دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
پژوهشنامه اصلاح گیاهان زراعی

"مقاله پژوهشی"

تجزیه ارتباطی صفات آگرومورفولوژیک در لاین‌های ذرت با استفاده از نشانگرهای مبتنی بر رترووترنسپوزون IRAP و REMAP

ساناز خلیفانی[۱]، علی غفاری آذر[۲]، رضا درویش‌زاده[۳و۴]، دانیال کهریزی[۵] و هادی علیپور[۶]

۱- دانشجوی دکتری ژنتیک و به‌نژادی گیاهی، گروه تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه ارومیه، ارومیه
۲- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد بیوتکنولوژی کشاورزی، گروه تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه ارومیه، ارومیه
۳ و ۴- استاد گروه تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، استاد پژوهشکده زیست‌فناوری دانشگاه ارومیه، ارومیه،
(نویسنده مسوول: r.darvishzadeh@urmia.ac.ir)
۵- استاد گروه تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه رازی، کرمانشاه
۶- استادیار گروه تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه ارومیه، ارومیه
تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۳/۲۲ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۱/۲۷
صفحه: ۱۰ تا ۲۴

چکیده

ذرت (*Zea mays* L.) یکی از مهم‌ترین محصولات غذایی در سراسر جهان بوده و به عنوان گیاه مدل برای مطالعه ژنتیک صفات مختلف استفاده می‌شود. شناسایی مکان‌های ژنی کنترل‌کنندهٔ صفات کمّی از موضوع‌های مهم حوزهٔ ژنتیک و به‌نژادی است. در این مطالعه ۱۰۰ لاین خالص ذرت از لحاظ صفات آگرومورفولوژیک (ارتفاع بوته، ارتفاع بوته تا اولین بلال، طول و عرض برگ، سطح برگ، شاخص سطح برگ، تعداد بلال، میزان کلروفیل، وزن دانه در هر بوته، وزن چوب بلال، قطر ابتدای چوب بلال، قطر وسط چوب بلال، طول چوب بلال، وزن خشک بوته، تاریخ ظهور گل نر، تاریخ ظهور بلال اول و تاریخ ظهور بلال دوم) با طرح پایه کاملاً تصادفی با شش تکرار ارزیابی شدند. در آزمایش مولکولی پروفیل مولکولی لاین ها با هشت آغازگر نشانگرهای مبتنی بر رترووترنسپوزون؛ IRAP و REMAP تهیه شد. هشت ترکیب آغازگر IRAP و REMAP ۴۰ مکان ژنی را تکثیر کردند. از این ۴۰ مکان، ۳۸ مکان ژنی (۹۵ درصد) چندشکلی نشان دادند. دامنه PIC در لاین‌های مورد مطالعه از ۰/۰۸۴ برای نشانگر Ac/Ds تا ۰/۳۸۳ برای نشانگر Pangrangja متغیر بود. فاصله ژنتیکی نی بین لاین‌های تهیه شده از مشهد و کرمانشاه ۰/۰۵۳، کرج و مشهد ۰/۰۳۶، کرمانشاه و کرج ۰/۰۳۲ برآورد شد. در تجزیه ساختار جمعیت بر اساس نشانگرهای مولکولی، ۱۰۰ لاین مورد مطالعه در دو زیر جمعیت (K=2) گروه‌بندی شدند. در تجزیه ارتباطی صفات اگرو-مورفولوژیک براساس دو روش GLM و MLM به ترتیب ۲۴ و ۱۲ ارتباط نشانگر-صفت شناسایی شد. در این تحقیق دو نشانگر مشترک Heartbraker (480) در صفات قطر ابتدای چوب بلال و طول چوب بلال و UBC878 × Ruda در صفات تعداد بلال و وزن دانه هم با مدل خطی عمومی و هم با مدل خطی مخلوط شناسایی شد. نتایج بدست آمده از این مطالعه، اطلاعات ارزشمندی در زمینه گزینش به کمک نشانگر و مبنای ژنتیکی صفات مورد مطالعه ارائه می‌دهد که می‌توان از این اطلاعات در گزینش افراد طی برنامه‌های به‌نژادی و تولید ارقام جدید با میزان عملکرد بالا بهره برد.

واژه‌های کلیدی: تجزیه ارتباطی، تنوع ژنتیکی، ذرت، ساختار جمعیت، عدم تعادل پیوستگی، نشانگرهای آگاهی‌بخش

مقدمه

ذرت (*Zea mays* L.) با توجه به میزان و بازده فتوسنتزی بالا، یک فرآورده کشاورزی باارزش است. این گیاه به‌عنوان یک منبع اصلی برای تأمین غذا برای انسان و دام و همچنین تهیه سوخت‌های زیستی و فیبر در برخی نقاط جهان استفاده می‌شود. ذرت همچنین یک گیاه مدل مهم برای مطالعات ژنتیک، سیتوژنتیک و ژنومیک عملکردی است (۵۸). تنوع ژنتیکی جوهرِ جهان بیولوژیک است و به‌عنوان منبعی از تغییرات طبیعی است که می‌تواند برای مقابله با چالش‌های مختلف در جهان مفید باشد (۲۲). در سطح توالی DNA، ژنوتیپ‌های ذرت دارای تنوع بیشتری نسبت به انسان، *Drosophila* و بسیاری از گیاهان وحشی هستند (۴). در سطح فنوتیپی تنوع برای صفات مرتبط با عملکرد مانند ارتفاع بوته، تاریخ ظهور گل نر، فاصله بین ظهور گل نر و بلال و همچنین پاسخ به شرایط متغیر محیطی در ذرت مشاهده شده است (۴۴). اطلاعات در مورد تنوع و روابط بین افراد در ذرت برای گروه‌بندی هتروتیک و شناسایی الگوهای هتروتیک و ترکیبات امیدوارکننده برای بهره‌برداری از هتروزیس در برنامه‌های به‌نژادی ضروری است. پرورش‌دهنده‌گان و به‌نژادگران با بهره‌مندی از تنوع ژنتیکی برای تولید واریته‌های با صفات خاص اقدام می‌کنند.

پیشرفت در تکنولوژی نشانگرهای مولکولی باعث شده است تا این فناوری به‌طور مؤثری در تجزیه و تحلیل تنوع ژنتیکی بسیاری از گونه‌های گیاهان زراعی از جمله ذرت و اصلاح ارقام جدید و برتر مورد استفاده قرار گیرد (۳۸). نشانگرهای مولکولی به طور گسترده‌ای در ذرت در مطالعات آنالیز فروانی‌های ژنوتیپی برای شناسایی انحرافات در مکان‌های فردی (۳۹)، برای توصیف تغییرات مولکولی درون یا بین جمعیت‌ها (۲۶،۵۱)، ساخت درخت فیلوژنتیک (۳۲) و تعیین گروه‌های هتروتیک (۵۹،۶۰،۴۰) و

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2025-12-15]
[DOI: 10.52547/jcb.13.38.10]

بررسی ارتباط فاصله ژنتیکی با عملکرد هیبریدها (۷) مورد استفاده قرار گرفته‌اند. ذرت اولین یوکاریوتی بود که در طی اواسط قرن بیستم، در آن عناصر جا به جا شونده[1] توسط باربارا مک‌کلینتاک کشف شد و به واسطه این کشف مفتخر به دریافت جایزه نوبل شد (۱۱). عناصر جابه‌جا شونده و بخصوص رتروترنسپوزن‌ها بیشترین سهم ژنوم ذرت را تشکیل می‌دهند (۱۵،۵۳). عناصر جابه‌جا شونده از طریق تغییر تعداد کپی، بازآرایی و جایگاه‌های چند شکل، بیشترین تغییر ژنوم را بین لاین‌های ذرت ایجاد می‌کنند (۱۲،۱۳). نشانگرهای مولکولی متعددی مبتنی بر رتروترنسپوزون‌ها طراحی و توسعه داده شده‌اند (۲۳). Ghonaim و همکاران (۱۷) برای بررسی تنوع ژنتیکی ژرم پلاسم ذرت از نواحی تکثیر شده بین رتروترنسپوزون‌ها (IRAP) استفاده کردند و توانستند ۵۸٪ پلی‌مورفیسم بین لاین‌های ذرت را آشکار نمایند. پیشرفت در ژنومیک منجر به شناسایی نشانگرهای DNA دیگر در ذرت در طی چند دهه گذشته، از جمله هزاران نشانگر ریزماهواره یا توالی‌های تکراری ساده (SSR) و اخیراً نشانگرهای چند شکلی تک‌نوکلئوتیدی (SNP) و حذف–درج (InDel) شده است. به لطف این پیشرفت‌ها در تکنولوژی نشانگرهای مولکولی، تعداد زیادی از ژن‌ها که جنبه‌های مختلف رشد گیاه یا مقاومت به تنش‌های زنده و غیرزنده را کنترل می‌کنند در ذرت شناسایی و کلون شده‌اند، که موارد با ارزشی برای اصلاح می‌باشند (۴۸،۱۷).

با توجه به اینکه خزانه ژنی ذرت دارای درصد پلی‌مورفیسم بالایی است، متخصصان ژنتیک لازم است ارتباط بین پلی‌مورفیسم مولکولی و تنوع در صفات کمّی را روشن نمایند (۴). به‌عبارتی با ترکیب نتایج مطالعات مربوط به بررسی‌های تنوع ژنتیکی در مجموعه‌های ژرم‌پلاسمی با داده‌های حاصل از بررسی‌های فنوتیپی به‌راحتی عوامل ژنی دخیل در تغییرات صفات کمّی شناسایی می‌شوند. این مطالعات تحت عنوان تجزیه ارتباطی یا نقشه‌یابی عدم تعادل پیوستگی شناخته می‌شوند. تجزیه ارتباطی اجازه می‌دهد تعداد زیادی مکان پلی‌مورفیسم به‌طور همزمان ثبت ژنوتیپی (ژنوتایپ) شده و چند شکل‌هایی که با تغییرات فنوتیپی ارتباط دارند مشخص شوند و بدین‌ترتیب درک ما از پیچیدگی صفات در گیاه به‌میزان قابل توجهی افزایش یابد (۴۹). موفقیت تجزیه ارتباطی به سطح و میزان تغییرات طبیعی حاصل از جهش و نوترکیبی در سطح جمعیت در طی نسل‌ها متکی است. بدین‌ترتیب برخلاف نقشه‌یابی پیوستگی، تجزیه ارتباطی از تمام جهش‌های طبیعی و نوترکیبی که در یک جمعیت معین در طول نسل‌های متمادی اتفاق افتاده است بهرمند می‌شود (۴۴،۴). تجزیه ارتباطی به‌طور گسترده برای مطالعهٔ اساس ژنتیکی صفات پیچیده در انسان و سیستم‌های حیوانی مورد استفاده قرار گرفته و روش بسیار مؤثر برای تایید ژن‌های نامزد یا شناسایی ژن‌های جدید است. در چند سال اخیر تجزیه ارتباطی به‌طور قابل توجهی در طیف گسترده‌ای از گیاهان مورد استفاده قرار گرفته است تا جایی‌که به‌نظر می‌رسد در حال‌حاضر در گیاهان قوی‌تر از انسان و حیوان مورد بهره‌برداری قرار می‌گیرد (۶۵). تجزیه ارتباطی با بررسی شجره‌نامهٔ عمیق‌تر جمعیت به جای شجره‌نامهٔ خانوادگی، از مزیت‌های؛ وضوح نقشه بالاتر، بهره‌مندی از تعداد آلل بیشتر و استفاده از جمعیت مرجع گسترده‌تر و زمان تحقیق کمتر نسبت به تجزیه و تحلیل پیوستگی برخوردار است (۶۶). وضوح بالا به ساختار عدم تعادل پیوستگی یا ارتباط بین محل‌های پلی‌مورفیسم در جمعیت آزمون بستگی دارد (۴). تجزیه ارتباطی مبتنی بر عدم تعادل پیوستگی برای صفات مرتبط با عملکرد در سویا (۱۹)، برنج (۳،۶)، کلزا (۸)، ذرت (۵۷،۳۳،۶۴)، نخود (۲۴) و جو (۲۷) انجام گرفته است. همچنین در ذرت، تجزیه ارتباطی برای شناسایی مکان‌های ژنی کاندیدای کنترل‌کننده صفات مورفولوژیکی یا متابولیکی مهم، مانند تحمل به خشکی (۵۶)، محتوای نشاسته (۲۸)، اجزای دیواره سلولی ساقه (۲۹)، ارتفاع گیاه (۳۰)، اندازه گل آذین نر (۵۷)، اندازه مریستم اپیکال ساقه (۳۱) و غیره با موفقیت مورد استفاده قرار گرفته است. هدف از این مطالعه بررسی تنوع ژنتیکی و شناسایی مکان‌های ژنی مرتبط با صفات مهم زراعی در لاین‌های ذرت با استفاده از نشانگرهای مولکولی مبتنی بر رتروترونسپوزون‌ها؛ IRAP و REMAP بود.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه تعداد ۱۰۰ لاین خالص ذرت از دانشگاه رازی کرمانشاه، مرکز تحقیقات کشاورزی خراسان رضوی و مؤسسه نهال و بذر کرج تهیه شده و در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی با ۶ تکرار در مزرعه تحقیقاتی گروه تولید و ژنتیک گیاهی دانشگاه ارومیه تحت شرایط گلدانی کشت شدند. در هر گلدان تعداد دو عدد بذر کشت و پس از استقرار نمونه‌ها تعداد یک بوته در هر گلدان نگهداری شد. به‌منظور تهیه فنوتیپ افراد پس از مرحله گلدهیِ گیاهان، صفات زراعی مختلف از قبیل ارتفاع بوته (سانتی‌متر)، ارتفاع بوته تا اولین بلال (سانتی‌متر)، طول و عرض برگ (سانتی‌متر)، سطح برگ (سانتی‌متر مربع)، شاخص سطح برگ، تعداد بلال، میزان کلروفیل (SPAD)، وزن دانه در هر بوته (گرم)، وزن چوب بلال (گرم)، قطر ابتدای چوب بلال (سانتی‌متر)، قطر وسط چوب بلال (سانتی‌متر)، طول چوب بلال (سانتی‌متر)، وزن خشک بوته (گرم)، تاریخ ظهور گل نر (روز)، تاریخ ظهور بلال اول (روز) و تاریخ ظهور بلال دوم (روز) اندازه‌گیری شدند.

1- Transposone elements

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2025-12-15]

[DOI: 10.52547/jcb.13.38.10]

جدول ۱- مشخصات لاین‌های اینبرد ذرت مورد بررسی

Table 1. The list of investigated maize inbred lines

کد ژنوتیپ	نام ژنوتیپ	محل تهیه	شماره در بارپلات	زیر جمعیت	درصد عضویت به زیر جمعیت		
					(۱) قرمز	سبز (۲)	مخلوط
۱	Tenptato (White- First class)	مشهد	۱	قرمز	۷۳/۷	۲۶/۳	
۲	K1263-1388	مشهد	۲	مخلوط	۶۸/۲	۳۱/۸	✓
۴	36-N/M-K3653/2	مشهد	۳	سبز	۱۴/۷	۸۵/۳	
۵	89-4*	مشهد	۴	سبز	۲۵/۸	۷۴/۲	
۶	9/K1911	مشهد	۵	مخلوط	۵۹/۱	۴۰/۹	✓
۷	74*/1388	مشهد	۶	سبز	۱۱/۴	۸۸/۶	
۸	8/K1911	مشهد	۷	سبز	۱۱/۶	۸۸/۴	
۹	25*/89	مشهد	۸	سبز	۱۹/۱	۸۰/۹	
۱۰	K1264 /1	مشهد	۹	قرمز	۷۳/۳	۲۶/۷	
۱۱	48*1390	مشهد	۱۰	مخلوط	۶۹/۷	۳۰/۳	✓
۱۲	13/K19/1	مشهد (کرج)	۱۱	مخلوط	۵۸/۱	۴۱/۹	✓
۱۳	11K1910	مشهد (کرج)	۱۲	قرمز	۹۰/۶	۹/۴	
۱۴	5/K1911	مشهد (کرج)	۱۳	قرمز	۹۰/۷	۹/۳	
۱۵	4/K1911	مشهد (کرج)	۱۴	قرمز	۸۹	۱۱	
۱۶	7/K1911	مشهد (کرج)	۱۵	قرمز	۸۷/۷	۱۲/۳	
۱۷	6/K19/1	مشهد (کرج)	۱۶	قرمز	۸۴/۱	۱۵/۹	
۱۸	2K1911	مشهد (کرج)	۱۷	قرمز	۸۱/۸	۱۸/۲	
۱۹	55-N- K3640/S	مشهد	۱۸	قرمز	۸۰/۹	۱۹/۱	
۲۰	43*89 (Red cob corn)	مشهد	۱۹	قرمز	۹۳	۷	
۲۱	172*/89	مشهد	۲۰	قرمز	۹۰/۷	۹/۳	
۲۲	67*/88	مشهد	۲۱	قرمز	۸۵/۲	۱۴/۸	
۲۳	23*89	مشهد	۲۲	قرمز	۹۱/۶	۸/۴	
۲۴	10/K 19/1	مشهد (کرج)	۲۳	قرمز	۹۰/۷	۹/۳	
۲۵	1*/89 (Red cob corn)	مشهد	۲۴	قرمز	۸۸/۳	۱۱/۷	
۲۶	34*/1399	مشهد	۲۵	قرمز	۸۱	۱۹	
۲۷	20*1399	مشهد	۲۶	مخلوط	۶۲/۱	۳۷/۹	✓
۲۸	S2/QPM/SUKMA (Indonesia)	مشهد	۲۷	مخلوط	۶۵/۶	۳۴/۴	✓
۲۹	K19/1	مشهد	۲۸	قرمز	۸۸/۹	۱۱/۱	
۳۰	K166 B/89	مشهد	۲۹	مخلوط	۶۹/۶	۳۰/۴	✓
۳۱	163*/6/15	مشهد	۳۰	قرمز	۸۶	۱۴	
۳۲	KE70012/ 1-12 -1388	مشهد	۳۱	مخلوط	۶۸/۵	۳۱/۵	✓
۳۴	A679/420N89	مشهد	۳۲	قرمز	۸۸/۹	۱۱/۱	
۳۵	K18-B /1392 (Indonesia-Colombia)	مشهد	۳۳	قرمز	۸۶/۳	۱۳/۷	
۳۶	66*1388	مشهد	۳۴	مخلوط	۴۲/۳	۵۷/۷	✓
۳۷	70*1388	مشهد	۳۵	مخلوط	۴۰/۹	۵۹/۱	✓
۳۸	14*/89	مشهد	۳۶	قرمز	۸۴/۷	۱۵/۳	
۳۹	6*/88	مشهد	۳۷	مخلوط	۳۰/۸	۶۹/۲	✓
۴۰	3K19/1	مشهد	۳۸	مخلوط	۴۷/۴	۵۲/۶	✓
۴۱	K1263/1 (Sterilized)	مشهد	۳۹	مخلوط	۳۱	۶۹	✓
۴۲	1387/193/Chase*	مشهد	۴۰	مخلوط	۳۳	۶۷	✓
۴۳	K615/1	مشهد	۴۱	سبز	۱۸/۸	۸۱/۲	
۴۴	39*/89 (*Sibcer*)	مشهد	۴۲	مخلوط	۶۹/۷	۳۰/۳	✓
۴۵	16*/89	مشهد	۴۳	سبز	۷/۷	۹۲/۳	
۴۶	115*13981 (White cob corn)	مشهد	۴۴	سبز	۲۲/۱	۷۷/۹	
۴۷	138*/89	مشهد	۴۵	مخلوط	۴۲/۲	۵۷/۸	✓
۴۸	K19*/1392 (Isolate)	مشهد	۴۶	مخلوط	۳۶/۹	۶۳/۱	✓
۴۹	P13L2	مشهد	۴۷	مخلوط	۵۵/۹	۴۴/۱	✓
۸۶	Super sweet-1387 Basin	مشهد	۴۸	مخلوط	۵۴/۱	۴۵/۹	✓
۸۷	197/ Power Hense-S2	مشهد	۴۹	مخلوط	۴۱/۴	۵۸/۶	✓
۸۸	Challenged 1389/st	مشهد	۵۰	مخلوط	۳۲/۲	۶۷/۸	✓
۸۹	Sweet white/ 1390	مشهد	۵۱	قرمز	۸۰/۷	۱۹/۶	
۹۰	1390 Sweet 3151*	مشهد	۵۲	قرمز	۷۳/۲	۲۶/۸	
۹۱	52*Sweet	مشهد	۵۳	مخلوط	۶۲/۴	۳۷/۶	✓
۹۲	Popcorn-53 or 54 (Linear)	مشهد	۵۴	مخلوط	۵۵/۶	۴۴/۴	✓
۵۰	P19L17 Kahia	کرمانشاه	۵۵	مخلوط	۳۷/۲	۶۲/۸	✓
۵۱	P15L16	کرمانشاه	۵۶	سبز	۹/۷	۹۰/۳	
۵۲	P6L1	کرمانشاه	۵۷	سبز	۸/۱	۹۱/۹	
۵۳	P3L2	کرمانشاه	۵۸	سبز	۱۶	۸۴	
۵۴	P14L1 Kahia	کرمانشاه	۵۹	سبز	۱۱/۹	۸۸/۱	
۵۵	P19l3	کرمانشاه	۶۰	مخلوط	۳۲/۴	۶۷/۶	✓
۵۶	P9L3 Kahia	کرمانشاه	۶۱	مخلوط	۳۷/۱	۶۲/۹	✓
۵۷	P15 L16 Kahia	کرمانشاه	۶۲	سبز	۲۸/۴	۷۱/۶	
۵۸	P11L7	کرمانشاه	۶۳	سبز	۱۲/۶	۸۷/۴	
۵۹	P14L2	کرمانشاه	۶۴	سبز	۹/۶	۹۰/۴	
۶۰	P14L2	کرمانشاه	۶۵	قرمز	۷۵/۳	۲۴/۷	
۶۱	P10L5	کرمانشاه	۶۶	سبز	۲۲/۵	۷۷/۵	
۶۲	P16L6 Kahia	کرمانشاه	۶۷	سبز	۱۷/۱	۸۲/۹	
۶۳	P16L4 Kahia	کرمانشاه	۶۸	مخلوط	۵۸/۵	۴۱/۵	✓
۶۴	P15L4	کرمانشاه	۶۹	سبز	۱۳/۴	۸۶/۶	
۶۵	P1L4 (Dialell- Karaj)	کرمانشاه	۷۰	مخلوط	۶۱	۳۹	✓
۶۷	P11L6	کرمانشاه	۷۱	مخلوط	۶۹/۱	۳۰/۹	✓
۶۸	P9L6	کرمانشاه	۷۲	سبز	۹/۲	۹۰/۸	
۶۹	P13L3	کرمانشاه	۷۳	سبز	۱۶/۵	۸۳/۵	
۷۰	P3L11	کرمانشاه	۷۴	سبز	۱۵/۸	۸۴/۲	

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2025-12-15]

[DOI: 10.52547/jcb.13.38.10]

ادامه جدول ۱

Cotiniued Table 1

۷۱	P3L1	کرمانشاه	۷۵	سبز	۷/۸	۹۲/۲	
۷۲	P10L7	کرمانشاه	۷۶	مخلوط	۴۳/۵	۵۶/۵	✓
۷۳	P16L12 Kahia	کرمانشاه	۷۷	مخلوط	۴۱/۷	۵۸/۳	✓
۷۴	p1L15 Kahia	کرمانشاه	۷۸	سبز	۱۹/۳	۸۰/۷	
۷۵	P19L5 Kahia	کرمانشاه	۷۹	سبز	۷/۳	۹۲/۷	
۷۶	P10L9	کرج	۸۰	سبز	۱۲/۲	۸۷/۸	
۷۷	K615/1a	کرج	۸۱	سبز	۱۵/۸	۸۴/۲	
۷۸	Mo17a	کرج	۸۲	سبز	۱۹/۳	۸۰/۷	
۷۹	OH43/1-42	کرج	۸۳	سبز	۲۹/۹	۷۰/۱	
۸۰	K12264/ 5-1	کرج	۸۴	سبز	۱۶/۴	۸۳/۶	
۸۱	R=59	کرج	۸۵	سبز	۱۱/۱	۸۸/۹	
۸۲	K615/1b	کرج	۸۶	مخلوط	۳۵	۶۵	✓
۸۳	B73	کرج	۸۷	سبز	۱۹/۲	۸۰/۸	
۸۴	OH43/1042 (Paternal)	کرج	۸۸	مخلوط	۴۳/۷	۵۶/۳	✓
۸۵	R59 (Paternal)	کرج	۸۹	سبز	۱۹/۶	۸۰/۴	
۹۳	W37a	کرج	۹۰	مخلوط	۳۰/۹	۶۹/۱	✓
۹۴	KS13	کرج	۹۱	مخلوط	۳۲/۵	۶۷/۵	✓
۹۵	R319	کرج	۹۲	سبز	۲۸/۲	۷۱/۸	
۹۶	R59 (Paternal)	کرج	۹۳	سبز	۱۸/۲	۸۱/۸	
۹۷	W153R	کرج	۹۴	قرمز	۸۷/۵	۱۲/۵	
۹۸	K1533 Popcorn	کرج	۹۵	قرمز	۷۷/۴	۲۲/۶	
۹۹	R59*R (Double cross- maternal)	کرج	۹۶	مخلوط	۶۱/۳	۳۸/۷	✓
۱۰۰	B73(RFC or CMS)	کرج	۹۷	قرمز	۷۸/۴	۲۱/۶	
۱۰۱	1264/ 1	کرج	۹۸	قرمز	۹۱/۵	۸/۵	
۱۰۲	MO17b	کرج	۹۹	قرمز	۸۹/۵	۱۰/۵	
۱۰۳	ZK472221	کرج	۱۰۰	قرمز	۸۸/۹	۱۱/۱	

استخراج DNA

پس از رسیدن گیاهچه‌ها به مرحله چهار برگی از شش تکرار هر لاین یک نمونه برگی مخلوط تهیه شد. از نمونه‌های برگی هر لاین استخراج DNA به روش CTAB (Cetyl Trimethyl Ammonium Bromide) انجام گرفت (۳۷). برای ارزیابی کیفیت و کمیت DNA و آگاهی از میزان خلوص و غلظت آن از الکتروفورز ژل آگارز (یک درصد) و اسپکتروفتومتری استفاده شد. تعداد ۸ آغازگر رتروترنسپوزونی روی ۱۰۰ لاین ذرت از میان ۴۵ ترکیب آغازگر IRAP و ۱۰ ترکیب REMAP بر اساس مطالعات Kuhn و همکاران (۲۵) در ذرت انتخاب شدند (جدول ۲). واکنش PCR حاوی ۰/۵ میکرولیتر dNTP (۲۵mM)، ۰/۸ میکرولیتر $MgCl_2$ (۵۰mM)، ۲ میکرولیتر بافر PCR (۱۰X)، یک میکرولیتر از هر کدام از آغازگرها با غلظت ۱۰ میکرومولار، ۰/۲۲ واحد آنزیم Taq DNA Polymerase، ۱۱/۵۸ میکرولیتر آب دوبار تقطیر شده و ۲۵ نانوگرم DNA ژنومی با استفاده از دستگاه ترموسایکلر (Applied Biosystem) انجام شد. برنامه دمایی دستگاه شامل یک چرخه دمای ۹۴°C به مدت ۴ دقیقه (برای واسرشت‌سازی اولیه)، ۳۶ چرخه دمایی شامل (واسرشته‌سازی به مدت ۳۰ ثانیه در دمای ۹۴°C + اتصال آغازگر به رشته الگو به مدت ۳۰ ثانیه (جدول ۲؛ که بسته به نوع آغازگر بین ۵۳°C الی ۶۰°C بود) + توسعه رشته جدید (گسترش) به مدت ۱۲۰ ثانیه در دمای ۷۲°C) و سپس یک چرخه دمای ۷۲°C به مدت ۱۰ دقیقه (برای توسعه نهایی) بود. بهترین دما برای فعالیت آنزیم DNA Taq Polymerase که عمل پلی مریزاسیون یعنی اضافه کردن نوکلئوتیدهای آزاد به انتهای 3'-OH را انجام می دهد دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد است. محصولات PCR، روی ژل آگارز ۱/۷ درصد از همدیگر تفکیک شدند و برای مشاهده باندها نیز از روش رنگ‌آمیزی اتیدیوم بروماید استفاده شد.

تجزیه تحلیل داده‌ها

قطعات تکثیر شده حاصل از PCR بر اساس عدم حضور یا حضور قطعهٔ مورد نظر به‌ترتیب به‌صورت صفر و یک امتیازدهی شدند و ماتریس صفر و یک حاصل در تجزیه‌های آماری مورد استفاده قرار گرفت. تعداد و درصد مکان‌های چند شکل با استفاده از نرم‌افزار PopGen 32 محاسبه گردید. خصوصیات مکان‌های تکثیر شده مانند Na[1] (تعداد آلل)، Ne[2] (تعداد آلل‌های مؤثر)، He[3] (هتروزیگوسیتی مورد انتظار)، I[4] (شاخص اطلاعات شانون)، h[5] (شاخص تنوع ژنی نی) در لاین‌های مورد مطالعه با استفاده از نرم‌افزارهای GenAlex 6.051 (۴۵) و PopGen 32 (۶۶) محاسبه شد. برای بررسی تنوع بین و درون جمعیت‌ها تجزیه واریانس مولکولی با استفاده از نرم‌افزار GenAlex 6.051 محاسبه شد. سطح تمایز ژنتیکی (PhiPT) و همچنین میزان اطلاعات چند شکلی یا PIC، بر اساس فرمول زیر، با استفاده از نرم‌افزار GenAlex 6.051 محاسبه شدند. $PIC=1-\sum_{i=1}^{n} P_i^2$. در این فرمول Pi فراوانی آلل iام در جمعیت است. برای تجزیه ساختار جمعیت و دسته‌بندی دقیق لاین‌ها به زیرجمعیت‌های مناسب و تشخیص ژنوتیپ‌های مختلط از روش Bayesian در نرم‌افزار Structure 2.3.4 استفاده شد (۴۶). در این روش با استفاده از داده‌های ژنوتیپی چندین جایگاه ژنی، افراد موجود در جمعیت به زیر گروه‌های همگن گروه‌بندی شدند. مقادیر اولیه‌ی K (زیر جمعیت‌های فرضی اولیه) بین ۱ تا ۱۰ در نظر گرفته شد و جهت افزایش دقت برای هر کدام از زیر جمعیت‌ها ۱۰ تکرار منظور گردید.

1- Number of alleles
2- Number of effective alleles
3- Expected hetrozygosity
4- Shannon's information index
5- Nei's gene diversity

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2025-12-15]

[DOI: 10.52547/jcb.13.38.10]

طول دوره گرم کردن[1] و تعداد تکرار MCMC[2] برابر ۱۰۰۰۰۰ در نظر گرفته شد تا نمودار حداکثر درست‌نمایی حاصل شود. نرم‌افزار Structure برای هر مقدار K (تعداد واقعی زیر جمعیت‌ها) یک ماتریس به نام Qst را محاسبه می‌کند که این ماتریس شامل برآورد ضرایب احتمال عضویت هر ژنوتیپ به هر یک از زیر جمعیت‌ها است. مطابق این روش یک ژنوتیپ هنگامی می‌تواند به انتساب یک گروه در آید که درصد عضویت آن ۰/۷ یا بیشتر از آن باشد و در صورتی که درصد عضویت کمتر از ۰/۷ باشد به‌عنوان ژنوتیپ مخلوط در نظر گرفته می‌شود. شناسایی نشانگرهای مرتبط و دارای ارتباط معنی‌دار با صفات مورد ارزیابی، بر اساس مدل خطی عمومی[3] (GLM) وابسته به ماتریس Q (ماتریس ضرایب ساختار جمعیت) و مدل خطی مخلوط[4] (MLM) وابسته به ماتریس Q+K (ماتریس ضرایب ساختار جمعیت + ماتریس روابط خویشاوندی) جهت جلوگیری از ارتباط کاذب بین نشانگر- صفت، با استفاده از نرم‌افزار TASEEL 2.1 انجام گرفت.

جدول ۲- مشخصات و توالی آغازگرهای IRAP و REMAP مورد استفاده در تحقیق حاضر

Table 2. Characteristics and sequence of IRAP and REMAP primers used in the present research work

نام آغازگر	دمای اتصال (°C)	آغازگر پیشرو (۵′→۳′)	آغازگر معکوس (۵′→۳′)
GIEPUM	60	TGTGAATCATCTAGGCCCCTTTGGT	-
Heartbreaker	56	TTCAGCTTTTTTCTGACCAGCTTTT	-
Pangrangja	59	CGATGATTTTTGGTGAATCGGCCAA	-
Ac/Ds	59	AGGGATGAAAGTAGGATGGGAAAAT	-
Misfit	58	CACTAGTAGAAAAGAGCTCAAAGCC	-
Huck× Ozymandias	60	TCGGGGACCATAATTAGGGGTACCC	TGGGGCGAAGGCAAAGACGCCACCC
Ruda×UBC878	53	GCTAATTGAGTTTTGGTGTTTGATG	GGATGATGGATGGA
Misfit×UBC817	53	CACTAGTAGAAAAGAGCTCAAAGCC	(CA)8A

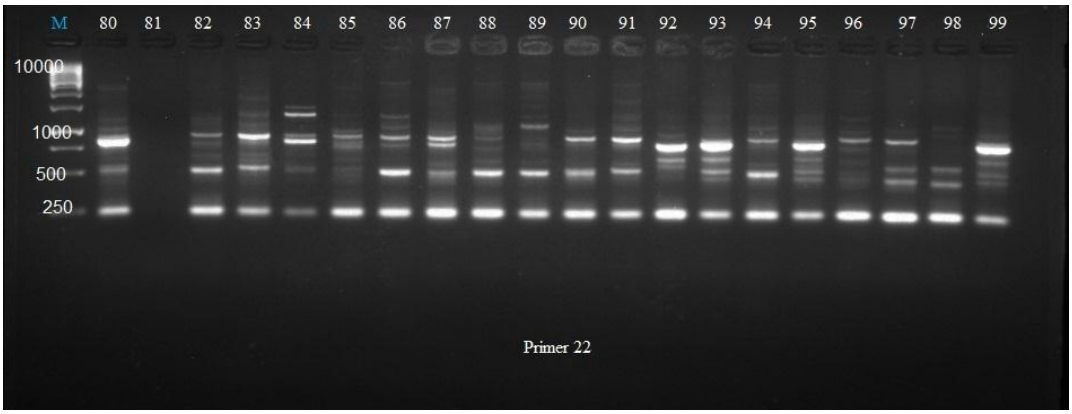
نتایج و بحث

در مطالعه حاضر، پروفیل مولکولی ۱۰۰ ژنوتیپ ذرت با ۸ ترکیب آغازگر مبتنی بر رتروترنسپوزون IRAP و REMAP تهیه شد (جدول ۳). هشت ترکیب آغازگر IRAP و REMAP ۴۰ مکان ژنی را تکثیر کردند. از این ۴۰ مکان، ۳۸ مکان ژنی (۹۵ درصد) چندشکلی نشان دادند. نمونه‌ای از پروفیل مولکولی افراد با یکی از آغازگرهای IRAP در شکل ۱ نشان داده است. تعداد آلل مؤثر از ۱/۲ در آغازگر Ac/Ds تا ۱/۷۶ در ترکیب Ruda×UBC878 بود. میانگین تعداد آلل مؤثر ۱/۵ برآورد شد. تعداد آلل مؤثر ۱ در مکان‌های ژنی AC/DS(۸۵۰) و AC/DS(۷۰۰) بیانگر وجود یک آلل با حداکثر اثر و ویژگی منحصر به فرد می‌باشد. آلل مؤثر ۱/۰۵ برای مکان ژنی UBC817*29(۱۳۰۰) نشان‌دهندهٔ دو آلل با فراوانی آللی کاملاً متفاوت و وجود یک آلل نادر برای این مکان رتروترنسپوزونی است. دامنه PIC در لاین‌های مورد مطالعه از ۰/۰۸۴ برای آغازگر Ac/Ds تا ۰/۳۸۳ برای آغازگر Pangrangjaمتغیر بود. میانگین PIC در لاین‌های مورد مطالعه برابر ۰/۲۸۲ بود. میزان اطلاعات چند شکل (PIC)، یکی از شاخص‌های مهم جهت مقایسه نشانگرهای مختلف از لحاظ قدرت تمایز آنها می‌باشد. مقادیر بالای این شاخص دلالت بر چندشکلی بالا و وجود آلل یا آلل‌های نادر در جایگاه نشانگری است؛ که در تفکیک و تمایز افراد نقش بسزایی دارد. با توجه به میزان PIC و تعداد آلل، می‌توان بیان نمود که آغازگر Pangrangja مناسب‌ترین آغازگر برای بررسی تنوع ژنتیکی و تمایز ژنوتیپ‌ها می‌باشد. بالا بودن چند شکلی در این پژوهش (۹۵ درصد باند چند شکل) را می‌توان به کارایی بالای این نشانگرها و همچنین تعداد زیاد ژنوتیپ‌های مورد بررسی نسبت داد (۳۵). مقایسه دو شاخص هتروزیگوسیتی مورد انتظار تصحیح شده (UHe) و میزان اطلاعات چند شکلی نشان می‌دهد که نشانگرهای با هتروزیگوسیتی بالا دارای میزان اطلاعات چند شکلی بالا نیز هستند. این نکته بیانگر همبستگی بالای این دو شاخص است. بالاترین مقدار Nm ۱۸۶/۱۷۲ مربوط به ترکیب آغازگر Huck × Ozymandias و کمترین مقدار آن با ۳/۴۷۶ مربوط به آغازگر Ac/Ds بود. میانگین Nm ۵/۵۱ برآورد شد. به طور کلی اگر Nm<1 باشد، شارش ژنی بین لاین‌ها کم و تمایز بین آنها بیشتر خواهد بود و اگر Nm>1 باشد، شارش ژنی بالا و تمایز کم بین لاین‌ها وجود خواهد داشت. شاخص شانون (I) از ۰/۲۶۷ در آغازگر Ac/Ds تا ۰/۶۹ در ترکیب آغازگر Huck × Ozymandias متغیر بود. میانگین شاخص شانون ۰/۴۵۶ بدست آمد. میزان PIC و ضریب شانون بیانگر میزان پلی‌مورفیسم در بین ژنوتیپ‌هاست (۲۱). فاصله ژنتیکی نی بین لاین‌های تهیه شده از مشهد و کرمانشاه ۰/۰۵۳، کرج و مشهد ۰/۰۳۶، کرمانشاه و کرج ۰/۰۳۲ برآورد شد.

1- Burn-in
2- Markov Chain Monte Carlo (MCMC)
3- General linear model
4- Mixed linear model

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2025-12-15]

[DOI: 10.52547/jcb.13.38.10]



شکل ۱- نمایی از ژل مربوط به الکتروفورز محصول PCR با استفاده از آغازگر Heartbreaker تعدادی از لاین‌های ذرت.
Figure 1. Picture of electrophoresis gel related to PCR with Heartbreaker primer on a number of maize lines

جدول ۳- تجزیه تنوع ژنتیکی در مکان‌های نشانگرهای رتروترنسپوزونی در لاین‌های ذرت مورد مطالعه
Table 3. Analysis of genetic diversity in retrotransponson based molecular markers loci in studied maize lines

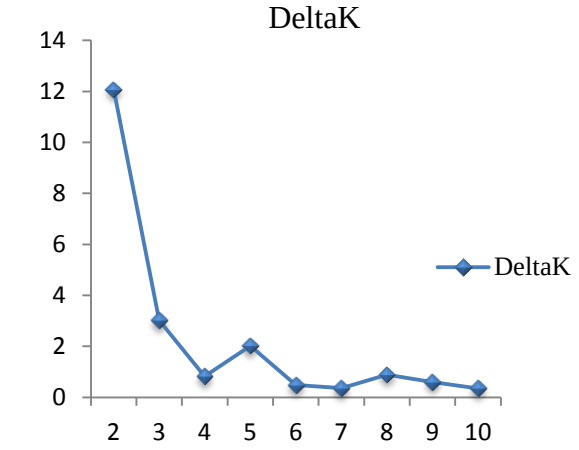
PIC	UHe	Nm	I	H	Ne	Na	Sample size	Primer
۰/۳۵	۰/۳۵	۱۶/۰۸	۰/۵۶	۰/۳۹	۱/۷۶	۲	۹۸	Ruda×UBC878
۰/۲۳	۰/۲۳	۱۶/۴۷	۰/۴۰	۰/۲۶	۱/۴۳	۲	۹۷	Misfit×UBC817
۰/۱۹	۰/۱۹	۱۰۵/۷۶	۰/۳۹	۰/۲۵	۱/۳۸	۲	۱۰۰	Giepum
۰/۳۰	۰/۳۰	۸۱/۰۴	۰/۴۸	۰/۳۱	۱/۵۱	۲	۸۹	Heartbreaker
۰/۳۸	۰/۳۸	۱۳/۲۸	۰/۵۷	۰/۳۹	۱/۶۹	۲	۱۰۰	Pangrangja
۰/۰۸	۰/۰۸	۳/۴۸	۰/۲۷	۰/۱۶	۱/۲۱	۲	۹۸	Ac/Ds
۰/۳۴	۰/۳۴	۱۸۶/۱۳	۰/۶۹	۰/۳۳	۱/۵۸	۲	۹۶	Huck× Ozymandias
۰/۳۶	۰/۳۶	۱۳/۸۹	۰/۵۷	۰/۳۹	۱/۶۸	۲	۸۶	Misfit
۰/۲۸	۰/۲۸	۵/۵۱	۰/۴۶	۰/۳۰	۱/۵۱	۲	۹۶	Mean
۰/۱۰	۰/۱۰	۶۴/۹۵	۰/۲۱	۰/۱۶	۰/۳۴	۰/۲	۵/۱۸	St. Dev

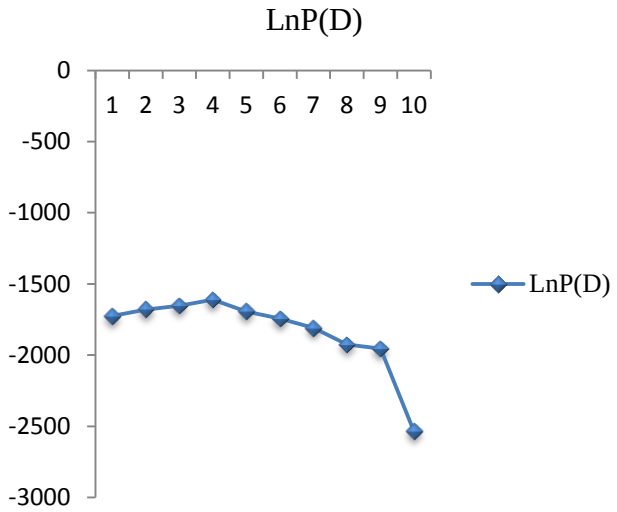
Na = Number of allele, Ne = Number of effective alleles = 1 / (p^2 + q^2), I = Shannon's information index = -1× (p × Ln (p) + q×Ln(q)), uHe = Unbiased expected heterozygosity = (2N / (2N-1)) × He, H = Nei's gene diversity, Nm = Estimate of gene flow from GST or GCS = 0/5 × (1- GST)/ GCS.

تجزیه مؤثر ساختار جمعیت و دسته‌بندی دقیق افراد به زیر جمعیت‌های مناسب با روش بیزین در نرم‌افزار Structure انجام و ۲ زیر جمعیت احتمالی (K=۲) در جمعیت لاین‌های ذرت مورد مطالعه شناسایی شد و K=۲ به‌عنوان K بهینه در تخمین ساختار جمعیت و محاسبه ماتریس سهم عضویت افراد در هر کلاستر (ماتریس Q) در نظر گرفته شد (شکل ۲). از ۱۰۰ لاین ذرت، ۳۰ لاین به زیر ساختار اول (قرمز) و ۳۴ لاین به زیر ساختار دوم (سبز) تعلق داشتند. ۳۶ لاین نیز ساختار مخلوط داشتند؛ یعنی در هیچ کدام از زیر ساختارهای اول و دوم قرار نگرفتند. از ۵۴ لاین مربوط به جمعیت مشهد؛ ۲۳ لاین (۴۲/۵۹ درصد) به زیر ساختار اول، ۸ لاین (۱۴/۸ درصد) به زیر ساختار دوم و ۲۳ لاین (۴۲/۵۹ درصد) ساختاری مخلوط داشتند. از ۲۵ لاین متعلق به جمعیت کرمانشاه ۱ لاین (۴ درصد) به زیر ساختار اول، ۱۶ لاین (۶۴ درصد) به زیر ساختار دوم و ۸ لاین (۳۲ درصد) ساختار مخلوط داشت. از ۲۱ لاین مربوط به جمعیت کرج، ۶ لاین (۲۸/۵۷ درصد) به زیر ساختار اول، ۱۰ لاین (۴۷/۶۱ درصد) به زیر ساختار دوم و ۵ لاین (۲۳/۸ درصد) ساختاری مخلوط داشتند (شکل ۳). بررسی انتصاب لاین‌ها به زیر ساختارها توسط نرم افزار Structure نشان می‌دهد که گروه‌بندی لاین‌ها با الگوی خاصی از جمله منشأ لاین‌ها مطابقت ندارد.

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2025-12-15]

[DOI: 10.52547/jcb.13.38.10]





شکل ۲- تجزیه ساختار جمعیت و تعیین تعداد زیر جمعیت بهینه. محور عمودی شاخص K و محور افقی تعداد زیر جمعیت‌ها را نشان می‌دهد.
Figure 2. Population structure analysis and determination of optimal sub-population numbers. The vertical axis indicates the K index and the horizontal axis indicate the number of sub-populations.

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2025-12-15]

[DOI: 10.52547/jcb.13.38.10]

شکل ۳- تجزیه کلاستر مبتنی بر مدل Bayesian ۱۰۰ لاین ذرت بر اساس ۴۰ مکان رترورتنسپوزونی IRAP و REMAP (K=2). هر رنگ یک زیر جمعیت یا کلاستر را نشان می‌دهد. محور عمودی ضریب تعلق هر فرد به هر زیر جمعیت را نشان می‌دهد و اعداد در محور افقی کد ژنوتیپ‌ها را نشان می‌دهد. ژنوتیپ‌ها با رنگ‌های یکسان متعلق به یک زیر جمعیت است.

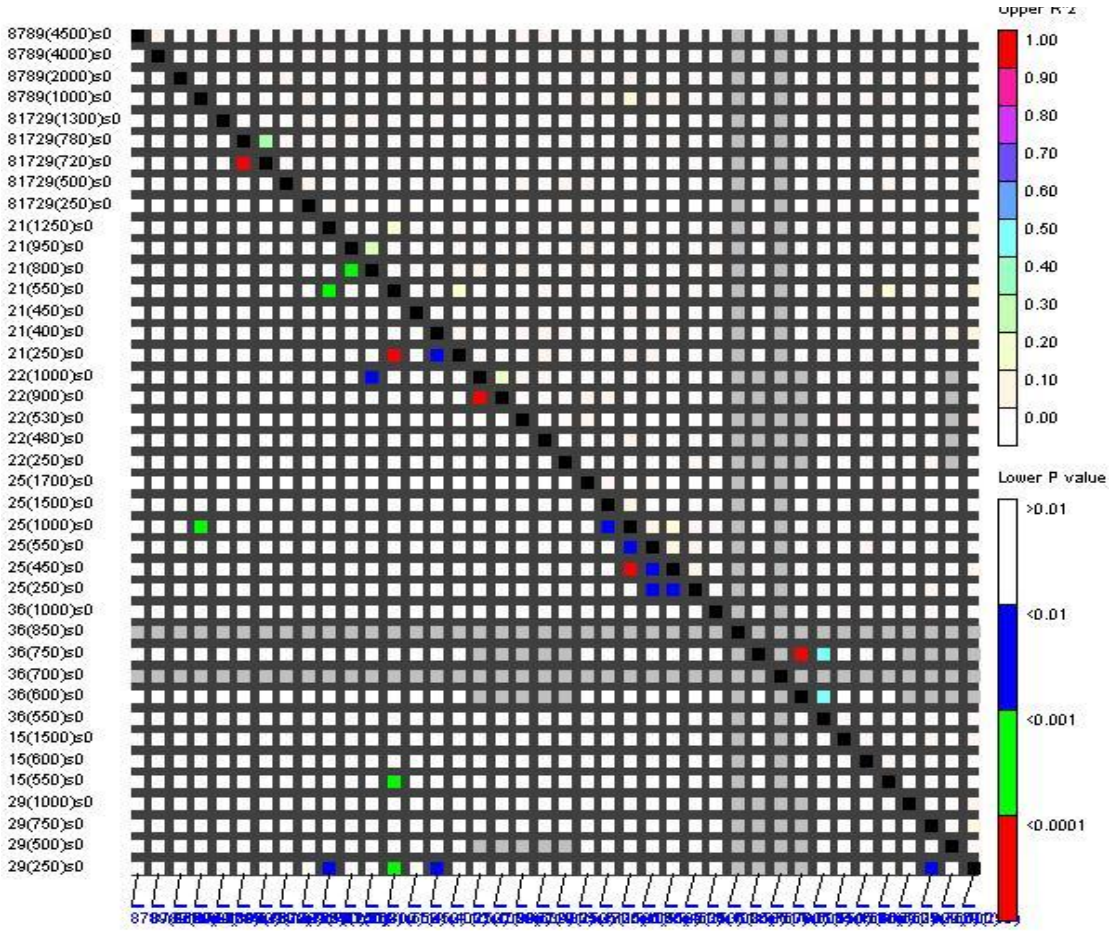
Figure 3. Bayesian based cluster analysis of 100 maize inbred lines based on 40 IRAP and REMAP markers (K=2). Each color represents a sub-population or cluster. The vertical axis shows the coefficient of belonging of each individual to each sub-population and the numbers in the horizontal axis show the code of the genotypes. Genotypes with the same colors belong to the same sub population.

عدم تعادل پیوستگی

از ۷۸۰ جفت مکان رتروترنسپوزونی مورد مقایسه، ۵۷/۴۳ درصد بر اساس شاخص r^2 (شاخص سنجش عدم تعادل) در عدم تعادل بودند (r^2≥۰/۰۱, P-value ≤۰/۰۱). در گیاهان دگرگشن نسبت به گیاهان خودگشن عدم تعادل پیوستگی سریع‌تر کاهش می‌یابد این امر به علت تاثیر کمِ نوترکیبی در گیاهانِ خودگشن که از هموزیگوسیتی و خلوصِ بالا برخوردارند، هست (۲). افت LD (عدم تعادل پیوستگی) در ذرت به سرعت اتفاق می‌افتد. در مقابل تنوع LD در ذرت بسیار زیاد است؛ این امر به دلیل سرعت بالای نوترکیبی در این گونه گیاهی است (۵۰). افزایش میزان نوترکیبی منجر به تغییر شکل بخش‌های کروموزومی در قطعات کوچکتر، افت LD در فاصله‌های کوتاه در اطراف این مکان‌ها و همچنین وقوع همبستگی (ایجاد LD) بین مکان‌هایی می‌شود که از نظر فیزیکی نزدیک‌تر هستند؛ که این امر باعث وضوح بالاتر نقشه‌یابی می‌شود. تجزیه ارتباط به ویژه در ذرت بسیار قدرتمند است، زیرا می توان با انتخاب پانل نقشه‌یابی ارتباطی مناسب، میزان تفکیک را کنترل کرد: به عنوان مثال، بلوک LD در توده‌های بومیِ ذرت کمتر از ۱۰۰۰ جفت باز و در لاین‌های متنوع ذرت تقریباً به ۲۰۰۰ جفت باز افزایش می‌یابد، اما در لاین‌های تجاری می‌تواند تا ۱۰۰ kbp باشد (۵۴، ۶۶، ۹). بر اساس توالی‌یابی ژنوم ۲۷ اینبرد لاین متنوع، بیش از ۱۰۰ بلوک LD در اندازه های مختلف (از هزاران تا میلیون‌ها جفت باز) در ژنوم ذرت شناسایی شده است (۱۸). مطالعات در مورد میزان افت LD در گونه‌های مختلف گیاهی مانند ذرت (*Zea mays* ssp. mays) (۵۸،۱۴،۹،۵۴،۴۷)، جو (*Hordeum vulgare*) (۱۰)، سورگوم (*Sorghum bicolor*) (۲۰)، آرابیدوپسیس (*Arabidopsis thaliana*) (۴۲،۴۳) و گندم دوروم (*Triticum durum*) (۳۶)، نشان‌دهنده‌ی تنوع بسیار زیادی در میزان LD است.

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2025-12-15]

[DOI: 10.52547/jcb.13.38.10]



شکل ۴- پلات عدم تعادل پیوستگی (LD plot). قسمت بالای قطر نشان‌دهنده میزان عدم تعادل پیوستگی و قسمت پایین قطر P- value آماره عدم تعادل برای جفت نشانگرها را نشان می‌دهد.

Figure 4. Linkage disequilibrium plot (LD plot). The upper part of diagonal in figure shows the rate of linkage disequilibrium between pair of molecular markers loci and the lower part of diagonal shows their P-value.

تجزیه‌ی ارتباطی

بر اساس نتایج بدست آمده از GLM، ۲۴ مکان رتروترنسپوزونی ارتباط معنی‌داری (P-value≤۰/۰۱) با عوامل کنترل‌کننده صفات مورد بررسی نشان دادند. از این تعداد ۱ مکان با ژن‌های کنترل‌کننده ارتفاع بوته، ۲ مکان با ژن‌های کنترل‌کننده ارتفاع بوته تا بلال، ۲ مکان با ژن‌های کنترل‌کننده طول برگ، ۲ مکان با ژن‌های کنترل‌کننده سطح برگ، ۲ مکان با ژن‌های کنترل‌کننده صفت شاخص سطح برگ، ۳ مکان با ژن‌های کنترل‌کننده تعداد بلال، ۳ مکان با ژن‌های کنترل‌کننده وزن دانه در بوته، ۳ مکان با ژن‌های کنترل‌کننده وزن چوب بلال، ۱ مکان با ژن‌های کنترل‌کننده قطر ابتدای چوب بلال، ۲ مکان با ژن‌های کنترل‌کننده طول چوب بلال، ۱ مکان با ژن‌های کنترل‌کننده وزن خشک بوته، ۱ مکان با ژن‌های کنترل‌کننده تاریخ ظهور بلال دوم ارتباط معنی‌داری داشتند (جدول ۴). در تجزیه ارتباط با استفاده از MLM در مجموع ۱۲ مکان رتروترنسپوزونی IRAP و REMAP ارتباط معنی‌داری با ژن‌های کنترل‌کننده صفات نشان دادند (P-value≤0.01). از ۱۲ مکان شناسایی شده برای صفات، ۶ مکان همان مکان‌هایی بودند که در GLM نیز در رابطه با صفات شناسایی شدند. بر اساس MLM، ۱ مکان با ژن‌های کنترل‌کننده ارتفاع بوته تا بلال، ۱ مکان با ژن‌های کنترل‌کننده طول برگ، ۱ مکان با ژن‌های کنترل‌کننده عرض برگ، ۲ مکان با ژن‌های کنترل‌کننده سطح برگ، ۱ مکان با ژن‌های کنترل‌کننده شاخص سطح برگ، ۱ مکان با ژن‌های کنترل‌کننده تعداد بلال، ۱ مکان با ژن‌های کنترل‌کننده میزان کلروفیل، ۱ مکان با ژن‌های کنترل‌کننده وزن دانه در بوته، ۱ مکان با ژن‌های کنترل‌کننده قطر ابتدای چوب بلال، ۱ مکان با ژن‌های کنترل‌کننده قطر وسط چوب بلال، ۱ مکان با ژن‌های کنترل‌کننده طول چوب بلال پیوستگی نشان دادند (جدول۴). شناسایی ژن‌هایی که صفات مهم زراعی را کنترل می‌کنند برای

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2025-12-15]

[DOI: 10.52547/jcb.13.38.10]

برنامه‌های به‌نژادی ذرت ضروری است. در طی چند دهه گذشته، نقشه‌یابی QTL در بسیاری از مطالعات برای شناسایی ژن‌های کنترل‌کننده صفات فنوتیپی استفاده شده است. یک پانل ارتباطی ایده‌آل باید تا آنجا که ممکن است تنوع ژنتیکی داشته باشد، که اغلب برای تشریح تغییرات صفات پیچیده استفاده می‌شود (۵،۶۸). تنوع فراوان و اُفت سریع LD باعث می‌شود که ذرت به‌عنوان یک محصول ایده‌آل برای نقشه‌یابی ارتباطی باشد. نقشه‌برداری ارتباطی بر اساس عدم تعادل پیوستگی (LD) از طریق رویکردهای پویش ژنوم گسترده و ژن‌های کاندید، ابزاری قدرتمند برای کالبد شکافی صفات کمّی در گیاهان فراهم می‌کند (۶۲،۶۱). Yu و Buckler (۶۶) به منظور بهبود نتایج و به عبارتی کاهش نتایج مثبت دروغین از MLM در مطالعات تجزیه‌ی ارتباطی صفاتی مانند زمان گل‌دهی، وزن و قطر خوشه در ذرت استفاده نمودند و نتایج دقیق‌تری را در مقایسه با GLM K یا Q ارائه نمودند. Sa و همکاران (۵۲) تنوع ۴۰ لاین نرمال و ۴۰ لاین مومی ذرت را بر اساس ۱۰ صفت مورفولوژیکی و ۲۰۰ نشانگر SSR بررسی کردند؛ بر اساس نتایج حاصل از MLM چهار مکان ژنی SSR با چهار صفت مورد ارزیابی و بر اساس GLM ۷۲ مکان ژنی با صفات فنوتیپی در سطح احتمال یک درصد ارتباط معنی‌داری نشان دادند. در مطالعه ایشان دو نشانگر Phi099 و Umc1858 با شش صفت ارتباط معنی‌دار داشتند. در MLM کمترین مقدار R^2 (۱۸/۷۴) برای مکان umc1279 که با EW (وزن بلال) مرتبط بود، و بالاترین مقدار R^2 (۲۷/۶۶) برای مکان umc1858 که با صفت 100KW (وزن صد دانه) مرتبط بود، مشاهده شد که نشان می‌دهد این دو مکان ۱۸ الی ۲۷ درصد از تغییرات فنوتیپی این صفات را توجیه می‌کنند. چهار نشانگر umc1858، umc1645، umc2215 و umc1279، به ترتیب در هر دو مدل با 100KW[1] (وزن صد دانه)، EH[2] (ارتفاع بلال)، EN[3] (تعداد بلال) و EW[4] (وزن بلال) مرتبط بودند. این نشان می‌دهد که نشانگرهای SSR مشخص شده ممکن است به عنوان نشانگرهای مولکولی مفید برای انتخاب برای عملکرد و صفات زراعی مهم به کار برده شوند. Van Inghelandt و همکاران (۵۵) ۱۵۳۷ اینبرد لاین ذرت را با استفاده از ۳۵۹ نشانگر SSR و ۸۴۴۴۴ نشانگر SNP ثبت ژنوتیپی (ژنوتایپ) نمودند؛ میانگین تعداد آلل و تنوع ژنی (D) برای SSRها بیشتر از SNPها بود. احتمال عضویت در ماتریس Q حاصل از Structure با SSRها بیشتر از آن با نشانگرهای SNP بود. همچنین نشان داده شد که نسبت تعداد SSRها و SNPهای مورد نیاز برای به دست آوردن برآوردهای D با دقت مشابه در سطح مختلف ثابت نیست. در مطالعه Liu و همکاران (۲۸) در مجموع ۲۱ پلی‌مورفیسم تک نوکلئوتیدی (SNP) با سه صفت دانه ذرت؛ طول (KL)، عرض (KW) و ضخامت (KT) در چهار محیط ارتباط داشتند. با استفاده از تجزیه ارتباطی و نقشه‌یابی پیوستگی، در مجموع ۷۳ ژن کاندیدا شناسایی شد که تنظیم کننده رشد بذر بودند. غفاری آذر و همکاران (۱۶) با ۱۰۰ لاین خالص ذرت مورد استفاده در مطالعه حاضر، تجزیه ارتباطی برای صفات آگرو-مورفولوژیک با استفاده از نشانگرهای حاصل از ۱۶ آغازگر ISSR انجام دادند. بر اساس MLM، تعداد ۲۵ جایگاه ISSR ارتباط معنی‌داری با صفات مورد مطالعه نشان دادند. در مطالعه ایشان، سه نشانگر با ارتفاع بوته، سه نشانگر با ارتفاع بوته تا بلال، یک نشانگر با طول برگ، دو نشانگر با تعداد بلال، دو نشانگر با وزن چوب بلال، دو نشانگر با قطر ابتدای چوب بلال، دو نشانگر با طول چوب بلال، دو نشانگر با قطر وسط چوب بلال، سه نشانگر با تاریخ ظهور گل نر، دو نشانگر با تاریخ ظهور بلال اول و سه نشانگر با وزن دانه پیوستگی نشان دادند. Mazaheri و همکاران (۴۱)، در تجزیه ارتباطی با ۹۴۲ اینبرد لاین ذرت برای صفات مربوط به بیوماس و آناتومی ساقه با رویکرد ژن‌های کاندید، در مجموع ۴، ۸، ۱ و ۳ نشانگر پیوسته با ارتفاع بوته، قطر ساقه، ضخامت پوست و تراکم دسته‌های آوندی شناسایی کردند. در مطالعه آنها روشن شد که ژن Zmm22 با کاهش ارتفاع بوته و کاهش تعداد کاکول‌های ذرت در ارتباط است و بررسی‌های بیشتر نشان داد که این ژن برای دو صفت فوق اثر پلیوتروپی دارد. Zhang و همکاران (۶۷) با استفاده از جمعیت لاین‌های خویش آمیخته نوترکیب، یک QTLمهم دخیل در تحمل شوری (ZmHKT1) شناسایی کردند و از آن به عنوان یک ژن جدید مهم در به‌نژادی ذرت برای بهبود تحمل شوری یاد کردند. تنوع فنوتیپی ایجاد شده در اثر این QTL ظاهراً با وجود درج LTR/Gypsy retrotransposon در ZmHKT1 ایجاد می‌شود، که منجر به تغییر عملکرد ZmHKT1 می‌شود.

در تجزیه ارتباطی امکان تعیین فاصله نشانگر از ژن کنترل کننده صفت نیست. این کار در تجزیه پیوستگی امکان‌پذیر است (Linkage analysis). در روش اخیر (تجزیه پیوستگی) از تلاقی دو والد جمعیت نقشه (مثلاً F_2، DH، RIL) تهیه و روی جمعیت نقشه، نقشه پیوستگی ژنتیکی (Genetic linkage map) با استفاده از نشانگر مولکولی تهیه می شود. بعد از شناسایی نشانگرِ پیوسته؛ مثلا به روش تجزیه رگرسیون یا تجزیه واریانس، بر اساس مدل‌های ژنتیکی تک نشانگر (Single marker) یا مدل نشانگرهای جانبی (Flanking markers) فاصله QTL از نشانگر تعیین می‌شود.

بر اساس نتایج این مطالعه، برخی از نشانگرهای رتروترنسپوزونی میان برخی از صفات مشترک بود که از جمله آنها می‌توان به نشانگر Ruda×UBC878 که با صفات ارتفاع بوته تا بلال، طول برگ، سطح برگ، شاخص سطح برگ، تعداد بلال، وزن دانه، وزن چوب بلال، طول چوب بلال و تاریخ ظهور بلال دوم مرتبط بود، اشاره نمود. همچنین نشانگر Pangrangia با صفات ارتفاع بوته، ارتفاع بوته تا بلال، وزن چوب بلال و وزن خشک بوته پیوستگی نشان داد. نشانگر Heartbreaker(480) با صفات قطر ابتدای چوب بلال و طول چوب بلال، نشانگر Giepiaum(800) با صفات سطح برگ، تعداد بلال و نشانگر Misfit(750) با صفات طول برگ، عرض برگ و شاخص سطح برگ پیوستگی نشان دادند. وجود نشانگر مشترک می‌تواند در

1- Weight of 100 fresh kernels (100 KW)
2- Ear height
3- Number of ears
4- Ear weight

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2025-12-15]

[DOI: 10.52547/jcb.13.38.10]

بهبود برنامه‌های انتخاب به‌کمک نشانگر (MAS) و تولید و انتخاب ژنوتیپ‌ها مفید باشد. شناسایی نشانگرهای مشترک به‌دلیل اینکه گزینش همزمان چند صفت زراعی را از طریق انتخاب به کمک نشانگرها امکان‌پذیر می‌سازد در برنامه‌های به‌نژادی گیاهان اهمیت زیادی دارد. نشانگرها در گزینش لاین‌های خالص از جمعیت در حال تفرق که از خودگشن کردن هیبریدهای تجاری بدست می‌آید و تا رسیدن به لاین‌های خالص ادامه می‌یابد مؤثر هستند (۶۳).

جدول ۴- نتایج حاصل از تجزیه ارتباط با GLM و MLM در ذرت با استفاده از نشانگرهای مبتنی بر رتروترنسپوزون‌ها

Table 4. Results of association analysis by GLM and MLM in maize inbred lines using retrotransposon-based markers

صفات Trait	مکان Locus	نوع نشانگر Marker type	GLM					MLM	
			F-Marker	P-Marker	P-adj_Marker	R^2-Model	R^2-Marker	F-Marker	P_Marker
ارتفاع بوته	Pangrangia(1700)	IRAP	۱۳/۳۵	۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۱۵	۰/۱۲	–	–
	UBC878*Ruda(2000)	REMAP	۸/۷۵	۰/۰۰	۰/۰۲	۰/۱۰	۰/۰۸	–	–
ارتفاع بوته تا بلال	Pangrangia (1700)	IRAP	۷/۸۴	۰/۰۱	۰/۱۰	۰/۱۰	۰/۰۷	–	–
	Misfit(250)	IRAP	–	–	–	–	–	۸/۲۶	۰/۰۱
	UBC878*Ruda(1000)	REMAP	۸/۶۰	۰/۰۰	۰/۰۵	۰/۱۰	۰/۰۸	۹/۱۹	۰/۰۰
طول برگ	Heartbraker (250)	IRAP	۸/۴۳	۰/۰۰	۰/۰۴	۰/۱۱	۰/۰۹	–	–
	Misfit (750)	IRAP	۹/۱۹	۰/۰۰	۰/۰۳	۰/۱۰	۰/۱۰	–	–
عرض برگ	UBC817* Misfit (1300)	REMAP	–	–	–	–	–	۶/۷۲	۰/۰۱
	Misfit (750)	IRAP	۸/۳۱	۰/۰۱	۰/۰۶	۰/۱۰	۰/۰۹	۶/۷۶	۰/۰۱
سطح برگ	Giepum(800)	IRAP	۶/۴۸	۰/۰۱	۰/۲۹	۰/۱۰	۰/۰۶	–	–
	UBC878* Ruda (1000)	REMAP	–	–	–	–	–	۹/۸۹	۰/۰۰
	Giepum (800)	IRAP	۶/۳۸	۰/۰۱	۰/۳۴	۰/۱۰	۰/۰۶	–	–
شاخص سطح برگ	UBC878* Ruda (1000)	REMAP	–	–	–	–	–	۱۰/۸۷	۰/۰۰
	Misfit (750)	IRAP	۷/۹۰	۰/۰۱	۰/۰۸	۰/۰۹	۰/۰۹	–	–
	Misfit (250)	IRAP	۷/۴۲	۰/۰۱	۰/۱۳	۰/۰۸	۰/۰۸	–	–
تعداد بلال	UBC878* Ruda(4000)	REMAP	۸/۱۰	۰/۰۱	۰/۰۸	۰/۰۸	۰/۰۸	۷/۱۱	۰/۰۱
	Giepum (550)	IRAP	۱۱/۷۰	۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۱۱	۰/۱۱	–	–
میزان کلروفیل	UBC817* Misfit (780)	REMAP	–	–	–	–	–	۸/۳۵	۰/۰۱
	AC/DS(1000)	IRAP	۶/۴۶	۰/۰۱	۰/۲۷	۰/۱۴	۰/۰۶	–	–
وزن دانه	UBC878* Ruda(4000)	REMAP	۱۱/۵۹	۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۱۷	۰/۱۰	۶/۲۲	۰/۰۱
	Misfit (1000)	IRAP	۷/۱۷	۰/۰۱	۰/۱۸	۰/۱۷	۰/۰۷	–	–
	UBC878* Ruda (4000)	REMAP	۱۳/۰۶	۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۲۲	۰/۱۱	–	–
وزن چوب بلال	Misfit (1000)	IRAP	۶/۸۷	۰/۰۱	۰/۲۴	۰/۲۱	۰/۰۷	–	–
	Pangrangia(1700)	IRAP	۹/۳۱	۰/۰۰	۰/۰۳	۰/۲۰	۰/۰۸	–	–
قطر ابتدای چوب بلال	Heartbraker (480)	IRAP	۷/۴۳	۰/۰۱	۰/۱۲	۰/۱۰	۰/۰۸	۱۱/۷۶	۰/۰۰
قطر وسط چوب بلال	Giepum (550)	REMAP	–	–	–	–	–	۷/۹۳	۰/۰۱
طول چوب بلال	UBC878* Ruda (4000)	REMAP	۱۵/۰۳	۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۱۹	۰/۱۳	–	–
	Heartbraker (480)	IRAP	۶/۵۳	۰/۰۱	۰/۲۲	۰/۱۲	۰/۰۷	۶/۹۷	۰/۰۱
وزن خشک بوته	Pangrangia(1700)	IRAP	۱۰/۹۷	۰/۰۰	۰/۰۱	۰/۱۳	۰/۱۰	–	–
تاریخ ظهور بلال دوم	UBC878* Ruda (00)	IRAP	۱۳/۹۵	۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۱۵	۰/۱۵	–	–

GLM: General linear model, MLM: Mixed linear model

نتیجه‌گیری

در بررسی تنوع ژنتیکی با نشانگرهای رتروترنسپوزونی پلی‌مورفیسم بالایی در بین لاین‌های مورد مطالعه مشاهده شد؛ به‌طوری‌که این نشانگرها ۳۸ (۹۵ درصد) مکان چند شکل تولید کردند. تجزیه ارتباطی با استفاده از نشانگرهای مبتنی بر رتروترنسپوزون IRAP و REMAP با دو مدل GLM و MLM به‌ترتیب ۲۴ و ۱۲ نشانگر ژنی شناسایی نمود. طبق نتایج حاصل از این پژوهش، نشانگرهای رتروترنسپوزونی IRAP و REMAP با صفات زراعی همبسته بودند. در هر دو مدل نقشه‌یابی ارتباطی تعدادی از نشانگرها بین صفات مشترک بودند. وجود نشانگر مشترک امکان گزینش همزمان چند صفت زراعی را از طریق انتخاب به کمک نشانگرها امکان‌پذیر می‌سازد که می‌توانند پس از انجام آزمایش‌های تکمیلی و تایید نتایج در برنامه‌های به‌نژادی مورد استفاده قرار گیرند.

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2025-12-15]

[DOI: 10.52547/jcb.13.38.10]

منابع

1. Anderson, J.A., G.A. Churchill, J.E. Autrique and S.D. Tanksley. 1993. Optimizing parental selection for genetic linkage maps. Genome, 36: 181-186.
2. Ataei, R., M. Gholamhoseini and V. Mohammadi. 2017. Association mapping in plants. Crop Biotechnology, 18: 25-37.
3. Agrama, H.A., G.C. Eizenga and W. Yan. 2007. Association mapping of yield and its components in rice cultivars. Molecular Breeding, 19: 341-356
4. Buckler, E.S., B.S. Gaut and M.D. McMullen. 2006. Molecular and functional diversity of maize. Current Opinion in Plant Biology, 9: 172-176.
5- Buckler, E. and M. Gore. 2007. An Arabidopsis haplotype map takes root. Nature Genetics, 39(9): 1056-1057.
6. Borba, T.C., R.P. Brondani, F. Breseghello, A.S. Coelho, J.A. Mendonça, P.H. Rangel and C. Brondani. 2010. Association mapping for yield and grain quality traits in rice (*Oryza sativa* L.). Genetics and Molecular Biology, 33: 515-524.
7. Betrán, F.J., J.M. Ribaut, D. Beck and D.G. De Leon. 2003. Genetic diversity, specific combining ability, and heterosis in tropical maize under stress and nonstress environments. Crop Science, 43(3): 797-806.
8. Cai, D., Y. Xiao, W. Yang, W. Ye, B. Wang, M. Younas, J. Wu and K. Liu. 2014. Association mapping of six yield-related traits in rapeseed (*Brassica napus* L.). Theoretical and Applied Genetics, 127: 85-96.
9. Ching, A., K.S. Caldwe, M. Jung, M. Dolan, O.S. Smith, S. Tingey, M. Morgante and A.J. Rafalski. 2002. SNP frequency, haplotype structure and linkage disequilibrium in elite maize inbred lines. BMC Genetics, 3: 19.
10. Caldwell, K.S., J. Russell, P. Langridge and W. Powell. 2006. Extreme population-dependent linkage disequilibrium detected in an inbreeding plant species, *Hordeum vulgare*. Genetics, 172: 557-567.13.
11. Döring, H.P. and P. Starlinger. 1984. Barbara McClintock's controlling elements: now at the DNA level. Cell, 39(2): 253-259.
12. Diez, C.M., E. Meca, M.I. Tenaillon and B.S. Gaut. 2014. Three groups of transposable elements with contrasting copy number dynamics and host responses in the maize (*Zea mays ssp. mays*) genome. PLoS Genetics, 10(4): e1004298.
13. Estep, M.C., J.D. DeBarry and J.L. Bennetzen. 2013. The dynamics of LTR retrotransposon accumulation across 25 million years of panicoid grass evolution. Heredity, 110(2): 194-204.
14. Ersoz, E.S., J. Yu and E.S. Buckler. 2009 Applications of linkage disequilibrium and association mapping in maize. Molecular Genetic Approaches to Maize Improvement, 978-3-540-68922-5.
15. Forestan, C., S. Farinati, R.A. Cigliano, A. Lunardon, W. Sanseverino and S. Varotto. 2017. Maize RNA PolIV affects the expression of genes with nearby TE insertions and has a genome-wide repressive impact on transcription. BMC Plant Biology, 17(1): 1-27.
16. Ghaffari Azar, A., R. Darvishzadeh, H. Hatami Maleki, D. Kahrizi, B. Darvishi and I. Bernoosi. 2018. Identification of Inter simple sequence repeat regions associated with agro-morphological traits in maize genome. Cereal Research, 8(1): 97-109.
17. Ghonaim, M., R. Kalendar, H. Barakat, N. Elsherif, N. Ashry and A.H. Schulman. 2020. High-throughput retrotransposon-based genetic diversity of maize germplasm assessment and analysis. Molecular Biology Reports, 47(3): 1589-1603.
18. Gore, M.A., J.M. Chia, R.J. Elshire, Q. Sun, E.S. Ersoz, B.L. Hurwitz and E.S. Buckler. 2009. A first-generation haplotype map of maize. Science, 326(5956): 1115-1117.
19. Hu, Z., D. Zhang, G. Zhang, G. Kan, D. Hong and D. Yu. 2014. Association mapping of yield-related traits and SSR markers in wild soybean (*Glycine soja* Sieb. and Zucc.). Breeding Science, 63: 441-449.
20. Hamblin, M.T., M.G. Salas Fernandez, A.M. Casa, S.E. Mitchell, A.H. Paterson and S. Kresovich. 2005. Equilibrium processes cannot explain high levels of short- and medium-range linkage disequilibrium in the domesticated grass *Sorghum* bicolor. Genetics, 171: 1247-1256.
21. Jannatdoust, M., R. Darvishzadeh, R. Ziaeifard, H. Azizi and E. Gholinezhad. 2015. Association mapping for grain quality related traits in confectionery sunflower (*Helianthus annuus* L.) using retrotransposon markers under normal and drought stress conditions. Journal of Crop Biotechnology, 9: 15-28.
22. Karık, Ü., M.A. Nadeem, E. Habyarimana, S. Ercişli, M. Yildiz, A. Yılmaz, S.H. Yang, G. Chung and F.S. Baloch. 2019. Exploring the genetic diversity and population structure of turkish laurel germplasm by the iPBS-retrotransposon marker system. Agronomy Journal, 9: 647.
23. Kalendar, R. and A. Schulman. 2006. IRAP and REMAP for retrotransposon-based genotyping and fingerprinting. Nature Protocols, 1: 2478-2484.
24. Kwon, S., A.F. Brown, J. Hu, R. McGee, C. Watt, T. Kisha, G. Timmerman-Vaughan, M. Grusak, K.E. McPhee and C.J. Coyne. 2012. Genetic diversity, population structure and genome-wide marker-trait

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2025-12-15]

[DOI: 10.52547/jcb.13.38.10]

association analysis emphasizing seed nutrients of the USDA pea (*Pisum sativum* L.) core collection. Genes & Genomics, 34: 305-320.
25. Kuhn, B.C., I. López Ribera, M.D.F. da Silva Machado and C.M. Vicient. 2014. Genetic diversity of Maize germplasm assessed by retrotransposon based markers. Electrophoresis, 35: 1921-1927.
26. Legesse, B.W., A.A. Myburg, K.V. Pixley and A.M. Botha. 2007. Genetic diversity of African maize inbred lines revealed by SSR markers. Hereditas, 144: 10-17.
27. Lorenz, A.J., J.G. Coors, C.N. Hansey, S.M. Kaeppler and N. de Leon. 2010. Genetic analysis of cell walls traits relevant to cellulosic ethanol production in Maize (*Zea mays* L.). Crop Science, 50: 842-852.
28. Liu, N., Y. Xue, Z. Guo, W. Li and J. Tang. 2016. Genome-wide association study identifies candidate genes for starch content regulation in maize kernels. Frontiers in Plant Science, 7: 1046.
29. Li, K., H. Wang, X. Hu, Z. Liu, Y. Wu and C. Huang. 2016. Genome-wide association study reveals the genetic basis of stalk cell wall components in maize. PLoS One, 11: e0158906.
30. Li, X., Z. Zhou, J. Ding, Y. Wu, B. Zhou, R. Wang, J. Ma, S. Wang, X. Zhang, Z. Xia, J. Chen and J. Wu. 2016. Combined linkage and association mapping reveals QTL and candidate genes for plant and ear height in maize. Frontiers in Plant Science, 7: 89-97.
31. Leiboff, S., X. Li, H. Hu, N. Todt, J. Yang, X. Li, X. Yu, G.J. Muehlbauer, M.C.P. Timmermans and J. Yu. 2015. Genetic control of morphometric diversity in the maize shoot apical meristem. Frontiers in Plant Science, 6: 8974.
32. Lu, H. and R. Bernardo. 2001. Molecular marker diversity among current and historical maize inbreds. Theoretical and Applied Genetics, 103(4): 613-617.
33. Mezmouk, S., P.L. Dubreuil, M. Bosio, L. Décousset, A. Charcosset, S. Praud and B. Mangin. 2010. Effect of population structure corrections on the results of association mapping tests in complex maize diversity panels. Theoretical and Applied Genetics, 122: 1149-1160.
34. Murray, M.G. and W.F. Thompson. 1980. Rapid isolation of high molecular weight plant DNA. Nucleic Acids Research, 8: 4321-4325.
35. Mokrani, L., L. Gentzbittel, F. Azanza, L. Fitamant, G. Al-Chaarani and A. Sarrafi. 2002. Mapping and analysis of quantitative trait loci for grain oil content and agronomic traits using AFLP and SSR in sunflower (*Helianthus annuus* L.). Theoretical and Applied Genetics, 106: 149-156.
36. Maccaferri, M., M.C. Sanguineti, E. Noli and R. Tuberosa. 2005. Population structure and long-range disequilibrium in a durum wheat elite collection. Molecular Breeding, 15: 271–290
37. Murray, M.G. and W.F. Thompson. 1980. Rapid isolation of high molecular weight plant DNA. Nucleic Acids Research, 8: 4321-4326.
38. Mir Mohammadi Maibody, S.A.M and P. Golkar. 2019. Application of DNA molecular markers in plant breeding. Plant Genetic Researches, 6(1): 1-30.
39. Messing, J., A.K. Bharti, W.M. Karlowski, H. Gundlach, H.R. Kim, Y. Yu and R.A. Wing. 2004. Sequence composition and genome organization of maize. Proceedings of the National Academy of Sciences, 101(40): 14349-14354.
40. Melchinger, A.E. 1999. Genetic diversity and heterosis. Genetics and exploitation of heterosis in crops, 99-118.
41. Mazaheri, M., M. Heckwolf, B. Vaillancourt, J.L. Gage, B. Burdo, S. Heckwolf and S.M. Kaeppler. 2019. Genome-wide association analysis of stalk biomass and anatomical traits in maize. BMC Plant Biology, 19(1): 1-17.
42. Nordborg, M., J.O. Borevitz, J. Bergelson, C.C. Berry, J. Chory, J. Hagenblad, M. Kreitman, J.N. Maloof, T. Noyes, P.J. Oefner, E.A. Stahl and D. Weigel. 2002. The extent of linkage disequilibrium in *Arabidopsis thaliana*. Nature Genetics, 30: 190–193.
43. Nordborg, M., T.T. Hu, Y. Ishino, J. Jhaveri, C. Toomajian, H. Zheng, E. Bakker, P. Calabrese, J. Gladstone, R. Goyal, M. Jakobsson, S. Kim, Y. Morozov, B. Padhukasahasram, V. Plagnol, N.A. Rosenberg, C. Shah, J.D. Wall, J. Wang, K. Zhao, T. Kalbfleisch, V. Schulz, M. Kreitman and J. Bergelson. 2005. The pattern of polymorphism in *Arabidopsis thaliana*. PLoS Biology, 3: e196.
44. Park, J.Y., R.V. Ramekar, K.J. Sa and J.K. Lee. 2015. Genetic diversity, population structure, and association mapping of biomass traits in maize with simple sequence repeat markers. Genes & Genomics, 37: 725-735.
45. Peakall, R. and P.E. Smouse. 2006. GENALEX 6: Genetic Analysis in Excel. Population Genetic Software for Teaching and Research. Molecular Ecology Notes, 6: 288-295.
46. Pritchard, J.K., M. Stephens, N.A. Rosenberg and P. Donnelly. 2000. Association mapping in structured populations. The American Journal of Human Genetics, 67: 170-181.
47. Palaisa, K.A., M. Morgante, M. Williams and A. Rafalski. 2003. Contrasting effects of selection on sequence diversity and linkage disequilibrium at two phytoene synthase loci. Plant Cell, 15: 1795-1806.

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2025-12-15]

[DOI: 10.52547/jcb.13.38.10]

48. Prasanna, B.M., K. Pixley, M.L. Warburton and C.X. Xie. 2010. Molecular marker-assisted breeding options for maize improvement in Asia. Molecular Breeding, 26(2): 339-356.
49. Rafalski, A. and E. Ananiev. 2009. Genetic Diversity, Linkage Disequilibrium and Association Mapping. In: Bennetzen J.L., Hake S. (eds) Handbook of Maize. Springer, New York, NY.
50. Revilla, P., V.M. Rodríguez, A. Ordás, R. Rincent, A. Charcosset, C. Giauffret, A.E. Melchinger, C.C. Schön, E. Bauer, Altmann, T. Brunel, D. Moreno-González, J. Campo, L. Ouzunova, M. Álvarez, A. Ruíz, de, J.I. Galarreta, J. Laborde and A. Malvar. 2016. Association mapping for cold tolerance in two large maize inbred panels. BMC Plant Biology, 16: 127.
51. Reif, J.C., X.C. Xia, A.E. Melchinger, M.L. Warburton, D.A. Hoisington, D. Beck and M. Frisch. 2004. Genetic diversity determined within and among CIMMYT maize populations of tropical, subtropical, and temperate germplasm by SSR markers. Crop Science, 44(1): 326-334.
52. Sa, K.J., J.Y. Park, S.H. Choi, B.W. Kim, K.J. Park and J.K. Lee. 2015. Genetic diversity, population structure, and association mapping of agronomic traits in waxy and normal maize inbred lines. Genetics and Molecular Research, 14: 7502-7518.
53. SanMiguel, P., A. Tikhonov, Y.K. Jin, N. Motchoulskaia, D. Zakharov, A. Melake-Berhan and J.L. Bennetzen. 1996. Nested retrotransposons in the intergenic regions of the maize genome. Science, 274(5288): 765-768.
54. Tenaillon, M.I., M.C. Sawkins, A.D. Long, R.L. Gaut, J.F. Doebley and B.S. Gaut. 2001. Patterns of DNA sequence polymorphism along chromosome 1 of maize (*Zea mays* ssp. mays L.). Proceedings of the National Academy of Sciences, 98(16): 9161-9166. 50.
55. Van Inghelandt, D., A.E. Melchinger, C. Lebreton and B. Stich. 2010. Population structure and genetic diversity in a commercial maize breeding program assessed with SSR and SNP markers. Theoretical and Applied Genetics, 120: 1289-1299.
56. Wang, X., H. Wang, S. Liu, A. Ferjani, J. Li, J. Yan, X. Yang and F. Qin. 2016. Genetic variation in ZmVPP1 contributes to drought tolerance in maize seedlings. Nature Genetics, 48: 1233-41.
57. Wu, X., Y. Li, Y. Shi, Y. Song, D. Zhang, C. Li, E.S. Buckler, Y. Li, Z. Zhang and T. Wang. 2016. Joint-linkage mapping and GWAS reveal extensive genetic loci that regulate male inflorescence size in maize. Plant Biotechnology Journal, 14: 1551-1562.
58. Wallace, J.G., P.J. Bradbury, N. Zhang, Y. Gibon, M. Stitt and E.S. Buckler. 2014. Association mapping across numerous traits reveals patterns of functional variation in maize. PLOS Genetics, 10: e1004845.
59. Warburton, M.L., X. Xianchun, J. Crossa, J. Franco, A.E. Melchinger, M. Frisch, and D. Hoisington. 2002. Genetic characterization of CIMMYT inbred maize lines and open pollinated populations using large scale fingerprinting methods. Crop Science, 42(6): 1832-1840.
60. Warburton, M.L., J.C. Reif, M. Frisch, M. Bohn, C. Bedoya, X.C. Xia and S. Taba. 2008. Genetic diversity in CIMMYT nontemperate maize germplasm: landraces, open pollinated varieties, and inbred lines. Crop Science, 48(2): 617-624.
61. Xia, X.C., J.C. Reif, D.A. Hoisington, A.E. Melchinger, M. Frisch and M.L. Warburton. 2004. Genetic diversity among CIMMYT maize inbred lines investigated with SSR markers: I. Lowland tropical maize. Crop Science, 44(6): 2230-2237.
62. Xia, X. C., J.C. Reif, A.E. Melchinger, M. Frisch, D.A. Hoisington, D. Beck and M.L. Warburton. 2005. Genetic diversity among CIMMYT maize inbred lines investigated with SSR markers: II. Subtropical, tropical midaltitude, and highland maize inbred lines and their relationships with elite US and European maize. Crop Science, 45(6): 2573-2582.
63. Xu, Y. 2010. Molecular plant breeding. Cabi.
64. Xue, Y., M.L. Warburton, M. Sawkins, X. Zhang, T. Setter, Y. Xu, P. Grudloyma, J. Gethi, J.M. Ribaut, W. Li, X. Zhang, Y. Zheng and J. Yan. 2013. Genome-wide association analysis for nine agronomic traits in maize under well-watered and water-stressed conditions. Theoretical and Applied Genetics, 126: 2587–2596.
65. Yan, J., M. Warburton and J. Crouch. 2011 .Association mapping for enhancing maize (*Zea mays* L.) genetic improvement. Crop Science, 51: 433-449.
66. Yu, J. and E.S. Buckler. 2006. Genetic association mapping and genome organization of maize. Current Opinion in Biotechnology, 17: 155-160.
67. Zhang, M., Y. Cao, Z. Wang, Z.Q. Wang, J. Shi, X. Liang and C. Jiang. 2018. A retrotransposon in an HKT1 family sodium transporter causes variation of leaf Na^+ exclusion and salt tolerance in maize. New Phytologist, 217(3): 1161-1176.
68. Zhu, C., M. Gore, E.S. Buckler and J. Yu. 2008. Status and prospects of association mapping in plants. The Plant Genome, 1(1).

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2025-12-15]

[DOI: 10.52547/jcb.13.38.10]

Association Analysis of Agromorphological Traits in Maize Lines using Retrotransposon Based Markers IRAP and REMAP

Sanaz Khalifani[1], Ali Ghaffari Azar[2], Reza Darvishzadeh[3,4*], Danial Kahrizi[5] and Hadi Alipour[6]

1- PhD Student in Genetics and Plant Breeding, Department of Plant Production and Genetics, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Urmia University, Urmia
2- Graduted M.Sc. Student in Agricultural Biotechnology, Department of Plant Production and Genetics, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Urmia University, Urmia
3 and 4- Professor, Department of Plant Production and Genetics, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Urmia University, Urmia and Professor, Institute of Biotechnology, Urmia University, Urmia
(Corresponding author: r.darvishzadeh@urmia.ac.ir)
5- Professor, Department of Plant Production and Genetics, Faculty of Agriculture, Razi University, Kermanshah
6- Assistant Professor, Department of Plant Production and Genetics, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Urmia University, Urmia
Received: June 11, 2020 Accepted: April 16, 2021

Abstract

Maize (*Zea mays* L.) is one of the most important food crops worldwide and is widely used as genetic research material for studying various traits. Identification of genetic loci controlling quantitative trait is an important subject in genetics and breeding programs. In the present study, 102 maize inbred lines was evaluated for agro-morphological traits (plant height, plant height until first ear, leaf length, leaf width, leaf surface, leaf area indexear number, chlorophyll content, grain weight per plant, cob's dry weight, cob's diameter in first part, cob's diameter in middle part, cob's length, plant dry weight, days to tassel emergence, days to first ear emergence, days to second ear emergence) in completely randomized design with six replications. In the molecular experiment, 8 retrotransposon-based molecular markers primers was used for preparing the molecular profile of lines. Eight IRAP and REMAP primer combinations amplified 40 gene loci. Thirty-eight out of 40 loci (95%) showed polymorphism. The PIC values in the studied lines ranged from 0.084 for Ac/Ds to 0.383 for Pangrangja marker. The Nei's genetic distance between lines prepared from Mashhad and Kermanshah was 0.053, between lines from Karaj and Mashhad was 0.036 and between lines from Kermanshah and Karaj was 0.032. In the analysis of population structure based on molecular markers, 102 studied lines were grouped into two subpopulations (K = 2). In the association analysis of agro-morphological traits based on two GLM and MLM methods, 24 and 12 marker-trait relationships were identified, respectively. In this study, two commons markers; Heartbraker (480) in cob's diameter in first part and cob's length and UBC878 × Ruda in ear number and grain weight per plant were identified with both general linear and mixed linear models. This information can be used in selecting individuals during tobacco breeding programs and developing varieties with high yield and performance.

Keywords: Association analysis, Genetic diversity, Informative markers, Linkage disequilibrium, Maize, Population structure

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2025-12-15]

[DOI: 10.52547/jcb.13.38.10]