Iranian Genetics Society
Journal of Genetics and Plant Breeding
Shahid Bahonar University of Kerman
Print ISSN : 3060-7965 Online ISSN : 3060-7271

Investigating the relationship of combining ability, heterosis, and genetic distance based on SRAP markers in pure lines of maize under drought stress

Sharareh Fareghi

*Corresponding Author: Assistant Professor, Crop and Horticultural Science Research Department, Kermanshah Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, AREEO, Kermanshah, Iran. Email address: Fareghi.sh@gmail.com

Ali Shirkhani

Assistant Professor, Crop and Horticultural Science Research Department, Kermanshah Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, AREEO, Kermanshah, Iran. Email address: ali.shirkhani@gmail.com ali.shirkhani@gmail.com

Mohammad Raza Shiri

Associate Professor, Department of Maize and Forage Crops Research, Seed and Plant Improvement Institute, Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO): Karaj, Iran. Email address: mohammadrezashiri52@gmail.com

Abstract

Objective

Drought stress is one of the most critical constraints limiting maize production worldwide. Although heterosis can dramatically increase yield, predicting hybrid performance without extensive and costly field evaluations remains a major challenge for breeders. This study investigated the relationships among general combining ability (GCA), specific combining ability (SCA), and SRAP marker-based genetic distance (GD), and their associations with heterosis and hybrid performance in CIMMYT maize inbred lines under normal and drought stress conditions.

Materials and Methods

Thirteen maize inbred lines were crossed with four testers in a line × tester mating design to generate 52 F1 hybrids. These hybrids, along with two check cultivars, were evaluated across two distinct environments (normal and drought stress) over two consecutive years using a randomized complete block design with three replications. Grain yield was assessed as the primary agronomic

trait. GCA and SCA effects were estimated using standard quantitative genetics approaches, and mid-parent heterosis was calculated for each cross. In addition, genetic diversity among the parents was evaluated using 30 SRAP primer combinations and pairwise genetic distances were calculated based on the Jaccard similarity coefficient.

Results

The ratio of SCA to GCA variance was significantly higher under drought stress than under normal conditions, indicating a predominant role of non-additive gene action during drought stress. Heritability was lower under drought stress compared to normal conditions. Testers A679 and K166B exhibited the highest positive GCA effects in both environments. The cross L5 × T3 emerged as the most superior hybrid under drought stress, achieving a grain yield of 11.99 t/ha and a mid-parent heterosis of 315%. SRAP-based genetic distance showed no significant correlation with either yield or heterosis. In contrast, SCA was strongly correlated with yield under normal conditions, whereas GCA demonstrated a significant positive correlation with heterosis under drought stress. Overall, mean heterosis was significantly greater under stress, suggesting that water deficit amplifies the expression of heterosis.

Conclusion

SRAP-based genetic distance alone is insufficient to predict heterosis in maize. Nevertheless, SCA under normal conditions and GCA under drought stress reliably predict heterosis. Furthermore, the hybrid L5 × T3 represents a promising candidate for further multi-location yield trials in arid and semi-arid environments.

Keywords: Combining ability, Genetic distance, Hybrid performance, Inbred lines, Water deficit conditions.

Paper Type: Research Paper.

Citation: Fareghi S, Shirkhani A, Shiri MR (2025) Investigating the relationship of combining ability, heterosis, and genetic distance based on SRAP markers in pure lines of maize under drought stress. *Journal of Genetics and Plant Breeding* 2 (4), 49-72.

Journal of Genetics and Plant Breeding 2 (4), 49-72. DOI: 10.22103/gpb.2026.27526.1044

Received: September 29, 2025. Received in revised form: December 8, 2025.

Accepted: December 11, 2025. Published online: December 23, 2025.

Publisher: Research and Technology Institute of Plant Production, Afzalipour Research Institute, Shahid Bahonar University of Kerman and Iranian Genetics Society.

© the authors

مجله ژنتیک و به نژادی گیاهی
شاپا چاپی: ۷۹۶۵-۳۰۶۰ شاپا الکترونیکی: ۷۲۷۱-۳۰۶۰
انجمن ژنتیک ایران
دانشگاه شهید باهنر کرمان
پژوهشگاه اصفی پور

بررسی رابطه توانایی ترکیب‌پذیری، هتروزیس و فاصله ژنتیکی مبتنی بر نشانگر SRAP در لاین‌های خالص ذرت تحت تنش خشکی

شراره فارغی

*نویسنده مسئول: استادیار، بخش تحقیقات علوم زراعی و باغی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی کرمانشاه، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرمانشاه، ایران.

علی شیرخانی

استادیار، بخش تحقیقات علوم زراعی و باغی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی کرمانشاه، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرمانشاه، ایران.

محمد رضا شیری

دانشیار، بخش تحقیقات اصلاح ذرت و گیاهان علوفه‌ای، موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران.

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۷/۰۷ تاریخ دریافت فایل اصلاح شده نهایی: ۱۴۰۴/۰۹/۱۷ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۹/۲۰

چکیده

هدف: تنش خشکی یکی از مهم‌ترین عوامل محدودکننده تولید ذرت در جهان است. هتروزیس نقش کلیدی در افزایش عملکرد دارد، اما پیش‌بینی آن بدون انجام تلاقی‌های گسترده و ارزیابی‌های مزرعه‌ای پرهزینه، همواره یکی از چالش‌های اصلی به‌نژادگران بوده است. این مطالعه با هدف بررسی روابط میان توانایی ترکیب‌پذیری عمومی (GCA)، توانایی ترکیب‌پذیری خصوصی (SCA) و فاصله ژنتیکی مبتنی بر نشانگر SRAP و ارتباط آنها با هتروزیس و عملکرد هیبرید در لاین‌های خالص ذرت CIMMYT تحت شرایط نرمال و تنش خشکی انجام شد.

مواد و روش‌ها: سیزده لاین خالص ذرت با چهار تستر در قالب طرح لاین × تستر تلاقی داده شدند و ۵۲ هیبرید F1 تولید گردید. هیبریدها در دو محیط رطوبتی (نرمال و تنش خشکی) و طی دو سال در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار ارزیابی شدند. عملکرد دانه به عنوان صفت اصلی اندازه‌گیری شد. اثرات GCA و SCA با روش‌های استاندارد ژنتیک کمی محاسبه گردید.

هتروزیس نسبت به والد متوسط (MPH) برای هر هیبرید محاسبه شد. تنوع ژنتیکی با ۳۰ جفت آغازگر SRAP ارزیابی و فاصله ژنتیکی با ضریب جاکارد محاسبه گردید.

نتایج: نسبت واریانس SCA به GCA در شرایط تنش خشکی به طور معنی‌داری بیشتر از شرایط نرمال بود که حاکی از نقش غالب اثرات غیرافزایشی در شرایط تنش است. وراثت‌پذیری خصوصی در تنش پایین‌تر از نرمال بود. ترسترهای A679 و K166B بهترین ترکیب‌کننده‌های عمومی بودند. هیبرید L5 × T3 با عملکرد ۱۱/۹۹ تن در هکتار و هتروزیس ۳۱۵ درصد در شرایط تنش برترین هیبرید بود. همبستگی فاصله ژنتیکی (GD) با عملکرد و هتروزیس غیرمعنی‌دار بود. درحالی‌که همبستگی SCA با عملکرد در شرایط نرمال و GCA با هتروزیس در شرایط تنش مثبت و معنی‌دار بود. میانگین هتروزیس در شرایط تنش به طور معنی‌داری بیشتر از نرمال بود که نشان‌دهنده افزایش هتروزیس در شرایط تنش خشکی است.

نتیجه‌گیری: نشانگرهای SRAP به‌تنهایی برای پیش‌بینی هتروزیس و عملکرد هیبرید در ذرت قابل‌اعتماد نیستند. بااین‌حال، SCA یک پیش‌بینی‌کننده عالی برای عملکرد در شرایط نرمال و GCA یک شاخص کمکی قابل‌اطمینان برای پیش‌بینی هتروزیس در شرایط تنش خشکی هستند. هیبرید L5 × T3 به‌عنوان کاندیدای امیدوارکننده برای آزمایش‌های پیشرفته و چند مکانی در مناطق خشک و نیمه‌خشک معرفی می‌گردد.

واژگان کلیدی: توانایی ترکیب‌پذیری، فاصله ژنتیکی، عملکرد هیبرید، لاین‌های خالص، شرایط کم‌آبی

نوع مقاله: پژوهشی.

استناد: فارغی شراره، محبه پورمحی‌آبادی ، شیرخانی علی ، شیری محمد رضا (۱۴۰۴) بررسی رابطه توانایی ترکیب‌پذیری، هتروزیس و فاصله ژنتیکی مبتنی بر نشانگر SRAP در لاین‌های خالص ذرت تحت تنش خشکی. *مجله ژنتیک و به‌نژادی گیاهی*، ۲(۴)، ۴۹-۷۲.

Publisher: Research and Technology Institute of Plant Production, Afzalipour Research Institute, Shahid Bahonar University of Kerman and Iranian Genetics Society

© the authors

مقدمه

ذرت (Zea mays L.) از نظر تولید سالانه و سطح زیر کشت، رتبه نخست را در میان غلات دارا بوده و نقش‌محوری در تأمین امنیت غذایی و نهاده‌های دامی ایفا می‌کند (Fareghi et al. 2021). تغییرات اقلیمی موجب افزایش تنش خشکی در مناطق کشت ذرت شده است و پیش‌بینی می‌شود که تا سال ۲۰۵۰، سطح قابل‌توجهی از اراضی کشت ذرت با تنش آبی مواجه شوند (Rasheed et al. 2026). ذرت به دلیل ساختار ریشه‌سطحی و حساسیت مرحله گلدهی، به‌شدت به کمبود آب حساس است (Manigben

et al. 2024). گزارش‌ها نشان می‌دهند که وقوع تنش خشکی بسته به زمان اعمال و شدت آن، می‌تواند موجبات کاهش ۳۰ تا ۸۰ درصدی عملکرد دانه را فراهم آورد (Amzeri et al. 2025).

هتروزیس یا بنیه هیبرید یکی از پایه‌های اصلی به‌نژادی ذرت است و عملکرد هیبریدها اغلب ۵۰ تا ۱۰۰ درصد بیشتر از والدین خالص است (Hallauer et al. 2010). شناسایی ترکیب‌های والدینی برتر بدون انجام تلاقی‌های گسترده یکی از چالش‌های اصلی به‌نژادی است (Ndhlela et al. 2015). توانایی ترکیب‌پذیری عمومی (GCA) و خصوصی (SCA) شاخص‌های کلاسیک برای پیش‌بینی عملکرد هیبرید هستند (Hallauer et al. 2010). GCA ناشی از اثرات افزایشی ژن‌ها و SCA ناشی از اثرات غیرافزایشی (غالبیت و اپیستازی) است. در شرایط مطلوب، SCA همبستگی قوی‌تری با عملکرد دارد، درحالی‌که در شرایط تنش، GCA اهمیت بیشتری می‌یابد (Shiri et al. 2025).

نشانگرهای مولکولی مانند SRAP برای برآورد فاصله ژنتیکی والدین و پیش‌بینی هتروزیس به کار رفته‌اند (Li & Quiros 2001). نشانگر SRAP به دلیل سادگی و تکرارپذیری، ابزار مناسبی برای مطالعات تنوع ژنتیکی است (Fareghi et al. 2019; Li & Quiros 2001). بااین‌حال، گزارش‌های متناقضی در مورد همبستگی بین فاصله ژنتیکی مبتنی بر نشانگر و هتروزیس وجود دارد. درحالی‌که Talabi و همکاران (2023) همبستگی مثبت و معنی‌داری را گزارش کردند، Fareghi و همکاران (2019) و Ndhlelaو همکاران (2015) هیچ ارتباط معنی‌داری بین این دو صفت نیافتند. این تناقض نشان می‌دهد که کارایی نشانگرهای مولکولی در پیش‌بینی هتروزیس به نوع نشانگر، ژرم‌پلاسم موردمطالعه و شرایط محیطی وابسته است. ازاین‌رو، در سال‌های اخیر روش‌های پیش‌بینی ژنومی به‌عنوان راهکاری مکمل و کارآمد برای جبران محدودیت‌های نشانگرهای مولکولی کلاسیک در پیش‌بینی دقیق هتروزیس و عملکرد هیبرید معرفی شده‌اند (Manigben et al. 2024).

علی‌رغم پژوهش‌های گسترده در زمینه پیش‌بینی هتروزیس در ذرت، هنوز ابهامات قابل‌توجهی در مورد کارایی نشانگرهای مولکولی، به‌ویژه نشانگرهای SRAP، در پیش‌بینی هتروزیس تحت شرایط تنش خشکی وجود دارد. گزارش‌های متناقض در مورد همبستگی فاصله ژنتیکی مبتنی بر نشانگر با هتروزیس نشان می‌دهد که این رابطه به‌شدت تحت‌تأثیر ژرم‌پلاسم، نوع نشانگر و شرایط محیطی قرار دارد (Talabi et al. 2023; Fareghi et al. 2019). بااین‌وجود، تاکنون هیچ مطالعه‌ای به طور هم‌زمان کارایی سه رویکرد پیش‌بینی هتروزیس، توانایی ترکیب‌پذیری عمومی (GCA)، توانایی ترکیب‌پذیری خصوصی (SCA) و فاصله ژنتیکی مبتنی بر نشانگر SRAP را در یک مجموعه ژنتیکی واحد از لاین‌های خالص ذرت CIMMYT تحت شرایط نرمال و تنش خشکی مقایسه نکرده است (Fareghi et al. 2019). درحالی‌که مطالعات پیشین به بررسی تنوع ژنتیکی در ژرم‌پلاسم CIMMYT با استفاده از نشانگرهای SNP پرداخته‌اند (Mudadirwa et al. 2025)، اما نوآوری این پژوهش در سه جنبه اصلی قابل‌توجه است: اول، مقایسه هم‌زمان سه رویکرد پیش‌بینی (GCA، SCA و فاصله ژنتیکی) در یک مجموعه ژنتیکی واحد که امکان ارزیابی دقیق‌تر کارایی نسبی هر روش را فراهم می‌آورد. دوم، بررسی تأثیر تنش خشکی بر الگوهای هتروزیس و توانایی ترکیب‌پذیری که می‌تواند راهنمای عملی برای به‌نژادگران در انتخاب والدین مناسب برای شرایط مختلف محیطی باشد. سوم، ارزیابی

تطابق داده‌های مولکولی و ریخت‌شناختی که می‌تواند به درک بهتر از ماهیت تنوع ژنتیکی و ارتباط آن با عملکرد کمک نماید. لاین‌های مورداستفاده در این مطالعه باهدف پوشش حداکثر تنوع ژنتیکی انتخاب شدند و شامل لاین‌های باسابقه عملکرد مطلوب در شرایط خشکی (بر اساس مطالعات قبلی CIMMYT) بوده است (Mudadirwa et al. 2025; Manigben et al. 2024; Adebayo et al. 2014). پژوهش حاضر با اهداف: (۱) مقایسه کارایی GCA، SCA و فاصله ژنتیکی SRAP در پیش‌بینی هتروزیس، (۲) بررسی ارتباط میان فاصله ژنتیکی، عملکرد دانه و هتروزیس، (۳) شناسایی برترین ترکیب‌های تلاقی در دو محیط نرمال و تنش خشکی و (۴) ارزیابی میزان هم‌خوانی داده‌های مولکولی با صفات ریخت‌شناختی، طراحی و اجرا گردید.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی و محل آزمایش: در این مطالعه، ۱۳ لاین خالص ذرت از مجموعه ژرم‌پلاسم CIMMYT (مرکز بین‌المللی بهبود ذرت و گندم) انتخاب شدند. این لاین‌ها عبارت بودند از: (۱) لاین‌های باسابقه عملکرد مطلوب در شرایط خشکی (Manigben et al. 2024; Adebayo et al. 2014) ، (۲) لاین‌های نوترکیب حاصل از تلفیق با لاین‌های K18 و MO17 و (۳) لاین XT03 با منشأ چینی. هدف از انتخاب این لاین‌ها، پوشش حداکثر تنوع ژنتیکی و همچنین گنجاندن ژنوتیپ‌های با پتانسیل عملکردی مطلوب در شرایط تنش خشکی بود. همچنین چهار تستر شامل MO17، K18، A679 و K166B از مجموعه لاین‌های خالص معتدله انتخاب گردیدند. معیارهای انتخاب تسترها عبارت بودند از:

MO17: یک تستر کلاسیک از گروه هتروتیک Lancaster با عملکرد پایدار و سابقه طولانی در برنامه‌های به‌نژادی ذرت در مناطق معتدله است (Hallauer et al. 2010) و به دلیل ترکیب‌پذیری عمومی مطلوب، توانایی تولید هیبریدهای پرمحصول با لاین‌های گروه Stiff Stalk و سازگاری با اقلیم معتدله، به طور گسترده در برنامه‌های به‌نژادی استفاده شده است.

K18: یک لاین بهبودیافته حاصل از تغییرات و انتخاب در MO17 است که به‌منظور افزایش عملکرد و سازگاری بیشتر در شرایط تنش تولید شده و در آزمون‌های مقدماتی، پتانسیل بالایی در ترکیب با لاین‌های گروه CIMMYT نشان داده است (Fareghi et al. 2019).

A679: لاین مشتق شده از تلاقی برگشتی با B73 با فرمول (A662 × B73) × B73 است که از تلاقی یک لاین معتدله (A662) با B73 یکی از مهم‌ترین لاین‌های گروه Stiff Stalk و سپس سه نسل تلاقی برگشتی با B73 تولید شده و به دلیل داشتن GCA مثبت بالا در مناطق معتدله شناخته شده است (Fareghi et al. 2019).

K166B: لاین حاصل از ژرم‌پلاسم CIMMYT با GCA مثبت بالا است که در مناطق گرمسیری و نیمه‌گرمسیری سازگاری خوبی دارد، در مطالعات قبلی به‌عنوان ترکیب‌کننده عمومی برتر معرفی شده است (Manigben et al. 2024) و به دلیل دارابودن آلل‌های مطلوب برای تحمل به خشکی و عملکرد بالا انتخاب شد.

مشخصات شجره و منشأ لاین‌ها در جدول ۱ ارائه شده است.

جدول ۱. اطلاعات لاین‌ها و تسترهای ذرت مورداستفاده در مطالعه

Table 1. Information of maize lines and testers used in the study

ردیف No.	نام والد Parent name	شجره/منشأ Pedigree/Origin
1	Line1	4-CHTSEY,2002/1389/9=1390/13=1391/10 – CIMMYT
2	Line2	4-CHTSEY,2002/1389/19=1390/21=1991/70 – CIMMYT
3	Line3	7-CHTSEY,2002/1389/33=1390/33=1391/61 – CIMMYT
4	Line4	7-CHTSEY,2002/1389/35=1390/37=1391/64 – CIMMYT
5	Line5	K18 × 2-CHTHY, 2002/1389/59=1390/73=1391/43
6	Line6	K18 × 2-CHTHY, 2002/1389/61=1390/77=1391/46
7	Line7	XT03 منشأ ناشناخته چین Unknown origin, China
8	Line8	4-CHTSEY, 2002/1390/5=1391/6 – CIMMYT
9	Line9	4-CHTSEY, 2002/1390/9=1391/8 – CIMMYT
10	Line10	7-CHTSEY, 2002/1390/41=1391/22 – CIMMYT
11	Line11	20-CHTSEY,2002/1390/45=1391/25 – CIMMYT
12	Line12	20-CHTSEY,2002/1390/53=1391/31 – CIMMYT
13	Line13	MO17 × 6-CHTHY, 2002/1390/69=1391/40
14	MO17	CL. 187-2 × C103
15	OK18	MO17 لاین‌های حاصل از تغییرات Line derived from MO17 variants
16	A679	B73 [(A662 × B73) (3)] لاین مشتق شده از تلاقی برگشتی Line derived from backcrossing
17	K166B	CIMMYT حاصل از ژرم‌پلاسم Derived from CIMMYT germplasm

در مجموع ۶۹ تیمار شامل ۵۲ ترکیب هیبرید حاصل از تلاقی‌های لاین × تستر و ۱۷ لاین خالص (سیزده لاین خالص استخراج شده از ژرم‌پلاسم سیمیت و چهار تستر) در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار طی دو سال زراعی در مزرعه مورد ارزیابی قرار گرفتند. این پژوهش در قالب دو آزمایش جداگانه با شرایط کاشت یکسان و با دو رژیم آبیاری متفاوت (دو محیط زراعی) انجام شد. آزمایش در مزرعه تحقیقاتی مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان کرمانشاه انجام شد. مشخصات جغرافیایی ایستگاه: طول شرقی ′۲۶°۴۷، عرض شمالی ′۸°۳۴ و ارتفاع ۱۳۴۶ متر از سطح دریا. خاک مزرعه از نوع لومی سیلتی رسی با pH ۷/۸ و ماده آلی ۰/۸ درصد بود. میانگین بارندگی سالانه منطقه ۵۳۸ میلی‌متر و میانگین دمای سالانه ۱۲/۲ درجه سانتی‌گراد است.

طرح تلاقی و تولید هیبریدها: سیزده لاین به‌عنوان والد مادری با چهار تستر به‌عنوان والد پدری در قالب طرح لاین × تستر (line × tester) در مزرعه تحقیقاتی کرمانشاه تلاقی داده شدند. برای جلوگیری از گرده‌افشانی آزاد، تمام سنبله‌های والد مادری قبل از ظهور کاکل‌ها با کیسه‌های مخصوص پوشانده شدند و گرده‌افشانی به‌صورت دستی و کنترل‌شده انجام گردید. در مجموع ۵۲ ترکیب هیبرید F1 تولید شد.

شرایط اعمال تنش خشکی و طرح آزمایشی مزرعه‌ای: هر کرت آزمایشی شامل چهار خط کشت و هر خط شامل ۳۶ کپه به فاصله ۱۸ سانتی‌متر بود که با احتساب ۷۵ سانتی‌متر فاصله خطوط کشت و احتساب یک بوته در هر کپه، تراکم کشت حدود ۷۴ هزار بوته در هکتار منظور شد. در هر کپه جهت اطمینان از سبزشدن حداقل یک گیاه، سه بذر کشت شد و سپس در مرحله چهار تا پنج‌برگی فقط یک بوته در هر کپه نگهداری شد و بقیه بوته‌ها حذف شدند. به‌منظور حذف اثر حاشیه از چهار خط کشت شده تنها دو خط میانی برداشت شد؛ بنابراین مساحت کرت برداشتی ۹/۷۲ مترمربع بود.

قبل از اجرای آزمایش چند نمونه خاک از محل اجرای آزمایش تهیه و نسبت به اندازه‌گیری عناصر غذایی ماکرو و میکرو (جهت تعیین نیاز کودی خاک برای تولید ذرت به میزان میانگین منطقه) در آن اقدام شد. کل کود فسفاته و نیمی از کود اوره در زمان کاشت و نیمی دیگر از اوره در زمان هفت برگه شدن ذرت به‌صورت سرک مصرف شد.

تنش خشکی از مرحله هشت‌برگی تا مرحله رسیدگی فیزیولوژیک (به مدت حدود ۵۰ تا ۵۵ روز) اعمال گردید. نیاز آبی گیاه بر اساس معادله فائو – پنمن – مانتیس با استفاده از نرم‌افزار اُپتی وات[1] و نت وات[2] در دوره‌های ده‌روزه باتوجه‌به آمار هواشناسی منطقه محاسبه شد. دوره آبیاری رایج در منطقه کرمانشاه ده روز یک‌بار بوده و انتخاب این دور آبیاری بر اساس شرایط کشاورزان است. نرم‌افزار اُپتی وات بر پایه داده‌های هواشناسی درازمدت و با استفاده از روش فائو – پنمن – مانتیث میزان نیاز آبی روزانه گیاهان را در شرایط آب‌وهوایی اقلیم‌های مختلف ایران محاسبه کرده و می‌توان از آن به‌عنوان مرجعی در تعیین نیازهای آبی گیاهان استفاده کرد. اما جهت دقت بیشتر در محاسبه نیاز آبی از نرم‌افزار نت وات استفاده شد. این نرم‌افزار بر اساس ورودی داده‌های هواشناسی شامل: دما (حداکثر و حداقل)، ساعات آفتابی، به همراه طول و عرض جغرافیایی و مرحله‌ی رشد گیاه (جهت محاسبه‌ی ضریب گیاهی) ده روز یک‌بار و با استفاده از فرمول فائو – پنمن – مانتیث نیاز آبی گیاه را محاسبه می‌کند. این معادله توسط کارشناسان فائو جهت محاسبه نیاز آبی گیاهان زراعی معرفی شده است (Allen at al. 1998). در همین اساس نیاز آبی محاسبه و باتوجه‌به دور آبیاری و مرحله رشد نیاز آبی هر مرحله آبیاری برآورد شد (در شرایط نرمال صددرصد نیاز آبی و در شرایط تنش ۶۵ درصد نیاز آبی مدنظر قرار گرفت) و در نهایت برای هر کرت طبق معادله‌ی ارائه شده حجم آب آبیاری تعیین شد. بارندگی کل دوره رشد (خرداد تا مهر) در سال اول و در سال دوم صفر میلی‌متر ثبت گردید.

1- Optiwat
2- Netwat

حجم آب آبیاری = مساحت کرت (m2) × نیاز آبی روزانه (mm/day) × دور آبیاری

کنترل ورود میزان آب مورداستفاده نیز به‌وسیله کنتور و لوله‌های پلاستیکی انجام شد.

عملکرد دانه (تن در هکتار) پس از بلوغ فیزیولوژیک و رسیدن رطوبت به کمتر از ۲۰ درصد، هشت مترمربع از هر کرت آزمایشی (دو خط میانی هر کرت) برداشت شده و عملکرد دانه و درصد رطوبت آن اندازه‌گیری شد.

استخراج DNA و تحلیلSRAP: نمونه‌برداری از برگ‌های جوان (سن حدود ۲۵–۲۰ روز پس از کاشت) از پنج بوته تصادفی از هر لاین و تستر انجام شد. استخراج DNA ژنومی با استفاده از روش CTAB اصلاح‌شده انجام شد (Murray & Thompson 1980). کیفیت DNA با استفاده از الکتروفورز ژل آگارز یک درصد و کمیت آن با اسپکتوفتومتر NanoDrop 2000 اندازه‌گیری شد.

از ۳۰ جفت آغازگر SRAP برای تکثیر استفاده گردید (Li & Quiros 2001) واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR) در حجم نهایی ۲۰ میکرولیتر شامل ۵۰ نانوگرم DNA الگو، ۰/۲ میکرومولار از هر آغازگر، ۲۰۰ میکرومولار dNTP، ۱/۵ میلی‌مولار $MgCl_2$، یک واحد آنزیم Taq DNA پلیمراز و بافر استاندارد انجام شد. برنامه حرارتی PCR شامل دناتوراسیون اولیه در ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت پنج دقیقه، ۳۵ چرخه شامل دناتوراسیون در ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه، اتصال آغازگر در ۵۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۵ ثانیه و گسترش در ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت یک دقیقه، و مرحله گسترش نهایی در ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ده دقیقه بود. محصولات PCR با استفاده از الکتروفورز بر روی ژل پلی‌آکریل آمید شش درصد و رنگ‌آمیزی با نیترات نقره جداسازی شدند. دامنه اندازه باندهای تکثیر شده بین ۱۰۰ تا ۱۰۰۰ جفت باز تعیین گردید. امتیازدهی باندها به‌صورت دودویی (یک برای وجود باند و صفر برای عدم وجود باند) انجام شد و تنها باندهای شفاف و قابل‌تکرار که دارای شدت روشنایی مطلوب بودند، برای تحلیل استفاده گردیدند. باندهای ضعیف، مبهم یا با وضوح ناکافی از تحلیل حذف شدند. جهت اطمینان از تکرارپذیری، تمام واکنش‌های PCR دوبار تکرار شدند و تنها باندهایی که در هر دو تکرار الگوی مشابهی نشان دادند، در تحلیل نهایی منظور شدند.

برنامه حرارتی PCR شامل دناتوراسیون اولیه در ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت پنج دقیقه، ۳۵ چرخه شامل دناتوراسیون در ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه، اتصال آغازگر در ۵۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۵ ثانیه و گسترش در ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت یک دقیقه، و مرحله گسترش نهایی در ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه بود. محصولات PCR با استفاده از الکتروفورز بر روی ژل پلی‌آکریل آمید شش درصد و رنگ‌آمیزی با نیترات نقره جداسازی شدند (Bassam et al. 1991; Sanguinetti et al. 1994).

تجزیه‌وتحلیل آماری: تجزیه واریانس مرکب: برای تجزیه واریانس مرکب داده‌ها در دو محیط و دو سال، از مدل خطی زیر استفاده شد (Hallauer et al. 2010):

$$Y_{ijklm} = \mu + E_i + Y_j + (E \times Y)_{ij} + R_{k(ij)} + L_l + T_m + (L \times T)_{lm} + (E \times L)_{il} + (E \times T)_{im} + (Y \times L)_{jl} + (Y \times T)_{jm} + (E \times Y \times L)_{ijl} + (E \times Y \times T)_{ijm} + (Y \times L \times T)_{jlm} + (E \times L \times T)_{ilm} + (E \times Y \times L \times T)_{ijlm} + \varepsilon_{ijklm}$$

Y_{ijklm} عملکرد هیبرید، μ میانگین کل، E_i اثر محیط، Y_j اثر سال، $(E\times Y)_{ij}$ اثر متقابل محیط و سال، $R_{k(ij)}$ اثر تکرار در سال، L_i اثر لاین، T_m اثر تستر، $(L \times T)_{lm}$ اثر متقابل لاین × تستر، $(E \times T)_{im}$ و $(E \times L)_{il}$ اثر متقابل لاین و محیط و اثر متقابل تستر و محیط، $(Y\times L)_{jl}$ اثر متقابل سال و لاین، $(Y\times T)_{jm}$ اثر متقابل سال و تستر، $(E\times Y\times L)_{ijl}$ اثر متقابل سه‌گانه محیط، سال و لاین، $(E\times Y\times T)_{ijm}$ اثر متقابل سه‌گانه محیط، سال و تستر، $(Y\times L\times T)_{jlm}$ اثر متقابل سه‌گانه سال، لاین و تستر، $(E\times L\times T)_{ilm}$ اثر متقابل سه‌گانه محیط، لاین و تستر، $(E\times Y\times L\times T)_{ijlm}$ اثر متقابل چهارگانه محیط، سال، لاین و تستر و ε_{ijklm} اثر خطای آزمایشی.

در این مطالعه، اثرات محیط، سال، لاین، تستر و کلیه برهم‌کنش‌های بین آن‌ها به‌جز تکرار، به‌عنوان اثرات ثابت (Fixed) در نظر گرفته شدند .در مقابل، اثر تکرار آشیانه‌ای در سال × محیط و خطای آزمایشی به‌عنوان اثرات تصادفی (Random) در مدل لحاظ گردیدند. تجزیه واریانس با استفاده از رویه GLM نرم‌افزار SAS نسخه ۹/۲ انجام شد (SAS Institute 2008). برآورد مؤلفه‌های واریانس: واریانس‌های GCA و SCA به صورت زیر محاسبه شدند (Hallauer et al. 2010):

$$\delta^2_{GCA} = \frac{MS_L + MS_T - 2MS_{error}}{r \times (l+t)}$$

$$\delta^2_{SCA} = \frac{MS_{L\times T} - MS_{error}}{r}$$

که در آن MS_L میانگین مربعات لاین‌ها، MS_T میانگین مربعات تسترها، $MS_{L\times T}$ میانگین مربعات اثر متقابل لاین × تستر، MS_{error} میانگین مربعات خطا، r تعداد تکرار، l تعداد لاین و t تعداد تستر است. وراثت‌پذیری خصوصی با فرمول $h^2 = \frac{\delta^2_{GCA}}{\delta^2_{GCA}+\delta^2_{SCA}+\delta^2_{error}}$ برآورد شد (Hallauer et al. 2010).

هتروزیس نسبت به والد متوسط (MPH) با استفاده از فرمول Falconer و Mackay (1996) محاسبه شد:

$$MPH = \frac{F_1 - MP}{MP} \times 100$$

که در آن F1 میانگین عملکرد هیبرید و MP میانگین عملکرد دو والد است.

تحلیل داده‌های مولکولی: باندهای تکثیر شده به صورت دودویی (یک برای وجود باند و صفر برای عدم وجود باند) کدگذاری شدند. برای تعیین میزان تشابه ژنتیکی بین لاین‌ها و تسترها، از ضریب تشابه جاکارد (Jaccard Similarity Coefficient) استفاده گردید (Rohlf, 1998). این ضریب بر اساس فرمول زیر محاسبه شد:

$$J = \frac{N_{11}}{N_{01} + N_{10} + N_{11}}$$

که در آن N_{11}: تعداد باندهای مشترک بین دو ژنوتیپ (هر دو دارای باند) ، N10: تعداد باندهای موجود در ژنوتیپ اول و ناموجود در ژنوتیپ دوم و N01: تعداد باندهای ناموجود در ژنوتیپ اول و موجود در ژنوتیپ دوم می‌باشد. دامنه ضریب تشابه جاکارد بین صفر تا یک است. دامنه ضریب تشابه جاکارد بین صفر تا یک است فاصله ژنتیکی با استفاده از ضریب تشابه جاکارد محاسبه شد (Rohlf 1998). تحلیل خوشه‌ای به روش UPGMA با استفاده از نرم‌افزار NTSYSpc نسخه ۲ انجام شد (Rohlf 1998). آزمون مانتل با ۱۰۰۰ بار تکرار تصادفی برای ارزیابی همبستگی بین ماتریس تشابه مولکولی و ریخت‌شناختی استفاده گردید (Mantel 1967). برای بررسی روابط بین صفات مختلف، ضریب همبستگی پیرسون با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۲ محاسبه گردید (SPSS Inc., 2008).

نتایج و بحث

تأثیر تنش خشکی بر عملکرد دانه: بررسی عملکرد دانه ۵۲ هیبرید نشان داد که تنش خشکی میانگین عملکرد را از ۱۲/۳۴ تن در هکتار در شرایط نرمال به ۷/۲۱ تن در هکتار در شرایط تنش کاهش داد (کاهش ۴۱/۵ درصدی) که با گزارش‌های پیشین مبنی بر کاهش معنی‌دار عملکرد در شرایط تنش خشکی همخوانی دارد (Amzeri et al. 2025; Manigben et al. 2024). ضریب تغییرات در شرایط تنش (۲۹/۲۷ درصد) به طور قابل‌توجهی بیشتر از شرایط نرمال (۱۶/۰۵ درصد) بود که نشان‌دهنده واکنش متفاوت هیبریدها به تنش خشکی است. افزایش ضریب تغییرات تحت تنش نشان می‌دهد که تنوع ژنتیکی معنی‌داری بین هیبریدها از نظر تحمل به خشکی وجود دارد و این تنوع فرصت مناسبی برای گزینش ژنوتیپ‌های متحمل فراهم می‌کند. افزایش ضریب تغییرات تحت تنش نشان می‌دهد که تنوع ژنتیکی معنی‌داری بین هیبریدها از نظر تحمل به خشکی وجود دارد و این تنوع فرصت مناسبی برای گزینش ژنوتیپ‌های متحمل فراهم می‌کند. همچنین کاهش شدید عملکرد در شرایط تنش نشان‌دهنده شدت اعمال تنش و اهمیت انتخاب ژنوتیپ‌های متحمل برای مناطق خشک است. از نظر فیزیولوژیکی، کاهش عملکرد در شرایط تنش خشکی عمدتاً ناشی از کاهش تعداد دانه در بلال و کاهش وزن هزار دانه است که هر دو تحت‌تأثیر کاهش فتوسنتز و اختلال در انتقال مواد فتوسنتزی به دانه قرار می‌گیرند (Manigben et al. 2024). هیبریدهایی که توانستند عملکرد نسبتاً بالایی در شرایط تنش حفظ کنند، احتمالاً دارای مکانیسم‌های کارآمد تنظیم روزنه‌ای، افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و حفظ پایداری غشای سلولی هستند (Peer et al. 2024; Tang et al. 2025; Zhang et al. 2025).

تجزیه واریانس مرکب و مؤلفه‌های ژنتیکی: نتایج تجزیه واریانس مرکب (جدول ۲) نشان داد که اثرات اصلی محیط، لاین، تستر و اثر متقابل لاین × تستر در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بودند. اثر محیط با ضریب تبیین ۵۵/۱۳ درصد از واریانس کل، بیشترین سهم را در تغییرات عملکرد دانه داشت و نشان‌دهنده تأثیر بسیار قوی تنش خشکی بر عملکرد است. این یافته با گزارش‌های Amzeri (2025) و Manigben و همکاران (2024) که کاهش معنی‌دار عملکرد را در شرایط تنش خشکی گزارش کردند، همخوانی کامل دارد. اثر سال با تبیین تنها ۰/۰۰۰۳ درصد از واریانس، غیرمعنی‌دار بود که نشان‌دهنده شباهت شرایط آب‌وهوایی در دو سال آزمایش و پایداری عملکرد ژنوتیپ‌ها در طول سال‌های موردمطالعه است. همچنین اثر متقابل محیط × سال با تبیین ۰/۶۳ درصد از واریانس، غیرمعنی‌دار بود که نشان می‌دهد الگوی پاسخ ژنوتیپ‌ها به محیط‌های نرمال و تنش در هر دو سال یکسان بوده است.

معنی‌داری اثرات لاین و تستر نشان می‌دهد که تنوع ژنتیکی معنی‌داری از نظر GCA هم در بین لاین‌ها و هم در بین تسترها وجود دارد. میانگین مربعات تسترها (۷۵/۱۰) در مقایسه با لاین‌ها (۴۵/۴۳) بیشتر بود که نشان‌دهنده تنوع بیشتر GCA در بین تسترها نسبت به لاین‌هاست. این موضوع با انتخاب هدفمند تسترها از گروه‌های هتروتیک متفاوت (Stiff Stalk، Lancaster و تروپیکال) قابل‌توجیه است که منجر به تنوع ژنتیکی بالاتری در بین تسترها شده است. معنی‌داری اثر متقابل لاین × تستر (SCA) با تبیین ۷/۶۰ درصد از واریانس کل، نشان‌دهنده اهمیت اثرات غیرافزایشی در کنترل عملکرد دانه است و تأکید می‌کند که برای دستیابی به عملکرد بالا، باید ترکیب‌های تلاقی خاصی طراحی شوند.

اثرات متقابل لاین × محیط (۲/۳۸ درصد) و تستر × محیط (۰/۳۸ درصد) هر دو در سطح یک درصد معنی‌دار بودند که نشان می‌دهد عملکرد لاین‌ها و تسترها در دو محیط نرمال و تنش متفاوت است و بنابراین گزینش والدین برای GCA باید به طور جداگانه برای هر محیط انجام شود. همچنین اثر متقابل لاین × تستر × محیط با تبیین ۴/۹۹ درصد از واریانس کل در سطح یک درصد معنی‌دار بود که نشان‌دهنده تغییر اساسی الگوی SCA در شرایط تنش خشکی است. به‌عبارت‌دیگر، ترکیب‌های تلاقی برتر در شرایط نرمال، لزوماً در شرایط تنش نیز برتر نیستند و بالعکس. این یافته با گزارش‌های Talabi و همکاران (2023) و Shiri و همکاران (2025) که تغییر الگوی SCA را تحت‌تأثیر تنش خشکی گزارش کردند، همخوانی دارد.

در مقابل، اثرات سال و اکثر بر همکنش‌های مرتبط با سال (لاین × سال، تستر × سال، لاین × سال × محیط، تستر × سال × محیط، لاین × تستر × سال و لاین × تستر × سال × محیط) غیرمعنی‌دار بودند که نشان‌دهنده پایداری عملکرد ژنوتیپ‌ها و عدم تأثیر معنی‌دار شرایط سالانه بر الگوهای ژنتیکی کنترل‌کننده عملکرد است. این موضوع اعتبار بالای نتایج این مطالعه را برای ارائه توصیه‌های کاربردی تأیید می‌کند. خطا با تبیین ۱/۴۳ یک درصد از واریانس کل، نشان‌دهنده دقت بالای آزمایش و توانایی مدل در تفکیک اثرات مختلف است.

به‌طورکلی، نتایج تجزیه واریانس مرکب نشان می‌دهد که در شرایط تنش خشکی، اثرات غیرافزایشی نقش مهمی در کنترل

عملکرد دانه دارند و تولید هیبریدهای اختصاصی برای شرایط تنش خشکی مؤثرترین راهبرد به‌نژادی در این شرایط است. این یافته با گزارش‌های Manigben و همکاران (2024) و Amzeri و همکاران (2025) مبنی بر اهمیت اثرات غیرافزایشی در شرایط تنش همخوانی کامل دارد.

جدول ۲. تجزیه واریانس مرکب عملکرد دانه (تن در هکتار)

Table 2. Combined analysis of variance for grain yield (t/ha)

درصد تبیین R^2(%1)	نسبتF F-ratio	میانگین مربعات MS	درجه آزادی Df	منبع تغییرات Source of variation
55.13	180.269	3462.93**	1	محیط Environment
0.00	0.001	0.02	1	سال Year
0.63	2.065	39.67	1	محیط × سال Environment × Year
2.45	-	19.21	8	خطای a Error a
8.68	25.798	45.43**	12	لاین Line
3.59	42.644	75.10**	3	تستر Tester
7.60	7.532	13.27**	36	لاین × تستر Line × Tester
2.38	7.078	12.47**	12	لاین × محیط Line × Environment
0.29	0.858	1.51	12	لاین × سال Year × Line
0.38	4.495	7.92**	3	تستر × محیط Tester × Environment
0.04	0.518	0.91	3	تستر × سال Tester × Year
0.31	0.915	1.61	12	لاین × سال × محیط Line × Year × Environment
0.03	0.341	0.60	3	تستر × سال × محیط Tester × Year × Environment
0.96	0.949	1.67	36	لاین × تستر × سال Line × Tester × Year
4.99	4.944	8.71**	36	لاین × تستر × محیط Line × Tester × Environment
1.11	1.099	1.94	36	لاین × تستر × سال × محیط Line × Tester × Year × Environment
11.44	-	1.76	408	خطا Error

*و ** به ترتیب معنی‌دار در سطوح احتمال پنج درصد و یک درصد
* and ** are significant at the 0.05 and 0.01, respectively.

نسبت ترکیب‌پذیری خصوصی به ترکیب‌پذیری عمومی ($\sigma^2_{SCA}/\sigma^2_{GCA}$) در شرایط تنش (۳/۸۲) به طور قابل‌توجهی بیشتر از شرایط نرمال (۲/۴۹) بود (جدول ۳). این بدان معناست که تحت تنش خشکی، اثرات غیرافزایشی (شامل غالبیت و اپیستازی) نقش بسیار پررنگ‌تری نسبت به شرایط نرمال ایفا می‌کنند. این یافته با گزارش Talabi و همکاران (2023) که نسبت واریانس

غیرافزایشی را در شرایط تنش بالاتر گزارش کردند، مطابقت دارد (Talabi et al. 2023). از دیدگاه به‌نژادی، افزایش نسبت واریانس غیرافزایشی تحت تنش نشان می‌دهد که تولید هیبریدهای اختصاصی برای شرایط تنش خشکی مؤثرتر از تولید لاین‌های خالص متحمل است. به‌عبارت‌دیگر، نمی‌توان انتظار داشت که یک لاین خالص متحمل به خشکی، لزوماً هیبریدهای متحملی تولید کند، زیرا بخش عمده‌ای از تحمل به خشکی در هیبریدها ناشی از اثرات غیرافزایشی است. بااین‌حال، باید توجه داشت که طرح line × tester به‌کاررفته در این مطالعه امکان تفکیک مستقیم سهم غالبیت و اپیستازی را فراهم نمی‌کند و نسبت بالاتر SCA به GCA صرفاً نشان‌دهنده اهمیت کلی اثرات غیرافزایشی است، نه سهم جداگانه هر یک از این مؤلفه‌ها. وراثت‌پذیری خصوصی پایین در شرایط تنش (h^2 = ۰/۲۴) در مقایسه با شرایط نرمال (h^2 = ۰/۳۲) نشان می‌دهد که گزینش بر اساس عملکرد خود لاین‌ها در شرایط تنش کارایی پایینی دارد و ارزیابی مستقیم هیبریدها در شرایط تنش، امری ضروری و غیرقابل‌جایگزین است. این یافته با گزارش‌های پیشین مبنی بر کاهش وراثت‌پذیری تحت شرایط تنش همخوانی دارد و تأکید می‌کند که برنامه‌های به‌نژادی برای مناطق خشک باید بر تولید و ارزیابی هیبریدها متمرکز شوند تا گزینش لاین‌های خالص.

جدول ۳. مؤلفه‌های واریانس افزایشی و غیرافزایشی

Table 3. Additive and non-additive variance components

نسبت (تنش/نرمال) Ratio (Stress/Normal)	شرایط تنش Stress condition	شرایط نرمال Normal condition	مؤلفه Component
0.97	1.91	1.96	ترکیب‌پذیری عمومی General Combining Ability
1.49	7.29	4.88	ترکیب‌پذیری خصوصی Specific Combining Ability
1.53	3.82	2.49	نسبت ترکیب‌پذیری خصوصی به ترکیب‌پذیری عمومی Ratio of Specific Combining Ability to General Combining Ability
0.75	0.24	0.32	وراثت‌پذیری خصوصی Narrow-sense Heritability

توانایی ترکیب‌پذیری عمومی (GCA) و شناسایی والدین برتر: اثرات GCA برای سیزده لاین و چهار تستر در دو محیط محاسبه شد (جدول ۴). تسترهای A679 و K166B با GCA مثبت و معنی‌دار در هر دو محیط، بهترین ترکیب‌کننده‌های عمومی بودند. GCA مثبت تستر A679 در شرایط نرمال (+۰/۷۵) و تنش (+۰/۸۸) نشان‌دهنده پتانسیل بالای این تستر در انتقال آلل‌های مطلوب به نتاج در هر دو محیط است. بااین‌حال، این نتیجه صرفاً مبتنی بر عملکرد آماری در همین مجموعه تلاقی‌ها بوده و به‌تنهایی نمی‌تواند وجود آلل‌های اختصاصی تحمل به خشکی را در این تستر اثبات نماید و نیاز به مطالعات تکمیلی در سطح مولکولی و جمعیت‌های بزرگ‌تر دارد. تستر K166B نیز الگوی مشابهی نشان داد و GCA آن در تنش (+۰/۸۵)

بیشتر از نرمال (۰/۵۹+) بود. در بین لاین‌ها، لاین L4 با GCA ۰/۹۸+ در شرایط نرمال و ۰/۳۵+ در شرایط تنش، بهترین لاین از نظر GCA بود. لاین L12 نیز GCA بالایی در نرمال (۱/۳۳+) داشت؛ اما در شرایط تنش GCA آن معنی‌دار نبود (۰/۳۴+). این عدم تطابق رتبه GCA لاین‌ها در دو محیط رطوبتی نشان می‌دهد که گزینش برای GCA باید به طور اختصاصی در محیط هدف انجام شود و لاینی که در شرایط نرمال GCA بالایی دارد، لزوماً در شرایط تنش نیز GCA بالایی نخواهد داشت.

جدول ٤. برترین والدین از نظر توانایی ترکیب‌پذیری عمومی (GCA) و توصیه‌های کاربردی

Table 4. Top parents based on general combining ability (GCA) and practical recommendations

توصیه کاربردی Practical recommendation	رتبه در تنش Rank (Stress)	رتبه در نرمال Rank (Normal)	GCA تنش GCA (Stress)	GCA نرمال GCA (Normal)	نوع Type	والد Parent
مناسب برای هر دو محیط – ترکیب‌کننده عمومی ایده‌آل Suitable for both environments – Ideal general combiner	1	1	+0.88**	+0.75**	تستر (Tester)	(A679)T3
مناسب برای هر دو محیط – ترکیب‌کننده عمومی ایده‌آل Suitable for both environments – Ideal general combiner	2	2	+0.85**	+0.59**	تستر (Tester)	(K166B)T4
عالی برای نرمال، قابل‌قبول برای تنش Excellent for normal, acceptable for stress	3	1	+0.35*	+0.98**	لاین (Line)	L4
عالی برای نرمال، متوسط برای تنش Excellent for normal, moderate for stress	4	2	0.34	+1.33**	لاین (Line)	L12

*و ** به ترتیب معنی‌دار در سطوح احتمال پنج درصد و یک درصد
* and ** are significant at the 0.05 and 0.01, respectively.

همبستگی مثبت و معنی‌دار بین GCA (میانگین والدین) و هتروزیس در شرایط تنش (r = ۰/۶۶۱) نشان می‌دهد که در شرایط تنش خشکی، والدینی که GCA بالاتری دارند، تمایل به تولید هیبریدهایی با هتروزیس بالاتر در شرایط تنش دارند. این یافته با گزارش پیشینکه اهمیت GCA را در پیش‌بینی ژنومی تأکید کردند، همخوانی دارد (Manigben et al. 2024). از نظر کاربردی، این همبستگی به این معناست که می‌توان از GCA والدین به‌عنوان شاخص کمکی برای پیش‌بینی هیبریدهایی با پتانسیل هتروزیس بالا در شرایط تنش استفاده کرد. بااین‌حال، همبستگی منفی بین GCA والدین و عملکرد هیبرید در شرایط تنش (۰/۲۴۳– r =) یک یافته به‌ظاهر متناقض اما مهم است. این پدیده نشان می‌دهد که والدینی که خود عملکرد بالایی در تنش دارند (GCA مثبت)، لزوماً هیبریدهایی با عملکرد بالا تولید نمی‌کنند. این موضوع می‌تواند به دلیل اثرات متقابل پیچیده ژنی باشد که در آن آلل‌های مطلوب در والدین، وقتی با هم ترکیب می‌شوند، اثر هم‌افزایی ایجاد نمی‌کنند. از نظر کاربردی، این یافته تأکید می‌کند که

نباید تنها بر اساس GCA والدین، ترکیبات تلاقی را انتخاب کرد و ارزیابی مستقیم هیبریدها ضروری است.

توانایی ترکیب‌پذیری خصوصی (SCA) از همبستگی تا کاربرد عملی: در شرایط نرمال، همبستگی بسیار قوی بین SCA و عملکرد دانه (r = ۰/۶۸۹) مشاهده شد (جدول ۵). این بدان معناست که در شرایط آبیاری کافی، SCA می‌تواند به‌عنوان یک ابزار پیش‌بینی قابل‌اعتماد برای شناسایی هیبریدهای پرمحصول مورداستفاده قرار گیرد. به‌عبارت‌دیگر، هیبریدهایی که در شرایط نرمال SCA بالایی دارند، با احتمال بسیار زیادی جزو پرمحصول‌ترین هیبریدها خواهند بود. این یافته با با نتایج مطالعه‌ی دیگری که SCA را به‌عنوان بهترین پیش‌بینی‌کننده عملکرد در شرایط مطلوب معرفی کردند، همخوانی دارد (Amzeri et al. 2025).

جدول ۵. هیبریدهای برتر از نظر توانایی ترکیب‌پذیری خصوصی (SCA) و عملکرد در شرایط نرمال و تنش خشکی

Table 5. Top hybrids based on specific combining ability (SCA) and yield under normal and drought stress conditions

MPH تنش MPH (Stress) (%)	MPH نرمال MPH (Normal) (%)	عملکرد تنش Yield (Stress) (t/ha)	عملکرد نرمال Yield (Normal) (t/ha)	SCA تنش SCA (Stress)	SCAنرمال SCA (Normal)	هیبرید Hybrid	رتبه Rank
315	175	11.99	14.51	+0.80	+0.98	L5 × T3	1
247	149	10.86	14.79	+1.59	+1.26	L6 × T4	2
191	154	10.00	15.15	+1.40	+1.19	L4 × T4	3
257	204	10.92	14.72	+1.06	+1.23	L2 × T4	4
245	230	9.98	14.92	+0.40	+1.70	L7 × T3	5
254	111	10.48	11.59	+1.82	+0.80	L11 × T2	6
256	184	8.84	12.38	+0.71	+0.05	L9 × T1	7
210	97	9.00	11.23	+0.20	-0.63	L1 × T4	8
207	183	7.28	14.21	-0.28	+1.96	L3 × T1	9
104	168	6.06	14.72	-0.80	+1.66	L13× T3	10

در شرایط تنش، همبستگی SCA با عملکرد به r = ۰/۳۲۳ کاهش یافت و مهم‌تر اینکه، الگوی SCA به‌کلی دگرگون شد. هیبریدهایی که در شرایط نرمال بالاترین SCA مثبت را داشتند (مانندL3 × T1 با SCA = ۱/۹۶ و L3 × T3 با SCA = ۱/۶۶) در شرایط تنش SCA منفی پیدا کردند (به ترتیب ۰/۲۸− و ۰/۸۰−). این یافته به‌وضوح نشان می‌دهد که الگوهای ژنی کنترل‌کننده عملکرد در شرایط تنش با شرایط نرمال متفاوت است. از نظر ژنتیکی، این پدیده می‌تواند ناشی از فعال‌شدن ژن‌های پاسخ به تنش در شرایط خشکی باشد که در شرایط نرمال بیان نمی‌شوند و همچنین تغییر در الگوهای اپیستازی بین ژن‌ها که تحت شرایط تنش رخ می‌دهد (Dai et al. 2024; Shiri et al. 2025; Talabi et al. 2023).

دو یافته مهم از نتایج هیبریدهای برتر از نظر توانایی ترکیب‌پذیری خصوصی (SCA) و عملکرد در شرایط نرمال و تنش خشکی (جدول ۵) قابل‌استخراج است: اول، شناسایی تستر K166B به‌عنوان یک «ترکیب‌کننده خصوصی عالی» که با سه لاین مختلف (L2، L4 و L6) در شرایط تنش SCA مثبت و بالایی ایجاد کرد. این بدان معناست که K166B حامل آلل‌های مطلوبی است که با طیف وسیعی از لاین‌ها اثر متقابل مثبت داشته و می‌تواند در برنامه‌های به‌نژادی مقاومت به خشکی به طور گسترده استفاده شود. دوم، شناسایی هیبرید L5 × T3 به‌عنوان یک ترکیب تلاقی استثنایی. این هیبرید باوجوداینکه بالاترین SCA را در شرایط تنش نداشت (+۰/۸۰) اما بالاترین عملکرد (۱۱/۹۹تن در هکتار) و هتروزیس (۳۱۵درصد) را نشان داد که نشان می‌دهد مقدار بالای ترکیب GCA در والدین (لاین ۵ و تستر A679) هر دو GCA مثبت دارند و نقش مهمی در عملکرد نهایی دارد. به‌عبارت‌دیگر، در این هیبرید، هر دو والد به طور جداگانه دارای ارزش ژنتیکی بالایی هستند و ترکیب آن‌ها یک هیبرید با عملکرد فوق‌العاده ایجاد کرده است.

هتروزیس و اثر تنش خشکی بر آن: تمامی ۵۲ هیبرید هتروزیس مثبت و معنی‌داری نشان دادند که حاکی از غالبیت مثبت ژن‌های کنترل‌کننده عملکرد دانه است (جدول ۶). میانگین هتروزیس در شرایط تنش (۱۷۸/۶ درصد) به طور معنی‌داری بیشتر از شرایط نرمال (۱۴۲/۳ درصد) بود (افزایش ۲۵/۵ درصدی). این پدیده که «هتروزیس تنشی» نامیده می‌شود، نشان می‌دهد که هیبریدها در شرایط نامساعد برتری بیشتری نسبت به والدین خود نشان می‌دهند. از نظر تکاملی، گیاهان برای مقابله با شرایط نامساعد، به ترکیبات آللی خاصی نیاز دارند که معمولاً از طریق اثرات غلبه و اپیستازی ظاهر می‌شوند و هیبریدها به دلیل هتروزیگوتی بالاتر، بهتر می‌توانند با تنش مقابله کنند.

جدول ٦. توزیع فراوانی هتروزیس نسبت به والد متوسط (MPH) در دو محیط

Table 6. Frequency distribution of mid-parent heterosis (MPH) in two environments

شرایط تنش (تعداد هیبرید) Stress condition (No. of hybrid)	شرایط نرمال (تعداد هیبرید) Normal condition (No. of hybrid)	کلاس هتروزیس (٪) Heterosis class (%)
0	2	50-100
8	28	100-150
24	18	150-200
15	4	200-250
5	0	250<
52	52	مجموع Total
178.6	142.3	میانگین هتروزیس(٪) Mean of Heterosis (%)
315	230	بیشترین هتروزیس(٪) Maximum of Heterosis (%)
63 -315	70 -230	دامنه هتروزیس(٪) Range of Heterosis (%)

نکته قابل‌توجه این است که در شرایط نرمال، هیچ هیبریدی هتروزیس بالای ۲۵۰ درصد نشان نداد، درحالی‌که در شرایط تنش، پنج هیبرید (حدود ده درصد) هتروزیس بالای ۲۵۰درصد داشتند. این موضوع نشان می‌دهد که پتانسیل هتروزیس در شرایط تنش خشکی بسیار بیشتر از شرایط نرمال است و برخی ترکیبات تلاقی خاص می‌توانند هتروزیس استثنایی در شرایط تنش نشان دهند. هیبرید L5 × T3 با ۳۱۵ درصد هتروزیس در شرایط تنش، کاندیدای ایده‌آلی برای کشت در مناطق خشک است. از نظر کاربردی، این یافته مهم است: هیبریدهایی که در شرایط مطلوب برتر هستند، لزوماً در شرایط تنش نیز برتر نیستند و بالعکس. بنابراین، برنامه‌های به‌نژادی برای مناطق خشک باید به طور خاص در همان مناطق یا در شرایط شبیه‌سازی شده تنش انجام شوند.

همبستگی بین صفات و عدم کارآیی فاصله ژنتیکیSRAP: جدول (۷) همبستگی‌های بین صفات را نشان می‌دهد. اول، پوشش ناکافی ژنوم: ذرت دارای ژنومی به‌اندازه حدود ۲/۳ گیگا باز است. با ۱۸۷ باند SRAP (که حداکثر ۱۸۷ مکان ژنومی را پوشش می‌دهند)، پوشش ژنوم بسیار کم است. برای پوشش مناسب ژنوم ذرت، به هزاران نشانگر نیاز است (Wang et al. 2024). در مقابل، مطالعاتی که از نشانگرهای SNP با تراکم بالا استفاده کرده‌اند، همبستگی بالاتری بین فاصله ژنتیکی و هتروزیس گزارش کرده‌اند (Jiang et al., 2023).

جدول ۷. ماتریس همبستگی پیرسون بین صفات در دو محیط

Table 7. Pearson correlation matrix among traits in two environments

صفت Trait	شرایط Condition	عملکرد دانه Grain Yield	هتروزیس Hertosis	ترکیب‌پذیری عمومی General Combining (GCA) Ability	ترکیب‌پذیری خصوصی Specific Combining (SCA)Ability	فاصله ژنتیکی جاکارد Jaccard Genetic Distance (GD)
	نرمال Normal	0.689**	0.565**	0.012	1	0.018
SCA	تنش Stress	0.323**	0.318**	-0.243	1	0.022
GCA	نرمال Normal	0.012	0.049	1	–	-0.028
GCA	تنش Stress	-0.243	0.661	1	–	0.017
GD(Jaccard)	نرمال Normal	-0.023	-0.028	-0.028	0.018	1
GD(Jaccard)	تنش Stress	0.028	-0.030	0.017	0.022	1

*و ** به ترتیب معنی‌دار در سطوح احتمال پنج درصد و یک درصد

* and ** are significant at the 0.05 and 0.01, respectively.

دوم، عدم ارتباط نشانگرهای SRAP باQTL های عملکرد: نشانگرهای SRAP به طور تصادفی ژنوم را تکثیر می‌کنند. اگر این نشانگرها باQTL های کنترل‌کننده عملکرد دانه در ارتباط نباشند، فاصله ژنتیکی محاسبه شده منعکس‌کننده تنوع در نواحی ژنومی غیرمرتبط با عملکرد خواهد بود Wang و همکاران (2024) نشان دادند که استفاده از نشانگرهای مرتبط باQTL های عملکرد می‌تواند دقت پیش‌بینی را تا ۴۰ درصد افزایش دهد (Wang et al. 2024).

سوم، سطح پایین تنوع ژنتیکی: میانگین فاصله ژنتیکی در این مطالعه ۰/۳۳ (دامنه ۰/۱۸۱ تا ۰/۴۲۳) بود که سطح نسبتاً پایینی از تنوع ژنتیکی را نشان می‌دهد. این مطلب با گزارش‌های قبلی مبنی بر سطح پایین تنوع ژنتیکی در ژرم‌پلاسم CIMMYT به دلیل آمیزش‌های گسترده در جهت بهبود جمعیت مطابقت دارد (Ndhlela et al. 2015). دامنه محدود فاصله ژنتیکی تشخیص همبستگی معنی‌دار را دشوار کرده است.

چهارم، پیچیدگی صفت عملکرد: عملکرد دانه یک صفت کمی پیچیده است که تحت کنترل ژن‌های متعدد با اثرات اندک و اثرمتقابل‌های پیچیده ژن × ژن و ژن × محیط است. فاصله ژنتیکی کل ژنوم نمی‌تواند این پیچیدگی را به‌خوبی منعکس کند. علاوه بر این، هتروزیس عمدتاً ناشی از اثرات غلبه و اپیستازی است درحالی‌که فاصله ژنتیکی محاسبه شده از نشانگرهای غالب (مانند SRAP) عمدتاً منعکس‌کننده تفاوت‌های آللی در جایگاه‌های ژنی است و نمی‌تواند به‌خوبی اثرات غلبه و اپیستازی را پیش‌بینی کند.

بررسی تطابق داده‌های مولکولی و ریخت‌شناختی: برای بررسی میزان تطابق بین تنوع ژنتیکی حاصل از نشانگرهای SRAP و تنوع ریخت‌شناختی، از آزمون مانتل استفاده شد. بدین منظور، ماتریس تشابه مبتنی بر ضریب جاکارد (برای داده‌های مولکولی) با ماتریس فاصله اقلیدسی استاندارد شده مقایسه گردید. نتایج حاصل از این تحلیل در جدول (۸) ارائه شده است.

نتایج آزمون مانتل نشان داد که بین ماتریس تشابه SRAP و داده‌های ریخت‌شناختی در هر دو محیط نرمال (۰/۰۸۲ = P، ۰/۱۵ = r) و تنش خشکی (۰/۱۱۴ = P، ۰/۱۰ = r) همبستگی ضعیف و غیرمعنی‌داری وجود دارد. این یافته با گزارش‌های Fareghi و همکاران (2019) که در مطالعه‌ای مشابه بر روی همین ژرم‌پلاسم به نتایج مشابهی دست یافتند، همخوانی کامل دارد (Fareghi et al. 2019).

این عدم تطابق و همبستگی پایین بین داده‌های مولکولی و ریخت‌شناختی را می‌توان به عوامل متعدد زیر نسبت داد:

۱. ماهیت متفاوت داده‌ها: نشانگرهای SRAP عمدتاً نواحی خنثی و غیرکدکننده ژنوم را تکثیر می‌کنند. تنوع در این نواحی لزوماً با تنوع در نواحی کدکننده و کنترل‌کننده صفات ریخت‌شناختی همبستگی ندارد (Rizk et al. 2023).

۲. تأثیرپذیری متفاوت از محیط: داده‌های مولکولی مستقل از محیط هستند و تنوع خالص ژنتیکی را نشان می‌دهند، درحالی‌که صفات ریخت‌شناختی به‌شدت تحت‌تأثیر عوامل محیطی قرار دارند و تغییرات فنوتیپی مشاهده شده ممکن است تنها بخشی از تنوع ژنتیکی واقعی را منعکس کنند.

جدول ۸. نتایج آزمون مانتل برای بررسی همبستگی بین ماتریس تشابه SRAP و داده‌های ریخت‌شناختی

Table 8. Mantel test results for correlation between SRAP similarity matrix and morphological data

محیط Environment	ضریب همبستگی (r) Correlation coefficient (r)	سطح معنی‌داری (P-value)	تفسیر Interpretation
نرمال Normal	0.15	0.082	همبستگی ضعیف و غیرمعنی‌دار Weak and non-significant correlation
تنش Stress	0.10	0.114	همبستگی ضعیف و غیرمعنی‌دار Weak and non-significant correlation

P> ۰/۰۵ غیرمعنی‌دار

P > 0.05: not significant

۳. میزان پوشش ژنوم و فنوتیپ: تعداد محدود نشانگر SRAP (۱۸۷ باند) و صفت عملکرد ممکن است پوشش کافی برای نمایان ساختن همبستگی‌های بالقوه بین ژنوم و فنوتیپ فراهم نکرده باشد (Wang et al. 2024).

۴. تاریخچه تکاملی متفاوت: نواحی خنثی ژنوم تحت‌تأثیر رانش ژنی و جریان ژنی قرار می‌گیرند، درحالی‌که صفات ریخت‌شناختی اغلب تحت انتخاب طبیعی یا مصنوعی هستند. این فرایندهای متفاوت تکاملی می‌تواند منجر به عدم همخوانی بین الگوهای تنوع مولکولی و ریخت‌شناختی شود.

نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که برای ارزیابی جامع و کامل تنوع ژنتیکی در برنامه‌های به‌نژادی، اتکا به یک نوع داده به‌تنهایی (چه مولکولی و چه ریخت‌شناختی) کافی نبوده و استفاده از هر دو نوع داده به‌صورت مکمل توصیه می‌شود. درحالی‌که نشانگرهای مولکولی ابزاری قدرتمند برای بررسی تنوع در سطح DNA هستند، ارزیابی مستقیم صفات زراعی بااهمیت اقتصادی (مانند عملکرد، ارتفاع و...) همچنان نقشی حیاتی و غیرقابل‌جایگزین در فرایند گزینش نهایی دارد.

نتیجه‌گیری: این پژوهش نشان داد که کارایی شاخص‌های GCA، SCA و فاصله ژنتیکی SRAP در پیش‌بینی عملکرد

و هتروزیس هیبریدهای ذرت، کاملاً وابسته به شرایط محیطی است؛ به‌گونه‌ای که در شرایط نرمال، SCA با همبستگی ۰/۶۸۹ بهترین پیش‌بینی‌کننده عملکرد بود و نقش غالب اثرات غیرافزایشی را تأیید کرد، درحالی‌که در تنش خشکی، GCA با همبستگی ۰/۶۶۱ با هتروزیس، شاخصی قابل‌اطمینان‌تر شناخته شد. نسبت واریانس SCA به GCA در شرایط تنش (۳/۸۲) نسبت به نرمال (۲/۴۹) افزایش یافت و هتروزیس بالاتر در شرایط تنش (۱۷۸/۶ درصد در برابر ۱۴۲/۳ درصد)، پدیده هتروزیس تنشی را تأیید نمود. تغییر الگوی SCA در تنش، لزوم ارزیابی مستقیم هیبریدها در محیط هدف را گوشزد کرد و وراثت‌پذیری پایین در تنش (۰/۲۴) نشان داد که گزینش بر اساس عملکرد لاین‌ها در تنش کارایی ندارد. هیبرید T3 × L5 با عملکرد ۱۱/۹۹ تن در هکتار و هتروزیس ۳۱۵ درصد در تنش و هیبرید T3 × L7 با عملکرد ۱۴/۹۲ تن در هکتار در نرمال، به‌عنوان برترین ترکیبات معرفی شدند و تسترهای A679 و K166B به‌عنوان ترکیب‌کننده‌های عمومی ایده‌آل برای هر دو محیط شناسایی گردیدند. در مقابل، فاصله ژنتیکی SRAP هیچ همبستگی معنی‌داری با عملکرد و هتروزیس نشان نداد که به پوشش ناکافی ژنوم، ماهیت غالب نشانگرها و تنوع کم ژرم‌پلاسم مربوط است؛ بنابراین اتکا به SRAP به‌تنهایی قابل‌توصیه نبوده و استفاده از نشانگرهای کاربردی یا SNP با تراکم بالا توصیه می‌شود. در مجموع، انتخاب والدین باید بر اساس محیط هدف انجام گیرد (SCA در شرایط نرمال و GCA در شرایط تنش خشکی) و تلفیق داده‌های مولکولی و ریخت‌شناختی برای افزایش کارایی برنامه‌های به‌نژادی ضروری است.

References

Adebayo, A.G., Menkir, A., Blay, E., Gracen, V., & Danquah, E. (2014). Performance-based grouping of adapted and exotic drought-tolerant maize (*Zea mays L.*) inbred lines under stressed and non-stressed conditions. *Maydica*, *59*(2), 115-123.

Allen, R.G., Pereira, L.S., Raes, D., & Smith, M. (1998). *Crop Evapotranspiration – Guidelines for Computing Crop Water Requirements*. FAO Irrigation and Drainage Paper No. 56. Rome: FAO.

Amzeri, A., Santoso, S.B., Adiputra, F., Khoiri, S., Badami, K., & Umam, A.S. (2025). Combining ability and heterotic effects of maize (*Zea mays*) lines for drought tolerance using the line × tester method. *Biodiversitas*, 26, 748-760. https://doi.org/10.13057/biodiv/d260223

Bassam, B.J., Caetano-Anollés, G., & Gresshoff, P.M. (1991). Fast and sensitive silver staining of DNA in polyacrylamide gels. *Analytical Biochemistry*, 196(1), 80-83. https://doi.org/10.1016/0003-2697(91)90120-I

Bitew Engida, T., Wegary, D., Keno, T., & Mekonnen, T.W. (2024). Combining ability and genetic distance analysis of mid altitude sub-humid agroecology adapted maize inbred lines for high grain yield. *Heliyon*, 10(11), e32267. https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e32267

Dai, K., Zhang, Z., Wang, S., et al. (2024). Molecular mechanisms of heterosis under drought stress in maize hybrids Zhengdan7137 and Zhengdan7153. *Frontiers in Plant Science*, 15, 1487639. https://doi.org/10.3389/fpls.2024.1487639

Falconer, D.S., & Mackay, T.F.C. (1996). *Introduction to Quantitative Genetics* (4th ed.). London: Longman. [ISBN: 978-0-582-24302-6]

Fareghi, S., Mirlohi, A., & Saeidi, G. (2019). Evaluation of SRAP marker efficiency in identifying the relationship between genetic diversities of corn inbred lines with seed quantity and quality in derived hybrids. *Cellular and Molecular Biology*, *65*(4), 6-14. https://doi.org/10.14715/cmb/2019.65.4.2

Fareghi, S., Saeidi, G., & Mirlohi, A. (2021). Evaluation of Water Deficit Tolerance Indices in New Hybrids of Maize (*Zea mays* L.) with CIMMYT Origin. *Journal of Crop Production and Processing*, *11*(1), 39-54. https://jcpp.iut.ac.ir/article-1-2919-en.html

Hallauer, A.R., Carena, M.J., & Miranda Filho, J.B. (2010). *Quantitative Genetics in Maize Breeding* (3rd ed.). New York: Springer. https://doi.org/10.1007/978-1-4419-0766-0

Jiang, F., Yin, X., Li, Z., Guo, R., Wang, J., Fan, J., Zhang, Y., Kang, M. S., & Fan, X. (2023). Predicting heterosis via genetic distance and the number of SNPs in selected segments of chromosomes in maize. *Frontiers in Plant Science*, *14*, 1111961. https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1111961

Li, G., & Quiros, C.F. (2001). Sequence-related amplified polymorphism (SRAP), a new marker system based on a simple PCR reaction: its application to mapping and gene tagging in *Brassica*. *Theoretical and Applied Genetics*, *103*, 455-461. https://doi.org/10.1007/s001220100570

Manigben, K.A., Beyene, Y., Chaikam, V., Tongoona, P.B., Danquah, E.Y., Ifie, B.E., Aleri, I., Chavangi, A., Prasanna, B.M., & Gowda, M. (2024). Testcross performance and combining ability of intermediate maturing drought tolerant maize inbred lines in Sub-Saharan Africa. *Frontiers in Plant Science*, *15*, 1471041. https://doi.org/10.3389/fpls.2024.1471041

Mantel, N. (1967). The detection of disease clustering and a generalized regression approach. *Cancer Research*, *27* (2), 209-220. [PMID: 6018555]

Mudadirwa, D., Olakojo, S.A., Ndhlela, T., Mhike, X., & Shayanowako, A.I.T. (2025). Understanding genetic diversity and population structure of CIMMYT and IITA early maturing provitamin A maize (Zea mays L.) inbred lines using phenotypic traits and SNP markers for variable tolerance to drought and heat stress. *Discover Plants, 2*, 119. https://doi.org/10.1007/s44372-025-00205-4

Murray, M.G., & Thompson, W.F. (1980). Rapid isolation of high molecular weight plant DNA. *Nucleic Acids Research*, *8*(19), 4321-4325. https://doi.org/10.1093/nar/8.19.4321

Ndhlela, T., Herselman, L., Semagn, K., Magorokosho, C., Mutimaamba, C., & Labuschagne, M.T. (2015). Relationships between heterosis, genetic distances and specific combining ability among CIMMYT and Zimbabwe developed maize inbred lines under stress and optimal conditions. *Euphytica*, *204* (3), 635-647. https://doi.org/10.1007/s10681-015-1413-9

Peer, L.A., Bhat, M.Y., Lone, A.A., Dar, Z.A., & Mir, B.A. (2024). Genetic, molecular and physiological crosstalk during drought tolerance in maize (*Zea mays*): pathways to resilient agriculture. *Planta*, *260* (4), 81. https://doi.org/10.1007/s00425-024-04520-0

Rasheed, M. U., Malik, A., Ali, Q., Arshad, A., Javed, M. A., Ali, F., & Ahmad, A. (2026). Integrating gene expression and morphological traits for drought stress adaptation in maize hybrids. *Scientific Reports*, *16*, 25863. https://doi.org/10.1038/s41598-026-56731-y

Rizk, R.M., Zayed, E.M., Amin, A.H., Omar, A.A., & Oraby, H.F. (2024). Effectiveness of DNA barcoding, SCOT markers and phytochemical characterization in biodiversity assessment of some *Zea mays*hybrids. *South African Journal of Botany*, *165*, 59-69. https://doi.org/10.1016/j.sajb.2023.12.020

Rohlf, F.J. (1998). *NTSYS-pc: Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System, Version 2.0*. Setauket, NY: Exeter Software.

Sanguinetti, C.J., Dias Neto, E., & Simpson, A.J. (1994). Rapid silver staining and recovery of PCR products separated on polyacrylamide gels. *BioTechniques*, *17*(5), 914-921.

SAS Institute Inc. (2008). *SAS/STAT® 9.2 User's Guide: The GLM Procedure*. Cary, NC: SAS Institute Inc.

Shiri, M., Moharramnejad, S., Estakhr, A., Fareghi, S., Najafinezhad, H., & Khorasani, S.K. (2025). Strategic risk analysis for the selection of stable and high-potential maize genotypes in multi-environment trials. *Plos one*, *20*(6), e0325454. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0325454

SPSS Inc. (2008). *SPSS Statistics Base 17.0 User's Guide*. Chicago, IL: SPSS Inc.

Talabi, A.O., Akinyosoye, S.T., Balogun, M.O., & Olakojo, S.A. (2023). Heterosis of quality protein maize inbred lines for agronomic traits and association with genetic distances based on SSR and phenotypic markers. *Plant Gene*, *36*, 100435. https://doi.org/10.1016/j.plgene.2023.100435

Tang, H., Zhang, L., Xie, X., Wang, Y., Wang, T., & Liu, C. (2025). Resilience of maize to environmental stress: insights into drought and heat tolerance. *International Journal of Molecular Sciences*, *26*(11), 5274. https://doi.org/10.3390/ijms26115274

Wang, R., Cao, L., Feiyu, Y., Ma, C., Pang, Y., Zhang, X., Zhang, Q., & Lu, X. (2024). Transcription factor ZmDof22 enhances drought tolerance by regulating stomatal movement and antioxidant enzymes activities in maize. *Theoretical and Applied Genetics*, *137*, 132. https://doi.org/10.1007/s00122-024-04650-z

Zhang, Z., Wang, Y., & Li, R. (2025). Genome-Wide Analysis of Zm4CL Genes Identifies Zm4CL8 Regulating Drought and Salt Tolerance in Maize *Agronomy*, *15*(5), 1100. https://doi.org/10.3390/agronomy15051100