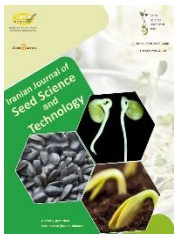
2025, 15 (2), 95-112 https://doi.org/10.22092/ijsst.2024.366980.1542

Seed Science Society of Iran

Seed and Plant Certification and Registration Institute

Iranian Journal of
Seed Science and Technology



ISSN: 2588-4638

Research Article

Identification of Top-notch Commercial Cultivars and Determination of Core Traits in *Cucurbita* spp. Associated with Distinctness Based on UPOV Guideline

Saeed Amini[1*], Shokoufeh Ghayoom-Asghari[2], Zahra Tahernezhad[3], Mohammad Reza Jazayeri Noushabadi[1], Zahra Karbalaiee-Harafte[2]

1. Research Assistant Professor, Seed and Plant Certification and Registration Institute (SPCRI), Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Karaj, Iran.
2. Expert, Seed and Plant Certification and Registration Research Institute (SPCRI), Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Karaj, Iran.
3. Researcher, Seed and Plant Certification and Registration Research Institute (SPCRI), Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Karaj, Iran.

Article Information

Received: 15 Sept. 2024
Revised: 02 Dec. 2024
Accepted: 07 Dec. 2024

Keywords:
Cucurbita spp.,
DUS test,
Core traits,
Spearman Rank Correlation,
PCA and M-TOPSIS anlysis.

Corresponding Author:
s.amini@areeo.ac.ir

Abstract

Variety identification is critical for commercialization**,** preserving varieties' intellectual property and stimulating breeding creativity. One of the main techniques employed for identifying cultivars in the field is morphological evaluation, which includes tests for distinctness, uniformity, and stability (DUS). This research was carried out in the 2022 and 2023 growing seasons. It evaluates the DUS morphological traits of sixteen C. spp. (ten *C. pepo* L. and six *C. moschata* L.) hybrid cultivars via visual and measurable traits investigation to safeguard their biological diversity. Out of these, twenty core traits, including eleven fruit-related characteristics, have been chosen based on PCA score results to streamline, and increment of field monitoring performance. As well as, these selected characteristics could be utilized to improve identification accuracy. The results show that the fruit's general shape is a vital indicator in cultivar differentiation, which explained 13.11% of the morphological variance The scatter plot outcomes of principal component analysis (PCA) based on morphological DUS traits, as a complamentary assessment, indicated two distinguished classifications: *C. pepo* L. and *C. moschata* L. clusters. The coefficient of variation (CV, %) among examined traits ranged from 5.34% to 81.31%, with an average of 27.14%. Based on the M-TOPSIS rank analysis approach, Selena and Walth Ambutternut were identified as the highest-score zucchini (vegetable marrow) and squash cultivars, respectively.

How to cite this paper: Amini, S., Ghayoom-Asghari, S., Tahernezhad, Z., Jazayeri Noushabadi, M.R., & Karbalaiee-Harafte, Z. (2026). Identification of top-notch commercial cultivars and determination of core traits in *Cucurbita* spp. associated with distinctness based on UPOV guideline. *Iranian Journal of Seed Science and Technology*, *15* (2), 95-112. https://doi.org/10.22092/ijsst.2024.366980.1542

© Authors, Published by Iranian Journal of Seed Science and Technology. This is an open-access article distributed under the CC BY (license https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/)

EXTENDED ABSTRACT

Introduction

Three cultivated pumpkin (*Cucurbita* spp.) species including *C. pepo* L., *C. moschata* L., and *C. maxima* L. are commercially valuable. Cultivated pumpkin varieties have larger, more vibrantly colored, with fewer fibrous flesh compared to wild species. Fresh fruits of utilized cultivars significantly varied in color, shape, and size. As an important vegetable, the total production of pumpkin worldwide is estimated to be 22.806 million metric tons from 1.522 million hectares. Pumpkin production in Iran was 189, 830 tons in 2022 (an average annual growth rate of 1.21-fold since 2000). Variety identification is critical for commercialization**,** preserving varieties' intellectual property and stimulating breeding creativity. One of the main techniques employed for identifying cultivars in the field is morphological evaluation, which includes the tests for distinctness, uniformity, and stability (DUS). As well as, the DUS examination, which assesses morphological characteristics during growth and development phases, is costly, tedious, laborious, and vulnerable to unusual external environmental variables

Materials and Methods

This research was carried out in the 2022 and 2023 growing seasons. Experiments were carried out in the research site of the Seed and Plant Certification and Registration Institute (SPCRI), Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO), Karaj, Iran in randomized block design with two replications in the spring and summer (May/July). This study provides a thorough evaluation of the DUS morphological traits of sixteen *Cucurbita* spp (ten *Cucurbita pepo* L. and six *Cucurbita moschata* L.) hybrid cultivars via visual and measurable traits investigation to safeguard their biological diversity. A total of sixty-seven characteristics through a modified UPOV (The International Union for the Protection of New Varieties of Plants) descriptive term list (TG/119/4 Corr.2-2016) of various organs such as seedling, plant, stem, leaf, petiole, fruit and seed characters, were investigated based on the quantization of physical and descriptors by ruler and vernier caliper, as well as, inspection of visual qualitative characters. DUS test was applied to screen, organize, and safeguard the commercial cultivars with distinct superior characteristics. The Spearman rank Correlation analysis was performed to determine the correlations between various DUS (all and core) characteristics. Principal component analysis (PCA) was conducted on 67 test characteristics to determine their primary characteristics. By plotting PC1 and PC2, based on total DUS, core and remained characteristics of all commercial cultivars could be clearly distinguished. A specific TOPSIS (Technique for Order Preference by Similarity to Ideal Solution) algorithm (known as M-TOPSIS) was designed to establish a comprehensive multi-criteria decision-making model. Using this model, the breeding potential of ten *Cucurbita pepo* L. and six *Cucurbita moschata* L. was ranked.

Results and Discussion

The outcomes showed significant differences in terms of means, ranges, and coefficients of variation for each characteristic. The correlation results showed that fruit characteristics were closely similar to the DUS fingerprint for recognizing *Cucurbita* spp cultivars. In addition, the two characteristics cross-section of cotyledons in seedling stage (P3) and length of peduncle (P52) showed no correlation with other traits, implying that they had little influence on the production and development of other characteristics. Out of 67 phenotypic traits, twenty core traits, including eleven fruit-related characteristics, have been chosen based on PCA score results to streamline, and increment of field-monitoring performance. As well as, these selected characteristics could be utilized for improving identification accuracy. The results show that the fruit's general shape is a vital indicator in cultivar differentiation, which explained 13.11% of the morphological variance. Remarkably, the scatter plot outcomes of principal component analysis (PCA) based on morphological DUS traits, core and remained DUS traits, as a complamentary assessment, indicated two distinguished classifications: *C. pepo* L. and *C. moschata* L. clusters. The findings revealed significant variations among the investigated traits with a high range of Shannon–Wiener (H′) and Gini-Simpson indices. The coefficient of variation (CV, %) among examined traits ranged from 5.34% to 81.31%, with an average of 27.14%. High genetic diversity was also observed among the hybrid cultivars. Based on the M-TOPSIS rank analysis approach, Selena and Walth Ambutternut (WB) were identified as the highest-score zucchini (vegetable marrow) and squash cultivars, respectively. The top ten *C. pepo* L. commercial cultivars were identified as Selena, Zigma, Yosra, Cherlout, Medal, Bodem, Navid, Nilz, Belami, and PS1306764, respectively. The top six *C. moschata* L. commercial cultivars were screened as Walth Ambutternut (WB), Aniso, Carmela, Arela, Gilda, and Rashel, respectively.

Conclusion

These findings developed the different evaluation and statistical methods of phenotypic traits that could potentially be beneficial in future valuable DUS investigations. Some top-notch germplasm sources were also screened for squah breeding. These findings provided important reference for *Cucurbita* spp. breeding in future.

دوره ۱۵، شماره ۲، صفحات ۱۱۲-۹۵ https://doi.org/10.22092/ijsst.2024.366980.1542

نشریه علوم و فناوری بذر ایران

ISSN: 2588-4638

مقاله پژوهشی

تعیین صفات اصلی و شناسایی ارقام برتر تجاری کدو (*Cucurbita* spp.) با استفاده از آزمون تمایز بر اساس دستورالعمل UPOV

سعید امینی[1*]، شکوفه قیوم اصغری[2]، زهرا طاهرنژاد[3]، محمدرضا جزائری نوش‌آبادی[1]، زهرا کربلایی‌هرفته[2]

۱. استادیار پژوهش، معاونت شناسایی و ثبت ارقام گیاهی، مؤسسه ثبت و گواهی بذر و نهال، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران.

۲- کارشناس، مؤسسه ثبت و گواهی بذر و نهال، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران.

۲- پژوهشگر، مؤسسه ثبت و گواهی بذر و نهال، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران.

چکیده

شناسایی ارقام برای تجاری‌سازی، حفظ مالکیت فکری و تحریک خلاقیت به‌نژادگران اهمیت دارد. ارزیابی ریخت‌شناختی یکی از تکنیک‌های اصلی برای شناسایی ارقام در مزرعه است که شامل آزمون‌های تمایز، یکنواختی و پایداری (تیپ، DUS) است. این پژوهش در فصل رشد سال‌های ۱۴۰۱ و ۱۴۰۲ انجام شد و صفات ریخت‌شناختی آزمون تیپ شانزده رقم هیبرید کدو (ده رقم *C. pepo* L. و شش رقم *C. moschata* L.) برای حفظ تنوع زیستی ارزیابی شد. از بین این صفات، بیست صفت اصلی، از جمله یازده صفت مرتبط با میوه، بر اساس نتایج امتیاز PCA برای تسهیل و افزایش کارایی ارزیابی مزرعه‌ای و بهبود دقت شناسایی ارقام انتخاب شد. بر اساس نتایج، شکل میوه (P30) شاخص مهمی در تمایز ارقام است که ۱۳/۱۱٪ از واریانس صفات را پوشش می‌دهد. نتایج نمودار تجزیه و تحلیل مؤلفه‌های اصلی (PCA) بر اساس صفات ریخت‌شناختی آزمون تیپ، به‌عنوان ارزیابی تکمیلی، ارقام مورد مطالعه را در دو گروه متمایز *C. pepo* L. و *C. moschata* L. قرار داد. ضریب تغییرات در بین صفات مورد بررسی از ۵/۳۴٪ تا ۸۱/۳۱٪ متغیر بود. به‌ترتیب در گونه‌های *C. pepo* L. و *C. moschata* L.، ارقام سلنا و والت‌آباترنات با کسب بالاترین امتیاز به‌عنوان برترین ارقام بر اساس تحلیل رتبه M-TOPSIS شناخته شدند.

اطلاعات مقاله

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۶/۲۵

تاریخ بازنگری: ۱۴۰۳/۰۹/۱۲

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۹/۱۷

واژه‌های کلیدی:

کدو،

آزمون تیپ،

صفات اصلی،

همبستگی رتبه اسپیرمن،

تجزیه و تحلیل PCA و M-TOPSIS.

نویسنده مسئول:

s.amini@areeo.ac.ir

نحوه استناد به این مقاله:

Amini, S., Ghayoom-Asghari, S., Tahernezhad, Z., Jazayeri Noushabadi, M.R., & Karbalaiee-Harafte, Z. (2026). Identification of top-notch commercial cultivars and determination of core traits in *Cucurbita* spp. associated with distinctness based on UPOV guideline. *Iranian Journal of Seed Science and Technology*, *15* (2), 95-112. https://doi.org/10.22092/ijsst.2024.366980.1542

مقدمه

به‌نژادی مدرن فرآیندی زمان‌بر و پرهزینه است که به تجهیزات بسیار تخصصی، منابع ژنتیکی و مهارت قابل توجهی نیاز دارد (Jamali et al., 2019). توسعه اقتصادی وابسته به تولید ارقام موفق گیاهی است که باعث افزایش عملکرد و درآمد کشاورزان می‌شود. رقم جدید، اغلب پس از معرفی، به‌راحتی توسط سایرین تکثیر می‌شود. ایجاد یک سامانه مناسب به‌منظورشناسایی ارقام گیاهی برای حفاظت از حقوق مالکیت فکری (IPRs[1]) و سرمایه‌گذاری به‌نژادگران ضروری است (Fister et al., 2017).

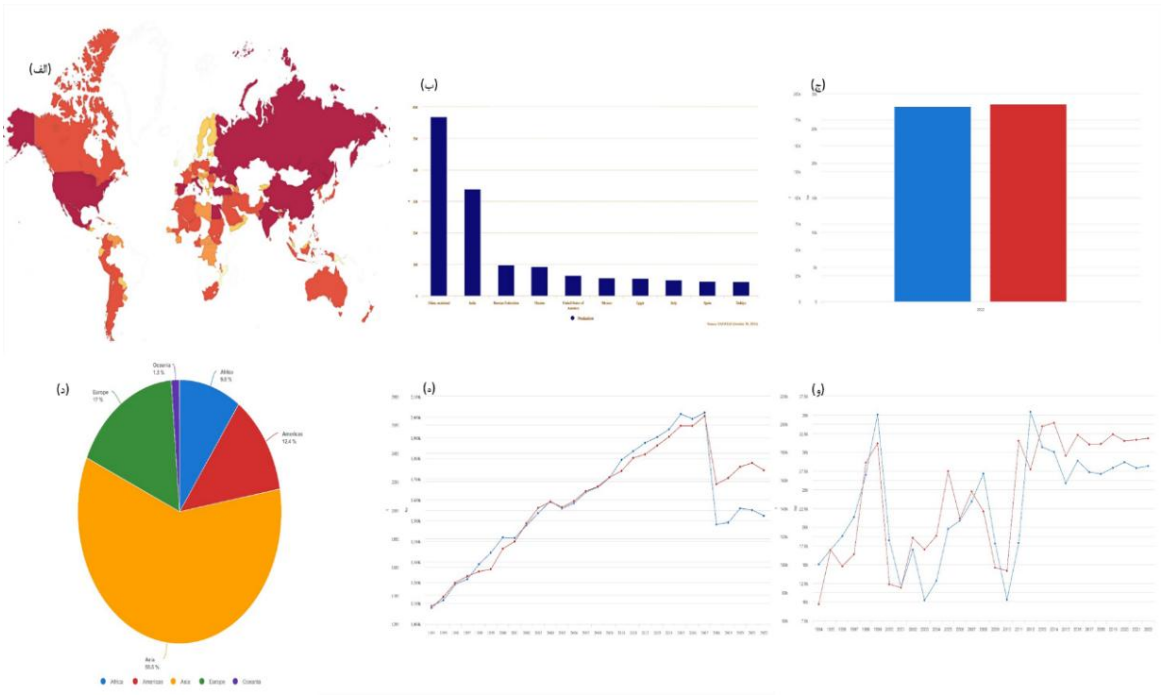
ارقام اصلاح شده یا تجاری وارد شده به کشور باید معیارهای فنی مبتنی بر اصول اسناد اتحادیه بین‌المللی حفاظت از ارقام جدید گیاهی (UPOV[2]) را رعایت کنند (Lombardo, 2014) تا به‌عنوان رقم جدید معرفی شوند. بر اساس این قوانین، ارقام باید متمایز (D) از همه ارقام موجود، در گیاهان مختلف از نظر ژنتیکی یکنواخت (U) و در دو نسل متوالی پایدار (S) باشند. واژه تیپ، معادل فارسی پیشنهاد شده برای اصطلاح DUS، است که از سر واژگان سه کلمه تمایز، یکنواختی و پایداری ساخته شده است (Mobasser, Not published). تکنیک‌های آزمون تمایز، یکنواختی و پایداری (تیپ، DUS) به‌طور گسترده برای شناسایی و تجاری‌سازی ارقام جدید استفاده می‌شوند (Gilliland et al., 2020; Tommasini et al., 2003).

کدو (*Cucurbita* spp.) (2n = 2x =40) به‌عنوان یکی از محصولات صیفی یکساله، متعلق به خانواده *Cucurbitaceae* است. در این خانواده تقریباً ۹۶۰ گونه از جمله خیار، خربزه و هندوانه قرار دارند. این محصول حاوی آنتی‌اکسیدان‌ها، ویتامین‌ها و ترکیبات مفید متابولیت ثانویه از جمله فلاونوئیدها و فنولیک‌ها است (Yadav et al., 2010). کدوهای دارای کشت تجاری به سه گونه *C. pepo* L.، *C. moschata Duch* و *C. maxima Duch.* طبقه‌بندی می‌شوند. ارقام کدو تجاری در مقایسه با گونه‌های وحشی[3]، اندازه بزرگ‌تر، رنگ درخشان‌تر و گوشت فیبری کمتری دارند (Whitaker & Bemis, 1964). میوه‌های تازه ارقام مورد استفاده به‌طور قابل توجهی از نظر رنگ، شکل و اندازه متفاوت هستند. کدوهای غیر گرد و خوراکی معمولا Squash نامیده می‌شود، در حالیکه ارقام غیر خوراکی که به‌عنوان Gourd شناخته می‌شوند، اغلب مصارف زینتی دارند. Paris (2001) ارقام *C. pepo* L. را بر اساس شکل میوه به ده گروه متمایز Pumpkin (round)، Cocozelle (long, bulbous cylindrical) Vegetable marrow (short, tapered cylindrical, cylindrical)، Zucchini (uniformly (turbinate, furrowed)، Scallop (flat, scalloped)، Crookneck (long, narrow neck)، Straight neck (short, thick neck) و Ovifera gourd (small, various shapes) تقسیم کرد.

برای کاشت این گیاه لازم است ۳۰ تا ۴۰ تن در هکتار کود دامی کاملا پوسیده را در فصل پاییز قبل از کاشت به خاک افزود. همچنین استفاده از ۱۵۰-۱۲۰ کیلوگرم اکسید فسفر، ۱۲۰-۱۰۰ کیلوگرم اکسید پتاس و ۸۰-۶۰ کیلوگرم نیتروژن در هکتار و در فصل پاییز نقش عمده‌ای در افزایش عملکرد دارد. در صورت کاهش نیتروژن خاک توصیه می‌شود در بهار ۵۰-۴۰ کیلوگرم در هکتار نیتروژن به خاک افزوده شود. به‌طور کلی این گیاه نیاز غذایی بالایی دارد، در حالی که نیاز آبی آن کم است (Moradi et al., 2018). بذرهای کدو پوشش ندارند و به سرعت توسط عوامل بیماری زای قارچی آلوده می‌شوند، بنابراین بذرها را باید با قارچکش‌های مناسب ضد عفونی کرد. قرار دادن بذرها به مدت ۲۴ ساعت در آب موجب تسهیل جوانه‌زنی می‌شود (Moradi et al., 2018). تراکم کشت بوته کدو می‌تواند از طریق رقابت بین بوته‌ها برای جذب آب و عناصر غذایی بر عملکرد میوه و بذر این گیاه تاثیر بگذارد. بذرها باید در ردیف‌هایی به فاصله ی ۱۲۰ تا ۱۵۰ سانتی‌متر کشت شوند و فاصله دو بوته بر روی ردیف ۴۰ تا ۵۰ سانتی‌متر مناسب است. همچنین تراکم مناسب کشت، ۱۸ تا ۲۰ هزار بوته در هکتار و میزان بذر مورد نیاز برای هر هکتار زمین شش تا نه کیلوگرم است. تا حد امکان نباید تا شعاع ۸۰۰ متری کشت این گیاه هیچ گونه گیاهی از این خانواده و همچنین آفتابگردان کشت شود (Moradi et al., 2018).

1- Intellectual Property Rights
2- International Union for the Protection of New Varieties of Plants
3- Wild-Type

از سال ۲۰۱۸ تا ۲۰۲۲، میزان تولید کدو با نرخ رشد متوسط سالیانه ۴/۵٪ افزایش یافت (شکل ۱-ه). میزان تولید کل کدو از سال ۱۹۹۴ تا ۲۰۲۲ به‌عنوان یک محصول صیفی مهم در سراسر جهان، ۲۲.۸۰۶ میلیون تن و سطح زیر کشت این محصول ۱.۵۲۲ میلیون هکتار برآورد می شود که تولید ۱۲.۳۳۴ میلیون تن این میوه در آسیا (۵۹/۵٪ تولید جهانی) انجام می‌شود (شکل ۱ الف-و)، (FAOSTAT, 2022). میزان تولید میوه کدو در ایران در سال ۲۰۲۲، ۱۸۹ هزار و ۸۳۰ تن بوده است (متوسط نرخ رشد سالیانه ۱/۲۱ برابر از سال ۲۰۰۰) (شکل ۱ ج، و). با توجه به ارزش غذایی کدو و اهمیت تجاری آن، تولیدکنندگان پروژه‌های بسیاری را برای به‌نژادی ارقام جدید این گیاه از طریق برنامه‌های به‌نژادی دولتی و خصوصی انجام می‌دهند. حفاظت از ارقام گیاهی برای توسعه تلاش‌های تهیه ارقام جدید کدو ضروری است.



شکل ۱- نقشه جغرافیایی حرارتی تولید کدو بر اساس کشور (۲۰۲۲-۱۹۹۴) (الف)، میانگین تولید کدو ده کشور برتر جهان (۱۹۹۴-۲۰۲۲): چین، هند، روسیه، اوکراین، آمریکا، مکزیک، مصر، ایتالیا، اسپانیا، ترکیه (ب)، تولید (قرمز) و سطح زیر کشت (آبی) کدو در ایران در سال ۲۰۲۲ (ج)، پراکنش تولید کدو در قاره‌های جهان (۲۰۲۲-۱۹۹۴)، آسیا (۵۹/۵٪)، اروپا (۲۱/۲٪)، آمریکا (۱۵/۴٪)، آفریقا (۱۱/۹٪) و اقیانوسیه (۱٪) (د). روند تولید (قرمز) و سطح زیر کشت (آبی) کدو در جهان و ایران (میانگین ۲۰۲۲-۱۹۹۴) (ه، و)

Figure 1- Geographical heat map of production quantities of Pumpkins, squash and gourds by country (1994-2022) (A). Production of Pumpkins, squash and gourds: top 10 producers Average (1994 – 2022): China (mainland), India, Russia, Ukraine, United States of America, Mexico, Egypt, Italy, Spain, and Türkiye (B). Production and area harvested of Pumpkins, squash and gourds in Iran (Islamic Republic of), (2022) (C). Production share of Pumpkins, squash and gourds by continent (1994-2022), Asia (59/5%), Europe (21/2%), Americas (15/4%), Africa (11/9%), Oceania (1%) (D). Production/Yield quantities (red) and area harvested (blue) of Pumpkins, squash and gourds in World and Iran (Islamic Republic of), (Total (1994 – 2022), (E, F)

دولت جمهوری اسلامی ایران به‌عنوان عضو ناظر کنوانسیون UPOV، از سال ۱۳۸۲ با تأسیس مؤسسه تحقیقات ثبت و گواهی بذر و نهال (SPCRI[1]) با آدرس تارنمای (https://www.spcri.ir) فرایند حمایت از ارقام جدید گیاهی را برای تعداد قابل توجهی از گونه‌های گیاهی آغاز کرده است. این موسسه از دستورالعمل‌های استاندارد آزمون تیپ برای بررسی ارقام گیاهی جدید استفاده

1- Seed and Plant certification and Registration Institute

می‌کند. هر رقمی که استانداردهای تعیین شده را برآورده کند می‌تواند به‌عنوان یک رقم جدید و متمایز شناخته شود. در این راستا این موسسه طی پنج سال گذشته بذر بیش از ۱۵۰۰ رقم دورگ جدید سبزی و صیفی با منابع ژنی محدود و روابط ژنتیکی نزدیک (Kong et al., 2014) را دریافت کرده که انجام ارزیابی‌های ریخت‌شناسی آزمون تیپ را به‌دلیل تشابه و نزدیکی بین صفات ریخت‌شناسی ارقام، برای کارشناسان ارزیاب آزمون DUS دشوار می‌کند. با توجه به تفاوت‌های باریک صفات ریخت‌شناسی ارقام دورگ سبزی و صیفی در دست تجاری‌سازی و همچنین برای تشویق نوآوری و حمایت از حقوق مالکیت معنوی، باید فرایندها و سامانه‌های ثبت ارقام جدید گیاهی بهبود یابد تا کارایی شناسایی، ثبت و تجاری‌سازی ارقام گیاهی بهبود یافته و همچنین بهره‌برداری ارقام از سوی سایر تولیدکنندگان و همچنین تجار این بازار محدود شود. همچنین آزمون تیپ شامل ارزیابی فنوتیپی در دو فصل رشد است که فرایندی بسیار خسته‌کننده و پر زحمت است (Nguyen et al., 2020). بنابراین، آزمون‌های آماری از جمله تجزیه و تحلیل PCA[1]، ضریب همبستگی و رتبه‌بندی ارقام بر اساس تحلیل M-TOPSIS[2] صفات اندازه‌گیری شده، رویکردهای مؤثری برای تسهیل این آزمون و تشخیص تغییرات محدود ژنتیکی و ثبت و تجاری‌سازی ارقام است. بنظر می‌رسد تجزیه و تحلیل‌های آماری یافته‌های فنوتیپی آزمون تیپ، رویکرد تکمیلی جذابی برای تجزیه و تحلیل نتایج این آزمون‌ها است.

این پژوهش با هدف ارزیابی تنوع فنوتیپی اندام‌های مختلف کدو (برگ، گل، میوه و بذر) بر اساس دستورالعمل آزمون تیپ و همچنین رتبه‌بندی ارقام و انتخاب مجموعه‌ای از صفات اصلی که کارایی تمایز را افزایش می‌دهد و پیشنهاد ارقام کدو دارای صفات مطلوب به‌منظور تنظیم برنامه طرح‌های به‌نژادی این محصول انجام شد. یافته‌های شاخص‌های تنوع، همبستگی، نمودار جعبه‌ای و تحلیل مولفه‌های اصلی برای تفکیک، سازمان‌دهی و حفاظت از ارقام با صفات برتر متمایز استفاده شد.

مواد و روش‌ها

مواد آزمایشی

بذرهای ارقام هیبرید کدو (ده رقم .C. pepo L و شش رقم .*C. moschata* L) از شرکت‌ها و موسسات تجاری مختلف در سراسر جهان از طریق شرکت‌های واردکننده بذر برای انجام آزمون تیپ دریافت شد. نام ارقام تجاری، شرکت‌ها و کشورهای تولید کننده هر رقم و شرکت‌های وارد کننده در داخل کشور در جدول ضمیمه ۱ آورده شده است. فراوانی پراکندگی جغرافیایی کشورهای تولید کننده ارقام این پژوهش در شکل ۲ نمایش داده شده است.

این بذرها برای اطمینان از جوانه‌زنی و استقرار یکنواخت گیاهچه در سینی‌های پلاستیکی در محیط متشکل از کوکوپیت در گلخانه کشت شد. سپس گیاهچه‌ها به مزرعه آزمایشی موسسه تحقیقات ثبت و گواهی بذر و نهال (50° 97′ 80″ N, 35° 35′ 20″ E) با ۱۳۵۰ متر ارتفاع از سطح دریا منتقل شد. آزمایش‌های مزرعه‌ای در قالب طرح بلوک های کامل تصادفی (RCBD[3]) با دو تکرار در بهار و تابستان (اردیبهشت تا مرداد) سال‌های ۱۴۰۱ و ۱۴۰۲ اجرا شد. عملیات تهیه زمین جهت کاشت شامل شخم، دیسک، تسطیح و ایجاد ردیف‌های کاشت بود. هر رقم در کرتی به ابعاد ده متر در سه متر به فواصل خطوط سه متر و فاصله روی خطوط ۷۵ سانتی‌متر کشت شد.

خاک مزرعه موسسه تحقیقات ثبت و گواهی بذر و نهال بافت لومی دارد. ترکیب شیمیایی خاک این موسسه شامل pH ۷/۸۸ (H_2O)، مواد آلی: ۱/۰۵٪ ، نیتروژن: ۱۱٪، فسفر: ۱۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم، پتاسیم: ۲۸۳/۲ میلی‌گرم در کیلوگرم است. شکل ۳ و جدول ضمیمه ۲ داده‌های بارش سالیانه و میانگین دما را بر اساس داده‌های پایگاه اطلاعاتی سازمان هواشناسی کشور به آدرس تارنمای https://www.irimo.ir/far/index.php در سال‌های ۱۴۰۱ و ۱۴۰۲ ارائه می‌دهد.

آزمون تیپ ارقام کدو

بر اساس دستورالعمل آزمون تیپ، در مجموع ۶۷ صفت

1- Principal Component Analysis
2- Modified-Technique for Order of Preference by Similarity to Ideal Solution
3- Randomized Complete Block Design

مورفولوژیک مطابق با دستورالعمل بین‌المللی آزمون‌های تمایز، یکنواختی و پایداری در کدو (TG/119/4 Corr. 2; 2016)، بر روی بیست بوته یا قسمت‌هایی از بیست بوته برای شناسایی تفاوت‌های ریخت‌شناختی در ۱۶ رقم کدو مشاهده و یا اندازه‌گیری شد. فهرست این صفات در جدول ضمیمه ۳ آورده شده است. چگونگی اندازه‌گیری و یا مشاهده صفات به دو شیوه اندازه‌گیری دقیق و واقعی و همچنین ارزیابی مشاهده‌ای یک گروه از بوته‌ها یا قسمت‌هایی از آنهاست. از روش‌های مشاهده جمعیت (VG[1])، اندازه‌گیری جمعیت (MG[2]) و اندازه‌گیری تک تک (MS[3]) برای ثبت اطلاعات صفات استفاده شد. صفات مشاهده شده از طریق روش‌های VG و MG برای هر کرت به‌عنوان واحد مشاهده ثبت شد و هر رقم برای ایجاد یک کد (صفت VG) یا یک مقدار (صفت MG) بررسی شد. یافته‌های مشاهده‌ای سال دوم (دو چرخه رشد مستقل) بر اساس مشاهده‌های سال اول بود و از نتایج سال دوم برای تجزیه و تحلیل داده‌ها استفاده شد. صفات مشاهده شده با روش MS در واحد تک گیاه ارزیابی شد. بیست بوته از هر رقم به‌طور تصادفی ارزیابی شد. در روش MS نتایج هر سال برای تعیین کد هر صفت ارزیابی شد و مقدار میانگین کد در طول دو سال برای تجزیه و تحلیل استفاده شد. برای درجه‌بندی صفات قابل اندازه گیری از جمله اندازه پهنک برگ، نسبت طول به حداکثر قطر میوه نارس، طول میوه رسیده، حداکثر قطر میوه رسیده، نسبت طول به حداکثر قطر میوه رسیده، طول پدانکل میوه، اندازه بذر، طول گردن میوه و همچنین قطر گردن در مقایسه با حداکثر قطر میوه در ارقام تایپ گردن‌دار[4]، روش MG همراه با شاخص‌های آماری بکار رفت. این صفات کمی با استفاده از تجهیزات مقیاس‌دار (خط‌کش و کولیس‌ورنیه دیجیتال با دقت ۰/۰۱ میلی‌متر) ارزیابی شد. شاخص یکنواختی جمعیت در این گیاه وجود تنها یک گیاه خارج از تیپ[5] در میان بیست گیاه است. اگر جمعیت یکنواخت باشد، پایدار نیز در نظر گرفته می‌شود (Xu et al., 2023). از پهنک برگ کاملا بالغ بین گره‌های پانزدهم و بیستم برای ثبت مشاهدات استفاده شد. مشاهدات میوه بین گره‌های دهم و بیستم گیاه، پس از گرده افشانی انجام شد. رنگ پوست و گوشت میوه با استفاده از نمودار رنگی RHS[6] ارزیابی شد.

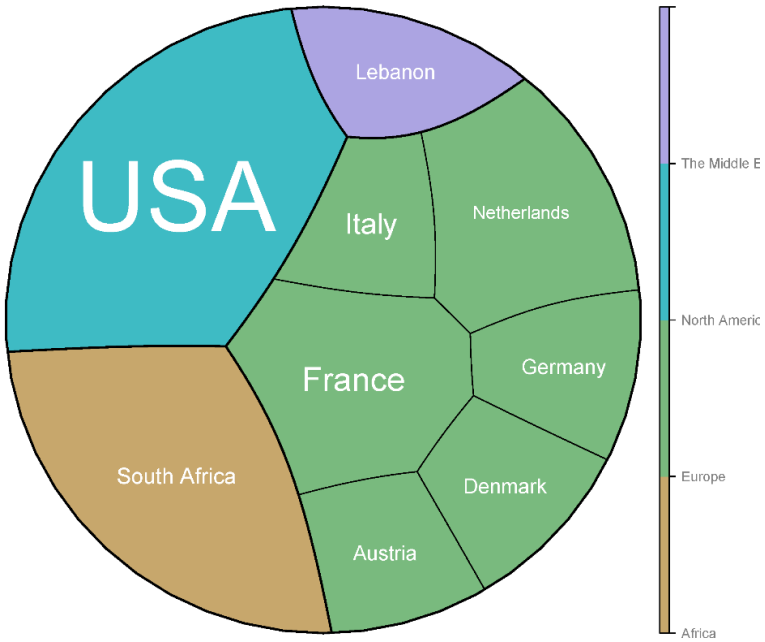
تجزیه‌های آماری

برای صفات کمی و شبه کیفی، صفات به کدهای ۹-۱ تبدیل شده و بر اساس شاخص‌های آماری به ۹ امتیاز، ۱ < X-2s تا ۹ > X+2s تقسیم شده است. هر فاصله امتیاز، ۰/۵ انحراف معیار (S.D.[7]) بین یک تا نه امتیاز است. X و s به‌ترتیب نشان‌دهنده میانگین و انحراف معیار هستند. برای مطالعه صفات کیفی بازرسی مزرعه‌ای[8] انجام شد. تنوع ۶۷ صفت آزمون تیپ در ۱۶ رقم کدو با استفاده از نمودارهای جعبه‌ای توسط بسته Vioplot در نرم افزار R (نسخه ۳.۶.۰) نمایش داده شده است.

شاخص‌های آماری با محاسبه حداقل (Min)، حداکثر (Max)، میانگین، میانه، انحراف معیار، ضریب تغییرات (CV[9]، ٪) و درصد حالت بیان هر صفت آزمون تیپ پس از محاسبه میانگین ارزش داده‌های دو ساله تجزیه و تحلیل شد. ضرایب همبستگی رتبه اسپیرمن برای هر جفت صفت با استفاده از PROC CORR در نرم‌افزار SAS 9.4 محاسبه شد. نرم‌افزار MATLAB, R2023 (Matrix laboratory, MathWorks Inc., Natick, Massachusetts, USA) برای انجام و تجزیه و تحلیل‌های M-TOPSIS و مؤلفه اصلی (PCA) بر روی صفات DUS برای رتبه‌بندی ارقام و تعیین سهم هر صفت در واریانس ارقام استفاده شد. صفات اصلی آزمون تیپ با توجه به نتایج امتیاز PCA[10]

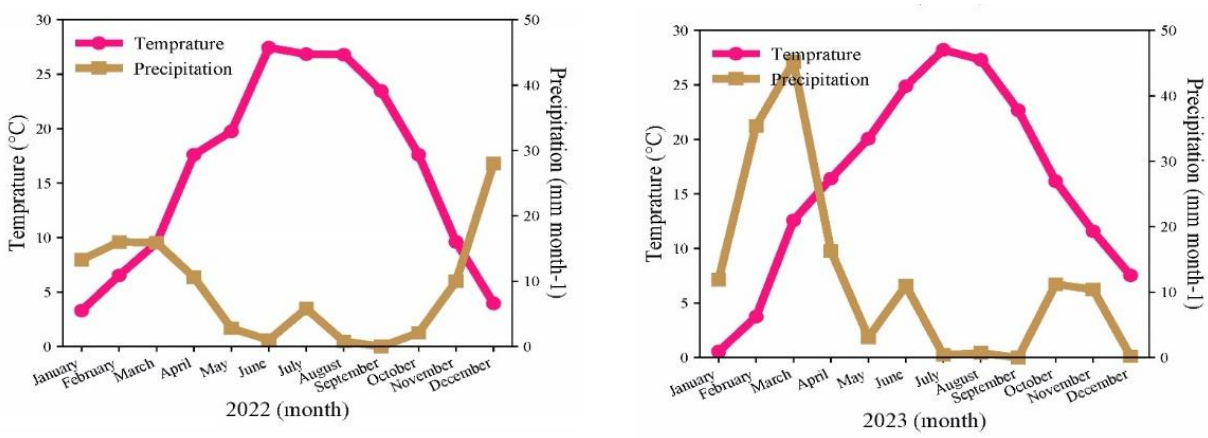
1- Population Observation
2- Population Measurement
3- Individual Measurement
4- Neck-Type
5- Off-type
6- Royal Horticultural Society Color Chart
7- Standard deviation
8- Field inspection
9- Coefficient of variation
10- PCA Score

انتخاب شد. تنوع ریخت‌شناسی با استفاده از فراوانی پراکندگی صفت، شاخص‌های تنوع شانون (H') و جینی‌سیمپسون (D) ارزیابی شد (Hong et al., 2021; Mallikarjuna et al., 2024). شاخص تنوع شانون (H') برای هر صفت با استفاده از رابطه $H'=-\ln^{\times}P_i$ محاسبه شد (Lei et al., 2018). این فرمول P_i را به‌عنوان نسبت تعداد رقم در امتیاز i ام یک صفت به تعداد کلی صفات تعریف می‌کند. CV با استفاده از فرمول CV= s/x محاسبه شده است که s بیانگر انحراف معیار و x بیانگر میانگین است (Divakara, 2011). OriginPro 9.1 (Origin Lab, Northampton, Massachusetts, USA) برای تجزیه و تحلیل همبستگی دو متغیره صفات اصلی استفاده شد.



شکل ۲- توزیع جغرافیایی منشا ارقام کدو بررسی شده در این پژوهش

Figure 2- Distribution of the origin of *Cucurbita* Spp. cultivars studied in this current investigation in different countries



شکل ۳- میانگین دما و بارندگی ماهیانه در سال های ۱۴۰۱ و ۱۴۰۲

Figure 3- Average monthly temperature and rainfall for years 2022 and 2023

نتایج و بحث

تجزیه و تحلیل صفات آزمون DUS در ارقام کدو

بررسی صفات ریخت‌شناسی نخستین گام در شناخت و ارزیابی منابع ژنتیکی است (Mallikarjuna et al., 2024). بر اساس دستورالعمل UPOV (TG/119/4 Corr. 2; 2016)، شناسنامه[1] DUS در ۱۶ رقم برای ۶۷ صفت ریخت‌شناسی در اندام‌های گیاهچه، گیاه، ساقه، برگ، دمبرگ، میوه و دانه دو گونه کدو *C. pepo* L. و *C. moschata* L. تهیه شده است (جدول ضمیمه ۴). بر اساس داده‌های این پژوهش، فراوانی توزیع ارقام در امتیازهای مختلف هر صفت در جدول‌های ضمیمه ۴ و ۵ نشان داده شده است. به‌طور خاص، بیش از ۵۷٪ از تمام صفات آزمون DUS مربوط به صفات میوه هستند که اهمیت و عملکرد حیاتی صفات میوه را در شناسایی و طبقه‌بندی ارقام کدو نشان می‌دهد (جدول ضمیمه ۵). هدف اصلی کشت کدو نیز تولید میوه است.

تفاوت مشخصی در صفات رنگ ساقه (P8)، شدت رنگ زرد پوست در میوه (P28)، وجود نوارها[2] در شیارهای میوه (P45)، وجود لکه[3] میوه (P47)، رنگ سبز ثانویه مابین برجستگی‌های[4] میوه (P49)، وجود خار روی پوست میوه (P50)، رنگ دم میوه (P53)، رنگ سبز میوه (P59)، چوبی شدن میوه (P61)، ساختار گوشت میوه (P62)، وجود و وضعیت پوسته بذر (P65 و P66) در ارقام مورد بررسی وجود نداشت. مشخصات ریخت‌شناسی مشاهده شده در صفات آزمون تیپ در میان ۱۶ رقم کدو در جدول ضمیمه ۴ فهرست شده است.

در طی دو سال بررسی، تفاوت‌های ریخت‌شناسی قابل‌توجهی بین ارقام کدو مشاهده شد که بیانگر تنوع ریخت‌شناسی در بین این ارقام است، این تفاوت‌ها با تجزیه و تحلیل نمودار جعبه‌ای صفات آزمون تیپ مورد بررسی نمایش داده شده است (شکل ۴). وجود طیف وسیعی از تنوع صفات در شناسایی، توصیف و طبقه‌بندی ارقام مورد بررسی، حذف ارقام تکراری در مجموعه‌ها[5] و موفقیت بیشتر در برنامه‌های به‌نژادی موثر است. محققان تنوع ریخت‌شناسی موجود در ارقام مختلف گونه‌های کدو را بررسی کرده‌اند (Alhariri et al., 2021; Balkaya et al., 2010; Mahapatra et al., 2022; Mallikarjuna et al., 2024; Öztürk et al., 2022; Wimalasiri et al., 2015; Yunli et al., 2020).

بیشترین میزان ضریب تغییرات، ۸۹/۵۳٪ (صفت حالت دمبرگ ارقام ایستاده[6] (P7)) و پس از آن ۸۵/۶٪ (شکل میوه کدو سبز[7] (P26)) و کمترین ضریب تغییرات (۰٪) در صفات رنگ ساقه (P8)، شدت رنگ زرد پوست در میوه نارس (P28)، اوجود نوار در شیار میوه (P45)، وجود لکه در میوه (P47)، رنگ سبز ثانویه ما بین برجستگی‌های میوه (P49)، وجودخار بر روی پوست میوه (P50)، رنگ دم میوه (P53)، رنگ سبز میوه (P59)، چوبی شدن حلقه و ساختار گوشت میوه (P61، P62)، شکل و پوسته بذر (P64، P65) بدست آمد که بیانگر تنوع گسترده در صفات بررسی شده است (جدول ضمیمه ۶)، (Szamosi et al., 2010).

شاخص‌های تنوع شانون (H') و جینی‌سیمپسون (D) نیز به‌ترتیب از ۰ تا ۲/۹ و ۰ تا ۰/۹۸۶ متغیر بود که بیانگر درجه تنوع بالایی در صفات این ارقام است (جدول ضمیمه ۶). بالا بودن تنوع این شاخص‌ها (H', D) بیانگر تنوع ژنتیکی بیشتر در صفات حلقه داخلی جام گل نر (P22) و وضعیت فنری[8] ساقه (P11) است.

کاربست صفات اصلی در افزایش کارایی شناسایی ارقام

آزمون تیپ که صفات ریخت‌شناسی را در طی مراحل رشد و نمو ارزیابی می‌کند، پرهزینه، خسته‌کننده و پرزحمت است (Kwon et al., 2005; Pourabed et al., 2015). تعیین صفات اصلی آزمون تیپ روشی کلیدی برای تسهیل فرایند شناسایی رقم است زیرا کارایی شناسایی و تمایز مابین ارقام مشابه را بهبود می‌دهد (Zhang et al., 2022, 2023). برای افزایش دقت تشخیص رقم از طریق ارزیابی آزمون مزرعه‌ای تیپ، بیست صفت

1- Descriptor
2- Stripes
3- Mottling
4- Ribs
5- Collection
6- Bush-Type
7- Zucchini-Type
8- Tendrils

اصلی بر اساس نتایج تجزیه و تحلیل امتیاز PCA در ۶۷ صفت آزمون تیپ مشاهده و ثبت شده انتخاب شد. هر چه امتیاز مؤلفه اصلی بزرگتر باشد، احتمال ایفای نقش آن صفت در تنوع فنوتیپی برای تمایز و شناسایی ارقام کدو بیشتر است. بیست صفت با بالاترین امتیاز PCA در آزمون تیپ کدو شامل یازده صفت میوه، چهار صفت گل، دو صفت برگ، دو صفت ساقه و یک صفت دانه انتخاب شد (جدول ۱). شکل میوه (P30) بالاترین امتیاز PCA (۹/۲) را مابین بیست صفت داشت که بیانگر آن است که کلیدی‌ترین صفت برای طبقه‌بندی ارقام کدو در این آزمایش است و می‌تواند برای تشخیص تمایز بین ارقام کدو تجاری استفاده شود. توجه به این نکته که صفت شکل میوه (P30) ممکن است به‌طور مستقیم بیانگر تفاوت بین دو گونه کدو باشد، ضروری است. بر اساس نتایج این پژوهش، شکل میوه ارقام گونه کدو سبز از نوع استوانه‌ای[1] و Club-shape است، در حالی که شکل میوه ارقام گونه گردن‌دار، گلابی شکل[2] است. این نتایج با یافته‌های پاریس (Paris, 2016) مطابقت دارد. صفات اصلی حلقه در سمت داخلی جام گل نر و ماده (P22 و P19) و قطر گردن نسبت به حداکثر قطر میوه در ارقام گردن‌دار (جدول ۱) نیز ممکن است در شناسایی ارقام کدو موثر باشند. آزمون تیپ تسریع شده بر اساس صفات اصلی ممکن است کارایی شناسایی ارقام را بهبود داده و تا ۶۰٪ در هزینه‌های کار و زمان صرفه‌جویی کند.

روابط همبستگی رتبه‌ای مابین صفات آزمون تیپ

پژوهشگران همبستگی بین صفات فنوتیپی ارقام گیاهان مختلف را برای بهبود کارایی و دقت آزمون تیپ بررسی کرده‌اند (Zhang et al., 2022, 2023). بر اساس صفات آزمون تیپ ارقام مورد بررسی ، در صفات DUS P8، P28، P45، P47، P49، P50، P53، P59، P61، P62، P65 و P66 تنوع نداشتند. ارزیابی جفتی ضرایب همبستگی رتبه اسپیرمن در ۵۵ صفت دارای تنوع در آزمون تیپ بیانگر آن است که برخی صفات نسبتاً مستقل هستند، در حالی که برخی دیگر همبستگی منفی یا مثبت معنی‌دار با سایر صفات آزمون تیپ دارند (شکل ۵ الف؛ جدول ضمیمه ۷).

بیشترین همبستگی مثبت بین عادت رشد گیاه (P4) و انحنای گردن میوه در ارقام تایپ گردن‌دار(P36)، عادت رشد گیاه (P4) و شیارهای میوه (P38)، عادت رشد گیاه (P4) و رنگ گوشت میوه (P60)، وجود لکه در ساقه (P10) و رنگ اصلی پوست میوه (P27)، انحنای گردن میوه (P36) و شیارهای میوه (P38)، انحنای گردن میوه (P36) و رنگ گوشت میوه (P60)، شیارهای میوه (P38) و رنگ گوشت میوه (P60)، توزیع رنگ سبز میوه (P44) و رنگ برجستگی‌ها در مقایسه با رنگ اصلی میوه پوست (P46، r= ۱) و بیشترین همبستگی منفی مابین وجود لکه در ساقه (P10) و رنگ اصلی پوست میوه (P42)، رنگ اصلی پوست میوه جوان (P27) و رنگ اصلی پوست میوه (P42، r= -۱) مشاهده شد (جدول ضمیمه ۷). یافته‌های این پژوهش بیانگر آن است که صفات فنوتیپی به‌طور معنی‌داری با هم مرتبط هستند و همبستگی بالا احتمالا تأثیر منفی بر طبقه‌بندی تنوع فنوتیپی دارد. نمودار حلقوی به‌منظور نمایش شماتیک و تجزیه و تحلیل همبستگی میان بیست صفت اصلی آزمون تیپ در ارقام کدو نمایش داده شده است (شکل ۵ ب؛ جدول ضمیمه ۸).

صفات میوه همبستگی قابل توجهی را با بیش از چهارده صفت دیگر آزمون تیپ داشت که بیانگر نقش کلیدی آنها در بروز و نمو سایر صفات در ارقام تجاری کدو است (شکل ۵ الف؛ جدول ضمیمه ۷). صفات P7 (حالت دمبرگ در ارقام ایستاده[3]) و P32 (حداکثر قطر میوه در ارقام کدو سبز) به ترتیب با ۲۶ صفت دیگر همبستگی معنی‌داری داشتند. همچنین صفات P33 (نسبت طول به حداکثر قطر میوه در ارقام کدو سبز)، P34 (طول گردن میوه فقط در ارقام تایپ گردن‌دار)، P35 (قطر گردن نسبت به حداکثر قطر در میوه فقط در در ارقام تایپ گردن‌دار)، P36 (انحنای گردن میوه در در ارقام تایپ گردن‌دار)، P38 (شیار میوه)، و P60 (رنگ گوشت میوه) به‌ترتیب با ۲۵ صفت دیگر همبستگی معنی‌دار داشتند (شکل ۵ الف). همچنین دو صفت مقطع عرضی کوتیلدون‌ها (P3) و طول دم‌میوه (P52) با سایر صفات همبستگی نداشتند که بیانگر آن است که این دو صفت

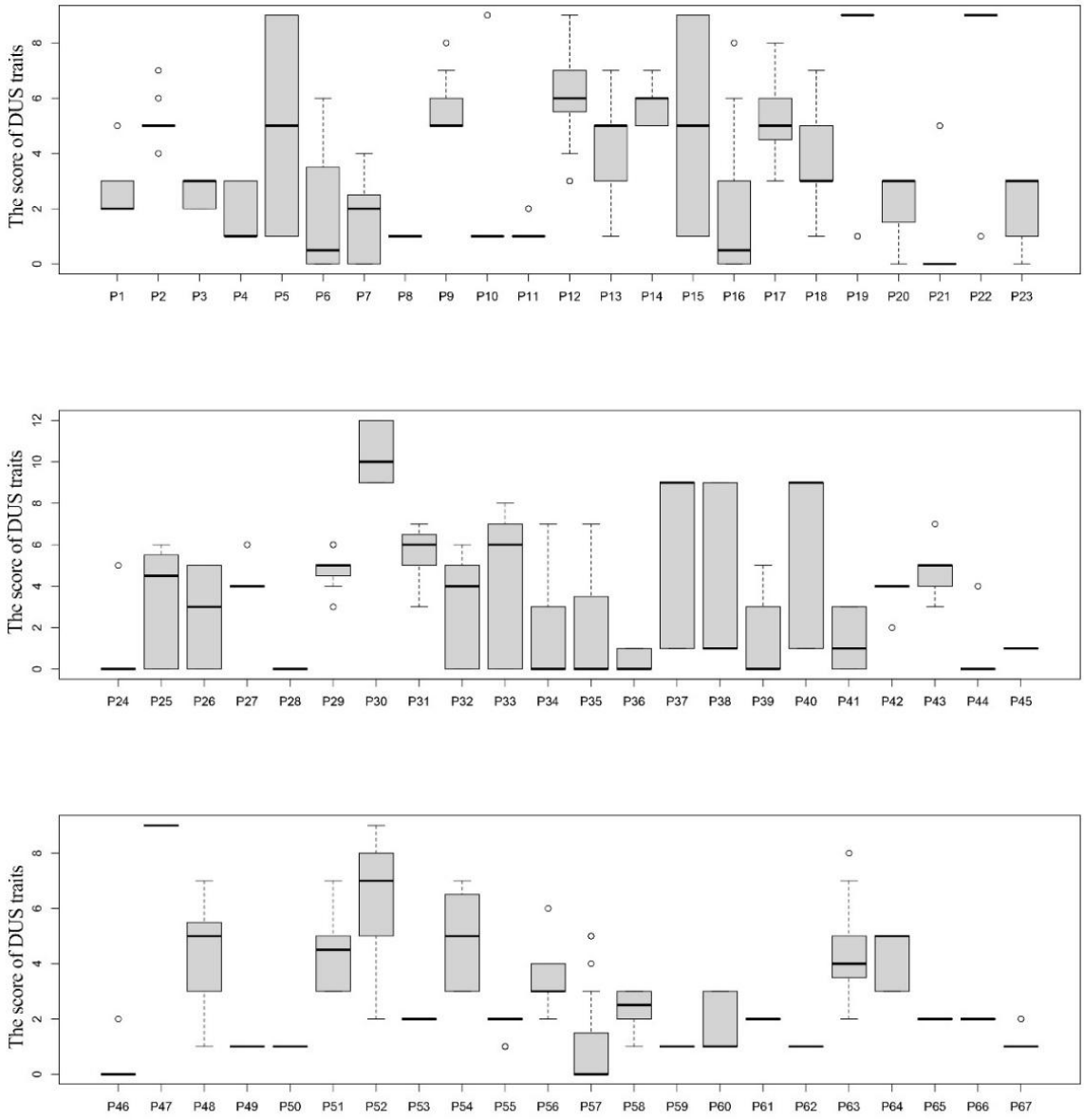
1- Cylindrical
2- Pear shape
3- Bush-Type

تأثیر ناچیزی بر بروز و نمو سـایر صـفات داشـتند (شـکل ۵ الف؛ جدول ضمیمه ۷).

جدول ۱- رتبه‌بندی بیست صفت اصلی آزمون تیپ

Table 1- Ranking of the twenty core DUS testing traits

ردیف No.	شناسه صفت Trait ID	اطلاعات صفت Trait information	امتیاز PCA PCA Score
1	P30	میوه: شکل Fruit: general shape	9.20
2	P22	گل نر: وجود یا عدم وجود حلقه در قسمت داخلی جام Male flower: ring at inner side of corolla	6.97
3	P19	گل ماده: وجود یا عدم وجود حلقه در قسمت داخلی جام Female flower: ring at inner side of corolla	6.63
4	P46	رنگ برجستگی‌ها در مقایسه با رنگ اصلی پوست میوه Fruit: color of ribs compared to main color of skin	4.55
5	P44	فقط در ارقام با دو رنگ اصلی: میوه: توزیع رنگ سبز Varieties with two main colors only: Fruit: distribution of green color	4.36
6	P36	فقط در ارقام تایپ گردن‌دار: انحنای گردن میوه Only Neck type varieties: Fruit: curving of neck	4.35
7	P24	گل نر: شدت رنگ حلقه سبز در قسمت داخلی جام گل Male flower: intensity of green color of ring at inner side of corolla	4.27
8	P52	میوه: طول دمگاه Fruit: length of peduncle	4.19
9	P12	پهنک برگ: اندازه Leaf blade: size	3.92
10	P21	گل ماده: شدت رنگ حلقه سبز در قسمت داخلی جام گل Female flower: intensity of color of green ring at inner side of corolla	3.85
11	P37	در ارقام تایپ گردن‌دار و سبز: حالت انتهای شکوفه میوه Neck and Zucchini Type: Fruit: blossom end	3.55
12	P40	برجستگی‌ها:میوه Fruit: ribs	3.44
13	P34	فقط در ارقام تایپ گردن‌دار: طول گردن میوه Neck Type: Fruit: length of neck	3.33
14	P39	میوه: عمق شیارها Fruit: depth of grooves	3.32
15	P11	ساقه: وضعیت فنر Stem: tendrils	3.24
16	P67	بذر: رنگ پوسته Seed: color of hull	3.19
17	P57	میوه رسیده: شدت رنگ اصلی پوست Ripe fruit: intensity of main color of skin	3.12
18	P14	پهنک برگ: شدت رنگ سبز سطح بالایی Leaf blade: intensity of green color of upper surface	3.11
19	P10	ساقه: لکه Stem: mottling	3.06
20	P35	فقط در ارقام تایپ گردن‌دار: میوه: قطر گردن در مقایسه با حداکثر قطر Neck Type: Fruit: diameter of neck in relation to maximum diameter	2.99



شکل ۴- تجزیه و تحلیل نمودارهای جعبه‌ای ۶۷ صفت آزمون تیپ ارقام کدو مورد بررسی

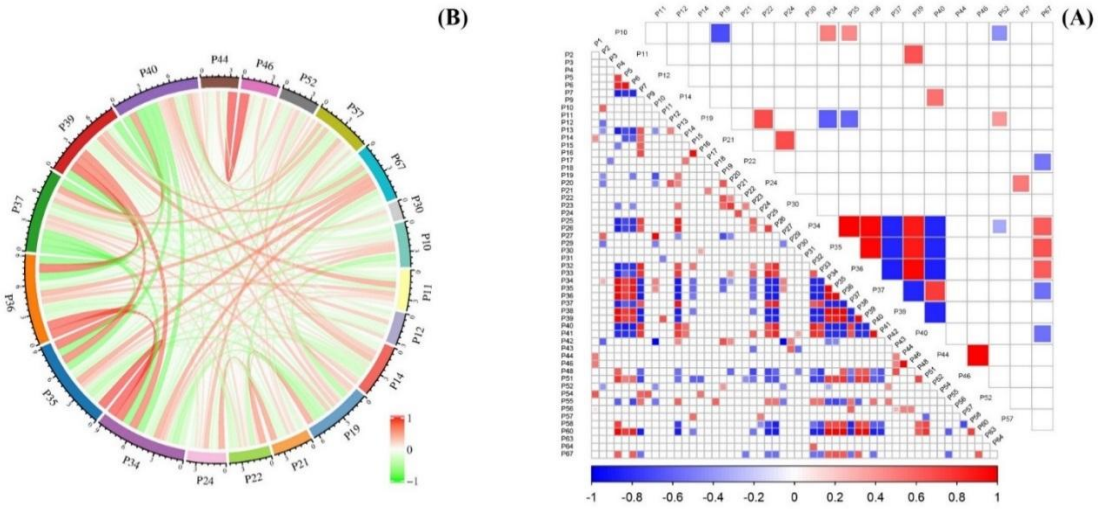
P1 تا P67 نمایش‌دهنده صفات آزمون تیپ ارقام مورد مطالعه است و نام کامل صفات در جدول ضمیمه ۳ ارائه شده است. حاشیه بالا و پایین هر جعبه مربوط به چارک اول و سوم است و خط پررنگ در هر جعبه مربوط به میانه است. دایره کوچک به معنای مقادیر غیرعادی هر صفت است.

Figure 4- Box-plots analysis of the 67 DUS patterns of the examined pumpkin cultivars. P1 to P67 represent the investigated DUS testing traits, and the full name is provided in additional table 3. The top and bottom borders of the box are for the first and third quartiles, and the bold line in the box is for the median. The small circle means the abnormal values in each trait.

تجزیه به مولفه‌های اصلی (PCA)

نمودار PCA ارقام ارزیابی شده کدو رابطه و توزیع ارقام را بر اساس تغییرات در صفات ریخت‌شناسی چندشکل آزمون تیپ (شکل ۶، الف)، صفات اصلی آزمون تیپ (شکل ۶، ب) و سایر صفات آزمون تیپ (شکل ۶، ج) نشان می‌دهد. این تجزیه و تحلیل نمایش‌دهنده تمایز گسترده در صفات اصلی فنوتیپی در بین ارقام کدو مورد بررسی است. بنابراین صفات ریخت‌شناسی ارزیابی شده شاخص مناسبی برای تمایز بین ارقام کدو فراهم می‌کند. همچنین، تجزیه و تحلیل PCA برای مشخص کردن صفات کلیدی آزمون تیپ، حداقل‌سازی از دست رفتن اطلاعات

و حداکثر سازی قابلیت تفسیر در ارقام مورد بررسی انجام شد (Jolliffe & Cadima. 2016; Nardo et al., 2005).



شکل ۵- همبستگی ۵۵ صفت در ۱۶ رقم کدوی بررسی شده:

(الف) نقشه حرارتی برای تجزیه و تحلیل همبستگی ۵۵ صفت آزمون (مثلث پایینی) و ۲۰ صفت اصلی (مثلث بالایی) برای شناسایی ارقام. (ب) نمایش حلقوی بین بیست صفت اصلی

توجه: رنگ‌ها و مساحت مربع‌ها مقدار مطلق r مربوطه را نشان می‌دهد. مربع‌های قرمز و آبی به ترتیب همبستگی مثبت و منفی را نشان می‌دهند.

مربع‌های بدون رنگ پس‌زمینه، همبستگی غیر معنی‌داری با مقدار P-value بالای ۰/۰۱ را نشان می‌دهند. مخفف P1 تا P67 مانند جدول ضمیمه ۳ است.

Figure 5- Correlation of 55 traits in sixteen examined pumpkin cultivars:
(A) heat map for correlation analysis of 55 testing traits (lower triangle) and 20 core traits (upper triangle) for cultivar identification. (B) Circus visualization between twenty core traits. Note: The colors and areas of the squares indicate the absolute value of the corresponding r. red and blue squares show positive and negative correlations, respectively. The squares without background color show non-significant correlations with P value above 0.01. The abbreviation of P1 to P67 was the same as additional Table 3.

نمودارهای پراکندگی نتایج PCA بر اساس صفات آزمون تیپ نشان داد که ارقام کدو مورد بررسی شامل دو گروه متمایز است (شکل ۶ الف، ب، ج، جدول ضمیمه ۱۰). گروه اول عمدتاً شامل ارقام گونه *C. pepo* L. است، در حالی که گروه دوم از ارقام گونه *C. moschata* L. تشکیل شده است (شکل ۶ الف، ب، ج، جدول ضمیمه ۱۰).

تجزیه به مولفه‌های اصلی صفات مورد بررسی منجر به تشکیل یازده مولفه اصلی با پوشش بیش از ۹۶/۳۱٪ از کل واریانس با مقادیر ویژه بزرگتر از یک شد (جدول ۲، شکل ۷). مولفه اول ۳۹/۵۱٪ از کل تغییرات را پوشش می‌دهد و شامل صفات عادت رشد گیاه (P4)، انحنای گردن میوه (P36)، وجود شیارها (P38) و رنگ گوشت میوه (P60) است (جدول ۳). صفت شدت رنگ سبز پوست میوه (P29) بار عاملی[1] بیشتری را در دومین مولفه اصلی داشت (۱۱/۶۷٪)، مولفه‌ای که به‌عنوان عامل تغییر رنگ پوست میوه نیز شناخته می‌شود (جدول ضمیمه ۹). سومین مولفه اصلی (۹/۹۸٪) که به‌عنوان عامل الگوی رنگ میوه نیز شناخته می‌شود، توزیع رنگ سبز میوه (P44) و رنگ برجستگی‌ها را در مقایسه با رنگ اصلی پوست میوه (P46) نشان می‌دهد. مولفه چهارم ۶/۸۹٪ از کل تغییرات را پوشش می‌دهد و شامل سطح نسبی پوشیده شده توسط لکه های نقره‌ای در پهنک برگ (P16) و طول دمبرگ (P17) است. همچنین عوامل پنجم، ششم، هفتم تا یازدهم هر صفت مطابق جدول ضمیمه ۹ ارائه شده است.

1- Loading factor

رنگ اصلی پوست میوه (P46) نشان می‌دهد. مولفه چهارم ۶/۸۹٪ از کل تغییرات را پوشش می‌دهد و شامل سطح نسبی پوشیده شده توسط لکه های نقره‌ای در پهنک برگ (P16) و طول دمبرگ (P17) است. همچنین عوامل پنجم، ششم، هفتم تا یازدهم هر صفت مطابق جدول ضمیمه ۹ ارائه شده است.

تجزیه و تحلیل PCA همچنین ارتباط زیستی ما بین ارقام مختلف کدو را ارزیابی کرد. پژوهش‌های (Balkaya et al., 2010; Mahapatra et al., 2022; Mallikarjuna et al., 2024). بر روی جمعیت‌های کدو زمستانه (*Cucurbita maxima* L.)، صفات کمی نود و یک ژنوتیپ Bottle gourd (*Lagenaria siceraria* (Mol.) *Standl*.) و ژنوتیپ‌های Bitter gourd (*Momordica charantia* L.) به‌ترتیب ۶۵/۷۸٪ ، ۷۸٪ و ۷۸/۸٪ از تنوع را در به‌ترتیب ۱۴، ۴ و ۳ مولفه اول با مقدار ویژه بیشتر از یک توضیح داد.

جدول ۲- درصد سهم اجزای اصلی تجزیه و تحلیل شده برای صفات ارزیابی‌شده.

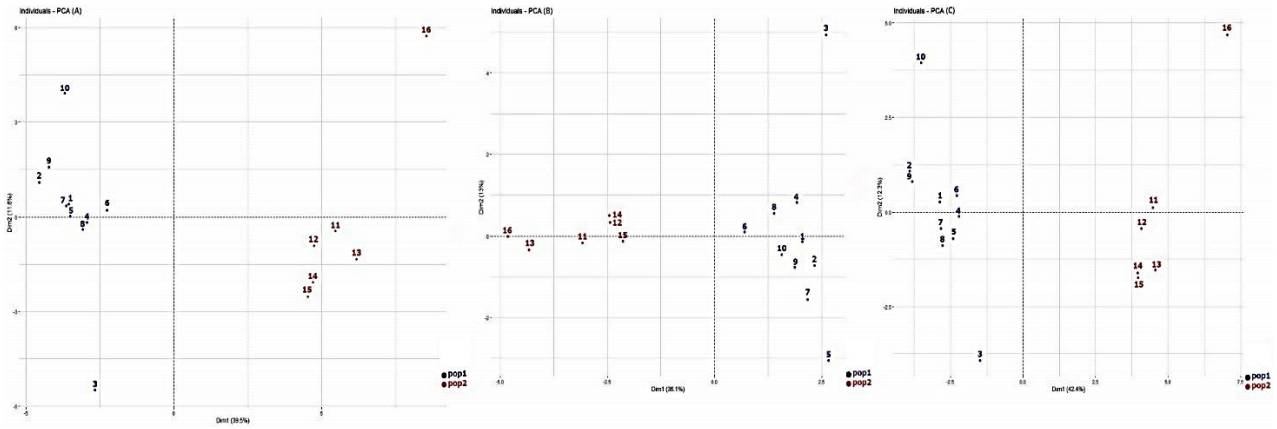
Table 2- The percentage of contribution of principal axes was analyzed for the investigated traits.

PC	بردار ویژه Eigenvalue	تنوع (٪) Variability (%)	تجمعی (٪) Cumulative (%)
1	21.73	39.52	39.52
2	6.42	11.67	51.19
3	5.49	9.98	61.17
4	3.79	6.89	68.07
5	3.45	6.27	74.34
6	2.92	5.30	79.64
7	2.41	4.37	84.01
8	2.21	4.02	88.04
9	1.81	3.30	91.34
10	1.57	2.86	94.19
11	1.17	2.12	96.31
12	0.99	1.80	98.12
13	0.52	0.95	99.06
14	0.36	0.65	99.72
15	0.16	0.28	100

جدول ۳- امتیاز M-TOPSIS و رتبه‌بندی ارقام کدو مورد بررسی. (الف: *C. pepo* L.، ب: *C. moschata* L.)

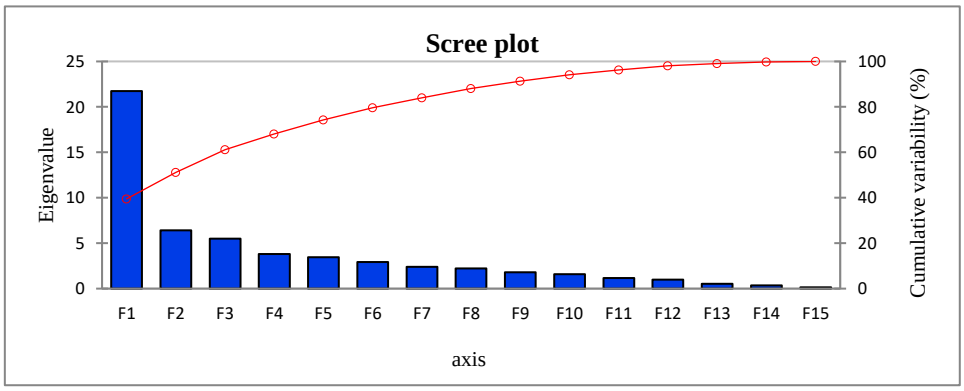
Table 3- Score and ranking of sixteen studied *Cucurbita* spp. Cultivars. (A: *C. pepo* L.; B: *C. moschata* L.)

A			B		
C. pepo L.	Score امتیاز	Rank رتبه	*C. moschata* L.	Score امتیاز	Rank رتبه
Selena	0.73	1	WB	0.72	1
Zigma	0.68	2	Aniso	0.45	2
Yosra	0.59	3	Carmela	0.44	3
Cherlout	0.56	4	Arela	0.31	4
Medal	0.56	5	Gilda	0.26	5
Bodem	0.53	6	Rashel	0.25	6
Navid	0.50	7			
Nilz	0.48	8			
Belami	0.46	9			
PS1306764	0.35	10			



شکل ۶- نمودارهای PCA تجزیه و تحلیل دو مولفه اول در ۱۶ رقم کدو (*Cucurbita* spp.) توسط ۵۵ صفت چند شکل آزمون تیپ (الف)، ۲۰ صفت اصلی (ب)، و ۳۵ صفت باقیمانده (ج). ارقام مورد بررسی توسط داده‌های صفات آزمون تیپ و داده‌های صفات اصلی آزمون تیپ به دو زیرگروه تقسیم شدند. توجه: Pop1 به رنگ آبی، Pop2 به رنگ قرمز است

Figure 6- PCA score plots of the sixteen examined pumpkin cultivars were analyzed by 67 DUS testing characters (A), 20 core traits (B), and the remaining 47 DUS testing traits (C). The studied cultivars were divided into two subpopulations using both DUS testing traits data and core DUS trait data. Note: Pop 1 is colored in blue, and Pop 2 is colored in red



شکل ۷- ارزش ویژه، میزان مشارکت (٪) و میزان مشارکت تجمعی (٪) PCA صفات مطالعه شده در ۱۶ رقم کدو

Figure 7- The Eigenvalue, Contribution rate (%), and Cumulative contribution rate (%) from the PCA of studied traits in the 16 studied pumpkin cultivars

بر اساس نتایج (Paris, 2016)، داده‌های ریخت‌شناسی، خصوصا صفات میوه، قابلیت ایجاد تمایز ما بین ارقام کدو را دارند. جدول ضمیمه ۹ بار عاملی مثبت و منفی را برای صفات آزمون تیپ تجزیه و تحلیل شده با مقادیر ویژه بیشتر از یک در ارقام کدو را نمایش می‌دهد. بر اساس این نتایج، چنین صفاتی برای ارزیابی تنوع ژنتیکی و تعیین صفات فنوتیپی ارقام کدو مناسب هستند.

ارزیابی و گروه‌بندی ارقام به روش M-TOPSIS

M-TOPSIS یک روش امتیازدهی بر اساس فاصله Mahalanobis است که با بهبود روش TOPSIS ایجاد شده است. این روش برای ارزیابی و رتبه‌بندی ارقام ارزن ایتالیایی (*Setaria italica* L.) بر اساس برخی از صفات آزمون تیپ استفاده شده است (Yu et al., 2024). در این پژوهش برای ارزیابی دقیق و رتبه‌بندی ارقام کدو، صفات قابل اندازه‌گیری (P12؛ P17؛ P25؛ P31؛ P32؛ P33؛ P34؛ P35؛ P52؛ P63) با ابزارهای مدرج ارزیابی شد. رتبه ارقام بر اساس روش امتیاز M-TOPSIS برای ارقام کدو در جدول ۳ ارائه شده است. در این پژوهش ارقام سلنا[1] و

1- Selena

والت‌آباترنات[1] به‌ترتیب به‌عنوان ارقام گونه‌های کدو *C. pepo* L. و *C. moschata* L. بالاترین امتیاز را بدست آوردند (جدول ۳، الف و ب). این ارقام بر اساس امتیاز کسب شده می‌توانند در طی تلاش‌ها برای تهیه دورگ‌های کدو با کیفیت و عملکرد بالاتر، به‌عنوان لاین والدی مناسب وابسته به اهداف خاص استفاده شود.

نتیجه‌گیری

ارزیابی صفات ریخت‌شناسی در آزمون تیپ، امکان ثبت سوابق، طبقه‌بندی، احراز هویت و تجاری‌سازی ارقام را به‌منظور صدور مجوزهای واردات و کشت ارقام فراهم می‌کند. این ارزیابی‌ها رویکردی مناسب برای شناسایی ارقام از طریق ارزیابی چشمی و ابزارهای مدرج اندازه‌گیری در مقیاس ریخت‌شناسی فراهم کرده تا تنوع موجود مابین ارقام سریعا شناسایی و خلوص ژنتیکی صفات هر رقم حفظ شود. بر اساس نتایج این پژوهش، صفات فنوتیپی آزمون تیپ، میزان تنوع را در ۱۶ رقم مورد مطالعه کدو نشان داد که می‌توانند به‌عنوان ارقام کدو متمایز و نیز مرجع در آزمون‌های آتی بکار روند. همچنین در این پژوهش رویکرد امتیازدهی صفات ریخت‌شناسی آزمون تیپ در گیاه کدو با استفاده از تجزیه و تحلیل‌های آماری بهبود و گسترش یافت. انتخاب صفات اصلی آزمون تیپ بر اساس تحلیل امتیاز PCA یکی از روش‌های تسهیل شناسایی ارقام است، زیرا با افزایش دقت تمایز مابین ارقام مشابه، بازده شناسایی ارقام ارتقا می‌دهد (Zhang et al., 2022, 2023). بنابراین پیشنهاد می‌شود با توجه به نتایج امتیاز PCA، در آزمون‌های جدید بر روی بیست صفت اصلی برای تفکیک ارقام تمرکز بیشتری شود. در این پژوهش از تجزیه و تحلیل مؤلفه‌های اصلی بر اساس صفات برتر و همچنین الگوهای همبستگی برای بهبود طبقه‌بندی ارقام استفاده شد. نتایج نشان داد یازده مولفه اول با مقدار ویژه بیشتر از یک، ۸۹/۳۰٪ واریانس را پوشش می‌دهد. بر اساس تجزیه و تحلیل رتبه M-TOPSIS، ارقام سلنا و والت‌آباترنات به‌ترتیب در گونه‌های *C. pepo* L. و *C. moschata* L. بالاترین امتیاز را بدست آوردند. این ارقام می‌توانند در تلاش‌های به‌نژادی وابسته به اهداف خاص در تهیه ارقام و ژنوتیپ‌های برتر بکار روند تا همراه یا استفاده از شیوه‌های مناسب زراعی، میزان عملکرد و کیفیت این محصول افزایش یابد. نتایج این پژوهش در بهبود طبقه‌بندی ارقام و تسهیل ارزیابی تمایز در گیاه کدو موثر خواهد بود. همچنین یک الگوی اولیه برای انتخاب ارقام والدی دارای صفات مناسب برای تهیه ارقام جدید به‌منظور بهبود معماری ژنتیکی صفات با ارزش و تسهیل آزمون‌های تجاری‌سازی ارقام کدو ارائه شده است.

سپاسگزاری

نگارندگان از موسسه تحقیقات ثبت و گواهی بذر و نهال برای حمایت مالی از این پژوهش با شماره پروژه ۰۱۰۹۸۶-۰۲۴-۰۸-۰۸-۲ تشکر و قدردانی می‌کند.

تعارض منافع

نویسندگان این مقاله اعلام می‌دارند که هیچ‌گونه تعارض منافعی در رابطه با نگارش و یا انتشار این مقاله ندارند.

ضمائم

جدول ضمیمه ۱. ارقام کدو مورد استفاده در این پژوهش.

Additionsl table 1. *Cucurbita* Spp. cultivars used in this current investigation.

جدول ضمیمه ۲. میانگین دما و بارندگی ماهیانه در سال‌های ۱۴۰۱ و ۱۴۰۲.

Additionsl table 2. Average monthly temperature and rainfall of years 2022 and 2023.

جدول ضمیمه ۳. فهرست صفات آزمون تیپ مورد ارزیابی در ارقام کدو.

Additionsl table 3. List of DUS traits evaluated in *Cucurbita* Spp. cultivars.

جدول ضمیمه ۴. امتیاز ارزیابی صفات آزمون تیپ.

Additional Table 4. The evaluation scores for the DUS testing traits.

جدول ضمیمه ۵. شرح پراکنش ۶۷ صفت آزمون تیپ در ارقام کدو.

Aadditional table 5. Description of 67 DUS testing traits in *Cucurbita* Spp. cultivars.

جدول ضمیمه ۶. اطلاعات تفصیلی آماری صفات آزمون تیپ در ارقام کدو.

Additional table 6. Detailed information of DUS testing traits in *Cucurbita* Spp. cultivar.

1- Walth Ambutternut

جدول ضمیمه ۷. ضریب همبستگی رتبه‌ای اسپیرمن تمام صفات آزمون تیپ.

Additional table 7. DUS traits Spearman rank correlation coefficient.

جدول ضمیمه ۸. ضریب همبستگی رتبه‌ای اسپیرمن بیست صفت انتخاب شده.

Additional table 8. Twenty selected traits Spearman rank correlation coefficient.

جدول ضمیمه ۹. مولفه‌های اصلی با مقادیر ویژه بزرگتر از یک در صفات بررسی شده آزمون تیپ.

Additional table 9. Principal axes with Eigenvalues of more than one were used to investigate traits in the *Cucurbita* Spp. cultivars.

جدول ضمیمه ۱۰. گروه‌بندی ۱۶ رقم کدو در آزمون تیپ.

Additional table 10. Classification results by DUS testing in sixteen studied *Cucurbita* Spp. cultivars.

References

Alhariri, A., Behera, T. K., Jat, G. S., Devi, M. B., Boopalakrishnan, G., Hemeda, N. F., Teleb, A. A., Ismail, E., & Elkordy, A. (2021). Analysis of genetic diversity and population structure in bitter gourd (*Momordica charantia* L.) using morphological and SSR markers. *Plants*, *10*(9), Article 1860. https://doi.org/10.3390/plants10091860

Balkaya, A., Özbakir, M., & Kurtar, E. S. (2010). The phenotypic diversity and fruit characterization of winter squash (*Cucurbita maxima* L.) populations from the Black Sea Region of Turkey. *African Journal of Biotechnology*, *9*(2), 152–162.

Chen, T., Liu, L., Zhou, Y., Zheng, Q., Luo, S., Xiang, T., Zhou, L., Feng, S., Yang, H., & Ding, C. (2023). Characterization and comprehensive evaluation of phenotypic characters in wild *Camellia oleifera* germplasm for conservation and breeding. *Frontiers in Plant Science*, *14*, Article 1052890. https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1052890

FAOSTAT. (2022). *Crops and livestock products statistics*. Food and Agriculture Organization of the United Nations. http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC

Fister, K., Fister, I., Murovec, J., & Bohanec, B. (2017). DNA labelling of varieties covered by patent protection: A new solution for managing intellectual property rights in the seed industry. *Transgenic Research*, *26*(1), 87–95. https://doi.org/10.1007/s11248-016-9981-1

Gilliland, T. J., Annicchiarico, P., Julier, B., & Ghesquière, M. (2020). A proposal for enhanced EU herbage VCU and DUS testing procedures. *Grass and Forage Science*, *75*(3), 227–241. https://doi.org/10.1111/gfs.12492

Hong, Y., Pandey, M. K., Lu, Q., Liu, H., Gangurde, S. S., Li, S., Liu, H., Li, H., Liang, X., Varshney, R. K., & Chen, X. (2021). Genetic diversity and distinctness based on morphological and SSR markers in peanut. *Agronomy Journal*, *113*(6), 4648–4660. https://doi.org/10.1002/agj2.20671

Jamali, S. H., Cockram, J., & Hickey, L. T. (2019). Insights into deployment of DNA markers in plant variety protection and registration. *Theoretical and Applied Genetics*, *132*(7), 1911–1929. https://doi.org/10.1007/s00122-019-03348-7

Jolliffe, I. T., & Cadima, J. (2016). Principal component analysis: A review and recent developments. *Philosophical Transactions of the Royal Society A: Mathematical, Physical and Engineering Sciences*, *374*(2065), Article 20150202. https://doi.org/10.1098/rsta.2015.0202

Kong, Q., Chen, J., Liu, Y., Ma, Y., Liu, P., Wu, S., Huang, Y., & Bie, Z. (2014). Genetic diversity of *Cucurbita* rootstock germplasm as assessed using simple sequence repeat markers. *Scientia Horticulturae*, *175*, 150–155. https://doi.org/10.1016/j.scienta.2014.06.009

Kwon, Y. S., Lee, J. M., Yi, G. B., Yi, S. I., Kim, K. M., Soh, E. H., Bae, K. M., Park, E. K., Song, I. H., & Kim, B. D. (2005). Use of SSR markers to complement tests of distinctiveness, uniformity, and stability (DUS) of pepper (*Capsicum annuum* L.) varieties. *Molecules and Cells*, *19*(3), 428–435. https://doi.org/10.1016/S1016-8478(23)13189-X

Lei, Q., Zhou, J., Zhang, W., Luo, J., Wu, K., & Long, C. (2018). Morphological diversity of panicle traits in Kam fragrant glutinous rice (*Oryza sativa*). *Genetic Resources and Crop Evolution*, *65*(3), 775–786. https://doi.org/10.1007/s10722-017-0570-9

Lombardo, L. (2014). Genetic use restriction technologies: A review. *Plant Biotechnology Journal*, *12*(8), 995–1005. https://doi.org/10.1111/pbi.12242

Mahapatra, S., Sureja, A. K., Behera, T. K., & Verma, M. (2022). Assessment of genetic diversity of ninety-one bottle gourd [*Lagenaria siceraria* (Mol.) Standl.] genotypes from fourteen different agro-climatic zones of India using agro-morphological traits and SSR markers. *Molecular Biology Reports*, *49*(7), 6367–6383. https://doi.org/10.1007/s11033-022-07446-6

Mallikarjuna, K. N., Tomar, B. S., Mangal, M., Singh, N., Singh, D., Kumar, S., Tomer, A., Behera, T. K., & Jat, G. S. (2024). Qualitative and quantitative genetic variations in bitter gourd (*Momordica charantia* L.). *Genetic Resources and Crop Evolution*. Advance online publication. https://doi.org/10.1007/s10722-024-01860-4

Moradi, P., Rezvani, N., Ojaghlou, B., & Karimi, N. (2018). *Technical journal of melon seed process and production*. Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO), Education and Extension Deputy. [In Persian]

Nardo, M., Saisana, M., Saltelli, A., & Tarantola, S. (2005). *Tools for composite indicators building* (EUR 21682 EN). European Commission, Joint Research Centre.

Nguyen, N.N., Kim, M., Jung, J.K., Shim, E.J., Chung, S.M., Park, Y., Lee, G.P., & Sim, S.C. (2020). Genome-wide SNP discovery and core marker sets for assessment of genetic variations in cultivated pumpkin (*Cucurbita* spp.). *Horticulture Research*, *7*, Article 114. https://doi.org/10.1038/s41438-020-00342-9

Öztürk, H.İ., Dönderalp, V., Bulut, H., & Korkut, R. (2022). Morphological and molecular characterization of some pumpkin (*Cucurbita pepo* L.) genotypes collected from Erzincan province of Turkey. *Scientific Reports*, *12*(1), Article 6814. https://doi.org/10.1038/s41598-022-11005-1

Paris, H. S. (2001). History of the cultivar-groups of *Cucurbita pepo*. *Horticultural Reviews*, *25*, 71–170. https://doi.org/10.1002/9780470650783.ch2

Paris, H. S. (2016). Germplasm enhancement of *Cucurbita pepo* (pumpkin, squash, gourd: Cucurbitaceae): Progress and challenges. *Euphytica*, *208*(3), 415–438. https://doi.org/10.1007/s10681-015-1604-x

Pourabed, E., Jazayeri Noushabadi, M.R., Jamali, S.H., Moheb Alipour, N., Zareyan, A., & Sadeghi, L. (2015). Identification and DUS testing of rice varieties through microsatellite markers. *International Journal of Plant Genomics*, *2015*, Article 965073. https://doi.org/10.1155/2015/965073

Szamosi, C., Solmaz, I., Sari, N., & Bársony, C. (2010). Morphological evaluation and comparison of Hungarian and Turkish melon (*Cucumis melo* L.) germplasm. *Scientia Horticulturae*, *124*(2), 170–182. https://doi.org/10.1016/j.scienta.2009.12.024

Tommasini, L., Batley, J., Arnold, G., Cooke, R., Donini, P., Lee, D., Law, J., Lowe, C., Moule, C., Trick, M., & Edwards, K. (2003). The development of multiplex simple sequence repeat (SSR) markers to complement distinctness, uniformity and stability testing of rape (*Brassica napus* L.) varieties. *Theoretical and Applied Genetics*, *106*(6), 1091–1101. https://doi.org/10.1007/s00122-002-1125-8

UPOV. (2016). *Guidelines for the conduct of tests for distinctness, uniformity, and stability of Cucurbita Spp.* (TG/119/4 Corr. 2). International Union for the Protection of New Varieties of Plants. https://www.upov.int/edocs/tgdocs/en/tg119.pdf

Whitaker, T.W., & Bemis, W.P. (1964). Evolution in the genus *Cucurbita*. *Evolution*, *18*(4), 553–559. https://doi.org/10.2307/2406209

Wimalasiri, D., Piva, T., Urban, S., & Huynh, T. (2016). Morphological and genetic diversity of *Momordica cochinchinensis* (Cucurbitaceae) in Vietnam and Thailand. *Genetic Resources and Crop Evolution*, *63*(1), 19–33. https://doi.org/10.1007/s10722-015-0232-8

Xu, S., Liu, W., Liu, X., Qin, C., He, L., Wang, P., & Ma, W. (2023). DUS evaluation of nine intersubgeneric hybrids of *Paeonia lactiflora* and fingerprint analysis of the chemical components in the roots. *Frontiers in Chemistry*, *11*, Article 1158727. https://doi.org/10.3389/fchem.2023.1158727

Yadav, M., Jain, S., Tomar, R., Prasad, G.B.K.S., & Yadav, H. (2010). Medicinal and biological potential of pumpkin: An updated review. *Nutrition Research Reviews*, *23*(2), 184–190. https://doi.org/10.1017/S0954422410000107

Yunli, W., Yangyang, W., Wenlong, X., Chaojie, W., Chongshi, C., & Shuping, Q. (2020). Genetic diversity of pumpkin based on morphological and SSR markers. *Pakistan Journal of Botany*, *52*(2), 477–487. http://dx.doi.org/10.30848/PJB2020-2(6

Zhang, J., Ren, J., Yang, J., Fu, S., Zhang, X., Xia, C., Zhao, H., Yang, K., & Wen, C. (2023). Evaluation of SNP fingerprinting for variety identification of tomato by DUS testing. *Agriculture Communications*, *1*(1), Article 100006. https://doi.org/10.1016/j.agrcom.2023.100006

Zhang, J., Yang, J., Fu, S., Ren, J., Zhang, X., Xia, C., Zhao, H., Yang, K., & Wen, C. (2022). Comparison of DUS testing and SNP fingerprinting for variety identification in cucumber. *Horticultural Plant Journal*, *8*(5), 575–582. https://doi.org/10.1016/j.hpj.2022.07.002