Sari Agriculture Sceinces and Natural Resources University

Journal of Crop Breeding Vol. 15, No 47, Autumn 2023 p: 14-20

"Research paper"

Evaluation of Genetic Distance of Tomato Lines using ISSR Marker

Sasan Golcheshmeh[1], Ghafar Kiani[2], Seyed Kamal Kazemi-Tabaar[3] and Saeid Navabpour[4]

1- Ph.D student, Department of Plant Breeding, Faculty of Crops Sciences, Sari University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Sari, Iran
2- Associate Professor, Department of Plant Breeding, Faculty of Crops Sciences, Sari University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Sari, Iran, (Corresponding author: gh.kiani@sanru.ac.ir)
3- Associate Professor, Department of Plant Breeding, Faculty of Crops Sciences, Sari University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Sari, Iran
4- Associate Professor, Department of Plant Breeding and Biotechnology, Faculty of Plant Production, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran
Received: 26 November, 2022 Accepted: 1 February, 2023

Extended Abstract

Introduction and Objective: The study of genetic diversity with the help of molecular markers is the main precondition and an important step in the improvement of vegetable plants, including tomato and is the basis for the effective use of heterosis and the protection of genetic pools. Several studies have been conducted using molecular markers between different tomato lines, but there is little studies in Iran. Based on this, the present study intends to estimate the genetic distance between a numbers of tomato lines using ISSR molecular markers.

Materials and Methods: In the present study, 12 tomato lines were investigated using microsatellite primers (ISSR) at Sari University of Agricultural Sciences and Natural Resources. Polymerase chain reaction (PCR) was performed by ISSR primers and PCR products fractioned on 1.5% using agarose gel electrophoresis then the bands were analysed.

Results: The primers used showed acceptable polymorphism (85.28) and suitable score able banding patterns. The highest and lowest polymorphism information content (PIC) with values of 0.40 and 0.22 were related to ISSR2 and ISSR10 primers, respectively. The ISSR2 primer was more efficient than other primers in identifying and classifying the studied lines. The degree of genetic similarity varied from 0.23 to 0.95 between the studied lines and lines Fanal and Harlekyn had the most similarity and lines CP with Bibor and after that SP with Bibor showed greatest genetic distances. Results of cluster analysis and evaluation of quantitative characterestics of studied lines showed that genotypes 4, 5, 6 and 8 placed in first group had better yield and earliness comparing other genotypes.

Conclusion: Lines CP, SP and Bibor had a great genetic distance from each other and hybridization between CP and SP with Bibor as well as utilizing of selected genotypes in first group is recommended for next breeding programs in tomato. The ISSR2 primer has useful information in distinguishing the studied lines than other primers and its useful in breeding programs of tomato.

Keywords: Cluster analysis, Genetic distance, Molecular markers, Polymorphism, Tomato

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-11-30]

[DOI: 10.61186/jcb.15.47.14]

دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری

"مقاله پژوهشی"

ارزیابی فواصل ژنتیکی لاین‌های گوجه‌فرنگی با استفاده از نشانگر ISSR

ساسان گل‌چشمه[۱]، غفار کیانی[۲]، سید کمال کاظمی‌تبار[۳] و سعید نواب‌پور[۴]

۱- دانشجوی دکتری، گروه اصلاح نباتات، دانشکده علوم زراعی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران
۲- دانشیار، گروه اصلاح نباتات، دانشکده علوم زراعی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران، (نویسنده مسوول: gh.kiani@sanru.ac.ir)
۳- دانشیار، گروه اصلاح نباتات، دانشکده علوم زراعی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران
۴- دانشیار، گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی، دانشکده تولید گیاهی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۹/۵ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۱۱/۱۲
صفحه: ۱۴ تا ۲۰

چکیده مبسوط

مقدمه و هدف: مطالعه تنوع ژنتیکی به کمک نشانگرهای مولکولی، پیش شرط اصلی و گامی مهم در اصلاح گیاهان صیفی از جمله گوجه‌فرنگی بوده و اساس استفاده موثر از هتروزیس و حفاظت از ذخایر ژنتیکی است. پژوهش‌های متعددی به‌کمک نشانگرهای مولکولی در بین لاین‌های مختلف گوجه‌فرنگی صورت گرفته است، اما مطالعات کمی در ایران انجام شده است. بر این اساس مطالعه حاضر در نظر دارد با استفاده از نشانگرهای مولکولی ISSR، فاصله ژنتیکی میان تعدادی از لاین‌های گوجه‌فرنگی را برآورد کند.

مواد و روش‌ها: در پژوهش حاضر ۱۲ لاین گوجه‌فرنگی توسط آغازگرهای بین ریزماهواره‌ای (ISSR) در دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری مورد بررسی قرار گرفتند. واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز (PCR) توسط آغازگرهای ISSR انجام و فرآورده‌های PCR با استفاده از الکتروفورز ژل آگارز ۱/۵ جداسازی و باندها مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند.

یافته‌ها: آغازگرهای مورد استفاده چندشکلی قابل قبول (۸۵/۲۸) و الگوهای قابل امتیازدهی مناسبی را نشان دادند. بیش‌ترین و کم‌ترین شاخص اطلاعات چندشکلی (PIC) با مقادیر ۰/۴۰ و ۰/۲۲ به‌ترتیب مربوط به آغازگرهای ISSR2 و ISSR10 بود. آغازگر ISSR2 نسبت به سایر آغازگرها کارایی بالایی در شناسایی و طبقه‌بندی لاین‌های مورد مطالعه داشت. میزان قرابت ژنتیکی از ۰/۲۳ تا ۰/۹۵ بین افراد مورد مطالعه مشاهده شد و لاین‌های Fanal و Harlekyn دارای بیش‌ترین شباهت و لاین‌های CP با Bibor و پس از آن لاین‌های SP با Bibor دارای بیشترین فاصله ژنتیکی با یکدیگر بودند. نتایج تجزیه خوشه‌ای و ارزیابی ویژگی‌های کمی لاین‌های مورد مطالعه نشان داد که ژنوتیپ‌های ۴، ۵، ۶ و ۸ موجود در گروه اول دارای ویژگی‌های عملکردی و زودرسی بهتری نسبت به سایر ژنوتیپ‌ها بودند.

نتیجه‌گیری: لاین‌های CP، SP و Bibor دارای فاصله ژنتیکی زیادی از یکدیگر بودند و تلاقی هریک از لاین‌های CP و SP با Bibor و نیز استفاده از ژنوتیپ‌های منتخب گروه اول برای برنامه‌های آتی به‌نژادی گوجه‌فرنگی توصیه می‌گردد. آغازگر ISSR2 نیز دارای اطلاعات سودمندی در تمایز افراد مورد مطالعه نسبت به سایر آغازگرها بوده و استفاده از آن در برنامه‌های به‌نژادی در گوجه‌فرنگی توصیه می‌شود.

واژه‌های کلیدی: تجزیه خوشه‌ای، چندشکلی، گوجه‌فرنگی، نشانگر مولکولی، فاصله ژنتیکی

مقدمه

گوجه‌فرنگی (*Lycopersicon esculentum* L. 2n=2x=24) به‌عنوان دومین محصول مهم سبزی پس از سیب‌زمینی در جهان محسوب می‌شود و به‌طور گسترده در محصولات خانگی و صنعتی استفاده می‌شود(Hasan, 2014). با شناسایی پدیده هتروزیس، مطالعات بسیاری در ارتباط با روش‌های دورگ‌گیری، تخمین هتروزیس و قابلیت ترکیب‌پذیری در زمینه تولید هیبرید گوجه‌فرنگی آغاز شد ((Yordanov, 1983). منظور از هتروزیس یعنی نتاج هیبرید دو والد که از لحاظ ژنتیکی کاملاً از هم متمایز هستند، حداقل نسبت به میانگین والدین، بنیه بهتری نشان می‌دهد (Farsi, 2013). مطالعات مختلف نشان داده است که به‌طور کلی نتاج هیبرید از نظر برخی صفات مهم نظیر زودرسی، عملکرد، تعداد میوه و مقاومت به تنش‌های زنده و غیرزنده محیطی برتر از ارقام آزاد گرده افشان هستند. گذشته از آن که هیبریدها دارای قدرت سازگاری بهتری از ارقام آزاد گرده افشان می‌باشند ((Yordanov, 1983). تنها نکته کلیدی در تولید بذور هیبرید، توانایی به‌نژادگر در انتخاب لاین‌های والدینی مناسب، صفات مورد مطالعه و روش مورد استفاده جهت اصلاح برای بهبود صفات مهم در گوجه‌فرنگی است ((Tamta, 2017). زیرا مقدار هتروزیس به میزان تنوع ژنتیکی و اختلاف بین والدین بستگی دارد ((Farzaneh, 2013) و انتخاب والدهای مناسب به‌منظور طراحی یک برنامه به‌نژادی موفق مانع هدر رفتن وقت و انرژی در مراحل بعدی می‌شود ((Noori, 2023.).

صفات مهمی نظیر عملکرد در گوجه‌فرنگی که به‌طور معمول جهت اصلاح و بهبود مورد مطالعه قرار می‌گیرند، صفات کمی بوده و بهبود این گونه صفات با روش‌های سنتی اصلاح نباتات امری دشوار تلقی می‌شود. امروزه بررسی و مطالعه این گونه صفات با استفاده از نشانگرهای مولکولی صورت می‌پذیرد. نشانگرهای مولکولی قابلیت بالایی در شناسایی تفاوت‌های موجود در اطلاعات ژنتیکی دو یا تعداد بیش‌تری ژنوتیپ را دارند و برای گزینش صفات مهم زراعی و پیش‌بینی هتروزیس در بسیاری از گیاهان به وفور مورد استفاده قرار می‌گیرند ((Bernardo, 2006). لذا شناسایی نشانگرهای عملکردی برای صفات مرتبط با عملکرد و اجزای آن در پیشبرد برنامه‌های اصلاحی گزینش به‌کمک نشانگر در گوجه‌فرنگی بسیار موثر خواهد بود ((Ebrahimi, 2022).

پژوهش‌های مختلف وجود همبستگی بین فاصله ژنتیکی بر اساس نشانگرهای مولکولی (نظیر AFLP، ISSR، SSR، RFLP و RAPD) را با کارایی هیبریدها و هتروزیس تایید کرده‌اند ((MohseniFard, 2011). به‌عنوان نمونه در مطالعه‌ای توسط کیانی و سیه‌چهره ((Kiani, 2018) ارزیابی تنوع ژنتیکی و روابط بین ۱۲ واریته گوجه‌فرنگی با استفاده از نشانگرهای ISSR انجام شده است. در مجموع ۶۹ باند با

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-11-30]

[DOI: 10.61186/jcb.15.47.14]

استفاده از نه آغازگر ISSR تولید شده است که از این بین ۵۳ باند با ۶۵/۲ درصد چندشکل بوده‌اند. در مطالعه مذکور میانگین محتوای شاخص اطلاعات چندشکلی ۰/۲۹ بوده است و بین واریته‌های گوجه‌فرنگی میزان بالایی از چندشکلی گزارش شده است.

در مطالعه‌ای دیگر توسط عبدالعزیز و همکاران (AbdEl-Aziz, 2016) به‌منظور ارزیابی تنوع ژنتیکی در ارتباط با هتروزیس در برخی لاین‌های گوجه‌فرنگی در مصر، از پنج لاین اینبرد گوجه‌فرنگی استفاده شده است. با استفاده از هفت آغازگر RAPD و شش آغازگر ISSR الگوهای باندی موفق و قابل اعتمادی به‌دست آمده است. در مطالعه آنان تکنیک RAPD در ارزیابی تنوع مولکولی و قدرت تمایز در بین لاین‌ها از روش ISSR بهتر بوده است و درصد چندشکلی از ۵۰ تا ۹۰ و از ۶۰ تا ۱۰۰ به‌ترتیب برای آغازگرهای RAPD و ISSR ثبت شده است. با این حال هر دو تکنیک ابزار مناسبی برای تشخیص الگوهای چندشکلی تکرار پذیر بوده‌اند.

با استفاده از نتایج مطالعات مشابه می‌توان واریته‌های زراعی را بر اساس عملکرد آن‌ها در محیط‌های مختلف گروه‌بندی کرد و ترکیبی از لاین‌های اینبرد که با یکدیگر از نظر ژنتیکی هتروزیس بیش‌تری نشان می‌دهند را شناسایی و عملکرد هیبرید بین آن‌ها را برآورد نمود ;((Nadeem, 2018) ((Xing, 2018) . بر این اساس ارزیابی تنوع ژنتیکی شرط لازم و ضروری برای پیش‌برد اهدافی مانند محافظت از مواد گیاهی و شناسایی تنوع بین نمونه‌های مختلف می‌باشد (Krasteva, 2000).

در داخل کشور نیز مطالعات کمی در زمینه بررسی تنوع ژنتیکی بین لاین‌های گوجه‌فرنگی به‌کمک نشانگرهای مولکولی صورت گرفته است لذا این مطالعه در نظر دارد با استفاده از نشانگرهای مولکولی ISSR، فاصله ژنتیکی میان تعدادی از لاین‌های گوجه‌فرنگی وارداتی و داخلی را برآورد نموده تا در برنامه‌های اصلاحی گوجه‌فرنگی مورد استفاده قرار گیرد.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری در سال زراعی ۱۴۰۱–۱۴۰۰ انجام شد. مواد گیاهی مورد استفاده شامل ده لاین گوجه‌فرنگی وارداتی از بانک ژن گیاهی کانادا به همراه دو لاین اصلاح شده داخلی بودند. مشخصات لاین‌های گوجه‌فرنگی مورد استفاده در جدول ۱ آمده است. این ارقام به‌دلیل وجود تنوع از نظر صفاتی مانند عملکرد و اجزای عملکرد از مطالعات قبلی محققین ((GolCheshmeh, 2022) انتخاب شده‌اند.

برای برداشت نمونه‌های برگی جوان جهت استخراج DNA، ابتدا بذور ارقام مورد استفاده در گلدان‌های پلاستیکی کشت شدند و تا رسیدن به مرحله دو الی سه برگی، گلدان‌ها در شرایط کنترل شده گلخانه قرار گرفتند. سپس از هر نمونه تعدادی برگ با استفاده از قیچی استریل شده برداشته شد و در پاکت‌های مخصوص به خود قرار گرفت و به فریزر با دمای منفی ۲۰ درجه سانتی‌گراد منتقل شد. جهت پودر نمودن نمونه‌های برگی از نیتروژن مایع در هاون‌هایی که از قبل با محلول هیپوکلرید سدیم و دستگاه آون ضد عفونی و استریل شده بودند استفاده شد. سپس DNA نمونه‌ها به‌روش دویل و دویل ((Doyle, 1987) استخراج شدند. همچنین از الکتروفورز ژل آگارز یک درصد جهت تعیین کمیت و کیفیت DNAهای استخراج شده استفاده گردید.

در این مطالعه از ده آغازگر ISSR مورد استفاده، نهایتاً پنج آغازگر ISSR که دارای قابلیت تکثیر خوب و نوارهای واضح جهت امتیازدهی بودند مورد استفاده قرار گرفت. مشخصات و توالی این آغازگرها در جدول ۲ ذکر شده است.

جدول ۱- مشخصات لاین‌های گوجه‌فرنگی مورد بررسی در مطالعه

Table 1. Characteristics of tomato lines investigated in the study

شماره number	نام رقم Variety name	کد بانک ژن Gene bank code	منشاء Origin
1	CP	-	Iran
2	SP	-	Iran
3	Bibor	CN 16407	Canada
4	Earliest of all	CN 16424	Canada
5	Fanal	CN 16430	Canada
6	Harlekyn	CN 16444	Canada
7	Stoners exhibition	CN 16470	Canada
8	Marhio red	CN 16460	Canada
9	Plovdiv	CN 16464	Canada
10	President roosevelt	CN 16465	Canada
11	Vahle leader	CN 16477	Canada
12	Oahu	CN 17683	Canada

جهت انجام واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز (PCR) تیوب‌ها به دستگاه ترموسایکلر XP Cycler مدل TC XP شرکت BIOER چین در حجم نهایی ۱۴ میکرولیتر منتقل شدند. مخلوط واکنش حاوی چهار میکرولیتر آب دیونیزه شده، شش میکرولیتر مستر میکس (حاوی $MgCl_2$، PCR Buffer، dNTP و Taq Polymerase)، یک میکرولیتر آغازگر با غلظت ۱۰ پیکومول در هر میکرولیتر و سه میکرولیتر DNA ژنومی با غلظت ۱۵ نانوگرم در هر میکرولیتر بود و تمامی مواد مورد نیاز جهت انجام PCR از شرکت سینا کلون تهیه شد. همچنین برنامه زمانی–گرمایی دستگاه شامل سه دقیقه در دمای 94° به‌منظور واسرشت‌سازی اولیه مولکول DNA، سپس ۳۵ چرخه شامل ۳۰ ثانیه در دمای 94° جهت واسرشت‌سازی، ۳۰ ثانیه در دمای 51° تا 58° جهت اتصال آغازگرها و یک دقیقه در دمای 72° به‌منظور طویل‌سازی و مرحله آخر نیز شامل سه دقیقه در دمای 72° به‌منظور بسط نهایی بود. برای تفکیک محصول PCR و مشاهده باندهای ایجاد شده از دستگاه الکتروفورز ژل افقی ساخت شرکت پایا پژوهش پارس ایران و از ژل آگارز ۱/۵ درصدی استفاده شد. در هر چاهک به‌میزان

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-11-30]
[DOI: 10.61186/jcb.15.47.14]

سه میکرولیتر محصول PCR بارگذاری شد، سپس دستگاه الکتروفورز به‌مدت یک ساعت در ولتاژ ۵۰ قرار داده شد. پس از اتمام الکتروفورز، ژل آگارز به‌مدت ۱۰ دقیقه در محلول اتیدیوم بروماید قرار گرفت و بعد از شستشو به دستگاه ژل داکیومنت جهت مشاهده باندهای ایجاد شده با استفاده از نور ماوراء بنفش منتقل شد.

جدول ۲- نام، توالی و دمای اتصال آغازگرهای ISSR مورد استفاده
Table 2. Name, sequence and annealing temperature of the used ISSR primers

نام Name	توالی آغازگر Primer sequence	دمای اتصال (سانتی‌گراد) Annealing temperature (Centigrade)
ISSR 2	(GA)9C	58
ISSR 7	(GA)8C	53
ISSR 10	(AG)8G	53
ISSR 12	(GA)8A	51
ISSR 13	(TC)8C	53

برای محاسبه شاخص‌های مولکولی، ساختار جمعیت و گروه‌بندی لاین‌های گوجه‌فرنگی ابتدا ماتریس یک و صفر با بررسی الگوی باندی ژل آگارز حاصل از الکتروفورز محصول PCR تهیه شد. در این زمینه باندهای چندشکل به‌صورت حضور (یک) و عدم حضور (صفر) نمره‌دهی شدند و ماتریس تهیه شده بر اساس درجه شباهت یا تفاوت گروه‌بندی تجزیه خوشه‌ای انجام شد. برای ترسیم ماتریس تشابه و محاسبه شباهت ژنتیکی از روش دایس بر اساس مقادیر نااُریب نی و برای گروه‌بندی و رسم دندروگرام با استفاده از روش UPGMA بر اساس فاصله تشابه ژنتیکی نی ((Nei, 1978 از نرم‌افزار NTSYS سری ۲/۰۲ استفاده شد. شاخص اطلاعات چندشکل نیز با استفاده از نرم‌افزار Excel و طبق رابطه زیر محاسبه شد.

$$PIC_i = 1 - \sum_{j=1}^{n} p_{ij}^2$$

در رابطه بالا Pij فراوانی iامین باند برای نشانگر j و n تعداد کل باندهای مشاهده شده برای لوکوس نشانگری است ((Anderson, 1993). این شاخص علاوه بر اینکه نشان دهنده قدرت هر نشانگر برای تمایز نمونه‌هاست، برای تعیین نشانگرهای کارآمد که بیش‌ترین چندشکلی را نشان می‌دهند نیز مورد استفاده قرار می‌گیرد ((Ahmadi-Khah, 2011). جهت تعیین کارایی الگوریتم مورد استفاده برای گروه بندی افراد، از ضریب کوفنتیک که با نرم‌افزار NTSYS محاسبه گردید، استفاده شد. ضریب همبستگی کوفنتیک می‌تواند در دامنه ۰/۷< r < ۰/۹ متغیر باشد و مقدار بزرگ‌تر یا مساوی ۰/۹ نشان‌دهنده کارآیی الگوریتم مورد استفاده در گروه‌بندی افراد است ((Ahmadi-Khah, 2011).

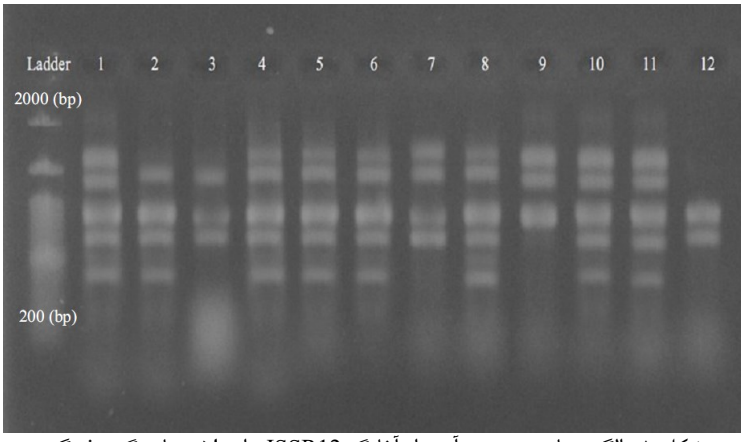
نتایج و بحث

در مطالعه حاضر از ۱۰ آغازگر ISSR به‌کار رفته، تعداد پنج عدد چندشکلی قابل ملاحظه‌ای نشان دادند و از ۳۱ نوار تولید شده توسط این آغازگرها، تعداد ۲۷ نوار چندشکل بوده و مابقی تک‌شکل بودند. بیش‌ترین و کم‌ترین تعداد کل نوار به‌ترتیب توسط آغازگرهای ISSR2 و ISSR13 تولید شدند. همچنین بیش‌ترین و کم‌ترین تعداد نوار چندشکل نیز به‌ترتیب مشابه با دو آغازگر مذکور بود (جدول ۳). میانگین تعداد نوار تولید شده و تعداد نوار چندشکل به ترتیب ۶/۲ و ۵/۴ بودند. درصد چندشکلی کل ۸۵/۲۸ محاسبه گردید و آغازگرهای ISSR2 و ISSR7 با مقدار ۱۰۰ درصد بیش‌ترین و آغازگر ISSR10 با مقدار ۷۱/۴۲ درصد کم‌ترین چندشکلی را دارا بودند. اندازه نوارها با توجه به الگوی باندی DNA لدر مورد استفاده، بین ۲۰۰ تا ۲۰۰۰ جفت باز متغیر بودند (شکل ۱).

با توجه به نتایج به‌دست آمده، بررسی وجود چندشکلی در ۱۲ لاین گوجه‌فرنگی توسط آغازگرهای ISSR مورد استفاده در این پژوهش نشان می‌دهد مقدار بالایی از تنوع ژنتیکی در افراد مورد بررسی وجود داشته و اطلاعات حاصل از این مطالعه می‌تواند در گروه‌بندی لاین‌های گوجه‌فرنگی مورد استفاده قرار گیرند. به‌طور مشابه در مطالعه‌ای توسط رسولی‌آذر و همکاران ((RasoliAzar, 2019) به‌منظور بکارگیری نشانگر مولکولی ISSR در شناسایی ۳۶ لاین گوجه‌فرنگی برای دورگ‌گیری، از میان ۱۱ آغازگر به‌کار گرفته شده همگی با میانگین ۷۵ درصد چندشکل بوده و در مجموع ۸۹ آلل بر الگوی باندی آن آغازگرها مشخص شده است.

به‌منظور تعیین و انتخاب آغازگرهایی که چندشکلی مطلوبی را نشان می‌دهند، از شاخص اطلاعات چندشکل (PIC) استفاده شد. مقادیر حاصله از این شاخص برای نشانگرهایی که الگوی باندی آن‌ها به‌صورت غالب است بین صفر تا ۰/۵ می‌باشد و هرچه این مقدار به ۰/۵ نزدیک‌تر باشد نشان دهنده چندشکلی بالا و وجود آلل‌های نادر در یک جایگاه نشانگری است ((Mondak, 2013. در مطالعه حاضر با توجه به مقادیر PIC در جدول ۳ آغازگر ISSR2 به‌دلیل دارا بودن بیش‌ترین مقدار از کارآیی بالایی نسبت به آغازگرهای دیگر برخوردار می‌باشد. لازم به ذکر است بیش‌ترین مقدار شاخص نشانگر، که برای شناسایی آغازگرهایی با قدرت تفکیک بالا استفاده می‌شود نیز مربوط به آغازگر مذکور است (جدول ۳).

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-11-30]
[DOI: 10.61186/jcb.15.47.14]



شکل ۱- الگوی باندی بدست آمده از آغازگر ISSR12 برای لاین‌های گوجه‌فرنگی
شماره‌های ۱ تا ۱۲ به‌ترتیب لاین‌های CP، SP، Bibor، Earliest of all، Fanal، Harlekyn، Stoners exhibition، Marhio red، Plovdiv، President roosevelt، Vahle leader و Oahu می‌باشند.
Figure 1. Banding pattern obtained from ISSR12 primer for tomato lines
Numbers 1 to 12 are lines CP, SP, Bibor, Earliest of all, Fanal, Harlekyn, Stoners exhibition, Marhio red, Plovdiv, President roosevelt, Vahle leader and Oahu respectively.

به‌منظور بررسی ضریب تشابه ژنتیکی لاین‌های مورد مطالعه، از روش دایس بر اساس مقادیر نااریب نی استفاده شد. طبق تعریف، ضریب تشابه ژنتیکی دو فرد بین صفر و یک متغیر است و مقدار محاسبه شده هرچه به یک نزدیک‌تر باشد، آن دو فرد از نظر ژنتیکی نزدیک به هم می‌باشند و بالعکس (Nei, 1978). در مطالعه حاضر تنوع ژنتیکی خوبی از ۰/۲۳ تا ۰/۹۵ بین افراد مورد مطالعه مشاهده شد و لاین‌های Fanal و Harlekyn دارای بیش‌ترین شباهت و لاین‌های CP با Bibor و پس از آن لاین‌های SP با Bibor دارای بیشترین فاصله ژنتیکی با یکدیگر بودند (جدول ۴). با توجه به این نتایج، تلاقی هریک از لاین‌های CP و SP با Bibor برای برنامه‌های دورگ‌گیری با هدف تولید جوامع اصلاحی توصیه می‌گردد.

جدول ۳- تعداد باند تولیدشده، تعداد باند چندشکل و شاخص اطلاعات‌چندشکل آغازگرهای ISSR استفاده شده
Table 3. Number of total bands, number of polymorphic bands and polymorphism information content of ISSR primers

نام آغازگر Primer name	تعداد کل نوارها Total bands	تعداد نوارهای چندشکل Number of Polymorphic bands	درصد چندشکلی Polymorphysm percent	شاخص اطلاعات چندشکلی Polymorphysm information content	شاخص نشانگر Marker index
ISSR2	9	9	100	0.40	3.67
ISSR7	6	6	100	0.31	1.90
ISSR10	7	5	71.42	0.22	1.10
ISSR12	5	4	80	0.22	0.91
ISSR13	4	3	75	0.23	0.70
کل Total	31	27	-	-	-
میانگین Average	6.2	5.4	85.28	0.28	-

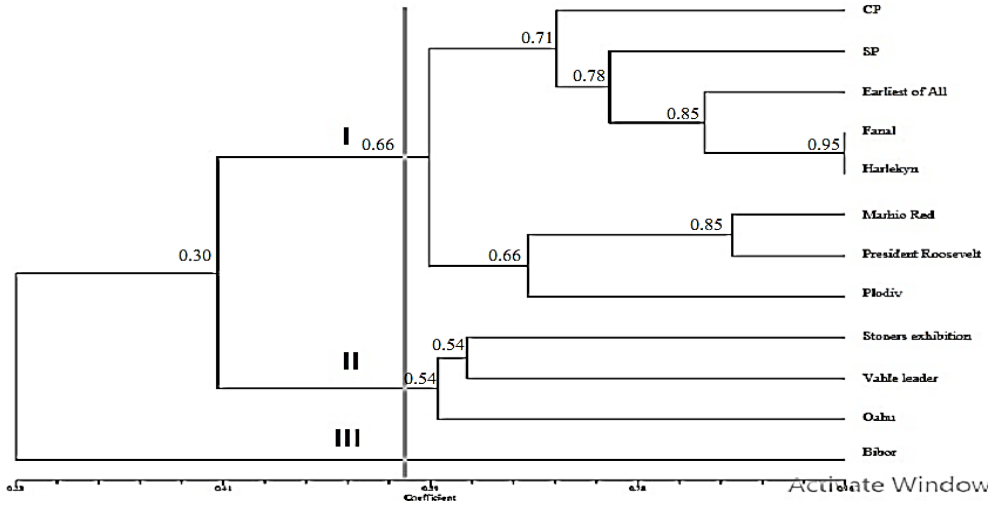
جدول ۴- ماتریس ضرایب تشابه نی بین لاین‌های گوجه‌فرنگی مورد مطالعه
Table 4. Nei similarity coefficients matrix between the studied tomato lines

لاین line	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1	1											
2	0.72	1										
3	0.23	0.26	1									
4	0.73	0.82	0.29	1								
5	0.70	0.79	0.28	0.87	1							
6	0.73	0.75	0.29	0.83	0.95	1						
7	0.53	0.60	0.36	0.77	0.73	0.69	1					
8	0.71	0.66	0.30	0.80	0.77	0.74	0.61	1				
9	0.59	0.60	0.31	0.68	0.65	0.61	0.60	0.80	1			
10	0.66	0.67	0.28	0.75	0.78	0.75	0.57	0.85	0.67	1		
11	0.55	0.55	0.34	0.57	0.60	0.57	0.62	0.56	0.55	0.68	1	
12	0.40	0.45	0.41	0.48	0.46	0.42	0.60	0.53	0.52	0.55	0.60	1

آنالیز تجزیه خوشه‌ای روشی کاربردی برای طبقه‌بندی افراد بر اساس فاصله ژنتیکی آنهاست. با استفاده از این روش افرادی که در گروه‌های دور از هم قرار می‌گیرند می‌توانند گزینه‌های مناسبی جهت استفاده در برنامه‌های تولید هیبرید به‌منظور دستیابی به هتروزیس برتر باشند (Mahmoud, 2014؛ Hussain, 2018)). در مطالعه حاضر نیز با استفاده از تجزیه خوشه‌ای، درخت فیلوژنتیکی افراد مورد مطالعه بر مبنای فاصله ژنتیکی نی رسم شد. نتایج نشان داد آغازگرهای ISSR مورد استفاده و آنالیز تجزیه خوشه‌ای با خوشه‌بندی صحیح بر مبنای اطلاعات داده‌های مولکولی به خوبی

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-11-30]
[DOI: 10.61186/jcb.15.47.14]

توانسته‌اند قرابت ژنتیکی بین لاین‌های گوجه‌فرنگی را شناسایی کرده و ژنوتیپ‌هایی که پایه ژنتیکی نزدیک به هم داشته‌اند را در گروه‌های مشابه و مابقی ژنوتیپ‌ها که از نظر ژنتیکی کاملا از یکدیگر متمایز می‌باشند را در گروه‌های مجزا قرار دهد. با توجه به شکل ۲ براساس داده های مولکولی، لاین‌های گوجه‌فرنگی مورد مطالعه در سه گروه مختلف گروه بندی شدند. بیش‌تر لاین‌ها در گروه اول قرار گرفته‌اند (۶۷٪) و این گروه دارای دو زیرگروه نیز می‌باشد. در گروه دوم سه لاین قرار گرفته‌اند در حالیکه لاین Bibor به تنهایی در گروه سوم قرار دارد (شکل ۲). تلاقی لاین‌های دور از هم‌دیگر در گروه‌های مختلف برای ایجاد جوامع درحال تفکیک و انتخاب در نسل‌های درحال تفرق برای برنامه‌های به‌نژادی توصیه می‌گردد. این مهم در مطالعه محسنی‌فرد و همکاران ((MohseniFard, 2011) اشاره شده است. قابل ذکر است مقدار محاسبه شده ضریب کوفنتیک که برای تعیین صحت دندروگرام ترسیم شده استفاده می‌شود ۰/۹۴ بود و هرچه این ضریب به عدد یک نزدیک‌تر باشد اعتبار دندروگرام بیش‌تر می‌شود.



شکل ۲- دندروگرام گروه‌بندی لاین‌های گوجه‌فرنگی مورد مطالعه بر اساس روش دایس به همراه مقادیر ضریب کوفنتیک
Figure 2. Dendrogram of grouping studied tomato lines based on dice method with Cophentic coefficient values

جدول ۵- صفات مورفولوژیک لاین‌های مورد مطالعه
Table 5. The morphological traits of studied lines

عملکرد میوه در بوته (g) Fruit yield per plant (g)	وزن میوه در بوته (g) Fruit weigth (g)	تعداد میوه در بوته Number of fruit per plant	ارتفاع بوته (cm) Plant heigth	زودرسی earliness	روز تا اولین گلدهی Days to flowering	صفات taits / کد رقم Variety code
514.0 ef	20.95 i	24.43 ab	84.64 c	131.64 c	95.18 ef	1
979.2 c	99.82 b	9.81 h	124.83 bc	144.14 a	106.11 a	2
566.9 ef	28.37 g	19.95 cde	126.27 abc	139.06 b	102.00 c	3
789.3 cde	48.64 d	16.25 efg	122.56 c	132.39 c	92.75 g	4
301.6 f	10.65 j	28.27 a	122.75 c	137.61 b	97.16 de	5
2343.2 b	170.42 a	13.74 g	127.16 abc	140.42 ab	97.80 d	6
531.4 ef	27.14 gh	19.60 cde	122.74 c	131.81 c	95.07 f	7
2639.4 a	171.26 a	15.41 fg	132.16 ab	131.62 c	93.73 fg	8
640.3 de	33.98 f	18.86 def	103.90 d	139.11 b	104.05 b	9
530.7 ef	76.84 c	6.90 h	125.41 bc	137.31 b	97.13 de	10
531.9 ef	23.01 hi	23.21 bc	134.05 a	140.55 ab	102.48 bc	11
899.6 cd	41.91 e	21.45 bcd	128.07 abc	139.39 b	94.22 fg	12

ویژگی‌های زراعی لاین‌ها

متوسط ویژگی‌های لاین‌های مورد مطالعه در جدول ۵ آمده است. برای صفات تعداد روز تا اولین گلدهی و زودرسی به‌ترتیب لاین‌های شماره ۴ و ۸ دارای کمترین میانگین‌ها بودند. این دو لاین زودرس در گروه اول دندروگرام داده‌های مولکولی قرار دارند (شکل ۲). بیشترین و کمترین ارتفاع بوته با مقادیر ۱۳۴/۰۵ و ۸۴/۶۴ سانتی‌متر به‌ترتیب مربوط به لاین‌های شماره ۱۱ و ۱ بود. لاین شماره ۱۱ در گروه دوم و لاین شماره ۱ در گروه اول قرار دارند (شکل ۲). برای صفات وزن میوه در بوته و عملکرد میوه در بوته برترین ژنوتیپ‌ها شماره ۸ و ۶ بودند. در مطالعه حاضر، برای صفت تعداد میوه در بوته لاین شماره ۵ با مقدار ۲۸/۲۷ بیش‌ترین تعداد میوه در بوته را دارا بود. بنابراین با قرار گرفتن ژنوتیپ‌های ۵، ۶ و ۸ که صفات عملکرد، وزن میوه و تعداد میوه آن‌ها وضعیت بهتری نسبت به سایر ژنوتیپ‌ها دارد و همچنین ژنوتیپ‌های زودرس ۴ و ۸ در گروه اول نتایج حاصل از تجزیه خوشه‌ای، می‌توان پیشنهاد کرد که استفاده از این ژنوتیپ‌ها برای برنامه‌های به نژادی گوجه‌فرنگی مناسب است.

نتیجه‌گیری نهایی

در این تحقیق تعداد ۱۲ لاین گوجه‌فرنگی توسط آغازگرهای ISSR مورد بررسی قرار گرفتند. لاین‌های مورد مطالعه در سه

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-11-30]
[DOI: 10.61186/jcb.15.47.14]

گروه مختلف دسته‌بندی شدند و دارای تنوع ژنتیکی بسیار مناسبی برای شناسایی والدین جهت برنامه‌های اصلاحی گوجه‌فرنگی هستند. آغازگر ISSR2 نسبت به سایر آغازگرها کارایی بالایی در شناسایی و طبقه‌بندی لاین‌های مورد مطالعه داشت. میزان قرابت ژنتیکی از ۰/۲۳ تا ۰/۹۵ بین افراد مورد مطالعه مشاهده شد و لاین‌های Fanal و Harlekyn دارای بیش‌ترین شباهت و لاین‌های CP با Bibor و پس از آن لاین‌های SP با Bibor دارای بیش‌ترین فاصله ژنتیکی با یکدیگر بودند. تلاقی هریک از لاین‌های CP و SP با Bibor می‌تواند برای بهره‌گیری از تفکیک متجاوز در نسل‌های در حال تفکیک مفید باشد. استفاده از ژنوتیپ‌های ۴، ۵، ۶ و ۸ گروه اول برای ارزیابی‌های ترکیب‌پذیری و هتروزیس با تسترهای مناسب در برنامه‌های آتی به‌نژادی گوجه‌فرنگی توصیه می‌گردد.

منابع

AbdEl-Aziz, M. S. (2016). Evaluation of molecular and phenotypic diversity in relation to heterosis in some Tomato lines under different climatic conditions. *Journal of Agricultural Chemistry and Biotechnology,* , 7(5): 141-151.

Ahmadi-Khah, A. (2011). *Advanced Genetic. 2nd edn.* . Gorgan,: Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Inc. 460 pp (In Persian). .

Anderson, J. G. (1993). Optimizing parental selection for genetic linkage maps. . *Genome,*, 36(1): 181-186.

Bernardo, R. a. (2006). Usefulness of gene information in marker-assisted recurrent selection: a simulation appraisal. *Journal of Crop Science,*, 46(2): 614-621.

Doyle, J. a. (1987). A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. . *Phytochemical Bulletin,*, 19(1): 11-15.

Ebrahimi, S. A.-M.-M. (2022). Identification of SNPs in pectin esterase 1 (PE1) and polygalacturonase (PG) genes of tomato. *Journal of Crop Breeding,* , 14(42): 148-157 (In Persian). .

Farsi, M. a. (2013). *Principles of Plant Breeding. 4th edn., 368 pp (In Persian).* Mashhad, Iran: Iranian Student Book Agency, Inc. .

Farzaneh, A. H.-K. (2013). Genetic analysis of traits associated with yield and earliness in nine Tomato (Lycopersicon esculentum Mill.) lines using diallel crossing method. *Seed and Plant Journal,*, 29(4): 693-710 (In Persian). .

GolCheshmeh, S. G.-T. (2022). Investigation of morphological diversity and evaluation of tomato lines yield using multivariate statistical analysis. *Journal of Horticultural Science,*, 36(2): 415-427 (In Persian). .

Hasan, N. A. (2014). Genetic analysis to find suitable parents for development of tomato hybrids. *Agriculture & Forestry*, 60(4): 255-265.

Hussain, I. S.-K. (2018). Genetic diversity among tomato accessions based on agro-morphological traits. *Sains Malaysiana,*, 47(11): 2637-2645.

Kiani, G. a. (2018). Genetic diversity in Tomato varieties assessed by ISSR markers. *International Journal of Vegetable Science*, 24(4): 353-360.

Krasteva, L. (2000). Organization of Melon plant genetic resources in Bulgaria. *Acta Hortic*, 510: 247-25.

Mahmoud, A. a.-E. (2014). Genetic analysis to find suitable parents for development of cherry tomato hybrids under greenhouse conditions. *The Egyptian Journal of Plant Breeding,*, 19(1): 55-70. .

MohseniFard, A. M. (2011). Evaluation of the genetic diversity of 16 genotypes of Tomato (Lycopersicon Esculentum) using SSR molecular marker correlation with the heterosis. *Iranian Journal of Horticultural Science,*, 42(2): 185-192 (In Persian). .

Mondak, B. (2013). *Study of hybridization, genetic and phytochemical diversity in native Thyme of Iran.* . Tehran: M.Sc. Thesis, University of Tehran, Iran. 170 pp. .

Nadeem, M. M. (2018). DNA molecular markers in plant breeding: current status and recent advancements in genomic selection and genome editing. *Biotechnology & Biotechnological Equipment,*, 32(2): 261-285.

Nei, M. (1978). Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. . *Genetics,* , 89(3): 583-590.

Noori, M. A.-A. (2023.). Identification of superior parents and hybrids of tomato (Solanum lycopersicum L.) genotypes for some quantitative and qualitative traits of fruit under drought. *Journal of Crop Breeding,*, 14(44): 33-45 (In Persian).

RasoliAzar, S. M. (2019). Utilization of ISSR molecular markers in identification of diverse Tomato (Solanum lycopersicum) lines for hybridization. *Modern Genetics Journal,*, 14(3): 273-277 (In Persian).

Tamta, S. a. (2017). Heterosis in tomato for growth and yield traits. *International Journal of Vegetable Science,*, 24(2): 1-11. .

Xing, L. Y. (2018). Heterotic group classification of 63 inbred lines and hybrid purity identification by using SSR markers in winter cabbage (Brassica Oleracea L. var. capitata). *Horticultural Plant Journal,*, 4(4): 158-164. .

Yordanov, M. (1983). Heterosis: Reappraisal of Theory and Practice. In: . In F. R. (ed.)., *Monographs on Theoretical and Applied Genetics.* (pp. 188-214 pp.,). Berlin, Heidelberg, Germany.: Springer-Verlag,.

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-11-30]

[DOI: 10.61186/jcb.15.47.14]