مجلة جامعة تشرين للدراسات والبحوث العلمية _ سلسلة العلوم البيولوجية المجلد (29) العدد (1) 2007
Tishreen University Journal for Studies and Scientific Research - Biological Sciences Series Vol. (29) No (1) 2007

# التنوع الوراثي للشعير في اليمن باستخدام مؤشرات المقاطع البسيطة المتكررة (SSR)

**الدكتورة وفاء شومان***
**الدكتور محمد معلا****
**محمد العزّي الخولاني*****
**الدكتور مايكل باوم ******

**(تاريخ الإيداع 13 / 2 / 2007. قبل للنشر في 2007/3/26)**

## □ الملخّص □

هدفت هذه الدراسة الى تقدير وتقييم التنوع الوراثي لدى 135مدخلاً من الشعير في اليمن، جمعت من مناطق جغرافية مختلفة ( 11 محافظة ) وذلك باستخدام 25 زوجاً من بادئات المقاطع البسيطة المتكررة (SSR). كان العدد الكلي للقرائن مع البادئات كافة هو 308 قرائن، تباينت البادئات في عدد القرائن التي تملكها والتي تراوحت بين 5 إلى 41 قرينًا، بمعدل 12.3 قريناً للموقع الواحد، كما تمت ملاحظة 28 قريناً شائعاً تواجدت في المناطق كافة إلى جانب قرائن خاصة تميزت بوجودها في منطقة واحدة فقط (34 قرينا في محافظة صنعاء). تراوحت قيم التنوع المورثي للمدخلات كافة بين 0.235 و 0.955، كما تباينت المناطق في قيم التنوع الوراثي حيث وجد أكبر معدل في محافظة حجة (0.72) في حين كان أقل معدل (0.479) في محافظة تعز. لوحظ من خلال مخطط البعد الوراثي وجود تداخل بين مدخلات المناطق المختلفة في أكثر من مجموعة. إن المعدل العالي للتنوع الوراثي وغياب التشابه التام بين أي مدخلين يدل على ارتفاع نسبة الاختلافات الوراثية في مدخلات الشعير المدروسة، كما يدل على أن المنطقة غنية بالتباينات الوراثية وبالتالي فمن المهم القيام بمهمات إضافية لجمع عينات جديدة من مدخلات الشعير لإغناء بنك مورثات الهيئة العامة للبحوث الزراعية في اليمن بطرز وراثية جديدة.

**الكلمات المفتاحية:** الشعير، التنوع الوراثي، المؤشرات الجزيئية، المايكروساتوليت، اليمن.

* أستاذة في قسم العلوم الأساسية، كلية الزراعة، جامعة تشرين، اللاذقية، ص.ب. 2099، سورية.
** استاذ في قسم المحاصيل الحقلية، كلية الزراعة، جامعة تشرين، اللاذقية، سورية.
*** طالب دكتوراه، قسم المحاصيل، كلية الزراعة، جامعة تشرين، اللاذقية، سورية.
**** رئيس مخبر التقانات الحيوية، ايكاردا، حلب، ص. ب. 5466، سورية.

مجلة جامعة تشرين للدراسات والبحوث العلمية _ سلسلة العلوم البيولوجية المجلد (29) العدد (1) 2007
Tishreen University Journal for Studies and Scientific Research - Biological Sciences Series Vol. (29) No (1) 2007

# Genetic Diversity of the Yemeni Barley Using Simple Sequence Repeat Markers (SSR)

**Dr. Wafaa choumane***
**Dr. Mouhamad Moualla****
**Mohamad El-Ezzy Alkhoulany*****
**Dr. Michael Baum******

**(Received 13 / 2 / 2007. Accepted 26/3/2007)**

## □ ABSTRACT □

The objective of this study was to estimate the genetic diversity of 135 barley accessions sampled from different geographical regions in Yemen (11 Provinces). 25 Simple Sequence Repeat markers (SSR) were used in the DNA analysis. A total of 308 alleles were detected in the whole collection. The number of alleles detected per locus varied from 5 to 41, with an average of 12.3 alleles per locus. 28 common alleles were detected in all regions. 34 alleles were detected only in Sann'a. The value of genetic diversity ranged from 0.24 to 0.96. The highest value of genetic diversity was detected in Higa province (0.72) and the lowest value was detected in Taizz (0.479). The high level of genetic diversity and the absence of genetic identity between accessions indicate the high level of genetic variability within the collection. The results proved that the collection regions were very rich in genetic diversity. In consequence, an additional mission to collect new genotypes of barley is recommended to increase the level of genetic diversity in the gene bank of the General Commission for Agriculture Research in Yemen.

**Key words:** Barley, Genetic diversity, Molecular markers, Microsatellite SSR., Yemen.

*Professor, Department of Basic Sciences, Faculty of Agriculture, Tishreen University, Lattakia, Syria.
** Professor, Department of Crops, Faculty of Agriculture, Tishreen University, Lattakia, Syria.
*** Ph. D. Student, Department of Crops, Faculty of Agriculture, Tishreen University, Lattakia, Syria.
****Head of Biotechnology Laboratory, ICARDA, Aleppo, Syria.

## المقدمة:

يعد الشعير (*Hordeum vulgare* L ) من أكثر محاصيل الحبوب الاقتصادية تحملاً للتباينات المناخية، حيث يزرع في مناطق متنوعة تمثل مدى بيئيا واسعا (Ceccarelli *et al.* 1995).

يتميز القطر اليمني بتنوع مناخي واسع يختلف باختلاف مناطقه الجغرافية حيث يمكن ملاحظة الاختلاف حتى على مستوى المنطقة الواحدة، فمثلا يتواجد في إقليم المرتفعات الوسطى السلاسل الجبلية التي يتفاوت ارتفاعها ما بين 1500–3500 مترٍ، يرافقه تباين مناخي كبير (أبو غانم 2004، مكرد 1998). يرافق هذا التباين وجود قاعدة وراثية واسعة وتنوع وراثي كبير، حيث تمتلك اليمن نحو 2500 نوعًا نباتياً من إجمالي 3418 نوعاً نباتياً تتواجد في الجزيرة العربية ( الخرساني، 2005 ؛ باوزير، 2004).

تعتبر معرفة التنوع الوراثي للمصادر الوراثية والعلاقات الوراثية فيما بينها معلومات أساسية وجوهرية بالنسبة لمربي النبات وذلك لفائدتها في تصميم برامج التربية والتحسين وفي تحسين كفاءة عمليات إدارة الأصول الوراثية والحفاظ عليها من الانجراف الو راثي (Russell *et al.* 1997a).

تعد التباينات الشكلية من المعايير الأولى التي استخدمت في عملية التوصيف والتصنيف ودراسة التباينات بين وضمن الأنواع المختلفة. إلا أنه في الآونة الأخيرة وفي ظل التطور المتسارع في علم التقانات الحيوية، فقد اكتشفت معايير ومؤشرات أكثر دقة يمكنها تحقيق هذا الهدف وتطويره. لقد أدى تطور التقانات الحيوية إلى ظهور عدد كبير من المؤشرات الجزيئية الهامة التي تسمح بتوصيف الكائنات الحية والتمييز حتى بين الوحدات التصنيفية الصغيرة، ومن بينها مؤشرات المقاطع البسيطة المتكررة (SSR) Simple Sequence Repeats والتي تسمى أيضا بمؤشرات المايكروساتوليت Microsatellite markers.

تعتبر مؤشرات المقاطع البسيطة المتكررة (SSR) من المؤشرات الجزيئية الهامة جداً والواسعة الانتشار حالياَ. تتكون هذه المؤشرات من مقاطع صغيرة متكررة، تسمى وحدات متكررة، تتواجد بكثرة في مجينات حقيقيات النوى وتتوزع على جميع الصبغيات سواء في المناطق المشفرة أوغير المشفرة. (Powell *et al.*,, 1996) تتكون الوحدات المتكررة من عدد من أزواج النيوكليوتيدات يتراوح بين (1-6)، كما تحاط هذه الوحدات بمقاطع نيوكليوتيدية تتواجد بمنطقة وحيدة في مجين أفراد النوع الواحد. تختلف مؤشرات المايكروساتوليت فيما بينها من حيث، أماكن تواجدها ضمن المجين وعدد الوحدات المتكررة المكونة لها، ونوعية نيوكليوتيدات الوحدات المتكررة. تتواجد مؤشرات الـ SSR بكثافة ضمن مجين الفرد، حيث ذكر Wang *et al.* (1994) بأن وجودها في مجين الشعير يتكرر مرة كل 165 Kpb (كيلو زوج من النيوكليوتيدات Kbp)، كما وجد Liu, *et al* (1996) بأن تكرار وحدات (GA)n و (CA)n ضمن مجين الشعير هو مرة كل 330 و260 Kpb على التوالي. بالإضافة إلى ذلك، تتميز هذه المؤشرات بارتفاع مستوى التباينات polymorphism التي تكشفها مقارنة بعدد من التقانات الأخرى (Russell *et al*, 1997a ; ;Rajora and Rahman, 2003 Struss and Plieske, 1998; Chabane *et al.*, 2005)، وكذلك بسهولة تطبيقها و تحليل نتائجها (Matus and ; Macaulay *et al.*, 2001) Hayes, 2002.

استخدمت هذه المؤشرات في العديد من الدراسات ذات الأهداف المختلفة مثل إنشاء خرائط الارتباط الوراثية لعدد من الصفات الهامه ولأنواع نباتية مختلفة (Liu et al., 1996; Ramsay et al., 2000; Karakousis et al., 2003; Baum et al., 2004; Emebiri et al., 2005; Hamwieh et al., 2005; Von-Korff et al., 2006)، وفي دراسة التنوع الوراثي (Struss and Plieske, 1998;

Choumane et al., 2000; Khlestkina et al., 2004; Ozkan et al;., 2005; Ordon et al., 2005) و كذلك في التمييز بين الأنواع وتوضيح العلاقات التطورية و تصنيف المجموعات الوراثية ( Russell *et* ; Matus and Hayes, 2002 ; Choumane *et al.* 2002 ; Struss and Plieske, 1998; *al.* 1997b .( Malysheva-Otto *et al.*, 2006 ; Feng *et al.* 2006 ; Baek *et al.* 2003;

## الهدف:

هدفت هذه الدراسة إلى تقدير التنوع الوراثي لمدخلات من الشعير ممثلة لمناطق زراعته في اليمن وذلك باستخدام مؤشرات مقاطع الـ DNA البسيطة المتكررة (SSR)، ومن ثم تحديد القرابة الوراثية بين المدخلات المستخدمة، وفي النهاية البحث عن علاقة بين التباينات الوراثية المكتشفة والمواقع الجغرافية التي جمعت منها المدخلات.

أجريت المراحل الأولى من البحث في مخبر الوراثة الجزيئية في كلية الزراعة جامعة تشرين، في حين أنجزت المراحل اللاحقة في مخبر التقانات الحيوية في المركز الدولي للبحوث الزراعية في المناطق الجافة (إيكاردا)، حلب، سوريا، خلال عامي 2005 و2006.

## المواد وطرائق العمل:

**المادة النباتية:**

استخدم 135 مدخلاً Accessions من الشعير المزروع (*Hordeum vulgare*. L) في اليمن. تم الحصول على البذور التي تمثل مناطق مختلفة جغرافيا وبيئياً من بنك الأصول الوراثية التابع للهيئة العامة للبحوث الزراعية اليمنية (جدول 1، شكل 1).

تمت زراعة بذور (حبوب) الشعير في أصص صغيرة بواقع أربع بذور من كل مدخل في كل أصيص. تراوحت درجة الحرارة خلال فترة الزراعة ما بين 18 – 22 $^{o}$م و تناوبت ساعات الإضاءة بين 12ساعة ضوء و12 ساعة ظلام.

**جدول 1: عدد مدخلات الشعير المستخدمة في الدراسة وأماكن جمعها.**

| المناطق (المحافظة) | عدد المدخلات | المناطق (المحافظة) | عدد المدخلات | المناطق (المحافظة) | عدد المدخلات |
|---|---|---|---|---|---|
| صنعاء | 30 | البيضاء | 8 | مأرب | 7 |
| ذمار | 25 | صعده | 8 | حجة | 4 |
| اب | 25 | عمران | 7 | أبين | 2 |
| تعز | 12 | المحويت | 7 | المجموع | 135 |

**شكل 1: التوزع الجغرافي للمناطق التي جمعت منها مدخلات الشعير المستخدمة في الدراسة.**

**استخلاص الأحماض النووية: DNA extraction**

تم استخلاص المادة الوراثية (الـ DNA) من أوراق نباتية فتية بعمر أربعة أسابيع ومن نباتات مفردة. استخدم نبات واحد من كل مدخل وأجريت عملية الاستخلاص حسب تقنية Benito *et al.*, (1993).

تم تقدير كمية الـ DNA المستخلصة بواسطة مقياس الطيف الضوئي Spectrophotometer و اختبرت نوعية الـ DNA على هلامة ذات تركيز 1% من الأجاروز ومن خلال عملية الرحلان الكهربائي الأفقي.

تم تخفيف وتوحيد تراكيز المادة الوراثية لجميع العينات للحصول على 25 نانوغرام من الـ DNA/ميكروليتر.

**التفاعل التسلسلي للبوليميراز: Polymerase Chain Reaction (PCR)**

تم استخدام 25 زوجاً من بادئات الـ (SSR) المستخلصة من الشعير والموسومة عند النهاية '5 بصبغة متوهجة ذات ألوان مختلفة Fluorecnce-dye (جدول 2 ). تتميزهذه البادئات primers بمواقع محددة وموزعة على صبغيات الشعير السبع (Russell *et al.*,, 2003).

أجري التفاعل في حجم نهائي قدره 10 ميكروليتر. استخدم 50 نانوغراما من الـ DNA و 200 ميكرومول من كل من النيوكليوتيدات الأربعة (dTTP/dATP/dCTP/dGTP) و30 بيكومول من كل من البادئتين و0.4 وحدة من أنزيم التكثيف *Taq* DNA polymerase.

أجريت عملية المكاثرة Amplification في جهاز الدوران الحراري Perkin Elmer Applied-9700 وفق البرنامج الحراري التالي، دورة واحدة بدرجة حرارة 94 $^{o}$م لمدة 5 دقائق ثم 35 دورة تتكون كلٌ منها من المراحل التالية (94 $^{o}$م لمدة 30 ثانية، 58 $^{o}$م لمدة 15 ثانية، 72 $^{o}$م لمدة 15 ثانية ) ثم تركت العينات لمدة7 دقائق على حرارة 72 $^{o}$م.

**جدول (2): أسماء البادئات المستخدمة في التحليل ومواقعهاعلى الصبغيات**

| البادئات Primers | موقع البادئة على الصبغي Chromosomal position | البادئات Primers | موقع البادئة على الصبغي Chromosomal position |
|---|---|---|---|
| Bmag211 | 1H | Scssr7759 | 2H |
| Bmac0316 | 6H | Scssr8447 | 2H |
| Bmag382 | 1H | Scssr10148 | 5H |
| Bmag 378 | 2H | Scssr15864 | 7H |
| Bmag749 | H | Scssr25691 | 3H |
| Bmag813 | H | Bmag18 | 6H |
| Scssr2306 | 5H | GMS1 | 5HL |
| Scssr2748 | 1H | HVLTPPB | 3H |
| Scssr3907 | 5H | HVM67 | 4H |
| Scssr5599 | 6H | HVLOX | 5H |
| Scssr5939 | 5H | Scssr20569 | 4H |
| Scssr07106 | 5H | Sscssr4056 | 7H |
| Scssr7970 | 7H | | |

**الرحلان الكهربائي وتحليل الهلامات: Electrophoresis and gel analysis**

تم تجهيز العينات عن طريق مزج نواتج مكاثرة ثلاث بادئات موسومة بألوان مختلفة (أصفر – أزرق – أخضر) وذات أوزان جزيئية متباينة. حمّلت العينات على هلامة أكريلامايد ذات تركيز 6%. أجريت عملية الرحلان الكهربائي على جهاز التتالي النيوكليوتيدى الآلي ABI Prism ™ 377 DNA Sequencer، ومن خلال برنامجي Genscan و Genotyper المرتبطين مباشرة بجهازِ ABI 377 Sequencer، تم تحليل صور الهلامات وتحديد الوزن الجزيئي لقطع الـ DNA المكاثرة مع البادئات المختلفة. تم تجميع نتائج كل البادئات والبيانات الخاصة بها في جداول خاصة لاستخدامها لاحقاً في التحليل.

**تحليل النتائج:**

استخدمت الأوزان الجزيئية لقطع الـ DNA الناتجة في تجهيز الجداول المناسبة للتحليل، ومن ثم تم حساب قيمة التنوع المورثي Genic diversity على مستوى الموقع الواحد وفقا لـ Weir(1990) ووفق العلاقة التالية:

$$PIC = 1- \Sigma\ pi^2$$

حيث pi هي نسبة تكرار كل قرين على الموقع المورثي نفسه. ومن ثم تم حساب التباين أو التنوع الوراثي Genetic diversity(GD) ضمن مجموعة المدخلات المدروسة تبعاً لعلاقة Nei (1987):

$$GD = n(1- \Sigma p^2)/(n-1)$$

حيث تمثل n عدد المدخلات وتمثل P نسبة تكرار كل قرين على الموقع المورثي نفسه.

قدر البعد الوراثي الممثل بنسبة عدم التشابه Dissimilarity بين المدخلات وفقاً لـ Nei and Li (1979) وباستخدام البرنامج الإحصائي Numerical Taxonomy and Multivariant Analysis System NTSYS-2.0-PC (Rohlf, 1993). تم إجراء التحاليل العنقودية Cluster analysis ومن ثم رسم مخطط البعد الوراثي باستخدام طريقة المجموعات الزوجية غير المزانة (UPGMA) باستخدام البرنامج DARwin 5.0 (Perrier *et al.*, 2003).

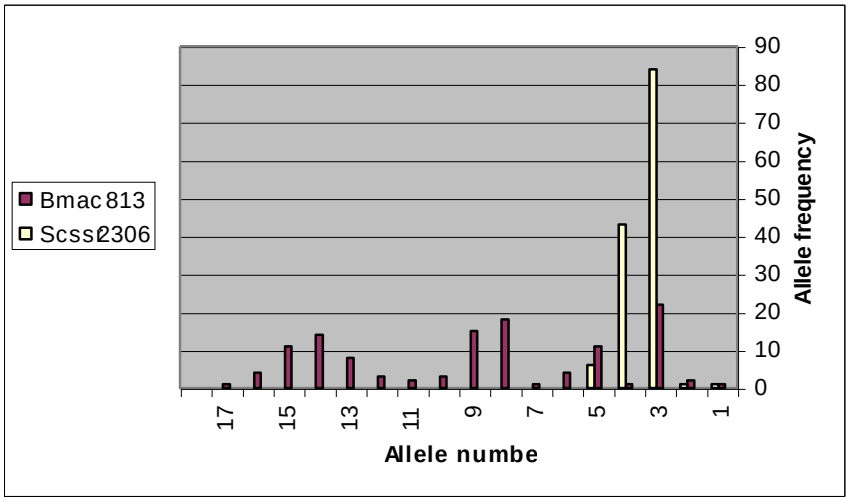
## النتائج:

تم استخدام 25 زوجاً من بادئات الـ SSR لدراسة التنوع الوراثي لـ 135 مدخلاً من الشعيرفي اليمن. كان العدد الكلي للقرائن التي تم الحصول عليها هو 308، بمتوسط قدره 12.32 قريناً للموقع الواحد. أظهرت كل البادئات تباينات على مستوى الموقع المورثي الواحد تمثلت في عدد القرائن التي تم كشفها ضمن مجموعة المدخلات المستخدمة. تباين عدد القرائن على الموقع المورثي تبعاً للبادئة المستخدمة (جدول 3)، حيث أعطت البادئة Scssr4056 أكبر عدد من القرائن (41 قريناً)، في حين أعطت البادئة Scssr2306 أقل عدد من القرائن (5 قرائن). تميزت بعض المواقع المورثية بالتفاوت الكبير في نسبة تكرار قرائنها Allele frequency المختلفة (كما في الموقع Scssr2306)، في حين تقاربت نسبة تكرار القرائن إلى بعضها بعضا عند مواقع أخرى (Bmag813) (شكل 2).

**جدول ( 3 ) عدد القرائن ومدى اوزانها الجزيئية وقيم التنوع المورثي والوراثي.**

| البادئات Primers | عدد القرائن No. of alleles | مجال الوزن الجزيئي M.W (bp) | التنوع المورثي PIC | التنوع الوراثي GD |
|---|---|---|---|---|
| Bmac211 | 18 | 156 - 238 | 0.818 | 0.824 |
| Bmac316 | 14 | 136 - 186 | 0.645 | 0.649 |
| Bmag378 | 6 | 136 - 158 | 0.537 | 0.541 |
| Bmag382 | 11 | 84 - 130 | 0.685 | 0.9601 |
| Bmag749 | 11 | 148 - 180 | 0.764 | 0.769 |
| Bmag813 | 17 | 119 - 213 | 0.891 | 0.897 |
| Scssr2306 | 5 | 141 - 156 | 0.509 | 0.512 |
| Scssr2748 | 17 | 128 - 222 | 0.801 | 0.806 |
| Scssr3907 | 6 | 113 - 145 | 0.352 | 0.354 |
| Scssr5599 | 10 | 159 - 227 | 0.415 | 0.418 |
| Scssr5939 | 11 | 150 - 180 | 0.548 | 0.552 |
| Scssr07106 | 14 | 156 - 216 | 0.819 | 0.825 |
| Scssr7970 | 18 | 95 - 283 | 0.853 | 0.859 |
| Scssr8447 | 6 | 167 - 183 | 0.566 | 0.5702 |
| Scssr10148 | 7 | 178 - 220 | 0.529 | 0.532 |
| Scssr15864 | 15 | 144 - 214 | 0.434 | 0.437 |
| Scssr25691 | 8 | 157 - 223 | 0.383 | 0.385 |
| Scssr7759 | 12 | 182- 240 | 0.697 | 0.702 |
| Scssr20569 | 7 | 184 - 198 | 0.583 | 0.587 |
| Sscssr4056 | 41 | 78 - 205 | 0.948 | 0.955 |
| Bmag18 | 8 | 135 - 171 | 0.658 | 0.662 |
| GMS 1 | 13 | 89 - 137 | 0.551 | 0.555 |
| HVLTPPB | 12 | 206 - 344 | 0.682 | 0.687 |
| HVLOX | 8 | 145 - 175 | 0.234 | 0.235 |
| HVM67 | 13 | 101 - 137 | 0.707 | 0.712 |

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| المجموع | 308 | – | 15.609 | 15.9853 |
| المتوسط | 12.32 | – | 0.624 | 0.6394 |




**شكل 2: التباين الكبير في نسبة تكرار قرائن الموقع Scssr 2306 مقارنة بتكرارات قرائن الموقع Bmac 813.**

**التنوع المورثي: Genic diversity (PIC)**

تباينت البادئات التي استخدمت في هذه الدراسة بقيم التنوع المورثي Genic diversity التي وجدت ضمن المدخلات المدروسة (جدول 3 )، حيث تراوحت قيم التنوع المورثي ما بين 0.234 باستخدام البادئة HVLOX و 0.948 باستخدام البادئة Scssr4056، بمتوسط قدره0.624.

**التباين الوراثي بين المناطق: Genetic diversity between regions**

جمعت العينات المستخدمة في هذه الدراسة من إحدى عشرة منطقة في اليمن، وقد قدرت التباينات الوراثية في كل منطقة على حدة. تباينت المناطق المختلفة في العدد الكلي لقرائن البادئات المستخدمة التي تم التعرف عليها حيث تم كشف أكبر عدد من القرائن في محافظة أب (166 قرين، بمتوسط قدره 6.64 قرين على الموقع الواحد) في حين وجد أقل عدد من القرائن في محافظة أبين (35 قرين بمتوسط قدره 1.4 قرين على الموقع الواحد) (جدول4). أما على مستوى التنوع الوراثي فقد وجدت أكبر قيمة ضمن مدخلات محافظة حجه ( 0.72 ) في حين كانت أقل قيمة في محافظة تعز (0.479 ) ونود الإشارة إلى أنه تم استبعاد محافظة أبين بسبب قلة عدد المدخلات (2) المأخوذة منها (جدول 1).

**توزع القرائن: Allele distribution**

عند مقارنة توزع قرائن البادئات المختلفة بين المناطق الإحدى عشرة تبين وجود ثلاثة أنواع من القرائن.يمثل النوع الأول بالقرائن التي تواجدت في جميع المدخلات وفي كل المناطق وسميت بالقرائن الشائعة وكان عددها 28 قريناً تمثل % 9.09 من العدد الكلي للقرائن. وقد ساد النوع الثاني في مناطق معينة، حيث وجد 34 قريناً في صنعاء فقط. وتميز النوع الثالث من القرائن بتواجده بنسبة قليلة، واقتصر وجوده على مناطق محددة فسميت بالقرائن النادرة كما في القرين الذي وجد في أبين فقط. كما لوحظ اشتراك بعض المناطق في عدد من القرائن وخاصة في المناطق المتقاربة

من بعضها بعضا جغرافيا حيث اشتركت محافظة (صنعاء و ذمار) و( ذمار و اب) بثمانية قرائن في حين انخفضت أو انعدمت هذه الظاهرة في المناطق المتباعدة جغرافياً.

**جدول 4: العدد الكلي للقرائن ومتوسط عدد القرائن على الموقع الواحد ومتوسط قيم التنوع المورثي والوراثي.**

| المناطق | | عدد القرائن | % من العدد الكلي للقرائن | متوسط عدد القرائن/موقع | متوسط قيم التنوع المورثي | متوسط قيم التنوع الوراثي |
|---|---|---|---|---|---|---|
| أبين | Abin | 35 | 11.36 | 1.4 | – | – |
| البيضاء | Albaydaa | 81 | 26.29 | 3.24 | 0.4748 | 0.5426 |
| المحويت | Almahewit | 95 | 30.84 | 3.8 | 0.61624 | 0.7189 |
| عمران | Amraan | 79 | 25.64 | 3.16 | 0.5233 | 0.6105 |
| ذمار | Dhmarا | 130 | 42.20 | 5.2 | 0.4793 | 0.4992 |
| حجة | Hejja | 69 | 22.40 | 2.76 | 0.54 | 0.72 |
| أب | Ibb | 166 | 53.89 | 6.64 | 0.6493 | 0.6763 |
| مارب | Maareb | 75 | 24.35 | 2.14 | 0.4351 | 0.5076 |
| صعدة | Saadah | 69 | 22.40 | 2.86 | 0.4465 | 0.5102 |
| صنعاء | Sana'a | 152 | 49.35 | 6.08 | 0.5938 | 0.6142 |
| تعز | Taizz | 81 | 26.29 | 3.24 | 0.4392 | 0.4791 |

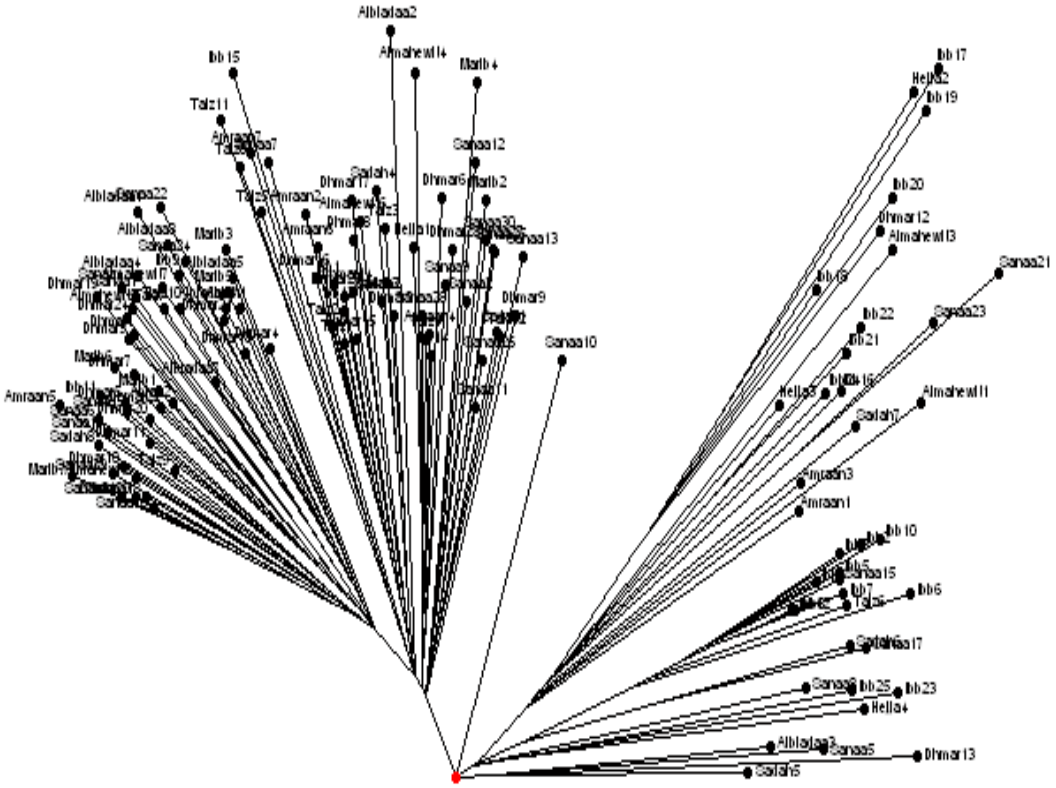
**إنشاء مخططات العلاقات الوراثية بين المدخلات:**

استخدمت قيم التشابه الوراثي في إنشاء مخططات القرابة ما بين المدخلات المختلفة حيث يمثل الشكل (3) مخطط القرابة الوراثية بين المدخلات التي تمت دراستها في هذا البحث. يبين المخطط في الشكل (4) البعد الوراثي ما بين المدخلات المختلفة، و يوضح أن نسبة التشابه بين جميع المدخلات لم تقل عن 85% بالنسبة لمناطق المجين التي تمت مقارنتها باستخدام البادئات الخمس والعشرين. نلاحظ بأن المدخلات تتوزع في المخطط ضمن فرعين أساسيين: يضم الفرع الأول 43 مدخلاً من مدخلات الشعير المجموعة من تسع مناطق مختلفة، وتمثل مجموعة المدخلات الآتية من منطقة أب (20 مدخلاً تعادل حوالي 80% من مدخلات أب) نحو 46.5% من مدخلات الفرع الأول، في حين تشكل المدخلات الآتية من المناطق الثمانية الأخرى 53.5% من مدخلات الفرع الأول. أما الفرع الثاني والذي يضم اثنين وتسعين مدخلاً تتجمع فيه أغلب المدخلات الآتية من صعدة وصنعاء وذمار في تحت مجموعات صغيرة متقاربة من بعضها بعضا.

## المناقشة والتوصيات:

بالرغم من تواجد عدة أنواع من المؤشرات الجزيئية التي يتم استخدامها في دراسة التنوع الوراثي لعدد من محاصيل الحبوب إلا أن عدداً من الدراسات أشارت إلى تفوق مؤشرات الـ SSR في هذا المجال ( Russell *et al.*, Struss and Plieske, 1998; 1997a and 1997b).

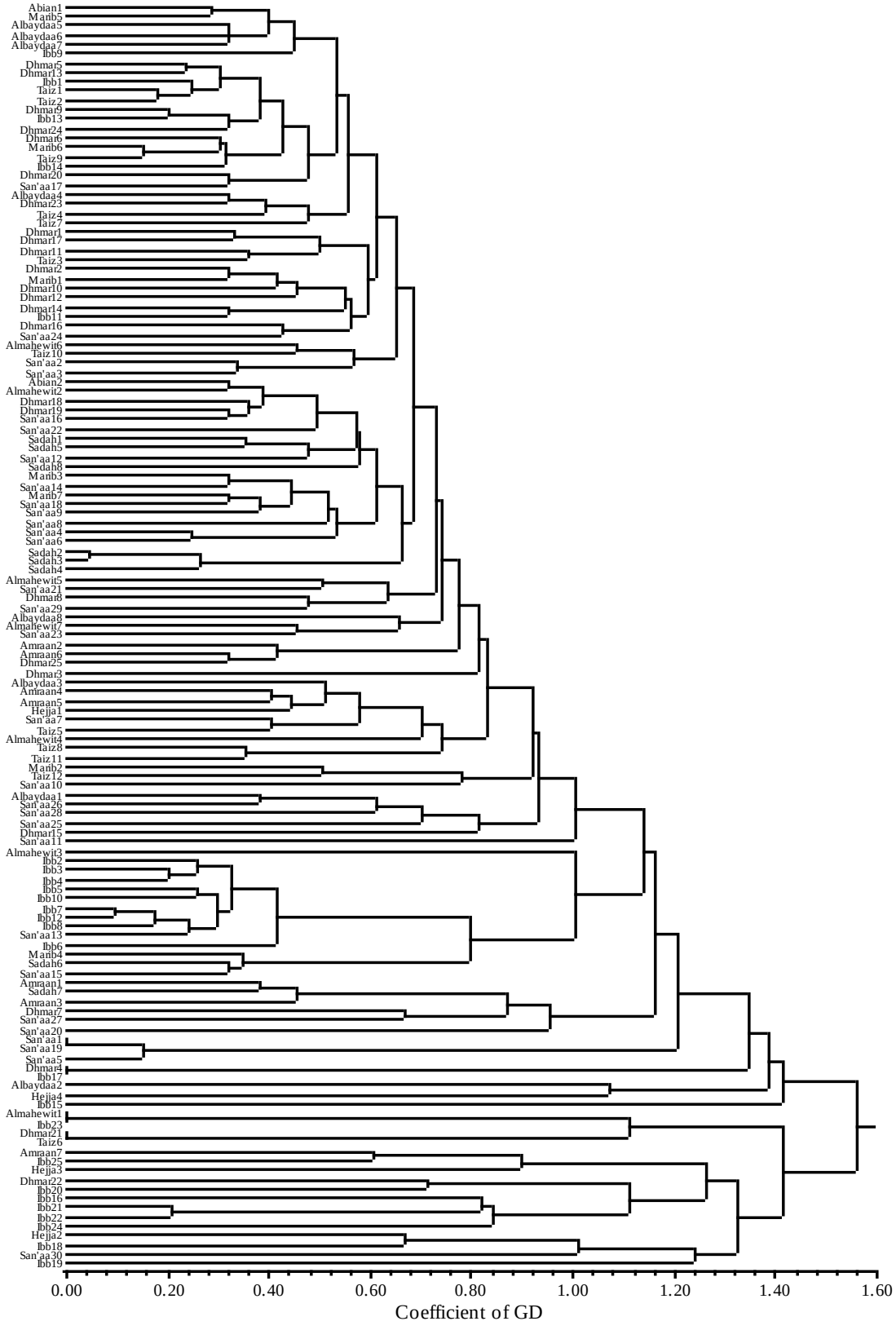
تم في هذه الدراسة تقدير التنوع الوراثي لـ 135 مدخلاً من الشعير في اليمن من خلال استخدام 25 زوجاً من بادئات الـ SSR الموزعة على كامل مجين الشعير (الصبغيات السبع). تباينت البادئات في عدد القرائن التي تكشفها وفي قيم التنوع الوراثي، و كان إجمالي عدد القرائن 308 قريناً بمعدل 12.32 قريناً للموقع الواحد مما يدل على ارتفاع نسبة التنوع الوراثي في مجموعة المدخلات المدروسة.



**شكل 3: علاقات القرابة بين مدخلات الشعير المستخدمة في الدراسة.**

اختلفت عدد القرائن التي تم الحصول عليها في عدد من الدراسات السابقة التي أجريت أيضاً على الشعير وباستخدام بادئات المايكروساتولايت ولكن على مدخلات من مناطق مختلفة جغرافيا. فقد وجد Feng *et al,* (2006) عند دراسته لخمسة وستين مدخلاً من الشعير *H. vulgare* ssp. *hexastichon* var. *nudum* Hsu) تم جمعها من ثلاث مناطق جغرافية مختلفة في الصين، وباستخدام 35 بادئة (SSR ) أن إجمالي عدد القرائن هو 248 قريناً، بمعدل 7.09 قرينا للموقع الواحد و بمعدل تنوع وراثي للمناطق الثلاث هو 0.53. كذلك الأمر بالنسبة للنتائج التي حصلت عليها Russell *et al.* (2003) عند دراستها للتنوع الوراثي لخمس مجموعات من الشعير جمعت من خمس مناطق جغرافية مختلفة شملت سوريا والأردن، حيث كان إجمالي عدد القرائن 244 قريناً بمعدل 11.7 قريناً للموقع الواحد. أما Matus and Hayes (2002) فقد درسوا التنوع الوراثي لـ147 مددخلاً من الشعير باستخدام 42 بادئة

وحصلا على عدد من القرائن ومعدل تنوع وراثي أكبر من ذلك الذي حصلنا عليه بدراستنا، فقد كان إجمالي عدد القرائن ومعدل قرائن الموقع الواحد التي حصلا عليهما 678 و 16.3 على التوالي.



**شكل 4: مخطط علاقات البعد الوراثي بين مدخلات الشعير في اليمن.**

من خلال مقارنة النتائج نجد أن هناك تباينا في عدد القرائن وكذلك في معدل التنوع الوراثي التي تم الحصول عليها، ويعود السبب بذلك إلى اختلاف عدد وتركيب البادئات المستخدمة واختلاف المناطق الجغرافية التي جمعت منها العينات.

لقد تبين أن قيمة التنوع الوراثي لمجموعة المدخلات التي تمت دراستها في هذا البحث كان مرتفعا (0.639)، وقد تراوحت هذه القيمة في المناطق المختلفة ما بين 0.4791 (في تعز) و0.72 (حجة). لوحظ وجود اختلاف ما بين معدلات التنوع المورثي والتنوع الوراثي في المناطق المدروسة. يعود هذا الاختلاف إلى عدد المدخلات التي تم تحليلها في كل مجموعة، وبالتالي فان قيمة التنوع الوراثي تعطي فكرة أكثر دقة عن التباينات الوراثية الموجودة في مجموعة نباتية ما مقارنة بقيمة التنوع المورثي، لأنها تأخذ بعين الاعتبار عدد أفراد المجموعة المدروسة.

لوحظ من خلال مخططات علاقات القرابة بأن مدخلات بعض المناطق قد تجمعت مع بعضها بعضا في الفرع نفسه (80% من مدخلات أب)، إلا أننا لم نجد فرعاً واحداً يحوي مدخلات منطقة واحدة فقط، وهذا قد يعود لعدم وجود قرائن معينة موجودة في جميع مدخلات منطقة ما وغائبة في مدخلات المناطق الأخرى. لقد لاحظنا تداخلا في المدخلات الموجودة في المناطق المختلفة، وهذا مؤشرٌ يدل على عدم وجود عزل أو فصل ما بين المدخلات المجموعة من المناطق المختلفة. ويمكن رد السبب إلى محاولة الدولة في اليمن تعميم زراعة أكثر من مدخل من المدخلات التي تتميز ببعض الصفات الجيدة مثل الإنتاجية العالية أو المقاومة لبعض الاجهادات الإحيائية واللا إحيائية من قبل الهيئات البحثية الزراعية في أغلب مناطق زراعة الشعير الرئيسية، كما يمكن تفسير هذا التداخل بعملية تبادل مزارعي المناطق المختلفة للبذار فيما بينهم مما لم يسمح بوجود مدخلات خاصة في منطقة معينة، وإن وجد في بعض الحالات تجمع لمجموعة من مدخلات نفس المنطقة بمناطق قريبة من بعضها بعضا في مخططات القرابة. إن المعدل العالي للتنوع الوراثي وغياب التشابه التام على المواقع الخمسة والعشرين المدروسة لأي مدخلين يدل على ارتفاع نسبة الاختلافات الوراثية في مدخلات الشعير المدروسة، كما يدل على أن المنطقة غنية بالتباينات الوراثية، وبالتالي فمن المهم القيام بمهمات لجمع عينات إضافية من الشعير لإغناء بنك مورثات الهيئة العامة للبحوث الزراعية في اليمن بطرز وراثية جديدة.

## المراجع:


- أبو غانم، عبد الإله أحمد. *الموارد البيئية الهامة في الجمهورية اليمنية*. المجلة اليمنية للبحوث والدراسات الزراعية (11 ). 2004، 67 – 90.
- الخراساني، محمد عبد الواسع. *دليل المناخ الزراعي في اليمن*. 2005، 1881– 2004.
- باوزير، عبد العزيز أحمد. *التباين الحيوي في الموارد الوراثية لمحاصيل الحبوب المزروعة بالمناطق الجنوبية من اليمن*. المجلة اليمنية للبحوث والدراسات الزراعية. (11 ). 2004، 119 – 32.
- مكرد، عبد الوحد عثمان الدليل الزراعي، المرتفعات الوسطى. 1998،123 –125 .
- BAEK, H. J., BEHARAV, A AND NEVO, E. *Ecological- genomic diversity of microsatellite inwild barley ( Hordeum Spomtaneum ) populations in Jordan*. Theor Appl Genet. 106: 2003, 397 – 410.

- BAUM, M. , GRANDO, S. , CECCARELLI, S. , BACKES, G. , AND JAHOOR, A. *Localiztion of Quantitative Trait Loci for Dryland Characters in Barley by Linkage Mapping*. Crop Science Society of America and America Soiety of Agronomy, 677 S. SegeRd.. 2004.
- BENITO,C., FIGUEIRAS,C., ZARAGOZA,F.J.,GALLEGO,A AND DE LAPENA,A *Rapid identification of Triticeae genotypes from single seeds using the polymerase chain reaction*. Plant Mol. Bio. 21: 1993, 181 – 183.
- CECCARELLI, S. , GRANDO, S. , AND VAN LEUR, J. AG. Understanding landraces: *The fertile crescents barley provides lesson to plant breeders*. Diversity. 11: 1995, 112 – 113.
- CHABANE, K., ABLETT, G.A., CORDEIRO,G.M., VALKOUN, J., AND HENRY, R.J. *EST versus genomic diversity microsatellite markers for genotyping wild and cultivated barley*.Genetic Resources and Evalution. 52: 2005, 903 – 909.
- CHOUMANE,W. , WINTER, P. , WEIGAND, F. , KAHL, G. *Conservation and variability of sequence –tagged microsatellite sites (STMS) from chickpea (Cicer aerietinum L.) within genus Cicer*. Theor Appl Genet. 101: 2000, 269 – 278.
- CHOUMANE, W. , VANBREUGEL,P., BAZUIN, T. O. M., BAUM, M., AYAD, W., AND AMARAL,W. *Genetic diversity of Pinus Brutia in Syria as revealed by DNA markers.* Forest Genetics 11(2): 2002, 87 – 101.
- EMEBIRI,L.C., PLATZ,G., AND MOODY,D.B. *Disease resistance genes in a doubled haploid of population of two- rowed barley segregation for malting quality attributes*. Australian Journal of Research.56: 2005, 49 – 56.
- FENG, Z. Y., ZHANG, L. L., ZHANG, Y. Z AND LING, H. Q. *Genetic diversity and geographical differentiation of cultivated sixi-rowed naked barley landraces from the Qinghai-Tibet plateau of China detected by SSR analysis*. Genetic and Molecular Biology. 29, 2. 2006, 330-338
- HAMWIEH,A. , UDUPA, S. M. , CHOUMANE, W. , SARKER, A. , DREYER, F. , JUNG,C AND BAUM, M. *A genetic linkage map of Lens sp based on microsatellite and AFLP markers and the localization of fusarium vascular wilt resistance*. Theor Appl Genet. 110: 2005, 669- 677.
- KARAKOUSIS, A., BARR, A.R., CHALMERS, J.K., ABLETT, G.A., HOTON, T.A., HENRY, R.J., LIM, P AND LANGRIDGE, P. *Potential of SSR markers for plant breeding variety identification in Australian barley germplasm*. Australian Journal of Agricultural Research.54: 2003, 1197 – 1210.
- KHLESTKINA, E. K., RODER, M. S. , EFREMOVA, T. T., BORNER, A., AND SHUMNY, V.K. *The genetic diversity of old and modern Siberian varieties of common spring wheat as determined by microsatellite markers*.Plants Breeding. 123, 2004, 122 – 127.
- LIU, Z. W. , BIYASHEV, R. M , SAGHAI MAROOF, M. A. *Development of Simple Sequence Repeat DNA Markers and their integration into a barley linkage map*. Theor Appl Genet. 93: 1996, 869 – 876.
- MACAULAY, M. , RAMSAY, L. , POWELL,W. , WOUGH, R. *A representative , highly informative genotyping set of barley SSRs*. Theor Appl Genet. 12: 2001, 801 – 809.
- MATUS, I. A AND HAYES, P. M. *Genetic diversity in three groups of barley germplasm assessed by simple sequence repeats*. Genom. 45: 2002, 1095 – 1106.
- MALYSHEVA-OTTO, L., GANAL, M. W., AND RODER,S. *Analysis of molecular diversity, population structure and linkage disequilibrium in a worldwide survey of cultivated barley germplasm (Hordeum vulgare L.)*. BMC Genetics. 7: 6: 2006, 1 – 14.
- NEI, M AND LI, WH. *Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases*. Proc Natl Acad Sci USA 1979,76(10): 5269 – 5273.

- NEI, M. *MOLECULAR EVOLUTION GENETICS*. COLUMBIA UNIVERSITY PRESS , NEW YORK , N Y ,1987.
- ORDON, F. , AHLEMEYER, J. , WERNER, K., KOHLER, W AND FRIEDT, W. *Molecular assessment of genetic diversity in winter barley and its use in breeding*. Euphytica. 146: 2005, 21 – 28.
- OZKAN, H. , KAFKAS, S., OZER, M. S AND BRANDOLINI, A. *Genetic relationships among South-East Turkey wild barley populations and sampling strategies of Hordeum spontaneum*. Theor Appl Genet. 112: 2005, 12 – 20.
- PERRIE,X., FLORI,A., AND BONNOT,F. DATA ANALYSIS METHODS. IN: HAMON P., SEGUIN M., PERRIER X AND GLASZAMANN J. C. Eds., *Genetic diversity of cultivated tropical plants*. Enfield, Science Publishers. Montpellier. 2003, 43-76
- POWELL,W. , MORGANTE, M. , DOYLE,J.J. , MCNICAL,J. , TINGEY,S.V., AND RAFALSKI. *Genepool Variation in Genus Glycine Subgenus Soja Revealed by polymorphic Nuclear and chloroplast microsatellite*.Genetics 144: 1996, 793 – 803.
- RAJORA,P.O., AND RAHMAN,M.H. *Microsatellite DNA and RAPD fingerprinting identification and genetic relationships of hybrid poplar (Populus x Canadensis) cultivars*. Theor Appl Genet. 106: 2003, 470 – 477.
- RAMSAY, L. , MACAULAY, M. , DEGLI IVANISSEVICH, S. ,MACLEAN, K., CARDLE, L. ,FULLER, J., EDWARDS, K. J. ,TUVESSON, S. , MORGANTE, M. , MASSARI, A. , MEASTR, E. ,MARMIROL, N. , SJAKSTE, T. , GANAL, M. , POWELL, W. AND WAUGH, R. *A simple Ssequence Repeats – Based Linkage Map of Barley*. Genetics 156: 2000, 1997- 2005.
- ROHLF, F.J.,. *NTSYS-pc, Numerrical Taxonomy and Multivariate Analysis System*. Applied Biostatistical Inc., New York. 1993.
- RUSSELL, J. R. , FULLER, J. D. , MACAULAY, M. , HATZ, B. G. , JAHOOR, A. , POWELL, W. ,AND WAUGH, R. *Direct comparison of levels of genetic variation among barley accessions detected by RFLP – AFLP – SSR – and RAPD*. Theor Appl Genet. 95: 1997a , 714 – 722.
- RUSSELL, J. , FULLER, J. , YOUNG, G. , THOMAS, B. , TARAMINO, G. , MACAULAY, M. , WAUGH, R AND POWELL, W. *Discriminating between barley genotypes using microsatellite markers*. Genome 40: 1997b, 442 – 450.
- RUSSELL,J.R., BOOTH, A., FULLER,J.D., BAUM,M., CECCARELLI,S., GRANDO,S., AND POWELL,W. *Polymorphism detected in the chloroplast and nuclear genomes of barley landraces sampled from Syria and Jordan*. Theor Appl Genet. 107: 2003, 413 – 421.
- STRUSS, D AND PLIESKE, J. *The use of microsatellite markers of detection of genetic diversity in barley populations*. Theor Appl Genet. 97: 1998, 308 – 315.
- VON KORFF, M. , WANG, H. , LEON, J AND PILLEN, K. AB – QTL analysis in spring barley. *Detection of favorable exotic alleles for agronomic traits introgressed from wild barley ( Hordeum Vulgare ssp spontaneum )*. Theor Appl Genet. 112: 2006, 1221 – 1231.
- WANG, Z. ,WBER, J. L. , ZHONG, G. , TANKSLEY, S. D. *Survey of plant short tandem DNA repeats*. Theor Appl Genet. 88: 1994, 1 – 6.
- WEIR,B.S. *Genetic Data Analysis.* Sinauer Associates, Sunderland, Mass. 1990.