ژنتیک نوین
دوره نهم، شماره ۱، بهار ۱۳۹۳
صفحه ۷۶- ۶۷

ارزیابی تنوع ژنتیکی توده‌های بومی و هیبریدهای ملون (*Cucumis melo* L.) با استفاده از نشانگرهای ISSR

Assessment of genetic diversity in Iranian melon (*Cucumis melo* L.) landraces and hybrids using ISSR markers

ساسان رحمان پور[۱]، بابک عبدالهی‌مندولکانی[*۱]، مرتضی قدیم‌زاده[۱]

۱- به ترتیب دانشجوی کارشناسی‌ارشد، استادیار و دانشیار ، دانشگاه ارومیه

Rahmanpour S[1], Abdollahi Mandoulakani B[*1], Ghadimzadeh M[1]

1. MSc student, Assistant Professor, Associate Professor, Urmia University

* نویسنده مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: b.abdollahi@urmia.ac.ir

(تاریخ دریافت: ۹۱/۱۰/۱۸ - تاریخ پذیرش: ۹۲/۶/۵)

چکیده

گونه‌های مختلف خانواده کدوئیان از مهم‌ترین منابع غذایی بشر می‌باشند که گسترش جهانی دارند. از اقتصادی‌ترین گونه‌های این خانواده می‌توان به انواع ملون (*Cucumis melo* L.) اشاره کرد که گیاهانی دگر بارور و به لحاظ مورفولوژیکی بسیار متنوع هستند. در این پژوهش تنوع ژنتیکی ۱۱ توده بومی و ۱۲ رقم هیبرید ملون با استفاده از ۲۰ آغازگر ISSR بررسی شد. آغازگرهای مورد استفاده ۳۱۱ مکان تولید کردند که ۵۲/۲۶ درصد آنها چند شکل بودند. بیشترین (۰/۱۳۵) و کمترین (۰/۰۳۱) میزان هتروزیگوسیتی (He) و بیشترین (۱/۲۳) و کمترین (۱/۰۵۸) تعداد الل‌های موثر (Ne) به ترتیب مربوط به آغازگرهای UBC820 و UBC857 بود. میانگین هتروزیگوسیتی ارقام و توده‌ها ۰/۱۵۵ بود. متوسط هتروزیگوسیتی ارقام هیبرید بیشتر از توده‌ها بود. توده زیوری بالاترین متوسط هتروزیگوسیتی (۰/۱۷۷) و توده تل کمترین متوسط هتروزیگوسیتی (۰/۱۱۸) را نشان داد. تجزیه خوشه‌ای بر مبنای ضریب تطابق ساده و روش UPGMA توده‌ها و هیبریدهای مورد مطالعه را در ۷ گروه قرار داد. در بررسی ساختار جمعیت با استفاده از مدل بیزی نیز میزان K=۷ به عنوان بهترین K برای گروه‌بندی دندروگرام تعیین شد. بیشترین فاصله ژنتیکی بین توده درگزی و هیبرید Durango و کمترین فاصله ژنتیکی بین توده‌های درگزی و خاتونی بود. نتایج مطالعه حاضر نشان داد که نشانگرهای ISSR در مطالعه تنوع ژنتیکی توده‌ها و ارقام ملون کارایی بالایی دارند و نتایج حاصل جهت تعیین گروه‌های هتروتیک در برنامه‌های اصلاحی ملون قابل استناد است.

واژه‌های کلیدی

ساختار ژنتیکی جمعیت
متوسط هتروزیگوسیتی
مدل بیزی
ملون
DNA

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-19]

[DOR: 20.1001.1.20084439.1393.9.1.9.8]

مقدمه

خانواده کدوئیان از مهم‌ترین منابع غذایی بشر بوده و از لحاظ اهمیت اقتصادی پس از خانواده بادنجانیان در رتبه دوم قرار می‌گیرند. این خانواده شامل ۱۱۸ جنس و ۸۲۵ گونه است که گسترش جهانی داشته اما اغلب در نواحی گرمسیری و نیمه-گرمسیری جهان انتشار یافته‌اند (Wang et al. 2008). از اقتصادی‌ترین محصولات این خانواده می‌توان به انواع ملون‌ها (خربزه‌ئیان) اشاره کرد. این گونه به ده گروه مختلف نظیر خربزه، طالبی، گرمک، دستنبو و خیار چنبر تقسیم می‌شوند که با هم تلاقی‌یافته و انواع حد واسط آنها تشکیل می‌شود (Kirkbride 1993). در ایران ۲۱/۵ میلیون تن سبزی در سال در سطحی معادل ۸۰۴ هزار هکتار تولید می‌شود که ۳۲/۲ درصد این تولید به تیره کدوئیان تعلق دارد. خربزه و طالبی از مهم‌ترین سبزی‌های این تیره هستند که سهمی معادل ۲۳ درصد تولید این تیره را دارا می‌باشند (Salehi et al. 2008). ملون‌ها گیاهانی جالیزی، یک‌پایه و دگر بارور هستند که میزان باروری آنها به فعالیت حشرات بستگی دارد. جنس *Cucumis* شامل ۳۲ گونه است که عدد پایه کروموزومی در ۱۳ گونه آن و از جمله *C. melo* L.، ۱۲ می‌باشد (Kerje et al. 2000). در ایران کشت ملون در مناطق خشک و حاشیه کویری مثل ورامین، گرمسار، اصفهان و خراسان از تولید کمی و کیفی بهتری برخوردار است ولی کشت آن به این مناطق محدود نشده و در سایر نقاط از جمله آذربایجان، قزوین و همدان نیز گسترش یافته‌است. بدلیل گسترش سطح زیر کشت ارقام اصلاح شده غیر بومی، روند فرسایش ژنتیکی ارقام بومی افزایش یافته‌است. این امر خطر نابودی منابع ژرم پلاسم بومی این گیاه را افزایش داده‌است. بنابراین جمع‌آوری توده‌های بومی ملون، حفظ و نگهداری و مطالعه تنوع ژنتیکی آن امری ضروری و اجتناب-ناپذیر می‌کند. مطالعه تنوع ژنتیکی نه تنها برای سازماندهی و حفاظت مواد گیاهی، بلکه برای بهره‌برداری از پدیده هتروزیس و تولید بذر هیبرید با هتروزیس بالا از لحاظ عملکرد، سازگاری بیشتر با محیط و تحمل در برابر تنش‌های زیستی و غیرزیستی نیز اهمیت دارد (Fabriki et al. 2008). تخمین تنوع ژنتیکی مجموعه‌های ژنتیکی و قرابت بین آنها از گذشته‌های دور معمول بوده است. این تخمین معمولا بر اساس ارزیابی صفات زراعی و یا نشانگرهای مولکولی مبتنی بر DNA مانند ISSR (Inter simple sequence repeat) صورت می‌گیرد. از نشانگرهای ISSR در شناسایی و مطالعه تنوع ژنتیکی گونه‌های مختلف گیاهی مانند خربزه (Fabriki et al. 2008)، گندم (Dashchi et al. 2012)، سیب زمینی (Prevost et al. 1999) پرتغال (Fang et al. 1997) و یونجه زراعی (Azizi et al. 2011) استفاده شده است. در مطالعه تنوع ژنتیکی ۵۴ توده ملون از سراسر اروپا با استفاده از نشانگرهای ISSR و RAPD چندشکلی بالایی گزارش شد (Stepansky et al. 1999). در مطالعه‌ای دیگر، تنوع ژنتیکی ۳۷ توده ملون از کشور چین با استفاده از نشانگرهای RAPD و ISSR مطالعه شد. نتایج این پژوهش نشان داد که دو نشانگر مذکور کارایی بالایی در بررسی تنوع ژنتیکی این گیاه دارند (Liu et al. 2002). در مطالعه توده‌های بومی خربزه هندی با استفاده از ۲۰ آغازگر RAPD، حدود ۵۸ درصد چندشکلی گزارش شد (Dhillon et al. 2006). Fabriki et al. (2008) در مطالعه تنوع ژنتیکی ۵۴ توده خربزه و طالبی کشور به کمک نشانگرهای ISSR، تنوع بالایی را گزارش کردند و نشان دادند که این نشانگرها برای انگشت نگاری و تفکیک توده‌های ملون مفید هستند. هدف از این تحقیق، مطالعه تنوع برخی توده‌های ملون و ارقام هیبرید با استفاده از نشانگرهای ISSR و بررسی ساختار ژنتیکی جمعیت‌های مورد مطالعه بود.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی

بذور مواد گیاهی مورد استفاده شامل ۱۱ توده و ۱۲ رقم هیبرید بود که از مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان تهران تهیه شده بود (جدول۱).

روش استخراج DNA و انجام واکنش‌های PCR

از هر توده ۸ بذر بطور تصادفی انتخاب (در مجموع ۸۸ فرد) و از هر هیبرید ۵ بذر کشت شد. DNA ژنومی از برگ‌های جوان گیاهان در مرحله ۳ تا ۴ برگی به روش CTAB (Doyle and Doyle 1990) استخراج شد. برای استخراج DNA ژنومی هیبریدها، برگ‌های مربوط به هر رقم باهم مخلوط می‌شدند.

کمیت و کیفیت DNA

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-19]

[DOR: 20.1001.1.20084439.1393.9.1.9.8]

جدول ۱- مشخصات ارقام و توده‌های ملون و کدهای مورد استفاده در این تحقیق

نام توده‌ها	کد توده	محل جمع‌آوری	نام هیبرید	کد هیبرید
خاتونی	Kha-far	فریمان	Biotek 637	H1
درگزی	Dar-ta	منطقه درگز خراسان	MeanhNO9	H2
زیوری	Zi-sha	شاهرود	Summit	H3
جافالیز	Jafa	خراسان	Durango	H4
تاشکندی	Ta-ma	خراسان	Melon-omega	H5
شادگانی مادری	Sha-ma	خوزستان	Shimi yazd	H6
*مینو	Minu		Super soykan	H7
شادگانی اصلاحی	Sha-es	خوزستان	Behfa n397	H8
تل	Tal-sha	شاهرود	Dublon	H9
خاقانی	Kha-ma	خراسان	Pi414723	H10
جلالی ۸۷	Jala	گرمسار	Gold tropy	H11
			Charantaio T	H12

* محل جمع‌آوری توده مینو مشخص نیست و از شرکت بهتا تهیه شده است.

ژنومی بوسیله دستگاه اسپکتروفتومتر و ژل آگارز یک درصد تعیین شد. برای انجام واکنش‌های PCR از ۴۵ آغازگر ISSR استفاده شد که از بین آنها ۲۰ آغازگر الگوی باندی مطلوبی تولید کردند (جدول۲). تکثیر قطعات DNA در یک واکنش ۲۰ میکرولیتری حاوی بافر PCR ده برابر، dNTP ۰/۲ میلی‌مولار، $MgCl_2$ ۱/۵ میلی‌مولار، ۱۰ پیکومول آغازگر، ۰/۵ واحد آنزیم Taq DNA پلی‌مراز و ۲۰ نانوگرم DNA ژنومی در دستگاه ترموسایکلر اپندورف صورت گرفت. الگوی دمایی واکنش‌های PCR شامل واسرشت‌سازی اولیه DNA در دمای ۹۴ درجه به مدت ۴ دقیقه و ۳۵ چرخه بصورت: واسرشت سازی در دمای ۹۴ درجه به مدت ۴۵ ثانیه، اتصال در دمای ۵۰/۸ تا ۵۴ درجه (جدول۲) بمدت ۴۵ ثانیه، بسط به مدت دو دقیقه در دمای ۷۲ درجه و سرانجام بسط نهایی در دمای ۷۲ درجه به مدت ۵ دقیقه انجام شد. الکتروفورز محصولات PCR در ژل آگارز ۱/۸ درصد و بافر TBE نیم برابر در ولتاژ ثابت ۶۵ ولت به مدت سه ساعت انجام شد. برای رنگ‌آمیزی ژل‌ها از اتیدیوم بروماید استفاده شد. تجزیه آماری داده‌ها: قطعات DNA تکثیری بر اساس هم‌ردیفی باندها و بصورت یک (حضور باند) و صفر (عدم حضور باند) امتیازدهی شد. ماتریس فاصله ژنتیکی دو به دوی توده‌ها و هیبریدهای مورد مطالعه براساس روش نی محاسبه شد. گروه-بندی افراد با استفاده از تجزیه کلاستر به روش UPGMA و ضرایب تشابه تطابق ساده در نرم افزار NTSYS pc2.02 انجام گرفت. ماتریس dcenter از روی ماتریس تشابه محاسبه و برای انجام تجزیه به مختصات اصلی (Principal coordinate analysis) در نرم افزار NTSYSpc 2.02 مورد استفاده قرار گرفت. ثبات آماری گروه‌های تشکیل شده در دندروگرام مبتنی بر UPGMA با تجزیه Bootstrap داده‌ها با ۱۰۰۰ تکرار و فاصله اطمینان ۹۹ درصد بوسیله نرم‌افزار WinBoot بررسی شد. جهت بررسی ساختار ژنتیکی جمعیت در توده‌ها و ارقام هیبرید و نیز تایید گروه‌بندی UPGMA از نرم‌افزار Structure 2.3.1 (Pritchard et al. 2000) در حالت No Admixture با ۱۰۰۰۰ بار Burn-in و ۵۰۰۰۰ بار تکرار MCMC در مقادیر مختلف K استفاده شد. عدد K بهینه براساس روش *delta* K محاسبه و تعیین شد. پارامترهای مقادیر متوسط هتروزیگوسیتی (Hartl and (He) (Clark 1997، شاخص تنوع شانن (I)، درصد چند شکلی و تعداد الل‌های موثر (Brown et al. 1983) برای آغازگرها و جمعیت‌های مورد مطالعه با استفاده از نرم‌افزار GenALEx 6.4 محاسبه شد. تجزیه AMOVA (Analysis of molecular variance) برای بررسی تنوع ژنتیکی بین توده‌ای و درون توده‌ای (Michalakis and Excoffier 1996) با استفاده از همین نرم افزار انجام شد.

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-19]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1393.9.1.9.8]

جدول ۲- مشخصات توالی آغازگرهای مورد استفاده در این تحقیق

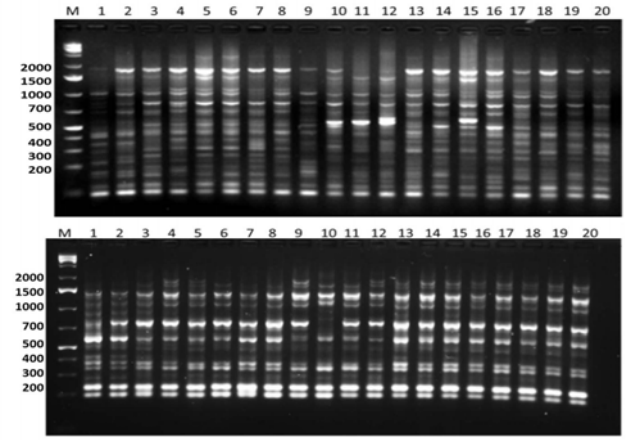
آغازگر	توالی('3-'5)	دمای اتصال (درجه سانتی‌گراد)
UBC 818	CACACACACACACACAG	۵۴
UBC 840	GAGAGAGAGAGAGAGAY*T	۵۴
UBC A7	AGAGAGAGAGAGAGAGAGAGT	۵۰/۸
UBC 808	CACACACACACACACAG	۵۰/۸
UBC 811	GAGAGAGAGAGAGAGAC	۵۵
UBC 880	GGAGAGGAGAGGAGA	۵۵
UBC 855	ACACACACACACACACYT	۵۲
UBC 820	GTGTGTGTGTGTGTGTC	۵۴
UBC 848	CACACACACACACACAR*G	۵۴
UBC 866	CTCCTCCTCCTCCTCCTC	۵۵
UBC 826	ACACACACACACACACC	۵۰
UBC 857	ACACACACACACACACYG	۵۰
UBC 836	AGAGAGAGAGAGAGAGYA	۵۴
UBC 825	ACACACACACACACACT	۵۴
UBC 827	ACACACACACACACACG	۵۴
UBC 867	GGCGGCGGCGGCGGCGGC	۵۴/۵
UBC 426	CACCACCACCACCACCACCACT	۵۴
UBC 812	GAGAGAGAGAGAGAGAA	۵۴
UBC 864	ATGATGATGATGATGATG	۵۴
UBC 885	AGAGAGAGAGAGAGAG	۵۴

* Y معرف (C/T) پیریمیدین و R معرف (A/G) پورین است.

نتایج و بحث

برای بررسی تنوع ژنتیکی ارقام هیبرید و توده‌های بومی ملون مورد مطالعه از ۴۵ آغازگر ISSR استفاده شد. از بین آغازگرهای مورد استفاده، ۲۰ آغازگر الگوی باندی واضح و قابل امتیازدهی تولید کردند. ۱۹ آغازگر بین توده‌ها و ارقام چندشکلی نشان دادند (جدول۳). شکل۱ الگوی باندی چند شکل تکثیر شده توسط آغازگرهای UBC840 و UBC836 در برخی افراد مورد بررسی را نشان می‌دهد. ۲۰ آغازگر مورد استفاده در مجموع ۳۱۱ مکان تولید کردند که ۱۶۹ مکان (۵۴ درصد) چندشکل بودند. آغازگرUBC827 بیشترین تعداد مکان (۲۴) و آغازگر UBC426 کمترین تعداد مکان (۶) را تولید کرد. متوسط تعداد باند برای هر آغازگر ۱۵/۵۵ بود. اندازه باندهای تکثیر شده توسط آغازگرها از ۲۰۰ تا ۲۲۰۰ جفت باز متغیر بود. آغازگرهای UBC820 و UBC426 به ترتیب بیشترین و کمترین درصد چندشکلی را تولید کردند. بیشترین و کمترین میزان هتروزیگوسیتی(He)، تعداد الل‌های موثر (Ne) و ضریب شانون (I) به ترتیب مربوط به آغازگرهای UBC820 و UBC857 بود. میزان هتروزیگوسیتی به عنوان قدرت تشخیص و تمایز نشانگر، به تعداد مکان‌های چند شکل در هر آغازگر و فراوانی هر نشانگر بستگی دارد و از صفر تا یک متغیر است. هر چه میزان آن بالاتر باشد بیانگر فراوانی بیشتر چندشکلی برای آن مکان در جمعیت تحت بررسی و کارایی بالای نشانگر و آغازگر مورد استفاده در تمایز ژنوتیپ‌های مورد مطالعه است (Powell et al. 1996). بر اساس نتایج این مطالعه، آغازگر UBC820 و همچنین آغازگرهای UBC826، UBC827، UBC855 و UBC812 بهتر از آغازگرهای دیگر توانستند ژنوتیپ‌ها و توده‌های مورد مطالعه را متمایز سازند و بنابراین در بررسی ژرم پلاسم سایر ارقام و توده‌های ملون و نیز جنس‌های نزدیک به *Cucumis* مانند *Cucumela*،

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-19]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1393.9.1.9.8]



شکل ۱– الگوی باندی تکثیر شده توسط آغازگر UBC840 (شکل بالا) در افراد مورد بررسی. ۱ تا ۸ از توده خاتونی و ۹ تا ۲۰ ارقام هیبرید؛ الگوی باندی تکثیر شده توسط آغازگر UBC836 (شکل پایین) در افراد مورد بررسی. ۱ تا ۸ از توده زیوری و ۹ تا ۲۰ ارقام هیبرید؛ M) نشانگر اندازه ۱ کیلو باز (شرکت فرمنتاس)؛ اندازه باندهای نشانگر اندازه بر حسب جفت باز می‌باشد.

جدول ۳- خصوصیات آغازگرهای مورد استفاده در توده‌ها و هیبریدهای ملون مورد بررسی

آغازگر	توالی	تعداد مکان‌ها تکثیری	تعداد مکان‌های چندشکل	درصد چند شکلی	He^{*}	I^{**}	Ne^{***}
UBC 818	$(CA)_8G$	۱۲	۴	۳۳/۳۴	۰/۰۹۱	۰/۱۳۳	۱/۱۶۴
UBC 840	$(GA)_8YT$	۲۰	۱۲	۶۰	۰/۰۹۶	۰/۱۳۹	۰/۱۷۳
UBC A7	$(AG)_{10}T$	۱۴	۵	۳۵/۷۱	۰/۰۴۵	۰/۰۶۶	۱/۰۸۱
UBC 808	$(CA)_7G$	۱۴	۶	۴۲/۸۶	۰/۰۵۳	۰/۰۷۷	۱/۰۹۲
UBC 811	$(GA)_8C$	۱۸	۱۰	۵۵/۵۶	۰/۰۶۳	۰/۰۹۶	۱/۱۰۶
UBC 880	$(GGAGA)_3$	۱۸	۵	۲۷/۷۸	۰/۰۴۳	۰/۰۶۳	۱/۰۷۶
UBC 855	$(AC)_8YT$	۱۳	۹	۶۹/۲۳	۰/۰۴۱	۰/۰۶۰	۱/۰۷۴
UBC 820	$(GT)_8C$	۲۰	۱۸	۹۰	۰/۱۳۵	۰/۱۹۹	۱/۲۳۳
UBC 848	$(CA)_8RG$	۱۴	۹	۶۴/۲۸۶	۰/۰۸۸	۰/۱۳۰	۱/۱۵۵
UBC 866	$(CTC)_6$	۱۱	۵	۴۵/۴۵	۰/۰۴۰	۰/۰۵۷	۱/۰۷۳
UBC 826	$(AC)_8C$	۱۱	۹	۸۱/۸۲	۰/۱۰۱	۰/۱۴۷	۱/۱۸۲
UBC 857	$(AC)_8YG$	۱۶	۴	۲۵	۰/۰۳۱	۰/۰۴۴	۱/۰۵۸
UBC 836	$(AG)_8YA$	۲۲	۹	۴۰/۹۱	۰/۰۵۷	۰/۰۸۳	۱/۱۰۳
UBC 825	$(AC)_8T$	۱۶	۱۱	۶۸/۷۵	۰/۰۸۹	۰/۱۳۲	۱/۱۵۵
UBC 827	$(AC)_8G$	۲۴	۱۹	۷۹/۱۷	۰/۱۱۰	۰/۱۶۰	۱/۱۹۹
UBC 867	$(GGC)_8$	۱۸	۷	۳۸/۸۹	۰/۰۶۰	۰/۰۸۶	۱/۱۱۰
UBC 885	$(AG)_7$	۱۷	۹	۵۲/۹۴	۰/۰۴۷	۰/۰۶۸	۱/۰۸۵
UBC 812	$(GA)_8A$	۱۳	۹	۶۹/۲۳	۰/۰۷۹	۰/۱۱۷	۱/۱۳۶
UBC 864	$(ATG)_6$	۱۴	۹	۶۴/۲۸۶	۰/۱۰۹	۰/۱۵۹	۱/۱۹۴
UBC 426	$(CAC)_7T$	۶	۰	۰	۰	۰	۱
میانگین	–	–	–	۵۲/۲۶	۰/۰۷	۰/۱	۱/۱۲۴
کل	–	۳۱۱	۱۶۹	-	-	-	-

He^{*}) متوسط هتروزیگوسیتی I^{**}) شاخص شانن Ne^{***}) تعداد الل‌های موثر

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-19]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1393.9.1.9.8]

Dicaelopermum، *Mukia*، *Myrmecosicyes* و *Oreosyce* که از جنس *Cucumis* مشتق شده‌اند (Renner et al. 2007)، می‌توان از این آغازگرها بهره جست. کارایی آغازگر UBC827 با موتیف $(AC)_8T$ در مطالعه تنوع ژنتیکی ملون قبلا نیز گزارش شده است (Fabriki et al. 2008). با توجه به توالی آغازگرها مشاهده شد که آغازگرهای ISSR با تکرارهای دو نوکلئوتیدی نسبت به آغازگرهای سه نوکلئوتیدی و یا بیشتر، تعداد مکان‌ها و درصد چند شکلی بیشتری تولید کردند. همچنین میانگین تعداد باندها (۱۶/۲۷) و میانگین هتروزیگوسیتی (۵۷/۹۲) در آغازگرهای دو نوکلئوتیدی بیشتر از میانگین تعداد باندها (۱۳/۴) و متوسط هتروزیگوسیتی (۳۵/۲۸) در آغازگرهای ۳ نوکلئوتیدی بود. این مسئله نشاندهنده نسبت بالای تکرارهای دو نوکلئوتیدی نسبت به تکرارهای بیش از دو نوکلئوتید در ژنوم این گیاه می‌باشد. البته بسته به نوع گیاه مورد مطالعه و ژنوم آن اطلاعات حاصل از یک آغازگر خاص می‌تواند متغیر باشد. در برنج آغازگرهای مبتنی بر توالی‌های تکراری دو نوکلئوتیدی AG و GA باندهای واضحی تولید کردند (Reddy et al. 2000). در صورتی‌که در گندم آغازگرهای مبتنی بر تکرارهای دو نوکلئوتیدی AC چندشکلی بیشتری نشان دادند (Kojima et al. 1998). Carvalho et al. (2010) میزان بالایی از چندشکلی را برای آغازگر ISSR با تکرار ۵ نوکلئوتیدی (آغازگر UBC880) در گندم نان و دوروم گزارش کردند، در صورتی که این آغازگر چندشکلی پایینی (۲۷/۷۸) در توده‌ها و ارقام بررسی شده در این مطالعه نشان داد.

میانگین هتروزیگوسیتی کل ارقام وتوده‌ها برابر با ۰/۱۵۵ بود. متوسط هتروزیگوسیتی ارقام هیبرید (۰/۱۸۷) بیشتر از توده‌ها بود. درصد چندشکلی، شاخص شانن و تعداد الل‌های موثر در ارقام هیبرید بیشتر از جمعیت‌های مورد مطالعه بود. توده زیوری بیشترین (۰/۱۷۷) و توده تل کمترین (۰/۱۱۸) میزان هتروزیگوسیتی را نشان داد (جدول۴). تفاوت بالای بین این دو توده که هر دو متعلق به منطقه شاهرود هستند احتمالا به این دلیل است که توده زیوری متعلق به زیر گروه *Indorus* (خربزه) می‌باشد در حالی‌که توده تل متعلق به زیرگروه *Cantalopensis* (طالبی) است. از این رو میزان تفاوت بین این دو ژنوتیپ طبیعی به نظر می‌رسد. قرارگیری توده تل در زیر گروه *Cantalopensis* توسط Fabriki et al. (2008) تایید شده است.

دندروگرام شباهت میان افراد مورد مطالعه براساس ضریب تشابه تطابق ساده و الگوریتم UPGMA ژنوتیپ‌های مورد بررسی را در ۷ گروه قرار داد (شکل۲). هیبریدهای مورد مطالعه در گروه مجزایی قرار گرفتند که بیانگر متفاوت بودن والدین هیبریدها با توده‌های مورد بررسی می‌باشد. معمولا ژنوتیپ‌های مربوط به یک توده در زیرگروه‌ها یا گروه‌های مشابهی در مجاورت هم قرار می‌گرفتند. گروه‌های تشکیل شده اغلب شامل توده‌های با محل جمع‌آوری مشابه و یا نزدیک می‌باشند. بطور مثال گروه III که شامل توده‌های خاتونی، درگزی از مناطق خراسان و برخی ژنوتیپ‌های توده زیوری از منطقه شاهرود (سمنان) است و یا گروه VI که شامل توده‌های شادگانی از منطقه خوزستان می‌باشد.

گروه‌بندی توده‌ها و هیبریدهای مورد مطالعه با استفاده از ضریب فاصله ژنتیکی نی و روش UPGMA نیز انجام گرفت (شکل۳). بیشترین فاصله ژنتیکی بین توده درگزی و رقم هیبرید Durango بود که در برنامه‌های به‌نژادی ملون می‌توان از این ژنوتیپ‌ها به عنوان والدین تلاقی جهت کسب حداکثر هتروزیس استفاده نمود. کمترین فاصله ژنتیکی بین توده درگزی و خاتونی (۰/۰۶) و میانگین فاصله ژنتیکی کل توده‌ها و ارقام ۰/۲۴۴ بود. گروه‌بندی توده‌ها و هیبریدها با دندروگرام افراد مطابقت داشت. تجزیه AMOVA نشان داد که ۷۱ درصد از کل تنوع موجود در توده-های مورد مطالعه، درون توده‌ای و ۲۹ درصد بین توده‌ای می‌باشد. میزان هتروزیگوسیتی درون‌توده‌ها زیاد و توده‌های مختلف ناهمگن بودند. این تنوع زیاد ممکن است نتیجه دگرگشن بودن گیاه، فعالیت حشرات و انتقال دانه گرده بین انواع توده‌ها باشد. درگیاهان دگرگشن سطح تنوع ژنتیکی بسیار بیشتر از گیاهان خودگشن و گیاهان با ازدیاد غیرجنسی است. انتقال دانه گرده بوسیله حشرات امکان ایجاد فنوتیپ‌های جدید و در نتیجه تنوع ژنتیکی درون جمعیت‌ها را افزایش می‌دهد (Shi et al. 2008). از طرفی با توجه به اینکه ملون، گیاه بومی ایران بوده و دارای سابقه زیادی از نظر کشت و کار در ایران است، جابجایی بذرها بین مناطق مختلف بدیهی و مورد انتظار می‌باشد. تشابه ژنتیکی بین

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-19]

[DOR: 20.1001.1.20084439.1393.9.1.9.8]

جدول ۴- خصوصیات مکان‌های تکثیر شده در توده‌ها و ارقام هیبرید ملون مورد بررسی

توده‌ها	NL	PP	٪۵≥ NL	٪۲۵≤ NLCL	٪۵۰≤ NLCL	He± SE	I± SE	Ne± SE
خاتونی	۳۰۱	۳۹/۵۵	۳۰۱	۱	۲۱	۰/۱۵۷ ±۰/۰۱۲	۰/ ۲۳۰±۰/۰۱۷	۱/۲۸۱±۰/۰۲۲
درگزی	۳۰۲	۳۶/۳۳	۳۰۲	۱	۲۱	۰/۱۳۵ ±۰/۰۱۱	۰/۱۹۹ ±۰/۰۱۶	۱/۲۳۵ ±۰/۰۲۰
زیوری	۳۰۴	۴۵/۶۶	۳۰۴	۱	۲۰	۰/۱۷۷ ±۰/۰۱۲	۰/۲۶۰ ±۰/۰۱۷	۱/۳۱۲ ±۰/۰۲۲
جافالیز	۳۰۱	۳۸/۵۹	۳۰۱	۱	۲۱	۰/۱۵۰ ±۰/۰۱۲	۰/۲۲۰ ±۰/۰۱۷	۱/۲۶۷ ±۰/۰۲۲
تاشکندی	۲۸۴	۴۲/۱۲	۲۸۴	۱	۱۵	۰/۱۶۹ ±۰/۰۱۲	۰/۲۴۶ ±۰/۰۱۷	۱/۳۰۵ ±۰/۰۲۳
شادگانی مادری	۲۹۸	۴۱/۴۸	۲۹۸	۰	۱۹	۰/۱۵۹ ±۰/۰۱۲	۰/۲۳۳ ±۰/۰۱۷	۱/۲۸۴ ±۰/۰۲۲
مینو	۲۹۰	۳۶/۹۸	۲۹۰	۰	۱۶	۰/۱۴۵ ±۰/۰۱۲	۰/۲۱۲ ±۰/۰۱۶	۱/۲۵۹ ±۰/۰۲۲
شادگانی اصلاحی	۲۹۸	۴۳/۰۹	۲۹۸	۰	۱۸	۰/۱۷۳ ±۰/۰۱۲	۰/۲۵۲ ±۰/۰۱۷	۱/۳۱۲±۰/۰۲۳
تل	۲۸۸	۳۰/۲۳	۲۸۸	۰	۱۳	۰/۱۱۸ ±۰/۰۱۱	۰/۱۷۲ ±۰/۰۱۶	۱/۲۱۰±۰/۰۲۰
خاقانی	۳۰۱	۳۴/۷۳	۳۰۱	۰	۱۹	۰/۱۳۵ ±۰/۰۱۱	۰/۱۹۸ ±۰/۰۱۶	۱/۲۴۰±۰/۰۲۱
جلالی ۸۷	۳۰۰	۳۸/۹۱	۳۰۰	۰	۱۵	۰/۱۴۹ ±۰/۰۱۱	۰/۲۱۹ ±۰/۰۱۶	۱/۲۶۰±۰/۰۲۱
هیبرید	۲۹۸	۴۸/۵۵	۲۹۸	۰	۱۸	۰/۱۸۷ ±۰/۰۱۲	۰/۲۷۴ ±۰/۰۱۷	۱/۳۳۳ ±۰/۰۲۳
میانگین± SE	-	۳۹/۹۷ ±۱/۴۳	-	-	-	۰/۱۵۵ ±۰/۰۰۳	۰/۲۲۶ ±۰/۰۰۵	۱/۲۷۵ ±۰/۰۰۶

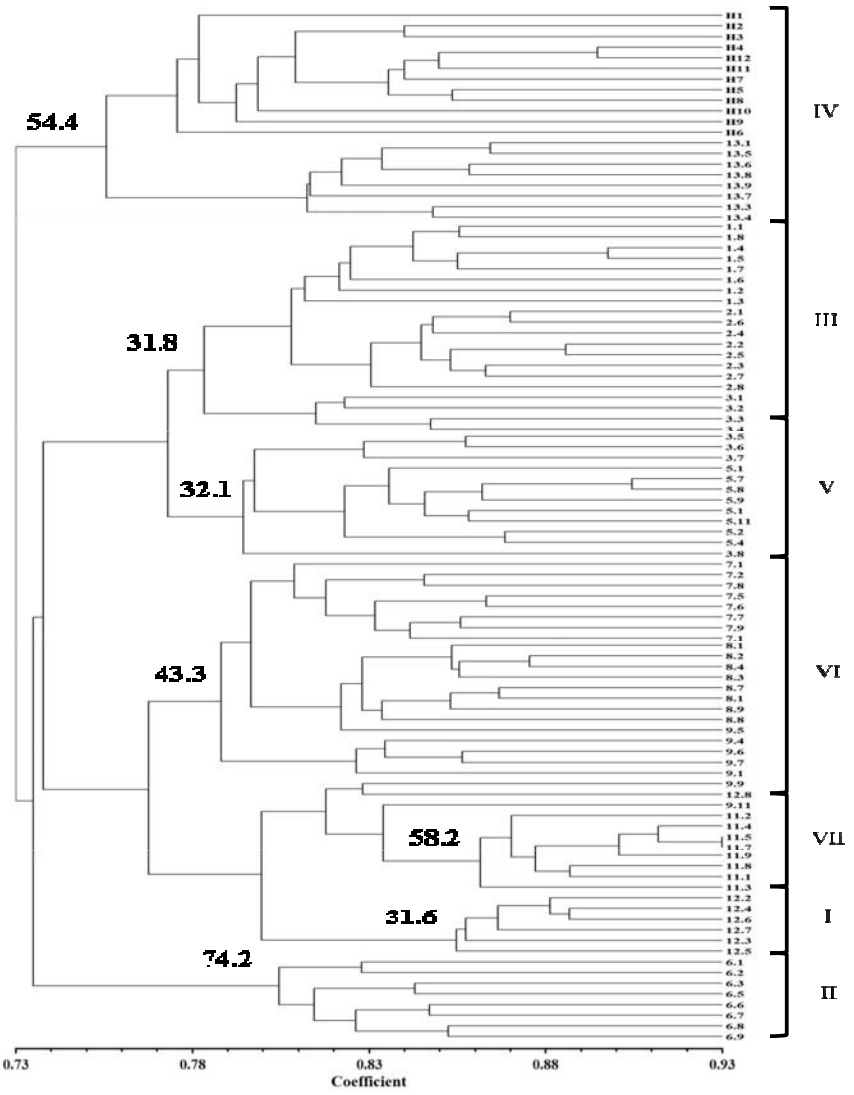
NL) تعداد مکانهای تکثیر شده؛ PP) درصد چندشکلی؛ ٪۵≥NL) تعداد مکانهایی که فراوانی آنها بیشتر از ۵ درصد می‌باشد؛ ٪۲۵≥NLCL) تعداد مکانهایی که فراوانی آنها کمتر از ۲۵ درصد می‌باشد؛ ٪۵۰≥NLCL) تعداد مکانهایی که فراوانی آنها کمتر از ۵۰ درصد می‌باشد؛ He) میانگین هتروزیگوسیتی؛ I) شاخص تنوع شانن؛ Ne) تعداد الل‌های موثر؛ SE) اشتباه استاندارد.

جدول ۵- مقادیر F_{st} و هتروزیگوسیتی مورد انتظار و اعضای هر گروه در مقدار K=۷

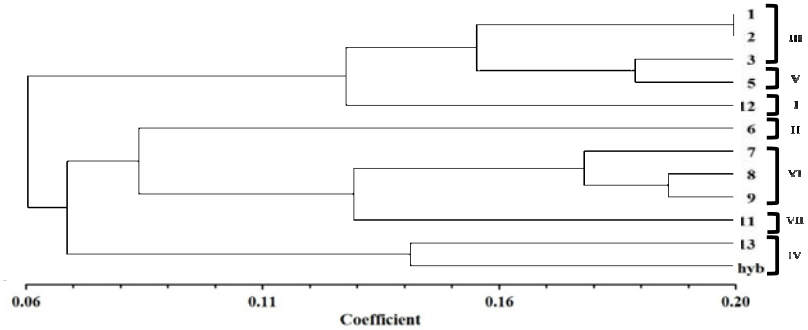
گروه	میانگین مقادیر F_{st}	میانگین هتروزیگوسیتی مورد انتظار	توده‌ها و ارقام هر گروه
I	۰/۲۹۳۲	۲/۰۴۴۹	خاقانی مادری
II	۰/۲۹۵۷	۲/۰۴۰۵	تاشکندی
III	۰/۲۱۴۳	۲/۰۳۰۷	خاتونی، درگزی، زیوری
IV	۰/۲۳۵۱	۲/۰۱۵۰	جلالی ۸۷ و ارقام هیبرید
V	۰/۱۴۱۵	۱/۹۷۸۲	جافالیز، زیوری
VI	۰/۲۶۸۸	۲/۰۴۲۹	شادگانی مادری، مینو، شادگانی اصلاحی
VII	۰/۲۸۳۷	۲/۰۴۶۷	تل

برخی توده‌های مورد مطالعه در این تحقیق می‌تواند ناشی از تعادل ژنتیکی بوجود آمده طی سال‌ها کشت ملون و جابجایی بذرها بین مناطق مختلف ایران باشد (Rezaei et al. 2010) Stepansky et al. (1999) نیز با جمع‌آوری ۵۴ توده ملون از ۲۳ کشور مختلف، درصد چندشکلی بالایی را (۹۰ درصد) گزارش کردند و درصد بالای چندشکلی حاصل از این مطالعه را به علت گستره جغرافیایی وسیع مناطق جمع‌آوری توده‌های مورد مطالعه و دگرگشنی ملون نسبت دادند. به منظور تعیین و تایید گروه‌های متمایز حاصله از تجزیه کلاستر ژنوتیپ‌ها و توده‌های مورد مطالعه، تجزیه ساختار ژنتیکی توده‌های مورد مطالعه با استفاده از نرم‌افزار Structure 2.3.1 و براساس مدل بیزی صورت گرفت. پس از انجام محاسبه مقادیر مختلف K (براساس روش *delta* K)، مقدار K=۷ مناسب‌ترین عدد برای محاسبه متوسط شاخص تثبیت (F_{st}) برای هر گروه برآورد شد و تعداد ۷ گروه حاصل از تجزیه کلاستر تایید شد. متوسط مقدار F_{st} و هتروزیگوسیتی مورد انتظار بین افراد هر گروه در جدول ۵ فهرست شده‌اند.

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-19]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1393.9.1.9.8]



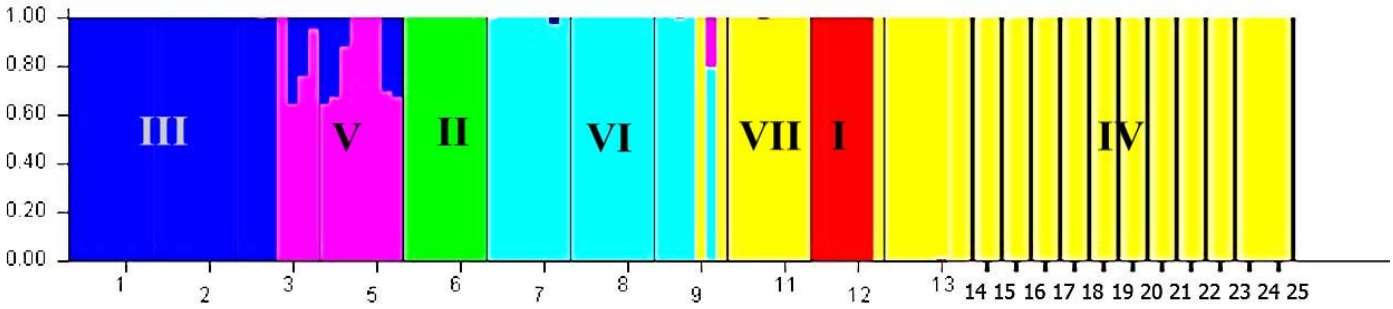
شکل ۲- دندروگرام ژنوتیپ‌های ملون مورد مطالعه بر اساس ضریب تشابه تطابق ساده و روش UPGMA با استفاده از ۳۱۱ مکان ISSR. اعداد روی شاخه‌های اصلی دندروگرام، مقادیر Bootstrap با ۱۰۰۰ بار تکرار می‌باشد. ژنوتیپ‌های H1 تا H12) ارقام هیبرید؛ ژنوتیپ‌های ۱) توده خاتونی؛ ژنوتیپ‌های ۲) توده درگزی؛ ژنوپیپ‌های ۳) توده زیوری؛ ژنوپیپ‌های ۵) توده جافالیز؛ ژنوپیپ‌های ۶) توده تاشکندی؛ ژنوپیپ‌های ۷) توده شادگانی مادری؛ ژنوپیپ‌های ۸) توده مینو؛ ژنوتیپ‌های ۹) توده شادگانی اصلاحی؛ ژنوپیپ‌های ۱۱) توده تل؛ ژنوپیپ‌های ۱۲) توده خاقانی مادری؛ ژنوپیپ‌های ۱۳) توده جلالی ۸۷.



شکل ۳- دندروگرام توده‌ها و ارقام هیبرید مورد مطالعه بر اساس ضریب فاصله ژنتیکی نی و روش UPGMA با استفاده از ۳۱۱ مکان ISSR. ۱) خاتونی؛ ۲) درگزی؛ ۳) زیوری؛ ۵) جافالیز؛ ۶) تاشکندی؛ ۷) شادگانی مادری؛ ۸) مینو؛ ۹) شادگانی اصلاحی؛ ۱۱) تل؛ ۱۲) خاقانی مادری؛ ۱۳) جلالی ۸۷؛ hyb) ارقام هیبرید.

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-19]

[DOR: 20.1001.1.20084439.1393.9.1.9.8]



شکل ۴- بارپلات رسم شده توسط نرم‌افزار Structure در مقدار K=۷ بر مبنای داده‌های حاصل از ۳۱۱ مکان ISSR. ۱) خاتونی؛ ۲: درگزی؛ ۳) زیوری؛ ۵) جافالیز؛ ۶) تاشکندی؛ ۷) شادگانی مادری؛ ۸) مینو؛ ۹) شادگانی اصلاحی؛ ۱۱) تل؛ ۱۲) خاقانی مادری؛ ۱۳) جلالی ۸۷؛ شماره ۱۴ تا ۲۵) ارقام هیبرید.

در همه گروه‌ها به جز گروه VII، مقادیر متوسط F_{st} بیشتر از ۰/۲۱ بود که نشان‌دهنده تمایز نسبتا بالا و جریان ژنی نسبتا پایین بین توده‌ها می‌باشد (Carvalho et al. 2011). در برخی موارد افراد یک توده در کلاسترهای مختلف قرار می‌گرفت که مثال بارز آن، توده زیوری است که افراد آن در دو گروه مختلف قرار گرفتند. در بارپلات ارائه شده توسط نرم‌افزار Structure هر گروه با رنگی متمایز مشخص شده است، تداخل اندک رنگ‌ها نشاندهنده تفاوت زیاد بین گروه‌ها می‌باشد (شکل ۴). توده‌ها در گروه‌های I، II، III، IV، V، VI و VII و ارقام هیبرید در گروه IV قرار گرفتند.

از آنجا که نشانگرهای ISSR نواحی بین ریز ماهواره‌ای را تکثیر می‌نمایند و این نواحی در سطح ژنوم یوکاریوت‌ها با فراوانی بالایی توزیع یافته‌اند، کاربرد این نوع نشانگرها می‌تواند سطح بالایی از چندشکلی را در ملون آشکار سازد. با بررسی نتایج حاصل از تجزیه خوشه‌ای داده‌ها، تجزیه بوت استرپ و آنالیز ساختار ژنتیکی جمعیت، مشخص می‌شود که فاصله ژنتیکی کافی بین ۷ گروه اصلی تشکیل شده وجود دارد و بنابراین می‌توان از این گروه‌ها به عنوان گروه‌های هتروتیک متفاوت به عنوان والدین تلاقی در برنامه‌های اصلاحی تولید هیبرید یا سمی هیبرید در ملون بهره گرفت. البته فاصله ژنتیکی تنها عامل موثر در شناسایی والدین مناسب برای تولید هیبرید نیست و بایستی عوامل مهم دیگری مانند قابلیت ترکیب‌پذیری و فاصله ژنتیکی براساس صفات مورفولوژیک را نیز در انتخاب والدین تلاقی در نظر گرفت (Brummer, 1999). پژوهش‌های مختلف نتایج متناقضی از کاربرد تنوع ژنتیکی براساس نشانگرهای مولکولی در انتخاب والدین هیبریدها و ارقام مصنوعی دارد و تخمین دقیق عملکرد نتاج در بسیاری از موارد با مشکل مواجه بوده است (Liu et al. 1999). این مسئله را می‌توان به عدم پیوستگی نشانگرهای مورد استفاده برای طبقه بندی ژنوتیپ‌ها با صفات مورد بررسی، ناسازگاری افراد انتخاب شده جهت تلاقی و خطاهای مربوط به نشانگرهای مولکولی نسبت داد (Azizi et al. 2011). همچنین اطلاعات حاصل از این پژوهش در شناسایی مکان‌های ژنومی دخیل در صفات مختلف مانند ژن‌های موثر در کیفیت میوه، افزایش عملکرد، مقاومت به آفات و بیماری‌ها و سازگاری با شرایط محیط در ملون با استفاده از تجزیه ارتباطی (Association mapping) نیز مفید خواهد بود. در حال حاضر تنوع ژنوتیپ‌های مورد مطالعه با نشانگرهای SSR و SNP های دخیل در صفات مرتبط با کیفیت میوه در دست بررسی است تا با تلفیق این داده‌ها با صفات مرتبط با کیفیت میوه، نشانگرهای پیوسته و ژن‌های کنترل کننده این صفت شناسایی شود.

سپاسگزاری

از پژوهشکده زیست فناوری دانشگاه ارومیه بخاطر فراهم آوردن امکانات آزمایشگاهی قدردانی می‌شود. همچنین از آقای مهندس رامین رافزی (محقق مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان تهران) بخاطر فراهم کردن بذور توده‌ها و ارقام ملون مورد استفاده در این پژوهش قدردانی می‌شود.

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-19]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1393.9.1.9.8]

منابع

Azizi H, Bernousi I, Abdollahi MB, Darvishzadeh R (2011) study of genetic structure and diversity of Alfalfa populations using ISSR markers. Modern Genetic Journal 6: 61-69 (In Farsi).

Brown AHD, Weir BS (1983) Measuring genetic variability in plant populations. Plant Genetics and Breeding.

Brummer EC (1999) Capturing hetrosis in forage crop cultivar development. Crop Science 32: 939- 943.

Carvalho A, Guedes-Pinto H, Martin Lopes P (2010) Genetic variability of old Portuguese bread wheat cultivar assayed by IRAP and REMAP markers. Annals of Applied Biology 156:337-345.

Carvalho A, Guedes-Pinto H, Lima Brito JE (2011) Genetic Diversity in old Portuguese Durum Wheat Cultivars Assessed by Retrotransposon-Based Markers. Plant Molecular Biology Reporter 30: 578-589

Dashchi S, Abdollahi BM, Darvishzade R, Bernousi I (2012) Molecular Similarity Relationships Among Iranian Bread Wheat Cultivars and Breeding Lines Using ISSR Markers. Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-napoca 40: 254-260.

Dhillon NPS, Rnjana R, Singh K, Edduardo I, Monforte J, Pitrat M, Dhillon K, Singh PP (2006) Diversity among landraces of Indian snapmelon (Cucumis melo var. momordica) Genetic Resources and Crop Evolution 54:1267-1283.

Doyle JJ, Doyle JL (1990) Isolation of plant DNA from fresh tissue. Focus 12:13-15

Fabriki OS, shams bakhsh M, Jalali JM, Ahmadi J (2008) survey of genetic diversity of Iranian muskmelon landraces using ISSR markers. Iran biology journal. 2:22 (in Farsi)

Fang DQ, Roose ML, Fredric C (1997) Fingerprinting trifoliate orange germplasm accessions with isozyme, RFLP and inter- simple sequence repeat (ISSR) markers. Theoretical and Applied Genetics 95:211-219.

Hartl DL, and Clark AG (1997) Principles of Population Genetics 3rd Ed. Sunderland, Massachusetts: Sinauer Associates, Inc.

Kerje T, Grum M (2000) the origin of melon, Cucumis melo: a review of the litreature. Acta Horticulture 510: 37-44.

Kirkbride JH, (1993) biosystematics monograph of the genus Cucumis. Parkway, North Carolina

Kojima T, Nagaoka T, Noda K, Ogihara Y (1998) Genetic linkage map of ISSR and RAPD markers in Einkorn wheat in relation to that of RFLP markers. Theoretical and Applied Genetics 96: 37-45.

Liu B, Song M (2002) Assesment of genetic diversity in melon germplasm based on RAPD and ISSR. Journal of Agricultural Biotechnology 10:231-236.

Liu ZQ, Pel Y, Pu ZJ (1999) Relationship between hybrid performance and genetic diversity based on RAPD markers in wheat, *Triticum aestivum* L. Plant Breeding 118: 119-123.

Michalakis Y, Excoffier L, (1996) a generic estimation of population subdivision using distances between alleles with special reference for microsatellite loci. Genetics 142: 1061-1064.

Pritchard JK, Stephens M, Donnelly P (2000) Inference of population structure using multilocus genotype data. Genetics 155:945-959.

Prevost A, Wikinson MJ (1999) a new system of comparing PCR primers applied to fingerprinting of potato cultivars. Theoretical and Applied Genetics 98:107-112.

Powell WC, Gordon C, Macharay PJ (1996) Polymorphism revealed by simple sequence repeat. Trends in Plant Science 7:215-221.

Reddy MP, Sarla N, Neeraja CN, Siddiq EA (2000) Assessing genetic variation among Asian A-genome Oryza species using inter simple sequence repeat (ISSR) Polymorphism. Fourth International Rice Genetics Symposium, 22-27 October 2000, IRRI, Philippines. Abstracts p. 212

Renner SS, Schaefer H, Kocyan A (2007) Phylogenetics of Cucumis (Cucurbitaceae): Cucumber (C. *sativus*) belongs in an Asian/Australian clade far from melon (*C. melo*). Biomedcentral Evolutionary Biology. 7: 1-11

Rezaei M, Naqavi MR, Amiri MR (2010) assessment of genetic diversity in alfalfa ecotypes of central and eastern regions of Iran using microsatellite markers. Iran Corp science Journal 12: 520-532

Salehi R, Kashi AK, Miang LJ, Babalar M, Delshad M, Giuli S, Chan HY (2008) regeneration and Primary growth of melon plantlets linked on different pumpkin stems. Iranian Horticultural Science Journal. 41: 1-9 (in farsi)

Shi W, Yang CF, Chen JM. and Guo YH (2008) Genetic variation among wild and cultivated populations of the Chinese medicinal plant *Coptis chinensis* (Ranunculaceae). Plant Biology 10: 485-491.

Stepansky A, Kovalski I, Rer-Treves R (1999) Intraspecific classification of melons (*Cucumis melo* L.) in view of their phenotypic and molecular variation. Plant Systematics and Evolution 217: 313-333.

Wang J, Yao J, Li W (2008) Construction of a molecular map for melon (Cucumis melo L.) Based on SRAP. Frontiers of Agriculture in China 2:451-455.

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-19]

[DOR: 20.1001.1.20084439.1393.9.1.9.8]