

التنوع الوراثي لطرز من الشعير المزروع *Hordeum vulgare* L. في سورية باستخدام واسمات SSR

رنا عبدالله منوخ⁽¹⁾، حسن عزام⁽²⁾، شاهيناز عباس⁽³⁾

الملخص

هدف البحث إلى تقييم التنوع الوراثي ودراسة درجة القرابة الوراثية بين 16 طرازاً وراثياً من الشعير المزروع (*Hordeum vulgare* L) (أصناف معتمدة، سلالات جديدة) باستخدام مؤشرات SSR. استخدم 32 زوجاً من بادئات المقاطع القصيرة المتكررة SSR، وتبين أن 5 منها لم تعط تعددية شكلية، بينما استخدم الـ 27 زوجاً المتبقية في تقييم التنوع الوراثي، وأنتجت ما مجموعه 126 قريناً أي بمعدل 4.66 قريناً لكل موقع وراثي. كما تراوحت عدد القرائن لكل موقع وراثي بين قرينين و 11 قريناً. أما قيمة معامل التعددية الشكلية (PIC) فقد تراوحت بين 0.21 و 0.88. وكانت أكثر البادئات قدرة على التمييز بين الطرز الوراثية هي scssr07970، scssr10148، Bmag0125، scssr03907. أما قيمة التنوع المورثي فقد تراوحت بين 0.23 و 0.89. وقد توزعت الطرز المدروسة في شجرة القرابة الوراثية التي أنشئت اعتماداً على نتائج الـ SSR إلى ثلاثة عناقيد. وجدت أعلى درجة قرابة وراثية بين السلالة³⁹ والسلالة³⁸ وقد أظهرت مؤشرات SSR قدرة عالية على التمييز بين الطرز الوراثية المدروسة من الشعير.

الكلمات المفتاحية: الشعير، مؤشرات SSR، التنوع الوراثي، القرابة الوراثية، سورية.

(1) طالبة دكتوراه، (2) أستاذ، قسم المحاصيل الحقلية، كلية الزراعة، جامعة دمشق، سورية.

(3) باحث، الهيئة العامة للبحوث العلمية الزراعية، سورية

The genetic diversity in some syrian *Hordeum vulgare* L. genotypes using SSR markers

Monawekh, R.⁽¹⁾, H. Azzam⁽²⁾, and Sh. Abbas⁽³⁾

Abstract

The research aimed to evaluate the genetic diversity and the genetic relationship between 16 *Hordeum vulgare* genotypes (varieties and new lines), using SSR markers. 32 primer pairs were used in the analysis, five of them amplified primers monomorphic alleles, while the remaining primers detected different alleles. A total of 126 polymorphic alleles were revealed by the 27 primer pairs. The number of different alleles detected on a locus ranged from 2 to 11 with a mean of 4.66 alleles per locus. The polymorphic information content (PIC) values ranged from 0.21 to 0.88 with a mean value of 0.49, and the gene diversity ranged from 0.23 to 0.89 with a mean value of 0.53. The dendrogram was established using SSR data clustered into three major groups. The smallest genetic relationship was observed between line₃₉ and line₃₈. The results proved the efficiency of SSR markers in the estimation of genetic diversity and in the clustering of the barley genotypes in Syria.

Keywords: *Hordeum vulgare*, Genotypes, SSR markers, Genetic diversity, Genetic relationship.

⁽¹⁾ Ph. D., Student, ⁽²⁾ Prof. Agronomy. Dep, Fac. Agric., Univ. Damascus, Syria.

⁽³⁾ Researcher, General Commission for Scientific Agricultural Researches, Syria.

المقدمة

يحتل الشعير المرتبة الرابعة ضمن لائحة المحاصيل الحبية في العالم، ويأتي من حيث الأهمية الاقتصادية بعد القمح، والرز، والذرة الصفراء. وقُدِّرت المساحة المزروعة بمحصول الشعير عالمياً بـ 48,603,576 هكتاراً، ووصل الإنتاج إلى 134,279,415 طناً، بإنتاجية قدرها 2.762 طناً/هكتار¹ (FAO، 2011). يحتل محصول الشعير المرتبة الثانية من حيث الأهمية الاقتصادية بعد القمح في القطر العربي السوري. وقدرت المساحة الإجمالية المزروعة بمحصول الشعير لعام 2011 بـ 1,292,635 هكتاراً والإنتاج بـ 666,764 طناً، والإنتاجية 516 كغ/هكتار¹ (المجموعة الإحصائية الزراعية السنوية، 2011). ويعد الشعير بشكل عام محصولاً غذائياً وعلفياً معاً (Harlan، 1995). حيث يستخدم نحو 85% من إنتاج الشعير عالمياً كعلف للحيوانات، كما يستخدم تبن الشعير في دول غرب آسيا وشمال أفريقيا، وإثيوبيا، وإريتريا، واليمن، والشرق الأقصى كمادة علفية، ويستخدم في إعداد فرشات الحيوانات. ويمكن أن يستخدم كعلف أخضر للحيوانات، أو تحش النباتات قبل النضج وتستخدم في تصنيع السيلاج (Baum وزملاؤه، 2004). وتستخدم حبوب الشعير في صناعة المولت، والاستهلاك الغذائي، وإنتاج النشاء، وبعض الصناعات الكيميائية (Fischbeck، 2002). وقد شهدت السنوات العشر الأخيرة تقدماً كبيراً في مجال التقانات الحيوية التي تهتم بدراسة التنوع الوراثي للنباتات في العالم، وأهم هذه التقانات: RAPD، AFLP، SSR، التي تعتمد على التفاعل المتسلسل للبوليميراز PCR (Matus و Hayes، 2002؛ Ozkan وزملاؤه، 2005؛ Feng وزملاؤه، 2006). وتعد مؤشرات المقاطع القصيرة المتكررة (SSR) من المؤشرات الجزيئية الهامة جداً والواسعة الانتشار حالياً. تتكون هذه المؤشرات من تسلسلات صغيرة متكررة، تسمى وحدات متكررة تتوافر بكثرة في مجينات حقيقيات النوى، وتتنوع على جميع الصبغيات سواء في المناطق المشفرة أم غير المشفرة (Powell وزملاؤه، 1996). وتختلف مؤشرات المقاطع القصيرة المتكررة فيما بينها من حيث أماكن وجودها ضمن المجين وعدد الوحدات المتكررة المكونة لها، ونوعية نيوكليوتيدات الوحدات المتكررة، بالإضافة إلى ذلك تتميز هذه المؤشرات بارتفاع مستوى التباينات التي تكشفها مقارنة بعدد من التقانات الأخرى (Chaabane وزملاؤه، 2009)، وكذلك بسهولة تطبيقها وتحليل نتائجها (Matus و Hayes، 2002). استخدمت هذه المؤشرات في العديد من الدراسات ذات الأهداف المختلفة مثل إنشاء خرائط الارتباط الوراثية لعدد من الصفات الهامة (عباس، 2009)، وفي دراسة التنوع الوراثي (التمو، 2013)، وكذلك في التمييز بين الأنواع وتوضيح العلاقات التطورية وتصنيف المجموعات الوراثية (Feng وزملاؤه، 2006). واستخدمت شومان وزملاؤها (2007) مؤشرات المقاطع القصيرة المتكررة (SSR) لدراسة التنوع الوراثي للشعير في اليمن لدى 135 مدخلاً من الشعير، جمعت من

مناطق جغرافية مختلفة (11 محافظة) وذلك باستخدام 25 زوجاً من بادئات المقاطع القصيرة المتكررة (SSR)، كان العدد الكلي للقارئ مع كافة البادئات هو 308 قرين، تباينت البادئات في عدد القرائن وتراوحت بين 5 إلى 41 قريناً، أي بمعدل 12.3 قريناً/ للموقع وراثي، كما تمت ملاحظة 28 قريناً شائعاً. وكانت نسبة التعددية الشكلية 90.9%، كما تراوحت قيم معامل التعددية الشكلية PIC للمدخلات كافة بين 0.24 و 0.96، كما تباينت المناطق في قيم التنوع المورثي بين 0.48-0.72. وفي دراسة أجراها Chaabane وزملاؤه (2009) لتقدير التنوع الوراثي للشعير في تونس باستخدام مؤشرات المقاطع القصيرة المتكررة (SSR)، هدفت إلى توصيف 6 أصناف و 6 سلالات محلية من الشعير من مناطق زراعة مختلفة من تونس، استخدم 18 زوجاً من بادئات SSR، وقد كشفت 11 موقعاً وراثياً فقط تعددية شكلية واضحة وقد أنتجت هذه البادئات 31 قريناً وتراوح عدد القرائن لكل موقع وراثي بين 1 و 5 قرائن وبمعدل 2.8 قريناً لكل موقع وراثي بينما تراوحت قيمة معامل التعددية الشكلية PIC من 0.28 إلى 0.6. وفي دراسة نفذها Karim وزملاؤه (2009) للتنوع الوراثي على 12 مدخل من الشعير الذي جمع من مناطق مختلفة من تونس بالإضافة لنوعين مزروعين باستخدام 15 موقعاً وراثياً SSR، أعطت هذه البادئات ما مجموعه 43 قريناً منها 39 قريناً متعدداً شكلياً أي بنسبة 90.7%، وتراوح عدد القرائن الناتجة عن كل موقع وراثي بين 2 و 4 قرائن أي بمعدل 2.87 قرين لكل موقع وراثي وتراوحت قيمة معامل التعددية الشكلية PIC للبادئات من 0.13 إلى 0.97 وبمتوسط 0.53. كما استخدم Abebe (2010) خمسة عشر موقعاً وراثياً من بادئات SSR لتحليل 199 سلالة من الشعير التي جمعت من 10 مناطق إدارية مختلفة من أثيوبيا بالإضافة لأربعة أصناف محلية، أنتجت هذه البادئات 58 قريناً وتراوح عدد القرائن من 2 إلى 7 قرائن وبمعدل 3.86 قريناً لكل موقع، بينما تراوحت قيمة معامل التعددية الشكلية بين 0.03 إلى 0.7 وبمتوسط 0.43. كما درس Bolouri-Moghadam وزملاؤه (2011) التنوع الوراثي في 7 أصناف من الشعير المزروع باستخدام مؤشرات SSR، استخدم فيها 10 بادئات نتج عنها 65 قريناً لجميع الطرز الوراثية وتراوح عدد القرائن الناتجة بين 7 إلى 13 قريناً وبمتوسط 9.28 قريناً لكل موقع وراثي، بينما تراوحت قيمة معامل التعددية الشكلية من 0.8 إلى 0.88 وبمتوسط 0.84. وأظهرت نتائج القدرة العالية لمؤشرات SSR على كشف التباينات على مستوى الموقع الواحد وبذلك يمكن استخدامها لكشف التشابه الوراثي وتجميع طرز الشعير في عناقيد.

هدف البحث: تقييم التنوع الوراثي ودرجة القرابة الوراثية بين مجموعة من طرز الشعير الوراثية باستخدام مؤشرات المقاطع القصيرة المتكررة (SSR).

مواد البحث وطرائقه

مكان تنفيذ البحث: نفذ البحث في مخابر الهيئة العامة للتقانة الحيوية للعام 2012-2013. المادة النباتية: استخدم 16 طرازاً وراثياً (أصناف محلية معتمدة، وسلالات جديدة) من الشعير المزروع *Hordeum vulgare L.*، تم الحصول على بذور الأصناف المعتمدة من الهيئة العامة للبحوث العلمية الزراعية (GCSAR)، أما السلالات الجديدة فقد تم الحصول عليها من المركز الدولي للبحوث الزراعية في المناطق الجافة (جدول 1).

فترات 4 ات 4 (سداسي الصف): صنف محلي معتمد للزراعة في منطقة الاستقرار الثانية، متوسط طول النبات 75سم، متوسط عدد الأيام حتى الإنبال 127 يوماً، وحتى النضج التام 168 يوماً، الحبوب بيضاء، متوسط وزن الألف حبة 42.53غ، متوسط نسبة البروتين في الحبوب 10.1%، متوسط إنتاجيته 3250 كغ/هـ، مقاوم للأمراض والرقاد، (تقرير الاعتماد لسلالة الشعير فرات B3717، البحوث العلمية الزراعية، 2003).

فترات 5 5 (سداسي الصف): صنف محلي معتمد للزراعة في منطقة الاستقرار الثالثة، متوسط طول النبات 63 سم، متوسط عدد الأيام حتى الإنبال 127 يوماً، وحتى النضج التام 171 يوماً، متوسط وزن الألف حبة 43غ، متوسط نسبة البروتين في الحبوب 12.1%، متوسط إنتاجيته 2030 كغ/هـ، مقاوم للأمراض والرقاد، (تقرير الاعتماد لأصناف الشعير، البحوث العلمية الزراعية، 1990).

الجدول (1) سلالات الشعير المستخدمة في هذه الدراسة ونسبها.

التسلسل	الاسم المستخدم في الدراسة	النسب
3	Hma-02//11012-2/CM67/3/Alanda/5/Rhn03// Lignee527/NK1272/4/Lignee527/Chn01/3/Alanda	سلالة 13
4	Arta/KEEL	سلالة 16
5	Arta/KEEL	سلالة 20
6	Moroc9-75/Hml-02/3/ER/Apm//Akrash	سلالة 25
7	Rhn/Bc/Coho/3/DeirAlla106//Api/EB89-8-2-15-4/4/Fassa-01	سلالة 28
8	Clipper/Volla/3/Arr/Esp//Alger/Ceres362-1-4/Hml	سلالة 35
9	Soufara-02/3/RM1508/Por//W12269/4/Hml-02/ArabiAbiad//ER/Apm	سلالة 38
10	Soufara-02/3/RM1508/Por//W12269/4/Hml-02/ArabiAbiad//ER/Apm	سلالة 39
11	Lignee527/NK1272/3/Nacha2//Lignee640/Hma-01	سلالة 45
12	Lignee527/NK1272/3/Nacha2//Lignee640/Hma-01	سلالة 49
13	Cr115/por//Bc/3/Api/CM67/Giza120/5/H272/Bgs/3/Mzq/Gv//P1002917/6/Alanda-01/4/W12291	سلالة 51
14	Rihane-03/3/As46/Aths*2//Aths/Lignee686	سلالة 56
15	Rihane-03/3/As46/Aths*2//Aths/Lignee686	سلالة 57
16	Rihane-03/3/As46/Aths*2//Aths/Lignee686	سلالة 62

استخلاص الحمض النووي الريبسي منقوص الأوكسجين الدنا (DNA): تم استخلاص الدنا من أوراق فتيية خضراء بعمر 10-15 يوم بطريقة CTAB المعدلة عن طريقة Murray و Thompson (1980)، وقدرت كمية الحمض النووي DNA المستخلصة بواسطة مقياس الطيف الضوئي (UV Spectrophotometer) حيث تم تقدير مدى امتصاص الـ DNA للأشعة فوق البنفسجية عند طول موجة 260 نانو متر، واختبرت نوعيته على هلامة ذات تركيز 1% من الأغاروز، وتم تخفيف تركيز الحمض النووي لكافة العينات إلى 50 نانوغرام من الـ الدنا /الميكروليتر.

التفاعل التسلسلي للبوليميراز (PCR): تم مكاثرة الحمض النووي DNA باستخدام 32 زوج من بادئات المقاطع القصيرة المتكررة (SSR) الموضحة في الجدول (2). أجري التفاعل في حجم نهائي قدره 25 ميكروليتر، حيث استخدم 200-250 نانوغرام من الـ DNA و 12.5 ميكروليتر من GoTaq Green Master Mix من شركة (Promega) و $0.25\mu\text{M}$ من كلا البادئتين وأكمل الحجم إلى 25 ميكروليتر بإضافة الماء المقطر، ثم أجريت عملية مكاثرة الجزيئات بجهاز التدوير الحراري APOLLO Thermocycler (USA) وفق البرنامج الحراري التالي: دورة واحدة بدرجة حرارة 94 م° لمدة 5 دقائق، ثم 30 دورة تتكون كل منها من 3 مراحل: مرحلة الفصل على درجة حرارة 94 م° ولمدة 30 ثانية، مرحلة التحام البادئات بالـ DNA على درجة حرارة 58 أو 60 س° وذلك حسب البادئات المستخدمة لمدة 30 ثانية ومرحلة الاستطالة على درجة حرارة 72 س° ولمدة 30 ثانية. وأخيراً دورة واحدة بدرجة حرارة 72 س° لمدة 10 دقائق (مرحلة الاستطالة النهائية). وضعت بعدها العينات في حرارة -20 س° حتى الاستخدام.

الرحلان الكهربائي وتلوين الهلامة: تم فصل نواتج تفاعل الـ PCR على هلامة بولي أكريلاميد ذات تركيز 8%، واستعمل معلم جزيئي (50 أو 100 pb)، ثم تم تلوين الهلامة وذلك بوضعها في حوض يحوي 200 مل من 0.5X TBE ممزوجاً بـ 20 ميكروليتر من صبغة الإيثيديوم برومايد (50 مغ/مل) وتركت في الحوض لمدة نصف ساعة لإتمام التلوين، ثم تم الكشف عن حزم الدنا وأخذ الصور باستخدام جهاز قارئ الهلامات من نوع cleaver بوجود الأشعة فوق البنفسجية.

الجدول (2) بادئات المقاطع القصيرة المتكررة (SSR) المستخدمة وتسلسلها النكليوتيدي ومواقعها على الصبغيات.

المرجع	درجة الالتحام (س)	الصبغي	التسلسل النكليوتيدي للموقع الوراثي	الموقع وراثي
Ramsay <i>et al.</i> , (2000)	58	2H	F: CTTTTGTTTCCGTAGCATCTA R: ATCCAACATATAGTAGCAAAGCC	Bmag0378
Ramsay <i>et al.</i> , (2000)	55	2H	F: CGGATTCTTGAGTAGTCTCTG R: GATCTGTTTTTGTAGAACATGC	Bmag0749
Struss and Plieske (1998)	60	5H	F: CTGACCCTTTGCTTAAACATGC R: TCAGCGTGACAAACAATAAAGG	GMS0001
Liu <i>et al.</i> , 1996	55	2H	F: AACCCAGTAACACCGTCTCTG R: AGTTCCCTGACCCGATGTC	HVM54
Becker and Heun, 1995	58	5H	F: CAGCATATCCATCTGATCTG R: CACCCTTATTTATTGCCTTAA	HvLOX
Varshney <i>et al.</i> (2007)	58	5H	F: TCATTGGGCTCTTCTACGG R: GCAAACCGGACTAAGTATGC	scssr05939
Varshney <i>et al.</i> (2007)	58	5H	F: TGCCTTGTTTATGTAATATCTTGTG R: GGCGTAAATAAGAGTGTCTTCAG	scssr02306
Varshney <i>et al.</i> (2007)	58	5H	F: CTCCATCACACCATCTGTG R: GACATGGTTCCCTTCTTCTTC	scssr03907
Varshney <i>et al.</i> (2007)	58	7H	F: CCCATGAAGCCTCTTTACG R: GGAACGGAGGGAGTATTAAGC	scssr04056
Varshney <i>et al.</i> (2007)	58	2H	F: GCAACTCCTCATCATCTCAGG R: CAACAGCCAGAAGGTCTACG	scssr07759
Varshney <i>et al.</i> (2007)	58	7H	F: TGCATTGGGAGTGCTAGG R: TGCAAGAAGCCAAGAATACC	scssr07970
Varshney <i>et al.</i> (2007)	58	5H	F: AAGCAGCAAAGCAAAGTACC R: TCATCAGCATCTGATCATCC	scssr10148
Varshney <i>et al.</i> (2007)	58	7H	F: GCATAAACGGGTGTAAGAGC R: CATCCAGTTCAGAGGATAGAGC	scssr15864
Ramsay <i>et al.</i> , (2000)	58	2H	F: CAGCCACCTCCATAGTACTT R: CTGCTCTAGGCTCGTGTT	HvXan
Struss and Plieske (1998)	60	2H	F: TTTCAGCATCACACGAAAGC R: TTGCATGCATGCATACCC	GMS003
Ramsay <i>et al.</i> , (2000)	55	5H	F: GTCGATATAACGCACTTTCA R: ATTCCCTCTAACACACCAAC	EBmac854
Ramsay <i>et al.</i> , (2000)	55	2H	F: AATTAGCGAGAACAATAATCAC R: AGATAACGATGCACCACC	Bmag0125
Ramsay <i>et al.</i> , (2000)	58	2H	F: TAGTCTTTCATTTATACCATCACC R: CATGCTGATCCCCCTTCT	EBmatc0039
Varshney <i>et al.</i> (2006)	58	2H	F: ATAACTCTTCGTGCCGAACC R: ACGTAGACCTCCACCACCTG	GBM1309
Ramsay <i>et al.</i> , (2000)	58	5H	F: TTAGTCACCCTCAACGGT R: CCCCTAACTGCTGTGATG	Bmag0223
Varshney	58	5H	F: CTGCAGACCCTGAAATTGGT	GBM1231

الموقع وراثي	التسلسل النكليوتيدي للموقع الوراثي	الصبغي	درجة الالتحام (س°)	المرجع
	R: GGATCCCCTTTTGACGTGCTA			<i>et al.</i> (2006)
GBM1295	F: GAGCATCCCGTTTGCATAGT R: GTTCGACGGCAGTGATGAGT	5H	58	Varshney <i>et al.</i> (2007)
GBM5008	F: CAGCATCCATCAGCAATGAA R: ATGTTTGGCTTCTTCGTCCA	5H	58	Varshney <i>et al.</i> (2007)
GMS061	F: CACCTGTTCCGTCCCGTC R: AACCTCTTTTTATCCCTCGC	5H	60	Struss and Plieske (1998)
EBmatc0003	F: AATTTTGCAAAGCTGGAGG R: CATTATGGTGGGGTTCATGT	5H	60	Ramsay <i>et al.</i> , (2000)
GBM1463	F: GCTTCTGACCGAGAACGAAC R: CATAGCCAGAGGCCATGAAT	5H	58	Varshney <i>et al.</i> (2006)
HVCMA	F: GCCTCGGTTTTGGACATATAAAG R: GTAAAGCAAATGTTGAGCAACG	7H	58	Becker and Heun (1995)
Bmag0385	F: CTCCACAGAGTCAGAGTTAGA R: CTGACATTAGCTGACTCTCTATC	7H	58	Ramsay <i>et al.</i> , (2000)
Bmac0064	F: CTGCAGGTTTTAGGAAGG R: AGATGCCCGCAAAGAGTT	7H	58	Ramsay <i>et al.</i> , (2000)
Bmag0482b	F: TATATGTCGGGAGAGATCAAG R: ATAGTTTAGCCCTCCACTAGC	7H	55	Ramsay <i>et al.</i> , (2000)
GBM1362	F: CGCCTCCCTCCTTCCTGTA R: CCCTTGTTGTCCTTTCAT	7H	58	Varshney <i>et al.</i> (2007)
HVM11b	F: CCGGTCGGTGCAGAAGAG R: AAATGAAAGCTAAATGGCGATAT	7H	55	Saghai Maroof <i>et al.</i> (1994)

تحليل النتائج: حدد حجم قطع الدنا الناتجة عن تفاعلات PCR بوجود بادئات الـ SSR المختلفة وذلك باستخدام برنامج Total Lab (Ultra· Lum Inc., Claremont, Calif.). ثم حولت النتائج إلى النظام الثنائي (وجود القرين = 1، غياب القرين = 0). كما تم حساب عدد القرائن والتنوع المورثي Gene diversity وقيمة معامل التعددية الشكلية Polymorphism Information Content (PIC) لكل بادئ، كذلك تم حساب مصفوفة البعد الوراثي اعتماداً على معامل (Nei، 1987) واستخدمت هذه المصفوفة في رسم شجرة القرابة الوراثية Dendrogram بتطبيق طريقة متوسطات المجموعات الزوجية غير المزانة UPGMA، باستخدام برنامج Power Marker V3.25 (Liu و Muse، 2005). كما استخدم برنامج (By Roderic DM, Page, Build TREEVIEW V0.5.0 (7600) لإظهار شجرة القرابة الوراثية.

النتائج والمناقشة

تم استخدام 32 زوجاً من بادئات المقاطع القصيرة المتكررة SSR لتقييم التنوع الوراثي ودراسة القرابة الوراثية بين 16 طرازاً وراثياً من الشعير. أعطت جميع أزواج

البادئات المستخدمة منتجات تضخيم في التفاعل التسلسلي للبوليميراز إلا أن 5 منها لم تعط تعددية شكلية (HVM54، HvXan، EBmatc0039، Bmag0385 و Bmag0482b). وبذلك تم استخدام البادئات المتبقية لتقدير التباين الوراثي ودراسة درجة القرابة الوراثية بين هذه الطرز. نجم عن استخدام هذه البادئات 126 قرين وبمعدل 4.66 قريناً على كل موقع. وتراوح عدد القرائن لكل موقع بين قرينين في (EBmatc0003) و 11 قريناً على الموقع (scsr07970). وقد سجلت شومان وزملاؤها (2007) متوسط عدد القرائن 12.3 قريناً لكل موقع وراثي، وسجل Chaabane وزملاؤه (2009) متوسط عدد القرائن 2.8 قريناً لكل موقع وراثي. كما سجل Karim وزملاؤه (2009) متوسط عدد القرائن 2.87 قريناً لكل موقع وراثي، فيما سجل Bolouri-Moghadam وزملاؤه (2011) متوسط عدد القرائن 9.28 قريناً لكل موقع وراثي. ويعود السبب في ذلك لاختلاف الطرز الوراثية ومستوى التنوع الوراثي الذي تحمله والبادئات المستخدمة.

وأظهرت نتائج البحث أن قيمة الـ PIC تراوحت بين 0.21 للموقع وراثي Bmag0749 و 0.88 للموقع وراثي scsr07970 (الجدول 3). وتعد أكثر البادئات قدرة على التمييز بين الطرز الوراثية هي التي أعطت أعلى قيمة للـ PIC وهي scsr07970 (0.88)، في حين كان الموقع الوراثي Bmag0749 أقل البادئات المستخدمة قدرة على كشف التباينات الوراثية بين الطرز المدروسة. هذا وتختلف قيمة الـ PIC في هذه الدراسة عن قيمته في دراسات أخرى وذلك حسب الطرز الوراثية والبادئات المستخدمة. فقد تراوحت قيمة الـ PIC ما بين 0.28 و 0.60 وبمعدل 0.50 لكل موقع وراثي عند توصيف 12 طراز وراثي من الشعير في تونس Chaabane وزملاؤه (2009)، كما تراوحت قيمة الـ PIC ما بين 0.24 و 0.96 في دراسة لتقدير التنوع الوراثي لدى 135 مدخل من الشعير في اليمن (شومان وزملاؤها، 2007)، وتراوحت قيمة الـ PIC للبادئات ما بين 0.13 و 0.97 وبمعدل 0.53 في دراسة للتنوع الوراثي على 14 طراز وراثي من الشعير في تونس (Karim وزملاءه، 2009). بينما تراوحت قيمة الـ PIC ما بين 0.8 و 0.88 وبمعدل 0.84 في دراسة للتنوع الوراثي في 7 أصناف من الشعير المزروع في إيران باستخدام مؤشرات SSR (Bolouri-Moghadam وزملاءه، 2011). ووجد Abebe (2010) أن قيمة الـ PIC تراوحت ما بين 0.03 و 0.7 وبمتوسط قدره 0.43 في دراسته على 199 سلالة من الشعير في أثيوبيا. وهذا ما يؤكد قدرة مؤشرات SSR على كشف التباينات الوراثية على مستوى موقع واحد على الصبغي، مما يجعل من الممكن تحديد مستوى التشابه الوراثي بين الطرز الوراثية المدروسة وتجميع طرز الشعير القريبة من بعضها بعضاً في فروع متقاربة في شجرة القرابة الوراثية (Bolouri-Moghadam وزملاؤه، 2011).

الجدول (3) عدد القران الناتجة عن البادئات المستخدمة وقيمة معامل التعددية الشكلية (PIC) والتنوع المورثي لكل منها.

التنوع المورثي	معامل التعددية الشكلية	عدد القران	الموقع الوراثي
0.73	0.68	5	Bmag0378
0.23	0.21	3	Bmag0749
0.63	0.55	3	GMS0001
0.73	0.69	5	HVM54
0.00	0.00	1	HvLOX
0.59	0.52	3	scssr05939
0.74	0.70	5	scssr02306
0.83	0.81	9	scssr03907
0.63	0.57	4	scssr04056
0.60	0.53	4	scssr07759
0.89	0.88	11	scssr07970
0.85	0.84	9	scssr10148
0.51	0.43	3	scssr15864
0.00	0.00	1	HvXan
0.63	0.55	3	GMS003
0.61	0.56	4	EBmac854
0.85	0.84	9	Bmag0125
0.00	0.00	1	EBmatc0039
0.74	0.70	5	GBM1309
0.69	0.65	6	Bmag0223
0.65	0.58	4	GBM1231
0.76	0.72	6	GBM1295
0.76	0.72	5	GBM5008
0.73	0.69	5	GMS061
0.50	0.38	2	EBmatc0003
0.59	0.52	3	GBM1463
0.49	0.46	4	HVCMA
0.00	0.00	1	Bmag0385
0.43	0.34	2	Bmac0064
0.00	0.00	1	Bmag0482b
0.30	0.26	2	GBM1362
0.30	0.26	2	HVM11b
		131	المجموع
0.53	0.49	4.09	المتوسط

تراوحت قيمة التنوع المورثي gene diversity ما بين 0.23 مع الموقع Bmag0749 و 0.89 مع الموقع scssr07970 وبمتوسط 0.53 (جدول 3).

أعطت 6 مواقع وراثية قيمة للتنوع المورثي $0.75 \leq$ (scssr07970، scssr03907)، وهي المواقع الوراثية الأكثر

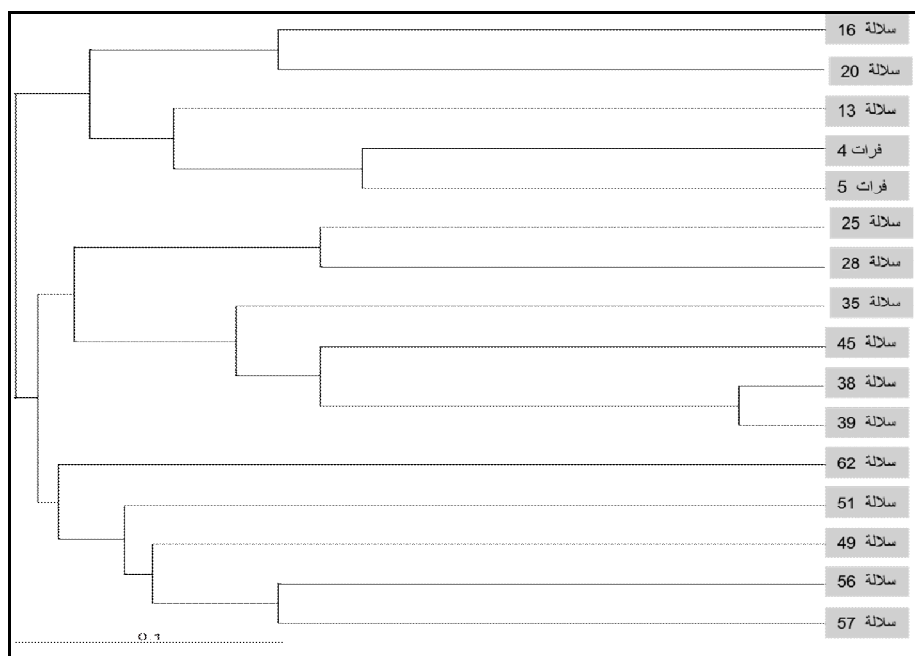
تميّزاً للطرز الوراثية. وبدراسة علاقة الارتباط بين عدد القرائن وقيمة التنوع المورثي لهذه المواقع وجد أن العلاقة بينهما موجبة ومعنوية وكانت قيمة معامل الارتباط تساوي 0.82^{**} ، وهذا ما يتوافق مع العديد من الدراسات فقد وجد Struss و Plieske (1998) في بحثهما على 163 طرازاً وراثياً من الشعير و Sardou وزملاؤه (2011) في دراسته على 30 طرازاً وراثياً من الشعير الإيراني أن هناك ارتباطاً إيجابياً بين عدد القرائن الناتجة عن مؤشرات SSR والتنوع المورثي Gene diversity، في حين أظهرت شومان وزملاؤها (2007) أن هذا الارتباط ليس إيجابياً بجميع الحالات، فهناك حالات يكون فيها عدد القرائن كبيراً ولكن نسبة التنوع المورثي منخفض، وقد فسروا ذلك بأن التنوع الوراثي يتأثر كثيراً بنسبة تكرار القرائن على الموقع وليس فقط بعددها.

كما تم حساب مصفوفة البعد الوراثي باستخدام معامل (Nei، 1987) (جدول 4)، وتظهر هذه المصفوفة قيمة البعد الوراثي بين الطرز الوراثية المدروسة، حيث إن ارتفاع قيم هذه المصفوفة يدل على وجود اختلاف وراثي وازديادها يزداد التباين الوراثي بين الطرازين الوراثيين. وقد أظهرت مصفوفة البعد الوراثي أقل درجة تباين وراثي هي بين السلالة 39 والسلالة 38 (0.06) أي أعلى درجة تشابه وراثي 0.94. بينما كانت أعلى درجة تباين وراثي بين السلالة 45 والسلالة 16 (0.75) أي بتشابه وراثي 0.25.

الجدول (4) معامل البعد الوراثي بين الطرز الوراثية المدروسة بالاعتماد على معامل Nei.

	سلالة 4	سلالة 5	سلالة 13	سلالة 16	سلالة 20	سلالة 25	سلالة 28	سلالة 35	سلالة 38	سلالة 39	سلالة 45	سلالة 49	سلالة 51	سلالة 56	سلالة 57	سلالة 62
سلالة 4	0.00															
سلالة 5	0.34	0.00														
سلالة 13	0.53	0.44	0.00													
سلالة 16	0.59	0.56	0.53	0.00												
سلالة 20	0.56	0.56	0.47	0.41	0.00											
سلالة 25	0.59	0.63	0.63	0.59	0.56	0.00										
سلالة 28	0.47	0.59	0.72	0.53	0.56	0.38	0.00									
سلالة 35	0.53	0.50	0.59	0.63	0.47	0.50	0.53	0.00								
سلالة 38	0.59	0.56	0.56	0.66	0.53	0.56	0.56	0.41	0.00							
سلالة 39	0.66	0.66	0.59	0.72	0.56	0.53	0.59	0.44	0.06	0.00						
سلالة 45	0.53	0.63	0.59	0.75	0.59	0.56	0.63	0.47	0.38	0.38	0.00					
سلالة 49	0.59	0.53	0.66	0.66	0.63	0.50	0.53	0.50	0.53	0.53	0.53	0.00				
سلالة 51	0.59	0.53	0.69	0.66	0.53	0.63	0.63	0.59	0.59	0.56	0.56	0.56	0.00			
سلالة 56	0.56	0.59	0.72	0.69	0.63	0.69	0.63	0.50	0.56	0.59	0.66	0.50	0.44	0.00		
سلالة 57	0.50	0.50	0.72	0.69	0.59	0.59	0.53	0.53	0.66	0.66	0.69	0.50	0.56	0.41	0.00	
سلالة 62	0.59	0.66	0.69	0.53	0.59	0.69	0.59	0.63	0.53	0.59	0.56	0.63	0.63	0.53	0.50	0.00

وقد أنشئت شجرة القرابة الوراثية اعتماداً على نتائج الـ SSR وقد انفصلت شجرة القرابة الوراثية (الشكل 1) إلى ثلاث مجموعات رئيسية وكل مجموعة منها تحتوي على تحت مجموعات مختلفة، فالمجموعة الأولى تحتوي على تحت مجموعتين، تضم تحت المجموعة الأولى السلالة 16 والسلالة 20 وتضم تحت المجموعة الثانية السلالة 13 والصنفين المعتمدين فرات 4 وفرات 5.



الشكل (1) شجرة القرابة الوراثية بين الطرز الوراثية المدروسة من الشعير المزروع.

بينما تحتوي المجموعة الثانية على تحت مجموعتين تضم تحت المجموعة الأولى السلالة 25 والسلالة 28 وتضم تحت المجموعة الثانية السلالة 35، السلالة 45، السلالة 38 والسلالة 39. أما المجموعة الثالثة فتضم تحت مجموعتين تضم تحت المجموعة الأولى السلالة 62 فقط بينما تضم تحت المجموعة الثانية السلالة 51، السلالة 49، السلالة 57 والسلالة 58. ونلاحظ من (الشكل 1) أن أعلى درجة قرابة وراثية هي ما بين السلالة 39 والسلالة 38، وبالعودة إلى (الجدول 1) نلاحظ أن هاتين السلالتين لهما النسب نفسه أي أنهما ناتجتين عن آباء متماثلة. كما توضع السلالة 16، و السلالة 20 في فرع واحد ولهما

النسب نفسه وتوضع معهما الصنف فرات4 ويعد الصنف عربي أبيض هو أحد آباء الصنف فرات4 وفي الوقت نفسه هو أحد آباء عرطة وهو الصنف الذي نتجت عنه السلالتان السابقتان، كما أن السلالة56، و السلالة57 توضع في فرع واحد وقد لوحظ وجود تماثل بالآباء الداخلة في برامج التربية والتحسين الوراثي التي استنبطت من خلالها هذه السلالات. وبذلك فقد انفصلت الطرز الوراثية المدروسة تبعاً لنسبها وأصلها الوراثي فقد توضعت الطرز الناتجة عن تهجينات متماثلة أو مشتركة مع بعضها بالآباء في فرع واحد مع وجود بعض الاستثناءات.

الاستنتاجات

واستنتج بأن تقانة SSR أثبتت كفاءتها في كشف التباينات الوراثية بين الطرز الوراثية المدروسة. انفصلت الطرز الوراثية المدروسة في شجرة القرابة الوراثية حسب نسبها ووجدت أعلى درجة قرابة وراثية بين السلالة39 والسلالة38. ويوصى بضرورة اعتماد طريقة التوصيف باستخدام مؤشرات SSR-DNA كطريقة رئيسية في تحديد الهوية الوراثية للطرز الوراثية من الشعير لعدم تأثرها بالبيئة وفعاليتها في الكشف عن التباينات الوراثية حتى بين الطرز الوراثية ذات القاعدة الوراثية الضيقة. الاستفادة من شجرة القرابة المتحصل عليها في برامج تربية الشعير باختيار الآباء البعيدة وذات الصفات المرغوبة واستخدامها كآباء في عمليات التهجين.

References

- البحوث العلمية الزراعية . 1990. تقرير الاعتماد لأصناف الشعير، الهيئة العامة للبحوث العلمية الزراعية، وزارة الزراعة والإصلاح الزراعية، سورية.
- البحوث العلمية الزراعية. 2003. تقرير الاعتماد لسلالة الشعير فرات E5406، الهيئة العامة للبحوث العلمية الزراعية، وزارة الزراعة والإصلاح الزراعية، سورية.
- التمو، منور. 2013. دراسة التباين الوراثي في استجابة بعض طرز الشعير (*Hordeum spp*) لتحمل الجفاف: تقييم الصفات الفسيولوجية والبيوكيميائية والجزيئية. رسالة دكتوراه، قسم المحاصيل الحقلية، كلية الزراعة، جامعة دمشق، الجمهورية العربية السورية.
- شومان، وفاء، ومحمد معلا، ومحمد الخولاني، ومايكل باوم. 2007. التنوع الوراثي للشعير في اليمن باستخدام مؤشرات المقاطع القصيرة المتكررة (SSR)، مجلة جامعة تشرين للدراسات والبحوث العلمية، سلسلة العلوم البيولوجية 29: (1) 181-194.
- عباس، شهيناز. 2009. تطوير طرز وراثية من الشعير للزراعة في المناطق الجافة باستخدام المعلمات الجزيئية Molecular Markers. أطروحة دكتوراه، قسم المحاصيل الحقلية، كلية الزراعة، جامعة دمشق، الجمهورية العربية السورية.
- المجموعة الإحصائية الزراعية السنوية. 2011. مديرية التخطيط والتعاون الدولي، وزارة الزراعة والإصلاح الزراعي، الجمهورية العربية السورية.
- Abebe, TD. 2010. Genetic diversity and population differentiation analysis of ethiopian barley (*Hordeum vulgare* L) landraces using morphological traits and SSR markers. PhD thesis. Institut für Nutzpflanzenwissenschaften und Ressourcenschutz,
- Baum, M., S. Grando and S. Ceccarelli. 2004. Localization of quantitative trait loci for dryland characters in barley by linkage mapping. Crop Science Society of America and American Society of Agronomy, 677 S. Segoe Rd., Madison, WI 53711, USA. Challenges and Strategies for Dryland Agriculture. CSSA Special Publication no. 32.
- Becker, J. and M. Heun. 1995. Barley microsatellites allele variation and mapping, Plant Mol. Biol. 27:835-845.
- Bolouri-Moghadam, MR., A. Safarnejad and K. Kazemitabar. 2011. Genetic diversity assessment in several barley (*Hordeum vulgare* L.) cultivars using microsatellite markers. Nat Sci Biol. 3(2): 140-144.
- Chaabane, R, M, El Felah, H, Ben Salah, MB, Ben Naceur, C, Abdely D, Ramla, A, Nada and M, Saker .2009. Molecular characterization of Tunisian barley (*Hordeum vulgare* L.) genotypes using microsatellites (SSRs) markers. Euro Journals, 36 (1):6-15.
- FAOSTAT data. 2011. Food and Agriculture Organization of the United Nations. <http://apps.fao.org/faostat/>.

- Feng, Z., Y. Zhang. L. L. Zhang. Y. Z. and H. Q. Ling. 2006 .Genetic diversity and geographical differentiation of cultivated six-rowed naked barley landraces from the Qinghai-Tibet plateau of China detected by SSR analysis. *Genetic and Molecular Biology*. 29(2): 330-338.
- Fischbeck, G. 2002. Contribution of barley to agriculture: a brief overview. *In: "Barley science: recent advances from molecular biology to agronomy of yield and quality"* G. A. Slafer, J. L. Molin-Cano, R. Savin, J. L. Araus, I. Romagosa (eds.) Haworth, New York, pp 1–14.
- Harlan, J.R. 1995. "Barley. *Hordeum vulgare (Gramineae-Triticinae)*", in J. Smart and N.W. Simmonds (eds.), *Evolution of Crop Plants*, Longman Scientific and Technical, Harlow, Essex, England.
- Karim, K., A. Rawda. and CM. Hatem. 2009. Genetic diversity in barley genetic diversity in local Tunisian barley based on RAPD and SSR analysis. *BIO Di Con* 2/1: 27-35.
- Liu, ZW., RM. Biyashev and MA. Saghai-Marooif. 1996. Development of simple sequence repeats DNA markers and their integration into a barley linkage map. *TheorAppl Genet* 93:869-876.
- Liu, K. and SV. Muse. 2005. Power Marker: Integrated analysis environment for genetic marker data. *Bioinformatics* 21(9): 2128-2129.
- Matus ,JA and PM. Hayes. 2002. Genetic diversity in three groups of barley germplasm assessed by simple sequence repeats Genome. 45: 1095–1106.
- Murray, M. G. and W. F. Thompson. 1980. Rapid isolation of high molecular weight DNA. *Nucleic Acids Res.* 8: 4321- 4325.
- Nei, M., 1987. *Molecular evolution genetics*. Columbia University press, New York.
- Ozkan, H., S. Kafkas. M. S. Ozer and A. Brandolini. 2005. Genetic relationships among South-East Turkey wild barley populations and sampling strategies of *Hordeum spontaneum* *Theor Appl Genet.* 112:12-20.
- Powell, W., M. Morgante. JJ. Doyle. J. Mcnical. SV. Tingey. and AJ. Rafalski. 1996. Genepool Variation in Genus *Glycine* Subgenus *Soja* Revealed by polymorphic Nuclear and chloroplast microsatellites. *Genetics* 144:793-803.
- Ramsay, L., M. Macaulay. K. McLean. J. Fuller. K. Edwards. S. Turesson. M. Morgante. S. Idegli-Ivanissivich. N. Marmioli. E. Maestri. A. Massari. W. Powell. And R. Waugh. 2000. A simple sequence repeat-based linkage map on barley. *Genetics* 156(4):1997-2005.
- Saghai-Marooif, MA., RM. Biyashev. GP. Yang and Q. Zhang. RW. Allard. 1994. Extraordinarily polymorphic microsatellite DNA in barley, species diversity, chromosomal locations and population dynamics. *Proc Natl Acad Sci.* 91:5466-5470.
- Sardou, MA., A. Baghizadeh. A. Tavasoli. and S. Babaei. 2011. The use of microsatellite markers for genetic diversity assessment of genus *Hordeum* L. in Kerman province (Iran). *African Journal of Biotechnology*, 10(9): 1516-1521.
- Struss, D and J. Plieske. 1998. The use of microsatellite markers for detection of genetic diversity in barley populations. *Theor Appl Genet* 97:308-315.

- Varshney, R., I. Grosse. U. Hähnel. R. Siefken. M. Prasad. and N. Stein. 2006. Genetic mapping and BAC assignment of EST-derived SSR markers proves non-uniform distribution of genes in the barley genome. *TheorAppl Genet.* 113: 239–2508.
- Varshney, R., T. Marcel. L. Ramsay. J. Russell. M. Röder. and N. Stein. 2007. A high density barley microsatellite consensus map with 775 SSR loci. *TheorAppl Genet*, 114(6): 1091-1103.
- Von Korff, M., H. Wang. J. Leon and K. Pillen. 2006. AB-QTL analysis in spring barley: II. Detection of favourable exotic alleles for agronomic traits introgressed for wild barley (*H. vulgare* spp. *Spontaneum*).*Theor. Appl. Genet.* 112:1221-1231.

Received	2014/03/03	إيداع البحث
Accepted for Publ.	2014/07/13	قبول البحث للنشر