إعتماد المؤشرات الجزيئية في تقدير التباين الوراثي لعدة تراكيب وراثية مدخلة من الذرة الصفراء (Zea mays L.)

رؤيا محمد الطالباني[1] و فخر الدين عبد القادر صديق و نوروز عبد الرزاق
جامعة تكريت- كلية الزراعة – قسم المحاصيل الحقلية

الخلاصـــة

نفذت التجربة في مختبرات كلية الزراعة جامعة السليمانية في عام 2014 لهدف تقدير التباين الوراثي بين 12 تركيب وراثي للذرة الصفراء. أستخدمت تقانة مؤشرات التتابعات البسيطة المكررة (SSR) المعتمدة على تقانة الPCR. استخدم 20 بادئ لتحليل التباين الوراثي بين التراكيب الوراثية المدروسة، اظهرت 15 بادئ نتائج التضاعف في التجارب المتكررة وادت الى ظهور 52 اليل والتي اعطت 307 حزمة بمعدل 3.1 بأحجام جزيئية مختلفة تراوحت بين 80–1000 زوج قاعدي وبلغت معدل قيمة الPIC للتراكيب الوراثية المدروسة (0.5718)، اعطى زوج البادئات phi069 اعلى قيمة وبلغت (0.8785) ، وبلغ معدل التنوع الجيني للتراكيب المدروسة 0.625 اعطى زوج البادئات Phi069 أعلى قيمة للتنوع الجيني بلغت (0.888)، اما قيمة تكرار الاليل الكلي فقد بلغ معدله الذي كشفت عنه ازواج البائات (0.488) و اعطى زوج البادئات Umc163 اعلى قيمة بلغت (0.75)، وفقاً لشجرة القرابة الوراثية وبالأعتماد على نتائج ازواج البادئات المستخدمة في هذه الدراسة توزعت التراكيب الوراثية الى ثلاث مجاميع رئيسية وتوضح ان اقل بعد وراثي كان بين التركيبين الوراثيين DKC–1011 و Miami والذي بلغ (0.846) في حين كان اكبر بعد وراثي بلغ (0.360) كان بين التركيبين الوراثيين Drakhma و DKC–1011.

الكلمات المفتاحية :
التباين الوراثي ، SSR ، الذرة الصفراء .
للمراسلة :
رؤيا محمد الطالباني
البريد الالكتروني:
roaya.altalabani@gmail.com

Dependence and Phenotypic and Molecular Labels in Estimations of Genetic of Variance of Some Genotypes of Corn (*Zea mays* L.)

Roaya M. Al-Talabani; Fakhraldeen A.Q. Sedeeq and Nawroz Abdul Razaq
Field crops Dept. - college of Agriculture - University of Tikrit

ABSTRACT

Afield experiment was conducted in the college of Agriculture labs Sulaimanya University in 2014 to estimate the genetic variance between 12 genotypes of maize. (SSR) technology was used depending on (PCR) technology. Twenty primers were used for the genetic variance analysis between the studied genotypes and 15 primers showed polymorphic results in repeated experiment caused to experinse 52 alleles which gave 307 bands of range 3.1 by different molecular sizes ranged between 80-1000 pair base the value of PIC reached to phi069 gave high value (0.8785), the range of genetic diversity for studied genotypes reached to (0.625) gave primers pairs phi069 hig value for genetic diversity (0.888). The value of total allele replication ranged at primers pairs (0.488) which gave pair of primer Umc163 higher value (0.75). a Ponding to genetic dendrogram tree of primer pairs results which used in this study the genotypes distributed to three main groups, which showed that the less genetic diversity was between two genotypes Dkc-1011 and miami (0.846), while the larger genetic diversity was (0.360) which was between two genotypes drakhma and Dkc-1011.

Key words:
Performance of genotypes, SSR, Maize.

Correspondence:
Roaya M. Al-Talabani
E-mail:
roaya.altalabani@gmail.com

المقدمـــة:

يعد محصول الذرة الصفراء *Zea mays* L. من محاصيل الحبوب المهمة في العالم والوطن العربي و يحتل المرتبة الثالثة بعد محصولي الحنطة والرز وهو محصول متعدد الاستخدامات اذ تستخدم حبوبه كغذاء للأنسان وتصنيع المشروبات وفي الوقود الحيوي (اليونس،1993). ان القدرة الانتاجية العالية لهذا المحصول وتأقلمه مع ظروف بيئية مختلفة وزراعته في اكثر من

[1]البحث مستل من رسالة ماجستير للباحث الاول

موسم في السنة زاد من اهميته بين المحاصيل الحقليه وحظي بأهتمام مربي النبات لغرض تحسينه ذلك لانه من المحاصيل الخلطية التلقيح واجريت عليه الكثير من الابحاث العلمية. وللتراكيب الوراثية اهمية خاصة كونها تمتلك قاعدة وراثية عريضة تمكنها من المحافظة على انتاجها تحت ظروف متغيرة (singh واخرون ،1978).

اتجه مربو النبات الى الطرق التي يمكن من خلالها معرفة مدى التباعد والتقارب الوراثي بين التراكيب الوراثية واستخدم لهذا الغرض عدة تقنات منها ما هو معتمد على الشكل المظهري (طول النبات و لون الازهار و وغيرها)، ومنها ما هو معتمد على المادة الوراثيه الاساسيه DNA التي تستخلص من النبات للحصول على مؤشرات وراثية تدعى مؤشرات DNA.

بالاعتماد على تقانة ال PCR (Polymerase Chain Reaction) تم استنباط العديد من من الموشرات الوراثية منها مؤشرات ال SSR (Simple Sequence Repeats) التي اعتمدت في هذه الدراسة وهي احدى مؤشرات DNA الحديثة اكتشفت من قبل العالم (Kary Mullic) والمتمثلة في امكانية الكشف عن التباينات لمناطق من DNA لها تتابعات متكررة ترادفياً واصبحت معلمات التوابع البسيطة الترادفية (SSR) الاداة المستخدمة في التعرف على العديد من الانواع في الوقت الراهن لانها ذات تكرارية عالية متعادلة السيادة وذات تعددية مورفولوجية في مجين النبات (Gupta واخرون ،1996) ، اضافة الى انها في العديد من الحالات تعد ثابتة بين الانواع وهذا مايجعلها ذات قابلية للانتقال بين الانواع المتقاربة وبالمقارنة مع التقنيات المعتمدة على DNA، فأن تقنية SSR هي التقنية الاكثر فعالية وفائدة في دراسة التنوع الوراثي و تمتاز هذه المؤشرات بالدقة الكبيرة المتمثلة بقدرتها على اظهار التباين و القدرة على التمييز بين الاليلات المثماثلة والمتباينة وسهولة تطبيقها وتحليل نتائجها وكذلك توضيح العلاقات التطورية وتصنيف المجموعات الوراثية. اكدت الدراسات الى ان مكررات ال (SSR) قد استثمرت لأول مرة في تقانات تأشير ال DNA عندما صممت تتابعاتها صناعياً على شكل مجسات مكملة ضمن مؤشرات ال RFLPS وادت الى نتائج ملفتة للنظر لوفرتها ودقة نتائج التحليلات المعتمدة عليها وخصوصاً في بناء بصمات ال DNA (Bassam واخرون ،1991)، وبينت الدراسات بأن هناك مايقارب 1000 مؤشر من ال SSR متوفر في الذرة الصفراء تحت الاستخدام العام لاغراض التنوع الجيني وتكاثر النباتات (Kumari واخرون ،2005). الهدف من هذه الدراسة هو معرفة التباين الوراثي أي التقارب والتباعد الوراثي بين التراكيب الوراثية المدروسة لأختيار النخبة من هذه التراكيب بتمييزها بصفاتها النوعية كنوعية الزيت والبروتين الذي يشكل جزءاً مهماً من تغذية الأنسان والحيوان.

مواد وطرائق البحث :

أستخدم في هذا البحث 12 تركيب وراثي مستورد من كلية الزراعة – جامعة السليمانية و من الدائرة الزراعية في كركوك وهي drachma و calkson و cadiz و DKC-1011 و بحوث 106 و motril و sycompeto و market و miami و DKC6120 و medium و dihqat وتم اخذ اوراق الذرة الصفراء من التراكيب المذكورة وحللت العينات في مختبرات كلية الزراعة جامعة السليمانية.

عزل DNA الجينوم Genomic DNA Isolation

تم عزل ال DNA من جميع التراكيب الوراثية المزروعة من الاوراق الطرية بأستخدام مادة CTAB (Cety Trimethyl Ammonium Bromide) حسب طريقة Weigand واخرون (1993).

تقدير تركيز DNA ونقاوته:

أن تقدير نقاوة الDNA المستخلص تعتبر من الخطوات المهمة والجوهرية للتأكد من ان الDNA نقي وذو نوعية جيدة ولقياس كمية ونوعية الDNA تم ترحيله على هلام الاكاروز بتركيز 1% واضيف بروميد الاثيديوم مايكروليتر 17.5 لتلوين الهلام وبأستخدام الاشعة فوق البنفسجية (UV) مع مؤشرات قياسية تم تحديد مواقع وحجم الحزم . بعدها يتم عزل ال DNA من خلال اختيار العينات الجيدة التي ظهرت على شكل حزم وفصلها عن العينات غير الجيدة التي بدت غير واضحة لتقطع

الحامض النووي DNA لها ، وبعد انتهاء الترحيل تم تقدير النقاوة وقورنت عينة الDNA المتحصل عليها مع DNA قياسي استخدم للمقارنة (Maniatis واخرون 1982).

تقدير الاحجام الجزيئية :

تم تقدير الاحجام الجزيئية لـ DNA المتضاعف من خلال اجراء عملية الترحيل الكهربائي على هلام الاكاروز ، وتم تحضير هلام الاكاروز بتركيز 1% لتقدير الحجم الجزيئي للـDNA المجيني Genomic والكشف عنه اما لتفاعلات الـ PCR فقد تم تحضيره بتركيز 3% (Maniatis واخرون ،2001).

البوادئ المستخدمة في الدراسة :

استخدم في هذه الدراسة 20 زوج من بادئات الـ SSR وتم تجهيزها من شركة تجهيزها من شركة Midland Certified Reagent U.S.A كما في الجدول (1).

جدول (1) البادئات المستخدمة في الدراسة وتتابعاتها ودرجة حرارتها

Primer Name	Sequence (5'→3')	Temp	Bin
Umc1630	F: CAGACCTTCGAGGGCAAGAACT R: AGTTTTGGCTTCTTCTCCCAAGTC	60	1.11
Umc1946	F: GAAACGACCAGCACAGCACAT R: GCACCACACCATCAGATCCAG	60	2.07
Bnlg1189	F: CGTTACCCATTCCTGCTACG R: CTTGCTCGTTTCCATTCCAT	60	4.07
Umc2013	F: GGGACGAGAGTCTGTTGTTGTTG R: GTTGATGCATGTGACTCTGGAAAC	55	5.07
Umc1069	F: AGAGAATCCCCAAGCAAACAAAC R: CTTCATCGGAGCCATGGTGT	58	8.08
Umc1653	F: GAGACATGGCAGACTCACTGACA R: GCCGCCCACGTACATCTATC	58	6.07
Bnlg1810	F: ATGCTCCTCCTCTCCTCCAT R: GCGATGATGAGCTGCAAGTA	58	9.01
Bnlg1429	F: CTCCTCGCAAGGATCTTCAC R: AGCACCGTTTCTCGTGAGAT	55	1.02
Bnlg1194	F: GCGTTATTAAGGCAAGCTGC R: ACGTGAAGCAGAGGATCCAT	55	8.02
Bnlg1890	F: ACCGGAACAGACGAGCTCTA R: GTCCTGCAAAGCAACCTAGC	55	4.11
Phi126	F: TCCTGCTTATTGCTTTCGTCAT R: GAGCTTGCATATTTCTTGTGGACA	55	6
Phi069	F: AGACACCGCCGTGGTCGTC R: AGTCCGGCTCCACCTCCTTC	55	7.05
Phi037	F: CCCAGCTCCTGTTGTCGGCTCAGAC R: TCCAGATCCGCCGCACCTCACGTCA	55	1.08
UMc1038	F: CGTCACACTCCTCTGCCACTT R: GAGGATTCAGAACTCGACTCGG	55	10.07
Bnlg1867	F: CCACCACCATCGTAGGAGTT R: CAGTACACAGCAGGCAGCTC	55	6.01
Phi075	F: CTCATCAGTGCCGTCGTCCAT R: CAGTCGCAAGAAACCGTTGCC	55	6
Phi113	F: GCTCCAGGTCGGAGATGTGA CACAACACATCCAGTGACCAGAGT	55	5.03
Bnlg1583	F: ATCAAGCTTATCGAGAGAGAGAGAG R: CGACGGTGGAAAGACTGC	55	9.01
Bnlg565	F: TAAGAACGACGAACGGTAACTG R: GCTCACTGCACGCCAACAC	55	5.02
Phi65	F: AGGGACAAATACGTGGAGACACAG R: CGATCTGCACAAAGTGGAGTAGTC	55	9.03

تفاعلات الـSSR

تم اجراء تفاعلات الـ SSR على عينات DNA لـ (12) تركيب وراثي من الذرة الصفراء المستخدمة في الدراسة بالاستناد الـى Williams واخـرون (1990) ، وتضـمنت هـذه التقنيـة ثـلاث خطـوات مهمـة : الهضـم Digestion و المضـاعفة Amplification والترحيل Gel–separation وجمعت النتائج في جدول خاص اعتماداً على وجود او غياب قطع DNA للعينات المختلفة اذ تم فحص نتائج التضاعف الـ SSR من خلال تسجيل صور انماط عملية الفصل الكهربائي لكل بادئ وتحديد الحزم Bands اذ يمثل وجود الحزم بـ (1) وعدم وجود الحزم بـ (0) وتم حساب العدد الكلي لحزم الـSSR التي اظهرها كل بادئ في التراكيب الوراثية وتحديد الحزم المتباينة (Polymorphic) والمتطابقة (Monomorphic) وحساب معامل البعد الوراثي ومعامل التشابه الوراثي بين التراكيب الوراثية .

النتائج والمناقشة :

استخدمت نتائج هذه المؤشرات في تقييم التباين الوراثي بين التراكيب الوراثية المستخدمة في التجربة لمحصول الذرة الصفراء لبعض التراكيب الداخلة في الدراسة وذلك من خلال وجود اليل تخصصي في تركيب وراثي وعدم وجوده في التراكيب الوراثية الأخرى وايضاً معرفة درجة التباعد والتقارب الوراثي بين التراكيب الوراثية وهذه المؤشرات تمتاز بالخصوصية في طبيعة مناطق الدنا والهدف الذي يجري البحث عنه والذي يتوافق مع تتابعات البادئات الخاصة اعطت اغلب البادئات تباينات وراثية Polymorphism واوضحت عن وجود 53 اليل ، وعدد الحزم التي ظهرت على هلام الأكاروز 307 حزمة للتراكيب الوراثية .

جدول (2) البادئات مع عدد الاليلات الكلية والمتباينة ونسبتها وحجم القطع الناتجة

ت	اسم زوج البادئ	العدد الكلي للأليلات	عدد الأليلات المتباينة	نسبة الأليلات المتباينة%	عدد الأليلات المتشابهة	حجم القطع الناتجة
1	Bnlg1890	4	4	100	0	80-260
2	Umc2013	3	3	100	0	140-180
3	Bnlg1429	3	3	100	0	170-490
4	Bnlg1194	6	6	100	0	80-1000
5	Phi069	9	8	88.889	1	80-500
6	Umc1038	5	5	100	0	80-200
7	Bnlg1867	2	2	100	0	200-220
8	Phi126	3	3	100	0	150-200
9	Umc1653	2	2	100	0	100-220
10	Umc1069	3	3	100	0	80-140
11	Bnlg1810	3	3	100	0	90-125
12	Umc1630	2	2	100	0	80-110
13	Umc1946	5	5	100	0	80-160
14	Bnlg1189	2	2	100	0	200-210
15	Phi037	3	2	66.667	1	180-350
	المجموع	55	53			
	المعدل	3.666	3.533			

نلاحظ من خلال النتائج بأن درجة حرارة الأرتباط كان لها تأثير على تفاعل كل زوج من البادئات بالأضافة الى تأثير ظروف وترحيل وتصبيغ الهلام ، وقد تؤدي زيادة درجة الأرتباط الى فقدان العديد من الحزم التي لاتمثل حقيقة المواقع على المجين بل تمثل نواتج تفاعل غير متخصص nonspecific amplification وان اختلاف اي عامل في ظروف الترحيل والتصبيغ يؤدي الى ظهور اما منطقة غامضة تغطي الحزم او اختفاء الحزم نفسها (Wu واخرون،1991).

البوادئ المستخدمة:

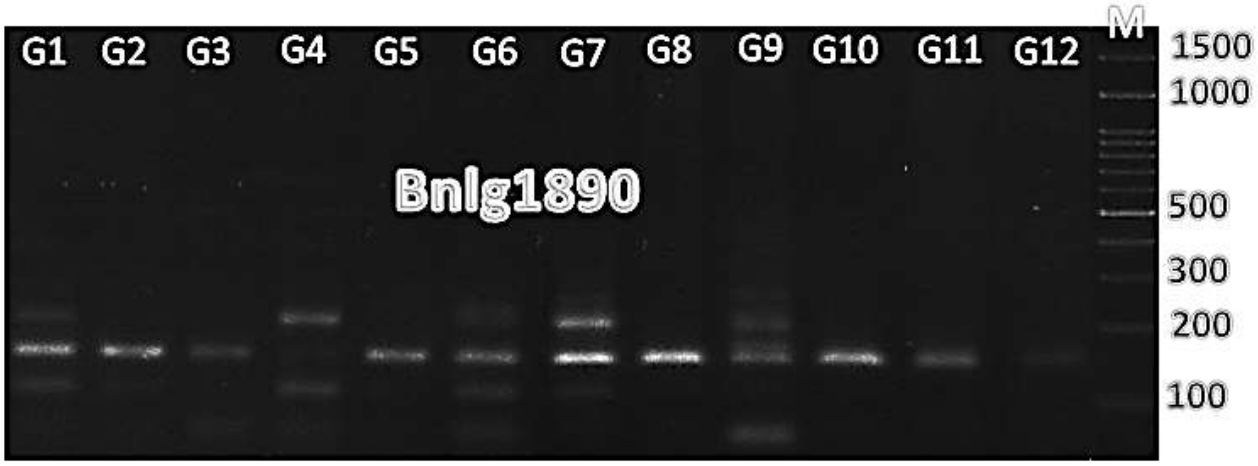
بواسطة مؤشرات SSR مع الدنا لعينات نبات الذرة الصفراء على هلام الاكاروز بتركيز 2.5% (M الدليل الحجمي 25µl) حيث يمثل G1 التركيب الوراثي Drakhma و G2 يمثل calkson و G3 يمثل kadis و G4 يمثل DKC 1011 وG5 يمثل

بحوث 106 و G6 يمثل motril و G7 يمثل sycompeto و G8 يمثل market و G9 يمثل miami و G10 يمثل DKC 6120 و G11 يمثل medium و G12 يمثل dihqat

زوج البادئات Bnlg1890F and Bnlg1890R

استخدمت هذه البادئات ضمن مزيج تفاعل الPCR وكانت درجة الحرارة الملائمة لاظهار نتائج التفاعل 55 م° ثم رحلت نتائج تفاعل هذا الزوج من البادئات على هلام الأكاروز بتركيز 2.5% لمدة ساعة و40 دقيقة اذ اخذ 25 مايكروليتر لكل عينة دنا وبوجود الدليل الحجمي (DNA Ladder 1500bp) وكانت النتيجة كالأتي :

كان عدد الأليلات الناتجة من ارتباط زوج البادئات 4 وعدد الحزم الناتجة هو 24 حزمة Band اما قيمة القوة التميزية PIC للبادئات قد بلغت (0.6645) اما قيمة التنوع الجيني فقد بلغت (0.694) اما قيمة تكرار الاليل فقد بلغت (0.5) وبينت صورة ترحيل ناتج الPCR على هلام الأكاروز ظهور حزمة واحدة للأصناف بحوث 106 و Market و DKC-6120 و Medium و Dihqat بحجم جزيئي 180 بينما اشتركت اغلب التراكيب الوراثية بظهور اكثر من حزمة بحجم جزيئي يتراوح مابين (80-260) الشكل (1).



الشكل 1 يمثل ناتج ترحيل الـ PCR زوج البادئ Bnlg1890

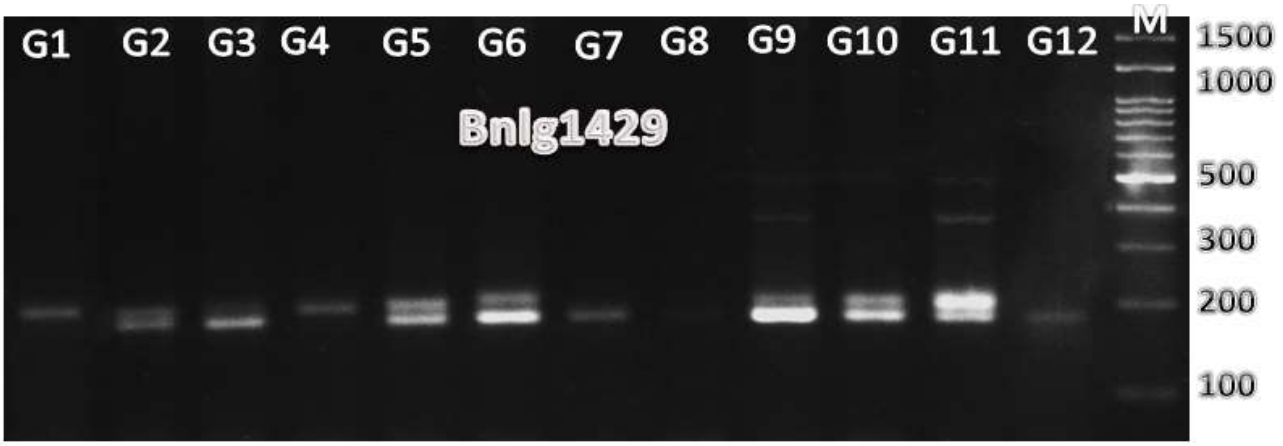
زوج البادئات Umc2013 F and Umc2013 R

استخدم هذا الزوج من البادئات لأظهار نسبة التباين ضمن مزيج تفاعل الـ PCR بدرجة حرارة 55 م° وتعد هذه الدرجة حرارة مثالية لهذا التفاعل ثم تم ترحيل ناتج تفاعل هذا الزوج من البادئات على هلام الأكاروز بتركيز 2.5% ولمدة 90 دقيقة كما مبين في الشكل (2) اذ تم اخذ 25 مايكروليتر لكل عينة DNA أذ كانت قيمة القوة التميزية بلغت (0.5524) وقيمة التباين الجيني (0.597) واما قيمة تردد الاليلات فقد بلغت (0.583) اما عدد الأليلات 3 في حين بلغت الحزم الكلية 10 حزمة بأحجام جزيئية تراوحت بين 180 الى 140 زوج قاعدي أذ اشتركت اغلب التراكيب الوراثية بظهور حزمة واحدة فقط ولكن بأحجام جزيئية مختلفة.

الشكل 2 يمثل ناتج ترحيل الـ PCR زوج البادئ Umc2013

زوج البادئات Bnlg1429 F and Bnlg1429 R

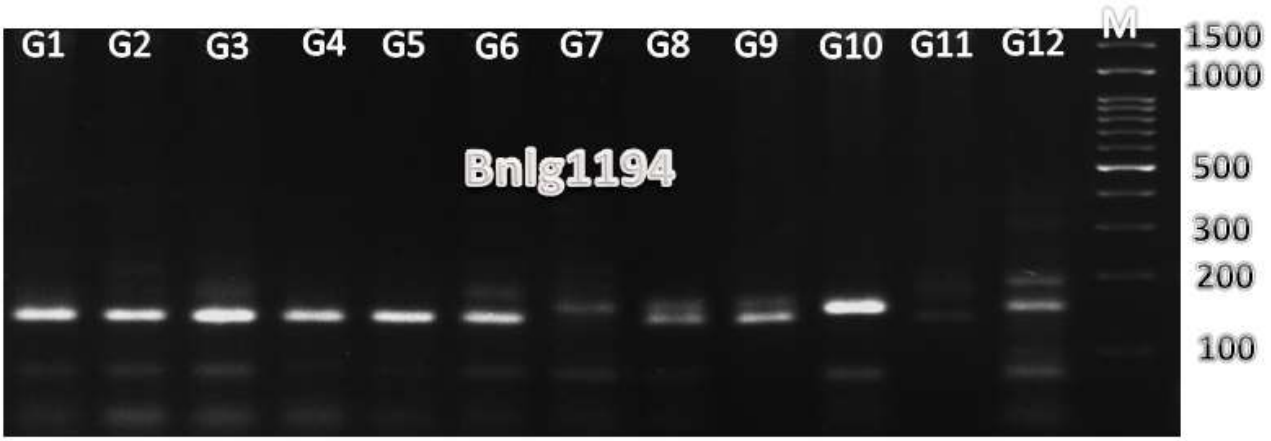
بلغت عدد الحزم لهذا الزوج من البادئات 19 حزمة والناتجة من 3 اليلات اذ بلغت درجة حرارة التفاعل 55 م° ورحلت على هلام الأكاروز بتركيز 2.5% ولمدة 90 دقيقة وبأخذ 25 مايكروليتر من كل عينة دنا في حين كانت قيمة PIC هي (0.6713) في حين كانت قيمة GD (0.722) اما معدل تكرار الأليل (0.333) أذ اشتركت اغلب التراكيب الوراثية في حزمتين رئيسيتين بأحجام جزيئية تراوحت 170 و 200 زوج قاعدي بينما اشترك التركيبين الوراثيين Miami و Medium بظهور حزمة بحجم جزيئي 490 الشكل (3).



الشكل 3 يمثل ناتج ترحيل الـ PCR زوج البادئ Bnlg1429

زوج البادئات Bnlg1194 F and Bnlg1194 R

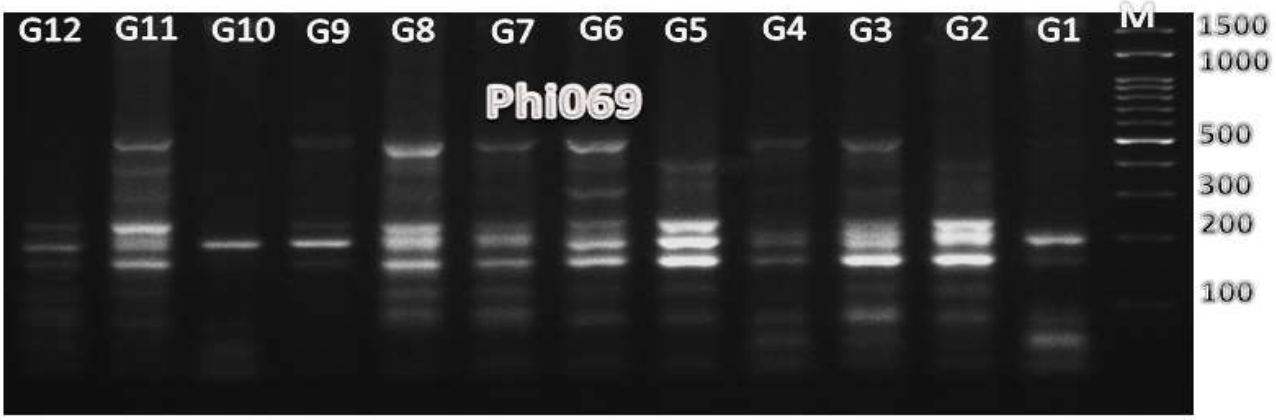
تم تقييم التباين الوراثي لنبات الذرة الصفراء بأستخدام هذا الزوج من البادئات والذي اعطى ثاني اعلى قيمة من الPIC والتي بلغت 0.8003 أما قيمة التنوع الجنيني فكانت (0.819) اما قيمة معدل تكرار الأليل الكلي فقد بلغ (0.333) اذ اظهر هذا الزوج من البادئات عدد حزم 28 حزمة بواقع 6 اليلات وبأحجام جزيئية تراوحت بين 80 الى 200 وكانت درجة الحرارة المثالية لهذا التفاعل هي 55 م° اذ اعطت هذه البادئات النتائج المذكورة بعد ترحيلها على هلام الأكاروز بتركيز 2.5% ولمدة 90 دقيقة كما وتميز التركيب الوراثي Medium بظهور حزمتين متقاربتين بأحجام جزيئية 190 و 160 زوج قاعدي في حين اشتركت اغلب التراكيب الوراثية بظهور عدد اكثر من الحزم الشكل (4).



الشكل 4 يمثل ناتج ترحيل الـ PCR زوج البادئ Bnlg1194

زوج البادئات Phi069 F and Phi069 R

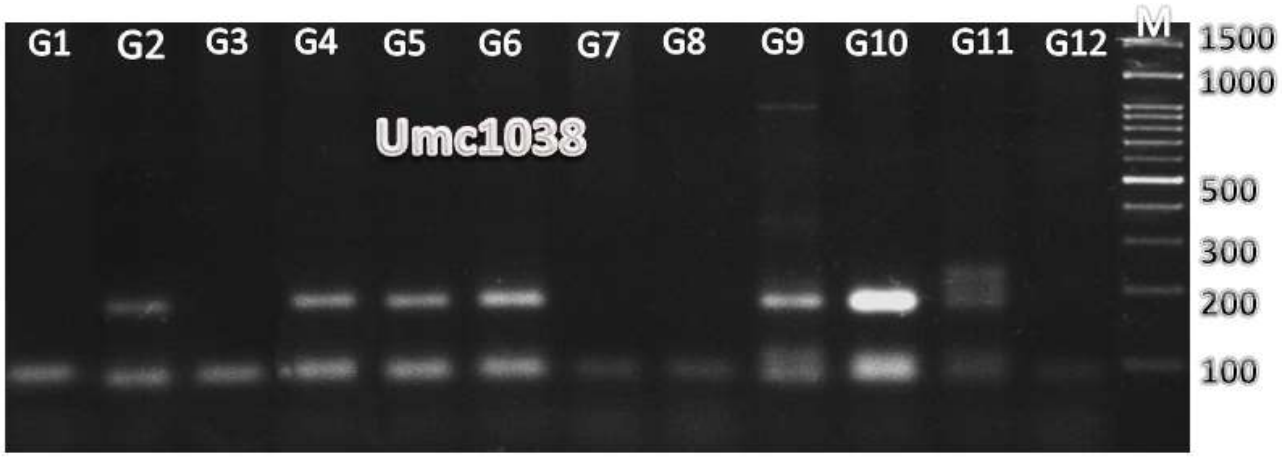
امتاز هذا الزوج من البادئات بأعطاء نسبة عالية من الأليلات المتابينة وبلغت 8 وهذا يؤدي الى زيادة الحزم الناتجة والتي بلغت 62 حزمة والظاهرة على هلام الأكاروز بتركيز 2.5 ولمدة 90 دقيقة وكما موضح في الشكل (5) واظهر هذا البادئ حزمة رئيسية واحدة بوزن جزيئي 200 زوج قاعدي و كانت درجة حرارة ارتباط البادئ 55 م° في حين بلغت قيمة الPIC (0.8758) وتعد اعلى نسبة من قيمة PIC وكذلك اعطى اعلى قيمة من التنوع الجيني أذ بلغت (0.888) واعطى اقل قيمة من معدل MAF اذ بلغت (0.166) ، واشتركت التراكيب الوراثية بظهور عدة حزم لكل تركيب وتراوحت الأحجام الجزيئية للحزم من (500 الى 80) زوج قاعدي.



الشكل 5 يمثل ناتج ترحيل الـ PCR زوج البادئ Phi069

زوج البادئات Umc1038 F and Umc1038 R

كشف هذا الزوج من البادئات عن تغايرات وراثية في المادة الوراثية لنبات الذرة الصفراء وكانت قيمة الPIC لهذه البادئات هي (0.7409) اما قيمة GD فقد بلغت (0.777) اما قيمة تكرار الاليل الكلي (0.25) اما عدد الأليلات التي ارتبط بها هذا البادئ بلغت 5 لتعطي 20 حزمة بأحجام جزيئية تراوحت بين (1000 الى 80) زوج قاعدي كما تم ترحيل هذا البادئ على هلام الأكاروز بتركيز 2.5 % وكانت درجة حرارة ارتباط البادئ 5 م° الشكل (6).



الشكل (6) يمثل ناتج ترحيل الـ PCR زوج البادئ Umc1038

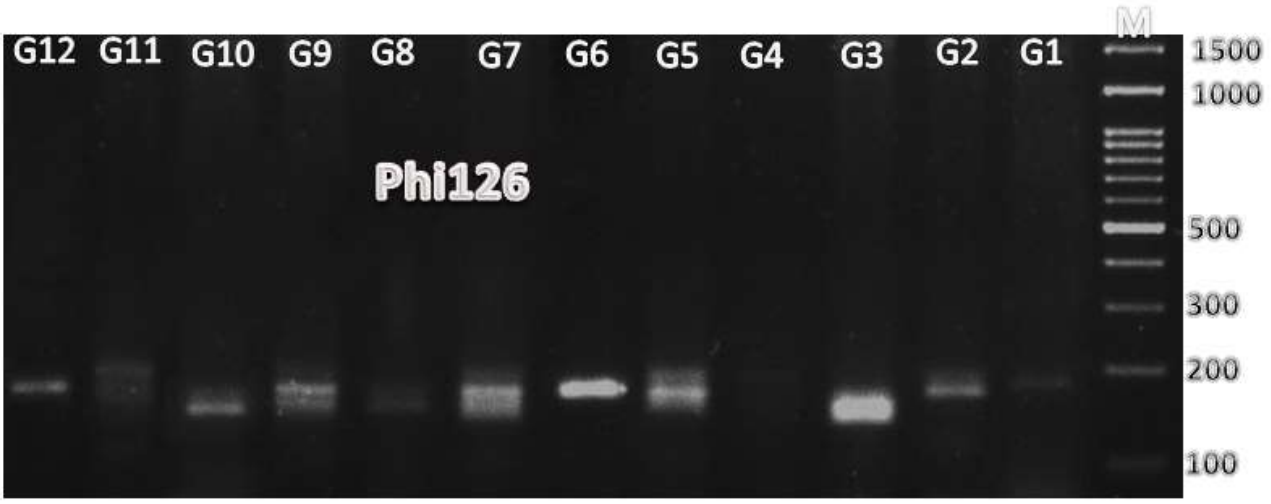
زوج البادئات Bnlg1867 F and Bnlg1867 R

اوضح هذا الزوج من البادئات اقل نسبة من التغايرات الوراثية بين التراكيب الوراثية للذرة الصفراء المستخدمة في التجربة اذ اعطى اقل عدد من المواقع التي ارتبط بها هذا البادئ والتي بلغت 2 واعطت عدد حزم 12 حزمة والظاهرة على هلام الأكاروز بتركيز 2.5% ولمدة 90 دقيقة وارتبط البادئ بدرجة حرارة 55 م° واشتركت جميع التراكيب الوراثية بظهور حزمة واحدة فقط لكل تركيب وراثي وبأحجام جزيئية مختلفة تراوحت من (220 الى 200) زوج قاعدي اما قيمة الPIC لهذا البادئ بلغت (0.3750) في حين كانت قيمة التنوع الجيني (0.5) وبلغت قيمة تكرار الاليل (0.5) وكما مبين في الشكل (7).

الشكل 7 يمثل ناتج ترحيل الـ PCR زوج البادئ Bnlg1867

زوج البادئات Phi126 F and Phi126 R

ارتبط هذا الزوج من البادئات بدرجة حرارة 55 م° والذي اعطى مواقع ارتباط 3 ونتج عنها عدد من الحزم والتي بلغت 14 حزمة الظاهرة على هلام الأكاروز بتركيز 2.5% ولمدة 90 دقيقة حيث اشتركت كل من التراكيب Medium و بحوث 106 و Market بظهور حزمتين لكل تركيب بأحجام جزيئية 190 و170 زوج قاعدي في حين اظهرت بقية التراكيب وراثية حزمة واحدة فقط وبأحجام مختلفة تراوحت من (200 الى 150) زوج قاعدي اما قيمة الPIC لهذا البادئ (0.7260) أما قيمة GD فقد بلغت (0.763) وبلغت قيمة MAF (0.333) الشكل (8).



الشكل (8) يمثل ناتج ترحيل الـ PCR زوج البادئ Phi126

قيمة التعددية الشكلية وتنوع الجين واعلى تكرار للأليل

قيم تشير الى مدى تغاير الأليل وتعطي صورة واضحة عن مدى التباين الذي يتم الكشف عنه بأستخدام أزواج البادئات التي تعتمد على مؤشرات الSSR تمنح تقديراً للقوة التميزية لهذه المؤشرات وتتم عن طريق عدد الأليلات المشخصة (Smith واخرون، 2000).

كشف ازواج البادئات المستخدمة في هذه الدراسة أذ أن معدل قيمة القوة التميزية كان (0.578) أذ اعطى زوج البادئات phio69 اعلى قيمة للقوة التميزية بلغت (0.8785) واقل قيمة هي للبادئ Umc1653 بقيمة (0.2392) . اعطى زوج البادئات Phi069 أعلى قيمة للتنوع الجيني بلغت (0.888) في حين اعطى زوج البادئ Umc1653 اقل قيمة بلغت (0.277) ، بمعدل (0.625) ، وبالنسبة لقيمة تردد الاليل الكلي فقد بلغ معدل الذي كشفت عنه ازواج البائات (0.488) أذ اعطى زوج البادئات Umc1653 اعلى قيمة بلغت (0.833) في حين اعطى زوج البادئات Phi069 اقل قيمة بلغت (0.166). كما مبين بالجدول (3).

جدول (3) بين قيم التعددية الشكلية وتنوع الجين واعلى تكرار للأليل

ت	اسم زوج البادئ	التعديدة الشكلية (PIC)	تنوع الجين (GD)	اعلى تكرار للاليل (MAF)
1	Bnlg1890	0.6645	0.6944	0.5000
2	Umc2013	0.5524	0.5972	0.5833
3	Bnlg1429	0.6713	0.7222	0.3333
4	Bnlg1194	0.8003	0.8194	0.3333
5	Phi069	0.8785	0.8889	0.1667
6	Umc1038	0.7409	0.7778	0.2500
7	Bnlg1867	0.3750	0.5000	0.5000
8	Phi126	0.7260	0.7639	0.3333
9	Umc1653	0.2392	0.2778	0.8333
10	Umc1069	0.4760	0.5139	0.6667
11	Bnlg1810	0.5524	0.5972	0.5833
12	Umc1630	0.3047	0.3750	0.7500
13	Umc1946	0.8468	0.8611	0.2500
14	Bnlg1189	0.3680	0.4861	0.5833
15	Phi037	0.4760	0.5139	0.6667
	المعدل	0.5781	0.6259	0.4889

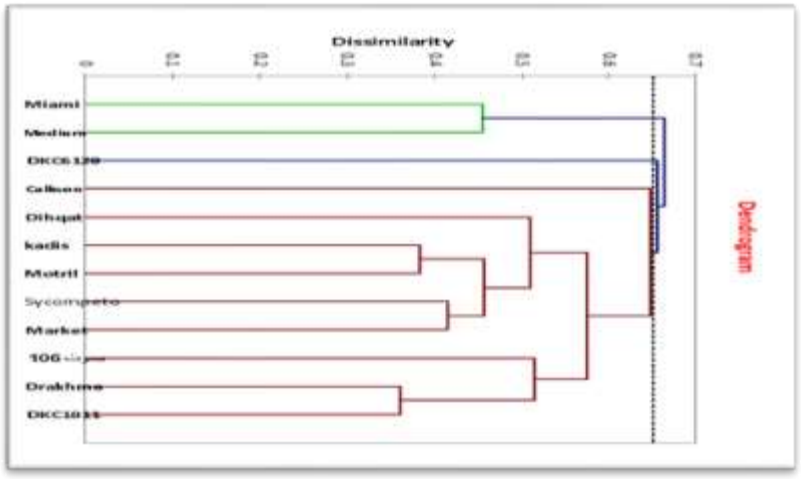
وهذه النتائج مقاربة لما توصل إليها Sa واخرون (2015) بالاعتماد على 40 تركيب وراثي من الذرة البيضاء و 40 تركيب وراثي من الذرة الصفراء وباستخدام 200 زوج بادئ من مؤشرات الSSR وكانت النتائج كما يلي الذرة البيضاء PIC = 0.62، GD = 0.66، MAF = 0.46، اما الذرة الصفراء فقد كانت قيم PIC = 0.62 و G = 0.69 و MAF = 0.43. وكانت النتائج التي تم الكشف عنها في هذه الدراسة أعلى من النتائج التي توصل إليها Thiranavukkaraou واخرون (2013) إذ قاموا بتقيم التباين الوراثي بين 240 صنف من الذرة في المناطق الأستوائية بأستخدام 50 بادئ من بوادئ الSSR وجدوا ان قيمة الPIC= 0.35 وMAF = 0.25 وGD = 0.36 . وكذلك أعلى من النتائج التي توصل اليها Dao وأخرون (2014) اذ تم الكشف عن التباين بالأعتماد على 100 تركيب وراثي باستخدام 77 زوجاً من بادئات الSSR وقد كانت قيمة الPIC =0.268 و GD = 0.302 و MAF = 0.25.

قيم الأبعاد الوراثية بين التراكيب الوراثية لمحصول الذرة الصفراء بأستخدام تقانة SSR

قدر في هذه الدراسة البعد الوراثي للتراكيب الوراثية الأثنى عشر المدروسة وظهر اقل بعد وراثي اي أكبر نسبة تشابه بين التركيبين الوراثيين Drakhma سويسري و DKC-1011 أمريكي الأصل (0.360) ، بينما كان اكبر بعد وراثي والتي تقابل اقل نسبة تشابه بين التركيبين الوراثيين DKC-1011 وMiami (0.846) ويعزى سبب هذا التقارب الى تشابه المادة الوراثية للتركيبين الوراثيين وينتج التقارب الوراثي عند عدم وجود تباين وراثي بين التراكيب الوراثية عند استخدام عدد من البوادئ بينما قد تختلف النتيجة عند استخدام مؤشراً وراثياً اخر او استخدام عدد اكثر من البوادئ وذلك لأختلاف مناطق الأرتباط حسب تسلسل البادئ المستخدم ، وان عدد الحزم المشتركة هو الذي يحدد القرب او البعد الوراثي بين التراكيب الوراثية فكلما زاد عدد الحزم قل البعد الوراثي والعكس صحيح لأن الحزم المشتركة تدل على تشابه في المادة الوراثية التي قد تظهر من تشابه في الصفات المظهرية التي تتعلق بالأنتاجية والتكاثر والمقاومة والأمراض وغير ذلك من الصفات الكثيرة . في حين ان التراكيب الوراثية المتباعدة وراثياً عن بعضها تشترك بأقل عدد من الحزم مع بعضها ويعزى ذلك لوجود اختلافات في تسلسل النيكليوتيدات في مجين التراكيب الوراثية وهنا تبين دور استخدام بوادئ مختلفة تستهدف عده مناطق من المجين ليظهر الأختلاف ان وجد بين التراكيب الوراثية المدروسة وذلك بحسب تسلسل البادئ ودرجة الأختلاف بين مجين التراكيب الوراثية (الشعيبي ، 2015). واظهر التحليل العنقودي ثلاث مجموعات رئيسية وكل مجموعة منها تحتوي على مجموعات مختلفة، فالمجموعة الأولى تضم كل من التركيب الوراثي Miami والتركيب الوراثي Medium بينما تحتوي المجموعة الثانية على التركيب الوراثي Dkc6120 الذي انفرد في مجموعة لوحده . اما المجموعة الثالثة فتضم مجموعتين ثانويتين ضمت المجموعة الثانوية الأولى التركيب الوراثي calkson فقط ، بينما تضم المجموعة الثانوية الثانية مجموعتين تحت الثانوية المجموعة تحت الثانوية الأولى شملت كل من التراكيب الوراثية Dihqat وkadis وMotril وSycompeto وMarket ، في حين شملت المجموعة تحت الثانوية الثانية التراكيب الأتية بحوث 106 و drachma وDKC-1011 . ويلاحظ من الشكل (9) ان التركيبين الوراثيين Miami وMedium اشتركا في مجموعة رئيسية لوحدهما وهذا يدل على تقارب المادة الوراثية بينهما وانحدارهما من نفس الأصل الوراثي وهذا لوحظ من خلال عدد الحزم التي اعطاها كل صنف . أن أعلى درجة قرابة وراثية هي ما بين التركيبين الوراثيين kadis وMotril لذلك ينصح عدم ادخالهما معاً في برنامج تربية او عدم التهجين بينهما لان ذلك يؤدي الى عدم ظهور تباين عالي بين التركيبين الوراثيين ووضع معهما التركيب الوراثي بحوث 106 ، كما أن التركيب الوراثي Sycompeto والتركيب الوراثي Market وضعا في فرع واحد وقد لوحظ وجود تماثل بالآباء الداخلة في برامج التربية والتحسين الوراثي التي استنبطت من خلالها هذه الأصناف الهجينة. وبذلك فقد انفصلت الطرز الوراثية المدروسة تبعاً لنسبها وأصلها الوراثي و وضع التركيب الوراثي drakhma والتركيب الوراثي DKC−1011 في فرع واحد ولهما النسب الوراثي نفسه الناتجة عن تهجينات متماثلة أو مشتركة مع بعضها بالآباء في فرع واحد مع وجود بعض الاستثناءات (القيسي،2013).

جدول (4) قيم التباعد الوراثي بين التراكيب الوراثية بألأعتماد على بيانات الدراسة الجزيئية (SSR)

	Drakhma	calkson	kadis	DKC 1011	106 بحوث	motirl	sycompeto	market	miamie	DKC 6120	medium	dihqat
Drakhma	0											
calkson	0.710	0										
kadis	0.531	0.714	0									
DKC 1011	0.360	0.742	0.606	0								
106 بحوث	0.448	0.613	0.529	0.581	0							
motirl	0.485	0.667	0.382	0.515	0.486	0						
sycompeto	0.594	0.613	0.438	0.667	0.545	0.486	0					
market	0.567	0.536	0.400	0.765	0.516	0.500	0.414	0				
miamie	0.757	0.667	0.692	0.846	0.639	0.650	0.600	0.576	0			
DKC 6120	0.556	0.679	0.667	0.733	0.645	0.657	0.688	0.571	0.735	0		
medium	0.694	0.636	0.595	0.821	0.529	0.625	0.611	0.545	0.455	0.706	0	
dihqat	0.613	0.586	0.545	0.645	0.563	0.543	0.516	0.429	0.730	0.710	0.629	0



الشكل 9. يبين التحليل العنقودي للتراكيب الوراثية بالاعتماد على المؤشرات الجزيئية

الأستنتاجات :

من خلال الدراسة استنتج بأنّ لمؤشرات الSSR دقة وكفاءة في الكشف عن التباين الوراثي بين التراكيب الوراثية المدروسة للذرة الصفراء، وأنّ إعداد البادئات المستخدمة كانت كافية للكشف عن البعد الوراثي والعلاقة الوراثية التي تربط النماذج المدروسة. ظهر من خلال دراسة البعد الوراثي بين التراكيب الوراثية أنَّ أكبر بعد وراثي كان بين التركيبين الوراثيين Drakhma وDKC1011. لذلك يجب أنّ يقترح لمربي النبات الذي يبحث عن قوة الهجين.

المصادر Reference

الشعيبي ، مصطفى عادل عبد. (2015). أيجاد التباين الوراثي بين التراكيب الوراثية لجنس دخن ذيل الثعلب *Setaria spp* بأستخدام مؤشرات الSSR. رسالة ماجستير – كلية العلوم– قسم علوم الحياة– جامعة تكريت.

القيسي ، عماد خلف خضر. (2013). تقدير الفعل الجيني لبعض الصفات الحقلية واستخدام المؤشرات الوراثية في الذرة الصفراء (*Zea mays* L.). اطروحة دكتوراه – كلية الزراعة والغابات جامعة الموصل.

اليونس ، عبد الحميد احمد. (1993). انتاج وتحسين المحاصيل الحقلية وزارة التعليم العالي والبحث العلمي .

Bassam, B. J.; Cactano-Anolles, G.; and Gressboff, P. M. (1991). Fast and sensitive silver staining of DNA in polyacrylamide Gels. Anal. Biochem. 193, 80-83.

Dao, A.; Sanou, J.; Mitchell, S.E.; Gracen, V.; and Danquah, E.Y. (2014). Genetic diversity among INERA maize inbred lines with single nucleotide polymorphism (SNP) marker and their relationship with CIMMYT, IITA, and temperate lines. BMC Genetics 15:127.

Gupta, P.K.; Balyan, H.S.; Sharma, P.C.; and Ramesh, B. (1996). Microsatellites in plants: A New Class of Molecular Markers.

Kumari, J.; Gadag, R.N.; and Prassnna B. M. (2005). Molecular profiling of maize (*Zea mays* L.) inbred lines using SSR markers. Indian J. Genet., 65(4): 249-252.

Maniatis, T.; Fritch, E. F.; and Sambrook, J. (2001). Molecular cloning Alboratory, New York.

Maniatis, T.; Fritsch, E.F.; and Sambrook, J. (1982). Molecular cloning: A laboratory manual. Cold Spring Harbor laboratory. New York.

Sa, K.J.; Park1, J.Y.; Choi1, S.H.; Kim, B.W.; Park, K.J.; and 1, J.K. (2015). Genetic diversity, population structure, and association mapping of agronomic traits in waxy and normal maize inbred lines. Genet. Mol. Res. 14 (3): 7502-7518

Singh, C.M; Sood, B.R. and Modgal, S.C. (1978). Response of maize varieties to dates of sowing in Kulu Valley Himachal Pradesh. Indian J. agric. Sci. 48: 579 -528. Cited after Field Crop Abst, (1980).33(3).

Smith, J.; Kresovich, S.; Hopkins, M.; Mitchell, S.; Dean, R.; Woodman, W.; and Porter, K. (2000). Genetic diversity among elite sorghum inbred lines assessed with simple sequence repeats. Cro8. p Sci, 40(1), 226-232.

Thirunavukkarasu, N.; Hossain, F.; Shiriga, K.; Mittal, S.; Arora, K.; Rathore, A.; Mohan, S.; Shah, T.; Sharma, R.; Namratha, PM.; Mithra, A.S.; Mohapatra, T.; and Gupta, H.S .(2013). Unraveling the genetic architecture of subtropical maize (*Zea mays* L.) lines to assess their utility in breeding programs. BMC Genomics 14:877.

Weigand، F.; Baum, M.; and Udupa, S. (1993). DNA molecular marker techniques, technical manual. NO.20. International Center for Agricultural Research in the Dry Area (ICARDA). Aleppo, Syria.

Williams, J. G.; Kubelic, A.R.; Livak, K.J.; Rafalski, J. A. and Tingey, S.V. (1990). DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. Nucleic acids Res. 18: 6531-6535.

Wu, D. Y.; Vgozzoli, L.; Pal, B. K.; Qian J.; and Wallace, R. B. (1991). The effects of temperature and oligonucleotide primer length on the specify and efficiency of amplification by polymerase chain reaction DNA and cell boil. 10:233-238.