

بررسی تنوع ژنتیکی ژنوتیپ‌های گوجه‌فرنگی با استفاده از نشانگرهای مولکولی AFLP و ارتباط آن با هتروزیس

مریم نبی پور^۱ - محمد فارسی^{۲*} - حسین نعمتی^۳ - سعید ملک زاده^۴

تاریخ دریافت: ۱۳۸۹/۱۰/۱۲

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۰/۳/۲۱

چکیده

گوجه‌فرنگی یکی از مهم‌ترین محصولات کشاورزی از نظر سطح زیر کشت و اهمیت اقتصادی است و تولید بذر هیبرید در این گیاه اهمیت فراوانی دارد. شناخت ترکیبات والدینی برتر یکی از مهم‌ترین مراحل در برنامه‌های اصلاحی تولید بذر هیبرید است که پرهزینه و مستلزم انجام آزمایشات مزرعه‌ای وسیع می‌باشد. پیش‌بینی‌های موفق از هتروزیس، با استفاده از تشابه ژنتیکی والدین مبتنی بر نشانگرهای مولکولی در چندین گیاه زراعی انجام گرفته است که می‌تواند در برنامه‌های اصلاحی هیبرید مفید واقع شود. مطالعه حاضر به منظور تعیین تنوع ژنتیکی بین لاین‌های گوجه‌فرنگی و ارزیابی ارتباط بین فاصله ژنتیکی و هتروزیس نتایج انجام گرفت. تنوع ژنتیکی ۳۰ ژنوتیپ گوجه‌فرنگی با استفاده از ۱۶۵ نشانگر AFLP مورد ارزیابی قرار گرفت. فاصله ژنتیکی حاصل بین لاین‌های مورد بررسی، در فاصله ۰/۰۴ تا ۰/۲۳ قرار داشت. فاصله ژنتیکی حاصل برای یافتن ارتباط معنی‌دار با هتروزیس میانگین والدین (MPH) برای متوسط عملکرد، وزن میوه، تعداد میوه و ماندگاری میوه، مورد آزمون قرار گرفت. نتایج نشان داد با وجودی که نشانگر مولکولی AFLP در تشخیص چندشکلی و فاصله ژنتیکی میان لاین‌های گوجه‌فرنگی کارآمد می‌باشد، ارتباط فاصله ژنتیکی مبتنی بر این نشانگر با هتروزیس میانگین والدین در صفات مورد ارزیابی، بی‌معنی و فاقد سودمندی لازم در پیش‌بینی هتروزیس ژنوتیپ‌های گوجه‌فرنگی می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: AFLP، فاصله ژنتیکی، گوجه‌فرنگی، هتروزیس

مقدمه

تقریباً معادل ایران، تولید محصولی حدود ۶ برابر دارد (۱۶). بنابراین، با توجه به اهمیت این محصول و لزوم افزایش عملکرد در واحد سطح، تولید ارقام اصلاح‌شده و پر محصول و نیز فراهم آوردن مواد اصلاحی جهت پروژه‌های دورگ‌گیری و اصلاحی در داخل کشور ضروری به نظر می‌رسد.

موفقیت در برنامه‌های اصلاحی تولید بذر هیبرید وابسته به توانایی اصلاح‌کننده در شناخت لاین‌های والدینی است که کارایی بالا در تولید هیبرید داشته باشند. ارزیابی لاین‌ها با استفاده از روش‌های مرسوم برای قابلیت ترکیب پذیری، پر هزینه، وقت‌گیر و نیازمند آزمایشات مزرعه‌ای وسیع می‌باشد، ضمن اینکه ارزیابی تعداد زیاد هیبریدهای حاصل بسیار مشکل است و در بسیاری از مواقع ارزیابی تمام ترکیبات ممکن، مقدور نمی‌باشد (۲۲). از آنجایی که در اغلب موارد هتروزیس تابع غالبیت ژنی یک مکان است، استفاده از فاصله ژنتیکی والدین بر اساس نشانگر مولکولی جهت پیش‌بینی عملکرد هیبریدها در برنامه‌های اصلاح و تولید هیبرید می‌تواند کمک نماید. با این حال فرضیه اصلی در تخمین عملکرد هیبریدها وجود یک همبستگی معنی‌دار و خوب بین فاصله ژنتیکی والدین بر اساس

گوجه‌فرنگی زراعی (*Solanum lycopersicum* L.) دومین سبزی مصرفی بعد از سیب‌زمینی و بدون شک، یکی از پرمصرف‌ترین محصولات باغی است. این گیاه دارای ارزش غذایی بسیار بالایی می‌باشد و امکان استفاده آن به صورت تازه خوری و صنایع فرآوری، آن را به یکی از مهم‌ترین محصولات کشاورزی از نظر سطح زیر کشت و اهمیت اقتصادی تبدیل کرده است. در حال حاضر به دلیل گران بودن بذور هیبرید و عدم استفاده کشاورزان از هیبریدهایی با عملکرد بالا و ارقام اصلاح‌شده مناسب، عملکرد این محصول در ایران پایین‌تر از سایر کشورهای پیشرو می‌باشد، به طوری که طبق آمار سازمان خوار و بار جهانی (FAO) در سال ۲۰۰۷، چین که در مقام نخست تولید جهانی این محصول قرار دارد با سطح زیر کشتی

۱، ۲، ۳ و ۴ - به ترتیب دانشجوی کارشناسی ارشد بیوتکنولوژی کشاورزی، استاد و استادیاران دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد
* - نویسنده مسئول: (Email: mohfarsi@yahoo.com)

نشانه‌های مولکولی و عملکرد هیبریدهای حاصل می‌باشد (۱۱). در دهه ۱۹۶۰، استفاده از تنوع ایزوژنومی به عنوان نشانه‌های ژنتیکی در ارزیابی تنوع ژنتیکی در بسیاری از محصولات شروع شد (۳۲). معمولاً تنوع ژنتیکی ارزیابی شده توسط تفاوت ایزوژنومی‌ها، پیش‌بینی کننده خوبی برای عملکرد دانه نبود. پوشش ناکافی ژنوم به دلیل تعداد کم مکان‌های ژنی نشانگر، یک توضیح احتمالی برای این نتایج بود (۱۷، ۲۲ و ۲۸). پیشرفت‌های اخیر در بیولوژی مولکولی، زمینه استفاده از نشانه‌های DNA را فراهم آورده است که می‌تواند برآورد قابل قبولی از هتروژنی درون و بین نمونه‌ها را به نمایش گذارد. نشانه‌های مولکولی تحت تاثیر شرایط و مراحل رشدی گیاه قرار نگرفته و بر اثر شرایط محیطی دچار تغییر نمی‌گردند و با دقت، سرعت و حساسیت بیشتر، تعداد زیادی تفاوت مشخص را بین ژنوتیپ‌ها در سطح DNA آشکار می‌کنند (۱۲).

مطالعات زیادی برای پیش‌بینی هتروژنیس و کارایی عملکرد هیبرید از طریق استفاده از تنوع ژنتیکی مبتنی بر نشانه‌های مولکولی مختلف روی طیف وسیعی از گیاهان زراعی انجام گرفته است. بررسی‌های انجام شده در این زمینه، نتایج متناقضی را به دنبال داشته است. برای مثال، در مطالعات انجام شده توسط سان و همکاران روی برنج (۳۳)، میرشمسی و همکاران روی گوجه‌فرنگی (۴)، مغربی و همکاران روی گندم (۲۴) گورال و همکاران روی تریتیکاله (۱۹)، باربوزا و همکاران، بتران و همکاران و فومپچایی و همکاران روی ذرت (۶ و ۹ و ۲۷)، دی‌رس و همکاران روی صنوبر (۱۴) و چرز و همکاران روی آفتاب‌گردان (۱۳)، همبستگی مثبت و معنی‌داری بین فاصله ژنتیکی مبتنی بر نشانه‌های مولکولی به کار رفته و هتروژنیس هیبریدهای حاصل به دست آمد، در حالی که نتایج در دیگر بررسی‌های انجام شده بر روی باقلا (۳۸)، گندم (۱۵)، خردل (۳۴)، ذرت (۲۹ و ۲۳)، کلزا (۳۷)، یونجه (۳۰)، فلفل سبز (۱۸) و برنج (۲۱)، ارتباط معنی‌داری بین فاصله ژنتیکی مبتنی بر نشانه‌های مختلف و هتروژنیس نتایج، مشاهده نشد.

در تعدادی از مطالعات، نشانه‌های AFLP به عنوان ابزاری قدرتمند در شناسایی چندشکلی میان ژنوتیپ‌ها و گروه‌بندی آنها گزارش شده است (۶ و ۲۳ و ۳۸). AFLP دارای مزایایی از قبیل: چند شکلی بالا، پوشش وسیع و تصادفی در ژنوم، تولید تعداد زیادی نشانهگر در یک بررسی، عدم نیاز به اطلاع در رابطه با توالی DNA الگو برای طراحی آغازگر و دقت و تکرارپذیری بالا می‌باشد. در نتیجه AFLP می‌تواند به عنوان نشانه‌گری مناسب برای پیش‌بینی عملکرد هیبرید استفاده شود (۵ و ۶). هدف این بررسی استفاده از نشانه‌های AFLP در تعیین تنوع ژنتیکی و بررسی پیش‌بینی عملکرد هیبریدهای گوجه‌فرنگی بود.

مواد و روش‌ها

در این تحقیق از ۳۰ ژنوتیپ گوجه‌فرنگی که اکثراً متعلق به کشور روسیه می‌باشند، استفاده شد (جدول ۱). استخراج DNA از

برگ‌های جوان در مرحله شش برگی (حدوداً چهار هفته بعد از کشت) به روش CTAB بر طبق روش سقایی معروف و همکاران (۳۱)، با اندکی تغییر انجام گرفت. کمی و کیفیت DNA استخراج شده با استفاده از ژل آگارز ۱٪ و دستگاه اسپکتروفوتومتر تعیین شد. برای انجام مراحل AFLP از روش وس و همکاران (۳۵) با کمی تغییر استفاده شد. طبق ای راهکار، DNA استخراج شده توسط آنزیم‌های برشی *EcoRI* و *TruII* مورد هضم آنزیمی قرار گرفت. سپس آدپتورهای اختصاصی به قطعات DNA برش یافته، متصل شدند. به دنبال آن، مرحله پیش انتخابی با آغازگرهایی حاوی یک نوکلئوتید انتخابی و در نهایت، مرحله انتخابی با آغازگرهایی شامل سه نوکلئوتید انتخابی (*EcoRI*: AAC, AAG, AGA) *TruII*: (CAC, CAG, CTA, CGT) انجام گرفت که از میان آنها چهار ترکیب پرایمیری E-AAC/ M-CAA E-AAC/ M-CTA, E-AAC/ M-CAA E-AAC/ M-CTA, E-AAC/ M-CAA E-AAC/ M-CTA, E-AAC/ M-CAA E-AAC/ M-CTA, E-AAC/ M-CAA E-AAC/ M-CTA, E-AAC/ M-CAA E-AAC/ M-CTA, E-AAC/ M-CAA E-AAC/ M-CTA انتخاب شدند. محصولات تکثیر شده با استفاده از ژل پلی‌آکرلامید ۶٪ تفکیک شد و رنگ آمیزی با روش نیترات نقره صورت گرفت (۲۰ و ۲۵). داده‌های AFLP، به صورت حضور (۱) و یا عدم حضور (۰) باندها رتبه‌بندی شدند. فاصله ژنتیکی (GD) بین لاین‌ها، با استفاده از ضرایب نی و لی (۲۶) توسط نرم افزار^۱ محاسبه شد. آنالیز کلاستر مبتنی بر فاصله ژنتیکی به دست آمده بر اساس نشانه‌گر مولکولی با استفاده از روش^۲ انجام گرفت. همچنین نرم افزار STATISTICA (version 5.5) جهت یافتن رابطه بین فاصله ژنتیکی والدین بر اساس داده‌های مولکولی و هتروژنیس متوسط عملکرد، تعداد میوه در بوته، متوسط وزن میوه و ماندگاری میوه در ۶۳ هیبرید مورد استفاده قرار گرفت. اطلاعات مربوط به میانگین صفات مورد نظر در والدین و هیبریدهای حاصل از تلاقی ۹ لاین پدری و ۷ لاین مادری و هتروژنیس میانگین والدین در این صفات در جدول ۲ آورده شده است. اطلاعات مورد استفاده در تمامی هیبریدها از نتایج قلمکاریان‌نژاد استخراج گردید (۲).

علاوه بر نشانه‌گر مولکولی مورد استفاده، از اطلاعات مربوط به صفات مرفولوژیک نوع برگ، وضعیت باروری، تعداد میوه در هر بوته، فرم میوه، متوسط وزن میوه، تعداد حفره داخل میوه، نوع رشد، نوع خوشه و ماندگاری میوه برای گروه بندی ۱۶ لاین از میان ژنوتیپ‌های مورد مطالعه استفاده شد. گروه‌بندی بر اساس این نشانه‌های مورفولوژیک توسط نرم افزار STATISTICA بر اساس فاصله اقلیدسی انجام گرفت.

1- NTSYS (version 2.02e)

2- UPGMA (unweighted pair-group method with arithmetic averages)

جدول ۱- نام و مبدا ژنتیکی لاین‌های مورد استفاده در این مطالعه

شماره	نام نمونه	مبدا ژنتیکی	شماره	نام نمونه	مبدا ژنتیکی
۱		روسیه	۱۶		روسیه
۲	LA13012	روسیه	۱۷	C16	روسیه
۳	LA13013	روسیه	۱۸	C17	روسیه
۴	CORT	روسیه	۱۹	DB	جمهوری چک
۵	C20	روسیه	۲۰	R ₂ 05	جمهوری چک
۶	CT6	روسیه	۲۱	R ₂ 1295	ایتالیا
۷	DHC2-8	روسیه	۲۲	KalgN	ایتالیا
۸	Primoga	روسیه	۲۳	LA1793	ایتالیا
۹	H	روسیه	۲۴	LA3770	ایتالیا
۱۰	MC3	روسیه	۲۵	LA3223	ایتالیا
۱۱	ACO6	روسیه	۲۶	Fla	آمریکا
۱۲	A	روسیه	۲۷	Me	مکزیک
۱۳	A25	روسیه	۲۸	KingStone	ناشناخته
۱۴	B3	روسیه	۲۹	0611	-
۱۵	BO32	روسیه	۳۰	697	-
	CO6	روسیه		614	-
		روسیه			-

جدول ۲- میانگین صفات مورد ارزیابی در والدین و هیبریدها و هتروزیس میانگین والدین (MPH) برای این صفات در گوجه فرنگی

صفات	میانگین		هتروزیس میانگین والدین (MPH%)		
	والدین N=16	هیبرید N=63	میانگین	کمینه	بیشینه
متوسط عملکرد	۲/۵۹	۲/۹۲	۰/۳۳	-۱/۷۴	۲/۶۸
تعداد میوه	۳۵/۹۳	۳۷/۳۲	۲/۳۸	-۲۷	۲۳
وزن میوه	۸۷/۰۵	۷۷/۳۹	-۵/۴۵	-۳۹	۵۴
ماندگاری میوه	۵۳/۷۵	۵۹/۳	۸/۰۹	-۴۹/۵	۸۹/۵

مشاهده شد.

نتایج و بحث

گروه‌بندی بر اساس صفات مورفولوژیک به جز در چند مورد، با گروه‌بندی بر اساس نشانگر مولکولی متفاوت بود (شکل ۳). این موضوع می‌تواند به دلیل تصادفی بودن جایگاه‌های برش در نشانگرهای AFLP و عدم ارتباط این جایگاه‌ها با صفات فنوتیپی مورد استفاده باشد. به دلیل تصادفی بودن نشانگر مولکولی مورد مطالعه در سطح ژنوم، ممکن است لینکاژ مناسبی بین ژن‌های کنترل کننده صفات مورد ارزیابی و نشانگرهای مورد استفاده برای تخمین فاصله ژنتیکی به وجود نیاید. بیشترین و کمترین فاصله محاسبه شده بر اساس صفات مورفولوژیک مورد مطالعه در لاین‌های Kingstone-LA1793 و LA1793-CORT مشاهده شد، که بیشترین فاصله ژنتیکی آن با نشانگر مولکولی مطابقت دارد. گروه‌بندی انجام شده با استفاده از نشانگر مولکولی به میزان بیشتری با داده‌های مربوط به مبدا ژنتیکی لاین‌های مورد بررسی متناسب بود.

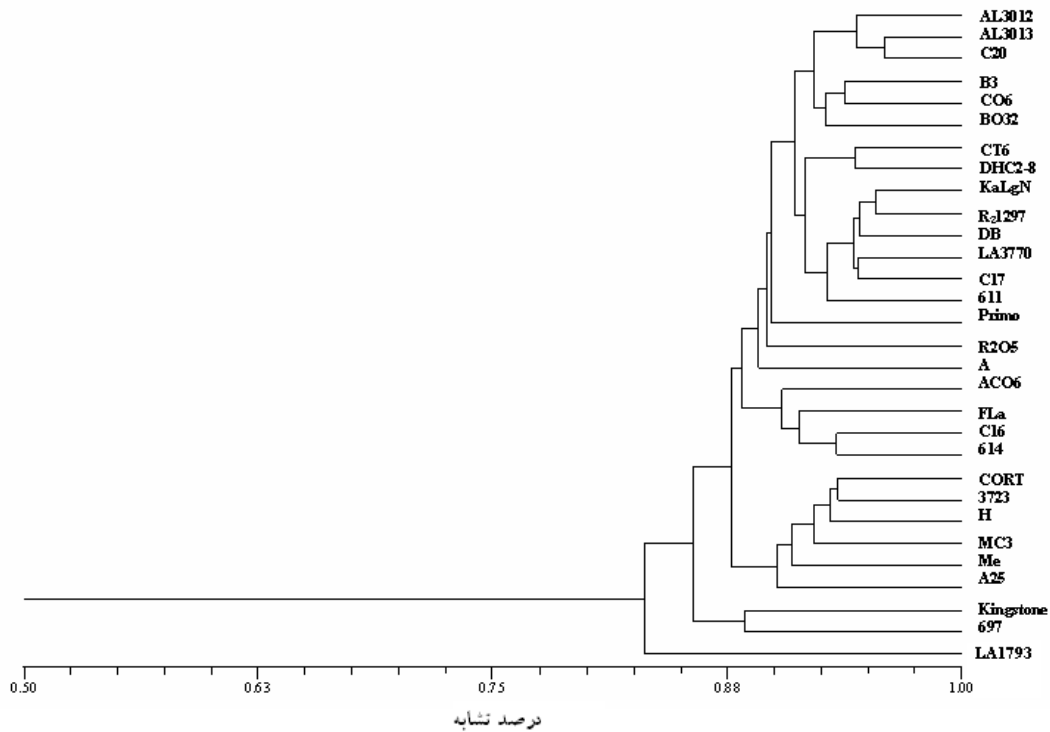
به منظور بررسی سودمندی نشانگر مورد مطالعه در پیش‌بینی هتروزیس و عملکرد هیبرید، رابطه فاصله ژنتیکی مبتنی بر نشانگر مولکولی و هتروزیس میانگین والدین برای هتروزیس متوسط عملکرد

تجزیه AFLP در مجموع ۱۶۵ نوار قابل امتیازدهی ایجاد کرد. که ۷۷٪ آنها چندشکل بودند. میانگین تعداد نوارهای تکثیر شده به ازای هر جفت آغازگر ۴۱/۲ و میانگین تعداد نوارهای چندشکل به ازای هر جفت آغازگر ۳۰ عدد بود (۷۲/۷٪). ترکیب آغازگری E-AAC/M-CAG دارای بیشترین درصد چندشکلی (۸۶/۷٪) و ترکیب آغازگری E-AAC/MCTA دارای کمترین میزان چندشکلی (۵۹/۳٪) بود.

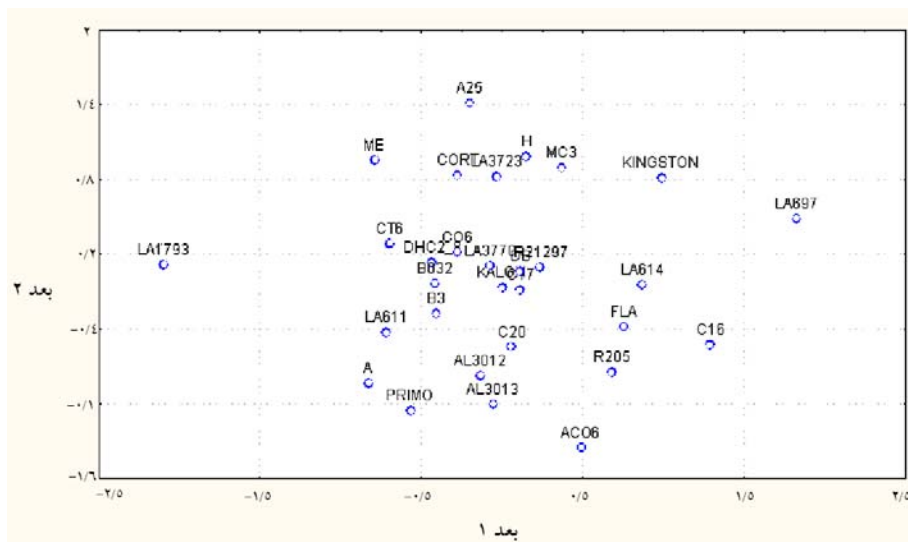
گروه‌بندی لاین‌ها بر اساس تشابه ژنتیکی مبتنی بر نتایج به دست آمده از نشانگرهای مولکولی AFLP بیانگر تشابه زیاد ژنوتیپ‌های مورد بررسی می‌باشد، به طوری که فاصله ژنتیکی لاین‌ها در فاصله ۰/۰۴ تا ۰/۲۳ قرار گرفت (شکل ۱). تجمع لاین‌ها در یک منطقه نزدیک به هم در نمودار دو بعدی ترسیم شده بر اساس فاصله ژنتیکی نیز مؤید تشابه لاین‌های مربوطه می‌باشد (شکل ۲). ترتیب قرارگیری لاین‌های مربوطه تقریباً با مبدا ژنتیکی آنها مطابقت دارد. بیشترین و کمترین فاصله ژنتیکی مبتنی بر این نشانگر مولکولی به ترتیب در بین لاین‌های LA13013-C20 و Kingstone-LA1793

متوسط وزن میوه و ماندگاری میوه مورد مطالعه به ترتیب برابر ۰/۱۵، ۰/۱۰، ۰/۱۴ و ۰/۲۰- می‌باشد. داده‌ها بیانگر عدم وجود رابطه معنی‌دار میان فاصله ژنتیکی و هتروزیس و عدم سودمندی این نشانگر در پیش‌بینی هتروزیس می‌باشد.

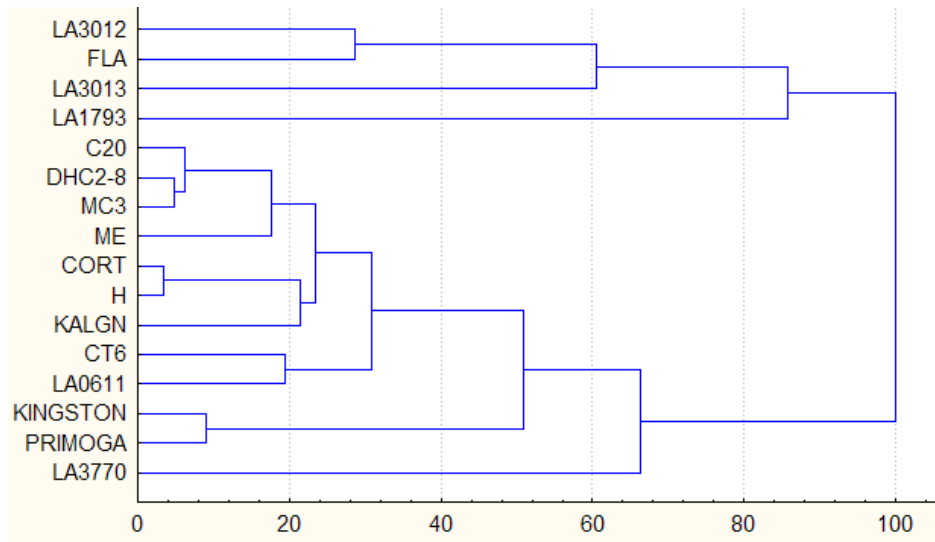
بوته، تعداد میوه در بوته، متوسط وزن میوه و ماندگاری میوه در ۶۳ هیبرید مورد ارزیابی قرار گرفت. ضرایب همبستگی میان فاصله ژنتیکی بر اساس نشانگرهای مولکولی AFLP و هتروزیس میانگین والدین برای هتروزیس متوسط عملکرد بوته، تعداد میوه در بوته،



شکل ۱- گروه‌بندی لاین‌های مورد بررسی گوجه‌فرنگی بر اساس تشابه مبتنی بر نشانگر مولکولی



شکل ۲- نمودار پراکندگی دو بعدی لاین‌های مورد بررسی گوجه‌فرنگی بر اساس فاصله ژنتیکی مبتنی بر نشانگر مولکولی



شکل ۳- گروه‌بندی لاین‌های مورد بررسی گوجه فرنگی با استفاده از صفات مورفولوژیک بر اساس فاصله اقلیدسی

از دلایل عدم مشاهده همبستگی معنی دار بین فاصله ژنتیکی مبتنی بر نشانگر و کارایی هیبرید باشد. این موضوع در بررسی به عمل آمده توسط وان و همکاران (۲۱) نیز مورد تأیید قرار گرفته است. آنها یکی از دلایل همبستگی ضعیف بین فاصله ژنتیکی مبتنی بر نشانگر AFLP و کارایی هیبرید در ارقام برنج ژاپنی مورد مطالعه را به تنوع کم میان ارقام و شباهت زیاد آنها به هم نسبت دادند.

یکی از دلایل عمده دیگر، پیوستگی کم مکان‌های ژنی نشانگر با QTL‌های مربوط به عملکرد می‌باشد. زمانی همبستگی مشاهده شده بین فاصله ژنتیکی مبتنی بر نشانگر و کارایی هیبرید، می‌تواند سودمند و دارای ارزش پیش‌گویانه مناسب برای تخمین هتروزیس باشد که مکان‌های ژنی نشانگر مربوطه با مکان‌های ژنی صفات کمی از همبستگی مناسبی برخوردار باشد. در تأیید این موضوع، گارسیا و همکاران (۱۸) بیان نمودند که زمانی می‌توان از نشانگر مولکولی به عنوان یک ابزار مفید در پیش‌بینی کارایی هیبرید استفاده نمود که ژن‌های کنترل کننده صفات مهم روی نقشه‌های لینکاژی اشباع شده انتخاب شوند و این نشانگرها پیوستگی قوی با QTL‌های مرتبط با عملکرد داشته باشند. در این خصوص برناردو (۸) نیز همبسته بودن حداقل ۵۰-۳۰٪ مکان‌های ژنی صفات کمی مرتبط با عملکرد و نشانگر مولکولی را از شرایط ضروری برای پیش‌بینی مؤثر هیبرید توسط نشانگر مولکولی دانسته است.

علاوه بر این، نوع صفت زراعی مورد مطالعه در اندازه‌گیری هتروزیس، نیز می‌تواند در به دست آوردن همبستگی بین هتروزیس و فاصله ژنتیکی مؤثر باشد. این موضوع در مطالعات مختلف روی گیاهان مختلف و با استفاده از نشانگرهای مولکولی متنوع مورد تأیید قرار گرفته است (۴، ۱۰، ۲۳ و ۳۴). این موضوع می‌تواند مؤید وجود ارتباط بین ژن‌های کنترل کننده این صفات و لینکاژ آنها با نشانگر

نتیجه به دست آمده در این مطالعه با مطالعات وان و همکاران روی برنج (۲۰)، کوریلینی و همکاران روی گندم (۱۱)، رایدی و همکاران روی یونجه (۲۸)، زید و همکاران روی باقلا (۳۸) و لگز و همکاران روی ذرت (۲۳) که همگی از نشانگرهای AFLP برای تعیین فاصله ژنتیکی استفاده کرده بودند، مطابقت و همسویی داشت. در تمام این بررسی‌ها، ارتباطی بین فاصله ژنتیکی مبتنی بر این نشانگر مولکولی و کارایی هیبرید مشاهده نشد. علاوه بر این، نتایج مشابهی در مطالعه روی سایر گیاهان زراعی توسط نشانگرهای مولکولی RFLP، RAPD و SSR نیز به دست آمده است (۳، ۱۵ و ۳۷).

با استناد به بررسی‌های مختلف، همبستگی بین فاصله ژنتیکی والدین بر اساس نشانگر و کارایی هیبرید به میزان زیادی به ژرم پلاسما مورد مطالعه بستگی دارد، به طوریکه ژانگ و همکاران (۳۹)، با مطالعه چهار سری داده از چهار جمعیت مختلف، نتایج متفاوتی از ارتباط فاصله ژنتیکی مبتنی بر نشانگر مولکولی و کارایی هیبرید بر اساس جمعیت مورد بررسی، به دست آوردند. آنها بیان داشتند که هتروزیس و همبستگی به دست آمده، از یک سری داده به سری دیگر، تفاوت معنی‌داری دارد که این موضوع می‌تواند بیانگر پیچیدگی پایه ژنتیکی هتروزیس باشد. مطالعات انجام شده توسط زیانو و همکاران (۳۶)، سان و همکاران (۳۳)، بنچیمول و همکاران (۷)، نیز مؤید همین امر است که وجود همبستگی بین فاصله مبتنی بر نشانگر و هتروزیس به نوع ژرم‌پلاسما مورد بررسی وابسته است.

همچنین تنوع ژنتیکی موجود در جمعیت مورد بررسی می‌تواند در آشکار سازی همبستگی سهم بسزایی داشته باشد. به طوریکه، شبیه بودن لاین‌های مورد مطالعه در این تحقیق و عدم وجود فاصله ژنتیکی آشکار بین آنها (حتی با نشانگر قوی AFLP)، می‌تواند یکی

صفات مهم اقتصادی دارای اثر افزایشی می‌باشند (۴)، این موضوع می‌تواند یکی از دلایل عدم همبستگی میان فاصله ژنتیکی مبتنی بر نشانگر مولکولی و هتروزیس صفات مربوطه در این مطالعه باشد. در مجموع، استفاده از نشانگرهای دارای پیوستگی بالا با QTL‌های مربوط به عملکرد، مناسب‌ترین راه کار برای دستیابی به نشانگری با ارزش پیش‌گویانه مناسب برای تخمین هتروزیس می‌باشد. چون فاصله ژنتیکی مبتنی بر نشانگرهای دارای لینکاژ قوی با مکان‌های ژنی صفات کمی، بدون شک پیش‌بینی مطمئن‌تری از تخمین هتروزیس ارائه خواهند داد و می‌توان با اطمینان بیشتری در انتخاب آنها به عنوان والدین هیبریدهای ممتاز عمل نمود. معذالک برای پیدا کردن این رابطه بایستی از تعداد پرایمر بیشتری استفاده کرد که در این تحقیق به علت محدودیت بودجه پایان نامه دانشجویی این کار میسر نشد و در ضمن از نشانگرهایی استفاده شود که ژنوم گیاه مورد نظر را با وسعت بیشتری مورد پیمایش قرار دهد و ترجیحاً با مناطقی از ژنوم متصل باشد که ژنهای صفات مورد نظر را کد می‌نماید.

مربوطه باشد. عدم شباهت گروه‌بندی لاین‌ها بر اساس نشانگر مولکولی و صفات مورفولوژیک در مطالعه حاضر نیز تأییدکننده همین موضوع می‌باشد. به دلیل تصادفی بودن نشانگر مورد مطالعه در سطح ژنوم، ممکن است لینکاژ مناسبی بین ژن‌های کنترل‌کننده تمام صفات مورد ارزیابی و نشانگرهای مورد استفاده برای تخمین فاصله ژنتیکی به وجود نیاید. برناردو (۸) بیان می‌کند که یکی از شرایط ضروری پیش‌بینی مؤثر هیبرید توسط نشانگر مولکولی، عدم پراکندگی تصادفی بیش از ۳۰-۲۰٪ نشانگرها است.

همچنین، سهم متفاوت مناطق کروموزومی در کارایی هیبرید، وجود آل‌های چندگانه با اثرات مشابه روی یک صفت و ایپستازی میان مکان‌های صفات کمی مربوط را نیز می‌توان از دلایل عدم دستیابی به همبستگی مناسب بین نشانگر و کارایی هیبرید برشمرد (۴، ۱۵ و ۲۱). علاوه بر موارد ذکر شده، وراثت‌پذیری صفات، اثرات متنوع غالبیت و اثرات افزایشی نیز می‌تواند در ایجاد عدم همبستگی مؤثر باشد، به طوری که هر چه ژن‌های کنترل‌کننده صفات مربوطه دارای اثر غالبیت بیشتری باشند امکان دستیابی به همبستگی معنی‌دار افزایش می‌یابد. اکثر ژن‌های گزارش شده در گوجه‌فرنگی برای

منابع

- ۱- آمارنامه کشاورزی سال زراعی ۸۵-۱۳۸۴. اداره کل آمار و اطلاعات وزارت جهاد کشاورزی تهران. ۱۳۶ صفحه.
- ۲- قلمکاریان نژاد، م. ۱۳۸۵. بررسی قابلیت ترکیب پذیری لاین‌های گوجه فرنگی برای صفات مهم زراعی و دوره ماندگاری میوه. پایان نامه کارشناسی ارشد. دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد.
- ۳- محسنی فرد، ا. ۱۳۸۶. ارزیابی تنوع ژنتیکی ۱۶ لاین گوجه‌فرنگی با استفاده از نشانگر مولکولی SSR و بررسی همبستگی آن با هتروزیس. پایان نامه کارشناسی ارشد. دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد.
- ۴- میر شمسی کاخکی، ا. ۱۳۸۲. ارزیابی پتانسیل مارکرهای RAPD در تخمین هتروزیس و قابلیت ترکیب پذیری لاین‌ها و ارقام گوجه‌فرنگی برای تولید بذر هیبرید. پایان نامه کارشناسی ارشد. دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد.
- ۵- نقوی، م. ر.، ب.، قره یاضی، و ق. حسینی سالکده. ۱۳۸۶. نشانگرهای مولکولی. چاپ دوم، انتشارات دانشگاه تهران، تهران. ۳۴۰ ص.
- 6- Barbosa, A.M.M., I.O. Geraldil, L.L. Benchimol, A.A.F. Garcia, Jr. C.L. Souza, and A.P. Souza. 2003. Relationship of intra- and interpopulation tropical maize single cross hybrid performance and genetic distances computed from AFLP and SSR markers. *Euphytica*, 130:87-99.
- 7- Benchimol, L.L., C.L. De Souza, A.A.F. Garcia, P.M.S. Kono, C.A. Mangolin, A.M.M. Barbosa, A.S.G Coelho, and A.P. De Souza 2000. Genetic diversity in tropical maize inbred lines: heterotic group assignment and hybrid performance determined by RFLP markers. *Plant Breeding*. 119:491-493.
- 8- Bernardo, R. 1992. Relationship between single-cross performance and molecular marker heterozygosity. *Theoretical and Applied Genetics*. 83: 628-634.
- 9- Betrán, F.G., J.M. Ribaut, D. Beck, and D. Gonzalez de León. 2003. Genetic diversity, specific combining ability, and heterosis in Tropical maize under stress and non-stress environments. *Crop Sciences*. 43:797-806.
- 10- Bruel, D.C., V. Carpentieri-Pipolo, A. Carlos Gerage, N.S.F. Júnior, C.E.C. Prete, C.F Ruas, P.M. Ruas, S.G.H Souza, and D.D Garbuglio. 2006. Genetic distance estimated by RAPD markers and its relationship with hybrid performance in maize. *Pesq. Agropec. Bras.*, Brasília, 41:1491-1498.
- 11- Cerna, F.J., S.R. Cianzio, A. Rafalski, S. Tingey, and D. Dyer. 1997. Relationship between seed yield heterosis and molecular marker heterozygosity in soybean. *Theoretical and Applied Genetics*. 95: 460-467.
- 12- Charcosset, A., and E. Essioux. 1994. The effect of population structure on the relationship between heterosis and heterozygosity at marker loci. *Theoretical and Applied Genetics*. 89:336-343.
- 13- Cheres, M.T., J. F. Miller, J.M. Crane, and S.J. Knapp. 2000. Genetic distance as a predictor of heterosis and hybrid performance within and between heterotic groups in sunflower. *Theoretical and Applied Genetics*. 100:889-894
- 14- Diers, B.W. 1996. Relationship between heterosis and genetic distance based on restriction fragment length polymorphism markers in oilseed rape (*Brassica napus* L.) *Crop Sciences*. 36:79-83

- 15- Dreisigacker1, S., A.E. Melchinger, P. Zhang, K. Ammar, C. Flachenecker, D. Hoisington, and M.L Warburton. 2005. Hybrid performance and heterosis in spring bread wheat, and their relations to SSR-based genetic distances and coefficients of parentage. *Euphytica*, 144: 51-59.
- 16- FAO Statistical Database 2007. FAOSTAT Agriculture data, URL <http://apps.fao.org/page/collections?subset=agriculture>, date of access 13 June 2007.
- 17- Frei, O.M., C.W. Stuber, and M.M. Goodman, 1986. Uses of allozymes as genetic markers for predicting performance in maize single-cross hybrids. *Crop Science*, 26: 37-42.
- 18- García, B.F., G.E. Salinas, O. Pozo, V.H. Reyes, M. M Ramírez, S.J.A López, B.M. Aguirre, and S. O Salazar. 2002. Estimation of genetic distances among green pepper (*Capsicum annuum*. L.) lines using RAPD markers and its relationship with heterosis. Proceedings of the 16th International Pepper Conference Tampico, Tamaulipas, Mexico. 10-12 November.
- 19- Góral, H., M. Tyrka, and L. Spiss. 2005. Assessing genetic variation to predict the breeding value of winter triticale cultivars and lines. *Theoretical and Applied Genetics*. 46:125-131.
- 20- Hazen, S.P., P. Leroy, and R. Ward. 2002. AFLP in *Triticum aestivum* L.: patterns of genetic diversity and genome distribution. *Euphytica*, 125: 89-102.
- 21- Kwon, S.J., S.N. Ahn, E.G. Jeong, Y.H. Jeon, H.G. Hwang, H.C. Choi., and H.P. Moon. 2002. Relationship between genetic divergence and hybrid performance in japonica rice grown in a cold water-irrigated field. *Euphytica*, 128: 389-396.
- 22- Lamky, K.R., A.R. Hallaure, and A.L. Kahler. 1987. Allelic difference enzyme loci and hybrid performance in maize. *Journal of Heredity*. 78: 231-234.
- 23- Legesse, B.W., A.A. Myburg, K.V. Pixley, S. Twumasi-Afriyie, and A.M. Botha. 2007. Relationship between hybrid performance and AFLP based genetic distance in highland maize inbred lines. *Euphytica*, 162:313-323.
- 24- Maghraby, M.A.L., M.E. Moussa, N.S. Hana, and H.A. Agrama. 2005. Combining ability under drought stress relative to SSR diversity in common wheat. *Euphytica*, 141: 301-308.
- 25- Meudt, H. M., and A. C. Clarke. 2007. Almost Forgotten or Latest? Practice AFLP applications, analyses and advances. *Trends in Plant Scienc*. 12: 124-128.
- 26- Nei, M. and W.H. Li. 1979. Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases. *Proc. Nath. Acad. Sci. USA.*, 76(10): 5269-5273.
- 27- Phumichai. C., W. Dounghan, P. Puddhanon, S. Jampatong, P. Grudloyma, and C. Kirdsri. 2008. SSR-based and grain yield-based diversity of hybrid maize in Thailand Field Crops. *Research*, 108: 157-162
- 28- Price, S.C., A.L. Kahler, A.R. Hallauer, P. Charmley, and P. Giegel. 1986. Relationships between performance and multilocus heterozygosity at enzyme loci in single-cross hybrids of maize. *Journal of Heredity*. 77 : 341-344.
- 29- RadoJčić, A., G. Drinič, S.D. Mladenović, and M. Filipović., 2005. Prediction of combining ability and heterosis using RAPD markers. Original scientific RAPD markers proceedings. 43rd Croatian and 3rd international symposium on agriculture. Opatija. Croatia (335- 339).
- 30- Riday, H., E.C. Brummer, T.A. Campbell, D. Luth, and P.M. Cazarro. 2003. Comparison of genetic and morphological distance with heterosis between *Medicago sativa* subsp. *sativa* and subsp. *falcata*. *Euphytica*, 131: 37-45.
- 31- Saghai-Marooof, M.A., K.M. Soliman, R.A. Jorgensen, and R.W. Allard. 1984. Ribosomal DNA spacer length polymorphism in barley: Mendelian inheritance, chromosomal location and population dynamics *Proc. Nath. Acad. Sci. USA.*, 81: 8014-8018.
- 32- SAS Institute. 1985. SAS user guide: statistics. SAS Institute, Cary N.C.
- 33- Smith, O.S., J.S.C. Smith, S.L. Bowen, R.A. Tenborg, and S.J. Wall. 1990. Similarities among a group of elite maize inbreds as measured by pedigree, F1 grain yield, grain yield, heterosis, and RFLPs. *Theoretical and Applied Genetics*. 80:833-840.
- 34- Sun, C. Q., T. B. Jiang, Y. C. Fu, and X. K. Wang. 2002. Indica-Japonica differentiation of paddy rice and its relationship with heterosis. *Plant Breeding*, 121: 330-337.
- 35- Teklewold, A., and H.C. Becker. 2006. Comparison of phenotypic and molecular distances to predict heterosis and F1 performance in Ethiopian mustard (*Brassica carinata* A. Braun). *Theoretical and Applied Genetics*. 112: 752-759.
- 36- Vos, P., R. Hogers, M. Bleeker, M. Reijans, T. van de Lee, M. Hornes, A. Frijters, J. Pot, J. Peleman, M Kuiper, and M. Zabeau. 1995. AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. *Nucleic Acids Research*. 23: 4407-4414.
- 37- Xiao, J., J. Li, L. Yuan, S.R. McCouch, and S.D. Tanksley. 1996. Genetic diversity and its relationship to hybrid performance and heterosis in rice as revealed by PCR-based markers. *Theoretical and Applied Genetics*. 92:637-643.
- 38- Yu, C.Y., S.W. Hu, H.Z. Zhao, A.G. Guo, and G.L. Sun. 2005. Genetic distances revealed by morphological characters, isozymes, proteins and RAPD markers and their relationships with hybrid performance in oilseed rape (*Brassica napus* L.). *Theoretical and Applied Genetics*. 110: 511-518.
- 39- Zeid, M., C.C. Schon, and W. Link. 2004. Hybrid performance and AFLP- based genetic similarity in faba bean. *Euphytica*, 139: 207-216.
- 40- Zhang, Q.F., Z.Q. Zhou, G.P. Yang, C.G. Xu, K.D Liu, and M.A. Saghai Marooof., 1996. Molecular marker heterozygosity and hybrid performance in indica and japonica rice. *Theoretical and Applied Genetics*. 93: 1218-1224.