ارزیابی تنوع ژنتیکی و گروه‌بندی اکوتیپ‌های مختلف هندوانهٔ با استفاده از نشانگرهای مولکولی SRAP

مریم عبدلی‌نسب* و مهدی رحیمی

دریافت: ۱۳۹۶/۱/۱۵/ پذیرش: ۱۳۹۶/۳/۱۶/ چاپ: ۱۳۹۶/۹/۳۰

گروه بیوتکنولوژی، پژوهشگاه علوم و تکنولوژی پیشرفته و علوم محیطی، دانشگاه تحصیلات تکمیلی صنعتی و فناوری پیشرفته کرمان، کرمان، ایران
*مسئول مکاتبات: m.abdolinasab@kgut.ac.ir

چکیده. تعداد ۳۸ توده و رقم مهم هندوانه از مناطق مختلف کشور جمع‌آوری و پس‌از آماده‌سازی خاک، در مزرعهٔ تحقیقاتی در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار کشت شد. به‌منظور بررسی تنوع ژنتیکی، DNA از برگ استخراج و واکنش زنجیره‌ای پلیمراز با استفاده از ۱۴ جفت آغازگر SRAP بهینه شد. تعداد ۱۳۶ باند چندشکل به‌دست آمد، که جفت آغازگر EM10-Me4 با تعداد نوزده باند و جفت آغازگرهای EM16-Me4 و EM16-Me4 با تعداد هفت باند به‌ترتیب بیشترین و کمترین تعداد باند چندشکل را ایجاد کردند. محتوای اطلاعات چندشکل (PIC) در این تحقیق بین ۰/۲۰ تا ۰/۳۲ و میزان تنوع ژنی براساس شاخص نی از ۰/۱۷ تا ۰/۲۸ به‌دست آمد. تجزیهٔ تابع تشخیص خطی فیشر نشان داد که روش UPGMA و با انجام صحت گروه‌بندی در حدود ۹۰ درصد، مناسب‌تر از دیگر روش‌های تجزیهٔ خوشه‌ای است. تجزیهٔ خوشه‌ای براساس روش جاکارد توده‌های تحت مطالعه را در پنج گروه مجزا قرار داد. تجزیه به مختصات اصلی نشان می‌دهد که مؤلفه‌های اول و دوم ۹۲/۵ درصد از تنوع به‌دست‌آمده را توجیه می‌کنند که خود نشان‌دهندهٔ توزیع مناسب نشانگرها در کل ژنوم است.

واژه‌های کلیدی. تجزیهٔ خوشه ای، تجزیه تابع تشخیص، PCR

Evaluation of genetic diversity and classification of watermelon (*Citrullus lanatus*) ecotypes using SRAP molecular markers

Maryam Abdoli Nasab* & Mehdi Rahimi

Received 04.04.2017/ Accepted 06.06.2017/ Published 21.12.2017

Department of Biotechnology, Institute of Science, High Technology and Environmental Science, Graduate University of Advanced Technology, Kerman, Iran
*Correspondent author: m.abdolinasab@kgut.ac.ir

Abstract. Thirty eight ecotypes of watermelon were collected from different parts of Iran. After the preparation of the field, these eotypes were cultivated in a completely randomized block design with three replications. In order to investigate genetic diversity, genomic DNA samples were extracted from leaves and Polymerase chain reactions were optimized using 14 SRAP primer pairs. One hundred thirty six polymorphic bands were detected, of which the EM10-Me4 was the most abundant primer pair with 19 bands and EM16-Me4 and EM16-Me14 were the least primer pairs with 7 bands. PIC index varied from 0.20 to 0.32 and genetic diversity was 0.17 to 0.28 on the basis of Nei index. Fisher's Linear Detection Analysis showed that the UPGMA method and the grouping accuracy of about 90% are more appropriate than other cluster analysis methods. Cluster analysis, using Jakard method, was performed and the ecotypes studied were classified into five distinct groups. Based on the PCA, the first and second components included 92.5% of the variation, which represents the proper distribution of the markers on the whole genome.

Keywords. cluster analysis, discriminant analysis, PCR

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2026-10-31]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1396.4.3.1.6]
[DOI: 10.21859/acadpub.nbr.4.3.201]

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2026-10-31]

[DOR: 20.1001.1.24236330.1396.4.3.1.6]

[DOI: 10.21859/acadpub.nbr.4.3.201]

مقدمه

هندوانه با نام علمی *Citrullus lanatus* (Bailey, 1930) از تیره کدوئیان (Cucurbitaceae) و زیر تیره Cucurbitoidae، (Dane & Liu, 2007) گیاهی گرمسیری یا نیمه‌گرمسیری است (Brickell, 1992). دو واریتهٔ اصلی هندوانه (C. *lanatus* var. *lantatus*) با نام هندوانهٔ شیرین و (C. *lanatus* var. *citroides*) خربزهٔ گاوی معرفی شده‌اند. خربزهٔ گاوی، واریته‌ای اگرچه غیرتلخ اما غیر شیرین است، و عمدتاً برای غذای دام استفاده می‌شود، اما به‌دلیل خاصیت پوست میوهٔ آن، در برخی مناطق، به‌صورت کنسرو و ترشی نیز مصرف می‌شود (Ipek Uluturk *et al.*, 2001; Mujaju *et al.*, 2011). دو تیپ مشخص از واریتهٔ شیرین با نام *vulgaris* و *mucosopermus* شناخته شده است. ارقام *vulgaris* به‌طور وسیع، کشت می‌شود و میوه‌هایی با رنگ گوشت قرمز و طعم شیرین دارد. ارقام *mucosopermus* عمدتاً در مناطق غربی آفریقا کشت شده و به نام هندوانهٔ بذری منبع روغن خوراکی است (Jeffrey, 2001). هندوانهٔ بومی بیابان‌های کالاهاری آفریقاست، ولی امروزه در سرتاسر مدیترانه و مناطق حاره‌ای گسترش یافته است (Levi & Thomson, 2001). نوع وحشی از ۴۰۰۰ سال قبل در آفریقا اهلی شده و به‌طور گسترده در مناطقی با تابستان‌های گرم و طولانی رشد می‌کند (Robertson, 2004).

هندوانه دارای ترکیبات آنتی‌اکسیدانی ازجمله لیکوپن، فلاونوئیدها، اسیدآمینه‌ای بنام سیترولین، آسکوربیک‌اسید، توکوفرول، موادی با عنوان کاروتن و لیکوپن و نوعی قند به‌نام مانیتول است. میزان لیکوپن موجود در هندوانه از ۸/۱-۷/۸ میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم وزن تازه متغیر است (Oms-Oliu *et al.*, 2005). منابع ژنتیک گیاهی علاوه‌بر این‌که عامل زیربنایی برای توسعه محسوب می‌شوند، همچون منبعی از سازگاری ژنتیکی و سپری دربرابر تغییرات عوامل محیطی عمل می‌کنند (Rasoulzadegan, 1991). تنوع مبنای گزینش فنوتیپی و ژنوتیپی و اساس اصلاح کمی وکیفی محصولات کشاورزی است. آگاهی از تنوع ژنتیکی و مدیریت منابع ژنتیکی، ضمن حفاظت ذخایر ژنتیکی، استفاده از آنها را در برنامهٔ اصلاحی ممکن می‌سازد(Ghareyazi, 1998). امروزه، جهت تعیین تنوع ژنتیکی بین جمعیت‌های حفاظت‌شده علاوه‌بر شیوه‌های سنتی (مبتنی بر خصوصیات و نشانگرهای مرفولوژیک)، از ابزارها و نشانگرهای نوین مولکولی از جمله نشانگرهای DNA استفاده می‌شود. نشانگرهای DNA بر چندشکلی طبیعی در DNA مبتنی هستند که اساس بهره‌برداری برای اهداف کاربردی است (Lavi *et al.*, 1994). نشانگرمولکولی SRAP اولین‌بار به کوشش Li و Quiros معرفی شد (2001). تکنیک نشانگر SRAP، نشانگر تقریباً جدیدی است که توالی کددهندهٔ ژنوم را توسط آغازگرهای ۱۷ تا ۱۹ نوکلئوتیدی هدف‌گیری می‌کند که به‌خصوص برای تکثیر توالی ORF (قالب خواندنی باز) مورد استفاده قرار گرفته و برمبنای دو آغازگر تکثیرکننده است. این نشانگر مولکولی هم بارز قابلیت تشخیص میزان زیادی از پلی مورفیسم را در بین گونه‌ها دارد. گزارش‌ها نشان می‌دهد که نشانگر SRAP بیشترین هماهنگی را با تغییرات مورفولوژی نسبت به دیگر نشانگرها دارد، زیرا SRAP باعث تکثیر توالی ORF می‌شود که در واقع این توالی هدف با بروز صفات مورفولوژیکی در موجودات در ارتباط مستقیم است (Ferriol *et al.*, 2004). Ipek Uluturk و همکاران (2011) تنوع ژنتیکی و ارتباط ۹۰ جمعیت هندوانه را با استفاده از ۳۰ تعداد نشانگر SRAP تحت مطالعه قرار دادند. ۵۰ نمونه از ترکیه و مابقی از دیگر نقاط جهان به‌وسیلهٔ دپارتمان کشاورزی ایالات متحدهٔ آمریکا جمع‌آوری و تجزیه و تحلیل شدند. تجزیه و تحلیل داده‌ها به‌کمک UPGMA نمونه‌ها را در پنج دستهٔ مجزا قرار داد. از نشانگر RFLP برای گروه‌بندی ارقام مختلف هندوانه نیز استفاده شده است. نتایج حاصل از تحقیق نشان داد که فقط ۳۳ درصد پروپ‌های آزمایش‌شده برای تشخیص حداقل یکی از هفت گروه هندوانه آزمایش‌شده مفید هستند (Neuhausen, 1992). براساس مطالعات Che و همکاران (2012)، تجزیه و تحلیل AFLP برای بررسی تنوع ژنتیکی بین ۳۰ ژنوتیپ هندوانه مورد استفاده قرار گرفت. تعداد هشت آغازگر AFLP چندشکل، از ۶۴ آغازگر انتخاب شدند. چندشکلی ۱۳ درصد تا ۳۱/۹ درصد در ۲۸ کالتیوار مورد آزمایش و۴۵/۳ درصد تا ۶۴/۲ درصد بین ژنوتیپ‌ها مشاهده شد. براساس مطالعات Sheng و همکاران (2012) تنوع ژنتیکی در میان ۹۵ نمونه هندوانه ارزیابی و با نمونه هایی از چین، آمریکا، ژاپن، روسیه و هندوانه وحشی (*Trichosanthes kirilowii*) (Robinson & Decker-Walters, 1997) مقایسه شد.

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2026-10-31]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1396.4.3.1.6]
[DOI: 10.21859/acadpub.nbr.4.3.201]

خصوصیات مورفولوژیک شامل نسبت تعدادگل ماده به نر، تعداد شاخه، اندازهٔ میوه، عملکرد میوه و نشانگر SSR به‌منظور برآورد تنوع ژنتیکی مورد استفاده قرار گرفت. براساس مطالعات Gama و همکاران (2013) بررسی الگوهای آللی و شباهت ژنتیکی در میان هفده رقم هندوانه با استفاده از نشانگر ریزماهواره انجام شد. برای تجسم شباهت ژنتیکی، دندروگرام UPGMA توسط ماتریس شباهت ضریب جاکارد براساس ۳۴ آلل، ده جایگاه ریز ماهواره DNAتولید شد. جایگاه تجزیه و تحلیل‌شدهٔ کافی برای تمایز تمام هفده رقم کافی نبود. الگوی آلل‌ها و جفت بازها برای ۳۴ آلل در ۱۰جایگاه، اولین تلاش برای استفاده از ریزماهواره‌ها برای حفاظت از ارقام تجاری هندوانه در برزیل بود. مطالعهٔ Mujaju و همکاران (2010) در بررسی تنوع ژنتیکی ارقام بومی هندوانهٔ زیمباوه (۸۱ نهال از پنج اکوتیپ خربزهٔ گاوی و سه اکوتیپ هندوانهٔ شیرین) با استفاده از دو نشانگر مولکولی RAPD و SSR، ارقام مطالعه‌شده در دو گروه مجزا قرار گرفتند. محتوای اطلاعات چندشکل (PIC) از ۰/۴۷-۰/۷۷ برای آغازگر RAPD واز ۰/۳۹-۰/۹۷ برای آغازگرSSR متغیر بود. برمبنای تجزیه و تحلیل واریانس مولکولی (AMOVA)، بیشترین میزان تنوع به‌دست‌آمده به تنوع درون‌واریته‌ای نسبت داده شد. مغایر با گزارش‌های قبلی، اکوتیپ‌های هندوانهٔ شیرین میزان تنوعی برابر با اکوتیپ‌های خربزهٔ گاوی مورد مطالعه نشان دادند. Raghami و همکاران (2013) از هجده جفت آغازگر SSR برای ارزیابی تنوع ژنتیکی در ۵۲ تودهٔ هندوانه شامل ۲۴ توده از گروه‌های مختلف باغبانی هندوانهٔ ایران همراه با ۲۸ تودهٔ خارجی از کشورهای مختلف استفاده کردند. تمام جایگاه‌های ژنی ریزماهوارهٔ آزمون‌شده چندشکل بودند که مفیدبودن آنها برای تجزیهٔ ژنتیکی هندوانه‌ها تأیید شد. 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. شناسایی تنوع ژنتیکی و حفظ و نگهداری ذخایر توارثی ضروری و یکی از اولین قدم‌ها در برنامهٔ به‌نژادی موفق است (Ghareyazi, 1998). مطالعهٔ تنوع ژنتیکی نه‌تنها برای سازمان‌دهی و حفاظت مواد گیاهی، بلکه برای بهره-برداری از پدیدهٔ هتروزیس و تولید بذر هیبرید هندوانه با هتروزیس بالا از لحاظ عملکرد، سازگاری بیشتر با محیط و تحمل دربرابر تنش‌های زیستی و غیرزیستی نیز اهمیت دارد. از نظر سطح زیر کشت، ایران حدود ۱۳۱ هزار هکتار را به خود اختصاص داده و متوسط تولید آن حدود ۲۷ تن در هکتار است (NaroueiRad *et al*., 2009). در مطالعهٔ حاضر، تنوع ژنتیکی توده‌ها و ارقام مختلف هندوانهٔ شیرین از سراسر کشور بررسی شده است. با اطلاع از وضعیت پراکندگی ژنتیکی گونه‌ها و اکوتیپ‌های مختلف، می-توان با برنامه‌ریزی آتی تلاقی بین گونه‌ها در جهت تولید بذر هیبرید، گامی هرچند کوچک در جهت خودکفایی بذرهای هیبرید هندوانهٔ مصرفی کشور برداشت.

مواد و روش‌ها

تعداد ۳۸ توده و رقم (رابر، گرد، چترود، ارزوییه، بافت، علی آبادزرند، سرکارآقایی، صوغان، A3، سفید۱، سفید۲، دشتخاک زرند، سیاه زرند، Crimson sweet، راور، ژاپنی، رفسنجان، روستای هجرک، سبزوار، بی نام، B، C، D، E، سفید زرند، سفید خارجی، ده علی داور، G، سفید، تربت حیدریه، محلی نیشابور، سیاه یزد، بوشهر، خراسان رضوی، سیستان بلوچستان، اصفهان، قزوین و یزد) برخی از مؤسسه اصلاح نهال و بذر کرج و برخی از سراسر کشور جمع‌آوری و درقالب طرح بلوک کامل تصادفی در سه تکرار در مزرعهٔ تحقیقاتی دانشگاه تحصیلات تکمیلی صنعتی و فناوری پیشرفته کرمان کشت شد. ۱۲ روز پس‌از کشت، از هر ژنوتیپ، در مرحلهٔ چندبرگی، برگ برای استخراج DNA ژنومی برداشت شد. استخراج DNA با استفاده از روش CTAB (Murray & Thompson, 1980) انجام و کمیت و کیفیت DNA استخراجی با استفاده از اسپکتروفتومتری و الکتروفورز ژل آگاروز ارزیابی شد. واکنش زنجیره‌ای پلیمراز با استفاده از چهارده ترکیب آغازگری SRAP (جدول ۱) در حجم ۱۱ میکرولیتر شامل ۵۰ نانوگرم DNA ژنومی، ۵۰ میلی‌مولار $MgCl_2$، ۱۰ میکرومولار آغازگر و Unit ۱ آنزیم Taq پلیمراز انجام شد. چرخهٔ حرارتی شامل ۴ دقیقه واسرشته‌سازی اولیه در ۹۴°C، سپس ۳۵ سیکل به‌صورت۴۰ ثانیه واسرشته‌سازی در ۹۴°C، ۴۰ ثانیه مرحلهٔ اتصال آغازگر در دمای مناسب، ۲ دقیقه مرحلهٔ بسط در دمای ۷۲ °C صورت گرفت وآخرین چرخه هم به‌صورت ۵ دقیقه بسط انتهایی در دمای ۷۲ °C انجام گرفت. برای الکتروفورز محصول PCR و آشکارسازی باندها از ژل آگارز ۱/۵ درصد استفاده شد و برای عکس‌برداری از دستگاه ژل داک

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2026-10-31]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1396.4.3.1.6]
[DOI: 10.21859/acadpub.nbr.4.3.201]

جدول ۱- مشخصات آغازگرهای SRAP مورد استفاده در این مطالعه.

Table 1. Characteristics of the SRAP primers used in this study.

ردیف	نام آغازگر	دمای اتصال آغازگر	توالی
۱	EM1-Me4	۴۹	5′-GACTGCGTACGAATTAAT-3′ 5′-TGAGTCCAAACCGGACC-3′
۲	EM1-Me14	۴۹	5′-GACTGCGTACGAATTAAT-3′ 5′-TGAGTCCAAACCGGCTA-3′
۳	EM6-Me14	۴۹	5′-GACTGCGTACGAATTGCA-3′ 5′-TGAGTCCAAACCGGCTA-3′
۴	EM10-Me8	۴۹	5′-GACTGCGTACGAATTTAG-3′ 5′-TGAGTCCAAACCGGTGT-3′
۵	EM6-Me8	۴۹	5′-GACTGCGTACGAATTGCA-3′ 5′-TGAGTCCAAACCGGTGT-3′
۶	EM10-Me4	۴۹	5′-GACTGCGTACGAATTTAG-3′ 5′-TGAGTCCAAACCGGACC-3′
۷	EM10-Me14	۴۹	5′-GACTGCGTACGAATTTAG-3′ 5′-TGAGTCCAAACCGGCTA-3′
۸	EM16-Me10	۴۹	5′-GACTGCGTACGAATTCGG-3′ 5′-TGAGTCCAAACCGGGAC-3′
۹	EM1-Me10	۴۹	5′-GACTGCGTACGAATTAAT-3′ 5′TGAGTCCAAACCGGGAC-3′
۱۰	EM10-Me10	۵۳	5′-GACTGCGTACGAATTTAG-3′ 5′-TGAGTCCAAACCGGGAC-3′
۱۱	EM6-Me10	۵۳	5′-GACTGCGTACGAATTGCA-3′ 5′-TGAGTCCAAACCGGGAC-3′
۱۲	EM16-Me8	۵۱	5′-GACTGCGTACGAATTCGG-3′ 5′-TGAGTCCAAACCGGTGT-3′
۱۳	EM16-Me14	۴۹	5′-GACTGCGTACGAATTCGG-3′ 5′-TGAGTCCAAACCGGCTA-3′
۱۴	EM16-Me4	۴۷	5′-GACTGCGTACGAATTCGG-3′ 5′-TGAGTCCAAACCGGACC-3′

(Bio-Rad) استفاده شد. الگوی باندی براساس وجود (یک) یا فقدان (صفر) نوارها نمره‌دهی شد.برای محاسبه تنوع ژنتیکی از رابطه $H_E = 1 - \sum_{i=1}^{n} Pi^2$ استفاده می‌شود، در این رابطه، $\sum_{i=1}^{n} Pi^2$ مشاهده‌شده هموزیگوت‌هاست و Pi فراوانی i امین آلل در یک جایگاه معین و n بیانگر تعداد آلل است (Nei, 1972). تحلیل داده‌های مولکولی با نرم‌افزار SAS انجام شد. شاخص شانون یکی از چندین شاخص تنوع ژنی نی است که برای ارزیابی گوناگونی و تنوع ژنتیکی درون جمعیت به‌کار می‌رود. شاخص شانون از رابطهٔ $H' = -\sum_{i=1}^{s} Pi \ln Pi$ به‌دست آمد که Pi فراوانی آلل i ام و S تعداد کل آلل‌های مشاهده‌شده است (Nei, 1972). تعداد آلل مؤثر، شاخص شانون، تنوع ژنی با استفاده از نرم‌افزار POPGEN V 1/31 و MAPMAKER V 3.25 تعیین شد. فاصلهٔ ژنتیکی بین اکوتیپ‌های مختلف با روش‌های مختلف تجزیهٔ خوشه‌ای و همچنین معیارهای مختلف شباهت محاسبه و درنهایت گروه‌بندی ارقام با تجزیهٔ خوشه‌ای به روش UPGMA و با معیار فاصلهٔ جاکارد به‌کمک نرم‌افزار NTYSIS صورت گرفت. جهت تجزیه به مختصات اصلی (PCOA) از نرم‌افزار و برای انجام تجزیهٔ تابع تشخیص از نرم‌افزار MAPMAKER V 3.25 (Lincoln & Lander, 1993; Liu & Muse, 2005) استفاده شد.

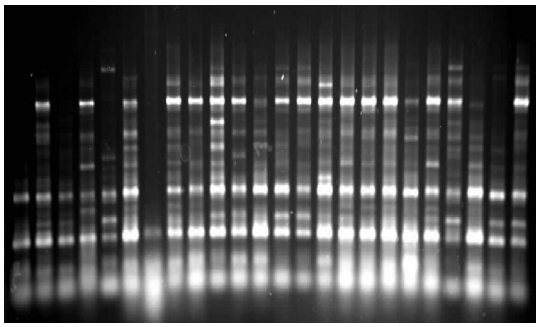
نتایج و بحث

افزایش تولید و بهبود کیفیت هندوانه به میزان زیادی به انتخاب ژنوتیپ‌های برتر، روش تولید و تقاضای بازار بستگی دارد

جدول ۲- تعداد و فراوانی آلل‌ها، درصد پلی‌مورفیسم، محتوای اطلاعات چند شکل (PIC)، تنوع ژنی نی و شاخص شانون حاصل از داده‌های مولکول در نمونه-های هندوانهٔ تحت مطالعه.

Table 2. The number and frequency of alleles, the percent of polymorphism, Polymorphism Information Content (PIC), Nei's gene diversity and Shannon information index generated from molecular data in studied watermelon samples.

نام آغازگر	باند پلی مورف	کل باند	درصد پلی مورفیسم	تعداد آلل مؤثر	شاخص نی	شاخص شانون	PIC	Average GD value
EM1-Me4	۷	۱۱	۶۳/۶۴	۱/۲۴	۰/۱۷	۰/۲۹	۰/۲۵	۰/۱۸
EM1-Me14	۶	۱۱	۵۴/۵۵	۱/۳۷	۰/۲۵	۰/۴	۰/۲۱	۰/۲۷
EM6-Me14	۷	۱۲	۵۸/۳۳	۱/۳۴	۰/۲۲	۰/۳۶	۰/۱۹	۰/۲۲
EM10-Me8	۱۲	۱۴	۸۵/۷۱	۱/۴۱	۰/۲۶	۰/۴۲	۰/۲۲	۰/۲۷
EM4-Me8	۱۵	۱۷	۸۸/۲۴	۱/۵۷	۰/۳۲	۰/۴۷	۰/۲۵	۰/۳۳
EM4-Me8	۱۴	۱۹	۷۳/۶۸	۱/۵۳	۰/۳۱	۰/۴۷	۰/۲۵	۰/۳۲
EM10-Me4	۱۲	۱۴	۸۵/۷۱	۱/۵۴	۰/۳۲	۰/۴۸	۰/۲۵	۰/۳۳
EM10-Me14	۱۴	۱۵	۹۳/۳۳	۱/۶۰	۰/۳۶	۰/۵۴	۰/۲۹	۰/۳۷
EM16-Me10	۱۳	۱۴	۹۲/۸۶	۱/۵۱	۰/۳۱	۰/۴۷	۰/۲۵	۰/۳۲
EM1-Me10	۷	۱۰	۷۰	۱/۶۲	۰/۳۷	۰/۵۶	۰/۳۰	۰/۳۸
EM10-Me10	۶	۱۳	۴۶/۱۵	۱/۴۹	۰/۳۱	۰/۴۸	۰/۲۵	۰/۳۱
EM6-Me10	۱۳	۱۶	۸۱/۲۵	۱/۷۱	۰/۴۰	۰/۵۸	۰/۳۱	۰/۴۰
EM16-Me8	۴	۷	۵۷/۱۴	۱/۷۲	۰/۴۰	۰/۵۹	۰/۳۲	۰/۴۱
EM16-Me14	۶	۷	۸۵/۷۱	۱/۴۷	۰/۲۸	۰/۴۳	۰/۲۳	۰/۲۹
میانگین	۹/۷۱	۱۲/۸۶	۷۴/۰۲	۱/۵۱	۰/۳۱	۰/۴۷	۰/۲۵	۰/۳۲



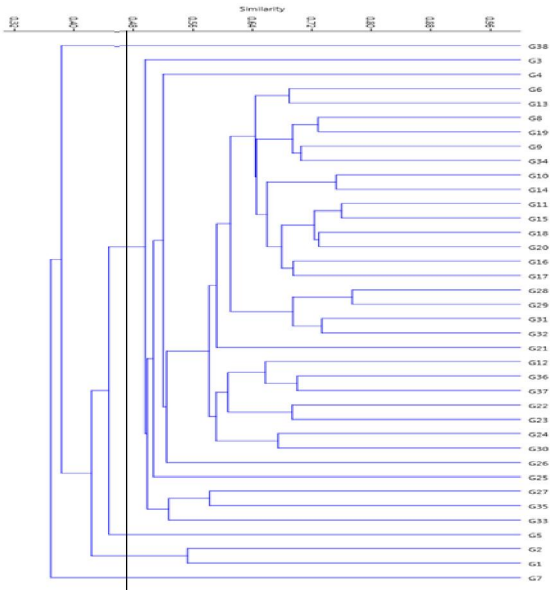
شکل ۱- الگوی باندی SRAP حاصل از تکثیر اکوتیپ های مختلف هندوانه با آغازگر EM6-Me10.

Fig. 1. SRAP banding pattern generated by different watermelon ecotypes amplification using EM6-Me10 primer

(Gvozadanovic-Varga *et al*., 2011). جمعیت‌های مختلف هندوانهٔ کشور منبعی غنی از تنوع ژنتیکی را نشان می‌دهند. ضمن توجه به حفظ و حفاظت می‌توان از تنوع موجود در جهت تولید بذر هیبرید در برنامهٔ تلاقی‌ها در جهت خودکفایی و قطع وابستگی به بذور هیبرید بهره برد. همان‌گونه که در شکل ۱ مشاهده می‌شود، نشانگرهای مذکور توانسته‌اند ضمن ایجاد چندشکلی قابل ملاحظه، الگوی باند واضح و باکیفیتی تولید کنند. در این پژوهش، استفاده از ۱۴ آغازگر SRAP درمجموع ۱۸۰ باند را نشان داد که از بین آنها ۱۳۶ باند چند شکل بودند و میانگین مکان‌های چندشکل به ازای هر آغازگر معادل ۹/۷۱ به‌دست آمده است (جدول ۲). از بین آغازگرهای مورد استفاده، آغازگر EM10-Me4 با تعداد ۱۹ باند چندشکل و بعد از آن، آغازگرهای EM4-Me8 و EM10-Me14 با ۱۴ باند چندشکل بیشترین تعداد باند چندشکل و آغازگرهای EM16-Me14 و EM16-Me4 با تعداد هفت باند کمترین تعداد باند چند شکل را داشتند. محتوای اطلاعات چندشکل (PIC)، به‌تفکیک برای هر یک از آغازگرهای تحت مطالعه محاسبه و نتایج در جدول ۲ ارائه شد. محتوای اطلاعات چندشکل (PIC) در این تحقیق بین

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2026-10-31]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1396.4.3.1.6]
[DOI: 10.21859/acadpub.nbr.4.3.201]

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2026-10-31]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1396.4.3.1.6]
[DOI: 10.21859/acadpub.nbr.4.3.201]

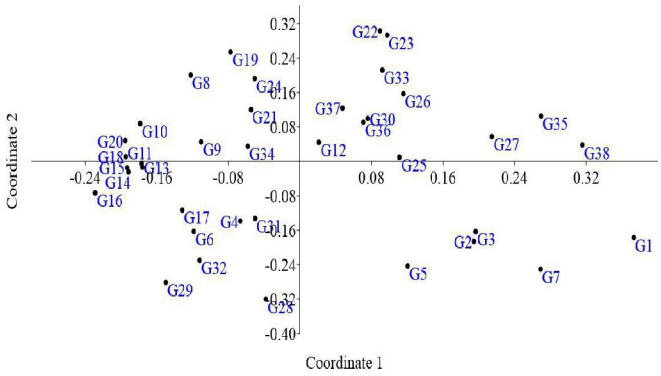


شکل ۲- دندروگرام ترسیم شده براساس روش UPGMA و ضریب تشابه تطابق ساده برای ۳۸ اکوتیپ مختلف هندوانهٔ مورد مطالعه.

Fig. 2. Dendrogram of 38 studied watermelon ecotypes using UPGMA clustering method and simple matching similarity coefficient

۰/۱۹ تا ۰/۳۲ و میانگین محتوای اطلاعات چندشکل ۰/۲۵ بود. بالاترین میزان PIC در جفت آغازگر EM16-Me14 به میزان ۰/۳۲ و بعد از آن جفت آغازگر EM16-Me8 به میزان ۰/۳۱ تعیین شد که نشان‌دهندهٔ کارایی زیاد این آغازگرها در تمایز ژنوتیپ‌های مورد استفاده در این تحقیق است. تعداد آلل‌های مؤثر در بین نشانگرهای مطالعه‌شده متفاوت بود. میانگین تعداد آلل‌های مؤثر در کل جمعیت ۱/۵۱ به‌دست آمد و از ۱/۲۴ تا ۱/۴۷ متغیر بود (جدول ۲). بیشترین تعداد آلل مؤثر به‌ترتیب مربوط به آغازگرهای EM16-Me14، EM16-Me8 و EM10-Me10 در بین کل ارقام بود. ازآنجایی‌که یکی از معیارهای مهم در انتخاب آغازگرهای مناسب و سودمند، تعداد آلل‌های مؤثر است (Zho *et al*., 2004)، می‌توان از این آغازگرها برای مطالعات بعدی به‌منظور بررسی تنوع ژنتیکی ارقام هندوانه استفاده کرد. یکی از مهم‌ترین شاخص‌ها برای ارزیابی تنوع ژنی در بین ارقام و جمعیت‌ها، شاخص تنوع ژنی نی است. برآورد شاخص نی نشان داد که میزان تنوع ژنی از ۰/۱۷ تا ۰/۲۸ متغیر است و آغازگرهای EM16-Me14، EM16-Me8 و EM10-Me10 بیشترین تنوع ژنی را نشان دادند. آغازگر EM1-Me4 کمترین میزان تنوع ژنی را نشان داد. میانگین تنوع ژنی در جمعیت تحت مطالعه ۰/۳۱ بود. ضریب شانون بیانگر میزان چندشکلی در بین ژنوتیپ‌ها است. در این تحقیق میانگین ضریب شانون ۰/۴۷ بود که نشان‌دهندهٔ تنوع متوسط در ژنوتیپ‌های تحت بررسی است. آغازگرهای EM16-Me14، EM16-Me8 و EM10-Me10 دارای بیشترین شاخص شانون بودند. این نشان می‌دهد که آغازگرهای اشاره شده می‌تواند تنوع ژنتیکی درون-جمعیتی را بهتر توجیه کند و آغازگر EM1-Me4 کمترین شاخص شانون را دارد. تجزیهٔ خوشه‌ای به‌روش UPGMA نشان داد که گروه‌بندی براساس ضریب تطابق ساده، بهترین روش گروه‌بندی از بین روش‌های تحت بررسی است و میزان تشابه بین ارقام براساس ضریب تطابق متغیر بود. ازآن‌جایی‌که روش متوسط فاصلهٔ بین کلاستر (UPGMA) با معیار فاصلهٔ جاکارد ضریب همبستگی کوفنتیگ (r= ۰/۸۹) بهترین نتیجه را در گروه‌بندی ارقام تحت مطالعه ارائه داد، فقط نتایج این روش گزارش شد.

برای تعیین تعداد گروه‌ها نیز، از نواحی مختلف برش صورت گرفت و صحت گروه‌بندی هر یک از نواحی بریده‌شده با تجزیهٔ تابع تشخیص تحت بررسی قرار گرفت که تعداد پنج گروه با



شکل ۳- نمودار تنوع ژنتیکی ۳۸ اکوتیپ هندوانه با استفاده از تجزیه به مختصات اصلی بر مبنای ۱۴ ترکیب آغازگری SRAP.

Fig. 3. Graphic representation of 38 watermelon ecotypes' genetic diversity, using PCA, based on 14 primer combinations of SRAP.

صحت گروه‌بندی در حدود ۹۰ درصد به‌منزلهٔ بهترین تعداد گروه برای این روش انتخاب شد که به ترتیب، گروه اول شامل توده قزوین، گروه دوم شامل توده‌های چترود، ارزوییه، علی‌آباد زرند، سیاه زرند، سرکار آقایی، سبزوار، A3، بوشهر، سفید۱، ۱۴، سفید۲، راور، روستای هجرک، بی‌نام، ژاپنی، رفسنجان، G، سفید، محلی نیشابور، سیاه یزد، B، دشتخاک زرند، سیستان و بلوچستان، اصفهان، C، D، E، تربت حیدریه، سفید خارجی، سفید زرند، ده علی راور، خراسان رضوی و یزد، گروه سوم شامل تودهٔ بافت و گروه چهارم شامل توده‌های رابر و گرد، و در گروه پنجم شامل تودهٔ سرکار آقایی است (شکل ۲). بیشترین فاصلهٔ بین تودهٔ گرد و بافت و کمترین فاصله هم بین تودهٔ سفید و G مشاهده شد. تجزیه به مختصات اصلی نشان داد که مؤلفه‌های اول و دوم ۹۲/۵ درصد از تنوع به‌دست‌آمده را توجیه می‌کنند که خود نشان‌دهندهٔ توزیع مناسب نشانگرها در کل ژنوم است (شکل ۳).

فرسایش ژنتیکی در اثر گسترش ارقام اصلاح‌شده، امنیت غذایی در جهان را با تهدید مواجه می‌کند. نیاز به حفظ و به‌کارگیری منابع ژنتیکی به منزلهٔ محافظی دربرابر مشکلات پیش‌بینی‌نشده در آینده بر همگان آشکار است. نگرانی از تضعیف تنوع منابع ژنتیکی به همراه تقاضای روزافزون به این منابع، آنها را در مرکز توجه جهانی قرار داده است. تنوع مبنای گزینش فنوتیپی و ژنوتیپی و اساس اصلاح کمی وکیفی محصولات کشاورزی است. آگاهی از تنوع ژنتیکی و مدیریت منابع ژنتیکی، ضمن حفاظت ذخایر ژنتیکی، استفاده از آنها را در برنامهٔ اصلاحی ممکن می‌سازد (Ghareyazi, 1998). با توجه به مقادیر تشابه بین ارقام می‌توان نتیجه‌گیری کرد که تلاقی بین ارقامی که کمترین تشابه را دارند (بیشترین فاصله)، بهترین نتیجه را در دستیابی به هیبریدها یا دستیابی به حداکثر تفکیک در نسل‌های بعدی خواهد داشت. استفاده از فناوری نشانگر مولکولی می‌تواند دقت تجزیه و تحلیل در تنوع ارقام هندوانه را در موارد اصلاحی به‌طور بسزایی بهبود بخشد. انتخاب براساس نشانگرهای مولکولی روشی سریع در برنامهٔ اصلاحی است و اطلاعات ژنتیکی به‌دست‌آمده از نشانگرهای مولکولی در برنامه‌های اصلاحی نقش مهمی را ایفا می‌کنند؛ بنابراین، برای انتخاب ژنوتیپ برتر ارزش زیادی دارند. استفاده از نشانگرهای SRAP به‌طور مؤثر جهت مطالعه تنوع ژنتیکی استفاده می‌شوند. بالابودن معیارهای تعداد آلل مؤثر، تنوع ژنی نی، شاخص شانون و میزان PIC برای جفت آغازگر EM16-Me14، EM16-Me8 و EM10-Me10 نشان‌دهندهٔ کارآیی زیاد این آغازگرها در تمایز ژنوتیپ‌های هندوانه در این تحقیق بود و می‌توان از این آغازگرها در بررسی تنوع ژنتیکی هندوانه استفاده کرد.

سپاسگزاری

از پژوهشگاه علوم، تکنولوژی پیشرفته و علوم محیطی دانشگاه تحصیلات تکمیلی صنعتی و فناوری پیشرفته کرمان برای تأمین مالی این تحقیق از محل طرح پژوهشی به شماره ۹۵/۱۲۰۳/ص/۷ سپاسگزاریم.

REFERENCES

Brickell, C. 1992. The Royal Horticultural Society Encyclopedia of Gardening. – London: Dorling Kindersley. p. 333

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2026-10-31]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1396.4.3.1.6]
[DOI: 10.21859/acadpub.nbr.4.3.201]

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2026-10-31]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1396.4.3.1.6]
[DOI: 10.21859/acadpub.nbr.4.3.201]

Che, K., Liang, C., Wang, Y., Jin, D., Wang, B., Xu, Y., Kang, G. and Zhang, H. 2012. Genetic assessment of watermelon germplasm using the AFLP technique. – Hort. Science. 137: 311-315.

Dane, F. and Liu, J. 2007. Diversity and origin of cultivated and citron type watermelon *(Citrullus lanatus*). – Genet. Resour. Crop Ev. 54: 1255-1265.

Ferriol, M., Pico, B., Cordova, P. and Nuez, F. 2004. Molecular diversity of a germplasm collection of squash (*Cucurbita moschata*) determined by SRAP and AFLP markers. – Crop Science 44: 653–664.

Gama, R., Santos, C.F., Dias, R. and Souza, F. 2013. Molecular characterization of watermelon cultivars using microsatellite markers. – Hortic. Bras. 31: 522-527.

Ghareyazi, B. 1998. The application of DNA markers in plant breeding. – Proceedings of the Fourth Conference on Agronomy and Plant Breeding. Sanati Isfahan University. 42: 328-381.

Jeffrey, C. 2001. Cucurbitaceae. In: Hanelt P. (ed.), Mansfeld's encyclopedia of agricultural and horticultural crops. – Vol. 3 Springer, Berlin Heidelberg New York. pp: 1510-1557.

Lavi, U., Cregan, P. Schaap, T., and Hillel, J. 1994. Application of DNA markers for identification and breeding of perennial fruit crops. – Plant Breeding Rev. 12: 195-226.

Ghareyazi, B. 1998. The application of DNA markers in plant breeding. – Proceedings of the Fourth Conference on Agronomy and Plant Breeding. Sanati Isfahan University 42: 328-381.

Gvozdanovic-Varga, J., Vasic, M., Milic, D. and Cervenski, J. 2011. Diallel cross analysis for fruit traits in watermelon. – Genetika 43: 163-174.

Ipek Uluturk, Z., Frary, A. and Doganlar, S. 2011. Determination of genetic diversity in watermelon [*Citrullus lanatus* (Thunb.) Matsum & Nakai] germplasm. – Austr. Jour. Crop Sci. 5: 1832-1836.

Levi, A. and Thomas, C.E. 2001. Low genetic diversity indicates the need to broaden the genetic base of cultivated watermelon. – Hortscience 36: 1096-1101.

Li, G., and Quiros, C.F. 2001. Sequence-related amplified polymorphism (SRAP), a new marker system based on a simple PCR reaction: Its application to mapping and gene tagging in Brassica. – Theor. Appl. Genet. 103: 455-461.

Lincoln, S.E., Daly, M.J. and Lander, E.S. 1993. Constructing genetic maps with MAPMAKER/EXP version 3.0, a tutorial and reference manual. In: Whitehead Inst. Biomed Res. Tech. Rpt. (3rd ed). – Whitehead Institute for Biomedical Research, Cambridge.

Liu, K. and Muse, S.V. 2005. PowerMarker: an integrated analysis environment for genetic marker analysis. – Bioinformatics 21: 2128-2129.

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

Murray, M.G. and Thompson, W.F. 1980. Rapid isolation of high molecular weight plant DNA. – Nucl. Acid. Res. 8: 4321-4326.

NarouiRad, M., AllahDo, M., Ghasemi, A. and Fanaei, H. 2009. Investigation of Genetic Diversity and Broad Sense Heritability in Watermelon Accessions of Sistan. – Iranian Journal of Horticultural Science 44: 95-103.

Nei, M. 1972. Genetic distance between populations. – Am. Nat. 106: 283-292.

Neuhausen, S.L. 1992. Evaluation of restriction fragment length polymorphism in *Cucumis melo*. – Theor. Appl. Genet. 83: 379-384.

Oms-Oliu, G., Odriozola-Serrano, I., Soliva-Fortuny, R. and Martin-Belloso, O. 2005. Use of distribution for describing kinetics of antioxidant potential changes in fresh-cut watermelon. – J. Food Eng. 95: 99-105.

Raghami, M., Hasandokht, M., Fatahi-Moghadam, M., Kashi, A. and López-Sesé, A. 2013. Genetic diversity between and within Iranian melon accessions, and their relationships with melon germplasm of diverse origins, using microsatellite markers. – Iranian Journal of Horticultural Science 44: 287-300

Rasoulzadegan, Y. 1991. Fruit tree cultivation in moderate climates. 1st Ed. Sanati Isfahan University Publications, p: 57-87.

Robertson, H. 2004. *Citrullus lanatus* (Watermelon, Tsamma). – Museums Online South Africa. Iziko Museums of Cape Town Online Publication, http://museums.org.za/bio/index.htm.

Robinson, R.W. and Decker-Walters, D.S. 1997. Appendix: Common Cucurbit Names and their Scientific Equivalents. in: – Cucurbits. CAB International, USA.

Sheng, Y., Luan, F., Zhang, F. and Davis, A.R. 2012. Genetic diversity within Chinese watermelon ecotypes compared with germplasm from other countries. – J. Amer. Soc. Hort. Sci. 3: 144-151.

Zhu, J., Gale, M.D., and Guarrie, S. 1998. AFLP markers for the study of rice biodiversity. – Theo. App. Genet. 96: 602-611.

*****

How to cite this article:

Abdoli Nasab, M. and Rahimi, M. 2017. Evaluation of genetic diversity and classification of watermelon (*Citrullus lanatus*) ecotypes using SRAP molecular markers. – Nova Biologica Rep. 4: 201-208.

عبدلی‌نسب، م. و رحیمی، م. ۱۳۹۶. ارزیابی تنوع ژنتیکی و گروه‌بندی اکوتیپ‌های مختلف هندوانه با استفاده از نشانگرهای مولکولی SRAP. – یافته‌های نوین در علوم زیستی ۴: ۲۰۸-۲۰۱.