

SNP elemzés az rDNS ITS1-5.8S-ITS2 lokuszán mai és középkori sárgadinnyében (*Cucumis melo*)

Szabó Zoltán^{1,2,3} – Gyulai Gábor¹ – Tóth Zoltán¹ –
Heszky László¹

¹Szent István Egyetem

Mezőgazdaság- és Környezettudományi Kar,
Genetika és Biotechnológiai Intézet, Gödöllő

²Növénytani és Ökofiziológiai Intézet, Gödöllő

³Missouri State University, Department of Agriculture,

Mountain Grove, USA

szabo.zoltan@mkk.szie.hu

ÖSSZEFOGLALÁS

Az rDNA (riboszómális DNS) ITS (internal transcribed spacer) szekvenciaelemzését végeztük el 31 mai sárgadinnyefajtában és egy régészeti feltárásból előkerült (15. sz., Budai Vár, Budapest) maglelet DNS mintájában. Hat SNP (single nucleotide polymorphism) nukleotid szubsztitúciót azonosítottunk az egyes doménekben. Az ITS elemzés alkalmasnak bizonyult a régészeti feltárásból előkerült, de endogén fertőzést hordozó magvak elkülönítésére is, ugyanis a fertőzött magokban a fajra jellemző, a 618 bp hosszúságú ITS1-5.8S-ITS2 szakaszokat magába foglaló, 664 bp hosszúságú ITS fragmentum mellett egy 580 bp nagyságú fragmentum is felszaporodott, amely – a szekvenciaelemzés és BLAST analízisben – *Aspergillus nidulans* eredetet mutatott (NCBI, AF455505). Az SNP szubsztitúciók gyakorisága alapján leszűkíthető volt a 15. századi minta legközelebbi fajtaköre. Az eredmények hozzájárulnak a régészeti feltárásokból előkerült ősnövényfajták végső molekuláris és morfológiai rekonstrukciójához.

Kulcsszavak: rDNS, ITS, szekvencia, SNP

SUMMARY

ITS (internal transcribed spacer) profiles of the rDNA (ancient DNA) of seed remains extracted from an extinct sample recovered from the 15th century (Budapest, Hungary) were compared to 31 modern melon cultivars and landraces. An aseptic incubation followed by ITS analysis was used to exclude the exogenously and endogenously contaminated (*Aspergillus*) medieval seeds and to detect SNPs in ITS1-5.8S-ITS2 region of rDNA (ribosomal DNA). SNPs were observed at the 94–95 bp (GC to either RC, RS or AG) of ITS1; and at 414 bp (A-to-T substitution), 470 bp (T to Y or C), 610 bp (A to R or G) of ITS2. The results facilitate the final aim of molecular and morphological reconstructions of ancient melon types.

Keywords: rDNA, ITS, sequence alignments, SNP

BEVEZETÉS

rDNS. A riboszómális RNS-t kódoló sejtmagi gének ITS szekvenciáinak elemzése az egyik legfinomabb módszere a molekuláris evolúciókutatásoknak. A *Cucumis* nemzetségbe tartozó fajok közül eddig közel 20 fajnak sikerült azonosítani a filogenetikai rokonsági kapcsolatait (Garcia-Mas et al., 2004). Sárgadinnyében nukleáris

rRNS-t kódoló gének szekvenciáit Kavanagh és Timmins (1988) közölte először. Munkánk során a Hsiao et al. (1995) által módosított módszert alkalmaztuk, amely alkalmasnak bizonyult a faj alatti kategóriák, fajtacsoportok elkülönítésére is (Szabó et al., 2005a, b; Szabó, 2006).

Mikroevolúció. A sárgadinnye elsődleges géncentruma (Vavilov, 1951) Afrikába tehető (Kirkbride, 1993; Kerje és Grum, 2000). Az első termesztett típus a *chate* lehetett, az egyiptomi falfestmények ábrázolásai szerint (i.e. 2000–1500) (Vartavan és Amorós, 1997; Keimer, 1924; Pangalo, 1929). A Bibliában (Moz. IV, 11:5) említett sárgadinnye is *chate* típusú lehetett (Felix, 1968 in Karchi, 2000).

Ázsiában egy párhuzamos mikro-evolúciós út valószínűsíthető, amely a *conomon* típusra vezethető vissza (*C. melo* ssp. var. *conomon*). Az ázsiai *conomon* (*oriental pickling melon*) és az afrikai *chate* típus közvetlenül származtatható a vad sárgadinnyéből (*C. melo* var. *agrestis*) (Harlan, 1971; Jeffrey, 1980, 1990; Walters, 1989). A vad sárgadinnye populációi máig fennmaradtak a sivatagi illetve szavanna övezetben, Afrikában, az Arab félszigeten, sőt Ausztráliában (Sauer, 1993; Zohary és Hopf, 1993).

Írásos emlékek. A sárgadinnye legelső írott emlékei i.e. 3.000-ból származó ázsiai ősratokban tűnnek fel (Costantini et al., 1996; Kroll, 1982, 1999, 2000). Kínában az i.e. 1.100–771 időszakban a *reticulatus* (*muskmelon*) és a *conomon* típusú sárgadinnye már a legfontosabb zöldségnövény volt (Keng, 1974). Az i.e. 1.000–500-ból maradt fenn a kínai Költészet Könyve (*The Book of Poetry*; *Shih Ching*), amely négy éneket is közöl a sárgadinnyéről ('*kua*') (Keng, 1974), megemlítve a szójával (*Glycine max*) való együttes termesztésének (*intercropping*) szaktanácsait is (Keng, 1974; Yu, 1977). Egy későbbi kínai írásos emlék az i.e. 533-544-ből származó Legfontosabb Művészetek Könyvében (*Essential Art for the People*) már egy egész fejezet szól a sárgadinnye termesztéséről, mag szelekciójáról, csíráztatásáról, gyomirtásáról és begyűjtéséről (Walters, 1989).

Régészeti leletek. Az emberiség legrégebbi mezőgazdasági (növénytermesztési) leletei Dél-Kelet Ázsiából, i.e. 10.000-6.000-ból (Hoabinhian,

Vietnám) származnak (Chang, 1986). Itt került elő az első *Cucumis* (de még uborka típusú) maglelet is, amelynek kora, a többször elvégzett C^{14} izotópos kormeghatározás szerint 9.180 ± 360 éves (Gorman, 1969, 1970, 1971). A Termékeny Félhold (i.e. 6000) területéről nem került elő sárgadinnye lelet. Kínában számos ásatásból (Zhejiang: i.e. 3.000; Shaanxi: i.e. 2.000) tártak fel ősi sárgadinnye magvakat (Harlan, 1971; Ho, 1977; Walters, 1989). Iránban is az i.e. 3.000 éves rétegekből ismert (Yu, 1977). A legrégebbi európai lelet a bronzkorból (Behre, 1998), illetve a görögországi Tiryns-ből (i.e. 1300-1200) került elő (Kroll, 1982, 1999, 2000). Számos hazai lelet közül (Hartyányi és Nováki, 1975) a legrégebbiek római koriak (Budapest-Aquincum) az i.szerinti 2-3. századból (Dálnoki, 2000; Dálnoki és Jacomet, 2002). Kora-középkori leletek kerültek elő Németországból is az i. szerinti 2. századból (^{14}C -izotópos meghatározással), és Svájcban (Brombacher, 1997). A jelen munkában vizsgált magleletek a budai királyi vár Zsigmond-kori szárnyának (15. sz. eleje) régészeti feltárásaiból kerültek elő (Gyulai et al., 2006; Lágler et al., 2005, 2006; Szabó et al., 2005a, b; Nyékhelyi, 2003).

Elterjedés. Európában a görögök illetve rómaiak még nem termesztették a sárgadinnyét, hanem Perzsiából és a Kaukázus vidékéről szállították (Stepansky et al., 1999). Az Európai termesztés megindulása az 1300-as évekre tehető, feltehetően a *reticulatus* típusba tartozó *adana* termesztésével (Stepansky et al., 1999). A sárgadinnye magyar neve (*dinna*) már 1100-as évekből ismert (Szamota és Zolnai, 1902-1906).

A turkesztáni típusba tartozó dinnyefajták gyümölcse sima, nem gerezdes, héja vékony és cseres. Az ananász típusú fajták gyengén gerezdesek, héjuk vékony és sima. A bordás, kemény és ripacos héjú kantalupe dinnyék olasz közvetítéssel jelentek meg a középkorban Magyarországon. A sárgadinnye a görögdinnyéhez képest sokkal korábban kultúrába vett növény. A dinnye név legkorábbi magyarországi előfordulása egy 11. századi oklevélben tűnik fel: „*predium quad vocatur dinna*” (Szamota és Zolnai, 1902-1906). A budai vár területén folytatott ásatások során feltárt 13-14. századi kutak betöltéseiben, több esetben is megtalálták magjait.

A bordás terméshéjú kantalupe (*cantalupensis*) típus a 15. században terjedhetett el Európában Örményországi kereskedők közvetítésével (Pangalo, 1929; Pitrat et al., 2000). A név a pápa nyári rezidenciájának a Róma környéki Cantalupo-ra utal, ahol először vetették. Ez a fajta már a 16. században közkedvelt lehetett, ahogy ezt Campi (*Fruit Seller*, 1580), és Caravaggio (*Still Life with Fruit on a Stone Ledge*, 1603) festményei bizonyítják (J. Janick, www.hort.purdue.edu; Szabó et al., 2005b). Az Amerikai kontinensre Kolombusz második útjával került át 1493-ban, ahol az indián törzsek között gyorsan közkedvelté vált és terjedt el az egész kontinensen (Janick és Paris, 2006; Paris et al., 2006).

ANYAG ÉS MÓDSZER

Növéyminták feltárása: A budai királyi vár (Árpád-házi IV. Béla Király, 1243) Zsigmond-kori szárnyának (15. sz. eleje) régészeti feltárása során (Budapest I. Ker., Szent György tér, Teleki palota, 8 sz. kút) (Nyékhelyi, 2003) nagy mennyiségű növénymaradvány került elő, 195 növényfaj több mint 3 millió maglelete (Gyulai et al., 2006). A hideg, nedves környezetben jól konzerválódott magvakat 0,5-, 1,0-, 2,0- és 4,0 mm lyukbőségű szitasorozaton flotálásos módszerrel dolgoztuk fel, az esetleges mai növénymaradványokkal való keveredés elkerülésére, zárt laboratóriumi körülmények között (2000–2001-ben). A flotált magvak tárolása -20 °C-on történt (Szabó et al., 2005a, b).

Régészeti kormeghatározás: A régészeti kormeghatározás alapján (pénzek, edények, stb.) a minták eredetét 15. század első felére azonosítottuk (Nyékhelyi, 2003).

Magbiológiai feldolgozás: A magbiológiai feldolgozásra elválasztott mintákat infravörös fényben szárítottuk (15 W), és határoztuk meg a Schermann határozókulcs alapján (Schermann, 1966).

Összehasonlító mai fajták: A régészeti minták fajtaköri besorolásához és fenotípus rekonstrukciójához 31 tájfajtát és termesztett mai fajtát neveltünk fel kispacellás kísérletben (5-5 növény/fajta), három ismétlésben, Agrobotanikai Központ Tápíószelei telepén (Szabó et al., 2005a, b).

DNS-izolálás: A genomikus DNS kivonásához az SDS-sel kiegészített Nucleon PhytoPure kit-et (Amersham) alkalmaztuk (Szabó et al., 2005a), a következő lépésekben. 0.1 g magot porítottunk cseppfolyós nitrogénben és 240 ul extrakciós (EB) pufferben szuszpendáltuk (EB: 10 mM Tris pH: 8,0, 50 mM EDTA, 500 mM NaCl), majd 60 ul 10% SDS hozzáadása után 20 percig inkubáltuk 65 °C-on. A mintákat 160 ul 5 M kálium-acetát (pH: 5,3) hozzáadása után 0 °C-on 20 percig inkubáltuk. Centrifugálást követően (13 000 rpm, 4 °C, 20 perc) a DNS-t a felülúszóból, 0,1×térfogató Na-acetáttal (pH: 5,2) és kétszeres térfogató 96%-os etanollal csaptuk ki. A csapadékot 70%-os etanollal mostuk, és TE pufferben oldottuk fel (10 mM Tris, 1 mM EDTA). A mintákat 4 ul RN-ázzal kezeltük, a DNS újbóli kicsapása és mosása után 100 ul TE pufferben oldottuk. Az izolált DNS minőségét 0,8%-os agaróz gélen EtBr-os festéssel ellenőriztük, majd a pontos DNS koncentrációt a NanoDrop ND-1000 UV-Vis spektrofotométerrel (NanoDrop Technologies, Delaware, USA – BioScience, Budapest) mértük meg (Gyulai et al., 2006; Lágler et al., 2005, 2006; Lágler, 2007). A mai fajtáknál 0,1 g fiatal levélből vontuk ki a DNS-t azonos módon (Szabó et al., 2005a, b).

ITS-elemzés. Az alkalmazott ITS-primerekkel a teljes ITS szakaszt (ITS1-5.8S-ITS2) szaporítottuk fel (Garcia-Mas et al., 2004) a primerpár szekvenciája: TCG TAA CAA GGT TTC CGT AGG TG, TCC TCC GCT TAT TGA TAT GC (Hsiao et al., 1995).

Szekvenciaelemzés. A fragmentumokat automata fluoreszcens DNA szekvenátorral (ABI PRISM 3100 Genetic Analyzer) elemeztük, mindkét irányban elvégezve a szekvenálást. A szekvenciákat ChromasPro (version 1.11) programmal illesztettük (Technelysium Pty Ltd, Tewantin, Queensland, Ausztrália). A szekvenciák összehasonlítását Bioedit programmal készítettük (BioEdit Sequence Alignment Editor, North Carolina State University, Raleigh, North Carolina, USA). Az ellenőrzésekben a GCG-10 (Genetics Computer Group, Oxford Molecular Group Inc., Madison, Wisconsin, USA; Wisconsin Package, Version 10.3) szoftvert alkalmaztuk. A BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) analízishez az NCBI (National Center for Biotechnology Information, Bethesda, Maryland, USA) programot alkalmaztuk (Gyulai et al., 2006; Lágler et al., 2006).

EREDMÉNYEK ÉS ÉRTÉKELÉS

Molekuláris eredmények: ITS fragmentum és szekvenacia elemzés. A középkori mintából kis mennyiségű, töredezett, de PCR amifikációra alkalmas DNS-t, míg a mai fajtákból nagy mennyiségű, jó abszorpciós értékeket mutató, kompakt DNS-t vontunk ki. A molekuláris vizsgálatokban ITS elemzéssel a fertőzött középkori magok DNS mintáit tudtuk elkülöníteni, ugyanis a fertőzött magokban a fajra jellemző 664 bp hosszúságú ITS szekvenacia mellett (1. ábra) egy 580 bp nagyságú fragmentum is felszaporodott, amely – a szekvenaciaelemzés és BLAST analízisben – *Aspergillus nidulans* eredetet mutatott (NCBI, AF455505). A fertőzött magok DNS mintáit kizártuk a további vizsgálatokból (Szabó et al., 2006).

Az összehasonlító ITS elemzésében meghatároztuk a mai fajták és a középkori sárgadinnye ITS doméneinek pontos méretét: az 5.8 riboszomális régió konzervatív, 163 bp-, az ITS-1 217 bp-, és az ITS-2 238 bp hosszúságú DNS szekvenciáit. A szekvenacia elemzés során hasonlóan Kavanagh és Timmins (1988) adataihoz, egy igen alacsony mértékű SNP polimorfizmust állapítottunk meg, összesen hat nt szubsztitúciójával (2. ábra). A meghatározott SNP szubsztitúciók a következők voltak: az ITS1 94. nt-ban G → A vagy R (G vagy C), a 95. nt-ban C → G vagy S (G és C), az

ITS2 414. nt-ban A → T szubsztitúció, a 470. nt-ban T → C vagy Y (C és T), a 610. nt-ban A → G vagy R (G és A). Az SNP szubsztitúciók gyakorisága alapján leszűkíthető volt a 15. századi minta legközelebbi fajtaköre a Turai (5), a Muskotály (13), a Hógolyó (24), a Hales-Best (28) és a Muhi (31) fajtákra, amelyekben a legkevesebb (3) SNP fordult elő (3. ábra). A 15. századi minta teljes molekuláris és morfológiai rekonstrukciójával lehetőség nyílik értékes kiveszett fajtátípusok rekonstrukciójához.

1. ábra: ITS-elemzés az egy-mag eredetű középkori sárgadinnye (*Cucumis melo*) magok ősdNS mintáiban endogén (*Aspergillus nidulans*) eredetű (580 bp) fertőzéssel (M1 – M6) és fertőzés (664 bp) nélkül (M7-M9)

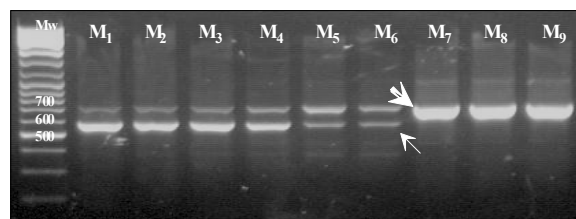


Figure 1: Samples of single seed DNA with (M1 to M6) and without (M7 to M9) endogenous (*Aspergillus nidulans*) DNA contamination

2. ábra: Szekvenacia elemzés a sárgadinnye (*Cucumis melo*) fajspecifikus ITS szekvenciájában (664 bp) a konszenzus (310 bp–390 bp) (a), és az SNP lokuszokat (a nyíllal jelölt 414. és a 470. nt) tartalmazó (400–495) (b) rDNA szakaszokon, három minta egybevetésével: a génbanki adat Z48805 (felső szekvenacia sor), a 15. századi minta (középső sor), valamint a „Hógolyó” (alsó sor) fajtában

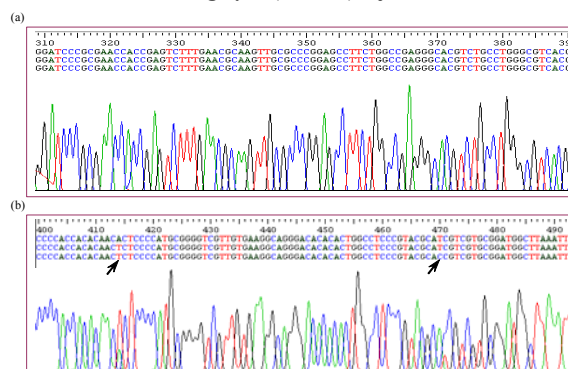


Figure 2: Sequence analysis and alignments of ITS fragments at consensus (310 bp–39 bp) (a), and SNP containing region (400–495) at 414th és a 470th nt (arrows) (b) in the DNA samples of Gene bank data Z48805 (first line), 15th century sample (middle line) and cv. „Hógolyó” (third line)

3. ábra: Szekvencia elemzés a sárgadinnye (*Cucumis melo*) rDNA ITS1-5.8S-ITS2 lokuszán (98 bp / 664 bp) 31 mai sárgadinnye fajta és a 15. századi maglelet DNS mintáiban (kiemelések a 94, 95, 99, 414, 470, 610 bp-nál azonosított SNP pontokon).
Nukleotidjelzések: R-G és A; S-G és C; Y-T és C

fajta / bp	95	405	415	465	475	605	615
z48805	TTT <u>GCCTGTC</u>	CCCACCACACA <u>CACT</u> CCC	CCGTACGCA <u>T</u>	CGTCGTGCGG	CCGCCCTT <u>A</u>	AAAGGACGAC	
4. Javított-Zentai	...AG...C.T.....C.....G.....G.....G.....G.....
46. Magyar kincs	...AG...C.T.....C.....G.....G.....G.....G.....
15. Topáz	...AG...C.T.....C.....G.....G.....G.....G.....
25. Kósárga	...AG...C.T.....C.....G.....G.....G.....G.....
17. Kiskőrösi	...AG...C.T.....C.....G.....G.....G.....G.....
43. Taktaharkányi	...AG...C.T.....C.....G.....G.....G.....G.....
12. Pusztadobosi	...AG...C.T.....Y.....G.....G.....G.....G.....
38. Szirmai	...AG...C.T.....Y.....G.....G.....G.....G.....
7. Ezüst-Ananász	...AG...C.T.....Y.....G.....G.....G.....G.....
2. Sweet-Ananász	...AG...C.T.....Y.....G.....G.....G.....G.....
19. Soponyai	...AG...C.T.....T.....A.....A.....A.....A.....
26. Tarnamérai	...AG...C.T.....T.....G.....G.....G.....G.....
30. Tétényi-csh.	...RS...Y.T.....Y.....R.....R.....R.....R.....
41. Fortuna	...RS...Y.T.....Y.....R.....R.....R.....R.....
3. Nyíribronyi	...RS...Y.T.....Y.....R.....R.....R.....R.....
35. Kisteleki	...AS...C.T.....C.....G.....G.....G.....G.....
37. Nyírbátori	...GS...Y.T.....T.....G.....G.....G.....G.....
20. Penyigei	...GS...C.T.....T.....A.....A.....A.....A.....
36. Nagycserkeszi	...GG...C.T.....C.....A.....A.....A.....A.....
21. Túrkevei	...GG...C.T.....C.....A.....A.....A.....A.....
6. Hevesi	...G...C.T.....C.....A.....A.....A.....A.....
14. Csárdaszállási	...G...T.T.....T.....A.....A.....A.....A.....
44. Sárándi	...G...T.T.....T.....A.....A.....A.....A.....
42. Kállósemjéni	...G...C.T.....Y.....A.....A.....A.....A.....
33. Hegykői	...A...C.T.....R.....R.....R.....R.....R.....
5. Turai	...R...Y.T.....R.....R.....R.....R.....R.....
31. Muhi	...G...T.T.....R.....R.....R.....R.....R.....
13. Muskotály	...R...T.T.....R.....R.....R.....R.....R.....
28. Hales-Best	...R...T.T.....R.....R.....R.....R.....R.....
<u>15. sz.</u>	<u>...R...C.</u>	<u>.....T.....</u>	<u>.....R.....</u>	<u>.....R.....</u>	<u>.....R.....</u>	<u>.....R.....</u>	<u>.....R.....</u>
24. Hógolyó	...R...Y.T.....R.....R.....R.....R.....R.....

Figure 3: Sequence alignment of rDNA of melon (*Cucumis melo*) at locus ITS1-5.8S-ITS2 (98 bp / 664 bp) in the current varieties and medieval sample (15th century) with indications of SNPs at nts 94, 95, 99, 414, 470, 610. Symbols: R-G or A; S-G or C; Y-T or C

IRODALOM

- Behre, K. E. (1998): Urgeschichtliche Kulturpflanzenfunde aus den nordwestdeutschen Gebieten (Prehistoric cultivated plant finds from NW Germany). *Probleme der Küstenforschung im südlichen Nordseegebiet* 25: 281-302.
- Brombacher, C. (1997): Archaeobotanical investigations of Late Neolithic lakeshore settlements (Lake Biel, Switzerland). *Vegetation History and Archaeobotany* 6: 167-186.
- Chang, K. (1986): *The Archaeology of Ancient China*. 1986, 4th ed. New Haven: Yale University Press. DS715. C38
- Costantini, L.-Costantini Biasini, L.-Lentini, A. (1996): Archaeobotanical investigations at Pirak, Baluchistan, Pakistan. *Giornale Bot Ital* 130 (1): 308.
- Dálnoki O. (2000): Kelta telepök környezeti képéről a Budapest-Corvin tér keltáinak növénytermesztése alapján. In: Füleky Gy. (ed.): *A táj változásai a Kárpát-medencében a történelmi események hatására. Kulturális Örökség Igazgatósága Budapest – Szent István Egyetem, Gödöllő*, 42-50.
- Dálnoki, O.-Jacomet, St. (2002): Some aspects of Late Iron Age agriculture based on the first results of an archaeobotanical investigation at Corvin ter, Budapest, Hungary. *Vegetation History and Archaeobotany* 11: 9-16.
- Garcia-Mas, J.-Monforte, A. J.-Arús, P. (2004): Phylogenetic relationships among *Cucumis* species based on the ribosomal internal transcribed spacer sequence and microsatellite markers. *Plant Syst Evol* 248: 191-203.

- Gorman, C. (1969): Hoabinhian: A pebble tool complex with early plant associations in Southeast Asia. *Science* 163: 671-3.
- Gorman, C. (1970): Excavations at Spirit Cave, North Thailand: Some interim interpretations. *Asian Perspectives* 13: 79-107.
- Gorman, C. (1971): The Hoabinhian and After: Subsistence Patterns in Southeast Asia during the Late Pleistocene and Early Recent Periods. *World Archaeology* 2: 300-20.
- Gyulai, G.-Humphreys, M.-Lágler, R.-Szabó, Z.-Tóth, Z.-Bittsánszky, A.-Gyulai, F.-Heszky, L. (2006): Seed remains of common millet from the 4th (Mongolia) and 15th (Hungary) centuries; AFLP, SSR, and mtDNA sequence recoveries. *Seed Science Research* 16:179-191.
- Harlan, J. R. (1971): Agricultural Origins: Centers and Noncenters. *Science* 174: 468-473.
- Hartyányi, P. B.-Nováki, Gy. (1975): Samen- und Fruchtfunde in Ungarn von der Jungsteinzeit bis zum 18. Jahrhundert. *Agrártört. Szeml.* 17, 1-22. Supplementum.
- Ho, P-t (1977): The indigenous origins of Chinese agriculture. In: *Origins of Agriculture* (Ed) Reed CA, pp. 413-418. Mouton, Publ., Paris.
- Hsiao, C.-Chatterton, N. J.-Asay, K. H.-Jensen, K. B. (1995): Phylogenetic relationships of the monogenomic species of the wheat tribe, *Triticeae* (*Poaceae*), inferred from nuclear rDNA (internal transcribed spacer) sequences. *Genome* 38: 211-223.
- Janick, J.-Paris, H. S. (2006): The Cucurbit Images (1515-1518) of the Villa Farnesina, Rome. *Annals of Botany* 97: 165-176.
- Jeffrey, C. (1980): A review of the *Cucurbitaceae*. *Bot J Linn Soc* 81: 233-247.
- Jeffrey, C. (1990): Appendix: An outline classification of the *Cucurbitaceae*. In: Bates, D. M.-Robinson, R. W.-Jeffrey, C. *Biology and utilization of the Cucurbitaceae*. 449-463. 485. Ithaca and London, Cornell University.
- Karchi, Z. (2000): Development of melon culture and breeding in Israel. In: *Proceedings of the 7th EUCARPIA Meeting on Cucurbit Genetics and Breeding, Ma'ale Ha Hamisha, Israel, March 19-23, 13-17.*
- Kavanagh, T. A.-Timmins, J. N. (1988): Structure of melon rDNA and nucleotide sequence of the 17–25S spacer region. *Theor Appl Genet* 76: 673-680.
- Keimer, L. (1924): *Die Gartenpflanzen im alten Ägypten.* (1967 reprint). Vol. 1, Hamburg/Berlin, 117.
- Keng, H. (1974): Economic plants of ancient north China as mentioned in *Shih Chiang* (Book of Poetry). *Econ Bot* 28: 391-410.
- Kerje, T.-Grum, M. (2000): The origin of melon, *Cucumis melo*: a review of the literature. *Acta Hort* 510: 37-44.
- Kirkbride, J. H. (1993): *Biosystematic monograph of the genus Cucumis (Cucurbitaceae).* Parkway Publishers. NC, USA. 1-159.
- Kroll, H. (1982): *Kulturpflanzen von Tiryns.* *Archaeologischer Anzeiger*, 1982: 467-485.
- Kroll, H. (1999): Literature on archaeological remains of cultivated plants (1997/1998). *Veget Hist Archaeobot* 8: 129-163.
- Kroll, H. (2000): Literature on archaeological remains of cultivated plants (1998/1999). *Veget Hist Archaeobot* 9: 31-68.
- Lágler, R. (2007): Archaeogenetics of common millet (*Panicum miliaceum*): ISSR and SSR sequence heterogeneity from a medieval sample to current varieties. PhD Thesis, Gödöllő, Hungary
- Lágler, R.-Gyulai, G.-Humphreys, M.-Szabó, Z.-Horváth, L.-Bittsánszky, A.-Kiss, J.-Holly, L.-Heszky, L. (2005): Morphological and molecular analysis of common millet (*P. miliaceum*) cultivars compared to an aDNA sample from the 15th century (Hungary). *Euphytica* 146:77-85.
- Lágler, R.-Gyulai, G.-Szabó, Z.-Tóth, Z.-Bittsánszky, A.-Horváth, L.-Kiss, J.-Gyulai, F.-Heszky, L. (2006): Molecular diversity of common millet (*P. miliaceum*) compared to archaeological samples excavated from the 4th and 15th centuries. *Hung Agric Res* 2006/1:14-19.
- Nyékhegyi, B. D. (2003): *Monumenta Historica Budapestinensia XII.* Historical Museum of Budapest, Hungary, 1-102.
- Pangalo, K. I. (1929): Critical review of the main literature on the taxonomy, geography and origin of cultivated and partially wild melons. *Trudy Prikl. Bot.* 23: 397-442 (In Russian, and translated into English for USDA by G. Saad in 1986).
- Paris, H. S.-Daunay, M. C.-Pitrat, M.-Janick, J. (2006): First Known Image of Cucurbita in Europe, 1503-1508. *Annals of Botany* 98: 41-47.
- Pitrat, M.-Hanelt, P.-Hammer, K. (2000): Some comments on infraspecific classification of cultivars of melon. *Acta Horticulture* 510, 29-36.
- Sauer, J. D. (1993): *Historical geography of crop plants – a select roster.* CRC Press, Boca Raton, Florida. 1-308.
- Schermann Sz. (1966): *Magismeret I, II.* Akadémiai Kiadó, Budapest.
- 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.
- Szabó, Z. (2006): Archaeogenetics of melon (*Cucumis melo*): ITS and SSR sequence heterogeneity from a medieval sample to current varieties. PhD Thesis, pp. 1-103., Gödöllő, Hungary
- Szabó, Z.-Gyulai, G.-Humphreys, M.-Horváth, L.-Bittsánszky, A.-Lágler, R.-Heszky, L. (2005a): Genetic variation of melon (*C. melo*) compared to an extinct landrace from the Middle Ages (Hungary) I. rDNA, SSR and SNP analysis of 47 cultivars. *Euphytica* 146:87-94.
- Szabó, Z.-Gyulai, G.-Horváth, L.-Bittsánszky, A.-Szani, Sz.-Lágler, R.-Kiss, J.-Gyulai, F.-Holly, L.-Heszky, L. (2005b): Genetic diversity of Hungarian melon landraces (*C. melo*) compared to an extinct sample from the Middle Ages. *Hung Agric Res* 2005/2:18-22.
- Szamota I.-Zolnai Gy. (1902-1906): *Magyar Oklevél-szótár.* Budapest.
- Vartavan, C. de-Aseni Amorós, V. (1997): *Codex of ancient Egyptian plant remains. Codex des restes végétaux de l'Egypte ancienne.* London, 401.
- Vavilov, I. N. (1951): *The Origin, Variation, Immunity and Breeding of Cultivated Plants* (K. Starr Chester). 1951. *Chronica Botanica* 13:1–366.; és *Origin and Geography of Cultivated Plants* (fordította Doris Love) (1992). Cambridge University Press, Cambridge. ISBN 0-521-40427-4.
- Walters, T. W. (1989): Historical overview on domesticated plants in china with special emphasis ont he cucurbitaceae. *Economy Botany*, 43, 297-313.
- Yu, Y. S. (1977): Han. In: Chang, K. (Ed) *Food in Chinese culture: anthropological and historical perspectives.* Yale Univ. Press, New Haven, USA. 53-84.
- Zohary, D.-Hopf, M. (1993): *Domestication of plants in the old World - The origin and spread of cultivated plants in West Asia, Europe, and the Nile Valley.* Clarendon Press, Oxford.