

ارزیابی صفات بیوشیمیایی و فیزیولوژیک لاین‌های S₆ ذرت (*Zea mays L.*) در شرایط نرمال و کمبود آب و بررسی روابط خویشاوندی آن‌ها با تجزیه خوشه‌ای

مهدی رحیمی^{۱*}، فرهاد صادقی^۲

^۱گروه بیوتکنولوژی، پژوهشکده علوم محیطی، پژوهشگاه علوم و تکنولوژی پیشرفته و علوم محیطی،

دانشگاه تحصیلات تکمیلی صنعتی و فناوری پیشرفته، کرمان، ایران.

^۲بخش تحقیقات زراعی و باغی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی کرمانشاه،

سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرمانشاه، ایران.

تاریخ پذیرش: ۹۸/۰۹/۱۵

تاریخ دریافت: ۹۸/۰۶/۱۱

چکیده

به منظور بررسی واکنش ۱۵ لاین S₆ ذرت به تنش خشکی، آزمایشی به صورت کرت‌های خرد شده بر پایه طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در سال ۱۳۹۴ در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه تحصیلات تکمیلی صنعتی و فناوری پیشرفته کرمان اجرا گردید. در این مطالعه فاکتور اصلی تنش در دو سطح (نرمال با دور آبیاری ۵ روز و تنش کم آبیاری با دور آبیاری ۱۰ روز) و فاکتور فرعی لاین ذرت در ۱۵ سطح بود. نتایج نشان داد که بین سطوح تنش و لاین‌ها از نظر تمام صفات مورد بررسی (کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل، کاروتنوئیدها، قندهای احیاءکننده، محتوای پروتئین و پرولین) اختلاف معنی‌داری وجود داشت. مقایسه میانگین لاین‌ها نشان داد که لاین ۳، ۹ و ۵ بیشترین مقدار پرولین را در شرایط تنش خشکی دارا بودند. کمترین ضریب تغییرات فنوتیپی مربوط به صفت محتوای پروتئین کل و بیشترین آن مربوط به پرولین بود و بقیه صفات در این بین قرار داشتند. تجزیه خوشه‌ای لاین‌های مورد مطالعه را در شرایط نرمال، تنش خشکی و میانگین هر دو شرایط به ترتیب در چهار، پنج و شش گروه قرار داد و درصد شباهت گروه‌بندی آن‌ها با یکدیگر بالا بود. براساس نتایج تجزیه خوشه‌ای و مقایسات میانگین، لاین‌هایی که فاصله ژنتیکی زیادی با هم داشتند در یک گروه قرار گرفتند. به این ترتیب سه گروه که هر کدام پنج لاین داشتند، حاصل شد تا در برنامه‌ریزی پروژه‌های اصلاحی و برنامه‌های دورگه‌گیری مورد استفاده قرار گیرند. همچنین لاین ۹ میانگین بالایی برای اکثر صفات مورد مطالعه در هر دو شرایط نشان داد و می‌تواند به عنوان لاین امیدبخش در آزمایشات بعدی مورد توجه قرار گیرد.

واژه‌های کلیدی: پرولین، تجزیه خوشه‌ای، تنش خشکی، ذرت، قندهای محلول.

مقدمه

(Rauf et al., 2016). متاسفانه تنش‌های محیطی مانند

کمبود آب باعث محدود کردن تولید ذرت می‌شوند. کمبود آب در اکثر نقاط جهان سالانه تأثیر زیادی بر تولید ذرت دارد. در میان عوامل مختلف تنش زیستی و غیرزیستی، خشکی یکی از علت‌های مهم برهمکنش ژنوتیپ در محیط برای ذرت بین سال‌ها، مکان‌ها (Löffler et al., 2005; Setimela et al.,

درک مبانی ژنتیک تحمل به خشکی در گیاهان زراعی بر اساس صفات مختلف مورفوفیزیولوژیکی یک پیش‌نیاز اساسی برای به‌نژادگران برای ایجاد ژنوتیپ‌های برتر از طریق روش‌های متداول و سنتی اصلاح‌نباتات و یا روش‌های بیوتکنولوژی است

*نویسنده مسئول: mehdi83ra@yahoo.com

(al., 2017). گروه‌بندی ۵۱ لاین ذرت در مطالعه‌ای با صفات بیوشیمیایی و زراعی در دو سال انجام شد و این لاین‌ها در چهار گروه قرار گرفتند. همچنین نتایج نشان داد که بین لاین‌ها و همچنین بین سال‌ها اختلاف معنی‌داری برای صفات بیوشیمیایی و زراعی در سطح یک درصد وجود دارد (Kumar et al., 2015). مطالعه دیگری هم که بر روی ۱۵۳ ژنوتیپ ذرت از ژاپن، چین و پاکستان براساس صفات کمی و کیفی انجام شد، تجزیه خوشه‌ای براساس معیار فاصله میانگین اقلیدسی و همچنین تجزیه به مولفه‌های اصلی توانستند این ژنوتیپ‌ها را در پنج گروه قرار دهند (Iqbal et al., 2015a).

با توجه به اهمیت ذرت و تنش خشکی هدف از انجام پژوهش حاضر شناسایی لاین‌های مطلوب و غیرمطلوب این گیاه با استفاده از صفات بیوشیمیایی تحت تنش و همچنین شناسایی صفات مطلوب جهت گزینش لاین بهتر بود.

مواد و روش‌ها

پانزده لاین اصلاح شده S6 ذرت به نام‌های KSC704-S6-1، KSC704-S6-2، KSC704-S6-3، KSC704-S6-4، KSC704-S6-5، KSC704-S6-6، KSC704-S6-7، KSC704-S6-8، KSC704-S6-9، KSC704-S6-10، KSC704-S6-11، KSC704-S6-12، KSC704-S6-13، KSC704-S6-14 و KSC704-S6-15 که از تلاقی بیست جمعیت ذرت با والد KSC704 و ارزیابی نتاج آن‌ها تا نسل F₆ در مرکز تحقیقات کشاورزی کرمانشاه به دست آمده بودند، در سال ۱۳۹۴ در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه تحصیلات تکمیلی صنعتی و فناوری پیشرفته کرمان با موقعیت طول جغرافیایی ۵۷ درجه و ۱۷ دقیقه شرقی و عرض جغرافیایی ۳۰ درجه و ۱ دقیقه شمالی با ارتفاع ۲۰۲۰ متر بالاتر از سطح دریای آزاد برای ارزیابی لاین‌ها به

(Bruce et al., 2005) و به احتمال زیاد در بین ژنوتیپ‌ها (Bruce et al., 2002) است. خشکی یکی از مهمترین تنش‌های غیرزیستی است که تقریباً روی مراحل مختلف رشد گیاه تاثیر دارد (Aslam et al., 2006). خشکی، و یا به طور کلی، دسترسی محدود به آب، عامل اصلی محدود کردن تولید محصول گیاهان است (Cakir, 2004; Seghatoleslami et al., 2008).

با توجه به رشد جمعیت و برآورد نیاز غذایی جمعیت جهان در حال رشد، یک استراتژی و غربالگری کارآمد برای اصلاح گیاهان متحمل به خشکی لازم است (Avramova et al., 2016). انتخاب بر پایه صفات یا تیپ اصلاحی مناسب یک راهبرد کارآمد است که با بررسی تنوع بین لاین‌ها یا ژنوتیپ‌ها با عملکردهای متفاوت در شرایط نرمال و تنش خشکی، می‌تواند برهمکنش بین ژنوتیپ و محیط را توضیح دهد و صفات فنوتیپی کلیدی می‌تواند به عنوان معیار اصلاحی انتخاب شوند (York et al., 2013; Chimungu et al., 2014).

در مطالعه‌ای که بروی هیبرید سینگل کراس ۷۰۴ ذرت در شرایط تنش خشکی انجام شد، نتایج نشان داد که تنش خشکی باعث کاهش عملکرد دانه و میزان کلروفیل (a+b) و در مقابل باعث افزایش میزان پروتئین و قندهای محلول در برگ‌های هیبرید ذرت مورد مطالعه می‌گردد (Yusefi et al., 2017). همچنین در مطالعه‌ای که در شرایط کم‌آبی و کاربرد هیومیک اسید بر ذرت انجام شد، نتایج نشان داد تاثیر این مواد بر شاخص کلروفیل و صفات عملکرد و اجزای آن در شرایط کم‌آبی معنی‌دار است (Ragh ara and Moosavi, 2018). همچنین در مطالعه‌ای دیگر بر روی سه هیبرید ذرت نیز نشان داده شد که تنش خشکی باعث کاهش عملکرد دانه و میزان کلروفیل (a+b) و در مقابل باعث افزایش میزان پروتئین و قندهای محلول شده است (Nasrollahzade Asl et al., 2018).

Kresović et al., 2018) و فاکتور فرعی لاین‌های ذرت در ۱۵ سطح (KSC704-S6-1, KSC704-S6-2, KSC704-S6-3, KSC704-S6-4, KSC704-S6-5, KSC704-S6-6, KSC704-S6-7, KSC704-S6-8, KSC704-S6-9, KSC704-S6-10, KSC704-S6-11, KSC704-S6-12, KSC704-S6-13, KSC704-S6-14 و KSC704-S6-15) بودند. پس از اعمال تیمارها و جمع‌آوری برگ گیاهان در هر دو سطح (نرمال و تنش کم آبیاری) و فریز کردن برگ‌ها صفات بیوشیمیایی نظیر غلظت کلروفیل a, کلروفیل b, کلروفیل کل، کاروتنوئیدها، قندهای احیاء، مقدار پروتئین کل و پرولین در آزمایشگاه اندازه‌گیری شدند. سنجش میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی در برگ گیاهان لاین‌های ذرت تحت تیمارها، شامل کلروفیل a, b, کلروفیل کل و کاروتنوئیدها با دستگاه اسپکتروفوتومتر Carry 50 در طول موج‌های ۶۴۵، ۶۶۳ و ۴۷۰ نانومتر بدست آمد و غلظت رنگیزه‌ها برحسب میکروگرم بر گرم وزن تر با استفاده از معادله‌های زیر بدست آمد (Sudhakar et al., 2016).

تحمل کم آبیاری در تاریخ ۱۰ اردیبهشت کشت گردیدند.

عملیات آماده‌سازی زمین شامل شخم بهاره، تسطیح زمین و تهیه جوی و پشته به فاصله ۷۵ سانتی متر بود که لاین‌ها بر روی خطوط مجزا به فاصله ۵۰ سانتی متر از یکدیگر کشت گردید و بعد از جوانه‌زنی، عملیات تنک کردن انجام پذیرفت. آبیاری به طور مرتب و تا زمان اعمال تنش برای کلیه خطوط انجام پذیرفت. مراقبت‌های معمول زراعی همچون آبیاری، وجین و مبارزه با آفات بر حسب ضرورت انجام گرفت.

آزمایش به صورت اسپلت پلات در قالب طرح پایه بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار و در سال زراعی ۱۳۹۳-۹۴ انجام شد. فاکتور اصلی شامل تنش خشکی در دو سطح (نرمال با دور آبیاری ۵ روز و تنش کم آبیاری با دور آبیاری ۱۰ روز به ترتیب در زمانی که ظرفیت مزرعه ۸۰ و ۵۰ درصد بود (به ترتیب در ۲۰ و ۵۰ درصد تخلیه رطوبتی خاک)، اعمال گردید (Madadi and Fallah, 2017;)

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

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

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

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

روش بیس و همکاران (Bates et al., 1973) استفاده شد.

قبل از تجزیه واریانس داده‌ها، صحت مفروضات تجزیه واریانس بررسی شد و پس از برقراری این مفروضات، تجزیه واریانس داده‌ها بر اساس طرح اسپلت پلات بر پایه طرح بلوک‌های کامل تصادفی صورت پذیرفت و مقایسه میانگین با آزمون دانکن انجام گردید. برآورد اجزاء واریانس فنوتیپی، ژنوتیپی،

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

قندهای احیاء با روش سوموگی (Somogyi, 1952) مورد اندازه‌گیری قرار گرفت. غلظت پروتئین با دستگاه اسپکتوفوتومتر در طول موج ۵۹۵ نانومتر و براساس روش برادفورد انجام گرفت (Bradford, 1976). همچنین برای اندازه‌گیری محتوای پرولین از

محیطی و محیط \times ژنوتیپ و ضریب تغییرات فنوتیپی بر اساس امید ریاضی میانگین مربعات حاصل از تجزیه واریانس طرح اسپیلت پلات بر پایه طرح بلوک‌های کامل تصادفی بر حسب روابط زیر محاسبه شد.

$$\sigma_p^2 = \sigma_g^2 + \sigma_{ge}^2 + \sigma_e^2$$

$$CV_p = \left(\sqrt{\sigma_p^2 / \bar{x}} \right) \times 100$$

تجزیه خوشه‌ای براساس صفات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی به دست آمده به منظور گروه‌بندی لاین‌ها انجام گرفت. گروه‌بندی لاین‌های ذرت بر اساس روش‌های مختلف تجزیه خوشه‌ای (متوسط فاصله بین کلاسترها، دورترین همسایه‌ها، متوسط فاصله بین و درون کلاسترها، نزدیک‌ترین همسایه‌ها، مرکزی، میانه‌ای و حداقل واریانس وارد) و معیارهای فاصله متفاوت (معیارهای فاصله اقلیدسی، پیرسون، مینکوسکی، چبی چف، کوساین و سیتی بلوک برای تعیین فاصله بین ژنوتیپ‌ها استفاده شد) انجام شده و روش و معیار فاصله‌ای که بیشترین ضریب همبستگی کوفتیک را داشت، انتخاب شده و گروه بندی بر

اساس آن انجام شد. از روش بیشترین گسیختگی و ریشه دوم تعداد افراد برای تعیین تعداد خوشه‌ها استفاده شد. در نهایت برای تشخیص صحیح‌ترین گروه‌بندی حاصل از روش‌های تعیین تعداد خوشه، از روش تجزیه تابع تشخیص به روش خطی فیشر استفاده شد. تجزیه‌ها با استفاده از نرم افزار SAS ورژن ۹/۴ (SAS-Institute-Inc, 2014) و PAST (Hammer et al., 2001) انجام گردید.

نتایج

نتایج تجزیه واریانس طرح اسپیلت پلات بر پایه طرح بلوک‌های کامل تصادفی برای کلیه صفات مورد مطالعه اختلاف معنی‌داری را در سطح یک درصد بین دو سطح تنش به عنوان فاکتور اصلی و همچنین بین لاین‌ها (فاکتور فرعی) نشان داد (جدول ۱). اثر متقابل لاین در تنش نیز برای کلیه صفات مورد مطالعه معنی‌دار بود که به این معنی است که لاین‌ها واکنش‌های متفاوتی تحت تنش خشکی نشان داده‌اند.

جدول ۱: تجزیه واریانس صفات مورد مطالعه در لاین‌های ذرت تحت تنش خشکی

میانگین مربعات							منابع	درجه
محتوای پروتئین (mg/gfw)	محتوای پرولین (mg/gfw)	محتوای قند (mg/gfw)	کلروفیل a (mg/gfw)	کلروفیل b (mg/gfw)	کلروفیل کل (mg/gfw)	کاروتنوئید (mg/gfw)	تغییرات	آزادی
۳/۳۳e ^{-۱۲ns}	۱e ^{-۸*}	۸e ^{-۸*}	۰/۰۰۶۰۸۹ ^{ns}	۰/۰۱۲۳۴ ^{ns}	۰/۰۱۲۹۶ ^{ns}	۰/۰۰۰۳۷*	تکرار	۲
۴/۰۷e ^{-۷**}	۱/۹۱۳e ^{-۵**}	۰/۰۰۰۲۰۲**	۳/۸۲۰۱**	۱۸/۱۶۳**	۳۸/۶۴۳**	۱/۲۹۴**	خشکی (a)	۱
۱/۱۱e ^{-۱۲}	۱e ^{-۸}	۱e ^{-۸}	۰/۰۰۰۵۹۴	۰/۰۴۵۳۸	۰/۰۵۴۹۹	۵/۱۷e ^{-۶}	خطا ۱	۲
۱/۲۲e ^{-۷**}	۵/۲۵۱e ^{-۵**}	۰/۰۰۰۲۳۱**	۶/۴۶۹**	۱/۱۰۷۲**	۹/۹۷۹**	۴/۲۰۱۱**	لاین (b)	۱۴
۵/۳۵e ^{-۸**}	۳/۱۷e ^{-۵**}	۰/۰۰۲۴۸**	۸/۰۸۴۹**	۲/۵۷۹۲**	۱۴/۳۷۲**	۴/۶۴۵**	اثر متقابل a*b	۱۴
۲/۲۲e ^{-۱۲}	۱e ^{-۸}	۱e ^{-۸}	۰/۰۰۰۳۴۵	۰/۰۱۸۲۸	۰/۰۱۸۶۶۵	۰/۰۰۰۰۸۹	خطا ۲	۵۶
۰/۰۲۳	۰/۲۱۱	۰/۰۳۲	۰/۶۰۲	۷/۴۳۷	۲/۷۸۶	۰/۵۴۴	درصد ضریب تغییرات	
۲/۵۹	۷۴/۱۷	۱۸/۲۱	۵۵/۸۱	۵۸/۱۴	۴۷/۹۸	۷۳/۰۹	درصد ضریب تغییرات فنوتیپی	

ns * ** به ترتیب غیر معنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ و ۱٪.

گردید. نتایج نشان داد (جدول ۱) کمترین ضریب تغییرات فنوتیپی مربوط به صفات پروتئین (۲/۵۹) و بیشترین آن مربوط به پرولین (۷۴/۱۷) بود و بقیه صفات در این بین قرار داشتند. همچنین نتایج مقایسه میانگین بین تیمارها براساس آزمون دانکن برای صفات مورد مطالعه در جدول ۲ نشان داده شده است.

ضریب تغییرات طرح اسپیلت پلات بر پایه طرح بلوک‌های کامل تصادفی بین ۰/۰۲۳ برای صفت محتوای پروتئین تا ۷/۴۳۷ برای صفت کلروفیل b متغیر بود که نشان‌دهنده دقت مناسب آزمایش می‌باشد و خطای ناشی از اجرای آزمایش در حد قابل قبول است. جهت تعیین میزان تنوع موجود در صفات مختلف، اقدام به محاسبه ضریب تغییرات فنوتیپی

جدول ۲: مقایسه میانگین اثر متقابل تنش در لاین‌ها برای صفات مورد مطالعه ذرت

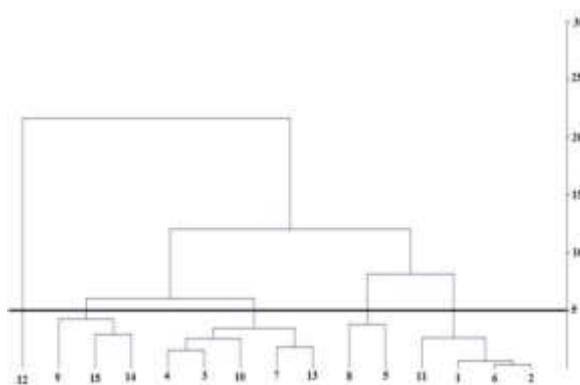
تنش	لاین‌ها	محتوای پروتئین (mg/gfw)	محتوای قند (mg/gfw)	کلروفیل a (mg/gfw)	کلروفیل b (mg/gfw)	کلروفیل کل (mg/gfw)	کاروتنوئید (mg/gfw)
	۱	۰/۰۰۶۶۳k	۰/۰۰۵۹۲g	۳/۸۳۳i	۲/۷۵۰c-e	۶/۵۸de	۱/۱۲q
	۲	۰/۰۰۶۷۷f	۰/۰۰۶۰۲f	۳/۹۵۸g	۲/۷۵۰c-e	۶/۷۱cd	۲/۹۱d
	۳	۰/۰۰۶۸۲d	۰/۰۰۶۰۸e	۲/۹۸۳m	۳/۱۲cb	۶/۱۰f	۰/۱۸w
	۴	۰/۰۰۶۵۳p	۰/۰۰۲۴۴p	۲/۸۶۹n	۱/۴۲i-l	۴/۲۹i	۱/۳۹o
	۵	۰/۰۰۶۵۲q	۰/۰۰۲۴۲p	۲/۷۱۵o	۱/۴۲i-l	۴/۱۳ij	۰/۹۵s
	۶	۰/۰۰۶۸۹b	۰/۰۰۵۴۸h	۳/۰۴۷l	۲/۳۶ef	۵/۴۱g	۲/۵۴g
	۷	۰/۰۰۶۴۴s	۰/۰۰۶۸d	۳/۱۹۸k	۳/۲۶b	۶/۴۶d-f	۲/۸۳e
	۸	۰/۰۰۶۵۴o	۰/۰۰۲۷۱o	۲/۴۴۶p	۱/۲۰k-m	۳/۶۵k	۰/۹۹r
نرمال	۹	۰/۰۰۶۶۲l	۰/۰۰۵۹۳g	۳/۹۰۲gh	۲/۲۶fg	۶/۱۶ef	۲/۸۱e
	۱۰	۰/۰۰۶۸e	۰/۰۰۶۰۴f	۳/۸۸۱hi	۲/۵۶d-f	۶/۴۴d-f	۲/۶۹f
	۱۱	۰/۰۰۶۸۸c	۰/۰۰۶۰۵ef	۴/۶۰۵e	۳/۹۲a	۸/۵۳a	۱/۶۵l
	۱۲	۰/۰۰۶۵۶n	۰/۰۰۲۷۱o	۲/۶۸۱o	۱/۱۰l-n	۳/۷۸jk	۱/۳۷o
	۱۳	۰/۰۰۶۵۳p	۰/۰۰۲۶۹o	۲/۹۱۱n	۱/۲۶j-l	۴/۱۷ij	۱/۱۹p
	۱۴	۰/۰۰۶۶۸i	۰/۰۰۲۲۸r	۳/۸۴۰i	۲/۸۷b-d	۶/۷۱cd	۳/۲۴b
	۱۵	۰/۰۰۶۷۶g	۰/۰۰۴۴۴m	۲/۴۹۹p	۱/۷۶i	۴/۲۶i	۲/۰۸j
	۱	۰/۰۰۶۶۲l	۰/۰۰۵۵۱h	۱/۲۵۸r	۱/۱۷k-m	۲/۴۲n	۵/۴۱a
	۲	۰/۰۰۶۵۹m	۰/۰۰۴۸۱k	۰/۲۴۹۷	۰/۳۱p	۰/۵۶p	۰/۰۲x
	۳	۰/۰۰۶۶۴j	۰/۰۱۲۵۶b	۴/۶۷۱d	۰/۶۶op	۵/۳۳g	۱/۷۲k
	۴	۰/۰۰۶۱۷w	۰/۰۰۱۶۹s	۴/۲۸۶f	۱/۸۰m-o	۵/۰۸gh	۲/۲۱h
	۵	۰/۰۰۶۳۴۷	۰/۰۰۸۹۰c	۱/۵۱۸q	۱/۸۳g-i	۳/۳۴kl	۰/۵۳u
	۶	۰/۰۰۶۵۳p	۰/۰۰۴۷۳l	۰/۲۶۴۷	۰/۳۳p	۰/۵۹p	۰/۳۱۷
	۷	۰/۰۰۶۵۳p	۰/۰۰۵۲۳j	۵/۳۰۱b	۱/۵۰i-l	۶/۸۰cd	۱/۴۲n
	۸	۰/۰۰۶۳۶u	۰/۰۰۱۵۰t	۱/۱۶۳s	۱/۷۵i	۲/۹۱lm	۱/۵۰m
خشکی	۹	۰/۰۰۶۴۵r	۰/۰۱۹۸۸a	۶/۱۰۵a	۱/۶۰i-k	۷/۷۰b	۲/۱۷i
	۱۰	۰/۰۰۷۸a	۰/۰۰۵۳۸i	۳/۲۷۲j	۱/۶۰i-k	۴/۸۷h	۳/۲۰c
	۱۱	۰/۰۰۶۴۱t	۰/۰۰۲۳۲r	۰/۳۷۲u	۰/۶۸n-p	۱/۰۵o	۰/۱۷w
	۱۲	۰/۰۰۶۵۵o	۰/۰۰۲۳۰r	۴/۸۸۴c	۲/۲۴f-h	۷/۱۲c	۰/۷۳t
	۱۳	۰/۰۰۶۶۲l	۰/۰۰۲۳۵q	۰/۹۹۸t	۱/۸۷hi	۲/۸۱mn	۰/۳۱۷
	۱۴	۰/۰۰۶۴۱t	۰/۰۰۳۲۷n	۳/۹۲۸gh	۲/۶۱d-f	۶/۵۴d-f	۱/۷۴k
	۱۵	۰/۰۰۶۷۳h	۰/۰۰۲۲۹r	۴/۹۱۷c	۱/۶۴ij	۶/۵۴de	۲/۹۰d

تیمارهایی که حروف مشترک دارند از لحاظ آماری اختلاف معنی داری با هم ندارند.

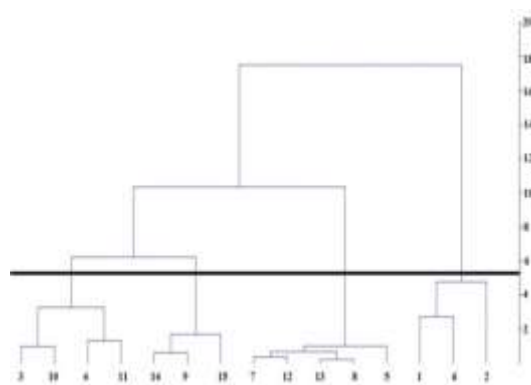
لاین‌های ۱ تا ۱۵ به ترتیب برابر با KSC704-S6-1 ، KSC704-S6-2 ، KSC704-S6-3 ، KSC704-S6-4 ، KSC704-S6-5 ، KSC704-S6-6 ، KSC704-S6-7 ، KSC704-S6-8 ، KSC704-S6-9 ، KSC704-S6-10 ، KSC704-S6-11 ، KSC704-S6-12 ، KSC704-S6-13 ، KSC704-S6-14 و KSC704-S6-15 است.

خوشه‌ای با این روش انجام شد. تجزیه خوشه‌ای لاین‌های ذرت را در شرایط نرمال به چهار گروه تقسیم نمود (شکل ۱).

نتایج نشان داد که روش UPGMA بیشترین مقدار ضریب همبستگی کوفتینیک (۰/۸۴) را برای گروه‌بندی لاین‌ها در شرایط نرمال داشت و بنابراین تجزیه‌ی



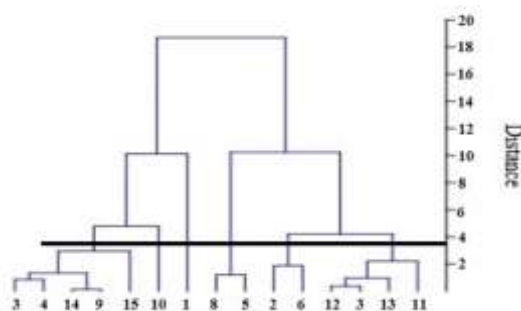
شکل ۲: دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای لاین‌های ذرت در شرایط تنش خشکی



شکل ۱: دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای لاین‌های ذرت در شرایط نرمال

ذرت براساس میانگین صفات در دو شرایط با روش UPGMA و ضریب کوفتینیک ۰/۸۶ لاین‌ها در شش گروه قرار داد (شکل ۳).

گروه‌بندی لاین‌ها در شرایط تنش خشکی با روش وارد و ضریب کوفتینیک ۰/۸۵ لاین‌ها را در پنج گروه قرار داد (شکل ۲). در نهایت گروه‌بندی لاین‌های



شکل ۳: دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای لاین‌های ذرت بر اساس میانگین صفات در هر دو شرایط

دارد، بنابراین دلیل تنوع زیاد این صفت می‌تواند شرایط محیطی و همچنین زمینه متفاوت ژنتیکی لاین‌ها باشد. میزان تنوع موجود در صفت پرولین و به دنبال آن صفات کاروتنوئیدها و انواع کلروفیل بیشتر از بقیه صفات بود بنابراین این صفات می‌توانند مورد توجه به‌نژادگر قرار گیرند. ولی صفات دیگر با

بحث

خشکی خصوصیات مورفولوژی، فیزیولوژی و بیوشیمیایی گیاهان را تحت تأثیر قرار می‌دهد و اثرات عمده‌ای بر تولیدات کشاورزی می‌گذارد. در تحقیق حاضر از آنجاییکه لاین‌ها در معرض تنش خشکی قرار داشتند و برای مقابله با تنش پرولین نقش مهمی

پیری زودرس برگ‌ها در اثر اختلال هورمونی ناشی از تنش کم‌آبی باشد (Kumar et al., 2018).

بیشترین میزان کاروتنوئیدها مربوط به لاین ۱ در شرایط تنش و به دنبال آن لاین ۱۴ در شرایط نرمال بود. همچنین در رتبه‌های بعدی لاین ۱۰ و ۱۵ در شرایط تنش قرار داشتند. بنابراین با توجه به میزان کاروتنوئیدها بیشتر این لاین‌ها در شرایط تنش می‌توان تحمل بهتر این لاین‌ها در مقابل تنش پی برد. کاروتنوئیدها در بافت‌های فتوسنتزی به عنوان رنگیزه کمکی عمل می‌کنند اما دارای نقش آنتی‌اکسیدانی و جمع‌کنندگی رادیکال‌های آزاد اکسیژن نیز می‌باشد (Kumar et al., 2018). در برخی لاین‌ها افزایش تنش خشکی باعث افزایش و در برخی دیگر باعث کاهش کاروتنوئید شده است. بنابراین به نظر می‌رسد که ویژگی‌های ژنتیکی گیاه در حصول این نتایج تاثیر داشته است و تنوع بین لاین‌ها باعث پاسخ‌های متفاوت آن‌ها به خشکی شده است. کاروتنوئیدها در مقابل تنش اکسیداتیو نقش حفاظتی داشته و باعث سمیت‌زدایی از کلروفیل شده و اثرات سمی رادیکال‌های آزاد را کاهش می‌دهد.

نتایج این پژوهش نشان داد که بیشترین میزان قندهای احیاء به لاین‌های ۱، ۱۲ و ۱۵ در شرایط تنش تعلق داشت که نشان دهنده تحمل بهتر این لاین‌ها نسبت به سایر لاین‌ها در شرایط تنش بود. مشخص شده است که گیاهان در مقابله با تنش خشکی راهبردهای حفاظتی متفاوتی را در پیش می‌گیرند که از آن جمله می‌توان به تجمع اسمولیت‌هایی مثل پرولین، قندهای احیاء، راهبردهای آنزیمی و غیر آنزیمی در برابر تنش اکسیداتیو ناشی از خشکی اشاره کرد (Anjum et al., 2011). همچنین تجمع قندهای محلول داخل سلول‌ها در تنظیم اسمزی نقش مهم ایفا نموده و کمک می‌کند تا پتانسیل آب سلول کاهش یافته و آب بیشتری برای حفظ تورژسانس تحت تنش کم‌آبی داخل سلول باقی بماند (Basu et al., 2016).

ضریب تغییرات پایین از شانس کمتری جهت انتخاب برخوردار هستند (جدول ۱).

تاثیر سطوح مختلف تنش بر میزان کلروفیل a معنی‌دار بود. بیشترین میزان کلروفیل a مربوط به لاین ۹ و بعد از آن لاین ۷ در شرایط تنش می‌باشد (جدول ۲) که این نشان می‌دهد این لاین‌ها در مقابل تنش واکنش خوبی نشان دادند و توانستند رشد بهتر و میزان کلروفیل بیشتری نسبت به سایر لاین‌ها داشته باشند. تنش کم‌آبی موجب تخریب رنگدانه‌های فتوسنتزی، کاهش مقدار کلروفیل برگ و تخریب تشکیلات فتوسنتزی می‌گردد (Anjum et al., 2011). به طور مسلم در شرایط تنش خشکی میزان کلروفیل کاهش می‌یابد و این به دلیل آنزیم کلروفیلاز و تخریب کلروپلاست در این شرایط و کاهش ساخت رنگیزه‌ها است.

بیشترین میزان کلروفیل b برای لاین ۱۱ و ۷ در شرایط نرمال بود و این می‌تواند به دلیل تامین آب کافی در این شرایط باشد. ولی در شرایط تنش میزان کلروفیل b در لاین ۱۴ و در رتبه‌های بعدی لاین ۱۲ قرار داشت (جدول ۲) که این امر نشان می‌دهد این لاین‌ها در مقابل تنش واکنش خوبی نشان دادند و توانستند رشد بهتر و میزان کلروفیل b بیشتری نسبت به سایر لاین‌ها داشته باشند. همچنین بیشترین میزان کلروفیل کل مربوط به لاین ۱۱ در شرایط نرمال بود و بعد از آن لاین‌های ۹، ۱۲ و ۷ در شرایط تنش بیشترین میزان کلروفیل کل داشتند که این امر نشان می‌دهد این لاین‌ها در مقابل تنش خشکی واکنش خوبی نشان دادند و توانستند رشد بهتر و میزان کلروفیل کل بیشتری نسبت به سایر لاین‌ها از خود نشان دهند. تحقیقات نشان داده است کاتابولیسم کلروفیل در شرایط کم‌آبی افزایش می‌یابد، که علت عمده آن علاوه بر موارد ذکر شده می‌تواند به دلیل

لاین‌های ۷، ۸، ۱۲ و ۱۳ در گروه سوم و در گروه آخر لاین‌های ۱، ۲ و ۶ قرار داشتند (شکل ۱). در شرایط تنش لاین‌ها در پنج گروه قرار گرفتند (شکل ۲) و در نهایت گروه‌بندی لاین‌های ذرت براساس میانگین صفات در دو شرایط لاین‌ها در شش گروه قرار داد (شکل ۳). محققین دیگر نیز با روش‌های مختلف تجزیه خوشه‌ای براساس صفات بیوشیمیایی و زراعی ارقام و ژنوتیپ‌های ذرت را در گروه‌های مختلفی قرار دادند (Iqbal et al., 2015a; Iqbal et al., 2015b; Kumar et al., 2015).

مقایسه گروه‌بندی لاین‌ها در شرایط نرمال، تنش خشکی و میانگین هر دو شرایط نشان داد که لاین‌ها در گروه‌های مشابه‌ای قرار گرفته‌اند و درصد شباهت گروه‌بندی لاین‌ها در این سه روش متفاوت (شرایط نرمال، تنش خشکی و میانگین هر دو شرایط) در حد بالایی بود. بنابراین از لاین‌هایی که فاصله ژنتیکی آن‌ها زیاد است می‌توان برای برنامه‌های به‌نژادی دورگ‌گیری استفاده نمود. با توجه به تعداد گروه‌ها و همچنین نتایج مقایسه میانگین، این لاین‌ها در سه گروه پنج‌تایی قرار گرفتند که از لحاظ ژنتیکی در داخل هر گروه، لاین‌ها فاصله ژنتیکی زیادی باهم داشتند تا در آینده در برنامه‌های دورگ‌گیری به صورت تلاقی دی‌آلل و روش‌های کلاسیک به‌نژادی مورد استفاده قرار گیرند. گروه اول این تقسیم‌بندی شامل لاین‌های ۱، ۴، ۸، ۱۲ و ۱۵ بود. همچنین لاین‌های ۲، ۳، ۵، ۷ و ۹ در گروه دوم و لاین‌های ۶، ۱۰، ۱۱، ۱۳ و ۱۴ در گروه سوم قرار گرفتند.

نتیجه‌گیری نهایی

در این مطالعه نشان داده شد که شاخص‌های بیوشیمیایی مورد مطالعه تحت تاثیر سطوح مختلف تنش خشکی واقع شدند. با توجه به نتایج به‌دست آمده در این پژوهش می‌توان بیان کرد که کمبود آب

نتایج به‌دست آمده از مقایسه میانگین‌ها نشان داد که میزان پروتئین تحت تاثیر تنش خشکی قرار گرفت و به طور کلی میزان پروتئین لاین‌ها در شرایط تنش نسبت به شرایط نرمال کاهش نشان داد. ولی لاین ۱۰ در شرایط تنش بیشترین میزان پروتئین را نشان داد که این امر نشان می‌دهد این لاین می‌تواند تنش خشکی را بهتر تحمل نماید. همچنین نتایج مربوط به میزان پرولین نشان داد که تنش خشکی در بعضی لاین‌ها در شرایط تنش باعث افزایش مقدار این صفت شده است و با توجه به این‌که افزایش پرولین با کاهش پتانسیل آب برگ آغاز می‌شود، و این افزایش منجر به حفظ تورم و کاهش خسارت غشاء در گیاهان می‌شود و به این ترتیب با روش تنظیم اسمزی تحمل به تنش کم‌آبی افزایش می‌یابد (Yordanov et al., 2000). بنابراین می‌توان از این لاین‌ها در برنامه‌های به‌نژادی برای افزایش تحمل به تنش خشکی در ذرت استفاده نمود.

محققین برای دستیابی به حداکثر هتروزیس در پی ارقام یا ژنوتیپ‌هایی هستند که از نظر ژنتیکی از هم دور باشند و به عنوان بهترین والدین در هر تلاقی انتخاب شوند. این امر مهم می‌تواند از طریق بررسی فاصله ژنتیکی موجود بین ژنوتیپ‌ها براساس صفات فنوتیپی با استفاده از روش تجزیه خوشه‌ای به‌دست آید. هنگام استفاده از صفات بیوشیمیایی و فیزیولوژیک لاین‌هایی که در گروه‌های دور از هم در نتیجه گروه‌بندی قرار می‌گیرند در برنامه‌های اصلاحی و دورگ‌گیری به عنوان والدین در انجام تلاقی‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرند تا تنوع ژنتیکی بیشتری حاصل شود. از روش‌های مختلف تجزیه خوشه‌ای با معیار مختلف فاصله برای تعیین میزان تنوع بین لاین‌های ذرت مورد مطالعه استفاده شد.

در شرایط نرمال، لاین‌های ۳، ۴، ۱۰ و ۱۱ در گروه اول، لاین‌های ۹، ۱۴ و ۱۵ در گروه دوم،

بیشتری از نظر ژنتیکی نشان می‌دهند و از نظر دو رگه‌گیری، ارقام با تفاوت بیشتر، امکان ایجاد هتروزیس بیشتر و یا انتقال صفات نادر را به دنبال خواهند داشت. بنابراین برای دست یافتن به این نتایج لاین‌های ذرت که براساس تجزیه خوشه‌ای در گروه‌های متفاوتی قرار گرفته بودند، ارقام دور از هم و با فاصله ژنتیکی زیاد انتخاب و در سه گروه قرار گرفتند تا با تلاقی بین آن‌ها و انتخاب در نتاج آن‌ها به لاین‌ها و هیبریدهای مناسب دست یافت.

سبب مختل شدن فرآیندهای بیوشیمیایی گیاه ذرت شده و در نهایت منجر به تغییرات ریخت‌شناسی در این گیاه می‌گردد. در این بررسی واکنش لاین‌ها در دو شرایط متفاوت بود و براساس این صفات لاین‌های متحمل به تنش مشخص شدند. باید توجه داشت که تمایل به استفاده از والدین مشابه و عدم شناخت و استفاده از ارقام جدید در برنامه‌های اصلاحی منجر به کاهش تنوع ژنتیکی می‌شود. این در حالی است که ارقام دورتر با داشتن چند شکلی بیشتر، تفاوت

References

- Anjum, S.A., Xie, X.-y., Wang, L.-c., Saleem, M.F., Man, C. and Lei, W. (2011).** Morphological, physiological and biochemical responses of plants to drought stress. *African Journal of Agricultural Research*, 6 (9): 2026-2032.
- Aslam, M., Khan, I.A., Saleem, M. and Ali, Z. (2006).** Assessment of water stress tolerance in different maize accessions at germination and early growth stage. *Pakistan Journal of Botany*, 38 (5): 1571-1579.
- Avramova, V., Nagel, K.A., AbdElgawad, H., Bustos, D., DuPlessis, M., Fiorani, F. and Beemster, G.T. (2016).** Screening for drought tolerance of maize hybrids by multi-scale analysis of root and shoot traits at the seedling stage. *Journal of Experimental Botany*, 67 (8): 2453-2466.
- Basu, S., Ramegowda, V., Kumar, A. and Pereira, A. (2016).** Plant adaptation to drought stress. *F1000Research*, 5: F1000 Faculty Rev-1554, 10 pages.
- Bates, L., Waldren, R. and Teare, I. (1973).** Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and soil*, 39 (1): 205-207.
- Bradford, M.M. (1976).** A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical biochemistry*, 72 (1-2): 248-254.
- Bruce, W.B., Edmeades, G.O. and Barker, T.C. (2002).** Molecular and physiological approaches to maize improvement for drought tolerance. *Journal of Experimental Botany*, 53 (366): 13-25.
- Cakir, R. (2004).** Effect of water stress at different development stages on vegetative and reproductive growth of corn. *Field Crops Research*, 89 (1): 1-16.
- Chimungu, J.G., Brown, K.M. and Lynch, J.P. (2014).** Large root cortical cell size improves drought tolerance in maize. *Plant Physiology*, 166 (4): 2166-2178.
- Hammer, Ø., Harper, D. and Ryan, P. (2001).** PAST: Paleontological statistics software package for education and data analysis. *Palaeontologia Electronica*, 4 (1): 9pp.
- Iqbal, J., Shinwari, Z.K. and Rabbani, M.A. (2015a).** Maize (*Zea mays* L.) germplasm agro-morphological characterization based on descriptive, cluster and principal component analysis. *Pakistan Journal of Botany*, 47: 255-264.
- Iqbal, J., Shinwari, Z.K., Rabbani, M.A. and Khan, S.A. (2015b).** Genetic divergence in maize (*Zea mays* L.) germplasm using quantitative and qualitative traits. *Pakistan Journal of Botany*, 47: 227-238.
- Kresović, B., Gajić, B., Tapanarova, A. and Dugalić, G. (2018).** How irrigation water affects the yield and nutritional quality of maize (*Zea mays* L.) in a temperate climate. *Polish Journal of Environmental Studies*, 27 (3): 1123-1131.
- Kumar, A., Kumari, J., Rana, J., Chaudhary, D., Kumar, R., Singh, H., Singh, T. and Dutta, M. (2015).** Diversity among maize landraces in North West Himalayan region of India assessed by agro-morphological and quality traits. *Indian Journal of Genetics and Plant Breeding*, 75 (2): 188-195.
- Kumar, S., Sachdeva, S., Bhat, K. and Vats, S. (2018).** Plant Responses to Drought Stress: Physiological, Biochemical and Molecular Basis. In: *Biotic and Abiotic Stress Tolerance in Plants*. pp. 1-25. Springer,

- Löffler, C.M., Wei, J., Fast, T., Gogerty, J., Langton, S., Bergman, M., Merrill, B. and Cooper, M. (2005).** Classification of maize environments using crop simulation and geographic information systems. *Crop Science*, 45 (5): 1708-1716.
- Madadi, E. and Fallah, S. (2017).** Effects of jasmonic acid and humic acid to mitigate drought stress effect during pollination of forage maize. *Journal of Water and Soil*, 31 (5): 1396-1408 (In Persian with English Abstract).
- Nasrollahzade Asl, V., Shiri, M.R., Moharramnejad, S., Yusefi, M. and Baghbani, F. (2017).** Effect of drought tension on agronomy and biochemical traits of three maize hybrids (*Zea mays* L.). *Crop Physiology Journal*, 8 (32): 45-60 (In Persian with English Abstract).
- Ragh ara, H. and Moosavi, S.G.R. (2018).** Effect of water deficit stress and application of humic and salicylic acid on physiological traits, yield and yield components of corn. *Journal of Iranian Plant Ecophysiological Research*, 13 (50): 88-101 (In Persian with English Abstract).
- Rauf, S., Al-Khayri, J.M., Zaharieva, M., Monneveux, P. and Khalil, F. (2016).** Breeding strategies to enhance drought tolerance in crops. In: *Advances in plant breeding strategies: agronomic, abiotic and biotic stress traits*. pp. 397-445. Al-Khayri, J.M., Jain, S.M. and Johnson, D.V. (eds.), Springer, Cham, Switzerland.
- SAS-Institute-Inc (2014).** Base SAS 9.4 Procedures Guide: Statistical Procedures, Third Edition. SAS Institute Inc., Cary, NC, USA.
- Seghatoleslami, M., Kafi, M. and Majidi, E. (2008).** Effect of drought stress at different growth stages on yield and water use efficiency of five proso millet (*Panicum miliaceum* L.) genotypes. *Pakistan Journal of Botany*, 40 (4): 1427-1432.
- Setimela, P., Chitalu, Z., Jonazi, J., Mambo, A., Hodson, D. and Bänziger, M. (2005).** Environmental classification of maize-testing sites in the SADC region and its implication for collaborative maize breeding strategies in the subcontinent. *Euphytica*, 145 (1-2): 123-132.
- Somogyi, M. (1952).** Notes on sugar determination. *Journal of Biological Chemistry*, 195: 19-23.
- Sudhakar, P., Latha, P. and Reddy, P. (2016).** Phenotyping Crop Plants for Physiological and Biochemical Traits. Academic Press.
- Yordanov, I., Velikova, V. and Tsonev, T. (2000).** Plant responses to drought, acclimation, and stress tolerance. *Photosynthetica*, 38 (2): 171-186.
- York, L.M., Nord, E. and Lynch, J. (2013).** Integration of root phenes for soil resource acquisition. *Frontiers in Plant Science*, 4: Article 355- 15 pages.
- Yusefi, M., Nasrollahzade asl, V. and Moharramnejad, S. (2017).** Grain yield, chlorophyll content, osmolyte accumulation, total phenolics and catalase activity in maize (*Zea mays* L.) under drought stress. *Journal of Iranian Plant Ecophysiological Research*, 12 (46): 1-14 (In Persian with English Abstract).