تنش‌های محیطی در علوم زراعی
Environmental Stresses in Crop Sciences
جلد پانزدهم، شماره سوم، پائیز ۱۴۰۱

http://dx.doi.org/10.22077/escs.2021.3988.1948

مقاله پژوهشی

اثرات تنظیم‌کننده‌های رشد و اسیدآمینه پرولین بر عملکرد و اجزاء عملکرد گیاه ذرت سینگل کراس ۷۰۴ در شرایط تنش خشکی در استان اصفهان

سید امیررضا طاهایی[۱]، محمد نصری[۲*]، علی سلیمانی[۳]، فرشاد قوشچی[۴]، میثم اویسی[۴]

۱. دانشجو دکترای زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد ورامین، پیشوا
۲. دانشیار گروه زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد ورامین، پیشوا
۳. دانشیار گروه زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد خوراسگان، اصفهان
۴. استادیار گروه زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد ورامین، پیشوا

مشخصات مقاله

واژه‌های کلیدی:
بیان ژن
شاخص سطح برگ
عملکرد بلال
عملکرد علوفه
محتوای رطوبت نسبی

تاریخ دریافت:
۱۳۹۹/۰۹/۳۰

تاریخ پذیرش:
۱۴۰۰/۰۱/۰۶

تاریخ انتشار:
پائیز ۱۴۰۱

۱۵(۳):۶۵۷-۶۶۸

چکیده

ابداع و استفاده از روش‌هایی که موجب افزایش مقاومت محصول در شرایط تنش خشکی می‌گردد، حائز اهمیت فراوان است. به‌منظور بررسی اثر محلول‌پاشی تنظیم‌کننده‌های رشد و اسیدآمینه پرولین بر عملکرد و اجزاء عملکرد و بیان ژن Rab-17 (از گروه LEA ۲)، در ذرت سینگل‌کراس ۷۰۴، آزمایشی به‌صورت اسپلیت‌پلات در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در سال‌های ۱۳۹۴ و ۱۳۹۵ در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه آزاد اسلامی واحد خوراسگان (اصفهان) اجرا گردید. سه تیمار آبیاری پس از ۷۰ (شاهد)، ۹۰ و ۱۰۰ میلی‌متر تبخیر از سطح تشت تبخیر استاندارد کلاس A به‌عنوان عامل اصلی و محلول‌پاشی ۵ تیمار بنزیل آدنین (BA6) جیبرلیک اسید (GA(3+7، پرولین، BA6+GA(3+7+پرولین و محلول‌پاشی آب خالص به‌عنوان عامل فرعی در نظر گرفته شدند. عملکرد علوفه و بلال، میزان پرولین، شاخص سطح برگ، محتوای رطوبت نسبی و میزان بیان ژن Rab-17 به‌عنوان یک ژن القا شونده در شرایط تنش خشکی بررسی گردید. بر اساس نتایج تجزیه واریانس مرکب، اثر تنش خشکی و محلول‌پاشی بر عملکرد علوفه و بلال، میزان پرولین و شاخص سطح برگ معنی‌دار بود. همچنین اثر تنش خشکی بر محتوای رطوبت نسبی و بیان ژن Rab-17 در سطح احتمال ۱٪ معنی‌دار گردید. بر طبق نتایج مقایسه میانگین، تنش خشکی موجب کاهش عملکرد علوفه و بلال، شاخص سطح برگ و محتوای رطوبت نسبی و افزایش پرولین گردید. بیشترین عملکرد علوفه مربوط به شرایط تیمار شاهد بود که با تنش ملایم و شدید تفاوت معنی‌دار داشت. تیمارهای تنظیم‌کننده‌های رشد و پرولین در شرایط تنش خشکی موجب کاهش اثرات نامطلوب تنش بر عملکرد علوفه و بلال، شاخص سطح برگ و محتوای رطوبت نسبی گردیدند طبق نتایج حاصل از این پژوهش محلول‌پاشی اسیدآمینه پرولین و تنظیم‌کننده‌های رشد می‌توانند از طریق بهبود پاسخ‌های فیزیولوژیکی و ژنتیک گیاه موجب بهبود رشد و محصول ذرت در شرایط تنش خشکی شوند.

مقدمه

ذرت (*Zea mays* L.) گیاهی یک‌ساله از تیره غلات است که با دامنه وسیعی از شرایط اکولوژیکی سازگار است. ذرت همراه با گندم و برنج سه فرآورده راهبردی کشاورزی جهان محسوب می‌شوند (Khodabandeh, 2000). در حال حاضر تنش خشکی به علت کمبود جهانی منابع آبی، تبدیل به عامل اصلی محدودیت تولید گیاهان زراعی در عرصه جهانی شده است.

در میان تنش‌های غیرزیستی، تنش خشکی مهم‌ترین عامل محدودیت تولید ذرت است (Sallah et al., 2002). وقوع تنش خشکی با اثر بر خصوصیات فیزیولوژیکی و مورفولوژیکی گیاهان زراعی موجب کاهش میزان عملکرد گیاه می‌گردد. میزان تأثیر تنش بر عملکرد علوفه رابطه مستقیمی با مراحل رشدی گیاه در زمان وقوع تنش دارد (Chaudhuri

* نگارنده پاسخگو: محمد نصری. پست الکترونیک: dr.nasri@yahoo.com

and Kanemasa, 1982). خشکی سبب تجزیه بافت سبزینه و تسریع روند پیری برگ می‌شود (Efeoglu et al., 2009). تنش خشکی در ذرت با کاهش سطح کلروفیل برگ موجب کاهش فتوسنتز و درنتیجه کاهش عملکرد دانه می‌شود (Athar and Ashraf, 2005; Mohammadkhani and Heidari, 2007).

عوامل بیرونی و درونی زیادی در رشد گیاهان مؤثرند. از مهم‌ترین عوامل درونی، هورمون‌ها و از مهم‌ترین عوامل بیرونی نور و دما را می‌توان نام برد. هورمون‌ها عهده‌دار تنظیم و هماهنگی فرایندهایی هستند که در نقاط مختلف پیکر گیاهان صورت می‌گیرند. این مواد ترکیبات آلی هستند که در بافت‌های ویژه‌ای ساخته می‌شوند و مستقیماً از یاخته‌ای به یاخته دیگر و یا از طریق آوندها به سراسر گیاه انتقال می‌یابند و در محل هدف تأثیر می‌گذارند (Ahmadi and Siosehmard, 2004; Miransari and Smith, 2014; Tahaei et al., 2016). افزایش تجزیه کلروفیل برگ‌های گیاهان در شرایط تنش خشکی احتمالاً به دلیل کاهش تولید سیتوکینین و افزایش تولید آبسیزیک اسید و عدم تعادل سایر هورمون‌های محرک و بازدارنده رشد ایجاد می‌شود (Shaddad et al., 2011; Sharifi and Mohammadkhani, 2016). هورمون‌های محرک رشد میزان تحمل گیاهان را در محدوده وسیعی از تنش‌های محیطی از قبیل خشکی، شوری، سرما و گرما افزایش می‌دهند و این افزایش تحمل به تنش‌های محیطی عموماً وابسته به تولید رونوشت ژن‌های ضد تنش ازجمله ژن‌های شوک حرارتی[1] و ژن‌های LEA[2] است. تیمار سیتوکینین باعث افزایش رونوشت ژن‌های مسئول پاسخ به تنش محیطی برای بالا بردن تحمل به تنش می‌گردد (Clouse et al., 1992).

گیاهان دارای طیف وسیعی از سازگاری‌های مولکولی، سلولی و فیزیولوژیکی و متابولیکی در پاسخ به تنش خشکی هستند (Chai et al., 2016). در سطح مولکولی و سلولی گیاهان اغلب به کمبود آب پاسخ می‌دهند و مجموعه‌ای از ژن‌ها با الگوهای مختلف القا یا خاموش می‌شوند (Bartlez et al., 2005; Chao et al., 2016). محصولات ژن‌های القاشده در شرایط تنش خشکی را می‌توان به دودسته کلی تقسیم‌بندی کرد: (۱) آن‌هایی که مستقیماً در برابر تنش‌ها نقش حفاظتی دارند؛ (۲) آن‌هایی که بیان ژن و انتقال پیام را کنترل می‌کنند (Ali et al., 2017).

شناخت کامل مکانیسم‌های تحمل و ژن‌های درگیر در پاسخ به تنش می‌تواند از طریق روش‌هایی چون تعدیل‌های ژنتیک منجر به بهبود تحمل به تنش‌های مختلف در گیاهان زراعی گردد؛ بنابراین شناسایی و درک مسیرهای متفاوت پاسخ به تنش‌ها، در اصلاح و بهبود عملکرد گیاهان نقش بسیار مهمی دارد (Lee et al., 2005). یولانگ و همکاران (Yunlong et al., 2007) گزارش کردند بیان ژن Rab17 تحت شرایط خشکی و هورمون ABA افزایش می‌یابد.

پاسخ گیاهان به کمبود آب بستگی به میزان و مدت‌زمان تنش دارد. تعداد زیادی از ژن‌ها در تعیین واکنش گیاه نسبت به تنش خشکی نقش ایفا می‌کنند. در تحقیقات مختلف چندین راه برای توضیح واکنش ژن‌ها برای ایجاد تحمل خشکی ازجمله مطالعه واکنش ژن از طریق بررسی RNA پیامبر، ذکر گردیده است. بااین‌حال، پیدا کردن راه‌حل دقیق برای تعیین واکنش عوامل ژنتیک برای ایجاد تحمل به خشکی مشکل است زیرا عوامل ژنی که موجب تحمل به خشکی می‌شوند در سایر شرایط تنش‌های غیر زیستی نیز تغییر می‌یابند؛ بنابراین، تلفیق واکنش‌های سلولی و کل واکنش گیاه برای درک صحیح این مسئله اهمیت دارد (Bolanos and Edmeades, 1997).

هر نوع تنشی در میزان و چگونگی بیان ژن تأثیر دارد. لذا با بررسی بیان ژن و RNAهای قسمت‌های مختلف گیاه می‌توان فهمید، تنش خشکی تا چه اندازه باعث بروز ژن تحمل به خشکی گردیده و تعدیل‌کننده‌ها مانند تنظیم‌کننده‌های رشد تا چه اندازه باعث و یا مانع بروز این‌گونه ژن‌ها گردیده‌اند (Leng and Zhao, 2020).

بررسی تحمل خشکی در هیبریدهای دیررس تجارتی ذرت دانه‌ای تحت رژیم‌های متفاوت آبیاری نشان داد که بین هیبریدها ازنظر صفات رویشی، مراحل نمو، عملکرد و اجزای آن تنوع قابل‌ملاحظه‌ای وجود دارد. در تحقیقی دیگر، اکثر صفات مطالعه شده نسبت به شرایط تنش عکس‌العمل منفی نشان دادند (Jain et al., 2019). پژوهشگران زیادی بر اهمیت تأمین آب کافی در مرحله رشد رویشی ذرت تأکید کرده‌اند. به اعتقاد اغلب آن‌ها، کمبود آب در مرحله رشد رویشی تأثیر کمتری بر عملکرد نهایی دارد. لیکن، از این لحاظ

[1] HSG(Heat Shock Genes)

[2] Late Embryogenesis Abundant

که بر گسترش برگ و توسعه ساقه تأثیر گذاشته و تجمع مواد در این اندام‌ها را به‌شدت کاهش می‌دهد، حائز اهمیت است (Mi et al., 2018).

شاخص سطح برگ گیاه یک فاکتور اساسی و تعیین‌کننده برای دریافت نور خورشید، تبادل انرژی و آب و به دنبال آن فتوسنتز است؛ بنابراین اندازه‌گیری آن برای درک اثر متقابل بین رشد گیاه و محیط پیرامون ضروری است. گیاهان، تحت شرایط تنش خشکی، شاخص سطح برگ خود را از طریق لوله کردن برگ‌ها و یا پیری و ریزش زودهنگام آن‌ها کاهش می‌دهند (Seetseng, 2008; Zhang et al., 2018) شاخص سطح برگ از شاخص‌های تعیین‌کننده رشد است و همبستگی زیادی با میزان هورمون اکسین دارد (Karimi and Siddique.,1991). همچنین وجود همبستگی قوی بین شاخص سطح برگ در مرحله گرده‌افشانی با عملکرد بیولوژیک و عملکرد دانه گندم گویای اهمیت این شاخص برای بررسی شاخص‌های مؤثر بر برخی اجزاء عملکرد است (Bruchner et al., 1987).

در یک بررسی مشاهده گردید که با تأخیر آبیاری پس از ۱۱۰ میلی‌متر تبخیر از تشت تبخیر کلاس A (تنش شدید) میانگین شاخص سطح برگ گیاه گندم به‌طور معنی‌دار کاهش یافت (Dehghanzade and Nouza, 2006). در تحقیق دیگری اثر محلول‌پاشی سیتوکنین بر روی واریته هامون گیاه گندم در مراحل مختلف رشد از مراحل خوشه‌دهی (Z59) تا برداشت و اعمال تیمار کاهش آبیاری در مرحله گلدهی (Z69) بررسی شد که اثر تیمار تنش خشکی بر ارتفاع گیاه، ارتفاع پدانکل، عملکرد کل، در سطح پنج درصد معنی‌دار شد (Poodineh et al., 2014). همچنین در آزمایشی دیگر بر روی گیاه جو اثر محلول‌پاشی سیتوکنین و آبیاری کامل روی عملکرد دانه و وزن هزار دانه معنی‌دار بود و عملکرد قابل قبولی با محلول‌پاشی سیتوکنین به دست آمد (Azimi et al., 2013).

گیاهان مکانیسم‌های خاصی برای مقابله با تنش خشکی دارند که یکی از آن‌ها تنظیم اسمزی است. تنظیم اسمزی از طریق تجمع مواد محلول درون سلول‌ها منجر به حفظ تورژسانس و فرایندهای وابسته به آن در پتانسیل پایین آب می‌گردد (Vinocur and Altman, 2005). تنظیم اسمزی از طریق تولید مواد آلی مانند پرولین، پروتئین، بتائین و قندهای محلول در ریشه‌ها و اندام هوایی صورت می‌گیرد. اسیدآمینه پرولین یکی از تنظیم‌کننده‌های اسمزی است که معمولاً در شرایط تنش‌های محیطی در گیاهان تجمع می‌یابد. شکستن سریع پرولین بعد از پایان یافتن شرایط تنش ممکن است خود تأمین‌کننده عوامل موردنیاز فسفوریلاسیون اکسیداتیو میتوکندریایی و تولید ATP جهت ترمیم صدمات ناشی از تنش باشد (Bates et al., 1973). چندین اسیدآمینه دیگر نیز تحت تأثیر تنش‌های مختلف افزایش می‌یابد اما میزان این تغییرات با تغییراتی که در پرولین رخ داده و طی مدت کوتاهی بعد از ایجاد تنش به سطح بالایی می‌رسد، قابل‌مقایسه نیست (Wang et al., 2017). بر اساس برخی گزارش‌ها اسیدآمینه پرولین اثر منفی تنش خشکی بر تثبیت کربن را اصلاح و کاهش فعالیت آنزیم روبیسکو را تحت چنین شرایطی تعدیل می‌نماید (Fendina et al., 1984). تجمع پرولین نتیجه هیدرولیز پروتئین‌ها بوده و مسیرهای پیشنهادی تولید آن از گلوتامیک اسید گزارش شده است (Mureiel, 1984). در شرایط تنش، اکسیداسیون پرولین به علت نقص میتوکندری (Ramzi and Morales, 1994) و اختلال در سنتز پروتئین (Paleg and Spinal, 1981) افزایش می‌یابد. به‌طورکلی پرولین آزاد تحت تنش‌های مختلف ازجمله خشکی، شوری، گرما و... افزایش می‌یابد. پرولین، تشکیلات سنتزکننده پروتئین را تثبیت کرده یا تغییری در تنظیم آنزیم‌های اصلی در شرایط مبارزه با تنش ایجاد می‌کند (Yang et al., 2011; Maghsoudi et al., 2018). پرولین، گلایسین و بتائین در تنش‌های غیر زیستی به‌عنوان تنظیم‌کننده اسمزی در گیاهان محسوب می‌شوند (Bandurska, 2000).

ژن Rab17 هنگامی‌که سطح هورمون ABA زیاد است، القا می‌شود. هورمون ABA باعث تنش خشکی در جنین و بافت‌های رویشی می‌شود (Roychoudhury et al., 2007). این ژن به پروتئین‌های گروه دوم LEA تعلق دارد. چند محصول ژنی همسان با پروتئین‌های رمزگذاری شده با Rab17 در گیاهان مختلف شناسایی شده است (Dure, 1993).

مجموعه بزرگی از پروتئین‌های آب‌دوست، به نام پروتئین‌های LEA، به‌طور طبیعی در برخی از قسمت‌های گیاهان مقاوم در برابر خشکی، مانند دانه‌ها تجمع می‌یابد. این پروتئین‌ها در بافت‌های گیاهی تحت شرایط تنش خشکی نیز سنتز می‌شوند (Jyothsnakumari et al., 2009; Liu et

al., 2010). پروتئین‌های LEA توسط ژن‌های Rab[3] (پاسخگو به اسید آبسیزیک) در گونه‌های مختلف گیاهی کدگذاری می‌شوند (Roychoudhury et al., 2007).

در تحقیقی مشخص گردید که پروتئین‌های نوع LEA در دانه‌ها به‌عنوان مولکول‌های اتصال‌دهنده آب عمل می‌کنند و از سایر پروتئین در برابر آثار منفی ناشی از خشکی، ازجمله جداسازی یون از مولکول ماکرو و محافظت از غشا در برابر آسیب ناشی از انجماد محافظت می‌کنند (Liu et al., 2010; Jyothsnakumari et al., 2009; Roychoudhury et al., 2007; Tunnacliffe and Wise, 2007). در آزمایشی دیگر میزان بیان ژن Rab-17 در شرایط تنش خشکی در گندم با تیمار تنش خشکی ۷ روزه کاهش یافت. در همین آزمایش در تیمارِ تنش خشکی ۱۰ روزه بیان این ژن برجسته بود (Jahanbakhsh et al., 2017).

این پژوهش با توجه به جزییات ذکرشده و همچنین لزوم یافتن روش‌هایی که قبلاً کمتر بررسی گردیده‌اند و موجب افزایش رشد و محصول ذرت از طریق تنظیم فعالیت‌های فیزیولوژیکی و ژنتیک می‌گردند، انجام گردید. هدف از این تحقیق بررسی تأثیر محلول‌پاشی اسیدآمینه پرولین و تنظیم‌کننده‌ها رشد شامل بنزیل آدنین، جیبرلیک اسید و همچنین ترکیب بنزیل آدنین و جیبرلیک اسید و اسیدآمینه پرولین بر رشد، میزان محصول و بیان ژن Rab-17 در ذرت سینگل‌کراس ۷۰۴ تحت شرایط تنش خشکی بود.

مواد و روش‌ها

این مطالعه به‌صورت طرح اسپلیت‌پلات در قالب بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در تابستان سال‌های ۱۳۹۴ و ۱۳۹۵ در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه آزاد اسلامی واحد خوراسگان (اصفهان) انجام شد. مختصات جغرافیایی محل آزمایش، ۵۱ درجه و ۴۶ دقیقه طول شرقی ۳۲ درجه و ۴۴ دقیقه عرض شمالی با ارتفاع ۱۵۱۷ متر از سطح دریا و شیب ۵/۷ درصد به سمت شمال شرق و میانگین بارش سالیانه ۱۱۰ میلی‌متر بود.

تیمارهای آبیاری شامل سه سطح W1 (آبیاری پس از ۷۰ میلی‌متر تبخیر از تشت تبخیر کلاس A) به‌عنوان شاهد، W2 (آبیاری پس از ۹۰ میلی‌متر تبخیر از تشت تبخیر کلاس A) به‌عنوان تنش ملایم، W3 (آبیاری پس از ۱۱۰ میلی‌متر تبخیر از تشت تبخیر کلاس A) به‌عنوان تنش شدید، به‌عنوان عامل اصلی و فیتوهورمون‌های BA6، $GA_{(3+7)}$، اسیدهای آمینه پرولین، $BA6+GA_{3+7}$ +اسیدآمینه پرولین و آب خالص به‌عنوان شاهد به‌عنوان پنج سطح عامل فرعی در نظر گرفته شدند. تنظیم‌کننده‌های رشد و اسیدآمینه پرولین از شرکت روتی‌گرین تهیه و با غلظت ۲۰ پی‌پی‌ام اعمال گردیدند.

زمین محل آزمایش سال قبل به‌صورت آیش بوده و جهت تأمین نیاز کودی ابتدایی بر اساس آنالیز خاک کود گاوی به میزان ۲۰ تن در هکتار استفاده شد. تراکم کاشت ۱۳۰ هزار بوته در هکتار در نظر گرفته شد. هر کرت فرعی شامل شش خط کاشت به طول ۵ متر بود و فاصله بوته‌ها روی هر ردیف، ۱۰ سانتی‌متر و فاصله ردیف‌ها از یکدیگر ۷۵ سانتی‌متر در نظر گرفته شد. بین هر کرت فرعی یک خط نکاشت ۷۵ سانتی‌متری و به‌منظور جلوگیری از اختلاط آبیاری بین کرت‌های اصلی ۳ متر فاصله در نظر گرفته شد. تا قبل از اعمال تنش آبی بوته‌ها هر ۱۰ روز یک‌بار آبیاری شدند. ۴۵ روز پس از کاشت و در مرحله ۱۲ برگی، تیمارهای تنش ملایم و تنش شدید اعمال شد و محلول‌پاشی هورمون‌ها و پرولین در مرحله ساقه دهی ذرت اعمال گردید.

نحوه نمونه‌برداری

از شش خط موجود در هر کرت فرعی، خط یکم، سوم و ششم به‌عنوان حاشیه، خط دو جهت نمونه‌گیری شاخص سطح برگ و محتوای رطوبت نسبی و خط چهار و پنج نیز جهت اندازه‌گیری عملکرد علوفه و عملکرد بلال استفاده گردید. نمونه‌برداری در مرحله خمیری انجام گردید.

صفات مورد ارزیابی

عملکرد علوفه و بلال،شاخص سطح برگ، میزان پرولین و محتوی رطوبت نسبی برگ در سال‌های ۱۳۹۴ و ۱۳۹۵ و اندازه‌گیری میزان بیان ژن توسط REAL TIME RT-PCR فقط در سال ۱۳۹۵ انجام گردید.

عملکرد علوفه و بلال

به‌منظور اندازه‌گیری عملکرد علوفه و عملکرد بلال، از کرت-های فرعی مربوط به هر تیمار ۳ کرت به‌طور تصادفی انتخاب

[3] Responsive to abscisic acid

و بوته‌های ذرت موجود در خط چهارم و پنجم هر کرت برداشت و بلال آن از بوته جدا گردید. سپس علوفه و بلال باقی‌مانده خشک و توزین گردید و عملکرد علوفه و بلال برای هر تیمار محاسبه گردید.

شاخص سطح برگ

به‌منظور اندازه‌گیری شاخص سطح برگ، به‌طور تصادفی سه کرت مربوط به هر تیمار انتخاب و بوته‌های ذرت موجود در خط دوم هر کرت کف‌بر گردید و مساحت سطح برگ، به‌وسیله دستگاه Leaf area meter مارک ADC ساخت کشور تایوان برحسب مترمربع اندازه‌گیری گردید.

برای تعیین تغییرات شاخص سطح برگ از بهترین روابط رگرسیونی ارائه‌شده توسط سلیمانی و همکاران (Soleymani et al., 2002) به‌صورت زیر استفاده گردید.

$$LAI= e^{a1+b1t+c1t2} \qquad [۱]$$

سنجش پرولین آزاد

جهت سنجش میزان پرولین به شکل نمونه‌برداری‌های قبلی به‌طور تصادفی برگ بوته‌های ذرت موجود در خط دوم هر کرت برداشت و پرولین آن به‌وسیله روش بیتس (Bates, 1973) اندازه‌گیری شد. بدین ترتیب که به ۰/۰۴ گرم از برگ خشک‌شده ۱۰ میلی‌لیتر از محلول سولفوسالیسیلیک‌اسید سه درصد (SSA) اضافه گردید، پس از گذشت ۴۸ ساعت محلول از صافی شماره یک صاف عبور داده شد و سپس یک میلی‌لیتر از محلول نمونه را در لوله‌آزمایش ریخته و به آن یک میلی‌لیتر معرف نین هیدرین و یک میلی‌لیتر اسید استیک اضافه گردید. لوله‌های آزمایش یک ساعت در بن ماری جوشان تا زمان تغییر رنگ محلول به رنگ آجری حرارت دیدند. بلافاصله لوله‌ها در آب یخ قرار گرفت (برای توقف واکنش‌ها)، به دنبال آن به هر لوله دو میلی‌لیتر تولوئن افزوده گردید و درنهایت سبب تشکیل دو فاز مختلف شد. از فاز قرمز بالایی نمونه تهیه و در طول‌موج ۵۲۰ نانومتر جذب قرائت شد.

سنجش محتوای رطوبت نسبی

برای اندازه‌گیری محتوای رطوبت نسبی، از خط دوم هر کرت آزمایشی تعدادی برگ کاملاً سبز انتخاب و وزن گردید (به‌عنوان وزن‌تر برگ). سپس برگ‌ها به مدت ۲۴ ساعت در آب مقطر به حالت اشباع درآمده و توزین گردیدند (به‌عنوان وزن تورژسانس). در مرحله بعدی برگ‌ها به مدت ۴۸ ساعت در آون با درجه حرارت ۹۰ درجه سانتی‌گراد خشک و توزین گردیدند (به‌عنوان وزن خشک). سپس با استفاده از فرمول زیر درصد رطوبت نسبی برگ محاسبه گردید (Ardakani and Nadvar, 2010).

$$RWC=\frac{(\text{وزن تورژسانس})-(\text{وزن خشک})}{(\text{وزن تر})-(\text{وزن خشک})}\times ۱۰۰ \qquad [۲]$$

استخراج RNA و سنتز cDNA جهت سنجش بیان ژن Rab17

نمونه بافت برگ ذرت را در داخل تیوب ۱/۵ میلی‌متر با ۱۰۰۰ میکرولیتر از RNX بشدت مخلوط و برای ۵ دقیقه در دمای اتاق نگه داشته شد. سپس به‌اندازه ۲۰۰ میکرولیتر محلول کلروفرم اضافه و تیوب‌ها سروته گردیده و برای ۵ دقیقه روی یخ نگاه داشته شدند. محلول حاصل در سانتریفیوژ با دور ۱۲۵۰۰ برای ۱۵ دقیقه چرخانده شد و فاز رویی که فقط حاوی RNA بود به تیوب جدید منتقل و به‌اندازه حجمی از مایع رویی برداشت گردیده (حدود ۴۰۰ میلی‌لیتر) با ایزوپروپانول مخلوط و برای ۱۵ دقیقه روی یخ نگاه داشته شد. مجدداً از سانتریفیوژ ۱۲۵۰۰ دور برای مدت ۱۵ دقیقه استفاده گردید. در ادامه ماده درون تیوب را کاملاً خالی و ۱۰۰۰ میکرولیتر از الکل سرد ۷۵٪ به آن اضافه نمودیم و مجدداً از دستگاه سانتریفیوژ با دور ۷۵۰۰ برای ۸ دقیقه استفاده گردید. بعد از خالی کردن تیوپ و خشک‌کردن آن ۱۵ میکرولیتر آب DEPC به تیوب اضافه گردید تا در RNA آب حل شود. در پایان به‌وسیله الکتروفورز ژن RUN گردید. cDNA طبق دستورالعمل سازنده با استفاده از کیت سنتز cDNA از RNA کل استخراج شد. برای طراحی آغازگر اختصاصی از پایگاه NCBI با شماره دستیابی X1599 توالی ژن موردنظر به دست آمد. سپس با کمک نرم‌افزار پرایمر ۳ جفت آغازگرهای QPCR طراحی شد. توالی آغازگر و عکس آن به این صورت بود:

۵´-AGACGGGGCAGACCATTCA [۳]

۳´ -TAGCGAAACAGAAGGAGGG-5 [۳´]

بر اساس دمای اتصال به‌دست‌آمده، هر پرایمر برای نمونه cDNA در دستگاه ریل تایم طبق برنامه ارائه‌شده در جدول ۱ قرارگرفته و ژن مدنظر تکثیر گردید. لازم به ذکر است که برای بررسی بیان یک ژن بایستی به میزان زیادی ژن مدنظر

سنتز شود. به این منظور از دستگاه PCR برای تکثیر نسخه رشته‌های کوتاه RNA و DNA استفاده گردید.

آنالیزها و محاسبات آمار

تجزیه‌وتحلیل‌های آماری با استفاده از نرم‌افزارهای SAS و MSTATC؛ و مقایسات میانگین به‌وسیله روش LSD (حداقل اختلاف معنی‌دار) انجام شدند.

نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس تیمارهای آزمایش نشان داد که اثرات تنش خشکی بر روی کلیه صفات اندازه‌گیری شده در سطح ۱٪ معنی‌دار شد. در مورد اثر متقابل سال در آبیاری در همه صفات به جزء عملکرد علوفه در سطح احتمال ۵٪ معنی‌دار گردید (جدول ۲).

جدول ۱. برنامه مورداستفاده برای ترموسایکلر

Table 1. Application used for the thermocycler

مرحله دمایی Temperature stage	دما (درجه سانتی‌گراد) Temprature (℃)	زمان (ثانیه) Time (s)	دوره Period
The initial opening of two strings باز شدن ابتدایی دو رشته	90	180	1
The final opening of the two strings باز شدن نهایی دو رشته	90	15	40
Connection اتصال	60-70	30	40
String reconstruction بازسازی رشته	72	45	40

جدول ۲. تجزیه واریانس مرکب اثر سال، سطوح آبیاری و محلول‌پاشی بر صفات مورد مطالعه در رقم ذرت ۷۰۴

Table 2. Composite analysis of variance of the effect of year, irrigation levels and foliar application on studied traits in corn (Zea mays L) single cross 704

S.O.V	منابع تغییر	درجه آزادی df	عملکرد علوفه Forage yield	عملکرد بلال Cob yield	پرولین Prolin	شاخص سطح برگ LAI	رطوبت نسبی برگ RWC
Year (Y)	سال	1	39.085*	0.011	0.053	0.444**	359.680*
Error a	خطا۱	4	5.628	0.010	2.388	0.010*	33.280
Irrigation (I)	آبیاری	2	893.530**	0.592**	184.769**	0.095**	12863.845**
Y * I	سال×آبیاری	2	11.526	0.062*	14.095*	0.016*	175.035*
Error b	خطا۲	8	4.120	0.009	3.099	0.002	38.881
Spraying (S)	محلول‌پاشی	4	88.672**	0.044**	20.123**	0.003	41.965
Y * S	سال×محلول‌پاشی	4	9.351	0.011	6.778**	0.007	22.249
S * I	آبیاری× محلول‌پاشی	8	16.549	0.025**	2.224	0.003	142.101**
Y * I *S	سال×آبیاری×محلول‌پاشی	8	9.163	0.016**	3.171*	0.005	50.134*
Error c	خطا۳	48	13.324	0.005	1.096	0.008	18.874

*و** به ترتیب معنی‌دار در سطوح احتمال ۵ و ۱ درصد

* and ** significant at the 0.05 and 0.01 level, respectively

بیشترین عملکرد بلال در سال ۱۳۹۴ برای شرایط عدم تنش رطوبتی (کنترل) و محلول‌پاشی تیمار ترکیب اسیدآمینه همراه تنظیم‌کننده‌های رشد (AA+BA6+GA3+7) بود و کمترین آن مربوط به تیمار تنش شدید (mm۱۱۰) و محلول‌پاشی AA+BA6+GA3+7 بود. این روند مربوط به سال ۱۳۹۵ بود و بیشترین عملکرد بلال توسط تیمارهای عدم تنش خشکی و محلول‌پاشی ترکیب اسیدآمینه و تنظیم‌کننده‌های رشد و کمترین میزان توسط تیمارهای تنش خشکی شدید و محلول‌پاشی اسیدآمینه پرولین حاصل گردید (جدول ۳).

کاهش دانه در بلال ممکن است بر اثر تاخیر در پیدایش کاکل و یا سقط جنین در اثر کمبود دسترسی به هیدرات

کربن باشد(Bassetti et al.,1993). بیشترین عملکرد علوفه در شرایط عدم تنش خشکی و کمترین در شرایط تنش خشکی شدید حاصل گردید (جدول ۳). در سال ۱۳۹۴ بیشترین عملکرد علوفه مربوط به شرایط عدم تنش (کنترل) و محلول‌پاشی $AA+BA6+GA_{(3+7)}$ و در سال ۱۳۹۵ مربوط به شرایط عدم تنش و محلول‌پاشی BA6 بود (جدول ۳).

جدول ۳. مقایسه میانگین اثر متقابل تیمارهای آزمایشی بر صفات اندازه‌گیری شده ذرت

Table 3. Comparison of the mean interaction of experimental treatments on the measured traits of corn

سال Year	سطح آبیاری Irrigation level	تیمار محلول‌پاشی Spraying	عملکرد بلال Cob yield	میزان پرولین Prolin	محتوای رطوبت نسبی RWC
1394 2015	70	Proline amino acid	16.37^{a}	5.58^{defgh}	89.3^{ab}
		BA_6	10.35^{bcdef}	3.90^{hijk}	94.60^{a}
		Control	8.35^{efghij}	1.90^{l}	92.64^{a}
		GA_{3+7}	13.30^{abcd}	2.60^{jkl}	88.60^{ab}
		$AA+BA_6+GA_{3+7}$	16.65^{a}	4.34^{ghijk}	82.40^{bc}
	90	Proline amino acid	8.02^{efghij}	7.22^{cde}	76.35^{cd}
		BA_6	7.5^{fghijk}	4.08^{hijk}	65.79^{e}
		Control	6.35^{ijklmn}	3.21^{ijkl}	79.39^{cd}
		GA_{3+7}	9.35^{defg}	4.21^{hijk}	72.49^{de}
		$AA+BA_6+GA_{3+7}$	6.65^{ghijkl}	5.18^{fghi}	72.38^{de}
	110	Proline amino acid	8.65^{efghi}	10.10^{a}	45.94^{hi}
		BA_6	$6.35^{hijklmn}$	10.03^{a}	44.32^{hi}
		Control	$6.65^{ghijklm}$	7.5^{bcd}	41.05^{i}
		GA_{3+7}	5.85^{jklmn}	10.76^{a}	43.87^{hi}
		$AA+BA_6+GA_{3+7}$	4.45^{mn}	9.19^{ab}	49.20^{ghi}
1395 2016	70	Proline amino acid	14.68^{ab}	5.26^{efgh}	88.24^{ab}
		BA_6	13.83^{abc}	4.62^{fghij}	93.50^{a}
		Control	9.98^{cdef}	4.18^{hijk}	90.90^{a}
		GA_{3+7}	10.33^{bcdef}	2.54^{kl}	89.60^{ab}
		$AA+BA_6+GA_{3+7}$	14.77^{ab}	4.04^{hijk}	77.42^{cd}
	90	Proline amino acid	10.93^{bcde}	6.33^{defg}	79.65^{cd}
		BA_6	9.05^{efgh}	6.34^{defg}	76.50^{cd}
		Control	7.48^{fghijk}	6.55^{def}	80.70^{cd}
		GA_{3+7}	15.69^{a}	4.14^{hijk}	73.35^{de}
		$AA+BA_6+GA_{3+7}$	10^{cdef}	5.5^{defgh}	89.20^{ab}
	110	Proline amino acid	4.28^{n}	9.56^{a}	54.99^{fg}
		BA_6	5.05^{lmn}	9.92^{a}	57.80^{f}
		Control	5^{lmn}	5.69^{defgh}	50.03^{gh}
		GA_{3+7}	13.87^{ghi}	7.97^{efghi}	5.56^{defgh}
		$AA+BA_6+GA_{3+7}$	16.35^{efghi}	5.27^{klmn}	8.84^{abc}

میانگین‌هایی که در هر ستون حداقل در یک حرف مشترک می‌باشند، تفاوت معنی‌داری با یکدیگر ندارند (LSD=5%).

In each column means followed by same letters do not differ significantly

کمترین عملکرد علوفه در هر دو سال مربوط به تیمار تنش شدید و عدم محلول‌پاشی (کنترل) بود. همچنین اثر متقابل آبیاری در محلول‌پاشی برای شاخص سطح برگ معنی‌دار نگردید (جدول ۲). در سال ۱۳۹۴ بیشترین میزان شاخص سطح برگ مربوط به سطح آبیاری بدون تنش و کمترین آن مربوط به تنش شدید بود که اختلاف معنی‌داری با تنش ملایم نداشت. در سال ۱۳۹۵ بیشترین شاخص سطح برگ در شرایط تیمار بدون تنش خشکی و کمترین آن مربوط به تنش خشکی شدید بود (جدول ۴).

جدول ۴. مقایسه میانگین اثر متقابل سال بر سطح آبیاری بر صفات اندازه‌گیری شده ذرت

Table 4. Comparison of the mean interaction of the year on irrigation level on the measured traits of corn (Zea mays L)

سال Year	آبیاری Irrigation	شاخص سطح برگ LAI
1394 2015	70	3.21[c]
	90	1.99[d]
	110	1.82[d]
1395 2016	70	4.18[a]
	90	3.66[b]
	110	3.38[bc]

میانگین‌هایی که در هر ستون حداقل در یک حرف مشترک می‌باشند، تفاوت معنی‌داری با یکدیگر ندارند

In each column means followed by same letters do not differ significantly

میزان شاخص سطح برگ در مرحله کاکل دهی به حداکثر می‌رسد و پس‌ازآن به دلیل ریزش برگ‌ها روند نزولی دارد. کم‌آبی اثر معنی‌داری بر شاخص سطح برگ دارد که با عملکرد ماده خشک به‌صورت مثبت دارای همبستگی است (Nour Azhar and Ehsanzadeh.,2007).

پژوهشگران کاهش عملکرد دانه و علوفه ذرت در اثر تنش خشکی در مراحل زایشی را به کاهش سطح برگ نسبت داده‌اند. بیشترین بخش وزن دانه از فتوسنتز بوته پس از دوران گل‌دهی تأمین می‌شود؛ بنابراین، در مدیریت مزرعه هرچه طول دوره سبزمانی برگ‌ها زیادتر شود، هیدرات‌کربن بیشتری به دانه منتقل خواهد شد. تنش خشکی با کاستن از طول دوره سبزمانی برگ در مراحل پایانی رشد می‌تواند موجب افت شدید تولید مواد پرورده توسط اندام‌های فتوسنتز کننده شود (Mi et al., 2018).

اثر متقابل سال در محلول‌پاشی فقط برای میزان پرولین معنی‌دار گردید (جدول ۲) که در هر دو سال یکسان بوده و با افزایش تنش خشکی میزان آن در برگ گیاه افزایش یافت (جدول ۳). به نظر می‌رسد تأثیرگذاری تنظیم‌کننده‌های رشد بر تولید پرولین به دلیل تأثیر بر باز و بسته شدن روزنه باشد، بدین ترتیب در شرایط تنش خشکی آب کافی در محیط ریشه وجود نداشته و بسته شدن روزنه نیز به دلیل وجود هورمون با تأخیر صورت گرفته و هدر رفت آب زودتر رخ می‌دهد و غلظت اسیدآمینه پرولین افزایش می‌یابد ولی در شرایط عدم تنش خشکی، افزایش گشودگی روزنه توسط محلول‌پاشی تنظیم‌کننده‌های رشد ازیک‌طرف و وجود رطوبت در محیط ریشه از سوی دیگر باعث افزایش سیستم تعرق و خنک شدن گیاه و درنتیجه کاهش تولید اسیدآمینه پرولین می‌گردد (Maghsoudi et al., 2018).

در مورد رطوبت نسبی (RWC) برگ، بیشترین آن در سال ۱۳۹۴ مربوط به تیمار عدم تنش و محلول‌پاشی بنزیل آدنین و کمترین مربوط به تنش خشکی شدید و محلول‌پاشی آب (تیمار کنترل) بود که اختلاف معنی‌داری با سایر محلول‌پاشی‌ها نداشت و این روند در سال ۱۳۹۵ نیز تکرار شد (جدول ۳). در تنش خشکی ملایم محلول‌پاشی‌ها توانسته بود تا حد زیادی کاهش رطوبت نسبی برگ را تعدیل و اختلاف با سطح آبیاری ۷۰mm (کنترل) را کمتر کنند؛ بنابراین بر اساس نتایج حاصل‌شده، کاهش محتوای آب نسبی و بسته شدن روزنه‌ها اولین تأثیر تنش خشکی بوده که از طریق اختلال در سیستم ساخت مواد فتوسنتزی موجب کاهش میزان عملکرد می‌شود. تحت شرایط تنش خشکی گیاه روزنه‌های خود را می‌بندد و درنتیجه میزان دی‌اکسید کربن درون‌سلولی کاهش می‌یابد که این امر منجر به کاهش فتوسنتز و ساخت‌وساز در برگ می‌شود. طبق نتایج به‌دست‌آمده کاهش محتوای رطوبت نسبی با بیشتر شدن تنش اتفاق افتاد (Kimm et al., 2020).

طبق نتایج استخراج‌شده از REAL TIME RT PCR، اثر آبیاری و اثر متقابل آبیاری در محلول‌پاشی در بیان ژن مقاوم به تنش خشکی در سطح احتمال ۱٪ معنی‌دار گردید. بیشترین بیان ژن در سطح آبیاری mm70 (بدون تنش خشکی) و تیمار محلول‌پاشی اسیدآمینه پرولین و کمترین بیان ژن در تیمار سطح آبیاری ۱۱۰(تنش خشکی شدید) و تیمار محلول‌پاشی اسیدآمینه پرولین حاصل گردید (جدول ۵)؛ بنابراین تنش خشکی نتوانسته است باعث نسخه‌برداری

بیشتر ژن Rab17 گردد، زیرا تنش خشکی منجر به افزایش هورمون ABA در اندام موردنظر نشده است (Leng and Zhao, 2020).

در تحقیق انجام‌شده توسط جهانبخش و همکاران، تغییراتی را در الگوهای کلی سنتز پروتئین صورت گرفت. در میان پروتئین‌های موجود در رویان بالغ و بافت‌های رویشی تحت تنش خشکی و هورمون آبسیزیک اسید و پروتئین‌های LEA به‌عنوان گروه‌های اصلی بیان ژن خود را تغییر دادند. این پروتئین‌ها برای ترمیم پروتئین‌های آسیب‌دیده ضروری هستند (Allagulova et al., 2003).

جدول ۵. تجزیه واریانس اثر سطوح آبیاری و محلول‌پاشی بر محتویات ژنتیک ذرت (مربوط به سال ۱۳۹۵)

Table 5. Analysis of variance of the effect of irrigation and foliar application levels on the genetic contents of maize (related to 2016)

S.O.V	منابع تغییر	درجه آزادی df	میزان بیان ژن Gene expression rate
Block	بلوک	2	0.152
Irrigation (I)	آبیاری	2	38.497**
Error a	خطای ۱	4	0.569
Spraying (S)	محلول‌پاشی	4	0.949
I * S	آبیاری× محلول‌پاشی	8	18.142**
Error b	خطای ۲	24	0.710

* و ** به ترتیب معنی‌دار در سطوح احتمال ۵ و ۱ درصد

* and ** significant at the 0.05 and 0.01 level, respectively

به نظر می‌رسد که افزایش اولیه پروتئین‌های محلول در طول تنش خشکی به دلیل بیان پروتئین‌های استرس جدید بوده است، اما به دلیل کاهش شدید فتوسنتز و محتوای کلروفیل، کاهش بعدی نیز رخ داده است.

یکی از اهداف محلول‌پاشی تنظیم‌کننده‌های گیاهی طی دوره زایشی، افزایش دوره سبزینگی و فعالیت فتوسنتزی برگ‌ها برای انتقال مواد فتوسنتزی بیشتر به دانه است (Shourbalal et al., 2019). در بین تیمارهای محلول‌پاشی، تأثیر معنی‌داری بر میزان PCR و بیان ژن مشاهده نگردید. به نظر می‌رسد با توجه به نتایج حاصله در شرایط تنش ملایم، بیشترین میزان مربوط به محلول‌پاشی پرولین بود.

در شرایط تنش خشکی شدید (۱۱۰mm) با محلول‌پاشی AA+BA6+GA(3+7) بیشترین بیان ژن موردنظر به دست آمد (جدول ۶). با توجه به نتایج به‌دست‌آمده مربوط به بیان ژن نشان از عدم تأثیر محلول‌پاشی تنها (فقط یک تنظیم‌کننده رشد) بر روی بوته‌های تحت تنش است. با توجه به نتایج به‌دست‌آمده می‌توان نتیجه گرفت تنش خشکی و میزان سطوح آبیاری بیشترین تأثیر بر روی میزان PCR داشته است و بعدازآن محلول‌پاشی پرولین بخصوص نتایج تأثیرگذاری بر روی محتوای ژنتیک ذرت داشته است.

جدول ۶. مقایسه میانگین اثر متقابل تیمارهای آزمایشی بر محتویات ژنتیک ذرت (مربوط به سال ۱۳۹۵)

Table 6. Comparison of the mean interaction of experimental treatments on the genetic contents of corn (related to 2016)

سطح آبیاری Irrigation	تیمار محلول‌پاشی Spraying	تعداد واکنش PCR Number of reactions PCR
70	Proline Amino acid اسید آمینه پرولین	27.18a
	BA6 بنزیل آدنین	23.38efg
	Control شاهد	25.58b
	GA3+7 جیبرلین	25.39bc
	AA+BA6+GA3+7 پرولین+بنزیل آدنین+جیبرلین	25.12bcd
90	Proline Amino acid اسید آمینه پرولین	24.85bcde
	BA6 بنزیل آدنین	23.90cdef
	Control شاهد	20.88h
	GA3+7 جیبرلین	23.56defg
	AA+BA6+GA3+7 پرولین+بنزیل آدنین+جیبرلین	22.27gh
110	Proline Amino acid اسید آمینه پرولین	17.49i
	BA6 بنزیل آدنین	22.50fg
	Control شاهد	24.54bcde
	GA3+7 جیبرلین	22.16gh
	AA+BA6+GA3+7 پرولین+بنزیل آدنین+جیبرلین	24.44bcde

میانگین‌هایی که در هر ستون حداقل در یک حرف مشترک می‌باشند، تفاوت معنی‌داری با یکدیگر ندارند

In each column means followed by same letters do not differ significantly

ژن‌های زیادی در تعیین واکنش گیاه نسبت به تنش خشکی نقش ایفا می‌کنند. عوامل ژنی که موجب مقاومت به خشکی می‌شوند در سایر شرایط تنش نیز تغییر می‌یابند؛ بنابراین، تلفیق واکنش‌های سلولی و کل واکنش گیاه برای درک صحیح این مسئله اهمیت دارد (Chai etal., 2016).

آنچه قابل‌تأمل است تأثیر محلول‌پاشی در کاهش اختلاف PCR میان تنش خشکی متوسط (۹۰mm) و شرایط عدم تنش (۷۰mm) است. به جزء محلول‌پاشی اسیدآمینه پرولین و بنزیل آدنین، سایر محلول‌پاشی‌ها تأثیر زیادی در کاهش اختلاف این دو سطح آبیاری نداشتند و در شرایط تنش شدید نیز محلول‌پاشی اسیدآمینه+ جیبرلین+بنزیل آدنین توانست تا حدودی مانع کاهش افت شدید میزان PCR گردد.

در شرایط تنش خشکی شدید، بیان ژن تولیدکننده پروتئین‌های شوک حرارتی در ژنوتیپ متحمل ذرت افزایش معنی‌داری پیدا می‌کند، به صورتی که با ادامه روند تنش خشکی بر میزان بیان این ژن افزوده می‌گردد (Chai etal., 2016).

تنش خشکی و همچنین هورمون آبسیزیک اسید (ABA) سبب افزایش بیان ژن Rab17 می‌گردند که در ناحیه پیش‌بر (promoter) حاوی المنت‌های DBF1 و DBF2 است. المنت DBF1 سبب افزایش بیان Rab17 و بشدت موجب افزایش فعالیت پیش‌بر ژن می‌گردد، درصورتی‌که DBF2 به‌صورت معکوس عمل نموده و سبب کاهش فعالیت پیش‌بر ژن می‌گردد؛ یعنی اینکه فعالیت این دو المنت با توجه به بیان ژن rab17 به‌صورت متفاوتی موجب اثر هورمون ABA بر بیان ژن rab17 می‌گردند. مسیرهای سیگنالی در گیاه در شرایط تنش خشکی به‌صورت وابسته و یا غیر وابسته به ABA هستند. تطابق ذرت در شرایط خشکی با فعال گردیدن سیگنال‌های مختلف همچون مسیرهای یونی، هورمون‌های گیاهی و گونه‌های فعال اکسیژن (reactive oxygen species) می‌گردد. چنین فعالیت‌هایی موجب فعال گردیدن ژن‌های مختلف همچون rab17 می‌گردد که از طریق فرآیندهایی همچون کاهش باز شدن روزنه‌ها، کاهش تعریق آب از برگ‌ها و بهبود رشد ریشه‌های سبب افزایش تحمل گیاه ذرت به تنش خشکی می‌گردند (Leng and Zhao,2020).

نتیجه‌گیری نهایی

با توجه به نتایج به‌دست‌آمده در این پژوهش مشخص گردید که تنش خشکی باعث کاهش کلیه صفات بررسی گردیده در ذرت گردید و محلول‌پاشی اسیدآمینه پرولین تا حد زیادی توانست این افت عملکرد را جبران نماید. درعین‌حال به‌طورکلی به نظر می‌رسد که تغییر در بیان تعدادی از ژن‌ها در پاسخ به تنش خشکی به وقوع می‌پیوندد و نتایج حاصله نشان می‌دهد که با توجه به اینکه گیاه ذرت یک گیاه C_4 است توان بهره‌برداری و سازگاری بیشتری نسبت به گیاه C_3 در مواجه با تنش خشکی دارا است. ولی با توجه به نتایج حاصله رقم ۷۰۴ از ارقام ذرت حساس به تنش خشکی است. یافته‌های این پژوهش نشان داد که بیان ژن نقش مهمی در سازوکارهای تحمل به خشکی ذرت دارد که پیشنهاد می‌شود در تحقیقات آینده بیشتر موردبررسی قرار گیرد.

منابع

Ahmadi, A., Siosehmard, A., 2004. Effect of drought stress on soluble carbohydrates of chlorophyll and proline in four wheat cultivars adapted to different climatic conditions of Iran.Iranian Journal of Agricultural Sciences. 35, 7-763. [In Persian with English Summary]

Ali, F., Bano, A., Fazal, A., 2017. Recent methods of drought stress tolerance in plants. Plant Growth Regulation. 82, 363-375.

Allagulova, C.H.R., Gimalov, F.R., Shakiriva, F.M., Vakhitov, V.A., 2003. The plant dehdrins, structure and putative functions. Biochemistry. 68, 945-951.

Ardakani, M.R., Nadvar, R., 2010. Principles and Techniques for Plant and Scientist (translated). Tehran University. 502 pp. [In Persian].

Athar, H.R., Ashraf, M., 2005. Photosynthesis under Drought Stress. In: Pessarakli M, editor. Handbook of Photosynthesis. New York, NY, USA: CRC Press, pp. 793-804

Azimi, S.M., Nabati, E., Shaban, M., Lak, M., 2013. Effect of N and P bio fertilizers on yield components of barley. International Journal of Advanced Biological and Biomedical Research. 2, 365-370.

Bartlez, N., Danin-Poleg, Y., Tzuri, G., Karchi, Z., Lavi, U., Cregan, P.B., 2005. Length polymorphism and homologies of

microsatellites in several Curcubitaceae species. Theoretical and Applied Genetics. 93, 1282-1290.

Bassetti, P., Westgate, M.E., 1993. Water deficit affect receptivity of maize silks. Crop Science. 33, 278-182.

Bates, L.S., Waldern, R.P., Tear, I.D., 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. Plant and Soil. 39, 205-207.

Bolanos, J., Edmeades, G.O., 1997. The importance of the anthesis silking interval in breeding for drought tolerance in tropical maize. Field Crop Research. 48, 65-80.

Bruchner, P.L., Fohbery, R.C., 1987. Stress tolerance and adaptation in Spring wheat. Crop Science. 27, 31-36.

Chai, Q., Gan, Y., Zhao, C., Xu, H.L., Waskom, R.M., Niu, Y., Siddique, K.H., 2016. Regulated deficit irrigation for crop production under drought stress. A review. Agronomy for Sustainable Development 36, 3.

Chaudhuri, N.V.,Kanemasa, E.T., 1982. Effects of water gradient on sorghum growth,water relations and yield. Canadian Journal of Plant Science. 62, 599-607.

Clouse, S.D., Zurek, D.M., McMorris, T.C., Baker, M.E., 1992. Effect of brassinolide on gene expression in elongating soybean epicotyls. Plant Physiology. 100, 1377-1383

Dehghanzadeh, H.,Nozad namini, K., 2006. The effect of low irrigation treatments on the accumulation of proline, soluble free sugars and potassium in bread wheat cultivars. Journal of Ecophysiological Crops. 1(1), 16-20. [In Persian with English Summary].

Dure, L., 1993. A repeating 11-mer amino acid motif and plant desiccation. Plant Journal. 3, 363–369.

Efeoglu, B., Ekmekci, Y., Cicek, N., 2009. Physiological responses of three maize cultivars to drought stress and recovery. South African Journal of Botany. 75, 34–42.

Fendina, I.S., Tsonev, T., Guleva, E.L., 1984. The effect of pretreatment with praline on the responses of (*Pisum sativum* L.) to salt stress. Photosynthetica. 29, 521-527.

Jahanbakhsh, S., Chilan H., Razavi, K., 2017. Effects of water deficit on the physiological response, total protein, and gene expression of Rab17in wheat (*Triticum aestivum*). Journal of Plant Process and Function. 5(18), 35-42.

Jain, M., Kataria, S., Hirve, M., Prajapati, R., 2019. Water Deficit Stress Effects and Responses in Maize. In: Hasanuzzaman, M., Hakeem, K., Nahar, K., Alharby, H. (eds), Plant Abiotic Stress Tolerance. Springer, Cham. pp. 129-151. https://doi.org/10.1007/978-3-030-06118-0_5

Jyothsnakumari, G., Thippeswamy, M., Veeranagamallaiah, G., Sudhakar, C., 2009. Differential expression of LEA proteins in two genotypes of mulberry undersalinity. Plant Biology. 53, 145-150.

Karimi, M.M., Siddique, K. H. M., 1991. Crop growth rates of old and modern wheat cultivars. Australian Journal of Agricultural Research. 42, 13-20. [In Persian with English Summary].

Khodabandeh,N., 2000. Cereals. Tehran University Press, 537 pp. [In Persian].

Kimm, H., Guan, K., Gentine, P., Wu, J., Bernacchi, C.J., Sulman, B.N., Griffis, T.J., Lin, C., 2020. Redefining droughts for the US Corn Belt: The dominant role of atmospheric vapor pressure deficit over soil moisture in regulating stomatal behavior of maize and soybean. Agricultural and Forest Meteorology. 287, 107-930.

Lee, B.H., Henderson, D.A., Zhu, J.K., 2005. The Arabidopsis cold-responsive transcriptome and its regulation by ICE1. Plant Cell. 17, 3155-3175.

Leng, P., Zhao, J., 2020. Transcription factors as molecular switches to regulate drought adaptation in maize. Theoretical and Applied Genetics. 133, 1455-1465.

Liu, R., Liu, M., Liu, J., Chen, Y., Chen, Y., Lu, C., 2010 Heterologus expression of an Ammopiptanthus mongolicuslate embryogenesis abundant protein gene (AmLEA) enhances Escherichia coli viability under cold and heat stress. Plant Growth Regulation. 60, 163-168.

Maghsoudi, K., Emam, Y., Niazi, A., Pessarakli, M., Arvin, M.J., 2018. P5CS expression level and proline accumulation in the sensitive and tolerant wheat cultivars under control and drought stress conditions in the presence/absence of silicon and salicylic acid. Journal of Plant Interactions. 13, 461-471.

Mi, N., Cai, F., Zhang, Y., Ji, R., Zhang, S., Wang, Y., 2018. Differential responses of maize yield to drought at vegetative and reproductive stages. Plant, Soil and Environment. 64, 260-267.

Miransari, M., Smith, D.L., 2014. Plant hormones and seed germination. Environmental and Experimental Botany. 99, 110-121.

Mohammadkhani, N., Heidari, R., 2007. Effects of water stress on respiration, photosynthetic pigments and water content in two maize cultivars. Pakistan Journal of Biological Sciences. 10, 4022–4028.

Mureiel, J., 1984. Free proline and reducing sugars accumulation in water stress. Anales del Instituto Nacional de Investigaciones Agrarias. Serie Agricola. 29, 39-46

Nouri Azhar, J., Ehsanzadeh, P., 2007. Evaluation of Interrelationship of Growth Indices and Grain Yield of Five Maize Hybrids under Two Irrigation Regimes in Isfahan. JWSS-Isfahan University of Technology. 11, 261-273. [In Persian with English Summary].

Paleg, L., Spinal, D., 1981. The Physiology and Biochemistry of Drought Resistance in Plant. Academic Press. 89-101.

Poodineh, O., Keighobadi, M., Dehghan, S., Raoofi, M.M., 2014. Evaluation of intercropping system on weed management, forage quality available of nitrogen and resource use. International Journal of Agriculture and Crop Science. 7, 1298-1303.

Ramzi, B., Morales, F., 1994. Chlorophyll flourescens as a possible tool for salinity tolerance screening in barley. Plant Physiology. 104, 667-673.

Roychoudhury, A., Roy, C., Sengupta, D.N., 2007.Transgenic tobacco plants overexpressing the heterologous LEA gene Rab16A from rice during high salt and water deficit display enhanced tolerance to salinity stress. Plant Cell Reports. 26, 1839-1859.

Sallah, P.Y.K., Antwi, K.O., Ewool, M.B., 2002 Potential of elite maize composites for drought tolerance in stress and non-drought stress environments. African Crop Science Journal. 10, 1–9.

Seetseng, K.A., 2008. Effect of water application and plant density on canola (*Brassica napus* L.) in the free state. M.S. thesis, University of the Free State Bloemfontein. South Africa

Shaddad, M. A. K., Hamdia, A.S., Mohammed, H.T., 2011. Interactive effects of drought stress and phytohormones or polyamines on growth and yield of two m (*Zea maize* L.) genotypes. American Journal of Plant Sciences. 2, 790-807.

Sharifi, P., Mohammadkhani, N., 2016. Effects of drought stress on photosynthesis factors in wheat genotypes during anthesis. Cereal Research Communications. 44, 229-239.

Shourbalal, S.K.S., Soleymani, A., Javanmard, H.R., 2019. Shortening vernalization in winter wheat (*Triticum aestivum* L.) using plant growth regulators and cold stratification. Journal of Cleaner Production. 219, 443-450.

Soleymani, A., Khajepour, M.R, Noormohammadi, G.H., Sadeghain, S.Y., 2002. Study of some physiological indicators affecting the growth of sugar beet under the influence of different planting dates and arrangements, Journal of Agricultural Sciences, 9(1), 121-105. [In Persian with English Summary]

Tahaei, A., Soleymani, A., Shams, M., 2016. Seed germination of medicinal plant, fennel (*Foeniculum vulgare* Mill), as affected by different priming techniques. Applied Biochemistry and Biotechnology. 180, 26-40.

Tunnacliffe, A., Wise, M.J., 2007. The continuing conundrum of the LEA proteins. Naturwissenschaften. 94, 791-812.

Vinocur, B., Altman, A., 2005. Recent Advances in Engineering Plant Tolerance to Abiotic Stress: Achievements and Limitations. Current Opinion in Biotechnology. 16, 123-132.

Wang, H., Yang, Z., Yu, Y., Chen, S., He, Z., Wang, Y., Jiang, L., Wang, G., Yang, C., Liu, B., Zhang, Z., 2017. Drought enhances nitrogen uptake and assimilation in maize roots. Agronomy Journal. 109, 39-46.

Yunlong, Z., 2007. Effects of water-deficit stress on the transcriptomes of developing immature and tassel in maize. Plant Cell Report. 26, 2137-2147

Zhang, Y., Hansen, N., Trout, T., Nielsen, D., Paustian, K., 2018. Modeling deficit irrigation of maize with the DayCent model. Agronomy Journal. 110, 1754-1764.