دراسة التباين الوراثي ما بين بعض أصناف البطاطا باستخدم تقنية الـ ISSR

رمزي مرشد*

الملخص

تمّت دراسة التباين الوراثي بين عشرة أصناف من البطاطا المستوردة والمزروعة في سورية، بهدف الاستفادة منها في تطوير برامج تربية فعّالة للبطاطا. استخدام 16 بادئاً ISSR، حيث أعطت جميع البادئات المستخدمة نتائج تضخيم لقطع الـ DNA في الأصناف المدروسة كافة، وبلغ عدد الحزم الكلية الناتجة عن جميع البادئات المستخدمة 432 حزمة، بمتوسط 27 حزمة لكل بادئ. وكانت جميع الحزم الناتجة عن معظم البادئات المستخدمة متباينة، حيث بلغ مجموع الحزم المتباينة 426 حزمة بمتوسط 26.63 حزمة لكل بادئ، بينما كان مجموع الحزم المتشابهة 6 حزم فقط. وبلغ متوسط النسبة المئوية للتعددية الشكلية للبادئات المستخدمة 97.95%، أعطت 12 بادئ نسبة تعددية شكلية 100%. كان الصنفان Tebina وAmarin هما الأقرب وراثياً، بينما كان الصنفان Tebina وSpunta الأبعد وراثياً. وأدّى التحليل العنقودي اعتماداً على معطيات الـ ISSR إلى تقسيم الأصناف المدروسة إلى ثلاث مجموعات مختلفة: ضمّت المجموعة الأولى أربعة أصناف هي Electra، Amarin، Tebina وLoane، وضمّت المجموعة الثانية الصنف Safari فقط، أما المجموعة الثالثة فضمّت خمسة أصناف هي Ambition، Spunta، Diamante، Triplo وSifra. تُشير هذه النتائج إلى فعالية تقنية الـ ISSR في تحديد درجة التباين الوراثي بين طرز البطاطا المختلفة، كما تُشير درجة التباين الوراثي المرتفعة بين الأصناف المدروسة إلى إمكانية استعمال هذه الأصناف في برامج التحسين الوراثي للبطاطا

الكلمات المفتاحية: البطاطا (*Solanum tuberosum*)، التباين الوراثي، ISSR.

---

*أستاذ مساعد في قسم علوم البستنة– كلية الزراعة – جامعة دمشق.

Genetic diversity of some potato varieties using ISSR technic

Ramzi Murshed*

Abstract

The genetic diversity between ten potato varieties imported and cultivated in Syria was studied for using these varieties in the development of effective breeding programs of potato. 16 ISSR primers were used, all the used primers led to the amplification of DNA fragments for all the studied varieties, the total number of bands resulting by all the used primers was 432 bands, with an average of 27 bands per primer. All the bands resulting from most primers were polymorphic, the total number of polymorphic bands was 426 with an average of 26.63 bands per primer, while the total number of monomorphic bands was 6 bands only. The average of polymorphism percentages for the used primers was 97.95 %, and it was 100 % for 12 primers. The most genetically closer varieties were Tebina and Amarin, while the most distant varieties were Tebina and Spunta. The cluster analysis divided the studied varieties into three groups. The first group included four varieties: Electra, Amarin, Tebina and Loane; the second group included Safari only, and the third group included five varieties: Ambition, Spunta, Diamante, Triplo and Sifra. These results indicate that the ISSR is an effective tool to determine the genetic diversity between the different potato genotypes, and the high genetic diversity between the studied varieties indicate also the possibility of use of these varieties in the potato genetic improvement programs.

Key words: Potato (Solanum tuberosum), Genetic diversity, ISSR.

* **Department of Horticulture Science, Faculty of Agriculture, University of Damascus, P.O. Box 30621**

المقدمة

تُعد البطاطا (*Solanum tuberosum*) من أهم المحاصيل المزروعة عالمياً، حيث تأتي في المرتبة الرابعة، بعد القمح والرز والذرة الصفراء، من حيث الإنتاج. كما تتميز البطاطا بأهميتها الغذائية الكبيرة، حيث تحتوي على نسبةٍ مرتفعةٍ من النشاء والبروتينات والفيتامينات والعناصر المعدنية ومضادات الأكسدة مثل الفينولات والكاروتينات والتيكوفيرول (Brown، 2005). بلغ الإنتاج من البطاطا في سورية 675 ألف طناً بمساحة مزروعة قدرها 30 ألف هكتاراً (FAOSTAT، 2014)، وقد ازداد الاستهلاك المحلي من البطاطا خلال السنوات الأخيرة وبالتالي ازداد الطلب عليها، ما أدّى إلى ارتفاع أسعارها. ويعتمد مزارعو البطاطا في سورية على البذار المستورد ما يؤدي إلى زيادة تكاليف الإنتاج بسبب ارتفاع أسعار البذار المستورد بالقطع الأجنبي وعدم ملائمة معظم الأصناف المستوردة للظروف البيئية المحلية، ما يؤدي إلى ضعف الإنتاجية، لذلك يعد تطوير أصناف من البطاطا الملائمة للظروف البيئية المحلية وذات الإنتاجية العالية والنوعية الجيدة أمراً مهماً جداً لتطوير زراعة البطاطا. وتُعد دراسة التباين الوراثي للأصناف الخطوة الأساسية في إدارة المصادر الوراثية لهذا النوع وتطوير برامج التربية لإنتاج أصناف وهجن جديدة منه (Jondle، 1992؛ Smith، 1998). من أهم الأمور الواجب مراعاتها عند القيام بدراسة التباين الوراثي هو اختيار التقنية الأنسب لاستعمالها، حيث يتوافر حالياً العديد من التقانات، وأكثرها استخداماً هي تقانات الواسم الجزيئي المعتمدة على تفاعل البوليميراز المتسلسل Polymerase Chain Reaction (PCR). وقد تمّ خلال العقود الأخيرة تطوير العديد من الواسمات الجزيئية المعتمدة على الـ PCR، التي يتميز كل منها بمزايا وعيوب مختلفة. وتُعد تقنية التكرارات التتابعية البسيطة البينية Inter Simple Sequence Repeat (ISSR) إحدى أهم تقانات الوسم الجزيئي، وقد تمّ توصيف هذه التقنية من قبل Zietkiewics وزملاؤه (1994) و Kantety وزملاؤه (1995). تستخدم تقنية الـ ISSR بادئات خاصة لمضاعفة مناطق التكرارات البسيطة،

الموجودة بكثرة ضمن الـ DNA، دون الحاجة لمعرفة مسبقة بالتسلسل النيكليوتيدي الكامل. ويمكن الكشف عن التباينات الشكلية بسهولة بواسطة تقنية الـ ISSR لأنّها تستهدف مناطق متباينة من الـ DNA، وهي أسرع وأقل كلفة من التقنيات الأخرى (Fisher وزملاؤه، 1996). ووفقاً لـ Hantula وزملاؤه (1996) و Charters وزملاؤه (1996)، فإنّ تقنية الـ ISSR أكثر دقة وثباتية من تقنية التباينات الشكلية المضاعفة عشوائياً Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) وتنتج عدداً أكبر من الحزم المتباينة شكلياً من كل بادئ. أثبتت تقنية الـ ISSR فعّاليتها في دراسة التباين الوراثي في العديد من الأنواع النباتية، ومن بينها أنواع الجنس Solanum (Aversano وزملاؤه، 2009). بالنسبة للبطاطا، فقد تمكن Provan وزملاؤه (1996) من التميز بين 12 صنفاً من البطاطا باستخدام تقنية الـ ISSR. وتوصل Prevost و Wilkinson (1999) إلى أنّ تقنية الـ ISSR هي تقنية سريعة وفعّالة في التوصيف الجزيئي لأصناف البطاطا، حيث وجدوا بأنّ استخدام 5 بادئات ISSR فقط كانت كافية للتمييز بين 35 صنفاً من البطاطا. كما قام McGregor وزملاؤه (2000) بمقارنة عدة تقنيات للوسم الجزيئي (RAPD، AFLP، SSR و ISSR) لدراسة البصمة الوراثية لأصناف البطاطا، وتُشير نتائجهم إلى أنّه يمكن استخدام أيٍ من هذه التقنيات لكن تفوقت تقنية الـ ISSR من حيث متوسط عدد الحزم المتباينة شكلياً لكل بادىء. تمّ كذلك استخدام تقنية الـ ISSR بنجاح في تقييم مستوى التباين الوراثي بين أصناف البطاطا المختلفة وضمنها (Bornet وزملاؤه، 2002؛ Gorji وزملاؤه، 2011؛ Mahfouz وزملاؤه، 2012).

ونظراً لأهمية البطاطا الأقتصادية والغذائية والدور المهم الذي يلعبه تحديد مدى التباين الوراثي في تطوير برامج تربية سريعة وفعّالة ودقيقة للبطاطا، فقد هدف هذا البحث إلى دراسة التباين الوراثي بين عشرة أصناف مختلفة من أصناف البطاطا المستوردة والمزروعة في سورية باستخدام تقنية الـ ISSR.

مواد البحث وطرائق

تمّت الدراسة في مخبر أبحاث الخضار في كلية الزراعة – جامعة دمشق وفي مخابر الهيئة العامة للتقانة الحيوية بدمشق، خلال الفترة 2015–2016.

المادة النباتية: استخدم في تنفيذ هذا البحث عشرة أصناف من أهم أصناف البطاطا (*Solanum tuberosum*) التجارية المستوردة والمزروعة في سورية (الجدول، 1)، التي تمّ الحصول على درناتها من الهيئة العامة للتقانة الحيوية في دمشق. زُرعت الدرنات ضمن أصصٍ بلاستيكية سعة 1 لتر تحوي على البيتموس المُعقّم، ثمّ وضعت الأصص في غرفة النمو على درجة حرارة 25 ± 2 م° وفترة ضوئية 8/16 ساعة (ضوء/ظلام)، ثم أخذت الأوراق الفتية الخالية من الإصابات الظاهرية والمأخوذة من نباتات بعمر 30 يوماً لاستخدامها في استخلاص الـ DNA.

الجدول (1): أصناف البطاطا المستخدمة ووصفها.

الصنف	الوصف
Electra	صنف مبكر النضج، ذو إنتاجية متوسطة، المجموع الخضري متوسط الحجم، الدرنات كبيرة بيضاوية، لون القشرة أصفر فاتح واللب أصفر، العيون سطحية وفترة السكون قصيرة إلى متوسطة
Amarin	صنف مبكر إلى متوسط التبكير بالنضج، ذو إنتاجية مرتفعة إلى مرتفعة جداً، المجموع الخضري متوسط الحجم، الدرنات كبيرة بيضاوية إلى بيضاوية مستديرة، لون القشرة أصفر واللب كريمي، العيون سطحية وفترة السكون طويلة
Tebina	صنف متوسط التبكير بالنضج، ذو إنتاجية متوسطة، المجموع الخضري متوسط الحجم، الدرنات كبيرة بيضاوية مستديرة، لون القشرة أصفر واللب أصفر فاتح، العيون متوسطة العمق وفترة السكون قصيرة إلى متوسطة
Loane	صنف متوسط التبكير بالنضج، ذو إنتاجية متوسطة، المجموع الخضري متوسط الحجم، الدرنات متوسطة الحجم بيضاوية، لون القشرة أصفر واللب أصفر فاتح، العيون سطحية وفترة السكون قصيرة إلى متوسطة
Safari	صنف متوسط التبكير إلى متأخر بالنضج، ذو إنتاجية مرتفعة جداً، المجموع الخضري متوسط الحجم، الدرنات كبيرة إلى كبيرة جداً بيضاوية إلى مستديرة، لون القشرة أصفر واللب أصفر شاحب، العيون سطحية وفترة السكون طويلة إلى طويلة جداً
Ambition	صنف مبكر النضج، ذو إنتاجية مرتفعة، المجموع الخضري متوسط الحجم، الدرنات كبيرة بيضاوية متطاولة، لون القشرة أصفر واللب أصفر فاتح، العيون سطحية وفترة السكون

	قصيرة جداً
Spunta	صنف مبكر إلى متوسط التبكير بالنضج، ذو إنتاجية مرتفعة، المجموع الخضري متوسط الحجم، الدرنات كبيرة جداً متطاولة الشكل، لون القشرة أصفر واللب أصفر شاحب، العيون سطحية جداً وفترة السكون متوسطة إلى طويلة
Diamante	صنف متوسط التبكير بالنضج، ذو إنتاجية متوسطة إلى جيدة، المجموع الخضري متوسط الحجم، الدرنات كبيرة بيضاوية، لون القشرة أصفر واللب أصفر شاحب، العيون عميقة وفترة السكون قصيرة إلى متوسطة
Triplo	صنف مبكر النضج، ذو إنتاجية متوسطة إلى مرتفعة، المجموع الخضري متوسط الحجم، الدرنات كبيرة بيضاوية، لون القشرة أصفر واللب أصفر فاتح، العيون سطحية وفترة السكون طويلة
Sifra	صنف متوسط التبكير بالنضج، ذو إنتاجية مرتفعة، المجموع الخضري متوسط الحجم، الدرنات كبيرة بيضاوية مستديرة، لون القشرة أصفر واللب أصفر شاحب، العيون سطحية وفترة السكون متوسطة إلى طويلة

التوصيف الجزيئي:

1.2. استخلاص الـ DNA:

تم استخلاص الـ DNA باستخدام طريقة الـ CTAB المعدلة (Murray وThompson، 1980) من 0.2 g من الأوراق الفتية. حيث أضيف لكل عينة 750 µl من محلول الاستخلاص والذي يحتوي على: 2 % (w:v) CTAB، 100 M TrisHCl، 1.4 ml NaCl، 20 mM EDTA (pH8)، 0.2 % (v/v) 2-mercaptoethanol. ثم وضعت في حمام مائي على درجة حرارة 60 م° لمدة 60 دقيقة، ثم أضيف 750 µl من chloroform/isoamylalchohol (24:1) لكل عينة وحركت جيداً بالتقليب، ثم ثفلت على سرعة 12000 دورة/الدقيقة لمدة 10 دقائق على درجة حرارة 4 م°. نقل بعد ذلك الطور المائي إلى أنابيب جديدة وأضيف إليه ما يعادل ثلثي حجمه من isopropanol المبرد على درجة حرارة −20 م° مع التحريك الخفيف، وتركت العينات بعدها على درجة حرارة −20 م° لمدة ساعة واحدة من أجل ترسيب الـ DNA، ثم ثفلت بسرعة 10000 دورة/الدقيقة لمدة 5 دقائق على درجة حرارة 4 م°، ثمّ تم التخلص من الرشاحة وغسل الراسب بإضافة 1 ml من

الإيثانول 70 %. ثفلت الأنابيب بعد ذلك بسرعة 10000 دورة/الدقيقة لمدة 5 دقائق على درجة حرارة 4 م°، ثم استبعد الإيثانول وجفف الـ DNA في درجة حرارة الغرفة لمدة 30 دقيقة، ثم أذيب في 100 µl من الماء المقطر المعقم وحفظ بدرجة حرارة – 20 م°.

تمّ التأكد من نوعية الـ DNA باستخدام طريقة الرحلان الكهربائي في هلامة أغاروز بتركيز 1%، والحاوية على 2 µl من الإيثيديوم برومايد بتركيز 10 mg/ml ضمن محلول (1X) TBE (Tris/Borate/EDTA). كذلك تم قياس تركيز الـ DNA باستخدام جهاز المطياف الضوئي (Spectrophotometer UV)، ثم تم توحيد تراكيز الـ DNA في جميع العينات إلى 50 ng/µl.

تضخيم الـ DNA باستخدام تقنية الـ ISSR: تمّ تضخيم الـ DNA باستخدام 16 بادىء للتكرارات التتابعية البسيطة البينية ISSR (الجدول، 2). حيث أجري تفاعل الـ PCR باستخدام KAPA PCR KIT بحسب تعليمات الشركة المصنعة في حجم نهائي قدره 25 µl. وذلك وفق البرنامج الحراري التالي:

- المرحلة الأولى (مرحلة الفصل الأولي): وتتم لمرة واحدة على درجة حرارة 95 م° لمدة 3 دقائق.
- المرحلة الثانية: وتتكرر 40 مرة وتضم الخطوات التالية:
  - مرحلة الفصل: وتتم على درجة حرارة 95 م° مدّة 15 ثانية.
  - مرحلة الالتحام: تتم على درجة الحرارة المناسبة لكل بادىء من البادئات المستخدمة (الجدول، 2) مدة 15 ثانية.
  - الاستطالة: تتم على درجة حرارة 72 م° لمدّة دقيقة واحدة.
- المرحلة الثالثة (الاستطالة النهائية): تتم لمرة واحدة على درجة حرارة 72 م° لمدّة 5 دقائق.

فصل نواتج الـ PCR: تمّ فصل نواتج تفاعلات الـ PCR بترحيلها على هلامة من الأغاروز بتركيز 2 % في محلول TBE (1X) والمضاف إليها الإيثيديوم برومايد بتركيز 0.2 µg/ml، استمر الترحيل لمدة ساعتين ونصف على 100 فولط، وأخذت صورة الهلامة بوجود الأشعة فوق البنفسجية.

الجدول (2): بادئات الـ ISSR المستخدمة في تضخيم الـ DNA ودرجة حرارة التحامها المثالية في تفاعل الـ PCR.

رمز البادىء	تسلسل القواعد النتروجينية	درجة حرارة الالتحام
P1	**$(CCA)_5$**	**45**
P2	**$GAG(CAA)_5$**	**45**
P3	**$(CT)_8TG$**	**49**
P4	**$(CT)_8AC$**	**49**
P5	**$(CT)_8GC$**	**51**
P6	**$(CA)_6GG$**	**39**
P7	**$(CA)_6AG$**	**37**
P8	**$(GTG)_3GC$**	**33**
P9	**$(AG)_8$**	**43**
P10	**$(GAG)_3GC$**	**33**
P11	**$(CA)_6GT$**	**49**
P12	**$(CTC)_3GC$**	**33**
P13	**$(GA)_8GG$**	**51**
P14	**$(AG)_8TG$**	**49**
P15	**$(GCC)_5$**	**55**
P16	**$(CAC)_3GC$**	**33**

التحليل الإحصائي: تمّ تحديد حجم حزم الـ DNA الناتجة عن التضخيم باستخدام برنامج TotalLab، وتحويل المعطيات إلى النظام الثنائي (1 للحزمة الموجودة و0 للحزمة الغائبة). ثم تم حساب مصفوفة عدم التوافق الوراثي اعتماداً على معامل Jaccard، ثم استخدمت هذه المصفوفة لإجراء التحليل العنقودي بطريقة Unweighted Pair Group Method of Arithmetic Means (UPGMA) ورسم شجرة القرابة الوراثية وذلك باستعمال برنامج Power Marker.

النتائج والمناقشة

تمّ في هذا البحث دراسة التباين الوراثي ما بين عشر أصناف من أهم اصناف البطاطا المستوردة والمزروعة بشكل كبير في سورية، وذلك باستخدام ست عشرة بادئ ISSR. حيث أعطت جميع البادئات المستخدمة نتائج تضخيم لقطع من DNA الأصناف المدروسة كافة (الشكل، 1)، وبلغ عدد الحزم الكلية الناتجة عن جميع البادئات المستخدمة 432 حزمة،

بمتوسط 27 حزمة لكل بادئ (الجدول، 3). وقد أعطت البادئات P3 و P4 أعلى عدد حزم كلية (33 حزمة)، بينما أعطى البادئ P11 أقل عدد من الحزم الكلية (11 حزمة). وكانت جميع الحزم الناتجة عن معظم البادئات المستخدمة متباينة، حيث بلغ مجموع الحزم المتباينة 426 حزمة بمتوسط 26.63 حزمة لكل بادئ (الجدول، 3). بينما كان مجموع الحزم المتشابهة قليل (6 حزم)، حيث أعطت البادئات P1، P9، P11 وP13 حزم متشابهة عددها 2، 1، 2 و1 حزمة، على التوالي. وبلغت النسبة المئوية للتعددية الشكلية للبادئات المستخدمة 97.95 % (الجدول، 3).

الجدول (3): عدد الحزم (الكلية، المتباينة والمتشابهة) ونسبة التعددية الشكلية (%) للبادئات المستخدمة.

رمز البادىء	عدد الحزم الكلية	عدد الحزم المتباينة	عدد الحزم المتشابهة	نسبة التعددية الشكلية
P1	28	26	2	92.86
P2	32	32	0	100.00
P3	33	33	0	100.00
P4	33	33	0	100.00
P5	31	31	0	100.00
P6	30	30	0	100.00
P7	29	29	0	100.00
P8	30	30	0	100.00
P9	26	25	1	96.15
P10	23	23	0	100.00
P11	11	9	2	81.82
P12	24	24	0	100.00
P13	28	27	1	96.43
P14	20	20	0	100.00
P15	26	26	0	100.00
P16	28	28	0	100.00
المجموع	432	426	6	–
المتوسط	27	26.63	0.38	97.95

وأعطت معظم البادئات نسبة تعددية شكلية 100 %، بينما كانت أقل نسبة للتعددية الشكلية مع البادئ P11 (81.82 %). تمّت دراسة العلاقة الوراثية بين الأصناف المدروسة بتطبيق مصفوفة عدم التوافق الوراثي (PDV) اعتماداً على معامل Jaccard لتحديد درجة التباين الوراثي فيما بينها، الذي يفيد في تأمين قاعدة وراثية كبيرة للاستفادة منها في برامج التحسين

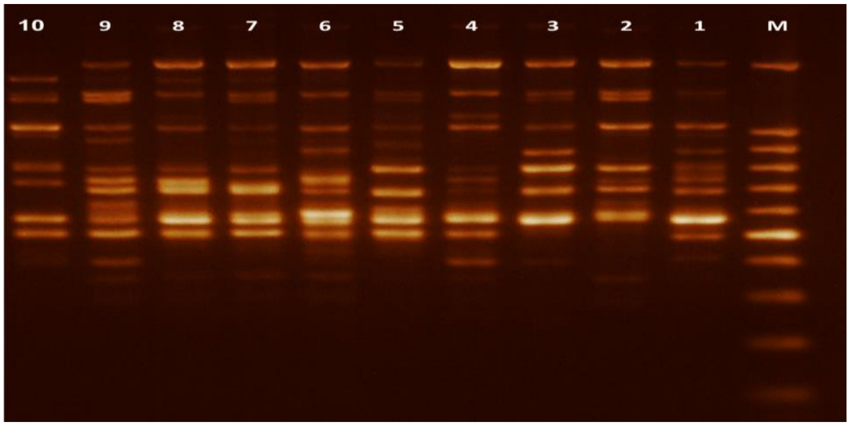
الوراثي. كان الأقرب وراثياً هما الصنفين Tebina وAmarin بتباين وراثي قدره 0.584، بينما الأبعد وراثياً فهما Tebina وSpunta بتباين وراثي قدره 0.866 (الجدول، 4). ثمّ تمّ إجراء التحليل العنقودي للأصناف المدروسة اعتماداً على معطيات الـ ISSR، ويسمح التحليل العنقودي بتقسيم الأصناف المدروسة إلى مجموعات تعكس درجة القرابة الوراثية فيما بينها، وقد تتجمع الطرز ضمن مجموعة واحدة بناءً على موطنها أو على أصلها، وذلك لتقليل عدد الطرز المستخدمة في برامج التحسين الوراثي واختيار الأباء المتباعدة وراثياً في عملية التهجين لإنتاج هجن أكثر تفوقاً. وقد انقسمت الأصناف وفق التحليل العنقودي إلى ثلاث مجموعات مختلفة (الشكل، 2)، حيث انفصلت المجموعة الأولى عن المجموعتين الثانية والثالثة بمسافة وراثية قدرها 0.8، وضمّت هذه المجموعة أربعة أصناف هي Electra، Amarin، Tebina وLoane. وتوزعت هذه الأصناف على ثلاث تحت مجموعات، حيث انفصل الصنف Loane في تحت مجموعة منفردة تبعد عن باقي أصناف المجموعة بمسافة وراثية قدرها 0.75، كذلك انفصل الصنف Electra في تحت مجموعة مستقلة تبعد عن الصنفين المتبقيين بمسافة وراثية قدرها 0.66، وضمت تحت المجموعة الثالثة الصنفين Amarin وTebina وكانت المسافة الوراثية بينهما 0.58 (الشكل، 2). بلغت المسافة الوراثية بين المجموعة الثانية والثالثة 0.77، حيث ضمّت المجموعة الثانية الصنف Safari فقط، أما المجموعة الثالثة فضمت خمسة أصناف هي Ambition، Spunta، Diamante، Triplo وSifra. وانقسمت أصناف هذه المجموعة في ثلاث تحت مجموعات، حيث انفصلت تحت المجموعة الأولى عن باقي أصناف المجموعة بمسافة وراثية قدرها 0.7، وضمت الصنفين Ambition وSpunta التي كانت المسافة الوراثية بينهما 0.62. وكانت المسافة الوراثية بين تحت المجموعة الثانية والثالثة 0.65، حيث ضمت تحت المجموعة الثانية الصنف Sifra

فقط، بينما ضمّت تحت المجموعة الثالثة الصنفين Diamante و Triplo وبمسافة وراثية ما بينهما قدرها 0.63 (الشكل، 2).

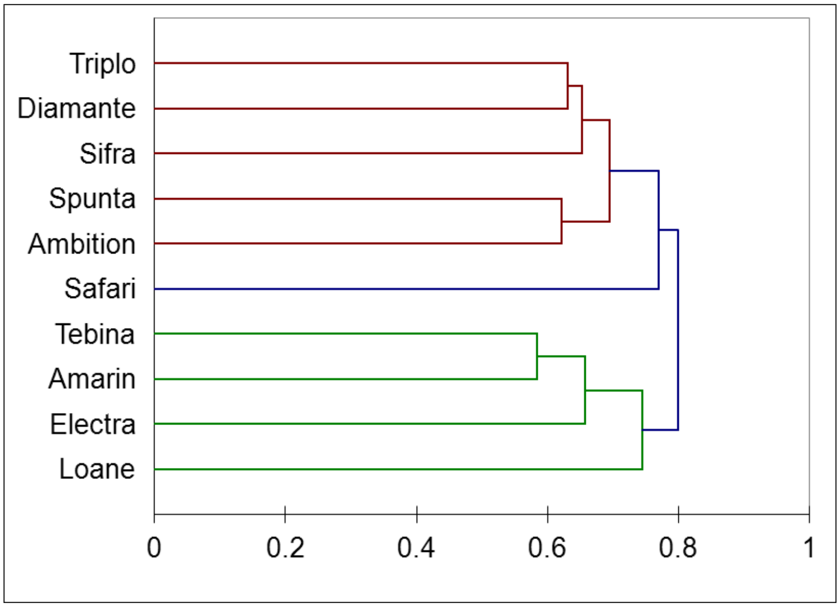
تنتج بادئات الـ ISSR عدد مختلف من حزم الـ DNA بحسب تسلسل التكرارات البسيطة التي تحويها، ومن بين الست عشرة بادئاً ISSR المستخدمة في هذا البحث أعطى 12 بادئاً نسبة تعددية شكلية 100 % (الجدول، 3)، ما يدل على إمكانية استعمال هذه البادئات بشكلٍ فعّال في التوصيف الجزيئي لأصناف البطاطا المزروعة. وتتوافق نتائجنا هذه مع ما توصل إليه Bornet وزملاؤه (2002) بأنّ تقنية الـ ISSR تُعد مناسبة جداً لتقييم التباين الوراثي بين طرز البطاطا المختلفة، حيث قاموا بدراسة التباين الوراثي بين 28 صنفاً من البطاطا باستعمال 15 بادئاً ISSR، التي أعطت جميعها نسبة تعددية شكلية مرتفعة. كذلك تتوافق نتائجنا مع نتائج Giglou وزملاؤه (2015)، الذين استخدموا تقنية الـ ISSR لدراسة التباين الوراثي بين 45 طرازاً وراثياً مختلفاً من البطاطا. كما تظهر نتائجنا وجود تباين وراثي عالٍ بين أصناف البطاطا المدروسة (الجدول، 4؛ والشكل، 2)، وهذا يُعد نتيجة منطقية نظراً إلى أنّ هذه الأصناف ثلاثية الصيغة الصبغية وتنحدر من أباءٍ مختلفة (Gorji وزملاؤه، 2011).

الجدول (4): مصفوفة عدم التوافق الوراثي (PDV) اعتماداً على معامل Jaccard.

Variety	Electra	Amarin	Tebina	Loane	Safari	Ambition	Spunta	Diamante	Triplo	Sifra
Electra	0									
Amarin	0.613	0								
Tebina	0.704	0.584	0							
Loane	0.697	0.749	0.791	0						
Safari	0.731	0.795	0.816	0.809	0					
Ambition	0.764	0.813	0.856	0.768	0.743	0				
Spunta	0.768	0.831	0.866	0.777	0.767	0.622	0			
Diamante	0.773	0.784	0.804	0.798	0.787	0.699	0.690	0		
Triplo	0.772	0.819	0.839	0.764	0.772	0.672	0.676	0.632	0	
Sifra	0.773	0.844	0.845	0.787	0.780	0.751	0.687	0.670	0.635	0



الشكل (1): صورة لنواتج تضخيم الـ DNA للأصناف المدروسة باستخدام البادىء P4 (1 – 10) وبوجود معلم جزيئي ذو حجم حزم معروف (M).



الشكل (2): مخطط شجرة القرابة الوراثية اعتماداً على التحليل العنقودي لبيانات التباين الوراثي.

وفي الخلاصة، تثبت نتائجنا أنّ تقنية الـ ISSR، وبشكلٍ خاص البادئات المستخدمة في هذا البحث، هي أداة سريعة وفعّالة لتحديد درجة التباين الوراثي بين طرز البطاطا المختلفة، وبالتالي يمكن أن تُساعد هذه التقنية في اختيار الطرز المناسبة لإدخالها في برامج التربية. كما تدل درجة التباين الوراثي المرتفعة بين الأصناف المدروسة على إمكانية استخدام هذه الأصناف في برامج التحسين الوراثي للبطاطا.

المراجع

Aversano, R., S. Savarese, J.M.D. Nova, L. Frusciante, M. Punzo and D. Carputo. 2009. Genetic stability at nuclear and plastid DNA level in regenerated plants of Solanum species and hybrids. Euphytica 165: 353-61.

Bornet, B., F. Goraguer, G. Joly and M. Branchard. 2002. Genetic diversity in European and Argentinian cultivated potatoes (Solanum tuberosum subsp. tuberosum) detected by inter-simple sequence repeats (ISSRS). Genome 45: 480-484.

Brown, C. 2005. Antioxidants in potato. Amer. J. Potato Resch. 82: 163-172.

Charters, Y.M., A. Robertson, M.J. Wilkinson and G. Ramsay. 1996. PCR analysis of oilseed rape cultivars using 50 anchored simple sequeunce repeat (SSR) primers. Theoretical and Applied Genetics 92: 442-447.

FAOSTAT Agriculture Data. 2014. Available at http://apps.fao.org.

Fisher, P.J., R.C. Gardner and T.E. Richardson. 1996. Single locus microsatelleites isolated using 50 anchored PCR. Nucl Acids Res 24(21): 4369-4371.

Giglou, M.T., P. Jaber, S.A Mohammadi, F.Z. Nahandi, A.M. Azar and J. Śliwka. 2015. DNA and morphological diversity and relationship analysis of selected cultivated, wild potatoes and some promising hybrids. Journal of Biodiversity and Environmental Sciences 6(2): 175-186.

Gorji, A.M., P. Poczai, Z. Polgar and J. Taller. 2011. Efficiency of Arbitrarily Amplified Dominant Markers (SCOT, ISSR and RAPD) for Diagnostic Fingerprinting in tetraploid Potato. American Journal of Potato Research 88: 226-237.

Hantula, J., M. Dusabenygasani and R.C. Hamelin. 1996. Random amplified microsatellites (RAMS)- a novel method for characterizing genetic variation within fungi. Eur. J. For Path. 26: 159-166.

Jondle, R.J. 1992. Legal aspects of varietal protection using molecular markers. In Applications of RAPD technology to plant breeding. Joint Plant Breeding symposia series. 50-52.

Kantety, R.V., X. Zeng, J.L. Bennetzen and B.E. Zehr. 1995. Assessment of genetic diversity in dent and popcorn (Zea mays) inbred lines using inter

simple sequence repeat (ISSR) amplification. Molecular Breeding 1: 365-373.

Mahfouze, S.A., K.A.F. El-Dougdoug, O.E. El-Sayed, M.A. Gomaa and E.K. Allam. 2012. Genetic diversity of cultivated and wild-type potatoes under potato spindle tuber viroid infection. New York Science Journal 5(7): 9-18.

McGregor, C.E., C.A. Lambert, M.M. Greyling, J.H. Louw, and L. Warnich. 2000. A comparative assessment of DNA fingerprinting techniques (RAPD, ISSR, AFLP and SSR) in tetraploid potato (Solanum tuberosum L.) germplasm. Euphytica 113: 135-144.

Murray, H.G., W.F. Thompson. 1980. Rapid isolation of high molecular weight DNA. Nucleilc Acids Res. 8: 4321-4325.

Prevost, A., and M.J. Wilkinson. 1999. A new system of comparing PCR primers applied to ISSR fingerprinting of potato cultivars. Theoretical and Applied Genetics 98: 107-112.

Provan, J., W. Powell and R. Waugh. 1996. Microsatellite analysis of relationships within cultivated potato. Theoretical and Applied Genetics 92: 1078-1084.

Smith, S. 1998. Cultivar identification and varietal protection. In DNA markers: Protocols, applications and overviews, edn. Caetano-Annolés and P.M. Gresshoff, New York: Wiley-VCH. 383-400.

Zietkiewics, E., A. Rafalski and D. Labuda. 1994. Genome fingerprinting by simple sequence repeat (SSR) anchored polymerase chain reaction amplification. Genomics 20: 176-183.

تارخ ورود البحث:2017/4/10

تاريخ قبول البحث:2017/6/20