P- ISSN 1991-8941 , E-ISSN 2706-6703
2014 ,(8), (1) :00-00

(*JUAPS*) **مجلة جامعة الانبار للعلوم الصرفة**

Open Access

تحديد البصمة الوراثية لعدد من أصناف الحنطة المنتشرة زراعتها في محافظة الأنبار باستخدام مؤشر الـ ISSR

عدي حاتم نوري **عبد المجيد عبد العزيز حمادي**

جامعة الأنبار ـ كلية التربية للعلوم الصرفة

معلومات البحث:

تاريخ التسليم: 2013/00/00
تاريخ القبول: 2014/5/6
تاريخ النشر: / / 2022

DOI ; 10.37652/juaps.2014.122638

الكلمات المفتاحية:

البصمة الوراثية ،
اصناف الحنطة ،
الانبار ،
PCR ،
ISSR.

الخلاصة:

استخدمت في الدراسة تقنية من تقنيات الـ PCR وهو مؤشر الـ ISSR وتم تطبيقها على تسعة أصناف محلية من الحنطة المنتشرة زراعتها في محافظة الأنبار لغرض تحديد البعد الوراثي بين الأصناف و إيجاد العلاقة الوراثية بين الأصناف المدروسة مع تحديد البصمة الوراثية لبعض الأصناف، نتائج استخلاص الـ DNA من الأوراق الفتية لنباتات الحنطة وباستخدام طريقة CTAB أوضحت إن الـ DNA المستخلص تراوحت نقاوته من 1.5 ـ 1.82 وتراوح تركيزه بين 55 – 142.5 µl / ng ، نتائج تفاعلات الـ ISSR أوضحت إن ثمانية من البادئات العشرة المستخدمة في الدراسة أظهرت نواتج ارتباط، بلغ عدد مواقع الارتباط 404 موقع كانت منها 126 حزمة عامة و 278 حزمة متباينة، سجلت أعلى عدد من مواقع الارتباط في البادئ L1 بـ 78 حزمة أما البادئ B1 فسجل اقل عدد من مواقع الارتباط بـ 30 حزمة، أعلى وزن جزيئي في مواقع الارتباط 2000 bp في البادئ H14 واقل وزن جزيئي كان اقل من 500bp في البادئ E3، سجل الصنف لطيفية (1) أعلى عدد من مواقع الارتباط بـ 55 حزمة بنسبه مئوية بلغت 13.613 % واقل عدد من مواقع للارتباط سجل للصنف عراق (9) بـ 39 حزمة بنسبه مئوية بلغت 9.563 %، سجل الصنف ترتكيلي (2) و الصنف أبو غريب (4) أعلى وجود للحزم الفريدة والغائبة بـ 5 حزم وسجل الصنفين لطيفية (1) و هاشمية (3) اقل وجود للحزم الفريدة والغائبة بواقع حزمة واحدة فريدة لكل منهما،أما كل من الصنفين تموز3 (7) و إباء95 (8) فلم يتميزا بوجود أي حزمة غائبة أو فريدة، من ملاحظة قيم البعد الوراثي لتفاعلات الـ ISSR نجد أعلى قيمة وهي (0.4753) بين الصنفين ترتكيلي (2) و الصنف تموز2 (6) و اقل قيمة للبعد الوراثي كانت بين الصنفين لطيفية (1) و هاشمية (3) بقيمة (0.1707)، من خلال رسم العلاقة الوراثية قسمت الأصناف إلى ثلاث مجاميع كان الصنف ترتكيلي (2) يمثل المجموعة الرئيسية بين الأصناف المدروسة.

المقدمة:

يعتبر القمح المحصول الأول والأكثر أهمية من الناحية الغذائية والاقتصادية وهو يمثل المكون الرئيسي لغذاء للإنسان إضافة إلى المردود الاقتصادي الهائل للدول المنتجة له 1، يمتاز القمح باحتوائه على العديد من المواد الغذائية تمثل الكاربوهيدرات النسبة مئوية الأكبر وتتراوح (60 ـ 80 %) وبروتينات بنسبة مئوية(8 ـ 15 %) أما البقية فتضم amino acid وفيتامينات مثل (فيتامين B و E) ودهون بنسبة مئوية (1.5 ـ 2 %) ونسبة من المعادن وألياف بسيطة، يزود القمح الجسم بحوالي(20 %) من السعرات الحرارية المستهلكة من قبل جسم الإنسان في اليوم الواحد. 2

يحتل القمح 17 % من إجمالي المساحة المزروعة في العالم وقد فاق إنتاجه كل محاصيل الحبوب الأخرى عالميا وهو من أهم محاصيل الحبوب في العالم كونه يزرع ضمن مدى واسع من الاختلافات البيئية 3، لزيادة الغلة تم استنباط أصناف جديدة محسنة استخدمت فيها عملية التهجين بين الأصناف الزراعية للحصول على

* Corresponding author at: University of Anbar ,Collage of Education
E-mail address:

أصناف ذات إنتاج اكبر وصفات أفضل من حيث مقاومة الأمراض وغيرها واستخدام المؤشرات الجزيئية في دراسات تقييم التنوع الوراثي وتحديد القرابة الوراثية فيما بينها ورسم الخرائط الوراثية. 4

يعتمد على التمييز بين الأصناف الزراعية على الصفات المظهرية للنبات وخصوصا يتم الاعتماد في نبات الحنطة بالدرجة الأولى على السنبلة من حيث الشكل وطول فقرات السنيبلات وعرض السنبلة إضافة إلى ذلك طول وعرض القنابة وأطوال الأشواك (السفا) و على ترتيب وعدد الصفوف للسنيبلات في السنبلة ولون وشكل القنابة 5. ولكون بعض الصفات المظهرية تتأثر بالبيئة كثيرا فقد استخدمت طرق حديثة للتميز بين الأصناف الزراعية ومنها تقنية (PCR) وباستخدام مؤشرات كثيرة للفصل بين الأنواع من هذه المؤشرات هي (AFLP، RAPD ، ISSR، DAMD، EST ، STS). 6. ولقلة وجود دراسات في العراق حول استخدام هذه المؤشرات فقد تم إجراء الدراسة والتي تهدف إلى تحقيق ما يلي :.

1 . الكشف عن التنوع الوراثي لعدد من ألأصناف الزراعية للحنطة.

2 . معرفة التقارب والتباعد بين الأصناف الزراعية المدروسة.

3 . تحديد البصمة الوراثية للأصناف المدروسة.

المواد وطرائق العمل

استخلاص الـ DNA: تم استخلاص الـ DNA للأصناف الزراعية الداخلة بالدراسة من الأوراق الفتية لأصناف الحنطة بعد زراعة البذور النقية وتنميتها باستخدام الطريقة اليدوية Manual إذ اعتمد في عملية الاستخلاص على الطريقة التي اعتمدها Taher 1. اخذ 2 غم من ألأوراق الفتية لكل عينة من عينات نباتات الحنطة وغسلت بالماء المقطر وتركت إلى أن جفت من الماء وقطعت إلى قطع صغيرة بواسطة مقص معقم، وضعت بعد ذلك في الهاون الخزفي المبرد بواسطة النتروجين السائل Liquid nitrogen والذي يستخدم لطحن الأوراق النباتية وتم إضافة النتروجين إلى العينة لعدة مرات أثناء عملية سحق الأوراق حتى أصبحت كل عينة بشكل مسحوق ناعم على شكل باودر ابيض قدر الإمكان.اخذ 0.1 غم من باودر الأوراق المسحوقة و وضع في أنابيب Eppendorf tube سعة 1.5 مل ثم أضيف إليها 500 مايكروليتر من محلول الاستخلاص CTAB (يتكون من :. 1.4 مولار NaCl و 100 ملي مولار Tris-Hcl و 20 ملي مولار Na2EDTA، 2 % CTAB)المحفوظ في الحمام المائي بدرجة حرارة 60 مْ. حضنت الأنابيب في الحمام المائي الهزاز بدرجة حرارة 60 مْ لمدة 60 دقيقة. أضيفت 500 مايكروليتر من محلول كلوروفورم : ايزوميلي (1:24) (حضر 100 مل منه بمزج 96 مل من الكلوروفورم مع 4 مل من الكحول الآيزواميلي وحفظ في قنينة محكمة معتمة عند درجة حرارة 4 مْ) لكل أنبوب مع التحريك المستمر لمدة كافية. وضعت الأنابيب في جهاز الطرد المركزي ونبذ المزيج بسرعة 10000 دورة / دقيقة لمدة (7) دقائق. رفعت الطبقة المائية العليا بواسطة ماصة دقيقة Micropipette إلى أنبوب أخر معقم وأضيف إليها 32 مايكروليتر من محلول امونيوم اسيتيت Ammonium acetated (حضر 100 مل منه بإذابة 0.136 غم من خلات الأمونيوم في 76 مل إيثانول مطلق وأكمل الحجم إلى 100 مل بالماء المقطر) ثم أضيف إلى المزيج 233 مايكروليتر من كحول الايزوبروبونال المبرد ومزجت بالتقليب الهادئ. وضعت الأنابيب في الثلج لمدة ساعة واحدة. وضعت الأنابيب في جهاز الطرد المركزي ونبذ المزيج بسرعة 10000 دورة / دقيقة مدة (7) دقائق. سكب المحلول بصورة هادئة ثم أضيف إلى الراسب في الأنبوبة الذي يمثل الـ DNA 100 مايكروليتر من كحول الإيثانول بتركيز 70% سكب الكحول وتركت الأنابيب لمدة 15 دقيقة بدرجة حرارة الغرفة إلى أن تم التخلص من الكحول بصورة تامة. أضيف 40 مايكروليتر من محلول الإذابة TE (0.01 مولار Tris-Hcl و 0.001 مولار Na2 EDTA، أكمل الحجم إلى 100 مل باستخدام الماء المقطر وعقم بالموصدة) إلى الأنابيب وقلبت بصورة هادئة لمدة كافية إلى أن تم إذابة الـ DNA بعد ذلك حفظت العينات بدرجة حرارة 4. مْ لاستعمالها في التجارب اللاحقة.1.

تقدير تركيز الـ DNA ونقاوته:

قدرت تراكيز الـ DNA بقياس الامتصاصية لطيف الأشعة فوق البنفسجية باستخدام جهاز قياس الكثافة الضوئية Spectrophotometer وعند الطول ألموجي (260) نانوميتر، اذ خففت العينات المراد تقدير تركيز الـ DNA فيها إلى 100 مرة باستخدام محلول الإذابة (TE) وذلك بأخذ 20 مايكروليتر من عينة الـ DNA وأضيف إليها 1980 مايكروليتر من محلول الإذابة وضعت بعد ذلك في جهاز Spectrophotometer عند الطول ألموجي المذكور بعد قراءة رقم القراءة على شاشة الجهاز طبقت المعادلة الآتية تم تقدير تركيز كل عينة من العينات الداخلة بالدراسة:

تركيز الـ DNA مايكروغرام/ مايكروليتر = قراءة الامتصاصية لكل 1 مل من العينة × معكوس التخفيف (100) × 50 / 1000 قدرت النقاوة لكل عينة من عينات الدراسة وذلك من حاصل قسمة قراءة الامتصاصية عند الطول ألموجي (260) نانوميتر على قراءة الامتصاصية عند الطول ألموجي (280) نانوميتر 7.

تفاعلات الـ ISSR :

أجريت تفاعلات الـ ISSR على عينات الـ DNA لعينات نباتات الحنطة الداخلة بالدراسة حسب ما جاء في Zietkiewicz وآخرون 8، ضبط تركيز الـ DNA في كل العينات المدروسة بالتخفيف بواسطة محلول TE للحصول على التركيز المطلوب لإجراء تفاعلات الـ ISSR (50) نانوغرام / مايكروليتر لكل عينة. حضر خليط التفاعل الرئيس Master Reaction وذلك بمزج مكونات التفاعل في أنبوبة Eppendroffe tube سعة 0.5 مل معقمة (حجم مكونات التفاعل 20 مايكروليتر تتكون من ماء مقطر معقم 13مايكروليتر، البادئ Primer 1.5 مايكروليتر بتركيز 10 بيكامول، PCR PreMix 4 مايكروليتر، قالب الـ DNA 1.5 DNA template مايكروليتر بتركيز 50 نانوغرام / مايكروليتر). رج المزيج بجهاز الـ Vortex، نبذ المزيج في جهاز Microfuge لفترة 3 ـ 5 ثانية لإتمام مزج مكونات التفاعل، ويجب مراعاة ارتداء القفازات ووضع الأنابيب داخل ثلج، تم تطبيق البرنامج الآتي : دورة واحدة مدة 4 دقائق على درجة حرارة (94) مْ للمسخ الأولي لشريط الـ DNA تليها (35) دورة تضاعف تتضمن كل دورة (30 ثانية) بدرجة حرارة (94) مْ لمسخ الشريط المزدوج و (45 ثانية) بدرجة حرارة (36) مْ لارتباط البادئ بالـ DNA القالب و دقيقتين بدرجة حرارة (72) مْ لاستطالة البادئ. بعد ذلك دورة أخيرة لمدة 5 دقائق وعلى درجة حرارة (72) مْ لاستكمال مرحلة الاستطالة. رفعت الأنابيب من جهاز Thermocycler، سحب (5 ـ 7) مايكروليتر من الأنابيب. حمل المزيج في حفر هلام الاكاروز المحضر مسبقا وبتركيز 1 % مع 1Kpb Ladder DNA. رحلت العينات ، وذلك بتشغيل جهاز Electrophoresis مدة (80 ـ 100) دقيقة.عرض الهلام لمصدر للأشعة فوق البنفسجية على جهاز UV-transilluminator وصور باستخدام كاميرا رقمية عالية الدقة.

جدول (1) بادئات مؤشر ISSR

ت	البادئ	تتابعه (3 ـــــ 5)
1	E3	5 – GAATTCCAGGTAAGT – 3
2	A2	5 – GCCGGCTTGCCGTACTTGG – 3
3	R1	5 – TCGTGGCTGACTTCACTG – 3
4	B1	5 – GAGCCCAGAACGACGCCGG – 3
5	L1	5 – AGCAAGTTCAGCCTGGTTAAG – 3
6	H14	5 – GAAGCTTCACCTGCAAGC – 3
7	ISSR - 844A	5 – CTCTCTCTCTCTCTCTAC – 3
8	ISSR - HB8	5 – GAGAGAGAGAGAGG – 3
9	AD3	5 – ACCACCACCACCACCACCG – 3
10	M - 1	5 – ACACACACACACACACCG – 3

التحليل الإحصائي :

أخذت نتائج بادئات الـ ISSR كلا على حده في جداول اعتمادا على مقارنة وجود أو غياب قطع الـ DNA للعينات المختلفة إذ يرمز لوجود قطعة الـ DNA بالرقم (1) ولعدم وجودها بالرقم (0)، حسب معامل البعد الوراثي ومعامل التشابه بين الأصناف المدروسة باستخدام معامل Nei.[9]'s 72 واجري التحليل العنقودي (Clusteranalysis) ورسم مخطط البعد الوراثي باستخدام طريقة : (UPGMA)[10]،

أجريت التحاليل الإحصائية بواسطة الحاسوب باستخدام البرنامج :

Taxonomy and Multivariate (NTSYS-pc) Analysis System Numerical [11] اعتمد في استنتاج نتائج هذا البرنامج على معادلة Nei's عام 1972 لكشف التشابه الوراثي بتكوين جدول متسلسل يشمل كافة نتائج البادئات (لكل مؤشر على حده) مع جميع النماذج المدروسة. وحسب المعادلة على : **GD = 1 – { 2x(Nij / Ni + Ni)}**

إذ أن **Nij** : عدد الحزم المشتركة بين النموذجين **i،j** : **Ni** ، عدد الحزم في النموذج **i**، **Nj** : عدد الحزم في النموذج **j**

النتائج

استخلص الـ DNA من الأوراق الفتية للأصناف الزراعية للحنطة حسب طريقة Taher [1]، وتراوحت نقاوة الـ DNA للأصناف المستخلصة من 1.50 ـ 1.82 أما تركيز الـ DNA المستخلص فتراوح بين 55 ـ 142.5 ng، ضبط تركيز الـ DNA للنباتات المدروسة على 50 ng لكل مايكروليتر وهو التركيز المناسب لإجراء تفاعلات الـ PCR.

استخدمت في هذه الدراسة 10 بادئات اثنان من هذه البادئات لم تظهر نتائج تضاعف بعد تكرارها أكثر من مرة وهي كل من ISSR – HB8 و AD3 أما بقية البادئات فقد أظهرت نتائج تضاعف شملت كل من E3 و A2 و R1 و B1 و L1 و H14 و ISSR – 844A و M – 1 حيث كانت نتائج تضاعفها ملائمة للكشف عن العلاقات الوراثية وكذلك إيجاد البصمة الوراثية لبعض الأصناف منها،

قسمت نتائج تفاعلات الـ ISSR التي تم الحصول عليها على أساسين هما :.

1. نتائج تفاعلات الـ ISSR حسب البادئات المستخدمة.
2. نتائج تفاعلات الـ ISSR حسب الأصناف الزراعية المدروسة.

نتائج تفاعلات الـ ISSR حسب البادئات المستخدمة

سجلت نتائج تفاعلات الـ ISSR أعلى مواقع للارتباط في البادئ L1 بـ 78 حزمة أما اقل مواقع للارتباط فكانت في البادئ B1 بـ 30 حزمة، أما أعلى وزن جزيئي في مواقع الارتباط كان 2000 bp في البادئ H14 واقل وزن جزيئي في موقع الارتباط كان اقل من 500 bp في البادئ E3.

البادئ E3 : بلغ عدد الحزم المتضاعفة لأصناف الحنطة التسعة في هذا البادئ 60 حزمة تراوحت أوزانها الجزيئية بين اقل من 500 bp – 1300 bp وتراوحت أعداد القطع المتضاعفة للأصناف من4 – 10 حزمة إذ كان اقل عدد من الحزم في الصنف أبو غريب (4) واكبر عدد من الحزم في الصنف لطيفية (1).

البادئ A2 : كانت نتيجة مضاعفة الـ DNA للأصناف الزراعية التسعة باستخدام هذا البادئ ظهور حزم متباينة بين الأصناف و بلغ عدد الحزم المتضاعفة في هذا البادئ 37 حزمة تراوحت أوزانها الجزيئية ما بين اقل من 500 bp – 1840 bp وتراوحت أعداد القطع المتضاعفة للأصناف من3 – 6 حزمة إذ كان اقل عدد من الحزم في الأصناف أبو غريب (4) و تموز2 (6) و تموز3 (7) واكبر عدد من الحزم في الصنف رشيد (5).

البادئ R1 : نتائج مضاعفة الـ DNA للأصناف الزراعية للحنطة التسعة باستخدام هذا البادئ ظهور حزم متباينة بين الأصناف الزراعية و بلغ عدد الحزم المتضاعفة في هذا البادئ 58 حزمة تراوحت أوزانها الجزيئية ما بين اقل من 500 bp – 1733 bp وتراوحت أعداد القطع المتضاعفة للأصناف من 6 – 8 حزمة، و كان اقل عدد من الحزم في الصنف أبو غريب (4) واكبر عدد من الحزم في الأصناف لطيفية (1) و ترتيكيلي (2) و رشيد (5)، لم يرتبط الصنف تموز3 (7) مطلقا مع هذا البادئ.

البادئ B1 : تمت مضاعفة الـ DNA لأصناف الحنطة التسعة باستخدام هذا البادئ وكانت نتيجة هذا التضاعف ظهور حزم متباينة بين الأصناف و بلغ عدد الحزم المتضاعفة في هذا البادئ 30 حزمة تراوحت أوزانها الجزيئية ما بين اقل من 500 bp – 1273 bp وتراوحت أعداد القطع المتضاعفة للأصناف من 2 – 4 حزمة، كان اقل عدد من الحزم في الصنف أبو غريب (4) واكبر عدد من الحزم في الأصناف لطيفية (1) و هاشمية (3) و رشيد (5) و تموز2 (6) و تموز3 (7) و إباء95 (8) و عراق (9) ولم يرتبط الصنف ترتيكيلي (2) مطلقا مع هذا البادئ.

البادئ L1 : بلغ عدد الحزم المتضاعفة لأصناف الحنطة التسعة في هذا البادئ 78 حزمة تراوحت أوزانها الجزيئية بين اقل من 500 bp – 1600 bp وتراوحت أعداد القطع المتضاعفة للأصناف من8 – 10 حزمة، كان اقل عدد من الحزم في الأصناف لطيفية (1) و ترتيكيلي (2) و رشيد (5) و عراق (9) واكبر عدد من الحزم في الصنف إباء95 (8).

البادئ H14 : كانت نتيجة مضاعفة الـ DNA للأصناف الزراعية التسعة باستخدام هذا البادئ ظهور حزم متباينة بين الأصناف إذ بلغ عدد الحزم المتضاعفة في هذا البادئ 63 حزمة تراوحت أوزانها الجزيئية بين 600 bp – 2000 bp وتراوحت أعداد القطع المتضاعفة للأصناف من 1 – 11 حزمة، كان اقل عدد من الحزم في الصنف عراق (9) واكبر عدد من الحزم في الصنف لطيفية (1).

البادئ ISSR – 844A : نتائج مضاعفة الـ DNA للأصناف الزراعية للحنطة التسعة باستخدام هذا البادئ ظهور حزم متباينة بين الأصناف الزراعية و بلغ عدد الحزم المتضاعفة في هذا البادئ 34 حزمة تراوحت أوزانها الجزيئية بين اقل من 500 bp – 1150 bp، تراوحت أعداد القطع المتضاعفة للأصناف من 1 – 5 حزمة، كان اقل عدد من الحزم في الصنف هاشمية (3) واكبر عدد من الحزم في الصنفين تموز3 (7) و إباء95 (8).

البادئ M – 1 : تمت مضاعفة الـ DNA لأصناف الحنطة التسعة باستخدام هذا البادئ وكانت نتيجة هذا التضاعف ظهور حزم متباينة بين الأصناف إذ بلغ عدد الحزم المتضاعفة في هذا البادئ 44 حزمة تراوحت أوزانها الجزيئية بين اقل من 500 bp – 1055 bp، تراوحت أعداد القطع المتضاعفة للأصناف من 4 – 6 حزمة، كان اقل عدد من الحزم في الأصناف ترتيكيلي (2) و هاشمية (3) و إباء95 (8) و عراق (9) واكبر عدد من الحزم في الأصناف لطيفية (1) و أبو غريب (4) و تموز3

نتائج تفاعلات الـ ISSR حسب الأصناف المدروسة

سجلت نتائج الـ ISSR أعلى مواقع ارتباط للصنف لطيفية (1) وكان عدد الحزم 55 حزمة بنسبه مئويه 13.613 % أما اقل موقع ارتباط للصنف عراق (9) بـ 39 حزمة و نسبه مئويه 9.653 %.

أعلى صنف سجل وجود للحزم الغائبة والفريدة هو الصنف ترتيكيلي (2) و الصنف أبو غريب (4) بواقع 5 حزم إذ امتاز الصنف ترتيكيلي (2) بوجود حزمة واحدة غائبة وأربع حزم فريدة أما الصنف أبو غريب (4) فامتاز بامتلاكه أربع حزم غائبة وحزمة واحدة فريدة، اقل وجود للحزم الغائبة والفريدة كانت في الصنفين لطيفية (1) و هاشمية (3) إذ تميزا بوجود حزمة واحدة فريدة في حين لم يتميز كل من الصنفين تموز3 (7) و إباء95 (8) بوجود أي حزمة غائبة أو فريدة بالإضافة إلى ذلك لم يرتبط كل من الصنفين ترتيكيلي(2) مع البادئ B1 و تموز3 (7) مع البادئ R1 مطلقا.

الصنف لطيفية (1) : أظهرت نتائج تفاعلات الـ ISSR على الصنف لطيفية ظهور 55 موقع ارتباط من أصل 404 موقعا وبنسبة مئوية بلغت 13.613 %، أعلى عدد مواقع ارتباط كانت 11 حزمة في البادئ H14 واقل عدد مواقع ارتباط كان 4 حزم في البادئ ISSR – 844A و البادئ B1 و البادئ A2، أعلى وزن جزيئي كان 1733 bp في البادئ R1 واقل وزن جزيئي كان اقل من 500 bp في جميع البادئات عدا البادئ H14 و البادئ ISSR – 844A و البادئ B1 ، تميز الصنف لطيفية بوجود حزمة فريدة عند الموقع اقل من 500 bp في البادئ E3 والتي تدل على البصمة الوراثية لذلك الصنف.

الصنف ترتيكيلي (2) : من بين 404 موقع ارتباط كان هناك 46 موقع ارتباط في صنف ترتيكيلي وبنسبة مئوية بلغت 11.386 %، أعلى عدد مواقع ارتباط كان 9 حزم في البادئ E3 واقل عدد مواقع ارتباط كان 4 حزم في البادئ ISSR – 844A و البادئ 1 – M، لم يرتبط هذا الصنف مطلقا بأي موقع ارتباط مع البادئ B1، أعلى وزن جزيئي كان 1778 bp في البادئ H14 واقل وزن جزيئي كان اقل من 500 bp في جميع البادئات الأخرى عدا البادئ H14 و البادئ ISSR – 844A. تميز الصنف ترتيكيلي بوجود حزمة غائبة عند الموقع 833 bp في البادئ R1 عن بقية الأصناف التي كانت حاوية عليها في نفس الموقع والتي تعتبر هذه الحزمة كمؤشر على ذلك الصنف، كذلك امتاز هذا الصنف بامتلاكه أربع حزم فريدة حزمتين واقعة في البادئ R1 الأولى عند الموقع 600 bp والثانية عند الموقع 1600 bp والحزمة الثالثة عند الموقع 1000 bp في البادئ E3 والحزمة الرابعة في الموقع 1778 bp في البادئ H14 والتي تدل على البصمة الوراثية لهذا الصنف

الصنف هاشمية (3) : ظهر في صنف هاشمية 43 موقع ارتباط من ألمجموع الكلي لمواقع الارتباط البالغ 404 موقع وبنسبة مئوية بلغت 10.643 %، أعلى عدد مواقع ارتباط كان 9 حزم في البادئ H14 و البادئ L1 واقل عدد مواقع ارتباط كان 1 حزمة في البادئ ISSR – 844A، أعلى وزن جزيئي كان 1733 bp في البادئ R1 واقل وزن جزيئي كان اقل من 500 bp في جميع البادئات الأخرى عدا البادئ H14 و البادئ B1 و البادئ ISSR – 844A . تميز الصنف هاشمية بوجود حزمة فريدة عند الموقع 500 bp في البادئ L1 والتي تدل على البصمة الوراثية لذلك الصنف.

الصنف أبو غريب (4) : أظهرت نواتج التفاعل 41 موقع ارتباط في صنف أبو غريب من أصل 404 موقعا وبنسبة مئوية بلغت 10.148 %، أعلى عدد مواقع ارتباط كان 9 حزم في البادئ L1 واقل عدد مواقع ارتباط كان 2 حزمة في البادئ B1، أعلى وزن جزيئي كان 1600 bp في البادئ L1 واقل وزن جزيئي كان اقل من 500 bp في جميع البادئات عدا البادئ H14.

تميز الصنف أبو غريب بوجود أربع حزم غائبة ثلاثة منها في البادئ B1 الأولى عند الموقع 633 bp والثاني في الموقع 800 bp والثالث في الموقع 1273 bp أما الحزمة الرابعة كانت في البادئ R1 عند الموقع 1733 bp عن بقية الأصناف التي كانت حاوية عليها في نفس الموقع والتي تعتبر هذه الحزمة كمؤشر على ذلك الصنف، كذلك امتاز هذا الصنف بامتلاكه حزمة فريدة عند الموقع اقل من 500 bp في البادئ B1 والتي تدل على البصمة الوراثية لذلك الصنف.

الصنف رشيد (5) : أظهرت نتائج تفاعلات الـ ISSR على الصنف رشيد ظهور 49 موقع ارتباط من أصل 404 موقعا وبنسبة مئوية بلغت 12.128 %، أعلى عدد مواقع ارتباط كان 9 حزم في البادئ H14 واقل عدد مواقع ارتباط كان 4 حزم في البادئ B1 و البادئ ISSR – 844A، أعلى وزن جزيئي كان 2000 bp في البادئ H14 واقل وزن جزيئي كان اقل من 500 bp في جميع البادئات الأخرى عدا البادئ H14 و البادئ B1 و البادئ ISSR- 844A.

تميز الصنف رشيد بوجود حزمة غائبة عند الموقع اقل من 500 bp في البادئ E3 عن بقية الأصناف التي كانت حاوية عليها في نفس الموقع والتي تعتبر هذه الحزمة كمؤشر على ذلك الصنف، كذلك امتاز هذا الصنف بامتلاكه حزمة فريدة عند الموقع 2000 bp في البادئ H14 والتي تدل على البصمة الوراثية لذلك الصنف.

الصنف تموز2 (6) : من بين 404 موقع ارتباط كان هناك 41 موقع ارتباط في صنف تموز2 وبنسبة مئوية بلغت 10.148 %، أعلى عدد مواقع ارتباط كان 9 حزم في البادئ L1 واقل عدد مواقع ارتباط كان 3 حزم في البادئ A2 و البادئ ISSR 844A –، أعلى وزن جزيئي كان 1733 bp في البادئ R1 واقل وزن جزيئي كان اقل من 500 bp في جميع البادئات عدا البادئ H14 و البادئ B1 .

تميز الصنف تموز2 بوجود حزمة غائبة عند الموقع 1055 bp في البادئ M – 1 عن بقية الأصناف التي كانت حاوية عليها في نفس الموقع والتي تعتبر هذه الحزمة كمؤشر على ذلك الصنف، كذلك امتاز هذا الصنف بامتلاكه حزمتين فريدتين الأولى عند الموقع 600 bp في البادئ M – 1 والثانية عند الموقع 731 bp في البادئ E3 والتي تدل على البصمة الوراثية لذلك الصنف.

الصنف تموز3 (7) : ظهر في صنف تموز3 41 موقع ارتباط من المجموع الكلي لمواقع الارتباط البالغ 404 موقع وبنسبة مئوية بلغت 10.148 %، أعلى عدد مواقع ارتباط كان 9 حزم في البادئ L1 واقل عدد مواقع ارتباط كان 3 حزم في البادئ A2 ولم يرتبط مطلقا بأي موقع ارتباط مع البادئ R1، أعلى وزن جزيئي كان 1600 bp في البادئ L1 واقل وزن جزيئي كان اقل من 500 bp في جميع البادئات عدا البادئ H14 و البادئ B1.

تميز الصنف تموز3 بعدم امتلاكه للحزمة أو الحزم الغائبة التي تعتبر مؤشر لذلك الصنف و الحزمة أو الحزم الفريدة التي تدل على البصمة الوراثية لذلك الصنف.

الصنف إباء95 (8) : أظهرت نواتج التفاعل 49 موقع ارتباط في صنف إباء95 من أصل 404 موقع وبنسبة مئوية بلغت 12.128 %، أعلى عدد مواقع ارتباط كان 10 حزم في البادئ L1 واقل عدد مواقع ارتباط كان 4 حزم في البادئ A2 و البادئ M – 1 و البادئ B1، أعلى وزن جزيئي كان 1733 bp في البادئ R1 واقل وزن جزيئي كان اقل من 500 bp في جميع البادئات عدا البادئ H14 و البادئ B1.

تميز الصنف إباء95 بعدم امتلاكه للحزمة أو الحزم الغائبة التي تعتبر مؤشر لذلك الصنف و الحزمة أو الحزم الفريدة التي تدل على البصمة الوراثية لذلك الصنف

الصنف عراق (9) : أظهرت نتائج تفاعلات الـ ISSR على الصنف عراق ظهور 39 موقع ارتباط من أصل 404 موقعا وبنسبة مئوية بلغت 9.653 %، أعلى عدد مواقع ارتباط كان 8 حزم في البادئ L1 واقل عدد مواقع ارتباط كان 1 حزمة في البادئ H14، أعلى وزن جزيئي كان 1840 bp في البادئ A2 واقل وزن جزيئي كان اقل من 500 bp في جميع البادئات عدا البادئ H14 و البادئ B1 و البادئ ISSR – 844A .

تميز الصنف عراق بوجود حزمة غائبة عند الموقع 600 bp في البادئ H14 عن بقية الأصناف التي كانت حاوية عليها في نفس الموقع والتي تعتبر هذه الحزمة كمؤشر على ذلك الصنف، كذلك امتاز هذا الصنف بامتلاكه حزمة فريدة عند الموقع 1840 bp في البادئ A2 والتي تدل على البصمة الوراثية لذلك الصنف.

تقدير البعد الوراثي بالاعتماد على نتائج تفاعلات الـ ISSR

تم تقدير البعد الوراثي من نتائج تفاعلات مؤشرات ISSR بين أصناف الحنطة التسعة الداخلة بالدراسة وباستخدام البرنامج الوراثي (NTSYS – PC. Versinal 1.7) الذي يعتمد على وجود الحزم المشتركة بين كل صنفين من ألأصناف ومعتمدا في تحليلاته على معادلة Nie [9].

يوضح جدول (2) قيم الأبعاد الوراثية لأصناف الحنطة التسعة والتي تراوحت القيم بين (0.1707 – 0.4753) ففي حالة تطابق المادة الوراثية بين أي نوعين مدروسين فهذا يدل على إن البعد الوراثي بينهما يجب أن يكون مساويا للصفر أما نسبة التشابه الوراثي فتكون (100 %). [12] التطابق هنا يحدث عند عدم وجود تباين وراثي بين الأصناف باستخدام عدد من البادئات ولكن عند استخدام عدد أكثر من البادئات أو استخدام مؤشر وراثي أخر قد تختلف النتيجة وذلك لاختلاف مناطق الارتباط حسب تسلسل البادئ.

جدول (2) قيم الأبعاد الوراثية بين ألأصناف التسعة للحنطة (*Triticum aestivum*) حسب نتائج PCR – ISSR

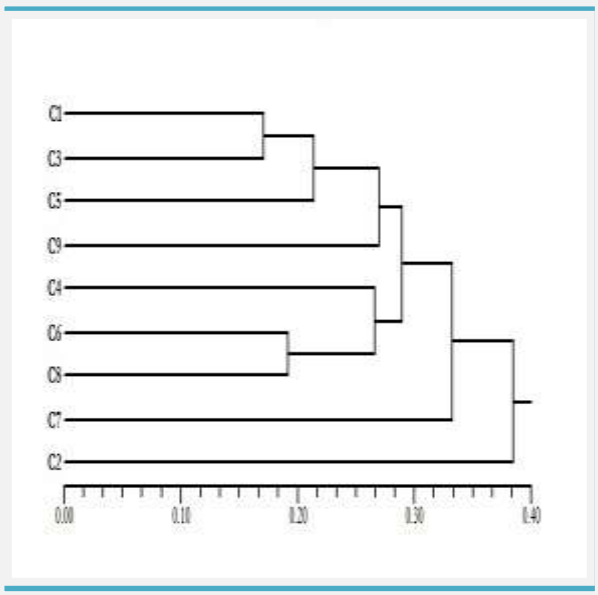
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
1	0.0000								
2	0.2804	0.0000							
3	0.1707	0.3292	0.0000						
4	0.2495	0.4038	0.3034	0.0000					
5	0.2119	0.3637	0.2156	0.3062	0.0000				
6	0.3051	0.4753	0.3362	0.3124	0.3687	0.0000			
7	0.2769	0.3753	0.4415	0.3463	0.3370	0.3124	0.0000		
8	0.1884	0.3339	0.2156	0.2192	0.2029	0.1918	0.2192	0.0000	
9	0.3091	0.4139	0.2784	0.3927	0.2223	0.3564	0.3927	0.2513	0.0000

اكبر نسبة تشابه في المادة الوراثية ظهرت بين صنفي لطيفية (1) و هاشمية (3) وذلك لظهور اقل قيمة للبعد الوراثي (0.1707) بين هذين الصنفين و بالاستناد إلى قيم البادئات المستخدمة في تفاعلات ISSR وذلك يعني اقل نسبة اختلاف بين مجين الصنفين مقارنة بالأصناف الأخرى وقد يعود السبب إلى كونهما متقاربين في النسب والاختلافات اقل ما يمكن في جينوم الصنفين. أعلى بعد وراثي كانت قيمته (0.4753) بين الصنفين ترتكيلي (2) والصنف تموز 2(6) وهذا يدل على وجود اقل نسبة تشابه وراثي بين كل من الصنفين اعتمادا على البادئات المستخدمة في تفاعلات الـ ISSR، وهذا يدل على أعلى نسبة اختلاف بين مجين الصنف ترتكيلي (2) و الصنف تموز2 (6) مقارنة مع الأصناف الأخرى الداخلة بالدراسة تم استثمار قيم البعد الوراثي بين الأصناف التسعة في إيجاد العلاقة الوراثية التي تربطها جميعا شكل (1).

المناقشة:

أظهرت 8 بادئات من أصل 10 بادئات مستخدمة مواقع ارتباط مع أصناف الحنطة التسعة في حين لم تظهر في بادئتين أي نواتج ارتباط مع ألأصناف الداخلة بالدراسة مما يدل على إن البادئات لم تجد موقعا متمم على مجين هذه للأصناف عند استخدام البادئ ISSR HB8 – من قبل [13] إذ أظهر البادئ نواتج ارتباط مع أصناف حنطة أخرى ولم تظهر مع الأصناف الداخلة بالدراسة، أما البادئ AD3 لم يظهر نواتج ارتباط أيضا عند استخدامه مع الأصناف الداخلة بالدراسة وعند استخدام هذا البادئ من قبل [14] اظهر البادئ نواتج ارتباط مع أصناف حنطة أخرى.

عدم ظهور نتائج مع بعض البادئات المستخدمة هو من الأسس المهمة التي يتم على أساسها بناء التباين بين الأفراد[15]



شكل (1) العلاقة الوراثية بين أصناف الحنطة (*Triticum aestivum*) تبعا لمؤشرات الـ ISSR

البادئات الباقية أظهرت نواتج ارتباط مع الأصناف المدروسة كما أظهرت تلك البادئات نواتج ارتباط مع أصناف أخرى من الحنطة فقد اظهر البادئ M – 1 نواتج ارتباط مع أصناف أخرى عند استخدامها من قبل[14]، وكذلك أعطى البادئ ISSR – 844A نواتج ارتباط مع أصناف أخرى من الحنطة عند استخدامها من قبل [13]، أما بقية بادئات ISSR المستخدمة وهي H14، E3، A2، R1، B1، L1 فقد أظهرت نواتج ارتباط أيضا مع أصناف أخرى عند استخدامها من قبل[16].

إن تحديد البصمة الوراثية لصنف عن بقية الأصناف يعتمد بالدرجة الأساس على الحزمة الفريدة والحزمة الغائبة وقد أظهرت هذه النتائج 19 حزمة ما بين حزمة فريدة وغائبة إذ بلغ عدد الحزم الغائبة 8 حزم تميز الصنف أبو غريب (4) بأكبر عدد منها بلغت 4 حزم ثلاثة من هذه الحزم ظهرت مع البادئ B1 وحزمة واحدة مع البادئ R1، تميزت أربعة أصناف بامتلاكها حزمة واحدة غائبة فقط هي في الصنف ترتكيلي (2) في البادئ R1 والصنف رشيد (5) في البادئ E3 والصنف تموز 2 (6) في البادئ M – 1 والصنف عراق (9) في البادئ H14.

تميزت هذه التفاعلات بإظهار 11 حزمة فريدة كان الصنف ترتكيلي (2) الأعلى من حيث امتلاكه لتلك الحزم وبلغت 4 حزم اثنان منها في البادئ R1 وحزمة واحدة في كل من البادئين H14 والبادئ E3، في حين امتاز الصنف تموز 2 (6) بحزمتين فريدتين في كل من البادئ M – 1 و البادئ E3 في حين امتلكت الأصناف لطيفية (1) بوجود حزمة واحد فريدة في البادئ E3 و الصنف هاشمية (3) وجود حزمة فريدة في البادئ L1 والصنف أبو غريب (4) بوجود حزمة فريدة في البادئ B1 و الصنف رشيد (5) وجود حزمة فريدة في البادئ H14 والصنف عراق (9) بوجود حزمة فريدة في البادئ A2. نتائج الحزم الفريدة والغائبة في تفاعلات الـ ISSR هي 8 حزم غائبة و 11 حزمة فريدة، ظهور الحزم الفريدة والغائبة يكون أعلى في البادئات التي تظهر اكبر حزم متباينة بين الأصناف بالإضافة إلى ذلك إن البادئات التي تنتج حزم قليلة يكون لها القدرة على إظهار حزم فريد وحزم غائبة ولكن بصورة اقل [17].

أوضحت نتائج الـ ISSR بان كل من البادئات B1، R1،E3 أظهرت أعلى عدد من الحزم الغائبة والفريدة إذ بلغت 4 حزم في كل بادئ إذ تميز البادئ E3 بإظهاره 3 حزم فريدة و 1 حزمة غائبة و البادئ R1 بـ 2 حزمة غائبة و 2 حزمة فريدة أما البادئ B1 فتميز بإظهاره 3 حزم غائبة و حزمة واحدة فريدة، في حين اظهر البادئ H14 ثلاث حزم 2 منها فريدة و حزمة واحدة غائبة في حين اظهر البادئ M – 1 حزمتين واحدة فريدة و حزمة واحدة غائبة وتميز كل من البادئين L1 و البادئ A2 بإظهارهما حزمة فريدة واحدة فقط لكل منهما. إن سبب وجود التباين يعود لعدة أسباب منها غرس قطعة كبيرة من الـ DNA بين مواقع ارتباط البادئ مما يتجاوز قابلية الـ PCR ونتيجة لذلك فقدان في القطع أو حذف احد موقعي ارتباط البادئ ينتج عنه أما زيادة في حجم القطعة المضاعفة أو فقدان قطعة وكذلك غرس أو حذف قطعة صغيرة من الـ DNA مما يؤدي إلى تغير في حجم القطع المتضاعفة وكذلك استبدال نيوكليوتيدة ضمن احد أو كلا موقعي ارتباط البادئ مما يؤدي إلى تغير في حجم القطعة المتضاعفة [18].

لا تبقى الحزم الفريدة والحزم الغائبة حزم مميزة لذلك الصنف عند استخدام أصناف أخرى من الحنطة مع نفس البادئات إذ يمكن أن تصبح حزمة عادية ليس لها دور في عملية تحديد البصمة للأصناف الزراعية. امتازت تفاعلات الـ ISSR بإظهارها للحزم الرئيسية إذ بلغت 126 حزمة عامة من أصل 404 حزمة مما يعني إن الحزم المتباينة بلغ عددها 278 حزمة متباينة، أي حزمة عامة وجودها يدل على وجود قطعة مشتركة من الـ DNA بين تلك الأصناف.

امتاز البادئ L1 بإظهاره على 63 حزمة عامة والبادئ M – 1 بـ 27 حزمة عامة في حين اظهر البادئ A2 على 18 حزمة عامة في حين اظهر كل من البادئين ISSR – 844A و البادئ H14

على 9 حزم عامة لكل منهما في حين لم تظهر كل من البادئات الآتية على أي حزمة عامة وهي البادئ B1 و البادئ R1 و البادئ E3.

من ملاحظة مواقع الارتباط بين الأصناف هو اختلاف تألق بعض مواقع ارتباط عن مواقع أخرى تكون اقل تألق أو ضعيفة التألق بين الأصناف المختلفة أو حتى بين مواقع ارتباط الصنف الواحد والتي تعكس الاختلاف في عدد النسخ في تلك المواقع فكلما زادت تألق مواقع الارتباط دلت على وفرة تلك المواقع وبالعكس [19]، سبب تألق الحزمة بسبب تكرار التضاعف في عدد من مواقع الارتباط ذات الوزن الجزيئي المشابه إذ يؤدي إلى ظهورها بشكل حزمة متألقة على هلام الاكاروز التي يمكن الاعتماد عليها أيضا كمؤشر على التباين الوراثي في حالة ضبط تركيز الـ DNA [20].

المصادر

1-Taher, N. A. (2008). Assessment of genetic diversity among Wheat varieties in sulaimanyah usingRAPD analysis. Jordan journal of biology sciences.1(4) :159 – 164.

2-Hussain, S. S. and Qamar, R. (2007).Wheat genomics challenges and alternative strategies.Proc. Pakistan acad. Sci. 44 (4) :305 – 327.

3-Nadia, H. ; Imad, N. and Nizar, M. (2010). Comparison of the Efficiency of A – PAGE and SDS – PAGE، ISSR and RAPD In resolving genetic relationships among Triticum and Aegilops Species. Genet. Resour Crop. Evol. 57:1023 – 1039.

4-Gill, B. S. (2004). National wheat workers workshop. February 22 – 25, Embassy Suites KCI, Kansas City.

5-Cortizas, A. M ; Fraga, E. and Elvira, M. I. (1997). Comparative stupy of classical and numerical taxonomic methods for infraspecific taxa of Triticum aestivum traditionally cultivated in Galicia.Lagascalia. 19 (2):919 – 926.

6-Gonzales, R. G. G. and Pacheco, I. T.(2006). Advances in agricultural and food biotechnology. Research Signpost.2:99 – 134.

7-Maniatis، T. ; Fritsch، F. F. and Sambrook، J. (2001). In vitro application of DNA by the polymerase chain Reaction in molecular cloning : A Laboratory Manual. 2nd ed.، Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York, USA, p. 691.

8-Zietkiewicz, E. ; Rafalski, A. and Labuda, D. (1994).Genome fingerprint by simple
sequence repeat (SSR) – anchored polymerase chain reaction amplification. Genomics. 20:176 - 183.

9-Nei, M. and Li, W. H. (1979). Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction Endonucleases. Proceeding of the National Academy of Science, USA. 74:5269 - 5273.

10-Sneath, P. H. A. and Sokal, R. R. (1973). Numerical taxonomy: The principles and practice of numerical classification. W. H. Freeman co. San Francisco. California

11-Rohlf, F. J. (2002). Numerical taxonomy and multivariate analysis System. NTSYS version 2.11a. Applied Biostatistics Inc. New York, Stony Brook. N.Y. USA.

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

13-Mona, H. A. ; Elrabey, R. M. ; Khalaf, M. H. and Elhalafawi, K.(2009). Cytological and Molecular characterization of some Wheat (Triticum aestivum L.) cultivars. Egypt. j.Genet. Cytol.38:235 – 250.

14-Hanna, M. A. (2011). Assessment of genetic diversity among Wheat Somaclonal variants lines using morphological traits and molecular Markers. African Journal of Biotechnology، 1 (66):1451 – 1486.

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

16-Xingquan, Z. ; Yajuan, W. ; Weiyan, L. ; Changyou, W. ; Xinlum, L. and Wanquan, J. (2010). Comparison of the genetic Diversity between Triticum aestivum ssp. tibetanum Shao and Tibetan wheat landraces (Triticum aestivum L.) by using intro – Splice junction primers. Genet Resour Crop Evol. 57:1141 – 1150.

17-Williams, J. G. K. ; Hanafey, M. K. ; Rafalski، J. A. and Tingey, S. V. (1993). Genetic analysis using random amplified polymorphic DNA markers. Methods in Enzymology, 218:704 – 741.

18-Weising, K. ; Nybom, H. ; Wolff, K. and Kahl, G. (2005). DNA Fingerprinting in Plants Principles, Methods, and Applications 2nd Edition. Taylor and Francis Group.

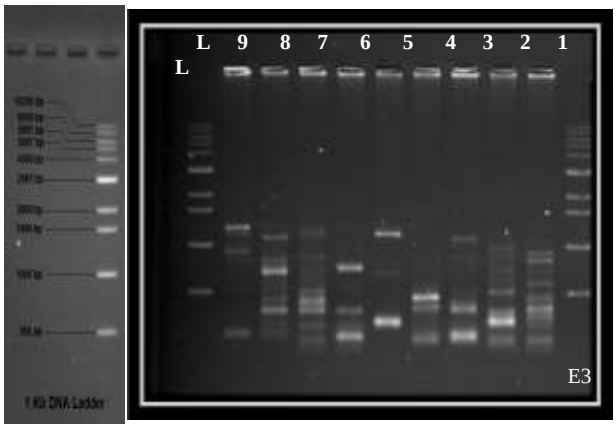
19-Bardakci, F. (2001). Random amplified polymorphic DNA (RAPD) markers. Turh. Journal. Biol. 25:185 – 196.

20 ـ العاصي ، عقيل حسين علي. (2002). استخدام مؤشرات الدنا في تحليل التنوع الوراثي للشعير (*Hordeum vulgare* L.) المزروع في العراق. أطروحة دكتوراه. كلية التربية ابن الهيثم – جامعة بغداد.

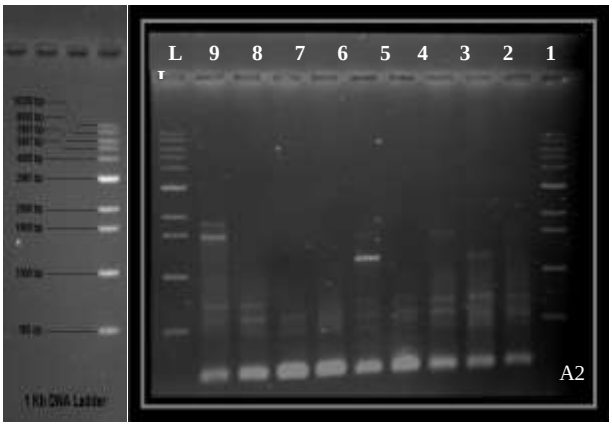
P- ISSN 1991-8941 , E-ISSN 2706-6703
2014 ,(8), (1) :48-58

(*JUAPS*) مجلة جامعة الانبار للعلوم الصرفة

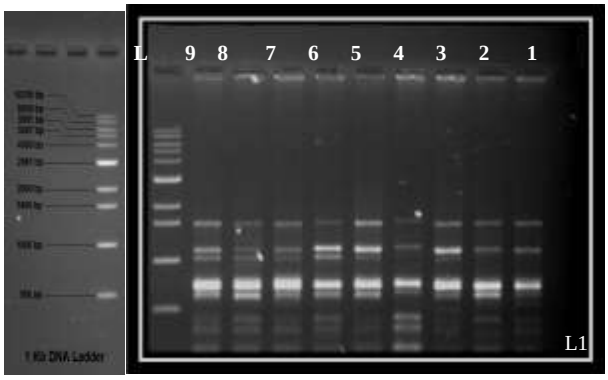
Open Access



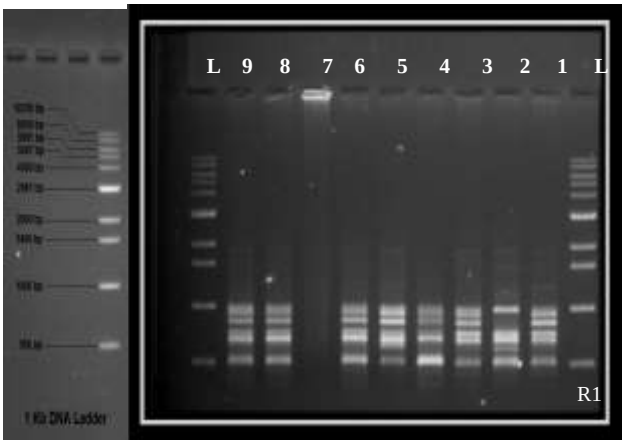
حزم تضاعف البادئ E3 بواسطة مؤشر الـ ISSR – PCR مع DNA العينات التسعة لأصناف الحنطة *Triticum aestivum* والمرحلة على هلام الاكاروز بتركيز 1 % ، L تمثل الدليل ألحجمي DNA Ladder .تمثل الأرقام أسماء أصناف الحنطة 1- لطيفية ، 2- ترتكيلي ، 3- هاشمية ، 4- أبو غريب ، 5- رشيد ، 6- تموز2 ، 7- تموز3 ، 8- إباء 95 ، 9- عراق .



حزم تضاعف البادئ A2 بواسطة مؤشر الـ ISSR – PCR مع DNA العينات التسعة لأصناف الحنطة *Triticum aestivum* والمرحلة على هلام الاكاروز بتركيز 1 % ، L تمثل الدليل ألحجمي DNA Ladder .تمثل الأرقام أسماء أصناف الحنطة 1- لطيفية ، 2- ترتكيلي ، 3- هاشمية ، 4- أبو غريب ، 5- رشيد ، 6- تموز2 ، 7- تموز3 ، 8- إباء 95 ، 9-

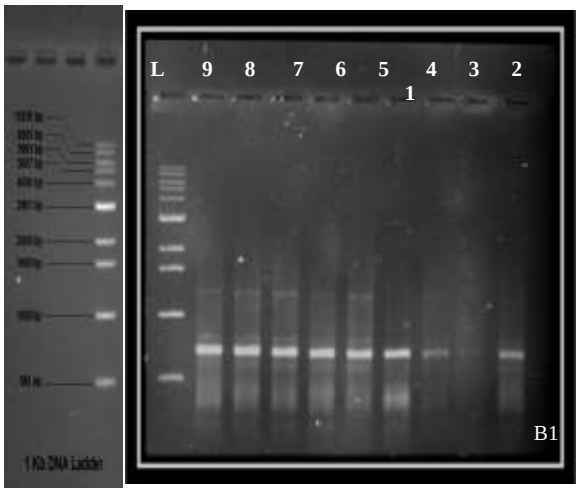


حزم تضاعف البادئ L1 بواسطة مؤشر الـ ISSR – PCR مع DNA العينات التسعة لأصناف الحنطة *Triticum aestivum* والمرحلة على هلام الاكاروز بتركيز 1 % ، L تمثل الدليل ألحجمي DNA Ladder .تمثل الأرقام أسماء أصناف الحنطة 1- لطيفية ، 2- ترتكيلي ، 3- هاشمية ، 4- أبو غريب ، 5- رشيد ، 6- تموز2 ، 7- تموز3 ، 8- إباء 95 ، 9- عراق .



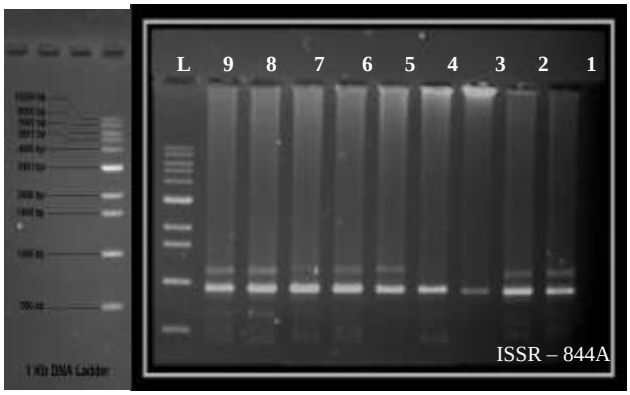
حزم تضاعف البادئ R1 بواسطة مؤشر الـ ISSR – PCR مع DNA العينات التسعة لأصناف الحنطة *Triticum aestivum* والمرحلة على هلام الاكاروز بتركيز 1 % ، L تمثل الدليل ألحجمي DNA Ladder .تمثل الأرقام أسماء أصناف الحنطة 1- لطيفية ، 2- ترتكيلي ، 3- هاشمية ، 4- أبو غريب ، 5- رشيد ، 6- تموز2 ، 7- تموز3 ، 8- إباء 95 ، 9-

حزم تضاعف البادئ H14 بواسطة مؤشر الـ ISSR – PCR مع DNA العينات التسعة لأصناف الحنطة *Triticum aestivum* والمرحلة على هلام الاكاروز بتركيز 1 % ، L تمثل الدليل ألحجمي DNA Ladder .تمثل الأرقام أسماء أصناف الحنطة 1- لطيفية ، 2- ترتكيلي ، 3- هاشمية ، 4- أبو غريب ، 5- رشيد ، 6- تموز2 ، 7- تموز3 ، 8- إباء 95 ، 9- عراق .

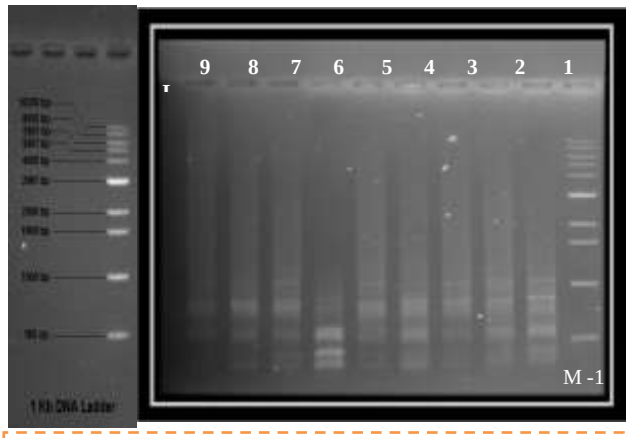


حزم تضاعف البادئ B1 بواسطة مؤشر الـ ISSR – PCR مع DNA العينات التسعة لأصناف الحنطة *Triticum aestivum* والمرحلة على هلام الاكاروز بتركيز 1 % ، L تمثل الدليل ألحجمي DNA Ladder .تمثل الأرقام أسماء أصناف الحنطة 1- لطيفية ، 2- ترتكيلي ، 3- هاشمية ، 4- أبو غريب ، 5- رشيد ، 6- تموز2 ، 7-

P- ISSN 1991-8941 , E-ISSN 2706-6703 (*JUAPS*) مجلة جامعة الانبار للعلوم الصرفة Open Access
2014 ,(8), (1) :48-58



حزم تضاعف البادئ ISSR – 844A بواسطة مؤشر الـ ISSR – PCR مع DNA العينات التسعة لأصناف الحنطة *Triticum aestivum* والمرحلة على هلام الاكاروز بتركيز 1 % ، L تمثل الدليل ألحجمي DNA Ladder .تمثل الأرقام أسماء أصناف الحنطة 1- لطيفية ، 2- ترتكيلي ، 3- هاشمية ، 4- أبو غريب ، 5- رشيد ، 6- تموز2 ، 7- تموز3 ، 8- إباء 95 ، 9- عراق .



حزم تضاعف البادئ M – 1 بواسطة مؤشر الـ ISSR – PCR مع DNA العينات التسعة لأصناف الحنطة *Triticum aestivum* والمرحلة على هلام الاكاروز بتركيز 1 % ، L تمثل الدليل ألحجمي DNA Ladder .تمثل الأرقام أسماء أصناف الحنطة 1- لطيفية ، 2- ترتكيلي ، 3- هاشمية ، 4- أبو غريب ، 5- رشيد ، 6- تموز2 ، 7- تموز3 ، 8- إباء 95 ، 9- عراق .

DETERMINING THE GENETIC FINGERPRINT FOR NUMBER OF (*Triticum aestivum*) AGRICULTURAL SPECIES DISTRIBUTE IN AL-ANBAR PROVINCE USING THE ISSR TECHNIQUES MARKER

ODAY H. NOORI ABDUL-MAJEED A. HUMMADI

ABSTRACT:

In this study, We used the ISSR Technique, Its one of the PCR Technique, On the nine local type of Triticum aestivum in AL-anbar Province, to determination of genetic variation relationship between them and Find the Fingerprinting for some types. The DNA Extraction Results From young leaves by using CTAB method showed that purity of DNA was 1.5 – 1.82 and the concentration was 55 – 142.5 ng\µl. The ISSR Results revealed 8 of the 10 primers using this study were binding. The 8 primers recorded 404 binding sites (126 General bands and 278 various bands), The highest number for binding was in L1 primer (78 band) while B1 primer was the lowest number (30 band), The high molecular Wight was 2000 bp for H14 primer, On the other band the lowest molecular Wight was 500 bp in E3 primer. The type Latifya (1) has highest number for binding site with 55 bands 13.613% the type Iraq Shown lowest number of binding site with 39 bands 9.563 % For the unique and absent band، the type (Tertikely (2) and Abo Graib (4)) and (latifya (1) and Hashimya (3)) Recording highest and lowest number of band (5 and 3) respectively, Whereas the type Tamooz 3 (7) and Ibaa 95 (8) had no unique and absent bands. For the genetic variation for ISSR, we found the highest value between Tertikely (2) and Tamooz 2 (6) was (0.4753) and the lowest value was (0.1707) between latifya (1) and Hashimya (3) depending for our Results we divided. The Studying to 3 groups, and the Tertikely (2) type presents the main group between among other type.