



**СТАТИСТИЧЕСКА ОЦЕНКА НА ГЕНЕТИЧНОТО РАЗНООБРАЗИЕ ПРИ
МЕСТНИ ОБРАЗЦИ ТИКВИ (*CUCURBITA PEPO* L.) ОТ *EX SITU*
КОЛЕКЦИЯТА НА ИРГР – САДОВО
STATISTICAL EVALUATION OF THE GENETIC DIVERSITY OF LOCAL
PUMPKIN (*CUCURBITA PEPO* L.) ACCESSIONS FROM THE *EX SITU*
COLLECTION OF *IPGR SADOVO***

**Тотка Тодорова*, Николая Велчева
Totka Todorova*, Nikolaya Velcheva**

Институт по растителни генетични ресурси „К. Малков” – Садово
Institute of Plant Genetic Resources „K. Malkov” – Sadovo

*E-mail: tony.todorova@abv.bg

Abstract

During the period 2012-2014 23 *Cucurbita pepo* L. accessions, collected during expeditions in the country, were studied at *IPGR Sadovo*. The plant genetic resources were assessed after the Uniform Classifier (1980), consistent with the ECPGR Minimum Descriptors for *Cucurbita ssp.* (2008). The resulting databases were processed by applications of the *R. Variability* programming language for the following quantitative traits of the fruit: stalk length (cm), fruit length (cm), fruit diameter (cm), fruit shape index, locule number, skin thickness (cm), flesh thickness (cm), fruit weight (kg), and cluster analysis. The forementioned showed availability of genetic diversity in the collection. The genotypes suitable as initial material in future breeding-improvement programs were selected as a result of the comparative analysis. The local accessions with catalogue numbers 80E7437, 81E7551 and 81E7553 were characterized by the best complex of economic qualities. All genotypes included in the study are stored at the National Gene Pool.

Key words: pumpkins, evaluation, databases, *System R*, cluster analysis.

ВЪВЕДЕНИЕ

Тиквите (*Cucurbita pepo* L.) са отглеждани в продължение на хиляди години и са култура с голямо стопанско значение и до днес. Плодовете и семената се използват за консумация, медицински цели, за фураж, както и за декорация.

Генетичното разнообразие на културните растения, в това число и на тиквите, намалява в резултат на дългогодишното култивиране, отглеждането на ограничен брой сортове в малко на брой подходящи ареали и трудностите,

свързани с приспособяването им в нетипични за тях условия (FAO, 2009). В същото време местните форми се отличават с по-голяма пластичност към изменящите се условия на средата от новите интегрирани сортове и линии. Това налага събиране, проучване, поддържане и съхранение в генбанка приоритетно на уникалните местни, диви и декоративни образци за обогатяване на генофонда и за опазване на биологичното разнообразие (Krasteva et al., 2002; 2009).

Оценката на растителните генетични ресурси (РГР) е предпоставка за използването на събраните образци като изходен материал за селекционно-подобрителни дейности и обмен с научноизследователски институти и други генбанки (Krasteva et al., 2007; Minister of Environment and Water of Bulgaria, 2013).

В ИРГР – Садово се поддържа *ex situ* колекция от 336 местни популации тикви от род *Cucurbita*, събрани при експедиции в страната. Образците се завеждат по паспортни данни, проучват се по дескриптори, приети от европейската работна група за сем. *Cucurbitaceae* към ECPGR и се съхраняват във фонда на Националната генбанка.

Задача на отбора в началните етапи на селекционната работа е да се създаде колекция от сортове с определен набор от положителни признаци (Georgiev et al., 2013).

Целта на проучването е сравнителна оценка на 23 образеца *Cucurbita pepo* L. с местен произход от колекцията на ИРГР – Садово и анализ на генетичното разнообразие.

Хипотезата, залегнала в началото на експеримента, се основава на значението на РГР като донор в селекцията, което дава основание да предположим, че настоящото проучване ще допълни информацията относно специфичните особености на местните популации тикви и ще бъдат установени образци с комплекс от ценни признаци, което би съкратило периода на подобрителния процес.

МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ

Растителен материал и изследвани признаци

През периода 2012–2014 в опитното поле на ИРГР – Садово са проучени 23 образеца *Cucurbita pepo* L., събрани от експедиции в страната.

Растителните генетични ресурси са оценени съгласно с Унифициран класификатор (1980), съобразено с ECPGR Minimum descriptors for *Cucurbita* ssp. (2008).

Проучени са количествени морфологични характеристики на плода: дължина на дръжката (cm), дължина на плода (cm), диаметър на плода (cm), индекс на формата, брой камери, дебелина на кората (cm), дебелина на перикарпа (cm) и маса на плода (kg), отговорни за стопанската стойност на продукцията.

Статистически анализ на експерименталните данни

Предимството на *System R*, който представлява развойна среда за статистическа и математическа обработка на данни (Crawley, 2005), в

сравнение с другите софтуери с графичен интерфейс и езици за програмиране е, че извършва автоматизирана обработка на бази данни, като демонстрира много добра визуализация на множество статистически изчисления, което улеснява групирането на постоянно разширяващите се по обем колекции РГР.

Данните от агробиологичното проучване на образците са организирани под формата на електронни таблици в *Microsoft Excel*, което позволи обработката на количествените стойности (табл. 1).

Базите данни са стандартизирани и са обработени чрез приложенията на език за програмиране *R*. Варирането на признаците (Dimova and Marinkov, 1999) и клъстерният анализ са извършени на базата на изготвени специални алгоритми за оценка на генетичното разнообразие на съхранени *ex situ* колекции (Onkov and Ganchev, 2010; Quick, 2010; Velcheva, 2013).

Таблица 1. База данни от агробиологичното проучване (2012-2014)
Table 1. Database from the agrobiological study (2012-2014)

Образец Accession	Дължина на дръжката Handle length (cm)	Дължина на плода Fruit length (cm)	Диаметър на плода Fruit diameter (cm)	Форма на плода Fruit shape (index)	Камери Locules (number)	Дебелина на кората Skin thickness (cm)	Дебелина на месото Flesh thickness (cm)	Маса на плода Fruit weight (kg)	
1	78E6349	6,230	23,800	15,800	1,510	3,000	0,300	3,000	3,375
2	78E6355	6,000	15,000	26,000	0,580	3,000	0,400	3,700	4,000
3	78E6359	6,970	12,500	14,900	0,840	3,000	0,300	2,800	1,751
4	78E6380	9,950	17,000	16,700	1,020	3,000	0,200	3,500	3,200
5	78E6383	8,170	20,250	18,200	1,110	3,000	0,500	4,600	3,875
6	78E6710	7,050	15,020	20,300	0,750	3,000	0,200	3,000	3,350
7	80E7436	6,000	17,500	21,600	0,810	3,000	0,300	4,000	4,360
8	80E7437	6,450	27,500	20,500	1,340	3,000	0,300	3,500	5,000
9	81E7548	4,500	14,550	16,970	0,860	3,000	0,200	3,000	1,751
10	81E7549	10,560	11,130	23,330	0,470	3,000	0,300	3,500	2,900
11	81E7550	6,500	20,000	22,900	0,870	3,000	0,200	3,800	3,760
12	81E7551	8,500	25,000	22,300	1,080	3,000	0,300	3,900	5,300
13	81E7553	9,270	25,400	22,500	1,130	3,000	0,400	2,700	4,730
14	99E0110	9,800	24,200	14,300	1,690	4,500	0,100	3,500	2,570
15	99E0109	6,300	18,400	11,000	1,670	2,000	0,100	1,930	0,800
16	A8E0405	6,000	14,000	17,000	0,820	1,500	0,100	3,500	2,280
17	A8E0211	5,000	29,000	11,500	2,520	3,000	0,300	1,500	1,200
18	A8E0456	6,000	20,000	15,500	1,290	3,000	0,400	2,500	2,500
19	A8E0467	6,000	25,000	15,500	1,610	4,000	0,500	4,000	3,000
20	A8E0624	11,000	26,000	19,000	1,360	3,000	0,500	3,000	4,200
21	A8E0659	9,000	27,000	14,500	1,860	3,000	0,500	5,000	3,800
22	A0E0021	3,000	29,000	12,000	2,410	3,000	0,200	1,800	1,500
23	St 816379	6,200	34,700	16,800	2,060	3,000	0,500	3,800	4,130

РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

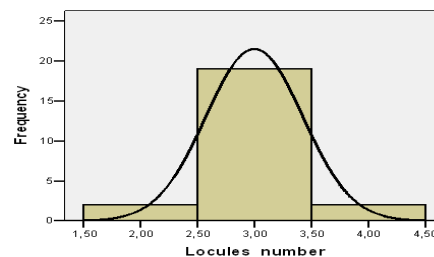
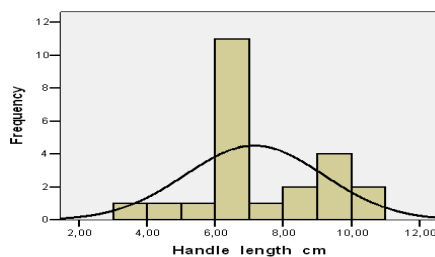
Анализът на варирането на признаците (табл. 2) показва наличието на значително разнообразие по отношение на оценените признаци в проучената колекция.

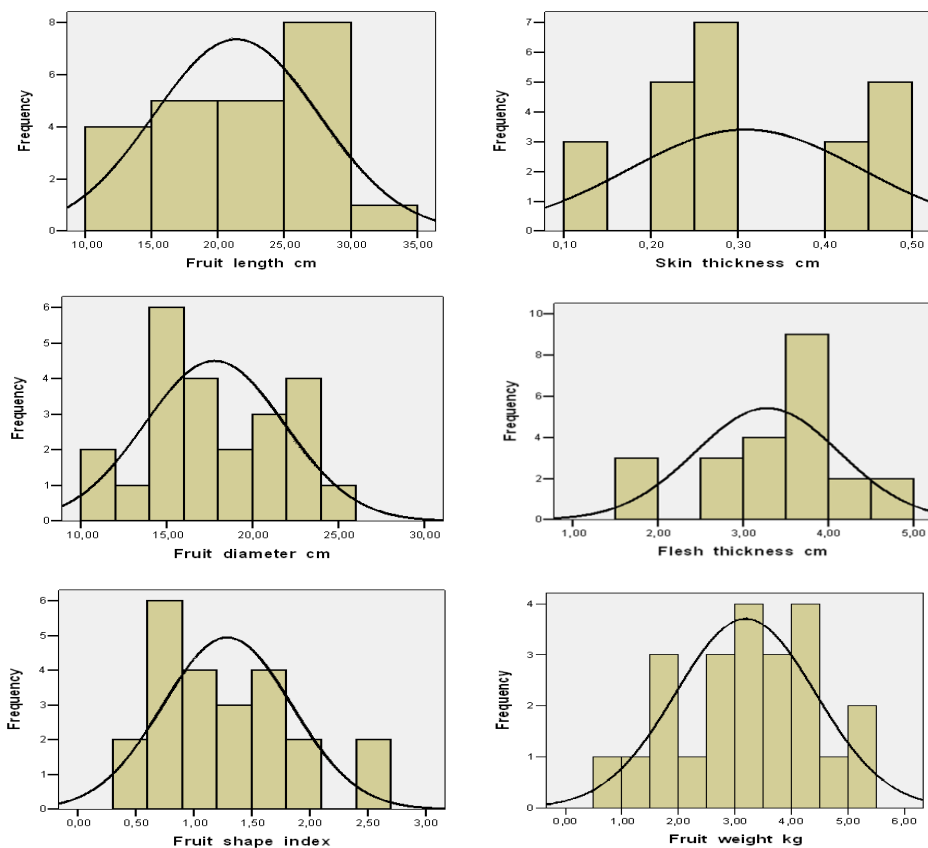
Изчислените вариационни коефициенти при формата на плода, масата на плода и дебелината на кората се характеризират със стойности над 30%. Средно вариране е отчетено при признака *брой камери в плода* ($CV = 14,2\%$).

Таблица 2. Характеристика на варирането на количествени признаци
Table 2. Variation characterization of quantitative traits

	Признаци/ Traits	\bar{x}	Min	Max	Std. Deviation	CV %
1	Дължина на дръжката/ Handle length (cm)	7,15000	3,0000	11,0000	2,0338	28,4447
2	Дължина на плода/ Fruit length (cm)	21,3891	11,1300	34,7000	6,2322	29,1374
3	Диаметър на плода/ Fruit diameter (cm)	17,7870	11,0000	26,0000	4,0731	22,8994
4	Форма на плода/ Fruit shape (index)	1,2896	0,4700	2,5200	0,5562	43,1308
5	Камери/ Locules (number)	3,0000	1,5000	4,5000	0,4264	14,2134
6	Дебелина на кората/ Skin thickness (cm)	0,3087	0,1000	0,5000	0,1345	43,5856
7	Дебелина на месото/ Flesh thickness (cm)	3,2839	1,5000	5,0000	0,8461	25,7662
8	Маса на плода/ Fruit weight (kg)	3,1883	0,8000	5,3000	1,2383	38,8375

Вариационният анализ е представен и чрез хистограми, отчитайки честотата на проявление на признаците (фиг. 1). Графичното изображение дава представа за наличието на генетично разнообразие по изследваните морфологични характеристики.





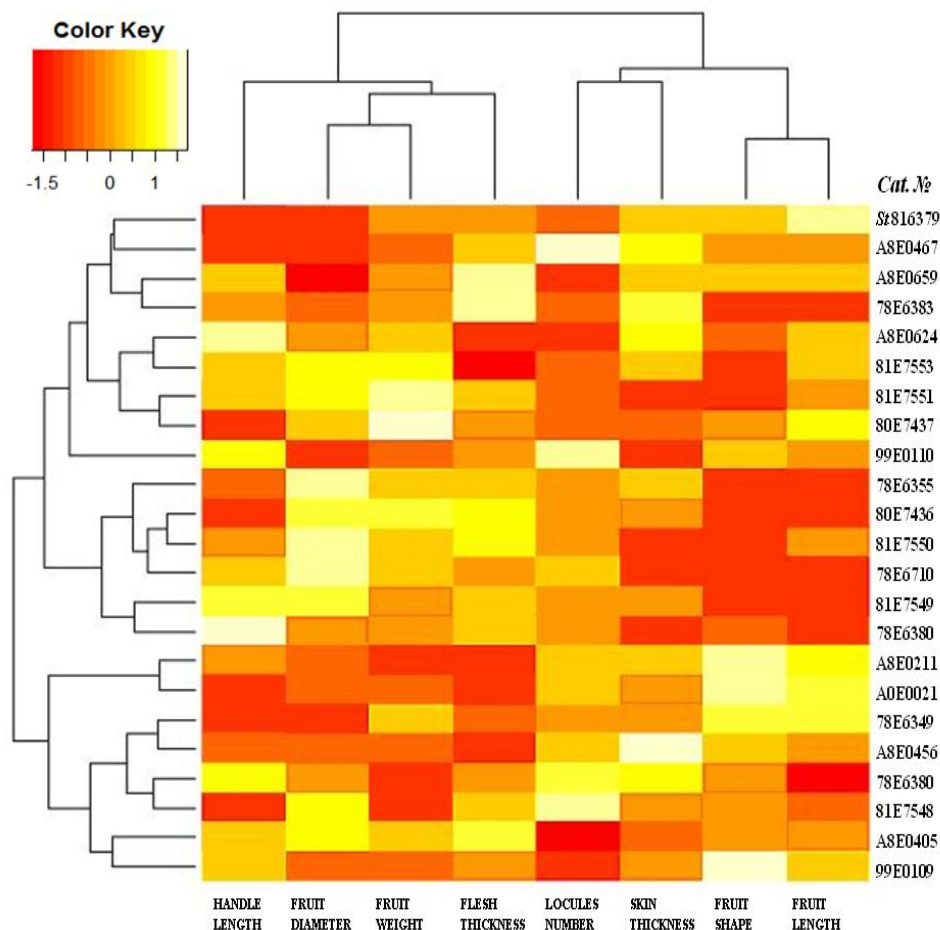
Фиг. 1. Хистограми на варибилността на проучените признаци в колекцията

Fig. 1. Histograms of the variability of the studied traits in collection

Чрез използването на приложенията на *System R* е извършен двупосочен клъстерен анализ, като графиката показва групирането на образците и на признаците (фиг. 2).

Резултатите са представени цветово, отчитайки разнообразието на образците по отношение на оценените признаци. Цветовата мрежа показва всяка факторна комбинация, кодирана с цвят в зависимост от размера на индекса на различие.

В най-светъл нюанс са оцветени стойностите на признаците, които се отличават като най-високи в клъстера и са доминиращ параметър за различие. В най-ярък цвят (червено) са доминиращите параметри за сходство, отличаващи се с най-ниска стойност. Идентичният цвят показва еднообразие.



Фиг. 2. Дендрограма на резултатите от двупосочен клъстер анализ (System R)

Fig. 2. Dendrogram of two way cluster analysis results (System R)

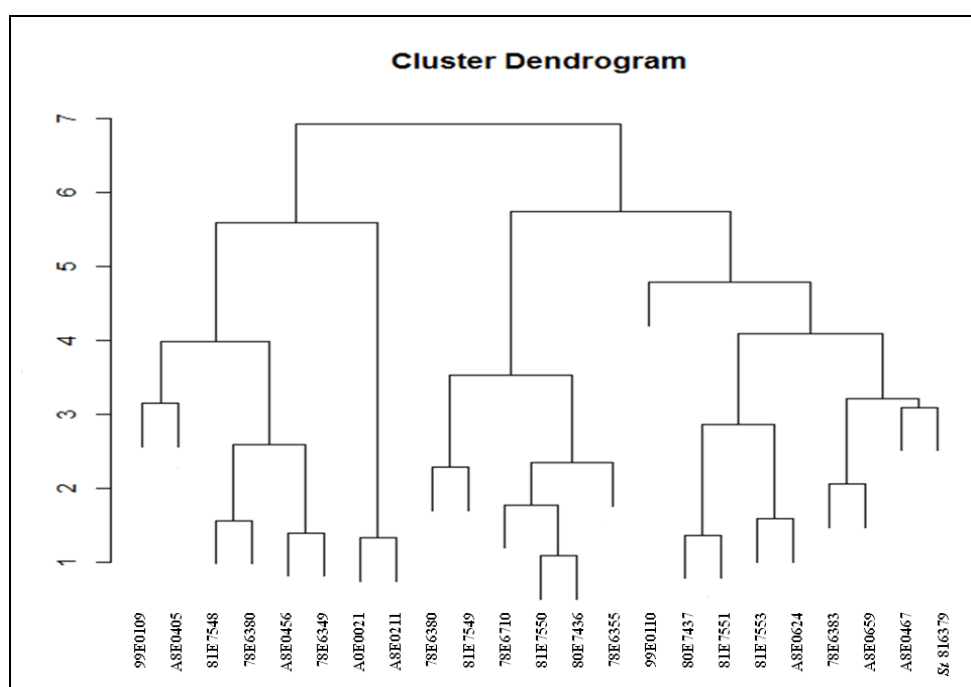
Образците с каталожни номера A8E0659 и 78E6383 се характеризират с високи стойности на признака *дебелина на перикарпа*, а 81E7553, 81E7551 и 81E7437 – с висока *маса на плода* (фиг. 2).

Предимството на цветната карта е, че тя визуализира добре сравнителния анализ между проучваните образци и прави възможно излъчването на генетични ресурси, носители на ценни стопански качества.

На фиг. 3 и 4 е представено йерархичното клъстериране, съответно на образците и на признаците, и последователността на формиране на клъстери.

Като мярка за сходство е използвано евклидовото междугрупово разстояние между обектите в групирането.

Образците (фиг. 3) се разделят в четири клъстера, които се обединяват в две групи на по-далечно разстояние.



Фиг. 3. Клъстериране на образците (System R)

Fig. 3. Clustering of the accessions (System R)

Масата на плода и дебелината на перикарпа са едни от най-важните стопански признаци. В първия клъстер са обединени осем образеца, които се характеризират с най-високи стойности по отношение на тези стопански качества и показват генетично сходство със стандарта.

Образците с кат. № 80E7437, 81E7551, 81E7553 се отличават с висока маса на плода (над 4,7 kg) и дебелина на перикарпа в границите от 2,7 до 3,9 cm.

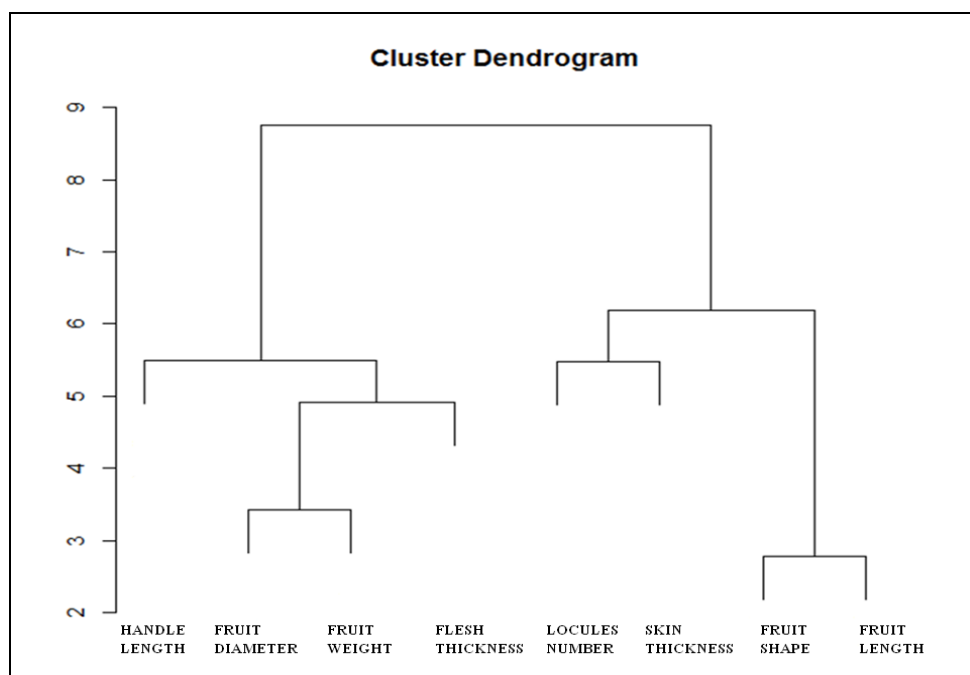
Самостоятелен клъстер формира кат. № 99E0110, който се отличава с голяма дължина на плода (24,2 cm), най-висок брой на камерите в колекцията (4,5 бр.), но със сравнително ниска маса на плода (2,57 kg).

Третият клъстер обединява шест образца, пет от които се отличават с много високи стойности на *диаметъра на плода* (над 20 cm). По отношение на *индекса на формата* стойностите са в интервала 0,47–1,13, който определя плоска до кръгла форма на плодовете. Установено е наличие на много близко генетично сходство при образците с каталожен номер 80E7436 и 81E7550, което се обяснява със сходни стойности при четири от проучените признака: форма на плода, брой камери, дебелина на перикарпа, диаметър на плода (фиг. 3).

Четвъртият клъстер включва останалите осем образца, които се характеризират с удължена форма и близки стойности на *диаметъра на плода* – от 11,5 до 16,97 cm. Тези признаци играят основна роля за обединението на генотипите в една група.

От клъстерирането на признаците можем да заключим, че те се обединяват в два основни фактора, отговорни за групирането на образците в колекцията.

Първият включва признаците *дължина на дръжката, диаметър на плода, маса и дебелина на перикарпа* (фиг. 4). Впечатление в клъстера прави по-близката връзка на диаметъра и масата на плода във факториалната равнина (фиг. 4).



Фиг. 4. Клъстериране на признаците (System R)
Fig. 4. Clustering of the traits (System R)

Вторият фактор обединява признаците *брой камери, дебелина на кората, форма и дължина на плода*. На фиг. 4 ясно личи близкото генетично сходство на последните две характеристики.

ИЗВОДИ

1. *Ex situ* колекция от 23 образци тикви (*Cucurbita pepo* L.) е характеризирани по морфологични и стопански качества. Установено е значително генетично разнообразие в колекцията по отношение на проучените признаци.

2. Базата данни от проучването допълва паспортната характеристика за образците и спомага за обмен на генплазмата. Систематизирането на събраната оценъчна информация създава условия за използване на ресурсите както за теоретични изследвания, така и за практиката.

3. Образците са групирани в четири клъстера на базата на проучените признаци и са излъчени генотипи, които се отличават с комплекс от важни стопански характеристики. Образците с кат. № 80E7437, 81E7551, 81E7553 се отличават с висока маса на плода и дебелина на перикарпа.

4. Признаците са обединени в два основни фактора, което би улеснило селекционно-подобрителната работа в културата. Първият фактор включва дължина на дръжката, диаметър на плода, маса и дебелина на перикарпа, а вторият – брой камери, дебелина на кората, форма и дължина на плода.

REFERENCES

Crawley, M., 2005. Statistics: An Introduction using R. Wiley. ISBN 0-470-02297-3.

Dimova, D., E. Marinkov, 1999. Experimental Work and Biometrics. Academic Publishing Agricultural University. Plovdiv, p. 194.

Georgiev, St., N. Ganusheva, St. Stamatov, M. Deshev, 2013. Approaches and methods such as model for breeding in self-pollinating crops. Academic Publishing Agricultural University. Plovdiv, p. 276.

Krasteva, L. St. Neykov, N. Velcheva, 2009. Assessment and management of the *Cucurbitaceae* collections in IPGR Sadovo. Proceeding of AGROECO 2009. Academic Publishing Agricultural University. Plovdiv. LIV, pp. 177-182.

Krasteva, L., I. Lozanov, S. Neykov, T. Todorova, 2002. *Cucurbitaceae* genetic resources in Bulgaria. Cucurbit Genetic Resources in Europe. Rome. Italy, pp. 8-11.

Krasteva, L., S. Angelova, Y. Guteva, K. Varbanova, 2007. Management and sustainable use of plant genetic resources. 125 years of Agricultural Science IPGR Sadovo. 1, pp. 43-48.

Murtazov, T. et al., 1980. Wide Unified Classifier and International Classifier of *Cucurbita pepo* L. var. *giromontia* Duch. Leningrad. Russia.

Onkov, K., D. Ganchev, 2010. Language for statistical programming R. 2010. Automation and Informatics. Sofia, 2, pp. 34-38.

Quick, J., 2010. The Statistical Analysis with *R* Beginners Guide. Packt Publishing. ISBN 1849512086.

Velcheva, N., 2013. Statistical analysis of genetic diversity using tomato database. Plant science. Sofia, 50. L. 1. Pp. 54-58.

ECPGR, 2008. Minimum descriptors for *Cucurbita* spp. Bioversity International. Rome, Italy.

FAO, 2009. A global treaty for food security and sustainable agriculture. International treaty on plant genetic resources for food and agriculture, p. 56.

Minister of Environment and Water of Bulgaria, 2013. The Nagoya Protocol on Access to Genetic Resources and the Fair and Equitable Sharing of Benefits Arising from their Utilization. Convention on Biological Diversity, Sofia, p. 27.