

## التوصيف الجزيئي لطرز وراثية مُدخلة وتجارية من نبات دَوّار الشمس باستخدام تقنية AFLP

د. كمال الأشقر\*\*

د. لبنى مقراني\*

### الملخص

تمّت دراسة القرابة الوراثية بين 27 طرازًا وراثيًا من نبات دَوّار الشمس *Helianthus annuus*، باستخدام 139 مؤشّرًا جزيئيًا من نوع AFLP. تراوحت نسبة المؤشرات الجزيئية المتباينة بين 19.23% لدى المرئسة E41M61 و36.84% لدى المرئسة E35M59، في حين كانت قيم PIC متقاربة جدًا بين المرئسات بمعدّل قدره 0.37.

أعطى تحليل التشابه باستخدام المؤشرات المتباينة والمتماثلة معًا قيمًا عالية تراوحت من 0.797 بين الطرازين الوراثيين 441 وHysum33 إلى 0.985 بين الطرازين غاب4 وغاب5، أما المؤشرات المتباينة فقط فقد استطاعت إبراز الاختلافات الوراثية بشكل أوضح؛ إذ انخفضت قيم التشابه إلى 0.156 بين الطرازين 441 وHysum33. أظهرت شجرة القرابة التي أنشئت على أساس مجموعات الأزواج ودليل Jaccard بعض التجمّعات أهمّها عنقود طرز الغاب الذي ضمّ أيضا طرازين حليبيين (مضخ حلب وسفيرة حلب)، مما يشير إلى احتمال وجود أب مشترك انحدرت منه هذه الطرز. أظهرت النتائج تنوعًا وراثيًا هامًا بين الطرز المدروسة، كما أنّها اقترحت على أساس جزيئي أفضل الآباء من أجل برامج التحسين الوراثي المستقبلية.

**الكلمات المفتاحية:** دَوّار الشمس، قرابة وراثية، AFLP، تحسين وراثي.

\*أستاذ مساعد في قسم علم الحياة النباتية، كلية العلوم، جامعة دمشق.

\*\*أستاذ مساعد في قسم علم الحياة النباتية، كلية العلوم، جامعة دمشق.

## Molecular characterization of commercial and introduced sunflower genotypes using AFLP technique

Dr. Loubna Mokrani\*

Dr. Kamal Al-Ashkar\*\*

### Abstract

One hundred and thirty nine AFLP markers were used to study 27 sunflower *Helianthus annuus* genotypes. The percentage of polymorphic markers ranged from 19.23% for E41M61 primer to 36.84% for E35M59, On the other hand Polymorphic Information Content (PIC) values were clearly close to each other with an average of 0.37.

Similarity analysis gave high values when both polymorphic and monomorphic markers are used. They ranged from 0.797 between 441 and Hysum33 to 0.985 between Ghab4 and Ghab5. However, using only polymorphic markers notably decreased the similarity factor, especially between 441 and Hysum33 (0.156). Statistical analysis using Paired groups algorithm and Jaccard index showed some clusters like Ghab group, which also included Madakh Halab and Sfira Halab, this could be explained by a common ancestor. Results presented in this work indicate a high genetic diversity among genotypes and suggest on a molecular basis the best parents for future breeding programs.

**Key words:** Sunflower, genetic relationship, AFLP, breeding.

---

\* Assistant professor, Department of Plant Biology, Faculty of sciences, Damascus University.

\*\* Assistant professor, Department of Plant Biology, Faculty of sciences, Damascus University.

**مقدمة:**

دوار الشمس أحد أهم مصادر الزيت في العالم، فهو نبات حولي يزرع خصيصاً من أجل زيتته الذي تتراوح نسبته في البذور بين 40% و50% (Skoric and Marinkovic, 1986). استغرق تطور زراعة دوار الشمس سنوات عديدة غير أنه لم يعرف ازدهاراً إلا بعد اكتشاف ظاهرة العقم النووي- السيتوبلازمي (Leclercq, 1969) التي سهّلت إنتاج معظم الأصناف الحالية وتحسينها (Vear, 1997). تهدف معظم برامج التحسين الوراثي إلى زيادة إنتاجية هذا النبات، بالإضافة إلى زيادة نسبة الزيت وجودته. لذلك فإن دراسة الأنماط الوراثية المتوفرة دراسة كاملة تعدّ أساسية قبل الشروع في أي برنامج تحسين وراثي.

برهنت تقنيات البصمة الوراثية عبر سنوات من استخدامها في التحليل الجزيئي على دقتها في دراسة التنوع الوراثي، ولقد اعتمدت عليها أبحاث كل من (Gentzbittel et al. 1994, Iqbal et al. 2008)، وغيرهم ممن اهتموا بنبات دوار الشمس بشكل خاص. استخدمت المؤشرات الجزيئية (الماركرات) الناتجة عن تقنيات البصمة المختلفة في إنشاء عدد من الخرائط الوراثية لهذا النبات وفي الاصطفاء المعتمد على المؤشرات الجزيئية Marker Assisted Selection (MAS) عن طريق تحليل مواقع الصفات الكمية (QTL) Quantitative Trait Loci (Tang et al. 2006; Wills and Burke, 2007) analysis). تختلف تقنيات البصمة الوراثية من حيث كمية الدنا DNA المطلوبة؛ إذ تحتاج التقنيات التي لا تعتمد على التضخيم المخبري (PCR) Polymerase Chain Reaction إلى كمية أكبر من الدنا، كما تختلف عن بعضها في مستوى الصعوبة والمهارة المطلوبة، وكذلك المراحل والزمن الذي تستغرقه كلّ منها، التكلفة ... إلخ. غير أنه بتوفّر جميع الإمكانيات المخبرية تبقى الميزة الأساسية الأكثر تأثيراً في اختيار تقنية معينة هي عدد المؤشرات الجزيئية التي تعطيها ودرجة التباين الشكلي (التعدد الشكلي) Polymorphism الذي تظهره.

تمتاز تقنية تباين أطوال القطع المضخمة Amplified Fragment Length Polymorphism (AFLP) (Vos et al. 1995) بالعدد الكبير من المؤشرات الجزيئية التي

تنتجها وبقدرتها العالية على إظهار التباين بين الأفراد، كما أنّها مؤشرات تغطي المادة الوراثية بشكل كامل ومتجانس ولا تتركز في مناطق معينة كما هو الحال في تقنية مكررات السلاسل البسيطة (Simple Sequence Repeats (SSR). استخدمت تقنية AFLP في إنشاء خرائط وراثية لدوّار الشمس والكشف عن المورثات والطفرات ومواقع الصفات الكميّة (Flores Berrios et al. 2000; Mokrani et al. 2002)، كما استخدمت أيضًا في التصنيف النباتي وفي دراسة التنوّع الوراثي لدى العديد من الأنواع النباتية (Li et al. 2019; Nurmansyah et al. 2020). توجد معايير مختلفة لتقييم درجة التباين Polymorphism، من بينها Polymorphism Information Content (PIC)، التي تختلف قيمها الحديثة ومعادلاتها حسب نوع المؤشرات الجزيئية (سائدة dominant مثل تقنية AFLP أو ذات سيادة مشتركة Codominant مثل RFLP و SSR). تكشف قيم PIC عن قدرة التقنيات المختلفة وكذلك المرئسات (البادئات أو البرايمرات) على إظهار الاختلافات بين الأفراد، كما جاء في العديد من الأبحاث (Garcia et al. 2004; Hou et al. 2005; Lacape et al. 2007; Laurentin and Karlovsky, 2007)، إذ تسمح التقنيات والبادئات القادرة على كشف التباين عند وجوده فعليًا بدراسة ذات مصداقية في جميع المجالات المذكورة سابقًا كالتنوّع الوراثي أو إنشاء الخرائط الوراثية... إلخ. يمكن التعبير عن التنوّع الوراثي بمعامل التشابه Similarity أو قيم عدم التوافق Percent Disagreement Values (PDVs) وبشجرة القرابة التي تبرز التكتلات أو العناقيد والعلاقة بين أفرادها. تكون قيم التشابه أو عدم التوافق أقرب إلى الواقع عند استخدام التقنيات المناسبة؛ إذ يمكن لتقنية ذات قيم PIC منخفضة أن تطمس الاختلافات بين الأفراد وتؤدي إلى استنتاجات مغلوطة.

يهدف هذا البحث إلى دراسة القرابة الوراثية بين مجموعة من الطرز الوراثية لدوّار الشمس بغية انتقاء الآباء الأكثر ملاءمة لبرامج التحسين الوراثي، وذلك بناءً على نتائج التحليل الجزيئي لها.

## 1. المواد والطرائق

## المادة النباتية:

استخدم 27 طرزاً وراثياً لدوار الشمس، 18 منها من الهيئة العامة للبحوث العلمية الزراعية، حيث يعمل على ألقمتها وتربيتها، في حين تنتشر باقي الطرز في الأسواق المحلية لمناطق مختلفة من سورية (حلب 4 طرز، الغاب 5 طرز) (جدول 1).

الجدول(1) الطرز الوراثية المستخدمة، أصولها ومصادرها

الترز الوراثية	رمز الطرز	الأصل	المصدر
بلدي حلب	A	حلب	السوق المحلي-حلب
برازيلي	B	البرازيل	السوق المحلي-حلب
سرغايا ٤	C	محلي	الهيئة العامة للبحوث العلمية الزراعية
تركبيي القنيطرة	D	محلي	الهيئة العامة للبحوث العلمية الزراعية
Hysum33	E	استرالي	الهيئة العامة للبحوث العلمية الزراعية
434	F	يوناني	الهيئة العامة للبحوث العلمية الزراعية
436	G	يوناني	الهيئة العامة للبحوث العلمية الزراعية
440	H	يوناني	الهيئة العامة للبحوث العلمية الزراعية
441	I	يوناني	الهيئة العامة للبحوث العلمية الزراعية
443	J	يوناني	الهيئة العامة للبحوث العلمية الزراعية
KASOL	K	إيطالي	الهيئة العامة للبحوث العلمية الزراعية
7182	L	يوناني	الهيئة العامة للبحوث العلمية الزراعية
7183	M	يوناني	الهيئة العامة للبحوث العلمية الزراعية
7184	N	يوناني	الهيئة العامة للبحوث العلمية الزراعية
7185	O	يوناني	الهيئة العامة للبحوث العلمية الزراعية
7186	P	يوناني	الهيئة العامة للبحوث العلمية الزراعية
7189	R	يوناني	الهيئة العامة للبحوث العلمية الزراعية
7190	S	يوناني	الهيئة العامة للبحوث العلمية الزراعية
7191	T	يوناني	الهيئة العامة للبحوث العلمية الزراعية
7192	U	يوناني	الهيئة العامة للبحوث العلمية الزراعية
عاب ١	W1	محلي	السوق المحلي-الغاب
عاب ٢	W2	محلي	السوق المحلي-الغاب
عاب ٣	W3	محلي	السوق المحلي-الغاب
عاب ٤	W4	محلي	السوق المحلي-الغاب
عاب ٥	W5	محلي	السوق المحلي-الغاب
سفيرة حلب	X	محلي	السوق المحلي-حلب
مصنخ حلب	Y	محلي	السوق المحلي-حلب

## التحليل الجزيئي

### استخلاص الدنا

جرى استخلاص الدنا وفق بروتوكول (Doyle *et al* 1987).

### تقنية AFLP

أجريت تقنية AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism) في مخبر المؤشرات الجزيئية (قسم البيولوجيا الجزيئية والتقانة الحيوية، هيئة الطاقة الذرية)، وفق بروتوكول Analysis System-I and AFLP Starter Primer Kit من Invitrogen، الذي يعتمد على مرحلتين للتضخيم باستخدام مرئسات MseI و EcoRI (Vos *et al.* 1995). استخدم 250ng من الدنا DNA من أجل القطع Restriction وربط الموائمات Adapter ligation. تمّت جميع التفاعلات في جهاز PCR gradient (BIO-RAD)، كما تمّ التضخيم الابتدائي Preamplification باستخدام مرئسات ذات نيكليوتيد اختياري واحد، ثمّ استخدمت مرئسات ذات ثلاثة نيكليوتيدات إضافية في مرحلة التضخيم النهائي (الاختياري) Selective amplification. أضيف حجم مساوٍ من صبغة الفورماميد إلى نواتج التضخيم والدنترة لمدة 3 دقائق عند درجة حرارة 90°C، ثمّ أجري الرحلان الكهربائي لـ 5µl من الدنا أحادي السلسلة الناتج على هلامة أكريلاميد 6% باستخدام جهاز الرحلان الكهربائي Sequi-Gen® GT (BIO-RAD) Nucleic Acid Electrophoresis Cell ذي الأبعاد 38X50cm، وذلك بواسطة تيار كهربائي استطاعته 80W لمدة ساعتين ونصف. تمّ الكشف عن حزم الدنا باتباع مراحل الصبغ بنترات الفضة، وتمّت قراءة النتائج بوضع 1 لوجود الحزمة و 0 لغيابها، وذلك مباشرة بعد تجفيف الهلامات على الألواح الزجاجية لجهاز الرحلان الكهربائي.

### الدراسة الإحصائية:

تمّ حساب قيم PIC (Polymorphism Information Content) وفق معادلة المؤشرات الجزيئية السائدة (Rolda-Ruiz *et al.* 2000)، كما يلي:  $PIC_i = 2fi(1-fi)$ ، حيث  $PIC_i$

هي درجة التباين بين الطرز من أجل المؤشر الجزيئي  $f_i$ ،  $i$  تكرارية الحزم الموجودة و  $1-f$  تكرارية الحزم الغائبة. للمؤشرات الجزيئية السائدة قيمة حدية هي 0.5، أي عندما يحتوي نصف الأفراد على حزم موجودة ويحتوي النصف الآخر على حزم غائبة، من أجل كل مرئسة. حُسب معامل التشابه Similarity وفق دليل Jaccard، وإنشاء شجرة القرابة وفق دليل Jaccard ومعامل التشابه، وذلك باتباع خوارزمية مجموعات الأزواج Paired groups algorithm، باستخدام البرنامج الإحصائي Past Version 1.9.

## 2. النتائج:

استخدم في هذه الدراسة 27 طرازاً وراثياً من أصول ومصادر مختلفة، منها ما تم إكثاره محلياً، ومنها المدخل الذي ما يزال في طور الدراسة والإكثار (جدول 1).

### نتائج التحليل الجزيئي:

أعطى التحليل الجزيئي لهذه الطرز الوراثة 139 مؤشراً جزيئياً، وذلك باستخدام 6 مرئسات EcoRI+3 و MseI+3 خاصة بتقنية AFLP. تم تكوين 9 أزواج أو توفيقات Combinations من هذه المرئسات من أجل التضخيم الاختياري والنهائي للدنا. يوضح الجدول 2 أسماء هذه المرئسات وتسلسلاتها.

الجدول (2) المرئسات المستخدمة في التضخيم النهائي لتقنية AFLP وتسلسلاتها

المرئسات	الترميز العالمي	التسلسل النكليوتيدي
EcoRI + ACA	E35	5'-GACTGCGTACCAATTCACA-3'
EcoRI + ACC	E36	5'-GACTGCGTACCAATTCACC-3'
EcoRI + AGG	E41	5'-GACTGCGTACCAATTCAGG-3'
MseI + CAT	M50	5'-GATGAGTCCTGAGTAACAT-3'
MseI + CTA	M59	5'-GATGAGTCCTGAGTAACTA-3'
MseI + CTG	M61	5'-GATGAGTCCTGAGTAACTG-3'

أعطت 4 أزواج من المرئسات مؤشرات جزيئية معظمها متماثل (وحيد الشكل) Monomorphic بين الأفراد (الحزم موجودة لدى جميع الأفراد) بالإضافة إلى مؤشرات جزيئية متباينة Polymorphic (حزم موجودة عند بعض الأفراد وغير موجودة عند بعضهم الآخر)، وهذه الأخيرة هي الأهم في دراسة القرابة الوراثية.

تراوح عدد المؤشرات الجزيئية الذي أظهرته المرئسات من 30 (E35M50) إلى 40 (E36M59) وقد أعطت المرئسة E41M61 أقل عدد من المؤشرات المتباينة (5) بنسبة 19.23% من مجموع مؤشرات هذه المرئسة، في حين وُجدت أعلى قيمة (14) لدى المرئسة E35M59، ما نسبته 36.84% من مجموع المؤشرات الجزيئية لهذه المرئسة. سجّلت جميع المرئسات قيمًا عاليةً للتماثل بنسب تتراوح بين 63.15% (E35M50) و 80.77% (E41M61) (جدول 3).

بالمقابل كانت قيم PIC متقاربة جدًا بين جميع المرئسات، بمتوسط قدره 0.37 (جدول 3).

الجدول (3) نتائج التحليل الجزيئي باستخدام تقنية AFLP وقيم PIC

أزواج المرئسات	عدد المؤشرات المتباينة	% التباين	عدد المؤشرات المتماثلة	% التماثل	مجموع المؤشرات	PIC
E35M59	14	36.84	24	63.15	38	0.374
E35M50	9	30	21	70	30	0.355
E41M61	5	19.23	26	80.77	31	0.374
E36M59	9	22.5	31	77.5	40	0.379
<b>المجموع</b>	<b>37</b>	<b>-</b>	<b>102</b>	<b>-</b>	<b>139</b>	<b>-</b>
<b>المتوسط</b>	<b>9.25</b>	<b>27.14</b>	<b>25.5</b>	<b>72.85</b>	<b>34.75</b>	<b>0.370</b>

### نتائج القرابة الوراثية:

#### - باستخدام المؤشرات الجزيئية المتباينة والتماثلة:

دُرس التشابه الوراثي Genetic similarity بين طرز دوار الشمس مثنى مثنى، وأعطت النتائج قيمة عالية (أكثر من 0.79) بالنسبة لجميع الثنائيات. وصلت أعلى قيمة لمعامل التشابه إلى 0.985 (المؤطر شكل 1) بين غاب 4 وغاب 5، وكانت القيم بين طرز الغاب متقاربة جدًا بشكل عام (أدنى قيمة 0.919). بلغت ثاني أعلى قيمة لمعامل التشابه 0.978 بين الطرازين الحلبيين مضخ حلب وسفيرة حلب، وشوهدت القيمة نفسها بين غاب 1 ومضخ حلب. بالمقابل سُجّلت أدنى قيمة لمعامل التشابه 0.797 (المؤطر شكل 1) بين الطراز الأسترالي Hysum33 واليوناني 441. ثاني أدنى قيمة كانت 0.819 (المؤطر شكل 1) وتم تسجيلها في موضعين، بين الطراز المحلي تركيبتي القنيطرة والطراز اليوناني 441، وبين الطرازين 7190 و 441 اليونانيين.

وبالنظر إلى شجرة القرابة نلاحظ تجمع طرز منطقة الغاب بشكل واضح (شكل 2)، وقد ضمن العنقود cluster الذي يشمل طرز منطقة الغاب الطرازين الحلبيين مضخ حلب وسفيرة حلب أيضًا. لم تفصل باقي العناقيد بشكل عام بين أصول الطرز الوراثية، باستثناء تجمعين صغيرين لبعض الطرز اليونانية مثل (7184، 7185، 7190) و (434، 436، 7182، 7183). بدت بعض الطرز الوراثية اليونانية مستقلة عن العناقيد الكبيرة، وهي 441، 440 و 7186، بالإضافة إلى الطراز المحلي بلدي حلب والطراز البرازيلي.

#### - باستخدام المؤشرات الجزيئية المتباينة فقط:

أدى استخدام المؤشرات الجزيئية المتباينة فقط إلى انخفاض كبير في قيم معامل التشابه ولا سيما بين 441 و Hysum33 (0.156) وبين 441 وكل من تركيبتي القنيطرة و (0.25) 7191. أما قيم التشابه بين الطرز التي كانت قريبة وراثيًا من بعضها في التحليل السابق فلم تتغير كثيرًا؛ إذ شوهدت أعلى قيمة (0.933) بين غاب 1 ومضخ حلب، في حين أصبحت 0.925

بين غاب4 وغاب5، و0.906 بين سفيرة حلب ومضخ حلب (شكل3). وبالنسبة لشجرة القرابة لم تتغير التجمعات وأشكال العناقيد على الرغم من الترتيب المختلف لمواقع الطرز الوراثية على الشجرة (شكل4).

### 3. المناقشة:

تعتمد برامج التحسين الوراثي على دراسات متعددة الجوانب بوصفها خطوة أولى تهدف إلى اختيار الآباء. وتختلف هذه الدراسات حسب الصفات المراد اصطفاؤها واجتماعها في السلالات أو الهجن النهائية. تكمن أهمية الدراسة الجزيئية في اعتمادها على العمق الوراثي للأفراد مما يميزها بالدقة والمصداقية لأنها لا تتأثر بالظروف البيئية وغير مقيدة بصفات محددة ومحدودة (Rasmussen, 2020, Salgotra and Stewart 2020).

يقدم هذا النوع من الدراسات الجزيئية بالنسبة لبرامج التربية إيجابيتين مهمتين: أولاً ترشيح آباء بعيدين وراثياً من أجل الحصول على تنوع وغنى وراثي أكبر لدى النسل الناتج، وثانياً تأمين بدائل عن تلك الآباء ضمن الأفراد القريبة وراثياً منها. لذلك يتم التركيز على التنوع الوراثي (Swarrup et al. 2019) وعلى الأفراد الأكثر بعداً والأكثر قرباً في نتائج التماثل وشجرة القرابة (Mokrani et al. 2012).

تتميز تقنية AFLP بإنتاج عدد كبير من المؤشرات الجزيئية، بالإضافة إلى تكراريتها العالية وقدرتها على إظهار التباين نتيجة توزع مؤشراتنا على كامل الجينوم (Hasnain and Mehvish, 2020)، وقد كانت نتائجنا مؤكدة لذلك؛ إذ أظهرت المرشحات المستخدمة في التحليل الجزيئي لـ 27 طرازاً وراثياً من دَوّار الشمس ما بين 30 و40 مؤشراً جزيئياً تم اختيارها بدقة على أساس الوضوح من حيث الوجود والغياب. وكان مجموع المؤشرات 139 أغلبها متماثل كما كان متوقعاً، فهي طرز وراثية تنتمي للنوع نفسه *Helianthus annuus*. تراوحت نسب التباين بين 19.23% و36.84% في حين أعطت النتائج قيم PIC مقارنة معدّلاًها 0.37 (جدول3). وُجدت قيم تماثل قريبة جداً من نتائجنا في دراسة على نبات زيتي آخر وهو

فول الصويا؛ إذ كانت أدنى نسبة للتماثل 19.8% وأعلىها 34.6% (Bonato et al. 2006)، وذلك باستخدام 6 أزواج من مرئسات AFLP. تُظهر نسبة التباين Polymorphism نسبة المؤشرات التي تبدي اختلافات بين الأفراد (قلّت أو كثرت) في حين تعبّر قيمة PIC عن درجة الاختلاف بين الأفراد، فهما معياران متكاملان للإحاطة بأشكال التباين المراد الكشف عنها. في دراسة سابقة على دوار الشمس (Mokrani, 2020) أظهرت تقنيتي RAPD و ISSR اللتين تعطيان مؤشرات جزيئية سائدة أيضًا قيم PIC منخفضة جدًا معدّلتها 0.12 و 0.02 على التوالي، ما يبرز أفضلية واضحة لتقنية AFLP.

تعتمد دراسة التشابه الوراثي Similarity على المؤشرات المتباينة Polymorphic والمتماثلة Monomorphic معًا؛ إذ يُؤخذ بعين الاعتبار التشابه والاختلاف بين الأفراد. غير أنّ العدد الكبير من المؤشرات الجزيئية المتماثلة الناتجة عن دراسة أفراد ينتمون إلى النوع نفسه يعطي قيمًا عالية للتشابه بشكل قد لا يُظهر بوضوح الفروق الوراثية بينها. يجدر في هذه الحالة القيام بتحليلين إحصائيين، الأول باستخدام المؤشرات الجزيئية المتماثلة والمتباينة، والثاني باستخدام المتباينة فقط.

حُسبت قيم التشابه الوراثي بين الأفراد وفق خوارزمية مجموعات الأزواج Paired groups التي تعتمد على مقارنة وجود حزم الدنا وغيابها لدى الأفراد مثني مثني، ومن ثمّ إنشاء شجرة القرابة على هذا الأساس.

تراوح التشابه بين الطرز الوراثية في التحليل الإحصائي الأول (المؤشرات المتباينة والمتماثلة) بين 0.797 و 0.985. سجّلت ثاني أدنى قيمة للتماثل بين الطرازين 441 و 7190 اليونانيين، وأيضًا بين 441 والطرز المحلي تركيبي قنيطرة، وبناء على هذه النتائج يُعتبر 441 خيارًا مثاليًا كأحد الآباء لبعده عن عدد من الطرز الوراثية. يمكن اختيار الأب الثاني من بين الطرز الثلاثة Hysum33، 7190 وتركبيبي قنيطرة، مع أفضلية Hysum33 لأنه الأبعد وراثيًا عن 441. تجدر الإشارة إلى ضرورة الأخذ بعين الاعتبار نتائج أي دراسة أو اختبارات أجريت

على هذه الطرز الأربعة (441، 7191، تركيب قنيطرة و Hysum33)، أو التوصية بإجرائها دعماً للخيارات المبنية على أساس جزيئي.

يُعتبر النسل الناتج عن أبوين بعيدين وراثياً مثالياً لإنشاء الخرائط الوراثية والبحث عن مواقع وراثية للصفات ذات الأهمية، ومن ثمّة الاصطفاء المعتمد على المؤشرات الجزيئية Marker Assisted Selection (MAS) المعروف بدقته الكبيرة واختصاره للزمن والجهد مقارنة مع طرق التربية الكلاسيكية.

بالمقابل كانت قيم التشابه عالية جداً بين طرز منطقة الغاب؛ إذ شوهدت أعلى قيمة للتشابه 0.985 بين غاب 4 وغاب 5. وُجدت القيمة نفسها (0.985) بين الطرازين الحلبيين مضخ حلب وسفيرة حلب، ما يُعزى إلى احتمال وجود آباء مشتركين سواء بالنسبة لطرز الغاب أو للطرازين الحلبيين سالف الذكر.

سمحت دراسة التشابه المعتمدة على المؤشرات المتباينة فقط بإبراز الاختلافات الوراثية عند وجودها، فقد انخفضت قيم التشابه بين الطرز البعيدة عن بعضها وراثياً انخفاضاً واضحاً إلى غاية 0.156، في حين بقيت قيم التشابه عالية جداً بين الطرز القريبة وراثياً من بعضها (0.933 كأعلى قيمة بين غاب 1 ومضخ حلب). وكانت هذه الأرقام مرةً أخرى قريبة جداً مما توصل إليه فريق Boneto؛ إذ ذكروا قيمةً متراوحة بين 0.17 و 0.97 (Boneto et al. 2006). تؤكد هذه النتائج أهمية المقارنة بين التحليلين الإحصائيين للتشابه؛ إذ سمح غياب المؤشرات المتماثلة بإبراز الاختلاف من ناحية، وتأكيد التشابه من ناحية أخرى. أظهرت مقارنة ثلاث معادلات لحساب دليل التشابه (Simple matching, Dice and Jaccard) أنّ قيم Jaccard كانت الأخفض مقارنة مع الدليلين الآخرين (Beharav et al. 2010).

لم تختلف شجرة القرابة المعتمدة على المؤشرات الجزيئية كاملة (شكل 2) عن تلك الناتجة عن المؤشرات المتباينة فقط (شكل 4)، وذلك فيما يتعلّق بالتجمّعات العنقودية؛ إذ تجمّعت بشكل خاص طرز منطقة الغاب في عنقود واحد، وتعتبر بذلك بدائل جيّدة عن بعضها. يجدر التنكير

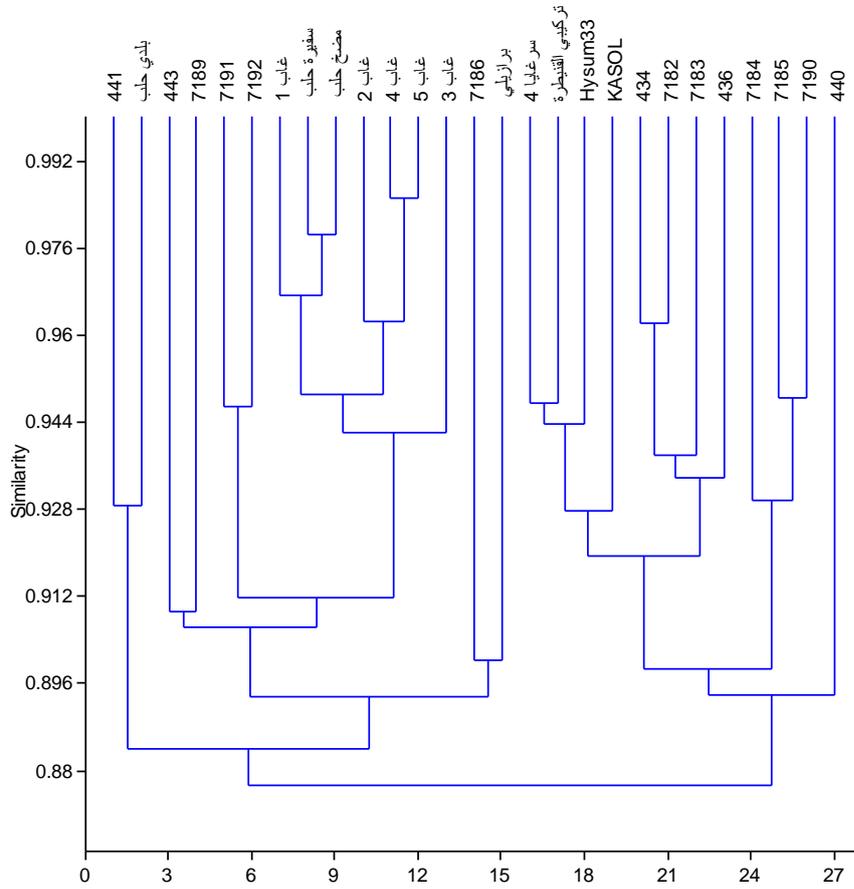
بدور المؤشرات المتماثلة في إعطاء قيم تشابه أقرب للحقيقة من ناحية وعدم تأثير غيابها على تجمعات الأفراد من ناحية أخرى، كما لاحظنا في هذه الدراسة، إذ لا يضيف التماثل التام للمؤشرات أي معلومات جديدة من شأنها إحداث تغيير في العناقيد.

أظهرت هذه الدراسة مستوى التنوع الوراثي الذي تميّزت به مجموعة من الطرز الوراثية لدوّار الشمس، كما قدّمت مقترحات بخصوص الآباء من أجل برامج التحسين الوراثي لهذا النبات. تدعم الدراسات الجزيئية الاختبارات الكلاسيكية، وتمنح غنى وراثيًا في النسل، ما يتيح الفرصة لربح وراثي جديد.

#### الاستنتاجات:

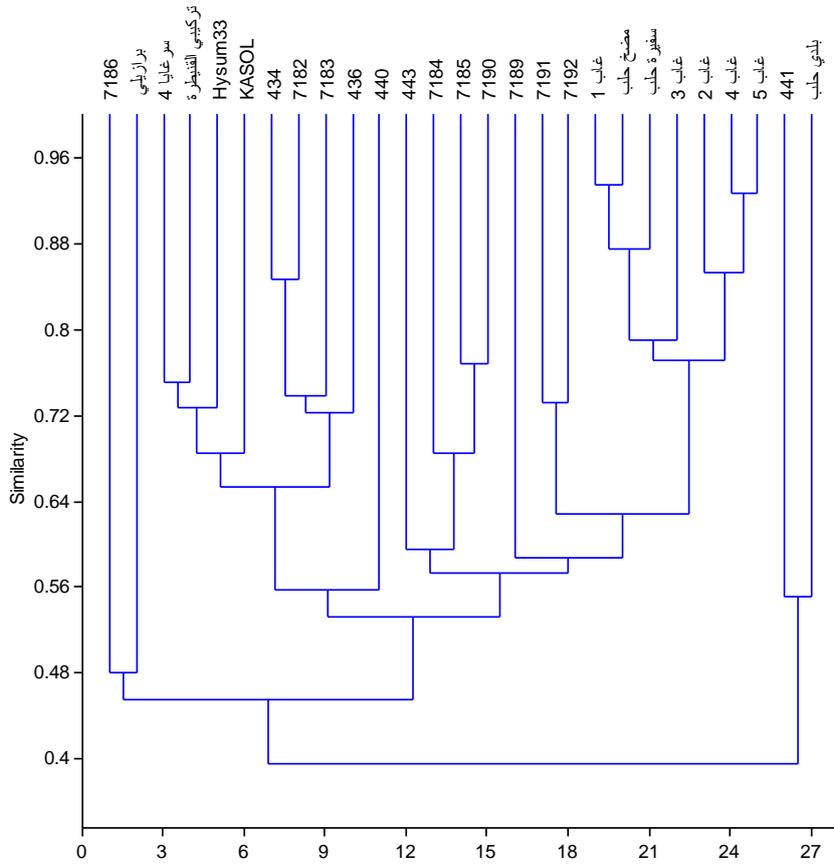
- أعطت دراسة التشابه الوراثي لـ 27 طرازًا وراثيًا لنبات دوّار الشمس باستخدام مؤشرات جزيئية متباينة ومتماثلة معًا قيمًا عالية للتشابه، كان أعلاها بين طرز الغاب، والطرز الحليبين مضخ حلب وسفيرة حلب، وهذا متوقّع لكون الطرز المشار إليها محلية. بالمقابل كانت أدنى قيمة لمعامل التشابه بين الطرازين Hysum33 أسترالي الأصل و441 يوناني الأصل.
- تجمعت طرز منطقة الغاب والطرز الحليبين مضخ حلب وسفيرة حلب ضمن عنقود واحد، وهذا يظهر مدى القرابة الوراثية بين الطرز المحلية.
- أعطت دراسة التشابه الوراثي لـ 27 طرازًا وراثيًا لنبات دوّار الشمس باستخدام مؤشرات جزيئية متباينة فقط انخفاضًا كبيرًا في قيم معامل التشابه، لا سيما بين الطرز 441 وHysum33 وبين 441 وتركيب القنيطرة. أمّا قيم التشابه بين الطرز التي كانت متقاربة وراثيًا لدى استخدام المؤشرات الجزيئية المتباينة والمتماثلة فلم يتغيّر كثيرًا، ولم تتغيّر شجرة القرابة أيضًا، لا سيما تركيب العناقيد على الرغم من بعض الاختلافات في مواقع الطرز الوراثية.
- أكّدت تقنية AFLP على تميّزها بإنتاج عدد كبير من المؤشرات الجزيئية وقدرتها على إظهار التباين بين الطرز الوراثية المدروسة.





الشكل (2) شجرة القرابة باستخدام المؤشرات المتباينة والمتماثلة معاً وفق خوارزمية مجموعات الأزواج Paired groups algorithm، وقيم معامل التشابه حسب دليل Jaccard، باستخدام Past Version 1.91.





الشكل (4) شجرة القرابة باستخدام المؤشرات المتباينة فقط وفق خوارزمية مجموعات الأزواج Paired groups algorithm، وقيم معامل التشابه حسب دليل Jaccard، باستخدام Past Version 1.91.

## المراجع

- 1- Beharav A, Maras M, Kitner M, Šuštar-Vozlič J, Sun G L, Doležalová L, Lebeda A, and Meglič V. 2010. Comparison of three genetic similarity coefficients based on dominant markers from predominantly self-pollinating species. *Biologia Plantarum*, 54 (1): 54-60.
- 2- Bonato A L V, Calvo E S, Geraldi I O, Arias A A. 2006. Genetic similarity among soybean (*Glycine max* (L) Merrill) cultivars released in Brazil using AFLP markers. *Genetics and Molecular Biology*, 29, 4, 692-704.
- 3- Doyle JJ and Doyle JL. 1987. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochemical Bulletin* 19:11–15.
- 4- Flores Berrios E, Gentzbittel L, Kayyal H, Alibert G and Sarrafi A. 2000. AFLP mapping of QTLs for in vitro organogenesis traits using recombinant inbred lines in sunflower (*Helianthus annuus* L). *Theor Appl Genet.*, 101:1299–1306.
- 5- Garcia, A.A.F., Benchimo, L.L., Barbosa, A.M.M., Geraldi, I.O., Souza, C.L., and de Souza, A.P. 2004. Comparison of RAPD, RFLP, AFLP and SSR markers for diversity studies in tropical maize inbred lines. *Genet. Mol. Biol.*, Vol. 27, No. 4, pp. 1415-4757.
- 6- Gentzbittel L, Zhang YX, Vear F, Griveau B and Nicolas P. 1994. RFLP studies on genetic relationships among inbred line of the cultivated sunflower, *Helianthus annuus* L.: evidence for distinct restorer and maintainer germplasm pools. *Theor Appl Genet.*, 89:419–425.
- 7- Hasnain H and Mehvish N. 2020. Assessment of plant genetic variations using molecular markers: A review. *Journal of Applied Biology & Biotechnology*, 8(05):99-109
- 8- Herve D, Fabre F, Flores Berrios E, Leroux N, Al Chaarani G, Planchon C, Sarrafi A and Gentzbittel L. 2001. QTL analysis of photosynthesis and water status traits in sunflower (*Helianthus annuus* L) under greenhouse conditions. *J Exp Bot.*, 52:1857–1864.
- 9- Hou, Y.C., Yan, Z.H., Wei, Y.M., and Zheng, Y.L. 2005. Genetic diversity in barley from west China based on RAPD and ISSR analysis. *Barley Genetics Newsletter*, 35, pp. 9-22.

- 10-Iqbal MA, Sadaqat HA and Khan I A. 2008. Estimation of genetic diversity among sunflower genotypes through random amplified polymorphic DNA analysis, *Genetics and Molecular Research*, 7 (4): 1408-1413.
- 11-Lacape, M., Dessauw, D., Rajab, M., Noyer, J.L., and Hau, B. 2007. Microsatellite diversity in tetraploid *Gossypium* germplasm: assembling a highly informative genotyping set of cotton SSRs, *Mol. Breeding*, 19, pp. 45-58.
- 12-Laurentin, H., and Karlovsky, P. 2007. AFLP fingerprinting of sesame (*Sesamum indicum* L.) cultivars: identification, genetic relationship and comparison of AFLP informativeness parameters, *Genet. Resour. Crop. Evol.*, 54, pp.1437–1446.
- 13-Leclercq P. 1969. Une stérilité cytoplasmique chez le tournesol. *Ann. Amélior. Plant*, 19: 99-106.
- 14-Li B, Wang A, Zhang P, and Li W. 2019. Genetic diversity and population structure of endangered *Glehnia littoralis* (Apiaceae) in China based on AFLP analysis. *Biotechnology & Biotechnological equipment*, VOL. 33, NO. 1, 331–337
- 15-Mokrani L, Gentzbittel L, Azanza F, Fitamant L, Al-Chaarani G and Sarrafi A. 2002. Mapping and analysis of quantitative trait loci for grain oil content and agronomic traits using AFLP and SSR in sunflower (*Helianthus annuus* L.). *Theor Appl Genet.*, 106:149–156.
- 16-Mokrani L, Jawdat D, Esselti M N, Fawaz I, Al-Faouri. 2012. Molecular characterization of Syrian commercial and introduced cotton germplasm using AFLP and SSR for breeding applications. *Journal of Plant Biology Research*, 1(2): 65-75.
- 17-Mokrani L. 2020. Genetic diversity in sunflower (*Helianthus annuus* L.) using RAPD and ISSR techniques. *Damascus University Journal*, 36 (1): 393-418.
- 18-Nurmansyah S S, Alghamdi H M, Migdadi M A K, and Afzal M. 2020. AFLP based analysis of variation and population structure in mutagenesis induced faba bean. *Diversity*, 12, 303, 14p.
- 19- Rasmussen S K. 2020. Molecular Genetics, Genomics, and Biotechnology in Crop Plant Breeding. *Agronomy*, 10, 439.

- 20-Rolda'n-Ruiz I, Dendauw J, VanBockstaele E, Depicker A, and De Loose M. 2000. AFLP markers reveal high polymorphic rates in ryegrasses (*Lolium spp.*), *Mol Breed*, 6:125-134.
- 21- Salgotra R K, Stewart N. 2020. Functional Markers for Precision Plant Breeding. *Int. J. Mol. Sci.*, 21, 4792.
- 22-Skoric D and Marinkovic R. 1986. Most Recent Results in Sunflower Breeding. *International Symposium on Sunflower*. Budapest, 118-119.
- 23-Swarup S, Cargill E J, Joel Kniskern L F, Glenn K C. 2021. Genetic diversity is indispensable for plant breeding to improve crops. *Crop Science*: 1–14.
- 24-Tang S, Alberto L, William C. Bridges, and Steven J. Knapp. 2006. Quantitative Trait Loci for Genetically Correlated Seed Traits are Tightly Linked to Branching and Pericarp Pigment Loci in Sunflower *Shunxue Crop Sci*, 46:721–734.
- 25-Vear F. 1997. La g n se d'une grande culture. *Ol oscope n 42*, CETIOM Edition : 9 et 10.
- 26-Vos P, Hogers R, Bleeker M, Reijans M, Van De Lee T, Hornes M, Frijters A, Pot J, Peleman J, Kuiper M and Zabeau M. 1995. AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. *Nucleic Acids Res*, 23: 4407-4414.
- 27-Wills DM and Burke JM. 2007. Quantitative Trait Locus Analysis of the Early Domestication of Sunflower Genetic Analysis of Seed-Oil Concentration across Generations and Environments in Sunflower. *Genetics*, 176: 2589–2599.