التوصيف الشكلي والجزيئي لبعض أصناف الفليفلة المحلية في سوريا

لمى علون[1] و بسام أبو ترابي[2] و خالد المحمد[3] و عبد الرحمن كلحوت[1] و سها أشتر[1]

[1] الهيئة العامة للبحوث العلمية الزراعية، مركز بحوث حلب، سوريا

[2] قسم علوم البستنة، كلية الزراعة، جامعة دمشق، سوريا

[3] قسم البساتين، كلية الزراعة، جامعة حلب، سوريا

الملخص:

أجري التوصيف الشكلي للصفات الكمية والتوصيف الجزيئي باستخدام تقنية التتابعات القصيرة المتكررة Short Sequence Repeat (SSR) لأربعة عشر صنفاً محلياً من الفليفلة (Capsicum annuum L.) خلال عامي 2008- 2009 في حلب، سوريا. كان كلا الصنفين 2 (حماة) و 9 (حلب) الأبكر لجميع مؤشرات التبكير في النضج، وأفضل صنفين لصفة طول الثمرة في مرحلتي النضج الاستهلاكي والبيولوجي هما 6 (حلب) و 14 (حماة). كان الصنف 4 (حلب) أفضل الأصناف بالنسبة لصفتي وزن 10 ثمرات وإنتاجية النبات في مرحلتي النضج الاستهلاكي والبيولوجي. انقسمت الأصناف إلى مجموعتين رئيسيتين وذلك عند التحليل العنقودي للتوصيف الشكلي والتوصيف الجزيئي، ووجد اختلاف بين التوصيف الشكلي والتوصيف الجزيئي إلا أن نسبة التشابه بين الصنفين 3 و10 كانت متقاربة وبلغت في التوصيفين بالترتيب (0.97 و0.86).

الكلمات المفتاحية: الفليفلة، التوصيف الشكلي، التوصيف الجزيئي، تقنية التوابع المتسلسلة (SSR)، معامل التشابه.

المقدمة:

هناك زيادة كبيرة في انتشار نبات الفليفلة ذو الألوان والأشكال المتعددة والتي تنتشر بشكل واسع في العالم وذلك تبعاً للاستخدامات المتنوعة لنبات الفليفلة كما هو الحال في أجناس Capsicum. تستهلك ثمار الفليفلة إما طازجة أو مجففة لاستخدامها كتوابل. كما يعتبر نبات الفليفلة (Capsicum annuum L.)أحد أهم محاصيل الخضار التابعة للفصيلة الباذنجانية Solanaceae. تستخدم التقانات الحيوية في الفليفلة

لاستنباط أصناف جديدة، وذلك ضمن إدخالها في برامج التربية لرسم الخرائط الوراثية وتقييم المصادر الوراثية. توجد عدة مجالات في التقنية الحيوية تهدف إلى تطوير أصناف الفليفلة المحسنة (Bosland and Votava, 2000). تعتبر معظم أنواع الفليفلة ثنائية الصيغة الصبغية، 24 كروموزوم (2n= 2x = 24) (Lanteri and Pickersgill, 1993). أجريت تجربة حقلية لتحديد صفات الأصناف وارتباط الصفات في الفليفلة الحريفة من قبل Tembhurne *et al.*,(2008) خلال عامي 2004 - 2005، حيث استخدم 11 سلالة متفوقة حصل عليها من محطة بحوث الفليفلة الحريفة في ديفيسور، فوجد أن أعلى قيمة للإنتاج الجاف/هـ في السلالة 9626- 6- 1 (12.75 كغ/هـ)، بينما سجل الصنف HCS G1 أعلى إنتاجية للهكتار خلال عام 2004، ويعزى ذلك إلى تحقيق أعلى قيمة لعدد الثمار/النبات وعرض الثمرة والإنتاجية/النبات. درس Bozokalfa *et al.*, (2009) الاختلاف الظاهري للصفات النوعية والكمية في منطقة أزمير لـ 48 طراز وراثي متضمنة سلالات المجمع الوراثي في تركيا والأصناف التجارية خلال عامي 2004 و2005. وصفّت المدخلات حسب 67 صفة زراعية بدءً من البادرات حتى نضج المحصول، ثم أُجري التحليل العنقودي للصفات الشكلية مما أعطى سبعة مجموعات اعتماداً على الصفات الشكلية والزراعية. وصف Keles *et al.*, (2004) 70 طراز وراثي من الفليفلة جمعت من المنطقة الساحلية في تركيا، حيث انقسمت الأصناف إلى ثمانية مجموعات عنقودية بالاعتماد على شكل الورقة والثمرة ووزن 1000 بذرة، أجرى Thul *et al.*, (2009) دراسة لتقدير الاختلافات الظاهرية لـ 24 مدخل الفليفلة تنتمي إلى 6 أصناف من الفليفلة تم جمعها من مناطق بيئية مختلفة موجودة في CIMAP بنك المورثات الموجود في الهند، حيث انقسمت المدخلات وفق قيم تحليل 12 صفة نوعية وكمية إلى ستة مجموعات عنقودية. طور Minamiyama (2006) *et al.*, مؤشرات SSR تفيد في التهجينات النوعية في C.annuum واستخدمها في بناء خريطة ترابط وتحديد صفاتها، حيث قام ببناء أربعة مكتبات وراثية غنية بمؤشرات SSR من DNA الوراثي للفليفلة C.annuum. قام Nagy *et al.*, (2007) بغربلة 23.147

ألف مدخل عام باستخدام تقنية SSR، وجد الباحثون عند التحليل العنقودي أن كل الطرز الوراثية التابعة لـ C.annuum اجتمعت في نفس المجموعة الرئيسية انقسمت إلى تحت مجموعتين، وتطابقت هذه النتائج مع نتائج التوصيف باستخدام المواصفات المورفولوجية وبناءً على ذلك فقد كانت أقرب مجموعة لـ C.annuum هي مجموعة C.chinenese و C.frutescense. يذكر (2004), Lee *et al.*, أنه يتوفر في الوقت الحاضر أكثر من 180 مؤشر للـ SSR بشكل عام، سواءً بين الأنواع أو ضمنها، وذلك عندما قام الباحثون بإعداد خريط وراثية للفليفلة شملت تغطية 1,764.5 سانتي مورغان بمعدل تباعد 5.3 سانتي مورغان بين المؤشرات. هدفت هذه الدراسة إلى: تصنيف بعض أصناف الفليفلة المحلية في محافظات حلب وإدلب وحماة. وإجراء البصمة الوراثية لأصناف الفليفلة المحلية.

المواد وطرق العمل:

تم استخدام 14 مدخلاً محلياً من نبات الفليفلة مبينة في الجدول (1) جمعت من المزارعين في محافظات حلب وحماة وادلب. تمت عملية التوصيف الحقلي في محطة بحوث تلحديا، وأجري تحليل البصمة الوراثية في مخبر التقانة الحيوية التابعان لمركز البحوث العلمية الزراعية بحلب، زرعت البذور بتاريخ 1/ديسمبر ضمن أصص بلاستيكية (7×7سم) مملوءة بخليط من التربة والتورب بنسبة 1:3، وقدمت لها عمليات الخدمة اللازمة حتى موعد التشتيل في 12/مارس، ومن ثم زرعت شتول الأصناف المحلية على مسافة 30 سم بين النبات والآخر و70سم بين الخط والآخر ضمن البيت البلاستيكي (8X50 م) على خطوط ضم كل خط 20 نباتاً.

التوصيف الشكلي Morphological Characterization:

أخذت القراءات الحقلية التالية وفق قائمة التوصيف الشكلي بحسب (IPGRI, 1995) عدد الأيام من التشتيل حتى إزهار 75٪ من النباتات، فترة النضج الاستهلاكي (عدد الأيام من موعد التشتيل حتى النضج الاستهلاكي على 50٪ من النباتات)، فترة النضج البيولوجي (عدد الأيام من موعد التشتيل حتى النضج البيولوجي

على 50٪ من النباتات). مواصفات الثمرة (تم جمع 10 ثمار من كل مكرر عند القطفة الثانية من مرحلة النضج الاستهلاكي وعند القطفة الأولى من مرحلة النضج البيولوجي) وأخذت القراءات التالية: طول الثمرة، قطر الثمرة، سماكة جدار الثمرة. مواصفات البذور(جمعت 10 ثمار من كل مكرر في مرحلة النضج البيولوجي وتم استخلاص البذور وغسلها وتجفيفها) ثم تمت دراستها من حيث: وزن 1000 بذرة (غ)، وزن البذور في الثمرة، عدد البذور في الثمرة. المواصفات الإنتاجية (تم جمع المحصول من كل مكرر على حدة) وسجلت الصفات التالية: الإنتاجية عند النضج الاستهلاكي (كغ/نبات)، الإنتاجية عند النضج البيولوجي (كغ/نبات)، متوسط وزن 10 ثمرات (كغ). صممت التجارب وفق تصميم القطاعات العشوائية الكاملة وحللت النتائج إحصائياً باستخدام برنامج (Genstat Release 7.2) وأجري التحليل العنقودي باستخدام برنامج PAST - Palaeontological Statistics, ver. 1.67.

التوصيف الجزيئي Molecular Characterization:

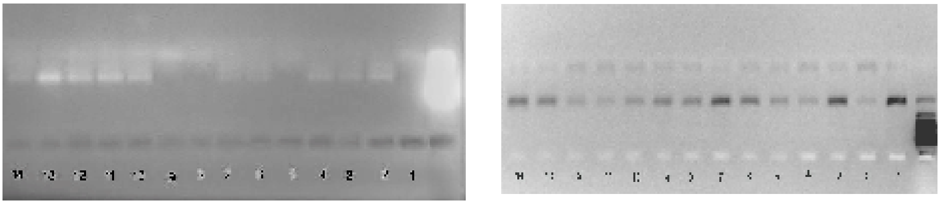
زُرعت بذور كل سلالة محلية بنفس طريقة زراعة البذور السابقة، ثم حُضنت في غرف النمو على درجات حرارة (23 مْ ليلاً و16 مْ نهاراً) ورطوبة (75٪) ونظام 16 ساعة إضاءة: 8 ساعة ظلام). بعد مرور3 أسابيع تم استخلاص الحمض الريبي النووي منقوص الأكسجين بحسب طريقة Dellaporta, *et al*.,(1983)، أُجري التفاعل التسلسلي للبوليميراز باستخدام تقانة microsatellite أو SSR (Simple Sequence Repeat) بحسب طريقة Röder *et al*., (1998) مع بعض التعديلات وتضمنت زيادة كمية كلٍ من البادئ و $dNTP_s$ وأنزيم Taq. كان الحجم النهائي لمكونات التفاعل PCR 25 ميكروليتر بحسب الجدول (2). واستخدمت البادئات بحسب (Minamiyama *et al*., 2006) الموجودة في الجدول (3)، يمر تفاعل PCR بعدة مراحل مذكورة ضمن الجدول (4) حسب طريقة "touchdown" وفق البرنامج الحراري المستخدم لدى Minamiyama *et al*., (2006)، وبعد إنهاء تفاعل PCR أخذ ناتج التفاعل وأضيف إليها 5 ميكروليتر من محلول التحميل Loading-Buffer، وحقنت

على هلامة أجاروز 2٪ ملونة باستخدام صبغة ايثيديوم بروميد ثم رُحلت على جهاز الرحلان الكهربائي باستخدام شدة تيار كهربائي 95 فولت لمدة 3 ساعات، وبعد إنهاء عملية الرحلان تم تصوير حزم الـ DNA المضاعفة بالأشعة فوق البنفسجية باستخدام جهاز Gel Documentation (الشكل 1)، وأحصيت حزم SSR، وحللت البيانات بإعطاء القيمة 0 لعدم وجود الحزمة وإعطاء القيمة 1 عند وجود الحزمة، ثم أجري التحليل العنقودي وقدر معامل التشابه بين الأصناف وفق معامل Dice باستخدام برنامج NTSYS (Rohlf, 2002).

جدول (1):

مصادر مدخلات الفليفلة مع اسم الصنف ومصدره

الرمز	الصنف	المصدر
1	بلدية حلوة	حماة
2	بلدية حريفة	
3	حسكورية	حلب
4	أنطكلية1	
5	أنطكلية2	
6	قرن الغزال1	
7	حلوة	
8	كردية1	
9	كردية2	
10	بذور غوطة الشام - حارة	
11	قرن الجاموس1	إدلب
12	قرن الجاموس2	
13	قرن الجاموس X_1	
14	قرن الغزال2	



الشكل (1): أمثلة عن صور حزم الـ DNA المضاعفة بالأشعة فوق البنفسجية

جدول (2)

مكونات تفاعل PCR مع التراكيز والكميات المضافة لهذه المكونات

مكونات تفاعل PCR	تراكيز مكونات تفاعل PCR	كميات المكونات 25 ميكروليتر
قالب DNA	50- 100 نانوغرام	5
محلول منظم لـ PCR (buffer 10x PCR)	1 M Tris-HCl PH 8 1M KCl, 1 M $MgCl_2$ dH_2O	5
dNTPs مزيج من النيوكليوتيدات الأربعة (A,T,G,C)	10 Mm لكل نيوكليوتيد	0.2
البادئة اليسارية (Left primer)	10 Mm	0.625
البادئة اليمينية (Right primer)	10 Mm	0.625
أنزيم Taq polymerase	وحدة أنزيمية واحدة (1 unit)	0.5
H_2O	-	لإكمال التفاعل حتى 25

جدول (3)

البادئات المستخدمة في تحليل SSR وتكرار تتابعها

	اسم البادئة	تكرار التتابع	البادئة السابقة	البادئة التالية
1	CAMS-056	$(ta)_6(tg)_{13}...(tg)_3ta$ $(tg)_5ta(tg)_5a(gt)_3$	cattgtccaggct gatgttt	aactcaggtacac gggataaaa
2	CAMS-072	$(ac)_{13}$	cccgcgaaatcaa ggtaat	aaagctattgctac tgggttcg
3	CAMS-081	$(ta)_7(tg)_{12}$	gttgggggagag ttgggtat	tggggtgaacact agcatgt
4	CAMS-089	$(tc)_{19}$	aacagcgctgatc ctttacc	caacatcacagtg gcagaaga
5	CAMS-101	$(tg)_4ta(tg)_{10}$	tcagcaattaacat gccaaaa	tggattgggagaa gatcgac
6	CAMS-163	$(at)_7(gt)_{14}$	tccatatagcccgt gtgtga	gcgtgggaataca atgctaga
7	CAMS-336	$(tc)_{16}$	ggtggaaacttgc ttggaga	cccagaaccatcc acctact
8	CAMS-340	$(ta)_3...(ag)_{13}$	tttatgcccattcac aaaataa	ggacgaattcacc gagtgc

جدول (4):

البرنامج الحراري المستخدم

درجة الحرارة مْ	الزمن	التكرار (الدورات)
94 م	دقيقة واحدة	دورة واحدة
94 مْ	ثلاثين ثانية	10 دورات
(60 – 65*)- 1 مْ	دقيقة واحدة	
72 مْ	دقيقة واحدة	
94 مْ	ثلاثين ثانية	30 دورة
55 مْ	دقيقة واحدة	
72 مْ	دقيقة واحدة	
72 مْ	دقيقة واحدة	

❖ درجات الحرارة هي 60 أو 65 م° بحسب البادئة المستخدمة.

النتائج والمناقشة:

التوصيف المورفولوجي:

مؤشرات التبكير في النضج: يتضح من الجدول رقم (5) الذي يبين قيم الأصناف المحلية لمؤشرات التبكير في النضج أن أبكر الأصناف المحلية بالنسبة لعدد الأيام من التشتيل حتى الإزهار هي 2 و6 و9 فقد بلغ وسطياً (48.44) يوماً، بينما كانت الأكثر تأخراً الأصناف 7 و3 و11 و14، إذ بلغ عدد الأيام من التشتيل حتى الإزهار لهذه الأصناف بالترتيب (59، 58، 56، 55) يوماً. أما أكثر الأصناف تبكيراً بالنسبة لعدد الأيام من التشتيل حتى النضج الاستهلاكي وحتى النضج البيولوجي هي 9 و2 و13 و5 و7 و12 بمعدل (98- 136) يوم لعدد الأيام من التشتيل حتى النضج الاستهلاكي وحتى النضج البيولوجي بالترتيب، تفوقت هذه الأصناف على مجموعة الأصناف 4 و14 و6 بمتوسط (103- 145) يوم من التشتيل حتى النضج الاستهلاكي وحتى النضج البيولوجي بالترتيب.

مواصفات الثمرة: من الجدول رقم (6) الذي يبين القيم المتوسطة لمواصفات الثمرة نجد أن الصنفين 6 و14 تفوقا على باقي الأصناف من حيث طول الثمرة عند النضج الاستهلاكي بمعدل (162، 153مم)، أما أقل الأصناف بالنسبة لطول الثمرة كان الصنف 3 بمعدل 78.47مم ولم يتفوق معنوياً على الأصناف 7 و1 و10 و2 بمعدل وسطي (94.65 مم). كما تفوق الصنف 6 على باقي الأصناف لطول الثمرة عند النضج البيولوجي بمعدل (167مم). تفوق الصنف 4 بالنسبة لقطر الثمرة عند النضج الاستهلاكي بمقدار 65 مم على باقي الأصناف ثم الصنف 10 بحدود 50 مم. حقق الصنفان 4 و10 أكبر قيمة لقطر الثمرة عند النضج البيولوجي فبلغ متوسط قطر الثمرة لهذين الصنفين (66) مم تقريباً. أظهرت الأصناف 1 و4 و9 أعلى قيمة بالنسبة لسماكة جدار الثمرة عند النضج الاستهلاكي فوصلت قيمته لهذه الأصناف بالترتيب حتى (3.46، 3.36، 3.15)مم، بينما سجل الصنف 3 أقل قيمة فبلغ سماكة جدار الثمرة له 1.33 مم، وكذلك فإن الأصناف 1 و4 و9 و8 سجلت أعلى قيمة لسماكة

جدار الثمرة عند النضج البيولوجي بمعدل وسطي 3.42 مم. مواصفات البذور: يبين الجدول رقم (7) القيم المتوسطة لمواصفات بذور بعض الأصناف المحلية في سوريا ونجد أن الصنفين 7 و1 قد سجلا أعلى قيمة بالنسبة لعدد البذور في الثمرة ووزنها فقد وصل عدد البذور بالترتيب حتى (273 و257) بذرة/ثمرة، ووزن البذور في الثمرة حتى (1.43 و1.36) غ/ثمرة، إضافة للصنف 14 عند مستوى 1٪ فقط بالنسبة لوزن البذور في الثمرة فبلغ 1.02 غ/ثمرة. سجل الصنفان 1 و13 أعلى قيمة لوزن 1000 بذرة على المستوى 5٪ بمعدل وسطي (7.23غ)، إضافة للصنفين 5 و10 سجلا أعلى قيمة لوزن 1000 بذرة على المستوى 1٪ بمعدل وسطي (6.55غ)، واجتمعت باقي الأصناف دون وجود فروق معنوية بينها.

جدول (5)

القيم المتوسطة لمؤشرات التبكير في النضج لبعض أصناف الفليفلة المحلية في سوريا 2008

الأصناف		عدد الأيام من التشتيل حتى الإزهار	عدد الأيام من التشتيل حتى النضج الاستهلاكي	عدد الأيام من التشتيل حتى النضج البيولوجي
1		55.33bc	100.67ab	141.67ab
2		45.33a	97.33ab	138.33ab
3		58.67c	100.67ab	141.67ab
4		53.67b	105.67bc	146.67bc
5		53.33b	97.33ab	138.33ab
6		49.33ab	104bc	145bc
7		59.00cd	97.33ab	138.33ab
8		53.67b	100.67ab	141.67ab
9		50.67b	94a	135a
10		53.67b	101ab	142.67ab
11		55.33bc	100.67ab	141.67ab
12		56.33bc	94a	135a
13		52.00b	97.33ab	138.33ab
14		55.33bc	104bc	142ab
أقل فرق معنوي LSD	عند مستوى معنوية 5٪	5.64	7.90	8.43
	عند مستوى معنوية 1٪	7.63	10.69	11.40

المواصفات الإنتاجية:

من الجدول (8) الذي يبين القيم المتوسطة للمواصفات الإنتاجية لبعض الأصناف المحلية في سوريا يظهر تفوق الصنف 12 على جميع الأصناف بشكل عالي المعنوية ماعدا الصنف 5 بالنسبة لصفة وزن 10 ثمرات عند النضج الاستهلاكي حيث وصل للصنفين بالترتيب (0.85، 0.71 كغ). أما بالنسبة لوزن 10 ثمرات عند النضج البيولوجي فقد تفوقت الأصناف 12 و11 و10 و8 و1 و5 بمعدل وسطي 0.91 كغ ينضم لها الصنف 4 عند المستوى 1٪ بمعدل وزن 10 ثمرات 0.69 كغ. تميز الصنف 4 بأعلى قيمة لإنتاجية النبات عند النضج الاستهلاكي وصلت حتى 2.40 كغ/نبات، وتفوق على معظم الأصناف. تفوقت الأصناف 10 و 4 على باقي الأصناف وذلك بالنسبة لصفة إنتاجية النبات عند النضج البيولوجي فبلغ معدل الإنتاجية لهذه الأصناف 1.57 كغ/نبات، ولم توجد فروق بين باقي الأصناف.

جدول (6):

القيم المتوسطة لمواصفات الثمرة لبعض أصناف الفليفلة المحلية في سوريا 2008

الأصناف	طول الثمرة		قطر الثمرة		سماكة جدار الثمرة	
	عند النضج الاستهلاكي	عند النضج البيولوجي	عند النضج الاستهلاكي	عند النضج البيولوجي	عند النضج الاستهلاكي	عند النضج البيولوجي
1	92.41^{e}	94.67^{i}	42.27^{c}	44.88^{bc}	3.46^{a}	3.54^{a}
2	96.67^{e}	96.67^{hi}	39.72^{c}	42.71^{cd}	2.45^{d}	2.58^{d}
3	78.47^{F}	81.66^{j}	22.31^{f}	24.78^{f}	1.33^{g}	1.39^{f}
4	103.29^{de}	110.29^{fg}	64.66^{a}	69.53^{a}	3.36^{ab}	3.6^{a}
5	111.42^{d}	116.3^{f}	32.77^{d}	35.58^{de}	1.89^{ef}	2.12^{e}
6	162.13^{a}	167^{a}	28.44^{e}	32.94^{e}	2.55^{cd}	2.64^{d}
7	91.69^{e}	104^{gh}	39.6^{c}	47.95^{bc}	2.12^{e}	2.28^{a}
8	115.05^{cd}	126^{de}	42.29^{c}	46.12^{bc}	2.62^{cd}	3.22^{abc}
9	132.01^{b}	139.33^{c}	40.81^{c}	42.59^{bcd}	3.15^{b}	3.3^{ab}
10	95.73^{e}	99.33^{hi}	50.23^{b}	62.83^{a}	2.44^{d}	2.77^{d}
11	115^{cd}	128.33^{d}	47.13^{b}	51^{b}	2.41^{d}	2.93^{bcd}
12	129.33^{bc}	132^{cd}	27.65^{e}	31.74^{e}	1.77^{f}	1.94^{e}

تابع جدول رقم (6) :

13	96.74^{e}		99.33^{hi}	35.17^{d}	36.47^{de}	2.79^{c}	2.87^{cd}
14	152.77^{a}		154.33^{b}	27.49^{e}	30.23^{e}	1.74^{f}	1.9^{e}
أقل فرق معنوي LSD	عند مستوى معنوية 5٪	13.69	9.68	3.28	7.15	0.26	0.40
	عند مستوى معنوية 1٪	18.50	13.09	4.44	9.67	0.35	0.54

عند إجراء التحليل العنقودي (الشكل 2 الذي يبين التحليل العنقودي للتوصيف المورفولوجي لبعض الأصناف المحلية في سوريا) نلاحظ أن الأصناف المحلية المدروسة انقسمت إلى مجموعتين: المجموعة الأولى ضمت ثلاثة تحت مجموعات: جمعت تحت المجموعة الأولى الصنفين 10 مع 1 بمعامل تشابه 0.97، بينما كان الصنف 3 منفرداً، بينما جمعت تحت المجموعة الثانية الصنف 6 مع الصنف 9 بمعامل تشابه 0.81، والصنف 12 مع الصنف 14 بلغ معامل التشابه 0.95، والصنف 5 مع الصنف 8 بمعامل تشابه (0.97). كما جمعت تحت المجموعة الثالثة الصنفين 4 مع 11 بمعامل تشابه وصل حتى (0.94)، وكان الصنف 13 منفرداً. ضمت المجموعة الثانية الصنفين 7 والصنف 2 فبلغ معامل التشابه (0.97). بلغ متوسط معامل التشابه بين الأصناف المدروسة عند إجراء التوصيف المورفولوجي 0.89. انقسمت الأصناف المدروسة من قبل Bozokalfa *et al.*,(2009) في منطقة تركيا إلى سبعة مجموعات حسب التحليل العنقودي للتوصيف المورفولوجي. أظهرت النتائج لدى تحديد التباين الوراثي بين 70 مدخل من الفليفلة لتعريفهم وتمييز المدخلات المضاعفة اعتماداً على مؤشرات RAPD وجود تباين بين وضمن الأنواع ووجود توافق بين التوصيف الجزيئي والشكلي في دراسة Da Costa, *et al.*, (2006) .

جدول (7)

القيم المتوسطة لمواصفات البذور لبعض أصناف الفليفلة المحلية في سوريا 2008

الأصناف		عدد البذور في الثمرة	وزن البذور في الثمرة (غ)	وزن 1000 بذرة (غ)
1		256.67[a]	1.36[a]	5.31[cd]
2		130.33[b]	1.01[cd]	7.72[a]
3		145[b]	0.74[def]	5.13[cd]
4		85.33[cd]	0.39[g]	6.03[bc]
5		158.33[b]	1.05[c]	6.61[b]
6		92.33[cd]	0.54[fg]	6.01[bc]
7		273[a]	1.43[a]	5.3[cd]
8		158.33[b]	0.77[cdef]	5.92[bcd]
9		142.67[b]	0.6[efg]	4.99[d]
10		124[bc]	0.8[cdef]	6.45[b]
11		93[cd]	0.54[fg]	5.84[bcd]
12		145.67[b]	0.88[cde]	6.01[bc]
13		52.33[d]	0.35[g]	6.73[ab]
14		162[b]	1.02[cd]	6.01[bc]
أقل فرق معنوي LSD	عند مستوى معنوية 5٪	54.15	0.30	1.07
	عند مستوى معنوية 1٪	73.20	0.41	1.44

جدول (8)

القيم المتوسطة للمواصفات الإنتاجية لبعض أصناف الفليفلة المحلية في سوريا 2008

الأصناف		وزن 10 ثمرات كغ		الإنتاجية كغ/نبات	
		عند النضج الاستهلاكي	عند النضج البيولوجي	عند النضج الاستهلاكي	عند النضج البيولوجي
1		0.39^{cd}	0.83^{abc}	1.33^{bc}	0.97^{cde}
2		0.39^{cd}	0.5^{ef}	1.6^{b}	0.96^{cde}
3		0.35^{cd}	0.41^{f}	1.13^{cd}	1.02^{cde}
4		0.30^{d}	0.69^{bcde}	2.40^{a}	1.56^{ab}
5		0.71^{ab}	0.8^{abcd}	1.58^{b}	0.89^{de}
6		0.39^{c}	0.50^{ef}	1.38^{bc}	0.89^{de}
7		0.32^{d}	0.55^{ef}	1.66^{b}	1.22^{bc}
8		0.38^{cd}	0.91^{ab}	1.29^{bcd}	1.24^{abc}
9		0.27^{d}	0.50^{ef}	1.58^{b}	1.01^{cde}
10		0.48^{c}	0.93^{ab}	1.44^{b}	1.58^{a}
11		0.57^{bc}	0.99^{a}	1.46^{b}	1.12^{cd}
12		0.85^{a}	1.00^{a}	1.50^{b}	0.92^{cde}
13		0.57^{bc}	0.66^{cdef}	0.89^{d}	0.72^{e}
14		0.49^{cd}	0.58^{def}	1.27^{bcd}	0.8^{de}
أقل فرق معنوي LSD	عند مستوى معنوية 5٪	0.23	0.24	0.40	0.35
	عند مستوى معنوية 1٪	0.31	0.32	0.54	0.48

التوصيف الجزيئي:

كان عدد البادئات المستخدمة ثمانية بادئات، اثنان منها أعطت حزم متشابهة monomorphic، كان عدد الحزم الكلي 16 حزمة، بينما بلغ عدد الحزم المتضاعفة 14 أي بمعدل 3 حزمة للبادئة الواحدة، لوحظ وجود ظاهرة Non-allele أو الأليل الصامت في بعض العينات ضمن بعض البادئات كالبادئة (CAMS-056) ، ومن الممكن تفسير هذه الظاهرة بحدوث طفرة مكان التحام البادئة أدت لمنع إتمام الالتحام وبالتالي عدم مضاعفة التسلسل النيوكلوتيدي المتكرر خلال تفاعل PCR. مع العلم أنه تم إعادة تفاعل الـ PCR لهذه البادئة للتأكد من أن عدم إعطاء أية

تضاعف لم يكن بسبب خطأ تقني للتفاعل وكانت نسبة ظهور الأليل الصامت 12.5٪، بينما بلغ عدد البادئات التي أعطت حزم متباينة (polymorphism) 5 بادئات من أصل 8 بادئات أي أن نسبة البادئات المتباينة بلغت 62.5 ٪. وهذه النتيجة لا تتفق مع دراسة Minamiyama *et al.*, (2006) على نبات الفليفلة فبلغت نسبة البادئات المتباينة 26٪ فقط. عند إجراء التحليل العنقودي (الشكل 3 الذي يبين مخطط التحليل العنقودي للقرابة بين الأصناف المحلية) نلاحظ أن الأصناف المحلية انقسمت إلى مجموعتين: المجموعة الأولى تضم تحت مجموعتين، تحت المجموعة الأولى تضم تحت - تحت مجموعتين، الأولى جمعت الصنف 3 مع 5 بمعامل تشابه 1، بينما كان الصنف 10 منفرداً، أما تحت- تحت المجموعة الثانية ضمت الصنف 8 فقط، بينما جمعت تحت المجموعة الثانية الصنفين 6 و1 بمعامل تشابه 0.54. المجموعة الثانية تضم تحت مجموعتين، تحت المجموعة الأولى تضم تحت - تحت مجموعتين، الأولى جمعت 4 مع 12 بمعامل تشابه 0.80، أما الثانية فقد جمعت 13 مع 14 بمعامل تشابه 1، أما تحت المجموعة الثانية فقد جمعت الأصناف 7 و2 و9 بمعامل تشابه 1، بينما كان الصنف 11 منفرداً. بلغ متوسط معامل التشابه عند إجراء التوصيف الجزيئي للأصناف المحلية المدروسة لدينا 0.68. بينما وصل متوسط معامل التشابه لدى Adetula, (2006) عند دراسة الاختلافات الوراثية لـ 40 صنف في نيجيريا عند التوصيف الجزيئي باستخدام تقنية RAPD حتى 0.75، كما بلغ الحد الأعلى لمعامل التشابه حتى 0.90 في التشابه بين صنفين اجتمعا في نفس المجموعة. تراوح معامل التشابه بين الأصناف المحلية في إيران من 0.62 حتى 0.48 عند إجراء التوصيف الجزيئي باستخدام تقنية RAPD لدى Bahrami Rad, *et al.*, (2008). تباين معامل التشابه في الدراسة التي قام بها Baral and Bosland, (2002) بين (0.62 و0.98) بين أصناف الفليفلة المزروعة في النيبال، أما مدخلات المكسيك ونيو مكسيك فقد بلغ معامل التشابه بينها 0.59 كحد أدنى و0.93 كحد أعلى وذلك إجراء التوصيف الشكلي، أما عند إجراء التوصيف الجزيئي وفق تقنية الـ RAPD باستخدام 18 بادئة فقد اجتمعت معظم

مدخلات النيبال عدا مدخلين ضمن مجموعة واحدة بمتوسط معامل تشابه 0.80، أما مدخلات المكسيك فقد انقسمت ضمن ثمانية مجموعات مختلفة بنفس معامل التشابه. كانت نسبة الحزم المتباينة قليلة للأصناف المزروعة في إيطاليا وفق دراسة Portis, *et al.*, (2006) فقد انقسمت الأصناف ضمن مجموعتين، وتراوح معامل التشابه من 0.35 حتى 1.00، وهذا متقارب مع دراستنا. وصل معامل التشابه في دراسة (Bosland and Baral.,(2007 للصنف Bhut Jolokia باستخدام تقنية الـ RAPD حتى 0.86 بين أصناف الفليفلة C.annuum، بينما اجتمعت مدخلات C. chinense ومدخلات C. frutescens في مجموعة واحدة بمعامل تشابه (0.82 و0.86) ضمن مدخلات النوعين بالترتيب، وصل معامل التشابه بين C. chinense و 'Bhut Jolokia' حتى 0.79.

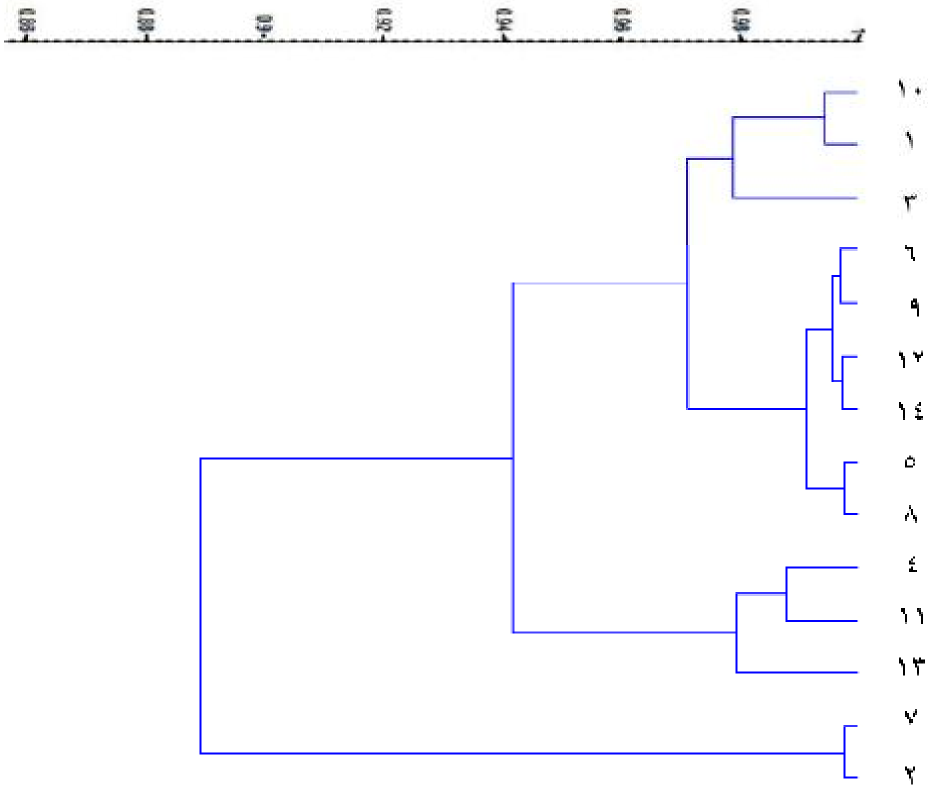
يتضح نتيجة المقارنة بين التوصيف المورفولوجي والتوصيف الجزيئي باستخدام تقنية SSR عدم وجود تشابه بين التوصيفين ماعدا اجتماع السلالتين 2 و7 كما سبق ذكره، وهذا يعود إلى أن تقنية SSR تقيّم الاختلافات الوراثية بشكل رئيس في الـ DNA غير المشفرة التي من الممكن أن يكون لها تأثير بسيط نسبياً في النمط الظاهري من جهة، وتأثر الصفات المورفولوجية بالظروف البيئية السائدة من جهة أخرى، وذلك يتفق مع دراسة (Kwon *et al.*, 2005). يشير Kwon *et al.*, (2005) إلى أن العلاقة بين التوصيف المورفولوجي والتوصيف الجزيئي باستخدام تقنية SSR تتوقف على عدد الصفات المورفولوجية المستخدمة في التوصيف، وعدد المواقع الوراثية المستخدمة في التوصيف الجزيئي. بلغ عدد الصفات المورفولوجية المستخدمة في التحليل العنقودي في دراستنا 13 صفة (طول الثمرة، قطر الثمرة، سماكة جدار الثمرة، وزن 10 ثمار، إنتاجية النبات عند النضج الاستهلاكي والنضج البيولوجي، عدد البذور في الثمرة ووزنها، وزن 1000 بذرة)، وكان عدد البادئات الوراثية المتضاعفة لدينا 5 بادئات وهي (CAMS-072، CAMS-081، CAMS-101، CAMS-336، CAMS-340). عزى Koebner *et al.*, (2003) التشابه الضعيف بين التنوع الوراثي والتنوع المورفولوجي إلى أن مؤشرات DNA غير مرئية، وبالتالي غير خاضعة لعملية الانتخاب

من قبل المزارع ومربي النبات، في حين تخضع الصفات المورفولوجية لتأثير الانتخاب كونها مرئية. كما فسر Domini *et al.*, (2000) هذه الظاهرة بأن الصفات المورفولوجية هي صفات منتخبة تبعاً لفائدتها للإنسان، بينما مؤشرات DNA مؤشرات بحتة قادرة على إعطاء صورة حيادية عن التنوع الوراثي، مقارنة مع الصفات المورفولوجية التي تتأثر بالظروف البيئية المحيطة.

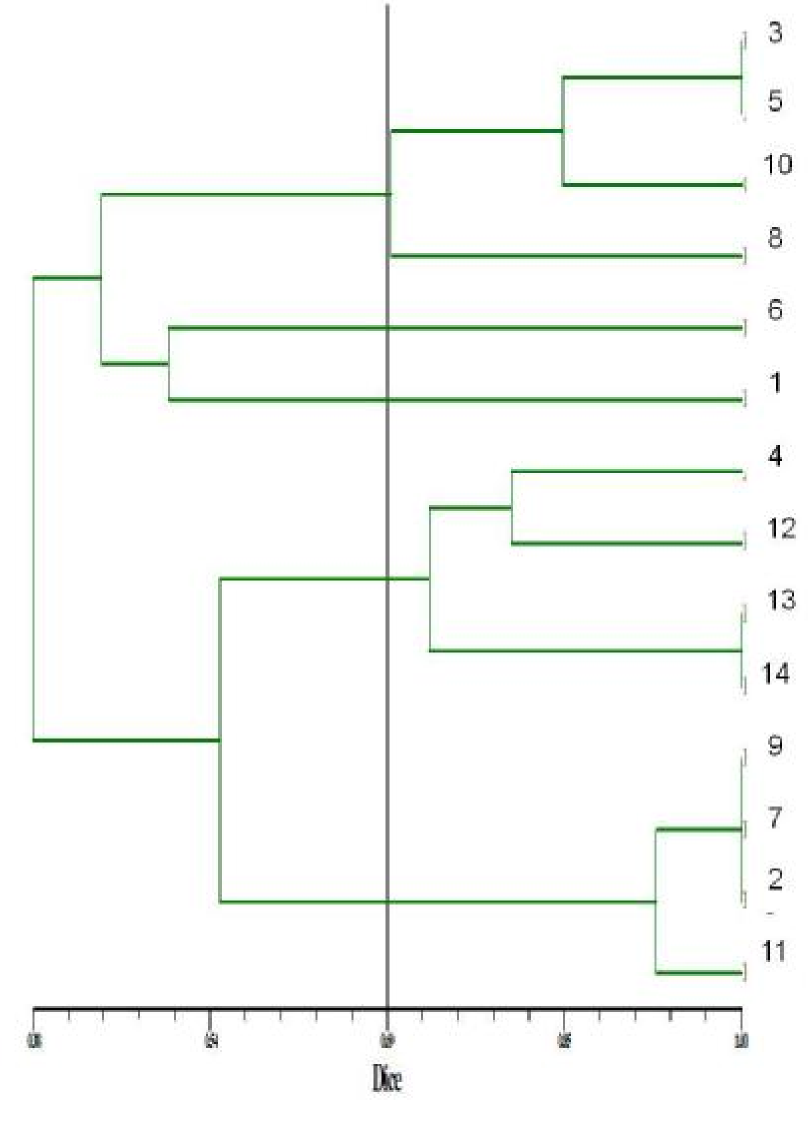
مما بينته هذه الدراسة أنه كان الصنفان بلدية حريفة وكردية2 الأبكر لجميع مؤشرات التبكير في النضج. كما أظهر الصنفان قرن الغزال 1 وقرن الغزال 2 قيمة مرتفعة لطول الثمرة عند النضج الاستهلاكي والبيولوجي، سجل الصنف أنطكلية 1 أعلى قيم لعرض الثمرة عند النضج الاستهلاكي والنضج البيولوجي، وكذلك الصنفين بلدية حلوة و كردية 2 لصفة سماكة جدار الثمرة عند النضج الاستهلاكي والبيولوجي. بينما سجل الصنفان غوطة الشام وبلدية حريفة أعلى قيم لمواصفات البذور. أكبر قيمة لوزن 10 ثمرات عند النضج الاستهلاكي والبيولوجي سجلها الصنفان أنطكلية 1 وقرن الجاموس 1، كما سجل الصنف أنطكلية 1 أكبر قيمة بالنسبة لإنتاجية النبات عند النضج الاستهلاكي والبيولوجي، كما أعطى الصنف قرن الجاموس 1 أعلى إنتاجية للنبات عند النضج البيولوجي.

لقد تمكنت البادئات المتضاعفة عند إجراء التحليل الجزيئي باستخدام تقنية SSR من التمييز بين بعض السلالات المحلية المدروسة فقد تراوح معامل التشابه لهذه السلالات من 0.54 حتى 1 لوحظ وجود ظاهرة الأليل الصامت في بعض العينات وبنسبة 12.5٪، وقد يكون ذلك نتيجة حدوث طفرة من نوع الحذف (Deleting) خلال تفاعل PCR. انقسمت سلالات الفليفلة المحلية بالتحليل العنقودي للتوصيف الجزيئي إلى مجموعتين رئيستين، توزعت سلالات المجموعة الأولى بين حريفة (حسكورية، كردية1، قرن الغزال 1) وحلوة (أنطكلية 2، غوطة الشام، بلدية حلوة)، كما أن معظم السلالات فيها من حلب ماعدا السلالة بلدية حلوة من حماة. أما المجموعة الثانية فكان معظم أصنافها حريفة ماعدا السلالتين بلدية حريفة وكردية 2، وكانت

سلالاتها موزعة بين حلب وحماة وإدلب. وتبين أن الأصل الوراثي للسلالات المتشابهة واحد، أو أنها تأثرت بالتربية الذاتية لعدة اجيال. كما تناقضت نتائج التحليل العنقودي للتوصيف المورفولوجي مع نتائج التحليل العنقودي للتوصيف الجزيئي باستخدام تقنية SSR ماعدا اجتماع السلالتين بلدية حريفة وحلوة، ويعزى ذلك إلى أن تقنية SSR تقيّم الاختلافات الوراثية بشكل رئيس في DNA غير المشفرة التي من الممكن أن يكون لها تأثير بسيط نسبياً في النمط الظاهري من جهة، وبسبب تأثر الصفات المورفولوجية بالظروف البيئية السائدة من جهة أخرى.



الشكل (2): مخطط التحليل العنقودي للقرابة المورفولوجية بين بعض سلالات الفليفلة المحلية في سورية باستخدام التوصيف المورفولوجي



الشكل (3) مخطط التحليل العنقودي للقرابة بين بعض الأصناف المحلية في سوريا باستخدام تقانة SSR

المراجع:

1. Adetula, A. O. (2006). Genetic diversity of Capsicum using Random Amplified Polymorphic DNAs. African Journal of Biotechnology Vol. 5 (2), pp. 120-122.
2. Bahrami Rad, M.; Hassani, M.E.; Mohammadi, A., (2008). Evaluation of genetic diversity in capsicum using rapd markers. Sixth International Symposium on In Vitro Culture And Horticultural Breeding, Brisbane, Australia.
3. Baral, J., and. Bosland, P.W.; (2002). Genetic diversity of a Capsicum germplasm collections from Nepal as determined by randomly amplified polymorphic DNA markers. Journal of the American Society for Horticultural Science. 127 (3): 316-324.
4. Bosland, P. W. and Baral, J. B., (2007). 'Bhut Jolokia'—The world's hottest known chile pepper is a putative naturally occurring interspecific hybrid. Horticultural science 42(2):222–224.
5. Bosland, P.W.; and E.J. Votava., (2000). Peppers: vegetable and spice capsicums. Crop Production Science in Horticulture 12. CAB International Publishing, Wallingford, England, UK. 204pp.
6. Bozokalfa, M. K.; Eşiyok, D.; and Turhan, K., (2009). Patterns of phenotypic variation in a germplasm collection of pepper (Capsicum annuum L.) from Turkey. Spanish Journal of Agricultural Research 7(1), 83-95.
7. Da Costa, F. R.; Pereira, T. N. S.; Vitória, A. P.; de Campos, K. P.; Rodrigues, R.; da Silva, D. H.; Pereira, M. G., (2006). Genetic diversity among Capsicum accessions using RAPD markers. Brazilian Society of Plant Breeding, Crop Breeding and Applied Biotechnology 6:18-23.
8. Dellaporta, S. L., Wood, J., and Hicks, JB.; (1983). Isolation of DNA from higher Plants. Plant Mol. Biol. Rep.4: 19-21.
9. Domini, P., Law J.R., Koebner R.M.D., Reeves J.C. and Cooke R.J. (2000). Temporal trends in the diversity of Uk wheat, Theoretical and Applied Genetics. 100: 912-917.
10. IPGRI, .(1995). Descriptors for Capsicum (Capsicum spp.). International Plant Genetic Resources Institute, Rome, Italy.
11. Keles, D.; Karagul, S.; Buyukalaca, S., (2004). Characterization of different pepper genotypes collected from coastal regions of turkey. 17th International Pepper Conference Naples, Florida USA.
12. Koebner, R.M.D., Donini. P., Reeves J.C., Cooke. R.J. and Law J.R. (2003). Temporal flux in the morphological and molecular diversity of UK barley, Theoretical and Applied Genetics. 106: 550-558.
13. Kwon, Y.S.; Lee, J.M.; Yi, G.B.;Yi, S.I.; Kim, K.M.; Soh, E.H.; Bae K.M.; Park, E.K.; Song, I.H.; and Kim, B.D., (2005). Use of SSR markers to complement tests of distinctiveness, uniformity, and stability (DUS) of Pepper (Capsicum annum L.) varieties. Molecules and Cells, 19, 428−435.
14. Lanteri, S.; Pickergill, B., (1993). Chromosomal structural changes in Capsicum annuum L. and C.chinense Jacq. Euphytica 67, 155-160.

15. Lee, J.M.; Nahm, S.H.; Kim, Y.M.; Kim, B.D., (2004). Characterization and molecular genetic mapping of microsatellite loci in pepper. TAG Theoretical and Applied Genetics 108: 619-627.

16. Minamiyama ,Y.; Tsuro, M .; Hirai, M., (2006). An SSR-based linkage map of Capsicum annuum. Mol Breeding 18:157–169

17. Nagy, I.; Stágel, A.; Sasvári, Z.; Röder, M.; Ganal, M., (2007). Development, characterization, and transferability to other solanaceae of microsatelitte markers in Pepper (Capsicum annuum L.). Genome 50: 668-688.

18. Portis, E.; Nervo, G.; Cavallanti, F.; Barchi, L.; Lanteri, S., (2006). Multivariate analysis of genetic relationships between Italian pepper landraces. Crop Science, Vol. 46: 2517-2525.

19. Röder, M.S., Korzum, V., Wendehake, K., Plaschke, J., Tixir, M.H., Leroy, P., Ganal, M.W.; (1998). A microsatellite map of wheat. Genetics, 194: 2007-2023.

20. Rohlf, F.J. (2002). Numerical taxonomy and multivariate analysis system. NTSYS version 2.11a. Applied Biostatistics Inc., Stony Brook. N.Y., USA.

21. Tembhurne, B. V.; Revanappa.; Kuchanur P. H., (2008). Varietal performance, genetic variability and correlation studies in chilli (Capsicum annuum L.) Karnataka Journal. Agriculture. science., 21 (4) (541-543).

22. Thul, S. T.; Lal, R. K.; Shasany, A. K.; Darokar, M. P.; Gupta, A. K.; Gupta, M. M.; Verma, R. K.; Khanuja, S. P. S., (2009). Estimation of phenotypic divergence in a collection of Capsicum species for yield-related traits. Euphytica 168:189–196.

Morphological and Molecular Characterization of Some Local Variety of Pepper In Syria

Lama Alloun[1], Bassam Abu Trabbi[2], Khaled Al Mohammed[3], Abdul Rahman Kalhout[1], Suha Achtar[1]

[1]General Commission for Scientific Agricultural Research, Syria
[2]Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, University of Damascus, Syria
[3]Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, University of Aleppo, Syria

Abstract:

Phenotypic description for quantitative traits, and molecular description using Simple Sequence Repeat (SSR) technology were assessed for fourteen local variety of pepper (Capsicum annuum L.) during 2008-2009 in Aleppo, Syria. The varieties 2 (Hama) and 9(Aleppo) were earliest for all earliness indicator. The best varieties for fruit length at physiological and biological maturity were varieties 6 (Aleppo) and 14 (Idleb). Variety 4 (Aleppo) gave best result for many trait as weight of ten fruit and the yield of plant at physiological and biological maturity. In the cluster analysis of phenotypic and molecular descriptions, the varieties were separation into two major clusters. The phenotypic description was different compared to molecular description, except the varieties 3 (Aleppo) and 10(Aleppo) was proximate where the similarity index in phenotypic and molecular descriptions reached (0.86 and 0.97) respectively.

Key Ward: Capsicum annuum, pepper, Phenotypic description, molecular description, Simple Sequence Repeat (SSR), similarity index.