تحديد درجة القرابة الوراثية بين الطرز الوراثية المحلية للشوفان المزروع في سورية باستخدام تقنية (ISSR-PCR)

عدنان عرابي 1 - مخلص شاهرلي 2 - سلام لاوند 2

1ــ طالب دكتوراه، قسم المحاصيل الحقلية، كلية الزراعة، جامعة دمشق.

2ــ أستاذ مساعد، قسم المحاصيل الحقلية، كلية الزراعة، جامعة دمشق.

الملخص

نفذ البحث بهدف تحديد درجة القرابة الوراثية بين الطرز الوراثية المحلية للشوفان المزروع في سورية باستخدام تقنية التكرارات البسيطة الترادفية الداخلية الـ (ISSR) لإرساء قاعدة انطلاق للدراسات المستقبلية التي تستهدف برامج التربية والتحسين الوراثي لمحصول الشوفان.

تمت الدراسة الجزيئية على ثمانية طرز من الشوفان المحلي جمعت من مواقع مختلفة من المنطقة الساحلية. أظهرت النتائج بالاعتماد على ثمانية بادئات تعددية شكلية كانت نسبتها 79.31 % ، حيث انقسمت الطرز الوراثية المدروسة للشوفان إلى مجموعتين وذلك تبعاً لدرجة القرابة الوراثية، وكانت أعلى درجة قرابة وراثية هي (0.85) بين الطرازين (طرطوس 42005 – طرطوس 42016)، وأقل درجة قرابة وراثية هي (0.41) بين الطرازين (طرطوس 42005 – اللاذقية 42004) وكذلك بين الطرازين (طرطوس 42005 – اللاذقية 42015).

الكلمات المفتاحية: الشوفان، طراز وراثي، القرابة الوراثية، التكرارات البسيطة الترادفية الداخلية، التفاعل التسلسلي المتكرر.

المقدمة والدراسة المرجعية

الشوفان محصول نجيلي يزرع للحصول على حبوبه التي تستخدم في تغذية الإنسان والحيوان خصوصاً الخيول، كما ويزرع كعلف أخضر وحده أو مخلوطاً مع نبات بقولي علفي. بالإضافة إلى استخدام قشه أحياناً كمرقد للحيوانات وفي صناعة السيلاج، ويبقى الشوفان محصول حبي هام للإنسان في البيئات الهامشية في جميع أنحاء العالم وخاصة الدول النامية (Welch, 1995)، وتمتلك المنتجات الغذائية المصنوعة من بذور الشوفان طاقة غذائية عالية وسهلة الهضم كالخبز والحلويات، وتناول حبوب الشوفان عند الإفطار يحمي الشخص من الإصابة بسرطان المعدة (Skoglund, 2008).

يتبع الشوفان العائلة النجيلية *Gramineae* والجنس *Avena* ويضم ثلاثة مجموعات صبغية، ثنائية Diploides 2N = 14 صبغي ورباعية 2N = 28 Tetraploides صبغي وسداسية Hexaploides 2N = 42 صبغي، ويتبع النوع المزروع (*Avena sativa*) للأنواع السداسية (Suttie and Reynolds, 2004).

يعدّ الشوفان في سورية من المحاصيل النجيلية المهملة فالمساحة المزروعة به ضئيلة جداً، وذلك لمنافسة محصولي القمح والشعير له لأنها تزرع في نفس موعد زراعة الشوفان، وعدم وجود دراسات وأبحاث على هذا المحصول في سورية، وتتركز زراعة الشوفان في سورية في محافظتي طرطوس واللاذقية، والمساحة المزروعة فيه بانخفاض مستمر فبعد أن كانت تشكل(323) عام 1998 هبطت إلى (6) عام 2008.

إن التفاعل بين البيئة والتركيب الوراثي مسألة هامة في إنتاج المحصول، حيث يتم التوصية لطراز وراثي معين لبعض المناطق أو لمنطقة واحدة فلا يمكن

تغيير الظروف البيئية الزراعية في حين يمكن تغيير التركيب الوراثي إما عن طريق التهجين أو بإتباع طرق التقانات الحيوية المناسبة والمتوفرة، لهذا الغرض يحتاج مربوا النبات دائماً إلى إستنباط تراكيب وراثية لتطوير المحاصيل لتناسب المناطق المناخية الزراعية المتنوعة (Nawaz *et al*,2004).

تعد دراسة التباينات الوراثية ضمن النوع هدف أساسي للمحافظة عليه من التدهور (Arafeh *et al*., 2002)، وقد كان يتم سابقاً التمييز بين النباتات بالاعتماد على الصفات الشكلية، ولكن هذه الصفات تتأثر بالظروف البيئية، أما في الوقت الحالي يتم استخدام تقنيات تعتمد على دراسة المورثات بحد ذاتها دون أي تأثير للبيئة فيها (Migdadi, 2001).

إن الاعتماد على الصفات الشكلية لدراسة التنوع النباتي غير كاف، وبشكل خاص عند وجود تقارب كبير بين النباتات المدروسة، كما أن هذه الصفات المظهرية شديدة التأثر بالظروف البيئية (Degani *et al*., 1998)، حيث 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 أهمها التقانات الحيوية التي تعتمد على التفاعل السلسلي المتعدد PCR. لذا يجب دراسة التنوع الوراثي وذلك باستخدام المعلمات الجزيئية، وتعتمد تقنيات المعلمات الجزيئية على التفاعل التسلسلي المتعدد Polymerase Chain Reaction حيث يتم تضخيم قطعة محددة من الحمض النووي DNA وذلك بوجود بادئات محددة (Weising *et al*., 1995)، ويتم التفاعل التسلسلي المتعدد PCR بوجود مكونات أساسية هي كلوريد المغنزيوم MgCl2 ، النكليوتيدات ثلاثية الفوسفات Deoxynucleoside Triphosphates (dNTPs) وأنزيم Taq-Polymerase كما يتم تضخيم الحمض النووي DNA عبر عدد من الدورات يصل لـ 40 دورة (Newton and Graham, 1994)

تتنوع المعلمات الجزيئية التي تستخدم في الكشف عن التنوع الوراثي داخل وبين الأنواع، وقد استخدم في هذه الدراسة تقنية وراثية مهمة وهي (ISSR) (Inter Simple Sequence Repeats) (أي التكرارات البسيطة الترادفية الداخلية) التي تعتمد على تضخيم المواقع (bp 3000-100) بين التوابع الدقيقة المتقاربة والمتوضعة بشكل متعاكس (Zietkiewicez *et al*.,1994) وباستخدام مرشات وحيدة طولها (bp18-16) ومؤلفة من نكيلوتيدات متكررة، وعادة ما يضخم (ISSR) (50-25) منتجاً في التفاعل الواحد (Bornet *et al*., 2002, Nagragu *et al*., 2002).

إن الفائدة الرئيسية لهذه التقنية هي أنها لا تتطلب وقتاً طويلاً، وعلى الرغم من حقيقة كونها تورث كمعلمات سائدة وأحياناً غير سائدة، إلا أنها معلمات ذات طبيعة عشوائية، فهي مناسبة بشكل خاص لدراسة علم الوراثة التفريقي وتقييم التنوع الوراثي وتحديد الأصناف (Raina *et al*.,2001, Korben *et al*.,2002).

إضافة لذلك، فإن بساطة معلمات (ISSR) تزيد من إمكانية استخدامها في الوسم المجيني (الجزيئي) (Ammiraju *et al*.,2001) إضافة إلى أن معلمات ISSR تتميز بأنها غزيرة فإنها تعطي عدداً كبيراً من الحزم، ومستوى التعددية الشكلية عالي إلى متوسط، وطبيعة التوريث سائد إلى متنحي، والقدرة على التضخيم عالية إلى متوسطة، والتكاليف منخفضة كما أن جهد تنفيذها منخفض (Van der nest *et al*., 2000) وتستخدم وبشكل واسع في مجالات تحديد الأصناف، ورسم الخرائط الوراثية، والتنوع الوراثي (Rakoczy–Troganowska.M and Bolibok.H, 2004) و (Qian *et al*.,2007).

أهداف البحث:

يهدف البحث إلى تحديد درجة القرابة الوراثية بين الطرز الوراثية المحلية للشوفان المزروع في سورية باستخدام تقانة الـ ISSR من أجل الاستفادة منها وراثياً في مجال برامج التحسين الوراثي لهذا المحصول.

مواد البحث وطرائقه

1- المادة النباتية:

تمت الدراسة على ثمانية طرز وراثية من نبات الشوفان المحلي المزروع (*Avena sativa*) تحت ظروف الزراعة المطرية، تمّ الحصول على البذار من البنك الوراثي في الهيئة العامة للبحوث العلمية الزراعية، تم جمعها من المناطق الساحلية ويبين الجدول (1) بيانات الجمع للطرز المدروسة (Studies genotypes).

جدول رقم(1) بيانات الجمع للطرز المدروسة

التسلسل	الطرز المدروسة	مكان الجمع		الارتفاع عن سطح البحر(م)	خط الطول E	خط العرض N
		المحافظة	القرية			
1	اللاذقية 42004	اللاذقية	الحفة- جبل التوبة	550	36.03	35.60
2	اللاذقية 42007	اللاذقية	البدامة	360	36.13	35.51
3	اللاذقية 42011	اللاذقية	البدامة	360	36.13	35.51
4	اللاذقية 42012	اللاذقية	الشيطية	80	35.48	35.39
5	اللاذقية 42015	اللاذقية	سلمى	920	36.04	35.44
6	طرطوس 42005	طرطوس	الثورة	80	35.52	34.50
7	طرطوس 42016	طرطوس	جسر موركة	20	35.58	35.4
8	طرطوس 42020	طرطوس	الخراب	30	35.54	35.08

2- مكان تنفيذ البحث:

نُفذّ البحث في مخابر التقانات الحيوية في كلية الزراعة بجامعة دمشق للعام 2010-2011 م.

3- التوصيف الجزيئي على مستوى الحمض النووي:

3-1 استخلاص الـحمض الريبي النووي منقوص الأوكسجين DNA Extraction:

تم استخلاص الـحمض الريبي النووي منقوص الأوكسجين (DNA) من الأوراق النباتية الطازجة والمجموعة من بادرات بعمر 3-4 أسابيع بطريقة CTAB (Cetyl Trimethyl Ammonium Bromid) الحاوي على مزيج مكون من (β-mercaptomethanol-PVP-TRIS-HCl-EDTA-NaCl) وذلك عند (pH=8). يثفل المحلول بواسطة جهاز الطرد المركزي لفصل الأحماض النووية عن راسب البقايا النباتية بعد إضافة (كلوروفورم: أيزوميل الكحول) (24:1). تترسب الأحماض النووية باستخدام المحلات العضوية (ايزوبروبانول) يغسل الراسب بالكحول (70%) ويثفل مجدداً للتخلص من هذه المذيبات وبعدها يحل DNA في محلول TE (TRIS-HCL+EDTA) (pH=8).

ويتم التخلص من الـ RNA بإضافة أنزيم RNase (10 mg/ml) وحضنها عند درجة حرارة 37 لمدة 15 دقيقة.

3-2 تقدير كمية الحمض النووي DNA و نوعيته :

قدرت كمية الحمض النووي DNA في العينات باستخدام جهاز المطيـاف الضوئي(UV spectrophotometer) الذي يعتمد في عمله على قياس كمية الحمض النووي الموجودة عن طريق امتصاصه للأشـعة فـوق البنفسـجية Ultra Violet بموجات طولها 260 و 280 نانومتر. وتسمح قراءة الامتصاص على طول الموجة 260 نانومتر بحساب تركيز الحمض النووي في العينة بحيث أن كـل واحـد مـن الكثافة الضوئية optical density (OD) تقابل حـوالي 50 ميكـرو غـرام/ مـل لسلاسل الحمض النووي DNA المضاعفة. وإن النسبة بين قـراءة الموجـة 260 نانومتر/ إلى280 نانومتر تساعد في تقدير نقاوة الحمـض النـووي ويجـب أن تتـراوح هذه النسبـة بين (1.8 - 2.0) لكـل من الحمـض النـووي DNA. وحسبت كمية الحمض النووي DNA من المعادلة التالية:

$$\text{DNA Concentration (g/l)} = \frac{\text{OD 260} \times 50 \text{ (عامل التمديد)} \times 50 \text{ (g / ml)}}{1000}$$

(تركيز الحمض النووي)

حيث أن OD 260 تمثل الكثافة الضوئية لامتصاص الحمض النووي (ميكرو غرام) عند الموجة 260 نانومتر.

3-3 تقنية الـ ISSR المطبقة لإجراء البصمة الوراثية:

تم تطبيق تقنية ISSR والتي تعتمد بشكل أساسي على تفاعل البلمرة المتسلسل (PCR) ويتم خلال هذا التفاعل إكثار قطعة من الحمض النووي DNA والحصول على عدد كبير من السلاسل الجديدة المتضاعفة للحمض النووي DNA وذلك باستخدام عدد من البادئات الغير متخصصة، حيث أجري اختبار (8) بادئات عشوائية من الهيئة العامة للطاقة الذرية بتركيز (MicroMol 10) ويوضح الجدول رقم (2) التسلسل النكليوتيدي للبادئات المستخدمة في الدراسة .

كما استخدم 2 X PCR Master Mix والحاوي على المكونات التالية:

MgCl2 ,Taq-Polymerase, dNTPs

جدول رقم (2) : التسلسل النكليوتيدي للبادئات المختبرة في تقانة ISSR حيث كانت درجة الالتحام 50 م

الرقم	رمز البادئة	التسلسل النكليوتيدي 3′ → 5′
1	ISSR-1	AGAGAGAGAGAGAGAGC
2	ISSR-2	GAGAGAGAGAGAGAGAT
3	ISSR-3	CTCTCTCTCTCTCTCTG
4	ISSR-4	CACACACACACAACAG
5	ISSR-5	TCTCTCTCTCTCTCTCC
6	ISSR-6	TGTGTGTGTGTGTGTGG
7	ISSR-7	ACACACACACACACACTT
8	ISSR-8	ACACACACACACACACGG

أجري تفاعل PCR وفقاً لـ (Williams *et al*., 1990). مع بعض التعديلات فكان حجم التفاعل النهائي (25 µl). وتم هذا التفاعل في جهاز التدوير الحراري وفقاً للظروف التالية :

1- الانفصال : عند درجة حرارة 94 °م لمدة دقيقة واحدة ليتم انفصال سلسلتي DNA.

2- 40 دورة تتضمن كل منها المراحل التالية :

- التحطم : يتم عند حرارة 94 م لمدة 30 ثانية.
- الالتحام : عند حرارة 50 °م لمدة دقيقة واحدة.
- الاستطالة : عند حرارة 72 °م لمدة دقيقة.

3- اكتمال التفاعل عند حرارة 72 °م مدة عشردقائق.

ثم حفظت العينات في درجة حرارة 4 °م لتفصل الحزم بعدها بالرحلان الكهربائي على هلامة الأغاروز.

3- 4 الرحلان الكهربائي والتلوين والتصوير:

يتم تحديد نجاح التضخيم وذلك باستخدام جهاز الرحلان الكهربائي ومحلول TBE (Tris Borate EDTA) حيث ينفصل الحمض النووي DNA خلال هلامة الأغاروز اعتماداً على الوزن الجزيئي حيث ترحل القطع الكبيرة ببطء أكثر من القطع الصغيرة ثم يتم كشف قطع الحمض النووي DNA باستخدام صبغة الإثيديوم بروماید ليظهر الحمض النووي DNA على شكل حزم على الهلامة.

4- التحليل الاحصائي Statistical Analysis :

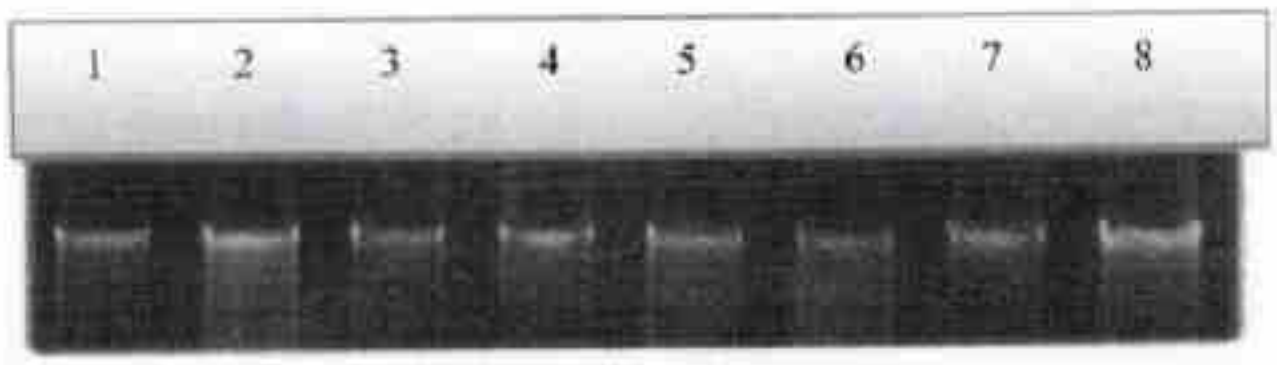
جمعت نتائج عملية المكاثرة في جداول اعتماداً على مقارنة وجود أو غياب قطع DNA بين النباتات التي جمعت من المواقع المختلفة، حيث أعطي الرقم (1) عند وجود حزمة الحمض النووي DNA والرقم (0) لعدم وجود الحزمة، ذلك يتضمن الحزم الواضحة فقط وقد نظمت الجداول لكل بادئة على حدا، ورسمت شجرة القرابة الوراثية Dendrogram بتطبيق متوسطات المجموعات الزوجية غير

المزانـــة UPGMA Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Averaging باستخدام برنامج Popgene 1.31 الإحصائي.

النتائج والمناقشة

1- استخلاص الحمض النووي ونقاوته:

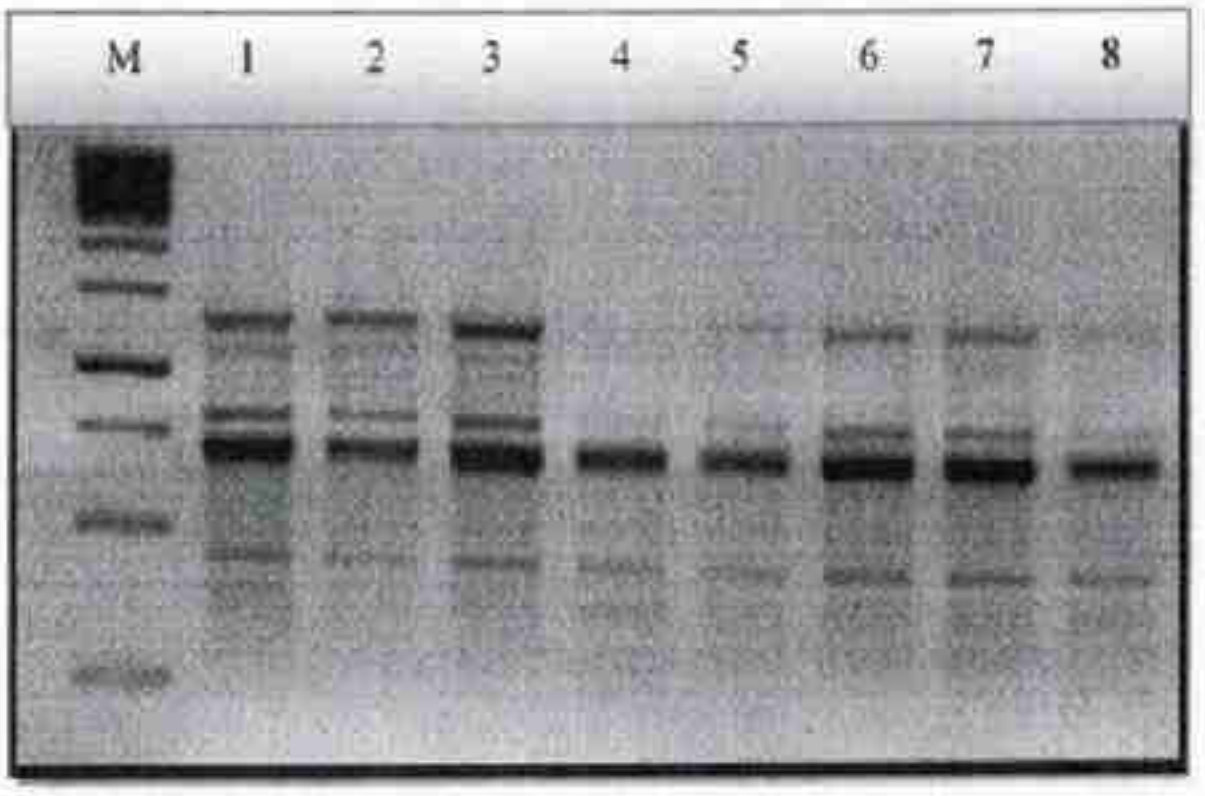
استخلص الحمض النووي DNA من أوراق النبات الفتية وقـيس تركيـزه ونقاوته بجهاز المطياف الضوئي UV. حيث تراوحت التراكيز بـين 0.263 و0.45 µg/µl وتراوحت نقاوة العينات بين 1.82- 196، ومدد تركيز الحمـض النـووي DNA ليصبح 25 نانوغرام /ميكروليتر، وطبقت عملية الرحلان الكهربـائي علـى هلامة الأغاروز بتركيز 1 % لمعرفة نوعية الحمض النـووي DNA المسـتخدم (شكل 1).



شكل (1): الحمض النووي DNA المستخلص بعد الرحلان في هلامة الأغاروز 1% حيـث (1) اللاذقيـة 42004 ، (2) اللاذقية 42007، (3) اللاذقية 42011، (4) اللاذقية 42012، (5) اللاذقيـة 42015، (6) طرطوس 42005، (7) طرطوس 42016، (8) طرطوس 42020.

2- تقانة التضخيم لسلسلة الحمض النووي المتباينة شكلياً ISSR-PCR:

طبقت تقنية ISSR فأعطت كل البادئات المستخدمة حزم واضحة وذات تعددية شكلية مما يشير إلى وجود تباينات وراثية بين طرز الشوفان المدروسة كما يبين الشكل(2) هذه الحزم.



شكل (2): الحزم الناتجة عن تفاعل PCR للبادئة (ISSR-7) في جميع الطرز المدروسة على هلامة الأغاروز 2% وبوجود صبغة الايتيديوم بروميد 50µg/ml ومعلم جزيئي (1000pb).

3- التعددية الشكلية polymorphism الناتجة عن تطبيق تقنية ISSR :

يبين الجدول (3) أن جميع البادئات المستخدمة أعطت منتجات تضخيم في تفاعل البلمرة المتسلسل حيث أثبتت البادئات المستخدمة فعاليتها في إعطاء تعددية شكلية بين الطرز المدروسة ونجم عن استخدام هذه البادئات ما مجموعه 58 حزمة، منها 46 حزمة ذات تعددية شكلية polymorphic حيث بلغت هذه التعددية 79.31%. بينما 12 منها (20.69 %) وحيدة التكرار Monomorphic.

كما تراوح عدد الحزم لكل بادئة بين 4 كأقل عدد مع البادئة (ISSR-6) و12 كأعلى عدد مع البادئة (ISSR-4) بمتوسط 7.25 لكل بادئة ، وتراوح عدد الحزم ذات التعددية الشكلية بين 3 مع البادئة (ISSR-6) و10 مع البادئة ISSR-4 بمتوسط قدره 5.75 لكل بادئة. وإن البادئة ISSR-4 أعطت أعلى عدد من الحزم (12) حزمة فهذا يدل على أن هذه البادئة ذات دلالة أكبر عن التنوع الوراثي مقارنة بالبادئة ISSR-6 التي أعطت أقل عدد من الحزم وهو (4) حزم، وبما أن

نسبة التعددية الشكلية 79.31% فهذا يدل على فعالية تقنيـــة ــ ISSR فـــي كشـــف التباينات الشكلية بين الطرز المدروسة.

جدول رقم (3) عدد الحزم ذات التعددية الشكلية الناتجة من البادئات المختبرة مع طرز الشوفان

البادئة	عدد الحزم الكلي	عدد الحزم المتشابهة	عدد الحزم المتباينة	النسبة المئوية للتعددية الشكلية %	حجم الحزم pb
ISSR-1	6	2	4	66.66	pb800-200
ISSR-2	7	2	5	71.43	pb1000-250
ISSR-3	5	1	4	80	pb750-250
ISSR-4	12	2	10	83.33	pb1000-220
ISSR-5	7	1	6	85.71	pb750-500
ISSR-6	4	1	3	75	pb750-250
ISSR-7	8	2	6	75	pb1000-200
ISSR-8	9	1	8	88.88	pb1000-250
المجموع	58	12	46	79.31	
المتوسط	7.25	1.5	5.75	-	

وتمت دراسة العلاقة الوراثية بين طرز الشوفان بتطبيق مصفوفة النسب المئوية لعدم التوافق Percent Disagreement Values (PDV) حيث أن ارتفاع قيم هذه المصفوفة يدل على وجود اختلاف وراثي وبازديادها يزداد التباين الوراثي بين النباتين المدروسين ويتم إنشاء هذه المصفوفة وفقاً لعدد وحدات التضاعف المشتركة .

نلاحظ من خلال الجدول رقم (4) أن أقل قيمة للتباعد الوراثي هي (0.15) بين الطرازين (طرطوس05 – طرطوس16) وهذا يدل على القرب الوراثي بين هذين الطرازين، في حين كانت أعلى قيمة للتباعد الوراثي هي (0.59) بين الطرازين (طرطوس05 – اللاذقية04) وكذلك بين الطرازين (طرطوس05 – اللاذقية19). مما يدل على وجود تباين وراثي كبير بينهما مع العلم أن هذه الطرز كانت من محافظتين مختلفتين وتوضعها على ارتفاعات متباينة بفارق 470 م ، 840 م بين الارتفاعين على التوالي.

الجدول(4) مصفوفة النسب المئوية لعدم التوافق PDV

الطراز	اللاذقية 04	اللاذقية 07	اللاذقية 11	اللاذقية 12	اللاذقية 19	طرطوس 05	طرطوس 16	طرطوس 20
اللاذقية04	0							
اللاذقية07	0.25	0						
اللاذقية11	0.17	0.23	0					
اللاذقية12	0.40	0.32	0.32	0				
اللاذقية19	0.42	0.35	0.30	0.30	0			
طرطوس 05	0.59	0.45	0.45	0.56	0.59	0		
طرطوس 16	0.48	0.35	0.35	0.56	0.48	0.15	0	
طرطوس 20	0.40	0.32	0.32	0.48	0.40	0.40	0.35	0

4- التحليل العنقودي (cluster analysis) للطرز الوراثية المدروسة

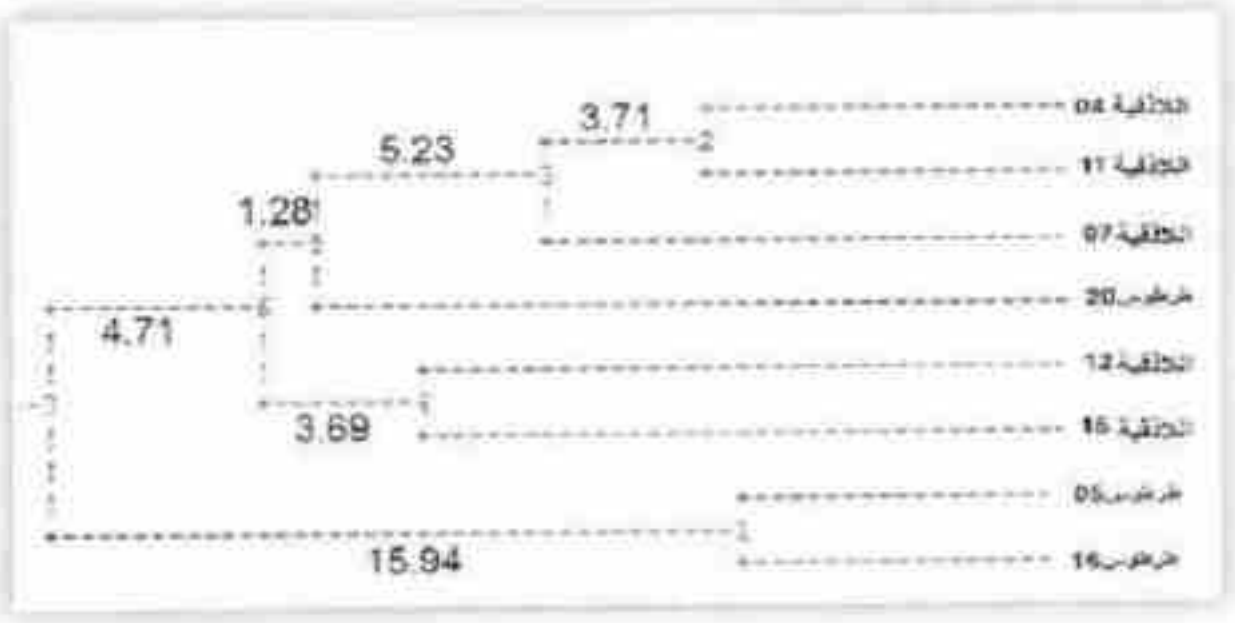
الناتج عن استخدام تقانة ISSR:

يسمح التحليل العنقودي بتقسيم الطرز الوراثية المدروسة إلى مجموعات، وتعكس هذه المجموعات درجة القرابة الوراثية فيما بينها.

أجري التحليل العنقودي للنتائج التي تم الحصول عليها وذلك لإنشاء شجرة القرابة الوراثية Dendrogram لتحديد درجة القرابة الوراثية بين الطرز الوراثية المدروسة للشوفان المزروع.

نلاحظ من الشكل رقم(3) توضع الطرز الوراثية المدروسة للشوفان في عنقودين، حيث انقسمت طرز العنقود الأول إلى مجموعتين وذلك تبعاً لدرجة القرابة الوراثية، حيث انقسمت المجموعة الأولى إلى تحت مجموعتين الأولى ضمت الطرز اللاذقية04، اللاذقية07 ، اللاذقية11 ولوحظ وجود درجة قرابة وراثية عالية بين الطرازين اللاذقية04 ، اللاذقية07 في حين انفصل الطرازين اللاذقية07 واللاذقية11 اللذان يتبعان لنفس المحافظة ونفس القرية مما يدل على أنهما مختلفين وراثياً عن بعضهما، أما تحت المجموعة الثانية ضمت طراز واحد هو طرطوس20 مما يستدعي القول أن هذا الطراز أقرب إلى الطرز الوراثية التابعة لمحافظة اللاذقية.

في حين ضمت المجموعة الثانية الطرازين اللاذقية12 ، اللاذقية15 وبدرجة قرابة وراثية عالية. أما العنقود الثاني ضم الطرازين طرطوس05 ، طرطوس16 وبدرجة قرابة وراثية عالية حيث هذين الطرازين من محافظة واحدة ومن ارتفاعين قريبين من بعضهما.



شكل(3): شجرة القرابة الوراثية بين طرز الشوفان المدروسة حسب طريقة UPGMA. حيث أن الأرقام الموجودة على المخطط تعبر عن المسافات الوراثية بين المجموعات وتحت المجموعات الوراثية لطرز الشوفان المدروسة.

الاستنتاجات والمقترحات

1- فعالة تقنية الـ ISSR والتي أثبتت فعالية في كشف التباينات الوراثية بين طرز الشوفان الوراثية.

2- أظهرت تقانة ISSR أعلى درجة قرابة وراثية هي (0.85) بين الطرازين (طرطوس 42005 – طرطوس 42016)، وأقل درجة قرابة وراثية هي (0.41) بين الطرازين (طرطوس 42005 – اللاذقية 42004) وكذلك بين الطرازين (طرطوس 42005 – اللاذقية 42015).

3- تطبيق تقنية الـ ISSR في الدراسات الوراثية المتعلقة بمحصول الشوفان وكذلك بالنسبة للمحاصيل القريبة منه، كونها أثبتت فعالية جيدة في تقييم التنوع الوراثي للشوفان المحلي المزروع.

4- إجراء المزيد من الدراسات الجزيئية على مستوى الحمض النووي والبروتينات النوعية للشوفان للتأكيد على التباينات الوراثية ضمن النوع.

المراجع الأجنبية

English References

- AMMIRAJU, J.S.S., DHOLAKIA, B.B., SANTRA, D.K., SINGH, H., LAGU, M.D., TAMHANKAR, S.A., DHALIWAL, H.S., RAO, V.S., GUPTA, V.S. and RANJEKAR, P.K., 2001_ **Identification of inter simple sequece repeat (ISSR) markers associated withseed size in wheat.** *Theor. Appl. Genet.* 102 726-732.
- ARAFEH, R. M. H., SAPIR, Y., SHMIDA, A., IRAKI, N., FRAGMAN, O. and COMES, P., 2002_ **Patterns of genetic and phenotypic variationsin *Iris hayni* and *I.atrofusca* (Iris sect. Onocyclus = the royal irises) along an ecogeographical gradient in Palastine and the West Bank.** Mol. Ecol., 11, 39-53.
- BORENT, B., GORAGUER, F., JOLY, G., Branchard, M., 2002_**Genetic diversity in European and Argentinian cultivated potatoes (*Solanum tuberosum* subsp. *tuberosum*) detected by inter-simple sequence repeats (ISSRs).** *Genome*, 45, 481-484.
- DEGANI, C., ROWLAND, L. G., LEVI, A., HORTYNSKI, and GALLETTA, G. J., 1998_ **DNA fingerprinting of strawberry(*Fragaria* x *ananassa*) cultivars using randomly amplified polymorphic DNA (RAPD) markers.** Euphytica, 1025, 247-253.
- KORBIN, M., KURAS, A., ŻURAWICZ, E., 2002_ **Fruit plant germplasm characterisation using molecular markers generated in RAPD and ISSR-PCR.** *Cell. Mol. Biol. Lett*, 785-794.
- MIGDADI, H. M., 2001_ **Genetic variation in some Aegilops species as revealed by morphological and molecular techniques.** ph. D. Thesis, University of Jordan, Amman, Jordan.
- NAWAZ, N., RAZZAQ, A. , ALI, Z.; YOUSAF, M., 2004_ **Performance of different oat (*Avena sativa* L.) varieties under the agro-climatic conditions of Bahawalpur-Pakistan.** *Int. J. Agric. Biol*, 624-626.
- NEWTON, C. R. AND GRAHAM, A., 1994_ **PCR,[1st] edition.** *Bios Scientific Publisher Ltd.*, UK.

- NAGARAJU, J., KATHIRVEL, M., RAMESH KUMAR, R., SIDDIQ, E.A., HASNAIN, S.E., 2002_ **Genetic analysis of traditional and evolved Basmati and non-Basmati rice varieties by using fluorescence-based ISSR-PCR and SSR markers.** *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 99, 5836-5841.
- QIAN.Z., HONG, D., DONG HANG, Z., 2007_ **ISSR Molecular Marker and its application in plant researches.** *Molecular Plant Breeding*, V.(5).No 6,123-129.
- RAINA, S.N., RANI, V., KOJIMA, T., OGIHARA, Y., SINGH, K.P., DEVARUMATH, R.M., 2001_ **RAPD and ISSR fingerprints as useful genetic markers for analysis of genetic diversity, varietal identification, and phylogenetic relationships in peanut (*Arachis hypogaea*) cultivars and wild species.** *Genome*, 44, 763-772.
- RAKOCZY-TROJANOWSKA, M., BOLIBOK, H., 2004_ **Characteristics and a comparision of three classes of Micro satellite- based markers and their application in plants.** *Agricultural university, Nowoursynowska, Wraszawa, Poland.*
- SKOGLUND, M., 2008_ **Phenolic compounds in oats effects of steeping, germination and related enzymes.** Doctoral dissertation. *Swedish University of Agricultural Sciences*, 1, 15-16.
- SUTTIE J. M. and REYNOLDS S. G., 2004 _ **Fodder oat : a word overview.** *Plant production and protuction Series*, FAo, Roma.
- VAN DER NEST, M.A., STEENKAMP, E.T., WIGFIELD, B.D., WINGFIELD, M.J., 2000_ **Development of simple sequence repeat (SSR) markers in Eucalyptus from amplified inter-simple sequence repeats (ISSR).** *Plant Breed*, 119, 433-436.
- WEISING, K., NYBOM, H., WOLFF, K. and MEYER, W., 1995_ **DNA fingerprinting in plants and fungi.** *CRC Press, Inc.*, London.
- WELCH.R.W., 1995_ **The Oat Crop: Pruduction and Utilization.** *ed. Chapman and Hall, London, UK.* 279-320.
- WILLIAMS J.G.K.; A.R. KUBELIK; K.J. LIVAK; J.A RAFALSKI; and TINGEY S.V. , 1990_ **DNA**

polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers Nucleic. *Acids Research*, 22, 6531- 6535.

- ZIETKIEWICZ, E., RAFALSKI, A., LABUDA, D.,1994_ **Genome fingerprinting by simple sequence repeat (SSR)-anchoredpolymerase chain reaction amplification.** *Genomics*, 20(1994), 176-183.

Determining of Genetic relation between Syrian genotypes of cultivated Oat in Syria by ISSR (Inter Simple sequence repeats)

A. Orabi [1] ; M. Shaherli [2] and S. Lawand [2]

[1] Ph.D. student, Agronomy Dep., Faculty of Agriculture, Damascus University
[2] Associate Prof., Agronomy Dep., Faculty of Agriculture, Damascus University

ABSTRACT

The research was carried out in aim of determining the Genetic relation between Syrian genotypes of cultivated Oat by using ISSR Technique for founding data base to start from it toward futuristic searches that work for oat breeding programs.

The biological study was carried out on eight genotypes of Syrian oat which were collected from different places from the coastal area. In depending on eight primers. The results showed polymorphisms with a rate 79.31% . The Oat genotypes grouped in two groups depending on the degree of Genetic relation the highest degree of similarity 0.85 between two genotypes (Tartous 42005 – Tartous 42016) and the lowest one was (0.41) between two genotypes (Tartous 42005 – Tartous 42004) and the genotypes (Tartous 42005 – Lattakia 42015).

Keywords: Oat, genotypes, Genetic relation, Inter-Simple Sequence Repeats, Polymerase Chain Reaction.

ABSTRACT

The study was carried out in the Abi Jarash Farm in the Faculty of Agriculture, Damascus University for the field work. The research work was conducted during the growing season 2009/2010 , 2010/2011. And 10 varieties of barely were used, according to Randomized Complete Block Design (RCBD), with three replication, in order to evaluate some of the varieties for resistance lodging based on some morphological and anatomical indicators, such as stem length, stem diameter, wall thickness, length of second internode , spike length, the number of internode, plant weight.

The result showed that resistance to lodging in the barley plant affected by the anatomical characteristics of the stem , especially stem diameter and wall thickness. Fourat4 was the biggest product varieties in both of wall thickness(41.41) micrometer and stem diameter(387.45) micrometer, then the variety Arabe abed muhasn in wall thickness(41.08) micrometer and the variety Fourat6 in stem diameter(372.65) micrometer. The results also showed the importance of stem length and length of second internode in the identification of the resistant varieties of the lodging, Fourat4 was the biggest product varieties in both of stem length and length of second internode(83.55, 12.09)cm, respectively.

It was also noted that The observed correlation was negative and strong between spike length and both of the stem length(r= -0.933) and the length of second internode(r= -0.899). Also the observed correlation was negative and significant between wall thickness and the length of second internode (r= -0.305), and the correlation was positive and significant between wall thickness and both of the plant weight(r = 0.364) and the number of internode(r = 0.337).

Key words: **Barley, Resistance Lodging, wall thickness, length of second internode**