

ارزیابی تنوع ژنتیکی لاین‌های ذرت (*Zea mays L.*) تحت شرایط نرمال و تنش شوریسرور ارژنگ^۱، رضا درویش‌زاده^{۲*} و هادی علی‌پور^۳

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۴/۲۱

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۷/۱۸

چکیده

ذرت به‌عنوان یکی از محصولات غذایی اصلی و علوفه‌ای، علاوه بر دارا بودن عملکرد دانه و زیستی بالا، از اهمیت ویژه‌ای در تأمین کربوهیدرات، روغن خوراکی و انرژی تجدیدپذیر برخوردار است که در طیف وسیعی از شرایط آب و هوایی کشت می‌شود و نسبتاً به شوری حساس است. تولید گیاهان متحمل به تنش شوری جهت پاسخ به تقاضای روزافزون مواد غذایی از طریق کشاورزی پایدار امری اجتناب‌ناپذیر است. در این پژوهش، تنوع ژنتیکی ۸۶ لاین ذرت با استفاده از صفات مورفولوژیک در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار، تحت شرایط نرمال و تنش شوری سدیم کلراید در سطح شوری ۸ dS/m در شرایط گلدانی بررسی شد. نتایج نشان داد که تنش شوری منجر به کاهش معنی‌دار میانگین صفات عملکرد دانه، طول، عرض و سطح برگ پرچم، ارتفاع بلال اصلی، زاویه برگ، قطر ساقه، نسبت پتاسیم به سدیم، محتوای نسبی آب برگ و تعداد ردیف دانه بلال شد. در مقابل، تنش شوری سبب افزایش بسیار معنی‌دار میانگین صفات روز تا ظهور گل تاجی و روز تا ظهور کاکل نسبت به شرایط نرمال شد. نتایج تجزیه رگرسیون گام‌به‌گام به کمک آماره Cp مالوس و تجزیه علیت نشان داد که تحت شرایط نرمال، صفات تعداد دانه در ردیف، وزن صد دانه، عرض دانه و تعداد کل برگ، و تحت شرایط تنش شوری، صفات تعداد دانه در ردیف، عمق دانه، وزن چوب بلال و قطر بلال، مهم‌ترین صفات تأثیرگذار بر عملکرد دانه بودند. میزان اشتراک بالای این صفات در تحلیل عاملی، در راستای تأیید این نتایج بود. در روش تحلیل عاملی، با استفاده از روش تجزیه و تحلیل موازی و معیار ساختار بسیار ساده (VSS)، تعداد چهار عامل پنهانی در هر دو شرایط نرمال و تنش شوری تعیین شد که به ترتیب ۶۰ و ۶۵ درصد از تنوع کل لاین‌های ذرت را توجیه کردند. تجزیه خوشه‌ای به روش حداقل واریانس وارد با در نظر گرفتن تعداد سه خوشه به‌عنوان تعداد بهینه خوشه‌ها بر اساس روش‌های آرچ، سیلوئت و آماره Gap در هر یک از شرایط نرمال و تنش شوری انجام گرفت. بر اساس مقایسه میانگین خوشه‌ها تحت شرایط تنش شوری و نیز به کمک بای‌پلات به‌دست آمده از تجزیه به مؤلفه‌های اصلی، می‌توان والدین مناسب را از بین لاین‌های موجود در خوشه‌های اول و سوم انتخاب و از تلاقی‌های هدفمند بین آن‌ها از پدیده‌هایی همچون هتروزیس و تفکیک متجاوز استفاده و به هیبریدهای ذرت متحمل به تنش شوری و ویژگی‌های مهم زراعی اصلاح شده دست یافت.

واژه‌های کلیدی: آماره Gap، تجزیه‌های چند متغیره، تجزیه علیت، تنش NaCl، صفات مورفولوژیک

۱- دانشجوی دکتری، گروه تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

۲- استاد، گروه تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

۳- استادیار، گروه تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

* نویسنده مسئول: darvishzadeh@urmia.ac.ir

مقدمه

بایستی تا سال ۲۰۵۰ بین ۷۰ تا ۱۰۰ درصد افزایش یابد (Tilman *et al.*, 2011). این در حالی است که از طرفی پتانسیل بسیار کمی برای گسترش اراضی قابل کشت وجود دارد و از طرف دیگر تنش‌های زیست‌محیطی از جمله تنش شوری و خشکی که تهدیدی جدی بر علیه تولید محصولات غذایی به‌ویژه در مناطق خشک و نیمه‌خشک می‌باشند، پیوسته در حال افزایش هستند، به‌طوری‌که برآورد شده است ۵۰ درصد از زمین‌های زراعی جهان تا سال ۲۰۵۰ تحت تأثیر تنش شوری قرار خواهند گرفت (Bartels and Sunkar, 2005). بنابراین، مهندسی محصولات با صفات متحمل به تنش شوری یکی از مهم‌ترین چالش‌های پیش‌رو برای کشاورزی مدرن است.

ذرت (*Zea mays* L.) سومین محصول مهم زراعی مورد کشت در جهان و ایران می‌باشد که همراه با گندم و برنج بیش از ۵۲ درصد از غذای جمعیت مردم جهان را تأمین می‌کند (FAO, 2015). علاوه بر تأمین غذا، روغن و علوفه، ذرت اخیراً به‌علت داشتن پتانسیل بالای تولید بیوماس، به‌عنوان یک گیاه جهت تأمین انرژی تجدیدپذیر اهمیت فراوانی پیدا کرده است (Masood *et al.*, 2020). ذرت گیاهی C4 از خانواده گندمیان است که با اختصاص بیش‌ترین سطح زیرکشت محصولات زراعی به‌خود، در طیف وسیعی از شرایط آب و هوایی کشت می‌شود و به شوری نسبتاً حساس است (Chinnusamy *et al.*, 2005). آستانه حساسیت ذرت به شوری خاک $1/8 \text{ dS.m}^{-1}$ است و افزایش شوری از $2/5$ تا $6/8$ دسی‌زیمنس بر متر با کاهش ۲۵ درصدی عملکرد گیاه همراه است. شوری بیش از $1/6 \text{ dS.m}^{-1}$ سبب از دست رفتن بیش از ۵۰ درصد از عملکرد و وارد آمدن صدمات جبران‌ناپذیری به گیاه می‌شود (Mass *et al.*, 1988; Hussain *et al.*, 2019). علاوه بر درجات مختلف تنش، پاسخ ذرت در مراحل مختلف رشد در مواجهه با تنش شوری متفاوت است. به طور کلی، حساسیت این گیاه در مراحل جوانه‌زنی و گیاهچه‌ای نسبت به سایر مراحل رشد بیش‌تر است (Luo *et al.*, 2017). تنش شوری سبب اختلال در فرآیندهای فیزیولوژیک و متابولیسم در مراحل رشد رویشی و زایشی می‌شود که از آن جمله می‌توان به افزایش سرعت تنفس، کاهش فتوسنتز، تغییر در توزیع مواد معدنی، کاهش متابولیسم نشاسته، اختلال در تثبیت نیتروژن، بی‌ثباتی غشای سلول و اندامک‌های درون سلولی، تغییر در عملکرد روزنه‌ها، کاهش جذب دی‌اکسیدکربن (CO_2)، بالا رفتن

تنش شوری یکی از مهم‌ترین تنش‌های غیرزیستی است. افزایش شوری خاک باعث از بین رفتن زمین‌های کشاورزی و غیرقابل استفاده شدن خاک برای تولید محصولات زراعی می‌شود (FAO, 2020). یک سوم از اراضی جهان یعنی در حدود ۹۵۰ میلیون هکتار با مشکل شوری مواجه است (FAO and ITPS, 2015). همچنین ۱۹/۵ درصد از اراضی تحت آبیاری یعنی در حدود ۳۴ میلیون هکتار که ۴۰ درصد از مواد غذایی جهان را تولید می‌کند، تحت تأثیر تنش شوری قرار دارد (FAO, 2016). ایران با دارا بودن ۲/۱ میلیون هکتار اراضی شور تحت آبیاری، بعد از کشورهای پاکستان، چین، ایالات متحده آمریکا، هند و ازبکستان در رتبه ششم قرار دارد. این کشورها همراه با عراق و ترکیه ۹۰ درصد از اراضی شور جهان را به خود اختصاص داده‌اند (Ghassemi *et al.*, 1995). پیش‌بینی می‌شود وسعت زمین‌های شور به‌دلیل افزایش استفاده از آب آبیاری با مقدار نمک زیاد و نیز مدیریت ضعیف کشاورزی افزایش یابد (Zhao *et al.*, 2019). خاکی که هدایت الکتریکی (EC) عصاره اشباع آن در دمای ۲۵ درجه سلسیوس در منطقه ریشه از ۴ دسی‌زیمنس بر متر (تقریباً معادل ۴۰ میلی‌مولار نمک سدیم کلراید) تجاوز نماید و سدیم قابل تبادل آن کم‌تر از ۱۵ درصد باشد، به‌عنوان خاک شور طبقه‌بندی می‌شود (Shao *et al.*, 2019). خاک شور با ایجاد فشار اسمزی در حدود $0/2$ مگاپاسکال منجر به وقوع تنش اسمزی بالا در گیاهان می‌شود که به‌علت پتانسیل کم آب در دسترس، مسمومیت یونی ناشی از تجمع یون‌های سمی (عمدتاً یون‌های سدیم و کلر) در سلول‌های گیاه و عدم تعادل تغذیه‌ای به‌علت تداخل در جذب و انتقال مواد مغذی ضروری رخ می‌دهد و در نهایت باعث اختلال در رشد و در نتیجه کاهش عملکرد گیاه می‌شود (Munns and Tester, 2008).

بر طبق پیش‌بینی‌های انجام شده، تا سال ۲۰۵۰ جمعیت جهان از ۷ میلیارد نفر به حدود ۹/۶ میلیارد نفر خواهد رسید که ۹۰ درصد از این رشد جمعیت در کشورهای در حال توسعه اتفاق خواهد افتاد و عدم امنیت غذایی به یک مشکل جدی در این کشورها تبدیل خواهد شد (Gidamis and Chove, 2009; Molotoks *et al.*, 2021). برای مقابله با این مشکل، در گزارش توسعه جهانی تخمین زده شده است که تولید محصولات زراعی

مکانیسم‌های تحمل به تنش شوری، به‌نژادگران به‌جای مستقل در نظر گرفتن این پدیده، صفات و ویژگی‌های زیادی را جهت ارزیابی و گزینش ژنوتیپ‌های متحمل به تنش شوری مورد بررسی قرار می‌دهند. روش‌های تجزیه و تحلیل چندمتغیره را می‌توان برای ارزیابی تنوع ژنتیکی، کشف روابط بین صفات، گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها و پیش‌بینی پارامترها در یک مجموعه داده بزرگ مورد استفاده قرار داد که با توجه به اندازه‌گیری دقیق فاصله ژنتیکی بین ژنوتیپ‌ها، نتایج دقیق و قابل اعتمادی را فراهم می‌کند (Singh and Pawar, 2005; Böhm *et al.*, 2013). اطلاع از میزان و چگونگی ارتباط بین صفات از اهمیت اساسی در برنامه‌های به‌نژادی برخوردار است. اهمیت این موضوع زمانی بیش‌تر آشکار می‌شود که ارزیابی برخی از صفات مشکل باشد و یا برخی از صفات وراثت‌پذیری کمی داشته باشند (Cruz *et al.*, 2014). علاوه بر این، کشف روابط و نحوه همبستگی بین صفات زمانی که تعداد زیادی صفت به‌طور همزمان مورد بررسی قرار می‌گیرد، می‌تواند به‌نژادگر را جهت گزینش غیرمستقیم صفات مطلوب یاری کند (Muhammad and Muhammad, 2001). زیرا ضریب همبستگی، میزان ارتباط ژنتیکی و غیرژنتیکی بین صفات را به‌صورت کمی تعیین می‌کند (Hallauer and Miranda Filho, 1988). هدف از پژوهش حاضر، ارزیابی تنوع ژنتیکی بین لاین‌های ذرت و گروه‌بندی این لاین‌ها تحت شرایط نرمال و تحت تنش شوری بود.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی و طرح آزمایش

تعداد ۸۶ لاین ذرت که از چندین مرکز تحقیقاتی (دانشگاه رازی کرمانشاه، مرکز تحقیقات کشاورزی مشهد و مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر کرج) تهیه شدند (جدول ۱)، در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار تحت شرایط نرمال و تنش شوری در یک آزمایش گلدانی در سال ۱۳۹۶ مورد ارزیابی قرار گرفتند. کشت بذرها در داخل گلدان‌های ۱۰ کیلوگرمی که در فضای باز مزرعه دانشکده کشاورزی دانشگاه ارومیه قرار داده شدند، انجام گرفت. برای پر کردن گلدان‌ها از خاک لوم شنی و ماسه به نسبت دو به یک استفاده شد و آبیاری با استفاده از سامانه قطره‌ای انجام گرفت. دور آبیاری تا هنگام جوانه‌زنی بذرها هر پنج روز یک‌بار بود که با کم کردن دور آبیاری پس از مرحله جوانه‌زنی، در مرحله

میزان آسیب ناشی از تنش اکسیداتیو به‌علت تولید بیش از حد گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) و اختلال در توانایی سم‌زدایی آن‌ها توسط سلول‌های گیاه و تغییر در فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان اشاره کرد (Munns and Tester, 2008; Rahnema *et al.*, 2010).

توانایی گیاه برای بقا و تولید محصول قابل برداشت تحت تنش شوری، مقاومت (تحمل) به تنش شوری نامیده می‌شود. تحمل به تنش شوری پدیده‌ای پیچیده است و توسط چندین ژن کنترل می‌شود. گیاهان از مکانیسم‌های مختلفی در سطح سلولی و ارگانی مانند تنظیم فشار اسمزی، هموستازی یونی، تعادل هورمونی، فعال کردن سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانی و تنظیم روزه جهت تحمل به تنش شوری استفاده می‌کنند (Schubert *et al.*, 2009). تولید گیاهان متحمل به تنش شوری جهت پاسخ به تقاضای روزافزون مواد غذایی از طریق کشاورزی پایدار امری اجتناب‌ناپذیر است. در این راستا می‌توان از روش‌های متداول اصلاح نباتات یا روش‌های مدرن زیست‌شناسی مولکولی بهره گرفت. به‌نژادگران تا حدودی موفق به تولید لاین‌ها یا ارقام متحمل به تنش شوری در برخی از گیاهان از طریق روش‌های متداول شده‌اند، اما دلیل اصلی موفقیت محدود این راهکار، پایین بودن میزان تنوع ژنتیکی در خزانه ژنی محصولات مهم زراعی است (Ashraf and Akram, 2009). با وجود ذرت، باعث شده است که این گیاه سطح بالایی از هتروزیگوسیتی و چندشکلی توالی را داشته باشد که از این تنوع ژنتیکی گسترده می‌توان جهت اصلاح مقاومت به شوری در اصلاح نباتات متداول در دو مرحله بهره برد. مرحله اول، تولید یا دستیابی به یک جمعیت اصلاحی است که دارای تنوع ژنتیکی و پتانسیل قابل‌ملاحظه‌ای برای تحمل به تنش شوری باشد. تنوع ژنتیکی، که به سبب وجود ال‌های متضاد یک ژن در افراد مختلف یک گونه و در نتیجه تولید فنوتیپ‌های مختلف بروز می‌کند، پایه و اساس بسیاری از پدیده‌های مهم کشاورزی مانند هتروزیس و تفکیک متجاوز است و بستر لازم برای تولید ارقام اصلاح‌شده جدید را فراهم می‌کند (Bhandari *et al.*, 2017). مرحله دوم، گزینش بر اساس صفات زراعی و غربال‌گری انبوه ژنوتیپ‌هایی است که دارای ترکیبی از صفات مفید به‌همراه درجه بالایی از تحمل به تنش شوری هستند (Khan *et al.*, 2003; Bresseghele and Coelho, 2013). با توجه به ماهیت چندژنی

خشک شده در آون در دمای ۷۵ درجه سلسیوس به مدت ۲۴ ساعت و TW وزن اشباع قطعات نمونه برگ بعد از قرار دادن قطعات نمونه برگ تازه در آب مقطر به مدت دو ساعت است.

در مرحله رسیدگی فیزیولوژیک، بلال‌های مربوط به هر تکرار از بوته‌ها جدا و جهت اندازه‌گیری صفات مربوط به بلال به آزمایشگاه انتقال داده شدند. عملکرد دانه در بوته از طریق جدا کردن دانه‌های روی بلال‌های هر بوته و توزین آن تعیین شد. به منظور اندازه‌گیری عملکرد زیستی، زیست‌توده مربوط به هر بوته (شامل ساقه، برگ‌ها و گل‌تاجی) به‌طور جداگانه برداشت و در سیستم بالک کیوریک با دمای ۴۰ درجه سلسیوس به مدت دو روز قرار داده شد و سپس وزن کل بوته به‌عنوان عملکرد زیستی ثبت شد (Infante et al., 2018). در نهایت، تعداد ۲۸ صفت شامل عملکرد دانه و صفات مورفولوژیک اندازه‌گیری شدند. با توجه به تعداد زیاد لاین‌های مورد مطالعه، بزرگ بودن فضای آزمایش و تعداد زیاد صفات مورد ارزیابی و به‌تبع آن زمان‌بر بودن آزمایش، کنترل کامل شرایط آزمایش و اندازه‌گیری‌ها ممکن است با خطاهایی مواجه شده باشد. بنابراین، برای بیرون کشیدن این مقدار خطا، با وجود یکنواخت بودن خاک تمامی گلدان‌ها و یکسان بودن شرایط رشد گیاهان، از طرح آزمایشی بلوک‌های کامل تصادفی برای تجزیه داده‌ها استفاده شد.

تجزیه و تحلیل آماری

پس از آزمون نرمال بودن توزیع خطاها، تجزیه واریانس صفات تحت شرایط نرمال و تنش شوری با مدل خطی عمومی با استفاده از تابع $aov()$ در نرم‌افزار R انجام گرفت. ضریب همبستگی پیرسون که جهت و درجه ارتباط خطی بین دو صفت را اندازه‌گیری می‌کند، در شرایط نرمال و شرایط تنش شوری با استفاده از بسته $corrplot$ (Wei and Simko, 2021) در نرم‌افزار R تعیین گردید. به‌منظور تعیین صفاتی که بیشترین تأثیر را بر عملکرد دانه دارند و تعیین مشارکت نسبی هر یک از این صفات، رگرسیون گام‌به‌گام پیشرو (Draper and Smith, 1966) با استفاده از بسته $olsrr$ (Hebbali, 2020) انجام گرفت. بدین ترتیب، عملکرد دانه به‌عنوان متغیر وابسته و سایر صفات به‌عنوان متغیرهای مستقل و تأثیرگذار بر عملکرد در نظر گرفته شده و صفات به صورت گام‌به‌گام وارد مدل رگرسیونی شدند.

استقرار گیاهچه‌ها به هر روز یک‌بار تغییر داده شد. کود کامل سه بیست پودری NPK از مرحله چهار برگی (با غلظت ۰/۵ گرم در لیتر) هر هفته یک‌بار تا مرحله گیاه کامل (با غلظت دو گرم در لیتر) هر سه روز یک بار اعمال شد. ابتدا در هر گلدان تعداد دو بذر کشت شد و پس از اطمینان از جوانه‌زنی و رشد نرمال گیاهچه‌ها، یکی از آن‌ها در مرحله شش برگی حذف شد و یک گیاهچه در هر گلدان باقی ماند. در مرحله هشت برگی، تنش شوری معادل 8 dS.m^{-1} به خاک گلدان‌های مربوط به تنش اعمال شد. بدین صورت که ابتدا با استفاده از روش تهیه عصاره خاک به کمک قیف بوختر، مقدار ۱۷/۲ گرم نمک سدیم کلراید (تهیه شده از شرکت مرک آلمان) برای تنظیم شوری خاک گلدان در محدوده 8 dS.m^{-1} به‌دست آمد. سپس، این مقدار نمک به‌دست آمده در ۱۱۰۰ میلی‌لیتر آب، که باعث رساندن خاک گلدان به حد ظرفیت زراعی می‌شد، حل و در دو مرحله (به‌منظور جلوگیری از وارد آمدن تنش ناگهانی) به گلدان‌های تنش اضافه شد. شوری خاک در سه مرحله در طول آزمایش کنترل و در صورت نیاز با نمک سدیم کلراید تصحیح شد. یادداشت‌برداری از صفات مختلف زراعی، مورفولوژیک و شیمیایی از شروع مرحله تاسل‌دهی تا رسیدگی کامل انجام گرفت. هیچ‌گونه کنترلی بر گرده‌افشانی بین لاین‌ها انجام نشد و جمعیت مورد مطالعه به‌صورت آزادگرده‌افشان مورد بررسی قرار گرفت. جهت اندازه‌گیری نسبت پتاسیم به سدیم برگ پرچم، برگ پرچم مربوط به هر تکرار تحت هر دو شرایط نرمال و تنش شوری قطع و در پاکت‌های جداگانه به مدت ۴۸ ساعت در آون در دمای ۷۲ درجه سلسیوس قرار داده شد. سپس این برگ‌ها با استفاده از آسیاب پودر شد و برای هر نمونه، مقدار نیم گرم از پودر حاصل به مدت پنج ساعت در دمای ۵۰۰ درجه سلسیوس در کوره سوزانده شد و خاکستر حاصل برای اندازه‌گیری مقدار سدیم و پتاسیم با استفاده از دستگاه نورسنج شعله‌ای (Flame photometer) مورد استفاده گرفت. اندازه‌گیری محتوای آب نسبی برگ (RWC) روی قطعات برگ‌های پرچم جداشده از هر بوته در سه تکرار با استفاده از فرمول زیر انجام شد (Mata and Lamattina, 2001):

$$RWC(\%) = \frac{(FW-DW)}{(TW-DW)} \times 100 \quad (1)$$

که در آن، FW وزن قطعات نمونه برگ تازه بلافاصله بعد از برداشت برگ از بوته، DW وزن قطعات نمونه برگ

جدول ۱- اسامی لاین‌های ذرت مورد مطالعه و محل جمع‌آوری آن‌ها
Table 1. The studied maize lines and the place of their collection

Line code	Line name	Research center	Line code	Line name	Research center	Line code	Line name	Research center
Ma001	P3L2	Kermanshah	Ma032	K1264/ 5-1	Karaj	Ma079	138*/89	Mashhad
Ma002	P11L2	Kermanshah	Ma035	B73	Karaj	Ma080	K19*/1392 (Isolated)	Mashhad
Ma003	P15L16Kahriz	Kermanshah	Ma036	OH 43/1-42 (Paternal)	Karaj	Ma083	1*/89 (Red cob corn)	Mashhad
Ma004	P9L3Kahriz	Kermanshah	Ma037	R59 (Paternal)	Karaj	Ma085	1390/Popcorn- 53 or 54 (Line)	Mashhad
Ma005	P13L2	Kermanshah	Ma038	W37A	Karaj	Ma091	8/K19/1	Mashhad
Ma006	P19L7Kahriz	Kermanshah	Ma039	R319	Karaj	Ma096	67*/88	Mashhad
Ma007	P6L1	Kermanshah	Ma040	R59	Karaj	Ma098	1387/193/ chase*/S2	Mashhad
Ma008	P19 L3Kahriz	Kermanshah	Ma042	W153R	Karaj	Ma100	36-N/88-K3653/2	Mashhad
Ma009	P14L1Kahriz	Kermanshah	Ma043	K1533 Popcorn	Karaj	Ma104	Line1	Karaj2
Ma010	P11L7	Kermanshah	Ma044	R59×R319 (Maternal line of DC370) (SC)	Karaj	Ma105	Line2	Karaj2
Ma011	P14L2	Kermanshah	Ma045	B73(RFC OR CMS)	Karaj	Ma106	Line3	Karaj2
Ma012	P10L5	Kermanshah	Ma046	1264/ 1	Karaj	Ma107	Line4	Karaj2
Ma013	P1L4 (Dialell-Karaj)	Kermanshah	Ma048	ZK472221	Karaj	Ma108	Line5	Karaj2
Ma014	P11L6	Kermanshah	Ma049	K1263/1/1388	Mashhad	Ma109	Line6	Karaj2
Ma015	P13L3	Kermanshah	Ma051	9/K19/1	Mashhad	Ma110	Line7	Karaj2
Ma016	P16L4Kahriz	Kermanshah	Ma052	3/K19/1 & (K19/1*/1392)	Mashhad	Ma111	Line8	Karaj2
Ma017	P3 L4Kahriz	Kermanshah	Ma054	2/ K19/1 & (K19/1)	Mashhad	Ma112	Line9	Karaj2
Ma018	P1 L5Kahriz	Kermanshah	Ma055	K3640/S /55-N	Mashhad	Ma113	Line10	Karaj2
Ma019	P19L5Kahriz	Kermanshah	Ma057	20*/1389	Mashhad	Ma114	Line11	Karaj2
Ma020	P15L14	Kermanshah	Ma060	S2/ QPM/ SUKMA (Indonesia)	Mashhad	Ma115	Line12	Karaj2
Ma021	P16L6Kahriz	Kermanshah	Ma062	6*/88	Mashhad	Ma116	Line13	Karaj2
Ma022	P15L4	Kermanshah	Ma064	4/ K19/1	Mashhad	Ma117	Line14	Karaj2
Ma023	P11 L9	Kermanshah	Ma066	48*/1390	Mashhad	Ma118	Line15	Karaj2
Ma024	P9L6	Kermanshah	Ma072	K166 B/89 & (14* K166 B/1390)	Mashhad	Ma119	Line16	Karaj2
Ma025	P13L1	Kermanshah	Ma073	K18-B /1392 (Isolated)	Mashhad	Ma120	Line17	Karaj2
Ma026	P10L7	Kermanshah	Ma074	7/K19/1	Mashhad	Ma121	Line18	Karaj2
Ma027	P16L12Kahriz	Kermanshah	Ma075	23*/89	Mashhad	Ma122	Line19	Karaj2
Ma028	P10L9	Kermanshah	Ma076	70*/1388	Mashhad	Ma123	Line20	Karaj2
Ma031	OH43/1- 42	Karaj	Ma077	10/K 19/1	Mashhad	-	-	-

بررسی با استفاده از بسته psych (Revelle, 2016) ساده و رگرسیون گام‌به‌گام، تجزیه علیت برای صفات وارد شده در مدل نهایی رگرسیون به‌عنوان متغیرهای مستقل، و عملکرد دانه به‌عنوان متغیر وابسته در نرم‌افزار PATH2 انجام گرفت. از روش تحلیل عاملی برای درک بهتر روابط و ساختار عملکرد دانه و اجزای آن، و کاهش حجم داده‌ها از طریق یافتن عوامل مستقل مؤثر بر صفات مهم مورد

بررسی با استفاده از بسته psych (Revelle, 2016) استفاده شد. قبل از اقدام به انجام تحلیل عاملی، شاخص KMO (Kaiser-Meyer-Olkin) جهت سنجش کفایت نمونه‌گیری و انجام تحلیل عاملی و آماره کی‌دو آزمون بارتلت جهت بررسی همگنی واریانس‌ها محاسبه شد. برای انجام تجزیه خوشه‌ای، ابتدا تعداد بهینه خوشه‌ها با استفاده از روش‌های آرنج (Elbow)، سیلوئت

به نمایش درآمده است. حروف متفاوت روی جعبه‌ها نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار بین میانگین صفات در شرایط نرمال و تنش شوری در سطح احتمال یک درصد بر اساس آزمون تی-ولج (Welch's t-test) است. با توجه به نتایج همگنی واریانس دو گروه از این آزمون استفاده شد.

بر این اساس، نتایج به‌دست آمده نشان داد که تنش شوری منجر به کاهش بسیار معنی‌دار در میانگین صفات عملکرد دانه، طول، عرض و سطح برگ پرچم، ارتفاع بلال اصلی، زاویه برگ، قطر ساقه، نسبت پتاسیم به سدیم، محتوای آب نسبی برگ و تعداد ردیف دانه شد. همچنین، میانگین صفت عملکرد زیستی کاهش معنی‌داری (در سطح احتمال پنج درصد) در شرایط تنش شوری نسبت به شرایط نرمال نشان داد. در مقابل، تنش شوری سبب افزایش بسیار معنی‌دار در میانگین صفات روز تا ظهور گل‌تاجی و روز تا ظهور کاکل نسبت به شرایط نرمال شد (جدول ۲). کاهش میانگین عملکرد دانه در شرایط تنش شوری در بین لاین‌ها بسیار متغیر بود. برخی از لاین‌ها در شرایط تنش شوری هیچ عملکرد دانه‌ای تولید نکردند، اگرچه سایر صفات آن‌ها در محدوده صفات سایر لاین‌ها بود. این مسأله نشان می‌دهد که تنش شوری در مرحله گیاهچه‌ای بر عملکرد دانه در مرحله نهایی تأثیر گذاشته است. در مقابل، در برخی لاین‌ها کاهش عملکرد دانه تحت تنش شوری نسبت به شرایط نرمال بسیار ناچیز بود.

همبستگی بین صفات

ضرایب همبستگی بین صفات مورد بررسی در شرایط نرمال و تنش شوری در شکل ۱ ارایه شده است. نتایج نشان داد که عملکرد دانه همبستگی مثبت بسیار بالایی در هر دو شرایط نرمال و تنش شوری با صفات عملکرد زیستی (به ترتیب ۰/۸۴ و ۰/۸۵)، تعداد دانه در ردیف (به ترتیب ۰/۸۲ و ۰/۸۹)، طول بلال (به ترتیب ۰/۸۲ و ۰/۸۱)، قطر بلال (به ترتیب ۰/۷۲ و ۰/۸۶)، عمق دانه (به ترتیب ۰/۷۴ و ۰/۸۸) و وزن چوب بلال (به ترتیب ۰/۷۸ و ۰/۸۴) داشت. در حالی که همبستگی بین عملکرد دانه با روز تا ظهور کاکل (به ترتیب -۰/۳۳ و -۰/۴۶) و قطر دانه (به ترتیب -۰/۲۹ و -۰/۵۵) منفی بود. به‌طور کلی، صفاتی که همبستگی بالایی با عملکرد دانه در هر دو شرایط نرمال و تنش شوری داشته باشند، مناسب‌ترین صفات برای انتخاب لاین‌های متحمل به شوری محسوب می‌شوند (Ghaedrahmati et al., 2017).

(Silhouette) و آماره Gap (Gap Statistics) از طریق تابع fviz_nbclust() در بسته factoextra (Kassambara and Mundt, 2020) تعیین شد. علاوه بر سه روش فوق، با استفاده از تابع NbClust() در بسته nbclust (Charrad et al., 2014)، تعداد ۳۰ شاخص مختلف دیگر جهت محاسبه تعداد بهینه خوشه‌ها اجرا شد. سپس، خوشه‌بندی سلسله مراتبی لاین‌های ذرت به روش وارد (Ward) روی داده‌های استاندارد شده و تجزیه به مؤلفه‌های اصلی با استفاده از بسته‌های cluster (Maechler, et al., 2021) و factoextra انجام شد.

نتایج و بحث

تجزیه واریانس و آماره‌های توصیفی

نتایج تجزیه واریانس ساده آزمایش‌ها نشان داد که بین لاین‌های مورد مطالعه در شرایط نرمال و تحت تنش شوری از نظر تمامی صفات ($P < 0.001$) اختلاف آماری معنی‌داری وجود داشت (جدول ۲). مقادیر عددی بالای میانگین مربعات لاین‌ها، نشان‌دهنده وجود دامنه وسیعی از تنوع بین لاین‌های مورد مطالعه از لحاظ صفات مورد بررسی است که زمینه مناسب برای انجام کارهای به‌نژادی در راستای تحمل به تنش شوری را فراهم می‌کند. کم‌ترین ضرایب تغییرات در هر دو شرایط نرمال و تنش شوری برای صفات روز تا ظهور گل‌تاجی (به ترتیب ۷/۶ و ۷/۵) و روز تا ظهور کاکل (به ترتیب ۵/۴ و ۶/۶)، و بیش‌ترین ضریب تغییرات برای صفت عملکرد (به ترتیب ۵۸/۴ و ۶۰/۹) به‌دست آمد (جدول ۲). این امر بیانگر تأثیر کم محیط بر صفات فنولوژیک می‌باشد. از آنجایی که لاین‌های مورد مطالعه اینبرد و خالص بودند، ضریب تغییرات بالایی عملکرد نشان‌دهنده وجود تنوع محیطی بیش‌تر برای این صفت می‌باشد. آماره‌های توصیفی صفات مورد بررسی در دو شرایط نرمال و تنش شوری در جدول ۲ و نیز به صورت نمودار جعبه‌ای در شکل تکمیلی ۱ ارایه شده است. خط افقی موجود در داخل هر نمودار جعبه‌ای، مقدار میانه صفت مورد نظر و دایره زردرنگ، میانگین صفت را نشان می‌دهد. خطوط افقی پایینی و بالایی تشکیل‌دهنده جعبه به ترتیب نشان‌دهنده چارک اول (۲۵ درصد داده‌ها) و چارک سوم (۷۵ درصد داده‌ها) می‌باشد. مقادیر حداقل و حداکثر مربوط به هر صفت نیز به ترتیب در حد پایین و بالای نمودار، که به صورت خطوط عمودی در امتداد پایین و بالای نمودار جعبه‌ای مشاهده می‌شود،

جدول ۲- میانگین مربعات حاصل از تجزیه واریانس و آماره‌های توصیفی صفات مربوطه در لاین‌های ذرت در شرایط نرمال و تنش شوری

Table 2. Mean squares from the analysis of variance and descriptive statistics of the investigated traits in maize lines under normal and salinity stress conditions

Trait [†]	Mean		Minimum		Maximum		F-value		CV (%)		Welch's t-test
	N [‡]	S	N	S	N	S	N	S	N	S	
GY	147.7	108.7	21.0	5.3	408.9	270.2	4.5***	6.1***	58.4	60.9	3.3**
FLL	37.1	31.2	23.7	18.3	51.2	45.8	2.3***	3.4***	15.6	21.8	6.1****
FLW	5.1	4.5	2.9	2.4	7.6	8.2	3.5***	4.3***	20.1	23.4	3.8***
FLA	15855	10835	6159	4412	33032	25681	3.7***	5.8***	35.8	44.3	6.3****
BY	383.6	335.6	93.3	89.3	810.7	693.3	6.1***	5.9***	43.7	42.6	2.0*
LCT	32.4	32.4	28.5	29.1	38.2	37.6	11.0***	9.1***	8.0	8.7	0.3
LCC	75.9	73.5	34.6	36.9	115.8	105.1	12.1***	10.5***	28.1	27.9	0.8
EUL	5.1	5.1	3.7	4.0	6.7	6.7	8.8***	5.3***	12.6	11.9	0.1
TL	11.2	11.1	7.3	7.7	14.0	13.7	21.8***	12.3***	12.8	10.4	0.2
EH	66.8	58.6	19.3	13.0	99.3	107.7	15.0***	12.7***	26.8	31.8	2.9**
PH	145.0	140.2	84.0	59.5	192.0	190.0	7.7***	10.0***	18.2	20.7	1.1
TAL	172.6	167.0	102.5	31.0	229.0	221.0	7.7***	11.2***	16.7	20.8	1.2
LA	153.0	145.3	123.5	118.7	173.0	170.0	25.8***	42.7***	7.7	8.9	4.1****
SD	2.3	1.9	1.3	1.0	3.4	2.9	28.7***	21.4***	19.8	16.6	5.8****
PL	7.2	7.3	1.0	1.0	17.2	15.5	22.1***	32.0***	40.5	43.1	0.1
DTT	70.5	73.3	51.7	52.3	80.7	87.7	44.4***	22.4***	7.6	7.5	3.4***
DTS	76.8	80.1	66.3	67.7	86.3	92.0	8.8***	13.5***	5.4	6.6	4.6****
K/Na	55.0	47.3	30.5	18.5	78.1	79.0	2.5***	2.8***	20.0	26.1	4.3****
RWC	78.6	75.8	62.7	49.2	97.7	88.6	1.5*	1.0 ^{ns}	9.1	8.8	2.6**
EL	15.5	15.5	4.1	7.6	23.1	21.5	5.9***	8.3***	27.5	22.6	0.0
RPE	14.4	13.3	8.0	8.0	18.7	18.0	2.4***	3.3***	13.7	13.4	3.7***
GPR	28.8	28.7	4.0	8.0	50.5	47.7	6.5***	8.4***	36.2	33.7	0.1
ED	41.3	40.4	23.7	28.2	53.9	52.9	4.9***	5.9***	15.5	14.5	0.9
GW	8.1	8.4	5.8	5.8	10.3	10.1	3.3***	4.5***	11.4	10.6	1.6
GDE	10.4	10.4	6.4	6.7	13.7	13.6	5.3***	6.4***	15.3	15.5	0.2
GD	4.8	4.9	3.5	3.9	7.0	6.8	2.6***	4.2***	14.4	14.3	0.0
CD	24.0	21.8	2.6	7.4	60.4	49.0	5.6***	6.5***	49.5	42.0	1.3
HGW	28.6	28.4	11.6	12.6	46.6	44.2	5.4***	5.3***	25.0	24.7	0.2

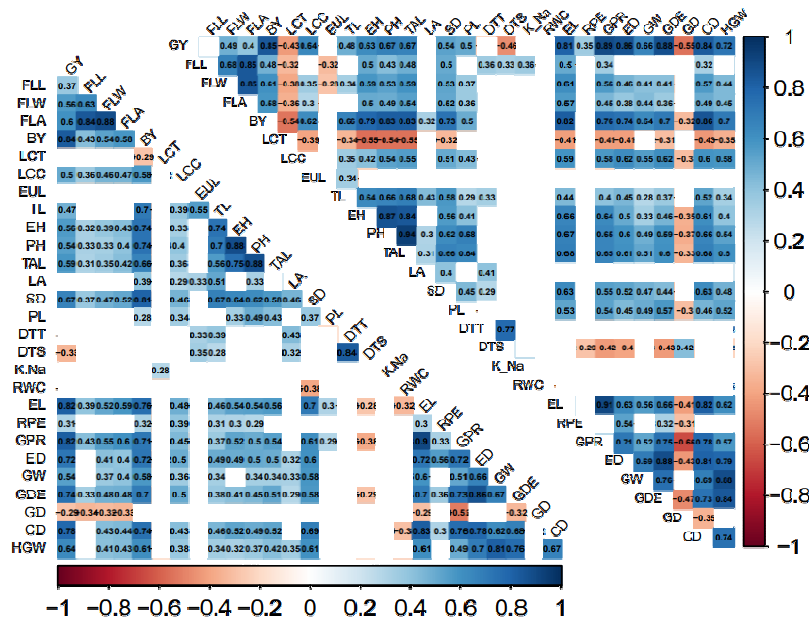
ns, *, **, *** and ****: Not-significant and significant at 5%, 1%, 0.1% and 0.01 % probability levels, respectively.

†: The traits abbreviation are: GY, grain yield; FLL, flag leaf length; FLW, flag leaf width; FLA, flag leaf area; BY, biomass yield; LCT, leaf canopy temperature; LCC, leaf chlorophyll content; EUL, ear-up leaves; TL, total leaves; EH, ear height; PH, plant height; TAL, tassel length; LA, leaf angle; SD, stem diameter; PL, peduncle length; DTT, days to tasseling; DTS, days to silking; K/Na, potassium to sodium ratio; RWC, relative water content; EL, ear length; RPE, rows per ear; GPR, grains per row; ED, ear diameter; GW, grain width; GDE, grain depth; GD, grain diameter; CD, cob weight; HGW, 100-grain weight.

‡: N, normal condition; S, salinity stress condition.

کاهش دمای کانوبی علاوه بر افزایش غلظت پتاسیم نسبت به سدیم، عملکرد زیستی نیز افزایش یافته است. به‌طورکلی، آگاهی از همبستگی بین زوج صفات در کارهای به‌نژادی، به‌ویژه در امر گزینش بر پایه شماری از صفات ضروری است. همبستگی بین صفات می‌تواند به دو علت اتفاق بیفتد: ۱- پلیوتروپی، که در آن یک ژن بر صفات متعددی تأثیر می‌گذارد و در نتیجه بیان یک ژن باعث ایجاد اثرات فنوتیپی متفاوتی می‌شود و ۲- عدم تعادل پیوستگی، که ارتباط غیرتصادفی بین آلل‌ها در جایگاه‌های ژنی مختلف می‌باشد و صفات مختلف را تحت تأثیر قرار می‌دهد (Falconer and Mackay, 1996).

همبستگی بین نسبت پتاسیم به سدیم با دمای کانوبی تحت شرایط نرمال مثبت بود، درحالی‌که این همبستگی تحت شرایط تنش شوری منفی بود. این مسأله حاکی از آن است که در شرایط تنش شوری با کاهش دمای کانوبی، غلظت پتاسیم نسبت به سدیم افزایش یافته است. در شرایط تنش، ورود یون‌های پتاسیم به داخل سلول سبب حفظ هموستازی یون‌ها، تنظیم فشار اسمزی و گسترش و رشد سلول می‌شود (Ahmed *et al.*, 2015). افزایش مقدار همبستگی منفی بین دمای کانوبی و عملکرد زیستی از ۰/۲۹- در شرایط نرمال به ۰/۵۴- در شرایط تنش نشان می‌دهد که در شرایط تنش شوری با



شکل ۱- ضرایب همبستگی پیرسون بین صفات مورد بررسی در لاین‌های ذرت تحت شرایط نرمال (پایین قطر) و تنش شوری (بالای قطر). بر اساس نقشه گرمایی، جعبه‌های آبی و قرمز به ترتیب نشان‌دهنده ضرایب همبستگی مثبت و منفی هستند و افزایش شدت رنگ دلالت بر ضرایب بزرگ‌تر دارد. جعبه‌های سفید نشان‌دهنده ضرایب غیرمعنی‌دار هستند. اسامی صفات در جدول ۲ ارائه شده است.

Figure 1. Correlation coefficients (Pearson) among investigated traits in maize line under normal (lower panel) and salinity stress (upper panel) conditions. Based on heatmap plots, blue and red boxes indicate positive and negative correlations, respectively, and increasing color intensity reflects a higher coefficient. The white boxes indicate non-significant correlations. The traits abbreviations are indicated in Table 2.

رگرسیون گام‌به‌گام

علاوه بر بررسی معنی‌داری صفات وارد شده به مدل، از آماره Cp مالوس (Mallows' Cp) استفاده شد (Mallows, 1973). Cp مالوس یکی از معیارهایی است که کیفیت پیش‌بینی مدل را ارزیابی می‌کند. مقادیر Cp مساوی و یا کم‌تر از تعداد متغیرهای پیش‌بینی کننده (Predictors) به‌اضافه عدد ثابت یک، نشان می‌دهد که مدل مربوطه برآورد نسبتاً دقیق و نارایی (Unbiased) تولید کرده و مقادیر کم‌تری از خطای غیرقابل توضیح را نمایان ساخته است. مقادیر Cp بزرگ‌تر حاکی از این است که مدل دارای اریب است و به‌خوبی با داده‌ها مطابقت ندارد. مقدار Cp مالوس منفی لزوماً به‌معنای بیش‌برازش (Overfitting) نیست، بلکه زمانی که تعداد ژنوتیپ‌های مورد مطالعه بیش‌تر از دو برابر تعداد متغیرهای مورد بررسی باشد، مقدار Cp می‌تواند دارای مقادیر منفی باشد. شایان ذکر است که با توجه به اینکه عملکرد زیستی معلول عملکرد دانه است و از طرف دیگر دربرگیرنده تعدادی از صفات مورفولوژیک اندازه‌گیری شده می‌باشد که همبستگی بالایی با آنها دارد، به‌همین علت از این

به‌منظور انجام تجزیه رگرسیون گام‌به‌گام برای تعیین صفات تأثیرگذار بر عملکرد دانه، ابتدا فرضیات تجزیه واریانس چندگانه شامل مستقل بودن خطاهای پیش‌بینی با استفاده از آزمون دوربین-واتسون (Durbin-Watson) و پیروی آن‌ها از توزیع نرمال، روابط خطی بین متغیرهای مستقل و عدم وجود هم‌خطی بین آن‌ها با استفاده از مقادیر عامل تورم واریانس (VIF) مورد بررسی قرار گرفت. مقدار آماره دوربین-واتسون تحت شرایط نرمال ۲/۳۲ و تحت تنش شوری ۱/۹۴ به‌دست آمد. بر اساس نظر فیلد (Field, 2009)، مقادیر بین ۱/۵ تا ۲/۵ این آماره بیانگر مستقل بودن خطاهای آزمایشی مدل است و مقادیر کم‌تر از یک و یا بیش‌تر از سه نشان‌دهنده وجود خودهمبستگی (Autocorrelation) بین باقی‌مانده‌های مدل می‌باشد. مقادیر عامل تورم واریانس نیز تحت هر دو شرایط نرمال و تنش شوری کم‌تر از ۱۰ به‌دست آمد که نشانگر عدم وجود وابستگی خطی یا هم‌خطی بین متغیرهای مستقل بود. جهت تعیین و انتخاب متغیرهایی که وارد مدل می‌شوند

برگ پرچم هر یک با توجه کم‌تر از یک درصد تغییرات عملکرد وارد مدل رگرسیونی شدند که با توجه به غیرمعنی‌دار شدن ضریب رگرسیون استاندارد صفات تعداد کل برگ، طول پدانکل، ارتفاع بلال اصلی و عرض برگ پرچم، این صفات جهت انجام تجزیه علیت حذف شدند. بنابراین، بر اساس ضرایب رگرسیون استاندارد، درصد تبیین و همبستگی صفات می‌توان گفت که صفات تعداد دانه در ردیف، وزن صد دانه، تعداد کل برگ، عرض دانه، وزن چوب بلال و روز تا ظهور کاکل در شرایط نرمال، و صفات تعداد دانه در ردیف، قطر بلال، عمق دانه، روز تا ظهور کاکل و وزن چوب بلال در شرایط تنش شوری بیش‌ترین توجه را در عملکرد دانه داشتند که می‌توان آن‌ها را جهت گزینش لاین‌های با عملکرد دانه بالا تحت دو شرایط نرمال و تنش شوری مدنظر قرار داد. در مدل نهایی تجزیه رگرسیون چندگانه که توسط مصطفوی و همکاران (Mostafavi et al., 2013) روی هیبریدهای ذرت در شرایط تنش خشکی انجام شد، صفات وزن هزار دانه، تعداد دانه در بلال، تعداد برگ و ارتفاع بوته به‌عنوان مهم‌ترین صفات مؤثر بر عملکرد دانه معرفی شدند.

تجزیه علیت

به‌منظور درک روابط علی و معلولی بین عملکرد دانه با صفاتی که وارد مدل رگرسیونی شدند و دارای ضرایب رگرسیون استاندارد معنی‌دار بودند، از تجزیه علیت استفاده و همبستگی‌های فنوتیپی این صفات با عملکرد دانه به اثرات مستقیم و غیرمستقیم تفکیک شد. نتایج نشان داد که در شرایط نرمال (جدول ۵)، تعداد دانه در ردیف و وزن صد دانه دارای بیش‌ترین اثر مستقیم مثبت بر عملکرد دانه (به ترتیب ۰/۵۱۵ و ۰/۳۳۱) بودند. به‌علاوه، صفت عرض دانه با اثر مستقیم منفی (۰/۲۲۱-) و صفت تعداد کل برگ با اثر مستقیم مثبت (۰/۲۱۱)، با تحت تأثیر قرار دادن عملکرد از طریق تعداد دانه در ردیف (به ترتیب ۰/۲۶۲ و ۰/۱۹۰) و وزن صد دانه (به ترتیب ۰/۲۶۸ و ۰/۱۱۲) توجه‌کننده همبستگی‌های نسبتاً بالای این صفات با عملکرد دانه بودند. صفات وزن چوب بلال و سطح برگ پرچم، اگرچه دارای ضرایب همبستگی بالایی با عملکرد دانه (به ترتیب ۰/۷۸ و ۰/۶۰) بودند، اما اثرات مستقیم این صفات نسبتاً کم بود (به ترتیب ۰/۱۶۶ و ۰/۱۴۶۵) و بخش عمده این همبستگی‌ها مربوط به اثرات غیرمستقیم این صفات بر عملکرد دانه بود.

صفت در تجزیه رگرسیون در هر دو شرایط نرمال و تنش شوری حذف شد تا اثر سایر صفات بهتر آشکار شود.

بر اساس نتایج تجزیه رگرسیون در شرایط نرمال (جدول ۳)، صفت تعداد دانه در ردیف با توجه ۶۷/۸ درصد از تغییرات عملکرد، اولین صفتی بود که وارد مدل رگرسیونی شد. همبستگی بسیار بالای بین این صفت با عملکرد دانه حاکی از تأثیر زیاد آن بر عملکرد می‌باشد. در گام دوم، صفت وزن صد دانه با توجه ۷/۰ درصد از تغییرات عملکرد دانه وارد مدل شد. این صفت نیز همبستگی بالایی با عملکرد دانه داشت. تعداد کل برگ و زاویه برگ در گام‌های سوم و چهارم وارد مدل رگرسیونی شد که هر یک کم‌تر از دو درصد از تغییرات عملکرد را توجه کردند. عرض دانه، قطر دانه، سطح برگ پرچم، وزن چوب بلال، عمق دانه، روز تا ظهور کاکل، روز تا ظهور گل‌تاجی، نسبت پتاسیم به سدیم و قطر بلال نیز در گام‌های پنجم تا سیزدهم وارد مدل شدند که سهم هر یک از آن‌ها در توجه تغییرات عملکرد کم‌تر از یک درصد بود. در مجموع، ۸۳/۸۳ درصد از تغییرات عملکرد دانه توسط ۱۳ صفت تبیین شد. در این میان، ضریب رگرسیون استاندارد برای صفات عمق دانه، روز تا ظهور گل‌تاجی، نسبت پتاسیم به سدیم و قطر بلال معنی‌دار نبود، بنابراین از فهرست صفات برای انجام تجزیه علیت حذف شدند.

بر اساس نتایج تجزیه رگرسیون در شرایط تنش شوری (جدول ۴)، صفات تعداد دانه در ردیف و قطر بلال به‌ترتیب با توجه ۷۹/۴۱ درصد و ۱۰/۴۸ درصد بیش‌ترین درصد توجه تغییرات عملکرد دانه را به‌خود اختصاص دادند. این نتایج با نتایج همبستگی ساده در شرایط تنش شوری تطابق داشت که در آن این دو صفت بیش‌ترین همبستگی را با عملکرد داشتند. عمق دانه با توجه کم‌تر از دو درصد تغییرات عملکرد، در گام سوم وارد مدل شد. مقدار بالای ضریب رگرسیون استاندارد عمق دانه (۰/۳۳۵) منطبق با همبستگی بالای این صفت با عملکرد دانه می‌باشد. مقدار ضریب رگرسیون استاندارد بیانگر سهم یا وزن هر یک از صفات وارد شده در مدل در تبیین واریانس عملکرد دانه است. بنابراین، انتظار می‌رود که به ازای یک واحد تغییر در عمق دانه، عملکرد دانه به‌میزان ۳۳/۵ درصد تغییر یابد. این سه صفت در مجموع توجه‌کننده ۹۱/۱۶ درصد از تغییرات عملکرد دانه بودند. در گام‌های چهارم تا نهم صفات تعداد کل برگ، روز تا ظهور کاکل، وزن چوب بلال، طول پدانکل، ارتفاع بلال اصلی و عرض

عملکرد دانه دانست. اثر مستقیم وزن چوب بلال بر عملکرد دانه کم تر (۰/۱۸۵) بود. قطر بلال نیز که در تجزیه رگرسیون در گام دوم وارد مدل شده بود، اثر مستقیم کمتری (۰/۱۴۷) بر عملکرد داشت. این در حالی است که این صفت همبستگی بالایی با عملکرد دانه (۰/۸۶**) نشان داد. این مسأله می تواند به دلیل اثرات غیرمستقیم مثبت بالایی باشد که قطر بلال از طریق تعداد دانه در ردیف (۰/۲۸۰)، عمق دانه (۰/۲۵۴) و وزن چوب بلال (۰/۱۵۰) بر عملکرد دانه دارد و به واسطه این صفات باعث افزایش عملکرد در شرایط تنش می شود. یاهایا و همکاران (Yahaya, 2021) نیز از صفت قطر بلال به عنوان یک صفت کم تر قابل اعتماد نسبت به سایر صفات یاد کردند.

نتایج تحقیقات سایدایا و همکاران (Saidaiyah *et al.*, 2008) روی لاین ها و هیبریدهای ذرت نیز نشان دهنده وجود اثرات غیرمستقیم مثبت سطح برگ پرچم بر عملکرد دانه بود. به اعتقاد آلبریکو و کرامر (Alberico and Cramer, 1993) صفت سطح برگ پرچم نمی تواند به عنوان یک شاخص قابل اعتماد برای تحمل به تنش شوری باشد. تحت شرایط تنش شوری (جدول ۶)، صفات تعداد دانه در ردیف و عمق دانه به ترتیب با ضرایب ۰/۳۹۴ و ۰/۲۸۹ دارای بیشترین اثر مستقیم بر عملکرد دانه بودند. این صفات همچنین دارای بیشترین ضرایب همبستگی پیرسون با عملکرد دانه بودند که علت آن را می توان علاوه بر اثرات مستقیم، اثرات غیرمستقیم آن ها از طریق یکدیگر و نیز از طریق صفات وزن چوب بلال و قطر بلال بر

جدول ۳- تجزیه رگرسیون گام به گام عملکرد دانه (متغیر وابسته) و سایر صفات (متغیرهای مستقل) در لاین های ذرت در شرایط نرمال
Table 3. Stepwise regression analysis of grain yield (dependent trait) and the other traits (independent traits) in maize lines under normal conditions

Step	Traits entered into the model [†]	Standard Beta	Standard Error	Mallows' Cp	Adjusted R ²
1	GPR	0.463***	0.945	43.604	67.80
2	HGW	0.204*	1.311	18.279	74.80
3	TL	0.207**	4.082	13.085	76.65
4	LA	-0.129*	0.465	9.763	78.01
5	GW	-0.205*	8.432	8.956	78.73
6	GD	0.175*	8.357	7.903	79.51
7	FLA	0.144*	0.001	6.483	80.39
8	CD	0.260**	0.734	5.527	81.15
9	GDE	0.131 ^{ns}	6.913	4.717	81.87
10	DTS	-0.233**	1.952	4.385	82.47
11	DTT	0.166 ^{ns}	1.586	3.919	83.10
12	K/Na	0.065 ^{ns}	0.396	4.215	83.54
13	ED	-0.139 ^{ns}	1.637	5.066	83.83

[†]: The traits abbreviations are indicated in Table 2.

جدول ۴- تجزیه رگرسیون گام به گام عملکرد دانه (متغیر وابسته) و سایر صفات (متغیرهای مستقل) در لاین های ذرت تحت تنش شوری
Table 4. Stepwise regression analysis of grain yield (dependent trait) and the other traits (independent traits) in maize lines under salinity stress conditions

Step	Traits entered into the model	Standard Beta	Standard Error	Mallows' Cp	Adjusted R ²
1	GPR	0.384***	0.435	112.797	79.41
2	ED	0.106**	0.903	15.680	89.89
3	GDE	0.335***	3.084	5.690	91.16
4	TL	0.068 ^{ns}	2.426	2.893	91.66
5	DTS	-0.099**	0.506	0.278	92.15
6	CD	0.150*	0.456	-2.037	92.61
7	PL	-0.068 ^{ns}	0.820	-2.516	92.87
8	EH	0.099 ^{ns}	0.176	-2.967	93.13
9	FLW	-0.052 ^{ns}	2.593	-2.294	93.27

[†]: The traits abbreviations are indicated in Table 2.

2005). در پژوهش‌های دیگر، صفات تعداد دانه در ردیف و طول دانه (Nemati *et al.*, 2009)، تعداد دانه در بلال و وزن صد دانه (Chaudhary *et al.*, 2017) و ارتفاع بوته و وزن صد دانه (Yahaya *et al.*, 2021)، بیش‌ترین اثر مستقیم را بر عملکرد دانه در ذرت داشتند. نتایج به‌دست آمده از تجزیه علیت نشان داد که در شرایط نرمال، سهم بزرگی از همبستگی بین صفات تعداد دانه در ردیف، وزن صد دانه، عرض دانه و تعداد کل برگ با عملکرد دانه مربوط به اثر مستقیم آن‌ها بر عملکرد است. به‌همین ترتیب، سهم بزرگی از همبستگی بین صفات تعداد دانه در ردیف، عمق دانه، وزن چوب بلال و قطر بلال با عملکرد دانه تحت شرایط تنش شوری مربوط به اثر مستقیم است. بنابراین، اصلاح این صفات می‌تواند باعث افزایش عملکرد دانه در شرایط نرمال و تنش شوری شود و نیز گزینش لاین‌های با عملکرد بالا می‌تواند از طریق گزینش این صفات انجام گیرد.

صفت روز تا ظهور کاکل اگر چه دارای اثر مستقیم منفی پائینی (-۰/۰۶۹) بر عملکرد دانه بود، اما نتایج نشان داد که این صفت به‌طور غیرمستقیم و با ضرایب منفی از طریق صفات تعداد دانه در ردیف (-۰/۱۶۶) و عمق دانه (-۰/۱۲۵) بر عملکرد دانه اثر می‌گذارد. در نهایت، اثرات باقیمانده در شرایط نرمال ۰/۴۳۰ و در شرایط تنش شوری ۰/۲۸۲ برآورد شد. بنابراین، صفات مورد بررسی در تجزیه مسیر تا حد زیادی قادر به توجیه عملکرد دانه بودند. روش تجزیه مسیر به‌عنوان یکی از محبوب‌ترین روش‌های تجزیه چندمتغیره، برای اولین بار در سال ۱۹۱۸ توسط Sewall Wright که یک متخصص ژنتیک بود، گسترش داده شد. این روش با بررسی و مرتب نمودن الگوهای هم‌خطی بین متغیرهای پیشگو و متغیر وابسته، قادر است تعیین کند که آیا روابط الگوهای هم‌خطی از نوع موقتی یا از نوع علی (سببی یا بیان‌کننده علت) هستند. به‌همین جهت، این روش به روش تجزیه علیت نیز مشهور است (Streiner,)

جدول ۵- تجزیه علیت بر اساس ضرایب همبستگی صفات وارد شده در مدل رگرسیون عملکرد دانه در لاین‌های ذرت در شرایط نرمال
Table 5. Path analysis based on correlation coefficient in regression model on grain yield in maize lines under normal conditions

Trait [†]	Direct effect	Indirect effect via									Correlation with grain yield
		GPR	HGW	TL	LA	GW	GD	FLA	CD	DTS	
GPR	0.515	0	0.162	0.078	-0.013	-0.113	-0.062	0.087	0.126	0.036	0.82
HGW	0.331	0.252	0	0.071	-0.033	-0.179	0.002	0.062	0.111	0.019	0.64
TL	0.211	0.190	0.112	0	-0.049	-0.076	-0.005	0.033	0.076	-0.028	0.47
LA	-0.095	0.066	0.115	0.107	0	-0.073	0.014	0.014	0.038	-0.032	0.16
GW	-0.221	0.262	0.268	0.071	-0.032	0	0.010	0.058	0.103	0.016	0.54
GD	0.118	-0.268	0.006	-0.009	-0.012	-0.020	0	-0.049	-0.037	-0.024	-0.29
FLA	0.146	0.309	0.142	0.048	-0.010	-0.089	-0.040	0	0.073	0.017	0.60
CD	0.166	0.391	0.222	0.097	-0.022	-0.137	-0.027	0.064	0	0.023	0.78
DTS	-0.097	-0.196	-0.067	0.059	-0.031	0.037	0.028	-0.027	-0.040	0	-0.33

[†]: The traits abbreviations are indicated in Table 2.

جدول ۶- تجزیه علیت بر اساس ضرایب همبستگی صفات وارد شده در مدل رگرسیون عملکرد دانه در لاین‌های ذرت در شرایط شوری
Table 6. Path analysis based on correlation coefficient in regression model on grain yield in maize lines under salinity stress conditions

Trait [†]	Direct effect	Indirect effect via					Correlation with grain yield
		GPR	ED	GDE	DTS	CD	
GPR	0.394	0	0.104	0.216	0.028	0.144	0.89
ED	0.147	0.280	0	0.254	0.027	0.150	0.86
GDE	0.289	0.296	0.129	0	0.029	0.135	0.88
DTS	-0.069	-0.166	-0.059	-0.125	0	-0.043	-0.46
CD	0.185	0.308	0.119	0.211	0.015	0	0.84

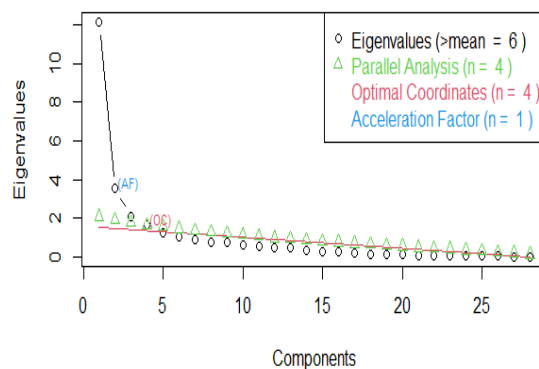
[†]: The traits abbreviations are indicated in Table 2.

تحلیل عاملی

مقادیر ویژه بزرگتر از یک شود. بنابراین، برای به دست آوردن تعداد واقعی عامل‌های پنهانی، از روش تجزیه و تحلیل موازی (Parallel Analysis) و معیار ساختار بسیار ساده (VSS=Very Simple Structure) استفاده شد (شکل ۲). تحلیل موازی برخلاف معیار کایزر که مبتنی بر جامعه است، مبتنی بر نمونه بوده و قادر به تعدیل خطای نمونه‌گیری است. در این روش، مجموعه‌ای از داده‌های تصادفی که دارای حجم برابر با حجم نمونه مورد مطالعه و نیز تعداد متغیرهای مساوی با متغیرهای مورد بررسی هستند، شبیه‌سازی شده و سپس با انتخاب نقطه‌ای که مقادیر ویژه داده‌های واقعی بزرگتر از مقادیر ویژه داده‌های شبیه‌سازی شده است، تعداد دقیق عامل‌های پنهانی تعیین می‌شود (Lautenschlager, 1989). بر اساس معیار VSS، تعداد بهینه عامل‌ها در نقطه رأس نمودار قرار می‌گیرد (Revelle and Rocklin, 1979). بنابراین، تحلیل عاملی در هر دو شرایط نرمال و تنش شوری ۲۸ صفت مورد بررسی را در چهار عامل پنهانی توزیع کرد (شکل ۲) که این عوامل در مجموع در شرایط نرمال ۶۰ درصد و در شرایط تنش ۶۵ درصد از تنوع بین لاین‌های ذرت مورد مطالعه را توجیه کردند.

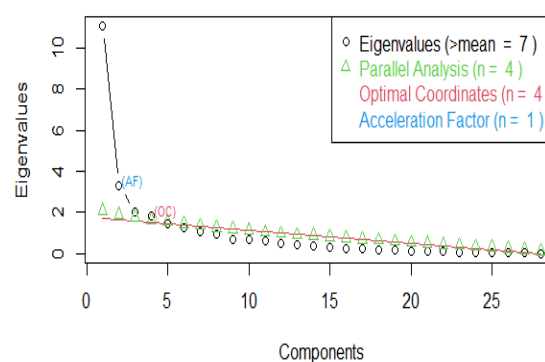
به منظور تعیین عوامل توجیه‌کننده صفات مورد بررسی با استفاده از تحلیل عاملی، ابتدا مقادیر شاخص کایزر-میر-اولکین (KMO) و آماره کی-دو آزمون بارتلت محاسبه شدند. مقادیر KMO بیش از ۰/۷ نشان می‌دهد که حجم نمونه برای صحت خوشه‌بندی متغیرها با روش تحلیل عاملی مناسب است (Kaiser, 1974). مقدار KMO در این آزمایش در شرایط نرمال ۰/۷۸ و در شرایط تنش ۰/۸۵ به دست آمد. آزمون بارتلت نیز در هر دو شرایط نرمال و تنش شوری بسیار معنی‌دار بود که نشان دهنده ارتباط معنی‌دار بین صفات مورد بررسی بوده و بنابراین امکان شناسایی و تعریف عامل‌های جدید بر اساس همبستگی صفات با استفاده از تحلیل عاملی وجود دارد (Howard, 2016). نتایج تحلیل عاملی به روش مؤلفه‌های اصلی نشان داد که تحت شرایط نرمال تعداد هفت مؤلفه و تحت شرایط شوری تعداد شش مؤلفه دارای مقادیر ویژه بزرگتر از یک بودند که بر اساس شاخص کایزر به عنوان تعداد عامل‌ها در نظر گرفته می‌شود. این در حالی است که ممکن است خطای نمونه‌گیری منجر به بیش‌برآورد نظم ماتریس همبستگی و در نتیجه افزایش تعداد مؤلفه‌های

Non Graphical Solutions to Scree Test



b) Salinity stress conditions

Non Graphical Solutions to Scree Test



a) Normal conditions

شکل ۲- تعیین تعداد بهینه عامل‌ها در تحلیل عاملی به روش‌های مختلف شامل معیار کایزر، تجزیه و تحلیل موازی و معیار ساختار بسیار ساده. (a) شرایط نرمال، (b) تنش شوری.

Figure 2. Determining the optimal number of factors in factor analysis using different ways, including KMO criterion, parallel analysis and very simple structure (VSS). a) Normal conditions, b) Salinity stress conditions.

و سرکوب کردن بارهای جزئی، فرصت دستیابی به تفسیر بهتر عوامل را فراهم می‌کند. نتایج تحلیل عاملی در شرایط نرمال نشان داد که عامل اول که بیش‌ترین حجم (۲۱)

ماتریس ضرایب عاملی این چهار عامل پس از چرخش و ریمکس در جدول ۷ ارائه شده است. این چرخش با برجسته‌تر کردن بارهای بزرگ‌تر در عوامل استخراج شده

ظهور گل‌تاجی، طول گل‌تاجی، ارتفاع بوته، زاویه برگ و ارتفاع بلال اصلی و ضریب منفی برای دمای کانوبی داشت. این عامل ۱۱ درصد از تغییرات داده‌ها را توجیه کرد و تحت عنوان عامل وابسته به ارتفاع در نظر گرفته شد. رضانی و همکاران (Ramazani et al., 2008) با انجام تحلیل عاملی روی ۳۳ صفت مورفولوژیک و فنولوژیک هیبریدهای ذرت، چهار عامل مستقل که مجموعاً ۹۸/۰۳ درصد از تنوع داده‌ها را توجیه کردند، استخراج و دو عامل اصلی اول را ویژگی‌های فنولوژیک و عملکرد نام‌گذاری کردند. خیاط‌نژاد و همکاران (Khayatnezhad et al., 2011) صفت وزن پانصد دانه ذرت را با بیش‌ترین ضریب عاملی و نیز بیش‌ترین همبستگی با عملکرد دانه به‌عنوان صفت ایده‌آل برای شرایط تنش خشکی معرفی کردند.

نتایج تحلیل عاملی در رابطه با میزان اشتراک صفات مورد بررسی نشان داد که در شرایط نرمال، صفات تعداد دانه در ردیف، وزن صد دانه، عرض دانه و تعداد کل برگ که در مراحل اول تجزیه رگرسیون گام‌به‌گام وارد مدل شدند و بیش‌ترین اثرات مستقیم را بر عملکرد دانه در تجزیه علیت داشتند، میزان اشتراک بالایی را نیز در تجزیه به عامل‌ها (به‌ترتیب ۰/۸۰ و ۰/۸۰، ۰/۷۵ و ۰/۸۴) نشان دادند. علت بالا بودن میزان اشتراک این صفات را می‌توان همبستگی بالای آن‌ها با دو عامل اول و دوم دانست. در واقع میزان اشتراک، که مجموع مربعات بارهای عاملی روی هر صفت می‌باشد، بخشی از واریانس مشترک بین آن صفت با صفات دیگر است که توسط عوامل مشترک توجیه می‌شود (Child, 2006) و در انتخاب صفات کلیدی تعیین‌کننده است. مقادیر اشتراک بالای ۰/۸۰ به‌عنوان مقادیر بهینه در نظر گرفته می‌شود، زیرا معادل همبستگی بالای ۰/۹۰ بین متغیر استاندارد شده و بخش مشترکی است که این متغیر را توجیه می‌کند تا نتایج رضایت‌بخشی ارائه شود (Keith and Reynolds, 2018). در شرایط تنش شوری، صفات تعداد دانه در ردیف، عمق دانه، وزن چوب بلال و قطر بلال که از صفات مهم به‌دست آمده از تجزیه رگرسیون گام‌به‌گام و تجزیه علیت بودند، بارهای عاملی بزرگ در دو یا چند عامل داشتند و دارای میزان اشتراک بالایی (به‌ترتیب ۰/۹۲، ۰/۸۶، ۰/۷۹ و ۰/۸۳) بودند. مقادیر بالای اشتراک این صفات بیانگر سهم زیاد این صفات در توجیه تنوع بین لاین‌های ذرت می‌باشد و مجدداً بر انتخاب این صفات به‌عنوان صفات کلیدی در تعیین لاین‌های برتر تأکید دارد.

درصد) از تغییرات داده‌ها را در برگرفت، دارای ضرایب بزرگ و مثبت برای صفات وزن صد دانه، عرض دانه، عمق دانه، قطر بلال، وزن چوب بلال، طول بلال، عملکرد دانه، قطر ساقه و تعداد دانه در ردیف بود. این عامل، عملکرد دانه و اجزای وابسته به آن نام‌گذاری شد و همبستگی بالای بین عملکرد دانه و صفات مربوطه را تأیید کرد. عامل دوم با سهم ۱۹ درصد از واریانس کل، ضرایب عاملی مثبت و بزرگی برای صفات ارتفاع بوته، ارتفاع بلال اصلی، طول گل‌تاجی، تعداد کل برگ، عملکرد زیستی، تعداد ردیف دانه و طول پدانکل داشت و به‌عنوان عامل وابسته به ارتفاع بوته نام‌گذاری شد. عامل سوم با تبیین ۱۰ درصد از تنوع موجود بین لاین‌های ذرت، بزرگ‌ترین ضرایب را برای صفات روز تا ظهور کاکل، روز تا ظهور گل‌تاجی، زاویه برگ و تعداد برگ بالای بلال داشت و بنابراین می‌توان این عامل را در ارتباط با صفات فنولوژیک دانست. عامل چهارم دارای بار عاملی مثبت و بزرگ برای صفات طول، عرض و سطح برگ پرچم و نسبت پتاسیم به سدیم برگ بود و با تبیین ۱۰ درصد از واریانس کل، تحت عنوان صفات مرتبط با برگ پرچم نام‌گذاری شد.

در شرایط تنش شوری، عامل اول با توجیه بیش‌ترین سهم از تنوع بین لاین‌های ذرت (۲۸ درصد)، ضرایب عاملی مثبت و بزرگی برای صفات وزن صد دانه، عرض دانه، عمق دانه، قطر بلال، وزن چوب بلال، عملکرد دانه، عملکرد زیستی، طول بلال و کلروفیل نشان داد که به‌عنوان عملکرد و اجزای وابسته به آن نام‌گذاری شد. در عامل دوم صفات قطر دانه و تعداد روز تا ظهور کاکل دارای بار منفی و صفات تعداد دانه در ردیف و تعداد ردیف در بلال دارای بار مثبت بزرگی بودند. این عامل با توجیه ۱۳ درصد از تنوع را می‌توان مرتبط با نحوه توزیع دانه روی چوب بلال در نظر گرفت. همبستگی منفی معنی‌دار بین قطر دانه با تعداد دانه در ردیف و نیز بین تعداد دانه در ردیف با عملکرد دانه که در عامل دوم آشکار شد، نشان می‌دهد که تحت تنش شوری افزایش قطر دانه با کاهش تعداد دانه در ردیف و در نتیجه کاهش عملکرد دانه همراه بود. عامل سوم با تبیین ۱۳ درصد از واریانس کل، ضرایب عاملی مثبت و بزرگی برای صفات طول، عرض و سطح برگ و نسبت پتاسیم به سدیم و ضریب عاملی منفی برای تعداد برگ بالای بلال نشان داد و تحت عنوان عامل مرتبط با برگ گیاه نامیده شد. عامل چهارم بزرگ‌ترین ضرایب مثبت را برای صفات تعداد کل برگ، تعداد روز تا

جدول ۷- ضرایب تحلیل عاملی صفات مورد بررسی در لاین‌های ذرت بعد از چرخش وریماکس تحت شرایط نرمال و تنش شوری
Table 7. Factor analysis coefficients for investigated traits in maize lines after varimax rotation under normal and salinity stress conditions

Trait	Normal conditions					Salinity stress conditions				
	Factor1	Factor2	Factor3	Factor4	Communality	Factor1	Factor2	Factor3	Factor4	Communality
Grain yield	0.63	0.55	-0.17	0.24	0.79	0.75	0.60	0.12	0.07	0.94
Flag leaf length	0.18	0.15	-0.03	0.82	0.73	0.16	-0.03	0.86	0.21	0.81
Flag leaf width	0.33	0.28	-0.19	0.67	0.67	0.39	0.18	0.69	0.13	0.69
Flag leaf area	0.35	0.27	-0.14	0.85	0.93	0.40	-0.01	0.80	0.13	0.82
Biomass yield	0.58	0.65	0.17	0.29	0.87	0.70	0.38	0.33	0.41	0.90
Canopy temperature	-0.10	-0.26	0.04	0.03	0.08	-0.27	-0.27	-0.24	-0.36	0.33
Chlorophyll content	0.39	0.35	0.03	0.28	0.36	0.61	0.29	0.06	0.17	.49
Ear-up leaves	0.10	0.16	0.50	-0.28	0.36	0.14	-0.15	-0.51	0.28	0.38
Total leaves	0.31	0.65	0.56	0.00	0.84	0.36	0.23	-0.01	0.75	0.75
Ear height	0.17	0.80	0.22	0.25	0.78	0.33	0.48	0.46	0.49	0.79
Plant height	0.19	0.85	0.23	0.16	0.84	0.50	0.42	0.32	0.51	0.81
tassel length	0.26	0.75	0.08	0.16	0.67	0.54	0.36	0.38	0.55	0.86
Leaf angle	0.36	0.16	0.55	0.02	0.45	0.19	-0.11	0.04	0.51	0.31
Stem diameter	0.61	0.49	0.23	0.24	0.72	0.49	0.19	0.33	0.45	0.59
Peduncle length	0.12	0.41	-0.07	0.08	0.19	0.51	0.23	0.24	0.11	0.38
Days to tasseling	-0.16	0.01	0.82	0.05	0.70	-0.14	-0.34	0.27	0.65	0.63
Days to silking	-0.20	-0.15	0.83	0.06	0.75	-0.28	-0.56	0.30	0.51	0.74
K/Na ratio	0.01	-0.07	0.14	0.29	0.11	0.02	-0.13	0.35	0.12	0.15
Relative water content	-0.28	-0.02	-0.15	-0.13	0.12	-0.12	0.05	-0.01	0.21	0.06
Ear length	0.67	0.52	-0.17	0.23	0.80	0.62	0.46	0.43	0.11	0.79
Rows per ear	0.11	0.45	-0.02	-0.04	0.21	0.13	0.40	-0.15	0.12	0.21
Grains per row	0.56	0.55	-0.31	0.30	0.80	0.58	0.69	0.33	-0.01	0.92
Ear diameter	0.73	0.50	-0.05	0.00	0.78	0.79	0.43	0.00	0.13	0.83
Grain width	0.86	0.06	0.05	0.11	0.75	0.93	-0.09	0.12	-0.03	0.88
Grain depth	0.74	0.40	-0.13	0.15	0.74	0.84	0.39	0.03	-0.02	0.86
Grain diameter	0.01	-0.31	0.30	-0.32	0.29	-0.17	-0.70	-0.07	0.07	0.52
Cob weight	0.72	0.47	-0.10	0.08	0.75	0.76	0.36	0.22	0.19	0.79
100-grain weight	0.87	0.14	0.03	0.09	0.80	0.95	-0.01	0.11	0.04	0.92

تجزیه خوشه‌ای

در شرایط تنش شوری تعداد سه خوشه را به‌عنوان تعداد بهینه خوشه تعیین کردند (فایل تکمیلی ۲-d). خوشه‌بندی سلسله مراتبی ۸۶ لاین ذرت بر پایه تعداد سه خوشه به روش وارد روی داده‌های استاندارد شده در هر یک از شرایط نرمال و تنش شوری انجام شد که در شکل ۳ نمایش داده شده است. تأیید صحت گروه‌بندی لاین‌ها با استفاده از تجزیه تابع تشخیص انجام شد. مقایسات میانگین بین خوشه‌ها با استفاده از روش دانکن (شکل ۴ و جدول تکمیلی ۱) نشان داد که در شرایط نرمال بین سه خوشه به‌دست آمده از لحاظ کلیه صفات مورد بررسی به‌جز صفات دمای کانوپی، نسبت پتاسیم به سدیم و تعداد ردیف دانه بلال اختلاف معنی‌داری وجود داشت. تعداد ۴۳ لاین قرار گرفته در خوشه اول با دارا بودن میانگین بالا برای صفات عملکرد دانه، طول برگ پرچم، عرض برگ پرچم، سطح برگ پرچم، عملکرد

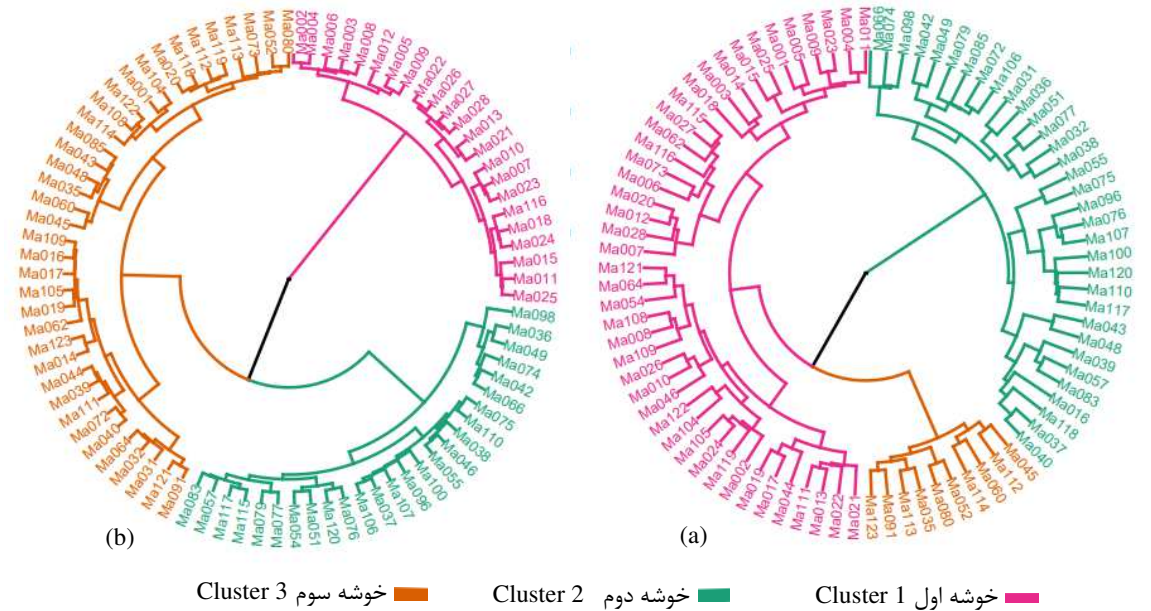
با استفاده از روش آر‌ن‌ج، تعداد بهینه خوشه‌ها بر مبنای یافتن کم‌ترین مقدار مجموع مربعات فواصل درون‌خوشه‌ای (Within-cluster Sum of Square یا WSS) در هر دو شرایط نرمال و تنش، برابر سه خوشه تعیین شد (شکل تکمیلی ۲-a). بر اساس حداکثر مقدار سیلوئت میانگین، قرار دادن لاین‌ها در دو خوشه بهترین کیفیت خوشه‌بندی را در هر دو شرایط نرمال و تنش به‌دست داد (شکل تکمیلی ۲-b). حداکثر مقدار آماره Gap از طریق مقایسه مجموع تفاضلات درون‌خوشه‌ای داده‌ها با مقادیر مورد انتظار آن‌ها در هر دو شرایط نرمال و تنش شوری برای تعداد سه خوشه به‌دست آمد، که مقدار بهینه خوشه‌ها می‌باشد (فایل تکمیلی ۲-c). همچنین، تعداد ۳۰ شاخص مختلف دیگر جهت محاسبه تعداد بهینه خوشه‌ها اجرا شد که بر این اساس ۹ شاخص در شرایط نرمال و ۱۲ شاخص

میانگین را به خود اختصاص دادند. میانگین سایر صفات نیز بیش‌تر یا نزدیک به میانگین کل بود.

با توجه به اینکه در هر دو شرایط نرمال و تنش شوری خوشه اول دارای میانگین بالا، خوشه دوم دارای میانگین پایین و خوشه سوم دارای میانگین متوسطی برای اکثر صفات بود، درصد تغییر میانگین صفات هر خوشه در شرایط تنش شوری نسبت به شرایط نرمال محاسبه و در جدول تکمیلی ۱ ارایه شد. مطابق با نتایج به‌دست آمده، بیش‌ترین درصد کاهش میانگین صفات عملکرد دانه، طول برگ پرچم، عرض برگ پرچم، سطح برگ پرچم، ارتفاع بلال اصلی و نسبت پتاسیم به سدیم لاین‌های ذرت از شرایط نرمال به شرایط تنش شوری، مربوط به خوشه دوم بود که این خوشه کم‌ترین میانگین را برای اکثر صفات در هر دو شرایط دارا بود. از ۳۳ لاین موجود در خوشه دوم در شرایط نرمال، تعداد ۲۳ لاین شامل لاین‌های Ma036، Ma037، Ma038، Ma042، Ma049، Ma051، Ma055، Ma057، Ma066، Ma074، Ma075، Ma076، Ma077، Ma079، Ma083، Ma096، Ma098، Ma100، Ma106، Ma107، Ma110 و Ma117 در خوشه دوم تحت تنش شوری قرار گرفتند. این لاین‌ها در هر دو شرایط دارای کم‌ترین مقدار میانگین برای اکثر صفات بودند. سایر لاین‌های این خوشه مشتمل بر لاین‌های Ma016، Ma031، Ma032، Ma039، Ma040، Ma043، Ma048، Ma072، Ma085 و Ma118 که در شرایط نرمال کم‌ترین میانگین صفات را نسبت به لاین‌های موجود در دو خوشه دیگر داشتند، در شرایط تنش شوری در خوشه سوم قرار گرفتند که دارای میانگین متوسطی برای اکثر صفات بودند. علاوه بر این، لاین‌های Ma046، Ma054 و Ma115 که در شرایط نرمال در خوشه اول (که دارای بیش‌ترین میانگین برای اکثر صفات بود) قرار گرفتند، در شرایط تنش به خوشه دوم منتقل شدند که کم‌ترین میانگین را برای بیش‌تر صفات داشتند. این مسأله حاکی از این است که این سه لاین قادر به تحمل شرایط تنش شوری نبوده و میانگین اکثر صفات این لاین‌ها در شرایط تنش شوری کاهش یافت. بیش‌ترین درصد کاهش صفات عملکرد زیستی و قطر ساقه مربوط به خوشه سوم بود.

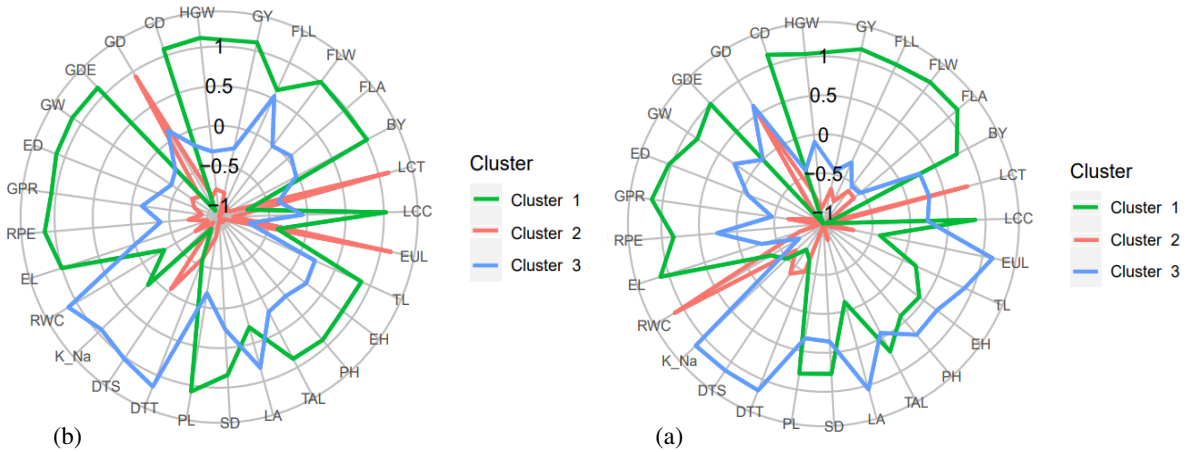
زیستی، طول بلال، تعداد دانه در ردیف، قطر بلال، عمق دانه، وزن چوب بلال و وزن صد دانه اختلاف معنی‌داری را با دو خوشه دیگر نشان دادند. همچنین این خوشه از نظر صفات کلروفیل، طول گل‌تاجی، قطر ساقه، طول پدانکل و عرض دانه ارزش بالاتری از دو خوشه دیگر و نیز میانگین کل دارا بود، اما تعداد روز تا ظهور گل‌تاجی، تعداد روز تا ظهور کاکل و قطر دانه کم‌تری از میانگین کل داشت. ۳۳ لاین موجود در خوشه دوم کم‌ترین میانگین را برای تمامی صفات به‌جز محتوای نسبی آب برگ و قطر دانه نشان دادند. خوشه سوم با تعداد ۱۰ لاین و دارا بودن بیش‌ترین میانگین برای صفات تعداد برگ بالای بلال، تعداد کل برگ، زاویه برگ، روز تا ظهور گل‌تاجی و روز تا ظهور کاکل اختلاف معنی‌داری با دو خوشه دیگر نشان داد. همچنین، میانگین صفات عملکرد زیستی، کلروفیل، ارتفاع بلال اصلی، ارتفاع بوته، طول گل‌تاجی، قطر ساقه، طول پدانکل، عرض دانه و قطر دانه لاین‌های این خوشه بیش‌تر از میانگین کل بود.

در شرایط تنش، تمامی صفات مورد بررسی در سه خوشه به‌جز تعداد برگ بالای بلال، محتوای نسبی آب برگ و تعداد ردیف دانه بلال اختلاف معنی‌داری با هم داشتند. نتایج به‌دست آمده حاکی از آن بود که ۲۳ لاین قرار گرفته در خوشه اول عملکرد بهتری را نسبت به دو خوشه دیگر تحت تنش شوری نشان دادند. لاین‌های این خوشه از نظر صفات عملکرد دانه، عرض برگ، سطح برگ، عملکرد زیستی، کلروفیل، تعداد کل برگ، ارتفاع بلال اصلی، ارتفاع بوته، طول گل‌تاجی، قطر ساقه، طول پدانکل، طول بلال، تعداد دانه در ردیف، قطر بلال، عرض دانه، عمق دانه، وزن چوب بلال و وزن صدانه با اختصاص دادن بیش‌ترین میانگین، اختلاف معنی‌داری با دو خوشه دیگر نشان داد. همچنین، میانگین سایر صفات این خوشه بیش‌تر از میانگین کل و یا مقداری نزدیک به میانگین کل بود. خوشه دوم با دارا بودن ۲۶ لاین، تحت تنش شوری کم‌ترین مقدار میانگین را نسبت به دو خوشه دیگر و میانگین کل برای تمامی صفات به‌جز صفات دمای کانوبی و قطر دانه داشت. در خوشه سوم که تعداد ۳۷ لاین قرار گرفت، عملکرد متوسطی برای بیش‌تر صفات به‌دست آمد. در این خوشه صفات زاویه برگ، روز تا ظهور گل‌تاجی، روز تا ظهور کاکل و نسبت پتاسیم به سدیم بیش‌ترین مقدار



شکل ۳- دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای سلسله مراتبی لاین‌های ذرت به روش حداقل واریانس وارد بر مبنای صفات مورد بررسی. (a) شرایط نرمال، (b) تنش شوری.

Figure 3. Dendrogram resulted from hierarchical cluster analysis of maize lines using Ward's minimum variance method based on investigated traits. a) Normal conditions, b) Salinity stress conditions.



شکل ۴- نمودار راداری مقایسات میانگین صفات مورد بررسی در سه خوشه حاصل از تجزیه خوشه‌ای سلسله مراتبی لاین‌های ذرت. (a) شرایط نرمال، (b) تنش شوری. در این نمودار علاوه بر به تصویر کشیدن خوشه‌های دارای بیشترین و کمترین میانگین صفات در هر یک از شرایط نرمال و تنش شوری، تغییرات میانگین صفات در شرایط تنش شوری نسبت به شرایط نرمال نیز قابل مشاهده است.

Figure 4. Radar plot of the comparisons of mean of the investigated traits in three clusters classified by hierarchical clustering in maize lines. a) Normal conditions, b) Salinity stress conditions. In this diagram, in addition to depicting clusters with the highest and lowest values of the mean of the traits in each of the normal and under salinity stress conditions, also changes in the mean of the traits in salinity stress conditions compared to normal conditions can be seen.

بیش‌تری نشان دادند. بر اساس نتایج مقایسه میانگین خوشه‌ها، در شرایط نرمال تفاوت آماری معنی‌داری برای نسبت پتاسیم به سدیم در سه خوشه وجود نداشت. در صورتی که در شرایط تنش شوری کاهش قابل توجهی برای این صفت در هر سه خوشه مشاهده شد، به طوری که تفاوت میانگین نسبت پتاسیم به سدیم در سه خوشه از لحاظ آماری معنی‌دار بود. این امر نشان می‌دهد که اثر شوری بر غلظت یون‌های پتاسیم و سدیم در شرایط تنش شوری در لاین‌های هر خوشه متفاوت بوده است. یکی از مکانیسم‌های اولیه آسیب سلولی در اکثر گیاهان حساس به شوری سمیت ناشی از یون سدیم است، در حالی که یون پتاسیم یک یون ضروری است (Kader *et al.*, 2006). مطابق با نظر فلاورز (Flowers, 2004) توانایی گیاهان برای تبادل یون سدیم و پتاسیم که از طریق پمپ یونی مستقر در غشاء سیتوپلاسمی انجام می‌گیرد را می‌توان با شاخص نسبت پتاسیم به سدیم تعیین کرد. گیاهان برای مقابله با تنش شوری بایستی غلظت کم یون سدیم یا نسبت بالای یون پتاسیم به سدیم را حفظ کنند. گیاهان متحمل به شوری، سدیم را به صورت فعال دفع و پتاسیم را جذب می‌کنند که در نتیجه سبب می‌شود تا نسبت پتاسیم به سدیم بالاتری نسبت به گیاهان حساس داشته باشند (Yuhua *et al.*, 2018). نتایج به‌دست آمده حاکی از آن است که در شرایط تنش شوری لاین‌های خوشه دوم که کم‌ترین مقدار عملکرد دانه و عملکرد زیستی را داشتند، بیش‌ترین کاهش را در نسبت پتاسیم به سدیم نشان دادند.

تجزیه به مؤلفه‌های اصلی

هدف از انجام تکنیک تجزیه به مؤلفه‌های اصلی کاهش حجم متغیرهای اولیه، توصیف و تشریح تنوع کل موجود در نمونه مورد مطالعه، تفسیر بهتر روابط و تعیین سهم صفات در تنوع کل می‌باشد. این تکنیک در واقع مکمل تجزیه خوشه‌ای است و با کاهش تعداد متغیرها به تعداد کمی از مؤلفه‌های متعامدی که همبستگی با هم ندارند و هر مؤلفه جنبه‌های متفاوتی از داده‌ها را اندازه‌گیری می‌کند، اهمیت نسبی متغیرها در خوشه‌های به‌دست آمده را آشکار می‌سازد (Jolliffe, 2002). بنابراین، بر اساس همبستگی بین لاین‌های ذرت مورد مطالعه و نتایج حاصل از تجزیه خوشه‌ای، تجزیه به مؤلفه‌های اصلی انجام گرفت. نتایج نشان داد که در شرایط

تمامی ۱۰ لاین موجود در خوشه سوم در شرایط نرمال (Ma035, Ma045, Ma052, Ma060, Ma080, Ma091, Ma112, Ma113, Ma114 و Ma123)، در شرایط تنش نیز در خوشه سوم قرار گرفتند، بدین معنی که در هر دو شرایط مقدار میانگین متوسطی برای اکثر صفات داشتند. همچنین، تعداد ۱۷ لاین با شماره‌های Ma001, Ma014, Ma017, Ma019, Ma020, Ma044, Ma062, Ma064, Ma073, Ma104, Ma105, Ma108, Ma109, Ma111, Ma119, Ma121 و Ma122 که در شرایط نرمال در خوشه اول با میانگین بالایی برای اکثر صفات قرار داشتند، در شرایط تنش شوری به خوشه سوم، که دارای میانگین متوسطی برای بیش‌تر صفات بود، انتقال یافتند. تعداد ۲۳ لاین باقی‌مانده در خوشه اول در شرایط نرمال، مشتمل بر لاین‌های Ma002, Ma003, Ma004, Ma005, Ma006, Ma007, Ma008, Ma009, Ma010, Ma011, Ma012, Ma013, Ma015, Ma018, Ma021, Ma022, Ma023, Ma024, Ma025, Ma026, Ma027 و Ma028 خوشه اول در شرایط تنش را تشکیل دادند که نشان می‌دهد این لاین‌ها در هر دو شرایط نرمال و تنش شوری، دارای بیش‌ترین میانگین برای اکثر صفات نسبت به سایر لاین‌های مورد مطالعه بودند. اگرچه کاهش چشم‌گیری در این لاین‌ها در رابطه با صفات طول برگ پرچم (۱۵/۵ درصد)، سطح برگ پرچم (۲۶/۳ درصد)، قطر ساقه (۱۵/۷ درصد)، نسبت پتاسیم به سدیم (۱۳/۶ درصد) و تعداد ردیف دانه بلال (۷/۹ درصد) در شرایط تنش مشاهده شد، اما این لاین‌ها با افزایش میانگین صفاتی از جمله طول پدانکل (۲۰/۹ درصد)، تعداد دانه در ردیف (۸/۲ درصد)، عرض دانه (۸ درصد)، عمق دانه (۷/۹ درصد) و وزن صدانه (۹/۸ درصد) در شرایط تنش شوری همراه بودند. میانگین عملکرد دانه این لاین‌ها در شرایط تنش شوری تنها کاهش ۹/۳ درصدی نشان داد و کاهش یا افزایش در سایر صفات نامحسوس بود که این مسأله سبب قرار گرفتن این لاین‌ها در خوشه برتر تحت هر دو شرایط نرمال و تنش شوری شد.

هوک و همکاران (Huqe *et al.*, 2021) نیز با تعیین تعداد بهینه خوشه‌ها از طریق آماره Gap، تعداد ۱۸ رقم ذرت را در سه خوشه گروه‌بندی کردند و اظهار داشتند که ارقام قرار گرفته در خوشه اول، تحمل به تنش شوری

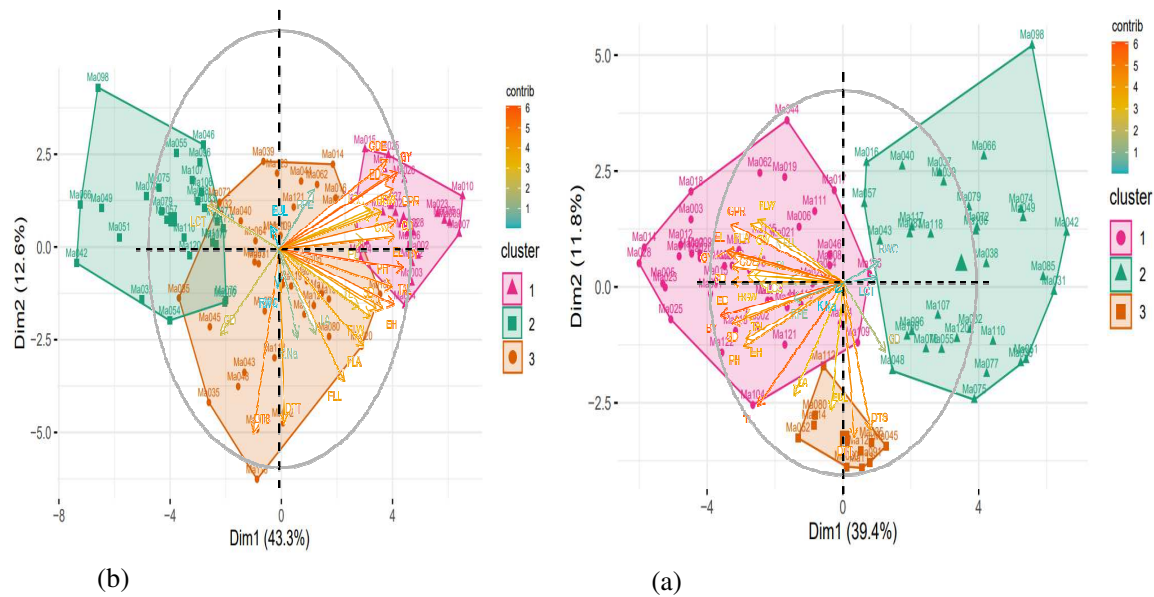
معنی‌داری برای میانگین دمای کانویی نسبت به دو خوشه دیگر داشت. مؤلفه دوم، بزرگ‌ترین ضرایب را برای صفات روز تا ظهور گل‌تاجی و روز تا ظهور کاکل تحت هر دو شرایط نرمال و تنش شوری داشت که این صفات تحت هر دو شرایط همبستگی منفی با این مؤلفه داشت. به‌علاوه، ضرایب بالایی برای صفات تعداد برگ بالای بلال و زاویه برگ در شرایط نرمال و صفات طول برگ پرچم و نسبت پتاسیم به سدیم تحت تنش شوری در مؤلفه دوم دیده شد. این مؤلفه در شرایط نرمال و تحت تنش شوری به‌ترتیب ۱۱/۸۱ درصد و ۱۲/۶۲ درصد از تغییرات کل را تشکیل داد.

نمودار بای‌پلات پراکنش لاین‌های ذرت روی محور مختصات بر اساس دو مؤلفه اصلی اول و دوم تحت شرایط نرمال (شکل ۵-a) و تنش شوری (شکل ۵-b)، به‌وضوح خوشه‌های به‌دست آمده از تجزیه خوشه‌ای را از همدیگر متمایز کرد. علاوه بر این، جهت‌گیری بردار صفات مورد بررسی نیز در این نمودار به تصویر کشیده شده است. بر این اساس، صفاتی که دارای ضرایب بالایی برای مؤلفه اول بودند تحت هر دو شرایط نرمال و تنش شوری همبستگی بالایی را با لاین‌های موجود در خوشه اول نشان دادند که توجیه‌کننده مقادیر بالای میانگین این صفات در خوشه اول توسط تجزیه خوشه‌ای می‌باشد. لاین‌های خوشه دوم فقط تحت شرایط تنش شوری همبستگی بالایی با دمای کانویی داشتند. لاین‌های خوشه سوم که مقادیر متوسطی را برای اکثر صفات در تجزیه خوشه‌ای نشان دادند، در هر دو شرایط نرمال و تنش شوری، همبستگی بالایی با صفات فنولوژیک داشتند. پراکنش این لاین‌ها تحت شرایط تنش شوری بسیار گسترده‌تر بود، به‌طوری‌که تعدادی از آن‌ها دارای همبستگی بالایی با صفات مؤلفه اول بودند. در نمودار تجزیه به مؤلفه‌های اصلی، مرکز خوشه‌ها و فواصل تقریبی بین آن‌ها نیز به نمایش درآمده است. بنابراین، در صورت نیاز به دورگ‌گیری جهت دستیابی به لاین‌های ذرت متحمل به تنش شوری و اصلاح ویژگی‌های مهم زراعی آن، می‌توان والدین مناسب را از بین لاین‌های موجود در خوشه‌های اول و سوم انتخاب و از تلاقی‌های هدفمند بین آن‌ها برای بهره‌وری بیش‌تر از پدیده‌هایی نظیر هتروزیس و تفکیک متجاوز استفاده کرد.

نرمال هفت مؤلفه اول و تحت تنش شوری شش مؤلفه اول دارای مقادیر ویژه بزرگ‌تر از یک بودند که در مجموع به‌ترتیب ۷۸/۵۷ درصد و ۷۷/۵۲ درصد از واریانس صفات را توجیه کردند (جدول‌های تکمیلی ۲ و ۳).

در هر دو شرایط نرمال و تنش شوری، مؤلفه اول که به‌ترتیب ۳۹/۴۴ درصد و ۴۳/۳۲ درصد از واریانس کل را توجیه کرد، دربرگیرنده قسمت عمده تغییرات صفات عملکرد دانه، عرض برگ، سطح برگ، عملکرد زیستی، کلروفیل، تعداد کل برگ، ارتفاع بلال اصلی، ارتفاع بوته، طول گل‌تاجی، قطر ساقه، طول بلال، تعداد دانه در ردیف، قطر بلال، عرض دانه، عمق دانه، وزن چوب بلال و وزن صد دانه بود. این امر نشانگر اهمیت ویژه این صفات در توجیه تغییرات و ارتباط نزدیک این صفات با همدیگر می‌باشد که در راستای نتایج به‌دست آمده از همبستگی پیرسون بین صفات می‌باشد. در شرایط نرمال این صفات دارای همبستگی منفی با مؤلفه اول بود، درحالی‌که تحت تنش شوری همبستگی این صفات با مؤلفه اول مثبت بود. علاوه‌براین، صفات دمای کانویی و طول پدانکل تحت تنش شوری دارای ضرایب بزرگی در مؤلفه اول بودند که نشان می‌دهد این صفات که سهم چندانی در توجیه تغییرات در شرایط نرمال نداشتند، تحت تنش شوری همبستگی بالایی با مؤلفه اول داشتند.

مطابق با یافته‌های تیان و همکاران (Tian *et al.*, 2020) تنش شوری به‌طور قابل توجیهی باعث افزایش دمای کانویی گیاهان می‌شود. در مواجهه با تنش خشکی و شوری، گیاهان از طریق بستن روزنه‌ها و کاهش تعرق، سبب کاهش از دست دادن آب سلول‌های برگ و دیگر اندام‌ها می‌شوند که این عمل با افزایش دمای کانویی و در نتیجه کاهش ظرفیت فتوسنتزی همراه است و در نهایت موجب افت عملکرد دانه می‌شود (Acosta-Motos *et al.*, 2017). افزایش دمای کانویی در گیاهان متحمل به تنش ممکن است نامحسوس باشد، درحالی‌که گیاهان حساس به تنش شوری، تفاوت معنی‌داری در افزایش دمای کانویی در شرایط تنش شوری نسبت به شرایط نرمال نشان می‌دهند (Tian *et al.*, 2020). نتایج به‌دست آمده از تجزیه خوشه‌ای در پژوهش حاضر نیز در راستای این مسأله بود، به‌طوری‌که تحت تنش شوری، خوشه دوم که میانگین کم‌تری برای اکثر صفات و از جمله عملکرد دانه داشت و لاین‌های موجود در آن خوشه را می‌توان جزو لاین‌های حساس به تنش شوری دانست، تفاوت آماری



شکل ۵- نمودار بای‌پلات دو مؤلفه اصلی اول برای صفات مورد بررسی و لاین‌های ذرت. (a) شرایط نرمال، (b) تنش شوری. لاین‌های ذرت بر اساس عدم تشابه بین آن‌ها و منطبق بر خوشه‌های حاصل از تجزیه خوشه‌ای پراکنده شده‌اند. طول و شدت رنگ بردار صفات به ترتیب نشان‌دهنده کیفیت نمایندگی و سهم صفات در دو مؤلفه اصلی اول است. شکل‌های بزرگ‌تر در هر خوشه مرکز خوشه را نشان می‌دهند.

Figure 5. Biplot of the first two principal components for investigated traits and maize lines. a) Normal conditions, b) Salinity stress conditions. Maize lines are dispersed in different ordinates based on the dissimilarity among them. The length and color intensity of a vector in the biplot indicate the quality of representation and the contribution of the traits, respectively, on the principal components. Bigger shapes indicate the centroid of the corresponding cluster.

هر دو شرایط نرمال و تنش شوری در سه خوشه قرار گرفتند. مقایسه میانگین بین خوشه‌ها نشان داد که خوشه اول دارای بیش‌ترین میانگین برای عملکرد دانه و اکثر صفات دیگر بود. خوشه سوم نیز میانگین متوسطی برای بیش‌تر صفات نشان داد. بنابراین، برای به‌دست آوردن بیش‌ترین میزان هتروزیس و تفکیک متجاوز و نیز دستیابی به هیبریدهای با عملکرد دانه بیش‌تر، می‌توان از تلاقی لاین‌های موجود در خوشه‌های اول و سوم به‌کمک نمودار بای‌پلات تجزیه به مؤلفه‌های اصلی بهره برد.

تضاد منافع

نویسنده (گان) تایید می‌کنند که این تحقیق در غیاب هر گونه روابط تجاری یا مالی که می‌تواند به‌عنوان تضاد منافع بالقوه تعبیر شود، انجام شده است.

رعایت اخلاق در نشر

نویسنده (گان) اعلام می‌کنند که در نگارش این مقاله به‌طور کامل از اخلاق نشر از جمله سرقت ادبی، سوء رفتار، جعل داده‌ها و یا ارسال و انتشار دوگانه، پیروی کرده‌اند.

نتیجه‌گیری کلی

به‌طور کلی، نتایج پژوهش حاضر نشان داد که تنوع ژنتیکی گسترده‌ای میان لاین‌های ذرت مورد مطالعه از نظر عملکرد دانه و صفات مورفولوژیک تحت هر دو شرایط نرمال و تنش شوری وجود داشت که امکان استفاده از آن‌ها را به‌عنوان یک منبع ژنی باارزش در برنامه‌های به‌نژادی، در راستای بهبود عملکرد و نیز جهت تولید ارقام اصلاح شده در شرایط نرمال و تنش شوری فراهم می‌کند. صفات تعداد دانه در ردیف، وزن صد دانه، عرض دانه و تعداد کل برگ در شرایط نرمال و صفات تعداد دانه در ردیف، عمق دانه، وزن چوب بلال و قطر بلال در شرایط نرمال و تنش شوری، از اجزای مهم تأثیرگذار بر عملکرد دانه بودند و بیش‌ترین اثر مستقیم را بر عملکرد دانه داشتند. از آنجایی‌که عملکرد دانه به‌شدت تحت تأثیر محیط قرار گرفته و معمولاً وراثت‌پذیری پایینی دارد، از این صفات می‌توان به‌منظور گزینش غیرمستقیم برای بهبود عملکرد دانه در لاین‌های ذرت استفاده کرد. با استفاده از تجزیه خوشه‌ای، لاین‌های ذرت مورد مطالعه در

اجازه انتشار مقاله

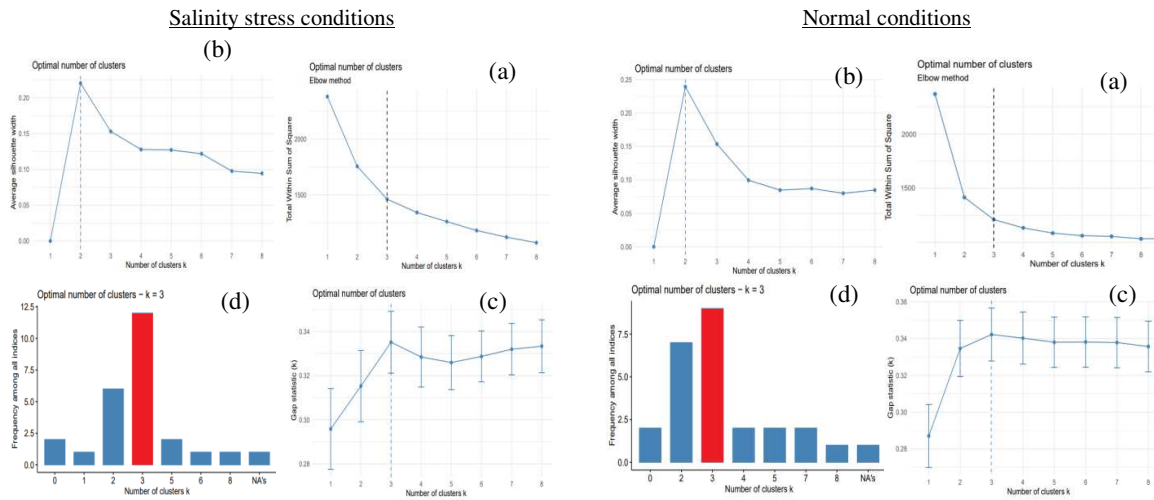
نویسنده (گان) با چاپ این مقاله به صورت دسترسی باز موافقت کرده و کلیه حقوق استفاده از محتوا، جدول‌ها، شکل‌ها، تصویرها و غیره را به ناشر واگذار می‌کنند.

همچنین این مقاله حاصل یک کار تحقیقاتی اصیل بوده و تا کنون به‌طور کامل به هیچ زبانی و در هیچ نشریه یا همایشی چاپ و منتشر نشده و هیچ اقدامی نیز برای انتشار آن در هیچ نشریه یا همایشی صورت نگرفته و نخواهد گرفت.



شکل تکمیلی ۱- نمودار جعبه‌ای آماره‌های توصیفی صفات مورد مطالعه در لاین‌های ذرت تحت شرایط نرمال (جعبه سبز) و تنش شوری (جعبه قرمز). حروف متفاوت روی جعبه‌ها نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد بر اساس آزمون t ولج است. دایره زرد رنگ و خط افقی داخل هر جعبه به ترتیب میانگین و میانه هر صفت را نشان می‌دهند.

Supplementary Figure 1. Box plots showing the descriptive statistics of the studied traits in maize lines under normal (green box) and salinity stress (red box) conditions. Different letters on the boxes indicate a significant difference by Welch's t -test at $P < 0.05$. The yellow circle and horizontal line within the box represent the mean and median, respectively.



شکل تکمیلی ۲- تعیین تعداد بهینه خوشه‌ها در لاین‌های ذرت بر مبنای صفات مورد بررسی با استفاده از روش‌های: (a) آرنج، (b) سیلوئت، (c) آماره Gap و (d) سایر شاخص‌ها در شرایط نرمال (شکل سمت راست) و تحت تنش شوری (شکل سمت چپ).

Supplementary Figure 2. Determining the optimal number of clusters in maize lines based on the studied traits using methods: a) Elbow, b) Silhouette, c) Gap Statistics and d) other indicators under normal (right) and salinity stress conditions (left).

جدول تکمیلی ۱- مقایسه میانگین و درصد تغییرات میانگین صفات مورد بررسی در سه خوشه حاصل از تجزیه خوشه‌ای لاین‌های ذرت. Supplementary Table 1. Comparison of means and percentage changes of the mean of investigated traits in three clusters from the hierarchical method of maize lines

Trait [†]	Normal conditions				Salinity stress conditions				Change (%)			
	Cluster1	Cluster2	Cluster3	Mean	Cluster1	Cluster2	Cluster3	Mean	Cluster1	Cluster2	Cluster3	Mean
GY	214.0 ^a	77.2 ^b	94.8 ^b	147.7	194.2 ^a	52.9 ^c	94.7 ^b	113.9	-9.3	-31.5	-0.1	-13.6
FLL	39.7 ^a	34.1 ^b	35.7 ^b	37.1	33.6 ^a	26.1 ^b	33.2 ^a	31.0	-15.5	-23.5	-6.8	-15.3
FLW	5.7 ^a	4.5 ^b	4.6 ^b	5.1	5.4 ^a	3.7 ^c	4.5 ^b	4.6	-4.9	-18.4	-0.8	-8.0
FLA	19377 ^a	12241 ^b	12634 ^b	15855	14285 ^a	7352 ^c	11136 ^b	10924	-26.3	-39.9	-11.9	-26.0
BY	498.8 ^a	222.2 ^c	420.4 ^b	383.6	506.3 ^a	181.7 ^c	337.7 ^b	341.9	1.5	-18.2	-19.7	-12.1
LCT	31.8 ^a	32.9 ^a	32.6 ^a	32.4	31.4 ^b	34.0 ^a	32 ^b	32.5	-1.5	3.4	-1.9	0.0
LCC	87.0 ^a	60.5 ^b	78.5 ^a	75.9	92.6 ^a	56.9 ^c	73.2 ^b	74.2	6.4	-5.8	-6.8	-2.1
EUL	5.0 ^b	4.9 ^b	5.8 ^a	5.1	5.1 ^a	5.2 ^a	5.1 ^a	5.1	0.0	5.7	-12.2	-2.2
TL	11.8 ^b	9.8 ^c	12.9 ^a	11.2	11.9 ^a	10.1 ^c	11.3 ^b	11.2	1.1	3.0	-12.1	-2.7
EH	75.4 ^a	51.5 ^b	79.8 ^a	66.8	75.3 ^a	36.8 ^c	63.6 ^b	58.6	-0.2	-28.6	-20.3	-16.4
PH	158.0 ^a	121.9 ^b	165.5 ^a	145.0	170.4 ^a	105.1 ^c	146.2 ^b	140.6	7.8	-13.7	-11.7	-5.9
TAL	188.6 ^a	148.6 ^b	182.8 ^a	172.6	201.2 ^a	125.1 ^c	175.2 ^b	167.2	6.7	-15.9	-4.2	-4.4
LA	154.6 ^b	146.9 ^c	165.6 ^a	153.0	146.1 ^{ab}	140.4 ^b	148.3 ^a	144.9	-5.5	-4.5	-10.4	-6.8
SD	2.5 ^a	1.8 ^b	2.4 ^a	2.3	2.2 ^a	1.6 ^c	2.0 ^b	1.9	-15.7	-13.1	-16.7	-15.1
PL	8.3 ^a	5.6 ^b	7.7 ^a	7.2	10.1 ^a	5.2 ^c	7.0 ^b	7.4	20.9	-8.2	-9.7	1.0
DTT	69.1 ^b	69.9 ^b	78.1 ^a	70.5	71.9 ^b	71.8 ^b	75.1 ^a	72.9	4.0	2.7	-3.8	1.0
DTS	75.4 ^b	76.8 ^b	82.5 ^a	76.8	77.48 ^b	79.6 ^{ab}	82.2 ^a	79.7	2.6	3.6	-0.3	2.0
K/Na	54.6 ^a	54.4 ^a	58.04 ^a	55.0	47.37 ^{ab}	43.1 ^b	50.2 ^a	46.9	-13.6	-20.7	-13.5	-15.9
RWC	77.0 ^b	81.4 ^a	75.7 ^b	78.6	75.5 ^a	75.2 ^a	76.5 ^a	75.7	-2.0	-7.7	1.0	-2.9
EL	18.8 ^a	11.8 ^c	13.7 ^b	15.5	19.2 ^a	12.1 ^c	15.6 ^b	15.7	1.8	3.0	14.3	6.4
RPE	14.9 ^a	13.8 ^a	14.6 ^a	14.4	13.7 ^a	13.1 ^a	13.3 ^a	13.4	-7.9	-4.3	-9.1	-7.1
GPR	36.8 ^a	20.4 ^b	22.4 ^b	28.8	39.9 ^a	19.9 ^c	27.9 ^b	29.2	8.2	-2.0	24.8	10.3
ED	45.4 ^a	36.2 ^c	40.3 ^b	41.3	47.1 ^a	36.3 ^c	39.1 ^b	40.8	3.8	0.4	-2.9	0.4
GW	8.5 ^a	7.5 ^b	8.3 ^a	8.1	9.3 ^a	7.9 ^b	8.1 ^b	8.4	8.0	4.9	-1.5	3.8
GDE	11.4 ^a	9.0 ^c	10.2 ^b	10.4	12.45 ^a	9.3 ^c	10.0 ^b	10.6	7.9	3.0	-2.1	2.9
GD	4.5 ^b	5.1 ^a	5.1 ^a	4.8	4.4 ^b	5.2 ^a	4.9 ^a	4.9	-3.3	3.3	-3.9	-1.3
CD	32.6 ^a	14.7 ^b	17.5 ^b	24.0	32.7 ^a	14.1 ^c	20.5 ^b	22.4	0.3	-4.4	17.0	4.3
HGW	32.6 ^a	23.7 ^c	27.6 ^b	28.6	35.9 ^a	24.0 ^c	26.9 ^b	28.9	9.8	1.3	-2.2	2.9

[†]: The traits abbreviations are indicated in Table 2.

Means followed by similar letter in each row are not significantly different by Duncan's test at 5% probability level.

جدول تکمیلی ۲- نتایج حاصل از تجزیه به مؤلفه‌های اصلی لاین‌های ذرت تحت شرایط نرمال

Supplementary Table 2. The results of principal component analysis of maize lines under normal conditions

Trait [†]	PC1 [‡]	PC2	PC3	PC4	PC5	PC6	PC7
GY	-0.87	0.16	-0.09	0.02	-0.02	0.05	-0.06
FLL	-0.50	0.23	0.60	-0.22	-0.19	-0.25	-0.06
FLW	-0.64	0.33	0.40	-0.07	-0.33	-0.10	0.09
FLA	-0.69	0.31	0.47	-0.15	-0.24	-0.20	-0.03
BY	-0.92	-0.17	0.04	0.02	-0.06	-0.03	-0.05
LCT	0.25	0.03	0.16	-0.43	0.47	0.41	0.20
LCC	-0.62	0.00	0.11	-0.02	-0.16	0.16	0.40
EUL	-0.09	-0.66	-0.25	0.05	0.03	-0.10	0.11
TL	-0.64	-0.63	0.01	0.15	0.04	-0.03	-0.07
EH	-0.73	-0.29	0.28	0.27	0.21	-0.08	-0.09
PH	-0.74	-0.33	0.18	0.33	0.25	-0.21	0.08
TAL	-0.73	-0.18	0.11	0.29	0.27	-0.21	0.03
LA	-0.37	-0.58	-0.07	-0.25	-0.13	0.06	0.02
SD	-0.83	-0.21	-0.02	-0.17	0.15	-0.14	-0.06
PL	-0.40	0.02	0.09	0.22	0.50	-0.12	0.49
DTT	0.08	-0.80	0.29	-0.10	-0.24	0.20	-0.13
DTS	0.21	-0.77	0.29	-0.22	-0.19	0.11	-0.13
K/Na	-0.06	-0.05	0.44	-0.39	0.04	0.26	0.43
RWC	0.27	0.11	-0.03	0.51	-0.47	-0.17	0.31
EL	-0.87	0.17	-0.13	-0.03	0.08	0.07	-0.19
RPE	-0.38	-0.09	-0.06	0.54	-0.33	0.51	0.15
GPR	-0.84	0.30	-0.01	0.05	0.09	0.21	-0.19
ED	-0.83	0.01	-0.32	0.04	-0.14	0.28	0.08
GW	-0.67	0.04	-0.36	-0.46	-0.10	-0.16	0.10
GDE	-0.82	0.14	-0.23	-0.07	-0.14	0.18	0.10
GD	0.32	-0.36	-0.40	-0.22	-0.16	-0.40	0.31
CD	-0.83	0.09	-0.27	-0.06	0.06	0.12	-0.16
HGW	-0.72	0.04	-0.37	-0.37	-0.12	-0.15	0.09
Eigen value	11.04	3.31	2.03	1.85	1.46	1.25	1.06
Variance (%)	39.44	11.81	7.25	6.61	5.21	4.46	3.79
Cumulative variance (%)	39.44	51.26	58.50	65.11	70.32	74.78	78.57

[†]: The traits abbreviations are indicated in Table 2.[‡]: The underlined numbers have larger values in the principal components.

جدول تکمیلی ۳- نتایج حاصل از تجزیه به مؤلفه‌های اصلی لاین‌های ذرت تحت شرایط تنش شوری

Supplementary Table 3. The results of principal component analysis of maize lines under salinity stress conditions

Trait [†]	PC1 [‡]	PC2	PC3	PC4	PC5	PC6
GY	0.89	0.35	0.00	0.05	-0.02	0.00
FLL	0.49	-0.60	0.44	0.01	-0.17	0.09
FLW	0.69	-0.31	0.38	0.02	-0.13	0.18
FLA	0.64	-0.44	0.41	-0.13	-0.23	0.18
BY	0.94	-0.09	-0.09	0.01	0.02	0.00
LCT	-0.55	0.20	0.12	-0.26	-0.11	-0.32
LCC	0.69	0.18	-0.15	-0.09	0.03	0.12
EUL	-0.07	0.10	-0.74	-0.22	0.15	-0.01
TL	0.61	-0.27	-0.54	0.13	0.06	-0.24
EH	0.78	-0.27	0.03	0.32	0.13	-0.16
PH	0.85	-0.18	-0.12	0.14	0.22	-0.23
TAL	0.87	-0.25	-0.11	0.11	0.20	-0.12
LA	0.28	-0.39	-0.49	-0.09	-0.47	-0.08
SD	0.73	-0.27	-0.13	-0.01	-0.13	-0.09
PL	0.63	0.04	0.09	-0.15	0.26	-0.34
DTT	0.04	-0.80	-0.28	0.04	-0.10	0.09

Supplementary Table 3. Continued

جدول تکمیلی ۳- ادامه

Trait [†]	PC1 [‡]	PC2	PC3	PC4	PC5	PC6
DTS	-0.20	-0.84	-0.12	-0.12	0.04	0.03
K/Na	0.14	-0.41	0.26	-0.12	0.31	-0.19
RWC	-0.02	-0.18	-0.19	0.37	0.56	0.58
EL	0.87	0.06	0.19	0.02	-0.06	-0.10
RPE	0.26	0.27	-0.27	0.45	-0.51	0.12
GPR	0.86	0.27	0.21	0.19	0.02	-0.08
ED	0.83	0.33	-0.17	-0.05	-0.15	0.19
GW	0.71	0.17	-0.01	-0.58	0.11	0.13
GDE	0.82	0.40	-0.04	-0.16	0.01	0.09
GD	-0.45	-0.39	-0.15	-0.54	-0.04	0.10
CD	0.88	0.13	-0.04	-0.10	-0.07	0.05
HGW	0.77	0.17	-0.06	-0.49	0.06	0.22
Eigen value	12.13	3.53	2.10	1.65	1.28	1.01
Variance (%)	43.32	12.62	7.50	5.89	4.57	3.61
Cumulative variance (%)	43.32	55.94	63.45	69.33	73.90	77.52

[†]: The traits abbreviations are indicated in Table 2.[‡]: The underlined numbers have larger values in the principal components.

References

- Ahmadizadeh, A., Khajoei-Nejad, G. and Abdoshahi, R. 2018. Effect of salicylic acid on morphological characteristics and yield of sorghum (*Sorghum bicolor* L.) cultivars under different irrigation regimes. *Cereal Research* 7 (4): 591-603. (In Persian with English Abstract).
- Acosta-Motos, J. R., Ortuño, M. F., Bernal-Vicente, A., Diaz-Vivancos, P., Sanchez-Blanco, M. J. and Hernandez, J. A. 2017. Plant responses to salt stress: Adaptive mechanisms. *Agronomy* 7 (18): 1-38.
- Ahmed, F. F., Abdel Aal, A. M. K., Aly, M. A. and Ahmed, S. E. A. 2015. Tolerance of some grapevine cultivars to salinity and calcium carbonate in the soil. *Stem Cell* 6: 45-64.
- Alberico, G. J. and Cramer, G. R. 1993. Is the salt tolerance of maize related to sodium exclusion? 1. Preliminary screening of seven cultivars. *Journal of Plant Nutrition* 16 (11): 2289-2303.
- Ashraf, M. and Akram, N. A. 2009. Improving salinity tolerance of plants through conventional breeding and genetic engineering: An analytical comparison. *Biotechnology Advances* 27: 744-752.
- Bartels, D. and Sunkar, R. 2005. Drought and salt tolerance in plants. *Critical Reviews in Plant Sciences* 24: 23-58.
- Bhandari, H. R., Nishant Bhanu, A., Srivastava, K., Singh, M. N., Shreya, Hemantaranjan, A. 2017. Assessment of genetic diversity in crop plants- An overview. *Advances in Plants and Agricultural Research* 7 (3): 279-286.
- Böhm, K., Smidt, E. and Tintner, J. 2013. Application of multivariate data analyses in waste management. In: de Freitas, L. V. and de Freitas, A. P. B. R. (Eds.). *Multivariate analysis in management, engineering and the sciences*. IntechOpen: London, UK.
- Breseghele, F. and Coelho, A. S. G. 2013. Traditional and modern plant breeding methods with examples in rice (*Oryza sativa* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 61: 8277-8286.
- Charrad, M., Ghazzali, N., Boiteau, V. and Niknafs, A. 2014. NbClust: An R package for determining the relevant number of clusters in a data set. *Journal of Statistical Software* 61: 1-36.
- Chaudhary, W. B., Ali, M. A., Bajwa, K. S., Iqbal, A., Khan, M. A., Shahid, A. A. and Aslam, M. 2017. Correlation analysis of maize genotypes under saline stress and its impact on morphological characteristics. *Life Science Journal* 14 (7): 93-101.
- Child, D. 2006. *The essentials of factor analysis*. 3rd Ed. Bloomsbury Academic Publications. 192 p.
- Chinnusamy, V., Jagendorf, A. and Zhu, J. K. 2005. Understanding and improving salt tolerance in plants. *Crop Science* 45: 437-448.
- Cruz, C. D., Carneiro, P. C. S. and Regazzi, A. J. 2014. *Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético*, 3rd Ed. UFV, Viçosa, MG.
- Draper, N. R. and Smith, H. 1966. *Applied regression analysis*. Wiley, New York, NY, USA.

- Falconer, D. S. and Mackay, T. F. C. 1996.** Introduction to quantitative genetics. 4th Ed. Addison Wesley Longman, Harlow.
- FAO. 2015.** FAO statistical pocketbook. Rome, Italy.
- FAO. 2016.** FAO soils portal. Available at: <http://www.fao.org/soils-portal/soilmanagement/management-of-some-problem-soils/salt-affected-soils/moreinformation-on-salt-affected-soils/en/>
- FAO 2020.** Management of salt affected soils. In: FAO [online]. www.fao.org/soils-portal/soil-management/management-of-some-problem-soils/salt-affected-soils/en/
- FAO and ITPS. 2015.** Food and Agriculture Organization and Intergovernmental Technical Panel on Soils. 2015. Status of the world's soil resources: Main report. Rome. 649 p. (also available at www.fao.org/3/a-i5199e.pdf).
- Field, A. 2009.** Discovering statistics using SPSS. 3rd Ed. SAGE Publications. 821 p.
- Ghaedrahmati, M., Mardi, M., Naghavi, M. R., Majidi Heravan, E., Nakhoda, B., Azadi, A. and Mohammadi-Nejad, Gh. 2017.** Statistical analysis of yields and its component of seeds resulted from early crosses of wheat cultivars under salinity conditions. **Journal of Crop Breeding** 9 (21): 56-66 (In Persian with English Abstract).
- Ghassemi, F., Jakeman, A. J. and Nix, H. A. 1995.** Salinization of land and water resources. Human causes, extent, management and case studies. Center for Resource and Environmental Studies. Canberra, Australian National University.
- Gidamis, A. B. and Chove, B. E. 2009.** Biotechnology and biosafety: Exploring the debate and public perception in developing countries. **Journal of Knowledge Globalization** 2: 45-62.
- Hallauer, A. R. and Miranda Filho, J. B. 1988.** Quantitative genetics in maize breeding. 2nd Ed. Ames, Iowa, Iowa State University Press. 468 p.
- Hebbali, A. 2020.** R package 'olsrr'. Ver. 0.5.3. Tools for building OLS regression models.
- Howard, M. C. 2016.** A review of exploratory factor analysis decision and overview of current practices: What we are doing and how can we improve? **International Journal of Human-Computer Interaction** 32 (1): 51-62.
- Huge, M. A. S., Haque, M. S., Sagar, A., Uddin, M. N., Hossain, M. A., Hossain, A. Z., Rahman, M. M., Wang, X., Al-Ashkar, I., Ueda, A. and El-Sabagh, A. 2021.** Characterization of maize hybrids (*Zea mays* L.) for detecting salt tolerance based on morpho-physiological characteristics, ion accumulation and genetic variability at early vegetative stage. **Plants** 10: 2549.
- Hussain, S., Shaukat, M., Ashraf, M., Zhu, C., Jin, Q. and Zhang, J. 2019.** Salinity stress in arid and semi-arid climates: effects and management in field crops. In: Hussain, S. (Ed.). Climate Change and Agriculture. IntechOpen. pp: 1-26.
- Jolliffe, I. 2002.** Principal component analysis. Springer series in statistics. 2nd Ed. New York, USA.
- Kader, M. A., Seidel, T., Gollack, D. and Lindberg, S. 2006.** Expressions of OsHKT1, OsHKT2, and OsVHA are differentially regulated under NaCl stress in salt-sensitive and salt-tolerant rice (*Oryza sativa* L.) cultivars. **Journal of Experimental Botany** 57 (15): 4257-4268.
- Kaiser, H. F. 1974.** An index of factorial simplicity. **Psychometrika** 39 (1): 31-36.
- Kassambara, A. and Mundt, F. 2020.** R package 'factoextra'. Ver. 1.0.7. Extract and visualize the results of multivariate data analyses.
- Keith, T. Z. and Reynolds, M. R. 2018.** Using confirmatory factor analysis to aid in understanding the constructs measured by intelligence tests. In: Flanagan, D. P. and McDonough, E. M. (Eds.). Contemporary intellectual assessment: Theories, tests, and issues (p. 853-900). The Guilford Press.
- Khan, A. A., Rao, S. A. and McNilly, T. M. 2003.** Assessment of salinity tolerance based upon seedling root growth response functions in maize (*Zea mays* L.). **Euphytica** 131: 81-89.
- Khayatnezhad, M., Gholamin, R., Jamaati-e-Somarin, Sh., Zabihi-e-Mahmoodabad, R. and Badrzadeh, S. 2011.** Study of morphological traits of maize cultivars through factor analysis. **Advances in Environmental Biology** 5 (1): 104-108.
- Lautenschlager, G. J. 1989.** A comparison of alternatives to conducting Monte Carlo analysis for determining parallel analysis criteria. **Multivariate Behavioral Research** 24: 365-395.
- Luo, M., Zhao, Y., Song, W., Zhang, R., Su, A., Li, C., Wang, X., Xing, J., Shi, Z. and Zhao, J. 2017.** Effect of saline stress on the physiology and growth of maize hybrids and their related inbred lines. **Maydica** 62: M11.
- Maas, E. V., Donovan, T. T. and Francois, L. E. 1988.** Salt tolerance of irrigated guayule. **Irrigation Science** 9: 199-211.

- Maechler, M., Rousseeuw, P., Struyf, A., Hubert, M. and Hornik, K. 2021.** R package 'cluster' Ver. 2.1.2. Cluster analysis basics and extensions.
- Mallows, C. L. 1973.** Some comments on Cp. **Technometrics** 15 (4): 661-675.
- Masood, M., Ahsan, M., Sadaqat, H. A. and Awan F. 2020.** Screening of maize (*Zea mays* L.) inbred lines under water deficit conditions. **Biological and Clinical Sciences Research Journal** 2020: p.e007.
- Mata, C. G. and Lamattina, L. 2001.** Nitric oxide induces stomatal closure and enhances the adaptive plant responses against drought stress. **Plant Physiology** 126: 1196-1204.
- Molotoks, A., Smith, P. and Dawson, T. P. 2021.** Impacts of land use, population, and climate change on global food security. **Food and Energy Security** 10: e261.
- Mostafavi, K., Firoozi, M. and Mousavi, S. M. N. 2013.** Effect of drought stress on yield and yield components of maize hybrids. **Science Research and Essays** 8 (24): 1145-1149.
- Muhammad, Y. and Muhammad, S. 2001.** Correlation analysis of S1 families of maize for grain yield and its components. **International Journal of Agriculture and Biology** 3 (4): 387-388.
- Munns, R. and Tester, M. 2008.** Mechanisms of salinity tolerance. **Annual Review of Plant Biology** 59: 651-681.
- Nemati, A., Sedghi, M., Sharifi, R. S. and Seiedi, M. N. 2009.** Investigation of correlation between traits and path analysis of corn (*Zea mays* L.) grain yield at the climate of Ardabil region (northwest Iran). **Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca** 37 (1): 194-198.
- Rahnama, A., James, R. A., Poustini, K. and Munns, R. 2010.** Stomatal conductance as a screen for osmotic stress tolerance in durum wheat growing in saline soil. **Functional Plant Biology** 37 (3): 255-263.
- Ramazani, M., Samizadeh Lahiji, H., Ebrahimi Koulabi, H. and Kafi Ghasemi, A. 2008.** Agronomic and morphologic analysis of maize hybrids via factor analysis in Hammedan. **Journal of Science and Technology of Agriculture and Natural Resources** 12 (45): 99-108 (In Persian with English Abstract).
- Revelle, W. 2016.** R package 'psych'. Ver. 1.6.4. Procedures for personality and psychological research. Northwestern University, Evanston, Illinois, USA.
- Revelle, W. and Rocklin, T. 1979.** Very simple structure: An alternative procedure for estimating the optimal number of interpretable factors. **Multivariate Behavioral Research** 14: 403-414.
- Saidaiyah, P., Satyanarayana, E. and Kumar, S. S. 2008.** Association and path coefficient analysis in maize (*Zea mays* L.). **Agricultural Science Digest** 28 (2): 79-83.
- Schubert, S., Neubert, A., Schierholt, A., Sumer, A. and Zorb, C. 2009.** Development of salt-resistant maize hybrids: The combination of physiological strategies using conventional breeding methods. **Plant Science** 177: 196-202.
- Shao, H., Chu, L., Lu, H., Qi, W., Chen, X., Liu, J., Kuang, S., Tang, B. and Wong, V. 2019.** Towards sustainable agriculture for the salt-affected soil. **Land Degradation and Development** 30: 574-579.
- Singh, S. and Pawar, I. S. 2005.** Theory and application of biometrical genetics. CBS Publishers, India.
- Streiner, D. L. 2005.** Finding our way: An introduction to path analysis. **The Canadian Journal of Psychiatry** 50 (2): 115-122.
- Tian, F., Hou, M., Qiu, Y., Zhang, T. and Yuan, Y. 2020.** Salinity stress effects on transpiration and plant growth under different salinity soil levels based on thermal infrared remote (TIR) technique. **Geoderma** 357 (113961): 1-10.
- Tilman, D., Blazer, C., Hill, J. and Befort, B. L. 2011.** Global food demand and the sustainable intensification of agriculture. **Proceedings of the National Academy of Sciences** 108: 20260-20264.
- Wei, T. and Simko, V. 2021.** R package 'corrplot'. Ver. 0.92. Visualization of a correlation matrix.
- Yahaya, M. S., Bello, I. and Unguwanrimi, A. Y. 2021.** Correlation and path-coefficient analysis for grain yield and agronomic traits of maize (*Zea mays* L.). **Science World Journal** 16 (1): 10-13.
- Yuhua, Z., Jiapeng, F., Xibao, W. and Liyao, D. 2018.** Na⁺/K⁺ balance and transport regulatory mechanisms in weedy and cultivated rice (*Oryza sativa* L.) under salt stress. **BMC Plant Biology** 18: 375.
- Zhao, W., Jung, S. and Schubert, S. 2019.** Transcription profile analysis identifies marker genes to distinguish salt shock and salt stress after stepwise acclimation in *Arabidopsis thaliana* and *Zea mays*. **Plant Physiology and Biochemistry** 143: 232-245.



Evaluation of Genetic Diversity of Maize Lines (*Zea mays* L.) under Normal and Salinity Stress Conditions

Sorour Arzangh¹, Reza Darvishzadeh^{2*} and Hadi Alipour³

Received: July 12, 2021

Accepted: October 10, 2021

Abstract

Maize or corn, as one of the staple food products and forage crop, in addition to having a high grain and biomass yield, is of particular importance in the supply of carbohydrates, edible oils, and renewable energy. The plant is grown under a wide range of climatic conditions and is relatively sensitive to salinity. The development of salt-tolerant varieties of plants is inevitable policy in response to the growing demand for food in sustainable agriculture system. In the present study, the genetic diversity of 86 maize lines was investigated using morphological traits in a randomized complete block design (RCBD) with three replications under normal and NaCl salinity stress (EC 8 dS/m) in potted conditions. The results showed that salinity stress led to a significant decrease in mean of grain yield (GY), flag leaf length (FLL), flag leaf width (FLW), flag leaf area (FLA), ear height (EH), leaf angle (LA), stem diameter (SD), potassium to sodium ratio (K/Na), relative leaf water content (RWC), and number of rows per ear (RPE). In contrast, salinity stress caused a significant increase in the mean of days to tasseling (DTT) and days to silking (DTS) compared to normal conditions. The results obtained from stepwise regression analysis using Mallows' Cp, and path analysis showed that, traits include number of grains per row (GPR), hundred grain weight (HGW), grain width (GW), and total leaves (TL) under normal conditions and traits include number of grains per row (GPR), grain depth (GDE), cob weight (CD), and ear diameter (ED) under salinity stress conditions were the most important traits affecting grain yield (GY). The great amount of h^2 communality of mentioned traits in factor analysis was in order to confirm these results. According to the results of factor analysis using parallel analysis and very simple structure criterion (VSS), four hidden factors were determined in both normal and salinity stress conditions, which explained 60% and 65% of the variability among the maize lines, respectively. Before conducting the cluster analysis, three clusters were determined as the optimal number of clusters by elbow, silhouette and Gap statistics methods in each of normal and salinity stress conditions. Then, hierarchical cluster analysis of the studied maize lines was performed based on measured traits using Ward's minimum variance method. Therefore, in case of need for hybridization to achieve salt-tolerant maize hybrids and improvement of important agronomic traits, suitable parents can be selected from the first and third clusters using comparisons of mean of the traits in clusters under salinity stress conditions and also with the help of the biplot obtained from principal component analysis (PCA). Targeted crossbreeding between selected parental lines allows for further exploitation of phenomena such as heterosis and aggressive segregation.

Keywords: Gap statistic, Morphological traits, Multivariate analysis, NaCl stress, Path analysis

1. Ph. D. Student, Dept. of Plant Production and Genetics, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia, Iran

2. Prof., Dept. of Plant Production and Genetics, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia, Iran

3. Assist. Prof., Dept. of Plant Production and Genetics, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia, Iran

* Corresponding author: r.darvishzadeh@urmia.ac.ir