



مقایسه ساختار جمعیت ۱۱۰ ژنوتیپ مرکبات با استفاده از داده‌های نشانگر ریزماهوره و AFLP

ابوذر ابوذری^{۱*}، محمود سلوکی^۲، بهروز گل‌عین^۳، براتعلی فاخری^۴، عاطفه صبوری^۴، احمدرضا دادرسی^۵

^۱ مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی مازندران، سلمانشهر، ایران

^۲ گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی، دانشگاه زابل، زابل، ایران

^۳ پژوهشکده تحقیقات مرکبات و میوه‌های نیمه گرمسیری، رامسر، ایران

^۴ گروه اصلاح نباتات، دانشگاه گیلان، رشت، ایران

^۵ مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی زنجان، زنجان، ایران

* نویسنده مسئول: Shahroz52@yahoo.com

چکیده

ارتقاء سطح مدیریت و بهره‌برداری از منابع ژنتیکی در برنامه‌های اصلاحی، به آگاهی از قرابت و تنوع ژنتیکی موجود در ذخائر ژرم پلاسمی نیاز دارد. بدین جهت ۷۶ بیوتیپ ناشناخته مرکبات، به همراه ۳۴ رقم شاهد با استفاده از ۲۸ جفت پرایمر SSR و ۲۵ ترکیب پرایمری AFLP مورد ارزیابی قرار گرفتند. در این تحقیق مشخص شد که علاوه بر سه گونه حقیقی سیترون، پوملو و ماندارین، حداقل سه گونه یا جنس دیگر از خویشاوندان مرکبات در ریخته ارثی برخی از بیوتیپ‌های ناشناخته به نسبت‌های مختلف سهم دارند. مطالعه حاضر نقش اینترورگرسیون پوملو در ریخته ارثی گونه‌های نارنج، پرتقال و گریپ‌فروت را تایید نمود. در این تحقیق اگرچه هر دو نشانگر در بررسی تنوع ژنتیکی ژنوتیپ‌های مرکبات و تکمیل اطلاعات یکدیگر کارآمد بودند، ولی با در نظر گرفتن پرایمر و ترکیبات پرایمری مورد استفاده، نشانگر SSR در مقایسه با نشانگر AFLP کارایی بالاتری داشت و بر اثربخشی تجزیه ساختار جمعیت در ارزیابی نتایج تاکید شد.

کلمات کلیدی: مرکبات؛ تنوع ژنتیکی، ساختار جمعیت، ریخته ژنتیکی

مقدمه

هر چند مبداء پیدایش مرکبات آسیای جنوب شرقی معرفی شده ولی امروزه بسیاری از مناطق اصلی تولید مرکبات از این ناحیه فاصله دارند (Dugo and Di Giacomo 2002). لزوم تعیین روابط فیلوژنی و تنوع ژنتیکی بین خویشاوندان جنس سیتروس برای برنامه‌های اصلاحی و به‌نژادی اجتناب‌ناپذیر است. از آنجا که تعیین قرابت بر مبنای شاخص‌های فیزیولوژیک و بیوشیمیایی بوسيله عوامل متعددی محیطی تحت تاثیر قرار می‌گیرند، لذا تعیین روابط ژنتیکی و خویشاوندی با کمک نشانگرهای مولکولی از دقت و اطمینان بیشتری برخوردار است (Gulsen and Roose 2001). می‌توان بر مبنای ساختار ژنتیکی ژنوتیپ‌ها و تفاوت فراوانی اللی، جمعیت را به زیرجمعیت‌های متمایزی تفکیک نمود. روش‌های متعارف تعیین ساختار جمعیت اغلب از رویکردهای مختلفی از جمله الگوریتم‌های مبتنی بر مدل مانند STRUCTURE با استفاده از روش Bayesian استفاده می‌کنند (Pritchard et al. 2000). در این روش هر یک از ژنوتیپ‌ها با یک احتمال و تحت شرایطی به زیرجمعیت‌های فرضی منتسب می‌شوند که در هر زیرجمعیت میزان عدم تعادل پیوستگی حداقل و تعادل مرحله گامتی حداکثر باشد. علاوه بر آن با محاسبه میزان اختلاط، سهم ریخته ارثی ژنوتیپ‌های مختلف قابل ارزیابی است. در پژوهش حاضر برای نخستین بار ترکیب ساختار ژنتیکی نمونه‌های موجود در ژرم پلاسم پژوهشکده تحقیقات مرکبات و میوه‌های نیمه گرمسیری کشور، مطالعه و سهم مشارکت ژنومی گونه‌های حقیقی مرکبات و سایر گونه‌های خویشاوند احتمالی در ریخته ارثی آن‌ها بالاخص بیوتیپ‌های ناشناخته، مورد ارزیابی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

در این پژوهش تعداد ۱۱۰ ژنوتیپ مختلف شامل ۷۶ بیوتیپ طبیعی ناشناخته و ۳۴ رقم تجاری و محلی مرکبات به عنوان ارقام شاهد، از پژوهشکده تحقیقات مرکبات و میوه‌های نیمه‌گرمسیری کشور انتخاب و مورد ارزیابی قرار گرفت (جدول ۱).



تجزیه ۲۸ نشانگرهای ریزماهواره بر اساس روش Barkley و همکاران (۲۰۰۶) و ۲۵ ترکیب پرایمری نشانگرهای AFLP بر اساس روش پیشنهادی Angiolillo و همکاران (۱۹۹۹) انجام شد. تجزیه ساختار جمعیت بر مبنای مدل Bayesian با استفاده از نرم افزار STRUCTURE 2.3.4 (Pritchard et al. 2000) انجام شد. عدد K بهینه (تعداد زیرجمعیت‌های احتمالی) بر اساس دلتا K (Evanno et al. 2005) و با استفاده از نرم‌افزار STRUCTURE HARVESTER (Earl 2012) تعیین شد.

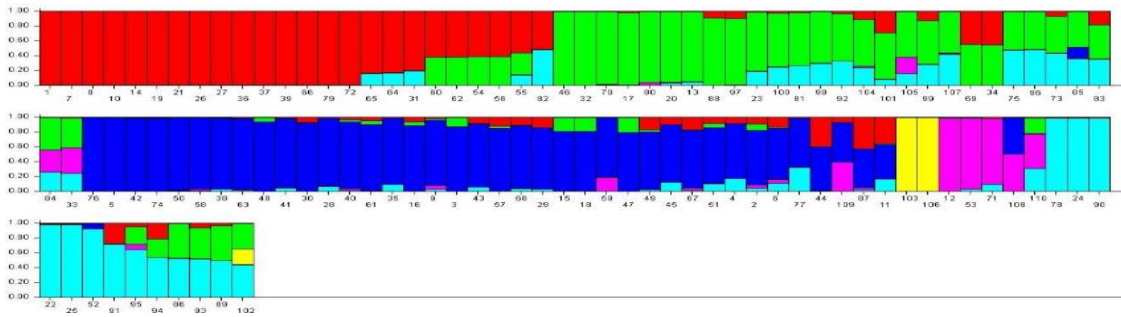
جدول ۱- نام علمی و شماره ۱۱۰ ژنوتیپ مرکبات مورد استفاده

شماره	نام علمی	نام عمومی	شماره	نام علمی	نام عمومی
G1-G75	<i>Citrus</i> spp	نامشخص	G93	<i>C. sinensis</i> (L.) Osbeck	تامسون ناول
G76	<i>C. medica</i> (L.) Osbeck	سیترون	G94	<i>C. sinensis</i> (L.) Osbeck	سیاورز ۲
G77	<i>C. limon</i> (L.) Burm. f.	لمون اروکا	G95	<i>C. sinensis</i> (L.) Osbeck	معلم کوه
G78	<i>C. grandis</i> (L.) Osbeck	پوملو	G96	<i>C. unshiu</i> Marcovitch	اونشو
G79	<i>Citrus</i> spp	نامشخص	G97	Minneola tangelo × <i>C. clementina</i>	پیچ
G80	<i>C. reshni</i> Tanaka	کلنوپاترا	G98	<i>C. reticulata</i> × <i>C. sinensis</i>	خرم
G81	<i>C. reticulata</i> Blanco	دنسی	G99	<i>C. sinensis</i> (L.) Osbeck.	والنسیا
G82	<i>C. sinensis</i> (L.) Osbeck	سیاورز ۱	G100	<i>C. reticulata</i> × <i>C. sinensis</i>	چهانگیر
G83	<i>C. myrtifolia</i> (L.) Rafinesque	نارنج خوشه‌ای	G101	<i>C. reticulata</i> × <i>C. sinensis</i>	نوشین
G84	<i>C. sinensis</i> (L.) Osbeck	سانگین	G102	<i>C. unshiu</i> Marcovitch	اکیتسو
G85	<i>C. reticulata</i> Blanco	شل محله	G103	<i>Poncirus trifoliata</i> (L.) Rafinesque	نارنج سه برگ
G86	<i>C. aurantium</i> L.	نارنج	G104	<i>C. reticulata</i> × <i>C. sinensis</i>	شاهین
G87	<i>C. limettioides</i> Tanaka	لیموشیرین	G105	<i>C. clementina</i> Tanaka	ماریسول
G88	<i>C. reticulata</i> Blanco	کلمانتین	G106	<i>C. paradisi</i> × <i>P. trifoliata</i>	سیتروملو
G89	<i>C. sinensis</i> (L.) Osbeck	سانگینلا	G107	(<i>C. paradisi</i> × <i>C. reticulata</i>) × <i>C. changsha</i>	یاشار
G90	<i>C. paradise</i> Macfadyen	گریپ‌فروت	G108	<i>C. latifolia</i> (Yu. Tanaka) Tanaka	پرشین لایم
G91	<i>C. paradise</i> Macfadyen	گریپ‌فروت	G109	<i>C. aurantifolia</i> (Christm.) Swingle	مکزیکن لایم
G92	<i>C. sinensis</i> (L.) Osbeck	گروس سانگین	G110	<i>C. aurantium</i> L.	نارنج اف‌تایپ

نتایج و بحث

تجزیه ساختار جمعیت بر اساس داده‌های ریز ماهواره

محاسبه منحنی ΔK به وضوح یک مقدار حداکثری را در $K=6$ نشان داد. بر این اساس، ۱۸ ژنوتیپ به گروه اول با منشأ ژنومی نامشخص، ۱۲ ژنوتیپ به گروه دوم (ماندارین)، ۳۲ ژنوتیپ به گروه سوم (سیترون)، دو ژنوتیپ به گروه چهارم (پونسیروس)، سه ژنوتیپ به گروه پنجم با منشأ ژنومی نامشخص و هفت ژنوتیپ به گروه ششم (پوملو) تعلق گرفت. از ۱۱۰ نمونه مورد مطالعه ۳۶ ژنوتیپ نیز با درصد عضویت کمتر از ۰/۷ به عنوان ژنوتیپ‌های مخلوط در نظر گرفته شدند. دو گروه ۱ و ۵ با ترکیب ژنومی نامشخص از سایر گونه‌ها یا جنس‌های خویشاوند مرکبات تفکیک شدند. ملاحظه می‌شود این دو ترکیب ژنومی با نسبت مختلف در ریخته ارثی برخی از ارقام شاهد از جمله لیموشیرین (G87)، مکزیکن لایم (G109)، پرشین لایم (G108)، نارنج برگ‌ریز (G83)، نارنج اف‌تایپ (G110) و نارنگی ماریسول (G105) سهم دارند (شکل ۱). یکی شدن گروه بیوتیپ‌های ناشناخته G22، G24، G25، G52، G90 و G91 و پوملو (G78) فرض وجود زمینه ژنتیکی مشترک بین این ژنوتیپ‌ها و جریان ژنی بسوی بیوتیپ‌های ناشناخته در طی تالاقی‌های طبیعی را تایید می‌کند. گریپ‌فروت هیبریدی است که از بک‌کراس بین پرتقال و پوملو حاصل شده (Nicolosi et al. 2000) و در این تحقیق وجود سهم بیشتری از پوملو در ریخته ارثی گریپ‌فروت تایید می‌شود (Li et al. 2010). برخی از بیوتیپ‌های ناشناخته مانند G2، G6، G51 دارای ریخته ارثی مختلطی از چهار گونه و بیشتر بوده و از بین ارقام شاهد نیز دو بیوتیپ طبیعی سیاورز ۱ (G94) و معلم کوه (G95)، به ترتیب ترکیب ژنومی از سه و چهار گونه نشان دادند. اختلاط زیاد مشاهده شده در ژرم‌پلاسما نمونه‌ها این فرض را که تبار ژنوتیپ‌های مذکور از نوع مخلوط می‌باشد اثبات می‌کند.



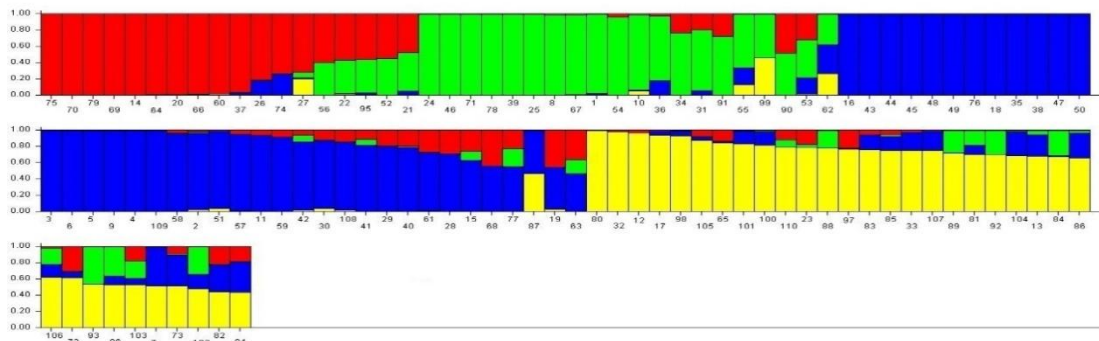
شکل ۱- تجزیه ساختار مبتنی بر مدل Bayesian برای ۱۱۰ ژنوتیپ مرکبات با اطلاعات ۲۸ جفت پرایمر SSR (قرمز=ژنوم با منشأ نامشخص، سبز= گروه ماندارین، آبی= گروه سیترون، زرد= گروه پونسیروس، بنفش= ژنوم با منشأ نامشخص و فیروزه‌ای= گروه پوملو).

تجزیه ساختار جمعیت بر اساس داده‌های AFLP

با توجه به بالاترین مقدار عددی ΔK در تعیین تعداد بهینه زیر جمعیت‌ها (K)، مجموعه ژنوم پلاسما مورد مطالعه از لحاظ ساختار ژنتیکی که ناشی از تفاوت فراوانی اللی است به ۴ گروه منتسب شدند (شکل ۲). بر این اساس ۱۳ نمونه در گروه اول (گروه ژنوم با منشأ نامشخص)، ۱۵ نمونه در گروه دوم (گروه پوملو)، ۳۲ نمونه در گروه سوم (گروه سیترون) و ۲۰ نمونه در گروه چهارم (گروه ماندارین) قرار گرفتند که سهم بیوتیپ‌های ناشناخته در هر یک از گروه‌ها به ترتیب ۱۰۰٪، ۸۶٪، ۹۰٪ و ۲۵٪ بود. تعداد ۳۰ ژنوتیپ نیز با درصد عضویتی کمتر از ۰/۷ ساختاری مختلط نشان دادند. ژنوم با منشأ نامشخص احتمالاً گونه یا جنس خویشاوندی از مرکبات است که رقم شاهدهی از آن در مجموعه ژنوتیپ‌های مورد آزمون وجود ندارد. این ژنوم به نسبت‌های مختلف در ریخته ارثی ۶۰ نمونه (۷۸٪) از بیوتیپ‌های ناشناخته و ۱۰ نمونه (۲۹٪) از ارقام شاهد سهم داشته که بیانگر نقش آن در پیدایش این بیوتیپ‌ها و ارقام می‌باشد. در این تجزیه مشاهده شد برخی از ژنوتیپ‌هایی که در یک گروه قرار گرفته‌اند به نسبت‌های مختلف، ساختاری از دیگر گونه‌ها را در ریخته ارثی خود دارا بودند. از آنجاکه ماندارین در ساختار پرتقال و نارنج نقش دارد لذا مشاهده توزیع گسترده ژنوم ماندارین در دیگر ارقام مرکبات دور از انتظار نخواهد بود. نتایج تحقیق حاضر با نشانگر AFLP نشان داد اگرچه فقط ۳۲ ژنوتیپ مورد مطالعه (۲۹٪) در گروه سیترون دسته‌بندی شدند، اما سهم این ژنوم در ۶۱ نمونه (۵۵٪) بیش از ۱۰٪ می‌باشد. دو ژنوتیپ نارنج G83 و G110 در تجزیه بر مبنای مدل در گروه ماندارین قرار گرفته و نارنج معمولی (G86) با ساختاری مختلط از سه گونه دیگر، از آن‌ها تفکیک شد (شکل ۲).

مقایسه کارایی نشانگرها در تجزیه ساختار جمعیت

پژوهش حاضر این فرصت را به وجود آورد که اعتبار نتایج حاصل در تشخیص تفاوت ماهیت ژنتیکی بیوتیپ‌های ناشناخته تأیید شود. با مقایسه دو نمودار ساختار جمعیت (شکل‌های ۱ و ۲) مشاهده می‌شود که نزدیک به ۴۵٪ نمونه‌های مورد بررسی دارای ساختاری مختلط بودند. همچنین جدا از ۱۶ ژنوتیپ که مشترکاً توسط دو سیستم نشانگری، ساختار مخلوط نشان دادند، تعداد ژنوتیپ‌های مختلط با استفاده از نشانگر ریز ماهواره بیشتر از نشانگر AFLP تشخیص داده شد (به ترتیب ۲۰ و ۱۴ عدد). متقابلاً ۶۰ نمونه (۵۴٪) با استفاده از هر دو نشانگر در گروه‌های مستقل قرار گرفتند.



شکل ۲- تجزیه ساختار مبتنی بر مدل Bayesian برای ۱۱۰ ژنوتیپ مرکبات با اطلاعات ۲۵ ترکیب پرایمری AFLP. (قرمز=ژنوم با منشأ نامشخص، سبز= گروه پوملو، آبی= گروه سیترون، زرد= گروه ماندارین).



با دقت در نتایج ملاحظه می‌شود که بیوتیپ‌های ناشناخته G14, G26, G27, G37, G66, G79 و G64 در هر دو سیستم نشانگری در گروه ژنوم با ریخته ارثی ناشناخته قرار گرفتند. بررسی‌ها نشان داد که منشأ ژنومی برخی از گروه‌های منتج از تجزیه ساختار مبتنی بر مدل با استفاده از نشانگرهای ریز ماهواره و AFLP نامشخص بود. به عبارتی گونه‌های حقیقی سیتروس صرفاً به سه گونه سیترون، ماندارین و پوملو خلاصه نشده و علاوه بر ژنوم گونه‌هایی مانند پاپدا^۱، هیستریکس^۲ و جاپونیکا^۳، وجود ریخته ارثی از جنس‌های خویشاوند نزدیک مرکبات نظیر فورچونلا^۴، ارموسیتروس^۵ و میکروسیتروس^۶ که علی‌رغم تفاوت‌های مورفولوژیک، به علت سازگاری جنسی گونه‌هایی از جنس سیتروس پیشنهاد شده‌اند (Wu *et al.*, 2018)، در ژنوتیپ‌های مورد مطالعه دور از انتظار نیست. در این خصوص افزایش تعداد ارقام شاهد با منشاء ژنتیکی متفاوت می‌تواند در شناسایی این ژنوم‌های نامشخص و تعیین سهم آن‌ها در ساختار ژرم‌پلاسما سایر نمونه‌ها بالخصوص بیوتیپ‌های ناشناخته مفید واقع شود. به‌طور کلی در این تحقیق نتایج به‌دست‌آمده از نشانگرهای ریز ماهواره و AFLP تا حدود زیادی یکدیگر را تأیید نمودند. ولی تفاوت‌هایی در گروه‌بندی برخی از ژنوتیپ‌ها وجود داشت که می‌تواند به تکمیل اطلاعات دریافتی از هر نشانگر کمک کند. این مطالعه نشان داد که استفاده از دو سیستم نشانگری در تشخیص بهتر ترکیب ساختاری ژنوتیپ‌ها بسیار مؤثر بوده است. به‌عنوان مثال درحالی‌که با استفاده از نشانگر ریز ماهواره، بیوتیپ‌های ناشناخته G7, G13, G15, G19, G21, G68, G63, G53, G52, G22 و G72 در گروه‌های مستقل طبقه‌بندی شدند ولی تجزیه AFLP بر مختلط بودن ساختار این ژنوتیپ‌ها دلالت داشت. می‌توان این گونه برداشت نمود که بسته به نوع نشانگر و تعداد پرایمرهای بکار رفته، سهم متفاوتی از ریخته ارثی گروه‌های اصلی (گونه‌های حقیقی) در نمونه‌های مورد مطالعه دیده می‌شود. در این مورد پژوهش‌های متعددی وجود ژنوم دو گونه حقیقی ماندارین و پوملو در ریخته ارثی پرتقال را تأیید نموده‌اند (Barkley *et al.*, 2006) ولی در خصوص سهم هر یک از آن‌ها نتایج مختلفی گزارش شده است. در تمامی ارقام شاهد پرتقال به دلیل محاسبه اختلاط در تجزیه ساختار مبتنی بر مدل، نسبت‌های مختلفی از سهم ژنتیکی گونه‌ها در آن‌ها مشاهده شد. به‌عنوان مثال با استفاده از نشانگر AFLP، در سانگینلا (G89) سهم ژنوم ماندارین ۰/۷۲ و پوملو ۰/۲۷ برآورد گردید. در رقم والنسیا (G99) نیز سهم ژنوم ماندارین ۰/۴۵ و پوملو ۰/۵۳ به دست آمد. این در حالی است که با استفاده از نشانگر ریز ماهواره، این دو ژنوم تا حدودی سهم برابری در ترکیب ساختاری رقم سانگینلا (G89) داشتند (به ترتیب ۰/۴۷ و ۰/۴۹). همچنین سهم ریخته ارثی ماندارین (۰/۵۹) تقریباً دو برابر پوملو (۰/۲۹) در رقم والنسیا (G99) برآورد شد. این نسبت بالا از سهم ماندارین و پوملو در ریخته ژنومی والنسیا (G99) می‌تواند بر منشأ بین‌گونه‌ای پرتقال دلالت داشته باشد، همان‌گونه که پیش‌ازاین برای رقم والنسیا این نتیجه گزارش گردیده است (Wu *et al.*, 2018). با بررسی نمودار ساختار فیلوژنی مشاهده می‌شود که اکثر ماندارین‌های مورد آزمون سهمی از ریخته ژنتیکی پوملو را در ژنوم خود دارا می‌باشند. این یافته نتایج مطالعاتی را که پیش‌ازاین وقوع اینتروگرسیون با پوملو را برای ارقام ماندارین گزارش کرده بودند تأیید می‌نماید (Barkley *et al.*, 2006). باوجود شناسایی ریخته ژنومی با منشأ نامشخص در مجموعه ژرم‌پلاسما مورد مطالعه و تظاهر ترکیبات ساختار ژنتیکی متفاوت توسط دو نشانگر، ما توانستیم پس از سنجش اعتبار پرایمرهای مورد استفاده به کمک ارقام شاهد، به استناد وجه اشتراک نتایج تجزیه‌های انجام‌شده، هم‌گروهی، میزان شباهت ژنتیکی و سهم ریخته ارثی مشترک، اطلاعات مفیدی در خصوص ماهیت ژنتیکی ژرم‌پلاسما مورد مطالعه به دست آورده و ارتباط ژنتیکی بین ژنوتیپ‌ها بالخصوص بیوتیپ‌های ناشناخته را مشخص نماییم.

منابع

Angiulillo, A., Mencuccini, M. and Baldoni, L. 1999. Olive genetic diversity assessed using amplified fragment length polymorphisms. *Theoretical and Applied Genetics*, 98(3-4): 411-421.

¹ - *C. papeda*

² - *C. hystrix*

³ - *C. japonica*

⁴ - *Fortunella*

⁵ - *Eremocitrus*

⁶ - *Microcitrus*



- Barkley, N. A., Roose, M. L., Krueger, R. R. and Federici, C. T. 2006. Assessing genetic diversity and population structure in a citrus germplasm collection utilizing simple sequence repeat markers (SSRs). *Theoretical and Applied Genetics*, 112(8): 1519-1531.
- Dugo, G. and Di Giacomo, A. 2002. *Citrus: the genus Citrus, medicinal and aromatic plants—industrial profiles*. Taylor & Francis, New York, 26: 195-201.
- Earl, D. A. 2012. STRUCTURE HARVESTER: a website and program for visualizing STRUCTURE output and implementing the Evanno method. *Conservation genetics resources* 4: 359-361.
- Evanno, G., Regnaut, S. and Goudet, J. 2005. Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. *Molecular Ecology*, 14(8): 2611-2620.
- Gulsen, O. and Roose, M. 2001. Lemons: diversity and relationships with selected Citrus genotypes as measured with nuclear genome markers. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 126(3): 309-317.
- Li, X., Xie, R., Lu, Z. and Zhou, Z. 2010. The origin of cultivated citrus as inferred from internal transcribed spacer and chloroplast DNA sequence and amplified fragment length polymorphism fingerprints. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 135(4): 341-350.
- Nicolosi, E., Deng, Z., Gentile, A., La Malfa, S., Continella, G. and Tribulato, E. 2000. Citrus phylogeny and genetic origin of important species as investigated by molecular markers. *Theoretical and Applied Genetics*, 100(8): 1155-1166.
- Pritchard, J. K., Stephens, M. and Donnelly, P. 2000. Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics*, 155(2): 945-959.
- Wu, G. A., Terol, J., Ibanez, V., López-García, A., Pérez-Román, E., Borredá, C., et al. 2018. Genomics of the origin and evolution of Citrus. *Nature*, 554(7692): 311.

Comparison of Genetic Structure of 110 Citrus Genotypes Using Molecular Markers Microsatellite and AFLP

Abouzar Abouzari^{*1}, Mahmood Solouki², Behrouz Golein², Barat Ali Fakheri¹, Atefeh Sabouri⁴, Ahmadreza Dadras⁵

¹Agricultural Research and Education Center, AREEO, Mazandaran, Iran; Iran; email: A.

²Department of Plant Breeding and Biotechnology (PBB), Faculty of Agriculture, University of Zabol, Zabol, Iran

³Citrus and Subtropical Fruits Research center, Horticultural Sciences Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization, Ramsar, Iran

⁴Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agricultural Sciences, University of Guilan, Rasht, Iran

⁵Agricultural Research and Education Center, AREEO, Zanjan, Iran

*Corresponding Author: Abouzari@uoz.ac.ir

Abstract

Promoting the management level and utilizing the genetic resources in plant breeding programs requires awareness of the existing genetic affinity and diversity in germplasm. In this respect, 76 unknown biotypes of *Citrus*, along with 34 control cultivars were evaluated using 28 SSR primer pairs and 25 AFLP primer-enzyme combinations. In this study, it was found that in addition to the three true species, citron, pummelo and mandarin, at least two other species or genus of *Citrus* relatives contribute to different ratios in the genomic combination of some unknown biotypes. The present study has confirmed the role of pummelo introgression in the genomic makeup of sour orange, sweet orange, and grapefruit species. In this research, although both markers were effective in evaluating the genetic diversity of *Citrus* genotypes, and completed each other's' information, considering primer and primer-enzyme combinations used, SSR marker were more effective than AFLP marker and is emphasized on the effectiveness of population structure analysis in evaluating the results.

Keywords: *Citrus*; Genetic diversity; Genetic relationships; Population structure