مجلة جامعة تشرين للدراسات والبحوث العلمية _ سلسلة العلوم الزراعية المجلد (26) العدد (1)2004
Tishreen University Journal for Studies and Scientific Research- Agriculture Science Series Vol (26) No (1) 2004

القرابة الوراثية والصفات الإنتاجية لعشائر محلية من الحمص المزروع (Cicer arietinum L.)

الدكتور محمد معلا *
الدكتور حسن غزال **
الدكتورة وفاء شومان***
هايل الواوي ****

(قبل للنشر في 2004/3/31)

□ الملخّص □

نفذ البحث على بذور سبع عشائر محلية من الحمص المزروع في سوريا وهي: المراكشي، الحوراني، الفوعي، الجبلي، الكردي، البلدي، الدرعوزي في مركز البحوث العلمية الزراعية في ادلب خلال موسمي الزراعة2001 /2002 –2002 /2003. انتخب 24 طرازاً وراثياً ذات خواص انتاجية جيدة وممثلة لهذه العشائر بمعدل ثلاثة طرز من كل عشيرة ماعدا عشيرة الفوعي والحوراني والكردي فقد انتخب اربعة طرزوراثية من كل منها، درست بعض الخواص الإنتاجية للطرز المنتخبة كما تم دراسة الإختلافات فيما بينها على المستوى الجزيئي. بين تحليل التباين (ANOVA) وجود فروقات معنوية بين الطرز المنتخبة في الخواص الإنتاجية. كما أظهرت التحاليل الجزيئية باستخدام مؤشرات المقاطع المحيطة بتوابع الـ DNA الدقيقة (الـSTMS) وجود تباينات وراثية بين وضمن العشائر المدروسة. استخدمت نتائج تحليل الـ DNA باستخدام الـ STMS في تقدير البعد الوراثي ونسب التشابه ما بين العشائر السبع وضمنها.

* أستاذ الوراثة و تربية النبات– قسم المحاصيل الحقلية– كلية الزراعة – جامعة تشرين–اللاذقية –سورية.
** أستاذ تربية النبات– قسم المحاصيل الحقلية– كلية الزراعة – جامعة حلب–حلب –سورية.
*** أستاذ الوراثة الجزيئية والتقانات الحيوية – قسم العلوم الأساسية– كلية الزراعة – جامعة تشرين–اللاذقية –سورية.
****طالب ماجستير في قسم المحاصيل – كلية الزراعة – جامعة تشرين–اللاذقية –سورية.

مجلة جامعة تشرين للدراسات والبحوث العلمية _ سلسلة العلوم الزراعية المجلد (26) العدد (1)2004
Tishreen University Journal for Studies and Scientific Research- Agriculture Science Series Vol (26) No (1) 2004

DNA Fingerprints and Production Characters for Local Populations of Cultivar Chickpea (Cicer Arietinum L.)

Dr. Mohamad Moualla *
Dr. Hasan Ghazal **
Dr. Wafaa Choumane***
Haiel AL-Wawi * ***

(Accepted 31/3/2004)

□ ABSTRACT □

Seeds of seven local populations of Chickpea (Marakchi, Horani, Fouei, Jabali, Kourdi, Baladi and Darouzi) were collected from Syria and sowed during two season 2001 \ 2002-2002 \ 2003 at Agricultural Scientific Research Center in Idleb .

Twenty-four genotypes characterized by good production were selected for the analysis. theses genotypes were three of each population (except: Fouei, Horani and Kourdi were four genotypes).

The yield characteristics of some of the produced genotypes as well as the differences among them at the particle level were studied. The analysis of variance (ANOVA) showed significant difference between those populations for all characters. The molecular analysis based on sequence-Tagged-microsatellite Site (STMS) demonstrated the presence of genetic variability among and within the different populations.

Data obtained from DNA analysis were used in the estimation of genetic distance among and within the analyzed populations.

***Professor Of Plant Breeding At Crop Department, Faculty Of Agriculture, Tishreen University, Lattakia ,Syria .**
****Professor Of Plant Breeding At Crop Department, Faculty Of Agriculture, Aleppo University, Aleppo ,Syria .**
*****Professor Of Biotechnology And Molecular Genetic At Basic Science Department, Faculty Of Agriculture, Tishreen University, Lattakia, Syria .**
******Master Student At Crop Department, Faculty Of Agriculture ,Tishreen University, Lattakia, Syria.**

مقدمة:

يعتبر الحمص المزروع .Cicer arietinum L من المحاصيل البقولية الهامة نظراً لقيمته الغذائية العالية إذ تشكل الكربوهيدرات والبروتينات 80% من الوزن الجاف لبذوره إضافةً للعناصر المعدنية والفيتامينات (Gupta and Kapoor ,1990).

يزرع الحمص في سوريا بعلاً في اغلب المحافظات ويمكن تصنيف االمحافظات تنازليا حسب المساحة المزروعة منه عام 2001 كما يلي: حلب – السويداء – ادلب – درعا –حماه – الحسكة – ريف دمشق– حمص -القنيطرة – طرطوس – اللاذقية، كما تزرع مساحة صغيرة منه مرويا في الغاب وحماه. وقد بلغت المساحة الكلية المزروعة منه عام 2001 (87134) هكتار، وبلغ الانتاج (60052) طن وغلة الهكتار (684) كغ (المجموعة الإحصائية، 2001).

تعتبر كافة الأصناف المحلية المزروعة في سوريا عشائر غير نقية، تحتوي على تراكيب وراثية متنوعة متأقلمة مع البيئة (غنيم، 1988).

تحتوي الأصناف المحلية المزروعة على عدد كبير من السلالات المختلفة في صفاتها المظهرية وخواصها الإنتاجية، وتعتبر في هذه الحالة طريقة الانتخاب الفردي وسيلة سريعة وفعالة لانتخاب سلالات نقية وممتازة (خليل، 1983). إن جزءاً هاماً من مجينات حقيقيات النوى الراقية مكون من مقاطعDNA قصيرة، متكررة وموزعة على كامل مجين الفرد. تضم هذه المقاطع عدة أنواع ومنها المقاطع البسيطة المتكررة Simple sequences Repeats (SSR) التي تتكون من تجمع عدد كبير من مقاطع قصيرة من الـ DNA المتكررة، يتألف كل منها من 3– 5 أزواج نيوكليوتيدية (Epplen et al., 1991). يحيط بهذه المقاطع المتكررة مقاطع طويلة وحيدة النسخة(Sequences tagged microsatellite sites, STMS) (المايكروساتوليت) تجهز منها بادئات تتعرف على المناطق القصيرة المتكررة. هذه المقاطع تزودنا بعدد غير محدود من المؤشرات التي تسمح بالتمييز مابين الأنواع المختلفة أو بين أصناف من نفس النوع أو حتى بين أفراد تابعة للصنف نفسه (Choumane et al., 2000)، وذلك من خلال إنشاء ما يسمى ببصمة الـ DNA الخاصة بكل فرد (شومان وآخرون ،1996).

تم استخدام مؤشرات الـ STMS في مجالات كثيرة منها دراسة التنوع الوراثي عند القمح الربيعي (Chen et al., 1994)وعند الأرز (Yang et al., 1994) وفي مجموعة محورية من الشعير(Choumane et al.,1998) وفي الذرة الصفراء (Chin et al., 1994) وفي الحمص (Udupa et al., 1999) كما استخدمت هذه المؤشرات في توصيف بعض أصناف القمح وتقدير الاختلافات الوراثية فيما بينها(Eujayl et al., 2001)
وكذلك في دراسة علاقات القرابة بين وضمن أنواع العائلة البقولية (Choumane et al., 2000; Choumane et al., 2001).

تسمح هذه المؤشرات بكشف نسبة عالية من التباين الوراثي(Udupa and Baum, 2001) وتعتبر مناسبة جداً لدراسة التباين بين الأفراد المتقاربة وراثياً كما أنها تتميز باعطائها نتائج متكررة وثابتة مما يسمح بمقارنة نتائج مخابر متعددة مع بعضها (Smulders et al.,1997).

هدف البحث:

يهدف هذا البحث إلى مايلي:

1- انتخاب عدد من الطرز الوراثية المبشرة من العشائر المحلية للحمص تمتاز بالإنتاجية العالية إضافةً لاستخدامها في برامج التربية الأخرى.

2- تحديد البصمة الوراثية للطرز الوراثية المنتخبة باستخدام مؤشرات الـSTMS.

3- تحديد البعد الوراثي ونسب التشابه بين الطرز المنتخبة باستخدام مؤشرات الـSTMS.

مواد وطرائق البحث

- **المادة النباتية:** استخدم في هذه الدراسة24 طرز وراثي منتخبة من7عشائر محلية جمعت خلال موسم 2001/2000 من مصدرين هما: قسم الأصول الو راثية في الهيئة العامة للبحوث العلمية الزراعية بدمشق، وحقول المزارعين جدول رقم (1).

جدول رقم (1) – يبين أسماء العشائر المدروسة ومصدرها وعدد الطرز المنتخبة من كل عشيرة منها.

العشيرة	جبلي	فوعي	بلدي	مراكشي	حوراني	درعوزي	كردي
المصدر	الهيئة العامة للبحوث العلمية الزراعية بدمشق				حقول المزارعين		
عـــــدد الطرز	3	4	3	3	4	3	4

- **موقع تنفيذ البحث:**

نفذ البحث في محطة بحوث كفر صندل التابعة لمركز البحوث العلمية الزراعية بادلب (التي تبعد 25 كم شمال شرق مدينة ادلب، وتعتبر منطقة استقرار أولى).

زرعت هذه العشائر في الموسم الأول في تجربة حقلية وفق تصميم القطاعات الكاملة العشوائية بثلاثة مكررات، أبعاد القطعة التجريبية 10×8 م وعدد الخطوط /20/ خط وطول الخط 8 م، وزرعت الطرز المنتخبة من هذه العشائر في الموسم الثاني بطريقة نبات/خط بطول خط 6 متر لكل طراز.

- **العمليات الزراعية:**

أزيلت بقايا المحصول النجيلي السابق (قمح بعل)، وحرثت التربة بعد إضافة سماد السوبر فوسفات 46% بمعدل 10 كغ/دونم. أجري التعشيب والعزق حسب الحاجة.

- **الصفات المدروسة:**

عدد القرون على النبات، عدد البذور في القرن، عدد البذور في النبات، غلة النبات من البذور، وزن النبات الهوائي الجاف.

- **الدراسة الجزيئية:**

أجريت الدراسة الجزيئية لتلك الطرز المنتخبة في مخبر التقانات الحيوية في المركز الدولي للبحوث الزراعية في المناطق الجافة (ايكاردا).

استخلاص الأحماض النووية:

عزلت الأحماض النووية من 0.2غ من الأوراق الفتية المأخوذة من نباتات بعمر 3 أسابيع حسب تقنية (Rogers and Bendich, 1985). طحنت العينات بالآزوت السائل، ومن ثم نقلت إلى أنابيب سعة 2مل، وأضيف إليها 1مل من محلول الاستخلاص المكون من: 2% Cetyltrimethyl Ammonium Bromide (CTAB), 1.4M NaCl, 0.1 M Tris-CL, 20m M EDTA- 0.2%B-mercaptoethanol, pH: 8.0)

مزجت العينات جيداً وتم تحضينها في حمام مائي على درجة حرارة 65م لمدة 30 دقيقة مع التحريك الهادئ. أخرجت العينات وأضيف لها حجم مماثل من المزيج المحضر بنسبة: 24كلوروفورم/ 1كحول ايزواميل. مزجت العينات جيداً على هزاز أفقي لمدة 10 دقائق. أجريت عملية التثقيل لمدة 15 دقيقة، بسرعة 4000 دورة / دقيقة وبدرجة حرارة 20م. نقل الوسط المائي المحتوي على الأحماض النووية إلى أنبوب جديد حيث تم ترسيبها باستخدام 0.6 من حجمها من الكحول الأيزوبروبانولي. تركت الأحماض النووية لتترسب مدة 30 دقيقة في درجة حرارة المخبر، ثم جمعت من خلال عملية التثقيل لمدة 10 دقائق على درجة حرارة (0) م وبسرعة 10000دورة / دقيقة، تم غسل الراسب مرتين بالكحول الايتيلي 76% ثم جفف وأذيب في المحلول الواقي TE (TE:10 m M Tris, 1Mm EDTA, pH:8).

تحليل النتائج:

حللت النتائج الحقلية باستخدام البرنامج الإحصائي: SPSS 10 For Windows (SPSS) وحللت النتائج المخبرية باستخدام البرنامج: Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis (NTSYS) System (Nei and Li., 1979).

التفاعل التسلسلي للبوليميراز باستخدام تقانة الـ STMS (ميكروساتلايت).

تم تحليل عينات الحمص باستخدام 11 بادئة من الـ STMS (جدول 2). أجري التفاعل في حجم 20 ميكروليتر مكون من: 2ميكروليتر من وسط التفاعل المكون من (10mM Tris-HCl, PH 8.3, 1.5mM MgCl2, l2.5mM KCl). 2 ميكروليتر من DNA المحتوية على 75 نانوغرام و2 ميكروليترمن النيوكليوتيدات الأربعة وتعادل 200 ميكرومولار من كل نيوكليوتيد ، 2 ميكروليتر من البادئة وتعادل 30 بيكومول من البادئة ومن ثم 0.1 ميكروليترمن أنزيم التكثيف Taq DNA polymerase، الذي يحوي نصف وحدة أنزيمية.

الجدول (2) – التركيب النيوكليوتيدي للمقاطع النيوكليوتيديةالمكونة لبادئات الـ STMS المستخدمة

البادئة	المقطع الأول َ – **5**َ**3**	المقطع الثاني َ – **5**َ**3**
Ta1	TGAAATATGGAATGATTA CTGAGTGAC	TATTGAAATAGGTCAGGCT TATAAAAA
Ta2	AAATGGAAGAAGAATAA AAACGAAAC	TTCCATTCTTTATTATCCAT ATCACTACA
Ta5	ATCATTTCAATTTCCTCAA CTATGAAT	TCGTTAACACGTAATTTCA AGTAAAGAT
Ta14	TGACTTGCTATTTAGGGA ACA	TGGCTAAAGACAATTAAA GTT
Ta37	ACTTACATGAATTATCTTT CTTGGTCC	CGTATTCAAATAATCTTTC ATCAGTCA
Ta76	TCCTCTTCTTCGATATCAT	CCATTCTATCTTTGGTGCTT

	CA	
Ta80	CGAATTTTTACATCCGTAATG	AATCAATCCATTTTGCATTC
Ta89	ATCCTTCACGCTTATTTAGTTTTTACA	CAAGTAAAAGAGTCACTAGACCTCACA
Ta117	GAAAATCCCAAATTTTTCTTCTTCT	AACCTTATTTAAGAATATGAGAAACACA
Ta125	TTGAAATTGAACTGTAACAGAACATAAA	TAGATAGGTGATCACAAGAAGAGAATG
Tr26	TCATCGCAGATGATGTAGAA	TTGAACCTCAAGTTCTCTGG

أجري تفاعل المكاثرة في جهاز التفاعل التسلسلي للبوليميراز أو جهاز التدوير الحراريPCR (Perkin Elmer 9600). تمت عملية المكاثرة من خلال برنامج المكاثرة المكون من 35 دورة، (وذلك بعد تعريض الـ DNA إلى درجة حرارة 94 مْ لمدة 4 دقائق)، تتكون كل منها من المراحل التالية: (30) ثانية على درجة حرارة (94) مْ ثم (50) ثانية على درجة حرارة (55) مْ ثم(50) ثانية على درجة حرارة (72) مْ. بعد ذلك تركت العينات بعد الدورة الأخيرة مدة 7 دقائق على درجة حرارة 72 مْ لاستكمال عملية تصنيع سلاسل DNA الجديدة.

فصل نواتج المكاثرة على هلامة الاكريلاميد:

فصلت نواتج المكاثرة على هلامة الاكريلاميد ذات تركيز 6% بوساطة جهاز الرحلان الكهربائي الشاقولي، وتمت عملية التلوين باستخدام نترات الفضة (Roder et al., 1995).

النتائج والمناقشة

أ- **النتائج الحقلية:** بين تحليل التباين(ANOVA) للطرز الوراثية المنتخبة من العشائر المحلية وجود فروقات معنوية للصفات الإنتاجية المدروسة ماعدا صفة عدد القرون في النبات جدول رقم (3).

جدول رقم (3) – يبين تحليل التباين (ANOVA) للطرز المنتخبة من العشائر المحلية.

الصفة المدروسة	P	Sig
عدد القرون في النبات	< 0.001	***
عدد البذور في القرن	> 0.05	n.s
عدد البذور في النبات	< 0.001	***
غلة النبات من البذور /غ	< 0.01	**
وزن النبات الهوائي الجاف /غ	< 0. 05	*

- الفروق معنوية عند احتمال 0.001.***
- الفروق معنوية عند احتمال 0.01.**

–الفروق معنوية عند احتمال 0.05.*

n.s. – الفروق غير معنوية

وفيما يلي استعراض نتائج أهم عناصر الغلة:

1– عدد القرون في النبات: بينت الدراسة أن أعلى متوسط لعدد القرون في النبات كان في الحمص الدرعوزي يليه الحمص الحوراني حيث بلغ 108– 102.5 قرن على الترتيب، بينما احتلت عشيرة الحمص الجبلي المرتبة الأخيرة حيث بلغ المتوسط فيها54.3 قرن. وكان أعلى مدى للحمص الحوراني إذ بلغ 50 يليه الحمص البلدي وبلغ 31، وأدنى مدى للحمص الكردي حيث بلغ 5 بينما كان معامل التباين الأعلى في الحمص البلدي إذ بلغ 24.1 يليه الحمص الحوراني وبلغ 22.8، ومعامل التباين الأدنى في الحمص الكردي إذ بلغ 2.7 (جدول رقم4).

جدول رقم (4)– يبين صفة عدد القرون في النبات للطرز الوراثية المدروسة.

العشيرة	عدد الطرز	$\overline{X}$	C.V	Max	Min	Range
البلدي	3	72	24.1	92	61	31
الجبلي	3	54.3	15.3	61	45	16
الحوراني	4	102.5	22.8	127	77	50
الدرعوزي	3	108	7.6	115	99	16
الفوعي	4	68.5	13.6	80	60	20
الكردي	4	81.3	2.7	84	79	5
المراكشي	3	68.3	22.2	82	52	30

2–عدد البذور في القرن: تساوى متوسط عدد البذور في القرن وكان 1 بذرة في كافة الطرز المدروسة باستثناء طرز الحمص الدرعوزي فقد بلغ فيها 1.3 بذرة. كان معامل التباين الأعلى في عشيرة الحمص الجبلي إذ بلغ 14.8 وكانت الفروقات في المدى متقاربة لكافة الطرز المدروسة إذ تراوحت بين (0 – 0.3).

جدول رقم (5)– يبين صفة عدد البذور في القرن للطرز الوراثية المدروسة.

العشيرة	عدد الطرز	$\overline{X}$	C.V	Max	Min	Range
البلدي	3	1	0	1.0	1	0
الجبلي	3	1.0	14.8	1.2	0.9	0.3
الحوراني	4	1.0	5.1	1	0.9	0.1
الدرعوزي	3	1.3	4.6	1.3	1.2	0.1
الفوعي	4	1.0	5.1	1	0.9	0.1
الكردي	4	1.0	8.2	1.1	0.9	0.2
المراكشي	3	1.0	0	1	1	0

3- عدد البذور في النبات: بلغ متوسط عدد البذور 134.3- 99.5 بذرة في الحمص الدرعوزي والحوراني على الترتيب بينما انخفض إلى 55.7 بذرة في الحمص الجبلي.

كان أعلى مدى للحمص الحوراني إذ بلغ 48 وأدنى مدى للحمص الجبلي حيث بلغ 5، وكان معامل التباين الأعلى للحمص البلدي إذ بلغ 25.2 بينما كان معامل التباين الأدنى للحمص الجبلي حيث بلغ 5.2.

جدول رقم (6)- يبين صفة عدد البذور في النبات للطرز الوراثية المدروسة.

العشيرة	عدد الطرز	$\overline{X}$	C.V	Max	Min	Range
البلدي	3	71.3	25.2	92	59	33
الجبلي	3	55.7	5.2	59.0	54.0	5
الحوراني	4	99.5	21.3	124.0	76.0	48.0
الدرعوزي	3	134.3	13.2	150	115.0	35.0
الفوعي	4	67.3	15.8	78	55	23.0
الكردي	4	79.8	8.4	87	71	16
المراكشي	3	67.0	23.2	82	51	31

4- غلة النبات من البذور (غ): كان متوسط وزن البذور الأعلى في الحمص الحوراني حيث بلغ 36.3 والمتوسط الأدنى للحمص الجبلي حيث بلغ 17.8 كما كان المدى الأعلى في الحمص الحوراني إذ بلغ 22.5 بينما كان المدى الأدنى في الحمص الجبلي وبلغ 4.9 .

بلغ معامل التباين 26.9 في الحمص الحوراني وكان الأعلى بين الطرز المدروسة أيضاً بينما كان معامل التباين الأدنى في الحمص الكردي إذ بلغ 12.3.

جدول رقم (7)- يبين صفة غلة النبات من البذور للطرز الوراثية المدروسة.

العشيرة	عدد الطرز	$\overline{X}$	C.V	Max	Min	Range
البلدي	3	19.6	24.4	25.1	16.4	8.7
الجبلي	3	17.8	15.3	20.9	16.0	4.9
الحوراني	4	36.3	26.9	50.1	27.6	22.5
الدرعوزي	3	31	12.6	34.9	27.1	7.8
الفوعي	4	19.8	17.0	21.8	14.8	7.0
الكردي	4	26.7	12.3	30.2	22.3	7.9
المراكشي	3	23.8	14.1	27.7	21.8	5.9

5- وزن النبات الهوائي الجاف(تبن+بذور)/غ: كان المتوسط الأعلى في الحمص الحوراني وبلغ56.4 والمتوسط الأدنى في الحمص الجبلي حيث بلغ28.1. وكان أعلى مدى للحمص الحوراني وبلغ 29.4 وأدنى مدى للحمص

الـدرعوزي إذ بلـغ 7.6 بينمـا كـان معامـل التبـاين الأعلـى للحمـص المراكشـي إذ بلـغ 45 وكـان الأدنـى للحمـص الدرعوزي حيث بلغ 8.3.

جدول رقم (8)- يبين صفة وزن النبات الهوائي الجاف للطرز الوراثية المدروسة.

العشيرة	عدد الطرز	$\overline{X}$	C.V	Max	Min	Range
البلدي	3	31.3	28.7	41.5	24.7	16.8
الجبلي	3	28.1	16.2	33.3	25.0	8.3
الحوراني	4	56.4	29.4	79.1	40.1	39.0
الدرعوزي	3	48.8	8.3	51.8	44.2	7.6
الفوعي	4	30.9	14.0	35.8	25.3	10.5
الكردي	4	43.2	14.3	46.5	33.9	12.6
المراكشي	3	44.8	45.0	68	32.5	35.5

ب – **النتائج المخبرية:** حلل الـ DNA للطرز المدروسة المنتخبة والممثلة لعشائر الحمص المحلية السبع باستخدام بادئات الSTMS. تباينت البادئات بعدد القرائن التي تعرفت عليها للموقع الواحد وكذلك بدرجة الاختلافات التي كشفتها، فقد تراوح عدد القرائن التي تعرفت عليها البادئات مابين (5) قرائن كما في البادئة التي تتعرف على الموقع Ta76، حتى وصلت إلى (13) قرين بالنسبة للموقع Ta117 وكان العدد الكلي لقرائن الطرز المدروسة هو(94) قرين ل(11) موقع مختلف أي بمتوسط قدره 8.5 قرين للموقع الواحد جدول رقم(9).

جدول رقم(9)- يبين عدد القرائن التي تعرفت عليها البادئات المستخدمة:

البادئة	Ta 1	Ta 2	Ta 5	Ta 14	Tr 26	Ta 37	Ta 76	Ta 80	Ta 89	Ta 117	Ta 125	Total
عـــــدد القرائن	7	8	12	9	5	10	5	8	7	13	10	94

تمثلت التباينات الوراثية التي أظهرتها تحاليل الـ DNA باختلافات بالوزن الجزيئي للقرائن المتنوعة. حيث نجد أن التبـاين بـالوزن الجزيئـي مـابين قـرائن الموقـعTa117 وTa125 هـو كبيـر جـداً ويصـل حتـى 60 زوج مـن النيوكليوتيدات، في حين كان الفرق بالوزن الجزيئي صغير وبحدود 15 زوج نيوكليوتيدي كما هوالحال في الموقعين Ta80 وTa76.

لقد سمحت جميع البادئات بالتمييز مابين العشائر المختلفة، وقد استطاعت بعض البادئات الكشف عن قرائن متشابهة ضمن نفس الصنف ولكنها تختلف بين عشيرة وأخرى مثل البادئة Ta14 وإن دل ذلك على شيء فإنه يدل على أن التباينات الوراثية بين العشائر المختلفة كانت أكبر من التباينات ضمن الصنف الواحد وهنا يمكن اعتبار هذه البادئات مميزة للأصناف ويمكن استخدامها كبادئات نوعية متخصصة في تمييز الأصناف المختلفة، في حين أن البادئات الأخرى (Ta5-Ta117-Ta125-Ta76 وبقية البادئات) فقد كشفت قرائن متعددة حتى ضمن

الصنف الواحد، فنجد بالنسبة للموقع Ta117 بأن جميع الأفراد المدروسة من الصنف البلدي والجبلي والحوراني، كل منها يملك قريناً مختلفاً عن القرين الموجود في الفرد الأخر والتابع لنفس الصنف، وهذا يعكس التباينات الوراثية الكبيرة الموجودة ضمن الصنف الواحد.

أظهرت النتائج أن الحمص الدرعوزي هو أقل العشائر بالتباينات الوراثية ضمن العشيرة نفسها حيث نجد أن الأفراد الثلاثة المدروسة من الحمص الدرعوزي وبأغلب البادئات كان لها نفس الوزن الجزيئي شكل(1) وشكل (2)، بينما كان الحمص الحوراني هو أغنى العشائر بالتباينات الوراثية لاختلاف الوزن الجزيئي لأفراده مع (7) بادئات يليه الحمص البلدي(6) بادئات ثم المراكشي والفوعي(4) بادئات ثم الجبلي (3) بادئات وأخيراً الكردي مع (2) بادئة.

لقد تم إنشاء جداول خاصة تعتمد على وجود أو غياب قطع ال DNA عند وزن جزيئي معين، حيث أعطيت رقم (1) في حالة وجود القرين ورقم (0) في حال غيابه، واستخدمت هذه الجداول لتقدير نسبة التشابه ما بين الأصناف المدروسة وضمن الصنف الواحد، ومن ثم استخدمت هذه الجداول في رسم مخطط القرابة الوراثية ما بين الأفراد والأصناف المختلفة شكل (3).

يظهر المخطط أن جميع العشائر المدروسة تحمل تباينات وراثية كبيرة، ونتعرف على ذلك من خلال وجود قرائن مختلفة لنفس الموقع وكذلك توزع أفراد الصنف الواحد بين أفراد الأصناف الأخرى.

نرى من المخطط أن أعلى نسبة تشابه ضمن أفراد الصنف الواحد كانت في الحمص الدرعوزي، حيث نجد جميع الطرز موجودة في نفس الفرع وكانت نسبة التشابه بينها حوالي 97%، أما الجزء الثاني من المخطط فيضم باقي الأفراد والعشائر، ونجد أن الحمص البلدي يملك تباينات وراثية كبيرة حيث كانت الطرز الثلاثة المدروسة موزعة ضمن ثلاث مجموعات مختلفة. بالنسبة للحمص الحوراني، نجد أن الفردين 2 و4 أقرب إلى بعضهما البعض من الفردين 1و3 وبالتالي فإن هذه العشيرة تحمل تباينات وراثية كبيرة تجعل أفراده تتشابه مع أفراد من الفوعي والجبلي والكردي أكثر من تشابهها مع الأفراد الأخرى من الحوراني.

كذلك نجد أن الحمص الكردي يحمل تباينات كبيرة وبالتالي نسبة التشابه بين أفراده للمواقع المدروسة هي أقل من 80% ونجد أن طراز الكردي (3) أقرب إلى طراز المراكشي (2) منه إلى باقي طرز الكردي، في حين نجد أن الطرازين (1) و(4) يتشابهان بنسبة حوالي 90% مع بعضهما البعض. ونلاحظ أن طرز الحمص الجبلي موزعة في ثلاث مجموعات مختلفة وأن طراز الجبلي (2) يتشابه مع البلدي(1) بينما يتشابه الجبلي (3) مع الحوراني (4) كما يتشابه الجبلي (1) مع الفوعي (1) في حين لا تتشابه هذه الطرز مع بعضها البعض وبالتالي تحتوي عشيرة الحمص الجبلي تباينات كبيرة بين طرزها، وكذلك الأمر بالنسبة للحمص المراكشي حيث تتوزع طرزه في ثلاث مجموعات مختلفة، بينما تتوزع طرز الحمص الفوعي في أربع مجموعات مختلفة وهذا يدل على التباينات الموجودة بين طرز هذه العشائر.

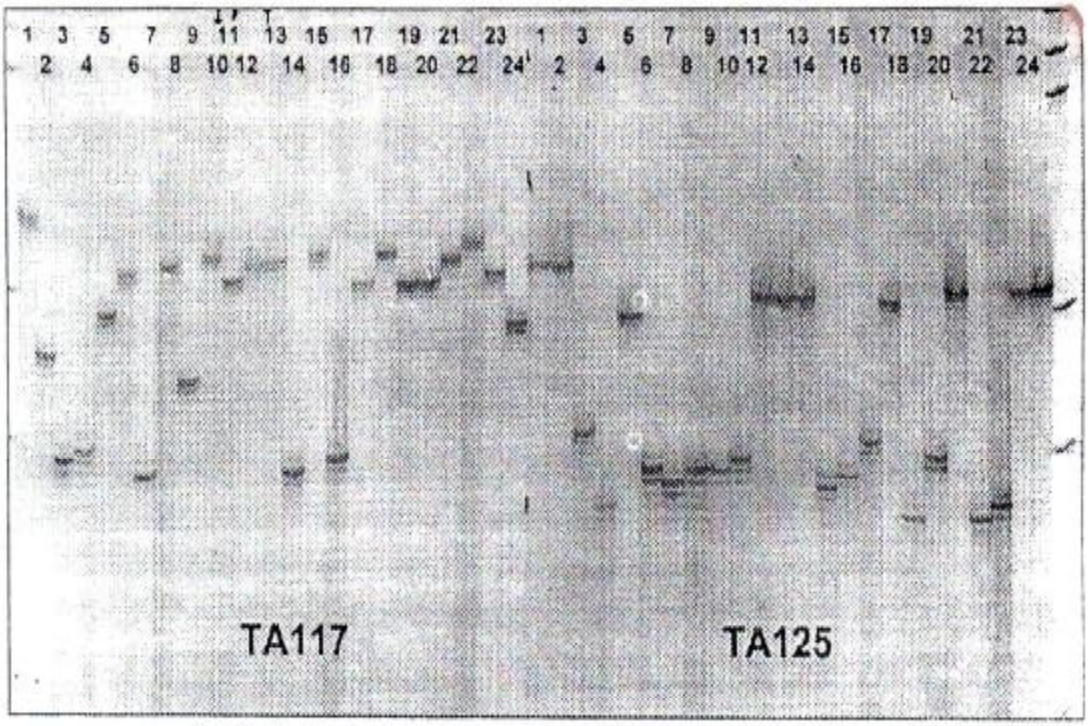
مقارنة النتائج الحقلية والمخبرية: بينت النتائج الحقلية أن معامل التباين كان متدنياً في عشيرة الحمص الدرعوزي لمعظم الصفات الإنتاجية كما أظهرت النتائج المخبرية أن نسبة التشابه كبيرة بين طرز هذه العشيرة وهذا يدل على نقاوة هذه العشيرة. بينما كان معامل التباين والمدى كبيراً في عشيرة الحمص الحوراني والبلدي لكافة الصفات المدروسة، واحتوت هاتين العشيرتين على تباينات وراثية كبيرة بين أفرادها وبالتالي يمكن اعتبار هاتين العشيرتين أكثر العشائر تبايناً وراثياً.

واحتوت كافة العشائر على تباينات كبيرة بين أفرادها تجسدت من خلال ارتفاع قيمة معامل التباين للصفات الإنتاجية ومن خلال البعد الوراثي الذي يوضحه مخطط القرابة الوراثية.

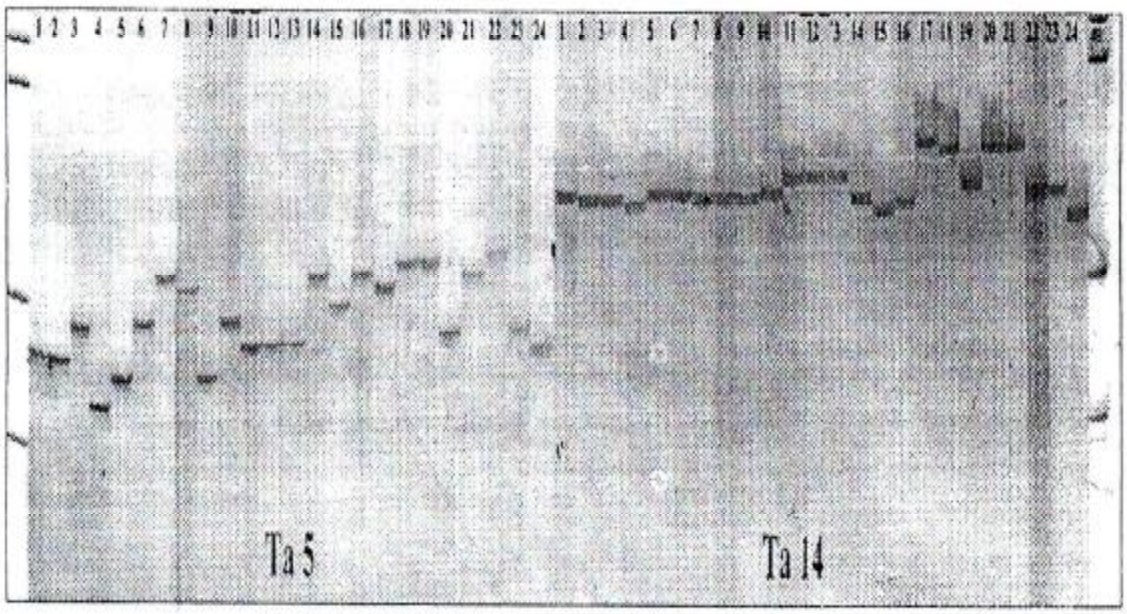
أظهرت الدراسة الحقلية أن هناك تباينات كبيرة بين العشائر المدروسة ولكافة الصفات الإنتاجية المدروسة، فقد كان متوسط عدد القرون في النبات(54.3) في الحمص الجبلي بينما ارتفع إلى الضعف في الحمص الدرعوزي وبلغ (108)، وارتفعت قيمة المدى من (5) في الحمص الكردي إلى (50) في الحمص الحوراني. انخفض متوسط عدد البذور في النبات من (134.3) للحمص الدرعوزي إلى (55.7) للحمص الجبلي، كما انخفضت قيمة المدى من (48) للحمص الحوراني إلى (5) للحمص الجبلي، وهكذا بالنسبة لبقية الصفات المدروسة مما يوضح وجود تباينات كبيرة بين كافة العشائر المدروسة، كما أكدت هذه التباينات نتائج تحليل الـ DNA حيث سمحت جميع البادئات بالتمييز مابين العشائر المختلفة وأظهر مخطط القرابة الوراثية أن العشائر المدروسة توزعت في عنقودين شمل العنقود الأول مجموعة أولى احتوت عشيرة الحمص الدرعوزي بكافة أفرادها ومجموعة ثانية شملت طرازاً واحداً من كل من عشيرة الفوعي والكردي المراكشي بينما شمل العنقود الثاني مجموعة أولى احتوت طرازين من الحمص البلدي وطراز من الحمص الجبلي وآخر من الفوعي وآخر من المراكشي، ومجموعة ثانية تفرعت بدورها إلى مجموعتين احتوتا على طرز من كافة العشائر ماعدا عشيرة الحمص الدرعوزي.

لقد تضافرت النتائج الحقلية والمخبرية في إثبات وجود تباينات وراثية بين وضمن العشائر المدروسة وأكدت أن عشيرة الحمص الحوراني هي أكثر العشائر المدروسة غنى بالتباينات الوراثية تلتها عشيرة الحمص البلدي بينما كانت عشيرة الحمص الدرعوزي على درجة عالية جداً من التشابه الوراثي وبحدود 97%.

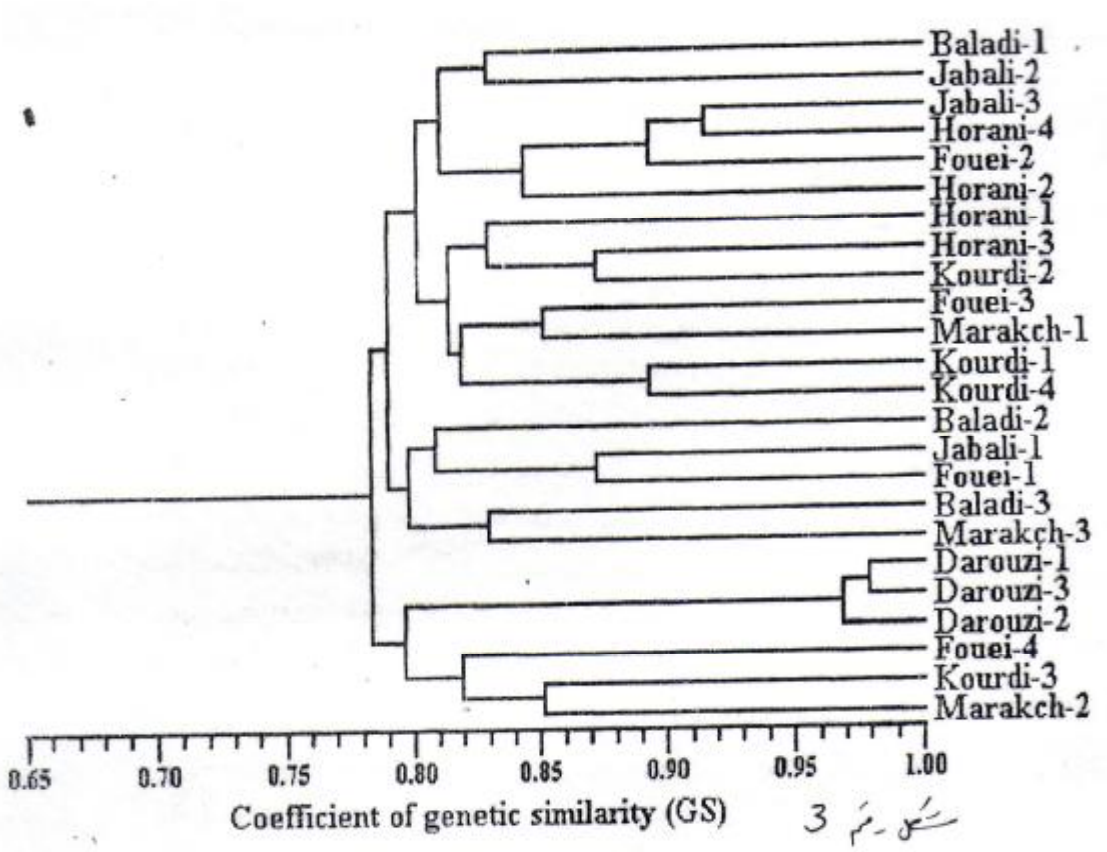
وبالتالي فإن تطبيق الإنتخاب الفردي كان فعالاً في الحصول على سلالات نقية من هذه العشائر السبع المدروسة تساهم في رفع الإنتاجية بشكل مباشر، كما يمكن الاستفادة منها في برامج التربية.



شكل(١): تحليل عينات الـ DNA المستخلصة من سبعة طرز من الحمص باستخدام البادئتين Ta125 ,Ta117.
العينات ١-٢-٣= الحمص البلدي، ٤-٥-٦ : الحمص الجبلي، ٧-٨-٩-١٠: الحمص الحوراني، ١١-١٢-١٣: الحمص الدرعوزي،
١٤-١٥-١٦-١٧: الحمص الفوعي، ١٨-١٩-٢٠: الحمص الكردي، ٢١-٢٢-٢٣: الحمص المراكشي.



شكل(٢): تحليل عينات الـ DNA المستخلصة من سبعة طرز من الحمص باستخدام البادئتين Ta 14, Ta5.
العينات ١-٢-٣= الحمص البلدي، ٤-٥-٦ : الحمص الجبلي، ٧-٨-٩-١٠: الحمص الحوراني، ١١-١٢-١٣: الحمص الدرعوزي،
١٤-١٥-١٦-١٧: الحمص الفوعي، ١٨-١٩-٢٠: الحمص الكردي، ٢١-٢٢-٢٣: الحمص المراكشي.


Baladi-1
Jabali-2
Jabali-3
Horani-4
Fouei-2
Horani-2
Horani-1
Horani-3
Kourdi-2
Fouei-3
Marakch-1
Kourdi-1
Kourdi-4
Baladi-2
Jabali-1
Fouei-1
Baladi-3
Marakch-3
Darouzi-1
Darouzi-3
Darouzi-2
Fouei-4
Kourdi-3
Marakch-2
0.65
0.70
0.75
0.80
0.85
0.90
0.95
1.00
Coefficient of genetic similarity (GS)

المراجع:

.....

1- خليل، شعبان، 1983- *طرق تحسين الفول والتطورات الحديثة*. الدورة التدريبية الثانية على تحسين الفول البلدي، 25-38، مشروع وادي النيل، مصر.

2- شومان، وفاء، 1996- *التمييز بين بعض أصناف الحمص وهجنها من خلال بصمة ال*DNA. مجلة جامعة تشرين للدراسات والبحوث العلمية، المجلد الثامن عشر، العدد الرابعة، 227 - 242.

3- غنيم، عفيف، 1988 – *المحاصيل البقولية الغذائية في سوريا*. مجلة المهندس الزراعي العربي، العدد الثاني والعشرون، 59- 65.

4 – *المجموعة الإحصائية السنوية لعام* 2001 – وزارة الزراعة والإصلاح الزراعي، سوريا.

5- CHEN H.B., MARTIN J.M. and TALBERT L.E. 1994-Genetic diversity in hard red spring wheat based on sequence -Tagged - Site PCR marker. Crop- Sciences, Vol. 34, No. 6, 1628 -1632.

6-CHIN E.C.L., SENIOR M.L., SHU H. and SMITH J.S.C. 1996-Maize simple repetitive DNA sequences. Abundance and allele variation Genome, No. 39, 866-873.

7- CHOUMANE W., ACHTAR S., VALKOUN J., and WEIGAND F. 1998-Genetic variation in core and base collections of barley from WANA as revealed by RAPD's. A.A Jaradat (Ed.), Triticeae III. Science Publishers, Inc., Enfield, NH, USA pp. 159-164.

8-CHOUMANE W., WINTER P., WEIGAND F. and KAHL G. 2000-Conservation and Variability of Sequences Tagged Microsatellite Sites from Chickpea(Cicer arietinum) within the genus Cicer. Theor Appl Genet. No. 101, 269-278.

9-CHOUMANE W. and BAUM M. 2001-Conservation of Sequence Tagged Microsatellite Sites (STMSs) between Cicer and Pisum. Journal of Tishreen University.

10-EPPLEN J.T., AMMER H and EPPLEN C. 1991-Oligonucleotide fingerprinting using simple repeats motifs a convenient ubiquitosusly applicable method to detect hypervariability for multiple purposes. In DNA fingerprinting approaches and application, Edited by Burk T., Dolf G., Jeffreys A.J., and Wolff R. Birkhauser Bsel. 50-69.

11-EUJAYL I., SORRELLS M., BAUM M., WOLTERS P. and POWELL W. 2001. Assessment of genotypic variation among cultivated durum wheat based on EST-SSRs and genomic SSRs. Euphytica, No.119, 39-43.

12-GUPTA Y.P. and KAPOOR A.C. 1990-Chemical composition and protein quality of various grain legumes. Indian journal of Agricultural Sciences, No. 50, 393-398.

13-NEI M. and LI W.H. 1979-Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases. Pro. Natl. Acad. Sci .USA, No.74, 5267-5273.

14-RODER M.S., PLASCHKE J., KONIG S.U., BORNER A. and GANAL M.W. 1995-Abundance, Variability and chromosomal location of microsatellites in wheat. Mol. Gen. Genet, No. 246, 327-333.

15-ROGERS S.O. and BENICH A.J. 1985-Extraction of DNA from milligram amounts of fresh, herbarium and mummified plant tissues. Plant Mol. Biol, No.5, 69-76.

16- SMULDERS M.J.M., BREDEMEIJER G., RUSKORTEKAAS, ARENS P and VOSMAN B. 1997-Use of short microsatellites from data base sequences to generate polymorphism among Lycopersicon Esculantum cultivars and accessions of the Lycopersicon species. Theor .Appl.Gene, Vol. 94, No. 2, 264-272.

17- UDUPA S.M., ROBERTSON L.D., WEIGAND F., Baum M. and KAHL G. 1999-Allelic variation at $(TAA)_n$ microsatellite loci in a world collection of chickpea (Cicer arietinum L.). Germplasm. Mol. Gen. Genet, No. 261, 354-363.

18- UDUPA S.M. and BAUM M. 2001-High mutation rate and mutational bias at microsatellite loci in chickpea (Cicer arietinum L). Mol. Gen. No. 265, 1097-1103.

19- YANG G.P., SAGHAI. MAROOF M.A., XU C.G., ZHANG Q.F.and BIYASHEV R.M. 1994-Comparative analysis of microsatellite DNA polymorphism in landraces and cultivars of rice. Molecular and general genetics, Vol. 245, No. 2, 187-194.