دانشکده علوم کشاورزی

رساله دکتری

بررسی تنوع ژنتیکی نمونه‌هایی از گونه‌های کدوی ایران با استفاده از خصوصیات مرفولوژیکی، مولکولی و بیوشیمیایی

از:

رحیم برزگر

استاد راهنما:

پروفسور غلامعلی پیوست

فروردین ۹۲

دانشکده علوم کشاورزی
گروه علوم باغبانی
(فیزیولوژی و اصلاح سبزی)

بررسی تنوع ژنتیکی نمونه‌هایی از گونه‌های کدوی ایران با استفاده از خصوصیات مرفولوژیکی، مولکولی و بیوشیمیایی

از:
رحیم برزگر

استاد راهنما:
پروفسور غلامعلی پیوست

استادان مشاور:
دکتر علی محمد احدی
دکتر بابک ربیعی

فروردین ۹۲

بسم الله الرحمن الرحيم

اگر در خور تقدیم باشد به رسم ادب تقدیم به:

ساحت مقدس حضرت ولی عصر (عج)

و تقدیم به:

روان پدر و مادرم

همراه ابدیم: همسر

ستاره زندگیم: علی

سپاسگزاری

سپاس به پیشگاه حضرت دوست که هر چه داریم از اوست.

با سپاس فراوان به درگاه ایزد منان که با لطف و عنایت بیکران خود، توفیق انجام این پژوهش را به من عطا نمود، پیشانی شکر بر سجدهگاه عبودیت میسایم و بر خود واجب میدانم تا از تمامی عزیزانی که مرا در انجام این پژوهش یاری نمودند، تشکر و قدردانی نمایم. بیش از همه از اساتید ارجمندم جناب آقای پروفسور غلامعلی پیوست در مقام استاد راهنما و دکتر بابک ربیعی و علی محمد احدی در مقام اساتید مشاور که بر بنده منت گذاشته و با ارائه نظرات ارزشمند خودشان، لحظه به لحظه به استوار شدن قدم های من در این راه کمک نمودند، بی نهایت سپاسگزارم. بی شک شاگردی در مکتب ایشان افتخاری است که به آن میبالم. از جناب آقای دکتر محمود لطفی و دکتر داود بخشی و سرکار خانم دکتر صبوری که زحمت داوری پایاننامه را برعهده داشتند کمال تشکر را دارم. همچنین بر خود وظیفه میدانم از زحمات بیدریغ استادان گرانقدر گروه علوم باغبانی سر کار خانم دکتر حسنپور (مدیر محترم گروه باغبانی)، آقای دکتر رضا فتوحی قزوینی، دکترحاتمزاده، دکتر قاسمنژاد، دکتر بخشی، دکتر زکی زاده که همیشه مرا از راهنمایی های دلسوزانه خویش بهرهمندساخته اند، تشکر و قدردانی نمایم. از جناب آقای دکتر الفتی و دکتر یادگاری که در طول مراحل مختلف انجام این پایاننامه کمک های ارزنده خودشان را از بنده دریغ ننمودند و بدون شک اتمام این مهم بدون همکاری و همیاری ایشان امکانپذیر نبود، کمال تشکر و قدردانی را مینمایم. از مسئول آزمایشگاه ژنتیک دانشگاه شهرکرد جناب آقای مهندس بنیمهدی که نهایت همراهی و کمک را در مدت انجام این پایان نامه با اینجانب داشتند، سپاسگزارم. قدردان زحمات پدر و مادر عزیزم هستم که اگرچه در میان ما نیستند اما دعایشان همیشه ودر همه حال پشتیبان من بوده و خواهد بود.از همسرم که در طول مدت تحصیل و در سختی ها همواره در کنار من بودند، کمال تشکر و امتنان را دارم. همچنین قدردان همیاری دوستان عزیزم آقای مهندس میغانی، مهندس هاشم پور و سایر عزیزانی هستم که به نحوی در انجام پایاننامه بنده را یاری نمودند و آرزومند بهترینها در زندگی برای ایشان هستم.

با سپاس

رحیم برزگر

عنوان	صفحه
چکیده فارسی	د
چکیده انگلیسی	ذ
مقدمه	۱
فصل اول: کلیات و مرور منابع	
۱-۱- معرفی گیاه	۳
۱-۲ مهمترین گونههای جنس کوکوربیتا	۴
۱-۲-۱-کدو خورشتی *C. pepo*	۴
۱-۲-۲- کدو تنبل *C. maxima*	۷
۱-۲-۳- کدو حلوایی *C. moschata*	۸
۱-۳- سطح زیر کشت و میزان تولید کدو در ایران و جهان	۱۰
۱-۴- ارزش غذایی و دارویی کدو	۱۲
۱-۵- شرایط اکولوژیکی و کشت کدو	۱۴
۱-۶ – اهمیت بررسی تنوع ژنتیکی	۱۵
۱-۷ نشانگرها و انواع آن	۱۶
۱-۷-۱- نشانگرهای مورفولوژیکی	۱۷
۱-۷-۲- نشانگرهای بیوشیمیایی	۱۷
۱-۷-۳- نشانگرهای مولکولی در سطح DNA	۱۸
۱-۷-۳-۱- ریز ماهوارهها (SSR)	۱۹
۱-۷-۳-۲- چگونگی ایجاد ریزماهوارهها	۲۰
۱-۷-۳-۳- خصوصیات نشانگرهای SSR	۲۰
۱-۷-۳-۴- کاربردهای نشانگرهای SSR	۲۲
۱-۸- مروری بر تحقیقات انجام شده	۲۲
۱-۸-۱- مروری بر تحقیقات با استفاده از نشانگرهای مرفولوژیکی	۲۲
۱-۸-۲- مروری بر تحقیقات با استفاده از نشانگرهای ملکولی	۲۷
۱-۸-۳- مروری بر تحقیقات با استفاده از خصوصیات بیوشیمیایی	۳۰
فصل دوم: مواد و روش ها	
۲-۱- مواد گیاهی	۳۳
۲-۲- نحوه انجام طرح	۳۳

۲-۳- آزمایش اول: بررسی خصوصیات مرفولوژیک

عنوان	صفحه
۲-۳-۱- جمعآوری دادهها	۳۵
۲-۳-۲- تجزیههای آماری دادههای مرفولوژیکی	۳۷
۲-۴- آزمایش دوم: بررسی خصوصیات ملکولی	۳۸
۲-۴-۱- استخراج DNA	۳۸
۲-۴-۲- تعیین کیفیت و کمیت DNA ژنومی	۱ ث
۲-۴-۴- واکنش زنجیرهای پلیمراز و اجزای آن	۴۰
۲-۴-۵- آغازگرهای مورد استفاده	۴۱
۲-۴-۶- الکتروفورز	۴۳
۲-۴-۷- تجزیه و تحلیل دادههای ملکولی	۴۳
۲-۵- آزمایش سوم: اندازهگیری خصوصیات بیوشیمیایی	۴۵
۲-۵-۱- اندازهگیری پروتئین دانه	۴۵
۲-۵-۲- اندازهگیری روغن دانه	۴۶
۲-۵-۳- اندازهگیری میزان کربوهیدرات	۴۶
۲-۵-۴- آنالیز اسیدهای چرب	۴۶
۲-۵-۵- اندازهگیری میزان β-سیتوسترول	۴۷
۲-۵-۶- تجزیه و تحلیل آماری دادههای بیوشیمیایی	۴۷
فصل سوم: نتایج و بحث	
آزمایش اول: تنوع مرفولوژیکی	48
۳-۱-تجزیه واریانس صفات کمی	۴۸
۳-۲ تنوع مرفولوژیکی در تودههای *C. pepo*	۵۱
۳-۲-۱ بررسی خلاصههای آماری صفات کمی و کیفی	۵۱
۳-۲-۲ همبستگی بین صفات کمی	۶۱
۳-۲-۳ تجزیه عاملی صفات کمی	۶۷
۳-۲-۴ تجزیه عاملی صفات کیفی	۶۹
۳-۲-۵ فاصله ژنتیکی و تجزیه خوشهای	۷۰
۳-۳ تنوع مرفولوژیکی در *C. maxima*	۷۵
۳-3-۱ بررسی خلاصههای آماری صفات کمی و کیفی	۷۵

عنوان	صفحه
۳-۳-۲ همبستگی صفات	۸۰
۳-۳-۳ تجزیه عاملی	۸۳
۳-۳-۴ فاصله ژنتیکی و تجزیه خوشهای	۸۶
۳-۴ تنوع مرفولوژیکی تودههای *C.moschata*	۹۰
۳-4-۱ بررسی خلاصههای آماری صفات کمی و کیفی	۹۰
۳-۴-۲ همبستگی بین صفات	۹۴
۳-۴-۳-تجزیه عاملی	۹۷
۳-۴-۴- فاصله ژنتیکی و تجزیه خوشهای	۱۰۰
۳-۵- تجزیه خوشهای بین کلیه ژنوتیپها	۱۰۲
آزمایش دوم: تنوع مولکولی	
۳-۶ تنوع ملکولی	۱۰۴
۳-۶-۱ تعیین کیفیت DNA ژنومی	۱۰۴
۳-۶-۲ بهینه سازی دمای اتصال آغازگرها	۱۰۴
۳-۶-۳ بررسی نهایی نتایج حاصل از PCR	۱۰۵
۳-۶-۴- میزان هتروزیگوسیتی	۱۱۰
۳-۶-۵ بررسی محتوای اطلاعاتی چندشکلی(PIC) و شاخصهای تنوع	۱۱۱
۳-۶-۶ - تجزیهٔ به بردارهای هماهنگ اصلی (PcoA)	۱۱۲
۳-۶-۷- فاصله ژنتیکی و تجزیه خوشهای	۱۱۴
۳-۶-۸- مقایسه شباهت دادههای ملکولی با دادههای مرفولوژیکی و بیوشیمیایی	۱۱۸
آزمایش سوم: تنوع بیوشیمیایی	
۳-۷ تنوع بیوشیمیایی	۱۱۹
۳-7-۱ بررسی خلاصههای آماری صفات بیوشیمیایی مورد مطالعه	۱۱۹
۳-۷-۲ همبستگی بین صفات بیوشیمیایی	۱۲۴
۳-۷-۳ تجزیه عاملی صفات بیوشیمیایی	۱۲۵
۳-۷-۴ فاصله ژنتیکی و تجزیه خوشهای	۱۲۷
۳-۸- نتیجهگیری کلی	۱۳۱
۳-۹ -پیشنهادات	۱۳۴
منابع	۱۳۵
پیوستها	۱۴۲

عنوان	صفحه
جدول ۱-۱ اسم انگلیسی، اسم علمی و مشخصات کلی انواع مختلف کدو	۴
جدول ۱-۲- آمار مربوط به سطح زیر کشت و میزان تولید کدو در سال ۲۰۱۰ در ۲۰ کشور مهم تولید کننده کدو	۱۱
جدول ۱-۳- ارزش غذایی موجود در ۱۰۰ گرم گوشت کدو حلوایی	۱۳
جدول ۱-4- ارزش غذایی موجود در ۱۰۰ گرم بذر بدون پوسته	۱۳
جدول ۱-5- ارزش غذایی موجود در ۱۰۰ گرم گوشت کدو خورشتی تابستانه	۱۳
جدول ۲-۱- محل جغرافیایی ژنوتیپهای جمعآوری شده کدو و کد اختصاص یافته به آنها	۳۳
جدول ۲-۲- خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک مزرعه	۳۴
جدول ۲-۳ دادههای هواشناسی مربوط به ماههای خرداد، تیر ، مرداد و شهریور در سالهای ۸۹ و ۹۰	۳۴
جدول ۲-۴- صفات کمی و کیفی اندازهگیری شده و کدهای مربوط به آن	۳۵
جدول ۲-۵ – ترکیبات واکنش زنجیرهای پلیمراز	۴۰
جدول ۲ـ۶ـ جفت آغازگرهای SSR مورد استفاده	۴۲
جدول ۲-۷- چرخه حرارتی واکنش زنجیرهای پلیمراز برای تشخیص دمای اتصال بهینه	۴۲
جدول ۳-۱- تجزیه واریانس صفات کمی ژنوتیپهای کدو در سال اول	48
جدول ۳-۲- تجزیه واریانس صفات کمی ژنوتیپهای کدو در سال دوم	49
جدول ۳-۳- آزمون یکنواختی واریانس خطاهای آزمایش هر یک از صفات کمی در دو سال اجرای آزمایش	50
جدول ۳-۴- تجزیه مرکب صفات کمی ژنوتیپهای کدو در دو سال	50
جدول۳-۵- خلاصههای آماری صفات کمی در ژنوتیپهای C. pepo	52
جدول ۳-۶- میانگین صفات کمی در ژنوتیپهای گونه C. pepo	۵۵
جدول ۳-۷- درصد فراوانی صفات کیفی در ژنوتیپها ی C. pepo	۵۸
جدول ۳-۸- خصوصیات کیفی ژنوتیپهای گونه C.pepo	۶۰
جدول ۳-۹- همبستگی بین صفات کمی در ژنوتیپهای گونه C.pepo	۶۵
جدول ۳-۱۰- همبستگی بین صفات کیفی در ژنوتیپهای گونه C.pepo	۶۶
جدول ۳-۱۱– مقادیر ویژه و درصد واریانس توجیه شده با تجزیه عاملی صفات کمی در ژنوتیپهای گونه C.pepo	۶۷
جدول۳-۱۲- ضرایب عاملی هر یک از صفات بدست آمده از تجزیه عاملی صفات کمی در ژنوتیپهای گونه C.pepo	۶۸
عنوان	صفحه
جدول ۳-۱۳– مقادیر ویژه و درصد واریانس توجیه شده با تجزیه عاملی صفات کیفی	۶۹
جدول ۳-۱۴- ضرایب عاملی هر یک از صفات کیفی بدست آمده از تجزیه عاملی صفات کیفی	۷۰
جدول ۳-۱۵– ماتریس فاصله ۲۶ ژنوتیپ کدو خورشتی بر مبنای ضریب گاور	۷۱
جدول ۳-۱۶- میانگین برخی از خصوصیات گروههای حاصل از تجزیه خوشهای ژنوتیپهای گونه C. pepo	۷۴
جدول۳- ۱۷- خلاصههای آماری صفات کمی در ژنوتیپهای C maxima	۷۶
جدول ۳-۱۸- درصد فراوانی صفات کیفی در ژنوتیپها ی C. maxima	۷۸
جدول ۳-۱۹- میانگین صفات کمی در ژنوتیپهای گونه C. maxima	۷۹
جدول ۳-۲۰- خصوصیات کیفی ژنوتیپهای گونه C. maxima	۸۰
جدول ۳-۲۱- همبستگی بین صفات کمی در ژنوتیپهای گونه C. maxima	۸۲

جدول ۳-۲۲- همبستگی بین صفات کیفی در ژنوتیپهای گونه C. maxima ۸۳
جدول ۳-۲۳ – مقادیر ویژه و درصد واریانس توجیه شده توسط عاملها در تجزیه عاملی صفات کمی ۸۳
جدول ۳-۲۴- ضرایب عاملی هر یک از صفات کمی بدست آمده از تجزیه عاملی ۸۴
جدول۳-۲۵ – مقادیر ویژه و درصد واریانس توجیه شده توسط عاملها در تجزیه عاملی صفات کیفی ۸۵
جدول ۳-۲۶- ضرایب عاملی هر یک از صفات کیفی بدست آمده از تجزیه عاملی ۸۶
جدول ۳-۲۷– ماتریس فاصله ژنوتیپهای کدو تنبل بر مبنای ضریب گاور ۸۷
جدول ۳-۲۸- میانگین برخی از خصوصیات گروههای حاصل از تجزیه خوشهای ژنوتیپهای گونه C. maxima ۸۸
جدول۳-۲۹- خلاصههای آماری صفات کمی در ژنوتیپها ی C. moschata ۹۰
جدول ۳-۳۰- درصد فراوانی صفات کیفی در ژنوتیپها ی C. moschata ۹۱
جدول ۳-۳۱- میانگین صفات کمی در ژنوتیپهای گونه C. moschata ۹۳
جدول ۳-۳۲- خصوصیات کیفیی ژنوتیپهای گونه C. moschata ۹۳
جدول ۳-۳۳- همبستگی بین صفات کمی در ژنوتیپهای گونه C. moschata ۹۵
جدول ۳-۳۴- همبستگی صفات کیفی ژنوتیپهای گونه C moschata ح
جدول ۳-۳۵– مقادیر ویژه و درصد واریانس توجیه شده توسط عاملها در صفات کیفی ۹۷
جدول ۳-۳۶- ضرایب عاملی هر یک از صفات کمی بدست آمده از تجزیه عاملی ۹۸
عنوان صفحه
جدول ۳-۳۷- مقادیر ویژه و درصد واریانس توجیه شده توسط عاملها در صفات کیفی ۹۸
جدول۳-۳۸- ضرایب عاملی هر یک از صفات کیفی بدست آمده از تجزیه عاملی ۹۹
جدول ۳-۳۹- ماتریس فاصله ژنوتیپ‌های کدو حلوایی بر مبنای ضریب گاور ۱۰۱
جدول ۳-۴۰- میانگین برخی از خصوصیات گروههای حاصل از تجزیه خوشهای ژنوتیپهای گونه C. moschata ۱۰۲
جدول۳-۴۱- دمای اتصال مناسب برای آغازگرها ۱۰۵
جدول ۳-۴۲- تعداد اللهای مشاهده شده و مؤثر در هر جایگاه ریزماهواره به تفکیک گونههای مورد مطالعه ۱۰۶
جدول ۳-۴۳- فراوانی اللها در هر مکان ژنی در کلیه ژنوتیپها و به تفکیک گونه ۱۰۸
جدول ۳-۴۴- آزمون کای اسکوئر (χ^2) جهت بررسی تعادل هاردی- وینبرگ برای هر مکان ژنی در جمعیت مورد مطالعه ۱۱۱
جدول ۳-۴۵- میزان هتروزیگوسیتی، محتوی اصلاعات چند شکلی، شخاص شانون و شاخص نشانگر آغازگرها ۱۱۲
جدول ۳-۴۶ - نتایج تجزیه به بردارهای هماهنگ اصلی برای ۲۰ مولفه اول ۱۱۳
جدول ۳–۴۷- ماتریس فاصله ژنتیکی گونههای کدو بر اساس ضریب نی ۱۱۴
جدول ۳ - ۴۸- خلاصههای آماری صفات بیوشیمیایی مورد مطالعه ۱۱۹
جدول ۳-۴۹ - میانگین صفات بیوشیمیایی در ژنوتیپهای گونه C. pepo ۱۲۳
جدول ۳-۵۰- همبستگی بین صفات بیوشیمیایی در ژنوتیپهای گونه C. pepo ۱۲۵
جدول ۳-۵۱– مقادیر ویژه و درصد واریانس توجیه شده در تجزیه عاملی صفات بیوشیمیایی ۱۲۵
جدول ۳-۵۲- ضرایب عاملی هر یک از صفات بدست آمده از تجزیه عاملی صفات بیوشیمیایی ۱۲۶
جدول ۳-۵۳- ماتریس فاصله اقلیدسی ۲۶ ژنوتیپ کدو خورشتی بر اساس خصوصیات بیوشیمیایی دانه ۱۲۹

عنوان	صفحه
شکل ۱-۱ مرفوتیپهای C. pepo	۶
شکل ۱-۲- مرفوتیپهای کدو حلوایی	۹
شکل ۳-۱- دندروگرام حاصل از تجزیه خوشهای ۲۶ ژنوتیپ از کدو خورشتی به روش UPGMA	۷۳
شکل ۳-۲- دندروگرام حاصل از تجزیه خوشهای ۱۲ ژنوتیپ از کدو تنبل به روش UPGMA	۸۷
شکل ۳-۳ دندروگرام حاصل از تجزیه خوشهای ژنوتیپهای کدو حلوایی به روش UPGMA	۱۰۱
شکل ۳-۴ دندروگرام حاصل از تجزیه خوشهای ۵۰ ژنوتیپ از گونههای مختلف کدو به روش UPGMA	۱۰۳
شکل۳-۵- DNA ژنومی استخراج شده	۱۰۴
شکل ۳–۶ دندروگرام بدست آمده از فاصله ژنتیکی نی و به روش UPGMA برای گونههای کدو	۱۱۴
شکل ۳-۷ دندروگرام حاصل از تجزیه خوشهای ۵۰ ژنوتیپ کدو با دادههای ملکولی به روش UPGMA و بر اساس ضریب تشابه جاکارد	۱۱۷
شکل ۳-۸ روابط بین متغیرهای بیوشیمیایی با دو عامل اصلی بعد از چرخش وریمکس	۱۲۶
شکل۳-۹ دندروگرام حاصل از تجزیه خوشهای به روش حداقل واریانس وارد با استفاده از دادههای بیوشیمیایی	۱۳۰

چکیده

بررسی تنوع ژنتیکی نمونه‌هایی از گونه‌های کدوی ایران با استفاده از خصوصیات مرفولوژیکی، مولکولی و بیوشیمیایی

رحیم برزگر

به منظور بررسی تنوع ژنتیکی تعدادی از نمونههای کدوی ایرانی از نظر خصوصیات مرفولوژیک، مولکولی و بیوشیمیایی، ۵۰ نمونه کدو شامل ۲۶ نمونه از گونه *C. pepo*، ۱۲ نمونه از گونه *C. maxima* و ۱۲ نمونه از گونه *C. moschata* از ۱۳ استان جمعآوری شدند. نمونهها در قالب بلوکهای کامل تصادفی و در سه تکرار کشت شدند. در بررسی خصوصیات مرفولوژیکی بر اساس دیسکریپتور UPOV، ۱۹ صفت کمی و ۱۷ صفت کیفی ارزیابی شدند. تجزیه خوشهای نمونهها به روش UPGMA و بر مبنای معیار تشابه گاور، نمونههای هر گونه را به مرفوتیپهای معین گروهبندی کرد. نتایج نشان داد که نمونهها غالباً بر اساس صفات مربوط به میوه شامل شکل میوه، رنگ میوه، طول و قطر میوه و ... از یکدیگر تفکیک شدند. ۱۴ جفت آغازگر SSR مورد استفاده، ۱۰۰ درصد پلیمورف بودند و ۱۱۵ آلل را تکثیر کردند. میانگین تعداد آللهای مشاهده شده ۸/۲۱ و بین ۴ آلل در CMTm30 تا ۱۰ آلل در CMTm61 متغیر بود. میانگین هموزیگوسیتی ۰/۸۵ و میانگین شاخصهای تنوع شامل شاخص تنوع شانون و شاخص نی به ترتیب ۱/۸۶۹ و ۰/۷۲۲ بود. تجزیه خوشهای به روش UPGMA و با استفاده از معیار تشابه جاکارد، توانست نمونههای مربوط به گونههای مختلف را تفکیک نموده اما قادر نبود مرفوتیپهای هر گونه را از یکدیگر تفکیک نماید. در بررسی تنوع بیوشیمیایی بین ۲۶ نمونه از گونه pepo، میزان روغن، پروتئین، کربوهیدرات، بتاسیتوسترول، اسیدهای چرب، پتاسیم و روی در دانههای کدو اندازه گیری شد. میزان روغن از ۲۶/۱ تا ۴۵/۸ درصد، میزان پروتئین از ۲۱ تا ۲۸/۵ درصد، میزان بتاسیتوسترول از ۱۵/۱ تا ۲۶/۵ میلیگرم در صد گرم روغن متغیر بود. تجزیه خوشهای به روش حداقل واریانس وارد، ۲۶ نمونه را به دو گروه تقسیمبندی کرد. گروهبندی بدست آمده از صفات بیوشیمیایی مستقل از گروهبندی آنها بر مبنای صفات مرفولوژیکی بود.

واژههای کلیدی: بتاسیتوسترول، پروتئین کل، توصیف نامه، روغن، ریزماهواره، کدو

ذ

Abstract

Assessment of genetic diversitiy of Iranian accesions of *Cucurbita* species in Iran using morphological, molecular and biochemical characteristics

Rahim Barzegar

In order to assessment of morphological, molecular and biochemical diversity among Iranian cucurbita, 50 accessions including 26 accessions of *Cucurbita pepo*, 12 accessions of *C. maxima* and 12 accessions of *C. moschata* were collected from 13 provinces. Accessions were grown in a randomized complete block design (RCBD) with three replications. The morphological traits (19 quantitative and 17 qualitative characters) were evaluated according to UPOV descriptor. Cluster analysis by UPGMA method using Gower similarity coefficient grouped accessions in to different morphotypes. The majority of the characterized accessions could be grouped according to fruit traits including fruit shape, fruit color, length and diameter and etc. SSR markers were used to detect genetic diversity among accessions. There were 14 polymorphic SSR loci. A total of 115 alleles were scored for the 14 SSR loci within the 50 accessions. The number of alleles per polymorphic SSR locus ranged between 4 and 10, with an average of 8.21. The most polymorphic loci was CMTm61 (10 alleles) and the least polymorphic locus was CMTm30 (4 alleles). The mean of observed homozygosity (Ho) in present study was 0.85. The mean expected heterozygosity (He) and Shannon diversity index (I) in studied accessions were 0.722 and 1.869 respectively. The UPGMA clustering algorithm, based on Jaccard's distances, grouped the accessions according to their species but it could not group accessions according to their morphotypes. Biochemical characters including seed oil, protein, Fatty acids, β-sitosterol, carbohydrate, potassium and zinc content were evaluated among 26 accessions of *C. pepo*. The results showed a great genetic variation for biochemical traits. Seed oil and protein content varied from 26.1 to 45.8% and 21.0 to 28.5%, respectively. β-sitosterol content varied from 15.2 to 26.5mg per 100g oil. Cluster analysis by Ward method grouped accession in to two clusters. Genetic grouping of accessions by cluster analysis based on biochemical data was independent of morphological groups.

Key words: *Cucurbita*, Descriptor , Microsattelite, Oil, β-sitosterol, Total protein

مقدمه

آگاهی از تنوع ژنتیکی و مدیریت منابع ژنتیکی به عنوان اجزای مهم پروژههای اصلاح نباتات تلقی میشود. تنوع و انتخاب دو رکن اصلی هر برنامه اصلاحی است و انجام انتخاب منوط به وجود تنوع مطلوب از حیث هدف مورد بررسی میباشد. برای بررسی تنوع موجود و ایجاد تغییرات جدید، ارزیابی ذخایر ژرم پلاسم ضروری است [اهدائی، ۱۳۷۳].

ذخایر ژنتیکی به عنوان گنجینهای گرانبها در دست بشر و در خدمت نیازهای او میباشد. این ذخایر ژنتیکی به عنوان بخش مهمی از تنوع زیستی در برگیرنده مواد ژنتیکی است که در اشکال اولیه و گونههای وحشی، واریتههای بومی و کولتیوارهای جدید وجود دارد [وجدانی، ۱۳۸۱]. منابع ژنتیک گیاهی را میتوان به عنوان منابعی برای کمک به تأمین غذای انسان، تهیه دارو، تهیه غذای دام تلقی کرد [سمیعی و همکاران، ۱۳۸۵].

واریتههای محلی، جمعیتهای بومی یا نژادهای بومی [1] که هنوز مورد ارزیابی رسمی قرار نگرفتهاند یکی از منابع مهم ژنتیکی هستند که ممکن است دارای ژنهای مطلوبی باشند که باید در برنامههای دورگگیری مورد استفاده قرار گیرند و قبل از استفاده باید تنوع ژنتیکی آنها مورد ارزیابی قرار گیرد [فرشادفر، ۱۳۷۶]

شرایط محیطی مختلف (آب و هوایی و خاکی) متفاوت و نیز انتخاب بوتهها برای صفات برتر توسط کشاورزان از عواملی هستند که میتوانند سبب افزایش تنوع در تودههای محلی از نظر خصوصیات مختلف در طی نسلهای متمادی گردند. در ایران نیز کدوها در نقاط مختلف ایران به منظور استفاده از گوشت یا دانه کشت و کار میشوند و بیش از ۴۸۰ نمونه کدو در بانک ژن ملی گیاهی ایران نگهداری میشود [کوهپایگانی، ۱۳۸۸]، اما تاکنون هیچ تحقیق مدونی درباره خصوصیات این تودههای محلی و میزان تنوع در درون و بین گونههای کدو در ایران انجام نشده است و بنابراین این تحقیق در نظر دارد با جمعآوری تعدادی از نمونههای کدوی ایران:

الف- صفات مهم مرفولوژیک هر یک از نمونهها را ثبت و میزان تنوع مرفولوژیک هر صفت را در درون گونهها اندازهگیری نماید.

ب- با اندازهگیری فاصله ژنتیکی نمونهها با استفاده از نشانگرهای ملکولی که تحت تأثیر محیط نیستند، امکان گروهبندی نمونهها و امکان استفاده از آنها در دورگگیری و پدیده هتروزیس فراهم گردد.

---

[1] Landrace

ج- با اندازهگیری خصوصیات بیوشیمیایی هر نمونه، میزان تنوع در هر صفت بیوشیمیایی تعیین و بر مبنای این صفات بیوشیمیایی بهترین نمونهها برای صنایع دارویی و بهداشتی انتخاب شوند.

۱-۱- معرفی گیاه

جنس Cucurbita متعلق به خانواده Cucurbitaceae و طایفه Cucurbiteae است و شامل ۱۲ گونه است که در سرتاسر قاره آمریکا (آمریکای لاتین، جنوبی و شمالی) گسترش یافتهاند [Jeffry, 1990]. همه گونههای جنس Cucurbita دارای ۲۰ جفت کروموزوم (2n=40) بوده و تعداد کروموزومهای پایه در آنها (x=10) میباشد [Weedden and Robinson, 1990].

کدوها گیاهانی یکپایه و دارای گلهای تکجنسی هستند. پرچمها در گل نر، ستونی را تشکیل میدهند و گلهای ماده دارای تخمدان فوقانی هستند. خامه کوتاه و کلفت آن به یک کلاله ۲ یا ۳ بخشی منتهی میشود پرچمها در گل ماده به صورت ابتدایی و عقیم هستند. میوهها از نظر شکل، اندازه و رنگ در گونههای مختلف، دارای تنوع زیادی هستند. میوه کدو از نوع سته است. تشکیل گل نر و ماده علاوه بر عوامل ژنتیکی تحت شرایط محیطی، متغیر است و به طول روز، دمای محیط و موقعیت گل در گیاه بستگی دارد. طول روز بلند و دمای بالا باعث افزایش تولید گل نر شده و با کاهش طول روشنایی روز و خنک شدن دما، تمایل به تولید گل ماده افزایش مییابد [Ferriol, 1999].

پنج گونه اصلی در جنس Cucurbita که اهلی شده و مورد کشت و کار قرار میگیرند شامل C. pepo L.، C. maxima Duch.، C. moschata Duch.، C. argyrosperma Hubber. و C. ficifolia Bouche میباشند [Nee, 1990]. این گونهها از نظر تولید مثل کاملاً ایزوله بوده و هیبرید آنها قابلیت باروری ندارد. فقط یک استثناء در این میان وجود دارد. مریک [1] نشان داد که قابلیت باروری بالایی در هیبرید بین C. moschata. و C. argyrosperma در تلاقی با برخی ارقام خاص وجود دارد [Ferriol, 1999].

با توجه به تنوع گونهها و ارقام در کدوها، نامهای متفاوتی در زبان انگلیسی برای آنها وجود دارد که مشخصات کلی این گونهها به همراه نام انگلیسی آنها در جدول ۱-۱ نشان داده شده است.

[1] Merrick

جدول ۱-۱ اسم انگلیسی، اسم علمی و مشخصات کلی انواع مختلف کدو [Ferriol et al., 1999]

اسم انگلیسی	اسم علمی	مشخصات کلی
Pumpkin	C. pepo C. maxima C. moschata	میوه خوراکی، شکل میوه گرد یا تقریباً گرد، مصرف میوه در زمان بلوغ
Summer pumpkin	C. pepo	میوه خوراکی، شکل میوه گرد یا تقریباً گرد، مصرف میوه در زمانی که نابالغ است
Squash	C. pepo C. maxima C. moschata C. ficifolia	میوه خوراکی ، شکل میوه به صورت غیر گرد
Summer squash (Marrow)	C. pepo C. maxima	میوه خوراکی، شکل میوه غیر گرد، مصرف در زمانی که میوه نابالغ است
Winter squash	C. pepo C. maxima C. moschata	میوه خوراکی، شکل میوه غیر گرد، مصرف در زمانی که میوه بالغ است
Gourd	C. pepo	میوه غیر خوراکی، معمولاً کوچک و گرد
Acorn	C. pepo	میوه خوراکی، سطح میوه دارای شیار، شکل میوه به صورت قلب، مصرف در زمان بلوغ میوه
Scallop	C. pepo	میوه خوراکی، میوه به شکل بشقاب، ، مصرف در زمان بلوغ میوه

Cocozella	C. pepo	میوه خوراکی، میوه دراز و کشیده و دارای انتهای چماقی، مصرف میوه به صورت نابالغ
Zucchini	C. pepo	میوه خوراکی، دراز و کشیده و استوانهای شکل، مصرف میوه به صورت نابالغ
Crookneck	C. pepo	میوه خوراکی، دارای گردنی باریک و خمیده با انتهای چماقی، مصرف میوه به صورت نابالغ
Straightneck	C. pepo	میوه خوراکی، دارای گردنی کوتاه و کلفت با انتهای چماقی، مصرف میوه به صورت نابالغ

۱-۲ مهمترین گونههای جنس کوکوربیتا

۱-۲-۱- کدو خورشتی C. pepo

دانه این گونه از کدو دارای رنگ کرم یکنواخت بوده، برگهای آن چند لوبی با کرکهای زبر است و دم میوه سخت و چوبی و به صورت چند ضلعی (زاویهدار) میباشد. گلهای آن با پرچمهای کوتاه، کلفت و مخروطی شکل مشخص می شوند. این گونه کدو در سرتاسر جهان گسترش یافته و به خوبی با شرایط اکولوژیکی مختلف سازگاری پیدا کرده است و میتواند از سطح آب - های آزاد تا ارتفاع خیلی زیاد (۲۵۰۰ متر) در انواع مختلف خاکها آن را کشت نمود[Decker-Walters and Walters, 2000]. دانه این گونه از کدو دارای رنگ کرم یکنواخت بوده، برگهای آن چند لوبی با کرکهای زبر است و دم میوه سخت و چوبی و به صورت چند ضلعی (زاویهدار) میباشد. گلهای آن با پرچمهای کوتاه، کلفت و مخروطی شکل مشخص می شوند. این گونه کدو در سرتاسر جهان گسترش یافته و به خوبی با شرایط اکولوژیکی مختلف سازگاری پیدا کرده است و میتواند از سطح آبهای آزاد تا ارتفاع خیلی زیاد (۲۵۰۰ متر) در انواع مختلف خاکها آن را کشت نمود[Decker-Walters and Walters, 2000]. دانه های تفت داده شده این گونه به عنوان آجیل مصرف بسیار زیادی دارد و میوههای آن هم در مرحله بالغ و هم نابالغ قابل استفاده هستند. میوههای نابالغ این گونه بازار مصرف بسیار خوبی نسبت به سایر گونههای جنس کوکوربیتا دارد. همچنین مصرف گلهای آن به علت داشتن کرکهای کمتر و هضم راحتتر، به گلهای سایر گونههای کدو

ترجیح داده میشود. گلهای آن هم به صورت جوشانده و هم خشک شده مورد مصرف قرار میگیرد. بسیاری از ارقام این گونه که میوه آن دارای پوسته سخت لیگنینی هستند، در دستورالعمل پخت بسیاری از غذاها جای دارند[Lira-Saade, 1995].

دکر-والترز و همکاران [Decker-Walters et al., 2002] از نظر گیاهشناسی گونه C. pepo با توجه به تنوع مرفولوژی دانه و میوه، به سه زیرگونه تقسیمبندی کردند.

الف- C. pepo. ssp. pepo

ب- C. pepo. ssp. ovifera

ج- C. pepo. ssp. fraterna

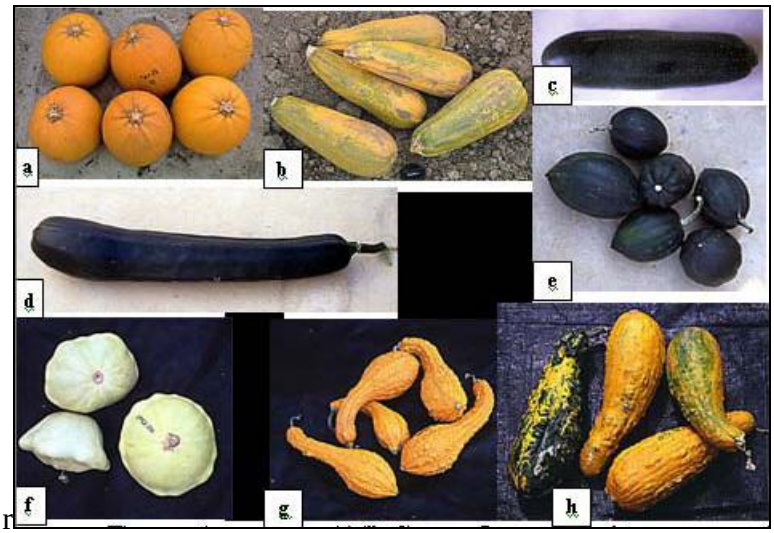
پاریس [Paris, 1986] انواع کشت شده خوراکی گونه C. Pepo L. را به ۸ مرفوتیپ دستهبندی کرد. مرفوتیپهای Pumpkin، Vegetable marrow، Cocozella و Zucchini متعلق به زیرگونه pepo و مرفوتیپهای Scallop، Acorn، Crookneck و Straightneck متعلق به زیرگونه ovifera هستند. میوه مرفوتیپهای Pumpkin و Acorn در مرحله بلوغ برداشت و مورد استفاده قرار میگیرند (۴۰ روز پس از تلقیح تخمک) ولی میوه سایر مرفوتیپها در مرحله نابالغ (۷ روز بعد از تلقیح تخمک) مورد استفاده قرار میگیرند.

مرفوتیپ Pumpkin قدیمیترین و متنوعترین مرفوتیپ را در بین کدوها دارد. دارای میوههای کروی تا تخممرغی با انتهای تخت یا صاف است که گاهی اوقات روی سطح میوه شیار یا زگیل نیز وجود دارد و وزن آن ممکن است تا ۲۵ کیلوگرم نیز برسد. با توجه به تنوع بسیار زیاد موجود در این مرفوتیپ، گروههای مختلفی در آن قرار میگیرند. دانه های این مرفوتیپ که معمولاً بزرگ نیز هستند، مورد استفاده قرار میگیرند و تنوع زیادی از نظر شکل، گوشت، سفتی میوه نشان میدهند. بیشتر میوههای این مرفوتیپ دارای نوارهای سبز و زرد (به صورت یک در میان) به صورت عمودی روی سطح میوه هستند (شکل ۱-۱-a).

مرفوتیپ Vegetable marrow در خاورمیانه و شمال آفریقا اهمیت تجاری زیادی دارد. میوههای آن دارای پوسته چوبی و سخت است، میوهای دراز و کشیده با نسبت طول به قطر ۳-۲ میباشد و قطر میوه در نزدیک گلگاه افزایش یافته و پهنتر می شود (شکل ۱-۱-b).

مرفوتیپ Cocozella دارای میوههای کشیده و با نسبت طول به قطر بیش از ۳/۵ بوده و قطر میوه در قسمت گلگاه کمی پهن شده است (شکل ۱-۱-c).

مرفوتیپ Zucchini اخیراً از نظر اقتصادی اهمیت بیشتری یافته است و در سراسر جهان گسترش یافته است. میوههای آن استوانهای شکل (بدون پهن شدن میوه) با نسبت طول به قطر بیش از ۳/۵ میباشد. در حال حاضر انواع سبز آن جایگزین انواع زرد اولیه شده است (شکل ۱-۱-d).



شکل ۱-۱ مرفوتیپهای C. pepo شامل: a: Pumpkin, b: Vegetable marrow, c: Cocozella, d: Zucchini, e: Acorn, f: Scallop, g: Crookneck, h- Srraighrneck

در زمینه اهلی شدن و گسترش این گونه باید ذکر کرد که پس از گسترش C.pepo و کشت آنها با یکدیگر، و از آنجایی که امکان جلوگیری از تلقیح آنها وجود ندارد، با ایجاد واریتههای هیبرید نوترکیب و انتخاب آنها توسط کشاورزان، گروههای جدیدی (به خصوص ارقامی با میوههای کشیده) به وجود آمده است. اسپانیا به عنوان پلی برای گسترش کدوها از آمریکا به اروپا نقش مهمی در تنوع کدو ایفا کرد به نحوی که برخی از واریتههای جدید کدو در اوایل قرن ۱۹ از اسپانیا به آمریکا برده شده است، بنابراین مرفوتیپهای Vegetable marrow، Cocozella و Zuccchini از Pumpkin اولیه مکزیکی مشتق شدهاند که در اثر تلاقی بین این مرفوتیپ با یک کدوی سبز تیره و طی پروسه انتخاب برای میوههای کشیده، به دست آمدهاند. به نظر میرسد که مرفوتیپ Cocozella در ایتالیا توسعه یافته است و به همین دلیل اغلب نام شهرها و استانهای ایتالیا برای نامگذاری ارقام این مرفوتیپ مورد استفاده قرار میگیرد. این مرفوتیپ در حال حاضر بیشترین تنوع مرفولوژیکی را نشان میدهد و بسیاری از ارقام این مرفوتیپ را میتوان در سواحل مدیترانه یافت. مرفوتیپ Zucchini نیز در ایتالیا توسعه یافته و