جمهورية العراق
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
جامعة ديالى – كلية الزراعة

التقييم الوراثي الجزيئي والكمي لخطوط نقية مدخلة من الطماطة الكرزية تحت ظروف الزراعة المحمية

Solanum lycopersicum var.cerasiforme

رسالة مقدمة الى مجلس كلية الزراعة في جامعة ديالى
وهي جزء من متطلبات نيل درجة الماجستير في العلوم الزراعية
(البستنة وهندسة الحدائق)

من قبل
أسماء نافع بدري الحربي

بأشراف
أ.د عثمان خالد علوان
أ.م.د نزار سليمان علي

1444 هـ
2023م

الملخص

أجريت الدراسة في احد البيوت البلاستيكية التابعة لمحطة أبحاث قسم البستنة وهندسة الحدائق التابع لكلية الزراعة جامعة ديالى، للموسم الزراعي 2021-2022 م، شملت الدراسة مرحلتين: الأولى دراسة وراثية جزيئية للمحتوى الوراثي لثمانية خطوط نقية من الطماطة الكرزية هي: (1) LA3002 (2) LA2838A (3) LA0797 (4) LA4355 (5) LA7371 (6) LA3534 (7) LA3535 (8) LA3530جُلبت من مركز المصادر الوراثية للطماطة في جامعة كاليفورنيا – ديفز بالولايات المتحدة الأمريكية CM Rick Tomato Genetics Center (TGRC), University of California in Davis, USA، باستخدام 15 بادئ (10 من نوع التتابعات الداخلية ISSR و5 منها من نوع التتابعات الترادفية البسيطة SSR) بهدف تثبيت البصمة الوراثية لها وعلى ضوء نتائجها تم تحديد درجة البعد الوراثي فيما بينها، والمرحلة الثانية تم ادخال الخطوط النقية للطماطة الكرزية في تجربة مقارنة فيما بينها باعتماد سلوك صفاتها الحقلية. وزرعت وفق تصميم القطاعات العشوائية الكاملة (RCBD) وبثلاثة مكررات وأظهرت النتائج مايأتي:

*** الدراسة الوراثية الجزيئية:**

1- اظهرت نتائج بادئات النوعين من المؤشرات (10 بادئات ISSR و 5 بادئات SSR) المستخدمة في هذه الدراسة، نواتج تضاعف حزم الـ DNA باستثناء بادئ واحد لم يظهرها على هلام الاكاروز من بادئات ISSR وهو UBC862 الذي مثل نسبة 6,66% من المجموع الكلي للبادئات المستخدمة في الدراسة.

2- وجد للبادئات الاربعة عشر تتابعات مكملة لها على DNA لخطوط الطماطة الكرزية النقية ومثلت نسبة 93,33% من المجموع للبادئات، وكان مجموع الحزم المنتجة من هذه البادئات (106) حزمة، وبمعدل (7.57) حزم تقريباً للبادئ الواحد، وتراوح عدد الحزم بين (3) حزمة للبادئان UBC-813 و009 و(13) حزم للبادئان N-35 و011، وأظهرت جميع البادئات الاربعة عشر حزم متباينة باستثناء البادئ A-35 وكان مجموع الحزم المتباينة في البادئات التي أظهرتها (64) حزمة ومثلت مانسبته (60,377%) من مجموع الحزم التي نتجت وبمعدل (5) حزمة تقريباً للبادئ.

3- أظهرت بعض البادئات المستخدمة حزم مميزة (ظاهرة او غائبة) لبعض الخطوط النقية كانت بمثابة بصمة وراثية لها مثل الحزمة ذات الحجم الجزيئي 600 و750 bp للخط النقي 6 و2 على التوالي في البادئ UBC-815 والحزم ذات الحجم الجزيئي 450 ،550 و2300bp للخط النقي 6,6 و 8على التوالي في البادئ UBC-480 والحزمة ذات الحجم الجزيئي 480bp للخط النقي 2 في البادئ UBC-842 و والحزمة ذات الحجم

الجزيئي bp900 للخط النقي 6 في البادئ N-35 والحزم ذات الحجم الجزيئي 75 ،125، 585 وbp750 للخط النقي 6,6 ، 2و2على التوالي في البادئ 006 والحزم ذات الحجم الجزيئي 187 ،490، 550 ، 590 وbp775 جميعها للخط النقي 7 في البادئ 011 والحزم ذات الحجم الجزيئي 218 ،250، 270 ، وbp525 للخط النقي 8,8,8 و3على التوالي في البادئ 301.

4- أظهرت النتائج ان اعلى تماثل وراثي بين الخطوط النقية بلغ (0.989) بين الخطين النقيين(4) (LA4355) و (5) (LA7371) . كما بلغ أقل تماثل وراثي بين الخطين(6) (LA3534) و(7) (LA3535) وبلغ (0.611)، وقد انقسمت الخطوط النقية إلى أربع مجاميع رئيسة : ضمت المجموعة الرئيسة الأولى الخط النقي (6) في حين ضمت المجموعة الرئيسة الثانية الخط النقي (2) وقد ضمت المجموعة الرئيسة الثالثة الخطان النقيان (7و8) فيما انقسمت المجموعة الرئيسة الرابعة إلى مجموعتين ثانويتين: ضمت الأولى الخطان النقيان (4و5) في حين ضمت الثانية الخطان النقيان (1و3).

*** تقييم الخطوط النقية وتقدير المعالم الوراثية:**

1- تشير نتائج تحليل التباين الى وجود اختلافات معنوية عالية بين الخطوط النقية الداخلة في الدراسة لجميع الصفات المدروسة بأستثناء صفتي الوزن الجاف للأوراق ونسبة المادة الجافة في الاوراق أذ لم تختلف الخطوط النقية فيما بينها معنويا في هاتين الصفتين، وهذا الاختلاف في الاداء الحقلي للخطوط يؤشر لتباين المحتوى الوراثي لها.

2- تفوق الخط النقي (LA3534) باحدى عشرة صفة: عدد الاوراق بالنبات، الوزن الرطب، الوزن الجاف، نسبة المادة الجافة في الاوراق، نسبة الاكلوروفيل الكلي، عدد العناقيد الزهرية، النسبة المؤية للعقد، معدل وزن الثمرة، حاصل النبات، الحاصل الكلي واللايكوبين اذ بلغت 113 ،9.866 ، 1.89 ، 19.096 ، 1.600 ،25.580 ، 92.260 ، 12.632 ، 3.468 ،4.330 و 6.063 على التوالي، اما الخط النقي (LA2838A) تفوق لتسعة صفات: الوزن الجاف، النسبة المئوية للمادة الجافة في الاوراق، نسبة الكلوروفيل، عدد الازهار في العنقود الزهري ، عدد الثمار في النبات، فيتامين C، اللايكوبين و البيتاكاروتين اذ بلغت 1.19 ، 18.497 ، 1.432، 44.333 ، 365.666 ، 0.326 ، 5.620 و 0.333 على التوالي، وتفوق الخط النقي (LA3530) في سبع صفات: قطر الساق، الوزن الرطب، الوزن الجاف، عدد العناقيد الزهرية، النسبة المؤية للعقد، فيتامين C واللايكوبين اذ بلغت 1.23 ، 9.820 ، 1.46 ، 24.560 ، 93.353 ، 0.357 و 5.44 على التوالي وكما اظهر الخط النقي (LA3002 وLA0797) متوسطات اداء جيدة لست صفات، وكان متوسط الاداء جيد في اربع صفات للخطوط النقية (LA4355 وLA7371 وLA3535).

3- ارتبطت صفة حاصل النبات ارتباطا معنويا وموجبا مع صفات: طول الساق، عدد الاوراق بالنبات، الوزن الرطب، نسبة الكلوروفيل الكلي، عدد العناقيد الزهرية، معدل وزن الثمرة، الحاصل الكلي واللايكوبين وارتباطا معنويا سالبا مع صفة درجة الصلابة للثمار.

4- وجد ان التباين الوراثي كان معنويا عن الصفر للصفات جميعها ما عدا صفة الوزن الجاف للأوراق كما لوحظ ان قيمة التباين البيئي كانت معنوية عن الصفر للصفات المدروسة جميعها، كما اظهر ان التباين الوراثي كان اعلى من التباين البيئي للصفات المدروسة جميعها باستثناء صفة الوزن الجاف حيث كانت قيمة التباين البيئي اكبر من التباين الوراثي. كما وجد ان التباين المظهري كان معنويا عن الصفر لجميع الصفات المدروسة.

5- كانت قيم التوريث بالمعنى الواسع متراوحة بين 7.385 % لصفة نسبة المادة الجافة في الاوراق و 99.873% لصفة عدد الثمار بالنبات، ولوحظ انها كانت عالية لجميع الصفات المدروسة باستثناء صفة اللايكوبين أذ كانت متوسطة وبلغت 51.844% و صفتي الوزن الجاف و نسبة المادة الجافة في الاوراق أذ كانت واطئة وبلغت 29.584% و7.385% على التوالي.

6- لوحظ ان التحسين الوراثي المتوقع كنسبة مئوية من متوسط الصفة قد تراوح بين 3.487 % لصفة نسبة المادة الجافة في الاوراق و118.7 % لصفة عدد الازهار في النوره الزهرية، حيث كانت قيمه عالية لجميع الصفات المدروسة باستثناء صفة المساحة الورقية، عدد العناقيد الزهرية واللايكوبين كانت فيها موسطة وكانت واطئة لصفتي قطر الساق ونسبة المادة الجافة في الأوراق.

7- اظهرت نتائج التماثل الوراثي بالاعتماد على نتائج الصفات المظهرية أن أعلى تماثل وراثي بين الخطوط النقية بلغ (0.833) بين الخطين النقيين(4) (LA4355)و (5)(LA7371) وبلغ أقل تماثل وراثي بين الخطين (6)(LA3534)و(2) (LA2838A) وبلغ (0.472)، وقد انقسمت الخطوط النقية إلى خمس مجاميع رئيسة : ضمت المجموعة الرئيسة الأولى الخط النقي (2)(LA2838A) في حين ضمت المجموعة الرئيسة الثانية الخط النقي (6) (LA3534)وقد ضمت المجموعة الرئيسة الثالثة الخط (8) (LA3530) بينما ضمت المجموعة الرئيسة الرابعة الخط النقي (7)(LA3535) فيما انقسمت المجموعة الرئيسة الخامسة إلى مجموعتان ثانويتان: ضمت الأولى الخطان النقيان(1) (LA3002)و(3) (LA0797)في حين ضمت الثانية الخطين النقيين (4) (LA3455)و(5) (LA7371).

8- ومن خلال المقارنة بين شجرة العلاقة الوراثية بين الخطوط النقية باعتماد المؤشرات الوراثية وشجرة العلاقة الوراثية باعتماد الصفات المظهرية (نمو وحاصل) الطماطة الكرزية المدروسة نجد بشكل عام توافق عالي بين نتائج الطريقتين لايجاد شجرة العلاقة الوراثية اذ سلكت معظم الخطوط النقية نفس السلوك في تماثلها وبعدها عن الخطوط النقية الاخرى وهذا التماثل تماشى مع النتائج التي حققتها الخطوط النقية في الصفات المدروسة

الفصل الأول

1. المقدمة Introduction

تنتمي الطماطة الكرزية (*Solanum lycopersicum* var cerasiforme.) إلى العائلة الباذنجانية Solanaceae، وهي أحد محاصيل الخضر المهمة في جميع أنحاء العالم بسبب قيمتها الغذائية والتجارية وقابليتها على التكيف في بيئات زراعية مختلفة ودورة حياتها القصيرة نسبيًا وإنتاجيتها الجيدة وطريقة تكاثرها اللاجنسي عن طريق العقل وإمكانية تجديد نبات كامل(Mantur وأخرون، 2014)، وهي من أكثر أصناف الطماطة شيوعاً وتتصف بالوانها واشكالها المتعددة وملمسها الصلب و حجمها الصغير (Madureiraوأخرون،2019). وتعتبر الطماطة الكرزية مصدراً مهماً لمضادات الأكسدة لأحتوائها على الكاروتينات وحامض الاسكوربيك والفينولات والتي هي من مضادات الأكسدة الرئيسية (Lone وأخرون،2020) و تحتوي على بروتين و دهون و سكريات والأحماض الدهنية الأحادية غير المشبعة والمتعددة غير المشبعة ، مثل الأوليك وأحماض اللينوليك (Fernandes وأخرون،2021) .

ان وجود تنوع جيني عالي يمثل العامل الأساسي في أي برنامج تربية لتحقيق الأهداف لذلك يجب جمع الأصول الوراثية وتقييمها والتنوع الجيني في النباتات أمر بالغ الأهمية إذ يعتبر الخطوة الأولى في تحديد الموارد الوراثية والحفاظ عليها (Nikrouz-Gharamaleki ، 2019).

تعتمد طرائق أختبار التنوع الجيني وايجاد البصمة الوراثية وتحديد البعد الوراثي على أهداف الأختبار والمؤشرات المستخدمة في طريقة ايجادها ومنها اعتماد المؤشرات الوراثية (مؤشرات الـ DNA) و اعتماد المؤشرات المظهرية (الصفات الحقلية)، واساس عمل المؤشرات الوراثية يعتمد على الحامض النووي DNA وهي الطريقة المثلى لتقدير تنوع الجيني كونها لا تتأثر بالبيئة وتستخدم تقنيات متعدده في هذا المجال منها التكرار التسلسل البسيط ISSR –PCR أذ تستخدم على نطاق واسع في دراسات التنوع الجيني وايجاد البصمة الوراثية وهي تقنية دقيقة بشكل كافي لأكتشاف المستويات المنخفضة من التنوع الجيني (Stavridou وآخرون ، 2020) ، كما تعتمدعلى أساس تفاعل البلمرة المتسلسل (PCR) ولها خصائص عدة مثل التباين العالي وفائدتها في الدراسات حول التنوع الجيني والتطور ورسم خرائط الجينوم وعلم الأحياء التطوري (Reddy وآخرون ،2002)، كما هناك تقنية اخرى هي الـ SSR تستخدم في تقدير التنوع الجيني وايجاد البصمة الوراثية والبعد الوراثي وتعد ايضا من التقانات المهمة التي تعتمد على تفاعل البلمرة المتسلسل PCR، وهي عبارة عن وحدات من شريط الدنا بها نيوكليوتيدات قصيرة جداً تُسمى وحدات متكررة تتألف من عدد من أزواج النيوكليوتيدات يتراوح بين (1-6) هذه الوحدات المتكررة تتواجد بكثرة في

مجينات حقيقيات النوى وتتوزع على الصبيغات جميعها سواء في المناطق المشفرة أو غير المشفرة. وإن التوابع الترادفية البسيطة هي عبارة عن تسلسلات متكررة تتكون من توليفات مختلفة من الأدنين (A) والسايتوسين (C) والجوانين (G) والثايمين (T) وتوليفات ثنائية أو ثلاثية أو رباعية أو خماسية أو سداسية تتوالى مراراً وتكراراً من طرفها (Heras وآخرون، 2016).

اما تقدير التنوع الوراثي باعتماد الصفات المظهرية والفسلجية ومنها صفات النمو والحاصل فيعد من أول الطرائق واكثرها شيوعا والتي يستخدمها مربي النبات للحصول على معلومات رقمية عن قيم الصفات المدروسة حقليا ومن خلالها يتم المقارنة بين التراكيب الوراثية والحكم على مدى تنوعها الوراثي في الحقل والذي يتأثر بالعامل البيئي اضافة الى محتواها الوراثي والتداخل بين البيئة والوراثة وهذا التداخل يجعل من الحكم على التنوع الوراثي فيه نوع من عدم الدقة كونها لا تعبر عن الاختلافات الوراثية بحد ذاتها وانما بتداخلها مع البيئة (الزهيري، 2014).

ولاهمية ايجاد التنوع الجيني وايجاد البصمة الوراثية وتقدير درجة البعد الوراثي بين التراكيب الوراثية المختلفة بالطرائق الجزيئية والحقلية للعاملين في مجال وراثة وتربية النبات لما له دور في وضع الاستراتيجية الصحيحة في برامج التربية الحاليه والمستقبلية في تربية المحاصيل المستهدفة تبلورت فكرة هذه الدراسة والتي تهدف الى:

1- دراسة التنوع الجيني وايجاد البصمة الوراثية وتحديد البعد الوراثي لعدد من الخطوط النقية للطماطة الكرزية بهدف استخدام المتباعدة منها في دراسات وراثية اخرى لانتاج هجن .
2- تقييم ثمان خطوط نقية مدخلة من خلال دراسة ادائها الحقلي المتمثل بصفات النمو والحاصل لإدخال المتميزة منها في برامج التربية اللاحقة.
3- دراسة بعض المعالم الوراثية والتعرف على التأثير الوراثي والبيئي المسيطر على اداء هذه الخطوط النقية.
4- المقارنة بين طريقة ايجاد العلاقة الوراثية بين الخطوط النقية عن طريق مؤشرات الـ DNA وطريقة ايجادها عن طريق المؤشرات المظهرية.