تقدير التباعد الوراثي لزهرة الشمس بأستخدام التحليل العنقودي

ماجد شايع حمدالله

قسم علوم المحاصيل الحقلية/ كلية الزراعة/ جامعة بغداد

المستخلص

أجريت تجربة حقلية بأستخدام 13 تركيبا وراثيا من زهرة الشمس في محطة ابحاث كلية الزراعة/ ابو غريب خلال الموسمين الربيعيين 2005 و 2008 بهدف تجميع التراكيب الوراثية المتشابهة في مجاميع متجانسة بأستخدام التحليل العنقودي (cluster) وتقدير درجة التباعد الوراثي للتراكيب الوراثية المدروسة.أستخدمت تقانة التجميع الهرمي(hierarchical clustering) لتحليل بيانات التراكيب الوراثية لأرتفاع النبات والمساحة الورقية وقطر القرص وعدد البذور بالقرص ووزن البذرة وحاصل البذور وذلك بتكوين مصفوفة لتقدير درجة التشابه وتقدير مسافات Euclidean بين المجاميع المتكونة. يتكون التحليل العنقودي(cluster) من اثنتي عشرة مرحلة توزعت خلالها التراكيب الوراثية الى ست مجاميع. ضمت المجموعة الأولى والثالثة والرابعة ثلاثة تراكيب لكل منها، في حين ضمت المجموعة الثانية تركيبين وراثيين، اما المجموعة الخامسة والسادسة فقد ضمت تركيبا وراثيا واحدا لكل منها. ان التراكيب الوراثية التي تقع في مجموعة منفردة عادة ماتكون ذات تباعد وراثي عن بقية التراكيب المدروسة وهذا ناشيء عن اختلاف اصلها الوراثي والذي انعكس بدوره على ادائها سلبا او ايجابا. دلت نتائج التحليل العنقودي (cluster) على العلاقة الوثيقة بين التركيبين الوراثيين Kws و Allstar وبين Flammeو Zahratalaraq وبين Macaoو Florasol لأمتلاكهم اقل مسافات Euclidean لذلك يجب تجنب اجراء التضريب بينهما .امتلك التركيبان Shimoos و Ibis اعلى مسافة Euclidean والتي تدل على درجة تباعد وراثي عالية بين هذين التركيبين وبقية التراكيب المدروسة والذي انعكس ايجابا على اداء التركيبين الوراثيين للصفات المدروسة .قد يعود ذلك الى اختلاف الأصل الوراثي لهما والى امتلاكهما بعض الجينات الرئيسة والمفضلة غير الموجودة في بقية التراكيب الوراثية المدروسة، لهذا يفضل ادخالهما في تهجينات مع التراكيب التي ابدت تغايرا وراثيا متميزا للأستفادة من قوة الهجين والأنعزالات الناتجة منها. يمكن ان تكون هذه التقانة الأحصائية بديلا ناجحا عن التقانات الجزيئية في حال عدم توفر الأخيرة.

GENETIC DIVERSITY OF SUNFLOWER BASED ON CLUSTER ANALYSIS

M.Sh.Hamdalla

Field Crop Sci./Coll. of agric./ Univ. of Baghdad

ABSTRACT

An evaluation experiment was carried out on 13 sunflower genotypes at the farm of Field Crop Res. Sta. of College of Agriculture / Univ. of Baghdad for two spring seasons(2005 and 2008). The experiment aimed to group similar genotypes into homogenous groups through cluster analysis and estimate genetic diversity between studied genotypes. Hierarchical clustering technique was used with respect to plant height, leafe area, head diameter, seed number per head, weight of seed and seed yield. Resemblance matrix was constituted then euclidean values were estimated .The genotypes were grouped into six clusters, where cluster I, III and IV included three genotypes followed by cluster II which has two genotypes followed by clusters V and VI which have one genotype for each. It was observed that genotypes Kws and Allstar ,Flamme and Zahratalaraq, Macao and Florasol have similar response pattern based on minimum euclidean. Genotypes Shimoos and Ibis was found to be better in performance and should be involved in crosses based on maximum euclidean values that express high level of genetic diversity. This can lead to give a high heterotic response and wider segregation after hybridization. This statistical technique can be auseful tool when other molecular techniques are not available.

Keywords. Sunflower, cluster analysis, hierarchical, genetic diversity

المقدمة

يعد محصول زهرة الشمس (*Helianthus annuus L.*) من أهم المحاصيل الزيتية في العالم. إذ أنه يتمتع بنوعية زيت عالية ، كما أنه يستخدم في تغذية الحيوانات وفي العديد من الصناعات. يزرع في 22 مليون هكتار حول العالم وينتج 22 مليون طن حاصل بذور(4).ان انتاج هجن او اصناف تركيبية محسنة لزهرة الشمس امر مهم لزيادة الأنتاج وتحسين النوعية وهذا يعتمد على انتخاب اباء متباعدة وراثيا لزيادة احتمال الحصول على قوة هجين عالية(2 و20) , وهذا يحتاج الى جهود متميزة من قبل مربي النبات لزيادة الأختلافات الوراثية من خلال جمع وتقييم اعداد كبيرة من المواد الوراثية (10) . ان التداخل الوراثي – البيئي يقلل من معدل التحسين الوراثي ويؤثر في دقة الأنتخاب لذلك فأن استخدام تقانات احصائية امر ضروري للتغلب على هذه المشكلة.ان تحديد نمط الأستجابة لتراكيب وراثية مختلفة امر صعب بدون مساعدة العرض البياني (22). يعتبر التحليل العنقودي(cluster) من الأدوات الجيدة لمربي النبات لتقييم التباعد الوراثي (genetic diversity) وتحديد مواقع الصفات الكمية (QTL) والمحافظة على الاصول الوراثية، فضلا عن انه لايحتاج الى وضع افتراضات حول طبيعة توزيع البيانات(21). يدعى تحليل cluster بتحليل segmentation او taxonomy ويبحث في تحديد المجاميع المتشابهة لمجموعة من الحالات (التراكيب الوراثية) لصفات محددة بالأعتماد على تشابه استجاباتها للظروف البيئية المحيطة وتصنيف التراكيب الوراثية حسب تقاربها او تباعدها الوراثي اذ يعتمد على حساب مسافات euclidean والتي تعبر عن مقدار التباعد (dissimilarity) بين معدلات المتغيرات الكمية ثم انتاج dendogram والذي يبين توزيع التراكيب الوراثية المدروسة الى مجاميع بحسب ادائها واصولها (pedigree) الوراثية ( ). توجد طرائق متعددة لهذا التحليل اهمها التجميع الهرمي (hierarchical) والتي تسمح بأختبار مسافة محددة واختبار طريقة الأرتباط. تناسب هذه الطريقة حجم البيانات الصغير ($n\leq250$) وتعرض النتائج بشكل dendogram، وطريقة Two-step التي تناسب اعداد البيانات الكبيرة الحجم ($n\leq1000$) وطريقة K-means التي تستخدم عند القدرة على تحديد عدد clusters مسبقا. اجريت دراسات عديدة حول تصنيف تراكيب وراثية لزهرة الشمس الى مجاميع متجانسة (1و 6 و 8و 9و 11و 12و 13و 15و 16و 18). يهدف البحث الى(1)تقدير درجة التباعد الوراثي genetic (diversity) بين جينات التراكيب الوراثية لزهرة الشمس بدلالة حاصل البذور وبعض الصفات تحت ظروف منطقة ابي غريب و (2) تصنيف او تقسيم التراكيب المدروسة الى مجاميع للأستفادة منها كاباء في برامج التربية (3) التعريف بهذه التقانة الأحصائية كون هذا البحث يطبق لأول مرة في العراق.

المواد والطرائق

طبقت تجربة بتصميم القطاعات الكاملة المعشا ة *بثلاثة مكررات لمقارنة ثلاثة عشر تركيباً وراثيا من* محصول زهرة الشمس (*Helianthus annuus L.*) ذات أصول وراثية مختلفة في الموسمين الربيعيين2005 و2008 في محطة أبحاث قسم علوم المحاصيل الحقلية في كلية الزراعة– أبي غريب. تمت الزراعة بين 10-20 أذار ،زرعت البذور بمسافة 20 سم بين الجور و75سم بين المروز للحصول على كثافة نباتية مقدارها 66 إلف نبات بالهكتار. سمدت أرض

تجربة بسماد الداب (N%18 ،p_{2O5}%21) بمعدل 220 كغم/هكتار وكبريتات البوتاسيوم بمعدل 200 كغم/هكتار دفعة واحدة قبل الزراعة ، وسماد اليوريا بمعدل 260 كغم/هكتار على دفعتين متساويتين، الأولى عند وصول النباتات الى مرحلة أربع أوراق حقيقية والثانية عند ظهور البراعم الزهرية. أجريت العمليات الزراعية حسب ما موصى به. حصدت عشرقس نباتات عشوائيا من الخطوط الوسطى لكل وحدة تجريبية عند وصولها الى مرحلة النضج الفسلجي. أجري تحليل التغاير على معدل بيانات السنتين وتحليل cluster بالأعتماد على طريقة agglomerative لتبسيط البيانات عن طريق تجميع التراكيب الوراثية في مجاميع للصفات المدروسة حسب تشابه نمط الأستجابة(14 و19). تم اجراء التحليل على مرحلتين، الأولى تضمنت تحليل البيانات بطريقة المكونات الأساسية (PrincipalComponents Analysis=PCA) (3 و 7) ثم اجراء تحليل cluster في المرحلة الثانية. يتكون تحليل cluster من عدد من الخطوات تبدأ بتكوين مصفوفة لدرجة التشابه بين التراكيب المدروسة تدعى proximities matrix ثم يتم تكوين dendogram بألأعتماد على طريقة UPGMA (14)، اذ تحسب مسافات euclidean التي تعبر عن درجة التشابه بين معدلات المجاميع من مصفوفة proximities matrix التي تم تكوينها في المرحلة الأولى وذلك حسب المعادلة الأتية:

$$distance(x,y) = \{\sum_i (x_i - y_i)^2\}^{½}$$

(12).أستخدم برنامج SPSS v.17 لتحليل البيانات.

النتائج والمناقشة

وجدت اختلافات عالية المعنوية بين التراكيب الوراثية المدروسة (جدول 1) وهذا يعتبر مؤشرا أولياعن التباعد الوراثي بينها. تفوق التركيب الوراثي Shimoos على بقية التراكيب الوراثية في صفات ارتفاع النبات وقطر القرص ووزن 100 بذرة وحاصل البذور وبنسبة56% و50% و93% و 164% عن أوطأ التراكيب الوراثية بالتتابع ، فيما تفوق التركيب الوراثي IBIS على بقية التراكيب الوراثية في صفة المساحة الورقية وعدد البذور بالقرص وبنسبة 346% و114% عن أوطأ التراكيب الوراثية بالتتابع.كان التركيب Allstar و Kws اقل التراكيب لجميع الصفات المدروسة .تم تمثيل الأختلافات الأحصائية بشكل مخطط (شكل1) . توزعت التراكيب الوراثية المدروسة في ستة مجاميع بالأعتماد على تحليل ال cluster (جدول 2). اختلف التركيبان Shimoosو Ibis عن بقية التراكيب الوراثية حيث شغل كل منهما مجموعة فردية (شكل 1 و جدول 2) . عندما يقع اي تركيب وراثي في مجموعة مفردة فهذا يشير الى انه ذو تباعد وراثي عن بقية التراكيب المدروسة. تضمنت المجاميع Iو IIIو IV ثلاثة تراكيب لكل منها، حيث ضمت المجموعة IV التراكيب Flammeو Zahratal-Iraq و Emperodour وضمت الجموعة III التراكيب Turkuaz و Carlos و Triumph ، بينما ضمت المجموعة I التراكيب Kws و Allstar و Aqmar . كانت المجموعة II الوحيدة التي تكونت من تركيبين وراثيين هما Macao و Florasol . ان التضريب بين التراكيب الوراثية التي تعود الى مجاميع متباعدة يقود الى تكوين قاعدة وراثية واسعة ويوفر فرصة لحصول العبور الوراثي لكسر الأرتباط الوراثي(linkage) في الأجيال الأنعزالية(17). ان هذا يعتمد على التقييم الكفوء للتباعد الوراثي بين التراكيب الوراثية المدروسة.

جدول ١ . معدلات الصفات المدروسة لثلاثة عشر تركيبا وراثيا من زهرة الشمس كمعدل للموسمين .

التراكيب الوراثية	ارتفاع النبات (سم)	المساحة الورقية (سم²)	قطر القرص (سم)	عدد البذور بالقرص	وزن 100 بذرة (غم)	حاصل البذور طن/هـ
Emperodor	١٥١.٨	٣٦٦٩.٠	١٤.٣٨	١٠١١.٣	٥.٢٧	٢.٨٩
Turkuaz	١٤٦.١	٢٩٩٣.٣	١٦.٧٣	٦٤٧.٠	٥.٩٣	٢.٣٠
Carlos	١٤٥.٧	٢٧٣٦.١	١٣.٦٣	٥٥٢.٢	٧.٤١	٢.٢٨
Ibis	١٥٧.١	٧٦١٨.٨	١٤.٢٥	١١٨٢.٢	٥.٧٨	٤.٠٨
Triumph573	١٣٠.٧	٣٠٨٦.٩	١٤.٧٣	٩٣٥.٣	٦.٤٦	٤.٠٣
Kws-helia.05	١١٩.٥	١٨٥٣.٣	١٢.٧١	٦٦٤.٩	٥.٧٣	٢.٢٧
Macao	١٥٠.٨	٢٥١٤.٩	١٣.٣١	٨٤٥.٩	٦.٠٣	٣.٠٦
Florasol	١٢٣.٢	٢٢٦٨.٨	١٢.٢٥	٧٥٩.٠	٥.٧٢	٢.٥٣
Allatar	١١٨.٢	١٧٤٩.٥	١١.٣١	٦٥٠.٢	٤.٨٦	١.٨٨
Shimoos	١٨٤.٥	٥٠٥٦.٥	١٧.٠٠	٩١٣.٤	٩.٢٦	٤.٩٦
Flame	١٤٧.٨	٣٩٤٨.٠	١٤.٣٣	٩١٩.٥	٥.٤٢	٢.٩٦
Aqmar	١٥١.٠	١٧٠٦.٥	١٤.٤١	٧٧٢.٩	٦.٢٦	٢.٧٦
Zahratal-Iraq	١٤٥.٧	٤٠٨٠.٨	١٢.٩٥	١٠٨٠.٩	٤.٧٨	٣.٤٩
المعدل	١٤٤.٠	٣٣٢٩.٤	١٤.٠٠	٨٤١.١	٦.٠٧	٣.٠٣
أ. ف. م. 5%	١٩.٦	٣٦٠.٢	١.٦٤	١٩٨.٩	٠.٧١	٠.٦٠
معامل الاختلاف	٨.١%	٦.٤%	٦.٩%	١٤.٠%	٧.٠%	١١.٨%

يشير الشكل 3 الى مراحل تكوين الشكل العنقودي (cluster)، اذ تبدأ المرحلة الاولى بدمج التركيب ذا التسلسل 6 (Kws) مع التركيب ذا التسلسل 9 (Allstar) في مجموعة واحدة يطلق عليها المجموعة 6 اعتمادا على التسلسل الأصغر للتركيبين اللذين كونا هذه المجموعة .ان اختيار هذان التركيبان كان بسبب امتلاكهما اقل مسافة euclidean والتي تم التعبير عنها بقيمة المعامل البالغة 104.85 .في المرحلة الثانية دمجت المجموعة 6 مع اقرب التركيب لها، على اساس مسافات euclidean، وهو التركيب ذا التسلسل 12 (Aqmar) لتتكون بذلك مجموعة جديدة تدعى المجموعة 6 (اعتمادا على التسلسل الأصغر) وهكذا تستمر عملية الدمج بين المجاميع

اعتمادا على قيم euclidean الأقل حتى تندمج جميع التراكيب ضمن شكل او مجموعة واحدة. ان اخر التراكيب المندمجة تكون هي الأبعد عن بقية التراكيب الوراثية وعادة تكون ذات اكبر معامل (قيمة euclidean).

يدل عمود المعامل في جدول 3 على طبيعة التباعد بين المجاميع ، حيث تشير قيمة المعامل الصغير على ان المجاميع متشابهة بينما تدل قيمة المعامل الكبي على انخفاض التجانس .ان قيمة المعامل تناظرمسافات euclidean على المحور الأفقي للشكل 1، الأ انها لاتتشابه معها من حيث القيمة ، حيث اعيدت صياغة قيم المعامل الى المدى المكون من 25-1 حسب برنامج SPSS لتسهيل قرائتها.بلغت اقل مسافة محسوبة 104.85 وكانت بين التركيبين Kws و Allstr للمجموعة I وهذا يدل على تشابه اداء هذان التركيبان ويوافق نتائج تحليل التغاير (جدول 1) الذي بين ان هذين التركيبين هما الأقل اداء لجميع الصفات . ان قلة المسافة تدل على العلاقة الوثيقة بين هذه التراكيب وبالتالي يجب تجنب التهجين بينها. كانت اطول مسافة محسوبة للمجموعة V و المجموعة VI التي تضم التركيبين Shimoos و Ibis (735.2 و 1820.0) بالتتابع عن بقية التراكيب الوراثية المدروسة وهذا قد يرجع الى اختلاف هذان التركيبان في اصلهما الوراثي وامتلاكهما جينات مفضلة غير موجودة في بقية التراكيب مما انعكس على ادائهما ايجابا،لذلك فالتهجين بين هذين التركيبين قد ينتج عنه قوة هجين عالية . يمكن الأستفادة من التركيبين في تضريبه مع بقية التراكيب الوراثية للأستفادة من الانعزالات الوراثية او في تحسين صفة معينة او اكثر للاصناف المعتمدة بواسطة التضريب الرجعي. يوضح جدول 4 امتلاك امتلاك المجموعة I اقل معدل لمعظم الصفات المدروسة، في حين امتلكت المجموعة V اعلى معدل لصفات ارتفاع النبات وقطر القرص ووزن البذرة وحاصل البذور، كذلك تفوقت المجموعة VI في صفات قطر القرص وعدد البذور وحاصل البذور. امتلكت المجموعة IV اقل وزن بذرة.يمكن استخدام المجموعة V للحصول على نباتات ذات ارتفاع وقطر قرص ووزن بذرة وحاصل عال، بينما يمكن استخدام المجموعة VI للحصول على نباتات ذات مساحة ورقية عالية وعدد بذور وحاصل عال. ان امتلاك تراكيب متميزة ومتباعدة وراثيا يعتبر الأساس لنجاح اي برنامج للتحسين. ان تقييم البعد الوراثي يمكن ان يحسن كفاءة البرنامج عن طريق تجميع الأليلات المرغوبة خاصة عند استخدام التقانات الجزيئية (5) ، الأ انه في حال عدم توفر هذه التقانات فأن استخدام تقانة التحليل العنقودي(cluster) سيكون مفيد جدا لتقدير درجة التباعد الوراثي او كنتائج تدعم التحاليل الوراثية والجزيئية الأخرى لتقدير الأصل الوراثي.

جدول 2. عدد واسماء التراكيب لكل مجموعة حسب التحليل العنقودي(cluster).

المجاميع	عدد التراكيب الوراثية	اسم التركيب
I	3	Aqmar،Allstar ،Kws

II	2	Florasol،Macao
III	3	Triumph،Carlos،Turkuaz
IV	3	Emperodor،Flamme,Zahratal- Iraq
V	1	Shimoos
VI	1	Ibis

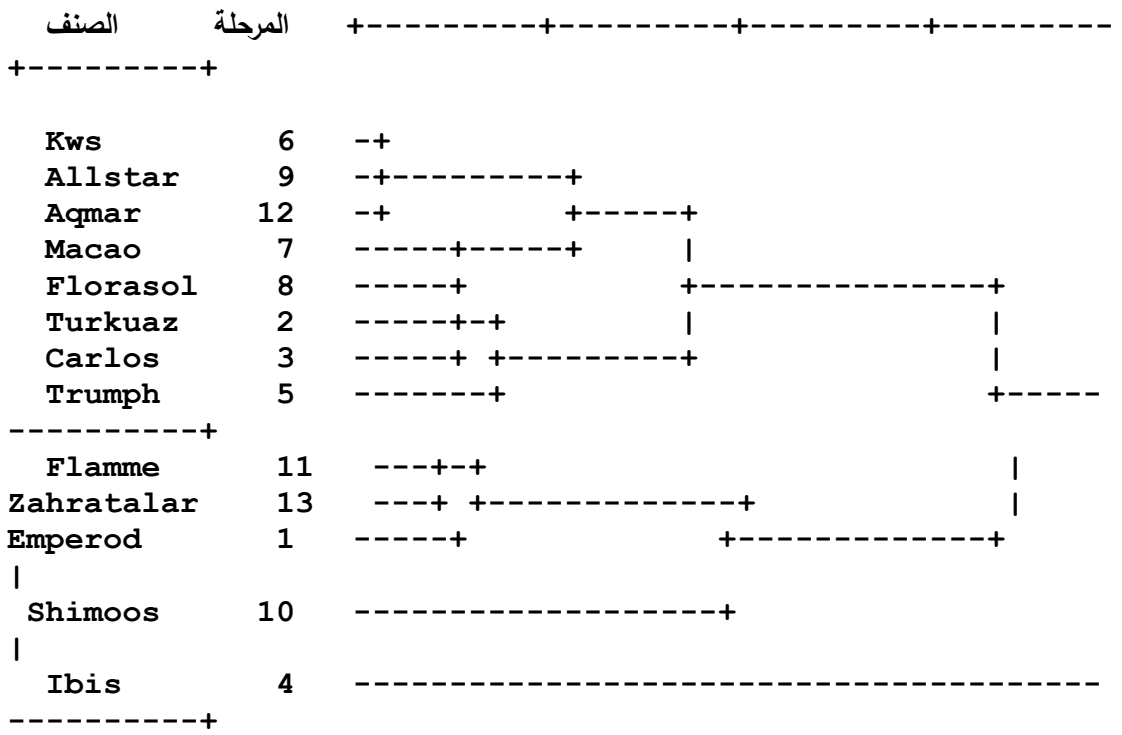
جدول 3 . المعامل المقدر بين المجاميع حسب التحليل العنقودي(cluster)

المرحلة	Cluster 1	Cluster 2	المعامل
1	6	9	104.85
2	6	12	141.31
3	11	13	209.02
4	7	8	262.45
5	2	3	274.13
6	1	11	306.81
7	2	5	360.09
8	6	7	449.52
9	2	6	702.40
10	1	10	735.28
11	1	2	1263.99
12	1	4	1820.02

جدول 4 . معدلات الصفات المدروسة كمعدل للموسمين للمجاميع حسب التحليل العنقودي(cluster).

المجاميع	الصفات					
	ارتفاع النبات	المساحة الورقية	قطر القرص	عدد البذور بالقرص	وزن ١٠٠ بذرة	حاصل البذور
I	129.56	1769.76	12.81	696.00	5.61	2.30
II	137.00	2391.85	12.78	802.45	5.87	2.79
III	140.83	2938.76	15.03	711.50	6.60	2.87
IV	148.43	3899.26	13.88	1003.90	5.15	3.11
V	184.50	5056.50	17.00	913.40	9.26	4.96
VI	157.10	7618.80	14.25	1182.20	5.78	4.08

شكل 1.أنموذج التجميع الهرمي(Hierachical clustering) لتوزيع التراكيب الوراثية على المجاميع(المحور العمودي) ومسافات euclidean بين المجاميع والتي تناظر المعامل في الجدول 3 اعتمادا على الصفات المدروسة.



المصادر

1-Anuradha, N., P.V. Ramakumar, A. Vishnuvardhan, and C.H.V Durga. 2004.Genetic divergence in sunflower .The Andhra Agric. J., 51:39-43.

2-Ashish,K., N., Manivannan and P.Vindhy .2007.Cluster analysis of yield trait in sunflower. Madras Agric. J., 94(1-6):27-31.

3-Elsahookie,M.M. and A.F.Almehedi.2008. Principal component analysis to test stability of cultivars across environments. The Iraqi J. Agric, Sci.39(1):102-115.

4-FAO STAT DATABASE.2008. (http://faostat.fao.org)

5-Hamdalla , M.SH.2009. The role of molecular techniques in genetic maps, genetic diversity and fingerprinting. The Iraqi J. Agric.Sci.40(3):50-62.

6-Iriyadarshini, D. V. 1999. Genetic analysis of variability in exotic sunflower *(Helianthus annuus* L.). M.Sc. Thesis,Tamil Nadu Agricultural University, Coimbatore.

7-Jeffers, J.N.R. 1967. Two case studies in the application of Principal component analysis. Appl. Stat., 16:225-236.

8-Loganathan, P., A.Gopalan and N. Manivannan.2006. Genetic divergence in sunflower *(Helianthits annuus* L). *Research* on Crops, 7(1): 198-201.

9-Mahalakshmi, P., R., Vidhyavathi, N. Manivannan, and V. Muralidharan, 2006. Genetic divergence in sunflower. Agric. Sci. Digest,26(2): 138-140.

10-Mahasi, M.J. and W. Kamundia.2007. Cluster analysis in rapeseed.African J. of Agric. Res. 2(9):409-411

11-Mohan, G.S. and A. Seetharam. 2005. Genetic divergences in lines of sunflower derived from inter specific hybridization. SABRAO.J. Breed. and Genet., 37 (2): 77-84.

12-Punitha,B., P.Vindhiyavarman and N.Manivannan.2010. Genetic divergence study in sunflower (*Helianthus annuus L.*). Electronic Journal of Plant Breeding, 1(4): 426-430.

13-Reddy, R.S., K.S. Dangi, A.V.Reddy, and S.S. Kumar.2004. Genetic divergence in newly developed sunflower *(Helianthus annuus*L.). J. Oilseeds Res., 21(1): 166-167.

14-Sneath,P.H.A. and R.R.Sokai.1973.Numerical Taxonomy: The Principal and Practice of Numerical Classification, W.H.Freeman and Co., San Francisco.

15-Sridhar, V., K.S. Dangi, A.V.V. Reddy, and S.S. Kumar. 2006. Genetic divergence studies in sunflower *(Helianthus annuus* L). Research on Crops, 7(1): 194-197.

16-Srinivas, B., S.D. Kuldeep, , L. Prayaga and S. Sudheer . 2006. Genetic divergence studies in sunflower*(Helianthus annuus L)* germplasm lines. J.Oilseeds Res., 23(1): 49-51.

17-Thoday, J.M. 1960. Effect of disruptive selection in coupling and repulsion. Heredity, 14: 35-39.

18-Vishnuvardhan , A.,R. Nagaraja , and G. Nagaraj. 2005. Genetic divergence for seed yield and its components traits in sunflower, *Helianthus annuus* L. germplasm accessions. J. Oilseeds Res.,22(2): 313-316.

19-Williams, W.T. 1976. Pattern Analysis in Agricultural Sciences. Elsevier, Amsterdam.

20-Yazdi, B. and C.Mishani.1989.Cluster analysis in safflower.Second International Safflower Conference, Hyderabad,India.p.119-126.

21-Yau.S.K. and G.Ortiz.1994.Regression and analysis of elite wheat lines grown in rainfed environment. J. of Genetics and Breeding.48:183-190.

22-Yan, W. and L.A. Hunt. 2001. Genetic and environmental causes of GXE interaction for winter wheat yield in Ontario. Crop Sci., 41: 19-25.