

التوصيف الجزيئي لأصناف الباذنجان (*Solanum melongena* L.)

المحلية السورية باستخدام تقنية ال AFLP

محمود هيثم السيد* ، خالد المحمد**

*قسم هندسة التقانات الحيوية، كلية الهندسة التقنية، جامعة حلب.

**قسم البساتين، كلية الهندسة الزراعية، جامعة حلب.

الملخص:

يعد الباذنجان *Solanum melongena* L. من محاصيل الخضر المهمة عالمياً، ونظراً لوجود عدة أصناف باذنجان محلية في سورية، فإنها تشكل تنوعاً ومديراً وراثياً متأقلاً مع الظروف السورية نصف الجافة والجافة. فقد هدف البحث إلى تحديد التنوع والقربية الوراثية لبعض أهم الأصناف المحلية المنتشرة زراعتها في سورية، والتي يمكن بعد دراستها الوراثية وتحديد قرابتها أن تستخدم في عمليات التربية والتهجين بشكل موجه بمساعدة تقنية المؤشرات الجزيئية.

تمت غربلة خمسة أصناف من الباذنجان (الأسود، العنقودي، النادفي، أبو قمع، الحمصي) باستخدام تقنية AFLP. أظهرت النتائج وجود 251 أليلاً متبايناً باستخدام 22 زوجاً من البادئات التوافقية وبمعدل حوالي 11 عصابة دناوية متباينة polymorphism لكل توليفة وتراوحت عدد الأليلات ما بين 4-21 أليلاً في كل زوج من البادئات التوافقية المستخدمة.

أظهرت النتائج درجة التشابه بين الأصناف الوراثية الخمسة للباذنجان السوري، حيث وجد أن الصنف الوراثي الحمصي الأقل تشابه بالنسبة للأصناف الوراثية الأربعة الباقية، كما أظهر الصنفان المحليان النادفي وأبو قمع درجة عالية من التشابه، في حين تشابه الصنفان العنقودي والأسود كثيراً فيما بينهما. كما أظهرت النتائج أن الأصناف الأربعة العنقودي والأسود والنادفي

ورد البحث للمجلة بتاريخ ٢٠١٠ / ١٠ / ٢٠١٠

قبل للنشر بتاريخ ٢٠١٠ / ١٠ / ٢٠١٠

وأبو قمع متشابهة فيما بينها أكثر من درجة تشابه كل منها مع الصنف الحمصي الذي انفرد في أليلاته الوراثة بشكل منفصل ومتباين عن الأصناف المحلية الأخرى المدروسة. وبذلك فإن القرابة الوراثة بين الأصناف الخمسة يمكن أن ترتب كالتالي: أسود-عنقودي- أبو قمع- نادفي-حمصي.

يمثل هذا البحث خطوة أولى لدراسة القاعدة الوراثة للباذنجان في سورية باستخدام التقنيات الحيوية.

الكلمات المفتاحية : الباذنجان، أصناف، القرابة الوراثة ، المؤشرات الجزيئية، تقنية AFLP

المقدمة والأبحاث السابقة:

A. الوصف النباتي للباذنجان:

يعد الباذنجان *Solanum melongena* L. من محاصيل الخضار المهمة عالمياً، ينتمي الباذنجان إلى الفصيلة الباذنجانية *Solanaceae* التي تضم أنواعاً مهمة كالبنندورة والبطاطا والفليفلة والبيتونيا والداتورا والتبغ (Doganlar, et al., 2002). تعد قارة آسيا الموطن الأصلي لإستئناس الباذنجان ومنطقة الإنتاج الرئيسة في العالم (Frary, et al., 2007). فالهند والصين هي من أهم المراكز الرئيسة لزراعة الباذنجان في العالم ثم يليها تايلاند وماليزيا وأندونيسيا والفلبين واليابان (Kashyap, et al., 2003). كما أشار (Frary, et al., 2007) إلى أن سورية وتركيا وإيران هي الموطن الثانوي للباذنجان، ويعتبر الباذنجان من أكثر أنواع الخضار الواسعة الإنتشار عالمياً لأهميته في غذاء الشعوب (Frary, et al., 2007).

إن الباذنجان (*S. melongena*) بأنه نبات حولي محب للدفء وينمو في مجال حراري $22-30^{\circ}\text{C}$ ، تلقيحه ذاتي، كما يتميز بتنوع مورفولوجي كبير يتعلق بلون الثمرة، حجمها، شكلها، وطعمها (Frary, et al., 2007). يتم تحديد الاختلاف في ألوان ثمار الباذنجان بشكل أساسي من خلال صباغين ملونين ويتم التحكم بتأثيرهما على المظهر عن طريق أكثر من مورث. هذه الأصبغة هي (الكلوروفيل a ، b والأنثوسيانين anthocyanins) التي توجد بكميات مختلفة وبتحادها مع بعضها ينتج

اللون الدقيق للثمرة. كما يتدرج لون ثمار الباذنجان من الأبيض إلى الأسود مع إمكانية
تشكل بقع ملونة ومخططة. أما أوزان ثمار الباذنجان تختلف من عدة غرامات إلى
كيلو غرام، كما تتنوع في أطوالها وأشكالها فهناك البيضوي، المستدير، المستطيل،
الكمثري، الطويل، المنحني. كما تختلف بالطعم حسب الصنف، وتظهر فيها صفة
الطعم المر الناتج عن تراكم كميات مختلفة من الجلوكوسيدات Glycoalkaloids
لدرجة قد تصل المرارة فيها لحد يصعب تناولها في الطعام. كما تختلف في وجود
الأسواك على الثمرة أو عدم وجودها وكذلك مقاومتها للحشرات والأمراض
(Lawande and Chavan, 1998).

B. التنوع الوراثي للباذنجان Eggplant Genetic Diversity :

يتميز الباذنجان *S. melongena* وراثياً باحتوائه على 12 صبغياً أي $n=12$
($2n=24$) (Choudhury, 1995). كما أن توزع الباذنجان في منطقة واسعة من
العالم ووجود أصول مختلفة منه، تجعل من تصنيفه ودراسة تنوعه الوراثي أمراً
صعباً. لذلك فإن استخدام التقانات الحيوية الجزيئية لتصنيف جنس *Solanum* وبشكل
خاص نوع الباذنجان لدراسة تنوعه الوراثي أمراً مهماً (Daunay, et al., 2001).
لقد تمت دراسة نوعين هاميين من الفصيلة الباذنجانية وهما البندورة والبطاطا بشكل
جيد من خلال التقانات الحيوية الجزيئية، باستخدام تقنية Expressed sequence
Tags (ESTs). كما ينفرد الباذنجان من جنس الباذنجانيات بوجود معلومات جزيئية
قليلة مقارنة مع غيره من الفصيلة ذاتها وخاصة إذا علمنا أنه تم البدء منذ عام 2004
بدراسة التسلسل النيوكليوتيدي للبندورة كجينوم مرجعي للباذنجانيات (Mueller, et
al., 2005).

إن تطور النوع واختلاف تنوعه الوراثي يتم من خلال الانتخاب الطبيعي وحدث
الانجراف الوراثي وتأثير الحشرات والأمراض والذي يؤثر على اختلاف المكون
الوراثي بوجود الطفرات، ويزيد فرص بقاء النوع على قيد الحياة. إن الطريقة التقليدية
لمعرفة التنوع الوراثي والقرابة الوراثية بين الأنواع وحتى ضمن الأصناف
يمكن أن تتم بالتوصيف المورفولوجي ولكن مع قدوم وتطور التقانات الحيوية الجزيئية

أصبح من الممكن تحديد التنوع الوراثي والقرابة الوراثية ومدى تطور النوع بدقة عالية لا تدعو للشك حيث أن هذه التقنيات الحيوية لا تتأثر بالبيئة (Sayed, et al., 2002, 2004).

لقد تم تطبيق التقنيات الحيوية وخاصة تقانات المؤشرات الجزيئية في دراسة التنوع الوراثي للباذنجان منذ ثلاثة عقود (Daunay, et al., 2001)، حيث بدأ بدراسة أنماط البروتينات المتغيرة جينياً Allozyme والنظائر الأنزيمية Isozyme بين الأفراد بهدف تحديد التنوع الوراثي، وتمت مقارنة النوع *Solanum melongena* والمعروف بشكل شائع بالباذنجان eggplant مع أشكاله البرية وأنسابه القريبة (Kaur, et al., 2004). لكن تلك التقانات لم تقدم الكثير لمحدودية عدد الأنماط البروتينية المتغيرة جينياً، كذلك فإن دراسة جينوم الكلوروبلاست ثم DNA البروتوبلاست cpDNA، لم تكن مثجعة، حيث وجد أن التنوع المورفولوجي ليس مرتبطاً بتنوع cpDNA بشكل تام (Sakata, et al., 1994).

ومع ظهور تقانات المؤشرات الجزيئية DNA molecular Markers التي تتميز عن المؤشرات المورفولوجية في كونها لا تتأثر بالتغيرات البيئية وبسرعتها وبكمية البيانات الحيوية التي تنتج عنها. وبذلك يمكن الاعتماد عليها في مثل هذه الدراسات في أي مرحلة من مراحل النمو. لقد درس الباذنجان باستخدام تقنية ال RFLP وتم إنشاء خريطة الارتباط الوراثية له وتحديد بعض مواقع للمورثات الهامة مثل شكل الثمرة ولونها (Isshiki, et al., 2003). وقام (Singh, et al., 2006) باستخدام تقنية RAPD لدراسة خمسة أصناف من الباذنجان لتحديد تنوعها في الهند، حيث تبين أن التنوع الوراثي كان مرتفعاً بين هذه الأصناف. وكذلك تم باستخدام تقنية AFLP تحديد التنوع الوراثي في الباذنجان، حيث وجد أن هذه التقنية ملائمة لمثل هذه الدراسات، إذ أنها تكشف عن عدد كبير من الأليلات (Furini and Wunder, 2004) كما أثبت أن هذه التقنية ذات فعالية عالية مقارنة مع كل التقنيات المستخدمة قبل ذلك مثل Isozyme, cpDNA, RAPD, RFLP. وتكمن أهمية AFLP في

قدرتها على إنباع الخرائط الوراثية، مما يساعد في تحديد مواقع المورثات، وإيجاد مؤشرات مساعدة لانتخاب الصفات المهمة زراعياً (Sayed, et al., 2002, 2004). كما درس الباذنجان باستخدام تقنية المايكروساتيللات Microsatellites أو ما يسمى التتابع البسيطة الترادفية Simple Sequence Repeats (SSR) حيث استخدمت أيضاً في إنشاء وتطوير خريطة الارتباط الوراثية بمشاركة التقنيات RAPD and AFLP (Sayed et al., 2004). وقد قام (Yeliz, 2007) بدراسة التنوع الوراثي بين الباذنجان التركي وأقاربه البرية لـ 20 صنفاً بواسطة تقنية الـ SSR و AFLP وأظهرت الدراسة تنوعاً وراثياً عالياً بين تلك الأصناف.

أهمية البحث وأهدافه:

بالرغم من وجود عدة أصناف باذنجان محلية في سورية ترتبط بمناطق زراعتها، والتي تشكل تنوعاً ومديراً وراثياً متأقلاً مع الظروف السورية الجافة ونصف الجافة من جهة، ولكونها تتميز بمواصفات مهمة من حيث الشكل والحجم والطعم واللون من جهة أخرى. مع كل هذا فإنها لم تدرس وراثياً باستخدام التقنيات الحديثة في تحديد التنوع الوراثي وتحديد القرابة الوراثية بينها بل تمت دراستها فقط من الناحية الشكلية فقط. وبذلك فقد هدف البحث إلى دراسة التالي:

- تحديد التنوع والقرابة الوراثية لبعض أهم الأصناف المحلية المنتشرة زراعتها في سورية، والتي يمكن بعد دراستها الوراثية وتحديد قرابتها أن تستخدم في العملية التربوية بشكل موجه بمساعدة تقنية المؤشرات الجزيئية.
- دراسة مدى فعالية تقنية AFLP في تحديد التنوع الوراثي بين أصناف الباذنجان المدروسة.

مواد وطرائق البحث:

I. المادة النباتية:

تم الحصول على بذور الأصناف الخمسة المستخدمة في الدراسة بعد 6 أجيال من التلقيح الذاتي وبعد وصولها إلى النقاوة الوراثية. زرعت البذور على ورق الترشيح في

صواني الإنبات، ووضعت في الحاضنة على درجة الحرارة $25 \pm 2^\circ \text{C}$ ، مع توفير الرطوبة اللازمة، وبذلك فقد استخدم في البحث 5 أصناف محلية نقية من الجيل السابع (غازي، 2004) وهي موضحة في الجدول رقم (1):

جدول (1). يبين توصيف أصناف الباذنجان المحلية المدروسة

الصفة	عنقودي	أسود بلدي	تادفي	حمصي	أبو قمح
طبيعة النمو	نصف قائم	قائم	قائم	نصف قائم	قائم
ارتفاع النبات	82-72 سم	95-85 سم	95-90 سم	70-60 سم	120-100 سم
متوسط عدد الفروع	9	9-8	14-12	11-10	10
طول الثمرة \ سم	12-12.5	11.5-12	12.5-13	9-10.5	14.5-15.5
وزن الثمرة \ غرام	98-100	90-95	115-119	120-128	140-150
قطر الثمرة \ سم	3-3.7	3-3.3	3-3.6	3.8-4.5	3.5-4.4
لون الأزهار	بنفسجي	بنفسجي	أبيض	بنفسجي	بنفسجي
فترة الإثمار \ يوم	85-83	87-82	87-83	83-80	83-80
لون الثمرة	بنفسجي غامق	أسود لامع	بنفسجي غامق	بنفسجي لامع	بنفسجي فاتح
	لامع سطحها	سطحها أملس	باهتة	موشح	لامع سطحها
	أملس أجاسية	أجاسية غير متطاولة	استوائية	بالأبيض	أملس الكاس
			عريضة مع وجود أشواك على الكاس	سطحها أملس الكاس عديم الأشواك	عديم الأشواك

II. استخلاص المادة الوراثية: استخلصت المادة الوراثية DNA المشيحية

genomic DNA من كمية 0.3 – 0.4 غرام من الأوراق النباتية المجففة من بادرات بعمر 3 – 4 أسابيع وفق (Saghai-Marooof, et al., 1984) مع بعض التعديلات (Sayed, et al., 2002, 2004).

III. تقنية AFLP : استخدمت تقنية الـ AFLP وفق (Zabeau and Vos,

1993) مع بعض التعديلات. ويبين الجدول رقم (2) أسماء المؤلفات والبيانات الموجهة المستخدمة .

IV. التحليل الإحصائي :

1. التباين الشكلي للمؤشرات الجزيئية Marker polymorphism :

لقياس مدى أهمية المعلومات التي تقدمها المؤشرات الجزيئية المستخدمة في التجربة، فقد تم قياس هذه القيمة بالاعتماد على حساب قيمة الـ (PIC)

Polymorphism Information Content حيث حسب لكل مؤشر جزيئي تبعاً

للمعادلة التالية:

$$PIC = 1 - \sum_{i=1}^n f_i^2$$

حيث أن f_i هو تكرار الأليل i في الطرز الوراثية أو الأصناف المدروسة، n مجموع الشداف الدناوية DNA الناتجة. تساعد هذه القيم في تحديد مدى قوة التمييز للموقع الجزيئي اعتماداً على عدد الأليلات في كل موقع ومدى قيمة التكرار النسبي للأليلات في المجموعة المدروسة. تتراوح قيمة الـ PIC ما بين 0-1، فإذا كانت قيمة $PIC < 0.5$ فيعتبر المؤشر الجزيئي مفيداً جداً، وإذا كانت قيمة الـ $0.25 < PIC < 0.50$ فهو مقبول، وإذا كانت قيمة الـ $PIC > 0.25$ فهو قليل الفائدة. تماثل قيمة الـ PIC قيمة التنوع الوراثي genetic diversity index .

2. تقدير قيمة التنوع الوراثي (Gene diversity (GD أو ما يسمى بخلاف

الواقع المتوقع Expected Heterozygosity (H_E): حيث حسب لكل

مؤشر جزيئي تبعاً للمعادلة التي وضعت من قبل (Nei and Li, 1979, Nei, 1987)

$$H_E = 1 - \sum p_i^2$$

حيث أن P هو تكرار الأليل i في الطرز الوراثية أو الأصناف المدروسة وتتراوح قيمة الـ H_E ما بين 0-1، 0 (عدم وجود تخالف لواقع)، 1 (وجود تخالف لواقع أي وجود عدد كبير من الأليلات المتكررة).

الجدول (2) يبين التسلسل الأوتوتي للمؤلفات adaptors والبادئات الموجهة directed primers المستخدمة في ما قبل التضخيم pre-amplification والبادئات المستخدمة في التضخيم النهائي مع تسلسلها الأوتوتي.

Primer		Sequence
EcoRI	Forward adapter	5' CTCgTAgACTgCgTACC
EcoRI	Reverse adapter	5' AATTggTACgCAgTC
MseI	Forward adapter	5' GACgATgAgTCCTgAg
MseI	Reverse adapter	5' TACTCaggACTCAT
E01	Preamplification	5'gACTgCgTACCAATTCA
M02	Preamplification	5'gATgAgTCCTgAgTAAC
e35	Main amplification	5'gACTgCgTACCAATTCAACA
e42	Main amplification	5'gACTgCgTACCAATTCAgT
m47	Main amplification	5'gATgAgTCCTgAgTAACAA
m48	Main amplification	5'gATgAgTCCTgAgTAACAC
m50	Main amplification	5'gATgAgTCCTgAgTAACAT
m54	Main amplification	5'gATgAgTCCTgAgTAACCT
m55	Main amplification	5'gATgAgTCCTgAgTAACgA
m58	Main amplification	5'gATgAgTCCTgAgTAACgT
m59	Main amplification	5'gATgAgTCCTgAgTAACTA
m60	Main amplification	5'gATgAgTCCTgAgTAACTC
m61	Main amplification	5'gATgAgTCCTgAgTAACTg
m62	Main amplification	5'gATgAgTCCTgAgTAACTT
m68	Main amplification	5'gATgAgTCCTgAgTAAgCC

3. تقدير التشابه الوراثي Estimates of Genetic Similarity

تم تمليط البيانات المتحصل عليها بتقنية AFLP في مصفوفة ثنائية على أساس وجود أو غياب شدة ال DNA وأعطى الرقم (1) لوجود الشدة و (0) لغيابها وذلك لكل طراز وراثي على حدة، وسجلت في مصفوفة بيانات ثنائية العدد. حسب قيمة التشابه الوراثي بين كل طرازين وراثيين i و j في كل موقع وراثي لكل مؤشر جزيئي محدد، وذلك تبعاً للمعادلة التالية حسب (Nei and Li, 1979, Nei, 1987)

$$GS_{ij} = 2 N_{ij} / (N_i + N_j)$$

حيث أن N_{ij} عدد الشد المشترك بين الطرازين الوراثيين i و j ، و N_i ، N_j مجموع الشد في الطرازين الوراثيين i و j على التوالي وذلك لكل المواقع الكروموزومية المدروسة بتقنية ال AFLP . وهكذا تعكس قيمة GS_{ij} نسبة الشد المشتركة بين صنفين أو طرازين وراثيين، وتتراوح قيمتها ما بين 0 (

حيث لا يوجد شذف مشتركة) و 1 (حيث أن الشذف متشابهة أو متماثلة بين الطرازين).

4. التحليل العنقودي Cluster Analyses :

تم قلب بيانات مصفوفات التشابه المتحصل عليها بتقنية AFLP إلى قياسات البعد الوراثي d باستخدام المعادلة التالية:

$$D=1-GS$$

حيث استخدمت للحصول على الشكل العنقودي dendrogram بطريقة المجموعات الزوجية غير المزنة (UPGMA)

Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Averages

تم إظهار المخطط العنقودي بواسطة برنامج TreeView X .

النتائج والمناقشة:

أظهرت نتائج غربلة الأصناف الخمسة من الباذنجان باستخدام مؤشرات جزيئية من AFLP وجود 251 أليلاً متبايناً باستخدام 22 زوجاً من البادئات التوافقية وبمعدل 11 عصابة دناوية متباينة polymorphism لكل توليفة، وتراوحت عدد الأليلات ما بين 4-21 أليلاً في كل زوج من البادئات التوافقية المستخدمة (جدول 3). إذ أنه تميزت توافقية البادئات EcoRI-ACA/MseI-CAC بالكشف عن أكبر عدد من الأليلات وصل إلى 21 أليل والتوافقية EcoRI-AGT/ MseI-CAT بالكشف عن أقل عدد من الأليلات وصل إلى 4 أليلات فقط.

تم ترميز النتائج على أساس وجود أو غياب عصابة ال DNA التي تدل على وجود الأليل أو غيابه. أظهرت النتائج أن قيمة متوسط تكرار الأليل الرئيسي لكل موقع مورثي كانت 0.74 ، وتراوح المدى من 0.6-0.8 لكل المؤشرات الجزيئية المدروسة. كما كان متوسط البعد الوراثي لكل المؤشرات الجزيئية المدروسة 0.37، وتراوح المدى ما بين 0.25-0.48 . أما قيمة ال PIC فكان متوسطها 0.30 وتراوح مداها ما بين 0.25-0.36 أي أنها مقبولة (Nei and Li, 1979, Nei, 1987).

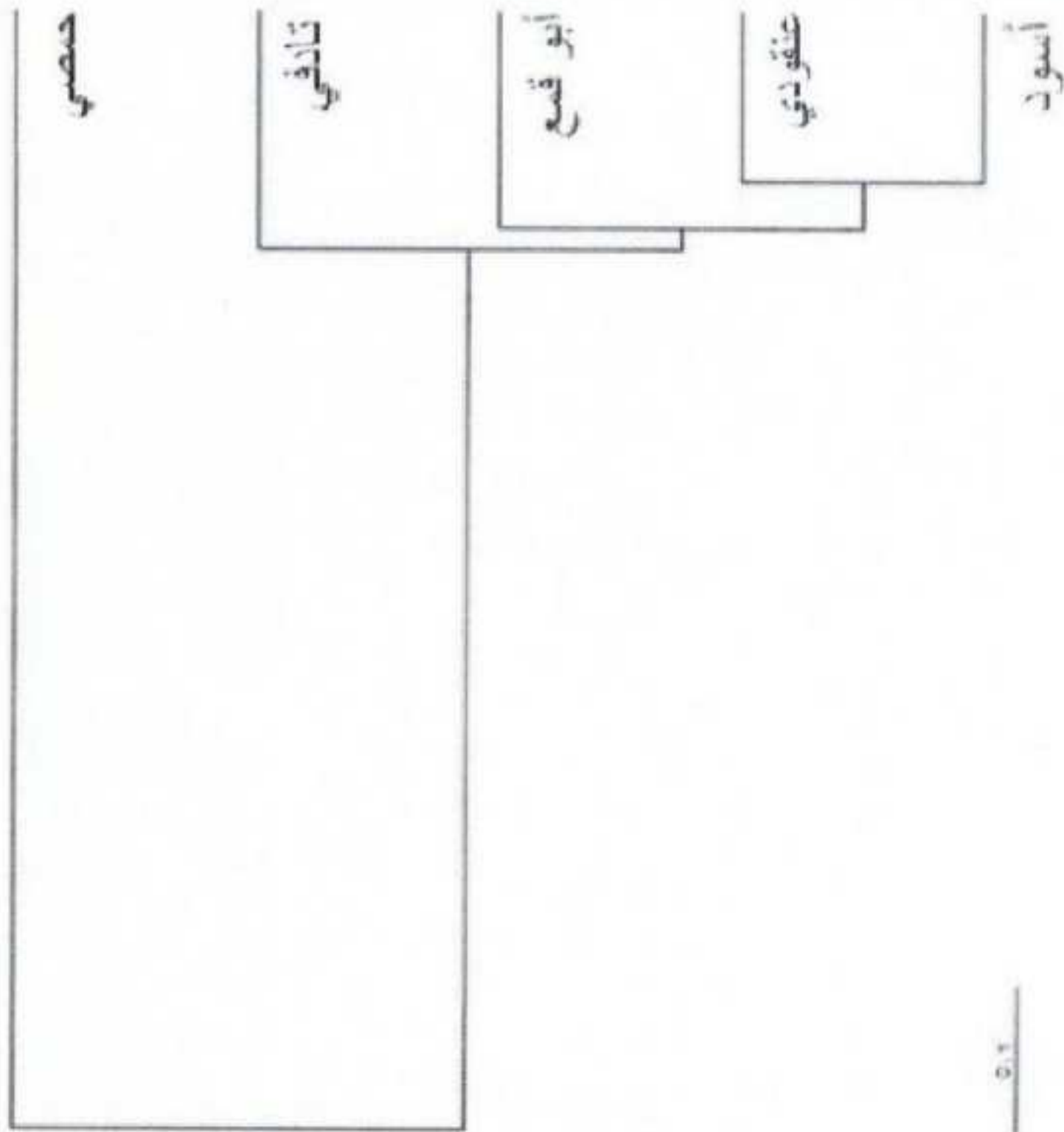
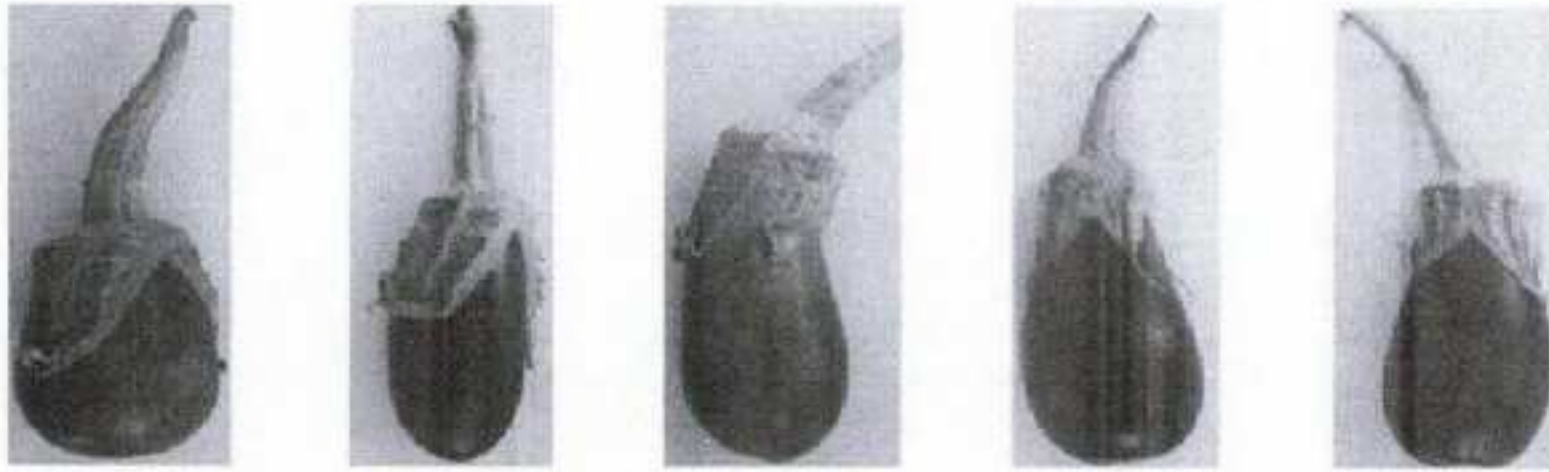
كما أظهرت النتائج في الشكل رقم (1) درجة التشابه بين الأصناف الوراثية الخمسة للبادنجان السوري، حيث وجد أن الصنف الوراثي الحمصي هو الأقل تشابه بالنسبة للأصناف الوراثية الأربعة الباقية، كما أظهر الصنفان المحليان النادفي وأبو قمع درجة عالية من التشابه، في حين تشابه الصنفان العنقودي والأسود كثيراً فيما بينهما.

جدول (3). يبين توليفات البادئات المستخدمة مع نهايات تسلسلها النيوكليوتيدي، عدد وحجم الشد (العصابات الدناوية) التي عكست تبايناً لكل توليفة من البادئات.

توليفة البادئات	عدد الشد المتباينة	حجم الأليلات (زوج نيكلوتيدي)
<i>EcoRI</i> -ACA/ <i>MseI</i> -CAC	21	335,330,278,275,230,295,293,185,181,170,139,133,114,111,108,99,94,92,88,83,81
<i>EcoRI</i> -ACA/ <i>MseI</i> -CTC	20	400,365,335,325,300,290,286,263,211,207,185,165,160,148,133,124,122,120,116,95
<i>EcoRI</i> -ACA/ <i>MseI</i> -CTG	19	310,278,222,209,206,199,165,162,160,146,143,129,127,120,116,102,99,91,88
<i>EcoRI</i> -ACA/ <i>MseI</i> -GCC	18	600,340,330,300,286,275,265,210,200,190,179,170,160,155,148,142,139,103,
<i>EcoRI</i> -ACA/ <i>MseI</i> -CTA	17	350,334,318,254,238,216,213,189,184,179,154,146,132,112,105,99,92
<i>EcoRI</i> -AGT/ <i>MseI</i> -CCT	15	396, 373,350, 318, 307, 294, 262, 230,224,222,201,197,162,133,126,
<i>EcoRI</i> -ACA/ <i>MseI</i> -CCT	15	350,270,222,220,211,108,200,189,185,170,160,150,147,130,95
<i>EcoRI</i> -AGT/ <i>MseI</i> -CAA	13	320, 318, 315, 308, 254, 209, 200, 194, 192, 173, 146, 126, 100
<i>EcoRI</i> -ACA/ <i>MseI</i> -CAA	13	310,230,200,193,184,179,161,157,154,142,118,100,92
<i>EcoRI</i> -ACA/ <i>MseI</i> -CGT	12	334,318,286,235,211,197,185,130,123,106,100,85
<i>EcoRI</i> -ACA/ <i>MseI</i> -CAT	11	235, 210, 205,184,172,169,155,153,134,116,101
<i>EcoRI</i> -AGT/ <i>MseI</i> -CGT	9	218, 172, 158, 154, 138, 133, 115, 105, 90
<i>EcoRI</i> -ACA/ <i>MseI</i> -CTT	9	246, 235, 211, 198, 179, 158, 149, 123, 89
<i>EcoRI</i> -AGT/ <i>MseI</i> -CGT	9	320,280, 175,172, 170, 168,148,142,130
<i>EcoRI</i> -ACA/ <i>MseI</i> -CGA	8	244,222,216,184,173,156,125,95
<i>EcoRI</i> -AGT/ <i>MseI</i> -CTT	7	320, 286,270, 188, 179, 172, 148,
<i>EcoRI</i> -AGT/ <i>MseI</i> -CGA	7	270, 230, 176, 174, 146, 143, 123
<i>EcoRI</i> -AGT/ <i>MseI</i> -CAC	7	238,206,136,109,94,80,75
<i>EcoRI</i> -AGT/ <i>MseI</i> -AGC	6	361, 302, 270, 240, 157, 142
<i>EcoRI</i> -AGT/ <i>MseI</i> -CTG	6	202, 195, 185,173, 145, 137
<i>EcoRI</i> -AGT/ <i>MseI</i> -CTA	5	190,155,144,139,120,
<i>EcoRI</i> -AGT/ <i>MseI</i> -CAT	4	215,206,168,120
Total	251	251
Mean	11.4	

كما أظهرت النتائج أن الأصناف الأربعة العنقودي والأسود والتادفي وأبو قمع متشابهة فيما بينها أكثر من درجة تشابه كل منها مع الصنف الحمصي الذي انفرد في أليلاته الوراثية بشكل منفصل ومتباين عن الأصناف المحلية الأخرى المدروسة (الشكل 1).

ولإظهار التنوع الوراثي بين الأصناف الخمسة المدروسة من الباذنجان السوري، فقد تم استخدام تقنية AFLP والتي أكدت في هذا البحث أنها أداة جزيئية فعالة للكشف عن التنوع الوراثي في عائلة الباذنجانيات كما أنها كانت كذلك في الأنواع النباتية الأخرى (Sayed, et al., 2002, 2004; Furini and Wunder, 2004). وكما هو معروف أن التنوع الوراثي المحتمل بين الأصناف منخفضاً ولكن بالعكس فإنه عند تطبيق هذه التقنية AFLP تم الكشف عن التنوع والتباين بين أصناف الباذنجان المحلية المدروسة.



الشكل (1). يبين المخطط العنقودي لبيان التشابهات dendrogram ، مقدار التشابه بين الطرز الوراثية الخمسة للباذنجان السوري. حيث يظهر أن الصنف الوراثي الحمصي هو الأقل تشابه بالنسبة للأصناف الوراثية الأربعة الباقية ، كما أن الصنفان المحليان التادفي وأبو قمع يظهران درجة عالية من التشابه، في حين أن الصنفان العنقودي والأسود يتشابهان كثيراً فيما بينهما.

كما أظهرت النتائج عند حساب المسافة الوراثية المعتمدة على التكرار لأليلات كل صنف من الأصناف المدروسة أن القرابة الوراثية بينهما قد حافظت على الترتيب المذكور في التحليل العنقودي (جدول 4)

جدول (4)، يبين المسافة الوراثية المعتمدة على التكرارات للأصناف الخمسة من الباذنجان السوري، (كلما صغرت القيمة كلما دلت على قرب المسافة الوراثية بين الصنفين).

الصنف	عنقودي	أسود	تادفي	حمصي	أبو قمع
عنقودي	0.0000				
أسود	0.2271	0.0000			
تادفي	0.3105	0.3493	0.0000		
حمصي	1.5181	1.7413	1.4311	0.0000	
أبو قمع	0.2943	0.2890	0.2997	1.3511	0.0000

ووجد أن أقل مسافة وراثية بين صنفين كانت بين الأسود والعنقودي 0.23 ، ثم بين الصنفين الأسود وأبو قمع 0.29 ، وبين أبو قمع والتادفي 0.30 ، وبين العنقودي والتادفي 0.31 ، وبين الأسود والتادفي 0.35 ، و 1.43 بين الحمصي والتادفي و 1.52 بين الحمصي والعنقودي ، و 1.74 بين الحمصي والأسود، والتي تمثلت أبعد مسافة وراثية بين صنفين، أي أن القرابة الوراثية بين الأصناف الخمسة يمكن أن ترتب كالتالي: أسود-عنقودي-أبو قمع-تادفي-حمصي (الشكل 1 والجدول 4).
إن قيمة البعد الوراثي المذكورة بين طرازين وراثيين أو صنفين يساعد في تحديد الفجوة الوراثية للعلاقة الزمنية بين الصنفين في الطبيعة، وبالتالي تشير القيم الصغيرة للمسافة الوراثية إلى زيادة القرابة الوراثية، بينما تشير القيم الكبيرة إلى البعد الوراثي الذي قد يكون قد ساعد في فصل وعزل الأصناف عن بعضها بممارسة الضغوط الوراثية من الطفرات والانجراف الوراثي الذي يؤدي إلى اختلاف نسبة تكرارات الأليلات، وهذا يتوافق مع ما ذكره (Nei and Li, 1979, Nei, 1987).

إن دراسة وتحديد التنوع والقرابة الوراثية لأهم أصناف الباذنجان السوري باستخدام تقنية AFLP أظهرت التالي:

- درجة التشابه العالية بين الصنفين تادفي وأبو قمع.
- درجة التشابه العالية بين الصنفين عنقودي وأسود.
- الأصناف الأربعة المذكورة (تادفي، أبو قمع، عنقودي، أسود) متشابهة فيما بينها أكثر من درجة تشابه كل منها مع الصنف حمصي.
- تحديد تسلسل القرابة الوراثية للأصناف الخمسة كالتالي (أسود-عنقودي-أبو قمع-تادفي-حمصي).

يمثل هذا البحث خطوة أولى لدراسة القاعدة الوراثية للباذنجان في سورية باستخدام التقنيات الحيوية. هذه القاعدة الوراثية ستساعد مربي الباذنجان في إجراء تهجينات معتمدة على البعد الوراثي والهدف المطلوب للعملية التربوية، كما سيوفر قاعدة بيانات وراثية للبحث عن مؤشرات جزيئية مساعدة لعملية الانتخاب ضد الأمراض الفطرية والحشرية والظروف البيئية الجافة وشبه الجافة في سورية.

المراجع العربية:

غازي حسان، 2004- دراسة أهم أصناف الباذنجان المحلية وتحسينها وراثياً، رسالة ماجستير، جامعة حلب، كلية الزراعة، 100 صفحة.

المراجع الأجنبية:

- CHOUDHURY, B., 1995- **Eggplant (Evolution in Crop Plants)**. Edited by Smartt, J., and Simmonds, N.W., pp.464-465.
- DAUNAY, M.C., LESTER, R.N., GEBHARDT, C.H., HENNART, J.W., JAHN, M.; FRARY, A.; DOGANLAR, S., 2001- **Genetic Resources of Eggplant (*Solanum melongena* L.) and Allied Species: A New Challenge for Molecular Geneticists and Eggplant Breeders (*Solanaceae* V edited by Van Den Berg, R.G., Barendse, G.W. and Mariani, Nijmegen University Press, Nijmegen, The Netherlands), pp. 251-274 .**
- DOGANLAR, S.; FRARY, A.; DAUNAY, C.; LESTER, N.; TANSKLEY, S., 2002- **A Comparative Genetic Linkage Map of Eggplant (*Solanum melongena*) and its Implication for Genome Evolution in the *Solanaceae*, *Genetics*, Vol.161, pp.1697-1711.**

- FRARY, A.; DOGANLAR, S.; DAUNAY, M.C., 2007- **Eggplant, Genome Mapping and Molecular Breeding in Plants**, Vol.5, pp.231-257.
- FURINI, A.; WUNDER, J., 2004- **Analysis of eggplant (*Solanum melongena*)-related germplasm: morphological and AFLP data contribute to phylogenetic interpretations and germplasm utilization**, *Theor Appl Genet*, Vol.108, pp.197- 208.
- ISSHIKI, S.; SUZUKI, S.; YAMASHITA, K., 2003- **RFLP analysis of mitochondrial DNA in eggplant and related *Solanum* species**, *Genetic Resources and Crop Evolution*, Vol.50, pp.133-137.
- KASHYAP, V.; KUMAR, S.V.; COLLONNIER, C.; FUSARI, F.; HAICOUR, R.; ROTINO, G.L.; SIHACHAKR, D.; RAJAM, M.V., 2003- **Biotechnology of eggplant**, *Scientia Horticulturae*, Vol.97, pp.1-25.
- KAUR, M.; SINGH, S.; KARIHALOO, J.L., 2004- **Diversity of Enzyme Electrophoretic Patterns in the Eggplant Complex**, *J. Plant Biochemistry & Biotechnology*, Vol.13, pp.69-72.
- LAWANDE, K.E.; CHAVAN, J.K., 1998- **Eggplant (*Brinjal*) (Handbook of Vegetable Science and Technology)**. edited by Salunkhe, D.K., Kadam, S.S.), pp.225-243
- MUELLER, L.A.; SOLOW, T.H.; TAYLOR, N.; SKWARECKI, B.; BUELS, R.; BINNS, J.; LIN, C.; WRIGHT, M.H.; AHRENS, R.; WANG, Y.; HERBST, E.V.; KEYDER, E.R.; MENDA, N.; ZAMIR, D.; TANKSLEY, S.D., 2005-**The SOL Genomics Network. A Comparative Resource for *Solanaceae* Biology and Beyond**, *Plant Physiology*, Vol.138, pp. 1310-1317.
- NEI, M.; LI, W.H., 1979- **Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonuclease**. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 79: 5269-5273
- NEI, M., 1987- **Molecular evolutionary genetics**. Columbia University press, NY.
- SAGHAI-MAROOF, M.A.; SOLIMAN, K.M.; JORGENSEN, R.A.; ALLARD, R.W., 1984- **Ribosomal DNA spacer length polymorphism in barley: Mendelian inheritance, chromosomal location and population dynamics**. *Proc Natl Acad Sci USA* 81:8014-8018.
- SAKATA, Y.; LESTER, R.N., 1994- **Chloroplast DNA diversity in eggplant (*Solanum melongena*) and its related species *S. incanum* and *S. marginatum***, *Euphytica*, Vol.80, pp.1-4.
- SAYED, H.; BACKES, G.; KAYYAL, H.; YAHYAOU, A.; CECCARELLI, S.; GRANDO, S.; JAHOO, A.; BAUM, M., 2004- **New molecular markers linked to qualitative and quantitative**

- powdery mildew and scald resistance genes in barley for dry areas, Euphytica, 135:225-228
- SAYED, H.; KAYYAL, H.; RAMSEY, L.; CECCARELLI, S.; BAUM, M., 2002- Segregation distortion in doubled haploid lines of barley (*Hordeum vulgare* L.) detected by simple sequence repeat (SSR). Euphytica, 225:265-272
- SINGH, A.K.; SINGH, M.; SINGH, A.K.; SINGH, R.; KUMAR, S.; KALLOO, G., 2006- Genetic Diversity within the genus *Solanum* (*Solanaceae*) as revealed by RAPD markers, Current Science, Vol.90, No.5, pp.711-716.
- WEIR, B.S., 1996- Genetic data analysis II, Sunderland, MA: Sinauer Associates, Inc.
- YELIZ, T., 2007- Determination of genetic diversity between Eggplant and its wild relatives. M.Sc. thesis. 76 pages.
- ZABEAU, M.; VOS, P., 1993- Selective restriction fragments amplification: a general method for DNA fingerprinting. European Patent Application number: 92402629.7, publication number 0 534 858 A1.

Genetic Characterization for local Syrian variates of eggplants (*Solanum melongena* L.) revealed by AFLP molecular markers

Haitham Sayed⁽¹⁾, Khaled Almohamad⁽²⁾

¹ Faculty of Technological Engineering, Biotechnology Department, P.O. Box 12233, Aleppo University, Aleppo, Syria.

² Faculty of Agriculture, Horticulture Department, Aleppo University, Aleppo, Syria.

Abstract

Eggplant (*Solanum melongena* L.) is considered to be a global important product. Significance, given the existence of several genotypes of eggplant in Syria, they are present versatile and genetic potential adaptable to the Syrian environments especially in the semi-dry areas. Therefore, the objective of this research is to determine the genetic diversity and relationship to some of the most widespread local varieties grown in Syria, so that to be studied later in order to identify the genetic relationship which can be used in breeding programs with help of DNA marker assisted selection.

Five varieties of eggplants (Black, Onkudi, Tadvī, Abu Koumeh, Homsī) has been riddled by AFLP technique. The results showed the presence of 251 polymorphic alleles revealed with 22 pairs of primers and compliance rate of about 11 different DNA bands for each combination of primers and the number of alleles range between 4-21 alleles in each pair of primers used.

The results showed the degree of similarity between the five eggplant varieties. It has been found that Homsī variety is the least similar to the genotypes of genetic remaining four, and they have shown that the two genotypes Tadvī and Abu Koumeh are of a high degree of similarity, while the two genotypes Black and Onkudi are often similar to each other. The results also showed that the degree of similarity among the four varieties Onkudi, Black, Abu Koumeh and Tadvī, is higher than the degree of similarity with Homsī, which is separately unique in its alleles more than the other four local varieties. The genetic relationship between the five variates can be arranged as follows: Black - Onkudi - Abu Koumeh - Tadvī - Homsī. This research represents the first step to study the genetic base of eggplant in Syria using biotechnology.

Key words: Eggplants, Genetic diversity, DNA molecular markers, AFLP

Received / /2010

Accepted / /2010