Journal of Crop Breeding Vol. 15, No 48, Winter 2024 p: 123-139

"Research paper"

Evaluation of Growth Indices and Expression of Some Genes Involved in Response to Cold Stress in Corn

Adel Lotfi[1], Saeed Navabpour[2] and Sayeda Sanaz Ramzanpour[3]

1- Master's degree in Biotechnology in Agriculture, Gren University of Agricultural Sciences and Natural Resources
2- Associate Professor, Department of Plant Breeding and Agricultural Biotechnology, Gren University of Agricultural Sciences and Natural Resources, (Corresponding author: s.navabpour@yahoo.com)
3- Associate Professor, Department of Plant Breeding and Agricultural Biotechnology, Gren University of Agricultural Sciences and Natural Resources
Received: 30, December, 2022 Accepted:22, May 2023

Extended Abstract

Introduction and Objective: Cold stress is one of the most important factors limiting the early cultivation of most crops, including corn. Cold causes oxidative stress through the production of reactive oxygen species (ROS) in plants. This study was conducted in order to investigate the expression pattern of some genes involved in the response to cold stress (catalase, superoxide dismutase and metallothionein) in corn plants.

Material and Methods: This experiment was conducted as a factorial in the form of a randomized complete block design with four replications and with three varieties of corn singlecross 260, singlecross 302 and doublecross 370. Planting was done in pots with a capacity of 4 kg of soil. qPCR technique was used to check gene expression pattern.

Results: The results of the analysis of the gene expression pattern showed that among the examined cultivars, singlecross 260 had the highest expression of catalase and superoxide dismutase genes, and singlecross 302 had the lowest expression of these genes. Examining the metallothionein gene expression pattern also showed that the expression level of this gene is the lowest in singlecross 260 and the highest in singlecross 302. The high expression of metallothionein gene in singlecross 302 is probably due to the occurrence of oxidative stress due to cold stress, accumulation of hydrogen peroxide and low expression of catalase gene. Also, growth indices including germination percentage, germination speed, leaf surface and chlorophyll a and b showed a good correlation with the expression level of catalase and superoxide dismutase genes.

Conclusion: Singlecross 260 and Singlecross 302 had the highest and lowest levels of expression of superoxide dismutase and catalase genes, germination percentage, germination speed, leaf area and chlorophyll, respectively. The activity of antioxidant genes such as catalase and superoxide dismutase prevent the reduction of chlorophyll and damage to the plant's photosynthetic apparatus.

Key words: Gene expression, Growth indicators, Single cross numbers of corn, Stress

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-11-01]

[DOI: 10.61186/jcb.15.48.123]

دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری

"مقاله پژوهشی"

ارزیابی شاخص‌های رشد و بیان برخی ژن‌های درگیر در واکنش به تنش سرما در ذرت

عادل لطفی[1]، سعید نواب پور[2] و سیده ساناز رمضانپور[3]

۱- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی کشاورزی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان
۲- دانشیار، گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی کشاورزی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، (نویسنده مسوول: s.navabpour@yahoo.com)
۳- دانشیار، گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی کشاورزی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۱۰/۹ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۳/۱
صفحه: ۱۲۳ تا ۱۳۹

چکیده مبسوط

مقدمه و هدف: تنش سرما از مهم‌ترین عوامل محدود کننده کشت زود هنگام اکثر محصولات زراعی از جمله ذرت می‌باشد. سرما از طریق تولید انواع گونه‌های اکسیژن فعال (ROS) در گیاهان منجر به بروز تنش اکسیداتیو می‌گردد. این مطالعه به‌منظور بررسی الگوی بیان برخی ژن‌های درگیر در واکنش به تنش سرما (کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز و متالوتیونین) در گیاه ذرت انجام شد.

مواد و روش‌ها: این آزمایش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک کامل تصادفی با چهار تکرار و با سه رقم ذرت سینگل‌کراس ۲۶۰، سینگل‌کراس ۳۰۲ و دبل‌کراس ۳۷۰ انجام شد. کاشت در گلدان‌هایی با گنجایش ۴ کیلوگرم خاک صورت گرفت. برای بررسی الگوی بیان ژن‌ها از تکنیک qPCR استفاده شد.

یافته‌ها: نتایج حاصل از بررسی الگوی بیان ژن‌ها نشان داد که در بین ارقام مورد بررسی رقم سینگل‌کراس ۲۶۰ بالاترین میزان بیان ژن‌های کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز و رقم سینگل‌کراس ۳۰۲ کم‌ترین میزان بیان ژن‌های مزبور را داشت. بررسی الگوی بیان ژن متالوتیونین نیز نشان داد که میزان بیان این ژن در رقم سینگل‌کراس ۲۶۰ کم‌ترین و رقم سینگل‌کراس ۳۰۲ بالاترین میزان می‌باشد. بیان بالای ژن متالوتیونین در رقم سینگل‌کراس ۳۰۲ احتمالا به‌دلیل بروز تنش اکسیداتیو در اثر تنش سرما، انباشته شدن پراکسید هیدروژن و بیان پایین ژن کاتالاز می‌باشد. همچنین، شاخص‌های رشد شامل درصد جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی، سطح برگ و کلروفیل a و b با میزان بیان ژن‌های کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز همبستگی خوبی را نشان دادند.

نتیجه‌گیری: رقم سینگل‌کراس ۲۶۰ و رقم سینگل‌کراس ۳۰۲ از لحاظ بیان ژن‌های سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز، درصد جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی، سطح برگ و کلروفیل به‌ترتیب بیشترین و کم‌ترین میزان را داشتند. فعالیت ژن‌های آنتی‌اکسیدانت مانند کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز از کاهش کلروفیل و آسیب به دستگاه فتوسنتزی گیاه جلوگیری می‌نماید.

واژه‌های کلیدی: ارقام سینگل کراس ذرت، بیان ژن، تنش، شاخص‌های رشد

مقدمه

ذرت از غلات مهم مناطق گرمسیر و معتدل جهان است بر اساس گزارش فائو در سال ۲۰۱۷ ذرت از لحاظ تولید مقاوم اول را در بین غلات به‌خود اختصاص داده است. در مورد منشاء و تکامل اولیه‌ی ذرت توافق کمی وجود دارد، اما توافق کلی بر این است که ذرت ۷۰۰۰ تا ۱۰۰۰۰ سال پیش در جنوب مکزیک اهلی شده است، پس از کشف آمریکا توسط اروپایی‌ها، به‌سرعت در سرتاسر اروپا پراکنده شد (Imam and Thagha Al-Islami, 2014). و کشت آن، قرن هفدهم میلادی در قاره اروپا رونق گرفت. لینه در سال ۱۷۳۷ میلادی نام آن را Zea mays گذاشت (Poursaleh, 1994). تنش‌های محیطی اعم از زنده و غیر زنده همواره از عوامل اصلی کاهش تولید محصولات زراعی و از موانع اصلی رسیدن به پتانسیل عملکرد محصولات مختلف بوده‌اند (Sadeghi Bakhtvari et al., 2019). دما یکی از عامل‌های محیطی است که گسترش و پراکنش موجودات زنده را فراهم می‌کند. خطرات دمایی معمولاً مربوط به نوسانات آن است که بیشترین خسارت را بر گیاهان زراعی وارد می‌کند. در تولید محصولات زراعی دمای پایین به‌عنوان یک محدودیت محسوب می‌شود (Khodavirdivand Keshtiban et al., 2021). تنش سرما به‌عنوان یکی از مهمترین تنش‌های محیطی سبب کاهش عملکرد گیاهان و حتی مرگ آن‌ها می‌شود (Jun-jie et al., 2009). از تغییرات مهم حاصل از تنش غیرزنده از جمله سرمازدگی، تولید گونه‌های مختلف رادیکال‌های آزاد اکسیژن است که منجر به تنش اکسیداتیو می‌شود (Naghavi et al., 2016). احتمالاً تبدیل اکسیژن به فرم فعال توسط سیستم‌های گیاهی در حضور نور زیاد در مکان اصلی تولید رادیکال آزاد در برگ صورت می‌گیرد. با توجه به اینکه تنش سرما موجب تولید مقدار زیادی اکسیژن فعال و بروز تنش اکسیداتیو می‌گردد، از این‌رو تحمل به یخزدگی و سرما با سیستم‌های پالایش موثر اکسیژن فعال که در جهت خنثی‌سازی این تنش اکسیداتیو عمل می‌نمایند، همبستگی دارد (Inzeand Montagu, 1995). تجمع گونه‌های فعال اکسیژن در سلول منجر به فعال کردن مسیرهای سیگنال‌دهی اختصاصی شده که با اکسید کردن پروتئین‌های خاص و تأثیر بر عوامل رونویسی سبب تغییر الگوی بیان ژن‌ها در پاسخ به تنش شده و در نهایت سلول را برای سازگاری به شرایط جدید آماده می‌کند (Salehi et al., 2014). حذف مقادیر اضافی گونه‌های فعال اکسیژنی و دخالت در تنظیم سلولی به‌عهده دو آنزیم کاتالاز و پراکسیداز است که کاتالاز در این عملکرد نقش موثرتری را ایفا می‌کند (Mura et al., 2007). کاتالاز یک آنزیم محتوی هم است که تبدیل دو مولکول پراکسید هیدروژن به آب و اکسیژن را کاتالیز می‌کند. کاتالاز بالاترین و سریع‌ترین پتانسیل از بین بردن پراکسید هیدروژن را در بین آنزیم‌ها دارا است و با همکاری پراکسیداز و دیگر آنزیم‌ها، پراکسیدهیدروژن تولید شده در شرایط تنش را از بین می‌برد (Foyeret al., 1994). متالوتیونین‌ها به‌دلیل قابلیت بالای اتصال فلز می‌توانند کاتیون‌های دو ظرفیتی به‌ویژه روی و مس مورد نیاز برای متالو آنزیم‌ها و فاکتورهای رونویسی را تأمین نمایند (Blindauer, 2008)، همچنین این پروتئین‌ها قادر هستند با کلاته کردن یون‌های فلزی غیرضروری مانند کادمیوم سلول‌ها را از آسیب

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-11-01]

[DOI: 10.61186/jcb.15.48.123]

غلظت‌های سمی این فلزات حفظ نمایند (Domenech et al., 2007). از دیگر نقش‌های پیشنهادی شده برای متالوتیونین‌ها پاکسازی رادیکال‌های اکسیژنی و حفاظت سلول‌ها در برابر تنش اکسیداتیو می‌باشد (Foyeret al., 1994). از مهم‌ترین روش‌های اندازه‌گیری میزان فعالیت ژن‌ها می‌توان به نورترن بلاتینگ، سنجش حفاظتی RNase و واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز در زمان واقعی اشاره نمود. در میان روش‌های مختلف اندازه‌گیری بیان ژن، روش اندازه‌گیری در زمان واقعی به‌علت حساسیت بالا و قابلیت تکرارپذیری نسبت به سایر روش‌ها ارجحیت دارد (Karimi and Zinli, 2013). هدف اصلی در این روش، اندازه‌گیری دقیق توالی ویژه نوکلئیک اسید در یک نمونه می‌باشد (Valasek and Repa, 2005). از آنجایی‌که نمی‌توان RNA را به‌عنوان الگوی اولیه در واکنش زنجیره‌ای پلیمراز استفاده نمود، اولین مرحله در روش اندازه‌گیری در زمان واقعی رونویسی معکوس RNA به cDNA می‌باشد، سپس تکثیر نمایی در واکنش زنجیره‌ای پلیمراز، مرحله‌ی دوم این روش است (Bustin, 2000). نظر به اهمیت ذرت در اقتصاد کشاورزی کنترل عوامل خسارت‌زا به این محصول استراتژیک توسط اصلاح‌گران نبات امری ضروری به‌نظر می‌رسد. سهم بهبود ژنتیکی از راه اصلاح ذرت نسبت به سرعت افزایش عملکرد در ایالات متحده بین ۶۰ تا ۸۰ درصد برآورد شده است این افزایش عملکرد عمدتاً به‌دلیل افزایش تحمل به تنش بوده است. اتخاذ شیوه مدیریت با نهاده کم در تولید ذرت، نیاز به ژنوتیپ‌های متحمل‌تر به تنش را افزایش داده و تحمل تنش مهم‌ترین ویژگی اصلاحی ذرت برای عملکرد دانه خواهد بود (Imam and Thagha Al-Islami,2014). لذا در این پژوهش به بررسی الگوی بیان ژن‌های درگیر در واکنش به تنش سرما (کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز و متالوتیونین) در گیاه ذرت پرداخته شد.

مواد و روش‌ها

این آزمایش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با چهار تکرار در اطاقک رشد گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان انجام شد. فاکتور اول تیمار دمایی در سه سطح (۹، ۱۲ و ۱۵ درجه سانتی‌گراد) به‌عنوان عامل ایجاد تنش سرما و فاکتور دوم ارقام هیبرید سینگل کراس ۲۶۰، سینگل کراس ۳۰۲ و دبل کراس ۳۷۰ بود. ارقام انتخاب شده جزء ارقام پرمحصول و زودرس می‌باشند. کاشت در گلدان‌هایی با گنجایش ۴ کیلوگرم خاک صورت گرفت. در هر گلدان ۱۰ بذر هیرید ضدعفونی شده که از مرکز تحقیقات اصلاح بذر و نهال کرج تهیه شده بود شده کاشته شد. تنش سرمایی از مرحله کاشت آغاز شد و تا رسیدن گیاهچه‌ها به مرحله چهار برگی ادامه یافت. برای این‌منظور از سه هیبرید سینگل کراس ۲۶۰، سینگل کراس ۳۰۲ و دبل کراس ۳۷۰ استفاده شد، سه تیمار دمایی ۹، ۱۲ و درجه سانتی‌گراد بر روی هیبریدهای مورد نظر در اطاقک رشد و شرایط نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی و رطوبت نسبی ۶۵ درصد اعمال گردید. پس از رسیدن گیاهان به مرحله رشدی مورد نظر (چهار برگی)، سرعت و درصد جوانه‌زنی بذرهای هیبرید به‌روش رانال و دی سانتانا (2006) محاسبه شد. برای محاسبه سطح‌برگ برگ‌های بوته‌های انتخابی جدا و سپس طول و پهنای هر برگ بر حسب سانتی‌متر اندازه‌گیری و میانگین سطح یک برگ محاسبه شد. برای اندازه‌گیری کلروفیل از روش پورا و همکاران (1989) استفاده گردید.

میزان کلروفیل a و b از فرمول‌های زیر محاسبه گردید:

$$\text{Chl. a } (mgml^{-1}) = 12.25A663.6 - 2.55A646.6 \quad [۱]$$

$$\text{Chl. b } (mgml^{-1}) = 20.31A646.6 - 4.91A663.6 \quad [۲]$$

داده‌های جمع‌آوری شده مربوط به صفات اندازه‌گیری شده با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS مورد تجزیه و تحلیل و مقایسه میانگین‌ها با آزمون دانکن انجام گرفت.

استخراج RNA و سنتز cDNA

استخراج RNA با استفاده از بافر استخراج پی بایوزول شرکت بیوفلکس (توکیو، ژاپن) صورت گرفت. کیفیت RNA استخراج شده، توسط الکتروفورز روی ژل آگارز ۱/۵ درصد تعیین گردید. سپس سنتز cDNA ژن‌ها با روش پیشنهادی شرکت فرمنتاز صورت گرفت به این‌صورت که میزان ۵ میکرولیتر از هر نمونه RNA بعد از تیمار DNaseI داخل تیوب ریخته شد و به هر تیوب ۱ میکرولیتر آغازگر oligodT اضافه گردید. سپس ۵ میکرولیتر آب DEPC افزوده شد تا به حجم ۱۱ برسد و در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد دستگاه بن‌ماری به‌مدت ۵ دقیقه قرار داده شد. ۴ میکرولیتر بافر 5x ساخت cDNA، ۲ میکرولیتر مخلوط dNTP با غلظت ۱۰ میکرومولار و ۰/۵ میکرولیتر آنزیم Ribolock Rnase inhibitor اضافه و با آب دپس به حجم ۱۹ میکرولیتر رسید. سپس در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد دستگاه انکوباتور برای ۵ دقیقه قرار داده شدند و ۱ میکرولیتر آنزیم RevetAid (آنزیم رونوشت‌بردار معکوس) اضافه شده و مخلوط واکنش در دمای ۴۲ درجه سانتی‌گراد انکوباتور به‌مدت یک ساعت قرار گرفت و جهت توقف واکنش، برای ۱۰ دقیقه در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد دستگاه بن‌ماری قرار داده شد و در نهایت به‌میزان ۳۸۰ میکرولیتر به آن آب مقطر اتوکلاو شده اضافه گردید. از این رشته cDNA، در واکنش زنجیره‌ای پلیمراز استفاده گردید.

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-11-01]

[DOI: 10.61186/jcb.15.48.123]

جدول ۱ – چرخه‌های حرارتی Real Time PCR

Table 1. Thermal cycles of Real Time PCR

دما (درجه سانتی‌گراد) Temperature (°C)	زمان Time	مرحله the level	تعداد چرخه Number of cycles
95	3minutes	Dinaturing	1
95	10Second	Dinaturing	40
62	30Second	Connection	40
72	12Second	reproduction	40
78	20Second	the reading	40
55-95	10seconds for each degree increase	Formation of melting curve	81

بیان نسبی ژن‌های مورد بررسی با استفاده از فرمول پیفاف محاسبه گردید.

$$Ratio = (E_{target})^{\Delta CP_{target}(control-sample)} \Big/ (E_{ref})^{\Delta CP_{reft}(control-sample)}$$

در این معادله نسبت سطح بیان یک ژن هدف بر اساس راندمان واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز (E) برای ژن هدف و مرجع و تفاوت (Δ) نقطه تقاطع (CP) یک نمونه ناشناخته در مقابل کنترل (Δ CP control-sample) محاسبه می‌شود. ارزیابی میزان بیان ژن توسط نرم‌افزار Excel و REST انجام شد. در این آزمایش، نمونه‌ها را نسبت به یک ژن خانه‌دار که در اینجا Actin بود و در تمام مراحل رشدی گیاه و تحت همه شرایط بیان یکسانی داشت می‌سنجند. رنگ مورد استفاده جهت ردیابی تکثیر نمونه سایبر گرین و کیت مورد استفاده، کیت سایبر بایو پارس (دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان) بود که با اتصال به محصولات سبب بررسی میزان تابش اشعه می‌شود. در پایان واکنش و پس از دریافت نمودارها، اطلاعات به نرم‌افزار REST منتقل شده و تجزیه داده‌ها انجام گرفت.

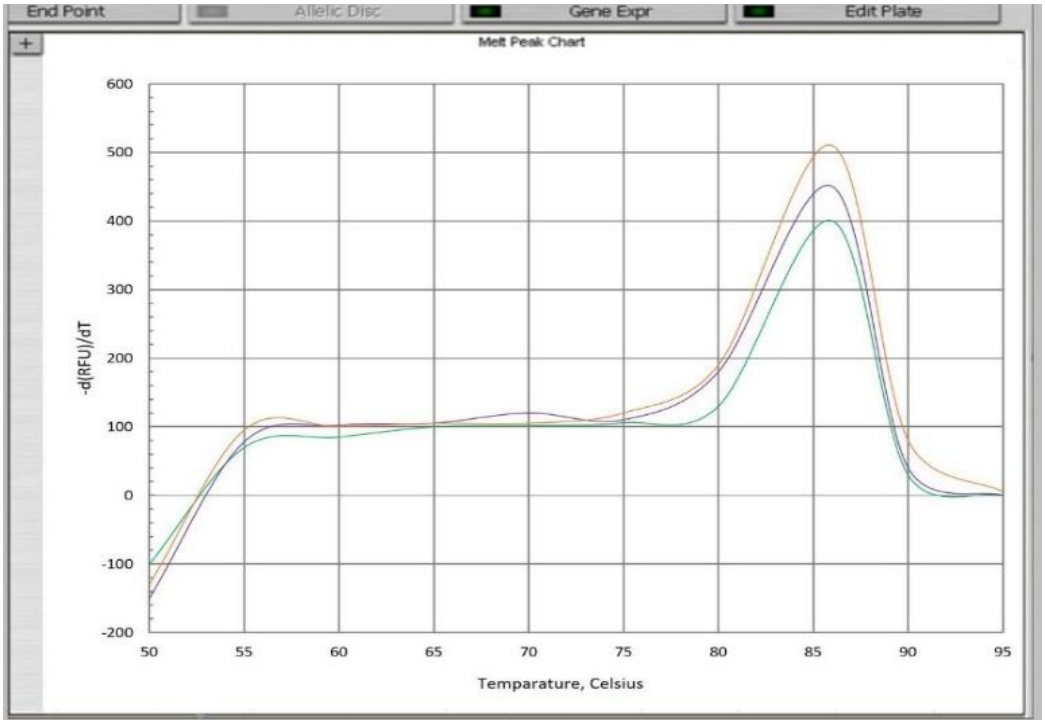
جدول ۲– مشخصات آغازگرهای مورد استفاده در آزمایش

Table 2. Specifications of primers used in the experiment

نام ژن Gene name	نام آغازگر Primer name	نوکلئوتید شروع Start nucleotide	نوکلئوتید پایان end nucleotide	توالی آغازگر Primer sequence	دمای ذوب (C^0) Melting temperature (^0C)	طول محصول واکنش The length of the reaction product	شماره دسترسی در پایگاه NCBI Accession number in NCBI database
ZmCAT2	ZmCAT2for ZmCAT2rev	1670 1510	1651 1529	5´GCCAAGCCGAGCATGTAAG 3´ 5´ GGAAAGGATCAGGCGGAAA 3´	59/7 57/6	161bp	NM-001111840
ZmSOD3	ZmSOD3for ZmSOD3rev	996 830	975 850	5´ CTAGCGGCTGGACCTTGTGT 3´ 5´ TGGAGACAAGAGTGGGAATGG 3´	61/9 60	167bp	NM-001112272
ZmMET1	ZmMET1for ZmMET1rev	520 323	502 345	5´ CTATCTAGCTTGTGGTGGTGGT 3´ 5´ CAGACGCAATCGGATCAA 3´	64/39 58/59	198bp	NM-001111995
ZmActin	ZmActinfor ZmActinrev	266 82	246 102	5´ CCATGTTGGGTGTGTGTGCT 3´ 5´ TGGGCCCTGAGAGAAGTTGA 3´	65/38 64/87	185bp	J.1218

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-11-01]

[DOI: 10.61186/jcb.15.48.123]



شکل ۱ – منحنی ذوب ژن‌های کاتالاز،سوپراکسید دیسموتاز و متالوتیونین درReal Time PCR
Figure 1. Melting curve of catalase, superoxide dismutase and metallothionein genes in Real Time PCR

نتایج و بحث

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اعمال تیمار دمایی موجب افت معنی‌دار (α=٪۱) صفات درصد جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی، کلروفیل a، کلروفیل b و سطح برگ گردید. همچنین اختلاف معنی‌داری بین تمام ارقام در تمام صفات مورد مطالعه مشاهده گردید (جدول ۳). اثر متقابل دما × رقم در تمامی صفات به‌جز درصد جوانه‌زنی از لحاظ آماری در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شد. نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر بلوک معنی‌دار نیست و این نشان‌دهنده یکنواخت بودن ماده آزمایشی در تمامی تکرارهای تیمارها است (جدول ۳).

جدول ۳- تجزیه واریانس صفات مورد بررسی هیبریدهای مورد مطالعه ذرت تحت تیمارهای تنش سرما
Table 3. Variance analysis of studied hybrids of corn under cold stress treatments

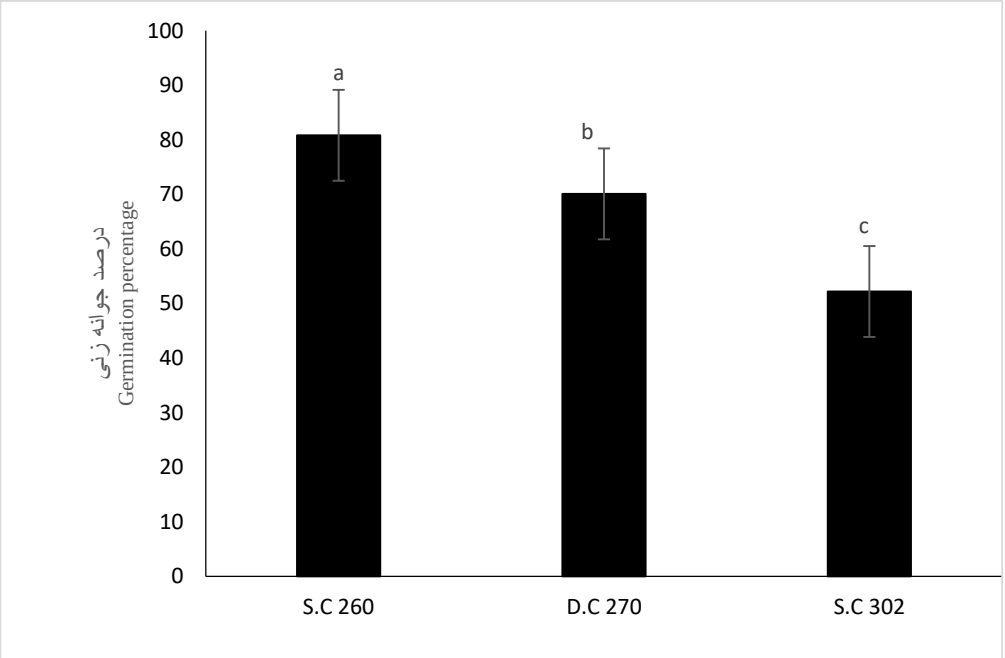
	میانگین مربعات						
منابع تغییرات References Changes	درجه آزادی df	درصد جوانه‌زنی Germination percentage	سرعت جوانه‌زنی ($۱۰^{-۵}$) Germination speed (10^{-5})	کلروفیل a Chlorophyll a	کلروفیل b Chlorophyll b	سطح برگ (cm^2) leaf area (cm2)	
تکرار repetition	3	0/915^{ns}	0/037^{ns}	0/07^{ns}	0/09^{ns}	0/42^{ns}	
ژنوتیپ Genotype	2	11/82**	0/58**	34/65**	40/36**	143/06**	
دما temperature	2	36/81**	0/56**	57/7**	45/69**	2293/45**	
ژنوتیپ × دما Genotype × temperature	4	1/12^{ns}	2/8**	7/52**	10/05**	377/88**	
خطا error	24	0/58	0/024	0/03	0/04	3/2	
ضریب تغییرات (٪) Coefficient of variation (%)	------	9/49	14/84	2/5	2/9	3/1	

ns، * و ** به‌ترتیب غیرمعنی‌دار و معنی‌دار در سطوح آماری ۵ و ۱ درصد.
ns, * and ** are non-significant and significant at 5 and 1 percent statistical levels, respectively.

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-11-01]
[DOI: 10.61186/jcb.15.48.123]

درصد جوانه‌زنی

درصد جوانه‌زنی به‌عنوان معیار مهمی در برنامه‌های انتخاب گیاهان تحت شرایط سرما معرفی شده است. تجزیه واریانس داده‌های مربوط به درصد جوانه‌زنی تاثیر معنی‌دار دما و رقم بر روی درصد جوانه‌زنی را نشان داد. ولی اثر متقابل دما و رقم بر روی درصد جوانه‌زنی معنی‌دار نبود. مقایسه میانگین‌ها توسط آزمون دانکن در بین سه رقم مورد بررسی نشان داد که سینگل‌کراس ۲۶۰ با ۸۰/۸۳ درصد بالاترین درصد جوانه‌زنی و رقم سینگل‌کراس ۳۰۲ با ۵۲/۲ درصد پایین‌ترین درصد جوانه‌زنی را داشتند (شکل ۲).

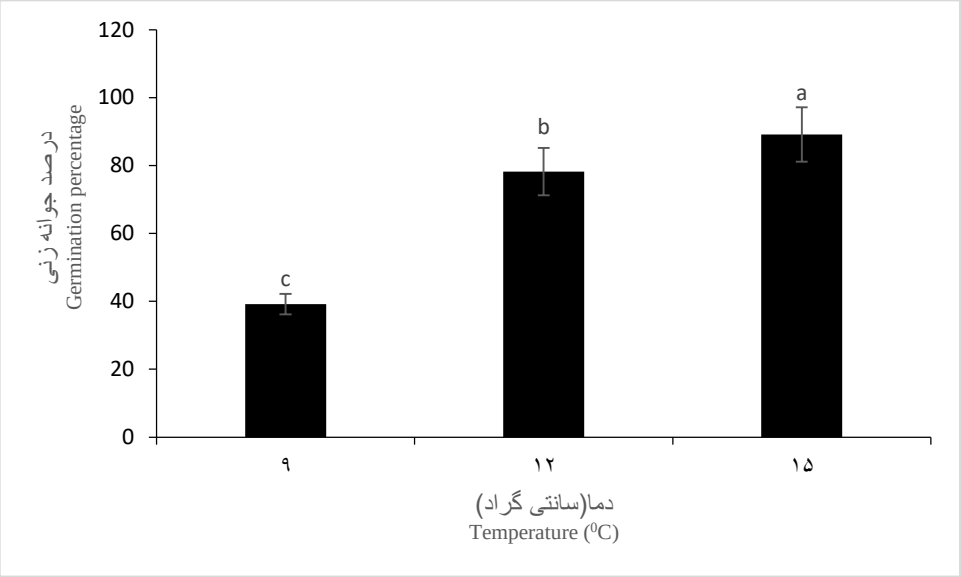


شکل ۲- تغییرات درصد جوانه‌زنی در ارقام مختلف ذرت تحت تیمار سطوح مختلف تنش سرما
Figure 2. Changes in germination percentage in different corn cultivars treated with different levels of cold stress

مقایسه میانگین سه دما مورد بررسی نشان داد که دمای ۱۵ درجه سانتی‌گراد (شاهد) با ۸۹/۱۶ درصد بالاترین درصد جوانه‌زنی و دمای ۹ درجه سانتی‌گراد با ۳۹/۱۶ درصد کمترین درصد جوانه‌زنی را داشتند. با کاهش دما درصد جوانه‌زنی کاهش یافته است. بیشترین میزان کاهش درصد جوانه‌زنی با افت دما از ۱۲ به ۹ درجه سانتی‌گراد بود (شکل ۳).

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-11-01]

[DOI: 10.61186/jcb.15.48.123]



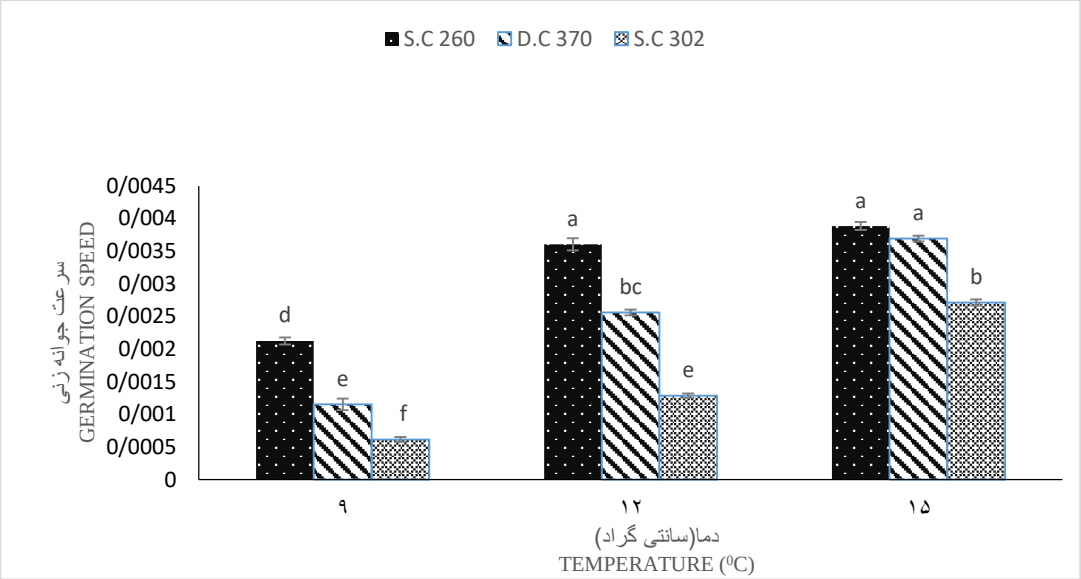
شکل ۳- تغییرات درصد جوانه‌زنی در ارقام مختلف ذرت تحت تیمار سطوح مختلف تنش سرما
Figure 3. Changes in germination percentage in different corn cultivars treated with different levels of cold stress

قدرت بذر و دما هر دو بر درصد جوانه‌زنی اثر دارند (Akpui, 1997). بذرها ارقام مختلف سرعت جوانه‌زنی متفاوتی دارند، در دمای پایین درصد جوانه‌زنی، سرعت رشد و فرایندهای متابولیکی کاهش می‌یابد. تنوع درصد جوانه‌زنی ارقام ذرت در دمای پایین گزارش شده است (Alvarado and Bradford, 2002).

سرعت جوانه‌زنی

سرعت جوانه‌زنی بر اساس فرمول 1/D50 محاسبه شد. D50 مدت زمانی است که در آن ۵۰ درصد بذرها جوانه می‌زند و بر اساس ساعت می‌باشد. سرعت جوانه‌زنی با کاهش دما در تمامی ارقام مورد بررسی کاهش نشان داد. میزان کاهش سرعت جوانه‌زنی با افت دما از ۱۲ به ۹ سانتی‌گراد شدیدتر می‌گردد. بالاترین سرعت جوانه‌زنی در رقم سینگل‌کراس ۲۶۰ و تیمار ۱۵ درجه سانتی‌گراد (شاهد) با مقدار ۰/۰۰۳۸ درصد مشاهده شد و کمترین میزان سرعت جوانه‌زنی در رقم ۳۰۲ و تیمار ۹ درجه سانتی‌گراد به مقدار ۰/۰۰۰۶ درصد مشاهده گردید. دو رقم سینگل‌کراس ۲۶۰ و دبل‌کراس ۳۷۰ در دمای ۱۵ درجه سانتی‌گراد (شاهد) تفاوت معنی‌داری را از لحاظ سرعت جوانه‌زنی نشان ندادند ولی رقم سینگل‌کراس ۳۰۲ در تیمار ۱۵ درجه سانتی‌گراد (شاهد) تفاوت معنی‌داری را با دو رقم دیگر نشان داد. با کاهش دما از ۱۵ به ۱۲ درجه سانتی‌گراد سرعت جوانه‌زنی رقم سینگل‌کراس ۲۶۰ نسبت به دمای ۱۵ درجه سانتی‌گراد (شاهد) تفاوت معنی‌داری نشان نداد ولی سرعت جوانه‌زنی دو رقم دبل‌کراس ۳۷۰ و سینگل‌کراس ۳۰۲ تفاوت معنی‌داری را با سرعت جوانه‌زنی این دو رقم در دمای ۱۵ درجه سانتی‌گراد (شاهد) نشان داد و با شدت بیشتری کاهش یافت. بیشترین سرعت جوانه‌زنی در دمای ۱۲ درجه سانتی‌گراد را رقم سینگل‌کراس ۲۶۰ با ۰/۰۰۳۶ درصد و کمترین سرعت جوانه‌زنی را رقم سینگل‌کراس ۳۰۲ با ۰/۰۰۱۲۸ درصد داشتند. با کاهش دما از ۱۲ به ۹ درجه سانتی‌گراد سرعت جوانه‌زنی کاهش یافت. در دمای ۹ درجه سانتی‌گراد بالاترین سرعت جوانه‌زنی را رقم سینگل‌کراس ۲۶۰ با مقدار ۰/۰۰۲۱ درصد و کمترین سرعت جوانه‌زنی را رقم سینگل کراس ۳۰۲ با ۰/۰۰۰۶ درصد دارا بود (شکل ۴). سرعت جوانه‌زنی از شاخص‌های مهم قدرت بذر است. قدرت بذر و دما هر دو بر سرعت جوانه‌زنی اثر دارند، سرعت جوانه‌زنی بذرها در دماهای مختلف تغییر می‌کند، رابطه خطی مثبت و منفی به‌ترتیب بین سرعت جوانه‌زنی و دماهای بالاتر و پایین تر از حدبهینه وجود دارد. با کاهش دما سرعت جوانه‌زنی بذر کاهش می‌یابد (Nicholaset al., 2003). لطیفی و همکاران (2004) با بررسی ۹ ژنوتیپ کلزا در ۴ دمای ثابت به‌عنوان تنش سرما مشاهده نمودند که با کاهش دما سرعت جوانه‌زنی کاهش می‌یابد، به‌طوریکه کاهش سرعت جوانه‌زنی زمانی که دما از ۱۰ به ۴/۵ سانتی‌گراد کاهش یافت نسبت به حالتی‌که دما از ۱۵ به ۱۰ سانتی‌گراد کاهش یافت، سه برابر بیشتر بود.

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-11-01]
[DOI: 10.61186/jcb.15.48.123]



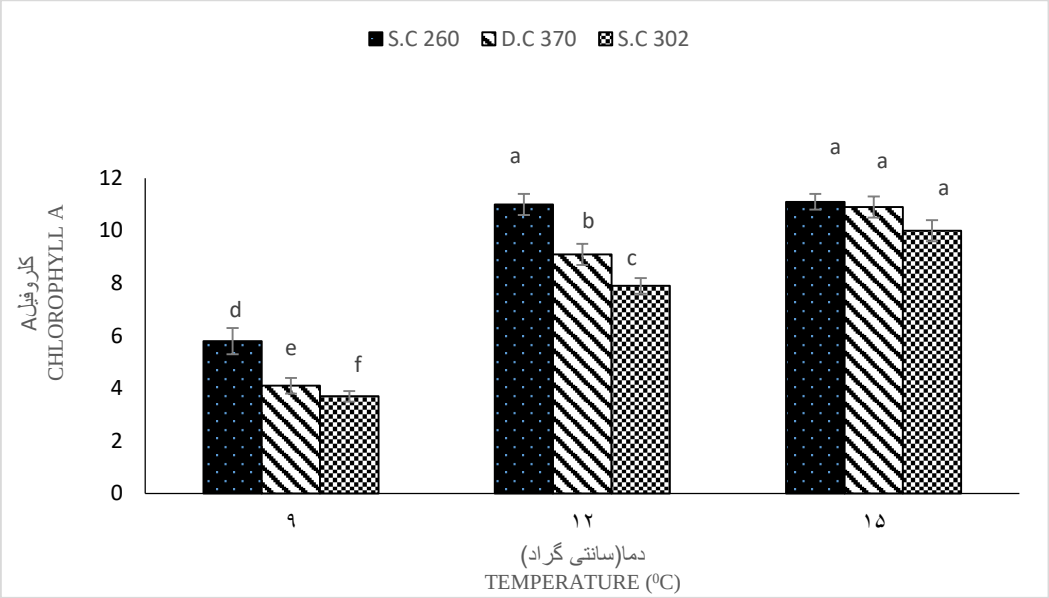
شکل ۴- تغییرات سرعت جوانه‌زنی در ارقام مختلف ذرت تحت تیمار سطوح مختلف تنش سرما
Figure 4. Changes in germination speed in different corn cultivars treated with different levels of cold stress

محتوای کلروفیل a

در دمای ۱۵ درجه سانتی‌گراد (شاهد) بین تمام ارقام مورد بررسی از نظر محتوای کلروفیل a تفاوت معنی‌داری وجود نداشت. بیشترین محتوای کلروفیل a را رقم سینگل‌کراس ۲۶۰ در دمای ۱۵ درجه سانتی‌گراد و کم‌ترین محتوای کلروفیل a را رقم سینگل‌کراس ۳۰۲ در دمای ۹ درجه سانتی‌گراد نشان داد. با کاهش دما از ۱۵ (شاهد) به ۱۲ درجه سانتی‌گراد محتوای کلروفیل a کاهش یافت (شکل ۵).

یکی از دلایل رشد کند ذرت در سرمای بهاره به‌دلیل کاهش ساخت کلروفیل می‌باشد که از روی تبدیل آهسته رنگ سبز برگ به زرد قابل مشاهده است، این کاهش معمولا با افت بیشتر دما تا به نقطه بحرانی معین (بین ۱۰ تا ۱۲ درجه سانتی‌گراد) بیشتر می‌شود با نزول بیشتر دما کل فرایند کلروفیل‌سازی متوقف می‌شود و رنگ برگ‌ها به سفیدی تا زردی می‌گراید که نشان‌دهنده کمبود کلروفیل است، عدم تعادل متابولیکی در مسیر پورفیرین ناشی از تنش سرما باعث می‌شود که گیاهچه‌های تحت تنش ذرت نتوانند در سلول‌های برگ خود کلروفیل ذخیره کنند (Jun-jie et al.,2009). کاهش محتوا کلروفیل رقم سینگل‌کراس ۲۶۰ نسبت به شاهد با شدت کم‌تری روی داد و تفاوت معنی‌داری را نسبت به شاهد نشان نداد. با کاهش دما از ۱۵ به ۱۲ درجه سانتی‌گراد کلروفیل a رقم سینگل‌کراس ۳۰۲ با شدت بیشتری نسبت به بقیه ارقام کاهش یافت. با کاهش دما از ۱۲ به ۹ درجه سانتی‌گراد شدت کاهش کلروفیل بیشتر گردید و رنگ برگ‌ها به زردی گرایید، از دست رفتن کلروفیل سبب زرد شدن برگ‌ها (کلروز) می‌گردد (Galshiet al., 2018). حساسیت به کلروز ممکن است ناشی از کاهش سنتز کلروفیل و یا ناشی از کند شدن نمو کلروپلاست‌ها در اثر سرما باشد، در دمای ۹ درجه سانتی‌گراد بیشترین محتواکلروفیل a را رقم سینگل‌کراس ۲۶۰ و کم‌ترین میزان کلروفیل a را رقم سینگل‌کراس ۳۰۲ دارا بود. پایداری کلروفیل به‌عنوان شاخصی از مقاومت گیاه به تنش است. آروکا و همکاران (2001) با اعمال تیمار سرما بر روی گیاهچه‌های ذرت دو رقم حساس و مقاوم به سرما مشاهده نمودند که در برگ‌های رقم مقاوم به سرما، محتوا کارتنوئید کل و کلروفیل a، نسبت به رقم حساس بالاتر بود.

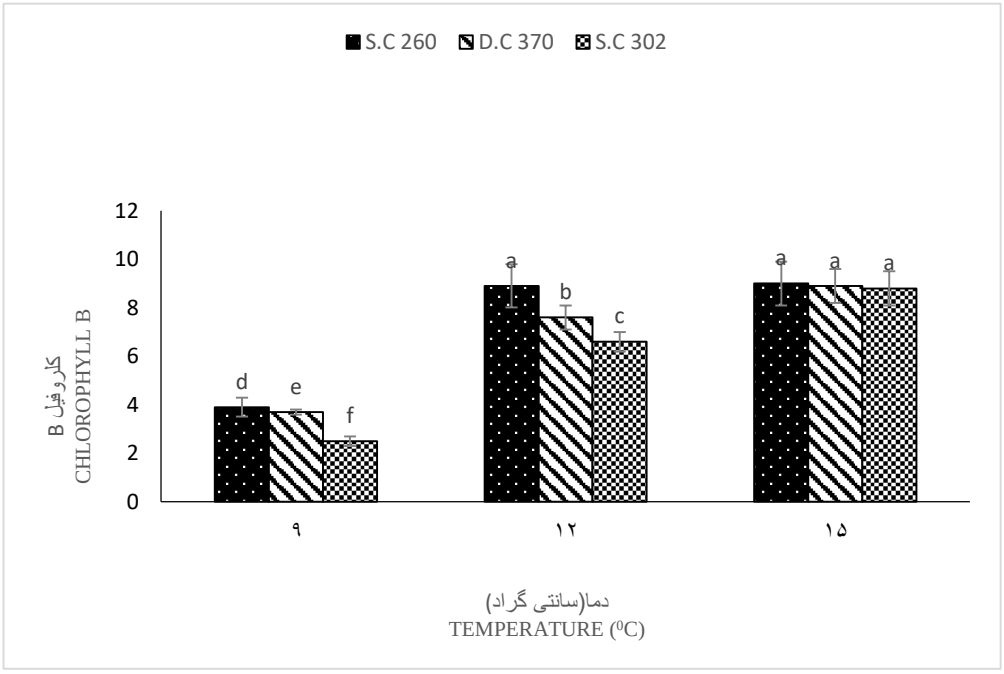
[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-11-01]
[DOI: 10.61186/jcb.15.48.123]



شکل ۵- تغییرات کلروفیل a در ارقام مختلف ذرت تحت تیمار سطوح مختلف تنش سرما
Figure 5. Chlorophyll a changes in different corn cultivars treated with different levels of cold stress

محتوای کلروفیل b

نتایج تجزیه واریانس برای صفت کلروفیل b تفاوت آماری معنی‌داری را در سطوح مختلف دما نشان داد. با کاهش دما کاهش در محتوای کلروفیلb مشاهده شد. محتوای کلروفیل b در دمای ۱۵ درجه سانتی‌گراد (شاهد) بین ارقام مورد بررسی تفاوت معنی‌داری را نشان نداد و همچنین با کاهش دما از ۱۵ به ۱۲ درجه سانتی‌گراد میزان کلروفیل b دو رقم سینگل‌کراس ۳۰۲ و دابل‌کراس ۳۷۰ نسبت به شاهد کاهش معنی‌داری را نشان نداد ولی میزان کلروفیل b رقم سینگل‌کراس ۲۶۰ ثبات بالایی را نشان داد و کاهش معنی‌داری در میزان کلروفیلb مشاهده نگردید (شکل ۶). در دما ۱۲ درجه بیشترین محتوای کلروفیل b مربوط به رقم سینگل‌کراس ۲۶۰ و کم‌ترین محتوای کلروفیل b مربوط به رقم سینگل‌کراس ۳۰۲ بود.



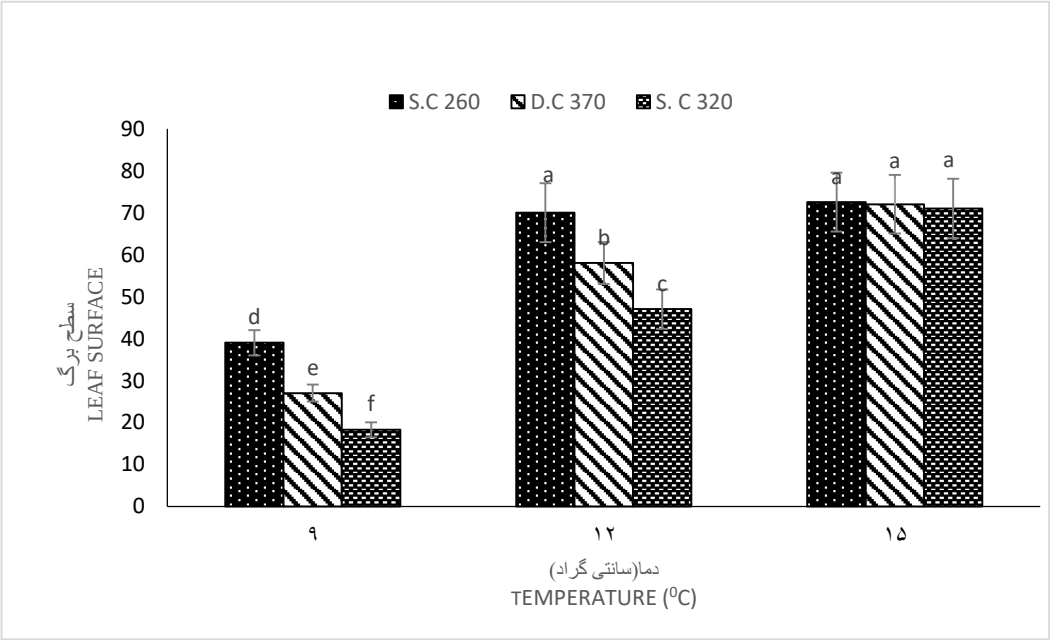
شکل ۶- تغییرات میزان کلروفیل b در ارقام مختلف ذرت تحت تیمار سطوح مختلف تنش سرما
Figure 6. Changes in the amount of chlorophyll b in different varieties of corn under the treatment of different levels of cold stress

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-11-01]
[DOI: 10.61186/jcb.15.48.123]

رنگدانه‌های فتوسنتزی، از جمله کلروفیل b در کمپلکس جمع‌آوری‌کننده نور فتوسیستم II نقش بازی می‌کنند (Sirigam et al., 2009). خسارت سرمازدگی با تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن همراه است که خسارت ثانویه غشاها و فتوسیستم‌ها را باعث می‌گردد. یکی از مکان‌هایی که دچار بیشترین آسیب دیدگی می‌گردد، فتوسیستم II می‌باشد. فتوسیستم II یک جزء حساس فتوسنتز بوده که تحت تأثیر تنش‌های محیطی از جمله آسیب‌های اکسیداتیو قرار می‌گیرد. بیشترین صدمه تنش‌های اکسیداتیو ناشی از سرما به محل واکنش پروتئین‌های داخلی فتوسیستم II و فضای آپوپلاستی وارد می‌شود و به‌نظر می‌رسد که محافظت کمی بر علیه آسیب‌های اکسیداتیو در آن‌ها وجود دارد، از آنجایی‌که مقدار زیادی از کلروفیل b موجود در کلروپلاست در کمپلکس‌های دریافت کننده نور در فتوسیستم II قرار دارد، مقدار تخریب کلروفیل b بیشتر است. نسبت کلروفیل b به a در این کمپلکس‌ها سه به یک است در حالی‌که، این نسبت در کل کلروپلاست یک به سه است (Mauchamp and Methy, 2004). هولا و همکاران (2006) دو لاین اینبرد ذرت به نام‌های CE810 و 2013 و هیبرید حاصل از آن‌ها را در شرایط تنش سرما با دوره‌های زمانی مختلف مورد بررسی قرار دادند و مشاهده نمودند که فعالیت فتوسیستم II و غلظت کلروفیل b در گیاهان قرار گرفته در معرض ۳ تا ۴ هفته سرما کاهش یافت در حالی‌که در گیاهچه‌های قرار گرفته در ۱ تا ۲ هفته سرما این کاهش مشاهده نگردید. میزان کلروفیل b و کارتنوئید گیاهچه‌های ذرت طی تشدید تنش سرما با شدت بیشتری کاهش می‌یابند. کاهش رنگیزه‌ها می‌تواند به‌علت تاثیر سرما در افزایش میزان پراکسیداسیون باشد. این تخریب می‌تواند در غشاء کلروپلاست‌ها و تیلاکوئیدها رخ دهد و منجر به کاهش میزان رنگیزه‌ها شود (Sopher et al., 1999). ژنوتیپ‌های متحمل عموما دارای غشاء سیتوپلاسمی پایدارترو غلظت کلروفیل بیشتری نسبت به ژنوتیپ‌های حساس‌تر می‌باشند، البته کاهش میزان کلروفیل ارقام حساس در شرایط تنش باعث کاهش خسارت به سیستم فتوسنتزی گیاه به‌علت کاهش تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن می‌شود، در شرایط تنش کاهش میزان کلروفیل و پایین بودن مقادیر آن در اثر کاسته شدن رادیکال‌های آزاد اکسیژن، می‌تواند سبب حفظ گیاه طی تنش باشد (Kranner et al., 2002).

سطح برگ

میزان سطح برگ در هر سه رقم با کاهش سطوح دمایی کاهش قابل ملاحظه‌ای را نشان داد. در دمای ۱۵ درجه سانتی‌گراد (شاهد) اختلاف معنی‌داری بیان ارقام مورد بررسی از نظر سطح برگ مشاهده نگردید. با کاهش دما از ۱۵ به ۱۲ درجه سانتی‌گراد رقم سینگل‌کراس ۲۶۰ ثبات بالایی را از لحاظ سطح برگ نشان داد و اختلاف معنی‌داری را از لحاظ سطح برگ با دمای ۱۵ درجه سانتی‌گراد نشان نداد ولی دو رقم دبل کراس ۳۷۰ و سینگل‌کراس ۳۰۲ تفاوت معنی‌داری را از لحاظ سطح برگ نسبت به شاهد نشان دادند. در بین سه رقم مورد بررسی سینگل کراس ۲۶۰ در دمای ۱۵ درجه سانتی‌گراد با سطح برگ ۷۲/۵ سانتی‌متر مربع بالاترین و رقم سینگل‌کراس ۳۰۲ با سطح برگ ۱۸/۲۵ سانتی‌متر مربع کمترین سطح برگ را دارا می‌باشد (شکل ۷).



شکل ۷- تغییرات سطح برگ در ارقام مختلف ذرت تحت تیمار سطوح مختلف تنش سرما
Figure 7. Leaf surface changes in different corn cultivars treated with different levels of cold stress

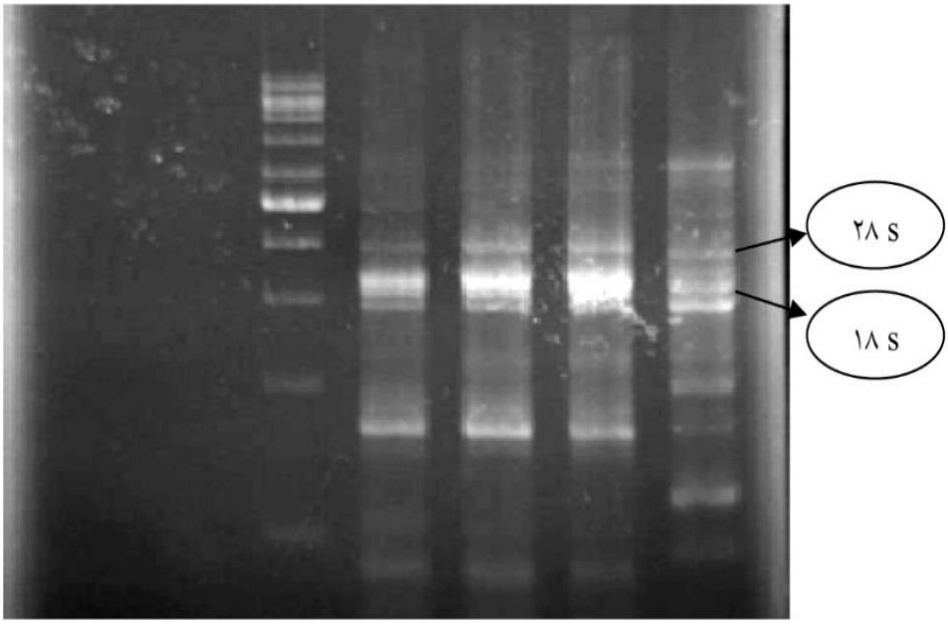
[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-11-01]
[DOI: 10.61186/jcb.15.48.123]

دما تاثیر معنی‌داری بر سطح برگ دارد. کاهش سطح برگ مهم‌ترین دلیل کاهش رشد گیاه بر اثر تنش عنوان می‌شود (Wang et al., 2001). اندازه برگ بستگی به تعداد سلول‌ها (تقسیم سلولی) و اندازه‌ی سلول‌های برگ دارد. مراحل اولیه تشکیل بخش هوایی و برگ‌ها تحت کنترل تقسیم سلولی بوده و نسبتاً غیرحساس به تنش می‌باشد، ولی گسترش سطح برگ به تنش حساس است؛ در شرایط تنش آماس سلولی در برگ کاهش می‌یابد و از این طریق می‌تواند بر روی گسترش برگ و رشد بخش هوایی تأثیر بگذارد (Abbasi, 2016). بطور کلی گیاهان برای مقابله به سرما میزان آب سلول‌های خود را کاهش می‌دهند، کاهش مقدار آب منجر به کاهش توسعه سلولی و کاهش سطح برگ می‌گردد. تجمع محلول‌های سازگار و قندها درگیاهان به منظور مقابله با اثرات سرما سبب کاهش پتانسیل آب و فشار تورژسانس سلولی شده و مانع از توسعه سلولی و کاهش سطح برگ می‌گردد (Vitamvas et al., 2007).

در دمای ۱۲ درجه سانتی‌گراد بیشترین و کم‌ترین سطح برگ را به‌ترتیب رقم سینگل‌کراس ۲۶۰ و سینگل‌کراس ۳۰۲ داشتند. با کاهش دما از ۱۲ به ۹ درجه سانتی‌گراد، کاهش برگ در ارقام مورد بررسی با شدت بیشتری روی داد. بیشترین و کم‌ترین سطح برگ را در دمای ۹ سانتی‌گراد به‌ترتیب رقم سینگل‌کراس ۲۶۰ و سینگل‌کراس ۳۰۲ داشت. نتایج حاصل از میزان سطح برگ نشان‌دهنده این مطلب است که رقم سینگل‌کراس ۲۶۰ دارای سطح برگ بالایی در تمام تیمارهای دمایی می‌باشد. در دماهای بسیار پایین علاوه بر کاهش توسعه سلولی، کاهش میزان کلروفیل و آنزیم‌های فتوسنتزی عامل تعیین کننده‌ای در رشد برگ محسوب می‌گردد. دما به‌طور مستقیم بر فتوسنتز تاثیر ندارد بلکه بیشتر از طریق تنظیم واکنش‌هایی که در فرایندهای فتوسنتزی تاثیرگذارند اثر خود را اعمال می‌کند. در دماهای بسیار پایین، انرژی نورانی جذب شده توسط رنگیزه‌ها نمی‌تواند در واکنش‌های فتوسنتزی به کار گرفته شود به‌همین دلیل است که در بسیاری از گونه‌های گرمسیری به‌دلیل حساسیت سیستم فتوسنتزی به دمای پایین و ممانعت نوری، فتوسنتز کمی در دمای پایین‌تر از ۱۵ درجه سانتی‌گراد انجام می‌شود و منجر به کاهش سطح سبزینگی در گیاه می‌گردد (Wang et al., 1999).

نتایج حاصل از ارزیابی‌های مولکولی

پس از کشت ارقام مورد بررسی و رسیدن به مرحله چهار برگی RNA کل بوسیله کیت بایوزول (BIOZOL) استخراج گردید و کیفیت آن با قرار دادن نمونه ۲ میکرولیتری از محصول استخراج بر روی ژل آگارز ۱/۵درصد با ولتاژ ۵۰ و رنگ‌آمیزی با اتیدیوم بروماید تایید شد. اندازه باندهای لدر بین۱۰۰۰ تا ۱۵۰۰ bp بود (شکل ۸).



شکل ۸- نمونه تصاویر باندهای تشکیل شده مربوط به استخراج RNA
Figure 8. Sample images of the formed bands related to RNA extraction

برای بررسی کمی میزان استخراج، از اسپکتروفتومتر استفاده شد. مقدار جذب نوری در طول موج‌های ۲۶۰، ۲۸۰ و ۳۲۰ نانومتر توسط دستگاه قرائت شد و مقدار کل RNA برحسب میکروگرم در میکرولیتر و میزان خلوص آن نیز (معادله ۱) محاسبه گردید. در آزمایش غلظت سنجی RNA، نسبت به‌دست آمده در محدوده ۱/۸ تا ۲ بود که نشان دهنده درجه خلوص قابل قبول RNA بود (معادله ۲).

معادله (۱)

$$RNA = \frac{(OD_{260} - OD_{320}) \times 40 \times 100}{1000}$$

معادله (۲)

$$Yield = \frac{OD_{(260-320)}}{OD_{(280-320)}}$$

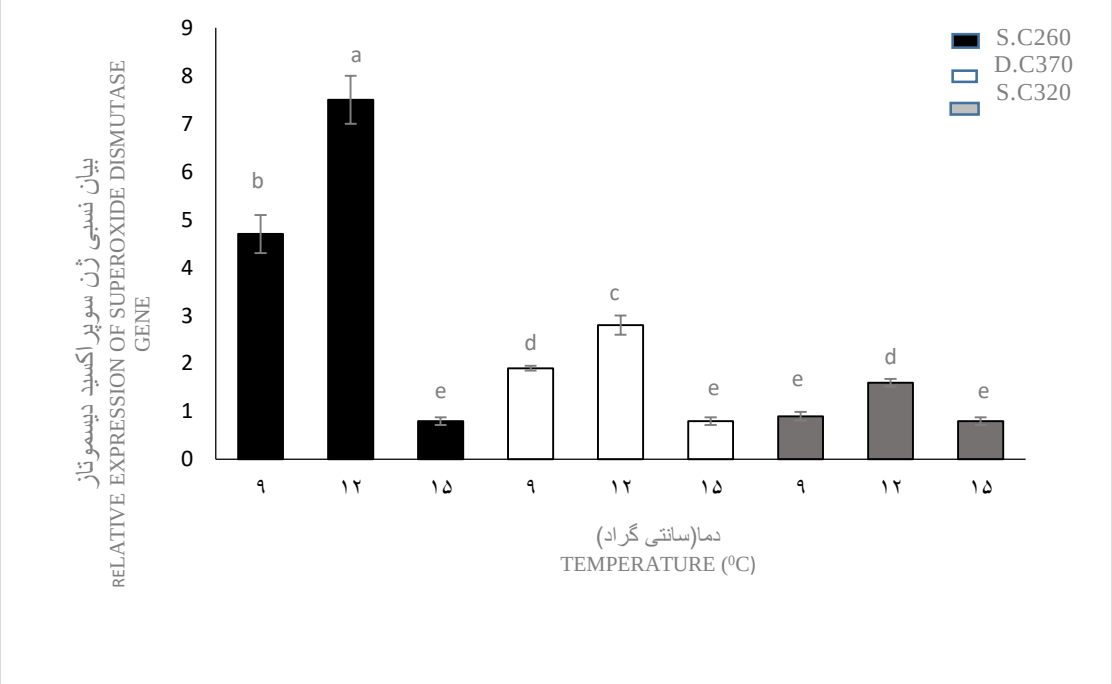
[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-11-01]
[DOI: 10.61186/jcb.15.48.123]

باندهای rRNA ۲۸ s، rRNA ۱۸ s، RNA کلروپلاستی و RNA میتوکندری به‌وضوح مشاهده شد، عدم وجود باندهای دیگر نشان‌دهنده کیفیت بالای RNA تخلیص شده بود. تشکیل دو باند RNA ریبوزومی ۱۸ s و ۲۸ s در روی ژل نشان‌دهنده عدم ایجاد شکستگی و آسیب در ساختار RNA می‌باشد (شکل ۸).

نتایج حاصل از ارزیابی الگوی بیان ژن سوپراکسید دیسموتاز (SOD)

آنزیم SOD به‌عنوان اولین سد دفاعی در برابر حمله رادیکال‌های اکسیژن فعال عمل می‌نماید. این آنزیم سبب تبدیل رادیکال‌های سوپراکسید به مولکول‌های غیر رادیکالی پراکسید هیدروژن می‌شود. به‌طور کلی براساس نتایج برخی آزمایشات ژن سوپراکسید دیسموتاز از ژن‌هایی است که تحت تأثیر رادیکال‌های فعال اکسیژن، افزایش نسبی بیان نشان می‌دهد و نقش مهمی در دفاع در مقابل تنش‌اکسیداتیو دارد. در تنش دمای پایین به علت تولید انواع گونه‌های اکسیژن فعال در محیط سلول، احتمال وقوع تنش اکسیداتیو (به‌عنوان تنش ثانویه) وجود دارد (McKersie and Bowley,1998). عموما گیاهان از طریق فعال‌سازی سیستم آنتی‌اکسیدانتی، شامل آنزیم‌ها (سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز، پراکسیداز و ...) مقاومت خویش به تنش دمای پایین را افزایش می‌دهند (Bustin, 2000).

در دمای ۱۵ درجه سانتی‌گراد (شاهد) تفاوت معنی‌داری از لحاظ بیان ژن سوپراکسید دیسموتاز بین ارقام مورد مطالعه مشاهده نگردید. بیشترین میزان تولید رونوشت‌های ژن سوپراکسید دیسموتاز در ارقام مورد مطالعه در تیمار دمایی ۱۲ درجه سانتی‌گراد و رقم سینگل‌کراس ۲۶۰ بود. کمترین میزان تولید رونوشت‌های ژن سوپراکسید دیسموتاز نیز در تیمار دمایی ۹ درجه سانتی‌گراد و رقم سینگل‌کراس ۳۰۲ مشاهده گردید (شکل ۹).



شکل ۹- روند تغییرات بیان ژن سوپراکسید دیسموتاز در ارقام مختلف ذرت تحت تیمار سطوح مختلف تنش سرما
Figure 9. Changes in the expression of the superoxide dismutase gene in different corn cultivars under the treatment of different levels of cold stress

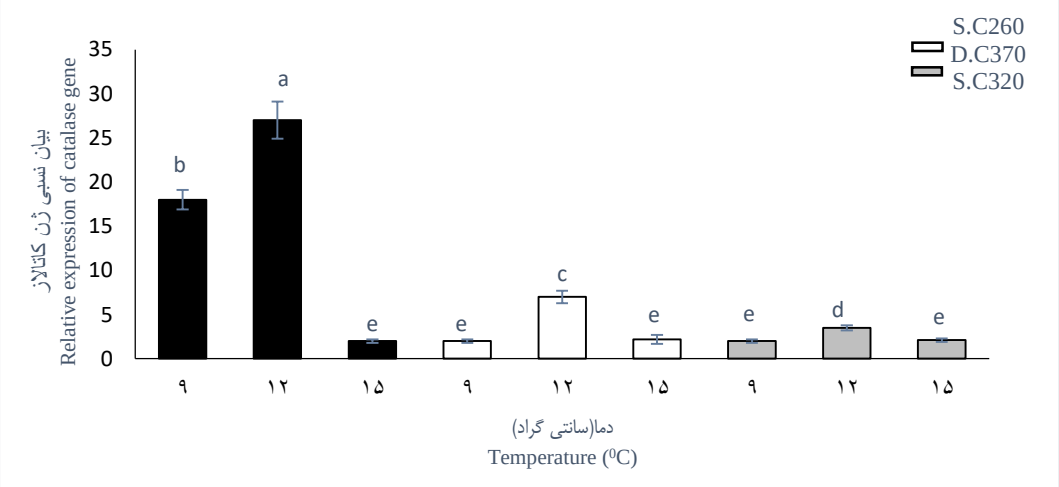
با کاهش دما از ۱۵ به ۱۲ درجه سانتی‌گراد میزان بیان ژن سوپراکسید دیسموتاز به‌طور معنی‌داری نسبت به شاهد افزایش نشان داد که بیانگر تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن در اثر تنش و پاسخ ژن سوپراکسید دیسموتاز به‌عنوان اولین سد دفاعی در مقابل رادیکال‌های آزاد می‌باشد. روند بیان ژن سوپراکسید دیسموتاز با کاهش دما از ۱۵ به ۱۲ درجه سانتی‌گراد در بین ارقام مورد بررسی روندی مشابه بود ولی شدت بیان ژن با کاهش دما در ارقام مورد بررسی متفاوت بود، بطوریکه با کاهش دما از ۱۵ به ۱۲ درجه سانتی‌گراد بیان ژن سوپراکسید دیسموتاز در رقم سینگل‌کراس ۲۶۰ با شدت بالایی نسبت به شاهد روی داد در حالی‌که در دو رقم مورد بررسی دیگر بیان ژن با شدت کمتری نسبت به شاهد روی داد. با کاهش دما از ۱۲ به ۹ درجه سانتی‌گراد و تشدید تنش سرما بیان ژن در ارقام مورد بررسی به‌طور معنی‌داری کاهش پیدا کرد. این کاهش می‌تواند به‌دلیل تخریب ساختارهای تولیدکننده SOD توسط تولید رادیکال‌های سمی باشد، در دمای ۹ درجه سانتی‌گراد کاهش میزان کلروفیل و بروز کلروز (زردی) در برگ‌ها مشهود بود، احتمال دیگر برای توضیح کاهش میزان بیان ژن سوپراکسید دیسموتاز در این دما

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-11-01]
[DOI: 10.61186/jcb.15.48.123]

می‌تواند، کاهش میزان رنگیزه‌های گیاهی مانند کلروفیل و به تبع آن کاهش تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن باشد، این مکانیسم را گیاه به‌منظور جلوگیری از آسیب‌های شدیدتر به دستگاه فتوسنتزی خود در اثر رادیکال‌های آزاد اکسیژن اعمال می‌کند (Kranner et al., 2002). در دمای ۹ درجه سانتی‌گراد بیشترین میزان بیان ژن در رقم سینگل‌کراس ۲۶۰ مشاهده گردید و رقم سینگل‌کراس ۳۰۲ کم‌ترین میزان بیان ژن را نشان داد. با توجه به مطالب ذکر شده بیان بالای ژن سوپراکسید دیسموتاز در دمای ۹ درجه سانتی‌گراد در رقم سینگل‌کراس ۲۶۰ می‌تواند موید سالم‌تر ماندن ساختارهای تولید کننده SOD و دستگاه فتوسنتزی این رقم نسبت به دو رقم دیگر باشد. مقاومت به تنش سرما در ارقامی از ذرت که میزان بیان ژن سوپراکسید دیسموتاز بالایی دارند به‌طور مشهودی مشاهده گردیده شده است (Aroca et al., 2001).

نتایج حاصل از ارزیابی الگوی بیان ژن کاتالاز

کاتالاز باعث تجزیه پراکسید هیدروژن (H_2O_2) به آب و اکسیژن می‌شود. در بسیاری از موارد تأثیر تنش‌های اکسیداتیو بدون اثر مستقیم بر توالی DNA و با تشدید فعالیت ژن‌ها و یا بیان ژن‌های خاموش صورت می‌گیرد (Habu et al., 2001). کاتالاز به همراه 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. حذف مقادیر اضافی و دخالت در تنظیم ظرفیت مقادیر مناسب از H_2O_2 سلولی به عهده دو آنزیم کاتالاز و پراکسیداز می‌باشد. آنزیم کاتالاز در این راستا نقش مهم‌تری را ایفا می‌کند. کاتالازهای گیاهی بیشتر در پراکسی‌زوم‌ها و گلی‌اکسی‌زوم‌ها جای گرفته‌اند (Jitesh et al., 2006). بیشترین میزان افزایش بیان ژن کاتالاز در تیمار دمایی ۱۲ درجه سانتی‌گراد و رقم سینگل‌کراس ۲۶۰ حاصل گردید. در تیمار دمایی ۱۵ درجه سانتی‌گراد (شاهد) تفاوت معنی‌داری بین ارقام مورد مطالعه مشاهده نگردید و مقدار بیان ژن کاتالازی که مشاهده می‌گردد بیان ژنی است که در گیاه به‌طور طبیعی و در شرایط نرمال صورت می‌گیرد. بیان ژن کاتالاز در دمای ۱۲ درجه سانتی‌گراد در مقایسه با شاهد به‌طور معنی‌داری افزایش یافت (شکل ۱۰).



شکل ۱۰- روند تغییرات بیان ژن کاتالاز در ارقام مختلف ذرت تحت تیمار سطوح مختلف تنش سرما

Figure 10. Changes in catalase gene expression in different corn cultivars under cold stress treatment

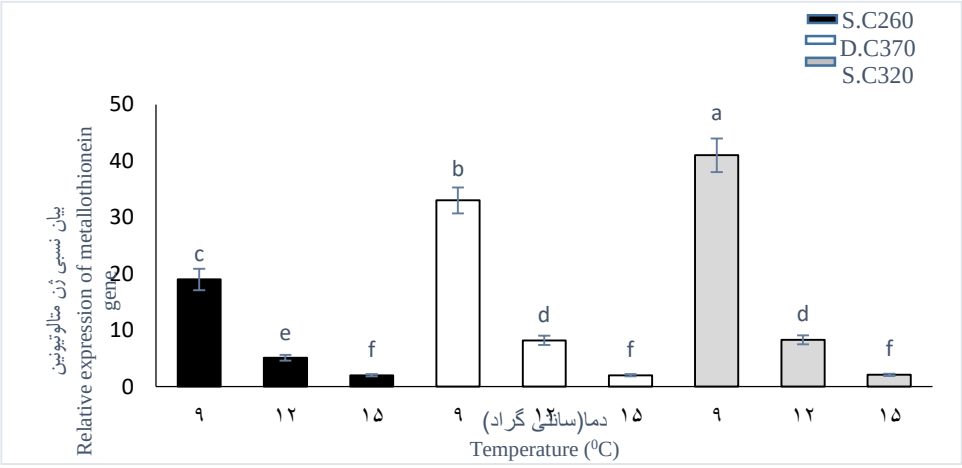
افزایش بیان ژن کاتالاز در تیمار دمایی ۱۲ درجه سانتی‌گراد در مقایسه با شاهد به احتمال زیاد به‌دلیل بروز تنش اکسیداتیو و تولید رادیکال پراکسیدهیدروژن (H_2O_2) می‌باشد. پراساد و همکاران (1994) با بررسی گیاهچه‌های ذرت طی تنش سرما مشاهده نمودند که با کاهش دما نسبت به شاهد میزان پراکسید هیدروژن و به تبع آن میزان بیان ژن کاتالاز افزایش یافت. در دمای ۱۲ درجه سانتی‌گراد بیشترین میزان بیان ژن کاتالاز در رقم سینگل‌کراس ۲۶۰ مشاهده شد و کم‌ترین میزان بیان ژن در رقم سینگل‌کراس ۳۰۲ مشاهده گردید. با کاهش دما از ۱۲ به ۹ درجه سانتی‌گراد میزان بیان ژن کاتالاز در ارقام مورد بررسی به‌طور مشهودی نسبت به دمای ۱۲ درجه سانتی‌گراد کاهش نشان داد، احتمال می‌رود یکی از دلایل کاهش بیان ژن کاتالاز در این تیمار دمایی بالا بودن شدت تنش اکسیداتیو بوده که به تبع آن افزایش میزان مرگ سلولی رخ داده و این مسئله موجب کاهش روند بیان ژن کاتالاز شده است. در حالیکه دمای ۱۲ درجه سانتی‌گراد با تحریک نسبی سبب القای یک واکنش دفاعی در گیاه شده و به تبع آن با افزایش میزان H_2O_2 فعالیت ژن کاتالاز تشدید شده است. یکی از دلایل دیگری که احتمال می‌رود سبب کاهش میزان بیان ژن کاتالاز در دمای ۹ درجه سانتی‌گراد گردیده اثر بازدارندگی پراکسید هیدروژن بر روی بیان ژن کاتالاز می‌باشد که در غلظت‌های بالای رادیکال‌های آزاد اکسیژن مشاهده شده است، این کاهش شدید می‌تواند به‌دلیل ممانعت در سنتز آنزیم یا تغییر در تجمع زیرواحدهای این آنزیم به واسطه تجمع مولکول‌های سمی پراکسید هیدروژن باشد (Hola et al., 2006). کاهش میزان بیان ژن کاتالاز به‌دلیل تخریب آنزیم کاتالاز طی تنش سرما شدید در گیاهچه‌های برنج مشاهده شده است، تخریب آنزیم کاتالاز طی تنش شدید اکسیداتیو در گندم مشاهده شده است (Shim et

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-11-01]
[DOI: 10.61186/jcb.15.48.123]

al., 2003). نتایج تحقیقات انجام شده نشان دهنده این است که ارقام گندم متحمل به سرما نسبت به ارقام حساس به این تنش دارای فعالیت بالای آنزیم‌های پراکسیداز و کاتالاز هستند که باعث تجزیه پراکسید هیدروژن و کاهش خسارات ناشی از انباشته شدن آنها می‌شوند (Srivalli et al., 2003). نتایج آمایش‌های مختلف نشان داده است که نمی‌توان روند خاصی را برای این تغییرات در نظر گرفت، ولی در بسیاری از آزمایش‌ها کاهش این آنزیم در شرایط تنش شدید سرما گزارش شده است (Anjum and Chan, 2010). کاهش میزان فعالیت ژن کاتالاز در رقم سینگل‌کراس ۲۶۰ در دمای ۹ درجه سانتی‌گراد مشاهده شد که می‌تواند به‌دلیل کاهش میزان پراکسید هیدروژن و به‌عبارتی کاهش بیان ژن SOD باشد. در رقم دبل‌کراس ۳۷۰ در دمای ۱۲ درجه سانتی‌گراد همسو با افزایش بیان ژن SOD بیان ژن کاتالاز نیز افزایش یافت ولی در دمای ۹ درجه سانتی‌گراد بیان ژن SOD افزایش یافت در حالی‌که، فعالیت ژن کاتالاز در این سطح در کمترین میزان خود بود و در سطح پایین‌تری نسبت به ژن سوپراکسید دیسموتاز قرار داشت. کاهش فعالیت کاتالاز منجر به افزایش تجمع پراکسید هیدروژن می‌شود که این امر خود سبب مهار آنزیم‌های حساسی چون کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز می‌گردد. کاتالاز نمی‌تواند به موازات فعالیت سوپراکسید دیسموتاز در دمای ۹ درجه سانتی‌گراد، پراکسید هیدروژن موجود در محیط را به حد زیادی کاهش دهد لذا این امر سبب کاهش چشمگیر فعالیت SOD توسط رادیکال‌های پراکسید هیدروژن در دمای ۹ درجه سانتی‌گراد و رقم ۳۷۰ نسبت به فعالیت SOD در مقایسه با رقم سینگل‌کراس ۲۶۰ در همان دماها گردید. چنین وضعیتی در رقم سینگل‌کراس ۳۰۲ نیز مشاهده می‌گردد. علاوه بر این، تجمع بالای پراکسید هیدروژن در غلظت بالا با تحریک واکنش Haber-Weiss و تولید رادیکال‌های هیدروکسیل موجب پراکسیداسیون لیپیدها و آسیب‌های غشایی شده و نهایتاً به کاهش رشد گیاه نیز منجر می‌شود (Mittler, 2002.). به‌طور کلی، میزان بیان ژن سوپراکسید دیسموتاز به‌عنوان اولین سد دفاعی در مقایسه با کاتالاز در دمای ۹ درجه سانتی‌گراد و دو رقم سینگل‌کراس ۳۰۲ و دبل‌کراس ۳۷۰ شدت بیشتری داشت. در حالی‌که چنین روندی در رقم سینگل‌کراس ۲۶۰ مشاهده نگردید و بیان ژن کاتالاز نسبت به SOD در سطح بالاتری بود.

نتایج حاصل از ارزیابی الگوی بیان ژن متالوتیونین

متالوتیونین یک پروتئین کوچک با ترکیب غیرمعمول، تعداد کمی آمینواسید آروماتیک و محتوای زیادی از دنباله‌های سیستئین (۳۰ درصد) که ظرفیت بالایی برای پیوند با فلزات را دارد (Mohammadinejad et al., 2018). متالوتیونین‌های گیاهی نقش مهمی را در حفظ پایداری انتقال فلزات ضروری، سم زدایی گیاهان از فلزات سنگین و محافظت در مقابل تنش اکسیداتیو درون سلولی ایفا می‌نمایند (Akashi et al., 2004). تنش سرما تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن (ROS) را در گیاهان القاء می‌کند و از این طریق سبب آسیب اکسیداتیو بالقوه در متابولیسم سلول می‌گردد (Yuan et al., 2008). متالوتیونین‌های گیاهی نیز می‌توانند عملکردی مشابه تجزیه‌کننده‌های رادیکال‌های آزاد اکسیژن (ROS) در طی تنش اکسیداتیو داشته باشند (Navabpouret al., 2003). در دمای ۱۵ درجه سانتی‌گراد (شاهد) تفاوت معنی‌داری بین ارقام مورد بررسی از لحاظ بیان ژن متالوتیونین مشاهد نگردید. با کاهش دما به ۱۲ درجه سانتی‌گراد میزان بیان ژن متالوتیونین به‌طور معنی‌داری نسبت به شاهد افزایش نشان داد. بیشترین میزان بیان ژن متالوتیونین در دمای ۱۲ درجه سانتی‌گراد در رقم سینگل‌کراس ۳۰۲ و کم‌ترین مقدار بیان ژن نیز در رقم سینگل‌کراس ۲۶۰ مشاهده گردید (شکل ۱۱). 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 (Zhuet al., 2009).



شکل ۱۱- روند تغییرات بیان ژن متالوتیونین در ارقام مختلف ذرت تحت تیمار سطوح مختلف تنش سرما

Figure 11. Changes in metallothionein gene expression in different corn cultivars treated with different levels of cold stress

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-11-01]

[DOI: 10.61186/jcb.15.48.123]

با کاهش دما به ۹ درجه سانتی‌گراد بیان ژن متالوتیونین در ارقام مورد بررسی با شدت بیشتری افزایش نشان داد و تفاوت معنی‌داری را نسبت به بیان ژن در تیمار دمایی ۱۲ درجه سانتی‌گراد و شاهد نشان داد. در دمای ۹ درجه سانتی‌گراد بیشترین میزان بیان ژن متالوتیونین مربوط به رقم سینگل‌کراس ۳۰۲ و کم‌ترین میزان بیان ژن در رقم سینگل‌کراس ۲۶۰ مشاهده گردید. بیان بالای ژن متالوتیونین در دمای ۹ درجه سانتی‌گراد احتمالا به‌دلیل کاهش بیان ژن کاتالاز و سوپراکسد دیسموتاز صورت می‌گیرد. ژو و همکاران (Zhu et al., 2009) با بررسی گیاهچه‌های آرابیدوپسیس ۱۴ روزه در طی تنش سرما مشاهده نمودند در گیاهچه‌های آرابیدوپسیس دارای ژن cat2جهش یافته (فاقد توانایی تجزیه پراکسید هیدروژن) بیان ژن متالوتیونین با شدت بیشتری نسبت به گیاهچه‌های وحشی که دارای ژن CAT2طبیعی (دارای فعالیت طبیعی) افزایش یافت، آنها عنوان نمودند که ژن AtMT2a عملکردی مشابه تجزیه کننده‌های رادیکال‌های آزاد اکسیژن (ROS) دارد، این ژن مکمل آنزیم کاتالاز در طی فرایندهای آنتی‌اکسدانتی بوده و منجر به تعادل ROS در گیاهچه‌های سرما دیده آرابیدوپسیس گردید، بنابراین، متالوتیونین‌ها می‌توانند با جلوگیری از انباشته‌شدن رادیکال‌های آزاد اکسیژن (ROS)، تحمل به سرما در گیاهان را سبب شوند. در دمای ۹ درجه سانتی‌گراد و رقم سینگل‌کراس ۳۰۲ کم‌ترین میزان بیان ژن کاتالاز و بیشترین میزان بیان ژن متالوتیونین در بین ارقام مورد بررسی مشاهده گردید که با توجه به مطالب عنوان شده احتمال می‌رود به‌دلیل بیان کم ژن کاتالاز تجمع پراکسید هیدروژن روی داده و همین امر منجر به تشدید بیان ژن متالوتیونین در این رقم گردیده است. با توجه به مطالب ذکر شده بیان پایین‌تر ژن متالوتیونین در رقم سینگل‌کراس ۲۶۰ نسبت به رقم سینگل‌کراس ۳۰۲ می‌تواند به‌دلیل بیان بالای ژن کاتالاز و کاهش میزان پراکسیدهیدروژن باشد. نتایج تحقیقات متعددی هم نشان داده است که بیان ژن متالوتیونین در پاسخ به غلظت‌های بالای پراکسید هیدروژن با شدت بالاتری روی می‌دهد.

تنش سرمای شدید منجر به بروز تنش اکسیداتیو و از بین رفتن غشای اندامک‌های درگیر در فرایند انتقال الکترون مانند میتوکندری و کلروپلاست که در تولید بخش اعظمی از رادیکال‌های آزاد اکسیژن درگیر هستند، می‌شود، رادیکال‌های آزاد تولید شده در اثر سرما به سرعت از غشاهای آسیب دیده پلاستیدها وارد سیتوزول می‌شوند (Henzlerand Steudle, 2000). احتمال می‌رود یکی دیگر از دلایل تشدید بیان ژن متالوتیونین در دمای ۹ درجه سانتی‌گراد بیان پایین ژن کاتالاز و ورود رادیکال‌های آزاد اکسیژن مانند پراکسید هیدروژن از غشاهای آسیب دیده اندامک‌های درگیر در انتقال الکترون به سیتوزول و به تبع آن بیان بالای ژن متالوتیونین و تجمع کلونی‌های متالوتیونین می‌باشد. بر طبق مطالب گفته شده به احتمال زیاد بیان پایین ژن متالوتیونین در دمای ۱۲ درجه سانتی‌گراد نسبت به دمای ۹ درجه سانتی‌گراد احتمالا به‌دلیل بیان بالاتر ژن کاتالاز و آسیب کمتر به غشاء اندامک‌های درگیر در فرایند انتقال الکترون می‌باشد که در نتیجه منجر به ورود کمتر رادیکال‌های آزاد از غشاء اندامک‌های مزبور به سیتوزول و کاهش بیان متالوتیونین ژن گردیده است. تجمع پراکسیدهیدروژن در سیتوزول برگ گیاهچه‌های ۱۴ روزه آرابیدوپسیس دارای ژن mt2a جهش یافته (فاقد فعالیت طبیعی) طی تنش سرما مشاهده شده است (Zhu et al., 2009). نتایج حاصله نشان می‌دهد که با تشدید تنش سرما روند بیان ژن متالوتیونین در تمام ارقام روندی افزایشی بود ولی شدت بیان ژن در ارقام مختلف متفاوت بود به‌طور ی‌که در تیمار ۹ و ۱۲ درجه سانتی‌گراد رقم ۳۰۲ بالاترین و رقم سینگل‌کراس ۲۶۰ کم‌ترین میزان بیان ژن را دارا بودند. احتمال می‌رود افزایش شدیدتر بیان ژن متالوتیونین در دو رقم سینگل‌کراس ۳۰۲ و دبل‌کراس ۳۷۰ به‌دلیل عدم بیان ژن کاتالاز در این دو رقم و تجمع بسیار زیاد رادیکال‌های آزاد سمی می‌باشد.

نتیجه‌گیری کلی

نتایج نشان دادد‌رصد جوانه‌زنی در بین ارقام مورد بررسی معنی‌دار نمی‌باشد همچنین مقایسه سرعت جوانه‌زنی ارقام مورد بررسی نشان داد که با کاهش دما از ۱۵ (شاهد) به ۱۲ درجه سانتی‌گراد سرعت جوانه‌زنی رقم سینگل‌کراس ۲۶۰ تفاوت معنی‌داری را نسبت به شاهد نشان نداد ولی دو رقم دیگر تفاوت معنی‌داری را از لحاظ سرعت جوانه‌زنی نشان دادند در این دما سینگل‌کراس ۳۰۲ کم‌ترین سرعت جوانه‌زنی را داشت. مقایسه محتوای کلروفیل a و b در ارقام مورد بررسی نشان داد که کاهش کلروفیل b نسبت به aدر هر دو تیمار دمایی با شدت بیشتری روی داد که این نیز احتمال می‌رود به‌دلیل آسیب اکسیداتیو بیشتر وارده به فتوسیستم II برگ (حاوی میزان کلروفیل b بیشتری نسبت به کلروفیل a) می‌باشد . مقایسه سطح برگ ارقام مورد بررسی در تیمارهای دمایی مورد نظر نشان داد که سینگل‌کراس ۲۶۰ در هر دو تیمار دمایی ۹ و ۱۲ درجه سانتی‌گراد بالاترین مقدار را داشت و رقم سینگل‌کراس ۳۰۲ کم‌ترین میزان سطح برگ را دارا بود.

بررسی الگوی بیان ژن سوپراکسید دیسموتاز در تیمارهای دمایی و ارقام مورد نظر نشان داد که با کاهش دما از ۱۵ (شاهد) به ۱۲ درجه سانتی‌گراد، میزان بیان ژن به‌طور معنی‌داری افزایش نشان داد. بررسی بیان ژن کاتالاز در تیمارهای دمایی موردنظر و ارقام مورد نظر نشان داد در دمای ۱۲ درجه سانتی‌گراد بیان ژن کاتالاز به‌طور معنی‌داری نسبت به شاهد افزایش نشان داد در این تیمار دمایی بیان ژن سوپراکسید دیسموتاز نیز در تمام ارقام مورد بررسی بالا بود احتمال می‌رود که بیان ژن کاتالاز در پاسخ به پراکسیدهیدروژن تولیدی توسط SOD می‌باشد بطوریکه این میزان پراکسیدهیدروژن به‌عنوان یک سیگنال باعث بیان ژن کاتالاز شده است. در ارتباط به بیان ژن متالوتیونین مشاهده گردید که بیان ژن متالوتیونین با کاهش دما افزایش یافت و بیشترین میزان بیان ژن متالوتیونین در تیمار ۹ درجه سانتی‌گراد در ارقام مورد مطالعه مشاهده گردید. به‌طور کلی در تیمارهای دمایی مورد مطالعه رقم سینگل‌کراس ۳۰۲ کم‌ترین میزان بیان ژن‌های مزبور و محتوای کلروفیل را دارا بود و رقم دبل‌کراس ۳۷۰ از این نظر

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-11-01]
[DOI: 10.61186/jcb.15.48.123]

در حد متوسط قرار داشت. بررسی سطح برگ و بیان ژن‌های مزبور نشان داد که رقم سینگل‌کراس ۲۶۰ بالاترین میزان بیان ژن و سطح برگ را در دو تیمار دمایی ۹ و ۱۲ درجه سانتی‌گراد داشت و رقم سینگل‌کراس ۳۰۲ دارای کم‌ترین میزان سطح برگ بود.

منابع

Abbasi, F. (2016). The mutual effect of drought and salinity on the growth factors of two plant species. Basic Science Journal of Azad Islamic University, Publication number: 66 (In Persian).

Akashi, K., N. Nishimura, Y. Ishida and A. Yokota. (2004). Potent hydroxyl radical-scavenging activity of drought-induced type-2 metallothionein in wild watermelon. Biochem BiophysRes Commun, 323: 72-8.

Akpui, G.K.S. 1997. Constant temperatures and the rate of seed germination in maize (Zea mays L.) of contrasting endosperm Crops Research Institute, Council for Scientific and Industrial Research,29:31-38.

Alvarado, V., and Bradford, K. J. (2002). A hydrothermal time model explains the cardinal temperatures for seed germination Plant. Cell and Environment ,25: 1061-1069.

Anjum, N. A., Umar, S., and Chan, M. T. (2010). Ascorbate-glutathione pathway and stress tolerance in plants. Springer Dordrecht Heidelberg, 265-291.

Aroca, R., Irigoyen, J., and Sanchez-Dıaz, M. 2001. Photosynthetic characteristics and protective mechanisms against oxidative stress during chilling and subsequent recovery in two maize varieties differing in chilling sensitivity. Plant Science, 161: 719–726.

Blindauer, C.A. (2008).Metallothioneins with unusual residues: histidines as modulators of zinc affinity and reactivity. Journal of Inorganic Biochemistry ,102: 507–521.

Bustin, S.A. (2000).Absolute quantification of mRNA using real-time reverse transcription polymerase chain reaction assays. Jornal of Molecular Endocrinology, 25:168-193.

Domenech , J., Orihuela, R., Mir, G., Molinas, M., Atrian, S., Capdevila, M. (2007). The CdII binding abilities of recombinant Quercus suber metallothionein: Bridging the gap between phytochelatins and metallothioneins. Journal of Biological Inorganic Chemistry, 12: 867–882.

Foyer, C.H., Lelandais, M., Kunerk, K.J. 1994. Oxidative stress in plants. Physiology Plant ,92: 696-717.

Galshi, S., Torabi, B., Rasam, Q., Rahmikarizki, A., and Barzegar, A. (2018). Stress and its management in plants (translation). Publications of Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources,10-15 (In Persian).

Habu, Y., Kakutani, T., and Paszkowski, J. 2001. Epigenetic developmental mechanisms in plants: molecules and targets of plant epigenetic regulation. Curr.Opin.Genet. Dev, 11: 215-220.

Henzler, T., and Steudle, E. (2000). Transport and metabolic degradation of hydrogen peroxide in Chara corallina: model calculations and measurements with the pressure probe suggest transport of H_2O_2 across water channels. J Exp Bot, 51(353): 2053–2066.

Hola, D., Kocova, M., Rothova, O., Wilhelmova, N., and Benesova, M. (2006). Recovery of maize (Zea mays L.) inbreds and hybrids from chilling stress of various duration: Photosynthesis and antioxidant enzymes. Journal of Plant Physiology ,164: 868-877.

Imam, Y., and Thagha Al-Islami, M. (2014). Performance of agricultural plants - physiology and processes (translation). Shiraz University Press,9-17 (In Persian).

Inze, D., and Van Montagu, M. 1995. Oxidative stress in plants. Curr Opion Biotech, 6:153-158.

Jitesh, M.N., Prashanth, S.R., Sivaprakash, K.R., and Parid, A.K. (2006). Antioxidative response mechanisms in halophytes: their role in stress defense. Journal of Genetics, 85: 237-254.

Jun-jie, G., Tao, L.I., Xian-chang, Y.U .(۲۰۰۹). Gene expression and activities of SOD in cucumber seedlings were related with concentrations of Mn2+, Cu2+, or Zn2+ under low temperature stress. Agricultural Sciences in China ,6: 678-684.

Kranner, I., Beckett, R.P., Wornik, S., Zorn, M., and Pfeifhofer, H.W. (2002). Revival of a resurrection plant correlates with its antioxidants status. Plant J, 31: 13-24.

Karimi, M., Zinli, S. (2013). Basics of PCR and laboratory applications, Andisheh Zahor Publications. Tehran.

Khodavirdivand Keshtiban, R., Soltanloo, H., Ramazanpour, S.S., Shariati,V.(2021). Evaluation of Biochemical Response and Defense Mechanism of Wheat Antioxidant Enzymes to Salinity Stress. Journal of Crop Breeding, 12(36):90-100 (In Persian).

Latifi,N.,Soltani, A.,Spaner, D .(2004).The effect of temperature on germination components of rapeseed cultivars. Iranian Journal of Agricultural Sciences,313-321 (In Persian).

Mauchamp, A., and Methy, M. (2004). Submergence induced damage of photosythetic apparatus in phragmitesaustralis. Envirnmental and Exprimental Botany, 51: 227-235.

McKersie, B.D and Bowley, S.R. 1998. Active oxygen and freezing tolerance in trancgenic plants. In Plant Cold Hardiness. Plenum Press New York. , 203-212.

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-11-01]

[DOI: 10.61186/jcb.15.48.123]

Mittler, R. (2002). Oxidative stress, antioxidant and stress tolerance. Annual Review of Plant Science, 7: 405-415.

Mohammadinejad, R., Shahpiri, A., and Mirlohi, A. (2018). Investigating the protective role of plant metallothionein genes against heavy metal toxicity. The fifth national conference and specialized exhibition of environmental engineering. University of Tehran, (In Persian.

Mura, A., Pintus, F., Medda, R., Floris, G., Rinaldi, A. C., Padiglia, A. (2007). Catalase and antiquitin from Euphorbia characias: Two proteins involved in plant defense. Journal of Biochemistry, 72: 501-5.

Naghavi , M., Moghadam, M., Tourchi, M., and Shakiba, M. (2016). Evaluation of spring wheat cultivars based on drough resistance indices. Journal of Crop Breeding. 8th year. Issue17. Spring (2016). 192 - 207 (In Persian).

Navabpour, S., Morris, K., Allen, R., Harrison, E., AH-M, S., and Buchanan- Wollaston, V .(2003). Expression of senescence-enhanced genes in response to oxidative stress. J Exp Bot, 54(391): 2285-2292.

Nicholas, G., Bradford, K.J., Come, D., and Pritchard, H.W. (2003). The biology of seeds: recent research advances.Wallingford: CABI Publishing, 472.

Porra, R.J., Thompson, W.A., and Kriedmann, P.E.1989.Determination of accurate extinction coefficients and simultaneous equations for assaying chlorophylls a and b extracted with four different solvents: vertification of the concentration of chlorophyll standards by atomic absorption spectroscopy. Biochem. Biophys. Acta, 975:384-394.

Poursaleh, M. 1994. Cereals (wheat, barley, rice, corn). Safar Publications, 144 .

Prasad, T.K., Anderson, M.D., Martin, B.A., and Stewart, C.R. 1994. Evidence for chilling induced oxidative stress in maize seedlimgs and a regulatory role for hydrogen peroxide. The Plant Cell,6: 65-74.

Ranal M.A. and De Santana D.G. (2006). How and why to measure the germination process? Revista Brasil, Botanicue. 29(1): 1-11.

Sadeghi Bakhtvari, A.R., Ghahrmani Bektash, B., Pasban Eslam, R., Sarabi, V., Hazrati, S .(2019). Evaluation of Rapeseed's Different Genotypes Tolerance to Water Deficit Stress in East Azarbaijan Province. Journal of Crop Breeding, 11(31): 65-77 (In Persian).

Salehi, M., Kalate Arabi, M. and Mosavat, S. A. (2014). Evaluation of Genetic Variation in Spring Bread Wheat Genotypes to Salinity in the North of Golestan Province. Seed and Plant Improvement Journal, 30: 305-325In Persian.

Shim, I.S., Momose, Y., Yamamoto, A., Kim, D.W and Usui, K. (2003). Inhibition of catalase activity by oxidative stress and its relationship to Salicylic acid accumulation in plants. Plant Growth Regul,8: 285-292.

Sirigam, K., Juntawong, N., Chau-Um, S., Kirdmanee, Ch. (2009). Relationships between sodium ion accumulation and physiological characteristics in rice (Oryza sativa L. SPP. Indica) seedling grown under iso osmotic salinity stress. Pak. J. Bot, 41: 1837-1850.

Sopher, C.R., Krol, M., Huner, N.P., Moor, A.E., and Fletcher R.A. 1999. Chloroplastic changes associated with paclobutrazol induced stress protection in maize seedling . Can .J .Bot, 77:297-290.

Srivalli, B., Sharma, G., and Khanna-Chopra, R. (2003). Antioxidative defense system in an upland rice cultivar subjected to increasing intensity of water stress following by recovery. Physiol. Planta, 119: 503-512.

Valasek, M.A.,Repa, J.J. (2005). The power of real-time PCR. Advances in physiology education,29:151-159.

Vitamvas, P., IIja, G.S., Prasil, L.T., Capkovac, V., Opatrnac, J., and Ahme, J. (2007). WCS120 protein family and proteins soluble upon boiling in coldacclimated winter wheat. J. Plant Physiol. 164: 1197-1207.

Wang, D., Shannon, M.C., and Grieve, C.M. 2001. Salinity reduces radiation absorption and use efficiency in soybean. Field Crops Research, 69: 267-277.

Wang, W.X., Vinocur, B., and Altman, A. 1999. A plant responses to drought, salinity and extreme temperatures: towards genetic engineering for stress tolerance. Planta,218: 1-14.

Yuan, J., Chen, D., Ren, Y., Zhang, X., and Zhao, J. (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.

Zhu, W., Zhao, D., Maio, Q., Xue, T., Li, X., and Zheng, C. (2009). Arabidopsis thaliana Metallothionein, AtMT2a, Mediates ROS Balance during Oxidative Stress. Plant Biol,52: 585-592.

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-11-01]

[DOI: 10.61186/jcb.15.48.123]