



ISSN: 2676-7309



Lorestan University

## Genomic Selection For Grain Yield in Maize (*Zea mays* L.) Under Normal and Salinity Stress Conditions

Nesa Haghi Asl | Reza Darvishzadeh\* | Hadi Alipour | Sima Fatanatvash | Sorour Arzhang

Department of Plant Production and Genetics, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia, Iran

\*Corresponding author : [r.darvishzadeh@urmia.ac.ir](mailto:r.darvishzadeh@urmia.ac.ir)

### Article Info

**Article type:**  
Research Article

**Article history:**  
Received: April 05, 2025;  
Received in revised form: May 19, 2025;  
Accepted: June 08, 2025;  
Available online: June 30, 2025

**Keywords:**  
Salinity stress,  
Maize,  
Grain yield,  
Genomic selection,  
SNP markers,  
Gene ontology

### ABSTRACT

Maize, characterized with its high grain yield and sustainable biomass, is a main food and fodder crop cultivated in a wide range of climate conditions. With the development of DNA sequencing technologies and the availability of widespread dense markers throughout the genome, numerous studies have reported on substitution of classical and marker-assisted selections with genomic selection (GS). In this research, 86 maize lines were evaluated in terms of grain yield in a randomized complete block design with 3 replications in two normal and salinity stress (8 ds/m) conditions. After genotyping the lines using the Affymetrix® Maize 600K genotyping array in TraitGenetics (Germany) and removing SNPs with more than 10% missing data and allelic frequency less than 10%, the obtained SNPs were used for genomic selection under normal and salt stress conditions. The genomic breeding value was estimated with different statistical methods such as genomic Best Linear Unbiased Prediction (gBLUP), ridge regression BLUP (rrBLUP), and Bayesian methods including Bayesian Ridge Regression (BRR), Bayes A, Bayes B, and Bayes C, in iPAT software for yield trait. Correlation criteria was used to select the best model. Based on the results, Bayes C method was the best method for predicting genomic breeding values in both normal and salt stress conditions. In the cluster analysis based on the estimated genomic breeding values, the studied maize genotypes were divided into three groups. Next, by using the yield and estimated genomic breeding values data a genome-wide association analysis (GWAS) was performed with SNP markers. Based on BLINK model, 209 and 108 markers with significant relationship were identified in both normal and salt stress conditions. Finally, by BLAST of the sequence of significant SNPs against the maize genome, the related genes including putative MAPKKK family protein kinase, PDHB and Glutamine synthetase 1 were identified. Gene ontology studies revealed that these genes are involved in pathways associated with defense regulation, biosynthesis of amino acids, and maintaining osmotic balance against environmental stresses, which can significantly contribute to increasing the plant's tolerance to abiotic stresses.



**Cite this article:** Haghi Asl, N., Darvishzadeh, R., Alipour, H., Fatanatvash, S. and Arzhang, S. (2025). Genomic selection for grain yield in maize (*Zea mays* L.) under normal and salinity stress conditions. *Plant Genetic Research*, 12(1): 1-20.

**DOI:** <https://doi.org/10.22034/pgr.2025.2062236.1000>



© Author(s) retain the copyright.

Homepage: <https://www.pgr.lu.ac.ir> | Publisher: Lorestan University

## Introduction

Maize (*Zea mays* L.) is an annual species belongs to the Poaceae family and is botanically a diploid plant ( $2n=20$ ). After wheat and rice, maize is the third most important cereal crop worldwide and serves as a staple food for many people in Asia, Africa, and Latin America. Grain yield and adaptation to abiotic stresses are traits controlled by numerous genes, which typically have small individual effects and exhibit epistatic interactions. Salinity stress is one of the most challenging environmental threats that affects the growth and productivity of agricultural crops in various parts of the world. Molecular markers are biological tools used as laboratory probes to identify and characterize an individual, tissue, cell, cell nucleus, chromosome, or gene, and they are classified into various types. Differences in single nucleotides among individuals in populations are known as single nucleotide polymorphisms (SNPs). With the advancement of DNA sequencing technologies and the availability of dense, genome-wide markers, reports have emerged on the replacement of classical and marker-assisted selections with genomic selection (GS). In genomic selection, the effects of a large number of markers distributed across the entire genome are estimated simultaneously, enabling the calculation of estimated genomic breeding values for individuals.

## Material and Methods

In this research, 86 maize lines were evaluated for grain yield (GY) using a randomized complete block design with three replications under two environments: optimal and salt stress (8 dS/m) conditions in pot experiment. Following genotyping of the lines using the Affymetrix® Maize 600K genotyping array at TraitGenetics company (Germany), and after removing SNPs with more than 10% missing data and a minor allele frequency of less than 10%, the remaining SNPs were used for genomic selection under both optimal and salt stress conditions. Genomic breeding values were estimated for grain yield using the following statistical genomic methods: genomic Best Linear Unbiased Prediction (gBLUP), ridge regression BLUP (rrBLUP), and Bayesian methods including Bayesian Ridge Regression (BRR), Bayes A, Bayes B, and Bayes C, using the iPat software. The correlation criterion was used to select the best model.

## Results and Discussion

Based on the results of the analysis of variance, under both optimal and salt stress conditions, there were statistically significant differences among the genotypes for grain yield. The significant variation observed among genotypes for yield indicates the presence of genetic diversity, which is valuable for breeding programs. According to the results, the Bayes C method was the best method for predicting genomic breeding values under both optimal and salt stress conditions. Based on this method, genotype Ma025 had the highest genomic breeding value under optimal conditions, and genotype Ma010 had the highest under salt stress conditions. In the cluster analysis based on the estimated genomic breeding values, the studied maize genotypes were divided into three groups. Subsequently, a Genome-Wide Association Study (GWAS) was conducted using the BLINK method for the grain yield data and breeding values under both optimal and salt stress conditions. This identified 290 and 108 significantly associated markers, respectively. Finally, the sequences of the significant SNPs were examined to identify potential candidate genes. The candidate genes identified included a putative MAPKKK family protein kinase, PDHB, and Glutamine synthetase 1. These genes are associated with pathways involved in regulating defense responses, amino acid biosynthesis,

and maintaining osmotic balance under environmental stresses, which can significantly contribute to enhancing plant tolerance to abiotic stresses.

### **Conclusion**

The results of present study revealed significant genetic diversity for grain yield among maize genotypes under both optimal and salt stress conditions. The Bayes C method showed the highest predictive accuracy, identifying superior genotypes for each environment. GWAS detected key SNPs linked to candidate genes involved in stress tolerance pathways. These findings likely provide useful resources for breeding salt-tolerant maize cultivars.

### **Author Contributions**

NH and SA conducted all laboratory experiments. RD and HA contributed to the conceptualization, design, and supervision of the research study. RD and SF prepared the initial manuscript draft. HA and RD supported the analysis and interpretation of the data. All authors reviewed and approved the final version of the manuscript.

### **Data Availability Statement**

Data available on request from the authors.

### **Acknowledgements**

The authors would like to thank Urmia University for its financial and technical supports. We are also deeply grateful to the anonymous reviewers for their valuable suggestions in manuscript revision.

### **Ethical Considerations**

The authors avoided data fabrication, falsification, and plagiarism, and any form of misconduct.

### **Funding**

This research did not receive any specific grant from funding agencies in the public, commercial, or not-for-profit sectors.

### **Conflict of Interest**

The authors declare no conflict of interest.

## گزینش ژنومی برای عملکرد دانه در ذرت (*Zea mays* L.) تحت شرایط بهینه و تنش شوری

نسا حقی اصل<sup>ID</sup> | رضا درویش زاده\*<sup>ID</sup> | هادی علی پور<sup>ID</sup> | سیما فطانت‌وش<sup>ID</sup> | سرور ارژنگ<sup>ID</sup>

گروه تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

### چکیده

### اطلاعات مقاله

ذرت با عملکرد دانه و بیوماس بالا به‌عنوان یکی از محصولات غذایی اصلی و علوفه‌ای می‌باشد که در طیف وسیعی از شرایط آب و هوایی کشت می‌شود. با توسعه فناوری‌های توالی‌یابی DNA و در دسترس بودن نشانگرهای متراکم گسترده در سرتاسر ژنوم، شواهد و گزارش‌های زیادی از جایگزین شدن گزینش ژنومی (Genomic selection: GS) به جای گزینش کلاسیک و گزینش به کمک نشانگر (Marker-assisted selection: MAS) ارائه شده است. در این تحقیق ۸۶ لاین ذرت از لحاظ صفت عملکرد دانه (GY) در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با ۳ تکرار در دو محیط بهینه و تنش شوری ۸ ds/m در شرایط گلدانی مورد ارزیابی قرار گرفتند. بعد از ژنوتیپ‌سنجی لاین‌ها با استفاده از آرایه ژنوتیپ‌سنجی Affymetrix® Maize 600K در شرکت TraitGenetics (آلمان) و حذف SNP‌هایی (Single nucleotide polymorphism) با بیش از ۱۰ درصد داده گمشده و فراوانی آلل مینور کمتر از ۱۰ درصد، SNP‌های باقی‌مانده برای گزینش ژنومی در شرایط بهینه و تنش شوری مورد استفاده قرار گرفتند. ارزش اصلاحی ژنومی با روش‌های آماری ژنومیک بلاپ (gBLUP)، رگرسیون ریچ (rrBLUP)، روش‌های بیزین شامل رگرسیون ریچ بیزی (BRR)، بیز A (Bayes A)، بیز B (Bayes B) و بیز C (Bayes C) در نرم‌افزار iPat برای صفت عملکرد برآورد شدند. برای انتخاب بهترین مدل از معیار همبستگی استفاده شد. بر اساس نتایج، روش بیز C بهترین روش برای پیشگویی ارزش‌های اصلاحی ژنومی هم در شرایط بهینه و هم در شرایط تنش شوری بود. در تجزیه خوشه‌ای بر اساس ارزش‌های اصلاحی ژنومی برآورد شده، ژنوتیپ‌های ذرت مورد مطالعه در سه گروه تقسیم شدند. در ادامه تجزیه ارتباط در گستره ژنوم (Genome-wide association study: GWAS) با استفاده از روش BLINK برای داده‌های عملکرد دانه و ارزش‌های اصلاحی در دو شرایط بهینه و تنش شوری انجام شد که به ترتیب ۲۹۰ و ۱۰۸ نشانگر با ارتباط معنی‌دار شناسایی گردید. در نهایت توالی SNP‌های معنی‌دار برای شناسایی ژن‌های کاندید احتمالی بررسی شد. ژن‌های کاندید *Glutamine synthetase 1* و *PDHB*، *Putative MAPKKK family protein kinase* بودند. این ژن‌ها در مسیرهایی مانند تنظیم پاسخ‌های دفاعی، بیوسنتز اسیدهای آمینه و حفظ تعادل اسمزی در برابر تنش‌های محیطی نقش دارند که می‌تواند به‌طور چشمگیری در افزایش تحمل گیاه به تنش‌های غیرزیستی مؤثر باشند.

نوع مقاله:

مقاله پژوهشی

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۱/۱۶

تاریخ بازنگری: ۱۴۰۴/۰۲/۲۹

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۳/۱۸

تاریخ انتشار: ۱۴۰۴/۰۴/۰۹

واژگان کلیدی:

تنش شوری،

ذرت،

عملکرد دانه،

گزینش ژنومی،

نشانگرهای SNP،

هستی‌شناسی ژن

## مقدمه

اسمزی با ورود نمک به آب کاهش می‌یابد که در پی آن در دسترس بودن آب برای سلول‌های ریشه گیاه کاهش می‌یابد (Roy et al., 2014).

نشانگرهای مولکولی از جمله عناصر زیستی هستند که به‌عنوان کاوشگرهای آزمایشگاهی برای یافتن و مشخص کردن یک فرد، بافت، سلول، هسته سلولی، کروموزوم یا ژن به‌کار می‌روند و به اشکال مختلف معرفی می‌شوند (Semagn et al., 2010). نوکلئوتیدهای A، T، C و G بلوک‌های سازنده DNA هستند. تفاوت در تک‌نوکلئوتیدها در بین افراد جمعیت‌ها به پلی‌مورفیسم تک‌نوکلئوتیدی (Single nucleotide polymorphism: SNP) معروف است (Isik, 2014). این نشانگرها در ژنوم‌های گیاهی و جانوری فراوان هستند و پتانسیل تولید داده‌های انبوه با هزینه مقرون‌به‌صرفه‌ای داشته و در مقایسه با نشانگرهای ریزماهواره، نرخ جهش پایینی دارند. اکثر نشانگرهای SNP دو آللی هستند که تجزیه و تحلیل آن‌ها را آسان می‌کند (Perkel, 2008).

استفاده از گزینش مصنوعی برای بهبود ژنتیکی جهت بهره‌وری بیشتر از گیاهان و حیوانات اهلی در طول ۶۰ سال گذشته، نقش خیلی مهمی داشته است (Dekkers and Haspatal, 2002; Hayes, 2007; Ebrahimi et al., 2023). گزینش به کمک نشانگرهای مولکولی (MAS) مرتبط با مکان ژن‌های کنترل‌کننده صفات کمی (Quantitative trait loci: QTL)، به دلیل افزایش صحت و شدت گزینش و همچنین کاهش فاصله نسل، میزان پیشرفت ژنتیکی را افزایش می‌دهد (Soller and Beckmann, 1983; Mirmohammady and Golkar, 2025). با توسعه فناوری‌های توالی‌یابی DNA و در دسترس بودن نشانگر-های متراکم گسترده در سرتاسر ژنوم، گزارش‌هایی از جایگزین شدن گزینش‌های کلاسیک و گزینش به کمک نشانگر با گزینش ژنومی (GS) منتشر شده است (Abdollahi et al., 2012; Daetwyler et al., 2012). گرچه گزینش ژنومی در مراحل توسعه و بلوغ است؛ اما پیش‌بینی می‌شود این روش ارزیابی، روش مرجع در ژنتیک گیاهی، حیوانی و انسانی شود. گزینش ژنومی نوعی از

در سطح جهانی غلات بیشتر از هر نوع محصول دیگری کشت می‌شوند و انرژی غذایی بیشتری نسبت به سایر محصولات برای انسان و دام تامین می‌کنند. غلات به‌عنوان منبع غنی از مواد معدنی، کربوهیدرات‌ها، ویتامین‌ها، چربی‌ها و پروتئین‌ها هستند و برای مصارف غذایی و صنعتی ترجیح داده می‌شوند (Ahmad et al., 2020). ذرت با نام علمی *Zea mays* L. متعلق به خانواده گندمیان (Gramineae, Poaceae) و از نظر گیاه‌شناسی یک گیاه دیپلوئید با  $2n=20$  کروموزوم و یک‌ساله می‌باشد (Ahmad et al., 2020). ذرت بعد از گندم و برنج سومین غله مهم در سراسر جهان است و یک غله اصلی برای بسیاری از مردم آسیا، آفریقا و آمریکای لاتین می‌باشد. گیاه ذرت که به ملکه غلات نیز معروف است تنوع ژنتیکی بالایی دارد؛ از این رو قابلیت کشت در هر نوع اقلیمی را دارد. عمده کشورهای تولیدکننده این گیاه ایالات متحده آمریکا، چین، برزیل، ایتالیایی و مکزیک است که ۷۰ درصد تولید جهانی را به خود اختصاص می‌دهند (FAO, 2019). پنج نوع ذرت شامل ذرت دندان اسبی، ذرت بلوری، ذرت شیرین، ذرت بودادنی و ذرت مومی وجود دارد که عمدتاً برای مصارف تغذیه کشت می‌شوند (Nuss and Tanumihardjo, 2010).

سازگاری به تنش‌ها و عملکرد دانه صفاتی هستند که توسط ژن‌های زیادی کنترل می‌شوند که معمولاً اثرات این ژن‌ها کوچک بوده و اثر متقابل ژنی (اپیستازی) نشان می‌دهند (Li et al., 2021; Li and Li, 2016). تنش شوری یکی از چالش‌برانگیزترین تهدیدات زیست محیطی است که رشد و بهره‌وری محصولات کشاورزی را در نقاط مختلف جهان تحت تأثیر قرار می‌دهد (Wang et al., 2019). شوری نه تنها فشار بیش از حد یونی، بلکه تنش هایپراسموتیک در گیاهان ایجاد می‌کند؛ بنابراین باعث کاهش رشد و نمو گیاه می‌شود. فاز یونی (فشار بیش از حد یونی) باعث می‌شود که برگ‌ها پیش از موعد بالغ شوند، در حالی که فاز اسمزی (تنش هایپراسموتیک) سرعت رشد را کند می‌کند. پتانسیل

گزینش به کمک نشانگرها (MAS) می‌باشد که در این گزینش از نشانگرهای سرتاسر ژنوم استفاده می‌شود (Ingvarsson and Street, 2011). این نوع گزینش امکان سازگاری ژنوتیپ فرد به یک محیط را با قدرت پیش‌گویی از طریق ژنوم محقق می‌کند (Resende *et al.*, 2012; Aguilár *et al.*, 2011; Crossa *et al.*, 2011). در گزینش ژنومی اثر تعداد زیادی نشانگر که در کل ژنوم پراکنده شده‌اند به‌طور همزمان برآورد شده و امکان محاسبه ارزش‌های ژنتیکی افراد فراهم می‌شود (Goddard, 2009; Meuwissen *et al.*, 2001). امکان ارزیابی فنوتیپی هزاران نمونه به‌صورت دقیق‌تر و سریع‌تر و همچنین کاهش هزینه‌ها باعث می‌شود که گزینش ژنومی ارزش بالایی در برنامه‌های به‌نژادی گیاهی داشته باشد (Davey *et al.*, 2011). گزینش ژنومی به‌جای اینکه بر روی مدل‌های تجزیه و تحلیلی تک نشانگر که فقط اثرات بزرگ مربوط به آن نشانگر را نشان می‌دهند، تمرکز کند؛ سعی دارد اثرات کوچک و اثرات بزرگ نشانگرها را به کمک مدل‌های جدید آماری پیش‌گویی کرده تا یک توصیف ژنتیکی کم‌هزینه از نشانگرها را داشته باشد (De los Campos *et al.*, 2009; Crossa *et al.*, 2010; Vitezica *et al.*, 2011). در راستای انتخاب ژنومی، در مطالعه حاضر برآورد ارزش اصلاحی ژنومی برای عملکرد دانه در ذرت با استفاده از نشانگرهای SNP در شرایط بهینه و تنش شوری گزارش می‌شود.

#### مواد و روش‌ها

تعداد ۸۶ ژنوتیپ ذرت که از مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر کرج، دانشگاه رازی کرمانشاه و مرکز تحقیقات کشاورزی خراسان رضوی تهیه شدند (جدول ۱)، تحت شرایط بهینه و تنش شوری در ۳ تکرار در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در شرایط گلدانی در سال ۱۴۰۱ در محوطه گلخانه‌های تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه ارومیه با ارتفاع ۱۳۲۰ متر از سطح دریا و طول جغرافیایی ۴۵ درجه و ۴ ثانیه و عرض جغرافیایی ۳۷ درجه و ۳۲ ثانیه در گلدان‌های ۱۰ کیلوگرمی کشت و برای عملکرد دانه مورد ارزیابی قرار گرفتند.

گلدان‌ها با خاک لومی شنی و ماسه به نسبت دو به یک پر شدند و سیستم آبیاری به‌صورت قطره‌ای با دوره آبیاری هر ۳ روز یکبار تا مرحله جوانه‌زنی بذرها و پس از آن روزانه انجام شد. پس از رسیدن گیاهان به مرحله ۴ برگگی، کود ۲۰-۲۰-۲۰ NPK به میزان ۰/۵ گرم در لیتر، هفته‌ای یکبار اعمال شد. سپس، پس از رسیدن گیاهان به مرحله گیاه کامل، میزان مصرف کود به ۲ گرم در لیتر افزایش یافته و هر سه روز یکبار استفاده گردید. تنش شوری بعد از رسیدن گیاهان به مرحله ۸ برگگی اعمال شد؛ به این صورت که برای دستیابی به شوری ۸ ds/m، به اندازه ۱۷/۲ گرم سدیم کلراید در ۱۱۰۰ میلی‌لیتر آب حل گردید تا خاک گلدان‌ها به ظرفیت زراعی برسند (Arzangh *et al.*, 2021). شوری خاک توسط دستگاه EC متر کنترل شد. برای جلوگیری از تنش اسمزی و ایجاد تنش ناگهانی شوری طی ۲ مرحله به گلدان‌ها اضافه شد. در طول آزمایش هیچ‌گونه کنترلی بر روی گرده‌افشانی ژنوتیپ‌ها انجام نشد و تلاقی جمعیت مورد مطالعه بصورت آزادگرده‌افشان بود. در مرحله رسیدگی فیزیولوژیک، بلال‌های مربوط به هر تکرار از بوته‌ها جدا شدند. سپس دانه‌ها از بلال‌ها جدا شده و وزن دانه‌های هر بوته برای تعیین عملکرد دانه اندازه‌گیری شد. ارزیابی ژنوتیپی ژنوتیپ‌های ذرت با استفاده از نشانگرهای SNP انجام شد. برای این منظور از ژنوتیپ‌های ذرت در مرحله چهار برگگی استخراج DNA به-روش CTAB (Cetyl Trimethyl Ammonium Bromide) انجام گرفت. پس از اطمینان از مناسب بودن کمیت و کیفیت DNAهای استخراج شده به‌ترتیب با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر و ژل آگارز ۱ درصد، نمونه‌های DNA از ۸۶ ژنوتیپ ذرت که در مطالعه استفاده شده‌اند، برای توالی‌یابی به شرکت TraitGenetics آلمان ارسال شدند. کتابخانه ژنومی نمونه‌ها ساخته شده و توالی‌یابی با استفاده از Affymetrix® Maize 600K genotyping array انجام شد. در حال حاضر برای این ۸۶ ژنوتیپ، ۶۰۰ هزار نشانگر SNP در دسترس است. نوع ژنوتیپی ژنوتیپ‌های مورد بررسی در این مطالعه با نشانگرهای SNP توسط ارژنگ و همکاران (Arzhang *et al.*, 2024) بررسی شده است. ژنوتیپ‌های مذکور لاین خالص هستند اما شجره ژنوتیپ‌ها در دسترس نیست. ژنوتیپ‌ها در

این مقاله، صرفاً ارائه برآورد ارزش اصلاحی ژنومی (Genomic) با استفاده از داده‌های عملکرد و نشانگرهای SNP، به منظور انتخاب ژنومی در هر یک از شرایط مذکور است.

بانک ژن گیاهی دانشگاه ارومیه هر ساله تکثیر و نگهداری می‌شوند. داده‌های فنوتیپی صفات مختلف که در ژنوتیپ‌های ذرت تحت شرایط بهینه و تنش شوری اندازه‌گیری شده‌اند، در مطالعات (Arzhang *et al.*, 2023) گزارش شده است. هدف از

جدول ۱- مشخصات ژنوتیپ‌های ذرت مورد مطالعه در شرایط بهینه و تنش شوری

Table 1. Characteristics of studied maize genotypes under normal and salt stress conditions

کد Code	لاین Line	محل تهیه Place of preparation	کد Code	لاین Line	محل تهیه Place of preparation	کد Code	لاین Line	محل تهیه Place of preparation
Ma001	P3L2	Kermanshah	Ma032	K=1264/5-1	Karaj	Ma079	138*/89	Mashhad
Ma002	P11L7	Kermanshah	Ma035	B73	Karaj	Ma080	K19*/1392 ایزوله	Mashhad
Ma003	P15L16Kahriz	Kermanshah	Ma036	پدري OH43/1-42	Karaj	Ma083	1*/89 چوب قرمز	Mashhad
Ma004	P9L3Kahriz	Kermanshah	Ma037	پدري R59	Karaj	Ma085	1390/Popcom-53or54 خط	Mashhad
Ma005	P13L2	Kermanshah	Ma038	W37A	Karaj	Ma091	8/K19/1	Mashhad
Ma006	P19L7Kahriz	Kermanshah	Ma039	R319	Karaj	Ma096	67*/88	Mashhad
Ma007	P6L1	Kermanshah	Ma040	R59	Karaj	Ma098	1387/193/Chase*/S2	Mashhad
Ma008	P19L3Kahriz	Kermanshah	Ma042	W153R	Karaj	Ma100	36-N/88-K3653/2	Mashhad
Ma009	P14L1Kahriz	Kermanshah	Ma043	K1533POPCORN R59×R319	Karaj	Ma104	1	-
Ma010	P11L7	Kermanshah	Ma044	مادري دابل کراس ۳۷۰ (سینگل کراس)	Karaj	Ma105	2	-
Ma011	P14L2	Kermanshah	Ma045	B73(RFCORCMS)	Karaj	Ma106	3	-
Ma012	P10L5	Kermanshah	Ma046	1264/1	Karaj	Ma107	4	-
Ma013	P11L4Kahrizi ديالل کرج	Kermanshah	Ma048	ZK472221	Karaj	Ma108	5	-
Ma014	P11L6	Kermanshah	Ma049	K1263/1/1388	Mashhad	Ma109	6	-
Ma015	P13L3	Kermanshah	Ma051	9/K19/1	Mashhad	Ma110	7	-
Ma016	P16L4Kahriz	Kermanshah	Ma052	3/K19/1&(K19/1*/1392)	Mashhad	Ma111	8	-
Ma017	P3L4Kahriz	Kermanshah	Ma054	2/K19/1&(K19/1)	Mashhad	Ma112	9	-
Ma018	p1L5Kahriz	Kermanshah	Ma055	K3640/S/55-N	Mashhad	Ma113	10	-
Ma019	P19L5Kahriz	Kermanshah	Ma057	20*/1389	Mashhad	Ma114	11	-
Ma020	P15L14	Kermanshah	Ma060	اندونزي S2/QPM/SUKMA	Mashhad	Ma115	12	-
Ma021	P16L6Kahriz	Kermanshah	Ma062	6*/88	Mashhad	Ma116	13	-
Ma022	P15L4	Kermanshah	Ma064	4/K19/1	Mashhad	Ma117	14	-
Ma023	P11L9	Kermanshah	Ma066	48*/1390	Mashhad	Ma118	15	-
Ma024	P9L6	Kermanshah	Ma072	K166B/89&(14*k166B/1390)	Mashhad	Ma119	16	-
Ma025	P13L1	Kermanshah	Ma073	ایزوله K18-B/1392	Mashhad	Ma120	17	-
Ma026	P10L7	Kermanshah	Ma074	7/K19/1	Mashhad	Ma121	18	-
Ma027	P16L12Kahriz	Kermanshah	Ma075	23*/89	Mashhad	Ma122	19	-
Ma028	P10L9	Kermanshah	Ma076	70*/1388	Mashhad	Ma123	20	-
Ma031	OH43/1-42	Karaj	Ma077	10/K19/1	Mashhad			

GLM در نرم‌افزار SAS نسخه ۹/۴ انجام گرفت. در این مطالعه نشانگرهای SNP با داده گم شده بیشتر از ده درصد و فراوانی

تجزیه آماری داده‌ها: تجزیه واریانس داده‌های حاصل از عملکرد دانه در شرایط بهینه و تنش شوری با استفاده از رویه

روش‌های مختلف با استفاده از نرم‌افزار R انجام شد. تجزیه همبستگی برای عملکرد دانه و ارزش‌های اصلاحی برآورد شده با مدل‌های مختلف با استفاده از نرم‌افزار R و بسته نرم‌افزاری Corplot انجام شد. نشانگرهای دارای ارتباط معنی‌دار با عملکرد و ارزش‌های اصلاحی با استفاده از روش تک‌جایگاهی BLINK با استفاده از نرم‌افزار R و بسته نرم‌افزاری GAPIT شناسایی شد. آستانه معنی‌داری برای شناسایی ارتباطات معنی‌دار نشانگر و صفت  $P < 0.0001$  یا  $-\log_{10}(P\text{-value}) > 4$  در نظر گرفته شد. برای شناسایی ژن‌های کاندید مؤثر در کنترل عملکرد در شرایط بهینه و تنش شوری، تطابق توالی SNP‌های معنی‌دار با استفاده از BLAST بر روی ژنوم ذرت مورد بررسی قرار گرفت. سپس، هستی‌شناسی ژن (Gen ontology: GO) به منظور استخراج عملکردهای مولکولی و فرآیندهای بیولوژیکی ژن‌های احتمالی، با استفاده از پایگاه داده ژنومی Ensembl Plants (<http://Plants.ensembl.org>) انجام شد. برای شناسایی مسیرهای زیستی توسعه‌یافته و تحلیل مسیرهای متابولیکی و سیگنالینگ، از نرم‌افزار تحت وب DAVID و پایگاه داده KEGG (دانشنامه‌ی ژن و ژنوم کیوتو)، با استفاده از شناسه‌های ژنی (geneID) استخراج شده از BLAST استفاده شد.

### نتایج و بحث

از آنجایی که در تجزیه واریانس مرکب داده‌ها (Combined analysis of variance) اثر متقابل ژنوتیپ  $\times$  شرایط معنی‌دار نبود؛ تجزیه واریانس در هریک از شرایط مورد مطالعه (بهینه و تنش شوری) جداگانه انجام گرفت. بر اساس نتایج تجزیه واریانس، در هر دو شرایط بهینه و تنش شوری بین ژنوتیپ‌ها از لحاظ عملکرد اختلاف آماری معنی‌دار وجود داشت (جدول ۲). درجه آزادی‌های متفاوت برای منابع تغییر همسان در دو شرایط مورد مطالعه (بهینه و تنش شوری) به علت داده‌های گمشده (Missing data) است. تفاوت معنی‌دار بین ژنوتیپ‌ها از لحاظ صفت مورد بررسی (عملکرد) حاکی از تنوع ژنتیکی است که می‌تواند برای به‌زادگران حائز اهمیت می‌باشد. میانگین عملکرد در شرایط تنش شوری در مقایسه با شرایط

آل می‌نور کمتر از ده درصد حذف شده و ۲۳۰۰۰۰ نشانگر SNP باقی‌مانده برای گزینه ژنومی در شرایط بهینه و تنش شوری استفاده شد. در گزینه ژنومی، ژنوتیپ‌های مورد مطالعه به‌طور تصادفی به دو قسمت ۷۰ و ۳۰ درصد به ترتیب به نام "جمعیت مرجع" و "جمعیت آزمون" تقسیم گردید و با استفاده از داده‌های عملکرد دانه و نشانگرهای SNP اثرات نشانگرها در جمعیت مرجع برآورد شد. برای گزینه ژنومی (برآورد ارزش‌های اصلاحی ژنومی) در شرایط بهینه و تنش شوری از روش‌های آماری GBLUP، arBLUP روش‌های بیزین شامل رگرسیون ریج‌بیزی (Bayesian ridge regression)، بیز A (Bayes A)، بیز B (Bayes B) و بیز C (Bayes C) استفاده شد (Caballero, 2020). به‌عنوان نمونه مدل آماری در روش بهترین پیش‌بینی خطی ناریب ژنومی (GBLUP) برای تخمین ارزش اصلاحی ژنومی به شرح زیر می‌باشد (Caballero, 2020).

$$Y = X\beta + Zu + e$$
 که در آن Y بردار مشاهدات فنوتیپی صفت مورد مطالعه،  $\beta$  بردار اثرات ثابت (در اینجا میانگین کل  $(\mu)$ )، u بردار اثرات نشانگر، e بردار باقی‌مانده، Z ماتریس تلاقی و X نیز بردار واحد می‌باشد. معادله برآورد اثرات نشانگر به صورت زیر است: (Caballero, 2020).

$$\hat{a} = [Z'Z + G^{-1} \lambda n]^{-1} Z'y$$
 که در معادله فوق  $\hat{a}$  بردار برآورد اثرات نشانگر، Z ماتریس تلاقی (Incidence matrix)، n تعداد نشانگرها، G ماتریس ژنومی مولکولی  $(G = (MM')/n)$  و  $\lambda = n(1-h^2)/h^2$  وراثت‌پذیری صفت مورد مطالعه می‌باشد.

معادله برآورد ارزش‌های اصلاحی ژنومی به صورت زیر است:  
$$\hat{b} = M'(G \times n)^{-1} \hat{a}$$
 که در آن  $\hat{b}$  بردار ارزش‌های اصلاحی ژنومی،  $M'$  بردار ماتریسی که تعداد آلل‌ها را برای هر نشانگر و فرد نشان می‌دهد، n تعداد نشانگرها، G ماتریس ژنومی مولکولی و  $\hat{a}$  بردار برآورد اثرات نشانگرها می‌باشند.

برآورد ارزش‌های اصلاحی ژنومی با هر یک از روش‌های ذکر شده در نرم‌افزار iPat انجام گرفت. در این نرم‌افزار برای تمامی روش‌های گزینه ژنومی معرفی شده فعلاً امکان انجام آنالیز تعبیه نشده است. تجزیه به‌عواملها براساس تجزیه به مؤلفه‌های اصلی از طریق چرخش وریماکس برای ارزش‌های اصلاحی برآورد شده با

(Estimated genomic breeding value; EGBV) در هر دو شرایط مورد مطالعه (بهینه و تنش شوری) هست. بر اساس بهترین روش، ژنوتیپ Ma025 در شرایط بهینه و ژنوتیپ Ma010 در شرایط تنش شوری از بالاترین ارزش اصلاحی ژنومی برخوردار بودند (فایل‌های تکمیلی ۱ و ۲). در شکل‌های ۱ و ۲ ارتباط بین داده‌های عملکرد دانه (GY) و ارزش‌های اصلاحی برآورد شده با روش BayesC در هر یک از شرایط بهینه و تنش شوری ارائه شده است. بر اساس نمودارهای خطی، ارتباط مطلوبی ( $R^2$  بالا) بین عملکرد و ارزش اصلاحی ژنومی برآورد شده در هر دو شرایط مورد مطالعه (بهینه و تنش شوری) مشاهده شد. انتخاب ژنومی (GS) در بهبود تحمل ذرت به تنش شوری امیدبخش بوده است. گزارش شده است GS در افزایش عملکرد دانه تحت تنش خشکی در ذرت، مؤثرتر از انتخاب فنوتیپی متداول است (Beyene et al., 2015). مدل‌های پیش‌بینی ژنومی مختلف، از جمله GBLUP و رویکردهای بیزی، دقت قابل مقایسه‌ای در پیش‌بینی تحمل به شوری برای ویژگی‌های مرتبط با بیوماس در ذرت نشان داده‌اند (Singh et al., 2023). این یافته‌ها بینش‌های ارزشمندی برای استفاده از GS در به‌نژادی ارقام ذرت متحمل به شوری ارائه می‌دهند که می‌تواند توسعه ارقام سازگار با شرایط شور را تسریع کرده و بهره‌وری ذرت در مناطق تحت تأثیر شوری را افزایش دهد. عملکرد دانه (GY) با ارزش‌های اصلاحی ژنومی برآورد شده، همبستگی بالایی در هر دو شرایط (بهینه و تنش شوری) نشان داد (شکل ۳). همبستگی بالا نشان می‌دهد ژنوتیپ‌هایی که ارزش اصلاحی بالایی دارند عملکرد بالایی نیز دارند.

بهینه ۲۶٪ درصد کاهش نشان داد. در مطالعات مختلف ژنوتیپ‌های ذرت تحت شرایط تنش شوری تفاوت‌های قابل‌ملاحظه‌ای در ویژگی‌های مورفوفیزیولوژیکی و یونی نشان داده‌اند که حاکی از تفاوت در تحمل به شوری آن‌هاست (Ahmad et al., 2012; Ali et al., 2021; Abbasi et al., 2004). در مطالعات اخیر ژنوتیپ‌های متحمل به شوری به‌طور کلی دارای بیوماس شاخساره بالاتر، محتوای کلروفیل بیشتر و نسبت  $K^+/Na^+$  بالاتری نسبت به ژنوتیپ‌های حساس بودند (Ahmad et al., 2012; Ali et al., 2021; Abbasi et al., 2012). شناسایی ژنوتیپ‌های ذرت متحمل به شوری برای بهبود بهره‌وری محصولات در خاک‌های شور ضروری است و می‌تواند منابع ارزشمندی برای برنامه‌های به‌نژادی فراهم نماید (Ali et al., 2012; Abbasi et al., 2021). مطالعات دیگر نشان داده‌اند که تنوع ژنتیکی در ذرت برای ویژگی‌های تحمل به شوری وجود دارد و قدرت جواهره‌زنی و کارایی فتوشیمیایی به‌عنوان معیارهای بالقوه انتخاب در اینگونه مطالعات معرفی شده‌اند (Giaveno et al., 2007).

برآورد ارزش اصلاحی و تجزیه همبستگی: نتایج حاصل از برآورد ارزش‌های اصلاحی ژنومی با مدل‌های آماری مختلف برای عملکرد دانه در هر یک از شرایط بهینه و تنش شوری در جداول ۳ و ۴ ارائه شده است. با توجه به نتایج، بین ارزش‌های اصلاحی برآورد شده با BayesC و عملکرد دانه در هر دو شرایط بهینه و تنش شوری همبستگی بالا مشاهده شد؛ بنابراین این روش بهترین روش برای برآورد ارزش اصلاحی ژنومی

جدول ۲- تجزیه واریانس عملکرد ژنوتیپ‌های ذرت تحت شرایط بهینه و تنش شوری

منابع تغییرات Source of variation	شرایط بهینه Normal conditions		تنش شوری Salt stress	
	درجه آزادی df	میانگین مربعات MS	درجه آزادی df	میانگین مربعات Mean square
بلوک Block	2	7074.77 <sup>ns</sup>	2	3592.25 <sup>ns</sup>
ژنوتیپ Genotype	84	14262.98 <sup>**</sup>	85	12018.27 <sup>**</sup>
اشتباه آزمایشی Experimental error	83	3306.02	154	1862.64
ضریب تغییرات Coefficient of variation		37.51		38.64

جدول ۳- نتایج حاصل از برآورد ارزش اصلاحی ژنومی برای عملکرد دانه با مدل‌های آماری مختلف در شرایط بهینه

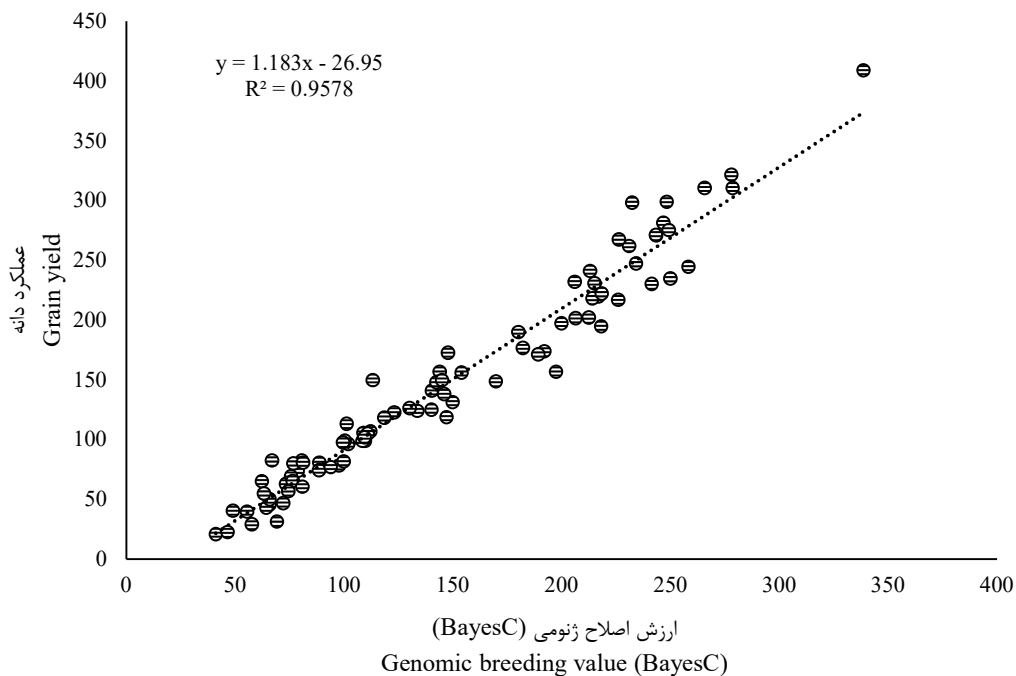
Table 3. The results of estimating the genomic breeding value for grain yield with different statistical models under normal conditions

روش‌ها Methods	حداقل Minimum	حداکثر Maximum	میانگین Mean	انحراف معیار SD	ضریب تغییرات CV	همبستگی ارزش اصلاحی با عملکرد r
رگرسیون ریج Ridge regression	48.92	311.68	147.65	66.35	44.94	0.96
جی بلاپ GBLUP	44.53	323.70	147.65	68.27	46.24	0.97
رگرسیون ریج بیزی Bayesian ridge regression	64.88	272.02	147.47	57.92	39.28	0.93
بیز A Bayes A	41.39	330.20	147.62	70.19	47.55	0.97
بیز B Bayes B	40.86	330.47	147.53	70.51	47.80	0.98
بیز C Bayes C	41.09	338.65	147.59	71.39	48.37	0.98
عملکرد دانه Grain yield	20.95	408.85	147.65	86.30	58.45	1.00

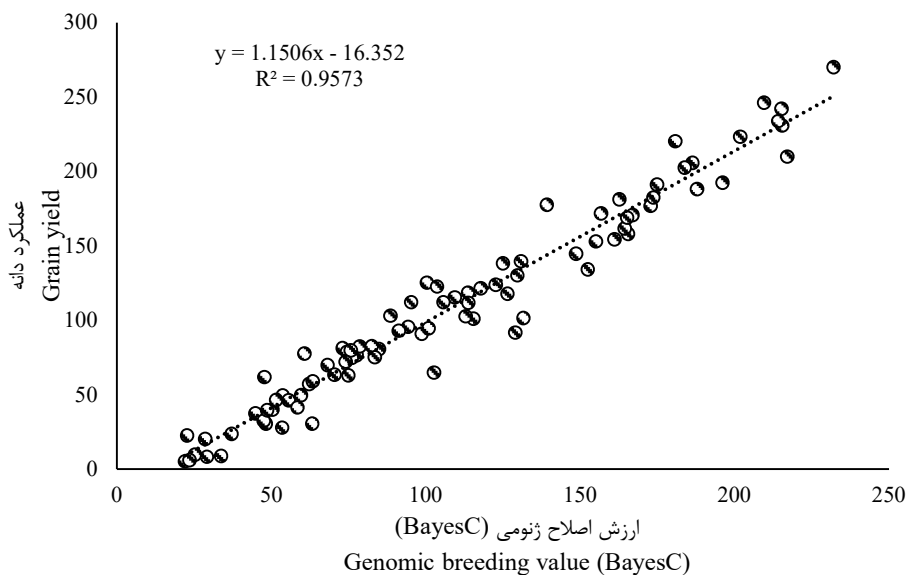
جدول ۴- نتایج حاصل از ارزش اصلاحی ژنومی برای عملکرد دانه با مدل‌های آماری مختلف در شرایط تنش شوری

Table 4. The results of estimating the genomic breeding value for grain yield with different statistical models under salt stress conditions

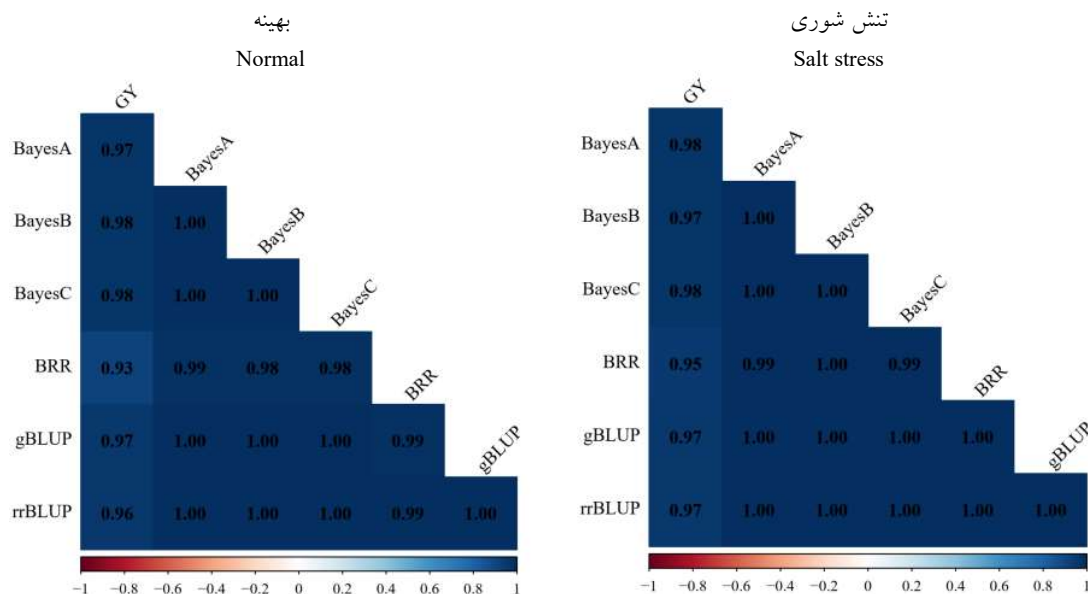
روش‌ها Methods	حداقل Minimum	حداکثر Maximum	میانگین Mean	انحراف معیار SD	ضریب تغییرات CV	همبستگی ارزش اصلاحی با عملکرد r
رگرسیون ریج Ridge regression	25.02	219.10	108.66	53.59	49.32	0.97
جی بلاپ GBLUP	25.14	222.10	108.66	53.72	49.43	0.97
رگرسیون ریج بیزی Bayesian ridge regression	29.57	209.29	108.57	50.50	46.52	0.95
بیز A Bayes A	19.29	231.34	108.63	56.65	52.15	0.98
بیز B Bayes B	23.04	227.30	108.65	55.64	51.21	0.97
بیز C Bayes C	22.05	232.01	108.65	56.28	51.80	0.98
عملکرد دانه Grain yield	5.30	270.17	108.66	66.18	60.91	1.00



شکل ۱- نمودار تطابق برازش ارزش‌های اصلاحی ژنومی برآورد شده با مدل بی‌C در مقابل عملکرد دانه در ذرت در شرایط بهینه  
Figure 1. Correspondence diagram of genomic breeding values from the BayesC model against grain yield in maize under normal conditions



شکل ۲- نمودارهای تطابق برازش ارزش‌های اصلاحی ژنومی برآورد شده با مدل بی‌C در مقابل عملکرد دانه در ذرت در شرایط تنش شوری  
Figure 2. Correspondence diagram of genomic breeding values from the BayesC model against grain yield in maize under salt stress conditions



شکل ۳ - نمودار همبستگی بین شاخص‌های آماری برآوردکننده ارزش‌های اصلاحی ژنومی برای عملکرد دانه در ۸۶ ژنوتیپ در شرایط بهینه (سمت چپ) و تنش شوری (سمت راست)

Figure 3. Correlation diagram between the statistical indices for estimating genomic breeding values for grain yield in 86 genotypes under normal (left side) and salt stress (right side) conditions

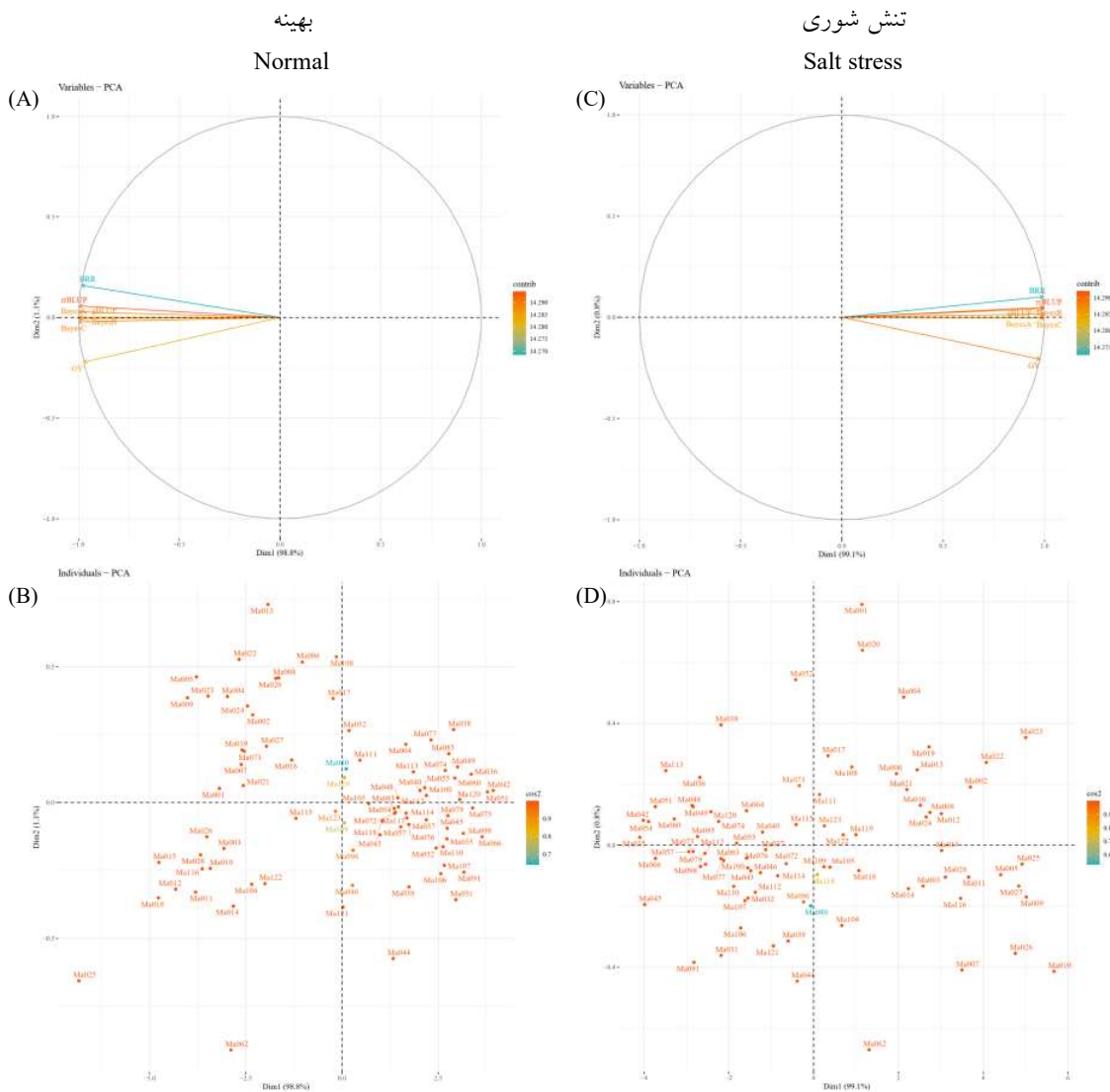
هم بودند (شکل ۴C) و تحت این شرایط لاین‌های Ma005، Ma011، Ma015، Ma025، Ma027 و Ma028 در سمت راست نمودار بای‌پلات در کنار بردارهای عملکرد و مدل‌ها قرار گرفتند که بیانگر بالا بودن مقادیر این لاین‌ها از نظر عملکرد و ارزش‌های اصلاحی ژنومی برآورده شده با مدل‌های مربوطه می‌باشند (شکل ۴D).

تجزیه خوشه‌ای از جمله روش‌هایی است که برای گروه‌بندی افراد مورد استفاده قرار می‌گیرد. در این تحقیق گروه‌بندی افراد با استفاده از نرم‌افزار R و بسته نرم‌افزاری Heatmap در شرایط بهینه و تنش شوری انجام شد. تجزیه خوشه‌ای براساس عملکرد و ارزش‌های اصلاحی ژنومی برآورده شده با مدل‌های آماری موردنظر، ژنوتیپ‌های مورد مطالعه را هم در شرایط بهینه و هم تنش شوری به سه گروه دسته‌بندی کرد (شکل ۵). در هر دو شرایط گروه اول (خطوط آبی) محتوی ژنوتیپ‌هایی است که ارزش‌های اصلاحی و عملکرد بالایی دارند. برعکس، گروه دوم (خطوط قرمز) محتوی ژنوتیپ‌هایی است که ارزش‌های اصلاحی و عملکرد پایینی دارند. متناهی تعداد ژنوتیپ‌های گروه‌ها در دو شرایط متفاوت است که نشان می‌دهد بعضی ژنوتیپ‌ها مثلاً ژنوتیپ Ma54 واکنش متفاوتی به شرایط تنش

برای درک بهتر روابط بین مدل‌های آماری از تجزیه به‌عامل‌ها بر روی عملکرد و ارزش‌های اصلاحی ژنومی برآورده شده با مدل‌های آماری مختلف استفاده شد. در هر دو شرایط بهینه و تنش شوری از روش چرخش وریماکس استفاده شد. هم در شرایط بهینه و هم در شرایط تنش شوری متغیرها در ۲ مؤلفه اصلی گروه‌بندی شدند و نزدیک به ۱۰۰ درصد تغییرات را توجیه می‌نمایند. با توجه به نمودارهای بای‌پلات (شکل ۴) در شرایط بهینه بردار عملکرد با بردارهای مدل‌ها در سمت چپ نمودار بای‌پلات در کنار هم بودند که بیانگر همبستگی بالای این مدل‌ها با عملکرد می‌باشد. علاوه بر این، با توجه به جهت و طول بردارهای مدل‌ها، می‌توان نتیجه گرفت که این روش‌ها به همراه عملکرد دانه در تفکیک لاین‌ها عملکرد بهتری دارند (شکل ۴A). لاین‌های Ma003، Ma010، Ma012، Ma015، Ma026، Ma028 و Ma116 در سمت چپ نمودار بای‌پلات و در کنار بردارهای عملکرد و مدل‌ها قرار گرفته‌اند که بیانگر بالا بودن مقادیر این لاین‌ها از نظر عملکرد و ارزش‌های اصلاحی ژنومی برآورده شده با مدل‌های مذکور می‌باشند (شکل ۴B). در شرایط تنش شوری نیز بردار عملکرد با بردارهای مدل‌ها در سمت راست نمودار بای‌پلات در کنار

در شرایط شوری استفاده شده است (Rohman *et al.*, 2016; Biswas *et al.*, 2015). این مطالعات لاین‌های والدی امیدوارکننده‌ای را برای برنامه‌های به‌نژادی آینده که هدف آن‌ها توسعه ارقام ذرت متحمل به شوری است، شناسایی کرده‌اند. فاصله ژنتیکی مثبتی بر نشانگرهای مولکولی، مانند RFLPها، همبستگی‌های مثبتی با عملکرد هیبرید، قابلیت ترکیب خصوصی و هتروزیس تحت شرایط تنش مختلف، از جمله شوری، نشان داده است (Betrán *et al.*, 2003).

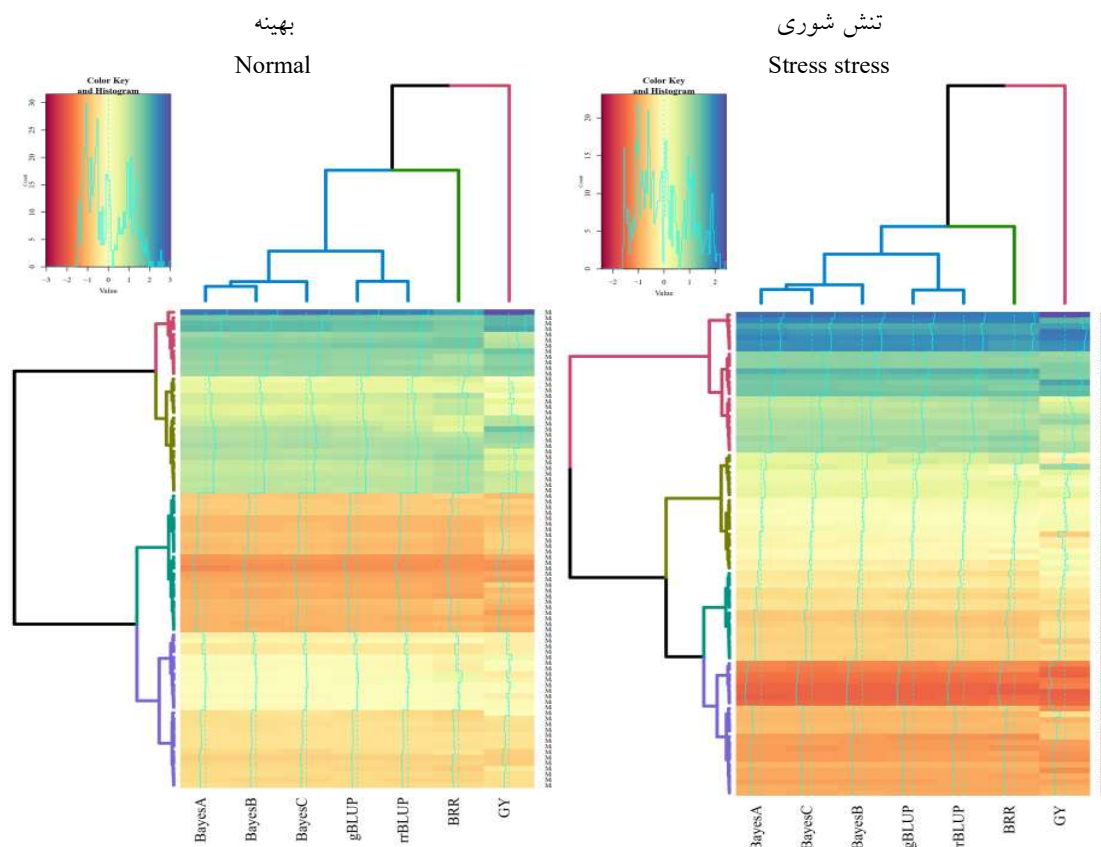
دارند. تفاوت‌ها در مدل‌های پیش‌بینی می‌تواند بر نحوه گروه‌بندی لاین‌ها تأثیر بگذارد. با مقایسه خوشه‌ها تحت مدل‌های مختلف، به‌نژادگران می‌توانند لاین‌هایی را شناسایی کنند که ارزش‌های اصلاحی ژنومی برآورد شده بالای آن‌ها در تمام روش‌ها پایدار است و این امر آن‌ها را به کاندیداهای قابل اعتمادی برای انتخاب تبدیل می‌کند. تحلیل‌های چندمتغیره، از جمله آمار  $D^2$  ماهالانویس و تجزیه به مؤلفه‌های اصلی، برای طبقه‌بندی لاین‌ها به خوشه‌های متمایز بر اساس عملکرد آن‌ها



شکل ۴- پلات دو بعدی عملکرد و ارزش‌های اصلاحی ژنومی ژنوتیپ‌های مختلف ذرت براساس مؤلفه‌های اصلی اول و

دوم. شکل A و B: شرایط بهینه. شکل C و D: تنش شوری

Figure 4. Biplot of yield and estimated genomic breeding values of genotypes based on the first and second principal components. Figure A and B: Normal conditions. Figure C and D: Salt stress conditions



شکل ۵- گروه‌بندی ۸۶ ژنوتیپ ذرت بر اساس ارزش‌های اصلاحی برآورد شده با مدل‌های آماری مختلف برای صفت عملکرد دانه  
Figure 5. Clustering 86 maize genotypes based on the breeding values estimated with different statistical models for the grain yield

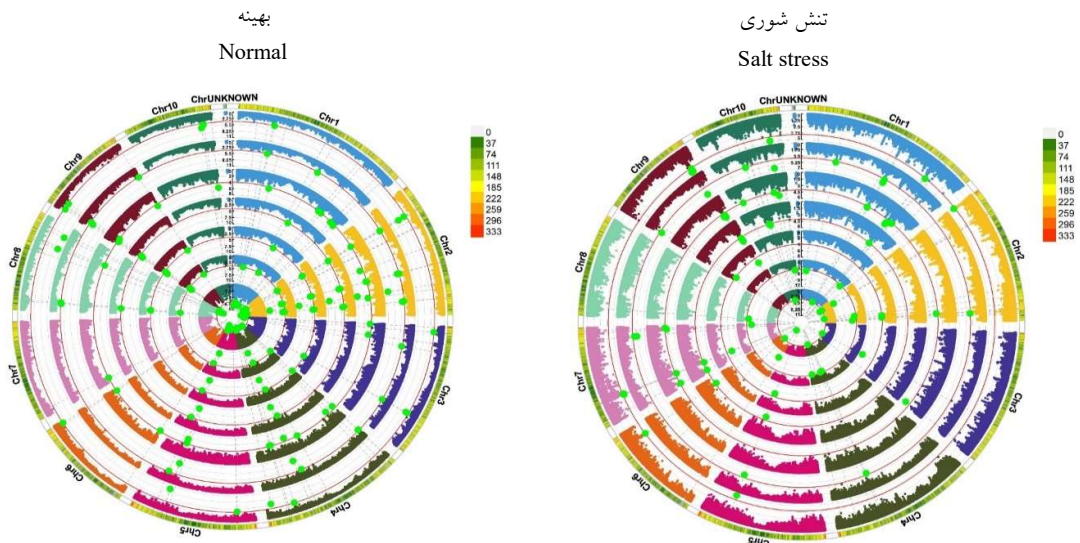
نشانگر-صفت در جایگاه‌های بعدی قرار گرفتند، درحالی‌که برای مدل BayesC، ۲۹ نشانگر شناسایی شد. در این میان، مدل rrBLUP با ۲۲ ارتباط، کمترین تعداد ارتباط نشانگر-صفت را نشان داد. این نتایج نشان می‌دهد که برخی شاخص‌های اصلاحی نسبت به سایرین ارتباط بیشتری با نشانگرهای ژنتیکی داشته و می‌توانند در برنامه‌های به‌نژادی برای بهبود عملکرد مورد توجه قرار گیرند. بیشترین تعداد نشانگر معنی‌دار بر روی کروموزوم شماره ۲ و ۸ شناسایی شد که به ترتیب ۴۱/۷۲ درصد و ۱۳/۴۵ درصد از تغییرات کل صفت را توجیه نمودند. کمترین تعداد نشانگر بر روی کروموزوم‌های شماره ۱۰، ۱، ۷ و ۶ شناسایی شد که هر کدام تنها ۳ یا ۱ نشانگر داشتند (شکل ۶). علاوه بر این، ۸۵ نشانگر مرتبط با عملکرد (GY) بر روی کروموزوم‌های ۱، ۲، ۳، ۴، ۵ و ۸ شناسایی شدند که نشان‌دهنده پراکندگی این ارتباطات در کروموزوم‌های

تحلیل ارتباط در گستره ژنوم (GWAS): در شرایط بهینه، بر اساس روش BLINK، تعداد ۲۹۰ ارتباط نشانگر-صفت معنی‌دار برای عملکرد و ارزش‌های اصلاحی برآورد شده با مدل‌های مختلف گزینش ژنومی بر روی ۱۰ کروموزوم گیاه ذرت با سطح معنی‌داری  $P\text{-value} < 0.0001$  شناسایی شد. از این تعداد، ۴۸ نشانگر بین مدل‌های مختلف مشترک بودند، که نشان‌دهنده همپوشانی در شناسایی برخی نشانگرهای مشابه بین مدل‌های مختلف است (شکل ۶ و فایل تکمیلی ۳). در میان این متغیرها (عملکرد و ارزش‌های اصلاحی ژنومی برآورده شده با مدل‌های آماری مختلف)، صفت عملکرد (GY) با ۸۵ ارتباط و ارزش‌های اصلاحی برآورد شده با مدل gBLUP با ۴۶ ارتباط، بیشترین تعداد ارتباط‌های نشانگر-صفت را داشتند. پس از آن، ارزش‌های اصلاحی ژنومی برآورد شده با مدل‌های BayesA، BayesB و BRR به ترتیب با ۳۹، ۳۵ و ۳۴ ارتباط

(GY) تنها با ۱۳ ارتباط نشانگر-صفت نسبت به مدل‌های برآورد ارزش اصلاحی کمترین تعداد ارتباط را نشان داد. این نتایج نشان می‌دهد که در شرایط تنش شوری، برخی ارزش‌های اصلاحی ژنومی برآورد شده با مدل‌ها ارتباط قوی‌تری با نشانگرهای ژنتیکی نشان دادند و بنابراین می‌توانند در برنامه‌های اصلاحی برای بهبود تحمل به شوری و عملکرد گیاه در شرایط نامساعد مورد استفاده قرار گیرند. بیشترین تعداد نشانگرهای معنی‌دار بر روی کروموزوم‌های شماره ۱، ۲ و ۱۰ شناسایی شد که به ترتیب ۲۰، ۲۴ و ۱۹ نشانگر را شامل می‌شدند. در مقابل، کمترین تعداد نشانگرها بر روی کروموزوم ۸ با تنها ۱ نشانگر شناسایی شد (شکل ۷).

نشانگرهای مرتبط با عملکرد (GY) بر روی کروموزوم‌های ۱، ۲، ۳، ۴، ۶ و ۱۰ شناسایی شدند که نشان‌دهنده تغییر در توزیع ژنتیکی این ارتباطات در مقایسه با شرایط بهینه است. این نتایج نشان می‌دهد که در شرایط تنش، برخی کروموزوم‌ها مانند ۱ و ۲ نقش کلیدی‌تری در تنظیم مکانیسم‌های تحمل به شوری دارند و احتمالاً حاوی ژن‌های کلیدی مرتبط با این سازگاری هستند.

مختلف است. در مطالعات تجزیه ارتباط، تعدادی نشانگر و مناطق ژنومی مرتبط با تحمل به تنش شوری شناسایی شده است (Zaidi et al., 2022). به‌عنوان مثال، در پژوهشی که تجزیه ارتباط صفات آگرو-مورفولوژیک در لاین‌های ذرت با استفاده از نشانگرهای رتروترانسپوزونی IRAP و REMAP انجام شد، نشانگرهای Heartbraker (۴۸۰) و UBC878 × Ruda به ترتیب با صفات قطر ابتدای چوب بلال و طول چوب بلال و همچنین تعداد بلال و وزن دانه ارتباط معنی‌دار نشان دادند (Khalifani et al., 2021). در شرایط تنش شوری، تعداد ۱۰۸ ارتباط نشانگر-صفت معنی‌دار برای عملکرد (GY) و ارزش‌های اصلاحی برآورد شده با مدل‌های مختلف در ۱۰ کروموزوم شناسایی شد (شکل ۶ و فایل تکمیلی ۴). در میان این متغیرها (عملکرد) و ارزش‌های اصلاحی ژنومی برآورده شده با مدل‌های آماری مختلف، ارزش‌های اصلاحی برآورد شده با مدل BRR با ۲۸ ارتباط و با مدل‌های BayesC و gBLUP به ترتیب با ۱۷ و ۱۶ ارتباط، بیشترین تعداد ارتباط نشانگر-صفت را داشتند. پس از آن، مدل BayesA با ۱۶ ارتباط و مدل‌های rrBLUP و BayesB به ترتیب با ۱۱ و ۷ ارتباط در جایگاه‌های بعدی قرار گرفتند. در این میان، عملکرد



شکل ۶- پلات‌های منهن دایره‌ای برای نمایش نواحی ژنومی در شرایط بهینه و تنش شوری. ارتباط‌های معنی‌دار نشانگر-صفت در ۱۰ کروموزوم در پلات منهن قابل مشاهده است. دایره‌ها از داخل به بیرون به ترتیب نمایانگر صفات عملکرد دانه (GY)، BayesA، BayesB، BayesC، BRR، gBLUP، و rrBLUP هستند. نقاط سبز نشان‌دهنده SNP‌های معنی‌دار با سطح معنی‌داری  $P\text{-value} < 0.0001$  هستند.

Figure 6. Circular Manhattan plots for displaying genomic regions under normal and salt stress conditions. Significant marker-trait associations (MTAs) across 10 chromosomes are visible in the Manhattan plots. The circles, from inner to outer, represent the traits; grain yield (GY), BayesA, BayesB, BayesC, BRR, gBLUP, and rrBLUP, respectively. Green dots indicate significantly associated SNPs with a P-value < 0.0001.

گسترش اسیدهای چرب، اتوفازی، متابولیسم گلوکوتایون و تعامل گیاه-پاتوژن در تنظیم پاسخ‌های دفاعی و سازگاری به تنش‌های محیطی مؤثر هستند. این یافته‌ها تأکید می‌کنند که ژن‌های مرتبط با عملکرد در فرآیندهای متابولیکی، حفاظتی و تنظیمی مشارکت دارند که می‌تواند بر رشد و بهره‌وری گیاه تأثیر بگذارد.

بررسی هستی‌شناسی ژن‌های شناسایی‌شده در اطراف توالی نشانگرهای معنی‌دار در شرایط تنش شوری نشان داد که این ژن‌ها در مسیرهای مرتبط با تنظیم پاسخ‌های تنش و بقای سلولی نقش دارند. از جمله مهم‌ترین عملکردهای مولکولی (MF)، می‌توان به فعالیت‌های کینازهای پروتئینی (Protein kinase activity)، هیدرولازها (Hydrolase activity)، عوامل رونویسی وابسته به RNA polymerase II و GTPase activator activity اشاره کرد که در تنظیم پیام‌رسانی سلولی، پاسخ به تنش‌های محیطی و تنظیم بیان ژن نقش دارند. در سطح فرآیندهای زیستی (BP)، این ژن‌ها در پاسخ به تنش‌های اکسیداتیو، تنظیم مسیرهای دفاعی، پردازش RNA و مکانیسم‌های سازگاری گیاه به شوری نقش ایفا می‌کنند. از نظر اجزای سلولی (CC)، این ژن‌ها در هسته، غشای سلولی، کلروپلاست، شبکه آندوپلاسمی و میتوکندری مستقر هستند که نشان‌دهنده تأثیر آن‌ها در حفظ پایداری سلولی و تنظیم مکانیسم‌های انطباقی گیاه تحت تنش شوری است (فایل تکمیلی ۴).

تحلیل مسیرهای زیستی در شرایط تنش شوری نشان داد که ژن‌های شناسایی‌شده در فرآیندهای کلیدی مانند سنتز پروتئین (ریبوزوم)، پردازش پروتئین در شبکه آندوپلاسمی، پیام‌رسانی MAPK، متابولیسم اسیدهای چرب و گلیکولیز نقش دارند. همچنین، مسیرهای مرتبط با متابولیسم نیتروژن، بیوسنتز اسیدهای آمینه، کنترل کیفیت mRNA و تنظیم ترشح پروتئین‌ها در پاسخ به تنش شوری فعال شده‌اند. این یافته‌ها نشان می‌دهد که این مسیرها به تنظیم انرژی، حفظ تعادل متابولیکی و افزایش مقاومت گیاه به شوری کمک می‌کنند.

به‌طور خاص، در ناحیه اطراف نشانگر AX-90543017 در کروموزوم ۴، ژن *Putative MAPKKK family protein kinase* (*Zm00001eb186910*) شناسایی شد و ارتباط آن با ارزش‌های اصلاحی ژنومی برآورد شده با مدل gBLUP تأیید گردید. این ژن در مسیر پیام‌رسانی MAPK در گیاهان نقش دارد و می‌تواند در تنظیم پاسخ‌های دفاعی، پیام‌رسانی تنش و سازگاری گیاه به شرایط محیطی مؤثر باشد.

شوران و همکاران (Sheoran et al., 2022) به بررسی نقش متاکیوتی‌ال‌ها (MQTLs) در کنترل صفات تحت تنش‌های غیرزیستی در ذرت پرداختند. نتایج این مطالعه نشان داد که متاکیوتی‌ال‌های ۲، ۵، ۷ و ۹ در پاسخ به تنش‌های غیرزیستی (مانند خشکی، شوری، دما و غیره) در گیاه ذرت تأثیر قابل توجهی دارند. در شرایط تنش شوری هم از میان کل نشانگرهای شناسایی‌شده، ۱۰ نشانگر به‌طور مشترک برای عملکرد و ارزش‌های اصلاحی ژنومی برآورد شده با مدل‌های مختلف شناسایی شدند. به‌عنوان مثال نشانگر AX-91384772 در مکان کروموزومی ۵ و نشانگر AX-91406213 در مکان کروموزومی ۹ با ارزش‌های اصلاحی ژنومی برآورد شده با مدل‌های BayesC، BayesB، gBLUP، BRR و rrBLUP مرتبط بودند.

#### هستی‌شناسی (GO) و تحلیل مسیرهای متابولیکی (KEGG

Pathways): در شرایط بهینه، نتایج BLAST نشان داد که در اطراف توالی‌های مرتبط با نشانگرهای معنی‌دار، ژن‌هایی شناسایی شده‌اند که احتمالاً در تنظیم و کنترل صفات مرتبط با عملکرد نقش دارند. بررسی هستی‌شناسی ژن (Gene ontology: GO) نشان داد که ژن‌های مستقر در اطراف نشانگرهای معنی‌دار در فرآیندهای کلیدی مرتبط با رشد و عملکرد گیاه نقش دارند. از نظر عملکرد مولکولی، این ژن‌ها در تنظیم بیان ژن‌ها از طریق فعالیت فاکتورهای رونویسی و پروتئین کینازها و همچنین سنتز و متابولیسم اسیدهای چرب نقش دارند. در سطح فرآیندهای زیستی، این ژن‌ها در تنظیم رشد گیاه، پاسخ به تنش‌های محیطی، بهبود کارایی فتوسنتز، تنظیم جذب مواد مغذی و تثبیت دیواره سلولی مشارکت دارند. همچنین، در سطح اجزای سلولی، حضور این ژن‌ها در هسته، کلروپلاست، غشای پلاسمایی و شبکه آندوپلاسمی نشان‌دهنده نقش آن‌ها در تنظیم مکانیسم‌های مولکولی و متابولیکی مرتبط با عملکرد است. این نتایج تأیید می‌کند که در شرایط بهینه، ژن‌های مستقر در این نواحی احتمالاً در بهینه‌سازی رشد و بهره‌وری گیاه نقش کلیدی دارند (Wang et al., 2019; He et al., 2025) (فایل تکمیلی ۳). تجزیه و تحلیل مسیرهای زیستی در پایگاه DAVID نشان داد که ژن‌های شناسایی‌شده در فرآیندهای کلیدی مانند متابولیسم پورین، تجزیه RNA، ترمیم DNA، متابولیسم قندها، و تنظیم ریتم شبانه‌روزی گیاه نقش دارند. همچنین، مسیرهایی مانند

جدول ۵- مسیرهای متابولیکی شناسایی شده در شرایط تنش شوری

Table 5. Metabolic pathways identified under salt stress conditions

صفت/مدل Trait/Model	کروموزوم Chro	نشانهگر SNP	شناسه ID	ژن کاندید Candidate gene	مسیر ژنی KEGG pathway
BayesC	10	AX-91821221, AX-91176817, AX-91821219	Zm00001eb415410	40S ribosomal protein S3-like (LOC100282772)	ریبوزوم Ribosome
BayesB	2	AX-91450204	Zm00001eb111300	F-actin capping protein alpha subunit (LOC100285122)	اندوسیتوز، پروتئین‌های موتوری، اسکلت سلولی در سلول‌های عضلانی Endocytosis, Motor proteins, Cytoskeleton in muscle cells
BRR	10	AX-90589209	Zm00001eb421600	Calnexin homolog (LOC542421)	پردازش پروتئین در شبکه آندوپلاسمی، فاگوزوم Protein processing in endoplasmic reticulum, Phagosome
BayesA	10	AX-91366439	Zm00001eb432580	Glutamine synthetase 1 (LOC542746)	بیوسنتز آرژنین، متابولیسم آلانین، آسپارتات و گلوتامات، متابولیسم گلیوکسیلات و دی‌کربوکسیلات، متابولیسم نیتروژن، مسیرهای متابولیکی، بیوسنتز متابولیت‌های ثانویه، بیوسنتز اسیدهای آمینه، انتقال سیگنال هورمون‌های گیاهی Arginine biosynthesis, Alanine, aspartate and glutamate metabolism, Glyoxylate and dicarboxylate metabolism, Nitrogen metabolism, Metabolic pathways, Biosynthesis of secondary metabolites, Biosynthesis of amino acids, Plant hormone signal transduction
BRR	9	AX-91153024	Zm00001eb390960	Palmitoyl-protein thioesterase 1 (LOC100216902)	طولانی‌شدن اسید چرب، مسیرهای متابولیکی، متابولیسم اسیدهای چرب، لیوزوم Fatty acid elongation, Metabolic pathways, Fatty acid metabolism, Lysosome
gBLUP	4	AX-90543017	Zm00001eb186910	Putative MAPKKK family protein kinase (LOC100381765)	گیاه - مسیر سیگنالینگ MAPK signaling pathway - plant
BRR	1	AX-91442645	Zm00001eb031900	Pyruvate dehydrogenase E1 component subunit beta (LOC100284103)	گلیکولیز / گلوکونئوزن، چرخه سیترات (چرخه TCA)، متابولیسم پیرووات، متابولیسم اسید لیپوئیک، مسیرهای متابولیکی، بیوسنتز متابولیت‌های ثانویه، متابولیسم کربن، متابولیسم اسیدهای ۲- اکسوکرپوکسیلیک Glycolysis / Gluconeogenesis, Citrate cycle (TCA cycle), Pyruvate metabolism, Lipoic acid metabolism, Metabolic pathways, Biosynthesis of secondary metabolites, Carbon metabolism, 2-Oxocarboxylic acid metabolism
GY	2	AX-91517373	Zm00001eb081370	Signal recognition particle 19 kDa protein (LOC100282410)	صادرات (ترشح) پروتئین Protein export
GY	4	AX-91634882	Zm00001eb205080	Uncharacterized (LOC100193694)	مسیر تنظیم پردازش mRNA mRNA surveillance pathway
BayesA	10	AX-90635111	Zm00001eb431050	Uncharacterized (LOC100383103)	متابولیسم قند آمینو و قند نوکلئوتیدی، مسیرهای متابولیکی، بیوسنتز قندهای نوکلئوتیدی Amino sugar and nucleotide sugar metabolism, Metabolic pathways, Biosynthesis of nucleotide sugars

باتوجه به نتایج تجزیه واریانس و وجود تفاوت معنی‌دار بین ژنوتیپ‌ها در هر دو شرایط بهینه و تنش، استنتاج می‌شود تنوع ژنتیکی گسترده بین ژنوتیپ‌های مختلف ذرت از لحاظ صفت مورد بررسی (عملکرد) وجود دارد که وجود این تنوع برای بهبود صفت برای به‌نژادگران در برنامه‌های اصلاحی حائز اهمیت می‌باشد. براساس ضریب تغییرات (CV) نیز بین ژنوتیپ‌ها تنوع بالایی مشاهده شد. در برآورد ارزش اصلاحی ژنومی برای انتخاب بهترین مدل از معیار همبستگی استفاده شد. بر اساس نتایج، مدل BayesC هم در شرایط بهینه و هم در شرایط تنش شوری، عملکرد و دقت بهتری داشت و به‌عنوان بهترین مدل برای پیش‌بینی ارزش‌های اصلاحی شناسایی شد. برای بررسی دقیق‌تر روابط بین ژنوتیپ‌های ذرت بر اساس ارزش‌های اصلاحی تجزیه خوشه‌ای انجام گرفت که ژنوتیپ‌ها به سه گروه تقسیم شدند. ژنوتیپ‌هایی که در گروه اول قرار گرفته‌اند به دلیل داشتن عملکرد و ارزش اصلاحی بالاتر مطلوب بوده و می‌توان در کارهای اصلاحی از این ژنوتیپ‌ها استفاده نمود. تحلیل ارتباط در گسترده ژنوم (GWAS) برای صفت عملکرد دانه و ارزش‌های اصلاحی برآورد شده با استفاده از روش BLINK در دو شرایط بهینه و تنش انجام شد که به ترتیب ۲۹۰ و ۱۰۸ نشانگر با ارتباط معنی‌دار شناسایی گردید. بیشترین تعداد نشانگرها در هر دو شرایط بر روی کروموزوم‌های شماره ۱ و ۲ شناسایی شدند. سپس توالی SNP‌های معنی‌دار برای شناسایی ژن‌های کاندید احتمالی بررسی شد. ژن‌های کاندید شناسایی شده شامل *Putative MAPKKK family protein kinase* و *PDHB* و *Glutamine synthetase 1* هستند. این ژن‌ها در مسیرهایی مانند تنظیم پاسخ‌های دفاعی، بیوسنتز اسیدهای آمینه و حفظ تعادل اسمزی در برابر تنش‌های محیطی نقش دارند که می‌توانند به-طور چشمگیری در افزایش تحمل گیاه به تنش‌های غیرزیستی مؤثر باشند.

این ارتباط نشان‌دهنده اهمیت این ژن در تعیین تحمل به تنش و بهبود عملکرد تحت شرایط تنش‌زا است. مشخص شده است که مسیرهای MAPK نقش حیاتی در تقسیم سلولی، رشد و تمایز (Takahashi *et al.*, 2010; Zhao *et al.*, 2013) پاسخ‌های هورمونی (Kieber *et al.*, 1993)، ایمنی گیاه (Asai *et al.*, 2002; Danquah *et al.*, 2014)، پاسخ به تنش‌های زیستی و غیرزیستی و سایر فرآیندهای زیستی (Munnik and Meijer, 2001; Frye *et al.*, 2001; Kumar and Sinha, 2013) ایفا می‌کنند (جدول ۵).

همچنین، در ناحیه اطراف نشانگرهای AX-91206127 و AX-91442645 واقع در کروموزوم شماره ۱، ژن *Pyruvate dehydrogenase E1 component subunit beta* (*Zm00001eb031900*) (PDHB) شناسایی شد. این ژن در مسیرهای مختلف متابولیکی از جمله گلیکولیز/ گلوکوئوژنز، چرخه سیترات (TCA)، متابولیسم پیروات، متابولیسم اسید لیپوئیک، مسیرهای متابولیکی، بیوسنتز متابولیت‌های ثانویه، متابولیسم کربن و متابولیسم اسیدهای ۲-اکسوکربوکسیلیک نقش دارد. نقش این ژن در تولید انرژی سلولی و تنظیم سوخت و ساز گلوکز در پاسخ به تنش شوری در تحقیق دونوفریو و همکاران (D'Onofrio *et al.*, 2022) مورد بررسی قرار گرفته است. در نهایت، ژن *Glutamine synthetase 1* در مجاورت نشانگر AX-91366439 در موقعیت کروموزوم ۱۰ شناسایی شد که در مسیرهای کلیدی همچون متابولیسم نیتروژن، بیوسنتز اسیدهای آمینه و تنظیم اسمزی در شرایط تنش‌های غیرزیستی نقش مهمی ایفا می‌کند. مطالعات نشان داده‌اند، این ژن به تبدیل آمونیاک به گلوتامین کمک کرده و به حفظ تعادل نیتروژن در گیاهان کمک می‌کند. همچنین در پاسخ به تنش‌های شوری و خشکی، در تنظیم متابولیسم و تولید متابولیت‌های ثانویه دخیل است (Ji *et al.*, 2022) (جدول ۷).

## References

- Abbasi, G.H., Akhtar, J., Anwar-ul-Haq, M. and Ahmad, N., (2012). Screening of maize hybrids for salt tolerance at seedling stage under hydroponic condition. *Soil & Environment*, 31(1): 38
- Abdollahi, R., Pakdel, A. and Zandi, M.B. (2012). From infinitesimal model to genomic selection. *Modern Genetics*, 17(2): 105-114.
- Aguilar, I., Misztal, I., Tsuruta, S., Wiggans, G.R. and Lawlor, T.J. (2011). Multiple trait genomic evaluation of conception rate in Holsteins. *Journal of Dairy Science*, 94(5): 2621-2624. <https://doi.org/10.3168/jds.2010-3893>
- Ahmad, I., Ahmad, B., Boote, K. and Hoogenboom, G. (2020). Adaptation strategies for maize production under climate change for semi-arid environments. *European Journal of Agronomy*, 115: 126040. <https://doi.org/10.1016/j.eja.2020.126040>
- Ahmad, K., Saqib, M., Akhtar, J. and Ahmad, R. (2012). Evaluation and characterization of genetic variation in maize (*Zea mays* L.) for salinity tolerance. *Pakistan Journal of Agricultural Sciences*, 49(4): 521-526.

- Ali, M., Abbasi, G.H., Jamil, M., Raza, M.A.S. and Ahmad, S. (2021). Characterization of Maize Hybrids (*Zea mays* L.) for Salt Tolerance at Seedling Stage: Salt Tolerance at Seedling Stage. *Biological Sciences-PJSIR*, 64(2): 60-166. <https://doi.org/10.52763/PJSIR.BIOL.SCI.64.2.2021.160.166>
- 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): CP23288. <https://doi.org/10.1071/CP23288>
- Arzhang, S., Darvishzadeh, R. and Alipour, H. (2023). Screening of maize (*Zea mays* L.) lines using selection indices for salinity stress tolerance. *Environmental Stresses in Crop Sciences*, 16(4): 949-967.
- Arzhang, S., Darvishzadeh, R. and Alipour, H. (2021). Evaluation of genetic diversity of maize lines (*Zea mays* L.) under normal and salinity stress conditions. *Cereal Research*, 11(3): 243-268 (In Persian)
- Asai, T., Tena, G., Plotnikova, J., Willmann, M.R., Chiu, W.L., Gomez-Gomez, L., Boller, T., Ausubel, F.M. and Sheen, J. (2002). MAP kinase signalling cascade in Arabidopsis innate immunity. *Nature*, 415(6875): 977-983. <https://doi.org/10.1038/415977a>
- Azevedo Neto, A.D.D., Prisco, J.T., Enéas-Filho, J., Lacerda, C.F.D., Silva, J.V., Costa, P.H.A.D. and Gomes-Filho, E. (2004). Effects of salt stress on plant growth, stomatal response and solute accumulation of different maize genotypes. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, 16: 31-38. <https://doi.org/10.1590/S1677-04202004000100005>
- Betrán, F.J., Ribaut, J.M., Beck, D. and De León, D.G., (2003). Genetic diversity, specific combining ability, and heterosis in tropical maize under stress and nonstress environments. *Crop Science*, 43(3): 797-806. <https://doi.org/10.2135/cropsci2003.7970>
- Beyene, Y., Semagn, K., Mugo, S., Tarekegne, A., Babu, R., Meisel, B., Sehabiague, P., Makumbi, D., Magorokosho, C., Oikeh, S. and Gakunga, J. (2015). Genetic gains in grain yield through genomic selection in eight bi-parental maize populations under drought stress. *Crop Science*, 55(1): 154-163. <https://doi.org/10.2135/cropsci2014.07.0460>
- Biswas, A., Sarker, U., Banik, B.R., Rohman, M.M. and Mian, M.K. (2014). Genetic divergence study in salinity stress tolerant maize (*Zea mays* L.). *Bangladesh Journal of Agricultural Research*, 39(4): 621-630.
- Caballero, A. (2020). *Quantitative Genetics*. Cambridge University Press, Cambridge, UK. <https://doi.org/10.3329/bjar.v39i4.22540>
- Crossa, J., Pérez, P., De los Campos, G., Mahuku, G., Dreisigacker, S. and Magorokosho, C. (2011). Genomic selection and prediction in plant breeding. *Journal of Crop Improvement*, 25(3): 239-261. <https://doi.org/10.1080/15427528.2011.558767>
- Crossa, J., Campos, G.D.L., Pérez, P., Gianola, D., Burgueno, J., Araus, J.L. and Braun, H.J. (2010). Prediction of genetic values of quantitative traits in plant breeding using pedigree and molecular markers. *Genetics*, 186(2): 713-724. <https://doi.org/10.1534/genetics.110.118521>
- Danquah, A., De Zélicourt, A., Colcombet, J. and Hirt, H. (2014). The role of ABA and MAPK signaling pathways in plant abiotic stress responses. *Biotechnology Advances*, 32(1): 40-52. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2013.09.006>
- Daetwyler, H.D., Kemper, K.E., Van Der Werf, J.H. J. and Hayes, B.J. (2012). Components of the accuracy of genomic prediction in a multi-breed sheep population. *Journal of Animal Science*, 90(10): 3375-3384. <https://doi.org/10.2527/jas.2011-4457>
- Davey, J.W., Hohenlohe, P.A., Etter, P.D., Boone, J.Q., Catchen, J.M. and Blaxter, M.L. (2011). Genome-wide genetic marker discovery and genotyping using next-generation sequencing. *Nature Reviews Genetics*, 12(7): 499-510. <https://doi.org/10.1038/nrg3012>
- Dekkers, J. and Hospital, F. (2002). The use of molecular genetics in the improvement of agricultural populations. *Nature Reviews Genetics*, 3(1): 22-32. <https://doi.org/10.1038/nrg701>
- De Los Campos, G., Naya, H., Gianola, D., Crossa, J., Legarra, A., Manfredi, E. and Cotes, J.M. (2009). Predicting quantitative traits with regression models for dense molecular markers and pedigree. *Genetics*, 182(1): 375-385. <https://doi.org/10.1534/genetics.109.101501>
- D'Onofrio, F., Visciano, P., Krasteva, I., Torresi, M., Tittarelli, M., Pomilio, F., Iannetti, L., Di Febo, T., Paparella, A., Schirone, M. and Luciani, M., (2022). Immunoproteome profiling of *Listeria monocytogenes* under mild acid and salt stress conditions. *Proteomics*, 22(18): p.2200082. <https://doi.org/10.1002/pmic.202200082>
- Ebrahimi, M., Darvishzadeh, R. and Fayaz Moghaddam, A. (2023). Selection indices for improving maize grain yield under normal and salt stress conditions. *Plant Genetic Research*, 10(1): 1-28 (In Persian). <http://dx.doi.org/10.22034/pgr.10.1.1>
- FAO (2019). <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>. [Accessed on 2 December 2019]
- Frye, C.A., Tang, D. and Innes, R.W. (2001). Negative regulation of defense responses in plants by a conserved MAPKK kinase. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 98(1): 373-378. <https://doi.org/10.1073/pnas.98.1.373>
- Giaveno, C.D., Ribeiro, R.V., Souza, G.M. and De Oliveira, R.F. (2007). Screening of tropical maize for salt stress tolerance. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*, 7(3): 304– 313. <https://doi.org/10.12702/1984-7033.v07n03a10>
- Goddard, M. (2009). Genomic selection: prediction of accuracy and maximisation of long term response. *Genetica*, 136(2): 245-257. <https://doi.org/10.1007/s10709-008-9308-0>
- He, X., Zhu, J., Gong, X., Zhang, D., Li, Y., Zhang, X. and Zhou, C. (2025). Advances in deciphering the mechanisms of salt tolerance in maize. *Plant Signaling & Behavior*, 20(1): 2479513. <https://doi.org/10.1080/15592324.2025.2479513>

- Hayes, B. (2007). QTL mapping, MAS, and genomic selection. a short-course. animal breeding & genetics department of animal science. *Iowa State University*, 1(1): 3-4.
- Ingvarsson, P.K. and Street, N.R. (2011). Association genetics of complex traits in plants. *New Phytologist*, 189(4): 909-922. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2010.03593.x>
- Isik, F. (2014). Genomic selection in forest tree breeding: the concept and an outlook to the future. *New Forests*, 45(3): 379-401. <https://doi.org/10.1007/s11056-014-9422-z>
- Ji, H., Yang, G., Zhang, X., Zhong, Q., Qi, Y., Wu, K. and Shen, T. (2022). Regulation of salt tolerance in the roots of *Zea mays* by L-histidine through transcriptome analysis. *Frontiers in Plant Science*, 13: 1049954. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.1049954>
- Khalifani, S., Ghaffari Azar, A., Darvishzadeh, R., Kahrizi, D. and Alipour, H. (2021). Association analysis of agronomorphological traits in maize lines using retrotransposon based markers IRAP and REMAP. *Journal of Crop Breeding*, 13(38): 10-24. <https://doi.org/10.52547/jcb.13.38.10>
- Kieber, J.J., Rothenberg, M., Roman, G., Feldmann, K.A. and Ecker, J.R. (1993). CTR1, a negative regulator of the ethylene response pathway in Arabidopsis, encodes a member of the raf family of protein kinases. *Cell*, 72(3): 427-441. [https://doi.org/10.1016/0092-8674\(93\)90119-B](https://doi.org/10.1016/0092-8674(93)90119-B)
- Kumar, K. and Sinha, A.K. (2013). Overexpression of constitutively active mitogen activated protein kinase kinase 6 enhances tolerance to salt stress in rice. *Rice*, 6: 1-5. <https://doi.org/10.1186/1939-8433-6-25>
- Li, D., Wang, H., Wang, M., Li, G., Chen, Z., Leiser, W. L., Weiß, T. M., Lu, X., Wang, M., Chen, S., Chen, F., Yuan, L., Würschum, T. and W. Liu, (2021). Genetic dissection of phosphorus use efficiency in a maize association population under two P levels in the field. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(17): 9311. <https://doi.org/10.3390/ijms22179311>
- Li, N. and Li, Y. (2016). Signaling pathways of seed size control in plants. *Current Opinion in Plant Biology*, 33: 23-32. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2016.05.008>
- Mirmohammady, S.A.M. and Golkar, P. (2025). Application of DNA Molecular markers in plant breeding. *Plant Genetic Research*, 6(1): 1-30 (In Persian). <http://dx.doi.org/10.29252/pgr.6.1.1>
- Meuwissen, T.H., Hayes, B.J. and Goddard, M. (2001). Prediction of total genetic value using genome-wide dense marker maps. *Genetics*, 157(4): 1819-1829. <https://doi.org/10.1093/genetics/157.4.1819>
- Munnik, T. and Meijer, H.J. (2001). Osmotic stress activates distinct lipid and MAPK signalling pathways in plants. *FEBS Letters*, 498(2-3): 172-178. [https://doi.org/10.1016/S0014-5793\(01\)02492-9](https://doi.org/10.1016/S0014-5793(01)02492-9)
- Nuss, E.T. and Tanumihardjo, S.A. (2010). Maize: a paramount staple crop in the context of global nutrition. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 9(4): 417-436. <https://doi.org/10.1111/j.1541-4337.2010.00117.x>
- Perkel, J. (2008). SNP genotyping: six technologies that keyed a revolution. *Nature Methods*, 5(5): 447-453. <https://doi.org/10.1038/nmeth0508-447>
- Resende, M.F.R., Muñoz, P., Acosta, J.J., Peter, G.F., Davis, J.M., Grattapaglia, D. and Kirst, M. (2012). Accelerating the domestication of trees using genomic selection: accuracy of prediction models across ages and environments. *New Phytologist*, 193(3): 617-624. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2011.03895.x>
- Rohman, M.M., Banik, B.R., Biswas, A. and Rahman, M.S. (2016). Genetic diversity of maize (*Zea mays* L.) inbreds under salinity stress. *Bangladesh Journal of Agricultural Research*, 40(4): 529-536. <https://doi.org/10.3329/bjar.v40i4.26928>
- Soller, M. and Beckmann, J.S. (1983). Genetic polymorphism in varietal identification and genetic improvement. *Theoretical and Applied Genetics*, 67(1): 25-33. <https://doi.org/10.1007/BF00303917>
- Roy, S.J., Negrão, S. and Tester, M. (2014). Salt resistant crop plants. *Current opinion in Biotechnology*, 26: 115-124. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2013.12.004>
- Semagn, K., Bjørnstad, Å. and Xu, Y. (2010). The genetic dissection of quantitative traits in crops. *Electronic Journal of Biotechnology*, 13(5): 16-17. <https://doi.org/10.2225/vol13-issue5-fulltext-14>
- Sheoran, S., Gupta, M., Kumari, S., Kumar, S. and Rakshit, S. (2022). Meta-QTL analysis and candidate genes identification for various abiotic stresses in maize (*Zea mays* L.) and their implications in breeding programs. *Molecular Breeding*, 42(5): 26. <https://doi.org/10.1007/s11032-022-01294-9>
- Singh, V., Krause, M., Sandhu, D., Sekhon, R.S. and Kaundal, A. (2023). Salinity stress tolerance prediction for biomass-related traits in maize (*Zea mays* L.) using genome-wide markers. *The Plant Genome*, 16(4): p.e20385. <https://doi.org/10.1002/tpg2.20385>
- Takahashi, Y., Soyano, T., Kosetsu, K., Sasabe, M. and Machida, Y. (2010). HINKEL kinesin, ANP MAPKKs and MKK6/ANQ MAPKK, which phosphorylates and activates MPK4 MAPK, constitute a pathway that is required for cytokinesis in *Arabidopsis thaliana*. *Plant and Cell Physiology*, 51(10): 1766-1776. <https://doi.org/10.1093/pcp/pcq135>
- Vitezica, Z.G., Aguilar, I., Misztal, I. and Legarra, A. (2011). Bias in genomic predictions for populations under selection. *Genetics Research*, 93(5): 357-366. <https://doi.org/10.1017/S001667231100022X>
- Wang, M., Wang, Y., Zhang, Y., Li, C., Gong, S., Yan, S. and Yang, K. (2019). Comparative transcriptome analysis of salt-sensitive and salt-tolerant maize reveals potential mechanisms to enhance salt resistance. *Genes & Genomics*, 41(7): 781-801. <https://doi.org/10.1007/s13258-019-00793-y>
- Zaidi, P.H., Shahid, M., Seetharam, K. and Vinayan, M.T. (2022). Genomic regions associated with salinity stress tolerance in tropical maize (*Zea mays* L.). *Frontiers in Plant Science*, 13: 869270. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.869270>
- Zhao, F.Y., Hu, F., Zhang, S.Y., Wang, K., Zhang, C.R. and Liu, T. (2013). MAPKs regulate root growth by influencing auxin signaling and cell cycle-related gene expression in cadmium-stressed rice. *Environmental Science and Pollution Research*, 20: 449-5460. <https://doi.org/10.1007/s11356-013-1559-3>