# أستحداث طفرات وراثية بالصعق الكهربائي والصوديوم ازايد والكشف المبكر عنها بتقانة RAPD في نبات الكلاديولس

رباب عبد المناف حكيم أ.م.د.جنان قاسم حسين

كلية الزراعة / جامعة القاسم الخضراء

**الملخص**

أُجريت الدراسة الحالية في البيت الزجاجي التابع لقسم البستنة وهندسة الحدائق كلية الزراعة جامعة القاسم الخضراء للموسم الخريفي 2016-2017 لدراسة تأثير الصعق الكهربائي والصوديوم ازايد لأحداث طفرات وراثية في نبات الكلاديولس. عُرضت الكورمات الى شدة تيار مختلفة (5 , 10 , 15 امبير) ولمُدة أربع دقائق فضلاً عن مُعاملة السيطرة (من دون صعق) , أما معاملة الصوديوم أزايد فقد نُقعت كورمات الكلاديولس بأربعة تراكيز من الصوديوم ازايد 500 , 1000 , 1500( جزء بالمليون) ولمُدة 10 ساعات بالأضافة إلى مُعاملة القياس (نقعت بالماء المقطر فقط) , بألاضافة إلى معاملات التداخل مابين الصعق الكهربائي والصوديوم أزايد. نُفذت التجربة وفق تصميم القطاعات العشوائيه الكامله (R.C.B.D) كتجربة عاملية(4x4) وبثلاثة مكررات. كُشفت نتائج مؤشرات RAPD وجود أختلافات وراثية بين النباتات النامية من الكورمات المعاملة بالصعق الكهربائي والصوديوم ازايد فيما بينها ومعاملة القياس، حيث حققت معاملات الصعق الكهربائي A15 أعلى نسبة مئوية للتغاير الوراثي في النباتات بلغت 0.54% مقارنة بمعاملة القياس، أما عن معاملات الصوديوم ازايد فأن نباتات المعاملة SA1500 أعطت أكبر بعد وراثي بلغ 0.44% مقارنة بمعاملة القياس, اما معاملات التداخل بين الصعق الكهربائي والصوديوم ازايد فقد تميزت المعاملتان SA1000 x A5 و SA500 x A15 بأعطاء اعلى بعد وراثي عن معاملة القياس وبلغ 0.52% بينما بلغ اقل بعد وراثي بلغ 0.45% بين نباتات المعاملة SA1500 x A5 ونباتات المقارنة .

# INDUCTION OF MUTAGENESIS BY ELECTRIC SHOCK AND SODIUM AZIDE AND THEIR EARLY EVALUATION BY RAPD ON *Gladiolus hybrida*

**Rabab Abd Al-Mounaf Hakeem** **Dr.Janan Kasim Hussein**

**ABSTRACT**

This present study was conducted in the glass house of Horticulture and Design Department, Faculty of Agriculture, Al-Qasim Green University during the autumn season of 2016-2017 to

study the effect of electric shock and sodium azide on the occurrence of genetic mutations and to improve the growth and flowering of the gladiolus. the bulbs were subject to different currents (5, 10, and 15 Amperes) for four minutes, as well as the control treatment (without shock) . As for the treatment of sodium azide, the gladiolus bulbs were soaked in three concentrations of sodium azide (500, 1000, and 1500 ppm) for 10 hours in addition to the control treatment (soaked with distilled water only), Randomized Complete Blocks Design (RCBD) was performed as a factorial experiment (4 x 4) with three replicates. The results of the RAPD showed that there were genetic differences among plants treated with electric shocks and sodium azide and the plants of the control treatment. A15 gave the highest percentage of genetic heterogeneity in plants, (0.54 %) compared to control treatment.while for sodium azide treatment SA1500 The highest yield was 0.44 % compared with control treatment, as for the interaction treatments between the electric shocks and sodium azide, SA1000xA5 and SA500xA15 treatments were characterized by giving the highest genetic distance compared to the control treatment which was(0.52 %), while the lowest genetic distance (0.45 %) was recorded in the planr=ts treated with SA1500xA5 treatment compared to plants of the control treatment

**المقـدمـــة**

ينتمي نبات الكلاديولس *Gladiolus hybrida* إلى العائلة السوسنية Iridaceae موطنه ألاصلي جنوب افريقيا واسيا الصغرى وجنوب أوروبا . أبصال الكلاديولس حولية صيفية تحت ظروف العراق المناخية ، ويُمكن زراعتهُ بعروتين خريفية وربيعية كما يُمكن إنتاجها على مدار السنة مع مُراعاة زراعتهُ تحت الظروف البيئية المكيفة (3). تعود أهمية الكلاديولس كونهُ من ألازهار الصالحة جداً للقطُف كما أنهُ يمتاز بِقُصر فترة نموه والتي تستغرق بين 75- 120 يوماً فضلاً عن تعدد ألوان أزهارهُ وطول عمرهُ المزهري وتكون لأزهار بعض اصنافه رائحة عطرية (13).

إن زيادة التغايُرات الوراثية تعد القاعدة الأساسية في تربية النبات لوجود قاعدة واسعة من الأصول الوراثية تعطي فُرصة أكبر لمربي النبات لأنتخاب الصفات المرغوبة وتحسينها من خلال برامج التربية كما أنه يجعل الإنتاج الزراعي أكثر ثباتاً، ولدوره في مُجاراة التغيير في طلبات المستهلك فضلاً عن أنهُ مِفتاح البقاء للأنواع النباتية إذ أنه وبِفقد التنوع يصبح النبات عُرضة للإصابةِ بالآفات المختلفة.يُمكن الحصول على هذه التغايُرات الوراثية بالتهجين أو بالطفرات الوراثية سواء كانت طبيعية

Spontanious أو مُستحثةInduced والتي تشمل جميع التغايرات الموروثة في الكائن الحي نتيجة المُطفرات الفيزيائية او الكيميائية (8 ). ان لطريقة التربية بالطفرات فوائد عديدة أهمها أنتاج تغايرات غير موجودة في الفرد اذ ان هذه التغايرات لا تكون نتيجة أعادة التراكيب الوراثية كما في التهجين ولكنها في هذه الحالة تكون أصيلة وذات خَلق جديد, كما أنها تعد البديل الوحيد للتحسين عند عدم نجاح الطرائق الأخرى المتبعة في تربية النبات فضلا عن دورها الهام في التربية للأغراض الخاصة (5).

هُنالك عِدة طرائق للكشف عن التغايُر الوراثي , أكثرها شيوعاً المؤشرات المظهرية والتي تحتاج إلى وقت طويل وجُهد كبير في مُراقبة النباتات ومُتابعتها عِبر ألاجيال وتتأثر بالظروف الجوية والجنس والعمر, أما الطريقة الجُزيئية المعتمدة على تحليل جُزيء الDNA ذات نتائج أدق كونها تسمح بدراسة كامل المادة الوراثية والكشف عن التباينات الوراثية بين ألافراد المُراد المقارنة بينهم وذلك بالكشف عن أكبر عدد مِن المواقع الوراثية, ومن بين المُؤشرات الجُزيئية هي تقانة التضاعُف العشوائي المتعدد الأشكال لسلسلة DNA (RAPD) Randomly Amplified Polymorphic DNA التي تتسم ببساطتها وسرعتها وعدم تطلبها كمية كبيرة من الدنا وأمكانية تطبيقها على مجتمعات وراثية كبيرة الحجم, أضافة إلى أمكانية أستخدام البادئات العشوائية كما أن هذه التقانة تسمح بفحص مناطق مختلقة من مجين الافراد المدروسة (9).

يعد الصوديوم أزايد NaN3 مُطفرا كيميائيا قوياً ومُثبطاً قوياً لِنمو النبات عند زيادة التركيز ومُدة التَعرض لهُ ، درس El-Shennawy (19) تأثير نقع كورمات الكلاديولس في خمسة تراكيز مِن الصوديوم أزايد ( 2500 500 , 1000 , 1500 , 2000 , ) جزء في المليون ولِمُدة 16 ساعة , أدت التراكيز المُرتفِعة إلى إنخفاض في إرتفاع النبات وقُصر الحامل الزهري وإرتفاع الزُهيرة ,ولم تؤثر جميع التراكيز على عدد الزُهيرات في الشمراخ الواحد.

وكان للصعق الكهربائي تأثيرا واضحا في التركيب الوراثي للنباتات المعاملة حيث أجرى حسين (10) دِراسة على نبات حلق السبع وتوصل إلى وِجود تغايُر وراثي بين شدات الصعق المختلفة وكان أعلى نسبة مئوية للبُعد الوراثي بلغت 27.5% للنباتات التي عُومِلت بِذورها المستنبتة بـ 8 أمبير ولِمُدة 6 دقائق.

دَرس الجبوري واخرون (2) تأثير الصعق الكهربائي في التركيب الوراثي لنبات الشبوي *Mathiola incana* أُستخدمت شدة تيار(AC)( 6 , 8 , 10 ) أمبير لِمُدة ( 6 , 4 , 2 ) دقائق فضلاً عن مُعاملة عدم الصعق السيطرة , أعطت نباتات الشبوي المُنتخبة تَغايُرات مظهرية ووراثية مُختلِفة أكدتها النسبة المئوية للبُعد الوراثي الناتجة مِن تحليل نتائج مُؤشِرات RAPD التي بلغت أعلاها 35% في إحدى نباتات المُعاملة (10أمبيرX 4 دقائق) عند مُعاملة بِذورهِ المُستنبتة .

يُعد مجال تربية وتحسين نباتات الزينة لاسيما الأزهار من المجالات المهمة في زيادة الإنتاج وتحسين نوعية الأزهار فضلاً عن الحصول على أصناف جديدة مِن

الأزهار تختلف بألوانها وأشكالها عن طريق التهجين أو الطفرات الوراثية، لذلك هدفت الدراسة الحالية إلى :

1. تحديد أي من المُطفرات (الصعق الكهربائي , الصوديوم ازايد) الأكثر تأثيراً في إحداث الطفرات الوراثية في نبات الكلاديولس .
2. الكشف عن التغايُرات الوراثية في الجيل الطفوري الاول للكلاديولس بالأعتماد على تقانة RAPD.
3. إنتخاب نباتات الكلاديولس الشاذة ودراسة صفاتها المظهرية والوراثية.

**المواد وطرائق العمل**

نُفذت التجربة في البيت الزجاجي التابع لقسم البستنة وهندسة الحدائق / كلية الزراعة / جامعة القاسم الخضراء للموسم الخريفي 2016-2017 لدراسة تأثير شدة الصعق الكهربائي والتراكيز المختلفة من الصوديوم أزايد على نمو وأزهار أبصال الكلاديولس, تم تجهيز تُربة البيت الزجاجي قبل الزراعة بأضافة السماد الحيواني المُتحلِل وتقليبها مرتين ومن ثُم قُسِمت على شِكل مساطب بعرض 50 سم . زُرِعَت الكورمات صنف Cartago أنتاج شركة stoop flower bulbs ذي اللون الاحمر بِمُعدل قطر 4- 5 سم للكورمة بتاريخ 2016/10/18 في ألارض المُستديمة على عمق 5 سم بشكل خطوط على المساطب والمسافة بين نبات واخر30 سم أُجريت كافة عمليات الخِدمة للنباتات من تَسميد ومُكافحة وتعشيب وحسب التوصيات.

قُسمت كورمات الكلاديولس الى أربع مجاميع في أكياس شبكية تسمح بمرور الماء من خلالها وتم نقع المجموعة الاولى من الكورمات لِمُدة 6 ساعات بالماء المقطر , والمجموعة الثانية معاملة الصعق الكهربائي نُقِلت إلى حوض زجاجي سعة (50 لتر) يحتوي على محلول ملحي 1% مِن خِلال جِهاز تم تَصنيعهُ لهذا الغرض يتكون مِن قُطبين مِن الكاربون مربوطين بسلكين موصلين بتيار كهربائي(AC/220V) داخل الحوض لزيادة مَساحة التماس بين المحلول الملحي وقُطبي الكاربون (6) , كما أُستُخدم جِهازClamp meter لقياس الفولتية والأمبيرية المارة في المحلول الملحي ومِحرار للمُحافظة على درجة حرارة المحلول الملحي . أُستخدمت شدة تيار مختلفة ( 5 , 10 , 15 ) امبير ولِمدة أربع دقائق فضلاً عن معاملة السيطرة (من دون صعق) حيث أُجريت عليها كافة العمليات السابقة عدا استخدام التيار الكهربائي , وَرُمِزَ للمُعاملات ( A0 , A5 , A10 , A15 ) بعد الأنتهاء مِن عملية الصَعق لِكُل معاملة وِضِعت الكورمات في إناء يحتوي على ماء عَذب وجاري لِمُدة ساعة لِغَسل الملح من النسيج النباتي لتجنب الأضرار بالكورمات.

بعد أجراء عملية الصَعق لكورمات الكلاديولس ضمن المعاملات المذكورة سابقاً نُقِعَت المجموعة الثالثة من كورمات الكلاديولس بأربعة تراكيز من الصوديوم أزايد (500 , 1000 , 1500) جزء بالمليون ولِمُدة 10 ساعات بالأضافة إلى مُعاملة القياس (نقعت بالماء المقطر فقط) , وَرُمِز للمعاملات ( SA1500 , SA0 , SA500 , SA1000 اما المجموعة الرابعة فكانت معاملة التداخل مابين الصعق الكهربائي والصوديوم ازايد.

نُفِذَت التجرُبة كتجربة عاملية ( 4x4 ) وفق تَصميم القطاعات العشوائية الكاملة Randomized Complete Blocks Design (R.C.B.D) وبثلاثة مُكررات حيث يحتوي كل مكرر على 16 معاملة بواقع سبعة نباتات لكل وحده تجريبيه, وتمت مقارنة المتوسطات بأستعمال إختبار دنكن لمتعدد DNA المستويات Duncan Multiple test عِند مستوى إحتمال 0.05 (7).

أُجريت ألاختبارات الجُزيئية في مختبر ألاحياء المجهرية والتقانات ألاحيائية في قسم ألانتاج الحيواني كلية الزراعة جامعة القاسم الخضراء.أُعتمدت تقانة التضاعف العشوائي المتعدد الاشكال لسلسلة الدنا (RAPD) للكشف عن ألاختلافات الوراثية بين نباتات الكلاديولس المعاملة بالصعق الكهربائي والصوديوم ازايد والتداخل بينهما. تضمن هذا ألاختبار قسمين: ألاول هو عزل وتشخيص الحامض النووي (DNA) ودراسة ألاختلافات الوراثية لجميع المعاملات (16 معاملة) أما القسم الثاني فتضمن عزل وتشخيص الحامض النووي (DNA) لستة نباتات شاذة (اعطت سلوك غريب في صفاتها الخضرية والزهرية بالحقل) بالأضافة الى معاملة المقارنة ودراسة الأختلافات الوراثية لها .

تم عزل DNA الكلي من أوراق النباتات بعد التأكد من خلوها من أي مسبب مرضي و تنظيفها بشكل جيد , أُستعملت عُدة الاستخلاص Genomic DNA Mini Kit(plant) وأُتبعت الطريقة الموصوفة من قبل الشركة المنتجة Geneaid. أستعمل جهاز - Nano drop spectrophotometer لتقدير نقاوة وتركيز الـ DNA وعلى الطول الموجي 260 نانوميتر, اذ تم تقدير نقاوة الدنا بحساب النسبة بين قراءتي الجهاز على الطولين الموجيين 260 و280 نانوميتر وحسب المعادلة التالية:

القراءة على طول موجي 260

نقاوة DNA = ——————————

القراءة على طول موجي 280

أما تركيز الـDNA فتم تقديره حسب المعادلة التالية:

تركيز DNA /ملليتر=مقدار امتصاص الدناDNA عند الطول الموجي 260/ معكوس التخفيف ×50

أُعتمدت سبعة بادئات في هذة التقانة تم الحصول عليها من شركة Bioneer/ Korea (جدول1) لتحديد انواع الـ polymorphism في DNA المعاملات المدروسة. وأُجريت كافة تفاعلات التضخيم العشوائي مع البادئات العشوائية تفاعلات التضخيم العشوائي وفقاً لـ Williams واخرون (24).أشتمل مزيج تفاعل الـ RAPD وبرنامج الـ PCR على مايأتي:

| | المكونات | الحجم µl | برنامج البلمرة الحراري PCR |
|---|---|---|---|
| Gold Multiplex PCR Pre Mix | Taq DNA polymerase | 5 | |
| | dNTP (dATP, dCTP, dGTP, dTTP) | | |
| | Pyrophosphatase and pyrophosphate | | |
| | PCR Buffer with 2mM $MgCl_2$ | | |
| | Stabilizer and tracking dye | | |
| | RAPD primers | 2 | |
| | DNA | 3 | |
| | D.D.W | 15 | |

| المرحلة | درجة الحرارة (م°) | المدة الزمنية min | عدد الدورات |
|---|---|---|---|
| Pre – Denaturation | 95 | 5 | 1 |
| Denaturation | 95 | 1 | 40 |
| Annealing | 36 | 1 | |
| Extension | 72 | 1 | |
| Final extension | 72 | 5 | 1 |

**الجدول 1. البادئات العشوائية التي تم استعمالها لتفاعلات RAPD مع تتابعاتها**

| ت | البادئ | تسلسلات البادئ 3' ——— 5' |
|---|---|---|
| 1 | OPB-18 | CCACAGCAGT |
| 2 | OPC-14 | TGCGTGCTTG |
| 3 | OPD-12 | CACCGTATCC |
| 4 | OPC-12 | TGTCATCCCC |
| 5 | OPE-14 | TGCGGCTGAG |
| 6 | OPD-16 | AGGGCGTAAG |
| 7 | OPD-08 | GTGTGCCCCA |

أُعتمد برنامج Photo capt للحصول على ألاوزان الجزيئية لحُزم الـDNA للمعاملات قيد الدراسة وأُعتمد تسجيل نتائج تفاعلات الـ RAPD على أساس مصفوفة ثنائية العدد (Binary) أعمدتها مساوية لعدد العينات المدروسة وعدد أسطرها مساوي لعدد المؤشرات ذات التباين (التعدد الشكلي). تعتبر المصفوفة ثنائية لأن جميع مربعاتها تحوي على أحد العنصرين أما 0 أو 1 اذ يرمز 0 الى عدم وجود الحزمة ويرمز 1 الى وجودها, وهذه المصفوفة هي لقياس التشابه والبعد الوراثي وترسم شجرة القرابة الوراثية Dendrogram للعينات باستعمال برنامج PAST بنسخته المعدلةVersion.1.91 (20) وبالأعتماد على مقياس Eucludean Similarty index .

تم حساب المؤشرات الآتية والتي تم اخذها من صورة الهلام:-

1- عدد الحزم الكلية المنتجة من كل بادئ.
2- عدد الحزم المتشابهة (المتماثلة) Monomorphic bands ونسبتها المئوية .
3- عدد الحزم ذات التعدد الشكلي (المتباينة) Polymorphic bands ونسبتها المئوية .
4- عدد الحزم المميزة Unique bands ونسبتها المئوية .
5- النسبة المئوية للحزم (المتشابهة , المتباينة والمميزة ) % وحسبت كالآتي:

$$\text{النسبة المئوية للحزم} = \frac{\text{عدد الحزم( المميزة او المتباينة او المتماثلة) المنتجة من البادئ}}{\text{عدد الحزم الكلية المنتجة من البادئ}} \times 100$$

6- كفاءة البادئ % Primer efficiency وحسبت من القانون

$$\text{كفاءة البادئ} = \frac{\text{عدد الحزم الكلية التي أنتجها البادئ}}{\text{عدد الحزم الكلية لكل البادئات}} \times 100$$

7- القوة التشخيصية للبادئ Discrimination power وهذه حسبت كالآتي:

$$\text{القوة التشخصية للبادئ} = \frac{\text{عدد الحزم ذات التعدد الشكلي المنتجة من البادئ}}{\text{عدد الحزم ذات التعدد الشكلي المنتجة من كل البادئات}} \times 100$$

8- البعد الوراثي : G.D= 1-G.S

G.D: Genetic Distance

G.S: Genetic Similarty

**النتائج والمناقشة**

**التباعد الوراثي بين معاملات الصعق الكهربائي والصوديوم ازايد بأستخدام مؤشرات التضاعف العشوائي المتعدد الاشكال لسلسلة DNA ( RAPD )**

أُختيرت7 بادئات عشوائية لدراسة التوصيف الجزيئي لستة عشر معاملة صعق كهربائي والصوديوم ازايد لأبصال الكلاديولس , أعطت جميعها حزم عند مضاعفتها مع الـ DNA الذي تم عزله من نباتات المعاملات وترحيلها على هلام الاكاروز وهي (OPB-18 , OPC-14 , OPD-12 , OPC-12 , OPE-14 , OPD-16 , OPD-08 ) إذ تميزت هذه البادئات بقدرتها على كشف التباينات الوراثية بين المعاملات الداخلة في الدراسة (الشكل 1) .

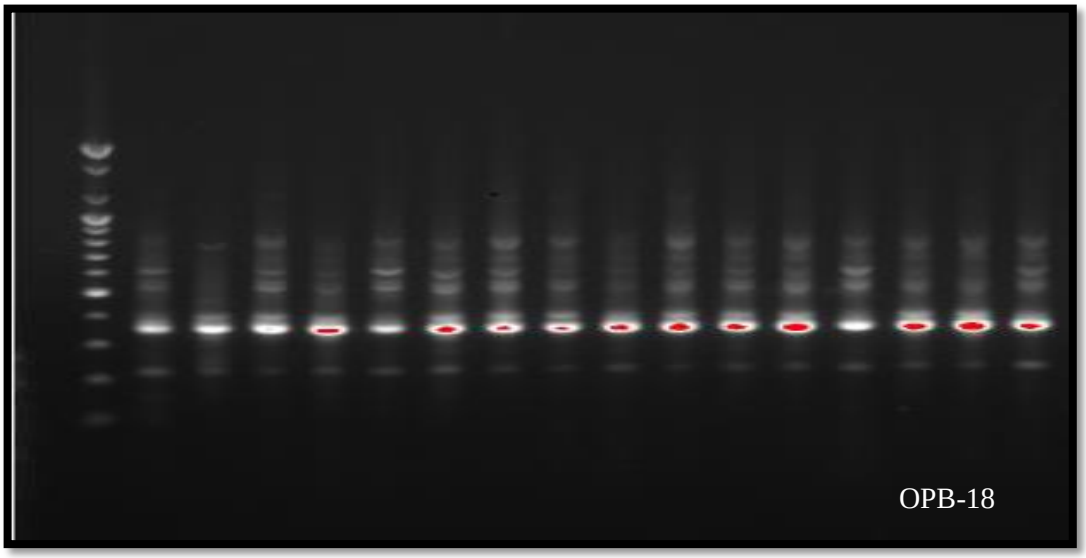
يُظهر جدول(2) أن البادئات العشوائية التي أُستخدمت في الدراسة اعطت 174 حزمة بمعدل 24.85 حزمة كان منها 122 حزمة ذات تعدد شكلي (Polymorphic bands ) وبمعدل بلغ 17.42حزمة لجميع المعاملات المدروسة , كما يبين الجدول ان البادئ OPE-14 قد أعطى أكثر عدد من الحزم بلغ 30 حزمة في حين أعطى البادئ OPB-18 أقل عدداً من الحزم 16 حزمة , وبلغ عدد الحزم الكلية المتشابهة 9 حزم وبمعدل بلغ 1.28 وأعطى البادئ OPE-14 أكثر عدد من الحزم المتشابهة 3 حزم وبأعلى نسبة مئوية وبلغت 10% في حين أعطى البادئ OPD-8 اقل عدداً من الحزم المتشابهة 0 حزمة وبأقل نسبة مئوية لنفس البادئ وبلغت 0% , في حين أعطى البادئان OPD-8 و OPD-12 أكثر عدداً من الحزم المتباينة (20 حزمة) وكان أقل عدد من الحزم المتباينة للبادئ OPB-18 بلغت 9 حزم وبأقل نسبة مئوية بلغت56.25% اما أعلى نسبة مئوية للحزم المتباينة للبادئ OPC-14 وبلغت 78.26%, وبلغت عدد الحزم الكلية المميزة Unique 43 حزمة بمعدل6.14 أذ أعطى البادئان OPE-14 وOPD-16 أكثر عدد من الحزم المميزة بلغت 8 حزم فيما أعطى البادئ OPC-14 أقل عدد حزم مميزة 4 حزم وبأقل نسبة مئوية للحزم المميزة بلغت 17.39% بينما البادئ OPB-18 أعطى أعلى نسبة مئوية لتبلغ 37.5% , وبلغت أعلى كفاءة للبادئ OPE-14 17.2% بينما أقل كفاءة للبادئ OPB-18 بلغت 9.1% وأعطى البادئان OPD-8 و OPD-12 أعلى نسبة مئوية للقوة التشخيصية بلغت 16.3% بينما أعطى البادئ OPB-18أقل نسبة مئوية للقوة التشخيصية بلغت 7.3% .

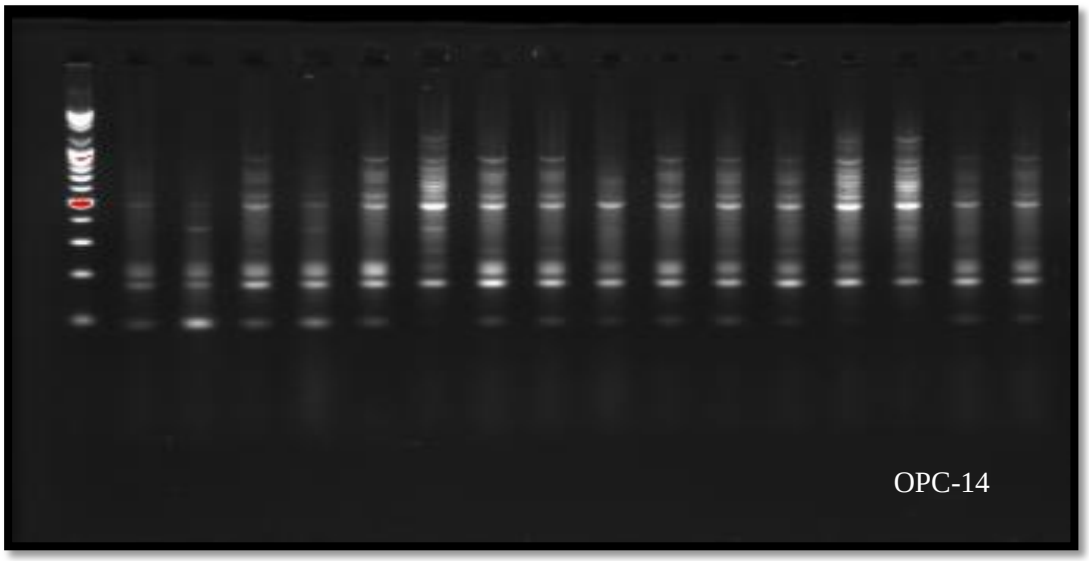
إن التباين في عدد الحزم الناتجة من كل زوج من البادئات المستخدمة يعتمد على مدى توافق إرتباط البادئ بجينوم النبات إعتمادا على مكونات كل بادئ من القواعد النيتروجينية إذ أن اي إختلاف في تسلسل قواعد البادئات المستخدمة يؤدي إلى إختلاف مواقع إرتباطها بجينوم النبات قيد الدراسة والذي يؤدي الى تباين أعداد الحزم الناتجة من البادئات المستخدمة (17). لذا فإن حدوث أي تغيير في تسلسل النيوكليوتيدات نتيجة الإضافة (Insertion ) أوالحذف (Deletion ) أو إعادة ترتيب (Rearrangement ) للنيوكليوتيدات في مجين الأفراد المدروسة لأي سبب كان كالتغيرات في الهيئة الكروموسومية Karyotypic change أو الطفرات النقطية (Point mutation) أو ألارتباط أو العبور

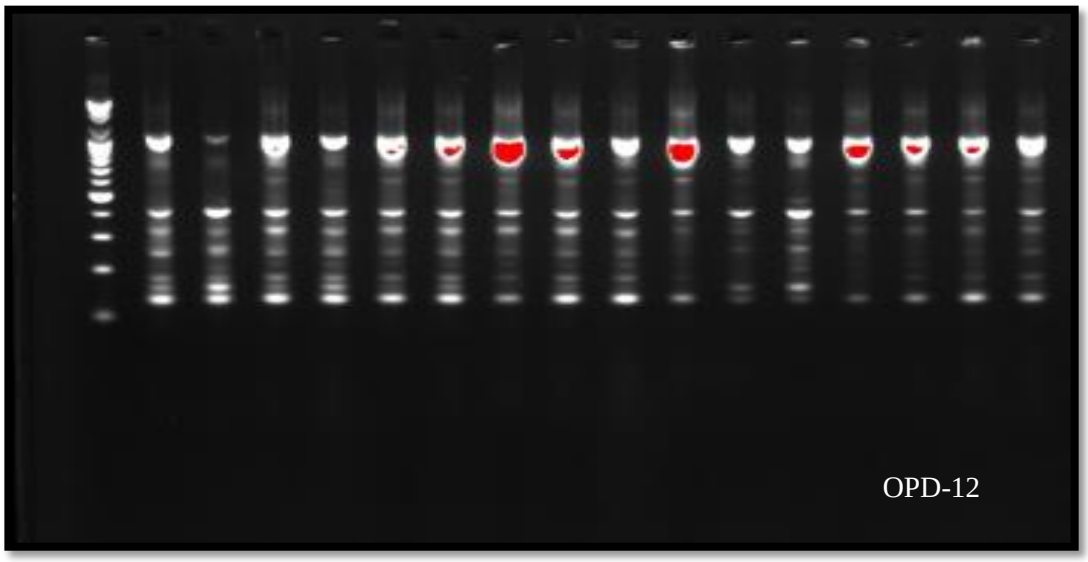
الجسمي (Somatic crossing over) أو بلمرة الدنا (DNA Amplification) أو مثيلة ( DNA Methylation) أو وجود ما يعرف بالجينات القافزة (Transposable elements) أو التغيير في دنا العضيات (Change in organelles DNA ) وأن حدوث واحد أو اكثر من هذه التغيرات يسبب تغييراً في مواقع ألارتباط بالبادئ، ومن ثم يؤدي إلى تغير حجم القطعة المتضاعفة مما يؤدي إلى ظهور هذه الحزم المتباينة, أو غيابها في مواقع محددة على الهلام, وهذا التباين في عدد الحزم الناتجة من البادئات المستخدمة قد أعطى تعددية شكلية بين الحزم الناتجة لجميع نباتات المعاملات قيد الدراسة (18) وقد أثبتت هذه البادئات كفائتها في الكشف عن التغايرات الوراثية بين النباتات المدروسة بالأعتماد على مؤشراتRAPD .

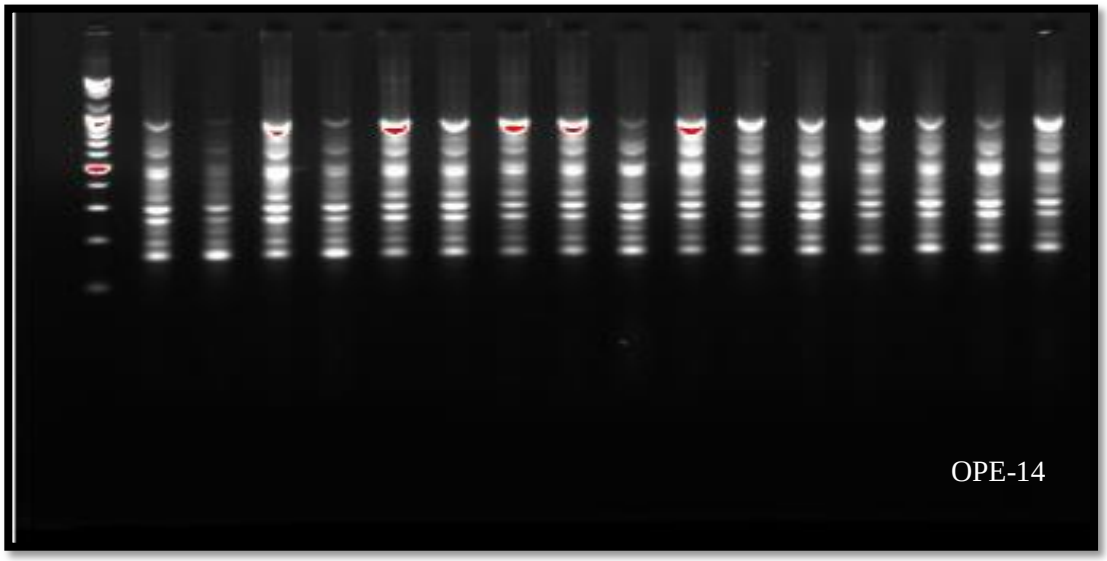
**الجدول2 . أعداد الحزم الكلية والمتباينة والمميزة وكفاءة البادئات والقوة التشخيصية الناتجة من تفاعل بلمرة 7 بادئات وباستخدام التضاعف العشوائي الكامل لسلسلة الـ DNA (RAPD) لمعاملات الصعق الكهربائي والصوديوم ازايد الستة العشرة على نبات الكلاديولس.**

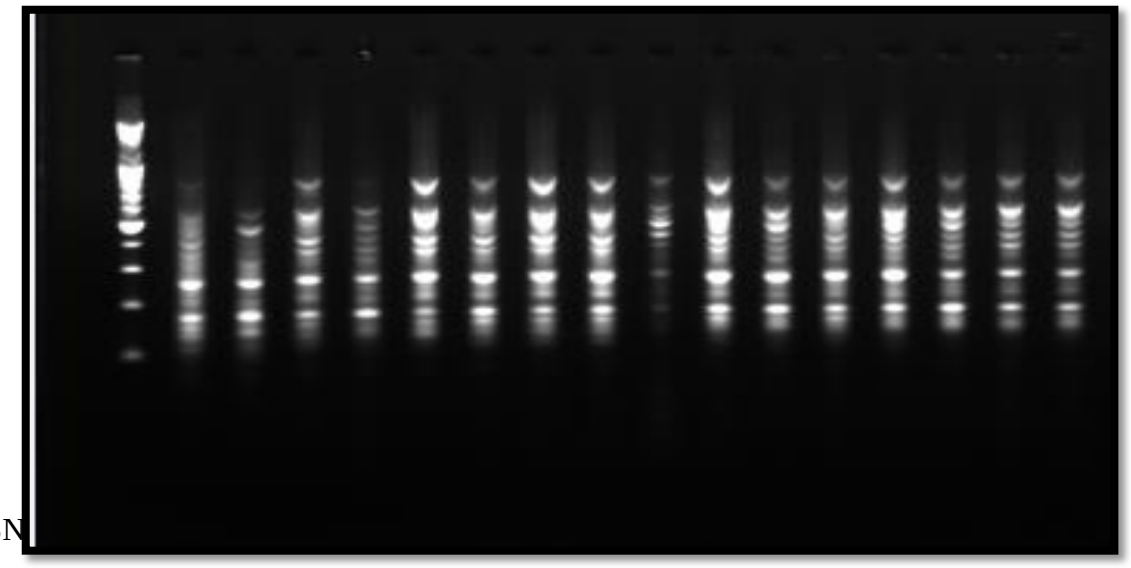
| البادئ | عدد الحزم الكلية | عدد الحزم المتشابهة | النسبة المئوية للحزم المتشابهة | عدد الحزم ذات التعدد الشكلي (المتباينة) | النسبة المئوية للحزم المتباينة | عدد الحزم المميزة | النسبة المئوية للحزم المميزة | كفاءة البادئ | النسبة المئوية للقوة التشخيصية للبادئ |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| OPB-18 | 16 | 1 | 6.25 | 9 | 56.25 | 6 | 37.5 | 9.1 | 7.3 |
| OPC14 | 23 | 1 | 4.34 | 18 | 78.26 | 4 | 17.39 | 13.2 | 14.7 |
| OPD12 | 26 | 1 | 3.84 | 20 | 76.92 | 5 | 19.23 | 14.9 | 16.3 |
| OPC12 | 23 | 1 | 4.34 | 17 | 73.91 | 5 | 21.73 | 13.2 | 13.9 |
| OPE14 | 30 | 3 | 10 | 19 | 63.33 | 8 | 26.66 | 17.2 | 15.5 |
| OPD16 | 29 | 2 | 6.89 | 19 | 65.51 | 8 | 27.58 | 16.6 | 15.5 |
| OPD-8 | 27 | 0 | 0 | 20 | 74.07 | 7 | 25.92 | 15.5 | 16.3 |
| المجموع | 174 | 9 | | 122 | | 43 | | 99.7 | 99.5 |
| المعدل | 24.85 | 1.28 | | 17.42 | | 6.14 | | | |

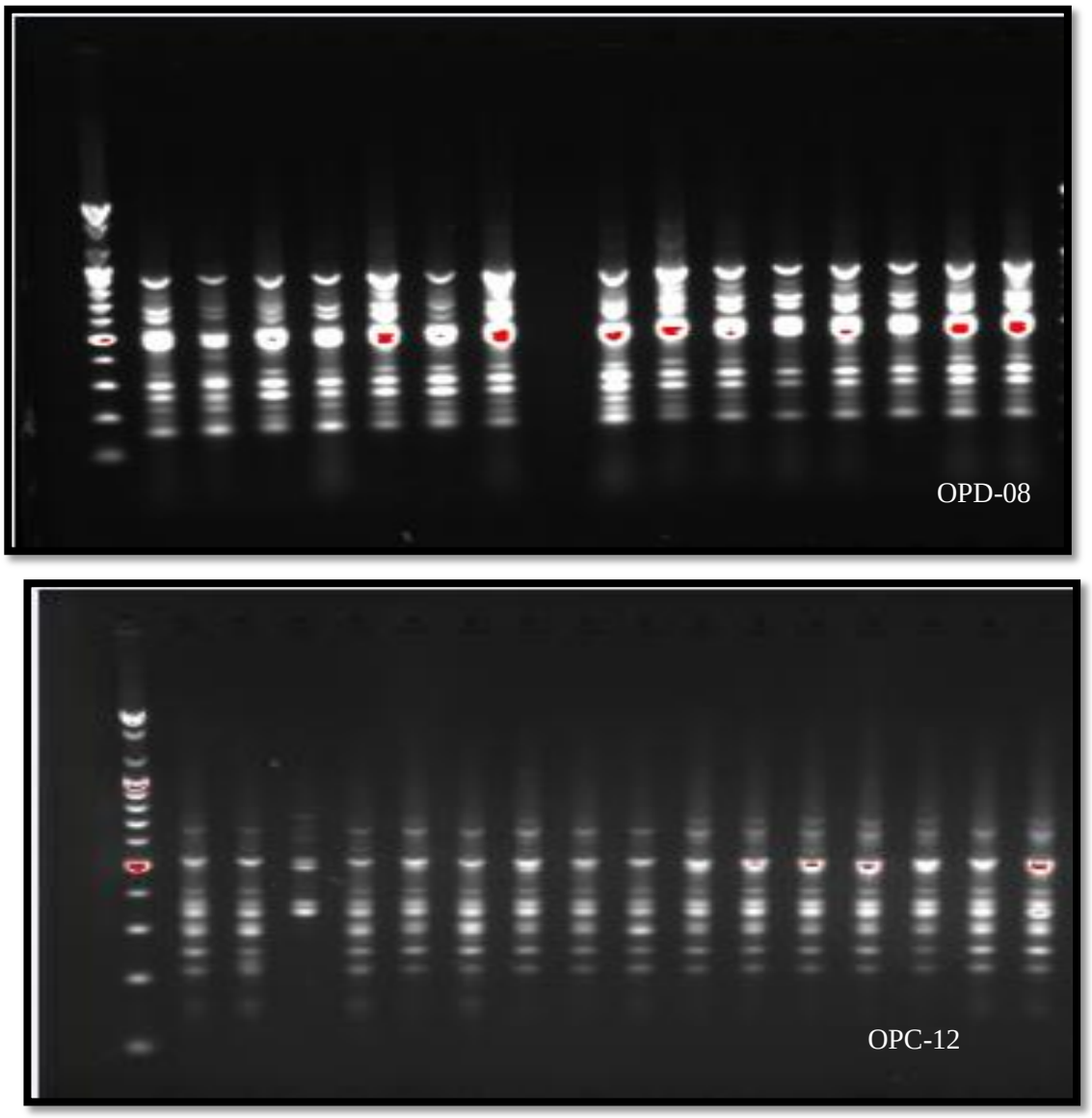

OPB-18


OPC-14


OPD-12


OPE-14






**الشكل 1 .نواتج الترحيل الكهربائي لتفاعل البلمرة المتسلسل PCR على هلام الاكاروز بتركيز 1.5% باستعمال البادئات OPB-18 , OPC-14 , OPD-12 , OPC-12 , OPE-14 , OPD-16 , OPD-08. لنباتات الكلاديولس المعاملة بالصعق الكهربائي والصوديوم ازايد وتداخلاتها.**

بينت نتائج تفاعلات RAPD إختلافات في عدد الحزم المتضاعفة وأوزانها الجزيئية بأختلاف البادئ المستخدم والناتجة من إلاختلاف في عدد المواقع المكملة لذلك البادئ في جينوم كل نبات من النباتات المعاملة بالصعق الكهربائي أو الصوديوم ازايد والتداخل بينهما شكل1 . أُعتمدت طريقة تحليل نتائج دراسة العلاقة الوراثية على وجود أو غياب الحزم الناتجة من تضاعف قطع معينة من جينوم النباتات المستخدمة وعلى الأوزان الجزيئية لتلك الحُزم التي تعتمد على العدد والمواقع المكملة لتسلسلات البادئات على شريط DNA القالب,أُهملت الحُزم الخفيفة جداً وهذا يتفق مع Swoboda و Bhalla (22) و Baron وآخرون(16). أُستخدمت نسبة البعد الوراثي Genetic distance بين نباتات المعاملات بأعتماد نتائج البادئات المستخدمة في تقدير نسبة البعد الوراثي بين نباتين من النباتات المنتخبة وبين كل نبات منتخب ونبات القياس والموصوفة من قبل Neiو Li , (21) والتي تستند على وجود الحزم المشتركة بين زوج من تلك النباتات .

يلاحظ من نتائج جدول3 وجود إختلافات وراثية بين النباتات المعاملة كورماتها بالمجال الكهربائي والصوديوم ازايد فيما بينها ومعاملة القياس، إذ أعطت معاملات الصعق الكهربائي أعلى نسبة مئوية للتغاير الوراثي في النباتات التي عرضت كورماتها لشدة تيار 15 أمبير بلغت 0.54% مقارنة بمعاملة القياس , وأقل تغاير وراثي كان في نباتات المعاملة A10 وبلغ 0.44% مقارنة بمعاملة القياس ، أما عند معاملة كورمات الكلاديولس بالصوديوم ازايد فيبين جدول البعد الوراثي ان نباتات المعاملة SA1500 أعطت أكبر بعد وراثي بلغ 0.44% مقارنة بمعاملة القياس على العكس من نباتات المعاملة SA1000 التي أعطت أقل بعد وراثي عن نباتات القياس وبلغ 0.39% , أما لمعاملات التداخل بين الصعق الكهربائي والصوديوم ازايد فقد تميزت المعاملتان SA1000 x A5 و SA500 x A15 بأعطاء اعلى بعد وراثي عن معاملة القياس وبلغ 0.52% , بينما بلغ اقل بعد وراثي 0.45% بين نباتات المعاملة SA1500 x A5 ونباتات المقارنة .

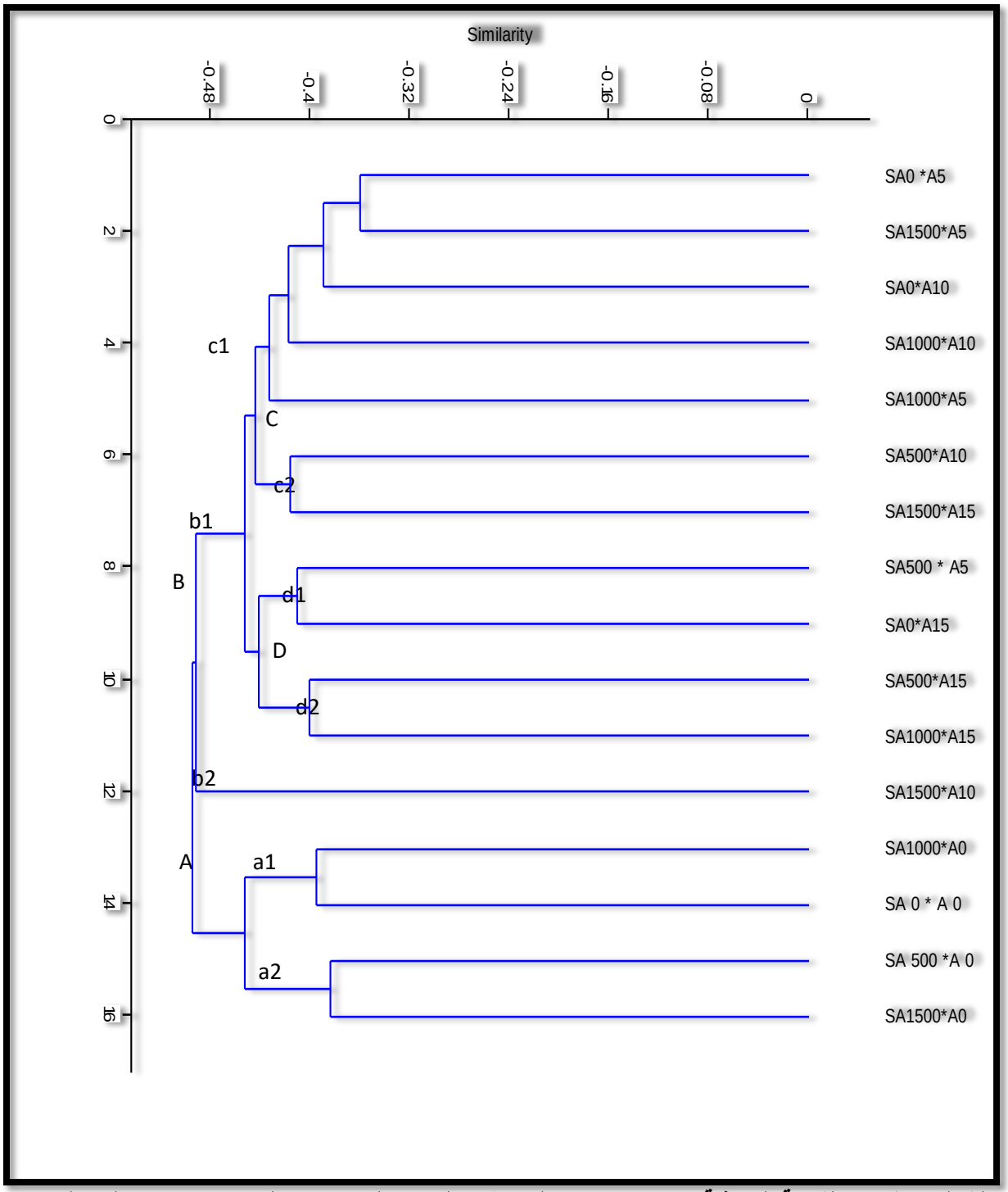
اما فيما يخص البعد الوراثي بين جميع معاملات الصعق الكهربائي والصوديوم ازايد فقد بلغ اعلى بعد وراثي 0.56% بين نباتات المعاملتين ( SA0 x A15 ) X ( SA500 x A0 ) بينما بلغ اقل بعد وراثي 0.36% بين نباتات المعاملتين ( SA1500 x A5 ) X ( SA0 x A5 ) وتوزعت باقي التداخلات بين هذى المدى من البعد الوراثي (جدول3) .

يُظهر مخطط الشجرة للعلاقة الوراثية Dendogram المعتمد على نتائج مؤشرات RAPD بأستعمال برنامج PAST وبالأعتماد على مقياس Euclidean Similarity index ( شكل 2) إن معاملات الصعق الكهربائي والصوديوم ازايد والتداخل بينهما قسمت على مجموعتين رئيسيتين A و B , ضمت المجموعة A معاملات الصوديوم ازايد الثلاثة بالأضافة إلى معاملة المقارنة مما يشير إلى إنخفاض التغاير الوراثي نتيجة المعاملة بالصوديوم ازايد مقارنتاً بالصعق الكهربائي كونها كانت قريبة جداً من معاملة القياس في شجرة القرابة الوراثية , أما المجموعة Bضمت باقي المعاملات المتكونه من معاملات الصعق

الكهربائي الثلاثة بالأضافة إلى معاملات التداخل بين الصعق الكهربائي والصوديوم ازايد (شكل2). قسمت المجموعة الرئيسية A على مجموعتين ثانويتين a1 و a2 ضمت المجموعة a1 معاملة القياس ومعاملة الصوديوم ازايد 1000 جزء بالمليون أما المجموعة الثانوية a2 فضمت معاملتا الصوديوم ازايد 500 و 1500 جزء بالمليون . أما المجموعة الرئيسية B فضمت بدورها مجموعتين ثانويتين هما b1 و b2 , ضمت المجموعة b1 أحد عشر معاملة انقسمت الى مجموعتين تحت الثانويه هي C و D أنقسمت المجموعة C الى مجموعتين اخرى هما c1 التي ضمت المعاملات( SA0 x A10 , SA1000 x A10 ) والمجموعة c2 التي ضمت المعاملتين ( SA0 x A5 , SA1500 x A5 , SA1500 x A15 ) , أما المجموعة تحت الثانويه D فضمت اربع معاملات انقسمت الى مجموعتين d1 و d2 احتوت على المعاملات ( SA0 x A15 , SA500 x A5 ) و ( SA500 x A15 , SA1000 x A15 ) على الترتيب , بينما أنفردت المعاملة SA1500 x A10 في المجموعة الثانوية b2 (شكل2).

**الجدول3 .البعد الوراثي (%) بين نباتات الكلاديولس المعاملة كورماتها بالمجال الكهربائي والصوديوم ازايد بالاعتماد على مؤشرات RAPD**

| SA1500*A10 | SA1000*A15 | SA500*A15 | SA0*A15 | SA1500*A15 | SA1000*A10 | SA500*A10 | SA0*A10 | SA1500*A5 | SA1000*A5 | SA500* A5 | SA0*A5 | SA1500*A0 | SA1000*A0 | SA 500*A 0 | SA0 * A 0 | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | | | | | | | | | | | 0.00 | SA 0 * A 0 |
| | | | | | | | | | | | | | | 0.00 | 0.43 | SA 500 *A 0 |
| | | | | | | | | | | | | | 0.00 | 0.49 | 0.39 | SA1000*A0 |
| | | | | | | | | | | | | 0.00 | 0.46 | 0.38 | 0.44 | SA1500*A0 |
| | | | | | | | | | | | 0.00 | 0.44 | 0.42 | 0.46 | 0.45 | SA0 *A5 |
| | | | | | | | | | | 0.00 | 0.44 | 0.51 | 0.48 | 0.51 | 0.49 | SA500 * A5 |
| | | | | | | | | | 0.00 | 0.43 | 0.42 | 0.50 | 0.48 | 0.53 | 0.52 | SA1000*A5 |
| | | | | | | | | 0.00 | 0.44 | 0.43 | 0.36 | 0.46 | 0.47 | 0.45 | 0.45 | SA1500*A5 |
| | | | | | | | 0.00 | 0.39 | 0.44 | 0.46 | 0.38 | 0.46 | 0.44 | 0.45 | 0.44 | SA0*A10 |
| | | | | | | 0.00 | 0.45 | 0.43 | 0.45 | 0.47 | 0.46 | 0.51 | 0.47 | 0.52 | 0.51 | SA500*A10 |
| | | | | | 0.00 | 0.42 | 0.41 | 0.41 | 0.43 | 0.43 | 0.43 | 0.48 | 0.50 | 0.53 | 0.51 | SA1000*A10 |
| | | | | 0.00 | 0.42 | 0.42 | 0.44 | 0.45 | 0.45 | 0.46 | 0.48 | 0.52 | 0.47 | 0.50 | 0.50 | SA1500*A15 |
| | | | 0.00 | 0.45 | 0.46 | 0.48 | 0.47 | 0.47 | 0.47 | 0.41 | 0.49 | 0.53 | 0.51 | 0.56 | 0.54 | SA0*A15 |
| | | 0.00 | 0.41 | 0.45 | 0.46 | 0.45 | 0.45 | 0.46 | 0.48 | 0.45 | 0.47 | 0.52 | 0.51 | 0.55 | 0.52 | SA500*A15 |
| | 0.00 | 0.40 | 0.44 | 0.45 | 0.44 | 0.42 | 0.41 | 0.42 | 0.45 | 0.47 | 0.46 | 0.47 | 0.50 | 0.50 | 0.50 | SA1000*A15 |
| 0.00 | 0.42 | 0.52 | 0.50 | 0.50 | 0.51 | 0.53 | 0.47 | 0.50 | 0.49 | 0.50 | 0.49 | 0.50 | 0.52 | 0.53 | 0.51 | SA1500*A10 |




**الشكل 2. شجرة القرابة الوراثية Dendogram لمعاملات الصعق الكهربائي والصوديوم ازايد والتداخل بينهما لنبات الكلاديولس المعتمدة على نتائج تحليل مؤشرات RAPD**

يتضح من نتائج جدول البعد الوراثي (جدول3) ومخطط شجرة القرابة الوراثية (شكل2) أن معاملات الصعق الكهربائي أعطت تغايرات وراثية أكثر من معاملات الصوديوم ازايد حيث نلاحظ تجمع معاملات الصوديوم ازايد مع معاملة القياس في مجموعه واحدة في مخطط شجرة القرابة الوراثية بينما توزعت معاملات الصعق الكهربائي في مجاميع مختلفة وبعيدة عن معاملة القياس.

نستنتج مما تقدم انه يمكن اعطاء أكثر من تفسير يصح على كافة المؤشرات الكمية المقاسة في طبيعة تأثرها بالصعق الكهربائي والصوديوم ازايد وأحتمال إن التاثير كان في المستوى الجيني أو الجزيئي أو الوظيفي ، إلا إن االأستنتاج الواضح هو أن هناك تأثيراً معنوياً أيجابياً للصعق الكهربائي والصوديوم ازايد في زيادة معدلات قيم الصفات المقاسة وهذا يعني أن هذه التغايرات الوراثية ممكن أن تكون مادة جيدة لبرامج التربية اللاحقة ولاسيما التربية بالأنتخاب للصفات الجيدة الموجودة في النباتات ، فضلاً عما حققته هذه المعاملات من نشاط وظيفي للنباتات المعاملة كورماتها بالمجال الكهربائي والصوديوم ازايد إذ تفوق بعضها في صفات النمو الخضري والزهري والحاصل والكورمات مقارنة بنباتات القياس . يؤكد هذا أن المعاملة بالتيار الكهربائي والصوديوم ازايد أصبحت متغايرة وراثياً فأنعكس ذلك على نشاط النمو والحاصل, ومن الجدير بالذكر أنه ليس بالضرورة أن تكون النباتات التي لم تعط شكلاً مظهرياً غريباً انها ثابتة وراثيا وأنما قد تكون الطفرات الوراثية التي حدثت فيها من النوع Micro-Mutation التي لا تُحدث تأثيرا مباشرا وظاهراً في صفات الفرد ولاسيما عندما تكون في الصفات الكمية التي تتأثر بعدد كبير من الجينات ذات التأثير القليل في الصفة , وهنا يأتي دور مربي النبات في أستخدام طريقة الأنتخاب المستمر لهذه الصفات عبر الأجيال ليرفع مستواها الى أقصى حد.

**التباعد الوراثي بين النباتات الشاذة المنتخبة بأستخدام مؤشرات التضاعف العشوائي المتعدد الاشكال لسلسلة DNA ( RAPD )**

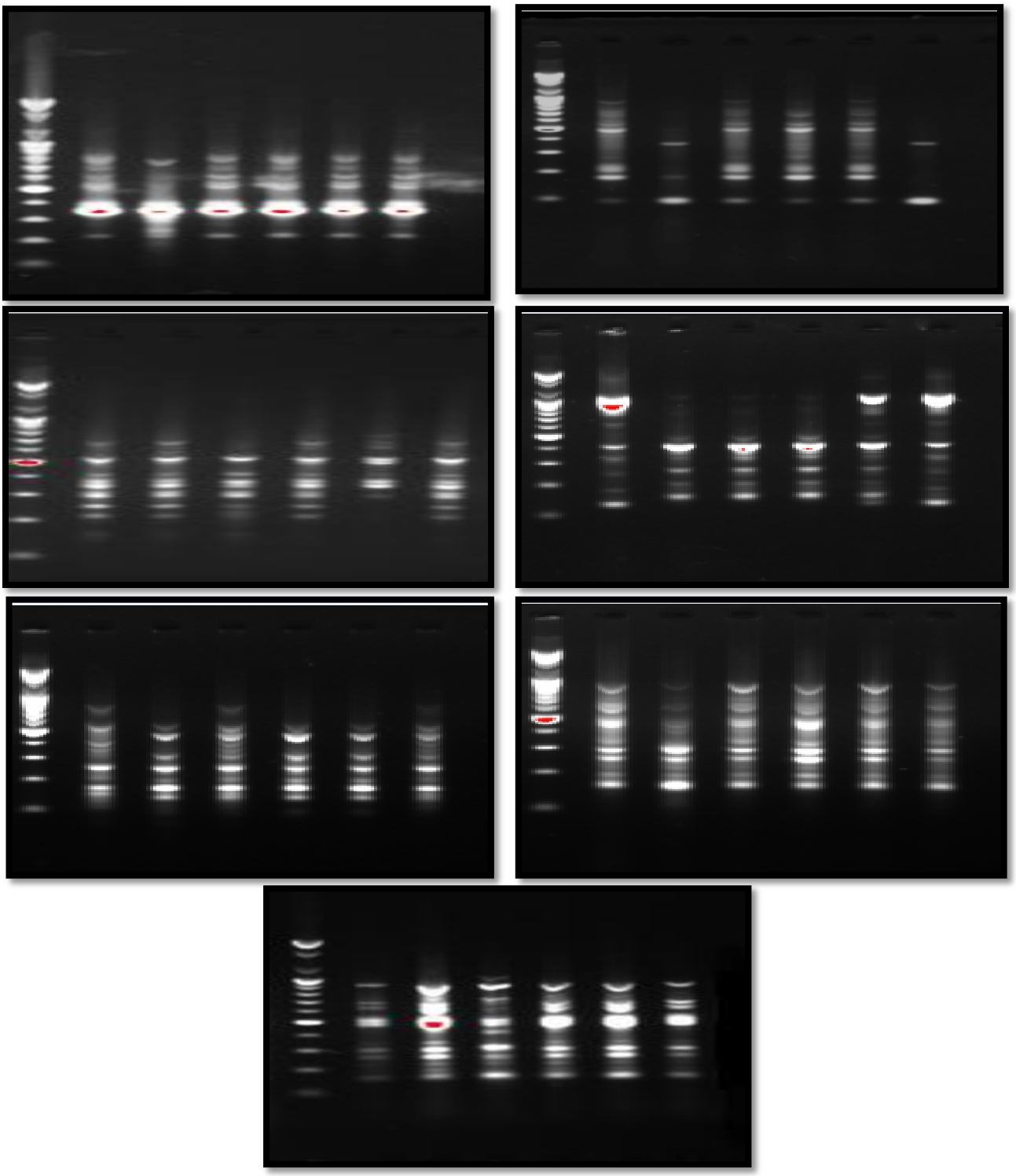
أُنتخب ستة نباتات كلاديولس تميزت بوجود تغايرات واضحة في شكلها المظهري فضلاً عن نبات القياس واجريت لها البصمة الوراثية بأُستخدم7 بادئات عشوائية لدراسة التوصيف الجزيئي للنباتات المنتخبة , أعطت حزم عند مضاعفتها مع الـ DNAالذي تم عزله من النباتات وترحيلها على هلام الاكاروز وهي (OPB-18 , OPC-14 , OPD-08 ) إذ تميزت هذه البادئات بقدرتها على كشف التباينات الوراثية وأظهرت البادئات اختلافاً في إظهار نواتج البلمرة بين النباتات المستخدمة في الدراسة (الشكل 3) .

يُظهر الجدول(4) أن البادئات العشوائية التي أُستخدمت في الدراسة أعطت 132 حزمة بمعدل 18.85 حيث أعطى البادئ OPD-08 أكثر عدد من الحزم بلغ 25 في حين أعطى البادئ OPB-18 أقل عدد من الحزم بلغ 14 وبلغ عدد الحزم الكلية المتشابهة 10 حزمة وبمعدل1.42 وكان البادئ OPE-14 أعطى اكثر عدد من الحزم المتشابهة ليصل 4 حزمة وبأعلى نسبة مئوية لنفس البادئ بلغ 21.05% بينما أعطت البادئات-OPD , OPD-08

OPB-18 , 12 أقل عدد من الحزم المتشابهة 0 حزمة وبأقل نسبة مئوية بلغ 0% ,أماعدد الحزم ذات تعدد شكلي Polymorphic bands بلغ 73 حزمة وبمعدل بلغ 10.42 للمعاملات الشاذة المدروسة بين الجدول ان البادئان OPD-08 و OPD-12 قد أعطا أكثر عدد من الحزم بلغ 15 حزمة بينما أعطى البادئان OPC-14 وOPB-18 أقل عدداً من الحزم 8 حزمة , وحقق البادئ OPD-12 أعلى نسبة مئوية للحزم المتباينة بلغ 65.21% بينما أقل نسبة مئوية للبادئ OPC-12 وبلغ 33.33% , أما عن عدد الحزم الكلية المميزة Unique بلغت 49 حزمة بمعدل7 أذ أعطى البادئانOPC-12 , OPD-08 أكثر عدد من الحزم المميزة بلغت10حزمة فيما أعطى البادئ OPE-14 أقل عدد حزم مميزة 4 حزم وبأقل نسبة مئوية للحزم المميزة بلغت 21.05% بينما البادئ OPC-12 أعطى أعلى نسبة مئوية لتبلغ55.55%, وبلغت أعلى كفاءة للبادئ OPD-08 18.9% بينما أقل كفاءة للبادئ OPB-18 بلغت 10.6% , في حين أعطى البادئان OPD-12 و OPD-08 أعلى نسبة مئوية للقوة التشخيصية بلغت 20.5% بينماأعطى البادئOPC-12 أقل نسبة مئوية للقوة التشخيصية بلغت 8.2% .

**الجدول4. أعداد الحزم الكلية والمتباينة والمميزة وكفاءة البادئات والقوة التشخيصية الناتجة من تفاعل بلمرة 7 بادئات وباستخدام التضاعف العشوائي الكامل لسلسلة الـ DNA (RAPD) لنباتات الكلاديولس الشاذة نتيجة الصعق الكهربائي والصوديوم ازايد.**

| البادئ | عدد الحزم الكلية | عدد الحزم المتشابهة | النسبة المئوية للحزم المتشابهة | عدد الحزم ذات التعدد الشكلي (المتباينة) | النسبة المئوية للحزم المتباينة | عدد الحزم المميزة | النسبة المئوية للحزم المميزة | كفاءة البادئ | النسبة المئوية للقوة التشخيصية للبادئ |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| OPB-18 | 14 | 0 | 0 | 8 | 57.14 | 6 | 42.85 | 10.6 | 10.9 |
| OPC14 | 15 | 1 | 6.66 | 8 | 53.33 | 6 | 40 | 11.3 | 10.9 |
| OPD12 | 23 | 0 | 0 | 15 | 65.21 | 8 | 34.78 | 17.4 | 20.5 |
| OPC12 | 18 | 2 | 11.11 | 6 | 33.33 | 10 | 55.55 | 13.6 | 8.2 |
| OPE14 | 19 | 4 | 21.05 | 11 | 57.89 | 4 | 21.05 | 14.3 | 15.0 |
| OPD16 | 18 | 3 | 16.66 | 10 | 55.55 | 5 | 27.77 | 13.6 | 13.6 |
| OPD-8 | 25 | 0 | 0 | 15 | 60 | 10 | 40 | 18.9 | 20.5 |
| المجموع | 132 | 10 | | 73 | | 49 | | 99.7 | 99.6 |
| المعدل | 18.85 | 1.42 | | 10.42 | | 7 | | | |



**الشكل 3. نواتج الترحيل الكهربائي لمؤشراتRAPD لنباتات الكلاديولس الشاذة**

إن التباين في عدد الحزم الناتجة من كل زوج من البادئات المستخدمة يعتمد على مدى توافق إرتباط البادئ بجينوم النبات إعتمادا على مكونات كل بادئ من القواعد النيتروجينية إذ أن إختلاف في تسلسل قواعد البادئات المستخدمة يؤدي إلى إختلاف مواقع إرتباطها بجينوم النبات قيد الدراسة والذي يؤدي الى تباين أعداد الحزم الناتجة من البادئات المستخدمة (17). لذا فإن حدوث أي تغيير في تسلسل النيوكليوتيدات نتيجة الإضافة Insertion ،أوالحذفDeletion، أو إعادة ترتيب Rearrangement للنيوكليوتيدات في مجين الأفراد المدروسة لأي سبب كان كالتغيرات في الهيئة الكروموسومية Karyotypic change أو الطفرات النقطية Point mutation أو ألارتباط أو العبور الجسمي Somatic crossing over، أو بلمرة الدنا DNA Amplification، أو مثيلة DNA Methylation أو وجود ما يعرف بالجينات القافزة Transposable elements أو التغيير في دنا العضيات Change in organelles DNA ، وأن حدوث واحد أو اكثر من هذه التغيرات يسبب تغييراً في مواقع ألارتباط بالبادئ، ومن ثم يؤدي إلى تغير حجم القطعة المتضاعفة مما يؤدي إلى ظهور هذه الحزم المتباينة, أو غيابها في مواقع محددة على الهلام, وهذا التباين في عدد الحزم الناتجة من البادئات المستخدمة قد أعطى تعددية شكلية بين الحزم الناتجة لجميع الأصناف قيد الدراسة (18).

تبين من نتائج مؤشرات RAPD وجود أختلافات واضحة بين النباتات المنتخبة في عدد حزم DNA المتضاعفة ومواقعها .بعد تحويل هذه النتائج التوصيفية إلى بيانات رقمية وتحليلها أحصائياً من خلال البرنامج المخصص لهذا الغرض للحصول على النسب المئوية للبعد الوراثي وكما موضح في جدول(5).

ويشير الجدول نفسه إلى وجود أختلافات في نسبة البعد الوراثي بين النباتات المنتخبة ونباتات القياس ، أذ أعطى المتغاير C أعلى تباعد وراثي بلغ 0.55% عن نبات القياس T نتيجة المعاملة بالصعق الكهربائي والصوديوم ازايد ( SA1500 ×A5 ) أنعكس هذا التغاير الوراثي على الشكل المظهري للنبات إذ أعطى نورات زهرية غير منتظمة وحامل زهري طويل جداً (جدول6 ) أي يمكن إعتبارها أزهار قطف جيدة تعطي حرية في تنسيق الزهور لطول حاملها الزهري ، كما أعطى المتغاير E بعد وراثي بلغ 0.53% عن نباتات القياس ( جدول 5 ) نتيجة المعاملة بالصعق الكهربائي والصوديوم ازايد ( SA1000 x A10 ) مما جعل هذا النبات يختلف عن باقي النباتات في الصفات المظهرية حيث تميزت الاوراق ببروز الخطوط الموجودة فيها وبشكل متعرج وتلونت ألازهار باللون الابيض بالأضافة للون الاحمر(جدول6)مما يشجع على متابعة صفة تلون الازهار بالأبيض للأجيال اللاحقة وأعتمادها كصفة جديدة .

تشابهت المتغايرات A وD و F بالنسبة المئوية للبعد الوراثي وبلغت 0.52% عن نباتات المقارنة (جدول5) نتيجة المعاملة بالصعق الكهربائي والصوديوم ازايد ( SA1000×A0 و SA0 × A10 و SA1000×A15 ) على الترتيب, مما انعكس هذا البعد الوراثي على الشكل المظهري لهذه المتغايرات حيث تميز المتغاير A بأن الحامل الزهري قصير وتلون بتلات الازهار باللون الابيض مع الاحمر والتواءات كثيرة لحواف الاوراق , اما المتغاير D فتميز بتوزيع الزهيرات على جهتي الحامل الزهري (من المعروف ان زهرة الكلاديولس لها وجه عرض واحد) مما أعطى صفه جديدة مميزه للنورات الزهرية بالأمكان أسخدامها في أغلب تنسيقات الزهور خصوصاً التي يمكن مشاهدتها من جميع الأتجاهات , بينما لم يعطي المتغاير F نورة

زهرية ولكن أعطى مجموع خضري كبير جداً( جدول 6).

اعطى المتغاير B اقل بعد وراثي عن باقي المتغايرات مقارنتا بمعاملة القياس وبلغ 0.51% نتيجة المعاملة بالصعق الكهربائي عند الشدة 5 امبير (جدول5) فأدت هذه المعاملة الى تقزم النبات والاوراق مجعده وقلة المجموع الخضري لكن كثافة في الازهار وطول الشمراخ الزهري مما يسمح لهذا النبات للزراعة في الحداق كنباتات احواض زهور .

أما بالنسبة للبعد الوراثي بين جميع النباتات المتغايرة ومعامله المقارنة (جدول5 ) فقد بلغ أعلى بعد وراثي 0.55% بين المعاملة ( SA1500 × A5 ) ومعاملة القياس بينما بلغ أقل بعد وراثي 0.39% بين المعاملتين ( SA1500 × A5 ) و ( SA0 × A10 ) والمعاملتين ( SA0× A10 ) و ( SA1000×A10 ) وتوزعت باقي نسب البعد الوراثي بين هذا المدى.

**الجدول5 .البعد الوراثي (%) بين نباتات الكلاديولس الشاذة المعاملة كورماتها بالمجال الكهربائي والصوديوم ازايد بالاعتماد على مؤشرات RAPD**

| رمز المتغاير | المعاملة | SA0* A0 | SA1000* A0 | SA0* A5 | SA1500* A5 | SA0* A10 | SA1000* A10 | SA1000* A15 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Con. | SA0*A0 | 0.00 | | | | | | |
| A | SA1000*A0 | 0.52 | 0.00 | | | | | |
| B | SA0*A5 | 0.51 | 0.44 | 0.00 | | | | |
| C | SA1500*A5 | 0.55 | 0.43 | 0.45 | 0.00 | | | |
| D | SA0*A10 | 0.52 | 0.47 | 0.42 | 0.39 | 0.00 | | |
| E | SA1000*A10 | 0.53 | 0.47 | 0.44 | 0.40 | 0.39 | 0.00 | |
| F | SA1000*A15 | 0.52 | 0.47 | 0.42 | 0.46 | 0.49 | 0.43 | 0.00 |

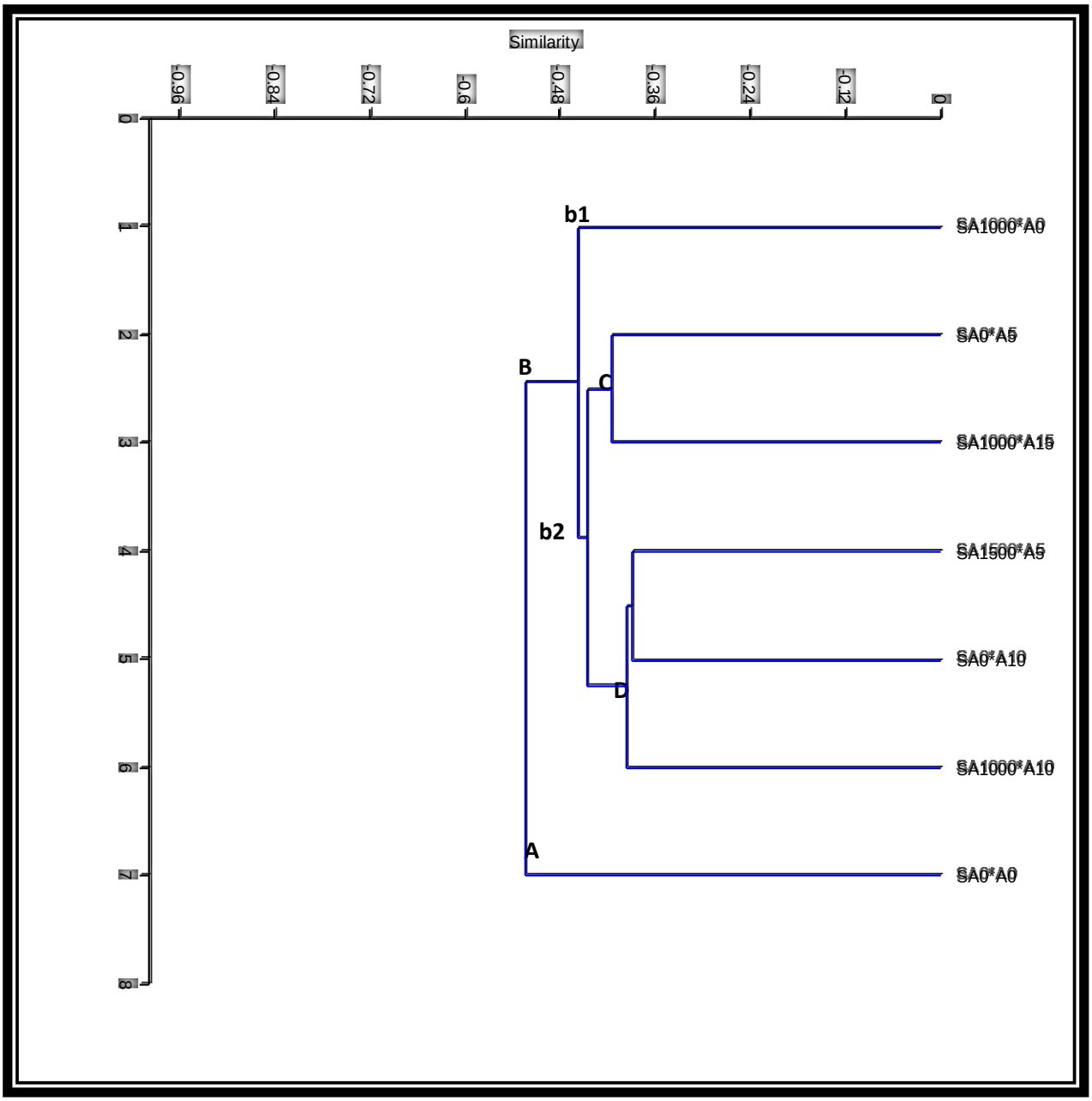
**الجدول6. بعض الصفات المقاسة لمتغايرات الكلاديولس المعاملة بالصعق الكهربائي والصوديوم ازايد والمنتخبة على اساس أختلاف شكلها المظهري عن نباتات القياس.**

| رمز النبات الشاذ | موعد البزوغ (يوم) | أرتفاع النبات (سم) | عدد النموات للكورمة الواحدة (نبات. كورمة$^{-1}$) | المساحة الورقية (سم$^2$) | موعد التزهير (يوم) | قطر الزهيرة (سم) | عدد الزهيرات في النورة الزهرية (زهيرة. نورة$^{-1}$) | طول النورة الزهرية (سم) | طول الحامل الزهري (سم) | صفات عامة |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| A | 10 | 117 | 2 | 445.14 | 90 | 12 | 9 | 35 | 38 | الحامل الزهري قصير.تلون بتلات الازهار باللون الابيض مع الاحمر. التواءات كثيرة لحواف الورقة |
| B | 17 | 35 | 2 | 280.5 | 82 | 11.2 | 15 | 42 | 35 | النبات متقزم.الاوراق مجعدة المجموع الخضري صغير.كثير الازهار |
| C | 17 | 146 | 2 | 255.46 | 95 | 10.5 | 8 | 37 | 56 | النبات نموه طبيعي. شكل النورة الزهرية غير منتظم بالاضافة الى انحناءات الحامل الزهري لطوله .النبات طويل |
| D | 13 | 133 | ----- | 276.48 | 84 | 12 | 13 | 40 | 41 | وجود الازهار على جهتي الحامل الزهري . |
| E | 23 | 128 | ----- | 477.79 | 87 | 12 | 11 | 35 | 41 | الخطوط العريضة الموجودة في نصل الورقة على شكل تعاريج مع ظهور اللون الابيض مع الاحمر بالبتلات |
| F | 28 | 131 | ------ | 398.77 | | | | | | مجموع خضري كبير،لم يكون نورات زهرية |

يُظهر مخطط الشجرة للعلاقة الوراثية Dendogram للنباتات الشاذة ( شكل 4 ) أن النباتات المتغايرة الستة بالأضافة إلى معاملة المقارنة قسمت على مجموعتين رئيسيتين A و B , حيث إنفردت معاملة المقارنة في المجموعة A بينما ضمت المجموعة B جميع النباتات المتغايرة وهذا يبين إن هذه النباتات إبتعدت وراثياً بشكل كبير عن نباتات المقارنة نتيجة المعاملة بالصعق الكهربائي والصوديوم ازايد . أنقسمت المجموعة B إلى مجموعتين ثانوية هي b1 و b2 حيث إنفرد المتغاير المعاملة كورماته بالصوديوم ازايد بتركيز 1000جزء بالمليون , بينما ضمت المجموعه b2 باقي النباتات المتغايرة التي إنقسمت بدورها إلى مجموعتين C و D حيث ضمت المجموعه C المتغايران ( SA1000 × A15 ) و ( SA0 × A5 ) أما المجموعة D فضمت المتغايرات الثلاثة الباقية ( SA1500 ×A5 ) و ( SA0 × A10 ) و ( SA1000×A10 ) .

يرجع التباعد الوراثي الموضح في جدول(5) وشجرة العلاقة الوراثية (شكل4) للنباتات الشاذه إلى فعالية الصوديوم ازايد في إحداث التغايرات الوراثية فهو أداة فعالة تعمل على إحداث طفرات مؤثرة في الجينوم النباتي مما يسهم في تحسين أو تثبيط الصفات الخضرية والزهرية والنوعية والمقاومة للأمراض وكذلك الأجهادات البيئية ( 14 و 15 ) , أيضاً فأن للصعق الكهربائي تأثير واضح في إحداث التغايرات الوراثية في النباتات من خلال العديد من الدراسات التي أُجريت وأُختبرت النباتات المعاملة على المستوئ الجزيئي حيث أُستخدمت تقانات RAPD و RFLP و SSR وهذا يتفق مع حسين (11) والسامرائي ( 4) وعمران (12 ) . وفي هذه الدراسة أُستخدم الخلط بين نوعين من المطفرات الفيزيائية المتمثل بالصعق الكهرباي والمطفر الكيميائي المتمثل بالصوديوم ازايد حيث أظهر نتائج مهمة من خلال الصفات المتميزة لبعض النباتات الشاذة المنتخبة, وتُبين النتائج مدى فاعلية تقانة RAPD –PCR في الكشف عن التغايرات التي تحدُثها المطفرات الفيزياوية والكيمياوية في إحداث التباين على مستوى DNA من خلال حدوث طفرات نقطية Point mutation سواء كانت طفرات حذف أو حشر أو إعادة تنظيم الكروموسومات.

من بين أهم الملاحظات التي سُجلت في هذه الدراسة هو عدم تكوين الأزهار في النباتات التي عوملت كورماتها بالصعق الكهربائي بشدة 15 امبير وهي تعتبر صفه غير جيدة في حال رغبة المربي أنتاج أزهار قطف ولكنها تعتبر صفة ممتازه في حال رغبة المربي لأنتاج الكورمات حيث أعطت النباتات الغير مزهرة أنتاج عالي للكورمات والكريمات وبذلك توفر هذه المعامله الجهد والمال والوقت حيث يقوم المزارع بالعادة الى إزالة البراعم الزهرية عند بداية ظهورها يدوياً او ميكانيكياً لتوجيه النبات للأنتاج الكورمي الجيد .




**الشكل 4. شجرة القرابة الوراثية Dendogram لنباتات الكلاديولس الشاذه المعتمدة على نتائج تحليل مؤشرات RAPD**

**المصادر**


1- الجبوري ، كاظم ديلي حسن وجنان قاسم حسين وسامي كريم محمد أمين .2009. التغايرات الوراثية للشبوي الناتجة عن الصعق الكهربائي باستخدام تقانةRAPD . مجلة العلوم الزراعية العراقية 40 (5) : 111 - 121.

2- الجلبي، سامي كريم ونسرين خليل الخياط . 2013. نباتات الزينه في العراق. وزارة التعليم العالي والبحث العلمي- جامعة بغداد. المدار الجامعية للطباعة والنشر والترجمة .جمهورية العراق.

3- السامرائي . سارة خليل أبراهيم .2010 . قوة الهجين وقابلية الائتلاف في قرع الكوسة واستجابته للصعق الكهربائي. رسالة ماجستير. كلية الزراعة . جامعة بغداد.ص.136 .

4- الساهوكي , مدحت مجيد وحميد جلوب علي ومحمد غفار احمد.1983. تربية وتحسين النبات . جامعة بغداد . وزارة التعليم العالي والبحث العلمي .العراق .ع ص484.

5- الساهوكي ، مدحت مجيد .1992. تقويم طوافر فول الصويا مستحدثة بطريقة الصعق الكهربائي . مجلة العلوم الزراعية العراقية .22(2): 99-105.

6- الساهوكي ، مدحت وكريمة محمد وهيب. 1990 .تطبيقات في تصميم وتحليل التجارب,جامعة بغداد.وزارة التعليم العالي والبحث العلمي ,العراق. ص 480.

7- الكمر , ماجد خليف .1999. تربية النباتات البستنية .مكتبة دار الخليج , عمان .الاردن.ع ص455.

8- حسين، جنان قاسم .2011.البعد الوراثي لانواع الورد باستخدام RAPD .مجلة العلوم الزراعية العراقية . 42 (2):71-79.

9-حسين , جنان قاسم ,كاظم ديلي وسامي كريم محمد امين.2008. تاثير الصعق الكهربائي في DNA نبات حلق السبع.مجلة العلوم الزراعية العراقية.39(5):38-51.

10- حسين ،جنان قاسم . 2007. تأثير الصعق الكهربائي في تغايرات النمو الخضري والزهري وDNA بعض نباتات الزينة. اطروحة دكتوراه. كلية الزراعة . جامعة بغداد.ص207.

11- عمران ، وفاء هادي حسون .2014 . دور بعض العوامل الفيزياوية في مؤشرات الانبات والنمو والحاصل في الفلفل الحلو . اطروحة دكتوراه . كلية الزراعة . جامعة بغداد. العراق.

12- نوفل ، امام محمد صابر ومصطفى عاطف الحمادي. 2007. تداول ازهار القطف ونباتات الزينه منشأه المعارف/ الاسكندرية – جمهورية مصر العربية 327 P.

13- Adebola, M.O. 2013.Mutagenic effect of sodium azide (NaN3) on morphologic characteristics of tomato *Lycopersicum esculentum*. The international journals. R JSITM. 2 (4):1-5.

14- Al-Qurainy, F. and S.Khan.2009 . Mutagenic effect of sodium azide an its application in crop improvement .World Applied Sciences Journal, 6(12)1589-1601.

15- Barone, A., A. Sebastiano and D. Carputo. 1999. Chromosome pairing in *Solanum commersonii, S. tuberosum* sexual hybrids detected by commersonii –specific RAPDs and cytological analysis. Genome 42: 218 –224.

16- Becker, J., P. Vos, M. Kuiper, F. Salamini and M. Heum .1995. Combined mapping of AFLP and RFLP markers in barley. Mol.Gen. Genet., 249: 65-73.

17- Brar, D. S. and Jain, S. M. 1998. Somaclonal Variation: Mechanism and Applications In Crop Improvement. In: Somaclonal variation and induced mutations in crop improvement. (Eds.): S.M. Jain, D.S. Brar and B.S. Ahloowalia. Kluwer Academic. London:15-37

18- El-Shennawy, Ola A. 1994. Mutagenic effects of diethyl sulphate and sodium azide on gladioli. Journal of Agricultural Science ,Mansoura University. Vol. 19, No. 12. 4525 – 4532.

19- Hammer,O., D.A.T. Harper and P.D. Ryan .2001. PAST : Palaeontological statistics software package for education and analysi.Paleontologia Eletronica ,4(1):1-9.

20- Nei, M. and W.H. Li .1979. Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases. Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 74:5269 – 5273.

21- Swoboda, I. and P. L. Bhalla .1997. RAPD analysis of genetic variation in the Australian sun flower Scaevola. Genome, 40: 600 – 606.

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