

# بررسی تنوع ژنتیکی، ساختار جمعیت و الگوی عدم تعادل لینکاژی در ژنوتیپ‌های گندم دوروم (*Triticum durum* Desf.) با استفاده از

## نشانه‌های اس.ان.پی

### Genetic Variation, Population Structure and Linkage Disequilibrium in Durum Wheat (*Triticum durum* Desf.) Genotypes using SNP Markers

سجاد منصورى<sup>۱</sup>، على اشرف مهربانى<sup>۱\*</sup>، ولى‌اله محمدى<sup>۲</sup>، على آرمينيان<sup>۱</sup>، ماريون رودر<sup>۳</sup>

۱- به‌ترتیب دانشجوی دکتری، دانشیار، استادیار، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی دانشگاه

ایلام، ایلام، ایران

۲- دانشیار، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران

۳- استاد، ژنتیک گیاهی، موسسه ژنتیک گیاهی و تحقیقات گیاهان زراعی، گاترزلبرن، آلمان

Mansori S<sup>1</sup>, Mehrabi AA<sup>\*1</sup>, Mohammadi V<sup>2</sup>, Arminian A<sup>1</sup>, Röder M<sup>3</sup>

1- PhD Student, Associate Professor, Assistant Professor, Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, Ilam University, Ilam, Iran

2- Associate Professor, Department of Agronomy and Plant Breeding, University College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, karaj, Iran

3- Professor, Institute of Plant Genetics and Crop Plant Research (IPK), Gatersleben, Germany

\* نویسنده مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: alia.mehrabi@yahoo.com

(تاریخ دریافت: ۹۶/۱۰/۴ - تاریخ پذیرش: ۹۶/۱۲/۱۳)

## چکیده

این پژوهش به منظور بررسی تنوع ژنتیکی، ساختار جمعیت و الگوی عدم تعادل لینکاژی در ژنوتیپ‌های گندم دوروم (*Triticum durum* Desf.) با استفاده از نشانه‌های اس.ان.پی انجام شد. بدین منظور از ۱۴۴ ژنوتیپ گندم دوروم عمدتاً با منشاء ایرانی استفاده شد که از نقاط مختلف ایران جمع‌آوری شده بودند. کل جمعیت مورد بررسی با آرایه 15K اس.ان.پی گندم تعیین ژنوتیپ شد. میانگین آماره ژنتیکی محتوای اطلاعات چندشکلی هر نشانگر در کل جمعیت (۰/۲۶) بود و حداقل و حداکثر آن به ترتیب ۰/۰۸ و ۰/۳۷ برآورد شد. نتایج ضرایب خویشاوندی نسبی بین جفت ژنوتیپ‌ها نشان داد که ۵۸/۸۵ درصد از ضرایب خویشاوندی بین جفت ژنوتیپ‌ها صفر بود و تنها حدود یک درصد از ضرایب دارای مقادیر بیش از ۰/۵ بودند. بنابراین مشخص شد که خویشاوندی بسیار کمی در ژنوتیپ‌های مورد مطالعه وجود دارد. بررسی روابط ژنتیکی بین ژنوتیپ‌های گندم دوروم با استفاده از روش تجزیه به مختصات اصلی نشان داد که نسبت واریانس ژنوتیپی تبیین شده به وسیله دو مولفه نخست به ترتیب ۱۶/۳۵ و ۷/۵۲ درصد است. شش زیرجمعیت در مجموعه ژنوتیپ‌های گندم دوروم با استفاده از برنامه STRUCTURE شناسایی شد و گروه‌بندی به دست آمده با تجزیه مختصات اصلی را تایید کرد. این زیرگروه‌ها تقریباً بر اساس منشاء جغرافیایی از هم تفکیک شدند. اطلاعات حاصل از این تحقیق نشان داد که نشانه‌های اس.ان.پی ابزار بسیار توانمندی برای ارزیابی تنوع ژنتیکی و ساختار جمعیت ژنوتیپ‌های گندم هستند و می‌توانند در انتخاب ژنوتیپ‌ها به‌عنوان والد تلاقی و گزینش به‌کمک نشانگر در برنامه‌های به‌نژادی مورد استفاده قرار گیرند.

## واژه‌های کلیدی

تنوع ژنتیکی

ساختار جمعیت

گندم دوروم

نشانه‌های اس.ان.پی

## مقدمه

گندم دوروم (*Triticum durum* Desf.) یک گونه تتراپلوئید زراعی متشکل از ژنوم‌های A و B است (AABB). این گیاه از اهلی شدن گندم امر وحشی (*T. dicoccoides*) منشاء گرفته است که خود از تلاقی طبیعی بین *T. urartu* (ژنوم AA،  $2n = 14$ ) و یک خویشاوند قدیمی *Aegilops speltoides* (دهنده ژنوم BB) ایجاد شده است (Peng et al. 2011). شواهد باستان‌شناسی و ژنتیکی نشان می‌دهد که اهلی شدن گندم دوروم از امر وحشی در ناحیه هلال حاصل‌خیزی حدود ۸ هزار سال قبل از میلاد اتفاق افتاده است (Salamini et al. 2002; Oliveira et al. 2012). گندم دوروم که منبع اصلی سمولینا است، اغلب در تولید محصولات غذایی از جمله پاستا، بیگل، کوسکوس و دیگر محصولات نهایی محلی مدیترانه‌ای استفاده می‌شود (Elouafi and Nachit 2004). سطح زیر کشت این محصول در جهان ۱۷ میلیون هکتار و تولید آن ۳۵ میلیون تن برآورد شده است که نشان می‌دهد یکی از گیاهان مهم زراعی برای تغذیه بشر است (International Grain Council, IGC Grain Market reports, 2013). امروزه بیش از نیمی از گندم دوروم تولیدی، در منطقه مدیترانه، عمدتاً در ایتالیا، اسپانیا، فرانسه، یونان، غرب آسیا و کشورهای شمال آفریقا کشت می‌شود (Maccaferri et al. 2003). هم‌چنین در ایالات متحده، کانادا و آرژانتین و مقداری در روسیه، ترکیه، مکزیک و هندوستان نیز کشت می‌شود (De Vita et al. 2007). آگاهی از تنوع ژنتیکی و ساختار جمعیت برای به‌نژادی گیاهان زراعی بسیار کلیدی می‌باشد و ارزیابی تنوع در ژرم پلاسما به‌منظور استفاده موثر از منابع ژنتیکی در برنامه‌های به‌نژادی ضروری است (Nielsen et al. 2014). علاوه بر آن، آگاهی از تنوع ژنتیکی و ساختار جمعیت می‌تواند اطلاعات ارزشمندی برای انجام نقشه‌یابی ارتباطی و گزینش به‌کمک نشانگر فراهم کند. ایران به‌عنوان بخشی از هلال حاصل‌خیزی یکی از مرکز اولیه تنوع برای گندم و خویشاوندان وحشی آن به‌شمار می‌رود (Salamini et al. 2002). نشانگرهای مولکولی ابزارهای توانمندی برای ارزیابی تنوع ژنتیکی گیاهان زراعی و وحشی، نقشه‌یابی ژنتیکی و روابط فیلوژنتیکی می‌باشند (Mohammadi and Prasana 2003). تا به امروز نشانگرهای مولکولی متعددی برای مطالعه تنوع ژنتیکی و ساختار جمعیت

ژنوتیپ‌های گندم دوروم شامل RFLP (Sziucs et al. 2000)، RAPD (Autrique et al. 1996; Sziucs et al. 2000)، AFLP (Mantzavinou et al. 2005; Sciacca et al. 2010) و SSR (Medini et al. 2005; Laidò et al. 2013) مورد استفاده قرار گرفته است. چندشکلی حاصل از تفاوت‌های نوکلئوتیدی (اس.ان.پی)، معمول‌ترین تفاوت‌های توالی در ژنوم هستند (Rafalski 2002). نشانگرهای اس.ان. پی برای ارزیابی تنوع ژنتیکی موجود در جمعیت‌ها بسیار مفید می‌باشند، زیرا فراوانی این نوع نشانگر نسبت به دیگر نشانگرها بسیار زیاد بوده و ارزیابی افراد جمعیت با این نوع نشانگر به زمان کمتری نیاز دارد. به‌علاوه به‌دلیل نرخ پایین جهش نسبت به نشانگرهای ریزماهواره، اس.ان.پی‌ها برای مطالعه و بررسی چگونگی تکامل ژنوم بسیار مفیدتر می‌باشند (Varshney et al. 2007). یکی از کاربردهای این نشانگر استفاده از آن‌ها در تعیین ساختار جمعیت است. قدرت آماری تعیین ساختار جمعیت با تعداد نشانگر به کار رفته ارتباط مستقیم دارد، از طرفی قدرت تشخیص هر ۱۰۰ نشانگر اس.ان. پی برابر با ۲۰-۱۰ نشانگر اس.ان. پی است (Kalinowski 2002). علاوه بر این کارایی نشانگرهای اس.ان. پی با میزان اطلاعات بالا (نشانگرهایی که تنوع آلی بالایی در جمعیت از خود نشان می‌دهند) می‌تواند برابر و یا حتی بیش‌تر از نشانگرهای اس.ان. پی باشد (Smith et al. 2007). شناسایی مداوم اس.ان. پی‌ها و توسعه پلتفرم‌های تعیین ژنوتیپ اس.ان. پی، باعث شده است که نشانگرهای اس.ان. پی مورد توجه روز افزون باشند (Edwards et al. 2012). امروزه آرایه‌های تعیین ژنوتیپ اس.ان. پی با تراکم بالا، به‌طور گسترده‌ای برای مطالعه الگوهای ژنومی تنوع و استنتاج روابط خویشوندی و شناسایی روابط نشانگر-صفت در ژرم پلاسما استفاده می‌شوند (Wang et al. 2014).

با وجود مطالعاتی که به بررسی تنوع ژنتیکی و ساختار جمعیت با استفاده از نشانگرهای مولکولی صورت گرفته است، اما تاکنون درباره تنوع ژنتیکی و ساختار جمعیت ژنوتیپ‌های گندم دوروم به‌ویژه ژنوتیپ‌های بومی ایران با استفاده از نشانگرهای اس.ان. پی گزارشی ارائه نشده است. بنابراین استفاده از نتایج این تحقیق می‌تواند در برنامه‌های به‌نژادی گندم‌های دوروم بسیار مورد استفاده قرار گیرد. مهم‌ترین اهداف تحقیق حاضر بررسی تنوع

گرفت. عمده این ژنوتیپ‌ها به مناطق مختلفی از ایران تعلق داشتند و منشأ بقیه از کشورهای ایتالیا، بلغارستان، آرژانتین، کروواسی، استرالیا، پرتغال، افغانستان و عراق بود. اطلاعات جغرافیایی تعدادی از ژنوتیپ‌ها نیز در دسترس نبود و منشأ آن‌ها به‌عنوان نامعلوم نامگذاری شد. (جدول ۱). ژنوتیپ‌های ایرانی خود شامل ۳۷ جمعیت از جنوب غرب، ۲۷ جمعیت از شمال شرق، ۱۴ جمعیت از غرب، هشت جمعیت از شمال غرب، یک جمعیت از مرکز و یک جمعیت از جنوب شرق بود.

ژنتیکی، ارزیابی ساختار جمعیت و الگوی عدم تعادل لینکاژی در ژنوتیپ‌های گندم دوروم با استفاده از نشانگرهای اس. ان. پی بود.

### مواد و روش‌ها

در این مطالعه ۱۴۴ ژنوتیپ گندم دوروم که از بانک ژن دانشکده کشاورزی دانشگاه ایلام، تهیه شده بودند، مورد استفاده قرار

جدول ۱. لیست ژنوتیپ‌های گندم دوروم مورد مطالعه در این تحقیق

شماره	شماره بانک ژن	منشأ	شماره	شماره بانک ژن	منشأ
1	IUGB-00650	اردبیل (مغان)	38	IUGB-00687	بلغارستان
2	IUGB-00651	گلستان (گرگان)	39	IUGB-00688	آرژانتین
3	IUGB-00652	آذربایجان شرقی (میانه)	40	IUGB-00689	استرالیا
4	IUGB-00653	خراسان شمالی (شیروان)	41	IUGB-00690	بلغارستان
5	IUGB-00654	ایران، نامعلوم	42	IUGB-00691	لرستان
6	IUGB-00655	ایران، نامعلوم	43	IUGB-00692	خوزستان (دزفول)
7	IUGB-00656	ایران، رقم زردک	44	IUGB-00693	خوزستان (دزفول)
8	IUGB-00657	مشهد	45	IUGB-00694	لرستان
9	IUGB-00658	مشهد	46	IUGB-00695	لرستان
10	IUGB-00659	مشهد	47	IUGB-00696	لرستان
11	IUGB-00660	مشهد	48	IUGB-00697	لرستان
12	IUGB-00661	مشهد	49	IUGB-00698	لرستان
13	IUGB-00662	مشهد	50	IUGB-00699	لرستان
14	IUGB-00663	مشهد	51	IUGB-00700	لرستان
15	IUGB-00664	مشهد	52	IUGB-00701	لرستان
16	IUGB-00665	مشهد	53	IUGB-00702	لرستان
17	IUGB-00666	مشهد	54	IUGB-00703	لرستان
18	IUGB-00667	لرستان (گلوران)	55	IUGB-00704	کرمانشاه
19	IUGB-00668	لرستان (گلوران)	56	IUGB-00705	کرمانشاه
20	IUGB-00669	لرستان (کاوکالی فلاوندی)	57	IUGB-00706	لرستان
21	IUGB-00670	لرستان (فلاوندی)	58	IUGB-00707	لرستان
22	IUGB-00671	لرستان (زریق آباد)	59	IUGB-00708	لرستان
23	IUGB-00672	میتسوتا	60	IUGB-00709	لرستان
24	IUGB-00673	نامعلوم	61	IUGB-00710	لرستان
25	IUGB-00674	نامعلوم	62	IUGB-00711	ایران، نامعلوم
26	IUGB-00675	نامعلوم	63	IUGB-00712	لرستان
27	IUGB-00676	نامعلوم	64	IUGB-00713	ایران، نامعلوم
28	IUGB-00677	نامعلوم	65	IUGB-00714	ایران، نامعلوم
29	IUGB-00678	ایران، نامعلوم	66	IUGB-00715	ایران، نامعلوم
30	IUGB-00679	ایران، نامعلوم	67	IUGB-00716	ایران، نامعلوم
31	IUGB-00680	ایران، نامعلوم	68	IUGB-00717	لرستان
32	IUGB-00681	کروواسی	69	IUGB-00718	ایران، نامعلوم

33	IUGB-00682	افغانستان	70	IUGB-00719	ایران، نامعلوم
34	IUGB-00683	ایران، نامعلوم	71	IUGB-00720	ایران، نامعلوم
35	IUGB-00684	ایران، نامعلوم	72	IUGB-00721	ایران، نامعلوم
36	IUGB-00685	پرتغال	73	IUGB-00722	ایران، نامعلوم
37	IUGB-00686	افغانستان	74	IUGB-00723	ایران، نامعلوم
شماره	شماره بانک ژن	منشاء	شماره	شماره بانک ژن	منشاء
75	IUGB-00724	ایران، نامعلوم	114	IUGB-00763	کرمانشاه
76	IUGB-00725	ایران، نامعلوم	115	IUGB-00764	ایران، نامعلوم
77	IUGB-00726	ایران، نامعلوم	116	IUGB-00765	کرمانشاه
78	IUGB-00727	ایران (محل نامعلوم)	117	IUGB-00766	کرمانشاه
79	IUGB-00728	کرمان (بیم)	118	IUGB-00767	کرمانشاه
80	IUGB-00729	عراق	119	IUGB-00768	کرمانشاه
81	IUGB-00730	خوزستان (شوشتر)	120	IUGB-00769	کرمانشاه
82	IUGB-00731	کرمانشاه	121	IUGB-00770	کهگیلویه و بویر احمد (گچساران)
83	IUGB-00732	کرمانشاه	122	IUGB-00771	کرمانشاه
84	IUGB-00733	اصفهان (گلپایگان)	123	IUGB-00772	همدان
85	IUGB-00734	ایران، نامعلوم	124	IUGB-00773	خوزستان (ایزه)
86	IUGB-00735	ایران، نامعلوم	125	IUGB-00774	خوزستان (ایزه)
87	IUGB-00736	ایران، نامعلوم	126	IUGB-00775	خوزستان (دزفول)
88	IUGB-00737	ایران، نامعلوم	127	IUGB-00776	خوزستان (دزفول)
89	IUGB-00738	ایران، نامعلوم	128	IUGB-00777	اردبیل
90	IUGB-00739	ایران، نامعلوم	129	IUGB-00778	اردبیل
91	IUGB-00740	مشهد	130	IUGB-00779	اردبیل
92	IUGB-00741	مشهد	131	IUGB-00780	آذربایجان شرقی (اهر)
93	IUGB-00742	مشهد	132	IUGB-00781	آذربایجان شرقی (اهر)
94	IUGB-00743	مشهد	133	IUGB-00782	لرستان
95	IUGB-00744	مشهد	134	IUGB-00783	لرستان
96	IUGB-00745	مشهد	135	IUGB-00784	آذربایجان شرقی
97	IUGB-00746	مشهد	136	IUGB-00785	لرستان
98	IUGB-00747	مشهد	137	IUGB-00786	ایتالیا
99	IUGB-00748	مشهد	138	IUGB-00787	ایتالیا
100	IUGB-00749	مشهد	139	IUGB-00788	ایتالیا
101	IUGB-00750	مشهد	140	IUGB-00945	ایلام (دره شهر)
102	IUGB-00751	مشهد	141	IUGB-00790	ایتالیا
103	IUGB-00752	مشهد	142	IUGB-00791	ایتالیا
104	IUGB-00753	مشهد	143	IUGB-00792	ایتالیا
105	IUGB-00754	مشهد	144	IUGB-00793	ایتالیا
106	IUGB-00755	ایران، نامعلوم			
107	IUGB-00756	ایران، نامعلوم			
108	IUGB-00757	ایران، نامعلوم			
109	IUGB-00758	ایران، نامعلوم			
110	IUGB-00759	لرستان			
111	IUGB-00760	لرستان			
112	IUGB-00761	ایران، نامعلوم			
113	IUGB-00762	کرمانشاه (پاوه)			

برخوردار باشند. نرم‌افزار فوق با ۶۲۸۰ اس. ان. پی برای برآورد تعداد زیرجمعیت‌ها اجرا شد. تعداد بهینه K (یعنی تعداد زیرجمعیت‌های مورد مطالعه در جمعیت مورد نظر) از طریق شبیه‌سازی با طول دوره ۵۰۰۰ Burnin و تعداد تکرار ۵۰۰۰ MCMC در این نرم‌افزار تعیین شد. در این آزمایش مقادیر اولیه K از ۱ تا ۹ در نظر گرفته شد. جهت مطابقت دادن نتایج با یکدیگر و اطمینان از برآورد صحیح پارامترها ۳ تکرار مستقل برای هر یک از زیرجمعیت‌ها لحاظ شد. مدل خطی مخلوط با فراوانی آلی همبسته برای تعیین زیرجمعیت‌ها مورد استفاده قرار گرفت. برای تعیین مطلوب‌ترین تعداد زیرجمعیت از آماره‌های  $\ln P(D)$  و  $\Delta K$  استفاده شد.  $\ln P(D)$  لگاریتم طبیعی درست نمایی توزیع ژنوتیپ‌ها در K زیرجمعیت است. میانگین حسابی این مقادیر بر روی تکرارها (جمع این مقادیر در تکرارهای مختلف و تقسیم آن بر تعداد تکرارها) به‌همراه انحراف معیار مربوطه با  $L(K)$  نشان داده می‌شود که عبارت است از:

$$L(K) = \text{Mean } \ln P(D) \pm SD$$

با ترسیم مقادیر  $L(K)$  بر روی تعداد زیر جمعیت‌ها (K) نموداری به‌دست می‌آید که بهترین زیرجمعیت بر روی این نمودار نقطه‌ای است که نمودار مسطح می‌شود. هم‌چنین در روش دیگری، بیشینه مقدار  $\Delta K$ ، بهترین تعداد زیرجمعیت‌ها را نشان می‌دهد (Evanno et al. 2005). برای تعیین روابط ژنتیکی ژنوتیپ‌ها از تجزیه به مولفه‌های اصلی بر اساس فاصله ژنتیکی به کمک نرم‌افزار NTSYS استفاده شد (Rohlf 2000; Nei 1972). هم‌چنین برای محاسبه ماتریس ضرایب خویشاوندی بین جفت ژنوتیپ‌ها (Kinship) از نرم‌افزار SPAGEDi استفاده شد (Hardy and Vekemans 2002).

عدم تعادل لینکاژی با استفاده از تخمین مربع همبستگی فراوانی آلی بین جفت نشانگرها با استفاده از نرم‌افزار PowerMarker محاسبه شد (Liu and Muse 2005).

### نتایج و بحث

آماره ژنتیکی محتوای اطلاعات چندشکلی معیاری معمول برای نشان دادن کارایی یک لوکوس یا سیستم نشانگر است. میانگین این آماره در کل جمعیت ۰/۲۶ بود. هم‌چنین حداقل و حداکثر آن به ترتیب ۰/۰۸ و ۰/۳۷ برآورد شد. از آنجایی که محتوای اطلاعات

آزمایش‌های مولکولی و تعیین ژنوتیپ نمونه‌ها، در موسسه تحقیقات ژنتیک گیاهان زراعی آلمان (IPK<sup>۱</sup>) انجام شد. بدین منظور از هر ژنوتیپ سه بذر در گلخانه کشت شد و استخراج DNA از نمونه‌های سه برگگی به‌صورت بالک به روش CTAB<sup>۲</sup> با اندکی تغییرات انجام شد (Doyle and Doyle 1990). برای بررسی کیفیت DNA های استخراج شده از ژل آگارز استفاده شد. هر ژنوتیپ با استفاده از آرایه ۱۵K گندم که مجموعه‌ای از ۱۳۰۰۶ اس. ان. پی بود، تعیین ژنوتیپ شد. نمونه‌ها روی چیپ‌های ultra HD Illumina Infinium که هر یک دارای ۲۴ نمونه بودند، آنالیز شدند. سپس نشانگرهایی با داده گم شده بیشتر از ده درصد و فراوانی آلل مینور کمتر از ۵ درصد حذف شدند و مجموعه جدیدی متشکل از ۶۲۸۰ اس. ان. پی برای ارزیابی تنوع ژنتیکی و ساختار جمعیت مورد استفاده قرار گرفت. مکان ژنومی نشانگرهای مورد استفاده در این پژوهش، از اطلاعات نقشه‌یابی لینکاژی ITMI<sup>۳</sup> اس. ان. پی مشخص شده بود، در اختیار این تحقیق قرار گرفت.

آماره ژنتیکی محتوای اطلاعات چندشکلی (PIC<sup>۴</sup>) برای هر نشانگر، به‌وسیله نرم‌افزار PowerMarker با استفاده از رابطه زیر محاسبه شد (Powel et al. 1996).

$$PIC = 1 - \sum_{i=1}^n P_i^2$$

در این رابطه  $P_i$  فراوانی آلل  $i$  ام و  $n$  تعداد آلل هر نشانگر اس. ان. پی است. این شاخص می‌تواند بین صفر (برای آلل‌های یک شکل در جمعیت) و یک (برای آلل‌هایی که فراوانی آن‌ها در جمعیت برابر است) تغییر کند. به‌منظور تعیین ساختار ژنتیکی جمعیت و تعیین زیرجمعیت‌های احتمالی از دو روش گروه‌بندی بیز با استفاده از نرم‌افزار STRUCTURE ۲.۳.۴ و تجزیه به مختصات اصلی (PCoA) استفاده شد (Pritchard et al. 2000). در این روش با استفاده از داده‌های ژنوتیپی چندین جایگاه ژنی، افراد موجود در جمعیت را به زیر گروه‌های مشخصی منتسب می‌کند، به‌طوری که زیرجمعیت‌ها از تعادل هاردی-واینبرگ

<sup>1</sup> Leibniz Institute of Plant Genetics and Crop Plant Research

<sup>2</sup> Cetyl trimethylammonium bromide

<sup>3</sup> International Triticeae Mapping Initiative

<sup>4</sup> Polymorphism Information Content

مطالعات تجزیه ارتباط، وجود ساختار در جمعیت مورد مطالعه، می تواند عامل بازدارنده در جهت دستیابی به نتایج قابل اعتماد باشد و در صورتی که اثر عوامل ساختار جمعیت و روابط خویشاوندی در تجزیه ارتباط در نظر گرفته نشوند، نتایج مثبت کاذب به وجود خواهد آمد (Brescghello and Sorrells 2006). طبق نتایج حاصل از نرم افزار STRUCURE، آماره های  $K$  و  $\Delta K$  استخراج و نمودار دو بعدی آن ها ترسیم شد (شکل ۱). با توجه به اینکه تنها تغییر بسیار جزئی در منحنی  $\ln P(D)$  وجود داشت، بنابراین تعیین زیر جمعیت های احتمالی در ژرم پلاسم امکان پذیر نبود (شکل ۱- الف). در مقابل نمودار  $\Delta K$  به صورت کاملاً واضح یک مقدار بیشینه را در  $K=6$  نشان می دهد که در آن شکستگی کاملاً روشن است (شکل ۱- ب). بنابراین بر اساس نتایج به دست آمده شش زیر جمعیت احتمالی ( $K=6$ ) در ژرم پلاسم مورد مطالعه شناسایی شد (شکل ۲). با در نظر گرفتن مقدار آستانه احتمال عضویت  $0.6$ ، از کل ۱۴۴ ژنوتیپ گندم دوروم، ۳۰ ژنوتیپ به ساختار اول ( $20/9$  درصد)، ۱۱ ژنوتیپ به ساختار دوم ( $7/6$  درصد)، ۱۳ ژنوتیپ به ساختار سوم ( $9$  درصد)، ۴ ژنوتیپ به ساختار چهارم ( $2/8$  درصد)، ۳۴ ژنوتیپ به ساختار پنجم ( $23/6$  درصد) و ۱۲ ژنوتیپ به ساختار ششم ( $8/3$  درصد) تعلق داشتند. ۴۰ ژنوتیپ باقی مانده هم به گروه ژنوتیپ های مخلوط متعلق بودند ( $27/8$  درصد). از آنجا که تعداد زیادی از ژنوتیپ ها به گروه ژنوتیپ های مخلوط منتسب شده اند، نشان دهنده وجود اختلاط<sup>۱</sup> در جمعیت است. اختلاط در جمعیت های گندم دوروم می تواند ناشی از تلفیق در نمونه های بومی از آللهایی از بیش از یک خزانه ژنی منفرد باشد که این امر به دلیل پراکنش گندم از بیش از یک جمعیت اجدادی تکی است (Oliveira et al. 2012). دلیل دیگر می تواند این باشد که جریان ژنی بین ارقام مختلف ممکن است در گذشته از طریق معرفی ژنوتیپ های جدید به مزارع اتفاق افتاده باشد. هم چنین تبادل ژرم پلاسم بین نواحی مختلف مدیترانه ای به دلیل توسعه امپراطوری های قدیم به عنوان دلیل محتمل دیگر اختلاط مطرح می شود (Moragues et al. 2007). با توجه به گروه بندی به دست آمده از نرم افزار STRUCTURE، اغلب ژنوتیپ ها به وسیله منشاء جغرافیایی شان

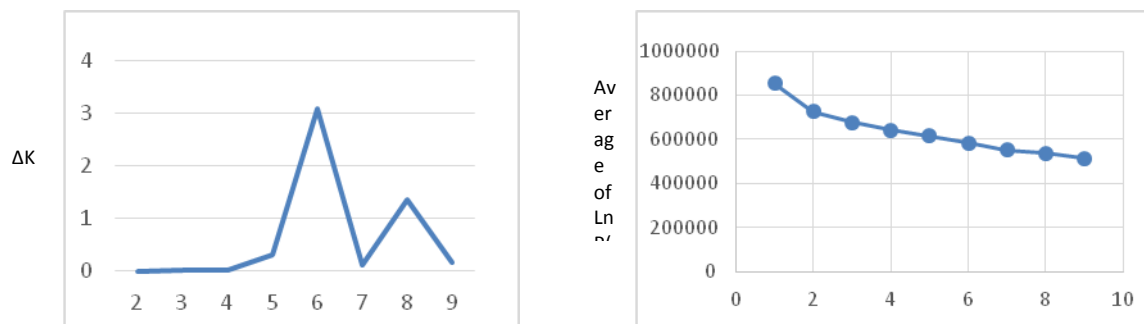
چندشکلی نشانگرهای اس. ان. پی نمی تواند هیچ گاه از  $0.5$  تجاوز کند، در نتیجه تنوع ژنتیکی نسبتاً پایین این نشانگرها مورد انتظار بود، در حالی که برای نشانگرهای چندآلی مانند اس.اس.آر مقدار PIC می تواند تا یک به دست آید (Ren et al. 2013). در تحقیقی از ۱۳۹۵ اس. ان. پی با کیفیت بالا برای ارزیابی تنوع ژنتیکی ۱۷۲ گندم نان استفاده شد که بر اساس نتایج حاصل، میانگین محتوای اطلاعات چندشکلی  $0.33$  گزارش شد (Würschum et al. 2013). در مطالعه دیگر تنوع ژنتیکی ۱۵۰ گندم دوروم را با استفاده از ۹۴۶ نشانگر اس. ان. پی چند شکل، ارزیابی شد. بر اساس نتایج حداقل، حداکثر و میانگین محتوای اطلاعات چندشکلی به ترتیب  $0.16$ ،  $0.2$  و  $0.18$  گزارش شد (Ren et al. 2013). هم چنین ارزیابی ۴۷۸ لاین گندم نان پاییزه و بهاره با استفاده از ۱۲۹۹ اس. ان. پی با کیفیت بالا، میانگین محتوای اطلاعات چندشکلی در جمعیت  $0.16$  گزارش شد (Chao et al. 2010). تفاوت در نتایج گزارش شده به وسیله مطالعات مختلف، ممکن است به دلیل تفاوت ها در تعداد ژنوتیپ های مورد مطالعه، تعداد نشانگرهای مورد استفاده و روش به کار رفته برای آشکار کردن چندشکلی باشد (Zarei Abbasabad et al. 2016). ضرایب خویشاوندی نسبی بین جفت ژنوتیپ ها نشان داد که  $58/85$  درصد از ضرایب خویشاوندی بین جفت ژنوتیپ ها صفر بود و حدود  $18/71$  درصد از مقادیر بین صفر (به جز صفر) تا  $0.1$  بودند. هم چنین درجات متفاوتی از خویشاوندی از  $0.1$  (به جز  $0.1$ ) تا  $0.5$  بین جفت ژنوتیپ ها مشاهده شد که حدود  $20/66$  درصد از جفت ژنوتیپ ها را شامل می شد. تنها حدود یک درصد از ضرایب دارای مقادیر بیش از  $0.5$  بودند. بنابراین نتایج این تجزیه بیانگر این است که خویشاوندی بسیار کمی در ژنوتیپ های مورد مطالعه وجود دارد. از دلایلی که برخی از ژنوتیپ ها ضریب خویشاوندی بالایی داشته اند، شجره مشترک آنهاست، به عبارت دیگر والدین مشترکی در ایجاد آنها نقش داشته اند (Saura et al. 2013).

در مطالعات ژنتیکی، ساختار جمعیت برای توضیح روابط افراد درون و بین جمعیت ها استفاده می شود و چشم اندازی از روابط تکاملی افراد در یک جمعیت را ارائه می نماید. از طرفی در

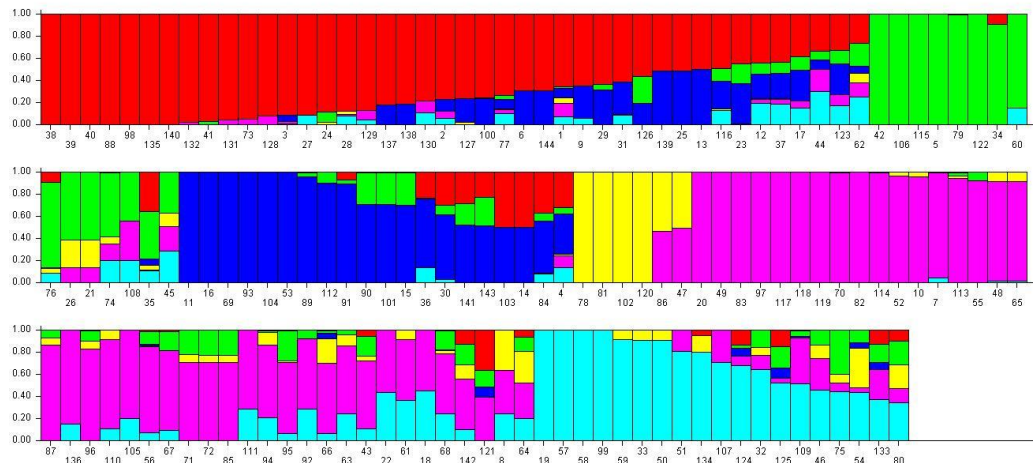
<sup>1</sup> Admixture

از هم تفکیک نشدند و بنابراین هیچ سندی مبنی بر تفکیک جغرافیایی ژنوتیپ‌ها در گروه‌بندی یافت نشد. این نتایج نشان می‌دهد که روابط بین ژنوتیپ‌ها به شدت به وسیله تنوع درونی هر منطقه جغرافیایی متاثر می‌شود. در نتیجه کشورها یا مناطقی که تنوع نسبتاً زیادی دارند، به آسانی گروه‌بندی نمی‌شوند، چون فاصله ژنتیکی‌شان زیاد است. نتایج این تحقیق با نتایج مطالعه اخیر مطابقت داشت (Ren et al. 2013). وجود زیرگروه‌ها در داخل یک جمعیت بزرگ می‌تواند به دلایلی از جمله منشاء جغرافیایی مختلف ژنوتیپ‌ها، انتخاب طبیعی یا انسانی یا رانش ژنتیکی باشد (Flint-Garcia et al. 2003; Buckler and

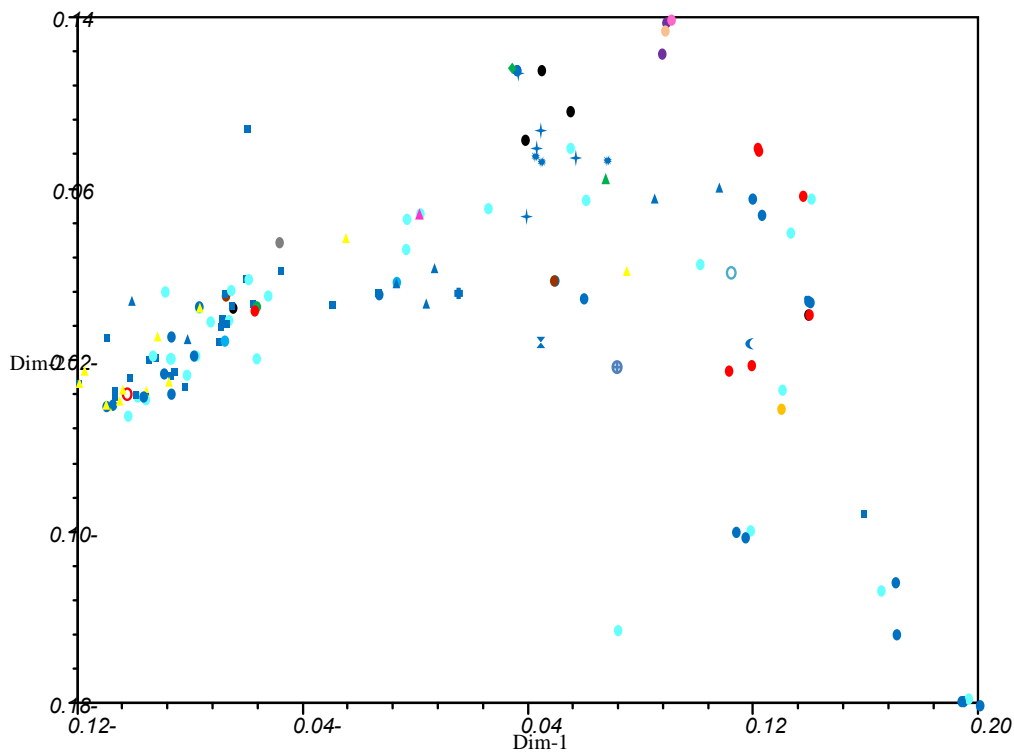
Thornberry 2002). به منظور بررسی بیشتر ساختار جمعیت و همچنین مطالعه روابط ژنتیکی بین ژنوتیپ‌های گندم دوروم، از روش تجزیه به مختصات اصلی استفاده شد. در تجزیه به مختصات اصلی بر اساس داده‌های ژنوتیپی، پلات دو بعدی گروه بندی بسیار مشخصی از ژنوتیپ‌ها را نشان نداد (شکل ۳). یک دلیل برای این موضوع می‌تواند بخاطر تعداد نابرابر ژنوتیپ‌ها از هر منطقه در ژرم پلاسم مورد بررسی باشد. نتایج نشان داد که نسبت واریانس ژنوتیپی تبیین شده به وسیله اولین دو مختصات اصلی به ترتیب ۱۶/۳۵ و ۷/۵۲ درصد است.



شکل ۱- نمودارهای دوطرفه برای تعیین تعداد مناسب زیرجمعیت در ژنوتیپ‌های مورد مطالعه بر اساس (الف)  $\Delta K$  و (ب)  $\Delta K$



شکل ۲- تجزیه کلاستر مبتنی بر مدل بیز برای ۱۴۴ ژنوتیپ گندم دوروم مورد مطالعه بر اساس  $K=6$ . هر رنگ یک زیر جمعیت یا کلاستر را نشان می‌دهد. محور عمودی ضریب تعلق هر فرد به هر کلاستر را نشان می‌دهد.



- نامعلوم
- آرزانتین
- عراق
- پرتغال
- افغانستان
- استرالیا
- کروواسی
- بلغارستان
- ایتالیا
- همدان
- اصفهان
- کهکیلویه
- آذربایجان. ش
- اردبیل
- خوزستان
- کرمانشاه
- لرستان
- مشهد
- ایران نامعلوم
- رقم زردک
- رقم میتسوتا
- خراسان رض
- کرمان
- گرگان
- ایلام

شکل ۳- نمودار بای پلات حاصل از تجزیه به مختصات اصلی ۱۴۴ ژنوتیپ گندم دوروم

که این جمعیت‌ها از تنوع ژنتیکی بیش‌تری نسبت به دیگر جمعیت‌ها برخوردار هستند و بنابراین نمی‌توانند با همدیگر به یک گروه منتسب شوند. ژنوتیپ‌هایی از مناطق شمال‌غربی ایران، استان‌های آذربایجان شرقی و اردبیل، یک گروه کوچک در بالای نمودار تشکیل می‌دهند. ژنوتیپ‌هایی از ایتالیا، بجز یک مورد، با همدیگر یک گروه تشکیل دادند که نشان‌دهنده تکامل متمایز آن‌ها از ژنوتیپ‌های ایرانی است. هم‌چنین ژنوتیپ‌هایی با منشأ ناشناخته به‌طور تصادفی در همه جای نمودار پراکنده بودند و الگوی خاصی را نشان ندادند. در مجموع نتایج حاصل از تجزیه به مختصات اصلی نشان داد که تنوع ژنتیکی بالایی در ژنوتیپ‌های مورد مطالعه به‌خصوص جمعیت‌های ایرانی وجود دارد. مطالعات ژنتیکی گذشته روی ژنوتیپ‌های ایرانی گندم دوروم در مقایسه با نمونه‌های خارجی، با استفاده از نشانگرهای

اگرچه نمودار نشان داد ژنوتیپ‌های مربوط به مناطق غربی و جنوب‌غربی ایران، استان‌های کرمانشاه و لرستان، به یک گروه منتسب می‌شوند که در سمت چپ نمودار مشخص هستند. این نشان می‌دهد که این ژنوتیپ‌ها از لحاظ ژنتیکی بیش‌تر به هم نزدیکند که در توافق با مطالعه گذشته است ( Omidbakhsh Fard et al. 2009). فاصله ژنتیکی کم بین این جمعیت‌ها می‌تواند به دلیل قرابت جغرافیایی آن‌ها باشد. بررسی تنوع ژنتیکی نمونه‌های گندم دوروم با استفاده از نشانگرهای ریزماهواره نشان داد که شباهت ژنتیکی بین ژنوتیپ‌های کرمانشاه و لرستان وجود دارد (Omidbakhsh Fard et al. 2009). ژنوتیپ‌های متعلق به شمال‌غرب ایران، از دیگر ژنوتیپ‌های مورد مطالعه تفکیک شدند. پراکنش گسترده ژنوتیپ‌های متعلق به نواحی شمال‌شرق ایران، استان خراسان رضوی، در سطح نمودار بای پلات نشان می‌دهد



موضوع است که لینکاژ یکی از موثرترین نیروهای ایجادکننده عدم تعادل در جمعیت است. علاوه بر این، مقادیر بالای عدم تعادل لینکاژی می‌تواند نتیجه گزینش باشد که باعث افزایش همبستگی‌های بین آلی در لوکوس‌های خاصی می‌شود (Schlotterer 2003). جفت نشانگرهایی که در فاصله کم‌تر از ۵ سانتی‌مورگان قرار دارند و پیوستگی زیادی با هم دارند، بیش‌ترین عدم تعادل را در میان همه کروموزوم‌ها، از خود نشان دادند. در این فاصله ژنتیکی بیش‌ترین عدم تعادل لینکاژی مربوط به کروموزوم شماره 6A و کم‌ترین مقدار به کروموزوم‌های شماره 1B و 6B اختصاص داشت. در فاصله ۵ تا ۱۰ سانتی‌مورگان بیش‌ترین مقدار مربوط به کروموزوم شماره 3A و 1A و کم‌ترین مقدار مربوط به کروموزوم شماره 4A بود. در بین نشانگرهای مستقل از هم با فاصله بیش از ۵۰ سانتی‌مورگان، بیش‌ترین عدم تعادل لینکاژی به کروموزوم‌های 3A، 4B، 5A اختصاص داشت. گاهی اوقات دو نشانگر که بسیار بهم نزدیک هستند، ممکن است مقدار عدم تعادل لینکاژی پایینی از خود بروز دهند یا نشانگرهایی با فاصله دورتر از هم، مقدار عدم تعادل لینکاژی بالایی را نشان دهند. برای مثال در این تحقیق، جفت نشانگرهایی با یک فاصله ژنتیکی بیش از ۵۰ سانتی‌مورگان روی کروموزوم‌های 4B، 5A و 3A عدم تعادل لینکاژی بالاتری در مقایسه با بقیه نشان دادند. این تنوع احتمالاً به دلیل نرخ‌های متفاوت نوترکیبی بین و درون کروموزوم‌ها، هتروزیگوسیتی، رانش ژنتیکی و اثرات گزینش است (Reich and Lander 2001). تجزیه عدم تعادل لینکاژی هم‌چنین در سطح ژنوم نیز بررسی شد. برای نمایش گستره عدم تعادل در سطح ژنوم، متوسط کاهش عدم تعادل از طریق پلات کردن مقادیر  $r^2$  درون کروموزومی نسبت به فاصله ژنتیکی بین نشانگرها حاصل شد (شکل ۴). به‌طور کلی نتایج این تجزیه نشان داد که یک تنوع قابل ملاحظه در مقدار عدم تعادل لینکاژی روی کروموزوم‌های مختلف گندم دوروم وجود دارد. سطح بالای عدم تعادل لینکاژی در بسیاری از نواحی کروموزومی در جمعیت، نشان می‌دهد که نقشه‌یابی ارتباطی می‌تواند روش موثری برای شناسایی کیو.تی.ال‌ها و تایید آن‌ها در این نواحی باشد (Zhang et al. 2010).

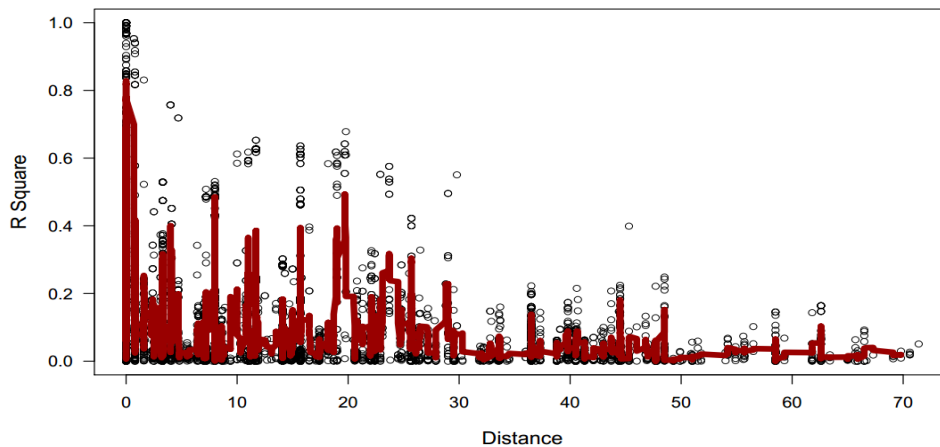
مولکولی مختلف بیانگر سطوح بالایی از تنوع ژنتیکی در میان آن‌هاست که بیش‌تر گزارش شده‌است (Mardi 2011; Sabouri 2016; Etminan et al. 2012; Robat). به‌طور کلی تنوع ژنتیکی زیاد می‌بایست در مرکز منشا و مرکز اهلی شدن وجود داشته باشد (Ren et al. 2013). Vavilov (1951) نشان داد که مناطق خاورمیانه، خاور نزدیک و شمال آفریقا، نواحی پیدایش و تنوع گندم دوروم می‌باشند.

گستره عدم تعادل لینکاژی تعیین‌کننده تعداد نشانگرهای مورد نیاز برای شناسایی ارتباطات نشانگر-صفت و وضوح نقشه‌یابی است (Flint-Garcia et al. 2003). از طرف دیگر، آگاهی از گستره عدم تعادل لینکاژی در ژنوم در نقشه‌یابی ارتباطی که مکان‌یابی کیو.تی.ال‌ها بر اساس این شاخص انجام می‌شود، از اهمیت مهمی برخوردار است (Al-Maskri et al. 2012). شاخص عدم تعادل لینکاژی با استفاده از ۳۳۲۱ نشانگر اس.ان. پی با جایگاه مشخص کروموزومی در طول ۱۴ کروموزوم گندم دوروم ارزیابی شد. مقادیر عدم تعادل لینکاژی جفتی با استفاده از مربع همبستگی‌های فراوانی آلی ( $r^2$ ) بین نشانگرها تخمین زده شد. به‌منظور شناسایی تفاوت‌ها در عدم تعادل لینکاژی درون کروموزومی، مقادیر میانگین  $r^2$  بین جفت نشانگرها به پنج گروه بر اساس فاصله ژنتیکی بین آن‌ها تقسیم‌بندی شدند. نشانگرهایی با پیوستگی بسیار زیاد (با فاصله کم‌تر از ۵ سانتی‌مورگان)، نشانگرهای پیوسته (با فاصله ۱۰-۵۰ سانتی‌مورگان)، نشانگرهایی با پیوستگی متوسط (با فاصله ۲۰-۱۰۰ سانتی‌مورگان)، نشانگرهایی با پیوستگی ضعیف (با فاصله ۵۰-۲۰۰ سانتی‌مورگان) و نشانگرهای مستقل (با فاصله بیش‌تر از ۵۰ سانتی‌مورگان). میانگین شاخص عدم تعادل لینکاژی ( $r^2$ ) برای گروه‌های مذکور و برای هر کروموزوم به‌طور جداگانه در جدول ۲ نشان داده شده‌است. ارزیابی عدم تعادل لینکاژی درون کروموزومی نشان داد با افزایش یافتن فاصله ژنتیکی، عدم تعادل لینکاژی کاهش می‌یابد. هم‌چنین نتایج نشان می‌دهد عدم تعادل لینکاژی در طول کروموزوم و از کروموزومی به کروموزوم دیگر متغیر است که با مطالعات پیشین مطابقت دارد (Hao et al. 2010; Chao et al. 2011). در این تحقیق بیش‌ترین مقدار عدم تعادل لینکاژی برای نشانگرهایی با فاصله کم‌تر از پنج سانتی‌مورگان روی کروموزوم 6A مشاهده شد که نشان‌دهنده این

جدول ۲- میانگین شاخص عدم تعادل لینکاژی در فواصل ژنتیکی مختلف بر روی کروموزوم‌های مختلف گندم دوروم

کروموزوم	طول نقشه (سانتی‌مورگان)	میانگین شاخص عدم تعادل لینکاژی ( $I^2$ ) بین جفت نشانگرها				
		D < 5 cM	D = 5-10 cM	D = 10-20 cM	D = 20-50 cM	D > 50 cM
1A	۱۰۶	۰/۳۱۴	۰/۰۹۴	۰/۰۶۹	۰/۰۴۸	۰/۰۳۵
1B	۱۰۱/۵	۰/۱۲۷	۰/۰۴۴	۰/۰۴۳	۰/۰۳۹	۰/۰۳۴
2A	۱۱۹/۷	۰/۱۴۷	۰/۰۴۱	۰/۰۹۲	۰/۰۳۷	۰/۰۳۲
2B	۱۴۴/۲	۰/۱۴۹	۰/۰۸۳	۰/۰۶۵	۰/۰۴۳	۰/۰۴۱
3A	۱۶۳/۴	۰/۲۶۴	۰/۰۹۹	۰/۰۵۱	۰/۰۵۲	۰/۰۴۷
3B	۱۳۷	۰/۱۳۹	۰/۰۵۲	۰/۰۵۵	۰/۰۳۸	۰/۰۳۵
4A	۱۶۱/۸	۰/۲۳۸	۰/۰۲۹	۰/۰۳۳	۰/۰۲۳	۰/۰۳۹
4B	۱۰۷	۰/۱۴۷	۰/۰۴۴	۰/۰۳۶	۰/۰۴۴	۰/۰۴۸
5A	۱۰۶/۷	۰/۲۱۷	۰/۰۷۷	۰/۰۴۹	۰/۰۳۷	۰/۰۶۱
5B	۱۷۹/۶	۰/۲۵۰	۰/۰۶۲	۰/۰۳۸	۰/۰۳۳	۰/۰۳۱
6A	۱۲۰/۲	۰/۳۱۷	۰/۰۴۷	۰/۱۵۳	۰/۰۴۰	۰/۰۳۴
6B	۱۱۰/۴	۰/۱۲۷	۰/۰۴۶	۰/۰۴۱	۰/۰۳۸	۰/۰۳۹
7A	۱۶۵/۹	۰/۱۴۹	۰/۰۴۳	۰/۰۴۳	۰/۰۳۱	۰/۰۴۰
7B	۱۴۲	۰/۱۴۵	۰/۰۴۹	۰/۰۴۲	۰/۰۴۱	۰/۰۳۲

D: فاصله ژنتیکی جفت نشانگرها



شکل ۴- کاهش عدم تعادل لینکاژی در سطح ژنوم

### نتیجه‌گیری کلی

آگاهی از تنوع ژنتیکی ژرم پلاسما گیاهی که از نقاط جغرافیایی مختلف جمع‌آوری شده‌اند، تاثیر مهمی روی حفظ و استفاده از این منابع ژنتیکی در برنامه‌های به‌نژادی دارد. علاوه بر این، ارزیابی تنوع ژنتیکی و ساختار جمعیت پیش نیازهای ضروری برای اجرای موفقیت‌آمیز روش‌های نقشه‌یابی ارتباطی هستند. تحقیق حاضر با هدف ارزیابی تنوع ژنتیکی، ساختار جمعیت و الگوی عدم تعادل لینکاژی ۱۴۴ ژنوتیپ گندم با استفاده از آرایه 15K اس. ان. پی انجام شد. نتایج حاصل از آنالیزهای متعدد نشان داد که تنوع ژنتیکی قابل توجهی در بین ژنوتیپ‌های گندم دوروم

مورد مطالعه به‌خصوص جمعیت‌های ایرانی وجود دارد که می‌توانند در انتخاب ژنوتیپ‌ها به‌عنوان والد تلاقی در برنامه‌های به‌نژادی مورد استفاده قرار گیرند. تجزیه عدم تعادل لینکاژی تنوع قابل ملاحظه‌ای را در مقدار عدم تعادل روی کروموزوم‌های مختلف گندم دوروم نشان داد که می‌تواند در نقشه‌یابی ارتباطی نشانگرهای مولکولی مرتبط با صفات زراعی ارزشمند باشد. هم‌چنین اطلاعات حاصل از این تحقیق نشان داد که نشانگرهای اس. ان. پی ابزار بسیار توانمندی برای ارزیابی تنوع ژنتیکی و ساختار جمعیت ژنوتیپ‌های گندم هستند که می‌توانند در

از دولت جمهوری اسلامی ایران و وزارت علوم، تحقیقات و فناوری به دلیل فراهم نمودن امکان استفاده اینجانب از فرصت تحقیقاتی و هم‌چنین موسسه تحقیقات ژنتیک گیاهی IPK آلمان صمیمانه تشکر و قدردانی می‌شود.

روش‌هایی اصلاحی مانند انتخاب به کمک نشانگر در برنامه‌های به‌نژادی مورد استفاده قرار گیرند.

سپاسگزاری

### منابع

- Al-Maskri AY, Sajjad M, and Khan SH (2012) Association mapping: a step forward to discovering new alleles for crop improvement. *International Journal of Agriculture and Biology* 14:153-160
- Autrique E, Nachit M, Monneveux P, Tanksley SD, Sorrells ME (1996) Genetic diversity in durum wheat based on RFLP, morphophysiological traits and coefficient of parentage. *Crop Science* 36:735-742.
- Breseghele F, Sorrells ME (2006) Association mapping of kernel size and milling quality in wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars. *Genetics* 172:1165-1177.
- Brookes AJ (1999) The essence of SNPs. *Gene* 234:177-186.
- Buckler ES, Thornsberry JM (2002) Plant molecular diversity and applications to genomics. *Current Opinion in Plant Biology* 5:107-111.
- Chao S, Dubcovsky J, Dvorak J, et al (2010) Population- and genome-specific patterns of linkage disequilibrium and SNP variation in spring and winter wheat (*Triticum aestivum* L.). *BMC Genomics* 11:727-744.
- De Vita P, Nicosia OLD, Nigro F, Platani C, Riefolo C, Di Fonzo N, Cattivelli L (2007) Breeding progress in morphophysiological, agronomical and qualitative traits of durum wheat cultivars released in Italy during the 20th century. *European Journal of Agronomy* 26:39-53
- Doyle JJ, Doyle JL (1990) Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus* 12:13-15
- Edwards D, Batley J, Snowdon RJ (2012) Accessing complex crop genomes with next-generation sequencing. *Theoretical and Applied Genetics* 126:1-11.
- Elouafi I, Nachit MM (2004) A genetic linkage map of the Durum  $\times$  *Triticum dicoccoides* backcross population based on SSRs and AFLP markers, and QTL analysis for milling traits. *Theoretical and Applied Genetics* 108:401-413
- Etminan A, Pour-Aboughadareh A, Mohammadi R, Ahmadi-Rad A, Noori A, Mahdavian R, and Moradi Z (2016) Applicability of start codon targeted (SCoT) and inter-simple sequence repeat (ISSR) markers for genetic diversity analysis in durum wheat genotypes. *Biotechnology and Biotechnological Equipment* 30:1075-1081.
- Evanno G, Regnaut S, Goudet J (2005) Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. *Molecular Ecology* 14:2611-2620.
- Flint-Garcia SA, Thornsberry JM, Buckler ES (2003) Structure of linkage disequilibrium in plants. *Annual Review of Plant Biology* 54:357-374.
- Hao C, Wang L, Ge H, Dong Y, and Zhang X (2011) Genetic diversity and linkage disequilibrium in chinese bread wheat (*Triticum aestivum* L.) Revealed by SSR Markers. *PLoS One*. 6:e17279
- Hardy OJ, Vekemans X (2002) SPAGeDi: a versatile computer program to analyse spatial genetic structure at the individual or population levels. *Molecular Ecology Notes* 2:618-620.
- IPO International Pasta Organization (2013) The World Pasta Industry Status Report. [www.internationalpasta.org](http://www.internationalpasta.org) p. 44.
- Kalinowski ST (2002) How many alleles per locus should be used to estimate genetic distances? *Heredity* 88:62-65
- Laidò G, Mangini G, Taranto F, Gadaleta A, Blanco A, Cattivelli L, et al (2013) Genetic diversity and population structure of tetraploid wheats (*Triticum turgidum* L.) estimated by SSR, DArT and pedigree data. *PLOS One* 8:e67280.
- Liu K, and Muse SV (2005) PowerMarker: an integrated analysis environment for genetic marker analysis. *Bioinformatics* 21:2128-2129.
- Maccaferri M, Sanguineti MC, Donini P, Tuberosa R (2003) Microsatellite analysis reveals a progressive widening of the genetic basis in the elite durum wheat germplasm. *Theoretical and Applied Genetics* 107:783-797.
- Mantzavinou A, Bebeli PJ, Kaltsikes PJ (2005) Estimating genetic diversity in Greek durum wheat landraces with RAPD markers. *Australian Journal of Agricultural Research* 56:1355-1364.
- Mardi M, Naghavi MR, Pirseyedi SM, Kazemi Alamooti M, Rashidi Monfared S, Ahkami AH, Omidbakhsh MA, Alavi NS, Salehi Shanjani P, and Katsiotis A (2011) Comparative assessment of SSAP, AFLP and SSR markers for evaluation of genetic diversity of durum wheat (*Triticum turgidum* L. var. durum). *Journal of Agricultural Science and Technology* 13:905-920.
- Medini M, Hamza S, Rebai A, Baum M (2005) Analysis of genetic diversity in Tunisian durum wheat cultivars and related wild species by SSR and AFLP markers. *Genetic Resources and Crop Evolution* 52:21-31.
- Mohammadi SA, Prasanna BM (2003) Analysis of genetic diversity in crop plants- Salient statistical tools and considerations. *Crop Science* 43:1235-1248.

- Moragues M, Moralejo MA, Sorrells ME, Royo C (2007) Dispersal of durum wheat landraces across the Mediterranean basin assessed by AFLPs and microsatellites. *Genetic Resource Crop Evolution* 54:1133-1144.
- Nei M (1972) Genetic distance between Populations. *The American Naturalist* 106:283-292.
- Nielsen NH, Backes G, Stougaard J, Andersen SU, Jahoor A (2014) Genetic diversity and population structure analysis of european hexaploid bread wheat (*Triticum aestivum* L.) Varieties. *PLoS One* 9:4:e94000.
- Oliveira HR, Campana MG, Jones H, Hunt HV, Leigh F, Redhouse DI, Lister DL, and Jones MK (2012). Tetraploid wheat landraces in the Mediterranean basin: taxonomy, evolution and genetic diversity. *PLoS One* 7:e37063.
- OmidBakhsh Fard MA, Naghavi MR, Mardi M, Bihamta MR, Kazemi M, Pirseyedi SM (2009). A Study of Genetic Diversity in Durum Wheat (*Triticum turgidum*) using Microsatellite Markers. *Iranian Journal of Field Crop Science* 40:75-83. (In Farsi).
- Peng J, Sun D, Nevo E (2011) Wild emmer wheat, *Triticum dicoccoides*, occupies a pivotal position in wheat domestication process. *Australian Journal of Crop Science* 5:1127-1143.
- Powell W, Morgante M, Andre C, Hanafey M, Vogel J, Tingey S, Rafalski A (1996) The comparison of RFLP, RAPD, AFLP and SSR (microsatellite) markers for germplasm analysis. *Molecular Breeding* 2:225-238.
- Pritchard JK, Stephens M, Donnelly P (2000) Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics* 155:945-59.
- Rafalski A (2002) Applications of single nucleotide polymorphisms in crop genetics. *Current Opinion in Plant Biology* 5:94-100.
- Reich DE, Lander ES (2001) On the allelic spectrum of human disease. *Trends Genetics*. 17:502-10.
- Ren J, Sun D, Chen L, You FM, Wang J, Peng Y, Nevo E, Sun D, Luo MC Peng J (2013) Genetic diversity revealed by single nucleotide polymorphism markers in a Worldwide Germplasm Collection of durum wheat. *International Journal of Molecular Sciences*. 14:7061-7088.
- Rohlf FJ (2000) NTSYS-pc numerical taxonomy and multivariate analysis system. Applied Biostatistics, Exerter Publishing Ltd., New York, Software, ISBN 0-925031-18-6.
- Sabouri Robot E (2012) Evaluation of genetic variation of durum wheat cultivars based on glutenin gene by using STS molecular marker. Dissertation, University of Zabol, Iran. (In Farsi).
- Salamini F, Özkan H, Brandolini A, Schäfer-Pregl R, Martin W (2002) Genetics and geography of wild cereal domestication in the Near East. *Nature Reviews Genetics* 3:429-441.
- Saura M, Fernández A, Rodríguez MC, Toro MA, Barragán C, Fernández AL, Villanueva B (2013) Genome-Wide estimates of coancestry and inbreeding in a closed herd of ancient iberian Pigs. *PLOS One* 8:e78314.
- Schlötterer C (2003) Hitchhiking mapping-functional genomics from the population genetics perspective. *Trends Genetics* 19:32-38.
- Sciacca F, Fichera C, Di Silvestro S, Conte E Palumbo M (2010) Genetic diversity of durum wheat as determined by AFLP in fluorescence. *Biologia Plantarum* 54:198-200.
- Smith CT, Antonovich A, Templin WD, Elfstrom CM, Narum SR, Seeb LW (2007) Impacts of marker class bias relative to locus-specific variability on population Inferences in chinook salmon: A Comparison of Single-Nucleotide Polymorphisms with Short Tandem Repeats and Allozymes. *Transactions of the American Fisheries Society* 136:1674-1687.
- Szücs P, Juhasz A, Karsai I, Láng L, Veisz O, Bedo, Z (2000) Use of molecular markers for studying genetic diversity in durum wheat (*Triticum durum* Desf.). *Journal of Genetics and Breeding* 54:25-33.
- Varshney RK, Chabane K, Hendre PS, Aggarwal RK, Graner A (2007) Comparative assessment of EST-SSR, EST-SNP and AFLP markers for evaluation of genetic diversity and conservation of genetic resources using wild, cultivated and elite barleys. *Plant Science* 173:638-649.
- Vavilov, NI (1951) Phytogeographic basis of plant breeding: The origin, variation, immunity and breeding of cultivated plants. *Chronica Botanica* 13:1-366.
- Wang S, Wong D, Forrest K, et al (2014) Characterization of polyploidy wheat genomic diversity using a high-density 90 000 single nucleotide polymorphism array. *Plant Biotechnology Journal* 12:787-796.
- Würschum T, Langer S, Longin C, Korzun V, Akhunov E, Ebmeyer E, Schachschneider R, Schacht J, Kazman E, Reif J (2013) Population structure, genetic diversity and linkage disequilibrium in elite winter wheat assessed with SNP and SSR markers. *Theoretical and Applied Genetics* 126:1477-1486.
- Zarei Abbasabad E, Mohammadi S, Moghaddam M, and Jalal Kamali M (2017) Analysis of genetic diversity, population structure and linkage disequilibrium in Iranian wheat landraces using SSR markers. *Plant Genetic Resources* 15:327-334.
- Zhang D, Bai G, Zhu C, Yu J, and Carver BF (2010) Genetic Diversity, Population Structure, and Linkage Disequilibrium in U.S. Elite Winter Wheat. *The Plant Genome* 3:117-127.
- Zoric M, Dodig D, Kobiljski B, Quarrie S, and Barnes J (2012) Population structure in a wheat core collection and genomic loci associated with yield under contrasting environments. *Genetica* 140:259-275.