٩٤٢٨٨

۸۷/۱/۱۰۰۴۰
۸۷ ۹/۲۲

دانشگاه تربیت مدرس
دانشکـــــده کشاورزی

پایان نامه کارشناسی ارشد گروه اصـــلاح نباتات

عنـــوان:

بررسی تنوع ژنتیکی برخی از توده‌های بومی خربزه ئیان ایرانی با استفاده از نشانگرهای مورفولوژیکی و مولکولی (RAPD, SSR)

نگارنده:
سمیه صالحی نجف آبادی

استاد راهنما:
دکتر مختار جلالی جواران

استاد مشاور:
دکتر حمید دهقانی

۱۳۸۷ /۹/ ۱۲

تیرماه ۱۳۸۷

۹۴۲۸۸

تایید اعضای هیأت داوران حاضر در جلسه دفاع از پایان نامه کارشناسی ارشد

اعضای هیأت داوران نسخه ی نهائی پایان نامه خانم/آقای سمیه صالحی تحت عنوان : بررسی تنوع ژنتیکی برخی از توده های بومی خربزه‌ئیان ایرانی با بهره‌گیری از نشانگرهای مورفولوژی و مولکولی (RAPD, SSR) را از نظر فرم و محتوی بررسی نموده و پذیرش آن را برای تکمیل درجه کارشناسی ارشد پیشنهاد می کنند.

اعضای هیأت داوران	نام و نام خانوادگی	رتبه ی علمی	امضاء
۱- استاد راهنما	**دکتر مختار جلالی جواران**	**دانشیار**	
۲- استاد مشاور	**دکتر حمید دهقانی**	**دانشیار**	
۳- نماینده شورای تحصیلات تکمیلی	**دکتر قاسم کریم زاده**	**دانشیار**	
۴- اساتید ناظر: ۱-	**دکتر قاسم کریم زاده**	**دانشیار**	
۲-	**دکتر محمد رضا نقوی**	**استادیار**	
۳-			

بسمه تعالی

آیین نامهٔ چاپ پایان نامه(رساله)های دانشجویان دانشگاه تربیت مدرس

نظر به اینکه چاپ و انتشار پایان نامه (رساله) های تحصیلی دانشجویان دانشگاه تربیت مدرس، مبیّنبخشی از فعالیتهای علمی-پژوهشی دانشگاه است بنابراین به منظور آگاهی و رعایت حقوق دانشگاه، دانش آموختگان این دانشگاه نسبت به رعایت موارد ذیل متعهد می شوند:

مادّه ۱ در صورت اقدام به چاپ پایان نامه (رساله)ی خود، مراتب را قبلاً به طور کتبی به **دفتر نشرِ آثار علمی** دانشگاه اطلاع دهد.

مادّه ۲ در صفحه سوم کتاب (پس از برگ شناسنامه)، عبارت ذیل را چاپ کند:

" کتاب حاضر، حاصل پایان نامهٔ کارشناسی ارشد/ رسالهٔ دکتری نگارنده در رشته سمیه صالحی نجف آبادی است که در سال ۱۳۸۷ در دانشکدهٔ کشاورزی دانشگاه تربیت مدرّس به راهنمایی سرکار خانم/ جناب آقای دکتر مختار جلالی جواران، مشاورهٔ سرکار خانم/ جناب آقای دکتر حمید دهقانی از آن دفاع شده است"

مادّه ۳ به منظور جبران بخشی از هزینه های انتشارات دانشگاه، تعداد یک درصد شمارگان کتاب (در هر نوبت چاپ) را به **دفتر نشر آثار علمی** دانشگاه اهدا کند. دانشگاه می تواند مازاد نیاز خود را به نفع مرکز نشر در معرض فروش قرار دهد.

مادّه ۴ در صورت عدم رعایت مادّه ۳، ۵۰٪ بهای شمارگان چاپ شده را به عنوان خسارت به دانشگاه تربیت مدرس، تأدیه کند.

مادّه ۵ دانشجو تعهد و قبول می کند در صورت خودداری از پرداخت بهای خسارت، دانشگاه می تواند خسارت مذکور را از طریق مراجع قضایی مطالبه و وصول کند، به علاوه به دانشگاه حق می دهد به منظور استیفای حقوق خود، از طریق دادگاه، معادل وجه مذکور در مادّه ۴ را از محلّ توقیف کتابهای عرضه شدهٔ نگارنده برای فروش، تأمین نماید.

مادّه ۶ اینجانب ...سمیه صالحی نجف آبادی... دانشجوی رشته ...اصلاح نباتات... مقطع کارشناسی ارشد تعهد فوق و ضمانت اجرایی آن را قبول کرده، به آن ملتزم می شوم.

نام و نام خانوادگی: سمیه صالحی نجف آبادی

تاریخ و امضاء: ۱۳۸۷/۶/۴

دستور العمل حق مالکیت مادی و معنوی در مورد نتایج پژوهشهای علمی دانشگاه تربیت مدرس

مقدمه: با عنایت به سیاست‌های پژوهشی در راستای تحقق عدالت و کرامت انسانها که لازمه شکوفایی علمی و فنی است و رعایت حقوق مادی و معنوی دانشگاه و پژوهشگران، لازم است اعضای هیأت علمی، دانشجویان، دانش آموختگان و دیگر همکاران طرح، در مورد نتایج پژوهشهای علمی که تحت عناوین پایان نامه، رساله و طرحهای تحقیقاتی با هماهنگی دانشگاه انجام شده است، موارد ذیل را رعایت نمایند:

ماده ۱- حقوق مادی و معنوی پایان نامه‌ها / رساله‌های مصوب دانشگاه متعلق به دانشگاه است و هر گونه بهره‌برداری از آن باید با ذکر نام دانشگاه و رعایت آیین نامه‌ها و دستورالعمل‌های مصوب دانشگاه باشد.

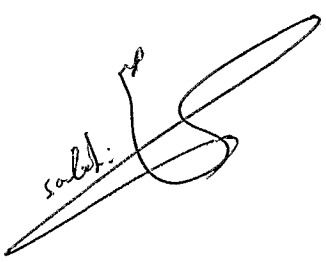
ماده ۲- انتشار مقاله یا مقالات مستخرج از پایان نامه / رساله به صورت چاپ در نشریات علمی و یا ارائه در مجامع علمی می‌باید به نام دانشگاه بوده و استاد راهنما، نویسنده مسئول مقاله باشد.

تبصره: در مقالاتی که پس از دانش آموختگی به صورت ترکیبی از اطلاعات جدید و نتایج حاصله از پایان نامه/ رساله نیز منتشر می‌شود نیز باید نام دانشگاه درج شود.

ماده ۳- انتشار کتاب حاصل از نتایج پایان نامه / رساله و تمامی طرحهای تحقیقاتی دانشگاه باید با مجوز کتبی صادره از طریق حوزه پژوهشی دانشگاه و بر اساس آیین‌نامه‌های مصوب انجام می‌شود.

ماده ۴- ثبت اختراع و تدوین دانش فنی و یا ارائه در جشنواره‌های ملی، منطقه‌ای و بین المللی که حاصل نتایج مستخرج از پایان نامه / رساله و تمامی طرح‌های تحقیقاتی دانشگاه باید با هماهنگی استاد راهنما یا مجری طرح از طریق حوزه پژوهشی دانشگاه انجام گیرد.

ماده ۵- این دستورالعمل در ۵ ماده و یک تبصره در تاریخ ۱۳۸۴/۴/۲۵ در شورای پژوهشی دانشگاه به تصویب رسیده و از تاریخ تصویب لازم الاجرا است و هر گونه تخلف از مفاد این دستورالعمل، از طریق مراجع قانونی قابل پیگیری است.



تقدیم به پروردگارم ...

او که هست و مرا نیز هستی داد

او که پدر و مادرم داد و آنها تواناییم

او که استادم داد و استاد داناییم

این سیاه دفترچه را ارزش تقدیمی بودن نمی بینم، هستی، توانایی و

داناییم تقدیمتان باد.

تشکر و قدردانی:

سپاس بی‌منتها خداوندی را که نعمت اندیشیدن را در انسان به ودیعه نهاد و به این وسیله او را اشرف مخلوقات گردانید. خداوندی که بر هر نعمت حق و سپاسی برای بندگان مقرر فرمود. لذا این تقریر را با قدردانی و تشکر از پدر و مادر عزیزم که وجودم برایشان همه رنج بود و وجودشان برایم همه مهر، مویشان سپیدی گرفت تا رویم سپید بماند، آغاز می‌کنم. بر خود لازم میدانم از همه استادان و عزیزانی که من را در این امر یاری نموده‌اند، تشکر و قدردانی نمایم.

از زحمات بی دریغ جناب آقای دکتر مختار جلالی جواران، استاد راهنمای محترم این پایان نامه، که در طول مراحل مختلف تحصیل و اجرای پایان نامه، بنده را یاری نمودند تشکر می‌نمایم.

از استاد مشاور گرامی جناب آقای دکتر دهقانی که همواره در طول مراحل مختلف انجام پایان نامه مرا با راهنمایی‌های ارزنده خویش یاری نموده‌اند، تشکر و قدردانی می‌نمایم.

از جناب آقای دکتر محمد رضا نقوی، که به عنوان داور، این پایان نامه را به دقت مورد مطالعه قرار داده و نکات ارزنده و مفیدی را جهت بهبود آن متذکر گردیدند تشکر می‌نمایم.

از جناب آقای دکتر قاسم کریم زاده که به عنوان یک استاد، در مراحل مختلف تحصیل با راهنمائی‌های ارزنده خود بنده را یاری نمودند و داوری این پایان نامه را نیز به عهده داشتند تشکر و قدردانی می‌نمایم.

همچنین از اساتید گرامی، آقایان دکتر احمد معینی، دکتر میرفخرایی و دکتر حسین میرزایی ندوشن که در دوره کارشناسی ارشد افتخار کسب دانش از محضرشان میسر گردید، قدردانی می‌نمایم.

از مسئولین محترم آزمایشگاه‌های اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی؛ جناب آقای مهندس ایری و سرکار خانم مهندس آزموده، که تلاش مداومی در جهت رفع مشکلات آزمایشگاه و دانشجویان داشتند قدردانی می‌نمایم.

در پایان از همه دوستان عزیزی که به نحوی اینجانب را در انجام کارها یاری نموده و مرا مرهون لطف و محبت خود نموده‌اند سپاسگزاری نمایم.

سمیه صالحی

تیر ۱۳۸۷

چکیده

خربزه (*Curcumis melo* L.) یکی از گیاهان جالیزی است که در اکثر نقاط دنیا مورد استفاده قرار می‌گیرد. سالانه در حدود ۷۹ هزار هکتار از اراضی در تمام نقاط ایران زیر کشت این محصول قرار میگیرد که علاوه بر تامین نیاز بالای بازار داخلی قسمتی از آن به دیگر کشورها صادر می‌گردد. در بانک ژن گیاهی ملی ایران در حدود هفتصد ژنوتیپ از انواع مختلف خربزه-طالبی وجود دارد، این تنوع بسیار وسیع در طی تاریخ طولانی کشاورزی در ایران شکل گرفته، ولی متاسفانه تاکنون اقدام جدی جهت شناسایی این ژنوتیپها و اصلاح آنها انجام نگرفته است. این مطالعه به منظور شناسایی و جمع آوری ژرم پلاسم گونه *Cucumis melo* L. از نقاط مختلف ایران و ارزیابی میزان تنوع موجود در آنها با استفاده از نشانگرهای مورفولوژی و مولکولی RAPD و SSR انجام شده است. نشانگرهای مولکولی با داشتن این مزیت که اثرات محیطی بر روی آنها تاثیر نمی‌گذارد، از بهترین روشهای موجود برای بررسی تنوع ژنتیکی می‌باشند. جمعیتی شامل ۳۰ ژنوتیپ خربزه-طالبی ایرانی، توسط ۱۲ صفت کیفی، ۹ صفت کمی، ۱۲ آغازگر مولکولی RAPD و ۶ جفت آغازگر مولکولی SSR مورد بررسی قرار گرفتند. تجزیه خوشه‌ای داده های مورفولوژی با استفاده از روش UPGMA و نرم افزار SPSS انجام گرفت که بر این اساس توده های خربزه در ۷ گروه متفاوت قرار گرفتند. تجزیه RAPD با استفاده از ۱۲ آغازگر انجام گرفت. با بکارگیری این آغازگرها، ۹۶ باند به کمک ژل آگارز و رنگ آمیزی اتیدیوم بروماید بدست آمد و درصد چندشکلی ۸۲ درصد تعیین شد. ۶ جفت آغازگر مولکولی SSR با تکثیر مکان های ژنی موردنظر جمعا توانستند ۴۰ آلل را به کمک ژل توالی یاب و رنگ آمیزی نیترات نقره شناسایی کنند. این ژل توانایی تفکیک تفاوت‌ها در حد یک نوکلئوتید را دارا می باشد. درصد چندشکلی نشان داده شده توسط نشانگر مولکولی SSR برابر ۱۰۰ درصد بود. درصد بالای مکان های ژنی دارای چندشکلی، نشان دهنده توانایی SSR برای تفکیک ژنوتیپ های مختلف خربزه-طالبی می باشد. بررسی دندروگرام تنوع ژنتیکی حاصل از داده های نشانگر مولکولی SSR، نشان دهنده وجود تنوع زیاد در بین ژنوتیپ های مورد استفاده بود. به طور کلی این آزمایش نشان داد که نشانگرهای ریزماهواره نسبت به نشانگر مولکولی RAPD، روش ارزشمندتری برای شناسایی و ارزیابی تنوع ژنتیکی در میان ژنوتیپ های خربزه- طالبی می باشد و فاصله بسیار کم این گروهها نشان از شباهت بالای ژنوم این نمونه ها دارد.

واژه های کلیدی: خربزه-طالبی، تنوع ژنتیکی، نشانگرهای مورفولوژیکی، RAPD، SSR

فهرست مطالب

عنوان **صفحه**

فصل اول : مقدمه

مقدمه ۲

فصل دوم : بررسی منابع

۲-۱- گیاهشناسی ۵
۲-۲- اهمیت و خاستگاه خربزه-طالبی ۵
۲-۳- تولید خربزه‌ئیان در دنیا ۶
۲-۴- تولید خربزه‌ئیان در ایران ۶
۲-۵- ترکیبات و خواص خربزه ۷
۲-۶-طبقه بندی ۷
۲-۷- تنوع ژنتیکی و روش‌های برآورد آن ۸
۲-۸- نشانگرهای ژنتیک و انواع آن ۹
۲-۹- تعریف نشانگر مولکولی و خصوصیات آن ۱۰
۲-۱۰- انواع نشانگرها ۱۱
۲-۱۰-۱- نشانگرهای مورفولوژیک ۱۱
۲-۱۰-۲- نشانگرهای پروتئینی ۱۲
۲-۱۰-۳- نشانگرهای مولکولی DNA ۱۲
۲-۱۰-۴- نشانگرهای غیرمبتنی بر واکنش زنجیره‌ای پلیمراز ۱۴
۲-۱۰-۵- نشانگرهای مبتنی بر واکنش زنجیره‌ای پلیمراز ۱۵
۲-۱۰-۵-۱- نشانگر RAPD ۱۵
۲-۱۰-۵-۱-۱- اساس مولکولی RAPD ۱۶
۲-۱۰-۵-۱-۲- مزایای تکنیک RAPD ۱۷
۲-۱۰-۵-۱-۳- معایب تکنیک RAPD ۱۷
۲-۱۰-۵-۱-۴- کاربردهای RAPD ۱۸
۲-۱۰-۵-۲- نشانگر SSCP ۱۹
۲-۱۰-۵-۳- تفاوت طول قطعه‌های حاصل از تکثیر (AFLP) ۲۰
۲-۱۰-۵-۳-۱- مزایای نشانگر مولکولی AFLP ۲۰
۲-۱۰-۵-۳-۲- معایب نشانگر مولکولی AFLP ۲۱
۲-۱۰-۵-۳-۳- کاربرد نشانگر مولکولی AFLP ۲۱

۲-۱۰-۵-۴- ریزماهواره‌ها ۲۲
۲-۱۰-۵-۴-۱- انواع ریزماهواره‌ها ۲۳
۲-۱۰-۵-۴-۲- پیدایش و بسط ریزماهواره‌ها ۲۳
۲-۱۰-۵-۴-۳- پیدایش ریزماهواره‌ها ۲۴
۲-۱۰-۵-۴-۴- بسط ریزماهواره‌ها ۲۶
۲-۱۰-۵-۴-۵- مزایای کار با ریزماهواره‌ها ۲۷
۲-۱۰-۵-۴-۶- معایب کا با ریزماهواره‌ها ۲۷
۲-۱۰-۵-۴-۷- کاربردهای ریزماهواره‌ها ۲۸
۲-۱۱- روش‌های مورد استفاده در برنامه‌های مولکولی ۲۸
۲-۱۱-۱- استخراج DNA ۲۸
۲-۱۱-۲- تعیین کمی و کیفی DNA ۲۹
۲-۱۱-۲-۱- الکتروفورز بر روی ژل آگارز ۲۹
۲-۱۱-۲-۲- استفاده از اسپکتروفتومتری ۲۹
۲-۱۱-۳- واکنش زنجیره‌ای پلیمراز ۳۰
۲-۱۱-۴- اجزای PCR ۳۰
۲-۱۱-۵- الکتروفورز ۳۳
۲-۱۱-۵-۱- الکتروفورز ژل آگارز ۳۳
۲-۱۱-۵-۲- الکتروفورز ژل پلی اکریل آمید ۳۴
۲-۱۱-۵-۳- مزایای ژل اکریل آمید نسبت به آگارز ۳۵
۲-۱۲- مروری بر پژوهشهای انجام شده ۳۵
۲-۱۲-۱- استفاده از نشانگرهای مولکولی در مطالعه خربزه-طالبی ۳۵
۲-۱۲-۲- مروری بر پژوهشهای انجام شده در ایران ۴۱

فصل سوم : مواد وروشها

۳-۱- مواد گیاهی ۴۴
۳-۲- کاشت توده های بذری ۴۷
۳-۳- ارزیابی صفات ۴۸
۳-۴- استخراج DNA ۵۱
۳-۵- تعیین کمیت و کیفیت DNA ۵۲
۳-۶- واکنش RAPD-PCR ۵۲
۳-۶-۱- مواد مورد نیاز ۵۲
۳-۶-۲- برنامه واکنش RAPD-PCR ۵۴

۳-۶-۳- الکتروفورز محصول PCR ۵۵
۳-۷- واکنش SSR-PCR ۵۶
۳-۷-۱- مواد مورد نیاز ۵۶
۳-۷-۲- برنامه واکنش SSR-PCR ۵۷
۳-۷-۳- الکتروفورز محصول PCR ۵۷
۳-۷-۳-۱- تهیه ی ژل اکریل آمید واسرشته ساز ۵۸
۳-۷-۳-۲- آماده سازی شیشه ها ۵۸
۳-۷-۳-۳- تزریق ژل ۵۹
۳-۷-۳-۴- گرم کردن مقدماتی ۵۹
۳-۷- ۳-۵- الکتروفورز نمونه ها ۶۰
۳-۷-۴- رنگ آمیزی ژل ۶۰
۳-۸- تجزیه وتحلیل داده‌ها ۶۱

فصل چهارم : نتایج و بررسی

۴-۱- تجزیه وتحلیل صفات مورفولوژیک توده های خربزه ۶۳
۴-۲-تجزیه و تحلیل صفات ژنتیکی توده های خربزه بر اساس مارکر مولکولی RAPD ۶۹
۴-۳- تجزیه و تحلیل صفات ژنتیکی توده های خربزه بر اساس مارکر مولکولی SSR ۷۲
۴-۳-۱- چند شکلی‌های حاصل از نشانگر مولکولی SSR ۷۲
۴-۳-۲- میزان هتروزیگوتی ۷۳
۴-۳-۳- رابطه ژنتیکی بین توده ها ۷۴
۴-۳-۳-۱- رسم دندروگرام ۷۴
۴-۳-۳-۲- تخمین فاصله ژنتیکی بر اساس ضریب جاکارد ۷۸
۴-۳-۴- تجزیه به مولفه اصلی ۷۹
۴-۴- مقایسه ماتریس‌ها و آزمون مانتل ۸۰
۴-۵- نتایج حاصل از تلفیق داده‌های دو نشانگر مولکولی RAPD و SSR ۸۱
۴-۶- بحث ۸۴

منابـع ۹۰
پیـوست ۹۹

فهرست جدول‌ها

عنوان **صفحه**

جدول ۱-۱- سطح زیر کشت، عملکرد و تولید خربزه در سال ۸۴-۸۴ ۷
جدول ۳-۱- نام، کد و محل توده‌های جمع آوری شده خربزه ایرانی ۴۴
جدول ۳-۲- ترکیب بافر استخراج CTAB (۱۰٪) ۵۱
جدول ۳-۳- اجزای واکنش RAPD-PCR ۵۳
جدول ۳-۴- توالی آغازگرهای مورد استفاده در تکنیک RAPD ۵۴
جدول ۳-۵- برنامه داده شده به دستگاه PCR جهت تکثیر DNA ۵۴
جدول ۳-۶- طرز تهیه TBE 5X ۵۵
جدول ۳-۷- توالی آغازگرهای مورد استفاده در تکنیک SSR ۵۶
جدول ۳-۸- برنامه داده شده به دستگاه PCR جهت تکثیر DNA در روش SSR ۵۷
جدول ۳-۹- طرز تهیه دای فرمامید ۵۷
جدول ۳-۱۰- ترکیب ژل اکریلامید ۶٪ ۵۸
جدول ۴-۱- تجزیه واریانس چند متغیره بر روی ۲۱ صفت مورد ارزیابی در خربزه ۶۴
جدول ۴-۲- مشخصات باندهای حاصل از ۷ آغازگرRAPD ۶۹
جدول ۴-۳- تعداد آلل‌های مشاهده شده و موثر در هر جایگاه ریزماهواره ۷۳
جدول ۴-۴- هموزیگوسیی و هتروزیگوسیتی مشاهده شده و مورد انتظار و PIC برای جایگاههای SSR ۷۴
جدول۴-۵- مقادیر ۱۷ مولفه اصلی در رابطه با توده‌های خربزه مورد بررسی با استفاده از داده‌های SSR ۷۹
جدول ۴-۶- نتایج حاصل از آزمون مانتل و ضرایب کوفنتیک ۸۱

فهرست شکل‌ها

عنوان **صفحه**

شکل ۲-۱- انواع ریزماهواره‌ها ۲۳
شکل ۲-۲- پیدایش ریزماهواره‌ها از طریق الحاق و جانشینی ۲۴
شکل ۲-۳- نحوه پیدایش ریزماهواره‌ها از طریق Mini-meها ۲۵
شکل ۲-۴- مقایسه توالی ریزماهواره‌ها در خیار و طالبی ۳۸
شکل ۳-۱- اشکال میوه در *Cucumis melo* ۵۰
شکل ۴-۱- دندروگرام مربوط به صفات مورفولوژی توده‌های خربزه بر اساس ضریب تشابه جاکارد و با استفاده از روش UPGMA ۶۸
شکل ۴-۲- دندروگرام حاصل از تجزیه و تحلیل باندهای RAPD ۷۱
شکل ۴-۳- دندروگرام حاصل از تجزیه و تحلیل داده‌های SSR ۷۷
شکل ۴-۴- دندروگرام حاصل از تجزیه و تحلیل داده‌های RAPD و SSR ۸۳

فصـــل اول

مقـــدمه

مقدمه

تنوع ژنتیکی ودیعه الهی و سرمایه گرانبهایی است که طی قرون و اعصار پدید آمده و حاصل تجربه‌ای بسیار طولانی از اثر متقابل ژنوتیپ و محیط می‌باشد که از زمان‌های گذشته به نسل کنونی به ارث رسیده است. ژنوتیپ‌های متفاوت به دلیل سازگاریشان به عوامل محیطی منطقه و همچنین داشتن ژنهای مقاومت به بیماری، طعم و شکل مطلوب از اهمیت زیادی برخوردارند، ولی در سالهای اخیر به دلیل افزایش سطح زیر کشت ارقام اصلاح شده، از بین رفتن زمینهای کشاورزی و ماشینی شدن آن، تنوع وسیع ارقام بومی مورد تهدید قرار گرفته است (کوهپایگانی، ۱۳۸۳). برای حفظ این ذخایر توارثی می توان به جمع آوری و ذخیرهٔ توده‌های بومی در بانک ژن اقدام نمود. محدودیت‌های موجود در هزینه و عدم وجود فضای کافی جهت ذخیره سازی حجم عظیم مواد گیاهی ما را بر آن می دارد تا از جمع آوری ارقام مشابه پرهیز کنیم. روش‌های مختلفی جهت برآورد تنوع ژنتیکی در گونه های گیاهی وجود دارد که از آن جمله می‌توان استفاده از صفات ظاهری یا نشانگرهای مورفولوژیکی، ایزوزایم‌ها و نشانگرهای DNA را نام برد (قره یاضی، ۱۳۷۴).

نشانگرهای مورفولوژیکی شامل دامنه وسیعی از ژن‌های کنترل کننده صفات فنوتیپی می‌باشند که اکثراً به صورت غالب به ارث می‌رسند، این نشانگرها پیامد جهش‌های قابل رؤیت در مورفولوژی موجود می‌باشند، ولی دارای محدودیتهای اساسی هستند که موجب شده محققین به انواع دیگری از نشانگرهای ژنتیکی توجه نمایند.

مناسبترین راه برای شناسایی و تشخیص قرابتهای ژنتیکی ارقام و حذف مواد ژنتیکی مشابه استفاده از نشانگرهای مبتنی بر DNA می باشد؛ این نشانگرها امکان شناسایی مستقیم تنوع توالی ژنومی را در بین ارقام بوجود می‌آورند که در تکمیل اطلاعات شجره‌نامه مورد استفاده قرار می‌گیرد (Solimani *et al.*, 2002).

در حقیقت بررسی بسیاری از تفاوتها به علت عدم تظاهر مورفولوژیکی، بیوشیمیایی و فیزیوژیکی، تنها از طریق بررسی DNA قابل ثبت هستند و به همین دلیل طی چند دهه گذشته نشانگرهای مبتنی بر DNA توجه محققین را برای بررسی تنوع ژنتیکی موجودات مختلف، به خود جلب کرده است. از اکثر این نشانگرها برای شناسایی ارقام خربـزه و طالبی استفاده گردیده است، نشانگر RAPD به علت عدم نیاز به مواد رادیواکتیو، ارزان و سریع بودن در اکثر مطالعات مربوط به جمعیت‌ها مورد استفاده قرارگرفته است (زامیاد، ۱۳۸۳؛ فیضیان، ۱۳۸۳؛ رزمی، ۱۳۸۵؛ Mliki *et al.*, 2001; Garcia *et al.*, 2003). در بیـن تمام تکنیک‌ها، نشانـگرهای ریزماهواره به دلیل داشتن مزایایی مثل چندشکلی زیاد، هم بارزی، پراکندگی یکنواخت در سرتاسر ژنوم، دقت بالا و با نشان دادن حداکثر اختلاف بین ارقام، به طور مؤثرتری برای شناسایی ارقام خربزه و طالبی بکار رفته‌اند(Danin-Poleg *et al.*, 2001; Lopez-Sese *et al.*, 2002; Ritschel *et al.*, 2004; Dhillon *et al.*, 2007).

متأسفانه علی‌رغم وجود ذخایر ژنتیکی بسیار عظیم خربزه و طالبی در ایران و وجود بیش از ۷۰۰ جمعیت خربزه و طالبی در بانک ژن (کوهپایگانی، ۱۳۸۳)، تاکنون تنها تحقیقات محدودی در این زمینه صورت گرفته، که این امر و عدم آگاهی دقیق از تنوع موجود در کشور، ذخایر ژنتیکی آن را مورد تهدید قرار داده است.

از اهداف این تحقیق می‌توان به موارد زیر اشاره کرد:

- بررسی تنوع ژنتیکی بذور جمع‌آوری شده با استفاده از نشـانگرهای مولکـولی مبتنـی بـر DNA (SSR و RAPD) وخصوصیات مورفولوژیکی
- گروه‌بندی بر اساس صفات مورفولوژیکی و مولکولی وتعیین ارتباط بین آنها جهـت انجـام تلاقی های لازم برای کارهای اصلاحی و تولید بذر هیبرید و
- معرفی بهترین و کارآمدترین روش برای برآورد تنوع ژنتیکی

فصـــل دوم

بررسی منابــع

۲-۱- گیاهشناسی

خربزه، طالبی (*Cucumis melo* L.) محصولات باغی دگرگشن با اهمیت اقتصادی بالا می باشند که به خانواده کدوئیان (Cucurbitaceae) تعلق دارند (Robinson and Walters, 1999). تمام گیاهان این تیره خزنده اند و بیشتر آنها یکساله می باشند. ساقه ممکن است نرم، کرکدار یا بی کرک، خط دار یا گوشه دار باشد. برگ دایره ای، قلوه ای یا پنج گوش و گاهی ۳ تا ۷ لب دارد. میوه آنها گوشتی، آبدار و به صورت سه حجره ای در می آید که به آن "پپوز" گویند (Bailey, 1973; Willis, 1985). گیاهان این تیره به سرما بسیار حساس بوده و در هوای گرم رشد می یابند (Willis, 1985).

۲-۲- اهمیت و خاستگاه خربزه-طالبی

انواع متنوعی از خربزه- طالبی در ایران به دلیل تنوع آب و هوا، تعدد و پراکنش روستاها، مهاجرت، مبادله بذور و دگرگشن بودن گیاه به وجود آمده است. به دلیل این که در سال‌های اخیر سطح زیر کشت و کار رقم‌های اصلاح شده غیر بومی در حال گسترش است، فرسایش ژنتیکی توده-های بومی زیاد شده است. این خطر می‌تواند میراث چند هزار ساله را در مدت کوتاهی نابود کند. علاوه بر این سالیانه هزاران نفر از کاشت، داشت، برداشت، حمل و نقل و مراحل فروش این محصول، امرار معاش می‌نمایند. از جمله امتیازات کشت خربزه آن است که دوره رویش کوتاه ۲ الی ۴ ماهه دارد و در اکثر مناطق معتدله و گرمسیری به عنوان کشت دوم پس از برداشت محصول زمستانه کشت می‌شود (کوهپایگانی، ۱۳۸۳).

منشا و خاستگاه خربزه‌ئیان هنوز دقیقا" مشخص نیست و مورد بحث است، به نظر متخصصان طبقه بندی گیاهی ناحیه اصلی و منبع اولیه طالبی و خربزه به شکل کنونی کشور ایران، قفقاز و کشورهای همسایه ایران است. گزارش‌های تاریخی و آثار باستانی از وجود خربزه‌ئیان در دو تا سه هزار سال قبل از میلاد مسیح به‌ترتیب در مصر و ایران خبر داده‌اند (Rubatzky and Yamaguchi,

(1997. با مهم شدن این محصول در نواحی هند، مصر، ایران و چین، بتدریج این گیاه در سراسر خاورمیانه و آسیا گسترش یافت. از این رو، کشورهای هند، ایران، افغانستان و چین همواره به عنوان مراکز ثانویه‌ی تنوع خربزه‌ئیان مورد توجه بوده‌اند. عده ای معتقدند که خربزه ئیان نیز مانند سایر گونه های متعلق به زیرجنسMelo ، احتمالا از آفریقا منشا گرفته اند (Kirkbride, 1993)؛ این در حالی است که برخی منابع از ایران به عنوان مرکز ثانویه پیدایش خربزه‌ئیان نام برده‌اند (Rudish, 1985).

۲-۳- تولید خربزه‌ئیان در دنیا

براساس آمار موجود، تولید سالانه چهار محصول عمده خانواده کدوئیان شامل هندوانه، خیار، خربزه-طالبی و انواع کدو طی یک دوره ۱۰ ساله، از سال ۱۹۹۱ تا ۲۰۰۰، به میزان ۵۰٪ رشد داشته است. طی این دوره، تولید خربزه‌ئیان در دنیا با شش هزار تن افزایش از ۱۳/۳ هزار تن به ۱۹/۴ هزار تن افزایش یافته است (بانک اطلاعات کشاورزی جهان، ۱۳۸۰). بر اساس آمار سال ۲۰۰۱، ایران از نظر تولید طالبی-خربزه پس از کشورهای چین، ترکیه و آمریکا، با تولید ۴/۷ درصد از کل تولید دنیا، رتبه چهارم را به خود اختصاص داده است (Taylor and Brant, 2002).

۲-۴- تولید خربزه‌ئیان در ایران

میزان تولید خربزه‌ئیان در سال زراعی ۸۵-۸۴ ، همچنین سطح زیر کشت و عملکرد این محصول در جدول ۲-۱ ، به تفکیک استان‌های کشور ذکر شده است (آمار نامه کشاورزی، ۱۳۸۵) براساس آمار منتشر شده در سال زراعی ۸۵-۸۴ از ۷۸ هزار و ۱۹۷ هکتار سطح زیر کشت خربزه، بالغ بر ۵۰ درصد این مقدار، سهم استان خراسان با سطح زیر کشت معادل حدود ۴۲ هزار هکتار ، گزارش شده است. از طرف دیگر استان لرستان با سطح زیر کشت ۳ هکتار کمترین سطح زیر کشت و تولید را دارد. در ایران میزان عملکرد این محصول به طور متوسط حدود ۱۵ تن در هکتار گزارش شده است که در مقایسه با متوسط عملکرد در دنیا (۱۶/۸ تن در هکتار) فاصله‌ی کمی دارد (آمار نامه کشاورزی، ۱۳۸۵).

۲-۵- ترکیبات و خواص خربزه

بیش از ۹۰ درصد وزن خربزه-طالبی آب می‌باشد. این دو میوه از نظر املاح معدنی مانند آهن، کلسیم، فسفر و سدیم چندان غنی نمی‌باشند، ولی حاوی مقدار نسبتا زیادی پکتین، مواد معدنی همچون پتاسیم، منگنز، فسفر و کلسیم و ویتامین های A, B1, B2 و C است.

وجود املاح در خربزه، باعث می شود که درجه قلیایی بودن خون و سلول های بدن بالا برود و سمومی که بر اثر مصرف گوشت و مواد چربی در خون و سلول های بدن ایجاد شده، خنثی و دفع شود. خربزه میوه‌ای است مقوی، شیرین، سهل‌الهضم، اشتها آور، پاک‌کننده کلیه و مثانه و خردکننده سنگ‌های کلیه و مجاری ادراری می‌باشد (لطفی، ۱۳۸۲).

۲-۶- طبقه بندی

در مورد طبقه بندی خربزه-طالبی گیاهشناس فرانسوی (Naudin, 1859) بر اساس صفات رویشی و تنوع میوه این گونـه را به ده گروه تقسیم کرد که بعدها این طبقه‌بندی توسط (Munger and Robinson, 1991) با در نظر گرفتن اسم سه قسمتی مورد تجـدید نظر قرار گرفت. از شناخـته شده‌های این گروه در ایران می توان به انواع زیر اشاره کرد:

گروه Inodorus: داری میوه هایی با اندازه بزرگ، معمولا دیررس با قابلیت نگهداری و انبـارداری زیاد است. سطح میوه صاف یا چروکیده، گوشت میوه عموما سفید یا سبز و فاقد عطر و بو مـی‌باشـد. خربـزه‌های ایرانی معمولا در این گروه قرار می گیرند.

گروه Reticulatus: این گروه شامل طالبی و گرمکی است که اندازه میوه آنها کوچک یا متوسط است. سطح پوست مشبک با شیارهای سطحی است. رنگ پوست معمولاً زرد متمایل به سبز اسـت و گوشت ممکن است از سبز تا قرمز مایل به نارنجی تفاوت کند.