مجله علوم باغبانی ایران
دوره ۴۴، شماره ۳، ۱۳۹۲ (۳۰۰-۲۸۷)

ارزیابی تنوع ژنتیکی بین و درون توده‌های ملون ایران و رابطه آن‌ها با ژرم‌پلاسم مناطق دیگر دنیا با استفاده از نشانگرهای ریزماهواره

محمود رقامی[۱]، محمدرضا حسندخت[۲*]، ذبیح الله زمانی[۳]، محمدرضا فتاحی‌مقدم[۴]، عبدالکریم کاشی[۵] و آنا ایزابل لوپزسیز[۶]
۱، دانشجوی سابق دکتری،۲،۴، دانشیاران ۳، ۵، استادان گروه علوم باغبانی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، ۶، استاد بخش بهنژادی گیاهی موسسه میوه‌های نیمه‌گرمسیری و مدیترانه‌ای لامایورا، مالاگا، اسپانیا
(تاریخ دریافت: ۹۱/۴/۱۷ - تاریخ تصویب: ۹۱/۷/۱۶)

چکیده

مجموعه ۱۸ جفت آغازگر اس‌اس‌آر برای ارزیابی تنوع ژنتیکی در ۵۲ توده ملون شامل ۲۴ توده از گروه‌های مختلف باغبانی ملون ایران همراه با ۲۸ توده خارجی از کشورهای مختلف به‌کار گرفته شد. تمام جایگاه‌های ژنی ریزماهواره آزمون‌شده چندشکل بودند که مفید بودن آن‌ها برای تجزیه ژنتیکی ملون‌ها تایید گردید. تعداد ۱۴۱ آلل در میان کلیه ژنوتیپ‌های بررسی‌شده یافت شد که ۷۹ آلل با میانگین ۴/۳۸ آلل در هر جایگاه در توده‌های ایرانی دیده شد. مقادیر کم هتروزایگوتی مشاهده‌شده با میانگین ۰/۱۲ بیانگر تنوع پایین درون‌توده‌ای ملون‌های ایران است که حاکی از فقدان دگرگشنی بین توده‌ها یا نرخ بالای خویش‌آمیزی است. گزینش‌های پیاپی توسط کشاورزان برای حفظ اصالت توده‌ها ممکن است توضیحی برای مقدار نسبتا بالای هموزایگوتی مشاهده‌شده درون توده‌ها در این تحقیق باشد. مقادیر هموزایگوتی مشاهده‌شده برای توده‌های 'سوسکی‌سبز' و 'خاتونی' بعنوان عمده‌ترین توده‌های زیر کشت خربزه در ایران به‌ترتیب ۰/۹۸ و ۰/۹۹ بود. بالاترین میزان چندشکلی با ۱۰۰ درصد جایگاه ژنی چندشکل در توده‌های گروه دستنبو (Dudaim) یافت شد. میانگین فاصله ژنتیکی میان توده‌های ایرانی ۰/۶۷ بود. تجزیه خوشه‌ای توده‌های ایرانی را به دو گروه تقسیم کرد. توده‌های گرمک و طالبی با توده‌های خربزه در یک خوشه قرار گرفتند و جداشدن مشخص توده‌های دستنبو از سایر توده‌ها دیده شد، حتی دو گروه متفاوت دستنبو با صفات مختلف را از هم جدا نمود. فاصله ژنتیکی زیادی بین 'هانی‌دیو' بعنوان یکی از گسترده‌ترین ارقام خارجی خربزه و توده 'خاتونی' که یک توده ایرانی عمده در ایران است، وجود داشت. فاصله ژنتیکی زیاد بین توده‌های ایرانی نشان‌دهنده اهمیت آن ها برای نگهداری و استفاده در برنامه‌های بهنژادی است.

واژه‌های کلیدی: ***Cucumis melo***، **هموزایگوتی، دستنبو (Dudaim)، فاصله ژنتیکی**

مقدمه

ملون‌ها از محصولات باغبانی مهم هستند. نزدیک به ۵۰ درصد تولید سبزیجات در ایران مربوط به کدوئیان است و تولید ملون‌ها در سال ۲۰۱۰ در ایران حدود ۱/۳۱ میلیون تن بوده است (FAO. 2010). شواهد تاریخی نشان می‌دهد که ملون‌ها از حدود سده سوم پیش از میلاد در ایران کشت می‌شده‌اند (Walters,1989). منشأ تنوع ملون‌ها را غالباً آفریقا می‌دانند (Robinson & Decker-Walters, 1997; Stepansky et al., 1999)، اگرچه اخیراً پژوهش‌های سیستماتیک ملکولی پیشنهاد

* نویسنده مسئول: محمدرضا حسندخت تلفن: ۰۹۱۲۲۰۰۵۷۵۹ E-mail: mrhassan@ut.ac.ir

کرده است که احتمالاً آسیا منشأ تنوع بوده و از آنجا به آفریقا وارد شده است (Renner et al., 2007). ناحیه ای شامل آسیای مرکزی، ماورای قفقاز، ایران، افغانستان، هند، ترکمنستان، تاجیکستان و ازبکستان مرکز تنوع اولیه ملون‌ها در نظر گرفته می‌شود (Esquinas-Alcazar & Gulick, 1983). تنوع مورفولوژیکی گسترده ملون‌ها سبب ارائه رده‌بندی‌های فراوانی در طی ۱۵۰ سال گذشته شده است (Stepansky et al., 1999). در یکی از تازه‌ترین رده‌بندی‌ها (Pitrat et al., 2000) ۱۶ گروه زراعی برای گونه *C. melo* به شرح زیر پیشنهاد شده است: گروه‌های conomon, makuwa, chinensis, acidulous و momordica درون زیرگونه agrestis و گروه‌های cantalupensis, reticulatus, adana, chandalak, ameri, inodorus, flexuosus, chate, tibish, dudaim و chito درون زیرگونه melo. وی ضمن ارایه رده‌بندی خود اظهار داشت که ممکن است جدال برای حل رده‌بندی ملون‌ها هیچگاه پایان نگیرد. درون این گروه‌های گیاهشناسی که توسط Pitrat (2008) توصیف شده‌اند، گروه‌های زراعی مختلفی می‌تواند تعریف شود. برای نمونه انواع Piel de sapo درون *inodorus* قرار گرفته‌اند. گروه‌های گیاهشناسی ملون که طبق پیشنهاد Pitrat (2008) توصیف شده‌اند و در ایران موجود هستند عبارتند از:

***cantaloupensis* Naudin**

گل‌ها غالبا نردوجنسه هستند و میوه‌هایی پهن تا تخم مرغی، کاملا شیاردار با گوشت نارنجی گاهی سبز، معطر و شیرین و پوستی صاف دارند. میوه‌ها فرازگرا هستند و هنگام رسیدگی از دم جدا می‌شوند. رقم Charentais متعلق به این گروه است.

***reticulatus* Seringe**

این گروه نردوجنسه هستند. میوه‌هایی گرد تا تخم مرغی با پوست کاملا مشبک، با یا بدون شیار، گوشت نارنجی، معطر و شیرین دارند. میوه فرازگرا است. رقم Galia در این گروه جای دارد.

***inodorus* Jaquin**

گل‌ها نردوجنسه هستند. میوه‌های این گروه گرد تا بیضی، معمولاً بزرگتر و دیررس‌تر از سایر گروه‌ها و انبارداری بهتری دارند. سطح پوست آنها غالبا ناصاف، با یا بدون شیار ولی مشبک نیست، گوشت آنها سبز، سفید و شیرین و با عطر کم است. میوه هنگام رسیدگی از دم جدا نمی‌شود و میوه‌ها نافرازگرا هستند. رقم Honey dew نمونه این گروه است.

***dudaim* (L.) Naudin**

گل‌ها نردوجنسه هستند. میوه‌هایی گرد تا بیضی شکل، پوست زرد نواری و مخملی با گوشت سفید و بی‌مزه با عطر منحصر به‌فرد دارند و فرازگرا به‌شمار می‌آیند. انواع Dastanbou به این گروه تعلق دارد.

***ameri* Gabaev**

گل‌ها نردوجنسه هستند. میوه‌هایی کشیده و تخم مرغی‌شکل، پوست زرد تا سبز معمولا بدون شیار، پوست اندکی مشبک، گوشت سفید تا نارنجی کم‌رنگ و عطر کم و بسیار شیرین دارد. میوه فرازگرا است. بیشتر در آسیای مرکزی و غربی کشت می‌شود. نمونه این گروه Khatoni و Ananas هستند.

***flexuosus (L.)* Naudin**

گل‌ها یکپایه‌اند. میوه‌ها بلند، باریک، سبز روشن تا سبز تیره، شیاردار یا ناصاف، گوشت سفید تا نارنجی روشن و در حالت رسیده بدون عطر و غیرشیرین هستند. به‌صورت نارس استفاده می‌شوند و شبیه خیار هستند.

در ایران که از مراکز تنوع و نیز اهلی‌شدن ملون‌ها در جهان به‌شمار می‌آید و امروزه انواع گوناگون آن در سطح گسترده‌ای کشت می‌شوند، پنج نوع ملون متمایز و شناخته‌شده وجود دارد که شامل خربزه، طالبی، گرمک، دستنبو و خیارچنبر است. گروههای اصلی ملون‌های کشت‌شده در ایران خربزه و طالبی هستند. خربزه‌های ایرانی از دیگر ملون‌های متعلق به گروه اینودوروس از نظر داشتن سطح پوست شبکه‌ای و شکل میوه متمایز هستند. طالبی‌ها نسبت به خربزه از اهمیت کمتری در ایران برخوردارند، که دو نوع از آنها وجود دارد: کروی شکل با نوارهای دور میوه و گوشت نرم و اسفنجی و به طالبی مشهور است و گروه دیگر با نام گرمک که میوه آن‌ها بزرگتر با شیرینی کمتر و بدون نوار است و همیشه گوشت نارنجی دارند. گروه دستنبو میوه های زرد مایل به قرمز با نوارهای آجری‌رنگ، کروی یا بیضوی، بوی منحصر به فرد و اغلب گوشت بی‌مزه دارند. در گروه خیارچنبر میوه‌ها به‌صورت نارس استفاده می‌شوند و (از نظر مزه) شبیه خیار هستند.

با توجه به گروه‌بندی و توصیف گروه‌های گیاهشناسی توسط Pitrat (2008) به نظر می‌رسد ویژگی‌های طالبی و گرمک با گروه cantalupensis و reticulatus تطابق دارد. دستنبو و خیارچنبر نیز به‌ترتیب در گروه‌های dudaim و flexuosus قرار می‌گیرند. اما مشخصات خربزه که توده‌های مختلف آن بیشترین سطح زیر کشت و اهمیت اقتصادی را در ایران دارند، اگر چه تا حدودی به گروه inodorus و ameri نزدیک است، ولی به جهت مشبک بودن پوست و شکل میوه آن‌ها با هیچ‌یک از گروه‌های توصیف‌شده همخوانی ندارد.

قرار دادن توده خاتونی در گروهی به‌نام ameri نیز با ویژگی‌های این توده کاملا منطبق نیست، چرا که یکی از ویژگی‌های توصیف‌شده توسط پیترات برای این گروه داشتن میوه فرازگرا است، در حالی‌که میوه توده خاتونی همچون میوه‌های گروه اینودوروس نافرازگراست و از این نظر با رقم Ananas که نمونه دیگر گروه ameri بیان شده است، کاملا متفاوت می‌باشد.

به این ترتیب به نظر می‌رسد که قرار دادن توده خاتونی در این گروه با توجه به ویژگی بسیار مهمی چون رسیدن غیرکلیماکتریک میوه آن، چندان دقیق نباشد. هرچند برخی صفات توصیف‌شده برای گروه ameri مانند داشتن میوه‌هایی کشیده ، پوست زرد تا سبز، گوشت سفید و عطر کم و شیرین در مورد توده خاتونی نیز صادق است. با توجه به مشبک بودن پوست، شکل میوه و نیز ویژگی نافرازگرا بودن میوه خربزه‌های ایرانی که از این نظر از گروه cantalupensis متمایز می‌شود و از صفات شاخص خربزه‌های ایران است، می‌توان گفت که خربزه‌های ایران با وجود نزدیکی به گروه‌های inodorus و ameri، از نظر پوست شبکه‌ای و میوه‌های دوکی و گاهی تخم‌مرغی‌شکل و میوه نافرازگرا از سایر گروه‌ها متمایز هستند. بنابراین پیش از این، Lotfi & Kashi (1999) پیشنهاد کردند که این ملون‌ها گروهی متفاوتند و بایستی در گروه دیگری به نام ایرانینسیس قرار گیرند.

تنوع ژنتیکی بالایی در سطوح مولکولی و مورفولوژیک در گونه‌های ملون توصیف شده است (Akashi et al., 2002; Monforte et al., 2003; Stepansky et al., 1999).

در بررسی‌های تنوع ژنتیکی از آیزوزایم‌ها (Akashi et al., 2002)، آراف‌ال‌پی (Garcia-Mas et al., 2000)، رپید (Stepansky et al., 1999; López-Sesé et al., 2003; Staub et al., 2004; Tanaka et al., 2007) ای‌اف‌ال‌پی (Garcia-Mas et al., 2000) و اس‌اس‌آر (Katzir et al., 1996; Staub et al., 2000; Danin-Poleg et al., 2001; López-Sesé et al., 2002; Monforte et al., 2003; Nakata et al., 2005; Tzitzikas et al., 2009) برای بررسی میزان تنوع و رابطه میان گروه‌های نواحی مختلف استفاده شده است. نشانگر SSR پتانسیل بالایی در تشخیص چندشکلی و هتروزایگوتی در یک گونه دارد، به‌طوری‌که تشخیص آلل‌های بسیاری را در یک جایگاه ژنی ممکن می‌کند (Pawell et al., 1996). چند گزارش روی ساختار ژنتیکی ملون‌های ایرانی در دهه پیش منتشر شده است. با استفاده از نشانگر رپید Feyzian et al. (2007) نتوانستند گروه‌های باغبانی ملون را از یکدیگر تفکیک کنند.

در پژوهشی مشابه تنوع بسیار زیادی در بین ۳۰ توده خربزه بومی خراسان وجود داشت (Zamyad et al., 2004). همچنین با کاربرد نشانگر رپید روی ۲۰ توده ملون هشت گروه در سطح تشابه ۸۲ درصد آشکار شد اما گروه‌های مختلف به‌طور کامل از هم تفکیک نشدند (Salehi Najafabadi et al., 2010).

در گزارش دیگری روی ۳۲ توده خربزه ایرانی با ۱۵ نشانگر ریزماهواره، تنوع ژنتیکی بالایی در توده‌ها مشاهده شد و میانگین هتروزایگوتی مشاهده‌شده در توده‌ها ۰/۵۱ بود (Kouhpaygani & Behbahani, 2008). با استفاده از نشانگر رپید Soltani et al. (2010) تنوع ژنتیکی بالایی در گروه خیار چنبر مشاهده کردند.

کاربرد نشانگر بین‌ریزماهواره‌ای نیز برای ارزیابی تنوع ملون‌های ایران گزارش شده است (Fabriki Ourang et al., 2009).

در این گزارش‌ها به گروه دستنبو با توجه به اهمیت‌شان بعنوان منبع ژنتیکی برای بهنژادی ملون‌ها کمتر توجه شده است. در پژوهش حاضر، برای تعیین رابطه ژنتیکی بین ۲۴ توده ملون ایرانی متعلق به گروه‌های مختلف ملون و مقایسه آن‌ها با ۲۸ توده خارجی، تعیین میزان تنوع ژنتیکی بین و درون توده‌ها و

گروه‌های ملون برای ارزیابی ساختار جمعیت در توده‌های ایرانی و رابطه آنها با ملون‌های سایر نواحی کشت در دنیا از مجموعه‌ای از نشانگرهای ریزماهواره استفاده شده است.

مواد و روش‌ها

پژوهش حاضر قسمتی در گروه علوم باغبانی دانشگاه تهران و قسمتی نیز در بخش بهنژادی گیاهی موسسه میوه‌های نیمه‌گرمسیری و مدیترانه‌ای لامایورا در کشور اسپانیا به انجام رسید.

مواد گیاهی و استخراج دی‌ان‌ای

در پژوهش حاضر پنجاه و دو توده شامل: ۲۴ توده ایرانی از نواحی مختلف جغرافیایی ایران و ۲۸ ژنوتیپ خارجی (شامل ۱۵ رقم و ۱۳ توده) استفاده شد. گونه *C. metuliferus* که از اجداد جنس *Cucumis* است و گونه *C. africanus* که از گونه‌های مهم در آفریقا است، نیز برای بررسی رابطه ژنتیکی با توده‌های ملون ایران استفاده شد. توده‌های ایرانی از گروه‌های Inodorus، Cantalupensis و Dudaim بودند (جدول ۱ و شکل ۱). بذرهای هر ژنوتیپ در سینی‌های کشت حاوی ورمیکولایت در گلخانه‌ای با دمای°C ۲۴-۲۰ و شدت نور $۳۰۰\mu mol.m^{-2}.s^{-1}$ و دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی کشت شد.

در مرحله دو یا سه برگ حقیقی، بافت برگ ۱۵ گیاه مجزا از هر توده ایرانی برای استخراج دی‌ان‌ای بوسیله کیت دی‌نیازول گیاهی[1] استفاده شد. برای ژنوتیپ‌های خارجی دی‌ان‌ای به‌صورت بالک (پنج گیاه در هر ژنوتیپ) تهیه شد.

با توجه به این‌که در توده‌های ایرانی بررسی تنوع درون توده‌ها نیز مد نظر بود و لازم بود تا پارامترهای مربوط به تنـــوع ژنتیکی توده‌هـــای ملون ایران به‌ویژه پارامترهای همـــوزایگوتـــی و هتـــروزایگوتی مشاهده‌شده و مورد انتظار برای هر توده ارزیابی شود، بنابراین از دی‌ان‌ای گیاهان مجزا استفاده شد، اما در ژنوتیپ‌های خارجی نیاز به بررسی رابطه آن‌ها با توده‌های ایرانی بود که از دی‌ان‌ای ۵ گیاه به‌صورت بالک استفاده گردید.

غلظت و کیفیت دی‌ان‌ای استخراج شده بوسیله خواندن جذب در طول موج‌های ۲۳۰، ۲۶۰ و ۲۸۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر نانودراپ ND-100[2] تعیین شد. پس از تعیین غلظت دی‌ان‌ای استخراج شده، نمونه‌ها به غلظت نهایی ۱۰ ng/µl رسانده شد.

ارزیابی مولکولی

برای بررسی تنوع ژنتیکی ژنوتیپ‌های مورد مطالعه، از ۱۸ جایگاه ریزماهواره بر اساس آغازگرهای توصیف شده در ملون‌ها در مطالعات پیشین که توسط پژوهشگران مختلف پیشنهاد شده بودند، استفاده شد (Daning-Poleg et al., 2001; Ritschel et al., 2004; Gonzalo et al., 2005; Fukino et al., 2007).

ساخت آغازگرها توسط شرکت پرولیگو (Proligo, Paris, France) صورت گرفت. برای واکنش زنجیره‌ای پلیمراز از دستگاه ترموسایکلر بایورد[3] استفاده شد. چرخه‌های حرارتی واکنش‌های تکثیر جایگاه‌های اس‌اس‌آر با تغییراتی بسته به نوع آغازگر بدین صورت بود: مرحله واسرشت‌سازی اولیه در دمای °C ۹۴ به مدت دو تا سه دقیقه، سپس ۳۶ چرخه در دمای °C ۹۴ به مدت ۳۰-۱۵ ثانیه، °C ۶۰-۵۱ (بسته به آغازگر) برای مرحله اتصال به مدت ۳۰-۱۵ ثانیه و مرحله طویل شدن در °C ۷۲ به مدت ۳۰ ثانیه تا یک دقیقه. در پایان دمای دستگاه به °C ۴ رسانده شد.

اندازه قطعات دی‌ان‌ای تکثیرشده در پی‌سی‌آر برای نشانگرهای ریزماهواره استفاده‌شده، به روش کاپیلاری الکتروفورز با استفاده از دستگاه سیستم‌های آنالیزکننده دی‌ان‌ای (CEQ 8000/GenomeLab GeXP capillary DNA analysis systems, Beckman Coulter, Fullerton, CA, USA) ارزیابی شد. برای ردیابی در الکتروفورز کاپیلاری، آغازگرهای ریورس (برگشت) با استفاده از رنگ‌های فلورسنت WellRED (Proligo, Paris, France)، D2، D3 یا D4 نشان‌گذاری شدند. برای اطمینان از درستی و ثبات داده‌ها، تمام واکنش‌های پی‌سی‌آر و الکتروفورز کاپیلاری برای هر آغازگر حداقل دو بار تکرار شد.

1. Invitrogen, Germany

2. Nanodrop Technologies, Delaware, USA

3. Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA, USA

جدول ۱- توده‌ها و ژنوتیپ‌های ملون ایرانی و خارجی ارزیابی‌شده برای تنوع ژنتیکی

ردیف	نام توده	مکان گردآوری	گروه‌بندی باغبانی	شماره در تحلیل خوشه‌ای	منبع بذر
۱	سوسکی سبز	ایران- ایوانکی	Inodorus	1-Iran-In	کشاورز محلی
۲	خاتونی	ایران- تربت جام	Inodorus	2-Iran-In	کشاورز محلی
۳	تاشکندی	ایران- تربت حیدریه	Inodorus	3-Iran-In	بازار محلی
۴	اصفهان	ایران- اصفهان	Inodorus	4-Iran-In	NPGB
۵	قصری	ایران- مشهد	Inodorus	5-Iran-In	بازار محلی
۶	کرمان	ایران- کرمان	Inodorus	6-Iran-In	NPGB
۷	میرپنجی	ایران- نهاوند	Inodorus	7-Iran-In	بازار محلی
۸	زرد ایوانکی	ایران- ایوانکی	Inodorus	8-Iran-In	بازار محلی
۹	تبریز- ۱	ایران- تبریز	Inodorus	9-Iran-In	NPGB
۱۰	تبریز- ۲	ایران- تبریز	Inodorus	10-Iran-In	NPGB
۱۱	آق‌خرچه	ایران- زنجان	Inodorus	11-Iran-In	کشاورز محلی
۱۲	دستنبو آران۱	ایران- آران و بیدگل	Dudaim	12-Iran-Du	کشاورز محلی
۱۳	دستنبو کرمانشاه۱	ایران- کرمانشاه	Dudaim	13-Iran-Du	کشاورز محلی
۱۴	دستنبو کرمانشاه۲	ایران- کرمانشاه	Dudaim	14-Iran-Du	کشاورز محلی
۱۵	دستنبو کرمان۱	ایران- کرمان	Dudaim	15-Iran-Du	کشاورز محلی
۱۶	دستنبو کرمان۲	ایران- کرمان	Dudaim	16-Iran-Du	کشاورز محلی
۱۷	دستنبو آران۲	ایران- آران و بیدگل	Dudaim	17-Iran-Du	کشاورز محلی
۱۸	دستنبو بیرجند۱	ایران- بیرجند	Dudaim	18-Iran-Du	کشاورز محلی
۱۹	دستنبو زابل	ایران- زابل	Dudaim	19-Iran-Du	کشاورز محلی
۲۰	دستنبو کرد	ایران- سنندج	Dudaim	20-Iran-Du	کشاورز محلی
۲۱	دستنبو کرمانشاه۳	ایران- کرمانشاه	Dudaim	21-Iran-Du	کشاورز محلی
۲۲	دستنبو بیرجند۲	ایران- بیرجند	Dudaim	22-Iran-Du	کشاورز محلی
۲۳	گرمک	ایران- کرمان	Cantalupensis	23-Iran-Ca	کشاورز محلی
۲۴	طالبی	ایران- گلپایگان	Cantalupensis	24-Iran-Ca	NPGB
۲۵	Edisto-47	آمریکا	Cantalupensis	25-USA-Ca	CSIC
۲۶	Bola de oro	اسپانیا	Inodorus	26-Spn-In	CSIC
۲۷	Top mark	آمریکا	Cantalupensis	27-USA-Ca	CSIC
۲۸	PMR-45	آمریکا	Cantalupensis	28-USA-Ca	CSIC
۲۹	Hale's best jumbo	آمریکا	Cantalupensis	29-USA-Ca	CSIC
۳۰	TGR-1937	زیمبابوه	Agrestis	30-Zim-Ag	CSIC
۳۱	Enfurter netzmelone.1	آلمان	ND	31-Ger-ND	CSIC
۳۲	Sudbalkan-4	یونان	ND	32-Gre-ND	CSIC
۳۳	Honey dew	آمریکا	Inodorus	33-USA-In	CSIC
۳۴	Kiwano	نامشخص	*C. metuliferus*	34-Afr-metul	CSIC
۳۵	PI-414723	هند	Momordica	35-Ind-Mo	CSIC
۳۶	China-2	چین	ND	36-Chi-ND	CSIC
۳۷	India	هند	Flexuosus	37-Ind-Fl	CSIC
۳۸	Enfurter netzmelone.2	آلمان	ND	38-Ger-ND	CSIC
۳۹	Khiar	لیبی	ND	39-Lib-ND	CSIC
۴۰	Ginsen makuwa	ژاپن	Conomon	40-Jpn-Co	CSIC
۴۱	WMR-29	آمریکا	Cantalupensis	41-USA-Ca	CSIC
۴۲	PI-124112 –B	هند	Momordica	42-Ind-Mo	CSIC
۴۳	Fagus	لیبی	ND	43-Lib-ND	CSIC
۴۴	Rochet	اسپانیا	Inodorus	44-Spn-In	CSIC
۴۵	VC-51 Alficoz	اسپانیا	Flexuosus	45-Spn-Fl	CSIC
۴۶	Cantalupo de westland	هلند	Cantalupensis	46-Ned-Ca	CSIC
۴۷	Africanus	نامشخص	*C. africanus*	47-Nd-African	CSIC
۴۸	PI-505601	زامبیا	ND	48-Zam-ND	CSIC
۴۹	TGR-3000	زیمبابوه	Agrestis	49-Zim-Ag	CSIC
۵۰	PI-161375	کره جنوبی	Conomon	50-Kor-Co	CSIC
۵۱	Kirkagac	ترکیه	Inodorus	51-Tur-In	CSIC
۵۲	TGR-1551	زیمبابوه	Agrestis	52-Zim-Ag	CSIC

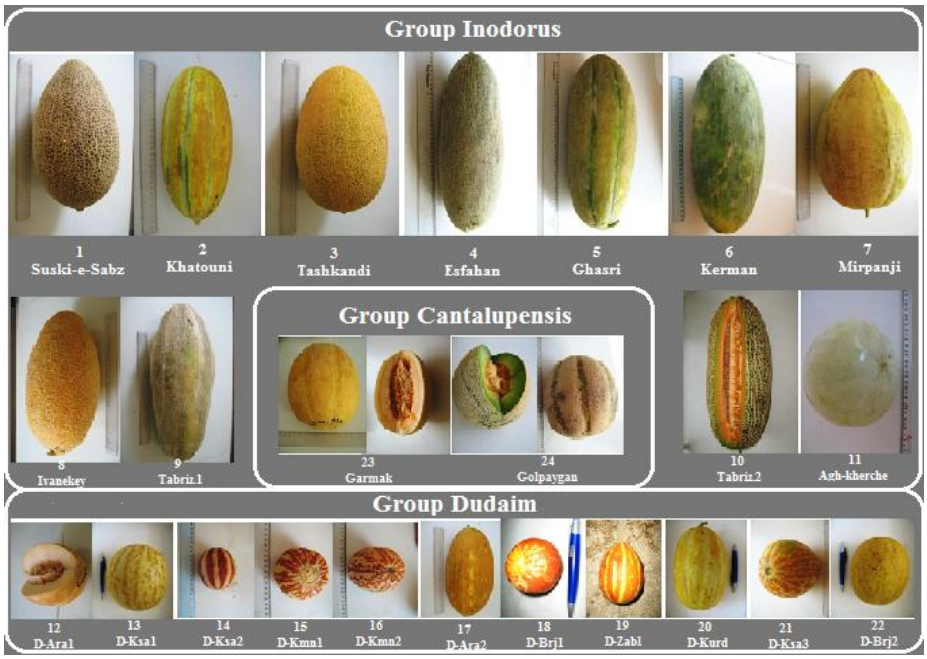
CSIC = بانک ژرم‌پلاسم موسسه میوه‌های نیمه‌گرمسیری و مدیترانه‌ای لامایورا (IHSM,CSIC-UMA)، (مالاگا، اسپانیا)؛ NPGB = بانک ژن گیاهی ملی ایران؛ ND = نامشخص

آنالیز داده‌ها

نشانگرهای اس‌اس‌آر بصورت همبارز امتیازدهی شدند. مقادیر آمار تنوع ژنتیکی (تعداد آلل مشاهده شده یا موثر، فراوانی آللی، تنوع ژنی نی، شاخص شانون، هتروزایگوتی مورد انتظار و مشاهده‌شده و چندشکلی) با استفاده از تخمین تکرارهای آللی بدست آمده جایگاه‌های اس‌اس‌آر بوسیله نرم‌افزار پاپ‌جین (Yeh et al., 1997) محاسبه شد. هتروزایگوتی مشاهده‌شده از طریق تقسیم

تعداد آل‌های هتروزایگوت بر تمام آل‌ها به‌دست آمد. آزمون کای‌اسکوار (۱: ۲: ۱) برای تعادل هاردی‌واینبرگ در هر جمعیت برای آل‌های اس‌اس‌آر محاسبه گردید.

ماتریس داده‌های ریزماهواره برای محاسبه فاصله نی (Nei, 1978) و برای ایجاد ماتریس فواصل ژنتیکی توده‌ها نیز بوسیله نرم‌افزار پاپ‌جین بدست آمد.



شکل ۱- میوه رسیده ملون‌های ارزیابی‌شده ایران، شماره توده‌ها بر اساس شماره توده در جدول ۱ می‌باشد.

تجزیه خوشه‌ای روی ماتریس فاصله ژنتیکی با استفاده از روش اتصال میانگین[1] برای تعیین روابط میان توده‌ها بر اساس تشابه تخمین زده شده توسط ضریب دایس و جاکارد و با استفاده از نرم‌افزار ان‌تی‌سیس (Rohlf, 2000) اجرا شد. ضریب تشابه جاکارد با ضریب کوفنتیک ۰/۹۴ نسبت به روش دیگر مقدار بیشتری نشان داد. بنابراین برای تجزیه خوشه‌ای از ماتریس تشابه حاصله بر اساس ضریب تشابه جاکارد که از قابلیت بالایی برای تحلیل نشانگرهای همبارز برخوردار است استفاده شد. مقادیر محتوای اطلاعات چندشکلی PIC از اس‌اس‌آر بکاررفته با فرمول $PIC = 1- \sum f_{ij}^2$ محاسبه شد که در آن f_{ij} فراوانی i امین آل برای j امین جایگاه اس‌اس‌آر است (Anderson et al., 1993). مقدار PIC تخمینی از قدرت جداکنندگی هر جایگاه با در نظر گرفتن تعداد آل در هر جایگاه و فراوانی نسبی آن آل‌ها در جمعیت است.

تجزیه واریانس مولکولی برای توصیف ساختار جمعیت بوسیله نرم‌افزار جین‌الکس ۶/۱ انجام شد.

نتایج و بحث

چندشکلی جایگاه‌های ریزماهواره

با کاربرد هجده جایگاه ژنی ۱۴۱ آل در میان تمام رقم‌ها و توده‌های آزمون‌شده با میانگین ۷/۸ آل در هر جایگاه ژنی شناسایی شد. از کل تعداد آل یافت شده برای تمام توده‌ها (ایرانی و خارجی) ۷۹ آل در توده‌های ایرانی و ۱۱۸ آل در میان ژنوتیپ‌های خارجی یافت شد که برخی از آن ها مشترک بودند. بنابراین وقتی ژنوتیپ‌های خارجی استفاده شد، ۶۲ آل به آل‌های شناسایی‌شده افزوده شد. برای کلیه ژنوتیپ‌ها در جایگاه‌های ژنی آزمون‌شده تعداد آل‌های متفاوتی (بین سه تا برای جایگاه‌های CMBR34 و CMN01-54 و ۱۴ تا برای CMCTN86 و CMBR98) مشاهده شد. تنوع اندازه آل‌ها در بازه ۱۰۷ تا ۲۶۰ جفت باز بود. تمام جایگاه‌های اس‌اس‌آر چندشکل بودند که تاییدکننده

1. Unweighted pair-group method using arithmetic averages (UPGMA)

سودمندی آن‌ها برای آنالیز ژنتیکی ملون‌های ایرانی است.

تنوع درون توده‌ای و تنوع ژنتیکی ملون‌های ایرانی

تمام آغازگرهای اس‌اس‌آر در توده‌های ایرانی برای توصیف تنوع ژنوتیپی مفید بودند. محتوای اطلاعات چندشکلی (PIC) با استفاده از تعداد و فراوانی آلل‌ها در هر جایگاه ژنی قدرت تفکیک آن‌را مشخص می‌کند (Anderson et al., 1993). مقادیر PIC برای جایگاه‌های ریزماهواره در بازه ۰/۱۹ تا ۰/۸۵ با میانگین ۰/۴۹ بود (جدول ۲). بر این اساس چهار جایگاه ریزماهواره بر اساس دارا بودن PIC بزرگتر از ۰/۷ بسیار مفید بودند. بیشترین مقدار PIC متعلق به جایگاه ژنیCMBR98 (۰/۸۵) و پس از آن مربوط به جایگاه‌های CMCT134b، CMCTN86 و TJ24 بود. این آغازگرها بهتر از بقیه توانستند فاصله ژنتیکی ژنوتیپ‌ها را آشکار سازند. ۱۸ جایگاه ریزماهواره آزمون‌شده در پژوهش حاضر برای تشخیص تمامی توده‌های آزمون‌شده کافی بود که نشان‌دهنده سودمندی نشانگرهای انتخابی برای بررسی تنوع ژنتیکی در میان توده‌های ارزیابی‌شده بود. بنابراین از این جایگاه‌های ژنی می‌توان برای آنالیز دیگر ژرم‌پلاسم‌های ملون ایران بهره گرفت. برای ۲۴ توده ایرانی ۷۹ آلل یافت شد که بین ۱۸ تا برای توده‌های 'خاتونی'، 'میرپنچی'، 'آق‌خرچه'، 'دستنبو کرمانشاه۱'، 'دستنبو کرمانشاه۲' و 'دستنبو بیرجند۱' تا ۴۷ تا برای توده 'دستنبو آران۲' بود. مقادیر میانگین برای آلل‌های مشاهده‌شده و موثردر هر توده به ترتیب ۱/۴۶ و ۱/۲۳ بود. میانگین تعداد آلل و آلل موثر برای جایگاه‌های ژنی آزمون‌شده در تمام نمونه‌ها (۵۲ توده ایرانی و خارجی) به‌ترتیب ۴/۱۱ و ۲/۳۸ بود. تفاوت بین تعداد آلل‌ها در هر جایگاه ژنی و تعداد آلل موثر به‌دست آمده نشان‌دهنده وجود آلل‌های کمیاب است که دارای فراوانی بسیار کم بوده و خاص یک یا چند ژنوتیپ هستند. از این آلل‌ها می‌توان به‌صورت ترکیبی برای چند جایگاه ژنی برای شناسایی ژنوتیپ‌های ملون ایرانی استفاده کرد.

میانگین تعداد آلل (۴/۱۱) و آلل‌های موثر (۲/۳۸) برای جایگاه‌های اس‌اس‌آر در ۲۴ توده ایرانی، نسبت به نتایج Daning-Poleg et al. (2001) که ۳/۵ آلل را با استفاده از ۳۰ جفت آغازگر اس‌اس‌آر در ۱۳ ژنوتیپ یافتند و نیز López-Sesé et al. (2002) با ۲/۴ آلل در ۱۵ ژنوتیپ ملون از اسپانیا و Tzitzikas et al. (2009) که ۲/۴۷ آلل در ۱۴ ژنوتیپ ملون از یونان و قبرس گزارش کردند، بیشتر بود. Monforte et al. (2003) تعداد ۶/۳ آلل در ۲۷ ژنوتیپ زراعی و وحشی ملون پیدا کردند که با میانگین تعداد آلل در ژنوتیپ‌های خارجی در پژوهش ما (۶/۵۵) مشابه بود. این تعداد آلل بالا در گزارش آنان ناشی از زیرگونه‌های متفاوتی از گونه *C. melo* بود که در ارزیابی خود به‌کار برده بودند. بالا بودن تعداد آلل شناسایی‌شده بیانگر تنوع بالاتر ژنوتیپ‌های ملون ایران نسبت به ملون‌های خارجی است. ۱۰۰٪ جایگاه‌های ژنی آزمون‌شده دارای چندشکلی بودند. در گزارش‌های پیشین میزان چندشکلی به‌دست‌آمده توسط Katzir et al. (1996) با کاربرد ۷ آغازگر اس‌اس‌آر روی هشت ژنوتیپ ۷۱ درصد و توسط Daning-Poleg et al. (2001) ۸۶ درصد بود، در حالی‌که Monforte et al. (2003) صد درصد چندشکلی یافتند که با نتایج ما یکسان بود. میزان بالای چندشکلی در این گزارش‌ها و پژوهش حاضر می‌تواند به‌دلیل انجام ارزیابی‌ها به صورت بین گروهی باشد. ارزیابی پارامترهای مختلف جمعیت توده‌های ایرانی برای شناسایی میزان تنوع درون‌توده‌ای با توجه به گروه‌بندی باغبانی (جدول ۳)، نشان داد که گروه دستنبو بیشترین میزان هتروزایگوتی مشاهده‌شده و مورد انتظار (به‌ترتیب ۰/۲۰۳ و ۰/۵۳) و بالاترین نسبت جایگاه‌های ژنی چندشکل (۱/۰۰) را در میان توده‌های ایرانی داشت. همچنین بیشترین آلل‌های اختصاصی (۱۷ آلل) در این گروه مشاهده شد.

آنالیز واریانس ملکولی توده‌های ایرانی نشانگر تنوع بین توده‌ای به‌مقدار ۱۳٪ بود که بیشتر تنوع ناشی از تفاوت درون توده‌ها (۸۷٪) بود. تنوع یافت‌شده مربوط به تفاوت بین گروه‌های باغبانی ملون (Inodorus، Cantalupensis و Dudaim) ۳٪ بدست آمد که نشان‌دهنده نزدیکی و شباهت‌های فراوان این گروه‌ها با همدیگر است (جدول ۴).

پارامترهای تنوع ژنتیکی توده‌های خارجی بیشتر از توده‌های ایرانی بود (به‌عنوان مثال مقدار PIC برای توده‌های ایرانی ۰/۴۹ در مقایسه با ۰/۶۳ برای

ژنوتیپ‌های خارجی). با توجه به این‌که ژنوتیپ‌های خارجی از گروه‌ها و گونه‌های مختلف جنس *Cucumis* و از نواحی مختلف جغرافیایی بودند، تنوع ژنتیکی موجود در میان توده‌های ایرانی به‌طور معنی‌داری با ژنوتیپ‌های خارجی قابل مقایسه است که بیانگر متنوع بودن توده‌های ایرانی است و از نظریه خاستگاه آسیایی ملون‌ها حمایت می‌کند (Renner et al., 2007).

جدول ۲- تنوع نشانگرهای اس‌اس‌آر آزمون‌شده برای تجزیه ژنتیکی ملون‌های ایرانی ارزیابی‌شده

جایگاه ژنی	تعداد آلل	اندازه آل‌ها (bp)	فراوانی آلل اصلی[1]	هتروزایگوتی مشاهده‌شده	هتروزایگوتی قابل انتظار	PIC[2]
CMBR106	۴	۱۴۰، ۱۴۴، ۱۴۸، ۱۵۰	۰/۶۸	۰/۱۵	۰/۴۹	۰/۴۹
CMN04_35	۳	۲۱۸، ۲۳۳، ۲۳۵	۰/۶۲	۰/۱۱	۰/۴۷	۰/۴۷
CMCTN86	۷	۱۸۳، ۱۸۵، ۱۹۱، ۱۹۵، ۱۹۷، ۲۰۳، ۲۰۵	۰/۳۵	۰/۲۱	۰/۷۳	۰/۷۳
CMTCN9	۵	۲۰۸، ۲۱۱، ۲۱۹، ۲۲۸، ۲۳۰	۰/۶۷	۰/۱۴	۰/۵۰	۰/۵۰
CMBR14	۸	۱۲۹، ۱۳۱، ۱۳۹، ۱۴۵، ۱۴۶، ۱۴۷، ۱۴۸، ۱۵۲	۰/۶۱	۰/۰۷	۰/۵۸	۰/۵۸
CMBR98	۱۰	۱۳۱، ۱۳۸، ۱۴۴، ۱۴۵، ۱۴۸، ۱۶۳، ۱۶۷، ۱۶۹، ۱۷۱، ۱۷۴	۰/۲۰	۰/۱۶	۰/۸۵	۰/۸۵
TJ24	۸	۱۴۱، ۱۶۱، ۱۶۳، ۱۶۶، ۱۶۸، ۱۷۱، ۱۷۴، ۱۷۷	۰/۳۵	۰/۱۲	۰/۷۲	۰/۷۲
CMN01_15	۲	۲۰۱، ۲۱۰	۰/۸۴	۰/۱۰	۰/۲۶	۰/۲۶
CMGT108	۴	۱۶۸، ۱۸۷، ۱۸۹، ۱۹۱	۰/۸۹	۰/۰۴	۰/۱۹	۰/۱۹
CMCTN7	۴	۱۱۳، ۱۲۷، ۱۲۹، ۱۳۱	۰/۵۲	۰/۱۹	۰/۵۵	۰/۵۵
CMCAN90	۲	۱۲۸، ۱۳۳	۰/۸۵	۰/۰۶	۰/۲۴	۰/۲۴
CMBR143	۴	۲۱۱، ۲۲۱، ۲۳۳، ۲۳۵	۰/۶۶	۰/۱۱	۰/۵۱	۰/۵۱
TJ31	۳	۱۹۷، ۱۹۹، ۲۰۷	۰/۷۳	۰/۰۴	۰/۴۰	۰/۴۰
CMATN22	۳	۱۶۴، ۱۶۶، ۱۶۸	۰/۶۷	۰/۱۶	۰/۴۶	۰/۴۶
CMCT134b	۵	۱۰۷، ۱۴۸، ۱۵۰، ۱۵۲، ۱۵۴	۰/۳۳	۰/۱۲	۰/۷۴	۰/۷۴
CMBR34	۲	۱۴۹، ۱۷۳	۰/۶۹	۰/۱۰	۰/۴۲	۰/۴۲
CMN01_54	۲	۲۰۳، ۲۰۹	۰/۶۴	۰/۱۲	۰/۴۶	۰/۴۶
CMN04_04	۳	۱۹۱، ۱۹۴، ۱۹۵	۰/۸۱	۰/۰۸	۰/۳۲	۰/۳۲
جمع	۷۹	-	-	-	-	-
میانگین	۴/۳۸	-	۰/۶۲	۰/۱۲	۰/۴۹	۰/۴۹

[1] Major allele frequency، [2] محتوای اطلاعات چندشکلی (Polymorphism information content)، $PIC = 1- \sum f_{ij}^2$

جدول ۳- پارامترهای ژنتیک جمعیت در گروه‌های باغبانی ملون‌های ایرانی ارزیابی‌شده

گروه‌بندی باغبانی	هتروزایگوتی مشاهده‌شده	هتروزایگوتی مورد انتظار	شاخص تثبیت[1]	میانگین تعداد آل‌ها	درصد جایگاه‌های چندشکل	آل‌های ویژه[2]
Inodorus	۰/۰۴۳	۰/۲۹	۰/۸۵	۰/۲۹	۰/۸۹	۱۱
Cantalupensis	۰/۰۶۴	۰/۱۳	۰/۵۲	۰/۶۹	۰/۳۳	۰
Dudaim	۰/۲۰۳	۰/۵۳	۰/۶۲	۰/۳۲	۱/۰۰	۱۷

[1] Fixation Index= 1-Obs-Het/Exp-Het، [2] تعداد آل‌هایی که فقط در آن گروه‌بندی باغبانی دیده می‌شود.

هتروزایگوتی بیانگر مقدار تنوع موجود در جمعیت و چگونگی توزیع آن در میان آل‌های یک جایگاه ژنی آزمون‌شده است. در پژوهش حاضر به‌طور کلی مقدار هتروزایگوتی کمی در محدوده ۰/۰۴ تا ۰/۲۱ برای همه جایگاه‌های ژنی مشاهده شد (جدول ۲). بیشترین مقدار هتروزایگوتی مشاهده‌شده در جایگاه ژنی CMCTN86 به‌مقدار ۰/۲۱ به‌دست آمد. مقادیر هتروزایگوتی مشاهده شده[1] (HO) با میانگین ۰/۱۲ در مقایسه با هتروزایگوتی مورد انتظار[2] (HE) (۰/۴۹) در تمام جایگاه‌های ژنی کمتر بود که نشان‌دهنده فزونی افراد هموزیگوت است. میانگین HO در هر جایگاه در توده‌های ایرانی آزمایش شده در این بررسی، بیشتر از مقادیر گزارش شده توسط López-Sesé et al. (2002) و Tzitzikas et al. (2009) بود که احتمالا ناشی از تنوع بیشتر ژنوتیپ‌های به‌کار رفته در این تحقیق است. تعداد نمونه‌های هتروزایگوت مشاهده‌شده در توده‌های ایرانی بین یک تا ۱۵ نمونه در هر توده (۶/۶ تا ۱۰۰ درصد) برای هر جایگاه ژنی بود. تعداد جایگاه‌های چندشکل درون توده‌ها از صفر در توده‌های 'میرپنچی'، 'دستنبو کرمانشاه۱' و 'دستنبو کرمانشاه۲' تا تمام جایگاه‌های ژنی در توده 'دستبو

1. Observed heterozyigosity
2. Expected heterozygosity

آران۲' متغیر بود. میانگین شاخص شانون در توده‌های ایرانی ۰/۱۹ بود. میانگین HO و HE در توده‌های ایرانی به‌ترتیب ۰/۸۸ و ۰/۸۶ بود و این پارامتر در چهار توده برابر یک بود (جدول ۵) که نشان داد تمام گیاهان به‌کار رفته برای تمام جایگاه‌های اس‌اس‌آر آزمون‌شده هموزایگوت بودند و به عبارتی هیچ هتروزایگوتی دیده نشد. میانگین هتروزایگوتی برای توده‌های ایرانی ۰/۱۲ بود (جدول ۲). میانگین هتروزایگوتی مورد انتظار نی (تنوع ژنتیکی در میان آلل‌ها) در توده‌ها ۰/۱۲۵ و از صفر تا ۰/۴۴۷ متغیر بود. پایین‌ترین مقدار برای این پارامتر در توده‌های 'میرپنجی'، 'دستنبو کرمانشاه۱' و 'دستنبو کرمانشاه۲' دیده شد که با توجه به مقدار هموزایگوتی بالای آن‌ها قابل انتظار بود (جدول ۵).

جدول ۴- آنالیز واریانس مولکولی (AMOVA) و تخمین اجزای واریانس

منبع تغییرات	درجه آزادی	مجموع مربعات	میانگین مربعات	اجزای واریانس	درصد واریانس
آنالیز بر اساس توده‌ها					
بین توده‌ها	۲۳	۶۳۸۱۳۰/۴	۲۷۷۴۴/۸	۷۶۰/۰	۱۳
درون توده‌ها	۶۸۳	۳۶۶۲۳۸/۸	۱۰۷۴۰/۹	۵۳۵۲/۹	۸۷
آنالیز بر اساس گروه‌بندی ملون‌ها					
بین گروه‌ها	۲	۷۷۷۲۷/۹	۳۸۸۶۳/۹	۱۶۱/۳	۳
درون گروه‌ها	۷۰۳	۴۲۲۲۶۴۱/۲	۱۲۰۱۸۰۸	۶۰۰۹/۴	۹۷

جدول ۵- پارامترهای مربوط به تنوع ژنتیکی توده‌های ایرانی ملون ارزیابی‌شده با ۱۸ جایگاه ریزماهواره

نام توده	Na[۱]	Ne[۲]	Ta[۳]	I[۴]	Obs_Hom[۵]	Obs_Het[۶]	Exp_Hom[۷]	Exp_Het[۸]	Nei[۹]	Polym[۱۰]
سوسکی‌سبز	۱/۰۵	۱/۰۵	۱۹	۰/۰۳	۰/۹۸	۰/۰۱۸	۰/۹۷	۰/۰۲	۰/۰۲۷	۵/۵
خاتونی	۱/۰۵	۱/۰۰	۱۸	۰/۰۰۹	۰/۹۹	۰/۰۰۴	۰/۹۹	۰/۰۰۴	۰/۰۰۴	۵/۵
تاشکندی	۱/۱۱	۱/۰۰	۲۰	۰/۰۱۶	۰/۹۹	۰/۰۰۷	۰/۹۹	۰/۰۰۷	۰/۰۰۷	۱۱/۱
اصفهان	۱/۱۱	۱/۰۳	۲۰	۰/۰۳	۰/۹۹	۰/۰۰۳	۰/۹۷	۰/۰۲	۰/۰۲۱	۱۱/۱
قصری	۱/۲۷	۱/۰۲	۲۲	۰/۰۴	۰/۹۸	۰/۰۱۸	۰/۹۸	۰/۰۱	۰/۰۱۷	۲۷/۸
کرمان	۱/۵۵	۱/۱۶	۲۸	۰/۱۸	۰/۹۰	۰/۰۹۹	۰/۸۸	۰/۱۱	۰/۱۱۱	۴۴/۴
میرپنجی	۱/۰۰	۱/۰۰	۱۸	۰/۰۰	۱/۰۰	۰/۰۰	۱/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۰
زرد ایوانکی	۱/۴۴	۱/۲۷	۲۶	۰/۲۲	۰/۸۹	۰/۱۰۷	۰/۸۵	۰/۱۴	۰/۱۴۲	۳۳/۳
تبریز۱	۲/۰۰	۱/۱۹	۳۶	۰/۲۳	۰/۸۶	۰/۱۳۳	۰/۸۶	۰/۱۳	۰/۱۲۷	۷۷/۸
تبریز۲	۱/۵۰	۱/۰۸	۲۴	۰/۱۳	۰/۹۱	۰/۰۸۱	۰/۹۲	۰/۰۷	۰/۰۷۳	۵۰/۰
آق‌خرچه	۱/۰۵	۱/۰۰	۱۸	۰/۰۱	۱/۰۰	۰/۰۰	۰/۹۹	۰/۰۰۷	۰/۰۰۶	۵/۵
دستنبو آران۱	۱/۵۰	۱/۳۴	۲۷	۰/۲۸	۰/۸۲	۰/۱۷۷	۰/۷۹	۰/۲۰	۰/۱۹۴	۵۰/۰
دستنبو کرمانشاه۱	۱/۰۰	۱/۰۰	۱۸	۰/۰۰	۱/۰۰	۰/۰۰	۱/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۰
دستنبو کرمانشاه۲	۱/۰۰	۱/۰۰	۱۸	۰/۰۰	۱/۰۰	۰/۰۰	۱/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۰
دستنبو کرمان۱	۱/۵۵	۱/۴۹	۲۸	۰/۳۶	۰/۷۴	۰/۲۵۵	۰/۷۳	۰/۲۶	۰/۲۵۸	۵۵/۵
دستنبو کرمان۲	۲/۱۶	۱/۷۳	۳۹	۰/۵۶	۰/۶۳	۰/۳۷۰	۰/۶۱	۰/۳۸	۰/۳۷۵	۸۳/۳
دستنبو آران۲	۲/۶۱	۱/۹۲	۴۷	۰/۷۰	۰/۵۶	۰/۴۳۳	۰/۵۳	۰/۴۶	۰/۴۴۷	۱۰۰
دستنبو بیرجند۱	۱/۰۵	۱/۰۰	۱۸	۰/۰۰۸	۰/۹۹	۰/۰۰۳	۰/۹۹	۰/۰۰۳	۰/۰۰۳	۵/۵
دستنبو زابل	۲/۲۷	۱/۷۲	۴۱	۰/۵۹	۰/۶۹	۰/۳۰۷	۰/۶۰	۰/۳۹	۰/۳۸۶	۹۴/۴
دستنبو کرد	۲/۰۵	۱/۵۱	۳۷	۰/۴۲	۰/۷۰	۰/۲۹۶	۰/۷۱	۰/۲۸	۰/۲۷۱	۷۷/۸
دستنبو کرمانشاه۳	۱/۲۷	۱/۱۰	۲۳	۰/۰۸	۰/۹۳	۰/۰۶۶	۰/۹۵	۰/۰۴	۰/۰۴۵	۲۲/۲
دستنبو بیرجند۲	۲/۰۵	۱/۷۳	۳۷	۰/۵۵	۰/۶۷	۰/۳۲۸	۰/۶۱	۰/۳۸	۰/۳۷۰	۸۳/۳
گرمک	۱/۲۷	۱/۲۲	۲۴	۰/۱۷	۰/۸۸	۰/۱۲۰	۰/۸۷	۰/۱۳	۰/۱۲۳	۲۷/۸
طالبی گلپایگان	۱/۲۲	۱/۰۱	۲۲	۰/۰۳	۰/۹۸	۰/۰۱۵	۰/۹۸	۰/۰۱	۰/۰۱۵	۲۲/۲
میانگین	۱/۴۶	۱/۲۳	۲۶/۱۶	۰/۱۹	۰/۸۸	۰/۱۱۸	۰/۸۶	۰/۱۳	۰/۱۲۵	۳۷/۲۵

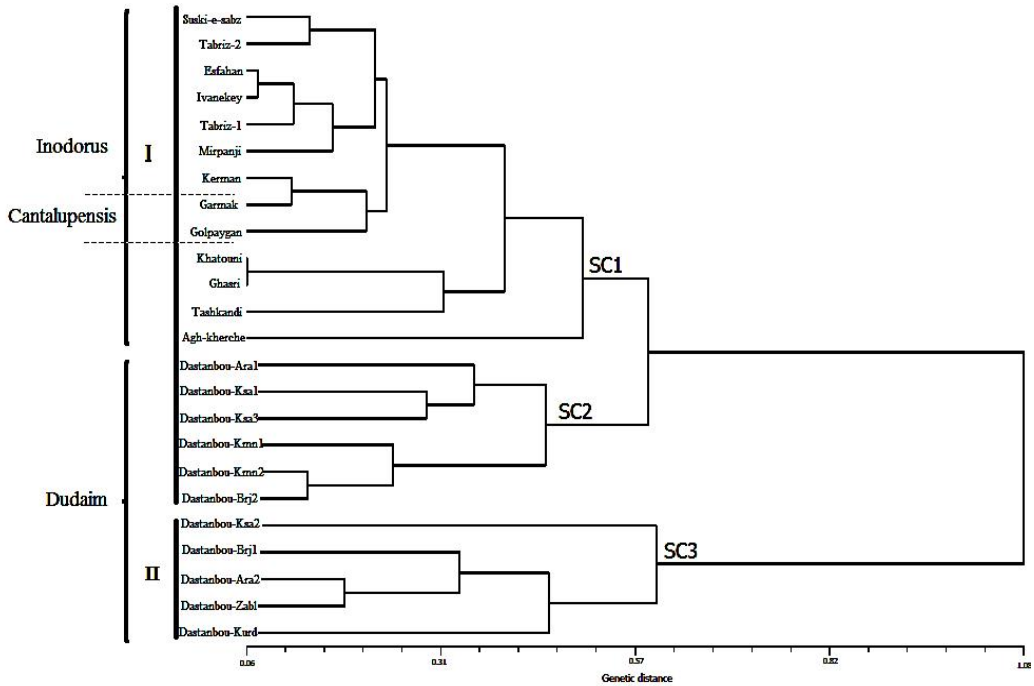
[۱] تعداد آلل‌های مشاهده‌شده، [۲] تعداد آلل موثر، [۳] همه آلل‌های شناسایی‌شده با ۱۸ جایگاه ریزماهواره برای هر توده، [۴] شاخص اطلاعات شانون، [۵و۶] هموزایگوتی و هتروزایگوتی مشاهده‌شده، [۷و۸] هموزایگوتی و هتروزایگوتی مورد انتظار، [۹] هتروزایگوتی مورد انتظار نی (۱۹۷۳)، [۱۰] درصد جایگاه‌های چندشکل

توده‌های ایرانی آزمون‌شده در این پژوهش، غالبا توسط کشاورزان کشت و نگهداری می‌شوند. بنابراین دگرگرده‌افشانی با سایر توده‌ها و در نتیجه سطح بالای هتروزایگوتی قابل انتظار است. اما نتایج حاضر مقادیر پایین هتروزایگوتی را درون توده‌های ایرانی نشان داد که نشانگر فقدان دگرگشنی با سایر توده‌ها و یا سطوح بالای خودگرده‌افشانی درون توده‌ها بود. تنوع کم درون توده‌ها با میزان هتروزایگوتی مشاهده شده بین جایگاه‌های ژنی

به مقدار ۰/۱۲ منعکس شده است که کمتر از مقدار مورد انتظار برای تمام نشانگرهاست (جدول ۲). در چهار توده 'میرپنچی'، 'آق‌خرچه'، 'دستنبو کرمانشاه۱' و 'کرمانشاه۲' ۱۰۰ درصد HO دیده شد. مقدار این پارامتر برای توده‌های 'سوسکی‌سبز' و 'خاتونی' به‌عنوان عمده‌ترین انواع زیر کشت خربزه در ایران به‌ترتیب ۰/۹۸ و ۰/۹۹ بود. این نتایج با یافته‌های López-Sesé et al. (2002) و Tzitzikas et al. (2009) برای توده‌های ملون اسپانیا و یونان شبیه بود که به استفاده از بذور مشابه در میان کشاورزان یا عمل گزینش توسط آن‌ها نسبت داده شده است (Staub et al., 2004). از طرفی اگر دگرلقاحی صورت گرفته است، کشاورزان کوشیده‌اند اصالت توده‌ها را حفظ کنند شاید برای اینکه صفات میوه را به دلیل ترجیح مصرف‌کنندگان همچنان نگهداری کنند و این رویداد ممکن است توضیحی برای مقدار نسبتا بالای HO درون توده‌ها در این تحقیق باشد. همچنین مقدار تعادل هاردی- واینبرگ برای هیچ‌کدام از جایگاه‌های ژنی اس‌اس‌آر در توده‌های ایرانی آزمون‌شده معنی‌دار نبود که ممکن است ناشی از انتخاب مصنوعی باشد که به نفع یک آلل و از دست دادن یک آلل دیگر منجر شده است.

رابطه ژنتیکی بین توده‌های ایرانی

دندروگرام بدست‌آمده برای توده‌های ایرانی (شکل ۲) دو گروه عمده را نشان داد، به‌طوری‌که دو زیرخوشه (SC_1 و SC_2) در خوشه نخست و یک زیرخوشه (SC_3) در خوشه دوم مشخص شد.



شکل ۲- گروه‌بندی خوشه‌ای ملون‌های ایرانی به روش UPGMA با استفاده از فاصله ژنتیکی تخمین‌زده شده نی با کاربرد ۱۸ جایگاه ریزماهواره

زیرخوشه نخست شامل سیزده توده همه از گروه Inodorus و Cantalupensis بود. در این زیرخوشه ارتباط مشخصی با منشأ جغرافیایی توده‌ها دیده شد. به‌طوری‌که برخی از ژنوتیپ‌های ایرانی متعلق به یک ناحیه جغرافیایی در کنار هم گروه‌بندی شدند (به‌عنوان نمونه توده‌های استان خراسان از توده‌های اصفهان و سمنان جدا گروه‌بندی شدند). سه بخش هر کدام حاوی توده‌های مناطق شمال شرق (مشهد، تربت‌حیدریه و تربت‌جام)، جنوب شرق (کرمان) و مرکز و غرب (اصفهان، ایوانکی، نهاوند و تبریز) در گروه‌های جداگانه قرار گرفتند. توده‌های گرمک و طالبی (Cantalupensis) با توده‌های خربزه (Inodorus) در زیرخوشه SC_1 قرار گرفتند که با نتایج López-Sesé et al. (2002) در ملون‌های اسپانیا، Tzitzikas et al. (2009) در ملون‌های

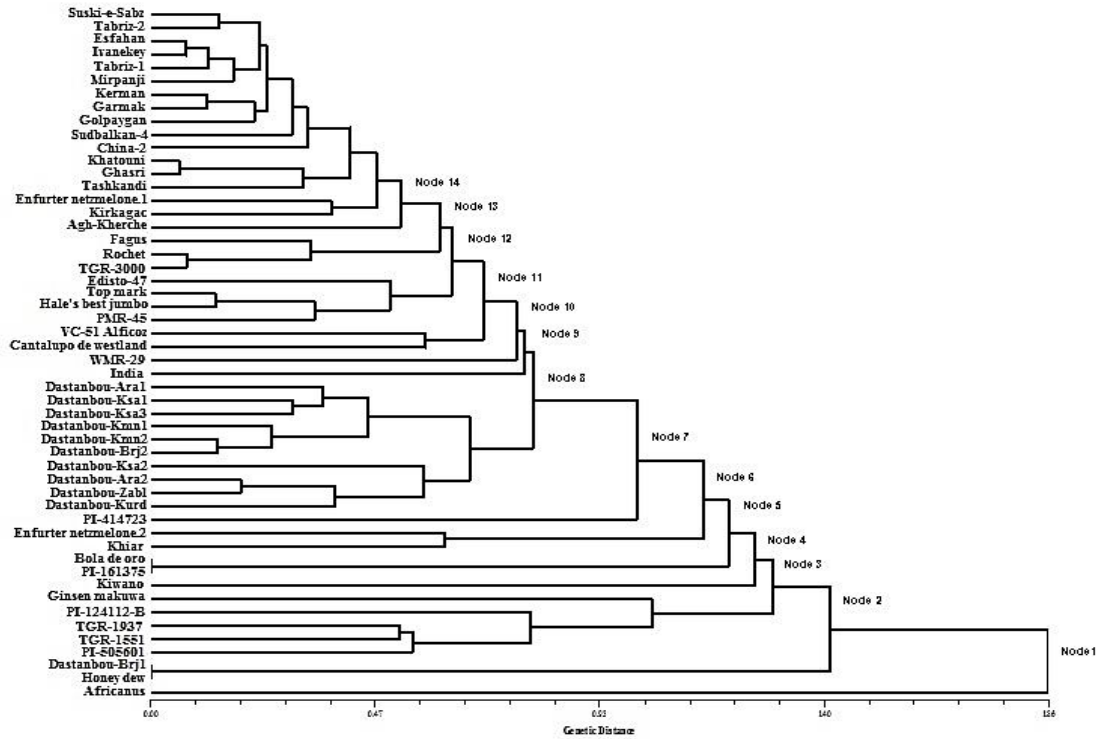
قبرس و یونان و Monforte et al. (2003) در انواع ملون‌های وحشی و زراعی تطابق داشت.

در گزارش Silberstein et al. (1999) نیز ژنوتیپ‌های این دو گروه با وجود تفاوت‌هایی در رسیدن کلیماکتریک، عمر انباری، عطر میوه و جدا شدن دمگل تمایزی از هم نشان ندادند. تبادلات زیاد ژنومی بین گروه‌های مختلف در گونه *melo* و وجود انواع بینابین این گروه‌ها می‌تواند مانع از تفکیک شده باشد. در مطالعات انجام‌یافته با نشانگر رپید روی ملون‌های ایران نیز چنین نتایجی گزارش شده بود (Feyzian et al., 2007; Soltani et al., 2010). نتایج حاضر جداسازی مشخص گروه Dudaim را از سایر توده‌های ایرانی نشان داد و حتی دو گروه مختلف دستنبو با صفات متفاوت را از هم جدا کرد. زیرخوشه SC_2 شامل شش توده دستنبو با میوه شیرین، زودرس و بزرگ‌تر از سایر توده‌های دستنبو و زیر خوشه SC_3 شامل پنج توده دستنبو با میوه‌های کوچک و بی‌مزه و غیرخوراکی بود. توده‌های زیرخوشه SC_2 از گروه Dudaim که اغلب میوه‌های خوراکی داشتند با توده‌های زیرخوشه SC_1 شامل انواع خربزه و طالبی گروه‌بندی شدند. در تحقیقات پیشین وقتی نشانگرهای رپید به‌کار گرفته شد (Soltani et al., 2010)، توده‌های دستنبوی ژرم‌پلاسم ایران به‌وضوح از توده‌های خربزه متمایز نشدند. این تفاوت ممکن است نتیجه ژرم‌پلاسم‌های متفاوت آزمون‌شده و یا توانایی بالاتر جداسازی نشانگرهای اس‌اس‌آر در مقایسه با رپید باشد. امکان دگرگشنی بین گروه‌های دستنبو و خربزه یا طالبی و ایجاد توده‌های بینابینی و گزینش بعدی انواع با میوه خوراکی به‌وسیله کشاورزان را باید در نظر گرفت. میانگین فاصله ژنتیکی بین توده‌های ایرانی نسبتاً بالا بود (۰/۶۷۴) و فواصل ژنتیکی در بازه ۰/۰۵۸۱ تا ۶/۲۸۶ قرار داشت. نزدیک‌ترین توده‌ها به هم 'خاتونی' و 'قصری' با فاصله ژنتیکی ۰/۰۵۸۱ و دورترین توده‌ها از هم 'آق‌خرچه' و 'دستنبو بیرجند۱' با فاصله ۶/۲۸۶ بود. دورترین توده از سایر توده‌های ایرانی 'دستنبو بیرجند۱' با میانگین فاصله ژنتیکی ۲/۰۱۱ بود. در گزارش López-Sesé et al. (2002) میانگین فاصله ژنتیکی بین ملون‌های اسپانیا ۰/۲۸۵ و بیشترین فاصله ژنتیکی بین ژنوتیپ‌ها ۰/۴۹۱ بود، در حالی‌که در پژوهش حاضر میانگین فاصله توده‌های ایرانی ۰/۶۷۴ بود و ۲۴/۱ درصد از توده‌ها با همدیگر فاصله‌ای بیش از ۰/۵۰ نشان دادند. این فاصله ژنتیکی زیاد نشان از تنوع زیاد در توده‌های ایرانی است. توده‌های آزمون‌شده ایرانی بر خلاف ژنوتیپ‌های تجاری خارجی نتیجه تلاقی‌های کنترل‌شده بین چند رقم نیست و غالبا از گرده‌افشانی آزاد به‌دست آمده‌اند که در شرایط آب و هوایی گوناگون ایران پرورش یافته‌اند. این امر می‌تواند دلیلی بر تنوع ژنتیکی بیشتر این ژنوتیپ‌ها باشد. چنین تنوع گسترده‌ای در گزارش‌های علمی دیگر روی ملون‌های سایر مناطق دنیا دیده نشده است.

رابطه ژنتیکی بین توده‌های ایرانی و خارجی

تعداد کل آلل‌های مشاهده‌شده و موثر برای جایگاه‌های اس‌اس‌آر در ۵۲ توده بررسی شده (ایرانی و خارجی) به ترتیب ۴/۱۱ و ۲/۳۸ بود. همانطور که انتظار می‌رفت ژنوتیپ‌های خارجی که از طیف گسترده‌ای از گروه‌ها و گونه‌های جنس *Cucumis* از مناطق مختلف جغرافیایی بودند، تنوع ژنتیکی بیشتری از توده‌های ایرانی داشتند (با میانگین ۶/۵۵ در مقابل ۴/۰۵ آلل در هر جایگاه ژنی). علاوه بر این فراوانی‌های آللی در توده‌های خارجی تعادل بیشتری داشت (میانگین فراوانی آلل اصلی ۰/۵۱ برای توده‌های خارجی در مقایسه با ۰/۶۲ در توده‌های ایرانی). جایگاه‌های ریزماهواره آزمون‌شده در ژنوتیپ‌های خارجی با میانگین PIC برابر ۰/۶۳ در مقایسه با ۰/۴۹ در توده‌های ایرانی سودمندی بیشتری داشت (جدول ۲). بر اساس تجزیه خوشه‌ای توده‌های ملون ایرانی و خارجی (شکل ۳)، همان‌طور که انتظار می‌رفت افریکانوس *(Cucumis africanus)* بدلیل تعلق به گونه‌ای متفاوت از *melo*، دورترین ژنوتیپ بود. ژنوتیپ‌های گروه کونومون (Ginsen makuwa و PI-161375)، گروه موموردیکا (PI-414723 و PI-124112-3)، زیرگونه اگرستیس (TGR-1937 و TGR-1551) و ژنوتیپ افریکانوس *(Cucumis africanus)* و کیوانو (*Cucumis metuliferus*)مکان‌های کاملا مجزایی را به خود اختصاص دادند. خوشه‌بندی نسبتا مشخصی بین گروه‌های خربزه و طالبی با سایر ژنوتیپ‌ها وجود داشت. چهار ژنوتیپ خارجی نزدیک (شامل Sudbalkan-4 ، Kirkagac، Enfurter netzmelone.1 و China-2) در

زیرخوشه ۱۴ با توده‌های ایرانی گروه خربزه و طالبی قرار داشتند. نه توده ایرانی گروه خربزه و طالبی در یک زیرخوشه و به همراه هم بودند، هر چند از نواحی مختلفی جمع‌آوری شده بودند و در هر دو دندروگرام (شکل ۲ و ۳) در مکان مشابهی قرار گرفتند، به جز دو ژنوتیپ خارجی که بین توده 'طالبی گلپایگان' و 'خاتونی' و دو ژنوتیپ دیگر خارجی که بین توده‌های 'تاشکندی' و 'آق‌خرچه' بودند. توده‌های خربزه ایرانی تفاوت‌هایی از جمله سطح پوست مشبک، گوشت ترد و شکل‌های متنوع میوه با 'هانی‌دیو' به عنوان شناخته‌شده‌ترین عضو گروه Inodorus در سطح دنیا دارند. بر اساس نتایج این پژوهش، بین 'هانی‌دیو' و 'خاتونی' که یکی از عمده‌ترین توده‌های زیر کشت خربزه ایران است، فاصله ژنتیکی زیادی وجود داشت (GD =۰/۸۰۹). دیگر ژنوتیپ‌های خارجی نیز با توده‌های ایرانی فاصله ژنتیکی زیادی داشتند. از آن‌جایی‌که این ویژگی‌های خربزه‌های ایرانی در دیگر گروه‌های گونه *melo* ذکر نشده است، طبق پیشنهاد Lotfi & Kashi (1999) بهتر است این انواع در گروه جداگانه‌ای به‌نام ایرانینسیس قرار گیرند. موقعیت نسبی توده‌های دستنبوی ایرانی در دو دندروگرام به‌دست‌آمده (شکل ۲ و ۳) به استثنای توده 'دستنبو بیرجند۱' همانند است. در میان تمام ژنوتیپ‌های ارزیابی شده (ایرانی و خارجی) شبیه‌ترین ژنوتیپ‌ها به هم توده 'دستنبو بیرجند۱' با 'هانی‌دیو' و 'Bola de oro' با 'PI-161375' (GD =۰/۰) بود. بیشترین عدم تشابه بین دو توده 'دستنبو کرمانشاه۲' و 'افریکانوس' با فاصله ژنتیکی ۳/۴۷۵ مشاهده شد.



شکل ۳- گروه‌بندی خوشه‌ای ۵۲ توده ایرانی و خارجی به‌روش UPGMA با استفاده از فاصله ژنتیکی تخمین‌زده شده نی با کاربرد ۱۸ جایگاه ریزماهواره

نتیجه‌گیری کلی

بیشتر بودن تعداد آلل شناسایی‌شده در ملون‌های ایران نسبت به پژوهش‌های مشابه روی ملون‌های خارجی بیانگر تنوع بالاتر آن‌ها نسبت به ملون‌های خارجی است، از طرفی مقادیر کم هتروزایگوتی مشاهده‌شده با میانگین ۰/۱۲ نشان‌دهنده تنوع پایین درون‌توده‌ای ملون‌های ایران است. مقادیر هموزایگوتی مشاهده‌شده برای توده‌های ایرانی به‌ویژه در گروه خربزه و طالبی بالا بود

که نشان‌دهنده یکنواختی بالای این توده‌هاست. در گروه‌بندی خوشه‌ای، توده‌های گرمک و طالبی با توده‌های خربزه در یک خوشه قرار گرفتند و توده‌های دستنبو در دو زیرخوشه مختلف قرار گرفتند که از ایده اختلاط بین گروه خربزه با طالبی و سلکسیون بعدی توسط کشاورزان حمایت می‌کند. همچنین جداسازی مشخص توده‌های گروه دستنبو از سایر توده‌ها دیده شد و نیز دو گروه متفاوت از دستنبوها با صفات مختلف جدا گروه‌بندی شدند.

REFERENCES

1. Akashi, Y., Fukuda, N., Wako, T., Masuda, M. & Kato, K . (2002). Genetic variation and phylogenetic relationships in East and South Asian melons, *Cucumis melo* L., based on the analysis of five isozymes. *Euphytica*, 125, 385-396.
2. Anderson, J. A., Churchill, G. A., Autrique, J. E., Tanksley, S. D. & Sorrels, M. E. (1993). Optimizing parental selection for genetic linkage maps. *Genome*, 36, 181-186.
3. Aubert, C. & Pitrat, M. (2006). Volatile compounds in the skin and pulp of queen Anne's pocket melon. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 54, 8177-8182.
4. Daning-Poleg, Y., Reis, N., Baudracco-Arnas, S., Pitrat, M., Staub, J. E., Oliver, M., Arús, P., de Vicente, C. M. & Katzir, N. (2001). Development and characterization of microsatellite markers in *Cucumis*. *Theoretical Applied Genetics*, 102, 61-72.
5. Esquinas-Alcazar, J. T. & Gulick, P. J. (1983). *Genetic Resources of Cucurbitaceae: A Global Report*. IBPGR, Rome.
6. Fabriki Ourang, S., Shams-bakhsh, M., Jalali Javaran & Ahmadi, J. (2009). Analysis of genetic diversity of Iranian melons (*Cucumis melo* L.) using ISSR markers. *Iranian journal of biology*, 22(2), 343-352. (In Farsi).
7. F.A.O., (2010). FAOSTAT agricultural database. http://apps.fao.org
8. Feyzian, E., Javaran, M. J., Dehghani, H. & Zamyad, H. (2007). Analysis of the genetic diversity among some of Iranian melon (*Cucumis melo* L.) landraces using morphological and RAPD molecular markers. *Journal of Science & Technology of Agriculture and Natural Resources*, 11, 151-162. (In Farsi)
9. Fukino, N., Sakata, Y., Kunihisa, M. & Matsumoto, S. (2007). Characterization of novel simple sequence repeat (SSR) markers for melon (*Cucumis melo* L.) and their use for genotype identification. *Journal of Horticultural Sciences and Biotechnology*, 82, 330-334.
10. Garcia-Mas, J., Oliver, M., Gomez-Paniagua, H. & De Vicente, M. C. (2000). Comparing AFLP, RAPD and RFLP markers for measuring genetic diversity in melon. *Theoretical Applied Genetics*, 101, 860-864.
11. Gonzalo, M. J., Oliver, M., García-Mas, J., Monfort, A., Dolcet-Sanjuan, R., Katzir, N., Arús, P. & Monforte, A. J. (2005). Simple-sequence repeat markers used in merging linkage maps of melon (*Cucumis melo* L.). *Theoretical Applied Genetics*, 110, 802-811.
12. Katzir, N., Danin-Poleg, Y., Tzuri, G., Karchi, Z., Lavi, U. & Cregan, P. B. (1996). Length polymorphisms and homologies of microsatellites in several Cucurbitaceae species. *Theoretical Applied Genetics*, 93, 1282-1290.
13. Kouhpaygani, J. A. & Behbahani, M. (2008). Genetic diversity of some populations of Iranian melon using SSR markers. *Biotechnology*, 7(1), 19-26.
14. Lotfi, M, & Kashi, A. (1999). The Iranian melon as a new cultivar group. In: Andrews, S. Leslie, A. G. & Alexander, C. (Editors). *Taxonomy of Cultivated Plants: Third Intenational Symposium*. Royal Botanic Gardens, Kew, pp. 447-449.
15. López-Sesé, A. I., Staub, J. E., Katzir, N. & Gómez-Guillamón, M. L. (2002). Estimation of between and within accession variation in selected Spanish melon germplasm using RAPD and SSR markers to assess strategies for large collection evaluation. *Euphytica*, 127, 41-51.
16. López-Sesé, A. I., Staub, J. E. & Gómez-Guillamón, M. L. (2003). Genetic analysis of Spanish melon (*Cucumis melo* L.) germplasm using a standardized molecular marker array and reference accessions. *Theoretical Applied Genetics*, 108, 41-52.
17. Monforte, A. J., Garcia-Mas, J. & Arus, P. (2003). Genetic variability in melon based on microsatellite variation. *Plant Breeding*, 122, 153-157.
18. Nakata, E., Staub, J. E., López-Sesé, A. I. & Katzir, N. (2005). Genetic diversity of Japanese melon cultivars as assessed by random amplified polymorphic DNA and simple sequence repeat markers. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 52, 405-419.
19. Nei, M. (1978). Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics*, 89, 583-590.

20. Pawell, W., Machray, G. & Provan. (1996). I: Polymorphism revealed by simple sequence repeats. *Trends in Plant Science*, 1, 215-222.
21. Pitrat, M., Chauvet, M. & Foury, C. (2000). Diversity, history and production of cultivated cucurbits. *Acta Horticulturae*, 492, 241–250.
22. Pitrat, M. (2008). Melon. In: Prohens, J. & Nuez, F. (Ed), *Vegetables I: Handbook of Plant Breeding*. (pp. 283-315.) Springer, New York.
23. Renner, S. S., Schaefer, H. & Kocyan, A. (2007). Phylogenetics of *Cucumis* (Cucurbitaceae): Cucumber (*C. sativus*) belongs in an Asian/ Australian clade far from melon (*C. melo*). *BMC Evolutionary Biology*, 7, 58-69.
24. Ritschel, P. S., Lins, T. C. L., Tristan, R. L., Buso, G. S. C., Buso, J. A. & Ferreira, M. E. (2004). Development of microsatellite markers from an enriched genomic library for genetic analysis of melon (*Cucumis melo* L.). *BMC Plant Biology*, 4, 9.
25. Robinson, R. W. & Decker-Walters, D. S. (1997). *Cucurbits*. University Press, New York.
26. Rohlf, F. J. (2000). *NTSYS-pc*. Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System. Version 2. 2 Exeter Publications. Setauket, New York.
27. Salehi Najafabadi, S., Jalali Javaran, & Dehghani, H. (2010). Using morphological and molecular markers aims to assessment of the genetic diversity and division partial of germplasm of Iranian melon. *Iranian Journal of Biology*, 23(3), 343-352. (in Farsi)
28. Silberstein, L., Koralsi, I., Huang, R., Anagnostou, K., Kyle, J. M. & Perl-Treves, R. (1999). Molecular variation in melon (*Cucumis melo* L.) as reveald by RFLP and RAPD markers. *Scientia Horticulturae*, 79, 101-111.
29. Soltani, F., Akashi, Y., Kashi, A., Zamani, Z., Mostofi, Y. & Kato, K. (2010). Characterization of Iranian melon landraces of *Cucumis melo* L. Groups Flexuosus and Dudaim by analysis of morphological characters and random amplified polymorphic DNA. *Breed Sciences*, 60, 34-45.
30. Staub, J. E., Danin-Poleg, Y., Fazio, G., Horejsi, T., Reis, N. & Katzir, N. (2000). Comparative analysis of cultivated melon groups (*Cucumis melo* L.) using random amplified polymorphic DNA and simple sequence repeat markers. *Euphytica*, 115, 225-241.
31. Staub, J. E., López-Sesé, A. I. & Fanourakis, N. (2004). Diversity among melon landraces (*Cucumis melo* L.) from Greece and their genetic relationship with other melon germplasm of diverse origin. *Euphytica*, 136, 151-166.
32. Stepansky, A., Kovalski, I. & Perl-Treves, R. (1999). Intraspecific classification of melons (*Cucumis melo* L.) in view of their phenotypic and molecular variation. *Plant Systematics and Evolution*, 217, 313-332.
33. Tanaka, K., Akashi, Y., Nishitani, A., Sakata, Y., Nishida, H., Yoshino, H. & Kato, K. (2007). Molecular characterization of South and East Asian melon *Cucumis melo* L., and the origin of Group Conomon var. *makuwa* and var. *conomon* revealed by RAPD analysis. *Euphytica*, 153, 233-247.
34. Tzitzikas, E. N., Monforte, A. J., Fatihi, A., Kypriotakis, Z., Iacovides, T. A., Ioannides, I. M. & Kalaitzis, P. (2009). Genetic diversity and population structure of traditional greek and cypriot melon cultigens (*Cucumis melo* L.) based on simple sequence repeat variability. *Hortscience*, 44(7), 1820-1824.
35. Yeh, F. C., Yang, R. C., Boiley, T., Ye, Z. H. & Mao, J. X. (1997). POPGENE, the user-friendly shareware for population genetic analysis. Molecular Biology and Biotechnology Center, University of Alberta, Canada.
36. Walters, T. W. (1989). Historical overview on domesticated plants in China with special emphasis on the Cucurbitaceae. *Economic Botany*, 43(3), 297-313.
37. Zamyad, H., Javaran, M. J., Dehghani, H. & Feyzian, E. (2004). Analysis of the genetic diversity among some of melon (*Cucumis melo* L.) landraces from Khorasan province using morphological and RAPD molecular markers. *Journal of Agricultural Sciences & Technology*, 20(5), 13-21. (In Farsi).