



"مقاله پژوهشی"

بررسی الگوی ایزوزیمی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و شاخص‌های فیزیولوژیکی  
در ژنوتیپ‌های ذرت تحت تنش کم‌آبی

خسرو مفاخری<sup>۱</sup>، مصطفی ولیزاده<sup>۲</sup> و سیدابولقاسم محمدی<sup>۳</sup>

۱- دانش‌آموخته دکتری اصلاح نباتات (ژنتیک مولکولی و مهندسی ژنتیک)، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران،  
(نویسنده مسول: Kh.Mafakheri@tabrizu.ac.ir)

۲- استاد گروه به‌نژادی و بیوتکنولوژی گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران

۳- استاد گروه به‌نژادی و بیوتکنولوژی گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۶/۸ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۹/۲۸

صفحه: ۶۴ تا ۷۵

چکیده مبسوط

**مقدمه و هدف:** تنش‌های محیطی گوناگون، به‌خصوص تنش خشکی اثرات شدید و عمده‌ای بر روی رشد و تولید ذرت دارند. خشکی از جمله تنش‌های فیزیکی است که به‌علت تنوع زیاد در شرایط بارندگی، به‌عنوان مهم‌ترین عامل محدودکننده رشد و تولید گیاهان زراعی در ایران شناخته شده است. به‌همین منظور بررسی اثر تنش کم‌آبی بر روی گیاهان استراتژیک از قبیل ذرت از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است.

**مواد و روش‌ها:** به‌منظور بررسی اثر تنش کم‌آبی بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و شاخص‌های آگروفیزیولوژیکی در برگ‌های برخی از ژنوتیپ‌های ذرت، آزمایشی به‌صورت اسپلیت‌پلات براساس طرح پایه بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار در شرایط مزرعه‌ای در مزرعه دانشکده کشاورزی-دانشگاه تبریز اجرا شد. سه تیمار آبیاری (نرمال، تنش ملایم و شدید کم‌آبی) به‌عنوان فاکتور اصلی و ۱۱ ژنوتیپ ذرت به‌عنوان فاکتور فرعی در نظر گرفته شدند. پس از اعمال تنش‌های کم‌آبی، آنالیز الکتروفوریتیک سه آنزیم سوپراکسیددیسموتاز (SOD)، کاتالاز (CAT) و پراکسیداز (POX) در برگ‌های ذرت با استفاده از ژل‌های ۸٪ آکرلامید افقی انجام گرفت و برخی شاخص‌های آگروفیزیولوژیکی مانند مالون‌دی‌آلدئید (MDA)،  $H_2O_2$ ، شاخص کلروفیل (SPAD)، محتوی نسبی آب (RWC) برگ و محتوی پروتئین محلول مورد اندازه‌گیری قرار گرفتند.

**یافته‌ها:** براساس نتایج بدست آمده، آنزیم CAT در تنش شدید نسبت به آبیاری نرمال با ۱۰۰ درصد افزایش و محتوای MDA با ۱۲۰/۷۸ درصد افزایش بیشترین میزان افزایش فعالیت و کلروفیل برگ تحت تنش شدید کم‌آبی نسبت به آبیاری نرمال با ۲۴/۰۵ درصد بیشترین میزان کاهش را نشان دادند. در حالت کلی با افزایش شدت تنش نسبت به آبیاری نرمال محتوای پروتئین محلول نوسان نشان داد، از طرف دیگر اختلاف بین محتوای پروتئین محلول کل در دو ژنوتیپ SC704 و SC706 با افزایش شدت تنش از نرمال به تنش ملایم و تنش شدید کمترین اختلاف معنی‌دار را به‌صورت معکوس نشان دادند.

**نتیجه‌گیری:** بررسی ژنوتیپ‌ها با آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و شاخص‌های فیزیولوژیکی نشان داد ژنوتیپ‌های SC703، SC704 و AR70 بالاترین سطح فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و پاسخ متناسب فیزیولوژیکی را به تنش کم‌آبی نشان دادند و در نتیجه متحمل‌تر به تنش کم‌آبی هستند همچنین در تنش ملایم و شدید ژنوتیپ SC260 بیشترین میزان حساسیت به تنش کم‌آبی را نشان داد. نهایتاً ایزوزیم‌های CAT،  $POX_1$ ،  $SOD_1$  و  $SOD_2$  و شاخص‌های  $H_2O_2$ ، محتوای پروتئین محلول و کلروفیل برگ را می‌توان به‌عنوان ایزوزیم‌ها و شاخص‌های کارآمد معرفی نمود که می‌توان از این شاخص‌ها جهت شناسایی ژنوتیپ‌های مقاوم به تنش کم‌آبی در برنامه‌های به‌نژادی ذرت بهره گرفت.

**واژه‌های کلیدی:** آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، الکتروفورز، تنش کم‌آبی، ژنوتیپ‌های ذرت

مقدمه

در میان گیاهان زراعی، ذرت (*Zea mays* L.) به‌عنوان یکی از مهم‌ترین غلات دانه‌ای، به‌دلیل نقش مهمی که در تغذیه انسان و دام دارد، در عرصه تولید جهانی از جایگاه ارزشمندی برخوردار است. ذرت، گیاهی از خانواده غلات با دوره رشد نسبتاً کوتاه و عملکرد بالاست که در سطح جهانی از نظر میزان تولید در واحد سطح در رتبه اول و از نظر سطح زیرکشت پس از گندم و برنج مقام سوم را به خود اختصاص داده است (۳۳). ذرت به‌دلیل ویژگی‌های بسیار زیاد، به ویژه به‌دلیل قدرت سازگاری با شرایط اقلیمی گوناگون، بسیار زود در تمام دنیا گسترش یافت و در حال حاضر در بیش از ۱۳۰ میلیون هکتار از اراضی دنیا کشت می‌شود (۱).

تنش‌های محیطی گوناگون، به‌خصوص تنش خشکی اثرات شدید و عمده‌ای بر روی رشد و تولید ذرت دارند (۲۲). خشکی از جمله تنش‌های فیزیکی است که به‌علت تنوع زیاد در شرایط بارندگی، به‌عنوان مهم‌ترین عامل محدودکننده رشد و تولید گیاهان زراعی در ایران شناخته شده است (۲۸). تنش خشکی از توسعه سلول‌ها جلوگیری کرده و به‌دنبال آن رشد گیاه را کاهش می‌دهد. سازوکار تنظیمی ژن‌هایی که در

توسعه دیواره‌های سلولی گیاهان نقش دارند، توانایی سلول‌ها را برای توسعه آنها کاهش می‌دهند که این حالت باعث کاهش توانایی رشد گیاه تحت شرایط تنش می‌شود (۱۵). کاهش رشد از علائم بارز گیاه در مواجهه با تنش خشکی است، که در نتیجه آن پتانسل آب برگ و فشار تورژانس سلولی که لازمه رشد سلول‌ها و بافت گیاه می‌باشد، کاهش پیدا می‌کند. تنش‌های شدید خشکی باعث ممانعت از فتوسنتز، اختلال در متابولیسم، انتقال مواد و در نهایت منجر به مرگ گیاه می‌شوند (۱۹). تاثیر تنش خشکی بر رشد، به‌شدت و مدت زمان تنش، گونه گیاهی و مرحله رشد گیاه بستگی دارد (۱۸).

تنش خشکی موجب القاء تنش اکسایشی در گیاهان می‌شود که در نتیجه ترکیبات ROS تولید و افزایش می‌یابند. در این شرایط فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان مانند سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، پراکسیداز (POX) و کاتالاز (CAT) افزایش می‌یابد (۱۷). شواهد موجود نشان می‌دهد که افزایش تنش خشکی باعث القاء تنش اکسیداتیو در گیاهان مختلف می‌شود (۱۶). که اینها می‌توانند پروتئین‌ها، لیپیدها، کربوهیدرات‌ها و نوکلئیک‌اسیدها را تخریب کنند. به منظور

صورت اسپلیت پلات براساس طرح پایه بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار در مزرعه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز واقع در منطقه کرکج در ۱۲ کیلومتری شرق تبریز اجرا گردید (جدول ۲). بذور ذرت تهیه شده قبل از کاشت با قارچ کش ضد عفونی شدند. در این بررسی هر ژنوتیپ در پلات‌های جداگانه به طول ۳ متر با فاصله بین ردیف ۷۰ سانتی‌متر و با فاصله رو هر ردیف ۲۰ سانتی‌متر کشت گردیدند. تیمارهای آبیاری، در سه سطح برحسب نیاز آبی گیاه در تابستان اعمال شدند: الف) آبیاری نرمال، ب) تنش ملایم؛ یکبار روز یکبار براساس عرف زراعی منطقه. ج) تنش شدید؛ یکبار قطع آبیاری قبل از گلدهی و یکبار قطع آبیاری بعد از گلدهی تا اواسط پرشدن دانه اعمال گردید (۸). در مراحل داشت، آبیاری مطابق با عرف زراعی منطقه هر ۷ روز یکبار انجام شد و قبل از شروع گلدهی بسته به نوع تیمارهای مورد مطالعه تنش کم‌آبی بر روی پلات‌های بزرگ اجرا گردید، پس از اعمال تیمارهای تنش کم‌آبی برحسب سه تیمار موردنظر (آبیاری نرمال، تنش ملایم و تنش شدید کم‌آبی) نمونه‌های برگ‌های تازه از برگ پرچم بوته‌های علامت‌گذاری شده تهیه و در داخل نایلون پلاستیکی بر روی یخ و داخل یونولیت به آزمایشگاه منتقل شدند، تجزیه‌های آنزیمی روی برگ‌های سبز و تازه انجام گرفت. پس از نمونه‌برداری از تعداد ۳ گیاه در هر ژنوتیپ و هر تکرار در آزمایش مزرعه‌ای، نمونه‌ها به صورت دسته‌جمعی به منظور استخراج آنزیم‌ها مورد استفاده قرار گرفت. آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و شاخص‌های مورد مطالعه طبق پروتوکول‌های زیر اندازه‌گیری شدند:

کاهش اثرات اکسایشی ROSها، گیاهان دارای مکانیسم‌های مختلفی هستند (۱۰)، سیستم‌های آنتی‌اکسیدان آنزیمی و غیرآنزیمی یکی از مکانیسم‌هایی هستند که باعث پاکسازی گونه‌های فعال اکسیژن می‌شوند. در سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی، آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، پراکسیدازها (POX)، کاتالاز (CAT)، آسکوریات پراکسیدازها (APX) و گلوکاتایون ردوکتاز (GR)، از آنزیم‌های کلیدی به شمار می‌آیند (۲۷).

اطلاعات به دست آمده از مطالعات قبلی تاکنون، یک فرصت منحصر بفرد را برای استفاده از این سیستم به عنوان یک مدل و وسیله‌ای برای بهبود درک و همبستگی‌های بین تنش محیطی و متابولیسم‌های آنتی‌اکسیدانی فراهم می‌آورد. اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان به صورت خاص و یا تجزیه و تحلیل بیان آنها در خلال تیمارهای تنش کمبود آب به طور کلی به عنوان یک روش برای ارزیابی دخالت سیستم جارو زدن (مهار Scavenging) در خلال تنش کمبود آب پذیرفته شده است (۱۰). مطالعات متعددی نشان داده که فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان با تحمل گیاه به تنش‌های غیرزیستی همبستگی نشان می‌دهد، این مطالعه با هدف تکمیل کردن داده‌ها و مجموعه اطلاعات در مورد تغییرات و تجمع شاخص‌های فیزیولوژیکی و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و آسکوریات پراکسیداز در ژنوتیپ‌های ذرت تحت شرایط تنش کم‌آبی صورت گرفت.

## مواد و روش‌ها

آزمایشی در شرایط مزرعه با ژنوتیپ‌های ذرت تهیه شده از موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر (جدول ۱) به

جدول ۱- اسامی ۱۱ ژنوتیپ ذرت

Table 1. Number of 11 maize genotypes

ردیف	رقم یا لاین‌ها	ژنوتیپ‌ها
۱	سینگل کراس (F <sub>1</sub> )	SC704
۲	سینگل کراس (F <sub>1</sub> )	SC703
۳	سینگل کراس (F <sub>1</sub> )	SC705
۴	سینگل کراس (F <sub>1</sub> )	NS770
۵	سینگل کراس (F <sub>1</sub> )	SC260
۶	سینگل کراس (F <sub>1</sub> )	AR66
۷	سینگل کراس (F <sub>1</sub> )	AR68
۸	تری وی کراس (TWC)	TWC647
۹	سینگل کراس (F <sub>1</sub> )	AR70
۱۰	سینگل کراس (F <sub>1</sub> )	SC706
۱۱	سینگل کراس (F <sub>1</sub> )	KSC647

جدول ۲- نتایج تجزیه خاک در محل اجرای آزمایش در سال زراعی

Table 2. Results of soil analysis at the test site in the crop season

رومی (mg/kg)	پتاسیم (mg/kg)	فسفر (mg/kg)	نیترژن کل (درصد)	درصد کربن آلی	pH خاک	بافت خاک
۰/۹۱	۱۵۴۰	۹۶/۷	۰/۱۳	۱/۵	۸/۲	شنی لومی

## محتوای نسبی آب<sup>۱</sup> (RWC) برگ

بعد از اعمال تیمارهای تنش، از هر ردیف یک بوته انتخاب و برگ‌های کامل بوته جدا شدند و وزن تر دیسک‌های برگ‌ها بلافاصله با ترازوی حساس توزین شدند. سپس برگ‌ها در آب دیونیزه در ظرف پتری در شرایط اتاق با دمای ۲۴ درجه

در مراحل مختلف بسته به شرایط آزمایش، نمونه‌های برگ‌ها مشابه در همه تکرارها انتخاب و به صورت تازه یا فریز شده در نیترژن مایع و نگهداری شده در ۸۰°C- مورد استفاده قرار گرفتند. صفات و شاخص‌های زیر در نمونه‌ها مورد مطالعه قرار گرفتند:

1- Relative Water Content

و دمای ۴ درجه‌سانتی‌گراد، چهار ساعت طول کشید تا آبی بروموفنول با حرکت ۱۰-۸ سانتی‌متری به انتهای ژل برسد، سپس ژل برای برش و رنگ‌آمیزی آماده شد. در این مرحله ژل به کمک سیم مخصوص و نازک فلزی بعد از تثبیت آن روی شیشه مخصوص، به صورت افقی برش داده شد و هر کدام از لایه‌های افقی ژل سه میلی‌متری مورد رنگ‌آمیزی قرار گرفت. برای رنگ‌آمیزی آنزیم کاتالاز و سوپراکسیددیسموتاز از دستورالعمل‌های موجود در روش سولتیس و سولتیس (۲۹) و برای رنگ‌آمیزی پراکسیداز از روش آندرسون و همکاران (۳) استفاده شد.

### آنالیز آماری

پس از عکس‌برداری از ژل‌ها در زمان تثبیت، نوارهای به دست آمده از آن‌ها به وسیله نرم‌افزار MCID Analysis Evaluation ارزیابی و به صورت داده‌های کمی تبدیل شدند. به این منظور "مساحت×شدت" برای هر نوار ایزوزیمی توسط این نرم‌افزار اندازه‌گیری و به عنوان فعالیت دنسیتومتریک ایزوزیم مربوطه در نظر گرفته شد. نام‌گذاری نوارهای ایزوزیمی در هر سیستم آنزیمی با نام مخفف آنزیم همراه با اندیس مربوط به میزان حرکت نسبی آن انجام شد. به این منظور برای سریع‌ترین نوار ایزوزیمی از لحاظ حرکت اندیس یک، برای ایزوزیم‌های بعدی اندیس دو و الی آخر در نظر گرفته شد. برای مثال ایزوزیمی که در سیستم سوپراکسیددیسموتاز بیشترین حرکت را داشت اندیس ۱ ( $SOD_1$ )، آنزیم با بیشترین حرکت بعدی اندیس ۲ ( $SOD_2$ ) و ... را دریافت کردند (شکل ۳). تجزیه‌های آماری داده‌های ایزوزیمی پس از نرمال بودن داده‌ها و یکنواختی واریانس‌ها به صورت آزمایش اسپلیت‌پلات در قالب طرح بلوک کامل تصادفی در سه تکرار بررسی شدند و تجزیه‌های آماری داده‌ها با مدل خطی عمومی در نرم‌افزار SAS 9.1 انجام گرفت همچنین میانگین‌ها با آزمون دانکن در سطح احتمال ( $p \leq 0.05$ ) با یکدیگر مقایسه شدند.

### نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس در ۱۱ ژنوتیپ ذرت نشان داد که اثر ژنوتیپ برای تمامی شاخص‌ها و آنزیم‌ها به غیر از CAT،  $SOD_1$  و MDA معنی‌دار بود و اثر تنش کم‌آبی بروی تمامی شاخص‌ها به غیر از پروتئین محلول و آنزیم  $SOD_3$  معنی‌دار شد. درحالی که، اثر متقابل ژنوتیپ×تنش کم‌آبی فقط برای شاخص محتوای پروتئین کل و کلروفیل معنی‌دار بود (جدول ۳). بررسی‌های الکتروگرامی برای آنزیم‌های CAT (شکل ۱)، POX (شکل ۲) و  $SOD_3$  (شکل ۳) در ژنوتیپ‌های ذرت برای CAT، POX و  $SOD_3$  به ترتیب یک (CAT)، دو ( $POX_1$  و  $POX_2$ ) و سه ( $SOD_1$ ،  $SOD_2$  و  $SOD_3$ ) ایزوزیم مشاهده شد که اکثر ایزوزیم‌ها فعالیت بیشتر در شرایط تنش نسبت به شرایط نرمال را نشان دادند. وجود  $SOD_3$  و  $POX_2$ ‌های زیادی در اندامک‌های مختلف و سیتوپلاسم و CAT منفرد و مستقر در پراکسی‌زوم در اکثر گیاهان گزارش شده است (۱۴). میانگین داده‌ها و درصد تغییرات در این ژنوتیپ‌ها برای آنزیم‌ها و صفات فیزیولوژیکی نشان داد که برای تمامی

سانتی‌گراد قرار داده شدند و بعد از ۴۸ ساعت توزین شدند. بعد از این مرحله دیسک‌ها برگری به مدت ۴۸ ساعت در مای ۷۲ درجه سانتی‌گراد در داخل آون گذاشته شدند و وزن خشک آنها تعیین شد. محتوای آب نسبی برگ با استفاده از رابطه زیر محاسبه شد:

$$RWC = \frac{(\text{وزن خشک} - \text{وزن تورمی})}{(\text{وزن خشک} - \text{وزن تر})} \times 100$$

### شاخص کلروفیل برگ

این شاخص به عنوان معیار مناسبی در برنامه‌های اصلاحی در جهت بررسی میزان فتوسنتز برگ می‌باشد که با کلروفیل متر (SPAD) (502 Plus Chlorophyll Meter) ۲۴ ساعت پس از اعمال تنش اندازه‌گیری شد.

شاخص‌های مالون‌دی‌آلدئید، پروتئین، پرولین و پراکسیدهدی‌وژن میزان مالون‌دی‌آلدئید (MDA) به عنوان فرآورده نهایی پراکسیداسیون لیپیدهای غشا براساس روش دی‌وس و همکاران (۱۱) اندازه‌گیری شد. تجمع MDA برگ با استفاده از تیوباریوتیک اسید تعیین شد. ۲۰۰ میلی‌گرم نمونه برگی از بخش میانی ساقه در دو میلی‌لیتر بافر استخراج (TCA یک درصد) هموزن شده و به مدت ۱۵ دقیقه در سانتریفیوژ با سرعت ۱۳۰۰۰ دور در دقیقه قرار داده شد. یک میلی‌لیتر از روشناور به دست آمده با دو میلی‌لیتر محلول تیوباریوتیک اسید (TBA پنج درصد) حاوی تری‌کلرواستیک-اسید (TCA بیست درصد) مخلوط و در حمام آب جوش (۹۵ درجه سانتی‌گراد) به مدت ۳۰ دقیقه قرار داده شد. سپس نمونه‌ها در آب یخ قرار داده شدند و سپس با سرعت ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ده دقیقه سانتریفیوژ شدند. جذب نمونه در طول موج ۵۲۲ نانومتر در دستگاه اسپکتروفوتومتر (Shimadzu UV-160) صورت گرفت. غلظت مالون‌دی‌آلدئید براساس فرمول زیر محاسبه شد که D اشاره به چگالی و E ضریب تمایز مولار (مول/سانتی‌متر  $10^5 \times 1/56$ ) دارد (۱۱).

$$C = \frac{D}{E}$$

میزان پروتئین محلول نمونه‌های برگی به روش برادفورد (۹) با دستگاه اسپکتروفوتومتر اندازه‌گیری شد. میزان پرولین بر اساس روش باتیس و همکاران (۷) اندازه‌گیری شد. میزان پراکسیدهدی‌وژن با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتری بعد از واکنش با یدیدپتاسیم (KI) در طول موج ۳۹۰ نانومتر اندازه‌گیری شد و از غلظت‌های مختلف  $H_2O_2$  برای تهیه منحنی استاندارد استفاده شد (۲).

### فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی

پس از تهیه نمونه‌های برگی تازه، استخراج آنزیم براساس روش ولیزاده و همکاران (۳۱) انجام گرفت. بدین منظور نمونه‌ها با محلول استخراج به خوبی هم‌نیزه شدند و سپس محلول حاصل به مدت ۱۰ دقیقه در ۱۰۰۰۰ دور (rpm) و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شد. عصاره آنزیمی با کاغذهای واتمن که به ابعاد ۳×۵ میلی‌متر (به اندازه چاهک‌های ژل) برش داده شده بودند آغشته شد و سپس کاغذها در دخل چاهک ژل قرار داده شدند، جذب در ژل پلی‌آکریلامید ۸ درصد با ابعاد ۱۵×۱۲×۰/۶ سانتی‌متر انجام شد. پس از راه‌اندازی دستگاه الکتروفورز با آمپر ۲۵ میلی‌آمپر،

۱۲۰/۷۸ درصد افزایش بیشترین میزان افزایش فعالیت و کلروفیل برگ تحت تنش شدید کم‌آبی نسبت به آبیاری نرمال با ۲۴/۰۵ درصد بیشترین میزان کاهش را نشان دادند (جدول ۵). براساس این نتایج، تنش کم‌آبی بر فعالیت آنزیمی و شاخص‌های فیزیولوژیکی تاثیر گذاشته است و ژنوتیپ‌ها به شدت و میزان تنش پاسخ متناسب نشان دادند.

صفات با افزایش شدت تنش از نرمال به ملایم و تنش شدید شدت فعالیت آنزیم و شاخص‌ها افزایش یافت. با وجود این، برای محتوای کلروفیل برگ و محتوای آب نسبی برگ (RWC) با افزایش شدت تنش نسبت به حالت نرمال از میزان آن کاسته شد. آنزیم CAT در تنش شدید نسبت به آبیاری نرمال با ۱۰۰ درصد افزایش (جدول ۴) و محتوای MDA با

جدول ۳- تجزیه واریانس فعالیت آنزیم‌ها ( $\times 10^5$ ) و شاخص‌های فیزیولوژیکی در ۱۱ ژنوتیپ ذرت

Table 3. Analysis of variance of enzyme activity ( $\times 10^5$ ) and physiological indices in 11 maize genotypes

منابع تغییر	درجه آزادی	CAT	POX <sub>1</sub>	POX <sub>2</sub>	SOD <sub>1</sub>	SOD <sub>2</sub>	SOD <sub>3</sub>	MDA (nmol/g fr. wt.)	Chlorophyll	RWC (%)	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ( $\mu$ mol/g fr. wt.)	محتوای پروتئین محلول (μg/plant fresh wt.)
تکرار	۲	۹/۵	۷۱	۸/۲	۱۴	۸/۶*	۷*	۵۶۹/۷۳	۲۱۱/۷۱	-۰/۱۹	۹/۸۶**	-۰/۳۴
تنش کم‌آبی	۲	۲۸	۹۲	۸	۴/۷	۴/۵	۷/۷*	۳۳۰/۴۴*	۹۹۶/۳۹*	-۰/۳۰*	۳۳/۷۲**	-۰/۰۴
خطا a	۴	۴/۸	۱۴	۲/۶	۱	۰/۸۶	۱	۲۶۸/۴۱	۷۹/۵۹	۰/۰۰۲۹	۰/۱۶	۰/۱۰
ژنوتیپ	۱۰	۳	۳۹**	۱۹**	-۰/۷	۲/۳**	۴**	۲۶۵/۳۳	۷۳/۱۹*	-۰/۱۸**	۱۶/۸۶**	-۰/۵۹**
ژنوتیپ × تنش کم‌آبی	۲۰	۴/۴	۸	۳/۳	۰/۶	۰/۳۴	۰/۸	۲۰۲/۱۶	۴۹/۵۸*	۰/۰۰۵۳	۲/۵۴	-۰/۱۵**
خطا b	۶۰	۳/۴	۱۵	۲/۶	۰/۴	۰/۴	۰/۸	۲۱۶/۶۵	۲۸/۲۳	-۰/۰۰۳۴	۱/۶۲	-۰/۰۵۵
C.V		۶۳/۷۵	۴۷/۶۹	۴۶/۹۰	۲۲/۳۶	۲۶/۸۲	۳۱/۱۶	۵۵/۹۰	۱۳/۶۴	۶/۷۰	۱۵/۲۴	۱۶/۸۸

\* و \*\*: به ترتیب معنی‌داری در سطح ۵٪ و ۱٪.

جدول ۴- میانگین داده‌ها و درصد تغییرات آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان (داخل پرانتز) در نمونه‌های برگی ژنوتیپ‌های ذرت تحت سه شرایط تنش کم‌آبی

Table 4. Mean and change percentage (in parenthesis) of antioxidant enzymes activities in leaf samples of maize genotypes under three water deficit stress conditions

تنش	CAT	POX <sub>1</sub>	POX <sub>2</sub>	SOD <sub>1</sub>	SOD <sub>2</sub>	SOD <sub>3</sub>
آبیاری نرمال	-۰/۰۵۵ <sup>b</sup>	-۰/۰۱۹ <sup>b</sup>	-۰/۰۱۰ <sup>a</sup>	-۰/۰۸۱ <sup>b</sup>	-۰/۰۰۶۳ <sup>b</sup>	-۰/۰۰۷۱ <sup>b</sup>
تنش ملایم کم‌آبی	-۰/۰۰۶۶ <sup>b</sup> (۲۰)	-۰/۰۲۹ <sup>a</sup> (۵۲/۶)	-۰/۰۱۳ <sup>a</sup> (۳۰)	-۰/۰۰۹۴ <sup>ab</sup> (۱۶/۱)	-۰/۰۰۸۱ <sup>a</sup> (۴۹/۲)	-۰/۰۰۹۵ <sup>a</sup> (۳۲/۸)
تنش شدید کم‌آبی	-۰/۰۱۱ <sup>a</sup> (۱۰۰)	-۰/۰۲۸ <sup>a</sup> (۴۷/۴)	-۰/۰۱۱ <sup>a</sup> (۱۰)	-۰/۰۱۰ <sup>a</sup> (۲۳/۵)	-۰/۰۰۸۴ <sup>a</sup> (۳۸/۱)	-۰/۰۱۰ <sup>a</sup> (۴۰/۸)

+: حروف متفاوت نشان دهنده وجود تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد است.

جدول ۵. میانگین داده‌ها و درصد تغییرات (داخل پرانتز) شاخص‌های فیزیولوژیکی در نمونه‌های برگی ذرت تحت سه شرایط تنش کم‌آبی

Table 5. Mean and change percentage (in parenthesis) of physiological indices in leaf samples of maize genotypes under three water deficit stress conditions

تنش	MDA (nmol/g fr. wt.)	Chlorophyll	RWC (%)	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ( $\mu$ mol/g fr. wt.)	محتوای پروتئین محلول (μg/plant fresh wt.)
آبیاری نرمال	۱۶/۵۵ <sup>b</sup>	۴۳/۰۷ <sup>a</sup>	-۰/۸۹ <sup>a</sup>	۷/۳۶ <sup>c</sup>	۱/۴۱ <sup>b</sup>
تنش ملایم کم‌آبی	۲۵/۸۸ <sup>ab</sup> (۵۶/۴)	۴۱/۰۵ <sup>a</sup> (-۴/۷)	-۰/۸۷ <sup>a</sup> (-۲/۳)	۸/۲۷ <sup>b</sup> (۱۲/۴)	۱/۳۹ <sup>a</sup> (-۱/۴)
تنش شدید کم‌آبی	۳۶/۵۴ <sup>a</sup> (۱۲۰/۸)	۳۲/۷۱ <sup>b</sup> (-۲۴/۱)	-۰/۸۳ <sup>b</sup> (-۷/۹)	۹/۳۸ <sup>a</sup> (۲۷/۵)	۱/۳۸ <sup>a</sup> (-۲/۱)

+: حروف متفاوت نشان دهنده وجود تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد است.

تغییر فعالیت آنزیمی در شرایط تنش ملایم نسبت به آبیاری نرمال نشان داد ایزوزیم CAT در ژنوتیپ ۹ (AR70) با حدود ۴۸۸ درصد بیشترین افزایش و ژنوتیپ ۴ (NS770) با حدود ۶۴ درصد بیشترین میزان کاهش را به خود اختصاص دادند (۶۴-) (جدول ۶). در بین شاخص‌های فیزیولوژیکی تحت تنش ملایم کم‌آبی نسبت به آبیاری نرمال MDA در ژنوتیپ ۳ (SC705) با ۱۱۶/۷ درصد بیشترین افزایش و برای شاخص کلروفیل برگ ژنوتیپ ۵ (SC260) با ۲۴/۹ درصد بیشترین میزان کاهش را نسبت به آبیاری عادی نشان دادند (۲۴/۹-). (جدول ۷).

مقایسات میانگین برای ایزوزیم‌های آنتی‌اکسیدان به صورت جداگانه برای هر سه سطح آبیاری انجام شد ( $p \leq 0.05$ ). نتایج تیمارهای تنش ملایم نشان داد (جدول ۶)، که در تنش ملایم برای CAT ژنوتیپ‌های SC703، SC705، AR70 و AR66، برای POX ژنوتیپ‌های SC703، AR66، AR70 و SC706 و برای SODها اکثر ژنوتیپ‌های مورد مطالعه میزان فعالیت بالایی نشان دادند (جدول ۶). همچنین تحت تنش ملایم ژنوتیپ‌های SC260 و AR66 بالاترین سطح MDA، ژنوتیپ‌های SC705، SC260 و AR66 بالاترین سطح H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> و ژنوتیپ‌های SC705، TWC647 و KSC647 بالاترین سطح کلروفیل برگ را نشان دادند (جدول ۷). بررسی

بررسی الگوی ایزوزیمی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و شاخص‌های فیزیولوژیکی در ژنوتیپ‌های ذرت تحت تنش کم‌آبی ..... ۶۸

جدول ۶- مقایسات میانگین فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در تنش کم‌آبی ملایم در نمونه‌های برگی ۱۱ ژنوتیپ ذرت در مقایسه با شرایط آبیاری نرمال (درصد تغییرات داخل پرانتز آمده است)

Table 6. Mean comparison of antioxidant enzymes activities in 11 maize genotypes under intermediate water deficit stress compared with well-watered condition (Change percentage is shown in parenthesis)

SOD <sub>3</sub>	SOD <sub>2</sub>	SOD <sub>1</sub>	POX <sub>2</sub>	POX <sub>1</sub>	CAT	ژنوتیپ‌های ذرت
۰/۰۰۹ <sup>abc</sup> (۷۷/۴)	۰/۰۰۶ <sup>a</sup> (-۱/۴)	۰/۰۰۸ <sup>1a</sup> (۳/۹)	۰/۰۱۳ <sup>bc</sup> (۱۰۶/۹)	۰/۰۲۸ <sup>ab</sup> (-۲۸/۶)	۰/۰۰۷ <sup>9abc</sup> (۲۹/۵)	(۱) SC704
۰/۰۱۱ <sup>ab</sup> (۲۳/۶)	۰/۰۰۹ <sup>3a</sup> (۳/۲)	۰/۰۱۱ <sup>a</sup> (۲۶/۴)	۰/۰۱۴ <sup>bc</sup> (۲۷/۳)	۰/۰۲۱ <sup>ab</sup> (۷۵)	۰/۰۱۰ <sup>9a</sup> (۷۰)	(۲) SC703
۰/۰۱۱ <sup>ab</sup> (۱۷)	۰/۰۱ <sup>a</sup> (۲۶/۶)	۰/۰۰۹ <sup>6a</sup> (۶/۷)	۰/۰۱۴ <sup>bc</sup> (۱۷۷/۸)	۰/۰۳۳ <sup>ab</sup> (۹۴/۱)	۰/۰۰۸۳ <sup>abc</sup> (۳۸/۹)	(۳) SC705
۰/۰۱۱ <sup>ab</sup> (۱۳/۴)	۰/۰۰۷ <sup>4a</sup> (۴/۲)	۰/۰۰۹ <sup>۰۰a</sup> (-۱۷/۴)	۰/۰۰۸۳ <sup>c</sup> (۲۶/۲)	۰/۰۴۱ <sup>a</sup> (۳۶/۷)	۰/۰۰۳۹ <sup>c</sup> (-۴۴/۲)	(۴) NS770
۰/۰۰۹ <sup>1abc</sup> (۲۱/۳)	۰/۰۰۹ <sup>۰۰a</sup> (۳۰/۴)	۰/۰۰۶۳ <sup>a</sup> (۷/۴)	۰/۰۰۶۸ <sup>c</sup> (۱/۵)	۰/۰۳۳ <sup>ab</sup> (۳۱/۳)	۰/۰۰۳۸ <sup>c</sup> (۲۴/۲)	(۵) SC260
۰/۰۱۱ <sup>ab</sup> (۱۳/۴)	۰/۰۱۰۵ <sup>a</sup> (۲۶/۵)	۰/۰۱۰ <sup>a</sup> (۲۳/۵)	۰/۰۱۴ <sup>bc</sup> (۸۴/۲)	۰/۰۲۹ <sup>ab</sup> (۳۹/۴)	۰/۰۰۳۹ <sup>c</sup> (-۵۸/۹)	(۶) AR66
۰/۰۰۳۸ <sup>c</sup> (-۲۰)	۰/۰۰۶۱ <sup>a</sup> (۵۰)	۰/۰۰۸۹ <sup>a</sup> (۱۲/۵)	۰/۰۰۵۵ <sup>c</sup> (۱۰۰)	۰/۰۲۳ <sup>ab</sup> (۱)	۰/۰۰۶ <sup>abc</sup> (۵۰)	(۷) AR68
۰/۰۰۹۳ <sup>abc</sup> (۱۲۵)	۰/۰۰۶۳ <sup>a</sup> (۴۸)	۰/۰۱۰ <sup>a</sup> (۴۲/۸)	۰/۰۲۶ <sup>a</sup> (۱۳)	۰/۰۴۶ <sup>a</sup> (۲۳/۱)	۰/۰۰۵۴ <sup>bc</sup> (۲)	(۸) TWC647
۰/۰۱۳ <sup>a</sup> (۴۹/۴)	۰/۰۰۹۰ <sup>a</sup> (۸۱/۵)	۰/۰۱۰ <sup>a</sup> (۴۴/۹)	۰/۰۱۴ <sup>bc</sup> (۴۴/۶)	۰/۰۲۳ <sup>ab</sup> (۳۷/۵۰)	۰/۰۰۱ <sup>ab</sup> (۴۸۸/۲)	(۹) AR70
۰/۰۰۷۸ <sup>bc</sup> (۵۲/۹)	۰/۰۰۶۳ <sup>a</sup> (۷۱/۱)	۰/۰۰۸۶ <sup>a</sup> (۸۰)	۰/۰۰۸۱ <sup>c</sup> (۷۳/۸)	۰/۰۳۳ <sup>ab</sup> (۷۳/۷)	۰/۰۰۶ <sup>abc</sup> (۵۰)	(۱۰) SC706
۰/۰۰۸۵ <sup>abc</sup> (۹۸)	۰/۰۰۷۳ <sup>a</sup> (۱۶۷)	۰/۰۱۱ <sup>a</sup> (۵۷/۱)	۰/۰۲۰ <sup>ab</sup> (۱۱/۸)	۰/۰۲۸ <sup>ab</sup> (۴۰)	۰/۰۰۶ <sup>abc</sup> (۵۰)	(۱۱) SC647

+ حروف متفاوت نشان دهنده وجود تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد است.

جدول ۷- مقایسات میانگین فعالیت و درصد تغییرات شاخص‌های فیزیولوژیکی در نمونه‌های برگی ۱۱ ژنوتیپ ذرت تحت تنش ملایم کم‌آبی در مقایسه با شرایط آبیاری نرمال (درصد تغییرات داخل پرانتز آمده است)

Table 7. Mean comparison of activity and percentage of changes in physiological indices in 11 maize genotypes under intermediate water deficit stress compared with well-watered condition (Change percentage is shown in parenthesis).

محتوای پروتئین محلول (μg/plant fresh wt.)	H2O2 (μmol/g fr. wt.)	RWC (%)	Chlorophyll	MDA (nmol/g fr. wt.)	ژنوتیپ‌های ذرت
۱/۹۰ <sup>a</sup> (-۶/۸)	۷/۰۷ <sup>bcd</sup> (-۹/۶)	۰/۸۴ <sup>b</sup> (-۷/۷)	۳۸/۹۶ <sup>bcd</sup> (-۱۹/۱)	۲۱/۶۷ <sup>a</sup> (۳۱)	(۱) SC704
۱/۱۷ <sup>bc</sup> (۰/۱۰)	۷/۹۸ <sup>bcd</sup> (۵/۳)	۰/۸۹ <sup>ab</sup> (-۵/۶)	۳۸/۸۶ <sup>bcd</sup> (-۱۰/۵)	۲۰/۸۳ <sup>a</sup> (۷۹/۸)	(۲) SC703
۰/۹۹ <sup>c</sup> (-۱۵/۴)	۱۱/۱۸ <sup>a</sup> (۳۴/۹)	۰/۸۸ <sup>ab</sup> (۱)	۴۵/۲۳ <sup>abc</sup> (۹/۹)	۲۵/۰۹ <sup>a</sup> (۱۱۶/۷)	(۳) SC705
۱/۴۷ <sup>b</sup> (۳۳)	۷/۰۵ <sup>bcd</sup> (۳۵/۳)	۰/۸۳ <sup>b</sup> (-۵/۷)	۳۴/۶۳ <sup>cd</sup> (-۱۱/۹)	۲۴/۹۵ <sup>a</sup> (۱۰۰/۱)	(۴) NS770
۱/۲۶ <sup>bc</sup> (۲/۴)	۹/۱۵ <sup>b</sup> (۹/۹)	۰/۷۳ <sup>c</sup> (-۱۲/۱)	۳۱/۶۰ <sup>d</sup> (-۲۴/۹)	۳۳/۳۶ <sup>a</sup> (۵۶/۱)	(۵) SC260
۱/۱۷ <sup>bc</sup> (۳۳/۷)	۱۱/۲۸ <sup>a</sup> (-۷/۹)	۰/۹۴ <sup>a</sup> (۱۳/۳)	۴۳/۷۳ <sup>abc</sup> (۲/۱)	۲۸/۱۳ <sup>a</sup> (۲۲/۹)	(۶) AR66
۱/۳۷ <sup>bc</sup> (۳۸/۳)	۶/۰۸ <sup>d</sup> (۱/۴)	۰/۹۱ <sup>ab</sup> (-۴)	۳۶/۰۳ <sup>cd</sup> (-۲۷/۸)	۲۶/۶۱ <sup>a</sup> (۹۳)	(۷) AR68
۱/۴۶ <sup>b</sup> (۳/۶)	۸/۴۴ <sup>bc</sup> (۴۵/۷)	۰/۸۹ <sup>ab</sup> (-۴)	۴۸/۹۰ <sup>ab</sup> (۲۷/۸)	۲۶/۱۹ <sup>a</sup> (۹۰)	(۸) TWC647
۱/۴۳ <sup>bc</sup> (-۲۵/۷)	۷/۹۸ <sup>bcd</sup> (-۰/۵)	۰/۸۳ <sup>b</sup> (-۱۲/۶)	۴۳/۶۳ <sup>abc</sup> (-۲/۳)	۲۶/۶۱ <sup>a</sup> (۱۱۴/۴)	(۹) AR70
۱/۵۹ <sup>ab</sup> (۱۴/۵)	۸/۰۸ <sup>bc</sup> (۱۷/۶)	۰/۹۳ <sup>ab</sup> (-۳/۳)	۳۹/۱۰ <sup>bcd</sup> (-۱۲/۸)	۲۶/۱۹ <sup>a</sup> (۴۶/۱)	(۱۰) SC706
۱/۶۰ <sup>ab</sup> (-۱۲)	۶/۳۹ <sup>cd</sup> (-۵/۶)	۰/۹۴ <sup>a</sup> (-۲/۷)	۵۰/۸۶ <sup>a</sup> (۱۲/۷)	۲۵/۰۹ <sup>a</sup> (۳۹/۲)	(۱۱) SC647

+ حروف متفاوت نشان دهنده وجود تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد است.

MDA در ژنوتیپ ۲ (SC703) با ۱۸۵/۷ درصد بیشترین افزایش و برای شاخص کلروفیل برگ ژنوتیپ ۷ (AR68) با ۳۶/۷ درصد بیشترین میزان کاهش را نسبت به تیمار آبیاری عادی نشان دادند (جدول ۷) (-۳۶/۷). با استفاده از حساسیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز به KCN و H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> مطابق شکل ۳ ایزوزیم‌های مختلف SOD روی ژل پلی‌آکریل‌امید ۸٪ مشخص شده است. همانطور که مشاهده می‌شود سه ایزوزیم SOD<sub>1</sub>، SOD<sub>2</sub> و SOD<sub>3</sub> به ترتیب Fe-SOD، Cu/Zn-SOD و Mn-SOD تشخیص داده شدند. آنزیم SOD واکنش تبدیل یا دیسموتاسیون رادیکال سوپراکسید (O<sub>2</sub><sup>-</sup>) به پراکسید هیدروژن (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) و اکسیژن را کاتالیز می‌کند. تبدیل سوپراکسید به پراکسید هیدروژن و اکسیژن، اولین پل ارتباطی در پاکسازی ROS می‌باشد و به همین دلیل سوپراکسیددیسموتاز به عنوان سازوکار دفاعی اصلی و آنزیم خط مقدم در برابر گونه‌های فعال اکسیژن در نظر گرفته می‌شود. این آنزیم فقط یک ROS را به ROS دیگری تبدیل می‌کند و باید H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> نیز به سرعت تخریب و تجزیه شود زیرا فوراً به پروتئین‌های تیولی (ترکیبات گوگرددار) صدمه می‌زند (۱۰، ۶).

در تنش شدید کم‌آبی مشاهده شد که برای آنزیم CAT ژنوتیپ‌های NS770، SC703، AR66 و AR70، برای POXها ژنوتیپ‌های SC704، SC703، SC705 و AR66، و برای SODها ژنوتیپ‌های SC704، SC703، SC705 و NS770 بالاترین میزان فعالیت را نشان دادند و همچنین تحت تنش شدید با وجود اختلاف جزئی بین ژنوتیپ‌های مورد بررسی برای آنزیم‌های CAT، SOD و POX اختلاف آماری معنی‌داری از لحاظ میزان فعالیت آنزیمی دیده نشد. بررسی تغییر فعالیت آنزیمی در شرایط تنش شدید نسبت به آبیاری نرمال نشان داد ایزوزیم CAT در ژنوتیپ ۹ (AR70) با ۵۱۱/۱ درصد بیشترین افزایش و در ایزوزیم POX<sub>2</sub> ژنوتیپ ۸ (TWC647) با ۳۹/۱۰ درصد بیشترین کاهش را به خود اختصاص دادند (-۳۹/۱۰) (جدول ۸). تحت تنش شدید ژنوتیپ‌های SC705، SC260 و KSC647 بالاترین سطح MDA، و ژنوتیپ‌های SC703، SC705، SC260 و AR66 بالاترین سطح H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> را نشان دادند همچنین برای شاخص سطح کلروفیل برگ بین ژنوتیپ‌های مورد بررسی تفاوت معنی‌داری تحت تنش شدید کم‌آبی مشاهده نشد (جدول ۹). در بین شاخص‌های فیزیولوژیکی تحت تنش شدید کم‌آبی نسبت به آبیاری نرمال

جدول ۸- مقایسات میانگین فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در تنش کم‌آبی شدید در نمونه‌های برگی ۱۱ ژنوتیپ ذرت در مقایسه با شرایط آبیاری نرمال (درصد تغییرات داخل پرانتز آمده است)

Table 8. Mean comparison of antioxidant enzymes activities in 11 maize genotypes under severe water deficit stress compared with well-watered condition (Change percentage is shown in parenthesis)

SOD3	SOD2	SOD1	POX2	POX1	CAT	ژنوتیپ‌های ذرت
۰/۰۱۲۷a(۱۴۵/۳)	۰/۰۰۹۹ab(۴۱/۴)	۰/۰۱۲a(۶۶/۷)	۰/۰۱۱a(۸۹/۷)	۰/۰۲۸a(۴۰)	۰/۰۰۹۱a(۵۴/۲)	(۱) SC704
۰/۰۱۲۰a(۳۶/۴)	۰/۰۰۹۶ab(۱۱/۱)	۰/۰۱۰ab(۱۴/۹)	۰/۰۱۱a(۱)	۰/۰۳۶a(۱)	۰/۰۱۳a(۱۱۶/۷)	(۲) SC703
۰/۰۱۲۹a(۳۷/۲)	۰/۰۰۹۵ab(۲۰/۳)	۰/۰۱۱ab(۲۲/۲)	۰/۰۱۲a(۱۶۶/۷)	۰/۰۲۷a(۵۸/۸)	۰/۰۰۹۷a(۶۴/۴)	(۳) SC705
۰/۰۱۰۵a(۸/۳)	۰/۰۰۸۳ab(۱۶/۹)	۰/۰۰۹۵ab(-۱۲/۸)	۰/۰۰۶۲a(-۴/۶)	۰/۰۲۸a(-۶/۷)	۰/۰۱۴a(۲۸/۴)	(۴) NS770
۰/۰۰۴۳c(۱۰/۵)	۰/۰۰۷۱abc(۴/۴)	۰/۰۰۸۳b(۲۲/۱)	۰/۰۰۶۷a(-۲/۹)	۰/۰۱۲a(۲۱/۲)	۰/۰۰۲۴a(۳۳/۳)	(۵) SC260
۰/۰۱۰۸ab(۱۱/۳)	۰/۰۱۰۴a(۲۵/۳)	۰/۰۱۱ab(۳۵/۳)	۰/۰۱۴a(۸۴/۲)	۰/۰۳۱a(۴۹)	۰/۰۱۳a(۳۶/۸)	(۶) AR66
۰/۰۰۵۵ab(۲۱)	۰/۰۰۷۲abc(۷۵)	۰/۰۱۱ab(۳۷/۵)	۰/۰۰۸۷a(۲۰/۱)	۰/۰۲۱a(-۸/۷)	۰/۰۰۷۱a(۷۵)	(۷) AR68
۰/۰۱۱a(۱۷۵)	۰/۰۰۷۳abc(۷۶/۳)	۰/۰۱۲ab(۷۱/۴)	۰/۰۱۴a(-۳۹/۱)	۰/۰۴۲a(۷۵)	۰/۰۰۸۲a(۶۰)	(۸) TWC647
۰/۰۰۹۵abc(۹/۲)	۰/۰۱۰۶a(۹۶/۳)	۰/۰۱۲ab(۷۳/۷)	۰/۰۰۶۹a(-۱۶/۹)	۰/۰۲۵a(۵۶/۳)	۰/۰۱۱a(۵۱/۱)	(۹) AR70
۰/۰۰۵۸c(۴۵/۱)	۰/۰۰۷۹ab(۱۰/۷/۹)	۰/۰۰۹۳b(۶۰)	۰/۰۰۹۶a(۵۰)	۰/۰۲۴a(۷۹/۵)	۰/۰۰۶۹a(۸۵)	(۱۰) SC706
۰/۰۱۰a(۱۴۹)	۰/۰۰۵۷bc(۶۶/۷)	۰/۰۱۰ab(۴۳)	۰/۰۱۴a(-۱۷/۶)	۰/۰۳۳a(۶۵)	۰/۰۰۶۳a(۵۰)	(۱۱) SC647

+ حروف متفاوت نشان دهنده وجود تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد است.

جدول ۹- مقایسات میانگین فعالیت و درصد تغییرات شاخص‌های فیزیولوژیکی در نمونه‌های برگی ۱۱ ژنوتیپ ذرت تحت تنش شدید کم‌آبی در مقایسه با شرایط آبیاری نرمال (درصد تغییرات داخل پرانتز آمده است)

Table 9. Mean comparison of activity and percentage of changes in physiological indices in 11 maize genotypes under severe water deficit stress compared with well-watered condition (Change percentage is shown in parenthesis)

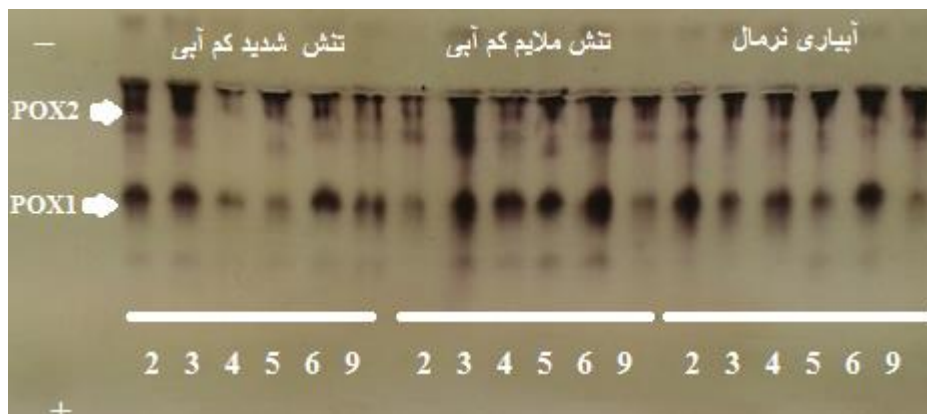
محتوای پروتئین محلول (μg/plant fresh wt.)	H2O2 (μmol/g fr. wt.)	RWC (%)	Chlorophyll	MDA (nmol/g fr. wt.)	ژنوتیپ‌های ذرت
۱/۷۲a(-۱۵/۷)	۷/۶۲d(-۲/۶)	۰/۷۸ab(-۱۴/۳)	۳۰/۷۶a(-۳۶/۱)	۲۸/۹۵b(۷۵/۹)	(۱) SC704
۱/۲۶ab(۸/۶)	۱۱/۸۲a(۵۶/۱)	۰/۸۵a(-۲/۶۱)	۳۴/۳۰a(-۲۰/۹)	۳۳/۰۹ab(۱۸۵/۷)	(۲) SC703
۱/۱۲b(-۴/۳)	۱۰/۹۳ab(۳۱/۸)	۰/۸۳ab(-۱۲/۶۳)	۳۲/۲۳a(-۲۱/۷)	۳۵/۰۲ab(۲۰/۳)	(۳) SC705
۱/۲۹ab(۱۶/۷)	۸/۲۷bcd(۵۸/۷)	۰/۷۸ab(-۱۰/۲۳)	۳۵/۴۰a(-۹/۹)	۳۴/۴۶ab(۱۷۶/۳)	(۴) NS770
۱/۹۲a(۴۹/۷)	۱۰/۷۹ab(۲۹/۵)	۰/۶۹b(-۱۶/۸۶)	۳۰/۶۳a(-۲۷/۲)	۳۸/۱۸ab(۷۸/۸)	(۵) SC260
۱/۱۹b(۳۶)	۱۰/۷۸ab(۳/۹)	۰/۸۱ab(-۲/۴۱)	۲۸/۴۷a(-۲۳/۵)	۳۴/۴۶ab(۵۰/۶)	(۶) AR66
۱/۳۶ab(۳۸/۲)	۸/۶۵bcd(۴۴/۴)	۰/۸۱ab(-۱۴/۷۱)	۳۱/۶۰a(-۳۶/۷)	۲۷/۵۷b(۱۰۰)	(۷) AR68
۱/۶۹ab(۱۹/۴)	۸/۷۷bcd(۵۱/۵)	۰/۸۴ab(-۱۴/۶۹)	۳۵/۹۳a(-۱۵/۶)	۳۳/۵۰ab(۱۰۰)	(۸) TWC647
۱/۳۰ab(-۳۲/۳)	۹/۷۱abcd(۲۱)	۰/۸۶a(-۹/۴۷)	۳۵/۲۰a(-۱۷/۴)	۳۰/۰۵b(۱۴۲/۱)	(۹) AR70
۱/۷۹a(۲۹/۲)	۷/۹۲cd(۱۵/۳)	۰/۸۹a(-۶/۵۱)	۲۹/۱۳a(-۲۰/۵)	۲۹/۵۰b(۶۴/۶)	(۱۰) SC706
۱/۲۴ab(-۲۶/۸)	۷/۹۸cd(۱۷/۹)	۰/۸۸a(-۸/۹۱)	۳۶/۱۳a(-۱۹/۹)	۵۲/۳۷a(۱۳۲/۵)	(۱۱) SC647

+ حروف متفاوت نشان دهنده وجود تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد است.

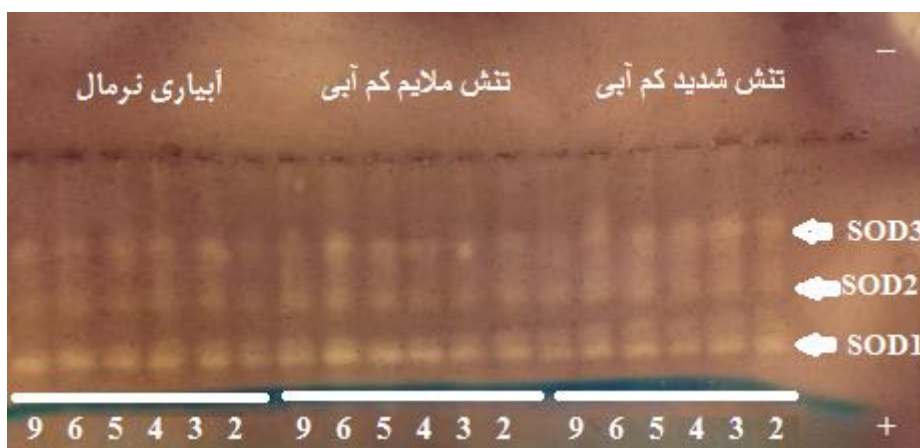


شکل ۱- نمونه‌ای از الگوی ایزوفرم و فعالیت نسبی CAT در برگ‌های شش ژنوتیپ ذرت ( ۲(SC703)، ۳(SC705)، ۴(NS770)، ۵(SC260)، ۶(AR66) و ۹(AR70) تحت سه شرایط آبیاری نرمال، تنش ملایم و تنش شدید کم‌آبی

Figure 1. A sample of enzyme pattern and relative activity of CAT in the leaves of six maize genotypes (2(SC703), 3(SC705), 4(NS770), 5(SC260), 6(AR66) and 9(AR70)) under well-watered, intermediate and severe water deficit stress conditions



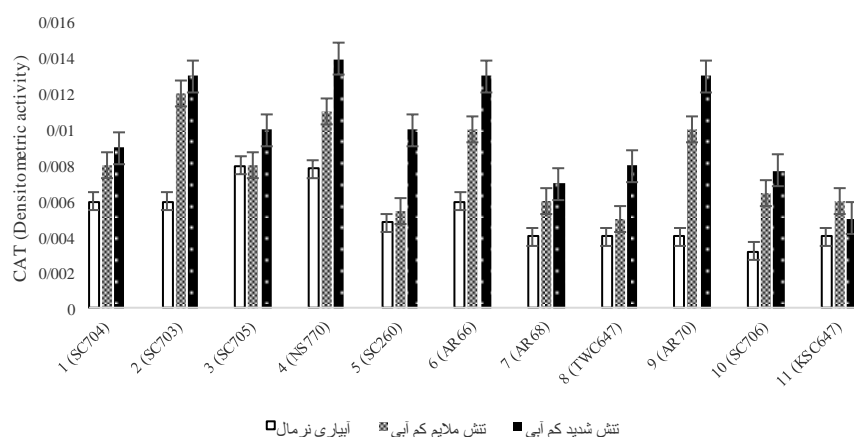
شکل ۲- نمونه‌ای از الگوی ایزوفرم و فعالیت نسبی POX در برگ‌های شش ژنوتیپ ذرت ( ۲(SC703)، ۳(SC705)، ۴(NS770)، ۵(SC260)، ۶(AR66) و ۹(AR70) تحت سه شرایط آبیاری نرمال، تنش ملایم و تنش شدید کم‌آبی  
 Figure 2. A sample of enzyme pattern and relative activity of POX in the leaves of six maize genotypes (2(SC703), 3(SC705), 4(NS770), 5(SC260), 6(AR66) and 9(AR70)) under well-watered, intermediate and severe water deficit stress conditions



شکل ۳- نمونه‌ای از الگوی ایزوفرم و فعالیت نسبی SOD در برگ‌های شش ژنوتیپ ذرت ( ۲(SC703)، ۳(SC705)، ۴(NS770)، ۵(SC260)، ۶(AR66) و ۹(AR70) تحت سه شرایط آبیاری نرمال، تنش ملایم و تنش شدید کم‌آبی  
 Figure 3. A sample of enzyme pattern and relative activity of SOD in the leaves of six maize genotypes (2(SC703), 3(SC705), 4(NS770), 5(SC260), 6(AR66) and 9(AR70)) under well-watered, intermediate and severe water deficit stress conditions

نرمال برای دو ژنوتیپ SC704 و SC706 افزایش منظم فعالیت CAT دیده شد ولی شدت این افزایش نسبت به سایر ژنوتیپ‌ها کمتر بود به عبارتی اختلاف بین فعالیت CAT در تنش‌های مختلف کم بود و این حالت نشان‌دهنده تحمل بیشتر این دو ژنوتیپ در شرایط تنش بود. این رفتار متفاوت ژنوتیپ‌ها در تیمارهای مختلف برای آنزیم CAT به خوبی در شکل ۴ دیده می‌شود.

پاسخ ژنوتیپ‌های مورد مطالعه برای آنزیم CAT به سطوح مختلف تنش کم‌آبی (اثر متقابل ژنوتیپ×تنش کم‌آبی) نشان داد، در تمامی ژنوتیپ‌ها، با افزایش شدت تنش فعالیت آنزیم بیشتر شد. واکنش متفاوت ژنوتیپ‌ها تحت تنش آبیاری نشان داد فعالیت آنزیم در ژنوتیپ‌های SC703، NS770، AR66 و AR70 نسبت به سایر ژنوتیپ‌ها بالاتر بود. با افزایش شدت تنش از تیمار نرمال به تنش ملایم و شدید نسبت به آبیاری



شکل ۴- فعالیت آنزیم CAT در ۱۱ ژنوتیپ ذرت تحت سه شرایط آبیاری نرمال، تنش ملایم و تنش شدید کم‌آبی  
Figure 4. CAT enzyme activity in 11 maize genotypes under well-watered, intermediate, and severe water deficit stress conditions

افزایش فعالیت آنزیم SOD تحت تنش خشکی در ذرت را گزارش کردند. همچنین آنزیم پراکسیداز (POX) از گروه اکسیدوردوکتازها هستند که در بیشتر بافت‌های گیاهی حضور داشته و تجزیه  $H_2O_2$  را کاتالیز می‌کند، پراکسیدازها جزء اولین آنزیم‌های هستند که فعالیت آنها تحت تنش تغییر می‌یابد. نیتو و همکاران (۲۵) با بررسی فعالیت آنزیم پراکسیداز تحت تنش خشکی در گیاه ذرت بیان کردند که فعالیت آنزیم پراکسیداز تحت تنش خشکی افزایش می‌یابد همچنین افزایش فعالیت پراکسیداز در گیاه ذرت رابطه مثبتی بین افزایش تحمل گیاه ذرت به تنش خشکی داشت. افزایش فعالیت آنزیم پراکسیداز در لاین‌ها و ژنوتیپ‌های حساس گندم (۲۴)، ذرت (۲۳) و آفتابگردان (۱۲) توسط محققان گزارش شده است.

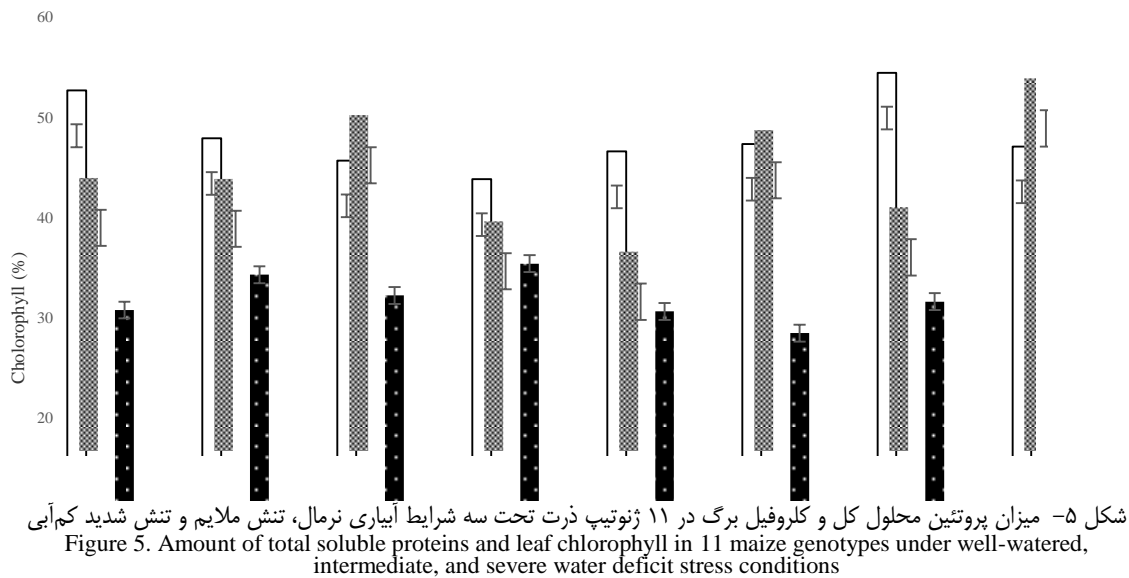
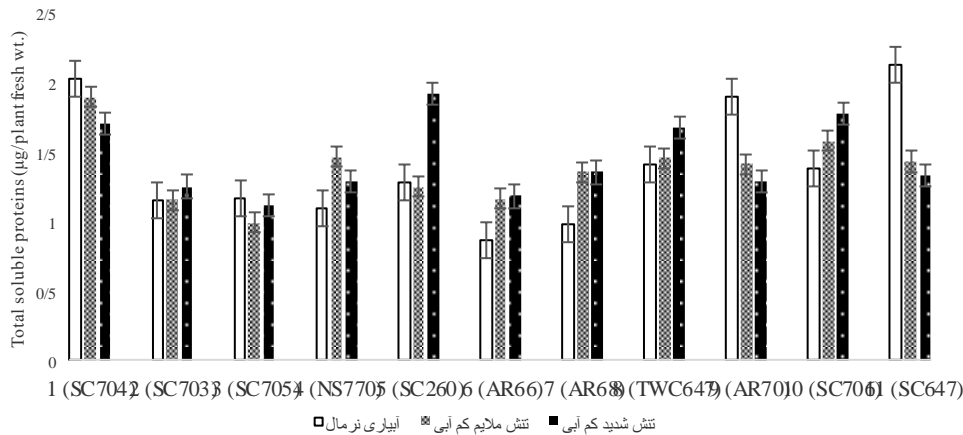
در تنش ملایم برای آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان CAT، SODs و POXs در ژنوتیپ‌های SC704، SC706، AR66، AR70 و SC703 بالاترین سطح فعالیت آنزیمی دیده شد. تحت تنش شدید کم‌آبی برای آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان CAT، SODs و POXs در هیبریدهای SC704، SC706، AR70، SC703 و SC705 بالاترین سطح فعالیت آنزیمی نسبت به سایر ژنوتیپ‌ها مشاهده شد که براساس تغییرات آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان می‌توان تحت تنش ملایم و شدید نسبت به حالت نرمال این ژنوتیپ‌ها را به عنوان هیبریدهای متحمل شناسایی کرد. افزایش سطوح آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در گونه‌های متحمل بیشتر از گونه‌های حساس تحت تنش‌های مختلف محیطی است (۳۲). محرم‌نژاد و همکاران (۲۳) افزایش فعالیت آنزیم SOD تحت تنش خشکی در ذرت را گزارش کردند. همچنین آنزیم پراکسیداز (POX) از گروه اکسیدوردوکتازها هستند که در بیشتر بافت‌های گیاهی حضور داشته و تجزیه  $H_2O_2$  را کاتالیز می‌کند، پراکسیدازها جزء اولین آنزیم‌های هستند که فعالیت آنها تحت تنش تغییر می‌یابد. نیتو و همکاران (۲۵) با بررسی فعالیت آنزیم پراکسیداز تحت تنش خشکی در گیاه ذرت بیان کردند که فعالیت آنزیم پراکسیداز تحت تنش خشکی افزایش می‌یابد

پاسخ ژنوتیپ‌های مورد مطالعه به سطوح مختلف تنش (اثر متقابل ژنوتیپ×تنش کم‌آبی) برای شاخص محتوای پروتئین محلول کل نشان داد که در حالت کلی با افزایش شدت تنش نسبت به آبیاری نرمال محتوای پروتئین محلول نوسان نشان داد زیرا ژنوتیپ ۵ (SC260) نسبت به سایر ژنوتیپ‌ها سطح بالاتری از پروتئین محلول را تحت تنش شدید کم‌آبی نشان دادند. از طرف دیگر اختلاف بین محتوای پروتئین محلول کل در دو ژنوتیپ SC704 و SC706 با افزایش شدت تنش از نرمال به تنش ملایم و تنش شدید کمترین اختلاف معنی‌دار را به صورت معکوس نشان دادند. همچنین برای محتوای کلروفیل برگ با افزایش شدت تنش کم‌آبی از محتوای کلروفیل برگ کاسته شد اما در ژنوتیپ‌های TWC647، SC705 و KSC647 محتوای کلروفیل برگ تحت تنش ملایم کم‌آبی از کلروفیل برگ تحت شرایط آبیاری نرمال و تنش شدید کم‌آبی بیشتر بود (شکل ۵). با افزایش سن برگ توان دفاعی سلول کاهش یافته و میزان تولید آنتی‌اکسیدان‌ها بیشتر از تجمع آنهاست. بنابراین با نزدیک شدن به مراحل انتهایی رشد گیاه توانایی محافظت گیاه در مقابل ROSها کاهش می‌یابد. در چنین شرایطی فعالیت‌های طبیعی سلول و به دنبال آن ماکرومولکول‌های سلول از جمله پروتئین‌ها از بین می‌روند (۳۰).

در تنش ملایم برای آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان CAT، SODs و POXs در ژنوتیپ‌های SC704، SC706، AR66، AR70 و SC703 بالاترین سطح فعالیت آنزیمی دیده شد. تحت تنش شدید کم‌آبی برای آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان CAT، SODs و POXs در هیبریدهای SC704، SC706، AR70، SC703 و SC705 بالاترین سطح فعالیت آنزیمی نسبت به سایر ژنوتیپ‌ها مشاهده شد که براساس تغییرات آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان می‌توان تحت تنش ملایم و شدید نسبت به حالت نرمال این ژنوتیپ‌ها را به عنوان هیبریدهای متحمل شناسایی کرد. افزایش سطوح آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در گونه‌های متحمل بیشتر از گونه‌های حساس تحت تنش‌های مختلف محیطی است (۳۲). محرم‌نژاد و همکاران (۲۳)

(۲۴)، ذرت (۲۳) و آفتابگردان (۱۲) توسط محققان گزارش شده است.

همچنین افزایش فعالیت پراکسیداز در گیاه ذرت رابطه مثبتی بین افزایش تحمل گیاه ذرت به تنش خشکی داشت. افزایش فعالیت آنزیم پراکسیداز در لاین‌ها و ژنوتیپ‌های حساس گندم



شکل ۵- میزان پروتئین محلول کل و کلروفیل برگ در ۱۱ ژنوتیپ ذرت تحت سه شرایط آبیاری نرمال، تنش ملایم و تنش شدید کم‌آبی  
Figure 5. Amount of total soluble proteins and leaf chlorophyll in 11 maize genotypes under well-watered, intermediate, and severe water deficit stress conditions

AR68 براساس محتوای آب نسبی (RWC) پاسخ مناسبی را نشان دادند. شاخص RWC و کلروفیل برگ تحت تنش ملایم و شدید در ژنوتیپ SC260 بیشترین کاهش را نشان داد و تحت تنش شدید برای شاخص RWC در ژنوتیپ‌های SC704، SC705، SC260، AR68 و TWC647 و برای محتوای کلروفیل برگ ژنوتیپ‌های SC704، SC705، SC260، AR66 و AR68 بیشترین میزان کاهش را نشان دادند که این وضعیت نشان دهنده تحمل کمتر این ژنوتیپ‌ها براساس این شاخص‌ها به تنش کم‌آبی می‌باشد. اما برخی از ژنوتیپ‌ها عملکرد و پاسخ متناسبی به تنش کم‌آبی نشان دادند. میزان  $H_2O_2$  در ارقام حساس ذرت به مراتب بیشتر از ژنوتیپ‌های مقاوم است به طوری که، ارقام حساس تحت تنش خشکی میزان  $H_2O_2$  بیشتری داشتند (۴). فهمیده و همکاران (۱۳) در بررسی اثر تنش خشکی بر شاخص‌های فیزیولوژیکی و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در دو رقم جو گزارش

با توجه به شاخص‌های فیزیولوژیکی مورد بررسی ژنوتیپ‌های SC705، SC260 و AR66 در هر دو تنش کم‌آبی ملایم و شدید و ژنوتیپ KSC647 در تنش شدید کم‌آبی نسبت به سایر ژنوتیپ‌ها وضعیت حساس‌تری به تنش نشان دادند. ژنوتیپ‌های مورد بررسی SC705، SC703، NS770، SC260 و AR66 سطح  $H_2O_2$  بالاتر، سطح پراکسیداسیون لیپیدی (MDA) و میزان پروتئین محلول کل بیشتری را نشان داد. با اعمال تنش آبی پراکسیداسیون لیپید غشاء منجر به تولید MDA می‌شود که این خسارت باعث کاهش عملکرد سلول می‌شود (۵). بررسی اثر تنش کم‌آبی بر هیبریدهای ذرت نشان داد که تحت تنش کم‌آبی پاسخ‌های متفاوتی از نظر میزان MDA مشاهده شد. محرم‌نژاد و همکاران (۲۳) گزارش کردند در لاین‌های ذرت تحت تنش خشکی میزان MDA بطور معنی‌داری افزایش یافت. در تنش ملایم و شدید ژنوتیپ‌های SC706، AR66 و KSC647

ذرت، گزارش کردند که اکثر ایزوزیم‌ها و میزان MDA و  $H_2O_2$  تحت شرایط تنش افزایش می‌یابد ولی فعالیت  $POX_2$ ، میزان کلروفیل، RWC و عملکرد دانه کاهش یافت. به صورتی که در تنش ملایم ایزوزیم  $POX_1$  بیشترین افزایش را نسبت به آبیاری نرمال نشان دادند. در حالت کلی آنها ایزوزیم‌های  $POX_1$ ،  $SOD_2$  و CAT و در میان شاخص‌های فیزیولوژیکی MDA، کلروفیل برگ، RWC را به عنوان ایزوزیم‌ها و شاخص‌های فیزیولوژیکی برتر شناسایی و معرفی کردند، همچنین گزارش کردند بین لاین‌های والدینی، لاین‌های MO17، B73 و Lia0688 متحمل‌تر به تنش کم‌آبی بودند هر چند که در حالت کلی‌تر لاین‌های Lia0688 و MO17 نسبت به B73 و سایر لاین‌ها در شرایط نرمال و تنش کم‌آبی متحمل‌تر بودند و وضعیت بهتری داشتند.

### نتیجه‌گیری کلی

در حالت کلی با افزایش شدت تنش نسبت به تیمار آبیاری نرمال محتوای پروتئین محلول نوسان نشان داد چرا که تنها در ژنوتیپ ۵ (SC260) سطح پروتئین محلول کل تحت تنش شدید کم‌آبی بالاتر از سایر ژنوتیپ‌ها بود در صورتی که در تنش ملایم کم‌آبی نسبت به آبیاری نرمال محتوای پروتئین محلول کاهش نشان داد که این رفتار فیزیولوژیکی نشان دهنده حساسیت بیشتر ژنوتیپ شماره ۵ (SC260) به تنش‌های آبی است. بررسی ژنوتیپ‌های ذرت با آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و شاخص‌های فیزیولوژیکی نشان داد ژنوتیپ‌های SC704، SC703، AR70 و SC706 بالاترین سطح فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و همچنین براساس شاخص‌های فیزیولوژیکی نیز پاسخ متناسب به شدت تنش را نشان دادند و در نتیجه تحمل به تنش بالاتری نسبت به تنش کم‌آبی را دارند. در هر دو تیمار مورد بررسی ژنوتیپ SC260 بیشترین میزان حساسیت به تنش کم‌آبی را نشان داد. براساس نتایج این مطالعه می‌توان ایزوزیم‌های CAT،  $POX_1$ ،  $SOD_1$  و  $SOD_2$  و همچنین شاخص‌های  $H_2O_2$ ، محتوای پروتئین محلول و کلروفیل برگ، را به عنوان ایزوزیم‌ها و شاخص‌های کارآمد معرفی نمود تا از این شاخص‌ها در جهت شناسایی ژنوتیپ‌های برتر تحت تنش کم‌آبی در برنامه‌های به‌نژادی مولکولی ذرت بهره گرفت.

کردند با افزایش سطوح تنش خشکی نسبت به سطح نرمال، محتوی آب نسبی برگ و پروتئین کاهش یافت ولی فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان آسکوربات‌پراکسیداز، پلی‌فنول‌اکسیداز و کاتالاز افزایش یافت.

پاسخ ژنوتیپ‌های مورد مطالعه برای آنزیم CAT به سطوح مختلف تنش کم‌آبی نشان داد، تحت هر دو شرایط تنش ملایم و شدید کم‌آبی نسبت به حالت نرمال ژنوتیپ‌های SC703، NS770، AR66 و AR70 نسبت به سایر ژنوتیپ‌ها فعالیت آنزیمی بیشتری نشان داد و با افزایش شدت تنش از آبیاری نرمال به تنش ملایم و شدید دو ژنوتیپ S704 و SC706 با افزایش شدت فعالیت CAT پاسخ متناسب به تنش اعمال شده را نشان دادند. ولی شدت این افزایش نسبت به سایر ژنوتیپ‌ها کمتر بود به عبارت دیگر اختلاف بین فعالیت CAT در تیمارهای مختلف کم بود و این حالت نشان دهنده تاثیر کمتر تنش اعمال شده بر روی این دو ژنوتیپ بود. در این مطالعه نیز همانند نتایج بدست آمده از همه گیاهان زراعی، برای CAT تنها یک ایزوزیم مشاهده شد (۲۱). کاتالاز آنزیمی با وزن مولکولی بالا و با ساختار پلیمری در پراکسی‌زوم مستقر است (۵). کاتالاز آنزیم مهمی در فرایند تحمل به تنش اسمزی و پاک کننده با حساسیت کم نسبت به پراکسیدازها در مواجهه با تنش اکسایشی است (۱۰). گزارش‌های مبنی بر وجود یک ایزوزیم برای CAT در گندم (۲۴) و ذرت (۲۳) گزارش شده است. فزونی  $H_2O_2$  ممکن است مانع فعالیت پراکسیداز شود، لذا فعالیت CAT به احتمال زیاد در جهت نگهداری فعالیت پراکسیداز تحت تنش شدید است (۵). رضایی‌نیا و همکاران (۲۶)، تاثیر تنش خشکی بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و صفات فیزیولوژیکی در ژنوتیپ‌های نخود تحت تنش خشکی را بررسی و گزارش کردند که فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و آسکوربات‌پراکسیداز با افزایش شدت تنش در هر دوره تنش افزایش یافت ولی فعالیت سوپراکسیددیسموتاز را با افزایش شدت تنش کاهش گزارش کردند همچنین گزارش کردند که در شرایط تنش خشکی فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در گیاهان متحمل بیشتر از گیاهان حساس است. مفاخری و همکاران (۲۰) به منظور بررسی اثر تنش کم‌آبی بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و صفات آگرو فیزیولوژیکی در برگ ژنوتیپ‌های

### منابع

- Ahmadi, K., H. Gholizadeh, H.R. Ebadzadeh, R. Hosseinpor, F. Hatami and B. Fazeli. 2015. Agricultural Statistics. Ministry of Agriculture Jihad, Deputy Minister of planning and Economy, Information and Communication Technology center.
- Alexieva, V., I. Sergiev, S. Mapelli and E. Karanov. 2001. The effect of drought and ultraviolet radiation on growth and stress markers in pea and wheat. *Plant Cell and Environment*, 24 (12): 1337-1344.
- Anderson, M.D., T.K. Prasad and C.R. Stewart. 1995. Changes in isozyme profiles of catalase, peroxidase and glutathione reductase during acclimation to chilling in mesocotyls of maize seedling. *Plant Physiology*, 109(4): 1247-1257.
- Anjum, S.A., L.C. Wang, M. Farooq, M. Hussain, L.I. Xue and C.M. Zou. 2011. Brassinolide application improves the drought tolerance in maize through modulation of enzymatic antioxidants and leaf gas exchanges. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 197(3): 177-185.
- Ashraf, M. 2010. Inducing drought tolerance in plants. Some recent advances. *Biotechnology Advances*, 28(1): 169-183.

6. Ashraf, M. 2009. Biotechnological approach of improving plant salt tolerance using antioxidant as markers. *Biotechnology Advances*, 27(1): 84-93.
7. Bates, L. S., R. P. Waldre and I.D. Teare. 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. *Plant Soil*, 39(1): 205-207.
8. Bolanos, J. and G.O. Edmeades. 1996. The importance of the anthesis-silking interval in breeding for drought tolerance in tropical maize. *Field Crops Research*. Elsevier, 48(1): 65-80.
9. Bradford, M. M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *The Annual of Biochemistry*, 72(1-2): 248-254.
10. Cruz de Carvalho, M.H. 2008. Drought stress and reactive oxygen species. *Plant Signal Behav*, 3 (3):156-165.
11. De Vos, C.H. Schat, M. De Waal, R. Vooijs and W. Ernst. 1991. Increased resistantt copper-induced damage of the root plasma membrane in copper tolerant *Silene cucubalus*. *Plant Physiology*, 82(4): 523-528.
12. Farajzadeh, E., M. Vlizadeh, M.R. Shakiba, M. Ghaffari and S. Moharramnejad. 2017. Relationship between antioxidant enzyme activities and agro-physiological traits in sunflower lines under field water deficit stress. *Fresenius Environmental Bulletin*, 26(4): 805-811.
13. Fahmideh, L., A. Mazarie, S. Madadi and P. Pahlevan. 2021. Comparison between of Photosynthetic Pigments, Osmotic Regulators and Antioxidant Enzymes of Nimroz and Nomar Barley Cultivars of Sistan Region under Drought Stress. *Journal of Crop Breeding*, 13(37): 51-62 (In Persian).
14. Gaber, M.A. 2010. Antioxidative defense under salt stress. *Plant Signal*, 5(4): 369-374.
15. Ghassemian, M., J. Lutes, H. Chang, I. Lange, W. Chen, T. Zhu, X. Wang, B.M. Lange. 2008. Abscisic acid-induced modulation of metabolic and redox control pathways in *Arabidopsis thaliana*. *Phytochem*, 69(17): 2899-2911.
16. Gill, S.S. and N. Tuteja. 2010. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant Physiol. Biochem*, 48(12): 909-936.
17. Hayat, S. and A. Ahmad. 2007. *Salicylic Acid: A Plant Hormone*. Springer, 97-99.
18. Jaleel, C.A., P. Manivannan, A. Wahid, M. Farooq, R. Somasundaram and R Panneerselvam. 2009. Drought stress in plants: a review on morphological characteristics and pigments composition. *International Journal of Agricultural and Biological Engineering*, 11(1): 100-105.
19. Jaleel, C.A., P. Manivannan, B. Sankar, A. Kishorekumar, R. Gopi, R. Somasundaram and Panneerselvam, R. 2007. *Pseudomonas fluorescens* enhances biomass yield and ajmalicine production in *Catharanthus roseus* under water deficit stress. *Colloid and Surfaces Biointerfases*. 60(1):7-11.
20. Mafakheri, Kh., M. Valizadeh and S. A. Mohammadi. 2019. Banding Patterns Activity of Antioxidant Enzymes and Physiological Attributes in Maize (*Zea mays* L.) Families under Water Deficit Stress. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 21(5): 1249-1264.
21. Mittler, R. 2002. Oxidative stress, antioxidant and stress tolerance. *Trends in Plant Sciences*, 7 (9): 405-410.
22. Molinari, H.B.C., C.J. Marur, E. Daros, M.K.F. de Campos, J.F.R. de Carvalho, L.F.P. PFilho, J.C.B. Pereira and L.G.E. Vieira. 2007. Evaluation of the stressinducible production of proline in transgenic sugarcane (*Saccharum* spp.): osmotic adjustment, chlorophyll fluorescence and oxidative stress. *Physiol Plant*, 130(2): 218-229.
23. Moharramnejad, S., O. Sofalian, M. Valizadeh, A. Asgari, and M. R. Shiri. 2016. Response of antioxidant defense system to osmotic stress in maize seedling. *Fresenius Environmental Bulletin*, 25: 805-811.
24. Naderi, R., M. Valizadeh, M. Toorchi and M.R. Shakiba. 2014. Antioxidant enzyme changes in response to osmotic stress in wheat (*Triticum aestivum* L.) seedling. *Acta Biologica Szegediensis*, 58 (2): 95-101.
25. Neto, A.D.A., J.T. Prisco, J. Eneas-Filho, C.E.B. Abreu and E. Gomez-Filho. 2006. Effect of drought stress on antioxidative enzymes and lipid peroxidation in leaves and roots of drought-tolerant and drought-sensitive maize genotypes. *Environmental and Experimental Botany*, 56(1): 87-94.
26. Rezaeinia, M., M.R. Bihamta, S.A. Peighambari and A.R. Abbasi. 2019. Effect of Drought Stress on Antioxidant Enzymes Activities and Some Physiological Traits in Chickpea (*Cicer Arietinum* L.). *Journal of Crop Breeding*, 11(30): 11-22 (In Persian).
27. Salin, M.L. 1991. Chloroplast and mitochondrial mechanism for protection against oxygen toxicity. *Free Radical Research*, 13(1): 851-858.
28. Shirani Rad A.H. and A. Abbasian .2011. Evaluation of drought tolerance in winter rapeseed cultivars based on tolerance and sensitivity indices. *ŽemdirbystAgriculture*, 98(1): 41-48.
29. Soltis, D. E. and P.S. Soltis. 1990. *Isozymes in Plant Biology*. Dioscorides Press, Portland, p: 259.
30. Swidzinski, J.A., C.J. Leaver and L.J. Sweetlove. 2004. A proteomic analysis of plant programmed cell death. *Photochemistry*, 65(12): 1829-1838.
31. Valizadeh, M., S. Moharamnejad, M. Ahmadi and H. Mohammadzadeh Jalaly. 2013. Changes in activity profile of some antioxidant enzymes in alfalfa half-sib families under salt stress. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 15(4): 801-809.
32. Wang, W.B., Y.H. Kim, H.S. Lee, K.Y. Kim, X.P. Deng and S.S. Kwak. 2009. Analysis of antioxidant enzyme activity during germination of alfalfa under salt and drought stress. *Plant Physiology and Biochemistry*, 47(7): 570-577.
33. Xu, N., K. Yrle, P.O. Miler and N. Cheilch. 2004. Coregulation of ear growth and internode elongation in corn. *Plant Growth Regulation*, 44(3): 231-241.

## Banding Patterns Activity of Antioxidant Enzymes and Physiological Indices in the Maize (*Zea mays* L.) Genotypes under Water Deficit Stress

Khosro Mafakheri<sup>1</sup>, Mostafa Valizadeh<sup>2</sup> and Seyed Abolghasem Mohammadi<sup>3</sup>

1- Ph.D. of Plant Breeding-Molecular Genetic and Genetic Engineering, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran, (Corresponding Author: Kh.mafakheri@tabrizu.ac.ir

2- Professor, Plant Breeding and Biotechnology Department, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran

3- Professor, Plant Breeding and Biotechnology Department, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran

Received: 30 August, 2021 Accepted: 19 December, 2021

### Extended Abstract

**Introduction and Objective:** Various environmental stresses, especially water deficit stress have several and major effects on maize growth and production. Drought is one of the abiotic stresses that due to the great variety of rainfall conditions, it is known from Iran as the most important factor limiting the growth and production of crops. Therefore, the effect of water deficit stress on strategic plants such as maize is of particular importance.

**Material and Methods:** In order to assess the effect of water-deficit stress on the activity of antioxidant enzymes and agro-physiological indices in the leaves in some of maize genotypes, a split-plot field experiment was conducted with three replications based on the Randomized Complete Block design (RCBD) was performed under field condition, it was performed on the farm of the Faculty of Agriculture, University of Tabriz. Three levels of irrigation (well-watered, intermediate and severe water-deficit stress) and 11 maize genotypes were considered as the main and sub-factors, respectively. After treatment, the electrophoretic analysis of three enzymes in maize leaves including superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and peroxidase (POX) were carried out on 8% horizontal acrylamide gel and some agro-physiological indices such as malondialdehyde (MDA), H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, chlorophyll index (SPAD), relative water content (RWC) and soluble protein content were measured.

**Results:** Based on the our results, CAT enzyme increased by 100% under severe stress compared to well-watered and MDA content with 120.78% increase, the highest increase activity and leaf chlorophyll under severe water deficit stress showed the highest reduction (-24.05%) compared to well-watered condition. In general, the soluble protein content fluctuated with increasing stress intensity compared to well-watered condition, On the other hand, the difference between the total soluble protein content in the two genotypes SC704 and SC706 with increasing intensity of stress from normal to intermediate stress and severe stress showed the least significant difference inversely.

**Conclusion:** Examination of maize genotypes with antioxidant enzymes and physiological indices showed that SC704, SC703, AR70 and SC706 genotypes had the highest level of antioxidant enzyme activity and adequate physiological response to water deficit stress, also they showed higher stress tolerance than water deficit stress. In both stressful conditions, SC260 genotype showed the highest susceptibility under water deficit stress condition. Finally, CAT, POX<sub>1</sub>, SOD<sub>1</sub> and SOD<sub>2</sub> isozymes as well as H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> indices, soluble protein content and leaf chlorophyll could be introduced as efficient isozymes and indices and can be these indices were used to identify superior genotypes under water deficit stress in maize molecular breeding programs.

**Keywords:** Antioxidant enzymes, Electrophoresis, Maize genotypes, Water deficit stress.