تنوع زننده‌ی درون و دیگر گونه‌ها علی‌اله‌ای چند ساله با استفاده از نشانگر AFLP مولکولی

چکیده

شناسایی گونه‌های چمن بر اساس خصوصیات مورفولوژیک به لحاظ شیاهت‌های آنها مشکل است. از طرفی گزینش ژنوتیپ‌های والدی بر اساس فاصله زننده‌ی مناسب برای اجرای تکنیک‌ها و بروز این حالت اهمیت است. به همین ترتیب استفاده از روش‌های مکلولی به عنوان ابزاری کارا در ارزیابی و شناسایی ژنوتیپ‌ها مورد توجه قرار گرفته است. هدف از این پژوهش بررسی تونوپ زننده‌ی چند ساله با روش AFLP مولکولی مالکولی مختلف چمن و برآورد روابط زننده‌ی آنها با استفاده از نشانگر AFLP مورد مطالعه قرار گرفت. با استفاده از 10 تکیه‌گاه‌های مورد استفاده، تعداد 170 نوار حاصل شد که تمام آنها در بین ارقام چندشکلی نشان داده شد. از بین آنها گونه‌های مورد استفاده، تکیه‌گاه‌های از M-AG و P-AAG و P-AAG با تعداد 166 نوار، P-AG و M-CG با تعداد 81 نوار، کمترین تعداد نوار را تولید کردند. گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها با استفاده از روش تجزیه خوشه‌ای بر اساس بیش از 0.5 گونه مورد نظر را از یکدیگر جدا کرد. ضمن این که رقم‌های متعلق به هر گونه نیز از یکدیگر تفکیک شدند. روشی از این نشان‌گرفته از مورد یکی که به همراه کاهش بهره‌برداری از جهت‌های مختلف چمن نیاز باید باشد. تولید تعداد نوار زیاد و میزان چندشکلی بالا در گونه‌ها و رقم‌های مختلف چمن پیانو حاصل کرده که این روش می‌تواند به طور کارا و مؤثری در تعیین روابط زننده‌ی رقم‌های مختلفی چمن مورد استفاده قرار گیرد.

واژه‌های کلیدی: علی‌اله‌ای چمن، تکیه‌گاه، نشانگر AFLP، Zننده‌ی فاصله‌ی ژننده‌ی چندساله

مقدمه

گیاهان چمن متعلق به گونه‌ها و جنسی‌های مختلف به عنوان جزء اصلی و ضروری در اغلب باغ‌ها و پارک‌ها به شمار می‌رود. به ترتیب دانشجوی دکتری و دانش‌پژوهان دانشگاه کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان

1. استادیار زراعت و اصلاح نباتات، دانشگاه کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان

2. استادیار علم زراعی، دانشگاه کشاورزی، دانشگاه شیراز

3. استادیار علم زراعی، دانشگاه کشاورزی، دانشگاه شیراز
هم‌چنین توانایی تشخیص ارتباط زننگی میان گیاهان چمن را در AFLP (۹ و ۱۷) سویون و همکاران از نشانگر نمونه توانستند توسط زننگی چمن دیلیبلند استفاده نمودند (۲۲). در بررسی نوع زننگی ارقام بالا DNA هلئی خارجی استفاده از این تکنیک در بررسی ارقام داخلی ایران احساس می‌شود.

از آنجا که نشانگرها ملکولی وایه به DNA فتونی می‌شود و تحت تأثیر شرایط محیطی قرار نمی‌گیرد، تعداد زیادی از این نشانگرها را می‌توان برای تجزیه و تحلیل مورد استفاده قرار داد. این نشانگرها می‌توان به راحتی در کل زنوم جستجو نمود. از طرفی شناسایی نشانگرهای ملکولی پویا به صفت‌های مکاروزی، امکان استفاده از انتخاب به مکم نشانگر را فراهم می‌آورد و تولید ارقام جدید را سرعت می‌بخشد. تکنیک AFLP به واسطه کارایی، تکرارپذیری و قابلیت اعتماد بالا برای پژوهش چند شکل‌ها در پیش‌بینی کننده گیاهان و همچنین مطالعات زننگی مورد استفاده قرار گرفته است (۲۳ و ۱۹). با توجه به تشخیص ظاهری بسیاری از چمن‌ها متعلق به جنس و گونه‌های مختلف و رقم‌های موجود در آنها، توانایی نشانگر AFLP در تشخیص و تفکیک آنها، در پژوهش‌های حاضر از این نشانگر به منظور ارزیابی ت نوع زننگی بین و درون گونه و جنس چمن مختلف از فیلئی به جمنی و شناسایی نشانگرهای خاص هرکدام استفاده شد.

مواد و روش‌ها

در این پژوهش تعداد بخش جنس و گونه از شیوع به الگوهای چمنی چند ساله از مک مفتی از واحدهای اصلاحات انتخاب و از هر کدام تعداد بخش رقم نمونه برداری شد (جدول ۱)، استخراج DNA زننگی به روش دلبریتا انجام شد (۶)، کمیت و کیفیت نمونه‌های با روش الکتروفورز زل آغاز DNA تیزی شد. انجام واکنش er اساس روش WOS و همکاران صورت گرفت (۷۵).
نوع زنده‌کی درون و بین گونه‌های علف‌های جمند در گروه با استفاده از DNA

<table>
<thead>
<tr>
<th>گونه مورد بررسی</th>
<th>روش‌های کنترل بررسی</th>
</tr>
</thead>
<tbody>
<tr>
<td><em>Festuca rubra</em> var. commutata Gaud.</td>
<td>CH11(Frida), CH14(James town), CH18(Lirouge), CH21(Luster), CH24(Rasengold)</td>
</tr>
<tr>
<td><em>Festuca arundinacea</em> Scherb.</td>
<td>TF48(Super-short), TF49(Gazelle), TFF2, TFF70, TFS(Rat)</td>
</tr>
<tr>
<td><em>Lolium prenne</em> L.</td>
<td>PR66(Super-star), PR70(Edge), PR74(AM), PR77(Wos), PR81(Top-Hat)</td>
</tr>
<tr>
<td><em>Poa pratensis</em> L.</td>
<td>KB3(Barblue), KB6(Bluebanner), KB13(Challenger), KB18(Huntsvill), KB22(Nugget)</td>
</tr>
<tr>
<td><em>Cynodon dactylon</em> L.</td>
<td>CD11, CD16, CD22, CD29, CD35</td>
</tr>
</tbody>
</table>

جدول ۱. اسامی گونه‌ها و روش‌های مورد بررسی در این تحقیق

در ۷ دماه درجه سانتی‌گراد تابث شد و در نهایت به مدت دو دقیقه در تالی و طبق ۲۷ درجه سانتی‌گراد گرفت. نتایج و این اثر با کاهش دائمی این گونه در مورد یک دقیقه مبنای مورد مطالعه کاهش می‌یابد. سپس ماتریس تشکیل شده و تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار NT SYS-pe Ver 2.02 نتایج به ثبت رسید. در این پژوهش با استفاده از ۱۰ ترکیب آغازگری در مجموع ۱۷۰ نوار (محدوده ۵۰ تا ۱۰۰۰ جفت بر) حاصل شد که تمام آنها در میان گونه‌ها چندشکلی نشان دادند.

ابتدا به منظور بررسی DNA از دو آنزیم برخی Roche به شکل مجزا انجام شد. این آزمایش T4 ادیب‌ها با انتخاب دو نقطه برخی یافته با استفاده از آنتی‌ژن ۴۵ پسانت تیگر جاده. تا به پسانت تیگر جاده است. تا به پسانت تیگر جاده مورد مطالعه زنده‌کی نوازی از زل بک‌های اکریل آمد شک

به منظور مشاهده نوازی از زل بک‌های اکریل آمد شک. مدل سختگیری و افزایش افراد و روش‌های کنترل بررسی

در مرحله تکثیر پیش انتخابی از آغازگری با پسانت تیگر جاده در ۲۶ سانتی‌گراد گرفت. این اثر به شکل مجزا انجام شد. سپس ماتریس تشکیل شده و تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار NT SYS-pe Ver 2.02 نتایج به ثبت رسید. در این پژوهش با استفاده از ۱۰ ترکیب آغازگری در مجموع ۱۷۰ نوار (محدوده ۵۰ تا ۱۰۰۰ جفت بر) حاصل شد که تمام آنها در میان گونه‌ها چندشکلی نشان دادند.
جدول ۲ اسامی آگازگرهای انتخابی مورد استفاده و تعداد نوارهای حاصل شده از آن آگازگرهای به هنگام گونه‌ها

<table>
<thead>
<tr>
<th>اسمی گونه‌ها</th>
<th>تعداد کل نوار</th>
<th>میزان درصد نوارهای حاصلشده در هر گونه</th>
<th>تعداد نوارهای حاصل شده در هر گونه</th>
<th>تعداد کل نوارهای حاصل شده در هر گونه</th>
<th>تعداد کل نوارهای حاصل شده در هر گونه</th>
</tr>
</thead>
<tbody>
<tr>
<td>Poa pratensis L.</td>
<td>80/95</td>
<td>8</td>
<td>34</td>
<td>44</td>
<td>44</td>
</tr>
<tr>
<td>Lolium prenne L.</td>
<td>78/75</td>
<td>5</td>
<td>24</td>
<td>29</td>
<td>29</td>
</tr>
<tr>
<td>Festuca rubra</td>
<td>87/75</td>
<td>6</td>
<td>43</td>
<td>49</td>
<td>49</td>
</tr>
<tr>
<td>Festuca arundinacea</td>
<td>64/51</td>
<td>11</td>
<td>20</td>
<td>31</td>
<td>31</td>
</tr>
<tr>
<td>Cynodon dactylon L.</td>
<td>59/69</td>
<td>9</td>
<td>13</td>
<td>22</td>
<td>22</td>
</tr>
<tr>
<td>Poa pratensis L.</td>
<td>63/69</td>
<td>40</td>
<td>63</td>
<td>63</td>
<td></td>
</tr>
<tr>
<td>Lolium prenne L.</td>
<td>71/79</td>
<td>11</td>
<td>28</td>
<td>39</td>
<td>39</td>
</tr>
<tr>
<td>Festuca rubra</td>
<td>85/63</td>
<td>15</td>
<td>55</td>
<td>64</td>
<td>64</td>
</tr>
<tr>
<td>Festuca arundinacea</td>
<td>60/41</td>
<td>19</td>
<td>29</td>
<td>48</td>
<td>48</td>
</tr>
<tr>
<td>Cynodon dactylon L.</td>
<td>58/71</td>
<td>20</td>
<td>19</td>
<td>39</td>
<td>39</td>
</tr>
<tr>
<td>Poa pratensis L.</td>
<td>31/68</td>
<td>51</td>
<td>33</td>
<td>74</td>
<td>74</td>
</tr>
<tr>
<td>Lolium prenne L.</td>
<td>63/58</td>
<td>33</td>
<td>64</td>
<td>97</td>
<td>97</td>
</tr>
<tr>
<td>Festuca rubra</td>
<td>71/43</td>
<td>34</td>
<td>85</td>
<td>119</td>
<td>119</td>
</tr>
<tr>
<td>Festuca arundinacea</td>
<td>42/45</td>
<td>42</td>
<td>31</td>
<td>73</td>
<td>73</td>
</tr>
<tr>
<td>Cynodon dactylon L.</td>
<td>20/64</td>
<td>28</td>
<td>33</td>
<td>81</td>
<td>81</td>
</tr>
<tr>
<td>Poa pratensis L.</td>
<td>52/64</td>
<td>28</td>
<td>62</td>
<td>62</td>
<td></td>
</tr>
<tr>
<td>Lolium prenne L.</td>
<td>51/63</td>
<td>16</td>
<td>40</td>
<td>56</td>
<td>56</td>
</tr>
<tr>
<td>Festuca rubra</td>
<td>70/65</td>
<td>13</td>
<td>31</td>
<td>44</td>
<td>44</td>
</tr>
<tr>
<td>Festuca arundinacea</td>
<td>54/55</td>
<td>15</td>
<td>18</td>
<td>33</td>
<td>33</td>
</tr>
<tr>
<td>Cynodon dactylon L.</td>
<td>49/53</td>
<td>26</td>
<td>17</td>
<td>43</td>
<td>43</td>
</tr>
<tr>
<td>Poa pratensis L.</td>
<td>52/64</td>
<td>21</td>
<td>52</td>
<td>52</td>
<td></td>
</tr>
<tr>
<td>Lolium prenne L.</td>
<td>89/61</td>
<td>8</td>
<td>43</td>
<td>51</td>
<td>51</td>
</tr>
<tr>
<td>Festuca rubra</td>
<td>72/61</td>
<td>18</td>
<td>47</td>
<td>60</td>
<td>60</td>
</tr>
<tr>
<td>Festuca arundinacea</td>
<td>40/68</td>
<td>31</td>
<td>21</td>
<td>52</td>
<td>52</td>
</tr>
<tr>
<td>Cynodon dactylon L.</td>
<td>55/12</td>
<td>15</td>
<td>28</td>
<td>43</td>
<td>43</td>
</tr>
<tr>
<td>ادامه جدول 2</td>
<td>نام و تولید آغازگر</td>
<td>مورد استفاده</td>
<td>تعداد کل نوار</td>
<td>تعداد نوار یک چندشکل در هر کونه</td>
<td>تعداد کل نوار یک چندشکل در هر کونه</td>
</tr>
<tr>
<td>---</td>
<td>---</td>
<td>---</td>
<td>---</td>
<td>---</td>
<td>---</td>
</tr>
<tr>
<td><strong>P-ACA</strong></td>
<td>Lolium prenne L.</td>
<td>73/81</td>
<td>11</td>
<td>31</td>
<td>42</td>
</tr>
<tr>
<td><strong>M-CCC</strong></td>
<td>Festuca rubra</td>
<td>92/11</td>
<td>3</td>
<td>35</td>
<td>38</td>
</tr>
<tr>
<td></td>
<td>Festuca arundinacea</td>
<td>75</td>
<td>9</td>
<td>27</td>
<td>36</td>
</tr>
<tr>
<td><strong>P-ACG</strong></td>
<td>Lolium prenne L.</td>
<td>73/08</td>
<td>14</td>
<td>38</td>
<td>52</td>
</tr>
<tr>
<td><strong>M-CCT</strong></td>
<td>Festuca rubra</td>
<td>82/61</td>
<td>8</td>
<td>38</td>
<td>46</td>
</tr>
<tr>
<td></td>
<td>Festuca arundinacea</td>
<td>44/83</td>
<td>16</td>
<td>13</td>
<td>29</td>
</tr>
<tr>
<td><strong>P-AGC</strong></td>
<td>Lolium prenne L.</td>
<td>78/63</td>
<td>8</td>
<td>33</td>
<td>51</td>
</tr>
<tr>
<td><strong>M-CAC</strong></td>
<td>Festuca rubra</td>
<td>88/66</td>
<td>12</td>
<td>48</td>
<td>70</td>
</tr>
<tr>
<td></td>
<td>Festuca arundinacea</td>
<td>57/69</td>
<td>23</td>
<td>31</td>
<td>55</td>
</tr>
<tr>
<td><strong>P-ACC</strong></td>
<td>Lolium prenne L.</td>
<td>58/24</td>
<td>25</td>
<td>43</td>
<td>68</td>
</tr>
<tr>
<td><strong>M-CAA</strong></td>
<td>Festuca rubra</td>
<td>88/67</td>
<td>13</td>
<td>51</td>
<td>64</td>
</tr>
<tr>
<td></td>
<td>Festuca arundinacea</td>
<td>24</td>
<td>22</td>
<td>50</td>
<td>77</td>
</tr>
<tr>
<td></td>
<td>Cynodon dactylon L.</td>
<td>41/30</td>
<td>27</td>
<td>19</td>
<td>46</td>
</tr>
<tr>
<td><strong>P-AAG</strong></td>
<td>Lolium prenne L.</td>
<td>68/26</td>
<td>16</td>
<td>23</td>
<td>39</td>
</tr>
<tr>
<td><strong>M-CAG</strong></td>
<td>Festuca rubra</td>
<td>72/43</td>
<td>11</td>
<td>40</td>
<td>51</td>
</tr>
<tr>
<td></td>
<td>Festuca arundinacea</td>
<td>31</td>
<td>83</td>
<td>114</td>
<td>75/61</td>
</tr>
<tr>
<td></td>
<td>Cynodon dactylon L.</td>
<td>39</td>
<td>58</td>
<td>94</td>
<td>69/70</td>
</tr>
</tbody>
</table>
غاژی‌های شدن نیز مفاد اندازه‌گیری از ترکیب آغازگری (شکل ۱)، از آن آغازگری‌های مورد استفاده، ترکیب آغازگری M-CAG با ۱۹۴ نوار، بیشترین تعداد نوار و ترکیب P-AAG و P-ACG آغازگری M-CGC با ۸۱ نوار، کمترین تعداد نوار را تولید کرده. نام ترکیبات آغازگری، تعداد نوارهاي تولید شده، توسط هر آغازگر و میزان چندشکلی آنها در چندین آزمایش است. 

تولید تعداد نوار زیاد و میزان چندشکلی بالا در گونه‌های مختلف چمن نشان دهنده کارایی این نشانگر در طبقه‌بندی و شناسایی گونه‌های مختلف چمن است. این نتایج توسط پژوهشگران دیگر نیز گزارش شده است. در حالی که هیکرنا از نشانگری برای شناسایی نوع بین و درون ارگاوم چمن‌های Lolium pinnellae (استفاده موردی و کارایی آن را نسبت به نشانگری RAPD و آزمایشی بالاتر دانستند.) گوییم و همکاران از این نشانگر به مظهر مقیاس‌گیری نوع زنگی‌کنگ و درون جمعیت چمن‌های داخلی استفاده کرده و به‌چنین نتیجه‌گیری می‌آیند (۱۳). 

بررسی کسته‌هایی در نواحی تولیدشده در شاخه‌هایی با روش PGPMA سه دسته‌بندی طبقه‌بندی (SM) جاکارد و دایس، نشان داد که گروه بندی بر اساس ضریب جاکارد با ضریب کسته‌هایی PGPMA در گروه بندی حاصل بهبودیнал نشان‌های بین ارگاوم TFF از تحلیل و تغییر نمایانشده‌های چمن با مشخص نمود (۱۳). 

ispers کسته‌هایی در نواحی تولیدشده در شاخه‌هایی با روش PGPMA سه دسته‌بندی طبقه‌بندی (SM) جاکارد و دایس، نشان داد که گروه بندی بر اساس ضریب جاکارد با ضریب کسته‌هایی PGPMA در گروه بندی حاصل بهبودیнал نشان‌های بین ارگاوم TFF از تحلیل و تغییر نمایانشده‌های چمن با مشخص نمود (۱۳). 

ispers کسته‌هایی در نواحی تولیدشده در شاخه‌هایی با روش PGPMA سه دسته‌بندی طبقه‌بندی (SM) جاکارد و دایس، نشان داد که گروه بندی بر اساس ضریب جاکارد با ضریب کسته‌هایی PGPMA در گروه بندی حاصل بهبودیнал نشان‌های بین ارگاوم TFF از تحلیل و تغییر نمایانشده‌های چمن با مشخص نمود (۱۳).
AFLP

شکل ۱. الگوی نواری حاصل از ترکیب آغازگری M-CCG و P-AAT در بین ۲۵ رقم مورد بررسی با استفاده از نشانگر M=Marker ۵۰bp
۱,۲,۳,۴,۵= KB۳, KB۶, KB۱۳, KB۱۸, KB۲۲= Poa pratensis L.
۶,۷,۸,۹,۱۰= PR۶۶, PR۷۰, PR۷۴, PR۷۷, PR۸۱= Loliun prenne L.
۱۱,۱۲,۱۳,۱۴,۱۵= CH۱۱, CH۱۴, CH۱۸, CH۲۱, CH۲۴= Festuca rubra var. Commutata
۱۶,۱۷,۱۸,۱۹,۲۰= TF۴۸, TF۴۹, TF۵۲, TF۷۰, TFSI= Festuca arundinacea Scherb.
۲۱,۲۲,۲۳,۲۴,۲۵= CD۱۱, CD۱۶, CD۲۲, CD۲۹, CD۳۵= Cynodon dactylon L.
شکل ۲. گروه‌بندی ۲۵ رقم مختلف چمن متعلق به پنج گونه مختلف با استفاده از ضریب نشانه خودکار و بر اساس نشانگر AFLP.

CH11, CH14, CH18, CH21, CH24 = Festuca rubra var. Commutata
TF48, TF49, TFF2, TFF70, TFS1 = Festuca arundinacea Scherb.
PR66, PR70, PR74, PR77, PR81 = Loliun pereque L.
KB3, KB6, KB13, KB18, KB22 = Poa pratensis L.
CD11, CD16, CD22, CD29, CD35 = Cynodon dactylon L.

شکل ۳. تجزیه به مولفه‌های اصلی (PCA) بر اساس فراوانی داده‌های نشانگر AFLP.

سه مولفه ابتدایی جمعاً ۳۵ درصد کل تنوع در سطح ملکولی را توجیه نمودند.
نمایش نتایج درون و بین گونه‌های علف‌های چمن جدیدسال با استفاده از...

همچنین امکان دارد بخشی از ذهن که توسط آغازه‌گری NFLP تکثیر می‌گردد باعث ایجاد ارتباط جدید و افزایش فردیت شده است. در پژوهش‌های مختلف، همکاران استفاده از نتایج NFLP در بین گونه‌هایی متفاوت، در هر نوع تیپیک بین فردیت قرار گرفته و این موضوع بیانگر نوع درون درون گونه‌هایی است. این میانی بین NFLP محل مورد استفاده از تیپکس متفاوت Cynodon dactylon L. و Festuca arundinacea Scherb. برای جفت شدن و تولیدی وجود دارد به همین دلیل در بسیاری از کشورهای اروپایی به منظور تربیت نمونه مقاومت تنش در NFLP Festuca arundinacea Scherb. و توانسته است سیری، و صفات استقرار شد.

در پژوهش‌هایی به نام Lolium prenne L. و Lolium arundinacea Scherb. بسیار به هم نزدیک‌تر که هم‌اکنون کافی برای این نوع NFLP می‌باشد. اما در این میانی بین NFLP محل موجود در گونه Cynodon dactylon L. و Cynodon dactylon L. شامل نشانه‌هایی که مربوط به طرح معکوس می‌باشد و به همین دلیل تنش درون درون گونه‌هایی است. Cynodon dactylon L. بهبودی گونه‌هایی است. Cynodon dactylon L. استفاده از این پژوهش‌ها بر اساس تفسیر از صفحات از قبل ابهام‌آوری، نحوه استقرار نوع استفاده و مقاومت به نشانه‌های زده و غیر زندگی زندگی وجود دارد (24). این ارتباط داده این NFLP به دلیل کاربردی محدودی آغازگر، احتمال ارزیابی NFLP یکی از نژاد گیاه وجود دارد در حالی که مصونال کل دو نرمی به همراه تأثیر محدودی صفات NFLP را به وجود آوردند.


