیب بیشترین و کمترین مقدار پرولین را به خود اختصاص دادند (شکل ۴). این نتایج نشان می‌دهد که با افزایش درجه تحمل به خشکی در هیبریدها توانایی تجمع پرولین در آنها نیز افزایش می‌یابد. میزان افزایش پرولین تحت شرایط تنش خشکی در سینگل کراس ۷۰۴، سینگل کراس NS640 و سینگل کراس ۷۲۰ به ترتیب ۴۳/۴، ۳۲/۳ و ۳۴/۴ درصد نسبت به شرایط آبیاری عادی بود.

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 پرولین در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۲). نتایج حاصله از اندازه‌گیری میزان تجمع اسید آمینه پرولین در سینگل کراس ۷۰۴، سینگل کراس NS640 و سینگل کراس ۷۲۰ به تنش خشکی نشان داد که در شرایط آبیاری عادی سینگل کراس ۷۰۴ بیشترین میزان تجمع پرولین را در برگ‌های خود دارد. تنش خشکی به طور معنی‌داری باعث افزایش

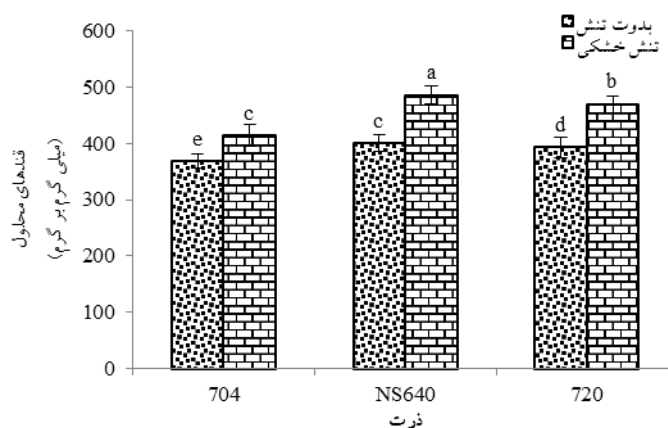


شکل ۴: تاثیر تنش خشکی و هیبریدها بر پرولین ذرت

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

شرایط بدون تنش در هیبریدهای ذرت مورد مطالعه حدود ۱۷/۸ درصد بود. میزان تجمع قندهای محلول در سینگل کراس NS640 در شرایط تنش خشکی بیشترین مقدار را داشت (شکل ۵). میزان افزایش قندهای محلول تحت شرایط تنش خشکی در سینگل کراس ۷۰۴، سینگل کراس NS640 و سینگل کراس ۷۲۰ به ترتیب ۱۲/۵، ۲۱/۴ و ۱۹/۴ درصد نسبت به شرایط آبیاری عادی بود.

میزان قندهای محلول: تجزیه واریانس مرکب قندهای محلول نشان داد که بین اثر خشکی در سطح احتمال یک درصد اختلاف معنی داری وجود داشت (جدول ۲). برهمکنش هیبرید × خشکی نیز برای صفت قندهای محلول در سطح احتمال یک درصد معنی دار بود (جدول ۲). تنش خشکی بطور معنی دار باعث افزایش تجمع میزان قندهای محلول در هیبریدهای ذرت مورد مطالعه شد. طوری که، افزایش تجمع قندهای محلول در شرایط تنش خشکی نسبت به

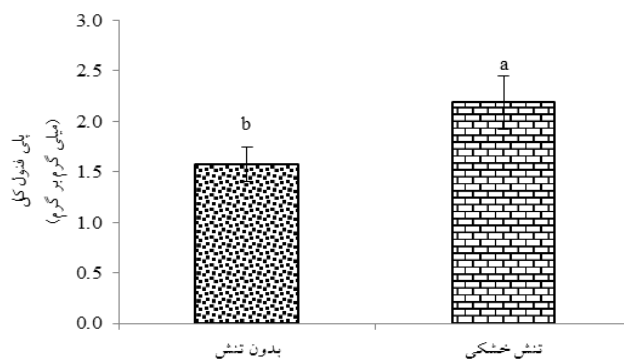


شکل ۵: تاثیر تنش خشکی و هیبریدها بر قندهای محلول ذرت طی دو سال زراعی

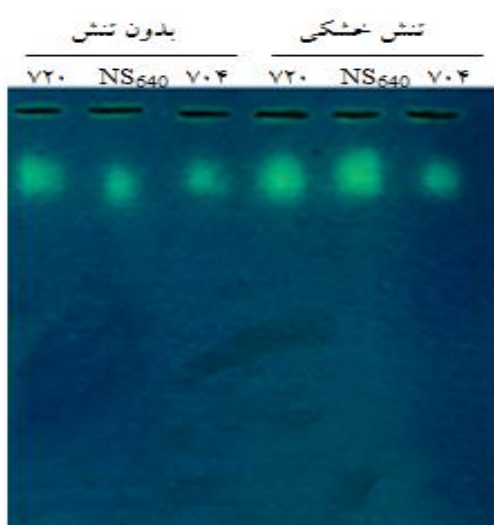
(ستون‌های دارای حرف مشترک بر اساس آزمون مقایسه میانگین‌ها فاقد اختلاف آماری معنی دار می‌باشند)

نواربندی کاتالاز در هیبریدهای ذرت مورد مطالعه در دو شرایط بدون تنش و تنش خشکی روی ژل پلی آکریلامید هشت درصد را نشان می‌دهد. همانطور که پیداست، یک ایزوفریم برای آنزیم کاتالاز مشاهده شد. تجزیه واریانس مرکب دو سال برای فعالیت کاتالاز نشان داد که اثر تنش خشکی در سطح احتمال یک درصد معنی دار بود (جدول ۲). تنش خشکی باعث افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز شد (شکل‌های ۷ و ۸). تنش خشکی نسبت به بدون تنش حدود ۱۵/۲ درصد باعث افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز در هیبریدهای ذرت مورد مطالعه شد.

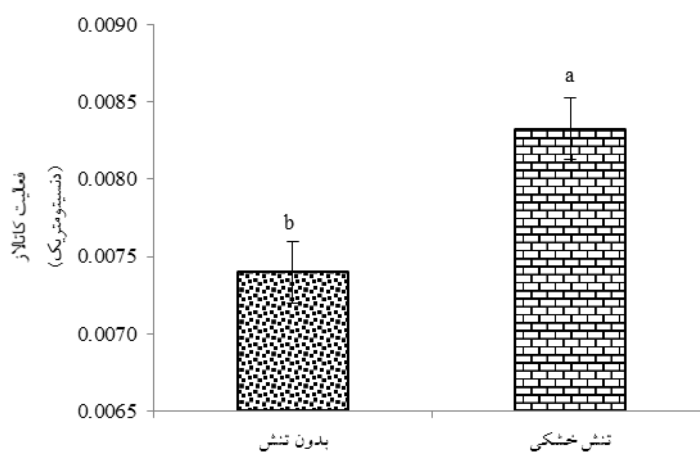
میزان پلی فنول کل: تجزیه واریانس مرکب طی دو سال زراعی برای میزان پلی فنول کل نشان داد که اثر تنش خشکی معنی دار بود (جدول ۲). تنش خشکی به‌طور معنی دار باعث افزایش میزان پلی فنول کل در هیبریدهای ذرت مورد مطالعه شد (شکل ۶). به طوری که، این میزان افزایش پلی فنول کل نسبت به شرایط بدون تنش حدود ۳۸/۸۴ درصد بود. افزایش میزان پلی فنول کل در شرایط تنش خشکی، نشان از اهمیت این صفت در شرایط تنش خشکی باشد، که احتمالاً نوعی پاسخ در برابر تنش اکسیداتیو باشد. فعالیت آنزیم کاتالاز: شکل (۷) نمونه‌ای از الگوی



شکل ۶: تاثیر تنش خشکی بر پلی فنول کل ذرت طی دو سال زراعی (ستون‌های دارای حرف مشترک بر اساس آزمون مقایسه میانگین‌ها فاقد اختلاف آماری معنی دار می‌باشند)



شکل ۷: نمونه‌ای از فعالیت کاتالاز در هیبریدهای ذرت در شرایط بدون تنش و تنش خشکی



شکل ۸: تاثیر تنش خشکی بر فعالیت آنزیم کاتالاز ذرت طی دو سال زراعی (ستون‌های دارای حرف مشترک بر اساس آزمون مقایسه میانگین‌ها فاقد اختلاف آماری معنی دار می‌باشند)

بحث

تنش خشکی هنگامی ایجاد می‌شود که رطوبت موجود در اطراف ریشه کمتر از نیاز آبی گیاه باشد (Ashraf, 2010). خشکی اغلب عامل اصلی محدود شدن رشد، گیاه، وزن تر و خشک و میزان محصول می‌باشد. در این تحقیق تنش خشکی نسبت به شرایط بدون تنش باعث کاهش حدود ۳۱ درصد عملکرد دانه هیبریدهای ذرت مور مطالعه شد. Kalamian و همکاران (۲۰۰۵) 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، هیبریدهای سینگل کراس ۳۰۱ و پر برگ، کاهش کمتری در عملکرد دانه داشتند. تنش خشکی در مراحل گل‌دهی و پر شدن دانه به ترتیب موجب کاهش ۲۹/۲ و ۱۸/۱ درصدی عملکرد دانه می‌شود (Shiri and Bahrapour, 2015). 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 سبز مانی برگ‌ها زیادت‌تر باشد، هیدرات کربن بیشتری به دانه منتقل خواهد شد. تنش خشکی با کاستن از طول دوره سبز مانی برگ در مراحل پایانی رشد، موجب افت شدید تولید مواد پرورده توسط اندام‌های فتوسنتزی می‌شود (Cruz de Carvalho, 2008). در رابطه با تاثیر 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. Emam و Rabbani (۲۰۱۲) 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 مقاومت بیشتری نسبت به سایر هیبریدها باشد.

یکی از روش‌های ارزیابی و پیش‌بینی تحمل گیاهان زراعی به تنش خشکی، مطالعه میزان تغییراتی است در سنتز کلروفیل ($a+b$) برگ در اثر کمبود آب اتفاق می‌افتد. در زمان تنش خشکی روزنه برگ‌ها به طور کامل یا جزئی بسته می‌شود و این فرآیند طبیعی فتوسنتز را مختل می‌کند. در این پژوهش، تنش خشکی نسبت شرایط بدون تنش باعث کاهش حدود ۱۵ درصد غلظت کلروفیل هیبریدهای ذرت مورد مطالعه شد. تنش خشکی تاثیر مستقیم بر کاهش شاخص کلروفیل برگ 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 پر شدن دانه و در نتیجه وزن دانه‌ها و در نهایت بر عملکرد دانه اثر منفی می‌گذارد. کاهش تولیدات فتوسنتزی در مرحله زایشی می‌تواند برای کاهش طول و قطر بلال ذکر شده است (Adebayo et al., 2014). Moharramnejad و همکاران (۲۰۱۵) با بررسی اثر تنش اسمزی (-6MPa) در لاین‌های ذرت اظهار کردند که تنش خشکی باعث کاهش معنی‌دار کلروفیل a کلروفیل b و کلروفیل ($a+b$) می‌شود. طوری که این میزان کاهش نسبت به تیمار شاهد حدود ۴۰ درصد گزارش کردند.

در این پژوهش تنش خشکی به‌طور معنی‌دار باعث افزایش مقدار گلاسیسین بتائین و پرولین در هیبریدهای ذرت مورد مطالعه شد. طوری که، سینگل کراس ۷۰۴ دارای بیشترین مقدار گلاسیسین بتائین و پرولین بود. گلاسیسین بتائی تنها از طریق فعال کردن آنتی‌اکسیدان‌ها می‌تواند رادیکال‌های آزاد را از بی‌ببرد، اما پرولین علاوه بر فعال کردن آنتی‌اکسیدان‌ها،

مقایسه با سایر اسید آمینه‌ها 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.

نتایج این تحقیق نشان می‌دهد که با افزایش درجه تحمل به خشکی در هیبریدها توانایی تجمع قندهای محلول در آنها نیز کاهش می‌یابد. طوری که، با افزایش مقدار قندهای محلول در هیبریدهای ذرت تحت شرایط تنش خشکی، میزان عملکرد دانه آنها کاهش می‌یابد. این احتمال وجود دارد افزایش مقدار قندهای محلول در شرایط تنش خشکی، ناشی از تجزیه نشاسته باشد. بنابراین با کاهش کربوهیدرات‌های ذخیره (نشاسته) در نهایت منجر به کاهش عملکرد دانه می‌شود (Cruz de Carvalho, 2008). قندهای محلول از جمله اسمولیت‌های 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 مکانیسم‌های 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 خشکی 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 توسط Johari-Pireivatlou (۲۰۱۰) گزارش شده است.

خود نیز به‌طور مستقیم می‌تواند سبب مهار رادیکال‌های آزاد شود (Ashraf and Foolad, 2007). Ashraf (۲۰۱۰) گزارش نمود که مقدار گلايسين بتائين و پرولین در ارقام متحمل بیشتر از ارقام حساس تجمع می‌یابد افزایش پرولین باعث سازش بیشتر سلول با شرایط تنش و حفاظت از آنزیم‌های سیتوزول و ساختارهای سلولی می‌شود. تجمع اسمولیت‌ها در سیتوزول امکان تعدیل فشار اسمزی را در سلول فراهم می‌کند و همچنین باعث پایداری آنزیم‌ها در حضور یون‌ها، تنش آبی و نیز تاثیرکنندگی ترکیبات شیمیایی واسرشت می‌شود (Ashraf and Foolad, 2007). Chaum و همکاران (۲۰۱۰) تاثیر 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 تاثیر تنش خشکی بر میزان تجمع پرولین در هیبریدهای ذرت به این نتیجه رسید در اثر تنش خشکی ژنوتیپ‌های متحمل به خشکی به سرعت میزان پرولین خود را افزایش می‌دهند. Moharramnejad و همکاران (۲۰۱۵) با بررسی تنش اسمزی روی لاین‌های ذرت گزارش کردند که تنش خشکی باعث افزایش معنی‌دار میزان گلايسين بتائين و پرولین در بین لاین‌های ذرت مورد مطالعه گردید. به‌طوری که لاین مقاوم به تنش خشکی نسبت به لاین حساس ذرت مواد اسمولیتی بیشتری داشت. Kumar و همکاران (۲۰۱۰) در شرایط تنش خشکی مشاهده نمودند میزان تجمع پرولین در ناحیه رشد ریشه گیاهچه‌های ذرت در

Cruz de Carvalho,) مواجه با تنش اکسیداتیو است (2008). Moharramnejad و همکاران (۲۰۱۶) فعالیت آنزیم کاتالاز را در لاین‌های ذرت تحت تنش خشکی افزایش گزارش کردند.. Naderi و همکاران (۲۰۱۴) در گندم میزان فعالیت دنسیتومتریک کاتالاز را تحت تنش خشکی، افزایش گزارش کردند. Anjum و همکاران (۲۰۱۱) فعالیت کاتالاز را در ذرت تحت تنش خشکی افزایش گزارش کردند که با نتایج این پژوهش مطابقت دارد.

نتیجه‌گیری نهایی

نتایج این آزمایش نشان داد که تنش خشکی باعث کاهش معنی‌دار عملکرد دانه و غلظت کلروفیل برگ نسبت به شرایط بدون تنش شد. ولی تنش خشکی باعث افزایش معنی‌دار میزان گلیسین بتائین، پرولین، قندهای محلول و پلی فنول کل و فعالیت کاتالاز در هیبریدهای ذرت مورد مطالعه طی دو سال زراعی (۱۳۹۰-۹۱) گردید. سینگل کراس ۷۰۴ در بین هیبریدهای ذرت مورد مطالعه طی دو سال زراعی دارای بیشترین عملکرد دانه، مقدار گلیسین بتائین و پرولین بود. براساس نتایج حاصل از این پژوهش، چنین به نظر می‌رسد که می‌توان از عملکرد دانه، غلظت کلروفیل، مواد اسمولیتی (گلیسین بتائین و پرولین)، قندهای محلول، پلی فنول کل و فعالیت آنزیم کاتالاز برای بررسی نحوه پاسخ هیبریدهای ذرت به تنش خشکی و شناسایی ارقام متحمل استفاده کرد.

از بین متابولیت‌های ثانویه، پلی فنول کل نقش بسیار مهمی برای افزایش تحمل به تنش اسمزی نسبت به سایر متابولیت‌های ثانویه دارد (Ruiz and Romero, 2001). همچنین، این ترکیب جزء آنتی‌اکسیدان‌ها محسوب شده و در شرایط تنش اکسیداتیو ممکن است در پاکسازی گونه‌های منفرد آزاد اکسیژن ایفای نقش کند (Gill and Tuteja, 2010). افزایش غلظت پلی فنول کل در مهار پراکسیداسیون لیپیدها جاروب کردن رادیکال‌های آزاد موثر است (Noreen and Ashraf, 2009). گزارشی بر افزایش میزان پلی فنول کل در گیاهان مبنی بر افزایش تحمل به تنش اکسیداتیو توسط Wahid و Ghazanfar (۲۰۰۶) شده‌است. Moharramnejad و همکاران (۲۰۱۶) در بررسی اثر تنش خشکی در لاین‌های ذرت اظهار کردند که تنش خشکی بطور معنی‌دار باعث افزایش غلظت پلی فنول کل می‌شود.

کاتالاز آنزیمی با وزن مولکولی بالا و با ساختار پلیمری در پراکسی‌زوم مستقر است (Gill and Tuteja, 2010). گزارش‌های مبنی بر وجود یک ایزوفرم روی ژل یلی آکریلامید در گیاه ذرت (Moharramnejad et al., 2016) و گندم (Naderi et al., 2014) شده‌است. فزونی پراکسید هیدروژن (H_2O_2) ممکن است مانع فعالیت پراکسیداز شود، لذا فعالیت کاتالاز به احتمال زیاد در جهت نگهداری فعالیت پراکسیداز تحت تنش شدید باشد (Ashraf, 2010). کاتالاز آنزیمی مهم در تحمل به تنش اسمزی و پاک‌کننده با حساسیت کم نسبت به پراکسیدازها در

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.

Alipour, M., Ranjbar, G., Khorasani, S.K. and Babaeian Jelodar, N. (2014). Evaluation of drought tolerance in maize hybrids (*Zea mays* L.). *Journal of Crop Breeding*. 6(14): 41-53.

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 Soli*. 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.
- 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.
- Greive, C.M. and Grattan, S.R. (1983).** Rapid assay for determination of water-soluble quaternary amino compounds. *Plant Soil*. 70: 303-307.
- 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.
- Hajibabaei, M. and Azizi, F. (2011).** Evaluation of drought tolerance indices in some new hybrids of corn. *Electronic Journal of Crop Production*. 4(3): 139-155.
- Johari, M. (2010).** Effect of soil water stress on yield and proline content of four wheat lines *African Journal of Biotechnology*. 9: 36-40
- Kalamian, S., Modares Sanavi, A.M. and Sepehri, A. (2005).** Effect of water deficit at vegetative and reproductive growth stages in leafy and commercial hybrids of maize. *Journal of Water, Soil and Plant in Agriculture*. 5(3): 38-53.
- 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.
- Kumar, N., Pal, M., Singh, A., SaiRam, R.K. and Srivastava, G.C. (2010).** Exogenous proline alleviates oxidative stress and increase vase life in rose. *Scientia Horticulturae*. 127: 79-85.
- 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.
- Naderi, R., Valizadeh, M., Toorchi, M. and Shakiba, M.R. (2014).** Antioxidant enzyme changes in response to osmotic stress in wheat (*Triticum aestivum* L.) seedling. *Acta Biologica Szegediensis*. 58: 95-101.
- Noreen, Z., and Ashraf, M. (2009).** Assessment of variation in antioxidative defense system in salt-treated pea (*Pisum sativum* L.) cultivars and its putative use as salinity tolerance markers. *Journal of Plant Physiology*. 166: 1764-1774.
- 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.
- Rabbani, J. Emam, Y. (2012).** Yield response of maize hybrids to drought stress at different growth stages. *Journal of Crop Production and Processing*. 1(2): 65-78.
- 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.
- Ruiz, J.M. and Romero, L. (2001).** Bioactivity of the phenolic compounds in higher plants. *Biochemistry Journal*. 20: 100-130.
- Schlegel, H.G. (1956).** Die verwertung organischer sauren durch chlorella in lincht. *Planta*. 47: 510-520.
- Shiri, M.R. and Bahrampour, T. (2015).** Genotype×environment interaction analysis using GGE biplot in grain maize (*Zea mays* L.) hybrids under different irrigation conditions. *Cereal Research*. 5(1): 83-94.
- Soltis, D.E. and Soltis, P.S. (1990).** *Isozymes in Plant Biology*. Dioscorides Press, Portland. p: 259.
- 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: 801-809.
- Wahid, A. and Ghazanfar, A. (2006).** Possible involvement of some secondary metabolites in salt tolerance of sugarcane. *Journal Plant Physiology*. 163: 723-30.
- Yan, W., Zhong, Y. and Shangguan, Z. (2016).** Evaluation of physiological traits of summer maize under drought stress. *Acta Agriculturae Scandinavica, Section B-Soil and Plant Science*. 66: 133-140.
- 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.
- 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.