



Assessment of phenotypic diversity and determination of cytoplasmic male sterility types in some commercial forage maize hybrids cultivated in Iran using morphological–agronomic traits and PCR markers

Mohsen Hemati-Kamareh¹ | Seyed Mohammad Mahdi Mortazavian^{2✉}  |
Maryam Golabadi³  | Fatemeh Amini⁴ 

1. Department of Agronomy Sciences and Plant Breeding, Faculty of Agricultural Technology of Aburairhan, University of Tehran, Pakdasht, Iran. E-mail: mohsenhemmati1366@gmail.com
2. Corresponding Author, Department of Agronomy Sciences and Plant Breeding, Faculty of Agricultural Technology of Aburairhan, University of Tehran, Pakdasht, Iran. E-mail: mortazavian@ut.ac.ir
3. Department of Agronomy and Plant Breeding, Islamic Azad University, Khorasgan Branch, Isfahan, Iran. E-mail: m.golabadi@khuisf.ac.ir
4. Department of Agronomy Sciences and Plant Breeding, Faculty of Agricultural Technology of Aburairhan, University of Tehran, Pakdasht, Iran. E-mail: aminif@ut.ac.ir

Article Info

Article type:
Research Article

Article history:
Received 20 January 2026
Received in revised form
8 May 2026
Accepted 14 June 2026
Published online 22 June 2026

Keywords:

Cytoplasmic male sterility
Maize commercial hybrids
Multivariate analysis
PCR markers
Phenotypic diversity

ABSTRACT

Objective: Commercial forage maize hybrids widely cultivated in Iran may serve not only as important materials for forage production but also as potential germplasm resources for identifying cytoplasmic male sterility (CMS) sources and developing breeding populations for future hybrid breeding programs. This study aimed to evaluate the phenotypic diversity and cytoplasmic status of seven commercial forage maize hybrids cultivated in Iran and to determine their CMS type using CMS-specific PCR markers. In addition, the agreement between molecular identification and phenotypic observations, including tassel characteristics, pollen production, and self-pollination response, was investigated.

Methods: The experiment was conducted in a randomized complete block design (RCBD) with three replications. Agronomic, morphological, phenological, and yield-related traits were recorded, including fresh forage yield, dry matter yield, plant height, stem diameter, leaf length, leaf width, number of leaves, days to tasseling, days to silking, anthesis–silking interval (ASI), days to milk-stage maturity, ear length, ear diameter, number of kernel rows per ear, and number of kernels per row. Analysis of variance, mean comparison, correlation analysis, path analysis, cluster analysis, factor analysis, principal component analysis (PCA), and estimation of genetic parameters were performed. CMS-specific PCR markers were used to identify cytoplasmic types, and molecular results were compared with field observations and self-pollination tests.

Results: Significant differences ($P \leq 0.01$) were observed among the hybrids for most measured traits, indicating substantial phenotypic diversity within the evaluated germplasm. Mean comparison identified hybrid P5 (Moghan 704) as the superior genotype for several agronomic and yield-related traits. Correlation and path analyses revealed that dry matter yield exerted the greatest direct effect on forage yield, whereas plant height and the number of leaves above the ear influenced forage production mainly through indirect effects. Cluster analysis classified the hybrids into three phenotypic groups, with hybrid P7 forming a distinct cluster because of its unique morphological and phenological characteristics. The Kaiser–Meyer–Olkin (KMO) value of 0.63 confirmed the adequacy of the data for factor analysis, and four factors explained 85.88% of the total phenotypic variation. Principal component analysis further summarized trait variability within the first two principal components. Broad-sense heritability estimates were high for most traits, suggesting that a large proportion of the observed variation was genetically controlled. Molecular analysis revealed that hybrids P₂, P₄, P₅, P₆, and P₇ possessed CMS-C cytoplasm, whereas P₁ and P₃ carried normal (N) cytoplasm. These molecular findings were consistent with tassel phenotype, pollen production, and self-pollination responses observed in both F₁ and F₂ generations.

Conclusion: The evaluated commercial forage maize hybrids exhibited considerable variation in agronomic, morphological, phenological, and cytoplasmic traits. The identification of CMS-C cytoplasm in several hybrids provides valuable preliminary information for the selection of potential CMS sources in maize breeding programs. Nevertheless, the development of male-sterile lines, maintainer lines, and new hybrid parents requires further studies involving segregating populations, inbred line development, CMS stability assessment, and combining ability evaluation across subsequent generations.

Cite this article: Hemati-Kamareh, M., Mortazavian, S. M. M., Golabadi, M., & Amini, F. (2026). Assessment of phenotypic diversity and determination of cytoplasmic male sterility types in some commercial forage maize hybrids cultivated in Iran using morphological–agronomic traits and PCR markers. *Journal of Crops Improvement*, 28 (2), 169–197. DOI: <https://doi.org/10.22059/jci.2026.409816.2972>





ارزیابی تنوع فنوتیپی و تعیین نوع نرعقیمی سیتوپلاسمی در برخی هیبریدهای تجاری ذرت علوفه‌ای مورد کشت در ایران با استفاده از صفات ریخت‌شناسی - زراعی و نشانگرهای PCR

محسن همتی کمره^۱ | سید محمد مهدی مرتضویان^۲ | مریم گل‌آبادی^۳ | فاطمه امینی^۴

۱. گروه علوم زراعی و اصلاح نباتات، دانشکده فناوری کشاورزی ابوریحان، دانشگاه تهران، پاکدشت، ایران. رایانامه: mohsenhemmati1366@gmail.com
۲. نویسنده مسئول، گروه علوم زراعی و اصلاح نباتات، دانشکده فناوری کشاورزی ابوریحان، دانشگاه تهران، پاکدشت، ایران. رایانامه: mortazavian@ut.ac.ir
۳. گروه علوم زراعی و اصلاح نباتات، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد خوراسگان (اصفهان)، اصفهان، ایران. رایانامه: m.golabadi@khuisf.ac.ir
۴. گروه علوم زراعی و اصلاح نباتات، دانشکده فناوری کشاورزی ابوریحان، دانشگاه تهران، پاکدشت، ایران. رایانامه: aminif@ut.ac.ir

اطلاعات مقاله

نوع مقاله: مقاله پژوهشی

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۱۰/۳۰
تاریخ بازنگری: ۱۴۰۵/۰۲/۱۸
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۵/۰۳/۲۴
تاریخ انتشار: ۱۴۰۵/۰۴/۰۱

چکیده

هدف: هیبریدهای تجاری ذرت علوفه‌ای رایج در ایران، علاوه بر استفاده مستقیم در تولید علوفه، می‌توانند به‌عنوان منابع اولیه برای شناسایی نرعقیمی سیتوپلاسمی (CMS) و تشکیل جمعیت‌های تفکیک‌شونده در برنامه‌های اصلاحی آینده مورد استفاده قرار گیرند. این پژوهش با هدف ارزیابی تنوع فنوتیپی و وضعیت مولکولی سیتوپلاسمی هفت هیبرید تجاری ذرت علوفه‌ای و تعیین نوع CMS با استفاده از نشانگرهای اختصاصی PCR انجام شد. همچنین، همخوانی نتایج مولکولی با فنوتیپ تاسل، تولید دانه گرده و پاسخ به خودکشتی بررسی شد.

روش پژوهش: آزمایش در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار اجرا شد. صفات اندازه‌گیری شده شامل عملکرد علوفه تر و ماده خشک، اجزای عملکرد بلال (تعداد ردیف دانه، تعداد دانه در ردیف، طول و قطر بلال)، صفات مورفولوژیک (ارتفاع بوته، تعداد برگ، طول و عرض برگ و قطر ساقه) و صفات فنولوژیک (روز تا گلدهی نر و ماده، فاصله گلدهی نر و ماده و روز تا رسیدگی خمیری) بودند. ارزیابی مولکولی در نسل‌های F₁ و F₂ با استفاده از نشانگرهای اختصاصی CMS انجام شد.

یافته‌ها: نتایج تجزیه واریانس نشان داد به‌جز قطر بلال، تمامی صفات در سطح احتمال یک درصد بین هیبریدها اختلاف معنی‌دار داشتند که بیانگر وجود تنوع فنوتیپی قابل توجه میان آن‌ها بود. مقایسه میانگین‌ها نشان داد هیبرید P₅ (مغان ۷۰۴) در بیش‌تر صفات عملکردی برتری داشت. نتایج همبستگی و تجزیه علیت نشان داد عملکرد ماده خشک بیش‌ترین اثر مستقیم را بر عملکرد علوفه تر داشته و صفاتی مانند ارتفاع بوته و تعداد برگ بالای بلال بیش‌تر از طریق اثرات غیرمستقیم بر عملکرد تأثیرگذار بودند. تجزیه عاملی ۸۸/۸۵ درصد از تغییرات کل صفات را تبیین کرد و تجزیه خوشه‌ای هیبریدها را در سه گروه فنوتیپی قرار داد. برآورد پارامترهای ژنتیکی نیز نشان داد بیش‌تر صفات دارای وراثت‌پذیری عمومی بالایی هستند. بررسی مولکولی با استفاده از نشانگرهای اختصاصی PCR نشان داد پنج هیبرید (P₂, P₄, P₅, P₆, P₇) دارای سیتوپلاسم نرعقیم نوع C و دو هیبرید (P₁ و P₃) دارای سیتوپلاسم نرمال (N) بودند. نتایج مولکولی با ارزیابی فنوتیپی تاسل، بررسی دانه گرده و آزمون خودکشتی در نسل‌های F₁ و F₂ مطابقت کامل داشت.

نتیجه‌گیری: هیبریدهای تجاری مورد بررسی از نظر صفات مورفولوژیک، زراعی، فنولوژیک و نوع سیتوپلاسم دارای تنوع قابل توجهی بودند. شناسایی سیتوپلاسم CMS-C در بخشی از هیبریدها اطلاعات ارزشمندی برای غربال‌گری اولیه منابع نرعقیمی سیتوپلاسمی در برنامه‌های اصلاحی ذرت فراهم کرد. با این‌حال، استفاده از این مواد ژنتیکی برای استخراج لاین‌های مادری نرعقیم، لاین‌های نگهدارنده و والدین هیبریدهای جدید، نیازمند تشکیل جمعیت‌های تفکیک‌شونده، استخراج لاین‌های اینبرد، ارزیابی پایداری نرعقیمی و بررسی قابلیت ترکیب‌پذیری در نسل‌های بعدی است.

کلیدواژه‌ها:

تجزیه‌های چند متغیره
تنوع فنوتیپی
نشانگر PCR
نرعقیمی سیتوپلاسمی
هیبریدهای تجاری ذرت

استناد: همتی کمره، محسن؛ مرتضویان، سیدمحمد مهدی؛ گل‌آبادی، مریم و امینی، فاطمه (۱۴۰۵). ارزیابی تنوع فنوتیپی و تعیین نوع نرعقیمی سیتوپلاسمی در برخی هیبریدهای تجاری ذرت علوفه‌ای مورد کشت در ایران با استفاده از صفات ریخت‌شناسی - زراعی و نشانگرهای PCR. به‌زراعی کشاورزی، ۲۸ (۲)، ۱۶۹-۱۹۷. DOI: <https://doi.org/10.22059/jci.2026.409816.2972>



۱. مقدمه

ذرت^۱ یکی از مهم‌ترین غلات جهان و از محصولات راهبردی کشاورزی ایران است. براساس گزارش فائو، ذرت در سال ۲۰۲۳ با تولید حدود ۱/۲ میلیاردتن، بیش‌ترین میزان تولید را در میان غلات جهان داشته و افزون بر مصرف غذایی، در تغذیه دام، صنایع تبدیلی و تولید انرژی زیستی نیز کاربرد گسترده‌ای دارد (فائو^۲، ۲۰۲۳). در ایران نیز ذرت علوفه‌ای به‌دلیل نقش مهم در تأمین خوراک دام و پشتیبانی از تولیدات دامی، جایگاه ویژه‌ای در نظام تولید کشاورزی دارد. براساس آمارنامه کشاورزی سال ۱۴۰۲، سطح زیر کشت ذرت علوفه‌ای در کشور حدود ۲۹۰ هزار هکتار و میزان تولید آن حدود ۱۳/۷۴ میلیون تن گزارش شده است (آمارنامه کشاورزی، ۱۴۰۲). از این رو، بهبود عملکرد، پایداری تولید و توسعه هیبریدهای مناسب ذرت علوفه‌ای از اهمیت زیادی برخوردار است. هم‌چنین، نتایج پژوهش‌های انجام‌شده درباره خلأ عملکرد ذرت علوفه‌ای در ایران نشان می‌دهد که با وجود پتانسیل بالای این گیاه، هنوز فاصله قابل‌توجهی میان عملکرد واقعی و عملکرد قابل دستیابی وجود دارد؛ به‌گونه‌ای که میانگین عملکرد واقعی و پتانسیل عملکرد در اقلیم‌های اصلی کشت ذرت علوفه‌ای ایران به‌ترتیب حدود ۴۹/۳ و ۸۵/۶ تن در هکتار برآورد شده است (فیاژی^۳ و همکاران، ۱۴۰۱). ذرت به‌دلیل سازگاری گسترده و کاربردهای متنوع در تغذیه انسان، خوراک دام و صنایع، جایگاه ویژه‌ای در برنامه‌های اصلاحی و تولید بذر دارد. تولید هیبریدهای ذرت علوفه‌ای به‌عنوان یکی از روش‌های اصلی به‌نژادی، نقش اساسی در افزایش عملکرد و پایداری تولید علوفه ایفا کرده است (محرمی نژاد^۴ و شیری^۵، ۲۰۲۴). علاوه بر استفاده برای مصارف دامی، بخش‌های هوایی ذرت پس از برداشت در مرحله خمیری‌شدن دانه، برای تولید علوفه مصرف می‌شود (خاوری^۶، ۱۳۸۷). اندازه‌گیری پارامترهای فنوتیپی و ژنوتیپی صفات در ذرت جهت مطالعات ژنتیکی برای گزینش دقیق ژنوتیپ‌های مدنظر بر مبنای اهداف برنامه‌های به‌نژادی ضرورت دارد (اکبری^۷ و همکاران، ۱۳۹۷). یکی دیگر از موضوعات مهم در اصلاح و تولید بذر هیبرید ذرت، کنترل گرده‌افشانی در والد مادری است. در تولید تجاری بسیاری از هیبریدهای ذرت، حذف فیزیکی تاسل هم‌چنان رایج است، اما استفاده از نرعقیمی سیتوپلاسمی (CMS)^۸ می‌تواند به‌عنوان روشی ژنتیکی برای کاهش نیاز به تاسل‌کشی و افزایش کارایی تولید بذر موردتوجه قرار گیرد. مهم‌ترین عامل محدودکننده تحقیقات ذرت توسعه، بهبود و نگهداری لاین‌های اینبرد و در نهایت تولید ارقام هیبرید با عملکرد بالا است. این امر، نیازمند بررسی تنوع ژنتیکی ژرم‌پلاسم برای تولید لاین‌های اینبرد (ابدی‌کدیرحسن و همکاران، ۲۰۱۸) و هم‌چنین ارزیابی وجود نرعقیمی سیتوپلاسمی برای کنترل گرده‌افشانی در والد مادری است (سفی^۹ و همکاران، ۲۰۰۷). در این راستا، استفاده از سازوکار نرعقیمی سیتوپلاسمی (CMS) به‌عنوان روشی طبیعی و کارآمد برای کنترل باروری در گیاهان اهمیت فراوانی دارد (فرینتی^{۱۰} و همکاران، ۲۰۲۳). نرعقیمی سیتوپلاسمی یک پدیده ژنتیکی وابسته به وراثت مادری است که تولید دانه‌های گرده‌فعال را سرکوب می‌کند. این پدیده بیش از ۱۰۰ سال است که شناخته شده و در بیش از ۱۵۰ گونه گیاهی گزارش شده است (سفی و همکاران، ۲۰۰۷). بروز این نوع نرعقیمی که ناشی از عدم سازگاری

1. *Zea mays* L.

2. FAO, 2023

1. Fayazi

4. Moharramnejad

5. Shiri

6. Khavari Khorasani

7. Akbari

8. Cytoplasmic Male Sterility

9. Sofi

10. Farinati

بین ژن‌های هسته‌ای و میتوکندریایی است (رویز^۱ و دانیال^۲، ۲۰۰۵)، به‌عنوان ابزاری ارزشمند در تولید بذرها ی هیبرید شناخته می‌شود (مکنزی^۳ و همکاران، ۲۰۰۴). نخستین بار نرعقیمی سیتوپلاسمی در ذرت توسط روه‌دز^۴ (۱۹۳۳) گزارش شد. به‌دلیل اهمیت گسترده ذرت، مطالعه انواع مختلف سیتوپلاسم نرعقیم و شناسایی نشانگرهای اختصاصی جهت انتخاب لاین‌های والدینی در تولید بذر هیبرید از اهداف اساسی برنامه‌های به‌نژادی ذرت محسوب می‌شود. به این منظور، استفاده از تکنیک‌های مولکولی از جمله PCR جهت شناسایی دقیق و سریع نوع سیتوپلاسم، بسیار کاربردی و سودمند بوده است (لی و همکاران، ۲۰۰۲؛ سو و همکاران، ۲۰۱۶). با وجود اهمیت ذرت علوفه‌ای و نقش بالقوه CMS در برنامه‌های اصلاحی و تولید بذر هیبرید، اطلاعات محدودی درباره تنوع فنوتیپی و وضعیت سیتوپلاسمی هیبریدهای تجاری رایج ذرت علوفه‌ای در ایران وجود دارد. هم‌چنین، میزان همخوانی نتایج نشانگرهای اختصاصی CMS با فنوتیپ تاسل، وضعیت دانه‌گرده و نتیجه خودگشنی در این هیبریدها کم‌تر بررسی شده است. از این‌رو، پژوهش حاضر با هدف ارزیابی تنوع فنوتیپی هفت هیبرید تجاری ذرت علوفه‌ای رایج در ایران براساس صفات عملکرد علوفه، صفات مورفولوژیک، زراعی و فنولوژیک، و نیز تعیین نوع نرعقیمی سیتوپلاسمی آن‌ها با استفاده از نشانگرهای اختصاصی PCR انجام شد. هم‌چنین، همخوانی نتایج مولکولی با ارزیابی فنوتیپی تاسل، بررسی دانه‌گرده و آزمون خودگشنی در نسل‌های F₁ و F₂ مورد بررسی قرار گرفت.

۲. پیشینه پژوهش

اولین گام در برنامه‌های به‌نژادی، استفاده از تنوع ژنتیکی موجود در بین جمعیت‌ها، ارقام و لاین‌های موجود است. اطلاع از تنوع و کنترل ژنتیکی صفات، باعث استفاده مؤثر و بهتر از آن‌ها در برنامه‌های به‌نژادی می‌شود (محمدی^۵ و پرسانا^۶، ۲۰۰۳). درک تنوع ژنتیکی موجود در یک گونه زراعی معین برای بهبود صفات در جهت موفقیت هر برنامه اصلاحی ضروری است (سانکار^۷ و همکاران، ۲۰۰۶). به‌دلیل پایین‌بودن وراثت‌پذیری صفت عملکرد علوفه و تأثیر زیاد محیط، گزینش مستقیم برای عملکرد مشکل خواهد بود (قنبری و همکاران، ۱۳۹۸). بنابراین بهبود ژنتیکی گیاهان برای صفات کمی از طریق گزینش غیرمستقیم برخی از صفات که همبستگی بالایی با عملکرد علوفه ذرت دارند می‌تواند مؤثر واقع شود (استودر^۸ و همکاران، ۲۰۱۷). پارامترهایی مانند ضرایب تنوع ژنوتیپی و فنوتیپی (GCV^۹ و PCV^{۱۰}) در تشخیص میزان تنوع موجود در یک ویژگی معین مفید هستند. وراثت‌پذیری بالا در پیش‌بینی و انتخاب بهترین ژنوتیپ‌ها برای عملکرد و صفات مرتبط با آن مفید خواهد بود (سینگ^{۱۱} و همکاران، ۲۰۱۱). کمی‌سازی تنوع ژنتیکی از طریق روش‌های بیومتریکی این امکان را فراهم کرده است که والدین ژنتیکی متنوع برای تولید هیبرید انتخاب شوند (فالکونر^{۱۲}، ۱۹۶۰). لاین‌های اینبرد ذرت را می‌توان از طریق تلاقی‌های کنترل‌شده، تفکیک ژنتیکی نسل‌های حاصل از هیبریدهای F₁ و

1. Ruiz
2. Daniell
3. Mackenzie
4. Rhoades
5. Mohammadi
6. Prasanna
7. Sankar
8. Studer
9. Genotypic Coefficient of Variation (GCV)
10. Phenotypic Coefficient of Variation (PCV)
11. Singh
12. Falconer

خودگشنی پی‌درپی استخراج نمود و سپس در برنامه‌های هیبریدسازی مجدد به کار گرفت (السیدو^۱ و همکاران، ۲۰۲۴؛ سینگ^۲ و همکاران، ۲۰۲۳). لاین‌های اینبرد استخراج شده ارقام هیبرید می‌توانند پایه مناسبی برای تولید هیبریدهای جدید با تنوع ژنتیکی مطلوب باشند (فن^۳ و همکاران، ۲۰۲۵).

نرعقیمی سیتوپلاسمی (CMS) نوعی از وراثت سیتوپلاسمی است که در پی تغییرات خاص در ژنوم میتوکندری (mtDNA) گیاهان ایجاد می‌شود و با مهار تولید دانه‌گرده فعال، بدون آن که رشد رویشی یا باروری مادگی را مختل کند، امکان تولید کارآمد بذرهای هیبرید را فراهم می‌آورد (اسچنبل^۴ و ویز^۵، ۱۹۹۸؛ کوئین^۶، ۲۰۲۰). از این رو CMS، به دلیل سادگی مدیریت و انتقال مادری در تولید تجاری بذرهای هیبرید ارزش بالایی دارد (کمبل^۷ و بدبروک^۸، ۱۹۸۰). در ذرت، چهار نوع سیتوپلاسم اصلی شامل سیتوپلاسم نرمال (N) و سه نوع اصلی سیتوپلاسم نرعقیم شامل تگزاس (CMS-T)، CMS-S (USDA type) و CMS-C (Charrua type) شناسایی شده‌اند که از نظر منشأ میتوکندریایی، پایداری نرعقیمی، پاسخ به ژن‌های بازگرداننده باروری و کاربرد در برنامه‌های تولید بذر با یکدیگر تفاوت دارند (کمبل و بدبروک، ۱۹۸۰؛ کوئین و همکاران، ۲۰۲۰). اولین گزارش سیتوپلاسم نوع T توسط راجرز^۹ و ادواردسون (۱۹۵۲) در ذرت OPV مکزیکی «ژوئن طلایی» در ایستگاه آزمایشات کشاورزی تگزاس ارائه شد. این نوع سیتوپلاسم به دلیل حساسیت به بیماری لکه‌برگی جنوبی^{۱۰}، استفاده محدودی در تولید بذر هیبرید دارد (ژائو و همکاران، ۲۰۲۲). سیتوپلاسم نوع S اولین بار توسط جینکز^{۱۱} و گراسون^{۱۲} (۱۹۷۹) از نژادی از ذرت به نام Teopod معرفی شد که به دلیل پیچیدگی‌های ژنتیکی، استفاده آن کم‌تر مورد توجه است (کوئین و همکاران، ۲۰۲۰). نوع CMS-C از ذرت برزیلی Charrua توسط بکت^{۱۳} (۱۹۷۱) معرفی شد و به دلیل پایداری بیش‌تر و مقاومت نسبی به بیماری لکه‌برگی جنوبی، بیش‌ترین استفاده را در برنامه‌های تولید بذر هیبرید دارد (یانگ^{۱۴} و همکاران، ۲۰۲۲؛ لی^{۱۵} و همکاران، ۲۰۰۲). برای شناسایی انواع CMS، مطالعات مولکولی متعددی انجام شده است. نخستین بار پرینگ^{۱۶} و لیوینگ^{۱۷} (۱۹۷۶ و ۱۹۷۷) با بررسی DNA میتوکندریایی نشان دادند که تفاوت‌های بارزی میان DNA میتوکندریایی انواع سیتوپلاسم ذرت وجود دارد. به عنوان مثال، لاین‌های دارای سیتوپلاسم S حاوی پلاسمیدهای منحصربه‌فردی بودند که در سیتوپلاسم‌های N، T و C دیده نمی‌شد (پرینگ و همکاران، ۱۹۷۷؛ کمبل و بدبروک، ۱۹۸۰). از نظر بیوشیمیایی، تفاوت در سنتز پلی‌پپتیدهای میتوکندریایی بین سیتوپلاسم‌های N، S و T گزارش شده است (فورده^{۱۸} و همکاران، ۱۹۷۸)، که شواهدی از تغییرات ساختاری و کارکردی mtDNA

1. El-Sayed
2. Singh
3. Fan
4. Schnable
5. Wise
6. Qin
7. Kemble
8. Bedbrook
9. Rogers
10. Bipolaris maydis
11. Jenkins
12. Gracen
13. Becket
14. Yang
15. Li
16. Pring
17. Levings
18. Forde

نقش آن‌ها در بروز CMS را ارائه می‌کند. بعدها، روش‌های سریع‌تر استخراج mtDNA (کمبل و بدبروک، ۱۹۷۹) و تمایز الگوهای mtDNA با وزن مولکولی پایین (کمبل و بدبروک، ۱۹۸۰) به پیشبرد تشخیص سیتوپلاسم‌ها کمک کرد. مجموع این شواهد، نقش تعیین‌کننده تغییرات mtDNA در بروز CMS را تقویت کرد (اسچنبل و ویز، ۱۹۹۸). با توسعه روش‌های مولکولی، به‌ویژه PCR، شناسایی سریع انواع CMS در برنامه‌های به‌نژادی تسهیل شد. لی و همکاران (۲۰۰۲) روش PCR مبتنی بر سه جفت آغازگر اختصاصی را برای تفکیک سه نوع اصلی CMS شامل CMS-T، CMS-C و CMS-S ارائه دادند. این آغازگرها براساس نواحی نوترکیب و اختصاصی DNA میتوکندریایی مرتبط با هر نوع سیتوپلاسم طراحی شده‌اند و به‌ترتیب قطعات تشخیصی حدود ۴۴۰، ۳۹۸ و ۷۹۹ جفت‌بازی را برای سیتوپلاسم‌های T، C و S تکثیر می‌کنند. در روش اصلی، امکان اجرای واکنش به‌صورت چندگانه^۱ گزارش شده است. با این حال، در پژوهش حاضر برای افزایش وضوح تفسیر باندها، واکنش‌ها به‌صورت تک‌واکنشی^۲ برای هر جفت آغازگر انجام شدند. مطابق گزارش لی و همکاران (۲۰۰۲)، در سیتوپلاسم نرمال (N) قطعه اختصاصی مربوط به CMS-T، CMS-C و CMS-S تکثیر نمی‌شود و همین موضوع به تمایز نمونه‌های نرمال از نمونه‌های دارای سیتوپلاسم نرعقیم کمک می‌کند. در پژوهشی دیگر، ایگناتویچ^۳ و همکاران (۲۰۰۶) از نشانگرهای mtDNA برای شناسایی انواع CMS در ژرم‌پلاسم یوگسلاوی استفاده کرده و دریافتند که نوع S بیش‌ترین فراوانی را در آن مجموعه دارد. در سال‌های اخیر، یانگ و همکاران (۲۰۲۲) و کوئین و همکاران (۲۰۲۰) مطالعات جامعی روی ژن‌های مرتبط با نرعقیمی سیتوپلاسمی انجام داده و بیان کردند که نوع CMS-C به‌دلیل پایداری و سهولت در مدیریت بازگردانی باروری، مناسب‌ترین گزینه برای اصلاح‌گران ذرت است.

با وجود اهمیت بالای CMS در برنامه‌های اصلاحی ذرت، تاکنون در ایران مطالعات بسیار محدودی در زمینه شناسایی دقیق نوع سیتوپلاسم در هیبریدهای تجاری گزارش شده است. فقدان این اطلاعات باعث ایجاد چالش‌هایی در طراحی برنامه‌های اصلاحی و تولید بذر داخلی شده است. لذا، انجام مطالعات جامع برای شناسایی و تعیین نوع CMS در هیبریدهای تجاری ذرت در ایران ضروری به‌نظر می‌رسد و پژوهش حاضر با هدف رفع این خلأ پژوهشی انجام شده است.

۳. روش شناسی پژوهش

۳.۱. ارزیابی مزرعه‌ای

این پژوهش با هدف ارزیابی هفت هیبرید منتخب تجاری ذرت علوفه‌ای، انتخاب‌شده از یک مجموعه شامل ۵۰ هیبرید بررسی‌شده در کشت و صنعت اردستان انجام گرفت (داده‌های منتشرنشده، اسدی و همکاران، ۱۴۰۰). آزمایش در فصل زراعی تابستان ۱۴۰۱ در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه آزاد اسلامی واحد خوراسگان، واقع در استان اصفهان (اقلیم نیمه‌خشک گرم) با مشخصات جغرافیایی ۳۲ درجه عرض شمالی و ۵۲ درجه طول شرقی اجرا گردید. براساس منابع موجود، میانگین بارندگی سالانه منطقه موردآزمایش حدود ۱۲۰ تا ۱۵۰ میلی‌متر و میانگین دمای سالیانه حدود ۱۶ تا ۱۸ درجه سانتی‌گراد گزارش شده است (کوچکی^۴ و محلاتی^۵، ۲۰۲۲). بافت خاک لومی-رسی،

1. Multiplex PCR
2. Singleplex PCR
3. Ignjatović-Micić
4. Koocheki
5. Mahallati

pH=۷/۸ و ماده آلی کم تر از ۱/۷ درصد بود (جدول ۱). برای آماده سازی زمین، ابتدا آبیاری پیش از کشت انجام شد و شخم با گاو آهن و دو مرتبه دیسک عمود بر هم صورت گرفت. کودهای پایه مورد نیاز شامل فسفات دی آمونیم (۱۰۰ کیلوگرم در هکتار) و کود اوره در سه نوبت (۱۰۰ کیلوگرم در هکتار) با توجه به توصیه کودی استخراج شده از آزمون خاک به زمین اضافه و با دیسک سبک زیر خاک شد. بعد از این مرحله، فاروهای به عرض ۷۵ سانتی متر ایجاد شدند. در این مطالعه از هفت هیبرید تجاری برگزیده ذرت علوفه ای استفاده شد. مشخصات هیبریدها شامل نام تجاری، نوع هیبرید، گروه رسیدگی و منشأ در جدول (۲) ارائه شده است. آزمایش در قالب طرح بلوک کامل تصادفی با سه تکرار در تاریخ ۱۴۰۱/۴/۵ اجرا شد. به منظور ارزیابی پتانسیل علوفه ای هیبریدها، آزمایش با فاصله بوته روی ردیف ۱۲ سانتی متر و ردیف کاشت ۷۵ سانتی متر (تراکم حدود ۱۱۱،۰۰۰ بوته در هکتار) انجام شد که مطابق با توصیه های فنی کاشت متراکم ذرت علوفه ای می باشد. بذور ابتدا در سینی نشا کشت شد و دو هفته بعد از کشت به زمین اصلی منتقل شد. آبیاری با استفاده از نوار تیپ هر چهار روز یک بار انجام گرفت و وجین علف های هرز به صورت مکانیکی و با دست انجام شد و در تاریخ ۱۴۰۱/۸/۲۸ برداشت انجام گرفت.

جدول ۱. خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک محل آزمایش

عمق خاک (سانتی متر)	هدایت الکتریکی (دسی زیمنس بر متر)	اسیدیته	ماده آلی (درصد)	نیترژن قابل جذب (درصد)	شن (درصد)	سیلت (درصد)	رس (درصد)
۰-۳۰	۳/۲	۸/۴	۱/۸	-/۱۴	۳۴	۵۷	۱۱
۳۰-۶۰	۲/۸	۷/۸	۱/۶	-/۱۲	۳۵	۵۶	۱۰
میانگین	۰/۳	۸/۵	۱/۷	-/۱۳	۳۳	۵۶/۵	۱۰/۵

هر کرت شامل سه خط کاشت به طول ۲ متر و فاصله خطوط ۷۵ سانتی متر بود. با توجه به ماهیت مقدماتی پژوهش، محدودیت مقدار بذر هیبریدهای تجاری و هدف اصلی مطالعه که مقایسه نسبی هیبریدها از نظر صفات علوفه ای و وضعیت سیتوپلاسمی بود، از کرت های کوچک آزمایشی استفاده شد. برای کاهش اثر حاشیه، بوته های ابتدا و انتهای هر خط از نمونه برداری حذف شدند و اندازه گیری صفات براساس ۱۰ بوته تصادفی از بخش مرکزی هر کرت انجام گرفت. صفات مورد اندازه گیری از مرحله کاشت تا برداشت شامل صفات مورفولوژیک (ارتفاع بوته، تعداد برگ، طول و عرض برگ، قطر ساقه) و صفات عملکردی (عملکرد علوفه تر و خشک، وزن بلال با پوست، وزن بلال بدون پوست، نسبت وزن بلال به عملکرد علوفه) بود. همچنین به منظور ارزیابی کیفیت علوفه، شاخص نسبت بلال به کل زیست توده علوفه تر مطابق روش کیم^۱ و همکاران (۲۰۰۱) محاسبه شد. این شاخص به عنوان معیاری برای تعیین سهم بلال در تولید کل زیست توده گیاه و نشانگر غیرمستقیم کیفیت علوفه از نظر انرژی و نشاسته در نظر گرفته شد. براساس منابع معتبر، هیبریدهای ذرت علوفه ای با کیفیت مطلوب معمولاً دارای مقادیر این شاخص در محدوده ۲۵ تا ۳۵ درصد می باشند (کیم و همکاران، ۲۰۰۱، فیپز^۲ و والر^۳، ۱۹۷۹). صفات فنولوژیک (شامل روزتا گرده افشانی تاسل، روز تا ظهور ابریشم در گل ماده و روز تا رسیدگی خمیری دانه) براساس کلیه بوته های مفید هر کرت ثبت گردید. اندازه گیری و ثبت صفات براساس دستورالعمل بخش ذرت و گیاهان علوفه ای مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه بذر و نهال کشور انجام گرفت.

1. Kim
4. Phipps
5. Weller

جدول ۲. مواد گیاهی مورد استفاده در آزمایش ارزیابی ژنتیکی هیبریدهای تجاری ذرت

کد اختصاصی	اسامی هیبریدهای تجاری	گروه رسیدگی	منشأ رقم
P ₁	AGN EX 720 – Single Cross	۷۰۰	کشور آمریکا دیرس
P ₂	Maxima – Three-Way Cross	۵۸۰	کشور مجارستان
P ₃	AGN EX 830 ; Single Cross	۷۰۰	کشور آمریکا دیرس
P ₄	AGN EX 637: Single Cross	۷۰۰	کشور آمریکا دیرس
P ₅	Mogan 704; Single Cross	۷۰۰	کشور ایران دیرس
P ₆	AGN EX 591; Single Cross	۷۰۰	کشور آمریکا دیرس
P ₇	MAY; Three-Way Cross	۷۰۰	کشور ترکیه دیرس

۲.۳. تجزیه‌های آماری و برآورد پارامترهای ژنتیکی

برای بررسی اختلاف میان هیبریدها از تجزیه واریانس استفاده شد. مقایسه میانگین برای شناسایی هیبریدهای برتر، همبستگی برای تعیین روابط ساده میان صفات، تجزیه علیت برای تفکیک اثرات مستقیم و غیرمستقیم صفات بر عملکرد علوفه تر، تجزیه عاملی و تجزیه به مؤلفه‌های اصلی برای کاهش ابعاد داده‌ها و شناسایی ساختار همبستگی صفات و تجزیه خوشه‌ای به‌روش وارد برای گروه‌بندی اکتشافی هیبریدها براساس شباهت فنوتیپی انجام شد. برای برآورد پارامترهای ژنتیکی شامل واریانس ژنتیکی و فنوتیپی، ضرایب تغییرات ژنتیکی و فنوتیپی (GCV/PCV) و وراثت‌پذیری عمومی (H_b) از امید ریاضی میانگین مربعات در طرح بلوک‌های کامل تصادفی و روابط زیر استفاده شد (مجیدی‌مهر و خوش‌چهره، ۱۳۹۴):

$$\bar{x} = \frac{\sum x}{n} \quad \text{رابطه (۱)}$$

$$\sigma_g^2 = \frac{MS_g - MS_e}{r} \quad \text{رابطه (۲)}$$

$$\sigma_e^2 = MS_e \quad \text{رابطه (۳)}$$

$$\sigma_p^2 = \sigma_g^2 + \sigma_e^2 \quad \text{رابطه (۴)}$$

$$H_b = \frac{\sigma_g^2}{\sigma_p^2} 100 \quad \text{رابطه (۵)}$$

$$CV_p = \frac{\sqrt{\sigma_p^2}}{\bar{x}} 100 \quad \text{رابطه (۶)}$$

$$CV_g = \frac{\sqrt{\sigma_g^2}}{\bar{x}} 100 \quad \text{رابطه (۷)}$$

در این روابط، H_b وراثت‌پذیری عمومی، σ_g^2 واریانس ژنتیکی، σ_p^2 واریانس فنوتیپی، σ_e^2 واریانس محیطی (خطا)، CV_g ضریب تغییرات ژنتیکی، CV_p ضریب تغییرات فنوتیپی، \bar{x} میانگین، MS_g میانگین مربعات ژنوتیپ، MS_e میانگین مربعات خطای آزمایشی برای هر صفت و r تعداد تکرار در آزمایش می‌باشد. برای محاسبه همبستگی بین صفات، میانگین داده‌های هر هیبرید استفاده شد. تجزیه خوشه‌ای به‌روش وارد اجرا شد و برای تجزیه‌های آماری از نرم‌افزارهای SAS (نسخه ۹/۲) و SPSS (نسخه ۲۱) استفاده شد.

۳.۳. ارزیابی مولکولی

ارزیابی مولکولی طی دو سال صورت گرفت. در سال اول، از هر هیبرید تجاری ذرت شامل P₁، P₂، P₃، P₄، P₅، P₆

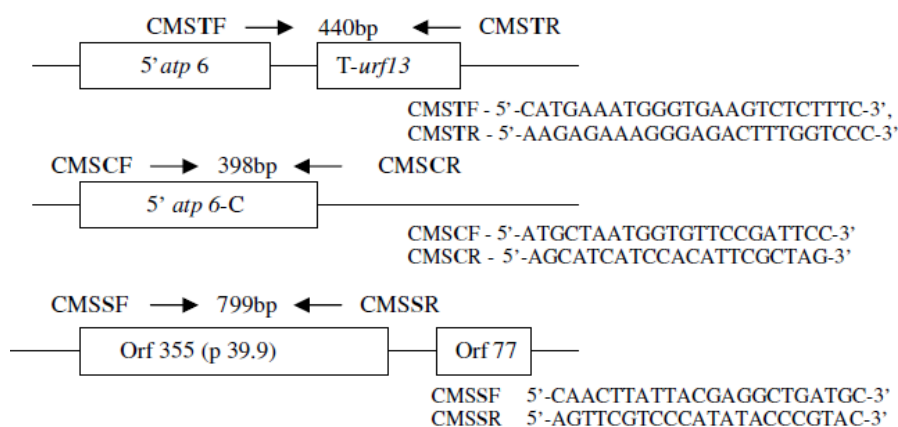
و P₇ به صورت نمونه برداری بالک، برگ‌های جوان ۱۰ بوته سالم جمع‌آوری و برای استخراج DNA با هم ترکیب شد. براساس نتایج مرحله نخست، هیبریدهایی که دارای باند اختصاصی CMS-C بودند، یعنی P₂، P₄، P₅، P₆ و P₇ برای تولید نسل دوم انتخاب شدند. برای تولید بذور نسل دوم (F₂)، بوته‌های نسل اول (F₁) پیش از گرده‌افشانی ایزوله شدند. به منظور جلوگیری از گرده‌افشانی آزاد، پیش از ظهور ابریشم، تاسل و بلال هر بوته با کیسه کاغذی پوشانده شد. پس از ظهور ابریشم، گرده همان بوته روی ابریشم همان بوته منتقل شد و پوشش مجدد انجام گرفت. بذور حاصل از خودگشنی هر بوته به صورت جداگانه برداشت شد. در سال دوم، در مجموع ۲۱ نمونه F₂ شامل سه نمونه از P₂، سه نمونه از P₄، هشت نمونه از P₅، چهار نمونه از P₆ و سه نمونه از P₇ برای تأیید مولکولی نوع سیتوپلاسم انتخاب و از برگ‌های جوان آن‌ها DNA استخراج شد.

۱.۳.۳ استخراج DNA

استخراج دی‌ان‌ای ژنومی از نمونه‌های برگی به روش CTAB (دویل^۱، ۱۹۸۷) انجام شد. محلول استخراج شامل CTAB با غلظت ۲ درصد پلی‌وینیل پیرولیدون (PVP)^۲ با غلظت ۱ درصد، Tris-HCl با غلظت ۱۰۰ میلی‌مولار، NaCl با غلظت ۱/۴ مولار و EDTA با غلظت ۲۰ میلی‌مولار بود. پس از استخراج، کمی و کیفیت DNA با دستگاه نانودراپ (NanoDrop 2000, Thermo Scientific) و الکتروفورز ژل آگارز ۱ درصد بررسی گردید.

۲.۳.۳ واکنش PCR و آغازگرها

برای تعیین نوع سیتوپلاسم، از سه جفت آغازگر اختصاصی مربوط به CMS-T، CMS-C و CMS-S استفاده شد. این آغازگرها براساس نواحی نوترکیب و اختصاصی DNA میتوکندریایی طراحی شده‌اند و برای هر نوع سیتوپلاسم، قطعه تشخیصی اختصاصی تولید می‌کنند (شکل ۱). اندازه قطعات موردانتظار برای CMS-T، CMS-C و CMS-S به ترتیب ۴۴۰، ۳۹۸ و ۷۹۹ جفت‌باز بود (لی و همکاران، ۲۰۰۲). توالی آغازگرها و ویژگی‌های آن‌ها در جدول (۳) ارائه شده است. واکنش PCR به صورت تک‌واکنشی برای هر جفت آغازگر انجام شد.



شکل ۱. نواحی نوترکیب DNA میتوکندریایی (mtDNA) در انواع سیتوپلاسم T، C و S و محل‌های اتصال آغازگرهای اختصاصی

1. Doyle
 2. Polyvinylpyrrolidone

جدول ۳. مشخصات پرایمرهای استفاده‌شده در ارزیابی نوع سیتوپلاسم نرعیقیم هیبریدهای تجاری ذرت

Primer name	Sequence (5'-3')	TM	Fragment size
CMSTF	CATGAAATGGGTGAAGTCTCTTTC	62	440bp
CMSTR	AAGAGAAAGGGAGACTTTGGTCCC	65	
CMSCF	ATGCTAATGGTGTCCGATTC	60	398bp
CMSCR	AGCATCATCCACATTCGCTAG	59	
CMSSF	CAACTTATTACGAGGCTGATGC	60	799 bp
CMSSR	AGTTCGTCCATATACCCGTAC	62	

در هر سری واکنش PCR، یک کنترل منفی بدون DNA الگو، شامل آب مقطر استریل به جای DNA، استفاده شد. به دلیل عدم دسترسی به لاین‌های استاندارد دارای سیتوپلاسم‌های CMS-T، CMS-C و CMS-S، کنترل مثبت اختصاصی برای هر نوع CMS در این پژوهش استفاده نشد. بنابراین، تفسیر نوع سیتوپلاسم براساس اندازه قطعات تکثیرشده مطابق گزارش لی و همکاران (۲۰۰۲)، تکرار آزمون در نسل F₂، کنترل منفی بدون DNA و همخوانی نتایج مولکولی با ارزیابی فنوتیپی تاسل، بررسی دانه گرده و آزمون خودگشنی انجام شد. واکنش PCR برای هر جفت آغازگر در حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر شامل ۱۲/۵ میکرولیتر مسترمیکس قرمز (Taq DNA Polymerase 2x Master Mix RED, Ampliqon)، ۱ میکرولیتر از هر آغازگر (غلظت ۱۰ میکرومولار)، ۱ تا ۲ میکرولیتر دی‌ان‌ای الگو (با غلظت تقریبی ۵۰ نانوگرم) و آب مقطر انجام شد. برنامه چرخه حرارتی PCR شامل دناتوراسیون اولیه در ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه، سپس ۳۵ چرخه شامل دناتوراسیون در ۹۴ درجه سانتی‌گراد (۳۰ ثانیه)، اتصال آغازگر در دمای اختصاصی هر جفت آغازگر (۵۰-۶۲ درجه سانتی‌گراد، ۴۵ ثانیه)، طول‌سازی در ۷۲ درجه سانتی‌گراد (۴۵ ثانیه)، و در نهایت مرحله طول‌سازی نهایی در ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه بود. واکنش‌ها در دستگاه ترموسایکلر Biolab انجام شد.

۳.۳.۳ الکتروفورز و تفسیر باندها

محصولات PCR روی ژل آگارز ۱/۵ درصد حاوی اتیدیوم بروماید در بافر 1X TBE و در کنار نشانگر استاندارد ۱۰۰ جفت بازی (100 bp ladder, Fermentas) به مدت ۴۵ دقیقه در ولتاژ ۸۴ ولت الکتروفورز شدند. پس از اتمام الکتروفورز، نوارها توسط دستگاه UV Transilluminator مشاهده و با ژل‌داک (Vilber Lourmat, France) تصویربرداری شدند. حضور یا عدم حضور باندهای اختصاصی مطابق با دستورالعمل (لی و همکاران، ۲۰۰۲) برای تعیین نوع سیتوپلاسم (T، C و S) تفسیر شد.

۳.۴ ارزیابی فنوتیپی تاسل و دانه گرده

جهت راستی آزمایی نتایج مولکولی، ارزیابی فنوتیپی تاسل و دانه گرده روی بوته‌های نسل اول (F₁) انجام شد. برای هر هیبرید، پنج بوته به صورت تصادفی از کرت‌ها انتخاب و مشخص شد. تاسل هر بوته در مرحله ظهور کامل از نظر وضعیت باروری در سه گروه کاملاً عقیم (بدون دانه گرده با بساک‌ها چروکیده)، نیمه‌بارور (کم‌تر از ۵۰ درصد بساک‌های حاوی دانه گرده) و کاملاً بارور (بیش از ۵۰ درصد بساک‌های حاوی دانه گرده) طبقه‌بندی شدند. بررسی میکروسکوپی دانه گرده با استفاده از استریومیکروسکوپ دو چشمی^۱ انجام شد تا حضور یا عدم حضور تراکم دانه‌های گرده مشخص شود. برای تأیید نهایی وضعیت باروری، همان پنج بوته از هر هیبرید تحت خودگشنی اجباری با کیسه‌های کاغذی قرار گرفتند و در پایان فصل، درصد تشکیل دانه روی بلال‌های خودگشنگ‌شده به‌عنوان معیار نهایی باروری ثبت گردید (شکل ۲).



شکل ۲. ارزیابی فنوتیپی باروری تاسل در هیبریدهای تجاری ذرت. الف) تاسل عقیم P_5 ، ب) تاسل نیمه بارور P_5 ، پ) تاسل کاملاً بارور P_6 ، ت) بساک عقیم P_6 ، ث) بساک نیمه بارور P_5 ، ج) گرده بساک کاملاً بارور P_6 ، د) عدم تشکیل دانه P_5 ، و) تشکیل دانه ناقص P_5 ، ی) تشکیل دانه کامل P_6 .

۴. یافته‌های پژوهش

۴.۱. تجزیه واریانس

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر هیبرید برای بیش تر صفات عملکردی، مورفولوژیک و فنولوژیک معنی دار بوده است (جدول ۴). به جز صفت قطر بلال که اختلاف معنی داری نشان نداد، سایر صفات مورد بررسی در سطح احتمال یک درصد بین هیبریدها اختلاف معنی دار داشتند. این نتایج بیانگر وجود تنوع فنوتیپی قابل توجه بین هیبریدهای تجاری مورد بررسی است. پایین بودن میزان ضریب تغییرات آزمایش برای اغلب صفات نشان دهنده دقت قابل قبول آزمایش و یکنواختی نسبی شرایط محیطی بود. با این حال، با توجه به تعداد محدود هیبریدها، نتایج این بخش باید به عنوان ارزیابی مقدماتی از تنوع فنوتیپی در همین مجموعه ژنوتیپی تفسیر شود. شرایط مناسبی را برای اهداف اصلاحی و برآورد پارامترهای ژنتیکی فراهم می‌سازد. در مطالعه‌ای روزبهانی^۱ و همکاران (۲۰۱۸) و نوری‌نژاد^۲ و همکاران (۲۰۲۴) ارزیابی هیبریدهای ذرت تجاری و امیدبخش ذرت علوفه‌ای در شرایط آب‌وهوایی استان مرکزی گزارش دادند که از لحاظ عملکرد بلال بین هیبریدهای ذرت اختلاف معنی داری در سطح احتمال ۵ درصد وجود داشت.

جدول ۴. تجزیه واریانس صفات عملکردی، مورفولوژیک و فنولوژیک در هیبریدهای تجاری ذرت علوفه‌ای

صفات	منابع تغییرات			
	ژنوتیپ	بلوک	خطای آزمایشی	کل
درجه آزادی:	۶	۲	۱۲	۱۷
درصد ضریب تغییرات (CV%)				
عملکرد علوفه	۹۵۴/۹۱ ^{**}	۴۳/۵ ^{ns}	۱۵/۱۹	۳/۱۰
عملکرد ماده خشک	۲۶/۰۴ ^{**}	۱۱۰/۵۱ ^{**}	۱/۰۳	۳/۵۷
نسبت عملکرد بلال به عملکرد کل	۷۵/۹۶ ^{**}	۳۷/۴۲ ^{**}	۱/۳۱	۴/۹۱
عملکرد بلال بوته	۰/۰۰۳ ^{**}	۰/۰۱۱ ^{**}	۰/۰۰۱۳	۰/۷۶
وزن تک بلال در بوته	۰/۰۱۶ ^{**}	۰/۰۵۱ ^{**}	۰/۰۰۳۳	۱۳/۵۳
تعداد کل بلال در بوته	۵۱/۷۶ ^{**}	۱۸/۰۸ [*]	۴/۵۸	۱۴/۷۴
عملکرد بلال با پوست	۱۹/۴۵ ^{**}	۱۸۷/۸۹ ^{**}	۰/۱۵	۰/۹۲
عملکرد بلال بدون پوست	۷۱/۱۰ ^{**}	۳۸/۲۹ ^{**}	۰/۲۸	۱/۸۳
طول بلال	۳/۹۶ ^{**}	۷۴/۸۳ ^{**}	۰/۰۱	۰/۲۸
تعداد دانه در ردیف	۱/۷۴۶ ^{**}	۷/۱۲ ^{**}	۰/۰۰۷۴	۰/۳۳
تعداد ردیف دانه	۷۲/۰۰ ^{**}	۲۱/۱۶ ^{**}	۰/۱۱	۰/۹۱
قطر بلال	۰/۶۸ ^{ns}	۴/۱۴ ^{**}	۰/۶۹	۲۱/۳۳
روز تا گل دهی گل نر	۴/۴۲ ^{**}	۰/۰۲۳	۰/۰۰۵۲	۰/۰۵۲
روز تا گل دهی گل ماده	۶/۸۵ ^{**}	۰/۰۱۴	۰/۰۰۴۵	۰/۰۱۲
فاصله ظهور گل نر تا ماده	۷/۸۵ ^{**}	۰/۰۱۲	۰/۰۰۳۲	۰/۰۱۵
روز تا خمیری	۲۱۲/۳۰ ^{**}	۵۱/۸۵ [*]	۱۳/۹۷	۳/۲۶
قطر ساقه	۰/۳۳۹ ^{**}	۰/۵۷ ^{**}	۰/۰۰۶۱	۱/۰۵
طول برگ	۱۳۳/۰۲ ^{**}	۴۷۵/۸۵ ^{**}	۰/۵۲	۰/۸۱
عرض برگ	۰/۲۵ ^{**}	۱۵/۱ ^{**}	۰/۰۰۲۴	۰/۲۸
تعداد برگ	۵/۴۴ ^{**}	۱۰/۹۷ ^{**}	۰/۰۲	۱/۰۲
تعداد برگ بالای بلال	۱/۷۱۶ ^{**}	۸/۳۳ ^{**}	۰/۰۲	۲/۴۵
ارتفاع بوته	۳۸۷/۲۹ ^{**}	۲۸۸/۸۸ ^{**}	۰/۳۸	۰/۳۳
ارتفاع تشکیل بلال	۳۹۲/۹۰ ^{**}	۳۹۱/۳۱ ^{**}	۱/۶۴	۱/۵۲

۲.۴. مقایسه میانگین

بر اساس مقایسه میانگین صفات تفاوت‌های معنی‌دار و قابل توجهی میان هیبریدهای مورد مطالعه مشاهده شد (جدول ۵). هیبرید P₅ (مغان ۷۰۴) در اغلب صفات مرتبط با عملکرد علوفه از جمله عملکرد علوفه تر، عملکرد ماده خشک و برخی اجزای بلال مقادیر بالاتری نسبت به سایر هیبریدها نشان داد و در شرایط این آزمایش به‌عنوان هیبرید برتر از نظر صفات علوفه‌ای شناسایی شد. هیبرید MAY از نظر نسبت بلال به کل زیست‌توده علوفه تر، تعداد ردیف دانه و برخی صفات مرتبط با بلال مقدار بالاتری داشت. در مقابل، هیبریدهای Maxima و AGN EX 637 در بسیاری از صفات عملکردی مقادیر کمتری را دارای بودند. این تفاوت‌ها وجود دامنه گسترده‌ای از توان فنوتیپی در هیبریدهای مورد بررسی را نشان می‌دهد. نسبت بلال به کل زیست‌توده علوفه تر در هیبریدهای مورد مطالعه از ۱۶/۷ (AGN EX 637) تا ۳۱/۹ (P₇, MAY) درصد متغیر بود. تنها هیبرید (MAY) P₇ نسبت بالاتر از ۳۰ درصد نشان داد و هیبرید (AGN EX 591) P₆ با ۲۷/۴ درصد نزدیک‌ترین مقدار به این میزان را داشت. این نتایج نشان می‌دهد که اگرچه همه هیبریدها از نظر کیفیت نسبی علوفه در حد مطلوب نبودند، اما تنوع مشاهده‌شده در نسبت بلال به کل زیست‌توده می‌تواند برای غربال‌گری مقدماتی هیبریدهای مناسب‌تر مورد استفاده قرار گیرد. تنوع مشاهده‌شده در صفات زایشی مانند روز تا گل‌دهی

نر و ماده و نیز فاصله ظهور گل نر تا ماده^۱ اهمیت انتخاب هیبریدهای همزمان از نظر گلدهی را برای افزایش تلقیح مؤثر نشان می‌دهد.

جدول ۵. مقایسه میانگین صفات عملکردی، مورفولوژیک و فنولوژیک در هیبریدهای تجاری ذرت علوفه‌ای

صفات	P ₁	P ₂	P ₃	P ₄	P ₅	P ₆	P ₇	میانگین
عملکرد علوفه (تن در هکتار)	۱۲۵/۹۲	۱۲۹/۱۱b	۱۰۲/۵۶d	۱۲۹/۷۵b	۱۳۲/۸۳b	۱۵۷/۹۸a	۱۱۲/۷۲c	۱۱۶/۴۸c
عملکرد ماده خشک (تن در هکتار)	۲۸/۵۱	۲۹/۰۲b	۲۵/۰۰d	۲۷/۸۳bc	۲۶/۹۹c	۳۴/۵۴a	۲۷/۹۶bc	۲۶/۲۸bc
نسبت عملکرد بلال به علوفه تر (درصد) ^۲	۲۳/۳۵	۲۱/۲۹cd	۲۳/۹۴c	۲۲/۲۸cd	۱۶/۷۱f	۱۹/۸۹e	۲۷/۴۴b	۳۱/۹۲a
عملکرد بلال بدون پوست (تن در هکتار)	۲۸/۹۰	۲۷/۴۸d	۲۴/۵۶e	۲۸/۸۳c	۲۲/۱۸f	۳۱/۳۶b	۳۰/۸۸b	۳۷/۰۴a
وزن بلال در بوته (کیلوگرم)	-/۴۲	-/۴۲d	۰/۳۹f	-/۴۳c	-/۴۴b	-/۴۲d	۰/۴۰e	-/۴۷a
وزن تک بلال در بوته (کیلوگرم)	-/۳۲	-/۳۷a	۰/۳۹a	-/۳۹a	۰/۳۵a	۰/۳۱a	۰/۲۲b	-/۲۲b
تعداد کل بلال در بوته	۱۴/۵۲	۱۱/۶۷cd	۱۰/۰۰d	۱۱/۵۰cd	۱۳/۵۰cd	۱۵/۰۰bc	۱۸/۵۰ab	۲۱/۵۰a
عملکرد بلال با پوست (تن در هکتار)	۴۱/۶۸	۴۶/۲۰a	۴۲/۷۹b	۴۲/۵۰b	۴۱/۴۴c	۴۰/۹۴c	۳۹/۶۶d	۳۸/۲۳e
طول بلال (سانتی‌متر)	۲۴/۶۰	۲۴/۵۰c	۲۵/۱۳b	۲۴/۰۷d	۲۴/۵۰c	۲۳/۷۷e	۲۳/۴۳f	۲۶/۹۰a
تعداد دانه در ردیف	۱۶/۵۷	۱۵/۸۵e	۱۶/۸۹c	۱۷/۵۲a	۱۷/۲۱b	۱۵/۴۳f	۱۶/۸۹c	۱۶/۱۶d
تعداد ردیف دانه	۳۶/۳۲	۳۴/۰۳e	۲۸/۴۳f	۳۵/۴۰d	۳۵/۷۰d	۳۶/۴۳c	۴۰/۳۰b	۴۴/۰۳a
قطر بلال (سانتی‌متر)	۳/۸۸	۴/۰۷a	۳/۴۷a	۴/۶۰a	۳/۳۳a	۳/۹۰a	۳/۵۰a	۴/۳۳a
روز تا گل دهی گل نر	۶۳/۸۶	۶۳/۰۰d	۶۳/۰۰d	۶۳/۰۰d	۶۳/۰۰d	۶۶/۰۰a	۶۵/۰۰b	۶۴/۰۰c
روز تا گل دهی گل ماده	۶۵/۴۳	۶۵/۰۰c	۶۶/۰۰b	۶۵/۰۰c	۶۵/۰۰c	۶۸/۰۰a	۶۳/۰۰d	۶۶/۰۰b
فاصله ظهور گل نر تا ماده	۱/۵۷	۲/۰۰b	۳/۰۰a	۲/۰۰b	۲/۰۰b	۲/۰۰b	-۲/۰۰c	۲/۰۰b
روز تا خمیری	۱۱۰/۵۷	۱۱۵/۰ac	۱۱۰/۳۳c	۱۱۷/۰۰a	۱۱۱/۶۷b	۹۵/۰۰e	۱۰۵/۰۰d	۱۲۰/۰۰a
قطر ساقه (سانتی‌متر)	۳/۵۳	۴/۰۹a	۳/۲۹d	۳/۱۸e	۳/۷۴b	۳/۴۰c	۳/۲۹d	۳/۷۴b
طول برگ (سانتی‌متر)	۸۹/۳۵	۸۱/۵۰f	۱۰۰/۷۰a	۷۱/۰۵d	۹۵/۳۷b	۸۸/۲۲cd	۸۳/۶۳e	۸۸/۹۷c
عرض برگ (سانتی‌متر)	۱۱/۲۷	۱۰/۷۴e	۱۱/۴۸b	۱۱/۱۶d	۱۱/۱۶d	۱۱/۲۷c	۱۱/۵۹a	۱۱/۸۴b
تعداد برگ	۱۳/۲۹	۱۴/۷۵a	۱۳/۴۵c	۱۴/۴۵b	۱۴/۴۵b	۱۲/۷۵d	۱۱/۴۵f	۱۱/۷۵e
تعداد برگ بالای بلال	۶/۰۲	۶/۵۰b	۶/۸۲a	۶/۸۲a	۶/۰۷c	۴/۷۹f	۵/۷۵d	۵/۴۳e
ارتفاع بوته (سانتی‌متر)	۱۸۳/۷۷	۱۸۹/۸۲b	۱۵۹/۶۴f	۱۸۲/۰۴e	۱۸۴/۹۲d	۱۹۴/۵۲a	۱۸۶/۳۰c	۱۸۹/۱۸b
ارتفاع تشکیل بلال (سانتی‌متر)	۸۴/۳۳	۹۰/۲۵b	۶۴/۴۳e	۸۱/۵۷c	۷۵/۰۶d	۹۵/۴۲a	۸۸/۱۸b	۹۵/۴۲a

P₁:AGN EX 720,P₂:Maxima,P₃:AGN EX 820,P₄: AGN EX 637,P₅:Mogan 704,P₆: AGN EX591,P₇:May

حروف مشابه در هر ردیف نشان‌دهنده عدم اختلاف معنی‌دار براساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد است.

^۲نسبت عملکرد بلال به عملکرد کل بوته؛ این شاخص معادل نسبت بلال به کل زیست‌توده علوفه تر بوده و به‌عنوان شاخص غیرمستقیم کیفیت علوفه مورد استفاده قرار گرفته است.

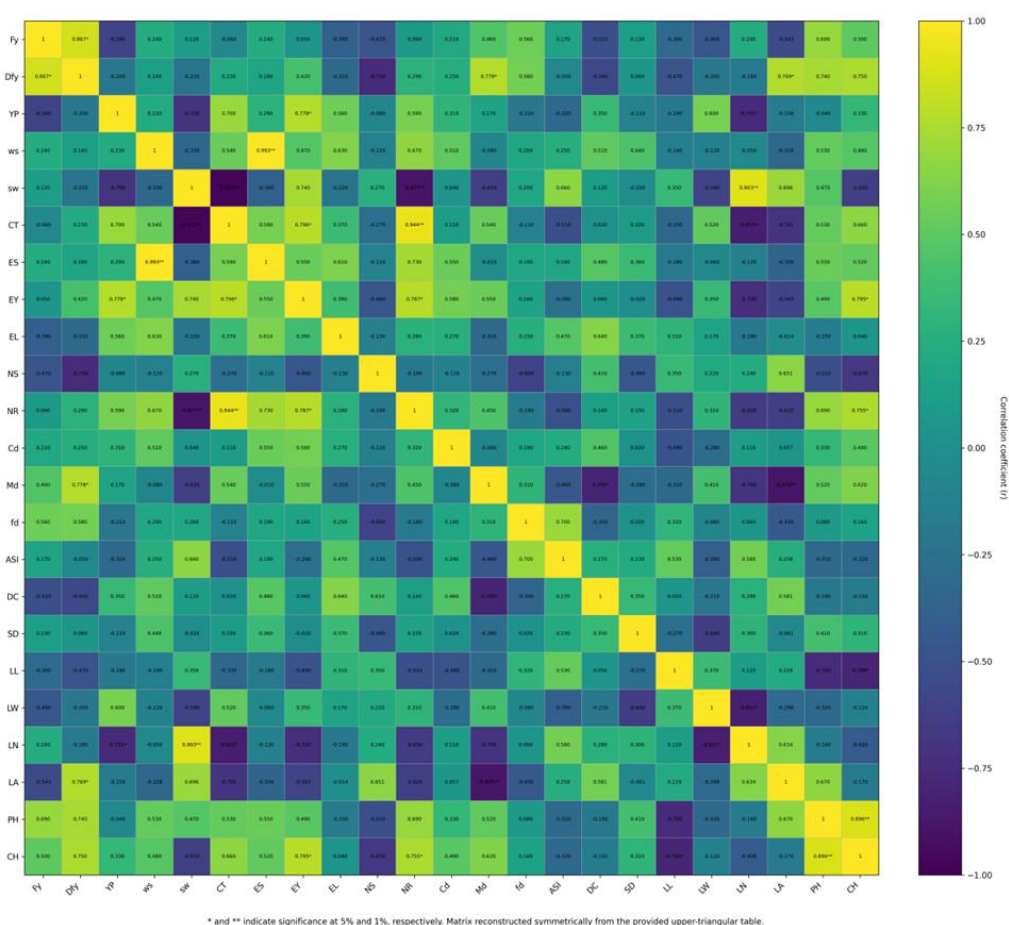
۳.۴. تجزیه همبستگی

نتایج تجزیه همبستگی^۲ صفات نشان داد که بسیاری از صفات رشدی و اجزای عملکرد ذرت دارای ارتباط‌های معنی‌دار با یکدیگر هستند (شکل ۳). به‌طور مشخص، عملکرد علوفه تر با عملکرد ماده خشک همبستگی مثبت و معنی‌دار داشت که بیانگر نقش مقدار ماده خشک در تبیین تغییرات عملکرد علوفه است. عملکرد ماده خشک با تعداد روز تا گلدهی گل نر و تعداد برگ بالای بلال دارای همبستگی مثبت و معنی‌دار و با ارتفاع بوته و ارتفاع تشکیل بلال همبستگی مثبت و غیر معنی‌دار بود. شاخص برداشت بلال با عملکرد بلال مثبت معنی‌دار، اما با تعداد برگ همبستگی منفی معنی‌دار و هم‌چنین با تعداد کل بلال در بوته و طول بلال همبستگی مثبت و غیر معنی‌داری داشت. رابطه همبستگی وزن کل بلال‌ها در بوته با وزن بلال با پوست در بوته مثبت و معنی‌دار اما از طرفی با تعداد کل بلال‌ها و طول بلال مثبت غیرمعنی‌دار بود. وزن تک بلال در بوته با تعداد برگ در بوته همبستگی مثبت و بسیار معنی‌دار اما با تعداد ردیف دانه در

1. Anthesis-Silking Interval

2. Correlation Analysis

بالا و تعداد کل بالالها در بوته رابطه همبستگی منفی بسیار معنی دار داشت. تعداد کل بالالها در بوته با تعداد ردیف دانه در بالال و عملکرد بالال مثبت و معنی دار و با تعداد برگ در بوته منفی و معنی دار بود. عملکرد بالال در بوته با ارتفاع تشکیل بالال و تعداد ردیف دانه در بالال مثبت و معنی دار و با قطر بالال مثبت و غیر معنی دار بود. تعداد ردیف دانه در بالال نیز با ارتفاع تشکیل بالال همبستگی مثبت و معنی دار نشان داد. ارتفاع بوته با ارتفاع تشکیل بالال همبستگی مثبت و بسیار معنی داری نشان داد. در میان صفات فنولوژیک، روز تا گلدهی گل نر با روز تا خمیری شدن رابطه منفی و معنی دار و با طول برگ رابطه منفی معنی دار داشت. همچنین طول برگ با ارتفاع تشکیل بالال و عرض برگ با طول برگ هر دو دارای همبستگی منفی و معنی دار بودند. به طور کلی، نتایج نشان می دهد که صفاتی مانند ارتفاع بوته (۰/۶۹) و عملکرد خشک (۰/۸۶)، نقش مهمی در تعیین عملکرد علوفه دارند (سنگویی^۱، ۲۰۰۱؛ تولنر^۲ و لی^۳، ۲۰۰۲).



شکل ۳. هیت مپ تجزیه همبستگی صفات عملکردی، مورفولوژیک و فنولوژیک در هیبریدهای تجاری ذرت علوفه‌ای.

عملکرد علوفه: Fy؛ ۲- عملکرد ماده خشک: Dfy؛ ۳- نسبت عملکرد بالال به عملکرد کل: YP؛ ۴- عملکرد بالال بوته: ws؛ ۵- وزن تک بالال در بوته: sw؛ ۶- تعداد کل بالال در بوته: CT؛ ۷- عملکرد بالال با پوست: ES؛ ۸- عملکرد بالال بدون پوست: EY؛ ۹- طول بالال: EL؛ ۱۰- تعداد دانه در ردیف: NS؛ ۱۱- تعداد ردیف دانه: NR؛ ۱۲- قطر بالال: Cd؛ ۱۳- روز تا گل دهی گل نر: Md؛ ۱۴- روز تا گل دهی گل ماده: fd؛ ۱۵- فاصله ظهور گل نر تا ماده: ASI؛ ۱۶- روز تا خمیری: DC؛ ۱۷- قطر ساقه: SD؛ ۱۸- طول برگ: LL؛ ۱۹- عرض برگ: LW؛ ۲۰- تعداد برگ: LN؛ ۲۱- تعداد برگ بالای بالال: LA؛ ۲۲- ارتفاع بوته: PH؛ ۲۳- ارتفاع تشکیل بالال: CH

1. Sangoi
2. Tollenaar
3. Lee

۴.۴. تجزیه علیت

نتایج تجزیه علیت^۱ برای عملکرد علوفه تر نشان داد که عملکرد ماده خشک بیشترین اثر مستقیم مثبت را بر عملکرد علوفه تر دارد (جدول ۶). این نتیجه قابل انتظار است زیرا عملکرد ماده خشک از اجزای اصلی عملکرد علوفه بوده و بیانگر سهم ماده خشک در زیست توده برداشت شده است. ارتفاع بوته با وجود همبستگی مثبت بالا با عملکرد علوفه تر، اثر مستقیم کمی نشان داد و تأثیر آن بیش تر به صورت غیرمستقیم از طریق صفات مرتبط با تولید زیست توده اعمال شد. همچنین، تعداد برگ بالای بلال اگرچه اثر مستقیم محدودی نشان داد، اما اثرات غیرمستقیم مثبت قوی آن، به ویژه از مسیر عملکرد ماده خشک موجب افزایش همبستگی کل آن با عملکرد علوفه تر گردید. بنابراین، در مجموعه هیبریدهای بررسی شده، صفات مرتبط با تولید زیست توده و عملکرد ماده خشک، در مقایسه با صفات ظاهری منفرد، شاخص های مناسب تری برای تبیین عملکرد علوفه تر بودند.

جدول ۶. تجزیه علیت برای صفات عملکرد علوفه تر در ارزیابی هیبریدهای تجاری ذرت

همبستگی صفات	اثر غیر مستقیم			اثر مستقیم	صفات مستقل
	تعداد برگ بالای بلال	ارتفاع بوته	عملکرد ماده خشک		
۰/۱۸۶۷	-۰/۲۲۹	۰/۰۳۳	۱	۱/۰۷۳	عملکرد ماده خشک
۰/۶۹۴	-۰/۱۳۴	۱	-۰/۷۹۷	۰/۰۳۱	ارتفاع بوته
-۰/۵۴۳	۱	-۰/۰۱۴	-۰/۸۲۶	۰/۲۹۷	تعداد برگ بالای بلال

در تجزیه علیت مربوط به عملکرد بلال، نسبت بلال به کل زیست توده علوفه تر و تعداد بلال در بوته اثر مستقیم بیشتری نسبت به وزن تک بلال نشان دادند (جدول ۷). این نتیجه بیانگر آن است که در شرایط این آزمایش، تخصیص زیست توده به بلال و تعداد بلال در بوته بیش از وزن تک بلال در تبیین تغییرات عملکرد بلال نقش داشته اند. با توجه به هدف علوفه ای پژوهش، این نتایج بیش تر از نظر تفسیر سهم بلال در کیفیت نسبی علوفه قابل استفاده اند و نباید به عنوان معیار قطعی انتخاب والدین تلقی شوند.

جدول ۷. تجزیه علیت برای صفات عملکرد بلال در ارزیابی هیبریدهای تجاری ذرت

همبستگی صفات	اثر غیر مستقیم			اثر مستقیم	صفات مستقل
	تعداد کل بلالها در بوته	وزن تک بلال در بوته	نسبت عملکرد بلال به عملکرد علوفه		
۰/۷۷۸	۰/۲۶۵	-۰/۰۳۶	۱	۰/۴۷۷	نسبت عملکرد بلال به کل عملکرد علوفه
۰/۴۷۰	۰/۲۰۵	۱	-۰/۱۱۱	۰/۱۵۴	وزن تک بلال در بوته
۰/۷۹۶	۱	-۰/۰۸۳	-۰/۳۳۳	۰/۳۸۰	تعداد کل بلالها در بوته

نتایج شاخص انتخاب چندصفتی استاندارد شده نشان داد ژنوتیپ P_5 با بیشترین مقدار شاخص انتخاب و رتبه مجموع پایین تر، به عنوان ژنوتیپ برتر از نظر همزمان صفات عملکردی شناسایی شد (جدول ۸). ژنوتیپ P_7 نیز به دلیل برخورداری از مقدار بالای عملکرد بلال و شاخص انتخاب مثبت، به عنوان یک ژنوتیپ امیدبخش معرفی گردید. در مقابل، ژنوتیپ P_2 به دلیل مقادیر پایین شاخص انتخاب و رتبه مجموع بالا، کمترین شایستگی ژنتیکی را نشان داد. به طور کلی، نتایج این شاخص بیانگر آن است که استفاده همزمان از صفات عملکرد علوفه تر، عملکرد ماده خشک و عملکرد بلال می تواند راهبرد مؤثری برای انتخاب غیرمستقیم ژنوتیپ های برتر در برنامه های اصلاح عملکرد علوفه در ذرت باشد.

جدول ۸. نتایج شاخص چند صفتی استاندارد شده در ارزیابی هیبریدهای تجاری ذرت

ژنوتیپ	عملکرد علوفه تر	عملکرد ماده خشک	عملکرد بلال	شاخص استاندارد	شاخص جمع رتبه
P1	۱۳۹/۱۱	۲۹/۰۲	۲۷/۴۸	۰/۰۵۸	۱۱
P2	۱۰۲/۵۶	۲۵/۰۰	۲۴/۵۶	-۳/۳۹۵	۲۰
P3	۱۳۹/۷۵	۲۷/۸۳	۲۸/۸۳	-۰/۰۳۳	۱۲
P4	۱۳۳/۸۳	۲۶/۹۹	۲۲/۱۸	-۱/۵۰۹	۱۵
P5	۱۵۷/۹۸	۳۴/۵۴	۳۱/۳۶	۴/۳۴۶	۴
P6	۱۱۲/۷۲	۲۷/۹۶	۳۰/۸۸	-۰/۵۲۳	۱۳
P7	۱۱۶/۴۸	۲۸/۲۶	۳۷/۰۴	۰/۰۵۶	۹

۵.۴. تجزیه به عامل‌ها

تجزیه عاملی^۱ برای صفات عملکردی، مورفولوژیک و فنولوژیک هیبریدهای ذرت علوفه‌ای انجام گرفت (جدول ۹). در این تحلیل، مقدار KMO برابر ۰/۶۳ به دست آمد که کیفیت نسبی داده‌ها را برای انجام تحلیل عاملی نشان داد. چهار عامل اصلی استخراج شد که در مجموع ۸۵/۸۸ درصد از تغییرات کل صفات اندازه‌گیری شده را تبیین نمود. عامل اول عمدتاً با صفات مرتبط با نسبت بلال به کل زیست‌توده، تعداد بلال و برخی اجزای بلال مرتبط بود و می‌تواند به عنوان عامل مرتبط با تخصیص زیست‌توده به بلال تفسیر شود. عامل دوم با عملکرد علوفه تر، عملکرد ماده خشک، ارتفاع تشکیل بلال و زمان گلدهی نر ارتباط بیش‌تری داشت و بیش‌تر نمایانگر محور تولید زیست‌توده و رشد رویشی بود. عوامل سوم و چهارم نیز به ترتیب با صفات مرتبط با بلال و برخی صفات فنولوژیک و برگ مرتبط بودند. بنابراین، تحلیل عاملی نشان داد که صفات اندازه‌گیری شده در چند گروه همبسته قابل خلاصه‌سازی هستند. نتایج تحلیل عاملی به کشف ساختار پنهان در داده‌های مورفولوژیک ذرت کمک کرده و می‌تواند راهنمای انتخاب صفات مؤثر در برنامه‌های اصلاحی باشد. یافته‌های مشابهی در مطالعات اخیر نیز گزارش شده است که اهمیت شناسایی عوامل مؤثر در بهبود عملکرد ذرت را تأیید می‌کنند (چن^۲ و همکاران، ۲۰۲۱؛ ژانگ^۳ و همکاران، ۲۰۲۳).

تحلیل روابط بین صفات از طریق تجزیه همبستگی و تحلیل عاملی نشان داد که می‌توان در نسل‌های در حال تفرق، با اندازه‌گیری صفات ساده‌تر و با وراثت‌پذیری بالاتر، به‌طور غیرمستقیم ژنوتیپ‌های با عملکرد بالاتر را شناسایی و انتخاب نمود. چنین رویکردی موجب تسریع فرایند گزینش و افزایش دقت انتخاب در مراحل ابتدایی اصلاح ذرت خواهد شد (استودر و همکاران، ۲۰۱۷).

۶.۴. تجزیه خوشه‌ای

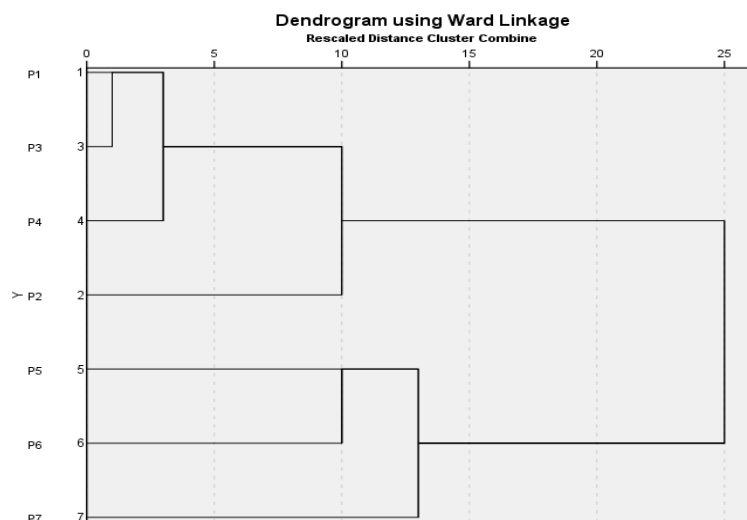
نتایج تجزیه خوشه‌ای^۴ به‌روش وارد و آماره T^2 (هتلینگ) نشان داد که هفت هیبرید مورد بررسی ذرت براساس صفات اندازه‌گیری شده، به‌صورت اکتشافی در سه گروه فنوتیپی طبقه‌بندی می‌شوند (شکل ۴). خوشه نخست شامل هیبریدهای P_1 ، P_2 ، P_3 و P_4 است که با توجه به نتایج همبستگی و تحلیل عاملی، این گروه از نظر صفات مرتبط با رشد رویشی، عملکرد بلال و ساختار بوته بیش‌ترین شباهت را داشته و به‌ویژه از نظر شاخص‌های عملکرد بلال و

1. Factor Analysis
2. Chen
3. Zhang
4. Cluster Analysis

تعداد برگ رفتار مشابهی نشان داده‌اند. خوشه دوم شامل P_5 و P_6 بوده که براساس مقایسه میانگین‌ها و بارهای عاملی، بیش‌تر با صفات مرتبط با عملکرد علوفه و شاخص‌های برداشت تشابه دارند. خوشه سوم شامل P_7 است که به دلیل مقادیر متمایز در صفات فنولوژیک مانند ASI، روز تا گل‌دهی و ارتفاع گیاه از سایر هیبریدها جدا شده و یک گروه مستقل را تشکیل داده است. این الگوی خوشه‌بندی با یافته‌های پژوهش‌های مشابه که از داده‌های چندمتغیره برای تفکیک ژنوتیپ‌های ذرت استفاده کرده‌اند، مطابقت دارد (امین^۱ و همکاران، ۲۰۲۰). هرچند این گروه‌بندی صرفاً نشان‌دهنده شباهت فنوتیپی در این مجموعه ژنوتیپ‌هاست فرارگرفتن هیبریدهای P_5 و P_6 در یک کلاستر و فاصله قابل‌توجه آن‌ها از هیبریدهای P_1 ، P_2 ، P_3 و P_4 نشان‌دهنده وجود تنوع فنوتیپی قابل بهره‌برداری بین این دو گروه است.

جدول ۹. تجزیه به عامل صفات عملکردی، مورفولوژیک و فنولوژیک در هیبریدهای تجاری ذرت علوفه‌ای

صفات	۱	۲	۳	۴
عملکرد علوفه	-۰/۳۴	-۰/۸۷	-۰/۱۴	-۰/۱۲
عملکرد ماده خشک	۰/۰۳	۰/۹۸	۰/۰۶	-۰/۱۶
نسبت عملکرد بلال به عملکرد کل	۰/۸۴	-۰/۲۸	-۰/۲۴	۰/۰۱
عملکرد بلال بوته	۰/۲۴	-۰/۱۲	-۰/۸۸	۰/۰۹
وزن تک بلال در بوته	-۰/۹۲	-۰/۱۸	-۰/۱۰	۰/۲۷
تعداد کل بلال در بوته	۰/۸۹	۰/۱۹	۰/۳۰	-۰/۱۹
عملکرد بلال با پوست	۰/۳۱	۰/۱۴	۰/۸۶	۰/۰۶
عملکرد بلال بدون پوست	۰/۷۵	۰/۳۲	-۰/۴۲	-۰/۱۰
طول بلال	۰/۳۶	-۰/۲۶	-۰/۵۶	۰/۵۷
تعداد دانه در ردیف	-۰/۱۱	-۰/۷۸	-۰/۲۰	-۰/۰۷
تعداد ردیف دانه	۰/۷۴	۰/۱۹	۰/۴۷	-۰/۳۷
قطر بلال	۰/۰۱	۰/۰۹	۰/۶۹	-۰/۰۹
روز تا گل‌دهی گل نر	۰/۵۳	۰/۷۷	-۰/۳۲	-۰/۱۵
روز تا گل‌دهی گل ماده	-۰/۱۳	-۰/۶۸	-۰/۱۴	۰/۷۰
فاصله ظهور گل نر تا ماده	-۰/۵۲	۰/۰۶	۰/۳۷	۰/۷۶
روز تا خمیری	-۰/۰۵	-۰/۷۱	۰/۷۰	۰/۰۳
قطر ساقه	-۰/۲۵	۰/۰۹	۰/۶۳	-۰/۱۴
طول برگ	-۰/۰۹	-۰/۲۹	-۰/۳۱	۰/۸۴
عرض برگ	۰/۸۲	-۰/۱۷	-۰/۴۳	۰/۲۸
تعداد برگ	-۰/۹۷	-۰/۱۶	۰/۱۹	۰/۰۳
تعداد برگ بالای بلال	-۰/۵۴	-۰/۸۰	-۰/۰۴	۰/۰۲
ارتفاع بوته	۰/۱۴	۰/۶۶	۰/۴۵	-۰/۵۵
ارتفاع تشکیل بلال	۰/۳۹	۰/۶۴	۰/۴۷	-۰/۴۴
مقدار ویژه	۸/۷۱	۴/۸	۴/۳۵	۲/۵۳
درصد واریانس نسبی	۳۷/۹۱	۲۰/۸۷	۱۸/۹۲	۱۱
درصد واریانس جمعی	۳۷/۷۸	۵۸/۷۸	۷۷/۷	۸۸/۷



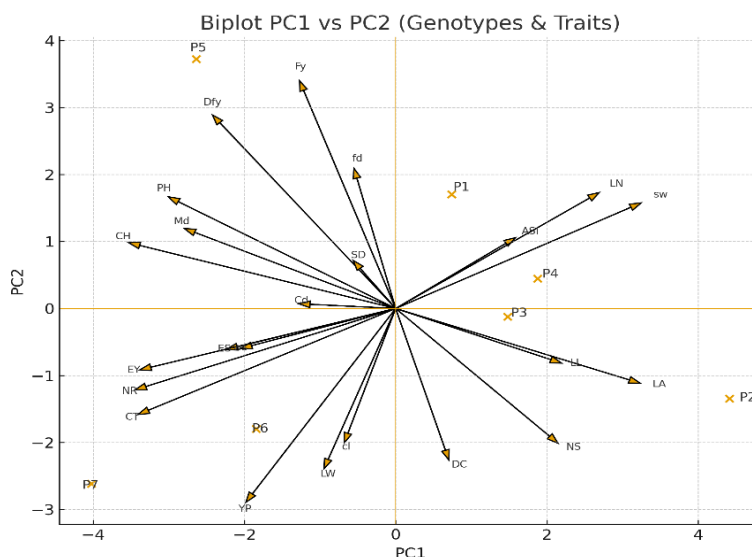
شکل ۴. تجزیه کلاستر برای هفت هیبرید تجاری ذرت براساس تمام صفات

۷.۴. تجزیه به مؤلفه‌های اصلی

نتایج تجزیه به مؤلفه‌های اصلی^۱ نشان داد که دو مؤلفه اول (PC_1 و PC_2) بخشی از تغییرات صفات عملکردی، مورفولوژیک و فنولوژیک هیبریدهای ذرت علوفه‌ای را تبیین کردند و امکان نمایش هم‌زمان روابط میان صفات و هیبریدها را فراهم ساختند (شکل ۵). مؤلفه اول (PC_1) به‌طور عمده با صفات مرتبط با ساختار بوته و اجزای بلال از جمله تعداد برگ، تعداد برگ بالای بلال، وزن تک بلال در بوته و تعداد دانه در ردیف ارتباط داشت. مؤلفه دوم (PC_2) بیش‌تر با عملکرد علوفه، عملکرد ماده خشک، روز تا گل‌دهی نر، روز تا گل‌دهی ماده و ارتفاع بوته مرتبط بود. در بای‌پلات، P_5 در جهت صفات مرتبط با عملکرد علوفه و رشد رویشی قرار گرفت، درحالی‌که P_7 بیش‌تر با برخی صفات مرتبط با بلال و نسبت بلال به کل زیست‌توده همراه بود. بنابراین، PCA به‌عنوان ابزار مکمل تحلیل عاملی، الگوی کلی ارتباط هیبریدها و صفات را نشان داد. براساس موقعیت ژنوتیپ‌ها در بای‌پلات، هیبریدهای P_1 ، P_2 و P_4 در ربع مثبت PC_1 قرار گرفته و با صفات رویشی و شاخ و برگ شامل وزن تک بلال، طول برگ، تعداد برگ بالای بلال و تعداد برگ ارتباط مثبت داشتند. این امر نشان‌دهنده پتانسیل مناسب آن‌ها برای عمل فتوسنتز و احتمالاً خوشخوراکی علوفه بالاتر است. هیبرید P_5 در ربع مثبت PC_2 و نزدیک به صفاتی مانند عملکرد علوفه تر، ارتفاع بوته و روز تا رسیدگی گل نر قرار گرفت که نشان‌دهنده رشد رویشی قوی، عملکرد علوفه بالاتر و ارتفاع بیش‌تر بوته می‌باشد و برای محیط‌های با طول فصل رشد طولانی مناسب است. در مقابل، هیبریدهای P_6 و P_7 در ربع منفی هر دو مؤلفه قرار گرفته و با صفاتی مانند عرض برگ نسبت عملکرد بلال به عملکرد علوفه، تعداد کل بلال در بوته و تعداد ردیف دانه در بلال همبستگی داشتند که نشان می‌دهد این هیبریدها دارای پتانسیل عملکرد پایین‌تر می‌باشند.

به‌طور کلی، نتایج PCA نشان داد که صفات رویشی (تعداد برگ، تعداد برگ بالای بلال و طول برگ) مؤثرترین متغیرها در تمایز هیبریدها در مؤلفه اول بودند، درحالی‌که صفات فنولوژیک و عملکردی شامل زمان گل‌دهی و عملکرد علوفه تر و خشک بیش‌ترین نقش را در مؤلفه دوم داشتند. این الگو با گزارش‌های پیشین در ذرت مینی بر نقش دو دسته

صفات (رشدی، رویشی) و (فنولوژیک، عملکردی) در تمایز ژنوتیپها همخوانی دارد (اسلام^۱ و همکاران، ۲۰۲۳؛ لی^۲ و همکاران، ۲۰۲۱؛ یان^۳، ۲۰۱۴) هیبرید مغان ۷۰۴ با قرارگیری در جهت بردارهای مرتبط با عملکرد دانه و ارتفاع بوته، برتری نسبی خود را نسبت به سایر هیبریدها نشان داد.



شکل ۵. نمودار تجزیه به مؤلفه‌های اصلی هفت هیبرید تجاری ذرت برای تمام صفات

۸.۴. پارامترهای ژنتیکی

برآورد پارامترهای ژنتیکی نشان داد که در مجموعه هیبریدهای مورد بررسی، برای بیش تر صفات عملکردی، مورفولوژیک و فنولوژیک مقدار وراثت‌پذیری عمومی بالا ($H_b > 80$) بوده و این امر نشان می‌دهد که بخش قابل توجهی از تغییرات مشاهده شده در شرایط این آزمایش به تفاوت بین هیبریدها مربوط است (جدول ۱۰). موضوعی که پیش تر نیز در مطالعات مربوط به تنوع مورفولوژیک ذرت گزارش شده است (هاردا^۴ و همکاران، ۲۰۰۹؛ خدارحم‌پور^۵، ۲۰۱۲). صفات عملکردی مانند عملکرد علوفه (۹۵/۳۷ درصد)، نسبت عملکرد بلال (۹۵ درصد)، عملکرد بلال با پوست (۹۷/۷۸ درصد)، عملکرد بلال بدون پوست (۹۸/۸۳ درصد) و همچنین صفات ریخت‌شناسی دانه مانند تعداد ردیف دانه (۹۹/۵۴ درصد) وراثت‌پذیری بسیار بالا داشتند که بیانگر آن است که انتخاب مستقیم بر پایه فنوتیپ می‌تواند در بهبود این صفات بسیار مؤثر باشد، این نتیجه با یافته‌های (نوری‌نژاد و همکاران، ۲۰۲۱) نیز همسو است. از سوی دیگر، صفات فنولوژیک شامل روز تا گلدهی نر و ماده و ASI وراثت‌پذیری ۱۰۰ درصدی نشان دادند که دلالت بر ثبات محیطی بالا و کنترل ژنتیکی تقریباً کامل این صفات دارد. در مقابل، صفت قطر بلال دارای وراثت‌پذیری بسیار پایین و حتی منفی بود (۱/۴۳ درصد) که نشان می‌دهد این صفت تحت تأثیر شدید محیط است و انتخاب فنوتیپی برای آن کارایی کمی خواهد داشت

1. Aslam
2. Li
3. Yun
4. Harada
5. Khodarahmpour

(سینگ و همکاران، ۲۰۱۴). همچنین، مقایسه مقادیر GCV و PCV نشان داد که اختلاف میان این دو شاخص در بیش‌تر صفات، به‌ویژه در صفاتی مانند طول بلال، تعداد دانه در ردیف، تعداد برگ و قطر ساقه کم است. این موضوع بیانگر حداقل تأثیر محیط و حداکثر سهم ژنتیکی واقعی در تنوع جمعیت موردبررسی است (هاردا و همکاران، ۲۰۰۹). همخوانی این یافته‌ها با نتایج تحلیل عاملی و خوشه‌بندی نیز نشان داد که بخش عمده تنوع مشاهده‌شده ریشه ژنتیکی داشته و می‌تواند در انتخاب هیبریدهای برتر به‌طور مؤثری مورداستفاده قرار گیرد؛ موضوعی که نوری‌نژاد و همکاران (۲۰۲۱) نیز بر آن تأکید کرده‌اند.

جدول ۱۰. برآورد پارامترهای ژنتیکی صفات عملکردی، مورفولوژیک و فنولوژیک در هیبریدهای تجاری ذرت علوفه‌ای

صفات	واریانس ژنتیکی	واریانس محیطی	واریانس فنوتیپی	ضریب تغییرات ژنتیکی	ضریب تغییرات فنوتیپی	وراثت‌پذیری عمومی
	Genetic variance (σ_g^2)	Environmental variance (σ_e^2)	Phenotypic variance (σ_p^2)	Genotypic coefficient of variation (GCV)	Phenotypic coefficient of variation (PCV)	Broad-sense heritability (H ²)
عملکرد علوفه	۳۱۲/۲۴	۱۵/۱۹	۳۲۸/۴۳	۱۴/۰۶	۱۴/۳۹	۹۵/۳۷
عملکرد ماده خشک	۸/۳۴	۱/۰۳	۹/۳۷	۱۰/۱۳	۱۰/۷۴	۸۸/۹۷
نسبت عملکرد بلال به عملکرد کل	۲۴/۸۸	۱/۳۱	۲۶/۱۹	۲۱/۳۶	۲۱/۹۱	۹۵/۰۰
عملکرد بلال بوته	۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۹	۹۸/۴۹
وزن تک بلال در بوته	۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۱	۱۶/۰۲	۱۹/۸۵	۶۵/۱۱
تعداد کل بلال در بوته	۱۵/۷۳	۴/۵۸	۲۰/۳۱	۱۳۳۶/۰۳	۱۴۰۴/۶۵	۷۷/۴۳
عملکرد بلال با پوست	۶/۴۴	۰/۱۵	۵/۵۸	۱۷/۴۷	۱۷/۶۶	۹۷/۷۸
عملکرد بلال بدون پوست	۲۳/۶۱	۰/۲۸	۲۳/۸۹	۱۱/۶۶	۱۱/۷۳	۹۸/۸۳
طول بلال	۱/۳۲	۰/۰۱	۱/۳۳	۴/۶۷	۴/۶۸	۹۹/۳۳
تعداد دانه در ردیف	۰/۵۸	۰/۰۰	۰/۵۸	۴/۶۰	۴/۶۱	۹۹/۴۸
تعداد ردیف دانه	۲۳/۹۶	۰/۱۱	۲۴/۰۷	۱۳/۴۸	۱۳/۵۱	۹۹/۵۴
قطر بلال	۰/۰۱	۰/۶۹	۰/۷۰	۲/۵۸	۲۱/۵۱	۱/۴۳
روز تا گل دهی گل نر	۱/۴۸	۰/۰۰	۱/۴۸	۱/۹۰	۱/۹۰	۱۰۰/۰۰
روز تا گل دهی گل ماده	۲/۲۹	۰/۰۰	۲/۲۹	۲/۳۱	۲/۳۱	۱۰۰/۰۰
فاصله ظهور گل نر تا ماده	۲/۶۲	۰/۰۰	۲/۶۲	۱۰۲/۹۹	۱۰۲/۹۹	۱۰۰/۰۰
روز تا خمیری	۶۶/۴۴	۱۲/۹۷	۷۹/۴۱	۷/۳۷	۸/۰۶	۸۳/۶۷
قطر ساقه	۰/۱۱	۰/۰۰	۰/۱۱	۹/۳۷	۹/۴۳	۹۸/۷۶
طول برگ	۴۴/۱۷	۰/۵۲	۴۴/۶۹	۷/۴۴	۷/۴۸	۹۸/۸۴
عرض برگ	۰/۰۸	۰/۰۰	۰/۰۸	۲/۵۶	۲/۵۷	۹۸/۸۴
تعداد برگ	۱/۸۱	۰/۰۲	۱/۸۳	۱۰/۱۲	۱۰/۱۷	۹۹/۰۰
تعداد برگ بالای بلال	۰/۵۶	۰/۰۲	۰/۵۹	۱۲/۴۸	۱۲/۷۱	۹۶/۳۹
ارتفاع بوته	۱۲۸/۹۷	۰/۳۸	۱۲۹/۳۵	۶/۱۷	۶/۱۸	۹۹/۷۰
ارتفاع تشکیل بلال	۱۳۰/۴۲	۱/۶۴	۱۳۲/۰۶	۱۳/۵۴	۱۳/۶۳	۹۸/۷۶

۹.۴ یافته‌های مولکولی

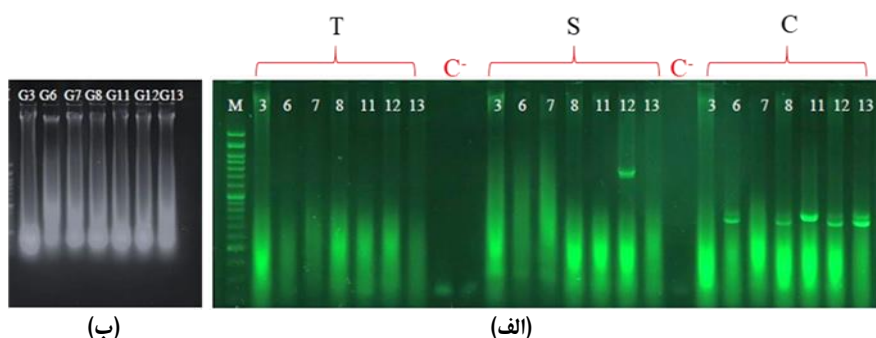
ارزیابی اولیه هفت هیبرید تجاری ($P_1, P_2, P_3, P_4, P_5, P_6, P_7$) نشان داد که پنج هیبرید (P_2, P_4, P_5, P_6 و P_7) قطعاً اختصاصی آغازگر CMS-C (~398 bp) را تولید کردند، درحالی‌که P_1 و P_3 با هیچ‌یک از آغازگرهای CMS-T/CMS-S/CMS-C باندی نداشتند (جدول ۱۱). این الگو برای P_1 و P_3 با سیتوپلاسم نرمال (N) سازگار است، زیرا براساس یافته‌های لی و همکاران (۲۰۰۲) برای سیتوپلاسم نرمال آمپلیکون اختصاصی تشخیصی انتظار نمی‌رود. در ارزیابی اولیه، فقط در یک مشاهده در هیبرید P_6 علاوه بر باند اختصاصی CMS-C، یک باند با طول حدود ۸۰۰ جفت باز با آغازگر CMS-S نیز مشاهده شد. با این‌حال، این باند در آزمون‌های تکراری نسل F_2 مشاهده نشد و تمام نمونه‌های F_2 مربوط به P_6 فقط برای CMS-C مثبت و برای CMS-S و CMS-T منفی بودند (شکل ۶). بنابراین، باند مشاهده‌شده در

ارزیابی اولیه P6 به عنوان معیار طبقه بندی سیتوپلاسمی نهایی در نظر گرفته نشد و P6 براساس حضور پایدار باند CMS-C و همخوانی با نتایج فنوتیپی، به عنوان حامل سیتوپلاسم CMS-C طبقه بندی شد. احتمال تکثیر غیراختصاصی یا تغییرات محدود mtDNA را نمی توان به طور کامل رد کرد، اما شواهد تکرارپذیر از طبقه بندی CMS-C حمایت می کند. هیبریدهای P₂، P₄، P₅، P₆ و P₇ تنها با آغازگر نوع C باند ۴۰۰ جفت بازی تولید کردند. فراوانی نوار C با گزارش های کاربرد گسترده CMS-C در برنامه های تولید بذر ذرت همراستا (پال^۱ و همکاران، ۲۰۱۸). هیچ یک از هیبریدهای مورد بررسی با آغازگر CMS-T باند اختصاصی نشان ندادند، بنابراین، در مجموعه هیبریدهای بررسی شده، سیتوپلاسم نوع T شناسایی نشد. سیتوپلاسم نوع T با حساسیت به بیماری *Helminthosporium* پیوسته است (ژائو^۲ و همکاران، ۲۰۲۲).

جدول ۱۱. نتایج تعیین نوع سیتوپلاسم در هیبریدهای تجاری ذرت در سال اول

کد هیبرید	تعداد نمونه نسل اول ۱۴۰۳	CMS-C	CMS-S	CMS-T
P1	۱	-	-	-
P2	۱	+	-	-
P3	۱	-	-	-
P4	۱	+	-	-
P5	۱	+	-	-
P6	۱	+	+	-
P7	۱	+	-	-

(+): حضور باند اختصاصی و (-): عدم حضور باند اختصاصی؛ (+) برای P6 در ستون CMS-S بیانگر مشاهده منفرد باند ۸۰۰ جفت بازی با آغازگر CMS-S در ارزیابی اولیه است.



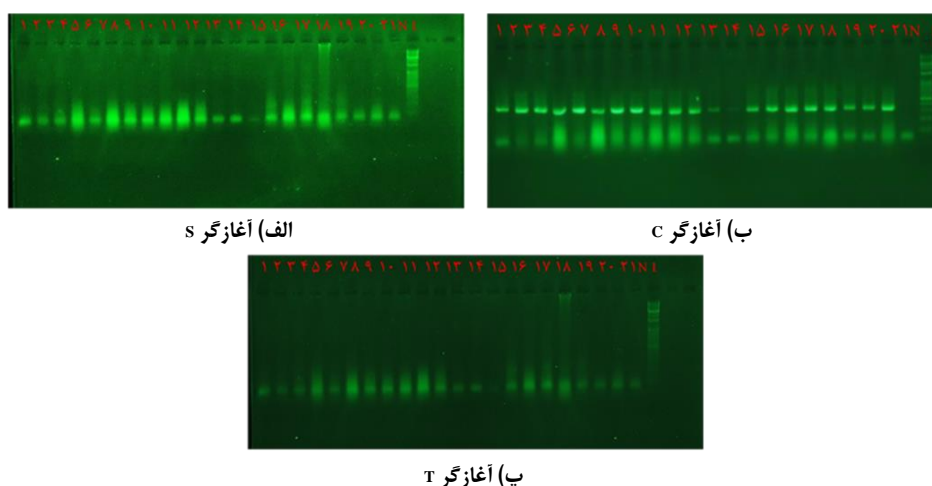
شکل ۶. الف) الگوی الکتروفورز محصولات PCR برای شناسایی انواع سیتوپلاسم CMS در هیبریدهای تجاری ذرت. M: لدر ۱۰۰ جفت بازی؛ T: آغازگر CMS-T، CMS-T⁻: کنترل منفی بدون DNA، CMS-T، CMS-C، CMS-S؛ واکنش های انجام شده با آغازگرهای اختصاصی هر نوع سیتوپلاسم. ب) الگوی الکتروفورز DNA استخراجی

به منظور راستی آزمایی نتایج سال اول، نمونه های نسل F₂ حاصل از خودگشتی اجباری پنج هیبرید دارای باند CMS-C (P₂، P₄، P₅، P₆ و P₇) با ۲۱ نمونه (بالک ۱۰ بوته ای و تک بوته) آزمون شد. همه نمونه ها تنها با آغازگر CMS-C مثبت و با CMS-T/S منفی بودند (جدول ۱۲ و شکل ۷). بدین ترتیب، الگوی غالب C در این پنج هیبرید تأیید گردید. هم چنین، نتایج مولکولی با ارزیابی فنوتیپی تاسل، بررسی دانه گرده و آزمون خودگشتی همخوانی داشت. این یافته ها با گزارش هایی که CMS-C را در سطح جمعیت پایا و قابل اتکا معرفی می کنند، همخوانی دارد (پال و همکاران، ۲۰۱۸؛ یانگ و همکاران، ۲۰۲۲).

جدول ۱۲. نتایج تعیین نوع سیتوپلاسم در هیبریدهای تجاری ذرت در سال دوم نسل F₂

کد هیبرید	تعداد نمونه سال دوم روی ژل	CMS-C	CMS-S	CMS-T
P ₂	۳(۹،۱۰،۱۱)	+	-	-
P ₄	۳(۱۹،۲۰،۲۱)	+	-	-
P ₅	۸(۱،۲،۳،۴،۵،۶،۷،۸)	+	-	-
P ₆	۴(۱۲،۱۳،۱۴،۱۵)	+	-	-
P ₇	۳(۱۶،۱۷،۱۸)	+	-	-

(+): حضور باند اختصاصی و (-): عدم حضور باند اختصاصی

شکل ۷. نتایج ژل الکتروفورز برای سه آغازگر به ترتیب S, T, C برای بوته‌های نسل F₂

از یافته‌های حاصل از آزمایش‌های (مولکولی پی‌سی‌آر، بررسی حضور و عدم حضور دانه گرده در تاسل با استریو میکروسکوپ^۱ (آزمون خودگشنی) به‌روشنی نشان می‌دهد که ارزیابی فنوتیپی ظاهری گل‌آذین نر، میکروسکوپی دانه گرده، و عملکرد تشکیل دانه روی بلال، با وضعیت سیتوپلاسمی (بارور/عقیم) همخوانی داشته و لذا این روش‌ها می‌تواند به‌عنوان یک روش غربال‌گری سریع و اولیه منابع نرعی می‌در برنامه‌های پهنزادی ذرت مورد استفاده قرار گیرد.

۵. بحث

نتایج این پژوهش نشان داد که هفت هیبرید تجاری ذرت علوفه‌ای مورد بررسی از نظر صفات عملکردی، مورفولوژیک، فنولوژیک و نوع سیتوپلاسم تفاوت قابل توجهی دارند. معنی‌دار بودن اثر هیبرید برای بیش‌تر صفات نشان‌دهنده وجود تنوع فنوتیپی در مجموعه مورد مطالعه است. نتایج این آزمایش می‌تواند به‌عنوان ارزیابی مقدماتی از تنوع فنوتیپی و وضعیت سیتوپلاسمی هیبریدهای مورد بررسی تفسیر شود. برتری هیبرید P₅، معان ۷۰۴، در عملکرد علوفه تر و عملکرد ماده خشک نشان می‌دهد که این هیبرید در شرایط مطالعه حاضر توان بیش‌تری در تولید زیست‌توده علوفه‌ای داشته است. این برتری می‌تواند با صفاتی مانند ارتفاع بوته، طول بلال و تجمع ماده خشک مرتبط باشد، زیرا در ذرت علوفه‌ای، عملکرد نهایی علوفه حاصل برهم‌کنش رشد رویشی، سهم بلال در زیست‌توده و مرحله فنولوژیک برداشت است. از سوی دیگر، هیبرید P₇، MAY، اگرچه از نظر عملکرد علوفه تر برترین هیبرید نبود، اما در برخی صفات مرتبط با بلال، از جمله

1. Binocular Stereomicroscope

تعداد ردیف دانه، تعداد دانه در ردیف و نسبت بلال به کل زیست توده علوفه تر، مقدار بالاتری نشان داد. بنابراین، تفاوت میان P_5 و P_7 نشان می‌دهد که برتری هیبریدها بسته به معیار ارزیابی متفاوت است؛ P_5 بیش تر از نظر تولید زیست توده علوفه‌ای و P_7 بیش تر از نظر سهم بلال در زیست توده قابل توجه بود. این الگو با یافته‌های پژوهش‌گران دیگر نیز همخوانی دارد؛ به‌عنوان مثال مثال، بادی-آپراکوا^۱ و همکاران (۲۰۱۵) گزارش کردند که تفاوت‌های عملکردی میان هیبریدهای ذرت به‌طور عمده از تنوع ژنتیکی در صفات مورفولوژیک و فنولوژیک ناشی می‌شود و چلارکار^۲ و همکاران (۲۰۱۷) نیز تأکید کردند که صفات وابسته به بلال و دانه، بیش‌ترین سهم را در تفکیک ژنوتیپ‌های برتر دارند.

نسبت بلال به کل زیست توده علوفه تر به‌عنوان یکی از شاخص‌های غیرمستقیم کیفیت علوفه در ذرت مطرح است، زیرا سهم بیش‌تر بلال معمولاً با افزایش نشاسته و انرژی علوفه همراه است. براساس نتایج به‌دست آمده، نسبت بلال به کل زیست توده علوفه تر در هیبریدهای مورد مطالعه بین ۱۶/۷ درصد (P_4) تا ۳۱/۹ درصد (P_7) متغیر بود. اگرچه هیبرید P_7 با مقدار ۳۱/۹ درصد در محدوده مطلوب گزارش شده توسط کیم و همکاران (۲۰۰۱) قرار داشت، اما سایر هیبریدها مقادیر پایین‌تری نشان دادند. این امر را می‌توان به عوامل متعددی نسبت داد. تراکم بالای بوته که اگرچه عملکرد کل علوفه را افزایش می‌دهد، اما به دلیل افزایش رقابت بین بوته‌ها برای جذب نور و مواد غذایی می‌تواند باعث کاهش درصد بلال می‌گردد (گرین^۳ و همکاران، ۲۰۰۸). دوم، تفاوت‌های ژنتیکی بین هیبریدها که مطابق با یافته‌های کیم و همکاران (۲۰۰۱)، هیبریدهای دیررس به‌طور طبیعی درصد بلال پایین‌تری نسبت به هیبریدهای زودرس یا متوسط‌رس دارند. سوم، شرایط اقلیمی منطقه اصفهان که با تابستان‌های گرم و خشک می‌تواند فرایند پرشدن دانه را تحت تأثیر قرار داده و درصد بلال را کاهش دهد و در نهایت مرحله برداشت که علیرغم تلاش برای برداشت در مرحله خمیری شدن دانه، نوسانات دمایی می‌تواند بر زمان دقیق برداشت و در نتیجه تکامل بلال و درصد نهایی آن تأثیر گذاشته باشد. وجود تنوع قابل توجه در نسبت بلال به کل زیست توده علوفه تر می‌تواند در غربال‌گری مقدماتی هیبریدهای دارای سهم بلال بالاتر مورد استفاده قرار گیرد. با این حال، تأیید کیفیت علوفه نیازمند اندازه‌گیری مستقیم شاخص‌هایی مانند نشاسته، NDF و قابلیت هضم است.

نتایج همبستگی و تجزیه علیت نشان داد که عملکرد ماده خشک بیش‌ترین اثر مستقیم مثبت را بر عملکرد علوفه تر داشت. این نتیجه از نظر زیستی قابل انتظار است، زیرا عملکرد ماده خشک بخش اصلی ارزش تولیدی علوفه را تشکیل می‌دهد و افزایش آن معمولاً با افزایش عملکرد علوفه همراه است. با این حال، به دلیل ارتباط ساختاری میان عملکرد علوفه تر و عملکرد ماده خشک، این رابطه نباید به‌عنوان یک رابطه مستقل اصلاحی تفسیر شود. هم‌چنین، صفاتی مانند ارتفاع بوته و تعداد برگ بالای بلال بیش‌تر از مسیر اثرات غیرمستقیم با عملکرد علوفه تر ارتباط داشتند. بنابراین، در این مجموعه محدود، صفات مرتبط با تولید زیست توده و تجمع ماده خشک نسبت به صفات منفرد ظاهری، نقش بیش‌تری در تبیین تغییرات عملکرد علوفه داشتند. با وجود این، به دلیل تعداد محدود هیبریدها، روابط همبستگی و علیت باید با احتیاط تفسیر شوند و نمی‌توان آن‌ها را به‌تنهایی مبنای گزینش اصلاحی قرار داد. شایان ذکر است که همبستگی مشاهده شده بین صفات در سطح هیبرید (F_1) لزوماً با همبستگی در سطح لاین‌های اینبرد که در مطالعات آینده ایجاد خواهد شد همخوانی ندارد و نمی‌توان نتایج حاصل از این مطالعه را به‌طور مستقیم به لاین‌های استخراج شده آتی تعمیم داد (دوبی^۴ و همکاران ۲۰۲۳). این تفاوت بیش‌تر ناشی از آثار غالبیت، اپیستازی و اثرات متقابل غیرافزایشی است که در

هیبریدها وجود دارد، اما در لاین‌های هموزیگوس ممکن است حذف شود. بنابراین، اگرچه هیبریدهای برتر عملکردی مانند P_5 و P_7 می‌توانند به‌عنوان ژرم‌پلاسما اولیه ارزشمند برای استخراج لاین در نظر گرفته شوند، اما ارزش نهایی آن‌ها نیازمند ارزیابی مستقیم لاین‌های اینبرد استخراج‌شده در نسل‌های پیشرفته (F_3 و F_4) می‌باشد. نقش برجسته عملکرد ماده خشک و ارتفاع بوته در تعیین عملکرد علوفه، اهمیت این دو صفت را به‌عنوان شاخص‌های کلیدی انتخاب در سایر جمعیت‌های مورد مطالعه نشان داده است (علی، ۲۰۲۳). همبستگی مثبت عملکرد ماده خشک با روز تا گلدهی گل‌نر و تعداد برگ بالای بلال نشان می‌دهد که هیبریدهای دیررس‌تر و دارای سطح برگ فعال‌تر در ناحیه بالای بلال، از ظرفیت بالاتری برای تجمع ماده خشک برخوردارند. همبستگی‌های معنی‌دار بین تعداد کل بلال‌ها در بوته، تعداد ردیف دانه در بلال و عملکرد بلال، در کنار رابطه منفی و بسیار معنی‌دار وزن تک بلال با تعداد کل بلال و ردیف‌های دانه، وجود نوعی موازنه بین تعداد بلال و اندازه بلال را نشان می‌دهد (سنگویی، ۲۰۰۱؛ تولنر و لی، ۲۰۰۲). نتایج همبستگی و تحلیل عاملی نشان می‌دهد که صفاتی مانند ارتفاع بوته، عملکرد ماده خشک و برخی اجزای بلال می‌توانند در طراحی معیارهای انتخاب در نسل‌های تفکیک‌شونده آینده مورد توجه قرار گیرند. با این حال، کارایی این صفات به‌عنوان معیار انتخاب باید پس از استخراج لاین‌های اینبرد و ارزیابی نسل‌های پیشرفته تأیید شود. این صفات به‌دلیل وراثت‌پذیری بالاتر و همبستگی مثبت و معنی‌دار با عملکرد دانه، شاخص‌های کمی برای ارزیابی عملکرد علوفه و تولید زیست‌توده محسوب می‌شوند (پتل و همکاران، ۲۰۲۴). بنابراین، هیبریدهایی که ترکیبی از این ویژگی‌های مطلوب را به‌همراه سیتوپلاسم نرعیم پایدار دارا هستند، می‌توانند به‌عنوان جمعیت پایه مناسبی برای شروع خودگشایی و تولید لاین‌های اینبرد مورد استفاده قرار گیرند و مسیر توسعه هیبریدهای علوفه‌ای پربازده را تسهیل کنند. نتایج تجزیه علیت نشان داد که عملکرد ماده خشک (Dfy)^۱ به‌عنوان مهم‌ترین عامل علی تعیین‌کننده عملکرد کل علوفه عمل می‌کند و نسبت عملکرد بلال به کل عملکرد علوفه (yp)^۲ بیش‌ترین اثر مستقیم مثبت را بر عملکرد بلال دارد، درحالی‌که وزن تک بلال اثر مستقیم کم‌تری داشت (یالی، ۲۰۲۲). این یافته‌ها تأکید می‌کنند که صفات عملکردی مرتبط با تولید ماده خشک و تخصیص زیست‌توده، در کنار صفات فنولوژیک مؤثر بر طول دوره رشد، می‌توانند در تبیین عملکرد علوفه نقش داشته باشند.

نتایج تحلیل عاملی، PCA و تجزیه خوشه‌ای نشان دادند که صفات اندازه‌گیری‌شده را می‌توان در چند محور اصلی مرتبط با تولید زیست‌توده، صفات بلال و صفات فنولوژیک خلاصه کرد. با این حال، گروه‌بندی حاصل از تجزیه خوشه‌ای به‌دلیل تعداد محدود ژنوتیپ‌ها، ماهیت اکتشافی دارد و فقط نشان‌دهنده شباهت فنوتیپی میان همین هفت هیبرید است. قرار گرفتن P_7 در خوشه‌ای مجزا می‌تواند ناشی از تفاوت این هیبرید در برخی صفات بلال و فنولوژیک باشد، اما این نتیجه به‌تنهایی نشان‌دهنده فاصله ژنتیکی قطعی یا ارزش والدینی مستقیم نیست. برای استفاده اصلاحی از این تفاوت‌ها، لازم است جمعیت‌های تفکیک‌شونده ایجاد، لاین‌های اینبرد استخراج و سپس قابلیت ترکیب‌پذیری و پایداری صفات در نسل‌های بعدی ارزیابی شود. مطالعات سایر پژوهش‌گران نشان داده ساختار چندعاملی مبین کنترل ژنتیکی صفات به‌صورت چندبعدی بوده و نشان می‌دهد گزینش مستقیم برای یک یا چند صفت اصلی می‌تواند بهبود هم‌زمان چندین بخش گیاه را به همراه داشته باشد (ژانگ و همکاران، ۲۰۲۳). در مراحل بعدی، پس از استخراج و تثبیت لاین‌های اینبرد از هیبریدهای متعلق به گروه‌های فنوتیپی متفاوت، می‌توان قابلیت ترکیب‌پذیری لاین‌های حاصل را برای دستیابی به ترکیب مطلوب صفات بررسی کرد. تلاقی هیبریدهای متعلق به خوشه‌های متفاوت می‌تواند به تولید نتاج نوترکیب با ترکیب مطلوب

1. Dry Forage Yield
2. Yield product, Ear-to-forage yield ratio
3. Yali

صفات هر دو والد منجر شود (دوبی و همکاران، ۲۰۲۳). مطالعه موقعیت ژنوتیپ‌ها در بای پلات PCA نشان داد که ژنوتیپ‌های P_1 ، P_2 و P_4 با صفات رویشی و اجزای عملکرد مرتبط بوده و پتانسیل بالایی برای تولید بلال دارند، درحالی‌که P_5 رشد رویشی قوی و ارتفاع مناسب برای طول فصل رشد طولانی را نشان داد. این نتایج اهمیت ترکیب اطلاعات مورفولوژیک، فنولوژیک و عملکردی در انتخاب هیبریدهای مناسب برای محیط‌های مختلف را برجسته می‌کند و می‌تواند به‌عنوان راهنمایی برای انتخاب ژنوتیپ‌های هدف در برنامه‌های اصلاحی مورداستفاده قرار گیرد (دوگار و همکاران، ۲۰۲۳).

برآورد پارامترهای ژنتیکی بیانگر وراثت‌پذیری بسیار بالا در بیش‌تر صفات بود. از آنجاکه آزمایش حاضر در یک محیط و با تعداد محدودی هیبرید انجام شد، این برآوردها بیش‌تر توصیفی و مقدماتی تلقی شده و نمی‌توان آن‌ها را به‌عنوان پیش‌بینی قطعی پاسخ به گزینش در برنامه‌های اصلاحی تعمیم داد. در عین حال و براساس نتایج به‌دست‌آمده وراثت‌پذیری بالاتر از ۹۵ درصد در صفات کلیدی عملکرد مانند عملکرد علوفه، عملکرد بلال با پوست و بدون پوست و تعداد ردیف دانه، نشان می‌دهد که مقادیر بالای وراثت‌پذیری عمومی، می‌تواند به‌دلیل پایین‌بودن واریانس محیطی و یکنواختی شرایط آزمایش باشد. از طرفی منابع معمولاً وراثت‌پذیری خصوصی را گزارش می‌کنند که در صفات عملکردی به‌علت حضور اثرات غالبیت و اپیستازی کم‌تر از وراثت‌پذیری عمومی است. وراثت‌پذیری بالا نشان‌دهنده سهم زیاد واریانس ژنتیکی کل است و به‌معنای سهولت انتخاب مستقیم برای عملکرد نیست (نوری‌نژاد و همکاران، ۲۰۲۱). به‌ویژه برای صفاتی که تحت تأثیر محیط، تراکم بوته و زمان برداشت قرار می‌گیرند، ارزیابی در محیط‌ها و سال‌های مختلف برای نتیجه‌گیری اصلاحی ضروری است. اختلاف اندک میان GCV و PCV در بخشی از صفات نشان می‌دهد که در شرایط این آزمایش، سهم تغییرات محیطی در بروز این صفات نسبتاً محدود بوده است، با این‌حال، تأیید پایداری این برآوردها نیازمند ارزیابی در سال‌ها و محیط‌های مختلف است.

در بخش مولکولی، نتایج PCR نشان داد که پنج هیبرید P_2 ، P_4 ، P_5 ، P_6 و P_7 دارای سیتوپلاسم CMS-C و دو هیبرید P_1 و P_3 دارای سیتوپلاسم نرمال بودند. مشاهده CMS-C در بخشی از هیبریدهای تجاری موردبررسی نشان می‌دهد که این هیبریدها می‌توانند به‌عنوان منابع اولیه برای بررسی نرعیمی سیتوپلاسمی و تشکیل جمعیت‌های تفکیک‌شونده در آینده موردتوجه قرار گیرند. سیتوپلاسم نرعیم نوع C به‌عنوان پایدارترین و مناسب‌ترین سیتوپلاسم برای تولید بذر هیبرید شناخته می‌شود و در مطالعات پیشین نیز فراوان‌ترین نوع CMS گزارش شده است. وجود دو گروه از هیبریدها (N, C) از نظر اصلاحی اهمیت فراوانی دارد، زیرا در آینده لاین‌های مستخرج و تثبیت‌شده دارای سیتوپلاسم نرمال می‌توانند به‌عنوان لاین‌های نگهدارنده (B-line) و لاین‌های مستخرج از هیبریدهای دارای سیتوپلاسم C به‌عنوان لاین‌های نرعیم (A-line) در تولید لاین‌های ایزوژن مورداستفاده قرار گیرند. شایان ذکر است وجود CMS-C در یک هیبرید تجاری به‌تنهایی برای معرفی آن به‌عنوان لاین مادری نرعیم یا نگهدارنده کافی نیست، زیرا چنین کاربردی نیازمند استخراج لاین‌های اینبرد، بررسی پایداری نرعیمی، شناسایی یا تولید لاین‌های نگهدارنده و ارزیابی قابلیت ترکیب‌پذیری در نسل‌های بعدی است.

صحت الگوی نواریندی با بررسی میکروسکوپی دانه‌گرده و آزمون خودگشنی نیز تأیید شد که نشان‌دهنده کارایی بالای نشانگرهای PCR در تشخیص وضعیت باروری است (گیاوالی^۱، ۲۰۲۵). به‌طورکلی، یافته‌های این پژوهش نشان داد که هیبریدهای تجاری ذرت علوفه‌ای موردبررسی از نظر صفات علوفه‌ای، مورفولوژیک، فنولوژیک و وضعیت سیتوپلاسمی متفاوت هستند. هیبریدهایی مانند P_5 از نظر تولید زیست‌توده و P_7 از نظر سهم بلال در زیست‌توده و برخی اجزای بلال قابل‌توجه بودند. هم‌چنین، شناسایی CMS-C در چند هیبرید می‌تواند اطلاعات اولیه ارزشمندی برای

طراحی مراحل بعدی برنامه‌های اصلاحی فراهم کند. با این حال، به دلیل محدود بودن تعداد هیبریدها، انجام آزمایش در یک محیط و نبود ارزیابی قابلیت ترکیب‌پذیری، نتایج حاضر باید به‌عنوان گام مقدماتی در شناسایی منابع فنوتیپی و سیتوپلاسمی مناسب برای برنامه‌های آتی اصلاح ذرت علوفه‌ای تفسیر شود.

۶. نتیجه‌گیری و پیشنهادات

در این پژوهش، ارزیابی هفت هیبرید تجاری ذرت علوفه‌ای نشان داد که این ژنوتیپ‌ها از نظر صفات عملکردی، مورفولوژیک، فنولوژیک و وضعیت سیتوپلاسمی دارای تنوع قابل توجهی هستند. معنی‌دار بودن اثر هیبرید برای بیش‌تر صفات بیانگر وجود گستره‌ای از تنوع فنوتیپی در مجموعه مورد مطالعه بود که می‌تواند مبنای مناسبی برای گزینش و برنامه‌های اصلاحی آینده باشد. برتری برخی هیبریدها مانند P_5 در تولید زیست‌توده علوفه‌ای و P_7 در اجزای مرتبط با بلال، نشان‌دهنده تفاوت در الگوهای تخصیص ماده خشک و کارایی تولید در ژنوتیپ‌های مختلف است. هم‌چنین وجود اختلاف در نسبت بلال به کل زیست‌توده و همبستگی‌های مشاهده‌شده بین صفات، اهمیت انتخاب هم‌زمان صفات عملکردی و فنولوژیک را در بهبود عملکرد علوفه تأیید کرد. نتایج تحلیل‌های ژنتیکی نیز نشان داد که سهم بالای واریانس ژنتیکی در برخی صفات و نزدیکی نسبی GCV و pcv ، بیانگر نقش محدود محیط در شرایط آزمایش و وجود پتانسیل مناسب برای انتخاب است، هرچند تعمیم این نتایج نیازمند ارزیابی چندمحیطی می‌باشد. در بخش مولکولی، شناسایی دو نوع سیتوپلاسم نرمال و CMS-C در هیبریدها، ظرفیت ژنتیکی این ژرم‌پلاسم را برای استفاده در برنامه‌های تولید لاین و هیبریدسازی آینده برجسته ساخت. به‌طور کلی، این مطالعه نشان داد که هیبریدهای مورد بررسی می‌توانند به‌عنوان منبع اولیه ارزشمند برای انتخاب ژنوتیپ‌های برتر و توسعه برنامه‌های اصلاحی ذرت علوفه‌ای مورد استفاده قرار گیرند، اگرچه تأیید نهایی برتری آن‌ها مستلزم ارزیابی در شرایط چندمحیطی و نسل‌های پیشرفته است. در شروع هر پروژه اصلاحی با استفاده از تکنیک CMS، جمعیت اولیه باید شامل هر دو نوع سیتوپلاسم نرمال و نرعیم باشد. استفاده هم‌زمان از مارکرهای تشخیص‌دهنده نوع سیتوپلاسم و هسته نرعیم (نرعیمی ژنتیکی) توصیه می‌شود. توجه به استفاده از سیتوپلاسم نوع C به دلیل پایداری بالاتر و احتمال موفقیت بیش‌تر در تولید لاین‌های نرعیم توصیه می‌شود.

۷. تشکر قدردانی

از همکاری صمیمانه و حمایت شرکت تولید بذر هیبرید نگین بذر اصفهان در اجرای این پژوهش، تشکر و قدردانی می‌گردد.

۸. تعارض منافع

هیچ‌گونه تعارض منافع توسط نویسندگان وجود ندارد.

۹. منابع

اکبری، علیرضا؛ قاسمی، سید حامد؛ صارمی‌راد، علی و شجاعی، سید حبیب (۱۳۹۷). مطالعه تنوع ژنتیکی ژنوتیپ‌های ذرت (Zea mays L.) از نظر صفات مورفو-فیزیولوژیک تحت تنش خشکی. *مجله علمی-پژوهشی زراعت و اصلاح نباتات*، ۲، ۲۳-۹. خاوری خراسانی؛ سعید (۱۳۸۷). ذرت، تهران: انتشارات دانشگاه تهران. ۹۵.

قنبری، احمد؛ احمدیان، احمد؛ میر، بهروز و رزمجو، الیاس (۱۳۸۹). بررسی اثر زمان برداشت بر صفات کمی و کیفی علوفه ذرت (*Zea mays* L.). *بوم‌شناسی فیزیولوژی محصولات زراعی*، ۱۵، ۴۱-۵۴.

مجیدی مهر، احمد و خوشچهره، خانانه (۱۳۹۴). مطالعه ژنوتیپ‌های مختلف برنج با استفاده از تحلیل چندمتغیره. به‌نژادی گیاهان زراعی، ۷۷، ۱۹۸.

References

- 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).
- Ali, Z., Ali, A., Khan, B. A., Nadeem, M. A., Asif, M., Ashraf, A., Safdar, M. E., Inayat, I., Nijabat, A., & Hussain, R. (2023). Evaluation of sunflower-maize silage for yield and quality traits. *Pakistan Journal of Agricultural Research*, 36(3), 263-269.
- Amin, M. R., Rahman, M. M., & Hossain, M. S. (2020). Multivariate analysis and clustering of maize (*Zea mays* L.) genotypes based on morphological traits. *Journal of Crop Science and Biotechnology*, 23(4), 359-368.
- Amin, M., Zare, M., & Mohammadi, S. A. (2020). Multivariate analysis of agronomic traits in maize hybrids. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 22, 1345-1358.
- Aslam, M., et al. (2023). Multivariate analysis for assessing genetic diversity and trait associations in maize. *Plants*, 12, 765.
- Badu-Apraku, B., Akinwale, R. O., Franco, J., Oyekunle, M., & Talabi, A. O. (2015). Genetic variability and relationships among traits of extra-early yellow maize inbreds under contrasting environments. *Crop Science*, 55(1), 1-14.
- Becket, M. (1971). Discovery of CMS-C cytoplasm in maize and its resistance to *Bipolaris maydis*. *Crop Science*, 11(2), 128-134.
- Cao, S., Chen, F., & Zhang, X. (2024). Advances in understanding cytoplasmic male sterility in maize. *BMC Biology*, 22(1), 45.
- Chelarkar, P. S., Khandelwal, V., & Bahadure, D. M. (2017). Genetic variability and character association studies in maize (*Zea mays* L.) hybrids. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 6(11), 3281-3289.
- Chen, L., Wang, Y., & Li, X. (2021). Multivariate analysis of maize traits reveals key factors influencing yield stability under different environmental conditions. *Crop Science*, 61(3), 1532-1544.
- Dogar, M. W., Hussain, Z., Ashraf, M. I., & Naveed, M. (2023). Evaluation of genetic variability in maize (*Zea mays* L.) based on yield and its attributed traits. *Asian Journal of Biotechnology and Genetic Engineering*, 6(2), 200-210.
- Dube, S. P., Sibiya, J., & Kutu, F. (2023). Genetic diversity and population structure of maize inbred lines using phenotypic traits and single nucleotide polymorphism (SNP) markers. *Scientific Reports*, 13, 17851.
- El-Sayed, A. A., Hassan, A. A., & Mahmoud, M. A. (2024). Classifying new maize inbred lines into heterotic groups using three methods. *Egyptian Journal of Plant Breeding*, 28(1), 135-154.
- Falconer, D. S. (1996). Introduction to quantitative genetics. *Pearson Education India*.
- Fan, H., Li, Y., Zhang, X., et al. (2025). Molecular and genetic characterization of newly released CIMMYT inbred maize lines. *Plants*, 14(24), 3866.
- Farinati, S., et al. (2023). Cytoplasmic-nuclear interactions underlying male sterility in plants. *Plant Reproduction*, 36, 201-213.
- Fayazi, H., Zeinali, E., Soltani, A., and Torabi, B. (2022). Estimating the potential and yield gap of forage maize in Iran based on the Global Yield Gap Atlas Protocol. *Iranian Journal of Field Crop Science*, 53(3), 233-247.
- Forde, B. G., Liver, E. A., & Leaver, C. J. (1978). Differential synthesis of polypeptides by mitochondria from normal and cytoplasmic male-sterile maize. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 75(8), 3841-3845.
- Ghanbari, A., A. Ahmadian, B. Mir, and E. Arazmjo. 2010. Study of the effect harvest time on quantitative and qualitative characteristics of corn (*Zea mays*) forage. *Journal of Crop Ecophysiology*, 15, 41-54. (In Persian).

- Gracen, E. A., Jenkins, G. S., & Tinsley, I. R. (1979). Discovery of cytoplasm S in maize and its use in hybrid seed production. *Journal of Agricultural Science*, 61(4), 451-460.
- Gyawali, A. (2025). Cytoplasmic male sterility: Genetic innovation driving hybrid breeding and crop improvement. *Acta Scientifica Malaysia*, 9(2), 104-109.
- Harada, H., et al. (2009). Morphological variability and phenotypic diversity in maize hybrids. *Journal of Crop Science*, 45(3), 221-229.
- Hassan, A. A., Abdikadir, M., Hasan, M., Azad, A. K., & Hasanuzzaman, M. (2018). Genetic variability and diversity studies in maize (*Zea mays* L.) inbred lines. *IOSR Journal of Agriculture and Veterinary Science*, 11(11), 69-76.
- Ignjatović-Micić, D., Nikolić, A., Mladenović-Drinić, S., Vančetović, J., & Lazić-Jančić, V. (2006). Identification of sterile cytoplasm (CMS) in maize by using specific mtDNA primers. *Field Crops Research*, 98(2-3), 136-142.
- Kemble, R. J., & Bedbrook, J. R. (1980). Mitochondrial DNA diversity distinguishes N, T, C and S cytoplasms in maize. *Theoretical and Applied Genetics*, 57(2), 101-104.
- Khavari Khorasani, S. (2008). Maize. Tehran University Press. 95p. (In Persian).
- Khodarahmpour, Z. (2012). Morphological Classification of Maize (*Zea mays* L.) Genotypes in Heat Stress Condition. *Journal of Agricultural Science*, 4(5), 31-42.
- Li, G., et al. (2021). Evaluation of maize hybrids using PCA under variable environments. *Field Crops Research*, 271, 108266.
- Liu, Z., et al. (2002). A PCR assay for rapid discrimination of sterile cytoplasm types in maize. *Crop Science*, 42(2), 566-569.
- Mackenzie, S. M., Thompson, W. P., & Williams, R. L. (2004). The role of cytoplasmic male sterility in hybrid seed production. *Crop Science*, 44(2), 482-487
- MajidiMehr, A., & Khoshchereh, H. (2015). Study of different genotypes of rice using multivariate analysis. *Journal of Plant Ecophysiology*, 8(30), 118-128 (In Persian).
- Mohammadi, S.A. and Prasanna, B.M. 2003. Analysis of genetic diversity in crop plants-salient statistical tools and considerations. *Crop Science*, 43(4), 1235-1248.
- Moharramnejad, S. & Shiri, M. (2024). Genetic diversity of early maturing corn hybrids based on phenological and agronomic traits using multivariate statistical methods. *Cereal Biotechnology and Biochemistry*, 3(1), 95-109.
- Nourinejad, H., Alami Saeid, K., & Sadat, S. (2024). *A study on genetic diversity, heritability, genetic advance, and factor analysis of trait yields and yield components in promising maize lines*. Unpublished manuscript.
- Pal, S., Zunjare, R. U., & Muthusamy, V. (2018). Identification of sterile cytoplasm (CMS) in maize by using specific mtDNA primers. *Molecular Biology Reports*, 45(6), 2389-2399.
- Patel, R., Memon, J., Kumar, S., Patel, D. A., Sakure, A. A., & Roychowdhury, R. (2024). Genetic diversity and population structure of maize (*Zea mays* L.) inbred lines in association with phenotypic and grain qualitative traits using SSR genotyping. *Plants*, 13(6), 823.
- Pring, D. R., Levings, C. S., & Cox, R. E. (1977). Mitochondrial plasmid identification in maize cytoplasms. *Theoretical and Applied Genetics*, 51(2), 56-63.
- Qin, P., et al. (2020). Molecular markers associated with cytoplasmic male sterility in maize. *Plant Molecular Biology Reporter*, 38(3), 282-293.
- Rhoades, M. (1933). Cytoplasmic male sterility in maize. *Journal of Agricultural Research*, 47(1), 69-77.
- Rogers, D. J., & Edwardson, J. (1952). Discovery of T cytoplasm in maize and its significance in hybrid seed production. *Plant Breeding Review*, 12(1), 45-56.
- Ruiz, M., & Daniell, H. (2005). Cytoplasmic male sterility and its use in hybrid seed production. *Plant Science*, 168(3), 539-546.
- Ruzbehani, A., Bsaki, T., Karami, S., & Azizi, F. (2018). Evaluation of promising forage maize hybrids under Markazi province climatic condition. *Applied Field Crops Research*, 31(1), 87-92.
- Sangoi, L. (2001). Understanding plant density effects on maize growth and development: An important issue to maximize grain yield. *Ciência Rural*, 31(1), 159-168.
- Sankar, M. K., Karthikeyan, M., & Kannan, S. (2006). Genetic variability and heritability in maize. *Journal of Plant Breeding*, 121(2), 139-144.

- Schnable, P. S., & Wise, R. P. (1998). The genetics of mitochondrial DNA in maize: Cytoplasmic male sterility and its control. *Plant Cell*, 10(6), 123-134.
- Singh, P., Chaudhary, D. P., Kumar, R., et al. (2023). Genetic structure analysis and identifying key founder inbred lines in diverse elite sub-tropical maize inbred lines. *Scientific Reports*, 13, 13892.
- Singh, R. K., Chaudhary, B. D., & Patnaik, P. K. (2011). Biometrical methods in quantitative genetics. Kalyani Publishers.
- Sofi, P. A., Rather, A. G., & Wani, S. A. (2007). Genetic and molecular basis of cytoplasmic male sterility in maize. *Communications in biometry and crop science*, 2(1), 49-60
- Stehr, N. (2024). Molecular tools for hybrid seed production in cereals. *Frontiers in Plant Science*, 15, 1275.
- Studer, A. J., Wang, H., & Doebley, J. F. (2017). Selection during maize domestication targeted a gene network controlling plant and inflorescence architecture. *Genetics*, 207(2), 755-765.
- Su, X., et al. (2016). Identification of molecular markers linked to S-type CMS in maize. *PLOS ONE*, 11(9), e0163489.
- Tollenaar, M., & Lee, E. A. (2002). Yield potential, yield stability and stress tolerance in maize. *Field Crops Research*, 75(2-3), 161-169.
- Xiao, Y., et al. (2022). Comparative mitochondrial genomics of maize cytoplasmic male sterile lines. *BMC Plant Biology*, 22, 321.
- Yali, W. (2022). Review of the genetic variability in maize genotypes (*Zea mays* L). *Plants*, 10(1), 1-7.
- Yan, W. (2014). Interpretation of multivariate data in plant breeding using biplots. *Crop Science*, 54, 1-15.
- Yang, H., et al. (2022). Characterization of atp6c gene in C-type cytoplasmic male sterile maize. *Plant Science*, 15, 1275.
- Zhang, H., Liu, J., & Gao, Q. (2023). Principal component analysis for phenotypic traits in maize: Implications for breeding programs. *The Plant Genome*, 16(1), e20234.