

Genetic diversity assessment of maize (*Zea mays* L.) inbred lines based on physiological traits under zinc-sufficient and zinc-deficient conditions using factor analysis

**Maryam Harati Rad¹, Nafiseh Mahdinezhad², Reza Darvishzadeh^{3*},
Baratali Fakheri⁴, Mitra Jabari^{5*}, Sorour Arzhang⁶**

¹ PhD student of Plant Breeding, Department of Plant Breeding and Biotechnology, Faculty of Agriculture, University of Zabol, Sistan and Baluchestan, Iran. Email: maryamharati@pgs.uoz.ac.ir

² Professor, Department of Plant Breeding and Biotechnology, Faculty of Agriculture, University of Zabol, Sistan and Baluchestan, Iran. Email: nmahdinezhad@uoz.ac.ir

^{3*} Corresponding Author, Professor, Department of Plant Production and Genetics, Faculty of Agriculture, Urmia University, Western Azerbaijan, Iran. Email: r.darvishzadeh@urmia.ac.ir

⁴ Professor, Department of Plant Breeding and Biotechnology, Faculty of Agriculture, University of Zabol, Sistan and Baluchestan, Iran. Email: Fakheri@uoz.ac.ir

^{5*} Corresponding Author, Assistant Professor, Department of Plant Production and Genetic Engineering, Faculty of Agriculture, university of Saravan, Sistan and Baluchestan, Iran. Email: m.jabari@saravan.ac.ir

⁶ Post doctoral researcher., Department of Plant Production and Genetics, Faculty of Agriculture, Urmia University, Western Azerbaijan, Iran. Email: s.arzhang@urmia.ac.ir

Article Info

Article type:
Research Full Paper

Article history:

2025-10-01
2025-11-22

ABSTRACT

Background and objectives: Maize (*Zea mays* L.) is one of the most important cereal crops worldwide, playing a key role in food security, livestock nutrition, and the food industry. Micronutrient deficiencies, particularly zinc (Zn), are among the major constraints in agricultural soils, exerting detrimental effects on plant growth and yield. Zinc deficiency is one of the most widespread micronutrient disorders in cropping systems, reducing productivity and nutritional quality and thereby representing a serious threat to food security. As a Zn-sensitive crop and an indicator of soil Zn status, maize requires breeding programs informed by precise evidence on genetic diversity and physiological responses. The objective of this study was to investigate the genetic diversity and changes in the correlation structure of physiological and biochemical traits under two Zn nutritional levels.

Materials and Methods: This study evaluated 95 maize inbred lines under two nutritional regimes: Zn-sufficient (with zinc sulfate fertilizer) and Zn-deficient (without zinc sulfate). The experiment was conducted using an alpha-lattice design with two replications over two years. In total, 21 physiological and biochemical traits were assessed. Combined ANOVA under both Zn regimes was performed using SAS 9.4, and Pearson correlation analysis as well as factor analysis were conducted in R using the relevant statistical packages.

Keywords:

Antioxidant enzymes
Factor analysis
Genetic diversity
Photosynthetic pigments
Zinc deficiency

Results: Combined ANOVA revealed significant effects of genotype as well as genotype × environment and genotype × year interactions at the 1% probability level, indicating substantial genetic variation and differential responses across environments. Under Zn deficiency, mean values of chlorophyll a, chlorophyll b, total chlorophyll, proline, malondialdehyde (MDA), polyphenol oxidase (PPO), and seed iron

increased, indicating activation of oxidative defense pathways and metabolic adjustment. In contrast, under Zn sufficiency, higher levels of catalase (CAT), seed protein, seed carbohydrate, and mineral elements such as potassium, zinc, and phosphorus were observed, reflecting a greater allocation of resources to growth and storage. Correlation analysis showed positive and significant associations between photosynthetic pigments and metabolic indicators under Zn sufficiency, whereas these associations weakened or shifted under Zn deficiency—for example, seed carbohydrate became associated with chlorophyll b, proline, and leaf protein. The stability of significant correlations among chlorophyll a, chlorophyll b, and total chlorophyll under both Zn regimes indicates their potential as reliable and stable indicators for indirect screening of Zn-efficient genotypes. Factor analysis with varimax rotation highlighted the latent structure of the traits: three factors were extracted under Zn deficiency, explaining 33% of the total variance, whereas under Zn sufficiency, seven factors were identified, accounting for 54% of the total variance.

Conclusion: The findings demonstrated significant genetic diversity among the evaluated maize lines for key photosynthetic, nitrogen-related, and antioxidative traits. This diversity was more evident in photosynthetic and nitrogen-associated pathways in leaves and seeds under Zn deficiency, whereas under Zn sufficiency, a more complex factorial structure involving metabolic and storage-related traits emerged. Since traits such as chlorophyll pigments, leaf and seed protein, leaf and seed nitrogen, as well as selected antioxidative indicators exhibited both high inter-genotypic variability and differential behavior under Zn deficiency, they can serve as reliable criteria for preliminary screening of genotypes capable of adapting to Zn-limited conditions. These findings provide a suitable perspective for the use of physiological and biochemical traits in maize breeding programs aimed at improving Zn efficiency.

Cite this article: Harati Rad, M., Mahdinezhad, N., Darvishzadeh, R., Fakheri, B., Jabari, M., Arzhang, S. 2026. Genetic diversity assessment of maize (*Zea mays* L.) inbred lines based on physiological traits under zinc-sufficient and zinc-deficient conditions using factor analysis. *Crop Production Journal*, 18 (4), 119-142.



© The author(s)  [10.22069/ejcp.2026.24131.2715](https://doi.org/10.22069/ejcp.2026.24131.2715)

Publisher: Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources



تولید گیاهان زراعی

شاپا چاپی: ۲۰۰۸-۷۳۹۸
شاپا الکترونیکی: ۲۰۰۸-۷۴۰۳



بررسی تنوع ژنتیکی لاین‌های ذرت (*Zea mays L.*) بر اساس ویژگی‌های فیزیولوژیکی در شرایط بهینه و کمبود روی با استفاده از تحلیل عاملی

مریم هراتی‌راد^۱، نفیسه مهدی‌نژاد^۲، رضا درویش‌زاده^{۳*}، براتعلی فاخری^۴، میترا جباری^{۵*}، سرور ارزنگ^۶

^۱ دانشجوی دکتری، گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل، سیستان و بلوچستان، ایران. رایانامه: maryamharati@pgs.uoz.ac.ir

^۲ استاد، گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل، سیستان و بلوچستان، ایران. رایانامه: nmahdinezhad@uoz.ac.ir

^{۳*} نویسنده مسئول، استاد، گروه تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه، آذربایجان غربی، ایران. رایانامه: r.darvishzadeh@urmia.ac.ir

^۴ استاد، گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل، سیستان و بلوچستان، ایران. رایانامه: Fakheri@uoz.ac.ir

^{۵*} نویسنده مسئول، استادیار گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه سراوان، سیستان و بلوچستان، ایران. رایانامه: m.jabari@saravan.ac.ir

^۶ محقق پسا دکتری، گروه تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه، آذربایجان غربی، ایران. رایانامه: s.arzhang@urmia.ac.ir

اطلاعات مقاله	چکیده
نوع مقاله: مقاله کامل علمی - پژوهشی	سابقه و هدف: ذرت (<i>Zea mays L.</i>) یکی از مهم‌ترین محصولات زراعی جهان است که نقش کلیدی در امنیت غذایی، تغذیه دام و صنایع غذایی ایفا می‌کند. کمبود عناصر ریزمغذی، به ویژه روی (Zn)، یکی از چالش‌های اصلی در خاک‌های کشاورزی است که تأثیرات منفی بر رشد و عملکرد گیاهان دارد. کمبود روی یکی از شایع‌ترین کمبودهای ریزمغذی در خاک‌های زراعی است که با کاهش عملکرد و کیفیت تغذیه‌ای محصولات، تهدیدی جدی برای امنیت غذایی محسوب می‌شود. ذرت، به‌عنوان گیاهی حساس به کمبود روی و شاخصی برای ارزیابی وضعیت این عنصر در خاک، نیازمند برنامه‌های اصلاحی مبتنی بر شواهد دقیق از تنوع ژنتیکی و پاسخ‌های فیزیولوژیکی است. هدف این پژوهش، بررسی تنوع ژنتیکی و تغییرات ساختار همبستگی بین شاخص‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی تحت دو سطح تغذیه روی بود.
تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۷/۱۱ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۹/۲۶	مواد و روش‌ها: این پژوهش با هدف بررسی تنوع ژنتیکی ۹۵ لاین خالص ذرت تحت دو شرایط بهینه (با اعمال کود سولفات روی) و کمبود روی (بدون اعمال کود سولفات روی) انجام شد. آزمایش در قالب طرح آلفا لاتیس با دو تکرار در مدت دو سال اجرا گردید. در مجموع، ۲۱ صفت فیزیولوژیکی مورد ارزیابی قرار گرفت. تجزیه واریانس مرکب تحت هر دو شرایط بهینه و کمبود روی با استفاده از نرم‌افزار SAS نسخه ۹/۴، و همبستگی پیرسون و نیز تحلیل عاملی با استفاده از بسته‌های مربوطه در نرم‌افزار R انجام شد.
واژه‌های کلیدی: آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی تحلیل عاملی تنوع ژنتیکی رنگدانه‌های فتوسنتزی کمبود روی	یافته‌ها: بر اساس نتایج تجزیه واریانس مرکب، اثر ژنوتیپ و اثرات متقابل ژنوتیپ × محیط و ژنوتیپ × سال بر روی صفات مورد مطالعه در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود که بیانگر

وجود تنوع ژنتیکی قابل توجه و واکنش‌های متفاوت ژنوتیپ‌ها در شرایط محیطی مختلف بود. در شرایط کمبود روی، میانگین صفاتی نظیر کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل، پرولین، مالون‌دی‌آلدئید، پلی‌فنل اکسیداز و محتوای آهن بذر افزایش یافت که نشانه فعال شدن مسیرهای دفاع اکسیداتیو و سازگاری متابولیکی بود. در مقابل، در شرایط بهینه، مقادیر بالاتری از صفاتی مانند کاتالاز، پروتئین بذر، کربوهیدرات بذر و عناصر معدنی مانند پتاسیم، روی و فسفر بذر مشاهده شد که بازتاب‌دهنده تخصیص بیشتر منابع به رشد و ذخیره‌سازی بود. تحلیل همبستگی نشان داد که در شرایط بهینه، همبستگی‌های مثبت و معنی‌داری بین صفات فتوسنتزی و شاخص‌های متابولیتی وجود داشت، در حالی که در شرایط کمبود روی این روابط تضعیف یا به مسیرهای دیگری منتقل شدند، مانند ارتباط کربوهیدرات بذر با صفات کلروفیل b، پرولین و پروتئین برگ. پایداری همبستگی‌های معنی‌دار بین کلروفیل a، کلروفیل b و کلروفیل کل در هر دو شرایط، نشان‌دهنده قابلیت این صفات برای استفاده به‌عنوان شاخص‌های ثابت و قابل اعتماد در غربالگری غیرمستقیم ژنوتیپ‌های متحمل است. تحلیل عاملی با چرخش واریماکس نیز ساختار پنهانی داده‌ها را آشکار ساخت. در شرایط کمبود روی، سه عامل اصلی استخراج شد که ۳۳ درصد از واریانس کل صفات را توضیح دادند. در مقابل در شرایط بهینه، هفت عامل شناسایی شد که در مجموع ۵۴ درصد از واریانس کل را توجیه کردند.

نتیجه‌گیری: نتایج این پژوهش نشان داد که تنوع ژنتیکی معنی‌داری در لاین‌های ذرت مورد بررسی برای صفات کلیدی فتوسنتزی، نیتروژنی و آنتی‌اکسیداتیو وجود دارد. این تنوع در شرایط کمبود روی بیشتر در مسیرهای فتوسنتزی و نیتروژنی برگ و بذر نمود پیدا کرد، در حالی که در شرایط بهینه، ساختار عاملی پیچیده‌تری از روابط بین صفات متابولیتی و ذخیره‌ای شکل گرفت. از آنجا که صفاتی مانند کلروفیل‌ها، پروتئین و نیتروژن برگ و بذر و برخی شاخص‌های آنتی‌اکسیداتیو، هم تنوع میان ژنوتیپ‌های بالایی ایجاد کردند، هم در شرایط تنش رفتار تمایزبخش نشان دادند، می‌توانند به‌عنوان معیارهای قابل اعتماد برای غربالگری اولیه ژنوتیپ‌های توانمند در سازگاری به کمبود روی در برنامه‌های به‌نژادی ذرت مورد استفاده قرار گیرند. این یافته‌ها چشم‌انداز مناسبی برای بهره‌گیری از شاخص‌های فیزیولوژیک و بیوشیمیایی در برنامه‌های به‌نژادی ذرت فراهم می‌کند.

استناد: هراتی‌راد، مریم؛ مهدی‌نژاد، نفیسه؛ درویش‌زاده، رضا؛ فاخری، براتعلی؛ جباری، میترا؛ ارژنگ، سرور. (۱۴۰۴). بررسی تنوع ژنتیکی لاین‌های ذرت (*Zea mays L.*) بر اساس ویژگی‌های فیزیولوژیک در شرایط بهینه و کمبود روی با استفاده از تحلیل عاملی. *مجله تولید گیاهان زراعی*، ۱۸ (۴)، ۱۱۹-۱۴۲.



[10.22069/ejcp.2026.24131.2715](https://doi.org/10.22069/ejcp.2026.24131.2715)

© نویسنده‌گان

ناشر: دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان



مقدمه

ذرت (*Zea mays L.*) به‌عنوان یکی از مهم‌ترین غلات جهان، نقش حیاتی در امنیت غذایی و خوراک دام ایفا می‌کند، درحالی‌که رشد جمعیت و تغییرات اقلیمی، تولید آن را به چالش کشیده است (۱). ذرت به‌عنوان گیاه شاخص برای ارزیابی کمبود روی خاک شناخته می‌شود (۲). نیاز این گیاه به روی بیش از بسیاری از محصولات دیگر است و این موضوع به حساسیت آن در شرایط کمبود روی می‌افزاید. پاسخ گونه‌های گیاهی به محلول‌پاشی برگی روی متغیر بوده است، به طوری که در افزایش غلظت روی دانه، گندم (تا ۸۳ درصد)، سپس برنج (۲۷ درصد) و ذرت (۹ درصد) بیشترین پاسخ را نشان داده‌اند (۳).

کمبود روی شایع‌ترین کمبود ریزمغذی در خاک‌های زراعی به شمار می‌رود (۴) و باعث کاهش عملکرد (۵) و افت کیفیت تغذیه‌ای محصولات زراعی (۳) می‌شود. تقریباً ۵۰ درصد از اراضی قابل کشت در جهان از نظر روی دچار کمبود هستند (۶) و این مسئله، میزان کمبود روی در جوامع گیاهی و انسانی را به‌طور هم‌زمان تشدید می‌کند (۷). کمبود روی در گیاه موجب آسیب سلولی عمدتاً در سطح غشای سلول (۸) و تغییر ساختار میتوکندری (۹) می‌گردد. مطالعات نشان داده‌اند که روی با فعال‌سازی آنزیم‌های کلیدی، حفظ پایداری غشا، سنتز پروتئین و تنظیم فرآیندهای فیزیولوژیکی نقش اساسی در رشد و عملکرد گیاه دارد (۱۰، ۱۱). در صورتیکه غلظت‌های بالای روی موجب کاهش رشد، تخریب رنگیزه‌های فتوسنتزی، افزایش ROS، آسیب غشایی و بروز ناهنجاری ژنتیکی می‌گردد (۱۲)، یافته‌های قبلی در لوبیا، سورگوم و کدو این موارد را تأیید می‌کند (۱۳، ۱۴، ۱۵).

تفاوت‌های قابل توجهی در پاسخ‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی به تنش‌های محیطی بین

گونه‌های مختلف گیاهی و حتی بین ژنوتیپ‌های متعلق به یک گونه وجود دارد، که از این تنوع می‌توان به عنوان معیاری برای شناسایی و دستیابی به ژنوتیپ‌های متحمل به تنش‌های زیستی و غیرزیستی بهره برد (۱۶). گیاهان زراعی از جمله غلات تنوع ژنتیکی قابل توجهی برای غلظت مواد معدنی از جمله روی نشان می‌دهند (۱۷). آگاهی از میزان پارامترهای فنوتیپی و ژنوتیپی موجود در گونه‌های گیاهی جهت مطالعات ژنتیکی و اصلاح گیاهی برای گزینش دقیق ژنوتیپ‌های مد نظر بر مبنای اهداف برنامه‌های به‌نژادی ضرورت دارد (۱۸). اهمیت و ضرورت مطالعه تنوع ژنتیکی در ایجاد ارقام جدید سازگار با شرایط محیطی مختلف و برنامه‌های دیگر به‌نژادی غیر قابل انکار است. در این راستا، بررسی تنوع ژنتیکی در لاین‌های ذرت و تحلیل واکنش آن‌ها به کمبود روی از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. مطالعه تنوع ژنتیکی در ذرت برای تولید لاین‌های خالص، متنوع و گسترش هیبریدهای قوی یک نیاز مبرم به شمار می‌آید و نیز برای بهبود ژرم‌پلاسما و توسعه ارقام سنتتیک ذرت با استفاده از ژن‌های پیوسته با صفات مطلوب از جمله مقاومت به تنش‌های زنده و غیر زنده از اهمیت بالایی برخوردار است (۱۹).

روش‌های متعددی برای بررسی تنوع ژنتیکی وجود دارد که از رایج‌ترین آنها، استفاده از روش‌های آماری چند متغیره است. این روش‌ها می‌توانند هم زمان اطلاعات فراوانی از چندین صفت را در کلیه ژنوتیپ‌های مورد بررسی در اختیار اصلاح‌گران قرار دهند. در این میان تجزیه به عامل‌ها یکی از روش‌های آماری پرکاربرد برای توصیف، گروه‌بندی صفات و نهایتاً بررسی تنوع ژنتیکی می‌باشند (۲۰). مطالعه‌ای بر روی ۲۸۹ لاین ذرت در دو فصل زراعی، وجود تنوع ژنتیکی معنی‌دار و اثر متقابل ژنوتیپ × محیط را گزارش کردند. نتایج نشان داد که برخی ویژگی‌ها از

گیاهان مورد توجه قرار گرفته است، اما گزارش‌های اندکی در زمینه کاربرد تحلیل عاملی برای شناسایی مهم‌ترین این ویژگی‌ها در ذرت و بررسی روابط چندبعدی آن‌ها وجود دارد. این کمبود اطلاعات، ضرورت انجام پژوهش‌های تکمیلی و تدوین راهبردهای دقیق‌تر در به‌نژادی ذرت را برجسته می‌سازد. پژوهش حاضر با هدف بررسی تنوع ژنتیکی لاین‌های ذرت بر اساس خصوصیات فیزیولوژیک - بیوشیمیایی تحت شرایط کمبود و بهینه روی انجام شد. بهره‌گیری از رویکردهای آماری جامع، می‌تواند به درک بهتر سازوکارهای مرتبط با تحمل به کمبود روی و ارائه راهکارهایی برای بهبود برنامه‌های به‌نژادی کمک کند.

مواد و روش‌ها

پژوهش حاضر با هدف ارزیابی ۹۵ لاین ذرت در دو شرایط بهینه (استفاده از کود سولفات روی) و کمبود روی (عدم استفاده از کود روی) در قالب طرح آلفا لاتیس 10×10 با دو تکرار، در دو سال زراعی ۱۳۹۹ و ۱۴۰۰ در مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی واقع در منطقه سیستان، به طول جغرافیایی ۶۱ درجه و ۴۱ دقیقه شرقی و عرض جغرافیایی ۳۰ درجه و ۵۴ دقیقه شمالی با ارتفاع ۴۸۱ متر از سطح دریا انجام شد. لاین‌های مورد بررسی از دانشگاه رازی کرمانشاه، مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی خراسان رضوی و مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر کرج در قالب طرح تحقیقاتی شماره 94/101/T.T مصوب پژوهشکده زیست‌فناوری دانشگاه ارومیه تهیه شدند. فاصله ردیف‌های کاشت ۷۵ سانتی‌متر و فاصله بوته‌ها روی ردیف ۱۵ سانتی‌متر در نظر گرفته شد. عملیات ایجاد ردیف‌ها با استفاده از فاروئر انجام پذیرفت. اندازه هر کرت حدود $2/7$ متر در نظر گرفته شد. بر اساس نتایج آنالیز

وراثت‌پذیری بالا و پتانسیل پیشرفت ژنتیکی مطلوب برخوردارند، که آن‌ها را به معیارهای مناسب برای گزینش در برنامه‌های به‌نژادی تبدیل می‌کند. تجزیه به عامل‌ها نیز چند عامل مستقل و اثرگذار را شناسایی کرد که بخش عمده‌ای از تغییرات داده‌ها را تبیین می‌کردند، که این امر اهمیت بهره‌گیری از تحلیل‌های چندمتغیره در درک ساختار تنوع ژنوتیپی و بهبود کارایی انتخاب را برجسته می‌سازد (۲۱). در پژوهش دیگری بر اساس نتایج حاصل از تجزیه به عامل‌ها در برنج، چهار عامل اصلی و پنهان گزارش شده که در مجموع $78/50$ درصد از تغییرات کل صفات مورد بررسی از جمله عملکرد را توجیه کردند، عامل‌های پنهانی مؤثر بر صفات مورد مطالعه تحت عنوان عملکرد دانه، و تیپ بوته، ویژگی‌های ظاهری دانه، راندمان تبدیل و نرخ باروری نام‌گذاری شدند (۲۲). همچنین از تجزیه به عامل‌ها در ارزیابی ژنوتیپ‌های مختلف ذرت استفاده و صفاتی که بیش‌ترین سهم را در تبیین تغییرات کل خصوصیات عملکردی و مورفولوژیک داشتند، شناسایی شدند (۲۳).

بررسی ویژگی‌های فیزیولوژیک به‌عنوان شاخص‌های مؤثر در تبیین تفاوت‌های ژنوتیپی، به‌ویژه در ذرت و سایر غلات، در سال‌های اخیر مورد توجه قابل‌ملاحظه‌ای قرار گرفته است. مطالعات مختلف نشان داده‌اند که واکنش‌های فیزیولوژیک شامل سازوکارهای همبسته با کارایی مصرف منابع، پاسخ‌های آنزیمی دفاعی، شاخص‌های فتوسنتزی و ظرفیت سازگاری تحت شرایط تنش، می‌تواند بیانگر سطح تمایز و قدرت گزینشی ژرم‌پلاسما باشد (۱۲)، (۲۴). این شاخص‌ها در ترکیب با روش‌های آماری چندمتغیره، امکان شناسایی الگوهای تنوع ژنتیکی و گزینش ژنوتیپ‌های دارای پتانسیل بهبود عملکرد و پایداری را فراهم می‌سازند (۲۵). اگرچه نقش برخی ویژگی‌های فیزیولوژیک در تحمل به کمبود روی در

خاک مزرعه (جدول ۱) و به منظور ایجاد شرایط بهینه برای اجرای آزمایش، مقدار کود سولفات روی با استفاده از روش تقسیم‌بندی هانوی (۲۶) محاسبه شد. بدین ترتیب، کوددهی با سولفات روی به میزان ۳۵ کیلوگرم در هکتار در سه مرحله رشد رویشی (مراحل ۴، ۶ و ۱۰ برگی) پیش از آغاز فاز زایشی و گلدهی انجام شد. زمان مصرف کود در ساعات اولیه روز (۸ تا ۱۰ صبح) و به روش کود آبیاری انجام گرفت.

جدول ۱- ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک مزرعه

Table 1. Physical and chemical characteristics of farm soil

Zn (ppm)	بافت خاک Soil texture	Silt (%)	Sand (%)	Clay (%)	OC (%)	Available K (ppm)	Available P (ppm)	Total Nitrogen (%)	TNV (%)	pH	EC (ds/m)	عمق Depth (cm)
0.67	Loam	40	42	18	0.54	220	26	0.05	20.4	8.03	1.85	0-30

OC: Organic carbon; K: Potassium; P: Phosphorus; TNV: Total neutralizing value; pH: Potential of hydrogen; EC: Electrical conductivity; ds/m: Decisiemens per metre

$Env_j, Year_i$ و $(Year \times Env)_{ij}$ = اثرات تصادفی
 $Genotype_m$ = اثر ثابت
 ϵ_{ijkl} = خطای آزمایشی است.

آزمون معنی‌داری اثر ژنوتیپ و برهم‌کنش‌های آن با سال و محیط با استفاده از F-test انجام شد. برآورد آماره‌های توصیفی با استفاده از بسته «pastecs» با دستور «stat.desc(mydata)» در نرم‌افزار R انجام پذیرفت. به منظور بررسی روابط خطی بین صفات مورد مطالعه، ضریب همبستگی پیرسون با استفاده از بسته «corrplot» در نرم‌افزار R محاسبه شد (۲۷). همچنین، جهت بررسی دقیق‌تر ساختار داده‌ها و روابط بین متغیرها تحلیل عاملی با استفاده از بسته «psych» در نرم‌افزار R انجام شد (۲۸). تعداد واقعی عامل‌های پنهانی به کمک روش‌های تجزیه و تحلیل موازی^۱ و معیار ساختار بسیار ساده^۲ بدست آمد و در نهایت تعداد بهینه عامل‌ها تعیین گردید (۲۹).

در نهایت، تعداد ۲۱ صفت فیزیولوژیک و بیوشیمیایی مربوط به برگ و بذر (جدول شماره ۲) به صورت جداگانه مورد ارزیابی و اندازه‌گیری قرار گرفتند. داده‌های حاصل از این پژوهش با استفاده از روش‌های پیشرفته آماری مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. تجزیه واریانس مرکب صفات مورد مطالعه در هر دو محیط و دو سال زراعی با استفاده از رویه GLM نرم‌افزار SAS (نسخه ۹/۴) انجام گرفت. در مدل آماری مورد استفاده، ژنوتیپ به‌عنوان اثر ثابت و عوامل سال، محیط، تکرار و بلوک‌های ناقص به‌عنوان عوامل تصادفی در نظر گرفته شدند. مدل خطی مورد استفاده برای هر صفت به صورت زیر تعریف شد:

$$Y_{ijkl} = \mu + Year_i + Env_j + (Year \times Env)_{ij} + Rep_{k(ij)} + Block_{l(ijk)} + Genotype_m + (Genotype_m \times Year_i) + (Genotype_m \times Env_j) + (Genotype_m \times Year_i \times Env_j) + \epsilon_{ijkl}$$

در این مدل:

$$Rep_{k(ij)} = \text{اثر تکرار در داخل سال} \times \text{محیط}$$

$$rep(year \times env), \text{ اثر تصادفی}$$

$$Block_{l(ijk)} = \text{اثر بلوک ناقص در داخل سال} \times \text{محیط}$$

$$\times \text{تکرار } (blk(year \times env \times rep)), \text{ اثر تصادفی}$$

1. Parallel analysis
 2. Very simple structure

جدول ۲- صفات اندازه‌گیری شده در لاین‌های ذرت تحت شرایط بهینه و کمبود روی

Table 2. Measured traits in maize lines under optimal and zinc deficiency conditions

خصوصیات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی برگ Leaf Physiological and Biochemical Characteristics					
صفت Trait	مخفف Abbreviation	واحد اندازه‌گیری Unit of measurement	روش برآورد Measurement Method	ابزار/طول موج Instrument / Wavelength	منبع Reference
کلروفیل a Chlorophyll a	Chl a	ppm	استخراج با استون ۸۰٪، خوانش جذب	Spectrophotometer – 645 nm	Arnon, 1949; Lichtenthaler, 1987
کلروفیل b Chlorophyll b	Chl b	ppm	استخراج با استون ۸۰٪، خوانش جذب	Spectrophotometer – 663 nm	Arnon, 1949; Lichtenthaler, 1987
کلروفیل کل Total Chlorophyll	TChl	ppm	مجموع کلروفیل a و b	-	Arnon, 1949; Lichtenthaler, 1987
کارتنوئید Carotenoid	Car	ppm	استخراج با استون ۸۰٪، خوانش جذب	Spectrophotometer – 470 nm	Arnon, 1949; Lichtenthaler, 1987
کربوهیدرات برگ Leaf soluble Carbohydrate	LCarb	mg/g fresh weight	روش فنول-اسید سولفوریک	Spectrophotometer – 488 nm	Dubois et al., 1956
پروлін Proline	Pro	mg/g fresh weight	استخراج با اسید سولفوسالسیلیک ۳٪، واکنش با نین‌هیدرین، فاز تولوئن	Spectrophotometer – 520 nm	Bates et al., 1973
پروتئین برگ Leaf Protein	LProt	percentage	واکنش فولین-سیو کانتو	Spectrophotometer – 750 nm	Lowry et al., 1951
نیتروژن برگ Leaf Nitrogen	LN	percentage	هضم-تقطیر به روش کج‌لدال	Micro-Kjeldahl system	Guebel et al., 1991
آنزیم کاتالاز Catalase	CAT	ΔAbs/min/g fresh weight	کاهش جذب H ₂ O ₂	Spectrophotometer – 240 nm	Chance & Maehly, 1955
آنزیم پلی فنل اکسیداز Polyphenol Oxidase	PPO	ΔAbs/min/g fresh weight	اکسایش پیروگالال	Spectrophotometer – 420 nm	Gao et al., 1998
آنزیم گایاکول پراکسیداز Guaiacol Peroxidase	GPOD	ΔAbs/min/g fresh weight	اکسایش گایاکول	Spectrophotometer – 470 nm	Chance & Maehly, 1955
آنزیم آسکوربات پراکسیداز Ascorbate Peroxidase	APX	ΔAbs/min/g fresh weight	کاهش جذب آسکوربات	Spectrophotometer – 290 nm	Nakano & Asada, 1981
مالون دی‌آلدئید Malondialdehyde	MDA	μmol/g FW		Spectrophotometer – 532 & 600 nm	Heath & Packer, 1968
خصوصیات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی بذر Seed Physiological and Biochemical Characteristics					
صفت Trait	مخفف Abbreviation	واحد اندازه‌گیری Unit of measurement	روش برآورد Measurement Method	ابزار/طول موج Instrument / Wavelength	منبع Reference
پروتئین بذر Seed Protein	SProt	percentage	(بر پایه کج‌لدال) N × 6.25	-	AOAC, 2013
نیتروژن بذر Seed Nitrogen	SN	percentage	هضم-تقطیر به روش کج‌لدال	Micro-Kjeldahl system	Guebel et al., 1991
روغن بذر Seed Oil	SOil	percentage	استخراج سوکسله با هگزان/بنزن	Soxhlet apparatus	Luque de Castro & Garcia-Ayuso.

بررسی تنوع ژنتیکی لاین‌های ذرت (*Zea mays* L.) بر اساس ... / مریم هراتی‌راد و همکاران

					1998
میزان پتاسیم بذر Seed Potassium Content	SK	mg/100g	هضم خشک + شعله‌سنجی	Flame Photometer	Engelbrecht, 1956
میزان روی بذر Seed Zinc Content	SZn	mg/100g	هضم خشک + جذب اتمی	Atomic absorption spectroscopy (AAS)-213 & 248 nm	Page et al., 1982
میزان فسفر بذر Seed Phosphorus Content	SP	mg/100g	رنگ‌سنجی وانادو-مولیبیدات	Spectrophotometer – 440 nm	Murphy & Riley, 1962
میزان آهن بذر Seed Iron Content	SFe	mg/100g	هضم خشک + جذب اتمی	Atomic absorption spectroscopy (AAS)-213 & 248 nm	Page et al., 1982
کربوهیدرات بذر Seed Carbohydrate	SCarb	mg/100g	فنول-اسید سولفوریک	Spectrophotometer – 490 nm	Dubois et al., 1956

نتایج و بحث

(۰/۰۳) و کربوهیدرات بذر (۰/۰۳) مشاهده شد. میانگین‌ها نشان داد که در شرایط کمبود روی، میزان کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل، کربوهیدرات برگ، پرولین، آنزیم پلی فنل اکسیداز، مالون دی‌آلدئید و میزان آهن بذر نسبت به شرایط بهینه افزایش داشته است، که می‌تواند بیانگر فعال شدن مکانیسم‌های دفاعی اکسیداتیو و تنظیمات فیزیولوژیک برای سازگاری با کمبود روی باشد. در مقابل، در شرایط بهینه روی، میانگین صفاتی از جمله آنزیم کاتالاز، پروتئین بذر، کربوهیدرات بذر و عناصر معدنی پتاسیم، روی و فسفر بذر، بیشتر از شرایط کمبود بود. همسویی نتایج این پژوهش با یافته‌های اسلم و همکاران (۲۰۲۴) نشان می‌دهد که تحلیل هدفمند آماره‌های توصیفی - شامل میانگین، دامنه تغییرات و ضریب تغییرات - می‌تواند به‌عنوان ابزاری کارآمد برای کمی‌سازی تنوع فنوتیپی و شناسایی صفات کلیدی جهت غربالگری اولیه ژنوتیپ‌ها عمل کند (۲۵).

تفاوت‌های مشاهده‌شده در دامنه تغییرات صفات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی در این مطالعه، می‌تواند بازتاب تفاوت‌های ذاتی لاین‌ها در مکانیسم‌های کارایی جذب و استفاده از عنصر روی باشد. در همین راستا، در تحقیقی با مقایسه دو لاین اینبرد ذرت (Ye478 و Wu312) تحت شرایط تغذیه یکنواخت و ناهمگن روی در سیستم هیدروپونیک، نشان دادند که

آماره‌های توصیفی و تجزیه واریانس: مقادیر حداقل، حداکثر، میانگین، انحراف معیار و ضریب تغییرات صفات فیزیولوژی - بیوشیمیایی مورد بررسی در شرایط کمبود روی و شرایط بهینه در جدول ۳ ارائه شده است. تحلیل آماره‌های توصیفی داده‌های حاصل از ۹۵ لاین ذرت، تحت دو سطح تغذیه‌ای روی (کمبود و بهینه) و در دو سال زراعی، نشان‌دهنده وجود دامنه تغییرات گسترده و ضرایب تغییر متوسط تا بالا برای اکثر صفات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی برگ و بذر بود. این نتایج حاکی از آن است که جمعیت مورد مطالعه از نظر صفات مورد بررسی تنوع قابل توجهی داشت. مطالعات اخیر صورت گرفته بر روی لاین‌های ذرت نشان داده است که تحلیل آماره‌های توصیفی می‌تواند به‌عنوان ابزاری مناسب در شناسایی و ارزیابی تغییرات اولیه صفات گیاهی مورد استفاده قرار گیرد (۲۹ تا ۴۵).

در شرایط کمبود روی، بیشترین ضریب تغییرات مربوط به کلروفیل b (۰/۶۱)، گایاکول پراکسیداز (۰/۴۷) و کلروفیل کل (۰/۳۸) بود، در حالی که کمترین ضریب تغییرات در این شرایط در میزان آهن بذر (۰/۰۱) و کربوهیدرات بذر (۰/۰۲) مشاهده شد. در شرایط بهینه، بالاترین ضریب تغییرات در کلروفیل b (۰/۴۸)، کلروفیل کل (۰/۳۲) و مالون دی‌آلدئید (۰/۲۸) مشاهده شد و کمترین آن در پتاسیم بذر

حتی در سطوح پایین روی نیز شاخص‌های عملکردی مطلوبی داشته باشند (۴۷). نتایج پژوهش حاضر نشان داد که محور فیزیولوژیک شامل تغییرات رنگیزه‌های فتوسنتزی، پروتئین، پرولین و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان می‌تواند در تفکیک ژنوتیپ‌ها تحت کمبود روی مؤثر باشند. این یافته‌ها نشان می‌دهد که حتی بدون ارزیابی سطوح مولکولی و ریشه‌ای، شاخص‌های فیزیولوژیک قادر هستند بخشی از سازوکارهای پاسخ ژنوتیپ‌ها به کمبود روی را منعکس کنند. علاوه بر این، تحقیقات نشان داده که مدیریت بهینه روی و استفاده از ژنوتیپ‌های کارآمد از نظر جذب و استفاده، می‌تواند هم تحمل به تنش و هم کیفیت تغذیه‌ای محصول را ارتقا داده و به بهبود عملکرد و ارزش تغذیه‌ای نهایی کمک کند (۴۸).

صفتی نظیر کلروفیل، کارایی انتقال و استفاده از روی و ویژگی‌های ریشه‌ای (طول کل ریشه و تعداد ریشه‌های جانبی) می‌توانند به‌طور معنی‌داری ژنوتیپ‌ها را از نظر تحمل به کمبود روی متمایز کنند. همچنین افزایش بیان ژن‌های خانواده ZmZIP را در لاین متحمل (Wu312) گزارش کردند که با بهبود جذب و توزیع روی در گیاه همراه بود (۴۶).

ژانگ و همکاران (۲۰۲۱) گزارش کردند که مقاومت گیاهان به کمبود روی حاصل هماهنگی پیچیده میان سه محور اصلی شامل واکنش‌های فیزیولوژیک و بیوشیمیایی، سیستم‌های حمل و ذخیره روی و تنظیمات ژنتیکی و مولکولی است. این سه محور مانند حلقه‌های یک زنجیره، از جذب در ریشه تا توزیع و ذخیره‌سازی و تنظیم بیان ژن‌ها، یکدیگر را تکمیل می‌کنند و باعث می‌شوند برخی ژنوتیپ‌ها

جدول ۳- آماره‌های توصیفی و ضریب تغییرات صفات مورد بررسی در لاین های ذرت در شرایط بهینه و کمبود روی

Table 3. Descriptive statistics and coefficient of variation of the investigated traits in maize lines under optimal and zinc deficiency conditions

صفت Trait ^a	حداقل Min		حداکثر Max		دامنه تغییرات تنوع Range		میانگین Mean		انحراف معیار Std.dev		ضریب تغییرات Coef.var	
	بهینه N	کمبود روی ZD ^b	بهینه N	کمبود روی ZD	بهینه N	کمبود روی ZD	بهینه N	کمبود روی ZD	بهینه N	کمبود روی ZD	بهینه N	کمبود روی
Chl a	5.306	5.001	21.359	29.253	16.053	24.25	11.79	16.39	3.435	5.514	0.29	0.33
Chl b	0.821	0.093	12.146	13.677	11.325	13.58	4.87	5.44	2.357	3.33	0.48	0.61
TChl	6.213	6.554	33.505	42.93	27.292	36.37	16.67	21.83	5.474	8.462	0.32	0.38
Car	1.438	1.847	5.646	6.314	4.209	4.46	3.38	4.03	0.806	1.019	0.23	0.25
LCarb	6.282	4.08	23.547	16.125	17.264	12.04	11.66	9.03	3.019	2.349	0.25	0.26
Pro	0.206	0.324	0.413	0.727	0.207	0.404	0.289	0.451	0.038	0.089	0.13	0.19
LProt	0.576	0.37	1.469	1.949	0.892	1.57	1/05	1/07	0/191	0/293	0.18	0.27
LN	0.106	0.086	0.277	0.475	0.171	0.388	0.196	0.26	0.037	0.072	0.18	0.27
CAT	0.728	0.605	2.473	2.076	1.745	1.47	1.437	1.28	0.346	0.387	0/24	0.29
PPO	0.027	0.06	0.125	0.183	0.098	0.123	0.075	0.12	0.019	0.028	0.25	0.23
GPOD	0.139	0.052	0.414	0.461	0.275	0.409	0.222	0.207	0.055	0.098	0.24	0.47
APX	1.361	1.758	6.135	6.453	4.774	4.695	3.81	3.13	0.911	0.888	0.23	0.28
MDA	0.469	0.091	1.55	2.119	1.081	2.029	0.904	1.31	0.255	0.368	0.28	0.28

بررسی تنوع ژنتیکی لاین‌های ذرت (*Zea mays L.*) بر اساس ... / مریم هراتی‌راد و همکاران

SProt	3.554	6.198	12.301	7.585	8.747	1.387	7.295	6.81	1.889	0.341	0.25	0.05
SN	0.64	0.622	2.364	0.762	1.724	0.14	1.368	0.68	0.374	0.034	0.27	0.05
SOil	3.097	3.842	8.342	4.686	5.246	0.843	4.976	4.17	1.026	0.202	0.20	0.04
SK	434.786	420.72 7	540.61 4	497.64 7	105.82 8	76.92	503.11 3	459.63	19.694	20.218	0.03	0.04
SZn	2.977	2.33	6.544	4.675	3.567	2.345	4.484	3.48	0.703	0.703	0.15	0.20
SP	361.622	325.99	471.46 3	435.87 2	109.84 1	109.88 2	414.15 9	376.81	21.248	25.203	0.05	0.06
SFe	1.93	2.159	2.899	2.341	1.706	0.182	1.419	2.26	0.313	0.043	0.22 2	0.01
SCarb	17.541	19.1	21.087	21.09	3.546	1.98	20.015	20.04	0.668	0.397	0.03	0.02

^a Refer to Table 2

^{*} به جدول ۲ مراجعه شود

در پژوهش حاضر، وجود تفاوت معنی‌دار بین لاین‌ها تحت شرایط کمبود و بهینه روی، حاکی از واکنش‌های متفاوت لاین‌ها به محدودیت این عنصر است؛ بالاترین میزان ضریب تغییرات در تجزیه واریانس به فعالیت آنزیم‌های مالون دی‌آلدئید (۱۲/۳ درصد) و در رتبه دوم به گایاکول پراکسیداز (۱۱/۹ درصد) اختصاص داشت. در حالیکه کم‌ترین مقادیر ضریب تغییرات در صفات شیمیایی بذر شامل پتاسیم (۱/۱ درصد)، کربوهیدرات (۱/۱ درصد) و فسفر (۱/۲ درصد) بود. دامنه ضریب تغییرات صفات، نشان‌دهنده تنوع قابل توجه و بیانگر پتانسیل بالای بهره‌گیری از این صفات در گزینش غیرمستقیم و به‌کارگیری آن‌ها در برنامه‌های اصلاحی برای بهبود تحمل به کمبود روی است. این الگوی کم‌نوسانی ضریب تغییرات با نتایج تحلیل عاملی نیز هم‌راستا بود، به‌طوری‌که این صفات با داشتن مقادیر اشتراک پایین و بارهای عاملی ضعیف، وارد عوامل اصلی نشده و نقش محدودی در تبیین ساختار روابط بین صفات داشتند. این موضوع نشان می‌دهد که این صفات در جمعیت مورد مطالعه، از تنوع ژنتیکی پایین برخوردار بوده، بنابراین نمی‌توانند شاخص‌های مؤثری برای تفکیک ژنوتیپ‌ها یا ارزیابی تحمل به کمبود روی باشند. برای موفقیت برنامه‌های به‌نژادی در بلندمدت، وجود سطح قابل توجهی از تنوع ژنتیکی یا تفاوت ارثی میان ارقام

نتایج تجزیه واریانس مرکب صفات مورد مطالعه در لاین‌های ذرت تحت دو شرایط کمبود روی و شرایط بهینه، در دو سال زراعی متوالی (جدول ۴) نشان داد که اثر ژنوتیپ در ۲۱ صفت مورد بررسی در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود، که می‌تواند بیانگر وجود تنوع ژنتیکی قابل توجه بین لاین‌های مورد مطالعه باشد، که ظرفیت بالایی را برای بهره‌گیری از این تفاوت‌ها در برنامه‌های به‌نژادی و بهبود صفات هدف فراهم می‌آورد. اثرات متقابل ژنوتیپ × سال، ژنوتیپ × محیط و ژنوتیپ × سال × محیط نیز برای تمامی صفات در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود، این امر نیز نشان‌دهنده واکنش متفاوت ژنوتیپ‌ها در سال‌های مورد بررسی و شرایط مختلف و تغییر برتری آن‌ها در محیط‌های متفاوت است. این نتایج لزوم ارزیابی چندساله و چندمحیطی ژنوتیپ‌ها جهت شناسایی لاین‌های پایدار و سازگار را تأیید می‌کند (۴۹). در مطالعه‌ای بر روی ۴۵ هیبرید ذرت در سه مکان مختلف اختلاف معنی‌داری بین ژنوتیپ‌ها و نیز در برهم‌کنش ژنوتیپ × محیط گزارش شد، و بیان شد که این امر در نتیجه واکنش متفاوت هیبریدها در محیط‌های مختلف است و معرفی ژنوتیپ‌های برتر نیازمند ارزیابی تکمیلی می‌باشد (۵۰).

ضروری است (۵۱). پژوهشی بر روی ۳۰ ژنوتیپ ذرت نشان داد که تنوع بالا در صفات کلیدی می‌تواند برای انتخاب والدین و ایجاد واریته‌های پربازده به‌کار گرفته شود (۵۱).

بررسی همبستگی صفات: نقشه حرارتی ضرایب همبستگی بین ۲۱ صفت مورد بررسی در لاین‌های ذرت، در شرایط کمبود روی و شرایط بهینه در شکل ۱ ارائه شده است. در این نقشه، رنگ‌های قهوه‌ای و زرد به ترتیب بیانگر همبستگی مثبت و منفی بوده و افزایش شدت رنگ نشان‌دهنده ضریب همبستگی بزرگ‌تر است، در حالی که خانه‌های سفید به معنی غیرمعنی‌دار بودن ضرایب می‌باشند. نتایج نشان داد که در شرایط کمبود روی، همبستگی بین اغلب صفات ضعیف بوده، در حالی که در شرایط بهینه، همبستگی قوی‌تری بین صفات مرتبط با رنگدانه‌های فتوسنتزی مانند کلروفیل و کاروتنوئید مشاهده گردید. از میان صفات مورد بررسی کلروفیل a، کلروفیل b و کلروفیل کل در هر دو شرایط همبستگی مثبت و معنی‌داری با یکدیگر داشتند، که با شواهد گزارش شده در مطالعات اخیر مبنی بر حفظ همبستگی این رنگدانه‌ها تحت شرایط تغذیه‌ای متفاوت هم‌خوانی دارد (۳۲، ۵۲، ۵۳). این همبستگی‌های پایدار می‌تواند برای گزینش غیرمستقیم لاین‌های متحمل به کمبود روی بر پایه صفات فتوسنتزی مورد استفاده قرار گیرد، به‌ویژه زمانی که اندازه‌گیری مستقیم عنصر روی پرهزینه یا زمان‌بر باشد.

همبستگی بین صفات می‌تواند ناشی از اثر پلیوتروپیک یک ژن یا پیوستگی نزدیک ژن‌ها با یک هاپلوتایپ یکسان باشد؛ که این امر بهبود همزمان صفات مختلف را تسهیل می‌کند. صفات دارای همبستگی مثبت بالا، معیارهای مؤثرتری برای توسعه استراتژی‌های انتخاب محسوب می‌شوند (۲۵). در مطالعه‌ای بر روی ۱۵۰ لاین اینبرد ذرت در شرایط

مزرعه‌ای، نتایج همبستگی نشان داد که عملکرد دانه با طول بلال، تعداد دانه در هر ردیف، تعداد ردیف در بلال و وزن هزار دانه همبستگی مثبت و معنی‌داری داشته است. این یافته‌ها بیانگر آن است که این صفات علاوه بر ارتباط مستقیم با عملکرد، می‌توانند به‌عنوان شاخص‌های انتخاب غیرمستقیم در به‌نژادی به‌کار روند. نویسندگان پیشنهاد کردند که انتخاب لاین‌هایی با مقادیر بالای این صفات می‌تواند منجر به بهبود عملکرد و در عین حال، تقویت پتانسیل زیست‌غنی‌سازی با روی شود (۲۵). هرچند نوع صفات بررسی شده در پژوهش آنها عمدتاً زراعی - مورفولوژیک بود، اما الگوی پایداری روابط معنی‌دار بین صفات کلیدی آن‌ها، با نتایج حاضر درباره صفات فیزیولوژیکی - بیوشیمیایی نظیر کلروفیل a، کلروفیل b و کلروفیل کل قابل مقایسه است. در هر دو مطالعه، وجود گروهی از صفات با همبستگی پایدار، حتی تحت شرایط تغذیه‌ای متفاوت، شناسایی شد. این پایداری می‌تواند برای انتخاب غیرمستقیم ژنوتیپ‌های متحمل به کمبود روی ارزشمند باشد، به‌ویژه زمانی که اندازه‌گیری مستقیم برخی شاخص‌ها پرهزینه یا دشوار باشد. پایداری این همبستگی‌ها می‌تواند با عوامل فیزیولوژیکی و ژنتیکی زیرساختی مرتبط باشد. تحقیقات نشان داده که در لاین‌های کارآمد از نظر کارایی مصرف روی، انعطاف‌پذیری مورفولوژیکی (توانایی تغییر شکل یا اندازه اندام‌ها برای سازگاری با محیط) بالای سیستم ریشه و بیان افزایشی چندین ژن خانواده ZmZIP در شرایط کمبود روی، موجب بهبود جذب و انتقال این عنصر می‌شود. سازگاری‌های فیزیولوژیکی، مسیرهای بیوسنتزی کلروفیل را حتی تحت تنش تغذیه‌ای پایدار نگه می‌دارد و به همین دلیل، همبستگی پایدار بین صفات رنگدانه‌ای مشاهده می‌شود (۴۶).

جدول ۴- تجزیه واریانس صفات مورد بررسی در لاین های ذرت در شرایط بهینه و کمبود روی (در ۲ سال زراعی)
Table 4. Combined variance analysis of the investigated traits in maize lines under optimal and zinc deficiency conditions (in 2 crop years)

منابع تغییرات Source of variation	df	میانگین مربعات Mean Squares										
		Chl a ^a	Chl b	TChl	Car	LCarb	Pro	LProt	LN	CAT	PPO	GPOD
ژنوتیپ G	99	75.764**	26.969**	176.896**	2.875**	24.353**	0.016**	0.215**	0.011**	0.416**	0.001**	0.022**
ژنوتیپ × سال G×Y	99	14.221**	5.601**	32.612**	1.244**	15.757**	0.003**	0.061**	0.003**	0.176**	0.0006**	0.005**
ژنوتیپ × محیط G×E	99	75.375**	33.073**	183.932**	3.409**	26.336**	0.015**	0.189**	0.010**	0.475**	0.002**	0.025**
ژنوتیپ × سال × محیط G×Y×E	99	15.424**	6.341**	36.417**	1.186**	16.072**	0.004**	0.060**	.002**	0.188**	0.0005**	0.004**
خطا Error	324	0.117	0.146	0.348	0.028	0.612	0.0002	0.001	0.0002	0.003	0.000006	0.0006
ضریب تغییرات %		2.4	7.5	3.1	4.6	7.5	4.3	3.9	6.6	4.5	8.1	11.9

Table 4. Continue

منابع تغییرات Source of variation	df	میانگین مربعات Mean Squares										
		APX	MDA	SProt	SN	SOil	SK	SZn	SP	SFe	S Carb	
ژنوتیپ G	99	2.726**	0.368**	6.011**	0.23**	1.652**	1464.462**	1.527**	1683.350**	0.230**	1.103**	
ژنوتیپ × سال G×Y	99	1.483**	0.075**	6.084**	0.224**	1.700**	292.055**	0.901**	419.250**	0.235**	0.860**	
ژنوتیپ × محیط G×E	99	2.861**	0.313**	6.479**	0.236**	1.793**	1199.166**	0.832**	1938.628**	0.232**	1.009**	
ژنوتیپ × سال × محیط G×Y×E	99	1.443**	0.78**	6.629**	0.232**	1.690**	362.579**	1.008**	434.579**	0.227**	0.754**	
خطا Error	324	0.076	0.018	0.316	0.009	0.018	28.025	0.054	24.263	0.024	0.049	
ضریب تغییرات % CV(%)		7.9	12.3	7.9	9.4	2.9	1.1	5.8	1.2	8.5	1.1	

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

+G, genotype; Y, year; E, environment

^a Refer to Table 2

^{***} به ترتیب معنی داری در سطح احتمال یک درصد و معنی داری در سطح احتمال پنج درصد.

^a به جدول ۲ مراجعه شود

شدند؛ به ویژه ارتباط آهن بذر با آنزیم گایاکول پراکسیداز و همچنین پیوند کربوهیدرات بذر با صفات فتوسنتزی و نیتروژنی. این تغییرات نشان‌دهنده بازآرایی مسیرهای بیوشیمیایی گیاه در پاسخ به کمبود روی و تلاش برای حفظ تعادل متابولیک و فیزیولوژیک است. بنابراین، نتایج نشان می‌دهد که کمبود روی نه تنها سطح صفات منفرد، بلکه الگوی همبستگی میان آن‌ها را نیز تغییر می‌دهد و این موضوع می‌تواند به عنوان شاخصی مهم در درک مکانیسم‌های سازگاری گیاه مورد استفاده قرار گیرد.

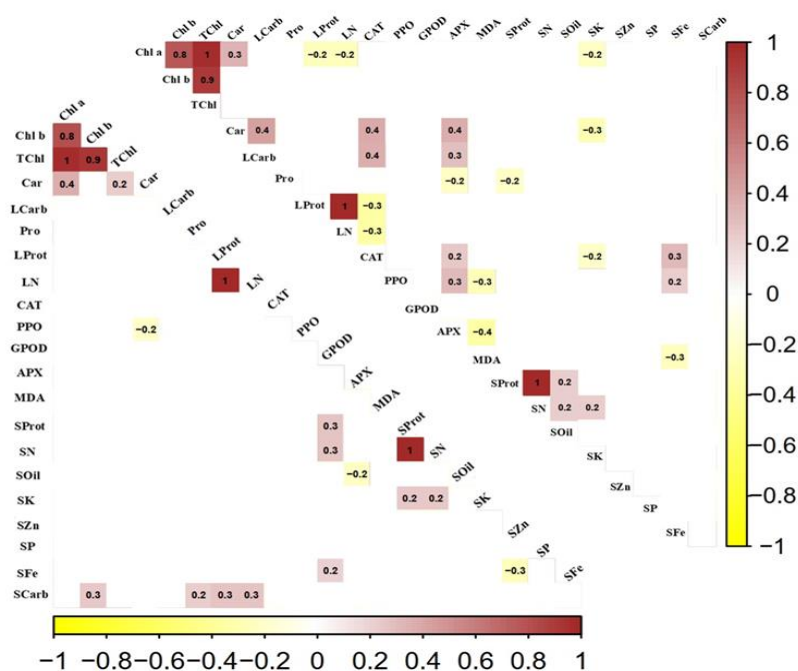
تحلیل عاملی: از آنجایی که ضرایب همبستگی ممکن است اطلاعات کاملی پیرامون روابط بین صفات مختلف ارائه نکنند، برای درک ساختار عمیق داده‌ها از تحلیل عاملی بهره گرفته شد (۵۴). پیش از اجرای تحلیل عاملی، کفایت داده‌ها با استفاده از شاخص کفایت نمونه‌گیری کایزر-مایر-اولکین (KMO) و آزمون کرویت بارتلت ارزیابی شد. مقادیر شاخص KMO در شرایط کمبود روی ۰/۶۳ و بهینه ۰/۶۵ به دست آمد که بیانگر کفایت داده‌ها برای انجام تحلیل عاملی است (۵۵). علاوه بر این، نتایج آزمون بارتلت در هر دو شرایط بسیار معنی‌دار بود. این یافته‌ها به طور همزمان، وجود همبستگی‌های ساختاریافته و معنادار میان صفات را تأیید و امکان استخراج عوامل نهفته و معنادار از داده‌ها را فراهم می‌سازد (۵۶). در این مطالعه، تحلیل عاملی روی مجموعه‌ای از صفات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی برگ و بذر پس از استانداردسازی داده‌ها، در دو شرایط محیطی (کمبود روی و بهینه) همراه با چرخش واریماکس انجام شد. تعداد واقعی عامل‌های پنهانی با استفاده از تحلیل موازی و معیار ساختار بسیار ساده تعیین گردید (شکل ۲) تا خطای ناشی از نمونه‌گیری کاهش یابد (۲۹، ۴۵).

در شرایط بهینه میزان کاروتنوئید با کربوهیدرات برگ (۰/۴)، آنزیم کاتالاز (۰/۴)، و آنزیم آسکوربات پراکسیداز (۰/۴) همبستگی جزئی و مثبت نشان داد. همچنین کربوهیدرات برگ نیز با آنزیم کاتالاز (۰/۴) و آسکوربات پراکسیداز (۰/۳) چنین همبستگی نشان داد. همبستگی‌های مثبت و معنی‌دار اما ضعیفی بین آنزیم کاتالاز و آنزیم آسکوربات پراکسیداز (۰/۲)، آنزیم کاتالاز و میزان آهن بذر (۰/۳)، آنزیم پلی فنل اکسیداز با آنزیم آسکوربات پراکسیداز (۰/۳)، آنزیم پلی فنل اکسیداز با میزان آهن بذر (۰/۲)، میزان نیتروژن بذر پروتئین بذر با روغن بذر (۰/۲)، میزان نیتروژن بذر با پتاسیم بذر (۰/۲) نیز در شرایط بهینه مشاهده گردید. از طرفی در شرایط کمبود روی همین همبستگی‌های ضعیف نیز بسیار محدود شد و الگوی متفاوتی نیز نشان داد. برای مثال میزان آهن بذر با آنزیم گایاکول پراکسیداز همبستگی جزئی و مثبت (۰/۲) نشان داد، در صورتیکه در شرایط بهینه میزان آهن بذر با آنزیم‌های کاتالاز و پلی فنل اکسیداز همبستگی جزئی داشت. این امر می‌تواند به دلیل تغییر مسیرهای بیوشیمیایی در مواجهه با کمبود روی رخ دهد. در شرایط کمبود روی میزان کربوهیدرات بذر همبستگی جزئی و مثبت با میزان کلروفیل b (۰/۳)، میزان پرولین (۰/۲)، میزان پروتئین برگ (۰/۳) و میزان نیتروژن برگ (۰/۳) نشان داد.

در شرایط بهینه، وجود همبستگی‌های مثبت و اگرچه کم قدرت بین برخی صفات فیزیولوژیک (مانند فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی) و ترکیبات متابولیتی (مانند کاروتنوئید و کربوهیدرات) نشان‌دهنده نوعی هم‌جهتی نسبی در این مسیرها است، نه یک هماهنگی کامل متابولیکی. اما در شرایط کمبود روی، این الگو به طور قابل توجهی تغییر یافته و همبستگی‌ها کاهش یافته یا به صفات دیگری منتقل

بودند، که تأییدی بر غالب بودن صفات مرتبط با رنگدانه‌های فتوسنتزی در تبیین این عامل است. از دیدگاه زیستی، غلظت کلروفیل‌ها نقش کلیدی در ظرفیت فتوسنتزی و کارایی جذب نور دارد و کاهش یا تغییر آن‌ها یکی از شاخص‌های اصلی پاسخ گیاه به تنش‌های تغذیه‌ای محسوب می‌شود. بنابراین، تمرکز عامل اول بر صفات کلروفیلی نشان می‌دهد که تحت شرایط کمبود روی، تغییرات ژنوتیپی بیشتر از همه در سطح فتوسنتزی و ساختار رنگدانه‌ای برگ‌ها نمایان می‌شود. این امر بازتاب‌دهنده اهمیت مسیرهای مرتبط با کلروفیل در سازگاری گیاه به کمبود روی بوده و حاکی از آن است که اندازه‌گیری این صفات می‌تواند به‌عنوان شاخص‌های مؤثر در غربال ژنوتیپ‌های متحمل به کمبود روی مورد استفاده قرار گیرد.

تحلیل عاملی در شرایط کمبود روی، سه عامل پنهانی شناسایی کرد (شکل ۲)، که در مجموع ۳۳ درصد از تنوع کل ۲۱ صفت مورد بررسی را در ژنوتیپ‌های ذرت توجیه کردند (جدول ۵). در این مطالعه ضرایب عاملی صفات مورد بررسی پس از چرخش واریماکس نشان داد که عامل اول ۱۳ درصد از تغییرات داده‌ها را در بر گرفت. در شرایط کمبود روی، عامل اول بیشترین بار عاملی را از صفات کلروفیل a، کلروفیل b و کلروفیل کل دریافت کرد (به ترتیب ۰/۹۶، ۰/۸۶ و ۱/۰۳). این مقادیر نشان‌دهنده همبستگی بسیار قوی این صفات با عامل نخست است و بیانگر آن است که این عامل را می‌توان به‌عنوان عامل فتوسنتزی یا رنگدانه‌ای تفسیر کرد. بارهای عاملی سایر صفات مانند پروتئین و نیتروژن برگ یا بذر در این عامل ضعیف و کم‌اهمیت

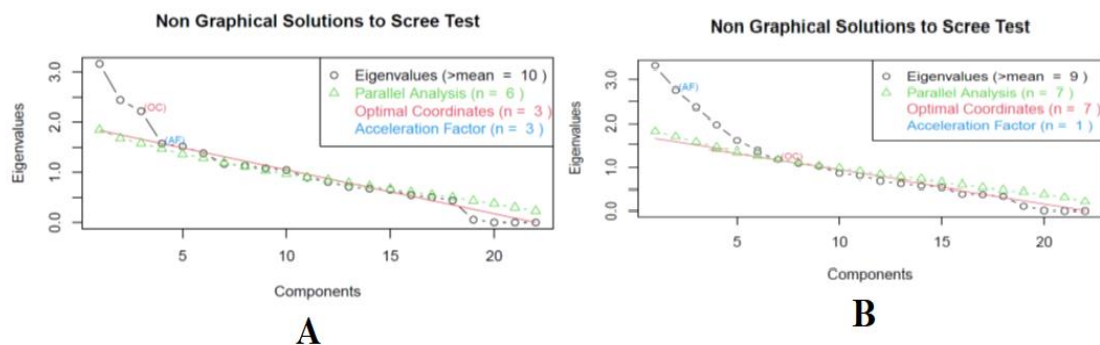


شکل ۱- ضرایب همبستگی بین صفات مورد بررسی در لاین‌های ذرت در شرایط کمبود روی (پایین قطر) و بهینه (بالای قطر) در ۲ سال زراعی. بر اساس نقشه حرارتی رنگ‌های قهوه‌ای و زرد به ترتیب نشان‌دهنده همبستگی مثبت و منفی است و افزایش شدت رنگ دلالت بر ضرایب بزرگتر دارد. خانه‌های سفید رنگ نشان‌دهنده غیر معنی‌دار بودن ضرایب است.

Figure 1. Correlation coefficients among investigated traits in maize lines under optimal (upper panel) and zinc deficiency (lower panel) conditions in 2 crop years. Based on heat map plots, Brown and yellow colures indicate positive and negative correlations, respectively, and increasing color intensity reflects a higher coefficient. The white cells indicate non-significant correlations.

مدیریت نماید. از سوی دیگر، بارهای منفی برای روغن بذر (-۰/۱۸) و روی بذر (-۰/۱۷) نشان‌دهنده‌ی یک تقابل احتمالی بین تجمع پروتئین- نیتروژن و ذخیره روغن یا روی در بذر است. این امر می‌تواند ناشی از محدودیت منابع و رقابت میان مسیرهای متابولیکی در زمان پرشدن بذر باشد؛ به‌طوری‌که ژنوتیپ‌هایی که در شرایط کمبود روی پروتئین و نیتروژن بیشتری ذخیره می‌کنند، ممکن است به‌طور نسبی توانایی کمتری در تجمع روغن یا روی داشته باشند. چنین الگوهایی در فیزیولوژی گیاه می‌تواند به بازتخصیص کربن و نیتروژن در مسیرهای متابولیکی مختلف نسبت داده شود. به‌طور کلی، عامل دوم را می‌توان به‌عنوان یک عامل تجمع نیتروژنی- پروتئینی بذر تفسیر کرد که ۱۰ درصد از تنوع کل صفات مورد بررسی را در شرایط کمبود روی توضیح می‌دهد. این عامل اهمیت کاربردی بالایی دارد، زیرا برتری ژنوتیپ‌ها در این بعد می‌تواند به‌عنوان شاخصی برای انتخاب در برنامه‌های به‌نژادی ذرت با هدف بهبود کیفیت تغذیه‌ای بذر تحت شرایط محدودیت روی به کار گرفته شود.

عامل دوم در شرایط کمبود روی بیشترین بار عاملی را از صفات پروتئین بذر (۰/۹۵) و نیتروژن بذر (۰/۹۶) دریافت کرد. این مقادیر بسیار بالا نشان می‌دهند که این عامل عمدتاً بازتاب‌دهنده‌ی ظرفیت تجمع نیتروژن و پروتئین در بذر است. از آنجا که پروتئین‌ها به‌طور مستقیم از نیتروژن تأمین می‌شوند، همبستگی قوی این دو صفت با عامل دوم نشان‌دهنده‌ی اهمیت بازتوزیع نیتروژن از اندام‌های رویشی به بذر در شرایط کمبود روی است. علاوه بر این، بار عاملی مثبت متوسط برای آنزیم گایاکول پراکسیداز (۰/۳۴) و نیز بارهای مثبت ضعیف برای پروتئین و نیتروژن برگ (۰/۱۷) و برخی عناصر بذری مانند آهن (۰/۲۱) و پتاسیم (۰/۲۱) نشان می‌دهد که ژنوتیپ‌های دارای تجمع بالاتر پروتئین و نیتروژن در بذر، هم‌زمان از فعالیت نسبی بالاتر در مسیرهای آنتی‌اکسیدانی و ذخیره برخی عناصر معدنی نیز برخوردار هستند. این هم‌زمانی می‌تواند نشانه‌ای از یک هماهنگی متابولیکی و فیزیولوژیک باشد که به گیاه امکان می‌دهد تحت تنش کمبود روی، هم کیفیت بذر را حفظ کند و هم تعادل دفاع اکسیداتیو را



شکل ۲- تعداد بهینه عامل‌ها در تحلیل عاملی به روش تجزیه و تحلیل موازی و معیار ساختار بسیار ساده. (A) شرایط کمبود روی. (B) شرایط بهینه

Figure 2. Optimal number of factors in factor based parallel analysis and very simple structure (VSS). A) Zinc deficiency condition. B) Optimal condition.

مثبت را از پروتئین برگ (۰/۹۸) و نیتروژن برگ (۰/۹۸) دریافت کرد. این مقادیر بسیار بالا نشان

عامل سوم در شرایط کمبود روی با ۱۰ درصد توجیه تنوع صفات مورد بررسی، بیشترین بار عاملی

بررسی مقادیر اشتراک نشان داد که صفاتی مانند کلروفیل a (۰/۹۲)، کلروفیل b (۰/۷۵)، کلروفیل کل (۰/۹۹)، پروتئین و نیتروژن برگ (۰/۹۹) و همچنین پروتئین و نیتروژن بذر (۰/۹۳) دارای مقادیر بسیار بالا بودند. این نتایج بیانگر آن است که بخش عمده‌ای از تغییرات این صفات توسط عامل‌های استخراج‌شده توضیح داده می‌شود و بنابراین آن‌ها نقش محوری در ساختار عاملی تحت شرایط کمبود روی دارند. در مقابل، صفاتی نظیر کاروتنوئید، کربوهیدرات برگ، پرولین، کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز و روغن بذر از مقادیر اشتراک بسیار پایینی برخوردار بودند. این امر نشان می‌دهد که این صفات ارتباط ضعیفی با عامل‌های استخراج‌شده دارند و تغییرات آن‌ها بیشتر ناشی از عوامل مستقل یا پراکنش ژنوتیپی خارج از ساختار عاملی اصلی است. به طور کلی، بالا بودن مقادیر اشتراک برای صفات فتوسنتزی (کلروفیل‌ها) و صفات تغذیه‌ای (پروتئین و نیتروژن برگ و بذر) نشان می‌دهد که این ویژگی‌ها بیشترین سهم را در تبیین تغییرات ژنوتیپی ذرت در شرایط کمبود روی دارند. در مقابل، صفات مرتبط با پاسخ‌های تنش اکسیداتیو (مانند پرولین و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی) سهم کمی در ساختار عاملی داشتند که می‌تواند ناشی از تنوع مستقل آن‌ها یا حساسیت بیشتر به شرایط محیطی باشد.

تجزیه به عامل‌ها برای صفات مورد مطالعه در شرایط بهینه نشان داد که تعداد هفت عامل، ۵۴ درصد از تنوع کل داده‌ها را توجیه کردند. عامل اول که مسئول توجیه ۱۳ درصد از تنوع کل صفات بود، در شرایط بهینه بیشترین بار عاملی را از کلروفیل a (۰/۹۱)، کلروفیل b (۰/۹۱)، کلروفیل کل (۱/۰۲)، دریافت کرد. این بارهای بالا و هم‌جهت نشان می‌دهد که این عامل همانند عامل اول در شرایط کمبود روی به‌طور عمده بیانگر ظرفیت فتوسنتزی گیاه و وضعیت

می‌دهند که این عامل به‌طور عمده نمایانگر ظرفیت تغذیه‌ای و نیتروژنی برگ‌ها است. از آنجا که پروتئین‌های برگ مستقیماً از نیتروژن مشتق می‌شوند، این همبستگی قوی حاکی از آن است که تغییرات ژنوتیپی در این عامل بیشتر به وضعیت متابولیسم نیتروژن در بافت‌های رویشی وابسته است. علاوه بر این، مقادیر مثبت ضعیف برای برخی متغیرها مانند مالون‌دی‌آلدئید (۰/۱۹) و کربوهیدرات بذر (۰/۲۵) نشان می‌دهد که ژنوتیپ‌هایی با سطح بالاتر پروتئین و نیتروژن برگ ممکن است با سطح بالاتری از پراکسیداسیون لیپیدها و ذخیره نسبی کربوهیدرات در بذر همراه باشند. این هم‌زمانی می‌تواند بازتاب‌دهنده‌ی ارتباط بین متابولیسم نیتروژن و پاسخ‌های اکسیداتیو باشد؛ به این معنا که برگ‌های غنی از نیتروژن احتمالاً حساس‌تر به تنش اکسیداتیو هستند و یا به واسطه‌ی مسیرهای متابولیکی نیتروژن، تغییراتی در وضعیت آنتی‌اکسیدانی و ذخیره عناصر ایجاد می‌شود. از سوی دیگر، بارهای نزدیک به صفر یا منفی برای سایر صفات فتوسنتزی (کلروفیل‌ها، کاروتنوئیدها) و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی نشان می‌دهد که این عامل ارتباطی مستقیم با مسیرهای فتوسنتزی یا دفاع آنزیمی ندارد و به‌طور خاص بر متابولیسم نیتروژن در برگ‌ها متمرکز است. به‌طور کلی، عامل سوم را می‌توان به‌عنوان یک عامل تغذیه‌ای-نیتروژنی برگ تفسیر کرد. این عامل نشان می‌دهد که تحت کمبود روی، تمایز ژنوتیپ‌ها علاوه بر ذخایر بذر، به میزان قابل‌توجهی به توانایی برگ‌ها در حفظ و استفاده از نیتروژن وابسته است. از دیدگاه کاربردی، این عامل می‌تواند شاخصی مهم برای غربال ژنوتیپ‌هایی باشد که کارایی مصرف نیتروژن بالاتری دارند و در نتیجه در شرایط محدودیت روی از پایداری فیزیولوژیک بیشتری برخوردار هستند.

رنگدانه‌های نوری برگ است. از آنجا که کلروفیل‌ها شاخص‌های اصلی در فرآیند جذب نور و کارایی فتوسنتزی هستند، ارتباط قوی آن‌ها با عامل اول به‌روشنی اهمیت مسیرهای فتوسنتزی در شرایط بهینه را نشان می‌دهد. بارهای عاملی برای سایر صفات در این عامل بسیار پایین و اغلب نزدیک به صفر یا منفی بودند (مانند پروتئین و نیتروژن برگ، آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و ترکیبات بذری). از آنجا که در این پژوهش نوع پروتئین‌های فتوسنتزی مانند پروتئین‌های LHC یا PSII اندازه‌گیری نشد، امکان تفسیر اختصاصی رابطه آن‌ها با کلروفیل وجود ندارد و پروتئین در قالب اندازه‌گیری انجام‌شده (پروتئین کل) ارتباط مستقیمی با الگوی رنگزه‌ها نشان نداد. این موضوع نشان می‌دهد که در شرایط بهینه، عامل اول به‌طور اختصاصی بر رنگدانه‌های فتوسنتزی متمرکز است و سایر صفات نقش ناچیزی در تبیین این عامل ایفا می‌کنند. از دیدگاه زیستی، این نتایج بیانگر آن است که تحت شرایط تغذیه‌ای مطلوب، بیشترین تمایز ژنوتیپی در ذرت مربوط به سطح کلروفیل‌ها و ظرفیت فتوسنتزی برگ‌ها است. بنابراین، عامل اول در شرایط بهینه را می‌توان به‌عنوان یک عامل فتوسنتزی خالص تفسیر کرد که بیانگر تفاوت‌های ژنوتیپی در کارایی جذب و بهره‌برداری از نور در گیاهان مورد مطالعه است.

عامل دوم ۱۰ درصد واریانس کل را در برگ‌گرفت و بیشتر تحت تأثیر پروتئین بذر (۰/۹۹)، آنزیم مالون دی‌آلدئید (۰/۹۶) و به مقدار کمتر روغن بذر (۰/۲۷) بود. این عامل اساساً بازتاب‌دهنده‌ی رابطه میان شاخص پراکسیداسیون لیپیدها و ترکیبات ذخیره‌ای بذر است. به‌طور خلاصه، عامل دوم در شرایط بهینه را می‌توان به‌عنوان یک عامل ذخیره‌ای تفسیر کرد که بیانگر ارتباط میان کیفیت بذر (پروتئین و عناصر غذایی) و وضعیت پراکسیداسیون غشایی در گیاه

است. عامل سوم ۱۰ درصد واریانس کل را در برگ‌گرفت و بیشتر تحت تأثیر پروتئین برگ (۰/۹۹) و نیتروژن برگ (۰/۹۹) بود. این نشان می‌دهد که این عامل اساساً نمایانگر وضعیت تغذیه‌ای و متابولیسم نیتروژن در بافت‌های رویشی است. بار منفی متوسط آنزیم کاتالاز (۰/۳۳-) نیز بیانگر وجود یک رابطه معکوس میان تجمع نیتروژن برگ و فعالیت بخشی از سیستم آنتی‌اکسیدانی است. به‌طور خلاصه، عامل سوم را می‌توان به‌عنوان یک عامل ذخایر پروتئینی-نیتروژنی برگ تفسیر کرد که در شرایط بهینه بیشترین تمایز ژنوتیپی را در سطح استفاده و ذخیره نیتروژن در اندام‌های رویشی بازتاب می‌دهد.

عامل چهارم با توجه ۸ درصد از واریانس کل، بیشترین بار عاملی مثبت را از کارتنوئید (۰/۷۹)، آنزیم کاتالاز (۰/۵۶) و کربوهیدرات برگ (۰/۵۵) دریافت کرد. این هم‌زمانی نشان می‌دهد که عامل چهارم اساساً بازتاب‌دهنده‌ی ارتباط میان متابولیسم کربوهیدرات‌ها، رنگدانه‌های غیرکلروفیلی (کاروتنوئیدها) و فعالیت آنتی‌اکسیدانی (CAT) است. از سوی دیگر، پتاسیم بذر (۰/۴۲-) بار منفی نشان داد که می‌تواند بیانگر یک رابطه معکوس بین مسیرهای فتوسنتزی-آنتی‌اکسیدانی و تجمع برخی مواد معدنی در بذر باشد. به‌طور خلاصه، عامل چهارم در شرایط بهینه را می‌توان به‌عنوان یک عامل متابولیکی-آنتی‌اکسیدانی تفسیر کرد که بر تعامل میان کربوهیدرات‌ها، کاروتنوئیدها و آنزیم‌های دفاعی در برگ‌ها دلالت دارد. عامل پنجم حدود ۷ درصد از تنوع کل را توجه کرد و بیشترین بار عاملی مثبت را از پروتئین بذر (۰/۶۹) و آنزیم پلی‌فنل‌اکسیداز (۰/۴۵) دریافت کرد. علاوه بر این، بارهای مثبت کوچک برای کاروتنوئید (۰/۲۰)، کربوهیدرات برگ (۰/۲۱)، کاتالاز (۰/۲۰) و آهن بذر (۰/۳۳) نیز دیده می‌شود. در مقابل، آسکوربات پراکسیداز (۰/۵۳-) بار منفی نسبتاً

بالایی داشت. این الگو نشان می‌دهد که عامل پنجم نمایانگر یک عامل ذخیره‌ای-آنتی‌اکسیدانی است که از یک سو به کیفیت بذر (به‌ویژه پروتئین) و فعالیت پلی‌فنل‌اکسیداز مرتبط است و از سوی دیگر با کاهش فعالیت آسکوربات پراکسیداز همراه است. به نظر می‌رسد ژنوتیپ‌هایی که توان بالاتری در تجمع پروتئین بذری دارند، مسیر دفاعی آنزیمی متفاوتی را فعال می‌کنند که بیشتر به سمت فعالیت PPO و کمتر به سمت APX گرایش دارد. به طور خلاصه، عامل پنجم در شرایط بهینه را می‌توان به‌عنوان یک عامل ذخیره‌ای-دفاعی تفسیر کرد که ارتباط میان کیفیت بذر و مسیرهای آنتی‌اکسیدانی را بازتاب می‌دهد.

عامل ششم تنها ۳ درصد از تنوع کل صفات را توجیه کرد. بیشترین بار عاملی مثبت در این عامل را آهن بذر (۰/۴۶) و کربوهیدرات بذر (۰/۴۱) به خود اختصاص دادند. این بارها نشان می‌دهد که عامل ششم اساساً نمایانگر یک عامل تغذیه‌ای-ذخیره‌ای بذر است. حضور بارهای منفی برای فسفر بذر (۰/۲۶-) و روی بذر (۰/۲۸-) نیز نشان‌دهنده‌ی یک رابطه معکوس میان ذخیره آهن-کربوهیدرات با عناصر فسفر و روی در بذر است. از دیدگاه زیستی، این عامل بازتاب‌دهنده‌ی توازن عناصر غذایی و متابولیت‌ها در بذر است، به‌گونه‌ای که برخی ژنوتیپ‌ها آهن و کربوهیدرات بیشتری ذخیره می‌کنند اما این امر ممکن است با کاهش نسبی ذخیره فسفر و روی همراه باشد. چنین الگویی می‌تواند ناشی از رقابت مسیرهای انتقال و تخصیص مواد در زمان پرشدن بذر باشد. به طور خلاصه، عامل ششم در شرایط بهینه را می‌توان به‌عنوان یک عامل ذخایر معدنی-کربوهیدراتی بذر تفسیر کرد که بیانگر اختلاف ژنوتیپی در الگوی تخصیص عناصر و متابولیت‌ها در دانه‌های ذرت است. عامل هفتم نیز مانند عامل ششم تنها ۳ درصد از تنوع کل را توجیه کرد و بیشترین بار

عاملی مثبت را از آنزیم گایاکول پراکسیداز (۰/۵۳) و بارهای متوسط از کاتالاز (۰/۲۵) و فسفر بذر (۰/۲۱) دریافت کرد. این الگو نشان می‌دهد که عامل هفتم در شرایط بهینه اساساً نمایانگر یک عامل آنتی‌اکسیدانی-معدنی است. بارهای منفی در این عامل برای کاروتنوئید (۰/۳۳-) و پتاسیم بذر (۰/۱۷-) حاکی از آن است که فعالیت بالاتر GPOD و CAT ممکن است با کاهش نسبی برخی ذخایر متابولیتی یا معدنی در بذر همراه باشد. این امر بیانگر تقابل احتمالی میان مسیرهای دفاعی آنتی‌اکسیدانی و مسیرهای ذخیره‌ای در شرایط بهینه است. به طور خلاصه، عامل هفتم را می‌توان به‌عنوان یک عامل دفاع اکسیداتیو با پیوند تغذیه‌ای ضعیف تفسیر کرد که نشان‌دهنده‌ی نقش ژنوتیپی در فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و ارتباط آن با تعادل ذخایر معدنی در بذر است.

بر اساس مقادیر اشتراک در شرایط بهینه بیشترین واریانس ژنوتیپی توسط صفات فتوسنتزی (کلروفیل‌ها)، شاخص‌های تغذیه‌ای (پروتئین و نیتروژن برگ و بذر) و شاخص پراکسیداسیون (MDA) توضیح داده می‌شود. از نظر زیستی، هم‌جهتی شاخص‌های تغذیه‌ای قابل انتظار است؛ زیرا نیتروژن عنصر اصلی تشکیل‌دهنده اسیدهای آمینه و پروتئین‌ها است و بخش عمده نیتروژن آلی گیاه در قالب پروتئین ذخیره یا منتقل می‌شود. بنابراین، تغییرات نیتروژن برگ می‌تواند بازتابی از وضعیت عمومی سنتز و تجمع پروتئین باشد. در مقابل، صفات مربوط به آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و برخی ترکیبات بذری (روغن، پتاسیم، روی، فسفر) کمترین سهم را در ساختار عاملی داشته‌اند. این یافته‌ها نشان می‌دهد که در شرایط مطلوب، ژنوتیپ‌ها بیشتر بر اساس ظرفیت فتوسنتزی و وضعیت تغذیه‌ای متمایز می‌شوند تا پاسخ‌های آنتی‌اکسیدانی یا تغییرات عناصر فرعی.

بود (۲۱). گرچه این مطالعه فاقد تیمار کمبود روی بود، اما با تمرکز بر صفات فیزیولوژیکی و عملکردی، داده‌های ارزشمندی در زمینه ساختار همبستگی صفات فراهم نمود. در پژوهشی که بر روی ۲۰ هیبرید ذرت شامل هیبریدهای تجاری و لاین‌های والد آن‌ها صورت گرفت، بر اساس تحلیل عاملی پنج عامل با تبیین مجموع ۸۹/۱۷ درصد از واریانس کل با مقادیر اشتراک عمدتاً بالای ۰/۷۰ گزارش شد (۵۷). مطالعه‌ای دیگر بر روی ۱۲ هیبرید تجاری سینگل کراس ذرت با استفاده از تحلیل عاملی بر روی مجموعه‌ای از صفات موفولوژیکی و عملکردی ذرت، در مجموع چهار عامل استخراج شده را گزارش کردند که درصد واریانس تبیین شده آن نسبت به دو مطالعه قبلی کمتر بود (۵۸).

اگرچه مطالعات اندکی به‌طور هم‌زمان صفات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاهان را با روش تحلیل عاملی بررسی کرده‌اند، به‌ویژه در شرایط کمبود روی، همین نتایج محدود موجود نیز می‌توانند چارچوب مناسبی برای مقایسه با یافته‌های این تحقیق فراهم کنند.

در مطالعه‌ای که بر روی ۲۸۹ لاین ذرت امیدبخش طی دو فصل زراعی صورت گرفته، در هر دو فصل پنج عامل پنهان و مستقل را شناسایی کردند که در مجموع ۷۲/۲۷ درصد تنوع کل در فصل تابستان و ۷۱/۴ درصد در بهار را توجیه کردند همچنین مقادیر اشتراک برای هر صفت به‌طور مجزا گزارش شده و دامنه آن در فصل تابستان بین ۰/۵۱ تا ۰/۹۳ و در فصل بهار بین ۰/۴۱ تا ۰/۹۳ بوده است که نشان‌دهنده کفایت بالای مدل برای اغلب صفات

جدول ۵- ضرایب تحلیل عاملی صفات مورد بررسی بعد از چرخش واریانس در لاین‌های ذرت در شرایط بهینه و کمبود روی در ۲ سال زراعی

Table 5. Factor analysis coefficients for investigated traits after varimax rotation in maize lines under optimal and zinc deficiency conditions (in 2 crop years)

صفت Trait*	شرایط کمبود روی Zinc deficiency conditions				شرایط بهینه Optimal conditions							
	عامل اول	عامل دوم	عامل سوم	میزان اشتراک	عامل اول	عامل دوم	عامل سوم	عامل چهارم	عامل پنجم	عامل ششم	عامل هفتم	میزان اشتراک
	Factor 1	Factor 2	Factor 3	Communality	Factor 1	Factor 2	Factor 3	Factor 4	Factor 5	Factor 6	Factor 7	Communality
Chl a	0.96	0.01	-0.06	0.92	0.91	-0.08	-0.15	0.21	0.02	-0.09	-0.10	0.91
Chl b	0.86	-0.09	-0.02	0.75	0.91	0.01	0.02	-0.12	-0.05	0.12	0.03	0.87
TChl	1.03	-0.04	-0.05	0.99	1.02	-0.04	-0.08	0.08	0.00	0.00	-0.05	0.99
Car	0.21	0.11	0.03	0.05	0.10	-0.16	-0.08	0.79	0.20	-0.08	-0.33	0.81
LCarb	-0.04	-0.06	0.11	0.01	-0.09	0.19	-0.07	0.55	0.21	-0.06	-0.01	0.40
Pro	0.18	0.09	0.01	0.03	-0.10	-0.18	0.01	-0.09	-0.22	-0.21	0.23	0.20
LProt	0.12	0.17	0.98	0.99	-0.09	-0.06	0.99	-0.09	0.02	0.06	0.04	0.99
LN	0.12	0.17	0.98	0.99	-0.09	-0.06	0.99	-0.09	0.02	0.06	0.04	0.99
CAT	-0.02	-0.03	-0.04	0.00	0.05	0.00	-0.33	0.56	0.20	0.32	0.25	0.63
PPO	-0.09	0.11	0.05	0.02	-0.03	0.13	0.06	0.02	0.45	0.00	-0.04	0.22
GPOD	0.04	0.34	-0.07	0.12	-0.01	-0.13	0.02	-0.01	-0.09	-0.04	0.53	0.31
APX	0.03	0.12	-0.14	0.03	0.08	0.06	0.00	-0.03	-0.53	-0.06	0.09	0.31
MDA	-0.10	-0.03	0.19	0.04	0.00	0.96	-0.10	-0.08	0.10	-0.02	-0.05	0.95
SProt	0.08	0.95	-0.12	0.93	-0.01	0.99	-0.09	-0.11	0.10	-0.10	-0.09	0.99
SN	0.08	0.96	-0.12	0.93	-0.01	-0.01	0.06	0.28	0.69	-0.01	-0.07	0.55
SOil	-0.01	-0.18	-0.01	0.03	-0.11	0.27	0.09	0.16	-0.12	0.03	-0.09	0.14
SK	0.04	0.21	-0.16	0.07	-0.16	0.14	-0.04	-0.42	0.14	-0.03	-0.17	0.28
SZn	0.01	-0.17	-0.03	0.02	0.01	-0.09	-0.14	-0.08	0.09	-0.28	-0.01	0.12
SP	0.04	0.08	-0.07	0.01	-0.12	0.05	0.04	0.09	0.09	-0.26	0.21	0.15
SFe	0.18	0.21	-0.01	0.07	-0.14	-0.06	-0.05	0.07	0.33	0.46	0.06	0.36
SCarb	0.22	0.01	0.25	0.11	0.04	-0.20	0.06	-0.21	0.07	0.41	-0.21	0.30
Proportion Var واریانس توجیه شده	0.13	0.10	0.10		0.13	0.10	0.10	0.08	0.07	0.03	0.03	
Cumulative Var واریانس تجمعی	0.13	0.23	0.33		0.13	0.23	0.33	0.41	0.47	0.51	0.54	

* Refer to Table 2

* به جدول ۲ مراجعه شود

نتیجه‌گیری کلی

این پژوهش با هدف بررسی تنوع ژنتیکی مجموعه‌ای از لاین‌های ذرت بر پایه شاخص‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی در دو سطح تغذیه‌ای روی (کمبود و بهینه) انجام شد و نتایج آن شواهد روشنی از وجود تنوع ژنتیکی معنی‌دار برای صفات کلیدی مرتبط با فتوسنتز، متابولیسم نیتروژن و پاسخ‌های اکسیداتیو فراهم کرد. گستره قابل توجه تغییرات و معنی‌داری اثر ژنوتیپ و برهم‌کنش ژنوتیپ × محیط نشان داد که بیان صفات به شدت وابسته به وضعیت تغذیه‌ای بوده و برتری ژنوتیپ‌ها در محیط‌های مختلف دچار تغییر می‌شود؛ بنابراین، ارزیابی چندمحیطی پیش‌نیاز انتخاب دقیق ژنوتیپ‌های پایدار و کارآمد است.

در شرایط کمبود روی، الگوی تغییر صفات بیانگر فعال شدن مکانیسم‌های سازگاری، از جمله تقویت مسیرهای دفاع آنتی‌اکسیدانی و بازتنظیم متابولیسم نیتروژن بود. همزمان، تغییر ساختار همبستگی‌ها و انتقال پیوند صفات از محور فتوسنتزی-متابولیتی به مسیرهای جبرانی، نشان‌دهنده بازآرایی شبکه‌های متابولیکی در پاسخ به تنش روی است. در مقابل، در شرایط بهینه، همبستگی‌های قوی‌تر و منسجم‌تر میان رنگدانه‌های فتوسنتزی و متابولیت‌های برگ، بیانگر عملکرد هماهنگ مسیر «جذب نور-تولید انرژی-سنتز متابولیت» و کارایی بالاتر تخصیص منابع به رشد و ذخیره‌سازی بود. پایداری همبستگی مثبت میان کلروفیل a، کلروفیل b و کلروفیل کل در هر دو محیط، اهمیت این صفات را به‌عنوان شاخص‌های پایدار و قابل اتکا برای غربالگری غیرمستقیم تحمل به کمبود روی برجسته می‌سازد. تحلیل عاملی نیز تأیید

کرد که صفات فتوسنتزی و ذخایر نیتروژنی-پروتئینی اصلی‌ترین مؤلفه‌های تبیین‌کننده تمایز ژنوتیپی در هر دو سطح تغذیه‌ای هستند، اما در محیط بهینه سهم صفات متابولیکی و آنتی‌اکسیدانی در ساختار واریانس افزایش می‌یابد که نشان‌دهنده پیچیدگی بیشتر روابط صفات در شرایط مطلوب است. این یافته‌ها حاکی از آن است که در تنش کمبود روی، تمایز ژنوتیپی حول محور صفات کلیدی مرتبط با کارایی فتوسنتزی و بازتوزیع نیتروژن متمرکز می‌شود، در حالی که در شرایط بدون تنش، شبکه گسترده‌تری از مسیرهای فیزیولوژیک در تعیین تفاوت‌ها نقش دارند.

بر مبنای الگوی تنوع مشاهده‌شده، نتایج این پژوهش نشان می‌دهد که صفات مرتبط با فتوسنتز و متابولیسم نیتروژن می‌توانند به‌عنوان شاخص‌های انتخاب پایدار در هر دو شرایط کمبود و کفایت روی مورد استفاده قرار گیرند و صفات آنتی‌اکسیدانی و متابولیکی نقش تکمیلی در تبیین کارایی ژنوتیپ‌ها ایفا می‌کنند. این الگوی تنوع، مبنای علمی معتبری برای طراحی راهبردهای به‌نژادی هدفمند فراهم می‌آورد و امکان محدودسازی دایره‌گزینش به لاین‌های کارآمد از نظر کارایی جذب و مصرف روی را پیش از ورود به مراحل پرهزینه ارزیابی عملکرد میسر می‌سازد؛ امری که می‌تواند به توسعه ژنوتیپ‌های متحمل به کمبود روی با پایداری فتوسنتزی و بهره‌وری تغذیه‌ای بالاتر منجر شود.

تشکر و قدردانی

از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه زابل برای حمایت مالی در انجام این پروژه با شماره ۳۰۱۴- UOZ-GR-۱۵۸ تشکر و قدردانی می‌گردد.

References

1. Kumari, V.N., Sivakumar, S. & Himakara, D.M. (2025). Multivariate analysis and multi-trait index-based selection of maize (*Zea mays* L.) inbreds for agromorphological and yield components. *Plant Science Today*, 12(3). <https://doi.org/10.14719/pst.4206>
2. Zhang, L., Yan, M., Ren, Y., Chen, Y. & Zhang, S. (2021). Zinc regulates the hydraulic response of maize root under water stress conditions. *Plant Physiology and Biochemistry*. 159, 123–134. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2020.12.014>
3. Cakmak, I. & Kutman, U.B. (2018). Agronomic biofortification of cereals with zinc: a review. *European Journal of Soil Science*. 69, 172–180. <https://doi.org/10.1111/ejss.12437>
4. Rehman, R., Asif, M., Cakmak, I. & Ozturk, L. (2021). Differences in uptake and translocation of foliar-applied Zn in maize and wheat. *Plant Soil*. 462, 235–244. <https://doi.org/10.1007/s11104-021-04867-3>
5. Aziz, M.A., Ahmad, H.R., Corwin, D.L., Sabir, M., Hakeem, K.R. & Ozturk, M. (2017). Influence of farmyard manure on retention and availability of nickel, zinc and lead in metal-contaminated calcareous loam soils. *Journal of Environmental Engineering and Landscape Management*. 25(3), 289–296. <https://doi.org/10.3846/16486897.2016.1254639>
6. Yu, B.G., Chen, X.X., Cao, W.Q., Liu, Y.M. & Zou, C.Q. (2020). Responses in zinc uptake of different mycorrhizal and non-mycorrhizal crops to varied levels of phosphorus and zinc applications. *Frontiers in Plant Science*. 11, 606472. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.606472>
7. Shahzad, Z., Rouached, H. & Rakha, A. (2014). Combating mineral malnutrition through iron and zinc biofortification of cereals. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 13, 329–346. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12063>
8. Candan, N., Cakmak, I. & Ozturk, L. (2018). Zinc-biofortified seeds improved seedling growth under zinc deficiency and drought stress in durum wheat. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*. 181(3), 388–395. <https://doi.org/10.1002/jpln.201800014>
9. Chen, W.R., He, Z.L., Yang, X.E. & Feng, Y. (2009). Zinc efficiency is correlated with root morphology, ultrastructure, and antioxidative enzymes in rice. *Journal of Plant Nutrition*. 32, 287–305. <https://doi.org/10.1080/01904160802608627>
10. Mondal, T.K., Ganie, S.A., Rana, M.K. & Sharma, T.R. (2014). Genome-wide analysis of zinc transporter genes of maize (*Zea mays*). *Plant Molecular Biology Reporter*. 32, 605–616. <https://doi.org/10.1007/s11105-013-0664-2>
11. Montoya, M., Guardia, G., Recio, J., Castellano-Hinojosa, A., Ginés, C., Bedmar, E. J. (2021). Zinc-nitrogen co-fertilization influences N₂O emissions and microbial communities in an irrigated maize field. *Geoderma* 383, 114735. <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2020.114735>
12. Sunday, S.S.M. & Eruni, E.K. (2022). Physiological responses of maize (*Zea mays* L.) to zinc (Zn) induced stress. *International Journal of Botany Studies*, 7(3), 203-210.
13. Vassilev, A., Nikolova, A., Koleva, L. & Lidon, F. (2011). Effects of excess Zn on growth and photosynthetic performance of young bean plants. *Journal of Phytology*, 3(6), 58-62.
14. Lalelou, F.S., Shafagh-Kolvanagh, J., Fateh, M. (2013). Effect of various concentrations of zinc on chlorophyll, starch, soluble sugars and proline in naked pumpkin (*Cucurbita pepo*). *International Journal of Farming and Allied Sciences*, 2(24), 1198-1202.
15. Oladele, E.O., Odeigah, P.G.C., & Taiwo, I.A. (2013). The genotoxic effect of lead and zinc on bambara groundnut (*Vigna subterranean*). *African Journal of Environmental Science and Technology*, 7(1), 9-13.
16. Winter, S.R., Musik, J.T. & porter, K.B. (1998). Evaluation of screening Technique for Breeding, Drought-resistant winter wheat. *Crop Science*, 28, PP: 512-516.
17. Ghodsizad, L., Rahimzadeh Khoei, F., & Sadeghzade, B. (2013). Zinc absorption evaluation in barley varieties and landraces under cold dryland conditions. Master of Science, Tabriz Azad University. [In Persian].
18. Akbari, A.R., Ghasemi, S.H., Saremi-Rad, A., & Shojaei, S.H. (2018). Genetic diversity study of corn (*Zea mays* L.) genotype for morpho-physiological traits under drought stress. *Journal of Agronomy and Plant Breeding*, 14(2), 9-23. [In Persian].
19. Hoxha, S., Shariflou, M. R., & Sharp, P. (2004). Evaluation of genetic diversity in Albanian maize using SSR markers. *Maydica*, 49(2), 97-103
20. Silva, T. N., Moro, G. V., Moro, F.V., Santos, D.M.M.D., & Buzinaro, R. (2016). Correlation and path analysis of agronomic and morphological traits in maize. *Revista Ciência Agronômica*, 47, 351-357.

21. Nourinejad, H., Alami Saeid, Kh., & Sadat, Sh. (2024). A Study on Genetic Diversity, Heritability, Genetic Advance, and Factor Analysis of Trait Yields and Yield Components in Promising Maize Lines. *Journal of Crop Breeding*, 16(2), 104-117. <https://doi.org/10.61186/jcb.16.2.104>
22. Khadem Hosseini, Z., & Rabiei, B. (2021). Investigating the relationships between grain yield and quality related traits in some promising lines of rice (*Oryza sativa* L.). *Cereal Research*, 11(2), 105-119. <https://doi.org/10.22124/CR.2021.20707.1692>. [In Persian]
23. Kamara, A. Y., Kling, J. G., Menkir, A., & Ibikunle, O. (2003). Agronomic performance of maize (*Zea mays* L.) breeding lines derived from a low nitrogen maize population. *The Journal of Agricultural Science*, 141(2), 221-230. <https://doi.org/10.1017/S0021859603003514>
24. Adiko, N.N., Ratnadewi, D., & Miftahudin. (2017). Physiological responses of rice (*Oryza sativa* L.) to zinc treatments under drought stress. *Pakistan Journal of Biotechnology*, 14(2), 173-181. <http://www.pjbt.org>
25. Aslam, M., Khan, S.H., Beshir, A., Hussain, M. & Aslam, M.A. (2024). Genetic divergence and extent of association among indicators linked to zinc contents and yield in tropical maize. *SABRAO Journal of Breeding and Genetics*, 56(3), 1001-1011. <http://doi.org/10.54910/sabao2024.56.3.9>
26. Hanway, J. (1971). How a Corn Plant Develops. Iowa State Univ. Sp. Rpt. No. 48.
27. Wei, T., & Simko, V. R. (2021). package "corrplot": Visualization of a Correlation Matrix (Version 0.92). Package *Corrplot for R Software*.
28. Revelle, W. (2022). Package "Psych": Procedures for Psychological, Psychometric, and Personality Research. <https://personality-project.org/r/psych>
29. Arzhang, 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. <http://doi.org/10.22124/CR.2022.21075.1699>.
30. Arnon, D.I. (1949). Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. *Plant Physiology*. 24, 1-15.
31. Lichtenthaler, H.K. (1987). Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. *Methods in Enzymology*. 148, 350-382.
32. Dubois, M., Gilles, K.A., Hamilton, J.K., Rebers, P.A. & Smith, F. (1956). Colorimetric method for Determination of sugars and Related Substances. *Analytical Chemistry*. 28, 350.
33. Bates, L.S., Waldren, R.P. & Teare, I.D. (1973). Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant Soil*. 39, 205-207. <https://doi.org/10.1007/BF00018060>
34. Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L. & Randall, R.J. (1951). Protein measurement with the Folin phenol reagent. *The Journal of biological chemistry*. 193(1), 265-275.
35. Guebel, D., Nudel, C. & Giulietti, A. (1991). A simple and rapid micro-Kjeldahl method for total nitrogen analysis. *Biotechnology Techniques*. 5(6), 427-430. <https://doi.org/10.1007/BF00155487>.
36. Chance, B. & Maehly, A.C. (1955). Assay of Catalase and Peroxidase. *Methods in Enzymology*. 2, 764-775. [http://dx.doi.org/10.1016/S0076-6879\(55\)02300-8](http://dx.doi.org/10.1016/S0076-6879(55)02300-8)
37. Gao, R., Yuan, Zh., Zhao, Zh. & Gao, X. (1998). Mechanism of pyrogallol autoxidation and determination of superoxide dismutase enzyme activity. *Bioelectrochemistry and Bioenergetics*. 45(1), 41-45. [https://doi.org/10.1016/S0302-4598\(98\)00072-5](https://doi.org/10.1016/S0302-4598(98)00072-5).
38. Nakano, Y. & Asada, K. (1981). Hydrogen Peroxide Is Scavenged by Ascorbate-Specific Peroxidase in Spinach Chloroplasts. *Plant and Cell Physiology*. 22, 867-880.
39. Heath, R.L. & Packer, L. (1968). Photoperoxidation in Isolated Chloroplasts: I. Kinetics and Stoichiometry of Fatty Acid Peroxidation. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 125, 189-198. [http://dx.doi.org/10.1016/0003-9861\(68\)90654-1](http://dx.doi.org/10.1016/0003-9861(68)90654-1)
40. AOAC International. (2013). AOAC Official Methods of Analysis - Appendix K: Guidelines for Dietary Supplements and Botanicals.
41. Luque de Castro, M.D. & García-Ayuso, L.E. (1998). Soxhlet extraction of solid materials: an outdated technique with a promising innovative future. *Analytica Chimica Acta*. 369 (1-2), 1-10. [https://doi.org/10.1016/S0003-2670\(98\)00233-5](https://doi.org/10.1016/S0003-2670(98)00233-5).
42. Engelbrecht, R.M. & McCoy, F.A. (1956). Determination of potassium by tetraphenylborate method. *Analytical Chemistry*. 28 (11), 1772-1773.

43. Page, A.L., Miller, R.H. & Keeney, D.R. (Eds.). (1982). *Methods of Soil Analysis, Part 2: Chemical and Microbiological Properties*. the American Society of Agronomy, Inc., Soil Science Society of America, Inc. <https://doi.org/10.2134/agronmonogr9.2.2ed>
44. Murphy, J. & Riley, J. P. (1962). A modified single solution method for the determination of phosphate in natural waters. *Analytica Chimica Acta*. 27, 31–36. [https://doi.org/10.1016/S0003-2670\(00\)88444-5](https://doi.org/10.1016/S0003-2670(00)88444-5)
45. Harati Rad, M., Mehdinejad, N., Darvishzadeh, R., Fakhri, B. & Jabbari, M. (2023). Investigation of genetic diversity of maize lines (*Zea mays* L.) based on agromorphological traits using factor analysis under zinc (Zn) deficiency conditions. *Journal of Grain Research*. 13 (1), 47-63. <https://doi.org/10.22124/cr.2023.24502.1767>. [In Persian]
46. Xu, Y., Tang, J., Wang, R., Lau, W. C. Y., Zhang, L., Feng, J., Chen, X., Chen, P., Zhao, H., Yu, P., & Li, C. (2021). Tolerance of maize (*Zea mays* L.) to zinc deficiency stress is mainly related to root morphological adaptation associated with the enhanced expression of Zn transporter genes. *Frontiers in Plant Science*, 12, 736658. <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.736658>.
47. Zeng, H., Wu, H., Yan, F., Yi, K., & Zhu, Y. (2021). Molecular regulation of zinc deficiency responses in plants. *Journal of Plant Physiology*, 261, 153419. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2021.153419>
48. Suganya, A., Saravanan, A., & Manivannan, N. (2020). Role of zinc nutrition for increasing zinc availability, uptake, yield, and quality of maize (*Zea mays* L.) grains: An overview. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 51(15), 2001–2021. <https://doi.org/10.1080/00103624.2020.1820030>
49. Annicchiarico, P. (1997). Additive main effects and multiplicative interaction (AMMI) analysis of genotype-location interaction in variety trials repeated over years. *Theor. Appl. Genet.* 4, 1072–1077.
50. Alam, M. A., Rahman, M., Ahmed, S., Jahan, N., Khan, M. A.-A., Islam, M. R., Alsuhaibani, A. M., Gaber, A., & Hossain, A. (2022). Genetic variation and genotype by environment interaction for agronomic traits in maize (*Zea mays* L.) hybrids. *Plants*, 11(11), 1522. <https://doi.org/10.3390/plants11111522>
51. Sarviya, R., & Patel, R. (2024). Study of genetic variability and diversity analysis in maize (*Zea mays* L.). *The Pharma Innovation Journal*, 13(9), 105-109.
52. Imran, M., Sun, X., Hussain, S., Ali, M. U., Ahmad, M., Mubeen, M., & Tang, X. (2023). Zinc nutrition and chlorophyll metabolism in plants under abiotic stresses: Physio-biochemical and molecular aspects. *Environmental and Experimental Botany*, 206, 105179. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2023.105179>
53. Rizwan, M., Ali, S., Qayyum, M. F., Ok, Y. S., Adrees, M., Ibrahim, M., Zia-ur-Rehman, M., Farid, M., & Abbas, F. (2022). Zinc nutrition and plant growth: An update. *Plant and Soil*, 474(1–2), 1–40. <https://doi.org/10.1007/s11104-021-05108-w>
54. Khayatnezhad, M., Gholamin, R., Jamaati-e-Somarin, S., Zabihi-e-Mahmoodabad, R., & Badrzadeh, S. (2011). Study of Morphological Traits of Maize Cultivars Through Factor Analysis. *Advances in Environmental Biology*. 5(1), 104–108.
55. Kaiser, H.F. (1974). An index of factorial simplicity. *Psychometrika*, 39, 31-36.
56. Howard., M.C. (2016). A Review of Exploratory Factor Analysis Decisions and Overview of Current Practices: What We Are Doing and How Can We Improve?. *International Journal of Human-Computer Interaction*. 32,1, 51-62, <https://doi.org/10.1080/10447318.2015.1087664>
57. Maschi Bahoosh, M., Abbaskokht, H., & Rabiee, B. (2015). Diversity among new maize hybrids for quantitative and morphological traits. *Iranian Journal of Field Crop Science*. 46(3),351-367. [In Persian]
58. Shojaei, S.H., Mostafavi, Kh., Khosroshahli, M., Bihmata, M.R., & Ramshini, H. (2022). Evaluation of yield relationships and yield components in maize hybrids using multivariate and graphical methods in karaj region. *Journal of Crop Breeding*. 14(41), 174-183. <https://doi.org/10.52547/jcb.14.41.174>. [In Persian]