

Genetic diversity of tomato's cultivars assessed through ISSR marker

Zohreh Heidari-tootshami

M.Sc. Graduate of Genetics and Plant Breeding, Department of Plant Production and Genetics, Faculty of Sciences and Agricultural Engineering, Razi University, Kermanshah, Iran. E-mail address: zohrehheydari3@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 address: hooman.salari@razi.ac.ir

Abstract

Objective

This study was conducted to investigate the genetic diversity of tomato's cultivars in Iran. Moreover, the efficiency and the application of ISSR molecular markers in evaluating tomato diversity were assessed.

Materials and methods

Ninety-nine tomato cultivars, including previously popular, prevalent and cultivars under study for cultivation in Iran were evaluated. Accordingly, 20 ISSR primers were practiced. DNA isolation were carried out using the fresh leaf samples and then determined the quantity and quality of extracted DNA. After PCR, the amplicons were separated by horizontal electrophoresis. The gels were stained with ethidium bromide and visualized in a UV transilluminator for subsequent analysis in digitalized images. The obtained information was analyzed via statistical software.

Results

Amongst 20 primers were applied, the 17 primers were polymorphic. They have made 275 polymorphic amplicons which size's varied from 250 to 3000 base pair (bp). The average polymorphism rate was 97% and nine primers were 100% polymorphic. Having high polymorphic information content, marker index, effective multiplex ratio, and resolution power, UBC 879 primer was properly effective in differentiating the cultivars. The mean Jaccard

similarity coefficient was 0.41. The highest genetic similarity was observed between cv. H1423 and cv. Kimia while the lowest genetic similarity was between cv. Lina and cv. Pil ZTP1; 0.96 and 0.13 respectively. The UPGMA algorithm was applied in cluster analysis based on Jaccard similarity coefficient. This analysis grouped cultivars into five clusters. According to the analysis of molecular variance (AMOVA), the distinction between the formed groups was significant. In this study about 35% of the data variation was explained by the first and second components. The overall grouping pattern of clustering corresponds with principal component analysis. The cultivars were divided into five groups. By providing spatial representation of relative genetic distances among individuals, PCA analysis determined the consistency of differentiation among cultivars. cv. Lina and cv. ZTP8 were placed in one group alone and have the greatest genetic distance from other varieties.

Conclusions

This research claimed that Iranian tomato cultivars to some extent have high genetic diversity. In addition, it has been shown that ISSR molecular markers are appropriate for investigating the genetic diversity amongst tomato genotypes due to generation of high level of polymorphism. Thus, these markers have substantial efficiency in distinguishing tomato genotypes.

Keywords: Iran, Microsatellite, Cluster analysis, *Solanum lycopersicum* L

Paper Type: Research Paper.

Citation: Heidari Z, Salari H (2024) Genetic diversity of tomato's cultivars assessed through ISSR marker. *Agricultural Biotechnology Journal* 16 (1), 175-194.

Agricultural Biotechnology Journal 16 (1), 175-194. DOI: 10.22103/jab.2024.20927.1453

Received: November 06, 2023.

Received in revised form: January 06, 2024.

Accepted: January 07, 2024.

Published online: February 20, 2024.

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 نشانگر ISSR

زهره حیدری توتشامی

دانش آموخته کارشناسی ارشد رشته ژنتیک و به‌نژادی گیاهی، گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده علوم و مهندسی کشاورزی، دانشگاه رازی، کرمانشاه، ایران. رایانامه: zohrehheydari3@gmail.com

هومن سالاری ^{ID}

*نویسنده مسئول: استادیار، گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده علوم و مهندسی کشاورزی، دانشگاه رازی، کرمانشاه، ایران. رایانامه: hooman.salari@razi.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۸/۱۵ تاریخ دریافت فایل اصلاح شده نهایی: ۱۴۰۲/۱۰/۱۶ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۱۰/۱۷

چکیده

هدف: این مطالعه با هدف بررسی میزان تنوع ژنتیکی ارقام گوجه‌فرنگی در ایران انجام شد. همچنین در این پژوهش کارایی و قابلیت نشانگر مولکولی ISSR در ارزیابی تنوع ژنتیکی گوجه‌فرنگی سنجیده شد.

مواد و روش‌ها: تعداد ۹۹ رقم گوجه‌فرنگی شامل ارقام پیشتر رایج، رایج و در حال ارزیابی جهت کشت در ایران، با استفاده از ۲۰ آغازگر ISSR مورد ارزیابی قرار گرفتند. برای این منظور DNA استخراج شده از برگ‌های جوان پس از تعیین کمیت و کیفیت، طی واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز تکثیر شدند. جدا سازی قطعات تکثیر شده حاصل از PCR از طریق الکتروفورز افقی بر روی ژل آگارز انجام شد. رنگ‌آمیزی ژل به وسیله اتیدیوم بروماید صورت گرفت. تصویربرداری از ژل پس از تابانیدن نور UV به منظور آشکار سازی نوارها، انجام شد. اطلاعات بدست‌آمده از تصاویر، به وسیله نرم‌افزارهای آماری تجزیه و تحلیل شدند.

نتایج: از میان ۲۰ آغازگر مورد استفاده در این پژوهش ۱۷ آغازگر چندشکل بودند و در مجموع ۲۷۵ باند چندشکل با اندازه نوارهای بین ۲۵۰ تا ۳۰۰۰ جفت باز تولید کردند. چندشکلی متوسط ۹۷ درصد برآورد شد و نه آغازگر ۱۰۰ درصد چندشکلی نشان دادند. بررسی معیارهای کارایی آغازگرها نشان داد آغازگر UBC 876 بیشترین مقدار شاخص نشانگری، محتوای اطلاعات چندشکلی، نسبت چندشکلی مؤثر و قدرت تفکیک بالا را داشته و در نتیجه عملکرد خوبی در تمایز ارقام دارد. ضریب تشابه جاکارد به‌طور میانگین ۰/۴۱ برآورد شد. بیشترین شباهت ژنتیکی بین ارقام H1423 و Kimia با مقدار ۰/۹۶ و کمترین شباهت ژنتیکی بین ارقام Lina و Pil ZTP1 با مقدار ۰/۱۳ بود. در تجزیه خوشه‌ای بر اساس ضریب تشابه جاکارد از روش UPGMA استفاده

شد و بر این اساس ارقام به پنج خوشه تقسیم شدند. با توجه به تجزیه واریانس مولکولی (AMOVA) تمایز بین گروه‌های تشکیل شده معنی‌دار بود. در این مطالعه حدود ۳۵ درصد از تنوع داده‌ها توسط دو مؤلفه اول و دوم توجیه شد. طبق تجزیه به مختصات اصلی که مطابقت زیادی با نتایج تجزیه خوشه‌ای داشت، ارقام به پنج گروه تقسیم‌بندی شدند. فاصله هندسی میان ژنوتیپ‌ها در نمودار و عدم همپوشانی گروه‌ها نشان‌دهنده وجود تفاوت ژنتیکی بین آنها بود. دو رقم Lina و ZTP8 هر کدام به تنهایی در یک گروه قرار گرفتند و بیشترین فاصله ژنتیکی از سایر ارقام را داشتند.

نتیجه‌گیری: این مطالعه میزان تنوع ژنتیکی ارقام گوجه‌فرنگی در ایران را نسبتاً زیاد ارزیابی کرد. نشانگر ISSR با آشکار سازی چندشکلی زیاد نشان داد تکنیکی کارآمد و سودمند جهت بررسی تنوع ژنتیکی و تفکیک ژنوتیپ‌های گوجه‌فرنگی می‌باشد.

کلیدواژه‌ها: ایران، ریزماهواره، تجزیه خوشه‌ای، *Solanum lycopersicum* L

نوع مقاله: پژوهشی.

استناد: حیدری توتشامی زهره، سالاری هومن (۱۴۰۳) بررسی تنوع ژنتیکی ارقام گوجه‌فرنگی با نشانگر ISSR. *مجله بیوتکنولوژی کشاورزی* ۱۶(۱)، ۱۷۵-۱۹۴.

Publisher: Faculty of Agriculture and Technology Institute of Plant

Production, Shahid Bahonar University of Kerman-Iranian

Biotechnology Society.



© the authors

مقدمه

گوجه‌فرنگی (*Solanum lycopersicum* L.) پر مصرف‌ترین سبزی بعد از سیب‌زمینی است و به دلیل حالت تازه خوری و قابلیت فرآوری، از محصولات غذایی مهم جهان بشمار می‌رود (Vargas et al. 2020). خاستگاه آن آمریکای جنوبی در کوه‌های آند و کشورهای پرو و شیلی است (López-Ráez et al. 2008). ایران با سطح زیر کشت حدود صد و شش هزار هکتار و تولید سالانه حدود شش میلیون تن جزء ده کشور عمده تولید کننده گوجه‌فرنگی در جهان است (Agriculture statistical center of Iran 2018). این محصول با توجه به حالت تازه خوری و نیز امکان فرآوری از نظر افزایش رونق اقتصادی بخش کشاورزی بسیار حائز اهمیت است. امکان صدور به بازارهای جهانی و درآمد بالای ارزی گوجه‌فرنگی موجب گردیده تا مورد توجه به ویژه مسئولین، صاحبان صنایع و به تبع کشاورزان قرار گیرد (Wang 2020). افزایش جمعیت بشر نیاز به افزایش محصولات کشاورزی را ناگزیر نموده است (Barrios-Masias et al. 2014). کشاورزی نوین و ارقام اصلاح شده نقش بسزایی در افزایش کمیت و کیفیت محصولات کشاورزی داشته‌اند؛ اما همزمان موجب کاهش تنوع منابع ژنتیکی شده‌اند. در بسیاری از گزارش‌ها کاهش تنوع ژنتیکی در برنامه‌های اصلاحی برای تولید ارقام هیبرید و مدرن مورد توجه قرار گرفته است (Archak et al. 2002). شرط لازم

معرفی ارقام جدید با صفات مطلوب و سازگار با محیط وجود تنوع در جمعیت مورد استفاده است، لذا پایه و اساس به‌نژادی گیاهان، وجود تنوع ژنتیکی است. همچنین محدودیت تنوع ژنتیکی در گیاهان زراعی موجب آسیب‌پذیری جدی آنها در برابر تنش‌های زیستی و غیرزیستی و در نتیجه کاهش عملکرد می‌گردد. بنابراین بررسی ساختار و تنوع ژنتیکی امری ضروری است (Vargas et al. 2020). مطالعات نشان داده‌اند که نشانگرهای ملکولی ابزارهای کارآمد و قوی در بررسی تنوع ژنتیکی، مدیریت ژرم‌پلاسم، ارزیابی ساختار ژنتیکی و گزینش بر اساس نشانگر می‌باشد (Vargas et al. 2020). در این میان، نشانگرهای مبتنی بر DNA کارآمدی ویژه‌ای داشته و بسیار مورد توجه محققین قرار گرفته‌اند (Pour-Aboughadareh et al. 2020). نشانگر ISSR یکی از نشانگرهای ملکولی مبتنی بر DNA است که بر تکثیر قطعات بین دو ناحیه ریزماهوره مشابه استوار بوده و از توالی‌های تکراری ریزماهوره^۱ به عنوان آغازگر استفاده می‌کند. این نشانگر مانند RAPD یک نشانگر غالب است، اما نسبت به RAPD تکثیر پذیری و تنوع پذیری بالاتری داشته، سریع بوده و روشی آسان است (Mohammadabadi et al. 2021). همچنین، این نشانگرها تکرار پذیری نشانگرهای ریزماهوره (SSR) را به دلیل طولی بودن طول نشانگرهایشان دارا می‌باشند (Mohammadabadi et al. 2017). در واقع این تکنیک اغلب مزایای ریزماهوره‌ها را دارد و روش‌های AFLP و RAPD را در هم می‌آمیزد (Ghasemi et al. 2010). آغازگرهای آن غیراختصاصی هستند و تکنیکی ساده و سریع است. همچنین نیازی به کاربرد مواد رادیواکتیو و هزینه ساختن کتابخانه ژنومی را ندارد (Mohammadabadi and Askari 2012). به‌طور کلی نشانگر ISSR بنا بر داشتن مزایا نسبت به سایر نشانگرهای مولکولی از جمله دمای اتصال بالا و در نتیجه تکرارپذیری بالا، کم هزینه بودن اجرای این تکنیک و عدم نیاز به دانش توالی‌های پیرامونی آغازگر و به تبع طراحی ساده آغازگر (Tikunov et al. 2003) به صورت گسترده در دامنه وسیعی از گیاهان (Dong et al. 2011; Modareskia et al. 2022) و جانوران؛ از جمله گاو (Stolpovsky et al. 2011)، گوسفند (Zamani et al. 2011)، بز (Askari et al. 2010)، ماهی (Saad et al. 2012) و زنبور عسل (Bahador et al. 2016) برای تعیین تنوع ژنتیکی مورد استفاده قرار گرفته است. با توجه به اهمیت گوجه‌فرنگی در سبد غذایی بشر و از دست رفتن تنوع ژنتیکی گونه‌های زراعی طی اهلی شدن؛ بررسی ساختار و تنوع ژنتیکی این گیاه حائز اهمیت است. تنوع ژنتیکی گونه *Lycopersicon* با استفاده از تکنیک RFLP مورد بررسی قرار گرفته و در این بررسی تنوع در میان جمعیت‌های این گونه کم ارزیابی شده است (Miller and Tanksley 1990). تنوع ارقام رایج، مدرن و بومی گوجه‌فرنگی توسط تکنیک RAPD در سال ۱۹۹۳ مطالعه شد و نتایج نشان داد تنوع موجود در ارقام مدرن بیشتر از تنوع ارقام زراعی رایج و کمتر از تنوع ارقام بومی بود (Williams and Clair 1993). محققان بیش از ۵۰۰ وارینه گوجه‌فرنگی موجود در بانک‌های ژنی قاره اروپا را توسط نشانگر مولکولی SSR مورد ارزیابی قرار دادند و میزان چندشکلی را بالا ارزیابی کردند (Bredemeijer et al. 2002). از تکنیک ISSR در پژوهش‌های متعددی برای بررسی تنوع ژنتیکی گوجه‌فرنگی استفاده شده

1. Simple Satellite Repeat (SSR)

است. در یکی از مطالعات، تنوع ژنتیکی ۵۴ رقم زراعی و وحشی گوجه‌فرنگی به‌وسیله ۱۴ آغازگر مورد بررسی قرار گرفت و مشخص گردید تنوع ژنتیکی بین ارقام بالا می‌باشد. در این بررسی میزان چند شکلی ۹۵ در صد محاسبه گردید و نتایج نشان داد تکنیک ISSR در بررسی تنوع ژنتیکی و روابط فیلوژنیک گوجه‌فرنگی کارایی بالایی دارد (Kochieva et al. 2002). در پژوهش دیگری تنوع ژنتیکی ۵۵ ژنوتیپ گوجه‌فرنگی با استفاده از هفت آغازگر ارزیابی شد که نتایج این پژوهش نیز تنوع ژنتیکی بین ژنوتیپ‌ها را بالا ارزیابی کرد (Vargas et al. 2020). در بررسی تنوع ژنتیکی ۹۳ رقم گوجه‌فرنگی در مناطق شرقی ترکیه و شمال غربی ایران با استفاده از ۱۴ آغازگر، نتایج حاکی از وجود تنوع ژنتیکی زیاد بین ارقام بود (Henareh et al. 2016). تنوع ژنتیکی ۳۸ توده بومی گوجه‌فرنگی یونانی با ۱۲ آغازگر ارزیابی شد که نتایج حاصل حاکی از وجود چند شکلی زیاد بین ارقام و نیز تنوع ژنتیکی بالای بین جمعیت‌ها بود. پژوهشگران این گزارش ادعا نمودند که این مشاهده می‌تواند بدلیل وسعت زیاد منشأ ارقام مورد بررسی باشد (Terzopoulos and Bebeli 2008). پژوهشی به‌منظور بررسی روابط لاین‌ها، فاصله ژنتیکی و در نهایت انتخاب والدین مناسب جهت تولید واریته هیبرید ۹۶ توده^۲ گوجه‌فرنگی با استفاده از ۱۰ آغازگر انجام شد و نتایج نشان داد نشانگر ISSR در تخمین تنوع ژنتیکی، تمایز و گروه‌بندی ژرمپلاسم کارایی بالایی دارد (Aguilera et al. 2011). مطالعه گوجه‌فرنگی پوستانه دار گونه بومی مکزیک با استفاده از هشت آغازگر ISSR نشان داد این نشانگر در تخمین روابط ژنتیکی و گروه‌بندی ارقام بسیار مفید است (Vargas-ponce et al. 2011). بررسی تنوع ژنتیکی ۳۰ توده گوجه‌فرنگی با استفاده از نشانگرهای ISSR و SSR مشخص نمودند تنوع ژنتیکی درون و بین گونه‌ای بالایی بین ارقام مورد مطالعه وجود داشته و هر دو تکنیک کارایی مناسب در ارزیابی تنوع ژنتیکی گوجه‌فرنگی دارند (Hosseini et al. 2023). به‌طور کلی نتایج نشان داده‌اند نشانگر مولکولی ISSR در تشخیص چندشکلی، فاصله ژنتیکی میان لاین‌های گوجه‌فرنگی و آنالیز روابط فیلوژنتیک کارآمد بوده و می‌تواند به‌عنوان ابزاری دقیق مورد استفاده قرار گیرد. تکنیک ISSR در بررسی تنوع ژنتیکی سایر گونه‌های خانواده سولاناسه نیز مورد استفاده قرار گرفته است. از جمله می‌توان به بررسی تنوع ژنتیکی ۵۶ رقم فلفل^۳ (Lijun and Xuexiao, 2012)، ۴۹ رقم سیب زمینی^۴ (Bornet et al., 2002) و ۵۳ رقم توتون^۵ (Denduangboripant et al., 2010) اشاره کرد. طبق نتایج گزارش شده از پژوهش‌های صورت گرفته، این تکنیک روشی معتبر برای شناسایی و بررسی تنوع ژنتیکی بین و درون گونه‌ای در خانواده سولاناسه بوده است. بر اساس گزارش‌های در دسترس، مطالعات در زمینه تنوع ژنتیکی ارقام مورد استفاده گوجه‌فرنگی در کشور کافی نمی‌باشد. در تنها بررسی نسبتاً جامع صورت گرفته برای حدود صد رقم گوجه‌فرنگی با استفاده از نشانگر SCoT، تنوع ژنتیکی این ارقام پایین ارزیابی شد (Mirzaei and Salari 2021). پژوهش حاضر به‌منظور بررسی ساختار و مقدار تنوع ژنتیکی ۹۹ رقم گوجه‌فرنگی

2. Accession
3. *Capsicum annuum*
4. *Solanum tuberosum*
5. *Nicotiana Rustica*

شامل ارقام پیشتر رایج، رایج و در حال ارزیابی به منظور کشت در ایران به وسیله نشانگر مولکولی ISSR انجام شد. تعیین میزان کارایی نشانگر مولکولی ISSR در ارزیابی تنوع ژنتیکی گوجه‌فرنگی هدف دیگر این مطالعه بود.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی و شرایط رشد: تعداد ۹۹ رقم گوجه‌فرنگی شامل ارقام پیشتر رایج، رایج و یا در حال ارزیابی به‌منظور کشت در ایران، از شرکت‌های روژین‌تاک، گل‌سم گرگان، بهتا، هزاره سوم و فلات جمع‌آوری و بررسی شدند (جدول ۱). کشت در گلخانه پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه رازی، تحت شرایط کنترل شده با دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد، نور طبیعی و رطوبت ۲۱ درصد انجام شد. سه تکرار از هر ژنوتیپ داخل سینی نشاء کشت شدند. بذرها در عمق نیم سانتیمتری در بستر کوکوپیت و پیت ماس به نسبت حجمی ۱:۱ قرار گرفتند. پس از ۳۰ روز، زمانیکه نشاءها در مرحله ۳-۴ برگ حقیقی بودند، انتقال نشاء به گلدان صورت گرفت. گلدان‌ها با خاک مزرعه، کود دامی و ماسه بادی به ترتیب به نسبت حجمی ۱:۱:۲ پر شدند. گنجایش هر گلدان حدود ۳ لیتر بود. آبیاری در مرحله نشاء هر روز و پس از انتقال به گلدان حداکثر هر ۴۸ ساعت تا رسیدن به ظرفیت زراعی و وابسته به شرایط گلدان با آب شهری انجام شد.

آزمایش‌های مولکولی: استخراج DNA از برگ‌های جوان بوته‌های گوجه‌فرنگی در مرحله سه الی چهار برگی و بر اساس روش Dellaporta et al. (1983) انجام گردید. تعیین کمیت نمونه‌های DNA استخراج شده توسط دستگاه نانودراپ Thermo SCIENTIFIC مدل ۲۰۰۰c و تعیین کیفیت و عدم شکستگی آنها به وسیله دستگاه الکتروفورز افقی Agal Maxi Biometra با استفاده از ژل آگارز ۰/۸ درصد و بافر TAE 1x انجام شد. واکنش زنجیره‌ای پلی‌مرز جهت تکثیر قطعات انجام شد. در واکنش PCR برای همه نمونه‌ها از غلظت یکنواخت شده ۱۰ نانوگرم در میکرولیتر استفاده گردید. واکنش در حجم ۱۴ میکرولیتر شامل ۳ میکرولیتر DNA ژنومی، ۲/۵ میکرولیتر آغازگر (غلظت ۱۰ pmol/ul) و ۱/۵ میکرولیتر آب مقطر دو بار استریل و ۷ میکرولیتر کیت مسترمیکس^۶ تهیه شده از شرکت سیناکلون (غلظت ۲ x) انجام شد. تکثیر در دستگاه ترمو سایکلر Palm-Cycler صورت گرفت. چرخه‌های PCR شامل یک مرحله واسرشت سازی با دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد و زمان ۳ دقیقه بود. سپس ۳۰ سیکل متوالی شامل سه مرحله به شرح سی ثانیه با دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد، چهل و پنج ثانیه با دمای متغیر بین ۴۵ تا ۵۵ درجه سانتی‌گراد وابسته به آغازگر و یک دقیقه و سی ثانیه با دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد انجام شد. مرحله نهایی بسط کلیه رشته‌ها با دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳ دقیقه انجام گردید. در این پژوهش از ۲۰ آغازگر ISSR استفاده شد (جدول ۲). جهت بررسی چند شکلی بین نمونه‌ها از الکتروفورز افقی بر روی ژل آگارز ۱/۲ درصد استفاده شد (شکل ۱) و رنگ آمیزی ژل به وسیله محلول اتیدیوم بروماید انجام شد. آشکار سازی نوارها و تصویر برداری به وسیله دستگاه Vilber Lourmut مدل

6. Ready to use PCR master mix, 2X (SINACLON)

DL-HD تحت نور UV صورت گرفت. بررسی و تعیین اندازه قطعات تکثیر شده در مقایسه با نشانگر اندازه (1K DNA Ladder) در دامنه ۲۵۰ تا ۱۰۰۰۰ جفت باز صورت پذیرفت.

جدول ۱. ارقام بررسی شده

Table 1. Studied cultivars

شماره No.	رقم Cultivar	تأمین کننده Supplier	شماره No.	رقم Cultivar	تأمین کننده Supplier	شماره No.	رقم Cultivar	تأمین 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	روژین تاک Rojin Taak
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

ادامه جدول ۱. ارقام بررسی شده

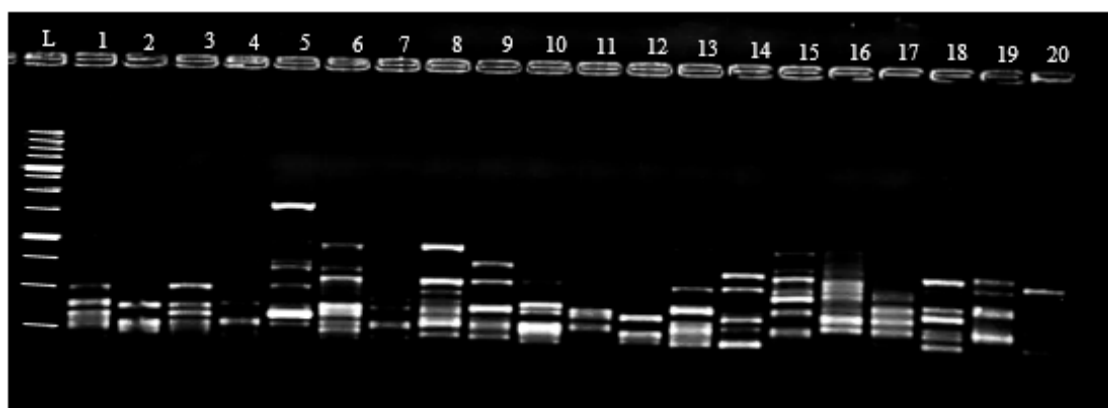
Table 1. Studied cultivars

شماره No.	رقم Cultivar	تأمین کننده Supplier	شماره No.	رقم Cultivar	تأمین کننده Supplier	شماره No.	رقم Cultivar	تأمین کننده Supplier
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
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 f1	روژین تاک Rojin Taak
21	H 1537	روژین تاک Rojin Taak	54	Hyb. Comodoro	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.Hypee 1 303	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

ادامه جدول ۱. ارقام بررسی شده

Table 1. Studied cultivars

شماره	رقم	تأمین کننده	شماره	رقم	تأمین کننده	شماره	رقم	تأمین کننده
No.	Cultivar	Supplier	No.	Cultivar	Supplier	No.	Cultivar	Supplier
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



شکل ۱. الگوی بانندی حاصل از آغازگر 3 UBC در ارقام گوجه فرنگی (چاهک ۱ تا ۲۰) روی ژل آگارز ۱/۲

درصد، L: نشانگر تعیین اندازه DNA

Figure 1. The band pattern using UBC 3 primer for tomato's cultivars (lane 1 to 20) on 1.2 % agarose gel, L: DNA size marker

تجزیه و تحلیل داده‌ها: برای بررسی چندشکلی بین ارقام، اطلاعات بدست آمده از تصاویر تجزیه و تحلیل شدند. حضور

و عدم حضور هر باند خاص به ترتیب با اعداد یک و صفر مشخص شد. برای تشکیل ماتریس داده‌های خام از نرم افزار Excel

استفاده شد. برای هر آغازگر، معیارهای کارایی ارزیابی شدند (Powell et al. 1996). محتوای اطلاعات چندشکلی^۷ با استفاده از رابطه ۱ اندازه‌گیری شد. در این رابطه π برابر مجموع باندهای هر لوکوس برای کلیه ژنوتیپ‌ها است. شاخص نشانگری^۸ از حاصلضرب شاخص محتوای اطلاعات چندشکلی در تعداد باندهای چندشکل محاسبه شد.

جدول ۲. آغازگرهای ISSR مورد استفاده

Table 2. Practiced ISSR primers

ردیف row	نام آغازگر Primer name	دمای اتصال (C°) Annealing Temperature (C°)	توالی (۵' به ۳') Sequence (5' to 3')
1	UBC 3	49.2	GACAGACAGACAGACA
2	UBC 8	52.8	GTGTGTGTGTGTGTGTC
3	UBC 11	52.5	ACACACACACACACACYC
4	UBC 15	54.8	ACACACACACACACACYG
5	UBC 26	60.5	CTCCTCCTCCTCCTCCTC
6	UBC 807	49.0	AGAGAGAGAGAGAGAGT
7	UBC 808	50.0	AGAGAGAGAGAGAGAGC
8	UBC 809	47.0	AGAGAGAGAGAGAGAGG
9	UBC 810	50.0	GAGAGAGAGAGAGAGAT
10	UBC 812	50.0	GAGAGAGAGAGAGAGAA
11	UBC 825	50.4	ACACACACACACACACT
12	UBC 827	49.0	GACTGACTGACTGACT
13	UBC 857	50.0	ACACACACACACACACYG
14	UBC 876	48.0	GATAGATAGATAGATA
15	UBC 880	53.0	GGATGGATGGATGGAT
16	UBC 885	53.0	GGAGGGAGGGAGGGAG
17	UBC 885	52.0	BHBGAGAGAGAGAGAGA

نسبت چندشکلی مؤثر^۹ برابر حاصلضرب درصد چندشکلی در تعداد باندهای چندشکل می‌باشد. برای محاسبه شاخص قدرت تفکیک^{۱۰} از رابطه ۲ استفاده شد. بر اساس پیشنهاد (Shahlaei et al. 2014) برای محاسبه میزان تشابه ژنتیکی از ضریب جاکارد استفاده گردید. در تجزیه خوشه‌ای از الگوریتم UPGMA استفاده شد. جهت ترسیم دندروگرام‌ها و تجزیه به مختصات اصلی از

7. Polymorphic Information Content (PIC)
8. Marker Index (MI)
9. Effective Polymorphic Ratio (EMR)
10. Resolution Power (RP)

نرم افزار NTSYS v:2.02 استفاده گردید. تجزیه واریانس مولکولی (AMOVA) به منظور تعیین تعداد مطلوب خوشه‌ها و بهترین نقطه برش با نرم افزار GeneAlex ver:641 صورت گرفت. به منظور تأیید صحت نقطه برش و انتخاب صحیح ژنوتیپ‌ها در زیر گروه‌های مربوطه از نرم افزار SPSS v:26 استفاده شد.

$$PIC=1-\sum pi^2 \quad \text{رابطه ۱}$$

$$RP= \sum IB \quad IB= 1- (2 \times (0.5 - Pi)) \quad \text{رابطه ۲}$$

نتایج و بحث

نتایج حاصل از بررسی شاخص‌های ۱۷ آغازگر ISSR در جدول ۳ آمده است. اندازه نوارهای مشاهده شده بین ۲۵۰ تا ۳۰۰۰ جفت باز متغیر بود. متوسط تعداد باند برای هر آغازگر ۱۵ باند بود. آغازگرهای UBC 876 و UBC 11 به ترتیب با ایجاد ۲۲ و ۱۲ نوار چند شکل بیشترین و کمترین تعداد را به خود اختصاص دادند. از مجموع ۲۸۴ باند تولید شده، ۲۷۵ باند چند شکل بودند و آغازگرها چند شکلی بالایی نشان دادند. میزان چند شکلی متوسط ۹۷ درصد برآورد شد و از میان آغازگرهای بررسی شده، تعداد نه آغازگر ۱۰۰ درصد چند شکل بودند. این نتایج با گزارش‌های پیشین هماهنگ است. میزان چند شکلی برآورد شده توسط Vargas et al. (2020) طی ارزیابی ۵۵ ژنوتیپ گوجه‌فرنگی، ۹۰ درصد گزارش گردیده و این مقدار بالا به طیف گسترده شرایط اکولوژیکی که توده‌های وحشی با آن سازگار شده‌اند نسبت داده شده است. همچنین Hernandez-Ibanez et al. (2017) چند شکلی بالایی و در حدود ۸۰ درصد گزارش نمودند. اما نتایج این بررسی با نتایج پژوهش Aguilera et al. (2011) که در مطالعه ۹۶ توده گوجه‌فرنگی سطوح پایینی از چند شکلی و حدود ۳۴ درصد را گزارش نمودند؛ همخوان نیست. متوسط شاخص محتوای اطلاعات چند شکلی برای آغازگرها ۰/۳۲ بود و آغازگر UBC 876 با ۰/۳۷ بیشترین مقدار را به خود اختصاص داد. مقادیر زیاد این شاخص دلیل بر چند شکلی زیاد در یک جایگاه است که سبب می‌شود جهت تفکیک و تمایز افراد و روابط خویشاوندی نزدیک بسیار کارآمد باشد (Shazdehahmadi and Kharrazi 2016). شاخص محتوای اطلاعات چند شکلی بالاتر از ۰/۵۰ نمایانگر کارآمد بودن بسیار زیاد، بین ۰/۲۵ تا ۰/۵۰ بیانگر کارآمد بودن آغازگر و مقادیر کمتر از ۰/۲۵ نشان دهنده کارایی کم این شاخص است (Botstein et al. 2016). مقدار برآورد شده شاخص محتوای اطلاعات چند شکلی در این پژوهش ۰/۳۲ بوده که نشان می‌دهد نشانگر مورد استفاده دارای کارایی نسبتاً خوبی جهت تفکیک و تمایز افراد می‌باشد. شاخص قدرت تفکیک توانایی تفکیک آغازگرهای انتخابی را نشان می‌دهد و شاخصی حائز اهمیت جهت انتخاب آغازگرهاست؛ زیرا از تعداد افراد دارای باند و نیز از تعداد آل‌ها تاثیر می‌پذیرد (Kayis et al. 2010). این شاخص در آغازگر UBC 876 با مقدار ۱۲۱۰ بیشترین و در آغازگر UBC 825 با مقدار ۴۵۷ کمترین بود. شاخص نشانگری به تعداد نواهای چند شکل و پوشش ژنومی نشانگر نسبت داده می‌شود و برآوردی مناسب از کارایی آغازگرها می‌باشد. در این مورد نیز آغازگر UBC 876 با ۷۷۳ بیشترین مقدار را به خود اختصاص داده (جدول

۳). برآورد شاخص‌ها که معیار کارایی آغازگرهاست، نشان می‌دهند نشانگر ISSR کارایی لازم جهت تفکیک ارقام گوجه‌فرنگی را دارد. بین آغازگرهای مورد بررسی UBC 876 قادر به ارائه اطلاعات سودمند زیادی بود و عملکرد بالاتری نسبت به سایر آغازگرهای مورد بررسی در این پژوهش داشت. جهت محاسبه میزان تشابه ژنتیکی از ضریب تشابه جاکارد با میانگین ۰/۴۱ استفاده شد. دامنه تغییرات ضریب تشابه ژنتیکی جاکارد بین ۰/۱۳ تا ۰/۶۹ متغیر بود. بیشترین شباهت ژنتیکی بین ارقام H1423 و Kimia با مقدار ۰/۹۶ و کمترین شباهت ژنتیکی بین ارقام Lina و Pil ZTP1 با مقدار ۰/۱۳ بود. با توجه به تجزیه واریانس مولکولی (AMOVA) تمایز بین گروه‌های تشکیل شده معنی‌دار بود و ۲۵ درصد از واریانس کل را توضیح داد (جدول ۴). بر این اساس ارقام به پنج خوشه تقسیم شدند. میزان درستی تعداد گروه‌ها و خط برش به وسیله نرم‌افزار SPSS و با استفاده از تابع تشخیص ۱۰۰ درصد برآورد شد. بر همین اساس در خوشه اول بیست رقم، در خوشه دوم بیست رقم، در خوشه سوم چهل رقم، در خوشه چهارم شانزده رقم و در خوشه آخر سه رقم قرار گرفتند (شکل ۲). تطابق دندروگرام با ماتریس تشابه با برآورد ضریب کوفتیک^{۱۱} سنجیده می‌شود (Kiani and siachehreh 2018) مقدار این ضریب ۰/۸۲ برآورد گردید که نشان دهنده مطابقت بالا می‌باشد.

تجزیه به مختصات اصلی بر اساس ماتریس تشابه جاکارد صورت گرفت. در این پژوهش حدود ۳۵ درصد از تنوع داده‌ها توسط دو مؤلفه اول و دوم توجیه شد (جدول ۵). نتایج تحقیقات صورت گرفته تاکنون نشان داده است اگر درصد توجیه واریانس دو مؤلفه اول کمتر از ۲۵ درصد باشد، نشانگر پراکندگی بالایی در سراسر ژنوم خواهد داشت (Mohammadi and Prasanna 2003). لذا با توجه به توجیه ۳۵ درصدی توسط دو مؤلفه اول و دوم استدلال می‌شود که آغازگرهای مورد استفاده پراکندگی متوسطی در سراسر ژنوم نشان داده‌اند. تجزیه به مختصات اصلی با نمایش فضایی فواصل ژنتیکی نسبی در بین افراد، تمایز بین ارقام توسط تجزیه خوشه‌ای را تأیید می‌کند. با توجه به نتایج، الگوی کلی گروه‌بندی دندروگرام با تجزیه و تحلیل مؤلفه‌های اصلی مطابقت دارد. پراکندگی دو بعدی حول دو مؤلفه اول در شکل ۳ نشان داده شده است. بر این اساس ارقام به پنج گروه تقسیم‌بندی شدند. ۳۸ رقم در گروه اول، سه رقم در گروه دوم، ۵۶ رقم در گروه سوم و در دو گروه آخر تنها یک رقم قرار گرفت. طبق تجزیه به مختصات اصلی، رقم Lina به تنهایی در یک گروه جای گرفت و بیشترین فاصله ژنتیکی از سایر ارقام را نشان داد. کمترین تشابه ژنتیکی بین ارقام Lina و ZTP1 با مقدار ۰/۱۳ بود. دو رقم ZTP11 و Red Stone که همراه با رقمی دیگر در یک گروه قرار گرفته‌اند و طبق نتایج تجزیه خوشه‌ای نیز در یک گروه بودند، ضریب تشابه پایینی با رقم Lina داشتند. همچنین گفتمی است رقم ZTP8 به صورت جداگانه در یک گروه قرار گرفت و ضریب تشابه ژنتیکی آن با رقم Lina برابر ۰/۱۸ بود که نشان‌دهنده فاصله ژنتیکی زیاد بین این دو رقم است.

جدول ۳. آغازگرهای ISSR و شاخص‌های بدست آمده

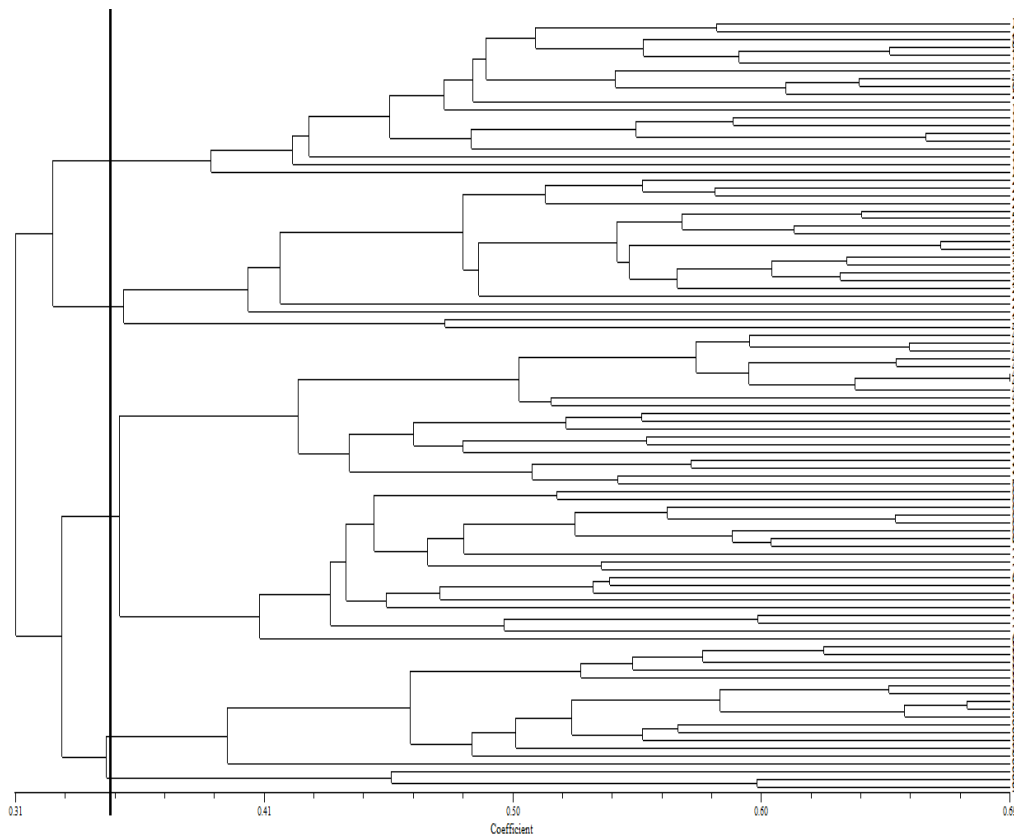
Table 3. ISSR markers and obtained indicators

نام آغازگر	تعداد کل نوار	تعداد نوار چندشکل	درصد چندشکلی	محتوای اطلاعات چندشکلی	نسبت چندشکلی موثر	شاخص نشانگری	قدرت تفکیک	سایز قطعات
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)
UBC 3	16	16	100	0.32	16.00	5.15	8.26	250-1500
UBC 8	14	14	100	0.31	14.00	4.32	5.92	250-1250
UBC 11	12	12	100	0.27	12.00	3.24	4.99	250-1000
UBC 15	16	15	93.75	0.33	14.06	4.64	7.45	300-1500
UBC 26	16	16	100	0.33	16.00	5.27	7.52	250-1500
UBC 807	20	20	100	0.31	20.00	6.30	9.47	250-1850
UBC 808	16	16	100	0.35	16.00	5.52	8.38	250-1750
UBC 809	17	15	88.24	0.34	13.24	4.54	7.49	250-2100
UBC 810	19	19	100	0.33	19.00	6.35	6.28	250-2100
UBC 812	16	15	93.75	0.35	14.06	4.88	8.22	250-2500
UBC 825	14	14	100	0.25	14.00	3.46	4.57	250-2000
UBC 827	15	14	93.33	0.36	13.07	4.65	7.49	300-1850
UBC 857	15	15	100	0.33	15.00	4.97	6.99	250-2000
UBC 876	23	22	95.65	0.37	21.04	7.73	12.10	250-3000
UBC 878	17	16	94.12	0.22	15.06	3.30	4.71	250-3000
UBC 880	21	20	95.24	0.35	19.05	6.58	10.75	250-2100
UBC 885	17	16	94.12	0.33	15.06	4.95	7.80	250-1650
Total کل	284	275	-	-	-	-	-	-
میانگین Mean	16.70	16.17	97	0.32	15.68	5.05	7.55	-

جدول ۴. تجزیه واریانس مولکولی بر اساس تجزیه خوشه‌ای

Table 4. AMOVA based on cluster analysis

منابع تغییر	درجه آزادی	مجموع مربعات	میانگین مربعات	اجزا واریانس	درصد واریانس کل
Source of Variations	Degrees of freedom	Sum of Squares	Mean of Squares	Variance Component	Percentage of total Variance
بین جمعیت Between populations	3	929.35	3097.82	11.57	25
داخل جمعیت Within populations	95	3368.81	354.61	35.46	75
کل Total	98	4298.16		47.03	100



شکل ۲. دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه ای به روش UPGMA بر اساس ضریب تشابه جاکارد

Figure 2. Dendrogram of Cluster analysis using UPGMA based on Jaccard's similarity Coefficient

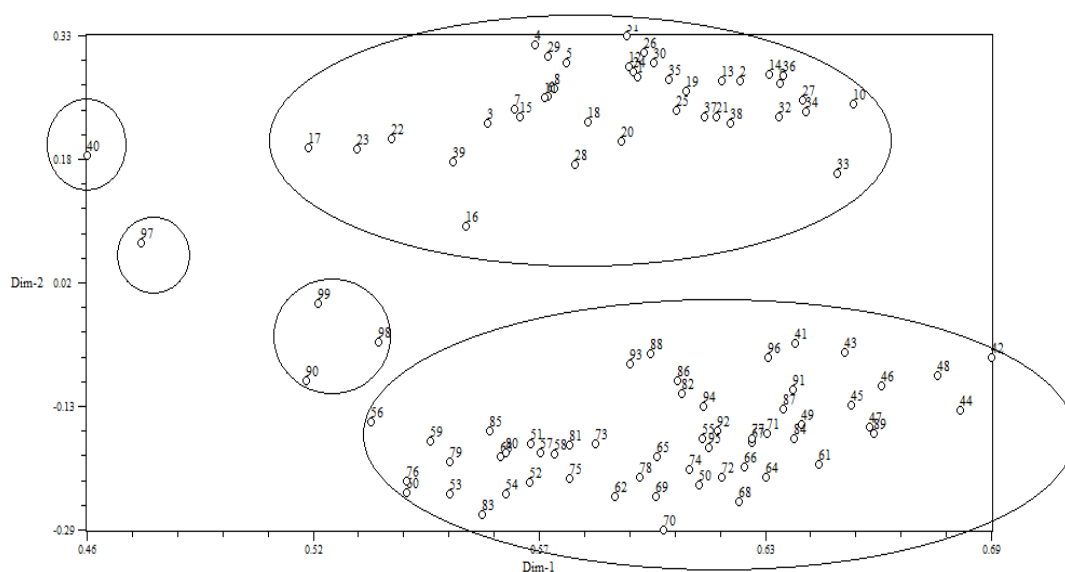
شکل ۳ نمودار پراکنش دو بعدی و شکل ۴ نمودار پراکنش سه بعدی ارقام مورد بررسی در این پژوهش را نشان می‌دهد. از

آنجا که فاصله هندسی میان افراد در نمودار منعکس کننده فاصله ژنتیکی میان آنها است لذا تجمع افراد در نمودار بیانگر شباهت ژنتیکی بیشتر میان آنها می‌باشد.

جدول ۵. نتایج حاصل از تجزیه به مختصات اصلی

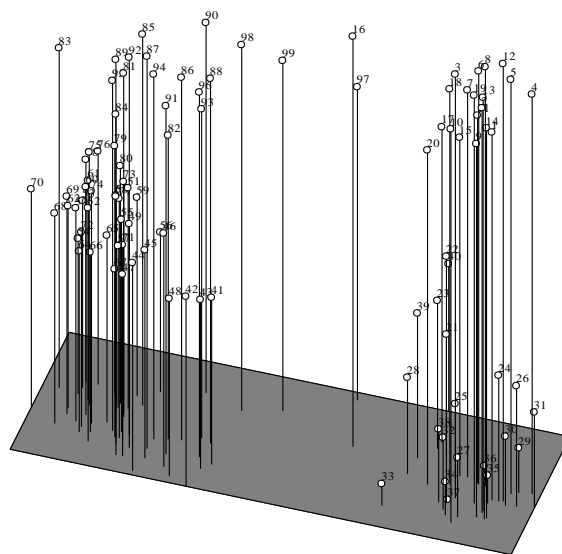
Table 5. Result of principal coordinant analysis

مؤلفه component	مقدار ویژه Eigenvalue	درصد واریانس نسبی Percentage of relative variance	درصد واریانس جمعی Percentage of Cumulative variance
1	35.39	35.75	35.75
2	4.33	4.37	40.12
3	3.73	3.77	43.89



شکل ۳. نمودار پراکنش دو بعدی با استفاده از تجزیه به مختصات اصلی

Figure 3. Scatter biplot using principal coordinate analysis



شکل ۴. نمودار پراکنش سه بعدی با استفاده از تجزیه به مختصات اصلی

Figure 4. Scatter 3D plot using principal coordinate analysis

با توجه به پژوهش‌های صورت گرفته تاکنون، نشانگر ISSR در زمینه بررسی صفات پیوسته با نشانگر و بررسی تنوع ژنتیکی در گوجه‌فرنگی، تکنیکی کارآمد به‌شمار می‌آید (Aguilera et al. 2011). نتایج این مطالعه نیز نشان داد نشانگر مولکولی ISSR در تشخیص چندشکلی و فاصله ژنتیکی میان ژنوتیپ‌های گوجه‌فرنگی کارآمد بوده و می‌تواند به عنوان ابزاری دقیق در آنالیز روابط

ژنتیکی میان نمونه‌های گوجه‌فرنگی، مورد استفاده قرار گیرد. همچنین اطلاعات بدست آمده توسط این نشانگر، امکان تمایز و گروه‌بندی ژرم‌پلاسم را فراهم می‌آورد.

نتیجه‌گیری: این مطالعه میزان تنوع ژنتیکی ارقام رایج در ایران را نسبتاً زیاد ارزیابی می‌کند. همچنین بنا بر نتایج بدست آمده؛ تکنیک ISSR با آشکارسازی درصد بالای چندشکلی، مقادیر زیاد شاخص‌ها که معیار کارایی آغازگرها هستند، نشان می‌دهد تکنیکی کارآمد و سودمند جهت بررسی تنوع ژنتیکی و تفکیک ارقام گوجه‌فرنگی می‌باشد.

سپاسگزاری: نگارندگان بر خود لازم می‌دانند از همکاری خانم الهه سارویی در آزمایشگاه بیوتکنولوژی پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه رازی تشکر نمایند. همچنین از زحمات داوران محترم به خاطر مطالعه متن مقاله و ارائه نظرهای ساختاری ارزشمند سپاسگزاری می‌شود.

منابع

- بهادر یاسر، محمدآبادی محمدرضا، خضری امین و همکاران (۱۳۹۵) مطالعه تنوع ژنتیکی جمعیت‌های زنبور عسل استان کرمان با استفاده از نشانگرهای ISSR. پژوهش‌های تولیدات دامی ۱۳، ۱۹۲-۱۸۶.
- پورابوقداره علیرضا، اطمینان علیرضا، شوشتری لیا، ملکی تبریزی ندا (۱۳۹۸) ارزیابی مقایسه‌ای نشانگرهای CBDP و SCoT در بررسی تنوع ژنتیکی موجود در توده‌های مختلف *Aegilops*. مجله بیوتکنولوژی کشاورزی ۱۱(۴)، ۱۵۳-۱۷۴.
- حسینی فاطمه، نیک نژاد آزاده، سرخی لاله بهزاد و همکاران (۱۴۰۲) ارزیابی تنوع ژنتیکی گوجه‌فرنگی (*Lycopersicon L.*) *Solanum* مبتنی بر مقایسه کارایی دو نشانگر SSR و ISSR. مجله بیوتکنولوژی کشاورزی ۱۵(۲) ۶۳-۸۲.
- عسکری ناهید، باقی زاده امین، محمدآبادی محمدرضا (۱۳۸۹) مطالعه تنوع ژنتیکی در چهار جمعیت بز کرکی راینی با استفاده از نشانگرهای ISSR. مجله ژنتیک نوین ۵، ۵۶-۴۹.
- مدرس کیا مهدیه، درویش زاده رضا، مدرس کیا محسن، حاتمی ملکی حمید (۱۴۰۱) استفاده از تجزیه ارتباطی برای شناسایی نشانگرهای ISSR پیوسته با ویژگی‌های مرفولوژیکی در گیاه دارویی زنیان (*Trachyspermum copticum*). مجله بیوتکنولوژی کشاورزی ۱۴(۴) ۸۵-۱۰۲.
- میرزائی سپیده، سالاری هومن (۱۴۰۰) بررسی تنوع ژنتیکی ارقام گوجه‌فرنگی با استفاده از نشانگر SCoT. مجله بیوتکنولوژی کشاورزی ۱۳(۴)، ۱۰۱-۱۲۰.
- هناره مهشید، عبدالمهدی مندولکانی بابک، دورسون آتیلا (۱۳۹۷) تجزیه‌ی ارتباط صفات ریخت‌شناختی با نشانگرهای ISSR در گوجه‌فرنگی. علوم باغبانی ایران ۴۹(۱)، ۱۷۱-۱۸۱.

References

- Aguilera JG, Pessoni LA, Rodrigues GB et al. (2011) Genetic variability by ISSR markers in tomato (*Solanum lycopersicon* Mill). *Rev Bras Ciências Agrárias* 6(2), 243-252.
- Archak S, Karihaloo JL, Jain A (2002) RAPD markers reveal narrowing genetic base of Indian tomato cultivars. *Curr Sci* 10, 1139-1143.
- Askari N, Baghizadeh A, Mohammadabadi MR (2010) Study of genetic diversity in four populations of Raeini Cashmere goat using ISSR markers. *Modern Genet J* 5(2), 49-56 (In Persian).
- Bahador Y, Mohammadabadi M, Khezri A et al (2016) Study of genetic diversity in honey bee populations in Kerman province using ISSR markers. *Res Anim Prod (Sci Res)* 7(13), 192-186 (In Persian).
- Barrios-Masias FH, Jackson LE (2014) California processing tomatoes: Morphological, physiological and phenological traits associated with crop improvement during the last 80 years. *Eur J Agron* 53,45-55.
- Botstein D, White RL, Skolnick M, Davis RW (1980) Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. *Am J Hum Genet* 32(3), 314.
- Bredemeijer G, Cooke R, Ganal M et al. (2002) Construction and testing of a microsatellite database containing more than 500 tomato varieties. *Theor Appl Genet* 105(6), 1019-1026.
- Bornet B, Goraguer F, Joly G, Branchard M1 (2002) Genetic diversity in European and Argentinian cultivated potatoes (*Solanum tuberosum* subsp *tuberosum*) detected by inter-simple sequence repeats (ISSRs). *Genome* 45, 481-484.
- Dellaporta SL, Wood J, Hicks JB (1983) A plant DNA miniprep: version II. *Plant Mol Biol Report* 1(4), 19-21.
- Denduangboripant J, Setaphan S, Suwanprasart W, Panha S (2010) Determination of local tobacco cultivars using ISSR molecular marker. *Chiang Mai J Sci* 37(2), 293-303.
- Dong S, Shentu X, Pan Y et al (2011) Evaluation of genetic diversity in the golden apple snail, *Pomacea canaliculata* (Lamarck), from different geographical populations in China by inter simple sequence repeat (ISSR). *Afr J Biotechnol* 10(10), 1777-1783.
- Hernandez-Ibanez L, Sahagun-Castellanos J, Rodriguez-Perez JE, Pena-Ortega MG (2017) Prediction of fruit yield and firmness of tomato hybrids with BLUP and RR-BLUP using ISSR molecular markers. *Rev Chapingo Ser Hortic* 23(1), 21-34.
- Henareh M, Dursun A, Abdollahi-Mandoulakani B, Kamil Haliloğlu (2016) Assessment of genetic diversity in tomato landraces using ISSR markers. *Genetika* 48(1), 25-35.

- Hosseini F, Niknejad A, Sorkhilaleloo B et al (2023) Valuation of genetic diversity of tomato (*Solanum lycopersicum* L.) based on the comparison of ISSR and SSR marker efficiency. *Agric Biotech J* 15(2), 63-82 (In Persian).
- Kays SA, Hakki EE, Pinarkara E (2010) Comparison of effectiveness of ISSR and RAPD markers in genetic characterization of seized marijuana (*Cannabis sativa* L) in Turkey. *Afr J Agric Res* 5(21), 2925-2933.
- Kiani G, Siahchereh M (2018) Genetic diversity in tomato varieties assessed by ISSR markers. *Int J Veg Sci* 24(4), 353-360.
- Kochieva EZ, Ryzhova NN, Khrapalova IA, Pukhalskyi VA (2002) Genetic diversity and phylogenetic relationships in the genus *Lycopersicon* (Tourn.) Mill as revealed by inter-simple sequence repeat (ISSR) analysis. *Russ J Genet* 38, 958-966.
- Lijun O, Xuexiao Z (2012) Inter simple sequence repeat analysis of genetic diversity of five cultivated pepper species. *Afr J Biotechnol* 11, 752-757.
- López-Ráez JA, Charnikhova T, Gómez-Roldán V et al. (2008) Tomato strigolactones are derived from carotenoids and their biosynthesis is promoted by phosphate starvation. *New Phytol* 178, 863-874.
- Miller JC, Tanksley SD (1990) RFLP analysis of phylogenetic relationships and genetic variation in the genus *Lycopersicon*. *Theor Appl Genet* 80, 437-448.
- Mirzaei S, Salari H (2021) Study on the genetic diversity of tomato's cultivars via SCoT marker. *Agric Biotech J* 13(4), 101-120 (In Persian).
- Modareskia M, Darvishzadeh R. Modares M, Hatami Maleki H (2022) Implementation of association mapping for identification of ISSR markers linked with morphological characteristics of Ajowan (*Trachyspermum copticum*). *Agric Biotech J* 14(4), 85-102 (In Persian).
- Mohammadi SA, Prasanna BM (2003) Analysis of genetic diversity in crop plants salient statistical tools and considerations. *Crop sci* 43(4), 1235-1248.
- Pour-Aboughadareh A, Etminan A, Shoostari L, Maleki-Tabrizi N (2020) Comparative assessment of SCoT and CBDP markers for investigation of genetic diversity existing in different *aegilops* species. *Agric Biotech J* 11(4), 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(3), 225-238.
- Saad YM, Rashed MA, Atta AH, Ahmed NE (2012) Genetic diversity among some tilapia species based on ISSR markers. *Life Sci J* 9(4), 4841-4846.
- Shahlaei A, Torabi S, Khosroshahli M (2014) Efficacy of SCoT and ISSR markers in assessment of tomato (*Lycopersicum esculentum* Mill) genetic diversity. *Int J Biosci* 5(2), 14-22.

- Shazdehahmadi M and Kharrazi M (2016) Application of ISSR Molecular Markers for Genetic Diversity Study of Some Tobacco Genotypes. *Plant Genet Res* 2(2), 33-46.
- Stolpovsky YA, Ahani Azari M, Evsukov A.N et al (2011) Comparison of ISSR polymorphism among cattle breeds. *Russ J Genet* 47, 189-200.
- Terzopoulos PJ, Bebeli PJ (2008) DNA and morphological diversity of selected Greek tomato (*Solanum lycopersicum* L) landraces. *Sci Hortic* 116, 354-361.
- Tikunov YM, Khrustaleva LI, Karlov GI (2003) Application of ISSR markers in the genus *Lycopersicon*. *Euphytica* 131, 71-81.
- Vargas JEE, Aguirre NC, Coronado YM (2020) Study of the genetic diversity of tomato (*Solanum* spp) with ISSR markers. *Revista Ceres* 67, 199-206.
- Vargas-Ponce O, Perez-Alvarez LF, Zamora-Tavares P, Rodriguez A (2011) Assessing genetic diversity in Mexican husk tomato species. *Plant Mol Biol Report* 29, 733-738.
- Wang T, Zhang Z, Zhu H et al. (2020) Phenotypic diversity and genome-wide association mapping of earliness-related traits in cultivated tomato (*Solanum Lycopersicum* L.). *Sci Hortic* 264, 109-194.
- Williams CE, Clair DAS (1993) Phenetic relationships and levels of variability detected by restriction fragment length polymorphism and random amplified polymorphic DNA analysis of cultivated and wild accessions of *Lycopersicon esculentum*. *Genome* 36, 619-630.
- Zamani P, Akhondi M, Mohammadabadi M (2015). Associations of inter-simple sequence repeat loci with predicted breeding values of body weight in sheep. *Small Rumin Res* 132, 123-127.
- Zietkiewicz Ewa, Rafalski A, Labuda D (1994) Genome fingerprinting by simple sequence repeat (SSR)-anchored polymerase chain reaction amplification. *Genom* 20, 176-183.