استخدام تقانة SSR في تعيين الجين المسؤول عن مقاومة مرض تعقد الجذور النيماتودي في محصول الطماطة

هند شاكر ياسين* بسام كنعان عبد الجبار*

الملخص

تضمنت هذهِ الدراسة التحري عن الجين **Mi-1.2** المسؤول عن ظهور صفة المقاومة في الطماطة ضد نيماتود تعقد الجذور ***Meloidogyne* spp** وسلالات نقية من الطماطة غير محدودة النمو، وذلك من خلال تلقيح نباتات الطماطة ببيوض ديدان تعقد الجذور بمعدل **1000** بيضة/**200** غم.رمل. أظهرت سلالات عديدة مقاومتها للإصابة بديدان تعقد الجذور وذلك بعد مرور **60** يوماً على عملية التلقيح، كما أظهرت النتائج الحقلية مقاومة هذهِ السلالات لنيماتود تعقد الجذور من خلال ملاحظة عدد العقد على الجذور الذي لا يتجاوز **2** عقدة على الجذر، وُيعد مؤشراً على إمتلاك هذه السلالات لجين المقاومة **Mi-1.2**. في حين أظهرت سلالات أخرى من الطماطة حساسية إتجاه الإصابة بنيماتود تعقد الجذور، إذ لوحظ إن عدد العقد على الجذور قد تجاوز الدرجة **5** من الدليل المرضي المستخدم في البحث أي أكثر من **100** عقدة على جذورها. تم تشخيص جينات المقاومة باستخدام تقانة التحليل الجزيئي **Molecular Analysis** بتطبيق مؤشرات الـ **DNA Simple Sequence Repeat (SSR)** على **DNA** الكلي المعزول من السلالات الحساسة والمقاومة باستخدام ثلاث بادئات ترتبط بمواقع مختلفة لجين المقاومة **(HSM1, HSM2, REX)** وقد أثبتت فعاليتها في التحري عن جين المقاومة **Mi-1.2** من خلال إنتاجها حزم **DNA** المميز.

المقدمة

تُعد الطماطة من محاصيل الخضراوات المهمة إقتصادياً، يتجاوز إنتاجها سنوياً في أنحاء العالم كافة **160** مليون طن (**3**) إذ تعد مصدراً لفيتاميني **C , A** كما أظهرت الدراسات الحديثة وجود عنصر مهم في الطماطة هو اللايكوبين **Lycopene**، إذ يعد هذا العنصر من مضادات الأكسدة التي تساعد في حماية الإنسان من عدد من الأمراض منها الأمراض السرطانية وأمراض القلب (**7**، **9**، **10**) تصاب الطماطة بنيماتود تعقد الجذور ***Meloidogyne* spp.** وتسبب خسائراً إقتصادية كبيرة (**6**)، تزداد خطورة هذه الآفة بتداخلها مع مسببات ممرضة أخرى مثل الفطريات والبكتريا والفايروسات (**8**). استثمرت تقانة التتابعات البسيطة المتكررة **Simple Sequence Repeated (SSR)** لبلوغ الهدف من الدراسة وهو تحليل التباين الوراثي بين سلالات من الطماطة غير النمو للوصول إلى سلالة مقاومة لنيماتود تعقد الجذور، إذ تمتلك هذهِ التقانة مؤشرات عديدة تمكن من القيام بدراسات مختلفة بصدد الطماطة بضمنها دراسة التباين الوراثي بهدف تحديد الأصناف المقاومة والحساسة (**2**، **4**، **9**، **10**).

المواد وطرئق البحث

إكثار اللقاح النيماتودي

استعملت بيوض ديدان تعقد الجذور ***Meloidogyne* spp.** لتلقيح نباتات طماطة حساسة (صنف **Super**

جزء من رسالة الماجستير للباحث الأول.

دائرة البحوث الزراعية، وزارة الزراعة، بغداد، العراق.

marmande الحساس لديدان تعقد الجذور من إنتاج شركة **Clause-France**)، إذ تمت زراعة نباتات الطماطة الحساسة في أصص بلاستيكية وزن (**1** كغم) تحتوي على رمل معقم تم تعقيمه بجهاز الموصدة درجة حرارة (**121**م^{o}) تحت ضغط **1.5** كغم/سم^{2}.

تنقية وتحضير اللقاح

تم تحضير لقاح النيماتودا باستخلاص البيوض من نبات الطماطة وحسب طريقة **Hussey** و**Barker** (**5**) مع بعض التعديلات الثانوية، وكمايأتي:

1- قلع النباتات المصابة وأزيلت منها الجذور المحتوية على العقد الجذرية وعدد كبير من كتل البيض وغسلت غسلاً جيداً بالماء.

2- قطعت الجذور المصابة إلى قطع صغيرة بطول من **2– 3**سم.

3- معاملة القطع الجذرية بمحلول قاصر (هايبوكلورات الصوديوم) بتركيز **1%** لمدة **2** دقيقة ثم غسلت بالماء للتخلص من محلول التعقيم.

4- توضع قطع الجذور في الخلاط الكهربائي **(Blender)** وأضيف إليها **25**سم^{3} من الماء وشغل الخلاط لمدة **10** ثواني ثم إكمال الحجم إلى **500** مل ماء، حرك الماء بقضيب زجاجي ثم ترك مدة قصيرة لتترسب القطع وأخذ المحلول الرائق.

5- فرغ المحلول الرائق إلى مناخل بترتيب **(25, 150, 300) µm** على التوالي وأعيد غسل القطع أكثر من مدة.

6- جمع بيوض النيماتودا من على منخل **(25 µm)** تحت تيارات مائية خفيفة إلى إسطوانة زجاجية حجم **500** مل.

7- لحساب لقاح الديدان ولضبط التركيز عند المستوى بيضة/مل/نبات. استعملت شريحة العد.

8- استخدم معلق البيض في إجراء عملية التلويث، إذ رج المعلق جيداً بقضيب زجاجي معقم للعمل على تجانس وانتشار البيوض في الماء، ومباشرة تتم إضافة اللقاح إلى تربة نباتات الطماطة المزروعة في الأصص بواقع **2000** بيضة. **1** كغم.رمل، إذ استخدم أنبوبة ماصة معقمة ومدرجة لسحب اللقاح ثم إضافته إلى التربة بعد عمل (**2** حفرة) متقابلتين حول النبات بعمق من **(3-5)** سم وتبعد من **(1-2)** سم من ساق النبات **(3)**، وبعد ذلك تغطى بكمية قليلة من التربة الرطبة.

تهيئة شتلات الطماطة وتلقيحها بلقاح النيماتودا

استعمل في هذهِ الدراسة بذور الطماطة البرية الجنس ***Solanum*** تم الحصول عليها من (مشروع إعادة تأهيل وتطوير صناعة بذور الخضراوات في العراق) فضلاً عن سلالة نقية من الطماطة غير محدودة النمو تم الحصول عليها من الدكتور عناد ظاهر عبود كلية الزراعة جامعة بغداد.

تمت زراعة **15** تركيباً وراثياً من نبات الطماطة (جدول **1**) هي عبارة عن الطماطة البرية وهجن الطماطة مع سلالات الطماطة وبعد **4** أسابيع من الزراعة تم نقلها إلى أصص بلاستيكية وزن **200**غم تحتوي على رمل معقم بطريقة التعقيم الحراري وسمح للنباتات بالنمو في الأصص لمدة أسبوع قبل إجراء العدوى.

تم إجراء التجربة الحقلية في البيت البلاستيكي ضمن ظروف بيئية مسيطر عليها، إذ كانت درجة الحرارة تتراوح بين (**25–30**م^{o})، تمت الزراعة في ثلاثة مكررات تم توزيعها عشوائياً بطريقة التصميم العشوائي الكامل **(CRD) Complete Randomized Design**، إذ تمت معاملة نباتات الطماطة جميعا بلقاح النيماتودا بتركيز **1000** بيضة/**200** غم.رمل.

بعد مرور من 45-60 يوماً على العدوى تم حساب دليل تعقد الجذور وذلك من خلال عدّ العقد على الجذور حسب مقياسين (Taylor وSasser ،1978) مع مراعاة غسل الجذور بماء هادئ الجريان للتخلص من التربة قبل إجراء عملية عدّ العقد الجذرية وحسب مقياسين (Taylor وSasser ،1978) (0 = لا توجد عقد على الجذور، 1 = عدد العقد 1-2 ، 2 = عدد العقد 3-10 ، 3 = عدد العقد 11-30 ، 4 = عدد العقد 31-100 ، 5 = أكثر من 100 عقدة) شخصت السلالات النباتية التي كان عدد العقد عليها من 0-2 كسلالات مقاومة بشكل أولي ومن 5-3 عقد سلالات حساسة ثم جرى الكشف الجزيئي اللاحق للتمييز بين السلالات المقاومة والحساسة، مقارنة بالهجن التجارية Wogdan F1 أمريكي وAegin F1 إيطالي والهجين الإختباري SH-hyb(25*35)F1 وانعزالات الجيل الثاني للهجين وجدان والهجين الإختباري.

تصميم بادئات (Primers) متخصصة لجين Mi-1.2 صممت البادئات HSM1 , HSM2 إعتماداً على التسلسل النيوكليوتيدي لجين المقاومة Mi-1.2 الموجود في موقع الـ NCBI وباستخدام برنامج Primer 3.

من خلال مراجعة المصادر العلمية المختصة بالموضوع تم اختبار البادئ REX المرتبط بجين المقاومة الذي أثبت فعاليته في التحري عن الجين Mi-1.2 وكما موضح في الجدول في أدناه.

جدول 1 : يوضح أسماء المؤشرات وتسلسلها وأوزانها الجزيئية ومصادرها العلمية

اسم المؤشر	التسلسل من 5\ - 3\	درجة حرارة الالتحام (°م)	الوزن الجزيئي Product Length (bp)	المصدر
HSM1	F-CGAGCTAGATGAGGATGAACACAAT R-GCTCAGCAGCATCCCCAAAG	50	695	موقع NCBI*
HSM2	F-CAAGCCATGCTTGCTTCACT R-TTGATCCTTTGTTAGACACAAACAG	50	656	
REX	F-TCGGAGCCTTGGTCTGAATT R-GCCAGAGATGATTCGTGAGA	50	720	12

*National Center for Biotechnology Information

استخدمت مؤشرات الـ SSR لغرض التحري عن جينات المقاومة Mi-1.2 لما تتميز به هذهِ المؤشرات من خصوصية في طبيعة مناطق DNA التي تتوافق مع تتابعات البادئات الخاصة بجين المقاومة في نبات الطماطة.

وعلى هذا الأساس تم تثبيت الظروف كافة المؤثرة في تفاعلات الـ PCR من تركيز DNA المستخدم وكذلك تركيز البادئات، ثم التوجه إلى تنظيم هذهِ التفاعلات على وفق برنامج يغذى به جهاز الـ PCR وكما يأتي:

درجة الحرارة	الزمن / دقيقة	عدد الدورات
95 50 72	30 30 1	35
72	5	1

النتائج والمناقشة

النتائج الحقلية

زراعة سلالات نقية من الطماطة غير محدودة النمو وهجن الطماطة مع بذور الطماطة البرية الجنس *Solanum* spp:

بعد زراعة سلالات الطماطة مع بذور الطماطة البرية جنباً إلى جنب مع هجن الطماطة وبعد تلقحيها ببيوض نيماتود تعقد الجذور ***Meloidogyne* spp.** بتركيز **1000** بيضة/**200** غم. رمل وبعد مرور **45** يوماً على إجراء العدوى، وبعد أخذ القراءات حسب مقياس**Taylor** و**Sasser**،**1978** وكما يأتي:

جدول **2** : يمثل دليل تعقد الجذور في سلالات الطماطة بعد **45** يوماً من العدوى ببيوض نيماتودا تعقد الجذور بتركيز **1000** / **200** غم.رمل

Reaction	Breeding Line	Root – Knot Index
	35 , 37	0
	30	1
	29 , 31 , 33 , 34 , 40 , 54	2

يوضح جدول **(2)** يوضح أن السلالات **(54, 40, 34, 33, 31, 29, 37, 35, 30)** تميزت بمقاومتها لمرض تعقد الجذور، إذ كان معدل الدليل المرضي يتراوح بين **2-0** وذلك بناءً على المقياسين (**Taylor** و**Sasser**، **1978**)

تميز الهجين العراقي **SH–hyb (25*35) F1** والجيل الثاني له والهجين الأمريكي **WoJdan F1** والجيل الثاني له بمستوى عالي من المقاومة وذلك لانخفاض معدل الدليل المرضي المتكون على **5** درجات وتكوين عدد قليل من العقد لا تتجاوز من صفر إلى عقدة واحدة لذلك اتخذت مقياساً للمقارنة في المقاومة (جدول **3**).

جدول **3** : مستويات المقاومة والحساسية في هجن الطماطة المستوردة والمحلية والجيل الإنعزالي الثاني بعد **45** يوماً من العدوى ببيوض نيماتود تعقد الجذور بتركيز **1000** بيضة/ **200** غم.رمل

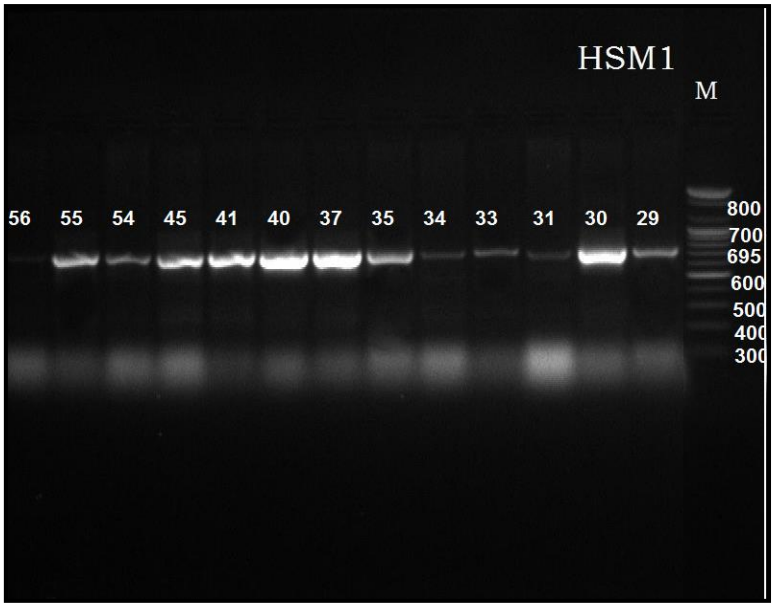
Reaction	الرقم السري للتركيب الوراثي	الاسم الصريح للتركيب الوراثي	Disease Indes
Resistant	41	SH – hyb (25*35) F1	1
	48	SH – hyb (25*35) F2	0
	55	هجين ايطالي Aegean F1	2
	56	هجين أمريكي Wojdan F1	0
	46	هجين أمريكي Wojdan F2	0
Susceptible	45	Wild Tomato (Brazyl)	3 4 5

النتائج المختبرية

نتائج تجارب مؤشرات الـ SSR

الباديء HSM1

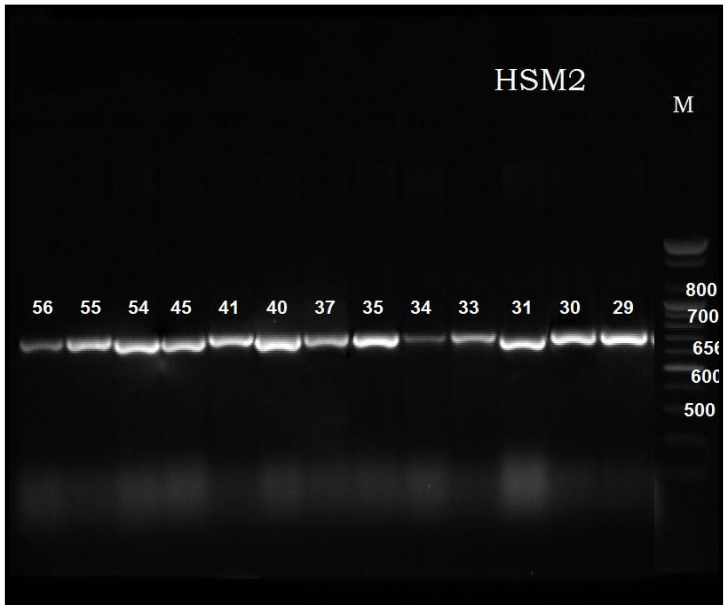
نتج عن تطبيق **HSM1** مع **DNA** التركيبين الوراثيين المختلفين للطماطة ظهور الحزم ذات الوزن الجزيئي **bp 695**، كما يوضح شكل (**1**).



شكل 1 : يمثل نواتج تفاعل البلمرة المتسلسل لعينات الطماطة باستعمال البادئ HSM1 و باستخدام دليل حجمي Ladder 100bp، الأرقام من 29-56 تمثل عينات التراكيب الوراثية قيد الدراسة.

البادىء HSM2

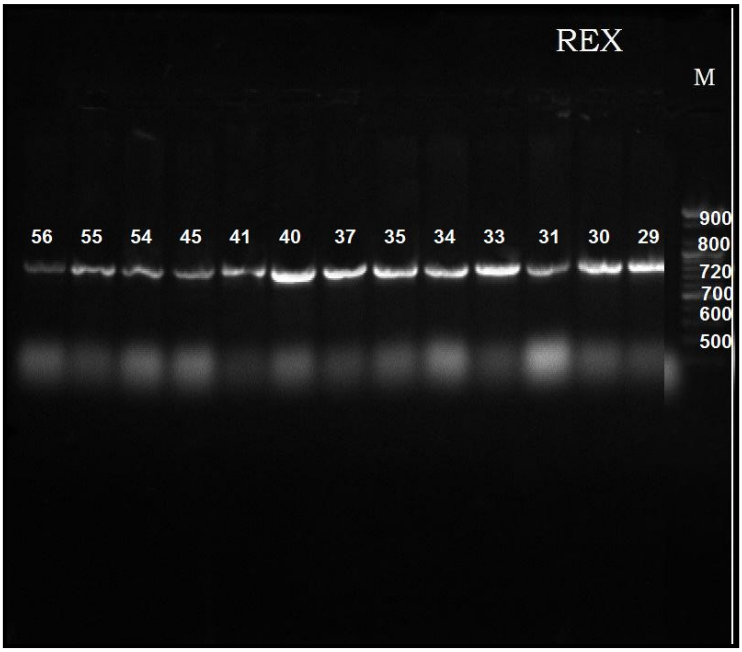
بينما نتج عن تطبيق HSM2 مع DNA التركيبين الوراثيين المختلفين للطماطة ظهور الحزم ذات الوزن الجزيئي 656 bp ، كما يوضح شكل (2).



شكل 2 : يمثل نواتج تفاعل البلمرة المتسلسل لعينات الطماطة باستعمال البادئ HSM2 و باستخدام دليل حجمي Ladder 100bp ، الأرقام من 29-56 تمثل عينات التراكيب الوراثية قيد الدراسة.

البادىء REX

يمثل تطبيق REX مع DNA التركيبين الوراثيين المختلفين للطماطة ظهور الحزم ذات الوزن الجزيئي bp720، كما يوضح الشكل (3).



شكل 3: يمثل نواتج تفاعل البلمرة المتسلسل لعينات الطماطة باستعمال البادئ HSM1 وباستخدام حجمي Ladder 100bp دليل، الأرقام من 29-56 تمثل عينات التراكيب الوراثية قيد الدراسة.

نستنتج من الأشكال المذكورة (1، 2، 3) أن البادئات (REX , HSM2 , HSM1) أثبتت فعالتيها في التحري عن الجين Mi-1.2 من خلال إنتاج حزم DNA مميزة، نتيجة لاستخدام درجة حرارة التحام ملائمة لالتصاق البادئ بسلسلة الـ DNA المكملة له.

ومن الجدير بالاهتمام أن البوادئ (HSM2 , HSM1) التي تم اقتراحها من قبل الباحثة كانت فعالة في إظهار النتائج من خلال ملاحظتنا لحزم DNA واضحة، ذلك نتيجة لأن طول البادئ يتراوح بين (20–25) bp وهو الطول الملائم لدرجة حرارة الإلتحام المستخدمة، إذ إن زيادة أو نقصان عدد القواعد النتروجينية عن هذا المدى يؤدي إلى عدم حصول إرتباط بين البادئ وسلسلة DNA المتممة له، كذلك نسبة G/C التي كانت تتراوح بين (60-70)% وهي النسبة الملائمة لالتصاق البادئ بسلسلة DNA، إذ إن زيادة أو نقصان هذهِ النسبة عن هذا المستوى سيؤدي إلى صعوبة التحام البادئ مع سلسلة DNA المكملة له.

تميزت السلالات من (30 – 34) كما موضح في جدول (4) بمقاومتها لنيماتود تعقد الجذور، إذ تكونت على جذورها عقد جذرية منخفضة لا تتجاوز عشر عقد بعد مضي 45 يوماً من العدوى لكن السلالة 34 بعد مضي 60 يوماً ازدادت عدد العقد لتصل إلى أكثر من 11-30 عقدة في حين بقيت السلالة 30 ضمن معدل عدد العقد التي تصنف السلالة من خلالها على أنها مقاومة، في حين أن السلالات من (29– 33)، كانت حساسة للإصابة بمرض تعقد الجذور، إذ احتوت عدد عقد كثيرة التي اقتربت من 100 عقدة وذلك بعد مضي 60 يوماً على العدوى بالرغم من إمتلاكها جين المقاومة وهذا ربما يؤكد عدم فاعلية هذهِ الجينات وقد يعود إلى مواقعها المتنحية.

أشار جدول (5) الى ان التجربة الحقلية اثبتت مقاومة السلالات (35 , 37 , 40) لمرض تعقد الجذور وذلك بعد مضي 45 يوماً من العدوى وبعد مضي 60 يوماً تميزت السلالتان (35 , 37) بمقاومتها للمرض في حين أن السلالة (40) ارتفع عدد العقد المتكونة على جذورها ليصل من (11-30) عقدة، كذلك نتائج تجارب الـ PCR أوضحت إحتواء هذه السلالات على جين المقاومة كما هو موضح في الأشكال 1,2,3، السلالة (54) تطابقت

نتائجها الحقلية مع النتائج المختبرية ، إذ احتوت هذهِ السلالة على الجين **Mi-1.2** وكان السبب وراء مقاومتها لمرض تعقد الجذور.

جدول 4 : السلالات الشقيقة للسلالة SH-15A-25C

الرقم السري للتركيب الوراثي	الاسم الصريح للتركيب الوراثي	HSM1	HSM2	REX	معدل الدليل المرضي بعد 45 يوماً	معدل الدليل المرضي بعد 60 يوماً
29	SH – 15A – 25C	*	*	*	2.4	3.6
30	SH – 15A – 25D	*	*	*	1.6	2.1
31	SH – 15A – 25E	*	*	*	2.2	4.2
33	SH – 15A – 25EZ	*	*	*	2.3	4
34	SH – 15 – 25E – M	*	*	*	2	2.5
					LSD	0.93

* ظهور حزمة DNA في التراكيب الوراثية قيد الدراسة.

جدول 5 : سلالات متفرقة

الرقم السري للتركيب الوراثي	الاسم الصريح للتركيب الوراثي	HSM1	HSM2	REX	معدل الدليل المرضي بعد 45 يوماً	معدل الدليل المرضي بعد 60 يوماً
35	SH – Sel – 19	*	*	*	0.1	0.3
37	SH – Sel – 19Cat	*	*	*	0	0.3
40	SH – inb – 6	*	*	*	2	3
54	SH – 8 – VeyE	*	*	*	2.1	2.7
					LSD	0.47

* ظهور حزمة DNA في التراكيب الوراثية قيد الدراسة.

تطابقت نتائج الإختبارات الحقلية للهجن (56F1, 55F1, 41F1) مع نتائج تجارب الـ PCR،إذ أثبتت الهجن مقاومتها لمرض تعقد الجذور حقلياً. كما موضح في جدول (6) كما أشارت ألاشكال 1,2,3 على احتواء الهجن على جين المقاومة وذلك ما أثبتهُ تقانة الـ PCR ، في حين أن الطماطة تحتوي على الجين Mi-1.2 لكنها كانت حساسة لنيماتود تعقد الجذور وذلك من خلال عدد العقد على الجذور، من هنا كان الإستنتاج بوجود مواقع متنحية لجين المقاومة وأخرى سائدة تمنح صفة المقاومة للمرض، أما في الهجن فنتوقع وجود مواقع Heterozygouse في موقع الجين مما يعطي للهجين قوة في المقاومة لهذا المرض.

جدول 6 :يبين الهجن والجيل الثاني لها والطماطة البرية

الرقم السري للتركيب الوراثي	الاسم الصريح للتركيب الوراثي	HSM1	HSM2	REX	معدل الدليل المرضي بعد 45 يوماً	معدل الدليل المرضي بعد 60 يوماً
41	SH – hyb (25*35) F1	*	*	*	1.6	2.9
48	SH – hyb (25*35) F2				0.7	1.6
55	هجين ايطالي Aegean F1	*	*	*	2	2.6
56	هجين أمريكي Wojdan F1	*	*	*	0.7	1.2
46	هجين أمريكي Wojdan F2				0	1.2
45	Wild Tomato (Brazyl)	*	*	*	2.6	3.9
					LSD	0.72

* ظهور حزمة DNA في التراكيب الوراثية قيد الدراسة.

الإستنتاجات

1– ظهور سلالات نقية من الطماطة غير محدودة النمو حاملة للجين Mi-1.2.

2- أثبتت مؤشرات الـ DNA بتقانة SSR إظهار التباين بين السلالات في مقاومة الإصابة بالنيماتود حسب احتوائها على جينات المقاومة.

3- البادئات المقترحة من قبل الباحثة في الدراسة أثبتت فعالتيها في التحري عن جين المقاومة لمرض تعقد الجذور النيماتودي.

التوصيات

1- الإعتماد على مؤشرات الـ SSR في إظهار درجة التباين الوراثي بين التراكيب الوراثية بهدف التحري عن جينات المقاومة.

2- الإهتمام باستنباط سلالات طماطة غير محدودة النمو مقاومة لنيماتود تعقد الجذور وإدخالها في برامج تربية وتحسين ، بهدف الحصول على هجن حاملة لجينات المقاومة ، ثم انتخاب هجن ذات صفات بستنية جيدة في الإنتاج وشكل وحجم الثمار ومقاومة لمرض تعقد الجذور لغرض إكثارها مستقبلاً وإيصالها للقطاع الزراعي.

المصادر

1- **Bredemejer, G. M. M., R.J. Cooke, M.W. Ganal, R. Peeters, P. Isaac and X. Noordijk. (2002). Construction and testing of a microsatellite data base containing more than 500 tomato varieties. Theor. Appl. Genet. 105: 1019-1026.**

2- **Choudhury, B.C. (1980). Effect of different inoculum levels of *meloidogyne incognita* on two tomato varienties. Bangladesh journal of Agricultural research. 5: 13 – 16.**

3- **FAO. 2014. FAO stat domain: Production. Statistics Division, FAO, Rome, Italy.**

4- **He, C., V. Poysa and K. Yu. (2003). Development and characterization of simple sequence repeat (SSR) markers and their use in determining relationships among *lycopersicon esculentum* cultivars. Theor. Appl. Genet. 106: 363 – 373.**

5- **Hussey, R.S. and K.R. Barker. (1973). A comparison of methods of collecting inoculum of *meloidogyne spp.*, including a new technique plant disease. 57: 1025 – 8.**

6- **Kie Wnick, S. and R.A. Sikora. (2006). Biological control of the root-knot nematode *Meloidogyne incognita* by *Paecilomyces lilacinus* strain 251. Biological Control. 38: 179 – 187.**

7- **Pratik, M. C. and Y. J. Vishal. (2007). A review on Lycopene – extraction, Purification, stability and applications. Int. J. Food Prop. 10: 289 – 298.**

8- **Qiao, K., H. Zhang, H. Duan, H. Wang, X. Xia, D. Wang and K. Wang. (2013). Managing *Meloidogyne incognita* with Calcium Phosphide as an alternative to methyl bromide in tomato Crops. Scientia Horticul turae. 150: 54-58.**

9- **Rao, A. V. and A. Ali. (2007). Biologically active phytochemicals in human health: lycopene. Int. J. Food Prop. 10: 279 – 288.**

10- **Sarikamis, G., F. Yasar, M. Bakir and K. Kazan. (2009). Genetic characterization of green bean (*Phaselous vulgaris*) genotypes from easten Turkey. Genet. Mol. Res. 8: 880 – 887.**

11- Sarikamis, G.; Yanmaz; S. Ermis and M. Bakir. (2010). Genetic characterization of Pea (*Pisum sativum*) gemplasm from Turkey using morphological and SSR markers. Genet. Mol. Res. 9: 591 – 600.
12- Silke, S., O. Ute, H. Eva, K. Winfried, J. Gunther and B. Hans – Konrad. (2008). Lycopene Inhibits Disease Progression in patients with Benign Prostate Hyperlasia. J. Nutr. 138: 49 – 53.
13- Taylor A. L. and J. N. Sasser. (1978). Biology. Identification and control of root – knot nematodes (*Meloidogyne spp*.) Coop. Pub. Dep. Plant pathol. North Carolina state Univ., and U.S. Agency. In. T. Dev. Raleigh, N. C. PP. 111.
14- Williamson, V. M., J. Y. Ho, F. F. Wu, N. Miller and I. Kaloshian. (1994). A PCR. based marker tightly linked to the nematode resistance gene, Mi, in tomato. Theor. Appl. Genet.,87:757-763.
15- Yi, G. B.; J. M. Lee; S. Lee and D. Choi (2006). Exploitation of pepper EST-SSRs and an SSR- based linkage map. Theor. Appl. Genet.,114:113-130.

THE USE OF SSR TECHNIQUES IN DETERMINING THE RESPONSIBLE GENE OF KNOT NEMATODE DISEASE IN TOMATO CROP

H. Sh. Yassein **B. K. Abdul Jabbar**

ABSTRACT

This study included detection Mi-1.2 gene which is responsible for appearance of resistance feature in tomato against root knot Nematode *Meloidogyne* spp in 9 pure lines of tomato indeterminate through contamination of tomato plants with 1000 eggs/200g soil, as the number of tomato pure lines showed resistance to the root knots nematode after 60 days on contamination process. The field results showed resistance of pure lines to root knot Nematode by observing the number of knots on the roots and which does not exceed two knots on the root, and considered as a sign of these lines of tomato for the presence of resistance gene Mi-1.2.

The gene was diagnosed by using the technology of molecular analysis, then applied the indicators of (SSR) simple sequence repeat DNA on the total DNA isolated from sensitive and resistant pure lines by using three primer connected with different locations of the resistance gene (HSM1, HSM2, REX) proven effective in the detection of resistance gene Mi-1.2 through produced DNAbands.

Part of M. Sc. These of first another.
Directorate of Agric., Ministry of Agric., Baghdad., Iraq.