

Study on the genetic diversity of tomato's cultivars *via* SCoT marker

Sepideh Mirzaei 

M.Sc. Graduate of Agricultural Biotechnology, Department of Plant Production and Genetics, Faculty of Sciences and Agricultural Engineering, Razi University, Kermanshah, Iran. E-mail: msepideh38@gmail.com

Hooman Salari 

*Corresponding author. Assistant Professor, Department of Plant Production and Genetics, Faculty of Sciences and Agricultural Engineering, Razi University, Kermanshah, Iran. E-mail: hsalari@yahoo.com

Abstract **Objective**

This study was conducted to investigate the application of the start codon targeted (SCoT) markers in the genetic diversity of tomato. In addition, the genetic diversity in important cultivars of tomato, which have been previously cultivated, are being cultivated, or are hoped to be cultivated in Iran were assessed.

Materials and Methods

Ninety nine 99 tomato cultivars were investigated for SCoT polymorphism. DNA isolation and SCoT analysis were carried out using the fresh leaf samples. Thirty-six SCoT primers were initially screened for analysis and fifteen primers were considered for the further analysis.

Results

The cultivars produced 207 amplicons while the 206 were polymorphic. Amplicon size varied from 250 to 3200 base pair (bp). The average of polymorphism and the mean of polymorphic information content were 99.52 and 0.30, respectively. Also, Jaccard's similarity coefficient was applied and the mean Jaccard genetic similarity coefficient was 0.52. According to Jaccard's coefficient, the lowest similarity (0.17) has been observed for cultivars 34 and 97 while the highest similarity (0.84) were detected between cultivars 86 and 87. In addition, the cluster analysis was conducted based on Jaccard similarity coefficient and centroid method which classified cultivars

into three clusters. Besides, the principal coordinate analysis was considered. Accordingly, the cultivars divided into four groups and the first three components explained 58.82% of the molecular variation. The results of the principal coordinate analysis were largely consistent with the results of the cluster analysis. Having high polymorphic information content, marker index, effective multiplex ratio, and resolution power, SCoT12 and SCoT23 primers were properly effective in differentiating the cultivars.

Conclusions

This study showed that SCoT molecular markers are appropriate for investigating the genetic diversity amongst tomato genotypes and generate a high level of polymorphism. Thus, these markers have considerable efficiency in differentiating tomato genotypes. In addition, this investigation indicated that SCoT12 and SCoT23 primers were suitably effective in differentiating the cultivars. Furthermore, our resech claimed that tomato cultivars that are used in Iran do not have high genetic diversity while for more precise conclusion; it is suggested to practice more SCoT primers along with other markers.

Keywords: Iran, *Lycopersicon esculentum* Mill, Molecular markers, Principal Coordinate Analysis.

Paper Type: Research Paper.

Citation: Mirzaei S, Salari H, (2021) Study on the genetic diversity of tomato's cultivars via SCoT marker. *Agricultural Biotechnology Journal* 13 (4), 101-120.

Agricultural Biotechnology Journal 13 (4), 101-120

DOI: 10.22103/jab.2021.15310.1202

Received: September 23, 2021.


Accepted: October 27, 2021.




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

© the authors

بررسی تنوع ژنتیکی ارقام گوجه‌فرنگی با استفاده از نشانگر SCoT

سپیده میرزائی 

دانش آموخته کارشناسی ارشد بیوتکنولوژی کشاورزی، گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده علوم و مهندسی کشاورزی، دانشگاه رازی، کرمانشاه، ایران. رایانامه: msepideh38@gmail.com

هومن سالاری 

*نویسنده مسئول: استادیار، گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده علوم و مهندسی کشاورزی، دانشگاه رازی، کرمانشاه، ایران. رایانامه: hsalari@yahoo.com

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۸/۰۵

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۷/۰۱

چکیده

هدف: مطالعه حاضر با هدف بررسی قابلیت نشانگر SCoT برای ارزیابی تنوع ژنتیکی گوجه‌فرنگی انجام شد. در این پژوهش همچنین میزان تنوع ژنتیکی ارقام این گیاه که بیشتر در ایران بصورت تجاری کشت شده‌اند، در حال حاضر کشت می‌شوند و یا ارقام امیدبخش می‌باشند هدف دیگر مطالعه بود.

مواد و روش‌ها: تعداد ۹۹ رقم گوجه‌فرنگی (*Lycopersicon esculentum* Mill.) با استفاده از نشانگر SCoT مورد ارزیابی قرار گرفتند. برای این منظور DNA از نمونه‌های برگ تازه استخراج گردید. برای بررسی ابتدا از ۳۶ آغازگر SCoT استفاده شد که پانزده آغازگر به منظور تجزیه و تحلیل نهایی در نظر گرفته شدند.

نتایج: با استفاده از ۱۵ آغازگر ارقام مورد بررسی ۲۰۷ نوار تولید نمودند که ۲۰۶ نوار آن چندشکل بود. اندازه نوارها بین ۲۵۰ تا ۳۲۰۰ جفت باز متغیر بود. میانگین درصد چند شکلی و میانگین محتوای اطلاعات چندشکلی به ترتیب ۹۹/۵۲ و ۰/۳۰ برآورد شد. از ضریب تشابه ژنتیکی جاکارد استفاده شد که میانگین آن ۰/۵۲ بود. در بررسی شباهت ژنتیکی بین ارقام، کمترین دامنه ضریب تشابه ژنتیکی جاکارد ۰/۱۷ و متعلق به ارقام شماره‌های ۳۴ و ۹۷ و بیشترین آن ۰/۸۴ و مربوط به رقم‌های شماره ۸۶ و ۸۷ بود. تجزیه خوشه‌ای بر اساس ضریب تشابه جاکارد و روش Centroid انجام شد که ارقام را به سه خوشه تقسیم کرد. تجزیه به مختصات اصلی رقم‌ها را به چهار گروه تقسیم نمود که سه مؤلفه اول ۵۸/۸۲ درصد تغییرات مولکولی را توجیه کردند. نتایج حاصل

از تجزیه به مختصات اصلی تا حد زیادی با نتایج تجزیه خوشه‌ای مطابقت داشت. آغازگرهای SCoT12 و SCoT23 با داشتن محتوای اطلاعات چندشکلی، شاخص نشانگری، نسبت چندشکلی مؤثر و قدرت تفکیک بالا کارایی مناسبی در تمایز ارقام داشتند. **نتیجه‌گیری:** مطالعه حاضر نشان داد نشانگر مولکولی SCoT برای بررسی تنوع ژنتیکی گوجه‌فرنگی مناسب است. این نشانگر توانست سطح بالایی از چندشکلی را ایجاد کند و کارایی مناسبی در تمایز ژنوتیپ‌های گوجه‌فرنگی را نشان دهد. آغازگرهای SCoT12 و SCoT23 نسبت به سایر آغازگرهای مورد استفاده کارایی بیشتری داشتند. همچنین بر اساس یافته‌های این پژوهش به نظر می‌رسد ارقام گوجه‌فرنگی مورد استفاده در ایران از تنوع ژنتیکی بسیار بالایی برخوردار نیستند اما برای بررسی دقیقتر استفاده از تعداد بیشتر آغازگر SCoT و نیز نشانگرهای دیگر توصیه می‌گردد.

کلیدواژه‌ها: ایران، تجزیه به مختصات اصلی، نشانگرهای مولکولی، *Lycopersicon esculentum* Mill.

نوع مقاله: پژوهشی.

استناد: میرزائی سپیده، سالاری هومن (۱۴۰۰) بررسی تنوع ژنتیکی ارقام گوجه‌فرنگی با استفاده از نشانگر SCoT. *مجله بیوتکنولوژی کشاورزی*، ۱۳(۴)، ۱۰۱-۱۲۰.

Publisher: Faculty of Agriculture and Technology Institute of Plant



Production, Shahid Bahonar University of Kerman-Iranian
Biotechnology Society.

© the authors

مقدمه

گوجه‌فرنگی یکی از محصولات است که در لیست محصولات غذایی مهم جهان قرار دارد. به نظر می‌رسد وجود حالت تازه خوری و قابلیت فراوری این محصول، نقش به‌سزایی در پذیرش سریع و همگانی آن به عنوان یک محصول غذایی مهم داشته است (Sinha et al. 1993). این سبزی دومین سبزی مصرفی بعد از سیب‌زمینی و بدون شک، یکی از پرمصرف‌ترین محصولات باغی است (Nabipour et al. 2011). گوجه‌فرنگی یک محصول مهم در جنوب آمریکا، خاورمیانه و هند است (Lopez-Raez et al. 2008). در سال زراعی ۹۶-۱۳۹۵ میزان تولید گروه سبزیجات در ایران حدود ۱۷ میلیون تن و معادل ۲۰/۶۴ درصد از کل میزان تولید محصولات زراعی کشور بوده که ۹۷/۱ درصد این تولید با کشت آبی و ۲/۹ درصد آن از طریق کشت دیم بدست آمده است. گوجه‌فرنگی با ۳۱/۵ درصد از کل این میزان رتبه اول را در این گروه تولیدی به خود اختصاص داده است (Agriculture statistical center of iran 2018).

تنوع زیستی را می‌توان به عنوان تنوع موجود در همه‌ی گونه‌های گیاهان و حیوانات، ماده ژنتیکی و اکوسیستم‌های آنها تعریف کرد. این تنوع را می‌توان در سه سطح بررسی کرد: تنوع ژنتیکی یا همان تنوع در ژن‌ها و ژنوتیپ‌ها، تنوع گونه‌ای و تنوع

اکوسیستمیک یا عبارت دیگر چگونگی ارتباط گونه‌ها با محیط آن‌ها (Rao & Hodgkin 2002). کم بودن تنوع ژنتیکی در گیاهان زراعی موجب آسیب‌پذیری شدید آن‌ها در برابر تنش‌های محیطی، آفات و بیماری‌ها و در نتیجه کاهش عملکرد می‌شود (Fowler & Mooney 1990).

نشانگرهای مولکولی یکی از ابزارهای بسیار پر قدرت برای مطالعه تنوع ژنتیکی هستند. آن‌ها در ارزیابی روابط خویشاوندی ژنتیکی، انتخاب گیاهان برتر و بررسی شباهت‌ها یا تفاوت‌های بین نمونه‌های مختلف کاربرد دارند. همچنین از نشانگرهای مولکولی در مدیریت ژرم‌پلاسم و گزینش بر اساس نشانگر و افزایش کارایی اصلاح و تکثیر ژرم‌پلاسم استفاده می‌شود (Staub et al. 1996). در این بین، نشانگرهای مبتنی بر DNA مورد توجه جدی قرار گرفته‌اند. این نشانگرها ابزار مناسبی برای ارزیابی ساختار ژنتیکی جمعیت‌های گیاهی و تجزیه تنوع ژنتیکی در گیاهان هستند (Pour-Aboughadareh et al. 2019). به کمک آن‌ها ایجاد نقشه‌های فیزیکی و ژنتیکی در موجودات و همچنین شناسایی ژن‌های کنترل‌کننده صفات کیفی و کمی امکان پذیر شده است. البته مطالعات نشان داده‌اند نشانگرهای مبتنی بر DNA از نظر ویژگی‌هایی مانند درجه‌ی چند شکلی، غالب و هم‌باز بودن، تعداد جایگاه‌های تجزیه شده در هر آزمایش، توزیع در سطح کروموزوم و تکرار پذیری تفاوت دارند (Naghavi et al. 2009). در گروه نشانگرهای مولکولی مبتنی بر DNA چندین سیستم نشانگری مبتنی بر ژن معرفی شده است که از آن جمله می‌توان به نشانگرهای $SCoT^1$ و $CBDP^2$ اشاره کرد (Singh et al. 2014).

نشانگر $SCoT$ که توسط Collard & Mackill در سال ۲۰۰۹ معرفی شده است (Collard & Mackill 2009)، از یک آغازگر واحد ۱۸ نوکلئوتیدی به عنوان آغازگر جلو و عقب استفاده می‌کند. این نشانگر بر اساس نواحی کوتاه حفاظت شده اطراف کدون آغاز ATG در ژن‌های گیاهی طراحی گردیده و عقیده بر این است که طول و دمای اتصال آغازگرها، تنها عواملی نیستند که در تکرارپذیری الگوی نواربندی آن‌ها نقش دارند (Collard & Mackill 2009). نشانگر $CBDP$ نیز نشانگر دیگری برای بررسی تنوع ژنتیکی و ساختار جمعیت است، که توسط Singh و همکاران در سال ۲۰۱۴ معرفی گردید. چند شکلی ایجاد شده در این سیستم نشانگری بر اساس نواحی حفاظت شده پروموتور ژن‌ها و همچون نشانگر $SCoT$ با استفاده از یک آغازگر واحد است. طول آغازگرهای $CBDP$ به طور معمول ۱۸ نوکلئوتید می‌باشد. هزینه مناسب، تکرارپذیری بالا و چند شکلی قابل قبول، این نشانگر را نیز در کنار نشانگر $SCoT$ به گزینه مناسبی برای انجام مطالعات مرتبط با تنوع ژنتیکی، ساختار جمعیت و تهیه نقشه‌های ژنتیکی تبدیل نموده است (Singh et al. 2014). پورابوقداره و همکاران در سال ۱۳۹۸ برای ارزیابی تنوع ژنتیکی در توده‌های *Aegilops* و مقایسه کارایی دو نشانگر مولکولی $SCoT$ و $CBDP$ نشان دادند که هر دو سیستم نشانگری به خوبی قادر به شناسایی چند شکلی موجود در نمونه‌های مورد بررسی بودند، اما در پژوهش فوق به نظر رسید داده‌های $CBDP$ الگوی گروه‌بندی بهتری را بر اساس روابط فیلوژنتیکی نشان داده‌اند (Pour-Aboughadareh et al. 2019). نشانگر $SCoT$

۱. Start Codon Targeted

۲. CATT-box derived polymorphism

به دلیل هزینه کم، اطلاعات ژنتیکی گسترده و چند شکلی بالایی که دارد بصورت گسترده تری در گیاهان مورد استفاده قرار گرفته است. بعنوان نمونه از این نشانگر در برنج (Collard & Mackill 2009)، سیبزمینی (Gorji et al. 2011)، انگور (Gue et al. 2012)، انبه (Lue et al. 2012)، نخود (Amirmoradi et al. 2012)، اریکده (Bhattacharyya et al. 2013)، نیشکر (Que et al. 2014)، نارگیل (Rajesh et al. 2015)، گل داوودی دارویی (Feng et al. 2016)، گندم دوروم (Etminan et al. 2016)، پسته وحشی (Sorkheh et al. 2016) و سیبزمینی شیرین (Nair et al. 2016) با موفقیت استفاده شده است. از نشانگر CDBP نیز در مطالعه کولتیوارهای کتان (Singh et al. 2014)، گندم دوروم (Heidari et al. 2017) و ژنوتیپهای Jojoba (Heikrujam et al. 2015) استفاده گردیده است.

نشانگرهای مولکولی به طور گسترده ای در مطالعه گوجه فرنگی مورد استفاده قرار گرفته اند که گستردگی این استفاده می تواند به دلیل اندازه نسبتاً کوچک ژنوم گوجه فرنگی (۹۵۰ Mbp) باشد (Shibata 2005). برای بررسی کامل برنامه های کاربردی نشانگرهای مولکولی در گوجه فرنگی می توان به گزارش Foolad & Sharma (2004) مراجعه کرد.

برای سیاست گذاران بخش کشاورزی یکی از سوالات اساسی درباره ارقامی که بصورت تجاری مورد استفاده قرار می گیرند و یا رقم امیدبخش هستند وجود، عدم وجود و یا میزان تنوع در میان آنهاست. آگاهی از میزان تنوع ارقام رایج گیاه زراعی در یک کشور می تواند به سیاست گذاران در انتخاب راهکار برای چگونگی مهار بیماری ها و آفات بویژه در زمان طغیان آنها و نیز نحوه حمایت در تولید و یا چگونگی واردات بذور یاری رساند. مطالعه حاضر بمنظور پاسخ بدین سوال و ارزیابی تنوع ژنتیکی ارقام مهم گوجه فرنگی کشت شده، در حال کشت و ارقام امیدبخش در ایران با استفاده از نشانگر مولکولی SCoT انجام گردید.

مواد و روش ها

مواد گیاهی و شرایط رشد: ۹۹ رقم گوجه فرنگی که با اهداف تجاری در غرب کشور کشت گردیده، در حال کشت بوده و یا بمنظور توسعه کشت در دست بررسی بودند مورد بررسی قرار گرفتند. بذور آنها از بانک های بذر شرکت های روزین تاک، گل سم گرگان، بهتا، هزاره سوم و فلات تامین گردیدند (جدول ۱). کشت در گلدان هایی به قطر ۹/۵ و ارتفاع ۷/۵ سانتیمتر و با گنجایش تقریبی ۳۰۰ گرم خاک انجام شد. در هر گلدان ده عدد بذر کشت گردید. خاک مورد استفاده نسبت مساوی حجمی از کوکوپیت و پیت ماس (۱:۱) بود. از کود آماده آگرویت^۳ (آگلوکن - آلمان) به میزان ۲ گرم به ازای هر لیتر خاک استفاده شد. کشت در گلخانه پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه رازی کرمانشاه انجام شد. گلدان ها در گلخانه با دمای حدوداً ۲۵ درجه سانتی گراد، رطوبت نسبی ۲۱ درصد و دوره نوری طبیعی رشد کردند. گیاهچه ها به مدت چهار هفته نگهداری شدند و سپس برگ آنها برداشت گردید.

آبیاری با آب شرب شهری کرمانشاه از کف و حدوداً هر ۲ روز یک بار انجام شد. گیاهان مورد بررسی هیچگاه مرحله پژمردگی را تجربه نکردند. این پژوهش در طی سالهای ۱۳۹۶ و ۱۳۹۷ انجام شد.

آزمایش های مولکولی: از مجموع ۳۶ آغازگر SCoT مورد استفاده (شرکت ژن فناوران- ایران) ۱۵ آغازگر نوارهای چندشکل و قابل امتیازدهی ایجاد نمودند. مشخصات آغازگرهایی که چندشکلی نشان دادند در جدول ۲ آمده است. به منظور بررسی نمونه ها، از برگ آنها DNA استخراج گردید. برای این منظور از روش Dellaporta (1983) با اندکی کاهش در سرعت سانتریفیوژ پیشنهاد شده، استفاده شد. کیفیت نمونه های DNA استخراج شده و اطمینان از عدم شکستگی آنها با استفاده از الکتروفورز Agagel Maxi Biometra (ساخت آلمان) بر روی ژل آگارز (شرکت یکتاتجهیزآزما- ایران) ۰/۸ درصد در بافر TAE 1X بررسی گردید. تعیین کمیت نمونه های DNA استخراج شده با استفاده از دستگاه نانودراپ Thermo SCIENTIFIC مدل 2000c (ساخت آلمان) انجام شد. در واکنش های PCR از غلظت یکنواخت شده ۱۰ نانوگرم DNA در میکرولیتر برای تمامی نمونه ها استفاده شد. واکنش PCR در حجم ۲۰ میکرولیتر شامل ۲ میکرولیتر از DNA ژنومی، ۳ میکرولیتر آغازگر با غلظت ۱۰، ۵ میکرولیتر آب مقطر استریل و ۱۰ میکرولیتر از کیت مسترمیکس^۴ (شرکت سیناکلون- ایران) با غلظت 2X انجام شد. تکثیر در دستگاه ترموسایکلر Palm-Cycler (ساخت هند) انجام گردید. چرخه های PCR شامل یک مرحله واسرشت سازی اولیه با دمای ۹۴ درجه سانتی گراد به مدت ۳ دقیقه بود. سپس ۳۵ سیکل شامل سه مرحله متوالی ۹۴ درجه سانتی گراد به مدت ۱ دقیقه، ۵۵-۵۰ درجه سانتی گراد (بسته به آغازگر) به مدت ۱ دقیقه و ۷۲ درجه سانتی گراد به مدت یک دقیقه و ۳۰ ثانیه انجام شد. در پایان جهت بسط نهایی کلیه رشته ها یک مرحله ۶ دقیقه ای در دمای ۷۲ درجه سانتی گراد را طی کردند. به منظور آشکارسازی چندشکلی بین نمونه ها از الکتروفورز بر روی ژل آگارز ۱/۲ درصد استفاده شد. همچنین رنگ آمیزی ژل با استفاده از محلول اتیدیوم بروماید (شرکت سیناکلون- ایران) و آشکارسازی نوارها با استفاده از دستگاه تصویربرداری از ژل Vilber Lourmat مدل DI-HD (ساخت فرانسه) زیر نور UV انجام گرفت. بررسی و تأیید اندازه قطعات تکثیر شده در مقایسه با نشانگر تعیین اندازه 1kb DNA Ladder (Range: 250-10000 bp) (شرکت یکتا تجهیز آزما- ایران) صورت گرفت.

تجزیه و تحلیل داده ها: به منظور به دست آوردن برخی معیارهای مولکولی، حضور و عدم حضور هر نوار خاص به صورت ماتریس صفر (عدم حضور نوار) و یک (حضور نوار) در نرم افزار Excel وارد شد. پس از تشکیل ماتریس داده های خام، وضعیت هر آغازگر به کمک نرم افزار Excel و با استفاده از روابط مربوطه محاسبه شدند.

۴. Reddy to use PCR master mix, 2X (SINACLON)

جدول ۱. ارقام گوجه‌فرنگی مورد مطالعه

Table 1. Investigated tomato's cultivars

شماره No.	رقم Cultivar	تامین کننده Supplier	شماره No.	رقم Cultivar	تامین کننده Supplier	شماره No.	رقم Cultivar	تامین کننده Supplier
1	1230	هزاره سوم Hezare Sewom	34	104	روژین تاک Rojin Taak	67	RFT 732216	گل سم گرگان Golsam Gorgan
2	Rock stone	روژین تاک Rojin Taak	35	107	روژین تاک Rojin Taak	68	Rojin	روژین تاک Rojin Taak
3	Nemador	روژین تاک Rojin Taak	36	Super Sterain B	روژین تاک Rojin Taak	69	Natin	روژین تاک Rojin Taak
4	Sadeen 95	بهتا Behta	37	X 48	روژین تاک Rojin Taak	70	Kian	روژین تاک Rojin Taak
5	Saldo	گل سم گرگان Golsam Gorgan	38	PetoMech	روژین تاک Rojin Taak	71	Hypeel 303	روژین تاک Rojin Taak
6	LS 80	روژین تاک Rojin Taak	39	H 8009	روژین تاک Rojin Taak	72	Satyvo	روژین تاک Rojin Taak
7	H 5803	روژین تاک Rojin Taak	40	Lina	روژین تاک Rojin Taak	73	Super chief	روژین تاک Rojin Taak
8	Jaleh	بهتا Behta	41	Sivand	روژین تاک Rojin Taak	74	3-39	Hezare Sewom
9	X 80	روژین تاک Rojin Taak	42	Arjan	بهتا Behta	75	641	روژین تاک Rojin Taak
10	Super Urbana	روژین تاک Rojin Taak	43	Aras	روژین تاک Rojin Taak	76	691	گل سم گرگان Golsam Gorgan
11	Karen	روژین تاک Rojin Taak	44	Kimia	گل سم گرگان Golsam Gorgan	77	Hyb. Super set	فلات Falat
12	Hyb. SV 1585	فلات Falat	45	H 1423	روژین تاک Rojin Taak	78	Hyb. SV 8320	فلات Falat
13	LS 48	روژین تاک Rojin Taak	46	LS 0019	روژین تاک Rojin Taak	79	952	گل سم گرگان Golsam Gorgan
14	hyb oula	فلات Falat	47	106	روژین تاک Rojin Taak	80	3-341	هزاره سوم Hezare Sewom
15	OPLS 24	روژین تاک Rojin Taak	48	UC 105	روژین تاک Rojin Taak	81	1231	هزاره سوم Hezare Sewom
16	689	گل سم گرگان Golsam Gorgan	49	105	روژین تاک Rojin Taak	82	1225	هزاره سوم Hezare Sewom
17	Super Nemaperid	روژین تاک Rojin Taak	50	Ztp 6	روژین تاک Rojin Taak	83	954	روژین تاک Rojin Taak

میرزائی و سالاری، ۱۴۰۰

18	Amperial	روژین تاک Rojin Taak	51	Hediyeh	گل سم گرگان Golsam Gorgan	84	Korall op	روژین تاک Rojin Taak
19	1226	هزاره سوم Hezare Sewom	52	1232	هزاره سوم Hezare Sewom	85	Pil ztp 1	روژین تاک Rojin Taak
20	Ztp7	روژین تاک Rojin Taak	53	H 3000	روژین تاک Rojin Taak	86	Namib fl1	روژین تاک Rojin Taak
21	H 1537	روژین تاک Rojin Taak	54	Hyb. Comodor o	فلات Falat	87	1227	روژین تاک Rojin Taak
22	King stone	روژین تاک Rojin Taak	55	Hyb. Bellariva	فلات Falat	88	Hyb. Kismat	فلات Falat
23	H 1307	روژین تاک Rojin Taak	56	694	گل سم گرگان Golsam Gorgan	89	Hyb.Hyp eel 303	فلات Falat
24	Sana F1	روژین تاک Rojin Taak	57	NUN 0041	روژین تاک Rojin Taak	90	Hyb.JAC 8810	فلات Falat
25	Stay green	روژین تاک Rojin Taak	58	Sreen	گل سم گرگان Golsam Gorgan	91	690	گل سم گرگان Golsam Gorgan
26	8204	روژین تاک Rojin Taak	59	LS 79	روژین تاک Rojin Taak	92	Number 4	هزاره سوم Hezare Sewom
27	23024	روژین تاک Rojin Taak	60	693	گل سم گرگان Golsam Gorgan	93	Pil ztp3	روژین تاک Rojin Taak
28	2206	روژین تاک Rojin Taak	61	H 1648	روژین تاک Rojin Taak	94	Stay green F1	روژین تاک Rojin Taak
29	Jam	روژین تاک Rojin Taak	62	OS 376	روژین تاک Rojin Taak	95	Laleh 8781	روژین تاک Rojin Taak
30	692	گل سم گرگان Golsam Gorgan	63	Firen2e	روژین تاک Rojin Taak	96	Amapola	روژین تاک Rojin Taak
31	Koral F1	روژین تاک Rojin Taak	64	GS 15	گل سم گرگان Golsam Gorgan	97	Ztp 8	روژین تاک Rojin Taak
32	Yaghoot F1	روژین تاک Rojin Taak	65	610	گل سم گرگان Golsam Gorgan	98	Ztp 11	روژین تاک Rojin Taak
33	Zumoured	گل سم گرگان Golsam Gorgan	66	Heb. Eden	فلات Falat	99	Red stone	روژین تاک Rojin Taak

جدول ۲. آغازگرهای SCoT مورد استفاده

Table 2. Practiced SCoT primers

ردیف	نام آغازگر	توالی ۵' به ۳'	دمای اتصال (درجه سانتی گراد)	منابع
Row	Primer name	Primer Sequence 5' to 3'	Annealing temperature (°C)	References
1	SCoT 2	CAACAATGGCTACCACCC	50	Luo et al. 2010
2	SCoT 6	CAACAATGGCTACCACGC	50	Luo et al. 2010
3	SCoT 12	ACGACATGGCGACCAACG	52	Wu et al. 2013
4	SCoT 13	ACGACATGGCGACCATCG	52	Wu et al. 2013
5	SCoT 16	ACCATGGCTACCACCGAC	52	Luo et al. 2010
6	SCoT 18	ACCATGGCTACCACCGCC	55	Wu et al. 2013
7	SCoT 19	ACCATGGCTACCACCGGC	55	Luo et al. 2010
8	SCoT 21	ACGACATGGCGACCCACA	52	Luo et al. 2010
9	SCoT 22	AACCATGGCTACCACCAC	50	Wu et al. 2013
10	SCoT 23	CACCATGGCTACCACCAG	52	Wu et al. 2013
11	SCoT 24	CACCATGGCTACCACCAT	50	Wu et al. 2013
12	SCoT 28	CCATGGCTACCACCGCCA	55	Wu et al. 2013
13	SCoT 31	CCATGGCTACCACCGCCT	55	Wu et al. 2013
14	SCoT 33	CCATGGCTACCACCGCAG	55	Luo et al. 2010
15	SCoT 36	GCAACAATGGCTACCACC	50	Wu et al. 2013

پس از امتیاز دهی نوارهای تکثیر شده معیارهای کارایی نشانگر شامل درصد چندشکلی^۵، محتوای اطلاعات چندشکلی^۶، شاخص نشانگری^۷، نسبت چندشکلی موثر^۸ و قدرت تفکیک^۹ محاسبه گردیدند (Powell et al. 1996). بر اساس پیشنهاد Shahlaei et al. (2014) جهت محاسبه میزان تشابه ژنتیکی از ضریب تشابه جاکارد استفاده شد. همچنین برای به دست آوردن ماتریس تشابه و تجزیه به مختصات اصلی از نرم افزار NTSYSpc ver: 2.02، جهت انجام تجزیه خوشه‌ای از نرم افزار MVSP ver: 32 و برای تجزیه واریانس مولکولی (AMOVA) به منظور تعیین تعداد مطلوب خوشه‌ها و بهترین نقطه برش از نرم افزار GenAIEx ver: 6.41 استفاده شد.

۵. Polymorphism

۶. Polymorphic Information Content (PIC)

۷. Marker Index (MI)

۸. Effective Multiplex Ratio (EMR)

۹. Resolution Power (RP)

نتایج و بحث

نتایج حاصل از ۱۵ آغازگر SCoT در جدول ۳ آورده شده است. ۲۰۷ نوار تو وسط ۱۵ آغازگر SCoT تولید شد که ۲۰۶ نوار چند شکل بودند. درصد چندشکلی متوسط ۹۹/۵۲ بود و بطور کلی آغازگرهای مورد استفاده در صد چندشکلی بالایی را نشان دادند (بازه ۹۲٪ تا ۱۰۰٪). اندازه نوارهای مشاهده شده بین ۲۵۰ تا ۳۲۰۰ جفت باز متغیر بود. متوسط تعداد کل نوارها ۱۳/۸ و متوسط تعداد کل نوارهای چندشکل برای هر آغازگر ۱۳/۷۳ بود. آغازگر SCoT12 با تولید ۲۱ نوار بیشترین تعداد نوار و نیز بیشترین تعداد نوار چندشکل را ایجاد نمود در حالیکه آغازگر SCoT33 با تولید ۱۰ نوار کمترین تعداد نوار و کمترین تعداد نوار چندشکل را نشان داد. تمامی آغازگرها به استثناء آغازگر SCoT2، ۱۰۰ درصد چندشکلی را نشان دادند. بیشترین محتوای اطلاعات چندشکلی را آغازگر SCoT23 با ۰/۴۱۷ و کمترین آن را آغازگر SCoT28 با ۰/۲۲۴ به خود اختصاص دادند که بیانگر آن است که آغازگر SCoT23 دارای اطلاعات سودمند زیادی نسبت به سایر آغازگرهای مورد مطالعه در این تحقیق بوده و پراکندگی مناسبی در کل ژنوم ارقام مورد بررسی داشته است. محتوای اطلاعات چندشکلی یکی از شاخص‌های مهم جهت مقایسه نشانگرهای مختلف از نظر قدرت تمایز آن‌ها به شمار می‌رود. مقادیر بالای این شاخص بیانگر چندشکلی زیاد در یک جایگاه نشانگری است که در تفکیک و تمایز افراد نقش مهمی دارد. بنابراین نشانگرهایی با محتوای اطلاعات چندشکلی بالا برای تمایز ژنوتیپ‌های خویشاوندی نزدیک مفید هستند (Shazdehahmadi & Kharrazi 2016). لذا می‌توان آغازگر SCoT23 را برای بررسی‌های آتی تنوع در گوجه‌فرنگی توصیه نمود. آغازگر SCoT12 بیشترین نسبت چندشکلی موثر با ۲۱ واحد و کمترین میزان این شاخص را آغازگر SCoT33 با ۱۰ واحد به خود اختصاص دادند. برای شاخص نشانگری آغازگر SCoT12 با ۷/۱۶۷ واحد بیشترین مقدار را به خود اختصاص داد که بیانگر کارایی بالای این آغازگر در بروز چندشکلی میان ارقام گوجه‌فرنگی مورد مطالعه بوده است. آغازگر SCoT33 کمترین مقدار شاخص نشانگری به مقدار ۲/۶۲۸ واحد را نشان داد. بالاترین قدرت تفکیک را آغازگر SCoT2 با ۲۱/۰۳۰ داشت در حالیکه کمترین مقدار این شاخص برای آغازگر SCoT33 ثبت شد. این مقدار برابر با ۸/۱۶۱ واحد بود. لذا می‌توان گفت آغازگرهای SCoT12 و SCoT23 با داشتن محتوای اطلاعات چندشکلی، شاخص نشانگری، نسبت چندشکلی موثر و قدرت تفکیک بالا کارایی مناسبی در تمایز ارقام داشته‌اند.

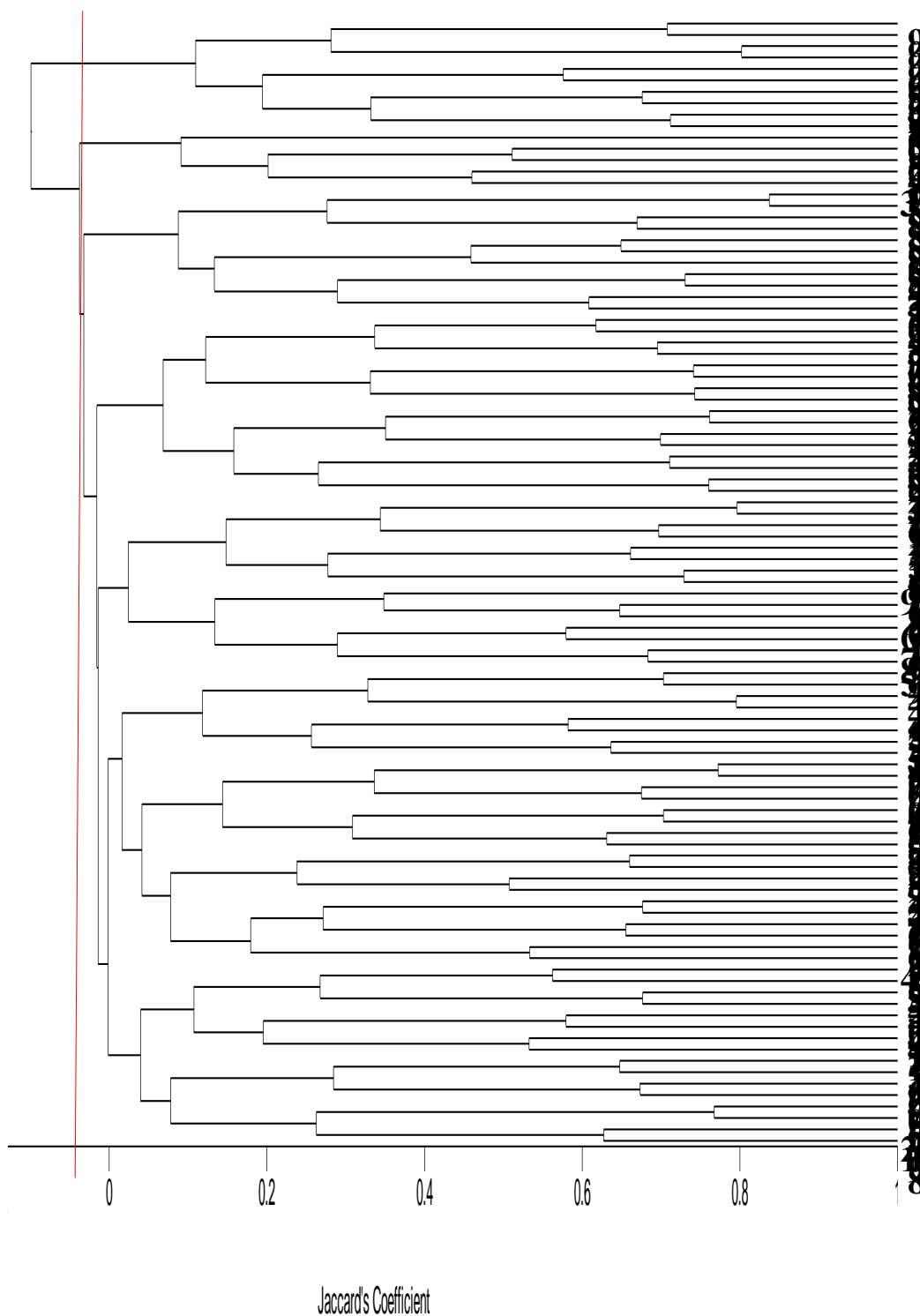
جدول ۳. خصوصیات آغازگرهای SCoT مورد استفاده در این پژوهش

Table 3. SCoT primers features used in this research

ردیف	نام آغازگر	تعداد کل نواری	تعداد نواری چندشکلی	درصد چندشکلی	محتوای اطلاعات چندشکلی	نسبت چندشکلی موثر	شاخص نشانگری	قدرت تفکیک	سایز قطعات
Row	Primer name	No. of total bands	No. of Polymorphic bands	Polymorphism %	Polymorphic Information Content (PIC)	Effective Multiplex Ratio (EMR)	Marker Index (MI)	Resolution Power (RP)	Size range (bp)
1	SCoT 2	14	13	92.9	0.251	12.1	3.3	21.0	2900 - 300
2	SCoT 6	15	15	100	0.302	15.0	4.5	14.2	2200 - 250
3	SCoT 12	21	21	100	0.341	21.0	7.2	18.8	3100 - 250
4	SCoT 13	13	13	100	0.329	13.0	4.3	11.0	2900 - 350
5	SCoT 16	16	16	100	0.354	16.0	5.7	15.7	2500 - 300
6	SCoT 18	12	12	100	0.274	12.0	3.3	13.9	3000 - 250
7	SCoT 19	14	14	100	0.231	14.0	3.2	9.2	2300 - 250
8	SCoT 21	11	11	100	0.316	11.0	3.5	12.5	2000 - 300
9	SCoT 22	12	12	100	0.286	12.0	3.4	15.2	2100 - 300
10	SCoT 23	15	15	100	0.417	15	6.3	11.2	3050 - 250
11	SCoT 24	11	11	100	0.272	11	3.0	10.5	1800 - 300
12	SCoT 28	18	18	100	0.224	18	4.0	14.6	3200 - 250
13	SCoT 31	12	12	100	0.381	12	4.6	9.35	2200 - 250
14	SCoT 33	10	10	100	0.262	10	2.6	8.16	2000 - 250
15	SCoT 36	13	13	100	0.228	13	3.0	15.4	2200 - 250
کل	—	207	206	—	—	—	—	—	—
Total	—	13.8	13.7	99.5	0.298	13.6	4.12	13.3	—
میانگین	—								
Mean	—								

بر اساس ماتریس تشابه ژنتیکی، دامنه‌ی تغییرات ضریب تشابه ژنتیکی جاکارد از ۰/۱۶۶ تا ۰/۸۳۷ متغیر و میانگین آن ۰/۵۱۹ بود. در این میان بیشترین شباهت ژنتیکی میان رقم‌های شماره ۸۶ (Namib f1) و ۸۷ (1227) به میزان ۰/۸۳۷ و کمترین میزان شباهت ژنتیکی نیز بین رقم‌های شماره ۳۴ (104) و ۹۷ (Ztp 8) با ۰/۱۶۶ واحد مشاهده شد. مطالعات Nabipour et al. (2011) در بررسی تنوع ژنتیکی گوجه‌فرنگی با استفاده از نشانگر AFLP نیز تنوع ژنتیکی پایینی را نشان داده است. تحقیقات دیگر نیز نشان می‌دهد، تنوع ژنتیکی گوجه‌فرنگی زراعی در گذر زمان و اهلی شدن و بویژه به دلیل تولید رقم‌های زراعی و گزینش شدید کاهش محسوسی داشته است و امروزه کمتر از ۱۰ درصد تنوع ژنتیکی جنس گوجه‌فرنگی در گونه زراعی مشاهده می‌شود (Miller & Tanksley 1990; Areshchenkova & Ganal 2002). اگرچه پژوهش حاضر میزان تنوع را در ارقام تجاری رایج گوجه‌فرنگی و ارقام امید بخش آن در ایران بسیار پایین ارزیابی نمی‌نماید، اما به نظر می‌رسد همانطور که اشاره شد، احتمالاً بدلیل منابع ژنتیکی محدود در تولید ارقام گوجه‌فرنگی، این گیاه زراعی از تنوع ژنتیکی بالایی در ارقام زراعی برخوردار نیست که بایستی در سیاست گذاری‌های کشت آن و بویژه در چگونگی کنترل بیماریها، آفات و علف‌های هرز لحاظ گردد. در تجزیه خوشه‌ای انجام شده بر اساس ضریب تشابه جاکارد توسط الگوریتم‌های FLEXI، UPGMC، UPGMA، Centroid، Median، WPGMA، SINGLE، COMPLETE و الگوریتم Centroid کمترین مقدار اثر زنجیره‌ای^{۱۰} را از خود نشان داد (شکل ۱). به منظور تعیین تعداد مطلوب خوشه‌ها و بهترین نقطه برش از تجزیه واریانس مولکولی (AMOVA) استفاده شد (Mohammadi & Prasanna 2003). با توجه به نتایج حاصل از تجزیه واریانس مولکولی بیشترین مقدار Φ_{PT} برای تقسیم بندی به سه گروه به دست آمد و برابر ۰/۰۹۴ بود (جدول ۴). در نتیجه این خط برش به عنوان ناحیه تفکیک خوشه‌های حاصل از تجزیه کلاستر در نظر گرفته شد و رقم‌ها به سه خوشه تقسیم شدند که در خوشه اول ۱۰ رقم، خوشه دوم پنج رقم و در خوشه سوم ۸۴ رقم قرار گرفتند. قرار گرفتن ۸۴ رقم در یک خوشه نشان می‌دهد علاوه بر چندان بالا نبودن تنوع ژنتیکی ارقام استفاده شده گوجه‌فرنگی در ایران، احتمالاً از منابع مشابهی برای تولید ارقام سود بره شده است.

۱۰. Chaining effect



شکل ۱. دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای به روش Centroid بر اساس ضریب تشابه جاکارد
Figure 1. Dendrogram of cluster analysis using Centroid method based on Jaccard's coefficient

جدول ۴. نتایج تجزیه واریانس مولکولی بر اساس تجزیه خوشه‌ای

Table 4. Result of AMOVA based on cluster analysis

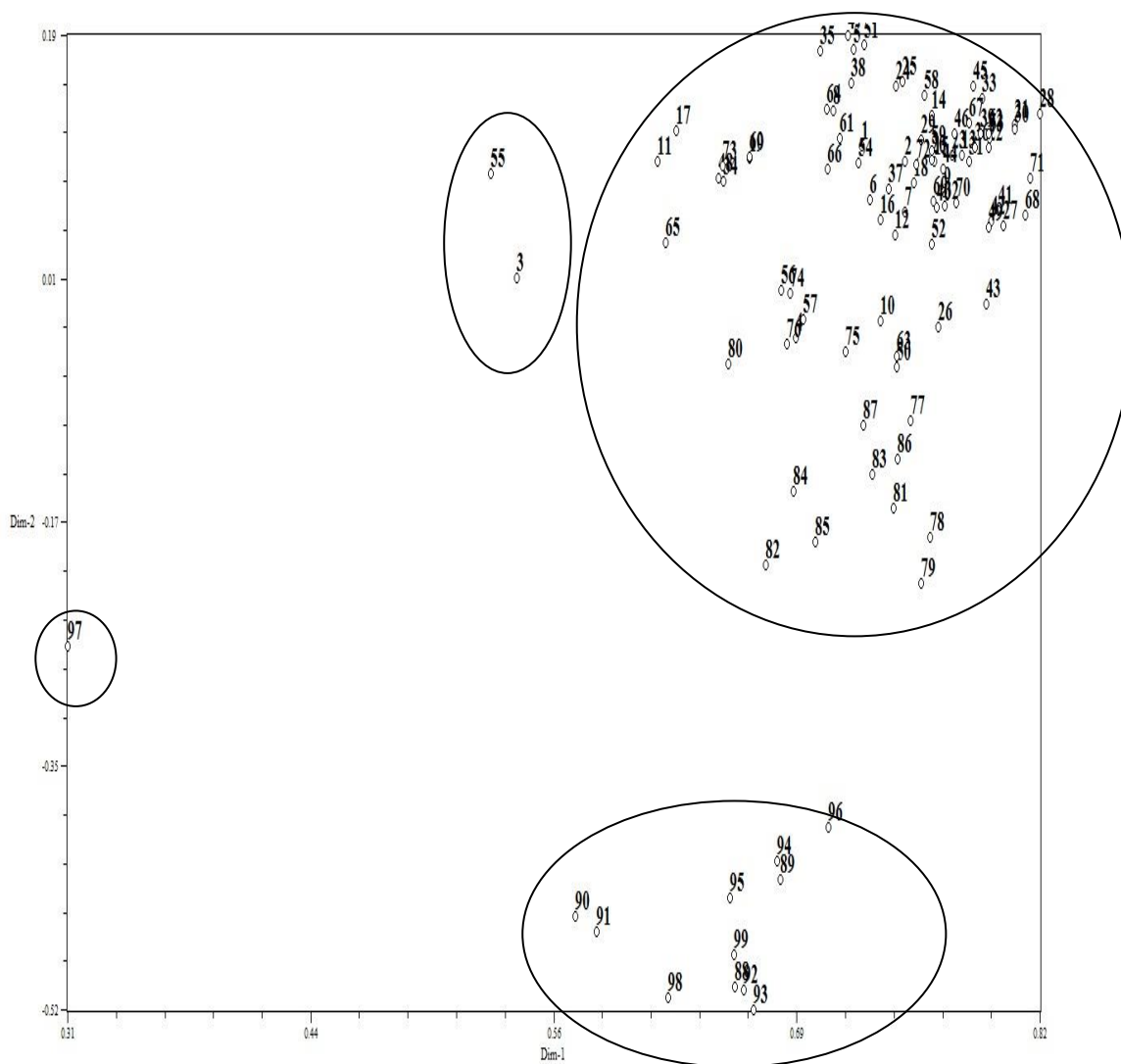
گروه‌های پیش‌بینی شده	منبع تغییر	درجه آزادی	مجموع مربعات	اجزا واریانس	درصد واریانس کل	Φ_{PT}
No. populations	S.V	df	Sum of squares	Variance component	Percentage of total Variance	PhiPT
3	بین جمعیت‌ها	2	145.05	72.53	9	0.094
	Between populations					
	داخل جمعیت‌ها	96	2930.38	30.53	91	
	Within populations					
	کل	98	3075.43		100	
	Total					

تجزیه به مختصات اصلی بر اساس ماتریس تشابه جاکارد انجام شد و پراکندگی نمونه‌ها بر اساس مؤلفه اول و دوم حاصل از تجزیه به مختصات اصلی، مورد بررسی قرار گرفت (جدول ۵). ثابت شده است اگر درصد توجیه واریانس دو مؤلفه اول کمتر از ۲۵ درصد باشد نشانگرها در کل ژنوم به صورت مناسبی پراکنده گردیده‌اند (Mohammadi & Prasanna 2003). لذا توجیه ۵۶/۳۶ درصد از تنوع داده‌ها توسط دو مؤلفه اول در این مطالعه، نشان می‌دهد نشانگرها در کل ژنوم توزیع مناسبی نداشته و در مناطق محدودی تجمع یافته‌اند. بنابراین در مطالعات آتی لازم است اگر از نشانگر SCoT استفاده می‌گردد تعداد بیشتری آغازگر لحاظ شود و نیز استفاده از نشانگرهای دیگر توصیه می‌گردد تا احتمالاً سراسر ژنوم پوشش یابد. شکل ۲ نمودار پراکنش دو بعدی حول دو مؤلفه اول را نشان می‌دهد. بر اساس نمودار دو بعدی، ارقام به چهار گروه تقسیم شدند. در گروه اول ۸۵ رقم، گروه دوم دو رقم، گروه سوم ۱۱ رقم و گروه چهارم یک رقم به تنهایی قرار گرفتند. فاصله هندسی بین افراد در نمودار منعکس‌کننده فاصله ژنتیکی بین آن‌ها با حداقل انحراف از حالت طبیعی است (Mohammadi & Prasanna 2003). نتایج حاصل از تجزیه به مختصات اصلی به مقدار زیادی با نتایج تجزیه خوشه‌ای مطابقت داشت و می‌توان توجیه بیان شده برای تجزیه خوشه‌ای را در اینجا هم تکرار نمود.

جدول ۵. نتایج حاصل از تجزیه به مختصات اصلی

Table 5. Result of principal coordinate analysis

مؤلفه Component	مقدار ویژه Eigenvalue	درصد واریانس نسبی Percentage of relative variance	درصد واریانس تجمعی Percentage of cumulative variance
1	52.31	52.84	52.84
2	3.49	3.52	56.36
3	2.44	2.46	58.82



شکل ۲. نمودار پراکنش دو بعدی با استفاده از تجزیه به مختصات اصلی

Figur 2. Scatter biplot using principal coordinate analysis

نتیجه گیری: استفاده از نشانگر مولکولی SCoT برای بررسی تنوع ژنتیکی میان ارقام گوجه‌فرنگی موفقیت آمیز بود. این نشانگر سطح بالایی از چندشکلی (۹۲٪ تا ۱۰۰٪) را نشان داد. لذا نتایج این مطالعه استفاده از نشانگر SCoT را برای بررسی تنوع ژنتیکی گوجه‌فرنگی توصیه می‌نماید. از میان آغازگرهای استفاده شده، به نظر می‌رسد آغازگرهای SCoT12 و SCoT23 با داشتن محتوای اطلاعات چند شکلی، شاخص نشانگری، نسبت چند شکلی مؤثر و قدرت تفکیک بالا کارایی مناسب‌تری در تمایز ارقام داشته‌اند. نتایج پژوهش حاضر نشان داد ارقام گوجه‌فرنگی مورد استفاده در کشور احتمالاً از تنوع ژنتیکی بسیار بالایی برخوردار نیستند. لذا توصیه می‌شود به منظور بررسی دقیق‌تر و با توجه به معرفی سیستم‌های نشانگری جدید و مبتنی بر ژن مانند CDDP، AADs، CDBP، از آنها بهره‌برداری گردد. بعلاوه، پیدایش پدیده‌های بعدی کارایی سیستم‌های نشانگری مبتنی بر ژن برای بررسی تنوع گوجه‌فرنگی مورد مقایسه قرار گیرد. در صورت در دسترس بودن چنین اطلاعاتی زمینه استفاده از نشانگرهای مبتنی بر ژن در سایر مطالعات مانند تجزیه ارتباطی، نقشه یابی‌های ژنتیکی و اشیاع نقشه‌های ژنتیکی در گوجه‌فرنگی فراهم می‌شود. نتایج پژوهش ما نشان داد احتمالاً سیاست‌گذاران بخش کشاورزی برای جنبه‌های توسعه کشت گوجه‌فرنگی مانند تولید یا واردات بذر، کنترل آفات، بیماری‌ها و علف‌های هرز بایستی ارقام موجود را با تنوع نه چندان بالا لحاظ کرده و اتخاذ تصمیم نمایند.

سپاسگزاری: نگارندگان بر خود لازم می‌دانند از آقای دکتر کیانوش چقامیرزا و خانم دکتر لیلا زارعی به خاطر مطالعه متن مقاله حاضر و ارائه نظرهای ارزشمند سپاسگزاری نمایند. همچنین از داوران محترم به خاطر ارائه نظرهای ساختاری و علمی سپاسگزاری می‌شود.

منابع

- احمدی کریم، عبادزاده حمیدرضا، عبدشاه هلدا، کاظمیان آرزو، رفیعی مریم (۱۳۹۷) آمارنامه کشاورزی سال زراعی ۹۶-۱۳۹۵. وزارت جهاد کشاورزی، معاونت برنامه ریزی و اقتصادی، مرکز فناوری اطلاعات و ارتباطات، تهران ۳۵-۳۱.
- پورابوقداره علیرضا، اطمینان علیرضا، شوشتری لیا، ملکی تبریزی ندا (۱۳۹۸) ارزیابی مقایسه‌ای نشانگرهای CDBP و SCoT در بررسی تنوع ژنتیکی در توده‌های مختلف *Aegilops*. مجله بیوتکنولوژی کشاورزی ۱۱(۴)، ۱۷۴-۱۵۳.
- شازده‌احمدی مرضیه، خرازی مهین (۱۳۹۴) استفاده از نشانگر مولکولی ISSR در بررسی تنوع ژنتیکی برخی از ژنوتیپ‌های توتون. مجله پژوهش‌های ژنتیک گیاهی ۲(۲)، ۴۶-۳۳.
- کدرستمی مجتبی، رحیمی مهدی، صفائی چائی کار صنم، سراجی علی، آزادی رضا (۱۳۹۸) بررسی کارایی نشانگرهای مولکولی در ارزیابی تنوع ژنتیکی کلون‌های مختلف چای ایران. مجله بیوتکنولوژی کشاورزی ۱۱(۲)، ۱۰۰-۷۹.
- نبی‌پور مریم، فارسی محمد، نعمتی حسین، ملک‌زاده سعید (۱۳۹۰) بررسی تنوع ژنتیکی ژنوتیپ‌های گوجه‌فرنگی با استفاده از نشانگرهای مولکولی AFLP و ارتباط آن با هتروزیس. نشریه پژوهش‌های زراعی ایران ۱۰(۶)، ۳۶۰-۳۵۴.

نقوی محمدرضا، قره‌یاضی بهزاد، حسینی سالکده قاسم (۱۳۸۸) نشانگرهای مولکولی. انتشارات دانشگاه تهران ۶-۵.

References

- Ahmadi K, Ebadzadeh HR, Abdshah H, Kazemian A, Rafiei M (2018) Agriculture statistical center of iran. Ministry of Agriculture Jihad, Deputy of Planning and Economics, Information and Communication Technology Center, Tehran, pp. 31-35. (In Persian).
- Amirmoradi B, Talebi R, Karami E (2012) Comparison of genetic variation and differentiation among annual Cicer species using start codon targeted (SCoT) polymorphism, DAMD-PCR, and ISSR markers. *Plant Syst Evol* 298, 1679-1688.
- Areshchenkova T, Ganal MW (2002) Comparative analysis of polymorphism and chromosomal location of tomato microsatellite markers isolated from different sources. *Theor Appl Genet* 104, 229-235.
- Bhattacharyya P, Kumaria S, Kumar Sh, Tandon P (2013) Start Codon Targeted (SCoT) marker reveals genetic diversity of *Dendrobium nobile* Lindl., an endangered medicinal orchid species. *Gene* 529, 21–26.
- Collard BCY, Mackill DJ (2009) Start Codon Targeted (SCoT) polymorphism: a simple novel DNA marker technique for generating gene-targeted markers in plants. *Plant Mol Biol Rep* 27, 86–93.
- Dellaporta SL, Wood J, Hicks JB (1983) A plant DNA mini preparation version II. *Plant Mol Biol Rep* 1, 19-21.
- Etminan A, Pour-Aboughadareh A, Mohammadi R et al. (2016) Applicability of start codon targeted (SCoT) and inter-simple sequence repeat (ISSR) markers for genetic diversity analysis in durum wheat genotypes. *Biotechnol Equip* 30, 1075-1081.
- Feng SG, He RF, Jiang MY et al. (2016) Genetic diversity and relationships of medicinal *Chrysanthemum morifolium* revealed by start codon targeted (SCoT) markers. *Sci Hortic* 201, 118-123.
- Foolad MR (2007) Genome mapping and molecular breeding of tomato. *Int J Plant Genom* 2007, 1-52.
- Foolad MR, Sharma A (2004) Molecular markers as selection tools in tomato breeding. In *International Symposium on Tomato Diseases* 695, 225-240.
- Fowler C, Mooney PR (1990) *Shattering: food, politics, and the loss of genetic diversity*. University of Arizona Press.
- Gorji AM, Poczai P, Polgar Z, Taller J (2011) Efficiency of arbitrarily amplified dominant markers (SCoT, ISSR and RAPD) for diagnostic fingerprinting in tetraploid potato. *Am J Pot Res* 88, 226–237.

- Govindaraj M, Vetriventhan M, Srinivasan M (2015) Importance of genetic diversity assessment in crop plants and its recent advances: an overview of its analytical perspectives. *Genet Res Int* 2015, 1-14.
- Gue DL, Zhang JY, Liu ChH (2012) Genetic diversity in some grape varieties revealed by SCoT analyses. *Mol Biol Rep* 39, 5307–5313.
- Heidari P, Etminan A, Azizinezhad R, Khosroshahli M (2017) Genomic variation studies in durum wheat (*Triticum turgidum* ssp. durum) using CBDP, SCoT and ISSR markers. *Indian J Genet Plant Breed* 77, 379-386.
- Heikrujam M, Kumar J, Agrawal V (2015) Genetic diversity analysis among male and female jojoba genotypes employing gene targeted molecular markers, start codon targeted (SCoT) polymorphism and CAAT box-derived polymorphism (CBDP) markers. *Meta Gene* 5, 90-97.
- Kordrostami M, Rahimi M, Safaei Chaeikar S et al. (2019) Investigation the efficiency of molecular markers to assess genetic diversity of Iranian tea clones. *Agric Biotech J* 11, 79-100. (In Persian).
- Lopez-Raez JA, Charnikhova T, Mulder P et al. (2008) Susceptibility of the tomato mutant high pigment-2^{dg} (hp-2^{dg}) to *Orobanche* spp. infection. *J Agric Food Chem* 56, 6326-6332.
- Luo C, He XH, Chen H et al. (2010) Analysis of diversity and relationships among mango cultivars using start codon targeted (SCoT) markers. *Biochem Syst Ecol* 38, 1176-1184.
- Luo C, He XH, Chen H et al. (2012) Genetic relationship and diversity of *Mangifera indica* L.: revealed through SCoT analysis. *Genet Resour Crop Ev* 59, 1505-1515.
- Miller JC, Tanksley SD (1990) RFLP analysis of phylogenetic relationships and genetic variation in the genus *Lycopersicon*. *Theor Appl Genet* 80, 437- 448.
- Mohammadi SA, Prasanna BM (2003) Analysis of genetic diversity in crop plants—salient statistical tools and considerations. *Crop Sci* 43, 1235-1248.
- Nabipour M, Farsi M, Nemmati H, Malekzadeh S (2011) Study of genetic diversity of tomato genotypes using AFLP molecular markers and its relationship with heterosis. *Iranian Journal of Field Crops Research* 10, 354-360. (In Persian).
- Naghavi MR, Ghareyazie B, Hosseini Salekdeh Gh (2009) *Molecular markers* (3 st edn). University of Tehran Press, pp. 5-6. (In Persian).
- Nair AGH, Vidya P, Mohan C (2016) Analysis of genetic variability in sweet potato accessions using Start Codon Targeted (SCoT) polymorphism. *Int J Biote and Biochem* 12, 111-121.
- Pour-Aboughadareh A, Etminan A, Shooshtari L, Maleki-Tabrizi N (2019) Comparative Assessment of SCoT and CBDP Markers for Investigation of Genetic Diversity Existing in Different *Aegilops* Species. *Agric Biotech J* 11, 153-174. (In Persian).

- Powell W, Morgante M, Andre C et al. (1996) The comparison of RFLP, RAPD, AFLP and SSR (microsatellite) markers for germplasm analysis. *Mol Breed* 2, 225-238.
- Que Y, Pan Y, Lu Y et al. (2014) Genetic analysis of diversity within a chinese local sugarcane germplasm based on Start Codon Targeted polymorphism. *Biomed Res Int* 2014, 1-10.
- Rao VR, Hodgkin T (2002) Genetic diversity and conservation and utilization of plant genetic resources. *Plant Cell Tiss Org* 68, 1-19.
- Rajesh, MK, Sabana AA, Rachana KE et al. (2015) Genetic relationship and diversity among coconut (*Cocos nucifera* L.) accessions revealed through SCoT analysis. *3 Biotech* 5, 999–1006.
- Shazdehahmadi M, Kharrazi M (2016) Application of ISSR molecular markers for genetic diversity study of some tobacco genotypes. *Plant Genetic Researches* 2, 33-46. (In Persian).
- Shibata D (2005) Genome sequencing and functional genomics approaches in tomato. *J Gen Plant Pathol* 71, 1-7.
- Singh AK, Rana MK, Singh S et al. (2014) CAAT box-derived polymorphism (CBDP): a novel promoter-targeted molecular marker for plants. *J Plant Biochem Biot* 23, 175–183.
- Sinha SK, Srivastava HS, Tripath RD (1993) Influence of some growth regulators and cations on inhibition of chlorophyll biosynthesis by lead in maize. *Bull Environ Contam Toxicol* 51, 241-246.
- Sorkheh K, Amirbakhtiar N, Ercisli S (2016) Potential Start Codon Targeted (SCoT) and Interretrotransposon Amplified Polymorphism (IRAP) markers for evaluation of genetic diversity and conservation of wild pistacia species population. *Biochem Genet* 54, 368-387.
- Staub JE, Serquen FC, Gupta M (1996) Genetic markers, map construction, and their application in plant breeding. *Hort Science* 31, 729-741.
- Wu JM, Li YR, Yang LT et al. (2013) cDNA-SCoT: a novel rapid method for analysis of gene differential expression in sugarcane and other plants. *Aust J Crop Sci* 7, 659.