ژنتیک نوین
دوره نهم، شماره ۱، بهار ۱۳۹۳
صفحه ۱۲-۱

بررسی تنوع ژنتیکی بین و درون تیپ‌های توتون با استفاده از نشانگرهای ISSR

Study of genetic diversity among and within types of tobacco (*Nicotiana tabacum* L.) using ISSR markers

سیده‌فاطمه حسنی‌تسیه[۱]، حبیب‌الله سمیع‌زاده‌لاهیجی*[۱]، مرداویج شعاعی‌دیلمی[۲]

۱- به ترتیب دانشجوی کارشناسی ارشد و دانشیار دانشگاه گیلان
۲- مربی مرکز تحقیقات توتون گیلان

Hassani Tesie F[1], Samizadeh Lahiji H[*1], Shoaei Deilami M[2]

1. MSc Student and Associate Professor, University of Guilan
2. Instructor, Guilan Tobacco Research Center

* نویسنده مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: hsamizadeh@yahoo.com

(تاریخ دریافت: ۹۱/۱۱/۱- تاریخ پذیرش: ۹۲/۷/۳۰)

چکیده

در این مطالعه به منظور ارزیابی تنوع ژنتیکی ۴۵ ژنوتیپ از تیپ‌های توتون شامل هوا خشک (بارلی)، گرمخانه‌ای (ویرجینیا) و آفتاب خشک (شرقی) از ۱۲ آغازگر ISSR استفاده شد. از تعداد ۱۷۰ نواری که تولید شدند، ۱۲۸ نوار چندشکل بودند به طوری که تعداد نوارهای چندشکل از ۶ تا ۱۴ به ازای هر آغازگر متغیر بود. محتوای اطلاعات چندشکل آغازگرها در ژنوتیپ‌ها بین ۰/۱۶ تا ۰/۳۳ و شاخص نشانگری بین ۱/۲۱ تا ۳/۵۵ در هر آغازگر در نوسان بودند. تجزیه به مختصات اصلی نشان داد که ده مولفه اول توانستند در مجموع، ۶۹/۶۱ درصد از واریانس کل را توجیه کنند. همچنین روابط ژنتیکی بین نمونه‌ها با استفاده از ضریب تطابق تشابه ساده محاسبه شد و تجزیه خوشه‌ای به روش WPGMA، ۴۵ ژنوتیپ مورد مطالعه را در ۶ گروه قرار داد، که به ترتیب گروه‌های ۱ و ۳ ژنوتیپ‌های هواخشک (بارلی)، گروه ۲ ژنوتیپ‌های گرمخانه‌ای (ویرجینیا) و گروه‌های ۴، ۵ و ۶ ژنوتیپ‌های آفتاب خشک (شرقی) را شامل شدند. صحت گروه‌بندی حاصل از تجزیه خوشه‌ای توسط تابع تشخیص کانونی به روش فیشر با ۷۳/۳ درصد تایید شد.

واژه‌های کلیدی

تجزیه تابع تشخیص
تجزیه خوشه‌ای
توتون
چندشکلی
ISSR

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-19]

[DOR: 20.1001.1.20084439.1393.9.1.2.1]

مقدمه

توتون گیاهی است دولپه‌ای و نهاندانه از خانواده Solanaceae که دارای سه زیرجنس Rustica، Tabacum و Petunioides با ۶۵ گونه مختلف می‌باشد (Gerstel 1963). توتون‌ها از نظر عمل آوری به چهار تیپ آتش خشک، آفتاب خشک، هوا خشک و گرمخانه‌ای (Ren and Timko 2001) و از نظر جغرافیایی به سه گروه غربی، شرقی، و نیمه شرقی تقسیم می‌شوند. توتون‌های غربی دارای برگ‌های بزرگی بوده و مهم‌ترین آن‌ها بارلی (هوا خشک) و ویرجینیا (گرمخانه‌ای) می‌باشند. توتون‌های شرقی (آفتاب خشک) نیز دارای بوته و برگ‌های کوچکتر و عطر و طعم مطبوعی هستند. توتون‌های نیمه شرقی نیز حد واسط توتون‌های شرقی و غربی می‌باشند (Khodabande 1987). این گیاه زراعی از مهم‌ترین محصولات تجاری در سطح جهان است، به طوری که طبق آخرین گزارش فائو، عملکرد توتون به طور متوسط در جهان به ۱۷۸۳۸ هکتوگرم در هکتار رسیده است، بنابراین می‌تواند نقش مهمی در اقتصاد کشاورزی کشورهای تولید کننده داشته باشد. ایران نیز به ویژه نواحی شمالی آن به علت شرایط اقلیمی خاص، از مناطق مستعد کشت توتون می‌باشد که در سال ۲۰۱۰ سطح زیر کشت آن به ۹۵۸۶ هکتار و میزان تولید برگ خشک آن به ۱۴۱۴۵ تن رسیده است (FAO 2010). یکی از یافته های مهم طی چند دهه گذشته در زمینه اصلاح‌نباتات، شناخت وجود سرمایه عظیم تنوع ژنتیکی در گیاهان بوده است (Von Braun and Virchow 1996). از آنجا که قسمت اعظم DNA ژنومی در بسیاری از گونه‌ها نواحی غیر رمزکننده هستند، با اتکا به تنوع بیوشیمیایی یا مورفولوژیکی فقط قسمت محدودی از تنوع که به نواحی رمزکننده برمی‌گردد بررسی می‌شود، در حالی که تنوع در قسمت-های بدون رمز ژنوم، خواه در نواحی بین ژنی باشد و یا در اینترون‌ها، احتمالا کم‌تر تحت فشار گزینش طبیعی است، بنابراین تعداد جایگاه‌های چندشکل در این نواحی ژنوم فوق‌العاده زیاد خواهد بود (Kearsey 1997) که از جمله نشانگرهای مبتنی بر نواحی غیر رمزکننده، می‌توان از SSR، ISSR، IRAP و REMAP نام برد. نشانگر ISSR (Inter Simple Sequence Repeat) از سال ۱۹۹۴، برای انگشت نگاری DNA به کار برده شد (Zitkiewicz et al. 1994). در این روش از آغازگرهای SSR تغییر یافته بر اساس توالی‌های مجاور ریزماهواره‌هایی که در سراسر ژنوم پراکنده‌اند استفاده می‌شود (Nagaoka and Ogihara 1997) و به دلیل ویژگی‌های بسیار مطلوبی مانند تکرارپذیری، تجزیه و تحلیل همزمان تعداد زیاد جایگاه ژنی، دقت بالا، تنوع بسیار بالا، هزینه پایین، سرعت و سهولت اجرا، به طورگسترده‌ای به خصوص در گیاهان به کار گرفته شده است (Souframanien and Gopalkrishna 2004). به طور مثال این نشانگر غالب به عنوان ابزاری مفید در تعیین تنوع ژنتیکی بسیاری از گیاهان مهم زراعی مانند ذرت (Kantety et al. 1995)، گندم (Nagoaka and Ogihara 1997)، برنج (Blair et al. 1999) ، جو (Hou et al. 2005) و همچنین بررسی تنوع ژنتیکی توتون و انگشت‌نگاری ژنتیکی آن مورد استفاده قرارگرفته است (Del Piano et al. 2000; Yang et al. 2007).

به منظور دستیابی به اطلاعات لازم و ضروری جهت شناسایی ژرم‌پلاسم توتون، تنوع و روابط ژنتیکی ۱۱۹ ژنوتیپ توتون با استفاده از نشانگر ISSR مورد بررسی قرار گرفت که تنوع ژنتیکی پایینی در ژرم‌پلاسم توتون‌های گرمخانه‌ای در چین مشاهده شد، این محققین پیشنهاد کردند که جهت گسترش پایه ژنتیکی توتون-های گرمخانه‌ای باید از پتانسیل ژنتیکی موجود در ژنوتیپ‌های وحشی توتون بهره برد (Xio and Yang 2007). در بررسی تنوع و روابط ژنتیکی بین ژنوتیپ‌های توتون با استفاده از نشانگر ISSR تشابه ژنتیکی میان ژنوتیپ‌ها در محدوده ۰/۲۶ تا ۰/۹۶ متغیر بود و این تشابه بین ژنوتیپ‌های زراعی در مقایسه با ژنوتیپ‌های وحشی توتون نسبتا بالا بود. نتایج این پژوهش نشان داد که نشانگر ISSR نسبت به نشانگر RAPD دارای ثبات بهتری بوده و جهت تعیین تنوع و روابط ژنتیکی میان ژنوتیپ‌ها، ایجاد زمینه علمی برای تحقیقات ژنتیکی، اصلاح توتون و همچنین انتخاب والدین مناسب جهت تهیه نقشه پیوستگی مناسب می‌باشد (Qi et al. 2006). در بررسی تنوع ژنتیکی ژنوتیپ‌های توتون با استفاده از نشانگر AFLP جدا کردن ارقام محلی از وارداتی با موفقیت انجام شد و ژنوتیپ‌ها در هفت گروه قرارگرفتند (Piteekan et al. 2009). به منظور تعیین ارتباط ژنتیکی جهت توسعه یک طبقه‌بندی استاندارد از ۲۰ آغازگر ISSR بر روی ۶۶ واریته توتون استفاده شد که ۵ آغازگر نوارهای قابل تکرار ایجاد

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-19]

[DOR: 20.1001.1.20084439.1393.9.1.2.1]

کرده و ارتباط ژنتیکی ارقام بومی و وارداتی را مشخص کردند که بر این اساس ارقام محلی الگوی نواری مشابه با ارقام وارداتی نشان دادند (Denduangboripant et al. 2010). Dadras et al. (2012) از نشانگر AFLP و نرم افزار GGT به عنوان ابزارهایی جهت تمایز ژنوتیپ‌های توتون استفاده کردند و توانستند ژنوتیپ‌هایی را که همگی منشا آمریکایی داشتند از سایر ژنوتیپ-ها متمایز کنند، آن‌ها اظهار کردند در صورتی که بتوان برای تعداد بیشتری از ژنوتیپ‌ها با منشا آمریکایی این نتیجه را اثبات کرد، این تفاوت در سطح DNA مربوط به خصوصیاتی می‌باشد که آن-ها را از سایر ژنوتیپ‌ها متمایز می‌سازد.

از آنجا که آگاهی از تنوع ژنتیکی، ضمن حفظ ذخایر ژنتیکی گیاهی، قابلیت استفاده از آن‌ها را در برنامه‌های به‌نژادی تامین می‌کند و همچنین اطلاع از فاصله ژنتیکی بین افراد و جمعیت‌ها و روابط خویشاوندی بین آن‌ها، امکان تهیه جمعیت‌های مناسب برای ترسیم نقشه ژنتیکی و مکان‌یابی ژن‌ها را فراهم می‌سازد، این بررسی نیز به منظور ارزیابی تنوع ژنتیکی و میزان شباهت درون و بین تیپ‌های توتون و تعیین میزان چندشکلی موجود با استفاده از آغازگرهای نشانگر ISSR انجام شد تا از بین آن‌ها آغازگرهایی با کارایی بالا در ارزیابی تنوع ژنتیکی توتون معرفی شوند.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی

در این بررسی بذور ۴۵ ژنوتیپ توتون از مرکز تحقیقات توتون رشت تهیه شد که ۱۵ ژنوتیپ از هر یک از تیپ‌های هوا خشک (بارلی)، گرمخانه‌ای (ویرجینیا) و آفتاب‌خشک (شرقی) مورد بررسی قرار گرفت (جدول۱). DNA ژنومی از بافت برگ گیاهچه‌های رشدیافته در گلدان و در مرحله ۴-۳ برگی با استفاده از روش Doyle and Doyle (1990) با اندکی تغییرات استخراج شد. نمونه‌های DNA استخراج شده جهت ارزیابی دقیق کمی و کیفی با روش الکتروفورز ژل آگارز ۰/۸ درصد و اسپکتروفتومتری در طول موج ۲۶۰ و ۲۸۰ نانومتر مورد سنجش قرار گرفتند.

واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز (PCR)

در این بررسی از ۱۲ آغازگر ISSR (جدول۲) برگرفته از Yang et al. (2007) جهت تکثیر DNA ژنومی استفاده شد. واکنش PCR در حجم ۱۰ میکرولیتر شامل ۳۰ تا ۴۰ نانوگرم DNA الگو، ۰/۱ میلی‌مولار dNTP، ۰/۳ میکرومولار آغازگر، ۱/۵ میلی‌مولار $MgCl_2$، بافر PCR با غلظت 1X و یک واحد آنزیم Taq پلی‌مراز با استفاده از دستگاه ترموسایکلر Biometra انجام شد.

چرخه حرارتی به صورت ۴ دقیقه واسرشته‌سازی اولیه در ۹۴ درجه سانتی‌گراد، سپس ۳۵ چرخه به صورت ۴۰ ثانیه واسرشته-سازی در ۹۴ درجه سانتی‌گراد، ۴۰ ثانیه مرحله اتصال آغازگر بسته به دمای اتصال آغازگر (جدول۲)، ۲ دقیقه مرحله بسط در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد و یک چرخه نهایی به مدت ۵ دقیقه در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد، سپس نگه‌داری در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد صورت گرفت. به منظور آشکارسازی چندشکلی بین نمونه‌ها از دستگاه الکتروفورز و ژل آگارز ۱/۵ درصد استفاده شد، همچنین رنگ‌آمیزی ژل با استفاده از محلول اتیدیوم بروماید و آشکارسازی نوارها زیر نور UV انجام گرفت.

تجزیه و تحلیل داده‌ها

جهت بررسی چندشکلی بین ژنوتیپ‌ها، حضور و عدم حضور هر نوار خاص با اعداد یک و صفر مشخص شدند و برای تشکیل ماتریس داده‌های خام، سطرها به ژنوتیپ‌ها و ستون‌ها به نوارها اختصاص یافت. برای بررسی محتوای اطلاعات چندشکل آغازگرها از پارامتر PIC (Polymorphism Information Contect) استفاده شد. میانگین محتوای اطلاعات چندشکل بر اساس رابطه $PIC =1- \Sigma p_i^2$ محاسبه شد که در این رابطه p_I برابر فراوانی آلل Iام و n تعداد آلل است. شاخص نشانگری MI (Marker Index) که بیانگر میزان چندشکلی بوده و می‌تواند به عنوان شاخصی جهت برآورد کارایی یک نشانگر در یک ژرم-پلاسم ناشناخته استفاده شود، با استفاده از رابطه $MI= PIC\times n_p \times \beta$ به دست آمد که در این رابطه n_p تعداد کل نوارهای چندشکل و β نسبت تعداد نوار چندشکل به تعداد کل نوارها می‌باشد (Powell et al. 1996). پارامترهای مربوط به ساختار ژنتیکی جمعیت شامل شاخص شانون (I)، تنوع ژنی نی (H)، هتروزیگوسیتی درون تیپ‌ها (H_s)، هتروزیگوسیتی بین تیپ‌ها

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-19]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1393.9.1.2.1]

جدول ۱- اسامی ژنوتیپ‌های توتون مطالعه شده در این تحقیق

ردیف	ژنوتیپ‌های هواخشک (بارلی)	منشا جغرافیایی	ردیف	ژنوتیپ‌های گرمخانه‌ای (ویرجینیا)	منشا جغرافیایی	ردیف	ژنوتیپ‌های آفتاب خشک (شرقی)	منشا جغرافیایی
۱	Burley W.R 14	USA	۱۶	Erzegovina	Erzegovin	۳۱	B 12-2	Iran
۲	Burley white IV Geel	USA	۱۷	K. S1. E.	USA	۳۲	B 16-10	Iran
۳	Burley 7022	USA	۱۸	Pereg 234	Germany	۳۳	BS36	Greece
۴	Burley B5	Germany	۱۹	Perega	Germany	۳۴	Basma 178-2	Iran
۵	Burley pr-144	Germany	۲۰	Speight G. 28	USA	۳۵	Ch T 269-12	Iran
۶	Burley Ree103	USA	۲۱	N. 2	USA	۳۶	D-566	Iran
۷	Burley PMR	Switzerland	۲۲	Coker 298	USA	۳۷	F.K.40-1	Iran
۸	Burley semparant	Australia	۲۳	Bel 61-12	USA	۳۸	H-169	Iran
۹	Badisher Burley E	Germany	۲۴	Virgin aurea	USA	۳۹	Kromovgrad 42	Bulgaria
۱۰	Banket A1	Zimbabwe	۲۵	TL 13	USA	۴۰	Izmir	Turkey
۱۱	BB16A	France	۲۶	Deliot	Belgium	۴۱	Imine	Australia
۱۲	Burley 1	USA	۲۷	S. 392-35	Germany	۴۲	Mutant 4 (no4)	Iran
۱۳	Burley 151	USA	۲۸	Virginia A-mutant	Germany	۴۳	Sota 7644	Switzerland
۱۴	Burley 7	USA	۲۹	Harrison Speacial	USA	۴۴	Samatra	Belgium
۱۵	Burley A1	USA	۳۰	RH-211	USA	۴۵	B104-1	IRAN

جدول۲- نام و توالی آغازگرهای مورد استفاده و اطلاعات چندشکلی آن‌ها

نام آغازگر	توالی آغازگرها (′۳ →′۵)	دمای اتصال	درصد چندشکلی	تعداد نوار	تعداد نوار چندشکل	شاخص نشانگر
UBC811	GAGAGAGAGAGAGAGAC	۵۱/۳۵	۸۸/۸۹	۹	۸	۱/۷۱
UBC812	GAGAGAGAGAGAGAGAA	۵۰/۳۳	۷۰	۲۰	۱۴	۱/۵۷
UBC813	CTCTCTCTCTCTCTCTT	۵۰/۳	۶۴/۲۹	۱۴	۹	۱/۵۶
UBC814	CTCTCTCTCTCTCTCTA	۴۹/۲۴	۸۵/۷۱	۱۴	۱۲	۲/۰۶
UBC815	CTCTCTCTCTCTCTCTG	۵۱/۳۳	۸۷/۵	۱۶	۱۴	۳/۵۵
UBC816	CACACACACACACACAT	۵۵/۳۷	۷۵	۸	۶	۱/۴۸
UBC817	CACACACACACACACAA	۵۵/۶۴	۸۰	۱۰	۸	۲/۱۱
UBC823	TCTCTCTCTCTCTCTCC	۵۲/۵۲	۷۱/۴۳	۱۴	۱۰	۱/۲۱
UBC824	TCTCTCTCTCTCTCTCG	۵۳/۰۸	۹۰	۱۰	۹	۱/۷
UBC825	ACACACACACACACACT	۵۶/۵۶	۶۴/۷۱	۱۷	۱۱	۱/۷۱
UBC826	ACACACACACACACACC	۵۷/۷۸	۷۰	۲۰	۱۴	۲/۵۵
UBC873	GACAGACAGACAGACA	۵۱/۴۲	۷۲/۲۲	۱۸	۱۳	۲/۴۴
میانگین			۷۵/۲۹	۱۷۰	۱۲۸	۱/۹۷

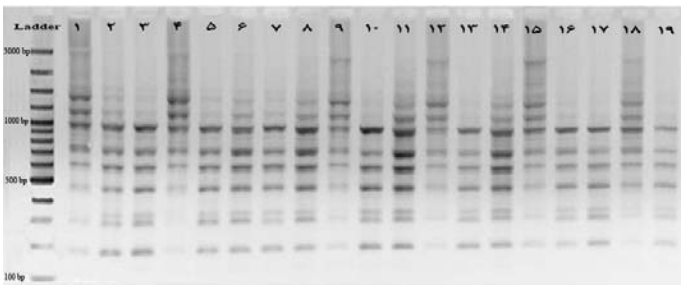
[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-19]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1393.9.1.2.1]

(D_{st})، هتروزیگوسیتی کل ($H_t = H_s + D_{st}$)، ضریب تمایز ژنی بین تیپ‌ها ($G_{st} = D_{st} / H_t$) و جریان ژنی (N_m) برای هر یک از مکان‌های آللی توسط نرم‌افزار POPGEN نسخه ۱/۳۱ (Yeh and Yang 1999) محاسبه شد. همچنین شاخص تثبیت (F_{st}) از طریق رابطه ($F_{st} = 1- H_s / H_t$) به دست آمد (Lynch and Milingan 1994). جهت گروه‌بندی ژنوتیپ‌های مورد مطالعه، تعیین تفاوت‌ها و شباهت‌های ژنوتیپ‌ها ابتدا بر اساس روش‌های مختلف انجام و در نهایت بهترین گروه‌بندی بر اساس شاخص‌های آماری انتخاب گردید که بدین منظور از نرم‌افزار NTSYS استفاده شد (Rohlf 1998)، مقایسه نتایج روش‌های مختلف تجزیه خوشه‌ای با استفاده از ضرایب تشابه متفاوت بر اساس ضریب کوفنتیک نشان داد که بهترین روش در محاسبه ماتریس تشابه، روش تطابق ساده و دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای به روش WPGMA می‌باشد و سایر روش‌ها به دلیل ایجاد گروه‌های نامشخص و تمایل گروه‌های ایجاد شده به یک سمت، گروه‌بندی مناسب ارایه ندادند. همچنین بررسی روابط ژنتیکی بین ژنوتیپ‌ها بر اساس تجزیه به مختصات اصلی با استفاده از نرم‌افزار GenStat نسخه ۱۲ (VSN International 2009)، تجزیه تابع تشخیص با نرم‌افزار SPSS 16.0 (Anonymous 2007) و تجزیه واریانس مولکولی با نرم‌افزار GenAlEx 6.4 انجام گرفت (Peakall and Smous 2006).

نتایج و بحث

اطلاعات چندشکلی

تمامی ۱۲ آغازگر ISSR به کار رفته در این آزمایش الگوی نواری مشخص داشتند که در مجموع ۱۷۰ نوار نمره‌دهی شد که ۱۲۸ نوار چندشکل بودند. تعداد نوارها از ۸ نوار برای آغازگر UBC816 تا ۲۰ نوار برای آغازگرهای UBC812 و UBC826 متغیر بود که بیانگر قدرت این آغازگرها در تفکیک ژنوتیپ‌ها بود (جدول۲). درصد چندشکلی از ۶۴/۲۹ درصد برای آغازگر UBC813 با کمترین درصد چندشکلی تا ۹۰ درصد برای آغازگر UBC824 با بیشترین درصد چندشکلی، متغیر بود و میانگین میزان چندشکلی ۷۵/۲۹ درصد محاسبه شد (جدول۲). الگوی نواربندی ISSR با استفاده از آغازگر UBC825 در شکل۱ ارائه شده است.



شکل۱- الگوی نواری ISSR حاصل تکثیر ژنوتیپ‌های توتون (جدول۱) با استفاده از آغازگر UBC825

میزان اطلاعات چندشکل (PIC) هر آغازگر، برای کل ژنوتیپ‌های مورد مطالعه، همچنین به طور جداگانه برای هر یک از تیپ‌های مورد مطالعه محاسبه شد و میانگین این شاخص برای کل ژنوتیپ‌های مورد مطالعه و هر یک از تیپ‌های بارلی (هواخشک)، ویرجینیا (گرمخانه‌ای) و شرقی (آفتاب خشک) به ترتیب ۰/۲۴، ۰/۲۲، ۰/۲۶ و ۰/۲۳ به‌دست آمد (جدول۳). آغازگر UBC816 دارای بیشترین مقدار PIC در تیپ‌های هواخشک (بارلی) و آفتاب خشک (شرقی) و آغازگر UBC817 دارای بیشترین مقدار PIC در تیپ‌های هواخشک و گرمخانه‌ای بودند، همچنین آغازگرهای UBC812 و UBC823 دارای کمترین مقدار PIC، به ترتیب ۰/۱۶ و ۰/۱۷ در کل ژنوتیپ‌های مورد مطالعه بودند. بنابراین آغازگرهای UBC816 و UBC817 با بیشترین مقدار PIC، بهتر از سایر آغازگرهای به کار رفته توانستند فاصله ژنتیکی ژنوتیپ‌های مورد مطالعه را مشخص کنند. در بررسی تنوع ژنتیکی میان ۲۲ واریته و دو هیبرید توتون نیز که از ۱۸ آغازگر RAPD استفاده شده بود، میانگین PIC، ۰/۲۷ گزارش شد (Siva Raju et al. 2009). همچنین در ارزیابی تنوع ژنتیکی میان ۳۱۲ ژنوتیپ توتون با استفاده از نشانگر SSR، میزان PIC تقریباً در همه مکان‌های ژنی بیش‌تر از ۰/۴ بود و بالاترین میزان آن نیز ۰/۸۵ گزارش شد (Fricano et al. 2012). میزان MI بین ۱/۲۱ تا ۳/۵۵ متغیر بود و آغازگرهای UBC815، UBC826، UBC873 و UBC817 به ترتیب با ۳/۵۵، ۲/۵۵، ۲/۴۴ و ۲/۱۱ واحد دارای

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-19]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1393.9.1.2.1]

جدول ۳- محتوای اطلاعات چندشکل در ژنوتیپ‌های مورد مطالعه و تیپ‌های توتون

نام آغازگر	PIC			
	هواخشک (بارلی)	گرمخانه‌ای (ویرجینیا)	آفتاب خشک (شرقی)	کل
UBC811	۰/۲۷	۰/۲۲	۰/۲۴	۰/۲۴
UBC812	۰/۱۵	۰/۱۲	۰/۲۲	۰/۱۶
UBC813	۰/۳	۰/۲۸	۰/۲۳	۰/۲۷
UBC814	۰/۲۶	۰/۱۵	۰/۱۸	۰/۲
UBC815	۰/۲۶	۰/۳۱	۰/۳۱	۰/۲۹
UBC816	۰/۳۴	۰/۳۱	۰/۳۴	۰/۳۳
UBC817	۰/۳۴	۰/۴۸	۰/۱۶	۰/۳۳
UBC823	۰/۱۵	۰/۱۹	۰/۱۶	۰/۱۷
UBC824	۰/۲۹	۰/۱۵	۰/۱۹	۰/۲۱
UBC825	۰/۲۲	۰/۲۵	۰/۲۴	۰/۲۴
UBC826	۰/۲۴	۰/۳۱	۰/۲۴	۰/۲۶
UBC873	۰/۱۸	۰/۳۴	۰/۲۷	۰/۲۶
میانگین	۰/۲۲	۰/۲۶	۰/۲۳	۰/۲۴

بیشترین شاخص نشانگری (MI) بودند (جدول۲) که نشان‌دهنده کارایی بالای این آغازگرها را در بروز چندشکلی ژنوتیپ‌های مورد مطالعه در این تحقیق می‌باشد.

تنوع ژنتیکی درون و بین تیپ‌ها

تنوع ژنی نی (H) که از شاخص‌های مهم برای ارزیابی تنوع ژنی بین ژنوتیپ‌ها و جمعیت‌ها می‌باشد (Nei 1972)، برای کل ژنوتیپ‌های مورد مطالعه ۰/۳۱ و شاخص شانون آن‌ها ۰/۴۷ محاسبه شد. آغازگرهای UBC813، UBC817، UBC873، UBC816 و UBC823 دارای بیشترین مقدار شاخص شانون و تنوع ژنی نی بودند. بالا بودن مقدار این شاخص و تنوع ژنی نی در آغازگرهای فوق، نشان دهنده این است که نسبت به سایر آغازگرهای به کار رفته، می‌توانند تنوع ژنتیکی درون جمعیتی را بهتر توجیه کنند لذا می‌توان از آن‌ها به عنوان آغازگرهایی کارا جهت بررسی تنوع ژنتیکی ژنوتیپ‌های توتون در مطالعات بعدی استفاده کرد (جدول۴).

جدول۴- شاخص‌های اندازه‌گیری شده در مورد تنوع ژنتیکی کل و درون‌تیپ-های توتون

نام آغازگر	تنوع ژنی نی	شاخص شانون
UBC811	۰/۲۴	۰/۳۹
UBC812	۰/۲۴	۰/۳۹
UBC813	۰/۳۷	۰/۵۵
UBC814	۰/۳	۰/۴۷
UBC815	۰/۳۲	۰/۴۹
UBC816	۰/۳۶	۰/۵۳
UBC817	۰/۳۷	۰/۵۴
UBC823	۰/۳۴	۰/۵۲
UBC824	۰/۲۹	۰/۴۵
UBC825	۰/۲۶	۰/۴۱
UBC826	۰/۳	۰/۴۵
UBC873	۰/۳۶	۰/۵۴
میانگین	۰/۳۱ ±۰/۲۱	۰/۴۷ ±۰/۲۹

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-19]

[DOR: 20.1001.1.20084439.1393.9.1.2.1]

جهت بررسی روابط بین تیپ‌های هوا خشک (بارلی)، گرمخانه‌ای (ویرجینیا) و آفتاب خشک (شرقی)، شاخص‌های مربوط به ساختار ژنتیکی بین تیپ‌ها محاسبه شدند (جدول۵). میزان هتروزیگوسیتی کل (H_t) و هتروزیگوسیتی درون تیپ‌های مورد مطالعه (H_s) به ترتیب ۰/۳۱ و ۰/۲۱ به دست آمدند، بر این اساس میزان هتروزیگوسیتی بین تیپ‌ها (D_{st}) ۰/۱ برآورد شد که نشان‌دهنده بالا بودن میزان تنوع درون تیپ‌ها نسبت به تنوع بین تیپ‌ها بود. همچنین با توجه به مقادیر هتروزیگوسیتی درون تیپ‌های مورد مطالعه، تیپ آفتاب خشک (شرقی) نسبت به سایر تیپ‌ها دارای ساختار ژنتیکی متفاوت‌تری می‌باشد (جدول۵).

تمایز ژنتیکی ممکن است به دلیل اختلاف در صفات ژنتیکی که بر اثر تغییر شرایط محیطی و انتخاب طبیعی ایجاد شده است، باشد. همچنین به دلیل فرآیندهای تصادفی مثل جهش، مهاجرت و میزان یا درجه تمایز جمعیت‌ها باشد که می‌توان آن را از طریق پارامترهای متفاوت تخمین زد (Bossdorf et al. 2007). در این مطالعه میانگین ضریب تمایز ژنی (G_{st})، شاخص تثبیت (F_{st}) و جریان ژنی (N_m) به ترتیب ۰/۳۲، ۰/۳۲ و ۱/۰۷ به دست آمد. از آنجا که میزان جریان ژنی کمتر از یک به عنوان آستانه تمایز در نظر گرفته می‌شود و میزان برآورد کمتر از آن، نشان‌دهنده میزان کم تبادل ژنی خواهد بود (Slatkin 1987)، مقدار جریان ژنی در این بررسی (۱/۰۷) بیانگر بالا بودن تبادل ژنی بین تیپ‌های مورد مطالعه می‌باشد. به طور کلی زمانی که افراد از نظر فراوانی آللی کاملاً مشابه باشند، مقدار F_{st} برابر با صفر و زمانی که افراد از نظر آللی، متفاوت باشند این مقدار با یک برابر می‌شود. این شاخص برای مطالعه تفاوت بین جمعیت‌ها نیز به کار می‌رود، در هر صورت اگر میزان F_{st} بیشتر از ۰/۱۵ به دست آید، نشان می‌دهد که جمعیت‌های مورد مطالعه از هم متمایز هستند و از نظر ساختاری شباهتی با هم ندارند (Weir 1996). در این مطالعه شاخص‌های G_{st} و F_{st} نشان دادند که بیش از ۶۰ درصد از تنوع کل، حاصل تنوع در درون تیپ‌ها بود و تنوع اندکی بین تیپ‌ها وجود داشت. این موضوع نشان می‌دهد که اکثر تنوع مشاهده شده ناشی از تنوع میان افراد درون تیپ‌ها بوده و بررسی آن به صورت کلی در جمعیت، باعث مشاهده تنوع اندکی در بین تیپ‌ها شد که با نتایج Yang et al. (2007) هم‌خوانی داشت. آن‌ها نیز در بررسی تنوع ژنتیکی ۱۱۸ ژنوتیپ از تیپ‌های مختلف توتون شامل گرمخانه‌ای، آفتاب‌خشک، بارلی، شرقی و تیپ وحشی از نشانگرهای ISSR و IRAP استفاده کردند که مقدار F_{st} را ۰/۳۱ و تنوع کمی بین تیپ‌های مورد مطالعه گزارش کردند.

جدول۵- شاخص‌های اندازه‌گیری شده در مورد تنوع بین تیپ‌های توتون

شاخص	مقدار محاسبه شده (St.d)
H_t^*	۰/۳۰۹۸ ±۰/۰۲
H_s^*	۰/۲۱۱۱ ±۰/۰۱۷
h_1	۰/۲۲
h_2	۰/۱۷
h_3	۰/۲۴
G_{st}^*	۰/۳۱۸۴
F_{st}^*	۰/۳۲۷۳
N_m^*	۱/۰۷۰۲

H_t) هتروزیگوسیتی کل؛ H_s) هتروزیگوسیتی درون تیپ‌ها؛ h_1) هتروزیگوسیتی درون تیپ هوا خشک (بارلی)؛ h_2) هترویگوسیتی درون تیپ گرمخانه‌ای (ویرجینیا)؛ h_3) هتروزیگوسیتی درون تیپ آفتاب خشک (شرقی)؛ G_{st}) ضریب تمایز ژنی؛ F_{st}) شاخص تثبیت؛ N_m) جریان ژنی.

تجزیه واریانس مولکولی (AMOVA)

نتایج حاصل از تجزیه واریانس مولکولی (جدول۶) نشان داد که تنوع ژنتیکی بین و درون تیپ‌های توتون مورد مطالعه در این تحقیق در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود و از تنوع ژنتیکی کل (صد درصد)، ۳۲/۷۳ درصد آن مربوط به تنوع ژنتیکی بین تیپ‌ها و ۶۷/۲۷ درصد آن مربوط به تنوع درون تیپ‌ها بود. بنابراین واریانس درون تیپ‌ها سهم عمده‌ای از واریانس کل را شامل شد، با این حال میزان واریانس بین تیپ‌ها نیز قابل توجه بود. نتایج حاصل از تجزیه واریانس مولکولی با میانگین ضریب تمایز ژنی یا G_{st} (۰/۳۲) مطابقت نشان داد.

جدول۶- تجزیه واریانس مولکولی برای تیپ‌های مختلف توتون مورد مطالعه

منبع تغییرات	درجه آزادی	مجموع مربعات	درصد واریانس	احتمال
بین تیپ‌ها	۲	۱۷۹/۱۷۸	۳۲/۷۳	۰/۰۰۱
درون تیپ‌ها	۴۲	۴۷۲/۲۴۴	۶۷/۲۷	۰/۰۰۱
کل	۴۴	۶۵۱/۴۲۲	۱۰۰	

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-19]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1393.9.1.2.1]

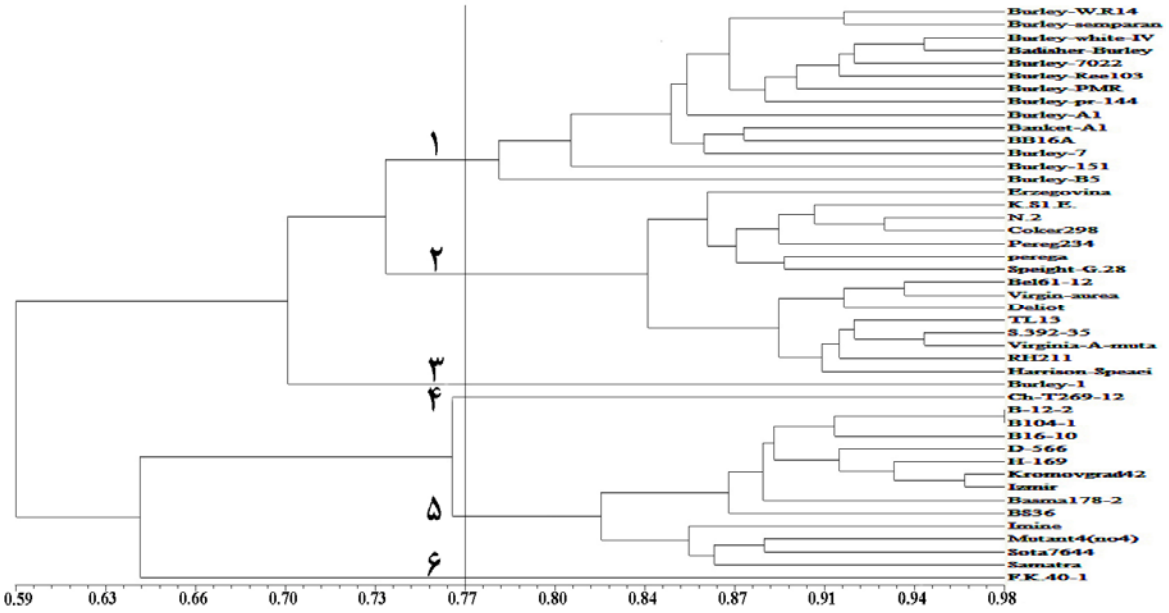
تجزیه به مختصات اصلی و گروه‌بندی

جهت گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها، از روش‌های مختلف استفاده شد و در نهایت تجزیه خوشه‌ای به روش WPGMA بر اساس ماتریس تطابق ساده انتخاب شد. ضریب کوفنتیک بر اساس ضریب تشابه تطابق ساده، ۰/۷۶ بود که نشان‌دهنده برازش متوسط بین دندروگرام و ماتریس تشابه و نیز کارایی نسبی این روش برای گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها بود. گروه‌بندی بر این اساس با ترسیم خط برش در فاصله ۰/۷۷، ۴۵ ژنوتیپ مورد مطالعه را در ۶ گروه قرار داد (شکل۲). گروه ۱ و ۳ به ترتیب شامل ۱۳ و یک فرد از تیپ هوا خشک (بارلی)، گروه دو شامل ۱۵ ژنوتیپ گرمخانه‌ای (ویرجینیا) و گروه‌های ۴، ۵ و ۶ به ترتیب شامل یک، ۱۳ و یک فرد از تیپ آفتاب خشک (شرقی) شدند.

صحت گروه‌بندی حاصل از تجزیه خوشه‌ای توسط تابع تشخیص کانونی به روش خطی فیشر ۷۳/۳ درصد برآورد شد (جدول۷). به‌طوری‌که توابع تشخیص اول تا پنجم به ترتیب ۷۹/۲ درصد، ۱۳/۵ درصد، ۵ درصد، دو درصد و ۰/۳ درصد از واریانس موجود و در مجموع صد درصد تنوع داده‌های حاصل از نشانگر ISSR را توصیف کردند (جدول۸)، بنابراین تقسیم ژنوتیپ‌ها در ۶ گروه به وسیله تجزیه خوشه‌ای، توسط تابع تشخیص تایید شد. در پژوهشی که از نشانگرهای ISSR و IRAP جهت بررسی تنوع ژنتیکی توتون استفاده شد نیز روش UPGMA ژنوتیپ‌ها را به ۷ گروه تقسیم کرد، گروه اول شامل سه زیرگروه بارلی، شرقی و ژنوتیپ‌های وحشی شد، بیشتر ژنوتیپ‌های آفتاب‌خشک در گروه دو و سه توزیع شدند و ژنوتیپ‌های گرمخانه‌ای در گروه‌های ۴، ۵، ۶ و ۷ قرار گرفتند (Yang et al. 2007). Hatami et al. (2013) در بررسی تنوع ژنتیکی صد ژنوتیپ توتون شرقی با ۱۳ آغازگر SSR و استفاده از ضریب تشابه جاکارد و تجزیه خوشه‌ای به روش UPGMA ژنوتیپ‌های مورد مطالعه را در سه گروه قرار دادند که به‌ترتیب شامل ۱/۴ درصد، ۸۸/۶ درصد و ۱۰ درصد از ژنوتیپ‌ها شدند. همچنین تجزیه خوشه‌ای ۲۳ ژنوتیپ توتون با استفاده از نشانگرهای ISSR و SSR، ژنوتیپ‌ها را به دو گروه و دو نوع منحصر به‌فرد (Cocker147، Val16 یا G140) تقسیم کرد (Nie and Liu 2011) که تفاوت موجود در گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها در تحقیقات مختلف، به دلیل استفاده از آغازگرها و ژنوتیپ‌های متفاوت می‌باشد. در این بررسی فاصله ژنتیکی بین تیپ‌های توتون مورد مطالعه بین ۰/۱۵ تا ۰/۲۵ به دست آمد که تیپ‌های بارلی (هوا خشک) و شرقی (آفتاب خشک) با میزان فاصله ۰/۲۵ حداکثر تفاوت را در بین تیپ‌های مورد مطالعه از آن خود کردند و دلیل آن را می‌توان متفاوت بودن ژنوتیپ‌های بین دو تیپ مذکور بیان ذکر کرد. همان‌طور که انتظار می‌رفت حداکثر تشابه نیز بین ژنوتیپ‌های بارلی و ویرجینیا با منشا غربی مشاهده شد (جدول۹). در بررسی Yang et al. (2007) نیز نتایج مشابهی به دست آمد. آن‌ها مقدار فاصله ژنتیکی بین تیپ‌های مختلف توتون را کمتر از ۰/۳ گزارش کردند.

بر اساس آغازگرهای بررسی شده، ژنوتیپ‌های B104-1 و B 12-2، Izmir و Kromovgrad 42، Badisher Burley E و Burley white IV Gee، Virginia A-mutant و S. 392-35، Burley 7022 و Burley white IV Geel، Virgin aurea و Bel 61-12، Virginia A-mutant و TL 13، Izmir و B 16-10، H-169 و Kromovgrad 42 به ترتیب با ضریب تشابه ۰/۹۸، ۰/۹۷، ۰/۹۵، ۰/۹۵، ۰/۹۴، ۰/۹۴، ۰/۹۴ و ۰/۹۴ بیشترین شباهت مورد انتظار و ژنوتیپ‌های F.K.40-1 و BB16A، F.K.40-1 و Burley 7022، F.K.40-1 و Banket A1، F.K.40-1 و Burley 151، F.K.40-1 و Erzegovina به ترتیب با ضریب تشابه ژنتیکی ۰/۵، ۰/۵۲، ۰/۵۲، ۰/۵۲ و ۰/۵۳ کمترین شباهت را دارا بودند. میزان کم شباهت نشان‌دهنده این است که دو ژنوتیپ دارای اختلاف ژنتیکی زیادی می‌باشند، لذا می‌توان آن‌ها را در صورت داشتن صفات مطلوب، به عنوان والد در برنامه‌های دورگ‌گیری برای اصلاح توتون‌های زراعی استفاده کرد. تصور می‌شود با تلاقی بین ژنوتیپ‌هایی که در گروه‌های دور از هم قرار گرفته‌اند، نتاج نوترکیب متجاوز جهت انتخاب در برنامه‌های اصلاحی تولید شود. چرا که یکی از راه‌های مطمئن برای دست‌یابی به هتروزیس بالا، استفاده از مواردی است که دارای کمترین خویشاوندی باشند و شناسایی تلاقی‌های حاوی هتروزیس بالا مهم‌ترین قدم در تولید محصولات هیبرید است و معمولاً والدین با قدرت ترکیب‌پذیری بالاتر و فاصله ژنتیکی بیشتر می‌توانند هیبریدهایی با عملکرد بالاتر تولید کنند.

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-19]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1393.9.1.2.1]



شکل۲- دندروگرام ترسیم شده با روش WPGMA و ماتریس تشابه تطابق ساده برای تیپ‌های مختلف توتون مورد مطالعه

جدول۷- نسبت موفقیت افراد درون گروه‌ها با تابع تشخیص با استفاده از داده‌های حاصل از نشانگر ISSR

گروه	تعداد ژنوتیپ	گروه‌ها و میزا ن صحت گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها در هر گروه با تجزیه تابع تشخیص بر اساس داده‌های نشانگر ISSR				
		۱	۲	۳	۴	۵	۶
۱	۱۴	۱۰ ٪۷۱/۴۳		۱ ٪۷/۱۴			۳ ٪۲۱/۴۳
۲	۱۵		۱۳ ٪۸۶/۶۷		۲ ٪۱۳/۳۳		
۳	۱	۱ ٪۱۰۰					
۴	۱					۱ ٪۱۰۰	
۵	۱۳					۱۰ ٪۷۶/۹۲	۳ ٪۲۳/۰۸
۶	۱		۱ ٪۱۰۰				
صحت گروه‌بندی						٪ ۷۳/۳	

جدول ۸- توابع تشخیص کانونی حاصل از تجزیه تشخیص خطی فیشر بر اساس گروه‌بندی اولیه حاصل از تجزیه خوشه‌ای

تابع تشخیص کانونی	مقادیر ویژه	واریانس (٪)	واریانس تجمعی (٪)	همبستگی کانونی
اول	۵۶۲/۳۹	۷۹/۲	۷۹/۲	۰/۹۹۹
دوم	۹۵/۹۹	۱۳/۵	۹۲/۷	۰/۹۹۵
سوم	۳۵/۴۱	۵	۹۷/۶	۰/۹۸۶
چهارم	۱۴/۳۴۶	۲	۹۹/۷	۰/۹۶۷
پنجم	۲/۳۸۹	۰/۳	۱۰۰	۰/۸۴

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-19]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1393.9.1.2.1]

جدول ۹- مقادیر فاصله ژنتیکی و تشابه ژنتیکی نی. فاصله ژنتیکی (پایین قطر جدول) و تشابه ژنتیکی (بالای قطر جدول)

	هواخشک (بارلی)	گرمخانه‌ای (ویرجینیا)	آفتاب خشک (شرقی)
هوا خشک (بارلی)	-	۰/۸۵	۰/۷۵
گرمخانه‌ای (ویرجینیا)	۰/۱۵	-	۰/۸۰
آفتاب خشک (شرقی)	۰/۲۵	۰/۲	-

در پژوهشی میزان تشابه ژنتیکی بین ۲۳ ژنوتیپ توتون با ۸ آغازگر ISSR و ۸ آغازگر SSR به‌ترتیب بین ۰/۱ تا ۰/۸۲ و ۰/۳۳ تا ۰/۸۶ گزارش شد (Nie and Liu 2011). در بررسی تنوع ژنتیکی روی ۷۰۲ ژنوتیپ توتون با ۷۰ آغازگر SSR، فاصله ژنتیکی از ۰ تا ۰/۸۹ به‌دست آمد (Moon et al. 2009). همچنین فاصله ژنتیکی بین ۱۳ ژنوتیپ زراعی توتون با استفاده از ۲۰ آغازگر SSR بین ۰/۰۰۹ تا ۰/۴۳ متغیر بود (Ye et al. 2009) که با توجه به نوع ژنوتیپ‌های مورد مطالعه و منشا آن‌ها در بررسی-های مذکور، تفاوت مشاهده شده در محدوده فاصله‌های ژنتیکی طبیعی می‌باشد. به منظور تعیین روابط ژنتیکی بین ژنوتیپ‌ها و نیز مشاهده فواصل بین تیپ‌ها، تجزیه به مختصات اصلی نیز به عنوان روش مکمل تجزیه خوشه‌ای، انجام گرفت (جدول۱۰). نتایج نشان داد که ده مولفه اصلی اول مجموعا ۶۹/۶۱ درصد از تغییرات داده‌ها را توجیه کردند. مولفه اول ۲۳/۶۶ درصد از تنوع کل را تبیین کرد و این مقدار برای مولفه دوم ۱۳/۶۶ درصد بود. نمایش دوبعدی ارقام بر اساس دو مولفه اصلی اول گروه‌بندی حاصل از تجزیه خوشه‌ای را تایید کرد و طبق نتایج به دست آمده، ژنوتیپ‌های F.K.40-1 و BB16A، F.K.40-1 و Burley 7022، F.K.40-1 و Banket A1، F.K.40-1 و Burley 151، F.K.40-1 و Erzegovina که بر اساس ضریب تشابه تطابق ساده کمترین شباهت ژنتیکی را داشتند، در گروه‌بندی خوشه‌ای و نمودار حاصل از تجزیه به مختصات اصلی نیز در گروه‌های جداگانه قرار گرفتند، همچنین تیپ‌های هواخشک (بارلی)، گرمخانه‌ای (ویرجینیا) و آفتاب خشک (شرقی) مطابق با روش تجزیه خوشه‌ای، از هم تفکیک شدند. ژنوتیپ‌هایی مانند B104-1 و B 12-2، Izmir و Kromovgrad 42، Badisher Burley E و Burley white IV Gee، Virginia A-mutant و S. 392-35، Burley 7022 و Burley white IV Geel که دارای بیشترین ضریب تشابه تطابق ساده بودند نیز، با هم در یک گروه قرار گرفتند.

جدول۱۰- درصد واریانس و درصد تجمعی برای ۱۰ مولفه اول

مولفه اصلی	مقادیر ویژه	درصد واریانس	درصد تجمعی
۱	۲/۴۱	۲۳/۶۶	۲۳/۶۶
۲	۱/۳۹	۱۳/۶۶	۳۷/۳۲
۳	۰/۶۴	۶/۳۳	۴۳/۶۵
۴	۰/۶	۵/۸۹	۴۹/۵۴
۵	۰/۴۷	۴/۶۴	۵۴/۱۸
۶	۰/۳۶	۳/۵۶	۵۷/۷۴
۷	۰/۳۲	۳/۱۹	۶۰/۹۳
۸	۰/۳	۲/۹۹	۶۳/۹۲
۹	۰/۳	۲/۹۷	۶۶/۹۱
۱۰	۰/۲۷	۲/۷	۶۹/۶۱

با توجه به مقدار شاخص ضریب تمایز ژنی (G_{st}) در این تحقیق، هر چند تیپ‌های توتون مورد مطالعه از نظر ساختاری از یکدیگر قابل تمایزاند ولی توجیه بیش از ۶۰ درصد تنوع کل بر اساس تنوع درون تیپ‌ها، ناشی از تفاوت زیاد بین گیاهان و ژنوتیپ‌های درون تیپ‌ها می باشد. با دقت و توجه کافی به گروه‌بندی‌های ایجاد شده برای ژنوتیپ‌های موجود، به سهولت می‌توان ژنوتیپ-های مناسب را جهت برنامه‌های به‌نژادی انتخاب کرد.

بالا بودن معیارهای تنوع ژنی نی، شاخص شانون و میزان PIC برای آغازگرهای UBC813، UBC816، UBC817 و UBC873 نشان‌دهنده کارایی بالای این آغازگرها در تمایز ژنوتیپ‌های توتون در این پژوهش بود. تیپ‌های مورد بررسی بر اساس نشانگر ISSR در گروه‌های مجزا قرار گرفتند، که در برنامه‌های تلاقی و تولید واریته‌های سنتیک می‌توان در انتخاب والدین از این گروه‌بندی‌ها استفاده نمود. این نشانگر ضمن تمایز موثر تیپ-های مورد بررسی، تنوع ژنتیکی بین و درون آن‌ها را نیزآشکار

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-19]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1393.9.1.2.1]

کرد. بنابراین با توجه به نتایج به دست آمده در این تحقیق، نشانگر ISSR می‌تواند ابزاری موثر در ارزیابی تنوع ژنتیکی توتون جهت توسعه و بهره‌گیری از آن‌ها در برنامه‌های اصلاحی آینده باشد.

منابع

Anonymous (2007) The SPSS system for Windows version 16.0.SPSS Inc, an IBM Company.

Blair MW, Panaud O, McCouch SR (1999) Intersimple sequence repeats (ISSR) amplification for analysis of micro-satellite motif frequency and fingerprinting in rice (*Oryza sativa* L.). Theoretical and Applied Genetics 98: 780-92.

Bossdorf O, Auge H, Lafuma L, Rogers WE, Siemann E, Prati D (2005) Phenotypic and genetic differentiation between native and introduced plant populations. Oecologia 144: 1-11.

Dadras AR, Mohammadi Nejad G, Sabouri H, Sabouri A, Shoaei Deilami M (2012) Evaluation of different tobacco genotypes based on AFLP markers using GGT: Graphical Genotypes software In: Proceedings of 12th Iranian Genetics Congress. Iran, Sh. Beheshti university, 22-24 May. (In Farsi).

Darvishzadeh R, Mirzaei L, Hatami Maleki H, Laurentin H, Alavi SR (2013) Genetic variation in oriental tobacco (*Nicotiana tabacum* L.) by agromorphological traits and simple sequence repeat markers. Revista Ciência Agronômica 44: 347-355.

Del Piano L, Abet M, Sorrentino C, Acanfora F, Cozzolino E, Di Muro A (2000) Genetic variability in *Nicotiana tabacum* and *Nicotiana* species as revealed by RAPD procedure. Beiträge zur tabakforshung. International Contribution to Tobacco Research 19: 1-15.

Denduangboripant J, Setaphan S, Suwanprasart W, Panha S (2010) Determination of local tobacco cultivars using ISSR molecular marker. Chiang Mai Journal Science 37: 293-303.

Doyle JJ, Doyle JL (1990) A rapid total DNA preparation procedure for fresh plant tissue. Focus 12: 13-15.

FAO (2010) FAOSTAT. Projections of tobacco production, consumption andtrade to the year online. Available at http://faostat.fao.org/site/567/DesktopDefault.aspx? PageID=567#ancor.

Fricano A, Bakaher N, Del Corvo M, Piffanelli P, Donini P, Stella A, Ivanov NV, Pozzi C (2012) Molecular diversity, population structure, and linkage disequilibrium in a worldwide collection of tobacco (*Nicotiana tabacum* L.) germplasm. BMC Genetics 13:18. doi:10.1186/1471-2156-13-18.

Gerstel DU (1963) Segregation in new allopolyploids of Nicotiana. II. Discordant ratios from individual loci in 6 × (*N .tabacum* × *N. sylvestris*). Genetics 48: 677-689.

Hou YC, Yan ZH, Wei YM, Zheng YL (2005) Genetic diversity of barley from west China based on RAPD and ISSR analysis. Barley Genetics Newsletter 35: 9-22.

Kantety RV, Zeng XP, Bennetzen JL, Zehr BE (1995) Assessment of genetic diversity in dent and popcorn (*Zea mays* L.) inbred lines using inter simple sequence repeat (ISSR) amplification. Molecular Breeding 1: 365-373.

Kearsey MJ (1997) Genetic resources and plant breeding. In: Callow JA, Ford-Lloyd BV, Newbury HJ (Eds.), Biotechnology and Plant Genetic Resources. CAB International, Wallingford, UK, pp. 1-19

Khodabandeh N (1987) Agriculture of industrial plants. Sepehr Publication Center, Iran. (In Farsi).

Lynch M, Milligan BG (1994) Analysis of population genetic structure with RAPD markers. Molecular Ecology 3: 91-99.

Moon HS, Nifong JM, Nicholson JS, Heineman A, Lion K, Van Der Hoeven R, Hayes AJ, Lewis RS (2009) Microsatellite-based analysis of tobacco (*Nicotiana tabacum* L.) gentic resources. Crop Science 49: 1-11.

Nagaoka T, Ogihara Y (1997) Applicability of intersimple sequence repeat polymorphisms in wheat for use as DNA markers in comparison to RFLP and RAPD markers. Theoretical and Applied Genetics 94:597-602.

Nei M (1972) Genetic distance between populations. American Naturalis 106: 283-292.

Nie Q, Liu RX (2011) Genetic diversity of 23 tobacco germplasm resources by SSR and ISSR analysis. Southwest China Journal of Agricultural Sciences 24: 15-19.

Peakall R, Smouse PE (2006) GENALEX 6.4: Genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. Molecular Ecology Notes 6: 288-295

Piteekan T, Denduangboripant J, Suwanprasart W (2009) In: The 4th Conference on Science and Technology for Youth. 26- 37.

Powell W, Morgante M, Andre C, Vogel J, Tingey S, Rafalski A (1996) The comparison of RFLP, RAPD, AFLP and SSR (microsatellite) markers for germplasm analysis. Molecular Breeding 2: 225-238.

Qi JM, Liang JX, Chen MX, Xu JT, Niu XP, Zhou DX, Wang T, Chen SH (2006) Genetic diversity and genetic relatives analysis of tobacco germplasm based on inter-simple sequence repeat (ISSR). Acta Agronomica Sinica 32: 373-378.

Ren N, Timko MP (2001) AFLP analysis of genetic polymorphism and evolutionary relationships among cultivated and wild Nicotiana species. Genome 44: 559-571.

Rohlf FJ (1998) NTSYSpc: Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System Version 2.0. Setauket, New York.

Siva Raju K, Sheshumadhav M, Chandrasekhararao C, T. Murthy TGK (2009) Molecular diversity in genus Nicotiana as revealed by randomly amplified polymorphic DNA. Indian Journal of Biotechnology 8: 61-66.

Slatkin M (1987) Gene flow and geographic structure of natural populations. Science (Washington, DC) 236:787-792.

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-19]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1393.9.1.2.1]

Souframanien J, Gopalakrishna T (2004) A comparative analysis of genetic diversity in blackgram genotypes using RAPD and ISSR markers. Theoretical and Applied Genetics 109: 1687-1693.
Von Braun J, Virchow D (1996) Economic evaluation of biotechnology and plant diversity in developing countries. Plant Research and Development 43: 50-61.
VSN International (2009) GenStat for Windows 12th edition. VSN International, Hemel Hempstead, UK.
Weir BS (1996) Intraspecific differentiation In: Hillis DM, Moritz C, Mable BK (Eds.), Molecular systematic, 2nd ed. Sunderland: Sinauer Associates pp: 385-403.
Xiao BG, Yang BC (2007) Assessment of genetic diversity among tobacco germplasms by ISSR markers. Scientia Agricultura Sinica 40: 2153-2161.
Yang BC, Xiao BG, Chenl XJ, Shi CH (2007) Assessing the genetic diversity of tobacco germplasm using inter simple sequence repeat and inter-retrotransposon amplification polymorphism markers. Annals of Applied Biology 150: 393.401.
Ye L, Xin M, Du J, Xie C, Li Y, Zhou Q (2009) Genetic diversity revealed by SSR markers of the tobacco cultivars. Chinese Agricultural Science Bulletin 25: 56-62
Yeh FC, Yang R (1999) popgene version 1.31. microsoft window-based freeware for population genetic analysis, University of Alberta And Centre for International Forestry Research.
Zitkiewicz E, Rafalski A, Labuda D (1994) Genome fingerprinting by simple sequence repeat (SSR)-anchored polymerase reaction amplification. Genomics 20: 176-183.

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-19]

[DOR: 20.1001.1.20084439.1393.9.1.2.1]