دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
پژوهشنامه اصلاح گیاهان زراعی

"مقاله پژوهشی"

# بررسی میزان پرولین، عملکرد دانه و بیان ژن‌های دخیل در تحمل به تنش خشکی در ارقام هیبرید ذرت

**فاطمه صحرایی قمش[۱]، سعید نواب‌پور[۲]، احد یامچی[۳] و ابوالفضل مازندرانی[۴]**

۱- دانشجوی کارشناسی‌ارشد گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران
۲- دانشیار، گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران، (نویسنده مسوول: s.navabpour@gau.ac.ir)
۳- دانشیار، گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران
۴- دانشجوی دکتری گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۱۲/۲۴ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۲/۲۷
صفحه: ۵۶ تا ۶۴

**چکیده مبسوط**

**مقدمه و هدف:** تنش خشکی یکی از تنش‌های محیطی مهم است که عملکرد دانه ذرت را در دنیا و ایران کاهش می‌دهد. وقوع تنش خشکی در مزارع امری اجتناب ناپذیر است. برای حل این مشکل راهکارهای فراوانی پیشنهاد شده است که یکی از مهمترین آن‌ها وجود رقم مناسب و متحمل به تنش خشکی است.

**مواد و روش‌ها:** آزمایشی به صورت کرت‌های خرد شده در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار در شرایط مزرعه اجرا شد. تنش خشکی به عنوان عامل اصلی در سه سطح: ۷۵±۵ میلی‌متر تبخیر از طشتک تبخیر کلاس A (تیمار بدون تنش یا شاهد)، آبیاری پس از ۱۱۵±۵ میلی‌متر تبخیر (تنش متوسط) و آبیاری پس از ۱۴۰±۵ میلی‌متر تبخیر (تنش شدید) و هیبریدهای ذرت (شامل سینگل کراس ۷۰۴ به‌عنوان شاهد، کارون و مبین) به‌عنوان عامل فرعی در نظر گرفته شدند. نمونه‌برداری برای ارزیابی بیان ژن‌ها در سه مرحله ۴ برگی، گرده افشانی و ۱۰ روز بعد از گرده افشانی انجام و بیان ژن‌های ZmAN13، ZmSOD3، CAT2 و ZmMET1 مورد ارزیابی قرار گرفت. در زمان برداشت نیز مقدار پرولین و عملکرد دانه اندازه‌گیری گردید.

**یافته‌ها:** نتایج ارزیابی بیان ژن‌ها حاکی از افزایش بیشتر بیان ژن های کاتالاز و سوپر اکسیداز تحت تنش متوسط و افزایش بیان ژن‌های متالوتیونین و ZmAN13 در تنش های شدید نسبت به شاهد بود. در بین ارقام مورد بررسی رقم کارون در تمامی مراحل ارزیابی هم در شرایط تنش متوسط و هم در تنش شدید برای ژن‌های مورد مطالعه نسبت به شاهد افزایش بیان نشان داد. با اندازه گیری میزان پرولین نیز مشخص شد که ارقام تحت تنش متوسط پرولین بالاتری داشتند و رقم کارون بالاترین مقدار پرولین را نسبت به سایر ارقام داشت. همچنین عملکرد دانه ارقام تحت تنش خشکی نسبت به شاهد کاهش معنی داری نشان داد. در این میان رقم سینگل کراس ۷۰۴ با ۳/۹ تن در هکتار کمترین عملکرد دانه را داشت که اختلاف آن با رقم مبین معنی‌دار نگردید و رقم کارون با عملکرد دانه ۵/۰۲ تن در هکتار بالاترین عملکر دانه را تحت تنش شدید دارا بود.

**نتیجه‌گیری:** به‌طور کلی نتایج نشان داد که تحت تنش خشکی رقم کارون عملکرد دانه بالاتری نسبت به دو رقم دیگر داشت که بیانگر تحمل این رقم نسبت به خشکی بود.

**واژه‌های کلیدی:** بیان ژن، پرولین، تنش خشکی، ذرت

## مقدمه

خشکی عامل محدودکننده تولید محصولات زراعی در سرتاسر جهان است. زمان وقوع تنش خشکی، مرحله رشد گیاه، ژنوتیپ گیاه، رقم، روش کشت، کیفیت خاک و تغییرات شرایط محیطی بر اثر تنش خشکی بر عملکرد ذرت موثر هستند. ارقام مختلف ذرت در واکنش به خشکی متفاوت عمل کرده اند (۲۴). یافته‌های جدید نشان می‌دهد که نقش اولیه پرولین در تحمل به تنش اسمزی منحصرا به‌عنوان یک تنظیم کننده پتانسیل اسمزی نیست، بلکه این مولکول به سلول کمک می‌کند تا بر تنش اکسیداتیو نیز غلبه کند. از دیگر خواص پرولین، حفاظت آنزیم‌ها از تجزیه شدن، تنظیم اسید سیتوسیلیک، حذف رادیکال‌های آزاد، پایداری ساختار دیواره سلولی و پروتئین‌ها، برقراری تعادل در نسبت $NADH/NAD^+$ و فعال سازی منبع انرژی است (۳،۱۰).

چوگ و همکاران (۹) اظهار نمودند که مقدار پرولین در گیاهچه‌های ذرت تحت تنش اسمزی افزایش معنی‌داری نسبت به شاهد داشت و مقدار پرولین تجمع یافته در گیاهچه‌های متحمل بیشتر از گیاهچه‌های حساس بود. آنزیم سوپراکسیددیسموتاز (SOD[1]) پالاینده اصلی رادیکال‌های آزاد اکسیژن و یک آنتی‌اکسیدان قوی است که اولین ماده تولید شده از احیاء تک ظرفیتی اکسیژن، یعنی رادیکال سوپراکسید را از بین می‌برد. بنابراین، سوپراکسیددیسموتاز به‌عنوان دفاع اولیه در مقابل رادیکال‌های آزاد اکسیژن شناخته شده است (۲،۲۲). بیان ژن SOD و فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در سلول در مواجهه با شرایط مختلف محیطی و تنش‌های غیرزیستی مانند نور شدید، شوری، خشکی و تنش سرما افزایش پیدا می‌کند (۱۷).

با افزایش فعالیت پراکسید هیدروژن در محیط، فعالیت آنزیم کاتالاز که از پروتئین‌های آهن‌دار محسوب می‌شود زیاد می‌گردد. کاتالاز به شکستن رادیکال‌های آزاد اکسیژن به خصوص پراکسید هیدروژن کمک می‌کند (۶،۲۶). این آنزیم، پراکسیدهیدروژن را به آب و اکسیژن می‌شکند (۱۱). در گیاهان چند ژن عهده‌دار بیان آنزیم کاتالاز می‌باشند. متالوتیونین‌های گیاهی به‌عنوان تجزیه کننده‌های رادیکال‌های آزاد اکسیژن (ROS[2]) عمل می‌کنند و در جلوگیری از بروز تنش اکسیداتیو نقش ایفا می‌کنند (۲۷،۲۵).

یوان و همکاران (۲۷) مشاهده نمودند که ژن *OsMT2b* برنج (نوعی متالوتیونین تیپ ۲) در علامت‌دهی و تجزیه رادیکال‌های آزاد اکسیژن (ROS) طی تنش اکسیداتیو دخالت دارد. در یک بررسی جیانگ و همکاران (۱۳) بیان داشتند بیان ژن‌های *MIPS*، *ZmFER1*، *ZmPR10* در ذرت تحت تنش خشکی افزایش یافت که بیانگر نقش آن‌ها در تحمل به

1- Superoxide Dismutase
2- Reactive Oxygen Species

[ Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-11-06 ]
[ DOI: 10.52547/jcb.14.44.56 ]

خشکی می‌باشد. عزیزی و ماهرخ (۵) طی پژوهشی بیان داشتند بیشترین عملکرد دانه از رژیم آبیاری بهینه (شاهد) حاصل شد و بـا افزایش اجرای تنش خشکی از آبیاری بهینه به تنش ملایم عملکرد دانه به‌میزان ۴۷/۴ درصد به‌طور معنی‌داری کاهش یافت. تنش شدید نیـز موجب کاهش معنی‌دار عملکرد دانه به میزان ۶۹/۶ درصد نسبت به شاهد شد. همچنین خلیلی و همکاران (۱۶) بیان داشتند بروز خشکی در مرحله گرده افشانی (زایشی) کاهش بیشتر عملکرد دانه را در شرایط تنش خشکی به‌همراه دارد که نشان دهنده حساسیت بالای این مرحله به تنش خشکی می‌باشد.

هدف از این پژوهش بررسی ارقام هیبریدهای ذرت دیر رس و متوسط رس از نظر فعالیت‌های بیوشیمیایی و بیان برخی ژن‌های فعال در واکنش به تنش خشکی و همچنین ارتباط این صفات با عملکرد دانه ارقام مورد بررسی بود.

## مواد و روش‌ها

آزمایش به‌صورت کرت‌های خرد شده در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار در شرایط مزرعه (شهرستان کردکوی) و در سال زراعی ۱۴۰۰ اجرا شد. تنش خشکی به‌عنوان عامل اصلی در سه سطح: ۷۵±۵ میلی‌متر تبخیر از طشتک تبخیر کلاس A (تیمار بدون تنش یا شاهد)، آبیاری پس از ۱۱۵±۵ میلی‌متر تبخیر (تنش متوسط) و آبیاری پس از ۱۴۰±۵ میلی‌متر تبخیر (تنش شدید) و عامـل فرعـی هیبریدهای ذرت شامل: هیبرید دیررس ۷۰۴ (شاهد)، هیبرید دیررس کارون و هیبرید متوسط رس مبین بود. هر کرت شامل ۶ ردیف کاشت به‌طول ۶ متر و به فاصله ۷۵ سانتی متر از یکدیگر بود و فاصله بین کرت‌ها نیز ۱/۵ متر در نظر گرفته شد. فاصله بین بوته‌ها ۱۸ سانتی‌متر (تراکم ۷۵۰۰۰ بوته در هکتار) بود. نمونه‌برداری برای ارزیابی بیان ژن‌ها در سه مرحله ۴ برگی، گرده افشانی و ۱۰ روز بعد از گرده افشانی انجام و بیان ژن‌های *ZmAN13*، *ZmSOD3*، *CAT2* و *ZmMET1* مورد ارزیابی قرار گرفت (۲۰). در زمان برداشت نیز مقدار پرولین و عملکرد دانه اندازه‌گیری گردیدند. حدود یک گرم نمونه برگ در تیمارهای مختلف برای اندازه‌گیری میزان بیان ژن‌ها برداشت و در نیتروژن مایع منجمد و تا مرحله استخراج RNA در فریزر منفی ۸۰ درجه‌سانتی‌گراد نگهداری شد.

### ارزیابی بیان ژن‌ها

استخراج RNA توسط کیت بایوزول از نمونه‌های برگ منجمد، صورت گرفت. کیفیت RNA استخراج شده، توسط الکتروفورز روی ژل آگارز ۱/۵ درصد تعیین شد. برای ساخت cDNA، از روش پیشنهادی شرکت فرمنتاز استفاده گردید. برای تایید سنتز cDNA از روش PCR و الکتروفورز روی ژل دو درصد آگارز استفاده شد. جهت ارزیابی الگوی تظاهر ژن‌های مورد مطالعه (جدول ۱) از دستگاه iQ5 شرکت Bio Rad و سایبر گرین استفاده گردید. این دستگاه در هر چرخه از فعالیت قادر است مقدار محصول واکنش پلیمراز را در زمان واقعی نشان دهد. به‌منظور نرمال سازی داده‌ها از ژن خانه دار بتا اکتین که دارای بیان یکسانی در تمام تیمارها می‌باشد استفاده شد. در بیان فعالیت ژن‌های مورد مطالعه از روش ارزیابی نسبی استفاده شد. در این روش میزان افزایش یا کاهش بیان ژن در هر تیمار نسبت به تیمار کنترل به‌صورت نسبت بیان می‌شود که در این حالت امکان اندازه‌گیری میزان بیان ژن در تیمار کنترل وجود ندارد و به‌عبارتی یک در نظر گرفته می‌شود. بنابراین بیان نسبی ژن‌ها از روش $2^{-\Delta\Delta CT}$ محاسبه می‌گردد به این صورت که هر تیمار با گیاهان کنترل مربوط به زمان خود مقایسه می‌شود. جهت تجزیه‌ی داده‌ها از نرم‌افزار REST استفاده گردید (۲۱).

جدول ۱- توالی آغازگرهای مورد استفاده در این مطالعه

Table 1. Primers sequences are used in this study

| نام آغازگر | توالی پرایمر |
|---|---|
| ZmAN13 | F: 5´ AGCTGTTGCCCAAGTCGAGTT 3´<br>R: 3´ GCTGGGTCCGGCAACAT 5´ |
| ZmCAT2 | F: 5´GCCAAGCCGAGCATGTAAG 3´<br>R: 3´GGAAAGGATCAGGCGGAAA 5´ |
| ZmSOD3 | F: 5´CTAGCGGCTGGACCTTGTGT 3´<br>R: 3´TGGAGACAAGAGTGGGAATGG 5´ |
| ZmMET1 | F: 5´CCATGTTGGGTGTGTGTGCT 3´<br>R: 3´TGGGCCCTGAGAGAAGTTGA 5´ |
| βACT | F: 5´ TGTCCATCACTTGTGAAGCCTCCT 3´<br>R: 3´ ACGACCTTAGCCAATATCGCACCA 5´ |

### اندازه‌گیری میزان پرولین

به‌منظور اندازه‌گیری پرولین ۰/۵ گرم از نمونه‌های تر برگ در ۱۰ میلی‌لیتر اسیدسولفوسالیسیلیک ۳٪ بوسیله هاون هموژن شده و عصاره حاصل صاف گردید. به ۲ میلی‌لیتر از عصاره صاف شده فوق ۲ میلی‌لیتر اسیداستیک و ۲ میلی‌لیتر اسید نین هیدرین (شامل: ۰/۸ گرم نین هیدرین، ۱/۲ میلی‌لیتر اسیداستیک و ۰/۰۵ میلی‌لیتر اسید ارتوفسفریک ۶ مولار) اضافه شد. محلول حاصل به‌مدت یک ساعت در حمام آب و در دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد، پس از آن برای پایان یافتن واکنش لوله‌های آزمایش در داخل یک بستر یخی قرار گرفته و ۴ میلی‌لیتر تولوئن به هر لوله اضافه شد. غلظت پرولین نمونه‌ها در تولوئن بااستفاده از اسکپتروفتومتر در طول موج ۵۲۰ نانومتر و در نهایت با توجه به منحنی استاندارد حاصل از غلظت‌های مختلف پرولین، میزان پرولین نمونه‌ها برحسب میلی‌گرم بر گرم وزن‌تر محاسبه گردید (۷).

### عملکرد دانه

برای ارزیابی عملکرد دانه، درمرحله رسیدگی محصول و پس از حذف اثر حاشیه‌ای (ردیف‌های اول و آخر و نیم‌متر ابتدا و انتهای هر کرت) به اندازه یک متر طولی از چهار خط وسط هر کرت برداشت شد و کل بوته‌های برداشت شده پس

[ Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-11-06 ]
[ DOI: 10.52547/jcb.14.44.56 ]

ازخشک شدن و رسیدن رطوبت دانه به حدود ۱۴ درصد برای تعیین عملکرد دانه مورد استفاده قرار گرفت. تجزیه داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS 9.2 و رسم نمودارها با استفاده از Excel 2019 انجام شد.

## نتایج و بحث

جدول تجزیه واریانس صفات مورد اندازه گیری (جدول ۲) نشان داد، به جز اثر بلوک که برای هیچ یک از صفات معنی‌دار نگردید، اثرات تنش خشکی، رقم و اثر متقابل بین آن‌ها در سطح احتمال یک درصد برای تمامی صفات معنی‌دار گردید.

جدول ۲- تجزیه واریانس صفات مقدار پرولین و عملکرد دانه ارقام مختلف ذرت در رژیم‌های مختلف آبیاری
Table 2. Analysis of variance of proline content and grain yield of different maize cultivars in different irrigation regimes

| منابع تغییرات | درجه آزادی | میانگین مربعات | |
|---|---|---|---|
| | | پرولین | عملکرد |
| بلوک | ۲ | ۰/۱۳$^{ns}$ | ۰/۲۲$^{ns}$ |
| تنش خشکی | ۲ | ۱۰/۱$^{**}$ | ۱۳/۲$^{**}$ |
| خطای ۱ | ۴ | ۱/۳۱ | ۰/۵۴ |
| رقم | ۲ | ۶/۳۸$^{**}$ | ۷/۰۴$^{**}$ |
| تنش خشکی × رقم | ۴ | ۴/۰۵$^{**}$ | ۲/۳۴$^{**}$ |
| خطای ۲ | ۱۲ | ۰/۷۵ | ۰/۱۳ |
| ضریب تغییرات | – | ۲/۱ | ۶/۶ |

ns، * و**: به‌ترتیب غیر معنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد

### پرولین

نتایج حاصل از مقایسه میانگین‌ها با معیار LSD در سطح احتمال آماری ۵ درصد برای میزان پرولین تحت تنش خشکی (جدول ۳) نشان داد که با بروز تنش خشکی میزان پرولین در گیاه افزایش معنی‌داری نسبت به شرایط شاهد یافت. بیشترین میزان پرولین ۳/۴۱ میکرومول بر گرم بود که در شرایط تنش متوسط مشاهده شد اما اختلاف آن با تیمار تنش شدید معنی‌دار نگردید. مقایسه میانگین ارقام از نظر میزان پرولین (جدول ۳) نشان داد که رقم کارون و مبین به‌ترتیب با ۳/۳۶ و ۲/۲۵ میکرومول بر گرم بیشترین و کمترین مقدار پرولین را دارا بودند. نقش تجمع پرولین در تنظیم اسمزی تحت تنش خشکی بوسیله برخی محققین گزارش شده است (۳،۱۰).

پرولین با تسهیل در فرآیند همانندسازی DNA و نسخه برداری از آن، تأثیر قابل ملاحضه‌ای بر روی زنده‌مانی و بقای جانداران تحت شرایط تنش دارد. در نتیجه این امر سبب بقاء گیاه در شرایط تنش شده و به‌دنبال آن تولید عملکرد مناسب را به دنبال دارد (۴).

همانطور که در شکل ۱ مشاهده می شود، با بروز تنش خشکی مقدار پرولین در تمامی ارقام افزایش یافت. بیشترین مقدار پرولین در تمامی ارقام در شرایط تنش متوسط مشاهده گردید. تفاوت میزان پرولین در شرایط تنش شدید و تنش متوسط برای ارقام کارون و سینگل کراس ۷۰۴ معنی‌دار نبود ولی در رقم مبین مقدار پرولین در شرایط تنش متوسط بیشتر از تنش شدید بود. همچنین در شرایط عدم تنش خشکی اختلاف بین مقدار پرولین ارقام معنی‌دار نبود.




شکل ۱- میانگین میزان پرولین ارقام ذرت تحت رژیم‌های مختلف آبیاری اثر متقابل تنش در رقم بر میزان پرولین ارقام ذرت
Figure 1. Mean proline content of maize cultivars under different irrigation regimes Stress interaction in cultivar on proline content of maize cultivars

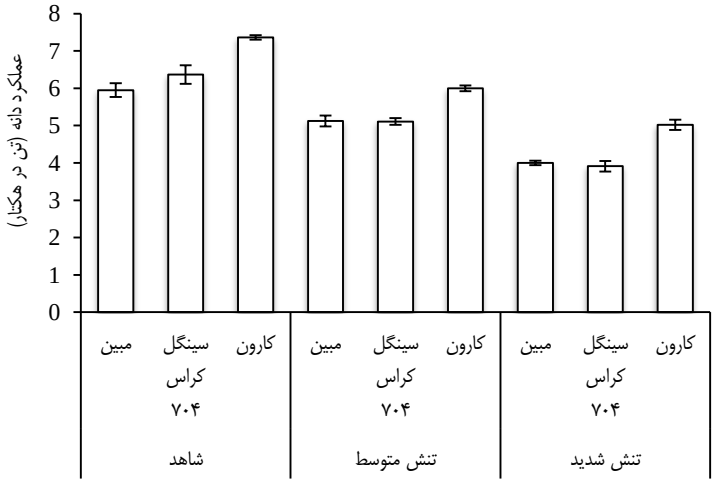
### عملکرد دانه

نتایج مقایسه میانگین عملکرد دانه با معیار LSD در شرایط مختلف تنش خشکی (جدول ۳) نشان داد که بین تیمارهای تنش مورد بررسی اختلاف معنی‌داری در سطح ۵ درصد وجود داشت بطوریکه بیشترین و کمترین عملکرد دانه ۶/۵۶ و ۴/۳۱ به‌ترتیت در تیمار شاهد (بدون تنش) و تنش

[ Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-11-06 ]
[ DOI: 10.52547/jcb.14.44.56 ]

شدید مشاهده گردید. همچنین مقایسه میانگین ارقام از نظر عملکرد دانه نشان داد که رقم کارون بیشترین عملکرد دانه را دارا بود و با سایر ارقام اختلاف معنی‌داری در سطح ۵ درصد داشت، اما اختلاف بین ارقام مبین و سینگل کراس ۷۰۴ معنی‌دار نبود.

نتایج مقایسه میانگین ارقام مورد بررسی در رژیم‌های مختلف آبیاری از نظرعملکرد دانه (شکل ۲) نشان داد که بیشترین عملکرد دانه در تمامی ارقام مربوط به شرایط بدون تنش بود. با بروز تنش خشکی کاهش معنی‌داری در عملکرد دانه همه ارقام مشاهده گردید و با افزایش شدت تنش این کاهش برای همه ارقام بطور معنی‌داری بیشتر گردید. در بین ارقام مورد بررسی عملکرد دانه رقم کارون هم در شرایط شاهد و هم در شرایط تنش بیشتر از سایر ارقام بود. در همین راستا لک و همکاران (۱۸) طی پژوهشی گزارش نمودند مقدار عملکرد دانه ذرت تحت تنش خشکی شدید به‌میزان ۴۰ درصد کاهش یافت. این نتایج با نتایج آفرینش و همکاران (۱) نیز مطابقت دارد. آن‌ها بیان داشتند که تنش خشکی در مراحل پرشدن دانه با کاهش ذخیره دانه‌ها موجب کاهش عملکرد دانه می‌گردد.




شکل ۲- میانگین میزان عملکرد دانه ارقام ذرت تحت رژیم‌های مختلف آبیاری اثر متقابل تنش در رقم بر میزان عملکرد دانه ارقام ذرت
Figure 2. Mean grain yield of maize cultivars under different irrigation regimes Stress interaction in cultivar on grain yield of maize cultivars

جدول ۳- مقایسه میانگین صفات اندازه‌گیری شده تحت تنش خشکی
Table 3. Means comparisons for the measured traits under drought stress

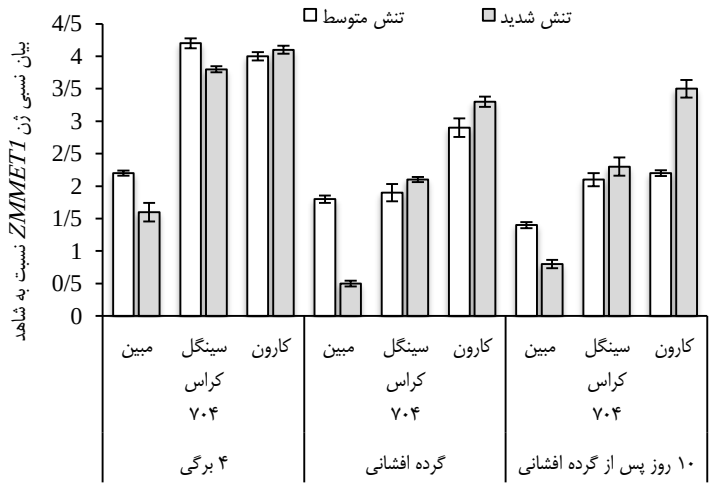
| تنش خشکی | پرولین (میکرومول بر گرم) | عملکرد (تن در هکتار) |
|---|---|---|
| شاهد | ۱/۷۶$^{b}$ | ۶/۵۶$^{a}$ |
| تنش متوسط | ۳/۴۱$^{a}$ | ۵/۴۱$^{b}$ |
| تنش شدید | ۳/۱۲$^{a}$ | ۴/۳۱$^{c}$ |
| رقم | | |
| مبین | ۲/۲۵$^{c}$ | ۵/۰۲$^{b}$ |
| سینگل کراس ۷۰۴ | ۲/۶۸$^{b}$ | ۵/۱۳$^{b}$ |
| کارون | ۳/۳۶$^{a}$ | ۶/۱۲$^{a}$ |

**بیان ژن متالوتاینین**

نتایج بررسی بیان ژن متالوتیونین (شکل ۳) نشان داد که در مرحله ۴ برگی مقدار بیان این ژن در تمامی ارقام در شرایط تنش نسبت به شاهد افزایش یافت که این افزایش در ارقام کارون و سینگل کراس ۷۰۴ بیشتر از رقم مبین بود. در مرحله گرده افشانی سطح بیان این ژن در همه ارقام نسبت به مرحله ۴ برگی کاهش یافت اما بیان آن به جز در رقم مبین در شرایط تنش شدید که نسبت به شاهد کمتر بود در سایر شرایط بیان بیشتری نسبت به شاهد داشت. همچنین در این مرحله رقم کارون هم در تنش متوسط و هم در تنش شدید افزایش بیان بیشتری از سایر ارقام نسبت به شاهد (شرایط بدون تنش) داشت. میزان بیان ژن متالوتیونین در مرحله ۱۰ روز بعد از گرده افشانی در رقم مبین و در شرایط تنش شدید نسبت به شاهد کاهش بیان داشت و در سایر شرایط افزایش بیان داشت بطوریکه بیشترین مقدار بیان آن مربوط به رقم کارون و تنش شدید بود که اختلاف معنی‌داری با سایر شرایط تیماری داشت. نتایج تحقیقات متعددی نشان داده است که بیان ژن‌های متالوتیونین در پاسخ به تنش‌های غیرزنده مانند خشکی، شوری و تنش سرما افزایش می‌یابد. بیان ژن متالوتیونین در پاسخ به تجمع رادیکال‌های آزاد اکسیژن مانند پراکسیدهیدروژن و سوپراکسید افزایش نشان می‌دهد (۲۸). دلیل کاهش بیان ژن تحت تنش‌های شدیدتر و یا در مراحل گرده افشانی و بعد از آن را می‌توان حساسیت بالاتر آن مراحل و همچنین بالاتر بودن شدت تنش وارده از حد تحمل

[ Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-11-06 ]
[ DOI: 10.52547/jcb.14.44.56 ]

گیاه بیان نمود که در نتایج سایر محققین نیز به آن اشاره گردیده است (۲۱،۲۶). با توجه به نتایج به دست آمده می‌توان بیان داشت رقم کارون با داشتن میزان بیان بالاتر بیان ژن متالوتیونین در تعدیل تنش نقش بسزایی داشته که موجب افزایش عملکرد دانه این رقم گردیده است.

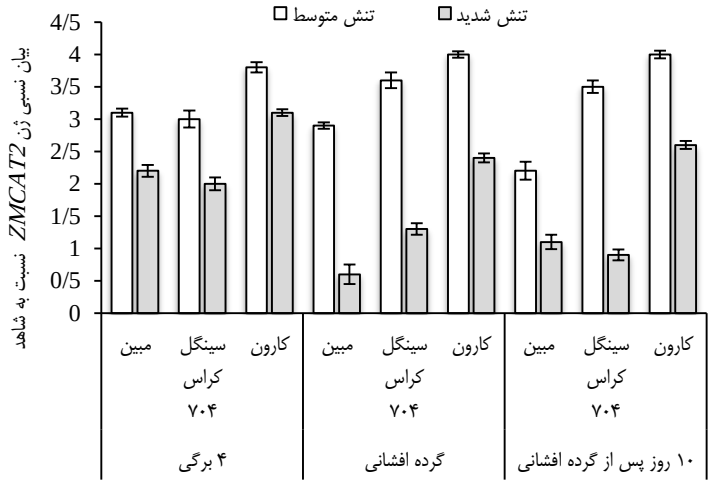



شکل ۳- ارزیابی بیان ژن متالوتیونین نسبت به شاهد در ارقام ذرت تحت تنش خشکی
Figure 3. Evaluation of metallothionein gene expression compared to control in maize cultivars under drought stress

**بیان ژن کاتالاز**

همانطور که در شکل ۴ مشاهده می شود بیان ژن کاتالاز تحت تنش خشکی در مرحله ۴ برگی در تمامی ارقام نسبت به شاهد افزایش بیان یافت به‌طوری که در شرایط تنش متوسط افزایش بیان بیشتری نسبت به تنش شدید مشاهده گردید. همچنین میزان بیان ژن کاتالاز در رقم کارون و در مرحله ۴ برگی در هر دو سطح تنش متوسط و شدید افزایش معنی‌داری نسبت به سایر ارقام نشان داد. در مرحله گرده افشانی و در سطح تنش متوسط افزایش بیان ژن کاتالاز در تمامی ارقام مشاهده شد و رقم کارون بیشترین و رقم مبین کمترین بیان را برای این ژن نشان دادند و اختلاف بین ارقام نیز معنی‌دار بود اما در شرایط تنش شدید بیان ژن کاتالاز در رقم مبین نسبت به شاهد کاهش یافت، در رقم سینگل کراس ۷۰۴ میزان افزایش بیان ناچیز بود و رقم کارون بیشترین افزایش بیان را نشان داد. در مرحله ۱۰ روز بعد از گرده افشانی شرایط افزایش بیان ژن کاتالاز تحت تنش خشکی مشابه مرحله گرده افشانی بود با این تفاوت که در شرایط تنش شدید رقم سینگل کراس ۷۰۴ نسبت به شاهد کاهش بیان داشت و افزایش بیان این ژن در رقم مبین ناچیز بود. کاتالاز باعث تجزیه پراکسید هیدروژن ($H_2O_2$) به آب و اکسیژن می‌شود. در بسیاری از موارد تأثیر تنش‌های غیر زیستی از جمله خشکی بدون اثر مستقیم بر توالی DNA و با تشدید فعالیت ژن‌ها و یا بیان ژن‌های خاموش صورت می‌گیرد (۱۲). کاتالاز به‌همراه پراکسیداز مرحله بعدی سم‌زدایی رادیکال‌های سمی و واکنش‌گر اکسیژن (ROS) را به عهده دارند. کاتالاز دارای گروه هم (Heme) می‌باشد و سبب تجزیه پراکسید هیدروژن ($H_2O_2$) به آب و اکسیژن در گیاه می‌شود (۱۵). با افزایش شدت تنش میزان تولید رادیکال‌های آزاد افزایش یافته به حدی که با آسیب رسانی به سلول و ساختار DNA از میزان بیان ژن‌ها کاسته می‌شود و تحمل گیاه به تنش را تحت تأثیر قرار می‌دهد (۱۲). بنابراین افزایش بیان ژن کاتالاز در شرایط تنش موجب پاکسازی رادیکال‌های آزاد اکسیژن شده و با حفظ ساختار سلول در بالا بردن تحمل گیاه به تنش خشکی نقش مهمی را ایفا می‌کند. از طرفی در شرایط تنش شدید میزان بیان این ژن به‌دلیل فعالیت بیشتر رادیکال‌های آزاد اکسیژن و آسیب‌رسانی به DNA موجب کاهش بیان این ژن گردیده است که به نوبه خود تحمل به سطوح بالای تنش را نیز کاهش می‌دهد.

[ Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-11-06 ]
[ DOI: 10.52547/jcb.14.44.56 ]




شکل ۴- ارزیابی بیان ژن کاتالاز نسبت به شاهد در ارقام ذرت تحت تنش خشکی
Figure 4. Evaluation of catalase gene expression compared to control in maize cultivars under drought stress

**بیان ژن سوپر اکسید دیسموتاز**

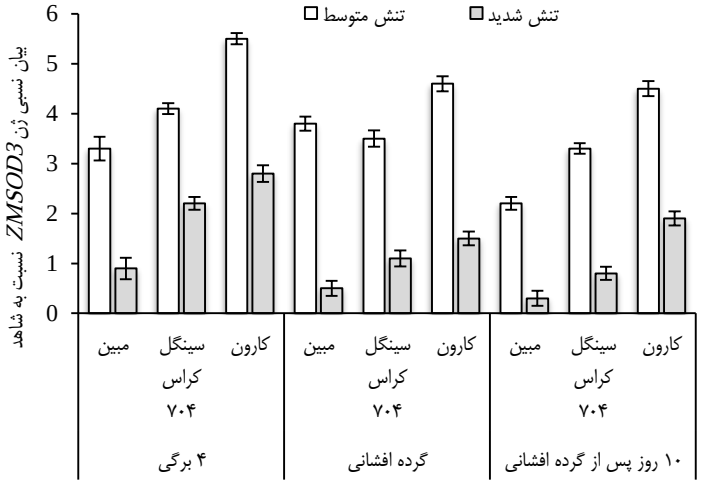
نتایج ارزیابی بیان ژن سوپراکسید دیسموتاز (شکل ۵) نشان داد بیان این ژن در تمام ارقام و در تمام مراحل در شرایط تنش خشکی متوسط بیشتر از تنش شدید بود و در بین ارقام نیز رقم کارون بیان بیشتری برای این ژن داشت. در مرحله ۴ برگی هر سه رقم بالاترین میزان بیان ژن سوپراکسید دیسموتاز را در تنش متوسط داشتند. در شرایط تنش شدید و در تمامی مراحل مورد ارزیابی میزان بیان این ژن در رقم مبین نسبت به شاهد کاهش بیان نشان داد. در رقم سینگل کراس این کاهش بیان تنها در تنش شدید و مرحله ۱۰ روز بعد از گرده افشانی مشاهده شد.

به‌طور کلی براساس نتایج برخی آزمایشات ژن سوپراکسید دیسموتاز از ژن‌هایی است که تحت تأثیر رادیکال‌های فعال اکسیژن، افزایش نسبی بیان نشان می‌دهد (۱۹) و نقش مهمی در دفاع در مقابل تنش‌اکسیداتیو دارد. در تنش خشکی به‌علت تولید انواع گونه‌های فعال اکسیژن در گیاه، احتمال وقوع تنش اکسیداتیو (به عنوان تنش ثانویه) وجود دارد (۲۳). عموما گیاهان از طریق فعال‌سازی سیستم آنتی‌اکسیدانتی، شامل آنزیم‌ها (سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز، پراکسیداز) میزان مقاومت به تنش خشکی را افزایش می‌دهند (۸). افزایش میزان بیان ژن سوپراکسید دیسموتاز در شرایط تنش متوسط همسو با نتایج سایر محققین می‌باشد (۱۰،۲۳) اما کاهش آن در تنش شدید متناقض با آن است. این کاهش بیان ژن همان‌طور که در رابطه با بیان ژن کاتالاز بیان شد به دلیل شدت بالای تنش و فعالیت بالاتر رادیکال‌های آزاد اکسیژن می‌باشد.

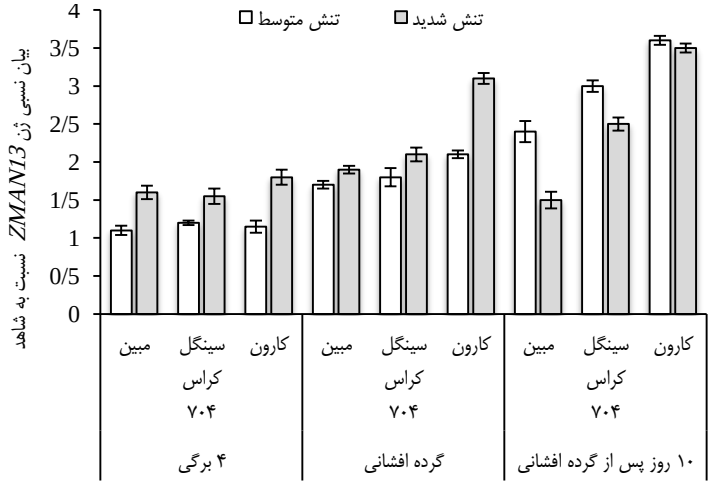
**بیان ژن *ZmAN13***

همان‌طور که در شکل ۶ مشاهده می شود بیان این ژن در تمامی ارقام و در تمام شرایط تیماری نسبت به شاهد افزایش بیان نشان داده است. ژن *ZmAN13* متعلق به خانواده ZNF-AN1 است و به‌طور کلی در گیاهان، بیشتر ژن های این خانواده در پاسخ به تنش های غیرزیستی نقش دارند (۱۴). بیان این ژن در مراحل ۴ برگی و گرده افشانی و در تمامی ارقام در تنش شدید بیشتر از تنش متوسط بود. در مرحله ۱۰ روز بعد از گرده افشانی میزان بیان این ژن در تمامی ارقام در تنش متوسط بیشتر از تنش شدید بود و تنها در رقم کارون این اختلاف بیان معنی‌دار نبود. همچنین رقم کارون بالاترین میزان بیان این ژن را نسبت به شاهد در هر دو سطح تنش و مراحل مورد ارزیابی دارا بود. افزایش بیان بالاتر این ژن در بذور ارقام متحمل به تنش خشکی نسبت ارقام غیر متحمل در نتایج مارکز و همکاران (۲۰) گزارش شده است.

[ Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-11-06 ]
[ DOI: 10.52547/jcb.14.44.56 ]




شکل ۵- ارزیابی بیان ژن سوپر اکسید دیسموتاز نسبت به شاهد در ارقام ذرت تحت تنش خشکی
Figure 5. Evaluation of superoxide-dimutase gene expression compared to control in maize cultivars under drought stress




شکل ۶- ارزیابی بیان ژن سوپر اکسید دیسموتاز نسبت به شاهد در ارقام ذرت تحت تنش خشکی
Figure 6. Evaluation of *ZmAN13* gene expression compared to control in maize cultivars under drought stress

## نتیجه‌گیری کلی

نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد رقم کارون که عملکرد دانه بالاتری نسبت به دو رقم دیگر تحت تنش خشکی داشت که بیانگر تحمل این رقم نسبت به خشکی می‌باشد. اندازه گیری میزان پرولین و ارزیابی بیان ژن‌های پاد اکسیدان با نتایج عملکرد دانه همسو بود که می‌توان نتیجه گیری نمود ارزیابی این صفت جهت شناسایی ارقام متحمل به تنش خشکی مطلوب است. البته کاهش بیان ژن‌ها در شرایط تنش شدید نسبت به تنش متوسط بیانگر این موضوع می‌باشد که تحمل این سطح از بروز خشکی برای گیاه زیاد می‌باشد و می‌بایست در صورت امکان جهت کاهش بیش از اندازه محصول آبیاری صورت گیرد. بنابراین می‌توان کشت این رقم را به‌عنوان رقم متحمل به تنش جهت دستیابی به عملکرد دانه بیشتر توصیه نمود. همچنین این رقم برای استفاده در تولید ارقام جدید قابل توصیه می‌باشد.

## منابع

1. Afarinesh, A., G. Fathi, R. Chugan, S.A. Syadat, G. Alamisaid and S.R. Ashrafizadeh. 2016. Effect of drought stress on physiological traits of maize (*Zea mays* L.) hybrids. Isfahan University of Technology-Journal of Crop Production and Processing, 5(18): 195-205.
2. Anjum, S.A., U. Ashraf, M. Tanveer, I. Khan, S. Hussain, B. Shahzad, A. Zohaib, F. Abbas, M.F. Saleem and I. Ali. 2017. Drought induced changes in growth, osmolyte accumulation and antioxidant metabolism of three maize hybrids. Front. Plant Science, 8: 69-87.
3. Ashraf, M. 2010. Inducing drought tolerance in plants: some recent advances. Biotechnology Advances, 28:169-183.

[ Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-11-06 ]
[ DOI: 10.52547/jcb.14.44.56 ]

4. Ashraf, M. and M.R. Foolad. 2007. Roles of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance. Environmental and Experimental Botany, 59: 206-216.
5. Azizi, F. and A. Mahrokh. 2013. Evaluation of Drought Tolerance indices in different Sweet Corn Hybrids. Journal of Crops Improvement, 15(1): 1-13 (In Persian).
6. Badr, A., H.H. El-Shazly, R.A. Tarawneh and A. Börner. 2020. Screening for Drought Tolerance in Maize (*Zea mays* L.) Germplasm Using Germination and Seedling Traits under Simulated Drought Conditions. Plants, 9: 565-588.
7. Bates, S., R.P. Waldern and E.D. Teare. 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. Plant and Soli, 39: 205-207.
8. Chávez-Arias, C.C., G.A. Ligarreto-Moreno, A. Ramírez-Godoy and H. Restrepo-Díaz. 2021. Maize Responses Challenged by Drought, Elevated Daytime Temperature and Arthropod Herbivory Stresses: A Physiological, Biochemical and Molecular View. Frontiers in Plant Science, 12: 1-14.
9. Chugh, V., N. Kaur and A.K. Gupta. 2011. Evaluation of oxidative stress tolerance in maize (Zea mays L.) seedlings in response to drought. Indian Journal of Biochemistry and Biophysics, 48: 47-53.
10. Gill, S.S. and N. Tuteja. 2010. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. Plant Physiology and Biochemistry, 48: 909- 930.
11. Habibi, D., M. Mashdi Akbar Boojar, A. Mahmoudi, M.R. Ardakani and D. Taleghani. 2004. Antioxidative enzyme in sunflower subjected to drought stress. 4th International Crop Science Congress, 1-4 pp.
12. Habu, Y., T. Kakutani and J. Paszkowski. 2001. Epigenetic developmental mechanisms in plants: molecules and targets of plant epigenetic regulation. Curr. Opin. Genet. Dev, 11: 215-220.
13. Jiang, M. and J. Zhang. 2002. Water stress -induced abscisic acid accumulation triggers the increased generation of reactive oxygen species and up-regulates the activities of antioxidant enzymes in maize leaves. Journal of Experimental Botany, 53: 2401-2410.
14. Jin, Y., M. Wang, J. Fu, N. Xuan, Y. Zhu, Y. Lian and G. Wang. 2007. Phylogenetic and expression analysis of ZnF-AN1 genes in plants. Genomics, 90(2): 265-275.
15. Jitesh, M.N., S.R. Prashanth, K.R. Sivaprakash and A.K. Parid. 2016. Antioxidative response mechanisms in halophytes: their role in stress defense. Journal of Genetics, 85: 237-254.
16. Khalili, M., M. Moghaddam, H. Kazemi Arbat, M.R. Shakiba, H. Kanooni and R. Choghan. 2009. Effect of Drought Stress on Different Maize Genotypes. Journal of Agricultural Science and Sustainable Production, 20(2): 67-84 (In Persian).
17. Kiraly, I. and P. Czovek. 2002. Changes of MDA level and $O_2$ scavenging enzyme activites in wheat varieties as a result of PEG treatment. Proceeding of the $^{7}$th Hungarian on Plant Physiology, 46: 105-106.
18. Lak, S., A. Naderi, S.A. Syadat, A. Ainehband and G. Normohamadi. 2008. Effects of water deficit on yield and nitrogen efficiency of corn hybrids grown at different levels of nitrogen and plant 704. Journal of Agricultural Sciences and Natural Resources, 4(2): 153-170 (In Persian).
19. Mackerness, S.A.H., C.F. John, B. Jordan and B. Thomas. 2001. Early signaling components in ultraviolet B responses. distinct roles for different reactive oxygen species and nitric oxide. FEBS Lett, 489: 237-242.
20. Marques, T.L., R.G.V. Pinho, V. Édila de R.V. Paniago, B. da, C. Paniago, N.C. Freitas and H.O. Santos. 2019. Physiological analysis and gene expression analysis of ZmDBP3, ZmALDH9, ZmAN13, and ZmDREB2A in maize lines. Acta Scientiarum. Agronomy, 4*2*(1): e43479.
21. Mazandarani, A., M. Rahim Malek, S. Navabpour and S. Ramezanpour. 2014. Evaluation of Chlorophyll Content and Genes Expression (Catalase and DREB1) in Soybean Cultivars Under Drought Stress Condition. Agricultural Biotechnology, 5(1): 45-58.
22. Mckersie, B.D. 2004. Oxidative stress. Dept of Crop Science, University of Guelph, [online]. http: //www. Oxidative stress. Htm [15 Dec 2004].
23. Molla, S., P. Villar-Salvador, P. Garcia-Fayos and J.L. Rubira. 2006. Physiological and transplanting performance of *Quercus ilex* L. (holm oak) seedlings grown in nurseries with different winter conditions. Forest Ecology and Management, 237: 218-226.
24. Moohamadi Behmadi, M. and M. Armin. 2017. Effect of drought stress on yield and yield components of different corn cultivars in delayed planting conditions, 4(1):17-34.
25. Nelissen, H., X. Sun, B. Rymen, Y. Jikumaru, M. Kojima, Y. Takebayashi, R. Abbeloos, K. Demuynck, V. Storme and M. Vuylsteke. 2017. The reduction in maize leaf growth under mild drought affects the transition between cell division and cell expansion and cannot be restored by elevated gibberellic acid levels. Plant Biotechnol Journal, 16(2): 615-27.
26. Shenawa, M.H. and A.O. Alfalahi. 2021. Enzymatic Regulation of Drought and Heat Stresses in Maize (*Zea mays* L.). IOP Conf. Ser.: Earth Environ Science, 904 012058.
27. Yuan, J., D. Chen, Y. Ren, X. Zhang and J. Zhao. 2008. Characteristic and expression analysis of a metallothionein gene, *OsMT2b*, downregulated by cytokinin suggests functions in root development and seed embryo germination of rice. Plant Physiol, 146(4): 1637-1650.
28. Zhang, X., L. Lei, J. Lai, H. Zhao and W. Song. 2018. Effects of drought stress and water recovery on physiological responses and gene expression in maize seedlings. BMC Plant Biology, 18(1): 68.

[ Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-11-06 ]

[ DOI: 10.52547/jcb.14.44.56 ]

# Evaluation of Proline Amount, Yield and Expression of Genes Involved in Drought Stress in Maize Cultivars

**Fatemeh Sahraei Qomesh[1], Saeid Navabpour[2], Ahad Yamchi[3] and Abolfazl Mazandarani[4]**

1-Master Student Department of Plant Breeding and Biotechnology, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran
2- Associate Professor, Department of Plant Breeding and Biotechnology, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran, (Corresponding author: s.navabpour@gau.ac.ir)
3- Associate Professor, Department of Plant Breeding and Biotechnology, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran
4- PhD student Department of Plant Breeding and Biotechnology, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran
Received: 15 March, 2022 Accepted: 17 May, 2022

**Extended Abstract**

**Introduction and Objective:** Drought stress is one of the most important environmental stress that affect maize grain yield worldwide. The event of drought stress in field is investable. In order to solve the problem some suggestions have been made, among those, it seems the best one is using tolerated cultivars.

**Material and Methods:** Experiment was conducted in split plot format by using randomized complete block design with three replicates in field condition. The main factor was three level of drought treatments including $75^{+}_{-}5$ mm (control), $115^{+}_{-}5$ mm (mild stress) and $140^{+}_{-}5$ mm (severe stress) evaporation out of evaporation pan class A. The sub factor included three maize cultivars, 704 single cross, Karoon and Mobin. Sampling for gene expression including *ZmAN13, ZmSOD3, CAT2* and *ZmMET1* were conducted at three growth stages including four leaves, anthesis and 10 days after anthesis. Measuring of grain yield and proline were conducted at harvesting stage.

**Results:** The amount of genes catalase and superoxide-dismutase increased by mild drought stress whereas for two genes metalothinonein and *ZmAN13* increased by severe drought stress. The Karoon cultivar showed increases transcript for all genes at all sampling stages. The amount of proline was higher in mild drought stress rather than severe, also, Karoon cultivar had higher level of proline rather than other cultivars. Grain yield was decreased significantly by drought stress treatments. Single cross 704 has 3.90 ton/ha in overall and it showed no statistical difference to Mobin grain yield. Karoon cultivar had most grain yield amount (5.02 ton/ha) by severe drought stress.

**Conclusion:** Karoon cultivar showed the most amount of grain yield under drought stress treatments in compared to other cultivars. This was somehow expected base on gene expression trend as well as proline amount in Karoon cultivar.

**Keywords:** Drought stress, Gene expression, Maize, Proline

[ Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-11-06 ]

[ DOI: 10.52547/jcb.14.44.56 ]