وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
جامعة دمشق
كلية الهندسة الزراعية
قسم المحاصيل الحقلية

تحديد وعزل بعض المورثات المسؤولة عن تحسين تحمل الإجهاد الحلولي لدى بعض الطرز الوراثية من الشعير (*Hordeum vulgare* L.)

Identification and Isolation of Some Genes Responsible for Improving of Osmotic Stress Tolerance in Some Barley (*Hordeum vulgare* L.) Genotypes.

اسم الطالب: كمال نواف الخلف المشرف الرئيس: د.سلام لاوند المشرف المشارك: أ.د. حسين المحاسنة

الملخص

نُفذ البحث بهدف تقييم استجابة خمسة عشر طرازاً وراثياً من الشعير تحت ظروف الزراعة المخبرية والحقلية للإجهاد الحلولي Osmotic stres، وأُدخلت في الدراسة الوراثية لتحديد درجة القرابة الوراثية بينها باستعمال تقنية SSR، كما تم دراسة التباينات الأليلية لمورثات الـ(DHNs، DREBs) المسؤولة عن تحمل الجفاف، على مستوى الحمض النووي DNA وتحديد مواقع هذه المورثات، ثم عزلت بعض المورثات المدروسة واجراء التتابع النيوكلوتيدي لها. بينت النتائج أن طرز الشعير (H18، H19، عربي أسود، فرات٤) كانت أفضل الطرز الوراثية المدروسة من حيث المقدرة التكيفية والاستجابات الفيزيولوجية والبيوكيميائية تحت ظروف الجفاف.

القسم النظري

أجريت الدراسة المخبرية والحقلية والجزيئية على خمسة عشر طرازاً وراثياً من الشعير (أصناف، وسلالات، أصول برية)، في مزرعة أبي جرش خلال الموسم الزراعي ٢٠١٨-٢٠١٩م ومخبر المحاصيل الحقلية ومخبر التقانات الحيوية في كلية الزراعة. في الدراسة المخبرية تّم تحديد تقانة الغربلة المناسبة للإجهاد الحلولي باستعمال سكر البولي إيثيلين جلايكول (PEG- 6000).

ونُفذت الدراسة الحقلية على تسعة طرز وراثية (متحّملة، متوسطة التّحمل، حسّاسة) تحت ظروف الزراعة المطرية، بناءاً على نتائج الدراسة المخبرية، بالاعتماد على بعض الصفات التطورية، والفيزيولوجية، البيو كيميائية المرتبطة وراثياً بالتحمل وتّم دراسة بعض المؤشرات المدروسة. أولاً: الصفات التطورية والفيزيولوجية: عدد الأيام حتى الإزهار Days to anthesis (يوم)، المساحة الورقية للنبات Leaf area (سم٢. نبات$^{-1}$)، محتوى الماء النسبي في الأوراق (LRWC). ثانياً: الصفات البيوكيميائية: سلامة الأغشية الخلوية (%) Membrane integrity، تقدير محتوى البرولين في الأوراق Proline content (ميكرو غرام. غ $^{-1}$ مادة خضراء)

الدراسة الوراثية الجزيئية: تم تحديد درجة القرابة الوراثية بين الطرز الوراثية المدروسة باستعمال تطبيق تقانة التكرارات الترادفية البسيطة (SSR)، تم تحديد جميع التباينات النظائرية (الأليلية) الموجودة وبدقة على مستوى الـ DNA، تّم تضخيم الـ DNA باستخدام تقانة الـ PCRباستعمال بادئات متخصصة بالمواقع المورثية (DHNs و DREBs). تم تحديد وعزل بعض المورثات المسؤولة عن تحسين تحمل الجفاف، وتم عزل بعضها واجراء التسلسل النيكلوتيدي لمورثتي (Dhn1، Dhn6) ومقارنتها مع بنك المعلومات (NCBI)

النتائج والمناقشة

تُعد معاملة المستوى الحلولي المميت (١.٦- Mpa) بمنزلة المستوى الحلولي المميت الأمثل، والمعاملة (٠.٤- Mpa) بمنزلة المستوى الحلولي المحرض الأمثل. يُلاحظ أنّ المستوى المحرض (٠.٤- Mpa) كان كافياً لدفع المورثات للتعبير عن كامل طاقتها الوراثية، مما أدى إلى تصنيع كمية أكبر من الوسائل الدفاعية التي ساعدت بدورها في وقاية المكتنفات الخلوية الحساسة والإبقاء على حياة نسبة أكبر من الخلايا النباتية، لذلك اعتمد كمستوى حلولي محرض أمثل.

كان متوسط محتوى الماء النسبي في الأوراق الأعلى معنوياً لدى الطرز الوراثية H18، H19، وعربي أسود (٧٦.٩٤، ٧٤.٩٢، ٧٤.٣٦ % على التوالي). وارتبطت المحافظة على قيم مرتفعة من محتوى الماء النسبي في الأوراق مع المحافظة على سلامة الأغشية الخلوية والمساحة الورقية. وتفوق الطراز الوراثي فرات٤ دون غيره من الطرز المدروسة بصفة متوسط محتوى البرولين.

تفوق المورثة Dhn4 بعدد النظائر (القرائن) التي أعطتها والبالغة ٢٧ نظيراً (قريناً) مع كافة الطرز المدروسة، في حين أعطت المورثة Dhn11 و Dhn12 أقل عدد من القرائن والبالغ ٤ تظائر(قرائن) مع الطرز الوراثية المدروسة. امتلك الطرازان الوراثيان فرات ٤ و عربي أسود أكبر عدد من القرائن (١٦ قريناً لكل منهما)، تلاهما كل الطرازان الوراثيان (H18 و H19) بـ ١٥ قريناً لكل منهما، ما يشير إلى أنها طرز وراثية أكثر تحملاً للجفاف. وتم تحديد التسلسل النيكلوتيدي لقطع الـ DNA الخاصة بالموقعين الوراثيين Dhn1 و Dhn6 في الطرز الوراثية (عربي أسود، وفرات ٤، H18، H19). وتبين أنها تشابه DHN1 في *Hordeum Spontaneum* في بنك المعلومات (NCBI) بنسبة ٩٩%و٩٨% على التوالي لكل من الطرازين الوراثيين (H18 وعربي أسود)، في حين كان الموقع الوراثي Dhn6 يشابه *Hordeum Vulgare* بنسبة ٩١%و٨٨% على التوالي لكل من الطرازين الوراثيين (H19 وفرات٤).

المراجع

Yang, Y. Al-Baidhani, H. J. Harris, J. Riboni, M. Li, Y. Mazonka, I. Bazanova, N. Chirkova, L. Hussain, S. S. Hrmova, M. Haefele, S. Lopato, S. and Nataliya Kovalchuk,(2020). DREB/CBF expression in wheat and barley using the stress-inducible promoters of HD-Zip I genes: impact on plant development, stress tolerance and yield. Plant Biotechnology Journal.18, pp. 829–844, doi: 10.1111/pbi.13252..

التمو، منور (٢٠١٣). دراسة التباين الوراثي في استجابة بعض طرز الشّعير (*Hordeum* spp)لتحمل الجفاف: تقييم الصفات الفسيولوجية والبيوكيميائية والجزيئية. رسالة دكتوراه، قسم المحاصيل الحقلية. كلية الزراعة. جامعة دمشق. الجمهورية العربية السورية. عدد الصفحات ٢٣٧.