# التوصيف الجزيئي باستخدام التضاعف العشوائي المتعدد الاشكال لسلسلة DNA لعشرة اصناف من العنب (*Vitis vinifera* L.)

**حنان علي كريم د. علي سعيد عطية الجنابي**
**كلية الزراعة / جامعة الكوفة / جمهورية العراق**

**الخلاصة :**
اجريت هذه الدراسة في مختبر الاحياء المجهرية و التقانات الاحيائية - قسم الانتاج الحيواني - كلية الزراعة - جامعة القاسم الخضراء للموسمين 2015 و 2016 م ،على عشرة اصناف من العنب هي (ديس العنز ، حلواني ، شدة بيضاء ، شدة سوداء ، كمالي ، بيض الحمام ، تركي ، فرنسي ، مكاوي و صلاحي ) وتم جمع العينات لعشرة اصناف عنب من ثلاثة مواقع (مناطق) مختلفة قضاء الهاشمية/ بابل ، البو عيسى/ نجف و المناذرة / نجف وذلك لدراسة التشابه والتباعد الوراثي بين الاصناف باستخدام مؤشر تفاعل التضاعف العشوائي المتعدد الاشكال لسلسلة الدنا(RAPD) ، واستخدم 14 بادئ عشوائي في دراسة تفاعل التضاعف العشوائي المتعدد الاشكال لسلسلة الدنا (RAPD). اظهرت البادئات العشوائية المستخدمة في الدراسة فعالية في اظهار التعدد الشكلي للحزم بين الاصناف باستثناء البادئ (OPA1) الذي لم يُظهر نتائج اما بقية البادئات فقد انتجت 161 حزمة وكان منها 101 حزمة متعددة الاشكال (متباينة) Polymorphic bands ، 27 حزمة مميزة Unique و 33 حزمة موحدة Monomorphic bands واعطى البادئ P123 اعلى نسبة مئوية للحزم المتباينة بلغت 80% اما البادئ OPO19 فقد اعطى اقل نسبة مئوية للحزم المتباينة بلغت 23.07% على الرغم من ان هذا البادئ اعطى اعلى نسبة مئوية للحزم المميزة بلغت 30.76% . وحسب وجود وعدم وجود الحزم ومقارنتها بين الاصناف لكل بادئ اجرئ تحليل التشابه الوراثي، اذ اظهر مخطط الشجرة العنقودية توزع الاصناف الى مجموعتين رئيسيتين A , B نسبة التشابه الوراثي بينهما تقريبا 50% وان اعلى نسبة تشابه كانت بين الصنفين شدة بيضاء وشدة سوداء وبنسبة تشابه وراثي بلغت 67% تقريبا وبأقل بعد وراثي بلغ 33% تقريبا فيما كان اعلى بعد وراثي بين الصنفين مكاوي وديس العنز وكانت نسبة التشابه بينهما 48 % تقريبا وببعد وراثي تقريبا 52% .
**الكلمات المفتاحية:-** PCR ، RAPD ، العنب ، التشابه الوراثي ، التوصيف الجزيئي .

# MOLECULAR CHARACTERIZATION USING RANDOM AMPLIFIED POLYMORPHIC DNA (RAPD) FOR TEN GRAPE CULTIVARS (*Vitis vinifera* L.)

**Hanan Ali Kareem Dr. Ali Saeed Atiya Al-Janaby**

**ABSTRACT :**
This study was carried out at the Microbiology and Biotechnology lab , the Animal Production Department , College of Agriculture , AL-Qasim Green University during the period of 2015 and 2016 , grape cultivars were (Dis AL-Anz , Halawany , shade beetha , shade sode , Kamali , beeth alhamam , Turky ,


البحث جزء من رسالة ماجستير للباحث الاول
ISSN 2072-3875

Frency , Makaoy and Salahi) sellected from three different Locations (AL-Hashmia Babylon , AlboEsa and AL-manathra , Najaf ) to study the genetic similarties and distances among grape cultivars using random amplifaied polymorphic DNA (RAPD) , using 14 random primers in RAPD study , In this study , random primers showed active polymorphism among cultivars except (OPA1) primer was negative results and other primers were produced 161 bands including 33 monomorphic bands, 101 Polymorphic bands and 27 unique bands. The high number of polymorphic bands estimated about (80%) was obtained with primer P123 and the OPO19 gave a less percentage of polymorphic bands estimated about (23.07%) however , this primer gave a high percentage of unique bands estimated about (30.76%) .The genetic cluster analysis showed that high genetic similarity was present between shade beetha and Shade soda estimated about (67% approximately) , with less genetic distance estimated about (33% approximately ) , while the less genetic similarity were between Dis Al-Anz and Makaoy (48% approximately) , with genetic distance of estimated about (52% approximately).

**Keywords** : PCR , RAPD, Grape , Genetic similarity , Molecular Characterization

**المقدمة :**

ينتمي العنب *Vitis vinifera* L. للعائلة العنبية Vitaceae ، وهو فاكهة صيفية وموطنها الأصلي وسط اسيا بين جنوب البحر الاسود وبحر قزوين ، وأدخلها الفينيقيون إلى أوروبا وشمال افريقيا ، تنتشر زراعته على نطاق واسع في أوربا وامريكا واسيا ومن اهم الدول المنتجة للعنب هي اسبانيا ، إيطاليا ، تركيا ، امريكا وايران ، كذلك تجود زراعته في الدول العربية كسوريا ، مصر ، العراق ولبنان (7) و(14).

تحتل الاعناب المرتبة المتقدمة بين اشجار الفاكهة المختلفة في العالم من حيث المساحة والانتاج، اذ تقدر المساحة المزروعة بالأعناب حوالي75.866كم$^2$ ، يبلغ انتاجها الكلي تقريبا 67.067.128 طن من العنب منها 71% لصناعة النبيذ و27 % للأكل و2% كثمار مجففة (5). اما في العراق فقد قدر انتاج العنب بمقدار 93629 طن للموسم الصيفي 2015 احتلت فيه محافظة ديالى المركز الاول بالإنتاج اذ قدر بـ 63438 طن بنسبة 67.76% من مجموع انتاج العراق تليها محافظتي النجف وبابل بإنتاجية بلغت 12124 طن و 8945 طن على التوالي وبنسبة بلغت 12.95و 9.55% على التوالي من مجموع انتاج العراق وبانخفاض عن العام الماضي 2014 بلغ 3.9 و 14.6% على التوالي من مجموع انتاج العراق، كما ان متوسط انتاجية الشجرة الواحدة بلغ 26.8 كغم/شجرة لسنة 2015 بزيادة بلغت 5.1 % عما كان عليه في العام الماضي حيث قدرت انتاجية الشجرة الواحدة في عام 2014 بمتوسط بلغ 25.5 كغم / شجرة ، وان اعلى متوسط للإنتاجية تحقق في محافظة بغداد (4) .

تعد تقانات الواسمات الجزيئية من المؤشرات المهمة التي طورت وبشكل ملحوظ في برامج تربية النبات كما وقللت تعقيد ادخال عدد من الصفات المرغوبة فيها اما في النوع الواحد او الانواع المختلفة ، كما انها تعد عاملا مساعدا في الاسراع وتقصير عملية الانتخاب فضلا عن تسهيل دراسة الصفات الكمية وربطها بالصفات المظهرية (15) و(17) . ونظرا لكثرة اصناف العنب التي تزيد على 1000



ISSN 2072-3875

صنف مسجلة في مجاميع الاصول الوراثية والمنتشر زراعتها في مختلف البلدان (9) ، اما في العراق فيوجد اكثر من 75 صنفا لم تنتشر زراعتها بصورة تجارية (1) . وان التعرف على هوية اصناف هذه المجاميع يساعد ايضا على تحديد المدى الحقيقي للتنوع الوراثي وان استخدام نتائج الحامض النووي تمكن من التكهن بتقديرات اكثر دقة لعدد الاصناف الموجودة على مستوى العالم مع ان كثيراً منها على درجة عالية من القرابة (12).

تتضمن تقانة الـ RAPD مضاعفة قطع محددة من الحامض النووي DNA كي تسمح برؤيتها بوجود الاشعة فوق البنفسجية للمقارنة بين الأفراد قيد الاختبار إذ يتم باستخدام بادئات (Primers) هي عبارة عن قطع قصيرة من الحامض النووي الـDNA محددة التركيب النيوكليوتيدي ترتبط بالحامض النووي المكمل لها من الـDNA المفرد بحث يمكن رؤيتها على شكل حزم bands مختلفة الوزن الجزيئي في هلام الاكاروز (20). ومن مميزات هذه التقانة سهولتها وسرعتها و عدم حاجتها لمعلومات مسبقة عن الجينوم المدروس و قلة تكلفتها و نجاحها في دراسة المجموعات ذات الأعداد الكبيرة من الأفراد (13) .

درست تقنية RAPD في الاعناب على مستويات مختلفة من التعددية الشكلية بين اصناف العنب والاصول من قبل(7 ، 18 ، 23) بفعل تقنية RAPD. كذلك استخدمت طريقة RAPD على 73 صنف عنب مزروعة في الصين باستخدام 280 بادئ (11 ) . كما استخدم Buscher واخرون (2) و (6 ، 8) مؤشرات RAPD على مجموعة اصناف العنب الاوربية والتمييز فيما بينها ، تلاهم (16، 19 ، 22).

وفي دراسة اجراها Karataş و Ağaoğlu (10) باستخدام تقانة RAPD لخمسة وعشرون بادئ بين من خلالها ان البادئات المستخدمة انتجت 171 وكان منها 112 حزمة متباينة وبنسبة مئوية بلغت 65.49% واعطت البادئات OPO-07 , OPA-18و P-123 اعلى عدد من الحزم المتباينة ، سبعة حزمة ، واعطى البادئان P123 و OPA-18 اعلى نسبة مئوية للحزم المتباينة بلغت 87.50 % اما البادئ OPF-08 فقد اعطى اقل نسبة مئوية للحزم المتباينة بلغت 37.50 %.

جاءت هذه الدراسة لتسليط الضوء على العلاقات الوراثية والتنوع الوراثي لأصناف العنب في العراق و تحديد القرابة والبعد الوراثي بين أصناف العنب قيد الدراسة عن طريق التوصيف الجزيئي باستخدام طريقة التضاعف العشوائي لقطع الـ DNA المتباينة (RAPD) ووضع هوية وراثية للأصناف المدروسة وتوثيقها وتحديد التباينات بين الاصناف وراثيا.

**المواد وطرائق العمل :**

استخلص DNA الكلي من اوراق النبات لأصناف العنب باستعمال ( Genomic DNA Genaid , Taiwan Mini Kit- ) والمعتمد على المرشحات ومحاليل الاستخلاص ، و تم توصيف الـ DNA وقياس تركيزه وتقدير نقاوته وذلك ل10عينات باستعمال جهاز قياس تركيز الدنا Nano drop - spectrophotometer .

حضر هلام الاكاروز في دورق زجاجي بتركيز 1% عن طريق اذابة 1g من الاكاروز في 100ml من محلول TBE بقوة (1X) وسخن بوضعه على Hot plate with magnetic stirrer ويمزج بهز الدورق جيداً لحين ذوبان الهلام بشكل كامل بعد ذلك برد الخليط الى ان تصل درجة حرارته الى 50-55 مْ ثم أضيف 5 µl من صبغة Ethidium Bromide الى اللوح وسكب بعد ذلك داخل اللوح برفق وبشكل مستمر وهادى لتجنب تكون الفقاعات الهوائية ، ثم ترك الهلام على درجة حرارة الغرفة الى ان يكتسب الصلابة ووضع اللوح بعد تصلب الهلام في حوض الترحيل بجهاز الترحيل الكهربائي الافقي gel electrophoresis وغُمر بمحلول (1X)TBE وحملت العينات في الحفر وصلت



ISSN 2072-3875

اقطاب التيار الكهربائي حيث يتم الترحيل باتجاه القطب الموجب بفولتية 100 فولت لمدة 30 دقيقة .

تم اجراء تفاعلات الـ RAPD استناداً إلى Williams واخرون (21) على عينات DNAوتم تجهيز 14 بادئ (Primers) عشوائي الخاصة بتفاعل الـ RAPD من شركة Bioneer / Korea جدول (1) وتم احلال وتخفيف البادئات بالماء المقطر (D.W) وحسب كل تركيز مثبت على البادئات الموصي بها. وأدخلت الأنابيب الحاوية على التفاعل والعينات إلى جهاز المبلمر الحراري Thermocycler Reaction لأجراء تفاعل التضاعف وطبق البرنامج الاتي للتضاعف :-

| ت | المرحلة | درجة الحرارة | المدة الزمنية | عدد الدورات |
|---|---|---|---|---|
| 1 | Pre – Denaturation | 95 | 5 min | 1 |
| 2 | Denaturation | 95 | 1 min | 40 |
| 3 | Annealing | 36 | 1 min | |
| 4 | Extension | 72 | 1 min | |
| 5 | Final extension | 72 | 5 min | 1 |

بعد انتهاء مراحل التضاعف ترفع الانابيب من جهاز المبلمر الحراري ويتم ترحيل ناتج كل بادئ على هلام الاكاروز بتركيز 1% وتصويره ورصد وتحليل الحزم لكل صنف وتصنيفها . ويتم تحويل النتائج التي نحصل عليها والتي تظهر في الهلام إلى جداول التوصيف وذلك بوضع (1) عند وجود الحزمة و(0) عند غياب الحزمة لغرض إيجاد العلاقة الوراثية بين اصناف العنب ، ويتم تحويل بيانات التوصيف إلى قيم التشابه Similarity المقدرة باستخدام الحاسوب ضمن برنامج (Past) وحسب مقياس Jacard Similarity index.

**جدول (1)** البادئات المستخدمة في تفاعل التضاعف العشوائي المتعدد الاشكال لسلسلة الدنا (**RPAD**)

**Table(1) primers used Random Amplified Polymorphic DNA Reaction (RAPD)**

| Primers | Sequence 5' ⟶3' | Length (mer) |
|---|---|---|
| P 123 | GGGATTCGAC | 10 |
| OPA 10 | GTGATCGCAG | 10 |
| OPA 11 | CAATCGCCGT | 10 |
| OPA 09 | GGGTAACGCC | 10 |
| OPO 19 | GGTGCACGTT | 10 |
| OPO 07 | CAGCACTGAC | 10 |
| OPA 03 | AGTCAGCCAC | 10 |
| OPA-11 | CAA TCG CCG T | 10 |
| OP-B16 | TTT GCC CGG A | 10 |
| OPV10 | GGACCTGCTG | 10 |
| OPQ04 | AGTGCGCTGA | 10 |
| OPV18 | TGGTGGCGTT | 10 |
| OPF 06 | GGGAATTCGG | 10 |
| OPA 1 | CAGGCCGTTC | 10 |



ISSN 2072-3875

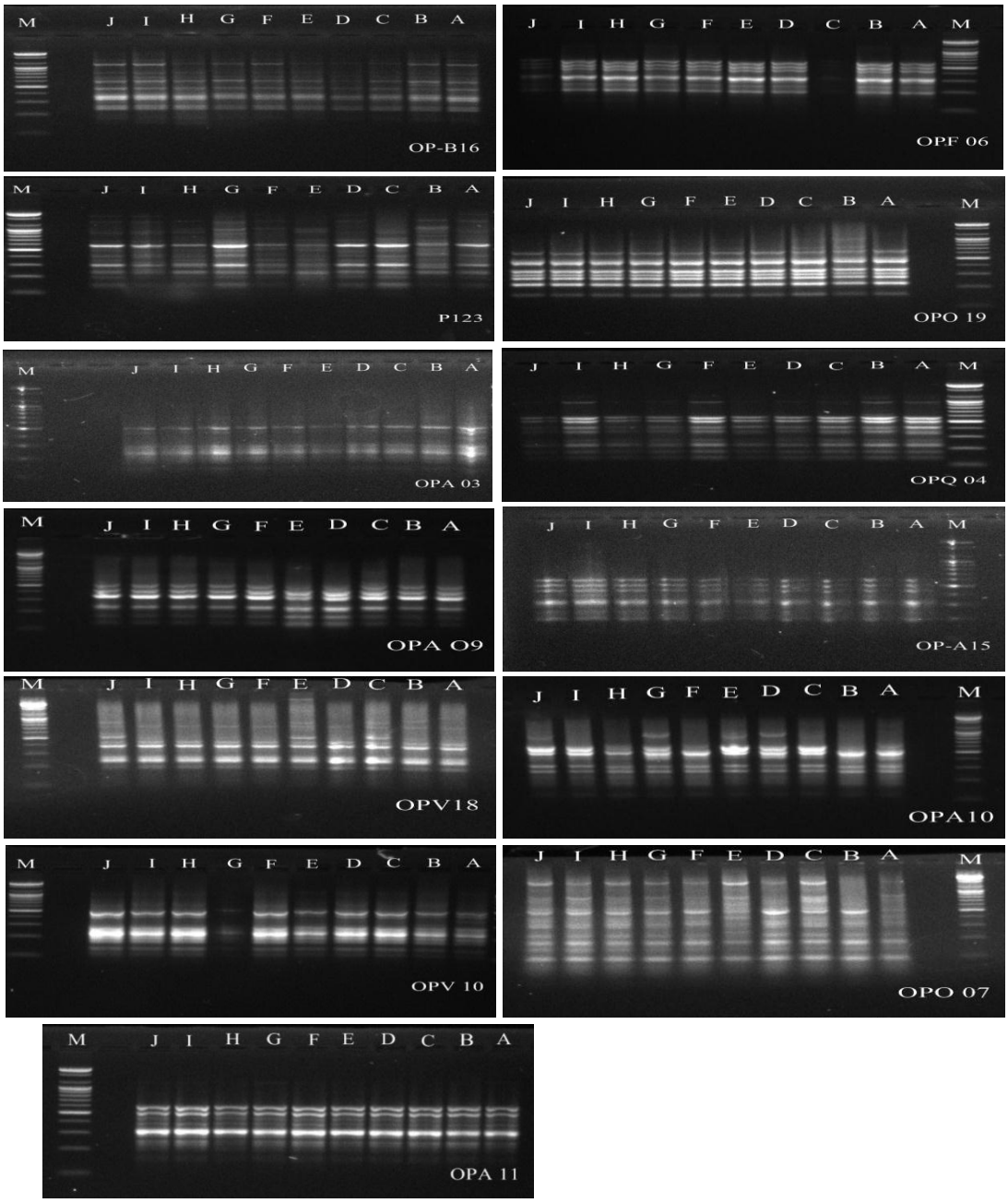
**النتائج والمناقشة :**

استخدم 14 بادئ عشوائي لدراسة التوصيف الجزيئي لعشرة اصناف عنب ، ثلاثة عشر بادئ اعطت نتائج ايجابية متمثلة بظهور الحزم وذلك عند مضاعفتها مع الـ DNA الذي تم عزله من الاصناف وترحيلها على هلام الاكاروز وهي (OPA15، OPV10 ، OPV18،OPA11، OPB16، OPO19 ، P123،OPQ04، OPA10، OPA09 ، ) OPA03 ، اذ تميزت هذه البادئات بقدرتها على كشف التباينات الوراثية وأظهرت البادئات اختلافاً في إظهار نواتج البلمرة بين الأصناف المستخدمة في الدراسة الشكل (1) ، فيما لم يعطي البادئ OPA1 نتيجة عند مضاعفته وترحيله .

يُظهر الجدول(2) ان البادئات العشوائية التي استخدمت في الدراسة اعطت 161 حزمة بمعدل (11.5) وكان منها 101 حزمة ذات تعدد شكلي Polymorphic bands وبمعدل بلغ (7.8) لجميع الاصناف المدروسة. بين الجدول ان البادئ P123 قد اعطى اكثر عدد من الحزم ، عشرين حزمة ، في حين اعطى البادئ OPA11 اقل عدداً من الحزم ، ثمانية حزمة ، وبلغ عدد الحزم الكلية المتشابهة، ثلاث وثلاثون حزمة ، وبمعدل بلغ (2.5) . واعطى البادئ OPO19 اكثر عدد من الحزم المتشابهة ، ست حزمة ، واعطى البادئ OPV10 اقل عدداً من الحزم(0) حزمة ، وبلغت اعلى نسبة مئوية للحزم المتشابهة للبادئان OPA15 وOPA11 50% . فيما اعطى البادئ OPV10 اقل نسبة مئوية بلغت 0% ، واعطى البادئ P123 اكثر عدداً من الحزم المتباينة ، ست عشر حزمة ، و بنسبة مئوية بلغت 80% وكان اقل عدد من الحزم المتباينة للبادئ OPO19 ثلاث حزم ، وبنسبة مئوية بلغت(23.07%)، وبلغت عدد الحزم الكلية المميزة Unique bands سبعة وعشرون حزمة ، وبمعدل (2.1 ) و اعطت البادئات (OPV18 ، OPO19 ، OPQ04 و OPA09 ) اربعة حزمة ، فيما اعطى البادئان OPA15 و OPA11 اقل عدداً من الحزم المميزة 0 حزمة واعطى البادئ OPO19 اعلى نسبة مئوية للحزم المميزة (30.76%) واعطى البادئان OPA15 وOPA11 اقل نسبة مئوية بلغت 0% ، وبلغت اعلى كفاءة للبادئ P123 ( 15.8) وكانت اقل كفاءة للبادئ OPO19 ، بلغت (2.9) ، واعطى البادئ P123 اعلى نسبة مئوية للقوة التشخيصية ، بلغت (12.4%) فيما اعطى البادئان OPA11 وOPA10 اقل نسبة مئوية للقوة التشخيصية والتي بلغت (4.9%) .



ISSN 2072-3875




**الشكل (1)** نتائج الترحيل الكهربائي لتفاعل البلمرة المتسلسل PCR لأوراق اصناف العنب باستعمال 13 بادئ لمؤشرات RAPD. **A** =ديس العنز ، **B**=حلواني ، **C**=شدة بيضاء ، **D**= شدة سوداء ، **E**= كمالي ، **F**= بيض الحمام ، **G**= تركي ، **H**= فرنسي ، **I**= مكاوي ، **J**= صلاحي و **M**= دليل الأوزان القياسي للدنا (DNA Ladder 100 pb) .

**Figure (1)** The results of electrophoresis for polymerase chain Reaction PCR Leaf grape cultivars using 13 primer of RAPD markers . **A**= Dis AL- Anz , **B**= Halawany , **C**= shade beetha , **D**= shade sode , **E**= Kamali ,**F**= beeth alhamam , **G**=Turky, **H**= Frency , **I**= Makaoy, **J** =Salahi and **M**= DNA Ladder(100pb)



ISSN 2072-3875

**جدول (2) أعداد الحزم الكلية ، المتباينة ، المتشابهة ، المميزة ونسبتها وكفاءة البادئات والقوة التشخيصية الناتجة من تفاعل بلمرة 13 بادئ وباستخدام التضاعف العشوائي الكامل لسلسلة الـ DNA (RAPD) لعشرة اصناف من العنب.**

**Table (2) Total bands , Polymorphic bands, Monomorphic bands, Unique bands and percentage , Primers Efficiency and Discriminatory value resulting from the interaction of polymerisation 13 primer and using Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) for ten Grape cultivars**

| ت | البادئ | عدد الحزم الكلية | عدد الحزم المتشابهة Monomorphic bands | النسبة المئوية للحزم المتشابهة | عدد الحزم ذات التعدد الشكلي (المتباينة) Polymorphic bands | النسبة المئوية للحزم المتبايانة | عدد الحزم المميزة Unique | النسبة المئوية للحزم المميزة | كفاءة البادئ | النسبة المئوية للقوة التشخيصية للبادئ |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | OPA15 | 10 | 5 | 50 | 5 | 50 | 0 | 0 | 4.9 | 6.2 |
| 2 | OPV10 | 11 | 0 | 0 | 8 | 72.7 | 3 | 27.27 | 7.9 | 6.8 |
| 3 | OPV18 | 17 | 1 | 5.88 | 12 | 70.58 | 4 | 23.52 | 11.8 | 10.5 |
| 4 | OPA11 | 8 | 4 | 50 | 4 | 50 | 0 | 0 | 3.9 | 4.9 |
| 5 | OPB16 | 12 | 2 | 16.66 | 9 | 75 | 1 | 8.33 | 8.9 | 7.4 |
| 6 | OPO19 | 13 | 6 | 46.15 | 3 | 23.07 | 4 | 30.76 | 2.9 | 8.07 |
| 7 | P123 | 20 | 2 | 10 | 16 | 80 | 2 | 10 | 15.8 | 12.4 |
| 8 | OPQ04 | 15 | 3 | 20 | 8 | 53.33 | 4 | 26.66 | 7.9 | 9.3 |
| 9 | OPA10 | 8 | 2 | 25 | 5 | 62.5 | 1 | 12.5 | 4.9 | 4.9 |
| 10 | OPA09 | 14 | 1 | 7.14 | 9 | 64.28 | 4 | 28.57 | 8.9 | 8.6 |
| 11 | OPA03 | 9 | 2 | 22.22 | 6 | 66.66 | 1 | 11.11 | 5.9 | 5.5 |
| 12 | OPO07 | 15 | 3 | 20 | 11 | 73.33 | 1 | 6.66 | 10.8 | 9.4 |
| 13 | OPF06 | 9 | 2 | 22.22 | 5 | 55.55 | 2 | 22.22 | 4.9 | 5.5 |
| | المجموع الكلي | 161 | 33 | | 101 | | 27 | | | |
| | المعدل | 11.5 | 2.5 | | 7.8 | | 2.1 | | | |

يشير جدول (3) الى ان اقل الاختلافات الوراثية كانت بين الصنفين شدة سوداء وشدة بيضاء بنسبة بلغت 33 % تقريباً وبنسبة تشابه بلغت 67 % فيما كانت ابعد الاصناف مظهرياً بين الصنف ديس العنز ومكاوي بنسبة اختلاف بلغت 52 %وبنسبة تشابه 48 % . فيما توسطت نتائج البعد الوراثي لبقية الاصناف بين اعلى بعد وراثي واقل قيمة.



ISSN 2072-3875

**جدول (3)** الاختلاف او التباعد الوراثي لعشرة اصناف من **العنب**

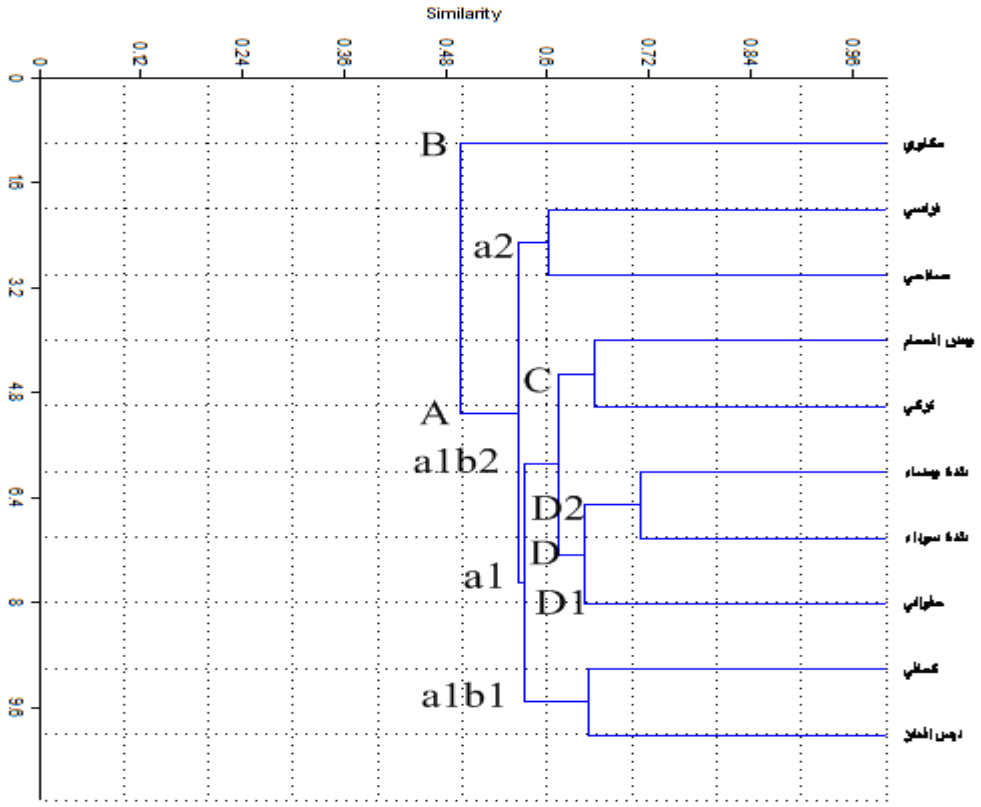
**Table(3) Genetic distance for ten Grape cultivars depended of Past program**

| الاصناف | ديس العنز | حلواني | شدة بيضاء | شدة سوداء | كمالي | بيض الحمام | تركي | فرنسي | مكاوي | صلاحي |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **ديس العنز** | **0** | | | | | | | | | |
| **حلواني** | **0.38** | **0** | | | | | | | | |
| **شدة بيضاء** | **0.42** | **0.37** | **0** | | | | | | | |
| **شدة سوداء** | **0.45** | **0.39** | **0.33** | **0** | | | | | | |
| **كمالي** | **0.38** | **0.41** | **0.42** | **0.42** | **0** | | | | | |
| **بيض الحمام** | **0.45** | **0.42** | **0.37** | **0.42** | **0.42** | **0** | | | | |
| **تركي** | **0.45** | **0.42** | **0.35** | **0.40** | **0.43** | **0.37** | **0** | | | |
| **فرنسي** | **0.43** | **0.46** | **0.43** | **0.46** | **0.41** | **0.41** | **0.42** | **0** | | |
| **مكاوي** | **0.52** | **0.49** | **0.48** | **0.46** | **0.49** | **0.48** | **0.49** | **0.45** | **0** | |
| **صلاحي** | **0.45** | **0.40** | **0.41** | **0.47** | **0.43** | **0.42** | **0.41** | **0.41** | **0.44** | **0** |

أظهر تحليل الشجرة الوراثي لعينات اصناف العنب المدروسة باستخدام مؤشرات RAPD ان العينات المدروسة قسمت على مجموعتين رئيسيتين A و B بلغت نسبة التشابه حسب مقياس Jacard Similarity index بين المجموعتين 50% ضمت المجموعة A 9 اصناف اما المجموعة B فقد ضمت الصنف مكاوي مما يدل على ان الصنف مكاوي ابعد الاصناف وراثيا شكل (2). قسمت المجموعة الرئيسية A على مجموعتين ثانويتين a1 و a2 بلغت نسبة التشابه بين المجموعتين الثانويتين 56 % ضمت المجموعة a2 الصنفين فرنسي وصلاحي بنسبة تشابه بلغت 60% تقريباً اما المجموعة الثانوية a1 على مجموعتين فرعيتين ثانويتين a1b1 و a1b2 وكانت نسبة التشابه بين المجموعتين الفرعيتين 57% ضمت المجموعة a1b1 الصنفين ديس العنز وكمالي بنسبة تشابه بلغت 62% تقريباً كما وتفرعت المجموعة a1a2 الى مجموعتين فرعيتين ثانويتين ايضا C و D و نسبة التشابه بين المجموعتين بلغت 62 % تقريباً وضمت المجموعة C الصنفين بيض الحمام وتركي وكانت نسبة التشابه بين الصنفين 63% تقريباً اما المجموعة D ايضا قسمت على مجموعتين D1 و D2 ونسبة التشابه بين المجموعتين 65% وضمت المجموعة D1 الصنف حلواني اما المجموعة D2 فضمت الصنفين شدة سوداء وشدة بيضاء والتي اعطت اعلى نسبة تشابه بلغت 67% مقارنة بنسب التشابه لبقية الاصناف .



ISSN 2072-3875




**الشكل (2) شجرة القرابة الوراثية لعشرة أصناف من العنب بواسطة برنامج Past**

**Figure (2) dendrogram of Genetic similarity for ten Grape cultivars depended of Past program**

تميزت هذه الدراسة بنجاح تطبيق مؤشر RAPD على مجين العنب وايجاد البعد والعلاقة الوراثية بين الاصناف المدروسة و توزيعها الى مجاميع واظهرت الدراسة كفاءة تقنية الـ RAPD في التمييز بين اصناف العنب المدروسة وفي تحديد درجة القرابة الوراثية للأصناف ، كما سمحت بتحديد مجموعة من الطرز الوراثية المتميزة مما اسهم في كشف التنوع الوراثي الكبير لأصناف العنب المدروسة والتي يمكن استثمارها والاستفادة منها في المستقبل ولاسيما في اكثار الاصناف محدودة الانتشار من اجل الحفاظ عليها بوصفها مصدراً وراثياً مهماً، اذ اظهر مؤشر RAPD تقارب الاصناف شدة سوداء وشدة بيضاء مع بعضها ، كما بين ان ابعد الاصناف ديس العنز ومكاوي .

## REFERENCES

1. Almalak , E.A .2001. Study the specifications of some grape cultivars of no seeds in the central region of Iraq. Master Thesis . Department of Horticulture, College of Agriculture. Baghdad University . Iraq.
2. Buscher ,N.; Zyprian ,E. and Blaich, R.1993. Identification of grapevine cultivars by DNA analysis: Pitfalls of Random amplified Polymorphic DNA techniques using 10-more primers. *Vitis* 32, 187-188.



ISSN 2072-3875

3. Collins, G.G. and Symons, R.H. 1993. Polymorphisms in grapevine DNA detected by the RAPD PCR technique. *Plant Mol. Biol. Rep*., 11, 105-112.
4. Central Statistical Organization . 2016. The Central Statistical Organization and Information Technology Summer fruit production for 2015 The Ministry of Planning report. The Republic of Iraq. In Arabic.
5. FAO.2013. Production Yearbook.
6. Grando ,M.; De Micheli ,L. and Scienza, A.1996. Characterization of *Vitis* germplasm using Random Amplified Polymorphic DNA markers. Genet. Res. Crop. Evol.43, 187-192.
7. Hassan , J , A and Salman , M . A. S.1989. Production of grapes. The Ministry of Higher Education and Scientific Research. Baghdad University . Bayt Al Hikma. Republic of Iraq . In Arabic.
8. Jean-Jaques, I.; Defontaine, A. and Hallet.J.N.1993. Characterization of *Vitis vinifera* L. cultivars by random amplified Polymorphic DNA markers. *Vitis* 32, 189-190.
9. Jules, J. and Moore, N.1996. Fruit Breeding. Vol 2: Vine and Small Fruit Crops. Is BNO. 471-12670-3 John Wiley and Sons. Inc.
10. Karataş, H and Ağaoğlu , Y.S. 2010. RAPD analysis of selected local Turkish grape cultivars (Vitis vinifera) . Genetics and Molecular Research 9 (4): 1980-1986 .
11. Luo, S. and He, P. 2001. Discrimination of wild grapes native to china by RAPD markers. *Vitis* 40 (3): 163-168.
12. Martin, J. P.; Borrego , J.; Cabello .F. and Ortiz, M.2003. Characterization of Spanish grapevine Cultivar diversity using Sequence – tagged microsatellite Site markers. Genome, 46 , 10-18.
13. Mburu, D. and Hanotte, O. 2005. A practical approach to microsatellite genotyping with special reference to livestock population genetics. ILRI Biodiversity project A manual prepared for the IAEA/ILRI training course ON molecular Characterization of small ruminant genetic resources of Asia, October- December 2005, ILRI, Nairobi, Kenya.
14. Nazif, K. M and Atef , M . I and Abd al Hakim , AF. O.1990 . (its cultivation, production and patronizing). Knowledge of Alexandria facility. In Arabic. 455 pp.



ISSN 2072-3875

15. Ramsay, L. ; Macaulay, M. ; degli Ivanissevich, S. ; MacLean, K. ; Cardle, L. ; Fuller, J. ; Edwards, K. J.; Tuvesson, S. ; Morgante, M. ; Massari , A. ; Maestri, E. ; Marmiroli, N. ; Sjakste, T. ; Ganal , M. ; Powell , W. and Waugh, R. 2000. A simple sequence repeat – based linkage map of barley, Genetics 156 : 1997-2005.
16. Regner, F.; WiedeckI, E. and Stadlbauer, A. 2000. Differentiation and identification of White Riesling clones by genetic markers. *Vitis* 39: 103–107.
17. Syed , M . H . 2001. The use of indicators of DNA in election of the Genes for resistance to disease in the barley. Doctoral thesis. College Agriculture. Damascus university . Syria . In Arabic.
18. This, P.; Cuisset, C. and Boursiquot, J.M. 1997. Development of stable RAPD markers for the identification of grapevine rootstocks and the analysis of genetic relationships. *Am. J. Enol. Vitic*., 48, 492-501.
19. Vidal, JR.; Moreno, S.; Gogorcena, Y.; Masa, A. and Ortiz, JM. 1999. On the genetic relationships and origins of six grape cultivars of Galicia (Spain) using RAPD markers. American Journal of Enology and Viticulture 50: 69–75.
20. Vogt, T. M .; Francoise ,KF .; rank , J. Welsh and Clelland, M. 1997. Fingerprinting of DNA and RNA using arbitrarily primed PCR .In : G. Caetano–Anolles , and P. M. Gresshof. (eds.) DNA Markers, Protocols, Application and Overview. New York.p.55-74
21. Williams, K. J.; Kubelik, A.; Livak, K.; Rafalski, J. and Tingey, s. 1990. DNA polymorphism amplified by arbitrary primers is useful as genetic markers. Nucleic acids Research, 18: 6531-6535.
22. Xu, H.; Wilson , D. J.; Arulsekar, S. and Bacalinsky, A.T.1995. Sequence specific polymerase Chain reaction derived from randomly amplified Polymorphic DNA markers for fingerprinting grape (*Vitis)* rootstocks. J. Am. Soc. Hortic. SCI. 120, 714-720.
23. Ye, G.N.; Soylemezoglu ,G.; Weeden , N.F.; Lamboy, W.F.; Pool, R.M. and Reisch, B.I. 1998. Analysis of the relationship between grapevine cultivars, sports and clones via DNA fingerprinting. Vitis, 37, 33-38.



ISSN 2072-3875

ISSN 2072-3875