



## تحقیقات غلات

دوره هشتم / شماره چهارم / زمستان ۱۳۹۷ (۴۸۲-۴۷۱)

# برآورد هتروزیس تحمل به سرما در مرحله گیاهچه‌ای ذرت با استفاده از برخی صفات فیزیولوژیک

زهرا عرفانی‌مقدم<sup>۱</sup>، رضا فتوت<sup>۲\*</sup>، احسان محسنی‌فرد<sup>۳</sup> و ویکتور رودریگز<sup>۴</sup>

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۱۱/۴

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۸/۱۹

### چکیده

حساسیت ذرت به تنش سرما طی مراحل اولیه رشد اتوتروفیک، محدودیت مهمی جهت کاشت آن در مناطق سرد به‌شمار می‌رود. به‌منظور شناسایی اساس فیزیولوژیک هتروزیس تحمل به سرما در گیاهچه ذرت، تغییرات برخی از صفات فیزیولوژیک در لاین‌ها و هیبریدهای متحمل و حساس به سرما در مرحله گیاهچه‌ای در دانشگاه زنجان در سال ۱۳۹۶ مورد مطالعه قرار گرفت. نتایج نشان داد که تأثیر تیمار سرما بر صفات فلورسانس کلروفیل، محتوای رطوبت نسبی، نشت الکترولیت، محتوای کلروفیل a، محتوای کلروفیل b، کاروتنوئیدها، حجم ریشه، سطح ریشه و وزن خشک ریشه معنی‌دار بود. هتروزیس نسبت به والد برتر در محتوای کلروفیل b، سطح ریشه، حجم ریشه و نشت الکترولیت در بیش‌تر هیبریدها مشاهده شد. کارایی هیبرید MO17×EP80 از نظر صفات فیزیولوژیک تحت شرایط تنش نسبت به بقیه هیبریدها بهتر بود. هیبریدهای EP42×MO17 و A661×MO17 نیز رشد و گستردگی ریشه بهتری تحت شرایط تنش سرما داشتند. همبستگی معنی‌دار بین مقادیر هتروزیس فقط در برخی صفات که دارای اساس ژنتیکی، فیزیولوژیک و یا نمودی مشترک بودند، مانند وزن خشک ریشه و محتوای آب نسبی و یا محتوای کلروفیل b و نشت الکترولیت مشاهده شد، اما همبستگی بین مقادیر هتروزیس در سایر صفات به‌طور کلی ضعیف بود که نشان می‌دهد اساس ژنتیکی هتروزیس وابسته به صفت است و احتمالاً توسط یک مکانیسم واحد کنترل نمی‌شود. وجود اختلافات معنی‌دار بین ژنوتیپ‌ها در همه صفات، امکان جدیدی برای بهبود تحمل به تنش سرما در یک گیاه گرمسیری با استفاده از اصلاح نباتات فراهم می‌کند.

**واژه‌های کلیدی:** راندمان کوانتومی فتوسیستم II (Fv/Fm)، ریشه، محتوای کلروفیل، نشت الکترولیت

- ۱- دانشجوی دکتری، گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان، زنجان، ایران
  - ۲- دانشیار، گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان، زنجان، ایران
  - ۳- استادیار، گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان، زنجان، ایران
  - ۴- استاد، عضو گروه ژنتیک شورای تحقیقات بین‌المللی اسپانیا (CSIC)، مادرید، اسپانیا
- \* نویسنده مسئول: [r\\_fotovat@znu.ac.ir](mailto:r_fotovat@znu.ac.ir)

## مقدمه

تنش سرما یکی از عوامل محیطی مهم غیرزیستی است که محدودکننده رشد، باروری و پراکنش جغرافیایی گیاهان است (Zhu *et al.*, 2007). ذرت (*Zea mays* L.) به عنوان گیاهی گرمسیری، منبع غذایی جمعیت بزرگی از جهان است و سومین غله مهم بعد از گندم و برنج به شمار می رود (Aslam *et al.*, 2013, Naveed *et al.*, 2014). با این حال، امروزه ذرت در طیف وسیعی از ارتفاعات و مناطق سردسیر کشت می شود که در نتیجه سازگاری های زیادی است که برای پایداری عملکرد ذرت صورت گرفته است (Ali *et al.*, 2014). ذرت به طور ذاتی یک گیاه گرمادوست است و معمولاً دمای پایه به کار رفته برای این گیاه ده درجه سلسیوس است (Cross and Zuber, 1972). بنابراین کشت ذرت در مناطق سردسیر همواره با مشکلاتی همراه است و سرما در این مناطق همواره یک تهدید برای ذرت بهاره در طول مراحل اولیه رشد به شمار می رود، به طوری که اصلاح ذرت برای مقاومت به سرما یک هدف مهم در مناطق سردسیر است. از طرف دیگر با افزایش مقاومت به سرما در ذرت می توان با کشت بهاره زودهنگام از مزایای مختلف زراعی مانند امکان رشد هیبریدهای بعدی با پتانسیل عملکرد بیشتر و یا فرار از خشکی به هنگام گلدهی بهره مند شد (Frascaroli and Landi, 2016). به نژادگران از روش های غربالگری مختلفی برای شناسایی میزان مقاومت به سرما در میان هیبریدها استفاده می کنند. میزان مقاومت به سرما در هیبریدها به دلیل وجود مکانیسم های مختلف، متفاوت است (Tollenaar and Lee, 2002; Betran *et al.*, 2003). شناخت پاسخ های فیزیولوژیک گیاهچه های ذرت به دماهای سرد اوایل فصل رشد، جهت انتخاب بهترین هیبریدهای سازگار برای کاشت زودهنگام ضروری است. ذرت به دلیل وجود سطوح بالای هتروزیس عملکرد و استفاده تجاری از هیبریدها، به یک سیستم مدل برای مطالعه هتروزیس تبدیل شده است (Garcia *et al.*, 2009). هتروزیس پدیده پیچیده ای است که عمدتاً توسط ژن های متعدد و برهمکنش آلی ایجاد کننده صفات مختلف کنترل می شود. مطالعات اخیر نشان می دهد که برهمکنش آلی ژنوم های والدی منجر به تغییر برنامه ژن ها می شود که باعث افزایش قدرت رشد، مقاومت به تنش و سازگاری می شود (Chen, 2013). هتروزیس در گونه های مختلف گیاهی با ویژگی های برتر زراعی از جمله ارتفاع زیادتر گیاه، افزایش بیوماس، میزان رشد، عملکرد دانه و مقاومت به

تنش های غیرزیستی در ارتباط است (Guo and Rafalski, 2013). واضح است که هتروزیس برای صفات فنوتیپی غیر از عملکرد نیز مشاهده شده است (Tollenaar, Stupar *et al.*, 2004; Auger *et al.*, 2005; Garcia *et al.*, 2008). در ذرت نیز با وجود مطالعات فراوان به نقش هتروزیس در مقاومت به سرما کم تر پرداخته شده است. دمای پایین با تأثیر بر بخش های مختلف سیستم فتوسنتزی، از جمله تنظیم قطر منافذ روزنه ها، سنتز رنگیزه های فتوسنتزی و فعالیت فتوسیستم های I و II، تثبیت دی اکسید کربن را با مشکل مواجه می سازد و فعالیت فتوسنتزی را کاهش می دهد (Paeizi and Shariati, 2012). ایلکر و همکاران (Ilker *et al.*, 1979) کندی رشد ذرت در سرما را به دلیل کاهش ساخت کلروفیل اعلام کردند که این پدیده در کلروز برگ ها قابل رؤیت است. کلروفیل برگ از مهم ترین شاخص های نشان دهنده تنش محیطی وارد بر گیاه است. همچنین، با توجه به اینکه غلظت کلروفیل برگ یکی از عوامل کلیدی در تعیین سرعت فتوسنتز و تولید ماده خشک است، این صفت به عنوان شاخصی برای ارزیابی قدرت منبع شناخته شده است (Ghosh *et al.*, 2004; Shiri and Choukan, 2017). به دلیل وجود رابطه نزدیک بین محتوای کلروفیل برگ با میزان موفقیت گیاه برای فتوسنتز و مقاومت به تنش های محیطی، انتخاب ارقام با محتوای کلروفیل بیشتر می تواند در برنامه های اصلاحی مفید باشد (Bano *et al.*, 2015). طالبی و همکاران (Talebi *et al.*, 2013) دریافتند که کلروفیل و کاروتنوئیدهای بیش تر با مقاومت به تنش در گیاهان ارتباط دارد. کاروتنوئیدها به علت جلوگیری از تولید اکسیژن آزاد و اکسیداسیون نوری کلروفیل، به عنوان رنگدانه های محافظت کننده در برابر نور عمل می کنند (Dillard and German, 2000). مهم ترین واکنش گیاهان حساس به سرما، بازدارندگی سریع فتوسنتز است که حتی در شدت های متوسط نور نیز می تواند منجر به خسارت نوری و یا اختلال در فعالیت فتوسیستم II شود. این فرآیند با کاهش متابولیسم کربن همراه است که باعث کاهش ذخیره فرآورده های انتقال الکترون در چرخه نوری و عملکرد کوانتومی فتوسیستم II در شرایط نوری می شود (Jamali, 2011). طی مطالعات متعدد ثابت شده است که اندازه گیری فلورسانس کلروفیل به عنوان روشی سریع و غیرتخریبی برای غربالگری ژنوتیپ های مختلف در تحمل به تنش های محیطی از جمله تنش سرما مفید است (Sayed,

دریافت شد. این چهار لاین تحت شرایط معمول مزرعه جهت تولید بذر  $F_1$  کشت شدند. با توجه به محدودیت بذر و هم‌زمان نبودن تاریخ گلدهی لاین‌ها، از تلاقی‌های ممکن بین آن‌ها هشت هیبرید تولید شد (جدول ۲) که همراه با هیبرید شاهد سینگل کراس ۷۰۴ در قالب یک طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار کشت شدند و از نظر برخی صفات ریشه و فیزیولوژیک موثر بر تحمل به سرما مورد بررسی قرار گرفتند. بذرها در گلدان‌های کاغذی در دمای  $25^{\circ}\text{C}$  و شرایط طول دوره روشنایی ۱۴ ساعت و تاریکی ۱۰ ساعت در اتاقک رشد کشت شدند. گیاهچه‌های ذرت در مرحله چهار برگی جهت اعمال تنش سرما به داخل اتاقک سرد انتقال یافتند. دما با سرعت دو درجه سلسیوس در ساعت کاهش یافت و گیاهچه‌ها به مدت ۳۶ ساعت در آخرین دمای تنش ( $5^{\circ}\text{C}$ ) قرار گرفتند (Tarighaleslami *et al.*, 2016). پس از این مدت، گیاهچه‌ها از اتاقک سرد خارج شدند و صفات محتوای رطوبت نسبی، محتوای کلروفیل و کاروتنوئیدها به روش لیتنتالر و بوشمن (Lichtenthaler and Buschmann, 2001)، نشأت الکترولیت به روش نظامی و همکاران (Nezami *et al.*, 2011) و سطح ریشه، وزن خشک ریشه و حجم ریشه با استفاده از روش اخوان و همکاران (Akhavan *et al.*, 2012) مورد بررسی قرار گرفتند. فلورسانس کلروفیل نیز با استفاده از دستگاه فلورومتر (PAM 2500-Walz, Germany) در جوان‌ترین برگ توسعه یافته هر گیاه مورد اندازه‌گیری قرار گرفت. بعد از اندازه‌گیری کلیه صفات و بر اساس متوسط مقادیر، هتروزیس والد برتر (BPH) هیبریدهای ذرت به وسیله رابطه (۱) محاسبه (Hallauer and Miranda, 1993; Fehr, 1981) و آزمون معنی‌دار بودن آن‌ها با استفاده از توزیع  $t$  استیودنت (رابطه ۲) بررسی شد (Wynne *et al.*, 1970; Iqbal *et al.*, 2010):

$$\text{BPH} = (F_1 - \text{BP}) / \text{BP} \times 100 \quad (1)$$

$$t = F_1 - \text{BP} / \sqrt{2\text{EMS}/r} \quad (2)$$

در این روابط،  $F_1$  و BP به ترتیب میانگین نسل اول و والد برتر و EMS میانگین مربعات خطای آزمایش است. ضریب همبستگی پیرسون بین مقادیر هتروزیس والد برتر صفات مختلف با استفاده از نرم‌افزار SPSS محاسبه شد (Garcia *et al.*, 2009). قبل از انجام تجزیه واریانس و مقایسه میانگین‌ها، مفروضات مهم تجزیه واریانس شامل توزیع نرمال خطاهای آزمایش و یکنواختی واریانس‌های

(Baker and Rosenqvist, 2003; 2004). از این تکنیک جهت ارزیابی خسارت تنش‌های سرما در گیاهان زراعی همانند یولاف (Herzog and Olszewski., 1998)، ذرت (Fracheboud *et al.*, 1999; Janowiak *et al.*, 2000) و سویا (Strauss *et al.*, 2006) استفاده شده است. یکی از خسارت‌های تنش سرما در گیاهان اختلال در ساختار و کارکرد غشاهای سلولی است که باعث افزایش نشأت محلول‌های سلولی نظیر پتاسیم، آمینواسیدها، کربوهیدرات‌ها و در مجموع الکترولیت‌های مختلف به خارج از سلول می‌شود (Nezami *et al.*, 2010). یون‌های پتاسیم پروتئازهای داخل سلولی و آندونوکلئازها را مسدود می‌کنند و باعث تحریک آنزیم‌های هیدرولیتیک می‌شوند که اغلب منجر به مرگ برنامه‌ریزی شده سلول می‌شوند (Demidchik *et al.*, 2014). دمای پایین، ترکیب فسفولیپیدهای غشای پلاسمایی و به‌ویژه میزان اسیدهای چرب غیراشباع را تغییر می‌دهد (Upchurch, 2008; Zheng *et al.*, 2011). این تغییرات بر خاصیت سیالیت و نفوذپذیری غشاهای زیستی تاثیر می‌گذارند (Burgos *et al.*, 2011). بنابرین، نشأت الکترولیت‌ها از غشاهای زیستی احتمالاً معیار مناسبی برای ارزیابی میزان خسارت سرما در گیاهان و یافتن ارقام مقاوم جهت فعالیتهای به‌نژادی است. با معرفی هیبریدهای مقاوم به تنش سرما، می‌توان با کاشت زودهنگام ذرت به دوره رویشی طولانی‌تر و پتانسیل عملکرد بالاتر دست یافت. همچنین، با توجه به اهمیت هتروزیس و استفاده از ارقام هیبرید در ذرت، تا کنون نقش هتروزیس در تحمل به سرمای ذرت مطالعه نشده است. بنابرین، هدف از این تحقیق بررسی ارتباط بین هتروزیس و مقاومت به سرما در مرحله گیاهچه‌ای ذرت بود.

## مواد و روش‌ها

این مطالعه در سال زراعی ۱۳۹۶ در آزمایشگاه دانشکده کشاورزی دانشگاه زنجان اجرا شد. مواد گیاهی از شورای تحقیقات بین‌المللی اسپانیا (Consejo Superior de Investigaciones Cientificas (CSIC)) تهیه شد و شامل لاین‌های اینبرد دندان اسبی (A661 (Dent corn) و ذرت بلوری (EP80 (Flint corn) و EP42 بود. EP80 و EP42 به‌عنوان لاین‌های اینبرد مقاوم به سرما و A661 لاین اینبرد حساس شناسایی شده‌اند (Rodriguez *et al.*, 2014). لاین اینبرد MO17 نیز که پایه پدری سینگل کراس ۷۰۴ است، از بخش تحقیقات ذرت و گیاهان علوفه‌ای

فتوسنتزی ذرت به تنش سرما بسیار حساس است و برگ هایی که در دمای کم تر از حد مطلوب به وجود می آیند، محتوای کلروفیل کم و در نتیجه ظرفیت فتوسنتزی ضعیفی دارند (Ying *et al.*, 2002; Zaidi *et al.*, 2010). در مطالعه ای که توسط بانو و همکاران (Bano *et al.*, 2015) صورت گرفت، محتوای کلروفیل a دامنه تغییرات بیش تری نسبت به بقیه صفات نشان داد که حداکثر قدرت انتخاب را برای اصلاح مقاومت به تنش سرما فراهم می کرد. برخی از محققین به بررسی ارتباط بین تغییرات محتوای کلروفیل و نیز تغییر در فلئورسانس آن طی مواجهه برگ با تنش های سرما و یخ زدگی در بسیاری از گونه های گیاهی پرداخته اند (Bolhar-Nordenkamp *et al.*, 1994). نتایج این آزمایش نیز نشان داد که هیبرید MO17×EP80 از لحاظ صفات محتوای کلروفیل های a، b، کاروتنوئیدها و شاخص Fv/Fm دارای وضعیت مطلوبی بود (جدول ۲).

مقاومت گیاهان به تنش دماهای پایین به محتوای آب برگ ها بستگی دارد. معمولاً برگ های با محتوای رطوبت نسبی کم تر به دلیل کاهش خطر یخ زدگی، نسبت به دماهای پایین مقاوم تر هستند. با افزایش میزان آب برگ ها، صدمات ناشی از سرمازدگی و نکروزه شدن برگ ها افزایش می یابد. هیبریدهای MO17×EP80 و EP42×A661 از نظر محتوای رطوبت نسبی تحت شرایط تنش سرما وضعیت بهتری نسبت به بقیه هیبریدها داشتند (جدول ۲). ارزیابی تنش سرما بر سه هیبرید ذرت در مرحله گیاهچه ای نشان داد که محتوای رطوبت نسبی برگ ذرت تحت تأثیر تنش سرما قرار گرفت و همبستگی مثبت و معنی داری بین محتوای رطوبت نسبی برگ ها و میزان خسارت سرما مشاهده شد (Tarighaleslami *et al.*, 2016).

هیبریدهای EP42×A661 و EP42×EP80 و نیز لاین اینبرد مقاوم به سرمای EP80 کم ترین مقدار نشت الکترولیت را داشتند. پایین تر بودن میزان نشت الکترولیت در این ژنوتیپ ها احتمالاً نشان دهنده بالاتر بودن پایداری غشای سیتوپلاسمی و تحمل بیش تر این ارقام نسبت به تنش سرمازدگی است. مطالعات قبلی نشان داده است که نشت الکترولیت در هیبرید ذرت حساس به سرما بیش تر از هیبرید مقاوم می باشد. در بذر هیبریدهای مقاوم به سرما زنجیره هایی از لیپیدهای غیراشباع تجمع می یابد که با نشت الکترولیت پایین تر در هنگام جذب آب در دماهای سرد همراه است (Noblet *et al.*, 2017).

درون تیماری با نرم افزارهای SPSS و SAS بررسی و تبدیل جذری در صفات محتوای رطوبت نسبی و نشت الکترولیت که برحسب درصد بودند، انجام شد. مقایسه میانگین ها نیز با استفاده از آزمون چنددامنه ای دانکن صورت گرفت.

## نتایج و بحث

**تجزیه واریانس و مقایسه میانگین ها:** نتایج تجزیه واریانس صفات مورد مطالعه حاکی از وجود تفاوت های معنی دار بین لاین ها و هیبریدهای حاصل از نظر کلیه صفات مورد اندازه گیری بود که نشان دهنده وجود مقاومت کافی در ژرم پلاسما لاین های مطالعه شده ذرت برای بهبود صفات مهم در مرحله گیاهچه ای است (جدول ۱). وجود تنوع ژنتیکی برای مقاومت به سرما در صفات نشت الکترولیت، فلورسانس کلروفیل، محتوای کلروفیل و صفات ریشه قبلاً نیز گزارش شده است (Nezami *et al.*, 2013; Sasani *et al.*, 2013; Bano *et al.*, 2015; Hedaiat khah *et al.*, 2016; Kiet *et al.*, 2016).

مقایسه میانگین فلورسانس کلروفیل (جدول ۲) نشان داد که تحت شرایط تنش سرمای اعمال شده، هیبریدهای MO17×EP80 و EP42×MO17 و نیز لاین های EP80 و A661 بیش ترین مقدار فلورسانس را داشتند. بالاتر بودن شاخص Fv/Fm نشان دهنده کارایی بالاتر و خسارت نوری کم تر فتوسیستم II در شرایط تنش سرما بود. همچنین، مقدار فلورسانس کلروفیل، سالم بودن غشای تیلاکوئید و کارایی زنجیره انتقال الکترون را از فتوسیستم II به فتوسیستم I نشان می دهد (Bhardway and Singhal, 1981). در آزمایشی که توسط حسنی و همکاران (Hasani *et al.*, 2014) برای شناسایی ژنوتیپ های مقاوم به سرما در برنج با استفاده از روش فلورسانس کلروفیل صورت گرفت، تنش سرما موجب کاهش حداکثر کارایی کوانتومی فتوسیستم II (Fv/Fm) شد. کاهش میزان Fv/Fm تحت تنش سرما در گیاه توتون نیز مشاهده شده است (Li *et al.*, 2004). محتوای کلروفیل شاخص مهمی در بقاء ارقام ذرت پس از سبز شدن در شرایط تنش سرما به شمار می رود (Noblet *et al.*, 2017). نتایج این تحقیق نشان داد که هیبریدهای EP80×EP42 و MO17×EP80 بیش ترین محتوای کلروفیل a، b و کاروتنوئیدها را داشتند. میزان کلروفیل بالا منجر به ظرفیت فتوسنتزی بیش تر و موجب استقرار قوی تر گیاهچه تحت تنش سرما می شود. محتوای کلروفیل، بازتابی از کارایی فتوسنتز هر گیاه است. دستگاه

جدول ۱- تجزیه واریانس صفات ریشه و فیزیولوژیک مرتبط با تحمل به سرما در مرحله گیاهچه‌ای ذرت

Table 1. Analysis of variance for root and physiological traits related to cold tolerance at corn seedling stage

Source of variations	df	Mean of squares								
		Chlorophyll fluorescence Fv/Fm	Relative water content	Electrolyte leakage	Chlorophyll a content	Chlorophyll b content	Carotenoid content	Root volume	Root area	Root dry weight
Cold treatment	12	0.001**	0.059**	0.223**	0.312**	0.008**	0.034**	20.233**	8383.941**	0.022**
Error	26	1<	0.011	0.026	0.035	0.002	0.004	1.454	1473.631	0.004
CV (%)		1.073	1.083	2.884	13.707	22.884	13.354	12.022	16.882	18.459

ns, \* and \*\*: Not-significant and significant at 5% and 1% probability levels, respectively.

جدول ۲- مقایسه میانگین صفات ریشه و فیزیولوژیک مرتبط با تحمل به سرما در مرحله گیاهچه‌ای ذرت

Table 2. Mean comparison of root and physiological traits related to cold tolerance at corn seedling stage

Genotype	Chlorophyll fluorescence Fv/Fm	Relative water content	Electrolyte leakage	Chlorophyll a content	Chlorophyll b content	Carotenoid content	Root volume	Root area	Root dry weight
EP42	0.77 <sup>cd</sup>	97.77 <sup>e</sup>	33.79 <sup>bc</sup>	1.37 <sup>cdef</sup>	0.14 <sup>cde</sup>	0.57 <sup>abc</sup>	7.00 <sup>e</sup>	138.35 <sup>de</sup>	0.22 <sup>de</sup>
EP80	0.79 <sup>ab</sup>	93.8 <sup>bcd</sup>	27.99 <sup>a</sup>	1.96 <sup>a</sup>	0.11 <sup>de</sup>	0.29 <sup>e</sup>	7.33 <sup>e</sup>	122.09 <sup>e</sup>	0.24 <sup>de</sup>
A661	0.79 <sup>ab</sup>	97.20 <sup>de</sup>	36.41 <sup>cd</sup>	1.17 <sup>efg</sup>	0.17 <sup>cde</sup>	0.48 <sup>bcd</sup>	8.33 <sup>de</sup>	219.24 <sup>bcd</sup>	0.37 <sup>abcd</sup>
MO17	0.72 <sup>f</sup>	93.34 <sup>bcd</sup>	39.85 <sup>d</sup>	0.88 <sup>g</sup>	0.15 <sup>cde</sup>	0.37 <sup>de</sup>	6.00 <sup>e</sup>	250.03 <sup>bc</sup>	0.38 <sup>abcd</sup>
EP80×MO17	0.75 <sup>de</sup>	95.94 <sup>cde</sup>	28.54 <sup>ab</sup>	1.61 <sup>abcd</sup>	0.20 <sup>bcd</sup>	0.58 <sup>abc</sup>	11.67 <sup>bc</sup>	223.88 <sup>bcd</sup>	0.41 <sup>abc</sup>
MO17×EP80	0.80 <sup>a</sup>	87.14 <sup>a</sup>	30.19 <sup>ab</sup>	1.57 <sup>abcde</sup>	0.28 <sup>ab</sup>	0.58 <sup>abc</sup>	12.00 <sup>bc</sup>	198.60 <sup>cde</sup>	0.26 <sup>cde</sup>
EP42×MO17	0.79 <sup>ab</sup>	92.05 <sup>bc</sup>	32.64 <sup>abc</sup>	1.23 <sup>defg</sup>	0.20 <sup>bcd</sup>	0.45 <sup>cd</sup>	13.50 <sup>ab</sup>	364.91 <sup>a</sup>	0.48 <sup>ab</sup>
MO17×EP42	0.77 <sup>cd</sup>	92.25 <sup>bc</sup>	32.36 <sup>abc</sup>	0.86 <sup>g</sup>	0.10 <sup>e</sup>	0.35 <sup>de</sup>	10.50 <sup>cd</sup>	217.91 <sup>bcd</sup>	0.33 <sup>bcd</sup>
A661×MO17	0.78 <sup>bc</sup>	95.76 <sup>cde</sup>	30.28 <sup>ab</sup>	0.84 <sup>g</sup>	0.20 <sup>bcd</sup>	0.34 <sup>de</sup>	15.00 <sup>a</sup>	289.92 <sup>ab</sup>	0.51 <sup>a</sup>
EP80×EP42	0.77 <sup>cd</sup>	96.54 <sup>de</sup>	31.52 <sup>abc</sup>	1.71 <sup>abc</sup>	0.32 <sup>a</sup>	0.62 <sup>ab</sup>	14.00 <sup>ab</sup>	230.74 <sup>bc</sup>	0.33 <sup>bcd</sup>
EP42×EP80	0.76 <sup>de</sup>	94.67 <sup>bcd</sup>	27.63 <sup>a</sup>	1.91 <sup>ab</sup>	0.23 <sup>bc</sup>	0.70 <sup>a</sup>	7.00 <sup>e</sup>	222.71 <sup>bcd</sup>	0.21 <sup>e</sup>
EP42×A661	0.75 <sup>e</sup>	91.41 <sup>b</sup>	27.23 <sup>a</sup>	1.49 <sup>bcd</sup>	0.18 <sup>bcd</sup>	0.40 <sup>de</sup>	8.50 <sup>de</sup>	234.08 <sup>bc</sup>	0.25 <sup>cde</sup>
SC704	0.75 <sup>de</sup>	93.86 <sup>bcd</sup>	29.59 <sup>ab</sup>	1.01 <sup>fg</sup>	0.22 <sup>bc</sup>	0.39 <sup>de</sup>	11.67 <sup>bc</sup>	257.44 <sup>bc</sup>	0.47 <sup>ab</sup>

Means followed by the similar letters in each column are not significantly different by Duncan's multiple range test at 5% probability level.

ریشه و محتوای کلروفیل b معنی دار بودند. بالاترین مقادیر هتروزیس والد برتر در سطح ریشه و محتوای کلروفیل b در این هیبرید وجود داشت. نتایج مقایسه میانگین نیز برتری این هیبرید را نسبت به بقیه هیبریدها در بسیاری از صفات فیزیولوژیک و حجم ریشه نشان داد. بررسی نتایج EP42×A661 وجود هتروزیس والد برتر در صفات محتوای رطوبت نسبی، نشت الکترولیت، محتوای کلروفیل a و b، حجم و سطح ریشه را نشان داد که هتروزیس والد برتر محتوای رطوبت نسبی و نشت الکترولیت در سطح احتمال یک درصد معنی دار بودند. بیشترین مقدار هتروزیس والد برتر نشت الکترولیت و محتوای کلروفیل a در نتایج این هیبرید مشاهده شد. مقایسه اینبرد لاین‌های والدی MO17 و EP42 با نتایج هیبرید EP42×MO17 حاصل از این تلاقی نشان داد که هتروزیس والد برتر در صفات نشت الکترولیت، شاخص Fv/Fm، محتوای رطوبت نسبی، محتوای کلروفیل b و همه صفات ریشه وجود داشت. هتروزیس والد برتر محتوای رطوبت نسبی، نشت الکترولیت، شاخص Fv/Fm و حجم ریشه در سطح احتمال یک درصد معنی دار بودند. همچنین بالاترین مقادیر هتروزیس والد برتر در میان سایر هیبریدها در حجم ریشه و شاخص Fv/Fm متعلق به این هیبرید است.

مطالعه هتروزیس در نتایج MO17×EP80 معنی دار بودن هتروزیس والد برتر را در صفات محتوای رطوبت نسبی، محتوای کلروفیل b، کاروتنوئید و حجم ریشه نشان داد. بیشترین مقدار هتروزیس والد برتر در محتوای رطوبت نسبی و میزان کاروتنوئید و کمترین مقدار هتروزیس والد برتر در سطح ریشه و وزن خشک ریشه در نتایج این هیبرید دیده شد. مطالعه صفات مورد نظر در نتایج A661×MO17 و مقایسه آن‌ها با والدین اینبرد، هتروزیس والد برتر را در نشت الکترولیت، محتوای کلروفیل b و همه صفات ریشه نشان داد. بالاترین مقدار هتروزیس والد برتر در وزن خشک ریشه مربوط به این هیبرید است. در مجموع نتایج این تحقیق نشان داد که هیبریدهای EP42×MO17 و A661×MO17 رشد و گستردگی ریشه بیش‌تری در مقایسه با سایر هیبریدها داشتند. هیبرید EP80×EP42 نیز مقادیر هتروزیس نسبتاً بالایی را نسبت به والد برتر خود در همه صفات ریشه نشان داد.

از صفت نشت الکترولیت‌ها برای بررسی میزان مقاومت به سرما در برنج (Guo *et al.*, 2006) و سیب زمینی (Arvin and Donnelly, 2008) نیز استفاده شده است. نظامی و همکاران (Nezami *et al.*, 2015) نیز بیان داشتند که نشت الکترولیت همبستگی منفی بالایی با مقاومت به سرما در ژنوتیپ‌های چغندر قند نشان داد. شناخت نقش ریشه و ساختار آن در پاسخ به تنش‌های مختلف نیز می‌تواند به‌نژادگران را در اتخاذ راهکارهای مناسب برای انتخاب ارقام مقاوم به تنش یاری رساند. بررسی صفات ریشه نشان داد که هیبریدهای A661×MO17 و EP42×MO17 از لحاظ هر سه صفت حجم، سطح و وزن خشک ریشه تحت تنش سرما برتر از بقیه بودند و رشد و توسعه ریشه بهتری داشتند. مطالعات قبلی روی ذرت نشان داده است که تنش سرما آسیب زیادی به رشد ساقه و ریشه وارد می‌کند. تنش سرما سبب کاهش طول، بیوماس و مورفولوژی ریشه (Cutforth *et al.*, 1986) و در نهایت باعث کاهش رشد ریشه می‌شود و حجم سیستم ریشه برای جذب مواد مغذی و آب کاهش می‌یابد (Richner *et al.*, 1996). کیت و همکاران (Kiet *et al.*, 2016) در بررسی اثر تنش سرما بر ساختار ریشه برنج مشاهده کردند که تنش سرمای منجر به کاهش وزن خشک ریشه می‌شود. از طرف دیگر، تنش سرما باعث کاهش هدایت هیدرولیکی در گیاهان می‌شود (Sack and Holbrook 2006, Murai-Hatano *et al.*, 2008). بنابراین، دماهای کم خاک مانع جذب آب توسط ریشه‌ها می‌شوند و بدین ترتیب بر وضعیت آب گیاه، هدایت روزنه‌ای، فتوسنتز، رشد و در نتیجه عملکرد گیاه تأثیر می‌گذارد (Ranieri *et al.*, 2003; Yamori *et al.*, 2010).

**مطالعه هتروزیس والد برتر:** هتروزیس والد برتر در صفات محتوای کلروفیل b، حجم ریشه، سطح ریشه و نشت الکترولیت تقریباً در بیش‌تر هیبریدهای مورد مطالعه مشاهده شد. همه هیبریدها در صفت محتوای کلروفیل a هتروزیس والد برتر نشان ندادند. مقادیر هتروزیس والد برتر از ۱۱۸/۳۷ برای محتوای کلروفیل b در هیبرید EP80×EP42 تا ۳۷/۲۷- برای کاروتنوئید در هیبرید MO17×EP42 متغیر بود (جدول ۳). مطالعه هتروزیس در نتایج EP80×EP42 وجود هتروزیس والد برتر در صفات محتوای کلروفیل b، کاروتنوئید، سطح، حجم و وزن خشک ریشه را نشان داد. مقادیر هتروزیس والد برتر همه صفات

جدول ۳- هتروزیس والد برتر در صفات ریشه و فیزیولوژیک مرتبط با تحمل به سرما در مرحله گیاهچه‌ای ذرت

Table 3. Better parent heterosis in the root and physiological traits related to cold tolerance at corn seedling stage

Hybrids	Chlorophyll fluorescence Fv/Fm	Relative water content	Electrolyte leakage	Chlorophyll a content	Chlorophyll b content	Carotenoid content	Root volume	Root area	Root dry weight
MO17×EP42	0.71±0.006 <sup>ns</sup>	-1.16±0.07 <sup>**</sup>	-4.23±0.19 <sup>**</sup>	-36.66±0.15 <sup>*</sup>	-32.96±0.03 <sup>ns</sup>	-37.27±0.08 <sup>ns</sup>	50±0.76 <sup>**</sup>	-12.84±32.39 <sup>ns</sup>	-12.25±0.09 <sup>ns</sup>
MO17×EP80	1.57±0.013 <sup>ns</sup>	-6.64±0.09 <sup>**</sup>	7.84±0.15 <sup>**</sup>	-19.65±0.33 <sup>ns</sup>	80.30±0.02 <sup>**</sup>	57.59±0.02 <sup>**</sup>	63.71±2.1 <sup>ns</sup>	-20.57±25.67 <sup>ns</sup>	-31.81±0.102 <sup>ns</sup>
EP42×MO17	4.01±0.005 <sup>**</sup>	-1.38±0.06 <sup>**</sup>	-3.4±0.08 <sup>**</sup>	-10.03±0.16 <sup>ns</sup>	30.66±0.03 <sup>ns</sup>	-21.095±0.09 <sup>ns</sup>	92.86±0.7 <sup>**</sup>	45.95±81.82 <sup>ns</sup>	27.11±0.13 <sup>ns</sup>
EP42×A661	-5.79±0.006 <sup>**</sup>	-5.95±0.07 <sup>**</sup>	-19.41±0.06 <sup>**</sup>	9.37±0.25 <sup>ns</sup>	4.37±0.07 <sup>ns</sup>	-29.88±0.12 <sup>ns</sup>	2.04±0.8 <sup>ns</sup>	6.76±23.36 <sup>ns</sup>	-30.543±0.008 <sup>**</sup>
EP42×EP80	-3.774±0.008 <sup>*</sup>	0.92±0.10 <sup>**</sup>	-1.29±0.26 <sup>ns</sup>	-2.70±0.33 <sup>ns</sup>	52.76±0.05 <sup>ns</sup>	23.29±0.08 <sup>ns</sup>	-4.50±0.67 <sup>ns</sup>	60.97±25.38 <sup>*</sup>	-14.86±0.03 <sup>ns</sup>
A661×MO17	-1.07±0.008 <sup>ns</sup>	2.59±0.08 <sup>**</sup>	-16.83±0.13 <sup>**</sup>	-28.42±0.29 <sup>ns</sup>	13.42±0.06 <sup>ns</sup>	-29.26±0.07 <sup>ns</sup>	80.07±0.67 <sup>**</sup>	15.95±18.82 <sup>ns</sup>	35.86±0.09 <sup>ns</sup>
EP80×MO17	-5.03±0.004 <sup>**</sup>	2.78±0.08 <sup>**</sup>	1.95±0.14 <sup>**</sup>	-17.63±0.33 <sup>ns</sup>	31.12±0.04 <sup>ns</sup>	57.01±0.03 <sup>**</sup>	59.21±0.94 <sup>**</sup>	-10.46±15.78 <sup>ns</sup>	7.29±0.09 <sup>ns</sup>
EP80×EP42	-2.77±0.003 <sup>**</sup>	2.92±0.12 <sup>**</sup>	12.58±0.13 <sup>**</sup>	-12.89±0.31 <sup>ns</sup>	118.37±0.04 <sup>*</sup>	8.8±0.09 <sup>ns</sup>	90.99±1.2 <sup>**</sup>	66.78±12.96 <sup>**</sup>	33.99±0.03 <sup>*</sup>

<sup>ns</sup>, <sup>\*</sup> and <sup>\*\*</sup>: Not-significant and significant at 5% and 1% probability levels, respectively.

جدول ۴- همبستگی‌های هتروزیس والد برتر برای صفات ریشه و فیزیولوژیک مرتبط با تحمل به سرما در مرحله گیاهچه‌ای ذرت

Table 4. Correlations of the better parent heterosis for root and physiological traits related to cold tolerance at corn seedling stage

Trait	Chlorophyll fluorescence Fv/Fm	Relative water content	Electrolyte leakage	Chlorophyll a content	Chlorophyll b content	Carotenoid content	Root volume	Root area	Root dry weight
Chlorophyll fluorescence Fv/Fm	1								
Relative water content	-0.214	1							
Electrolyte leakage	0.195	0.182	1						
Chlorophyll a content	-0.481	-0.310	-0.180	1					
Chlorophyll b content	-0.040	0.138	0.744 <sup>*</sup>	0.251	1				
Carotenoid content	-0.183	0.019	0.674	0.063	0.598	1			
Root volume	0.597	0.333	0.377	-0.54	0.293	-0.007	1		
Root area	-0.053	0.458	0.192	0.414	0.489	-0.158	0.056	1	
Root dry weight	0.202	0.772 <sup>*</sup>	0.093	-0.286	0.211	-0.231	0.744 <sup>*</sup>	0.504	1

<sup>\*</sup>: Significant at 5% probability level.

( $r=0/056$ ) و کاروتنوئیدها ( $r=-0/007$ )، محتوای رطوبت نسبی با کاروتنوئیدها ( $r=0/019$ ) و نشت الکترولیت با وزن خشک ریشه ( $r=0/093$ ) همبستگی بسیار کمی داشتند.

### نتیجه‌گیری کلی

هتروزیس عملکرد و اجزای آن در بیش‌تر مطالعات انجام شده در ذرت تأکید شده است. هتروزیس عملکرد دارای ویژگی‌های خاصی است که از جمله می‌توان به همبستگی بالای آن با هتروزیس بسیاری از صفات دیگر اشاره کرد. این امر قابلیت پیش‌بینی میزان هتروزیس عملکرد را بسیار دشوار می‌کند. در حقیقت، وجود روابط معنی‌دار هتروزیس عملکرد با هتروزیس بسیاری از صفات دیگر نشان‌دهنده وجود آثار تجمعی هتروزیس صفات دیگر در هتروزیس عملکرد است. از طرف دیگر، شناسایی ژن‌هایی که در هتروزیس صفاتی مانند ارتفاع گیاه یا ابعاد برگ مشارکت دارند، نسبت به عملکرد آسان‌تر است. مطالعات ژنتیکی و مولکولی نشان داده‌اند که هتروزیس عملکرد ناشی از عمل تعداد قابل توجه‌ای ژن‌های با آثار کوچک است که از طریق مکانیسم‌های مولکولی مختلف با یکدیگر در تعامل هستند (Garcia et al., 2009). هتروزیس غالباً به‌عنوان یک ویژگی منحصر به فرد مطرح می‌شود. اگر هتروزیس یک ویژگی ژنتیکی باشد، آن‌گاه میزان آن در صفات مختلف با همدیگر همبستگی دارد. به هر حال، نتایج این تحقیق تأییدی بر نتایج قبلی بود و نشان داد که هتروزیس وابسته به صفت است و شدت همبستگی‌ها به‌طور قابل ملاحظه‌ای بستگی به این دارد که کدام صفات مقایسه می‌شوند.

همبستگی بین هتروزیس والد برتر در صفات مختلف به‌طور قابل توجه‌ای متفاوت بود. حجم ریشه با وزن خشک ریشه ( $r=0/744^*$ )، محتوای رطوبت نسبی با وزن خشک ریشه ( $r=0/772^*$ ) و محتوای کلروفیل b با نشت الکترولیت ( $r=0/744^*$ ) همبستگی بالایی داشتند (جدول ۴).

هتروزیس والد برتر در برخی از پارامترهای فتوسنتزی پنبه نیز مشاهده شده است، اما بیش‌تر مطالعات، هتروزیس میانگین والدین را در پارامترهای فلورسانس کلروفیل این گیاه نشان می‌دهند (Zhang et al., 2005). آراوس و همکاران (Araus et al., 2010) با بررسی اینبردها و هیبریدهای ذرت گزارش کردند که هتروزیس کارایی مصرف آب را در ذرت به‌طور غیرمستقیم بهبود می‌بخشد. به‌نظر می‌رسد که در مقایسه با اینبردها، بخش کم‌تری از ماده خشک در هیبریدها به ریشه اختصاص می‌یابد که می‌تواند نشانه غیرمستقیم مصرف بهینه آب در هیبریدها باشد (Araus et al., 2010). هیبریدهای ذرت تعداد بیش‌تری ریشه‌های بسیار باریک نسبت به والدین خود، تولید می‌کنند (Li et al., 2008). گارسیا و همکاران (Garcia et al., 2009) مجموعه بزرگی از هیبریدهای ذرت را از نظر هفده صفت فنوتیپی در محیط‌های مختلف ارزیابی و هتروزیس والد برتر را در بیش‌تر هیبریدها مشاهده کردند، اما به‌طور کلی همبستگی بین مقادیر هتروزیس صفات مختلف پایین بود که نشان می‌دهد اساس ژنتیکی هتروزیس وابسته به صفت است. در این مطالعه نیز هتروزیس بسیاری از صفات مانند فلورسانس کلروفیل با محتوای کلروفیل b ( $r=-0/04$ ) و سطح ریشه ( $r=-0/053$ )، حجم ریشه با سطح ریشه

### References

- Ahmadzadeh, A., Lee, E. A. and Tollenaar, M. 2004. Heterosis for leaf CO<sub>2</sub> exchange rate during the grain-filling period in maize. *Crop Science* 44: 2095-2100.
- Akhavan, S., Shabanpour, M. and Isfahani, M. 2012. Effect of soil compaction and texture on the root growth and shoot of wheat. *Journal of Soil and Water* 26 (3): 727-735. (In Persian with English Abstract).
- Ali, F., Ahsan, M., Saeed, N. A., Ahmed, M., Ali, Q., Kanwal N, Tehseen, M. M., Ijaz, U., Bibi, I. and Niazi, N. K. 2014. Establishment and optimization of callus-to-plant regeneration system using mature and immature embryos of maize (*Zea mays*). *International Journal of Agriculture and Biology* 16 (1): 111-117.
- Araus, J. L., Sanchez, C. and Cabrera-Bosquet, L. 2010. Is heterosis in maize mediated through better water use? *New Phytologist* 187: 392-406.
- Arvin, M. J. and Donnelly, D. J. 2008. Screening potato cultivars and wild species to abiotic stresses using an electrolyte leakage bioassay. *Journal of Agricultural Science and Technology* 10 (1): 33-42.
- Ashby, E. 1930. Studies in the inheritance of physiological characters. I. A physiological investigation of the nature of hybrid vigour in maize. *Annals of Botany* 44: 457-468.
- Aslam, M., Basra, Sh, M. A., Maqbool, M. A., Bilal, H., Zaman, Q. U. and Bano, S. 2013. Physiochemical distinctiveness and metroglyph analysis of cotton genotypes at early growth stage under saline hydroponics. *International Journal of Agriculture and Biology* 15 (6): 1133-1139.



- Auger, D. L., Gray, A. D., Ream, T. S., Kato, A. Coe, E. H. and Birchler, J. A. 2005.** Non-additive gene expression in diploid and triploid hybrids of maize. **Genetics** 169 (1): 389-397.
- Baker, N. R. and Rosenqvist, E. 2004.** Applications of chlorophyll fluorescence can improve crop production strategies: An examination of future possibilities. **Journal of Experimental Botany** 55 (403): 1607-1621.
- Bano, S., Aslam, M., Saleem, M., Basra, S. M. A. and Aziz, K. 2015.** Evaluation of maize accessions under low temperature stress at early growth stages. **The Journal of Animal and Plant Sciences** 25 (2): 392-400.
- Betran, F. J., Ribaut, J. M., Beck, D. and Gonzalez, L. D. 2003.** Genetic diversity, specific combining ability, and heterosis in tropical maize under stress and nonstress environments. **Crop Science** 43: 797-806.
- Bhardway, R. and Singhal, G. 1981.** Effect of water stress on photo chemical activity of chloroplasts during greening etiolated barley seed ling. **Plant and Cell Physiology** 22: 155-162.
- Bolhar-Nordenkamp, H. R., Critchley, Ch., Haumann, J., Ludlow, M. M., Postl, W. and Syme, A. J. 1994.** Can chlorophyll fluorescence and P700 changes detect environmental stress? In: Struik, P. C., Vredenberg, W. J., Renkema, J. A. and Parlevliet, J. E. (Eds.). Plant production on the threshold of a new century. Developments in plant and soil sciences (DPSS), Vol. 61. Springer. pp: 295-302.
- Burgos, A. Szymanski, J., Seiwert, B., Degenkolbe, T., Hannah, M. A., Giavalisco, P. and Willmitzer, L. 2011.** Analysis of short-term changes in the *Arabidopsis thaliana* glycerolipidome in response to temperature and light. **The Plant Journal** 66 (4): 656-668.
- Chen, Z. J. 2013.** Genomic and epigenetic insights into the molecular bases of heterosis. **Nature Reviews Genetics** 14: 471-482.
- Cross, H. Z. and Zuber, M. S. 1972.** Prediction of flowering dates in maize based on different methods of estimating thermal units. **Agronomy Journal** 64: 351-355.
- Cutforth, H. W. Shaykewich, C. F. and Cho, C. M. 1986.** Effect of soil, water and temperature on corn (*Zea mays* L.) root growth during emergence. **Canadian Journal of Soil Science** 66 (1): 51-58.
- Demidchik, V., Straltsova, D., Medvedev, S. S., Pozhvanov, G. A., Sokolik, A. and Yurin, V. 2014.** Stress-induced electrolyte leakage: The role of K<sup>+</sup>-permeable channels and involvement in programmed cell death and metabolic adjustment. **Journal of Experimental Botany** 65 ( 5): 1259-1270.
- Dillard, C. J. and German, J. B. 2000.** Phytochemicals: Nutraceuticals and human health. **Journal of Science Food Agriculture** 80: 1744-1756.
- Fehr, W. R. 1993.** Principles of cultivar development. Vol I. Theory and technique. Macmillan Publication Co., USA.
- Flint-Garcia, S. A., Buckler, E. S., Tiffin, P., Ersoz, E. and Springer, N. M. 2009.** Heterosis is prevalent for multiple traits in diverse maize germplasm. **PLoS ONE** 4 (10): e7433.
- Fracheboud, Y., Haldimann, P., Leipner, J. and Stamp, P. 1999.** Chlorophyll fluorescence as a selection tool for cold tolerance of photosynthesis in maize (*Zea mays* L.). **Journal of Experimental Botany** 50: 1533-1540.
- Frascaroli, E. and Landi, P. 2016.** Cold tolerance in field conditions, its inheritance, agronomic performance and genetic structure of maize lines divergently selected for germination at low temperature. **Euphytica** 209: 771-788.
- Ghosh, P. K., Bandyopadhyay, A., Manna, K. K., Mandal, M. C., Misra, K. G. and Hati, A. K. 2004.** Comparative effectiveness of cattle manure, poultry manure, phosphocompost and fertilizer-NPK on three cropping system in vertisols of semi-arid tropics. Dry matter yield, nodulation, chlorophyll content and enzyme activity. **Bioresource Technology** 95: 85-93.
- Guo, M. and Rafalski, J. A. 2013.** Gene expression and heterosis in maize hybrids. In: Chen, Z. J. and Birchler, J. A. (Eds.). Polyploid and Hybrid Genomics. John Wiley and Sons, Inc. pp: 59-84.
- Guo, Z., Lu, S. and Zhong, Q. 2006.** Differential responses of antioxidative system to chilling and drought in four rice cultivars differing in sensitivity. **Plant Physiology and Biochemistry** 44: 828-836.
- Hallauer, A. R. and Miranda, J. B. 1981.** Quantitative genetics in maize breeding. Iowa State University Press. Ames. IA, USA.
- Hasani, Z., Pirdashti, H., Yaghoubian, Y. and Zaman Nouri, M. 2014.** Application of chlorophyll fluorescence technique to evaluate the tolerance of rice (*Oryza sativa* L.) genotypes to cold temperature and water stresses. **Journal of Cell and Tissue** 5 (2): 195-206. (In Persian with English Abstract).

- Hedayatkhan, T., Dehdari, M. and Amiri Fahliyani, R. 2016.** Study of chilling tolerance in rice cultivars at seedling stage using morphological and physiological characteristics. **Journal of Production and Processing** 6 (20): 1-12. (In Persian with English Abstract).
- Herzog, H. and Olszewski, A. 1998.** A rapid method for measuring freezing resistance in crop plants. **Journal of Agronomy and Crop Science** 181 (2): 71-79.
- Hochholdinger, F. and Hoecker, N. 2007.** Towards the molecular basis of heterosis. **Trends in Plant Science** 12 (9): 427-432 .
- Ilker, R., Breidenbach, R. W. and Lyons, J. M. 1979.** Sequence of ultrastructural changes in tomato cotyledons during short periods of chilling. In: Lyones, J. (Ed.). Low temperature stress in crop plants. Academic Press, New York. pp: 97-114.
- Iqbal, M., Khan, K., Rahman, H., Khalil, I. H., Sher, H. and Bakht, J. 2010.** Heterosis for morphological traits in subtropical maize (*Zea Mays* L.). **Maydica** 55: 41-48.
- Jamali, B. 2011.** Cultivation of canola. Available online at: <http://www.agri-borkhar.ir/portals/5/zerat-kolza.doc>.
- Janowiak, F., Adamczyk, J. and Krolkowski, Z. 2000.** Differentiation of chilling tolerance among polish maize lines as measured by chlorophyll fluorescence method. Proceeding of the 3<sup>th</sup> International Congress of Ecophysiological Aspects of Plant Responses to Stress Factors. Krakow.
- Kiet, H. V., Nose, A. and Zheng, S. H. 2016.** Effect of cold stress on root growth, accumulation of soluble proteins and free amino acids of sheath blight-resistant rice genotype 32R. **Tropical Agriculture and Development** 60 (3): 191-194.
- Li, B., Tian, X. L., Wang, G. W., Pan, F. and Li, Z. H. 2008.** Heterosis of root growth in maize (*Zea mays* L.) seedlings under water stress. **Acta Agronomica Sinica** 34: 662-668.
- Lichtenthaler, H. K. and Buschmann, C. 2001.** Current protocols in food analytical chemistry. F4.3.1-F4.3.8. John Wiley & Sons, Inc.
- Murai-Hatano, M., Kuwagata, T., Sakurai, J., Nonami, H., Ahamed, A., Nagasuga, K., Matsunami, T., Fukushi, K., Maeshima, M. and Okada, M. 2008.** Effect of low root temperature on hydraulic conductivity of rice plants and the possible role of aquaporins. **Plant Cell Physiology** 49: 1294-1305.
- Murphy, J. B. and Noland, T. L. 1982.** Temperature effects on seed imbibition and leakage mediated by viscosity and membranes. **Plant Physiology** 69: 428-431.
- Naveed, S., Aslam, M., Maqbool, M. A., Bano, S., Zaman, Q. U. and Ahmad, R. M. 2014.** Physiology of high temperature stress tolerance at reproductive stages in maize. **Journal of Animal and Plant Sciences** 24 (4): 1141-1145.
- Nezami, A., Hajmohammadnia Ghalibaf, K. and Kamandi, A. 2010.** Evaluation of freezing tolerance of sugar beet (*Beta vulgaris* L.) cultivars under controlled conditions. **Environmental Stress in Crop Sciences** 3 (2): 177-187. (In Persian with English Abstract).
- Nezami, A., Khazaei, H. R., Hosseinpanahi, F. and Fazeli Kakhki, S. F. 2013.** Assessment of freezing tolerance in lentil genotypes (*Lens culinaris*) by electrolyte leakage index. **Iranian Journal of Field Crops Research** 11 (1): 23-50. (In Persian with English Abstract).
- Nezami, A., Khozaei, H. R., Mehrabadi, H. R., Dashti, M., pour Amir, F. and Ahmadi, M. 2015.** Evaluation of tolerance of sugar beet (*Beta vulgaris* L.) cultivars to freezing temperatures under controlled conditions. **Iranian Journal of Field Crops Research** 13 (1): 53-61. (In Persian with English Abstract).
- Noblet, A., Leymarie, J. and Bailly, Ch. 2017.** Chilling temperature remodels phospholipidome of *Zea mays* seeds during imbibition. **Scientific Reports** 7: 8886.
- Paeizi, M. and Shariati, M. 2012.** Effect of cold stress on PSII efficiency of *dunaliella salina* using chlorophyll fluorescence kinetics. **Journal of Cell and Tissue** 2 (4): 395-405. (In Persian with English Abstract).
- Ranieri, A., Castagna, A., Pacini, J., Baldan, B., Sodi, A. M. and Soldatini, G. F. 2003.** Early production and scavenging of hydrogen peroxide in the apoplast of sunflower plants exposed to ozone. **Journal of Experimental Botany** 54: 2529-2540.
- Richner, W., Kiel, C. and Stamp, P. 1997.** Is seedling root morphology predictive of seasonal accumulation of shoot dry matter in maize? **Crop Science** 37: 1237-1241.
- Rodriguez, V. M., Butron, A., Rady, M. O. A., Soengas, P. and Revilla, P. 2014.** Identification of quantitative trait loci involved in the response to cold stress in maize (*Zea mays* L.). **Molecular Breeding** 33: 363-371.

- Sack, L. and Holbrook, N. M. 2006.** Leaf hydraulics. **Annual Review of Plant Biology** 57: 361-381.
- Stedde, E. 2001.** The cohesion-tension mechanism and the acquisition of water by plant roots. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology** 52: 847-875.
- Sassani, Sh., Tavakol Afshari, R. and Mahfouzi, S. 2013.** Relationship of accumulation of some metabolites with physiological and biochemical mechanisms of cold tolerance and freezing in bread wheat. **Iranian Journal of Crop Sciences** 44 (2): 327-345. (In Persian with English Abstract).
- Sayed, O. H. 2003.** Chlorophyll fluorescence as a tool in cereal crop research. **Photosynthetica** 41 (3): 321-330.
- Shiri, M. and Choukan, R. 2017.** Evaluation of maize hybrids tolerance to drought stress. **Journal of Crop Breeding** 9 (21): 89-99. (In Persian with English Abstract).
- Sinha, S. K. and Khanna, R. 1975.** Physiological, biochemical, and genetic basis of heterosis. **Advances in Agronomy** 27: 123-174.
- Siosemardeh, A., Mohammadi, Kh., Roohi, E., Aghaalikhani, M. and Mokhtasi Bidgoli, A. 2014.** Physiological responses of different wheat genotypes to cold stress. **Electronic Journal of Crop Production** 2 (4): 93-112. (In Persian with English Abstract).
- Strauss, A. J., Kruger, G. H. J., Strasser, R. J. and Van Heerden, P. D. R. 2006.** Ranking of dark chilling tolerance in soybean genotypes probed by the chlorophyll a fluorescence transient O-J-I-P. **Environmental and Experimental Botany** 56: 147-157.
- Stupar, R. M., Gardiner, J. M., Oldre, A. G., Haun, W. J., Chandler, V. L. and Springer, N. M. 2008.** Gene expression analyses in maize inbreds and hybrids with varying levels of heterosis. **BMC Plant Biology** 8: 33.
- Talebi, R., Ensafi, M. H., Baghebani, N., Karami, E. and Mohammadi, K. 2013.** Physiological responses of chickpea (*Cicer arietinum* L.) genotypes to drought stress. **Environmental and Experimental Biology** 11: 9-15.
- Tarighaleslami, M., Kafi, M., Nezami, A. and Zarghami, R. 2016.** Effects of chilling stress on physiological and biochemical traits of three-hybrid corn (*Zea mays* L.) in seedling stage. **Journal of Plant Researches** 29 (3): 540-552. (In Persian with English Abstract).
- Tollenaar, M., Ahmadzadeh, A. and Lee, E. A. 2004.** Physiological basis of heterosis for grain yield in maize. **Crop Science** 4: 2086-094.
- Tollenaar, M. and Lee, E. A. 2002.** Yield potential, yield stability and stress tolerance in maize. **Field Crops Research** 75: 161-169.
- Upchurch, R. G. 2008.** Fatty acid unsaturation, mobilization, and regulation in the response of plants to stress. **Biotechnology Letters** 30: 967-977.
- Wynne, J. C., Emery, D. A. and Rice, P. W. 1970.** Combining ability estimation in *Arachis hypogea* L. II. Field performance of F1 hybrids. **Crop Science** 10: 713-715.
- Xu, R. G., Lv, C., Zhu, L., Zhou, M. X. and Mo, H. D. 2004.** Studies on the heterosis of barley (*Hordeum vulgare* L.) I. Superiority of hybrid F1 from mid-parent or over better-parent. **Acta Agronomica Sinica** 30 (7): 668-674.
- Yamori, W., Noguchi, K., Hikosaka, K. and Terashima, I. 2010.** Phenotypic plasticity in photosynthetic temperature acclimation among crop species with different cold tolerances. **Plant Physiology** 152: 388-399.
- Ying, J., Lee, E. A. and Tollenaar, M. 2002.** Response of leaf photosynthesis during the grain filling period of maize to duration of cold exposure, acclimation, and incident PPF. **Crop Science** 42: 1164-1172.
- Zaidi, P. H., Yadav, M., Maniselvan, P. Khan, R. Shadakshari, T. V. Singh, R. P. and Pal, D. 2010.** Morpho-physiological traits associated with cold stress tolerance in tropical maize (*Zea mays* L.). **Maydica** 55: 201-208.
- Zhang, B. H., Pan, X. P., Wang, Q. L., Cobb, G. P. and Anderson, T. A. 2005.** Identification and characterization of new plant micro-RNAs using EST analysis. **Cell Research** 15 (5): 336-360.
- Zheng, G., Tian, B., Zhang, F., Tao, F. and Li, W. 2011.** Plant adaptation to frequent alterations between high and low temperatures: remodeling of membrane lipids and maintenance of unsaturation levels. **Plant, Cell and Environment** 34: 1431-1442.
- Zhu, J., Dong, C. H. and Zhu, J. K. 2007.** Interplay between cold-responsive gene regulation, metabolism and RNA processing during plant cold acclimation. **Current Opinion in Plant Biology** 10 (3): 290-295.



University of Guilan  
Faculty of Agricultural  
Sciences

**Cereal Research**  
Vol. 8, No. 4, Winter 2019 (471-482)

## **Assessing cold tolerance heterosis at corn seedling stage using some physiological traits**

**Zahra Erfanimoghadam<sup>1</sup>, Reza Fotovat<sup>2\*</sup>, Ehsan Mohsenifard<sup>3</sup> and Victor Rodriguez<sup>4</sup>**

Received: November 10, 2018

Accepted: January 24, 2019

### **Abstract**

Corn susceptibility to cold stress during early autotrophic growth is an important limitation for its cultivation in the cold areas. To identify the physiological basis of cold tolerance heterosis in maize seedlings, the changes of some physiological traits were studied in maize cold tolerant and susceptible inbred lines and hybrids at seedling stage in University of Zanjan, Iran, in 2017. The results showed that the effect of cold treatment on chlorophyll fluorescence, relative water content, electrolyte leakage, chlorophyll a content, chlorophyll b content, carotenoids, root volume, root area and root dry weight were significant. The better-parent heterosis was detected in chlorophyll b content, root area, root volume and electrolyte leakage in most hybrids. Performance of MO17×EP80 hybrid was better than other hybrids for all physiological traits under stress conditions. EP42×MO17 and A661×MO17 hybrids also had better root growth and extension under cold stress conditions. The significant correlation was only observed between heterosis values of some traits that had a common genetic, physiological and developmental basis, such as root dry weight and relative water content or chlorophyll b content and electrolyte leakage. However, the correlation between heterosis values of the other traits was generally poor, indicating that the genetic basis of heterosis is trait dependent and probably not controlled by a single mechanism. The significant differences among genotypes in all traits, provide a new opportunity to improve cold stress tolerance in a tropical plant using plant breeding.

**Keywords:** Chlorophyll content, Electrolyte leakage, Quantum efficiency of photosystem II ( $F_v/F_m$ ), Root

1. Ph. D. Student, Dept. of Plant Production and Genetic Engineering, Faculty of Agriculture, University of Zanjan, Zanjan, Iran

2. Assoc. Prof., Dept. of Plant Production and Genetic Engineering, Faculty of Agriculture, University of Zanjan, Zanjan, Iran

3. Assist. Prof., Dept. of Plant Production and Genetic Engineering, Faculty of Agriculture, University of Zanjan, Zanjan, Iran

4. Prof., Misión Biológica de Galicia, Member of the Genetics Department of the International Research Council of Spain (CSIC), Calle Serrano 117, 28006 Madrid, Spain

\* Corresponding author: [r\\_fotovat@znu.ac.ir](mailto:r_fotovat@znu.ac.ir)