

Genetic diversity and population structure analysis of Durum wheat (*Triticum turgidum* L.) genotypes using whole genome DArTseq-generated SilicoDArT markers

Peyman Ebrahimi

PhD Student of Plant breeding and Genetics, Department of Agronomy and Plant Breeding, Sanandaj Branch, Islamic Azad University, Sanandaj, Iran. Email: peyman.ebrahimi.not@gmail.com

Ezzat Karami

*Corresponding Author. Assistant Professor, Department of Agronomy and Plant Breeding, Sanandaj Branch, Islamic Azad University, Sanandaj, Iran. Email: ezzatut81@yahoo.com

Alireza Etminan

Associate Professor, Department of Plant Breeding and Biotechnology, Kermanshah Branch, Islamic Azad University, Kermanshah, Iran. Email: alietminan55@yahoo.com

Reza Talebi

Assistant Professor, Department of Agronomy and Plant Breeding, Sanandaj Branch, Islamic Azad University, Sanandaj, Iran. Email: rezatalebi56@gmail.com

Reza Mohammadi

Associate Professor, Dryland Agricultural Research Institute, Sararood Branch, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Kermanshah, Iran. Email: r.mohammadi@areo.ir

Abstract

Objective

Durum wheat (*Triticum turgidum*) with an average annual production of 40 million tons, is the tenth most important and common crop grown worldwide. The aim of this study was to analysis the genetic diversity and population structure of durum wheat genotypes for knowledge and apply in future genomic studies using SilicoDArT markers generated by DarTseq.

Materials and Methods

The DNA of 94 durum wheat genotypes were extracted by CTAB method from fresh leaves. The quality and quantity of extracted DNA were measured using spectrophotometer and adjusted to 50 ng / μ l. The DNA samples were processed at Diversity Array Technology Pty, Ltd, Australia (<https://www.diversityarrays.com>) for DArTseq analyses using genotyping by sequencing Platform. Genetic diversity and population structure analysis were performed on the remaining

7882 markers using: Power Marker_{v.3.25}, DARwin_{ver 5.0}, STRUCTURE_{2.1.1}, GenAlex_{v. 6.41} and R_{v3.2.3} software.

Results

The amount of polymorphic information content (PIC) of SilicoDArT markers ranged from 0.023 to 0.499 with an average of 0.38. The mean reproducibility and call rate of sequences in all linkage groups were above 0.98 and 0.92, respectively. The number of mapped SilicoDArT markers varied from 300 markers in the linkage group (Chr1A) to 853 markers in the linkage group (Chr7B). Chromosome size covered by SilicoDArT markers ranged from 829200 kbp in the linkage group (Chr3B) to 589293.786 kbp in the linkage group (Chr1A). The results of cluster analysis by Neighbor-Joining (NJ) method, population structure and discriminant analysis of principal components were highly consistent with each other and clearly divided the studied genotypes into four distinct groups. Genetic diversity among populations was primarily within the population (76.36 vs. 23.64%).

Conclusions

The relatively high number of subpopulations and the presence of high genetic diversity among and within populations were the characteristics of studied durum wheat genotypes in this study. Therefore, considering the loss of 84% genetic diversity of durum wheat during the early domestication processes, these populations can be used as a valuable resource in basic and applied research in breeding projects.

Keywords: Durum wheat, Linkage group, Marker, Polymorphism, Population.

Paper Type: Research paper

Citation Ebrahimi P, Karami E, Etminan AR, Talebi R, Mohammadi R (2021) Genetic diversity and population structure analysis of Durum wheat (*Triticum turgidum* L.) genotypes using whole genome DArTseq-generated SilicoDArT markers. *Agricultural Biotechnology Journal* 13 (3), 43-68.

Agricultural Biotechnology Journal 13 (3), 43-68.

DOI: 10.22103/jab.2021.17909.1326

Received: July 7, 2021.

Accepted: August 8, 2021.



Publisher: Faculty of Agriculture and Technology Institute of Plant Production, Shahid Bahonar University of Kerman-Iranian Biotechnology Society.

© the authors

تجزیه تنوع ژنتیکی و ساختار جمعیت ژنوتیپ‌های گندم دوروم (*Triticum turgidum* L.) با استفاده از نشانگرهای SilicoDART تولید شده از DARTseq در سطح کل ژنوم

پیمان ابراهیمی

دانشجوی دکتری ژنتیک و به‌نژادی گیاهی، گروه زراعت و اصلاح نباتات، واحد سنندج، دانشگاه آزاد اسلامی، سنندج، ایران،

رایانامه: peyman.ebrahimi.not@gmail.com

عزت کرمی

*نویسنده مسئول: استادیار، گروه زراعت و اصلاح نباتات، واحد سنندج، دانشگاه آزاد اسلامی، سنندج، ایران، تلفن: ۰۹۱۸۳۷۹۸۷۶۱،

رایانامه: ezzatut81@yahoo.com

علیرضا اطمینان

دانشیار، گروه بیوتکنولوژی و به‌نژادی گیاهی، واحد کرمانشاه، دانشگاه آزاد اسلامی، کرمانشاه، ایران،

رایانامه: alietminan55@yahoo.com

رضا طالبی

استادیار، گروه زراعت و اصلاح نباتات، واحد سنندج، دانشگاه آزاد اسلامی، سنندج، ایران، رایانامه: rezatalebi56@gmail.com

رضا محمدی

دانشیار، موسسه تحقیقات کشاورزی دیم کشور، معاونت سرارود، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرمانشاه، ایران،

رایانامه: r.mohammadi@areo.ir

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۵/۱۷

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۴/۱۶

چکیده

هدف: گندم دوروم (*Triticum turgidum* L.) با متوسط تولید سالانه ۴۰ میلیون تن، دهمین غله‌ی بسیار مهم و متداولی است که در سراسر جهان کشت می‌گردد. لذا هدف از این مطالعه تجزیه تنوع ژنتیکی و ساختار جمعیت ژنوتیپ‌های گندم دوروم برای آگاهی و استفاده از آن در مطالعات ژنومیک آینده با استفاده از نشانگرهای SilicoDART تولید شده از DARTseq بود.

مواد و روش‌ها: DNA مربوط به ۹۴ ژنوتیپ گندم دوروم به روش CTAB از برگ‌های تازه استخراج شد. کیفیت و کمیت DNA استخراج شده با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر اندازه گیری و غلظت DNA نمونه‌ها به میزان ۵۰ نانوگرم در میکرولیتر تصحیح گردید. نمونه‌های DNA در Diversity Array Technology Pty, Ltd, Australia (<https://www.diversityarrays.com>) برای تجزیه ژنوتیپی با DArTseq استفاده از پلاتفرم تجزیه ژنوتیپی بوسیله تعیین توالی (GBS) پردازش شدند. تجزیه تنوع ژنتیکی و ساختار جمعیت بر روی ۷۸۸۲ نشانگر باقیمانده با استفاده از نرم افزارهای PowerMarker_{v.3.25}، DARwin_{ver5.0}، STRUCTURE 2.1، GenAlex_{v. 6.41} و R_{v3.2.3} انجام گرفت.

نتایج: مقدار محتوی اطلاعات چندشکلی (PIC) نشانگرهای SilicoDArT از ۰/۰۲۳ تا ۰/۴۹۹ با میانگین ۰/۳۸ متغیر بود. متوسط تکرارپذیری و میزان قرانت توالی‌ها در تمام گروه‌های لینکاژی به ترتیب بالای ۰/۹۸ و ۰/۹۲ بود. تعداد نشانگرهای SilicoDArT نقشه‌یابی شده از ۳۰۰ نشانگر در گروه لینکاژی (Chr1A) تا ۸۵۳ نشانگر در گروه لینکاژی (Chr7B) متفاوت بود. اندازه کروموزوم تحت پوشش نشانگرهای SilicoDArT از ۸۲۹۲۰۰/۱ kbp در گروه لینکاژی (Chr3B) تا ۵۸۹۲۹۳/۷۹ kbp در گروه لینکاژی (Chr1A) متغیر بود. نتایج تجزیه کلاستر به روش اتصال- همسایگی (NJ)، ساختار جمعیت و تابع تشخیص مؤلفه‌های اصلی همخوانی بالایی با هم داشتند و بطور واضح ژنوتیپ‌های مورد بررسی را در چهار گروه مجزا قرار دادند. بیشترین میزان تنوع ژنتیکی مربوط به تنوع درون جمعیتی بود.

نتیجه‌گیری: تعداد نسبتاً بالای زیرجمعیت‌ها و وجود تنوع ژنتیکی بالا در میان و درون جمعیت‌ها از ویژگی‌های مجموعه ژنوتیپ‌های گندم دوروم مورد مطالعه در این تحقیق بود. لذا با توجه به اتلاف ۸۴٪ تنوع ژنتیکی گندم دوروم طی فرآیندهای اولیه اهلی سازی، این جمعیت‌ها می‌توانند به عنوان یک منبع ارزشمند در تحقیقات بنیادی و کاربردی در پروژه‌های به‌نژادی مورد استفاده قرار گیرد.

کلمات کلیدی: چند شکلی، گروه لینکاژی، جمعیت، نشانگر، گندم دوروم

نوع مقاله: پژوهشی

استناد: ابراهیمی پیمان، کرمی عزت، اطمینان علیرضا، طالبی رضا، محمدی رضا (۱۴۰۰) تجزیه تنوع ژنتیکی و ساختار جمعیت ژنوتیپ‌های گندم دوروم (*Triticum turgidum* L.) با استفاده از نشانگرهای SilicoDArT تولید شده از DArTseq در سطح کل ژنوم. مجله بیوتکنولوژی کشاورزی، ۱۳(۳)، ۶۸-۴۳.

Publisher: Faculty of Agriculture and Technology Institute of Plant Production, Shahid Bahonar University of Kerman-Iranian Biotechnology Society.



© the authors

گندم دوروم ($2n = 4X = 28$)، (AABB)، رایج‌ترین شکل کشت شده‌ی گندم‌های آلوتتراپلوئید است که به صورت محصولات ماکارونی و سمولینا مصرف می‌شود، دوروم جزو "مجموعه گیاهان بنیادی" است که کشاورزی "دنیای قدیم" بر پایه آن بنیاد نهاده شده است (Ren et al. 2013; Oliveira et al. 2012). گندم دوروم در شرق مدیترانه بوجد آمد (Luo et al. 2007) و جایگزین جد خود *T. dicoccum* گردید، مطالعات داده‌های چند شکلی طول قطعات برشی (RFLP) این نوع گندم را به عنوان عمده‌ترین شکل کشت گندم آلوتتراپلوئید مطرح نمود (Ren et al. 2013) از نظر اهلی‌سازی گندم، مناطق کردنشین واقع در قسمت جنوب شرقی ترکیه و شمال سوریه جزو مناطق حیاتی محسوب می‌گردند (O' zkan et al. 2002). گسترش جغرافیایی گندم دوروم رابطه تنگاتنگی با مهاجرت‌های انسانی داشته است. این گیاه عمدتاً در حاشیه منطقه مدیترانه‌ای، جنوب اروپا و شمال آفریقا کشت می‌شود، در حالی که اخیراً گسترش آن به جنوب آسیا نیز آغاز شده است. این محصول نقش مهمی در تأمین و امنیت غذای مردم محلی مناطق مدیترانه‌ای ایفا می‌کند، جایی که حدود ۷۵٪ از گندم دوروم جهان در آنجا تولید می‌شود (Alsaleh et al. 2015). در این مناطق، گندم دوروم به طور گسترده‌ای برای عملیات کلاسیک کشاورزی و همچنین در رژیم غذایی مردم محلی استفاده می‌شود.

توانایی افراد، جمعیت‌ها یا گونه‌ها در انطباق با تغییر شرایط محیطی به طور مستقیم به میزان تنوع ژنتیکی آنها بستگی دارد (Frankham 2005). به طور کلی، تنوع ژنتیکی بالاتر توانایی سازگاری بیشتری با تغییرات شرایط محیطی را فراهم می‌کند، در حالی که تنوع ژنتیکی پایین با ایجاد یکنواختی، کاهش سازگاری (Luan et al. 2006) و افزایش احتمال انقراض را سبب می‌شود. علاوه بر این، اصلاحگران نبات برای دستیابی به بهره‌وری سریع در رابطه با بهبود عملکرد دانه، مقاومت در برابر تنش‌های زنده و غیر زنده و سایر صفات از طریق انتخاب به تنوع توالی در جمعیت‌های اصلاحی نیاز دارند. برخی از این تغییرات ژنتیکی در اکسیشن‌های نگهداری شده در بانک‌های ژنی وجود دارند و در صورت فهرست‌بندی صحیح ممکن است مورد استفاده قرار گیرد. این موارد ممکن است شامل یافتن صفات ویژه و جدید یا انتخاب ترکیبات والدینی برای توسعه نتاج با حداکثر تنوع ژنتیکی جهت انتخاب بیشتر باشد (Barrett and Kidwell 1998).

آگاهی از تنوع ژنتیکی و ساختار جمعیت، همچنین برای کارهای اساسی در بانک‌های ژنی از قبیل: ایجاد مجموعه‌های اصلی و فرعی که نمایانگر تنوع موجود در کل کلکسیون هستند، در نمونه‌هایی با سایز قابل کنترل تر (Yan et al. 2007; Agrama et al. 2013; El Bakkali et al. 2009) ، ایجاد داده‌های معیار به عنوان پایه‌ای جهت تخمین احتمال از دست دادن تنوع ژنتیکی در هنگام حفاظت (Reif et al. 2005) ، برآورد قدرت نسبی نیروهای تکاملی رانش ژنتیکی، انتخاب طبیعی، جهش و جریان ژن در جمعیت‌های موجود در محل یا خارج از محل (Falconer and MacKay 1996; Ouborg et al. 1999) و شناسایی فاصله‌های موجود در کلکسیون‌های بانک‌های ژنی (Brown 1989) مفید است.

کاهش تنوع ژنتیکی در گندم، مانند بسیاری از محصولات زراعی تحت تأثیر اهلی سازی و همچنین انجام فعالیت‌های اصلاحی پسامندلی قرار گرفته است (Morgante and Salamini 2003; Novoselovic et al. 2016). اصلاح متداول گیاهان زراعی به طور مداوم با انتخاب ارقام برتر، فشار زیادی را به ژرم پلاسما گندم تحمیل می‌نماید (Rubenstein et al. 2005) که منجر به یکنواختی در ژرم پلاسما برای منطقه و آب و هوای خاصی می‌گردد. یکنواختی تنوع ژنتیکی منجر به آسیب‌پذیری ژنتیکی گونه‌های گیاهان در برابر تنش‌های مختلف زیستی و غیرزیستی می‌شود (van de Wouw et al. 2010; Nielsen et al. 2014). بنابراین، پایه ژنتیکی باریک هنوز هم مهمترین نگرانی اصلاح‌گران نبات در مواجهه با این یکنواختی ژنتیکی و کاهش آسیب‌پذیری ژنتیکی با معرفی ژنوتیپ‌های متنوع از ژرم پلاسماهای ملی و بین‌المللی به مواد اصلاحی می‌باشد (Novoselovic et al. 2016). مطالعات اخیر در مورد گیاه شناسی و تاریخچه تنوع گندم در سراسر جهان نشان داد که بیشتر ارقام مدرن آسیایی به ژرم پلاسما اروپایی متکی می‌باشند، در حالی که تنوع عظیمی از توده‌های بومی در آسیا برای استفاده از پتانسیل بالقوه آنها در برنامه‌های اصلاحی، به دست فراموشی سپرده شده است (Balfourier et al. 2019). این را می‌توان با سطح بالای تنوع ژنتیکی بین ارقام بهبود یافته با استفاده از توده‌های بومی با منشأ هلال حاصلخیز ثابت کرد (Balfourier et al. 2019). بسته به مناطق جغرافیایی، ژنوتیپ‌های اهلی شده در شرایط آب و هوای متنوع و به ویژه توده‌های بومی، زمینه ژنتیکی با تنوع آلی غنی دارند و می‌توانند در برنامه‌های مختلف اصلاحی مورد استفاده قرار گیرند (Talebi and Fayyaz 2012; Zhang et al. 2011). بنابراین، اطلاعات در مورد سطح تنوع در منابع ژنتیکی گیاهان زراعی می‌تواند به اصلاح‌گران نبات کمک کند تا ارقام جدیدی با پتانسیل عملکردی بالا و آلل‌های مطلوب تولید نمایند (Govindaraj et al. 2015). شناسایی تنوع ژنتیکی در گیاهان با استفاده از روش‌های مختلف مانند نشانگرهای مورفولوژیکی، بیوشیمیایی و مولکولی مبتنی بر DNA انجام می‌شود (de Vicente et al. 2005). بر خلاف نشانگرهای مورفولوژیکی و بیوشیمیایی که به راحتی تحت تأثیر عوامل محیطی قرار می‌گیرند، نشانگرهای مولکولی مبتنی بر DNA دقیق و مستقل از محیط هستند. بنابراین، این نشانگرها ابزارهای متنوعی را با کاربرد گسترده ارائه می‌دهند و از این رو به طور فزاینده‌ای در به‌نژادی گیاهان زراعی به ابزار ارزشمندی تبدیل می‌شوند (Novoselovic et al. 2016). انواع مختلف نشانگرهای مولکولی مانند AFLP (Talebi and Fayyaz 2012)، SSR (Marzario et al. 2018) و CDBP (Etminan et al. 2018) برای تجزیه تنوع ژنتیکی و ساختار جمعیت در خزانه‌های ژنی مختلف گندم استفاده شده است. با این حال، تعداد کم نشانگرها، پوشش ضعیف ژنوم، هزینه بالا، وقت گیر بودن و خطرات موجود در رابطه با ایمنی زیستی عمده‌ترین عوامل محدودیت در استفاده از این نشانگرها هستند (Alam et al. 2018).

به تازگی، رویکرد جدیدی تحت عنوان تجزیه ژنوتیپی با استفاده از توالی‌یابی (GBS) برای کشف همزمان SNPها و تجزیه ژنوتیپی توسعه یافته است (Elshire et al. 2011). رویکرد GBS یک روش تک مرحله‌ای یکپارچه در شناسایی SNP و تجزیه ژنوتیپی است، همچنین این روش ابزاری سریع، با بازده بالا و مقرون به صرفه را برای تجزیه تنوع ژنتیکی در سطح ژنوم، به ویژه

برای مجموعه‌های ژرم پلاسما و گونه‌های غیر مدل فراهم می‌نماید. این ویژگی‌های GBS برای مطالعات تنوع ژنتیکی در گیاهان با استفاده از مجموعه‌ای از نشانگرهای مفید و حاوی اطلاعات با ارزش، سودمند و امیدوارکننده می‌باشد (Peterson et al. 2014). نشانگرهای SilicoDart نشانگرهای باینری غالب (وجود در مقابل عدم وجود) هستند که نیازی به هیچ‌گونه ژنوم مرجعی ندارند (Kilian et al. 2003). پلات فرم تجزیه ژنوتیپی DArTseq می‌تواند هزاران نشانگر SilicoDart را در ریزآرایه‌ها تولید نماید که دارای توالی و جایگاه کروموزومی ویژه هستند. لذا، این نشانگرها بسیار مفید و مؤثرتر از سایر نشانگرهای غالب مولکولی هستند (O'Connor et al. 2019). نشانگرهای SilicoDart برای مطالعات تنوع ژنتیکی و ساختار جمعیت در نخود (Seyedimoradi et al. 2020)، ماکادامیا (O'Connor et al. 2019)، مرکبات (Sagawa et al. 2018)، برنج (Ndjiondjop et al. 2017)، گندم (Mahboubi et al. 2020; Baloch et al. 2016)، گندم دوروم (Baloch et al. 2017) و بادام زمینی (Pandey et al. 2014) استفاده شده است.

پیشرفت‌های زیادی در فرآیندهای کاهش پیچیدگی ژنوم روی داده است. با این حال، روش DArTseq از طریق انتخاب هوشمند کسری از ژنوم که عمدتاً مربوط به ژن‌های فعال است، تأثیر مهمی را در این زمینه ایجاد کرده است. نشانگرهای کلاسیک DArT توسط نشانگرهای DArTseq بر اساس تجزیه ژنوتیپی با استفاده از توالی‌یابی (GBS) جایگزین شده‌اند. نشانگرهای DArTseq و SNP بر اساس تکنولوژی GBS با موفقیت برای تهیه نقشه لینکاژی، شناسایی QTL در جمعیت‌های دو والدی ایجاد شده برای تهیه نقشه، مطالعات ارتباطی وسیع ژنوم (GWAS)، مطالعات تنوع ژنتیکی در گندم (Baloch et al. 2016) و بسیاری از محصولات دیگر (Grzebelus et al. 2014) و همچنین انتخاب ژنومی و انتخاب به کمک نشانگر استفاده شده است. کمبود اطلاعات قابل توجهی در مورد ساختار ژنتیکی و خزانه ژنی گندم‌های دوروم وجود دارد. تعداد کمی مطالعه علمی تنوع ژنتیکی توده‌های بومی گندم دوروم ایران و هلال حاصلخیز (کردستان واقع در ترکیه و سوریه) را از نظر تعداد آلل و آلل‌های خاص شرح داده‌اند. بیشتر گزارش‌ها از روند کاهشی تنوع ژنتیکی در گیاهان خود کرده افشان مانند گندم دوروم به دلیل فشار انتخاب برای صفات مهم اقتصادی حکایت دارند. لذا هدف از این مطالعه تجزیه تنوع ژنتیکی و ساختار جمعیت ژنوتیپ‌های گندم دوروم برای آگاهی و استفاده از آن در مطالعات ژنومیک آینده با استفاده از نشانگرهای SilicoDart تولید شده از DArTseq بود.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی و استخراج DNA: تعداد ۹۴ ژنوتیپ گندم دوروم شامل ارقام تجاری و توده‌های بومی (جدول ۱) از مرکز تحقیقات کشاورزی دیم سرارود کرمانشاه تهیه و تحت شرایط گلخانه‌ای در گلدان، برای رسیدن به مرحله سه برگی کشت داده شد. جهت انجام آزمایشات مولکولی، در مرحله سه برگی اقدام به نمونه‌گیری به منظور استخراج DNA گردید. برگ‌های تازه بصورت بالک از تعداد ۱۰ گیاه از هر ژنوتیپ برای استخراج DNA با استفاده از روش CTAB موری و تامپسون (۱۹۸۰)، با اصلاحات جزئی

استفاده شد. کیفیت و کمیت DNA استخراج شده با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه گیری و غلظت DNA نمونه‌ها به میزان ۵۰ نانوگرم در میکرولیتر تصحیح گردید.

تجزیه DArTseq: نمونه‌های DNA در Diversity Array Technology Pty, Ltd, Australia

(<https://www.diversityarrays.com>) برای تجزیه ژنوتیپی DArTseq با استفاده از پلاتفرم تجزیه ژنوتیپی بوسیله تعیین توالی (GBS) پردازش شدند (Nadeem et al. 2018). نشانگرهای SilicoDArT غالب بوده و نمره‌دهی آنها به صورت ۱ و ۰ انجام می‌شود، که به ترتیب نشان‌دهنده وجود و عدم وجود یک قطعه برشی برای هر ژنوتیپ است. مجموعه داده‌های اولیه شامل ۶۲۲۶۹ نشانگر SilicoDArT بود که در تمام ژنوتیپ‌های گندم دوروم چند شکل بودند. این مجموعه داده برای پارامترهای کیفیت فیلتر شد. نشانگرهایی با موقعیت ناشناخته کروموزوم، فراوانی الل کمیاب $(MAF) \geq 0.1$ و همچنین نشانگرهایی با داده از دست رفته بالاتر از ۱۰٪ حذف شدند. نشانگرهایی با PIC، قابلیت تکرارپذیری و نرخ قرائت توالی (Call rate) به ترتیب کمتر از ۰/۰۵، ۰/۸ و ۰/۹ نیز از فرآیند تجزیه حذف شدند.

تجزیه و تحلیل داده‌ها: مقادیر محتوی اطلاعات چندشکلی (PIC) هر نشانگر SilicoDArT با توجه به متد Botstein

et al. (1980) و با استفاده از نرم افزار Power Marker v.3.25 (Liu and Muse 2005) محاسبه گردید.

تجزیه خوشه‌ای (کلاستر) ژنوتیپ‌های گندم دوروم به روش اتصال - همسایگی (NJ) (Perrier et al. 2003) با استفاده از نرم افزار DARwin ver 5.0 صورت گرفت (Perrier and Jacquemoud-Collet 2006). تجزیه ساختار جمعیت بر اساس مدل مخلوط توسط نرم افزار STRUCTURE 2.1 (Pritchard et al. 2000) و پیرو روش توسعه یافته Evanno et al. (2005) محاسبه گردید.

با علم بر اینکه، دامنه مقدار K از ۱ تا ۱۰ می‌باشد، با پنج اجرای مستقل و همزمان با ۵۰/۰۰۰ تکرار مونت کارلو زنجیره مارکوف (MCMC)، مقادیر $\ln P(D)$ برای یافتن بهترین مقدار K و برازش مناسب‌ترین ساختار جمعیت در برابر مقادیر Δk ترسیم شدند. تجزیه تابع تشخیص مؤلفه‌های اصلی (DAPC) با استفاده از بسته adegenet (Jombart 2008) توسط نرم افزار R نسخه 3.2.3 اجرا شد (R Core Team 2014). تجزیه واریانس مولکولی (AMOVA) برای تعیین تنوع مولکولی بین و درون جمعیت‌ها (K) در نرم افزار GenAlex v. 6.41 انجام شد.

جدول ۱. اسامی و کد ژنوتیپ‌های گندم دوروم (*Triticum turgidum* L.) مورد مطالعه در این تحقیق.

Table 1. Names and code of the studied durum wheat (*Triticum turgidum* L.) genotypes in this research.

Ent. No	Variety / Line	DArT No. vial
1	Saji	A1
2	Zahab	B1
3	SRN-1/KILL//2*FOLTA-1	C1
4	Imren	D1
5	Baniswaf4/Miki2	E1
6	Bcr/Lks4//Mrf1/Stj2/3/Mrf2/NormalHamari//Bcr/Lks4	F1
7	Bicredera1//Oss11/Stj5/3/Ammar8	G1
8	CandocrossH25/3/Mrf2/NormalHamari//Bcr/Lks4/4/Berghouata1	H1
9	Korifla(DS15/Geier)	A2
10	CandocrossH25/BEZAIZAHF//Adnan2	B2
11	CandocrossH25/BEZAIZAHF/3/Sebatel2//Wdz6/Gil4	C2
12	CandocrossH25/Bicredera1/3/ICAMORTA0463//Lah/Ch12504/4/Bcrch1//Oss11/Stj5/5/Ysf1/Otb6	D2
13	CandocrossH25/Ouasbar2//Berghouata1	E2
14	CandocrossH25/Ouasbar2//Miki2	F2
15	CM829/CandocrossH25//Massine	G2
16	EMN093/Icarasha1	H2
17	Geruftel2//Ammar8	A3
18	IcaJihan39//Marsyr3/Murlagost2	B3
19	Icamilmus1/Waha/4/Icasyr1/3/Bcr/Sbl5//Turartu	C3
20	Gidara2(Stojocri/Omrabi3)	D3
21	Icamilmus3/Younes1/4/Marsyr3/3/Gcn//Stj/Mrb3	E3
22	Icamilmus4/3/Bcrch1//Oss11/Stj5/4/Adnan2	F3
23	Icamilmus4/Adnan2//Adnan2	G3
24	Icamilmus5/Miki2//Geromtel1/Icasyr1	H3
25	Icarasha1/IcaKader2	A4
26	Icasyr1/3/Bcr/Sbl5//Turartu/4/13376/Bcrch1//Oss11/Stj5	B4
27	Icasyr1/3/Bcr/Sbl5//Turartu/4/Icarasha1	C4
28	Maamouri3/Sebatel2	D4
29	Mrb5/Tdicds600545//Mrb5918/3/Wdz6/Gil4/4/Saadi1989/Chan/5/Geruftel2	E4
30	Oss11/Stj5/5/Bidra1/4/BezaizSHF//SD19539/Waha/3/Stj/Mrb3/6/Icajihan1	F4
31	Quarmal/Gbch2/3/Mrf2/NormalHamari//Bcr/Lks4/4/IcaKader2	G4
32	Sbh/4/D68193A1A//Ruff/Fg/3/Mtl5/5/Marsyr3//Saadi1989/Chan	H4
33	SwAlg/Gd112/4/Quarmal/Gbch2/3/Mrf2/NormalHamari//Bcr/Lks4	A5
34	CM829/CandocrossH25//Icajihan7	B5
35	Mrf1/Stj2//Gdr2/Mgn11/3/Bcrch1	C5
36	Ter1//Mrf1/Stj2/3/Icasyr1	D5
37	Icarasha2 (Stj3//Bcr/Lks4/3/Ter3)	E5
38	Adnan1//Mgn13/Ainzen1	F5
39	Geromtel1/IRANYT053//Mgn13/Ainzen1	G5
40	IcamorTA0462/4/Gdr2//SwAlg/Gdr1-43/3/IcamorTA0463/5/Ter1//Mrf1/Stj2	H5
41	IcamorTA0471//IcamorTA0459/Arislahn10/3/Mgn13/Ainzen1	A6
42	IcamorTA041/4/IcamorTA0469/3/Bcr/Gro1//Mgn11/5/MIKI2	B6
43	Waha (Plc/Ruff//Gta/Rtte)	C6
44	Mrb3/Mna1//Ter1/3/IcamorTA0459/Ammar7/4/Beltagy2	D6

45	Maamouri1/5/IcamorTA0462/4/Stj3//Bcr/Lks4/3/Icamor"s"/6/Mgnl3/Ainzen1	E6
46	Azeghar2/5/IcamorTA0462/4/Stj3//Bcr/Lks4/3/Icamor"s"/6/Stj3//Bcr/Lks4/3/Ter3	F6
47	Mgnl3/Ainzen1/3/Bcr/Gro1//Mgnl1	G6
48	Ossl1/Stj5/5/Bicredera1/4/BEZAIZSHF//SD19539/Waha/3/Stj/Mrb3/6/Stk/Hau//Heca1	H6
49	Omrabi5 (Jori c69/Hau)	A7
50	Azeghar1/6/Zna1/5/Aw11/4/Ruff//Jo/Cr/3/F9.3/7/Azeghar1//Msbl1/Quarmal	B7
51	Aghrass1/3/HFN94N8/Mrb5//Zna1/4/IcamorTA0458	C7
52	Ouasloukos1/5/Azn1/4/BEZAIZSHF//SD19539/Waha/3/Gdr2	D7
53	Ter1/3/Stj3//Bcr/Lks4/4/Aghrass1/3/Mrf1//Mrb16/Ru	E7
54	Ter1/3/Stj3//Bcr/Lks4/4/Aghrass1/3/Mrf1//Mrb16/Ru	F7
55	Korifla/AegSpeltoidesSyr//Amedakul	G7
56	Korifla/AegSpeltoidesSyr//Mrb5	H7
57	Korifla/AegSpeltoidesSyr//Loukos MINIMUS/COMB DUCK_2//CHAM_3/3/FICHE_6/4/MOJO/AIRON/5/SOMAT_3.1/6/CHEN/ALTAR	A8
58	84/3/HUI/POC//BUB/RUFO/4/FNFOOT/5/TILO_1/LOTUS_4/10/CBC 509 CHILE//SOOTY_9/RASCON_37/9/USDA595/3/D67.3/RABI//CRA/4/AL O/5/HUI/YAV_1/6/ARDENTE/7/HUI/YAV79/8/POD_9/11/ALTAR 84/S	B8
59	Younes/TdicoAlpCol//Korifla	C8
60	Waha (Plc/Ruff//Gta/Rtte)	D8
61	Korifla/AegSpeltoidesSyr//Lahn	E8
62	T.dic.Crosses61/4/Quarmal/Gbch2/3/Mrf2/NormalHamari//Bcr/Lks4	F8
63	Younes1/6/Ouasloukos1/5/Azn1/4/BEZAIZSHF//SD19539/Waha/3/Gd2	G8
64	Icarasha1/T.Aeg.Crosses	H8
65	Terbol975/Gerufel2/7/Icasyr1//Mrf2/T.dids20123/6/319ADDO/5/D68193A 1A//Ruff/Fg/3/Mtl5/4/Lahn	A9
66	Icamilmus1/3/Marsyr3//Saadi1989/Chan/4/IcamorTA0471//IcamorTA0459/ Arislahn10/3/Mgnl3/Ainzen1	B9
67	Icasyr1/3/Gcn//Stj/Mrb3/4/Mgnl3/Ainzen1/3/Bcr/Gro1//Mgnl1	C9
68	Marsyr3/Murlagost2//T.dicocconIG91683/Ammar9	D9
69	Waha//Azeghar2/RedSeedTer112	E9
70	Icasyr1/3/Bcr/Sbl5//T.urartu/4/T.Aeg.Crosses	F9
71	Icarasha2 (Stj3//Bcr/Lks4/3/Ter3)	G9
72	Marsyr3/3/Gcn//Stj/Mrb3/4/T.Aeg.Crosses	H9
73	Marsyr3//Saadi1989/Chan/3/T.Aeg.Crosses	A10
74	ICAMORTA0469/4/ICAMORTA0463/3/CandocrossH25//Msbl1/Quarmal0 4182/5/Icasyr2/6/Geromtel1/Icasyr1	B10
75	Jk/Ch1613//TpolonicumIG97746 PLATA_7/ILBOR_1//SOMAT_3/3/CABECA_2/PATKA_4//BEHRANG/5 /ARMENT//SRN_3/NIGRIS_4/3/CANELO_9.1/4/VITROMAX/6/SOOTY _9/RASCON_37//GUAYACAN INIA	C10
76	Jk/Ch1523//Atlas2/3/Mrb5/Lahaucan	D10
77	Jk/Ch1604//Ysf1/Otb6/3/Adnan2/Berghouata1	E10
78	Icamilmus1/3/Marsyr3//Saadi1989/Chan/4/IcamorTA0471//IcamorTA0459/ Arislahn10/3/Mgnl3/Ainzen1	F10
79		G10

80	Mgnl3/Aghrass2/4/IcamorTA0462/3/Arislahn7//CI115/Bcrch1/5/Beltagy1/6/Azeghar1//Blrn/Mrf2/3/Bicredera1/Azeghar2	H10
81	Icasyr1//Mrf2/T.dids20123/6/319ADDO/5/D68193A1A//Ruff/Fg/3/Mtl5/4/Lahn/7//Ouasloukos1/5/Azn1/4/BEZAIZSHF//SD19539/Waha/3/Gd2	A11
82	Icasyr1//Mrf2/T.dids20123/6/319ADDO/5/D68193A1A//Ruff/Fg/3/Mtl5/4/Lahn/7//Ouasloukos1/5/Azn1/4/BEZAIZSHF//SD19539/Waha/3/Gd2	B11
83	Stj3//Bcr/Lks4/3/Ter3/4/Marsyr5/5/Sebatel2//Wdz6/Gil4	C11
84	Icarasha1//Quabrach3/RedSeedTer109	D11
85	Miki3 (Stj3//Bcr/Lks4)	E11
86	Mrb3/Tboeoticum500648/3/ICAMORTA0462//Hau/Ch13323/4/Bcr/Gro1//Mgnl1/5/Aghrass1/3/Mrf1//Mrb16/Ru	F11
87	Mrb3/Tboeoticum500648/3/ICAMORTA0462//Hau/Ch13323/4/Bcr/Gro1//Mgnl1/5/Aghrass1/3/Mrf1//Mrb16/Ru	G11
88	SwAlgia/Gd181//Ch158/3/Marsyr3/Murlagost2/4/EMN0917/Adnan2	H11
89	ALTAR 84	A12
90	SORA/2*PLATA_12/3/SORA/2*PLATA_12//SOMAT_3/4/AJAIA_13/YAZI//DIPPER_2/BUSHEN_3	B12
91	ALTAR84/STINT//SILVER_45/3/GUANAY/4/GREEN_14//YAV_10/AUK/5/SOMAT_4/INTER_8/6/BCRIS/BICUM//LLARETAINIA/3/DUKEM_12/2*RASCON_21	C12
92	CAMAYO//HYDRANASSA30/SILVER_5/3/SOOTY_9/RASCON_37/5/DUKEM_15/3/BISU_1/PLATA_16//RISSA/4/SOOTY_9/RASCON_37/6/SOOTY_9/RASCON_37//TILO_1/LOTUS_4/7/BCRIS/BICUM//LLARETAINIA/3/DUKEM_12/2*RASCON_21	D12
93	ALTAR 84/BINTEPE 85/3/STOT//ALTAR 84/ALD/4/POD_11/YAZI_1/5/VANRRIKSE_12/SNITAN/6/SOOTY_9/RASCON_37//WODUCK/CHAM_3/7/YAV79/4/ARMENT//SRN_3/NIGRIS_4/3/CANELO_9.1/5/MINIMUS/COMB DUCK_2//CHAM_3/3/GREEN_19	E12
94	PLATA_7//ILBOR_1//SOMAT_3/3/CABECA_2/PATKA_4//BEHRANG/10/1A.1D 5+1-06/2*WB881//1A.1D 5+1-06/3*MOJO/3/SOOTY_9/RASCON_37/9/USDA595/3/D67.3/RABI//CRA/4/ALO/5/HUI/YAV_1/6/ARDENTE/7/HUI/YAV79/8/POD_9/11/CIRNO	F12

نتایج

الگوی کیفی و تنوع نشانگرهای SilicoDArT: تجزیه ژنوتیپی DArTseq بر روی ۹۲ ژنوتیپ گندم دوروم انجام

گردید و ۶۲۲۶۹ نشانگر SilicoDArT ارائه داد. برخی از نشانگرها قبلاً گزارش نشده بودند و به هیچ موقعیت کروموزومی روی گروه‌های لینکاژی اختصاص داده نشدند. بنابراین، این نشانگرها در تجزیه داده‌ها نادیده گرفته شدند. نشانگرهای باقی مانده برای فراوانی آلی نسبتی کمتر از ۰/۱ و داده‌های از دست رفته بزرگتر و مساوی ۱۰ فیلتر شدند. در مجموع از میان ۸۸۶۵ نشانگر SilicoDArT منتخب پس از عمل فیلترینگ، تنها از ۷۸۸۲ نشانگر که دارای موقعیت کروموزومی مشخص بر روی ژنوم A و B بودند، برای تجزیه تنوع ژنتیکی و ساختار جمعیت در ژنوتیپ‌های گندم دوروم مورد بررسی استفاده شد. دیگر ۹۸۳ نشانگر باقی مانده که پس از همردیف (Alignment) نمودن آنها با ژنوم رفرنس گندم نان، با توالی‌های شناخته شده روی گروه‌های لینکاژی در ژنوم

D بلاست (Blast n) شدند، همانطوریکه در بالا ذکر آن رفت در تجزیه‌ها نادیده گرفته شدند و حذف گردیدند. نشانگرهای SilicoDArT بر روی گروه‌های لینکاژی گندم دوروم (جدول ۲) با میانگین ۵۶۳ نشانگر در هر کروموزوم توزیع شدند. تعداد نشانگرهای SilicoDArT نقشه‌یابی شده از ۳۰۰ نشانگر در گروه لینکاژی (Chr1A) تا ۸۵۳ نشانگر در گروه لینکاژی (Chr7B) متفاوت بود. همانطور که در جدول ۲ نشان داده شده است، اندازه کروموزوم تحت پوشش نشانگرهای SilicoDArT از ۸۲۹۲۰۰/۱ kbp در گروه لینکاژی (Chr3B) تا ۵۸۹۲۹۳/۷۹ kbp در گروه لینکاژی (Chr1A) متغیر بود، همچنین گروه لینکاژی Chr7B با میانگین ۱/۱۴ نشانگر SilicoDArT در هر Mbp، تعداد نشانگرهای بیشتری را نشان داد (جدول ۲). محتوی اطلاعات چند شکلی (PIC) از ۰/۲۳ تا ۰/۴۹۹ متغیر بود، در حالی که تقریباً بیش از ۵۰٪ نشانگرهای SilicoDArT مقدار PIC را بیش از حد متوسط (۰/۳۸) نشان دادند (شکل ۱). در تمام نشانگرهای SilicoDArT متوسط میزان تکرارپذیری و نرخ قرائت توالی (Call rate) به ترتیب بیش از ۰/۹۸ و ۰/۹۲ بود (جدول ۲).

تجزیه ساختار جمعیت و تنوع ژنتیکی ژنوتیپ‌های گندم دوروم: تجزیه ساختار جمعیتی ژنوتیپ‌های گندم دوروم

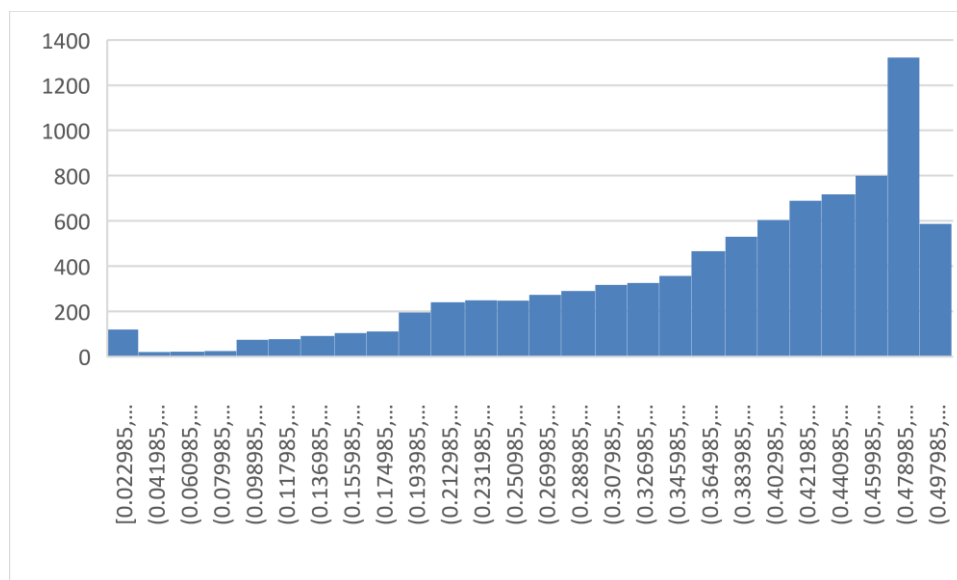
بر اساس مدل بی‌زی، چهار گروه مجزا را نشان داد (شکل ۲). چهار زیرجمعیت، تنوع ژنتیکی نسبتاً بالایی را نشان دادند که مقدار آن از ۰/۰۲ در زیرجمعیت (POP4) تا ۰/۳۴ در زیرجمعیت (POP3) متغیر بود. فاصله خالص نوکلئوتیدی (Net Nucleotide Distance) به عنوان یک پارامتر برای اندازه‌گیری تنوع ژنتیکی در بین جمعیت‌ها، بالاترین و کمترین فاصله ژنتیکی را به ترتیب بین زیر جمعیت‌های POP2 و POP4 (۰/۲۷۰) و زیرجمعیت‌های POP1 و POP2 (۰/۰۷) (جدول ۳) نشان داد. تجزیه کلاستر به روش اتصال - همسایگی (Neighbour-Joining) بر اساس نشانگرهای SilicoDArT، ژنوتیپ‌های گندم دوروم را در چهار کلاستر مجزا گروه‌بندی نمود (شکل ۳).

میانگین شاخص تثبیت (Fst) زیرجمعیت‌ها از ۰/۲۱ (POP3) تا ۰/۹۵ (POP4) متغیر بود (جدول ۳). مقادیر مخلوط نسبتاً زیادی بین زیر جمعیت‌های POP2 و POP3، در مقایسه با سایر جمعیت‌ها مشاهده شد. با احتمال زیاد این نتیجه به دلیل وجود والدین یکسانی باشد که در شجره ژنوتیپ‌های گندم دوروم متعلق به این کلاسترها استفاده شده است. تجزیه تابع تشخیص مؤلفه اصلی (DAPC) نیز برای برآزش متناسب‌ترین ساختار جمعیت بر اساس نشانگرهای SilicoDArT استفاده گردید. کمترین مقدار BIC در K=4 بدست آمد. بنابراین، سه تابع مجزا تشخیص داده شد که به ترتیب ۳۷/۱۹، ۲۸/۹ و ۲۱/۶۳ درصد تغییرات بین زیر گروه‌ها را توجیه می‌نمایند (شکل ۴). نتایج حاصل از تجزیه ساختار جمعیت و تجزیه تابع تشخیص (DAPC) با نتایج حاصل از تجزیه کلاستر مطابقت داشت. تجزیه واریانس مولکولی (AMOVA) برای تعیین تنوع مولکولی در بین و درون جمعیت‌ها (K=۴) بر اساس نشانگرهای SilicoDArT انجام شد (جدول ۴). بیشتر تغییرات واریانس (۷۶/۳۶٪) میان ژنوتیپ‌ها درون جمعیت‌ها مشاهده شد، در حالی که اختلاف بین جمعیت‌ها (کلاسترها) نسبتاً کم بود (۲۳/۶۴٪).

جدول ۲. توزیع نشانگرهای SilicoDArT بر روی ژنوم گندم دوروم، محتوی اطلاعات چند شکلی (PIC)، نرخ قرائت (Call Rate) و متوسط تکرارپذیری (Average of Reproducibility)

Table 2. SilicoDArT Markers Distribution on Durum Wheat Genome, Polymorphism Information Content (PIC), Call Rate and Average of Reproducibility

Linkage Groups	No. Markers	Chromosome Size(kbp)	Call Rate (mean)	One Ratio(mean)	PIC (mean)	Average of Reproducibility
Chr1A	300	589293.786	0.926811	0.53253	0.392783	0.987783
Chr2A	574	779665.301	0.928376	0.531615	0.378022	0.987819
Chr3A	454	750610.4	0.926852	0.528354	0.371944	0.987748
Chr4A	489	742808.8	0.929105	0.507459	0.382376	0.986216
Chr5A	436	708977	0.928146	0.520776	0.375594	0.98842
Chr6A	456	616320.1	0.928312	0.510363	0.392759	0.987314
Chr7A	789	735262.1	0.929175	0.510735	0.384203	0.986959
Ch1B	681	688589.5	0.92758	0.533268	0.385003	0.987277
Chr2B	759	800769.3	0.927394	0.531767	0.393895	0.987843
Chr3B	582	829200.1	0.922085	0.564573	0.369268	0.9861
Chr4B	333	671754.7	0.924849	0.538444	0.37495	0.987985
Chr5B	586	708929.4	0.923233	0.566275	0.382289	0.986366
Chr6B	590	720840	0.926843	0.534025	0.382743	0.986644
Chr7B	853	749946.8	0.92991	0.515027	0.392338	0.987082
Mean	563	720926.2	0.927048	0.530372	0.382726	0.987254
Group A	499.72	703276.78	0.928111	0.520261	0.382525	0.987465
Group B	626.3	738575.7	0.925985	0.540483	0.382927	0.987042



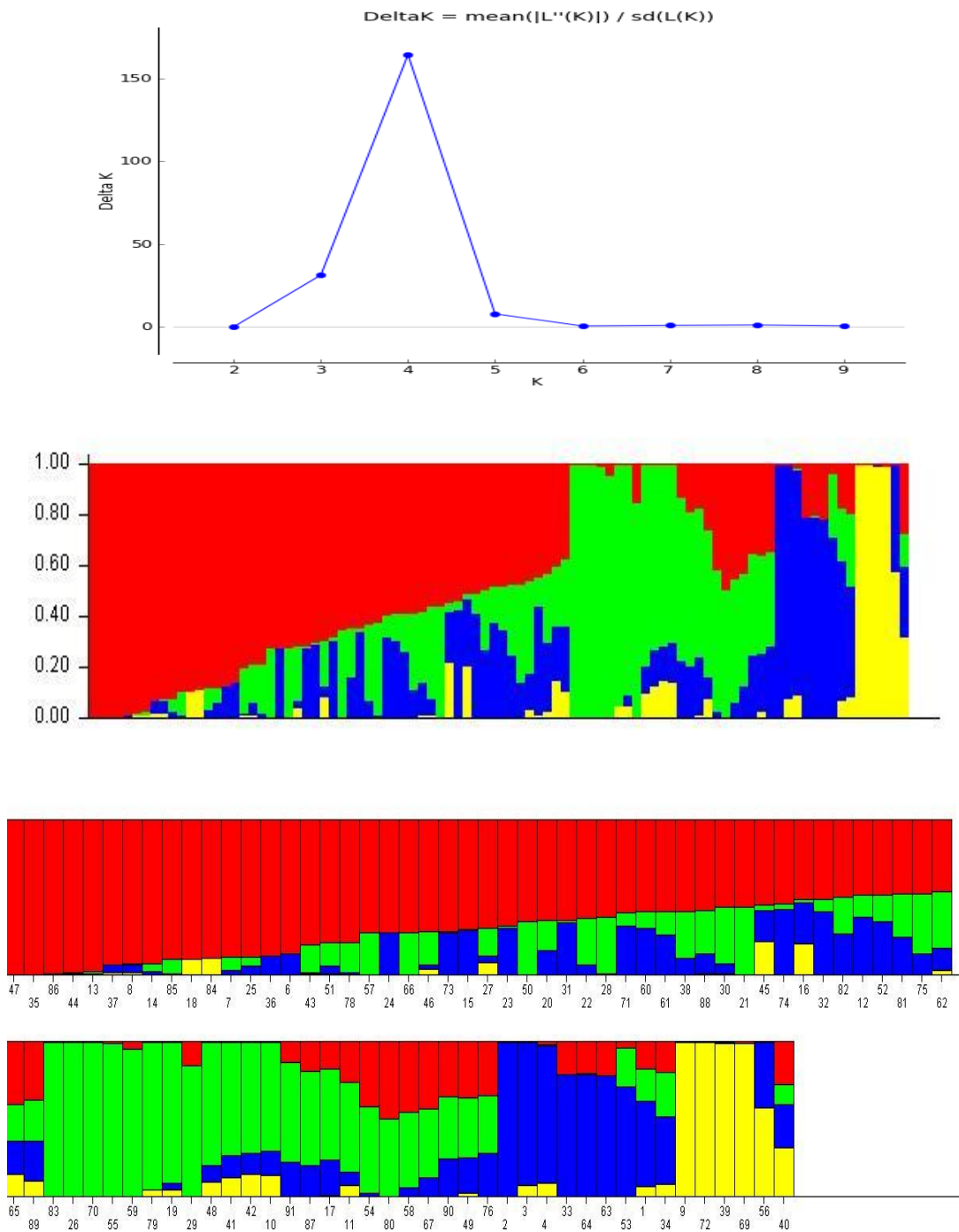
شکل ۱. توزیع فراوانی مقادیر PIC (محور X ها) در نشانگرهای DArTseq (محور Y ها)

Figure 1. Frequency distribution of PIC values (the X axis) of DArTseq markers (the Y axis)

جدول ۳. واگرایی ژنتیکی میان (فاصله نوکلئوتیدی خالص) و درون (هتروزیگوسیتی مورد انتظار) جمعیت، نسبت عضویت و مقدار میانگین F_{st} مشاهده شده از مطالعه ساختار جمعیتی ۹۲ ژنوتیپ گندم دوروم با استفاده از نشانگرهای SilicoDArT

Table 3. Genetic divergence among (Net Nucleotide Distance) and within (expected heterozygosity) population, proportion of membership and mean value of F_{st} observed from the study of population structure of 92 durum wheat genotypes using SilicoDArT markers

Population	Net Nucleotide Distance			Expected Heterozygosity	% Of membership	Mean fixation index (F_{st})
	POP2	POP3	POP4			
POP1	0.070	0.084	0.247	0.20	46	0.41
POP2		0.085	0.270	0.20	26	0.46
POP3			0.249	0.34	19.5	0.21
POP4				0.02	8.5	0.95



شکل ۲. توزیع ۹۲ ژنوتیپ گندم دوروم با استفاده از نشانگرهای SilicoDArT در گروه‌ها بر حسب تجزیه ساختار جمعیت ($K=4$). افراد (ژنوتیپ‌ها) در میله‌های عمودی نشان داده شده‌اند، هر رنگ با یک گروه متفاوت مرتبط است

Figure 2. Distribution of the 92 durum wheat genotypes using SilicoDArT markers in groups according to the structure analysis ($k = 4$). The individuals were represented in vertical bars, each color associated with a different group

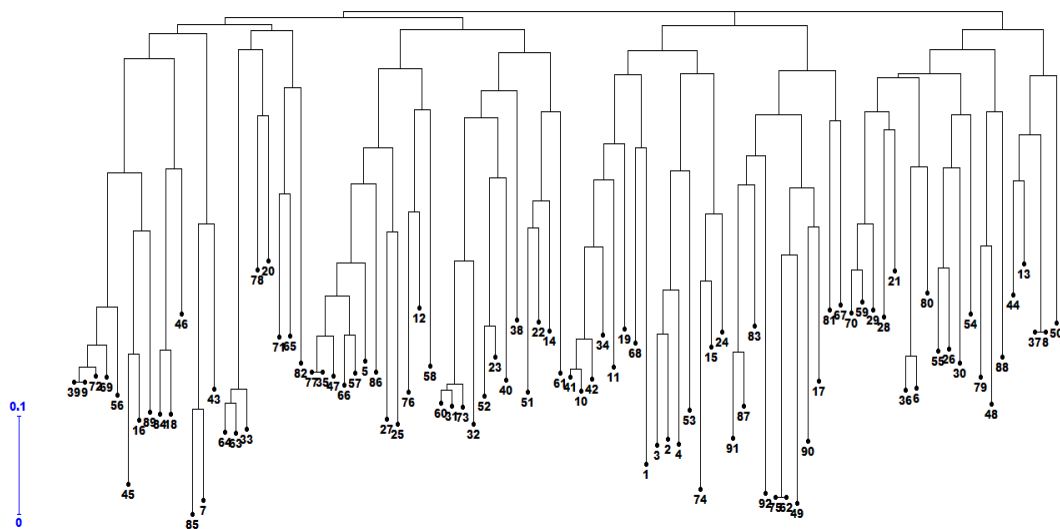
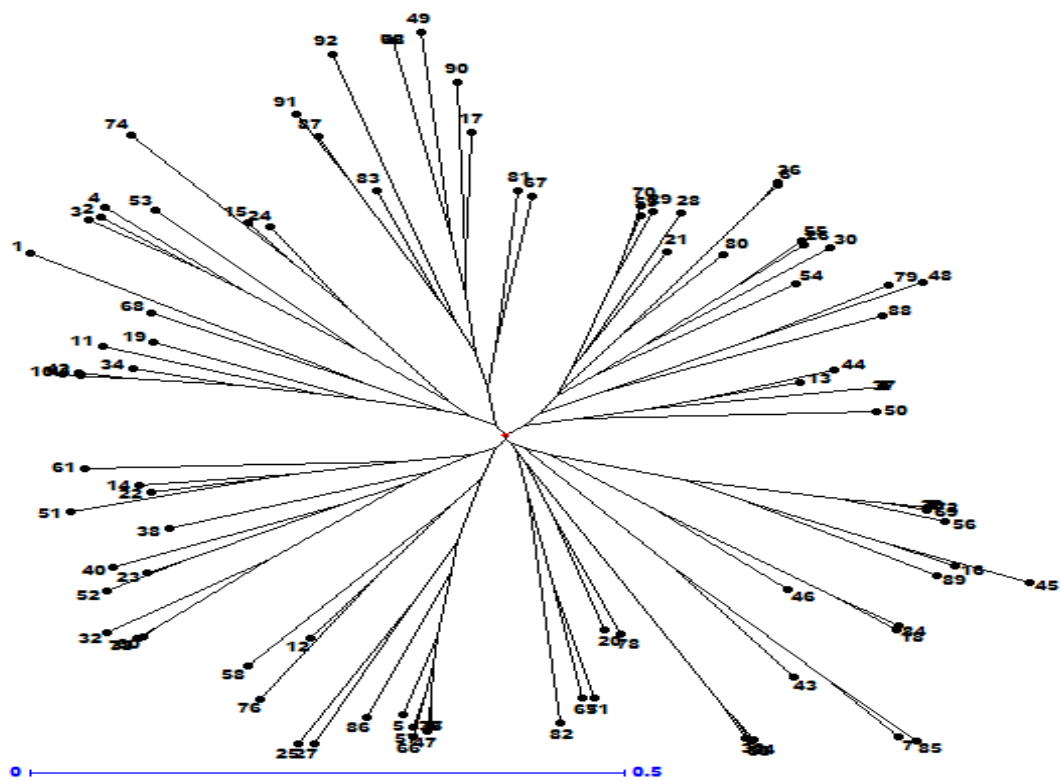
جدول ۴. تجزیه واریانس مولکولی (AMOVA) بر اساس داده‌های نشانگرهای SilicoDArT تولید شده توسط DarTseq درون و بین جمعیت‌ها ($K = 4$) از ۹۲ ژنوتیپ گندم دوروم.

Table 4. Analysis of molecular variance (AMOVA) based on DarTseq-generated SilicoDArT markers data for within and between populations ($K=4$) of 92 durum genotypes.

Source of variation	Variance component	% total variance	Probability
Among populations	63.24	23.64	0.001
Within populations	191.77	76.36	0.001

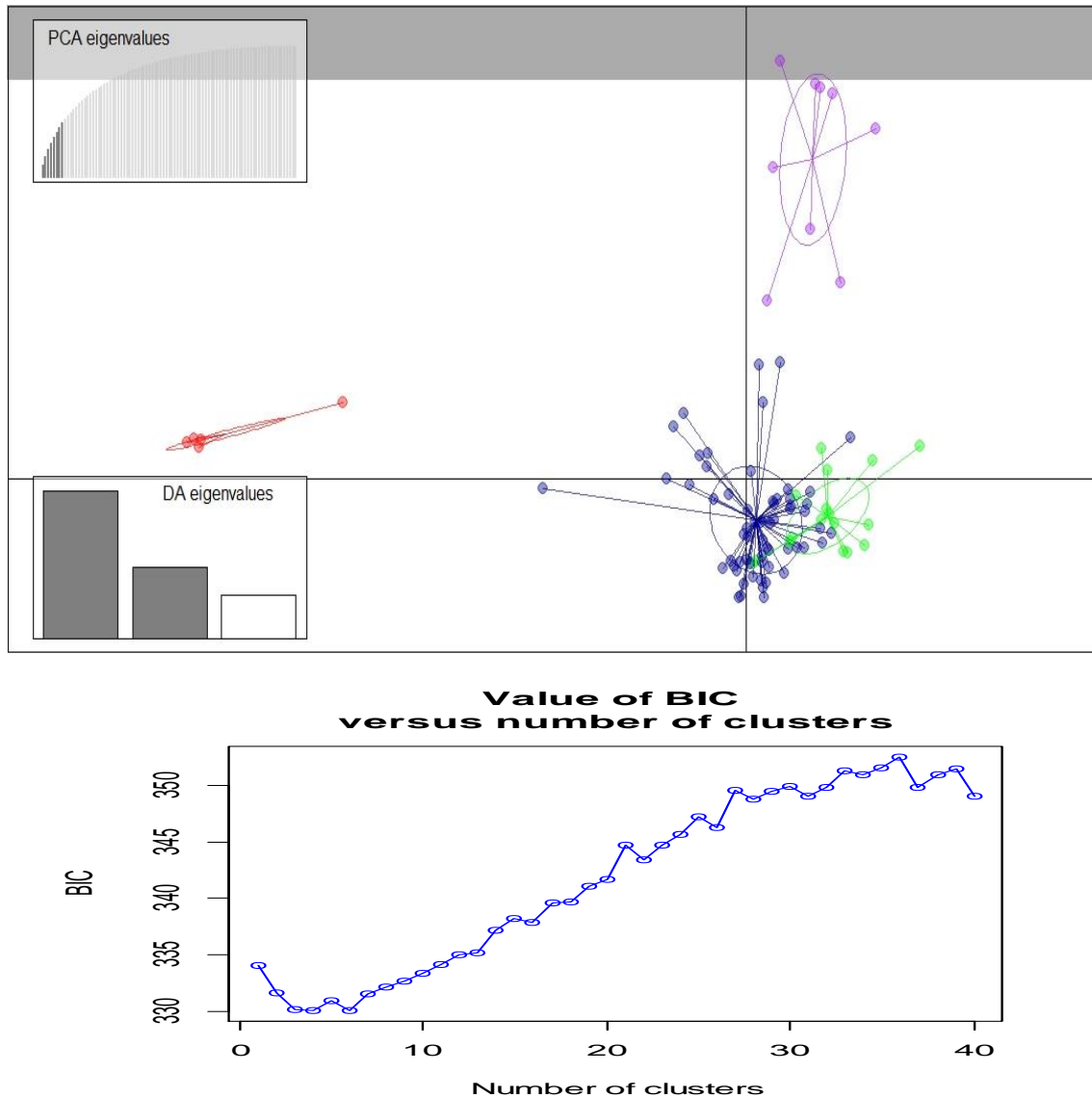
بحث

شناسایی منابع ژنتیکی گیاهی و تنوع ژنتیکی طبیعی در خزانه‌های ژنی گیاهان زراعی برای تهیه مواد اولیه گیاهی با آل‌های جدید ضروری است که می‌تواند در برنامه‌های مختلف به‌نژادی مورد استفاده قرار گیرد (Nadeem et al. 2018). نشانگرهای مولکولی مختلفی مانند AFLP، ISSR، RAPD، SSR و غیره برای بررسی تنوع ژنتیکی در خزانه‌های ژنی گندم دروم استفاده شده است (Edwards et al. 2013; Altıntaş et al. 2008). با این حال، برآورد تنوع ژنتیکی با استفاده از نشانگرهای تصادفی با موقعیت کروموزومی ناشناخته (مانند AFLP، RAPD و ISSR) یا نشانگرهایی بر اساس موقعیت ژنومی شان (مانند SSRها) بر روی نقشه‌های لینکاژی ژنتیکی ویژه، معمولاً از پوشش پائین سطح ژنوم رنج می‌برد (Varshney et al. 2019). بنابراین، اعتبارسنجی نشانگرهای مبتنی بر توالی مانند نشانگرهای SilicoDArTs در مقیاس بزرگ و استفاده از آنها در برآورد واقعی الگوی تنوع ژنتیکی و ساختار جمعیت ژنوتیپ‌های گندم دوروم حیاتی است. این نشانگرهای جدید که اکنون به سرعت در گندم استفاده می‌شوند و تحقیقات ژنومی را در بسیاری از محصولات دیگر تسریع نموده‌اند، می‌توانند نقش مهمی را در حفاظت از ژرم پلاسماهای گندم دوروم و برنامه‌های به‌نژادی آن در آینده بازی نمایند. در نتیجه، ما از نشانگرهای SilicoDArT با پوشش ژنوم بسیار بالا برای تنوع ژنوم و تجزیه ساختار جمعیت در یک پانل متشکل از ۹۲ ژنوتیپ گندم دوروم استفاده کردیم که ابزار ارزشمند و قدرتمندی برای تجزیه GWAS در آینده است. همچنین، این ژرم پلاسماها منابع بسیار ارزشمندی برای استخراج آلل و انتخاب گیاهان دهنده‌ی ژن‌های مقاومت در برابر تنش‌های مختلف زنده و غیر زنده از طریق نقشه‌یابی ارتباطی در کل ژنوم خواهند بود. می‌توان از نشانگرهای SilicoDArT کاندید، برای ایجاد ارتباط نشانگر و صفت (MTA) در رابطه با ژن‌های خاص یا QTL‌های بزرگ اثر کنترل کننده صفات با ارزش در گندم دروم استفاده کرد. اطلاعات (داده‌های) نشانگرهای DarTseq توسط محتوی اطلاعات چند شکلی (PIC) (PIC) برآورد گردید.



شکل ۳. تجزیه کلاستر اتصال- همسایگی با استفاده از نشانگرهای SilicoDArT برای گروه بندی ۹۲ ژنوتیپ گندم دوروم

Figure 3. Neighbor-joining cluster analysis using SilicoDArT markers for grouping 92 durum wheat genotypes



شکل ۴. تجزیه تابع تشخیص مؤلفه‌های اصلی (DAPC) برای ۹۲ ژنوتیپ گندم دوروم. محورها نشانگر دو تابع خطی نخست هستند. هر دایره یک کلاستر را نشان می‌دهد و هر نقطه یک فرد (ژنوتیپ) را نشان می‌دهد. تعداد کلاسترهای مختلف نشان داده شده، توسط تجزیه DAPC شناسایی شده است

Figure 4. Discriminant analysis of principal components (DAPC) for 92 durum wheat genotypes. Axes represent the first two linear discriminants. Each circle represents a cluster, and each dot represents an individual. Numbers represent different clusters identified by DAPC analysis

محتوی اطلاعات چند شکلی (PIC)، اطلاعات مربوط به تنوع یک ژن یا بخشی از DNA را در یک جمعیت فراهم می‌کند که برای نشان دادن فشار تکاملی بر آلل و جهش در یک مکان ژنی که ممکن است طی یک دوره زمانی اتفاق افتاده باشد، استفاده می‌شود. زمانی که نمره‌دهی (Scoring) یک نشانگر بصورت (۰) و (۱) با نسبت‌های ۵۰٪ به ۵۰٪ می‌باشد، مقدار PIC حداکثر برابر با ۰/۵ محاسبه می‌شود. در این مطالعه، ما تعداد زیادی (۷۸۸۲) نشانگر چند شکل و بسیار با کیفیت SilicoDART را از میان ۶۲۲۶۹ نشانگر فیلتر نموده و برای تجزیه تنوع ژنتیکی و ساختار جمعیت در یک مجموعه متشکل از ۹۲ ژنوتیپ گندم دوروم استفاده کردیم. میانگین مقادیر PIC برای تمام نشانگرهای DARTseq برابر ۰/۳۸ بود، که بیانگر کارایی بالای این نشانگرها برای سنجش تنوع ژنومی گندم دوروم است. به طور کلی، توزیع مقادیر PIC در بین نشانگرها نامتقارن بود و به سمت مقادیر بالاتر از میانگین متمایل بود، طوری که حدود ۶۰ درصد نشانگرها محتوی اطلاعات چند شکلی (PIC) بالاتر از میانگین نشان دادند (شکل ۴). توانایی ما برای مقایسه مقادیر PIC در این مطالعه محدود بود، زیرا گزارشات کمی در مورد تنوع ژنتیکی با استفاده از DART وجود دارد و ما نمی‌توانیم گزارشات مدون را با استفاده از نشانگرهای DARTseq در مطالعات تنوع ژنتیکی گندم دوروم دنبال کنیم. مقادیر متوسط PIC به دست آمده در مطالعه ما بالاتر از مقدار PIC به دست آمده توسط Ren et al. (2013) بود که متوسط مقدار PIC با استفاده از نشانگرهای SNP در مجموعه جهانی متشکل از ۱۵۰ ژنوتیپ گندم دوروم را برابر ۰/۱۸۸۸۸ گزارش نمودند. پژوهشگران (Moragues et al. 2007) تنوع ژنتیکی ۶۳ توده بومی گندم دوروم از کشورهای مدیترانه را با استفاده از نشانگرهای AFLP و SSR بررسی کردند، مقادیر متوسط محتوی اطلاعات چندشکلی (PIC)، برای نشانگرهای AFLP و SSR به ترتیب ۰/۲۴ و ۰/۷۰ بود. توزیع مقادیر PIC در نشانگرهای DARTseq در شکل (۴) نشان داده شده است. توزیع مقادیر PIC در بین نشانگرها تقریباً غیر یکسان بود و بیش از ۳۰۰۰ نشانگر DARTseq دارای مقادیر PIC نزدیک به ۰/۵ بودند. حدود ۷۵٪ نشانگرهای DARTseq مقادیر PIC بیشتر ۰/۳ داشتند.

علاوه بر مقدار PIC، برخی دیگر از پارامترهای کیفیت، مانند نرخ قرائت توالی (Call Rate) و قابلیت تکرارپذیری هر نشانگر درون پانل ژنوتیپ‌های مورد بررسی گندم دوروم نیز تخمین زده شد. نرخ قرائت توالی (Call Rate)، درصد امتیازات (نمرات) معتبر در میان تمام نمرات ممکن برای یک نشانگر است، جایی که قابلیت تکرارپذیری بصورت درصد تکرارپذیری امتیازدهی برای نمونه‌های تکرار شده اندازه گیری می‌شود. میانگین نرخ قرائت توالی (Call Rate) و قابلیت تکرارپذیری نشانگرهای SilicoDART در این مطالعه به ترتیب بیش از ۰/۹۸ و ۰/۹۲ بود. با وجود اینکه ترکیب آنزیم‌های محدود کننده‌ی برشی و همچنین میزان تنوع در پانل ارائه شده، متفاوت از سایر گونه‌های گیاهی است، میزان سنجش تکنیکی تکرار جفت‌ها برای نمره‌ی نشانگرها و موفقیت در قرائت توالی نشانگرها در نمونه‌های مورد بررسی، بالا و قابل مقایسه با کاربردهای قبلی SilicoDARTs در سایر گونه‌های گیاهی است (O'Connor et al. 2019; Ndjiondjop et al. 2017; Grzebelus et al. 2014). پوشش ژنومی نشانگرهای SilicoDART در این مطالعه برای اکثر کروموزوم‌ها یکنواخت بود و بیشترین (۸۵۳) و کمترین (۳۰۰) تعداد نشانگر به ترتیب در کروموزوم‌های Chr7B و Chr1A مشاهده گردید، که با مطالعات قبلی در گندم دوروم با استفاده از GBS با عملکرد بالا مطابقت

دارد (Baloch et al. 2017). تجزیه کلاستر به روش گروه‌بندی اتصال - همسایگی (Neighbor Joining) با استفاده از مجموعه نشانگرهای SilicoDART، ژنوتیپ‌های گندم دوروم مورد بررسی در این مطالعه را در ۴ گروه اصلی و مجزا قرار داد. نتایج این گروه‌بندی در سطح مطلوبی با ساختار جمعیت مبتنی بر مدل بیزی و نتایج تجزیه تابع تشخیص مؤلفه‌های اصلی (DAPC) همخوانی و مطابقت نشان داد. اما از آنجایی که برخی از این کلاسترها، مخلوطی از ژنوتیپ‌های گندم دوروم را نشان دادند، لذا می‌توان نتیجه گرفت به احتمال زیاد لاین‌های والدینی یکسانی در مسیر برنامه‌های به‌نژادی این ژنوتیپ‌ها استفاده شده است. این نتیجه با مطالعات قبلی که توسط نشانگرهای SNP و SilicoDART تولید شده از DARTseq، روی مجموعه‌های مشابهی (از نظر اندازه جمعیت) از ژنوتیپ‌های گندم دوروم انجام گرفته‌اند، مطابقت دارد (Fayaz et al. 2019; Baloch et al. 2017). گندم دوروم در ایران و سایر کشورهای تولید کننده اصلی آن در جهان مانند کانادا، مکزیک، ایالات متحده آمریکا، استرالیا، ایتالیا، ترکیه و ... به طور عمده تحت شرایط دیم کشت می‌گردد و به دلیل تنش‌های محیطی بویژه تنش خشکی، عملکرد پایینی تولید می‌نماید (Beres et al. 2020). گندم و محصولات تهیه شده از گندم می‌توانند ۲۰٪ پروتئین و کالری مصرفی سرانه جمعیت ۹/۷ میلیارد نفری جهان را در سال ۲۰۵۰ به خود اختصاص دهند (CRP-WHEAT 2016). گندم دوروم در درجه اول برای تهیه ماکارونی تولید می‌شود، اما همچنین یک ماده مهم برای تهیه کوسکوس و بلغور، به ویژه در آفریقای شمالی و خاورمیانه است (Beres et al. 2020). بنابراین، معرفی ژرم پلاسماهای جدید در برنامه‌های به‌نژادی برای کشاورزی پایدار و امنیت غذایی جمعیت رو به افزایش جهان امری ضروری و اجتناب ناپذیر است. کشاورزان توده‌های بومی گندم دوروم متشکل از واریته‌های متداول را از طریق انتخاب طبیعی و انسانی که نتیجه آن سازگار شدن این توده‌های بومی با شرایط اقلیمی منطقه مورد کشت و روش‌های مدیریت بوده است، را پرورش داده‌اند (Zeven 2000). محققان قبلی (Masood et al. 2005) نشان دادند که گندم ایمر وحشی در هلال حاصلخیز اهلی شده است و پیامد آن به‌نژادی گندم‌های اهلی شده‌ی نان و دوروم منجر به باریک شدن پایه ژنتیکی و تنوع ژنتیکی آنها شده است. میزان اتلاف اولیه تنوع ژنتیکی گندم دوروم طی فرآیند اهلی سازی حدود ۸۴٪ برآورد شده است. در طول تاریخ تکاملی‌شان، محصولات گندم از طریق سهم عمده کشاورزان برای تأمین نیازهای مصرف کننده، شیوه‌های فرهنگی و پاسخگویی به شرایط در حال رشد و تغییر اقتصادی - اجتماعی شکل گرفته است (Zeven 2000).

پیش بینی می‌گردد، دانش جامع در مورد تنوع ژنتیکی گندم دوروم از نواحی اکو-جغرافیایی متنوع، تأثیر چشمگیری در حفاظت و استفاده از ژرم پلاسماهای گندم دوروم داشته باشد و به‌نژادگران را در طراحی رویکردهای نوین برای دستیابی به تنوع سودآور در برنامه‌های به‌نژادی یاری نماید. فناوری Arrays Diversity (DARTseq) ثابت کرده است که یک نشانگر مولکولی قوی است، به طوری که می‌تواند با اطمینان خاطر برای تجزیه تنوع ژنتیکی و نقشه‌یابی ژن‌ها در بسیاری از گونه‌های گیاهی مورد استفاده قرار گیرد (Akbari et al. 2006; Grzebelus et al. 2014; Brinez et al. 2012).

نتیجه گیری: انتخاب ژنومی یک ابزار پیشرفته به‌نژادی است که پتانسیل زیادی برای اصلاح و بهبود ژنتیک گیاهان دارد، اما این پتانسیل تا اندازه‌ی زیادی به تعداد نشانگرهای مولکولی و داشتن پوشش نسبی کاملاً متعادل در سطح ژنوم بستگی دارد (Heffner et al. 2009). پیشرفت سریع در فن آوری‌های تعیین توالی و ژنوتیپ در چند سال گذشته، توسعه آرایه‌های SNP و DArTseq را حتی برای گیاهان پلی‌پلوئید مانند گندم امکان پذیر کرده است (Edwards et al. 2013). یکی از امیدوارکننده‌ترین رویکردها برای بهبود صفات، معرفی آلل‌های جدید است. به عنوان گام نخست، رویکردهای استخراج آلل را می‌توان به روش‌های مختلف و در مجموعه‌های مختلف ژرم پلاسسم گیاهی انجام داد. بنابراین، با انجام آزمایش‌های میدانی چند مکانه در محیط‌های متنوع و تجزیه فنوتیپ ژرم پلاسسم‌های مورد بررسی می‌توان نشانگرهای مرتبط برای تشریح ژنتیکی صفات پیچیده را شناسایی نمود. علاوه بر این، در صورت در دسترس نبودن داده‌های شجره نامه، می‌توان از روابط ژنتیکی برای انتخاب والدین مناسب جهت گنجاندن آنها در برنامه‌های به‌نژادی استفاده کرد. از اطلاعات تولید شده در اینجا می‌توان برای طراحی برنامه‌های به‌نژادی متناسب با نیازهای منطقه‌ای و محلی استفاده کرد. وجود تعداد زیادی از نشانگرهای DArTseq و SNP، مقرون به صرفه بودن و محتوی چند شکلی نسبتاً زیاد آنها جنبه‌های عالی برای غربالگری گسترده در سطح ژنوم برای اهداف تنوع ژنتیکی را فراهم نموده است. تنوع ژنتیکی خزانه ژنی گندم دوروم باید بیشتر تبیین شود تا طبقه‌بندی، نگهداری مناسب، حفاظت و استفاده از این منابع ژنتیکی ارزشمند تسهیل گردد.

سپاسگزاری: بدینوسیله از معاونت پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد سنج و مرکز تحقیقات کشاورزی دیم سرارود کرمانشاه به خاطر همکاری در تأمین مواد گیاهی و انجام بخشی از آزمایشات تشکر و قدردانی می‌گردد.

References

- Agrama H A, WenGui Y, Lee F, et al. (2009) Genetic assessment of a mini-core subset developed from the USDA Rice Genebank. *Crop Sci* 49, 1336–1346.
- Akbari M, Wenzl P, Caig V, et al. (2006) Diversity arrays technology (DArT) for high-throughput profiling of the hexaploid wheat genome. *Theor Appl Genet* 113, 1409–1420.
- Alam M, Neal J, O'Connor K, et al. (2018) Ultra-high-throughput DArTseq-based silicoDArT and SNP markers for genomic studies in macadamia. *PLoS One* 13(8), e0203465.
- Alsaleh A, Baloch FS, Derya M, et al. (2015) Genetic linkage map of Anatolian durum wheat derived from a cross of Kunduru-1149 × Cham1. *Plant Mol Biol Rep* 33, 209–220.
- Altıntaş S, Toklu F, Kafkas S, et al. (2008) Estimating genetic diversity in durum and bread wheat cultivars from Turkey using AFLP and SAMPL markers. *Plant Breeding* 127, 9–14.
- Balfourier F, Bouchet S, Robert S, et al. (2019) Worldwide phylogeography and history of wheat genetic diversity. *Sci Adv* 5, eaav0536.

- Baloch FS, Alsaleh A, Shahid MQ, et al. (2017) A Whole Genome DArTseq and SNP Analysis for Genetic Diversity Assessment in Durum Wheat from Central Fertile Crescent. PLoS One 12(1), e0167821.
- Baloch FS, Andeden EE, Alsaleh A, et al. (2016) High levels of segregation distortion in the molecular linkage map of bread wheat representing WANA (West Asia and North Africa) region. Turk J Agric For 40, 352–364.
- Barrett B A, and Kidwell K K (1998) AFLP-based genetic diversity assessment among wheat cultivars from the Pacific Northwest. Crop Sci 38, 1261–1271.
- Beres BL, Rahmani E, Clarke JM, et al. (2020) A Systematic Review of Durum Wheat: Enhancing Production Systems by Exploring Genotype, Environment, and Management (G _ E _ M) Synergies. Front Plant Sci 11, 568657.
- Botstein D, White RL, Skolnick M, Davis RW (1980) Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. Am J Hum Genet 32, 314–331.
- Brinez B, Blair MW, Kilian A, et al. (2012) A whole genome DArT assay to assess germplasm collection diversity in common beans. Mol Breeding 30, 181–193.
- Brown, A H D (1989). Core collections: a practical approach to genetic resources management. Genome 31, 818–824.
- CRP-WHEAT (2016). Wheat Agri-Food Systems Proposal 2017-2022". Research Program on Wheat, (CGIAR). Available online at:<https://cgspace.cgiar.org/handle/10947/4421?show=full>
- de Vicente MC, Guzmán FA, Engels J, Rao VR (2005) Genetic characterization and its use in decision making for the conservation of crop germplasm. The Role of Biotechnology, Villa Gualino, Turin, Italy, 5–7 March 2005.
- Edwards D, Batley J, Snowdon RJ (2013) Accessing complex crop genomes with next-generation sequencing. Theor Appl Genet 126, 1–11.
- El Bakkali A, Haouane H, Moukhli A, et al. (2013). Construction of core collections suitable for association mapping to optimize use of Mediterranean olive (*Olea europaea* l.) genetic resources. PLoS One 8, e61265.
- Elshire RJ, Glaubitz JC, Sun Q, et al. (2011) A robust, simple genotyping-by-sequencing (GBS) approach for high diversity species. PLoS One 6, e19379.
- Etminan A, Pour-Aboughadareh A, Mohammadi R, et al. (2018) Applicability of CAAT Box-derived Polymorphism (CBDP) Markers for Analysis of Genetic Diversity in Durum Wheat. Cereal Res Commun 46, 1-9.

- Evanno G, Regnaut S, Goudet J (2005) Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. *Mol Ecol* 14, 2611–2620.
- Falconer D S, and MacKay T F C (1996). *Introduction to Quantitative Genetics*. Longman Group Limited.
- Fayaz F, Aghaee M, Talebi R, Azadi A (2019) Genetic diversity and molecular characterization of iranian durum wheat landraces (*Triticum turgidum* durum (Desf.) Husn.) using DArT markers. *Biochem Genet* 57, 98–116.
- Frankham R (2005). *Genetics and extinction*. *Biol Conserv* 126, 131–140.
- Govindaraj M, Vetriventhan M, Srinivasan M (2015) Importance of genetic diversity assessment in crop plants and its recent advances: an overview of its analytical perspectives. *Genet Res Int* 2015, 431487.
- Grzebelus D, Iorizzo M, Senalik D, et al. (2014) Diversity, genetic mapping, and signatures of domestication in the carrot (*Daucus carota* L.) genome, as revealed by Diversity Arrays Technology (DArT) markers. *Mol Breeding* 33, 625–637.
- Heffner EL, Sorrells ME, Jannink J-L (2009) Genomic selection for crop improvement. *Crop Sci* 49, 1–12.
- Jombart T (2008) Adegnet: A R package for the multivariate analysis of genetic markers. *Bioinformatics* 24(11),1403–1405.
- Kilian A, Huttner E, Wenzl P, et al. (2003) The fast and the cheap: SNP and DArT-based whole genome profiling for crop improvement. In: Tuberosa R, Phillips RL, Gale M (eds) *Proceedings of the international congress In the wake of the double helix: from the green revolution to the gene revolution*, Bologna, pp 443–461.
- Liu K, Muse SV (2005) Power Marker: an integrated analysis environment for genetic marker analysis. *Bioinformatics* 21, 2128–2129.
- Luan S, Chiang TY, and Gong X U N (2006) High genetic diversity vs. low genetic differentiation in nouelia insignis (*Asteraceae*), a narrowly distributed and endemic species in China, revealed by ISSR fingerprinting. *Ann Bot* 98, 583 –589.
- Luo M-C, Yang Z-L, You F, et al. (2007) The structure of wild and domesticated emmer wheat populations, gene flow between them, and the site of emmer domestication. *Theor Appl Genet* 114, 947–959.
- Mahboubi M, Mehrabi R, Naji AM, Talebi R. 2020. Whole-genome diversity, population structure and linkage disequilibrium analysis of globally diverse wheat genotypes using genotyping-by-sequencing DArTseq platform. *Biotech*10:48, 1-13.

- Marzario S, Logozzo G, David JL, et al. (2018) Molecular genotyping (SSR) and agronomic phenotyping for utilization of durum wheat (*Triticum durum* Desf.) ex-situ collection from southern Italy: a combined approach including pedigreed varieties. *Genes* 9: 465.
- Masood MS, Javaid A, Rabbani MA, Anwar R (2005) Phenotypic diversity and trait association in bread wheat (*Triticum aestivum* L.) landraces from Baluchistan, Pakistan. *Pak J Bot* 37: 949.
- Moragues M, Moralejo M, Sorrells ME, Royo C (2007) Dispersal of durum wheat [*Triticum turgidum* L. ssp. *turgidum* convar. *durum* (Desf.) MacKey] landraces across the Mediterranean basin assessed by AFLPs and microsatellites. *Genet Resour Crop Ev* 54, 1133–1144.
- Morgante M, Salamini F (2003) From plant genomics to breeding practice. *Curr Opin Biotechnol* 14, 214–219.
- Murray M G, & Thompson W F (1980). Rapid isolation of high molecular weight plant DNA. *Nucleic Acids Res* 8(19), 4321–4325.
- Nadeem MA, Habyarimana E, Ciftci V, et al. (2018) Characterization of genetic diversity in Turkish common bean gene pool using phenotypic and whole-genome DArTseq-generated silicoDArT marker information. *PLoS One* 13, e0205363.
- Ndjiondjop M-N, Semagn K, Gouda AC, et al. (2017) Genetic Variation and Population Structure of *Oryza glaberrima* and Development of a Mini-Core Collection Using DArTseq. *Front Plant Sci* 8:1748.
- Nielsen NH, Backes G, Stougaard J, et al. (2014) Genetic diversity and population structure analysis of European hexaploid bread wheat (*Triticum aestivum* L.) varieties. *PLoS One* 9, e94000.
- Novoselovic D, Bentley AR, Šimek R, et al. (2016) Characterizing Croatian wheat germplasm diversity and structure in a European context by DArT markers. *Front Plant Sci* 7:184.
- O' zkan H, Brandolini A, Scha" fer-Pregl R, Salamini F (2002) AFLP analysis of a collection of tetraploid wheats indicates the origin of emmer and hard wheat domestication in southeast Turkey. *Mol Biol Evol* 19, 1797–1801.
- O'Connor K, Kilian A, Hayes B, et al. (2019) Population structure, genetic diversity and linkage disequilibrium in a macadamia breeding population using SNP and silicoDArT markers. *Tree Genet Genomes* 15:24.
- Oliveira HR, Campana MG, Jones H, et al. (2012) Tetraploid wheat landraces in the Mediterranean basin: taxonomy, evolution and genetic diversity. *PLoS One* 7, e37063.

- Ouborg N J, Piquot Y, and Groenendael J M (1999). Population genetics, molecular markers and the study of dispersal in plants. *J Ecol* 87, 551–568.
- Pandey MK, Upadhyaya HD, Rathore A, et al. (2014) Genome wide association studies for 50 agronomic traits in peanut using the ‘Reference Set’ comprising 300 genotypes from 48 countries of the semi-arid tropics of the world. *PLoS One* 9(8), e105228.
- Perrier X, Flori A, Bonnot F (2003) Data analysis methods. In: Hamon P, Seguin M, Perrier X, Glaszmann JC (eds) Genetic diversity of cultivated tropical plants. Sci Publishers, Enfield, pp 43–76.
- Perrier X, Jacquemoud-Collet JP (2006) DARwin software. <https://darwin.cirad.fr/darwin>.
- Peterson GW, Dong Y, Horbach C, Fu Y-B (2014) Genotyping-by-sequencing for plant genetic diversity analysis: a lab guide for SNP genotyping. *Diversity* 6, 665–680.
- Pritchard JK, Stephens M, Donnelly P (2000) Inference of population structure using multi-locus genotype data. *Genetics* 155, 945–959.
- R Core Team (2014) R: a language and environment for statistical computing. R Core Team, Vienna.
- Reif J C, Zhang P, Dreisigacker S, et al. (2005) Wheat genetic diversity trends during domestication and breeding. *Theor Appl Genet* 110, 859–864.
- Ren J, Sun D, Chen L, et al. (2013) Genetic diversity revealed by single nucleotide polymorphism markers in a worldwide germplasm collection of durum wheat. *Int J Mol Sci* 14, 7061–7088.
- Rubenstein DK, Heisey P, Shoemaker R, et al. (2005) Crop genetic resources: an economic appraisal. United States Department of Agriculture (USDA). *Eco Inf Bull* 2 (www.ers.usda.gov).
- Sagawa CHD, Cristofani-Yaly M, Novelli VM, et al. (2018) Assessing genetic diversity of Citrus by DArT_seq™ genotyping. *Plant Biosyst* 152, 593–598.
- Seyedimoradi H, Talebi R, Kanouni H, et al. (2020) Genetic diversity and population structure analysis of chickpea (*Cicer arietinum* L.) advanced breeding lines using whole-genome DArTseq-generated SilicoDArT markers. *Braz J Bot* 43, 541–549.
- Talebi R, Fayyaz F (2012) Quantitative evaluation of genetic diversity in Iranian modern cultivars of wheat (*Triticum aestivum* L.) using morphological and amplified fragment length polymorphism (AFLP) markers. *Biharean Biol* 6, 14–18.
- Van de Wouw M, van Hintum T, Kik C, et al. (2010) Genetic diversity trends in twentieth century crop cultivars: a meta-analysis. *Theor Appl Genet* 120, 1241–1252.
- Varshney RK, Pandey MK, Bohra A, et al. (2019) Toward the sequence-based breeding in legumes in the post-genome sequencing era. *Theor Appl Genet* 132, 797–816.

- Yan W, Rutger J N, Bryant R J, et al. (2007) Development and evaluation of a core subset of the USDA rice germplasm collection. *Crop Sci* 47, 869–878.
- Zeven AC (2000) Traditional maintenance breeding of landraces: 1. Data by crop. *Euphytica* 116, 65–85.
- Zhang LY, Liu DC, Guo XL, et al. (2011) Investigation of genetic diversity and population structure of common wheat cultivars in northern China using DArT markers. *Bmc Genet* 12:42.