گروه‌بندی و ارزیابی تنوع ژنتیکی اکوتیپ‌های مختلف گیاه دارویی *Plantago psyllium* با استفاده از نشانگر ISSR

مهدی رمضانی[1*] و مهدی رحیمی[2]

[1] اهواز، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد اهواز، باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان

[2] کرمان، دانشگاه تحصیلات تکمیلی صنعتی و فناوری های پیشرفته، پژوهشگاه علوم و تکنولوژی پیشرفته و علوم محیطی، گروه بیوتکنولوژی

تاریخ دریافت: ۹۳/۴/۲۸ تاریخ پذیرش: ۹۴/۴/۲۲

چکیده

تنوع ژنتیکی ۱۷ اکوتیپ مختلف اسفرزه گونه *Plantago psyllium* با استفاده از ۱۲ نشانگر ISSR مورد ارزیابی مولکولی و همچنین با نه صفت، مورد ارزیابی مرفولوژی قرار گرفت. نتایج تجزیه واریانس حاکی از تنوع بالا بین اکوتیپ های مورد مطالعه بود. تجزیه خوشه‌ای به روش UPGMA توانست ۱۷ اکوتیپ مختلف را بر اساس داده‌های زراعی در سه گروه قرار دهد. همچنین ارزیابی مولکولی اکوتیپ‌ها نشان داد که ۱۲ آغازگر توانستند تعداد ۹۱ نوار چندشکل به وجود آورند، که از بین آغازگرهای مورد استفاده، آغازگر UBC814 با ۱۴ نوار و بعد از آن، آغازگرهای UBC811، UBC813 و UBC817 با تعداد ۱۳ باند بیشترین و آغازگرهای UBC824 و UBC876 با تعداد ۷ باند کمترین تعداد نوار چندشکل را ایجاد نمودند. PIC نشانگرها بین ۰/۲۷ تا ۰/۴۴ و MI از ۰/۹۱ تا ۴/۱۰ متغیر بود. تجزیه خوشه‌ای به روش UPGMA براساس نشانگرهای مولکولی، ۱۷ اکوتیپ مورد مطالعه را در پنج گروه قرار داد که به ترتیب شامل ۳، ۹، ۳، ۱ و ۱ اکوتیپ بودند. گروه‌بندی اکوتیپ‌ها با نشانگرهای مولکولی تا حد متوسطی با گروه‌بندی اکوتیپ‌ها با صفات مورفولوژیک مطابقت داشت.

واژه های کلیدی: اسفرزه، تجزیه خوشه‌ای، تنوع ژنتیکی، نشانگر مولکولی، ISSR.

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۹۱۹۵۵۸۰۰۷۶ ، پست الکترونیکی: mramezani206@gmail.com

مقدمه

امروزه گیاهان دارویی از گیاهان مهم اقتصادی هستند که به صورت خام یا فرآوری شده در طب سنتی و مدرن صنعتی مورد استفاده و بهره‌وری قرار می‌گیرند، همچنین گیاهان دارویی از لحاظ داشتن مواد مؤثره و همچنین از نظر خصوصیات گیاه‌شناسی با یکدیگر متفاوت هستند (۱۵). با توجه به پیشرفت‌های جدید علوم شیمی و داروسازی، مواد مؤثره لازم در معالجات پزشکی به صورت مصنوعات کارخانه‌ای عرضه می‌شوند. این مواد مصنوعی باعث کاهش اهمیت گیاهان دارویی نشده و نه تنها از میزان کشت و تولید این گیاهان کاسته نشده، بلکه تولید و مصرف آن‌ها افزایش یافته است. در حال حاضر یک سوم داروهای مورد استفاده با منشأ گیاهی هستند و این میزان مسلماً رو به افزایش است (۱). کشور ایران با موقعیت خاص آب و هوایی، بیش از ۷۵۰۰ گونه گیاهی را در خود جای داده است که ۳-۲ برابر پوشش گیاهی تمامی قاره اروپاست و پیش‌بینی می‌شود که بیش از ۷۵۰ گونه دارویی در پوشش گیاهی ایران وجود داشته باشد (۴، ۱۰ و ۱۱). اسفرزه از جنس Plantago و متعلق به خانواده Plantaginaceaeدارای حدود ۲۵۰ گونه می باشد. این جنس دارای پراکنش جهانی است اما منشاء اولیه آن هند و پاکستان می باشد (۸ و ۱۰). دو گونه مهم اسفرزه با اسم علمی (*Plantago psyllium*) و (*Plantago ovata*) از

Archive of SID

www.SID.ir

جمله گونه های مهم جنس Plantago در ایران می باشند که در مناطق مختلف ایران می‌روید. در زبان بلوچی به آن برنجاسک می گویند و این گیاه در بلوچستان ایران و پاکستان به وفور رشد می‌کند که بلوچها تخم این گیاه را جهت رفع اسهال با ماست مخلوط کرده و به خورد بیمار می دهند که بسیار موثر است (۷).

تنوع ژنتیکی در گیاهان و جمعیت‌های گیاهی از نظر کاربردی مورد توجه است. کشاورزی و تولید غذا بستگی به استفاده از ژنوتیپ‌های گیاهی پرمحصول دارد. روش‌های متداول اصلاح گیاهان زراعی براساس گزینش ژنوتیپ‌های مورد علاقه از بین تنوع ژنتیکی موجود و دستورزی همه یا تعدادی از صفات ممکن و مورد علاقه در یک ژنوتیپ به منظور تولید یک واریته تجاری می‌باشد (۱۷). کاربردهای بررسی تنوع ژنتیکی در گیاهان بررسی‌های فیلوژنتیکی، ژنتیک جمعیت، مطالعه و حفاظت ژنتیکی و بررسی‌های گسترش ژنتیکی در عوامل بیماری‌زا گیاهی می‌باشند. تنوع ژنتیکی در جمعیت‌های گیاهی ممکن است از طریق سازوکارهای متفاوتی نظیر جهش، نوترکیبی جنسی، مهاجرت و جریان ژن، رانده شدن ژنتیکی و گزینش ایجاد شود. از بررسی تنوع ژنتیکی در گیاهان با استفاده از روش‌های مولکولی می‌توان به مقدار تنوع موجود در جمعیت‌های گیاهی پی برد (۲). امروزه با توجه به توسعه نشانگرهای DNA و قدرت تمایز، قطعیت و فراوانی آن‌ها همچنین بدلیل اینکه یک روش سریع در برنامه اصلاحی می‌باشد، به‌طور گسترده‌ای از نشانگرهای ژنتیکی در کشاورزی استفاده می‌شود (۱۹). استفاده از نشانگرهای ISSR به‌دلیل عدم نیاز به اطلاعات قبلی در مورد توالی‌های هدف در مقایسه با نشانگرهای SSR آسان است و بنابراین می‌تواند به‌طور موثر جهت مطالعه تنوع ژنتیکی اکوتیپ اسفرزه استفاده شوند (۱۹).

در تحقیقی با استفاده از دو سیستم نشانگری RAPD و ISJ رابطه بین ۲۲ اکوتیپ بومی و جمعیت‌های وحشی اسفرزه جمع‌آوری شده از مناطق مختلف ایران مورد ارزیابی قرار گرفت. ۳۵ آغازگر تصادفی RAPD ، ۱۴۲ باند پلی مورفیک تولید کردند که به طور متوسط ۴/۰۵ باند برای هر اغازگر بود با توجه به داده‌های بدست امده از باندهای DNAحاصل از مارکرهای RAPD و با استفاده از ضریب تشابه جاکارد ، ماتریس ضرایب تشابه بین جمعیت‌های مختلف اسفرزه تشکیل گردید (۳). دامنه ضرایب تشابه بین ۰/۱۹ تا ۰/۷۵ با میانگین ۰/۴۵ بود بالاترین ضریب تشابه مربوط به WP104 , WP103 از استان ایلام و پایین‌ترین ضریب تشابه مربوط به WP105 از اصفهان و LP011 از بندرعباس بود. در مرحله بعد ۱۴ اغازگر نیمه تصادفی، ۹۵ باند با میانگین ۶/۷۸ برای هر آغاز گر تولید کرده‌اند. بیشترین و کمترین چندشکلی مربوط به IT4 و ET38 بود. در آغازگرهای نیمه تصادفی ضریب تشابه بین ۰/۱۷ تا ۰/۸۳ با میانگین ۰/۴۹ بود پایین ترین ضریب تشابه را اکوتیپ‌های WP111 و WP101 و بالاترین را اکوتیپ‌های WP103و WP104 از ایلام به خود اختصاص دادند (۳). کومار و همکاران (۹) با بررسی ۳۸ ژنوتیپ مختلف اسفرزه که از نقاط مختلف هند جمع‌آوری شده بود بررسی کردند. گروه‌بندی با استفاده از نشانگرهای مولکولی و گروه‌بندی با استفاده از صفات مورفولوژیکی با هم اختلاف داشتند و نتایجی متفاوتی را نشان دادند.

جهت بهره‌وری جامع‌تر و مؤثرتر از خزانه ژنی، لازم است که قادر به پیش بینی، غربال‌گری و ارزیابی تنوع ژنتیکی احتمالی در اکوتیپ‌های طبیعی و ژنوتیپ‌های خویشاوندان اسفرزه باشیم. در این رابطه برای به دست آوردن اطلاعات موجود در اکوتیپ‌های مختلف اسفرزه، بررسی‌های مورفولوژیکی که متأثر از محیط بوده و نمی‌تواند نماینده کامل ژنوم باشند کافی به نظر نمی‌رسد. بنابراین استفاده از نشانگرهای مولکولی که چند شکلی را در سطح DNA آشکار نمایند، می‌تواند به عنوان روش‌های مکمل داده‌های مورفولوژیکی، روابط ژنتیکی اکوتیپ‌های اسفرزه را به طور کاراتر تعیین کند. بنابراین موضوع این تحقیق بررسی تنوع

Archive of SID

www.SID.ir

ژنتیکی اکوتیپ‌های مختلف اسفرزه با استفاده از نشانگر مولکولی ISSR و صفات زراعی است.

مواد و روشها

مواد گیاهی این پژوهش، ۱۷ اکوتیپ مختلف اسفرزه گونه *Plantago psyllium* L. بود (جدول ۱) که از بانک ژن موسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع تهیه شده بودند. این ۱۷ اکوتیپ مختلف در مزرعه در تاریخ ۱۰ اردیبهشت کشت گردیدند و برای ارزیابی اکوتیپ‌های مورد مطالعه، از طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار استفاده گردید. تعداد ۱۷ اکوتیپ مختلف اسفرزه با توزیع تصادفی و به صورت بذر (کشت مستقیم) کشت شدند. هر واحد آزمایش متشکل از ۳ خط ۲ متری با فاصله خطوط ۵۰ سانتیمتر و فاصله بین بوته‌ای ۲۵ سانتی‌متر بود. پس از کاشت اسفرزه تا زمان سبز شدن بذور، هر سه روز یکبار و پس از ین مرحله هر هفت روز یکبار آبیاری به روش غرقابی انجام گرفت. در مرحله چند برگی، برگ‌های جوان از هر جمعیت برداشته شد و در فریزر ۲۰- قرار داده شد تا در زمان مناسب استخراج DNA صورت بگیرد. صفات مورد ارزیابی در این تحقیق خصوصیات کمی رشد از جمله تعداد روز تا ۵۰٪ گلدهی، تعداد روز تا رسیدگی کامل، ارتفاع بوته، تعداد سنبله، طول سنبله، تعداد دانه در سنبله، وزن سنبله، وزن هزار دانه و عملکرد دانه بودند.

جدول ۱- اسامی و مناطق جمع‌آوری اکوتیپ‌های مختلف گونه *Plantago psyllium*

ردیف	استان	منطقه	ارتفاع	شماره در بانک ژن	ردیف	استان	منطقه	ارتفاع	شماره در بانک ژن
1	تهران	تهران	1920	2390	10	بوشهر	گناوه	62	21252
2	البرز	کرج	980	3968	11	لرستان	خرم آباد	0	15803
3	ایلام	دهلران	150	3331	12	گیلان		-2	29719
4	اردبیل	خلخال	1370	8401	13	گیلان	رودبار	329	30910
5	اردبیل	مشکین شهر	1339	30196	14	خوزستان	بهبهان	942	32773
6	اردبیل	مشکین شهر	1176	37951	15	سیستان و بلوچستان	ایرانشهر	400	22058
7	هرمزگان	بندرعباس	1100	31536	16	مازندران	ساری	-3	35571
8	بوشهر	دشتستان	430	21228	17	خراسان جنوبی	قاین	0	37496
9	بوشهر	دشتستان	700	21251					

تمامی صفات مورد ارزیابی در ۵ بوته از هر واحد آزمایشی مورد اندازه‌گیری قرار گرفتند و برای ارزیابی عملکرد بذور تمامی بوته‌های هر واحد آزمایشی برای هر اکوتیپ به‌طور جداگانه با ترازوی حساس وزن شدند و میانگین وزن آن‌ها بر حسب گرم به‌دست آمد و سپس عملکرد در متر مربع محاسبه شد. قبل از ارزیابی، بوته‌های خارج از تیپ حذف، سپس میانگین مشاهدات در هرکرت جهت انجام تجزیه‌های آماری مورد استفاده قرار گرفت. تجزیه واریانس داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS (۱۶) انجام شد. استخراج DNA از نمونه‌های برگ جوان اکوتیپ‌های مختلف اسفرزه با استفاده از روش CTAB مورای و تامپسون (۱۲) با اندکی تغییرات طبق مراحل زیر انجام گرفت. برای تعیین کمیت و کیفیت DNA از دستگاه اسپکتروفتومتری و الکترفورز ژل آگارز ۰/۶٪ استفاده شد. دراین آزمایش از ۱۲ آغازگر ISSR برای تکثیر استفاده گردید. واکنش زنجیره‌ای پلیمراز در حجم ۱۰ میکرولیتر با اجزای ۲ میکرولیتر DNA الگو ۵۰ نانوگرم، ۰/۶ میکرولیتر آغازگر، ۰/۱ میکرولیتر مخلوط dNTP، ۰/۳ میکرولیتر کلرید منیزیم، ۱ میکرولیتر بافر PCR و ۰/۲ میکرولیتر آنزیم Taq DNA polymerase انجام شد. چرخه حرارتی شامل ۴ دقیقه واسرشته‌سازی اولیه در ۹۴°C، سپس ۳۵ سیکل انجام شد که هر سیکل به این صورت بود که واسرشته‌سازی در ۹۴°C به مدت ۴۰

Archive of SID

www.SID.ir

ثانیه انجام شد سپس مرحله اتصال آغازگر در دمای TM (بسته به آغازگر متفاوت بود) به مدت ۴۰ ثانیه بود و در نهایت مرحله بسط در دمای ۷۲°C به مدت ۲ دقیقه انجام شد و در نهایت بعد از ۳۵ سیکل ۵ دقیقه بسط انتهایی در دمای ۷۲°C انجام شد و سپس در دمای ۴°C نگهداری گردید. دمای بهینه برای اتصال هر آغازگر در طی واکنش PCR، با تعریف کردن محدوده دمایی ۴ درجه سانتی‌گراد پایین‌تر از دمای TM و ۳ درجه سانتیگراد بالاتر از دمای TM برای دستگاه ترموسایکلر دارای بلوک های شیب دمایی، همان دمای TM بود که شرکت Generay Biotech برای آغازگرهای ISSR تعریف کرده بود.

الگوهای نواربندی حاصل به صورت وجود یا عدم وجود نوار امتیازدهی شدند. همچنین برای هر الل نشانگر در ژنوتیپ‌های مورد مطالعه به صورت ۱، ۲، ۳ و ... نامگذاری و برای برآورد فراوانی آللی و پارامترهای ژنتیکی هر جایگاه و نیز فاصله ژنتیکی اکوتیپ‌ها استفاده شدند. ماتریس داده‌ها برای کلیه اکوتیپ‌ها و کلیه نشانگرهای مورد مطالعه تشکیل شد.

فاصله ژنتیکی بین اکوتیپ‌های مختلف با روش‌ها مختلف تجزیه خوشه ای و همچنین معیارهای مختلف فاصله و شباهت محاسبه و در نهایت گروه‌بندی ارقام با تجزیه خوشه‌ای به روش UPGMA و ضریب تشابه دایس برای داده‌های نشانگر ISSR و روش UPGMA و فاصله اقلیدسی برای داده‌های زراعی انجام شد و سپس دندروگرام‌های مربوطه رسم گردید. کلیه محاسبات با استفاده از نرم افزار SPSS 22 و NTSYS (۱۴)انجام شد.

نتایج

نتایج حاصل از تجزیه واریانس براساس طرح بلوک‌های کامل تصادفی (جدول ۲) نشان داد که تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد در بین صفات مورد مطالعه وجود دارد که خود دلیلی بر تنوع بالای بین اکوتیپ‌های مختلف و انتخاب اکوتیپ مناسب می‌باشد. بررسی ضرایب تغییرات فنوتیپی صفات نشان داد (جدول ۲) که صفت عملکرد دانه و به دنبال آن وزن هزار دانه بالاترین ضریب تغییرات فنوتیپی را دارا بود.

برای اینکه ایده‌ای از میزان شباهت‌ها و تفاوت‌های بین اکوتیپ‌های مورد مطالعه از نظر کلیه صفات به‌دست آید، تجزیه خوشه‌ای ارقام به روش‌های مختلف تجزیه خوشه‌ای مانند متوسط فاصله بین و درون گروه‌ها، نزدیکترین و دورترین همسایه‌ها و روش حداقل واریانس وارد و غیره با معیارهای مختلف فاصله انجام شد و گروه‌بندی حاصل از آن‌ها مورد مقایسه قرار گرفت.

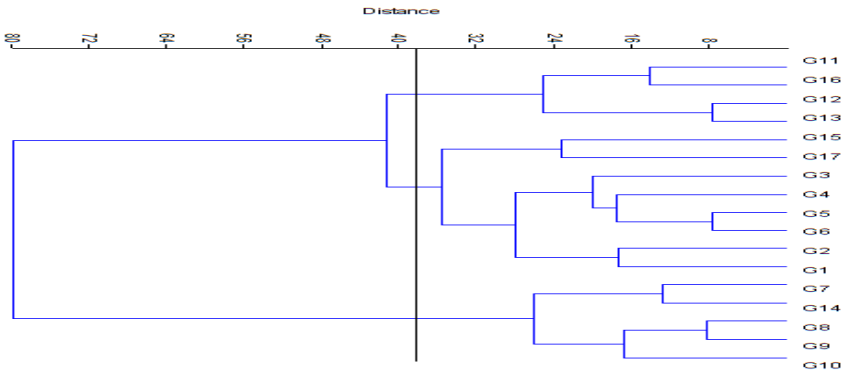
جدول ۲- جدول تجزیه واریانس طرح بلوک‌های کامل تصادفی صفات مورد مطالعه

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات								
		تعداد روز تا ۵۰٪ گلدهی	تعداد روز تا رسیدگی کامل	ارتفاع بوته	تعداد سنبله	طول سنبله	تعداد دانه در سنبله	وزن سنبله	وزن هزار دانه	عملکرد دانه
تکرار	۲	70.81**	25.08**	11.61 ns	0.18**	0.17**	3.75 ns	0.11 ns	0.15**	11142.41**
تیمار	۱۶	156.53**	75.55**	40.29**	0.49**	0.51**	200.87**	51.73**	0.51**	5077.21**
خطا	۳۲	0.81	0.49	3.98	0.014	0.016	7.56	0.61	0.019	336.75
ضریب تغیرات (درصد) % C.V.		1.37	0.75	10.07	2.81	6.08	3.31	1.01	9.74	7.73
ضریب تغیرات فنوتیپی(٪)		5.31	10.90	18.50	9.52	20.6	9.74	5.41	29.30	33.21

ns و ** به ترتیب غیرمعنی‌دار و معنی‌دار در سطوح احتمال ۵ و ۱ درصد.

Archive of SID

www.SID.ir



شکل ۱- گروه‌بندی اکوتیپ‌ها بر اساس صفات مورفولوژی به روش UPGMA و معیار فاصله اقلیدوسی
شماره اکوتیپ‌ها در جدول ۱ نشان داده شده است.

از آن‌جایی که روش متوسط فاصله بین کلاستر (UPGMA) با معیار فاصله اقلیدوسی بهترین نتیجه را با ضریب کوفنتیک ۰/۸۴نشان داد، بنابراین گروه‌بندی ارقام مورد مطالعه با روش متوسط فاصله بین کلاستر (UPGMA) و معیار فاصله اقلیدوسی انجام شده و لذا تنها نتایج این روش گزارش گردید (شکل ۱). برای تعیین تعداد گروه ها نیز، برش از ناحیه ۳۲ (۴ گروه)، ناحیه ۳۸ (۳ گروه) و ناحیه ۴۸ (۲ گروه) انجام شد و صحت گروه بندی هر یک از نواحی برش داده شده با تجزیه تابع تشخیص مورد بررسی قرار گرفت که تعداد سه گروه با صحت گروه‌بندی در حدود ۹۱ درصد به عنوان بهترین تعداد گروه برای این روش انتخاب شد. با برش دندروگرام در فاصله ۳۸، سه گروه ایجاد گردید که به ترتیب ۴، ۵ و ۸ اکوتیپ را شامل می‌شد.

در این پژوهش استفاده از ۱۲ آغازگر ISSR، در مجموع ۱۲۹ باند را نتیجه داد که از بین آنها ۹۱ باند چندشکل بودند و میانگین مکان‌های چندشکل به ازای هر آغازگر معادل ۷/۵۸ بدست آمده است (جدول ۳). از بین آغازگرهای مورد استفاده، آغازگر UBC814 با تعداد ۱۴ باند و بعد از آن، آغازگرهای UBC811، UBC813 و UBC817 با تعداد ۱۳ باند بیشترین تعداد باند و آغازگرهای UBC824 و UBC876 با تعداد ۷ باند کمترین تعداد را داشتند (جدول ۳). همچنین تعداد ۱۱ باند چندشکل برای آغازگر UBC813 و ۱۰ باند چندشکل برای آغازگر UBC811 مشاهده شد، کمترین تعداد باند برای آغازگر UBC824 با ۴ باند مشاهده شد. درصد چندشکلی بدست آمده در اکوتیپ‌ها از ۵۷/۱۴ درصد برای UBC824 تا ۸۴ /۶۲ درصد برای UBC813 متغییر بود. درصد چندشکلی به‌دست آمده در این تحقیق ۶۹/۹۰ درصد، تنوع ژنتیکی اکوتیپ‌ها را توجیه می‌کند (جدول ۳).

محتوای اطلاعات چندشکل، به تفکیک برای هر یک از آغازگرهای مورد مطالعه محاسبه و نتایج مربوطه در جدول ۳ ارائه شد. محتوای اطلاعات چندشکل (PIC) در این تحقیق بین ۰/۲۷ تا ۰/۴۴ و میانگین محتوای اطلاعات چندشکل ۰/۳۶ بود (جدول ۳).

گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها بر اساس رتبه‌دهی صفر و یک انجام شد. تجزیه خوشه‌ای به روش‌های مختلف تجزیه خوشه ای و معیار های مختلف شباهت انجام شد و در نهایت روش UPGMA بر اساس ضریب دایس با ضریب کوفنتیک در حدود ۸۷ درصد بهترین روش گروه‌بندی از بین روش‌های مورد بررسی بود و میزان تشابه بین ارقام براساس ضریب دایس از ۰/۲۲ تا ۰/۸۲ متغیر بود.

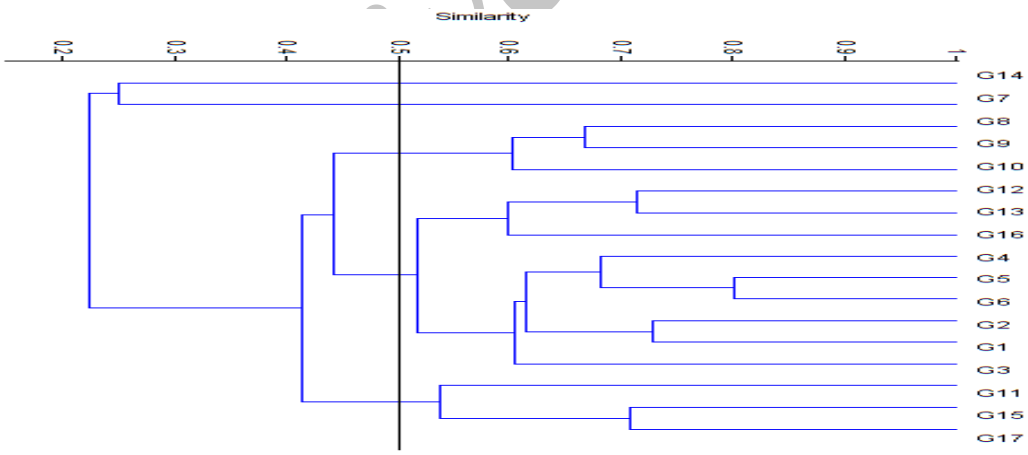
Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۳- محتوای اطلاعات چندشکل، نسبت چندگانه موثر، شاخص نشانگری، تعداد آلل موثر، تنوع ژنی نی و شاخص شانون برای نشانگرهای ISSR در اکوتیپ‌های اسفرزه مورد مطالعه

ردیف	آغازگرها	تعداد کل باند	تعداد باند چندشکل	درصد چندشکلی	محتوای اطلاعات چندشکل	نسبت چندگانه موثر	شاخص نشانگری	تعداد آلل موثر	تنوع ژنی نی	شاخص شانون
1	UBC811	13	10	76.92	0.36	7.69	2.77	1.56	0.52	0.39
2	UBC812	11	8	72.73	0.30	5.82	1.75	1.43	0.48	0.3
3	UBC813	13	11	84.62	0.44	9.31	4.10	1.79	0.60	0.42
4	UBC814	14	9	64.29	0.27	5.79	1.56	1.37	0.46	0.18
5	UBC815	10	8	80	0.40	6.40	2.56	1.67	0.56	0.29
6	UBC816	11	7	63.64	0.34	4.45	1.51	1.52	0.51	0.33
7	UBC817	13	9	69.23	0.31	6.23	1.93	1.45	0.48	0.26
8	UBC823	11	8	72.73	0.37	5.82	2.15	1.59	0.53	0.3
9	UBC824	7	4	57.14	0.40	2.29	0.91	1.67	0.56	0.35
10	UBC825	8	5	62.50	0.39	3.13	1.22	1.64	0.55	0.36
11	UBC826	11	7	63.64	0.38	4.45	1.69	1.61	0.54	0.31
12	UBC876	7	5	71.43	0.41	3.57	1.46	1.69	0.56	0.31
	میانگین	10.75	7.58	69.90	0.36	5.41	1.97	1.58	0.53	0.32

نمودار از نواحی مختلف برای تشکیل تعداد ۲، ۳، ۴ و ۵ گروه برش داده شد و صحت گروه بندی با انجام تجزیه تابع تشخیص مورد بررسی قرار گرفتند که در نهایت تعداد پنج گروه با صحت گروه بندی در حدود ۹۶ درصد بهترین تعداد گروه بود. براساس روش UPGMA و برش نمودار از ناحیه ۰/۵، ۱۷ اکوتیپ مورد مطالعه در پنج گروه قرار گرفتند (شکل ۲).



شکل ۲- گروه‌بندی اکوتیپ‌های اسفرزه مورد مطالعه بر اساس روش UPGMA و ماتریس تشابه دایس.

بحث

ضریب تغیرات برای صفات مختلف نشان داد که می‌توان از این صفات در به‌نژادی استفاده نمود و گزینش‌های مؤثری در بین ارقام مورد مطالعه جهت بهبود و اصلاح این صفات انجام داد. همچنین کمترین ضریب تغییرات فنوتیپی مربوط به صفات روز تا رسیدگی و بعد از آن وزن سنبله بود و اصلاح این صفات نسبت به صفات دیگر از طریق گزینش در جمعیت مورد مطالعه با موفقیت کمتری همراه خواهد بود. پارامتر ضریب تغییرات یکی از مهمترین و با ارزش‌ترین شاخص‌های برآورد تنوع در جمعیت‌ها بوده و

Archive of SID

www.SID.ir

به دلیل این که این معیار تحت تأثیر واحد اندازه‌گیری صفت و یا دامنه تغییرات آن قرار نمی‌گیرد و از این نظر از معیارهای دیگر تنوع نظیر دامنه تغییرات اهمیت بیشتری دارد و می‌توان با اعتماد بیشتری گزینش‌های مطلوب را برای اصلاح صفاتی که ضریب تغییرات بالاتری دارند، انجام داد.

با انجام تجزیه خوشه ای براساس صفات سه گروه تشکیل شد که گروه اول شامل اکوتیپ‌های شماره ۱۱، ۱۲، ۱۳ و ۱۶ بود. گروه دوم شامل اکوتیپ‌های ۷، ۸، ۹، ۱۰ و ۱۶ بود و در گروه سوم اکوتیپ‌های ۱، ۲، ۳، ۴، ۵، ۶، ۱۵ و ۱۷ قرار گرفتند. بیشترین فاصله بین اکوتیپ لرستان (*G11*) و بوشهر (G10) دیده شد. کمترین فاصله هم بین اکوتیپ اردبیل (G5) و اردبیل (G6) دیده شد. گروه‌بندی ارقام تا حدی با منشأ جغرافیای خود هم‌خوانی داشت. به‌نحوی که اکوتیپ‌های مربوط به یک استان یا استان های همجوار در یک گروه قرار گفتند. دلیل قرار گرفتن اکوتیپ‌های استان‌های همجوار در یک گروه می تواند به دلیل شرایط آب و هوایی تقریبا شمابه استان‌های همجوار باشد که باعث شده این اکوتیپ‌ها از لحاظ صفات ظاهری مشابه هم بوده و سازگاری به این مناطق مشابه باعث شباهت این اکوتیپ‌ها شده باشد. این تحقیقات می‌تواند پیش نیازی برای برنامه‌های دورگ‌گیری به‌شمار رود و صفات مطرح شده برای گروه‌ها به منظور تصمیم‌گیری در انتخاب والدین مفید می‌باشد. به این ترتیب برای اصلاح جمعیت می‌توان بعضی از اکوتیپ‌های گروه اول با دوم یا سوم تلاقی داد و دورگ‌های مورد نظر را ایجاد نمود. ضمن اینکه با تلاقی اکوتیپ گروه اول با دوم و سوم می‌توان به‌منظور بهبود و اصلاح صفات اقدام نمود. در تحقیقی برای تعیین تنوع ژنتیکی از الگوی پروتئینی ۱۸۰ ژنوتیپ از ۱۸ جمعیت علف‌گندمی‌بیابانی استفاده شد. بر اساس الگو SDS-PAGE، تعداد ۴۶ باند پروتیینی در ۳ منطقه اصلی و قسمت‌های بین‌منطقه‌ای مشاهده گردید. اگرچه بسیاری از باندها در بسیاری از جمعیتها وجود داشتند ولی میزان تراکم پروتئین برخی باندها در برخی جمعیتها کاملاً متفاوت بود. بطوریکه در ۱۸ جمعیت علف‌گندمی‌بیابانی پنج الگوی پروتئینی کاملاً متفاوت شناسایی شد. ر اساس حضور و عدم حضور باندها جمعیتهای همدان و اردبیل، و همدان و بوئین زهرا، که بیشترین فاصله ژنتیکی را درمیان ۱۸ جمعیت مورد مطالعه داشتند برای ایجاد دورگی که از پتانسیل تنوع ژنتیکی بالایی برخوردار باشد برای دورگ‌گیری معرفی شدند. درحالیکه بر اساس الگو پروتئینی حاصل از میزان رنگ باندها، تلاقی دوبدو بین جمعیتهای پنج فرم مشاهده شده برای دورگ‌گیری معرفی شدند (۵). در مطالعه‌ای دیگر برخی اسیدهای فنلی (رزمارینیک اسید، سالویانولیک اسیدهای A و B)، در برگ و ریشه ۴ گونه مریم¬گلی خودروی ایران برای اولین بار به روش HPLC جداسازی و سنجش شدند. بر طبق نتایج حاصل، *S. verticillata* با بیشترین مقدار رزمارینیک اسید در برگ و ریشه (به ترتیب ۰/۸۸±۴۱/۵۳ و ۰/۱۹±۵/۹۹ میلی¬گرم بر گرم وزن خشک)، به عنوان غنی¬ترین منبع این اسید فنلی شناسایی شد (۶).

شاخص های تنوع ژنتیکی براساس نشانگرها و اصلاعات مربوط به نشانگرها نشان داد که بالاترین میزان PIC در آغازگر UBC813به میزان ۰/۴۴ و بعد از آن UBC876به میزان ۰/۴۱ تعیین شد که نشان دهنده کارایی بالای این آغازگرها در تمایز اکوتیپ‌های مورد استفاده در این تحقیق می‌باشد. میزان اطلاعات چند شکل (PIC) قدرت تفکیک یک نشانگر را به‌واسطه تعداد آلل‌های چندشکل و فراوانی نسبی این آلل‌ها در جمعیت تحت مطالعه نشان می‌دهد (۱۵). به‌منظور تعیین کارایی نشانگرها در بروز چندشکلی، شاخص نشانگری (MI) و نسبت چندگانه موثر (EMR) محاسبه شد. بیشترین میزان (EMR) برای آغازگر UBC811 (۷/۶۹) و کمترین میزان برای آغازگر UBC824 (۲/۲۹) بود (جدول ۳). میزان MI بین ۰/۹۱ تا ۴/۱۰ متغیر بود. آغازگرهای UBC813، UBC811، UBC815 و UBC823 به ترتیب با ۴/۱۰، ۲/۷۷، ۲/۵۶ و ۲/۱۵ واحد

Archive of SID

www.SID.ir

دارای بیشترین شاخص نشانگری (MI) بودند که کارایی بالا این آغازگرها را در بروز چندشکلی نشان می‌دهد (جدول ۳).

تعداد آلل‌های موثر در بین نشانگرهای مطالعه شده متفاوت بود. میانگین تعداد آلل‌های موثر در کل جمعیت ۱/۵۸ بدست آمد و ۱/۳۹ تا ۱/۷۹ متغیر بود (جدول ۳). بیشترین تعداد آلل موثر به ترتیب مربوط به آغازگرهای UBC813، UBC876، UBC815 و UBC824 در بین کل اکوتیپ‌ها بود (جدول ۳). از آنجای که یکی از معیارهای مهم در انتخاب آغازگرهای مناسب و سودمند، تعداد آلل‌های موثر است (۲۰)، می‌توان از این آغازگرها برای مطالعات بعدی به‌منظور بررسی تنوع ژنتیکی اکوتیپ‌های اسفرزه استفاده کرد. یکی از مهمترین شاخص‌ها برای ارزیابی تنوع ژنی در بین ارقام و جمعیت‌ها، شاخص تنوع ژنی نی می‌باشد (۱۳). برآورد شاخص نی نشان داد که میزان تنوع ژنی از ۰/۴۶ تا ۰/۶۰ متغیر بود (جدول ۳) و آغازگرهای UBC813، UBC876، UBC824، UBC815 و UBC825 بترتیب بیشترین تنوع ژنی را نشان دادند. آغازگر UBC814کمترین میزان تنوع ژنی را نشان داد. میانگین تنوع ژنی در جمعیت مورد مطالعه ۰/۵۳ بود. ضریب شانون بیانگر میزان چندشکلی در بین ژنوتیپ‌ها است (۱۸). در این تحقیق میانگین ضریب شانون ۰/۳۲ بود که نشان دهنده تنوع متوسط در اکوتیپ‌های مورد بررسی است. آغازگرهای UBC813، UBC811، UBC825 و UBC824دارای بیشترین شاخص شانون بودند، این نشان می‌دهد که آغازگرهای مورد اشاره می‌تواند تنوع ژنتیکی درون جمعیتی را بهتر توجیه کند و آغازگر UBC814دارای کمترین شاخص شانون می‌باشد (جدول ۳). در تحقیقی با استفاده از دو سیستم نشانگری RAPD و ISJ رابطه بین ۲۲ اکوتیپ بومی و جمعیت های وحشی اسفرزه جمع آوری شده از مناطق مختلف ایران مورد ارزیابی قرار گرفت. ۳۵ آغازگر تصادفی RAPD ، ۱۴۲ باند پلی مورفیک تولید کردند که به طور متوسط ۴/۰۵ باند برای هر اغازگر بود با توجه به داده‌های بدست امده از باندهای DNA حاصل از مارکرهای RAPD و با استفاده از ضریب تشابه جاکارد ، ماتریس ضرایب تشابه بین جمعیت‌های مختلف اسفرزه تشکیل گردید. دامنه ضرایب تشابه بین ۰/۱۹ تا ۰/۷۵ با میانگین ۰/۴۵ بود بالاترین ضریب تشابه مربوط به WP103 WP104 ,از استان ایلام و پایین ترین ضریب تشابه مربوط به WP105 از اصفهان و LP011 از بندرعباس بود. در مرحله بعد ۱۴ اغاز گر نیمه تصادفی، ۹۵ باند با میانگین ۶/۷۸ برای هر آغازگر تولید کرده‌اند. بیشترین و کمترین چند شکلی مربوط به IT4 و ET38 بود. در آغازگرهای نیمه تصادفی ضریب تشابه بین ۰/۱۷ تا ۰/۸۳ با میانگین ۰/۴۹ بود پایین ترین ضریب تشابه را اکوتیپ‌های WP111 و WP101 و بالاترین را اکوتیپ‌های WP103 و WP104 از ایلام به خود اختصاص دادند (۳).

بالاترین میزان PIC در آغازگر UBC813به میزان ۰/۴۴ و بعد از آن UBC876به میزان ۰/۴۱ تعیین شد که نشان دهنده کارایی بالای این آغازگرها در تمایز اکوتیپ‌های مورد استفاده در این تحقیق می‌باشد. به‌منظور تعیین کارایی نشانگرها در بروز چندشکلی، شاخص نشانگری (MI) و نسبت چندگانه موثر (EMR) محاسبه شد. بیشترین میزان (EMR) برای آغازگر UBC811 (۷/۶۹) و کمترین میزان برای آغازگر UBC824 (۲/۲۹) بود (جدول ۳). میزان MI بین ۰/۹۱ تا ۴/۱۰ متغیر بود. آغازگرهای UBC813، UBC811، UBC815 و UBC823 به ترتیب با ۴/۱۰، ۲/۷۷، ۲/۵۶ و ۲/۱۵ واحد دارای بیشترین شاخص نشانگری (MI) بودند که کارایی بالا این آغازگرها را در بروز چندشکلی نشان می‌دهد (جدول ۳).

تعداد آلل‌های موثر در بین نشانگرهای مطالعه شده متفاوت بود. میانگین تعداد آلل‌های موثر در کل جمعیت ۱/۵۸ بدست آمد و ۱/۳۹ تا ۱/۷۹ متغیر بود (جدول ۳). بیشترین تعداد آلل موثر به ترتیب مربوط به آغازگرهای UBC813، UBC876، UBC815 و UBC824 در بین کل اکوتیپ‌ها

Archive of SID

www.SID.ir

بود (جدول ۳). از آنجای که یکی از معیارهای مهم در انتخاب آغازگرهای مناسب و سودمند، تعداد آلل‌های موثر است (۲۰)، می‌توان از این آغازگرها برای مطالعات بعدی به‌منظور بررسی تنوع ژنتیکی اکوتیپ‌های اسفرزه استفاده کرد. یکی از مهمترین شاخص‌ها برای ارزیابی تنوع ژنی در بین ارقام و جمعیت‌ها، شاخص تنوع ژنی نی می‌باشد (۱۳). برآورد شاخص نی نشان داد که میزان تنوع ژنی از ۰/۴۶ تا ۰/۶۰ متغیر بود (جدول ۳) و آغازگرهای UBC813، UBC876، UBC824، UBC815 و UBC825 بترتیب بیشترین تنوع ژنی را نشان دادند. آغازگر UBC814کمترین میزان تنوع ژنی را نشان داد. میانگین تنوع ژنی در جمعیت مورد مطالعه ۰/۵۳ بود. ضریب شانون بیانگر میزان چندشکلی در بین ژنوتیپ‌ها است (۱۸). در این تحقیق میانگین ضریب شانون ۰/۳۲ بود که نشان دهنده تنوع متوسط در اکوتیپ‌های مورد بررسی است. آغازگرهای UBC813، UBC811، UBC825 و UBC824دارای بیشترین شاخص شانون بودند، این نشان می‌دهد که آغازگرهای مورد اشاره می‌تواند تنوع ژنتیکی درون جمعیتی را بهتر توجیه کند و آغازگر UBC814دارای کمترین شاخص شانون می‌باشد (جدول ۳). در تحقیقی با استفاده از دو سیستم نشانگری RAPD و ISJ رابطه بین ۲۲ اکوتیپ بومی و جمعیت های وحشی اسفرزه جمع آوری شده از مناطق مختلف ایران مورد ارزیابی قرار گرفت. ۳۵ آغازگر تصادفی RAPD ، ۱۴۲ باند پلی مورفیک تولید کردند که به طور متوسط ۴/۰۵ باند برای هر اغازگر بود با توجه به داده‌های بدست امده از باندهای DNA حاصل از مارکرهای RAPD و با استفاده از ضریب تشابه جاکارد ، ماتریس ضرایب تشابه بین جمعیت‌های مختلف اسفرزه تشکیل گردید. دامنه ضرایب تشابه بین ۰/۱۹ تا ۰/۷۵ با میانگین ۰/۴۵ بود بالاترین ضریب تشابه مربوط به WP103 WP104 ,از استان ایلام و پایین ترین ضریب تشابه مربوط به WP105 از اصفهان و LP011 از بندرعباس بود. در مرحله بعد ۱۴ اغاز گر نیمه تصادفی، ۹۵ باند با میانگین ۶/۷۸ برای هر آغازگر تولید کرده‌اند. بیشترین و کمترین چند شکلی مربوط به IT4 و ET38 بود. در آغازگرهای نیمه تصادفی ضریب تشابه بین ۰/۱۷ تا ۰/۸۳ با میانگین ۰/۴۹ بود پایین ترین ضریب تشابه را اکوتیپ‌های WP111 و WP101 و بالاترین را اکوتیپ‌های WP103 و WP104 از ایلام به خود اختصاص دادند (۳).

فاصله ژنتیکی بین دو موجود به منزله تفاوت قابل توجیه بین آن دو موجود با استفاده از تنوع آللی است. به عبارت دیگر فاصله ژنتیکی بیانگر میزان تفاوت‌های ژنی بین جمعیت‌ها یا گونه‌ها است که با استفاده از برخی کمیت‌های عددی قابل اندازه‌گیری می‌باشد. گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها بر اساس رتبه‌دهی صفر و یک انجام شد. بر اساس آغازگرهای بررسی شده، اکوتیپهای G5 با G6، G1 با G2، G12 با G13 و G8 با G9 بیشترین شباهت را داشتند. اکوتیپ G14 با G7 کمترین شباهت را با یکدیگر داشتند. با توجه به مقادیر تشابه بین ارقام می‌توان نتیجه‌گیری کرد که تلاقی بین ارقامی که کمترین تشابه را دارند (بیشترین فاصله)، بهترین نتیجه را در دستیابی به هیبریدها و یا دستیابی به حداکثر تفکیک در نسل‌های پس از F_1 خواهد شد. گروه‌های یک تا پنج به ترتیب شامل ۳، ۹، ۳، ۱ و ۱ اکوتیپ بودند. آغازگرهای مورد استفاده توانستند تمامی اکوتیپ‌ها را به خوبی از هم جدا کنند. نتایج آزمون مانتل نشان داد که همبستگی بین روش گروه بندی با صفات مورفولوژیک و نشانگرهای مولکولی نشان داد که ضریب همبستی بین این دو روش در ۰/۵۱ مباشد که نشان می دهد که گروه‌بندی اکوتیپ‌ها با نشانگرهای مولکولی به طور متوسط با گروه‌بندی اکوتیپ‌ها با صفات مورفولوژیک مطابقت داشت. کومار و همکاران (۹) با بررسی ۳۸ ژنوتیپ مختلف اسفرزه که از نقاط مختلف هند جمع‌آوری شده بود، نشان دادند که گروه‌بندی با استفاده از نشانگرهای مولکولی و گروه‌بندی با استفاده از صفات مورفولوژیکی با هم اختلاف داشتند و نتایجی متفاوتی را نشان دادند.

Archive of SID

www.SID.ir

نتیجه گیری کلی

ذخایر ژنتیک گیاهی به عنوان گنجینه‌های گران‌بها در دست بشر و در خدمت نیازهای او می‌باشد. برخی از این ذخایر بصورت طبیعی و وحشی وجود داشته و برخی با دستکاری انسان طی هزاران سال شکل گرفته‌اند. اطلاعاتی که انسان در خصوص کاربردها و مصارف گیاهان، نحوه یا مکان و زمان جمع آوری آن‌ها و یا روش‌های کشت و تولید زراعی آنها طی قرن‌ها در مناطق مختلف جهان کسب کرده نیز، گنجینه‌های پرارزش را به وجود آورده است. پایش تنوع ژنتیکی و حفاظت از این ذخایر ژنتیکی بوسیله بانک‌های ژن انجام می‌گیرد. تنوع مبنای همه گزینش¬ها بوده و انتخاب ژنوتیپی نیز نیازمند تنوع می¬باشد. بدیهی است که با بالا رفتن تنوع ژنتیکی در یک جامعه حدود انتخاب نیز وسیع تر می¬شود. انتخاب براساس نشانگرهای مولکولی یک روش سریع در برنامه اصلاحی بوده و اطلاعات ژنتیکی بدست آمده از نشانگرهای مولکولی در برنامه‌های اصلاحی نقش مهمی را ایفا می‌کنند. نتایج این بررسی حاکی از وجود تنوع بالا در بین جمعیت‌های مورد بررسی اسفرزه است. با توجه به اینکه اکوتیپ‌های اسفرزه از مناطق مختلف جغرافیایی هستند و ترکیبات اسانس آنها متفاوت است، وجود تنوع ژنتیکی تایید کننده این مطلب می‌باشد که اختلافات فیتوشیمیایی اکوتیپ‌های تنها به واسطه اثر محیطی نمی‌باشد، بلکه توسط عوامل ژنتیکی هم کنترل می‌شوند.

منابع

۱. امید بیگی، ر. ۱۳۸۷. تولید و فرآوری گیاهان دارویی. جلد سوم (چاپ سوم). انتشارات آستان قدس رضوی، ۳۹۷صفحه.

۲. باقری، ع.، ایزدی دربندی، ع. و ملبوبی، م. ع. ۱۳۸۱. کاربردهای عملی بیولوژی مولکولی گیاهی (ترجمه). انتشارات دانشگاه فردوسی مشهد، ۲۳۲ صفحه.

۳. تقوی‌زاده یزدی، ا. و بهاری، ع. ۱۳۹۱. بررسی تنوع ژنتیکی اکوتیپ‌های بومی و وحشی اسفرزه با استفاده از نشانگرهای مولکولی RAPD و ISJ، سومین همایش ملی بیوتکنولوژی کشاورزی ایران، ۱۵-۱۳ شهریور.

۴. دانشیان، ا.م. ۱۳۸۷. نگاهی به وضعیت گیاهان دارویی در ایران. مجموعه مقالات همایش منطقه ای شکوفایی و نوآوری در گیاهان دارویی. شبستر. صفحه ۳-۱۰.

۵. صالحی شانجانی، پ.، جعفری، ع.ا.، کلاگری، م. و محمد اسماعیلی، م. ۱۳۹۳. بررسی تنوع ژنتیکی و رابطه جغرافیایی میان ۱۸ جمعیت وحشی Agropyron desertorum توسط پروتئین‌های کل. مجله پژوهشهای گیاهی، ۲۷ (۲): ۲۵۵-۲۴۳.

۶. فتوت، م.، رجبیان، ط.، صبورا، ع.، رنجبر، م. و اجتهد، ر.س. ۱۳۹۳. بررسی مقایسه ای محتوای رزمارینیک اسید و سالویانولیک اسیدهای A و B در ۴ گونه مریم گلی (. Salvia L) خودروی ایران. مجله پژوهشهای گیاهی، ۲۷ (۵): ۹۳۶-۹۲۷.

۷. یزدانی، د.، شهنازی، س. و سیفی، ح. ۱۳۸۳. کاشت، داشت و برداشت گیاهان دارویی.پژوهشکده گیاهان دارویی جهاد دانشگاهی.

8. Babu, K.N., Shiva, K.N., Divakaran, M. and Ravindran, P.N., 2011. Genetic Resources, Chromosome Engineering, and Crop Improvement Medicinal Plants, Volume 6.

9. Kumar, M, Fougat, R.S., Sharma, A.K., Kulkarni, K., Ramesh, Mistry, J.G., Sakure, A.A. and Kumar, S. 2014. Phenotypic and molecular characterization of selected species of Plantago with emphasis on Plantago ovate. Australian Journal of Crop Science, 8(12):1639-1647.

10. Kurian, A. and M.A. Sankar. 2007. Medicinal Plants, New India Publishing Agency.

11. Matsuo, E. and Relf, P.D. 2008. Proceedings of the VIIIth international people-plant symposium on exploring therapeutic powers of flowers, greenery and nature, Awaji, Japan June 4-6, 2004. Acta Horticulturae.

12. Murray, M. G. and Thompson, W. F. 1980. Rapid isolation of high molecular weight plant DNA. Nucleic Acids Research, 8: 4321-4326.

13. Nei, M. 1972. Genetic distance between populations. The American Naturalist, 106 (949): 283-292.

14. Rohlf, F.J. 1998. NTSYSpc–Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System

Archive of SID

www.SID.ir

(Version 2.0) User Guide. Applied Biostatistics Inc.,3 Heritage Lane, Setauket, New York.

15. Ramachandra, R.S. and G.A. Ravishankar. 2002. Plant cell cultures: Chemical factories of secondary metabolites. Biotechnol. Adv. 20: 101-153.

16. SAS-Institute-Inc. 2010. Base SAS 9.2 procedures guide: statistical procedures, third edition, Cary, NC: SAS Institute Inc.

17. Saeidi H, Rahiminejad MR, Heslop-Harrison J. Retroelement insertional polymorphisms, diversity and phylogeography within diploid, D-genome Aegilops tauschii (Triticeae, Poaceae) sub-taxa in Iran. Ann Bot. 2008; 101 (6):855-861

18. Shannon, C. E. 1948. A mathematiacal theory of communication. AT and T Technical Journal, 27: 379-423.

19. Tsumura, Y., Ohba, K. and Strauss, S.H. 1996. Diversity and inheritance of inter-simple sequence repeat polymorphisms in Douglas-fir (*Pseudotsuga menziesii*) and sugi (*Cryptomeria japonica*). Theoretical Applied Genetics, 92: 40-45.

20. Zhu, J., Gale, M.D. and Guarrie, S. 1998. AFLP markers for the study of rice biodiversity. Theoretical and Applied Genetic, 96: 602-611.

Archive of SID

Grouping and estimation of genetic diversity of different ecotypes of medicinal plant of *Plantago psyllium* using ISSR marker

RamezaniM.[1] and Rahimi M.[2]

[1] Young Researchers and Elite Club, Ahvaz Branch, Islamic Azad University, Ahvaz, I.R. of Iran

[2] Biotechnology Dept., Institute of Science and High Technology and Environmental Sciences, Graduate University of Advanced Technology, Kerman, I.R. of Iran

Abstract

The genetic variations of 17 ecotypes of sand plantain were evaluated by 12 ISSR markers and nine morphological traits. Analysis of variance showed high variability among studied cultivars. Cluster analysis could put 17 different ecotypes of sand plantain into the three groups using UPGMA method based on field data. The assessment of ecotypes based molecular markers showed that the 12 primers could be amplified 91 polymorphic bands, the maximum number (14) was produced by UBC814 and primers UBC811, UBC813 and UBC817 with 13 bands were in the next steps respectively. The minimum band number (7) was produced by UBC824 and UBC876 respectively. PIC value was varied from 0.27 to 0.44 and MI was 0.91 to 4.10. Cluster analysis using UPGMA based molecular markers, placed 39 ecotypes in the study in five groups, include 3, 9, 3, 1 and 1 ecotypes respectively. Grouping of ecotypes with molecular markers is moderate matched with classification of the ecotypes based morphological traits.

Keywords: Sand plantain, Cluster analysis, Genetic diversity, Molecular marker, ISSR.

www.SID.ir