

تجزیه ارتباط صفات ریخت‌شناختی با نشانگرهای ISSR در گوجه‌فرنگی

مشهد هناره^{۱*}، بابک عبدالهی مندولکانی^۲ و آتیلا دورسون^۳

۱. مربی پژوهشی، بخش تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان آذربایجان غربی،

سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، ارومیه، ارومیه، ایران

۲. دانشیار، گروه اصلاح و بیوتکنولوژی گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

۳. استاد، گروه باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه آتاتورک ترکیه، ارزروم

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۱۱/۱ - تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۱/۱۶)

چکیده

گوجه‌فرنگی از لحاظ اقتصادی یکی از مهم‌ترین محصولات سبزی و صیفی در بیشتر نقاط جهان است. بهبود عملکرد و دیگر صفات اساسی گوجه‌فرنگی مورد توجه بسیاری از اصلاح‌گران قرار گرفته است. مکان‌یابی ژن‌های کنترل‌کننده صفات در تسریع روند اصلاح گیاهان بسیار سودمند است. در این پژوهش به منظور شناسایی نشانگرهای مرتبط با برخی صفات کمی و کیفی گوجه‌فرنگی، در ۹۳ رقم محلی و سه رقم تجاری از دو استان آذربایجان غربی و اِغدر- ترکیه از نشانگرهای ISSR استفاده شد. تجزیه ارتباط به روش مدل خطی مخلوط (MLM) نشان داد، ۷۴ نشانگر ISSR با ۱۲ صفت کیفی مورد بررسی ارتباط معنی‌داری ($p < 0.05$) دارد. یکنواختی اندازه میوه با چهار نشانگر کمترین و شدت تورفتگی در انتهای دم میوه با ۱۰ نشانگر بیشترین شمار نشانگر مرتبط را داشتند. در کل ۹۳ نشانگر با ۲۰ صفت کمی مورد بررسی در سطح احتمال ۰/۰۲ پیوستگی داشتند. در بین صفات کمی، عرض برگ لپه‌ای با یک نشانگر کمترین و صفات طول و pH میوه هر کدام با ۹ نشانگر بیشترین شمار نشانگرهای مرتبط را داشتند. برخی از نشانگرهای پیوسته با صفات کمی در هر دو سال ارتباط معنی‌داری با این صفات نشان دادند. شماری از نشانگرها با بیش از یک صفت ارتباط معنی‌دار داشتند که در صورت تأیید، می‌توان از آنها در برنامه‌های اصلاحی گوجه‌فرنگی برای گزینش همزمان چندین صفت استفاده کرد.

واژه‌های کلیدی: اسیدیت، رنگ میوه، ساختار ژنتیکی، گوجه‌فرنگی، مدل خطی مخلوط.

Association analysis of morphological traits in tomato using ISSR markers

Mashhid Henareh^{1*}, Babak Abdollahi Mandoulakani² and Atilla Dursun³

1. Member of the Scientific Board, Seed and Plant Improvement Research Department, West Azarbaijan Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, AREEO, Urmia, Iran

2. Associate Professor, Department of Plant Breeding and Biotechnology, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia

3. Professor, Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, Ataturk University of Turkey, Erzurum, Turkey

(Received: Jan. 20, 2017 - Accepted: Apr. 5, 2017)

ABSTRACT

Tomato is one of the most economically important vegetable crops in many parts of the world. Improvement of yield and other essential characteristics of tomato have received more attention. Mapping quantitative trait loci could accelerate tomato breeding processes. ISSR markers were used to identify molecular makers associated with qualitative and quantitative traits in 93 landraces (from West Azarbaijan in Iran and Iğdır in Turkey) and three commercial cultivars. Association analysis using mixed linear model (MLM) identified 74 ISSR markers significantly ($p < 0.05$) associated with 12 qualitative traits. The highest and lowest number of associated markers achieved for fruit size homogeneity (4 markers) and depression at peduncle end (10 markers), respectively. For quantitative traits, 93 ISSR markers were found to be significantly ($p < 0.02$) associated with 20 traits. The highest and lowest number of associated markers was observed for cotyledon leaf width (one marker) and fruit length and fruit pH (9 markers), respectively. Some markers showed significant association with a number of quantitative traits in both years. Also, significant associations were found between a marker and various traits. After validation of these markers, we will be able to use them in tomato breeding programs for simultaneous multi-trait selection.

Keywords: Acidity, fruit color, genetic structure, mixed linear model, tomato.

* Corresponding author E-mail: mashhid_henareh@yahoo.com

مقدمه

گوجه‌فرنگی از لحاظ اقتصادی از جمله محصولات مهم سبزی و صیفی در جهان بوده و حدود ۱۴ درصد از تولید این گروه از محصولات را به خود اختصاص داده است (Osei *et al.*, 2014). به علت اهمیتی که این محصول در جیره غذایی انسان دارد کشت و تولید آن در جهان در سال‌های اخیر افزایش چشمگیری داشته و افزون بر کشت در هوای آزاد، در فضاهای قابل کنترل مانند گلخانه و تونل‌های پلاستیکی نیز تولید می‌شود، به طوری که، در بیشتر مناطق جهان و در هر زمانی از سال با فراهم کردن شرایط محیطی لازم، می‌توان این محصول را تولید کرد. ایران و ترکیه از ده کشور عمده تولیدکننده این محصول در جهان هستند (FAOSTAT, 2013). ذخائر توارثی (ژرم‌پلاسم) متنوعی از گوجه‌فرنگی در این دو کشور وجود دارد (Henareh *et al.*, 2015).

گوجه‌فرنگی زراعی (*Solanum lycopersicum* L.) و هشت گونه وحشی آن بومی منطقه آند (Andean) آمریکای جنوبی هستند (Bauchet & Causse, 2012). همه این گونه‌ها دیپلوئید هستند ($2n=2x=24$) و ساختار کروموزومی همسانی دارند (Foolad, 2007). گوجه‌فرنگی ژنگان (ژنوم) به نسبت کوچکی داشته و اندازه آن تا حدودی ۹۵۰ Mbp است (Shibata, 2005). در بین گونه‌های گیاهی گوجه‌فرنگی از لحاظ شمار نشانگر (مارکر)های مولکولی قابل دسترس بسیار غنی است به طوری که، تا به حال بیش از ۱۰۰۰ نشانگر RFLP و ۲۱۴۰۰۰ EST در ۱۲ کروموزوم آن شناسایی شده‌اند (Foolad, 2007).

یکی از پیامدهای پرهیزناپذیر کشاورزی پیشرفته در استفاده از رقم (واریته)های اصلاح‌شده با بیشینه عملکرد و کیفیت، کاهش تنوع ذخایر ژنتیکی بوده است و گوجه‌فرنگی هم از این قضیه مستثنا نیست. تحقیقات نشان می‌دهد، تنوع ژنتیکی گوجه‌فرنگی زراعی در گذر زمان اهلی شدن و تولید رقم‌های زراعی، در نتیجه گزینش شدید کاهش محسوسی داشته است و امروزه کمتر از ۱۰ درصد تنوع ژنتیکی جنس گوجه‌فرنگی در گونه زراعی مشاهده می‌شود (Areshchenkova & Ganal, 2000; Miller & Tanksley, 1990). برآورد تنوع

ژنتیکی در حفظ منابع ژنتیکی و به‌کارگیری این منابع در برنامه‌های اصلاحی گیاهان زراعی اهمیت بسزایی دارد (Ebrahimi *et al.*, 2011). برای ارزیابی تنوع ژنتیکی از نشانگرهای ریخت‌شناختی (مورفولوژیکی) و مولکولی (نشانگرهای پروتئینی و نشانگرهای به‌دست‌آمده از DNA) استفاده می‌شود. نشانگرهای مولکولی و صفات ریخت‌شناختی مکمل یکدیگر هستند و نمی‌توانند به‌تنهایی ابزار سودمندی در روش‌های اصلاحی باشند (Majidi & Sharafi, 2014).

بررسی ارتباط بین صفات زراعی و نشانگرهای مولکولی کاربردهای مختلف از جمله شناسایی همردیف (آلل)های ژنی صفات مطلوب، امکان بررسی ظرفیت (پتانسیل) ژنتیکی نژادگان (ژنوتیپ)های خاص پیش از ارزیابی پدیدگانی (فنتوتیپ)، آسانگری مکان‌یابی دقیق QTLها و تأیید ژن‌های نامزد (کاندید) مسئول صفات کمی دارد (Gebhardt *et al.*, 2004). پیوستگی ژنتیکی بین نشانگرهای مولکولی و مکان‌های ژنی کنترل‌کننده صفات ریخت‌شناختی، محتمل‌ترین توجیه برای وجود رابطه بین نشانگرها و نمود صفات است. استفاده از این ارتباط، فرآیند اصلاح نباتات را تسریع کرده است. به طوری که به جای ارزیابی صفات، گزینش غیرمستقیم به کمک نشانگرهای پیوسته صورت می‌گیرد (Abdollahi & Azizi, 2014).

شناسایی نواحی ژنگانی دخیل در کنترل صفات کمی به دو روش اصلی صورت می‌گیرد، روش تجزیه پیوستگی که در این روش اغلب از جمعیت‌های در حال تفرق مانند نسل F_2 ، تلاقی برگشتی، هاپلوپیدهای مضاعف استفاده می‌شود. این روش بر مبنای تعیین همبستگی نواحی کروموزومی مشترک بین خویشاوندان در یک جمعیت در حال تفرق با صفت مورد بررسی است. این روش تجزیه پیوستگی در گیاهان چندساله مانند درختان میوه به‌واسطه نیاز به زمان طولانی برای تولید جمعیت‌های مصنوعی و حساسیت برخی از گونه‌ها به خویش‌آمیزی برای ایجاد این جمعیت‌ها، مشکل است (Doulati Baneh *et al.*, 2014). از محدودیت‌های دیگر این روش شمار کم نوترکیبی (Crossing Over) است که در حین تهیه جمعیت‌های در حال تفرق صورت می‌گیرد، که این امکان مکان‌یابی دقیق را فراهم نمی‌سازد (Taheri *et al.*,

استفاده شد. در زمان گردآوری از هر رقم به میزان کافی میوه برداشت و از آن‌ها بذرگیری شد. رقم‌ها بر پایه اسم منطقه‌ای که از آن گردآوری شده بودند، کدگذاری شدند (جدول ۱). همچنین، دو رقم تجاری Peto Early CH و Rio Grande از ایران و رقم تجاری H-2274 از ترکیه به‌عنوان شاهد در این تحقیق استفاده شدند.

رقم‌های گوجه‌فرنگی در ایستگاه تحقیقات کشاورزی کهرپز ارومیه در قالب طرح آلفا لاتیس با دو تکرار به مدت دو سال (۹۲-۱۳۹۱) کشت شدند. در طول فصل رشد شماری از صفات ریخت‌شناختی کمی و کیفی بر پایه دستورکار اتحادیه بین‌المللی حمایت از رقم‌های گیاهی (UPOV) بررسی شد. صفات کیفی مورد بررسی شامل اندازه گیاهچه، اندازه بوته، تراکم برگ، شکل برگ، وجود لکه‌های سبز در میوه نارس، رنگ میوه، وجود حفره‌های خالی در میوه، شدت خطوط برجسته روی میوه، شکل مقطع عرضی میوه، شکل میوه، اندازه میوه، یکنواختی اندازه میوه، شکل نشان مادگی روی میوه، سفتی میوه، شدت خطوط برجسته روی میوه، شدت تورفتگی در انتهای دم میوه، شکل گلگاه میوه، شدت آفتاب‌سوختگی میوه، شدت ترکیدگی میوه و شدت پوسیدگی گلگاه میوه بودند. این صفات بر پایه دستورکار یادشده نمره‌دهی شدند. همچنین، صفات کمی طول و عرض برگ‌های لپه‌ای، طول و عرض برگ‌های حقیقی، شمار روز تا گل‌دهی، شمار گل در دومین گل‌آذین، درصد تشکیل میوه در دومین گل‌آذین، شمار میوه در بوته، وزن میوه، شمار روز تا رسیدگی میوه، طول و قطر میوه، شمار روز تا رسیدگی ۵۰ درصد میوه، ضخامت پیوست (پریکارپ) میوه، شمار حفره داخل میوه، شمار بذر درون میوه، طول دم میوه، مواد جامد محلول میوه و اسیدیت میوه و عملکرد بوته برای هر رقم گوجه‌فرنگی به مدت دو سال اندازه‌گیری شد.

تجزیه ISSR و ثبت نژادگان

بذرهای رقم‌های گوجه‌فرنگی در گلدان کشت و نمونه‌های برگ‌ی از بوته‌های سه‌هفته‌ای تهیه و پس از نمونه‌گیری در نیتروژن مایع منجمد و در دمای ۸۰- درجه سلسیوس نگهداری شدند. استخراج DNA به روش CTAB با تغییرپذیری اندکی انجام گرفت

(2015). روش دیگری که در سال‌های اخیر معرفی شده است، مکان‌یابی ارتباطی یا تجزیه ارتباط است که در این روش برخلاف تجزیه پیوستگی، ارتباط بین نژادگان و پدیدگان افراد به‌طور مستقیم برای شناسایی نواحی کروموزومی دخیل در کنترل صفت بررسی می‌شود (Doulati Baneh et al., 2014). در این روش از یک منبع جمعیتی گسترده‌ای استفاده می‌شود ساختار جمعیت، اندازه نمونه و فراوانی آللی خاص ممکن است توانایی این روش در شناسایی نشانگرهای مرتبط با صفات را تحت تأثیر قرار دهد و موجب ارتباطات دروغین نشانگر-صفت شود. به‌منظور به کمینه رساندن نتایج دروغین در بررسی‌های مرتبط با تجزیه ارتباط، لازم است در آغاز ساختار جمعیت و رابطه‌های خویشاوندی در جمعیت مورد استفاده بررسی و در تجزیه ارتباط لحاظ شود (Taheri et al., 2015).

استفاده از نشانگرهای ژنتیکی به‌منظور تعیین QTL‌های کنترل‌کننده صفات در گوجه‌فرنگی سال ۱۹۸۰ آغاز شد. بررسی‌های اولیه شامل تعیین ارتباط بین نشانگرهای ایزوزایم (Isozyme) و شماری از صفات ریخت‌شناختی مانند وزن میوه، وزن بذر، طول میانگره، شمار گره، شمار گل، اندازه بوته، ارتفاع گیاه و مقاومت به سرما بود (Foolad, 2007). در بررسی تنوع ژنتیکی ۵۰ نژادگان محلی گوجه‌فرنگی، ۹ رقم تجاری و دو نژادگان وحشی با استفاده از ۱۵ صفت مورفوفیزیولوژیک و ۲۹ نشانگر SSR، ارتباط بین این صفات و نشانگرها بررسی شد. نتایج نشان داد، ارتباط معنی‌داری در سطح احتمال ۰/۰۱ بین بعضی از صفات با شماری از نشانگرها وجود دارد (Mazzucato et al., 2008). هدف از این پژوهش شناسایی نشانگرهای ISSR پیوسته با برخی صفات کیفی و کمی در رقم‌های محلی گوجه‌فرنگی گردآوری‌شده از دو استان آذربایجان غربی و اعدر- ترکیه بود.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی و آزمایش صحرائی

۹۳ رقم محلی گوجه‌فرنگی از مناطق مختلف استان‌های آذربایجان غربی (۷۹ رقم) و اعدر- ترکیه (۱۴ رقم) در سال ۱۳۹۰ گردآوری شدند. برای شناسایی و گردآوری رقم‌های یادشده بیشتر از صفات ظاهری میوه و بوته

از هر آغازگر، ۰/۵ واحد آنزیم تک پلیمرز و ۳۰ نانوگرم DNA ژنگانی بود. چرخه حرارتی PCR به صورت: چهار دقیقه واسرشت‌سازی اولیه در ۹۴ درجه سلسیوس و ۳۵ چرخه شامل ۴۰ ثانیه در ۹۴ درجه سلسیوس، ۴۰ ثانیه در ۵۳ الی ۵۶ درجه سلسیوس برای اتصال، دو دقیقه در ۷۲ درجه سلسیوس برای بسط و شش دقیقه در ۷۲ درجه سلسیوس برای بسط نهایی انجام گرفت. برای جداسازی محصولات افزایشی از الکتروفورز ژل پلی‌آکرلامید ۶ درصد با دستگاه Mega-Gel مدل C-DASG-400-50 استفاده شد (Utomo *et al.*, 2009).

(Saghai-Marroof *et al.*, 1984). کمیت و کیفیت DNA استخراجی با روش ژل آگارز ۸ درصد و طیف‌سنج نوری (اسپکتروفتومتری، NanoDrop 1000) تعیین شد و سپس به غلظت ۳۰ نانوگرم در میکرولیتر برای انجام واکنش‌های زنجیره‌ای پلیمرز رقیق‌سازی شد. در این تحقیق از ۲۰ آغازگر ISSR (جدول ۲) استفاده شد. واکنش زنجیره‌ای پلی‌مرز برای نشانگرهای ISSR در دستگاه ترموسایکلر MultiGene (TC9600-G-230V, Labnet International, Inc.) در حجم ۱۰ میکرولیتر انجام شد. واکنش شامل بافر PCR یک برابر، ۲/۵ میلی مول $MgCl_2$ ، ۰/۵ میلی مول از هر dNTP، ۱۰ پیکومول

جدول ۱. کد و مناطق جغرافیایی رقم‌های محلی گوجه‌فرنگی

Table 1. Codes and geographical origins of the tomato landraces

No.	Landrace code	Origin	No.	Landrace code	Origin	No.	Landrace code	Origin
1	IR.U1	Iran-Urmia	32	IR.MI7	Iran-Miandoab	63	TU.IG11	Turkey-Iğdır
2	IR.U2	Iran-Urmia	33	IR.B	Iran-Bokan	64	TU.IG12	Turkey-Iğdır
3	IR.U3	Iran-Urmia	34	IR.MA1	Iran-Mahabad	65	TU.IG13	Turkey-Iğdır
4	IR.U4	Iran-Urmia	35	IR.MA2	Iran-Mahabad	66	TU.IG14	Turkey-Iğdır
5	IR.U5	Iran-Urmia	36	IR.MA4	Iran-Mahabad	67	IR.U20	Iran-Urmia
6	IR.U6	Iran-Urmia	37	IR.N2	Iran-Naghadeh	68	IR.U21	Iran-Urmia
7	IR.U7	Iran-Urmia	38	IR.Q1	Iran-Qaraziaediin	69	IR.U22	Iran-Urmia
8	IR.U8	Iran-Urmia	39	IR.Q2	Iran-Qaraziaediin	70	IR.U23	Iran-Urmia
9	IR.U10	Iran-Urmia	40	IR.Q3	Iran-Qaraziaediin	71	IR.O6	Iran-Oshnavieh
10	IR.U11	Iran-Urmia	41	IR.Q4	Iran-Qaraziaediin	72	IR.P5	Iran-Piranshahr
11	IR.U12	Iran-Urmia	42	IR.Q5	Iran-Qaraziaediin	73	IR.P6	Iran-Piranshahr
12	IR.U13	Iran-Urmia	43	IR.Q6	Iran-Qaraziaediin	74	IR.P7	Iran-Piranshahr
13	IR.U14	Iran-Urmia	44	IR.Q7	Iran-Qaraziaediin	75	IR.P8	Iran-Piranshahr
14	IR.U15	Iran-Urmia	45	IR.Q8	Iran-Qaraziaediin	76	IR.P9	Iran-Piranshahr
15	IR.U16	Iran-Urmia	46	IR.KH1	Iran-Khoy	77	IR.P10	Iran-Piranshahr
16	IR.O1	Iran-Oshnavieh	47	IR.KH2	Iran-Khoy	78	IR.SR2	Iran-Sardasht
17	IR.O2	Iran-Oshnavieh	48	IR.SA1	Iran-Salmas	79	IR.SR3	Iran-Sardasht
18	IR.O3	Iran-Oshnavieh	49	IR.SA2	Iran-Salmas	80	IR.SR4	Iran-Sardasht
19	IR.O4	Iran-Oshnavieh	50	IR.U18	Iran-Urmia	81	IR.SR5	Iran-Sardasht
20	IR.O5	Iran-Oshnavieh	51	IR.SR1	Iran-Sardasht	82	IR.SR6	Iran-Sardasht
21	IR.P1	Iran-Piranshahr	52	IR.U19	Iran-Urmia	83	IR.SR7	Iran-Sardasht
22	IR.P2	Iran-Piranshahr	53	TU.IG1	Turkey-Iğdır	84	IR.SR8	Iran-Sardasht
23	IR.P3	Iran-Piranshahr	54	TU.IG2	Turkey-Iğdır	85	IR.MA5	Iran-Mahabad
24	IR.P4	Iran-Piranshahr	55	TU.IG3	Turkey-Iğdır	86	IR.MA6	Iran-Mahabad
25	IR.N1	Iran-Naghadeh	56	TU.IG4	Turkey-Iğdır	87	IR.MA7	Iran-Mahabad
26	IR.MI1	Iran-Miandoab	57	TU.IG5	Turkey-Iğdır	88	IR.MA8	Iran-Mahabad
27	IR.MI2	Iran-Miandoab	58	TU.IG6	Turkey-Iğdır	89	IR.MA9	Iran-Mahabad
28	IR.MI3	Iran-Miandoab	59	TU.IG7	Turkey-Iğdır	90	IR.MA10	Iran-Mahabad
29	IR.MI4	Iran-Miandoab	60	TU.IG8	Turkey-Iğdır	91	IR.U24	Iran-Urmia
30	IR.MI5	Iran-Miandoab	61	TU.IG9	Turkey-Iğdır	92	IR.U25	Iran-Urmia
31	IR.MI6	Iran-Miandoab	62	TU.IG10	Turkey-Iğdır	93	IR.U26	Iran-Urmia

جدول ۲. نام، توالی و دمای اتصال آغازگرهای ISSR

Table 2. Name, sequence and annealing temperature of ISSR primers

Primer	Sequence (5'→3')	Annealing temperature
A7	(AG) ₁₀ T	54
UBC811	(GA) ₈ C	54
UBC867	(GGC) ₈	54
UBC820	(GT) ₈ C	55
A12	(GA) ₆ CC	53
UBC848	(CA) ₈ R*G	54
UBC855	(AC) ₈ Y*T	56
UBC818	(CA) ₈ G	54
UBC849	(GT) ₈ CG	54
UBC808	(AG) ₈ C	54
UBC840	(GA) ₈ Y*T	54
UBC815	(CT) ₈ T	54
UBC 880	(GGAGA) ₃	53
430	(TGG) ₇ A	56

تحقیق را می‌توان به وجود شمار زیاد نژادگان‌ها، استفاده از ژل پلی آکرلامید بجای آگاروز برای جداسازی نوآرها و گستره جغرافیایی گسترده مناطق گردآوری رقم‌های محلی گوجه‌فرنگی مورد بررسی نسبت داد. همچنین، با توجه به اینکه در روش ISSR، آغازگرها مکمل نواحی ریزماهورای هستند که در یوکاریوت‌ها با فراوانی بالا در سراسر ژنگان پراکنده‌اند، بنابراین، استفاده از این روش می‌تواند سطح بالایی از چندشکلی را آشکار سازد (Abdollahi & Azizi, 2014).

جدول ۳. تنوع پدیدگانی در نژادگان‌های گوجه‌فرنگی

Table 3. Phenotypic diversity among the tomato genotypes

Trait	Min.	Max.	Mean	σ_g^2
Cotyledon leaf length (cm)	3.1	5.2	4.1	0.42**
Cotyledon leaf width (mm)	4.6	7.2	6	0.76**
Leaf length (cm)	11.3	30.9	23.08	47.43**
Leaf width (cm)	6.3	22.1	13.63	21.73**
Days to flowering	72	86	79.86	16.65**
Flowers/Inflorescence	3.7	7.2	4.82	0.95**
Fruit set/Cluster (%)	51.5	95	72.64	165.4**
Fruits/Plant	8	143.7	30.35	1697.69**
Fruit weight (gr)	8.8	232.4	117	7432.66**
Days to fruit maturity	113.3	143.8	129.9	56.65**
Fruit diameter (cm)	2.1	9	5.9	4.93**
Fruit length (cm)	2.5	7.5	5.5	3.49**
Days to 50% fruit maturity	136.5	172.8	155.7	99.8**
Pericarp thickness (mm)	2.7	8.8	6.05	3.86**
Carpels/Fruit	2	12.4	4.91	8.18**
Seeds/Fruit	40.4	244.5	128.3	5270.41**
Fruit peduncle length (cm)	1.7	3.6	2.71	0.3**
Total soluble solids	3.4	6.8	5.03	0.77**
pH	4.07	4.5	4.28	0.02**
Acidity	0.34	1.17	0.652	0.07**
Yield/Plant (kg)	1.4	3.3	2.17	0.35**

σ_g^2 : واریانس ژنتیکی

** اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد

σ_g^2 : genotypic variance; h^2 : heritability
** : significance at 0.01 level of probability

پس از انجام محاسبه مقادیر مختلف K (با روش، ΔK) میزان $K=2$ مناسب‌ترین عدد برای محاسبه میانگین شاخص تثبیت (F_{ST}) برای هر گروه برآورد شد (شکل ۱) و شمار دو گروه در جمعیت گوجه فرنگی مورد بررسی تشخیص داده شد. میانگین میزان F_{ST} بین افراد در گروه یک و دو به ترتیب ۰/۱۶ و ۰/۲۱ بود. میزان F_{ST} می‌تواند از ۰ تا ۰/۰۵، ۰/۰۵ تا ۰/۱۵، ۰/۱۵ تا ۰/۲۵ و بالای ۰/۲۵ در جمعیت و یا زیر جمعیت متغیر باشد که به ترتیب نشان‌دهنده اختلاف ژنتیکی کم، متوسط، زیاد و بسیار زیاد در بین افراد موجود در جمعیت و یا زیر جمعیت است (Cho

تجزیه و تحلیل آماری

نوارهای به‌دست‌آمده از همه آغازگرها به صورت ۱ (حضور) و ۰ (بدون حضور) امتیازدهی و ماتریس به‌دست‌آمده برای بررسی ساختار جمعیت استفاده شد. ساختار جمعیت بر پایه داده‌های به‌دست‌آمده از تلفیق نشانگرها با استفاده از نرم‌افزار Structure 2.3.4 (Pritchard *et al.*, 2000) در حالت Admixture با ۱۰۰۰۰ بار Burn-in و ۵۰۰۰۰ بار MCMC در مقادیر مختلف K از ۱ تا ۲۰ (۱۰ تکرار برای هر K) بررسی شد. عدد K بهینه (شمار زیرجمعیت‌های احتمالی) با روش ΔK تعیین شد. ماتریس درصد عضویت افراد به زیرگروه‌ها (ماتریس Q) و همچنین میانگین شاخص تثبیت (F_{ST}) برای زیرگروه‌های احتمالی نیز با استفاده از همین نرم‌افزار بر پایه K بهینه برآورد شد. ماتریس رابطه‌های خویشاوندی افراد (ماتریس Kinship) و تجزیه ارتباط به روش مدل خطی مخلوط (MLM) نیز با نرم‌افزار TASSEL 3 انجام گرفت (Bradbury *et al.*, 2007). نشانگرهای مرتبط با صفات مورد بررسی با توجه به مقادیر P -value انتخاب شدند. سطح معنی‌داری برای ارتباط بین نشانگرها و صفات کیفی و کمی به ترتیب ۰/۰۵ و ۰/۰۲ تعیین شد.

نتایج و بحث

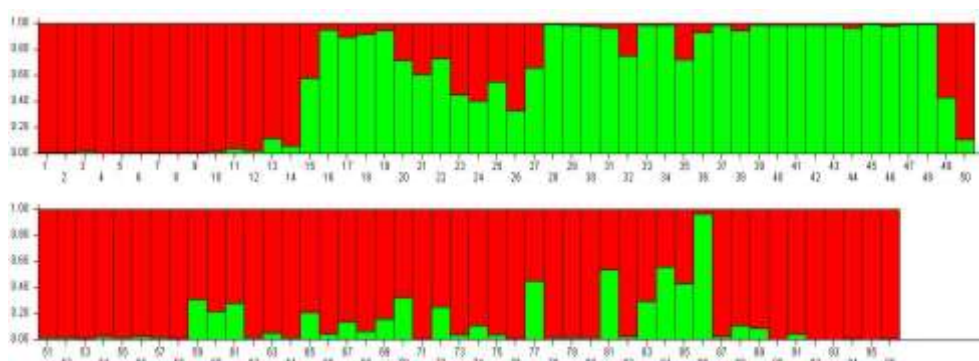
مقادیر کمینه، بیشینه، میانگین و واریانس ژنتیکی برای هر یک از صفات ریخت‌شناختی در جدول ۳ نشان داده شده است. در همه صفات مورد بررسی اختلاف قابل‌توجهی بین نژادگان‌های گوجه‌فرنگی مشاهده شد. کمینه و بیشینه میزان ثبت‌شده برای صفات مختلف نشان‌دهنده تنوع پدیدگانی بالا در جمعیت مورد بررسی است. کمینه و بیشینه واریانس ژنتیکی به ترتیب در pH میوه و وزن میوه مشاهده شد. بر پایه صفات کیفی نیز تنوع زیادی بین رقم‌های مشاهده شد. به‌طور مثال، بر پایه شکل میوه رقم‌های گوجه‌فرنگی در نه گروه مختلف قرار گرفتند.

از ۲۰ آغازگر ISSR مورد استفاده، ۱۴ آغازگر نوارهای واضح و قابل امتیازدهی تولید کردند (جدول ۲). این ۱۴ آغازگر در مجموع ۱۸۵ نوار چند شکل تولید کردند. چندشکلی بالای به‌دست‌آمده در این

اندازه بوته، تراکم برگ، سفتی میوه، شدت پوسیدگی گلگاه میوه و شدت آفتاب‌سوختگی میوه پیوستگی داشت. صفات یکنواختی اندازه میوه و شدت تورفتگی در انتهای دم میوه به ترتیب با کمترین (چهار نشانگر) و بیشترین (۱۰ نشانگر) نشانگر ارتباط معنی‌داری داشتند. اندازه بوته با ۹ نشانگر پیوستگی معنی‌داری نشان داد، در مجموع این نشانگرها ۶۱/۴ درصد تغییرپذیری‌های این صفت را تبیین می‌کنند. از این درصد تغییرپذیری ۱۳/۶ درصد مربوط به دو نشانگر از آغازگر UBC849 بود. اندازه میوه نیز با ۹ نشانگر ارتباط داشت که دو نشانگر مربوط به آغازگر UBC855 بود. از چهار نشانگر پیوسته با یکنواختی اندازه میوه، سه نشانگر به آغازگر UBC880 اختصاص داشته و در مجموع ۲۱/۲ درصد تغییرپذیری مربوط به یکنواختی اندازه میوه را توجیه کردند. هفت نشانگر از پنج آغازگر با سفتی بافت رابطه معنی‌داری نشان دادند، سه نشانگر به آغازگر UBC849 مربوط بود و ۲۰/۲ درصد تغییرپذیری این صفت را تبیین می‌کنند. از ۱۰ نشانگر مرتبط با شدت تورفتگی در انتهای دم میوه دو نشانگر به آغازگر UBC820 و سه نشانگر به آغازگر UBC848 متعلق بود. نشانگرهای مربوط به این دو آغازگر ۴۴/۳ درصد تغییرپذیری این صفت را توجیه کردند. بیشترین میزان R^2 با ۱۶/۴ درصد بین این صفت و نشانگر 5-UBC848 بود. عارضه‌های فیزیولوژیکی پوسیدگی گلگاه، آفتاب‌سوختگی و ترکیدگی میوه هرکدام با پنج، شش و شش نشانگر از آغازگرهای مختلف پیوستگی نشان دادند.

(et al., 2008). بیشتر رقم‌های محلی قرار گرفته در گروه اول مانند رقم‌های تجاری رشد رویشی کمتر، بافت میوه سفت‌تر، ضخامت پوسته میوه ضخیم‌تر، شمار بذر کمتر و زودرسی بیشتری نسبت به رقم‌های محلی قرار گرفته در گروه دوم داشتند.

ارتباط بین صفات ریخت‌شناختی کیفی و نشانگرهای مولکولی در جدول ۴ نشان داده شده است. R^2 درصد تغییرپذیری صفات که توسط نشانگرها توجیه می‌شود را نشان می‌دهد. میزان R^2 برای این صفات از ۵/۱ تا ۱۶/۴ درصد متغیر بود. از ۲۰ صفت کیفی مورد بررسی ۱۲ صفت با نشانگرها ارتباط معنی‌داری ($p < 0.05$) نشان دادند. صفات شکل برگ، وجود لکه‌های سبز در میوه نارس، رنگ میوه، وجود حفره‌های خالی در میوه، شکل مقطع عرضی میوه، شکل میوه، شکل نشان مادگی روی میوه، شکل گلگاه میوه با هیچ‌کدام از نشانگرهای افزونش یافته پیوستگی معنی‌داری نشان ندادند. در مجموع ۷۴ نشانگر ISSR با ۱۲ صفت پیوسته بودند. آغازگرهای UBC855 و UBC867 به ترتیب بیشترین (۱۰) و کمترین (۱) شمار نشانگر معنی‌دار مرتبط با صفات را نشان دادند. بعضی از نشانگرها با چندین صفت ارتباط معنی‌داری داشتند. نشانگر 24-UBC855 با سه صفت اندازه میوه، شدت برجستگی خطوط در انتهای میوه و شدت فرورفتگی در انتهای دم میوه پیوستگی معنی‌داری نشان داد. در بررسی‌های پیشین همبستگی مثبت و معنی‌داری بین این سه صفت گزارش شده است (Henareh, 2014). نشانگر 6-UBC849 نیز با صفات



شکل ۱. باریلات ۹۶ رقم گوجه‌فرنگی بر پایه ۱۸۵ مکان ISSR (اعداد موجود در شکل نشان‌دهنده کد رقم‌های محلی بر پایه جدول ۱ است. 94 = Peto Early CH, 95 = Rio Grande and 96 = H-2274)

Figure 1. Bar plot of 96 tomato genotypes based on 185 ISSR loci (Numbers in the figure show the tomato landraces according Table 1, 94 = Peto Early CH, 95 = Rio Grande and 96 = H-2274)

جدول ۴. نشانگرهای ISSR پیوسته با صفات کیفی ریخت‌شناختی در رقم‌های گوجه‌فرنگی مورد بررسی

Table 4. ISSR markers linked to qualitative traits in tomato landraces

Marker	R ²	P-value	Marker	R ²	P-value
Seedling size			Depression at peduncle end of fruit		
A7-3	0.059	0.035	UBC820-4	0.070	0.021
UBC811-10	0.056	0.040	UBC820-5	0.059	0.034
UBC811-18	0.111	0.006	UBC848-4	0.093	0.01
UBC811-19	0.071	0.027	UBC848-5	0.164	7.21E
UBC855-12	0.054	0.044	UBC848-7	0.057	0.043
UBC840-6	0.066	0.026	UBC855-24	0.057	0.037
Plant size			UBC808-15	0.08	0.014
A7-6	0.058	0.035	UBC840-5	0.09	0.010
UBC855-10	0.053	0.044	UBC815-9	0.063	0.029
UBC818-3	0.063	0.029	UBC880-18	0.064	0.042
UBC849-6	0.068	0.023	Blossom-end rot of fruit		
UBC849-13	0.068	0.023	UBC855-10	0.09	0.009
UBC815-3	0.089	0.010	UBC849-6	0.063	0.029
UBC815-9	0.067	0.025	UBC840-5	0.064	0.029
UBC880-6	0.068	0.024	UBC880-6	0.065	0.028
430-9	0.080	0.016	UBC880-8	0.052	0.048
Foliage density			Fruit sunscald		
UBC811-8	0.054	0.046	A12-5	0.078	0.016
UBC848-8	0.067	0.028	UBC818-3	0.055	0.042
UBC818-7	0.062	0.0317	UBC849-6	0.082	0.013
UBC849-6	0.081	0.014	UBC808-13	0.054	0.043
UBC815-8	0.069	0.023	UBC815-3	0.085	0.013
UBC880-6	0.054	0.044	UBC815-8	0.105	0.006
430-9	0.105	0.006	Fruit cracking		
Fruit size			UBC855-1	0.052	0.047
UBC867-5	0.052	0.047	UBC855-7	0.052	0.047
A12-19	0.057	0.039	UBC855-20	0.056	0.04
UBC855-24	0.075	0.018	UBC808-17	0.111	0.004
UBC855-26	0.069	0.023	UBC808-18	0.124	0.003
UBC849-13	0.096	0.008	UBC815-9	0.059	0.036
UBC808-15	0.056	0.040	Fruit firmness		
UBC840-4	0.052	0.048	A12-8	0.054	0.042
UBC880-14	0.063	0.031	UBC848-8	0.061	0.035
430-7	0.063	0.033	UBC849-6	0.073	0.019
Fruit size homogeneity			UBC849-10	0.053	0.044
UBC815-5	0.051	0.049	UBC849-11	0.076	0.016
UBC880-3	0.069	0.023	UBC840-5	0.074	0.018
UBC880-14	0.080	0.014	UBC815-4	0.068	0.023
UBC880-18	0.063	0.042	Ribbing at peduncle end of fruit		
Ribbing at peduncle end of fruit			A12-5	0.063	0.029
A12-5	0.063	0.029	A12-6	0.071	0.021
A12-6	0.071	0.021	UBC848-5	0.055	0.043
UBC848-5	0.055	0.043	UBC855-24	0.061	0.032
UBC855-24	0.061	0.032	430-7	0.076	0.017
430-7	0.076	0.017			

R²: ضریب تبیین

در مجموع ۹۳ نشانگر با ۲۰ صفت در سطح احتمال ۰/۰۲ ارتباط معنی‌داری داشتند. بیشترین شمار نشانگر مرتبط با صفات (۱۵ نشانگر)، مربوط به آغازگر UBC849 و کمترین شمار نشانگر (دو نشانگر) مربوط به آغازگرهای UBC818 و UBC867 بود. بعضی از نشانگرها با چندین صفت ارتباط معنی‌داری نشان دادند. نشانگر UBC849-13 با صفات طول برگ‌های

در جدول ۵ ارتباط بین صفات کمی و نشانگرها آورده شده است. به‌خاطر اینکه، در سطح کمتر از ۰/۰۵ شمار زیادی از نشانگرها با این صفات پیوستگی معنی‌داری نشان دادند، در نتیجه برای کاهش شمار نشانگرها، سطح معنی‌داری برای این صفات ۰/۰۲ در نظر گرفته شد. کمترین و بیشترین شاخص R² برای صفات کمی به ترتیب ۶/۹ و ۲۷/۴ درصد بود.

دو سال با این صفت ارتباط معنی‌داری نشان داد. pH میوه با چهار نشانگر در سال اول و پنج نشانگر دیگر در سال دوم پیوستگی نشان داد. مواد جامد محلول در سال اول با دو نشانگر و در سال دوم با دو نشانگر دیگر ارتباط داشت که این نشانگرها در سال اول و دوم به ترتیب ۱۹ و ۱۶ درصد تغییرپذیری مواد جامد محلول را بیان کردند. عملکرد با UBC811-13 و UBC880-6 در هر دو سال پیوسته بود به طوری که این دو نشانگر در سال اول ۱۴/۶ و در سال دوم ۱۴/۸ درصد از تغییرپذیری پدیدگانی عملکرد را توجیه کردند. همچنین نشانگر 4-430 در سال دوم ارتباط معنی‌داری با عملکرد نشان داد. از نشانگرهای پیوسته با عملکرد در صورت تأیید می‌توان برای گزینش افراد برای افزایش عملکرد و دستیابی به رقم‌هایی با عملکرد بالا بهره جست.

چنانچه اشاره شد، بعضی نشانگرها همزمان با چندین صفت ارتباط معنی‌داری نشان دادند. شناسایی نشانگرهای مشترک برای برخی صفات در این آزمایش می‌تواند ناشی از چنداثری یا پلیوتروپی (Pleiotropy) و یا پیوستگی نواحی ژن‌گانی دخیل در کنترل این صفات باشد (Aghaali *et al.*, 2016). شناسایی نشانگرهای مشترک اهمیت زیادی در به‌نژادی گیاهان دارد. زیرا، گزینش همزمان چند صفت را امکان‌پذیر می‌کنند (Aghaali *et al.*, 2016). البته برای درک و اطمینان از وجود ارتباط پیوسته بین نشانگرها و صفات ریخت‌شناختی و همچنین شناسایی مکان‌های کنترل‌کننده این صفات روی کروموزوم‌ها نیاز به تهیه جمعیت‌های در حال تفرق (DH, RIL, F2) است (Majidi & Sharafi 2014). در تهیه نقشه‌های پیوستگی، اطلاعات نشانگری به‌دست‌آمده از این تحقیق در جهت انتخاب نشانگرهای مناسب می‌تواند سودمند باشد، ولی زمان بر و پرهزینه بودن تهیه جمعیت‌های در حال تفرق برای نقشه‌یابی و در مواردی نبود پیوستگی (لینکاژ) مناسب بین صفات زراعی و نشانگرهای مولکولی از مهم‌ترین محدودیت‌ها در زمینه نشانگرهای مرتبط با صفات مختلف زراعی است که با تجزیه ارتباطی می‌توان بر این محدودیت‌ها چیره شد (Mohamadi *et al.*, 2014).

حقیقی، درصد تشکیل میوه در دومین گل‌آذین، وزن میوه، طول و قطر میوه، شمار روز تا رسیدگی ۵۰ درصد میوه و ضخامت پوست میوه پیوستگی معنی‌داری نشان داد. عرض برگ لپه‌ای با یک نشانگر پیوسته و صفات طول و pH میوه هرکدام با ۹ نشانگر پیوسته کمترین و بیشترین نشانگرهای مرتبط را داشتند. بعضی از نشانگرها تنها در یک سال و برخی در هر دو سال با یک صفت ارتباط معنی‌داری نشان دادند، از این نشانگرهای پایدار که اثر متقابلی با محیط ندارند، می‌توان در برنامه‌های اصلاحی با درجه اطمینان بیشتری استفاده کرد. درصد تشکیل میوه تنها با دو نشانگر UBC849-13 و UBC808-15 ارتباط داشت و این ارتباط در هر دو سال وجود داشت، ۲۱ درصد از تغییرپذیری این صفت در سال اول و ۲۰/۹ درصد در سال دوم با این دو نشانگر توجیه شد. چهار نشانگر در هر دو سال با وزن میوه رابطه معنی‌داری نشان دادند، دو نشانگر به آغازگر UBC880 مربوط بودند و این دو نشانگر در سال اول ۱۶/۸ و در سال دوم ۱۶/۱ درصد تغییرپذیری این صفت را تبیین کردند. در صورت تأیید این نشانگرها می‌توان برای گزینش افراد برای افزایش وزن میوه از آن‌ها استفاده کرد. از هفت نشانگری که با شمار میوه در بوته پیوستگی نشان داده‌اند، ارتباط شش نشانگر در هر دو سال در سطح ۰/۰۲ معنی‌دار بود. بالاترین R^2 (درصد تغییرپذیری پدیدگانی توجیه شده) بین این مشخصه و UBC849-13 مشاهده شد، به طوری که ۲۷/۴ درصد تغییرپذیری شمار میوه در بوته توسط این نشانگر توجیه شد.

شمار روز تا رسیدگی ۵۰ درصد میوه بیانگر زودرسی میوه یک رقم است. این صفت با چهار نشانگر در هر دو سال پیوستگی نشان داد که در مجموع ۳۵/۱ درصد از تغییرپذیری این صفت را در سال اول و ۳۳ درصد را در سال دوم تبیین کردند، از این چهار نشانگر دو نشانگر مربوط به آغازگر UBC818 بود. ضخامت پوست میوه با هفت نشانگر در هر دو سال ارتباط داشت، این نشانگرها به آغازگرهای A12، UBC849 و UBC880 تعلق داشتند. از پنج نشانگر مرتبط با اسیدیته میوه تنها نشانگر UBC848-8 در هر

جدول ۵. نشانگرهای ISSR پیوسته با صفات کمی در رقم‌های محلی گوجه‌فرنگی

Table 5. ISSR markers linked to quantitative traits in tomato landraces

Marker	2012		2013		Marker	2012		2013	
	R ²	P-value	R ²	P-value		R ²	P-value	R ²	P-value
Cotyledon leaf length					Fruits/Plant				
UBC849-2	0.076	0.015	-	-	A7-6	0.073	0.019	0.083	0.012
UBC815-2	0.076	0.016	-	-	UBC849-13	0.274	1.49E	0.162	6.34E
Cotyledon leaf width					UBC808-15	0.156	7.90E	0.145	0.001
UBC855-11	0.075	0.017	-	-	UBC808-16	0.088	0.010	0.085	0.012
Leaf length					UBC815-5	0.058	0.036	0.113	0.004
UBC811-17	0.105	0.007	0.105	0.008	430-3	0.1	0.007	0.059	0.037
A12-8	0.093	0.008			430-6	-	-	0.087	0.012
UBC855-10	0.091	0.008	0.097	0.007	Days to 50% fruit maturity				
UBC849-6	0.079	0.014			UBC818-3	0.099	0.007	0.079	0.015
Leaf width					UBC818-4	0.076	0.017	0.073	0.02
A12-8	0.099	0.006	0.09	0.009	UBC849-13	0.087	0.011	0.089	0.01
UBC855-10	0.076	0.017	0.082	0.013	UBC815-9	0.089	0.010	0.089	0.01
UBC818-1	0.085	0.012	0.078	0.016	Seeds/Fruit				
UBC849-6	0.173	3.93E	0.152	8.55E	UBC848-7	0.104	0.007	0.076	0.020
UBC849-13	-	-	0.071	0.020	UBC848-8	0.108	0.006	0.089	0.012
Flowers/Inflorescence					UBC808-4	0.071	0.020	0.066	0.025
A7-6	-	-	0.090	0.01	UBC815-3	0.09	0.010	0.067	0.025
UBC867-4	0.092	0.009	-	-	Carpels/Fruit				
UBC867-5	0.073	0.02	-	-	UBC855-24	0.082	0.014	0.069	0.024
Days to flowering					UBC808-13	0.111	0.004	0.113	0.004
UBC811-2	0.077	0.017	-	-	UBC815-8	0.074	0.019	-	-
UBC880-10	0.128	0.002	-	-	Pericarp thickness				
UBC880-24	0.1	0.010	0.084	0.018	A12-8	0.101	0.006	0.071	0.021
UBC880-25	0.115	0.006	-	-	A12-16	0.087	0.011	0.052	0.047
430-1	0.118	0.004	-	-	UBC849-6	0.104	0.005	0.08	0.015
A12-19	-	-	0.082	0.013	UBC849-10	0.103	0.006	0.082	0.013
UBC849-4	-	-	0.072	0.02	UBC849-13	0.1	0.007	0.061	0.032
UBC815-8	-	-	0.078	0.016	UBC880-6	0.075	0.018	0.095	0.008
Fruit set/Cluster					UBC880-14	0.08	0.015	0.053	0.046
UBC849-13	0.12	0.004	0.118	0.003	Fruit acidity				
UBC808-15	0.090	0.009	0.091	0.009	UBC811-13	0.132	0.002	-	-
Days to fruit maturity					UBC848-8	0.076	0.018	0.059	0.039
UBC811-1			0.091	0.009	UBC808-5	0.149	9.67E	-	-
UBC811-2	0.074	0.019			UBC815-5	-	-	0.075	0.017
UBC815-8	0.077	0.017			UBC880-6	-	-	0.083	0.013
UBC880-24	0.088	0.018			Fruit pH				
430-1	0.085	0.013			UBC811-6	0.079	0.016	-	-
UBC855-3			0.077	0.015	UBC855-20	0.073	0.019	-	-
Fruit weight					UBC808-2	0.103	0.006	-	-
UBC855-24	0.072	0.020	0.111	0.005	UBC808-8	0.102	0.006	-	-
UBC849-13	0.073	0.019	0.0676	0.025	UBC818-6	-	-	0.075	0.020
UBC808-15	0.083	0.013	0.086	0.011	UBC815-1	-	-	0.089	0.01
UBC880-14	0.085	0.012	0.075	0.019	UBC815-3	-	-	0.08	0.015
Fruit length					UBC880-21	-	-	0.140	0.002
A12-19	0.077	0.016			430-1			0.133	0.003
UBC848-8			0.094	0.010	Total soluble solids				
UBC855-10			0.080	0.014	A7-3	0.10	0.006	-	-
UBC849-10	0.112	0.004	0.083	0.012	430-8	0.089	0.012	-	-
UBC849-13	-	-	0.071	0.02	UBC811-4	-	-	0.079	0.019
UBC815-5	-	-	0.076	0.017	UBC815-4	-	-	0.081	0.014
UBC880-6	0.078	0.016	-	-	Yield/Plant				
UBC880-14	0.072	0.018	-	-	UBC811-13	0.077	0.017	0.058	0.038
430-9	0.078	0.020	0.104	0.007	UBC880-6	0.069	0.023	0.090	0.01
Fruit diameter					430-4	-	-	0.088	0.010
UBC855-24	0.101	0.007	0.095	0.008					
UBC849-13	0.120	0.003	0.111	0.004					
UBC808-15	0.106	0.005	0.074	0.019					

R²: ضریب تبیین

نتیجه‌گیری کلی

صفات مورد بررسی در این تحقیق تنوع پدیدگانی قابل توجهی نشان دادند. به‌طوری‌که، برای همه صفات کمی نشانگرهای پیوسته شناسایی شدند. درحالی‌که، تنها برای ۱۲ صفت از ۲۰ صفت کیفی بررسی‌شده نشانگرهای مرتبط معنی‌دار پیدا شدند. بیشتر نشانگرهای پیوسته با صفات کمی در هر دو سال

ارتباط معنی‌داری با صفات نشان دادند. همچنین برخی از این نشانگرهای پایدار درصد قابل توجهی از تنوع پدیدگانی صفات را توجیه می‌کردند که پس از تأیید این نشانگرها می‌توان از آنها در برنامه‌های اصلاحی گوجه‌فرنگی برای شناسایی والدین بالقوه مناسب برای تولید رقم‌های دورگ (هیبرید) استفاده کرد.

REFERENCES

1. Abdollahi Mandoulakani, B. & Azizi, H. (2014). Identification of ISSR markers associated with morphological traits in cultivated alfalfa (*Medicago sativa* L.) populations. *Journal of Cellular and Molecular Researches*, 27, 260-268. (in Farsi)
2. Aghaali, Z., Darvishzadeh, R. & Goodarzi, F. (2016). Association analysis of morphological traits in castor (*Ricinus communis* L.) by using ISSR marker. *Iranian Journal of Rangelands and Forests Plant Breeding and Genetic Research*, 24, 79-91. (in Farsi)
3. Areshchenkova, T. & Ganal, M. W. (2002). Comparative analysis of polymorphism and chromosomal location of tomato microsatellite markers isolated from different sources. *Theoretical and Applied Genetics*, 104, 229-235.
4. Bauchet, G. & Causse, M. (2012). Genetic Diversity in Tomato (*Solanum lycopersicum*) and Its Wild Relatives, Genetic Diversity in Plants, Prof. Mahmut Caliskan (Ed.), InTech.
5. Bradbury, P. J., Zhang, Z., Kroon, D. E., Casstevens, T. M., Ramdoss, Y. & Buckler, E. S. (2007). TASSEL: software for association mapping of complex traits in diverse samples. *Bioinformatics*, 23, 2633-2635.
6. Cho, G. T., Lee, J., Moon, J. K., Yoon, M. S., Baek, H. J., Kang, J. H., Kim, T. S. & Paek, N. C. (2008). Genetic diversity and population structure of Korean soybean landrace [*Glycine max* (L.) Merr.]. *Journal of Crop Science and Biotechnology*, 11, 83-90.
7. Doulati Baneh, H., Mohammadi, S. A., Abdollahi Mandoulakani, B. & Rahmanpour, S. (2014). Association analysis for morphological traits in grapevine using SSR and AFLP markers. *Journal of Agriculture biotechnology*, 6, 45-60.
8. Ebrahimi, A., Naghavi, M. R., Sabokdast, M. & Moradi, Sarab Sheli, A. (2011). Association analysis of agronomic traits with microsatellite markers in Iranian landraces barley. *Modern genetics*, 6, 35-43. (in Farsi)
9. FAOSTAT (2012) <http://faostat.fao.org>.
10. Foolad, M. R. (2007). Genome mapping and molecular breeding of tomato. *International Journal of Plant Genomics*, 2007, 1-52.
11. Gebhardt, C., Ballvora, A., Walkemeier, B., Oberhagemann, P. & Schuler, K. (2004). Assessing genetic potential in germplasm collections of crop plants by marker-trait association: A case study for potatoes with quantitative variation of resistance to late blight and maturity type. *Molecular Breeding*, 13, 93-102.
12. Henareh, M., Dursun, A. & Abdollahi Mandoulakani, B. (2014). Study of genetic variation and association among characters in tomato genotypes. *Journal of the Agricultural Faculty*, 45, 63-70.
13. Henareh, M., Dursun, A. & Abdollahi Mandoulakani, B. (2015) Genetic diversity in tomato landraces collected from Turkey and Iran revealed by morphological characters. *Acta Scientiarum Polonorum Hortorum Cultus*, 14, 87-96.
14. Hittalmani, S., Huang, N., Courtois, B., Venuprasad, R., Shashidhar, H. E., Zhuang, J. Y., Zheng, K. L., Liu, G. F., Wang, G. C., Sidhu, J. S., Srivantaneeyakul, S., Singh, V. P., Bagali, P. G., Prasanna, H. C., McLaren, G. & Khush, G. S. (2003). Identification of QTL for growth and grain yield-related traits in rice across nine locations of Asia. *Theoretical and Applied Genetics*, 107, 679-90.
15. Mazzucato, A., Papa, R., Bitocchi, E., Mosconi, P., Nanni, L., Negri, V., Picarella, M. E., Siligato, F., Soressi, G. P., Tiranti, B. & Veronesi, F. (2008). Genetic diversity, structure and marker-trait associations in a collection of Italian tomato (*Solanum lycopersicum* L.) landraces. *Theoretical and Applied Genetics*, 116, 657-669.
16. Miller, J. C. & Tanksley, S. D. (1990). RFLP analysis of phylogenetic relationships and genetic variation in the genus *Lycopersicon*. *Theoretical and Applied Genetics*, 80, 437-448.

17. Mohamadi, M., Mirfakhraee, S. R. G. & Abbasi, A. R. (2014). Genetic diversity in bread wheat (*Triticum aestivum* L.) as revealed by microsatellite markers and association analysis of physiological traits related to spring cold stress. *Modern genetics*, 6, 279-288. (in Farsi)
18. Osei, M. K., Bonsu, K. O., Agyeman, A. & Choi, H. S. (2014). Genetic diversity of tomato germplasm in Ghana using morphological characters. *International Journal of Plant and Soil Science*, 3, 220-231.
19. Pritchard, J. K., Stephens, M. & Donnelly, P. (2000). Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics*, 155, 945-959.
20. Saghai-Marooif, M. A., Soliman, K. M., Jorgensen, R. A. & Allard, R. W. (1984). Ribosomal DNA spacer-length polymorphisms in barley: Mendelian inheritance, chromosomal location, and population dynamics. *Proceeding of the National Academy of Science of the United States of America*, 81, 8014-8018.
21. Sharafi, Y. & Majidi, M. M. (2014). Association analysis for morphological traits in Brassica species using microsatellite markers. *Modern genetics*, 9, 179-188. (in Farsi)
22. Shibata, D. (2005). Genome sequencing and functional genomics approaches in tomato. *Journal of General Plant Pathology*, 71, 1-7.
23. Taheri, A., Seyedi, N. & Abdollahi Mandoulakani, B. (2015). Association analysis of some physiological traits in Persian walnut under drought stress by SSR markers. *Iranian Journal of Forest*, 2, 209-223.
24. UPOV (International Union for the Protection of New Varieties of Plants) For Tomato. (2011).
25. Utomo, H. S., Wenefrida, I., Blanche, S. B. & Linscombe, S. D. (2009). Low-cost method for streamlining marker-assisted selection and breeding line development in rice (*Oryza sativa* L.). *International Journal of Genetics and Molecular Biology*, 1, 64-74.