مجلة جامعة دمشق للعلوم الزراعية
المجلد 40 العدد 1 (2024):87-98

Damascus University Journal of Agricultural Sciences
Vo 40 No.1 (2024): 87-98

# الكشف عن التباين الوراثي بين ثمانية هجن من البندورة المزروعة في سورية باستخدام تقنية الـ ISSR

**آلاء الشعال[1]، رمزي مرشد[1]، د. شهيناز عباس[2]**

[1] قسم علوم البستنة، جامعة دمشق، دمشق، سورية.

[2] قسم التقانات الحيوية، الهيئة العامة للبحوث العلمية الزراعية، دمشق، سورية.

## الملخص:

تتميز هجن البندورة المدخلة والمزروعة محلياً بالعديد من الصفات المهمة بالمقارنة مع الطرز الوراثية الأخرى، تمتاز هذه الهجن بمحصولها الوفير وجودة ثمارها العالية بالإضافة لتحملها للعديد من الأمراض. لذلك هدفت هذه الدراسة إلى تقييم التباين الوراثي لثمانية هجن من البندورة المزروعة محلياً، تمَّ استخدام تقنية ما بين التكرارات التتابعية البسيطة (ISSR) باستعمال 20 بادئاً، وأعطت جميعها حزماً من الـ DNA في الهجن المدروسة، بلغ عدد الحزم الكلية الناتجة 193 حزمة. منها 157 حزمة متباينة شكلياً، بلغ متوسط النسبة المئوية للتعددية الشكلية للبادئات المستخدمة 79.65%. تراوح عدد الحزم الكلية لكل بادئ بين 2 و20 حزمة، بمتوسط 9.65 حزمة، أما بالنسبة لمتوسط محتوى التعددية الشكلية (PIC) للبادئات المستخدمة، فقد بلغ 0.34. حيث كانت أعلى قيمة له 0.5 لكل من البادئ P1 و P12، بينما بلغت أقل قيمة له 0.12 للبادئ P19. أدى التحليل التحليل العنقودي إلى تقسيم الهجن المدروسة إلى مجموعتين، حيث ضمَّتْ المجموعة الأولى (FDR، فرح، برافيا، إليغرو، شروق، البلد)، وضمت المجموعة الثانية كل من الهجينين مرح ولامانتين، وكان الهجينين شروق والبلد الأقرب وراثياً لبعضهما البعض وببعد وراثي قدره 0.104، بينما كان الهجين مرح هو الأبعد وراثياً عن الهجين إليغرو ببعد وراثي 0.7169. تشير هذه النتائج إلى كفاءة مؤشرات الـ ISSR في تحديد درجة التباين الوراثي بين هجن البندورة المزروعة محلياً.

**الكلمات المفتاحية:** التوصيف الجزيئي، هجن البندورة، تقنية ما بين التكرارات التتابعية البسيطة (ISSR).

تاريخ الايداع:2022/7/4
تاريخ القبول: 2022/11/6

حقوق النشر: جامعة دمشق – سورية، يحتفظ المؤلفون بحقوق النشر بموجب الترخيص CC BY-NC-SA 04

# Detecting the genetic variation among eight tomato hybrids cultivated in Syria using ISSR technique

**Alaa Al Shaal[1], Dr. Ramzi Murshed[1], Dr. Shahinaz Abbas[2]**
[1] Horticulture Department, Damascus University, Damascus, Syria.
[2] Biotechnology Department, General Commission For Scientific Agricultural Research, Damascus, Syria.

## Abstract:
The introduced and locally cultivated hybrids of tomatoes have many important traits comparing to other genotypes. These hybrids are characterized by their abundant yield and high fruit quality, in addition to their tolerance of many diseases. Therefore, this study aimed to evaluate the genetic diversity of eight locally cultivated tomato hybrids. The ISSR technique was used using 20 primers, all of them gave bands of DNA in the studied hybrids, the total number of amplified bands reached 193, including 157 polymorphic bands with a polymorphism average of 79.65%. The number of total bands per primer ranged from 2 to 20 with an average of 9.65. The average value of PIC was 0.34. The highest PIC value was 0.5 for P1 and P12, while the lowest value was 0.12 for P19. Cluster analysis led to dividing the studied hybrids into two groups; the first group included (FDR, Pharah, Bravia, Elegro, Shourouq, Ballade), and the second group included both Marah and Lamantin hybrids. The two hybrids Shourouq and Ballade were the genetically closest to each other with a genetic distance of 0.104, while Pharah hybrid was the genetically farthest from the hybrid Elegro with a genetic distance of 0.7169. These results indicate the efficiency of the ISSR primers in determining the genetic diversity among locally cultivated tomato hybrids.

**Key Words:** Molecular Characterization, Tomato Hybrids, Simple Sequence Repeats Inter (ISSR).

Received: 4/7/2022
Accepted: 6/11/2022

**Copyright:** Damascus University- Syria, The authors retain the copyright under a CC BY- NC-SA

## المقدمة Introduction:

يُعد محصول البندورة من أهم المحاصيل الخضرية، المزروعة حقلياً أو في الزراعات المحمية، تجاوزت المساحة العالمية المزروعة منه حوالي 5051 ألف هكتار وبإنتاج قدره حوالي 186 مليون طن (FAOSTAT, 2020) تحتل كل من الصين والهند وتركيا والولايات المتحدة الأمريكية ومصر المراتب الخمس الأولى من الإنتاج العالمي، تحتل سورية المركز الخامس والعشرين عالمياً والمركز الخامس عربياً في إنتاج البندورة والذي قدّر بـ 780617 طن وبمساحة مزروعة حوالي 14458 هكتار (FAOSTAT, 2020).

تعتبر المؤشرات الجزيئية Molecular Markers أداة فعالة لانتخاب الصفات الزراعية المرغوبة لأنها تستند إلى التراكيب الوراثية للنبات كما أنها لا تتأثر بالتغيرات البيئية. قام العديد من الباحثين بتقدير التباين الوراثي لعدد من أصناف وهجن وسلالات البندورة باستخدام العديد من التقنيات بما في ذلك تقنية التضخيم العشوائي للدنا المتعدد شكلياً Randomly Amplified Polymorphic DNA (RAPD) و تقنية تباين أطوال قطع الـ DNA المضخمة Amplified Fragment Length Polymorphism (AFLP) وتقنية التكرارات التتابعية البسيطة Simple Sequence Repeat or Microsatellites (SSR) وتقنية ما بين التكرارات التتابعية البسيطة Inter Simple Sequence Repeats (ISSR) وتقنية مؤشرات التباين بنيوكلوتيد واحد Single nucleotide polymorphism (SNP). تعتمد تقنية الـ ISSR على تضخيم المواقع بين التوابع الدقيقة والمتوضعة بشكل متعاكس باستعمال بادئات وحيدة (طولها من 16 إلى 25 bp) ومؤلفة من نيكليوتيدات متكررة (Zietkiewicz *et al*., 1994, 176).

استعملت تقنية الـ ISSR في تقييم التباين الوراثي بين 33 صنف محلي من أصناف البندورة اليونانية*Solanum lycopersicum* وثلاثة هجن من البندورة الكرزية *Solanum lycopersicum var. cerasiforme* ونمطين وراثيين من *Solanum pimpinellifolium*. فاستخدم 12 بادئ، أعطت جميعها تعددية شكلية بين الطرز المدروسة وبمتوسط تشابه وراثي قدره 0.797، وتوزعت هذه الطرز في مجموعتين رئيسيتين ضمت الأولى الأصناف المحلية بينما ضمت الثانية هجن البندورة الكرزية وأنماط *S. pimpinellifolium* (Terzopoulos and Bebeli., 2008, 354).

كما تم استخدام 10 بادئات الـ ISSR للتمييز بين عدد من الطرز الوراثية تضم هجن وأصناف تجارية، أعطت البادئات 98 حزمة كلية (بمتوسط 9.8 حزمة لكل بادئ)، منها 78 حزمة متباينة، تراوحت التعددية الشكلية من 50 إلى 100% وبمتوسط 91.76%، أعطى البادئ B 17898 أعلى عدد من الحزم المتباينة (12 حزمة)، كما انقسمت فيها الطرز المدروسة اعتماداً على التحليل العنقودي إلى مجموعتين (El-Argaa *et al*., 2017, 1651).

وفي دراسة أجراها ABDEIN وآخرون (2018، 148) استخدمت تقنية الـ ISSR لتقييم التنوع الوراثي لثمانية طرز وراثية من البندورة، استخدمت 6 بادئات والتي أعطت بدورها 55 حزمة كلية منها 26 حزمة متباينة، في حين بلغت قيمة متوسط التعددية الشكلية 46.65%، كما بلغت قيمة متوسط PIC 0.37. أظهرت هذه التقنية تنوع وراثي كبير بين الطرز المدروسة وانقسمت الطرز إلى خمسة مجموعات اعتماداً على التحليل العنقودي ورسم شجرة القرابة الوراثية.

مقارنةً مع الأصناف الأخرى من البندورة، تتميز الهجن عموماً بالنضج المبكر، وزيادةً في الإنتاجية، وتحملاً للأمراض (Opeña *et al*., 2001, 1). كما تتضمن هجن البندورة العديد من الفوائد الكمية والنوعية للمنتجين والمستهلكين على حدٍ سواء على الرغم من ارتفاع تكاليف إنتاج هذه البذور، هذا ما يحفز برامج التربية العامة والخاصة على البحث عن هجن ذات أداء جيد وجودة ثمار عالية لتلبية طلب المستهلك (Santos *et al*., 2011, 305; Melo *et al*., 2009, 60). لذلك كان لا بد من وضع قاعدة بيانات

تعريفية لأهم الهجن المدخلة والمزروعة في سورية وتقدير التباين الوراثي فيما بينها على أساس التوصيف الجزيئي باستخدام تقنيات الواسمات الجزيئية كتقنية الـ ISSR، مما يمكن من استخدام هذه الهجن لاحقاً في برامج التربية والتحسين الوراثي للحصول على أفضل السلالات النقية وذلك للحاجة الملحة والضرورية لإنتاج هجن بندورة محلياً ولتحقيق الإكتفاء الذاتي دون الاعتماد على الاستيراد.

## مواد البحث وطرائقه Materials and methods:

- **مكان وزمان تنفيذ البحث:** تم إجراء البحث في مخبر التقانات الحيوية التابع للهيئة العامة للبحوث العلمية الزراعية خلال عام 2021.
- **المادة النباتية:** استخدم في تنفيذ هذا البحث ثمانية هجن بندورة مدخلة مزروعة محلياً تم الحصول على بذارها من الشركات الزراعية الجدول رقم (1).

**الجدول رقم (1): هجن البندورة المدروسة ومصدر كل منها.**

| رقم المدخل | اسم الهجين الوراثي | المصدر |
|---|---|---|
| 1 | FDR | Seminis |
| 2 | Bravia برافيا | Cal am seeds |
| 3 | Lamantin لامانتين | Nunhems |
| 4 | Pharah فرح | Nunhems |
| 5 | Marah مرح | Infinity seeds |
| 6 | Shourouq شروق | Seminis |
| 7 | Ballade البلد | Royal crownseeds |
| 8 | Elegro إليغرو | Seminis |

تم أخذ 10–15 بذرة لكل هجين من الهجن المدروسة وغسلت البذور جيداً بالماء الجاري مدة عشر دقائق، غُمرت فيما بعد في الكحول الإيتيلي بتركيز 70% مدة دقيقة واحدة ومن ثم نقلت إلى محلول هيبوكلوريت الصوديوم بتركيز 1% محلول تجاري (6%) مدة 10 دقائق، ثم غسلت البذور بالماء المقطر المعقم ثلاث مرات بفاصل زمني (5 – 10 –15 دقيقة) بين كل مرحلة من مراحل الغسيل.

تمت بعدها زراعة البذور في الزجاج in vitro في ظروف عقيمة تحت جهاز العزل الجرثومي على الوسط المغذي لموراشيج وسكوغ بنصف قوة الأملاح (MS½ ) المضاف إليه 30 غ.ل$^{-1}$ سكروز و7 غ.ل$^{-1}$ آغار بدرجة حموضة 5.8 PH وبدون منظمات نمو وذلك بعد تعقيم الوسط بالأوتوكلاف لمدة 20 دقيقة على حرارة 121 °C وضغط 1.2 كغ. سم$^{-2}$ من أجل الحصول على نباتات سليمة وخالية من الأمراض. حُضنت العينات بعد الزراعة داخل الحاضنات بدون إضاءة حتى بدء الإنبات ومن ثم وضعت في غرفة النمو على درجة حرارة 22 ± 2 °C وفي ظروف إضاءة 16 ساعة/ 8 ساعات ظلام يومياً وبشدة ضوئية مقدارها 2000 لوكس.

## التوصيف الجزيئي:

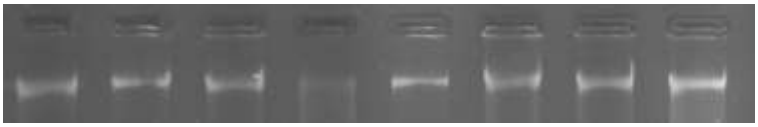
**عزل الحمض النووي الريبي منقوص الأكسجين الـ DNA:**

- عُزل الـ DNA من أوراق النبيتات بعمر ستة أسابيع بطريقة الـ CTAB المعدلة (Murray و Thompson، 1980)، حيث وزن 0.2 غ من الأوراق النباتية لكل عينة وطُحنت بوجود الآزوت السائل.
- نُقل المسحوق النباتي إلى أنابيب معقمة سعة 2 ml، ثم أضيف لكل عينة 750 ميكرولتر من محلول الاستخلاص CTAB والمسخن مسبقا على درجة حرارة 60 °C والذي يحتوي على:

2% (w/v) CTAB ، 100 mM Tris-HCl (pH 8)، 1.4 M NaCl، 20 mM EDTA (pH8)، 0.2 % 2-mercaptoethanol (v/v).

- وُضعت الأنابيب في حمام مائي على درجة حرارة 60 °C مع التحريك المستمر بالتقليب كل 15 دقيقة مدة 60 دقيقة.
- أضيف 750 ميكرولتر من chloroform/ isoamyl alcohol (1: 24) لكل عينة وحركت جيداً بالتقليب.
- وُضعت الأنابيب في جهاز الطرد المركزي على سرعة 12000 دورة/دقيقة مدة 10 دقائق على درجة حرارة 4 °C، حيث تم في هذه المرحلة فصل المزيج إلى ثلاث طبقات: الطبقة العليا (الطور المائي) ويحوي الـ DNA، الطبقة الوسطى وتحوي البروتينات والطبقة السفلى وتحوي الكلوروفورم.
- نُقل بعدها الطور الطافي (المحتوي على الـ DNA) إلى أنابيب جديدة سعة 2 ml، وأعيدت تنقيته مرة أخرى بكمية مماثلة لحجم الطور المائي من مادة chloroform/ isoamyl alcohol (1: 24).
- أُضيف ما يعادل ثلثي حجم الطور المائي المنقول من isopropanol المبرد على حرارة −20 °C مع التحريك الخفيف، وتركت العينات بعدها على درجة حرارة −20 °C طوال الليل من أجل ترسيب DNA.
- في اليوم التالي تم التثفيل بسرعة 10000 دورة/د مدة 5 دقائق على درجة حرارة 4 °C بعد أن ذابت العينات في حرارة الغرفة، ثم تم التخلص من الرشاحة وغسل الراسب (DNA) بإضافة 1 ml من إيتانول 70% المبرد مسبقاً بالتقليب عدة مرات.
- ثفلت الأنابيب بعد ذلك على سرعة 10000 دورة/د مدة 5 دقائق على درجة حرارة 4 °C واستبعد الطافي (الإيتانول) وجفف الـ DNA في درجة حرارة الغرفة مدة 30 دقيقة.
- أذيب الـ DNA في (100 ميكرولتر) من الماء المقطر المعقم.
- خزنت العينات على درجة حرارة −20 °C لحين الاستخدام.

وتم استخدم جهاز المطياف الضوئي (UV Spectrophotometer) نوع HITASHE، لتقدير كمية الحمض النووي الـ DNA وتحديد نقاوته عن طريق قياس امتصاص الحمض النووي الـ DNA للأشعة فوق البنفسجية بموجات طولها 260 و280 نانومتر. حُمل 6 ميكروليتر من الـ DNA في هلامة من الأغاروز تركيزها 1% والحاوية على 5 ميكروليتر من صبغة Red safe (2000x) في محلولTBE (1X)، على 100 فولت لمدة ساعة لتحديد نوعية الـ DNA المستخلصة للتأكد من عدم تقطعها الشكل رقم (1). ثم مُددت عينات الـ DNA للحصول على تركيز 50 نانوغرام/ميكرولتر في جميع العينات.



**الشكل رقم (1): هلامة الأغاروز (1%) لعينات الـ DNA لهجن البندورة المدروسة.**

**التفاعل التسلسلي المتعدد (PCR):**

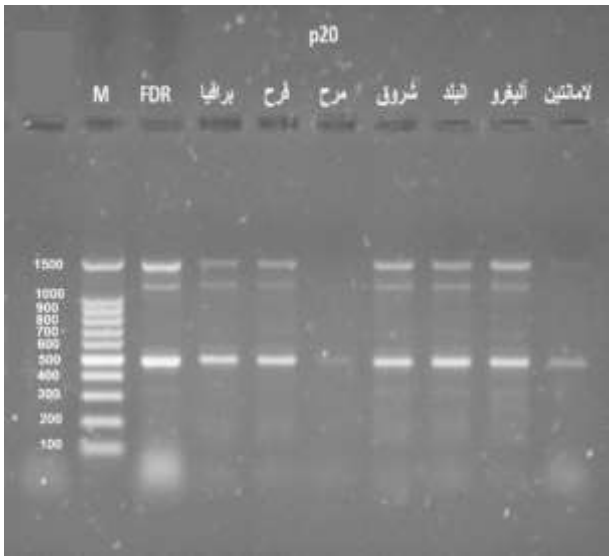
تم تضخيم الـ DNA باستخدام 20 بادئ لما بين التكرارات التتابعية البسيطة (ISSR) والتي تم الحصول عليها من شركة Vivantis الماليزية الجدول رقم (2) بواسطة جهاز المدور الحراري (Biometra modell T-1 Thermoblock) بحجم تفاعل قدره 20 ميكرولتر (10 ميكرولتر من amaR OnePCR، 6 ميكرولتر من الماء المقطر المعقم ، 20 بيكومول من البادئ ، 100 نانوغرام من الحمض النووي)، وذلك وفق البرنامج الحراري التالي: المرحلة الأولى: الفصل الأولي عند 94 °C لمدة 5 دقائق، المرحلة الثانية، تكرر 35 دورة، 20 ثانية على 94 °C للفصل، دقيقة واحدة لإلتحام البادئات عند درجة حرارة الالتحام الخاصة بكل بادئ (TA) الجدول رقم (2)، و2 دقيقة عند درجة حرارة 72 °C للاستطالة، مع استطالة نهائية لمدة 5 دقائق عند 72 °C.

**الجدول رقم (2): بادئات الـ ISSR المستخدمة في تضخيم الـ DNA لهجن البندورة المدروسة (اسمها، تسلسلها النكليوتيدي، ودرجة حرارة التحامها)**

| رقم البادئ | اسم البادئ | تسلسل القواد النيتروجينية للبادئ | درجة حرارة الالتحام (TA)C ° |
|---|---|---|---|
| P1 | 4 | CAC ACA CAC ACA CAC AAC | 48 |
| P2 | A830241 | ACT GAC TGA CTG ACT GAC TG | 45 |
| P3 | 813 | CTC TCT CTC TCT CTC TT | 50 |
| P4 | 807 | AGA GAG AGA GAG AGA GT | 50 |
| P5 | 8565 | GTC ACCACCACCACCACCACC AC | 64 |
| P6 | 866 | CTCCTCCTCCTCCTCCTC | 53 |
| P7 | W814 | CTC TCT CTC TCT CTC TTG | 45 |
| P8 | 8 | CAC ACA CAC ACA CAC AGA C | 48 |
| P9 | 862 | AGCAGCAGCAGCAGCAGC | 53 |
| P10 | 17899B | CAC ACA CAC ACA GG | 46 |
| P11 | 231 | GAG TCT CTC TCT CTC TCT C | 51 |
| P12 | 8082 | CTC TCT CTC TCT CTC TCT G | 51 |
| P13 | NLSSR3 | CAG CAG CAG CAG CAG | 53 |
| P14 | 17 | CAG CAC ACA CAC ACA CAC | 51 |
| P15 | 5 | CAC ACA CAC ACA CAC AGT | 48 |
| P16 | 830 | TGT GTG TGT GTG TGT GG | 45 |
| P17 | 811 | GAG AGA GAG AGA GAG AC | 44 |
| P18 | 812 | GAG AGA GAG AGA GAG AA | 48 |
| P19 | 8564 | CACCACCACCACCACCACCAC C | 48 |
| P20 | 16 | CGT CAC ACA CAC ACA CAC | 49 |

**الرحلان الكهربائي والتلوين والتصوير لنواتج الـ PCR:**

تم فصل منتجات التضخيم في جهاز الرحلان الكهربائي على هلامة أغاروز 1.5% تحتوي على 5 ميكرولتر من صبغة Red Safe (2000X) في 100 مل من محلول TBE (1X)، بوجود مؤشر جزيئي من الحمض النووي (DNA) بطول 100 bp ( Thermo Scientific, GeneRuler 100 bp, DNA Ladder ready to use). ثم تم الترحيل لمدة ساعتين بمرور تيار كهربائي شدته 100 فولت، صورت الهلامة بعد ذلك بوجود الأشعة فوق البنفسجية بجهاز تصوير هلامة الآجاروز Image analyzer الشكل رقم (2).




**الشكل رقم (2): نواتج تضخيم الـ DNA لهجن البندورة المدروسة باستخدام البادئ P 20 بوجود مؤشر جزيئي بطول bp100 .**

## التحليل الإحصائي Statistical analysis:

تم تحديد حجم حزم DNA الناتجة عن التضخيم باستخدام برنامج TotalLab، ثم تم تقدير عدد الحزم (الكلية، المتباينة، المتشابهة)، وتحويل المعطيات إلى النظام الثنائي (1 للحزمة الموجودة و0 للحزمة الغائبة). ثم تم حساب مصفوفة عدم التوافق الوراثي اعتماداً على معامل Jaccard ثم استخدام هذه المصفوفة لإجراء التحليل العنقودي بطريقة Unweighted Pair Group Method of Arithmetic Means (UPGMA)ورسم شجرة القرابة الوراثية وذلك باستعمال برنامج Xlstat (3. 5. 2014) وكذلك تم حساب معدل التنوع الوراثي (النسبة المئوية للتعددية الشكلية) وحساب محتوى التعددية الشكلية Polymorphism Information Content (PIC)لكل بادئ من البادئات المستخدمة على مستوى الموقع الواحد وفقاً لـ Weir (1996) حسب العلاقة التالية:

$$PIC= 1- \Sigma\ pi2$$

حيث pi هي نسبة تكرار كل قرين على الموقع الوراثي نفسه.

ويمثل محتوى التعددية الشكلية Polymorphism Information Content (PIC) لموقع وراثي معين على المادة الوراثية Genome قدرة هذا الموقع على التمييز مابين الطرز الوراثية، أي تعبر عن احتمال أن يكون للعينتان المسحوبتان عشوائياً حزمتين مختلفتين للموقع الوراثي ذاته.

## النتائج والمناقشة Results and discussion:

تم تضخيم الـ DNA لهجن البندورة المدروسة باستخدام 20 بادئ لما بين التكرارات التتابعية البسيطة ISSR الجدول رقم (3)، أعطت جميع هذه البادئات تضاعف وبلغ عدد الحزم الكلية الناتجة عن تضخيم الـ DNA للعينات المدروسة 193 حزمة، تشابهت 36 منها في جميع العينات في حين تباينت الحزم الباقية وعددها 157 حزمة، وبالتالي بلغ متوسط نسبة التعددية الشكلية Polymorphism 79.65% الجدول رقم (3).

تراوح عدد الحزم الكلية لكل بادئ بين 2 و20 حزمة وبمتوسط 9.65 حزمة الجدول (3). أعطت البادئات P2 وP4 وP17 أعلى عدد للحزم الكلية (20، 17 و15، على التوالي). في حين أعطى كل من البادئ P3 وp12 أقل عدد من الحزم الكلية (2 حزمة). أما بالنسبة لعدد الحزم المتباينة فقد تراوح بين 2 و20 حزمة بمتوسط 7.85 حزمة لكل بادئ الجدول رقم (3). وقد أعطى P2 أكبر عدد من الحزم المتباينة (20 حزمة) بتعددية شكلية 100 % في حين أعطى P4 عدد كبير من الحزم المتباينة (16 حزمة) بتعددية شكلية 94 %. أعطى كل من P1، P3، P7، P8، P9، P11، P12 وP15 تعددية شكلية بلغت 100 % لكن بعدد أقل من الحزم المتباينة.

**الجدول رقم (3): عدد الحزم (الكلية، المتباينة والمتشابهة)، نسبة التعددية الشكلية (%) ومحتوى التعددية الشكلية للبادئات المستخدمة في الدراسة.**

| البادئات | عدد الحزم الكلية | عدد الحزم المتباينة شكلياً | عدد الحزم المتشابهة | النسبة المئوية للتعددية الشكلية | محتوى التعددية الشكلية (PIC) |
|---|---|---|---|---|---|
| P1 | 9 | 9 | 0 | 100 | 0.50 |
| P2 | 20 | 20 | 0 | 100 | 0.44 |
| P3 | 2 | 2 | 0 | 100 | 0.46 |
| P4 | 17 | 16 | 1 | 94 | 0.38 |
| P5 | 8 | 4 | 4 | 50 | 0.20 |
| P6 | 8 | 5 | 3 | 63 | 0.22 |
| P7 | 3 | 3 | 0 | 100 | 0.28 |
| P8 | 14 | 14 | 0 | 100 | 0.43 |
| P9 | 10 | 10 | 0 | 100 | 0.44 |
| P10 | 7 | 5 | 2 | 71 | 0.28 |
| P11 | 14 | 14 | 0 | 100 | 0.42 |
| P12 | 2 | 2 | 0 | 100 | 0.50 |
| P13 | 5 | 3 | 2 | 60 | 0.22 |
| P14 | 14 | 5 | 9 | 36 | 0.13 |
| P15 | 12 | 12 | 0 | 100 | 0.44 |
| P16 | 8 | 3 | 5 | 38 | 0.19 |
| P17 | 15 | 13 | 2 | 87 | 0.38 |
| P18 | 12 | 9 | 3 | 75 | 0.30 |
| P19 | 6 | 2 | 4 | 33 | 0.12 |
| P20 | 7 | 6 | 1 | 86 | 0.40 |
| المجموع | 193 | 157 | 36 | - | - |
| المتوسط | 9.65 | 7.85 | 1.8 | 79.65 | 0.34 |

تتوافق نتائجنا مع النتائج التي تم الحصول عليها في عدد من الدراسات التي استخدمت البادئ P7 والمستخدم في بحثنا الحالي، فقد بينت دراسة أجراها Edris وآخرون (2014، 605) على أصناف بندورة مختلفة أن عدد الحزم الكلية الناتجة بلغ 63 حزمة منها 39 حزمة متباينة وبتعددية شكلية 62 %، كما بلغ متوسط عدد الحزم لكل بادئ من البادئات المستخدمة 5.7 حزمة، وأعطى P7 ثمانية حزم كلية منها 6 حزم متباينة وأعلى تعددية شكلية (75%). كما توافقت نتائجنا مع دراسة أجريت على 8 طرز وراثية من البندورة باستخدام 6 بادئات ISSR، كان عدد الحزم الكلية 55 حزمة منها 26 حزمة متباينة وبمتوسط 4.33 حزمة لكل بادئ، بلغت التعددية الشكلية كمتوسط 46.65%، أعطى P7 أعلى تعددية شكلية بلغت 60% (Abdein *et al*., 2018, 154).

في النتائج التي توصل إليها Shahlaei وآخرون (2014، 18) في دراسته للتنوع الوراثي لعشرة سلالات من البندورة باستخدام عشرة بادئات ISSR، بلغ فيها عدد الحزم الكلية 86 حزمة منها 20 حزمة متباينة وبلغت قيمة متوسط التعددية الشكلية 21.9%، حيث استخدم فيها ثلاثة بادئات مشابهة للبادئات المستخدمة في دراستنا، أعطى فيها كل من البادئ P3 و p18 تعددية شكلية عالية (28.57 و53.84%، على التوالي) وهذا ما يتوافق مع ما توصلنا إليه. في حين أعطى البادئ P4 تعددية شكلية منخفضة 14.28% وهذا ما يتعارض نتائجنا، يمثل محتوى التعددية الشكلية (PIC) لموقع وراثي معين على الجينوم وبالتالي لواسم جزيئي معين قدرة هذا الواسم على التمييز بين الطرز الوراثية. وقد بلغ متوسط محتوى التعددية الشكلية للبادئات المستخدمة في هذا البحث 0.34، حيث كانت أعلى قيمة له 0.5 لكل من البادئ P1 و P12، بينما بلغت أدنى قيمة له 0.12 للبادئ P19 الجدول رقم (3). وتعد أكثر البادئات قدرة على التمييز بين الطرز الوراثية هي التي أعطت أعلى قيمة لمحتوى التعددية الشكلية (PIC) وهي P1، P12، P3، P2، P9 و P15 (0.5، 0.5، 0.46، 0.44، 0.44 و0.44، على التوالي).

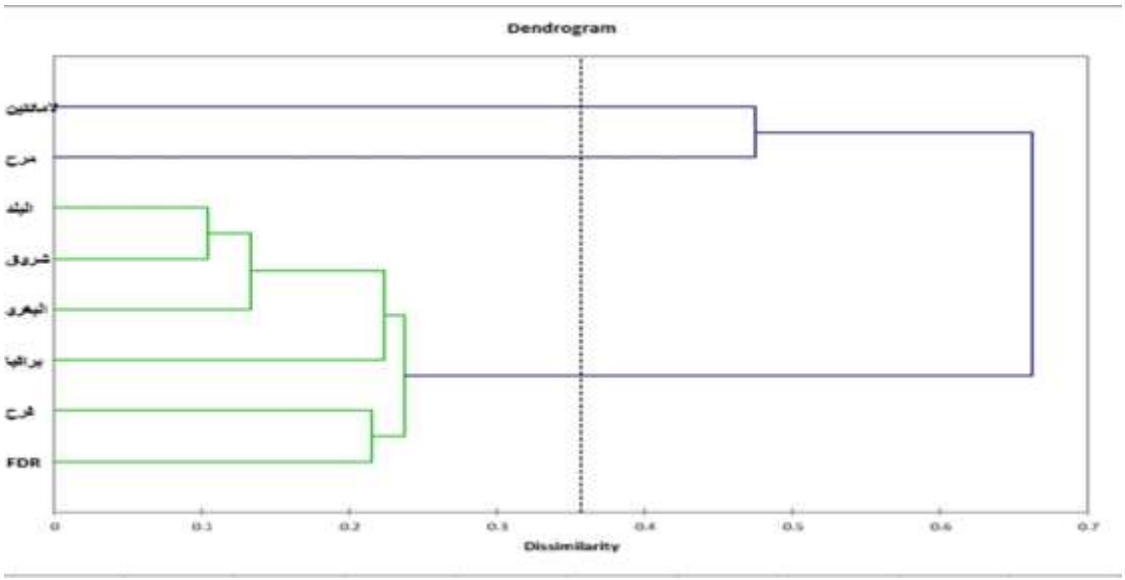
هذا وتختلف قيم محتوى التعددية الشكلية (PIC) في دراستنا عن قيمه في دراسات أخرى وذلك حسب البادئات والأصناف المستخدمة. ففي دراسة للتنوع الوراثي لثمانية أصناف باستخدام تقنية الـ ISSR، بلغ متوسط قيمة PIC 0.36 ( Edris *et al*., 2014, 610). وفي دراسة أخرى للتنوع الوراثي لعشرة سلالات من البندورة باستخدام عشرة بادئات الـ ISSR، تراوحت قيم PIC بين 0 و 0.051 بمتوسط 0.088 وكانت أعلى قيمة PIC عند استخدام البادئ8A(GA) وهي 0.234 في حين أن البادئ 8G(AG) أعطى أدنى قيمة PIC وهي 0.051 (Shahlaei *et al*., 2014, 18). وفي دراسة للتباين الوراثي على عشرة أصناف من البندورة تم فيها استخدام ثلاث تقانات (ISSR، RAPD و SSR)، أعطت تقنية الـ ISSR أفضل قيمة PIC وهي 0.858 وكان أفضل بادئ هو K-13 (Sanghani *et al*., 2013, 142).

يعد تحديد درجة القرابة الوراثية ضمن الطرز الوراثية هاماً جداً في برامج تربية النبات لتأمين قاعدة بيانات وراثية واسعة للإستفادة منها في برامج التهجين. وقد تم في هذه الدراسة تحديد درجة القرابة الوراثية ما بين هجن البندورة المدروسة وذلك من خلال حساب مصفوفة عدم التوافق الوراثي (PDV) اعتماداً على معامل Jaccard لتحديد درجة التباين الوراثي بين الهجن المدروسة، والذي يفيد في تأمين قاعدة وراثية كبيرة للاستفادة منها في برامج التحسين الوراثي، حيث أن ارتفاع قيمة هذا التباين يدل على ازدياد درجة التباين الوراثي بين الطرز الجدول رقم (4). تم إجراء التحليل العنقودي للهجن المدروسة اعتماداً على مصفوفة التباين الوراثي، حيث يسمح التحليل العنقودي برسم شجرة القرابة الوراثية وتقسيم الهجن المدروسة إلى مجموعات، وتعكس هذه المجموعات درجة القرابة الوراثية فيما بينها، وقد تتجمع العينات ضمن مجموعة واحدة بناءً على موطنها الأصلي أو بناءً على أصلها ونسبها.

وبناءً على التحليل العنقودي للهجن المدروسة في هذا البحث، إلى تقسيم الهجن المدروسة إلى مجموعتين، ارتبطت المجموعة الأولى بباقي المجموعات عند أعلى مستوى هرمي بمستوى تباين وراثي قدره 0.662. انقسمت هذه المجموعة بدورها إلى تحت مجموعتين ضمت كل منهما هجين واحد وهما لامانتين ومرح، وقد لوحظ أن الهجين مرح هو الأقرب وراثياً للهجين لامانتين بتباين وراثي قدره 0.475، بينما كان فرح هو الأبعد وراثياً عنه بتباين وراثي قدره 0.645. في حين أن الهجين إليغرو كان الأبعد وراثياً عن الهجين مرح بتباين وراثي 0.717، أما المجموعة الثانية فقد انقسمت عند مستوى تباين وراثي 0.237 إلى تحت مجموعتين ضمت تحت المجموعة الأولى، عند مستوى تباين وراثي 0.215، كل من الهجينين فرح وFDR، كان مرح هو الأبعد وراثياً عن الهجين FDR بتباين 0.709. في حين ان تحت المجموعة الثانية انقسمت عند مستوى تباين وراثي 0.237 إلى تحت تحت مجموعتين، ضمت الأولى الهجين برافيا وكان الأقرب وراثياً له الهجين شروق بتباين وراثي 0.195، والأبعد هو الهجين مرح بتباين وراثي قدره 0.676 . أما تحت تحت المجموعة الثانية فقد انقسمت عند مستوى تباين وراثي 0.132 إلى تحت تحت تحت مجموعتين، ضمت الأولى إليغرو، وكان الأقرب وراثياً له الهجين البلد بتباين 0.122. وأما بالنسبة للمجموعة الثانية فقد ضمت كل من الهجينين شروق والبلد وهما الأقرب وراثياً لبعضهما البعض وببعد وراثي قدره 0.104، كان الهجين مرح هو الأبعد عن كل منهما بتباين وراثي 0.702 و0.695، على التوالي.

**الجدول رقم (4): مصفوفة عدم التوافق الوراثي (PDV) بين هجن البندورة المدروسة استناداً إلى معامل Jaccard.**

| | FDR | برافيا | فرح | مرح | شروق | البلد | إليغرو | لامانتين |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| FDR | 0 | | | | | | | |
| برافيا | 0.2456 | 0 | | | | | | |
| فرح | 0.2151 | 0.2176 | 0 | | | | | |
| مرح | 0.7089 | 0.6755 | 0.7143 | 0 | | | | |
| شروق | 0.2235 | 0.1954 | 0.2265 | 0.7024 | 0 | | | |
| البلد | 0.2556 | 0.2486 | 0.2486 | 0.6951 | 0.1040 | 0 | | |
| إليغرو | 0.2216 | 0.2241 | 0.2541 | 0.7169 | 0.1420 | 0.1221 | 0 | |
| لامانتين | 0.6380 | 0.6115 | 0.6446 | 0.4750 | 0.6199 | 0.5939 | 0.6250 | 0 |




**الشكل رقم (3): مخطط شجرة القرابة الوراثية لهجن البندورة المدروسة اعتماداً على التحليل العنقودي لبيانات التباين الوراثي.**

## الاستنتاجات Conclusions:

- أثبت هذا البحث إمكانية استخدام تقنية الـ ISSR في التمييز ما بين أهم هجن البندورة المدخلة والمرزوعة في سورية على المستوى الجزيئي وبشكل خاص عند استخدام بعض البادئات التي أعطت تعددية شكلية مرتفعة وPIC مرتفع.
- تبين من التوصيف الجزيئي للهجن المدروسة وجود تباين وراثي ما بين هذه الهجن والتي يمكن ان تستخدم في برامج التحسين الوراثي للحصول على سلالات نقية وإنتاج أصناف وهجن عالية الإنتاجية محلياً وتوفير القطع الأجنبي والإستغناء عن الإستيراد.
- تبين من التوصيف الجزيئي أن هناك عدداً من الهجن القريبة جداً لبعضها البعض وراثياً، وهذا ما يمكّن الشركات المستوردة المحلية في المحافظة على بذور الهجن نفسها وضمان عدم استبدالها من قبل الشركات المنتجة لها بتسميات أخرى.

**التمويل:** هذا البحث ممول من جامعة دمشق وفق رقم التمويل (501100020595).

## References:


1. Abdein, M. A., Abd El-Moneim, D., Taha, S. S., AL-JUHANI, W. S., & Mohamed, S. E. (2018). Molecular characterization and genetic relationships among some tomato genotypes as revealed by ISSR and SCoT markers. Egyptian Journal of Genetics and Cytology, 47(1), 139- 159.
2. Edris, S., S. Abo-Aba, M. M. Algandaby, A. M. Ramadan, N. O. Gadalla, M. A. Al-Kordy, J. S. M. Sabir, F. M. El-Domyati, A. M. Alzohairy and A. Bahieldin. 2014. Molecular characterization of tomato cultivarsgrown in Saudi Arabia and differing in earliness of fruit development as revealed by AFLP and ISSR. Life Science Journal. 11(8): 602-612.
3. El-Argaa, A. O., Soliman, S. S. A., Sayed-Ahmed, M. S., & Yousef, M. A. H. (2017). MOLECULAR MARKERS OF DIFFERENT TOMATO GENOTYPES. Zagazig Journal of Agricultural Research, 44(5), 1651-1666.
4. FAOSTAT, Food and agriculture organization of the United Nations. 2020. http://faostat.fao.org/.
5. Melo, P. C. T., Melo, A. M. T., & Boiteux, L. S. (2009). Overview and perspectives of tomato breeding for fresh market adapted to mild tropical climates of Brazil. In International Symposium on Tomato in the Tropics 821 (pp. 55-62).
6. Murray, M.G. and W. F. Thompson. 1980. Rapid isolation of high molecular weight DNA. Nucleic Acids Res. 8: 4321- 4325.
7. Opeña, R. T., Chen, J. T., Kalb, T., & Hanson, P. (2001). Hybrid seed production in tomato. AVRDC International Cooperators Guide Publication No, 01-527, 1-8.
8. Sanghani, A. O., & Mandavia, M. K. (2013). Characterization of tomato (*Lycopersicon lycopersicum Mill*.) genotypes through RAPD, ISSR and SSR markers. Indian Journal of Agricultural Biochemistry, 26(2), 141-147.
9. Santos FFB, Ribeiro A, Siqueira WJ and Melo AMT (2011). Desempenho agronômico de híbridos F1 de tomate de mesa. Hortic. Bras. 29: 304-310.
10. Shahlaei, A., Torabi, S., & Khosroshahli, M. (2014). Efficacy of SCoT and ISSR markers in assessment of tomato (*Lycopersicum esculentum Mill*.) genetic diversity. International Journal of Biosciences, 5(2), 14-22.
11. Terzopoulos, P. J and P. J. Bebeli. 2008. DNA and morphological diversity of selected Greek tomato (*Solanum lycopersicum L*.) landraces. Scientia Horticulturae. 4: 354–361.
12. Weir, B. S. 1996. Genetic data analysis II 2nd ed Sinauer Associates. Inc. Sunderland, MA.
13. Zietkiewicz, E., A. Rafalski and D. Labuda. 1994. Genome fingerprinting by simple sequence repeat (SSR)-anchored polymerase chain reaction amplification. Genomics. 20: 176–183.