

دراسة التنوع الوراثي والتلازم لبعض الصفات الهامة لطرز وراثية من الشعير (*Hordeum vulgare* L.) باستخدام مؤشرات مصفوفة التنوع DArT

عبد اللطيف العساف^{(1)*} ومحمد شفيق حكيم⁽¹⁾ ومحمد فادي بصمه جي⁽²⁾ وستيفانيا غرانادو⁽³⁾

- (1). قسم المحاصيل الحقلية، كلية الزراعة، جامعة حلب. سورية.
 - (2). مركز بحوث حلب، الهيئة العامة للبحوث العلمية الزراعية، دمشق، سورية.
 - (3). المركز الدولي للمحاصيل في المناطق الجافة (اكريسات)، حيدر آباد، الهند.
- (* للمراسلة: م. عبد اللطيف العساف. البريد الإلكتروني: a.alassaf74@gmail.com).

تاريخ القبول: 2018/12/02

تاريخ الاستلام: 2018/11/13

الملخص

نفذ هذا البحث بالتعاون بين كلية الزراعة بجامعة حلب والهيئة العامة للبحوث العلمية الزراعية والمركز الدولي للبحوث الزراعية في المناطق الجافة (إيكاردا) في ثلاثة مواقع: تل حديا، وحميمة، وبريدا خلال موسمين زراعيين بدءاً بالموسم 2009/2008 وفق تصميم القطاعات العشوائية الكاملة بثلاث مكررات. هدفت الدراسة إلى تقييم التنوع الوراثي لـ 43 طرازاً وراثياً من الشعير ممثلة لمناطق زراعته في العديد من مناطق العالم وذلك باستخدام مؤشرات DArT للاستفادة منها من خلال اختيار الطرز الوراثية المتباعدة وراثياً وإدخالها برامج التربية. ودراسة التلازم بين المؤشرات الجزيئية وصفتي الغلة الحبية وطول النبات تحت ظروف الجفاف، وبعض صفات الجذور في بادرات الشعير تحت ظروف متحكم بها، بغية تحديد المؤشرات المساعدة على الانتخاب لهذه الصفات في البيئات الجافة. بلغ عدد القرائن الكلي في جميع البادئات 139 قريناً، إذ تباينت البادئات في عدد القرائن التي تملكها بين صفر إلى 2 وبمعدل 1.99 قريناً للموقع الواحد. بلغ متوسط قيمة التنوع الوراثي GD Genetic Diversity وقيمة التنوع المورثي PIC Polymorphism Information Content 0.37 و0.36 على التوالي. وتراوح المدى للتنوع الوراثي GD من صفر إلى 0.5، ومن صفر إلى 0.49 لصفة PIC. تبين من خلال مخطط البعد الوراثي وجود تداخلات بين مدخلات المناطق المختلفة في أكثر من مجموعة، حيث أشار معدل التنوع الوراثي العالي وغياب التشابه التام بين أي مدخلين من مدخلات الشعير إلى ارتفاع نسبة الاختلافات الوراثية، وغنى المناطق المدروسة بالتباينات الوراثية. كما أظهرت النتائج وجود ارتباط بين مجموعة من المؤشرات الجزيئية والصفات المدروسة، حيث بلغ عددها 27 مؤشراً توزعت على كامل صبغيات الشعير وأثرت هذه المؤشرات في الصفات المدروسة إيجاباً.

الكلمات المفتاحية: الشعير، التنوع الوراثي، المؤشرات الجزيئية، مصفوفة التنوع الوراثي، تحليل التلازم.

المقدمة:

يعتبر الشعير (*Hordeum vulgare* L.) من أكثر محاصيل الحبوب الاقتصادية تحملاً للتباينات المناخية، حيث يزرع في مناطق متنوعة تمثل مدى بيئي واسع ويتحمل الجفاف ودرجات الحرارة المنخفضة والملوحة (Ceccarelli, et al., 1995; van Oosterom)

1997; Maas and Hoffman, 1997; Baum *et al.*, 1993) ويستخدم في تغذية الإنسان، وصناعة البيرة. يزرع الشعير في الدول النامية في البيئات الهامشية كالمناطق المرتفعة وأطراف الصحاري. ويعد من أقدم محاصيل الحبوب المزروعة ويزرع للحصول على حبوبه التي تعد أهم الموارد العلفية، بالإضافة لاستخدامه كعلف أخضر في تغذية الماشية، ويستخدم تبن الشعير كمادة مألثة في عليقة الحيوان واستخدم في الماضي كغذاء للإنسان في بعض المجتمعات الأوروبية. وأكبر استخدام للشعير كغذاء كان في المغرب (61%)، وأثيوبيا (79%)، والصين (62%)، والهند (73%) (Kent, 1994). تحتل زراعة الشعير مساحة قدرها 8.7 مليون هكتار وإنتاج 9 مليون طن في الوطن العربي، وأهم الدول العربية من حيث المساحة والإنتاج: المغرب (3.4 مليون هكتار)، سورية (600 ألف هكتار)، والجزائر (1 مليون هكتار)، والعراق (2.5 مليون هكتار)، وبذلك فإن سورية تحتل المركز الثالث عربياً بعد المغرب والعراق في المساحة المزروعة، والمركز الرابع من حيث الإنتاج بعد المغرب والجزائر (FAO, 2016). أما في سورية فإن الشعير يحتل المرتبة الأولى بين محاصيل الحبوب من حيث المساحة المزروعة بعلماً والتي تراوحت خلال الفترة 2007-2016 بين 1.362 و1.244 مليون هكتار وإنتاج بين 784-954 ألف طن، ومردود بين 576 و767 كغ/هكتار (وزارة الزراعة والإصلاح الزراعي، 2016).

يعد الجفاف العامل الرئيس المحدد في إنتاج الشعير ويؤثر في الإنتاج كباقي الاجهادات البيئية، حيث تتسبب قلة الماء المتاح للنبات في انخفاض الغلة الحبية والإنتاجية في مختلف مناطق زراعة الشعير في العالم. وبسبب تزايد خطر الجفاف أصبح تحسين الشعير لتحمل الجفاف أمراً مهماً وحيوياً (Ceccarelli *et al.*, 2004).

تعمل جذور النباتات على تزويد المجموع الخضري بالمياه اللازمة للحياة، ويمكن أن يؤدي المجموع الجذري المثالي إلى تحسين الصفات الظاهرية للنبات والتي تؤدي بدورها إلى تحسين الغلة الحبية، وزيادة امتصاص العناصر الغذائية، وتحمل الجفاف (Tuberosa *et al.*, 2002; Beebe *et al.*, 2006; Ghanem *et al.*, 2011)

هناك عدة عوامل تساهم في تحمل الشعير للجفاف منها تعمق الجذور وعدد الجذور الأولية وحجم الأوعية الخشبية وقطرها (Manske 2006; Richards, 2006; *et al.*), إضافة إلى توزيع الجذور وثخانة الجذور والشعيرات الجذرية (Gregory, 2006)، حيث وجد أن عمق الجذور الأولية وحجمها يعد من أهم الصفات التي تؤثر في الإنتاج الحبي تحت مستويات الرطوبة المحدودة، لأن الجذور الأولية تبدي قدرة اختراق عالية عندما يزداد عددها وأقطار أوعيتها الخشبية. واعتماداً على ذلك فقد تم انتخاب أكثر من 1000 طرازاً وراثياً متحملة للجفاف وذات معامل توريث مرتفع (Richards and Passioura, 1981).

يمكن القول أن الشعير نموذجاً مثالياً لمحاصيل الحبوب بسبب المعلومات الوراثية المتوفرة بشكل كبير عنه (Hayes *et al.*, 2002). إن تحسين تحمل الشعير للإجهادات البيئية يعتمد بشكل كبير على استغلال التباينات الوراثية المتوفرة في الأصناف المزروعة (*Hordeum vulgare subsp. vulgare* L.) والشعير البري (*H. vulgare subsp. spontaneum* C. Koch.) (Robinson *et al.*, 2000). كما أن معرفة التنوع الوراثي للمصادر الوراثية والعلاقات الوراثية فيما بينها تشكل معلومات أساسية بالنسبة لمربي النبات وذلك لفائدتها في تصميم برامج التربية والتحسين الوراثي وفي تحسين كفاءة عمليات إدارة الأصول الوراثية والحفاظ عليها من الانجراف الوراثي (Russel *et al.*, 1997). ومن ناحية أخرى فإن الاهتمام المتزايد في فهم اختلال توازن الارتباط Linkage LD disequilibrium وتطوير أساليب حسابه يوفر إمكانية استخدامه في كشف الارتباط بين المؤشرات الوراثية والصفات الظاهرية. استخدمت التحاليل التشاركية المستندة على الـ LD لأول مرة لتحديد مواقع المورثات QTL المسؤولة عن بعض الأمراض التي تصيب

البشر (Pritchard and Przeworski, 2001). لقد أظهر Risch and Merikangas, (1996) أن التحليل التشاركي المستند على LD يمكن أن يكون أكثر قوة ودقة من تحليل الارتباط التقليدي Linkage analysis في كشف الطفرات ذات الأثر الضعيف المرتبطة ببعض الأمراض. وقد شهدت الأعوام الأخيرة إنجاز الدراسات على صبغيات الأنواع النباتية المختلفة بالاعتماد على المواقع الوراثية بطريقة LD عوضاً عن إنشاء الخرائط الوراثية التقليدية. إن التحول باتجاه طريقة التحليل التشاركي المستند على LD كان يهدف إلى تجاوز بعض السلبيات المترافقة مع طريقة التحليل المستندة على خرائط الارتباط الوراثية. فتحليل الارتباط التقليدي يستخدم تهجينات ثنائية الآباء وبالتالي فإنه لا يتيح إلا دراسة الاختلافات المحدودة بين الأبوين المستخدمين في تطوير أي جماعة انعزالية، أي أن الدراسة تكون مقتصرة على المؤشرات الجزيئية والمواقع المورثية التي تبدي اختلافاً بين الأبوين (Kraakman *et al.*, 2006) تتلافى طريقة LD كل سلبيات التحليل التقليدي للارتباط، فباستخدامها لمجموعة متنوعة من المدخلات غير المتقاربة وراثياً كالأصناف والسلالات والهجن، توفر هذه الطريقة قاعدة واسعة من التنوع الوراثي وبالتالي فإن عدداً كبيراً جداً من الصفات تكون مختلفة في مجموعة المدخلات المستخدمة مما يسمح بدراسة كل هذه الصفات معاً في المجموعة المستخدمة، كما أن عدد المؤشرات المتباينة بين المدخلات يكون كبيراً (Achenbach *et al.*, 2009) وبالإضافة إلى ذلك فإنه توفر المعلومات والبيانات عن الصفات الظاهرية للمدخلات والسلالات المحسنة والأصناف المزروعة يسمح بدراسة الارتباط بين هذه الصفات والمؤشرات الجزيئية وبالتالي توفير الكثير من الوقت والجهد اللازمين لإجراء تجارب جديدة وتطوير جماعات انعزالية مناسبة (Kraakman *et al.*, 2005).

استخدمت التباينات الشكلية كمعايير أولية في عملية التوصيف والتصنيف ودراسة التباينات بين الأنواع المختلفة وضمنها، وفي ظل التطور المتسارع في علم التقنيات الحيوية اكتشفت معايير ومؤشرات أكثر دقة لتحقيق الهدف وتطويره. منها تقنية مصفوفة التنوع Diversity Array Technology (DArT) وهي من التقانات الحديثة نسبياً التي جاءت كنتيجة للتطور في علم الالكترونات والربط بين التقانة الحيوية والكمبيوتر. طورت من قبل شركة Triticarte (<http://www.triticarte.com.au>) وهي مطورة عن تقانة المصفوفات الدقيقة Micro array (Jaccoud *et al.*, 2001). تعتمد هذه التقنية على مبدأ رصد مستويات تعبير لونية لآلاف من المورثات من خلال مساحات ضوئية خاصة لهذا الغرض ويعتمد مبدأ التقانة على عملية التهجين بين المادة الوراثية (DNA) المراد دراستها مع آلاف المورثات الموجودة على رقاقة زجاجية أو بلاستيكية صغيرة تسمى رقاقة الدنا. تحتوي هذه الرقاقة على العديد من قطع الدنا تعرف باسم مسابر الدنا DNA Probes. هذه المسابر ما هي إلا عبارة عن تسلسل معروف ومعين من النيوكليوتيدات وتمثل جزءاً من مورثة معينة. من ميزات هذه التقنية أنها سريعة ولا تحتاج إلى معرفة مسبقة لتسلسل النيوكليوتيدات ويمكنها كشف الاختلافات على مستوى نكليوتيد واحد وتستخدم في تحديد المورثات ورسم الخريطة الوراثية لكامل الجينوم، كما تساهم في انتخاب الأصناف بمساعدة الواسم الجزيئي وتحدد انتقال المورثة المطلوبة في حال التربية بطريقة التهجين الرجعي (Back Cross (BC) (Kilian *et al.*, 2006). طبقت هذه التقنية بشكل واسع على كل من الرز والقمح والشعير (Wenzl *et al.*, 2004) ومؤخراً بدأ تطبيقها على العديد من المحاصيل الأخرى.

نظراً لأهمية محصول الشعير ومعرفة تنوعه الوراثي بالاعتماد على بعض الصفات الشكلية والإنتاجية وربطه بالمؤشرات الجزيئية، تهدف الدراسة إلى تقييم التنوع الوراثي لـ 43 طرازاً وراثياً من الشعير ممثلة لمناطق زراعته في العديد من مناطق العالم وذلك باستخدام مؤشرات الـ DArT وتحديد القرابة الوراثية بين المدخلات المستخدمة بهدف الاستفادة منها في برامج التربية وتوسيع القاعدة الوراثية من خلال اختيار المتباعدة وراثياً وادخالها في برامج التهجين. ودراسة التلازم بين المؤشرات الجزيئية وصفتي الغلة الحبية وطول النبات

تحت ظروف الجفاف وبعض صفات الجذور في بادرات الشعير تحت ظروف متحكم بها بغية تحديد المؤشرات المساعدة على الانتخاب لهذه الصفات في البيئات الجافة.

مواد البحث وطرقه:

المادة النباتية: استخدم 43 طرازاً وراثياً من الشعير تم جمعها من مناطق جغرافية مختلفة (الجدول 1)، تمثل الطرز الوراثية لمنطقة حوض المتوسط وأستراليا؛ منها 17 مدخلاً من إيكاردا و18 طرازاً وراثياً من سورية وثلاثة مدخلات من ليبيا ومدخلين من أستراليا ومدخلاً من الجزائر ومدخلاً من تونس ومدخلاً من لبنان. واشتملت المدخلات على 15 طرازاً وراثياً برياً و28 سلالة/صنفاً.

الجدول 1. أرقام وأسماء ومصادر الطرز الوراثية

رقم المدخل	الطرز الوراثي	المصدر	رقم المدخل	الطرز الوراثي	المصدر
1	Hordeum v. s.spontaneum	SYR	22	WI2291	ICARDA
2	Hordeum v. s. spontaneum	SYR	23	SLB42-64	ICARDA
3	Hordeum v. s. spontaneum	SYR	24	SLB05-96	ICARDA
4	Hordeum v. s. spontaneum	SYR	25	Moroc9-75	ICARDA
5	Hordeum v. s. vulgareconvar. Distichon	SYR	26	SLB34-40	ICARDA
6	Hordeum v. s. vulgareconvar. Distichon	SYR	27	Harmal	ICARDA
7	Hordeum v. s. vulgareconvar. Distichon	SYR	28	Sara	ICARDA
8	Hordeum v. s. vulgareconvar. Distichon	SYR	29	Rihane-03	ICARDA
9	Hordeum v. s. vulgareconvar. Distichon	SYR	30	Alanda-01	ICARDA
10	Hordeum v. s. vulgareconvar. Distichon	SYR	31	Martin	TUNISIA
11	Hordeum v. s. vulgareconvar. Distichon	SYR	32	Saida	ALGERIA
12	Hordeum v. s. vulgareconvar. Distichon	SYR	33	Furat 1	SYRIA
13	Hordeum v. s. vulgareconvar. Distichon	SYR	34	Furat-2	SYRIA
14	Hordeum v. s. vulgareconvar. Vulgare	SYR	35	Sadik-1	ICARDA
15	Hordeum v. s. vulgareconvar. Vulgare	SYR	36	Katara	LIBYA
16	H.spont.41-1	ICARDA	37	Barjouj	LIBYA
17	H.spont.41-3	ICARDA	38	Momtaz	LIBYA
18	H.spont.41-5	ICARDA	39	Litani	LEBANON
19	Arta	ICARDA	40	Birlik	ICARDA
20	SLB03_81	ICARDA	41	Furat-3	SYRIA
21	ER/Apm	ICARDA	42	Keel	AUSTRALIA
			43	Barque	AUSTRALIA

زرعت التجربة في موسمين زراعيين (2009/2008 و2010/2009) وفي محطتين زراعتين تتبع لمركز البحوث العلمية الزراعية في حلب؛ محطة تل حديا وتقع 30 كم جنوب مدينة حلب وتمثل منطقة استقرار ثانية بمعدل هطول 336 ملم سنوياً وبلغ معدل الأمطار في الموسم الأول 290.5 ملم أما في الموسم الثاني فقد انخفض معدل الهطول المطري إلى 272 ملم، ومحطة بحوث حميمة وتقع 50 كم شرق مدينة حلب وتمثل منطقة الاستقرار الثالثة بمعدل هطول 225 ملم سنوياً وكان معدل الأمطار في الموسم الأول 174 ملم وفي الموسم الثاني 146 ملم كان توزيع الأمطار في الموسم الأول أفضل منه في الموسم الثاني. زرع كل طراز وراثي من الشعير في ستة خطوط بطول 2.5 م والمسافة بين الخطوط 25 سم وبثلاث مكررات باستخدام تصميم القطاعات العشوائية الكاملة. تم تسجيل طول النبات (سم) والغلة الحبية (كغ/هكتار). كما استخدمت بيانات محطة بريدا / إيكاردا خلال الموسم 2005/2004 للاستفادة منه في تدعيم النتائج في المنطقة الجافة والتي تقع على بعد 85 كم شرق جنوب مدينة حلب وبارتفاع 300 م عن سطح البحر ومعدل هطولها المطري 285 ملم/سنوياً، حيث تم اختبار جميع طرز الشعير الوراثية في المواقع المذكورة.

تجربة الزراعة في الأغار: زرعت الطرز الوراثية في مختبر زراعة الأنسجة في المركز الدولي للبحوث الزراعية في المناطق الجافة (ICARDA) للتقييم تحت ظروف متحكم بها (Bengough *et al.*, 2004; Vershney *et al.*, 2010). تم تعقيم الحبوب بمادة (هيبوكلوريت الصوديوم 1%) لمدة 10 دقائق، ثم تم إنباتها في أطباق (بتري) على درجة حرارة 4 مئوية لمدة أربعة أيام. وبعد ظهور أول ثلاثة جذور أولية بطول 0.5 سم تقريباً، تم نقل الحبوب المنبته إلى سطح شريحة الأغار بتركيز 13 غ/لتر موضوعة على لوح أسود وغطيت بشريحة أخرى موضوعة على لوح شفاف لتصبح ثخانة الشريحتين 6 ملم. كانت أبعاد لוחي الزجاج 21x30 سم، وقد ثبت لוחي الزجاج على بعضهما بواسطة ملاقط خاصة مع وجود واحد ملم فراغ بين الشريحتين بهدف تأمين تهوية كافية للجذور. وضعت الألواح وفق تصميم القطاعات الناقصة وتضمنت كل وحدة تجريبية ثلاث حبوب منبته بحيث تنمو الجذور نحو الأسفل في حاضنة على درجة حرارة 11 مئوية لمدة 15 يوماً. تم إجراء مسح للجذور بواسطة الماسح الضوئي للحصول على صور الجذور. تم تحليل الصور للحصول على قياسات الجذور بواسطة برنامج (WinRHIZO) لأربع صفات هي: الطول الكلي للجذور (TRL) سم، ومساحة الجذور (RSA) مم²، ومتوسط قطر الجذور (AD) ملم، وعدد الجذور الأولية (SRN). **الدراسة الجزيئية:** أجريت الدراسة الجزيئية باستخدام 70 مؤشراً جزيئياً من مؤشرات الـ DArT على نفس مجموعة الطرز الوراثية في البحث حيث توزعت هذه المؤشرات على صبغيات الشعير السبعة (الجدول 2).

تحليل النتائج:

استخدم برنامج التحليل الإحصائي GenStat for windows 13th edition لتحليل نتائج التجربة الحقلية وتجربة الأغار، حيث استخدمت منهجية Reml في الحصول على أفضل قيم متوقعة غير متحيزة (BLUPS) وهذه المعدلات استخدمت لإجراء الارتباط الوراثي مع المؤشرات الجزيئية. استخدمت الأوزان الجزيئية لقطع المادة الوراثية (DNA) الناتجة في تجهيز الجداول المناسبة للتحليل، وتم احتساب قيمة التنوع المورثي على مستوى الموقع الواحد (Weir, 1990) وفق العلاقة التالية:

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

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):

$$GD = n(1 - \sum pi^2)/(n-1)$$

حيث تمثل n عدد المدخلات.

وفقاً لحسابات Li و Nei (1979) فقد تم إيجاد البعد الوراثي Dissimilarity وهو نسبة عدم التشابه بين المدخلات، وباستخدام البرنامج الإحصائي GENALEX 6: genetic analysis in Excel (Peakll and Smouse, 2006) تم رسم مخطط التشابه بين المدخلات باستخدام طريقة المجموعات الزوجية غير الموزونة (UPGMA) وأجري تحليل الإحداثيات الأساسية (PCA) باستخدام البرنامج Past (Hammer *et al.*, 2001).

استخدم برنامج (TASSEL) لإجراء الارتباط بين المؤشرات الجزيئية والصفات المدروسة والمستند على مبدأ اختلال توازن الارتباط Linkage Disequilibrium باستخدام النموذج الخطي العام (GLM) General Linear Model بين المؤشرات الجزيئية والصفات المدروسة (Bradbury *et al.*, 2007).

النتائج والمناقشة:

تحليل التنوع الوراثي:

بلغ عدد القرائن الكلي 139 وبمعدل 1.99 قريناً للموقع الواحد. تباين عدد القرائن على الموقع المورثي تبعاً للبادئة المستخدمة الجدول (2)، حيث أعطى المؤشر bPb-8464 قريناً واحداً، وأعطت بقية البادئات 2 قرين، وبلغ متوسط قيمة التنوع الوراثي GD وقيمة PIC حوالي 0.366 و0.358 على التوالي، وتراوح المدى بين 0.5 للمؤشر (bPb-9912) إلى صفر للبادئ (bPb-8464)، في حين تراوح المدى لقيم PIC بين صفر و0.488.

استطاعت مؤشرات الـ DarT أن تميز بين الطرز الوراثية المدروسة بشكل جيد. فالمؤشرات الثمانية التالية bPb-9912، bPb-8956، bPb-5556، bPb-7952، bPb-1952، bPb-5599، bPb-4209، bPb-7325 توزعت على معظم الصبغيات، وكانت كافية لوحدها للتفريق بين كل الطرز الوراثية للشعير حيث أنها تمتلك أكبر عدد من القرائن وأكبر قيم تنوع وراثي (GD و PIC). فيما كان المؤشران التاليان bPb-6770، bPb-3473 أقل قدرة على التمييز بين الطرز الوراثية لأنها أشارت إلى قيم منخفضة للتنوع الوراثي (PIC) لم تتجاوز القيمة 0.093.

الجدول 2. أعلى 10 مؤشرات وأخفض 10 مؤشرات لعدد القرائن وقيم التنوع المورثي والوراثي والصبغي الذي تتواجد عليه.

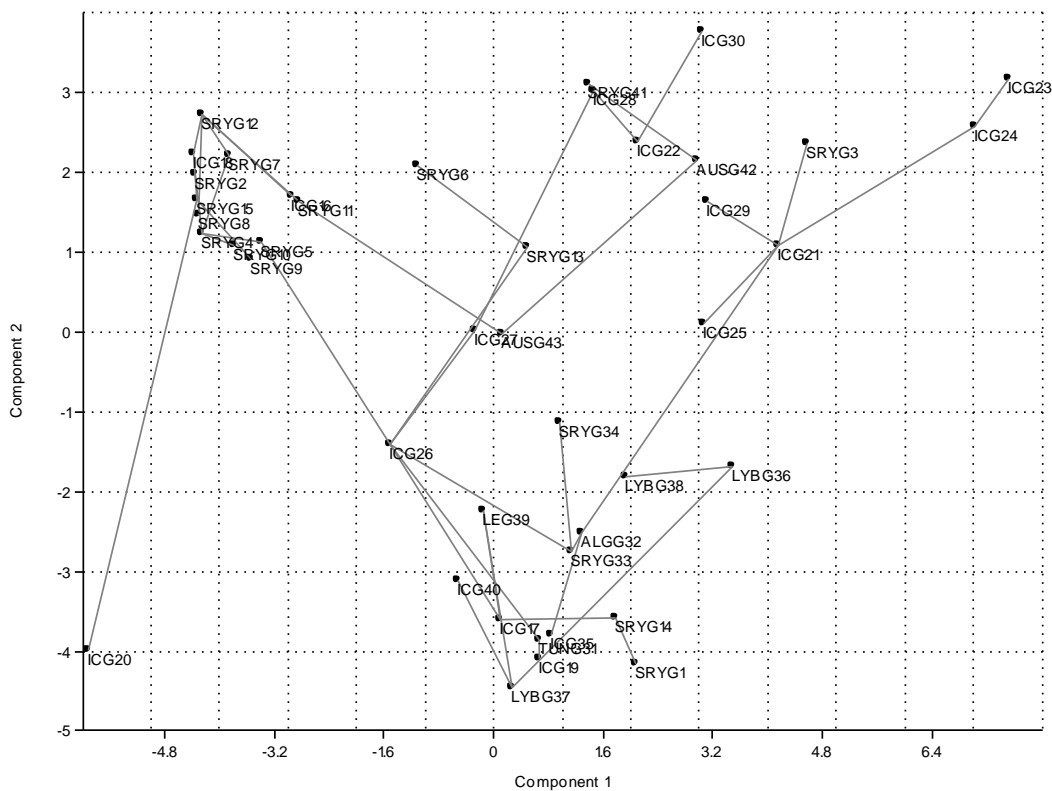
البادئات	عدد القرائن	موقع البادئة على الصبغي "CM"	موقع البادئة على الصبغي	التنوع الوراثي GD	التنوع المورثي PIC
bPb-4209	2	160.89	H3	0.499	0.488
bPb-1952	2	110.44	7H	0.499	0.488
bPb-5556	2	202.71	7H	0.5	0.488
bPb-7952	2	110.44	7H	0.499	0.488
bPb-8956	2	126.38	7H	0.5	0.488
bPb-9912	2	134.87	7H	0.5	0.488
bPb-7325	2	91.93	1H	0.499	0.487
bPb-5599	2	129.56	7H	0.499	0.487
bPb-0249	2	92.01	1H	0.498	0.486
bPb-2058	2	39.94	H6	0.498	0.486
bPb-1213	2	131.14	1H	0.216	0.211
bPb-1965	2	188.93	5H	0.211	0.206
bPb-7179	2	63.57	H6	0.201	0.197
bPb-9121	2	130.17	1H	0.189	0.184
bPb-5249	2	130.17	1H	0.185	0.18
bPb-2971	2	139.81	H2	0.134	0.131
bPb-4990	2	78.57	4H	0.121	0.118
bPb-6770	2	149.52	1H	0.093	0.091
bPb-3473	2	148.67	1H	0.093	0.091
bPb-8464	1	144.04	H2	0	0
Mean	1.99			0.366	0.358
Total	139				

تحليل الإحداثيات الأساسية للتباين:

بينت تحاليل الإحداثيات الأساسية استناداً إلى مصفوفة المسافة للبلدان المختلفة (الشكل 1) معلومات هامة حول العلاقة بين الطرز الوراثية في تلك البلدان. إن الخط الواصل بين البلدان وحسب شجرة الامتداد يشير إلى قرائن مشتركة بين مدخلات البلدان المختلفة. وعليه تبين أن هناك قرائن مشتركة بين مدخلات تونس والجزائر وبين مدخلات لبنان وسورية وإيكاردا. كما تبين وجود قرائن مشتركة بين مدخلات استراليا وإيكاردا. ووجد ان هناك قرائن مشتركة بين مدخلات ليبيا والجزائر وسورية. وظهر كذلك ان السلالات التي مصدرها إيكاردا تمتلك قرائن مشتركة مع الطرز الوراثية في معظم البلدان وذلك لأن إيكاردا تعتمد في برنامجها على مدخلات متنوعة من مناطق جغرافية مختلفة.

التحليل العنقودي:

استخدمت مصفوفة المسافة في استخراج المخطط العنقودي UPGMA لتوضيح العلاقة بين 43 طرازاً وراثياً من 7 بلدان مختلفة وفي إنشاء مخططات القرابة ما بين المدخلات المختلفة الشكل (2).

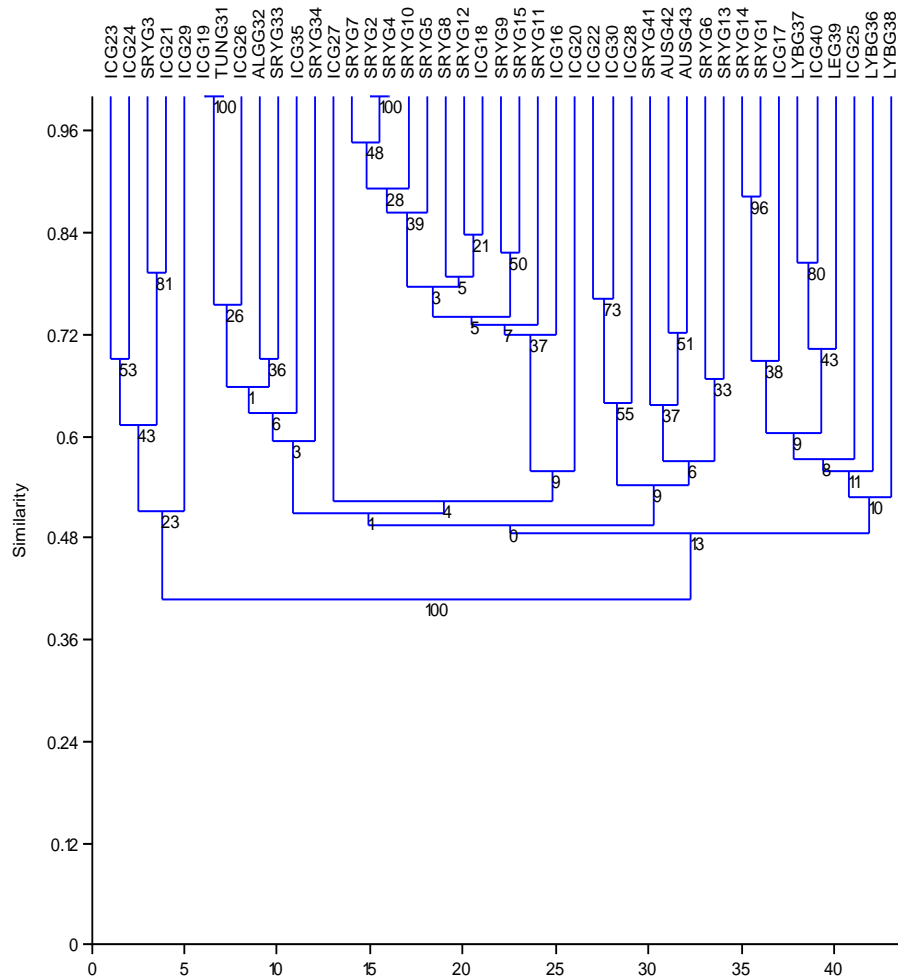


LYB: ليبيا، LEB: لبنان، TUN: تونس، IC: إيكاردا، ALG: الجزائر، SYR: سورية، AUS: استراليا

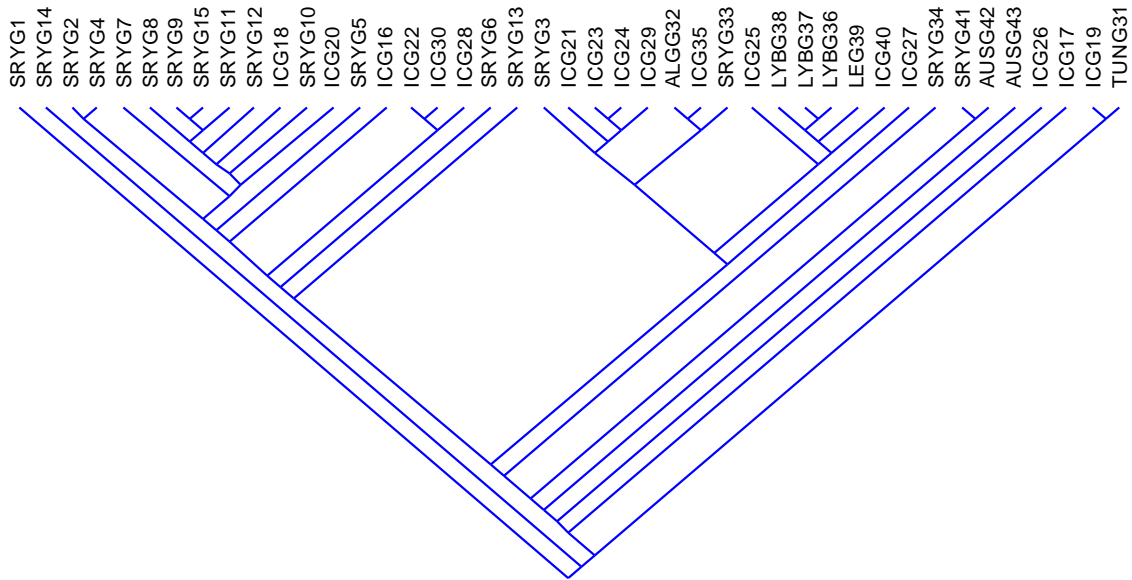
الشكل 1. مخطط تحليل الإحداثيات الأساسية يبين القرائن المشتركة بين مدخلات الشعير في البلدان المختلفة.

تراوحت نسبة التشابه بين مدخلات الطرز المختلفة بين 0 إلى 100% في مناطق المجموع الصبغي التي تمت مقارنتها باستخدام جميع البادئات. توزعت المدخلات في المخطط إلى ستة فروع: ضم الفرع الأول 5 مدخلات وهي 21، 23، 29، 24، 3 وتحتوي هذه

المجموعة مدخلات من إيكاردا وسورية، في حين ضم الفرع الثاني 7 مدخلات من سورية وإيكاردا والجزائر. احتوى الفرع الثالث على 13 مدخلا من إيكاردا وسورية، والفرع الرابع احتوى 8 مدخلات من استراليا وسورية وإيكاردا. أما الفرع الخامس فضم 9 مدخلات من لبنان وليبيا وإيكاردا وسورية (الشكل 3) جدير بالقول أن مدخلات إيكاردا أظهرت في كل المجموعات نتيجة برامج التهجين في إيكاردا.



الشكل 2. مخطط علاقات البعد الوراثي بين مدخلات الشعير في مناطق الدراسة حيث يشير الرقم إلى مدخل الشعير



الشكل 3. مخطط شجرة القرابة بين مدخلات الشعير في مناطق الدراسة حسب Wagner حيث يشير الرقم إلى مدخل الشعير

تحليل التلازم:

تم تسجيل نتائج الغلة الحبية لجميع طرز الشعير الوراثية (43 طرازاً وراثياً) في البيئات الاختبارية: تل حديا وتمثل بيئة رطبة وحميمة وتمثل بيئة جافة خلال المواسم 2009/2008 و2010/2009، واستخدمت نتائج الغلة لهذه الطرز بعد تقييمها لتحمل الجفاف، كما استخدمت بيانات سابقة سجلت في محطة بريد/إيكاردا في الموسم 2005/2004 وذلك لتأكيد نتائج ارتباط المؤشرات الجزيئية مع الغلة وطول النبات في البيئات الجافة.

أظهرت نتائج التحليل التشاركي بين جميع المؤشرات الجزيئية (البالغ عددها 70) وصفة الغلة الحبية في ثلاثة بيئات مختلفة (تل حديا وحميمة 2009 و2010 وبريدا 2005) وجود 12 مؤشراً جزيئياً مرتبطاً بشكل معنوي (عند مستوى 0.05) مع الإنتاج في مواقع الزراعة. توزعت المؤشرات المرتبطة على جميع الصبغيات، بسبب تعدد مورثات الغلة الحبية وانتشارها مع العديد من المواقع الوراثية المرتبطة بالصفات الكمية (Quantitative Trait Loci (QTL) على مختلف الصبغيات، ارتبط المؤشر bPb0098 الذي يقع على الصبغي (4H) مع صفة الغلة الحبية في موقع بريدا في موسم 2005/2004 وموقع حميمة في موسمي الدراسة (الجدول 3). كما تبين وجود ارتباط معنوي بين مؤشرات الـ (DARt) bPb2866(7H)، bPb3590(5H)، bPb8464(2H) مع صفة الغلة الحبية في موقع بريدا والمؤشرات bPb1815(2H) وbPb6127(3H) وbPb9402(3H) في حميمة، في حين كان المؤشران bPb7987(4H)، bPb0835(5H) معنويين في تل حديا. كذلك يوجد مؤشرات أخرى ذات ارتباط معنوي عالي مع الغلة في منطقة تل حديا الرطبة (مثل المؤشر bPb7987(4H)).

كما بينت نتائج طول النبات وجود ارتباط معنوي بين 14 مؤشراً ومنها المؤشرين bPb2337(4H)، bPb2337(4H) وطول النبات في البيئة الجافة و4 مؤشرات ومنها المؤشرين bPb7179(6H)، bPb8464(2H) وطول النبات في البيئة الرطبة.

صفات الجذور:

تبين وجود ثلاث مؤشرات جزئية ارتبطت بشكل معنوي مع الطول الكلي للجذر وهي bPb0098 يقع على الصبغي 4H و bPb2420 على الصبغي 3H و bPb2058 يقع على الصبغي 6H حيث كانت قيم مربع معامل التلازم ($R^2=0.18$, $R^2=0.10$, $R^2=0.14$) على التوالي. أما صفة مساحة الجذر فقد ارتبطت مع ثلاثة مؤشرات هي bPb3590 (5H) و bPb2420 (3H) و bPb0098 (4H) وارتبط المؤشر bPb4990 مع صفة عدد الجذور وتوضع على الصبغي 4H. فيما يلاحظ أن ارتباط المؤشرات الجزئية لم يكن معنوياً بقية صفات الجذور (الجدول 3). يلاحظ هنا أن المؤشر الجزئي bPb0098 والذي يقع على الصبغي الرابع قد ارتبط مع الغلة الحبية في البيئة الجافة في حميمة وبريدا ومع الطول الكلي للجذر ومساحة الجذر وهذا يدل على أهميته في غربلة الطرز الوراثية لهذه الصفات من خلال الكشف عنها مبكراً قبل البدء بزراعتها في الحقل.

الجدول 3. مؤشرات DARt التي أبدت ارتباطاً مع الصفات المدروسة.

مربع معامل التلازم Rsq	قيمة F	المؤشر الجزيني	الصفة	مربع معامل التلازم Rsq	قيمة F	المؤشر الجزيني	الصفة
0.11	4.72*	bPb4966	PHBR05	0.10	4.29*	bPb0098	GYBR05
0.11	4.72*	bPb6576		0.17	8.07**	bPb1360	
0.21	10.70**	bPb7179		0.11	4.72*	bPb2866	
0.11	5.07*	bPb9405		0.11	5.18*	bPb3590	
0.11	5.07*	bPb9808		0.12	5.56*	bPb8464	
0.14	6.26*	bPb1148	PHHE09	0.10	4.49*	bPb0098	GYHE09
0.18	8.64*	bPb5296		0.14	6.50*	bPb1815	
0.10	4.60*	bPb6576		0.16	7.57**	bPb0098	GYHE10
0.12	5.43*	bPb7179		0.13	6.12**	bPb2866	
0.13	6.22*	bPb9912		0.15	6.94**	bPb4067	
0.10	4.43*	bPb1681	PHHE10	0.10	4.44*	bPb6127	GYTH05
0.13	6.11*	bPb5296		0.10	4.44*	bPb9402	
0.16	7.36**	bPb9912		0.17	7.99**	bPb2230	
0.17	8.46**	bPb7179	PHTH05	0.16	7.60**	bPb2866	GYTH09
0.13	5.92*	bPb1609	PHTH09	0.14	6.27*	bPb8464	
0.15	6.92**	bPb7179		0.11	4.78*	bPb0835	
0.12	5.46*	bPb8464		0.11	4.71*	bPb3746	
0.10	4.54*	bPb0098	RL	0.16	7.35**	bPb8464	GYTH10
0.18	8.65**	bPb2058		0.15	6.94**	bPb7179	
0.14	6.43*	bPb2420		0.18	8.94**	bPb7987	
0.13	6.16*	bPb0098	RSA	0.10	4.35*	bPb2337	PHBR05
0.13	5.84*	bPb2420		0.11	4.70*	bPb3590	RSA
-	-	-	-	0.13	5.87	bPb4990	SRN

تدل الرموز في الجدول على GYTH: الغلة الحبية في تل حدبا، GYBR: الغلة الحبية في بريدا، GYHE: الغلة الحبية في حميمة. ويدل الرقم الذي يتبع كل رمز على عام الزراعة، RSA: مساحة الجذر، SRN: عدد الجذور الأولية، RL: الطول الاعظم للجذر، PH: طول النبات.

الاستنتاجات والتوصيات:

1. تباينت البادئات في عدد القرائن التي تملكها والتي تراوحت بين صفر إلى 2 قريناً وبمعدل 1.99 قريناً للموقع الواحد، وأظهر مخطط البعد الوراثي وجود تداخل بين مدخلات المناطق المختلفة في أكثر من مجموعة.
 2. دلّ المعدل العالي للتنوع الوراثي وغياب التشابه التام بين المدخلات على ارتفاع نسبة الاختلافات الوراثية في مدخلات الشعير المدروسة وأن المناطق التي تم الحصول على الطرز الوراثية منها غنية بالتباينات الوراثية وبالتالي يمكن الاستفادة من هذه الطرز في برنامج تربية الشعير.
 3. ارتبطت مجموعة من المؤشرات الجزيئية مع الصفات المدروسة وهذه المؤشرات توزعت على كامل صيغيات الشعير وكانت تؤثر بشكل إيجابي في الصفات المدروسة ومنها المؤشر bPb0098 الذي ارتبط مع صفة الغلة الحبية وعدد الجذور والطول الكلي للجذور ومساحة الجذور، وكذلك ارتبط المؤشر bPb7179 مع طول النبات في المناطق الجافة.
- مما سبق يمكن التوصية باعتماد المؤشرين bPb0098 و bPb7179 كمؤشرات مساعدة في عملية انتخاب الطرز الوراثية في البيئات الجافة، واستخدام المؤشرات المرتبطة إيجابياً مع الصفات المدروسة في إنشاء خرائط الارتباط الوراثي.

المراجع:

وزارة الزراعة والإصلاح الزراعي (2016). قسم الإحصاء، مديرية التخطيط والإحصاء، دمشق، وزارة الزراعة والإصلاح الزراعي، سورية.

- Achenbach, U.; J. Paulo; E. Ilarionova; J. Luebeck; J. Strahwald; E. Tacke, H.R. Hofferbert; and C. Gebhardt (2009). Using SNP markers to dissect linkage disequilibrium at a major quantitative trait locus for resistance to the potato cyst nematode *Globodera pallida* on potato chromosome V. *Theoretical and Applied Genetics*. 118: 619–629.
- Baum, M.; S. Grando; G. Backes; A. Jahoor ; and S. Ceccarelli (2004). Localization of quantitative trait loci (QTL) for dryland characters in barley by linkage mapping. pp 191-202. In: S.C. Rao and J. Ryan (ed.) 2004. *Challenges and Strategies for Dryland Agriculture*. CSSA Spec. Publ. 32. ASA and CSSA, Madison, WI.
- Beebe, S.E.; M. Rojas-Pierce; X. Yan; M.W. Blair; F. Pedraza; F. Munoz; J. Tohme; and J.P. Lynch (2006). Quantitative trait loci for root architecture traits correlated with phosphorus acquisition in common bean. *Crop Science*. 46: 413–423.
- Bengough, A.G.; D.C. Gordon; H. Al-Menaie; R.P. Ellis; D. Allan; R. Keith; W.T.B Thomas; and B.P. Forster (2004). Gel observation chamber for rapid screening of root traits in cereal seedlings. *Plant and Soil*. 262: 63–70.
- Bradbury, P.J.; Z. Zhang; D.E. Kroon; T.M. Casstevens; Y. Ramdoss; and E.S. Buckler (2007). TASSEL: Software for association mapping of complex traits in diverse samples. *Bioinformatics* 23:2633-2635.
- Ceccarelli, S.; S. Grando; M. Baum; and S.M. Udupa (2004). Breeding for drought resistance in a changing climate. pp 167-190. In: S.C. Rao and J. Ryan (ed.) 2004. *Challenges and Strategies for Dryland Agriculture*. CSSA Spec. Publ. 32. ASA and CSSA, Madison, WI.
- Ceccarelli, S; S. Grando; and, J.A.G. van Leur (1995). Barley landraces of the Fertile Crescents offer new breeding options for stress environments. *Diversity*. 11: 112 – 113.

- FAO (2016). Food and Agriculture Organization, production statistics, online (2016) (<http://faostat.fao.org/site/567/DesktopDefault.aspx?PageID=567#ancor>)
- Ghanem, M.E.; I. Hichri; A.C. Smigocki; A. Albacete; M.L.E. Fauconnier (2011). Root-targeted biotechnology to mediate hormonal signaling and improve crop stress tolerance. *Plant Cell Reports*. 30: 807–823.
- Gregory, P.J. (2006). Genetic control of root system properties. In: Gregory, P.J. (Ed). *Plant roots*, India, Balckwell publishing Ltd., pp: 253-285.
- Hammer, Q.; and D.A.T. Ryan (2001). PAST: Paleontological Statistics software package for education and data analysis. *Palaeontologia Electronica*. 4 (1): 9.
- Hayes, P.M.; A. Castro.; L. Marquez-Cedillo; A. Corey; C. Henson; B. Jones; and J. Kling (2002). Genetic diversity for quantitatively inherited agronomic and malting quality traits. In: R. von Bothmer., H. Knuepfer; T. van Hintum; K. Sato; (Eds). *Diversity in barley- Hordeumvulgare*. Elsevier Science Publishers, Amsterdam, Netherlands. pp: 201-226. <http://www.triticarte.com.au>
- Jaccoud, D.; K. Peng; D. Feinstein; and A. Kilian (2001). Diversity arrays: a solid technology for sequence information independent genotyping. *Nucleic Acids Research*. 29(4): 1-7.
- Kent, N.L.; and A.D. Evers (1994). *Kent's Technology of Cereals* Elsevier Science: Oxford.
- Kilian A.; K. James; H. Schneider; S. Ansell; J.C. Vogel; N. Pedersen; A. Newton; L. Robba; and M. Evers (2006). Adapting diversity arrays technology (DArT) for inter- and intraspecific molecular research in wild plants. *Botany 2006 Conference*, California State University, Chico, July 28-August 2, 2006.
- Kraakman, A.T.W.; F. Martinez; B. Mussiraliev; F.A. van Eeuwijk; and R.E. Niks (2006). Linkage disequilibrium mapping of morphological, resistance, and 127 other agronomically relevant traits in modern spring barley cultivars. *Molecular Breeding*. 17: 41–58.
- Kraakman, A.T.W. (2005). Mapping of yield, yield stability, yield adaptability and other traits in barley using linkage disequilibrium mapping and linkage analysis. Ph.D. Thesis, Wageningen University, Netherlands.
- Maas, E.V.; and G.J. Hoffman (1997). Crop salt tolerance, current assessment. *J. Irrig. Drain. Div. ASCE*. 103: 115-134.
- Manske, G.G.B. and P.L.G. Vlek (2002). Root architecture –Wheat as a model plant. In: Y. Waisel, A. Eshel, and U. Kafkafi (Eds). *Plant roots, the hidden half*. Marcel Dekker, Inc. New York-Basel., pp: 249-259.
- Nei, M. (1987). *Molecular evolutionary genetics*. Columbia University Press, New York.
- Nei, M. and W.H. Li (1979). Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases. *Proc Natl Acad Sci., USA*. 76(10): 5269 – 5273.
- Peakll, R.; and P.E. Smouse (2006). GENALEX 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. *Molecular Ecology Notes*. 6: 288-295.
- Pritchard, J.K.; and M. Przeworski (2001). Linkage disequilibrium in humans' models and data. *American Journal of Human Genetics*. 69: 1-14.
- Richards, R.A. (2006). Physiological traits used in the breeding of new cultivars for water-scarce environments. *Agricultural Water Management*. 80: 197-211.

- Richards, R.A. and J.B. Passioura (1981). Seminal root morphology and water use of wheat. II. Genetic variation. *Crop Sci.*, 21: 249-252.
- Risch, N.; and K. Merikangas (1996). The future of genetic studies of complex human diseases. *Science*. 273: 1516–1517.
- Robinson, D., L.L. Handley; C.M. Scrimgeour; D.C. Gordon; B.P. Forster; R.P. Ellis (2000). Using stable isotope natural abundances ($\delta^{15}\text{N}$ and $\delta^{13}\text{C}$) to integrate the stress responses of wild barley (*Hordeum spontaneum* C. Koch.) genotypes. *J. of Exp. Bot.*, 51: 41-50.
- Russell, J.R., J.D. Fuller; M. Macaulay; B.G. Hatz, Jahoor; W. Powell; and R. Waugh (1997). Direct comparison of levels of genetic variation among barley accessions detected by RFLP – AFLP – SSR – and RAPDs. *Theor. Appl. Genet.*, 95: 714 – 722.
- Tuberosa, R; M.C. Sanguineti; P. Landi; M.M. Giuliani; S. Salvi; and S. Conti (2002). Identification of QTLs for root characteristics in maize grown in hydroponics and analysis of their overlap with QTLs for grain yield in the field at two water regimes. *Plant Molecular Biology*. 48: 697–712.
- Van Oosterom, E.J.; S. Ceccarelli; and J.M. Peacock (1993). Yield response of barley to rainfall and temperature in Mediterranean environments. *J. Agric. Sci. Camb.*, 121: 307-314.
- Vershney, R.K.; M Baum; P Guo; S. Grando; S. Ceccarelli; and A. Graner (2010). Features of SNP and SSR diversity in a set of ICARDA barley germplasm collection. *Mol Breeding*. 26: 229-242.
- Weir, B.S. (1990). *Genetic Data Analysis*. Sinauer Associates, Inc. Publishers., Sunderland, Massachusetts, USA.
- Wenzl, P.; J. Carling; D. Kudrna; D. Jaccoud; E. Huttner; A. Kleinhofs; and A. Kilian (2004). Diversity arrays technology (DArT) for whole-genome profiling of barley. *Proceedings of the National Academy of Science, USA*. 101: 9915-9920.

Study of Genetic Diversity and Correlation of some Important Traits of Barley (*Hordeum vulgare* L.) Genotypes Using Diversity Array Technology Markers (DArT)

Abdullatef Ahmad Al-Assaf⁽¹⁾ Mohammad Shafik Hakim⁽¹⁾ Mohammad Fadi Basmaji⁽²⁾ and Stefania Grando⁽³⁾

(1). Department of Field Crops, Faculty of Agriculture, University of Aleppo, Aleppo, Syria.

(2). Aleppo Research Center, General Commission for Scientific Agricultural Research (GCSAR), Damascus, Syria.

(3). International Crops Research Institute for Semi-Arid Tropics (ICRISAT), Hyderabad, India.

(*Corresponding author: Eng. Abdullatef Ahmad Al-Assaf. E-Mail: a.lassaf74@gmail.com).

Received: 13/11/2018

Accepted: 02/12/2018

Abstract

The research was conducted in corporation between Faculty of Agriculture, Aleppo University and General Commission for Scientific Agricultural Research (GCSAR) and International Center for Agricultural Researches in Dry Area ICARDA at three locations: Tal Hadya, Homeimeh and Breda during two seasons 2008/2009 and 2009/2010. RCBD was used with three replications. The study aimed to estimate the genetic diversity in barley using 43 collected genotypes from seven different geographical regions in the world to be used in the breeding programs. In addition, to study the association between markers with grain yield and plant height and some root traits in barley seedlings under controlling conditions to determine assisted markers for selection this trait in dry areas. 70 DArT markers (Diversity Array Technology) were used in the DNA analysis, and 139 alleles were detected in the whole collection. The number of alleles detected per locus varied from zero to 2, with an average of 1.99 alleles per locus. The genetic diversity GD values ranged between zero and 0.5, with an average of 0.366, while the Polymorphism Information Content PIC values ranged between zero and 0.488 with average of 0.358. The high level of genetic diversity and the absence of genetic similarity among genotypes indicated high genetic variability levels within barley collection. The results indicated that the collection regions had high genetic diversity of barley genotypes. Moreover, there is a positive association between molecular markers and barley traits, as 27 markers were associated with the traits in whole barley genome.

Key words: Barley, Genetic diversity, Molecular markers, DArT, Association analysis.