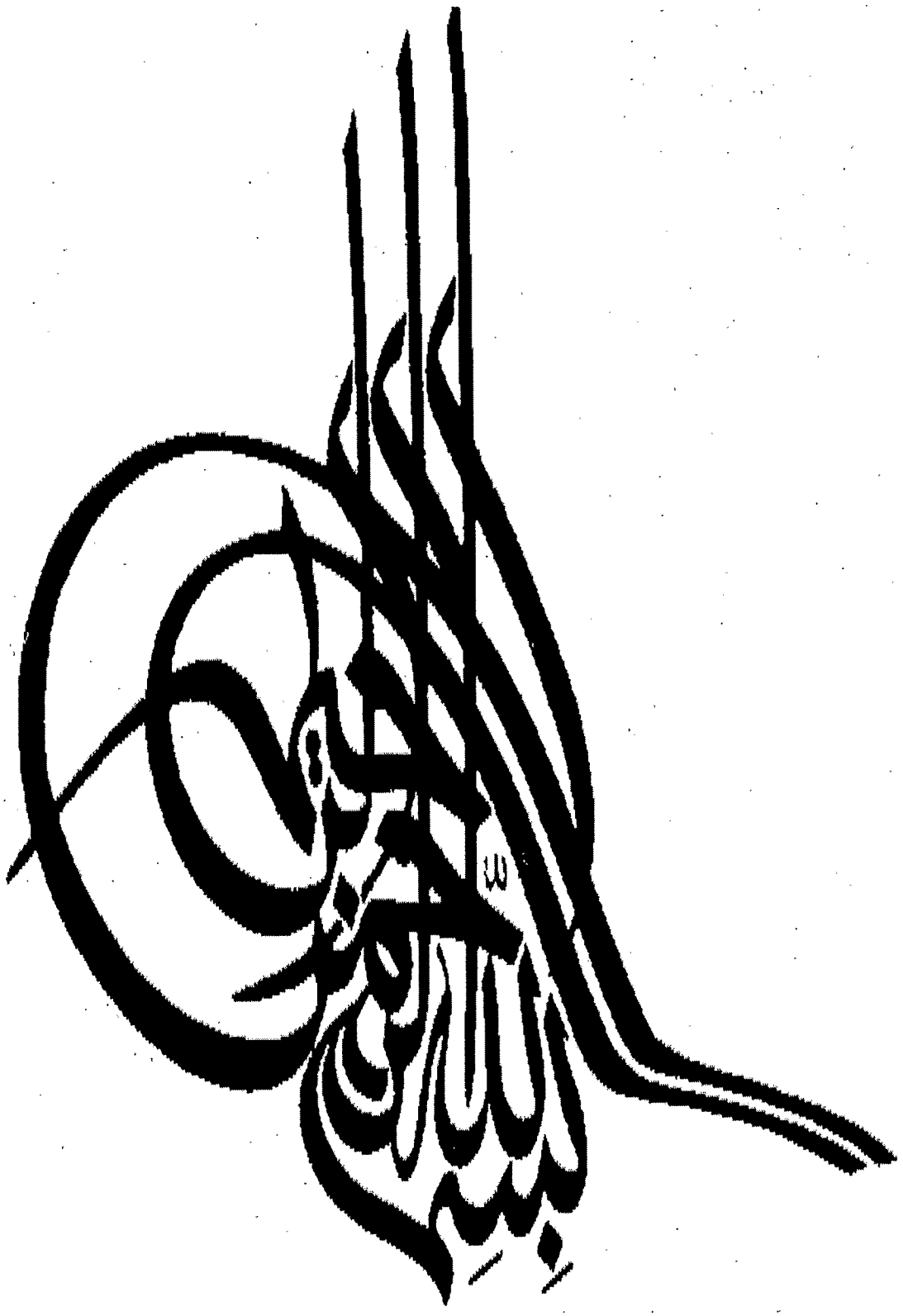


١١١٦٨٢

دانشگاه زابل
مدیریت تحصیلات تکمیلی
دانشکده کشاورزی

پایان نامه کارشناسی ارشد رشته بیوتکنولوژی کشاورزی

بررسی تنوع ژنتیکی ژنوتیپ های فسکیوی بلند با استفاده از نشانگر ملکولی AFLP

اساتید راهنما:
دکترمحمود سلوکی
دکتر مجتبی خیام نکویی

اساتید مشاور:
مهندس رضا محمدی
مهندس عباسعلی امام جمعه

تهیه و تدوین:
رضوان جهان تیغی

۱۳۸۸ /۲/ ۱۵

آذر۸۶

۱۱۱۶۸۲

بأسمه تعالی

وزارت علوم ، تحقیقات و فناوری

دانشگاه زابل

تاریخ:.....

شماره:.....

پیوست:.....

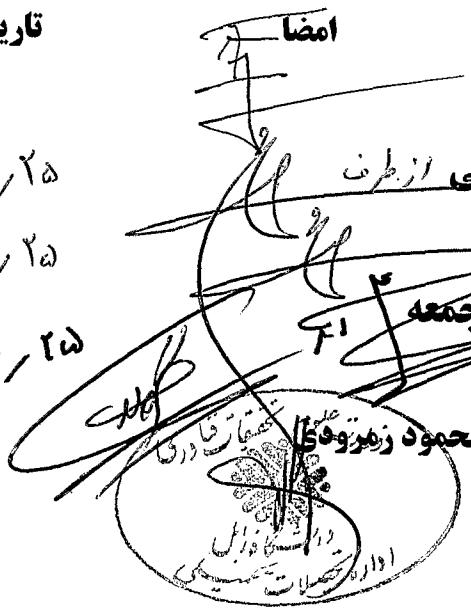
صفحه الف

این پایان نامه با عنوان: ((**بررسی تنوع ژنتیکی ژنوتیپ های فسکیوی بلند با استفاده از نشانگر ملکولی AFLP**)) قسمتی از برنامه آموزشی دوره کارشناسی ارشد رشته کشاورزی باگرایش بیوتکنولوژی است که توسط دانشجو **رضوان جهان تیغی** تحت راهنمایی اساتید پایان نامه آقایان **دکترمحمود سلوکی** و **دکتر مجتبی خیام نکویی** و مشاوره آقایان **مهندس رضا محمدی** و **مهندس عباسعلی امام جمعه** تهیه شده است. استفاده از مطالب آن به منظور اهداف آموزشی با ذکر مرجع و اطلاع کتبی به حوزه تحصیلات تکمیلی دانشگاه زابل مجاز می باشد.

امضا دانشجو

این پایان نامه ۶ واحد درسی شناخته می شود و در تاریخ ۸۶/۹/۲۵ توسط هیئت داوران بررسی و نمره ۱۹/۳ و درجه عالی به آن تعلق گرفت.

نام و نام خانوادگی	امضا	تاریخ
۱- استاد راهنما: دکترمحمود سلوکی		
۲- استاد راهنما: دکتر مجتبی خیام نکویی	از طرف	۸۶/۹/۲۵
۳- استاد مشاور: مهندس رضا محمدی		۸۶/۹/۲۵
۴- استاد مشاور: مهندس عباسعلی امام جمعه		۸۶/۹/۲۵
۵- داور: دکتر محمد گلوی		
۶-نماینده محترم تحصیلات تکمیلی: دکتر محمود زمردی		



این اثر را به آنانی تقدیم می کنم که:

هیچگاه گرمی دستان محبتشان را فراموش نکرده ام

اخلاص در لطف ایشان را به خود موهبتی الهی می دانم

عظمت روحشان را می ستایم

بر محبت و راهنمایی شان هر روز تشنه تر هستم

و بر هر قله ای که بایستم آنان با من به نظاره اند

دعای خیرشان فرا راه من

درود و سپاس من نثار ایشان

به پدرم، ابراهیم بت شکنم

مادرم، فرشته زندگی ام

برادرانم (رضا و روزبه)، کبوتران آسمانم

همسرم سید جواد، رنگین کمان بهاری ام

به سرزمینی که حیات جاودانم داد

ایران

تقدیر و تشکر

اگر تنهاترین تنها شوم باز هم خدا هست.

یا متین ! سپاس تو را که جهت عنایت به این هدف مقدس در انجام پروژه و نگاشتن این رساله در دانشگاه زابل و پژوهشکده بیوتکنولوژی اصفهان در خدمت اساتید گرانقدرم دکتر **محمود سلوکی** و **دکتر مجتبی خیام نکویی** کسب فیض نمودم که از صمیم قلب، کمال سپاس و تشکر را از لطف و محبت بی‌شائبه‌شان دارم و صمیمانه از آقایان **مهندس رضا محمدی** و **مهندس عباسعلی امام جمعه** که طی انجام این پژوهش دلسوزانه یاری‌ام دادند و از تجارب ارزنده‌شان بهره مندم ساختند، متشکرم.

یا باقی ! به بزرگواری و بخشندگی‌ات شکر که نعمت تحول افکارم را در تأمل سخنان بزرگانی چون **دکتر محمدرضا مفید**، **دکتر براتعلی سیاسر**، **مهندس مصطفی پیرسیدی**، **مهندس سعید کدخدایی**، **مهندس نفیسه مهدی نژاد** قرار دادی که با رهنمون‌های ظریف و دقیقشان نکته‌های بسیاری یافتم که سزا و به جاست که از ایشان قدردانی کنم.

سپاس بی پایان از کارآموزان بخش ژنومیکس پژوهشکده بیوتکنولوژی اصفهان: **مهندس نفیسه ولایتی**، **مهندس اعظم عربها** و **مهندس مهدی شفیعی** که در مراحل اجرای کار یاری ام دادند.

از تمامی عزیزان که صمیمانه در تمامی مراحل این دانش نامه یار و غمخوارم بودند، خانمها: **مرضیه شاه نظری**، **لیلا مجلسی**، **مونا حقیقتیان**، **زهرا ابوطالبی** و آقایان: **مهندس شیروانی**، **مهندس کاردی** ، **مهندس فرهودی** و **مهندس محسن مشایخی** و کلیه مهربانانی که یاد و خاطرشان در ذهنم جاودانه است و کلام گویای سپاسگذاری از لطف بی دریغ شان نیست، کمال تشکرو قدردانی را دارم.

با آن که سفت بر این باورم که مکر می شود گذشت و رفت و ندید.
ندید که دیگران همه جا و هرجا، هرچه خواستند گفتند
و نمیگذرند حتی از ناحق خویش با غیر.
ندید که دیگران چگونه پا می نهند بر روی احساس خویش با غیر
و غیر همه را می شنود، همه را می بیند و لب از لب نمی گشاید و نمی گوید هیچ
با آ ن که سفت بر این باورم.
لیک می گویم، ما هیچ ندیدیم و گذشتیم و رفتیم.

بررسی تنوع ژنتیکی ژنوتیپ های فسکیوی بلند با استفاده از نشانگر ملکولی AFLP

چکیده

گونه فسکیوی بلند[1] از مهمترین گونه های فستوکا به شمار می رود. زراعت این گیاه در ایران مرسوم نبوده ولی در اصفهان، تهران، آذربایجان غربی، تالش، لنکران، دامنه الوند، درود، فارس، خراسان به صورت وحشی می روید. فسکیوی بلند، گیاهی دایمی و چمنی است که تکثیر آن از طریق بذر و ریزوم انجام می شود. این گیاه به لحاظ سازگاری وسیعی که دارد، به منظور تولید علوفه، احیای مراتع و حفاظت خاک مورد توجه می باشد. از آنجا که صفات ظاهری این گیاه تحت تاثیر عوامل محیطی قرار می گیرد و تشخیص ارقام مختلف نیز به وسیله این صفات مشکل است، بنابراین استفاده از نشانگرهای ملکولی برای شناسایی ژنوتیپ های مختلف ضروری به نظر می رسد. در این تحقیق بررسی تنوع ژنتیکی 45 ژنوتیپ از گونه فسکیوی بلند با استفاده از نشانگر ملکولی AFLP انجام گردید. این ژنوتیپ ها بر اساس ارزیابی صفات مهم زراعی در طی دو سال انتخاب شده بودند. برش DNA با دو آنزیم *Pst I* و *Mse I* انجام و سپس اتصال آداپتورها به انتهای قطعات برش یافته با استفاده از آنزیم T4 DNA لیگاز انجام شد واکنش PCR در دستگاه ترموسایکلر بایورد (Bio Rad) صورت پذیرفت. فراورده های واکنش زنجیره ای پلیمراز بر روی ژل پلی آکریل آمید واسرشته ساز 6 درصد بارگذاری و الکتروفورز شدند با استفاده از 10 ترکیب آغازگری تعداد 209 نوار چند شکلی حاصل شد که از بین آغازگرهای مورد استفاده، ترکیب آغازگری P-GAG/M-GAG با 36 نوار بیشترین و ترکیب آغازگری P-ACA/M-CAA با 9 نوار کمترین تعداد نوار چند شکلی را ایجاد نمودند. گروه بندی ژنوتیپ ها با استفاده از روش تجزیه خوشه ای بر اساس روش UPGMA و اندازه گیری سه ضریب تشابه تطابق ساده (SM)، جاکارد و دایس، نشان داد که گروه بندی بر اساس ضریب جاکارد با ضریب کوفنتیک 0/923 بهترین روش گروه بندی در بین روش های فوق است و بر این اساس در 5 گروه تقسیم بندی شد. از نظر منشاء جمع آوری و دسته های تشکیل داده، ژنوتیپ های ایرانی ارتباط مشخصی را نشان ندادند. تجزیه به مختصات اصلی نشان داد که 4 مولفه اول 43 درصد از تغییرات تنوع ژنتیکی را توجیه می کنند و به طور نزدیکی اشکال حاصل از تجزیه به مختصات اصلی تجزیه خوشه ای ما را تایید می کند.

کلمات کلیدی: فسکیوی بلند، تنوع ژنتیکی، AFLP، تجزیه خوشه ای، PCR.

---

[1]- *Festuca arundinacea* Schreb

فهرست مطالب

عنوان مطالب	شماره صفحه
فصل اول ـ مقدمه	۱
فصل دوم ـ بررسی منابع	٤
۱-۲- خصوصیات گیاه شناسی و پراکندگی جغرافیایی فستوکا آروندیناسه	٤
۲-۲- واکنش های زنجیره ای پلیمراز (PCR)	۷
۳-۲- نشانگرها	۹
۱-۳-۲- نشانگرهای مورفولوژیک	۱۰
۲-۳-۲ - معایب نشانگرهای مورفولوژیک	۱۱
۳-۳-۲- نشانگرهای بیوشیمیایی	۱۱
٤-۳-۲- نشانگرهای ملکولی DNA	۱۲
٤ـ ۲ـ بررسی تنوع ژنتیکی:	۱۸
٥-۲- AFLP تکنیکی برای انگشت نگاری DNA	۲۰
٦-۲- هضم DNA ژنومی	۲۱
۷-۲- آغازگرها و سازگارسازهای AFLP	۲٤
۸-۲- تکثیر	۲٦
۹-۲- تفکیک باندها	۲۷
۱۰- ۲- نشانگر AFLP	۲۹
۱- ۱۰- ۲- مزایای AFLP	۲۹
۲-۱۰-۲- معایب AFLP	۳۱
۳- ۱۰ - ۲- خطاهای AFLP	۳۲
٤- ۱۰- ۲- کاربردهای نشانگر AFLP	۳۲
۱۰- ٥- ۲- AFLP و مطالعات تاکسونومیک	۳٦
فصل سوم ـ مواد و روش	۳۸
۱- ۳- مواد گیاهی	۳۸

عنوان مطالب	شماره صفحه
۲ – ۳- استخراج DNA ژنومی گیاهی	٤١
۱- ۲- ۳- روش دلاپورتا	٤١
۲ – ۲ – ۳ - روش CTAB مطابق با روش هورزما و همکاران با اندکی تغییرات	٤٣
۳ – ۲- ۳- استخراج DNA بر مبنای مینی کیت RBC	٤٤
۳ -۳ - اندازه گیری غلظت DNA	٤٥
۱ – ۳ – ۳ - اندازه گیری غلظت DNA توسط اسپکتروفتومتری	٤٥
۲ – ۳ – ۳ - تعیین کیفیت از طریق ژل آگارز	٤٦
٤ – ۳ - رقیق سازی DNA	٤٦
٥ - ۳- مراحل کار AFLP	٤٧
۱ – ٥ - ۳ - برش DNA ژنومی	٤٧
۲- ٥ – ۳ - اتصال سازگارسازها	٤٨
۱- ۲ – ٥- ۳ - تهیه سازگار ساز ها	٤٨
۲- ۲ – ٥- ۳ - اتصال سازکارسازها به قطعات حاصل از هضم آنزیمی	٥١
۳- ٥ – ۳ - تکثیر اولیه یا پیش انتخابی	٥٢
٤- ٥ – ۳ - تکثیر انتخابی	٥٤
٥- ٥ – ۳ - الکتروفورز	٥٦
۱ - ٥ - ٥ – ۳ - تفکیک حاصل از تکثیر روی ژل	٥٦
۲ – ٥ – ٥ – ۳- ژل پلی آکریلامید واسرشته ساز	٥٦
۳- ٥-٥-۳- آماده سازی شیشه ها	٥٧
٤- ٥- ٥ – ۳ - آماده سازی ژل	٥٨
٥ – ٥ - ٥ – ۳ - الکتروفورز مقدماتی	٥٩
٦ – ٥ - ٥ – ۳ - واسرشت سازی نمونه ها	٥٩
۷ – ٥ - ٥ – ۳ - الکتروفورز فراورده های واسرشت شده	٦٠
٦- ٥ – ۳ - رنگ آمیزی	٦٠
۱ – ٦- ٥ – ۳ - تثبیت	٦٠
۲ – ٦- ٥ – ۳ - اشباع کردن سطح ژل با نیترات نقره	٦١

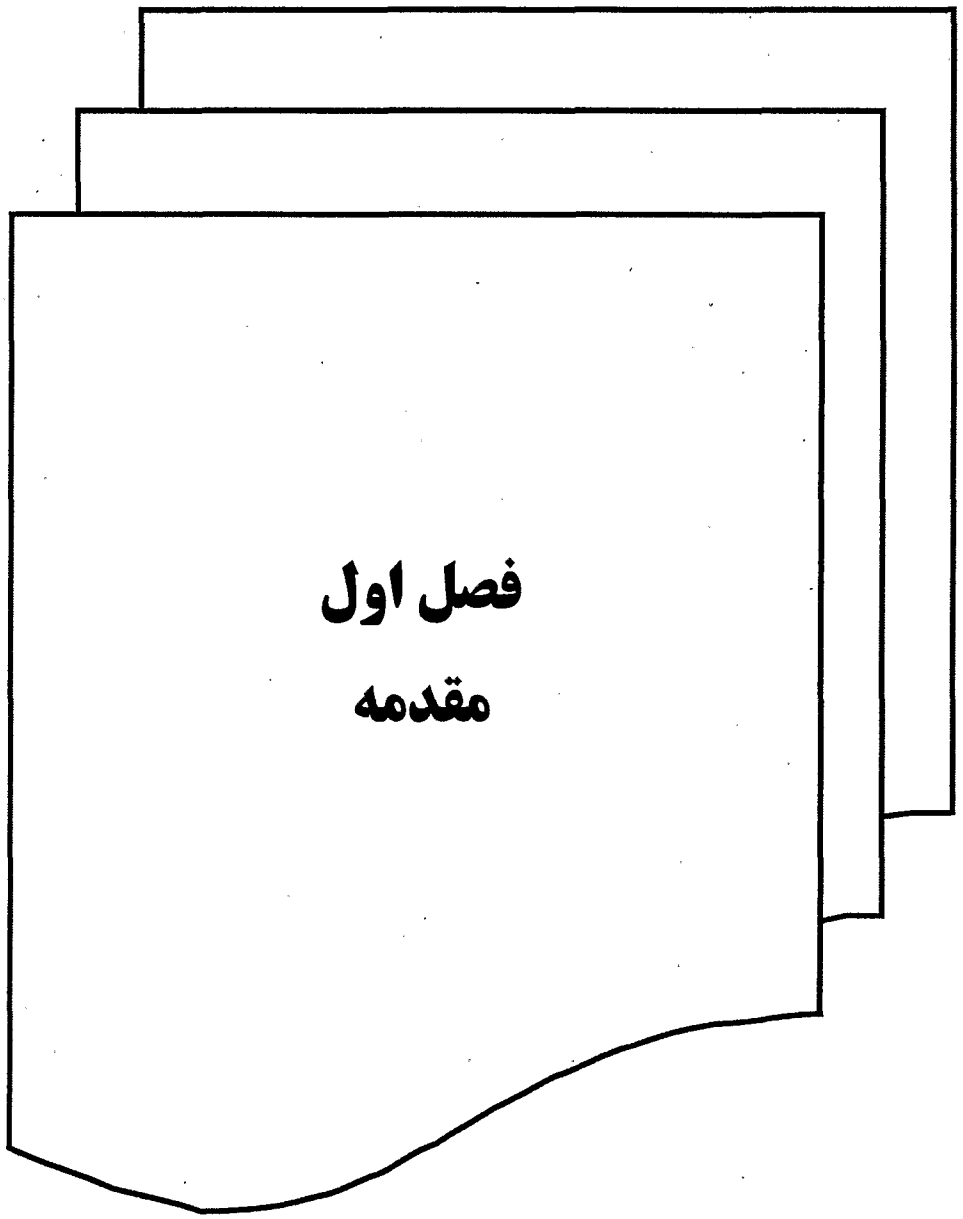
عنوان مطالب	شماره صفحه
۳ – ٦– ٥ – ۳ – ظهور	٦١
٤ – ٦– ٥ – ۳ – توقف	٦٢
٦ – ۳ – تجزیه و تحلیل آماری	٦٤
۱ –٦– ۳– محتوای اطلاعات چند شکل	٦٤
۲– ٦– ۳ – روشهای آماری تجزیه و تحلیل داده ها	٦٥
۱– ۲– ٦– ۳– تجزیه خوشه ای	٦٥
۲– ۲– ٦– ۳– تجزیه به مختصات اصلی	٦٧
فصل ٤ ـ بحث و نتیجه گیری	٦٨
۱– ٤– تجزیه ملکولی	٦٨
۱–۱–٤– کیفیت وکمیت DNA استخراج شده	٦٨
۲–۱–٤– هضم نمونه ها	٦٩
۳–۱–٤– ترکیبات آغازگری	٦٩
٤–۱–٤– تجزیه خوشه ای	۷۳
٥–۱–٤– تجزیه به مختصات اصلی	۸۰
۲–٤– پیشنهادات	۸٥
منابع و ماخذ	۸٦

فهرست جداول

عنوان جداول	شماره صفحه
جدول۱- ۳- فهرست ژنوتیپ های مورد مطالعه گونه *Festuca arundinacea*	۳۹
جدول ۲- ۳- واکنش هضم آنزیمی	٤٨
جدول ۳- ۳ - ترکیبات موجود در Tango buffer	٤٨
جدول ٤-۳- تهیه سازگارساز *Pst* I	٤٩
جدول ٥-۳- تهیه سازگارساز *Tru 9 I*	٥٠
جدول ٦-۳- آماده سازی سازگارسازها	٥٠
جدول ۷-۳- اتصال سازکارسازها به قطعات حاصل از هضم آنزیمی	٥٢
جدول ۸-۳- اجزاء واکنش تکثیر پیش انتحابی	٥٣
جدول ۹-۳- برنامه PCR برای تکثیر پیش انتحابی	٥٤
جدول ۱۰-۳- اجزاء واکنش تکثیر انتحابی	٥٥
جدول ۱۱-۳ - مراحل رنگ آمیزی نیترت نقره	٦٢
جدول ۱-٤- محتوای اطلاعات چند شکل جفت آغازگرهای اختصاصی AFLP	۷۰
جدول ۲-٤ - همبستگی بین ضرایب تشابه	۷٤
جدول ۳-٤ - ماتریس تشابه حاصل از تجزیه خوشه ای ژنوتیپ ها با استفاده از AFLP	۷٥
جدول ٤-٤- مقایسه روشهای مختلف تجزیه خوشه ای با استفاده از ضریب تشابه جاکارد	۷٦
جدول ٥-٤- سهم ۲٤ مولفه اصلی اول از تغییرات کل تنوع	۸۱

فهرست اشکال

عنوان اشکال	شماره صفحه
شکل ۱-۲- تقسیم بندی جنس Festuca بر اساس اندازه برگ	۵
شکل ۲-۲- نمایی از گونه *Festuca arundinacea*	۷
شکل ۳-۲- مراحل سه گانه سیکل PCR	۹
شکل ٤-۲- انواع نشانگر ها	۱۰
شکل ۱-۳ : ژنوتیپ‌های مختلف گیاه فسکیوی بلند در مزرع	٤۱
شکل ۱-٤- DNA ژنومی رقیق شده تعدادی از نمونه های فسکیوی بلند	٦۸
شکل ۲-٤- DNA تعدادی از نمونه های بریده شده با آنزیم	٦۹
شکل ۳-٤- الگوی نواری آغازگر P-GAG /M-CAA	۷۲
شکل ٤-٤- دندروگرام حاصل از گروه بندی نمونه های گیاهی	۷۹
شکل ٥-٤- نمایش دو بعدی تجزیه به مختصات اصلی	۸۲
شکل ٦-٤- نمایش سه بعدی تجزیه به مختصات اصلی	۸۳
شکل۷-٤- دسته های تشکیل شده در نمایش سه بعدی تجزیه به مختصات اصلی	۸٤


فصل اول
مقدمه

مقدمه

ایران سرزمینی به وسعت ۱۶۳ میلیون هکتار می باشد که ۲۵ درصد مجموع اراضی آن (۴۰ میلیون هکتار) بیابانی و ۲۵ درصد آن (۴۰ میلیون هکتار) نیمه بیابانی است، همچنین ۲۰ درصد کل اراضی که ۳۲ میلیون هکتار را در بر می گیرد، از نوع پست و لم یزرع است و فقط ۵ درصد کل اراضی (۸ میلیون هکتار) را مراتع خوب و متوسط تشکیل می دهند (۱۲). مراتع یکی از منابع تجدید شونده با استفاده های متنوع می باشند که بهره گیری از آنها در قرن حاضر جایگاه ویژه ای دارد، در این میان، مطالعه برروی گیاهان مرتعی با توجه به تنوع وسیع آنها در کشور ضروری می باشد (۱۳).

بشر ۹۰ درصد نیازهای غذایی خود را از طریق گیاهان تامین می کند و برای تامین قسمتی از پروتئین مورد نیاز خود از طریق دامها به طور غیرمستقیم باز هم به گیاهان وابسته است. بنابراین استفاده از امکانات وراثتی گیاهان و فناوریهای پیشرفته در برنامه های اصلاحی و به نژادی ضروری به نظر می رسد. در کشور ایران بر اثر چرای بی رویه و غیر فصلی و عدم رعایت ظرفیت چرا، گیاهان مفید مرتعی فرصت رشد و نمو نیافته و تجدید نسل طبیعی آنها با مشکل مواجه می باشد، این امر باعث از بین رفتن تدریجی گیاهان مفید و خوشخوراک و در نتیجه جایگزینی گونه های غیرخوشخوراک می گردد (٦).

اصلاح نباتات، علم انتخاب افراد برتر، درون جوامع متنوع گیاهی است. به این منوال موفقیت انتخاب بستگی به وجود تنوع در جمعیت های گیاهی دارد (۲). با توجه به اینکه امروزه تقاضا برای کشت و کار بسیاری از گیاهان در خارج از محدوده ای که منشاء انتخاب طبیعی آنهاست، افزایش یافته است، تلاش برای

پیدا کردن تنوع بیشتر و مطلوب تر در بین گیاهان زراعی و علوفه ای، جهت اجرای پروژ ه های اصلاحی و معرفی ارقام جدید افزایش یافته است. یکی از راه های تحقق این هدف استفاده از گیاهانی است که به دلایلی مورد توجه قرار نگرفته اند، در حالیکه قابلیتهای فراوانی از نظر سازگاری، عملکرد و تحمل شرایط نامساعد محیطی دارند (٤).

تنوع گیاهی در ایران بسیار وسیع می باشد که به علت متغیر بودن اقلیم های موجود، تغییرات زیر گونه ای نیز به وجود آمده است. این تنوع از نظر مطالعات حال و آینده برای کشور و همچنین دنیا حائز اهمیت می باشد (۱۳). در بانک های ژن که در مراکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی کشور به منظور مقابله با تقلیل مواد گیاهی و جلوگیری از انهدام ذخایر ژنتیکی ایجاد شده اند، ژرم پلاسم گیاهان مختلف جمع آوری و نگهداری می شود. ولی بیشتر این ذخایر ژنتیکی ناشناخته بوده اند و لازم است که تحقیقات همه جانبه ای روی آنها انجام گیرد. به طور کلی جمعیت های گیاهی بومی و طبیعی زیادی درکشور های توسعه نیافته و در حال توسعه وجود دارد که باید مورد استفاده قرار گیرند، به ویژه درگیاهان دگرگشن که جمعیت های بومی و طبیعی آنها دارای تنوع ژنتیکی بالایی بوده و برای گزینش مناسب می باشند (۱). ارقام بومی و خویشاوندان وحشی آنها، بخش اعظم نمونه های گیاهی ارزنده فلور گیاهی هر کشور را تشکیل می دهند و به دلیل سازشی که طی دوران بسیار طولانی با محیط و تنش های محیطی خود پیدا کرده اند، حاوی ژن های ارزنده ای برای خصوصیات مهم گیاهی هستند. از جمله بخش عمده ای از این منابع به دلیل نظام های فرساینده از جمله یکنواختی ژنتیکی ارقام زراعی مورد آسیب شدید قرار گرفته اند (۱۵).

در سالهای اخیر پیشرفت تحسین برانگیزی در زمینه زیست شناسی ملکولی و بیوتکنولوژی صورت گرفته است و ابزار قدرتمندی را برای مطالعات ژنتیکی گیاهان در اختیار محققین قرار داده است. تکنولوژی

نشانگرهای مبتنی بر DNA، اصلاح گران گیاهی را برای غلبه بر بسیاری از مشکلات موجود در زمینه طبقه بندی و حفاظت ژرم پلاسم گیاهی حمایت کرده است (۹ و۱۱).

نشانگرهای ملکولی، اطلاعات مورد نیاز برای انتخاب والدین با تنوع ژنتیکی را، برای اصلاح برتر و تهیه نقشه جمعیت ها فراهم می آورند. نشانگر AFLP برای بررسی تنوع ژنتیکی بسیاری از گونه های علوفه ای و تورف گراسها به کار رفته است. سایر مکانیزمهای نشانگری ملکولی از جمله RAPD, RFLP,SSR نیز برای بررسی تنوع ژنتیکی در گونه های مختلف گراس ها استفاده می شوند. بر خلاف نشانگر RAPD در AFLP قابلیت تکرار پذیری با خطای کمتر از ۲ درصد، بسیار زیاد است. اطلاعات محدودی در زمینه بررسی تنوع ژنتیکی فسکیوی بلند که گیاهی با ویژگی های خاص برای مراتع ایران است، وجود دارد. بررسی تنوع ژنتیکی فسکیوی بلند و سایر گیاهان دگر گشن با وجود تنوع بالا در میان جمعیت ها و همچنین در میان افراد موجود در یک جمعیت در حقیقت بسیار دشوار است (٦٦).

AFLP یکی از روش های مبتنی بر واکنش زنجیره ای پلیمراز می باشد که توسط ووس و همکاران معرفی شد (۱۲). با توجه به استفاده از نشانگر AFLP در بررسی تنوع ژنتیکی ارقام علوفه ای و چمنی خارجی، استفاده از این تکنیک در بررسی ژنوتیپ های داخلی ایران احساس می شود. از آنجا که صفات ظاهری این گیاه تحت تاثیر عوامل محیطی بوده و تشخیص ارقام مختلف به وسیله این صفات مشکل است، بنابراین استفاده از نشانگرهای ملکولی برای شناسایی ژنوتیپ های مختلف ضروری به نظر می رسد .

فصل دوم

بررسی منابع

بررسی منابع

۱-۲- خصوصیات گیاه شناسی و پراکندگی جغرافیایی فستوکا آروندیناسه

گونه فسکیوی بلند[1] از مهمترین گونه های جنس فستوکا به شمار می رود (۵). فسکیوی بلند به عنوان گیاهی چمنی (تورف گراس) و علوفه ای در نواحی معتدل دنیا رشد می کند (٦٩) که برای احیای مراتع و حفاظت خاک مورد توجه است (۱۰).

جنس فستوکا که به فسکیو گراس نیز معروف است، متعلق به خانوادهِ پواسه (گرامینه)، طایفه پوآ (سابقا فستوسه)، زیر خانواده پوئیده (سابقا فستوکوئیده) می باشد. این جنس بزرگ دارای ٤٥٠ گونه است(۳). که از این جنس حدود ۱۰۰ گونه آن، در مناطق مرطوب و یا سرد وجود دارد (۵).

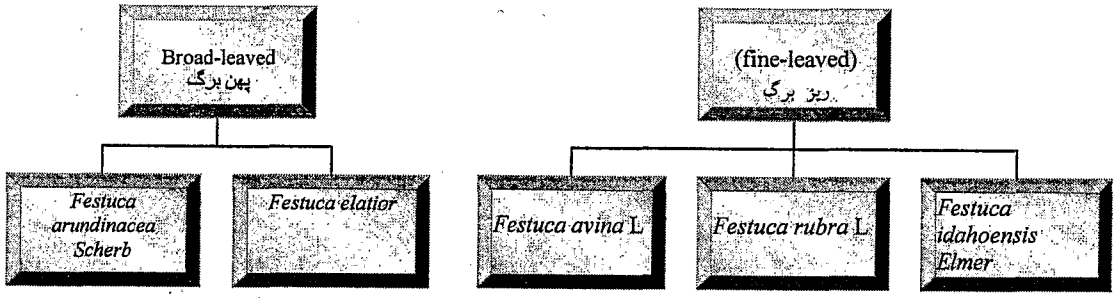
فسکیوی بلند، آلوهگزاپلوئید **2n=6x=42** است. با ژنومی به بزرگی kb $۱۰^٦ \times$ ۵/۲۷ تا kb $۱۰^٦ \times$ ۵/۸۳ با ساختار ژنومی $PPG_1G_1G_2G_2$ که ژنوم P به نظر از فسکیوی مرتعی (مدیو فسکیو[2]) **2n=2x=14** و دو ژنوم G حاصل از *Festuca arundinacea* var.*glaucescens* تتراپلوئید به دست آمده است. این ارتباط توسط نقشه ژنومی چند شکلی طولی قطعات بریده شده (RFLP) حاصل از مدیو فسکیو تایید شد. همچنین ژنوم P در طول تکامل منشعب شده است (٢٦). این گونه با گونه *Festuca elatior* از لحاظ خصوصیات مورفولوژیکی بسیار شبیه هم هستند، به همین دلیل مدتها گونه *Festuca arundinacea* به عنوان یک زیر گونه از *Festuca elatior* به حساب می آمد، تا اینکه از فسکیوی بلند ارقامی در دهه

---

[1]- *Festuca arundinacea Scherb*
[2]- Meadow Fesce (*Festuca pratensis* Huds.)

۱۹٤۰ جداسازی شد و در دهه ۱۹۵۰ به عنوان یک گونه با نام علمی *Festuca arundinacea* مورد تایید قرار گرفت (۵).

فستوکا ها به جنس *Festuca* تعلق دارند. گونه های این جنس از لحاظ ارتفاع، طول عمر و اندازه پهنای برگ با یکدیگر متفاوت هستند. رفتار رشدی آنها به شکل های خزنده ، افراشته و انبوه[1] می باشد. گونه های چند ساله به عنوان علوفه یا چمن استفاده می شوند و اغلب گونه های یک ساله علف هرز مزارع می باشند. گو نه هایی که برای چراگاه و چمن استفاده می شوند، بر اساس اندازه برگ به ۲ دسته ریز برگ و پهن برگ تقسیم می شوند (۵) (شکل ۱-۲).



شکل ۱-۲: تقسیم بندی جنس Festuca بر اساس اندازه برگ

فسکیوی بلند برای استفاده به عنوان تورف گراس در بسیاری از مناطق جهان شامل: شمال آمریکا، جنوب آمریکا، اروپا، نواحی سرد آسیا، آفریقا، استرالیا و نیوزیلند سازگار شده است (۵۳).

از جمله فسکیو های دارای اهمیت در کشاورزی، فسکیوی مرتعی یا فستوکا پرتنسیس دیپلوئید و فسکیوی بلند یا فستوکا آروندیناسه هگزاپلوئید می باشند. زراعت این گیاه در ایران مرسوم نبوده، ولی در اصفهان، تهران، آذربایجان غربی، تالش، لنکران، دامنه الوند، درود ، فارس و خراسان به صورت طبیعی می روید. اسم

[1]-Tufted

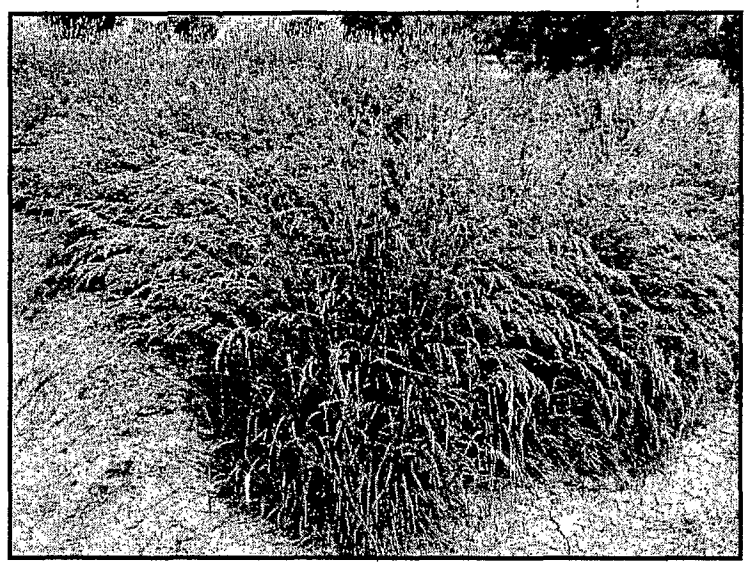
فارسی فسکیوی بلند، علف پره نی می باشد.که گیاهی دایمی و چمنی است و از طریق بذر و ریزوم تکثیر می شود (۱۰).

عمیق ترین سیستم ریشه ای را در میان تورف گراس های سردسیری دارد و بیشتر از آنکه به عنوان یک گراس مقاوم به خشکی مطرح باشد، به دلیل داشتن سیستم ریشه ای عمیق و توانایی در استفاده از آبهای عمقی موجود در پروفیل خاک، به عنوان گیاه اجتناب گر از خشکی از آن نام برده می شود. در انواع خاکها قادر به زیست می باشد، در خاکهای با بافت متوسط تا سنگین، هوموس بالا و رطوبت خوب، رشد آن بسیار خوب است. در خاکهای شور و قلیا بهتر از سایر گونه های سردسیر زندگی می کند. رشد مطلوب آن در pH بین ۵/۵ تا ٦/۵ است، با این حال pH بین ٤/۷ تا ۸/۵ را تحمل می کند. فسکیوی بلند به صورت گراس افراشته[1] و دسته ای است، که ممکن است ریزوم های کوتاهی داشته باشد. ساقه به صورت مستقیم نیرومند و صاف است، در زیر پانیکل ناصاف است. زبانک غشایی است، خوشه ها بین ۱۰ تا۵۰ سانتیمتر طول دارند و به صورت شاخه های جدا از هم قرار دارند. سنبلک ها به صورت بیضی تا مستطیل شکل وجود دارند و بین ۳ تا ۱۰ گلچه در آن وجود دارد (۲٦).

طول کل گیاه متغیر بوده و بین ۱۰۵ تا ۱۵۰ سانتیمتر متغیر است. فسکیوی بلند خاک با زهکشی ضعیف را به خصوص در زمستان تحمل می کند. کشت این گونه در مناطقی که بارندگی ۳۷۰ میلیمتر و بالاتر و همچنین ارتفاع کمتر از ۱۵۰۰ متر باشد، قابل برنامه ریزی است. این گیاه با توجه به وضعیت ریشه ای گسترده ای که دارد، هر ساله مقادیر زیادی ماده آلی از تجدید حیات سیستم ریشه ای خود در خاک به جای می گذارد .به همین دلیل فسکیوی بلند به عنوان گیاه بهبود دهنده وضعیت خاک محسوب می شود (۵). زو و همکاران فسکیوی بلند را گیاهی با گرده افشانی باز و کاملا دگرگشن معرفی کردند (۸۹).

---

[1]- Bunch grass



شکل ۲-۲: نمایی از گونه *Festuca arundinacea*

۲-۲- واکنش های زنجیره ای پلیمراز(PCR)[1]

در اوایل دهه ۱۹۷۰ با ابداع تکنولوژی DNA نوترکیب، تحقیق در مورد ژنوم موجودات به سرعت افزایش یافت. این تکنولوژی امکان تکثیر قطعاتی از DNA ژنومی را همانند قطعاتی که به ژنوم ویروس یا پلاسمیدهای باکتریایی متصل میشود در in vivo فراهم می آورد.

در فاصله سالهای ۸۶-۱۹۵۸ دومین پیشرفت بزرگ در شرکت ستوس[2] ایالات متحده آمریکا توسط کری مولیس[3] به وقوع پیوست. فرآیند PCR مبتنی بر ویژگیهای فرآیند همانند سازی نیمه حفاظتی DNA است که توسط DNA پلیمراز در یوکاریوتها صورت می گیرد.

PCR باعث تکثیر گزینشی یک قطعه انتخاب شده از یک ملکول DNA می شود. در این تکنیک ملکول DNA در پلاسمید باکتری یا ویروس کلون نمی شود. تنها نیاز این است که توالی در انتهای قطعه DNA

[1] -Polymerase Chain Reaction
[2] -Cutus
[3] -Kary Mullis