

DOR: 20.1001.1.23223243.2021.19.1.29.0

گزینش ژنومی برای عملکرد دانه ژنوتیپ‌های ذرت (*Zea mays* L.) در شرایط بدون تنش و تنش کمبود فسفر

Genomic selection for grain yield in maize (*Zea mays* L.) genotypes under non-stress and phosphorous deficiency stress conditions

مینا غلامی اصل^۱، رضا درویش زاده^۲، امیر فیاض مقدم^۳ و هادی علی پور^۴

چکیده

غلامی اصل، م.، ر. درویش زاده، ا. فیاض مقدم و ه. علی پور. ۱۴۰۳. گزینش ژنومی برای عملکرد دانه ژنوتیپ‌های ذرت (*Zea mays* L.) در شرایط بدون تنش و تنش کمبود فسفر. نشریه علوم زراعی ایران. ۲۶ (۳): ۳۸۹-۳۶۹.

در این تحقیق ۹۳ ژنوتیپ ذرت با هدف ارزیابی عملکرد دانه در شرایط بدون تنش و تنش کمبود فسفر در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در شرایط گلدانی و در فضای باز در بهار سال ۱۴۰۱ در دانشکده کشاورزی دانشگاه ارومیه ارزیابی شدند. پروفیل مولکولی لاین‌های ذرت با نشانگرهای SNP تهیه شد. ارزش‌های اصلاحی ژنومی با روش‌های آماری GBLUP، rrBLUP، روش‌های ییزین شامل رگرسیون ریز (Bayesian ridge regression)، ییز A (Bayes A)، ییز B (Bayes B) و ییز C (Bayes C) برای صفت عملکرد دانه در هر یک از شرایط بدون تنش و تنش کمبود فسفر برآورد شدند. برای انتخاب بهترین مدل از معیار همبستگی استفاده شد. نتایج نشان داد که بین ارزش‌های اصلاحی برآورد شده با رگرسیون ریز (rrBLUP) و ژنومیک بلاپ (GBLUP) و عملکرد دانه در هر دو شرایط بدون تنش و تنش کمبود فسفر همبستگی بالایی وجود داشت. بر این اساس، این دو روش بهترین روش برای برآورد ارزش اصلاحی ژنومی (Estimated genomic breeding value; EGBV) در هر دو شرایط بدون تنش و تنش کمبود فسفر شناخته شدند. بر اساس بهترین روش‌ها، ژنوتیپ Ma064 در شرایط بدون تنش و ژنوتیپ Ma022 در شرایط تنش کمبود فسفر، بالاترین ارزش اصلاحی ژنومی را داشتند. بر اساس نتایج تجزیه به عامل‌ها، در شرایط بدون تنش، شاخص‌های آماری برآورد کننده ارزش‌های اصلاحی ژنومی در چهار مؤلفه اصلی و در شرایط تنش کمبود فسفر در سه مؤلفه اصلی گروه‌بندی شدند. بر اساس نتایج تجزیه خوشه‌ای ارزش‌های اصلاحی، ژنوتیپ‌های ذرت به سه گروه تقسیم شدند. گروه اول در هر دو شرایط بدون تنش و تنش کمبود فسفر ارزش اصلاحی و عملکرد بالایی داشتند. در تحلیل ارتباط در گستره ژنوم برای عملکرد دانه در شرایط بدون تنش و تنش کمبود فسفر به ترتیب چهار و پنج نشانگر SNP با روش MLM شناسایی شدند. هستی‌شناسی ژن برای توالی‌های ژنی مرتبط با SNPsهای شناسایی شده انجام شد و ارتباط ژن‌ها در پایگاه داده KEGG بررسی شد. مسیرهای Ribosome، Steroid biosynthesis، Proteasome، Porphyrin metabolism و ABC transporters مرتبط با SNPsهای معنی‌دار شناسایی شدند که به‌طور بالقوه در کنترل عملکرد دانه ژنوتیپ‌های ذرت در شرایط تنش کمبود فسفر نقش دارند. نتایج نشان داد که ژن‌های قرار گرفته در این مسیرها روی کروموزوم‌های ۱، ۲، ۶ و ۸ ذرت قرار دارند.

واژه‌های کلیدی: ارزش اصلاحی ژنومی، چندشکلی تک نوکلئوتیدی، ذرت، کمبود فسفر و هستی‌شناسی ژن

Genomic selection for grain yield in maize (*Zea mays* L.) genotypes under non-stress and phosphorous deficiency stress conditions

Gholamiasl, M.¹, Darvishzadeh, R.², Fayaz Moghaddam, A.³ and Alipour, H.³

ABSTRACT

Gholamiasl, M., Darvishzadeh, R., Fayaz Moghaddam, A. and Alipour, H. 2025. Genomic selection for grain yield in maize (*Zea mays* L.) genotypes under non-stress and phosphorous deficiency stress conditions. *Iranian Journal of Crop Sciences*. 26(1): 369-389. (In Persian).

Introduction: Maize is the third most important grain crop in the world for food and feed and high grain and biomass production is of importance to ensure food supply and security. Phosphorus deficiency stress in the soil reduces the root access to phosphorus, resulting in disruption of photosynthesis and reduction in plant performance. Due to the lack of availability of adequate phosphorus for plants, the production and development of crop cultivars tolerant to phosphorus deficiency is very important objective in crop breeding programs. Since phenotypic selections are time-consuming with low efficiency, genotypic selections have been proposed as an alternative approach. In genomic selection, with the help of genome wide markers, the breeding value is estimated and selections are facilitated (Robertson *et al.*, 2019).

Materials and Methods: In this experiment, 93 maize genotypes were evaluated for grain yield using completely randomized design with three replications under non-stress and phosphorus deficiency treatments in potted conditions in an open area in Urmia University, Iran during the spring of 2022. The molecular profile of maize lines was prepared with SNP markers. The genomic breeding value for the yield was estimated with different statistical methods such as Genomic Best Linear Unbiased Prediction (GBLUP), Ridge Regression Best Linear Unbiased Prediction (rrBLUP), Bayesian Ridge regression, bayes A, bayes B, and bayes C. Correlation criteria was used to select the best model. According to the results, a high correlation was observed between the estimated breeding values obtained from rrBLUP and GBLUP and seed yield under both non-stress and phosphorus deficit stress conditions. Therefore, these methods were the best for predicting genomic breeding value (Estimated Genomic Breeding Values; EGBVs) in both conditions.

Results: Analysis of variance showed significant differences among maize genotypes for grain yield under both non-stress and low phosphorus stress conditions, indicating genetic variation in the studied maize genotypes for grain yield. Genetic variation in maize genotypes plays vital role in enhancing phosphorus use efficiency and grain yield under phosphorus deficit conditions. In predicting genomic breeding values for grain yield by using various statistical models under both non-stress and phosphorus deficiency stress conditions, high correlation coefficient was observed between the estimated breeding values by using Ridge Regression Best Linear Unbiased Prediction (rrBLUP) and Genomic Best Linear Unbiased Prediction (GBLUP) with grain yield in both conditions. Therefore, these methods are the best approaches for predicting genomic breeding values (EGBV) in both conditions. Based on the best methods, Ma064 had the highest genomic breeding value under non-stress conditions, while Ma022 had the highest genomic breeding value under phosphorus deficit conditions. Based on the results of factor analysis on genomic breeding values estimated by using statistical models, under non-stress conditions, the models were grouped into four main components, and under phosphorus deficiency stress conditions, they were grouped into three main components. Cluster analysis divided maize genotypes into three groups. The first group showed high breeding values and grain yield under both non-stress and phosphorus deficiency stress conditions. In the genome-wide association analysis for grain yield under non-stress and phosphorus deficiency stress conditions, four and five SNP markers were identified using the MLM method, respectively. Gene ontology analysis was performed for the gene associated with the identified SNPs, and the relationships of the genes were examined in the KEGG database. The pathways of Proteasome, Steroid biosynthesis, Ribosome, Porphyrin metabolism, and ABC transporters were identified to be associated with significant SNPs that potentially play a role in controlling grain yield under stress conditions. The genes located in these pathways were found on chromosomes 1, 2, 6, and 8.

Conclusion: In phosphorus deficiency stress conditions, the plant's roots have less access to phosphorus, consequently, photosynthesis and transpiration processes are affected, and ultimately leading to a significant decrease in plant performance. This issue was confirmed by comparing maize genotypes performance under non-stress and phosphorus deficiency conditions. Based on the coefficient of variation (CV), high variation was observed among the maize genotypes, and the genotypes under stress conditions exhibited different responses and showed high variability. Based on the results of genomic selection study, the Ridge Regression Best Linear Unbiased Prediction (rrBLUP) and Genomic Best Linear Unbiased Prediction (GBLUP) were the best methods for predicting genomic breeding values under both non-stress and phosphorus deficiency stress conditions. To identify the genes involved in controlling grain yield, the sequences of significant SNP were aligned against the maize genome. Based on the gene ontology studies for potential genes, Proteasome, Steroid biosynthesis, Ribosome, Porphyrin metabolism, and ABC transporters pathways were identified to controlling the trait. The results of this experiment can be useful in selecting parental lines as well as effective genes for manipulation in maize breeding programs.

Key words: Gene ontology, Genomic breeding value, Maize, Phosphorus deficiency and Single nucleotide polymorphism

Received: January, 2025 Accepted: May, 2025

1. MSc. Graduate, Urmia University, Urmia, Iran

2. Professor, Urmia University, Urmia, Iran (Corresponding author, ✉ r.darvishzadeh@urmia.ac.ir)

3. Associate Prof., Urmia University, Urmia, Iran

4. Associate Prof., Urmia University, Urmia, Iran

مقدمه

ذرت (*Zea mays* L.) پس از گندم و برنج از مهم ترین محصولات غذایی دنیا بوده و در بین غلات بیشترین تنوع مصرف را دارا می باشد. در سال ۲۰۲۳ سطح زیر کشت ذرت دانه ای در جهان ۲۰۸۲۳۴۱۴۰ هکتار و در ایران ۵۴۲۲۵ هکتار بوده است (FAO, 2023).

فسفر از عناصر اصلی مورد نیاز برای رشد و نمو گیاهان است. فسفر از اجزای ساختمانی مولکول های حیاتی مانند نوکلئیک اسیدها، فسفولیپیدها و ATP بوده و در کنترل واکنش های آنزیمی و تنظیم مسیرهای متابولیکی نقش اساسی دارد. فسفر پس از نیتروژن یک عامل کلیدی برای افزایش عملکرد است و در بین غلات ذرت به آن نیاز بیشتری دارد (Kettering and Czymmek, 2020). حد بحرانی فسفر خاک ۱۵ میلی گرم بر کیلوگرم خاک بوده و محتوای فسفر ۷۱/۸ درصد از خاک های کشور کمتر از حد بحرانی است (Shahbazi and Besharati, 2013). در گیاهان فسفر کارا در مواجهه با تنش کمبود فسفر، برخی از تغییرات مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی، بیوشیمیایی و مولکولی صورت می گیرد تا بتوانند فسفر کافی جذب نمایند (Vance et al., 2003).

پایه و اساس به نژادی متداول، گزینش فنوتیپی است. به نژاد گران با تکیه بر مهارت و تجربه و بر اساس فنوتیپ بهترین افراد را از نسل در حال تفرق گزینش می کنند. در دهه ۱۹۷۰ هندرسون بهترین پیش بینی نااریب خطی (Best Linear Unbiased Prediction; BLUP) را پیشنهاد کرد که به پرکاربردترین روش ارزیابی ژنتیکی تبدیل شد. از دهه ۱۹۹۰ با پیشرفت در روش های مولکولی، تنوع ژنتیکی گسترده ای در ژنوم گیاهان آشکار شد. تعداد زیادی نشانگر مولکولی وجود دارند که به به نژاد گران این امکان را می دهند تا از نشانگرها برای به نژادی گیاهان استفاده نمایند. تجزیه ارتباط بر اساس پویش کل ژنوم ابزار

قدرتمندی برای شناسایی نشانگرهای مرتبط با صفات زراعی است. ذرت با گستردگی کشت، تنوع ژنتیکی بالا و افت سریع عدم تعادل پیوستگی (Linkage disequilibrium decay)، گیاه مناسبی برای تحلیل ارتباط در گستره ژنوم (Genome wide association studies; GWAS) است و ژن های متعددی با استفاده از GWAS در ذرت با موفقیت شناسایی شده اند (Xie et al., 2019). گزینش به کمک نشانگر (Marker assisted selection; MAS) به یک روش رایج در به نژادی مولکولی تبدیل شده است، اما این روش برای صفاتی که توسط تعداد کمی ژن بزرگ اثر کنترل می شوند، مناسب است، اما اکثر صفات اقتصادی ماهیت پیچیده ای داشته و توسط تعداد زیادی ژن با اثرات کوچک کنترل می شوند. تنها راه برای غلبه بر این محدودیت و استفاده از نشانگرهای مولکولی برای گزینش این گونه صفات، پیش بینی ارزش اصلاحی افراد جمعیت بر اساس پتانسیل کل ژنوم و راه اندازی گزینش ژنومی (Genomic selection) است که با توسعه نشانگرهای مبتنی بر توالی یابی از قبیل SNP، بیش از پیش رایج شده است (Meuwissen et al., 2001). گزینش ژنومی با تسریع چرخه های به نژادی، باعث افزایش نرخ سود ژنتیکی سالانه در واحد زمان و هزینه می شود. گزینش ژنومی روش مناسبی برای پیش بینی ارزش ژنتیکی ژنوتیپ های آزمایش نشده بر اساس داده های نشانگر در سطح ژنوم محسوب می شود (Robertson et al., 2019). گزینش ژنومی با فراهم آوردن اطلاعات کافی و مورد نیاز از کل ژنوم، به به نژاد گران کمک می کند تا قبل از ارزیابی های فنوتیپی، گزینش دقیقی انجام دهند. وجود هزاران نشانگر مولکولی که در سراسر ژنوم گسترده هستند، استفاده از گزینش ژنومی برای پیش بینی ارزش های ژنتیکی در گیاهان را امکان پذیر می سازد (Jannink et al., 2010). از جمله مطالعاتی که در ذرت در زمینه گزینش ژنومی انجام شده، می توان به گزینش

برای عملکرد دانه و مقاومت به بیماری پوسیدگی فوزاریومی اشاره کرد (Holland et al., 2020).

در این تحقیق گزینش ژنومی (برآورد ارزش اصلاحی ژنومی) برای عملکرد دانه در ذرت با استفاده از نشانگرهای SNP در شرایط بدون تنش و تنش کمبود فسفر انجام شده است. نتایج این تحقیق می‌تواند در گزینش والدین تلاقی برای به‌نژادی تحمل به تنش کمبود فسفر مورد استفاده قرار گیرد.

مواد و روش‌ها

در این تحقیق ۹۳ ژنوتیپ ذرت با هدف ارزیابی عملکرد دانه در شرایط بدون تنش و تنش کمبود فسفر در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در شرایط گلدانی و در فضای باز در بهار سال ۱۴۰۱ در محوطه تحقیقاتی گروه تولید و ژنتیک گیاهی دانشکده کشاورزی دانشگاه ارومیه ارزیابی شدند. بذر ژنوتیپ‌های ذرت از مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر، دانشگاه رازی کرمانشاه و مرکز تحقیقات کشاورزی خراسان رضوی تهیه شدند. ژنوتیپ‌های ذرت تهیه شده از دانشگاه رازی کرمانشاه عمدتاً از خودگشتی هیبریدهای تجاری اروپایی و یوگسلاوی سابق تولید شده بودند (جدول ۱). ژنوتیپ‌های ذرت به‌صورت لاین خالص بودند که از شجره آن‌ها اطلاعاتی در دسترس نیست. این ژنوتیپ‌ها در بانک ژن گیاهی دانشگاه ارومیه هر ساله تکثیر و نگهداری می‌شوند. اطلاعات آب و هوایی محل اجرای آزمایش در جدول ۳ ارائه شده است. مقدار بارندگی در سال اجرای آزمایش ۳۹۳/۱ میلی‌متر بود.

خاک‌های مناطق مختلف نمونه‌برداری و در آزمایشگاه علوم خاک دانشگاه ارومیه تجزیه شدند و خاک منطقه خان ارخی دانشگاه ارومیه با مختصات طول جغرافیایی ۴۵/۵ دقیقه شرقی و عرض جغرافیایی

۳۷/۳ دقیقه شمالی با ارتفاع ۱۳۲۰ متر از سطح دریا که دارای کمبود فسفر بومی بود (۷/۲۴۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک) (Shahbazi and Besharti, 2014) برای آزمایش انتخاب شد (جدول ۲). تعداد ۶۰۰ گلدان ۱۵ کیلوگرمی تهیه و به دو دسته ۳۰۰ تایی تقسیم شدند. در هر دو دسته، گلدان‌ها با خاک محل جمع‌آوری و ماسه، به نسبت دو به یک پر شدند. کودهای نیتروژن (از منبع اوره) به مقدار ۰/۶، سولفات پتاسیم (سولو پتاس) به مقدار ۰/۹، سکوسترین آهن به مقدار ۰/۱، سولفات منگنز به مقدار ۰/۱۵، سولفات روی به مقدار ۰/۰۶۶، سولفات مس به مقدار ۰/۰۲ و اسیدبوریک به مقدار ۰/۰۱۴ گرم بر کیلوگرم به خاک افزوده شدند (Malakouti and Gheibi, 2000). کود تیروژن در سه مرحله در طول دوره رشد گیاه استفاده شد. در دسته اول (۳۰۰ گلدان اول) علاوه بر کودهای یاد شده کود فسفر از منبع سوپرفسفات تریپل به مقدار ۰/۴ گرم بر کیلوگرم نیز به خاک اضافه شد و در دسته دوم (۳۰۰ گلدان دوم) کود فسفر مصرف نشد. مقدار کود فسفر با در نظر گرفتن سطح بحرانی فسفر (۱۰ تا ۲۰ میلی‌گرم فسفر در کیلوگرم خاک) به خاک داده شد. فاصله ردیف‌های گلدان‌ها ۵۰ سانتی‌متر و فاصله گلدان‌ها در روی ردیف ۳۰ سانتی‌متر در نظر گرفته شد. در هر گلدان چهار عدد بذر ذرت کاشته شد. در ابتدای آزمایش، آبیاری گلدان‌ها با استفاده از آب‌پاش هر سه روز یک بار و بعد از سبز شدن گیاهچه‌ها آبیاری به‌صورت روزانه با سامانه آبیاری قطره‌ای انجام شد. در مرحله چهار برگی، گیاهچه‌های اضافی حذف دو بوته در هر گلدان باقی گذاشته شدند. مبارزه با علف‌های هرز به‌صورت دستی انجام شد.

در طول آزمایش روی گرده‌افشانی ژنوتیپ‌های ذرت هیچ گونه کنترلی انجام نشد و تلاقی در جمعیت مورد مطالعه به‌صورت آزاد گرده‌افشان بود. در مرحله رسیدگی فیزیولوژیک، بلال‌های دو بوته هر

جدول ۱- مشخصات ژنوتیپ‌های ذرت مورد استفاده در آزمایش

Table 1. Characteristics of maize genotypes used in the experiment

کد Code	ژنوتیپ‌های ذرت Maize genotypes	محل دریافت بذر Reference	کد Code	ژنوتیپ‌های ذرت Maize genotypes	محل دریافت بذر Reference
Ma001	P3L2	کرمانشاه Kermanshah	Ma051	9/K19/1	مشهد Mashhad
Ma002	P11L2	کرمانشاه Kermanshah	Ma052	3/K19/1 & (K19/1*/1392)	مشهد Mashhad
Ma003	P15L16Kahriz	کرمانشاه Kermanshah	Ma053	25*/89	مشهد Mashhad
Ma004	P9L3Kahriz	کرمانشاه Kermanshah	Ma054	2/ K19/1 & (K19/1)	مشهد Mashhad
Ma005	P13L2	کرمانشاه Kermanshah	Ma055	K3640/S /55-N	مشهد Mashhad
Ma006	P19L7Kahriz	کرمانشاه Kermanshah	Ma057	20*/1389	مشهد Mashhad
Ma007	P6L1	کرمانشاه Kermanshah	Ma060	S2/ QPM/ SUKMA اندونزی	مشهد Mashhad
Ma008	P19 L3Kahriz	کرمانشاه Kermanshah	Ma062	6*/88	مشهد Mashhad
Ma009	P14L1Kahriz	کرمانشاه Kermanshah	Ma064	4/ K19/1	مشهد Mashhad
Ma010	P11L7	کرمانشاه Kermanshah	Ma065	66*/1388	مشهد Mashhad
Ma011	P14L2	کرمانشاه Kermanshah	Ma066	48*/1390	مشهد Mashhad
Ma012	P10L5	کرمانشاه Kermanshah	Ma072	K166 B/89 & (14* K166 B/1390)	مشهد Mashhad
Ma013	P1L4 دی آل کرچ	کرمانشاه Kermanshah	Ma073	K18-B/1392 ایزوله	مشهد Mashhad
Ma014	P11L6	کرمانشاه Kermanshah	Ma074	7/K19/1	مشهد Mashhad
Ma015	P13L3	کرمانشاه Kermanshah	Ma075	23*/89	مشهد Mashhad
Ma016	P16L4Kahriz	کرمانشاه Kermanshah	Ma076	70*/1388	مشهد Mashhad
Ma017	P3 L4Kahriz	کرمانشاه Kermanshah	Ma077	10/K19/1	مشهد Mashhad
Ma018	P1 L5Kahriz	کرمانشاه Kermanshah	Ma079	138*/89	مشهد Mashhad
Ma019	P19L5Kahriz	کرمانشاه Kermanshah	Ma080	K19 */1392 ایزوله	مشهد Mashhad
Ma020	P15L14	کرمانشاه Kermanshah	Ma083	1*/89 چوب قرمز	مشهد Mashhad
Ma021	P16L6Kahriz	کرمانشاه Kermanshah	Ma085	1390/Popcorn- 53 or 54	مشهد Mashhad
Ma022	P15L4	کرمانشاه Kermanshah	Ma089	172*/89	مشهد Mashhad
Ma023	P11 L9	کرمانشاه Kermanshah	Ma091	8/K19/1	مشهد Mashhad
Ma024	P9L6	کرمانشاه Kermanshah	Ma096	67*/88	مشهد Mashhad
Ma025	P13L1	کرمانشاه Kermanshah	Ma098	1387/193/ chase*/S2	مشهد Mashhad
Ma026	P10L7	کرمانشاه Kermanshah	Ma100	36-N/88-K3653/2	مشهد Mashhad
Ma027	P16L12Kahriz	کرمانشاه Kermanshah	Ma104	Line1	-
Ma028	P10L9	کرمانشاه Kermanshah	Ma105	Line2	-
Ma030	MO17	Karaj کرچ	Ma106	Line3	-
Ma031	OH43/1- 42	Karaj کرچ	Ma107	Line4	-
Ma032	K1264/ 5-1	Karaj کرچ	Ma108	Line5	-
Ma033	R59 مادری	Karaj کرچ	Ma109	Line6	-
Ma034	K615/1	Karaj کرچ	Ma110	Line7	-
Ma035	B73	Karaj کرچ	Ma111	Line8	-
Ma036	OH43/1-42 پدری	Karaj کرچ	Ma112	Line9	-
Ma037	R59 پدری	Karaj کرچ	Ma113	Line10	-
Ma038	W37A	Karaj کرچ	Ma114	Line11	-
Ma039	R319	Karaj کرچ	Ma115	Line12	-
Ma040	R59	Karaj کرچ	Ma116	Line13	-
Ma042	W153R	Karaj کرچ	Ma117	Line14	-
Ma043	K1533 Popcorn	Karaj کرچ	Ma118	Line15	-
Ma044	R59×R319 مادری دابل کراس ۳۷۰ (سینگل کراس)	Karaj کرچ	Ma119	Line16	-
Ma045	B73(RFC OR CMS)	Karaj کرچ	Ma120	Line17	-
Ma046	1264/1	Karaj کرچ	Ma121	Line18	-
Ma048	ZK472221	Karaj کرچ	Ma122	Line19	-
Ma049	K1263/1/1388	Mashhad مشهد	Ma123	Line20	-
Ma050	4*/89	Mashhad مشهد			

جدول ۲- ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک مورد استفاده در آزمایش

Table 2. Physical and chemical properties of the soil used in the experiment

هدایت الکتریکی EC (dS.m ⁻¹)	pH	آهک Lime	سیلت Silt	شن Sand	رس Clay	کربن آلی Organic carbon	ماده آلی Organic matter
0.78	7.92	31.5	30	30	40	0.74	1.28
پتاسیم K	فسفر P	مس Cu	منگنز Mn	آهن Fe	روی Zn	بافت خاک Soil texture	
(mg.kg ⁻¹)							رسی لومی Clay loam
102	7.24	1.3	10.3	11	0.11		

جدول ۳- اطلاعات هواشناسی محل اجرای آزمایش

Table 3. Meteorological information of the experiment site

		دمای خاک Soil temperature (°C)		بارندگی Rainfall		رطوبت نسبی RH (%)	
Month	ماه	دمای هوا Air temperature (°C)	حداقل Min.	حداکثر Max.	ساعات آفتابی Sunny hours		
Sep.	شهریور	16.0	5.7	19.5	2.1	9.2	52
Oct.	مهر	12.3	3.4	18.8	28.9	5.8	58.3
Nov.	آبان	2.6	-4.7	7.4	23.7	6.7	66.7
Dec.	آذر	4.5	-4.6	9.4	11.1	5.6	59.5
Jan.	دی	3.1	-5.3	7.4	80.9	5.8	63.4
Feb.	بهمن	9.4	-0.3	13.	29.1	5.8	56.9
Mar.	اسفند	13.6	2.6	20.3	56.7	7.9	49.9
Apr.	فروردین	14.7	5.2	21.3	133	6.2	61.2
May	اردیبهشت	21.5	9.1	30.4	27.2	10.2	50.7
Jun.	خرداد	28.6	13.9	37.9	0	12.0	31.9
Jul.	تیر	27.7	13.5	36.4	0	11.3	39.8
Aug.	مرداد	23.8	10.5	33.8	0.8	11.0	38.2
Mean	متوسط	14.8	4.1	21.4	393.1	8.1	52.4

۲۳۰ نانومتر روی نمونه DNA و رویت مقادیر (به ترتیب ۸/۰-۱/۲ و ۲/۲-۲/۰)، نمونه‌های DNA برای توالی‌یابی به شرکت TraitGenetics آلمان ارسال شدند و کتابخانه ژنومی نمونه‌ها ساخته شده و توالی‌یابی با استفاده از Affymetrix® Maize 600K genotyping array انجام شد. توالی‌یابی DNA ژنوتیپ‌های ذرت، وجود ۶۰۰ هزار نشانگر SNP را نشان داد که تنوع ژنوتیپی آنها با استفاده از نشانگرهای SNP توسط ارژنگ و همکاران (Arzhang et al., 2024) ارزیابی و گزارش شده است. در این تحقیق نشانگرهای SNP با داده گم شده بیشتر از ده درصد و فراوانی آلل مینور کمتر از ده درصد حذف شدند و در نهایت تعداد ۲۳۰۰۰۰ نشانگر SNP

گلدان (تکرار) برداشت و دانه‌ها از بلال‌ها جدا و توزین شده و عملکرد دانه (گرم در بوته) در هر تکرار از میانگین دو بوته هر گلدان بدست آمد. ژنوتیپ‌سنجی ژنوتیپ‌های ذرت با استفاده از نشانگرهای SNP انجام شد. برای این منظور از تعداد ۹۳ ژنوتیپ ذرت در مرحله چهار برگ‌ی استخراج DNA به روش CTAB (Cetyl Trimethyl Ammonium Bromide) انجام شد. برای اطمینان از مناسب بودن کمیت و کیفیت DNAهای استخراج شده الکتروفورز روی ژل آگارز یک درصد انجام و با عدم مشاهده کشیدگی روی ژل و انجام اسپکتروفوتومتری و ارزیابی نسبت میزان جذب نور با طول موج ۲۶۰ نانومتر به ۲۸۰ نانومتر و ۲۶۰ به

$$\hat{b} = M'(G \times n)^{-1} \hat{a} \quad (\text{رابطه ۳})$$

$\hat{b}$ بردار ارزش های اصلاحی ژنومی، M' برگردان ماتریسی که تعداد آلل ها را برای هر نشانگر و فرد نشان می دهد، n تعداد نشانگرها، G ماتریس ژنومی مولکولی و $\hat{a}$ بردار برآورد اثرات نشانگرها می باشند.

برآورد ارزش های اصلاحی ژنومی با هر یک از روش های ذکر شده در نرم افزار iPat انجام شد. برای درک بهتر روابط بین شاخص های آماری از تجزیه به عامل ها روی عملکرد و ارزش های اصلاحی ژنومی برآورد شده با روش های مختلف آماری استفاده شد. گروه بندی ژنوتیپ های ذرت بر اساس ارزش های اصلاحی برآورد شده در شرایط بدون تنش و تنش کمبود فسفر، با روش وارد (Ward) انجام شد. تجزیه های چند متغیره شامل تجزیه به عامل ها و خوشه ای در نرم افزار R studio انجام شد.

به منظور شناسایی ژن های دخیل در کنترل عملکرد دانه ژنوتیپ های ذرت در شرایط بدون تنش و تنش کمبود فسفر، ابتدا شناسایی نشانگرهای دارای ارتباط معنی دار با عملکرد دانه با استفاده از مدل خطی مخلوط (MLM) در نرم افزار iPat انجام شد. در تحلیل ارتباط در گستره ژنوم GWAS از ارزش های اصلاحی برآورد شده با روش های مختلف و همچنین داده های فنوتیپی عملکرد استفاده شد. برای شناسایی ژن های کاندید، BLAST توالی SNP های معنی دار روی ژنوم ذرت انجام شد. توصیف هستی شناسی ژن (Gene ontology) شامل شناسایی عملکردهای مولکولی و شناسایی فرآیندهای بیولوژیکی که ژن های احتمالی در آن درگیر هستند، با استفاده از پایگاه داده ژنوم Ensembl Plants (<http://Plants.ensembl.org>) انجام شد. توالی ژن های هومولوگ در ذرت با استفاده از Gene ID های بدست آمده از BLAST از سایت Ensembl Plants, BioMart استخراج شد. از نرم افزار KOBASS برای تعیین مسیرهای توسعه یافته با

باقی مانده برای گزینش ژنومی در شرایط بدون تنش و تنش کمبود فسفر استفاده شد. در رابطه با هر نشانگر SNP فراوانی آلل ها (دو آلل؛ تیپ وحشی و حاصل از جهش) محاسبه شد. نشانگرهای SNP نگه داشته شدند که فراوانی آلل حاصل از جهش بیشتر از ۱۰ درصد باشد. در گزینش ژنومی، ژنوتیپ های ذرت به طور تصادفی به دو قسمت ۷۰ و ۳۰ درصد به ترتیب به نام "جمعیت مرجع" و "جمعیت آزمون" تقسیم شده و با استفاده از داده های فنوتیپی (عملکرد دانه) و نشانگرهای SNP، اثرات نشانگرها در جمعیت مرجع برآورد شد.

برای برآورد ارزش های اصلاحی ژنومی در شرایط بدون تنش و تنش کمبود فسفر از روش های آماری GBLUP، rrBLUP، روش های بیزین شامل رگرسیون ریج بیزی (Bayesian ridge regression)، بیز A (Bayes A)، بیز B (Bayes B) و بیز C (Bayes C) استفاده شد (Caballero, 2020; Meher et al., 2022; Broushan and Darvishzadeh, 2022). به عنوان نمونه مدل آماری در روش بهترین پیش بینی خطی نااریب ژنومی (GBLUP) برای تخمین ارزش اصلاحی ژنومی به صورت زیر است (رابطه ۱) (Caballero, 2020):

$$Y = X\beta + Zu + e \quad (\text{رابطه ۱})$$

Y بردار مشاهدات فنوتیپی صفت مورد مطالعه، β بردار اثرات ثابت (در اینجا میانگین کل (μ) ، u بردار اثرات نشانگر، e بردار باقی مانده، Z ماتریس تلاقی و X بردار واحد می باشند. رابطه برآورد اثرات نشانگر به صورت زیر است (رابطه ۲) (Caballero, 2020):

$$\hat{a} = [Z'Z + G^{-1}\lambda/n]^{-1} Z'y \quad (\text{رابطه ۲})$$

$\hat{a}$ بردار برآورد اثرات نشانگر، Z ماتریس تلاقی (Incidence matrix)، n تعداد نشانگرها، G ماتریس ژنومی مولکولی و $\lambda = n(1-h^2)h^2$ و $G = MM'/n$ وراثت پذیری صفت مورد مطالعه می باشند.

معادله برآورد ارزش های اصلاحی ژنومی به صورت زیر است (رابطه ۳):

استفاده از پایگاه داده کیوتو؛ دانشنامه ژن و ژنوم‌ها (KEGG)، استفاده شد.

نتایج و بحث

بر اساس نتایج تجزیه واریانس، بین ژنوتیپ‌های ذرت برای عملکرد دانه در شرایط بدون تنش و تنش کمبود فسفر تفاوت معنی‌داری وجود داشت که این موضوع نشان دهنده تنوع ژنتیکی در ژرم‌پلاسم ذرت مورد مطالعه برای عملکرد دانه می‌باشد. برهمکنش ژنوتیپ و محیط نیز معنی‌دار بود که نشان دهنده عکس‌العمل متفاوت ژنوتیپ‌ها از محیطی به محیط دیگر است. تنوع ژنتیکی در ذرت نقش مهمی در بهبود کارایی استفاده از فسفر و عملکرد دانه در شرایط کمبود فسفر ایفا می‌کند. نتایج سایر تحقیقات نشان داده است که بین ژنوتیپ‌های ذرت از نظر ویژگی‌های کارایی مصرف فسفر، از جمله ساختار ریشه، تولید زیست توده و عملکرد دانه، تنوع قابل توجهی وجود دارد (Schuster et al., 2024; Machado et al., 1999). گزارش شده است که در ذرت هر دو نژاد بومی و ارقام اصلاح شده در رابطه با کارایی فسفر مطلوب بودند و حتی برخی از نژادهای بومی در شرایط کمبود فسفر، نسبت به ارقام اصلاح شده برتری داشتند.

(Machado et al., 1999). تنوع ژنتیکی مشاهده شده در لاین‌های خالص ذرت، پتانسیل توسعه هیبریدها و جمعیت‌های فسفرکارا (P-efficient) را برای شرایط کمبود فسفر، فراهم می‌کند (Schuster et al., 2024). استفاده از این تنوع ژنتیکی از طریق برنامه‌های به‌نژادی می‌تواند به حل چالش‌های کمبود فسفر در مناطق گرمسیری و نیمه‌گرمسیری کمک کند (Machado et al., 1999).

نتایج حاصل از پیشگویی ارزش‌های اصلاحی ژنومی (Estimated genomic breeding value; EGBV) برای عملکرد دانه ژنوتیپ‌های ذرت با مدل‌های آماری در شرایط بدون تنش و تنش کمبود فسفر در جدول‌های ۴ و ۵ ارائه شده است. ضرایب تغییرات نشان دهنده تنوع بین ارزش‌های اصلاحی ژنومی برآورد شده ژنوتیپ‌های ذرت است. بیشتر بودن مقدار عددی ضرایب نشان دهنده اختلاف بین ارزش اصلاحی ژنومی ژنوتیپ‌ها و برتری برخی از ژنوتیپ‌ها از نظر ارزش اصلاحی ژنومی است. بین ارزش‌های اصلاحی برآورد شده با استفاده از رگرسیون ریج (rrBLUP) و ژنومیک بلاپ (GBLUP) و عملکرد دانه در شرایط بدون تنش و تنش کمبود فسفر، همبستگی بالایی مشاهده شد. بر این اساس می‌توان اظهار کرد که این روش‌ها برای

جدول ۴- نتایج ارزش اصلاحی ژنومی برای عملکرد دانه ژنوتیپ‌های ذرت با استفاده از مدل‌های آماری در شرایط بدون تنش

Table 4. The results of estimating the genomic breeding value for grain yield of maize genotypes using statistical models under non-stress conditions

Methods	روش‌ها	همبستگی ارزش اصلاحی ژنومی برآورد شده با عملکرد دانه					
		حد اقل Minimum	حداکثر Maximum	میانگین Mean	انحراف معیار SD	ضریب تغییرات CV	Correlation
Ridge regression	رگرسیون ریج	57.5	175.4	113.6	33.3	29.3	0.93
GBLUP	جی بلاپ	56.6	176.5	113.6	33.4	29.4	0.93
Bayesian ridge regression	رگرسیون ریج بیزی	537.8	1365.7	874.1	178.4	20.4	0.06
Bayes A	بیز A	377.2	1363.3	747.7	194.2	25.9	-0.09
Bayes B	بیز B	313.9	1446.5	693.0	183.1	26.4	0.11
Bayes C	بیز C	313.7	1313.3	680.5	196.1	28.8	-0.07
Grain yield	عملکرد دانه	34.7	239.0	113.6	47.1	41.5	1.00

جدول ۵- نتایج ارزش اصلاحی ژنومی برای عملکرد دانه ژنوتیپ‌های ذرت با استفاده از مدل‌های آماری در شرایط تنش کمبود فسفر

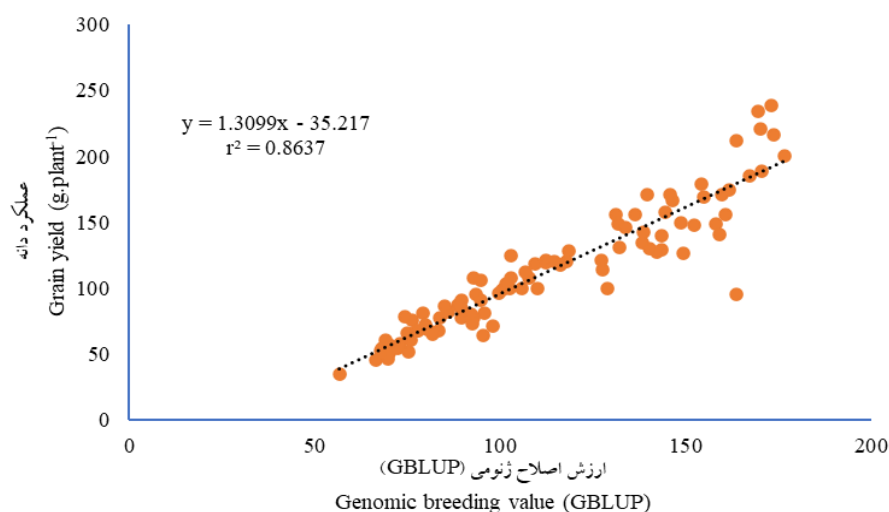
Table 5. The results of estimating the genomic breeding value for grain yield of maize genotypes using statistical models under phosphorous deficiency stress conditions

Methods	روش‌ها	همبستگی ارزش اصلاحی ژنومی برآورد شده با عملکرد دانه					
		حداقل Minimum	حداکثر Maximum	میانگین Mean	انحراف معیار SD	ضریب تغییرات CV	Correlation
Ridge regression	رگرسیون ریج	38.6	118.3	76.3	23.6	30.9	0.93
GBLUP	جی‌بلاپ	37.8	118.3	76.3	23.7	31.1	0.93
Bayesian ridge regression	رگرسیون ریج بیزی	225.1	617.1	381.0	80.8	21.2	0.03
Bayes A	بیز A	213.1	606.4	389.7	81.8	21.0	0.12
Bayes B	بیز B	201.3	535.7	334.0	78.5	23.5	-0.15
Bayes C	بیز C	128.1	669.7	299.4	95.7	31.9	-0.02
Grain yield	عملکرد دانه	23.9	144.9	76.3	32.6	42.7	1.00

ارائه شده است. نتایج نشان داد که رابطه مطلوبی بین عملکرد دانه و ارزش اصلاحی ژنومی برآورد شده (به‌خصوص در شرایط کمبود فسفر) وجود داشت.

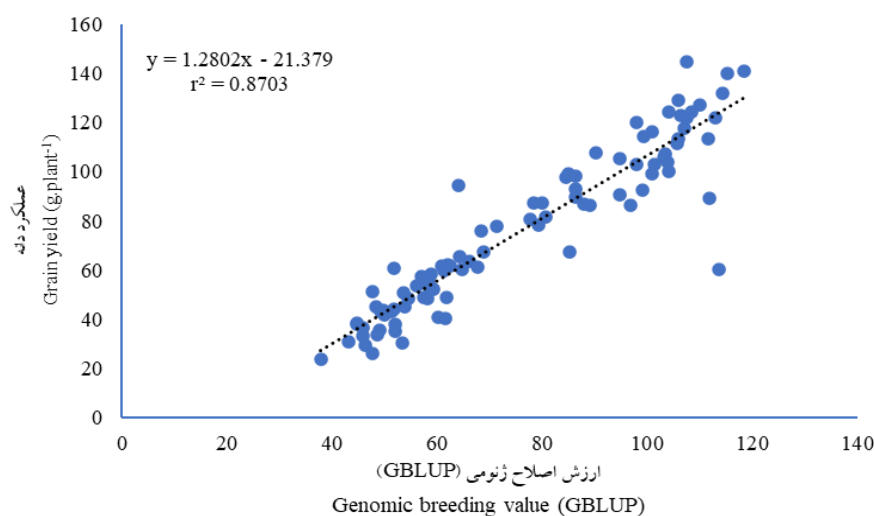
نتایج همبستگی بین ارزش‌های اصلاحی ژنومی برآورد شده برای عملکرد دانه با مدل‌های آماری در شرایط بدون تنش و تنش کمبود فسفر در شکل ۳ ارائه شده است.

پیشگویی ارزش اصلاحی ژنومی در هر دو شرایط مناسب‌تر هستند. بر اساس بهترین روش‌ها، ژنوتیپ Ma064 در شرایط بدون تنش و ژنوتیپ Ma022 در شرایط تنش کمبود فسفر از بالاترین ارزش اصلاحی ژنومی برخوردار بودند. ارتباط بین مقدار عملکرد دانه و ارزش‌های اصلاحی برآورد شده با روش ژنومیک بلاپ (GBLUP)، در شرایط بدون تنش و تنش کمبود فسفر در شکل‌های ۱ و ۲

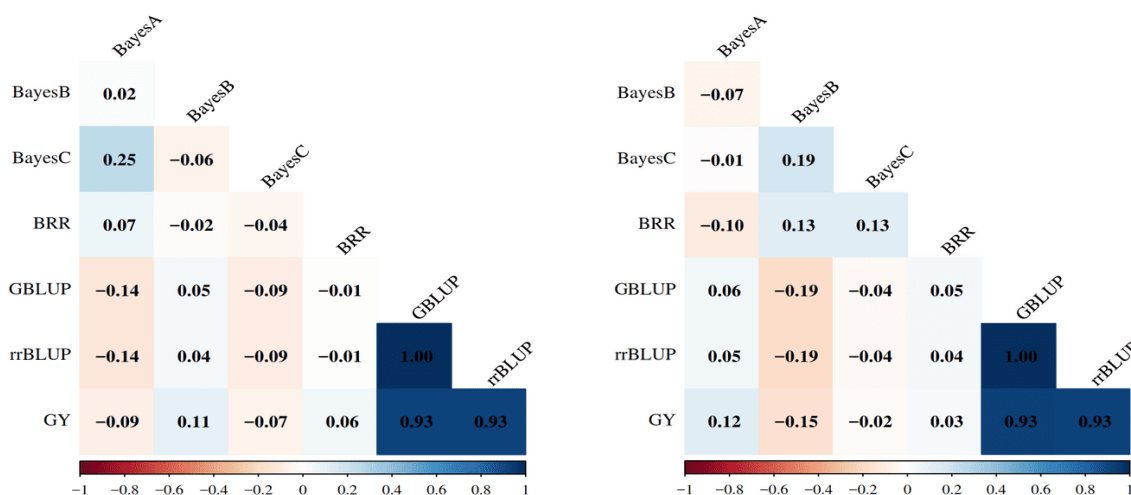


شکل ۱- تطابق برآزش ارزش‌های اصلاحی ژنومی در مقابل عملکرد دانه ژنوتیپ‌های ذرت در شرایط بدون تنش

Fig. 1. Correspondence of genomic breeding values against grain yield of maize genotypes under non-stress conditions



شکل ۲- تطابق برازش ارزش‌های اصلاحی ژنومی در مقابل عملکرد دانه ژنوتیپ‌های ذرت در شرایط تنش کمبود فسفر
Fig. 2. Correspondence of genomic breeding values against grain yield of maize genotypes under phosphorous deficiency stress conditions



شکل ۳- نمودار همبستگی بین شاخص‌های آماری برآورد ارزش‌های اصلاحی ژنومی برای عملکرد دانه ژنوتیپ‌های ذرت در شرایط بدون تنش (راست) و تنش کمبود فسفر (چپ)

Fig. 3. Correlation diagram between the statistical indices for estimating genomic breeding values for grain yield of maize genotypes under non stress (right) and phosphorous deficiency stress (left) conditions

کلاسیک، باعث سود ژنتیکی بالاتر در عملکرد دانه در شرایط تنش خشکی می‌شود. نتایج یک آزمایش نشان داد که میانگین افزایش سود ژنتیکی در عملکرد دانه با گزینش ژنومی در هشت جمعیت ذرت، ۰/۰۸۶ تن در

گزینش ژنومی یک رویکرد امیدوارکننده برای بهبود تحمل به تنش‌های غیرزیستی در ذرت است (Shikha et al., 2017). گزارش شده است که گزینش ژنومی در ذرت در مقایسه با گزینش مبتنی بر شجره

هکتار در هر چرخه بود و هیبریدهای حاصل از چرخه سوم گزینش ژنومی (C_3) عملکرد دانه بالاتری نسبت به هیبریدهای چرخه اولیه (C_0) داشتند. هیبریدهای حاصل از چرخه سوم ۷/۳ درصد (۰/۱۷۶ تن در هکتار)، عملکرد دانه بالاتری نسبت به هیبریدهایی که از طریق روش اصلاح شجره‌ای کلاسیک تولید شده بودند، داشتند (Beyene et al., 2015). بر اساس نتایج یک آزمایش روی ذرت در شرایط تنش خشکی، از بین مدل‌های گزینش ژنومی استفاده شده، مدل بیز B دقت پیشگویی بالاتری داشت (Shikha et al., 2017). مدل بیز B بالاترین دقت پیش‌بینی را برای شش صفت از هفت صفت زراعی مرتبط با تحمل به خشکی در ذرت را داشت. محققان تعداد ۷۷ نشانگر SNP معنی‌دار شناسایی کردند که با ۱۰ فاکتور رونویسی پاسخ‌دهنده به تنش خشکی که در کارکردهای مختلف فیزیولوژیکی و مولکولی دخیل هستند، مرتبط بودند. تعداد ۱۰ نشانگر SNP بزرگ‌اثر بر اساس مدل گزینش ژنومی بیز B، همان نشانگرهایی بودند که قبلاً در مطالعات تحلیل ارتباط در گستره ژنوم (GWAS) به عنوان نشانگرهای آگاهی بخش، شناسایی شده بودند (Shikha et al., 2017). کارایی گزینش ژنومی به عواملی مانند اندازه جمعیت، چگالی نشانگر و وراثت‌پذیری صفات بستگی دارد (Zhang et al., 2015). در حالی که SNP‌های با چگالی پایین برای ارزیابی صفات ساده با وراثت‌پذیری متوسط تا بالا کافی هستند، آرایه ژنوتیپ‌سنجی و ژنوتیپ‌سنجی از طریق توالی‌یابی (GBS) به دلیل توانایی توسعه نشانگر بیشتر، برای صفات پیچیده و شرایط تنش، نتیجه بهتری دارند. در یک آزمایش در ذرت (Zhang et al., 2015) گزارش شد که دقت پیش‌بینی ارزش اصلاحی ژنومی در شرایط تنش خشکی در مقایسه با شرایط آبیاری کامل برای صفات پیچیده‌ای مانند عملکرد دانه نسبت به صفات ساده‌تر مانند تاریخ گل‌دهی و ارتفاع بوته کمتر است. بر این اساس پیشنهاد

شد که در نظر گرفتن برهمکنش ژنوتیپ و محیط در مدل‌های پیش‌بینی، باعث افزایش دقت برای صفات پیچیده‌تر می‌شود. بر اساس نتایج یک آزمایش (Ananda Kumar et al., 2022) دقت پیش‌بینی‌های ژنومی برای صفات پیچیده‌ای مانند عملکرد دانه نسبت به صفات ساده‌ای مانند تاریخ گل‌دهی پایین‌تر بود و حتی در شرایط تنش به دلیل وراثت‌پذیری پایین، میزان دقت کمتر هم بود. بالاترین دقت پیش‌بینی برای عملکرد دانه در شرایط تنش خشکی در مرحله گلدهی ۰/۴۷ بود. در مطالعه (Ananda Kumar et al., 2022) دقت پیش‌بینی برای صفات ثانویه مانند فاصله ظهور گل‌آذین نر (تاسل) تا ابریشم‌دهی (۰/۵۲) و تعداد بلال در بوته (۰/۴۸) در شرایط تنش خشکی در مرحله گلدهی بالا بود. فاصله ظهور گل‌آذین نر تا ابریشم‌دهی و ارتفاع بوته در مقایسه با عملکرد دانه در هر دو شرایط آبیاری کامل و تنش خشکی، دقت پیش‌بینی بالاتری را داشت.

برای درک بهتر روابط بین شاخص‌های آماری از روش تجزیه به عامل‌ها روی عملکرد دانه و ارزش‌های اصلاحی ژنومی برآورد شده با روش‌های آماری استفاده شد. برای هر دو شرایط بدون تنش و تنش کمبود فسفر از روش چرخش وریماکس استفاده شد (جدول ۶) و عامل‌های با مقادیر ویژه بزرگ‌تر از یک انتخاب شدند. در شرایط بدون تنش، شاخص‌های آماری در چهار مؤلفه اصلی و در شرایط تنش کمبود فسفر در سه مؤلفه اصلی گروه‌بندی شدند. در شرایط بدون تنش چهار مؤلفه اول ۸۵/۵۹ درصد از تغییرات کل داده‌های مربوط به ارزش اصلاحی عملکرد را توجیه کردند که از این مقدار ۴۲/۱۲ درصد توسط مؤلفه اول؛ ۱۷/۴۰ درصد توسط مؤلفه دوم و ۱۴/۶۴ درصد توسط مؤلفه سوم توجیه شدند. در مؤلفه اول، روش‌های برآورد ارزش‌های اصلاحی با شاخص‌های آماری GBLUP و rrBLUP و عملکرد دانه، بالاترین ضرایب را داشتند. در مؤلفه دوم، روش‌های برآورد ارزش‌های اصلاحی با BayesA و

عملکرد دانه و شاخص‌های مربوطه می‌باشند (شکل ۴D).

نقشه‌های حرارتی ژنوتیپ‌های ذرت بر اساس ارزش‌های اصلاحی ژنومی برآورده شده (GBVs) در شرایط بدون تنش و تنش کمبود فسفر در شکل ۵ ارائه شده است. این GBVs با استفاده از روش‌های پیش‌بینی ژنومی مانند BayesA، BayesB، GBLUP و به‌دست آمده‌اند که نشان دهنده پتانسیل ژنتیکی ژنوتیپ‌های ذرت برای صفاتی مانند عملکرد دانه هستند. براساس نتایج تجزیه خوشه‌ای، ژنوتیپ‌های ذرت در شرایط بدون تنش و تنش کمبود فسفر در سه گروه دسته‌بندی شدند. گروه اول (قرمز) در هر دو شرایط بدون تنش و تنش کمبود فسفر ارزش اصلاحی و عملکرد دانه بالایی داشتند. ژنوتیپ‌های گروه دوم و سوم (سبز و آبی) ارزش اصلاحی و عملکرد دانه پایین داشتند. تفاوت در خوشه‌بندی و الگوهای رنگی نشان می‌دهد که ژنوتیپ‌های ذرت چگونه به تنش کمبود فسفر پاسخ می‌دهند. رنگ‌های نقشه حرارتی نشان دهنده بزرگی GBVها هستند. رنگ‌های گرم‌تر (نارنجی/قرمز) نشان‌دهنده GBVهای بالاتر هستند و رنگ‌های خنک‌تر (آبی/سبز) نشان‌دهنده مقادیر پایین‌تر هستند. در شرایط بدون تنش (چپ)، خطوط بر اساس ویژگی‌هایی که کمتر تحت تأثیر محدودیت فسفر قرار داشتند، گروه‌بندی شدند که احتمالاً نشان دهنده پتانسیل ژنتیکی پایه است. در شرایط کمبود فسفر (راست)، گروه‌بندی‌ها احتمالاً تحت تأثیر ویژگی‌ها یا نواحی ژنومی مرتبط با تحمل تنش یا کارایی در استفاده از فسفر قرار دارند. این ژنوتیپ‌ها ممکن است سازوکارهای مقاومتی نسبت به تنش کمبود فسفر داشته باشند (مانند کارایی استفاده از فسفر). تعدادی از ژنوتیپ‌هایی که در شرایط بدون تنش در یک خوشه قرار داشتند، در شرایط تنش از هم جدا شدند. این موضوع نشان می‌دهد که کمبود فسفر بر بیان ویژگی‌های مرتبط با عملکرد دانه تأثیر می‌گذارد.

BayesC بالاترین ضرایب را داشتند. در مؤلفه سوم روش‌های برآورد ارزش اصلاحی با رگرسیون ریج بیز بالاترین ضرایب را داشتند. در شرایط تنش کمبود فسفر، چهار مؤلفه اول ۷۵/۵۰ درصد از تغییرات کل داده‌ها را توجیه کردند که از این مقدار ۴۲/۴۴ درصد توسط مؤلفه اول؛ ۱۸/۵۹ درصد توسط مؤلفه دوم و ۱۴/۴۷ درصد توسط مؤلفه سوم توجیه شدند. در مؤلفه اول، روش‌های برآورد ارزش‌های اصلاحی با شاخص‌های آماری GBLUP و rrBLUP و عملکرد دانه بالاترین ضرایب را داشتند. در مؤلفه دوم BayesB، رگرسیون ریج بیز و BayesC و در مؤلفه سوم روش‌های ارزش اصلاحی برآورد شده با BayesA بالاترین ضرایب را داشتند.

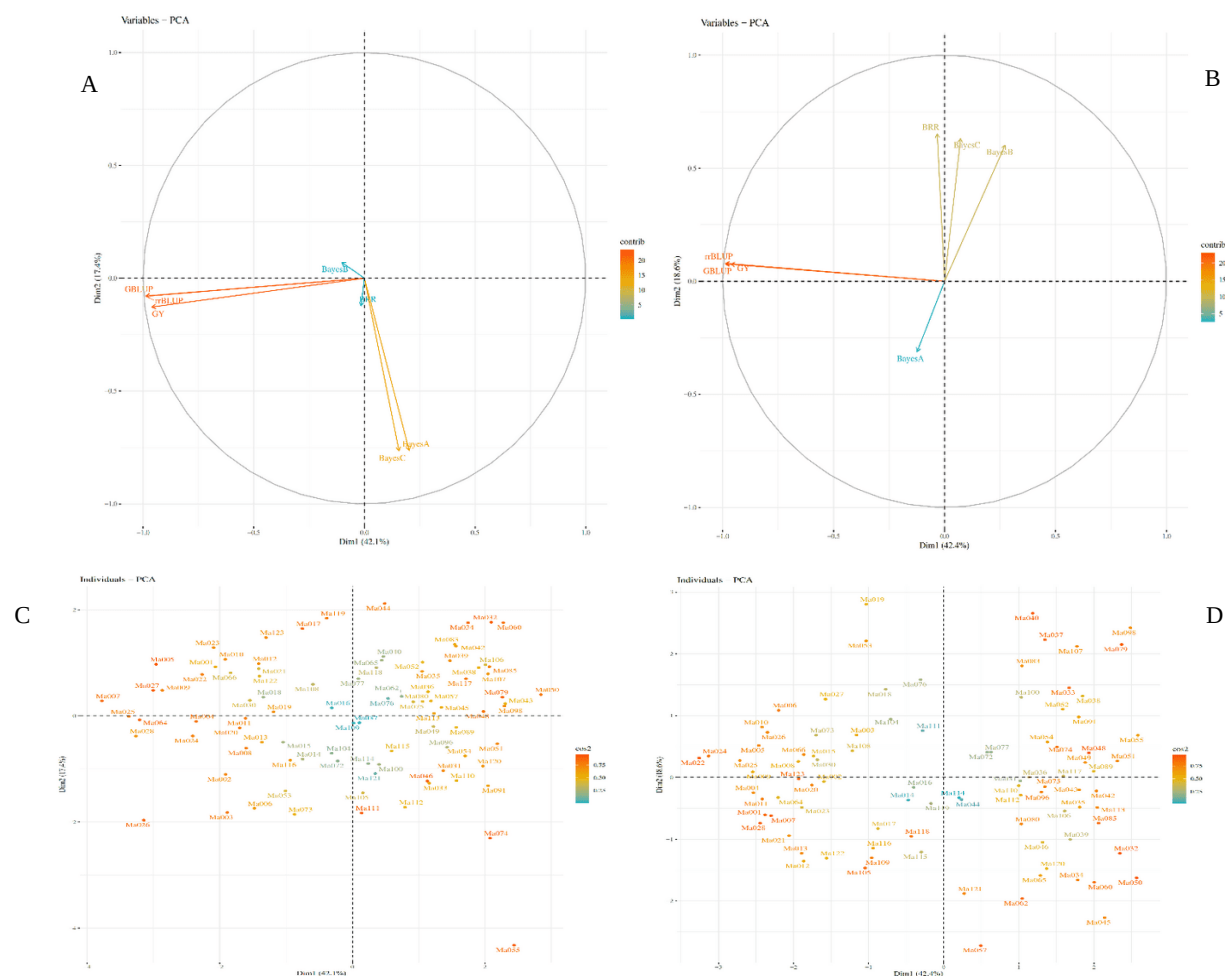
بر اساس نمودارهای بای‌پلات (شکل ۴) در شرایط بدون تنش، بردار عملکرد با بردارهای روش‌های GBLUP و rrBLUP در سمت چپ نمودار بای‌پلات در کنار هم قرار گرفتند که نشان دهنده همبستگی بالای این شاخص‌ها با عملکرد است. با توجه به طول این بردارها نیز می‌توان نتیجه گرفت که این روش‌ها همراه با عملکرد دانه برای تفکیک و تمایز ژنوتیپ‌های ذرت مناسب‌تر هستند (شکل ۴A). ژنوتیپ‌های Ma007، Ma009، Ma027، Ma064، Ma028، Ma025 و Ma009 در سمت چپ نمودار بای‌پلات و در کنار بردارهای عملکرد و شاخص‌های GBLUP و rrBLUP قرار گرفتند که نشان دهنده برتری این ژنوتیپ‌ها از نظر عملکرد دانه و شاخص‌های مذکور می‌باشند (شکل ۴B). در شرایط تنش کمبود فسفر نیز بردار عملکرد با بردارهای روش‌های GBLUP و rrBLUP در سمت چپ نمودار بای‌پلات در کنار هم قرار گرفتند (شکل ۴C) و در این شرایط ژنوتیپ‌های Ma022، Ma026، Ma009، Ma004، Ma005، Ma025 و Ma024 در سمت چپ نمودار بای‌پلات در کنار بردارهای عملکرد، GBLUP و rrBLUP قرار گرفتند که نشان دهنده برتری این ژنوتیپ‌ها از نظر

جدول ۶- نتایج تجزیه به عامل ها برای ارزش های اصلاحی برآورد شده عملکرد دانه با شاخص های آماری در ژنوتیپ های ذرت در شرایط بدون تنش و تنش کمبود فسفر

Table 6. Factor analysis for estimated breeding values for grain yield with statistical indices in maize genotypes under non stress and phosphorous deficiency stress conditions

		بدون تنش Non-stress				تنش کمبود فسفر Phosphorous deficiency stress				واریانس مشترک Commnnuality
		عامل اول Factor 1	عامل دوم Factor 2	عامل سوم Factor 3	عامل چهارم Factor 4	واریانس مشترک Commnnuality	عامل اول Factor 1	عامل دوم Factor 2	عامل سوم Factor 3	
شاخص های آماری Statistical indices										
Grain yield	عملکرد دانه	0.96	0.128	0.037	0.018	0.941	0.963	0.076	0.051	0.935
BayesA		-0.203	0.764	0.152	0.172	0.677	0.124	-0.312	0.835	0.809
BayesB		0.102	-0.070	0.133	0.968	0.971	-0.273	0.602	0.215	0.483
BayesC		-0.157	0.766	-0.290	-0.047	0.697	-0.072	0.632	0.456	0.612
Bayesian ridge regression		0.015	0.123	0.947	-0.182	0.945	0.033	0.652	-0.241	0.484
GBLUP		0.988	0.079	-0.038	-0.042	0.986	0.988	0.077	-0.026	0.982
rrBLUP		0.987	0.080	-0.041	-0.046	0.985	0.986	0.079	-0.028	0.979
Eigen value	بردار ویژه	2.950	1.218	1.025	1.007		2.971	1.301	1.013	
Cumulative percentage of variance	درصد واریانس تجمعی	42.14	59.55	74.20	88.58		42.44	61.03	75.50	

"گزینش ژنومی برای عملکرد دانه ژنوتیپ‌های ذرت...، غلامی اصل و همکاران، ۱۴۰۳، ۳۸۹-۳۶۹"



شکل ۴- پلات دو بُعدی صفات گیاهی و ژنوتیپ‌های ذرت براساس مؤلفه‌های اصلی اول و دوم

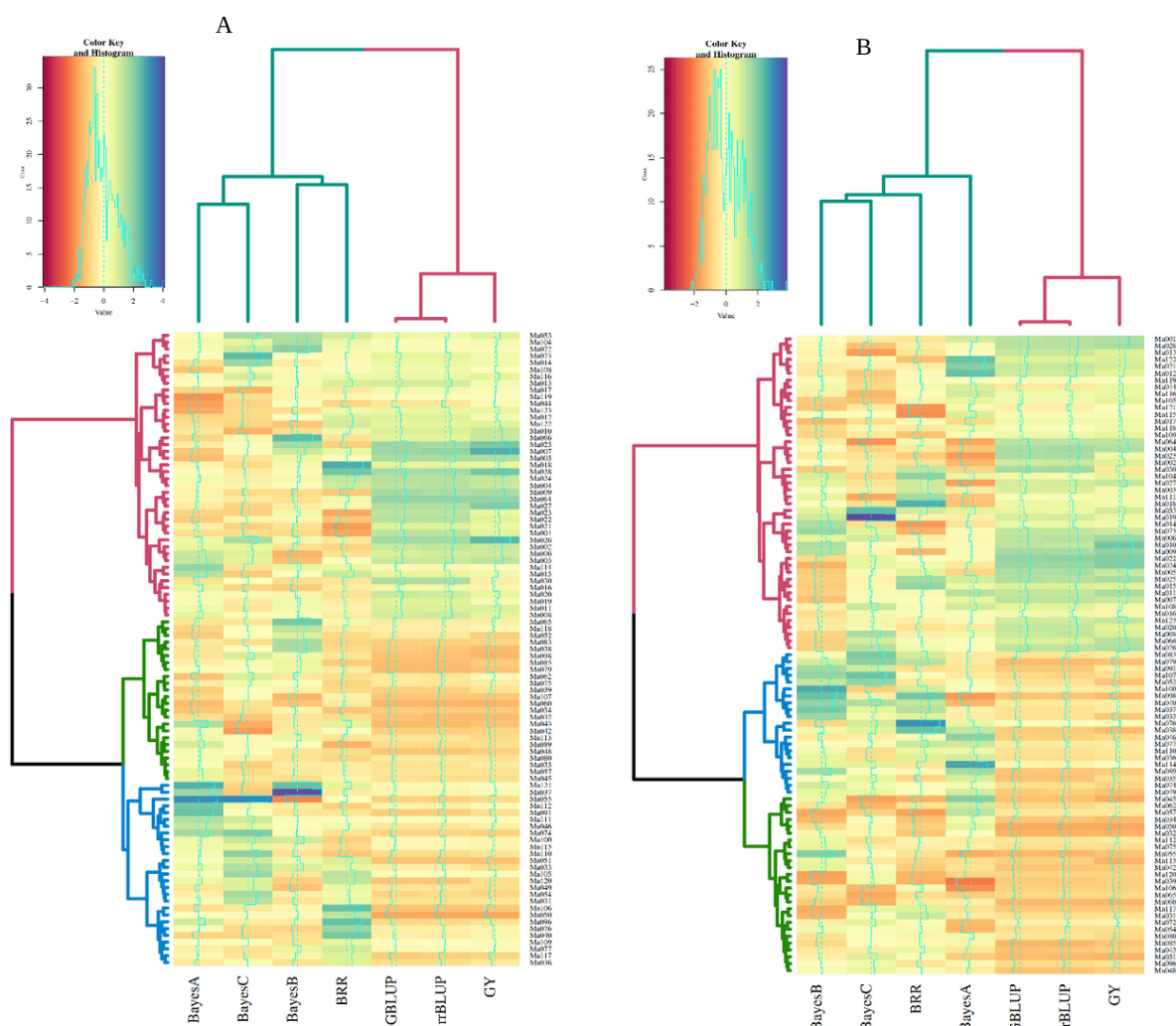
Fig. 4. Biplot of plant traits and maize genotypes based on the first and second principal components

A and B: non-stress, C and D: phosphorous deficiency stress

A و B: بدون تنش، C و D: تنش کمبود فسفر

تفاوت در مدل‌های پیش‌بینی می‌تواند بر نحوه گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها تأثیر بگذارد. با مقایسه خوشه‌ها در مدل‌های مختلف، به‌نژادگران می‌تواند ژنوتیپ‌هایی را شناسایی کنند که GEBV‌های بالای آن‌ها در کلیه روش‌ها پایدار بوده و بنابراین کاندیداهای قابل اعتمادی برای گزینش محسوب می‌شوند.

خوشه‌بندی متفاوت لاین‌های ذرت در شرایط بدون تنش و تنش کمبود فسفر نشان می‌دهد که ارزش‌های اصلاحی ژنومی برآورد شده (GEBVs) برای همان ژنوتیپ‌ها، تحت تأثیر شرایط محیطی قرار می‌گیرد که نشان دهنده برهمکنش ژنوتیپ و محیط بوده و لازم است این موضوع در زمان گزینش در نظر گرفته شود.



شکل ۵- گروه‌بندی ژنوتیپ‌های ذرت بر اساس ارزش‌های اصلاحی برآورد شده با مدل‌های آماری برای عملکرد دانه در شرایط بدون تنش (A) و تنش کمبود فسفر (B)

Fig. 5. Grouping of maize genotypes based on the breeding values estimated with statistical models for the grain yield in non-stress (A) and phosphorous deficiency stress (B) conditions

عملکرد دانه به عنوان داده‌های فنوتیپی و نشانگرهای SNP به عنوان داده‌های ژنوتیپی با استفاده از روش

تحلیل ارتباط در گستره ژنوم (GWAS) با استفاده از ارزش‌های اصلاحی برآورد شده با روش‌های مختلف و

MLM در نرم‌افزار iPat انجام شد. مقدار $-\log_{10}(p_value) > 3$ ($p < 0.001$) به عنوان آستانه معنی‌داری برای SNP‌ها در نظر گرفته شد. در تجزیه ارتباطی برای عملکرد با ۲۳۰۰۰۰ نشانگر SNP در شرایط بدون تنش چهار نشانگر و در شرایط تنش کمبود فسفر پنج نشانگر با روش MLM شناسایی شدند (جدول ۷). تحلیل ارتباط در گستره ژنوم (GWAS) ابزار قدرتمندی برای شناسایی مکان‌های ژنتیکی مرتبط با ویژگی‌های پیچیده در ذرت، از جمله تاب‌آوری در برابر تنش محسوب می‌شود (Sahito et al., 2024; Shikha et al., 2021). این روش به‌طور موفقیت‌آمیزی مناطق ژنومی متعددی را که در پاسخ گیاه به تنش‌های غیرزیستی و زیستی، عملکرد و ویژگی‌های کیفی مرتبط هستند، شناسایی کرده است. ادغام رویکردهای اومیکس باعث افزایش درک ویژگی‌های پیچیده و تحمل به تنش در ذرت شده است (Sahito et al., 2024). گزارش شده است که تحلیل ارتباط در گستره ژنوم، پتانسیل شناسایی واریانت‌های اصلی برای صفات کمی مانند عملکرد در شرایط تنش خشکی را دارد (Farfan et al., 2015). با ترکیب داده‌های چندین جمعیت، قدرت نقشه‌برداری ژن افزایش یافته و ارتباطات واضحی بین نواحی ژنومی شناخته شده و ویژگی‌هایی مانند زمان گلدهی و ارتفاع بوته در شرایط آبیاری کامل و تنش خشکی در ذرت شناسایی شده است (Wallace et al., 2016). این یافته‌ها به بهبود گزینش با کمک نشانگرها و برنامه‌های به‌نژادی مولکولی در ذرت کمک می‌کند (Shikha et al., 2021). در مطالعات تجزیه ارتباطی، تعداد زیادی از ژن‌های کاندیدای مرتبط با ویژگی‌های کارایی استفاده از فسفر شناسایی شده و باعث افزایش اطلاعات درباره پایه ژنتیکی کارایی فسفر در ذرت شده‌اند.

ژن‌های مرتبط با نشانگرهای شناسایی شده با Blast مشخص شده و هستی‌شناسی ژن‌های شناسایی شده،

نقش آنها را در فرآیندهای زیستی و مولکولی نشان داد. مسیرهای مرتبط با ژن‌های شناسایی شده که در سازوکارهای تحمل به تنش کمبود فسفر درگیر هستند، با استفاده از نرم‌افزار KOBAS شناسایی شدند که شامل Ribosome, Steroid Biosynthesis, Proteasome, Porphyrin Metabolism و ABC Transporters بودند. در مسیر Proteasome، نشانگر AX-91446915 با ژن Zm00001eb013840 که روی کروموزوم شماره ۱ قرار گرفته است، همپوشانی دارد. گیاهان معمولاً در پاسخ به تنش از سیستم پروتئازوم Ubiquitin/265 استفاده می‌کنند. بخش مهم این سیستم را E3 یوبی کوئیتین لیگاز تشکیل می‌دهد. تنش‌های شوری، خشکی و تیمار با اسید آبسزیک را می‌توان از طریق سطح رونوشت TaSTP تشخیص داد (Lv et al., 2020). یکی از مهم‌ترین سازوکارهای گیاهی که در کنترل رشد و نمو و پاسخ به تنش‌های زیستی و غیرزیستی دخالت دارد، سیستم پروتئازوم Ubiquitin/265 است. امروزه با توجه به مشکل جهانی کمبود آب و نقش مستقیم آب در میزان عملکرد، مطالعه سازوکار عمل ژن‌های مرتبط با تنش خشکی یک نیاز اساسی محسوب می‌شود (Smalle and Vierstra, 2004). بر اساس نتایج تحقیقات در برنج و آرابیدوپسیس، اندازه بذر، تحت تأثیر مسیر IKU، مسیر پروتئازوم یوبی کوئیتین، سیگنال‌دهی G، مسیر سیگنال‌دهی پروتئین کیناز فعال‌شده یا میتوژن، فیتوهورمون‌ها و تنظیم‌کننده رونویسی می‌باشد. بذر شامل زیگوت، سلول‌های مرکزی بارور شده و پوشش‌های مادری بوده و اندازه بذر توسط رشد بافت‌های مادری و زیگوتیک کنترل می‌شود (Li and Li, 2016). در مسیر Steroid biosynthesis نشانگر AX-90607190 با ژن Zm00001eb285290 که روی کروموزوم شماره ۶ قرار گرفته است، همپوشانی دارد. استروئیدهای گیاهی عمدتاً در برنج و آرابیدوپسیس تالیا مورد مطالعه قرار گرفته‌اند. استرول‌ها و براسینوسترئوئیدها در متابولیسم مسیرهای

مورد نیاز خود را مستقیماً از ATP تامین کرده و در فرآیندهایی مانند گامتوژن، رشد بذر، جوانه زنی بذر، تشکیل اندام‌ها و رشد ثانویه گیاه نقش داشته و در انتقال مواد آلی پیچیده در خلاف جهت شیب غلظت، مؤثر می‌باشند (Do et al., 2018).

نتیجه‌گیری

در شرایط تنش کمبود فسفر، ریشه گیاه به فسفر دسترسی کمتری داشته و در نتیجه با کاهش رشد و نهایتاً کاهش عملکرد مواجه می‌شود. این موضوع با مقایسه عملکرد ژنوتیپ‌های ذرت در دو وضعیت بدون تنش و تنش کمبود فسفر محرز شد. بین ارزش‌های اصلاحی برآورد شده با رگرسیون ریچ (rrBLUP) و ژنومیک بلاپ (GBLUP) و عملکرد دانه در شرایط بدون تنش و تنش کمبود فسفر، همبستگی بالایی مشاهده شد، بنابراین این روش‌ها بهترین روش برای تخمین ارزش اصلاحی ژنومی (Estimated genomic breeding value; EGBV) در هر دو وضعیت هستند. بر اساس بهترین روش‌ها، ژنوتیپ Ma064 در شرایط بدون تنش و ژنوتیپ Ma022 در شرایط تنش کمبود فسفر، از بالاترین ارزش اصلاحی ژنومی برخوردار بودند. بر اساس نتایج تجزیه به عامل‌ها، در شرایط بدون تنش، شاخص‌های آماری در چهار مؤلفه اصلی و در شرایط تنش کمبود فسفر در سه مؤلفه اصلی گروه‌بندی شدند. بر اساس نتایج تجزیه خوشه‌ای ارزش‌های اصلاحی، ژنوتیپ‌های ذرت به سه گروه تقسیم شدند. ژنوتیپ‌های گروه اول به دلیل عملکرد و ارزش اصلاحی بالاتر، مطلوب بوده و می‌توان از آنها در برنامه‌های به‌نژادی استفاده کرد. برای شناسایی ژن‌های دخیل در کنترل عملکرد، Blast توالی‌های SNP‌های معنی‌دار روی ژنوم ژنوتیپ‌های ذرت انجام شده و در ادامه هستی‌شناسی ژن برای توالی‌های ژنی شناسایی شده انجام گرفت. به‌منظور

سیگنال‌دهی، طویل شدن سلول، تمایز و تقسیم سلولی (Clouse, 2011) و همچنین جوانه‌زنی بذر، زمان گلدهی، عملکرد دانه، زودرسی (پیری) و سازوکارهای تحمل تنش‌های زیستی و غیرزیستی دخالت دارند (Vriet et al., 2012). در مسیر Ribosome نشانگر AX-91376754 با ژن Zm00001e098510 که روی کروموزوم شماره ۲ قرار گرفته است همپوشانی دارد. کاهش تعداد ریپوزوم‌ها از تنش شدید کمبود فسفر جلوگیری می‌کند، اما در عوض بیوسنتز پروتئین‌ها و رشد گیاه به شدت کاهش پیدا می‌کند (Sulpice et al., 2014). تعادل بین محتوای فسفر گیاه و فراوانی ژنتیکی ریپوزوم‌ها در بافت‌ها و در مراحل مختلف رشدی در گونه‌های گیاهی، باعث کاهش مصرف کود فسفر در خاک‌های کشاورزی می‌شود (Veneklaas et al., 2012). در مسیر Porphyrin metabolism نشانگر AX-90702330 با ژن Zm00001e038650 که روی کروموزوم شماره ۱ قرار گرفته است، همپوشانی دارد. متابولیت‌های پورفیرین در تحمل گیاهان به تنش نقش مهمی دارند. در آزمایشی که روی گیاه برنج تراریخته انجام شد گزارش شد که در شرایط تنش خشکی بیان بیش از حد PPO (*Myxococcus xanthus protoporphyrinogen oxidase*) باعث حفاظت سلول از خسارت کمبود آب محافظت می‌کند. بنابراین با دستکاری بیوسنتز پورفیرین می‌توان گیاهان متحمل به خشکی را تولید کرد (Phung et al., 2011). در مسیر ABC transporters نشانگر AX-90632470 با ژن Zm00001e357950 که روی کروموزوم شماره ۸ قرار گرفته است، همپوشانی دارد. خانواده پروتئین‌های کاست اتصال (ABC) در فیزیولوژی گیاهان نقش مهمی دارند. در آزمایش انجام شده روی برنج، گزارش شده است که هر یک از اعضای خانواده ناقل ABC روی افزایش عملکرد و تحمل به تنش خشکی مؤثر هستند (Moon et al., 2014). انتقال دهنده‌های ABC انرژی

"گزینش ژنومی برای عملکرد دانه ژنوتیپ‌های ذرت...، غلامی اصل و همکاران، ۱۴۰۳، ۳۸۹-۳۶۹"

جدول ۷- نشانگرهای SNP شناسایی شده برای عملکرد دانه ژنوتیپ‌های ذرت در شرایط بدون تنش و تنش کمبود فسفر با روش مدل خطی مخلوط

Table 7. SNP markers identified for grain yield of maize genotypes under non stress and phosphorous deficiency stress by Mixed Linear Model (MLM)

شماره کروموزوم		موقعیت	شناسه ژن	فرایندهای بیولوژیک	جزء سلولی	کارکرد مولکولی		
فسفر	No.	Position	P-value	Gene-ID	Biological process	Cellular component	Molecular function	
Phosphorous	SNP	Chromosome						
بدون تنش Non stress	AX-90563877	1	2.3E+08	0.000479	Zm00001eb031150	-	Heme Binding, Iron Ion Binding, Monooxygenase Activity, Oxidoreductase Activity, Acting on Paired Donors, with Incorporation or Reduction of Molecular Oxygen	
	AX-90591838	3	1.72E+08	0.000163	Zm00001eb145890	Phosphorylation, Protein Phosphorylation	Integral Component of ATP Binding, Kinase Activity, Nucleotide Binding, Protein Binding, Protein Kinase Activity, Transferase Activity	
	AX-91450676	6	1.55E+08	0.000626	Zm00001eb290940	mRNA Processing	mRNA Binding, Protein Binding	
	AX-91436013	10	65737195	0.000307	Zm00001eb413950	Regulation of DNA-Templated Transcription	Chromatin DNA Binding, Histone Binding, Metal Ion Binding	
تنش کمبود فسفر Phosphorus deficiency stress	AX-90650413	1	2691214	0.000128	Zm00001eb000650	Protein Ubiquitination, Interstrand Cross-Link Repair	Ubiquitin-Protein Transferase Activity, Protein Binding, Metal Ion Binding	
	AX-90644353	2	2.34E+08	0.000577	Zm00001eb103720	Ubiquitin-Dependent Protein Catabolic Process, Proteolysis Involved In Protein Catabolic process, Proteasome-Mediated Alpha-Subunit	Proteasome Core Complex, Threonine-Type Endopeptidase Activity, Endopeptidase Activity	
					Ubiquitin-Independent Protein Catabolic Process, Proteasomal Protein Catabolic Process	Proteasome Complex, Nucleus, Cytoplasm		
	AX-90800603	3	25863014	0.000249	Zm00001eb125860	-	Membrane, Integral Component of Membrane	-
	AX-91066125	7	1.68E+08	0.000817	Zm00001eb328450	Regulation of Alternative mRNA Splicing, via Spliceosome, mRNA Splicing, via Spliceosome, mRNA Cis Splicing, via Spliceosome	Nucleus, Nuclear Speck, Cytoplasm	RNA Binding, Nucleic Acid Binding
	AX-91105575	8	1.41E+08	0.000243	Zm00001eb357630	Metal Ion Transport	-	Metal Ion Binding

بررسی ارتباط ژن‌ها و رسم شبکه، از پایگاه داده KEGG استفاده شد و مسیرهای Ribosome، Steroid biosynthesis، Proteasome، ABC transporters و Porphyrin metabolism شناسایی شدند. نتایج نشان داد که ژن‌های واقع در این مسیرها روی کروموزوم‌های شماره ۱، ۲، ۶ و ۸ ذرت قرار دارند. نتایج این تحقیق می‌تواند در گزینش لاین‌های والدی برای برنامه‌های به‌نژادی برای تحمل تنش کمبود فسفر و همچنین ژن‌های مؤثر برای دستکاری (انتقال ژن و ویرایش ژنوم) مفید باشد.

References

منابع مورد استفاده

- Ananda Kumar, B.V., Venkatachalam, S.R., Ravikesavan, R., Narasimhulu, R., Kathirvelan, P., Venkatesh Selvarangam, Anand Pandravada, Ashish Srivastava, Balasundara, D.C., Raman Babu, and Sayan Das. 2022. Genomic prediction in doubled haploid maize (*Zea mays*) populations under water stress at flowering and well-watered conditions using high-density single-nucleotide polymorphisms. *Plant Breeding*, 141(4), pp. 566-573. <https://doi.org/10.1111/pbr.13027>
- Arzhang, S., Darvishzadeh, R., Alipour, H., Maleki, H.H., and Dezhsetan, S. 2024. Genetic variability of maize (*Zea mays*) germplasm from Iran: genotyping with a maize 600K SNP array and genome-wide scanning for selection signatures. *Crop and Pasture Science*, 75(3). <https://doi.org/10.1071/cp23288>
- Beyene, Y., Semagn, K., Mugo, S., Tarekegne, A., Babu, R., Meisel, B., Sehabiague, P., and Crossa, J. 2015. Genetic gains in grain yield through genomic selection in eight bi-parental maize populations under drought stress. *Crop Science*, 55(1), pp.154-163. <https://doi.org/10.2135/cropsci2014.07.0460>
- Broushan, H. and Darvishzadeh, R. 2022. Estimation the breeding value of morphophysiological traits in maize (*Zea mays* L.) genotypes by BLUP method. *Iranian Journal of Crop Sciences*, 24(3): pp.302-318. [In Persian]. doi: 20.1001.1.15625540.1401.24.4.3.0
- Caballero, A. 2020. *Quantitative Genetics*. Cambridge University Press.
- Clouse, S.D. 2011. Brassinosteroid signal transduction: from receptor kinase activation to transcriptional networks regulating plant development. *The Plant Cell*, 23(4), pp.1219-1230. <https://doi.org/10.1105/tpc.111.084475>
- Do, T.H.T., Martinoia, E., and Lee, Y. 2018. Functions of ABC transporters in plant growth and development. *Current Opinion in Plant Biology*, 41, pp.32-38. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2017.08.003>
- FAO. 2020. <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>. [Accessed on 2 December 2019]
- Farfan I.D., De La Fuente, G.N., Murray, S.C., Isakeit, T., Huang, P.C., Warburton, M., Williams, P., Windham, G.L., and Kolomiets, M. 2015. Genome wide association study for drought, aflatoxin resistance, and important agronomic traits of maize hybrids in the sub-tropics. *PLoS One*, 10(2), pp.e0117737. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0117737>
- Holland, J.B., Marino, T.P., Manching, H.C., and Wisser, R.J. 2020. Genomic prediction for resistance to fusarium ear rot and fumonisin contamination in maize. *Crop Science*, 60(4), pp.1863-1875.

<https://doi.org/10.1002/csc2.20163>

- Jannink, J.L., Lorenz, A.J., and Iwata, H. 2010.** Genomic selection in plant breeding: from theory to practice. *Briefings in Functional Genomics*, 9(2), pp.166-177. <https://doi.org/10.1093/bfgp/elq001>
- Ketterings, Q., and Czymmek, K. 2020.** Removal of Phosphorus by Field Crops; Agronomy Fact Sheet Series; Fact Sheet #28; Nutrient Management Spear Program, Cornell University: Ithaca, NY, USA; Available online: <https://nmsp.cals.cornell.edu/publications/factsheets/factsheet28.pdf> (accessed on 25 July 2020).
- Li, N., and Li, Y. 2016.** Signaling pathways of seed size control in plants. *Current Opinion in Plant Biology*, 33, pp.23-32. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2016.05.008>
- Ly, Q., Zhang, L., Zan, T., Li, L., and Li, X. 2020.** Wheat RING E3 ubiquitin ligase TaDIS1 degrade TaSTP via the 26S proteasome pathway. *Plant Science*, 296, 110494. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2020.110494>
- Machado, C.T.T., Guerra, J.G.M., Almeida, D.L., and Machado, A.T. 1999.** Variabilidade entre genótipos de milho para eficiência no uso de fósforo. *Bragantia*, 58, pp.109-124. <https://doi.org/10.1590/S0006-87051999000100012>
- Malakouti, M.J., and Gheibi, M.N. 2000.** Determination of Critical Levels of Nutrients in Soil, Plant and Fruit for the Quality and Yield Improvements of Iran's Strategic Crops. Agricultural Education Publication, Tehran, Iran. [In Persian].
- Meher, P.K., Rustgi, S., and Kumar, A. 2022.** Performance of Bayesian and BLUP alphabets for genomic prediction: analysis, comparison and results. *Heredity*, 128(6), pp.519-530. <https://doi.org/10.1038/s41437-022-00539-9>
- Meuwissen, T.H., Hayes, B.J., and Goddard, M. 2001.** Prediction of total genetic value using genome-wide dense marker maps. *Genetics*, 157(4), pp.1819-1829. <https://doi.org/10.1093/genetics/157.4.1819>
- Moon, S., and Jung, K.H. 2014.** Genome-wide expression analysis of rice ABC transporter family across spatio-temporal samples and in response to abiotic stresses. *Journal of Plant Physiology*, 171(14), pp.1276-1288. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2014.05.006>
- Phung, T.H., Jung, H.I., Park, J.H., Kim, J.G., Back, K., and Jung, S. 2011.** Porphyrin biosynthesis control under water stress: sustained porphyrin status correlates with drought tolerance in transgenic rice. *Plant Physiology*, 157(4), pp.1746-1764. <https://doi.org/10.1104/pp.111.188276>
- Robertsen, C.D., Hjortshøj, R.L., and Janss, L.L. 2019.** Genomic selection in cereal breeding. *Agronomy*, 9(2), 95. <https://doi.org/10.3390/agronomy9020095>
- Sahito, J.H., Zhang, H., Gishkori, Z.G.N., Ma, C., Wang, Z., Ding, D., Zhang, X., and Tang, J. 2024.** Advancements and prospects of genome-wide association studies (GWAS) in maize. *International Journal of Molecular Sciences*, 25(3), 1918. <https://doi.org/10.3390/ijms25031918>
- Schuster, A., Santana, A.S., Uberti, A., Dias, F.D.S., Dos Reis, H.M., Destro, V., and DeLima, R.O. 2024.** Genetic diversity, relationships among traits and selection of tropical maize inbred lines for low-P tolerance

- based on root and shoot traits at seedling stage. *Frontiers in Plant Science*, 15, 1429901. <https://doi.org/10.3389/fpls.2024.1429901>
- Shahbazi K., and Besharati H. 2013.** Overview of agricultural soils fertility status. *Journal of Land Management*, 1(1), pp.1-15 [In Persian]. doi: 10.22092/lmj.2013.100072
- Shikha, M., Kanika, A., Rao, A.R., Mallikarjuna, M.G., Gupta, H.S., and Nepolean, T. 2017.** Genomic selection for drought tolerance using genome-wide SNPs in maize. *Frontiers in Plant Science*, 8, 550. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.00550>
- Shikha, K., Shahi, J.P., Vinayan, M.T., Zaidi, P.H., and Singh, A.K. 2021.** Genome-wide association mapping in maize: status and prospects. *3 Biotech*, 11, 244. <https://doi.org/10.1007/s13205-021-02799-4>
- Smalle, J., and Vierstra, R.D. 2004.** The ubiquitin 26S proteasome proteolytic pathway. *Annual Review of Plant Biology*, 55, pp.555-590. <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.55.031903.141801>
- Sulpice, R., Ishihara, H., Schlereth, A., Cawthray, G.R., Encke, B., Giavalisco, P., ... and Lambers, H. 2014.** Low levels of ribosomal RNA partly account for the very high photosynthetic phosphorus-use efficiency of P roteaceae species. *Plant, Cell & Environment*, 37(6), pp.1276-1298. <https://doi.org/10.1111/pce.12240>
- Vance, C.P., Uhde-Stone, C., and Allan, D.L. 2003.** Phosphorus acquisition and use: Critical adaptations by plants for securing a nonrenewable resource. *New Phytologist*, 157(3), pp. 423–447.
- Veneklaas, E.J., Lambers, H., Bragg, J., Finnegan, P.M., Lovelock, C.E., Plaxton, W.C., ... and Raven, J.A. 2012.** Opportunities for improving phosphorus use efficiency in crop plants. *New Phytologist*, 195(2), pp.306-320. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2012.04190.x>
- Vriet, C., Russinova, E., and Reuzeau, C. 2012.** Boosting crop yields with plant steroids. *The Plant Cell*, 24(3), pp.842-857. <https://doi.org/10.1105/tpc.111.094912>
- Wallace, J.G., Zhang, X., Beyene, Y., Semagn, K., Olsen, M., Prasanna, B.M., and Buckler, E.S. 2016.** Genome-wide association for plant height and flowering time across 15 tropical maize populations under managed drought stress and well-watered conditions in Sub-Saharan Africa. *Crop Science*, 56, pp.2365-2378. <https://doi.org/10.2135/cropsci2015.10.0632>
- Xie, Y., Feng, Y., Chen, Q., Zhao, F., Zhou, S., Ding, Y., and Wang, B. 2019.** Genome-wide association analysis of salt tolerance QTLs with SNP markers in maize (*Zea mays* L.). *Genes & Genomics*, 41, pp.1135-1145. <https://doi.org/10.1007/s13258-019-00842-6>
- Zhang, X., Pérez-Rodríguez, P., Semagn, K., Beyene, Y., Babu, R., López-Cruz, M.A., San Vicente, F., Olsen, M., Buckler, E., Jannink, J.L., and Prasanna, B.M. 2015.** Genomic prediction in biparental tropical maize populations in water-stressed and well-watered environments using low-density and GBS SNPs. *Heredity*, 114(3), pp.291-299. <https://doi.org/10.1038/hdy.2014.99>