

الملخص العربي

أجري هذا البحث على عشرة أصناف من الفول البلدي وهى سخا-١، وسخا-٢، نوباريه-١، مصر-١، جيزه-٣ محسن، جيزه-٤٦١، جيزه-٦٤٣، جيزه-٧١٧، جيزه-٨٤٣، يوسف الصديق.

والهدف هو توصيف وتمييز هذه الأصناف بواسطة استخدام الطرق المورفولوجية لتحديد الصفات المورفولوجية المميزة للأصناف وذلك تبعاً لدليل التوصيف المورفولوجى لمحصول الفول البلدى الصادر عن الإتحاد الدولى لحماية حق المربى (UPOV) وكذلك استخدام الطرق الكيميائية والبيوتكنولوجية وذلك لاستفادة بها في مجالات تحسين وتربية المحاصيل والتفتيش الحقلى. وقد أجريت التجارب الحقلية بمحطة التجارب والبحوث الزراعية بمشتهر خلال موسمي الزراعة ٢٠٠٢/٢٠٠٣-٢٠٠٣/٢٠٠٤. وكان التصميم التجريبي المستخدم هو قطاعات كاملة العشوائية فى ثلاث مكررات. وأجريت الدراسات الكيميائية بمعامل قسم بحوث تكنولوجيا البذور - معهد المحاصيل الحقلية- مركز البحوث الزراعية بالجيزة.

وكانت الصفات المدروسة في التوصيف المورفولوجى هي محتوى البذور من التانينات-ارتفاع النبات-عدد السيقان في النبات-عدد العقد-تلون الساق بصبغة الأنثوسيانين-كثافة صبغة الأنثوسيانين-لون الأوراق-كثافة اللون الأخضر للأوراق-الطول القاعدي للورقة-عرض الورقة-التفاف الورقة حول العرق الوسطي-عدد النورات على العقدة-ميعاد الإزهار-طول الزهرة-وجود بقعة الميلانين على جناح الزهرة-وجود بقعة الميلانين على ورقة العلم-تلون ورقة العلم بصبغة الميلانين-درجة امتداد صبغة الأنثوسيانين-عدد القرون-اتجاه نمو القرن-طول القرن بدون منقار-درجة كثافة اللون الأخضر الفاتح للقرن-درجة تقوس القرن-عدد البويضات المحتوية على بذور في القرن-سمك القرن-شكل القطاع الوسطي للبذرة-وزن ال ١٠٠٠ بذرة.

وقد أجرى تحليل كيميائي للمكونات الأساسية لبذور هذه الأصناف وكذلك تم فصل بروتين البذور إلى مكوناته المختلفة (Protein fractions) وذلك باستخدام مذيب خاص لكل مكون بروتيني. وتم دراسة ثلاثة من المشابهات الإنزيمية وهى (جلوتامات اكسالواستيات ترانس أمينيز - الاستيريز - البيروكسيديز) وذلك عن طريق التفريد الكهربى لمكوناتها. وكذلك تم تفريد بروتينات البذور بواسطة الهجرة الكهربائية (Electrophoresis) باستخدام طريقة (SDS-PAGE) للتعرف على مكوناتها في مناطق الأوزان الجزيئية المختلفة. وتم استخدام تحليل الـ RAPD من خلال تقنية تفاعل البلمرة المتسلسل PCR باستخدام خمسة من البادئات المحتوية على عشرة قواعد عشوائية التتابع.

ويمكن تلخيص أهم النتائج المتحصل عليها في الآتي:

أولاً: الصفات المورفولوجية

-محتوى البذور من التانينات:-جميع الأصناف تحتوى على مادة التانين.
-ارتفاع النبات:- يتميز الصنفين سخا ١ وسخا ٢ بقصر الطول بينما صنف يوسف الصديق تميز بارتفاع طول النبات أما باقي الأصناف فهي متوسطة الطول.
-عدد السيقان فى النبات:- جميع الأصناف تتميز بأنها متوسطة فى عدد السيقان للنبات.

-عدد العقد:-جميع الأصناف متوسطة فى هذه الصفة.
-تلون الساق بصبغة الأنثوسيانين:-يتميز صنف سخا ١ بغياب هذه الصفة أما باقي الأصناف تتميز بوجود هذه الصفة.
-كثافة صبغة الأنثوسيانين:-يتميز صنف مصر ١ بكثافة صبغة متوسطة أما باقي الأصناف ذات تلوين ضعيف.

-لون الأوراق:-تتميز جميع الأصناف بوجود هذه الصفة باللون الأخضر.
-كثافة اللون الأخضر للأوراق:-جميع الأصناف تتميز أوراقها بأنها متوسطة

الكثافة.

- الطول القاعدي للوريقة:- صنف مصر ١ ونوبارية ١ يتميزوا بقصر الطول القاعدي للوريقة أما باقي الأصناف تتميز بأنها متوسطة الطول القاعدي للوريقة.
- عرض الوريقة:-تقسم الأصناف إلى ثلاث مجموعات
 - ١ -أصناف ذات عرض ضيق ومنها نوبارية ١
 - ٢-أصناف ذات عرض متوسط ويشمل سخا ١، سخا ٢، جيزه ٧١٧، جيزه ٤٦١، جيزه ٦٤٣، مصر ١، جيزه ٨٤٣ ويوسف الصديق.
 - ٣-أصناف ذات عرض عريض ومنها جيزة محسن.
- التفاف الوريقة حول العرق الرئيسي:- هذه الصفة متوسطة في جميع الأصناف.
- عدد النورات على العقدة:- هذه الصفة متوسطة في جميع الأصناف.
- ميعاد الإزهار :-قسمت الأصناف إلى ثلاث مجموعات
 - ١-أصناف مبكرة في الإزهار ومنها صنف يوسف الصديق
 - ٢-أصناف متوسطة في الإزهار وتشمل صنف مصر -١، سخا ١، سخا ٢، جيزة ٧١٧، جيزة ٣ محسن، جيزة ٦٤٣، جيزة ٤٦١ وجيزه ٨٤٣
 - ٣-أصناف متأخرة في الإزهار و منها نوبارية ١
- طول الزهرة:- كانت جميع الأصناف متوسطة لهذه الصفة.
- وجود بقعة الميلانين على جناح الزهرة:-هذه الصفة يتميز بها جميع الأصناف المدروسة.
- وجود بقعة الميلانين على ورقة العلم:-الصفة كانت موجودة في جميع الأصناف المدروسة.
- تلون ورقة العلم بصبغة الأنثوسيانين:-الصفة غائبة في جميع الأصناف.
- درجة امتداد صبغة الأنثوسيانين على ورقة العلم:-في جميع أصناف الفول البلدي الموجودة تحت الدراسة كانت هذه الصفة موجودة بدرجة متوسطة.

- عدد القرون: -يتميز صنف يوسف الصديق بوجود العديد من القرون أما باقي الأصناف تتميز بأنها متوسطة في عدد القرون.
- اتجاه نمو القرن: -قسمت الأصناف إلى ثلاث مجموعات
- ١- أصناف ذات قرون قائمة تشمل صنف سخا ١ وجيزة ٨٤٣
 - ٢- أصناف ذات قرون شبة قائمة وتشمل سخا ٢، جيزة ٧١٧، جيزة ٣ محسن، جيزة ٦٤٣، جيزة ٤٦١، مصر ١ و يوسف الصديق.
 - ٣- أصناف ذات قرون شبة متذبذب و منها صنف نوبارية ١.
- طول القرن بدون منقار: -جميع الأصناف يتميز قرونها بأنها متوسطة في الطول.
- عرض وسط القرن: -يتميز صنف نوبارية ١ بأنه عريض أما باقي الأصناف فأنها متوسطة في العرض.
- درجة كثافة اللون الأخضر الفاتح للقرن: -يتميز صنف نوبارية ١ بأنة درجة كثافة اللون خفيفة أما باقي الأصناف فان درجة كثافة اللون بها متوسطة.
- درجة تقوس القرن: -قسمت الأصناف إلى أربعة مجموعات
- ١- أصناف خفيفة في درجة التقوس وتشمل سخا ١ وجيزة ٨٤٣، جيزة ٧١٧، جيزة ٣ محسن، جيزة ٤٦١
 - ٢- أصناف متوسطة في درجة التقوس ويشمل سخا ٢، و يوسف الصديق.
 - ٣- أصناف قوية في درجة التقوس ويشمل مصر ١ ونوبارية ١
 - ٤- أصناف خفيفة متوسطة في درجة التقوس ومنها جيزة ٦٤٣
- عدد البويضات المحتوية على بذور في القرن: -هذه الصفة تكون متوسطة في جميع الأصناف المدروسة.
- سمك القرن: -يتميز سمك الفرن بأنة رفيع في كلا من الصنف جيزة ٤٦١ ويوسف الصديق أما باقي الأصناف فان سمك القرن بها متوسط.
- شكل القطاع الوسطي للبذرة: -يتميز صنف سخا ١ ونوبارية ١ بان له شكل اهليجي عريض أما باقي الأصناف فان لها شكل اهليجي.

وزن ١٠٠٠ بذرة: -قسمت الأصناف إلى ثلاث مجموعات

- ١- أصناف متوسطة الوزن ومنها جيزة ٧١٧، مصر ١ ويوسف الصديق.
- ٢- أصناف عالية الوزن ومنها وتشمل سخا ١ وجيزة ٨٤٣، جيزة ٦٤٣، جيزة ٣ محسن، جيزة ٤٦١

٣- أصناف عالية جدا في الوزن ويشمل سخا ٢ ونوبارية ١.

-لون القصرة: -يتميز صنف جيزة ٧١٧ بان لون القصرة يميل إلى اللون الأخضر أما باقي الأصناف تتميز لون قصرتها باللون البيج.

-لون الصبغة السوداء في السرة: -تتميز جميع الأصناف بوجود هذه الصفة.

-الوقت الكامل لنمو القرن: -قسمت الأصناف إلى ثلاث مجموعات

١- أصناف مبكرة في النمو ومنها يوسف الصديق.

- ٢- أصناف متوسطة في النمو ومنها مصر ١، سخا ١، جيزة ٨٤٣، جيزة ٦٤٣، جيزة ٣ محسن، جيزة ٤٦١، سخا ٢ جيزة ٧١٧

٣- أصناف مبكرة في النمو ومنها نوبارية ١.

ثانيا: التحليل الكيميائي

تم إجراء تحليل كيميائي لبذور الأصناف على أساس الوزن الجاف وكانت البذور تحتوي على مكونات كيميائية في الحدود التالية:

احتوى الصنف سخا-١ على أعلى نسبة من البروتين (٣٠,٦٠%) وأقل نسبة وجدت في الصنف مصر-١ (٢٣,٨١%). بينما الصنف جيزة ٤٦١ أعطى أعلى نسبة من الزيت (٢,٢١%). وأعلى نسبة من الألياف كانت في الصنف جيزة ٣ محسن (٨,٥٨)، أما الصنف يوسف الصديق فقد أعطى أعلى محتوى من الرماد (٤,٤٥%). أما نتائج تحليل الكربوهيدرات فكانت في حدود (٥٧,٥٧%-٦٤,٧٠%) في الأصناف يوسف الصديق وجيزة ٨٤٣ على التوالي.

ثالثاً: فصل مكونات البروتين

بالنسبة لتركيب بروتين بذور الأصناف المختلفة من الفول البلدي تم فصل البروتين الخام لكل صنف على حدة إلى خمسة مكونات وذلك اعتماداً على ذوبانها في مذيبات مختلفة والمكونات هي (الألبومين - الجلوبيولين - البر - ولامين - الجلوتيلين - البروتينات غير الذائبة) حيث بينت النتائج أن أعلى نسبة من الألبومين وجدت في الصنف جيزة-٧١٧ (١٧,١٠)%. كما وجدت أعلى نسبة من الجلوبيولين كانت (٣٨,٥) في الصنف مصر ١. أما الصنف جيزة-٨٤٣ فقد أعطى أعلى محتوى من البر ولامين (٦,٢٢%) والجلوتيلين (١٣,١١%). أما نتائج تحليل البروتينات غير الذائبة فكانت قيمها بين (٣١,٥٧%) في الصنف جيزة-٨٤٣ و (٣٨,٤٨%) في الصنف جيزة-٣ محسن . كما تم عمل علاقة نسبية بين بعض المكونات وذلك للإعتماد عليها في التمييز بين الأصناف حيث تم حساب نسب الجلوبيولين / الألبومين ونسبة الجلوبيولين / البر ولامين. حيث بينت النتائج أن هذه النسب يمكن استخدامها لتوصيف وتمييز هذه الأصناف المستخدمة في الدراسة

رابعاً: التفريد الكهربى للبروتينات (Electrophoresis)

تم تفريد بروتينات البذرة للأصناف المختلفة من الفول البلدي بطريقة SDS- PAGE حيث تم دراسة التفريد الكهربى على أساس إجمالي عدد حزم البروتين والوزن الجزيئى للبروتينات. فقد وجد أن إجمالي عدد حزم البروتين يتراوح بين ٨ حزم في الصنف جيزة ٦٤٣ إلى ١٢ حزمة في كلاً من جيزة ٤٦١ ، سخا ٢ . كما وجدت ستة حزم مشتركة في جميع الأصناف ذات وزن جزيئى ٨٤,٧٤٧ ، ٥١,٦٢٠ ، ٣٨,٥٥٤ كيلودالتون. ومن النتائج أمكن الحصول على دلائل موجبة فى صورة حزمة مميزة لكل صنف من الأصناف الآتية : جيزة-٣ محسن، جيزة ٧١٧، جيزة ٨٤٣، نوبارية-١، مصر-١، سخا-١

عند الحزم ذات الأوزان الجزئية (٦,٢١١-١٠,٤٢١-١٠,٤١٢-٩٠,٠٥٦-١٤١,٠٥٦-١٥٦,١٩٢-٢٢٣,٠٤١ كيلودالتون) على الترتيب ومن النتائج أيضا أمكن الحصول على دلائل سالبة في صورة حزمة واحدة ذات الوزن الجزئي (٣٠,٧٤٦ كيلو دالتون) مميزة للأصناف جيزة-٦٤٣، جيزة-٨٤٣، سخا-١. كما أمكن تمييز الأصناف ، جيزة-٤٦١، جيزة-٦٤٣، يوسف الصديق بوجود الحزمة ذات الوزن الجزئي ٥٥,٨٤٥ كيلو دالتون.

خامسا: المشابهات الإنزيمية

على مستوى المشابهات الإنزيمية فقد تم دراسة ثلاثة مشابهات إنزيمية وهي (البيروكسيداز - جلوتامات أكسالواسيتات ترانس أميناز - الاستيريز) فقد دلت النتائج أنه باستخدام عدد المكونات البروتينية وقيم الـ R_F لبعض المشابهات تحت الدراسة يمكن توصيف وتمييز هذه الأصناف. حيث تبين النتائج الخاصة بالجلوتامات أكسالواسيتات ترانس أميناز أن الصنفان جيزة-٧١٧ ونوبارية -١ يحتويان على أربعة مكونات بروتينية مختلفة عن باقي الأصناف ومختلفة في قيمة الـ R_F . واحتوت باقي الأصناف على عدد من ٢-٣ مكونات تميزها عن بعضها قيم الـ R_F . ومن نتائج الاستيريز فقد دلت أن الأصناف أعطت اختلاف في عدد المكونات (٤-٧ مكونات) حيث احتوى الصنف جيزة-٣ محسن وحده على ٧ مكونات بروتينية تميزه عن باقي الأصناف واحتوى كلا من جيزة ٦٤٣، جيزة ٤٦١، يوسف الصديق على أربعة مكونات بروتينية مختلفة في قيم الـ R_F تميزها عن باقي الأصناف. بينما الصنف نوبارية-١ وحده احتوى على خمسة مكونات بروتينية تميزه عن باقي الأصناف. أما بالنسبة لنتائج البيروكسيداز فقد تبين وجود خمسة مكونات بروتينية للصنف جيزة-٧١٧ وهي مميزة له عن باقي الأصناف. بينما احتوت باقي الأصناف على عدد من ٣ - ٤ مكونات بروتينية مختلفة عن بعضها في قيم الـ R_F .

سادسا: البصمة الوراثية باستخدام تحليل RAPD

بالنسبة لتحليل RAPD من خلال تقنية تفاعل البلمرة المتسلسل PCR

أظهرت النتائج مايلي:-

- تراوح عدد الحزم التي تم الحصول عليها لكل بادئ من واحد (A 12) إلى ١٢ (B 10).
- تراوح الحجم الجزيئي للحزم التي تم الحصول عليها لكل بادئ من ٨٥ زوج قاعدة (B 01) إلى ١٠٧٤٤ زوج قاعدة. (B 20)
- أعطى البادئ (A 12) عدد ٧ حزم بأحجام جزيئية تراوحت بين ٢٦٠ - ٤٧١٠ زوج قاعدة. ولم توجد حزمة مشتركة بين جميع الأصناف. وقد أمكن تمييز الصنف جيزه ٧١٧ بوجود حزمة مميزة بحجم جزيئي ١٢٩٠ زوج قاعدة.
- أعطى البادئ (A 07) عدد ٥ حزم بأحجام جزيئية تراوحت بين ٥١٠ - ٤٣٨٥ زوج قاعدة. وجد حزمة مشتركة في جميع الأصناف عند حجم جزيئي ٢٠٣٥ زوج قاعدة. وقد أمكن تمييز الصنف يوسف الصديق بوجود حزمة مميزة بحجم جزيئي ٤٣٨٥ زوج قاعدة. ومن النتائج أيضا أمكن الحصول على دلائل سالبة في صورة حزمة واحدة ذات حجم جزيئي ١٢٩٥ زوج قاعدة مميزة للصنف جيزة-٦٤٣.
- أعطى البادئ (B 20) عدد ١٦ حزمة بأحجام جزيئية تراوحت بين ٢٧٥ - ١٠٧٤٤ زوج قاعدة. وجدت ثلاث حزم بأحجام جزيئية ٨٢٠، ١٠١٥، ٢١٣٥ زوج قاعدة مميزة للصنف نوبارية-١. كما وجدت خمس حزم بأحجام جزيئية ٢٧٥، ٣٩٠، ١١٦٠، ٣٣٦٠، ١٠٧٤٤ زوج قاعدة مميزة للصنف يوسف الصديق.
- أعطى البادئ (B 10) عدد 12 حزمة بأحجام جزيئية تراوحت بين ٤٦٠ - ٣٦٣٥ زوج قاعدة. وجدت ستة حزم مشتركة في جميع الأصناف عند حجم

جزئي ٦٠٥ ، ٨٠٠ ، ١٢٦٥ ، ١٤٤٠ ، ٢٦٩٥ ، ٣٦٣٥ زوج قاعدة. وقد أمكن
تمييز الصنف يوسف الصديق بغياب حزمة مميزة بحجم جزئي ١٨٥٠ زوج
قاعدة .

- أعطى البادئ (B 01) عدد ١٥ حزمة بأحجام جزئية تراوحت بين ٨٥ -
٨٠٨٠ زوج قاعدة. وجد حزمة واحدة مشتركة في جميع الأصناف عند حجم
جزئي ٨٩٠ زوج قاعدة. وقد أمكن تمييز الصنف سخا-٢ بوجود حزمة مميزة
بحجم جزئي ٨٠٨٠ زوج قاعدة. كما أمكن تمييز الصنف يوسف الصديق
بوجود حزمتين مميزة بحجم جزئي ٤٩٨٥ زوج قاعدة.