

آنالیز مقایسه‌ای ژنومی درختان صنعتی و تندرشد صنوبر و اکالیپتوس

محمد اسماعیل پور *

- استادیار، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی اهر، دانشگاه تبریز، اهر، ایران. (m.esmaeilpour@tabrizu.ac.ir)

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۳/۱۳

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۱۰/۱۸

چکیده

مقدمه و هدف: شناسایی تشابهات ژنتیکی و ارتولوژی ژنی بین گونه‌های مختلف درختی می‌تواند در درک تکامل ژنوم، به‌نژادی و حفاظت گونه‌ها کاربرد داشته باشد. دانش زیادی در مورد عملکرد ژنوم درختان جنگلی از طریق بررسی‌های ژنومیکس مقایسه‌ای قابل استخراج است. تاکنون، گونه‌های گیاهی دارای اهمیت اقتصادی مختلفی در این زمینه به خوبی مورد پژوهش قرار گرفته‌اند، اما ژنومیکس مقایسه‌ای درختان جنگلی کمتر بررسی شده‌اند. به‌نظر می‌رسد بررسی‌های جامعی برای مقایسه ژنومی بین درختان صنعتی و تندرشد صنوبر (*Populus trichocarpa*) و اکالیپتوس (*Eucalyptus grandis*) متعلق به جد مشترک و کلاد گل‌سرخ‌داران (Rosids) کمتر انجام شده است؛ به‌ویژه با توجه به این‌که این دو گونه گیاهی مدل بوده و داده‌های زیستی آنها به‌روزرسانی می‌شود. هدف از انجام این پژوهش، ارزیابی مقایسه‌ای توالی کامل ژنوم درختان صنعتی اکالیپتوس و صنوبر از نظر ویژگی‌های ژنومی مهم مانند اندازه ژنوم، تعداد کروموزوم، محتوای ژنی، نشانگرهای ریزماهوره، تعداد ژن‌های خانواده ژنی ترین سنتاز و شناسایی ژن‌های مرتبط با دو صفت مهم و مورد توجه به‌نژادگران درختان جنگلی، شامل صفات تشکیل چوب و کیفیت دیواره سلولی است.

مواد و روش‌ها: در این پژوهش، از دو فایل مربوط به توالی‌یابی کل ژنوم اکالیپتوس با شماره دسترسی مرکز ملی اطلاعات فناوری زیستی آمریکا (NCBI) GCF-016545825.1 و صنوبر با شماره دسترسی GCF-000002775.5 استفاده شد. هر دو گونه گیاهی جزو گیاهان مدل ژنتیکی بوده و ژنوم آنها در سطح کروموزوم سرهم‌بندی شده بود. در این پژوهش، به بررسی برخی مشخصات ژنومی مانند اندازه ژنوم، تعداد کروموزوم، محتوای کلی GC، تعداد کل ژن‌ها، ژن‌های رمزکننده پروتئین، RNA های کوچک غیررمزکننده (SnRNA) و ژن‌های کاذب دو گونه تندرشد صنوبر و اکالیپتوس پرداخته شده و نمودار ون رسم شد. همچنین، توالی‌های ریزماهوره‌ای با نرم‌افزار MISA در زبان برنامه‌نویسی Perl و توالی‌های مربوط به تکثیر پشت‌سرهم موجود بر روی ژنوم‌های دو گونه فوق استخراج شد.

یافته‌ها: نتایج این پژوهش نشان داد اندازه ژنوم اکالیپتوس نسبت به صنوبر، بزرگتر و دارای ۴۲۶۱۹ ژن است که از این میان، ۳۳۳۵۲ ژن رمزکننده پروتئین در سراسر ژنوم وجود داشت. ژنوم صنوبر نیز واجد ۳۴۶۲۱ ژن بوده که ۲۹۶۱۷ ژن، رمزکننده پروتئین بوده است. علاوه بر آن، تعداد ژن‌های کاذب در ژنوم اکالیپتوس ۲/۹ برابر صنوبر بود. تعداد کروموزوم‌های اکالیپتوس ۱۱ و تعداد کروموزوم‌های صنوبر ۱۹ عدد شمارش شده است. تعداد RNAs کوچک برای ژنوم اکالیپتوس و صنوبر به ترتیب ۱۵۰۷ و ۱۳۴۷ بود. بر اساس اطلاعات حاشیه‌نویسی ژنوم موجود در سایت NCBI، برخی از ژن‌ها فقط در درخت صنوبر یافت شدند. مطابق نمودار ون، ۱۴۴۸۴ ژن منحصر به فرد برای اکالیپتوس و ۱۲۱۱۴ ژن مخصوص گونه صنوبر شناسایی شد. ۹۱۳۳ ژن نیز مشترک بین دو گونه بوده است. تعداد کل نشانگرهای ریزماهواره شناسایی شده بر روی ژنوم اکالیپتوس ۱۳۶۱۴۷ عدد و برای ژنوم صنوبر ۷۷۰۲۴ عدد بود. نتایج به دست آمده نشان می‌دهد که ژنوم‌های اکالیپتوس و صنوبر به ترتیب از ۳/۸ Mb و ۱۰/۲ Mb توالی‌های ریزماهواره‌ای تشکیل شده است. جالب توجه است که تعداد و تراکم نشانگرهای ریزماهواره شناسایی شده در ژنوم اکالیپتوس به ترتیب ۱/۸ و ۱/۲ برابر صنوبر بود. لازم به ذکر است به تعداد ۴۰۶۷ نوع موتیف در اکالیپتوس و ۲۸۹۸ نوع موتیف در ژنوم صنوبر شناسایی شد. از دیگر نتایج این پژوهش می‌توان به وجود ارتباط عکس میان فراوانی ریزماهواره‌ها و تعداد توکلوتیدها در میان توالی‌های ژنومی گونه‌های گیاهی مورد پژوهش اشاره کرد. به طوری که با افزایش فراوانی ریزماهواره‌ها، کاهش قابل توجهی در تعداد نوکلوتیدها مشاهده شد. بر این اساس، ریزماهواره‌های تک و دو نوکلوتیدی دارای بیشترین فراوانی بوده، در حالی که ریزماهواره‌های هشت و نه نوکلوتیدی، کمترین فراوانی را داشتند. نتایج حاصل از ارزیابی انجام شده در خصوص بررسی تفاوت حضور خانواده ژنی ترین ستاز در دو گونه گیاهی مورد پژوهش نیز حاکی از آن بوده است که در اکالیپتوس، ۱۱۲ ژن و در صنوبر ۷ ژن از خانواده ژنی فوق وجود دارد. تعداد خوشه یا همان تعداد مناطق گسترش یافته پشت سرهم در ژنوم گونه اکالیپتوس ۳۱۸۵ عدد و برای گونه صنوبر ۲۵۷۵ عدد شناسایی شد. تعداد کل ژن‌های پشت سرهم حفظ شده در ژنوم اکالیپتوس به اندازه ۱۶ درصد بیشتر از ژنوم صنوبر بود. تعداد ژن‌های عملکردی و غیرعملکردی اکالیپتوس نیز بزرگتر از صنوبر بود. در تعداد زیادی از ژن‌های مرتبط با صفت مهم تشکیل چوب در دو درخت مورد پژوهش، رویداد پیرایش جایگزین با الگوهای مختلف رخ داد. در مجموع، به تعداد ۵۹ ژن کاندید برای صفت مهم کیفیت دیواره سلولی برای دو گونه صنوبر و اکالیپتوس شناسایی شد.

نتیجه‌گیری کلی: ژنومیکس مقایسه‌ای می‌تواند با در اختیار قرار دادن آلل‌های متنوع مرتبط با صفات مهم اقتصادی و اکولوژیکی، فرایند اصلاح نژاد گونه‌های درختی را سرعت بخشیده و همچنین، به حفظ گونه‌هایی که از نظر ژنتیکی متمایز و در معرض خطر انقراض هستند، کمک کند.

واژه‌های کلیدی: اندازه ژنوم، تکامل ژنوم، توالی‌یابی کل ژنوم، ریزماهواره.

ژن‌ها یا خانواده‌های ژنی از طریق بررسی کل ژنوم فراهم می‌کند. دانش زیادی در مورد عملکرد ژنوم درختان جنگلی از طریق بررسی‌های ژنومیکس مقایسه‌ای قابل استخراج است (Xu et al., 2014). تاکنون، گونه‌های گیاهی دارای اهمیت اقتصادی مختلفی در این زمینه به خوبی مورد بررسی قرار گرفته‌اند، اما درختان کمتر بررسی شده‌اند (Butler et al., 2017). پژوهش‌های زیادی گزارش کردند که ژنومیکس مقایسه‌ای در به‌نژادی گونه‌های گیاهی کاربرد دارد (Saadati Jebeli et al., 2022). در پژوهشی، ویژگی‌های ژن CER، که در بیوستنز آلکان‌های موم نقش دارد؛ در ژنوم ۲۸ گونه از جنس اکالیپتوس، مقایسه شد. در این پژوهش نتیجه‌گیری شد که توضیح دادن رابطه بین تغییر در ویژگی‌های این ژن با مقدار سازگاری گونه‌های مختلف جنس اکالیپتوس به محیط‌های مختلف، هنوز به صورت یک چالش مطرح است (Hernández et al., 2024). در مقایسه با سایر گونه‌های جنس بلوط، ژنوم گونه بلوط مغولی (*Quercus mongolica*) دارای نسخه‌های زیادی از ژن CER1 بود، از این رو پیشنهاد شد که وجود این نسخه‌های تکراری می‌تواند به سازگاری این گونه از بلوط به تنش خشکی کمک نماید (Ai et al., 2022).

درخت اکالیپتوس (*Eucalyptus grandis*) متعلق به تیره موردیان (Myrtaceae) است و گونه‌ای تندرشد بوده و در برابر طیف وسیعی از شرایط بوم‌شناسی، به‌ویژه دماهای بالا و تنش خشکی، به‌طور نسبی مقاوم است از این رو، در امر درختکاری زیاد مورد استفاده قرار می‌گیرد (Sadeghi et al., 2018). همچنین، این درخت در صنایع دارویی، صنایع چوبی و فضای سبز بسیار با اهمیت بوده و گونه‌ای از جنس اکالیپتوس به نام *E. grandis* به‌عنوان ژنوم مرجع در نظر گرفته شده است (Myburg et al., 2014). درخت صنوبر

ژنومیکس مقایسه‌ای، به‌عنوان یکی از زمینه‌های پژوهشی در حال توسعه که به ارائه بینش‌های مهم تکاملی و اطلاعات کاربردی مفید در زمینه درک شباهت‌ها و تفاوت‌های ژنومی بین گونه‌ها می‌پردازد، شناخته می‌شود (Butler et al., 2017). بر این اساس، با مقایسه ژنوم میان دو یا چند گونه، می‌توان به شناسایی طرح تکاملی، زمین‌های حفاظت‌شده، ساختار ژن، روابط فیلوژنتیکی، ژن‌های ارتولوگ و نیز دیگر ویژگی‌های ژنومی منحصر به فرد مانند اندازه ژنوم، تعداد کروموزوم، تعداد ژن‌های رمزکننده پروتئین، ریزماهواره‌ها و غیره پرداخت (Wijerathna-Yapa et al., 2023). نشانگرهای مولکولی مختلف مانند نشانگرهای ریزماهواره، برای بررسی‌های تنوع ژنتیکی، ساختار جمعیت، نقشه‌برداری ژنتیکی، بررسی‌های فیلوژنتیکی، شناسایی و انتخاب گونه گیاهی کاربرد داشته و اطلاعات ژنتیکی جمعیتی مناسبی را می‌تواند در اختیار مدیران بخش اجرایی قرار دهند (Potter et al., 2015; Adhikari et al., 2017; Rostami et al., 2019; Taheri et al., 2022; Mohammadi et al., 2023). دانش هومولوژی ژن، می‌تواند انتقال ژن‌ها یا مناطق ژنومی مرتبط با صفات مطلوب را از طریق مهندسی ژنتیک، ویرایش ژن یا تلاقی گسترده بین گونه‌ها تسهیل کند. ژنومیک مقایسه‌ای نه تنها به ژنوم‌های توالی‌یابی شده، بلکه به ابزارهای بیوانفورماتیک قدرتمند و مبتنی بر وب بستگی دارد که آزادانه در دسترس بوده و استفاده از آنها برای زیست‌شناسان تجربی آسان باشد. در دسترس بودن فزاینده منابع ژنومی مانند توالی ژنوم و نشانگرهای مولکولی با توان عملیاتی بالا، اکنون فرصتی را برای بررسی‌های ژنومیک مقایسه‌ای در میان انواع گونه‌ها ایجاد کرده و آگاهی‌های جدیدی را در مورد تکامل

در این پژوهش، از دو فایل مربوط به توالی‌یابی کل ژنوم (*Whole genome sequencing*) اکالیپتوس (*E. grandis*) با شماره دسترسی مرکز ملی اطلاعات فناوری زیستی آمریکا (NCBI) GCF-016545825.1 و صنوبر (*P. trichocarpa*) با شماره دسترسی GCF-000002775.5 استفاده شد. هر دو گونه گیاهی جزو گیاهان مدل بوده و ژنوم آن‌ها در سطح کروموزوم سرهم‌بندی شده بود. ویژگی‌های ژنومی گونه‌های مورد پژوهش مانند اندازه ژنوم، تعداد کروموزوم، محتوای کلی GC، تعداد کل ژن‌ها، تعداد ژن‌های رمزکننده پروتئین، تعداد RNAs کوچک و تعداد ژن‌های کاذب استخراج شد. همچنین، برای مشخص کردن و نمایش تعداد ژن‌های مشترک بین دو گونه اکالیپتوس و صنوبر، نمودار ون با کمک سایت آنلاین (<https://bioinformatics.psb.ugent.be/webtools/Venn>) ترسیم شد. در راستای شناسایی توالی‌های ریزماهوره ژنوم‌های مورد پژوهش از نرم‌افزار MISA در زبان برنامه‌نویسی Perl استفاده شد. با استفاده از نرم‌افزار فوق، می‌توان به شناسایی نشانگرهای ریزماهوره کامل و ریزماهوره مرکب، به‌عنوان بخشی از ریزماهوره‌ها که توسط چندین نوکلئوتید در بین آن‌ها فاصله ایجاد شده، پرداخت. حداکثر فاصله‌ای که برای ریزماهوره‌های مرکب در نظر گرفته شد نیز ۱۰۰ جفت باز بود. در این پژوهش، معیارهای تعریف نشانگر ریزماهوره برای هر دو گونه گیاهی یکسان بوده است به‌طوری‌که، ۱۶ تکرار برای ریزماهوره‌های تک نوکلئوتیدی، هشت تکرار برای دو نوکلئوتیدی، شش تکرار برای سه نوکلئوتیدی، پنج تکرار برای چهار نوکلئوتیدی، چهار تکرار برای پنج و شش نوکلئوتیدی و سه تکرار برای موتیف‌های هفت، هشت و نه نوکلئوتیدی در نظر گرفته شد (Song et al., 2021). مجموع اندازه‌های ریزماهوره و تراکم نشانگر

(*Populus trichocarpa*) متعلق به خانواده بیدیان (*Salicaceae*) بوده و در امر درختکاری زیاد مورد استفاده قرار می‌گیرد. در طول دهه‌های گذشته اهمیت این گونه افزایش یافته است که بر این اساس، ژنوم آن به‌صورت کامل توالی‌یابی شده است. گونه‌های صنوبر در زیستگاه‌های مختلف گسترش دارند و تنوع ژنتیکی زیادی را در خود جای داده‌اند که می‌تواند در راستای شناخت مکانیسم‌های مولکولی مرتبط با تحمل به تنش، تشکیل چوب و غیره استفاده شوند. تاکنون گونه‌های گیاهی دارای اهمیت غذایی مانند تیره گندم در زمینه ژنومیکس مقایسه‌ای به‌خوبی مورد پژوهش قرار گرفته‌اند، درحالی‌که به‌نظر می‌رسد بررسی‌های زیادی برای مقایسه ژنومی بین درختان صنعتی و تندرشد همانند اکالیپتوس و صنوبر برای درک تکامل ژنوم و شناسایی ژن‌های ارتولوگ انجام نشده است؛ به‌ویژه با توجه به این که اطلاعات مربوط به ژنوم با گذشت زمان کامل‌تر شده و حاشیه‌نویسی ژنوم‌ها هر چند وقت به روزرسانی می‌شود. نتایج حاصل از بررسی‌های ژنومیکس مقایسه‌ای، می‌تواند منجر به شناسایی ژن‌های ارتولوگ شود که در راستای به‌نژادی مولکولی این گونه‌های جنگلی مهم که البته مورد توجه سازمان منابع طبیعی و آبخیزداری ایران نیز است، مفید واقع شود. لازم به ذکر است امروزه در به‌نژادی مولکولی، امکان استفاده از گونه‌های وحشی با قرابت ژنتیکی بسیار دور برای انتقال ژن وجود دارد (MirMohammadi, 2019). هدف از انجام این پژوهش، ارزیابی مقایسه‌ای توالی کامل ژنوم اکالیپتوس و صنوبر از نظر ویژگی‌های ژنومی مانند اندازه ژنوم، محتوای ژنی، نشانگرهای ریزماهوره و غیره است.

مواد و روش‌ها

اندازه ژنوم اکالیپتوس Mb 9/615 و اندازه ژنوم صنوبر Mb 2/392 بود. تعداد کروموزوم‌های اکالیپتوس ۱۱ و تعداد کروموزوم‌های صنوبر ۱۹ عدد شمارش شده است. محتوای GC ژنوم اکالیپتوس و صنوبر به ترتیب ۳۹/۵ و ۳۴/۰ درصد بود. ژنوم اکالیپتوس دارای ۴۲۶۱۹ ژن که در میان این ژن‌ها ۳۳۳۵۲ ژن رمزکننده پروتئین وجود داشت. ژنوم صنوبر دارای ۳۴۶۲۱ ژن که در میان این ژن‌ها ۲۹۶۱۷ ژن شناخته شده رمزکننده پروتئین وجود داشت. تعداد RNAs کوچک برای ژنوم اکالیپتوس و صنوبر به ترتیب ۱۵۰۷ و ۱۳۴۷ بود. تعداد ژن‌های کاذب در اکالیپتوس و صنوبر به ترتیب ۳۹۴۵ و ۱۳۷۲ بود که ۲/۹ برابر شده است (جدول ۱). فهرست کامل ژن‌ها، خانواده‌های ژنی و نشانگرهای ریزماهواره به تفکیک دو گونه درختی مورد بررسی به ترتیب در فایل‌های ضمیمه ۱، ۲ و ۳ فراهم شده است.

ریزماهواره (مجموع اندازه‌های ریزماهواره به کیلوباز تقسیم بر اندازه ژنوم به مگاباز) در نرم‌افزار Excel محاسبه شد (Zhu et al., 2021). تک‌تک ژن‌های شناسایی بر اساس خانواده‌های ژنی به کمک سایت آنلاین (<https://www.mandadilab.com/family/>) طبقه‌بندی شدند. توالی‌های مربوط به تکثیر پشت‌سرهم (Tandem duplication) نیز استخراج شد (Myburg et al., 2014). همچنین تعداد ژن‌های خانواده ژنی ترین سنتاز در دو گونه، مورد مقایسه قرار گرفت. در نهایت، ژن‌های مرتبط با دو صفت مهم و مورد توجه به‌نژادگران، شامل صفات تشکیل چوب و کیفیت دیواره سلولی مورد بررسی قرار گرفت (Xu et al., 2014; Pancaldi et al., 2022).

نتایج

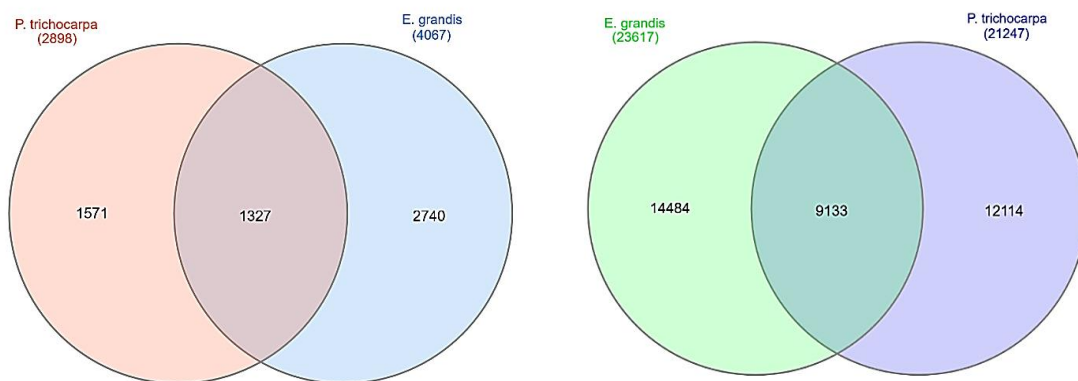
جدول ۱- مقایسه ویژگی‌های ژنوم درختان اکالیپتوس و صنوبر

Table 1. Comparison of genome characteristics of eucalypt and poplar trees

ویژگی ژنوم اکالیپتوس تقسیم بر همان ویژگی ژنوم صنوبر (برابر)	صنوبر <i>P. trichocarpa</i>	اکالیپتوس <i>E. grandis</i>	ویژگی‌های ژنوم Genome characteristics
Eucalyptus genome feature divided by the same feature of poplar genome (times)			
1.6	392.2	615.9	اندازه ژنوم (Mb) Genome size
0.6	۱۹	۱۱	تعداد کروموزوم Chromosome number
1.2	34.0	39.5	محتوای GC (درصد) GC content (%)
1.2	۳۴۶۲۱	۴۲۶۱۹	تعداد کل ژن‌ها Total number of genes
1.1	۲۹۶۱۷	۳۳۳۵۲	تعداد ژن‌های شناخته شده رمزکننده پروتئین Number of known protein-coding genes
1.1	۱۳۴۷	۱۵۰۷	تعداد RNA های کوچک غیر رمزکننده Number of small non-coding RNAs
2.9	۱۳۷۲	۳۹۴۵	تعداد ژن‌های کاذب Number of pseudogenes

بود (شکل ۱). همچنین، نمودار ون نشان داد که بین موتیف‌های ریزماهواره شناسایی شده برای دو گونه مورد پژوهش، ۱۳۲۷ عدد موتیف مشترک، تعداد ۲۷۴۰ موتیف اختصاصی اکالیپتوس و تعداد ۱۵۷۱ موتیف اختصاصی صنوبر بود (شکل ۱ و فایل‌های ضمیمه ۱ و ۳).

بر اساس اطلاعات حاشیه‌نویسی ژنوم موجود در سایت NCBI، برخی از ژن‌ها فقط در درخت اکالیپتوس و برخی از ژن‌ها فقط در درخت صنوبر یافت شدند (فایل ضمیمه ۱). مطابق نمودار ون، ۱۴۴۸۴ ژن منحصر به فرد برای اکالیپتوس و ۱۲۱۱۴ ژن مخصوص گونه صنوبر شناسایی شد. ۹۱۳۳ ژن نیز مشترک بین دو گونه



شکل ۱- نمودار ون برای نمایش تعداد ژن‌ها (شکل راست) و موتیف‌های ریزماهواره مشترک شناسایی شده از روی ژنوم دو گونه اکالیپتوس و صنوبر (شکل چپ)

Figure 1. Venn diagram to show the number of genes (right) and microsatellite motifs identified from the genomes of two Eucalypt and poplar species (left)

ژن‌های پشت سرهم حفظ شده نیز در ژنوم اکالیپتوس به اندازه ۱۶ درصد بیشتر از ژنوم صنوبر بود (جدول ۲).

همچنین، تعداد خوشه یا همان تعداد مناطق گسترش یافته پشت سرهم در اکالیپتوس ۳۱۸۵ عدد و برای صنوبر ۲۵۷۵ عدد شناسایی شده است. تعداد کل

جدول ۲- تکثیر پشت سرهم برای ژنوم دو گونه اکالیپتوس و صنوبر

Table 2. Tandem duplication for the genomes of Eucalypt and poplar

تعداد کل ژن‌های پشت سرهم حفظ شده (درصد) Total number of retained tandem genes (%)	تعداد خوشه یا تعداد مناطق گسترش یافته پشت سرهم Number of tandem expanded regions (clusters)	گونه‌های گیاهی Plant species
11340 (34 %)	3185	اکالیپتوس <i>E. grandis</i>
6232 (18 %)	2575	صنوبر <i>P. trichocarpa</i>

تعداد کل نشانگرهای ریزماهواره شناسایی شده بر روی ژنوم اکالیپتوس ۱۳۶۱۴۷ و برای ژنوم صنوبر ۷۷۰۲۴ عدد بود. ژنوم‌های اکالیپتوس و صنوبر به ترتیب از ۳/۸ Mb و ۱۰/۲ Mb توالی ریزماهواره‌ای تشکیل شده است. تراکم نشانگر ریزماهواره (مجموع اندازه‌های ریزماهواره به کیلوباز تقسیم بر اندازه ژنوم به مگاباز) در ژنوم اکالیپتوس نیز ۱/۲ برابر صنوبر بود (جدول ۳).

جدول ۳- مقایسه نشانگرهای ریزماهواره ژنوم درختان اکالیپتوس و صنوبر

Table 3. Comparison of microsatellite markers of Eucalypt and poplar genomes			
ویژگی ژنوم اکالیپتوس تقسیم بر همان ویژگی ژنوم صنوبر (برابر)	صنوبر <i>P. trichocarpa</i>	اکالیپتوس <i>E. grandis</i>	نشانگرهای ریزماهواره Microsatellite marker
Eucalyptus genome feature divided by the same feature of poplar genome (times)			
1.8	۷۷۰۲۴	۱۳۶۱۴۷	تعداد کل نشانگر ریزماهواره Total number of microsatellite markers
1.8	۲۰۹۷۰۵۱	۳۸۳۰۲۸۰	مجموع اندازه‌های ریزماهواره (bp) Total microsatellite sizes (bp)
1.2	5.3	6.2	تراکم نشانگر ریزماهواره (مجموع اندازه‌های ریزماهواره به کیلوباز تقسیم بر اندازه ژنوم به مگاباز) Microsatellite marker density (Total microsatellite sizes in kilobases divided by genome size in megabases or kb/Mb)

بیشترین فراوانی بر روی ژنوم دو گونه اکالیپتوس و صنوبر، به ترتیب ۶۹/۹۲ و ۵۸/۷۱ درصد از کل موتیف‌های ریزماهواره‌ای شناسایی شده را به خود اختصاص داده است. به طوری که فراوان‌ترین موتیف در گونه‌های اکالیپتوس و صنوبر، به ترتیب موتیف تک نوکلئوتیدی T، (۱۷/۱۳ درصد) و موتیف AT (۱۵/۳۵ درصد) بوده است. در بین ده موتیف با بیشترین فراوانی، موتیف‌های GA (۶/۳۹ درصد) و AAG (۰/۸۳ درصد) فقط در ژنوم اکالیپتوس و موتیف‌های AG (۲/۷۸ درصد)، AC (۲/۰۵ درصد) و TTA (۱/۹۴ درصد) فقط در ژنوم صنوبر مشاهده شد (جدول ۵). لازم به ذکر است ۴۰۶۷ نوع موتیف در ژنوم اکالیپتوس و ۲۸۹۸ نوع موتیف در ژنوم صنوبر شناسایی شد (فایل ضمیمه ۳).

از دیگر نتایج این پژوهش می‌توان به وجود ارتباط عکس میان فراوانی ریزماهواره‌ها و تعداد توکلئوتیدها در میان توالی‌های ژنومی گونه‌های گیاهی مورد بررسی اشاره کرد. به طوری که با افزایش فراوانی ریزماهواره‌ها، کاهش قابل توجهی در تعداد نوکلئوتیدها مشاهده شد. بر این اساس، ریزماهواره‌های تک و دو نوکلئوتیدی دارای بیشترین فراوانی بوده، در حالی که ریزماهواره‌های هشت و نه نوکلئوتیدی، کمترین فراوانی را داشتند (جدول ۴). به بیانی دیگر، تعداد ریزماهواره با واحدهای تکرار شونده بالا، نسبت به ریزماهواره‌های با واحدهای تکرار شونده پایین، کمتر است. در جدول ۵، ده ریزماهواره با بیشترین تکرار در گونه‌های مورد بررسی، نشان می‌دهد. بر این اساس، ده موتیف ریزماهواره‌ای با

تعداد ریزماهوره‌های ترکیبی نیز در اکالیپتوس و صنوبر به ترتیب ۱۳۴۴۹ و ۷۶۸۳ عدد بود.

جدول ۴- شناسایی موتیف‌های ریزماهوره‌ای بر روی ژنوم دو گونه اکالیپتوس و صنوبر

Table 4. Identification of microsatellite motifs on the genome of Eucalypt and poplar species

مجموع Sum	تعداد نوکلئوتیدهای موتیف‌های ریزماهوره‌ای									گونه گیاهی Plant species
	Nucleotides number of microsatellite motifs									
	نه Nona	هشت Octa	هفت Hepta	شش Hexa	پنج Penta	چهار Tetra	سه Tri	دو Di	تک Mono	
۱۳۶۱۴۷	۹۵۳	۱۷۶۹	۵۶۳۰	۴۴۱۴	۵۳۰۰	۵۵۴۳	۱۷۱۱۶	۴۸۷۶۲	۴۶۶۶۰	اکالیپتوس <i>E. grandis</i>
۷۷۰۲۴	۱۲۸	۴۹۲	۴۶۳۲	۲۵۶۴	۳۹۷۸	۳۲۴۰	۱۴۱۰۶	۳۳۵۶۰	۱۴۳۲۴	صنوبر <i>P. trichocarpa</i>

جدول ۵- ۱۰ موتیف ریزماهوره‌ای با بیشترین فراوانی بر روی ژنوم دو گونه اکالیپتوس و صنوبر

Table 5. Ten microsatellite motifs with the highest frequency on the genome of Eucalypt and poplar

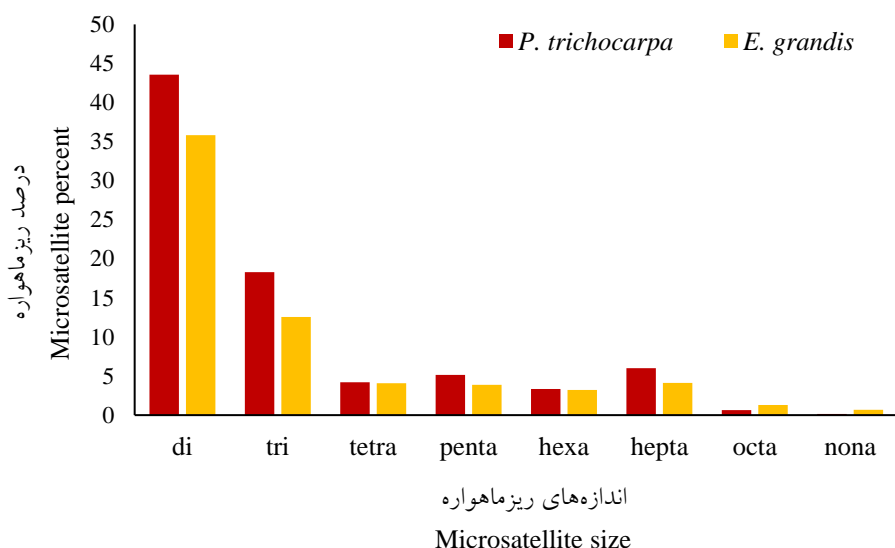
صنوبر <i>P. trichocarpa</i>		اکالیپتوس <i>E. grandis</i>		ردیف No.
درصد Percent	موتیف ریزماهوره‌ای Microsatellite motif	درصد Percent	موتیف ریزماهوره‌ای Microsatellite motif	
15.35	AT	17.13	T	1
13.10	TA	17.11	A	2
8.44	A	7.10	CT	3
8.21	T	6.81	AG	4
2.78	AG	6.39	GA	5
2.39	CT	6.36	TC	6
2.28	TC	4.80	AT	7
2.17	AAT	2.48	TA	8
2.05	AC	0.90	AAT	9
1.94	TTA	0.83	AAG	10
58.71 (%)		69.92 (%)		مجموع (به درصد) Sum (%)

گیاهی مورد بررسی، اختلاف زیادی داشت. ولی از نظر شش و چهار نوکلئوتیدی شباهت زیادی به هم داشتند. از نظر واحد تکرار در ژنوم اکالیپتوس، ۳۴/۲۷ درصد تک نوکلئوتیدی، ۳۵/۸۲ درصد دو نوکلئوتیدی، ۱۲/۵۷

شکل ۲، درصد حضور ریزماهوره‌ها با اندازه‌های مختلف در ژنوم دو گونه مورد پژوهش را نشان می‌دهد. بر این اساس، الگوی توزیع ریزماهوره‌ها در توالی‌های دو نوکلئوتیدی و سپس سه نوکلئوتیدی در دو گونه

انجام شده در خصوص بررسی تفاوت حضور خانواده ژنی ترین سنتاز در دو گونه گیاهی مورد پژوهش نیز حاکی از آن بوده است که در اکالیپتوس، ۱۱۲ ژن و در صنوبر ۷ ژن از خانواده ژنی فوق شناسایی شدند.

درصد سه نوکلئوتیدی و ۴/۰۷ درصد چهار نوکلئوتیدی بودند. از نظر واحد تکرار در ژنوم صنوبر نیز ۱۸/۶ درصد تک نوکلئوتیدی، ۴۳/۵۷ درصد دو نوکلئوتیدی، ۱۸/۳۱ درصد سه نوکلئوتیدی و ۴/۲۱ درصد واحد تکرار چهار نوکلئوتیدی بودند. نتایج حاصل از ارزیابی



شکل ۲- درصد حضور ریزماهوره‌های با اندازه‌های مختلف در ژنوم‌های اکالیپتوس و صنوبر

Figure 2. Percentage of presence of microsatellites with different sizes in eucalypt and poplar genomes

است (جدول ۶). در مجموع، به تعداد ۵۹ ژن کاندید برای صفت کیفیت دیواره سلولی برای دو گونه صنوبر و اکالیپتوس شناسایی شد (جدول ۷).

رویداد پیرایش جایگزین در تعداد زیادی از ژن‌های مرتبط با صفت تشکیل چوب در دو درخت تندرشد صنوبر و اکالیپتوس با الگوهای مختلف رخ داده

جدول ۶- ژن‌های متأثر از پیرایش جایگزین برای صفت تشکیل چوب

Table 6. Genes affected by alternative splicing for wood formation trait

اکالیپتوس Eucalyptus	صنوبر Poplar	ژن‌های مرتبط با صفت تشکیل چوب Genes related to wood formation trait
20.7	28.3	ژن‌های متأثر از پیرایش جایگزین (درصد) Genes affected by alternative splicing (%)
26.8	25.0	پیرایش جایگزین مسبب تغییر در دومین پروتئین (درصد) Alternative splicing event causing protein domain modification (%)

جدول ۷- ۵۹ ژن کاندید موجود در نواحی QTL های کنترل کننده صفت کیفیت دیواره سلولی در دو گونه صنوبر و اکالیپتوس

Table 6. 59 candidate genes included in QTL controlling cell wall quality trait in polar and eucalyptus

شناسه ژنی Gene_ID	تعداد ژن کاندید برای صفت دیواره سلولی موجود در QTL Number of candidate cell wall genes included in QTL	گونه گیاهی Plant species
Eucgr.D01671, Eucgr.D02390, Eucgr.E01053, Eucgr.F02583, Eucgr.F02615, Eucgr.F03231, Eucgr.A00682, Eucgr.D02351, Eucgr.G02314, Eucgr.F03235, Eucgr.F02961, Eucgr.A00721, Eucgr.G02118, Eucgr.J02604, Eucgr.J02859, Eucgr.J02867, Eucgr.F02588, Eucgr.F03419, Eucgr.F03435	19	اکالیپتوس <i>E. grandis</i>
XP_002302644.1, XP_002320876.1, XP_002320897.3, XP_002325546.1, XP_006376251.2, XP_024439211.1, XP_024447116.1, XP_024450691.1, XP_002312305.2, XP_002314796.1, XP_002325558.3, XP_006378559.1, XP_024439807.1, XP_024440318.1, XP_002308244.1, XP_002311524.3, XP_002314776.3, XP_002323055.2, XP_006371482.1, XP_006378478.1, XP_024462325.1, XP_002311398.3, XP_002316021.1, XP_024463620.1, XP_024465517.1, XP_002325525.2, XP_006376148.2, XP_002308268.2, XP_002309181.2, XP_002311383.3, XP_002316044.2, XP_002323665.1, XP_006370320.2, XP_024459659.1, XP_024460062.1, XP_024462556.1, XP_024466027.1, XP_002325983.1, XP_006376270.1, XP_006370644.1	40	صنوبر <i>P. trichocarpa</i>

بحث

مانند کاج، اگر چه به لحاظ تکاملی ابتدایی ترند، ولی اندازه ژنوم بزرگتری نسبت به درختان پهن برگ مانند صنوبر دارند. از این رو، این فرضیه تقویت می شود که اندازه ژنوم به صورت خطی با پیچیدگی تکاملی ظاهری گونه افزایش نمی یابد. هر چند افزایش اندازه ژنوم می تواند ظرفیت لازم برای حمل ژن های بیشتر را فراهم کند و این امر به معنی توانایی آن موجود در تولید پروتئین های بیشتر و اخذ ویژگی های متنوع تر است. با وجود تفاوت های ژنومی میان دو گونه گیاهی مورد پژوهش، از نظر اندازه ژنوم و تعداد کروموزوم، شباهت هایی از نظر وجود ژن های مشترک میان آن دو نیز وجود دارد که مشابه این نتایج در دیگر گونه های گیاهی نیز گزارش شده است. پژوهش انجام شده بر روی ژنوم دو گونه مهم برنج و گندم تأیید کننده وجود تشابهات ژنتیکی و ژن های ارتولوگ میان آنها بود که می تواند در امر به نژادی برای افزایش عملکرد و تحمل

با توسعه فناوری های توالی یابی، امکان تجزیه و تحلیل های دقیق تری از ویژگی های ژنومی مانند اندازه ژنوم، توالی های ریزماهواره ای، ژن های کاذب و غیره، فراهم شده است و بر این اساس، می تواند بینش عمیقی را در خصوص ویژگی های ژنومی و نیز الگوهای تنوع آنها در بین گونه های مختلف جانداران ارائه دهد. اندازه ژنوم در میان گونه های گیاهی متفاوت است و اهمیت تکاملی و عملی این تنوع موضوع قابل توجهی است. در این پژوهش، ویژگی های مختلف ژنوم و توالی های ریزماهواره دو گونه گیاهی صنعتی و تندرشد، اکالیپتوس و صنوبر، با یکدیگر مقایسه شد. از این رو، مشاهده شد که اندازه ژنوم اکالیپتوس بزرگتر از اندازه ژنوم صنوبر است. با این حال، این افزایش اندازه ژنوم، به طور قطعی، به مفهوم پیشرفته تر شدن گونه در طی روند تکاملی نیست. به عنوان مثال، درختان سوزنی برگ

(Baldrich et al., 2022). شواهد درحال ظهور نشان می‌دهد که موتیف‌های تکراری ریزماهورها ممکن است رونویسی ژن، ترجمه، متیلاسیون DNA، پایداری mRNA، ساختار کروماتین و فعالیت‌های متابولیکی را تنظیم کنند. تغییر توالی‌های تکراری، نه تنها منجر به تغییر اسیدآمین می‌شود بلکه ساختار و عملکرد پروتئین را می‌تواند تحت تأثیر قرار داده و در نهایت کل سامانه زیستی را تحت تأثیر قرار می‌دهد. همچنین، به نظر می‌رسد وجود موتیف‌های تکراری، به دلیل دخالت آن‌ها در فرآیندهای زیستی مانند بیان ژن، اتصال به پروتئین و مسیرهای سنتز متابولیت ثانویه، از نظر تکاملی مهم باشند. بر این اساس، در این پژوهش مشاهده شد که موتیف A/T بیشتر از موتیف C/G در گونه‌های گیاهی مورد پژوهش بود که با نتایج برخی از پژوهش‌های دیگر هم‌خوانی دارد. به طوری که در پژوهشی، ژنوم ۱۴۰ گونه گیاهی مورد ارزیابی قرار گرفت و یافته‌ها حاکی از آن بوده است که الگوهای توزیع موتیف‌ها در گیاهان عالی به طور عمده غنی از نوع AT بود (Zhu et al., 2021). در دیگر بررسی‌ها نیز نشان داده شده است که موتیف ریزماهوره A/T با نقاط داغ نوترکیبی میوز مرتبط است. به نظر می‌رسد فرایند تکامل گیاهان احتمالاً سبب کاهش تعداد و تراکم عناصر متحرک و ریزماهورها و افزایش تعداد ژن‌های کارکردی در سطح ژنوم شده است (Heissl et al., 2018). مقایسه توزیع عناصر متحرک، در ژنوم گونه‌های مختلف گیاهی می‌تواند به بررسی بیشتر اثرهای آن‌ها بر بیان ژن و فنوتیپ مورد نظر کمک کند (Bennetzen, 2020). همچنین، در این پژوهش مشاهده شده است که تکرارهای دو و سه نوکلئوتیدی بیشترین فراوانی را در مقایسه با دیگر تکرارهای نوکلئوتیدی در نواحی ریزماهورهای در گونه‌های گیاهی مورد بررسی داشته

به تنش‌های محیطی قابل استفاده باشد (Wijerathna-Yapa et al., 2023).

محتوای کلی درصد GC در اکالیپتوس ۱/۲ برابر صنوبر بوده که این تنوع در محتوای GC، ممکن است پیامدهای تکاملی برای سازگاری آن‌ها با محیط داشته باشد. تعداد کل ژن‌های اکالیپتوس نسبت به صنوبر تقریباً ۱/۲ برابر و تعداد ژن‌های کاذب تقریباً ۲/۹ برابر بوده است. در خصوص تعداد ژن‌های رمزکننده پروتئین (۳۳۳۵۲) برای گونه مدل اکالیپتوس مطابق با گزارش سایت NCBI و ۲۹۶۱۷ برای گونه مدل صنوبر)، برخی به صورت پشت سرهم رخ می‌دهند که تاکنون بیشترین تکرار (۳۴ درصد، جدول ۲) در ژنوم‌های گیاهی برای گونه اکالیپتوس (*E. grandis*) گزارش شد (Myburg et al., 2014). علاوه بر این، تعداد کل ژن‌های کاذب شناخته شده برای اکالیپتوس و صنوبر به ترتیب ۳۹۴۵ و ۱۳۷۲ عدد تعیین شده که تفاوت ۲/۹ برابری را نسبت به یکدیگر نشان می‌دهند. به طور کلی تصور می‌شود که این دسته از ژن‌ها توانایی تولید پروتئین عملکردی را از دست داده‌اند. درحالی که برخی از ژن‌های کاذب از نظر رونویسی خاموش هستند، برخی دیگر فعال بوده و ممکن است توسط سلول برای تنظیم ژن‌های رمزکننده استفاده شود (Xie et al., 2019). در این بررسی، مشخص شده است که تعدادی از ژن‌ها مخصوص اکالیپتوس بوده و در ژنوم صنوبر حضور نداشتند که هم‌سو با نتایج برخی پژوهشگران بود (Onda and Mochida, 2016). همچنین، تعداد RNA های کوچک غیر رمزکننده (sncRNA) ژنوم صنوبر نسبت به اکالیپتوس ۱/۱ برابر است. نتایج پژوهشی نشان داد که اعضای متعلق به یک جنس، RNAs کوچک مشابهی دارند، درحالی که اعضاء متعلق به جنس‌های مختلف، اشتراکات به نسبت کمی را از این نظر نشان می‌دهند

تغییرات پس از ترجمه، بر عملکرد پروتئین تأثیر می‌گذارد. بخش بزرگی از رویداد پیرایش جایگزین (۲۵/۰) درصد در صنوبر و ۲۶/۸ درصد در اکالیپتوس، جدول ۶)، منجر به تغییرات دمین پروتئین می‌شود که ممکن است در صفت تشکیل چوب دخیل باشد. این تغییر در دمین پروتئین می‌تواند مکان قرارگیری پروتئین در سلول را تحت تأثیر خود قرار دهد. آنالیز عملکردی ژن‌های متأثر از پیرایش جایگزین نشان داد که آنها در تنظیم رشد و تمایز سلولی نقش دارند. نتایج جدول ۶ می‌تواند راهی را برای چگونگی استفاده از رویداد پیرایش جایگزین، به‌عنوان مکانیزمی برای تنظیم عملکرد ژن، در اصلاح مولکولی صفت مهم تشکیل چوب، باز کند (Xu et al., 2014). تجزیه و تحلیل QTL‌های مرتبط با صفت مهم کیفیت دیواره سلولی نشان داده است که آنها به‌طور گسترده‌ای در گونه‌های مختلف حفظ شده‌اند. آنالیز عملکردی نشان داد که ژن‌های حفاظت‌شده، شامل عوامل رونویسی دیواره سلولی و همچنین، ژن‌های دخیل در بازسازی پلیمرهای دیواره سلولی هستند. تجزیه و تحلیل ژن‌های کاندید برای صفت کیفیت دیواره سلولی که در درختان مختلف، برخی حفاظت‌شده و برخی دیگر هم غیرحفاظت‌شده هستند، راه را برای اصلاح و دستکاری ترکیب دیواره سلولی باز می‌کند. بررسی‌های حاصل از ژنومیکس مقایسه‌ای نشان داده است که هدف قرار دادن عوامل رونویسی ممکن است یک استراتژی موفق‌تر برای اصلاح لیگنین چوب در گونه‌های مختلف در مقایسه با هدف قرار دادن ژن‌های ساختاری لیگنین چوب باشد (Pancaldi et al., 2022). شناسایی آل‌های مناسب برای بهره‌برداری در برنامه‌های اصلاحی از کاربردهای ژنومیکس مقایسه‌ای است (Salse, 2023).

نتیجه‌گیری کلی

ژنومیکس مقایسه‌ای می‌تواند با در اختیار قرار دادن

است. به‌طوری‌که برای گونه‌های گیاهی اکالیپتوس و صنوبر، تکرارهای دو نوکلئوتیدی به‌ترتیب ۳۵/۸۲ درصد و ۴۳/۵۷ درصد و تکرارهای سه نوکلئوتیدی نیز به‌ترتیب ۱۲/۵۷ درصد و ۱۸/۳۱ درصد از کل نواحی تکراری را به خود اختصاص داده است. این یافته‌ها با برخی دیگر از بررسی‌های انجام‌شده مشابه هم‌سو است. به‌طوری‌که یافته‌های به‌دست‌آمده حاصل از پژوهشی حاکی از آن بوده است که نواحی تکراری سه نوکلئوتیدی (۲۷/۶۷ درصد) و دو نوکلئوتیدی (۱۹/۰۴ درصد) از فراوان‌ترین نواحی تکراری مشاهده‌شده در برنج (*Oryza minuta*) از تیره گندمیان (Poaceae) بوده است (Wang et al., 2014).

خانواده ژنی ترین سنتازها (TPSs)، رمزکننده آنزیم‌های کلیدی متابولیسم ترین می‌باشند و بیشتر ژنوم‌های گیاهی دارای یک خانواده ژنی بوده که ترین سنتازها را رمز می‌کند و البته تاکنون تکامل خانواده ژنی ترین سنتازها به خوبی درک نشده است. اکالیپتوس به‌عنوان عضوی از خانواده موردیان (Myrtaceae)، بالاترین غلظت و تنوع برخی از ترین‌ها را در برگ خود دارا است (Butler et al., 2018). به‌طوری‌که در نتایج این پژوهش نیز این موضوع مشاهده شد. به عبارت دیگر، در اکالیپتوس، ۱۱۲ ژن و در صنوبر فقط هفت ژن از خانواده ژنی فوق، شناسایی شدند. ژنومیکس مقایسه‌ای زمینه‌ای را برای نقش این ژن‌ها در تولید متنوع محصولات ترپنوئیدی که امروزه در دودمان‌های مختلف درختان مشاهده می‌شود، فراهم می‌کند. بررسی یک خانواده ژنی در گونه‌های مختلف، ویژگی‌ها و عملکرد آن را آشکارتر می‌کند. صفت تشکیل چوب توسط رویداد پیرایش جایگزین (Alternative splicing) تنظیم می‌شود (Xu et al., 2014). پیرایش جایگزین با تغییر دادن ترکیب اسیدآمینوها، مکان درون-سلولی، پایداری ساختار ثانویه، ویژگی اتصال و

می‌تواند در امر انتخاب به کمک نشانگر، مهندسی ژنتیکی و ویرایش ژن مورد استفاده قرار گیرند. با درک ساختار ژنومی گونه‌های مختلف، پژوهشگران می‌توانند ویژگی‌های ژنتیکی منحصربه‌فرد را شناسایی کرده و تلاش‌های حفاظتی را برای گونه‌هایی که از نظر ژنتیکی متمایز یا در معرض خطر انقراض هستند، اولویت‌بندی کنند.

References

- Adhikari, S.; Saha, S.; Biswas, A.; Rana, T.S.; Bandyopadhyay, T. K.; Ghosh, P.; Application of molecular markers in plant genome analysis: a review. *Nucleus* **2017**, *60*: 283-297.
- Ai, W.; Liu, Y.; Mei, M.; Zhang, X.; Tan, E.; Liu, H.; Han, X.; Zhan, H.; Lu, X.; A chromosome-scale genome assembly of the Mongolian oak (*Quercus mongolica*). *Molecular Ecology Resources* **2022**, *22*: 2396-2410.
- Baldrich, P.; Bélanger, S.; Kong, S.; Pokhrel, S.; Tamim, S.; Teng, C.; Schiebout, C.; Guna, S. Gurazada, R.; Gupta, P.; Patel, P.; Razifard, H.; Nakano, M.; Dusia, A.; Meyers, B. C.; Frank, M. H.; The evolutionary history of small RNAs in Solanaceae. *Plant Physiology* **2022**, *2*: 644-665.
- Bennetzen, J.L.; Transposable element contributions to plant gene and genome evolution. *Plant Molecular Biology* **2020**, *42*: 251-269.
- Butler, J.B.; Freeman, J.S.; Potts, B.M.; Annotation of the *Corymbia* terpene synthase gene family shows broad conservation but dynamic evolution of physical clusters relative to Eucalyptus. *Heredity* **2018**, *121*, 87-104.
- Butler, J.B.; Vaillancourt, R.E.; Potts, B.M.; Comparative genomics of *Eucalyptus* and *Corymbia* reveals low rates of genome structural rearrangement. *BMC Genomics* **2017**, *18*, 397.
- Heissl, A.; Betancourt, A.J.; Hermann, P.; Povysil, G.; Arbeituber, B.; Futschik, A.; Ebner, T.; Tiemann-Boege, I.; Length asymmetry and heterozygosity strongly influences the evolution of poly-A microsatellites at meiotic recombination hotspots. *BioRxiv* **2018**, 431841.
- آنالیز مقایسه‌ای ژنومی درختان صنعتی و تندرشد صنوبر و اکالیپتوس
- آل‌های متنوع مرتبط با صفات مهم مانند کیفیت دیواره سلولی و تشکیل چوب، به شناسایی اهداف اصلاحی و طراحی استراتژی‌های جدید اصلاحی کمک کند. همچنین، ژنومیکس مقایسه‌ای می‌تواند به حفظ گونه‌هایی که از نظر ژنتیکی متمایز و در معرض خطر انقراض هستند، کمک کند. ژن‌های حفاظت‌شده در گونه‌های مختلف یک منبع ژنتیکی ارزشمندی بوده که
- Hernández, M.A.; Vaillancourt, R.E.; Potts, B.M.; Insights into the evolution of the eucalypt CER1 and CER3 genes involved in the synthesis of alkane waxes. *Tree Genetics and Genomes* **2024**, *20*: 1-15.
- MirMohammadi Maibody, S.A.M.; Golkar, P.; Application of DNA molecular markers in plant breeding. *Journal of Plant Genetic Researches* **2019**, *6* (1): 1-30 (In Persian).
- Mohammadi, Y.; Banaei-Asl, F.; Espahbodi, K.; Evaluation of genetic relationships of selected Ash trees for seed orchard formation at Chamestan research station. *Forest Research and Development* **2023**, *9*: 17-27 (In Persian).
- Myburg, A.A.; Grattapaglia, D.; Tuskan, G.A.; Hellsten, U.; Hayes, R.D.; Grimwood, J.; Jenkins, J.; Lindquist, E.; Tice, H.; Bauer, D.; The genome of *Eucalyptus grandis*. *Nature* **2014**, *510*: 356-62.
- Onda, Y.; Mochida, K.; Exploring genetic diversity in plants using high-throughput sequencing techniques. *Current Genomics* **2016**, *17*(4): 358.
- Pancaldi, F.; Vlegels, D.; Rijken, H.; van Loo, E.N.; Trindade, L.M.; Detection and analysis of syntenic quantitative trait loci controlling cell wall quality in angiosperms. *Frontier Plant Science* **2022**, *13*: 855093.
- Potter, K.M.; Hipkins, V.D.; Mahalovich, M.F.; Means, R.E.; Nuclear genetic variation across the range of Ponderosa pine (*Pinus ponderosa*): Phylogeographic, taxonomic and conservation implications. *Tree Genetics and Genomes* **2015**, *11*: 38.
- Rostami, R.; Seyedi, N.; Yousefzadeh, H.; Genetic diversity of wild apple (*Malus orientalis* Uglitz.) in Hyrcanian Forests of Iran by SSR markers. *Forest Research and Development* **2019**, *5*: 169-179 (In Persian).
- Saadati Jebeli, M.; Marashi, H.; Shahriari, F.; Seifi, A.; Fekrat, L.; Evaluation of genomic

- diversity of pistachio resistant and susceptible cultivars to pest psyllid using whole genome sequencing approach. *Genetic Engineering and Biosafety Journal* **2022**, 11 (1): 64-71 (In Persian).
- Salse, J.; Translational research from models to crops: comparative genomics for plant breeding. *Comptes Rendus Biologies* **2023**, 4: 111-128.
- Sadeghi, S.M.; Sardabi, H.; Kazerooni, H.; Sharifi, M.A.; Farrar, N.; Rashvand, S.; Adaptability and performance of industrial Eucalyptus species in Dashtestan, Bushehr province, Iran. *Journal of Forest Poplar Research* **2018**, 2: ۲۷۵-۲۶۴ (In Persian).
- Song, X.; Yang, Q.; Bai, Y.; Gong, K.; Wu, T.; Yu, T.; Pei, Q.; Duan, W.; Huang, Z.; Wang, Z.; Li, Z.; Kang, X.; Zhao, W.; Ma, X.; Comprehensive analysis of SSRs and database construction using all complete gene-coding sequences in major horticultural and representative plant. *Horticulture Research* **2021**, 122: 2-17.
- Taheri, A.; Seyed, N.; Abdollahi Mandoulakani, B.; Mirzaghaderi, G.; Najafi, S.; Vahdati, K.; Genetic diversity in Persian walnut (*Juglans regia* L.) seedlings using SSR markers. *Forest Research and Development* **2022**, 8(1): 13-26 (In Persian).
- Wang, C.; Liu, X.; Peng, S.; Xu, Q.; Yuan, X.; Feng, Y.; Yu, H.; Wang, Y.; Wei, X.; Development of novel microsatellite markers for the BBCC *Oryza* genome (Poaceae) using high-throughput sequencing technology. *PloS One* **2014**, 9 (3): e91826.
- Wijerathna-Yapa, A.; Bishnoi, R.; Ranawaka, B.; Maya Magar, M.; Ur Rehman, H.; Bharad, S.G.; Lorenc, M.T.; Ramtekey, V.; Gohar, S.; Lata, C.; Harun-Or-Rashid, M.D.; Razzaq, M.; Sajjad, M.; Basnet, B.R.; Rice-wheat comparative genomics: Gains and gaps. *The Crop Journal* **2023**, 1-14.
- Xie, J.; Li, Y.; Liu, X.; Zhao, Y.; Li, B.; Ingvarsson, P.K.; Zhang, D.; Evolutionary origins of pseudogenes and their association with regulatory sequences in plants. *Plant Cell* **2019**, 31: 563-578.
- Xu, P.; Kong, Y.; Song, D.; Conservation and functional influence of alternative splicing in wood formation of *Populus* and *Eucalyptus*. *BMC Genomics* **2014**, 15, 1-12.
- Zhu, L.; Wu, H.; Li, H.; Tang, H.; Zhang, L.; Xu, H.; Jiao, F.; Wang, N.; Yang, L.; Short tandem repeats in plants: Genomic distribution and function prediction. *Electronic Journal of Biotechnology* **2021**, 50: 37-44.

Comparative analysis of genomic features in industrial and fast-growing trees: A study of poplar and eucalypt

Mohammad Esmailpour*

- Assistant Professor, Ahar Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Tabriz, Ahar, I. R. Iran. (m.esmaeilpour@tabrizu.ac.ir)

Received: 08 January 2024

Accepted: 02 June 2024

Abstract

Background and objectives: Identification of genetic similarities and gene orthology between species can be used in understanding the evolution of genomes, conservation, and breeding. A lot of knowledge about the genome function of forest trees can be extracted through comparative genomics studies. So far, various economically important crop species have been well studied in this field, but forest trees have been less studied. It seems that comprehensive studies in the direction of genome comparison between industrial and fast-growing trees, poplar (*Populus trichocarpa*) and eucalypt (*Eucalyptus grandis*), which share a common ancestor from the Rosids clade, have been relatively limited, especially given that these two plant species serve as a model and have up-to-date biological data. This study aims to compare the complete genome sequence of eucalyptus and poplars in terms of genomic characteristics such as genome size, chromosome number, gene content, microsatellite markers, the number of genes of the terpene synthase gene family and identification of genes related to two important traits of interest to forest tree breeders, including wood formation and cell wall quality.

Methodology: In this research, whole genome sequencing of eucalyptus (*E. grandis*) with NCBI accession number GCF-016545825.1 and poplar (*P. trichocarpa*) with NCBI accession number GCF-000002775.5 is used. Both the tree species are model plants and their genomes were assembled at the chromosome level. In this study, we investigate various genomic characteristics, including genome size, chromosome number, total GC content, gene count, protein-coding genes, small non-coding RNAs (SncRNA), pseudogenes, and microsatellite sequences, in two rapidly growing poplar and eucalypt species. Additionally, we construct a corresponding Venn diagram to illustrate the findings. Also, the sequences of microsatellites with MISA software in Perl and the sequences related to tandem duplication on the genomes were extracted. Also, the number of terpene synthase gene family genes in two species was compared. Finally, genes related to two important traits of interest to breeders, including wood formation and cell wall quality traits, were studied.

Results: The results reveal that the eucalypt genome is larger than that of poplar, containing 42,619 genes, including 33,352 protein-encoding genes. The poplar genome, on the other hand, consists of 34,621 genes, with 29,617 being protein-coding. Moreover, the number of pseudogenes in the eucalypt genome is 2.9 times higher than that in poplar. The number of eucalyptus chromosomes is 11 and the number of poplar chromosomes is 19. The number of small RNAs for eucalyptus and poplar genomes were 1507 and 1347, respectively. According to the genome annotation information available on NCBI site, some genes were found only in Eucalyptus and some genes were found only in poplar. According to the Venn diagram, 14,484 unique genes for Eucalyptus and 12,114 genes specific to poplar were identified. 9133 genes were shared between the two species. The total number of microsatellite markers identified on the eucalyptus genome was 136,147 and for the poplar genome was 77,024. The results showed that the genomes of eucalyptus and poplar are composed of 3.8 Mb and 10.2 Mb of microsatellite sequences, respectively. Interestingly, the eucalypt genome exhibits 1.8 times more microsatellite markers and a 1.2 times greater marker density (Total microsatellite sizes in kilobases divided by genome size in megabases or kb/Mb) compared to the poplar genome. It should be noted that 4067 types of motifs were identified in the eucalyptus genome and 2898 types of motifs were identified in the poplar genome. We observed an inverse relationship between the frequency of microsatellites and

* Corresponding author

Tel: +989387949030

the number of nucleotides among the genomic sequences of the studied species. So, with the increase in the frequency of microsatellites, a significant decrease in the number of nucleotides has been observed. Based on this, single and two nucleotide microsatellites had the highest frequency, while eight and nine nucleotide microsatellites had the lowest frequency. The results of the evaluation regarding the difference in the presence of the terpene synthase gene family in the two studied species also indicated that 112 genes were identified in eucalyptus and 7 genes were identified in poplar. The number of clusters has been identified as 3185 in Eucalyptus species and 2575 in poplar species. The total number of retained tandem genes in the eucalypt genome was 16 % more than that of the poplar genome. Additionally, the number of functional and non-functional genes in eucalypt surpasses that of poplar. The valuable insights obtained from such comparative genomics studies have the potential to facilitate plant breeding and conservation genetic efforts. The alternative splicing event has occurred in a large number of genes related to wood formation trait in the two studied trees with different patterns. A total of 59 candidate genes for cell wall quality trait were identified for poplar and eucalyptus.

Conclusion: Comparative genomics can speed up the breeding program of tree species by providing diverse alleles related to important economic and ecological traits and also help to preserve endangered and genetically distinct species.

Keywords: Single selection, Canopy, Species Richness, Soil Fertility.