

## مطالعه‌ی قابلیت ترکیب‌پذیری صفات بیوشیمیایی و فیزیولوژیک ذرت (*Zea mays L.*) با کاربرد روش چهارم دای‌آل گریفینگ

مهدی رحیمی<sup>۱\*</sup> و مریم عبدلی‌نسب<sup>۱</sup>

۱- استادیار، گروه بیوتکنولوژی، پژوهشکده علوم محیطی، پژوهشگاه علوم و تکنولوژی پیشرفته و علوم محیطی، دانشگاه تحصیلات تکمیلی صنعتی و فناوری پیشرفته، کرمان

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۰۶/۲۴ - تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۰۹/۲۳)

### چکیده

صفات بیوشیمیایی و فیزیولوژیک در مواجهه با انواع تنش‌های محیطی تحت تاثیر قرار می‌گیرند و بنابراین اصلاح این صفات، نقش موثری در تحمل به تنش‌ها خواهد داشت. در این مطالعه، دورگ‌های حاصل از پنج لاین S7 ذرت در قالب یک طرح نیمه‌دی‌آل در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه تحصیلات تکمیلی صنعتی و فناوری پیشرفته، کرمان در طی سال زراعی ۹۶-۹۷ بر پایه طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار به منظور مطالعه قابلیت ترکیب‌پذیری صفات بیوشیمیایی و فیزیولوژیک ذرت مورد بررسی قرار گرفتند. نتایج تجزیه واریانس دی‌آل به روش چهارم گریفینگ نشان داد که واریانس ترکیب‌پذیری عمومی و خصوصی برای صفات پروتئین، پرولین، محتوای قند، کاروتنوئید، کلروفیل a، کلروفیل b و کلروفیل کل معنی‌دار است. بنابراین نقش اثرات افزایشی و غیرافزایشی در کنترل این صفات برآورد شد. صفات پروتئین، پرولین، کلروفیل a و کلروفیل کل بیشتر تحت کنترل اثرات افزایشی قرار داشتند در حالی که صفت کاروتنوئید بیشتر تحت کنترل اثرات غیرافزایشی بود و نقش اثرات افزایشی و غیرافزایشی در کنترل بقیه صفات تقریباً برابر بود. لاین KSC704-S7-11 برای اکثر صفات مورد مطالعه ترکیب‌پذیری عمومی مثبت و معنی‌داری نشان داد که می‌توان از این لاین در برنامه‌های به‌نژادی برای بهبود و افزایش تحمل به تنش‌ها استفاده نمود. علاوه بر آن، تلاقی‌های  $P1 \times P3$  و  $P4 \times P5$  نیز بیشترین ترکیب‌پذیری خصوصی مثبت و معنی‌داری را برای صفات پرولین، کلروفیل a، کلروفیل کل و کاروتنوئید نشان دادند، بنابراین به‌عنوان بهترین دورگ‌ها برای بهبود و افزایش تحمل به تنش در ذرت معرفی می‌شوند.

**واژگان کلیدی:** اثرات افزایشی و غیرافزایشی، ترکیب‌پذیری عمومی و خصوصی، عمل ژن

\* نویسنده مسئول، آدرس پست الکترونیکی: me.rahimi@kgut.ac.ir

## مقدمه

ذرت به‌عنوان یک نهاده اولیه برای صنعت نشاسته، روغن، پروتئین، نوشیدنی‌های الکلی، شیرینی‌ها و اخیراً سوخت‌های زیستی مورد استفاده قرار می‌گیرد و علاوه بر آن برای انسان و حیوانات نیز به‌عنوان غذا به‌کار مصرف می‌شود (Reddy Yerva *et al.*, 2016). ذرت نقش ۱/۳ درصدی در سبد غذایی کشور دارد و در ایران با سطح زیر کشت در حدود ۱۳۹ هزار هکتار و تولید یک میلیون تن با متوسط عملکرد ۷۶۹۰ کیلوگرم در هکتار چهارمین غله مهم بعد از گندم، جو و برنج است (Ahmadi *et al.*, 2018). با توجه به افزایش جمعیت و محدود بودن زمین‌های کشاورزی، ضرورت تکامل هیبریدهای جدید با عملکرد بالا و مقاوم به تنش‌های محیطی در ذرت برای آینده وجود دارد. برای رسیدن به این هدف، مطالعه قابلیت ترکیب‌پذیری یکی از راهکارهایی است که توسط محققین پیشنهاد شده است (Afarinesh *et al.*, 2005; Christie and Shattuck, 2010). اصطلاح ترکیب‌پذیری عمومی (GCA) برای نشان دادن عملکرد خوب یک ژنوتیپ در میان تعدادی تلاقی به کار برده می‌شود در حالی که ترکیب‌پذیری خصوصی (SCA) برای یافتن هیبریدی که بهترین عملکرد را دارد، استفاده می‌شود (Sprague and Tatum, 1942). ترکیب‌پذیری عمومی تخمینی از اثرات ژنتیکی افزایشی و ترکیب‌پذیری خصوصی برآوردی از اثرات غیرافزایشی ژن‌ها است. لاین‌های انتخابی با هم تلاقی داده می‌شوند تا بتوان ترکیب‌پذیری عمومی والدین، ترکیب‌پذیری خصوصی تلاقی‌ها، عمل ژن‌ها و هتروزیس را برآورد نمود (Reddy Yerva *et al.*, 2016).

از طرفی دیگر، تنش‌های محیطی تأثیر چشمگیری در محدود کردن رشد گیاهان و کاهش تولید محصولات کشاورزی از جمله ذرت دارند. بنابراین، شناخت دقیق ساختار ژنتیکی صفات درگیر با این تنش‌ها و تعیین روش اصلاحی این صفات کمک بسیار زیادی در بهبود گیاهان و تحمل این گیاهان به تنش خواهد داشت (Vats, 2018).

گزارش‌ها نشان می‌دهند که قرار گرفتن گیاهان در معرض انواع تنش‌های محیطی، می‌تواند تولید صفات بیوشیمیایی مانند محتوای پروتئین، پرولین، قندها و صفات فیزیولوژیک مثل انواع کلروفیل را تحت تأثیر قرار دهد (Ahmad and Prasad, 2012; Cha-Um and Kirdmanee, 2009; Devi and Chitdeshwari, 2019; Perveen and Nazir, 2018; Vats, 2018; Wani, 2018). گیاهان از طریق ساز و کارهای مختلفی مانند بستن روزنه‌ها، ضخیم شدن کوتیکول، افزایش وزن و طول ریشه، جلوگیری از کاهش پروتئین، افزایش پرولین، بالا نگهداشتن فتوستتوز و کاهش تنفس و تنظیم اسمزی می‌تواند در برابر تنش‌ها مقاومت کنند (Wani, 2018). بنابراین یک برنامه اصلاحی دورگ‌گیری می‌تواند اجزاء واریانس ژنتیکی و ترکیب‌پذیری والدین برای هر یک از ساز و کارهای بیان شده را شناسایی و نحوه عمل ژن یا ژن‌های دخیل در تظاهر صفات مذکور را تعیین کند و با انتخاب والدین با ترکیب‌پذیری عمومی و هیبریدهایی با ترکیب‌پذیری خصوصی بالا برنامه‌های اصلاحی آن‌ها را به پیش ببرد (Christie and Shattuck, 2010). روش تلاقی دی‌آلل از مهم‌ترین روش‌های اصلاحی هستند که برای این منظور استفاده می‌شوند و روش گریفینگ (Griffing, 1956a,b) یکی از روش‌های تجزیه دی‌آلل است که نوع عمل ژن‌های کنترل‌کننده صفات در والدین، بررسی ترکیب‌پذیری عمومی والدین و ترکیب‌پذیری خصوصی هیبریدها را نشان می‌دهد. روش چهارم گریفینگ به‌دلیل استفاده نکردن از والدین در تجزیه اریب کمتری دارد (Rahimi *et al.*, 2008). تلاقی‌های دی‌آلل در ذرت به‌طور گسترده‌ای برای برآورد اثر ژن‌های کنترل‌کننده صفات مطلوب و هم‌چنین شناخت ترکیب‌پذیری عمومی و خصوصی صفات زراعی به‌کار گرفته شده است. همچنین از طرح‌های ژنتیکی دیگر مثل تجزیه میانگین نسل‌ها (Dorri *et al.*, 2015) و همچنین لاین در تستر (Banaei *et al.*, 2016) برای بررسی عمل ژن‌های صفات فنولوژیک، مورفولوژیک، عملکرد دانه و اجزای عملکرد در ذرت استفاده شده است؛ اگرچه در

صفات بیوشیمیایی و فیزیولوژیک، نتایج حاصل از تلاقی بین والدین (هیبریدها) در مزرعه در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار کشت شدند و صفات بیوشیمیایی (پروتئین، پرولین، محتوای قند و کاروتنوئید) و انواع کلروفیل (کلروفیل a، کلروفیل b و کلروفیل کل) در آن‌ها اندازه‌گیری و مورد ارزیابی قرار گرفتند.

سنجش میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی کلروفیل a، b، کلروفیل کل و کاروتنوئیدها در برگ گیاهان هیبریدهای ذرت به ترتیب در طول موج‌های ۶۶۳، ۶۴۵ و ۴۷۰ نانومتر اندازه‌گیری شدند (Sudhakar et al., 2016) و غلظت آن‌ها برحسب میکروگرم بر گرم وزن تر با استفاده از معادله‌های ۴-۱ محاسبه شدند.

قند احیا با روش سوموگی (Somogyi, 1952) اندازه‌گیری و برحسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر محاسبه و ارائه گردید. غلظت پروتئین براساس روش برادفورد (Bradford, 1976) با دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۹۵ نانومتر سنجش شد. هم‌چنین برای اندازه‌گیری محتوای پرولین از روش بیتس و همکاران (Bates et al., 1973) استفاده گردید.

از آن‌جایی‌که داده‌های اندازه‌گیری شده بسیار کوچک بودند، ابتدا داده‌ها در ۱۰۰۰ ضرب شدند و سپس داده‌های به‌دست آمده مورد تجزیه واریانس قرار گرفتند و با توجه به معنی‌دار بودن واریانس تیمارها، تجزیه دای‌آل با روش چهارم گریفینگ (Griffing, 1956a,b) انجام شد. برای این منظور، مجموع مربعات تیمارها در روش چهارم گریفینگ به دو جزء مجموع مربعات ترکیب‌پذیری عمومی ( $SS_{gca}$ ) و خصوصی ( $SS_{sca}$ ) تفکیک شد.

مورد صفات بیوشیمیایی و فیزیولوژیک مطالعه‌ی چندانی صورت نگرفته است. البته بررسی قابلیت ترکیب‌پذیری عمومی و خصوصی صفات بیوشیمیایی و فیزیولوژیک در گیاهان دیگر به‌طور محدودی مورد مطالعه قرار گرفته است (Bhattarai et al., 2016; Eftekhari et al., 2016; Farshadfar et al., 2011; Kaushik and Dhaliwal, 2018).

بنابراین هدف از انجام تحقیق حاضر، تعیین چگونگی اثر ژن‌ها در کنترل ژنتیکی صفات بیوشیمیایی و فیزیولوژیک، هم‌چنین برآورد ترکیب‌پذیری عمومی والدین و ترکیب‌پذیری خصوصی هیبریدها و در نهایت انتخاب والدین مناسب و هم‌چنین هیبریدهای برتر است.

### مواد و روش‌ها

مواد گیاهی مورد مطالعه در این تحقیق پنج لاین اصلاح‌شده S<sub>7</sub> ذرت به نام‌های KSC704-S7-6، KSC704-S7-10، KSC704-S7-11، KSC704-S7-13 و KSC704-S7-14 بودند که از بین ۱۵ لاین ذرت انتخاب شده بودند. این ۱۵ لاین ذرت در مرحله S<sub>6</sub> در مزرعه ارزیابی شدند و نتایج تجزیه خوشه‌ای آن‌ها را در سه گروه و در پنج زیرگروه قرار داد که از هر زیر گروه یک لاین انتخاب شد (نتایج منتشر نشده است). تلاقی‌های مستقیم بین والدین (پنج لاین انتخابی از هر زیر گروه) در قالب یک طرح نیمه‌دی‌آل در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه تحصیلات تکمیلی صنعتی و فناوری پیشرفته در کرمان در سال زراعی ۹۵-۱۳۹۴ انجام شد. در سال زراعی بعد (۹۶-۱۳۹۵) به‌منظور برآورد ترکیب‌پذیری عمومی و خصوصی لاین‌های ذرت و نوع عمل ژن‌های کنترل‌کننده

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

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

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

$$\text{mg total carotenoids/g tissue} = [(A480 + (0.114 \times A663) - (0.638 \times A645)) \times \frac{V}{1000}] \times w \quad (4)$$

ترتیب، مجموع مربعات بین ژنوتیپ‌ها به ترکیب‌پذیری عمومی (GCA) و خصوصی (SCA) تفکیک و نوع عمل ژن‌ها مورد آزمون قرار گرفت. وجود اثرات افزایشی و غیرافزایشی ژن‌ها در کنترل ژنتیکی صفات مورد مطالعه با توجه به این که واریانس ترکیب‌پذیری عمومی والد‌ها و واریانس ترکیب‌پذیری خصوصی هیبریدها از نظر تمامی صفات در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بودند (جدول ۱)، مورد تأیید قرار گرفتند. در گیاهان دیگر نیز وجود اثرات افزایشی و غیرافزایشی در کنترل صفات بیوشیمیایی و فیزیولوژیک نشان داده شده است (Bhattarai *et al.*, 2016; Eftekhari *et al.*, 2016; Farshadfar *et al.*, 2011; Kaushik and Dhaliwal, 2018).

پایین بودن نسبت واریانس GCA به SCA در مورد صفت محتوای کاروتنوئید نشان داد که در کنترل ژنتیکی این صفت اثرات افزایشی و غیرافزایشی با سهم بیشتر اثرات غیرافزایشی نقش دارند.

علاوه بر آن، اثرات ترکیب‌پذیری عمومی برای والد‌ها ( $GCA_i$ ) و خصوصی برای هر تلاقی ( $SCA_i$ ) نیز برآورد گردید (Griffing, 1956a,b). از نسبت بیکر (Baker, 1978) نیز برای برآورد تقریبی اثر ژن‌ها در هر روش استفاده گردید:

$$\text{نسبت بیکر} = \frac{2MS_{GCA}}{2MS_{GCA} + MS_{SCA}} \quad (5)$$

به‌منظور تجزیه واریانس و همچنین برای تجزیه دای‌آل به روش گریفینگ از برنامه ارائه شده SAS (Zhang *et al.*, 2005) استفاده شد.

### نتایج و بحث

نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان داد که اختلاف بین تیمارها برای تمامی صفات مورد مطالعه در سطح یک درصد معنی‌دار است و بنابراین تجزیه گریفینگ به روش چهارم انجام شد و نتایج آن در جدول ۱ نشان داده شده است. اختلاف بین ژنوتیپ‌ها از نظر کلیه صفات در سطح احتمال یک درصد ( $p < 0.01$ ) معنی‌دار بود و به این

جدول ۱- تجزیه واریانس صفات بیوشیمیایی و فیزیولوژیک ذرت با روش چهارم گریفینگ

Table 1. Analysis of variance for biochemical and physiological traits of maize by fourth Griffing method

منابع تغییرات Source of variation	درجه آزادی d.f	میانگین مربعات Mean Square						
		محتوای پروتئین Protein content (mg/gfw)	محتوای پروکلین Proline content (mg/gfw)	محتوای قند Sugars content (mg/gfw)	کلروفیل a Chl. a (mg/gfw)	کلروفیل b Chl. b (mg/gfw)	کلروفیل کل Total Chl. (mg/gfw)	کاروتنوئید Carotenoids (mg/gfw)
تکرار Rep	2	0.00004 <sup>ns</sup>	0.0025 <sup>**</sup>	0.0253 <sup>ns</sup>	63.03 <sup>ns</sup>	15.09 <sup>ns</sup>	32.96 <sup>ns</sup>	3.79 <sup>ns</sup>
ژنوتیپ Genotype	9	0.0495 <sup>**</sup>	0.1195 <sup>**</sup>	2.454 <sup>**</sup>	1159502.28 <sup>**</sup>	279424.5 <sup>**</sup>	1439727.2 <sup>**</sup>	160958.22 <sup>**</sup>
ترکیب‌پذیری عمومی GCA	4	0.0698 <sup>**</sup>	0.1609 <sup>**</sup>	2.436 <sup>**</sup>	1564130.97 <sup>**</sup>	301451.6 <sup>**</sup>	2608381.2 <sup>**</sup>	95632.02 <sup>**</sup>
ترکیب‌پذیری خصوصی SCA	5	0.0334 <sup>**</sup>	0.0863 <sup>**</sup>	2.469 <sup>**</sup>	835799.33 <sup>**</sup>	261802.8 <sup>**</sup>	504803.9 <sup>**</sup>	213219.18 <sup>**</sup>
اشتباه Error	18	0.00011	0.0022	0.0161	1134.85	9.38	1113.33	113.03
ضریب تغییرات (%) CV%		0.156	0.555	0.248	1.044	0.806	0.925	0.961
نسبت بیکر Baker ratio		0.81	0.79	0.66	0.79	0.70	0.91	0.47
میانگین مربعات ترکیب‌پذیری عمومی / میانگین مربعات ترکیب‌پذیری خصوصی MSGCA/MSSCA		2.09	1.86	0.99	1.87	1.15	5.17	0.45

<sup>ns</sup> و <sup>\*\*</sup>: به ترتیب غیرمعنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد

<sup>ns</sup> and <sup>\*\*</sup>: Non-significant and significant at 1% probability level, respectively

نسبت بیکر به یک برای این صفات، از روش‌های اصلاحی مبتنی بر انتخاب یا هیبریداسیون و انتخاب در نسل‌های اولیه می‌توان در برنامه‌های به‌نژادی برای بهبود این صفات استفاده کرد. به این صورت که لاین‌ها تلاقی داده شده و به‌صورت روش بلال به ردیف انتخاب صورت می‌گیرد یا پس از چند نسل و انتخاب والدین مناسب، از آن‌ها برای تولید هیبرید استفاده خواهد شد. محققین دیگر نیز در مطالعه صفات دیگری مثل عملکرد و اجزای آن ( Afarinesh *et al.*, 2005; Choukan *et al.*, 2007; Hussain *et al.*, 2014; Issa *et al.*, 2018; Moradi, 2014; Ojo *et al.*, 2007; Zare *et al.*, 2011) و یا صفات بیوشیمیایی و فیزیولوژیک در گیاهان دیگر ( Bhattarai *et al.*, 2016; Eftekhari *et al.*, 2016; Farshadfar *et al.*, 2011; Kaushik and Dhaliwal, 2018) که به این صورت کنترل می‌شوند، پیشنهاد نموده‌اند که از روش‌های اصلاحی مبتنی بر انتخاب یا هیبریداسیون و انتخاب در نسل‌های اولیه، برای بهبود این صفات در برنامه‌های به‌نژادی می‌توان استفاده کرد.

اثرات GCA و SCA برای صفت محتوای پروتئین در جدول ۲ نشان داده شده است. لاین‌های KSC704-S7-13 و KSC704-S7-10 دارای بیشترین GCA مثبت و معنی‌دار بودند. بنابراین این والدین پتانسیل انتقال افزایش محتوای پروتئین را به نتاج خود دارا هستند. با توجه به این که هرچه محتوای پروتئین بیشتر باشد، گیاه بهتر تنش‌های محیطی را تحمل می‌کند و در نتیجه تحمل بهتر باعث افزایش عملکرد خواهد شد، لذا از این والدین می‌توان در برنامه‌های به‌نژادی برای رسیدن به دورگ‌های با تحمل بیشتر به تنش‌ها و در نتیجه عملکرد بالا استفاده نمود. تلاقی‌های KSC704-S7-11 × KSC704-S7-10 و KSC704-S7-13 × KSC704-S7-10 دارای SCA مثبت و معنی‌دار بودند. به‌طوری که می‌توان از این تلاقی‌ها برای افزایش محتوای پروتئین استفاده نمود یا در نسل‌های پیشرفته از این تلاقی‌ها گیاهانی با محتوای پروتئین بیشتر را انتخاب و این صفت را در نتاج حاصل تثبیت نمود (جدول ۲). در مورد محتوای پرولین، لاین KSC704-S7-11 دارای GCA مثبت و معنی‌دار بود (جدول ۲).

به‌علاوه نسبت بیکر نیز برای این صفت پایین و حاکی از کنترل ژنتیکی این صفات توسط اثرات غیرافزایشی ژن‌ها بود. با توجه به نتایج این تحقیق که سهم بیشتر اثر غیرافزایشی ژن‌ها را در کنترل این صفت نشان داد و نیز پایین بودن نسبت بیکر برای این صفت، برای اصلاح ارزش ژنوتیپی این صفت پیشنهاد می‌شود از روش‌های اصلاحی مبتنی بر دورگ‌گیری در برنامه‌های به‌نژادی استفاده گردد. محققین در مطالعه صفات دیگری مثل عملکرد و اجزای آن که به این صورت کنترل می‌شوند این روش به‌نژادی را پیشنهاد نموده‌اند ( Issa *et al.*, 2018; Karim *et al.*, 2018; Wattoo *et al.*, 2014; Zare *et al.*, 2011).

واریانس ترکیب‌پذیری عمومی (GCA) والد‌ها و ترکیب‌پذیری خصوصی (SCA) هیبریدها برای صفات محتوای قند و کلروفیل b در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار و حاکی از کنترل این صفات توسط اثرات افزایشی و غیرافزایشی ژن‌ها با سهم تقریباً برابر هر دو اثر بود (جدول ۱). نسبت واریانس GCA به SCA در مورد این صفات نزدیک یک بود و هم‌چنین نسبت بیکر نیز نزدیک به ۰/۵ و حد متوسط بود که نشان از کنترل این صفات توسط اثرات افزایشی و غیرافزایشی با سهم تقریباً برابر است. بنابراین برای اصلاح ارزش ژنوتیپی این صفات پیشنهاد می‌شود از روش‌های اصلاحی مبتنی بر دورگ‌گیری و انتخاب در نسل‌های پیشرفته در برنامه‌های به‌نژادی استفاده گردد.

در مورد صفات محتوای پروتئین، پرولین، کلروفیل a و کلروفیل کل نتایج نشان داد که نسبت واریانس GCA به SCA بالا می‌باشد و حاکی از این بود که در کنترل این صفات اثرات افزایشی ژن‌ها سهم بیشتری از اثرات غیرافزایشی ژن‌ها دارند. نسبت بیکر محاسبه شده نیز برای این صفات نزدیک به یک بود و نشان داد که نقش اثرات افزایشی ژن‌ها در کنترل ژنتیکی این صفات بیشتر از اثرات غیرافزایشی ژن‌ها است. با توجه به این که گزینش در مورد صفاتی که دارای واریانس افزایشی قابل ملاحظه‌ای هستند می‌تواند موفقیت‌آمیز باشد، بنابراین با توجه به سهم بیشتر اثرات افزایشی ژن‌ها در کنترل این صفات و نزدیک بودن

جدول ۲- ترکیب‌پذیری عمومی والد‌ها و خصوصی هیبریدها به روش چهارم گریفینگ

Table 2. General combining ability of parents and specific combining ability of hybrids by fourth Griffing method

والدین و تلاقی‌ها Parents and crosses	صفات مورد مطالعه Studied traits						
	محتوای پروتئین Protein content (mg/gfw)	محتوای پرولین Proline content (mg/gfw)	محتوای قند Sugars content (mg/gfw)	کلروفیل a Chl. a (mg/gfw)	کلروفیل b Chl. b (mg/gfw)	کلروفیل کل Total Chl. (mg/gfw)	کاروتنوئید Carotenoids (mg/gfw)
KSC704-S7-6 (P1)	-0.086**	-0.089**	0.784**	-215.47**	-120.04**	-335.51**	92.69**
KSC704-S7-10 (P2)	0.062**	-0.084**	0.04 <sup>ns</sup>	316.87**	-146.99**	169.88**	-61.59**
KSC704-S7-11 (P3)	0.027**	0.234**	-0.638**	564.42**	309.59**	874.01**	124.07**
KSC704-S7-13 (P4)	0.096**	-0.034**	0.051 <sup>ns</sup>	-396.586**	3.32**	-393.25**	-40.93**
KSC704-S7-14 (P5)	-0.099**	-0.025**	-0.238**	-269.24**	-45.89**	-315.13**	-114.23**
P1 × P2	-0.043**	0.12**	-0.694**	-331**	211.81**	-119.19**	-200.58**
P1 × P3	-0.001 <sup>ns</sup>	0.102**	0.417**	83.11**	124.86**	207.97**	259.85**
P1 × P4	-0.1**	-0.193**	-0.639**	-260.22**	-239.04**	-499.26**	79.52**
P1 × P5	0.144**	-0.029**	0.917**	508.11**	-097.63**	410.48**	-138.78**
P2 × P3	0.066**	-0.147**	-0.272**	539.11**	-407.99**	131.12**	194.97**
P2 × P4	0.061**	0.161**	1.306**	318.44**	-1.96 <sup>ns</sup>	316.48**	-20.09**
P2 × P5	-0.084**	-0.134**	-0.339**	-526.55**	198.15**	-328.41**	25.71**
P3 × P4	0.016**	-0.043**	-0.117*	-349.44**	312.33**	-37.12**	-313.66**
P3 × P5	-0.082**	0.088**	-0.028 <sup>ns</sup>	-272.78**	-29.19**	-301.97**	-141.16**
P4 × P5	0.022**	0.076**	-0.55**	291.22**	-71.33**	219.89**	254.24**

<sup>ns</sup>, \* و \*\* به ترتیب غیرمعنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد

<sup>ns</sup>, \* and \*\*: Non-significant and significant at 5% and 1% probability levels, respectively

افزایش آن‌ها و در نهایت افزایش عملکرد استفاده نمود (جدول ۲).

ترکیب‌پذیری عمومی والد‌ها برای صفت محتوای قند در روش چهارم گریفینگ از ۰/۶۳۸- در لاین KSC704-S7-6 تا ۰/۷۸۴ در لاین KSC704-S7-6 متغیر بود. ترکیب‌پذیری خصوصی دورگ‌ها نیز از ۰/۶۹۴- در تلاقی P1 × P2 تا ۱/۳۰۶ در تلاقی P2 × P4 نوسان داشت (جدول ۲). لاین KSC704-S7-6 بیشترین ترکیب‌پذیری عمومی مثبت و معنی‌دار و همچنین دورگ‌های P2 × P4، P1 × P3 و P1 × P5 نیز به ترتیب بیشترین ترکیب‌پذیری خصوصی مثبت و معنی‌دار را برای این صفت نشان دادند و بنابراین از آن‌ها می‌توان برای بهبود افزایش محتوای قند استفاده نمود (جدول ۲). از آنجایی‌که این صفت از صفات مهم برای افزایش تحمل به تنش‌ها است، لذا این لاین و دورگ‌ها دارای پتانسیل بهبود این صفت در بهره‌گیری از اثرات افزایشی و غیرافزایشی ژن‌ها می‌باشند.

نتایج تجزیه واریانس کاروتنوئید تفاوت معنی‌داری بین والد‌ها و تلاقی‌ها را از نظر ترکیب‌پذیری عمومی و خصوصی نشان داد (جدول ۱). به علاوه، هر دو اثر

هم‌چنین تلاقی‌های P2 × P4، P3 × P5 و P4 × P5 به ترتیب دارای بیشترین SCA مثبت و معنی‌دار بودند (جدول ۲)، به طوری که می‌توان در نسل‌های پیشرفته از این تلاقی‌ها گیاهانی با محتوای پرولین بیشتر و مناسب را انتخاب و این صفت را در نتاج حاصل تثبیت نمود و از این طریق در تحمل گیاهان به تنش‌ها گامی موثر برداشت و در نهایت عملکرد را افزایش داد. صفات کلروفیل a، کلروفیل b و کلروفیل کل در فتوسنتز نقش داشته و بنابراین با افزایش این صفات می‌توان فتوسنتز را بیشتر و در نهایت افزایش عملکرد را به دنبال داشت. از آنجایی‌که این صفات به‌عنوان صفات مؤثر در فتوسنتز بوده و با افزایش آن‌ها عملکرد دانه هم افزایش می‌یابد، لذا هرگونه اقدام اصلاحی در مورد افزایش این صفات تأثیر بسزایی بر افزایش عملکرد خواهد داشت. با توجه به این‌که لاین KSC704-S7-11 برای صفات کلروفیل a، کلروفیل b و کلروفیل کل، و هم‌چنین لاین KSC704-S7-10 برای صفات کلروفیل a و کلروفیل کل دارای GCA مثبت و معنی‌دار بودند، بنابراین می‌توان از این لاین‌ها به‌عنوان والد بهبود دهنده این صفات در برنامه‌های به‌نژادی برای

افزایشی و غیر افزایشی ژن‌ها با سهم بیشتر اثرات افزایشی قرار داشتند، درحالی‌که صفات محتوای قند و کلروفیل b تحت کنترل اثرات افزایشی و غیرافزایشی ژن‌ها با سهم تقریباً برابر هر دو اثرات قرار داشتند. هم‌چنین نقش اثرات غیرافزایشی ژن‌ها در کنترل محتوای کاروتنوئید بیشتر بود. لاین KSC704-S7-11 برای اکثر صفات بیوشیمیایی و فیزیولوژیک به‌جز صفت محتوای قند ترکیب‌پذیری عمومی مثبت و معنی‌داری نشان داد که می‌توان از این لاین در برنامه‌های اصلاحی برای بهبود و افزایش آن صفات و در نتیجه تحمل به تنش در برنامه‌های به‌نژادی برای تولید ارقام و هیبریدهای جدید استفاده نمود. هم‌چنین نتایج نشان داد که تلاقی‌های  $P1 \times P3$  و  $P4 \times P5$  برای اکثر صفات بیوشیمیایی و فیزیولوژیک ترکیب‌پذیری خصوصی مثبت و معنی‌داری نشان دادند، بنابراین این دورگ‌ها به‌عنوان بهترین دورگ، برای بهبود و افزایش تحمل به تنش در ذرت هستند. ترکیب‌پذیری خصوصی مثبت و مطلوب برای اکثر صفات مورد مطالعه نشان داد که پتانسیل لازم برای شناسایی هیبرید در برنامه‌های اصلاحی وجود دارد. در کل ارتباط نزدیکی بین اثرات ترکیب‌پذیری خصوصی و صفات مورد مطالعه مشاهده شد که می‌تواند زمینه لازم برای شناسایی بهترین هیبریدها براساس اثرات ترکیب‌پذیری خصوصی باشد.

#### سپاسگزاری

این پژوهش در قالب طرح پژوهشی شماره ۲۷۹۸ / ۹۷ با استفاده از اعتبارات پژوهشی-پژوهشگاه علوم و تکنولوژی پیشرفته و علوم محیطی، دانشگاه تحصیلات تکمیلی صنعتی و فناوری پیشرفته، کرمان، ایران انجام شده است.

افزایشی و غیر افزایشی ژن‌ها با سهم بیشتر اثرات غیرافزایشی در کنترل این صفت به اثبات رسید. بنابراین روش‌های مبتنی بر دورگ‌گیری و انتخاب در نسل‌های پیشرفته را برای اصلاح این صفت پیشنهاد می‌شود. نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که لاین‌های KSC704-S7-11 و KSC704-S7-6 دارای بیشترین GCA مثبت و معنی‌دار بودند و به این ترتیب این والد‌ها قابلیت انتقال افزایش کاروتنوئید به نتاج خود را دارا هستند (جدول ۲) و با افزایش آن در تحمل به تنش می‌توانند نقش موثری داشته باشند. هم‌چنین، تلاقی‌های  $P1 \times P3$  و  $P4 \times P5$  دارای بیشترین SCA مثبت و معنی‌دار بودند که شاید بتوان در نسل‌های پیشرفته از این تلاقی‌ها گیاهانی با محتوای کاروتنوئید بالا را انتخاب و این صفت را در نتاج حاصل تثبیت نمود. با توجه به این که کشاورزان به دنبال افزایش محصول هستند، هم‌چنین با توجه به محدودیت در منابع کشاورزی و رشد روز افزون جمعیت و هم‌چنین وجود تنش‌ها، ارقام متحمل به تنش‌ها می‌توانند با کاهش خسارت تنش‌ها و کاهش عملکرد در نتیجه تنش‌ها، افزایش محصولات را در زمان وقوع تنش‌ها به‌دنبال داشته باشند. بنابراین با بهره‌گیری از سطوح هتروزیس بالادر نتاج حاصل از این والد‌ها می‌توان در برنامه‌های به‌نژادی برای تولید هیبریدهای متحمل به تنش و در نتیجه عملکرد بالا در شرایط تنش استفاده نمود و گام مؤثری در افزایش تولید و عملکرد ذرت برداشت.

نتایج حاصل از تجزیه دای آلل  $5 \times 5$  ذرت به روش چهارم گریفینگ نشان داد که صفات پروتئین، پرولین، کلروفیل a و کلروفیل کل تحت تأثیر اثرات افزایشی و

#### References

- Afarinesh, A., Farshadfar, E.A. and Choukan, R. (2005). Genetic analysis of drought tolerance in maize (*Zea mays* L.) using diallel method. *Seed and Plant*, **20**: 457-473 (In Persian).
- Ahmad, P. and Prasad, M.N.V. (2012). *Abiotic Stress Responses in Plants: Metabolism, Productivity and Sustainability*. Springer Science & Business Media, LLC, New York, USA.
- Ahmadi, K., Ebadzadeh, H.R., Abd-Shah, H., Kazimian, A. and Raffei, M. (2018). *Agricultural Statistics of Crop Years 2016-17, Volume One: Crop Production*. Ministry of Agriculture-Jahad, Planning and Economics Affairs, Information and Communication Technology Center, Tehran, Iran (In Persian).
- Baker, R. (1978). Issues in diallel analysis. *Crop Science*, **18**: 533-536.

- Banaei, R., Baghizadeh, A. and Khavari Khorasani, S.** (2016). Estimates of genetic variance parameters and general and specific combining ability of morphological traits, yield and yield components of maize hybrids in normal and salt stress conditions. *Plant Genetic Researches*, **3(1)**: 57-74 (In Persian).
- Bates, L., Waldren, R. and Teare, I.** (1973). Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and Soil*, **39**: 205-207.
- Bhattacharai, U., Talukdar, P., Sharma, A. and Das, R.** (2016). Combining ability and gene action studies for heat-tolerance physio-biochemical traits in tomato. *Asian Journal of Agricultural Research*, **10**: 99-106.
- Bradford, M.M.** (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, **72**: 248-254.
- Cha-Um, S. and Kirdmanee, C.** (2009). Effect of salt stress on proline accumulation, photosynthetic ability and growth characters in two maize cultivars. *Pakistan Journal of Botany*, **41**: 87-98.
- Choukan, R., Abtahi, H. and MajidiHeravan, E.** (2007). Genetic analysis of different traits in maize using diallel cross analysis. *Iranian Journal of Agriculture Science*, **8**: 343-356 (In Persian).
- Christie, B. and Shattuck, V.** (2010). The Diallel Cross: Design, Analysis, and Use for Plant Breeders. In: Janick, J., Ed., *Plant Breeding Reviews, Volume 74*, pp. 9-36. John Wiley & Sons, New Jersey, USA.
- Devi, B.N. and Chitdeshwari, T.** (2019). Physiological and morphological traits of Maize hybrids under saline water irrigation. *Indian Journal of Experimental Biology*, **57**: 188-194.
- Dorri, P., Khavari Khorasani, S., Vali Zadeh, M. and Taheri, P.** (2015). Investigation the heritability and gene effects on yield and some agronomic traits of maize (*Zea mays* L.). *Plant Genetic Researches*, **1(2)**: 33-42 (In Persian).
- Eftekhari, A., Baghizadeh, A., Abdolshahi, R. and Yaghoobi, M.M.** (2016). Genetic analysis of physiological traits and grain yield in bread wheat under drought stress conditions. *Biological Forum – An International Journal*, **8**: 305-317.
- Farshadfar, E., Mohammadi, M. and Haghparast, R.** (2011). Diallel analysis of agronomic, physiological and metabolite indicators of drought tolerance in bread wheat (*Triticum aestivum* L.). *International Journal of Plant Breeding*, **5**: 42-47.
- Griffing, B.** (1956a). Concept of general and specific combining ability in relation to diallel crossing systems. *Australian Journal of Biological Sciences*, **9**: 463-493.
- Griffing, B.** (1956b). A generalized treatment of the use of diallel crosses in quantitative inheritance. *Heredity*, **10**: 31-50.
- Hussain, M., Shah, K., Ghafoor, A., Kiani, T. and Mahmood, T.** (2014). Genetic analysis for grain yield and various morphological traits in maize (*Zea mays* L.) under normal and water stress environments. *The Journal of Animal & Plant Sciences*, **24**: 1230-1240.
- Issa, Z., Nyadanu, D., Richard, A., Sangare, A., Adejumobi, I. and Ibrahim, D.** (2018). Inheritance and combining ability study on drought tolerance and grain yield among early maturing inbred lines of maize (*Zea mays* L.). *Journal of Plant Breeding and Crop Science*, **10**: 115-127.
- Karim, A., Ahmed, S., Akhi, A., Talukder, M. and Mujahidi, T.** (2018). Combining ability and heterosis study in maize (*Zea mays* L.) hybrids at different environments in Bangladesh. *Bangladesh Journal of Agricultural Research*, **43**: 125-134.
- Kaushik, P. and Dhaliwal, M.** (2018). Diallel analysis for morphological and biochemical traits in tomato cultivated under the influence of tomato leaf curl virus. *Agronomy*, **8(8)**: 153.
- Moradi, M.** (2014). Genetic analysis for grain yield and yield contributing characters in maize (*Zea mays* L.). *International Journal of Biosciences*, **5**: 173-179.
- Ojo, G., Adedzwa, D. and Bello, L.** (2007). Combining ability estimates and heterosis for grain yield and yield components in maize (*Zea mays* L.). *Journal of Sustainable Development in Agriculture and Environment*, **3**: 49-57.
- Perveen, S. and Nazir, M.** (2018). Proline treatment induces salt stress tolerance in maize (*Zea Mays* L. CV. Safaid Afgoi). *Pakistan Journal of Botany*, **50**: 1265-1271.
- Rahimi, M., Rabiei, B., Samizadeh Lahiji, H. and Kafi Ghasemi, A.** (2008). Evaluation of combining ability in rice cultivars based on second and fourth griffing methods. *Journal of Water and Soil Science*, **12**: 129-141 (In Persian).



- Reddy Yerva, S., Sekhar, T.C., Allam, C.R. and Krishnan, V.** (2016). Combining ability studies in maize (*Zea mays* L.) for yield and its attributing traits using Griffing's diallel approach. *Electronic Journal of Plant Breeding*, **7**: 1046-1055.
- Somogyi, M.** (1952). Notes on sugar determination. *Journal of Biological Chemistry*, **195**: 19-23.
- Sprague, G.F. and Tatum, L.A.** (1942). General vs. specific combining ability in single crosses of corn. *Agronomy Journal*, **34**: 923-932.
- Sudhakar, P., Latha, P. and Reddy, P.** (2016). *Phenotyping Crop Plants for Physiological and Biochemical Traits*. Academic Press, Utah, USA.
- Vats, S.** (2018). *Biotic and Abiotic Stress Tolerance in Plants*. Springer Nature Singapore Pte Ltd., Kallang, SG.
- Wani, S.H.** (2018). *Biochemical, Physiological and Molecular Avenues for Combating Abiotic Stress in Plants*. Elsevier Science, Georgia, USA.
- Wattoo, F.M., Saleem, M. and Sajjad, M.** (2014). Identification of potential F1 hybrids in maize responsive to water deficient condition. *American Journal of Plant Sciences*, **5**: 1945-1955.
- Zare, M., Choukan, R., Bihamta, M.R., MajidiHeravan, E. and Kamelmanesh, M.M.** (2011). Gene action for some agronomic traits in maize (*Zea mays* L.). *Crop Breeding Journal*, **1(2)**: 133-141.
- Zhang, Y., Kang, M.S. and Lamkey, K.R.** (2005). DIALLEL-SAS05: A comprehensive program for Griffing's and Gardner-Eberhart analyses. *Agronomy Journal*, **97**: 1097-1106.

## Combining Ability Study of Biochemical and Physiological Traits of Maize (*Zea mays* L.) Using fourth Diallel Griffing's Method

Mehdi Rahimi<sup>1,\*</sup> and Maryam AbdoliNasab<sup>1</sup>

1- Assistant Professor, Department of Biotechnology, Institute of Science and High Technology and Environmental Sciences, Graduate University of Advanced Technology, Kerman, Iran.

(Received: September 15, 2019 – Accepted: December 14, 2019)

### Abstract

Biochemical and physiological traits are affected by environmental stresses and therefore the breeding of these traits will play an effective role in stress tolerance. In this study, hybrids of five  $S_7$  lines of maize in a  $5 \times 5$  half-diallel design were investigated in order to study the combining ability of biochemical and physiological traits of maize at the Research Farm of Graduate University of Advanced Technology, Kerman, Iran during the 2017-18 crop year based on randomized complete block design with three replications. The results of analysis of variance by fourth Griffing's method showed that the general (GCA) and specific (SCA) combining ability variances were significant for protein, proline, sugar content, carotenoid, chlorophyll a, chlorophyll b and total chlorophyll traits. Therefore, the role of additive and non-additive effects was identified in controlling these traits. Protein, proline, chlorophyll a and total chlorophyll traits were more controlled by additive effects, whereas the carotenoid trait was more controlled by non-additive effects and the role of additive and non-additive effects in controlling other traits was almost equal. The KSC704-S7-11 line showed positive and significant general combining ability for most of the studied traits, suggesting this line can be used in breeding programs to improve and increase stress tolerance. In addition,  $P1 \times P3$  and  $P4 \times P5$  crosses showed the most positive and significant specific combining ability for proline, chlorophyll a, total chlorophyll and carotenoid traits; thus they can be considered as the best hybrids to improve and increase stress tolerance in corn.

**Keywords:** Additive and non-additive effects, General and specific combining ability, Gene action

---

\* Corresponding Author, E-mail: me.rahimi@kgut.ac.ir