بررسی تنوع فنوتیپی و برخی پارامترهای ژنتیکی تعدادی از نمونه های هندوانه بذر آجیلی(Citrullus lanatus)

فرشته هنری*، نادعلی بابائیان جلودار، سعیدرضا وصال، نادعلی باقری
دانشجوی کارشناسی ارشد دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
استاد دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
استادیار پژوهشکده علوم گیاهی دانشگاه فردوسی مشهد
استادیار دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری

Email:f.honari68@yahoo.com

چکیده

هندوانه بذر آجیلی یکی از محصولات درآمدزای مختص مناطق دیم کاری استان های خراسان بشمار می رود اما تحقیقات انجام شده در مورد این محصول بسیار نادر می باشد. برای بررسی تنوع فنوتیپی این محصول، از پنج نمونه از هندوانه های بذر آجیلی بدست آمده از مطالعات قبلی ژرم پلاسم موجود در استان استفاده شد. برای این منظور، طی ۴۵ روز اول دوره رشدی، ۱۳ صفت مورد بررسی و اندازه گیری قرار گرفتند. از جمله این صفات می توان به طول بوته، تعداد برگ‌ها و تعداد ساقه‌های فرعی در زمان های مختلف، زمان ظهور پیچک، تعداد گره ساقه اصلی، تعداد گل‌های نر و ماده اشاره کرد. نتایج تجزیه واریانس برای ۷ صفت در سطوح احتمال ۱ یا ۵ درصد معنی دار شد که حاکی از وجود تنوع قابل ملاحظه بین این ژنوتیپ ها بود. نتایج محاسبه ضرایب تغییرات فنوتیپی و ژنوتیپی و همچنین وراثت پذیری عمومی برای این صفات نشان داد که نمونه ها از لحاظ تعداد ساقه های فرعی و به عبارتی میزان گسترش بوته بر روی زمین با یکدیگر بسیار متفاوتند زیرا تعداد ساقه های فرعی آنها چه در هفته‌ی پنجم و چه در ۴۵ روزگی در سطح ۱٪ معنی دار شده است. تعداد گل نر ساقه اصلی و طول برگ کوتیلدونی به ترتیب بیشترین (۱۳۲/۶۹) و کمترین (۴۸/۷۳۲) میزان ضریب تغییرات فنوتیپی را به خود اختصاص داده اند. میزان وراثت پذیری عمومی در صفت طول برگ کوتیلدونی (۰/۶۶۳) بیشترین میزان را به خود اختصاص داد. بطور کلی داده های حاصل از این آزمایش گویای وجود تنوع قابل ملاحظه در میان این نمونه ها بود که از لحاظ به نژادی این محصول در آینده می تواند بسیار مهم باشد.

کلمات کلیدی: تنوع فنوتیپی، وراثت پذیری، پارامترهای ژنتیکی، هندوانه آجیلی

مقدمه و هدف

بررسی صفات مورفولوژیکی در ژنوتیپ‌ها یا نمونه‌های مختلف جمع آوری شده یک گونه گیاهی برای بررسی میزان تنوع میان آن‌ها از اهمیت زیادی برخوردار است. زیرا بروز ژنوتیپ های متفاوت به مقدار زیادی سوای از تأثیر محیط در صفات ظاهری (فنوتیپ) گیاه قابل مشاهده خواهد بود. هندوانه با نام علمی *Citrullus lanatus* گیاهی متعلق به خانواده کدوییان (*Cucurbitaceae*)، دیپلوید و دارای۲۲ کروموزوم است که دارای مرکز تنوعی در قسمت جنوبی قاره آفریقا است (Mujuju et al., 2010) . هندوانه تنها گونه جنس *Citrullus* است که مورد کشت و کار قرار می‌گیرد و هم اکنون در

سراسر جهان پراکنده شده است. براساس آمارها میزان تولید هندوانه در سال ۲۰۱۱ در جهان ۱۰۲ میلیون تن بوده که بیش از نیمی از آن در آسیا تولیدشده است. کشور چین بزرگ ترین تولید کننده هندوانه در جهان است که سالانه حدود دو سوم هندوانه جهان و ۵۵٪ گونه‌های ملون را تولید می‌کند (مجله الکترونیکی یاکا). ایران نیز با بیش از ۱۰۰ هزار هکتار زمین زیر کشت هندوانه سالانه بیش از ۲ میلیون و ۳۰۰ هزار تن از این محصول را تولید می‌کند که این میزان تولید، ایران را در رتبه چهارم جهان در تولید هندوانه خوراکی قرار داده است. با این حال، آمار دقیقی از سطح زیرکشت و تولید هندوانه بذر آجیلی در کشور در دسترس نمی باشد. منظور از عملکرد در این نوع هنداونه مقدار بذر خشک استحصالی بجای وزن تر میوه هندوانه می‌باشد. گرچه ممکن است سایر قسمت‌های آن نیز برای خوراک دام کاربرد داشته باشد.

هدف از مطالعه حاضر تجزیه و تحلیل تنوع مورفولوژیکی و برخی پارامترهای ژنتیکی در میان تعدادی از نمونه های جمع آوری شده از نقاط مختلف استان های خراسان است تا از نتایج آن برای مطالعات اصلاحی بعدی استفاده شود.

تئوری و پیشینه تحقیق

در سال ۲۰۱۲ بررسی تنوع مورفولوژیکی میان ژنوتیپ های هندانونه خوراکی از نظر یازده صفت مانند زمان برداشت اولین میوه، تعداد ساقه های فرعی هر گیاه، عملکرد هر گیاه، طول ساقه اصلی، محل تشکیل اولین میوه و ... انجام گرفت. با توجه به اینکه میزان وراثت پذیری برای بیشتر این صفات بالا بود نقش سلکسیون برای اصلاح این صفات مهم تلقی شد (Choudhary et al., 2012). ۳۹ ژنوتیپ جمع آوری شده از مناطق مختلف مجارستان و بانک ژن به همراه ۱۱ژنوتیپ جمع آوری شده از مناطق خاصی در ترکیه از لحاظ صفات مورفولوژیکی مورد بررسی و مقایسه قرار گرفتند. نتایج حاصل از اندازه گیری صفات نشان داد بین منابع ژرم پلاسم مجارستان و ترکیه بر خلاف پیشینه تاریخی این دو کشور در حال حاضر طیف گسترده ای از تنوع برای صفات مورفولوژیکی وجود داشت گرچه این ژنوتیپ ها از لحاظ ژنتیکی تشابه زیادی با هم داشتند (Szamosi et al., 2009). به منظور بررسی تنوع ژنتیکی توده‌های بومی انواع خربزه (ملون‌ها) جمع آوری شده از استان‌های مرکزی و شمالی ایران، ۱۵ صفت کیفی و ۵ صفت کمی روی ۳۸ توده اندازه گیری شد و نتایج تجزیه خوشه ای براساس صفات مورفولوژی به روش UPGMA و ضریب جاکارد گروه‌های مختلف جنس *Cucumis* را از یکدیگر تفکیک نمود و توده انتخابی برای ارزیابی میزان تنوع با استفاده از نشانگر رپید مورد ارزیابی قرار گرفت (فیضیان و همکاران، ۱۳۸۶). در سال ۲۰۰۸ در انستیتوی ملی تحقیقات کشاورزی کره و یکی از دانشگاه های کشور ترکیه پژوهشی برای بررسی صفات مورفولوژیکی در ژنوتیپ های هندوانه کره و ترکیه انجام شد و نتایج حاصل تنوع بالا در صفات مورد بررسی را تایید نمود (Huh et al., 2008).

مواد و روش ها

از میان بذور تعداد کثیری از ژنوتیپ های هندوانه های بذر آجیلی که در مطالعات قبلی از مناطق مختلف در استان های خراسان جمع آوری شده و بررسی‌های مورفوفیزیولوژی روی آنها انجام شده بود تعداد ۵ ژنوتیپ که اختلافات نسبتاً بیشتری با بقیه داشتند برای بررسی های بعدی انتخاب شدند قابل ذکر است که این ژنوتیپ ها قبلاً به روش دستی خود گشن شده بودند. این نمونه های در مزرعه تحقیقاتی پژوهشکده علوم گیاهی دانشگاه فردوسی مشهد در زمینی که ترکیب خاکی آن کاملا یکنواخت شده بوده و برای به حداکثر رساندن یکنواختی خاک با عملیات خاکورزی به صورت یکنواخت آماده سازی و

کوددهی شده بود در قالب طرح بلوک کاملا تصادفی با سه تکرار (بلوک) و در هر تکرار سه بوته به همراه یک رقم هندوانه شیرین تجاری برای مقایسه کلی صفات بین نمونه های بذری و خوراکی کشت شدند و تعدادی از صفات مورفولوژیکی تا ۴۵ روز پس از کاشت یادداشت شد. برای کاشت بذور ابتدا آن‌ها را با آب مقطر شست و شو شده و درون ژرمیناتور به مدت چند روز قرار گرفت و پس از جوانه زنی در مزرعه کشت شدند. درصد جوانه دار شدن نیز در این زمان محاسبه شد. در طول دوره رشدی ۴۵ روز از زمان کاشت صفات زیر مورد بررسی و ارزیابی قرار گرفتند:

طول برگ‌های کوتیلدونی، تعداد برگ های هر بوته در زمان های مختلف پس از کاشت شامل: دوهفتگی، چهار هفتگی، طول بوته ها در زمان های مختلف پس از کاشت شامل: دوهفتگی، چهار هفتگی، تعداد ساقه های فرعی در هفته پنجم، ششم و ۴۵ روز پس از کاشت، تعداد گره ساقه اصلی در ۴۵ روزگی، محل تشکیل اولین گل نر روی ساقه اصلی، محل تشکیل اولین میوه روی ساقه اصلی یا ساقه های فرعی در ۴۵ روزگی، تعداد گل‌های نر و ماده به تفکیک روی ساقه اصلی و روی ساقه های فرعی ،زمان ظهور پیچک ها، شکل ظاهری برگ‌ها.

بنابراین در مجموع ۱۳ صفت مورد بررسی قرار گرفت. آزمایش در قالب طرح بلوک کامل تصادفی با سه تکرار (بلوک) و در هر بلوک با سه بوته انجام شد. پس از بررسی نرمال بودن داده ها، آنالیز واریانس با نرم افزار SAS ver 9.1 صورت گرفت و سپس مقایسات میانگین گروه‌ها با استفاده از روش دانکن مورد بررسی قرار گرفت. ضریب تغییرات فنوتیپی و ژنوتیپی نیز براساس معادله ۱ و ۲ محاسبه شد:

$$GCV = \frac{\sqrt{\sigma_g^2}}{\bar{x}} \times 100 \qquad (۱)$$

GCV ضریب تغییرات ژنوتیپی، σ_g^2 واریانس و $\bar{x}$ میانگین کل است.

$$PCV = \frac{\sqrt{\sigma_p^2}}{\bar{x}} \times 100 \qquad (۲)$$

PCV ضریب تغییرات فنوتیپی است.

وراثت پذیری عمومی نیز از فرمول زیر بدست آمد:

$$h_{bs}^2 = \frac{\sigma_g^2}{\sigma_g^2 + \sigma_e^2} \times 100 \qquad (۳)$$

h_{bs}^2 وراثت پذیری عمومی، σ_g^2 واریانس ژنوتیپی و σ_e^2 واریانس خطاست.

نتایج و بحث

در جدول۱ درصد نتایج جوانه زنی بذرها در فواصل زمانی مشخص آورده شده است. در میان ژنوتیپ ها C_{14} کمترین (۴۶٪) میزان جوانه زنی را به خود اختصاص داد.

جدول ۱- آزمون درصد جوانه زنی بذرها در فواصل زمانی مشخص.

زمان های شمارش بذرهای جوانه دار شده نام ژنوتیپ	پس از ۲۴ ساعت	پس از ۳۶ ساعت	پس از ۴۸ ساعت	پس از ۶۰ ساعت (قبل از کاشت)	جوانه زنی (٪)
C_1	۰	۶	۱۱	۱۵	۱۰۰
C_2	۷	۱۳	۱۴	۱۵	۱۰۰
C_5	۳	۸	۱۱	۱۳	۸۶
C_8	۱	۱۰	۱۰	۱۵	۱۰۰
C_{14}	۱	۲	۴	۷	۴۶
SW	۹	۱۳	۱۳	۱۵	۱۰۰

شمارش بذرهای جوانه دار شده ۲۴ ساعت پس از خیس کردن بذرها شروع شده است.

نتایج تجزیه واریانس صفات مورد بررسی نشان داد که در نمونه های انتخابی از مجموع ۱۴صفت اندازه گیری شده، هفت صفت شامل طول برگ کوتیلدونی، تعداد ساقه فرعی پس از ۲هفته، و تعداد ساقه فرعی پس از ۴۵ روز در سطح احتمال ۱٪ و صفات طول ساقه اصلی بوته در دو هفتگی، تعداد ساقه فرعی در شش هفتگی، تعداد گل‌های نر روی ساقه فرعی در ۴۵ روزگی و تعداد گل‌های نر روی ساقه اصلی در ۴۵ روزگی در سطح ۵٪ معنی دار شدند. با توجه به اینکه صفت طول ساقه اصلی بوته در هفته دوم کاشت در سطح ۵ درصد معنی دار شد اما در هفته چهارم معنی دار نشده است و از طرفی طول برگ‌های کوتیلدونی نیز بسیار معنی دار است می توان گفت ژنوتیپ ها به دلیل تنوع در اندازه برگ کوتیلدونی که نیازهای اولیه فتوسنتزی گیاه را قبل از ظهور برگ‌های حقیقی برطرف می‌کند، در هفته های اول رشد، سرعت رشد طولی ساقه اصلی متفاوتی داشته اند و همین موضوع ممکن است باعث معنی دار شدن صفت طول ساقه گیاهان در هفته دوم اندازه گیری شده باشد که البته تاحدی به عادت رشدی گیاه نیز مرتبط می باشد. از طرف دیگر، معنی دار نشدن این صفت در هفته چهارم را می‌توان به دلیل اندازه گیری صرفاً ساقه اصلی دانست بطوری که اگر طول کل ساقه ها در نظر گرفته شود نتایج می تواند معنی دار باشد. ژنوتیپ‌ها از لحاظ صفت تعداد شاخه های فرعی که نمایانگر میزان گسترش بوته گیاه و حجم آن است اختلاف بسیار معنی داری (۱٪) با یکدیگر داشتند که می‌توان از این صفت در جهت انتخاب ژنوتیپ‌های با حجم بوته کمتر که در عین حال باردهی بیشتری دارند استفاده کرد.

در این مطالعه تعداد گل‌های نر و ماده هم روی ساقه های فرعی و هم روی ساقه اصلی هر تکرار شمارش شده اند تا اولاًمحل استقرار حداکثری گل‌های نر و ماده روی ساقه اصلی و فرعی مشخص شود و ثانیاً تأثیری احتمالی توان زایشی گیاه در تعداد میوه مورد بررسی قرار گیرد. بطور کلی تعداد گلهای نر و ماده روی ساقه های فرعی ۱/۷ برابر بیشتر از ساقه اصلی بوده است. براساس نتایج تجزیه واریانس از لحاظ محل استقرار و میزان استقرار گل‌های ماده برروی ساقه ها تفاوت

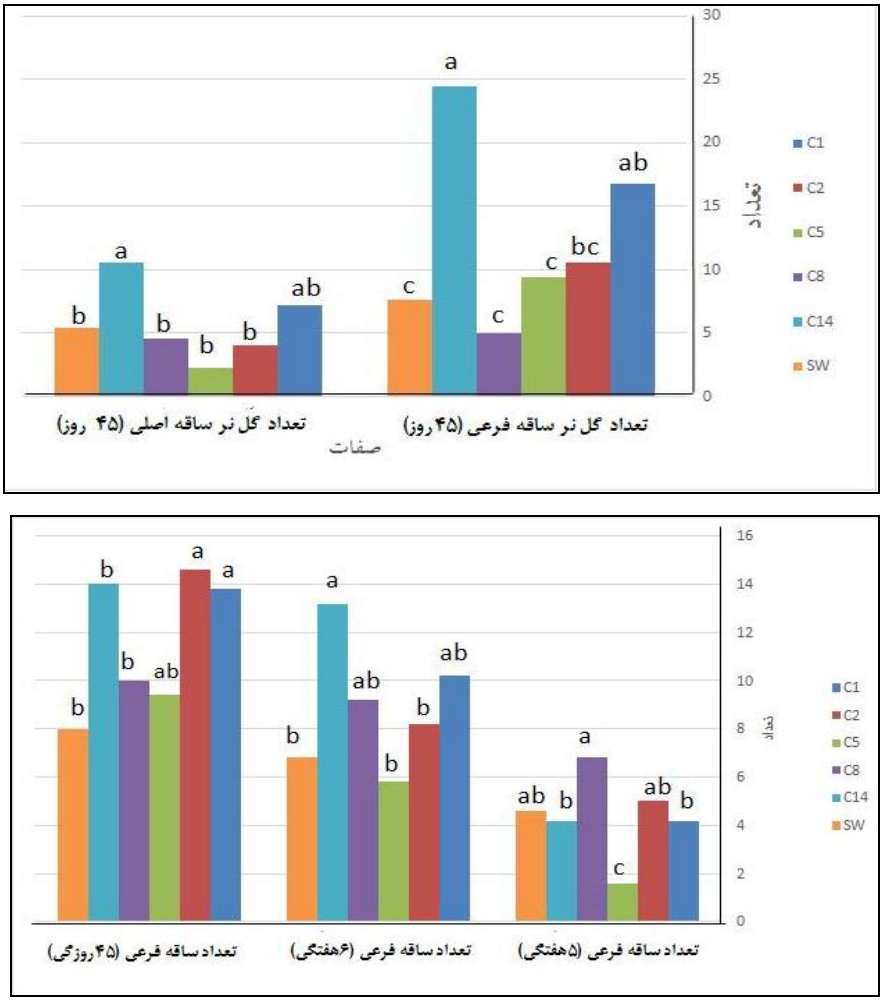
معنی داری بین ژنوتیپ‌ها وجود نداشت اما ژنوتیپ‌ها از نظر تعداد گل‌های نر ظاهرشده روی ساقه های اصلی و فرعی داری تنوع بوده که این امر در کارایی گرده افشانی می تواند مهم باشد.

پارامتر ضریب تغییرات خطا (نمایانگر میزان خطای اندازه گیری)، ضریب تغییرات فنوتیپی و ژنوتیپی که بیانگر میزان تنوع فنوتیپی و ژنوتیپی است و همچنین وراثت پذیری عمومی صفات برآورده شده است. تعداد گل نر شاخه اصلی (۱۳۲/۴۶۹) و طول برگ های کوتیلدونی (۴۸/۷۳۲) به ترتیب بیشترین و کمترین میزان ضریب تغییرات فنوتیپی را به خود اختصاص داده اند. بنابراین می توان گفت گلدهی به شدت تحت تأثیر عوامل محیطی قرار گرفته است. همچنین از نظر ضریب تغییرات ژنوتیپی نیز صفت تعداد گل نر روی شاخه فرعی (۱۲۰/۶۰۵) بیشترین و طول برگ‌های کوتیلدونی (۴۶/۶۳۶) کمترین را داشتند که بیانگر وجود تنوع کم فنوتیپی و ژنوتیپی در صفت طول برگ کوتیلدونی بین نمونه های مورد بررسی و به ترتیب وجود تنوع زیاد فنوتیپی در صفت تعداد گل نر روی شاخه اصلی و تنوع ژنتیکی زیاد در صفت تعداد گل نر روی شاخه ی فرعی است. میزان وراثت پذیری عمومی در صفت طول برگ کوتیلدونی (۰/۶۶۳) بیشترین میزان را به خود اختصاص داده است. باتوجه به این‌که اندازه برگ لپه ای در سرعت استقرار بوته‌ها در مراحل اول رشد دارای اهمیت است وراثت پذیری بالای این صفت در جهت داشتن گیاهان قوی در مزرعه کاربرد پذیر است.

همانطور که ناروئی راد و همکاران در سال ۱۳۸۹ بیان کردند، در این مطالعه نیز در همه صفات ضریب تنوع فنوتیپی بیشتر از ضریب تنوع ژنوتیپی بود که نشان دهنده تاثیر عوامل محیطی روی صفات اندازه گیری شده است.

مقایسه میانگین صفت تعداد ساقه های فرعی در سه زمان مختلف (۵ هفتگی،۶ هفتگی و ۴۵ روزگی) نشان داد نمونه ها را می توان در سه گروه دسته بندی کرد (شکل ۱). C_1 ابتدا در گروه دوم بوده و میانگین متوسطی را از لحاظ میزان گسترش بوته و تعداد ساقه های فرعی به خود اختصاص داده است ولی با گذشت زمان در روز ۴۵ ام از این لحاظ در سطح اول قرار گرفته و حجم بوته‌ی آن بالاترین میانگین را کسب کرد. برخلاف C_1، C_8 در ابتدا بالاترین میانگین را داشته است و در گروه اول قرار گرفته اما با گذشت زمان رشد آن کم و تا حدودی به ثبات رسید این داده ها می تواند برای تخصیص و تعیین فواصل کاشت مطلوب از اهمیت برخوردار باشد. بنابراین بصورت کلی می توان گفت از لحاظ حجم نهایی بوته و تعداد ساقه های فرعی این ۶ نمونه در سه گروه مشخص قرارمی گیرند به این ترتیب، C_1 و C_2 در گروه اول (بیشترین میانگین)، C_5 در بین دو گروه و C_8، C_{14} و SW در گروه دوم قرار دارند.

نتایج بررسی تعداد گل های نر روی ساقه های‌فرعی و ساقه اصلی نشان می‌دهد که در میان نمونه ها C_{14} بیشترین تعداد گل‌های نر را روی ساقه‌های فرعی و ساقه اصلی داشته است. از لحاظ تعداد گل های نر روی ساقه های‌فرعی، ژنوتیپ های C_5، C_8 وSW کمترین تعداد، ژنوتیپ C_1 در حدواسط گروه ۱ و۲ و C_2 بینابین گروه ۲ و ۳ قرار گرفت (شکل ۱).



شکل۱ مقایسه کمی صفات تعداد گل نر در شاخه اصلی و فرعی (۴۵ روز پس از کاشت) و تعداد ساقه های فرعی در فواصل زمانی مختلف از زمان کاشت (۵ و ۶ هفتگی و نیز ۴۵ روز اولیه از زمان کاشت). ستون های بدون حرف مشابه با یکدیگر در سطح احتمال ۱٪ یا ۵٪ اختلاف معنی دار دارند.

در نتیجه گیری نهایی می توان گفت میان ژنوتیپ های مورد بررسی تنوع بالایی در صفات مورد بررسی وجود دارد که با نتایج مطالعه هو و همکاران(۲۰۰۸) بر روی هندوانه های کره و ترکیه و ساموزی و همکاران (۲۰۰۹) برروی ژنوتیپ های مجارستانی و ترکیه نیز مطابقت دارد.

پیشنهادات

با توجه به اینکه بین این ژنوتیپ ها هم از لحاظ فنوتیپی و هم از لحاظ ژنتیکی تنوع وجود دارد برای اطمینان بیشتر می توان با استفاده از روش های مولکولی، میزان این تنوع را با دقت بالاتر و تا حدود زیادی فارغ از اثرات محیطی مورد بررسی قرار گیرد.

منابع

۱. نارویی راد، م.، اله دو، م.، قاسمی، احمد و فنایی، ح. (۱۳۸۸). بررسی تنوع ژنتیکی و توارث پذیری عمومی توده های محلی هندوانه سیستان. مجله علوم باغبانی ایران دوره۴۰، شماره۴: ۱۰۳-۹۵

2. Choudhary, B.K., Sudhakar, P. and Singh, P.K. (2012). Morphological diversity analysis among watermelon (Citrullus lanatus (Thunb) Mansf.) genotypes. Progressive Horticulture 44(2): 321-326.

3. Huh, Y.C., Solmaz. I, and Sari, N. (2008). Morphological characterization of Korean and Turkish Watermelon germplasm. Proceeding of IX th EUCARPIA meeting on genetics and breeding of Cucurbitaceae.(France), May 21-24.

4. Mujaju, C., Sehic, J., Werlemark, G., Garkava-Gustavsson, L., Fatih, M. and Nybom, H. (2010) Genetic diversity in watermelon (Citrullus lanatus) landraces from Zimbabwe revealed by RAPD and SSR markers. Hereditas, 147: 142–153.

5. Szamosi, C., Solmaz, L., Sari, N. and Borsony, C. (2009). Morphological characterization of Hungarian and Turkish watermelon (Citrullus lanatus (Thunb.) Matsum. et Nakai) genetic resources, Genetic Resources and Crop Evolution December, 56(8):1091-1105.

6. Word-production- (2014)- www.yaka.us/agriculture/crops/melon/key-facts/world-production.