مجله علوم و فنون باغبانی ایران جلد ۹ شماره ۲ صفحه های ۸۳ تا ۹۶ (۱۳۸۷)

ارزیابی تنوع ژنتیکی نمونه های گیاه چمنی مرغ (*Cynodon dactylon*) با استفاده از صفات ریخت شناسی و نشانگرهای مولکولی ISSR[1]

ANALYSIS OF GENETIC DIVERSITY IN BERMUDA GRASS (*CYNODON DACTYLON*) ACCESSIONS USING MORPHOLOGICAL CHARACTERISTICS AND ISSR MARKERS

طیبه محمدی فارسانی، نعمت اله اعتمادی و بدرالدین ابراهیم سید طباطبایی[2]

چکیده

جهت تعیین روابط ژنتیکی ۲۳ نژادگان (ژنوتیپ) گیاه چمنی مرغ و ۴ رقم دورگه از برخی صفات ریخت شناسی و نشانگرهای مولکولی ISSR استفاده گردید. چهارده صفت ریخت شناسی در قالب طرح بلوک کاملا تصادفی و در سه تکرار بررسی شدند. فاصله ژنتیکی نژادگان ها برای صفات ریخت شناسی با استفاده از توان دو فاصله اقلیدسی[3] تعیین و گروه بندی آن ها با استفاده از روش وارد[4] انجام شد. تجزیه خوشه‌ای بر اساس داده های ریخت شناسی، نمونه ها را به سه گروه منتسب کرد. چهارده آغازگر ISSR استفاده شده در مجموع ۳۳۶ قطعه در نمونه ها تکثیر کردند که ۳۰۵ قطعه از آن ها چند شکل بودند. پس از محاسبه ماتریس تشابه داده های مولکولی با کمک فاصله راجرز[5]، گروه بندی با کمک روش بیت وین گروپ[6] انجام شد. این گروه بندی، نمونه ها را در ۴ گروه قرار داد. نژادگان‌های سه گان (تریپلوئید) و دوگان (دیپلوئید) درگروه بندی مذکور در گروه مجزایی از نژادگان‌های چهارگان واقع شدند. همبستگی بین ماتریس های تشابه بر مبنای صفات ریخت شناسی و داده های ISSR معنی دار نبود.

واژه های کلیدی: تنوع ژنتیکی، صفات ریخت شناسی، گیاه چمنی مرغ، نشانگرهای ISSR.

مقدمه

چمن مهمترین گیاه پوششی جهان به شمار می آید که افزون بر کاهش آلودگی محیطی و جلوگیری از فرسایش خاک، باعث زیبا سازی محیط نیز می شود (۹). این گیاه باعث مرطوب ساختن محیط اطراف خود شده و در مناطق خشک و نیمه خشک محیطی فرح بخش فراهم می سازد (۳). در سال های اخیر، کاربرد چمن در کشور ما توسعه قابل ملاحظه ای یافته است، به طوری که میدان ها، پارک ها، بلوارها، زمین های ورزشی و بخش اعظم محوطه سازی ها به این گیاه اختصاص یافته است (۳).

از نظر گیاهشناسی چمن جزء تیره گندم سانان[7] محسوب شده و از لحاظ شرایط اقلیمی به دو گروه چمن های فصل گرم و چمن های فصل سرد تقسیم می شوند (۳، ۲۲). در بین چمن های فصل گرم جنس

۱- تاریخ دریافت: ۸۶/۸/۲ تاریخ پذیرش: ۸۷/۵/۲۳

۲- به ترتیب دانشجوی کارشناسی ارشد بیوتکنولوژی کشاورزی، استادیار گروه علوم باغبانی و دانشیار گروه بیوتکنولوژی دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان، اصفهان، جمهوری اسلامی ایران.

۳- Square Euclidean distance ۴- Ward's method ۵- Rogers distance ۶- Beetween group's method

۷- Poaceae

Archive of SID

www.SID.ir

Cynodon[1] از اهمیت زیادی برخوردار است. از این جنس دو گونه در ایران شناخته شده است. یکی گونه *Cynodon dactylon* که گونه غالب کشور است و دیگری گونه *Cynodon transvaalensis* (چمن آفریقایی) که گونه وارداتی است (۸). گیاه چمنی مرغ با داشتن تنوع زیاد در رنگ، بافت، اندازه برگ، تراکم، سازگاری و قدرت رشد زیاد، قابلیت رشد در خاک های مختلف را دارد. این گیاه توانایی تکثیر جنسی و غیر جنسی را داشته و با گسترش سریع خود بر چمن های ظریف و علف‌های هرز غلبه می کند (۲۱). این گونه نسبت به چمن های سردسیری به خشکی و شوری مقاوم تر می باشد. نژادگان‌هایی از این گیاه نیز وجود دارند که توانایی رشد در مناطق به نسبت سرد و معتدل را دارند (۲۳). به خاطر تنوع زیاد و وجود صفات مطلوب در چمن مرغ، این گیاه می تواند به عنوان یک گزینه مناسب جهت تولید پوشش چمنی پایدار در مناطق خشک و نیمه خشک مطرح باشد (۸). در پی تلاش هایی در جهت تولید چمن با ویژگی های بهتر، تلاقی هایی بین دو گونه (*Cynodon dactylon* × *Cynodon transvaalensis*) انجام شد. دورگه های تولیدی، قادر به تولید بذر زنده نیستند و تکثیر آن ها از طریق رویشی (غیر جنسی) صورت می گیرد (۲۱). از جمله این دورگه ها می توان به رقم هایی مانند 'Tifway' (دارای تراکم بالا و رشد زیاد)، 'Tifgreen' (دارای بافت ظریف و بادوام و مقاوم به گرما و پاخوری)، 'Tifdwarf' (یک جهش یافته طبیعی از رقم 'Tifgreen' و مشابه آن) و 'Midlawn' (دارای بافت ظریف و به رنگ سبز تیره) اشاره کرد (۵، ۷، ۲۱). مقاومت به سرمای رقم 'Midlawn' بالاتر از رقم های دیگر ذکر شده می باشد (۲۱). چمن مرغ در بیشتر قسمت های دنیا با تنوع ژنتیکی بالا گسترش دارد. از مراکز تنوع برخی از نژادهای این گونه می توان به ترکیه، ایران، افغانستان و غرب پاکستان اشاره داشت (۱۱). این مناطق دارای منابع بزرگ ژنی مرغ بوده، بنابراین توصیف ژرم پلاسم و بررسی تنوع ژنتیکی این گیاه، قدم اساسی در انتخاب و اصلاح آن می باشد (۱۵).

روش های مختلفی جهت ارزیابی تنوع ژنتیکی درون جوامع گیاهی وجود دارد. ارزیابی صفات ریخت شناسی گیاه همواره در برنامه های اصلاحی جهت برآورد تنوع و گروه بندی نژادگان‌ها مورد استفاده بوده است، ولی با توجه به اینکه اندازه گیری صفات ریخت شناسی برای تعداد زیادی نمونه، نیاز به صرف وقت و هزینه زیادی دارد وهم چنین ارزیابی ریخت شناسی به دلیل اثر محیط بر بیان ژن، ممکن است روش قابل اعتمادی برای تعیین تفاوت های ژنتیکی نباشد، امروزه برای بررسی تنوع ژنتیکی از نشانگرهای مولکولی به طور گسترده استفاده می شود (۱۹). گروهی از این نشانگرها مانند RAPD، AFLP ، SSR که استوار بر واکنش زنجیره ای پلیمراز (PCR) هستند، بیشتر کارایی دارند (۱۵). نشانگرهای ISSR از جمله نشانگرهای مبتنی بر PCR هستند که مزایای هر سه نشانگر فوق را دارا و فاقد معایبی از قبیل تکرار پذیری کم و هزینه بالا می باشند (۱۶، ۲۶). تا کنون مطالعه ای با کمک نشانگر ISSR برای بررسی تنوع ژنتیکی گیاه چمنی مرغ انجام نشده است. ژانگ و همکاران[2] (۲۵) از تکنیک AFLP برای تعیین تنوع و روابط ژنتیکی ۲۷ جمعیت چمن مرغ استفاده کردند و توانستند نمونه های مشابه از نظر ریخت شناسی را با کمک این نشانگرها، از هم مجزا کنند. کاراکا و همکاران[3] (۱۲)، روابط ژنتیکی ۳۱ نژادگان چمن مرغ را با کمک نشانگرهای مولکولی AFLP، CpSSR، RAPD، DAMD بررسی کردند. این پژوهشگران نشانگر AFLP را به عنوان مناسب ترین تکنیک جهت تشخیص تنوع ژنتیکی معرفی کردند. اعتمادی و همکاران (۸) تنوع ژنتیکی ۷۵ نژادگان مختلف چمن مرغ (جمع آوری شده از برخی نقاط ایران) را با کمک نشانگرهای مولکولیRAPD و برخی صفات ریخت شناسی ارزیابی کردند. نتایج به دست آمده

۱- Bermuda grass ۲- Zhang *et al.* ۳- Karaca *et al.*

Archive of SID

www.SID.ir

از بررسی داده های مولکولی، نژادگان های مورد مطالعه را در۷ گروه بر اساس محل انتشار، سطوح چندگانی و برخی ویژگی های ریخت شناسی قرار دادند. نتایج به دست آمده از بررسی صفات ریخت شناسی نشان دادند که از بین نژادگان های مذکور، ۲۳ نژادگان در اصفهان از نظر کیفیت ظاهری[۱] پتانسیل مناسبی برای ایجاد چمن داشتند (۲). در این مطالعه روابط خویشاوندی نژادگان های انتخابی مذکور با چهار رقم دورگه ' Tifway '، 'Tifgreen'، ' Tifdwarf ' و 'Midlawn ' با استفاده از تعداد بیشتری نشانگرهای ریخت شناسی و نشانگرهای مولکولی ISSR ارزیابی گردید. سپس نتایج به دست آمده با نتایج مطالعات اعتمادی (۲) مقایسه گردید.

مواد و روش ها

تعیین تنوع صفات ریخت شناسی

در این بررسی ۲۳ نژادگان چمن مرغ همراه با چهار رقم دورگه به نام‌های ' Tifway '، 'Tifgreen'، ' Tifdwarf ' و 'Midlawn ' مورد بررسی قرار گرفت. بیست و سه نژادگان شامل ۳ نژادگان چهارگان (تتراپلوئید) ۱، ۳، ۶ (جمع آوری شده از استان چهار محال و بختیاری) و ۱۵ نژادگان چهارگان ۱۱، ۱۳، ۱۵، ۲۴، ۲۷، ۳۶، ۳۹، ۵۱، ۵۲، ۵۳، ۵۵، ۵۶، ۵۸، ۵۹، ۷۸ و یک نژادگان سه گان ۴۴ و یک نژادگان دو گان ۸۸ (جمع آوری شده از اصفهان) و یک نژادگان دو گان ۱۷ (جمع آوری شده از استان مازندران) و یک نژادگان دو گان ۱۹ و یک نژادگان چهارگان ۱۸ (جمع آوری شده از استان گیلان) بودند. آزمایش در قالب طرح بلوک کاملا تصادفی در سه تکرار، طی سال ۱۳۸۵ در مزرعه دانشگاه صنعتی اصفهان انجام گرفت. نژادگان های مذکور در ۳ تکرار به گونه ای کشت شده بودند که به ازای هر نژادگان در هر تکرار، ۱۰ دستک[۲] به طول ۸ الی ۱۰ سانتی متر انتخاب و در یک کرت به ابعاد ۱/۵× ۱/۵ متر مربع، با فاصله ۱۰ سانتی متر از همدیگر در مرکز کرت کاشته شده بودند. پس از استقرار کامل و پوشاندن کرت به طور کامل، سه نمونه تصادفی از هر کرت در هر تکرار (با توجه به حذف اثرات حاشیه ای) انتخاب شد. صفات مورد بررسی برگرفته از مطالعات موریس[۳] (۱۴) شامل ارتفاع بوته، قطر ریزوم، طول و عرض برگ پرچم، فاصله میان گره، تعداد و طول سنبلچه گل آذین، تعداد گره در زیر ساقه گل دهنده، طول کرک منطقه گریبان برگ پرچم، طول پوشه بالایی و پائینی، طول برون پوشینه و درون پوشینه و عرض زبانک برگ پرچم بودند. در اندازه گیری صفات ریخت شناسی از خط کش و میکرومتر[۴] چشمی استفاده و برای تجزیه و تحلیل داده ها از نرم افزار SAS و SPSS Ver.11. 5 و NTSYS Ver. 2. 02 استفاده گردید. جهت محاسبه ماتریس تشابه از مربع فاصله اقلیدسی استفاده و سپس نمونه ها با کمک روش وارد (۱۸) گروه بندی شدند.

تجزیه ISSR

استخراج DNA ژنومی با استفاده از روش دلاپورتا و همکاران[۵] (۶) و بررسی کمیت و کیفیت DNA با استفاده از ژل الکتروفورز آگارز ۰/۷٪ انجام شد. برای تجزیه ISSR از۱۷آغازگر مکمل با واحدهای تکراری جایگاه های ریزماهواره ای همراه با یک، دو و سه نوکلئوتید انتخابی در انتهای'۳ و '5 استفاده گردید. واکنش تکثیر شامل ۲۰ نانوگرم DNA الگو با غلظت ۱۰ نانوگرم در لیتر، آنزیم *Taq* DNA polymerase (۱ واحد)، کلرید منیزیم (2mM)، مخلوط نوکلئوتیدی (۰/۲Mm)، بافر PCR (1X)، فرمامید (۲٪) و آب مقطر سترون با حجم نهایی ۱۵ میکرولیتر بود. تفکیک محصولات تکثیر شده با استفاده از ژل آگارز ۲٪ و رنگ آمیزی ژل ها با اتیدیوم

۱- Visual quality ۲- Stolon ۳- Morris ۴- Micrometer ۵- Dellaporta *et al.*

Archive of SID

www.SID.ir

برومایند انجام شد. جهت تجزیه و تحلیل داده ها از نرم افزار SPSS Ver. 11.5 استفاده شد. در این مرحله با کمک فاصله راجرز، ماتریس تشابه داده ها محاسبه و از روش بیت وین گروپ (۱۸) برای دسته بندی نژادگان ها و رقم های موجود استفاده شد.

نتایج و بحث

گروه بندی نژادگان ها بر اساس صفات ریخت شناسی

میانگین صفات ریخت شناسی نژادگان ها و رقم های دورگه چمن مرغ مورد مطالعه در جدول ۱ آمده است. در جدول ۲ میانگین، دامنه تغییرات، واریانس پدیدگانی و نژادگانی برای صفات ریخت شناسی مورد مطالعه ذکر شده است. پس از گروه بندی نمونه ها با کمک توان دو فاصله اقلیدسی (جهت تهیه ماتریس تشابه) و روش گروه بندی وارد ، نمونه ها در فاصله مقیاس اقلیدسی ۷ در سه گروه مجزا قرار گرفتند (شکل ۱). گروه A، شامل دو نمونه دوگان ۱۷ و ۸۸، چهار نمونه دورگه سه گان ('Tifdwarf'، 'Tifgreen'، 'Tifway'، 'Midlawn')، یک نمونه چهارگان ۱۹ و در مجموع ۷ نمونه بود. در گروه B، ۱۸ نمونه شامل ۱۷ نمونه چهارگان (۳، ۷۸، ۵۳، ۵۶، ۵۵، ۶، ۱، ۵۱، ۱۱، ۳۹، ۵۸، ۵۹، ۵۲، ۱۵، ۱۸، ۱۳، ۳۶) و یک نمونه سه گان ۴۴ قرار گرفتند. درگروه C فقط دو نژادگان چهارگان ۲۴ و ۲۷ واقع شدند. جهت اطمینان از صحت گروه بندی انجام شده و همین طور به منظور مقایسه گروه ها از نظر صفات اندازه گیری شده، تجزیه واریانس بین گروه ها (۱۳)، با در نظر گرفتن گروه ها به عنوان تیمار و نژادگان های داخل هر گروه به عنوان تکرار انجام شد. با توجه به وجود بیشترین تنوع در بین گروه ها از نظر صفات اندازه گیری شده، صحت گروه بندی انجام شده، تائید شد (جدول۳). تجزیه واریانس نشان داد که گروه بندی باعث معنی دار شدن میانگین مربعات بین گروه ها در صفات ارتفاع گیاه، قطر ریزوم، طول و عرض برگ پرچم، تعداد و طول سنبلچه، تعداد گره در زیر ساقه گل دهنده و طول پوشینه پائینی در سطح احتمال ۱٪ و معنی دار شدن میانگین مربعات بین گروه ها درصفت طول کرک ناحیه گریبان برگ پرچم در سطح احتمال ۵٪ شد (جدول۳). این بیانگر وجود تنوع زیاد در بین گروه ها نسبت به تنوع داخل گروه ها بود. نتایج مربوط به تجزیه واریانس و مقایسه میانگین صفات در گروه های مختلف نشان داد که نژادگان ها و رقم های موجود در گروه های اول و دوم و سوم از نظر صفت ارتفاع گیاه با هم تفاوت معنی دار داشتند (جدول ۲). نژادگان های گروه سه بیشترین طول برگ پرچم و نژادگان های گروه دو، بیشترین عرض زبانک برگ پرچم، طول کرک منطقه گریبان برگ پرچم، طول و تعداد سنبلچه و عرض برگ پرچم را به خود اختصاص داده بودند. نژادگان های دوگان (۱۷ و ۸۸) و چهارگان (۱۹)، همراه رقم های اصلاح شده سه گان موجود در گروه یک، در میان نژادگان های دیگر کمترین تعداد و طول سنبلچه و بیشترین مقدار گره در زیر ساقه گل دهنده را دارا بودند. طبق مطالعه اعتمادی (۲) از بین نژادگان های مورد آزمایش، در اصفهان از نظر کیفیت ظاهری، نژادگان های ۸۸ و ۱۷ و از نظر رنگ زمستانه، نژادگان ۸۸ مناسب ترین نژادگان ها شناخته شد و همچنین عنوان شد که کمترین رشد سالیانه و مناسب ترین سبزینگی بهاره را نژادگان ۱۹ نشان داد و نژادگان ۲۴، سطح بیشتری را در یک سال نسبت به سایر نژادگان ها پوشش داد. در مطالعات ریچاردسون[۱] (۱۷) جمعیت های مختلف چمن مرغ مورد مطالعه از لحاظ قطر ریزوم با هم اختلاف معنی دار داشتند، اما از لحاظ طول پوشه، تفاوت معنی داری بین آن ها مشاهده نکرد. وایت ول و مک کارتی[۲] (۲۴) نیز در مطالعه ای روی جمعیت های مختلف چمن مرغ، برای صفات

۱- Richardson

۲- Whitwell and Mccarty

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۱- میانگین صفات مختلف ریخت شناسی در۲۳ نژادگان گیاه چمنی مرغ و ۴ ارقام دورگه.

Table 1- mean of different morphological characteristics in 23 bermudagrass genotypes and 4 hybrids cultivars.

طول سنبلچه L.S (cm)	تعداد سنبلچه در گل آذین N.S	فاصله میان‌گره I.G. (cm)	عرض برگ پرچم F.L.W. (cm)	طول برگ پرچم F.L.L. (cm)	قطر ریزوم R.D. (cm)	ارتفاع گیاه P.H. (cm)	نام ژنوتیپ Genotype Name	طول سنبلچه L.S. (cm)	تعداد سنبلچه در گل آذین N.S.	فاصله میان‌گره I.G. (cm)	عرض برگ پرچم F.L.W. (cm)	طول برگ پرچم F.L.L. (cm)	قطر ریزوم R.D. (cm)	ارتفاع گیاه P.H. (cm)	نام ژنوتیپ Genotype Name
2.77 bc	5.33 a-c	1.07 h-k	0.47 b-d	7.53 bc	2.3 ab	11.17 c	51	2.5 cd	5 b-d	1.73 c-f	0.33 ef	7.9 ab	2.17 a-d	11.17 c	1
2.97 a-c	5. 67 ab	1.03 h-k	0.57 ab	6.83 b-e	1.77 c-h	9.6 d-f	52	2.5 cd	5. 33 a-c	1.7 c-g	0.37 de	6 e-g	2.17 a-d	7.3 h	3
2.93 a-c	6 a	1.3 e-j	0.53 a-c	6.77 b-e	2.17 a-d	7.83 gh	53	2.93 a-c	5 b-d	1.63 b-h	0.43 c-e	7.2 b-e	1.8 b-h	7.4 h	6
3.1 a-c	5.33 a-c	1.5 c-h	0.37 de	6.57 c-f	2.13 a-d	8.33 f-h	55	2.93 a-c	5.33 a-c	1.7 b-g	0.4 de	7.37 b-d	1.93 a-f	11.17 c	11
2.83 be	5.67 ab	1.53 c-g	0.63 gf	6.03 e-g	2.33 a	7.83 gh	56	2.83 bc	4 ef	1.37 d-i	0.53 a-c	6.1 e-g	1.83 a-g	10.83 cd	13
3.2 ab	5.33 a-c	1.17 f-k	0.63 a	6.17 d-g	2.17 a-d	10.6 cd	58	3 a-c	4.33 c-f	1.6 c-g	0.53 a-c	5.5 f-h	1.67 d-i	9.17 e-g	15
3.53 a	5.33 a-c	1.8 b-e	0.57 ab	6.5 c-g	2.27 a-c	10 c-e	59	1.4 e	2 g	3.2 a	0.17 g	5.33 gh	½ i-k	8 gh	17
2.5 cd	4.33 d-f	1.43 d-i	0.43 c-e	5.48 f-h	2.1 a-d	7.17 hi	78	2.5 cd	4.33 d-f	1.93 b-d	0.33 ef	6.87 b-e	1.43 f-j	9.17 e-g	18
1.7 e	2 g	1.33 d-i	0.2 g	4.33 h-j	¼ g-j	7 hi	88	1.83 e	3.67 f	2.1 bc	0.23 fg	4.4 hi	1.3 h-k	5.17 j	19
1.5 e	2 g	0.87 i-k	0.17 g	3.67 i-k	0.97 jk	5.83 ij	Tifdwarf	2.67 bc	5 b-d	2.1 bc	0.4 de	8.8 a	1.6 e-i	20 a	24
1.47 e	2 g	0.63 k	0.2 g	2.83 k	0.8 k	7.07 hi	Midlawn	2.9 a-c	5.33 a-c	1.93 b-d	0.57 ab	5.33 gh	2.23 a-c	17.17 b	27
1.47 e	2 g	0.7 jk	0.2 g	3.13 jk	0.87 k	5.4 j	Tifgreen	2.77 bc	4.67 c-d	2.23 b	0.4 de	5.3 gh	2.2 a-c	10.5 c-e	36
1.33 e	2 g	0.7 jk	0.17 g	2.93 k	0.8 k	7.27 h	Tifway	1.9 de	4.33 d-f	1.1 g-k	0.4 de	7.37 b-d	2.13 a-d	10.8 cd	39
0.64	0.99	0.61	0.12	1.21	0.51	1.41	LSD†	3.1 a-c	3.67 f	1.07 h-k	0.13 j	4.57 hi	1.47 f-j	10.87 cd	44

Archive of SID

www.SID.ir

ادامه جدول ۱.

Continued Table 1.

عرض زبانک برگ پرچم W.F.L.L. (mm)	طول درون پوشینه L.P. (mm)	طول برون پوشینه L.L. (mm)	طول پوشه پائینی LD.G (mm)	طول پوشه بالایی L.U.G (mm)	طول کرک ناحیه گریبان برگ پرچم L.H.F.L. (mm)	تعداد گره در زیر ساقه گلدهنده N.N.M.IA.	نام ژنوتیپ Genotype Name	عرض زبانک برگ پرچم W.F.L.L. (mm)	طول درون پوشینه L.P. (mm)	طول برون پوشینه L.L. (mm)	طول پوشه پائینی LD.G. (mm)	طول پوشه بالایی L.U.G (mm)	طول کرک ناحیه گریبان برگ پرچم L.H.F.L. (mm)	تعداد گره در زیر ساقه گلدهنده N.N.M.I.A.	نام ژنوتیپ Genotype Name
0.47 cd	1.57 d-g	1.52 c-i	1.08 g-k	1.22 c-e	1.23 b-g	4 ef	51	0.27 gh	1.57 d-h	¼ h-j	1.15 f-k	0.91 h-k	0.92 f-k	3.67 f	1
0.53 ab	1.52 e-i	1.72 bc	1.36 b-f	1.21 c-f	1.32 a-f	5.33 b-f	52	0.47 cd	1.58 d-g	1.7 b-d	1.47 b-d	1.33 b-d	0.67 i-k	5 c-f	3
0.43 de	1.49 f-j	1.3 ij	1.34 b-f	1.37 a-c	1.47 a-d	5 c-f	53	0.43 de	1.56 d-h	1.67 d-e	1.29 d-g	1.092 ei	1.18 b-g	5 c-f	6
0.5 bc	1.37 ij	1.45 e-j	1.18 e-j	1.18 c-f	1.46 a-d	4.33 d-f	55	0.4 e	1.5 f-j	1.27 j	1.23 e-i	1.12 e-h	1.21 b-g	5.67 b-e	11
0.23 hi	1.42 g-j	1.45 e-j	1.32 c-f	1.08 e-i	1.52 a-c	5.33 b-f	56	0.33 f	1.45 g-j	1.42 f-j	1.05 h-k	1 e-k	1.25 a-g	5 c-f	13
0.3 fg	1.44 g-j	1.49 d-i	1.15 f-k	0.94 g-k	1.19 b-g	4.33 d-f	58	0.57 a	1.53 e-i	1.53 c-h	1.31 c-f	1.06 e-i	1.125 c-g	5 c-f	15
0.2 ij	1.52 e-i	1.62 b-g	1.38 b-e	1.21 c-f	1.67 a	5 c-f	59	0.2 ij	0.6 k	0.77 k	1.77 a	1.58 a	0.51 k	7 ab	17
0.3 fg	1.44 g-j	1.37 h-j	1.26 gh	1.11 e-h	0.71 h-k	4.67 c-f	78	0.2 ij	1.45 g-j	1.52 c-h	0.98 j-l	0.99 f-k	1 e-h	5.67 b-e	18
0.28 f-h	¼ h-j	1.82 b	0.67 m	0.81 j-l	0.68 i-k	5.67 b-e	88	0.4 e	1.33 j	1.49 d-i	1.17 e-k	1.48 ab	1.27 a-g	5.33 b-f	19
0.2 ij	1.65 c-f	1.67 b-e	0.78 lm	0.8 kl	0.92 f-k	6.33 a-c	Tifdwarf	0.17 j	1.77 bc	1.79 b	1.54 b	1.12 d-h	1.33 a-f	5.67 b-e	24
0.27 gh	2.15 a	2.27 a	0.59 m	0.71 l	0.68 i-k	7 ab	Midlawn	0.43 de	1.83 b	1.82 b	1.52 bc	0.95 g-k	1.42 a-e	5.33 b-f	27
0.27 gh	1.68 b-e	1.66 b-e	0.68 m	0.71 l	0.87 g-k	5.67 b-a	Tifgreen	0.23 hi	1.47 g-j	1.48 d-j	1.03 i-k	1.03 e-i	1.58 ab	6 a-d	36
0.2 ij	1.71 b-d	1.78 b	0.96 kl	0.87 i-l	1.07 d-i	7.67 a	Tifway	0.27 gh	1.55 d-i	1.62 b-f	1.23 e-i	1.14 d-g	1.27 a-g	5.33 b-f	39
0.06	0.17	0.22	0.22	0.23	0.42	1.84	LSD†	0.2 ij	2.02 a	2.08 a	1.02 i-k	1.5 ab	0.58 jk	5.67 b-e	44

† In each column, means with letter are significantly at 5%.

† حروف متفاوت در هر ستون بیانگر اختلاف معنی دار در سطح ۵٪ می باشد.

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۲- میانگین، دامنه تغییرات، واریانس پدیدگانی (فنوتیپی)، واریانس ژنتیکی، وراثت پذیری عمومی، ضریب تغییرات پدیدگانی و ژنتیکی برای صفات ریخت شناسی مورد مطالعه.

Table 2. Mean, rang and phenotypic variance, genotypic variance, broad hertability, phenotypic coefficient of variation and genotypic coefficient of variation for different morphological characteristics.

ضریب تنوع ژنتیکی G.C.V.	ضریب تنوع پدیدگانی P.C.V.	وراثت پذیری عمومی B.H.	واریانس ژنتیکی G.V.	واریانس پدیدگانی P.V.	دامنه تغییرات Rang	میانگین Mean	صفات Trait
0.34	0.35	97.65	10.33	10.58	5.17-20	9.4	ارتفاع گیاه (سانتی متر) Plant height (cm)
0.27	0.29	87.12	0.22	0.25	0.8-2.33	1.75	قطر ریزوم (سانتی متر) Rhizome diameter (cm)
0.26	0.27	92.48	2.24	2.42	2.83-8.8	5.81	طول برگ پرچم (سانتی متر) Flag leaf length (cm)
0.39	0.41	92.19	0.022	025.	0.13-0.63	0.38	عرض برگ پرچم (سانتی متر) Flag leaf weigth (cm)
0.34	0.37	85.27	0.27	0.31	0.63-3.2	1.49	طول میانگره (I.G.)
0.31	0.32	93.4	1.73	1.86	2-6	2.26	تعداد سنبلچه (N.G.)
0.24	0.26	87.89	0.37	0.42	1.33-3.53	2.48	طول سنبلچه (سانتی متر) (L.S.) (cm)
0.11	0.16	47.11	0.37	0.79	3.67-7.67	5.39	تعداد گره در زیر ساقه گل دهنده (N.N.M.I.A.)
0.26	0.29	79.26	0.08	0.11	0.51-1.67	1.11	طول کرک ناحیه گریبان برگ پرچم (سانتی متر) (L.H.F.L.C.R.) (cm)
0.19	0.21	87.71	0.046	0.052	0.71-1.58	1.09	طول پوشه بالایی (سانتی متر)(cm) (L.U.G.)
0.23	0.24	92.35	0.071	0.077	0.59-1.77	1.17	طول پوشه پائینی (سانتی متر)(cm) (L.D.G.)
0.17	0.17	91.82	0.069	0.077	0.77-2.27	1.58	طول برون پوشینه (سانتی متر) (cm) (L.L.)
0.17	0.17	95	0.067	0.071	0.6-2.15	1.54	طول درون پوشینه (سانتی متر) (L.P.) (cm)
0.36	0.37	97.19	0.014	0.014	0.17-0.57	0.32	عرض زبانک برگ پرچم (سانتی متر) (cm) (W.F.L.L.)

Archive of SID

www.SID.ir

جدول۳- تجزیه واریانس بین گروه ها و مقایسه میانگین صفات مختلف در گروه های حاصل از تجزیه خوشه ای بر اساس صفات ریخت شناسی.

Table 3. Analysis of variance of between groups and mean comparisons for different morphological characteristics in groups produced by morphological charactristics.

گروهC Group C	گروهB Group B	گروهA Group A	میانگین مربعات داخل گروه ها M.S inter group	میانگین مربعات بین گروه ها M.S between group	تیمار Treatment
18.58^{a}± 1.4 LSD=1.01	9.49^{b}± 0.08 LSD=1.39	6.53^{c}± 0.87 LSD=1.54	2.03	$113.18^{††}$	ارتفاع گیاه (سانتی متر) (Plant height) (cm)
1.92^{a}± 0.29 LSD=1	2.00^{a}± 0.31 LSD= 0.51	1.05^{b}± 0.29 LSD=0.51	0.08	$2.32^{††}$	قطرریزوم (سانتی متر) (R.D.) (cm)
7.07^{a}± 0.78 LSD=2.72	6.45^{a}± 0.77 LSD=1.28	3.80^{b}± 0.66 LSD=1.17	1.02	$19.31^{††}$	طول برگ پرچم (سانتی متر)(.F.L.L) (cm)
0.48^{a}± 0.04 LSD=.14	0.45^{a}± 0.08 LSD=0.13	0.19^{b}± 0.06 LSD=0.06	0.01	$0.18^{††}$	عرض برگ پرچم (سانتی متر)(.F.L.W) (cm)
2.02^{a}± 0.33 LSD=1.17	1.49^{a}± 0.32 LSD=0.53	1.36^{a}± 0.34 LSD=0.34	0.31	0.33^{ns}	طول میان گره (سانتی متر)(.I.G) (cm)
5.17^{a}± 1.0 LSD=3.79	4.94^{a}± 0.67 LSD=1.11	2.24^{b}± 0.22 LSD=0.22	0.40	$19.35^{††}$	تعداد سنبلچه (.N.S)
2.78^{a}± 0.45 LSD=1.6	2.82^{a}± 0.41 LSD=.68	1.53^{b}± 0.22 LSD=0.22	0.10	$4.31^{††}$	طول سنبلچه (سانتی متر)(.L.S) (cm)
5.50^{ab}± 1.4 LSD=1.17	5.00^{a}± 0.99 LSD=1.65	6.38^{b}± 1.4 LSD=1.43	0.46	$4.82^{††}$	تعداد گره در زیر ساقه گل دهنده(N. N.M.I.A)
1.37^{a}± 0.41 LSD=1.44	1.19^{a}± 0.21 LSD=0.34	0.86^{b}± 0.29 LSD=0.29	0.09	$0.35^{†}$	طول کرک ناحیه گریبان برگ پرچم(mm) (L.H.F.L.C.R.)
1.04^{a}± 0.33 LSD=1.16	1.14^{a}± 0.12 LSD=0.19	0.99^{a}± 0.11 LSD=0.11	0.05	0.06^{ns}	طول پوشه بالایی(.L.U.G) (mm)
1.53^{a}± 0.2 LSD=0.72	1.21^{a}± 0.14 LSD=0.23	0.94^{b}± 0.1 LSD=0.1	0.06	$0.32^{††}$	طول پوشه پائینی(L.D.G) (mm)
1.80^{a}± 0.27 LSD=.96	1.53^{a}± 0.13 LSD=0.21	1.64^{a}± 0.09 LSD=0.09	0.08	0.08^{ns}	طول برون پوشینه (.L.L) (mm)
1.80^{a}± 0.19 LSD=0.69	1.52^{a}± 0.09 LSD=0.14	1.50^{a}± 0.09 LSD=0.09	0.07	0.08^{ns}	طول درون پوشینه (.L.P) (mm)
0.30^{a}± 0.04 LSD=0.14	0.35^{a}± 0.03 LSD=0.05	0.26^{a}± 0.03 LSD=0.03	0.01	0.02^{ns}	عرض زبانک برگ پرچم (mm) (W.F.L.L)

† ،†† ، ns significant at 1% and 5% and non significant, respectively.

†،†† ns به ترتیب معنی دار در سطح احتمال ۱٪ و ۵٪ و عدم وجود تفاوت معنی دار.

Archive of SID

www.SID.ir

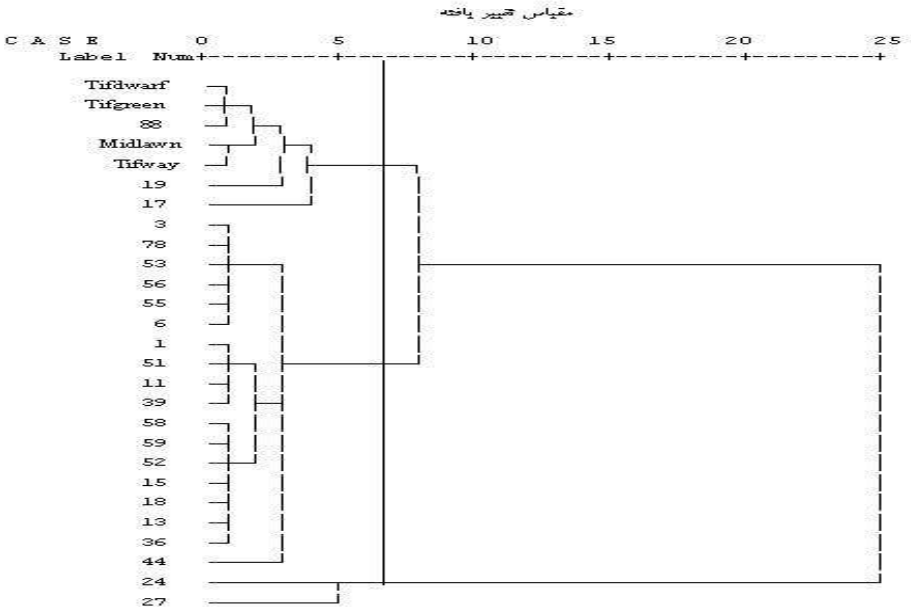

Fig. 1. Grouping of 23 bermudagrass genotypes and 4 hybrid cultivars using morphological characteristics.

شکل ۱- گروه بندی ۲۳ نژادگان گیاه چمنی مرغ و ۴ رقم دورگه با استفاده از صفات ریخت شناسی.

ارتفاع گیاه، طول و عرض برگ پرچم و طول میان گره اختلاف معنی دار گزارش کردند. جمعیت‌های چهارگان به علت داشتن سطح چندگانی بالاتر نسبت به جمعیت های دو گان و سه گان، دارای یاخته های حجیم تر و در بیشتر موارد جثه گیاه برزگتر می باشند (۱) از این جهت قرار گیری نژادگان های چهارگان در گروه های مجزا از نژادگان های دو گان دور از انتظار نمی‌باشد (۱).

گروه بندی نمونه ها بر اساس تجزیهISSR

از ۱۷ آغازگر مورد بررسی، ۱۴ آغازگر در مکان های تکثیر شده چند شکلی نشان دادند (جدول ۴). این آغازگرها در کل ۳۳۶ نوار قابل امتیازدهی با اندازه بین ۴۰۰ تا ۱۳۰۰ جفت باز تکثیر کردند (شکل ۲) که ۳۰۵ نوار آن ها چند شکل بودند. نوارهای تولید شده توسط آغازگر LK7 نسبت به سایر آغازگرها وضوح بهتری داشتند و آغازگرISSR-4 از کمترین وضوح باندی برخوردار بود. پس از محاسبه ماتریس تشابه داده های مولکولی با کمک فاصله راجرز، گروه بندی مربوطه با کمک روش بیت وین گروپ به دست آمد (شکل ۳). در این گروه بندی نژادگان ها و رقم های در فاصله مقیاس راجرز ۲۲ به ۴ گروه مجزا تقسیم بندی شدند. در گروه ۱، نژادگان های ۱، ۵۸، ۶، ۳، ۱۹، ۱۸، ۲۷، ۲۴، ۳۹، ۱۵، ۵۲، ۱۳، ۳۶، ۵۱، ۱۱، ۵۶، ۷۸، ۵۹، ۵۵ و ۵۳ (جمع آوری شده از سه استان گیلان، چهارمحال و بختیاری و اصفهان) قرار گرفتند. این نژادگان ها در گروه بندی حاصل از بررسی صفات ریخت شناسی نیز در کنار هم در یک گروه (شکل ۱) قرار گرفته بودند. در مطالعه اعتمادی و همکاران (۸) این نژادگان ها در سطح تشابه ۴۱٪ در ۴ گروه از بقیه نژادگان ها جدا شدند. در گروه دوم نژادگان سه گان ۴۴ و رقم دورگه سه گان 'Midlawn' قرار گرفتند. آن ها در گروه بندی بر اساس صفات ریخت شناسی، در دو گروه مجزا

Archive of SID

www.SID.ir

جدول۴- ویژگی های آغازگرهای ISSR مورد استفاده برای ارزیابی تفاوت های بین ۲۳ نژادگان گیاه چمنی مرغ و ۴ رقم دورگه.

Table 4. The ISSR primers used to assess variations among 23 bermudagrass genotypes and 4 hybrid cultivars.

کد آغازگر Primer code	توالی آغازگر Sequence (5'-3')	تعداد قطعات تکثیر شده Number of generated fragments	تعداد قطعات چندشکل Polymorphic fragments no.	درصد چند شکلی Polymorphic percentage	دمای اتصال آغازگرها (درجه سانتیگراد) Annealing temperature (°C)
ISSR-1	5'- $(AC)_8$ G -3'	21	19	90	54.9
ISSR-2	5'- $(AC)_8$T -3'	25	22	88	49.2
ISSR-3	5'- $(AC)_8$C -3'	22	20	91	53.3
ISSR-4	5'- $(AG)_8$C -3'	20	18	90	46.8
ISSR-5	5'- $(AG)_8$T -3'	26	24	92	42.5
ISSR-6	5'-$(GA)_8$C -3'	22	19	86	43.3
ISSR-7	5'-$(GA)_8$T-3'	27	25	92	42.9
ISSR-8	5'-$(CT)_8$G-3'	26	24	92	44.9
ISSR-11	5'- $(AG)_8$CT -3'	29	27	93	47.1
ISSR-14	5'- $(AC)_8$CG -3'	25	23	92	57
ISSR-15	5'- $(AC)_8$CA -3'	22	19	90	53.7
RAMP-TAG	5'- T$(AG)_9$ -3'	26	24	92	56.1
RAMP-Gac	5'- G$(AC)_9$ -3'	24	21	87	53.1
LK7	5'- CCA$(CT)_8$ -3	22	20	91	56.1

(شکل ۱) قرار گرفته بودند. از آنجائی که نشانگرهای ISSR نشانگرهایی تصادفی هستند، پس قرار گیری نژادگان های متفاوت از نظر ظاهری در کنار هم، شاید به علت تکثیر مناطق غیر رمز کننده توسط آغازگرهای مورد استفاده در این بررسی باشد. البته تاثیر عوامل محیطی در بروز صفات ریخت شناسی را نباید فراموش کرد (۱۸). در گروه سوم، سه رقم دورگه سه گان' Tifdwarf'، 'Tifgreen' و' Tifway' قرار داشتند. لازم به ذکر است که رقم دورگه 'Midlawn' از نظر برخی ویژگی های ریخت شناسی از جمله مقاومت به سرما با رقم های دورگه 'Tifdwarf'، 'Tifgreen' و' Tifway 'تفاوت دارد (۲۱). در گروه چهارم، دو نژادگان دو گان ۱۷ و ۸۸ قرار گرفتند. در مطالعه اعتمادی و همکاران (۸) این دو نژادگان در سطح تشابه ۴۳٪ در کنار هم در یک گروه قرار گرفتند. در گروه بندی حاصل از صفات ریخت شناسی (شکل ۱) نیز این دو نژادگان در فاصله مقیاس ۴/۵ در کنار هم در یک گروه قرار گرفته بودند. قرار گیری نژادگان های یاد شده (جمع آوری شده از دو استان مختلف)

Archive of SID

www.SID.ir

در کنار هم، نشان دهنده این است که آن ها به احتمال منشاء ژنتیکی یکسانی داشته اما توسط انتقال اندام های رویشی از جمله ریزوم و همچنین از طریق انتقال بذور آن (مخلوط با بذر چمن های رقم های دیگر) به مناطق مختلف منتقل شده اند.

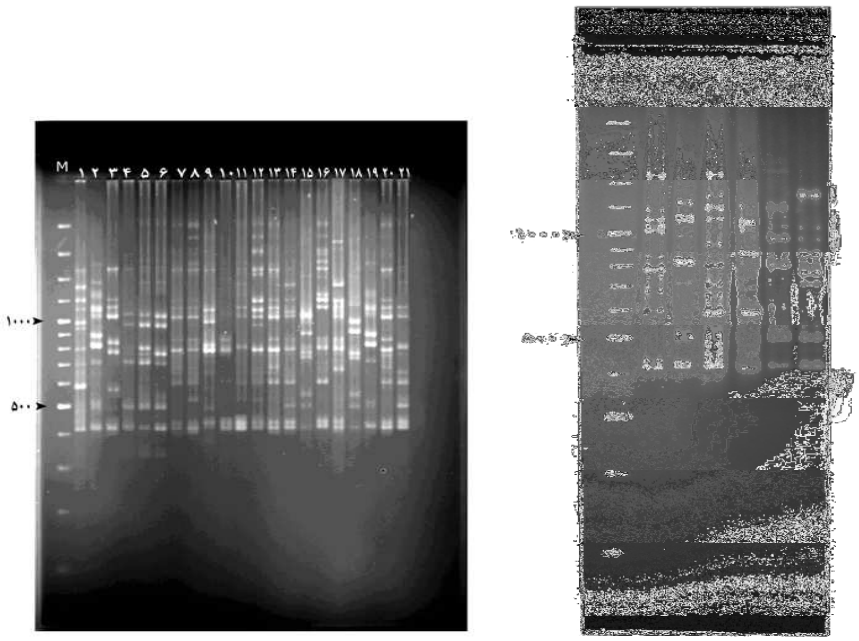

Fig. 2. Bands profiles generated by the primer ISSR-7 with the sequence 5'-(GA)8T-3':marker 100(M),'Tifdwarf', 'Tifway', 'Tifgreen', 'Midlawn', 1, 3, 6, 11, 13, 15, 17, 18, 19, 24, 27, 36, 39, 44, 51, 53, 55, 56, 58, 59, 78, 88.

شکل ۲- شکل قطعات تکثیر یافته با آغازگرISSR-۷ با توالی '5-(GA)8T-3' به ترتیب نشانگر اندازه ۱۰۰(M)، 'Tifdwarf'، 'Tifway'، 'Tifgreen'، 'Midlawn'، ۱، ۳، ۶، ۱۱، ۱۳، ۱۵، ۱۷، ۱۸، ۱۹، ۲۴، ۲۷، ۳۶، ۳۹، ۴۴، ۵۱، ۵۳، ۵۵، ۵۶، ۵۸، ۵۹، ۷۸، ۸۸.

همانگونه که مشاهده شد (شکل ۳) نشانگر ISSR توانست نژادگان ها و رقم های با سطوح چندگانی مختلف را از هم جدا کند. به نحوی که رقم های سه گان ('Tifdwarf'، 'Tifgreen'، 'Tifway')، به ترتیب نژادگان و رقم سه گان ۴۴ و 'Midlawn'، نژادگان های دو گان ۱۷ و ۸۸ را در گروه های مجزایی، از بقیه نژادگان های چهارگان قرار دهد. مطالعات دیگری نیز در ارتباط با تشخیص سطح چندگانی (پلوئیدی) با کمک نشانگرهای مولکولی انجام گرفته است. از جمله می توان به مطالعه بوداک و همکاران[۱] (۴) اشاره کرد. آن ها پس از بررسی تنوع ژنتیکی ۲۰ گیاه علفی بوفالوگراس *Buchloe dactyloides* با سطوح کروموزومی مختلف و جمع آوری شده از مناطق مختلف با کمک نشانگرهای مولکولی RAPD، SSR، SRAP و ISSR در ژنوم هسته و همین نشانگرها در ژنوم اندامک ها (میتوکندری و کلروپلاست)، مشاهده کردند که ارتباط معنی داری بین سطوح چندگانی و تعداد آلل های حاصل از نشانگرهای هسته ای ISSR، SSR و SRAP (به ترتیب ۰/۳۹، ۰/۳۹ و ۰/۴۱ =r ، ۰/۰۵ > P)

۱- Budak *et al.*

Archive

www.SID.ir

وجود دارد، ولی در بررسی داده‌های به دست آمده از این نشانگرها در ژنوم میتوکندری و کلروپلاست، چنین ارتباط معنی داری مشاهده نکردند.

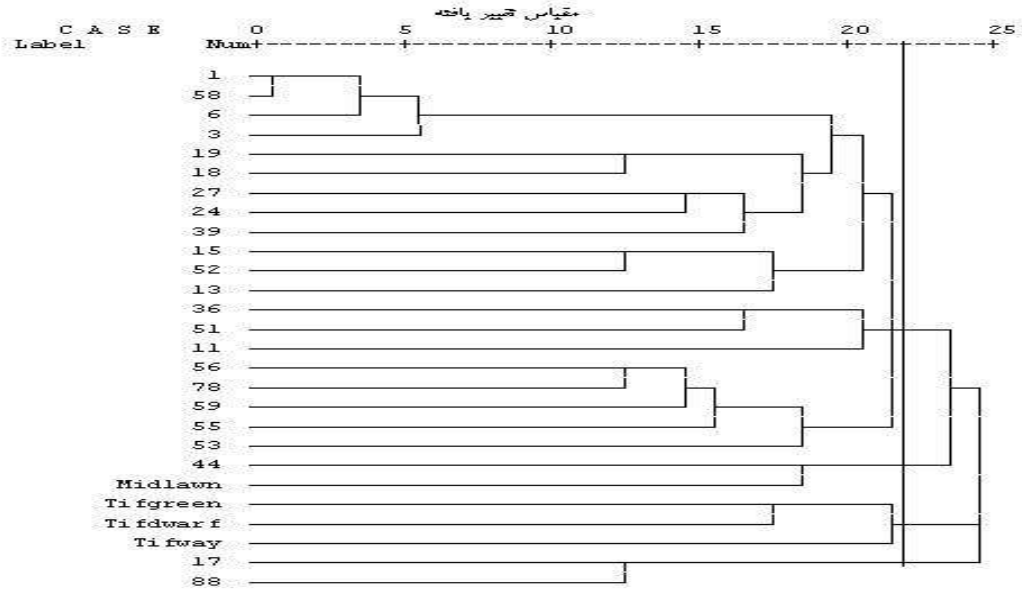

Fig. 3. Grouping of 23 bermuda grass genotypes and 4 hybrid cultivars by ISSR markers.

شکل ۳- گروه بندی ۲۳ نژادگان گیاه چمنی مرغ و ۴ رقم دورگه با استفاده از نشانگرهای ISSR .

مقایسه داده های ریخت شناسی و ISSR

تطابق گروه بندی نژادگان ها بر اساس داده های ریخت شناسی (شکل ۱) و مولکولی (شکل ۳) نشان داد که تشابه چندانی بین این دو گروه بندی وجود ندارد. از سوی دیگر محاسبه همبستگی کوفنتیک بین ماتریس های تشابه حاصل از داده‌های ریخت شناسی و مولکولی (r=۰/۲۱)، عدم وجود همبستگی معنی دار بین آن ها را نشان داد. گزارش های متناقضی در زمینه وجود یا عدم وجود تطابق بین نتایج حاصل از نشانگرهای مولکولی و داده های ریخت شناسی وجود دارد. رولدن رویز و همکاران[۱] (۱۸)، پس از استفاده از نشانگرهای مولکولی AFLP، STS و صفات ریخت شناسی جهت بررسی خویشاوندی چند رقم گیاه چمنی چچم و محاسبه همبستگی بین این نشانگرها، همبستگی معنی داری بین ماتریس های تشابه نشانگرهای مولکولی (AFLP و STS) و صفات ریخت شناسی مشاهده نکردند. شاوت و همکاران[۲] (۲۰) نیز با مطالعه نژادگان های جو بر اساس برخی صفات ریخت شناسی و نشانگرAFLP، عدم وجود ارتباط معنی دار بین ماتریس های تشابه صفات ریخت شناسی و نشانگر مولکولی را گزارش نمودند. البته گزارشاتی نیز در مورد وجود ارتباط معنی دار بین ماتریس‌های تشابه حاصل از بررسی های مولکولی و ریخت شناسی وجود دارد که از آن جمله می توان به گزارش حمزا و همکاران[۳] (۱۰) اشاره کرد. ایشان با استفاده از نشانگر SSR و ۱۲ صفت ریخت شناسی، ۲۶ رقم جو را مورد مقایسه قرار دادند. گروه‌بندی حاصل از هر دو گروه بسیار به هم شباهت داشت.

۱- Roldan-Ruiz *et al.* ۲- Schaut *et al.* ۳- Hamza *et al.*

Archive of SID

www.SID.ir

نتایج به دست آمده از این مطالعه نشان دهنده توانایی نشانگرهای مولکولی ISSR مورد استفاده، جهت جدا سازی نژادگان ها و رقم های با سطوح چندگانی مختلف بود. از سوی دیگر پس از مقایسه گروه بندی بر اساس صفات ریخت شناسی و نشانگرهای مولکولی ISSR، اختلاف هایی بین این دو گروه بندی مشاهده شد و در نهایت محاسبه همبستگی کوفنتیک ماتریس های تشابه صفات ریخت شناسی و نشانگرهای مولکولی ISSR، نشان داد که بین آن ها همبستگی معنی داری وجود ندارد. با توجه به اینکه صفات ریخت شناسی مربوط به بخش های رمز کننده ژنوم است، اما قطعات DNA تکثیر شده در نشانگر ISSR، هم مربوط به بخش های رمز کننده و هم مربوط به بخش های غیر رمز کننده ژنوم است و از جهت دیگر صفات ریخت شناسی تحت تاثیر شرایط محیطی نیز قرار می گیرند، پس عدم وجود همبستگی بالا بین نشانگرهای مولکولی ISSR و صفات ریخت شناسی دور از انتظار نبود (۱۸).

منابع REFERENCES

۱. ارزانی. ا.۱۳۷۸. اصلاح گیاهان زراعی. انتشارات دانشگاه صنعتی اصفهان. ۱۰۵-۱۳۰.

۲. اعتمادی، ن. ۱۳۸۴. بررسی تنوع ژنتیکی، تحمل به خشکی و ویژگی های ظاهری جمعیتهای گیاه چمنی مرغ. پایان نامه دکترای علوم باغبانی (گرایش گلهای زینتی). دانشکده علوم باغبانی وگیاهپزشکی. پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران.

۳. کافی. م.، ش. کاویانی. ۱۳۸۱. مدیریت احداث و نگهداری چمن. مؤسسه فرهنگی و هنری شقایق روستا. تهران. ۲۰۸ صفحه.

4. Budak, H., R. Shearman., C. Gulsen., I. Dweikat. 2005. Understanding ploidy complex and geographic origin of the *Buchloe dactyloides* genome using cytoplasmic and under marker systems. Theor. Appl. Genet. 11:1545-1552.
5. Busey, P. and A. E. Dudeck. 2006. Bermudagrass varieties. Florida Turf bermudagrass. University of Florida. USA.
6. Dellaporta, S. L., J. Wood., J. B. Hicks. 1983. A plant DNA minipreparation: Version II. Plant Mol Biol Report 4:19-21.
7. Duke, J. A. 1985. *Cynodon dactylon* (L.)Pers. Center for New Crops and Plants Products. Purdue University.
8. Etemadi, N., B. E. Sayed-Tabatabaei, Z. Zamani, KH. Razmjoo, A. Khalighi and H. Lessani. 2006. Evaluation of Diversity among *Cynodon dactylon* (L.) Pers. using RAPD markers. Intern. J. Agr. Biol.198-202.
9. Feldman, F. 1991. Lown and ground cover. Sunset Publishing.160 p.
10. Hamza, S., W. B. Hamida., A. Rebai. and M. Hrrabi. 2004. SSR-based genetic diversity assessment among Tunisian winter barley and relationship with morphological traits. Euphytica 135:107-118.
11. Harlan, J.R., J.M.J. de Wet, and K.M. Rawal, 1970. Origin and distribution of the seleucidus race of *Cynodon dactylon* (L.) Pers. var. *dactylon* (Gramineae). Euphytica, 19:465–469.
12. Karaca, M., S. Saha,. A. Zipf., J.N. Jenkins., and D.J. Lang. 2002. Genetic diversity among bermudagrass (*Cynodon* spp.): Evidence from chloroplast and nuclear DNA fingerprinting. Crop Sci. 42:2118–2127.
13. Mohammadi, S. A. and B.M. Prasanna. 2003. Analysis of genetic diversity in crop plants – Salient statistical tools and considerations. Crop Sci. 43:1235-1248.

Archive of SID

www.SID.ir

14. Morris, K. N. 2002. A guide to NTEP turfgrass rating. A publication of the National Turfgrass Evaluation Program, NTEP11:30-39.
15. Neil-Ray. W. 2003. PCR-based polymorphisms in bermudagrass (*Cynodon spp.*). A thesis presented to the graduate school for the degree of master of science. The University of Florida.
16. Reddy, M. P., N. Sarla and E. A. Siddiq. 2002. Inter-simple sequence repeat (ISSR) polymorphism and its application in plant breeding. Euphytica 128:9–17.
17. Richardson, M. D. 2002. Turf Quality and Freezing Tolerance of 'Tifway' Bermudagrass as Affected by Late-Season Nitrogen and Trinexapac-Ethyl. Crop Sci. 42:1621-1626.
18. Roldan-Ruiz, F. A., T. J. Gilliland. P. Dubreuil, C. Dillmann, J. Lallemand. 2001. A comparative study of molecular and morphological methods of describing relationships between perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.) varieties. Theor. Appl. Genet. 103:1138-1150.
19. Ronald, L. K. Indra.2001. NA-Based Markers in Plants. Kluwer Academic Publisher.
20. Schaut, J. W., X. Qi and P. Stam. 1997. Association between relationship measures based on AFLP markers, pedigree data and morphological traits in barley. Theor. Appl. Genet. 95: 1161-1168.
21. Taliaferro. C.M. 1995. Diversity and vulnerability of bermuda turf grass species. Crop Sci. 35:327-332.
22. Turgeon. A. J. 1991. Turfgrass Management. Prentice- Hall Inc. Englewood Cliff. N.J., U.S.A.
23. Virual, M. A., R. Messeguer., M. C. Garicia-Mass., P. Puigodomenech.1997. Warmseason turfgrass adaptation in Italy. Int. Turfgrass Soc. Res. 8:1344-1353.
24. Whitwell, T. and B. McCarty. 1999. Some weeds flourish under growth regulators. Biotech. Adv. 14:143-182.
25. Zhang, L. H., P. Ozias-Akins, G. Kochert, S. Kresovich, R. Dean, and W. Hanna. 1999. Differentiation of bermudagrass (*Cynodon* spp.) genotypes by AFLP analyses. Theor. Appl. Genet. 98:895–902.
26. Zietkiewicz, E., A. Rafalski and D. Labuda. 1994. Genome fingerprinting by simple sequence repeat (SSR)–anchored polymerase chain reaction amplification. Genomics 20:176–183.

Archive of SID

www.SID.ir