

## تأثیر شرایط اکو-جغرافیایی روی شباهت ژنتیکی جمعیت‌های مختلف اسپرس زراعی *(Onobrychis viciifolia)* بر اساس نشانگرهای RAPD

هوشنگ نصرتی<sup>۱\*</sup>، محمدعلی حسین‌پور فیضی<sup>۱</sup>، سونا سید طراح و احمد رزبان حقیقی<sup>۲</sup>

<sup>۱</sup> گروه علوم گیاهی، دانشکده علوم طبیعی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران

<sup>۲</sup> مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی تبریز، تبریز، ایران

### چکیده

در این مطالعه، تأثیر شرایط اکولوژیک، فاصله جغرافیایی و عرض جغرافیایی بر میزان شباهت ژنتیکی بین جمعیت‌های مختلف اسپرس زراعی (*Onobrychis viciifolia*, Fabaceae) در استان آذربایجان شرقی با استفاده از نشانگرهای RAPD و DNA-Sی توده‌ای بررسی شد. از هر جمعیت تعداد ۱۰ فرد گیاهی به طور تصادفی انتخاب شدند. تعداد ۱۰ آغازگر تصادفی آزمایش شدند که از این تعداد فقط پنج آغازگر که بیشترین و واضح‌ترین نوارهای چندشکل تکرارپذیر را تولید کردند، برگزیده شدند. تکرارپذیری نوارهای RAPD، با ۳ بار تکرار برای هر آغازگر اثبات شد. فاصله ژنتیکی بین جمعیت‌ها بر اساس ماتریس فاصله ژنتیکی Nei محاسبه و میزان شباهت ژنتیکی بین جمعیت‌ها بر اساس دندروگرام UPGMA ارزیابی شد. تعداد پنج آغازگر در مجموع تولید ۱۲ نوار چندشکل کردند. بیشترین فاصله ژنتیکی بین جمعیت‌های بناب و هریس در (۰/۴۹۰۴) و کمترین آن بین امند و خسروشهر (۰/۰۵۷۲) دیده شدند. بر اساس دندروگرام، جمعیت‌های سراب و هریس در یک خوشه و جمعیت‌های امند و خسروشهر در خوشه دیگر واقع شدند، درحالی که جمعیت بناب با کمترین شباهت ژنتیکی به جمعیت‌های مذکور، دورتر از چهار جمعیت دیگر قرار گرفت. شباهت ژنتیکی بین جمعیت‌های سراب و هریس را می‌توان بر اساس شرایط اکولوژیک مشابه حاکم بر آن دو جمعیت مانند ارتفاع بالا و اقلیم سرد تفسیر کرد. به طور مشابه، شباهت ژنتیکی بین جمعیت‌های امند و خسروشهر را می‌توان با شرایط محیطی مشابه آن جمعیت‌ها نظیر اقلیم نسبتاً گرم و خاک‌های نسبتاً شور ارتباط داد. نتایج ما نشان می‌دهند که نشانگرهای RAPD احتمالاً تحت تأثیر انتخاب طبیعی بوده، عوامل اکولوژیک بر روی میزان شباهت ژنتیکی بین جمعیت‌های مختلف یک گونه گیاهی تأثیر دارند.

**واژه‌های کلیدی:** تیره حبوبات (Fabaceae)، DNA-Sی توده‌ای، عرض جغرافیایی، فاصله ژنتیکی، Sainfoin

## مقدمه

جنس اسپرس (*Onobrychis*, Fabaceae) شامل ۷۷ گونه در ایران است (Rechinger, 1984)، که از میان آنها، گونه اسپرس زراعی (*O. viciifolia* Scop.) در مناطق زیادی از کشور کاشته می‌شود و همچنین این گونه به طور وحشی در اکثر نقاط کشور رویش دارد. گونه اسپرس زراعی گیاهی علفی دائمی و دارای ریشه‌های عمیق است و به خاطر داشتن برتری‌های اکولوژیک، نظیر مقاومت به آفات یونجه، مقاومت بالا به خشکی و رشد مطلوب در خاک‌های شور (Koivisto and Lane, 2001)، همچنین قادر به رشد در خاک‌های با فسفر خیلی پایین (Miller and Hoveland, 1995) - به عنوان گیاه علف‌های در خاک‌هایی که یونجه توان رشد بهینه را ندارد - است. اسپرس زراعی دارای لاین‌های متعددی است که به شرایط اکولوژیک مختلف، مانند خاک‌های شور، اقلیم سرد و گرم و غیره سازش یافته اند (Prevost et al., 1987; Koivisto and Lane, 2001) می‌توانند در برنامه‌های اصلاح و تولید ارقام جدید با ویژگی‌های مطلوب مورد استفاده قرار گیرند (Koivisto and Lane, 2001).

تعیین میزان شباهت ژنتیکی بین جمعیت‌ها و ارقام مختلف گیاهان زراعی، اطلاعات پایه‌ای برای برنامه‌های اصلاحی، برنامه‌های حفاظت از ذخایر ژنتیکی، و همچنین راجع به نحوه گرده‌افشانی (مثل تعیین درصد دگر گرده‌افشانی و خود‌گرده‌افشانی) گونه‌های گیاهی به دست می‌دهند (Smartt, 1981; Hamrick and Godt, 1989; Nybom and Bartish, 2000; Bussell, 1999). هر چند سیستم گرده‌افشانی نقش برجسته‌ای در تعیین ساختار ژنتیکی جمعیت‌های گیاهی دارد، عوامل محیطی متعدد دیگری بر روی ساختار ژنتیکی جمعیت‌های یک

گونه گیاهی اثر دارند (Hamrick and Godt, 1996; Bussell, 1999). عواملی مانند فرم رویشی مثل یک‌ساله و چند ساله بودن، و شرایط اکولوژیک، به طریق مختلف بر روی ساختار و تنوع ژنتیکی جمعیت‌های مختلف یک گونه گیاهی تأثیر می‌گذارند (Nybom and Bartish, 2000). همچنین تنش‌های محیطی، مانند تنش‌های غیرزیستی مثل خاکی و اقلیمی می‌توانند بر روی تنوع و شباهت ژنتیکی جمعیت‌های گیاهی اثر بگذارند (Van Valen, 1965). بر اثر انتخاب طبیعی، جمعیت‌های گیاهی که در شرایط اکولوژیک مشابه، ولی در نقاط مختلف جغرافیایی رشد می‌کنند، در مقایسه با جمعیت‌های گیاهی که در شرایط اکولوژیک متفاوت رشد کنند، شباهت ژنتیکی بیشتری با یکدیگر نشان می‌دهند (Volis et al., 2001).

مطالعه تأثیر شرایط محیطی بر میزان شباهت ژنتیکی بین جمعیت‌های گیاهی، با استفاده از نشانگرهای مولکولی، نظیر ریزماهورها (Simple Sequence Repeats, SSRs)، آلوزیم‌ها و RAPDs فقط در چند گونه گیاهی انجام گرفته است و عمده این مطالعات بر روی گونه‌های وحشی جو (*Hordeum spontaneum*) و گندم (*Triticum dicoccoides*) است. این مطالعات نشان می‌دهند که در الگوی شباهت ژنتیکی بین جمعیت‌ها، انتخاب طبیعی بیشتر از عامل تصادفی نقش داشته است (Nevo et al., 1998; Fahima et al., 1999; Li et al., 2000; Turpeinen et al., 2001).

در این مطالعه، تأثیر شرایط اکولوژیک و فاصله و عرض جغرافیایی بر میزان شباهت ژنتیکی بین جمعیت‌های وحشی اسپرس زراعی با استفاده از نشانگرهای RAPD و DNA-ی توده‌ای (bulked DNA) بررسی گردید. نشانگرهای RAPD به طور وسیعی در مطالعات مربوط به تنوع، ساختار و شباهت ژنتیکی جمعیت‌های بسیاری از

کیلومتری هستند (شکل ۱). جمعیت‌های مورد مطالعه از نظر ارتفاع از سطح دریا، عرض جغرافیایی، آب و هوا و درجه شوری خاک از همدیگر متفاوتند (جدول ۱). دو جمعیت امند و خسروشهر در خاک‌های نسبتاً شور و با فاصله جغرافیایی نزدیک به هم رویش دارند، دو جمعیت هریس و سراب در مناطق با اقلیم سرد و ارتفاع از سطح دریا بیشتر با فاصله نزدیک به یکدیگر پراکنش دارند، در حالی که جمعیت بناب از نظر فاصله از چهار جمعیت دیگر دور و از نظر اکولوژیک نیز به دلیل رویش در خاک‌های کاملاً شور با بقیه جمعیت‌های مورد مطالعه متفاوت است. از نظر عرض جغرافیایی، جمعیت‌های سراب و خسروشهر به همدیگر نزدیک هستند و همچنین دو جمعیت هریس و امند دارای عرض جغرافیایی تقریباً یکسانی هستند، در حالی که عرض جغرافیایی جمعیت بناب با بقیه جمعیت‌ها تفاوت فاحشی دارد.

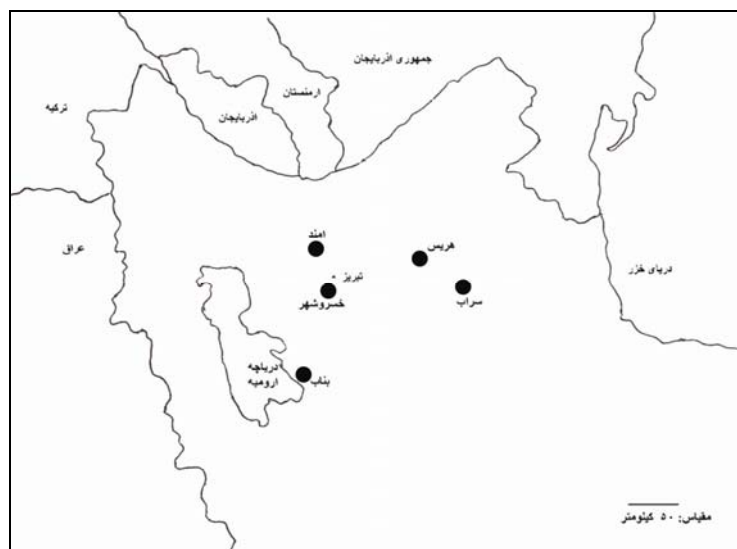
گونه‌های گیاهی استفاده شده‌اند (Williams *et al.* 1990; Hollingsworth *et al.* 1999; Nybom, 1999; Nybom and Bartish, 2000)

این نشانگرها به دلیل مطالعه کل ژنوم، برای مطالعه اثر انتخاب طبیعی بر روی ساختار ژنتیکی جمعیت‌های گیاهی مناسب هستند (Volis *et al.*, 2001)؛ گرچه این روش دارای محدودیت‌هایی، نظیر داشتن طبیعت غالب و عدم تشخیص هموزیگوسیتی از هتروزیگوسیتی است.

## مواد و روش‌ها

### مواد گیاهی و منطقه مورد مطالعه

در این مطالعه پنج جمعیت مختلف اسپرس زراعی که به طور وحشی در مناطق مختلف استان آذربایجان شرقی رویش دارند، بررسی شدند. از هر جمعیت تعداد ۱۰ فرد گیاه به طور تصادفی انتخاب شدند. این جمعیت‌ها از نظر جغرافیایی از همدیگر دور و دارای حداقل فاصله ۵۰



شکل ۱- پراکنش جمعیت‌های اسپرس زراعی مطالعه شده

جدول ۱- ویژگی‌های اکولوژیک جمعیت‌های اسپرس زراعی مورد مطالعه

| ردیف | جمعیت   | ارتفاع از سطح دریا (متر) | عرض جغرافیایی | آب و هوا   |
|------|---------|--------------------------|---------------|------------|
| ۱    | بناب    | ۱۲۹۰                     | ۳۷/۳۲۹۲       | گرم        |
| ۲    | امند    | ۱۴۰۰                     | ۳۸/۱۸۷۸       | گرم        |
| ۳    | خسروشهر | ۱۵۰۰                     | ۳۸/۰۰۱۱       | نسبتاً گرم |
| ۴    | سراب    | ۱۶۸۰۰                    | ۳۷/۹۲۶۴       | سرد        |
| ۵    | هریس    | ۱۹۰۰                     | ۳۸/۲۵۵۶       | سرد        |

### استخراج DNA و اجرای RAPD

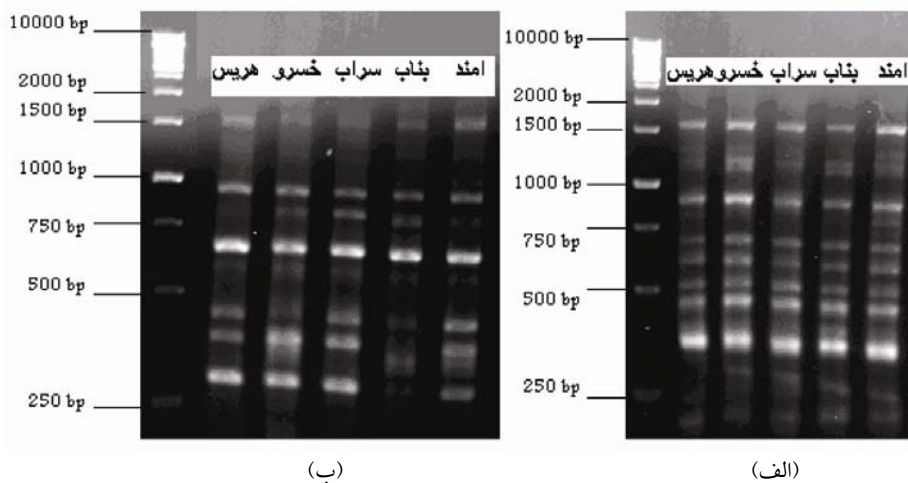
DNA-ی هسته‌ای از بذر و یا دانه‌رُست جوان با استفاده از روش Madden (۲۰۰۲) استخراج شد. در مقایسه با روش‌های رایج استخراج DNA، این روش از نظر زمانی سریع و از نظر اقتصادی کم هزینه است. DNA-ی افراد یک جمعیت پس از استخراج با همدیگر مخلوط شدند تا اینکه فقط یک نمونه DNA؛ یعنی DNA-ی توده‌ای به عنوان نماینده آن جمعیت تهیه شود. برآورد غلظت DNA استخراج شده با استفاده از الکتروفورز ژل آگاروز ۰/۸ درصد و اسپکتروفوتومتری در ۲۶۰ نانومتر انجام گرفت تا غلظت نهایی نمونه‌هایی DNA در ۱۰ نانوگرم در میلی‌تر (ng/ml) تنظیم شود. میزان چندشکلی نوارهای RAPD در پنج جمعیت مورد مطالعه با استفاده از تعداد ۱۰ آغازگر تصادفی آزمایش شد. از میان این تعداد آغازگر، تنها آغازگرهایی که بیشترین و واضح‌ترین نوارهای چند شکل را تولید کردند، برای مطالعه انتخاب شدند. پروفیل RAPD با استفاده از CinnaGen PCR MasterKit, Cat. No. PR8251C=Master Mix محتوی ۱۰ نانوگرم DNA الگو، ۱ میکرولیتر (μl) آغازگر به غلظت ۱۰۰ pm/μl در حجم نهایی ۲۵ μl در دستگاه ترموسیکلر (مدل Biometra) به شرح زیر اجرا شد:

مرحله اولیه و اسرشتی: یک دور، ۴ دقیقه، ۹۴ درجه سانتیگراد؛ مراحل اتصال، تکثیر و واسرشتی: ۴۰ دور، به

ترتیب: ۱ دقیقه و دمای ۹۳، ۱ دقیقه و دمای ۴۰، ۱/۵ دقیقه و دمای ۷۲ درجه سانتیگراد. نوارهای DNA-ی تولید شده با استفاده از الکتروفورز ژل آگاروز ۱/۵ درصد با بافر ۱X جدا و توسط اتیدیوم بروماید رنگ آمیزی شدند. ژل رنگ آمیزی شده زیر پرتو ماوراء بنفش مشاهده و توسط ترانسیلومیناتور ماوراء بنفش (UVP, USA) عکس‌برداری شدند. اعداد ۱ و ۰ در تصویر ژل، برای حضور و عدم حضور نوارها قرار داده شدند. تعداد و درصد نوارهای چندشکل برای هر آغازگر و همچنین فاصله ژنتیکی بین جمعیت‌ها بر اساس ماتریس فاصله ژنتیکی Nei (۱۹۷۳) محاسبه گردید. میزان شباهت ژنتیکی بین جمعیت‌های مورد مطالعه بر اساس دندروگرام UPGMA (Unweighted Pair-Group Method with Arithmetical Averages) مبتنی بر ماتریس فاصله ژنتیکی Nei بررسی شد.

### نتایج

فقط نیمی از ۱۰ آغازگر آزمایش شده، نوارهای چندشکل، واضح و قابل نمره‌دهی را تولید کردند (شکل ۲). به منظور اطمینان از تکرارپذیری نوارهای تولید شده، (PCR) برای نمونه‌های مورد مطالعه با این پنج آغازگر به تعداد ۳ بار تکرار شدند و الگوی نواربندی حاصل در هر تکرار یکسان بود که تأیید کننده تکرارپذیری الگوهای مذکور بود.



شکل ۲- نواربندی RAPD جمعیت‌های اسپرس زراعی تولید شده توسط آغازگرهای ۱ (الف) و ۲ (ب)

کمترین آنها مربوط به آغازگرهای شماره ۲، ۳ و ۵ هر کدام با ۲ (۱۶/۷٪) نوار چندشکل بود (جدول ۲). طول نوارهای چندشکل مذکور از ۳۰۰ تا ۲۸۰۰ متغیر بود.

این پنج آغازگر در مجموع ۱۲ نوار چندشکل را تولید کردند، بیشترین نوار چندشکل مربوط به آغازگرهای شماره ۱ و ۲ هر کدام با تعداد ۳ (۲۵٪) نوار چندشکل و

جدول ۲- توالی نوکلئوتیدی آغازگرها، تعداد و درصد نوارهای چند شکل تولید شده در پنج جمعیت اسپرس زراعی

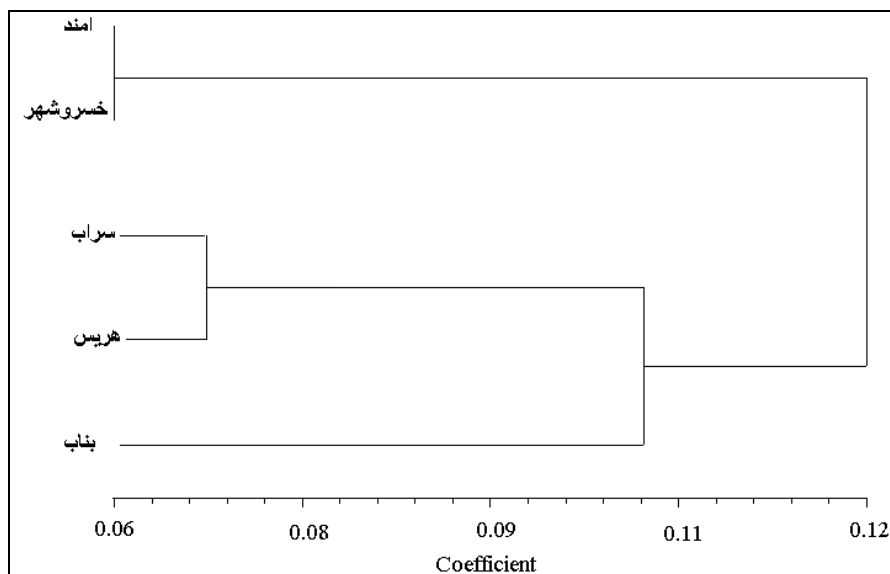
| کد آغازگر | توالی<br>(5' to 3') | تعداد نوارهای<br>چند شکل | درصد نوارهای<br>چندشکل |
|-----------|---------------------|--------------------------|------------------------|
| ۱         | TGGTCGAGA           | ۹                        | ۲۶/۵                   |
| ۲         | GGACACCACT          | ۸                        | ۲۳/۵                   |
| ۳         | CCACACTACC          | ۶                        | ۱۷/۷                   |
| ۴         | TGAGCCTCAC          | ۶                        | ۱۷/۷                   |
| ۵         | CCGAACACGG          | ۵                        | ۱۴/۷                   |

مبتنی بر فاصله ژنتیکی نی است، جمعیت‌های امند و خسروشهر با داشتن بیشترین شباهت ژنتیکی در یک خوشه قرار گرفتند و دو جمعیت سراب و هریس در خوشه دیگر واقع شدند، در حالی که جمعیت بناب به علت داشتن کمترین شباهت ژنتیکی به جمعیت‌های فوق در شاخه‌ای جداگانه قرار گرفته است (شکل ۳).

ماتریس فاصله ژنتیکی محاسبه شده بر اساس فاصله Nei بین پنج جمعیت اسپرس مورد مطالعه در جدول ۳ نشان داده شده است. بیشترین فاصله ژنتیکی، ۰/۴۹۰۴، بین جمعیت‌های بناب و هریس و کمترین فاصله، ۰/۰۵۷۲، بین دو جمعیت امند و خسروشهر، و در مرحله بعدی، ۰/۰۸۷۰، بین جمعیت‌های هریس و سراب و همچنین بین هریس و امند دیده شد. در روی (UPGMA dendrogram) که

جدول ۳- ماتریس فاصله ژنتیکی نی بین پنج جمعیت مطالعه شده اسپرس زراعی

| نام جمعیت | امند   | بناب   | سراب   | خسروشهر | هریس |
|-----------|--------|--------|--------|---------|------|
| امند      | ۰      |        |        |         |      |
| بناب      | ۰/۳۸۵۱ | ۰      |        |         |      |
| سراب      | ۰/۱۱۷۸ | ۰/۳۸۵۱ | ۰      |         |      |
| خسروشهر   | ۰/۰۵۷۲ | ۰/۳۳۶۳ | ۰/۱۱۷۸ | ۰       |      |
| هریس      | ۰/۰۸۷۰ | ۰/۴۹۰۴ | ۰/۰۸۷۰ | ۰/۱۴۹۵  | ۰    |
| میانگین   | ۰/۲۲۱۳ |        |        |         |      |



شکل ۳- دندروگرام UPGMA نشان‌دهنده شباهت ژنتیکی بین پنج جمعیت اسپرس زراعی

### بحث و نتیجه‌گیری

شباهت ژنتیکی بسیار بالا بین دو جمعیت سراب و هریس و قرار گرفتن این دو جمعیت در یک خوشه در دندروگرام UPGMA را می‌توان به شرایط اکولوژیک مشابه حاکم بر این دو جمعیت ارتباط داد. این دو جمعیت در مناطقی که دارای ارتفاع بیشتر از سطح دریا و اقلیم سرد هستند، رویش دارند. هرچند این دو جمعیت دارای کمترین فاصله جغرافیایی هستند، ولی وجود موانع طبیعی مانند ارتفاعات بلند، امکان شارش ژنی و همچنین مهاجرت دانه

گرفته و بذری بین این دو جمعیت را کاملاً کاهش می‌دهد. همچنین، شباهت ژنتیکی بین جمعیت‌های امند و خسروشهر را می‌توان ناشی از سازش به شرایط محیطی مشابه مثل وجود خاک‌های نسبتاً شور و آب و هوایی نسبتاً گرم تفسیر کرد. از طرف دیگر، شباهت ژنتیکی کم جمعیت بناب با بقیه جمعیت‌های مورد بررسی را می‌توان در مرحله اول به شرایط اکولوژیک متفاوت و در مرحله بعدی به فاصله جغرافیایی بسیار دور جمعیت بناب از بقیه جمعیت‌ها ارتباط داد، زیرا جمعیت بناب از نظر جغرافیایی کاملاً از بقیه

مشابه، مطالعه بر روی جمعیت‌های مختلف جو وحشی (*Hordeum spontaneum*) از اقلیم‌های گرم و استپی با استفاده از نشانگرهای RAPD نشان داده است که رابطه معنی‌داری مثبت بین شباهت ژنتیکی و شرایط محیطی برقرار است، ولی چنین رابطه‌ای بین شباهت ژنتیکی و فاصله جغرافیایی دیده نمی‌شود (Nevo et al., 1998). بررسی بر روی جمعیت‌های مختلف گندم وحشی (*Triticum dicoccoides*) بر اساس نشانگرهای RAPD نشان می‌دهد که جمعیت‌هایی که در اقلیم‌های مشابه و شرایط خاکی یکسان رویش دارند، بیشترین شباهت ژنتیکی را با همدیگر دارند، در حالی که در این مطالعه جمعیت‌هایی که از نظر جغرافیایی نزدیک بودند، شباهت ژنتیکی با یکدیگر نشان نداده‌اند (Fahima et al., 1999). همچنین استفاده از دیگر نشانگرهای مولکولی، نظیر آلوزیم‌ها (Nevo et al., 1979; Nevo, 1988; Nevo et al., 1991) و ریزماهوره‌ها (Li et al., 2000) در بررسی جمعیت‌های مختلف گونه‌های گیاهی رابطه مثبت بین میزان شباهت ژنتیکی و شرایط محیطی و اکولوژیک نظیر اقلیم، ارتفاع از سطح دریا و شرایط خاکی گزارش شده است. Alpert و همکاران (۱۹۹۳) در جمعیت‌های مختلف گونه‌ای از توت‌فرنگی وحشی به نام *Fragaria chiloensis* نشان دادند که شباهت ژنتیکی جمعیت‌ها با میزان فاصله جغرافیایی بین آنها کاملاً همبستگی دارد؛ بدین نحو که جمعیت‌هایی که دارای فاصله جغرافیایی کم هستند، بیشترین شباهت ژنتیکی به همدیگر نشان دادند. در دو مطالعه جداگانه بر روی جمعیت‌های مختلف گیاه برنج با استفاده از نشانگرهای ISSR (Inter Simple Sequence Repeats) و RAPD ارتباط معنی‌داری بین فاصله جغرافیایی و شباهت ژنتیکی (He et al., 2004) و همچنین

جمعیت‌ها دور است و همچنین به خاطر رویش در خاک‌های کاملاً شور از بقیه جمعیت‌ها متفاوت است. بنابراین، می‌توان گفت که بین میزان شباهت ژنتیکی و شرایط اکولوژیک حاکم در جمعیت‌های مورد مطالعه اسپرس زراعی رابطه‌ای مثبت وجود دارد. از نظر تأثیر عرض جغرافیایی بر میزان شباهت ژنتیکی بین جمعیت‌های مطالعه شده، داده‌های ما هم رابطه مثبت و هم رابطه منفی نشان می‌دهند؛ بدین صورت که جمعیت بناب که از نظر عرض جغرافیایی از سایر جمعیت‌ها دور است، از نظر میزان شباهت ژنتیکی نیز از بقیه جمعیت‌ها متفاوت است، در حالی که این رابطه در بقیه جمعیت‌ها صادق نیست، به طوری که دو جمعیت امند و هریس که نزدیکترین عرض جغرافیایی را به همدیگر دارند، کمترین شباهت ژنتیکی را نشان می‌دهند. همچنین بین دو جمعیت سراب و خسروشهر که حدوداً در عرض جغرافیایی یکسانی قرار دارند، شباهت ژنتیکی دیده نمی‌شود. نتایج ما در خصوص رابطه عرض جغرافیایی و شباهت ژنتیکی با نتایج حاصل از مطالعه ای که بر روی جمعیت‌های گیاهی سویا (*Glycine soja*) انجام گرفته است، تا حدودی مطابقت نشان می‌دهد. مطالعه بر روی جمعیت‌های مختلف این گونه نشان داده است که شباهت ژنتیکی بین جمعیت‌هایی که دارای عرض جغرافیایی مشابه‌اند، بیشتر است (Kiang and Chiang, 1990). همچنین نتایج ما با یافته‌های مطالعاتی که بر روی تأثیر فاصله جغرافیایی و شرایط اکولوژیک بر روی میزان شباهت ژنتیکی جمعیت‌های مختلف گونه‌های گیاهی انجام شده است، مطابقت نشان می‌دهد. در جمعیت‌های مختلف ژنتیکی مبتنی بر RAPD و شرایط اکولوژیک حاکم نظیر اقلیم گزارش شده است (Nianxi et al., 2006). به طور

وجود همبستگی مثبت بین میزان شباهت ژنتیکی و فاصله جغرافیایی را زیر سؤال برده‌اند. برای مثال، بررسی‌های مبتنی بر ایزوزایم‌ها در جمعیت‌های مختلف گونه‌ای از کاج به نام *Pinus massoniana* (Huang et al., 1997) و شاه بلوط (*Castanea mollissima*) (Lang and Huang, 1999) نشان داده‌اند که رابطه‌ای بین شباهت ژنتیکی و فاصله جغرافیایی وجود ندارد.

نتایج حاصل از این مطالعه بر روی جمعیت‌های وحشی اسپرس زراعی نشان می‌دهند که جمعیت‌هایی که در شرایط اکولوژیک مشابه رویش دارند (اکوتیپ‌های مشابه) و همچنین جمعیت‌هایی که فاصله جغرافیایی نزدیکی با همدیگر دارند، دارای شباهت‌های ژنتیکی بیشتری هستند. بر اساس یافته‌های این مطالعه می‌توان گفت که با استفاده از DNA-توده‌ای، نشانگرهای RAPD قابلیت شناسایی اکوتیپ‌های مختلف گونه‌های کاشته شده را دارند.

بین شباهت اکولوژیک و شباهت ژنتیکی دیده شده است (Liu et al., 2005)؛ بدین صورت که با نزدیک بودن فاصله جغرافیایی و مشابه بودن شرایط اکولوژیک جمعیت‌ها، میزان شباهت ژنتیکی آنها بیشتر بود. به طور مشابه، مطالعه بر روی شباهت ژنتیکی جمعیت‌های مختلف برنج از مناطق جغرافیایی دور و کشورهای مختلف با استفاده از نشانگرهای ریزماهوره نشان می‌دهد که اختلاف ژنتیکی بین جمعیت‌های کشورهای مختلف نسبت به میزان اختلاف ژنتیکی بین جمعیت‌های درون یک کشور، یا جمعیت‌های مناطق نزدیک به هم با اقلیم مشابه، بسیار بیشتر است (Wang et al., 2005). با وجود گزارش‌های فراوان که تأیید کننده همبستگی شباهت ژنتیکی با شباهت اکولوژیک و نزدیکی جغرافیایی هستند، تعدادی از مطالعات دیگر که با استفاده از نشانگرهای مختلف بر روی جمعیت‌های گونه‌های مختلف گیاهی انجام گرفته‌اند،

## منابع

- Alpert, P., Lumaret, R. and Giusto, F. D. (1993) Population structure inferred from allozyme analysis in the clonal herb *Fragaria obiloensis* (Rosaceae). *American Journal of Botany* 80: 1002-1006.
- Bussell, J. D. (1999) The distribution of random amplified polymorphic DNA (RAPD) diversity amongst populations of *Isotoma petraea* (Lobeliaceae). *Molecular Ecology* 8: 775-789
- Fahima, T., Sun, G. L., Beharav, A., Krugman, T., Beiles, A. and Nevo, E. (1999) RAPD polymorphism of wild emmer wheat populations, *Triticum dicoccoides*. *Theoretical and Applied Genetics* 98: 434-447.
- Hamrick, J. L. and Godt, M. J. W. (1989) Allozyme diversity in plant species, In: *Plant population genetics, breeding and genetic resources* (eds. Brown, A. H. D., Clegg, M. T., Kahler, A. L. and Weir, B. S.) 43- 63. Sinauer Associates, Sunderland, MA.
- Hamrick, J. L. and Godt, M. J. W. (1996) Effects of life history traits on genetic diversity in plant species. *Philosophical Transaction of the Royal Society of London B Series: Biological Science* 351: 1292-1298.
- He, H. Q., Jia, X. L., Liang, Y. Y., Shen, L. H., Song, B. Q., Guo, Y. C., Liang, K. J. and Lin, W. X. (2004) Assessment of genetic diversity of allelopathic rice germplasm based on RAPD and SSR. *Acta Genetica Sinica* 31: 888-894.
- Hollingsworth, P. M., Bateman, R. M. and Gornall, R. J. (1999) *Molecular Systematics and Plant Evolution*, Taylor and Francis, London.
- Huang, Q. Q., Zhang, Y. X., Liao, M. and Wang, L. H. (1997) The linkage relationship and genetic linkage map among isozyme gene loci of *Pinus massoniana*. *Guizhou Forestry Science and Technology* 25: 1-7.
- Kiang, Y. T. and Chiang, Y. C. (1990) Comparing



- differentiation of wild soybean (*Glycine soja* Sieb. and Zucc.) populations based on isozymes and quantitative traits. *Botanical Bulletin of Academia Sinica* 31: 129-142.
- Koivisto, J. M. and Lane, G. P. F. (2001) Sainfoin, worth another look. School of Agriculture, Royal Agricultural College, London.
- Lang, P. and Huang, H. W. (1999) Genetic diversity and geographic variation in natural populations of the endemic *castanea* species in China. *Acta Botanica Sinica* 41: 651-657.
- Li, Y. C., Roder, M. S., Fahima, T., Kirzhner, V. M., Beiles, A., Korol, A. B. and Nevo, E. (2000) Natural selection causing microsatellite divergence in wild emmer wheat at the ecological variable microsite at Ammiad. *Theoretical and Applied Genetics* 100: 985-999.
- Liu, X. H., Liu, W. X., Zhang, Y. R., Liu, Z. X., Zhang, S. K. and Dai, J. R. (2005) Genetic relationship among several maize inbreds revealed by SSR markers. *Molecular Plant Breeding* 3: 179-187.
- Madden, D. (2002) Illuminating DNA: National Centre for Biotechnology Education, University of Reading, UK. Retrieved from <http://www.ncbe.reading.ac.uk>. On: 4 May 2010.
- Miller, D. A. and Hoveland, C. S. (1995) Other temperate legumes. In: An introduction to grassland agriculture (eds. Barnes, R. F., Miller, D. A. and Nelson, C. J.) 273- 281. Iowa State University Press. Iowa.
- Nei, M. (1973) Analysis of gene diversity in subdivided populations. *Proceedings of the National Academy of Science of USA* 70: 3321-3323.
- Nevo, E. (1988) Genetic diversity in nature: patterns and theory. *Evolutionary Biology* 23: 217-246.
- Nevo, E., Zohary, D., Brown, A. H. D. and Haber, M. (1979) Genetic diversity and environmental associations of wild barley, *Hordeum spontaneum*. *Evolution* 33: 815-833.
- Nevo, E., Baum, B., Beiles, A., Johnson, D. A. (1998) Ecological correlates of RAPD DNA diversity of wild barley, *Hordeum spontaneum*, in the Fertile Crescent. *Genetic Resources and Crop Evolution* 45: 151-159.
- Nevo, E., Noy-Meir, I., Beiles, A. (1991) Natural selection of allozyme polymorphism: micro-geographical spatial and temporal ecological differentiation in wild emmer wheat. *Israel Journal Botany* 40: 419-450.
- Nei, M. (1973) Analysis of gene diversity in subdivided populations. *Proceedings of the National Academy of Sciences, Philadelphia, USA* 70: 3321-3323.
- Nianxi, Z., Yubao, G., Jinlong, W., Anzhi, R., and Hua, X. (2006) RAPD diversity of *Stipa grandis* populations and its relationship with some ecological factors. *Acta Ecological Sinaica* 26: 1312-1319.
- Nybom, H. (1999) Population genetic structure in the dioecious pioneer plant species *Hippochaeris rhamnoides* investigated by RAPD markers. *Molecular Ecology* 8: 791-802.
- Nybom, H. and Bartish, I. V. (2000) Effects of life history traits and sampling strategies on genetic diversity estimates obtained with RAPD markers in plants. *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics* 3: 293-114.
- Prevost, D., Bordeleau, L. M. and Antoun, H. (1987) Symbiotic effectiveness on indigenous arctic rhizobia on temperate forage legume sainfoin (*Onobrychis viciifolia*). *Plant and Soil* 104: 63-69.
- Rechinger, K. H. (1984) *Flora Iranica*. Vol. 157. Natural History Museum, Vienna, Austria.
- Smartt, J. (1981) Evolving gene pools in crop plants. *Euphytica* 30: 415-418.
- Turpeinen, T., Tenhola, T., Manninen, O., Nevo E. and Nissila E. (2001) Microsatellite diversity associated with ecological factors in *Hordeum spontaneum* populations. *Molecular Ecology* 10: 1577-1582.
- Van Valen, L. (1965) Morphological variation and width of ecological niche. *American Naturalist* 99: 377-390.
- Volis, S., Yakubov, B., Shulgina, I., Ward, D., Zur, V., and Nedlinge, S. (2001) Tests for

adaptive RAPD variation in population genetic structure of wild barley, *Hordeum spontaneum* Koch. Biological Journal of Linnaean Society 74: 289-303.

Wang, J. H., Luo, W. S., Chen, J. W., Liu, Y. F., Wu, Q. H. and Li, X. F. (2005) Genetic diversity in cultivated fragrance rice varieties revealed by SSR and ISSR markers. Molecular Plant Breeding 3: 37- 42.

Williams, J. G. K., Kubelik, A. R., Livak, K. J., Rafalski, J. A. and Tingey, S. V. (1990) DNA polymorphism amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. Nucleic Acids Research 18: 6331-6535.

## A study of the relationship between eco-geographical factors and genetic similarity in different populations of *Onobrychis viciifolia* using RAPDs

Houshang Nosrati <sup>\*1</sup>, Mohammad Ali Hosseinpour Feizi <sup>1</sup>, Sona Seyed Tarrah  
and Ahmad Razban Haghghi <sup>2</sup>

<sup>1</sup> Department of Plant Science, Faculty of Natural Sciences, University of Tabriz, Tabriz, Iran

<sup>2</sup> Research Center for Agriculture and Natural Resources, Tabriz, Iran

### Abstract

The effect of ecogeographical factors on genetic similarity was investigated among five populations of *Onobrychis viciifolia* (sainfoin, Fabaceae) in East-Azərbayjan, Iran using RAPDs and bulked DNA. A number of 10 individual plants were randomly selected from each population. A number of 10 primers were tested, among which five producing the maximum numbers of clear and reproducible bands were selected. RAPD patterns were repeated three times for each primer to ascertain the reproducibility. The genetic distance between populations was measured based on Nei's Genetic distance, and the genetic similarity among the populations was assessed using UPGMA dendrogram based on Nei's distance matrix. The five primers produced a total of 12 polymorphic bands. The percentage of the bands produced by each primers ranged from 16.7% to 25%. The largest and shortest genetic distances were detected between Bonab and Heris (0.4904) and Amand and Khosroshahr (0.0572), respectively. On the UPGMA dendrogram, two populations of Sarab and Heris were nested within one cluster, and Amand and Khosroshahr in another cluster, while Bonab was completely separated from all other populations. The similarity between these pairs of populations could be attributed to the ecological similarity, because Bonab and Heris populations were distributed in regions with high altitude with cold climate, while Amand and Khosroshahr populations grew on salinity soils with warm climate. Separation of Bonab population from all others could be due to growing on the high saline soils and also being geographically very distant. Our results showed that RAPDs were capable to detect ecotypes of Sainfoin, and that they were affected by ecological factors.

**Key words:** Fabaceae, Bulked DNA, Latitude, Genetic distance, Sainfoin

---

\* Correspong Author: hnosrati@tabrizu.ac.ir