ژنتیک نوین
دوره یازدهم، شماره ٤، زمستان ١٣٩٥
صفحه ٥٩٠ - ٥٧٩

بررسی تنوع ژنتیکی *Lolium multiflorum* با استفاده از نشانگر ملکولی ISSR و صفات کاریوتیپی

The study of genetic variation in *Lolium multiflorum* using ISSR molecular marker and karyotype traits

سوسن عباس زاده*[1]، علی‌اشرف جعفری[2]، هوشمند صفری[3]، هومن شیروانی[4]

١- باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، واحد کرمانشاه، دانشگاه آزاد اسلامی، کرمانشاه، ایران
٢- استاد، موسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور، تهران
٣- مربی، بخش تحقیقات جنگل‌ها و مراتع، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان کرمانشاه، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرمانشاه، ایران
٤- مربی، گروه کشاورزی، دانشگاه پیام نور

Abbaszade S*[1], Jafari AA[2], Safari H[3], Shirvani H[4]

1- Young Researchers and Elite Club, Kermanshah Branch, Islamic Azad University, Kermanshah, Iran
2- Professor, Research Institute of Forests and Rangelands, Tehran, Iran
3- Instructor, Research Department of Forests and Rangelands, Kermanshah Agricultural and Natural Resources Research and Education Center
4- Instructor, Department of Agriculture, Payame Noor University, Iran

* نویسنده مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: so.abbaszade@yahoo.com

(تاریخ دریافت: ٩٤/٧/١٩ - تاریخ پذیرش: ٩٥/٦/٢٨)

چکیده

تنوع ژنتیکی تعداد ١٣ ژنوتیپ از گونه *Lolium multiflorum* بر اساس خصوصیات کاریوتیپی و ملکولی مورد بررسی قرار گرفت. برای هر ژنوتیپ، کاریوتیپ برای پنج سلول متافازی تهیه شد. ژنوتیپ‌های مورد بررسی دارای کاریوتیپ تقریباً نامتقارنی بودند و در بین آن‌ها تنوع معنی‌دار برای صفات کاریوتیپی وجود داشت. نتایج مقایسه میانگین‌ها نشان داد ژنوتیپ‌های دیپلوئید متوسط طول کروموزوم بیش‌تری نسبت به ژنوتیپ‌های تتراپلوئید داشتند. ژنوتیپ‌های تتراپلوئید عدم تقارن درون کروموزومی بیش‌تری نسبت به ژنوتیپ‌های دیپلوئید داشتند. تکامل کاریوتیپی گونه *L. multiflorum* با توجه به ژنوتیپ‌های مورد بررسی بیش‌تر از طریق عدم تقارن درون کروموزومی بود و با افزایش سطح پلوئیدی از دیپلوئید به تتراپلوئید عدم تقارن درون کروموزوم-ها بیش‌تر شد. ژنوتیپ‌های ٣٩٠، ٣٧٤، vi و plc بیش‌ترین تکامل کاریوتیپی و ژنوتیپ‌های ١٦٢٤ و ١٧٦٥ کم‌ترین تکامل کاریوتیپی را داشتند. تنوع ژنتیکی ژنوتیپ‌های مورد مطالعه با استفاده از ١٢ آغازگر ISSR مورد بررسی قرار گرفت که از این ١٢ آغازگر ٩ عدد دارای باندهای قابل امتیاز دهی بودند. آغازگرهای ISSR در مجموع توانستند ٦٦ باند تولیدکنند که از این تعداد، ١٠ باند یک شکل مشاهده شد و سایر باندها چند شکل بودند. آغازگرهای IS9 و IS12 بیش‌ترین تعداد باند (تعداد ١٠ باند) و آغازگر IS15 کم‌ترین تعداد باند (تعداد سه باند) را نشان دادند. بر اساس مارکر ISSR چندشکلی مطلوبی در بین ژنوتیپ‌ها مشاهده شد و آغازگرهای IS9، IS10، IS13، IS14 و IS16 به‌عنوان آغازگرهای مناسب برای بررسی‌های گونه چچم یک‌ساله، تعیین شدند. بر اساس آغازگرهای مورد بررسی، ژنوتیپ‌های دیپلوئید و تتراپلوئید به‌صورت کامل تفکیک نشدند و دو ژنوتیپ دیپلوئید ٣٩٣ و "٣٧٤ با ژنوتیپ‌های تتراپلوئید در یک گروه قرار گرفتند. لازم به ذکر است گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها با منشا جغرافیایی آن‌ها تطابق نداشت.

واژه‌های کلیدی

تنوع ژنتیکی
سیتوژنتیک
مارکر
چچم

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]

[DOR: 20.1001.1.20084439.1395.11.4.11.0]

مقدمه

جنس لولیوم با نام فارسی چچم و نام انگلیسی Ryegrass یکی از مهم‌ترین گراس‌های مناطق معتدله است که از نواحی مدیترانه‌ای منشأ گرفته و به‌طور گسترده‌ای در اروپا، آسیای جنوب غربی، آسیای میانه و شمال آفریقا گسترش یافته (Tsvelev 1989) و امروزه در سراسر نواحی معتدله دنیا پراکنده شده‌است (Bennett 1997). تنوع گونه‌های گیاهی در یک محیط موجب پایداری و افزایش قابلیت تولید آن اکوسیستم می‌شود اما نکته حائز اهمیت این است که تنوع داخل گونه‌ها می‌تواند نقش مهمی در میزان تولید یک اکوسیستم ایفا کند (Michaud et al. 1991). آگاهی از سطح تنوع ژنتیکی و برآورد دقیق آن در ژرم‌پلاسم‌های گیاهی و تعیین روابط ژنتیکی بین مواداصلاحی، پایه و اساس بسیاری از برنامه‌های اصلاحی است. کسب اطلاع از فاصله ژنتیکی در بین افراد یا جمعیت‌ها و آگاهی از روابط خویشاوندی گونه‌های مورد نظر در برنامه اصلاحی، امکان سازمان‌دهی ذخایر توارثی و نمونه-گیری مؤثر از ژنوتیپ‌ها و بهره‌برداری بهتر از تنوع در برنامه‌های اصلاحی را فراهم می‌سازد (Sharma et al. 2007). به همین منظور از نشانگرهای مختلفی مانند صفات مورفولوژیک، ویژگی-های سیتوژنتیکی و ملکولی استفاده می‌شود (Brummer et al. 1991; Echt et al. 1994; Kalo et al. 2000). استفاده از خصوصیات کاریولوژیکی به منظور طبقه‌بندی گیاهان و کمک به حل مسائل و مشکلات تاکسونومی کلاسیک، مطرح و به‌تدریج به اهمیت آن پی‌برده شده‌است (Helser and Whitaker 1948). مورفولوژی کروموزوم می‌تواند به‌عنوان یکی از مفیدترین معیارها جهت بررسی روابط تاکسونومیکی باشد (Stebbins 1971). هم-چنین بحث تقارن کاریوتیپ که یکی از فاکتورهای مهم در مطالعه تکامل گونه‌هاست (Goldblatt and Johnso 1998). روش‌های مولکولی متعددی برای ارزیابی تنوع ژنتیکی و تشخیص ذخایر توارثی در گیاهان ابداع شده‌اند (Botstein et al. 1980). ISSRها (توالی‌های بین ریز ماهواره) نشانگرهای مولکولی نیمه تصادفی هستند (Brantestam et al. 2004). این نشانگر تا حدودی مشابه نشانگر RAPD می‌باشد با این تفاوت که در اینجا آغازگرها همان توالی ریزماهواره می‌باشند که در یک انتها متصل شده‌اند. در واقع همین مسأله مزیت این نشانگر نسبت به RAPD و SSR را موجب شده است، چرا که مشکل پرایمرهای تصادفی در RAPD و انجام کلونینگ و توالی‌یابی ناحیه متصل به ریزماهواره‌ها و طراحی پرایمر در SSR که بسیار دشوار و هزینه‌بر می‌باشد را برطرف نموده است (Rosenberger 1982). در هر حال هدف از تحقیق حاضر ارزیابی تنوع ژنتیکی ۱۳ جمعیت چچم یک‌ساله با استفاده از نشانگرهای مولکولی و سیتوژنتیکی و ارتباط میان این نشانگرها می‌باشد.

مواد و روش‌ها

در تحقیق انجام شده ۱۳ ژنوتیپ *Lolium multiflorum* تهیه شده از بانک ژن منابع طبیعی ایران (جدول ۱) در آزمایشگاه بیوتکنولوژی و سیتوژنتیک مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان کرمانشاه در سال ۱۳۹۲ مورد ارزیابی قرار گرفت. پس از کشت نمونه‌ها در شرایط کنترل شده و رشد آن‌ها، ریشه-های با طول ۰/۵ تا یک سانتی‌متر برای نمونه‌گیری انتخاب شدند. در فواصل زمانی ۱۰ تا ۱۱ صبح بیش‌ترین تعداد سلول‌های متافازی مشاهده شد.

جدول ۱- کد بانک ژن و منشاء ژنوتیپ‌های مورد بررسی

شماره	منشاء	کد بانک ژن	شماره	منشاء	کد بانک ژن
G1	ایتالیا	374	G7	ایتالیا	393
G2	هلند	1766	G8	روسیه	1551
G3	روسیه	vi	G9	ایتالیا	374"
G4	هلند	1624	G10	ناشناخته	1151
G5	ناشناخته	plc-Early	G11	ایتالیا	390
G6	هلند	1765	G12	فرانسه	1268
			G13	آمریکا	usa

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]

[DOR: 20.1001.1.20084439.1395.11.4.11.0]

پیش‌تیمار با محلول آلفا برومونفتالین یک درصد به مدت سه ساعت در دمای چهار درجه سانتی‌گراد انجام گرفت. پس از این مرحله، ریشه‌ها برای عمل تثبیت به مدت ۱۸ ساعت در محلول لویتسکی قرار گرفتند. بعد از تثبیت، نمونه‌ها برای نگهداری طولانی بلافاصله در الکل اتیلیک ۷۰ درصد در دمای چهار درجه سانتی‌گراد به یخچال منتقل شدند. جهت مطالعه ژنوتیپ‌ها پس از خارج‌کردن ریشه‌ها از الکل اتیلیک ۷۰ درصد، نمونه‌ها در ماده هیدرولیزکننده (NaOH یک نرمال) در درجه حرارت ٦٤ درجه سانتی‌گراد، به مدت هشت دقیقه قرار داده شدند. بعد از هیدرولیز، نمونه‌ها در محلول رنگ هماتوکسیلین به‌مدت چهار ساعت قرار گرفتند. پس از قرار دادن نمونه‌ها روی لام، منطقه مریستمی با استفاده از تیغ مخصوص برش داده شد و یک قطره محلول اسید استیک ٤٥ درصد روی نمونه ریخته و لامل روی آن گذاشته شد، با وارد کردن ضربات آهسته بر روی نمونه سلول‌های ریشه پخش شدند. به‌منظور عکس‌برداری از سلول‌های متافازی ژنوتیپ‌های مورد مطالعه از سیستم مانیتورینگ استفاده شد. تصاویر کروموزومی از طریق دوربین که بر روی میکروسکوپ نوری مدل المپیوس BH2 نصب شده بود ذخیره شدند. کروموزوم‌های ۵ سلول متافازی عکس‌برداری شده از هر ژنوتیپ در نرم‌افزار Photoshop برش زده و در یک فایل جداگانه، مرتب شد. با استفاده از نرم‌افزار MicroMeasure 3.3 و از طریق مشخص کردن ابتدا و انتهای کروموزوم و محل سانترومر آن‌ها، ویژگی‌های کروموزومی نظیر طول بازوی بلند (LA)، طول بازوی کوتاه (SA)، طول کل کروموزوم (TL)، نسبت بازوها (AR)، شاخص سانترومری (CI) و هم‌چنین پارامترهای تکامل کاریوتیپی شامل درصد شکل کلی کروموزوم (%TF) (Huziwara 1962)، شاخص نامتقارن بودن درون کروموزومی (A1)، شاخص نامتقارن بودن بین کروموزومی (A2) و اختلاف طول نسبی کروموزوم (DRL) (Romero-Zarco 1986) محاسبه و در محیط Excel ذخیره شدند، هم‌چنین نوع کروموزوم‌ها بر اساس روش Levan تعیین شد (Levan et al. 1964). تجزیه‌های آماری توسط نرم‌افزار MSTATC و MINITAB صورت گرفت. لازم به‌ذکر است که بزرگنمائی تصاویر حاصل از لنز X100 با استفاده از دوربین موجود در سیستم مانیتورینگ تقریباً ۲۷۷۵ برابر بود.

به‌منظور استخراج DNA، ابتدا بذور در گلدان کشت و پس از رشد، از برگ هر ژنوتیپ استخراج DNA به‌روش CTAB تغییر یافته (Torres et al. 1993) انجام گرفت. کمیت و کیفیت DNA استخراج شده با استفاده از ژل آگارز ۰/۸ درصد و روش اسپکتروفتومتری مشخص شد. واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR) در حجم ۲۰ میکرولیتر (۵۰ نانوگرم DNA الگو، دو میلی‌مولار MgCl2، ۰/۰۵ میلی‌مولار از هر dNTP، ۰/۲ میکرومول آغازگر، یک واحد آنزیم Taq DNA Polymerase و بافر واکنش به مقدار 1x) انجام شد. چرخه حرارتی شامل یک مرحله واسرشت‌سازی اولیه در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد و به مدت چهار دقیقه و ۳۵ سیکل حرارتی بود که در هر چرخه نیز، زمان و دمای واسرشت سازی به‌ترتیب ۳۰ ثانیه و ۹۵ درجه سانتی‌گراد، زمان اتصال آغازگر ٤٥ ثانیه و دمای آن برای هر آغازگر متفاوت بود. هم‌چنین زمان و دمای توسعه رشته نیز به‌ترتیب ٦٠ ثانیه و ۷۲ درجه سانتی‌گراد بود. توسعه نهایی به مدت پنج دقیقه در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد انجام شد. در این آزمایش از ژل آگارز دو درصد با بافر واکنش TBE استفاده شد. عمل الکتروفورز با ولتاژ ۱۰۰ به میزان ۲/۵ ساعت صورت گرفت و سپس ژل جهت رنگ‌آمیزی در محلول اتیدیوم برماید (یک میکروگرم در میکرولیتر) به مدت ٤٥-۳۰ دقیقه قرار داده و از دستگاه Gel Document جهت نمایان شدن باندها استفاده شد. در پایان نیز با استفاده از نرم‌افزارهای NTSYS، DARwin6 و GenAlEx6.2 داده‌های حاصل مورد بررسی قرار گرفت. محتوی اطلاعات چند شکل (PIC) از طریق فرمول (Powell et al. 1996) $PIC = 1 - \sum_{i=1}^{n} Pi^{2}$ محاسبه شد.

نتایج و بحث

شکل ۱ تصاویر سلول‌های متافازی و کاریوگرام ژنوتیپ‌های مورد مطالعه را نشان می‌دهد. برای هر کاریوتیپ، سطح پلوئیدی، تعداد کل کروموزوم، تعداد کروموزوم پایه(X)، تعداد ماهواره و کروموزوم ماهواره‌دار به همراه فرمول کاریوتیپی تعیین شد که نتایج حاصل در جدول ۲ نشان داده شده‌است. نتایج نشان داد، از بین ژنوتیپ‌های مورد بررسی، شش ژنوتیپ تتراپلوئید و هفت ژنوتیپ دیپلوئید بودند و تعداد کروموزوم پایه در تمامی ژنوتیپ-

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1395.11.4.11.0]

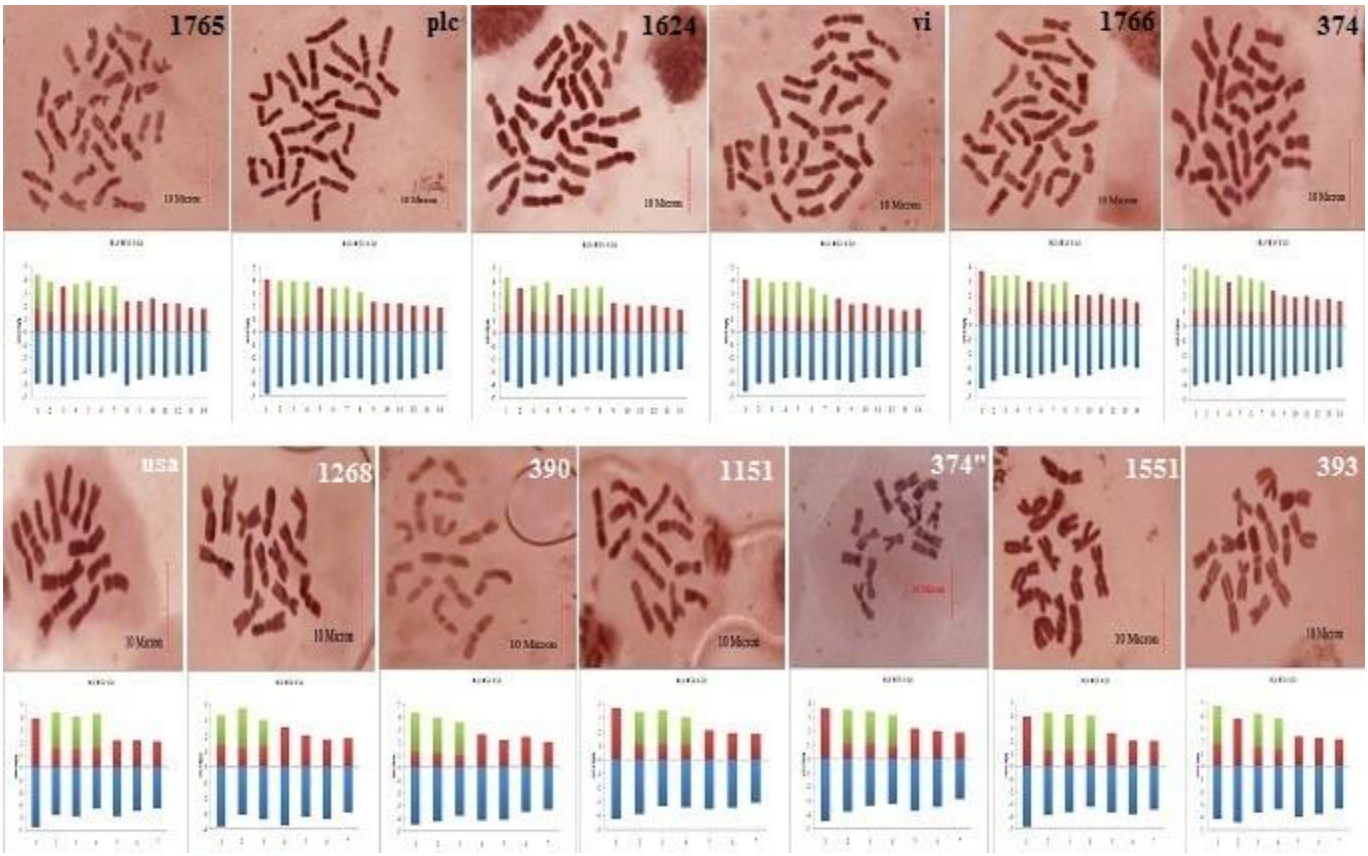
های مورد مطالعه هفت بود، بنابراین از نظر تعداد کروموزوم پایه تنوع بین ژنوتیپ‌ها مشاهده نشد ولی برای سطح پلوئیدی دو دسته ژنوتیپ وجود داشت. Thomas (1981) شش گونه از جنس لولیوم را با استفاده از C-banding مورد ارزیابی قرار داد و علاوه بر گزارش سطح پلوئیدی 2n=2x=14 تنوع بالایی برای مناطق هتروکروماتینی گزارش کرد. فرمول کاریوتیپی برای ژنوتیپ‌ها متفاوت بود، ژنوتیپ‌های ۳۷٤ و ۱۷٦٦ فرمول 5m+3sm+6st، ژنوتیپ‌های "۳۷٤ و ۱۱۵۱ فرمول 2m+2sm+3st، ژنوتیپ‌های ۳۹۳، ۱۲٦۸ و usa فرمول 3m+4sm، ژنوتیپ vi فرمول 3m+5sm+6st، ژنوتیپ ۱٦۲٤ فرمول 8m+6sm، ژنوتیپ plc فرمول 4m+4sm+6st، ژنوتیپ ۱۷٦۵ فرمول 5m+9sm، ژنوتیپ ۱۵۵۱ فرمول 3m+3sm+1st و ژنوتیپ ۳۹۰ فرمول 3m+1sm+3st بود. بنابراین می‌توان بیان داشت که کاریوتیپ تمام ژنوتیپ‌ها از کروموزوم‌های متاسانتریک، ساب‌متاسانتریک و ساب‌تلوسنتریک تشکیل شده‌است و از نظر فرم کروموزمی تنوع درون گونه‌ای مشاهده شد و ژنوتیپ‌های مورد مطالعه دارای کروموزوم‌های تقریبا نامتقارنی بودند. Safari (2008) بر اساس فرمول کاریوتیپی برای جنس‌های *Sophora*، *Colutea* و *Hedysarum* کاریوتیپ تقریبا متقارنی گزارش کرد. در تمام ژنوتیپ‌های مورد بررسی ماهواره مشاهده شد. بدین‌صورت که در ژنوتیپ‌های ۳۷٤، ۱۷٦٦، vi، ۱٦۲٤، plc و ۱۷٦۵ شش ماهواره و در ژنوتیپ‌های ۳۹۳، ۱۵۵۱، "۳۷٤، ۱۱۵۱، ۳۹۰، ۱۲٦۸ و usa سه ماهواره مشاهده شد، که از نظر تعداد، طول و محل قرار گرفتن ماهواره در بین ژنوتیپ‌ها تنوع وجود داشت. براساس جدول دوطرفه Stebbin (1971) تمام ژنوتیپ‌ها در کلاس 2A قرار گرفتند. بنابراین مشاهده شد که بر اساس این جدول ژنوتیپ‌های مورد بررسی تقارن کروموزومی متوسطی داشتند و این شاخص نتوانست تنوع بین ژنوتیپ‌های این گونه را نشان دهد.

به‌منظور بهتر مشخص نمودن تنوع در تقارن درون کروموزمی و بین کروموزومی، پارامترهای شاخص نامتقارن بودن درون کروموزومی (A_1)، شاخص نامتقارن بودن بین کروموزومی (A_2)، اختلاف دامنه طول نسبی بزرگ‌ترین کروموزوم از کوچک‌ترین کروموزوم (DRL) و درصد شکل کلی (%TF) محاسبه شد (جدول ۲). بر اساس شاخص نامتقارن بودن درون کروموزومی (A_1) و درصد شکل کلی (%TF) ژنوتیپ‌های ۳۷٤، vi، plc و ۳۹۰ با بیش‌ترین میزان A_1 و کم‌ترین TF%، دارای نامتقارن‌ترین کروموزوم‌ها بودند و از نظر تکاملی با توجه با این پارامترها در درجه بالاتری قرار گرفتند و ژنوتیپ‌های ۱٦۲٤، ۱۷٦۵، ۳۹۳ و usa دارای متقارن‌ترین کروموزوم‌ها بودند و با توجه به این پارامترها در پایین‌ترین مرتبه تکاملی در بین ژنوتیپ‌های مورد بررسی قرار داشتند. دیگر ژنوتیپ‌ها دارای تکامل کاریوتیپی متوسطی بر اساس این دو پارامتر بودند.

Shariat (2001) در بررسی تنوع ژنتیکی جمعیت‌های یونجه یک-ساله جهت ارزیابی تقارن کاریوتیپ‌ها از کمیت‌هائی نظیر درصد شکل کلی (%TF) و اختلاف بین حداکثر و حداقل طول کروموزوم‌ها (DRL) استفاده نمود و با استفاده از جدول Stebbins تقارن کاریوتیپی جمعیت‌ها را مورد مطالعه قرار داد. برای شاخص نامتقارن بودن بین کروموزومی (A_2) مشاهده شد که ژنوتیپ‌های ۱۷٦۵ و ۱۲٦۸ دارای کم‌ترین عدم تقارن بین کروموزومی بود و بر اساس این شاخص متقارن‌ترین کاریوتیپ را داشتند بنابراین از نظر تکاملی در پایین‌ترین درجه قرار گرفتند. ژنوتیپ‌های vi و usa با داشتن نامتقارن‌ترین کاریوتیپ بر اساس شاخص نامتقارن بودن بین کروموزومی (A_2) دارای بیش‌ترین تکامل کاریوتیپی بودند اما برای شاخص اختلاف طول نسبی بزرگ‌ترین به کوچک‌ترین کروموزوم (DRL) با توجه به اینکه سطح پلوئیدی جمعیت‌ها متفاوت بود و این شاخص شدیدا وابسته به سطح پلوئیدی است (Safari 2008)، در بین جمعیت-های تتراپلوئید ژنوتیپ‌های ۱٦۲٤ و ۱۷٦۵ دارای کم‌ترین اختلاف دامنه طول نسبی بزرگ‌ترین کروموزوم از کوچک‌ترین کروموزوم (DRL) و در بین جمعیت‌های دیپلوئید ژنوتیپ ۱۲٦۸ دارای کم-ترین مقدار DRL بودند که این ژنوتیپ‌ها بر اساس شاخص مذکور دارای کم‌ترین تکامل کاریوتیپی بودند و از طرف دیگر ژنوتیپ vi از گروه تتراپلوئید و ژنوتیپ "۳۷٤ از گروه دیپلوئید دارای بیش‌ترین میزان DRL و بیش‌ترین تکامل کاریوتیپی بر اساس این شاخص بودند. با توجه به ارزش نسبی کروماتین (VRC) بیش‌ترین میزان کروماتین به ژنوتیپ‌های ۳۹۳، ۱۵۵۱، ۱۱۵۱ و usa اختصاص داشت.

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]

[DOR: 20.1001.1.20084439.1395.11.4.11.0]



شکل ۱- تصاویر سلول متافازی و کاریوگرام ژنوتیپ‌های مورد بررسی

بنابراین این ژنوتیپ‌ها دارای میزان کروماتین بیش‌تر و در نتیجه تکامل کاریوتیپی بیش‌تری هستند. کم‌ترین مقدار ارزش نسبی کروماتین به ژنوتیپ ۱۲٦۸ اختصاص داشت.

به‌منظور تعیین وجود یا عدم وجود تفاوت معنی‌دار بین ژنوتیپ‌ها از تجزیه واریانس بر پایه طرح کاملا تصادفی با پنج تکرار استفاده شد که میانگین مربعات بدست آمده در جدول ۳ نشان داده شده است. در بین ژنوتیپ‌ها از نظر صفات طول کل (TL)، طول بازوی بلند (LA) و کوتاه کروموزوم (SA)، شاخص سانترومری (CI) و نسبت بازوی بلند به کوتاه (AR) بر اساس تجزیه واریانس اختلاف معنی‌داری در سطح یک درصد وجود داشت. بنابراین برای صفات اندازه‌گیری شده تنوع معنی‌داری بین ژرم پلاسم‌های مورد بررسی برای صفات کاریوتیپی وجود دارد. وجود تنوع معنی‌دار برای صفات کاریوتیپی در بین برخی از گونه‌ها از جنس‌های *Coronilla*، *Cassia* و *Amorpha* توسط Jalilian et al. (2012) و در بین جمعیت‌های سه گونه جنس *Sophora* توسط Safari et al. (2008) گزارش شده‌است. با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن ژنوتیپ‌ها برای صفات مورد بررسی، در سطح پنج درصد مقایسه و دسته‌بندی شدند (جدول٤). با توجه به مقایسه میانگین صفت طول کل کروموزوم (TL) مشاهده شد که ژنوتیپ‌های ۳۹۳ و ۱۵۵۱ با داشتن بلند-ترین کروموزوم‌ها (به‌ترتیب ۷/۱٤ و ۷/۱۱ میکرون) در گروه A قرار گرفتند که با ژنوتیپ‌های usa، ۳۹۰ و plc اختلافی نداشتند. از طرف دیگر ژنوتیپ‌های ۱۲٦۸ و ۱۷٦٦ دارای کوتاه‌ترین کروموزوم (به‌ترتیب با میانگین ۵/۹۸ و ٦/۰۳ میکرون) بودند و تنها با ژنوتیپ‌های ۳۹۳، ۱۵۵۱، ۳۹۰ و usa اختلاف معنی‌دار در سطح پنج درصد داشتند. ژنوتیپ‌های ۱۲٦۸، ۱۷٦٦ و ۱٦۲٤ به ترتیب با داشتن متوسط طول بازوی بلند ۳/۳٦، ۳/۳۹ و ۳/٤۳ میکرون کوتاه‌ترین طول بازوی بلند را داشتند و با ژنوتیپ‌های plc، usa، ۳۹۳، ۱۵۵۱ و ۳۹۰ اختلاف معنی‌دار در سطح پنج درصد داشتند. برای طول بازوی کوتاه (SA)، ژنوتیپ‌های ۳۹۳ و usa به‌ترتیب با ۲/۱٤۹ و ۲/۱۲٦ دارای بلندترین میانگین طول بازوی کوتاه بودند و در گروه A قرار گرفتند.

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1395.11.4.11.0]

جدول ۲- خصوصیات کاریوتیپی، پارامترهای تقارن (تکامل) کاریوتیپی ژنوتیپ‌های مورد بررسی

ژنوتیپ	سطح پلوئیدی	تعداد ماهواره	کروموزوم ماهواره‌دار	VRC	DRL	%TF	A1	A2	فرمول کاریوتیپی
374	2n=4x=28	6	1,2,3,5,6,7	6.155	4.066	26.637	0.5237	0.1794	5m+3sm+6st
1766	2n=4x=28	6	2,3,4,6,7,8	6.032	4.217	28.521	0.4977	0.1737	5m+3sm+6st
vi	2n=4x=28	6	2,3,4,5,6,7	6.555	4.566	27.493	0.5117	0.1909	3m+5sm+6st
1624	2n=4x=28	6	1,3,4,6,7,8	6.395	3.780	30.896	0.4270	0.1715	8m+6sm
plc	2n=4x=28	6	2,3,4,6,7,8	6.843	4.156	27.873	0.5070	0.1740	4m+4sm+6st
1765	2n=4x=28	6	1,2,4,5,6,7	6.519	3.898	30.256	0.4451	0.1649	5m+9sm
393	2n=2x=14	3	1,3,4	7.137	6.921	30.115	0.4453	0.1753	3m+4sm
1551	2n=2x=14	3	2,3,4	7.108	6.690	29.204	0.4661	0.1745	3m+3sm+1st
374"	2n=2x=14	3	2,3,4	6.357	7.344	28.615	0.4968	0.1757	2m+2sm+3st
1151	2n=2x=14	3	2,3,4	7.108	6.690	29.204	0.4661	0.1745	2m+2sm+3st
390	2n=2x=14	3	1,2,3	6.930	7.146	26.053	0.5294	0.1789	3m+1sm+3st
1268	2n=2x=14	3	1,2,3	5.982	5.699	29.220	0.4772	0.1550	3m+4sm
usa	2n=2x=14	3	2,3,4	7.079	6.693	30.032	0.4457	0.1897	3m+4sm

ژنوتیپ ۳۷٤ دارای کوتاه‌ترین طول بازوی کوتاه (۱/٦٤۰ میکرون) بود و با ژنوتیپ‌های ۱٦۲٤، plc، usa، ۱۷٦۵، ۳۹۳ و ۱۵۵۱ اختلاف معنی‌دار در سطح پنج درصد داشت. برای صفت شاخص سانترومری (CI) بیش‌ترین میزان (۰/۳۱۸) به ژنوتیپ ۱٦۲٤ تعلق گرفت، که در گروه A قرار داشت و با ژنوتیپ‌های ۱۷٦۵، ۳۹۳، ۱۲٦۸ و usa اختلافی نشان نداد. کم‌ترین میزان شاخص سانترومری (۰/۲۷٤) یا به عبارت دیگر بیش‌ترین عدم تقارن درون کروموزومی بر اساس این شاخص مربوط به ژنوتیپ ۳۷٤ بود. برای صفت نسبت بازوی بلند به کوتاه (AR) بیش‌ترین میزان مربوط به ژنوتیپ‌های ۳۹۰، plc و ۳۷٤ بود (به‌ترتیب ۲/۵٦، ۲/۵۱ و ۲/٤۷). کم‌ترین نسبت بازوی بلند به کوتاه (AR) متعلق به ژنوتیپ‌های ۱۲٦۸، ۱۷٦۵، ۳۹۳، usa و ۱٦۲٤ (به‌ترتیب ۲/۰۵، ۱/۹۷، ۱/۹٦ و ۱/۸۸) بود. در یک جمع‌بندی کلی برای مقایسه میانگین‌ها می‌توان بیان داشت که ژنوتیپ‌های ۳۹۳، ۱۵۵۱ و usa دارای بلندترین کروموزوم‌ها (TL)، بازوی بلند (LA) و کوتاه (SA)، اما دارای عدم تقارن درون کروموزومی پائین بودند. ژنوتیپ‌های ۳۷٤، vi، ۱۷٦٦، "۳۷٤ و ۱۱۵۱ دارای بیش‌ترین عدم تقارن درون کروموزومی بر اساس شاخص سانترومری (CI) و نسبت بازوی بلند به کوتاه (AR) اما دارای طول کل کروموزومی (TL) و طول بازوهای کوتاهی (SA) بودند. ژنوتیپ‌های ۳۹۰ و plc هم از لحاظ صفات طولی و هم از نظر صفات تقارنی در رده مطلوبی قرار داشتند و برتر از دیگر ژنوتیپ‌ها بودند و می‌توان بیان داشت که تکامل کاریوتیپی بالایی داشتند. با در نظر گرفتن سطح پلوئیدی ژنوتیپ‌های مورد بررسی می‌توان بیان داشت که ژنوتیپ‌های دیپلوئید اکثراً از لحاظ صفات طولی کروموزوم برتر بودند و ژنوتیپ‌های تتراپلوئید اکثراً بر اساس صفات تقارنی در رده ژنوتیپ‌های برتر قرار داشتند.

پس می‌توان بیان داشت افزایش سطح پلوئیدی می‌تواند عاملی در جهت افزایش تکامل از طریق افزایش عدم تقارن درون کروموزومی باشد این نکته علاوه بر این است که خود افزایش سطح پلوئیدی باعث افزایش میزان کروماتین می‌شود.

دندروگرام به‌دست آمده از تجزیه خوشه‌ای به روش Ward در شکل ۲ ارائه شده‌است. همان‌طور که مشاهده می‌شود با برش دندروگرام اکسشن‌ها در دو خوشه قرار گرفتند. طبق دندروگرام خوشه اول شامل پنج اکسشن (۱۵۵۱، plc، ۳۹۳، ۳۹۰ و ۱۱۵۱) بود که در بین این گروه ژنوتیپ plc تتراپلوییید و سایر ژنوتیپ‌ها

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1395.11.4.11.0]

دیپلوییید بودند. خوشه دوم شامل هشت اکسشن (۱۷۶۵، ۱۶۴۲، ۱۲۶۸، ۱۷۶۶، "۳۷٤، ۱۱۵۱ و usa) بود که در بین این خوشه ژنوتیپ‌های "۳۷٤ و ۱۲۶۸ دیپلوییید و سایر ژنوتیپ‌ها تتراپلوییید بودند.

آغازگرهای ISSR در مجموع توانستند ٦٦ باند تکثیر کنند که از این تعداد ۱۰ باند یک شکل مشاهده شد و سایر باندها چند شکل بودند. آغازگرهای IS_9 و IS_{12} بیش‌ترین تعداد باند (تعداد ۱۰ باند) و آغازگر IS_{15} کم‌ترین تعداد باند (تعداد سه باند) را نشان دادند. شکل ۳ الگوی باندی ۱۳ ژنوتیپ مورد بررسی با استفاده از آغازگرهای IS_{11} را نشان می‌دهد.

Pasakinskiene and Pivoriene (2008) تعداد ١٦ رقم چچم چند ساله را با استفاده از مارکر ISSR مورد بررسی قرار دادند و تنوع معنی‌دار در بین ارقام با استفاده از مارکر ISSR گزارش کردند و هم‌چنین بیان داشتند که انگشت‌نگاری ISSR روش کارآمدی جهت تعیین تنوع ژنتیکی ارقام چچم بوده است. Pasakinskiene and Pivoriene (2007) در بررسی تفاوت ژنتیکی چچم یک‌ساله و چچم چندساله با استفاده از نشانگر ISSR نشان دادند که بین چچم یک‌ساله و چند ساله از تعداد ۵۷ باند تشکیل شده تعداد ۳۷ باند متفاوت بودند. نتایج بدست آمده برای آغازگرهای استفاده شده در جدول ۵ ارائه شده‌است. کم-ترین میزان درصد چند شکلی را آغازگرهای IS_{11} و IS_{15} به میزان ٦٦/٦٧ درصد داشتند و بیش‌ترین درصد چند شکلی برای آغازگرهای IS_9، IS_{10} و IS_{13} به میزان ۱۰۰ درصد بود، هم‌چنین میانگین درصد چندشکلی برابر ۸۳/٤٦ درصد بود. متوسط تعداد باندهای تولید شده توسط هر آغازگر برای ۱۳ ژنوتیپ برابر ۷/۳۳ بود و متوسط تعداد باندهای چندشکل ٦/۲۲ بود.

جدول ۳- میانگین مربعات تجزیه واریانس صفات کاریوتیپی

منابع تغییرات	درجه آزادی	TL	LA	SA	CI	AR
ژنوتیپ	12	0.794**	0.183**	0.128**	0.001**	0.299**
خطا	52	0.154	0.057	0.019	0.0002	0.036
ضریب تغییرات (%CV)		5.95	6.59	7.25	4.5	8.54
میانگین		6.58	3.63	1.89	0.30	2.23

**میانگین مربعات تیمار در سطح یک درصد معنی‌دار است.

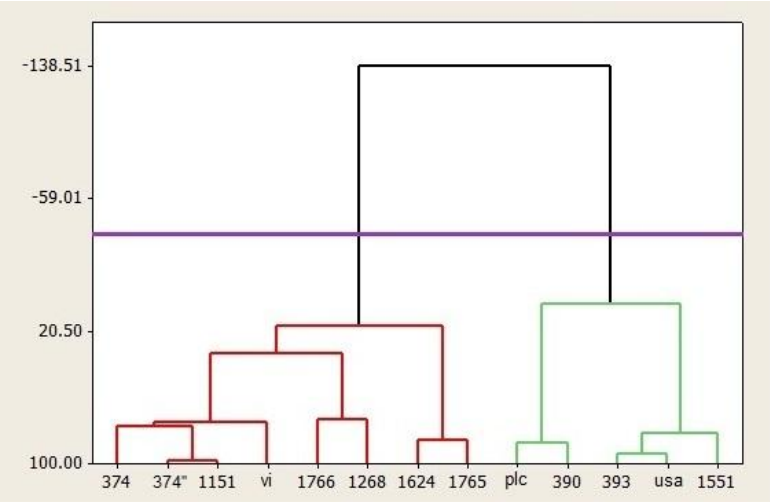
نسبت بازوی بلند به بازوی کوتاه =AR، شاخص سانترومری =CI، بازوی کوتاه =SA، بازوی بلند =LA، طول کل کروموزوم =TL

جدول ٤- مقایسه میانگین صفات کاریوتیپی به روش دانکن در سطح پنج درصد

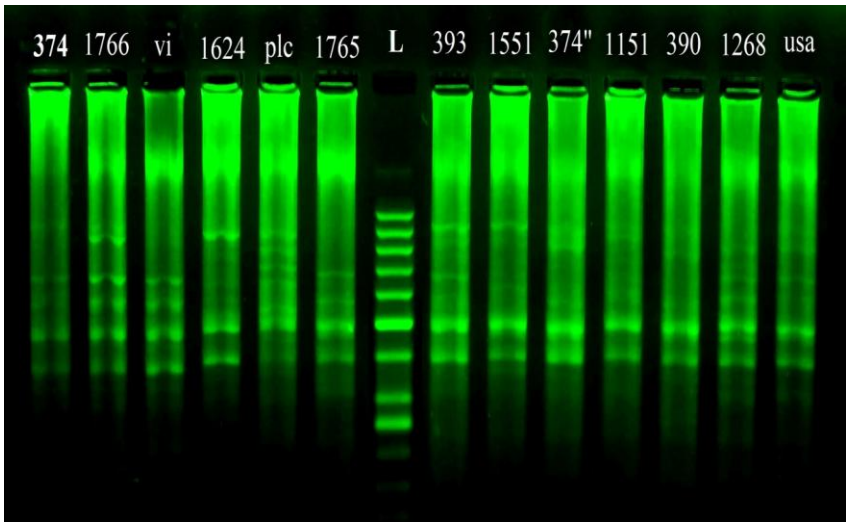
ژنوتیپ	TL(µm)		LA(µm)		SA(µm)		*CI*		AR	
374	6.31	cd	3.48	cd	1.640	e	0.274	f	2.47	a
1766	6.03	d	3.39	d	1.720	de	0.290	cdef	2.40	ab
vi	6.55	bcd	3.68	abcd	1.802	cde	0.285	def	2.40	ab
1624	6.40	bcd	3.43	d	1.976	abc	0.318	a	1.88	c
plc	6.84	abcd	3.85	ab	1.907	bcd	0.286	def	2.51	a
1765	6.52	bcd	3.55	bcd	1.972	abc	0.312	ab	1.97	c
393	7.14	a	3.82	abc	2.149	a	0.309	abc	1.96	c
1551	7.11	a	3.80	abc	2.076	ab	0.298	bcde	2.15	bc
374"	6.36	cd	3.55	bcd	1.819	cde	0.291	cdef	2.37	ab
1151	6.35	cd	3.56	bcd	1.825	cde	0.292	cdef	2.35	ab
390	6.93	abc	3.92	a	1.805	cde	0.279	ef	2.56	a
1268	5.98	d	3.36	d	1.748	de	0.302	abcd	2.05	c
usa	7.08	ab	3.78	abc	2.126	a	0.308	abc	1.96	c

نسبت بازوی بلند به بازوی کوتا=AR، شاخص سانترومری=CI، بازوی کوتاه=SA، بازوی بلند=LA، طول کل کروموزوم=TL

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1395.11.4.11.0]



شکل ۲- دندروگرام تجزیه کلاستر صفات برای ژنوتیپ‌های مورد مطالعه با استفاده از روش Ward



شکل ۳- الگوی باندی ۱۳ ژنوتیپ مورد بررسی با استفاده از آغازگر IS_{11}

محتوای اطلاعات چندشکلی (PIC) از صفر تا نیم متغیر است (در نشانگرهای غالب) و هرچه این عدد بزرگ‌تر باشد بیانگر فراوانی بیشتر چندشکلی برای آن جایگاه در ژنوتیپ‌های تحت بررسی می‌باشد. بیش‌ترین میزان محتوای اطلاعات چندشکلی (PIC) مربوط به آغازگرهای IS_{11}، IS_{14} و IS_{16} بود. بنابراین آغازگرهای IS_{9}، IS_{10}، IS_{13}، IS_{14} و IS_{16} بهتر از سایر آغازگرها توانستند فاصله ژنتیکی ژنوتیپ‌ها را مشخص کنند و پیشنهاد می‌شود از این آغازگرها برای بررسی مجموعه ژرم پلاسم‌های دیگر چچم در تحقیقات بعدی استفاده شود. آغازگرهای IS_{5}، IS_{11} و IS_{15} با کم‌ترین میزان محتوای اطلاعات چند شکلی (PIC) و درصد چندشکلی توانایی خوبی در جداسازی ژنوتیپ‌ها نداشتند. Hu et al. (2011) تنوع ژنتیکی ارقام تجاری و جمعیت‌های جمع‌آوری شده *L. perenne* را با استفاده از مارکر ISSR مورد ارزیابی قرار دادند و تنوع ژنتیکی بسیار بالایی با میزان پلی-مورفیسم ۹۷/۱۶ درصد را گزارش نمودند.

تشابه ژنتیکی ژنوتیپ‌های مورد بررسی با استفاده از ضریب تشابه دایس از ۰/۵۰۷ تا ۰/۷۵٤ متغیر بود (جدول ٦)، میانگین تشابه بین ژنوتیپ‌ها برابر ۰/٦۱۸ بود. بنابراین می‌توان بیان داشت تنوع نسبتا مطلوبی در بین ژنوتیپ‌های مورد بررسی بر اساس نشانگر ISSR وجود داشت.

متوسط تشابه بین ژنوتیپ‌های تتراپلوئید ۰/٦۳۱ و ژنوتیپ‌های دیپلوئید ۰/٦۳۰ بود و متوسط تشابه بین ژنوتیپ‌های تتراپلوئید و دیپلوئید ۰/٦۰۸ بود. بنابراین تشابه درون سطح پلوئیدی بیشتر از تشابه بین سطح پلوئیدی بود و به خوبی می‌توان تأیید کرد که

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1395.11.4.11.0]

تنوع بین سطح پلوئیدی برای آغازگرهای مورد استفاده وجود داشت. در بین ژنوتیپ‌های تتراپلوئید بیش‌ترین تشابه را ژنوتیپ-های ۱۷٦٦ و ۳۷٤ با ۱۷٦٥ داشتند و بیش‌ترین فاصله را ژنوتیپ ۱٦۲٤ با ژنوتیپ‌های ۱۷٦٥ و ۱۷٦٦ داشت. در بین ژنوتیپ‌های دیپلوئید بیش‌ترین تشابه را ژنوتیپ ۳۹۳ با "۳۷٤ و ژنوتیپ ۳۹۰ با ۱۲٦۸ داشت. اما در بین دو گروه دیپلوئید و تتراپلوئید بیش-ترین تشابه را ژنوتیپ‌های تتراپلوئید plc و ۱۷٦٥ با ژنوتیپ دیپلوئید "۳۷٤ داشتند.

Polok et al. (2006) شباهت ژنتیکی بین گونه‌های جنس *Lolium* را با استفاده از مارکر AFLP مورد بررسی قرار دادند و بیان داشتند که *L. multiflorum* و *L. perenne* شباهت ژنتیکی بسیار بالایی با هم دارند.

نمودار درختی حاصل از تجزیه خوشه‌ای به روش UPGMA بر اساس ضریب تشابه دایس باعث گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها در دو گروه شد (شکل ٤).

جدول ٥- درصد چند شکلی، تعداد کل باند و محتوای اطلاعات چند شکلی در آغازگرهای مورد استفاده

کد آغازگر	توالی آغازگر	مکان‌های تکثیر شده	مکان‌های چند شکل	درصد چند شکلی	PIC
IS_5	5'- AG AG AG AG AG AG AG AGC-3'	8	6	75%	0.31
IS_9	5'- CT CT CT CT CT CT CT CTG-3'	10	10	100%	0.43
IS_{10}	5'- GA GA GA GA GA GA GA GA Rc-3'	5	5	100%	0.42
IS_{11}	5'-ACACACACACACACACC-3'	6	4	66.67%	0.45
IS_{12}	5'-TGTGTGTGTGTGTGTGG-3'	10	9	90%	0.40
IS_{13}	5'- AG AG AG AG AG AG AG AGYT-3'	7	7	100%	0.36
IS_{14}	5'- GACA GACA GACA GACA-3'	8	6	75%	0.47
IS_{15}	5'- GGATGGATGGATGGAT-3'	3	2	66.67%	0.32
IS_{16}	5'-DBDACACACACACACACA-3'	9	7	77.78	0.45
میانگین		7.33	6.22	83.46%	0.40

جدول ٦- ماتریس تشابه با استفاده ضریب تشابه دایس برای ژنوتیپ‌های مورد بررسی

ژنوتیپ	374	1766	vi	1624	plc	1765	393	1551	374"	1151	390	1268
1766	0.70											
vi	0.62	0.58										
1624	0.68	0.53	0.65									
plc	0.61	0.57	0.56	0.63								
1765	0.73	0.42	0.65	0.54	0.60							
393	0.68	0.57	0.64	0.62	0.67	0.68						
1551	0.50	0.58	0.53	0.65	0.55	0.61	0.60					
374"	0.59	0.56	0.61	0.62	0.70	0.71	0.75	0.60				
1151	0.62	0.65	0.50	0.57	0.60	0.68	0.60	0.67	0.63			
390	0.61	0.55	0.58	0.54	0.62	0.62	0.57	0.70	0.59	0.65		
1268	0.59	0.59	0.64	0.54	0.67	0.62	0.60	0.63	0.57	0.54	0.71	
usa	0.58	0.54	0.52	0.57	0.58	0.67	0.64	0.65	0.59	0.56	0.63	0.66

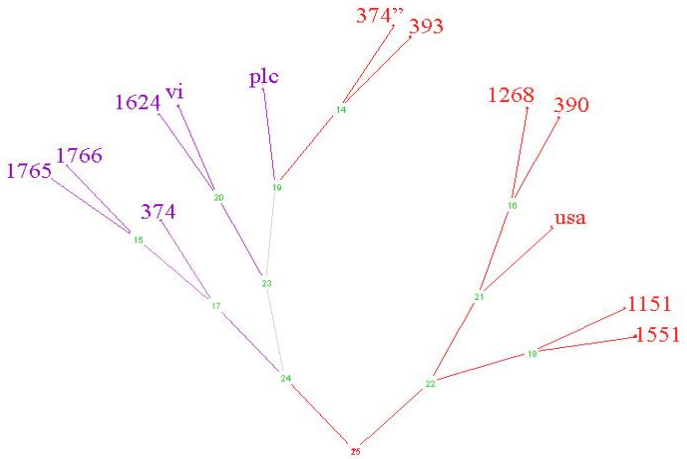
[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1395.11.4.11.0]

همچنان‌که ملاحظه می‌شود ژنوتیپ‌ها بر اساس سطح پلوئیدی کاملا از هم تفکیک نشدند و دو ژنوتیپ دیپلوئید ۳۹۳ و "۳۷٤ در گروه تتراپلوئیدها قرار گرفتند. در هر حال به‌خوبی می‌توان تائید نمود که مارکر ISSR می‌تواند در تفکیک سطوح پلوئیدی گونه چچم یک‌ساله مفید باشد. در نمودار درختی ارائه شده پنج گروه متفاوت و مجزا قابل توجه است. گروه اول شامل سه ژنوتیپ تتراپلوئید ۳۷٤، ۱۷٦٦ و ۱۷٦٥ در فاصله اقلیدوسی ۱۷ بیش‌ترین شباهت را با هم داشتند، بعد از این گروه دو ژنوتیپ تتراپلوئید ۱۱۵۱ و ۱۵۵۱ در فاصله اقلیدوسی ۱۸ دارای بیشترین تشابه بودند. گروه سوم شامل ژنوتیپ‌های دیپلوئید ۳۹۳ و "۳۷٤ با ژنوتیپ تتراپلوئید plc بود که این گروه نیز در فاصله اقلیدوسی ۱۹ دارای تشابه با همدیگر بودند. ژنوتیپ‌های تتراپلوئید vi و ۱٦۲٤ گروه چهارم را تشکیل دادند و در فاصله اقلیدوسی ۲۰ با همدیگر تشابه داشتند. در نهایت ژنوتیپ‌های دیپلوئید ۱۲٦۸، ۳۹۰ و usa با قرار گرفتن در یک گروه در فاصله اقلیدوسی ۲۱ با همدیگر شباهت داشتند. Elazreg et al. (2011) تنوع ژنتیکی جمعیت‌های *Lolium perenne* را با استفاده از مارکرهای AFLP مورد ارزیابی قرار دادند و با استفاده از تجزیه خوشه‌ای اقدام به گروه‌بندی جمعیت‌های مورد بررسی نمودند.

تجزیه واریانس مولکولی برای دو دسته پلوئیدی انجام شد (جدول ۷) و مشاهده شد که بر اساس آماره PhiPT در بین دو سطح پلوئیدی در سطح نه درصد اختلاف معنی‌دار وجود داشت به عبارت دیگر نتایج بدست آمده از تفکیک سطوح پلوییدی بر اساس مارکر ISSR با اعتماد ۹۱ درصد تائید شد. نتایج بدست آمده نشان داد که هرچند تنوع بین دو دسته پلوئیدی در سطح نه درصد معنی‌دار شد، اما سهم تنوع درون سطوح پلوئیدی (۹۵ درصد) بیشتر از تنوع بین سطوح پلوئیدی (۵ درصد) بود.

Peter-schmid et al. (2004) تنوع ژنتیکی دو گونه *Festuca pratensis* و *Lolium multiflorum* را با استفاده از به‌ترتیب ۲٤ و ۲۲ مارکر SSR مورد بررسی قرار دادند و نتیجه تجزیه واریانس ملکولی بیانگر عدم وجود تنوع معنی‌دار در بین تیپ‌های مرتعی هر دو گونه بود. Vieira et al. (2004) ساختار ژنتیکی چچم یک‌ساله را با مارکر RAPD مورد بررسی قرار دادند و بیان داشتند که ۹۸ درصد تنوع ژنتیکی ناشی از بین جمعیت‌ها بوده و تنها دو درصد تنوع ژنتیکی درون جمعیتی مشاهده شد.

ضریب همبستگی بین ماتریس‌های تشابه ژنتیکی نشانگر ملکولی ISSR و صفات سیتوژنتیکی ژنوتیپ‌های *Lolium* با استفاده از آزمون مانتل (Mantel 1976) محاسبه شد. نتایج نشان داد که همبستگی بین ماتریس‌های تشابه بسیار کم بود و از نظر آماری نیز این همبستگی معنی‌دار نبود (P=۰/۱، R^2=۰/۰۳۲). گزارش‌های متناقضی در زمینه وجود یا عدم وجود رابطه بین نتایج حاصل از نشانگرها وجود دارد مانند، بررسی Schaut et al. (1997) که همبستگی غیر معنی‌داری را بین صفات زراعی و مولکولی جو گزارش کردند. همچنین Hamza et al. (2004) ارتباط بالایی را بین نشانگر مولکولی و ریخت‌شناسی در جو گزارش نمودند.



شکل ٤- نمودار درختی حاصل از تجزیه خوشه‌ای داده‌های نشانگر ISSR با روش UPGMA برای ژنوتیپ‌های مورد بررسی

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1395.11.4.11.0]

جدول ۷- تجزیه واریانس مولکولی بر اساس نشانگر ISSR

منابع تغییرات	درجه آزادی	مجموع مربعات	میانگین مربعات	واریانس برآورد شده	درصد از واریانس	PhiPT	P_value
بین سطح پلوئیدی	1	16.90	16.90	0.64	5%	0.048	0.090
درون سطح پلوئیدی	11	140.33	12.75	12.76	95%		
کل	12	157.23		13.40	100%		

در مطالعه Farshadfar et al. (2016) بر روی یونجه بین صفات سیتوژنتیکی و ملکولی همبستگی پایین و غیر معنی‌داری مشاهده شد.

نتیجه‌گیری کلی

بر اساس مطالعات سیتوژنتیکی تنوع مطلوبی در بین ژنوتیپ‌ها مشاهده شد، بنابراین نشانگر سیتوژنتیکی در بررسی وضعیت تکامل کاریوتیپی و تنوع ژنتیکی ژنوتیپ‌های چچم یکساله مفید است و هم‌چنین بر اساس این مطالعات ژنوتیپ‌های ۳۹۳، ۱۵۵۱، ۱۱۵۱، ۳۹۰، ۱۲٦۸، "۳۷٤ و usa دیپلوئید و ژنوتیپ‌های ۳۷٤، ۱۷٦٦، ۱٦۲٤، ۱۷٦۵، vi و plc تتراپلوئید بودند. ژنوتیپ‌های دیپلوئید متوسط طول کروموزوم بیش‌تری نسبت به گونه‌های تتراپلوئید داشتند هر چند از میزان کروماتین کم‌تری برخوردار بودند. ژنوتیپ‌های تتراپلوئید عدم تقارن درون کروموزومی بیش‌تری نسبت به ژنوتیپ‌های دیپلوئید داشتند. تکامل کاریوتیپی گونه *L. multiflorum* با توجه به ژنوتیپ‌های مورد بررسی بیشتر از طریق عدم تقارن درون کروموزومی بود. با افزایش سطح پلوئیدی از دیپلوئید به تتراپلوئید عدم تقارن درون کروموزوم‌ها بیش‌تر شده، بنابراین افزایش سطح پلوئیدی علاوه بر افزایش میزان کروماتین باعث افزایش میزان عدم تقارن درون کروموزومی و افزایش تکامل شده است. در بین ژنوتیپ‌های دیپلوئید و هم‌چنین در بین ژنوتیپ‌های تتراپلوئید افزایش عدم تقارن بین کروموزومی نقش پر رنگ‌تری در تنوع آن‌ها داشت. در نهایت نیز ژنوتیپ‌های ۳۹۰، ۳۷٤، vi و plc بیش‌ترین تکامل کاریوتیپی و ژنوتیپ‌های ۱٦۲٤ و ۱۷٦۵ کم‌ترین تکامل کاریوتیپی را داشتند. با توجه به نتایج بدست آمده تنوع ژنتیکی مطلوبی بر اساس مارکر ISSR مشاهده شد و آغازگرهای IS_9، IS_{10}، IS_{13}، IS_{14} و IS_{16} چندشکلی را بهتر از سایر آغازگرها نشان دادند و به عنوان آغازگرهای مناسب در بررسی تنوع ژنتیکی گونه چچم یکساله برای برنامه‌های بعدی معرفی می‌شوند. نتایج تجزیه تنوع ژنتیکی با استفاده از نشانگر ISSR با نتایج حاصل از بررسی‌های سیتوژنتیکی بر اساس آزمون مانتل تطابق چندانی نداشت، اما بر اساس پرایمرهای مورد بررسی دو دسته ژنوتیپ‌های دیپلوئید و تتراپلوئید بهتر تفکیک شدند. ژنوتیپ‌های تتراپلوئید ۳۷٤، ۱۷٦٦ و ۱۷٦۵ دارای فاصله ژنتیکی بالایی با ژنوتیپ‌های vi، plc و ۱٦۲٤ بودند و دو ژنوتیپ دیپلوئید "۳۷٤ و ۳۹۳ دارای بیش‌ترین فاصله با دیگر ژنوتیپ‌های دیپلوئید بودند، که تلاقی ژنوتیپ‌های با فاصله ژنتیکی بالا منبع مفیدی در جهت استفاده از هتروزیس در برنامه‌های اصلاحی می‌باشد. نتایج حاصل از گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها با استفاده از تجزیه خوشه‌ای نشان داد که تنوع ژنتیکی بر اساس هیچ یک از دو نشانگر با منشا جغرافیایی ژنوتیپ‌ها تطابق نداشت.

منابع

Bennett JS (1997) A phenetic analysis and lateral key of the genus *Lolium* Gramineae. Genetic Resources and Crop Evolution 44: 63-72.

Botstein D, White RL, Skolmick M, Davis RW (1980) Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphism. The American Journal of Human Genetics 32: 314-332.

Brantestam AK, Botheme RV, Dayteg Ch, Rashall Tuvesson S, Weibull J (2004) Inter simple sequence repeat analysis of diversity and relationships in cultivated burly of Nordic and Baltic origin. Hereditas 141: 186-192.

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

Elazreg H, Chtourou-Ghorbel N, Ghariani S, Chakroun M, Trifi-Farah N (2011) Studying genetic diversity of the Tunisian *Lolium perenne* and *Festuca arundinacea* with AFLP markers. Journal of Food, Agriculture and Environment 9: 409-415.

Farshadfar M, Rashidi M, Safari H, Shirvani H (2016) Study of genetic diversity among 17 populations of alfalfa (*Medicago sativa*) using cytogenetic and ISSR molecular

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1395.11.4.11.0]

markers. Iranian Journal of Rangelands and Forests Plant Breeding and Genetic Research 24: 13-28. (In Farsi).
Ford-Lloyd BV (2001) Genotyping in plant genetic resources. pp.59-83. In Henry, RJ (ed.). Plant Genotyping: the DNA Fingerprinting of Plants. CAB International, USA.
Gepts P, Papa R (2003) possible effects of (Trans) gene flow from crops on the genetic diversity from landraces and wild relatives. Environmental Biosafety Research 2: 89-103.
Goldblatt P, Johnson DE (1998) Index to plant chromosome numbers. 1994-1995. Monographs in Systematic Botany, Missouri Botanical Garden 69:1- 208.
Hamza S, Hamida W B, Rebai A, Hrrabi M (2004) SSR-based genetic diversity assessment among Tunisian winter barley and relationship with morphological traits. Euphytica 135:107-118.
Helser CB, Whitaker TW (1984) Chromosome number polyploidy and growth habit in California weed. American Journal of Botany 35: 179-186.
Hu T, Li H, Li D SJ, Fu J (2011) Assessing genetic diversity of perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.) from four continents by inter-simple sequence repeat (ISSR) markers. African Journal of Biotechnology 10: 19365-19374.
Huziwara Y (1962) Karyotype analysis in some genera of Composite. VIII. Further studies on the chromosome of aster. American Journal of Botany 49: 116-119.
Jalilian N, Safari H, Hesamzadeh-Hejazi SM (2011) Study of cytogenetic variation on tree species *Coronilla*, *Cassia* and *Amorpha* in iran. 12th Iranian Crop Sciences Congress. (In Farsi).
Kalo P, Endre G, Zimanyi L, Sandi GC, Kiss GB (2000) Construction of an improved linkage map of diploid alfalfa (*M. sativa*). Journal of Theoritical and Applied Genetics 100: 641-657.
Levan A, Fedga K, Sandberg AA (1964) Nomenclature for centromeric position on chromosomes. Hereditas 52: 201-220.
Mantel N (1967) the detection of disease clustering and a generalized regression approach. Cancer Research 27: 209-220.
Michaud R, Tremblay GF, Belanger G, Michaud J (1991) Agriculture and Agri-Food Canada, Soils and Crops Research and Development Center, 2560 Hochelaga blvd, Sainte-Foy, Quebec, Canada, G1V 213.
Peter-schmid M, Kolliker R, Boller B (2010) Genetic Diversity of *Festuca Pratensis* Huds and *Lolium multiflorum* Lam Ecotype Populations in Relation to Species Diversity and Grassland Type. J. Runas, T. Dahlgren. Grassland Biodiversity Habitat Types, Ecological, pp 333-345.
Pivoriene O, Pasakinskiene I (2007) Genetic differences between annual and perennial ryegrass revealed by ISSR markers and their Sequence characteristics. Zemdirbyste / Agriculture 94: 197-204.
Pivoriene O, Pasakinskiene I (2008) Genetic diversity assessment in perennial ryegrass and festulolium by ISSR fingerprinting. Žemdirbystė / Zemdirbyste / Agriculture 95:125-133.
Polok K, Ciaglo S, Carbrita L (2006) AFLP analysis of genetic similarity between the species of the genus *Lolium*. Biodiversity: Research and Conservation 3: 232-234.
Powell W, Morgante M, Andre C, Hanafey M, Vogel J, Tingey S, Rafalski A (1996) The comparison of RFLP, RAPD, AFLP and SSR (microsatellite) markers for germplasm analysis. Molecular Breeding 2: 225-238.
Romero-Zarco C (1986) A new method for estimating karyotype asymmetry. Taxonomy 35: 526-530.
Rosenberger DA (1982) Biolog and control of cytospora fungi in peach planting. New York food and life sciences Bulletin 92: 1-6.
Safari H (2008) The study of cytogenetic diversity on tree species *Sophora*, *Colutea* and *Hedysarum* in iran. Final Report of Research. (In Farsi).
Safari H, Hesamzadeh Hejazi SM, Jalilian N, and Ziaeinasab M (2008) Study of karyotypic variation on six different populations in three *Sophora* L. species. Iranian Journal of Rangelands and Forests Plant Breeding and Genetic Research 16: 27-36. (In Farsi).
Schaut JW, Qi X, Stam P (1997) Association between relationship measures based on AFLP markers, pedigree data and morphological traits in barley. Theoretical and Applied Genetics 95: 1161-1168.
Shariat A (2001) Genetic diversity of annual medics based on cytological, electrophoresis, and morphological studies. M.Sc. dissertation, the University of Sistan and Balluchestan, Zabole College of Agriculture. 175p. (In Farsi).
Sharma KK, Crouch JH, Hash CT (2002) Application of biotechnology for crop improvement: prospect and constraints. Journal of Plant Scicence 163: 381- 395.
Stebbins G L (1971) Chromosomal Evolution in Higher Plants. Edward Arnold, London.
Thomas HM (1981) The gimsa C-band karyotypes of six *Lolium* species. Heredity 46: 263-267.
Torres AM, Weeden NF, Martin A (1993) Linkage among isozyme, RFLP and RAPD markers in *Vicia faba*. Theoretical and Applied Genetics 85: 935-945.
Tsvelev NN (1989) The system of grasses and their evolution. Botanical Review 55: 141-204.
Vieira E, Castro CM, Oliveira AC, Carralho F IF, Zimmer PD, Martins, LF (2004) Genetic structural of annual Ryegrass (*Lolium multiflorum*) populations estimated by RAPD. Scientia Agricola 61: 407-413.

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1395.11.4.11.0]