University of Tehran Press

Iranian Journal of Field Crop Science

Online ISSN: 2423-8082

Homepage:https://ijfcs.ut.ac.ir/

Identification Of Four Main Disease Resistant Genes In Tomato Lines (*Solanum lycopersicum L.*)

Akram Esfandiar [1] | **Abdolhadi Hoseinzadeh**✉ [2] | **Mohammad Reza Naghavi** [3] | **Reza Salehi Mohammadi** [4]

1. Department of Agronomy and Plant Breeding, College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran. E-mail: a.esfandiar@ut.ac.ir
2. Corresponding Author, Department of Agronomy and Plant Breeding, College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran. E-mail: ahzadeh@ut.ac.ir
3. Department of Agronomy and Plant Breeding, College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran. E-mail: mnaghavi@ut.ac.ir
4. Department of Horticultural Sciences, College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran. E-mail: salehir@ut.ac.ir

Article Info

Article type:
Research Article

Article history:
Received: January 25, 2025
Revised: January 12, 2026
Accepted: January 30, 2026

Keywords:
Hybrid seed,
parent lines,
resistance genes,
tomato,
virus.

Extended Abstract

Introduction. Tomato (*Solanum lycopersicum* L.) is widely cultivated worldwide under both field and greenhouse conditions. In recent years, hybrid tomato seeds have attracted the attention of farmers due to their higher yield, stress tolerance, and disease resistance. Hybrid seed, which refers to F_1 seed, is created directly from the crossing of two parents that are genetically completely distinct from each other. But a heterozygous genotype cannot be stably propagated through seed because heterozygosity is reduced in the F_2 generation due to trait segregation., so farmers are forced to buy seed every year. This is especially important in Iran, where most of the seeds are imported and domestically produced varieties are very limited. Therefore, one of the tasks of breeders is to produce domestic hybrids. One of the methods used to produce hybrid seeds is reverse breeding. One of the tasks performed in reverse breeding and important in line selection, in addition to morphological and functional traits, is disease resistance traits, which are of particular importance.

Materials and Methods. In this research, ten varieties of hybrid seeds were cultivated and F2 was produced, followed by selection and self-pollination between them until the F4 generation, resulting in the production of 52 lines, These lines were examined using specific primers to detect the presence of resistance genes to tomato diseases, including *Phytophthora infestans*, Tomato Mosaic Virus (ToMV), Yellow Leaf Curl Virus (TYLCV), and Tomato Spotted Wilt Virus (TSWV). Genomic DNA extraction from leaf samples was performed using CTAB protocol. Using PCR, the amplification gradient of primers at different temperatures was examined and the appropriate temperature was selected and polymerase chain reaction was performed. Separation of amplified fragments was performed using 2% agarose gel, detection of amplified fragments was also performed by staining with DNA Gel Stain and photographing with a gel dock device using ultraviolet light. Molecular analysis was also performed in the form of presence (number one) and absence of band (number zero) using NTsys software (ver 2.02).

Results and Discussion. In this study, the presence and absence of these genes in tomato lines were investigated using specialized primers for resistance genes to tomato mosaic virus (ToMV), yellow leaf curl virus (TYLCV), tomato spotted wilt virus (TSWV), and phytophthora fungus. The presence of all four types of resistance genes was detected in 15 lines (139, 107, 50, 125, 96, 105, 109, 106, 110, 58, 103, 112, 56, 101, 118). None of the resistance genes were detected in nine lines (102, 93, 75, 108, 89, 167, 54, 95, 116). Therefore, by identifying these lines resistant to viral and fungal tomato diseases and then, in later stages, by examining the morphology and purity of these lines, valuable parental lines are obtained that can be used to produce F1 hybrids and produce good hybrid seeds.

Conclusion. According to the results of this project, lines that are resistant to important tomato diseases (Tomato mosaic virus (ToMV), yellow leaf curl virus (TYLCV), tomato spotted wilt virus (TSWV) and phytophthora fungus) were identified. The presence of all four types of resistance genes was identified in 15 lines (139, 107, 50, 125, 96, 105, 109, 106, 110, 58, 103, 112, 56, 101, 118). In the next stages, morphological data and molecular markers are used to examine the purity of these lines. Then, self-pollination of the identified resistant lines continues to obtain valuable parental lines, and as a result, by crossing them, F1 hybrid seeds can be produced in the country.

Cite this article: Esfandiar, A., Hoseinzadeh, A., Naghavi, M.R., & Salehi Mohammadi, R. (2026). Identification the resistance genes of four types of important diseases in tomato lines (*Solanum lycopersicum* L.). *Iranian Journal of Field Crop Science*, *57*(1), 153-161. DOI: 10.22059/ijfcs.2026.388811.655123.

© The Authors.

Publisher: University of Tehran Press.

DOI: 10.22059/ijfcs.2026.388811.655123

انتشارات دانشگاه تهران

علوم گیاهان زراعی ایران

شاپا الکترونیکی: ۸۰۸۲-۲۴۲۳

Homepage:https://ijfcs.ut.ac.ir/

شناسایی چهار ژن اصلی مقاومت به بیماری در لاین های گوجه فرنگی (*Solanum lycopersicum* L.)

اکرم اسفندیار [۱] | عبدالهادی حسین‌زاده [۲]✉ | محمدرضا نقوی [۳] | رضا صالحی‌محمدی [۴]

۱. گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکدگان کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران. رایانامه: a.esfandiar@ut.ac.ir
۲. نویسنده مسئول، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکدگان کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران. رایانامه: ahzadeh@ut.ac.ir
۳. گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکدگان کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران. رایانامه: mnaghavi@ut.ac.ir
۴. گروه علوم باغبانی، دانشکدگان کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران. رایانامه: salehir@ut.ac.ir

اطلاعات مقاله

نوع مقاله: مقالهٔ پژوهشی

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۱۱/۰۶
تاریخ بازنگری: ۱۴۰۴/۱۰/۲۲
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۱۱/۱۰

کلیدواژه‌ها:
بذر هیبرید،
ژن‌های مقاومت،
گوجه‌فرنگی،
لاین‌های والدی،
ویروس.

چکیده

گوجه‌فرنگی با نام علمی *Solanum lycopersicum* به‌صورت وسیعی در سرتاسر جهان در شرایط مزرعه و گلخانه کشت می‌شود. در سال‌های اخیر بذرهای هیبرید گوجه‌فرنگی به دلیل عملکرد بالاتر، تحمل تنش‌ها و مقاومت به بیماری‌ها مورد توجه زارعین واقع شده‌اند. بذر هیبرید که اشاره به بذر F_1 دارد، به‌طور مستقیم از تلاقی دو والد که از لحاظ ژنتیکی کاملا از هم دور هستند، ایجاد می‌شود. یک ژنوتیپ هتروزیگوس نمی‌تواند به صورت پایداری از طریق بذر تکثیر شود، زیرا در نسل F_2 به دلیل تفرق صفات، هتروزیگوستی کاهش می‌یابد؛ در نتیجه زارعین همه ساله مجبور به خرید بذر می‌باشند. در این پژوهش با کشت ده رقم از بذرهای هیبرید و تولید F_2 و سپس انتخاب و خودگرده‌افشانی بین‌آن‌ها تا نسل F_4 و در نتیجه تولید ۵۲ لاین، جهت تشخیص حضور ژن‌های مقاومت به بیماری‌های گوجه‌فرنگی از جمله قارچ فیتوفترا (*Phytophthora infestans*)، ویروس موزاییک گوجه‌فرنگی (ToMV)، ویروس پیچیدگی برگ زرد (TYLCV) و ویروس پژمردگی لکه‌ای گوجه‌فرنگی (TSWV) با استفاده از پرایمرهای اختصاصی مورد بررسی قرار گرفتند. با توجه به نتایج به‌دست‌آمده مشخص شد که در ۱۵ لاین (۱۳۹، ۱۰۷، ۵۰، ۱۲۵، ۹۶، ۱۰۵، ۱۰۹، ۱۰۶، ۱۱۰، ۵۸، ۱۰۳، ۱۱۲، ۵۶، ۱۰۱، ۱۱۸) ژن‌های مقاومت به هر چهار نوع بیماری حضور دارند.

استناد: اسفندیار، ا.، حسین‌زاده، ع.، نقوی، م.ر.، و صالحی‌محمدی، ر. (۱۴۰۵). شناسایی ژن‌های مقاومت چهار نوع از بیماری‌های مهم در لاین‌های گوجه‌فرنگی (*Solanum lycopersicum* L.). *علوم گیاهان زراعی ایران*، *۵۷*(۱)، ۱۵۳-۱۶۱.
DOI: 10.22059/ijfcs.2026.388811.655123

ناشر: موسسه انتشارات دانشگاه تهران.

© نویسندگان

۱. مقدمه

گوجه‌فرنگی (*Solanum lycopersicum L.*) یکی از مهم‌ترین اعضای خانواده Solanaceae می‌باشد و به‌طور گسترده در سراسر جهان کشت می‌شود. گوجه‌فرنگی اولین بار در اواسط قرن شانزدهم در اروپا و هند و احتمالا در طول قرن هفدهم توسط پرتغالی‌ها معرفی شده است (Kalloo, 1991). مصرف گوجه‌فرنگی و فرآورده‌های آن می‌تواند به‌طور قابل‌توجهی خطر ابتلا به کولون، رکتوم و سرطان معده را که به دلیل ارزش غذایی آن و وجود لیکوپن و فلاونوئیدها است کاهش دهد و بیشتر به عنوان غذای محافظ در نظر گرفته می‌شود (Sepat *et al*., 2013). ترکیب ماده‌خشک موجود در گوجه‌فرنگی عمدتاً از قندها، گلوکز و فروکتوز، اسیدهای‌آلی (سیتریک و اسیدمالیک)، مواد معدنی، (N، P و K)، ویتامین‌ها و رنگدانه‌های آنتی‌اکسیدانی مانند لیکوپن تشکیل شده است (Carvalho, 1980). سطح زیر کشت گوجه‌فرنگی در جهان بیش از ۴ تا ۵ میلیون هکتار و در ایران حدود ۱۳۹ تا ۱۹۸ هزار هکتار در سال‌های اخیر بوده است. با این حال، این محصول در ایران با تعدادی از تنش‌های زیستی و غیرزیستی مواجه است که باعث کاهش عملکرد می‌شود. طبق گزارش‌های محققان مختلف (Ashish *et al*., 2020, Raghuveer *et al*., 2025, Najeeb *et al*., 2017) گیاه گوجه‌فرنگی نسبت به ویروس‌های پیچ‌خوردگی برگ زرد گوجه‌فرنگی (TYLCV)، پژمردگی لکه‌دار گوجه‌فرنگی (TSWV)، موزاییک گوجه‌فرنگی (ToMV) و قارچ فیتوفترا (*Phytophthora infestans*) حساسیت و کاهش عملکرد دارد. در واقع گوجه‌فرنگی مستعد ابتلا به بسیاری از عوامل بیماری‌زا است که رشد و نمو آنها را محدود یا به‌طور کامل از بین می‌برد (Klee & Giovannoni, 2011). به‌طور خاص، شرایط نامطلوب مانند ویروس‌ها، باکتری‌ها، نماتدها و قارچ‌ها که باعث ایجاد تنش‌های زیستی می‌شوند، کشت گوجه‌فرنگی را محدود می‌کنند و باعث کاهش عملکرد قابل‌توجهی می‌شوند (Grube *et al*., 2000). در حالی که بیماری‌های ویروسی باعث تلفات ۸۰ تا ۱۰۰ درصدی در کشت گوجه‌فرنگی می‌شوند (Ates *et al*., 2019)، سایر عوامل تنش زیستی مانند قارچ‌ها باعث کاهش ۲۰ تا ۴۰ درصدی عملکرد می‌شوند. علاوه بر این‌که روش‌های مختلفی مانند آفت‌کش‌های شیمیایی و تناوب زراعی در مبارزه با بیماری‌ها و آفات استفاده می‌شوند، یک روش ویژه استفاده از گونه‌های مقاوم است (Hull, 2009).

ویروس پیچ‌خوردگی برگ زرد گوجه‌فرنگی (Tomato Yellow Leaf Curl Virus) (TYLCV) از خانواده Begomovirus یک بیماری ویروسی است که روش کنترل شیمیایی ندارد و باعث کاهش عملکرد بالا می‌شود. چندین ژن مقاوم در برابر TYLCV در گونه‌های وحشی یافت شدند (Gill *et al*., 2019). یکی دیگر از بیماری‌های ویروسی که کشت گوجه‌فرنگی را محدود می‌کند، ویروس پژمردگی لکه‌دار گوجه‌فرنگی (Tomato spotted wilt virus) (TSWV) متعلق به جنس *Tospovirus* است. این ویروس خسارت زیادی به کشت‌های گوجه‌فرنگی وارد می‌کند. حضور هشت ژن مقاومت TSWV در گونه‌های وحشی گوجه‌فرنگی تعیین شد (Stevens *et al*., 1991). ویروس موزاییک گوجه‌فرنگی (Tomato Mosaic Virus) (ToMV) از جنس *Tobamovirus* و خانواده Virgaviridae می‌باشد؛ به شدت بر تولید گوجه‌فرنگی در سراسر جهان تأثیر می‌گذارد؛ بسیار پایدار و مسری است، به‌ویژه برای تولید گوجه‌فرنگی گلخانه‌ای مشکل‌ساز است. گیاهان گوجه‌فرنگی آلوده به ToMV چین و چروک نشان می‌دهند، خال‌خال سبز روشن یا زرد، برگ‌های منحنی، توقف رشد با رسیدن نامنظم میوه‌ها را نشان می‌دهند. برای مقابله با این مشکل تولید واریته‌های هیبرید مقاوم ToMV موفق‌ترین رویکرد است (Sahar Nadeem *et al*., 2022). قارچ فیتوفترا (*Phytophthora infestans*) از خانواده Peronosporaceae و شاخه *Omycota* باعث پوسیدگی ساقه، برگ و میوه گوجه‌فرنگی می‌شود. اصلاح نژاد برای مقاومت در برابر *P. infestans* در گوجه‌فرنگی کشت‌شده منجر به شناسایی سه ژن مقاوم *Ph-1*، *Ph-2* و *Ph-3* شده است (Shekasteband *et al*., 2015).

امنیت غذایی جهانی، خواستار توسعه فناوری‌های جدید برای افزایش محصولات کشاورزی امن و پرطرفدار در زمین‌های زراعی محدود، آن هم بدون افزایش مصرف آب و کود است. یکی از این فناوری‌های جدید، تولید بذر هیبرید است که دارای توانایی بالایی برای افزایش عملکرد می‌باشد. اقبال عمومی به سمت هیبریدهای F_1 به‌واسطه قوی‌بودن، یکنواخت‌بودن میوه‌ها، مقاومت به بیماری‌ها، تحمل تنش‌ها و صفات خوب کشاورزی شامل زودرسی و تولید پایدار محصول می‌باشد (Farsi *et al*., 1383). در بسیاری از گیاهان زراعی بنیه هیبرید برای به‌دست‌آوردن واریته‌هایی با عملکرد بالا ضروری می‌باشد. اما، یک ژنوتیپ هتروزیگوس

نمی‌تواند به صورت پایداری از طریق بذر تکثیر شود، زیرا کروموزوم‌های والدینی قبل از رسیدن به نتاج، تفرق یافته و به صورت جدیدی آرایش می‌یابند. همچنین هتروزیگوس‌ها اگر به‌صورت جنسی تکثیر یابند ژنوتیپ مطلوب خود را از دست خواهند داد (Erik *et al*., 2012). در کشورهای پیشرفته ، تولید بذر هیبرید و فروش آن عمدتا توسط سازمان‌های تجاری انجام می‌شود و به دلیل نگهداری لاین‌های اینبرد توسط آن‌ها به عنوان یک سرمایه خصوصی، زارعین همه ساله مجبور به خرید بذر از آن‌ها هستند. این موضوع مخصوصاً برای کشور ما به دلیل بذور هیبرید وارداتی دارای اهمیت بسیاری است. افزایش سطح زیرکشت بذور هیبرید در کشور و خروج سالانه میلیاردها تومان جهت خرید این بذور از خارج از کشور، نیاز به تولید بذور هیبرید در کشور را بیش از پیش آشکار می‌کند (Farsi *et al*., 1383). همان‌طور که در متن فوق ذکر شد، در حال حاضر، بیشتر اراضی تحت کشت گوجه‌فرنگی در ایران و جهان، به‌وسیله ارقام هیبرید می‌باشند؛ به‌خصوص در ایران که قسمت عمده از بذرهای وارداتی به‌دست می‌آیند و یکی از چالش‌ها این است که ارقام تولید داخل در سطح خیلی محدودی وجود دارند که به اندازه کافی نمی‌باشند. یکی از وظایفی که اصلاحگرها دارند تولید هیبریدهای داخلی است. یکی از روش‌هایی که برای تولید بذر هیبرید استفاده می‌شود اصلاح معکوس می‌باشد.

اصلاح معکوس (Reverse Breeding) یک تکنیک اصلاح نباتات جدید است که می‌تواند برای ایجاد لاین والدینی هموزیگوت از گیاهان هتروزیگوت استفاده شود. در این تکنیک، از طریق خودگشنی هیبرید F_1، نسل F_2 در حال تفکیک ایجاد می‌شود (Mandeep Kumar *et al*., 2019). از نسل F_2 تا رسیدن به لاین‌های هموزیگوت که معمولا تا نسل F_6 می‌باشد در هر نسل انتخاب بین لاین‌ها با صفات کیفی و کمّی صورت می‌گیرد. اصلاح معکوس فنوتیپی هیبرید تجاری گوجه‌فرنگی رقم آماریس در شهرکرد در سال ۱۴۰۱ انجام شد. در این تحقیق، رقم آماریس (گوجه‌گیلاسی) به عنوان یک رقم مطلوب کشت شد. در سال بعد، حدود ۱۰۰ بذر خودگشن حاصل از میوه‌های رسیده این رقم جمع‌آوری و مجددا با بذرهای هیبرید آماریس کاشته شد و صفات مورد نظر آن‌ها ثبت شد. بر اساس شباهت با والدین، ژنوتیپ‌ها انتخاب شدند. انتظار می‌رود هیبرید آماریس از تلاقی گیاهان منفرد مشابه این گروه‌ها پس از خالص‌سازی به‌دست آید. در واقع با انتخاب و خالص‌سازی نتاج، می‌توان به والدینی برای تولید هیبرید تجاری مشابه آماریس دست یافت (Heydarian *et al*., 2024). در گزارشی لاین‌های نوترکیب حاصل هیبرید F_1 گوجه‌فرنگی و امکان تولید لاین‌هایی که در بعضی شرایط، عملکردی نزدیک به هیبریدها دارند مورد بررسی قرار گرفت. در این تحقیق بذر هیبرید F_1 گوجه به عنوان منبع اولیه کشت شد و لاین‌های نوترکیب با روش‌های کلاسیک (segration selection) ایجاد شدند. انتخاب لاین‌ها با صفات کلیدی که بر اساس ویژگی‌های زراعی (عملکرد، مقاومت به بیماری و صفات میوه) بودند انجام شد. بعضی لاین‌ها عملکرد نزدیک به هیبرید داشتند و می‌توانستند به عنوان والد یا منبع ژنتیکی در اصلاح بعدی استفاده شوند (Ilias *et al*., 2021). یکی از کارهایی که در اصلاح معکوس انجام می‌شود و در انتخاب لاین‌ها مهم است، بجز صفات مورفولوژی و عملکردی، صفات مقاومت به بیماری‌ها می‌باشد که ازاهمیت ویژه‌ای برخوردار است. برای شناسایی بیماری‌ها از روش‌های مولکولی استفاده می‌شود. Supaporn *et al*. (2005)، Joy *et al*. (2025) از PCR و روش‌هایی بر پایه PCR برای تشخیص ویروس پیچ‌خوردگی برگ زرد گوجه‌فرنگی (TYLCV) استفاده کردند. Kumar *et al*. (2011) برای شناسایی ویروس موزاییک گوجه‌فرنگی (ToMV)، روش RT-PCR را به‌کار بردند. Haya *et al*. (2018) از روش‌هایی بر پایه PCR برای شناسایی بیماری فیتوفترا (*Phytophthora infestans*) در گوجه‌فرنگی استفاده کردند.

بیماری‌های ویروسی و قارچ‌ها از عوامل مهم کاهش عملکرد و کیفیت محصول گوجه‌فرنگی به شمار می‌روند و کنترل آن‌ها به دلیل ماهیت بیماری‌زا با چالش‌های متعددی همراه است. در این میان استفاده از ارقام و هیبریدهای مقاوم، به عنوان موثرترین و پایدارترین راهکار مدیریتی، مورد توجه برنامه‌های اصلاح‌نباتات قرار دارد. اگرچه پژوهش‌هایی از جمله Ilias *et al*. (2021)، Heydarian *et al*. (2024) به تولید لاین‌های والدی از هیبرید F_1 گوجه‌فرنگی با بررسی صفات مورفولوژیکی پرداخته‌اند، اما مطالعه حاضر با رویکردی متفاوت انجام شده است. در این پژوهش، لاین‌هایی که ما تولید کردیم از لحاظ صفات مقاومت به بیماری‌های ویروسی و قارچی نیاز است که مورد بررسی قرار بگیرند. هدف ما در این پژوهش این است که لاین‌های انتخابی در نسل F_4 از لحاظ وجود ژن‌های مقاومت به بیماری‌های گوجه‌فرنگی از جمله قارچ فیتوفترا (*Phytophthora infestans*)، ویروس موزاییک

گوجه‌فرنگی (ToMV)، ویروس پیچیدگی برگ زرد (TYLCV) و ویروس پژمردگی لکه‌ای گوجه‌فرنگی (TSWV) بررسی و لاین‌های دارای این ژن‌ها مشخص شده و به عنوان والدهای ارزشمند و بالقوه هیبریدها مورد استفاده قرار گیرند.

۲. روش‌شناسی پژوهش

ده رقم از بذرهای هیبرید شامل بریویو، هیراد، متین، سوپرست، باسیمو، تیوا ۷۵، بدرو، ۸۳۲۰، کاپتان و جواهر از شرکت گران‌دانه البرز تهیه و در مزارع تحقیقاتی گروه زراعت و اصلاح‌نباتات دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج کشت شدند. مواد گیاهی مورد استفاده در این پژوهش، شامل ۵۲ لاین از نسل چهارم (F_4) حاصل از خودگشنی این ارقام هیبرید می‌باشند. هر لاین به‌صورت پشته‌های دو ردیفه، فاصله بین هر لاین در هر ردیف ۵۰ سانتی‌متر، فاصله بین بوته‌ای در هر ردیف ۵۰ سانتی‌متر، طول هر ردیف ۲۴ متر و تعداد بوته در هر لاین ۸ عدد می‌باشد.

۲-۱. روش مولکولی

برای شناسایی ژن‌های مقاومت به بیماری‌های گوجه‌فرنگی شامل قارچ فیتوفترا (PH)، ویروس موزاییک گوجه‌فرنگی (ToMV)، ویروس پیچیدگی برگ زرد (TYLCV) و ویروس پژمردگی لکه‌ای گوجه‌فرنگی (TSWV) از چهار نوع پرایمر (جدول ۱) استفاده شد. برای گرفتن نمونه، ۲۸ روز بعد از کشت، از برگ‌های دو بوته در هر لاین به‌صورت تصادفی نمونه‌گیری شد. بلافاصله نمونه‌های برگ تازه و جوان با کمک ازت مایع منجمد و در فریزر ۸۰ – درجه سانتیگراد نگهداری شدند. نمونه‌های برگی منجمد با استفاده از ازت مایع پودر و میزان ۰/۲ گرم از هر نمونه به منظور استخراج DNA ژنومی در تیوب دو میلی‌لیتری ریخته شد. استخراج DNA ژنومی با استفاده از دستورالعمل CTAB انجام شد (Sahar Nadeem *et al*., 2022). با استفاده از PCR گرادیانت تکثیر آغازگرها در دماهای مختلف بررسی و دمای مناسب انتخاب و واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز انجام شد. اجزای واکنش زنجیره‌ای‌پلی‌مراز برای آغازگرهای مقاومت به بیماری‌ها برای تهیه ۲۵ میکرولیتر مخلوط اجزای واکنش زنجیره‌ای‌پلی‌مراز به‌ترتیب شامل ۲/۵ میکرولیتر PCR buffer، ۰/۷۵ میکرولیتر کلرید منیزیوم، ۰/۷ میکرولیتر dNTP، ۱/۲ میکرولیتر آغازگرهای رفت و برگشت، ۰/۳ میکرولیتر تک پلی‌مراز (ما از Master Mix PCR استفاده کردیم که شامل dNTP، تک پلی‌مراز، کلرید منیزیم و بافر واکنش می‌باشد) و دو میکرولیتر DNA بود. برنامه حرارتی واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز عبارت بود از: چرخه نخست، دو دقیقه در دمای ۹۵ درجه سانتیگراد، ۳۵ چرخه بعدی شامل ۹۵ درجه سانتیگراد به مدت یک دقیقه، دمای اتصال هر کدام از پرایمرها (جدول ۱) به مدت یک دقیقه و ۷۲ درجه سانتیگراد به مدت یک دقیقه و چرخه نهایی ۷۲ درجه سانتیگراد به مدت پنج دقیقه.

جداسازی قطعات تکثیر شده با استفاده از ژل آگارز دو درصد، آشکارسازی قطعات تکثیر شده نیز با رنگ‌آمیزی توسط DNA Gel Stain و عکس‌برداری با دستگاه ژل‌داک با استفاده از نور ماورای بنفش انجام شد. تجزیه و تحلیل مولکولی هم به صورت حضور (عدد یک) و عدم حضور باند (عدد صفر) به کمک نرم‌افزار NTsys (Ver. 2.02) انجام شد.

جدول ۱. آغازگرهای مورد استفاده برای تعیین ژن‌های مقاومت بیماری‌ها.

Table1. Primers used to determine disease resistance genes.

Primer name	5' – 3'	Resistance against	Band length (bp)	Anneling temperature (C°)	References
Ph3HRM-F	CAACATCACGGATACAAGTAACAA	Phytophthora	100	58	Jungsu *et al*., 2015
Ph3HRM-R	CATGATCCAAACCGATGACC	Phytophthora			
HrmTo-F	CCCAAATTAAGAAAACTTAAAATG	ToMV	100	59	Paul Arens *et al.*, 2010
HrmTo-R	CCGTGCACGTTACTTCAGACAA	ToMV			
Ty1-F	ACCATCAGTATGTATACGAGGTTCG	TYLCV	200	58	
Ty1-R	TCTTGATTCTGTCACCATTGAAAGA	TYLCV			
Sw5b-SNP-F	TTATTGTTTCTCGCTTTGATGTTCG	TSWV	100	59	Shiming *et al.*, 2021
Sw5b-SNP-R	GAACCTGTAACTTGACTGAAAATATC	TSWV			

۳. یافته‌های پژوهش و بحث

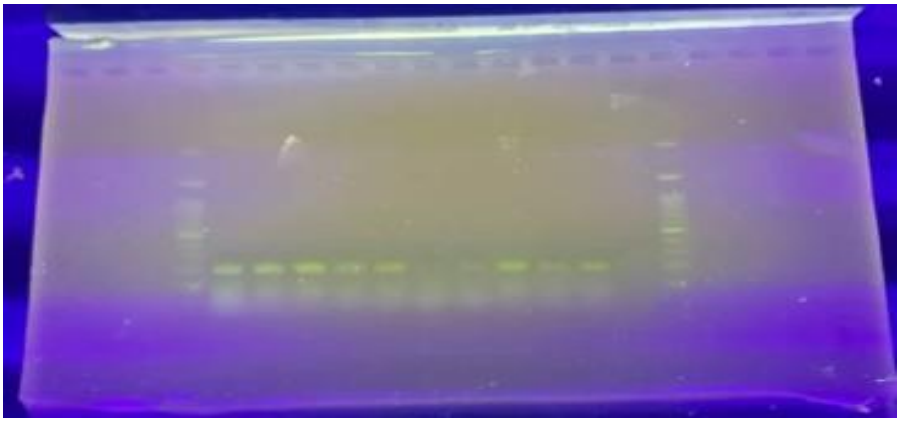
در این پژوهش با استفاده از آغازگرهای تخصصی برای ژن‌های مقاومت به بیماری‌های ویروس موزاییک گوجه‌فرنگی (ToMV)، ویروس پیچیدگی برگ زرد (TYLCV)، ویروس پژمردگی لکه‌ای گوجه‌فرنگی (TSWV) و قارچ فیتوفترا حضور و عدم حضور این

ژن‌ها در لاین‌های گوجه‌فرنگی مورد بررسی قرار گرفتند. حضور هر چهار نوع ژن مقاومت در ۱۵ لاین (۱۳۹، ۱۰۷، ۵۰، ۱۲۵، ۹۶، ۱۰۵، ۱۰۹، ۱۰۶، ۱۱۰، ۵۸، ۱۰۳، ۱۱۲، ۵۶، ۱۰۱، ۱۱۸) شناسایی شد. در نه لاین (۱۰۲، ۹۳، ۷۵، ۱۰۸، ۸۹، ۱۶۷، ۵۴، ۹۵، ۱۱۶) هیچ یک از ژن‌های مقاومت شناسایی نشدند. لاین ۹۹ دارای ژن‌های مقاومت به بیماری‌های ویروس پژمردگی لکه‌ای گوجه‌فرنگی (TSWV) و ویروس موزاییک گوجه‌فرنگی (ToMV) می‌باشد. لاین‌های ۶۳، ۶۴، ۷۹، ۷۳ دارای ژن‌های مقاومت به بیماری‌های ویروس موزاییک گوجه‌فرنگی (ToMV) و قارچ فیتوفترا می‌باشند. لاین‌های ۹۴، ۶۶، ۷۱، ۱۱۱، ۱۲۹، ۷۴ دارای ژن‌های مقاومت به بیماری‌های ویروس موزاییک گوجه‌فرنگی (ToMV)، ویروس پژمردگی لکه‌ای گوجه‌فرنگی (TSWV) و قارچ فیتوفترا می‌باشند. لاین‌های ۱۳۴، ۸۶، ۱۴۰ دارای ژن‌های مقاومت به بیماری‌های ویروس موزاییک گوجه‌فرنگی (ToMV)، ویروس پیچیدگی برگ زرد (TYLCV) و قارچ فیتوفترا می‌باشند. لاین ۹۷ دارای ژن مقاومت به بیماری ویروس پژمردگی لکه‌ای گوجه‌فرنگی (TSWV) می‌باشد. لاین‌های ۱۰۴ و ۱۲۷ دارای ژن‌های مقاومت به بیماری ویروس موزاییک گوجه‌فرنگی (ToMV) و ویروس پیچیدگی برگ زرد (TYLCV) می‌باشند. لاین‌های ۸۲ و ۶۷ دارای ژن‌های مقاومت به ویروس پیچیدگی برگ زرد (TYLCV) و قارچ فیتوفترا می‌باشند. لاین‌های ۵۱، ۱۰۰، ۱۹۸ دارای ژن‌های مقاومت به ویروس پیچیدگی برگ زرد (TYLCV) و ویروس پژمردگی لکه‌ای گوجه‌فرنگی (TSWV) می‌باشند. لاین‌های ۷۰، ۵۹، ۱۳۱،۶۰، ۱۳۲، ۷۷ دارای ژن مقاومت به ویروس پیچیدگی برگ زرد (TYLCV) می‌باشند (جدول ۲). الگوی نواری ایجادشده توسط پرایمر Ty با استفاده از ژل آگارز دو درصد نشان می‌دهد که لاین‌های ۱۳۱، ۱۱۰، ۱۰۴، ۵۹، ۱۴۰، ۶۰، ۱۹۸، ۷۷، ۱۳۹ دارای ژن مقاومت به ویروس پیچیدگی برگ زرد (TYLCV) می‌باشند و لاین ۷۴ این ژن را ندارد (شکل ۱). الگوی نواری ایجادشده توسط پرایمر PH3 با استفاده از ژل آگارز دو درصد نشان می‌دهد که لاین‌های ۱۳۴، ۱۱۰، ۸۶، ۱۰۱، ۶۶، ۷۹، ۹۴، ۶۷، ۱۱۱، ۷۱ دارای ژن مقاومت به قارچ فیتوفترا (*Phytophthora infestans*) می‌باشند (شکل ۲).

هیبریدهای گوجه‌فرنگی به دلیل پتانسیل بالای عملکرد، در میان تولیدکنندگان محبوبیت یافته‌اند. آن‌ها در تولیدات تجاری به‌طور گسترده مورد استفاده قرار می‌گیرند، زیرا کشاورزان تمایل دارند برای افزایش درآمد خود ارقام هیبرید کشت کنند، چرا که این ارقام از نظر عملکرد، زودرسی و کیفیت میوه برتری دارند (Ilias *et al.*, 2021). اما یکی از مشکلات بذر هیبرید این است که در نسل F2 به دلیل تفرق صفات، هتروزیگوستی کاهش می‌یابد؛ در نتیجه زارعین همه ساله مجبور به خرید بذر که اکثرا وارداتی هستند، می‌باشند. بنابراین نیاز است که با داشتن لاین‌های والدی، خودمان در کشور به تولید بذر هیبرید اقدام کنیم.

گوجه‌فرنگی به خودگشنی متحمل است و این ویژگی امکان ایجاد و نگهداری لاین‌های درون‌زاد را فراهم می‌کند. طبق مطالعه Ilias و همکاران بعضی لاین‌ها عملکرد نزدیک به هیبرید داشتند و می‌توانستند به عنوان والد یا منبع ژنتیکی در اصلاح بعدی استفاده شوند (Ilias *et al.*, 2021). در بررسی‌های انجام شده توسط Heydarian و همکاران پس از خودگشنی هیبرید تجاری آماریس گفته شده که می‌توان با انتخاب و خالص‌سازی نتاج، به والدینی برای تولید هیبرید گوجه‌فرنگی دست یافت (Heydarian *et al.*, 2024). پژوهش ما هم نشان داد که برخی از لاین‌های ایجادشده از هیبریدهای گوجه‌فرنگی، دارای ژن‌های مقاومت به بیماری‌ها مشابه هیبریدها هستند.

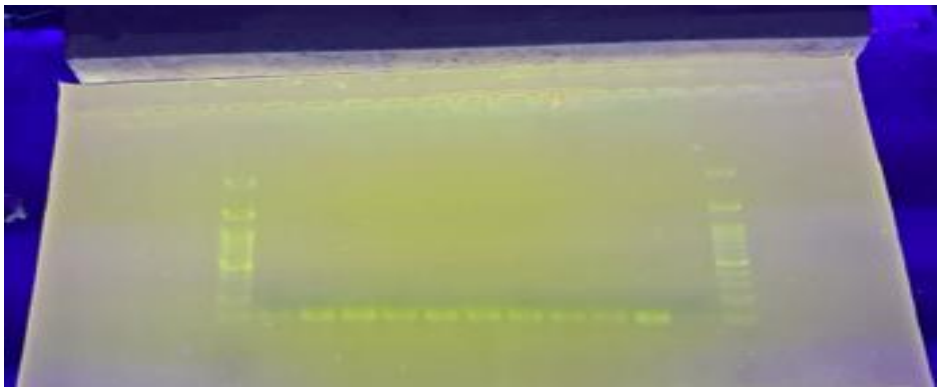
طبق گزارش‌های Joy *et al.* (2025)، Haya *et al.* (2011) و Supaporn *et al.* (2005)، PCR و روش‌هایی بر پایه PCR برای شناسایی بیماری‌های ویروس پیچیدگی برگ زرد (TYLCV) و قارچ فیتوفترا (*Phytophthora infestans*) در گوجه‌فرنگی مناسب می‌باشند. طبق پژوهش ما، ویروس پیچیدگی برگ زرد (TYLCV)، قارچ فیتوفترا (*Phytophthora infestans*)، ویروس پژمردگی لکه‌ای گوجه‌فرنگی (TSWV) و ویروس موزاییک گوجه‌فرنگی (ToMV) با استفاده از PCR و پرایمرهای اختصاصی شناسایی شدند. بنابراین در این پژوهش لاین‌های مقاومت به بیماری‌های ویروسی و قارچی گوجه‌فرنگی از جمله ویروس موزاییک گوجه‌فرنگی (ToMV)، ویروس پیچیدگی برگ زرد (TYLCV)، ویروس پژمردگی لکه‌ای گوجه‌فرنگی (TSWV) و قارچ فیتوفترا (*Phytophthora infestans*) شناسایی شدند؛ سپس در مراحل بعد با بررسی مورفولوژی و خلوص این لاین‌ها، لاین‌های والدی ارزشمندی به‌دست می‌آید که می‌توان برای تولید هیبریدهای F_1 از آن‌ها استفاده و بذر هیبرید خوبی تولید کرد.



شکل ۱. الگوی نواری ایجادشده توسط پرایمر Ty. ژل آگارز دو درصد. طول باند ۲۰۰bp.

(به‌ترتیب از چپ به راست: DNA Ladder، ۱۳۱، ۱۱۰، ۱۰۴، ۵۹، ۱۴۰، ۷۴، ۶۰، ۱۹۸، ۷۷، ۱۳۹ ،کنترل منفی و DNA Ladder).

Figure 1. Banding pattern created by Ty primer. 2% agarose gel. Band length 200bp.
(From left to right: DNA Ladder, 131, 110, 104, 59, 140, 74, 60, 198, 77, 139, negative control, and DNA Ladder).



شکل ۲. الگوی نواری تولیدشده توسط پرایمر PH3. ژل آگارز دو درصد. طول باند ۱۰۰bp.

(به‌ترتیب از چپ به راست: DNA Ladder، ۱۳۴، ۱۱۰، ۸۶، ۱۰۱، ۶۶، ۷۹، ۹۴، ۶۷، ۱۱۱، ۷۱ ،کنترل منفی و DNA Ladder).

Figure 2. Banding pattern produced by PH3 primer. 2% agarose gel. Band length 100bp.
(From left to right: DNA Ladder, 134, 110, 86, 101, 66, 79, 94, 67, 111, 71, negative control, and DNA Ladder).

جدول ۲. شناسایی ژن‌های مقاومت چهار نوع بیماری در لاین‌های گوجه‌فرنگی (الگوی نواری لاین‌های گوجه با استفاده از آغازگرها در ژل آگارز).

Table 2. Identification of resistance genes for four types of diseases in tomato lines (banding pattern of tomato lines using primers in agarose gel).

L	131	70	67	127	139	107	502	925	1005	1109	1111	1271	1279	1273	1063	1076	1074	1059	1510	1584	1596	1616	1660	1679	1803	1812	1819	1864	1840	1908	1932	1975	1950	1510	1578	1732	1997	1956	1011	1141	1181	1863	1834	1549	1499	1697	1995
P																																																	
Ty	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Sw5b-SNP					-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Hrmto			-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ph3		-		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

(L: LINE, P: PRIMER, Ty: Tomato Yellow Leaf Curl Virus (TYLCV), Sw5b-SNP-F: Tomato Spotted Wilt ripening Virus (TSWV), Hrmto: Tomato Mosaic Virus (ToMV), PH3: *Phytophthora infestans*).

جدول ۳. الگوی نواری ده رقم بذرهای هیبرید گوجه‌فرنگی.
Table 3. Banding pattern of ten varieties of hybrid tomato seeds.

Hybrid Primer	Matin	Hirad	Javaher	Superset	8320	Capitan	Bassimo	Bedro	Brivio	Tiva 75
Ty		-	-	-	-	-	-	-	-	-
Sw5b-SNP	-				-		-		-	
HrmTo	-				-	-	-		-	
Ph3				-	-	-	-		-	

(Ty: Tomato Yellow Leaf Curl Virus (TYLCV), Sw5b-SNP-F: Tomato Spotted Wilt ripening Virus (TSWV), Hrmto: Tomato Mosaic Virus (ToMV), PH3: *Phytophthora infestans*).

۴. نتیجه‌گیری

طبق نتایج به‌دست‌آمده از این طرح، لاین‌هایی که دارای مقاومت به بیماری‌های مهم گوجه‌فرنگی (ویروس موزاییک گوجه‌فرنگی (ToMV)، ویروس پیچیدگی برگ زرد (TYLCV) و ویروس پژمردگی لکه‌ای گوجه‌فرنگی (TSWV) و قارچ فیتوفترا) هستند، شناسایی شدند. حضور هر چهار نوع ژن مقاومت در ۱۵ لاین (۱۳۹، ۱۰۷، ۵۰، ۱۲۵، ۹۶، ۱۰۵، ۱۰۹، ۱۰۶، ۱۱۰، ۵۸، ۱۰۳، ۱۱۲، ۵۶، ۱۰۱، ۱۱۸) شناسایی شد. در مراحل بعدی برای بررسی خلوص این لاین‌ها، از داده‌های مورفولوژی و مارکرهای مولکولی استفاده می‌شود. سپس خودگشنی لاین‌های مقاوم شناسایی‌شده ادامه پیدا می‌کند تا لاین‌های والدی ارزشمندی به‌دست آید و در نتیجه با تلاقی بین آنها، می‌توان بذرهای هیبرید F_1 را در کشور تولید کرد. با توجه به افزایش سطح زیرکشت بذور هیبرید در کشور و خروج سالانه میلیاردها تومان جهت خرید این بذور از خارج از کشور نیاز به تولید بذور هیبرید در کشور را بیش از پیش آشکار می‌کند و بدون شک تولید این بذور مقدمه‌ای برای ایجاد خودکفایی در تولید بسیاری از محصولات کشاورزی خواهد بود.

۵. منابع

Arens, P., Mansilla, C., Deinum, D., Cavellini, L., Moretti, A., and *et al*. (2010). Development and evaluation of robust molecular markers linked to disease resistance in tomato for distinctness, uniformity and stability testing. *Theoretical and Applied Genetics, 120,* 655–664.

Ashish, P., Namisha, S., Gunaseelen, H., Mehanathan, M., & Manoj, P. (2020). Tomato yellow leaf curl virus: Impact, challenges, and management. *Cell Press, 25*(9), 897-911.

Ates, C., Fidan, H., Karacaoglu, M., & Dasgan, H. (2019). The identification of the resistance levels of *Fusarium oxysporum* f. sp. radicis-lycopersici and tomato yellow leaf curl viruses in different tomato genotypes with traditional and molecular methods. *Applied Ecology and Environmental Research, 17*(2), 2203-2218.

Carvalho, V.D. (1980). Chemical and industrial characterstics of tomato. *Agricultural Report, Belo Horizonte, 6*, 63-68.

Erik, W., Dun, K.V., Bastiaan de Snoo, C., Cilia, L.C., Lelivelt, J.B., Keurentjes, N.S., Ravi, M., Simon Chan, W.L., Jong, K., & Dirks, R. (2012). Reverse breeding in *Arabidopsis thaliana* generates homozygous parental lines from a heterozygous plant. *Nature Geneticse, 44*(4).

Farsi, M., & Bagheri, A. (1383). Principles of Plant Breeding. Jihad Daneshgahi Publications, Mashhad. (In Persian).

Gill, U., Scott, J.W., Shekasteband, R., Ogundiwin, E., Schuit, C., Francis, D.M., Sim, S.C., Smith, H., & Hutton, S.F. (2019). Ty-6, a major begomovirus resistance gene on chromosome 10, is effective against tomato yellow leaf curl virus and tomato mottle virus. *Theoretical and Applied Genetics, 132*(5), 1543-1554.

Grube, R.C., Radwanski, E.R., & Jahn, M. (2000). Comparative genetics of disease resistance within the solanaceae. *Genetics, 155*(2), 873-887.

Haya, K., Atul, G., & Sanjai, K. (2018). PCR-based methods for identification and detection of *Phytophthora infestans* in infected leaves of tomato. *Defence Life Science Journal, 3*(1), 41-44.

Heydarian, A., Olfati, J.A., Zakizadeh, H., & Rahimi Ajdadi, F. (2024). Tomato hybrid cv. Amaris phenotypic reverse breeding. *Journal of Research in Horticultural Science, 2*(2), 307-326.

Hull, R. (2009). Comparative plant virology, Academic press, p. Norwich, UK.

Ilias, D.A., Rafail, T., Ioannis, M., Ioannis, N.X., Athanasios, G.M., & Athanasios, G.M. (2021). Assessment of tomato recombinant lines in conventional and organic farming systems for productivity and fruit quality traits. *Agronomy, 11*(1). 129.

Joy, M., Rocky, M., Sultana, M., Kumkum, M., & Hossain, M.B. (2025). Evaluation of selected tomato cultivars effectiveness against tomato yellow leaf curl virus (TYLCV) and its PCR-based molecular detection. *European Journal of Agriculture and Food Sciences.*

Jungsu, J., Hyun Jung, K., Je Min, L., Chang, S.O., Hyung-Jin, L., & Inhwa, Y. (2015). Gene-based molecular marker system for multiple disease resistances in tomato against tomato yellow leaf curl virus, late blight, and verticillium wilt. *Euphytica*, *205*, 599–613.

Kalloo, G. (1991). Genetic improvement of tomato, monographs on theoretical and applied genetics. Springer-Verlag, Berlin.1-9.

Klee, H.J., & Giovannoni, J.J. (2011).Genetics and control of tomato fruit ripening and quality attributes. *Annual Review of Genetics*, *45*, 41-59.

Kumar, S., Udaya Shankar, A.C., Nayaka, S.C., Lund, O.S., & Prakash, H.S. (2011). Detection of tobacco mosaic virus and tomato mosaic virus in pepper and tomato by multiplex RT–PCR. *Letters in Applied Microbiology,* 0266-8254.

Kumar, M., Avinashe, H.A., Dubey, N., Ram, K., Kaur, S., & Kalubarme, S. (2019). Reverse breeding: Creating parental line for a heterozygous plant and its complication. *Annals of Biology*, *35*(1), 50-54.

Nadeem, S., Ullah, N., Akhtar, K.P., Hameed, A., & Saleem, M.Y. (2022). Evaluation of tomato hybrids for resistance against tomato mosaic virus (ToMV). *Journal of Botanical Research*, *4*(2).

Najeeb, U., Asad, A., Musharaf, A., Muhammd, F., Naseerud, D., & Fayaz, A. (2017). Evaluation of tomato genotypes against Tomato Mosaic Virus (ToMV) and its effect on yield contributing parameters. *Pakistan Journal of Botany*, *49*(4), 1585-1592.

Raghuveer, S., Neelam, S., Angami, T., Touthang, L., & Kalita, H. (2025). Impact of late blight (*Phytophthora infestans*) on tomato yield and its environmental correlation. *Indian Phytopathology*, *78*(5).

Sepat, N.K., Sepat, S.R., Sepat, S., & Kumar A. (2013). Energy use efficiency and cost analysis of tomato under greenhouse and open field production system at Nubra valley of Jammu and Kashmir. *International Journal of Environmental Sciences*, *3*(4), 1233-1241.

Shekasteband, R., Samuel, F.H., & Jay, W.S. (2015). Designing new DNA markers and determining the effective size of Ph-2 and Ph-3 introgressions for late blight resistance stacking purposes in tomato. *Research Reports, 65.*

Shiming, Qi., Shijie, Zh., Monirul Islam, Md., Ahmed, H., El-Sappah, Zhang, F., & Liang, Y. (2021). Natural resources resistance to tomato spotted wilt virus (TSWV) in tomato (*Solanum lycopersicum*). *International Journal of Molecular Sciences*, *22*, 10978.

Stevens, M., Scott, S., & Gergerich, R. (1991). Inheritance of a gene for resistance to tomato spotted wilt virus (TSWV) from *Lycopersicon peruvianum* Mill. *Euphytica*, *59*(1), 9-17.

Supaporn, L., Lumpueng, R., & Orawan, C. (2005). Detection of tomato yellow leaf curl Thailand virus by PCR without DNA extraction. *Molecular Biotechnology*, *31*(3), 233-8.