استخدام مؤثرات التضاعف العشوائي متعدد الاشكال لسلسلة الدنا (RAPD) في الكشف عن التباين الوراثي لسلالات من بكتريا العقد الجذرية *Mesorhizobium Cicero*

حرب عادل عبد محمد مهل عامر عبد الودود سما باسل عطاء

الملخص

هدفت الدراسة الحالية الى تثبيت البصمة الوراثية لعشر سلالات من بكتريا*Mesorhizobium ciceri* ، تم الحصول عليها من المركز الدولي للأبحاث الزراعية في المناطق الجافة (**ICARDA**). تم تطبيق مؤشرات التفاعل التضاعفي متعدد الاشكال لسلسلة الدنا **Random Amplified of Polymorphic DNA(RAPD)** على الدنا الكلي المعزول من هذه السلالات باستخدام ثلاث عشرة بادئة، التي انتجت ما مجموعه سبع وأربعون حزمة متضاعفة، من بينها واحد واربعين حزمة متباينة ظهرت في البادئات جميعها ، التي تم الاعتماد على نتائجها في الكشف عن التباين الوراثي بين عزلات بكتريا الرايزوبيا، واظهرت النتائج ان البادىء **OPM14** كان اعلى كفاءة بين البادئات المستخدمة في انتاج الحزم، إذ بلغت**14.8** %، اما البادىء **OPB14** فكان الاقل كفاءة في انتاج الحزم إذ بلغت**2.1** %. وكان البادىء **OPM14** ذو اعلى قدرة تمييزية في انتاج الحزم المتباينة فبلغت**19.5**%، اما البادىء **OPB14** فكان الاقل قدرة تمييزية وبلغت **2.4** %. واظهرت النتائج ان البادئات جميعها المستخدمة كان لها القابلية على انتاج حزمة منفردة لسلالة او اكثر من السلالات قيد الدراسة.

المقدمة

أدى الاستخدام العشوائي ولسنوات طويلة للأسمدة والمبيدات الكيميائية الى ظهور مشاكل عديدة منها: ظهور أجيال من الآفات المقاومة للمبيدات، والإضرار بالحشرات النافعة مثل نحل العسل والأعداء الطبيعية للآفات وتلوث الغذاء والعلف بمتبقيات الأسمدة والمبيدات، (**10**)، وعليه أصبح التركيز في السنوات الأخيرة على البدائل الطبيعية حاجة ضرورية وملحة، مثل بكتريا العقد الجذرية (**rhizobia**) وهي من الأنواع الشائعة في التربة، وهي ليست ضارة للإنسان، الحيوان والنبات إذ أنها من أكثر الأنواع المفيدة في المجال الزراعي، وتكون بعضها متخصصة لأنواع بقول معينة والبعض الآخر لها القدرة على تكوين العقد مع عدد من الأنواع وهي تؤدي عملاً كبيراً في الأنظمة الزراعية من خلال العلاقة التعايشية بينها وبين النباتات البقولية، إذ يعتبر هذا النظام البيئي الأكثر اهمية في زيادة نسبة النيتروجين في التربة وفي رفع خصوبتها (**8 &14**) إضافة إلى ذلك فان للرايزوبيا عمل مهم مع النباتات غير البقولية ،إذ تكون عامل محفز لنمو النبات **Plant Growth Promoter rhizobacteria (PGPR)** مما يسبب زيادة ملحوظة في الحاصل. (**29,3**) مثل الحنطة والرز وغيرها. كذلك عملها كعامل سيطرة حيوية **biocontrol** ، إذ إن لها القدرة على إفراز مواد ومركبات في محيط الجذر ذات تأثير مباشر ضد الأحياء المجهرية الأخرى، (**7**)، كذلك إفراز مركبات خالبة للحديد **Iron-chelating sidrophores** والتي تسبب قلة توفر الحديد للأحياء المجهرية الأخرى إضافة. إلى ان لها اثر واضح وكبير في مقاومة النبات للأمراض سواء أكانت بشكل مباشر بالتثبيط

دائرة وقاية المزروعات ،وزارة الزراعة،بغداد،العراق.
تاريخ أستلام البحث:أب/2015
تاريخ تسلم البحث:ك2 /2017

والمنافسة ام غير مباشر بتحفيز مقاومة النبات الداخلية **(12)**. بالرغم من وجود الرايزوبيا بصورة طبيعية في التربة وتكوينها العقد الجذرية سواء أكانت مع البقول الطبيعية ام المزروعة ولكنها عادة اما تكون بأعداد غير كافية، او ان النوع غير ملائم او السلالة غير مناسبة لنوع البقول المزروع او انها سلالة غير كفوءة في تثبيت النيتروجين او للفعاليات الأخرى مع المحاصيل غير البقولية، لذا يعد إضافة السماد الحيوي هو الحل لمشاكل الحقول المزروعة من خلال توفير سلالة فعالة، خاصة اذا كان المحصول المزروع لم يزرع سابقاً في منطقة معينة، او انه لم يزرع لأكثر من خمس سنوات في هذه المنطقة، **(14)**.أن التنوع الوراثي في الرايزوبيا الطبيعية الموجودة في التربة مثل **M. ciceri** قد تم بحثه كثيراً باستعمال طرق مختلفة لتنميط العزلات مثل تقنية التنميط المصلي **(16)**. ومقارنة المقاومة للمضادات الحياتية **(4)**. لكن تلك التقانات وغيرها لا تكشف عن التغاير الحقيقي على مستوى المادة الوراثية، لهذا تعد الطرق والتقانات الجزيئية من افضلها في التمييز، في تحديد التغيير بين السلالات والعزلات في البكتريا **(27)**. ومن هذه الطرق تقنية التضاعف العشوائي متعدد الأشكال لسلسلة الدنا**(Random Amplified of Polymorphic DNA (RAPD**، التي استنبطت عام **1990** وهي من اوائل المؤشرات المعتمدة على تفاعل **PCR** اخذت حيزاً كبيراً في التطبيق لأنها دقيقة، سريعة، سهلة وغير مكلفة **(28)** واستخدمت من قبل محمد، (2) للكشف عن التباين في عزلات من الرايزوبيا المتباينة في تحملها للملح، وكذلك من قبل الشمري، (**1**) لتشخيص التباين في عزلات الرايزوبيا الخاصة بالحمص المستخدمة في إنتاج الاسمدة الاحيائية، كذلك استخدمت في تشخيص التباين الوراثي للعزلات الاصلية او المحلية في حقول كرواتيا، (**5**) ، و تشخيص التنوع الوراثي للعزلات من مواقع مختلفة ومن انواع تربة مختلفة، (**13,23,22**). لذا هدف البحث الحالي الى الكشف عن التباين الوراثي لعزلات رايزوبيا الحمص التي تم الحصول عليها من منظمة **ICARDA** وتثبيت البصمة الوراثية لها.

المواد وطرائق البحث

العزلات البكتيرية المستخدمة

تم الحصول على العزلات البكتيرية المستخدمة في هذه الدراسة من المركز الدولي للأبحاث الزراعية في المناطق الجافة (**ICARDA**)، الخاصة بنبات الحمص، كما موضح في جدول **1**.

جدول **1:** مصادر العزلات البكتيرية

رقم العزلة	اسم العزلة	مصدرها
1	**CP M1**	سوريا
2	**CP12**	الهند
3	**CP23**	سوريا
4	**CP24**	سوريا
5	**CP25**	الهند
6	**CP41**	امريكا
7	**CP45**	امريكا
8	**CP67**	تركيا
9	**CP69**	تركيا
10	**CP72**	امريكا

عزل الـ **DNA** المجيني من بكتريا العقد الجذرية

تم عزل الدنا المجيني من الرايزوبيا بطريقة الاستخلاص الملحي **Salting out** والموصوفة من قبل **Pospiech and Newman**، **(21)**. وتم الكشف عن نوعية وجودة الدنا المعزول بالترحيل الكهربائي على هلام الاكاروز حسب ما ذكر في **Maniatis** وجماعته **(15)**.

اعداد تفاعلات التضاعف العشوائي متعدد الاشكال لسلسلة الدنا(**RAPD**)

تم اعداد هذه التفاعلات حسب ما ذكر في **Williams**وجماعته **(28)**، وتوصيات شركة **Bioneer** المجهزة لخليط التفاعل الاساس **master mix**. ،إذ يتكون خليط التفاعل من التراكيز النهائية التالية وبحجم **20** مايكروليتر لكل عينة (انزيم بلمرة الدنا **TOP DNA polymerase** وحدة انزيمية واحدة، **dNTPs 250** مايكرومولر/ لكل قاعدة، ترس حامضي **10** ملي مولر، **KCl 30** ملي مولر، كلوريد الزئبق **1.5** ملي مولر، اضافة الى صبغة ملونة ومنظمة، يضاف عند التحضير: بادئ **10** بيكومول، الدنا القالب **20– 50** نانوغرام/ مايكروليتر، يكمل الحجم بالماء المقطر المعقم). تمزج المواد جيدا مع مراعاة ترك عينة السيطرة بدون دنا، توضع العينات في جهاز المبلمر الحراري الحلقي ويبرمج الجهاز لينفذ البرنامج التالي (**94** مْ لمدة **2** دقيقة ودورة واحدة، ثم، **92**مْ دقيقة واحدة، **36**مْ دقيقة واحدة و**72**مْ دقيقة ، لأربعين دورة، ثم **72**مْ لعشر دقائق، دورة واحدة)، ترفع العينات بعد انتهاء البرنامج وتحفظ في درجة حرارة **4** مْ او تحضر مباشرة لتحميلها على هلام الاكاروز بتركيز **1.2%**. علما ان تسلسل البادئات جميعها من شركة **Operon Technologies**، كما يوضح جدول **2** البادئات المستعملة في هذه الدراسة وتسلسل القواعد النيتروجينية لكل منها من النهاية **5′** الى **3′**،

جدول**2**: البادئات المستعملة في هذه الدراسة و تتابعاتها

اسم البادئ	تتابع البادئ
OPA12	**TCGGCGATAG**
OPB14	**TCCGCTCTGG**
OPB15	**GGAGGGTGTT**
OPC16	**CACACTCCAG**
OPD06	**TTGGCACGGG**
OPD20	**CTGGGGACTT**
OPF13	**GGCTGCAGAA**
OPG03	**GAGCCCTCCA**
OPH04	**GGAAGTCGCC**
OPJ18	**TCGTCGCAGA**
OPM14	**AGGGTCGTTC**
OPN16	**AAGCGACCTG**
OPV14	**AGATCCCGCC**

تحليل نتائج مؤشرات الـ **RAPD**

يتم حساب الحزم الناتجة من عملية التضاعف من خلال دراسة وتحليل صور الترحيل الكهربائي على هلام الاكاروز ، بحيث يوضع الرمز (+) دلالة على وجود الحزمة والرمز (–) دلالة على غياب الحزمة وترتب في جدول يوضح العزلات وارقام الحزم ووجودها وغيابها , وتم حساب اوزانها الجزيئية بالاعتماد على الدليل الحجمي القياسي **100 bp DNA Ladder** من شركة **Bioneer** وكذلك يتم حساب النسبة المئوية لكفاءة البادئات المستخدمة **Primer efficiency**

من خلال المعادلة **(11)**

كفاءة البادئ = العدد الكلي لحزم البادئ / العدد الكلي لحزم كل البادئات x 100 %

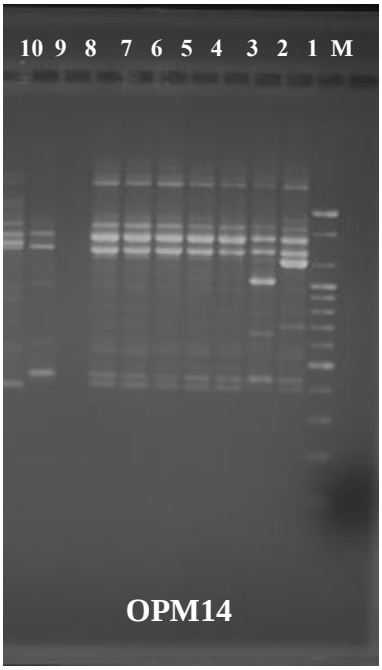
ثم تم استخراج النسبة المئوية للقدرة التمييزية لكل باديء من خلال المعادلة التالية

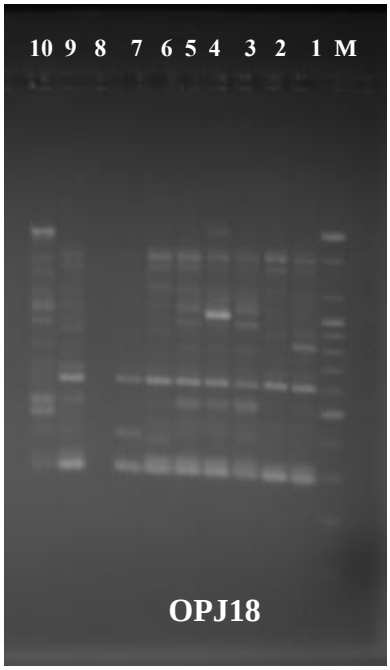
عدد الحزم المتباينة للبادئ/ عدد الحزم المتباينة لكل البادئات x 100 %

النتائج والمناقشة

تفاعلات التضاعف العشوائي متعدد الاشكال لسلسلة الـ DNA

لوحظ من خلال دراسة وتحليل نواتج تفاعلات الـ **RAPD**، ان البادئات جميعها قيد الدراسة اعطت نواتج تضاعف متباينة **polymorphic band pattern**، بما مجموعه **47** حزمة منها **41** حزمة متباينة تراوحت بين **1-7**حزم حسب البادئ، ويوضح الشكل **1** نواتج التضاعف للبادئ **OPJ18** و**OPM14**. الا ان البادئات قد اختلفت في قدرتها على اظهار التباين، فمن خلال حساب القدرة التمييزية لكل بادئ حسب المعادلة المذكورة انفاً، كان للبادي **OPM14** اعلى قدرة تمييزية بلغت **19.5%** من مجموع البادئات، اما اقل قدرة تمييزية البالغة**2.4%** فقد اشتركت بها بادئات عديدة**(9)** . وتتباين البادئات في قدرتها على انتاج اكبر عدداً من الحزم الكلية بحيث تكون كفاءة هذه البادئات مختلفة اعتماداً على العدد الكلي للحزم، يوضح جدول **3** نواتج البادئات من الحزم مع نسب كفاءتها وقدرتها التمييزية.





شكل1: نواتج تضاعف مؤشرات الـ**RAPD** المرحلة على هلام الاكاروز، **1.2%** مع الدليل الحجمي **100 bp DNA ladder(M)**،

إذ (**1**) **CP M1**، (**2**) **CP12**،(**3**) **CP23**،(**4**) **CP24**،(**5**) **CP25**،(**6**) **CP41**،(**7**) **CP45**،(**8**) **CP67**،(**9**) **CP69**،(**10**)**CP72**

جدول**3** :يوضح عدد نواتج البادئات من القطع (حزم) مع نسب كفاءتها وقدرتها التمييزية

الباديء	معدل القطع الناتجة	القطع المتباينة	الكفاءة (%)	القدرة التمييزية%

OPA12	4–1	3	8.5	7.3
OPB14	1	1	2.1	2.4
OPB15	2	1	4.2	2.4
OPC16	2	2	4.2	2.8
OPD06	4–2	3	8.5	7.3
OPD20	4–2	4	8.5	9.7
OPF13	4–2	3	8.5	7.3
OPG03	4–3	4	8.5	9.7
OPH04	3–2	3	6.3	7.3
OPJ18	5–2	5	10.6	12.1
OPM14	7–3	8	14.8	19.5
OPN16	5–4	4	10.6	9.7
OPV14	2	1	4.2	2.4

أن كل تتابع مكمل للبادئ على المجين يؤدي الى ظهور حزمة على هلام الآگاروز، فيكون عدد الحزم الناتجة بعدد التتابعات المكملة للبادئ التي يتعرف عليها البادئ، لإكمال عملية التضاعف، وان غياب اية حزمة في عزلة او صنف او أنموذج معين مقارنة بآخر هو افتقار لموقع ارتباط للبادئ وعلى هذا الاساس يتم حساب التباينات بين الافراد والأنواع والأصناف والجماعات وما الى ذلك **(18, 28)**. ويذكر **El-Fiki** (**9**)، الى ان اي تغيير طفيف في تسلسل

البادئات يسبب تغييراُ كبيراً في الطرز المظهرية لـ **RAPD** .

ومن خلال نتائج الـ **RAPD** ، نلاحظ ايضا ان التباين الناتج كان متنوع ومختلف بين السلالات، إذ كان على انواع عديدة تشمل:

1- ظهور حزمة مشتركة بين كل السلالات وغيابها في واحدة.
2- غياب حزمة معينة في السلالات كافة وظهورها في واحدة فقط.
3- اشتراك اكثر من سلالة في ظهور حزمة معينة، وغيابها في باقي السلالات.

ومن هنا تبرز اهمية الحالة الاولى،إذ تعد الحزمة الناتجة مؤشراً **marker** خاص بهذه العينة وقد يكون مرتبطاً بواحدة من الصفات المدروسة وكما سيوضح جدول (**3**) ، نلاحظ ان العزلة رقم **10** (**CP72**) ، انفردت بـ **6** حزم مميزة ومنفردة من مجموع العزلات ولعدد من البادئات، على الرغم من ان عدد كبير من الحزم المتباينة كان مشترك لعدد من العزلات وهي تعد نتيجة مهمة لتمييزها من خلال نمط ظهور الحزم لكل البادئات **(25 ,6)** ويوضح جدول **4** الحزم المنفردة كافة الناتجة لكل البادئات والعزلة التي امتلكتها مع الوزن الجزيئي.

جدول **4**: يوضح ظهور الحزم المنفردة ووزنها الجزيئي

البادئ	العزلة	وزن الحزمة **Kbp**

1.1	4	OPA112
1.4	2	OPB15
1.5 1.4	10	OPD06
0.8	10	OPF13
1.2 1.3	9 10	OPG03
1.6	10	OPH04
1.6 0.8	4 1	OPJ18
1.2 1.0 0.7	1 2 10	OPM14
0.95 0.7	3 10	OPN16

قد يعزى التباين الوراثي العالي لهذه العزلات الى اختلاف مصادر العزلات او حدوث مختلف انواع الطفرات او حصول حالات اقتران بين هذه العزلات مع بكتريا اخرى فضلاً عن استخدام عدد من البادئات المختلفة والتي كانت مناسبة في إظهار التباين الوراثي بين هذه العزلات البكتيرية، (19, 24, 13). إذ اشار **Moschetti** و جماعته(**17**) و **El-Fiki** (**9**) الى ان قدرة تقنية الـ **RAPD** تكمن في امكان المناورة في تسلسل البادئات إذ ان التغيير الطفيف في تسلسل البادئ يسبب ظهور طراز متغاير من الحزم مما يوفر وسيلة ملحوظة للتفريق بين العزلات. ان هذا التغيير او التباين الواسع الذي تكشف عنه مؤشرات الـ **RAPD** ،مكن من تشخيص الانواع والسلالات المتقاربة جداً، والحصول على بصمة وراثية متخصصة لعزلة معينة باستخدام بعض البادئات (**19**)، وفي التشخيص على مستوى السلالة او على مستوى تحت النوع، (20, 17, 26,5,13,23). وهذا يتفق مع النتائج المذكورة أنفاً بالحصول على **6** مؤشرات مختلفة للعزلة(**10**)**CP721**.

المصادر

1- الشمري، رفل اسماعيل مجيد(**2013**). التشخيص المظهري والكيموحيوي والجزيئي للتنوع الوراثي لعزلات من بكتريا **Rhizobium spp.** المتغايرة في تثبيتها للنتروجين وتحملها للمبيدات الاحيائية. رسالة ماجستير كلية العلوم،جامعة بغداد،العراق.

2- محمد،حرب عادل عبد(**2007**).دراسة وراثية جزيئية عن تأثير الملوحة في بعض عزلات بكتريا العقد الجذرية (**inorhizobium meliloti**)من الترب العراقية. أطروحة دكتوراه، كلية التربية ابن الهيثم،جامعة بغداد،العراق.

3- **Badawi, F.,A. Biomy. and A. Desoky (2011). Peanut plant growth and yield as influenced by co-inoculation with Bradyrhizobium and some rhizo-microorganisms under sandy loam soil conditions.Ann. Agric. Sci., 56, pp.17-25.**

4- **Beck, D.;L. Materon and F. Afandi (1993).Practical Rhizobium- legume technology manual.Technical Manual no.19. International Center for Agricultural Research in the Dry Areas. Aleppo, Syria.**

5- **Blazinkov,M., S. Sikora, ,D. Macesic and, S. Redzepovic(2007). Genotypic characterization of Indigenous Rhizobium leguminosarum bv. viciae**

field population in roatia.

6– Botestein, D.;R.White; M. Skolnick and, R. Davis (1980). Construction of agenetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms.Am. Hum. Genet., 32: 314-31.

7– Breil,B.T.; J. Borneman;E.W. Triplett.(1996).A newly discovered gene. tfuA, involved in The production of ribosomally synthesized peptide antibiotic trifolitoxin. J. Bacteriol.178,4150-4156.

8– Elboutahiri, N.,I.Thami-Alami, E. Zaïd, and, S.M. Udupa (2009). Genotypic characterization of indigenous Sinorhizobium meliloti and Rhizobium sullae by rep-PCR, RAPD and ARDRA analyses. Afric.J. Biotechnol.,8(6):979-985.

9– El-Fiki,A.A.(2006). Genetic diversity in Rhizobia determined by Random Amplified Polymorphic DNA analysis. J. Agri. Soc. Sci.2(1):1-4.

10– Ganesan, S.;Ganesh kuppusamy R.;R. Sekar.(2007). Integrated Management of stem rotdisease (sclerotium rolfsi) of groundnut (Arachis hypogaeal) using Rhizobium_and Trichoderma harizianum (4565 –72).

11– Grudman, H.; C. Schneider, D. ; Hartung;, F. Daschner and, T. Pith (1995).Discriminatory power of three DNA typing techniques for P. aeruginosa. J. Clin. Microbiol., 3:528-32.

12– Huang. H.C. and, R.S. Erickson (2007). Effect of seed treatment with Rhizobiuam leguminosarum on Pythium damping off seedling height, root biomass,shoot biomass, and seed yield of pea and lentil.J. phytopathology,155:31-37.

13– Josic,D.; B. Miliic, ,S. Meladenovic. and,M. Jarak (2008). Genodiversity of dominant Rhizobium leguminosarum bv. trifolii isolated from 11types of soil in Serbia.Genetica 40(2):179-190.

14– Lindemann, W.C. and,C.R. Glover (2003).Inoculation of Legumes. College of Agriculture and Home Economics, Guide A-130.

15– Maniatis, T.; E. Fritsch and, J. Sambrook (1982). Molecular cloning: A laboratory manual.Cold spring harbor laboratory. New York.

16– Mclnnes, A.; J. Thies; L. Abbott and J.Howieson, (2004). Structure and diversity among Rhizobial strains, populations and communities-a review. Soil Biol. Biochem., 36:1295-1308.

17– Moschetti, G.; A. Peluso; A. Protopapa; M. Anastasio; O. Pepe, and R. Defez, (2005).Use of nodulation pattern, stress tolerance, nod C gene amplification,RAPD-PCR and RFLP-16SrDNA analysis to discriminate genotypes of Rhizobium leguminosarum biovar Viciae. Syst. Appl. Microbiol., 28(7):619-31.

18– Mullis, K. B. and F. Faloona,.(1987). Spesific syntyhesis of DNA in vitro via a polymerase catalyzed chain reaction. Methods Enzymol.155-335. (cited).

19– Oliveira, I.;, M. Vasconcellos;, L. Seldin;, E. Paiva;, M. Vargas and Sa, N.(2000). Random amplified polymorphic DNA analysis of effective Rhizobium sp. associated with beans cultivated in Brazilian Cerrado soils. Braz. J. Microbiol., 31(1):20-26.

20– Pinto,P.;,E.Paiva.;,H.Purcino;Passos,R.andSa, N.(2004).Characterization of Rhizobia that nodulate Arachis pintoi by RAPD analysis. Brazilian J. Microbiol., 35:219-23.

21- Pospiech, P. and, S. Newman (1995). Preparation and analysis of genomic and plasmid DNA.In: Kieser, T.(ed.). John Innes Center, Nerwich NRL\7uH, UK.

22- Prasad, M.(2014). Determination of genetic diversity of Rhizobium species isolated from root nodules and DNA fingerprinting by RAPD. Inter. J. Advan. Biotechnol. Resear.5(2):101-105.

23- Rajasundari, K.l, K. lamurugu. and, P. ogeshwaran (2009).Genetic diversity in rhizobial isolates determined by RAPDs.Afr.J. Bio. 8(12):2677-81.

24- Sikora, S. and , S. Redzepovic (2003).Genotypic characterization of indigenous soybean Rhizobia by PCR – RFLP of 165 RDNA , rep – PCR and RAPD analysis , Food Technol , Biotechnol. , 41 (1) : 61 – 67

25- Smith, J. and O. S. Smith (1992). Fingerprinting crop varieties. In: Advanced in agronomy,Sparks, D. L. (ed.). 47: 98-107.

26- Stepkowski, T.; L. Moulin;, A. Krzyianska;, A. McInnes;, I. Law and J. Howieson.(2005). European origin of Bradyrhizobium populations infecting Lupins and Serradella in soils of western Australia and South Africa , Appl., Environ. , Microbiol. , 71 (11) : 7041-52.

27- Thies ,J. ; E. Holmes and, A. Vachot (2001). Application of molecular techniques to studies in Rhizobium ecology : a review , Aust . J . Exp. Agr. , 41 : 299 – 319.

28- 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 . Acid Rese. , 18:6531 – 35

29- Yanni, Y.G., R.Y. Rizk, V. corich, ,A. squartini, V. corich, , P. Mateos, Labha,J.K.,Dazzo,F.B.(1997). Natural endophytic association between Rhizobium Leguminosarum by trifolii and rice root and assessment of its potential to promotie rice growth. plant soil 194:99-114.

Iraqi J. Agric. Res. Vol.22 No.1 pp.147-155 June/2017

USE OF RANDOM AMPLIFIED OF POLYMORPHIC DNA(RAPD) MARKERS TO DETECT GENETIC

POLYMORPHISM IN SOME RHIZOBIAL STRAINS *Mesorhizobium Ciceri*

H. A. A. Mohammed M. A. Abd- Alwadood S. B. Ataa

ABSTRACT

The present study aimed to investigate *genetic poly orphism in ten rhizobial* strains of *Mesorhizobium ciceri* , from International Center for Agricultural Research in Dry Area (ICARDA).Random Amplified of Polymorphic DNA (RAPD) markers were tested on the total isolated DNA from the studied strains. By using 13 different primers, which produced 47 amplified bands. 41 band was polymorphic bands, which can be used for genetic polymorphism investigations among the bacterial strains. The results revealed that OPM14 primer had the highest efficiency in bands producing with 14.8%, while OPB14 had registered the lowest percentage efficiency (2.1%). The OPM14 primer had the highest discriminating power in polymorphic bands producing with 19.5%, while the OPB14 primer had the lowest discriminating power with 2.4%. The result also showed that all primers were able to produce a unique band for one or more of the studied isolates.

Plant Protection Directorate-Ministry of Agric.-Baghdad-Iraq.