

ارزیابی تنوع ژنتیکی ۱۶ لاین گوجه‌فرنگی (*Lycopersicon esculentum*) با استفاده از نشانگر مولکولی SSR و بررسی همبستگی آن با هتروزیس

احسان محسنی فرد^۱، محمد فارسی^۲، حسین نعمتی^۳ و خلیل ملک‌زاده^{۴*}

۱، ۲، ۳، دانشجوی دکتری، استاد و استادیار دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد، ۴، کارشناس ارشد بیوتکنولوژی کشاورزی، گروه پژوهشی زیست فناوری قارچ‌های صنعتی، جهاد دانشگاهی مشهد
(تاریخ دریافت: ۸۹/۷/۷ - تاریخ تصویب: ۹۰/۲/۲۵)

چکیده

پیش‌بینی تلاقی‌های برتر قبل از انجام تلاقی و ارزیابی‌های مزرعه‌ای می‌تواند کارایی تولید بذور هیبرید را افزایش دهد. در چند دهه اخیر تعداد قابل توجهی از مطالعات وجود رابطه مثبت میان فاصله ژنتیکی برآورد شده توسط نشانگرهای مولکولی با هتروزیس را نشان داده‌اند. در این مطالعه به منظور بررسی روابط لاین‌ها، فاصله ژنتیکی و در نهایت انتخاب والدین مناسب جهت تولید واریته هیبرید از ۱۶ لاین گوجه‌فرنگی، از نشانگرهای مولکولی SSR استفاده شده است. واکنش PCR با استفاده از ۱۰ جفت آغازگر انجام شد که الگوی مناسب و قابل امتیازدهی برای ۱۶ ژنوتیپ مورد مطالعه تولید کردند. در مجموع تعداد ۳۵ آلل برای ۱۰ مکان تکثیر شونده ریزماهوره‌ای مشاهده شد که از ۲ تا ۷ آلل برای مکان‌های مختلف متغیر بود که میانگین ۳/۵ آلل برای هر مکان تکثیر شونده را نشان می‌دهد. همچنین حداکثر PIC ۰/۸۴ و حداقل آن ۰/۳۰ محاسبه شد. نتایج نشان دادند که نشانگرهای مولکولی SSR در تشخیص چندشکلی و فاصله ژنتیکی میان لاین‌های گوجه‌فرنگی کارآمد بوده و می‌تواند به عنوان ابزار دقیقی در آنالیز روابط ژنتیکی میان نمونه‌ها مورد استفاده قرار گیرد. با این وجود میان فاصله ژنتیکی برآورد شده توسط نشانگرهای مولکولی SSR با میزان هتروزیس در ۶۳ هیبرید بررسی شده از نظر عملکرد، اندازه میوه، تعداد میوه و ماندگاری میوه رابطه معنی‌داری مشاهده نشد.

واژه‌های کلیدی: تلاقی، هیبرید، فاصله ژنتیکی.

مقدمه

است. علی‌رغم استفاده از روش‌های به‌زراعی و استفاده بهینه از نهاده‌های کشاورزی، متوسط عملکرد در بین سال‌های ۷۵-۸۴ در کشور تنها یک تن افزایش داشته و این امر نشان‌دهنده این حقیقت است که روش‌های زراعی به تنهایی نمی‌توانند در افزایش عملکرد موثر باشند و به نظر می‌رسد توجه توأم به مسائل به‌نژادی و به‌زراعی می‌تواند تا حد زیادی مشکلات موجود را برطرف کرده و عملکرد را بهبود بخشد (Daskaloff & Popora, 1961). با شناسایی پدیده هتروزیس، مطالعات

گوجه‌فرنگی (*Lycopersicon esculentum*) در حال حاضر به عنوان یکی از مهم‌ترین محصولات کشاورزی از نظر سطح زیر کشت و اهمیت اقتصادی در داخل کشور مطرح است. وجود عواملی مانند بازار وسیع مصرف داخلی و امکان صادرات به کشورهای همسایه، از عوامل مهم و اساسی در توجه بیشتر به این محصول و افزایش سطح زیر کشت آن در مناطق مختلف کشور خصوصاً در سال‌های اخیر به عنوان یک محصول استراتژیک بوده

نشانه‌های SSR به منظور بررسی قابلیت تخمین هتروزیس روی ۱۴۷ تلاقی برنج استفاده شد و نتایج نشان داد که ارزیابی ژرم‌پلاسم با استفاده از این نشانه‌های مولکولی می‌تواند در تخمین هتروزیس بسیار کاربردی و مفید باشد (Zhang & Yang, 1995). در ذرت از نشانه‌های SSR برای گروه‌بندی ژرم‌پلاسم و بدست آوردن والدین دور از هم در اصلاح هتروزیس و هیبرید استفاده شده است. نتایج نشان داد که نشانه‌های SSR می‌توانند به عنوان ابزاری قدرتمند برای گروه‌بندی ژرم‌پلاسم و مکملی قوی برای آزمایش‌های مزرعه‌ای برای تشخیص گروه‌های هتروتیک به کار رود. در این مورد وزن دانه حاصل از هیبریدها با فاصله ژنتیکی تخمین زده شده توسط نشانه‌های SSR همبستگی نشان داد (Reif, 2004). در بررسی دیگری که بر روی ۱۰ لاین برنج با استفاده از ۲۲ نشانه SSR انجام شد رابطه معنی‌داری میان هتروزیس و بنیه هیبرید در بذرها F_1 با فاصله ژنتیکی تخمین زده شده توسط این نشانه‌ها مشاهده شد (Xiao et al., 1996). در مطالعه‌ای که روی تعدادی گندم با ۱۳ نشانه SSR انجام شد، نشان داده شد که میان فاصله ژنتیکی تخمین زده شده توسط این نشانه‌ها با هتروزیس در عملکرد دانه همبستگی وجود دارد (Flachenecker, 2002). در بررسی که توسط Marsan et al. (2004) انجام شد همبستگی مثبت و معنی‌داری میان فاصله ژنتیکی تخمین زده شده توسط نشانه‌های SSR و هتروزیس در عملکرد دانه ذرت مشاهده شد. همبستگی میان فاصله ژنتیکی و عملکرد ذرت برای هیبریدهای سینگل کراس در نشانه‌های RFLP، AFLP و SSR بسیار مشابه بود (Garcia et al., 2004). در این مطالعه سعی شد با مقایسه روش‌های کلاسیک تخمین هتروزیس و روش نوین مبتنی بر نشانه‌های مولکولی، پتانسیل نشانه‌های SSR در تخمین هتروزیس و شناسایی تلاقی‌های برتر مورد ارزیابی قرار گیرد.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی و استخراج DNA

به این دلیل که آللهای SSR تفاوت‌هایی در حد چند جفت باز دارند امکان جداسازی و تفکیک آنها از یکدیگر

بسیاری در ارتباط با روش‌های دورگ‌گیری، تخمین هتروزیس و قابلیت ترکیب‌پذیری در گوجه‌فرنگی آغاز گردید (Yordanov, 1983). امروزه به اتفاق پذیرفته شده است که هتروزیس در هیبریدهای گوجه‌فرنگی منجر به افزایش بنیه، رشد و تکامل بهتر، زودرسی، افزایش عملکرد و تعداد میوه، مقاومت به بیماری و تحمل بیشتر شرایط نامطلوب محیطی می‌گردد و بطور کلی قابلیت سازگاری بیشتری در نسل F_1 ایجاد می‌کند (Yordanov, 1983). پیش‌بینی و تخمین تلاقی‌های برتر قبل از ارزیابی‌های مزرعه‌ای و شناسایی تلاقی‌های برتر پیش از آزمایشات عملکرد مزرعه‌ای و حتی قبل از انجام تلاقی‌ها، می‌تواند کارایی برنامه‌های اصلاحی را در تولید هیبریدها بالا برده و در هزینه و وقت بطور قابل توجهی صرفه‌جویی کند. فرضیه اصلی در تخمین عملکرد هیبریدها وجود یک همبستگی خطی و قوی بین هتروزیگوسیتی و هتروزیس با فاصله ژنتیکی بر اساس نشانه‌های مولکولی است؛ بنابراین یک راه تخمین مقادیر ترکیب‌پذیری خصوصی و هتروزیس، تخمین عملکرد هیبریدها قبل از انجام تلاقی‌ها و ارزیابی‌های مزرعه‌ای از طریق تعیین فاصله ژنتیکی والدین، با استفاده از صفات مورفولوژیک یا داده‌های نشانه‌گری می‌باشد (Lamkey & Lee, 1993).

در طول دهه گذشته تعداد قابل توجهی از مطالعات وجود همبستگی بین فاصله ژنتیکی بر اساس نشانه‌های مولکولی (RAPD و RFLP، AFLP، SSR) یا آیزوایم را با کارایی هیبریدها و هتروزیس تأیید کرده‌اند. مطالعات انجام شده نشان داده است که نشانه‌های SSR در شناسایی چندشکلی میان ژنوتیپ‌ها و گروه‌بندی آنها کاملاً مفید بوده و احتمالاً می‌تواند در شناسایی تلاقی‌های برتر از طریق بررسی وجود همبستگی بین فاصله ژنتیکی بر اساس نشانه‌های SSR و مقادیر هتروزیس کمک قابل توجهی نماید. مطالعات وسیعی به منظور ارزیابی کارایی نشانه‌های SSR در تشخیص والدین مناسب به منظور تولید بذر هیبرید صورت گرفته است. تنوع ژنتیکی در ۱۰ لاین برنج توسط نشانه‌های SSR و RAPD بررسی شد و نتایج نشان داد که این نشانه‌ها وسیله مناسبی برای پیش‌بینی عملکرد هتروزیس در هیبریدها هستند (Kwon, 2002). از

بوده و از ۱۶ ژنوتیپ گوجه‌فرنگی با منشاء ذکر شده در جدول ۱ استفاده شد. استخراج DNA با استفاده از روش Saghai-Marroof et al. (1984) با اندکی تغییر انجام گرفت. برای تعیین کیفیت و کمیت DNA ژنومی استخراج شده از دو روش اسپکتروفوتومتری و الکتروفورز بر روی ژل آگارز استفاده گردید.

با استفاده از سیستم‌های الکتروفورز افقی و ژل آگارز مشکل بوده، بنابراین از سیستم‌های الکتروفورز عمودی و بستر ژل پلی‌آکریل‌آمید برای جداسازی آل‌های SSR استفاده می‌شود. سال انجام تحقیق ۱۳۸۶ و محل انجام آن گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد

جدول ۱- لاین‌های مورد استفاده

No.	Accession No.	Background genotype	source
1	LA0611	Condine red	TGRC
2	LA3770	Alisa Graige	TGRC
3	LA1793	Italian cultivar	TGRC
4	LA3012	Rutgers	TGRC
5	LA3013	Rutgers	TGRC
6	Kingstone	Unknown	Canion
7	KalG	Italian cultivar	Falat
8	Fla	America	IFAS
9	Primoga	Russian cultivar	Russian agriculture academy
10	MC3	Russian cultivar	Russian agriculture academy
11	C20	Russian cultivar	Russian agriculture academy
12	CORT	Russian cultivar	Russian agriculture academy
13	H	Russian cultivar	Russian agriculture academy
14	Me	Mexico	Russian agriculture academy
15	CT6	Russian cultivar	Russian agriculture academy
16	DHC2-8	Russian cultivar	Russian agriculture academy

با ۱°C کاهش دما در هر چرخه (۱۰ چرخه اول سیکل حرارتی به صورت Touch Down برنامه‌ریزی شده بود)، اتصال آغازگر در دمای اتصال واقعی به مدت ۳۵ ثانیه در ۲۵ چرخه، بسط در ۷۲°C به مدت ۳۵ ثانیه و بسط نهایی در ۷۲°C به مدت ۵ دقیقه تعریف گردید.

آغازگرهای مورد استفاده

در این تحقیق از ۱۰ جفت آغازگر SSR که در مقاله He et al. (2003) میزان پلی‌مرفیسم بالایی را بین ارقام گوجه‌فرنگی نشان داده بودند، استفاده گردید. مشخصات آغازگرها در جدول ۲ ذکر شده است.

الکتروفورز و رنگ آمیزی ژل

دستگاه مورد استفاده در این مطالعه، دستگاه Life Technologies مدل S2001، قطر ژل مورد استفاده در این سیستم ۰/۴ میلی‌متر و ابعاد ژل ۳۳×۴۲ سانتی‌متر می‌باشد. نصف حجم هر محصول PCR (حدود ۱۰ میکرولیتر) از بافر دای‌فرمامید به محلول اضافه شده و در دمای ۹۵ درجه به مدت ۴ دقیقه قرار گرفت، تا دو رشته از هم باز شوند و توانایی حرکت آنها بیشتر شود. پس از آن به سرعت نمونه‌ها در یخ قرار گرفت، تا

واکنش زنجیره‌ای پلیمرز

واکنش زنجیره‌ای پلیمرز با استفاده از دستگاه ترموسایکلر Biometra (T gradient) به صورت Touch Down در حجم ۲۰ میکرولیتر انجام گردید، که هر واکنش حاوی: ۱ میکرولیتر DNA ژنومی (۵۰ نانوگرم DNA)، ۲ میکرولیتر 10X PCR Buffer، ۰/۴ میکرولیتر 10 mM dNTPs، ۰/۸ میکرولیتر از هر کدام از آغازگرهای رفت^۱ و برگشت^۲ (۱۰ پیکومول از هر آغازگر)، ۱ واحد آنزیم Taq DNA Polymerase و ۰/۵ میکرولیتر کلریدمنیزیم 50 mM بود. در نهایت با آب دو بار تقطیر، حجم محلول واکنش به ۲۰ میکرولیتر رسانده شد.

برنامه چرخه حرارتی به صورت واسرشت‌سازی اولیه در ۹۴°C به مدت ۳ دقیقه، واسرشت‌سازی در ۹۴°C به مدت ۳۵ ثانیه، اتصال آغازگر در ۱۰°C بالاتر از دمای اتصال واقعی آغازگر به مدت ۳۵ ثانیه در ۱۰ چرخه اول

1. Forward
2. Reverse

با توجه به حضور یا عدم حضور باندها، فاصله ژنتیکی (GD) بین لاین‌ها با استفاده از ضریب نی (Nei & Li, 1979) و نرم‌افزار NTSYS (Ver. 2.02e) محاسبه شد. همچنین با استفاده از فاصله ژنتیکی به دست آمده بر اساس ضریب نی و لی، آنالیز کلاستر بر اساس روش UPGMA انجام شد. ضرایب همبستگی میان فاصله ژنتیکی و هتروزیس با استفاده از نرم‌افزار آماری JMP4 محاسبه گردید.

نتایج و بحث

در بررسی تنوع ژنتیکی گوجه‌فرنگی با استفاده از ۱۰ آغازگر در مجموع ۳۵ آلل چند شکل مشاهده گردید. تعداد آلل برای هر آغازگر از ۲ تا ۷ متغیر بوده و میانگین تعداد آلل برای هر آغازگر ۳/۵ مشاهده شد. بیشترین تعداد آلل‌ها مربوط به آغازگر شماره ۸ با ۷ آلل چندشکل بود. میانگین تعداد آلل هر آغازگر SSR، سودمندی هر مکان ژنی را برای تخمین تنوع ژنتیکی نشان می‌دهد. آغازگرهای ۲ و ۸ با تعداد آلل چندشکل بیشتر، بیشترین کارایی را جهت تشخیص تفاوت مولکولی ژرم‌پلاسم لاین‌های گوجه‌فرنگی دارا بودند. با استفاده از فراوانی آللی، آماره PIC، PI و D برای هر آغازگر، به طور جداگانه محاسبه گردید (جدول ۳). آغازگرهای ۴ و ۸ به ترتیب با ۴ و ۷ آلل بیشترین مقدار PIC برابر با ۰/۷۲ و ۰/۸۴ و آغازگر ۳ با ۲ آلل چندشکل کمترین PIC برابر با ۰/۳۰ را دارا بودند. با توجه به نتایج بدست آمده می‌توان گفت که آغازگرهای ۴ و ۸ با بیشترین PIC، بیشترین شاخص چندشکلی را نشان می‌دهند، به این معنی که این دو آغازگر بهتر از همه آغازگرهای استفاده شده، توانسته‌اند فاصله ژنتیکی رقم‌ها را مشخص کنند، در صورتی که آغازگر ۳ با کمترین مقدار شاخص چندشکلی، به خوبی توانایی جداسازی ژنوتیپ‌ها را نداشته است. همان آغازگرهایی که بالاترین محتوای اطلاعاتی چند شکل را دارا هستند، یعنی آغازگرهای ۴ و ۸ با بیشترین احتمال، ژنوتیپ‌ها را از هم جدا کرده‌اند که نشان می‌دهد میان افزایش تعداد آلل و مقدار D محاسبه شده رابطه مستقیم وجود دارد. همچنین ارتباطی بین افزایش تعداد آلل و مقدار PI محاسبه شده وجود نداشت.

رشته‌ها دوباره به هم نچسبند. مقدار ۵-۲ میکرولیتر از محصول PCR واسرشته شده همراه با بافر بارگذاری فرماید، در داخل هر چاهک بارگذاری گردید.

برای الکتروفورز ولتاژ ثابت ۱۲۰۰ ولت در دمای ۴۸°C مورد استفاده قرار گرفت. زمان الکتروفورز نیز بستگی به وزن باندهای حاصل از PCR بر حسب جفت باز دارد که در این پژوهش با توجه به نتایج آزمایش‌های اولیه و بهینه‌سازی شرایط الکتروفورز ۲-۳ ساعت زمان مناسبی برای تفکیک محصولات PCR از یکدیگر تشخیص داده شد. پس از پایان زمان الکتروفورز، ژل توسط روش نیترات نقره رنگ‌آمیزی و عکسبرداری از ژل انجام شد.

تجزیه و تحلیل داده‌ها

امتیازبندی باندها به صورت صفر (عدم وجود باند) و یک (وجود باند) صورت گرفت (He et al., 2003). برای هر نشانگر سودمندی ژنتیکی که به تعداد و فراوانی آللها بستگی دارد مشخص شد. محتوای اطلاعات چند شکلی (PIC)، احتمال یکسانی (PI) و قدرت تفکیک هر نشانگر (D) از معیارهای مهم سودمندی ژنتیکی نشانگرها می‌باشند. با استفاده از فراوانی آللی، PIC برای هر جایگاه SSR با استفاده از فرمول زیر محاسبه می‌گردد (He et al., 2003):

$$PIC = 1 - \sum_{i=1}^k P_i^2$$

که P_i فراوانی آلل i ام و K تعداد آللها در آن جایگاه ژنی می‌باشد.

میزان PI (احتمال تفکیک دو رقم مستقل توسط یک آغازگر) با استفاده از فرمول زیر محاسبه می‌شود:

$$PI = \sum_{i=1}^n p_i^4 + \sum_{i=1}^n \sum_{j=i+1}^n (2P_i P_j)^2$$

قدرت تفکیک (D) از رابطه (1-PI) به دست می‌آید و احتمال شناسایی رقم‌ها را توسط یک نشانگر نشان می‌دهد.

1. Polymorphism Information Content (PIC)
2. Probability Identity (PI)

جدول ۲- آغازگرهای مورد استفاده

شماره	SSR name	Core motif	Primer sequence (5'~3')	Tm	AI No.*	Exp Size bp**	PIC***
۱	LEat002 (AI491065)	(at) 9	f: act gca ttt cag gta cat act ctc r: ata aac tcg tag acc ata ccc tc	48.9 48.4	2	203	0.50
۲	LEat018 (TMS39)	(at) 29 imp	f: cgg cgt att caa act ctt gg r: gcg gac ctt tgt ttt ggt aa	46.7 44.6	5	120	0.65
۳	LEga003 (TMS26)	(ga) 20	f: ttc ggt tta ttc tgc caa cc r: gcc tgt agg att ttc gcc ta	44.6 46.7	4	241	0.58
۴	LEga007 (TMS37)	(ga) 21 (ta) 20	f: cct tgc agt tga ggt gaa tt r: tca agc acc tac aat caa tca	44.6 43.4	6	193	0.56
۵	LEgata002 (TMS9)	(gata) 26	f: ttg gta att tat gtt cgg ga r: ttg agc caa ttg att aat aag tt	40.5 41.2	3	344	0.62
۶	LEta015 (U63117)	(ta) 15	f: ata tgc atg gac aaa tct tga ggg r: ctc gcg cat caa att aat gta tca g	48.9 49.3	2	107	0.49
۷	LEta020 (Y08306)	(ta) 11	f: aac ggt gga aac tat tga aag g r: cac cac caa acc cat cgt c	46.0 48.1	4	175	0.60
۸	LEta023 (TMS48)	(ga) 24 (ta) 31 imp	f: att gct cat aca taa ccc cc r: ggg aca aaa tgg taa tcc at	44.6 42.6	3	184	0.61
۹	LEta024 (L35306)	(tg) 4 (ta) 5	f: taa ata caa aag gag gag tgc r: gag ttg aca gat cct tca atg	43.4 45.3	4	280	0.51
۱۰	LEtat002 (AI486387)	(tat) 12	f: acg ctt ggc tgc ctc gga r: aac ttt att att gcc acg tag tca tga	49.7 48.6	3	196	0.58

* AI No. تعداد آلل‌های مشاهده شده برای آن مکان ژنی در مطالعه He et al. (2003)

** Exp Size bp میانگین اندازه باند مورد نظر در آن مکان ژن

*** PIC محتوای اطلاعات چندشکلی

جدول ۳- تعداد آلل و مقادیر PIC محاسبه شده برای هر آغازگر SSR

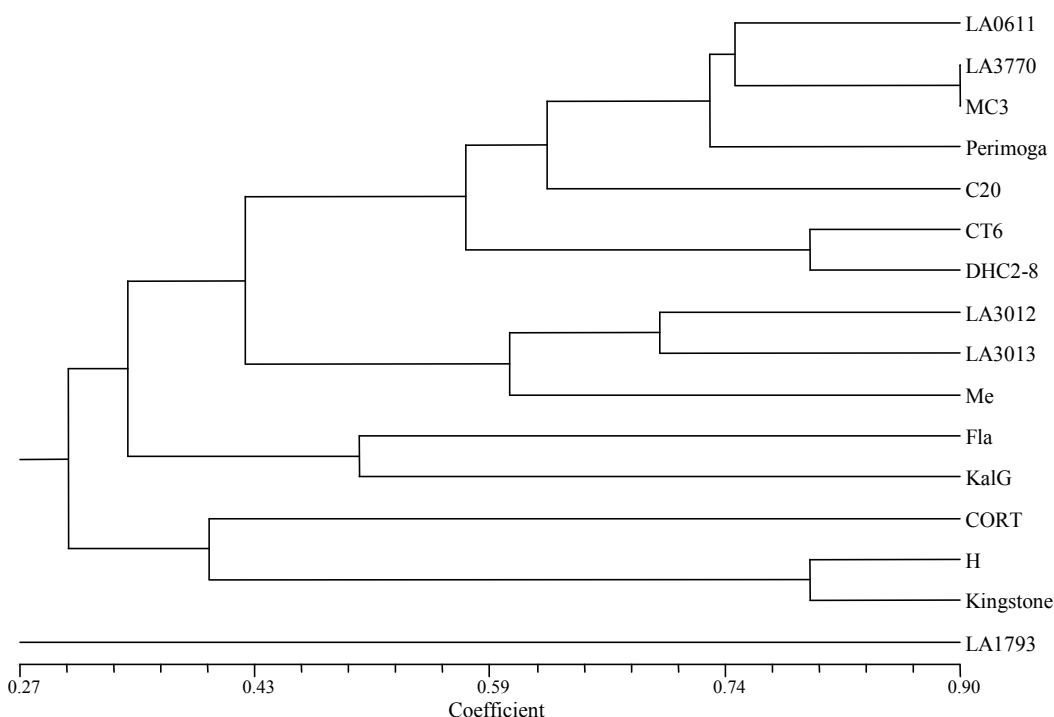
شماره آغازگر	مکان ژنی	تعداد آلل	PIC	PI	D
۱	LEat002 (AI491065)	۲	۰/۴۶	۰/۱۷۲	۰/۸۲۸
۲	LEat018 (TMS39)	۵	۰/۷۱	۰/۰۴۱	۰/۹۵۹
۳	LEga003 (TMS26)	۲	۰/۳۰	۰/۴۳۷	۰/۵۶۳
۴	LEga007 (TMS37)	۴	۰/۷۲	۰/۰۲۸	۰/۹۷۳
۵	LEgata002 (TMS9)	۳	۰/۵۳	۰/۱۵۷	۰/۸۴۲
۶	LEta015 (U63117)	۳	۰/۴۶	۰/۲۲۷	۰/۷۷۳
۷	LEta020 (Y08306)	۴	۰/۶۵	۰/۰۶۷	۰/۹۳۳
۸	LEta023 (TMS48)	۷	۰/۸۴	۰/۰۰۶	۰/۹۹۴
۹	LEta024 (L35306)	۲	۰/۴۹	۰/۱۳۷	۰/۸۶۳
۱۰	LEtat002 (AI486387)	۳	۰/۴۰	۰/۳۱۷	۰/۶۸۳

برخورد دارند شباهت بیشتری داشته و فاصله کمتری را با یکدیگر نشان دهند. بجز دو لاین CORT و H بقیه لاین‌هایی که منشأ آنها واریته‌های روسی بوده‌اند (MC3، PRIMOGA، C20، CT6 و DHC2) در یک کلاستر قرار گرفتند. همچنین دو لاین LA3012 و LA3013 نیز بسیار شبیه به هم ارزیابی شدند. با این وجود دو لاین ME و Fla که یکی دارای منشأ مکزیکی و دیگری دارای منشأ امریکایی است علیرغم فاصله جغرافیایی کم با یکدیگر در مقایسه با فاصله زیادشان با سایر لاین‌های مورد مطالعه، شباهت بسیار کمی را نشان دادند.

نتایج آنالیز کلاستر بر اساس فاصله ژنتیکی (Nei & Li, 1979)، و به روش UPGMA نشان داد که نشانگرهای مولکولی SSR می‌توانند روابط واقعی بین لاین‌ها را نشان داده و در شناسایی لاین‌های گوجه‌فرنگی خصوصاً زمانی که تنوع ژنتیکی بین لاین‌ها پایین باشد یا خصوصیات مرفولوژیک در شناسایی پلی‌مرفیسم بین ژنوتیپ‌ها کافی نباشد، موثر واقع شده و لاین‌های با منشأ و زمینه ژنتیکی مشابه (جدول ۱) تقریباً در گروه‌های مشابه قرار می‌گیرند (شکل ۱). انتظار بر این است که لاین‌هایی که از زمینه ژنتیکی مشابه

فرایندهای اصلاحی که در نهایت منجر به تولید این لاین‌ها شده ارتباط داد. از آنجا که معمولاً برای اصلاح هر لاین خصوصیات خاصی، با توجه به نظر اصلاح‌گر مورد توجه قرار می‌گیرد، فرایند اصلاح می‌تواند به تولید لاین‌های با شباهت بسیار کم منجر شود.

همچنین لاین LA1793 که زمینه ژنتیکی ایتالیایی دارد در گروهی کاملاً مجزا از بقیه قرار گرفته و حتی با لاین KalG که دارای زمینه ژنتیکی مشابه است، شباهت زیادی را نشان نمی‌دهد. این عدم شباهت برخی لاین‌های با منشاء جغرافیایی نزدیک را شاید بتوان به



شکل ۱- آنالیز کلاستر به روش UPGMA بر اساس فاصله ژنتیکی

داد که در هیچ کدام از موارد فوق، همبستگی معنی‌داری میان فاصله ژنتیکی بدست آمده بر اساس نشانگرهای SSR و مقادیر هتروزیس وجود نداشت. به این صورت که در مقدار هتروزیس مشاهده شده با نزدیکی ژنوتیپ‌ها روند خاصی مشاهده نگردید، یعنی ژنوتیپ‌های دور و نزدیک برای داده‌های مولکولی از نظر میزان بروز هتروزیس بطور تقریباً مشابه عمل کردند. میزان هتروزیس محاسبه شده صفات مورد مطالعه در تمامی ۶۳ هیبرید حاصل از تلاقی ۹ لاین پدری و ۷ لاین مادری از نتایج Ghalamkarian (2006) استخراج گردید.

نتیجه‌گیری کلی

در مجموع نتایج نشان داد که نشانگرهای مولکولی SSR، در تشخیص پلی‌مرفیسم بین ژنوتیپ‌های گوجه‌فرنگی موثر و کارا است و می‌توانند به عنوان ابزاری

فواصل ژنتیکی محاسبه شده میان لاین‌های این مطالعه به ظاهر حاکی از وجود لاین‌هایی با فاصله ژنتیکی مناسب جهت انجام تلاقی‌های منجر به هتروزیس مطلوب می‌باشد. ضرایب همبستگی میان فاصله ژنتیکی محاسبه شده توسط نشانگرهای SSR با هتروزیس برای متوسط عملکرد بوته، هتروزیس برای صفت تعداد میوه در بوته، هتروزیس برای صفت وزن میوه و هتروزیس برای ماندگاری میوه در ۶۳ هیبرید حاصل از تلاقی ۹ لاین پدری و ۷ لاین مادری (جدول ۴) محاسبه شد. همبستگی محاسبه شده میان فاصله ژنتیکی با میانگین عملکرد بوته ۰/۱۱۵ بود. همچنین همبستگی میان فاصله ژنتیکی با تعداد میوه، میانگین وزن میوه و ماندگاری میوه به ترتیب ۰/۰۸۸، ۰/۰۹۵ و ۰/۰۸۱- بدست آمد. به طور کلی نتایج نشان

جدول ۴- فاصله ژنتیکی و هتروزیس هیبریدهای حاصل از تلاقی ۷ لاین مادری و ۹ لاین پدری

تلاقی ♀ × ♂	فاصله ژنتیکی	*هتروزیس عملکرد	تعداد میوه	وزن میوه‌ها	ماندگاری میوه‌ها	تلاقی ♀ × ♂	فاصله ژنتیکی	تعداد میوه	وزن میوه‌ها	ماندگاری میوه‌ها
DHC2-8 × LA3012	۰/۷	۲/۶۸	۲۲	۶/۴	۲					
DHC2-8 × LA3013	۰/۷	۱/۴۷	۸	-۷/۳	-۱۲/۵					
DHC2-8 × LA1793	۰/۷	۰/۶۷	۱۳	۱۱	-۲۸/۵					
DHC2-8 × Me	۰/۸	-۰/۷۶	-۲	-۱۹/۹	-۳/۵					
DHC2-8 × LA0611	۰/۳	۰/۳۸	۵	-۸/۵	۶/۵					
DHC2-8 × Primoga	۰/۵	۰/۳۷	۷	-۲۷/۶	۱۶					
DHC2-8 × CT6	۰/۲	-۰/۷۹	-۶	-۱۷/۲	۸/۵					
DHC2-8 × CORT	۰/۸	-۰/۱۰	-۲	-۷/۶	۱۴					
DHC2-8 × Kal G	۰/۷	-۰/۷۳	-۱	-۲۶/۴	۸۹/۵					
C20 × LA3012	۰/۵	۰/۵۰	۳	-۲/۷	-۸					
C20 × LA3013	۰/۶	۰/۴۹	۰	۱/۲	-۳۴/۵					
C20 × LA1793	۰/۵	۱/۷۸	۱۳	۲/۹	۳۳/۵					
C20 × Me	۰/۷	-۰/۷۷	-۶	-۱۴	۶/۵					
C20 × LA0611	۰/۳	۰/۴۵	-۲	۵/۶	۱۹/۵					
C20 × Primoga	۰/۴	-۰/۵۸	-۴	-۲۵	۱۶					
C20 × CT6	۰/۵	-۰/۰۹	۱	-۱۱/۵	-۱/۵					
C20 × CORT	۰/۶	-۰/۰۵	۰	-۱۱/۴	۹۳					
C20 × Kal G	۰/۶	۰/۳۷	۷	-۱۲/۳	-۷/۵					
H × LA3012	۰/۷	۱/۹۴	۱۶	۱۱	-۱۷/۵					
H × LA3013	۰/۷	۱/۸۲	۱۰	۲۴/۴	-۴					
H × LA1793	۰/۸	۱/۱۷	۱۲	-۵/۹	-۵۴					
H × Me	۰/۴	-۱/۴۶	-۱۴	-۱۳/۸	۱۱					
H × LA0611	۰/۷	۱/۶۲	۱۵	۵/۸	۲۱					
H × Primoga	۰/۷	۰/۸۹	۷	۱/۵	۷/۵					
H × CT6	۰/۷	۰/۶۰	۸	-۷/۳	۱۰					
H × CORT	۰/۶	۰/۶۷	۱۰	-۷/۷	۲/۵					
H × Kal G	۰/۹	-۰/۶۶	-۲	-۲۱/۷	-۹					
Kingstone × Primoga	۰/۸	-۰/۷۸	-۲	-۲۲/۴	۱۸					
Kingstone × CT6	۰/۸	-۰/۶۶	-۱۸	۵/۲	۷۵/۵					
Kingstone × CORT	۰/۶	۰/۴۲	۵	-۵/۹	۳۶					
Kingstone × Kal G	۰/۸	۰/۵۰	۴	-۱/۸	-۲/۵					
Kingstone × LA3012	۰/۷	-۰/۱۲	-۲	۱/۸	-۱۹					
Kingstone × LA3013	۰/۷	۰/۵۳	۱۲	-۳/۹	-۳/۵					
Kingstone × LA1793	۰/۷	۰/۴۲	۵	-۱۰/۷	-۴۰/۵					
Kingstone × Me	۰/۵	-۰/۷۷	-۷	-۱۷/۶	۱۲/۵					
Kingstone × LA0611	۰/۶	۰/۴۵	۹	-۲/۲	۴۵/۵					

* هتروزیس بر اساس میانگین والدین محاسبه شده است.

Cerna et al. (1997) بیان کرده‌اند که به علت پیچیدگی‌های ژنتیکی هتروزیس، پیش‌بینی آن از طریق فاصله ژنتیکی مشکل است ولی با این وجود انتخاب آغازگرهای دارای پیوستگی با مکان‌های ژنی دخیل در عملکرد، استفاده از تعداد آغازگرهای بیشتر به منظور هرچه بیشتر پوشش دادن ژنوم و استفاده از این نشانگرها در تعامل با سایر نشانگرها نظیر AFLP و RAPD در نهایت افزایش لاین‌های والدینی و بررسی تلاقی‌های بیشتر می‌تواند در ارزیابی کارایی نشانگرها در انتخاب والدین مناسب جهت تلاقی‌های آتی سودمند باشد.

دقیق در بررسی روابط بین نمونه‌ها و گروه‌بندی بر اساس فاصله ژنتیکی به کار روند. با این وجود نشانگرهای بکار رفته در این مطالعه در شناسایی گروه‌های هتروتیک و انتخاب والدین با فاصله ژنتیکی مناسب جهت تلاقی برای پروژه‌های دورگ‌گیری، مناسب تشخیص داده نشد. از آنجایی که نشانگرهای SSR عمدتاً تمایل به تکثیر نواحی غیرکدکننده ژنوم دارند این امکان وجود دارد که پلی‌مرفیسم بین دو نمونه تنها در نواحی غیر کدکننده بررسی شود و معیار دقیقی از پلی‌مرفیسم بین ژنوتیپ‌ها نباشد. در این مورد (1999) Zhao et al.، (1999) Liu et al. و همچنین

REFERENCES

1. Cerna, F. J., Cianzio, S. R., Rafalski, A., Tingey, S. & Dyer, D. (1997). Relationship between seed yield heterosis and molecular marker heterozygosity in soybean. *Theoretical and Applied Genetics*, 95, 460-467.
2. Daskaloff, C. & Popora, D. (1961). Enfluis der reziproken kereuzung auf heterosis effect in fl bei tomaten. In: R. Frankel (Ed), *Monographs on theoretical and applied genetics*, Vol 6. Heterosis. (pp. 188-214). Springer Verlag Berlin Heidelberg.
3. Flachenecker, C. (2002). *Genetic diversity between CIMMYT bread wheat cultivars and correlation to heterosis*. M. Sc. thesis. University of Hohenheim.
4. Garcia, A. A. F., Benchimol, L. L., Barbosa, A. M. M., Souza, C., Geraldi, I. O. & Souza, A. P. (2004). Comparison of RAPD, RFLP, AFLP and SSR markers for diversity studies in tropical maize inbred lines. *Genetics and Molecular Biology*, 27(4), 579-588.
5. Ghalamkarian, M. (2006). *Study on Combining Ability of tomato lines for important agronomic traits and longevity of fruit*. M. Sc. thesis. The Faculty of Agriculture Ferdowsi University, Mashhad, Iran. (In Farsi).
6. He, C., Poysa, V. & Yu, K. (2003). Development and characterization of simple sequence repeat (SSR) markers and their use in determining relationships among *Lycopersicon esculentum* cultivars. *Theoretical and Applied Genetics*, 106, 363-373.
7. Kwon, S. J. (2002). Relationship between genetic divergence and hybrid performance in japonica rice grown in a cold water-irrigated field. *Euphytica*, 28, 389-396.
8. Lamkey, K. R. & Lee, M. (1993). Quantitative genetics, molecular markers and plant improvement. In: *10th Australian Plant Breeding Conference*, 18-23 April, Gold Coast, Australia, pp.104-115.
9. Liu, Z. Q., Pei, Y. & PU, Z. T. (1999). Relationship between hybrid performance and genetic diversity based on RAPD markers in wheats *triticum aestivum*. *Plant Breeding*, 118, 119-123.
10. Marsan, P.A., Castiglioni, P., Fusari, F., Kuiper, M. & Motto, M. (2004). Genetic diversity and its relationship to hybrid performance in maize as revealed by RFLP and AFLP markers. *Theoretical and Applied Genetics*, 96(2), 219-227.
11. Nei, M. & Li, W. H. (1979). Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, 76(10), 5269-5273.
12. Reif, J. (2004). *Assessing the genetic diversity in crops with molecular markers: theory and experimental results with CIMMYT wheat and maize elite germplasm and genetic resources*. Ph. D. thesis. The University of Hohenheim, Stuttgart, Germany.
13. Saghai-Marouf, M. A., Soliman, K. M., Jorgensen, R. A. & Allard, R. W. (1984). DNA spacer length polymorphism in barley: Mendelian inheritance, Chromosomal location and Population dynamics. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, 81, 8014-8018.
14. Xiao, J., Li, J., Yuan, L. & Tanksley, S. D. (1996). Genetic diversity and its relationship to hybrid performance and heterosis in rice as revealed by PCR-based markers. *Theoretical and Applied Genetics*, 92(6), 637-643.
15. Yordanov, M. (1983). Heterosis in tomato. In: R. Frankel (Ed), *Monographs on theoretical and applied genetics*, Vol 6. Heterosis. (pp. 188-214). Springer Verlag Berlin Heidelberg.
16. Zhang, Q. & Yang, S. H. (1995). Molecular divergence and hybrid performance in rice. *Molecular Breeding*, 1, 133-142.
17. Zhao, M. F., Li, X. H., Yang, J. B., Xe, C.G., He, R. Y., Liu, D. J. & Zhang, Q. (1999). Relationship between molecular marker heterozygosity and hybrid performance in intra-and inter subspecific crosses of rice. *Plant Breeding*, 118, 139-144.