تقدير البعد الوراثي لعدة تراكيب وراثية من حنطة الخبز *Triticum aestivum* L. بالاعتماد على تقنية الـ RAPD

هديل عبدالله حاتم الكرخي[1] وجاسم محمد عزيز الجبوري ونوروز عبدالرزاق طاهر

قسم المحاصيل الحقلية– كلية الزراعة– جامعة تكريت

الخلاصة

نفذت الدراسة خلال الموسم الشتوي (2014-2015) في مختبرات الثروة الحيوانية / كلية الزراعة /جامعة السليمانية لتقدير البعد الوراثي لسبعة عشر تركيب وراثي من حنطة الخبز *Triticum aestivum* L. بالأعتماد على المؤشرات الجزيئية بطريقة الـ RAPD Random amplified (polymorphic DNA) زرعت في كؤوس بلاستيكية وبعد الأنبات تم تقطيع الاوراق وعزل الـ DNA منها وتنقيته ورحلت على هلام الاكاروز وبأستخدام 23 بادئ عشوائي . أظهرت النتائج أن سبعة عشر منها أعطت عدد حزم كلي بلغ 1327 نتجت من 142 موقع أرتباط منها 127 اليل متباين Polymorphic Bands 15 اليل رئيسي Monomorphic Bands ، وقد تراوحت احجام الحزم المتضاعفة لجميع البادئات (bp1500-140) ، وأنَّ أرتفاع قيمة معامل التعددية الشكلية (PIC) Polymorphic information content التي تراوحت بين 0.7756 و 0.9226 دلت على زيادة القدرة التمييزية للبادئات المستخدمة ، وأن قيمة التنوع الجيني Gene Diversity تراوحت بين 0.8028و 0.9273 وهذه القيم العالية تعطي فكرة عن مدى قابلية البادئات العشوائية المستخدمة في مؤشرات الـ RAPD للكشف عن التباين الوارثي بين التراكيب الوراثية للحنطة بالأعتماد على وجود الحزم الرئيسية والمتباينة وأعدادها ، أما التكرار الاليلي الرئيسي Frequency Major Allele فقد سجل أعلى متوسط من الليلات الناتجة من مواقع أرتباط كل من البادئين OPG-10 و OPA-10 على DNA التراكيب الوراثية وبلغ 0.3529 ، بينما لوحظ اقل متوسط وبلغ 0.1176 لسبعة من البادئات وهي OPH-11 و OPG-08 و OPG-02 و OPB-18 و OPD-20 و OPG-12 و OPF-03، وهذه النتائج التي أعتمدت في تحليل البعد الوراثي للتراكيب الوراثية أظهرت أن أكبر بعد وراثي كان بين التركيب الوراثي جيهان99 والتركيب الوراثي ZENGIRCI وبلغ 0.791 ، أما اقل بعد وراثي فكان بين التركيبين الوراثيين TURKMEN و Gerek وبلغت 0.318 . وقد توزعت التراكيب المدروسة في شجرة القرابة الوراثية التي أنشئت أعتماداً على نتائج تفاعلات الـ RAPD وأظهرت تعنقد التراكيب الوراثية إلى ثلاثة مجاميع رئيسية ، وقد أظهرت مؤشرات الـ RAPD قدرة عالية على التمييز بين التراكيب الوراثية المدروسة من الحنطة .

الكلمات المفتاحية:
حنطة الخبز، البعد الوراثي، تقنية الـ RAPD ، التحليل العنقودي.

للمراسلة:
هديل عبدالله حاتم الكرخي
البريد الالكتروني:
hadeel.mastar602@gmail.com

الاستلام: 9 / 3 / 2016
القبول: 20 / 3 / 2017

Estimate of The Genetic Diversity For Many Genotypes of Bread Wheat (*Triticum aestivum* L.) Depending on RAPD Technology

Hadeel. A. Hatam Al-karkhi, Jassim M. A. AL-Joburi and Naoroz. A. Tahir

Dept. of Field Crops- College of Agriculture- University of Tikrit

ABSTRACT

Astudy was conducted at winter season (2014-2015) in Animal Reproduction Labs ./ College of Agriculture / University of Sulaimaniah to estimate the genetic diversity for (17) genotypes of bread wheat (***Triticum aestivum*** L.) depending on molecular levels by method of RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) . planted in plastic pods , after germination the leaves were cut and DNA exitract and pured , then moved on Agaros gel by using 23 randome primeras . The results showed that the 17 of these primers gave number of total bands 1327 resulted from 143 linked location, 128 of these

Key words:
Bread Wheat, Genetic Diversity, RAPD techonology, Dendogram analysis.
Corresponding Author:
Hadeel A.H. Al-karkhi
E-mail:
hadeel.mastar602@gmail.com

[1] البحث مستل من رسالة ماجستير للباحث الاول

Received: 9/3/2016
Accepted: 20/3/2017

were heterozygous allele (15 Polymorphic bands) were major allels (Monomorphic bands) . The size of multiple bands for all primeras (140-1500 bp) , While the height ralue of polymorphic information content (PIC) was between 0.7756 and 0.9226 refered for increase of ability disting shed for using the primeras . the value of Gene diversity was between 0.8028 and 0.9273 , and these high values has given idea for the range of the ability of these random primeras which used in RAPD levels for detection about genetic variance between the genotypes of wheat depending on presnse of main and hetero zygous frequency of major allele was recorded highly mean from resulted allels from linked location of two primeras OPG-10 and OPA-10 on the DNA of the genotypes (0.3529) , while the least mean was showed (0.1176) for seven of the primeras which were (OPH-11,OPG-08 ,OPG-20 , OPB-18 , OPD-20 , OPG-12 and OPF-03) . These results which were depended in the anlysis of the getic diversity for the genotypes showed thet the biggest genetic diversity was between gehan99 genotype and ZENGIRCI genotype (0.791) , while the least genetic diversity was between two genotypes (TURKMEN and Gerek) were (0.318) . The studied genotypes were distribued in genetic dendrogram which built dependingon the results of RAPD reactions, showed that these genotypes were dendrogram to three main groups . The RAPD levels showed high ability for distinguished between studied genotypes of wheat.

المقدمـــة:

الحنطة نبات نجيلي يعود الى العائلة النجيلية (Gramineae) جنس (Triticum) (القزاز ، 2010) . يعد من المحاصيل الاستراتيجية، وتشكل المصدر الغذائي لما يقرب من 40% من سكان العالم لدخولها في صناعة الخبز والصناعات الأخرى (معلا وحربا ، 2005)، وإن ما يستهلكه العراق سنويا يصل الى 4.400 مليون طن من حبوب الحنطة ومقدار مايستورد منها يصل الى 2.600 مليون طن وعليه فانه يعد من المرتبة السادسة من بين الدول التي تستورد الحنطة (FAO ، 2011) .

تتواصل الجهود المبذولة لتطوير وزيادة انتاجية الحنطة عن طريق التحسين الوراثي بأستخدام المادة الوراثية الـ DNA المأخوذة من الأصناف ودراسة الصفات الجزيئية وربطها مع الصفات التي يتم الحصول عليها في دراسة الصفات المورفولوجية والأنتاجية لغرض التمييز بينها ، ويستفاد منها في برامج تربية وتحسين النبات (Roder وآخرون ، 2002) . المؤشرات الجزيئية Molecular markers تعد مهمة في برامج تربية النبات وذلك لأمكانية تحديد موقع وراثي مطلوب لتركيب وراثي معين وعدم تأثرها بالشكل الظاهري للنبات بعكس المؤشرات المورفولوجية والأنتاجية أضافة الى الحصول على عدد كبير من المؤشرات في وقت قصير(سيد ، 2010) وتشمل كل من مؤشرات الـ RFLP وAFLP وSSR وISSR و RAPD التي أثبتت فعاليتها في الثلاث عقود الأخيرة مما أدى الى أستخدامها بكثرة بشكل مفرد (White وآخرون ، 2008) أو مرافقة لغيرها من المؤشرات الفسلجية والأنتاجية (Pagnotta وآخرون ، 2005 وLiu وآخرون ، 2006) . وتزداد أهمية تقنية الـ RAPD لأعتبارها من المؤشرات المعتمدة على تقنية الـ PCR ، ويستفاد منها لدراسة القرابة الوراثية والكشف عن التنوع الوراثي لمحصول الحنطة (Khan وآخرون ، 2005) . أن أساس عملها وجود بادئات عشوائية مرتبطة بالمواقع المتوافقة مع قواعدها ولاتحتاج الى تحديد التسلسل النيوكليوتيدي (Jan وآخرون ، 2011) ، لذا فأن البحث يهدف الى كشف التباين الوراثي لها بالأعتماد على المؤشرات الجزيئية بأستخدام تقنية PCR-RAPD وتحديد المدخلات المتكررة وأعطاء هوية وراثية لكل صنف والأعتماد عليها لاحقاً في برامج التربية وتحسين النبات. وأجريت عدة دراسات في هذا المجال منها ما جاء به زكريا (2011) في دراسته لبعض التغايرات الوراثية لتراكيب وراثية منتخبة من الحنطة بأستخدام ثمانية بادئات سبعة منها اظهرت حزم بلغ عددها 82 منها 38 حزمة رئيسية و44حزمة متباينة، كما درس Aydogan و Yagdi (2012) التباينات لـ 16 صنف من القمح الطري وحصل على مجموع عام من الحزم وصل إلى 142حزمة كان بينها 110 متباينة بمتوسط 8.35 حزمة/بادئ وكانت أوزانها ما بين 300 -2800bp . هذا واكد الجبوري (2013) في

دراسته أنَّ البادئات التي أستخدمها أظهرت تبايناً وراثياً واضحاً بين الأصناف والتراكيب الوراثية المدروسة من الحنطة الناعمة وكان عدد البادئات التي أعطت نتائج 11 بادئاً من أصل 15 بادئ .

مواد وطرائق البحث:

تم عزل الـ DNA من جميع التراكيب الوراثية المزروعة جدول (1) من الاوراق الطرية بأستخدام مادة CTAB (Cety Trimethyl Ammonium Bromide) أعتماداً على الأسس التي وضعها (Sahagi –Maroof وآخرون، 1983) ، تم أتباع طريقة (Doyle وDoyle ، 1987) مع بعض التحويرات .

جدول (1) التراكيب الوراثية المستعملة في التجربة .

التسلسل	التركيب الوراثي
1	شام 6
2	جيهان 99
3	Kenan bey
4	Adana 99
5	TURKMEN (KURU)
6	Lutfibey (KURU)
7	Seval (KURU)
8	Atli (KURU)
9	Tosun bey (KURU - SULU)
10	BEREKET (KURU -SULU)
11	DEMIR (SULU)
12	Gerek
13	KARAHAN (KURU)
14	PEHLIVAN (KURU- SULU)
15	ZENCIRCI (KURU)
16	Bayrakler
17	UZUN UAULA (KURU)

تم أجراء التجربة للموسم 2014-2015 في مختبرات الثروة الحيوانية/ كلية الزراعة /جامعة السليمانية وتم زراعة حبوب كل صنف في كؤوس بلاستيكية بداخلها بتموس بمعدل (10)حبوب للصنف الواحد ، ثم وضعت في غرفة على درجة حرارة ورطوبة واضاءة معتدلة وبعد مرور 8-10 أيام تم تقطيع الأوراق لكل تركيب وراثي بأستخدام مقص معقم وتطحن في الهاون الخزفي بأستخدام النتروجين السائل وأستمر الطحن حتى أصبحت العينة النباتية بشكل مسحوق ناعم ، تم وزن 1 غم من كل عينة من العينات النباتية المطحونة ووضعت في انابيب زجاجية بحجم 10 مل واضيف 10 مل من محلول الاستخلاص CTAB لكل عينة ووضعت العينات في حمام مائي وحضنت بدرجة حرارة 60 – 65 م^{5} لمدة 40– 60 دقيقة ، ثم وضعت العينات في جهاز الطرد المركزي وبدرجة حرارة 21 C^{5} وبسرعة 4000 دورة/الدقيقة ولمدة 12 دقيقة ، وبعد اخراج العينات تم فصل الراشح عن الراسب وذلك بنقل الراشح الى انابيب جديدة بحجم 5 مل ، بعدها تم اضافة 8 مل من (كلوروفورم : كحول ايزواميلي (1:24) لكل انبوب ، ثم وضعت العينات في جهاز الطرد المركزي بسرعة 4000 دورة/ دقيقة ولمدة 15 دقيقة ، ونقل الوسط المائي الحاوي على الحامض النووي الى انبوبة جديدة و اضافة 0.08 V مايكروليتر من خلات الأمونيوم الى العينات لغرض تجميع الـ DNA مع شحنات الأمونيوم ، ثم اضيف 0.54 V مايكروليتر كحول ايزوبروبانول لكل عينة وقلبت الانبوبة بهدوء عدة مرات لغرض ترسيب الـ DNA وحفظت العينات في درجة حرارة منخفضة 20 C^{5} لمدة ليلة كاملة . للمرة الثانية وضعت العينات بجهاز الطرد المركزي بسرعة 4000 دورة /دقيقة ولمدة 30 دقيقة وبدرجة 4C لأستبعاد الأيزوبروبانول والحصول على DNA في قعر الانبوب . تم ازالة الراشح من الأنابيب

وتجفيف الأنابيب لمدة 50 دقيقة بدرجة حرارة المختبر ، واضيف 1 مل من الماء المقطر الى كل عينة من الـ DNA المترسب لغرض اذابة الـ DNA ، ثم اضيف 25 مايكروليتر من انزيم الـ RNAse و 25 مايكروليتر من Proteinase K ووضعت العينات في الحمام المائي لمدة 60 دقيقة وبدرجة حرارة 45 م^5 ، بعدها تم أضافة 1 مل من الكلوروفورم لكل عينة لفصل الدقائق النباتية العالقة ووضعت العينات في جهاز الطرد المركزي لمدة 20 دقيقة وبسرعة 4000 دورة/الدقيقة ، ثم اخذت الطبقة العليا من الأنابيب ونقلت الى أنابيب جديدة بحجم 5 مل ويتم اضافة 0.08V من خلات الأمونيوم لغرض تجميع الـ DNA مع الأمونيوم وبعدها يتم أضافة 0.54 V مايكروليتر من الأيزوبروبانول لغرض ترسيب الـDNA ، ثم وضعت العينات في جهاز الطرد المركزي بسرعة 4000 دورة/دقيقة ولمدة 30 دقيقة وبدرجة 4 ^oC لأستبعاد الايزوبروبانول والحصول على الـ DNA في قعر الانبوب . أزيل الراشح من الانابيب بأستخدام الماصة الدقيقة ثم تركت الانابيب لتجف بدرجة حرارة الغرفة لمدة 30 دقيقة ، ثم أضيف 1 مل من الايثانول بتركيز 70% لغسل الـ DNA من بقايا خلات الامونيوم والايزوبروبانول وبعدها وضعت العينات في جهاز الطرد المركزي بسرعة 4000 دورة /الدقيقة بدرجة حرارة 4 م^5 ، ثم أزيل الراشح وجففت الأنابيب بدرجة حرارة الغرفة لمدة 60 دقيقة وأضيف 100 مايكروليتر من الماء المقطر وحفظت بدرجة حرارة منخفضة 4 م^5 .

تم تحضير هلام الآكاروز بتركيز 1% عن طريق أضافة 1غم من مسحوق الآكاروز وتم أذابته بمحلول الـ TBE بقوة X1 ، ثم اضيف 5 مايكروليتر من صبغة الايثيديوم بروميد ومزجت جيداً مع المحلول ، بعدها تم تثبيت المشط في المكان المناسب له في قالب الهلام لتكوين الحفر Wells عند احد اطراف الحوض ، وحضرت العينات للترحيل إذ تم مزج 5 مايكروليتر من الـ DNA الناتج من تفاعل الـ PCR مع 2 مايكروليتر من صبغة (Loading Buffer محلول التحميل) ، ثم وزعت العينات على الحفر باستخدام الماصة الدقيقة Micropipette ثم اضيف الدليل الحجمي المقطع والسليم DNA (DNA Ladder 100 bp) كمؤشر لمعرفة الوزن الجزيئي للقطع الناتجة . اغلق الجهاز و جهز بقدرة 80 فولت ، وتم توصيل أقطاب التيار الكهربائي بوضع القطب السالب من جهة الحفر والقطب الموجب من الجهة الثانية لكي تتم حركة عينات الـ DNA من القطب السالب الى القطب الموجب و بعد ساعة واربعين دقيقة وعند وصول الصبغة الزرقاء إلى ما قبل نهاية الهلام تم إيقاف الترحيل . بعد ذلك اخذت الصورة تحت جهاز الاشعة فوق البنفسجية (UV Transilluminotr) إذ تم عرض الصورة على جهاز حاسوب لوحي متطور لرؤية حزم الـ DNA ، فتم تقدير الحجم الجزيئي بمقارنته مع الدليل الحجمي المقطع ويقدر التركيز من خلال الدليل الحجمي السليم .

أُجريت تفاعلات الـ RAPD على عينات DNA الـ (17) من التراكيب الوراثية لحنطة الخبز المستخدمة في الدراسة بالأستناد الى (Williams وآخرون ، 1990) ، ومن خلال توفير المواد والمحاليل اللازمة التي اهمها Master mix الحاوي على مكونات التفاعل اللازمة لتضخيم المناطق المحددة من قبل كل بادئ هي وشملت كل من DNTPs (400 µM) ، Taq polymerase (1U) ، $MgCl_2$ ، PCR buffer ، ويكمل الحجم الى 25 مايكروليتر باستخدام الماء المقطر المعقم (ddH_2O)، والبادئات العشوائية (23 بادئ) تم تجهيزهما من شركة CinnaGen Co. كما موضح بالجدول (2) وكان أختيارها بشكل عشوائي وخلطت ضمن خليط التفاعل وكانت درجة حرارتها 37 م^5 ، وتم ترحيل وفصل نواتج تضاعف الـ PCR-RAPD على هلام الآكاروز بتركيز 1.8 % لمدة ساعة و 40 دقيقة وتم ذلك بأخذ 25 مايكروليتر لكل عينة دنا وبوجود الـ (DNA Ladder 100 bp) والتصبيغ بمادة بروميد الاثيديوم (Mondini وآخرون، 2009) .تم ضبط تركيزالـDNA للعينات المدروسة بتخفيفه بالماء المقطر للوصول الى التركيز النهائي لغرض بدء التفاعل التضاعفي . بعدها تم تحضيرخليط التفاعل الرئيسي Master Reaction وذلك بمزج الخليط في انبوبة Eppendeoff Tube معقمة بحجم 200 مايكروليتر وبمقدار 25 مايكروليتر لكل انبوب من كل عينة من عينات الـ DNA كحجم نهائي ، وشملت مكونات التفاعل قالب الـ DNA بحجم 5 مايكروليتر والبادئ Primer بحجم2 مايكروليتر وبأضافة 12.5 مايكروليترمن الـ Master mix . تم وضع المقدار نفسه في 17 انبوب معقمة بحجم 200 مايكروليتر ثم مزجت مكونات التفاعل جيداً و نقلت الانابيب الى جهاز المبلمر الحراري Thermocyler لبدء التفاعل التضاعفي ، ومن خلال تطبيق البرنامج المناسب والذي تضمن 40 دورة تضاعف كل دورة استغرقت مدة بلغت 5 دقائق على درجة حرارة 94 م^5 لمسخ شريطي الـ DNA تليها دورة

استغرقت 1 دقيقة بدرجة حرارة 94 م° لأتمام مسخ شريط المزدوج وأنخفضت درجات الحرارة الى 36 او 37 م° لمدة 1 دقيقة لارتباط البادئ بالـ DNA القالب تلاها ارتفاع في درجات الحرارة وصل الى 72 م° استغرق 2 دقيقة لاستطالة البادئ ، ثم بعد ذلك الدورة الاخيرة استغرقت 5 دقايق وعلى درجة حرارة 72 م° لغرض استكمال مرحلة الاستطالة . بعد انتهاء وقت التفاعل تم رفع الانابيب من الجهاز المبلمر الحراري ، وتسحب 2 مايكروليتر من صبغة الـ Loading واضيفت لكل عينة فائدتها تثبيت الـ DNA في القاع بالاضافة الى دورها في تمييز حركة الـ DNA ، ثم حضر هلام الاكاروز 1.8% من خلال وزن 1.8 غم من مسحوق الاكاروز وتم تخفيفه بمحلول الـ TBE 100 مل ، ويسخن في المايكروويف لحين اكتمال الاذابة ثم يبرد المحلول الى درجة 50 – 55 م^{5} ، أضيفت صبغة بروميد الاثيديوم الى هلام الاكاروز ثم ترك ليتصلب لمدة 20 – 30 دقيقة ، بعدها وضعت العينات في الجل وتم تشغيل جهاز الـ Electrophoresis على 80 فولط لمدة ساعة وساعة و40 دقيقة . تم فحص نتائج التضاعف العشوائي الـ RAPD من خلال تسجيل صور انماط عملية الفصل الكهربائي لكل بادئ وتحديد الحزم Bands حيث يمثل وجود الحزم بـ (1) وعدم وجود الحزم بـ (0) .

جدول (2) يبين اسماء وتتابعات القواعد النتروجينية المكونة للبادئات العشوائية المستعملة في التجربة

البادئات المستخدمة في تفاعلات الـ RAPD					
ت	البادئ	تتابعه (3'.....5')	ت	البادئ	تتابعه (3'.....5')
1	OPH-11	CTTCCGCAGT	13	OPA-09	GGGTAACGCC
2	OPG-08	TCACGTCCAC	14	OPA-10	GTGATCGCAG
3	OPO-06	GGTCCCTGAC	15	OPA-13	CAGCACCCAC
4	OPG-02	GGCACTGAGG	16	OPF-14	TGCTGCAGGT
5	OPB-18	CCACAGCAGT	17	OPF-13	GGCTGCAGAA
6	OPD-10	GGTCTACACC	18	OPC-07	GTCCCGACGA
7	OPD-18	GAGAGCCAAC	19	OPF-06	GGGAATTCGC
8	OPD-20	ACCCGGTCAC	20	OPA-07	GAAACGGGTG
9	OPG-10	AGGGCCGTCT	21	OPA-04	AATCGGGCTG
10	OPG-12	CAGCTCACGA	22	OPI-05	TGTTCCACGG
11	OPG-14	GGATGAGACC	23	OPQ-01	GGGACGATGG
12	OPF-03	CCTGATCACC			

تم أجراء التحاليل الأحصائية للمؤشرات الجزيئية بأستخدام برنامجXLSTAT و Power Marker 3.25 لحساب متوسط قيمة (PIC) وهي قيمة تساعد على معرفة التمييز informativeness الذي يعطيه الموقع (Locus) من خلال حساب تكرار ألأليلات هذا الموقع في العينات المدروسة ، اما التنوع الجيني الذي يمثل القوة التمييزية لكل موقع فتم حسابها وفق الطريقة المعتمدة من قبل Laurentin (2009) لمعرفة المؤشرات تامة السيادة Dominant markers بدلا من PIC . كذلك اجري التحليل العنقودي Cluster analysis بأستخدام برنامج و مقياس Euclidean من خلال تحديد التشابه الوراثي بين التراكيب الوراثية وتقدير البعد الوراثي Genetic Distance بحسب مؤشرات الـ RAPD وبالاعتماد على مقياس التشابه Jaccard Index ، بعد حساب نسب التشابه وفق القوانين السابقة تبدأ المرحلة الاخرى لحساب القرابة الوراثية ورسم شجرة التطور Phylogenic لصف الافراد المتشابهة بجوار بعضها في عنقود Cluster واحد ، وفي حالة مطابقة المادة الوراثية بين صنفين فذلك يدل على إنَّ البعد الوراثي يجب أنَّ يكون مساوياً للصفر ونسبة التشابه تكون مساوية لـ 1 (100%) (Essleman وآخرون ،2000) .

النتائج والمناقشة:

بالرغم من ان تقنية الـ RAPD من الطرائق الجزيئية القديمة والبسيطة نسبياً لكنها ما تزال مستخدمة بكثرة نظراً لسهولة تطبيقها ورخص تكاليفها بالمقارنة مع المؤشرات الجزيئية الأخرى ذات الدقة العالية (MirAli و Nabulsi ، 2004) فقد جرى تطبيق تقنية الـ RAPD بأستخدام 23 بادئ جدول (2) ، وأظهرت نتائج جدول (3) وجود أختلافاً واضحاً في عدد الاليلات تبعاً للبادئ المستخدم ، إذ إنَّ 17 بادئ أعطت حزم واضحة بلغ عددها 1327 حزمة عدا 6 بادئات لم تظهر أي حزمة وهيOPC-07 و OPF-06

و OPA-07 و OPA-04 و OPI-05 و OPQ-01 وقد يعود السبب إلى عدم وجود منطقة أرتباط مكملة لتتابع القواعد لهذا البادئ على موقع مكمل له ضمن تتابعات DNA الجينوم للأنواع المدروسة ، وهذه الحالة لوحظت في دراسات عديدة منها دراسة (Rawashdeh و Amri ، 2006) و(Nwangburuka وآخرون ،2011) ، وبقية البادئات كانت مقدرتها متفاوتة في الكشف عن حجم التغاير الوراثي بين التراكيب الوراثية المدروسة فيما اعطى البعض الاخر عدد اقل من الحزم ، كما نلاحظ إن البادئات السبعة عشر قد اعطت 142 موقع اليلي كان من بينها 15 اليلات رئيسية لظهورها في جميع التراكيب الوراثية ، أما الاليلات المتباينة فهي من الاليلات المميزة للتراكيب الوراثية وبلغ عددها 127 اليل التي يعتمد عليها لتحديد الصلة الوراثية بين التراكيب الوراثية ، إذ يلاحظ إنَّ البادئين OPG-12 و OPA-10 قد أحرزا أعلى عدد اليلات متباينة بلغ 10 وبنسبة 100% في حين أعطت كل البادئات OPH-11 و OPG-08 و OPD-18 و OPG-10 و OPA-09 و OPF-14 أقل عدد اليلات متباينة بلغ 6 وبنسبة (85.71 و100 و 100 و 66.66 و85.71 و100%) على التوالي ، كذلك يلاحظ إنَّ البادئات المستخدمة تميزت بوزن جزيئي تراوح بين 140- 1500 bp ، مع وجود تباين في نتائج الـ Polymorphsim لكل بادئ وتراوحت النسبة المئوية بين 61.53 – 100 % ، مما يشير الى القدرة العالية لبعض البادئات على كشف التغايرات بين التراكيب الوراثية في حين لم يظهر البعض الاخر من البادئات هذه القدرة ،وبالأعتماد على عدد الحزم الناتجة من أرتباط كل بادئ مع التراكيب الوراثية المستخدمة في الدراسة والأحجام الجزيئية للحزم ، وعدد الأليلات الناتجة من أرتباط البادئ

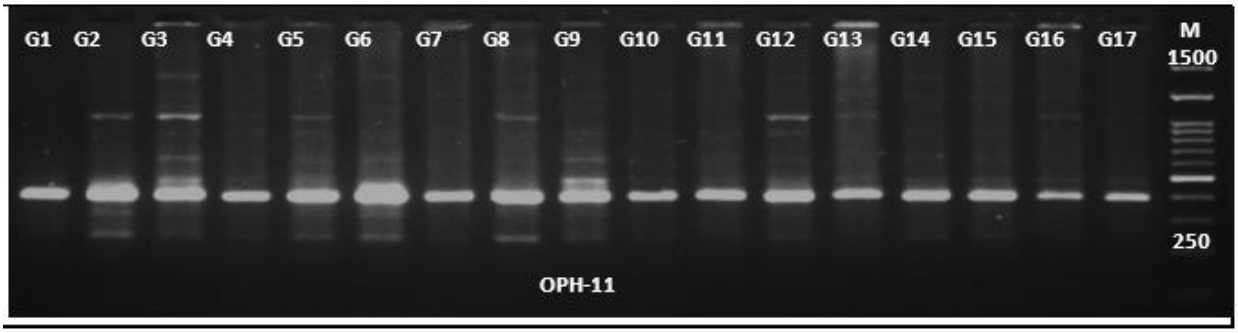
جدول (3) التباينات الوراثية للبادئات المستخدمة (عدد حزم الدنا الكلية ، والمتباينة والرئيسية والنسبة المئوية للحزم المتباينة % وحجم حزم الدنا الكلية)

رقم البادئة	اسم البادئ	مواقع الارتباط	مواقع الارتباط المتباينة Polymorphic	نسبة الاليلات المتباينة % Polymorphsim	مواقع الارتباط الرئيسية monomorphic	حجم حزم الـ DNA الكلية amplified
1	OPH-11	7	6	85.71	1	1500-250
2	OPG-08	6	6	100	0	1300-200
3	OPO-06	7	7	100	0	900-200
4	OPG-02	9	8	88.88	1	900-250
5	OPB-18	9	9	100	0	980-200
6	OPD-10	9	7	77.77	2	950-230
7	OPD-18	6	6	100	0	800-170
8	OPD-20	10	9	90	1	800-140
9	OPG-10	9	6	66.66	3	900-170
10	OPG-12	10	10	100	0	990-160
11	OPG-14	8	8	100	0	900-120
12	OPF-03	13	8	61.53	5	1400-160
13	OPA-09	7	6	85.71	1	900-180
14	OPA-10	10	10	100	0	990-260
15	OPA-13	8	8	100	0	900-200
16	OPF-14	6	6	100	0	1000-300
17	OPF-13	8	7	87.5	1	1200-170
	Total	142	127	88.81	15	
	Average	8.35	7.47			

مع عينات الدراسة، وقيمة القدرة التميزية الـ PIC للبادئات ، وتكرار الأليلي الرئيسي Major Allele Frequency ، وقيمة التنوع الجيني Gene Diversity تم توضيح نتائج البادئات كما يلي :

1 – البادئ OPH-11 :

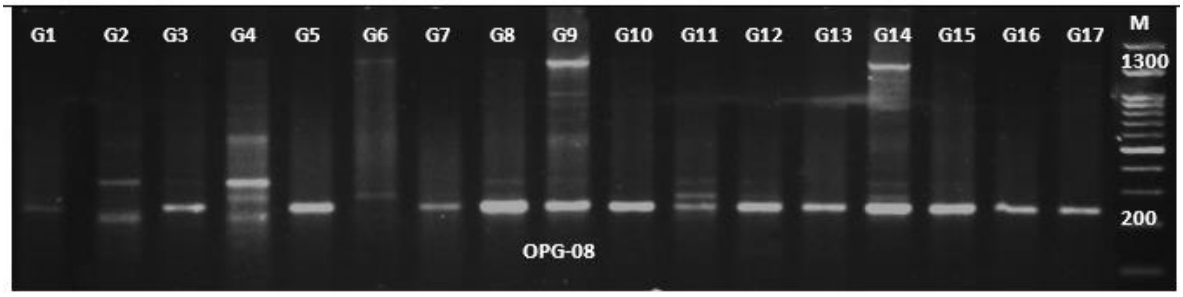
أستخدم هذا البادئ في مضاعفة DNA التراكيب الوراثية وتم الحصول على 59 حزمة نتجت من أرتباط البادئ في 7 مواقع اليلية توزعت الى اليل رئيسي و 6 اليلات متباينة وبلغت النسبة المئوية لها 85.71% ، وأظهر هذا البادئ تبايناً واضحاً له في DNAفي الموقع والوزن الجزيئي الذي تراوح بين 250-1500 bp ، ومن الشكل (1) يتضح إنَّ الحزم ذات الوزن الجزيئي bp 400قد ظهرت في جميع التراكيب مما يدل على عثور هذا البادىء على التتابعات الخاصة به في هذه التراكيب ، وقيمة القدرة التمييزية PIC للبادئات بلغت 0.8989% هذا وبلغت قيمة التنوع الوراثي 0.9066 ، أما قيمة تكرار الاليل فقد بلغت 0.1176.



شكل (1) ناتج ترحيل الـ PCR للبادئ OPH-11 مع الأحماض النووية المستخلصة من أوراق التراكيب الوراثية لمحصول الحنطة على هلام الآكاروز Agarose gel electrophoresis بتركيز 1.8% (M : مؤشر 100 bp ladder) .

2– البادئ OPG-08 :

تم الحصول على 35 حزمة كلية والناتجة من 6 اليلات ، ومن ملاحظة صورة الترحيل نجد إنَّ عدد الحزم المتباينة بلغ 6 حزم والنسبة المئوية لها 100 % ، وتمكن البادىء من التعرف على التتابعات المكملة له في DNA الجينوم للتراكيب الوراثية وقد أظهر تبايناً واضحاً في حجم الحزم تراوح بين200- 1300 bp شكل (2) . كما بينت النتائج إنَّ القدرة التمييزية لهذا البادئ جيدة

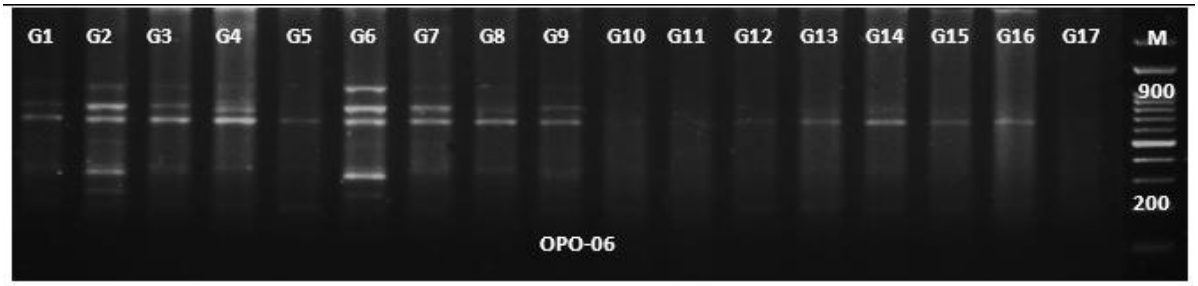


شكل (2) ناتج ترحيل الـ PCR للبادئ OPG-08 مع الأحماض النووية المستخلصة من أوراق التراكيب الوراثية لمحصول الحنطة على هلام الآكاروز Agarose gel electrophoresis تركيز1.8% (M : مؤشر 100 bp ladder) .

نسبياً وبلغت 0.9069 % ، ونلاحظ إنَّ قيمة التنوع الوراثي بلغت 0.9135 ، أما التكرار الاليلي الرئيسي فبلغ 0.1176 .

3– البادئ OPO-06 :

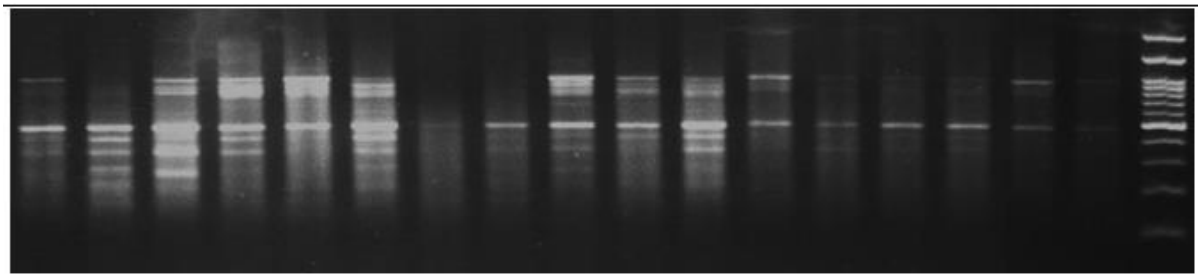
إنَّ لهذا البادىء عدد حزم بلغ 49 حزمة نتجت من 7 اليلات ومن ملاحظة صورة الترحيل نجد إنَّ الحزم جميعها حزم متباينة لتصبح النسبة المئوية للحزم المتباينة 100% ، وتمكن البادىء من التعرف على التتابعات المكملة له في DNA الجينوم للتراكيب الوراثية وقد اظهر تبايناً واضحاً في الوزن الجزيئي تراوح بين200–900 bp ، ومن الشكل (3) نلاحظ إنَّ البادئ لم يجد التتابع المكمل له عند التركيب الوراثي 10 و11و 17 فلم تظهر أي حزمة وبذلك يمكن أعتبارها بصمة لهذه التراكيب الوراثية في هذا البادىء ، وبلغت قدرته التمييزية 0.8112% وقيمة التنوع الوراثي بلغت 0.8304 ، أما تكرار الاليل فبلغ 0.2941 .



شكل (3) ناتج ترحيل الـ PCR للبادئ OPO-06 مع الأحماض النووية المستخلصة من أوراق التراكيب الوراثية لمحصول الحنطة على هلام الآكاروز Agarose gel electrophoresis تركيز 1.8% (M : مؤشر 100 bp ladder) .

4 -البادئ OPG-02 :

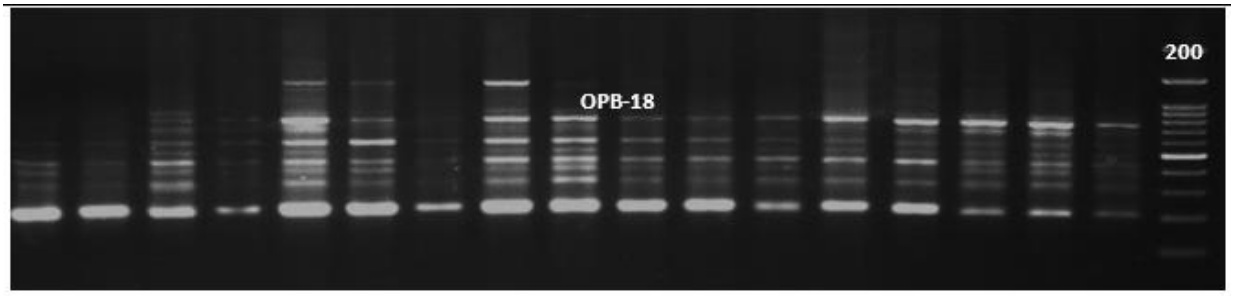
كان لهذا البادىء عدد حزم بلغ 67 حزمة والتي نتجت من 9 اليلات ، ومن خلال ملاحظة صورة الترحيل لهذا البادئ نجد إنَّ الحزم توزعت الى حزمة متماثلة الظهور لجميع التراكيب الوراثية و8 حزم متباينة الظهور بلغت نسبتها 88.88 % ، وتمكن البادىء من التعرف على التتابعات المكملة في DNA جينوم التراكيب الوراثية إذ أظهر تبايناً واضحاً في الوزن الجزيئي تراوح بين–900 bp 250 ، ومن الشكل (4) يتضح إنَّ الحزم ذات الوزن الجزيئي 500 bp قد ظهرت في جميع التراكيب مما يدل على عثور هذا البادىء على التتابعات الخاصة به في هذه التراكيب الوراثية ، كما بينت النتائج إنَّ القدرة التمييزية لهذا البادئ بلغت 0.8989% ، رقيمة التنوع الوراثي بلغت 0.9066 ، أما قيمة تكرار الاليل فبلغت 0.1176 .



شكل (4) ناتج ترحيل الـ PCR للبادئ OPG-02 مع الأحماض النووية المستخلصة من أوراق التراكيب الوراثية لمحصول الحنطة على هلام الآكاروز Agarose gel electrophoresis تركيز 1.8% (M : مؤشر 100 bp ladder) .

5– البادئ OPB-18 :

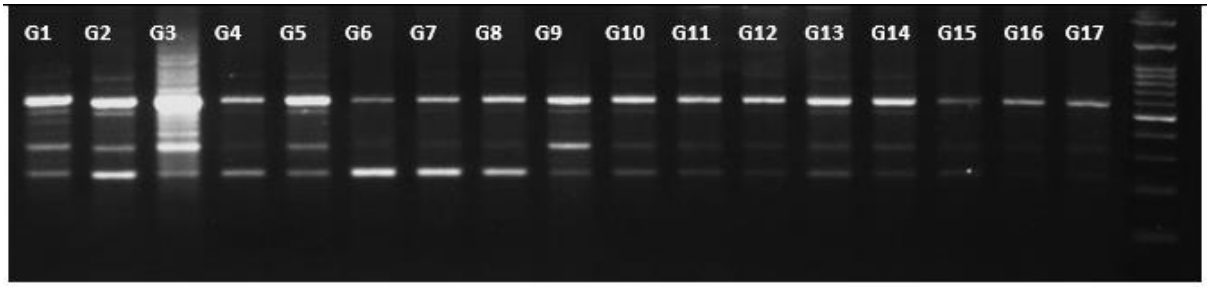
أظهر هذا البادي عدد كبير من الحزم بلغ 87 نتجت من 9 اليلات لم تظهر فيها حزم متماثلة جميعها حزم متباينة الظهور بين التراكيب الوراثية المدروسة وشكلت نسبة مئوية 100 % ، وتمكن البادئ من التعرف على التتابعات المكملة له في DNA الجينوم تراوحت بين200-980 bp ، وأظهر هذا البادئ توافقاً بين تسلسل البادىء وتتابعات DNA القالب في جميع التراكيب الوراثية شكل (5) ، وبينت النتائج إنَّ القدرة التمييزية لهذا البادئ جيدة وبلغت 0.9148 % ، وبلغت قيمة للتنوع الوراثي 0.9204 ، أما التكرار الاليلي الرئيسي فبلغ 0.1176 .



شكل (5) ناتج ترحيل الـ PCR للبادئ OPB-18 مع الأحماض النووية المستخلصة من أوراق التراكيب الوراثية لمحصول الحنطة على هلام الآكاروز Agarose gel electrophoresis تركيز 1.8% (M : مؤشر 100 bp ladder) .

6- البادئ OPD-10 :

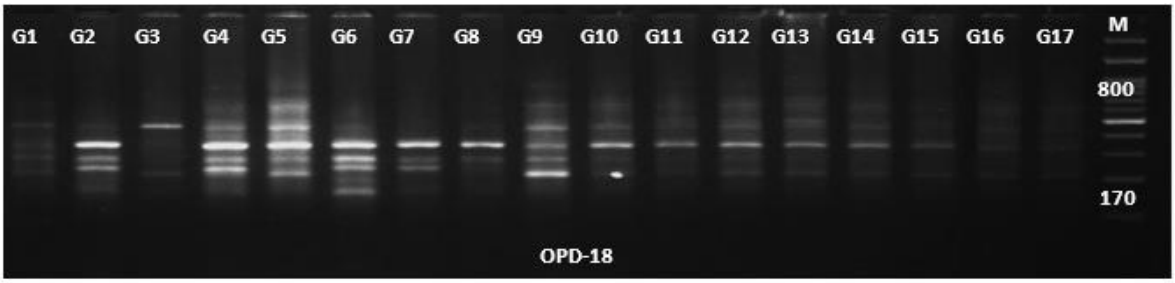
كان لهذا البادىء عدد حزم بلغ 86 حزمة ، ومن الشكل (6) يظهر إنَّ عدد الاليلات بلغ 9 ونلاحظ إنَّ الحزم توزعت 2 حزم متماثلة الظهور و7 حزم متباينة الظهور بلغت نسبتها 77.77% ، وتمكن البادىء من التعرف على التتابعات المكملة في DNA جينوم التراكيب الوراثية إذ أظهر تبايناً واضحاً في الوزن الجزيئي تراوح بين 230-950 bp ، ويتضح إنَّ الحزم ذات الوزن الجزيئي 250 و 600 bp قد ظهرت في جميع التراكيب ويدل هذا على عثور هذا البادىء على التتابعات الخاصة به في هذه التراكيب الوراثية ، كما بينت النتائج إنَّ القدرة التمييزية لهذا البادئ كانت منخفضة مقارنة بباقي البادئات وبلغت 0.7756% وأعطت قيمة تنوع وراثي منخفضة أيضاً ، وبلغت 0.8028 ، أما تكرار الاليل فكانت قيمته 0.2941 .



شكل (6) ناتج ترحيل الـ PCR للبادئ OPD-10 مع الأحماض النووية المستخلصة من أوراق التراكيب الوراثية لمحصول الحنطة على هلام الآكاروز Agarose gel electrophoresis تركيز 1.8% (M : مؤشر 100 bp ladder) .

7 - البادئ OPD-18 :

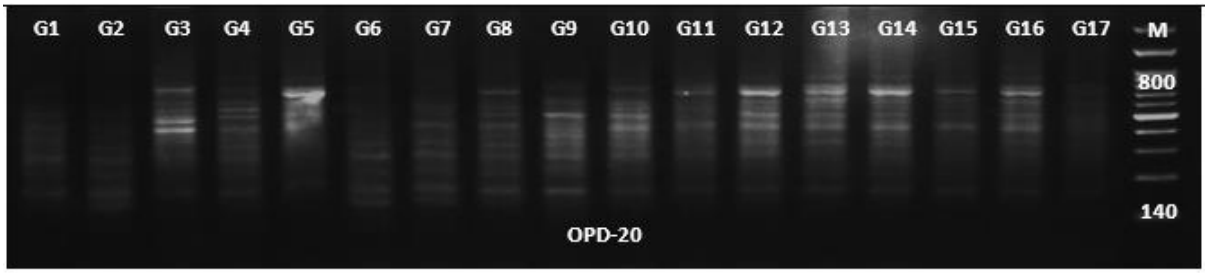
تم الحصول على كمية حزم بلغ 57 نتجت من 6 اليلات ، وكانت عدد الحزم المتباينة 6 أيضاً لتعطي نسبة مئوية بلغت 100 % وتمكن البادىء من التعرف على التتابعات المكملة له في DNA الجينوم للتراكيب الوراثية وأظهر تبايناً واضحاً في الوزن الجزيئي تراوح بين 170–800 bp شكل (7) ، وأظهرت النتائج ان القدرة التمييزية لهذا البادئ جيدة مقارنة بباقي البادئات وبلغت 0.8912% ، وبلغت قيمة للتنوع الوراثي 0.8997 ، أما التكرار الاليلي الرئيسي فبلغ 0.1765 .



شكل (7) ناتج ترحيل الـ PCR للبادئ OPD-18 مع الأحماض النووية المستخلصة من أوراق التراكيب الوراثية لمحصول الحنطة على هلام الآكاروز Agarose gel electrophoresis تركيز 1.8% (M : مؤشر 100 bp ladder) .

8 – البادئ OPD-20 :

أظهر هذا البادئ عدد حزم كلي بلغ 88 حزمة ومن ملاحظة شكل (8) يظهر وجود حزمة رئيسية و9 حزم متباينة وبلغت نسبتها 90 % ، وتمكن البادىء من التعرف على التتابعات المكملة في DNA الجينوم للتراكيب الوراثية وأظهر تبايناً واضحاً في الوزن الجزيئي تراوح بين 140 - 800 bp ، وإنَّ الحزمة ذات الحجم الجزيئي 160 bp قد ظهرت في جميع التراكيب الوراثية مما يشير الى عثور هذا البادئ على التتابعات الخاصة به في هذه التراكيب الوراثية ، كما أظهرت النتائج ان قيمة قدرة البادئ على تمييز التراكيب الوراثية بلغت 0.9148% ، والتنوع الوراثي فكانت قيمته 0.9204 ، أما قيمة التكرار الاليلي فبلغت قيمته 0.1176

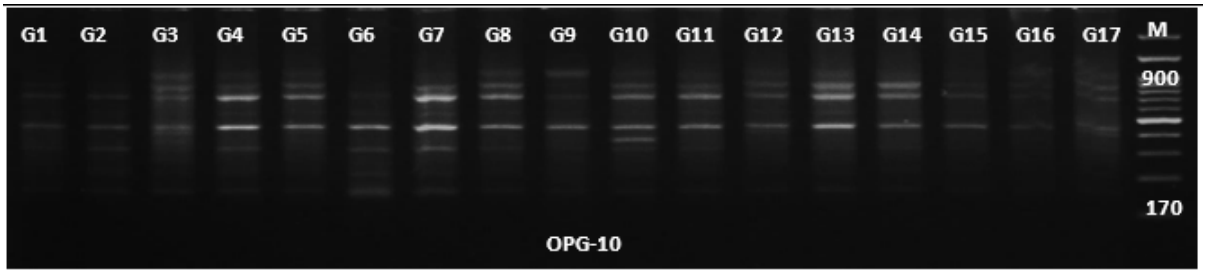


شكل (8) ناتج ترحيل الـ PCR للبادئ OPD-20 مع الأحماض النووية المستخلصة من أوراق التراكيب الوراثية لمحصول الحنطة على هلام الآكاروز Agarose gel electrophoresis تركيز 1.8% (M : مؤشر 100 bp ladder) .

.

9– البادئ OPG-10 :

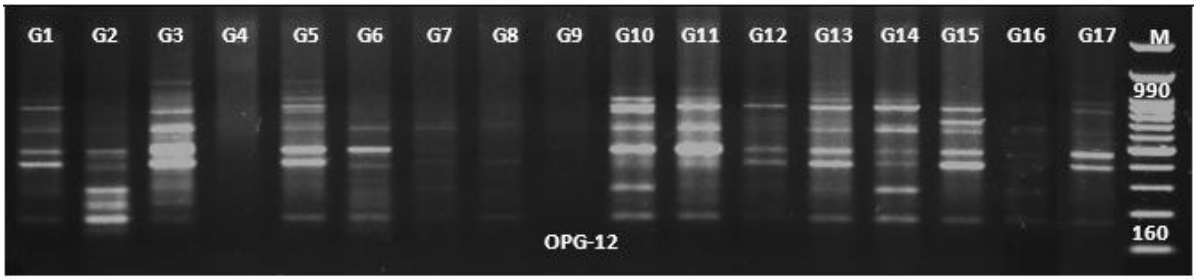
أظهر هذا البادئ عدد حزم بلغ 96 حزمة وعدد الاليلات بلغ 9 منها 3 حزم متماثلة و6 حزم متباينة لتعطي نسبة مئوية لها بلغت 66.66 % ، وتعرف البادىء على التتابعات المكملة في DNA الجينوم تراوحت بين 170-900 bp ، ويبين الشكل (9) إنَّ الحزم ذات الوزن الجزيئي 170 و 480 و720 bp قد ظهرت في جميع التراكيب ويدل هذا على عثور هذا البادىء على التتابعات الخاصة به في هذه التراكيب الوراثية وكانت قدرته التمييزية جيدة نسبياً مقارنة بباقي البادئات وبلغت 0.8175% ، وقيمة التنوع الوراثي بلغت 0.8304 ، أما التكرار الاليلي الرئيسي فبلغ 0.3529 .



شكل (9) ناتج ترحيل الـ PCR للبادئ OPG-10 مع الأحماض النووية المستخلصة من أوراق التراكيب الوراثية لمحصول الحنطة على هلام الآكاروز Agarose gel electrophoresis تركيز 1.8% (M : مؤشر 100 bp ladder) .

10– البادئ OPG-12 :

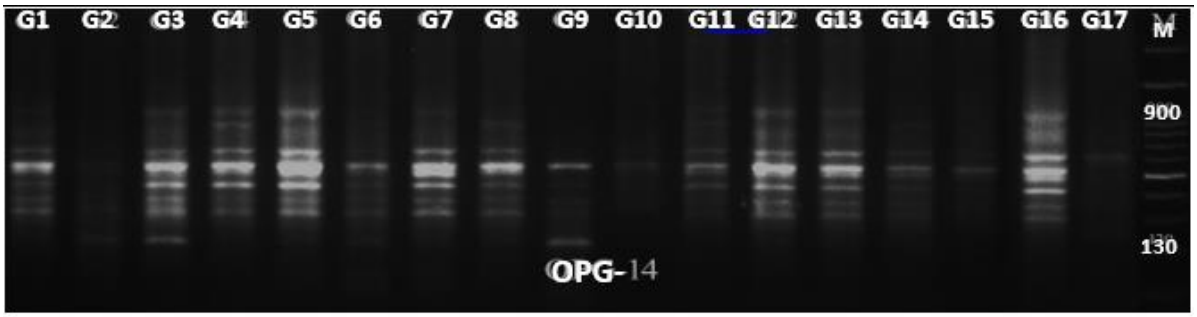
أظهر البادىء عدد من الحزم بلغ 83 نتجت من 10 اليلات وعند ملاحظة صور الترحيل نجد إنَّ الحزم جميعها حزم متباينة الظهور بين التراكيب الوراثية المدروسة مما جعلها تشكل نسبة 100% ، وتمكن البادىء من التعرف على التتابعات المكملة في DNAالجينوم وتراوح حجم الحزم بين 160–990 bp ، ونلاحظ إنَّ التركيبين الوراثيين 4 و9 لم يظهرا أية حزمة أي لم يجد البادىء التتابع المكمل له في هذا التركيبين شكل (9) ، وكانت القدرة التمييزية لهذا البادئ جيدة نسبياً وبلغت 0.9148% ، وكانت قيمة تنوعه الوراثي عالية وبلغت 0.9204 ، أما التكرار الاليلي لهذا البادئ فبلغ 0.9204 .



شكل (10) ناتج ترحيل الـ PCR للبادئ OPG-12 مع الأحماض النووية المستخلصة من أوراق التراكيب الوراثية لمحصول الحنطة على هلام الآكاروز Agarose gel electrophoresis تركيز 1.8% (M : مؤشر 100 bp ladder) .

11- البادئ OPG-14 :

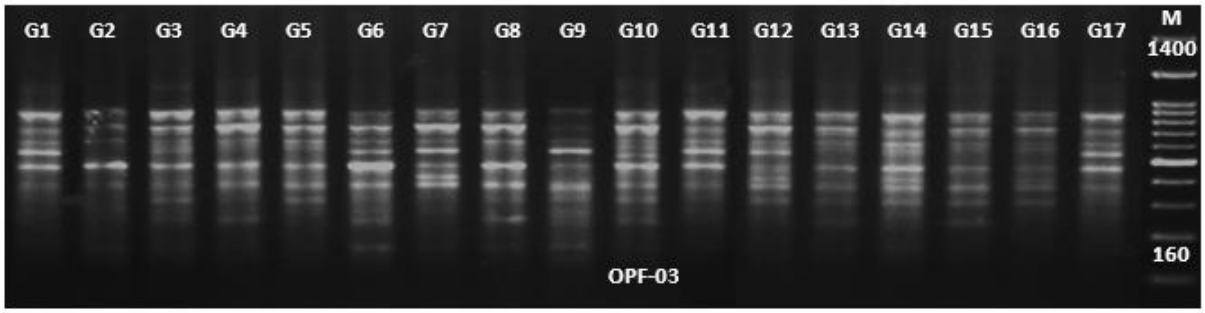
أظهر هذا البادئ عددا من الحزم بلغ 83 حزمة نتجت من 8 اليلات وعند ملاحظة صورة الترحيل نجد إنَّ الحزم جميعها متباينة وبلغت نسبتها 100 % ، وتمكن البادىء من التعرف على التتابعات المكملة في DNA الجينوم للتراكيب الوراثية تراوحت بين 120 – 900 bp شكل (11) ، وبلغت القدرة التمييزية لهذا البادئ 0.8372% ، وقيمة التنوع الوراثي له بلغت 0.8512 ، أما تكرار الاليلي فبلغ 0.2941 .



شكل (11) ناتج ترحيل الـ PCR للبادئ OPG-14 مع الأحماض النووية المستخلصة من أوراق التراكيب الوراثية لمحصول الحنطة على هلام الآكاروز Agarose gel electrophoresis تركيز 1.8% (M : مؤشر 100 bp ladder) .

12- البادئ OPF-03 :

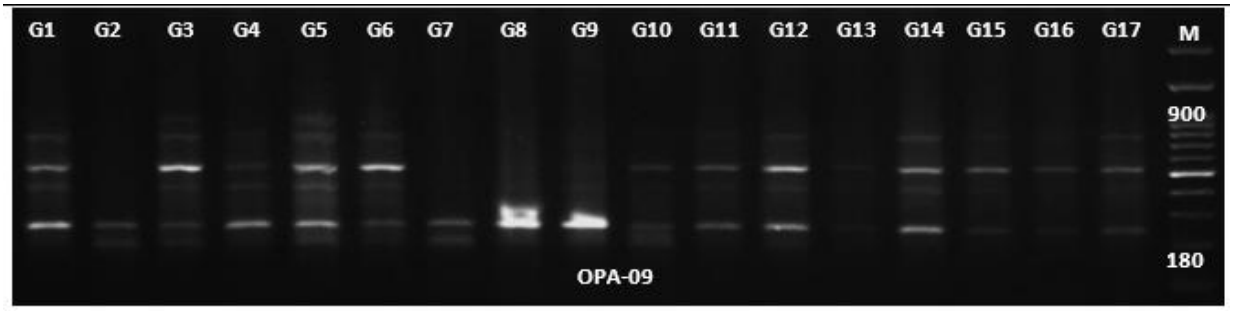
أظهر هذا البادئ عدد حزم بلغ 134 ، كما أعطى عدد كبير من المواقع الاليلية بلغت 13 ومن ملاحظة شكل (12) نجد إنَّ 5 أليلات ظهرت في جميع التراكيب الوراثية وكانت ذات وزن جزيئي 370 و470 و610 و720و 880 bp ويدل هذا على عثور هذا البادىء على التتابعات الخاصة به في هذه التراكيب والثمانية الباقية كانت متباينة الظهور وهذه الأعداد أكدت إنَّ البادئ تمكن من التعرف على التتابعات المكملة له في DNA الجينوم وبلغت النسبة المئوية لها 61.53% ، وتراوحت حجم الحزم لهذا البادئ بين160-1400 bp ، وكانت القدرة التمييزية عالية مقارنة بباقي البادئات وبلغت 0.9226% ، وأعطى أعلى قيمة للتنوع الوراثي بلغت 0.9273 ، أما التكرار الاليلي الرئيسي فبلغ 0.1176 .



شكل (12) ناتج ترحيل الـ PCR للبادئ OPF-03 مع الأحماض النووية المستخلصة من أوراق التراكيب الوراثية لمحصول الحنطة على هلام الآكاروز Agarose gel electrophoresis تركيز 1.8% (M : مؤشر 100 bp ladder) .

13- البادئ OPA-09 :

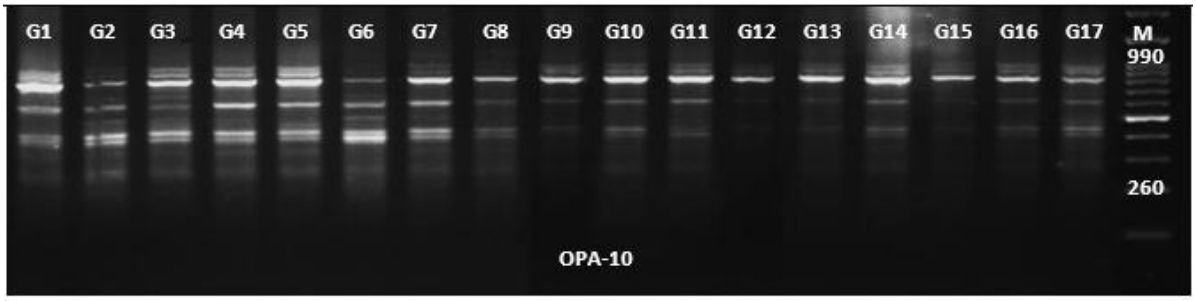
أظهر عدد من الحزم بلغ 76 وعدد الاليلات بلغ 7 توزعت الى حزمة واحدة رئيسية و 6 حزم متباينة الظهور لتعطي نسبة 85.71% ، وتمكن البادىء من التعرف على التتابعات المكملة في DNA الجينوم للتراكيب الوراثية وأظهر تبايناً في الوزن الجزيئي تراوح بين 180 - 900 bp . ومن الشكل (13) نجد إنَّ الحزمة ذات الوزن الجزيئي 150 bp وجدت في جميع التراكيب الوراثية مما يدل على إنَّ البادئ عثر على التتابعات الخاصة به في جميع التراكيب ، وكانت القدرة التمييزية جيدة مقارنة بباقي البادئات وبلغت 0.8830% ، ونلاحظ إنَّ قيمة التنوع الوراثي بلغت0.8927 ، أما التكرار الاليلي الرئيسي فبلغ 0.1765 .



شكل (13) ناتج ترحيل الـ PCR للبادئ OPA-09 مع الأحماض النووية المستخلصة من أوراق التراكيب الوراثية لمحصول الحنطة على هلام الآكاروز Agarose gel electrophoresis تركيز 1.8% (M : مؤشر 100 bp ladder) .

14- البادئ OPA-10

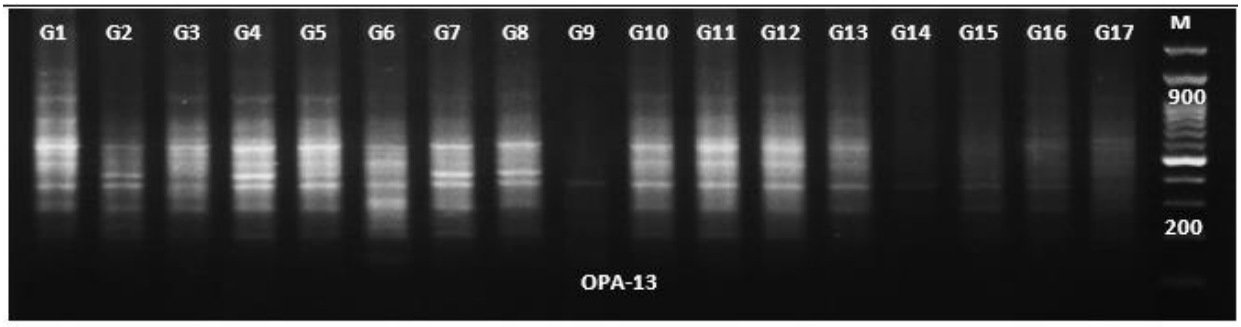
أظهر البادىء عدد كبير من الحزم بلغ 94 نتجت من 10 اليلات نلاحظ من صورة الترحيل جميعها حزم متباينة الظهور بين التراكيب الوراثية المدروسة مما جعلها تشكل نسبة 100% ، وتمكن البادىء من التعرف على التتابعات المكملة في DNA الجينوم وأظهر تبايناً واضحاً بين الحجم 260–990 bp شكل (14) ، ونجد إنَّ قدرة هذا البادئ التمييزية بلغت 0.7902 % ، وتنوعه الوراثي بلغ 0.8097 ، أما تكرار الاليل الرئيسي فبلغ 0.3529 .



شكل (14) ناتج ترحيل الـ PCR للبادئ OPA-10 مع الأحماض النووية المستخلصة من أوراق التراكيب الوراثية لمحصول الحنطة على هلام الآكاروز Agarose gel electrophoresis تركيز 1.8% (M : مؤشر 100 bp ladder) .

15-البادئ OPA-13 :

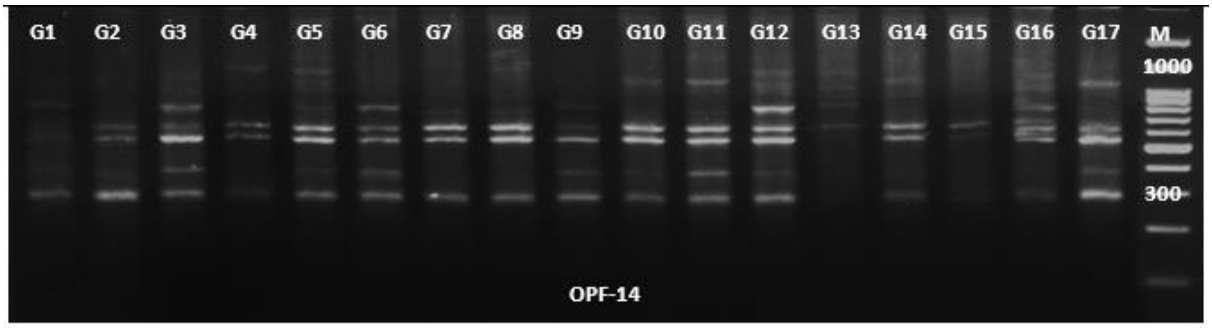
أظهر البادىء عدداً من الحزم بلغ 79 نتجت من 8 اليلات ومن ملاحظة صورة الترحيل الشكل (15) نجد أنَّ الحزم جميعها حزم متباينة الظهور بين التراكيب المدروسة مما جعلها تشكل نسبة 100 % للحزم التي ظهرت لهذا البادىء ، وتمكن البادىء من التعرف على التتابعات المكملة في DNA الجينوم وحجم الحزم تراوح بين 900–200 bp ، وأظهرت النتائج إنَّ قدرة البادئ التمييزية جيدة مقارنة بباقي البادئات وبلغت 0.8993% ، وقيمة التنوع الوراثي بلغت 0.9066 ، أما التكرار الاليلي فبلغ 0.1765 .



شكل (15) ناتج ترحيل الـ PCR للبادئ OPA-13 مع الأحماض النووية المستخلصة من أوراق التراكيب الوراثية لمحصول الحنطة على هلام الآكاروز Agarose gel electrophoresis تركيز 1.8% (M : مؤشر 100 bp ladder) .

16- البادئ OPF-14 :

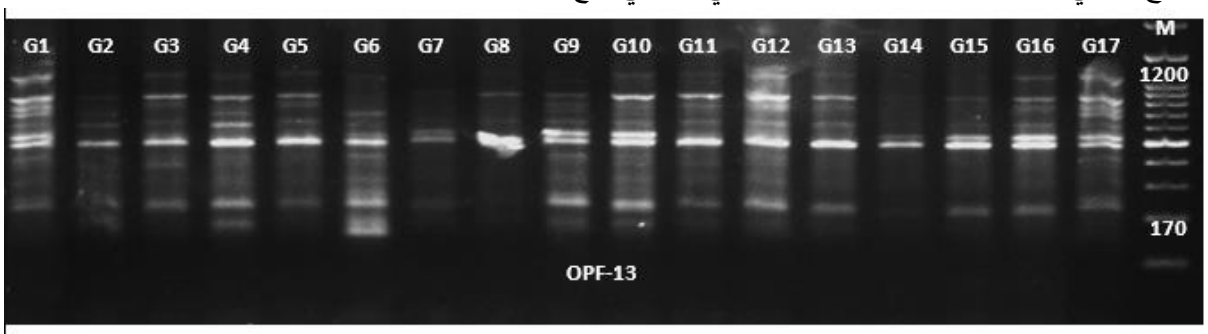
تم الحصول على 62 حزم كلية نتجت من 6 اليلات جميعها متباينة إذ بلغت النسبة المئوية لها 100% ، وتمكن من التعرف على التتابعات المكملة لـ DNA الجينوم للتراكيب الوراثية المدروسة وأظهرت تبايناً واضحاً في الموقع والوزن الجزيئي الذي تراوح بين 1000-300 bp شكل (16) ، وبينت النتائج ان القدرة التمييزية لهذا البادئ جيدة مقارنة بباقي البادئات وبلغت 0.8668 % ، أما قيمة التنوع الوراثي فبلغت 0.8789 ، أما التكرار الاليلي فبلغ 0.1765 .



شكل (16) ناتج ترحيل الـ PCR للبادئ OPF-14 مع الأحماض النووية المستخلصة من أوراق التراكيب الوراثية لمحصول الحنطة على هلام الآكاروز Agarose gel electrophoresis تركيز 1.8% (M : مؤشر 100 bp ladder) .

17- البادئ OPF-13 :

تم الحصول على 92 حزم كلية نتجت من 8 اليلات ومن ملاحظة صورة الترحيل نجد إنَّ عدد الحزم المتباينة بلغ 7 والنسبة المئوية للحزم المتباينة بلغت 87.5 %، وتمكن البادىء من التعرف على التتابعات المكملة له في DNA الجينوم وأظهر تبايناً واضحاً في حجم الحزم تراوح بين200- 1300 bp ، وتراوحت الأحجام الجزيئية بين 170-1200 bp ، ومن الشكل (17) نلاحظ إنَّ التراكيب الوراثية أشتركت في الحزمة ذات الوزن الجزيئي 500 bp لظهورها في جميع التراكيب مما يدل على عثور هذا البادىء على التتابعات الخاصة به في هذه التراكيب ، وكانت القدرة التمييزية جيدة مقارنة بباقي البادئات وبلغت 0.9073 % ، ووجد إنَّ قيمة التنوع الوراثي بلغت0.9135 ، أما التكرار الاليلي الرئيسي فبلغ 0.1765 .



شكل (17) ناتج ترحيل الـ PCR للبادئ OPF-13 مع الأحماض النووية المستخلصة من أوراق التراكيب الوراثية لمحصول الحنطة على هلام الآكاروز Agarose gel electrophoresis تركيز 1.8% (M : مؤشر 100 bp ladder) .

تتفق هذه النتائج مع دراسة Awaad وآخرون (2010) في دراستهم لتحديد التباين الوراثي لحنطة الخبز . وبينت نتائج جدول (4) أن قيمة التعددية الشكلية % الـ PIC تراوحت بين 0.7756 للبادئ OPD-10 و0.9226 للبادئ OPF-03 ، وأكثر البادئات قدرة على التمييز بين التراكيب الوراثية هي التي أعطت أعلى قيمة لـ PIC وهي (0.9226) للبادئOPF-03 ، في حين كان البادئ OPD-10 اقل البادئات المستخدمة قدرة على كشف التباينات الوراثية بين التراكيب الوراثية المدروسة ، هذا وتختلف قيمة الـPIC في هذه الدراسة عن قيمته في دراسات أخرى وذلك حسب الطرز الوراثية والبادئات المستخدمة ففي دراسة جيرودية واخرون (2015) لعشرة اصناف محلية من القمح الطري تراوحت قيمة الـ PIC ما بين58.6% للبادئ VBC3-20 إلى 100% مع البادئ VBC3-13، VBC3-19 و VBC 3-14 و VBC3-9، VBC3-8. القيم المرتفعة نسبياً لمعامل التعددية الشكلية PIC دلت على القدرة التمييزية الجيدة للبادئات التي ارتبطت بمواقع التتابعات الدقيقة للعينات المدروسة، إذ أن غالبية البادئات المستخدمة في البحث أظهرت مقدرة جيدة على تمييز ألتراكيب الوراثية للحنطة ، واستطاع بعضها تمييز غالبية عينات الدراسة في حين استطاع البعض الآخر أن يكون مميزاً وبشكل خاص لتراكيب محددة فقط ، ويلاحظ من نتائج الجدول ايضاً ان قيمة التنوع الوراثي gene diversity تراوحت 0.8028 مع البادئ OPD-10 و 0.9273 للبادئ OPF-03 في حين اعطت البادئات الثلاثة OPH-11 و OPG-02 و OPA-13 قيمة للتنوع الوراثي بلغت 0.9066 وتعد من البادئات المميزة للتراكيب الوراثية . اما تكرار الاليلي الرئيسي

Fequency Major Allele فقد سجل اعلى متوسط من الليلات الناتجة من مواقع ارتباط كل من البادئين OPG-10 و-OPA 10 على DNA التراكيب الوراثية وبلغ 0.3529 ، بينما لوحظ اقل متوسط وبلغ 0.1176 لسبعة من البادئات وهي OPH-11 وOPG0-8 وOPG-02 وOPB-18 وOPD-20 وOPG-12 وOPF-03 .

جدول (4) اسم البادئ وتتابعه وقيم التعددية الشكلية والتنوع الجيني وتكرار الاليل الرئيسي .

البادئ Marker	تتابعه Sequence	التعددية الشكلية % PIC	التنوع الجيني Gene Diversity	تكرار الاليلي الرئيسي
OPH-11	CTTCCGCAGT	0.8989	0.9066	0.1176
OPG-08	TCACGTCCAC	0.9069	0.9135	0.1176
OPO-06	GGTCCCTGAC	0.8112	0.8304	0.2941
OPG-02	GGCACTGAGG	0.8989	0.9066	0.1176
OPB-18	CCACAGCAGT	0.9148	0.9204	0.1176
OPD-10	GGTCTACACC	0.7756	0.8028	0.2941
OPD-18	GAGAGCCAAC	0.8912	0.8997	0.1765
OPD-20	ACCCGGTCAC	0.9148	0.9204	0.1176
OPG-10	AGGGCCGTCT	0.8175	0.8304	0.3529
OPG-12	CAGCTCACGA	0.9148	0.9204	0.1176
OPG-14	GGATGAGACC	0.8372	0.8512	0.2941
OPF-03	CCTGATCACC	0.9226	0.9273	0.1176
OPA-09	GGGTAACGCC	0.8830	0.8927	0.1765
OPA-10	GTGATCGCAG	0.7902	0.8097	0.3529
OPA-13	CAGCACCCAC	0.8993	0.9066	0.1765
OPF-14	TGCTGCAGGT	0.8668	0.8789	0.1765
OPF-13	GGCTGCAGAA	0.9073	0.9135	0.1765
Mean		0.8736	0.8842	0.1938

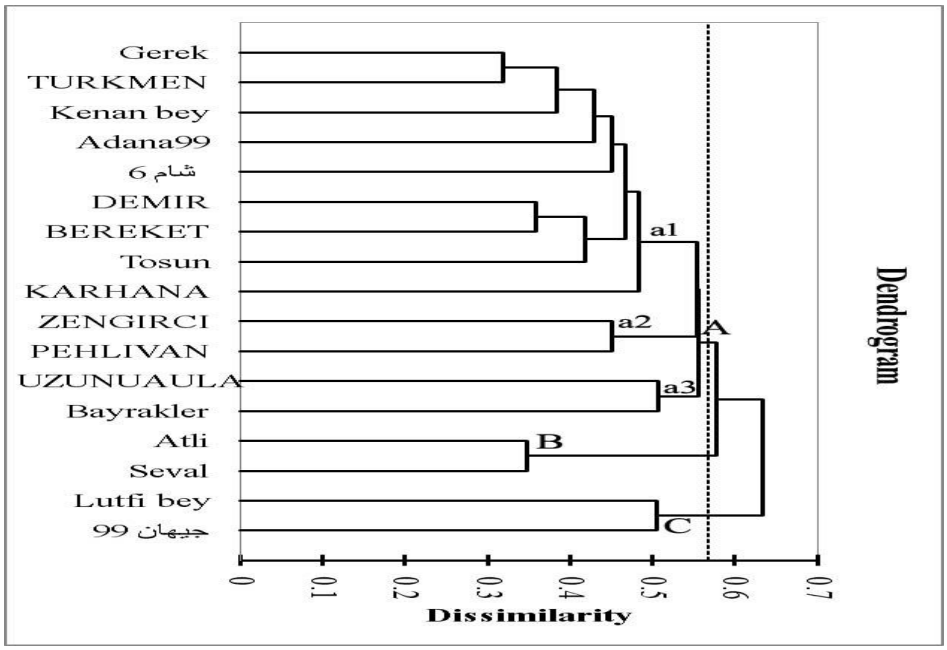
كما تم تقدير البعد الوراثي Genetic distance بين التراكيب الوراثية المدروسة من نتائج تفاعلات الـ RAPD بالاعتماد على قيم الحزم المشتركة بين التراكيب الوراثية بأستخدام برنامج XLSTAT . ويوضح جدول (5) ارتفاع وانخفاض في هذه القيم اذ اظهرت النتائج ان اعلى بعد وارثي كان بين التركيبين الوراثيين ZENGIRCI وجيهان99 وبلغ 0.791. في حين كان اقل بعد وراثي بين التركيبين الوراثيين Gerek وTURKMEN وبلغ مقداره 0.318 وشكلا مجموعة صغيرة، وهذا يعود لاشتراكهما بعدد حزم قليل بسبب وجود اختلافات في تسلسل النيكليوتيدات في مجين هذين التركيبين الوراثيين ويتضح هنا دور استخدام بادئات مختلفة تستهدف عدة مناطق من المجين، وبذلك يظهر الاختلاف إن وجد بين التراكيب الوراثية المدروسة حسب تسلسل البادئ المستخدم (ياسين ، 2011) .

جدول (5) قيم الابعاد الوراثية التي تفصل بين التراكيب الوراثية المدروسة والخط الوراثي بالاعتماد على مؤشرات الـ RAPD

	G1	G2	G3	G4	G5	G6	G7	G8	G9	G10	G11	G12	G13	G14	G15	G16	G17
G1	0																
G2	0.541	0															
G3	0.465	0.667	0														
G4	0.435	0.553	0.408	0													
G5	0.440	0.673	0.347	0.379	0												
G6	0.532	0.506	0.537	0.500	0.563	0											
G7	0.558	0.585	0.615	0.538	0.604	0.556	0										
G8	0.573	0.616	0.573	0.505	0.543	0.600	0.347	0									
G9	0.527	0.670	0.490	0.567	0.485	0.541	0.582	0.611	0								
G10	0.489	0.646	0.500	0.460	0.449	0.549	0.543	0.511	0.419	0							
G11	0.437	0.680	0.455	0.458	0.413	0.521	0.529	0.576	0.416	0.360	0						
G12	0.467	0.713	0.420	0.500	0.318	0.602	0.523	0.506	0.462	0.442	0.368	0					
G13	0.557	0.734	0.515	0.456	0.461	0.696	0.566	0.548	0.517	0.511	0.459	0.398	0				
G14	0.587	0.755	0.500	0.551	0.511	0.640	0.548	0.563	0.516	0.542	0.494	0.472	0.512	0			
G15	0.617	0.791	0.581	0.637	0.598	0.644	0.684	0.663	0.556	0.614	0.568	0.561	0.573	0.451	0		
G16	0.541	0.766	0.531	0.538	0.477	0.738	0.635	0.566	0.598	0.559	0.529	0.488	0.494	0.494	0.575	0	
G17	0.588	0.727	0.571	0.653	0.571	0.674	0.667	0.693	0.596	0.556	0.488	0.584	0.647	0.543	0.611	0.507	0

التحليل العنقودي لتراكيب وراثية من حنطة الخبز بالأعتماد على مؤشرات الـ RAPD :

إن التحليل العنقودي هو تخطيط يظهر العلاقة التطورية لمجموعة من الكائنات الحية التي نشأت من نسب مشترك ، وترجع أهمية تحديد العلاقة الوراثية بأسخدام التحليل العنقودي الى أمكانية تنظيم الأصول الوراثية وأختيار الأباء الداخلة في برامج التربية والتنبؤ بأفضل الهجن ومعرفة أقل عدد ممكن من التراكيب الوراثية التي تحتوي على أكبر قدر ممكن من التصنيفات الوراثية في برامج تربية وتحسين النبات ، وأكد Pearce وآخرون (2005) إنَّ المدخلات قد تتجمع في مجموعة واحدة تبعآ لموطنها الجغرافي او تبعاً لأصلها ونسبها ، وأظهر التحليل العنقودي للتراكيب الوراثية المدروسة بأستخدام مؤشرات الـ RAPD أنَّها أنفصلت الى ثلاث مجاميع رئيسية A و B و C الشكل (18) تضمنت المجموعة الرئيسية الاولى A1 ثلاث مجاميع ثانوية المجموعة الثانوية الاولى Aa1 شملت كل من التراكيب الوراثية Gerek وTURKMEN وKenan bey و99 Adana وشام6 وDEMIR و BEREKETو Tosun وKARAHAN وهذا يشير الى إنَّ قسماً من المادة الوراثية لهذه التراكيب الوراثية قد تشابه وفقاً لعدد قطع الدنا لمجين هذه التراكيب المكمل لتتابعات البادئات المستخدمة ، أما المجموعة الثانوية الثانية Aa2 فضمت التركيبين الوراثيين ZENGIRCI وPEHLIVAN ، كما شملت المجموعة الثانوية الثالثة Aa3 تركيبين وراثيين أيضاً هما UZUNUAULA وBayrakler ويعود سبب هذه العلاقة لأشتراكهما في معظم الصفات الوراثية ولأمتلاكهما عدد من قطع الدنا المتشابهة ليظهر مدى أرتباطهما مع بعضهما . بينما أحتوت المجموعة الرئيسية الثانية B2 على التركيب الوراثي Atli وSeval لأظهارهما تفرداً بسلوكهما مع أغلب البادئات التي استخدمت في الدراسة . أما المجموعة الرئيسية الثالثة C3 فتألفت من التركيبين الوراثيين Lutfy bey وجيهان99 اللذان ظهر لهما مواقع مشتركة للدنا وذلك ناتج من أشتراكهما بالمادة الوراثية .



الشكل (18) يبين التحليل العنقودي للتراكيب الوراثية بالاعتماد على مؤشرات الـ RAPD .

المصادر :

الجبوري، زهير احمد محمد (2013) . دراسة الصفات الكمية والجزيئية والفسلجية كمؤشرات لتحليل الجفاف واعتمادها كأدلة انتخابية في تقييم تراكيب وراثية من الحنطة الناعمة (*Triticum aestivum* L.). رسالة ماجستير ، كلية العلوم ، جامعة تكريت.

جيرودية، نضال ويوسف وجهاني وفخرية الموسى ووفاء رضا واسامة مهرة (2015) . دراسة جزيئية لبعض الاصناف السورية المحلية من القمح الطري بأستخدام تقنية RAPD . المجلة السورية للبحوث الزراعية ، 2 (1) : 32-39 .

زكريا، بلال فاضل (2011) . دراسة بعض التغايرات الفسلجية والوراثية لصفة تحمل الملوحة في بعض التراكيب الوراثية المنتخبة من الحنطة (*Triticum spp.*) . رسالة ماجستير، كلية التربية الرازي – جامعة ديالى .

سيد، محمود هاشم (2010) . استخدام مؤشرات من الدنا في انتخاب موروثات المقاومة للامراض في الشعير ، اطروحة دكتوراه ، كلية الزراعة ، جامعة دمشق .

القزاز، امل غانم (2010) . تأثير الرش بحامض البرولين في تحمل الحنطة *Triticum aestivum* L المروي بمياه مالحة . رسالة ماجستير، كلية التربية، ابن الهيثم، جامعة بغداد.

معلا، محمد يحيى ونزار حربا (2005) . تربية المحاصيل الحقلية ، مديرية الكتب والمطبوعات الجامعية ، جامعة تشرين ، اللاذقية ، سوريا .

ياسين، معن حسن صالح (2011) . تحديد التباين الوراثي لعدد من أصناف نخيل التمر في العراق باستخدام مؤشرات RAPD وISSR . رسالة ماجستير/ كلية العلوم–جامعة تكريت.

Awaad, H.A.; Youssef, M.A.H. and Moustafa, E.S.A., (2010). Identification of Genetic Variation among Bread Wheat Genotypes for Lead Tolerance Using Morpho – Physiological and Molecular Markers. J. American Sci. ;6(10):1142-1153]. (ISSN: 1545-1003).

Aydogan, E. and Yagdi, K. (2012). Study of genetic diversity in wheat (Triticum aestivum L.) varieties using random amplified polymorphic DNA (RAPD) analysis . Turkish J. Field Crops ., 17 : 91-95 .

Doyle, J.J. and Doyle, J.L. (1987). Arapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh lezaftissue . Phytochemistry Bulletin 19 : 11-15.

Essleman, E.J.; Crawford, D.J.; Brauner, S.; Stuessy, T.F.; Anderson, G.J.and Mariosilva, O. (2000). RAPD markers diversity within and divergence among species of Dendroseris (Asteraceae : Lactuceae)Am . J. Bot. 87 : 591-609.

FAO . (2011). Food and Agriculture Organization . Statistical Data of the Organization For International Food and Agriculture . Rome .

Jan, H.U. ; Rabbani, M.A. and Shinwari, Z.K. (2011). Assessment of genetic diversity of indigenous turmeric (Curcuma longa L.) germplasm from Pakistan using RAPD markers . J. Med . Plants Res.,5 : 823 -830 .

Khan, I. A.; Awan, F.S.; Ahmad, A.; Fu, Y.B. and Iqbal, A. (2005). Genetic diversity of Pakistan wheat germplasm as . Revealed by RAPD markers . Genet. Resources and crop Evolution . 52 : 239-244 .

Laurentin, H. (2009). Data analysis for molecular characterization of plant genetic resources. Genet. Res. Crop Evol. 56: 277-292.

Liu, J.; Liu, L.; Hou, N.; Zhang, A. and Liu, C. (2006). Genetic diversity of wheat gene pool of recurrent selection assessed by microsatellite markers and morphological traits. Euphytica. 155: 249-258 .

Mir Ali, N and Nabulsi, I. **(2004).** Molecular characterisation and genetic relatedness among olive cultuvars using RAPD markers. Advance Hoticukture Science, 18 (4), 173-180.

Mondini, L.; Arshiya, N. And Mario, A .P. (2009). Assessing Plant Genetic Diversity By Molecular Tools. Diversity. 1:19-35 .

Nwangburuka, C.C.; Kehinde, O.B.; Ojo, D.K.; Popoola, A.R.; Oduwaye, O.; Denton, O.A. and Adekoya, M. (2011). Molecular characterization of Twenty-nine Okra Accessions using the random amplified polymorphic DNA (RAPD) molecular marker J. of L. and Ph. Sci.ac. Satech, 4 (1): 1-14 .

Pagnotta, M. A., Mondini, L. and Atallah, M. F. (2005). Morphological and molecular Characterization of Italian emmer wheat accessions . Euphytica . 146 : 29-37 .

Pearce, K.L.; Masters, D.G.; Smith, G.M.C.; Jacob R.H. and Pethick, D.W. (2005). Plasma and tissue α-tocopherol concentrations and meat colour stability in sheep grazing saltbush (Atriplex spp.). Australian Journal of Agricultural Research, 56: 663–672.

Rawashdeh, I. and Amri, A. (2006). Genetic characterization varieties using RAPD markers . Jordan of Agri. Sci. 2(3): 234-242.

Roder, M. S.; Wendehake, K.; Korzun, V.; Bredemeijer, G.; Labrie, D.; Bertrand, L.; Isaac, P.; Rendell, S.; Jackson, J.; Cooke, R. J.; Vosman, B. and Ganal, M. W. (2002). Construction and analysis of a microsatellite – based database of European Wheat Varieties . Theor . Appl . Genet . 106 : 67-73 .

Sahagi Maroof, M.A.; Soliman, K.M.; Jorgensen, R.A. and Allard, R.W. (1983). Riibosmal DNA Spacer length polymorphism in barley : mendelian inheritance , chromosomal localion and population dynamics . Proc . Natl . Acad . Sci . USA . 81 : 8014-8018 .

White, J., Law, J.R.; Mackay, I.; Chalmers, K.J.; Smith, J. S. C.; Kilian, A. and Powell, W. (2008). The genetic diversity of UK ,US and Australian Cultivars Of *Triticum aestivum* L. measured by DArT markers and considered by genome . Theoretioal and Applied Genetics . 116 : 439-453 .

Williams, J. G. K.; Kubelik, A. R.; Levak, K. J.; Rafalski, J. A. and Tingey, S.V. (1990). DNA polymorphism amplification by arbitrary primers are useful as genetic markers. Nucleic Acids Resources 18 , 6531-6535 .