تحقیقات غلات
سال اول/ شماره اول/ زمستان ۱۳۹۰ (۶۴ -۵۳)

اثر تنش خشکی بر میزان خسارت به غشای سلولی و عملکرد دانه سه هیبرید ذرت

میثم نوروزیان[۱]، فرهاد جباری[۲*]، خلیل جمشیدی[۲]، جلال صبا[۲] و مجید پوریوسف[۲]
۱ و ۲- به ترتیب دانشجوی سابق کارشناسی ارشد و اعضای هیات علمی دانشکده کشاورزی دانشگاه زنجان

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۰/۶/۲۶- تاریخ پذیرش: ۱۳۹۰/۱۰/۱۲)

چکیده

غشاهای بیولوژیک اولین هدف تنش‌های غیر زنده هستند و حفظ ساختار و یکپارچگی آنها نقش مهمی در تحمل به خشکی گیاهان دارد. به منظور ارزیابی میزان خسارت به غشای سلولی ارقام مختلف ذرت به دو روش خشکی و گرمایی و تعیین ارتباط آن با عملکرد دانه، آزمایشی به صورت کرت‌های خرد شده در قالب بلوک‌های کامل تصادفی در چهار تکرار در سال ۱۳۸۸ در دانشکده کشاورزی دانشگاه زنجان انجام شد. سطوح آبیاری (شاهد، تنش از مرحله کاکل دهی و تنش از مرحله خمیری شدن دانه) در کرت‌های اصلی و سه رقم ذرت (سینگل کراس ۷۰۴، ۶۴۷ و ۵۰۰) در کرت‌های فرعی قرار گرفتند. طبق نتایج به دست آمده از لحاظ میزان خسارت به غشای سلولی در تمام مراحل اندازه‌گیری (۳۰ روز بعد از کاشت، کاکل-دهی و خمیری شدن دانه) بین ارقام مورد بررسی تفاوت معنی‌داری وجود داشت. در عین حال، در ۳۰ روز بعد از کاشت بیشترین تفاوت ژنوتیپی از لحاظ میزان خسارت به غشای سلولی در بین ارقام مشاهده شد. در مراحل خمیری شدن دانه و ۳۰ روز پس از کاشت، سینگل کراس ۵۰۰ غشای سلولی ناپایدارتری نسبت به سایر ارقام داشت، اما در مرحله کاکل‌دهی سینگل کراس۶۴۷ از غشای سلولی ناپایدارتری برخوردار بود. میزان خسارت به غشای سلولی ارقام مختلف در ۳۰ روز بعد از کاشت، بیشترین همبستگی منفی را با عملکرد دانه نشان داد. از لحاظ میزان خسارت به غشای سلولی به روش گرمایی، رقم‌های سینگل کراس ۷۰۴ و ۵۰۰ به ترتیب در مراحل کاکل دهی وخمیری شدن دانه دارای آسیب پذیرترین غشای سلولی بودند. چنین به نظر می‌رسد غربال ژنوتیپ‌ها از لحاظ میزان خسارت به غشای سلولی، معیار مناسبی نیتروژ نحمل به تنش خشکی فراهم می‌کند.

واژه‌های کلیدی: آسیب به غشای سلولی، ذرت، عملکرد دانه

* نویسنده مسئول: jabbarifarhad@yahoo.com; jabbari@znu.ac.ir

مقدمه

تنش‌های محیطی باعث بروز دامنه وسیعی از واکنش‌ها در گیاهان از تغییر بیان ژن و متابولیسم سلول تا تغییر در سرعت رشد و عملکرد محصولات می‌شوند (Reddy *et al*., 2004).

تنش خشکی بیشتر از هر عامل محیطی دیگری رشد گیاهان را محدود می‌کند (Huang, 2000) و وقتی حادث می‌شود که خروج آب از گیاه به واسطه فرآیند تعرق بیشتر از جذب آن از طریق ریشه باشد (Shepherd *et al*., 2002). علاوه بر صفات مورفولوژیک که در سازگاری گیاه به شرایط تنش خشکی مورد توجه قرار می‌گیرند، صفات فیزیولوژیک نیز اهمیت حیاتی در بقا و سازگاری گیاهان به تنش‌های محیطی دارند. از این رو توجه به شاخص‌های فیزیولوژیکی یکی ازجنبه‌های مهم مقاومت به خشکی در گیاهان به حساب می‌آید (Farshadfar and Mohammadi ,2003). غشاهای بیولوژیک اولین هدف تنش‌های غیر زنده در گیاهان است (Baiji *et al*., 2002 , Dhanda *et al*., 2004). در شرایط تنش خشکی در همان زمان که حداکثر تابش وجود دارد بسته شدن روزنه‌ها در واکنش به تنش آب یا درجه حرارت منجر به کاهش تثبیت دی اکسیدکربن خواهد شد. در حالی که واکنش نوری و انتقال الکترون در مقادیر طبیعی صورت خواهد گرفت.

در چنین شرایطی، مقدار محدودی $NADP^+$ برای پذیرش الکترون وجود خواهد داشت، بنابراین اکسیژن می‌تواند به عنوان یک گیرنده الکترون جایگزین عمل نماید (Egneus *et al*., 1975). این موضوع منجر به تجمع گونه‌های سمی اکسیژن نظیر رادیکال‌های سوپراکسید (O_2^-)، هیدروژن پراکسید (H_2O_2) و رادیکال هیدروکسیل ($\dot{O}H$) می‌شود (Inze *et al*., 1995, Foyer *et al*., 1994). تولید و تجمع گونه‌های سمی اکسیژن در شرایط تنش خشکی (Foyer *et al*., 1994) به بسیاری از ترکیبات سلولی نظیر چربی‌ها، پروتئین‌ها، کربوهیدرات‌ها و اسیدهای نوکلوئیک صدمه می‌زند (Jiang and Huang, 2001) و در اثر پراکسیداسیون چربی‌ها (Liang *et al*., 2003) غشاهای سلولی آسیب می‌بینند. بنابراین هرچند فرآیندهای مهمی همانند فتوسنتز، تنفس و تبدیل ساکاروز به نشاسته در دانه‌های در حال توسعه گیاهان زراعی با مقاومت به خشکی همبستگی دارند اما یک غشا سلولی پایدار که وظایف خود را به خوبی انجام می‌دهد محور اصلی سازش به حرارت‌های بالا و مقاومت به خشکی است (Raison *et al*., 1980). مشخص شده است که تحت شرایط تنش، پلاسمالما از نخستین اندام‌هایی است که آسیب می‌بینند (Levit, 1980). در نتیجهٔ صدمه به غشا سلولی، تراوائی افزایش یافته و نشت الکترولیتی از سلول باعث پژمردگی گیاه می‌شود (Blum and Ebercon, 1981).

یک راهکار مهم در توسعه مقاومت به خشکی در گیاهان، حفاظت غشا سلولی در شرایط تنش کم آبی است (Vasquez-tello, 1990). سولیوان (۱۹۷۲) یک روش سریع و کارآمد را برای تعیین پایداری غشا سلولی در سورگوم دانه‌ای از طریق اندازه‌گیری مقدار نشت الکترولیتی از قطعات برگی که در معرض شوک گرمایی قرار گرفته بودند ابداع نمود. این روش به عنوان یک روش سریع، ارزان و ساده برای ارزیابی پایداری غشا سلولی در بسیاری از گیاهان از قبیل سورگوم (Sullivan and Ross, 1979)، سویا (Martineau et, 1979)، سیب‌زمینی و گوجه‌فرنگی (Chen *et al*., 1989)، گندم (Saadalla *et al*., 1990) و جو (Kocheva *et al*., 2004) مورد استفاده قرار گرفت.

سینگ و همکاران (Sing *et al*., 1992) در آزمایشی رابطه بین پایداری غشا سلولی با مقاومت به خشکی در شش ژنوتیپ گندم در ۲۵، ۵۰ و ۷۵ روز بعد از کاشت را مورد بررسی قرار داد. در این آزمایش تفاوت‌های معنی‌داری بین ژنوتیپ‌ها و مراحل اندازه‌گیری به لحاظ خسارت به غشا مشاهده شد. در ۲۵ روز بعد از کاشت تفاوت ژنوتیپی به لحاظ خسارت به غشا سلولی در مقایسه با مراحل بعدی اندازه گیری، بیشتر و از ۱۹ تا ۵۶ درصد متغیر بود.

باندارسکا و اسکوچک (Bandraska and Skocczek, 1995) سن برگ و موقعیت برگ در ساقه و شدت تنش خشکی را در آسیب به غشا سلولی موثر دانست.

دبی و همکاران ((Debi *et al*., 1996) پایداری غشا سلولی را برای چهار نوع بادام زمینی بوسیله پلی اتیلن گلیکول تعیین کردند و نتیجه گرفتند که تحمل به خشکی با هدایت الکتریکی عصاره برگی همبستگی دارد. بنابراین اهداف این آزمایش شامل (۱) بررسی میزان خسارت به غشا سلولی درسه رقم مختلف هیبرید ذرت در شرایط تنش خشکی در مراحل ۳۰ روز بعد از کاشت، کاکل‌دهی و خمیری شدن دانه (۲) بررسی میزان آسیب به غشا سلولی به روش گرمایی در مرحله زایشی (۳) تعیین مرحله‌ای از رشد گیاه ذرت که بیشترین تفاوت‌های ژنوتیپی به لحاظ پایداری غشا سلولی مشاهده می‌شود (۴) تعیین همبستگی این صفات با عملکرد دانه در شرایط تنش بوده است.

مواد و روش‌ها

این تحقیق در سال زراعی ۸۸-۸۷ در مزرعه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه زنجان صورت گرفت. آزمایش به صورت اسپیلیت پلات بر پایه بلوک‌های کامل تصادفی در چهار تکرار انجام شد. به این ترتیب که ارقام ذرت دانه ای (*Zea mays* L.) شامل سینگل کراس ۷۰۴، ۶۴۷ و ۵۰۰ در کرت های فرعی و سطوح تنش خشکی شامل شاهد (بدون تنش خشکی)، تنش از مرحله کاکل‌دهی و تنش از مرحله خمیری شدن دانه در کرت‌های اصلی قرار گرفتند. مصرف کود نیتروژن بر اساس نتایج آزمون خاک به میزان ۲۰۰ کیلوگرم نیتروژن خالص در هکتار از منبع اوره بود، که یک سوم آن در موقع کاشت و دو سوم آن در مراحل ۶-۴ برگی و کاکل‌دهی به صورت سرک مصرف شد. کود فسفره هم به میزان ۱۷۵ کیلوگرم در هکتار از منبع سوپر فسفات مصرف شد. کاشت با تراکم ۶ بوته در متر مربع انجام شد. هرکرت فرعی شامل ۵ خط با فاصله ردیف ۷۵ سانتی متر بود. نمونه گیری‌ها از ۳ خط وسط با حذف نیم متر از ابتدا و انتهای کرت انجام شد..

تیمار خشکی

تنش از مرحله کاکل‌دهی و خمیری شدن دانه و بر اساس پتانسیل آبی سپیده دم (Sing, 1992) اعمال شد. به این ترتیب که گیاهان تحت تنش تنها در صورتی آبیاری شدند که علائم پژمردگی را در سپیده دم نشان می‌دادند. از لوله شدن برگ‌ها به عنوان معیار پژمردگی استفاده شد. به عبارت دیگر، تیمار تنش وقتی آبیاری می‌شد که برگ گیاهان در سپیده دم به حالت لوله در آمده بودند. پتانسیل آب خاک در هنگام لوله شدن برگ‌ها با استفاده از منحنی رطوبتی خاک مزرعه، تعیین شد که تقریبا ۲- مگاپاسکال بود. تیمار شاهد هم بر حسب نیاز (هر هفته یکبار) آبیاری شد.

خسارت به غشا سلولی

در این بررسی میزان خسارت به غشا سلولی در ۳۰ روز بعد از کاشت و مراحل کاکل دهی و خمیری شدن دانه به روش خشکی و در مرحله کاکل دهی و خمیری شدن به روش گرمائی نیز اندازه‌گیری شد.

تیمار خشکی

از آنجا که در ۲۵ روز بعد از کاشت بیشترین تفاوت بین ژنوتیپ‌های گندم به لحاظ پایداری غشا سلولی توسط سینگ (۱۹۹۲) گزارش شده بود، بر این اساس در این تحقیق نیز این صفت در ۳۰ روز بعد از کاشت مورد اندازه گیری قرار گرفت. به این ترتیب که، بخش میانی برگ‌ها به قطعات یک سانتی‌متری بریده، سپس ۰/۳ گرم از این تکه-های برگی انتخاب و با آب مقطر سه مرتبه شسته شدند. این قطعات برگ در ظروف کوچک حاوی ۲۵ میلی‌لیتر آب مقطر (شاهد) و یا ۲۵ میلی‌لیتر محلول پلی اتیلن گلیکول ۶۰۰۰ چهل درصد قرار داده شدند. نمونه‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۱±۱۰ قرار داده شدند و سپس مایع موجود در ظرف خالی شده و نمونه‌های برگی هر دو تیمار شسته شدند. نمونه‌های شاهد و تیمار شده با پلی اتیلن گلیکول مجدداً به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۱±۱۰ در آب مقطر (۲۵ میلی‌لیتر) مجددا قرار داده شدند. هدایت الکتریکی این محیط با قرائت مستقیم هدایت سنج (Electrical conductive meter وmodel:Inolab, WTW) در انتهای انکوباسیون اندازه‌گیری شد. آنگاه ظروف حاوی نمونه و آب مقطر به مدت ۱۵ دقیقه در فشار ۱۵PSI(۱/۰۳ بار) اتوکلاو شدند و هدایت الکتریکی نهایی آب حاوی نمونه‌ها به مدت ۲ دقیقه اندازه‌گیری شد.

درصد خسارت بدین ترتیب محاسبه شد:

(فرمول ۱) $= ۱ - [۱-(T_1/T_2)/۱ -(C1/C2)] \times ۱۰۰$ درصد خسارت به غشا سلولی

T و C به ترتیب هدایت الکتریکی تیمار پلی اتیلن گلیکول وشاهد (آب مقطر) بوده و زیر نویس ۱ و ۲ به ترتیب به هدایت اولیه و نهایی اشاره می‌کند. برای اندازه-گیری درصد خسارت به غشا در مراحل کاکل‌دهی و خمیری شدن دانه در شرایط تنش نیز پس از اعمال تنش در مزرعه، قسمت میانی آخرین برگ توسعه یافته از کرت-های شاهد و تنش نمونه‌برداری و پس از آن به قطعات یک سانتی متری خرد شد. میزان ۰/۳ گرم از هر برگ با آب مقطر سه مرتبه شسته و در ظروف حاوی ۲۵ میلی‌لیتر آب مقطر قرار داده شدند. نمونه‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۱±۱۰ قرار گرفتند. سپس هدایت الکتریکی این محیط با قرائت مستقیم هدایت سنج اندازه‌گیری شد. آنگاه ظروف حاوی نمونه و آب مقطر به مدت ۱۵ دقیقه در فشار PSI ۱۵ اتوکلاو و هدایت نهایی آب حاوی نمونه‌ها اندازه‌گیری شد. با استفاده از فرمول ذکر شده در بالا درصد خسارت به غشا سلولی محاسبه شد. T و C به ترتیب هدایت الکتریکی تیمار تنش و کنترل بوده و زیر نویس ۱ و ۲ به ترتیب به هدایت اولیه و نهایی اشاره می‌کند.

روش گرمایی

برای اندازه‌گیری درصد خسارت به غشا سلولی با استفاده از روش گرمایی نمونه برداری از آخرین برگ توسعه یافته در مراحل کاکل‌دهی و خمیری شدن دانه انجام شد. ۰/۱ گرم از قطعات برگی در آب مقطر سه بار شسته شدند و در ظروف حاوی ۱۰ میلی لیتر آب مقطر قرار گرفتند و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۴۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. بعد از سپری شدن این دوره هدایت الکتریکی آنها اندازه‌گیری شد (C_1) سپس نمونه‌ها به حمام آب جوش ($۱۰۰c^o$) به مدت ۱۰ دقیقه قرار گرفتند و هدایت الکتریکی آن نیز همانند بالا ثبت شد (C_2) و درصد خسارت به غشا سلولی بدین ترتیب محاسبه شد (Sing,1992):

(فرمول ۲) $[۱ - (C_1/C_2)] \times ۱۰۰ =$ درصد خسارت به غشا سلولی

عملکرد دانه

برای اندازه گیری عملکرد دانه هر کرت، از سه خط وسط کرت با رعایت اصول نمونه برداری مساحتی معادل ۳ مترمربع به صورت کف بر برداشت و به آزمایشگاه منتقل شد. آنگاه عملکرد دانه حاصل از بوته ها تعیین و بر حسب کیلوگرم در هکتار بیان شد.

برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از نرم افزار **MSTATC** استفاده شد. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال اشتباه ۰/۰۵ صورت گرفت. برای تعیین ضرایب همبستگی هم از نرم افزار SPSS استفاده شد.

نتایج و بحث

خسارت به غشا سلولی در شرایط خشکی

این بررسی روی ارقام هیبرید ذرت (سینگل کراس ۷۰۴، ۶۴۷ و ۵۰۰) انجام گرفت و درصد خسارت به غشا سلولی ۳۰ روز بعد از کاشت و مراحل کاکل‌دهی و خمیری شدن دانه تعیین شد. بین ارقام مورد بررسی به لحاظ خسارت به غشا سلولی در ۳۰ روز بعد از کاشت تفاوت بسیار معنی‌داری وجود داشت (جدول ۱). میزان آسیب به غشا سلولی ارقام مورد مطالعه در ۳۰ روز بعد از کاشت در ارقام سینگل کراس ۵۰۰، ۶۴۷ و ۷۰۴ به ترتیب ۳۴/۷۴، ۱۸/۸۳ و ۲۶/۲۵ درصد بود (جدول ۲). بنابراین در این مرحله سینگل کراس ۵۰۰ آسیب پذیرترین و سینگل کراس ۷۰۴ متحمل ترین غشا سلولی را دارا بودند. در مرحله کاکل‌دهی و خمیری شدن دانه نیز بین ارقام اختلاف معنی‌داری وجود داشت (جدول ۱). در اثر تنش ایجاد شده در اثر قطع آبیاری در مرحله کاکل‌دهی سینگل کراس ۶۴۷ بیشترین (۵۷/۴۷ درصد) و سینگل کراس ۵۰۰ (۴۴/۷۸ درصد)کمترین درصد خسارت به غشا سلولی را از خود نشان داد (جدول ۲) که با نتایج بدست آمده از مرحله ۳۰ روز بعد از کاشت مطابقت نداشت. اما در مرحله خمیری شدن دانه میزان خسارت به غشا سلولی ارقام سینگل کراس ۵۰۰، ۶۴۷ و ۷۰۴ به ترتیب ۴۳/۴۵، ۳۵/۹ و ۳۶/۵۶ درصد بود.

به عبارت دیگر مجددا رقم ۵۰۰ ناپایدارترین غشا سلولی را دارا بود که با نتایج حاصله در ۳۰ روز بعد از کاشت مطابقت داشت و حداکثر تفاوت ژنوتیپی بین ارقام در مرحله ۳۰ روز بعد از کاشت مشاهده می‌شود. در این مرحله میزان خسارت به غشا سلولی از ۱۸/۸۳ تا ۳۴/۷۵ درصد متغیر بود. به عبارت دیگر یک تفاوت ۱۵/۹۲ درصدی در میزان خسارت به غشا سلولی ارقام در این مرحله وجود داشت. در حالی که میزان این تفاوت در مرحله کاکل‌دهی و خمیری شدن دانه، به ترتیب ۱۲/۶۹ و ۷/۷۵ درصد بود. سینگ و همکاران(Sing *et al*., 1992) نیز اظـهار داشـت که حداکثر تفاوت‌های ژنوتیپی از لحاظ پایداری غشا سلولی در ۲۵ روز بعد از کاشت مشاهده می‌شود. با افزایش سن گیاه، معمولا میزان آسیب به غشای سلولی در اثر تنش خشکی کاهش می یابد،که احتمالا دلیل آن خوگیری گیاه به تنش است (Premachandra and shimada,1988). مشخص شده است که پلاسمالما از نخستین اندام‌هایی است که در اثر تنش‌های محیطی آسیب می‌بیند. در نتیجهٔ صدمه به غشای سلولی، تراوایی افزایش یافته و بدین ترتیب نشت الکتریکی از سلول باعث پژمردگی گیاه می‌شود(Blum and Ebercon,1981). یک استراتژی مهم در توسعه مقاومت به خشکی در گیاهان، حفاظت غشای سلولی در طی مواجهه با تنش کم آبی است (Vasquez-Tello,1990).

با توجه به جدول ضرایب همبستگی (جدول ۳) بین عملکرد دانه در شرایط تنش در مرحله کاکل‌دهی با درصد خسارت به غشا سلولی در مرحله کاکل دهی همبستگی منفی و معنی‌دار(۰/۴۲**-) وجود دارد، اما با درصد خسارت به غشا سـلولی در ۳۰ روز بعد از کاشـت همبسـتگی معنی‌داری وجود نداشت. در حالی که عملکرد دانه در شرایط تنش در مرحله خمیری شدن دانه با درصد خسارت به غشا سلولی در مرحله خمیری شدن و ۳۰ روز بعد از کاشت دارای همبستگی منفی و معنی‌داری (۰/۶۱**-) بود. همچنین بین درصد خسارت به غشا در این مرحله با درصد خسارت به غشا سلولی در ۳۰ روز بعد از کاشت نیز همبستگی مثبت و معنی‌دار (۰/۵۵**) وجود داشت.

جدول۱- تجزیه واریانس درصد خسارت به غشا سلولی ارقام مورد مطالعه در ۳۰ روز بعد از کاشت و مراحل کاکل‌دهی و خمیری شدن دانه به روش خشکی

Table 1. Cell membrane damage analysis of variance at 30 days after sowing (DAS) , silking and kernel doughing based on drought method

Source of variation	منابع تغییر	درجه آزادی df	Mean square میانگین مربعات		
			خمیری شدن دانه Grain dough stage	کاکل‌دهی SILK stage	۳۰ روز بعد از کاشت 30 days after sowing
Replication	تکرار	3	5. 59 ns	6. 74ns	17. 59*
Cultivar	رقم	2	69. 88*	186. 87*	253. 991**
Error	خطا	6	12. 526	18. 67	1. 846
CV %	ضریب تغییرات (٪)	-	9. 16	8. 7	5. 11

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

ns, * and **: Non- significant and significant at 5% and 1 % probability levels, respectively.

جدول ۲- مقایسه میانگین درصد خسارت به غشا سلولی ارقام در ۳۰ روز بعد از کاشت و مراحل کاکل دهی و خمیری شدن دانه به روش خشکی

Table 2. Mean comparison of cultivars cell membrane damage at 30 days after sowing silking and grain doughing based on drought method

	درصد خسارت به غشای سلولی (٪) Cell membrane damage (%)		
ارقام Cultivars	خمیری شدن دانه Grain doughing stage	کاکل دهی Silk stage	۳۰ روز بعد از کاشت 30 days after sowing
704	36. 56 [b]	46. 73 [b]	26. 25 [b]
647	35. 9 [b]	57. 47 [a]	18. 83 [c]
500	43. 45 [a]	44. 87 [b]	34. 75 [a]

میانگین‌های دارای حروف مشابه اختلاف معنی‌داری با آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ ٪ندارند.

Means with the same letters are not significantly different by Dancan's method at 5% probability level.

خسارت به غشا سلولی در شرایط تنش گرما

نتایج به دست آمده از روش گرمایی در مرحله کاکل-دهی و خمیری شدن دانه نیز اختلاف معنی‌داری را بین ارقام مورد مطالعه نشان داد (جدول ۴). نتایج به دست آمده افزایش خسارت به غشا سلولی را در شرایط تنش نسبت به شاهد در هر سه رقم نشان داد. با توجه به مقایسه میانگین(جدول ۵) در مرحله کاکل‌دهی سینگل کراس ۵۰۰ هم در شرایط تنش و هم در شرایط شاهد کمترین میزان خسارت به غشا سلولی را از خود نشان داد. نتایج بدست آمده در این قسمت با نتایج روش خشکی در مرحله کاکل‌دهی تا حدودی هم‌خوانی داشت زیرا در روش خشکی نیز سینگل کراس ۶۴۷ آسیب پذیرترین غشا را داشت اما سینگل کراس ۵۰۰ و سینگل کراس ۷۰۴ دارای غشا سلولی پایدارتری بودند. در روش گرمایی در مرحله خمیری شدن دانه، سینگل کراس ۵۰۰ در شرایط شاهد و در شرایط تنش دارای غشا سلولی آسیب پذیرتری بود. درضمن تفاوت بین ارقام از لحاظ خسارت به غشا سلولی در شرایط گرما در مرحله کاکل‌دهی نسبت به خمیری شدن دانه بیشتر نمایان بود (جدول ۵).

آسیب‌پذیرتر بودن سینگل کراس ۵۰۰ در مرحله خمیری شدن دانه را می‌توان به سن گیاه و زودرس بودن آن که باعث کوتاه بودن دوره زندگی می‌شود، نسبت داد. بین عملکرد دانه و درصد خسارت به غشا سلولی در شرایط تنش گرما در مرحله کاکل‌دهی و خمیری شدن دانه به ترتیب همبستگی منفی و معنی دار ۰/۷۵- و ۰/۸- وجود داشت.

باندارسکا و اسکوچک (Bandurska and Skocczek, 1995) نیز سن برگ، موقعیت برگ در ساقه و شدت تنش خشکی را در آسیب به غشا سلولی موثر دانسته و گزارش کرده‌اند که با افزایش سن گیاه و نزدیک شدن به مراحل پایانی دوره رشد گیاه، غشا سلول آسیب-پذیرتر خواهد شد. احتمالا تفاوت بین درصد خسارت به غشا سلولی در مرحله کاکل‌دهی و خمیری شدن دانه نیز ناشی از تفاوت در شدت تنش و همچنین سن گیاه است. به نظر می‌رسد که پایداری غشا سلولی در شرایط تنش گرما با سنتز پروتئین‌های شوک حرارتی و سیستم فتوسنتزی از جمله آنزیم‌های کلیدی و غشا تیلاکوئیدی مرتبط است (Redyy *et al*., 2004). هم تفاوت گونه‌ای و هم تفاوت ژنوتیپی در مورد پایداری غشا سلولی در شرایط تنش خشکی و گرما در گراس‌های علوفه‌ای گزارش شده است (Jiang and huang, 2001). تغییرات ناشی از تنش خشکی در غشا سلولی در سورگوم و ذرت گزارش شده است (Saneoka *et al*., 2004). پیش بینی می شود، ارقامی که دارای غشا سلولی پایداری در شرایط تنش خشکی هستند احتمالا به دلیل حفظ توان فتوسنتزی بالاتر، از عملکرد بالاتری نیز در همین شرایط برخوردار هستند.

جدول۳- ضرایب همبستگی بین درصد خسارت به غشا سلولی در اثر تنش خشکی در ۳۰ روز بعد از کاشت، کاکل‌دهی و خمیری شدن دانه به روش خشکی با عملکرد دانه

Table 3. Corelation coefficient between cell membrane damage at 30 days afrter sowing, silking and grain doughing based on drought method with grain yield under stress conditions

	عملکرد دانه در تنش از مرحله کاکل‌دهی grain yield in drought stress from silking stage	عملکرد دانه در تنش از مرحله خمیری شدن Grain yield in drought stress from doughing stage	خسارت به غشا در مرحله کاکل‌دهی Cell membrane damage at silking stage	خسارت به غشا در مرحله خمیری شدن Cell membrane damage at doughing stage
عملکرد دانه در از مرحله خمیری شدن grain Yield drought stress at doughing stage	- 0.01 ns			
خسارت به غشا در مرحله کاکل‌دهی Cell membrane damage at silking stage	-0.42**	-0.44**		
خسارت به غشا در مرحله خمیری شدن Cell membrane damage at kernel doughing stage	0.32 n. s	-0.54**	-0.31 ns	
خسارت به غشا ۳۰ روز بعد از کاشت Cell membrane damage at 30 days after sowing	-0.20 ns	-0.61**	0.33 ns	0.55**

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

ns and**: Non- significant and significant at 1% probability level, respectively.

جدول۴- نتایج تجزیه واریانس درصد خسارت به غشا سلولی ارقام در مرحله کاکل‌دهی و خمیری شدن ارقام در شرایط تنش گرما

Table 4. Analysis of variance of Cell membrane damage for cultivars at silking and kernel doughing under high temperature condition

Source of variation	منابع تغیرات	درجه آزادی df	میانگین مربعات (Mean square) مرحله خمیری شدن دانه Grain dough stage	مرحله کاکل‌دهی Silk stage
Replication	تکرار	3	2.76 ns	10.75 ns
Stress levels	سطوح تنش	1	87.309**	4278.88**
Error a	خطای a	3	2.14	12.65
cultivars	ارقام	2	0.777ns	846.19**
Cultivars×stress	رقم×سطوح تنش	2	8.301**	422.06**
Error b	خطای b	12	0.878	26.814
CV%	ضریب تغییرات(٪)		7.27	15.37

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

ns and**: Non- significant and significant at 1% probability level, respectively.

جدول ۵- میانگین درصد خسارت به غشای سلولی ارقام ذرت (سینگل کراس ۵۰۰، ۶۴۷ و ۷۰۴) در دو مرحله کاکل‌دهی و مرحله خمیری شدن دانه به روش گرمایی.

Table 5. Mean 'of cell membrane damage for cultivars (S. C. 500,647 and 704) at silk and kernel dough stages based on high temperature method.

تیمار	ارقام	Mean میانگین مرحله خمیری شدن دانه Kernel dough stage	مرحله کاکل‌دهی Silk satge
	704	9.95 c	23.66 bc
شاهد	647	9.2 c	20.8 bc
Control	500	12.5 b	16.54 c
	704	12.67 b	54.43 a
تنش	647	12.50 b	59.56 a
Stress	500	14.2 a	27.11 b

میانگین‌های دارای حروف مشابه اختلاف معنی‌داری با آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ ٪ ندارد.

Means with the same letters are not significantly different by Dancan's method at 5% Probability level.

جدول۶- ضرایب همبستگی پایداری غشا سلولی به روش گرمایی با عملکرد دانه

Table 6. Correlation coefficient between cell membrane damage based on high temperature method with kernel yield

	درصد خسارت به غشا سلولی روش گرمایی در مرحله خمیری شدن دانه Cell membrane damage based on high temperature method at kernel dough stage	درصد خسارت به غشا سلولی روش گرمایی مرحله کاکل‌دهی Cell membrane damage based on high temperature method at silk stage
عملکرد دانه Grain yield	-0.80**	-0.75**

** Significant at 1 % probability level.

** معنی‌دار در سطح احتمال ۱٪

در تنش خشکی اعمال شده از مرحله کاکل‌دهی کمترین عملکرد دانه مربوط به رقم ۷۰۴ بوده در صورتی که در این مرحله بیشترین خسارت به غشا سلولی مربوط به رقم ۶۴۷ بود. در تنش خشکی اعمال شده از مرحله خمیری شدن دانه نیز بیشترین درصد خسارت به غشا سلولی در رقم ۵۰۰ مشاهده شد که اختلاف معنی‌داری با دو رقم دیگر داشت ولی از لحاظ عملکرد دانه تفاوت معنی داری با رقم ۷۰۴ نداشت. به طورکلی در این بررسی افزایش خسارت به غشا سلولی باعث کاهش میزان عملکرد دانه شد. در عین حال، عدم تناسب بین مبزان کاهش عملکرد دانه و درصد خسارت به غشا به دلیل اختلاف در صفات فیزیولوژیک دیگر موثر در عملکرد دانه است.

طبق نتایج این آزمایش می‌توان گفت که پایداری غشا سلولی در ۳۰ روز بعد از کاشت و مرحله خمیری شدن دانه، می‌تواند معیار مناسبی از مقاومت گیاه ذرت به تنش خشکی فراهم نماید. همچنین ازلحاظ میزان خسارت به غشای سلولی در روش گرمایی بین ارقام مورد مطالعه تفاوت معنی‌داری مشاهده شد و میزان این صفت با عملکرد دانه همبستگی منفی معنی‌داری نشان داد. بنابراین آزمون اندازه‌گیری پایداری غشا سلولی در گیاه ذرت نیز همانند اکثر گیاهان مطالعه شده ،یک روش سریع برای غربال ژنوتیپ متحمل به خشکی است که درفضای کم و با امکان کنترل دقیق شرایط محیطی قابل اندازه گیری است.

جدول ۷- نتایج تجزیه واریانس عملکرد دانه

Table 7. Analysis of variance for grain yield

Source of variation	منابع تغییرات	درجه آزادی df	میانگین مربعات (Mean square) عملکرد دانه Kernel yield
Replication	تکرار	3	96751.4
Stress levels	سطوح تنش	2	67820857.4 **
Error a	خطای a	6	68805.2
Cultivars	رقم	2	996565.3 **
Stress ×Cultivars	رقم×سطوح تنش	4	2668464 **
Error b	خطای b	12	92521
CV %	ضریب تغییرات (درصد)		4.19

**: Significant at 1% probability level.

** معنی دار در سطح احتمال ۱٪

جدول ۸- مقایسه میانگین اثر متقابل سطوح تنش و رقم از لحاظ عملکرد دانه.

Table 8. Mean comparisons atr stress levels and cultivares interaction foor grain yield

سطوح تنش Stress levels	رقم Cultivar	عملکرد (kg/ha) Grain yield (kg/ha)
	704	11150 [a]
شاهد	647	9233 [b]
control	500	9358 [b]
	704	4755 [f]
تنش از مرحله کاکل دهی	647	5494 [e]
Stress from silk stage	500	5704 [de]
	704	6614 [c]
تنش از مرحله خمیری شدن	647	6113 [d]
Stress from kernel dough stage	500	6967 [c]

میانگین‌های دارای حروف مشابه اختلاف معنی‌داری با آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ ٪ ندارد.

Means with the same letters are not significantly different by Dancan's method at 5% erobability level.

References

Bajji, M., Kinet, J., Lutts, S. 2002. The use of the electrolyte leakage method for assessing cell membrane stability as a water stress tolerance test in durum wheat, **Plant Growth Regulation** 36: 61–70.

Bandurska, H. 2000. Dose praline accumulated in leaves of water stressed barley plants confine cell membrane injury. I. Free praline accumulation and membrane injury index in drought and osmotically stressed plants. **Acta Physiologiae Plantum** 22: 409-415.

Bandurska, H., and Skocczek, G. H. 1995. Cell membrane stability in two barley genotypes under water stress condition. **Acta Society Botani Poloniae** 64: 1. 29-32.

Blume, A. and Ebercon, A. 1981. Cell membrane stability as a measure of drought and heat tolerance in wheat. **Crop Science** 27: 1. 43– 47.

Chen, H. H., Shen, Z. Y., and Li, P. H. 1982. Adaptability of crop plants to high temperature strees. **Crop Science** 22: 719-725.

Debi, N., Alam, B., Gupta, S. P. and Ghosh, B. C. 1996. Cell membrane stability of leaf tissues and its relationship with drought tolerance in Arachis. **Indian Journal of Experimental Biology** 34: 10, 1044– 1047.

Egneus, H., Heber, U. and Krik, M. 1975. Reduction of Oxygen by the electron chain of chloroplasts dring assimilation of carbon dioxide. **Biochemistry & Biophysics Acta** 408: 252-268.

Farshadfar, E. and Mohammadi, R. 2003. An evaluation of physiological indices of drought tolerance in Agroperon using multiple-selection index. **Irranian Journal of Agricultural Scciences** 34: 3. 646-635. (In Persian)

Foyer, C. H., Leandais, M. and Kunert, K. J. 1994. Photoxidative stress in plants. **Plant Physiology** 92: 696-717.

Huang, B. 2000. Role of morgoligical and physiological caracteristics in drought resistance of plants. In: Willkinson,. (Eds.). Plant-Environmental Interactions. Marcel Dekker Inc. New York. P.: 39-64.

Inze, D. and M. Van Montago, M. 1995. Oxidative stress in plants. **Current Opinion Biotechnology** 6:153-158.

Jiang, Y., and Huang, N. 2001. Drought and heat stress injury to two cool season turfgrass in relation to antioxidant metabolism and lipid per oxidation. **Crop Science** 41: 342-346.

Kocheva, K., Lambrev, P., Georgiev, G., Goltsev, V. and Karabaliev, M. 2004. Evaluation of chlorophyll flouorescence and membrane injury in the leaves of barley cultivars under osmotic stress. **Bioeletrochemis** 63: 121-124.

Levitt, J. 1980. Responses of Plants to Environmental Stress: Water, Radiation, Salt and Other Stresses, Vol. II, Academic Press, NewYork, pp: 3-211.

Liang, Y., Chen, Q., Liu, Q., Zhang, W., and Ding, R. 2003. Exogenous silicon (Si) increases antioxidant enzyme activity and reduces lipid per oxidation in roots of salt-stressed barley (*Hordeum vulgar* L.). **Journal of Plant Physiology** 99: 872-878.

Mark, R., Kenneth, A. A. and Stanley, H. D. 1991. Leakage of intracellular substances as an indicator of freezing injury in alfalfa. **Crop Science** 31: 430-435.

Martineau, J. R., Specht, J. E., Williams, J. H. and Sullivan, C. Y. 1979. Temprature tolerance in soyabeans. I. Evaluation of a technique for assessing cellular memberane thermostability. **Crop Science** 19: 75-78.

Premachandra ,G. S. and Shimada, T. 1988. Evaluation of polyethylene glycol test of measuring cell membrane stability as a drought tolerance test in wheat. **Journal of Agricultural Science** 110: 429-433.

Raison, J. K., Berry, G. A., Armond, R. A. and Pike, C. K. 1980. Membrane properties in relation to the adaptation of plants to temprature stress. In: Turner, N. C., and P. J. Kramer (Eds.). Adaptation of Plants to Water and High Temprature Stress. John Wiely and Sons, PP: 261-273.

Reddy, A. R., K. V. Chaitanya & M. V. Vivekanadan. 2004. Drught-induced responses of photosynthesis and Antioxidant metabolism in higher plants. **Journal of Plant Phsiology** 161: 1189-1202.

Saadalla, M. M., Shanahan, J. F. and Quick, J. S. 1990. Heat tolerance in winter wheat. **Crop Science** 30: 1243-1247.

Saneoka, H., Moghaieb, R. E. A., Premachandra, G. S. and Fujita, K. 2004. Nitrogen nutrition and water stress effects on cell membrane stability and leaf water relations in *Agrostis palustris* Huds. **Environmental and Experimental Botany** 52: 131–138.

Shepherd, A. McGinn, S. M. and Wyseure, G. C. L. 2002. Simlution of the effect of water shortage on the yields of winter wheat in North-East England. **Ecological Modeling** 147: 41-52.

Sing, M., J. P. Srivastava & A. Kumar. 1992. Cell membran stability in relation to droght tolerance in wheat genotypes. **Journal of Agronomy & Crop Science** 168: 186-190.

Stanca, A. M. 1957. Biochemical and physiological response to heat and water stress in barley. In: Srivastava, J. P., E. Porceddu, E. Acevedo and S. Verma (Eds.). Drought Tolerance in Winter Cereals. John Wiely and Sons, NewYork, P 84-91.

Sullivan, C. Y. 1972. Mechanism of heat and drought resistance in grain sorghum and method of measurement. P 247–246. In: RAO, N. G. P. and L. R. House (Eds.). Sorghum in Seventies. Oxford and IBH Publishing Company, New Delhi.

Sullivan, C. Y. and Ross, W. M. 1979. Selecting for drought and heat resistance in grain sorghum. In: Mussel, H. and R. C. Staples (Eds.). Stress Physiology in Crop Plants. John Wiely and Sons, NewYork. PP. 263-281.

Vasquez-Tello, A. 1990. Electrolyte and Pi leakages and soluble sugar content as physiological test for screening resistance to water stress in Phaseolus and Vigna species. **Journal of Experimental Botany** 41: 827-832.

The effects of drought stress on cell membrane damage and kernel yield in three maize (*Zea mays* L.) cultivars

Meysam Norouzian[1], Farhad Jabbari[2*], Khalil Jamshidi[2], Jalal Saba[2] and Majid Pouryousef[2]

1, 2. Former MSc Student and Academic Staff Members, respectively, Faculty of Agriculture, Zanjan University

(Received: September 17, 2011- Accepted: January 2, 2012)

Abstract

Biological membranes are the first target of abiotic stresses, thus maintenance of their integrity and structure plays a crucial role in drought tolerance of the plants. An experiment was conducted to the split plots based on randomized complete block design with four replications at Zanjan Agricultural College in 2009. The experiment intended to evaluate the cell membrane damages percentage in three maize (*Zea mays* L.) cultivars based on drought and high temperature methods and determine their relationships to kernel yield. The levels of irrigations (control, drought stress imposed from silk stage and drought stress imposed from dough stage) were set in main plots, and cultivars (SC704, 647 and 500) were set in subplots. The results of this experiment showed significant difference among cultivars cell membrane damage of at all measurement stages (30 days after sowing, silk and kernel dough). The most genotypic differences; however, by considering the cell membrane damage occurred among cultivars after 30 days of sowing. SC500 showed the most unstable cell membrane during kernel dough stage and 30 days after sowing, but SC647 had the most unstable cell membrane in silk stage. The maximum negative correlation was shown between kernel yield and cell membrane damage in all cultivars 30 days after sowing. By considering the cell membrane damage in high temperature method, SC704 and SC500 showed to be the most unstable in silk and dough stages, respectively. Thus, it seems that genotypes screening based on cell membrane damage provides an appropriate criterion for drought stress tolerance.

Keywords: Cell membrane damage, Kernel yield, *Zea mays* L.

*Corresponding author: jabbarifarhad@yahoo.com, jabbari@znu.ac.ir