٩٤٥٩

٤٦٢٧٢

دانشگاه تربیت مدرس
دانشکده کشاورزی

پایان نامه دوره کارشناسی ارشد بیوتکنولوژی کشاورزی

بررسی تنوع ژنتیکی برخی از توده های بومی خربزه ایرانی (*Cucumis melo* L.) با استفاده از نشانگرهای ملکولی ISSR

صدیقه فابریکی اورنگ

استاد راهنما:
دکتر مسعود شمس بخش

استاد مشاور:
دکتر مختار جلالی جواران

۱۳۸۷ /۵/ ۲۲

زمستان ۱۳۸۶

۴۶۲۷۳

بسمه تعالی

تأئید اعضای هیت داوران حاضر در جلسه دفاع از پایان نامه کارشناسی ارشد

اعضای هیت داوران نسخه نهایی پایان نامه خانم صدیقه فابریکی اورنگ تحت **عنوان" بررسی تنوع ژنتیکی برخی از توده های بومی خربزه ایرانی(*Cucumis melo* L.) با استفاده ازنشانگرهای ملکولی ISSR"** را از نظر فرم و محتوی بررسی نموده و پذیرش آن را برای تکمیل درجه کارشناسی ارشد پیشنهاد می کند.

اعضای هیت داوران	نام و نام خانوادگی	رتبه علمی	امضاء
۱- استاد راهنما	آقای دکتر مسعود شمس بخش	استادیار	
۲- استاد مشاور	آقای دکتر مختار جلالی جواران	دانشیار	
۳- نماینده شورای تحصیلات تکمیلی	آقای دکتر احمد معینی	دانشیار	
۵- اساتید ناظر	۱- آقای دکتر احمد معینی	دانشیار	
	۲- آقای دکتر مظفری	دانشیار	

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 نشر 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 **بیوتکنولوژی کشاورزی**... است که در سال ...**۱۳۸۶**..... در دانشکدهٔ کشاورزی دانشگاه تربیت مدرّس به راهنمایی سرکار خانم/ جناب آقای دکتر **مسعود شمس بخش**...، مشاورهٔ سرکار خانم/ جناب آقای دکتر **...مختار جلالی جواران** و مشاورهٔ سرکار خانم/ جناب آقای دکتر..... 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 **...صدیقه فابریکی اورنگ**... دانشجوی رشته **... بیوتکنولوژی کشاورزی**... مقطع **...کارشناسی ارشد**... تعهد فوق و ضمانت اجرایی آن را قبول کرده، به آن ملتزم می شوم.

نام و نام خانوادگی: صدیقه فابریکی اورنگ

تاریخ و امضاء:

۱۳۸۷/۱۱/۲۲

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

مقدمه: با عنایت به سیاست‌های پژوهشی دانشگاه 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 هیات علمی، دانشجویان، دانش آموختگان و دیگر همکاران طرح، در مورد نتایج پژوهشهای علمی که تحت عناوین پایان‌نامه، رساله و طرحهای تحقیقاتی که 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 هرگونه بهره‌برداری از آن باید با ذکر نام دانشگاه و رعایت آیین‌نامه‌ها 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 باید به نام دانشگاه بوده و استاد راهنما مسئول مکاتبات مقاله باشد.

تبصره: در مقالاتی که پس از دانش آموختگی بصورت ترکیبی از اطلاعات جدید و نتایج حاصل از پایان‌نامه/ 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 آئین نامه های مصوب انجام می‌شود.

ماده ۴- ثبت اختراع و تدوین دانش فنی و یا ارائه در جشنواره‌های ملی، منطقه‌ای و بین‌المللی 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 هرگونه تخلف از مفاد این دستورالعمل، از طریق مراجع قانونی قابل پیگیری می شود.

نام و نام خانوادگی

امضاء

صدیقه عارفی امیری

تقدیم به

پدر و مادر مهربانم

و

همسر صبور و فداکارم

که والاترین فداکاری ها را به من بی منت ارزانی داشتند.

سپاسگزاری

سپاس پروردگاری که نور علم و زینت اندیشه را در وجود بشر به امانت گذاشت. حمد و سپاس پروردگار یکتا که انسان را از ظلمت و جهل به سوی بیکرانه روشن دانش و معرفت رهنما گشت. او که آموزگار نخست است و او که بازگشت همه چیز و همه کس به سوی اوست.

برخود لازم و واجب می دانم مراتب سپاس و تشکر صمیمانه خود را از استاد ارجمندم جناب آقای دکتر مسعود شمس بخش که در تمامی مراحل انجام، تدوین و نگارش این تحقیق همواره یادم داد و از محضر علم ایشان بهره های فراوان بردم، داشته باشم که وجود ایشان برایم سراسر درس اخلاق و فروتنی بود.

از استاد ارجمندم جناب آقای دکتر مختار جلالی که زحمت مشاوره این تحقیق را تقبل نمودند و راهنمایی ها و نظرات ارزشمند ایشان همیشه راهگشای کارم بودند و مطالب بسیار ارزنده ای را در عرصه علم و زندگی به من آموختند، نهایت امتنان را دارم.

از مدیریت محترم گروه جناب آقای دکتر مختار جلالی به خاطر زحمات فراوانشان سپاسگزارم.

از جناب آقای دکتر احمد معینی و جناب آقای دکتر مظفری که با مطالعه جامع این پایان نامه مرا در تکمیل آن یاری نمودند نهایت سپاس را دارم.

از دیگر اعضاء محترم و گرانقدر گروه اصلاح نباتات جنابان آقایان دکتر حمید دهقانی و دکتر قاسم کریم زاده سپاسگزارم.

از آقای دکتر ناصر صفایی که از محضر علم ایشان بهره فراوان بردم نهایت تشکر را دارم.

از کلیه پرسنل محترم آزمایشگاه های اصلاح نباتات، بیوتکنولوژی، بیماری شناسی گیاهی برای همکاری صمیمانه در انجام امور مربوط به این تحقیق تشکر می نمایم.

از دوستان ارجمندم خانم مهندس خدایاری، خانم مهندس دیمیاد و آقای مهندس امیری برای همکاری صمیمانه با اینجانب تشکر می نمایم. و همچنین از کلیه دوستان و عزیزانی که مجال ذکر نامشان نبود و برای انجام رساندن این تحقیق یاریگرمن بودند، تشکر می نمایم.

چکیده فارسی

گونه *Cucumis melo* L. یکی از مهمترین گیاهان جالیزی است که با داشتن ارقام متنوع، کشت و کار آنها در کشور ما از گذشته های دور تا کنون معمول بوده است. این محصول مهم با داشتن ذخایر ارزشمند در کشور در معرض فرسایش ژنتیکی شدید می باشد، بنابراین حفظ این منابع گرانبها وظیفه متخصصان و مسولان این بخش می باشد. به منظور بررسی تنوع ژنتیکی ۵۴ توده خربزه- طالبی جمع آوری شده از یازده استان کشور(شامل استان های اصفهان، خراسان جنوبی، خراسان شمالی، خراسان رضوی، یزد، کرمان، کرمانشاه، ایلام، زنجان، اردبیل و همدان) از نشانگرهای ISSR (Inter Simple Sequence Repeat) استفاده گردید. در مجموع ۱۱ آغازگر که دارای توالی های ساده تکراری (میکروساتلایت) بودند برای تکثیر قطعاتی از DNA ژنومی گیاه استفاده شد. ۸۴ مکان ژنی امتیاز بندی شدند که از این تعداد ۶۳ مکان چند شکلی نشان دادند. برای ارزیابی شباهت ژنتیکی میان توده ها از تجزیه خوشه ای با استفاده از ماتریس تشابه جاکارد با روش UPGMA استفاده گردید. میانگین فاصله ژنتیکی میان توده ها (با استفاده از ضریب تشابه جاکارد)، ۰/۷۴ و میانگین محتوای اطلاعات چند شکل(PIC) ۰/۸۴ بود. آغازگر $(AC)_8G$ بالاترین مقدار PIC (۰/۹۲) را دارا بود. بررسی دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه ای وجود تنوع زیاد در بین ژنوتیپ های مورد مطالعه را نشان داد. بیشترین فاصله ژنتیکی بین ژنوتیپ های بیرجند و تیل زرد و کمترین فاصله ژنتیکی بین ژنوتیپ های گرگاب و یزدی بود. نمودار دو بعدی فاصله ژنتیکی با روش تجزیه مختصات اصلی تطابق خوبی با دندروگرام تنوع ژنتیکی داشت و بیشتر ژنوتیپ ها در ربع اول قرار گرفتند. این نتایج نشان داد که نشانگرهای ISSR به طور موثری می توانند برای مطالعه تنوع ژنتیکی توده های خربزه- طالبی استفاده شوند. از بین آغازگرهای استفاده شده، آغازگر$(AC)_8G$ مناسب ترین آغازگر برای مطالعه های بعدی تشخیص داده شد.

واژگان کلیدی: خربزه- طالبی، تنوع ژنتیکی، ISSR، *Cucumis melo* L.

فهرست عناوین

عنوان	صفحه
فصل اول: مقدمه و کلیات	
مقدمه	۱
۱-۱- معرفی خربزه و طالبی	۴
۱-۱-۱- تاریخچه	۴
۱-۱-۲- اهمیت خربزه و طالبی	۵
۱-۱-۳- میزان تولید	۶
۱-۱-۴- ترکیبات و خواص دارویی	۶
۱-۱-۵- گیاه شناسی	۷
۱-۱-۶- طبقه بندی	۷
۱-۲- تنوع ژنتیکی و ضرورت شناخت آن	۹
۱-۳- برآورد تنوع ژنتیکی با استفاده از نشانگرهای ژنتیکی	۱۰
۱-۳-۱- نشانگرهای ژنتیکی	۱۰
۱-۳-۲- نشانگرهای مرفولوژیکی	۱۰
۱-۳-۳- ایزوزایم ها	۱۱
۱-۳-۴- نشانگرهای ملکولی	۱۱
۱-۳-۴-۱- نشانگر RFLP	۱۲
۱-۳-۴-۲- نشانگر RAPD	۱۲
۱-۳-۴-۳- نشانگرهای AFLP	۱۳
۱-۳-۴-۴- نشانگرهای ملکولی SSR	۱۴
۱-۳-۴-۵- نشانگرهای ملکولی ISSR	۱۵
فصل دوم: مروری بر مطالعات انجام شده	
۲-۱- مروری بر پژوهش های انجام گرفته در زمینه نشانگرهای ملکولی در خانواده کدوئیان	۱۸
۲-۱-۱- استفاده از نشانگرهای مولکولی در خانواده کدوئیان (*Cucurbitaceae*)	۱۸
۲-۱-۲- استفاده از نشانگرهای ISSR در گیاهان	۲۱
۲-۱-۳- استفاده از نشانگرهای ISSR در کدوئیان(*Cucurbitaceae*)	۲۲
۲-۱-۴- مروری بر پژوهشهای انجام گرفته در ایران	۲۴

فصل سوم: مواد و روش ها

۳-۱- مواد گیاهی ۲۶
۳-۲- کاشت نمونه های بذری ۲۸
۳-۳- استخراج DNA ژنومی ۲۸
۳-۴- تعیین کمیت و کیفیت DNA ژنومی استخراج شده ۲۹
۳-۵- آغازگرهای مورد استفاده ۳۰
۳-۶- واکنش زنجیره ای پلیمراز ۳۱
۳-۶-۱- برنامه واکنش زنجیره ای پلیمراز ۳۳
۳-۷- الکتروفورز محصول واکنش زنجیره ای پلیمراز ۳۴
۳-۸- روش های آماری برای تجزیه و تحلیل داده ها ۳۵
۳-۸-۱- تخمین فاصله ژنتیکی ۳۵
۳-۸-۲- اندازه گیری فواصل و تشابه های ژنتیکی ۳۵
۳-۸-۳- روش های آماری برای تجزیه و تحلیل تنوع ژنتیکی ۳۶
۳-۸-۴- تجزیه خوشه ای ۳۷
۳-۸-۵- ضریب کوفنتیک ۳۸
۳-۸-۶- تجزیه به مولفه های اصلی ۳۹
۳-۸-۷- معیارهای محتوای اطلاعات نشانگرها ۳۹
۳-۹- امتیاز دهی باند ها ۴۱
۳-۱۰- نرم افزارهای مورد استفاده برای تجزیه و تحلیل داده ها ۴۱

فصل چهارم: نتایج و بحث

۴-۱- بهینه سازی شرایط واکنش زنجیره ای پلیمراز ۴۲
۴-۲- چند شکلی های حاصل از نشانگر ISSR برای ژنوتیپ های مورد مطالعه خربزه و طالبی ۵۷
۴-۳- رابطه ژنتیکی بین ژنوتیپ های مورد بررسی خربزه و طالبی ۵۹
۴-۳-۱- تجزیه و تحلیل خوشه ای ۵۹
۴-۳-۲- فاصله ژنتیکی بین ژنوتیپ های مورد مطالعه ۶۲
۴-۴- محتوای اطلاعات چند شکلی(PIC) ۶۲
۴-۵- شاخص نشانگری(MI) ۶۳
۴-۶- ضریب همبستگی بین ماتریس های تشابه آغازگرها ۶۴
۴-۷- تجزیه مختصات اصلی ۶۶
۴-۸- جمع بندی ۶۹

۴-۹- پیشنهادات ۷۳
فهرست منابع ۷۵

فهرست جداول

عنوان **صفحه**

جدول ۳-۱- مشخصات ژنوتیپ های مورد بررسی ۲۶

جدول ۳-۲- مشخصات آغازگرهای استفاده شده در این مطالعه ۳۰

جدول ۳-۳- غلظت مواد استفاده شده در واکنش PCR ۳۳

جدول ۳-۴- برنامه واکنش زنجیره ای پلیمراز ۳۴

جدول ۴-۱- دمای مناسب اتصال آغازگرهای استفاده شده برای ژنوتیپ های مورد بررسی با نشانگر ISSR بر حسب درجه سانتی گراد ۴۲

جدول ۴-۲- خلاصه نتایج بدست آمده برای آغازگرهای استفاده شده در بررسی ژنوتیپ های خربزه و طالبی با استفاده از نشانگر ملکولی ISSR و آغازگرهای مورد مطالعه ۵۷

جدول ۴-۳- محاسبه مقادیر محتوای اطلاعات چند شکلی (PIC) و شاخص نشانگری (MI) برای هشت آغازگراستفاده شده در مطالعه ۵۴ خربزه و طالبی ۶۴

جدول ۴-۴- ضرایب همبستگی بین ماتریس های تشابه حاصل ازهشت آغازگر استفاده شده در ۵۴ ژنوتیپ خربزه- طالبی ۶۵

جدول ۴-۵- ضرایب همبستگی بین ماتریس های تشابه حاصل از هر آغازگر با ماتریس تشابه کل آغازگرها ۶۵

جدول ۴-۶- مقادیر ویژه و میزان توجیه تغییرات توسط هر مولفه در روش PCOA ۶۶

فهرست اشکال

عنوان **صفحه**

شکل ۴-۱- مقایسه نقوش الکتروفورزی DNA های تکثیر شده از ۵۴ ژنوتیپ خربزه و طالبی توسط آغازگر$_3$(GGGTG) (در ژل یک و نیم درصد با نشانگر ملکولی اندازه ۱۰۰ جفت باز، ساخت شرکت Fermentas) ۴۳

شکل۴-۲- دندروگرام حاصل ازکاربرد آغازگر $_3$(GGGTG) برای مطالعه ۵۴ ژنوتیپ خربزه و طالبی بر اساس ماتریس تشابه جاکارد ۴۴

شکل ۴-۳- مقایسه نقوش الکتروفورزی DNA های تکثیر شده از ۵۴ ژنوتیپ خربزه و طالبی توسط آغازگر$_8$YG(GA) (در ژل یک و نیم درصد با نشانگر ملکولی اندازه ۱۰۰ جفت باز، ساخت شرکت Fermentas) ۴۵

شکل۴-۴- دندروگرام حاصل ازکاربرد آغازگر $_8$YG(GA) برای مطالعه ۵۴ ژنوتیپ خربزه و طالبی بر اساس ماتریس تشابه جاکارد ۴۶

شکل ۴-۵- مقایسه نقوش الکتروفورزی DNA های تکثیر شده از ۵۴ ژنوتیپ خربزه و طالبی توسط آغازگر$_8$G(AC) (در ژل یک و نیم درصد با نشانگر ملکولی اندازه 1Kb، ساخت شرکت Fermentas) ۴۷

شکل۴-۶- دندروگرام حاصل ازکاربرد آغازگر $_8$G(AC) برای مطالعه ۵۴ ژنوتیپ خربزه و طالبی بر اساس ماتریس تشابه جاکارد ۴۸

شکل۴-۷- مقایسه نقوش الکتروفورزی DNA های تکثیر شده از ۵۴ ژنوتیپ خربزه و طالبی توسط آغازگر$_8$T(AC) (در ژل یک و نیم درصد با نشانگر ملکولی اندازه 1Kb، ساخت شرکتFermentas) ۴۹

شکل۴-۸- دندروگرام حاصل ازکاربرد آغازگر $_8$T(AC) برای مطالعه ۵۴ ژنوتیپ خربزه و طالبی بر اساس ماتریس تشابه جاکارد ۵۰

شکل۴-۹- مقایسه نقوش الکتروفورزی DNA های تکثیر شده از ۵۴ ژنوتیپ خربزه و طالبی توسط آغازگر$_8$C(TC) (در ژل یک و نیم درصد با نشانگر ملکولی اندازه 1Kb، ساخت شرکت Fermentas) ۵۱

شکل۴-۱۰- دندروگرام حاصل ازکاربرد آغازگر $_8$C(TC) برای مطالعه ۵۴ ژنوتیپ خربزه و طالبی بر اساس ماتریس تشابه جاکارد ۵۲

شکل ۴-۱۱ - مقایسه نقوش الکتروفورزی DNA های تکثیر شده از ۵۴ ژنوتیپ خربزه و طالبی توسط آغازگر$_6$(ATG) (در ژل یک و نیم درصد با نشانگرملکولی اندازه ۱۰۰جفت باز، ساخت شرکت Fermentas)
۵۳
شکل۴-۱۲- دندروگرام حاصل ازکاربرد آغازگر$_6$(ATG) برای مطالعه ۵۴ ژنوتیپ خربزه و طالبی بر اساس ماتریس تشابه جاکارد ۵۴
شکل ۴-۱۳ - مقایسه نقوش الکتروفورزی DNA های تکثیر شده از ۵۴ ژنوتیپ خربزه و طالبی توسط آغازگرYC$_8$(AC) (در ژل یک و نیم درصد با نشانگر ملکولی اندازه 1Kb، ساخت شرکت Fermentas)
۵۵
شکل۴-۱۴- دندروگرام حاصل ازکاربرد آغازگرYC$_8$(AC) برای مطالعه ۵۴ ژنوتیپ خربزه و طالبی بر اساس ماتریس تشابه جاکارد ۵۶
شکل۴-۱۵- دندروگرام ترسیم شده برای ۵۴ ژنوتیپ خربزه و طالبی حاصل از نشانگر ISSR با استفاده از ماتریس تشابه جاکارد ۶۰

فصل اول:

مقدمه و کلیات

فصل اول: مقدمه و کلیات

گونه *Cucumis melo* L. یکی از مهمترین گیاهان جالیزی است که با داشتن ارقام متنوع، کشت و پرورش آن در کشور ما از گذشته های دور تا کنون معمول بوده است. به دلیل اینکه در سالهای اخیر سطح زیر کشت و کار ارقام اصلاح شده غیر بومی در حال گسترش است، فرسایش ژنتیکی ارقام بومی زیاد شده است. این خطر می تواند میراث چندین هزار ساله را در مدت کوتاهی نابود کند. برای مثال بذرهای خربزه با نامهای محلی لطیفه گرگاب اصفهان، پوست پلنگی سرو فیروزان لنجان، پوست زرد آردیان خمینی شهر و پوست سبز آردیان خمینی شهر سالهاست که در منطقه اصفهان کشت نمی شوند، درحالیکه کشاورزان قدیمی از خصوصیات مطلوب آنها تعریف می کنند. در استان خراسان نیز توده های بومی با خرامان سرخس، حاج ماشاءاللهی، چاه فالیز گناباد سطح زیر کشت بسیار پائین دارند و در معرض فرسایش ژنتیکی قرار دارند (زامیاد، ۱۳۸۳). آندرس در خصوص اهمیت ذخایر بومی اظهار داشته است که اگرچه مواد غیر بومی پایه ژنتیکی وسیع تری دارند ولی اهمیت مواد بومی بیشتر است زیرا سازگاری بیشتری دارند و از آنها بهتر می توان در فرایند های اصلاحی استفاده نمود(Andres; 2000). مطالعه تنوع ژنتیکی نه تنها برای سازماندهی و حفاظت مواد گیاهی اهمیت دارد بلکه می توان از تنوع ژنتیکی ارقام متنوع برای پدیده هتروزیس استفاده نمود (Liliya; 2000). با توجه به کمیت و کیفیت و توسعه کشت ارقام اصلاح شده به نظر می رسد کشت ارقام بومی در حال انقراض می باشد. از آنجائیکه این توده ها به شدت در حال فرسایش هستند، عدم توجه به جمع آوری و ارزیابی آنها منجر به نابودی آنها و غیر ممکن شدن دستیابی به

اطلاعات، ویژگی ها و روابط دیرینه آنها خواهد شد. اهمیت حفاظت و نگهداری ارقام بومی اگر هم توسط کشاورزان درک شود، توان مالی آنها کفایت نمی کند که هر ساله بذور اجدادی خود را صرفا به منظور نگهداری بذر کشت و احیاء نمایند. این درک و توجه وظیفه مجامع دولتی از جمله موسسات تحقیقاتی و دانشگاه ها می باشد. کشورهای پیشرفته صنعتی در تلاش هستند به ذخایر توارثی بومی و محلی در تمام کره خاکی دسترسی داشته باشند تا از حداکثر تنوع موجود در جهت اصلاح آنها استفاده نمایند. همچنین آنها به اهمیت ارقام بومی که قرن ها در اقلیم های مختلف به وسیله بشر جابجا، انتخاب و سازگار شده اند وقوف یافته و اقدام به جمع آوری، بررسی و ارزیابی صفات و روابط آنها نمودند و این در حالی است که در کشورهایی نظیر ایران سرمایه گذاری جدی در این زمینه نشده است. ساختار ژنتیکی گیاهان در نتیجه تقابل ژنتیک و محیط در روند زمانهای طولانی شکل گرفته است و لذا الگوی با ارزشی از روابط صفات و محیط در اختیار ما قرار می دهند (Kato *et al.*, 2003). به همین دلیل است که بسیاری از محققان پس از بررسی و مقایسه صفات مرفولوژیک، فنولوژیک، فیزیولوژیک، ملکولی، مشخصات جغرافیائی و تعیین میزان تنوع ژنتیکی اقدام به شناسایی و دسته بندی آنها کرده اند(Garcia *et al.*, 1998).

نشانگرهای مرفولوژیکی توسط دامنه وسیعی از ژن های کنترل کننده صفات فنوتیپی کنترل می شوند، که اکثرا به صورت غالب به ارث می رسند، این نشانگرها پیامد جهش های قابل رویت در مرفولوژی موجود می باشند، ولی دارای محدودیت های اساسی هستند که موجب شده محققین به انواع دیگری از نشانگرهای ژنتیکی توجه نمایند. تحت تاثیر محیط قرار گرفتن و تعداد کم آن ها از جمله محدودیت های این نشانگرها می باشد. بررسی بسیاری از تفاوت ها به علت عدم تظاهر صفات مرفولوژیکی، بیوشیمیائی و فیزیولوژیکی تنها از طریق بررسی DNA قابل ثبت هستند. به همین دلیل طی چند دهه گذشته نشانگرهای ملکولی در سطح DNA توجه محققین را برای بررسی تنوع موجودات مختلف به خود جلب کرده است.

زامیاد (۱۳۸۳) تنوع ژنتیکی خربزه و طالبی شمال و مرکز کشور را با استفاده از نشانگرهای مرفولوژیکی و ملکولی RAPD مورد بررسی قرار داد، فیضیان نیز در همان سال تنوع ژنتیکی خربزه و طالبی استان خراسان را با استفاده از نشانگرهای مرفولوژیکی و ملکولی RAPD بررسی کرد (فیضیان، ۱۳۸۳). در مطالعه ای دیگر تنوع ژنتیکی برخی از خربزه و طالبی های ایرانی توسط نشانگرهای مرفولوژیکی و نشانگر ملکولی RAPD نیز توسط رزمی مطالعه شد (رزمی، ۱۳۸۴). با توجه به اینکه ذخایر ژنتیکی کشور بسیار با ارزش می باشد، بر اثر بی توجهی بسیاری از این ذخایر ارزشمند از دست محققین کشور خارج شده و در صورت ادامه این روند باید منتظر نابودی بسیاری از ژرم پلاسم های موجود نیز باشیم. با توجه به اهمیت موضوع در کشور ما و ذکر این نکته که ایران به دلیل وجود اقلیم های متفاوت به عنوان مرکز تنوع ژنتیکی بسیاری از گیاهان شناخته می شود باید سعی شود تا حد امکان از این سرمایه های ارزشمند محافظت گردد. از محصولات مهمی که در کشور ما دارای ذخایر ارزشمند در حال فرسایش ژنتیکی می باشند می توان به خانواده صیفی جات و سبزی جات اشاره داشت. بنابراین حفظ این منابع گرانبها وظیفه متخصصان و مسولان این بخش می باشد. در این تحقیق سعی شد تنوع ژنتیکی خربزه و طالبی های ایرانی (جمع آوری شده از ۱۱ استان کشور) با استفاده از نشانگرهای ملکولی ISSR بررسی گردد. این نشانگر برای اولین بار در بررسی تنوع ژنتیکی توده های بومی خربزه و طالبی ایرانی استفاده می شود.

۱-۱- معرفی خربزه وطالبی

خربزه و طالبی دو گروه مختلف از یک گونه هستند که با هم قابل تلاقی می باشند، چون در هیچ یک از مقالات علمی مورد بررسی، تفکیک آنها به دو گروه کاملا مجزا وجود نداشت و در این مطالعه نیز ژنوتیپ هایی از هر دو گروه و نیز دورگه هایی از آنها مورد بررسی قرار گرفت، بنابراین از اصطلاح خربزه و طالبی به جای این دو گروه استفاده شده است.

۱-۱-۱- تاریخچه

شواهد تاریخی و باستان شناسی نشان می دهد که از هزاران سال پیش میوه تیره کدوئیان مورد استفاده بشر قرار گرفته است. تاریخ اقوام مختلف نشان دهنده آن است که در مرحله ای از تحولات کشاورزی گونه های اهلی این تیره وارد غذای مردم آن قوم گشته است. با پیشرفت و توسعه سریع دانش بر استفاده های گوناگون از آنها افزوده شده است (پوستچی، ۱۳۵۰). در مورد منشاء خربزه و طالبی هنوز تردید وجود دارد و آن را به دو منطقه شمال آسیا و آفریقا نسبت می دهند. در حقیقت شمال آسیا تنوع بیشتری از خربزه و طالبی را داراست (IPGRI; 2003). قدمت کاشت خربزه و طالبی در آسیا به قدمت سایر سبزی هاست (Naudin., 1859). مصریان قدیم نوع کوچکتری از طالبی را کشت می کردند. رومی ها و یونانی ها با آن آشنایی داشتند اگر چه ممکن است با خیار مخلوط بوده و از هر دو به یک نحو صحبت می شده است. به طوری که در تاریخ ذکر شده است، از اواسط قرون وسطی به بعد رقم های شیرین طالبی دیده شده است. به نظر متخصصان طبقه بندی گیاهی، ناحیه اصلی و منبع اولیه خربزه و طالبی به شکل کنونی، کشور ایران، قفقاز و کشورهای همسایه ایران است. نخستین بار طالبی در قرن شانزدهم از ارمنستان به روم برده شد و در آنجا یکی از مهمترین و بزرگترین محصولات آن زمان گردید به طوری که مصرف بازارهای فرانسه را تأمین کرد (پوستچی، ۱۳۵۰). نظر هوکر این است که گونه و رقم های اهلی خربزه و طالبی از یک رقم وحشی به نام *C. trigonus* که در ایران نیز موجود است، بوجود آمده است. این گونه در ایران و هندوستان و

از هیمالیا تا نواحی شمالی استرالیا می روید. حال در چه مقطعی از تاریخ، خربزه و طالبی معمولی پدیدار گشته اند، معلوم نیست. خیار و طالبی هزاران سال پیش وارد آسیا شدند (به نقل از کوهپایگانی، ۱۳۸۳). ویتاکر و دیویس(۱۹۶۲) معتقدند که طالبی بعد از ورود به آسیا توسط بشر به نواحی مساعد برده شده و تغییرات متعددی در آن به وجود آمده و بدین ترتیب تعداد زیادی زیر گونه و رقم از این گیاه در مدت کمی پدیدار گشته است (Whitaker and Davis, 1962). در تاریخ ناحیه ای از شمال شرقی ایران تا ترکستان چین از نظر خربزه و طالبی مشهور بوده است. در زمان ساسانیان، خیار و خربزه وجود داشته است و شواهد تاریخی و باستان شناسی این حقیقت را تأیید می کند، مطالعات دیگر نشان می دهد که در زمان انوشیروان پادشاه ساسانی خربزه رواج داشته است و به عنوان میوه مصرف می گردیده است. قریب[1] معتقد است که خربزه یا خربوزه در زبان پهلوی به صورت خربوچ و خربچ و خربوزه آمده است (پوستچی، ۱۳۵۰).

۱-۱-۲- اهمیت خربزه و طالبی

کشت گیاهان جالیزی از جمله خربزه و طالبی از زمان های قدیم متداول بوده است و در فصل گرم هر سال مقادیر زیادی از آن کشت و مورد استفاده قرار می گرفته است. سالیانه هزاران نفر از کاشت، داشت و برداشت و سرانجام حمل و نقل و توزیع فرآورده های جالیزی در بازار و مراحل فروش آن به مصرف کنندگان، امرار معاش می نمایند. از جمله امتیازات کشت خربزه و طالبی 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 می شود (پوستچی، ۱۳۵۰). هر چند در ایران کشت و تولید خربزه در مناطق خشک و حاشیه کویری مثل ورامین، ایوانکی، گرمسار، اصفهان و خراسان نقش مهمی دارد و از تولید کمی و کیفی بهتری برخوردار است، ولی کشت آن به این مناطق محدود

---

[1]- دکتر بدرالزمان قریب استادیار زبان های باستان دانشگاه تهران