تنوع ژنتیکی درون و بین گونه‌های علف‌های چمنی چند ساله با استفاده از نشانگر مولکولی AFLP

مجید طالبی بداف[۱]، بدرالدین ابراهیم سید طباطبایی[۱]، خورشید رزمجو[۲]، بهروز شیران[۳]

چکیده

شناسایی گونه‌های چمنی بر اساس خصوصیات مورفولوژیک به لحاظ شباهت‌های آنها مشکل است. از طرفی گزینش ژنوتیپ‌های والدی بر اساس فاصله ژنتیکی مناسب برای اجرای تلاقی‌ها و به‌نژادی چمن حائز اهمیت است. بدین ترتیب استفاده از روش‌های ملکولی به عنوان ابزاری کارا در ارزیابی و شناسایی ژنوتیپ‌ها مورد توجه قرار گرفته است. هدف از این پژوهش بررسی تنوع ژنتیکی بین و درون گونه‌های مختلف چمن و برآورد روابط ژنتیکی آنها با استفاده از نشانگر AFLP بوده است. تعداد پنج گونه چمن به همراه پنج رقم از هر گونه انتخاب شد و با استفاده از نشانگر ملکولی AFLP مورد مطالعه قرار گرفت. با استفاده از ۱۰ ترکیب آغازگری، تعداد ۱۱۷۰ نوار حاصل شد که تمام آنها در بین ارقام چندشکلی نشان داده شد. از بین آغازگرهای مورد استفاده، ترکیب آغازگری P-AAG و M-CAG با ۱۶۶ نوار، بیشترین تعداد نوار و ترکیب آغازگری P-ACT و M-CGC با ۸۱ نوار، کمترین تعداد نوار را تولید کردند. گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها با استفاده از روش تجزیه خوشه‌ای بر اساس ضریب جاکارد، ۵ گونه مورد نظر را از یکدیگر جدا کرد. ضمن این که رقم‌های متعلق به هر گونه نیز از یکدیگر تفکیک شدند. برخی از این نشانگرها در مورد یک گونه، اختصاصی بودند که از آنها می‌توان در شناسایی گونه مورد نظر استفاده کرد. تولید تعداد نوار زیاد و میزان چندشکلی بالا در گونه‌ها و رقم‌های مختلف چمن بیانگر آن است که این روش می‌تواند به طور کارا و مؤثری در تعیین روابط ژنتیکی رقم‌های مختلف بین و درون گونه‌ای چمن مورد استفاده قرار گیرد.

واژه‌های کلیدی: علف‌های چمنی چندساله، نشانگر AFLP، تنوع ژنتیکی، فاصله ژنتیکی

مقدمه

گیاهان چمنی متعلق به گونه‌ها و جنس‌های مختلف به عنوان جزء اصلی و ضروری در اغلب باغ‌ها و پارک‌ها به شمار می‌رود و در طراحی و ایجاد فضای سبز، نقش مهمی را ایفا می‌کنند. چمن نه تنها می‌تواند در تولید اکسیژن محیط مؤثر باشد، بلکه باعث کاهش گرد و غبار محیط، کاهش فرسایش خاک و تعدیل

۱. به ترتیب دانشجوی دکتری و دانشیار بیوتکنولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان

۲. استادیار زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان

۳. استادیار علوم زراعی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهرکرد

[Downloaded from jcpp.iut.ac.ir on 2026-11-25]

[DOR: 20.1001.1.22518517.1385.10.2.3.5]

دمای محیط نیز می‌شود (۳). نظر به اهمیت فوق‌العاده گونه‌های چمنی در طراحی و ایجاد فضای سبز، اصلاح ارقام با کیفیت مناسب از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. ارقام جدید چمن به طور اختصاصی برای خصوصیات مهمی مانند ظرافت برگ، رنگ، رشد کم و متراکم، مقاومت نسبت به عوامل نامساعد محیطی، امراض گیاهی و دیگر ویژگی‌های مطلوب اصلاح می‌شوند (۱). از آنجایی که صفات ظاهری چمن تحت تأثیر عوامل محیطی بوده و تشخیص ارقام مختلف به وسیله این صفات مشکل است، بنابراین استفاده از نشانگرهای مولکولی برای شناسایی گونه و ارقام چمن ضروری به نظر می‌رسد. نشانگرهای ملکولی مبتنی بر PCR (Polymerase Chain Reaction) روش قدرتمندی برای شناسایی چندشکلی‌های DNA و بررسی تنوع ژنتیکی است (۲، ۱۱، ۲۰ و ۲۶). AFLP یکی از روش‌های مبتنی بر واکنش زنجیره‌ای پلیمراز می‌باشد که توسط ووس و همکاران معرفی شد. این روش نسبت به سایر روش‌های موجود مزیت‌هایی دارد (۲۵).

از نشانگرهای AFLP برای تعیین تنوع ژنتیکی در تعدادی از گونه‌های گیاهان شامل گیاهان علوفه‌ای و علف‌های چمنی به طور موفقی استفاده شده است (۱۰، ۱۲، ۱۵، ۱۷، ۲۱ و ۲۷). چارمت و همکاران برای توسعه نقشه‌های پیوستگی با تراکم بالا در چمن های دائمی از AFLP استفاده نمودند (۵). دوپال و همکاران با مطالعه تنوع ژنتیکی درون و بین گونه‌های چمن با استفاده از تکنیک AFLP نتیجه گرفتند که این روش می‌تواند برای مطالعه ژنوم و طبقه بندی گونه‌های چمنی به کار رود (۷). گیلیاند و همکاران برای مطالعه تنوع ژنتیکی ۱۲ گروه چمن دائمی از AFLP استفاده کردند و اظهار داشتند که این نشانگر تنوع بیشتری را با توجه به دقت بالای مورد نیاز تأمین می‌نماید (۸). رولدن – رویز و همکاران و نیز گوتریج و همکاران کاربرد نشانگر AFLP را برای تعیین سطح تنوع ژنتیکی در بین گیاهان چمن با درجات متفاوتی از خویشاوندی، مورد ارزیابی قرار داده و مشخص نمودند که این نشانگر، قدرت تمایز بالا و هم‌چنین توانایی تشخیص ارتباط ژنتیکی میان گیاهان چمن را داراست (۹ و ۱۷). سوونی و همکاران از نشانگر AFLP در بررسی تنوع ژنتیکی چمن‌های دیپلوئید استفاده نمودند (۲۲). علی‌رغم استفاده از نشانگر AFLP در بررسی تنوع ژنتیکی ارقام علف‌های چمنی خارجی، استفاده از این تکنیک در بررسی ارقام داخلی ایران احساس می‌شود.

از آنجا که نشانگرهای ملکولی وابسته به DNA از نظر فنوتیپی خنثی بوده و تحت تأثیر شرایط محیطی قرار نمی‌گیرند، تعداد زیادی از این نشانگرها را می‌توان برای تجزیه و تحلیل مورد استفاده قرار داد. این نشانگرها را می‌توان به راحتی در کل ژنوم جستجو نمود. از طرفی شناسایی نشانگرهای ملکولی پیوسته با صفات مهم کشاورزی، امکان استفاده از انتخاب به کمک نشانگر را فراهم می‌آورد و تولید ارقام جدید را سرعت می‌بخشد. تکنیک AFLP به واسطه کارایی، تکرارپذیری و قابلیت اعتماد بالا، برای بررسی چند شکلی‌ها در بیشتر گونه‌های گیاهی و هم‌چنین مطالعات ژنتیکی مورد استفاده قرارگرفته است (۱۳، ۱۴ و ۱۹). با توجه به تشابه ظاهری بسیاری از چمن‌های متعلق به جنس و گونه‌های مختلف، و رقم‌های موجود در آنها و نیز مزایای نشانگر AFLP در تشخیص و تفکیک آنها، در پژوهش حاضر از این نشانگر به منظور ارزیابی تنوع ژنتیکی بین و درون گونه و جنس‌های مختلف علف‌های چمنی و شناسائی نشانگرهای خاص هرکدام استفاده شد.

مواد و روش‌ها

در این پژوهش تعداد پنج جنس و گونه از علف‌های چمنی چند ساله از مرکز تحقیقات محمودآباد اصفهان انتخاب و از هر کدام تعداد پنج رقم نمونه برداری شد (جدول ۱).

استخراج DNA ژنومی به روش دلاپورتا انجام شد (۶). کمیت و کیفیت نمونه‌های DNA با روش الکتروفورز ژل آگارز تعیین شد. انجام واکنش AFLP بر اساس روش ووس و همکاران صورت گرفت (۲۵).

[Downloaded from jcpp.iut.ac.ir on 2026-11-25]

[DOR: 20.1001.1.22518517.1385.10.2.3.5]

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

گونه مورد بررسی	رقم‌های گونه مورد نظر
Festuca rubra var. commutate Gaud.	CH11(Frida), CH14(James town), CH18(Lirouge), CH21(Luster), CH24(Rasengold)
Festuca arundinacea Scherb.	TF48(Super-short), TF49(Gazelle), TFF2, TFF70, TFSI(Salt)
Lolium prenne L.	PR66(Super-star), PR70(Edge), PR74(APM), PR77(Wos), PR81(Top-Hat)
Poa pratensis L.	KB3(Barblue), KB6(Bluebanner), KB13(Challenger), KB18(Huntsvill), KB22(Nugget)
Cynodon dactylon L.	CD11, CD16, CD22, CD29, CD35

ابتدا به منظور برش DNA از دو آنزیم برشی *Pst*I و *Mse*I تهیه شده از شرکت Roche آلمان استفاده شد. سپس اتصال آداپتورها به انتهای قطعات برش یافته با استفاده از آنزیم T4 لیگاز انجام شد.

توالی آداپتورهای MseI و PstI به شرح زیر است:

1)MseI-1: 5' -GAC GAT GAG TCC TGA G-3'
2)PstI-1: 5 '-GAC TGC GTA GGT GCA-3'
3)MseI-2: 5' -TAC TCA GGA CTC AT-3'
4)PstI-2: 5' -CCT ACG CAG TCT ACG AG-3'

در مرحله تکثیر پیش انتخابی از آغازگرهای بدون نوکلئوتید انتخابی در انتهای '۳ استفاده شد. توالی آغازگرهای P000 به صورت '5'-GAC TGC GTA GGT GCA G-3 و توالی آغازگر M000 به صورت '5'-GAT GAG TCC TGA GTA A-3 بود. واکنش PCR در دستگاه ترموسایکلر اپندورف (Mastercycler gradient) با ۳۰ چرخه شامل ۹۴ درجه سانتی‌گراد ۳۰ ثانیه، ۵۶ درجه سانتی‌گراد ۳۰ ثانیه و ۷۲ درجه سانتی‌گراد در یک دقیقه انجام گرفت.

در مرحله دوم تکثیر، محصولات حاصل از مرحله تکثیر پیش انتخابی به نسبت ۵:۱ رقیق و در واکنش تکثیر انتخابی استفاده شد. واکنش PCR شامل دو دقیقه در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد برای واسرشت سازی اولیه و پس از آن ۳۵ چرخه با دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد ۳۰ ثانیه، ۶۵ درجه سانتی‌گراد ۳۰ ثانیه و ۷۲ درجه سانتی‌گراد یک دقیقه که در ۱۲ چرخه اولیه، دمای اتصال آغازگر به میزان ۰/۷ درجه سانتی‌گراد در هر چرخه کاهش یافت و در ۲۳ چرخه باقی‌مانده در دمای ۵۶ درجه سانتی‌گراد ثابت شد و در نهایت به مدت دو دقیقه در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. توالی و ترکیب آغازگرهای مورد استفاده در این تحقیق در جدول ۲ آمده است.

به منظور مشاهده الگوی نواری از ژل پلی اکریل آمید شش درصد واسرشت با هفت مولار اوره استفاده شد. قبل از بارگذاری نمونه‌ها الکتروفورز مقدماتی به مدت ۳۰ دقیقه در شرایط وات ثابت ۱۰۰ و دمای ۵۰- ۵۵ درجه سانتی‌گراد صورت گرفت. الکتروفورز محصولات PCR نیز در همان شرایط و به مدت دو ساعت انجام شد. پس از الکتروفورز، رنگ آمیزی ژل به روش نیترات نقره (۴) انجام گرفت و از الگوی نواری به دست آمده عکس برداری شد. الکتروفورز با دستگاه توالی یاب Biometra (Sequencing gel) مدل S2 انجام یافت.

وجود و عدم وجود نوار با اعداد یک و صفر برای رقم‌های مورد مطالعه، کدگذاری شد. سپس ماتریس تشابه تشکیل شده و تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم افزار NT SYS-pc Ver 2.02 و به روش جاکارد انجام گرفت.

نتایج و بحث

در این پژوهش با استفاده از ۱۰ ترکیب آغازگری در مجموع تعداد ۱۱۷۰ نوار (محدوده ۵۰ تا ۱۰۰۰ جفت باز) حاصل شد که تمام آنها در بین این گونه‌ها چندشکلی نشان دادند

[Downloaded from jcpp.iut.ac.ir on 2026-11-25]

[DOR: 20.1001.1.22518517.1385.10.2.3.5]

جدول ۲. اسامی آغازگرهای انتخابی مورد استفاده و تعداد نوارهای حاصل شده از این آغازگرها به تفکیک گونه‌ها

اسامی گونه‌ها	تعداد کل نوار در هر گونه	تعداد نوار چندشکل در هر گونه	تعداد نوار یک شکل در هر گونه	در صد چندشکلی در هر گونه	تعداد کل نوار در بین تمام گونه‌ها	نام و توالی آغازگر مورد استفاده
Poa pratensis L.	۴۲	۳۴	۸	۸۰/۹۵	۸۱	P-ACT M-CGC
Lolium prenne L.	۲۹	۲۴	۵	۸۲/۷۵		
Festuca rubra	۴۹	۴۳	۶	۸۷/۷۵		
Festuca arundinacea	۳۱	۲۰	۱۱	۶۴/۵۱		
Cynodon dactylon L.	۲۲	۱۳	۹	۵۹/۰۹		
Poa pratensis L.	۶۳	۴۰	۲۳	۶۳/۴۹	۱۰۲	P-AAA M-CGA
Lolium prenne L.	۳۹	۲۸	۱۱	۷۱/۷۹		
Festuca rubra	۶۴	۵۵	۹	۸۵/۹۳		
Festuca arundinacea	۴۸	۲۹	۱۹	۶۰/۴۱		
Cynodon dactylon L.	۳۹	۱۹	۲۰	۴۸/۷۱		
Poa pratensis L.	۷۴	۲۳	۵۱	۳۱/۰۸	۱۵۵	P-AAC M-CAT
Lolium prenne L.	۹۷	۶۴	۳۳	۶۵/۹۸		
Festuca rubra	۱۱۹	۸۵	۳۴	۷۱/۴۳		
Festuca arundinacea	۷۳	۳۱	۴۲	۴۲/۴۶		
Cynodon dactylon L.	۸۱	۳۳	۴۸	۴۰/۷۴		
Poa pratensis L.	۶۲	۳۴	۲۸	۵۴/۸۴	۱۰۱	P-AAG M-CCA
Lolium prenne L.	۵۶	۴۰	۱۶	۷۱/۴۳		
Festuca rubra	۴۴	۳۱	۱۳	۷۰/۴۵		
Festuca arundinacea	۳۳	۱۸	۱۵	۵۴/۵۵		
Cynodon dactylon L.	۴۳	۱۷	۲۶	۳۹/۵۳		
Poa pratensis L.	۵۲	۳۱	۲۱	۵۹/۶۲	۱۱۳	P-AAT M-CCG
Lolium prenne L.	۵۱	۴۳	۸	۸۴/۳۱		
Festuca rubra	۶۵	۴۷	۱۸	۷۲/۳۱		
Festuca arundinacea	۵۲	۲۱	۳۱	۴۰/۳۸		
Cynodon dactylon L.	۴۳	۲۸	۱۵	۶۵/۱۲		

[Downloaded from jcpp.iut.ac.ir on 2026-11-25]

[DOR: 20.1001.1.22518517.1385.10.2.3.5]

ادامه جدول ۲

اسامی گونه‌ها	تعداد کل نوار در هر گونه	تعداد نوار چندشکل در هر گونه	تعداد نوار یک شکل در هر گونه	در صد چندشکلی در هر گونه	تعداد کل نوار در بین تمام گونه‌ها	نام و توالی آغازگر مورد استفاده
Poa pratensis L.	۴۷	۳۶	۱۱	۷۶/۶۰	۱۰۲	P-ACA M-CCC
Lolium prenne L.	۴۲	۳۱	۱۱	۷۳/۸۱		
Festuca rubra	۳۸	۳۵	۳	۹۲/۱۱		
Festuca arundinacea	۴۴	۲۳	۲۱	۵۲/۲۷		
Cynodon dactylon L.	۳۶	۲۷	۹	۷۵		
Poa pratensis L.	۵۲	۳۸	۱۴	۷۳/۰۸	۸۷	P-ACG M-CCT
Lolium prenne L.	۴۶	۳۸	۸	۸۲/۶۱		
Festuca rubra	۳۹	۳۰	۹	۷۶/۹۲		
Festuca arundinacea	۲۹	۱۳	۱۶	۴۴/۸۳		
Cynodon dactylon L.	۳۰	۲۱	۹	۷۰		
Poa pratensis L.	۵۱	۴۳	۸	۸۴/۳۱	۱۴۴	P-AGC M-CAC
Lolium prenne L.	۷۰	۵۸	۱۲	۸۲/۸۶		
Festuca rubra	۷۳	۵۸	۱۵	۷۹/۴۵		
Festuca arundinacea	۹۲	۶۲	۳۰	۶۷/۳۹		
Cynodon dactylon L.	۶۵	۳۱	۳۴	۴۷/۶۹		
Poa pratensis L.	۶۸	۴۳	۲۵	۶۳/۲۴	۱۱۹	P-ACC M-CAA
Lolium prenne L.	۶۴	۵۱	۱۳	۷۹/۶۹		
Festuca rubra	۷۹	۶۰	۱۹	۷۵/۹۵		
Festuca arundinacea	۵۰	۲۲	۲۸	۴۴		
Cynodon dactylon L.	۴۶	۱۹	۲۷	۴۱/۳۰		
Poa pratensis L.	۳۹	۲۳	۱۶	۵۸/۹۷	۱۶۶	P-AAG M-CAG
Lolium prenne L.	۵۱	۴۰	۱۱	۷۸/۴۳		
Festuca rubra	۱۱۴	۸۳	۳۱	۷۲/۸۱		
Festuca arundinacea	۴۱	۳۱	۱۰	۷۵/۶۱		
Cynodon dactylon L.	۹۴	۵۸	۳۶	۶۱/۷۰		

[Downloaded from jcpp.iut.ac.ir on 2026-11-25]

[DOR: 20.1001.1.22518517.1385.10.2.3.5]

(شکل ۱). از بین آغازگرهای مورد استفاده، ترکیب آغازگری P-AAG و M-CAG با ۱۶۶ نوار، بیشترین تعداد نوار و ترکیب آغازگری P-ACT و M-CGC با ۸۱ نوار، کمترین تعداد نوار را تولید کردند. نام ترکیبات آغازگری، تعداد نوارهای تولید شده توسط هر آغازگر و میزان چندشکلی آنها در جدول ۲ آمده است.

تولید تعداد نوار زیاد و میزان چندشکلی بالا در گونه‌های مختلف چمن نشان دهنده کارایی این نشانگر در طبقه بندی و شناسایی گونه‌های مختلف چمن است. این نتیجه توسط پژوهشگران دیگر نیز گزارش شده است. دوپال و همکاران از نشانگر AFLP برای شناسایی تنوع بین و درون ارقام چمن‌های دائمی (*Lolium prenne* L.) استفاده نمودند و کارایی آن را نسبت به نشانگرهای RAPD و آیزوزیم، بالاتر دانستند (۷). گوتریج و همکاران نیز از این نشانگر به منظور مطالعهٔ تنوع ژنتیکی بین و درون جمعیت چمن‌های دائمی استفاده کردند و به چنین نتیجه‌ای دست یافتند (۹). رولدن – رویز و همکاران قدرت تمایز بالا در نشانگر AFLP و هم‌چنین توانایی آن را در نشان دادن ارتباط ژنتیکی بین گونه‌های چمن نشان دادند. نتایج تجزیه و تحلیل آنها نیز میزان چندشکلی بالا بین واریته‌های مختلف چمن را مشخص نمود (۱۷).

ضریب کوفنتیک برای تجزیه خوشه‌ای به روش UPGMA، سه ضریب تشابه تطابق ساده (SM)، جاکارد و دایس، نشان داد که گروه بندی بر اساس ضریب جاکارد با ضریب کوفنتیک ۰/۹۹۲۱۳ بهترین روش گروه بندی از بین روش‌های فوق است. در گروه بندی حاصل، بیشترین تشابه بین ارقام TFF2 و TFF70 از گونه *Festuca arundinacea* Scherb. با ضریب تشابه ۷۹ درصد و کمترین تشابه بین رقم PR77 از گونه *Lolium prenne* L. و رقم شماره ۲۹ از گونه *Cynodon dactylon* L. با ضریب تشابه ۱۲/۲ درصد می‌باشد. تشابه زیاد دو رقم TFF2 و TFF70 امری کاملاً طبیعی به نظر می‌رسد، زیرا هر دو متعلق به یک گونه‌اند و هر دو نسبت به غرقابی شدن نیز مقاوم‌اند. از طرفی ماده اولیهٔ ژنتیکی آنها از یک جمعیت است (۱۶). اما تفاوت زیاد بین دو رقم PR77 و رقم شماره CD29 بیانگر فاصله ژنتیکی زیاد این دو رقم بوده و از آنجا که این دو رقم متعلق به دو گونه و جنس متفاوت‌اند و از نظر فیزیولوژیکی نیز گونه *Cynodon dactylon* L.، گرمسیری و گونه *Lolium prenne* L. یک چمن سردسیری است، تفاوت بین آنها کاملاً منطقی به نظر می‌رسد.

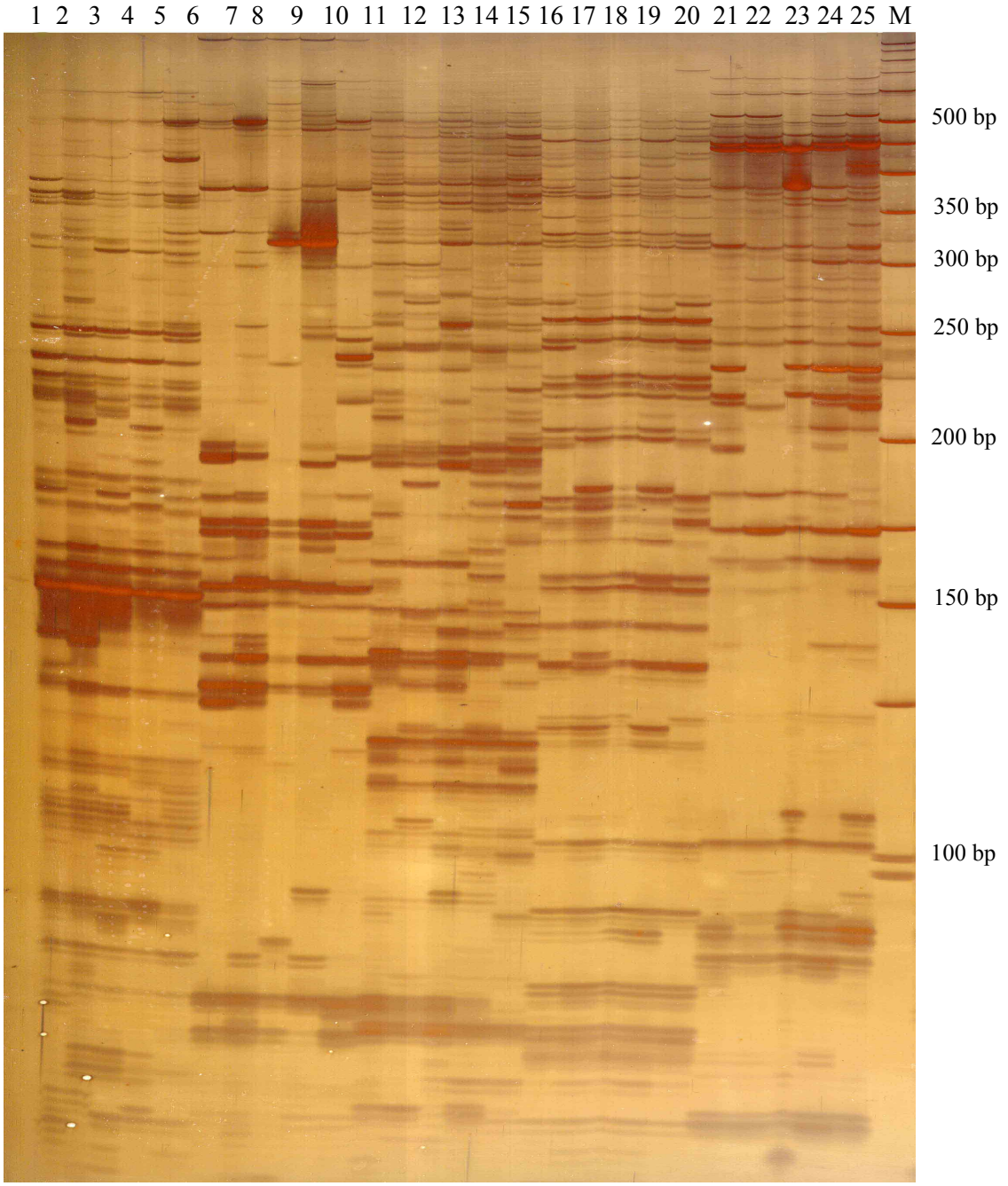
با استفاده از نرم افزار NT SYS-pc Ver 2.02 ابتدا ضرایب تشابه بین نشانگرها محاسبه و سپس تجزیه به مؤلفه‌های اصلی انجام شد. تجزیه به مؤلفه‌های اصلی بر روی داده‌های AFLP نشان داد که سه مولفه اول تنها ۳۵ درصد از کل واریانس را توجیه می‌کنند و بیانگر این است که نشانگرهای AFLP حاصل از این پژوهش به اندازه کافی در ژنوم پراکنده‌اند. از طرفی کاهش اطلاعات به دو یا سه مولفه اصلی توانست اکثر رقم‌ها را مطابق با روش تجزیه خوشه‌ای از هم جدا کند (شکل ۳).

در گروه‌بندی به دست آمده در این تحقیق، ۵ گونه مورد مطالعه در فاصله ژنتیکی ۴۰ درصد به طور کامل از یکدیگر جدا شده و در ۵ گروه مختلف قرار گرفته‌اند. با توجه به تفاوت‌های ژنتیکی بین گونه‌های مختلف چمن، چنین نتیجه‌ای دور از انتظار نیست. در مطالعاتی که توسط دوپال و همکاران، گوتریج و همکاران و رولدن – رویز و همکاران به منظور بررسی تنوع ژنتیکی درون و بین گونه‌های مختلف چمن انجام شده نیز چنین نتایجی حاصل شده است (۷، ۹ و ۱۷).

چمن‌های دائمی گونه‌های دیپلوئید (۲n=۱۴) با قابلیت خودناسازگاری گامتوفیتیک است و به دلیل آلوگام بودن، جمعیت چمن‌های طبیعی و ساختگی از نظر ژنتیکی هتروژن بوده و برای مطالعهٔ تنوع ژنتیکی درون و بین چمن‌ها به منظور دستیابی به اطلاعاتی برای تمایز، عدم تطابق و استقرار ارقام؛ از سیستم نشانگرهای ملکولی استفاده می‌شود (۷ و ۹). خودناسازگاری گونه‌های مختلف چمن سبب انجام دگرگرده‌افشانی و هتروژن بودن رقم‌ها در درون گونه‌ها

[Downloaded from jcpp.iut.ac.ir on 2026-11-25]

[DOR: 20.1001.1.22518517.1385.10.2.3.5]

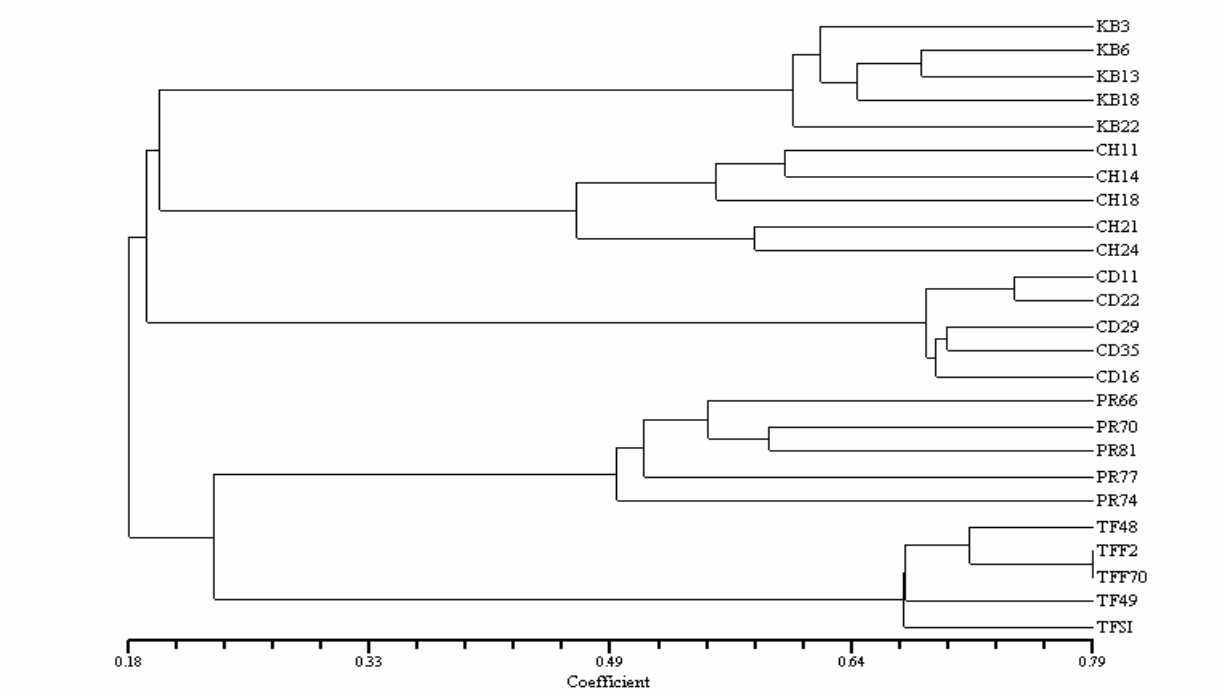


شکل ۱. الگوی نواری حاصل از ترکیب آغازگری P-AAT و M-CCG در بین ۲۵ رقم مورد بررسی با استفاده از نشانگر AFLP

M=Marker 50bp
1,2,3,4,5= KB3, KB6, KB13, KB18, KB22= *Poa pratensis* L.
6,7,8,9,10= PR66, PR70, PR74, PR77, PR81= *Lolium prenne* L.
11,12,13,14,15= CH11, CH14, CH18, CH21, CH24= *Festuca rubra* var. Commutata
16,17,18,19,20= TF48, TF49, TFF2, TFF70, TFSI= *Festuca arundinacea* Scherb.
21,22,23,24,25= CD11, CD16, CD22, CD29, CD35= *Cynodon dactylon* L.

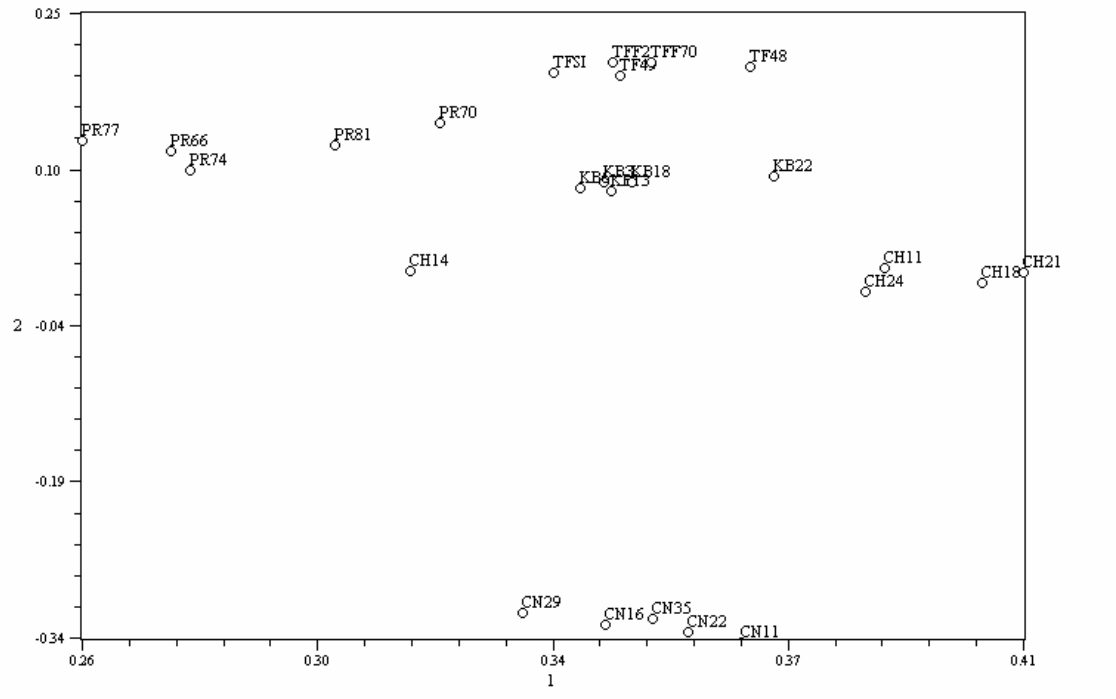
[Downloaded from jcpp.iut.ac.ir on 2026-11-25]

[DOR: 20.1001.1.22518517.1385.10.2.3.5]



شکل ۲. گروه‌بندی ۲۵ رقم مختلف چمن متعلق به پنج گونه مختلف با استفاده از ضریب تشابه جاکارد و بر اساس نشانگر AFLP

CH11, CH14, CH18, CH21, CH24= *Festuca rubra* var. Commutata
TF48, TF49, TFF2, TFF70, TFSI= *Festuca arundinacea* Scherb.
PR66, PR70, PR74, PR77, PR81= *Lolium prenne* 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 مولفهٔ ابتدایی جمعاً ۳۵ درصد کل تنوع در سطح ملکولی را توجیه نمودند.

[Downloaded from jcpp.iut.ac.ir on 2026-11-25]

[DOR: 20.1001.1.22518517.1385.10.2.3.5]

می‌شود، بنابراین بررسی تنوع درون گونه‌های چمن نیز با استفاده از نشانگرهای ملکولی امکان پذیر است. در پژوهش حاضر با استفاده از نشانگرهای AFLP علاوه بر جداسازی گونه‌های مختلف، در درون هر گونه نیز پنج رقم مورد مطالعه از یکدیگر جدا شده و این موضوع بیانگر تنوع درون این گونه‌ها می‌باشد. اما در این میان پنج رقم موجود در گونه *Cynodon dactylon* L. از تنوع کمتری برخوردارند و از آنجایی که این چمن به طور عمده به وسیله ریزوم و استولون تکثیر می‌شود کاملاً منطقی به نظر می‌رسد. گونه‌های *Festuca arundinacea* Scherb. و *Lolium prenne* L. بسیار به هم نزدیک‌اند و هومولوژی کافی بین کروموزوم‌های آنها برای جفت شدن و نوترکیبی وجود دارد. به همین دلیل در بسیاری از کشورهای اروپایی به منظور ترکیب نمودن صفت مقاومت به تنش در *Festuca arundinacea* Scherb و صفات استقرار سریع، عملکرد بالا و کیفیت مناسب در *Lolium prenne* L. از هیبرید بین جنسی آنها که به طور طبیعی هم اتفاق می‌افتد استفاده می‌نمایند (۲۳). در این پژوهش نیز دو گونه فوق در یک گروه قرار گرفته که صحت تشابه بین این دو گونه را نسبت به گونه‌های دیگر نشان می‌دهد. گونه *Cynodon dactylon* L. چمن گرمسیری و با ریزوم، استولون و بذر تکثیر می‌شود و چهار گونه دیگر چمن‌های سردسیری است که به طور عمده از طریق بذر تکثیر می‌یابند و به همین دلیل تنوع درون این گونه‌ها نسبت به گونه *Cynodon dactylon* L. بیشتر است (۲۴). در بین گونه‌های مورد استفاده در این پژوهش نیز از نظر بسیاری از صفات از قبیل احتیاجات غذایی، نحوه استقرار، نوع استفاده و مقاومت به تنش‌های زنده و غیر زنده تنوع زیادی وجود دارد (۲۴)، بنابراین ارتباط دادن گروه‌بندی به دست آمده با استفاده از نشانگر AFLP و صفات مورفولوژیک موجود در گونه‌ها مشکل به نظر می‌رسد. در نشانگر AFLP، به دلیل کاربرد تعداد محدودی آغازگر، احتمال ارزیابی بخشی از ژنوم گیاه وجود دارد در حالی که محصولات کل ژنوم به همراه تأثیر محیط، صفات مورفولوژیکی را به وجود آورده‌اند. هم‌چنین امکان دارد بخشی از ژنوم که توسط آغازگرهای AFLP تکثیر می‌گردد، حاوی ژن‌های کد کننده صفات مورفولوژیک نباشد. به همین دلیل، این دو نشانگر نتایج یکسانی ندارند.

در پژوهشی که توسط دوپال و همکاران انجام شده است نیز نشانگر AFLP قادر به جداسازی رقم‌ها در گونه‌های مختلف چمن بوده است (۷). در پژوهش دیگری که توسط روف و همکاران به منظور تعیین تنوع ژنتیکی در گونه *Festuca arundinacea* Scherb. با استفاده از نشانگر AFLP انجام گرفته است نیز رقم‌های درون این گونه از یکدیگر مجزا شده و ارقامی که از رقم خاصی مشتق شده در یک گروه قرار گرفته‌اند. ارقامی نیز که از مناطق جغرافیایی خاص جمع آوری شده در گروه‌های جداگانه جای گرفته‌اند (۱۸).

با توجه به نتایج به دست آمده می‌توان برای هر گونه و یا هر رقم یک نشانگر مشخص معرفی کرد که بتوان بر اساس آن، گونه و یا رقم مورد نظر را به سرعت در مراحل اولیه رشد تشخیص داد به طوری که اصلاح‌گر بتواند بر اساس آن، رقم اصلاح شده خود را به ثبت برساند. هم‌چنین می‌توان نشانگرهای وابسته به صفات مهم در گونه‌های مختلف چمن را تعیین نمود که می‌توانند در کاهش روند اصلاحی رقم‌های چمن مورد استفاده قرار گیرند. البته تأیید نشانگرهای معرفی شده نیازمند آزمایش‌های تکمیلی است. به طور کلی نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که استفاده از نشانگر AFLP برای طبقه بندی و شناسایی گونه‌های چمن، مفید و مؤثر است.

سپاسگزاری

امکانات مالی و تجهیزات این پژوهش بر اساس طرح مشترک بین دانشگاه‌های صنعتی اصفهان و شهرکرد فراهم شده است، که بدین وسیله مراتب قدردانی از مسئولین مربوط اعلام می‌گردد.

[Downloaded from jcpp.iut.ac.ir on 2026-11-25]

[DOR: 20.1001.1.22518517.1385.10.2.3.5]

منابع مورد استفاده

۱. زمان خانپور، ف. ۱۳۷۲. چمن. سازمان پارک‌ها و فضای سبز شهر تهران. ص ۴۰.

۲. قره‌یاضی، ب. ۱۳۷۵. کاربرد نشانگرهای DNA در اصلاح نباتات. مقالات کلیدی چهارمین کنگره علوم زراعت و اصلاح نباتات ایران، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان.

۳. کرکان، م.، ف. تالاری و ن. نارونی. ۱۳۷۲. *باغبانی تزئینی*. جلد دوم. سازمان پارک‌ها و فضای سبز شهر تهران.

4. Bassam, B. J., G. Caetano-Anolles and P. M. Greesshoff. 1991. Fast and sensitive silver staining of DNA in polyacrylamide gels. Anal. Biochem. 19: 680-683.
5. Charmet, P. F. and M. D. Sourdille. 1999. High-density molecular map for ryegrass(*Lolium perenne*) using AFLP. Theor. Appl. Genet. 99 :445-452.
6. Dellaporta, S. L., J. Wood and J. B. Hicks. 1983. A plant minipreparation: Version II. Plant. Mol. Biol. Report 4: 19-21.
7. Dupal, M., K. Gurthridge, E. S. Jones and J. Forster. 1999. AFLP-based DNA profiling in prennial ryegrass. PAG-VII. january 17-21.
8. Gilliland, T., J. Coll, R. Calsyn, E. De Loose, M. Van Eijk MJT and I. Roldan-Ruiz. 2000. Estimating genetic conformity between related ryegrass (*Lolium*) varieties. 1.Morphology and biochemical characterization. Mol. Breed. 6:569-580.
9. Guthridge, K. M., M. P. Dupal, E. S. Jones, R. Kolliker, K. F. Smith and J. W. Forster. 2001. AFLP analysis of genetic diversity within and between populations of perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.). PP. 141. The Int. Conf. on the Status of Plant and Animal Genome Res., 9th. San Diego. CA. 13-17 Jan. New York.
10. Huff, D. R., R. Peakal and P. E. Smousc. 1993. RAPD variation within and among natural populations of outcrossing buffalograss [*Buchloe dactyloides* (Nutt.) Engelm]. Theor. Appl. Genet. 89:927-934.
11. Kubic, C., W. A. Mcyer and B. S. Gaut. 1999. Assessing the abundance and polymorphism of simple sequence repeats in perennial ryegrass. Crop Sci. 39:1136-1141.
12. Macc, E. S., R. N. Lester and C. G. Gebhardt. 1999. AFLP analysis of genetic relationship among the cultivated eggplant, (*Solanum melongena* L.) and wild relatives (Solanaceae). Theor. Appl. Genet. 99:626-633.
13. Muller, U. G. and L. Wolefenbager. 1999. AFLP genotyping and fingerprinting, Tree 14:389-394.
14. Nicod, J. C. and C. R. Largiader. 2003. SNPs by AFLP (SBA) : A rapid SNP isolation strategy for non-model organisms. Nucl. Acid Res. 31: 389-394.
15. Pillay, M. and G.O. Myers. 1999. Genetic diversity in cotton assessed by variation in ribosomal RNA genes and AFLP markers. Crop Sci. 39:1881-1886.
16. Razmjoo, K. 1992. Japan Turfgrass Annual Research Report. 79p.
17. Roldan-Ruiz, I., J. Dendauw, E. Van Bockstaele, A. Depieker and M. De Loose. 2000. AFLP markers reveal high polymorphic rates in ryegrasses (*Lolium* spp.). Mol. Breed. 6:125-134.
18. Rouf Main, M. A., A. A. Hopkins and J. C. Zwonitzer. 2002. Determination of genetic diversity in tall fescue with AFLP markers. Crop Sci. 42:944-950.
19. Savolkool, P. H. M., H. J. M. Aarts, J. Dehass, L. Dijkshoorn, B. Duim, M. Otsen, J. L. W. Rademaker, L. Schouls and J. A. Lenstra. 1999. Amplified Fragment Length Polymorphism analysis: the state on art. Clin. Micro. 37:3083-3091.
20. Senior, M. L., E. C. L., Chin, M. Lee, J.S.C. Smith and C.W. Stuber. 1996. Simple sequence repeat markers developed from maize sequences found in the gene bank database: map construction. Crop Sci. 36:1676-1683.
21. Sharma, S. K., M. R. Knox and T. H. N. Ellis. 1996. AFLP analysis of the diversity and phylogeny of lens and its comparison with RAPD analysis. Theor. Appl. Genet. 93:751-758.
22. Sweeney, P. and K. Danneberger. 2000. Inheitance of restriction amplified fragment length polymorphisms in perennial ryegrass. Crop Sci. 40:1126-1129.
23. Thomas, H., M. Humphreys, F. Volaire, M. Humphreys and A. James. 2001. Exploiting interspecific and ecotype diversity to improve drought resistance in temperate forage grasses, with emphasis on *Festuca* and *Lolium*. Second meeting of SAGES partners at Cambridge, 21 June.
24. Turgeon, A. J. 1991. Turfgrass Management. 3rd ed., Prentice-Hall Pub., England, New Jersey.
25. Vos, P., R. Hogres, M. Bleeker, M. Reijans, T. Van de Lee, M. Hornes, A. Frilters, J. Pot, J. Peleman, M. Kuiper and M. Zabeau. 1995. AFLP: A new technique for DNA finger printing. Nucl. Acid Res. 23:4407-4414.
26. Xu, W. W., D. A. Sleper and G. F. Krause. 1994. Genetic diversity of tall fescue germplasm based on RFLPs. Crop Sci. 34:246-252.
27. Zhang, L. H., P. Ozias-Akins, G. Kochert, S. Kresovich, R. Dean and W. Hanna. 1999. Differentiation of bermudagrass (*Cynodon* spp.) genotypes by AFLP analysis. Theor. Appl. Genet. 98:895-902.

[Downloaded from jcpp.iut.ac.ir on 2026-11-25]

[DOR: 20.1001.1.22518517.1385.10.2.3.5]