University of Guilan
Faculty of Agricultural Sciences

Cereal Research
Vol. 13, No. 3, Autumn 2023 (269-283)
doi: 10.22124/CR.2024.25926.1795
pISSN: 2252-0163 eISSN: 2538-6115

RESEARCH PAPER OPEN ACCESS

Assessing genetic diversity and reaction of maize genotypes (*Zea mays* L.) under cadmium stress

Ali Asghar Ghaderi [1], Nafiseh Mahdinezhad[2*], Reza Darvishzadeh[3*], Barat Ali Fakheri[4] and Sara Farokhzadeh[5]

1. Ph.D. Student, Department of Plant Breeding and Biotechnology, Faculty of Agriculture, University of Zabol, Zabol, Iran
2. Associate Professor, Department of Plant Breeding and Biotechnology, Faculty of Agriculture, University of Zabol, Zabol, Iran (* Corresponding author: nmahdinezhad@uoz.ac.ir)
3. Professor, Department of Plant Production and Genetics, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia, Iran (* Corresponding author: r.darvishzadeh@urmia.ac.ir)
4. Professor, Department of Plant Breeding and Biotechnology, Faculty of Agriculture, University of Zabol, Zabol, Iran
5. Ph.D., Department of Field and Horticultural Crops Research, Fras Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Shiraz, Iran

Comprehensive abstract

Introduction

Heavy metals especially cadmium (Cd), with potential toxicity and injurious effects for plants and humans, are one of the most important abiotic stresses for crop plants such as maize which lead to a considerable reduction in the crops production in developing countries including Iran. Therefore, assessing genetic diversity for Cd stress tolerance, as one of the basic principles of plant adaptation to abiotic stresses, is very important. In this regard, the present study was carried out to evaluate the genetic diversity of maize pure lines and hybrids based on important agronomic traits associated with grain yield under non-stress and Cd stress environmental conditions. The results of this research can be useful for maize breeders in identifying suitable parental genotypes for maize breeding programs to develop high-yielding and Cd stress-tolerant genotypes in regions contaminated to this heavy metal.

Materials and methods

In this study, 95 maize genotypes comprising pure lines and hybrids, were evaluated in a randomized complete block design with three replications under two non-stress and Cd stress conditions. The experiment was performed in a pot experiment in an open area of the Agricultural and Natural Resources Research Station of Jiroft, Kerman province, Iran, in two cropping seasons, 2020-21 and 2021-22. Under Cd stress conditions, cadmium chloride solution ($CdCl_2.2H_2O$) with a concentration of 30 $mg.L^{-1}$ was applied at two important stages of maize plant growth, including six-leaf stage (Code 16 in Zadoks scale) and the appearance of first male flowers (Code 50 in Zadoks scale). The measured traits included 24 different phenological, morphological, and agronomic traits. Grouping of maize genotypes in term of the studied traits was performed using cluster analysis based on Ward's minimum variance method, and discriminant function analysis was used to confirm and validate the results of cluster analysis.

Research findings

The results of this study indicated that there was an extensive genetic diversity among the studied maize genotypes for most of the studied traits, especially for grain yield and its components under

non-stress and Cd stress conditions. Cluster analysis grouped the maize genotypes into four separate clusters with accuracy probabilities of 91.6% and 97.9% under non-stress and Cd stress conditions, respectively. Comparison of means between these four groups showed that under non-stress conditions, 41 and 24 genotypes in the third and fourth groups were the high yielding genotypes of this experiment, respectively. Under Cd stress conditions, 49 genotypes with the higher grain yield and yield components in the second and third groups (such as Ma002, Ma003, Ma004, Ma005, and Ma007) were identified as Cd-tolerant genotypes. These genotypes mainly showed short to medium phenological periods. Also, 11 genotypes (Ma001, Ma008, Ma030, Ma033, Ma036, Ma039, Ma042, Ma045, Ma072, and Ma089), indicated the lowest means for important agronomic traits including yield and its components under both non-stress and Cd-stress conditions. These genotypes were unable to tolerate Cd stress under the conditions of this experiment and were identified as sensitive genotypes.

Conclusion

The present study led to the identification of 40 tolerant maize genotypes to Cd stress (such as Ma003, Ma005, Ma007, Ma013, Ma014, and Ma015). These genotypes in addition to exhibiting desirable yield and yield components under non-stress environment, also showed suitable yield under Cd stress conditions. Therefore, by carefully selecting the parents among Cd-tolerant genotypes and carrying out targeted crosses between them, it is possible to obtain suitable hybrids for cultivation in Cd-stressed environments by exploiting genetic phenomena such as transgressive segregation and heterosis.

Keywords: Abiotic stress, Cluster analysis, Discriminant function analysis, Grain yield, Heavy metals

Received: August 06, 2023 Accepted: November 03, 2023

Cite this article:

Ghaderi, A. A., Mahdinezhad, N., Darvishzadeh, R., Fakheri, B. A., & Farokhzadeh, S. (2023). Assessing genetic diversity and reaction of maize genotypes (*Zea mays* L.) under cadmium stress. *Cereal Research*, *13*(3), 269-283. doi: 10.22124/CR.2024.25926.1795.

تحقیقات غلات
دوره سیزدهم، شماره سوم، پاییز ۱۴۰۲ (۲۸۳-۲۶۹)
doi: 10.22124/CR.2024.25926.1795

مقاله پژوهشی
دسترسی آزاد

ارزیابی تنوع ژنتیکی و واکنش ژنوتیپ‌های ذرت (*Zea mays* L.) تحت تنش کادمیوم

علی‌اصغر قادری [۱]، نفیسه مهدی‌نژاد [۲*]، رضا درویش‌زاده [۳*]، براتعلی فاخری [۴] و سارا فرخ‌زاده [۵]

۱- دانشجوی دکتری، گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی، دانشکده کشاوزی، دانشگاه زابل، زابل، ایران
۲- دانشیار، گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی، دانشکده کشاوزی، دانشگاه زابل، زابل، ایران (* نویسنده مسئول: nmahdinezhad@uoz.ac.ir)
۳- استاد، گروه تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران (* نویسنده مسئول: r.darvishzadeh@urmia.ac.ir)
۴- استاد، گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی، دانشکده کشاوزی، دانشگاه زابل، زابل، ایران
۵- دکتری، بخش تحقیقات زراعی و باغی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان فارس، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، شیراز، ایران

چکیده جامع

مقدمه: فلزات سنگین به‌ویژه کادمیوم (Cd)، با اثرات مضر و سمّیت بالقوه برای گیاهان و انسان، از مهم‌ترین تنش‌های غیرزیستی برای گیاهان زراعی مانند ذرت هستند که قادرند منجر به کاهش چشم‌گیر تولید این محصولات در کشورهای در حال توسعه از جمله ایران شوند. بنابراین، سنجش تنوع ژنتیکی برای تحمل به تنش کادمیوم، به‌عنوان یکی از اصول اساسی سازگاری گیاهان با تنش‌های غیرزیستی، اهمیت زیادی دارد. در این راستا، پژوهش حاضر به‌منظور ارزیابی تنوع ژنتیکی لاین‌های خالص و هیبریدهای ذرت بر اساس صفات زراعی مهم مرتبط با عملکرد دانه تحت دو شرایط محیطی بدون تنش و تنش کادمیوم انجام شد. نتایج این پژوهش می‌تواند در شناسایی ژنوتیپ‌های والدینی مناسب برای برنامه‌های به‌نژادی ذرت، به‌منظور توسعه ژنوتیپ‌های پُرمحصول و متحمل به تنش کادمیوم در مناطق آلوده به این فلز سنگین، مفید باشد.

مواد و روش‌ها: در این آزمایش، ۹۵ ژنوتیپ ذرت شامل لاین‌های خالص و هیبریدها در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار تحت دو شرایط بدون تنش و تنش کادمیوم مورد ارزیابی قرار گرفتند. آزمایش به‌صورت گلدانی در فضای باز ایستگاه تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی جیرفت در استان کرمان طی دو فصل زراعی (۱۴۰۰-۱۳۹۹ و ۱۴۰۱-۱۴۰۰) انجام شد. به‌منظور ایجاد شرایط تنش، محلول کلرید کادمیوم ($CdCl_2.2H_2O$) با غلظت ۳۰ میلی‌گرم در لیتر در دو مرحله مهم از رشد گیاه ذرت، یعنی در مرحله شش برگی (کد ۱۶ در مقیاس زادوکس) و مرحله ظهور اولین گل‌های نر (کد ۵۰ در مقیاس زادوکس)، مورد استفاده قرار گرفت. صفات اندازه‌گیری شده شامل تعداد ۲۴ صفت مختلف فنولوژیک، مورفولوژیک و زراعی بود. گروه‌بندی ژنوتیپ‌های ذرت بر اساس صفات مورد مطالعه با استفاده از تجزیه خوشه‌ای به‌روش حداقل واریانس وارد (Ward minimum variance) انجام گرفت و به‌منظور تأیید و اعتبارسنجی نتایج حاصل از تجزیه خوشه‌ای، از تجزیه تابع تشخیص استفاده شد.

یافته‌های تحقیق: نتایج این پژوهش نشان داد که تنوع ژنتیکی گسترده‌ای بین ژنوتیپ‌های ذرت مورد مطالعه برای اغلب صفات اندازه‌گیری شده به‌ویژه برای عملکرد و اجزای عملکرد تحت هر دو شرایط بدون تنش و تنش کادمیوم وجود داشت. تجزیه خوشه‌ای، ژنوتیپ‌های ذرت را به چهار گروه مجزا با احتمال صحت ۹۱/۶ و ۹۷/۹ درصد به‌ترتیب تحت شرایط بدون تنش و تنش کادمیوم گروه‌بندی کرد. مقایسه میانگین بین چهار گروه به‌دست آمده نشان داد که در شرایط بدون تنش، تعداد ۴۱ و ۲۴ ژنوتیپ به‌ترتیب در گروه‌های سوم و چهارم به‌عنوان ژنوتیپ‌های پُرمحصول این آزمایش بودند. تحت شرایط تنش کادمیوم، ۴۹ ژنوتیپ موجود در گروه‌های دوم و سوم (از جمله ژنوتیپ‌های Ma002، Ma003، Ma004، Ma005 و Ma007) با میانگین بالای عملکرد و اجزای عملکرد به‌عنوان ژنوتیپ‌های متحمل به تنش کادمیوم شناسایی شدند. این ژنوتیپ‌ها عمدتاً دوره‌های فنولوژیک کوتاه تا متوسط داشتند. تعداد ۱۱ ژنوتیپ (Ma001، Ma008، Ma030، Ma033، Ma036، Ma039، Ma042، Ma045، Ma072 و Ma089)، نیز کم‌ترین میانگین را از نظر صفات مهم زراعی از جمله عملکرد و اجزای عملکرد تحت هر دو شرایط بدون تنش و تنش کادمیوم نشان دادند. این ژنوتیپ‌ها قادر به تحمل تنش کادمیوم تحت شرایط این آزمایش نبودند و به‌عنوان ژنوتیپ‌های حساس آزمایش شناسایی شدند.

نتیجه‌گیری: پژوهش حاضر منجر به شناسایی ۴۰ ژنوتیپ ذرت (از جمله Ma003، Ma005، Ma007، Ma013 و Ma014، Ma015) شد که علاوه بر تولید عملکرد و اجزای عملکرد مطلوب در محیط بدون تنش، متحمل به تنش کادمیوم بودند و عملکرد مطلوبی تحت شرایط تنش نیز نشان دادند. بنابراین، با انتخاب دقیق والدین از میان ژنوتیپ‌های متحمل به تنش کادمیوم و با انجام تلاقی‌های هدف‌مند بین آن‌ها می‌توان با بهره‌برداری از پدیده‌های ژنتیکی از جمله تفکیک متجاورز و هتروزیس، به هیبریدهایی دست یافت که مناسب کشت در محیط‌های دارای تنش کادمیوم باشند.

واژه‌های کلیدی: تجزیه خوشه‌ای، تجزیه تابع تشخیص، تنش غیرزیستی، عملکرد دانه، فلزات سنگین

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۵/۱۵ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۸/۱۲

نحوه استناد به این مقاله:

قادری، علی‌اصغر، مهدی‌نژاد، نفیسه، درویش‌زاده، رضا، فاخری، براتعلی، و فرخ‌زاده، سارا. (۱۴۰۲). ارزیابی تنوع ژنتیکی و واکنش ژنوتیپ‌های ذرت (*Zea mays* L.) تحت تنش کادمیوم. *تحقیقات غلات*، ۱۳(۳)، ۲۸۳-۲۶۹. doi: 10.22124/CR.2024.25926.1795

مقدمه

ذرت (*Zea mays* L.) سومین محصول غله‌ای مهم جهان است که پس از گندم و برنج، نقش حیاتی در تأمین امنیت غذایی و اقتصاد جهانی به‌ویژه در مناطق گرمسیر و نیمه‌گرمسیر دارد. به‌دلیل اهمیت این محصول چند منظوره در مناطق مختلف با شرایط آب و هوایی متنوع کشت می‌شود. با این‌حال، رشد و عملکرد گیاهان زراعی از جمله ذرت، در بسیاری از مناطق جهان تحت تأثیر تنش‌های مختلف محیطی قرار می‌گیرد (Ramegowda & Senthil-Kumar, 2015; Feng *et al*., 2021). افزایش فعالیت‌های انسانی و صنعتی در چند دهه اخیر، منجر به افزایش آلودگی محیطی از طریق فلزات سنگین شده است که این آلودگی برای موجودات زنده سمّیت ایجاد می‌کند (Miransari, 2011). از جمله فلزات سنگین می‌توان به عناصری چون کادمیوم، سرب، روی و آلومینیوم اشاره کرد که تولید پایدار غلات را تحت تأثیر قرار می‌دهند و سبب کاهش چشم‌گیر در عملکرد محصولات می‌شوند (Farokhzadeh *et al*., 2020; Teng *et al*., 2020).

فلز کادمیوم (Cd) به‌عنوان یک عنصر با تحرک بالا و سمّیت فوق‌العاده در خاک‌ها شناخته می‌شود (Teng *et al*., 2020). کادمیوم در مقادیر بیش از حد در گیاهان ممکن است به اختلال در هموستازی مواد معدنی منجر شده و فرآیندهای فیزیولوژیک را تحت تأثیر قرار دهد. این اختلالات همچنین منجر به ایجاد گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) با سمّیت بالا می‌شوند که به‌طور مستقیم به اسیدهای نوکلئیک، پروتئین‌ها و لیپیدهای غشای پلاسمایی آسیب وارد می‌کنند (Song *et al*., 2017). کادمیوم با اثرگذاری بر فرآیندهای اساسی در گیاهان از جمله فتوسنتز، جذب مواد مغذی و تعادل آب و همچنین فعالیت آنزیم‌ها، باعث کاهش رشد و عملکرد گیاهان از جمله ذرت می‌شود (Metwali *et al*., 2013; Chen *et al*., 2020; Li *et al*., 2020). قرار گرفتن طولانی مدت در معرض کادمیوم و مصرف مواد غذایی آلوده به کادمیوم برای زنجیره غذایی نیز سمی است و خطر جدی برای سلامتی انسان دارد (Naveed *et al*., 2020). مطالعات نشان داده‌اند که غلظت بیش از حد یون کادمیوم باعث کاهش تعداد سلول‌های قشری و بافت آوندی کلئوپتیل ذرت می‌شود. افزایش غلظت کادمیوم همچنین منجر به تغییر شکل آوندهای چوبی و آبکش می‌شود، که تأثیر منفی بر جوانه‌زنی بذر دارد و سبب کاهش سرعت جوانه‌زنی می‌شود (Wahid & Khaliq, 2015). نتایج مطالعه بی‌ریا و همکاران (Biria *et al*., 2017)، نشان داد که افزایش میزان کادمیوم در خاک باعث کاهش معنی‌دار اندازه برگ، کلروفیل، ارتفاع گیاه، و وزن خشک ریشه و بخش‌های هوایی گیاه ذرت می‌شود. در یک مطالعه، تأثیر محلول‌پاشی کادمیوم با غلظت‌های مختلف (۰، ۱۰، ۲۰، ۳۰، ۴۰ میلی‌گرم در لیتر) بر تجمع سرب، مس و کادمیوم در گیاه گندم بررسی و گزارش شد که محلول‌پاشی منجر به کاهش زیست‌توده و عملکرد دانه گیاهان می‌شود. همچنین، غلظت کادمیوم در برگ و دانه به‌ترتیب به نسبت ۵۴۷-۱۸۷ درصد و ۹۱/۸-۲۶/۳ درصد در مقایسه با گروه شاهد افزایش یافت (Li *et al*., 2020).

بررسی تنوع ژنتیکی تحت تنش‌های غیرزیستی از جمله تنش کادمیوم در گیاهان زراعی نظیر ذرت، از اهمیت زیادی برخوردار است. بررسی تنوع ژنتیکی در شناسایی منابع تحمل به تنش‌های مختلف، حفظ ارزش منابع ژنتیکی، بهبود وضعیت خاک، و تضمین پایداری تولید محصولات کشاورزی نقش اساسی دارد (Shrestha, 2013; Kovačević *et al*., 2019; Farokhzadeh *et al*., 2023). تنوع ژنتیکی یک اصل اساسی در سازگاری گیاهان با شرایط محیطی متغیر است و گستره آن در افزایش کارآیی انتخاب‌های ژنتیکی و موفقیت برنامه‌های به‌نژادی بسیار مهم است. از این‌رو، تخمین دقیق تنوع ژنتیکی و شناخت روابط خویشاوندی ژنتیکی بین ژنوتیپ‌ها، امری بنیادی در پیشرفت برنامه‌های به‌نژادی گیاهی است. وجود ژنوتیپ‌های متنوع در گیاهان زراعی امکان انتخاب و ترکیب گیاهان با ویژگی‌های دلخواه را فراهم و از فرسایش ژنتیکی جلوگیری می‌کند (Ghaffari Azar *et al*., 2019; Anusha *et al*., 2022). برای مطالعه تنوع ژنتیکی، از روش‌های آماری چند متغیره از جمله تجزیه خوشه‌ای و تجزیه تابع تشخیص می‌توان استفاده کرد (Mohammadi & Prasanna, 2003; Ghaffari Azar *et al*., 2019).

نگرانی‌های فزاینده‌ای در مورد تجمع بالقوه فلزات سنگین، از جمله کادمیوم، در خاک‌های کشاورزی ایران در مناطق مختلف وجود دارد که تحقیقات پیشین این موضوع را تأیید می‌کنند (Esmaeili *et al*., 2014; Rezapour *et al*., 2023; Rostaminya *et al*., 2023). این نگرانی اساساً ناشی از توسعه سریع شهرنشینی و افزایش

فعالیت‌های معدنی و صنعتی در چند دهه اخیر است که بر اکولوژی، ایمنی مواد غذایی، سلامت انسان و توسعه پایدار کشاورزی تأثیر منفی گذاشته است (Esmaeili *et al*., 2014). با توجه به اهمیت گیاه ذرت در امنیت غذایی و اقتصادی ایران و نیز با توجه به مسائل آلودگی آب و خاک به فلزات سنگین به‌ویژه کادمیوم، بررسی تنوع ژنتیکی ژنوتیپ‌های ذرت ایران تحت تنش کادمیوم با هدف شناسایی منابع تحمل به تنش، افزایش تولید محصولات کشاورزی با کیفیت و مقاوم به عوامل زیست‌محیطی و کاهش آثار آلودگی خاک اهمیت دارد. در این پژوهش، تنوع ژنتیکی ژنوتیپ‌های ذرت بر اساس ویژگی‌های فنولوژیک، مورفولوژیک و زراعی ارزیابی و ژنوتیپ‌ها بر اساس توانایی ژنتیکی برای انتخاب والدین مناسب جهت تولید هیبریدهای جدید تحت شرایط بدون تنش و تنش کادمیوم گروه‌بندی شدند.

مواد و روش‌ها

در این پژوهش، ۹۵ ژنوتیپ ذرت شامل لاین‌های خالص و هیبرید از مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر کرج، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی خراسان رضوی و دانشگاه رازی کرمانشاه در قالب طرح تحقیقاتی شماره 94/101/T.T مصوب پژوهشکده زیست‌فناوری دانشگاه ارومیه تهیه شد. آزمایش بر پایه طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار (هر تکرار شامل سه گلدان) در دو شرایط بدون تنش و تنش کادمیوم به‌صورت گلدانی در فضای باز ایستگاه تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی جیرفت با طول جغرافیایی '۴۴ °۵۷ شرقی و عرض جغرافیایی '۴۰ °۲۸ شمالی طی دو فصل زراعی ۱۴۰۰-۱۳۹۹ و ۱۴۰۱-۱۴۰۰ اجرا شد. منطقه مورد مطالعه از نظر ویژگی‌های اقلیمی دارای اقلیم خشک و نیمه‌خشک (Jazinizadeh *et al*., 2023)، با متوسط دمای سالانه حدود ۲۵ درجه سلسیوس و بیشینه و کمینه دمای به‌ترتیب ۴۵ و صفر درجه سلسیوس با ارتفاع ۷۲۰ متر از سطح دریا می‌باشد. متوسط رطوبت نسبی سالانه ۴۲/۴۰ درصد، متوسط بارندگی سالانه حدود ۷۸ میلی‌متر و میانگین تبخیر سالانه ۴۵۰۰-۳۵۰۰ میلی‌متر است.

کشت بذرها در گلدان‌هایی با ظرفیت ۱۰ کیلوگرم در خاکی با ترکیب لومی‌شنی و ماسه به‌نسبت ۲ به ۱ انجام گرفت. در محیط تنش، محلول‌پاشی کلرید کادمیوم ($CdCl_2.2H_2O$) با غلظت ۳۰ میلی‌گرم در لیتر (Li *et al*., 2020) در دو مرحله مهم از رشد گیاه ذرت، شامل مرحله شش برگی (کد ۱۶ مقیاس زادوکس) و مرحله ظهور اولین گل‌های نر (کد ۵۰ مقیاس زادوکس) انجام شد (Kirby & Appleyard, 1987). در تمام تیمارهای تحت تنش، محلول‌پاشی در مراحل رویشی و زایشی به‌شیوه یکنواخت اعمال شد. با توجه به تعداد زیاد ژنوتیپ‌ها و تعداد زیاد صفات مورد مطالعه، ابعاد بزرگ فضای آزمایش و تفاوت دریافت نور بین گلدان‌ها، کنترل کامل شرایط آزمایشی مقدور نبوده و احتمالاً اندازه‌گیری‌ها با خطاهایی مواجه شوند. بنابراین، به‌منظور کاهش خطا و دقت بیش‌تر در کنترل عوامل مختلف و افزایش قابلیت تعمیم نتایج به شرایط واقعی‌تر، از طرح بلوک‌های کامل تصادفی استفاده شد. مراقبت‌های لازم از گلدان‌ها به‌طور منظم طی فصل زراعی به‌عمل آمد. در این آزمایش، ۲۴ صفت فنولوژیک، مورفولوژیک و زراعی اندازه‌گیری شد که در فایل پیوست، جدول تکمیلی ۱ ارائه شده‌اند.

تجزیه و تحلیل داده‌ها

قبل از تجزیه واریانس، توزیع نرمال اشتباهات آزمایشی با آزمون شاپیرو- ویلک با استفاده از رویه Proc Univariate (Razali & Wah, 2011) و تجزیه واریانس مرکب با رویه Proc GLM نرم‌افزار SAS نسخه ۹/۴ (SAS Institute, 2012) انجام شد. تجزیه خوشه‌ای به‌روش حداقل واریانس Ward با بسته‌های Cluster و Factoextra در نرم‌افزار R انجام شد (Kassambara & Mundt, 2020)، و جهت تعیین تعداد بهینه خوشه‌ها، از آزمون‌های T^2 کاذب هتلینگ (Pseudo t-Squared)، F کاذب (Pseudo F Statistic) و معیار توان سوم گروه‌ها (Cubic Clustering Criterion) استفاده شد (Charrad *et al*., 2014). صحت گروه‌بندی تجزیه خوشه‌ای نیز توسط تجزیه تابع تشخیص (DFA: Discriminant Function Analysis) با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۴ (Verma, 2013) بررسی شد.

نتایج و بحث

بر اساس نتایج تجزیه واریانس ساده و مرکب، بین ژنوتیپ‌های ذرت تحت شرایط بدون تنش و تنش کادمیوم در دو فصل زراعی از نظر بیش‌تر صفات مورد مطالعه اختلاف آماری معنی‌دار وجود داشت (فایل پیوست، جدول‌های تکمیلی ۲ و ۳). این نتایج بیانگر وجود تنوع

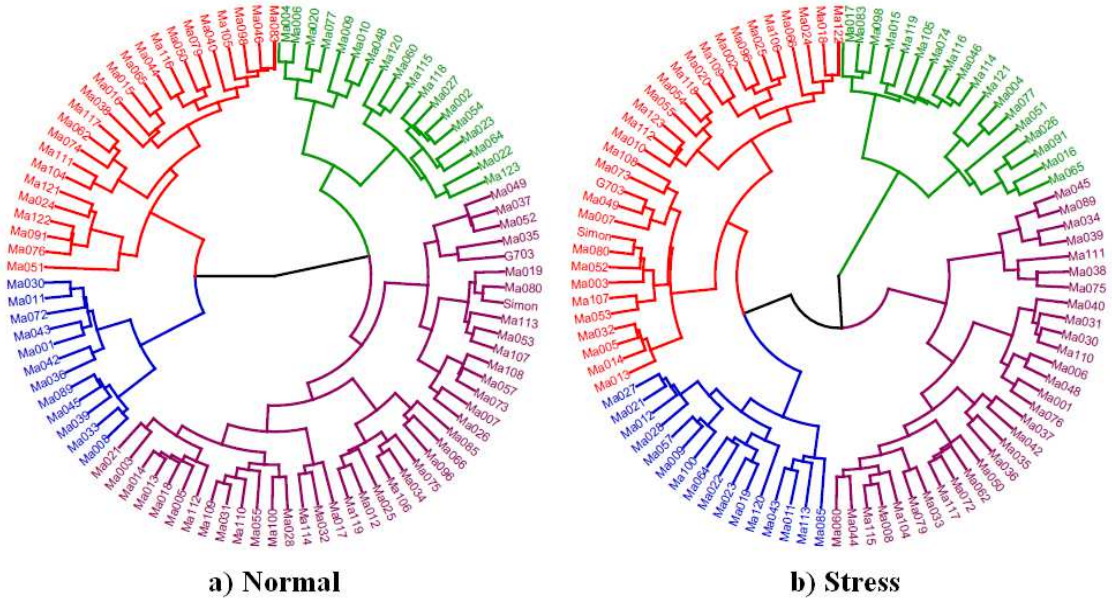
ژنتیکی بالا در میان ژنوتیپ‌های ذرت است. هم راستا با نتایج این تحقیق تنوع بالایی بین ژنوتیپ‌های ذرت در رابطه با صفات مختلف زراعی تحت شرایط بدون تنش و تنش‌های مختلف غیرزنده (Arzangh *et al*., 2021; Sinana *et al*., 2023)، از جمله تنش کادمیوم (Xu *et al*., 2022) گزارش شده است. در پژوهشی، تأثیر آلودگی آب و خاک به کادمیوم بر اجزای عملکرد ذرت بررسی شد. نتایج حاکی از تأثیر معنی‌دار آلودگی به کادمیوم بر اجزای عملکرد از جمله عملکرد دانه در بوته، تعداد ردیف در بلال، تعداد دانه در ردیف و وزن خشک برگ و ساقه ذرت بود (Riahi Farsani *et al*., 2020).

با توجه به نتایج حاصل از تجزیه واریانس مرکب، چون اثر سال برای بیش‌تر صفات مورد مطالعه و نیز برهمکنش ژنوتیپ × سال برای همه صفات مورد مطالعه معنی‌دار نبود (فایل پیوست، جدول تکمیلی ۳)، بنابراین تجزیه‌های آماری چند متغیره با استفاده از میانگین داده‌های دو سال زراعی انجام شد. بر اساس نتایج حاصل از تجزیه خوشه‌ای، ژنوتیپ‌های ذرت در هر یک از محیط‌های بدون تنش و تنش کادمیوم در چهار گروه قرار گرفتند (شکل ۱). تعداد مطلوب خوشه بر اساس بیش‌ترین مقادیر F کاذب و معیار توان سوم خوشه‌ها و نیز یک تغییر کاهش ناگهانی در مقدار T^2 کاذب هتلینگ تعیین شد (جدول ۱).

جدول ۱- تعداد خوشه، مقادیر T^2 کاذب هتلینگ، F کاذب و معیار توان سوم گروه‌ها برای صفات مورد مطالعه در ژنوتیپ‌های ذرت تحت شرایط بدون تنش و تنش کادمیوم

Table 1. The number of clusters, values of Hotelling's pseudo T-square (T^2), pseudo-F statistic, and cubic clustering criterion (CCC) for studied traits in maize genotypes under non-stress and cadmium stress enviroments

Environment	Number of cluster	Cubic clustering criterion	Pseudo F statistic	Pseudo T-square
Non-stress	4	-8.9	7.2	5.4
Cd stress	4	-8.6	8.5	0.0



شکل ۱- نمودار تجزیه خوشه‌ای ژنوتیپ‌های ذرت با استفاده از روش حداقل واریانس وارد. a) شرایط بدون تنش، b) تنش کادمیوم.

Figure 1. Cluster analysis dendrogram of maize genotypes using Ward's minimum variance method. a) Non-stress conditions, b) Cadmium stress conditions.

مقایسه میانگین گروه‌های حاصل از تجزیه خوشه‌ای با استفاده از آزمون دانکن (جدول ۲) نشان داد که اختلاف معنی‌داری بین میانگین‌های چهار گروه در هر دو شرایط تنش و بدون تنش از نظر همه صفات مورد مطالعه، به‌جز تعداد برگ بالای بلال، تعداد ردیف در بلال، قطر ساقه، تعداد برگ، نسبت طول به عرض برگ، ارتفاع بوته و قطر چوب بلال در شرایط بدون تنش و تعداد روز تا سبز شدن و تعداد انشعابات تاسل در شرایط تنش وجود داشت. در شرایط بدون تنش، گروه اول با کم‌ترین تعداد ژنوتیپ، دارای کم‌ترین میانگین عملکرد دانه، تعداد دانه در ردیف، وزن چوب بلال، تعداد دانه در بلال اصلی، وزن هزار دانه و طول دانه نسبت به سایر گروه‌ها بود. در گروه دوم، ۱۸ ژنوتیپ قرار گرفت که دارای بالاترین میانگین برای همه صفات مرتبط با فنولوژی بود، با این‌حال از نظر تعداد روز تا سبز شدن با گروه‌های اول و چهارم اختلاف معنی‌داری نداشت. گروه سوم به‌عنوان بزرگ‌ترین گروه شامل ۴۱ ژنوتیپ بود که دارای مقادیر بالایی برای عملکرد دانه، طول و عرض برگ بودند. این گروه شامل حدود ۴۳ درصد از کل ژنوتیپ‌های مورد مطالعه بود. در گروه چهارم نیز ۲۴ ژنوتیپ قرار گرفت که دارای بیش‌ترین میانگین برای عملکرد دانه بودند، اما اختلاف معنی‌داری از نظر عملکرد دانه بین گروه‌های چهارم و سوم مشاهده نشد. در مورد صفات عرض دانه و تعداد انشعابات تاسل، گروه‌های دوم و چهارم مقادیر بالایی داشتند. همچنین، ژنوتیپ‌های گروه‌های دوم، سوم و چهارم ارزش یکسان و بالایی برای صفات تعداد دانه در ردیف، وزن چوب بلال، تعداد دانه در بلال اصلی، وزن هزار دانه و طول دانه نشان دادند.

در شرایط تنش کادمیوم، ۳۰، ۳۱، ۱۸ و ۱۶ ژنوتیپ به‌ترتیب در خوشه‌های اول تا چهارم گروه‌بندی شدند. ژنوتیپ‌های گروه اول، کم‌ترین مقدار عملکرد دانه را نسبت به سه گروه دیگر نشان دادند. ژنوتیپ‌های این گروه از نظر همه صفات مرتبط با فنولوژی به‌جز تعداد روز تا سبز شدن نیز کم‌ترین مقدار را داشتند، اما از نظر تعداد دانه در ردیف دارای بیش‌ترین مقدار بودند و از این نظر اختلاف معنی‌داری با سه گروه دیگر داشتند. ژنوتیپ‌های گروه‌های اول و دوم از نظر ارتفاع بوته و ژنوتیپ‌های گروه‌های دوم و سوم از نظر تعداد برگ، طول دانه، قطر چوب بلال، تعداد دانه در بلال اصلی، تعداد دانه در ردیف و عملکرد دانه دارای بالاترین میانگین بودند. همچنین، بالاترین مقدار نسبت طول به عرض برگ، وزن چوب بلال و عرض دانه و کم‌ترین مقدار برای صفات مرتبط با فنولوژی به ژنوتیپ‌های گروه سوم تعلق داشت. ژنوتیپ‌های گروه چهارم تحت شرایط تنش نسبت به سه گروه دیگر دارای بیش‌ترین مقدار برای همه صفات مرتبط با فنولوژی به‌جز تعداد روز تا سبز شدن بودند.

در هر دو شرایط بدون تنش و تنش کادمیوم، گروه اول دارای کم‌ترین میانگین برای صفات مهم زراعی از جمله عملکرد و اجزای عملکرد بود. تعداد ۳۰ ژنوتیپ تحت شرایط تنش کادمیوم (Ma001، Ma006، Ma008، Ma030، Ma031، Ma033، Ma034، Ma035، Ma036، Ma037، Ma038، Ma039، Ma040، Ma042، Ma044، Ma045، Ma048، Ma050، Ma060، Ma062، Ma072، Ma075، Ma076، Ma079، Ma089، Ma104، Ma110، Ma111، Ma115 و Ma117) به‌عنوان ژنوتیپ‌های حساس شناسایی شدند که نشان می‌دهد این ژنوتیپ‌ها قادر به تحمل شرایط تنش نبودند. در این میان، تعداد ۱۱ ژنوتیپ (Ma001، Ma008، Ma030، Ma033، Ma036، Ma039، Ma042، Ma045، Ma072 و Ma089) بین دو شرایط محیطی، مشترک بودند.

در شرایط بدون تنش، تعداد ۴۱ ژنوتیپ موجود در گروه سوم (Ma003، Ma005، Ma007، Ma012، Ma013، Ma014، Ma017، Ma018، Ma019، Ma021، Ma025، Ma026، Ma028، Ma031، Ma032، Ma034، Ma035، Ma037، Ma049، Ma052، Ma053، Ma055، Ma057، Ma066، Ma073، Ma075، Ma080، Ma085، Ma096، Ma100، Ma106، Ma107، Ma108، Ma109، Ma110، Ma112، Ma113، Ma114، Ma119، G703 و Simon) و تعداد ۲۴ ژنوتیپ در گروه چهارم (Ma015، Ma016، Ma024، Ma038، Ma040، Ma044، Ma046، Ma050، Ma051، Ma062، Ma065، Ma074، Ma076، Ma079، Ma083، Ma091، Ma098، Ma104، Ma105، Ma111، Ma116، Ma117، Ma121 و Ma122) دارای بالاترین میانگین برای صفات مهم زراعی از جمله عملکرد و اجزای عملکرد بودند. در شرایط تنش کادمیوم، تعداد ۳۱ ژنوتیپ در گروه دوم (Ma002، Ma003، Ma005، Ma007، Ma010، Ma013، Ma014، Ma018، Ma020، Ma024، Ma025، Ma032، Ma049، Ma052، Ma053،

Ma054، Ma055، Ma066، Ma073، Ma080، Ma096، Ma106، Ma107، Ma108، Ma109، Ma112، Ma118، Ma122، Ma123، G703 و Simon) و تعداد ۱۸ ژنوتیپ در گروه سوم (Ma004، Ma015، Ma016، Ma017، Ma026، Ma046، Ma051، Ma065، Ma074، Ma077، Ma083، Ma091، Ma098، Ma105، Ma114، Ma116، Ma119) بالاترین میانگین را برای عملکرد و اجزای عملکرد داشتند که می‌توان آنها را به‌عنوان ژنوتیپ‌های متحمل به تنش کادمیوم معرفی کرد.

ولی‌زاده و همکاران (Valizadeh *et al*., 2014)، ۱۲ هیبرید ذرت را با استفاده از تجزیه خوشه‌ای در دو خوشه گروه‌بندی کردند. هیبریدهای خوشه اول، از نظر صفات تعداد دانه در ردیف، عمق دانه، وزن هزار دانه، فاصله گرده‌افشانی تا کاکل‌دهی، ارتفاع بوته و طول بلال و هیبریدهای خوشه دوم برای صفات مرتبط با فنولوژی، قطر و طول بلال، قطر چوب بلال و تعداد دانه در ردیف دارای میانگین بالایی بودند. غفاری آذر و همکاران (Ghaffari Azar *et al*., 2019)، به‌منظور بررسی روابط ژنتیکی بین ژنوتیپ‌های ذرت، از تجزیه خوشه‌ای به روش حداقل واریانس وارد استفاده و ژنوتیپ‌ها را در چهار گروه مختلف تقسیم کردند. آنان گزارش کردند که تنوع ژنتیکی الگوپذیری چندانی از محل تهیه ژنوتیپ‌ها نداشت. در تحقیقی که روی ۱۲ رقم ذرت تحت تنش کادمیوم انجام شد، ارقام به سه خوشه، گروه‌بندی و رقم‌های Fotian 10، Zhongxiantian 102 و Zhuyutian 1 در گروه دوم به‌عنوان ارقام مطلوب و متحمل به کادمیوم شناسایی شدند. همچنین، گروه‌های اول و سوم به‌ترتیب شامل یک رقم حساس و هشت رقم با تحمل متوسط به کادمیوم بودند (Xu *et al*., 2022).

جدول ۲- تجزیه واریانس و مقایسه میانگین گروه‌های حاصل از تجزیه خوشه‌ای ژنوتیپ‌های ذرت تحت شرایط بدون تنش و تنش کادمیوم

Table 2. Analysis of variance and mean comparison of studied traits of groups resulting from cluster analysis of maize genotypes under non-stress and cadmium stress conditions

Traits	Mean square				Mean†							
					1		2		3		4	
	Between group		Within group		Non-stress	Cd stress	Non-stress	Cd stress	Non-stress	Cd stress	Non-stress	Cd stress
	Non-stress	Stress	Non-stress	Stress	N=12	N=30	N=18	N=31	N=41	N=18	N=24	N=16
DEM	0.98*	0.16	0.36	0.29	4.90a	4.62a	4.67ab	4.60a	4.37b	4.43a	4.54ab	4.54a
DTA	244**	237**	5.95	7.06	47.38b	38.42c	53.17a	41.07b	48.63b	35.53d	44.81c	43.98a
DPO	341**	266**	6.51	9.18	59.38c	58.42c	66.54a	60.94b	61.50b	55.08d	56.76d	64.19a
DEE	318**	314**	7.13	11.34	65.50c	61.92c	72.59a	64.95b	67.65b	58.17d	63.17d	67.82a
DEPO	321**	303**	7.23	12.55	65.58b	67.92c	72.38a	70.35b	67.06b	64.25d	62.81c	74.08a
DMA	353**	347**	8.64	16.34	92.61b	95.86c	99.21a	98.57b	93.45b	91.40d	89.09c	101.77a
SD	0.14	0.85**	0.16	0.15	2.06a	1.70bc	2.29a	2.02a	2.20a	1.85ab	2.16a	1.59c
LN	1.00	4.87*	1.39	1.32	11.68a	9.79b	12.02a	10.64a	11.95a	10.24ab	11.58a	9.71b
LNAE	0.35	2.50	0.48	4.33	5.87a	4.29a	6.12a	4.54a	6.20a	4.15a	6.19a	3.71a
LL	355**	607**	73.81	59.64	64.39c	63.25b	70.7ab	68.11a	72.93a	69.10a	66.3bc	56.59c
LW	3.81*	4.06*	1.35	1.14	7.39b	6.73a	8.27a	6.90a	8.37a	6.24ab	7.82ab	5.95b
LL/LW	0.41	13.47**	1.14	3.13	8.84a	9.81b	8.74a	10.24b	8.88a	11.65a	8.60a	10.12b
PHE	458	3495**	559	637	161a	140ab	169a	155a	170a	138b	173a	125b
RNE	10.26	10.61	7.20	7.13	9.76a	9.78a	10.11a	10.04a	10.61a	11.15a	11.47a	11.04a
GNR	353**	297**	34.41	35.93	9.83b	16.15b	20.02a	23.11a	19.89a	22.99a	19.78a	19.89a
EWW	170**	292**	30.33	26.04	10.48b	11.54c	15.03a	14.86b	16.14a	20.37a	18.37a	14.84b
GY	15112**	15299**	967	996	35.12c	58.60b	86.14b	96.56a	93.5ab	114a	108a	66.53b
GNME	50893**	1038843**	9013	6747	182b	218 b	276a	324a	296a	366a	313a	258b
TSW	23757**	8714**	5067	5489	173b	244c	243a	266b	247a	289a	265a	248c
EWD	184	280*	81.08	77.20	62.82a	50.90b	66.44a	58.13a	66.69a	55.9ab	61.19a	56.14ab
GL	7.67*	13.97**	2.42	2.20	6.08a	5.73b	7.66a	7.18a	7.40a	7.23a	6.85ab	7.00a
GW	8.39**	9.09**	1.47	1.36	3.74b	4.20b	4.85a	4.03bc	4.05b	5.15a	5.08a	3.41c
GL/GW	2.13**	3.80**	0.43	0.46	1.79ab	1.59b	1.73ab	2.20a	2.11a	1.56b	1.48b	2.38a
TBN	47.17*	12.39	16.04	17.07	10.98b	10.86a	12.5ab	10.79a	10.88b	9.23a	13.74a	10.09a

* and ** Significant at 5% and 1%, probability levels, respectively.

† Means followed by at least one similar letter in each row are not significantly different (α= 5%) when assessed separately for each environment using Duncan's new multiple range test.

در این مطالعه، ژنوتیپ‌های موجود در گروه‌های سوم (GY=93.5 g) و چهارم (GY=108 g) در محیط بدون تنش و همچنین ژنوتیپ‌های موجود در گروه‌های دوم (GY=96.56 g) و سوم (GY=114 g) در محیط تنش، به‌ترتیب با دوره‌های فنولوژیک متوسط و کوتاه (زودرس) در هر دو شرایط، دارای میانگین عملکرد و اجزای عملکرد بالایی بودند. ژنوتیپ‌های مشترک بین دو شرایط (Ma003، Ma005، Ma007، Ma013، Ma014، Ma015، Ma016، Ma017، Ma018، Ma024، Ma025، Ma026، Ma032، Ma046، Ma049، Ma051، Ma052، Ma053، Ma055، Ma065، Ma066، Ma073، Ma074، Ma080، Ma083، Ma091، Ma096، Ma098، Ma105، Ma106، Ma107، Ma108، Ma109، Ma112، Ma114، Ma116، Ma119، Ma122، G703 و Simon) که عملکرد و اجزای عملکرد بالایی داشتند، می‌توانند در برنامه‌های اصلاحی برای افزایش عملکرد دانه و تحمل به تنش کادمیوم مورد استفاده قرار گیرند.

بررسی فاصله ژنتیکی بین گروه‌های حاصل از تجزیه خوشه‌ای ژنوتیپ‌های ذرت (جدول ۳) تحت شرایط بدون تنش (پایین قطر) و تنش (بالای قطر) نشان داد که بیش‌ترین فاصله یا تفاوت ژنتیکی بین گروه‌های اول و دوم با گروه چهارم تحت شرایط تنش و بین گروه‌های اول و سوم و سپس گروه‌های دوم و سوم تحت شرایط بدون تنش وجود داشت. در مقابل، گروه‌های اول و چهارم با گروه دوم در شرایط بدون تنش و گروه‌های اول و دوم و نیز گروه‌های سوم و چهارم در شرایط تنش، کم‌ترین فاصله ژنتیکی و یا بیش‌ترین شباهت ژنتیکی را نشان دادند.

با توجه به قرابت ژنتیکی بیش‌تر بین ژنوتیپ‌های متشابه در هر گروه و برخلاف آن، فاصله ژنتیکی بیش‌تر بین ژنوتیپ‌های متعلق به گروه‌های مختلف، می‌توان با تمرکز بر ارزش میانگین صفات و دورگ‌گیری بین ژنوتیپ‌های متعلق به گروه‌های مختلف، از پتانسیل هتروزیس و تفکیک متجاورز بهره‌مند شد. این اقدام با بهره‌برداری بهینه از تنوع ژنتیکی امکان تولید و توسعه ترکیب‌های بهتر به‌منظور افزایش عملکرد و ویژگی‌های مطلوب را فراهم می‌کند (Pishnamazzadeh Emami *et al.*, 2020). با توجه به این واقعیت، به‌نظر می‌رسد در شرایط تنش با انجام دورگ‌گیری میان ژنوتیپ‌های گروه دوم با ژنوتیپ‌های گروه سوم بتوان دورگ‌هایی تولید کرد که از نظر صفات مختلف، از والدین خود برتر باشند و بهتر عمل کنند. انتخاب ژنوتیپ‌های والدینی برتر باید بر اساس ترکیبی از ویژگی‌ها و همچنین تفاوت‌های بین خوشه‌ها برای دست‌یابی به سطح بالایی از تنوع ژنتیکی باشد.

در این مطالعه از تجزیه تابع تشخیص کانونی برای بررسی دقت و صحت گروه‌بندی‌های حاصل از تجزیه خوشه‌ای ژنوتیپ‌های ذرت بر اساس صفات مورد مطالعه تحت شرایط بدون تنش و تنش کادمیوم استفاده و قرارگیری صحیح هر ژنوتیپ در گروه مرتبط و شناسایی بهترین گروه‌بندی با بالاترین درصد اطمینان بررسی شد (جدول‌های ۴ و ۵). با توجه به نتایج ارائه شده در جدول ۴، سه تابع تشخیص برای تفکیک گروه‌ها بر اساس صفات مورد مطالعه در ژنوتیپ‌های ذرت در هر یک از دو شرایط بدون تنش و تنش کادمیوم به‌دست آمد. این توابع به‌عنوان توابع کانونیک شناخته می‌شوند. تعداد توابع کانونیک در واقع یکی کم‌تر از تعداد گروه‌های تجزیه خوشه‌ای بود. مدل‌های کانونی ۱، ۲ و ۳ به‌ترتیب توانایی تشخیص ۶۴، ۲۶ و ۱۰ درصد از واریانس متغیرها در شرایط بدون تنش و ۵۶، ۳۴ و ۱۰ درصد از واریانس متغیرها در شرایط تنش را داشتند (جدول ۴). چنان‌که مشاهده می‌شود، دو متغیر اول کانونی با مقادیر ویژه بالاتر از یک، مجموعاً ۹۰ درصد از واریانس را در هر دو شرایط بدون تنش و تنش توجیه کردند. این متغیرها می‌توانند به‌عنوان یک معیار معتبر برای اختصاص ژنوتیپ‌های جدید به گروه‌های درست مورد استفاده قرار گیرند (جدول ۴). ضریب همبستگی کانونی برای هر سه تابع کانونی تحت هر دو شرایط بدون تنش و تنش معنی‌دار بود. همبستگی کانونی معنی‌دار بین ژنوتیپ‌ها با اولین (r_N = ۰/۸۹**) و (r_S = ۰/۸۸**) و دومین متغیر کانونی (r_N = ۰/۷۸**) و (r_S = ۰/۸۲**) به‌ترتیب تحت شرایط بدون تنش و تنش کادمیوم نشان می‌دهد که متغیرهای کانونی تفاوت بین ژنوتیپ‌ها را به‌خوبی توجیه می‌کنند (جدول ۴). معنی‌دار بودن آماره ویلکس لامبدا (Wilk's Lambda) در توابع کانونی، نشان می‌دهد که ژنوتیپ‌های قرار گرفته در دسته‌های گروهی نسبت به ژنوتیپ‌های قرار گرفته در گروه‌های مختلف از نظر صفات مورد بررسی شباهت بیش‌تری با یکدیگر دارند و گروه‌بندی به‌درستی انجام شده است (جدول ۴).

جدول ۳- فاصله ژنتیکی بین گروه‌های حاصل از تجزیه خوشه‌ای ژنوتیپ‌های ذرت در شرایط تنش کادمیوم (بالای قطر) و بدون تنش (پایین قطر)

Table 3. Genetic distance among the groups resulting from cluster analysis of maize genotypes under cadmium stress (above diagonal) and non-stress (below diagonal) conditions

Cluster	Cluster 1	Cluster 2	Cluster 3	Cluster 4
Cluster 1	0	1	12	14
Cluster 2	6	0	13	15
Cluster 3	29	23	0	2
Cluster 4	12	6	17	0

جدول ۴- مقادیر ویژه و درصد واریانس تبیین شده توسط توابع تشخیص برای تفکیک گروه‌ها در ژنوتیپ‌های ذرت برای صفات مطالعه شده تحت شرایط بدون تنش و تنش کادمیوم

Table 4. Eigen values and the percentage of variance explained by discriminant functions for groups separation in maize genotypes for studied traits under non-stress and cadmium stress conditions

Conditions	Function	Eigen value	Variance (%)	Cumulative variance (%)	Canonical Correlation
Non-stress	1	3.831	63.70	63.70	0.890**
	2	1.580	26.30	90.00	0.783**
	3	0.603	10.00	100.0	0.613*
Stress	1	3.510	56.40	56.40	0.882**
	2	2.089	33.60	90.00	0.822**
	3	0.625	10.00	100.00	0.620*
Conditions	Test of function(s)	Wilks' Lambda	Chi-square	df	Significant level
Non-stress	1 through 3	0.050	239.545	72	0.000
	2 through 3	0.242	113.547	46	0.000
	3	0.624	37.738	22	0.020
Stress	1 through 3	0.044	249.572	72	0.000
	2 through 3	0.199	129.065	46	0.000
	3	0.615	38.840	22	0.015

* and ** Significant at 5% and 1% probability levels, respectively.

نتایج تابع تشخیص نشان داد که دقت تجزیه خوشه‌ای در گروه‌بندی‌ها ژنوتیپ‌ها بسیار بالا و میانگین موفقیت گروه‌بندی ایجاد شده تحت شرایط بدون تنش و تنش به‌ترتیب ۹۱/۶ و ۹۷/۹ درصد بود (جدول ۵). بر اساس نتایج تابع تشخیص، ۱۸ ژنوتیپ که با مقادیر بالای عملکرد دانه و تعداد دانه در بلال اصلی در شرایط تنش در خوشه سوم قرار گرفتند و همچنین ۱۲ ژنوتیپ زودرس که در شرایط بدون تنش در خوشه اول قرار گرفتند، با دقت ۱۰۰ درصد به‌درستی گروه‌بندی شدند (جدول ۵). ضرایب استاندارد شده کانونی برای همه صفات مرتبط با فنولوژی به‌جز تعداد روز تا سبز شدن در هر دو شرایط بدون تنش و تنش کادمیوم و نیز تعداد برگ در شرایط بدون تنش و عرض دانه در شرایط تنش در تابع تشخیص کانونی اول قابل توجه و معنی‌دار بود (فایل پیوست، جدول تکمیلی ۴). از طرفی ضرایب صفات عملکرد دانه، تعداد دانه در ردیف، تعداد دانه در بلال اصلی، وزن چوب بلال، وزن هزار دانه، طول دانه، عرض برگ، ارتفاع بوته، تعداد ردیف بلال، تعداد برگ بالای بلال و قطر ساقه به‌ترتیب تحت شرایط بدون تنش و صفات تعداد دانه در بلال اصلی، عملکرد دانه، تعداد دانه در ردیف، طول دانه، نسبت طول به عرض دانه، قطر چوب بلال و تعداد برگ به‌ترتیب تحت شرایط تنش کادمیوم در تابع تشخیص کانونی دوم بالا بودند (فایل پیوست، جدول تکمیلی ۴).

ضرایب تشخیص استاندارد شده کانونی به‌منظور برآورد و تفسیر همبستگی خطی ساده بین متغیرهای اصلی و متغیرهای کانونی مورد استفاده قرار می‌گیرند. این ضرایب نمایانگر واریانس مشترکی هستند که میان متغیرهای اندازه‌گیری شده و متغیرهای کانونی وجود دارد. این واریانس مشترک می‌تواند به‌عنوان یک معیار در ارزیابی توجیه نسبی هر متغیر در هر معادله کانونی مورد استفاده

قرار گیرد (Cruz-Castillo *et al*., 1994). بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که صفات ذکر شده بیش‌ترین تأثیر را در تنوع بین ژنوتیپ‌ها داشتند. جینز و همکاران (Jaynes *et al*., 2003) نیز ژنوتیپ‌های ذرت را در پنج خوشه دسته‌بندی و میزان موفقیت گروه‌بندی را با استفاده از تابع تشخیص ۸۰ درصد گزارش کردند. محمدی و همکاران (Mohammadi *et al*., 2017) لاین‌های اینبرد نوترکیب دو جمعیت Cebad Capa×Susptrit (CCS) و Vada×Susptrit (VS) جو را با استفاده از تجزیه خوشه‌ای در هر دو شرایط بدون تنش و تنش خشکی به‌ترتیب در چهار و پنج خوشه مختلف دسته‌بندی کردند. ایشان با استفاده از تجزیه تابع تشخیص، نتایج گروه‌بندی‌ها را با میزان موفقیت بالا تایید و نتیجه‌گیری کردند که تجزیه تابع تشخیص یک روش آماری مؤثر و مفید برای ارزیابی و دسته‌بندی لاین‌ها تحت هر دو شرایط بدون تنش و تنش خشکی است.

جدول ۵- تجزیه تابع تشخیص برای بررسی صحت گروه‌بندی حاصل از تجزیه خوشه‌ای ژنوتیپ‌های ذرت برای صفات مورد مطالعه تحت شرایط بدون تنش و تنش کادمیوم

Table 5. Discriminant function analysis for evaluating the accuracy of grouping in cluster analysis of maize genotypes for studied traits under non-stress and cadmium stress conditions

Groups from cluster analysis (Non-stress)	Groups from discriminant function analysis under normal conditions									
	1		2		3		4		Total	
	No.	Percent	No.	Percent	No.	Percent	No.	Percent	No.	Percent
1	12	100	0	0	0	0	0	0	12	100
2	0	0	17	94.4	1	5.6	0	0	18	100
3	1	2.4	3	7.3	35	85.4	2	4.9	41	100
4	1	4.2	0	0	0	0	23	95.8	24	100
Average success percentage of grouping of cluster analysis is 91.6%										
Groups from cluster analysis (Cd stress)	Groups from discriminant function analysis under cadmium stress conditions									
	1		2		3		4		Total	
	No.	Percent	No.	Percent	No.	Percent	No.	Percent	No.	Percent
1	30	100	0	0	0	0	0	0	30	100
2	0	0	30	96.8	0	0	1	3.2	31	100
3	0	0	0	0	18	100	0	0	18	100
4	1	6.3	0	0	0	0	15	93.8	16	100
Average success percentage of grouping of cluster analysis is 97.9%										

نتیجه‌گیری کلی

بررسی تنوع ژنتیکی ژنوتیپ‌های ذرت تحت شرایط تنش کادمیوم، که یکی از چالش‌های مهم زیست‌محیطی جهانی محسوب می‌شود، در ایران اهمیت زیادی دارد. نتایج این پژوهش نشان داد که تفاوت‌های معنی‌داری بین ژنوتیپ‌های ذرت از نظر بیش‌تر صفات مورد بررسی در هر دو شرایط بدون تنش و تنش کادمیوم وجود داشت. این تفاوت‌ها نشان‌دهنده تنوع ژنتیکی بالا و اهمیت این ژنوتیپ‌ها به‌عنوان منابع ژنتیکی ارزشمند است و بنابراین حفظ، نگهداری و ارزیابی دقیق‌تر آن‌ها ضروری است. با استفاده از تجزیه خوشه‌ای، ژنوتیپ‌های ذرت در هر دو شرایط بدون تنش و تنش کادمیوم در چهار خوشه دسته‌بندی شدند و نتایج تجزیه تابع تشخیص نیز دقت و صحت این گروه‌بندی را مورد تأیید قرار داد. مقایسه میانگین بین گروه‌های حاصل نشان داد که ژنوتیپ‌های موجود در خوشه‌های سوم و چهارم در شرایط بدون تنش و همچنین ژنوتیپ‌های موجود در خوشه‌های دوم و سوم در شرایط تنش، دارای بیش‌ترین عملکرد و اجزای عملکرد بودند. این نتایج نشان‌دهنده قابلیت تحمل کادمیوم در ژنوتیپ‌های مطالعه شده تحت شرایط تنش بود. تعداد ۴۰ ژنوتیپ مشترک در هر دو شرایط محیطی، شامل Ma003، Ma005، Ma007، Ma013، Ma014، Ma015، Ma016، Ma017، Ma018، Ma024، Ma025، Ma026، Ma032، Ma046، Ma049، Ma051، Ma052، Ma053، Ma055، Ma065، Ma066، Ma073، Ma074، Ma080، Ma083، Ma091، Ma096، Ma098، Ma105، Ma106، Ma107، Ma108، Ma109، Ma112، Ma114، Ma116، Ma119، Ma122، G703 و Simon که دارای عملکرد و اجزای عملکرد دانه بالا در هر دو شرایط بدون

تنش و تنش کادمیوم بودند، به‌عنوان ژنوتیپ‌های ایده‌آل و برتر معرفی شدند. بنابراین، بر اساس نتایج این مطالعه می‌توان ژنوتیپ‌های برتر را به‌عنوان والدین مناسب، انتخاب و از آن‌ها در تولید ارقام جدید در برنامه‌های به‌نژادی استفاده کرد. در مجموع به‌منظور توسعه ژنوتیپ‌های متحمل به تنش کادمیوم، پیشنهاد می‌شود که در ادامه این آزمایش، ژنوتیپ‌های مورد مطالعه در شرایط مزرعه‌ای با اندازه‌گیری صفات فیزیولوژیک و بیوشیمیایی در کنار صفات زراعی و مورفولوژیک نیز ارزیابی شوند. برای تایید نتایج آزمایش‌ها در سطح فنوتیپی بهتر است تعدادی از ژنوتیپ‌های متحمل و حساس به تنش کادمیوم انتخاب و ژنتیک تحمل در سطح ترنسکریپتوم با بهره‌گیری از روش‌های پیشرفته مانند توالی‌یابی آرای (RNA-seq) و پی‌سی‌آر در زمان واقعی (Real time PCR) انجام گیرد. همچنین به‌منظور توسعه برنامه‌های گزینش به‌کمک نشانگر در راستای تولید ژنوتیپ‌های متحمل و پرمحصول، تحلیل ارتباط در گستره ژنوم (GWAS: Genome wide association study) با استفاده از داده‌های فنوتیپی و نشانگرهای SNP پیشنهاد می‌شود.

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. 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.

اجازه انتشار مقاله

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

References

Anusha, G., Bhadru, D., Vanisri, S., Usha Rani, G., Mallaiah, B., & Sridhar, V. (2022). Assessment of genetic diversity in 62 maize genotypes for yield and yield accredited traits. *Biological Forum - An International Journal*, *14*, 261-265.

Arzangh, S., Darvishzadeh, R., & Alipour, H., (2021). Evaluation of genetic diversity of maize lines (*Zea mays* L.) under normal and salinity stress conditions. *Cereal Research*, *11*(3), 243-268. [In Persian]. doi: 10.22124/cr.2022.21075.1699.

Biria, M., Moezzi, A., & AmeriKhah, H. (2017). Effect of sugercan bagasse's biochar on maize plant growth, grown in lead and cadmium contaminated soil's. *Journal of Water & Soil*, *31*(2), 609-626. [In Persian]. doi: 10.22067/jsw.v31i2.55832.

Charrad, M., Ghazzali, N., Boiteau, V., & 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. doi: 10.18637/jss.v061.i06.

Chen, J., Wang, X., Zhang, W., Zhang, S., & Zhao, F. J. (2020). Protein phosphatase 2A alleviates cadmium toxicity by modulating ethylene production in *Arabidopsis thaliana*. *Plant, Cell & Environment*, *43*, 1008-1022. doi: 10.1111/pce.13716.

Cruz-Castillo, J., Ganeshanandam, S., MacKay, B., Lawes, G., Lawoko, C., & Woolley, D. (1994). Applications of canonical discriminant analysis in horticultural research. *Horticultural Science*, *29*, 1115-1119. doi: 10.21273/HORTSCI.29.10.1115.

Esmaeili, A., Moore, F., Keshavarzi, B., Jaafarzadeh, N., & Kermani, M. (2014). A geochemical survey of heavy metals in agricultural and background soils of the Isfahan industrial zone, Iran. *Catena*, *121*, 88-98. doi: 10.1016/j.catena.2014.05.003.

Farokhzadeh, S., Fakheri, B. A., Mahdinezhad, N., Tahmasebi, S., & Mirsoleimani, A. (2020). Genetic dissection of spike-related traits in wheat (*Triticum aestivum* L.) under aluminum stress. *Genetic Resources & Crop Evolution*, *67*, 1221-1243. doi: 10.1007/s10722-020-00907-6.

Farokhzadeh, S., Hassani, H. S., Tahmasebi, S., Zinati, Z., & Mobasseripour, E. S. (2023). Exploring agronomic traits and breeding prospects of primary tritipyrum and triticale lines to increase grain

yield potential. *Indian Journal of Genetics & Plant Breeding*, 83, 355-365. doi: 10.31742/ISGPB.83.3.7.

Feng, R., Zhao, P., Zhu, Y., Yang, J., Wei, X., Yang, L., Liu, H., Rensing, C., & Ding, Y. (2021). Application of inorganic selenium to reduce accumulation and toxicity of heavy metals (metalloids) in plants: The main mechanisms, concerns, and risks. *Science of the Total Environment*, *771*, 144776. doi: 10.1016/j.scitotenv.2020.144776.

Ghaffari Azar, A., Darvishzadeh, R., Molaei, B., Kahrizi, D., & Darvishi, B. (2019). Classification of maize inbred line based on agro-morphological traits in order to produce hybrid seed. *Modares Journal of Biotechnology*, *10*, 297-304. [In Persian]. dor: 20.1001.1.23222115.1398.10.2.17.1.

Jaynes, D., Kaspar, T., Colvin, T., & James, D. (2003). Cluster analysis of spatiotemporal corn yield patterns in an Iowa field. *Agronomy Journal*, *95*, 574-586. doi: 10.2134/agronj2003.5740.

Jazinizadeh, S., Ebrahimi-Khusfi, Z., & Parsa Motlagh, B. (2023). Investigating the vegetation status and its relationship with climatic factors: A case study of Jiroft city pastures. *Desert Ecosystem Engineering*, *12*(38), 1-10. [In Persian]. doi: 10.22052/DEEJ.2023.248881.1007.

Kassambara, A., & Mundt, F. (2020). R package 'factoextra', ver. 1.0.7. Extract and visualize the results of multivariate data analyses. https://CRAN.R-project.org/package=factoextra.

Kirby, E. J. M. & Appleyard, M. (1987). Development and Structure of the Wheat Plant. In: Lupton, F. G. H. (Ed.). Wheat Breeding: Its Scientific Basis. Chapman & Hall, London.

Kovačević, V., Kádár, I., Andrić, L., Zdunić, Z., Iljkić, D., Varga, I., & Jović, J. (2019). Environmental and genetic effects on cadmium accumulation capacity and yield of maize. *Czech Journal of Genetics & Plant Breeding*, *55*, 70-75. doi: 10.17221/5/2018-CJGPB.

Li, L., Zhang, Y., Ippolito, J. A., Xing, W., Qiu, K., & Wang, Y. (2020). Cadmium foliar application affects wheat Cd, Cu, Pb and Zn accumulation. *Environmental Pollution*, *262*, 114329. doi: 10.1016/j.envpol.2020.114329.

Metwali, M., Gowayed, S. M., Al-Maghrabi, O. A., & Mosleh, Y. Y. (2013). Evaluation of toxic effect of copper and cadmium on growth, physiological traits and protein profile of wheat (*Triticum aestivium* L.), maize (*Zea mays* L.) and sorghum (*Sorghum bicolor* L.). *World Applied Sciences Journal*, *21*, 301-304. doi: 10.5829/idosi.wasj.2013.21.3.2835.

Miransari, M. (2011). Hyperaccumulators, arbuscular mycorrhizal fungi and stress of heavy metals. *Biotechnology Advances*, *29*, 645-653. doi: 10.1016/j.biotechadv.2011.04.006.

Mohammadi, A., Sofalian, O., Jafari, H., Asghari, A., & Shekari, F. (2017). Assessing the genetic diversity of two populations of barley under normal and drought stress conditions in seedlling stage using multivariate analyses. *Cereal Research*, *7*(3), 399-420. [In Persian]. doi: 10.22124/c.2018.5379.1210.

Mohammadi, S. A., & Prasanna, B. (2003). Analysis of genetic diversity in crop plants-salient statistical tools and considerations. *Crop Science*, *43*(4), 1235-1248. doi: 10.2135/cropsci2003.1235.

Naveed, M., Mustafa, A., Majeed, S., Naseem, Z., Saeed, Q., Khan, A., Nawaz, A., Baig, K. S., & Chen, J. T. (2020). Enhancing cadmium tolerance and pea plant health through *Enterobacter sp*. MN17 inoculation together with biochar and gravel sand. *Plants*, *9*, 530. doi: 10.3390/plants9040530.

Pishnamazzadeh Emami, M., Ebadi, A., Mohebalipour, N., Nourafcan, H., & Ajali, J. (2020). Grouping rice recombinant inbred lines using cluster and principal component analysis methods. *Cereal Research*, *10*(1), 1-17. [In Persian]. doi: 10.22124/cr.2020.16522.1602.

Ramegowda, V., & Senthil-Kumar, M. (2015). The interactive effects of simultaneous biotic and abiotic stresses on plants: Mechanistic understanding from drought and pathogen combination. *Journal of Plant Physiology*, *176*, 47-54. doi: 10.1016/j.jplph.2014.11.008.

Razali, N. M., & Wah, Y. B. (2011). Power comparisons of Shapiro-Wilk, Kolmogorov-Smirnov, Lilliefors and Anderson-Darling tests. *Journal of Statistical Modeling & Analytics* 2(1), 21-33.

Rezapour, S., Azizi, M., & Nouri, A. (2023). Pollution analysis and health implications of heavy metals under different urban soil types in a semi-arid environment. *Sustainability*, *15*(16), 12157. doi: 10.3390/su151612157.

Riahi Farsani, H., Ghobadinia, M., Noori Emamzadei, M., Danesh Shahraki, A., & Motaghian, H. (2020). The effect of cadmium contamination water and soil on corn yield components. *Journal of Water & Soil Conservation*, *27*, 167-184. [In Persian]. doi: 10.22069/jwsc.2021.18319.3392.

Rostaminya, M., Jamzadeh, S., Mehrab, N., Mousavi, S., Valizadeh-Kakhki, F., & Chabok, A. (2023). Assessment of heavy metal accumulation using soil pollution indices in an industrial town, landfill,

and wastewater treatment plant of Ilam city, Iran. *Eurasian Soil Science*, *56*, 1544-1556. doi: 10.1134/S106422932360029X.

SAS Institute. (2012). SAS/OR 9.3 User's Guide: Mathematical Programming Examples. SAS Institute, Inc.

Shrestha, J. (2013). Agro-morphological characterization of maize inbred lines. *Wudpecker Journal of Agricultural Research*, *2*, 209-211. doi: 10.1155/2022/4806266.

Sinana, H. F., Ravikesavan, R., Iyanar, K., & Senthil, A. (2023). Study of genetic variability and diversity analysis in maize (*Zea mays* L.) by agglomerative hierarchical clustering and principal component analysis. *Electronic Journal of Plant Breeding*, *14*, 43-51. doi: 10.37992/2023.1401.015.

Song, J., Feng, S. J., Chen, J., Zhao, W. T., & Yang, Z. M. (2017). A cadmium stress-responsive gene *AtFC1* confers plant tolerance to cadmium toxicity. *BMC Plant Biology*, *17*, 1-15. doi: 10.1186/s12870-017-1141-0.

Teng, D., Mao, K., Ali, W., Xu, G., Huang, G., Niazi, N. K., Feng, X., & Zhang, H. (2020). Describing the toxicity and sources and the remediation technologies for mercury-contaminated soil. *RSC Advances*, *10*, 23221-23232. doi: 10.1039/D0RA01507E.

Valizadeh, H., Aharizad, S., Shiri, M., Mohammadi, S. A., Farahmand, K. M., & Bahrampur, T. (2014). Grouping of new maize (*Zea mays* L.) hybrids using yield and morphological traits. I*ranian Journal of Genetics & Plant Breeding*, *9*, 27-38. [In Persian].

Verma, J. P. (2013). Application of Discriminant Analysis: For Developing a Classification Model. In: Data Analysis in Management with SPSS Software. Chapter 12. pp. 389-412. doi: 10.1007/978-81-322-0786-3_12.

Wahid, A., & Khaliq, S. (2015). Architectural and biochemical changes in embryonic tissues of maize under cadmium toxicity. *Plant Biology*, *17*(5), 1005-1012. doi: 10.1111/plb.12326.

Xu, T., Su, H., Huang, Y., Chen, L., Lin, S., Gao, Z., Liu, P., & Sun, W. (2022). Analysis of sweet corn varieties in response to cadmium stress at seedling stage. *Maize Genomics & Genetics*, *13*(3), 1-9. doi: 10.5376/mgg.2022.13.0003.