

چکیده

واژه‌های کلیدی

پسته،

تنوع نوکلئوتیدی،

توالی‌یابی کل ژنوم،

مقاومت به آفت،

GATK

بررسی تنوع ژنومی ارقام پسته مقاوم و حساس به آفت پسپیل با استفاده از روش توالی‌یابی کل ژنوم

Evaluation of genomic diversity of pistachio resistant and susceptible cultivars to pest psyllid using whole genome sequencing approach

مرضیه سعادت‌تی جبلی^۱، سید حسن مرعشی^{۲*}، فرج الله شهریار^۲، علیرضا سیفی^۲، لیدا فکرت^۳

Marzieh Saadati Jebeli¹, Seyed Hassan Marashi^{2*}, Farajollah Shahriari², Alireza Seifi², Lida Fekrat³

۱- دانشجوی دکتری گروه بیوتکنولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، ایران.

۲- گروه بیوتکنولوژی، ۳- گروه گیاه پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، ایران.

1. PhD student, Department of Biotechnology, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Iran.

2. Department of Biotechnology, 3. Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Iran.

*Corresponding Author, Email:

marashi@um.ac.ir: پست الکترونیکی

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۴/۱۹ - تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۶/۱۹)

پسته یکی از مهم‌ترین محصولات باغی است که به دلیل دوپایه بودن و هتروزیگوسیتی بالا، دارای تنوع ژنتیکی زیادی است، از این رو شناسایی تنوع ژنتیکی موجود در بین ژنوتیپ‌های پسته در جهت اصلاح و تولید ارقام مقاوم به پسپیل اهمیت ویژه‌ای دارد. پسپیل پسته یکی از مهم‌ترین آفات درخت پسته است که پوره و حشرات بالغ این آفت با مصرف شیره گیاه سبب افزایش میزان پوکی، عدم خندانی و همچنین کاهش عملکرد می‌شود. در این پژوهش چندشکلی‌های تک‌نوکلئوتیدی و حذف و اضافه کوچک در چند رقم ایرانی پسته حساس (اکبری، کله قوچی، احمدآقایی، ممتاز) و مقاوم (بادامی زرنده، حاج عبداللهی، ایتالیایی، سرخس) به پسپیل مورد بررسی قرار گرفت. ابتدا خوانش‌ها با ژنوم مرجع هم‌ردیف شدند و سپس چندشکلی‌های تک‌نوکلئوتیدی و حذف و اضافه‌های کوچک مشخص شدند. درصد هم‌ردیفی خوانش‌ها با ژنوم مرجع بالای ۹۶ درصد بود که نشان دهنده کیفیت بالای هم‌ردیفی بود. ارقام حساس به ترتیب دارای ۲۹۲۰۶۸۸ و ۷۰۱۱۰۹ و ارقام مقاوم دارای ۲۹۱۹۸۹۸ و ۷۰۱۰۰۰ چندشکلی تک‌نوکلئوتیدی و حذف و اضافه کوچک بود. در مجموع، نتایج تجزیه و تحلیل داده‌ها نشان داد که تنوع ساختاری و چندشکلی تک‌نوکلئوتیدی و حذف اضافه کوچک ژنوم در ارقام حساس بیشتر از ارقام مقاوم است.

Genetic Engineering and Biosafety Journal
Volume 11, Number 1, 2022

Abstract

Pistachio is one of the most important crops that have a large genetic diversity due to its dicotyledonous and high heterozygosity, so identifying these genetic differences is of particular importance for breeding and production of psyllid-resistant pistachio cultivars. Pistachio psyllid is one of the most important pests of the pistachio tree. The nymphs and adult insects of this pest increase the amount of porosity, and reduce yield and lack of laughter, by consuming plant sap. In this study, single nucleotide polymorphisms (SNP) and small indels were investigated in Iranian pistachio sensitive cultivars (Akbari, Kaleghoochi, Ahmad Aghaei, Momtaz) and resistant cultivars (Badami Zarand, Haj Abdollahi, Italian, Sarakhs) to psyllids. The readings were first aligned with the reference genome, and then single-nucleotide polymorphisms and deletions, and small indels were identified by the GATK toolkit. The percentage of alignment of the readings with the reference genome was above 96%, which indicated the high quality of alignment. Sensitive cultivars had 2920688 and 701109 and resistant cultivars had 2919898 and 701000 SNP and small indels, respectively. In general, the results of data analysis showed that the structural and polymorphic diversity of mononucleotides and the small indels are greater in susceptible cultivars than in resistant cultivars.

Keywords: Pistachio, Nucleotide diversity, Pest resistance, Whole genome sequencing, GATK.

مقدمه

پسته (*Pistacia vera*, $2n = 30$) عضوی از خانواده Anacardiaceae (Zeng et al. 2019) و از مهم‌ترین محصولات کشاورزی ایران است که ارزش اقتصادی بالایی دارد (Kola et al. 2015; Aliakbarhaneh et al. 2018). و منشأ آن مناطق خشک آسیای مرکزی و غربی است (Sorokin, 2018; Kafkas, 2019). این محصول ارزش تغذیه‌ای بالایی دارد و به طور گسترده در سراسر جهان مصرف می‌شود (Widmer et al. 2015; Grace et al. 2016). و در سطح وسیع در ایران، آمریکا و کشورهای مدیترانه‌ای تولید می‌شود (FAO, 2021). ایران یکی از مهم‌ترین تولیدکنندگان و صادرکنندگان پسته در جهان است (Taghizadeh et al. 2018). کل تولید پسته جهان در سال ۲۰۲۰ حدود ۱۱۲۵۳۰۵ تن برآورد شده است و ایران با سهم ۱۷ درصد پس از آمریکا و ترکیه مقاوم سوم تولید پسته را در دنیا به خود اختصاص داده است (FAO, 2020).

پسیل معمولی پسته (*Agonoscyta pistaciae* Burckhardt & Lauterer) یکی از مخرب‌ترین آفات درختان پسته در ایران است و در تمام مناطق کشت پسته در کشور پراکنده است (et al. 2017).

(Mostafavi). این آفت حشره کوچک و نارنجی رنگ است که خیلی سریع تکثیر می‌شود (Mehrnejad, 2020) و سازگاری مناسبی با شرایط گرم و خشک و کویری مناطق پسته کاری کشور دارد (Mehrnejad and Copland, 2006). پوره‌ها و حشره بالغ این آفت با مصرف شیره گیاه سبب ریزش برگ‌ها، جوانه‌ها، پوکی دانه و همچنین کاهش عملکرد می‌شوند (Dehghani-Yakhdani et al. 2019; Mehrnejad and Rezvani, 2014) و خسارت جبران‌ناپذیری به محصول پسته وارد می‌کند. به طوری که گاهی محصول سه سال متوالی را متأثر می‌سازد (Mehrnejad, 2003). نزدیک به ۸۰ درصد سموم مصرفی در باغات پسته بر علیه این آفت سمپاشی می‌شود (Mehrnejad, 2020). به علاوه استفاده از سموم شیمیایی به هیچ وجه تضمین کننده موفقیت در مبارزه با آفات نیست و کاربرد پیوسته سموم، مقاوم شدن آفات نیز از چالش‌های دیگری است که می‌تواند کاربرد سموم به ویژه انواع پر خطر آن را افزایش دهد (Alibeigi et al. 2017). مقاومت گیاه میزبان یکی دیگر از روش‌های کنترل آفات است (Lefebvre et al. 2020). تولید ارقام گیاهی مقاوم در برابر آفات هدف مهم تحقیقات در زمینه مدیریت آفات در چند دهه گذشته بوده است

تا با استفاده از روش توالی‌یابی کل ژنوم تنوع ژنومی برخی از ارقام ایرانی پسته حساس و مقاوم به آفت پسبیل شناسایی شود. از نتایج این تحقیق می‌توان در جهت شناسایی ژن‌های مقاومت به این آفت و تولید ارقام مقاوم بهره برد.

مواد و روش‌ها

در این پژوهش ارقام پسته در دو گروه حساس و مقاوم انتخاب شدند (Mehrnejad and Rezvani, 2014) (جدول ۱). خوانش مربوط به این ارقام به روش Illumina Hiseq 2500 توالی‌یابی و نتایج آن را در پایگاه NCBI ثبت شده است (Zeng et al. 2019) و در این پژوهش مورد استفاده قرار گرفت.

جدول ۱- اسامی ارقام پسته مورد بررسی و مشخصات توالی‌یابی آن‌ها.

Table1. Names of studied pistachio cultivars and their sequencing characteristics.

Cultivar name	Sensitive /resistant	Bases (Gb)	Access code
Akbari	Sensitive	5.12	SRR8772689
Kaleh Ghochi	Sensitive	5.24	SRR8772765
Momtaz	Sensitive	5.11	SRR8772734
Ahmad Aqaei	Sensitive	5.18	SRR8772690
Badami Zarand	resistant	5.18	SRR8772709
Italiaei	resistant	5.20	SRR8772686
Sarakhs	resistant	5.04	SRR8772792
Hajabdolahi	resistant	5.21	SRR8772743

کنترل کیفیت خوانش‌ها و پیرایش آن: ارزیابی کیفیت خوانش‌ها اولین مراحل مسیرهای بیوانفورماتیکی است که اغلب، برای فیلتر کردن داده‌ها، حذف توالی با کیفیت پایین و یا بازها (پیرایش)، آداپتورها، آلودگی‌ها، *overrepresented* و یا تصحیح اشتباهات و برای اطمینان از داشتن نتیجه نهایی دقیق لازم است. بدین منظور از نرم‌افزار FastQC v0.11.9 استفاده شد سپس اشکالات خوانش شناسایی شده بر اساس *TRAILING:30*، *LEADING:30* و *MINLEN:20* با استفاده از نرم‌افزار Trimmomatic v0.39 برطرف شد.

تولید فایل BAM: هم‌ردیفی خوانش‌ها با ژنوم مرجع پسته (*GCF_008641045.1_PisVer_v2_genomic.fa*) با استفاده از نرم‌افزار *bwa-mem2* (Li and Durbin, 2009) در محیط لینوکس انجام شد و فایل‌هایی با پسوند *sam* تولید شد. در مرحله بعد

(Horgan, 2017) که لازمه آن شناسایی، مکان‌یابی و جداسازی ژن‌های مقاومت است (Andolfo et al. 2022).

بسیاری از ارقام پسته حامل ژن‌های ارزشمندی چون مقاومت به بیماری‌ها و آفات هستند که می‌توان از این منابع ژنی جهت اصلاح و معرفی ارقام برتر بهره برد (Taephe Ali et al. 2013) (Akbarkhani). موفقیت در برنامه‌های اصلاحی بستگی به میزان تنوع ژنتیکی موجود در جمعیت دارد (Swarup, 2021) که مبنای این تغییرات ژنتیکی جهشی است که با ایجاد آلل‌های مختلف اشکال فنوتیپی متفاوتی را به وجود می‌آورد (Notter, 1999). روش‌ها مختلفی برای شناسایی این تنوعات وجود دارد که روش‌های مبتنی بر توالی‌یابی نسل جدید (NGS) با سرعت و دقت بالا تنوعات ژنومی را شناسایی می‌کنند (Segawa et al. 2021) در میان تنوعات ژنومی چندشکلی‌های تک‌نوکلئوتیدی (SNPs) و حذف و اضافه‌های کوچک (indels) فراوان‌تر از بقیه هستند (Mullaney, 2010).

تاکنون تنوع ژنومی ارقام مختلف گیاهی از جمله برنج (Niksiar and Navvabpour, 2018)، کدو (Sheikhi et al. 2019) و پسته (Ziya Motalebipour et al. 2016) با اهداف و روش‌های متفاوت بررسی شده است. به طور مثال به منظور درک بهتر تاریخچه تکاملی پسته تنوع ژنتیکی ۹۳ رقم پسته اهلی و ۱۴ پسته وحشی با استفاده از روش توالی‌یابی کل ژنوم بررسی شد و در مجموع ۱۴۷۶۷۷۰۰ چندشکلی تک‌نوکلئوتیدی شناسایی شد (Tajabadi and Esmailizadeh, 2021). همچنین به منظور رفع مشکلاتی اساسی در پرورش پسته مانند طولانی بودن دوره نونهالی با استفاده از روش توالی‌یابی کل ژنوم ساختار ژنتیکی پسته PvF217 بررسی شد و در مجموع ۱۷۸۵۲۳۵ چندشکلی تک‌نوکلئوتیدی و ۲۶۰۶۸۳ حذف و اضافه کوچک شناسایی شد (Karci and Kafkas, 2022). علاوه بر این به منظور بررسی روابط ژنتیکی بین ارقام و گونه‌های مختلف پسته با استفاده از مارکر SSR تنوع ژنتیکی ۲۴ رقم پسته اهلی و ۲۰ رقم پسته وحشی بررسی شد (Ziya Motalebipour et al. 2016).

از آنجایی که مطالعات زیادی در جهت تولید ارقام مقاوم به آفت پسبیل پسته صورت نگرفته است در این پژوهش تلاش شده است

coverage می‌گویند. برای داشتن کیفیت مناسب این شاخص باید حداقل ۱۰ باشد (Sims et al. 2014) در این پژوهش این شاخص برای همه نمونه‌ها حدوداً برابر با ۱۱ است که نشان دهند کیفیت بالای توالی‌یابی است (جدول ۲). طبق مطالعات انجام شده بر روی برنج (Purpleputtu) با استفاده از توالی‌یابی کل ژنوم ۹۵/۷ درصد کل خوانش‌ها با رفرنس ژنوم همردیف شدند (Lachagari et al., 2019).

طبق نتایج حاصل از این پژوهش چندشکلی‌های تک‌نوکلئوتیدی و حذف و اضافه‌های کوچک در ارقام حساس بیشتر از ارقام مقاوم بود و ارقام حساس به ترتیب دارای ۲۹۲۰۶۸۸ و ۷۰۱۱۰۹ و ارقام مقاوم نیز به ترتیب دارای ۲۹۱۹۸۹۸ و ۷۰۱۰۰۰ چندشکلی تک‌نوکلئوتیدی و حذف و اضافه کوچک بودند. نتایج تجزیه و تحلیل داده‌ها نشان داد که تنوع ساختاری ژنوم ارقام حساس بیشتر از ارقام مقاوم بود (شکل ۱) همچنین تعداد چند شکلی‌های تک‌نوکلئوتیدی بیشتر از حذف و اضافه‌های کوچک بود. بررسی تنوع ژنومی برنج رقم Godawee به عنوان یک رقم متحمل به شوری نشان داد که تعداد چند شکلی تک‌نوکلئوتیدی برابر با ۲۲۳۱۷۱۷ و بیشتر از تعداد حذف و اضافه کوچک برابر با ۴۸۰۴۶۰ است (Singhabahu et al. 2017). مطالعاتی بر روی دو رقم مقاوم (Nona Bokra, Pokkali) و سه رقم حساس (Cocodrie, Bengal, IR64) به شوری گیاه برنج با استفاده از روش توالی‌یابی کل ژنوم انجام شده است طبق نتایج حاصل از این تحقیق بیشترین میزان چندشکلی تک‌نوکلئوتیدی و حذف اضافه کوچک در ارقام حساس مشاهده شد (Subudhi et al. 2020).

نتایج مستندسازی چندشکلی‌های تک‌نوکلئوتیدی و حذف و اضافه‌های کوچک نشان داد که بیشترین میزان چندشکلی تک‌نوکلئوتیدی در ناحیه بین‌ژنی و بالادست و کمترین آن در ناحیه Splice donor قرار داشت. در ارقام حساس به ترتیب ۱۶/۳۲، ۲۷/۳۴، ۰/۱۷۲۸، ۶/۸۷۰، ۴۶/۹۵۳ درصد چندشکلی‌های تک‌نوکلئوتیدی در نواحی پایین‌دست، بالادست، اگزون، اینترون، بین‌ژنی قرار دارند و در ارقام مقاوم نیز به ترتیب ۱۶/۳۳، ۲۷/۳۶، ۰/۱۷۲۹، ۶/۷۸۴، ۴۶/۹۶۸ درصد چندشکلی تک‌نوکلئوتیدی در

فایل‌های sam تولید شده با استفاده از نرم‌افزار Samtools v1.15 (Li et al. 2009) به فایل‌های کم حجم‌تر bam تبدیل شد. جهت مرتب کردن توالی‌های کوتاه موجود در هر یک از فایل‌های bam بر اساس موقعیت ژنومی از دستور sort در برنامه samtools استفاده شد. برای حذف توالی‌های کوتاه تکراری از ابزار MarkDuplicates در نرم‌افزار picard (<http://sourceforge.net/projects/picard/>) استفاده شد.

تولید فایل VCF (Variant calling): در این مرحله با استفاده از ابزار HaplotypeCaller نرم‌افزار GATK v4.2.4.1 فایل‌های خام VCF تولید سپس با استفاده از ابزار GenotypeGVCFs این نرم‌افزار VCFهای خام در دو دسته حساس و مقاوم با یکدیگر ترکیب شدند و فایل‌های VCF نهایی تولید شدند.

استخراج SNPs و Indels و پالایش آن‌ها: چندشکلی‌های تک‌نوکلئوتیدی و حذف و اضافه‌های کوچک با استفاده از ابزار SelectVariants نرم‌افزار GATK (McKenna et al. 2010) از هم جدا شدند و به منظور فیلتر کردن چندشکلی‌های تک‌نوکلئوتیدی و حذف و اضافه‌های کوچک از ابزار Variant Filtration نرم‌افزار GATK استفاده و بنابر پیش‌فرض این برنامه ($QD < 2.0$, $MQ < 40.0$, $QUAL < 30.0$) پالایش شدند.

حاشیه نویسی: مستندسازی چندشکلی‌های تک‌نوکلئوتیدی و حذف و اضافه‌های کوچک با برنامه snpEff v3.6 (Cingolani et al. 2012) انجام شد.

نتایج و بحث

نتایج کنترل کیفیت داده‌ها نشان داد که خوانش‌ها دارای کیفیت بالا و فاقد هر نوع آلودگی بودند و طول خوانش‌ها برای تمامی نمونه‌ها برابر با ۱۵۰ بود و درصد هم‌ردیفی برای همه نمونه‌ها بالای ۰/۹۶ بود که این میزان نشان دهنده کیفیت بالای هم‌ردیفی داده‌ها با ژنوم مرجع است. مهم‌ترین ویژگی NGS این است که برای رسیدن به دقت بالا در توالی‌یابی هر نوکلئوتید ژنوم باید از قطعات مختلف ژنوم توالی‌یابی شوند. تعداد دفعات تکرار یا تعداد خوانش‌های شامل این موقعیت را میانگین عمق یا

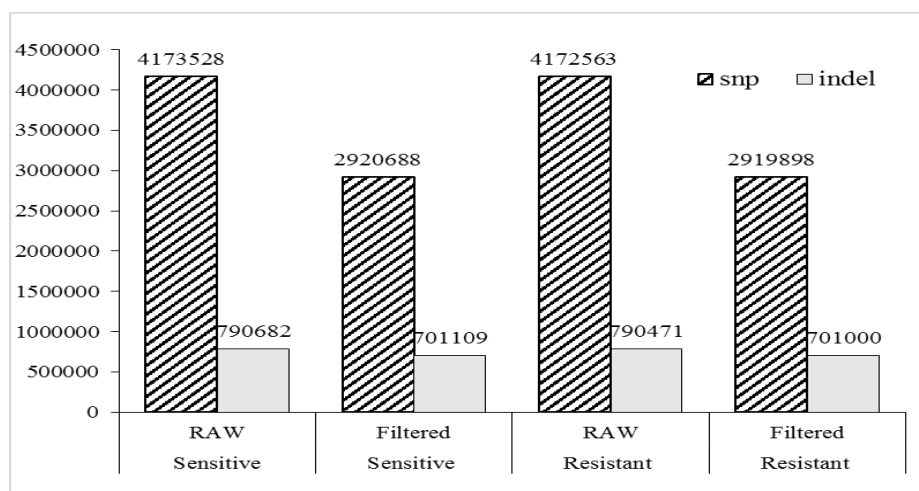
نواحی پایین دست، بالادست، آگزون، ایترن، بین ژنی قرار دارند که نشان می دهد پراکندگی چندشکلی های تک نوکلئوتیدی در نواحی مختلف ژنومی ارقام حساس و مقاوم بسیار مشابه هستند (جدول ۳). مطالعاتی بر روی دو رقم مقاوم (Nona Bokra,) (Pokkali) و سه رقم حساس (Cocodrie, Bengal, IR64) به

شوری گیاه برنج با استفاده از روش توالی یابی کل ژنوم انجام شده است طبق نتایج حاصل از این تحقیق بیشترین میزان چندشکلی تک نوکلئوتیدی و حذف اضافه کوچک در ارقام حساس و مقاوم در ناحیه Intron و کمترین میزان آن در ناحیه 5prime UTR مشاهده شده است (Subudhi et al. 2020).

جدول ۲- خلاصه هم ردیفی خوانش ها با ژنوم مرجع.

Table 2. Summary of sequence readings with the reference genome.

Cultivar name	Number of short reads	Number of short reads aligned	Alignment	Short reads length	Mean depth or coverage
Akbari	34108306	32753170	0.96	150	11.0145
Kaleh Ghochi	34922200	34393657	0.98	150	11.6635
Momtaz	34090134	33473391	0.98	150	11.1692
Ahmad Aqaei	34508454	33941234	0.98	150	11.4477
Badami Zarand	34504364	33901160	0.98	150	11.5126
Italiaei	34657774	34070424	0.98	150	11.7254
Sarakhs	33620418	32896915	0.97	150	11.0204
Hajabdolahi	34734416	34111687	0.98	150	11.5841



شکل ۱- تعداد چندشکلی های تک نوکلئوتیدی و حذف و اضافه های کوچک پیش و پس از پالایش.

Fig1. Number of single nucleotide polymorphisms and small insertion-deletion before and after the filter.

جدول ۳- توزیع چندشکلی های تک نوکلئوتیدی و حذف و اضافه های کوچک در نواحی مختلف ژنوم.

Table3. Distribution of SNPs and Indels in genome.

Type of diversity	SNP in sensitive cultivars	SNP in resistant cultivars	indel in sensitive cultivars	indel in resistant cultivars
Downstream	641327	641169	131125	131081
Exon	6790	6790	1026	1026
Intron	269848	269817	53198	53191
Intergenic	1844060	183528	341760	341633
Splice_acceptor	597	597	334	334
Splice_region	14253	12761	2574	2574
Splice_donor	459	459	206	206
Upstream	1074118	1073911	234476	234447
5_prime_UTR	29763	29761	6491	6491
3_prime_UTR	46226	46224	8234	8234
silent	101874	101860	-	-
Missense	140244	140225	-	-
Nonsense	2993	2993	-	-

طبق نتایج حاصل از این پژوهش تعداد کل چندشکلی‌های تک‌نوکلئوتیدی خاموش (silent)، بدمعنی (Missense) و بی‌معنی (Nonsense) به ترتیب ۴۱/۵۶۲، ۵۷/۲۶۱ و ۱/۲۲۱ درصد به دست آمد. همچنین نتایج نشان داد تعداد جهش‌های خاموش و بدمعنی در ارقام حساس بیشتر از ارقام مقاوم بود و تعداد جهش‌های بی‌معنی در آن‌ها مشابه بود (جدول ۳). در بین این جهش‌ها جهش Missense از اهمیت بیشتری برخوردار است زیرا تغییر کدون‌ی اتفاق افتاده سبب تغییر اسیدآمینه مورد نظر و در نتیجه تغییر توالی اولیه زنجیره پلی‌پپتیدی و فعالیت پروتئین می‌شود (Stansfield and Elrod 2005). به منظور بررسی نشانه‌های مقاومت تنوع ژنومی پنبه رقم (*Gossypium hirsutum*) با استفاده از توالی‌یابی کل ژنوم بررسی شده است نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که تعداد جهش‌های خاموش، بدمعنی و بی‌معنی به ترتیب برابر با ۳۹۳۳۹، ۶۹۳۲۷، ۲۵۲۹ است (Hussain et al. 2023).

طبق نتایج حاصل از این پژوهش تعداد چندشکلی‌های تک‌نوکلئوتیدی که توسط جهش جابه‌جایی تولید شدند تقریباً دو برابر تعداد چندشکلی‌های تک‌نوکلئوتیدی ایجاد شده توسط جهش معکوس هستند (جدول ۴). به علت سازوکار ملکولی ایجاد کننده جهش در مولکول DNA شمار چندشکلی‌های تک‌نوکلئوتیدی که توسط جهش‌های جابه‌جایی تولید می‌شوند، تقریباً دو برابر چندشکلی تک‌نوکلئوتیدی که توسط جهش‌های معکوس ایجاد می‌شوند (Collins and Jukes, 1994). همچنین تعداد جهش جابه‌جایی و معکوس در چندشکلی تک‌نوکلئوتیدی ارقام مقاوم بیشتر از ارقام حساس است. طبق مطالعات انجام شده تنوعات ژنومی یک رقم برنج وحشی (rufipogon Griff) با استفاده از روش توالی‌یابی کل ژنوم شناسایی شد و نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که نسبت جهش جابه‌جایی به معکوس برابر با ۲/۳ بود (Wu et al. 2020).

جدول ۴- تعداد جهش‌های جابه‌جایی و معکوس هتروزیگوتی و هموزیگوتی تنوعات.

Table4. Number of transverse and inverse mutations and heterozygous and homozygous variations.

Cultivar nme	Number of transversion mutations (SNP)	Number of transition mutations (SNP)	Number of heterozygous SNPs	Number of homozygous SNPs	Number of heterozygous Indels	Number of homozygous Indels
Akbari	2139016	4364947	2378242	1794290	608312	182167
Kaleh Ghochi	2139037	4364908	2377159	1794357	608306	182162
Momtaz	2139016	4364947	2378242	1794290	608312	182167
Ahmad Aqaei	2139037	4364908	2377159	1794357	608306	182162
Total	8556106	17459710	9512874	7177294	2433236	728658
Badami Zarand	2139071	4364952	2378192	1794371	608308	182163
Italiaei	2139071	4364952	2378192	1794371	608308	182163
Sarakhs	2139071	4364952	2378192	1794371	608308	182163
Hajabdolahi	2139071	4364952	2378192	1794371	608308	182163
Total	8556284	17459808	9512768	7177484	2433232	728652

های مقاومت تنوع ژنومی پنبه (*Gossypium hirsutum*) با استفاده از توالی‌یابی کل ژنوم بررسی شده است. طبق نتایج حاصل از این تحقیقات ۴۷۰۵۱۱۰ چندشکلی تک‌نوکلئوتیدی شناسایی شده که ۳۴۱۳۴۵۲ هموزیگوس و ۱۲۹۱۶۵۸ هتروزیگوس بود (Hussain et al. 2023).

نتیجه گیری کلی

در این پژوهش تنوع ژنومی بین ارقام پسته حساس و مقاوم به آفت پسپل بررسی شد. طبق نتایج حاصل از این پژوهش شمار

طبق نتایج حاصل از این پژوهش شمار چندشکلی‌های تک‌نوکلئوتیدی و حذف و اضافه‌های کوچک هتروزیگوس بیشتر از هموزیگوس است که این نشان دهنده تنوع بالای جمعیت مورد نظر است. همچنین تعداد چندشکلی تک‌نوکلئوتیدی هتروزیگوس در ارقام حساس بیشتر از ارقام مقاوم است و چندشکلی تک‌نوکلئوتیدی هموزیگوس در ارقام مقاوم بیشتر از حساس است و نیز تعداد حذف و اضافه‌های کوچک هموزیگوس و هتروزیگوس در ارقام حساس بیشتر از ارقام مقاوم است (جدول ۴). طبق مطالعات انجام شده به منظور بررسی نشانه

توسط جهش معکوس است. نتایج تجزیه و تحلیل داده‌ها نشان داد که تنوع ساختاری ژنوم ارقام حساس بیشتر از ارقام مقاوم است. امید است که نتایج این تحقیق در آینده در جهت تولید ارقام گیاهی مقاوم به این آفت خسارت‌زا مورد استفاده قرار گیرد.

چندشکلی‌های تک‌نوکلئوتیدی و حذف و اضافه‌های کوچک هتروزیگوس بیشتر از هموزیگوس است. همچنین تعداد چندشکلی‌های تک‌نوکلئوتیدی که توسط جهش جابه‌جایی تولید شدند بیشتر از تعداد چندشکلی‌های تک‌نوکلئوتیدی ایجاد شده

منابع

Aliakbarkhani ST, Akbari M, Hassankhah A, Talaie A, Moghadam, MF. 2015. Phenotypic and genotypic variation in Iranian Pistachios. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology* 13(2):235-241.

Alibeigi AH, Heidari N, Kheirollah M. 2017. The Impact of Socio-Psychological Variables Influencing Adoption of Chickpea Pod Borer Biological control. *Agricultural Education Administration Research* 9 (41): 28-40. (In Farsi with English abstract).

Andolfo G, Dohm JC, Himmelbauer H. 2022. Prediction of NB-LRR resistance genes based on full-length sequence homology. *The Plant Journal*.

Cingolani P, Platts A, Wang LL, Coon M, Nguyen T, Wang L, Land SJ, Lu X, Ruden DM. 2012. A program for annotating and predicting the effects of single nucleotide polymorphisms. SnpEff: SNPs in the genome of *Drosophila melanogaster* strain 6(2):80-92.

Collins DW and Jukes TH. 1994. Rates of transition and transversion in coding sequences since the human-rodent divergence. *Genomics*: 20(3) 386-396.

Dehghani-Yakhdani H, Iranipour S, Mehrnejad MR, Farshbaf-Pourabad R. 2019. The role of iron (Fe) in the population dynamics of pistachio psyllid, *Agonoscaena pistaciae* (Hemiptera: Aphalaridae) in Pistacia orchards. *European Journal of Entomology* 116:194-200.

FAO. 2020. FAOSTAT. Food and agricultural commodities production. Available at <http://faostat.fao.org/site/339/default.aspx>. FAO, Rome, Italy.

FAO. 2021 FAOSTAT. Food and agricultural commodities production. Available at <http://faostat.fao.org/site/339/default.aspx>. FAO, Rome, Italy.

Grace MH, Esposito D, Timmers MA, Xiong J, Yousef G, Komarnytsky S, Lila MA. 2016. Chemical composition, antioxidant and anti-inflammatory properties of pistachio hull extracts. *Food chemistry* 210:85-95.

Horgan F. 2017. Integrated pest management for sustainable rice cultivation: a holistic approach. Achieving sustainable cultivation of rice: Cultivation, pest and disease management 309-342.

Hussain A, Farooq M, Naqvi RZ, Aslam MQ, Siddiqui HA, Amin I, Liu C, Liu X, Scheffler J, Asif M, Mansoor S. 2023. Whole-Genome Resequencing Deciphers New Insight Into Genetic Diversity and Signatures of Resistance in Cultivated Cotton *Gossypium hirsutum*. *Molecular Biotechnology* 65(1):34-51.

Kafkas S. 2019. Advances in Breeding of Pistachio. Burleigh Dodds Science Publishing 389-430.

Karci H, Kafkas S. 2022. Evaluation of Genetic Structure of Pistachio Through Whole Genome Resequencing. *International Journal of Agriculture Environment and Food Sciences* 6(1):135-140.

Kola O, Hayoglu I, Turkoglu H, Parıldı E, Ak BE, Akkaya MR. 2018. Physical and chemical properties of some pistachio varieties (*Pistacia vera* L.) and oils grown under irrigated and non-irrigated conditions in Turkey. *Quality Assurance and Safety of Crops and Foods* 10(4):383-388.

Lachagari VR, Gupta R, Lekkala SP, Mahadevan L, Kuriakose B, Chakravartty N, Mohan Katta, AV, Santhosh S, Reddy AR, Thomas G. 2019. Whole genome sequencing and comparative genomic analysis reveal allelic variations unique to a purple colored rice landrace (*Oryza sativa* ssp. *indica* cv. Purpleputtu). *Frontiers in plant science* 10:513.

Lefebvre V, Boissot N, Gallois JL. 2020. Host plant resistance to pests and pathogens, the genetic leverage in integrated pest and disease management. *Integrated Pest and Disease Management in Greenhouse Crops* 9:259.283.

Li H, Durbin R. 2009. Fast and accurate short read alignment with Burrows-Wheeler transform. *bioinformatics* 25(14):1754-1760.

Li H, Handsaker B, Wysoker A, Fennell T, Ruan J, Homer N, Marth G, Abecasis G, Durbin R. 2009. The sequence alignment/map format and SAMtools. *Bioinformatics* 25(16):2078-2079.

McKenna A, Hanna M, Banks E, Sivachenko A, Cibulskis K, Kernytsky A, Garimella K, Altshuler D, Gabriel S, Daly M, DePristo MA. 2010. The Genome Analysis Toolkit: a MapReduce framework for analyzing next-generation DNA sequencing data. *Genome research* 20(9):1297-1303.

Mehrnejad MR, Copland MJ. 2006. Biological parameters of parasitoid *Psyllaephagus pistaciae* and its host *Agonoscaena pistaciae* in relation to temperature. *Journal of the Entomological Research Society* 8(1):1-20

Mehrnejad MR, Rezvani A. 2014. The pests of pistachio trees in Iran, natural enemies and control. Sepehr Publication, Tehran, Iran. (In Farsi with English abstract).

Mehrnejad MR. 2020. Arthropod pests of pistachios, their natural enemies and management. *Plant Protection Science* 56(4):231-260.

Mehrnejad, MR. 2003. Pistachio psylla and other major psyllids of Iran. Agricultural Research, Education and Extension

Organization Publication, Tehran, Iran, 116. (In Farsi with English abstract).

Mostafavi M, Lashkari M, Iranmanesh S, Mansouri SM. 2017. Variation in populations of common pistachio psyllid, *Agonoscaena pistaciae* (Hem.: Psyllidae), with different chemical control levels: narrower wing shape in the stressed environment. *Journal of Crop Protection* 6(3):353-362.

Mullaney JM, Mills RE, Pittard WS, Devine S.E. 2010. Small insertions and deletions (INDELs) in human genomes. *Human molecular genetics* 19(2): 131-136.

Nikšiar P, Navvabpour S. 2018. Haplotype Diversity For QTL Associated with Drought tolerance on Chromosome 2 of Rice. *Genetic Engineering and Biosafety Journal* 7(2):217-230. (In Farsi with English abstract).

Notter DR. 1999. The importance of genetic diversity in livestock populations of the future. *Journal of animal science* 77(1):61-69.

Segawa T, Nishiyama C, Tamiru-Oli M, Sugihara Y, Abe A, Sone H, Itoh N, Asukai M, Uemura A, Oikawa K, Utsushi H. 2021. Sat-BSA: an NGS-based method using local de novo assembly of long reads for rapid identification of genomic structural variations associated with agronomic traits. *Breeding science*. 71(3): 299-312.

Sheikhi M, Fakheri B, Mahdinezhad N. 2019. Study of genetic diversity and phylogenetic relationship of some gourd pumpkin (*Cucurbita pepo*) genotypes using the ITS ribosomal and rbcL chloroplastic genes' loci. *Genetic Engineering and Biosafety Journal* 8(2):168-177. (In Farsi with English abstract).

Sims D, Sudbery I, Ilott NE, Heger A, Ponting CP. 2014. Sequencing depth and coverage: key considerations in genomic analyses. *Nature Reviews Genetics* 15(2) :121-132.

Singhabahu S, Wijesinghe C, Gunawardana D, Senerath-Yapa MD, Kannangara M, Edirisinghe R, Dissanayake, VH. 2017. Whole genome sequencing and analysis of Godawee, a salt tolerant indica rice variety. *Journal of Rice Researches* 5(177): 2.

Sorokin A. 2018. Botanical identification of ancient Hebrew phytonym botnim. On domestication history of pistachio (*Pistacia vera* L., Anacardiaceae). *Hortus Botanicus* 13: 78-89.

Stansfield W, Elrod S. 2005. Schaum's outline of theory and problems of genetics. Translated by Reza Pilechian-Lengroudi, Reza Mohammadi, Gholamreza Motamedi. Tehran, Aizh publication.pp105. (In Farsi with English abstract).

Subudhi PK, Shankar R, Jain M. 2020. Whole genome sequence analysis of rice genotypes with contrasting response to salinity stress. *Scientific reports* 10(1):1-13.

Subudhi PK, Shankar R, Jain M. 2020. Whole genome sequence analysis of rice genotypes with contrasting response to salinity stress. *Scientific reports* 10(1): 1-13.

Swarup S, Cargill EJ, Crosby K, Flagel L, Kniskern J, Glenn KC. 2021. Genetic diversity is indispensable for plant breeding to improve crops. *Crop Science* 61(2):839-852.

Taephe Ali Akbarkhani S, Talaei A, Fatehi Moghadam M. 2013. Evaluation of genetic diversity of pistachios in Khorasan region using morphological traits and RAPD molecular markers. *Plant Production Research Journal* 20(1):171-192.(In Farsi with English abstract).

Taghizadeh SF, Rezaee R, Davarynejad G, Karimi G, Nemati SH, Asili J. 2018. Phenolic profile and antioxidant activity of *Pistacia vera*. Sarakhs hull and kernel extracts: the influence of different solvents. *Journal of Food Measurement and Characterization* 12(3):2138-2144.

Tajabadi A, Esmailizadeh A. 2021. Whole genome resequencing data sets of different species from *Pistacia* genus. *BMC research notes* 14(1):1-4.

Widmer RJ, Flammer AJ, Lerman LO, Lerman A. 2015. The Mediterranean diet, its components, and cardiovascular disease. *The American journal of medicine* 128(3):229-238.

Wu D, Wang C, Zhang Z, Guo C, Chen Q, Wang Z. 2021. Discovery of genome-wide DNA polymorphisms and resistance-relative genes in chaling wild rice (*Oryza rufipogon* Griff.) by whole-genome sequencing. *Plant Molecular Biology Reporter* 39(2):265-274.

Zeng L, Tu XL, Dai H, Han FM, Lu BS, Wang MS, Nanaei HA, Tajabadipour A, Mansouri M, Li XL, Ji LL. 2019. Whole genomes and transcriptomes reveal adaptation and domestication of pistachio. *Genome biology* 20(1):1-13.

Ziya Motalebipour E, Kafkas S, Khodaeiaminjan M, Coban N, Gozel H. 2016. Genome survey of pistachio (*Pistacia vera* L.) by next generation sequencing: development of novel SSR markers and genetic diversity in *Pistacia* species. *BMC genomics* 17(1):1-14.