

التوصيف الجزيئي والمظهري لبعض انواع القرنفل

جنان قاسم حسين

أستاذ مساعد

قسم البستنة وهندسة الحدائق-كلية الزراعة-جامعة القاسم الخضراء

dr.janan77@yahoo.com

المستخلص

تضمنت الدراسة مرحلتين الاولى حقلية نفذت في احد مشاتل بغداد بتاريخ 15-9-2013 بزراعة بذور 12 نوع من القرنفل spp. *Dianthus* (*D. repens*, *D. balbisii*, *D. barbatus*, *D. gratianopolitanus*, *D. chinensis*, *D. caryophyllus*) و *D. alpinus*, *D. monspessulanus*, *D. pavonius*, *D. deltoids*, *D. japonicas* و *D. seguieri*) لدراسة بعض الصفات المظهرية لها، والمرحلة الثانية مختبرية نفذت في مختبرات الزراعة النسيجية والتقانات الاحيائية-كلية الزراعة-جامعة الرازي - كرمينشاه - ايران. استخدمت تقانة تباينات اطوال القطع المتضاعفة (Amplified Fragment Length Polymorphism (AFLP) المعتمدة على تقانة PCR Polymerase Chain Reaction وبسبعة توليفات من البادئات. بينت نتائج الصفات المظهرية للأنواع المدروسة وجود اختلافات كبيرة فيما بينها حيث كان معامل التباين (C.V.) عالي جدا في جميع الصفات المدروسة وبلغ اعلاها 85.09 لعدد الافرع الرئيسية، 57.66 لعدد الازهار-نبات، 45.08 قطر الزهرة، 32.51 لارتفاع النبات و 28.66 للوزن الجاف للمجموع الخضري. اظهر تحليل البصمة الوراثية ان توليفة البادئات السبعة المعتمدة اعطت 397 حزمة كان منها 324 حزمة متباينة وبنسبة تباين 81.59% وهذا يؤكد وجود تباعد وراثي بين انواع القرنفل المدروسة اذ بلغ اعلاها 0.28% بين النوعين *D. barbatus* و *D. caryophyllus* في حين اعطى النوعين *D. chinensis* و *D. japonicas* اقل نسبة للبعد الوراثي وبلغت 0.08%.

الكلمات المفتاحية: انواع القرنفل، تباينات اطوال القطع المتضاعفة، التوصيف الجزيئي، البعد الوراثي.

The Iraqi Journal of Agricultural Sciences – 46(5): 793-801, 2015

Hussein

MOLECULAR AND MORPHOLOGICAL CHARACTERIZATION FOR SOME CARNATION SPECIES (*Dianthus* spp.).

Janan K. Hussein

Assist. Prof.

Dept. Of Horticulture-Coll. of Agric.,- Univ. of AL-Qasim green

dr.janan77@yahoo.com

ABSTRACT

The study included two phases, the first one was carried out at one of Baghdad nurseries on 15/9/2013 sowing the seeds of 12 species of *Dianthus* spp. (*D. caryophyllus*, *D. chinensis*, *D. gratianopolitanus*, *D. barbatus*, *D. balbisii*, *D. repens*, *D. alpinus*, *D. monspessulanus*, *D. pavonius*, *D. deltoids*, *D. japonicas* and *D. seguieri*) to study some of the qualities phenotypic, and the second phase was carried out at biotechnology and tissue culture laboratories /College of Agriculture / University of Razi / Kermanshah / Iran . The Amplified Fragment Length Polymorphism (AFLP) based on Polymerase Chain Reaction (PCR) with seven primers was implemented. The results of the phenotypic characteristics of the species studied, and there are considerable differences between them where the variation coefficient (C.V.) was very high in all the traits and reached the top rated 85.09 for a number of branches /plant , 57.66 for the number of flowers / plant, 45.08 flower diameter, 32.51 for plant height and 28.66 dry weight of vegetative part . DNA analysis showed that the primers gave a 397 bands including 324 polymorphic bands and 81.59% polymorphic bands , this confirms the existence of Genetic Distance between the species of *Dianthus* studied . High Genetic Distance 0.28% *D. barbatus* and *D. caryophyllus* and lowest Genetic Distance 0.08% between *D. chinensis* and *D. japonicas*.

Key words: *Dianthus* spp., AFLP, molecular characterization, Genetic Distance.

المقدمة

يعود جنس القرنفل *Dianthus spp.* الى العائلة القرنفلية Caryophyllaceae التي تضم 2100 نوع و 89 جنسا، ويحتوي جنس القرنفل على ما يقارب 300 نوع معظمها في اوربا واسيا بينما ينتمي بعضها للمغرب العربي وينمو نوع واحد فقط منها في المناطق القطبية من امريكا الشمالية (6). يزرع نبات القرنفل لأغراض طبيه لعلاج الكثير من الامراض مثل التهابات الغشاء المخاطي بالفم والبلعوم وتسكين آلام الأسنان ومنقي للدم وغيرها، وكذلك استخدامه كنبات زينة وهو الاستعمال الاكثر انتشارا ويعتمد ذلك على النوع المزروع فمنها ما يصلح كنبات تحديد او لأحواض الزهور او في الحدائق الصخرية او كنبات اصص او سلال تعليق والاهم كزهرة كطف تحل المرتبة الثانية عالميا بين ازهار القطف الاقتصادية (5). يقصد بالتنوع الوراثي الاختلافات الموجودة بين الافراد او المجتمعات التابعة لنوع معين والتي تتكون بتأثير القوى التطورية، وقد تتكون نتيجة عمليات التربية والتحسين، ويعد التنوع الوراثي احد الجوانب الاساسية للتنوع الحيوي (Biodiversity) والتي تعني التنوع الموجود بين الانواع المختلفة كالحوانات والكائنات الدقيقة والنباتات في مجتمعاتها الطبيعية وان المحافظة على مستوى عالٍ من التنوع الحيوي ضروري جدا للحفاظ على ثبات النظام البيئي (14). التنوع الوراثي بين الانواع مهم جدا للدراسات التصنيفية وتحديد ميزة النوع اي معرفة طبيعة الاختلافات بينه وبين غيره من الانواع لما لذلك من جوانب تطبيقية كثيرة وخاصة في حفظ تلك الانواع (Conservation) بأختبار النباتات الممثلة لذلك النوع، كما ان معرفة هوية النوع مفيدة لأجراء الدراسات التطويرية والبيئية عليها، كما ان دراسة التنوع الموجود بين الانواع مهم جدا لمربي النبات فالمعروف ان لكل نوع نباتي تاريخ طويل ومئات بل الاف الانواع المتولدة عنه والمختلفة عنه لذلك يحاول مربي النبات الناجح الاستفادة من تلك الاختلافات لاختيار المصادر الوراثية الملائمة واجراء التهجين بينها لتكون تراكيب وراثية جديدة اي اختبار اباة تحمل صفات مرغوبة لنقل تلك الصفات في هجين واحد وهذه تعد من لاسباب الرئيسية لدراسة التنوع الوراثي في النبات (2). ادى استخدام مؤشرات DNA (Markers DNA) كأدوات ذات قدرة عالية الاستخدام

ووسائل مساعدة في الانتخاب الى تطوير برامج التهجين وانتخاب الطرز الوراثية، مما جعلها اداة كفاءة لتحسين الانتاجية ومكاملة ومسرعة للبرامج التقليدية المتبعة في التربية، فهي تتابعات من الدنا يمكن الاستدلال عنها على موقع معين على الكروموسوم او المجين (18). ان استخدام التقانات الحيوية على المستوى الجزيئي للمادة الوراثية ادى الى تسريع تقويم مكونات الصفات الوراثية وعزل تأثيراتها عن المؤثرات البيئية. إذ ان المؤشرات الجزيئية لا تتأثر بالعوامل البيئية فضلا عن اعطائها مؤشرات ادق من المؤشرات المظهرية (1). اشار Said (11) الى انه مع بداية الثمانينات تطورت تقانات حيوية جديدة لتسهل بشكل ايجابي في بناء خرائط الارتباط الوراثية وانشائها اذ اظهرت تقانات عديده من اهمها تقانة تباينات اطوال القطع المتضاعفة (AFLP) Amplified Fragment Length Polymorphism وهي ناتجة عن مزيج يضم تقانات عدة اذ يكمن محور عملها من خلال مضاعفة قطع الDNA المهضومة بواسطة انزيمات التقييد وبالاستعانة بجهاز الPCR. توصلت تقانة AFLP الى تشخيص العدد الاكبر من مواقع التباينات الوراثية (Ppolymorphism) اكثر من تقانات SSR, RAPD RFLP عند استخدامها على اللوبيا من قبل Yee واخرون (17). كما استخدمت من لدن Innan واخرون (8) لكشف التباين على مستوى نيوكليوتيدة واحدة في نبات *Arabidopsis thaliana* ، ونظرا لقدرتها على ايجاد التنوع الوراثي فقد اخذ ذلك بنظر الاعتبار من حيث تطوير برامج التربية ودراسة الهجن والاباء والتنوع (7 و 13). درست Shoaib واخرون (12) ثلاثين تركيب وراثي من اصول الحنطة المؤلفة من اصناف مزروعة وسلالات متقدمة في مراحل التربية واصول وراثية جمعت خلال 20 عاما من بلدان مختلفة بشكل اساس من اوربا واسيا باستخدام تقانة AFLP اذ اظهرت مؤشرات التقانة وجود تنوع وراثي كبير ضمن السلالات التركيبية فضلا عن اعطاء تصنيف ذي معنى للأصول الوراثية المستخدمة. كما استخدم التقانة Khierallah (9) لمعرفة نسبة الثبات الوراثي في النباتات المنتجة من تكوين الاعضاء الغير مباشر لنخيل التمر، إذ اظهرت تقانة AFLP ان ثمانية من توليفة البادئات اعطت تطابقا تاما بين عينات النباتات النسيجية المنتجة مع امهاتها

ميكروغرام في 1 مليلتر من العينة، كما تم اخذ قراءة امتصاص ال DNA عند طول الموجة 280 نانومتر والتي تعطي فكرة عن معدل الامتصاص من قبل البروتين، ويعتبر ال DNA نقيا اذا تراوح ناتج قسمة الامتصاص عند طول الموجة 260-280 نانومتر بين 1.8-2. تم تخفيف عينات ال DNA بالماء المقطر بنسبة (DNA_99 ماء مقطر) حيث اضيف 20 ميكرو لتر من ال DNA الى 1980 ميكرو لتر ماء مقطر، ثم تم مزجها ووضعها في جهاز المطياف الضوئي وأخذت قراءات الامتصاص عند طول الموجة 260-280 نانومتر، ثم طبقت المعادلة التالية: (جدول 1)

$$100 \text{ (dilution } \times \{O.D_{260} = \text{DNACon.}(\mu\text{g}/\mu\text{l}) \text{ factor} \} \times 50 \mu\text{g}/1000)$$

تم في هذه الدراسة اختبار 15 زوج من البادئات واعتمدت 7 منها كونها اعطت اعلى عدد من التباينات الوراثية (جدول 2). اجريت تفاعلات (-PCR AFLP) وفقا ل Vos ل واخرون (15). حلت نتائج مؤشرات ال AFLP احصائيا حسب برنامج SPSS لإيجاد البعد الوراثي بين انواع القرنفل الداخلة في الدراسة. قيس عدد من الصفات الخضرية والزهرية للأنواع النباتية وهي ارتفاع النبات، عدد الافرع الرئيسية، الوزن الجاف للمجموع الخضري، قطر الزهرة و عدد الازهار على النبات، علما ان لكل نوع موسم نمو مختلف فمنها الحولي والمحول والمعمر كما تم توصيفها ببعض الصفات المهمة التي يمكن من خلالها تحديد استخداماتها التنسيقية، حسب معامل التباين (%C.V) بين الانواع النباتية لكل صفة من الصفات المدروسة للتعبير عن مقدار الاختلافات في صفاتها المظهرية خلال موسم نموها الكامل، ويعبر معامل التباين عن النسبة المئوية لنسبة الانحراف القياسي إلى معدلها (4).

النتائج والمناقشة

1- الدراسة الحقلية (الصفات المظهرية) يوضح جدول (3) الاختلافات في الصفات المظهرية لأنواع القرنفل المدروسة، حيث اعطى القرنفل المهذب اعلى ارتفاع للنبات وبلغ 40.38سم، من بين باقي الانواع ثم تلاه القرنفل العشبي 39.82سم، القرنفل الامريكي 37.84سم، قرنفل حسن يوسف 34.40 سم، القرنفل الياباني 30.26سم، قرنفل العذراء 28.05 سم، القرنفل الصيني 27.72سم، قرنفل بوش نلك 23,94سم، 27.72سم قرنفل عين الطاووس، القرنفل

لصنفي الدراسة برحي ومكثوم. كما اكدت نتائج Al-Qas- Yousuf (3) كفاءة تقانة ال AFLP في دراسة البعد والتقارب الوراثي بين 15 سلالة نقية وهجنها من نبات قرع الكوسة ومقارنتها مع التباينات في الصفات المظهرية. نظرا لقلة الدراسات حول تصنيف انواع نباتات الزينة وخصوصا ازهار القرنفل الذي يعد من اهم ازهار القطف والحدائق في العالم هدفت هذه الدراسة الى:الكشف عن التباينات الوراثية بين DNA انواع القرنفل المدروسة والتي تظهر على شكل اختلافات في عدد وحجم القطع المتضاعفة من مجين تلك الانواع.تحديد افضل البادئات التي تعطي اعلى تباينات واعتمادها لدراسة البصمة الوراثية لأنواع القرنفل.ايجاد قاعدة بيانات عن DNA الانواع المدروسة ليتسنى الاستفادة منها مستقبلا في ايجاد المؤشرات المرتبطة بصفات معينة او بناء الخرائط الوراثية للأنواع. وصف للمؤشرات المظهرية للأنواع المدروسة والمقارنة بينها وتحديد استخداماتها التنسيقية على ضوء هذه المؤشرات.

مواد وطرائق

استخدم في هذه التجربة بذور 12 نوع من ازهار القرنفل تم شرائها من مدينة كوانزو-الصين. زرعت البذور بتاريخ 9-5-2013 في احد مشاتل بغداد، بعد وصول البادرات الى عمر 4-6 اوراق حقيقية فردت النباتات في سنادين بلاستيكية حجم 5 كغم تحتوي خلطة مكونه من تربة مزيجيه وبيت موس (2;1) واعتمدت عشرة نباتات متجانسة لكل نوع واجريت لها كافة عمليات الخدمة والتسميد حتى نهاية التجربة في 14-1-2015 لغرض دراسة الصفات المظهرية العامة لها وعزل وتشخيص ال DNA. عزل DNA في مختبرات الزراعة النسيجية والتقانات الاحيائية - كلية الزراعة -جامعة الرازي -كرمنشاه-ايران، وذلك باخذ الاوراق الحقيقية والسليمة من الامراض وفقا لطريقة Weigand وآخرون (16) المعتمدة على طريقة Sahgi-Marroof وآخرون (10)، تم تقدير كمية ال DNA باستخدام جهاز المطياف الضوئي Spectrophotometer عند طول الموجة 260 و 280 نانومتر. حيث تم تقدير معدل امتصاص ال DNA للأشعة فوق البنفسجية (UV) عند طول الموجة 260 نانومتر حيث ان كل قراءة قيمتها تساوي 1 على المطياف الضوئي تمثل كمية من ال DNA تقدر ب 50

المحلي 20.44، قرنفل جبال الالب 15.30سم، واكل ارتفاع
للنبات بلغ 14.17سم، في القرنفل الزاحف وبسبب هذا
التباين العالي بين ارتفاع الانواع كان معامل التباين عالي

جدول 1: نتائج نقاوة DNA انواع القرنفل بالاعتماد على قراءة جهاز المطياف الضوئي.

260/280	A280	A260	DNA انواع القرنفل
1.907	0.184	0.351	<i>D. caryophyllus</i>
2.031	0.162	0.329	<i>D. chinensis</i>
1.896	0.077	0.146	<i>D. gratianopolitanus</i>
1.842	0.140	0.258	<i>D. barbatus</i>
2.087	0.126	0.263	<i>D. balbisii</i>
2.040	0.075	0.153	<i>D. repens</i>
2.084	0.178	0.371	<i>D. alpinus</i>
1.810	0.237	0.429	<i>D. monspessulanus</i>
2.064	0.202	0.417	<i>D. pavonius</i>
1.938	0.114	0.221	<i>D. deltoides</i>
1.878	0.098	0.184	<i>D. japonicas</i>
1.894	0.245	0.465	<i>D. seguieri</i>

جدول 2: ازواج البادانات وتسلسلها النيوكليوتيدي تخدمة ي تقانة ال AFLP لانواع القرنفل

ازواج البادانات	تسلسلها النيوكليوتيدي (3'—5')
MCTT / EACT	GATGAGTCCTGAGTAACTT / GACTGCGTACCAATTCAC
MCAC / EACT	GATGAGTCCTGAGTAAACAC / GACTGCGTACCAATTCAC
MCAT / EACA	GATGAGTCCTGAGTAAACAT / GACTGCGTACCAATTCACA
MCTG / EACA	GATGAGTCCTGAGTAACTG / GACTGCGTACCAATTCACA
MCAT / EACG	GATGAGTCCTGAGTAAACAT / GACTGCGTACCAATTCACG
MCTT / EACA	GATGAGTCCTGAGTAACTT / GACTGCGTACCAATTCACA
MCTT / EACG	GATGAGTCCTGAGTAACTT / GACTGCGTACCAATTCACG

القرنفل الامريكي 26.34غم، القرنفل الصيني 20.71، قرنفل
جبال الالب 20.14غم، قرنفل عين الطاووس 19.79 غم،
القرنفل المحلي 18.78غم، القرنفل الياباني 17.80غم واكل
نسبة مئوية للوزن الجاف اعطاها المجموع الخصري للقرنفل
العشبي وبلغت 15.44غم، انعكس هذا الاختلاف الواضح
بين الوزن الجاف لأنواع القرنفل على معامل التباين الذي
كان معنوياً وبلغ 28.66(جدول 3). يبين جدول (3) وجود
فروقات معنوية في قطر الزهرة لأنواع القرنفل المدروسة التي
اكدها معامل التباين الذي بلغ 45.08 حيث كان اكبر قطر
زهرة 7.29سم في القرنفل الامريكي ثم تلاه قرنفل عين
الطاووس وبلغ 6.24 سم، قرنفل جبال الالب 5.24سم،
القرنفل الصيني 4.33سم، القرنفل الياباني 3.93سم، القرنفل
الزاحف 3.76سم، قرنفل بوش نلك 3.42سم، القرنفل المحلي
2.79سم، قرنفل حسن يوسف 2.36سم، القرنفل العشبي
2.24سم، القرنفل المهذب 2.19سم واكل قطر زهرة كان في
قرنفل العذراء وبلغ 1.87سم

عطت صفة عدد الافرع الرئيسة لأنواع اكبر معامل تباين
بين الصفات المدروسة وبلغ 85.09 وكان سبب هذا
الاختلافات الكبيرة في عدد الافرع لكل نوع من الانواع
المدروسة، حيث كان اكبر عدد للأفرع الرئيسة 127.81
فرع-نبات في قرنفل العذراء ثم تلاه القرنفل المهذب
116.30 فرع-نبات، القرنفل الزاحف 72.82 فرع-نبات،
قرنفل عين طاووس 53.82 فرع-نبات، القرنفل المحلي
53.87 فرع-نبات، قرنفل جبال الالب 47.51 فرع-نبات،
قرنفل بوش نلك 42.66 فرع-نبات، القرنفل الياباني
16.67 فرع-نبات، القرنفل الصيني 14.55 فرع-نبات،
القرنفل العشبي 12.75 فرع-نبات، القرنفل الامريكي
8.42 فرع-نبات واكل عدد للأفرع الرئيسة اعطاها قرنفل
حسن يوسف وبلغ 7.68 فرع-نبات (جدول 3). اختلفت انواع
القرنفل المدروسة في صفة الوزن الجاف للمجموع الخصري
حيث كان اعلى وزن جاف 35.74غم في القرنفل المهذب ثم
تلاه قرنفل بوش نلك 34.17غم، قرنفل العذراء 33.14غم،
القرنفل الزاحف 31.26غم، قرنفل حسن يوسف 28.45غم،

جدول 3. بعض الصفات المظهرية المدروسة ل12نوع من نبات القرنفل *Dianthus species*.

صفات عامة تم تشخيصها طيلة فترة التجربة (15-9-2013 إلى 1-1-2015) (14)	عدد الازهار او الزهيرات على النبات الواحد	قطر الزهرة او الزهيرة (سم)	الوزن الجاف للمجموع للخضري (غم)	عدد الافرع الرئيسية فرع/نبات	ارتفاع النبات (سم)	انواع القرنفل <i>Dianthus species</i>
النبات معمر، الأزهار مفردة قطمر عطرية وتصلح للقطف تعتبر زهرة قطف عالمية، يصلح لأحواض الزهور ونبات اصص.	7.37	7.29	26.34	8.42	37.84	<i>D. caryophyllus</i> القرنفل الامريكي
حولي شتوي، الأزهار مفردة غير عطرية وغير صالحة للقطف، يصلح لأحواض الزهور والتحديد وكنبات اصص.	13.84	4.33	20.71	14.55	27.72	<i>D. chinensis</i> القرنفل الصيني
النبات معمر، الأزهار مفردة عطرية غير صالحة للقطف، يصلح للحدائق الصخرية وكنبات اصص.	46.34	2.79	18.78	53.87	20.44	<i>D. gratianopolitanus</i> القرنفل المحلي
النبات محول، النورات الزهرية عطرية وصالحة للقطف، يصلح لتحديد الطرق واحواض الزهور.	96.22	2.36	28.45	7.68	34.40	<i>D. barbatus</i> حسن يوسف
النبات دائمي، النورات الزهرية غير عطرية وغير صالحة للقطف، يصلح للحدائق الصخرية وكمغطيات للتربة.	93.68	2.24	15.44	12.75	39.82	<i>D. balbisii</i> القرنفل العشبي
النبات حولي، الأزهار مفردة غير عطرية وغير صالحة للقطف، يصلح للحدائق الصخرية وكمغطيات للتربة.	61.98	3.76	31.46	72.82	14.17	<i>D. repens</i> القرنفل الزاحف
النبات معمر شبه زاحف، الأزهار مفردة غير صالحة للقطف وغير عطرية، يصلح للحدائق الصخرية وتحديد الطرق.	43.72	5.24	20.14	47.51	15.30	<i>D. alpinus</i> قرنفل جبال الالب
النبات حولي كثيف النمو، الأزهار مفردة غير عطرية وغير صالحة للقطف، يصلح كمغطيات تربة ونبات اصص	96.78	2.19	35.74	116.30	40.38	<i>D. monspessulanus</i> القرنفل المهذب
النبات محول، الأزهار مفردة غير عطرية وغير صالحة للقطف، يصلح لأحواض الزهور ونبات اصص.	49.17	6.24	19.79	53.88	21.72	<i>D. pavonius</i> قرنفل عين الطاووس
النبات حولي مفترش، الأزهار مفردة كثيرة لا تصلح للقطف وغير عطرية، يصلح للحدائق الصخرية وتحديد المماشي.	113.90	1.87	33.14	127.81	28.05	<i>D. deltoides</i> قرنفل العذراء
النبات معمر، النورات الزهرية ثلاثية الزهيرات غير عطرية ولا تصلح للقطف، يصلح كنبات اصص واحواض الزهور.	29.71	3.93	17.80	16.67	30.26	<i>D. japonicas</i> القرنفل الياباني
النبات معمر شبه متدلي، النورات الزهرية ثنائية الزهيرات غير عطرية ولا تصلح للقطف، يصلح لأحواض الزهور وكنبات اصص.	66.42	3.42	34.17	42.66	23.94	<i>D. seguieri</i> Busch-Nelke بوش نلك
	57.66	45.08	28.66	85.09	32.51	معامل التغاير % c.v.

المثوية يعزى الى اختلاف تسلسل القواعد في جينوم النبات مما يؤثر في مواقع ارتباط البادئات وهذا الاختلاف ناجم عن اعادة الترتيب او الارتباط او العبور الوراثي وغيرها فنرى الحزم تظهر في مواقع معينة على الهلام. بينت نتائج التحليل الإحصائي للبعد الوراثي (جدول 5) مدى التشابه والاختلاف بين انواع القرنفل المدروسة ، وكانت اعلى نسبة مئوية للبعد الوراثي (0.28) بين النوعين (*D. barbatus* و *D. chinensis*) في حين اعطى النوعين (*D. japonicas* و *D. chinensis*) (0.08) أي كانت اعلى نسبة تشابه من بين جميع الانواع (0.92)، ويفسر هذا التشابه العالي بين القرنفل الصيني ينحدران من اصل واحد كونهما من منطقتين قريبتين جغرافيا وحضاريا من بعضهما. اظهر القرنفل الامريكي *D. caryophyllus* اعلى الاختلافات الوراثية مع باقي الانواع اذ كان اعلاها 0.28 مع القرنفل حسن يوسف، ثم تلتها 0.27 مع القرنفل المهذب وقرنفل العذراء، 0.25 مع القرنفل العشبي، 0.24 مع القرنفل بوش نك، 0.23 مع القرنفل الصيني والمحلي والياباني، 0.20 مع قرنفل عين الطاووس واقلها مع قرنفل جبال الالب وبلغ 0.19، يعود هذا التباين العالي للقرنفل الامريكي مع باقي الانواع كونه ناتج عن سلسلة من التهجينات من قبل مربي النبات لجمع اغلب صفات ازهار القطف فيه وبذلك اختلف مظهرها ووراثيا عن باقي الانواع المدروسة وهذا ما اكدته التجربة الحقلية السابقة (جدول 3). اعطى قرنفل العذراء *D. deltoids* بعد وراثي عالي ايضا مع باقي انواع القرنفل وبلغ 0.25 مع قرنفل حسن يوسف، 0.24 مع القرنفل الياباني، 0.23 مع قرنفل عين الطاووس، 0.12 مع القرنفل الزاحف وبوش نك، 0.19 مع القرنفل المحلي، 0.18 مع قرنفل جبال الالب، 0.16 مع القرنفل المهذب، 0.13 مع القرنفل العشبي واقل بعد وراثي له كان 0.10 مع القرنفل الصيني (جدول 5)، تعتبر هذه النسب من التباينات الوراثية لقرنفل العذراء عالية نوعا ما ذلك بسبب الصفات المظهرية المختلفة والمتميزة التي انفرد بها قرنفل العذراء كونه يمتلك اكبر عدد للأفرع (127.81 فرع-نبات) والازهار (113.90 زهرة- نبات) والنسبة المئوية للوزن الجاف (33.14%) (جدول 3). تميز قرنفل حسن يوسف *D. barbatus* ايضا بالبعد الوراثي العالي مع باقي الانواع الاخرى حيث اعطى

اختلف عدد الازهار على النبات الواحد بين انواع القرنفل المدروسة اذ كان اعلاها في قرنفل العذراء وبلغ 113.90 زهرة-نبات ثم تلاه القرنفل المهذب 96.78 زهرة-نبات، قرنفل حسن يوسف 96.22 زهرة-نبات، القرنفل العشبي 93.68 زهرة-نبات، قرنفل بوش نك 66.42 زهرة-نبات، القرنفل الزاحف 61.98 زهرة-نبات، قرنفل عين الطاووس 49.17 زهرة-نبات، القرنفل المحلي 46.34 زهرة-نبات، قرنفل جبال الالب 43.72 زهرة-نبات، القرنفل الياباني 29.71 زهرة-نبات، القرنفل الصيني 13.84 زهرة-نبات وكان اقل عدد للازهار على النبات 7.37 زهرة-نبات في القرنفل الامريكي، عطى هذا الاختلاف في عدد الازهار معامل تباين عالي المعنوية بلغ 57.66 (جدول 3). من خلال هذه الصفات وصفات مظهرية اخرى اصبح بالإمكان تحديد الاستخدامات التنسيقية لكل نوع من الانواع، اضافة الى معرفة طبيعة النمو (حولي، محول، معمر) لكل نوع من انواع القرنفل المدروسة في ظروف العراق (جدول 3).

2_ الدراسة المختبرية (البصمة الوراثية). اعطت البادئات السبعة التي تميزت في كشف التباينات الوراثية بين انواع القرنفل 397 حزمة كان منها 324 حزمة متباينة وبنسبة تباين 81.59% وهذا يؤكد وجود تباين وراثي بين انواع القرنفل الداخلة في الدراسة، ويتضح من الجدول (4). ان توليفة البادئات (MCTG-EACA) اعطت اكبر عدد من الحزم بين باقي البادئات (67 حزمة) على العكس من توليفة البادئات (MCTT-EACA) التي اعطت اقل عدد للحزم (41 حزمة)، ان هذا التباين في عدد الحزم الناتج من كل زوج من البادئات المستخدمة يعتمد على مدى توافق ارتباط البادئ بجينوم النبات فضلا عن مكونات كل بادئ من القواعد النيتروجينية وباختلاف تسلسل قواعد البادئات المستخدمة يؤدي الى اختلاف مواقع ارتباطها مع جينوم النبات قيد الدراسة وهذا يؤدي الى تباين اعداد الحزم الناتجة من البادئات المستخدمة (15)، وعلى الرغم من هذا التباين في عدد الحزم نجحت البادئات المستخدمة في اعطاء تعددية شكلية بين الحزم الناتجة اذ بلغت اعلى نسبة للتعددية الشكلية 95.45% في ازواج البادئات (CAT-EACG) في حين نجد ان ازواج البادئات (MCAC-EACT) لم تعطي اكثر من نسبة 6.64% من التعددية الشكلية، ان هذا التباين في النسبة

وعين الطاووس، 0.19 مع القرنفل الصيني وبوش نك، 0.17 مع القرنفل المحلي، 0.15% مع القرنفل العشبي، 0.11 مع القرنفل المهذب واقلها كانت 0.09 مع قرنفل جبال الالب، تميز هذا النوع بطبيعة نموه المختلفة عن باقي الانواع المدروسة كونه يعطي افرع كثيرة جدا وبشكل زاحف ويعطي النبات شكل دائرة عند اكتمال نموه والازهار وبذلك اعطى نسب مختلفة من البعد الوراثي مع باقي الانواع اقلها مع قرنفل جبال الالب الذي كان مشابهها بسلوكة الشبه زاحف او لربما يعودان لنفس الموطن الاصلي. اظهر قرنفل بوش نك هذا *D. seguieri* تباعدا وراثيا مختلفا مع باقي الانواع كون هذا النبات شبه متدلي ويمتلك نورات زهرية ثنائية الزهيرات، اذ ابتعد وراثيا بنسبة 0.20 عن القرنفل الصيني والقرنفل العشبي، 0.19 عن القرنفل الياباني وعين الطاووس، 0.16 مع القرنفل المهذب وجبال الالب و0.15 مع القرنفل المحلي (جدول5).

جدول4. عدد الحزم الكلي والمتباينة والنسبة المئوية للحزم المتباينة لتوليفات البادئات في تقانة AFLP لانواع القرنفل

البادئات	العدد الكلي للحزم	عدد الحزم المتباينة	% للحزم المتباينة
MCTT / EACT	51	38	74.51
MCAC / EACT	66	42	63.64
MCAT / EACA	47	35	74.47
MCTG / EACA	67	59	88.06
MCAT / EACG	66	63	95.45
MCTT / EACA	41	37	90.24
MCTT / EACG	59	50	84.75
المجموع	397	324	571.12
المعدل			81.59

اضافه الى الانواع الاخرى فقد اعطى 0.15 مع قرنفل جبال الالب، 0.11 مع القرنفل العشبي، 0.10 مع القرنفل المحلي و0.13 مع القرنفل المهذب *D. monspessulanus* الذي اختلف وراثيا بنسبة 0.17 مع القرنفل العشبي، 0.15 مع القرنفل المحلي، 0.11 مع القرنفل الصيني 0.13 مع قرنفل جبال الالب *D. alpinus* الذي اظهر تغايرات وراثية مختلفة مع باقي الانواع السابقة الذكر اخرها مع القرنفل المحلي وبنسبة 0.18 (جدول5) يتضح من النتائج السابقة كفاءة تقانة AFLP في الكشف عن نسب البعد والتشابه الوراثي بين انواع القرنفل المدروسة بمساعدة ازواج البادئات السبعة التي اثبتت نجاحها في إظهار هذه الاختلافات بشكل واضح دون الحاجة الى اختبار العديد من البادئات الاخرى، وتعتبر

0.25 مع القرنفل الزاحف، 0.24 مع القرنفل المهذب، 0.21 مع قرنفل عين الطاووس، 0.20 مع قرنفل جبال الالب، 0.18 مع القرنفل الياباني والمحلي، 0.15% مع القرنفل الصيني، 0.13 مع قرنفل بوش ليك واقلها 0.09 مع القرنفل العشبي (جدول5)، يعود سبب الاختلافات الوراثية العالية لقرنفل حسن يوسف مع اغلب الانواع كونه يختلف في طبيعة نموه وشكله المظهري فهو نبات محول واوراقه اعرض من باقي اوراق الانواع وغير جلدية اضافته الى امتلاكه نورات زهرية كبيرة الحجم، بينما نجد ان نسبة التشابه وصلت الى 0.91 بينه وبين القرنفل العشبي الذي كان شكله المظهري مقارب نوعا ما لقرنفل حسن يوسف في صفات ارتفاع النبات وقطر الزهيرة وعدد الزهيرات على النبات اضافة الى ان الاثنين يعطيان نورات زهرية (جدول3) يبين جدول البعد الوراثي(5) ان القرنفل الزاحف *D. repens* اختلف وراثيا عن باقي الانواع وبنسب مختلفة بلغت 0.21 مع القرنفل الياباني

اما القرنفل الصيني *D. chinensis* فكان اعلى تباعد وراثي له 0.21 مع القرنفل العشبي، 0.18 مع القرنفل المحلي، 0.15 مع قرنفل جبال الالب وعين الطاووس، 0.11 مع القرنفل المهذب واقل بعد وراثي كان 0.08 مع القرنفل الياباني *D. japonicas* الذي ابتعد وراثيا بنسبة 0.20 عن قرنفل عين الطاووس، 0.19 عن القرنفل المحلي، 0.16 عن القرنفل المهذب، 0.15 عن قرنفل جبال الالب و0.14 عن القرنفل العشبي (جدول5) قد يعود هذا التباعد والتقارب الوراثي بين القرنفل الياباني وباقي الانواع الى الاختلافات المظهرية والموقع الجغرافي الذي نشأت منه الانواع. اظهر قرنفل عين الطاووس *D. pavonius* نسب مئوية للبعد الوراثي مختلفة مع الانواع المدروسة اغلبها كانت عالية كما ذكر اعلاه

اصل الانواع المدروسة، اضافة الى ان قسم من هذه الانواع قد تعرض الى برامج التربية والتحسين اذ قد يكون نوعين او اكثر يعودون لنفس الاصل وهذا ما اكده نسب البعد الوراثي القليل بين بعض انواع القرنفل المدروسة.

البصمة الوراثية بمثابة هوية للتشخيص بين انواع القرنفل المدروسة، فقد اثبتت الدراسة الوراثية ان الاختلافات في الصفات المظهرية بين الانواع ناتج عن الاختلاف العالي في نسب البعد الوراثي بينها الذي قد يعود الى الاختلافات في الموقع الجغرافي (اوربا او اسيا او امريكا) الذي نشأت منه

جدول 5. قيم البعد الوراثي بين انواع القرنفل بالاعتماد على سبعة توليفات من البادئات في تقنية AFLP.

انواع القرنفل <i>Dianthus species</i>	القرنفل الامريكي	القرنفل الصيني	القرنفل المحلي	قرنفل حسن يوسف	القرنفل العشبي	القرنفل الزاحف	قرنفل جبال الالب	القرنفل المهذب	قرنفل عين الطاووس	قرنفل العذراء	القرنفل الياباني	بوش نيك
<i>D. caryophyllus</i> القرنفل الامريكي	0.0											
<i>D. chinensis</i> القرنفل الصيني	0.23	0.0										
<i>D. gratianopolitanus</i> القرنفل المحلي	0.23	0.18	0.0									
<i>D. barbatus</i> قرنفل حسن يوسف	0.28	0.15	0.18	0.0								
<i>D. balbisii</i> القرنفل العشبي	0.25	0.21	0.17	0.09	0.0							
<i>D. repens</i> القرنفل الزاحف	0.20	0.19	0.17	0.25	0.15	0.0						
<i>D. alpinus</i> قرنفل جبال الالب	0.19	0.15	0.18	0.20	0.17	0.09	0.0					
<i>D. monspessulanus</i> القرنفل المهذب	0.27	0.11	0.15	0.24	0.17	0.11	0.13	0.0				
<i>D. pavonius</i> قرنفل عين الطاووس	0.20	0.15	0.10	0.21	0.11	0.21	0.15	0.13	0.0			
<i>D. deltoides</i> قرنفل العذراء	0.27	0.10	0.19	0.25	0.13	0.21	0.18	0.16	0.23	0.0		
<i>D. japonicas</i> القرنفل الياباني	0.23	0.08	0.19	0.18	0.14	0.21	0.15	0.16	0.20	0.24	0.0	
<i>D. seguieri</i> Busch-Nelke بوش نيك	0.24	0.21	0.15	0.13	0.21	0.19	0.16	0.16	0.19	0.21	0.19	0.0

REFERENCES

1. Abbas, SH., H. Kayal, M. Baum, A. Jahor, and G. Bucks. 2009. Identify sites responsible for the quantitative trait on drought with the use of molecular markers in the barley genome. *Damascus University Journal of Agricultural Science*. 25(1):265-289.
2. Al-Hassani, K.I. 2002. The Use of Polymerase Chain Reaction-Based Molecular Markers to Assess Genetic Diversity of Potato *Solanum tuberosum L.*. Ph.D. thesis. Genetic engineering department. Science College. Baghdad University.
3. Al-Qas-Yousuf, M.S. 2011. Assessment the Genetic Distance for Pure Lines of Summer Squash by Using AFLP Markers and Produce Single Crosses. M.Sc. Thesis. The Coll. of Agric. at Univ. of Baghdad. Iraq.
4. Alsahookie, M., and K. M. Wuhaib. 1990. Applications in The Design and Analysis of Experiments. Ministry of Higher Education and Scientific Research, Univ., of Baghdad.
5. Ameen, S.K.M. and E.H. Jasim. 2005. The Effect of Cycocel and Cultar on the Vegetative Growth of *Dianthus caryophyllus L.* The Iraqi Journal of Agricultural Sciences, 36(3):39-46.
6. Anon. 2002. Regulator application for licence International Release of GMOS in to the environment application www.ogtr.gov.au.
7. Carr, J. and S.S. Korban. 2004. Evaluating genetic relationships in *Impatiens walleriana* using AFLP profiling. *Plant Breed.* 123: 577-581
8. Innan, H., R. Terauchi, G. Kahl and F. Tajima, 1999. A method for estimating nucleotide diversity from AFLP data. *Genetics* 151: 1157-1164.
9. Khierallah, H. S. 2007. Micropropagation of two date palm (*Phoenix dactylifera L.*) cultivars using inflorescences and study the genetic stability using AFLP markers. Ph.D. thesis. Iraq.
10. Sahgi-marooof, M.A. , K.M. Soliman, R.A. Jorgens and R. W. Allard .1984. Ribosomal DNA spacer length polymorphisms in barley. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 81: 8014 – 8018.

- 11.Said, M. H. .2001. Identification of DNA Markers for Selection of disease resistance genes in barley. M.Sc. Thesis. Dept. of Field Crop . Coll. of Agric.. Aleppo University. Syria.
- 12.Shoaib. A, Jawhar. M and Arabi. M.I.E. 2008 a. AFLP fingerprinting of old, modern and landraces of durum wheat (*Triticum turgidum* var. durum Desf.) in Syria. Cereal. Res.Comm. 36(3): 1-7.
- 13.Shoaib. A, Jawhar. M and Arabi. M.I.E. 2008 b. AFLP based genetic diversity amongst agronomically important natural and recombinant lines of *Hordeum vulgare*.J.Genet.and Breed.60(3):1-6.
- 14.Tilman, D. and D. Wedin. 1996. Productivity and sustainability influenced by biodiversity in grassland ecosystem. Nature: 718-720.
- 15.Vos, P. , R. Hogers , M. Bleeker , M. eijans , T.V.D. Lee , M. Hornes , A. Frijters , J. Pot , J. peleman , M. Kuiper and M. Zabeau .1995. AFLP : a new technique for DNA fingerprinting. Nucleic Acids Research 23 (21): 4407 – 4414.
- 16.Weigand, F. , M. Baum, and S. Udupa .1993. DNA molecular marker techniques. Technical manual. No. 20 International Research for Agricultural reearch in the Dry Areas, Aleppo, Syria.
- 17.Yee, E., Kidwell, K.K., Sillis, G.R. and T.A. Lumpkin. 1999.Diversity among Selected *Vigna Angularis* (Azuki) Accessions on the Basis of RAPD and AFLP Markers. Crop Science, 39, 268-275.Zaid, A., H.G. Hughes , E. Proccedu and F. W. Nicholas .1999. Glossary of biotechnology and genetic engineering. FAO Research and Technology paper7. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Rom