Journal of Education and Science (ISSN 1812-125X), Vol: 30, No: 3, 2021 (104-116)
Special Issue for Proceeding of 3rd National (1st international conference of biology) (ICBSUM 2021) 5, 6 July
College of Education for Pure Science, University of Mosul, Mosul, Iraq.

Using Primers of Random Amplification Polymorphism DNA (RAPD) in Molecular Identification of Peach Cultivars *Prunus persica* (L.) Batsch Rosaceae

Bassam H. A. AL Jumeily 1*, 2 Aamer M. M. Almaathidy

[1*] Department of Biology Education Faculty for Pure Science, University of Kirkuk, Kirkuk, Iraq
[2] Department of Biology, College of Education for Pure Science, University of Mosul, Mosul, Iraq

E. Mail [1*] dr.bassamaljumeily@gmail.com, [2] dr.aamer@unmosul.edu.iq

(Received April 05, 2021; Accepted June 25, 2021; Available online August 28, 2021)

DOI: 10.33899/edusj.2021.168641, © 2021, College of Education for Pure Science, University of Mosul.
This is an open access article under the CC BY 4.0 license (http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).

Abstract

The present study includes identification of (9) cultivars of the species *Prunus persica* (L.) Batsch. Which were Early Grand , Babcock , Giant Babcock , Mammoth , Elberta , Cardinal , Blanko , Novadona ,and Transvalia cultivated in Ninevah \ Iraq by using random genetic primers in amplification polymorphic DNA (RAPD). (9) random primers were used and amplifications were deported within the agrose . The results showed that the amount of the nucleic acid ranged between (20-25) µg/ml of the leaves extract and reactions of the randomly amplification were carried out with (9) primers, all of them migrated within agarose gel, and generated an amplified bands of DNA. The results have admitted to the Computer and analyzed using private statistical program PAST. The results have showed that the genetic discrepancy value reached (0.7264) in Transvalia cultivar whereas the minimum value of the genetic variant reached to (0.108) in the cultivar Cardinal. The dendrogram was also showed that the cultivar Babcock, Giant Bacock, Transvalia and Novadona were the most similar to each other, whereas cultivars Cardinal was the most variant from the other cultivar studies.

Keywords: *Prunus persica*, varieties, RAPD markers.

إستخدام بادئات التضخيم العشوائية المتعددة الأشكال للحمض النووي في التشخيص الجزيئي لأصناف الخوخ *Prunus persica* (L.) Batsch Rosaceae

بسام حسين ايوب الجميلي[1*] , عامر محسن محمود المعاضيدي[2]

[1*] قسم علوم الحياة, كلية التربية للعلوم الصرفة, جامعة كركوك, العراق
[2] قسم علوم الحياة, كلية التربية للعلوم الصرفة, جامعة الموصل, العراق

Downloaded from https://edusj.mosuljournals.com/

الخلاصة

تضمن البحث الحالي تشخيص (9) أصناف من الخوخ (.*Prunus persica* (L وهي الصنف المبكر Early Grand ، بابكوك Babcock ، جيانت بابكوك Giant Babcock، ماموث Mammoth، البرتا Elberta، كاردينال Cardinal، ترانسفاليا Transvalia، نوفادونا Novadona والبلانكو Blanko المستزرعة في محافظة نينوى / العراق ، بأستخدام تقنية التضخيم العشوائية المتعدد للحمض النووي RAPD (Random amplification polymorphic DNA) , إذ استخدمت (9) بادئات عشوائية وتم ترحيل نواتج التضخيم ضمن هلام الأكاروز وظهرت حزم الحمض النووي المتضخم بشكل متباين . تم تحليل النتائج بأستخدام البرنامج الأحصائي PAST . اوضحت نتائج الدراسة أن تركيز الحمض النووي المستخلص تراوحت بين (20– 25) مايكروغرام / مل ، اضافة لإمكانية فصل الأصناف عن بعضها البعض وتحديد درجة التباين الوراثي بينها، حيث أن اعلى قيمة في التباين الوراثي كانت (0.7264) في صنف الترانسفاليا واقل قيمة في صنف كاردينال كانت (0.10811)، فيما أظهر المخطط الشجيري Dendrogram أن الأصناف (بابكوك ، جيانت بانكوك، الترانسفاليا ، نوفادونا) كانت الأكثر تشابها مع بعضها البعض، اما الصنف كاردينال كان الأكثر تباينا عن باقي الأصناف المدروسة.

الكلمات المفتاحية: الخوخ *Prunus persica* ، الأصناف ، التضخيم العشوائي.

المقدمة

ينتمي الخوخ Batsch (.*Prunus persica* (L الى جنس *Prunus* والى العويئلة Prunoideae التابع الى العائلة الوردية Rosaceae، ويشكل مكانة مميزة بين اشجار الفاكهة ذات الثمار الحجرية Stone fruits إذ تعد ثماره من الثمار اللوزية المهمة والمرغوب فيها [1] وذات اهمية اقتصادية في العالم، إذ أنها تنتج بمعدلات عالية لأجل إستهلاك وإستخدام ثمارها الطازجة . وتعد اوربا اكثر مناطق العالم في انتاج الخوخ اذ تقدر نسبة إنتاجها حوالي 49% تليها الولايات المتحدة ثم أسيا وهي بهذا تأتي بعد التفاح بالمرتبة الثانية من حيث الانتاج [2]. فضلا عن بعض الأصناف المهجنة Hybrid cultivars تستخدم كنباتات زينة بسبب وفرة اوراقها وازهارها بجانب ثمارها واشكالها وروائحها الزكية [3].

على الصعيد العالمي فقد أجريت عدة بحوث على أصناف الخوخ في مجال تشخيصها خصوصا في ظل ظهور التقانات الحيوية اصبحت دراسة التنوع الحيوي اكثر اهمية ودقة فقد استخدمت تقانة الـ RAPD في عدد من الدراسات في مجال توصيف المصادر الوراثية النباتية، ففي دراسة قام بها [4] إذ اشارا إلى أن البادئات الوراثية تستخدم بنجاح في التشخيص والتنوع الوراثي بين الأصناف المتداخلة وتوضيح التشابهات الوراثية وتعطي أشارات عن عملية التهجين وأن التشخيص الجزيئي ذات أهمية بشكل خاص مع أشجار الفاكهة التي تتميز بمحتوى عال من التغاير او التعدد .

كما ساعدت هذه التقانة في تقييم التنوع الوراثي بين (28) صنفا من الخوخ خلال استخدام (12) بادئة حيث بلغ عدد الحزم ذات التعددية الشكلية (81) حزمة وتراوحت درجة الاختلاف الوراثي للأصناف المدروسة بين 5–50% , [3]. وفي دراسة أخرى استخدمت تقانة الـ (RAPD) في دراسة العلاقات الوراثية بين (19) صنفا من اللوز Almond من خلال استخدام (40) بادئة، وقد أوضحت الدراسة أن معدل الاختلاف الوراثي بين الأصناف كان محدودا وتراوحت درجة التشابه بين 70–90% [5] . وأوضح أنه تم اجراء تحاليل

Downloaded from https://edusj.mosuljournals.com/

الـ(RAPD) لدراسة العلاقة الوراثية بين (9) اصناف من الكمثرى المستزرعة بأستخدام (22) بادئة حيث بلغ عدد الحزم الناتجة (358) حزمة منها (327) ذات تعددية شكلية في حين بلغت درجة التشابه بين الأصناف 63% [6] . كما تمت الاستفادة من تقانة الـ (RAPD) في العديد من النباتات والمحاصيل حيث استخدمت في تقييم التنوع الوراثي في التفاح [7] والتوت [8] والخوخ [10] فضلا عن عدد كبير من المحاصيل الأخرى واستخدمت هذه التقانة بشكل خاص في الجنس (L.) *Prunus* في انشاء الخرائط الجينية وفي دراسة التنوع الوراثي لأصول واصناف تابعة لهذا الجنس [11] .

بعد تطور زراعة الخوخ في السنوات الأخيرة في العراق، قامت وزارة الزراعة بإدخال اصناف جديدة تم زراعتها وفق برنامج خاص وتكليف محطات البستنة والغابات في المحافظات بإنتاج شتلات لزراعتها، ومن هذا المنطلق يهدف البحث الحالي الى تشخيص هذه الاصناف و تحديد التنوع الوراثي لها بإعتماد تقنية التضخيم العشوائية المتعدد للحمض النووي RAPD .

مواد وطرائق العمل Materials and methods

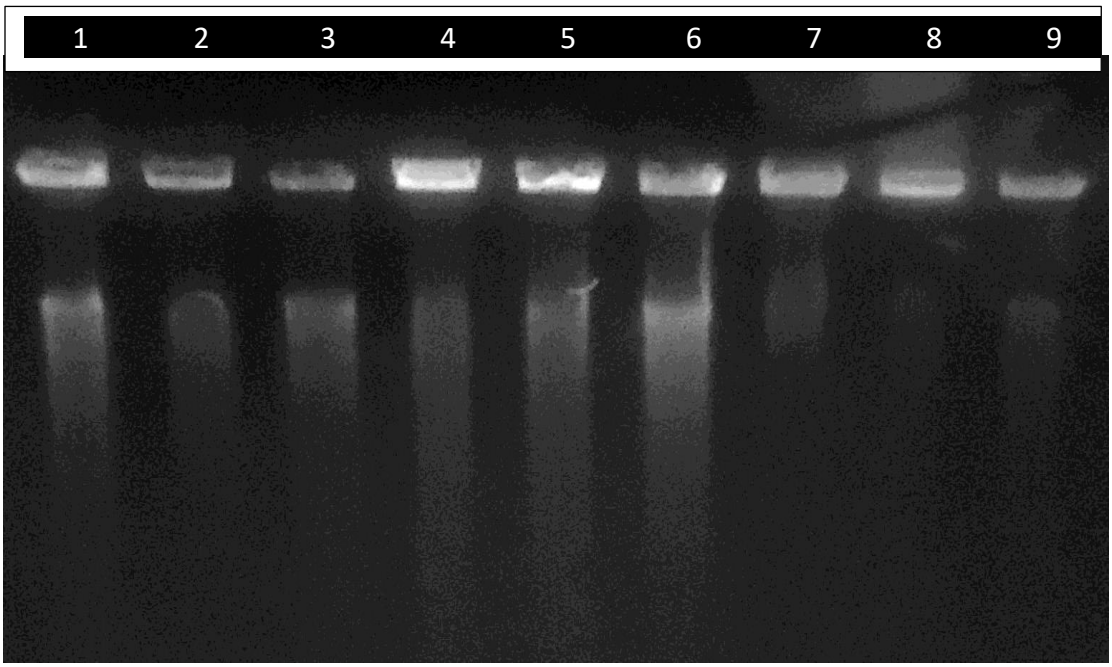
1- المادة النباتية Plant material

جمعت العينات الورقية النباتية الحديثة العمر للاصناف قيد الدراسة والخالية من الاصابات المرضية والحشرية المستزرعة في محطة البستنة والغابات في مدينة الموصل العراق ومن ثلاثة اشجار لكل صنف، وغسلت جيدا بالماء المقطر ثم وضعت داخل اكياس ورقية مثقبة وتركت العينات حتى جفت تماما لحين الاستعمال.

2- استخلاص الحمض النووي (DNA Extraction)

عزلت المادة الوراثية الـDNA من أوراق اصناف الخوخ اليافعة الجافة حيث جمعت (5- 10) اوراق من كل صنف على حدة وغسلت عدة مرات بالماء المقطر. وعزل الـDNA حسب طريقة [12 ; 13] وتم حساب تركيزه التي كانت بحدود (20-25) مايكروغرام / مل , أما نقاوته تراوحت بين (1,6-1,8) والتي تم تحديدها بالاعتماد على قياس الكثافة الضوئية بأستخدام جهاز قياس القطرة المتناهية Nano drop عند الطول الموجي 260-280 نانوميتر، بعدها تم ترحيل 5 مايكروليتر من الحمض النووي المعزول ضمن هلام الاكاروز بتركيز 0.8% الشكل (1).

Downloaded from https://edusj.mosuljournals.com/



الشكل (1): الحمض النووي الجينومي DNA و المعزول من أصناف الخوخ *P. persica* المدروسة والمسارات

1 . Babcock 2. Giant Babcok 3. Novadona 4. Early Grand 5. Blanko 6. Elberta 7.Transvalia 8.Mammoth 9.Cardinal.

3- تحليل عينات الدنا DNA Analysis

أُستخدمت (9) بادئات للتضخيم العشوائي المجهزة من قبل شركة Bioneer الكورية المنشأ والمثبتة تسلسلاتها (قواعدها النتروجينية) جدول (1) وتم تحديد حجوم وتراكيز مكونات مزيج التضخيم وفقا لتعليمات الشركة المجهزة واجريت تفاعلات التضخيم العشوائي حسب ما ذكره [14] على عينات الحمض النووي DNA المعزولة من أصناف الخوخ المدروسة، ثم اجريت عملية الترحيل على هلام الاكاروز وصبغت بصبغة بروميد الايثديوم لمدة (20- 30) دقيقة ثم عرضت الهلامة لمصدر الأشعة فوق البنفسجية من نوع UV - Transiluminator ثم قدرت حجوم حزم الحمض النووي المضخمة اعتمادا على المسافة التي قطعتها الحزم ضمن الهلام بالمقارنة مع الدليل الحجمي القياسي DNA Ladder .

4- التحليل الاحصائي Statistical analysis

تم تحليل البيانات الناتجة عن تفاعل البادئات بإختبارات الـ (RAPD) والتي ظهرت على هلام الاكاروز وذلك بإعطاء الرمز (1) لوجود الحزمة والرمز (0) لعدم وجودها وتم ترتيبها بشكل جدول متسلسل ثم تحويل جميع البيانات إلى قيم التشابه الوراثي بأستخدام معامل التقارب والتباعد [15] واستخدم البرنامج الاحصائي Numerical Taxonomy and Multivar Analysis System وتم تحديد معامل التباعد

Downloaded from https://edusj.mosuljournals.com/

الوراثي باستخدام التحليل العنقودي Cluster multivariate وفق طريقة الوسط الحسابي للمجموعات الزوجية غير الموزونة Unweighted Pair Group Mean Average (UPGMA) ضمن نفس البرنامج الاحصائي PAST [15] بعدها حددت شجرة التباعد الوراثي الذي يجسد العلاقة الوراثية بين هذه الأصناف وتم حساب النسبة المئوية لكفاءة البادئ من خلال تحويل وجود او غياب الحزم المتباينة (1 ,0) من خلال المعادلة التالية:

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

أما القدرة التمييزية لكل مؤشر فقد تم تحديدها وفق المعادلة الاتية:

القدرة التمييزية % =عدد الحزم المتباينة للبادئ / عدد الحزم المتباينة لكل البادات x 100.

النتائج Results

استخدمت تفاعلات RAPD في دراسة العلاقات الوراثية بين أصناف الخوخ المدروسة حيث يوضح الجدول (1) والشكل (2) عدد البادئات المستخدمة في الدراسة وتسلسل القواعد النتروجينية فيها وعدد الحزم المتباينة والكلية وكفاءة البادئ والقدرة التمييزية له الناتجة عن تضخيم الـ DNA و تبعا لتتابع القواعد النيتروجينية للبادئات العشوائية المستخدمة لأصناف الخوخ قيد الدراسة. أظهرت نتائج التضخيم العشوائي للحمض النووي (DNA) حزم متباينة polymorphic bands وحزم فريدة (مميزة) unique bands , إذ بينت النتائج دور واضح لبعض البادئات في تحديد التباعد أو التباين الوراثي للأصناف المدروسة. حيث أظهر البادئ OPH–13 حزم متباينة للأصناف Babcock, Novadona, Blanko, Elberta, Mammoth و Transvalia عند الحجوم الجزيئية 1605, 1214, 753, 625 , 510 زوج قاعدي على التوالي , في حين لم تظهر أي نواتج للتضخيم ضمن هلام الأكاروز المصطبغ ببروميد الاثيديوم الأحمر للأصناف Giant Babcok, Early Grand,Cardinal وبلغ العدد الكلي للحزم المضاعفة الناتجة من هذا البادئ 4 حزم وبلغت نسبة التباين 100% . أما القدرة التمييزية لهذا البادئ فتم تحديدها اعتمادا على عدد الحزم التي أظهرها بالنسبة للمجموع الكلي للحزم المتباينة التي أظهرتها البادئات الأخرى كانت 12.9% أما كفاءتها النسبية فقد بلغت 11.8% بناءا على عدد الحزم الكلية التي أظهرها ، اما البادئ OPH – 14 وجد فيه مواقع خاصة لارتباطه ضمن الحمض النووي للأصناف Babcock , Giant Babcok , Novadona , Transvalia , Elberta و Mammoth حيث ظهرت حزم متباينة عند الحجوم الجزيئية 2000, 1715, 1300 , 1025 ,973, 845 , 88 , 528 و 352 زوج قاعدي على التوالي , في حين أنه لم يرتبط عند أي موقع للحمض النووي للأصناف Early Grand Cardinal,, Blanko , وبلغ العدد الكلي للحزم الناتجة من هذا البادئ 8 حزم , واعتمادا على العدد الكلي للحزم المتباينة فقد بلغت نسبة التباين 100% وقدرته التمييزية 18.2 في حين بلغت الكفاءة النسبية لهذا البادئ 16.6% , تميز هذا البادئ بأنه أظهر أكبر عدد من الحزم المتضخمة من بين البادئات المستخدمة في هذه الدراسة واستطاع تمييز الأصناف Blanko , Early Grand , Cardinal بعدم إمتلاكه مواقع متممة أو مكملة له ضمن الحمض النووي للأصناف الثلاثة . أما البادئ OPH –17 فتميز بقلة المواقع التي إرتبط بها ضمن الحمض النووي للأصناف المدروسة إذ أظهر هلام الأكاروز المصطبغ ببروميد الإثيديوم الأحمر عند تعريضه لمصدر الأشعة فوق البنفسجية Ultraviolet light وجود حزمة متباينة عند الحجم الجزيئي 982 زوج قاعدي للأصناف Babcock , Giant Babcok

Downloaded from https://edusj.mosuljournals.com/

Blanko , Early Grand , Novadona , Transvalia , Elberta دون الصنفين Cardinl, Mammoth وأيضا حزمة متباينة عند الحجم الجزيئي 397 زوج قاعدي للأصناف Babcock , Blanko , Novadona و Transvalia مقارنة ببقية الاصناف قيد الدراسة وبلغ العدد الكلي للحزم المتضخمة حزمتين فقط وبلغت نسبة التباين 100% أما قدرته التمييزية فقد بلغت 10% وكفاءته 9.1% , تميز هذا البادئ بأنه أظهر أقل عدد من الحزم المتضخمة إذ بلغ عددها 2 حزمة واستطاع هذا البادئ تمييز الصنفين Mammoth و Cardinal بعدم إمتلاكه مواقع مكملة له في الحمض النووي لهذين الصنفين .

جدول (1) عدد الحزم المتباينة والكلية ونسبة تباين وكفاءة البادئات العشوائية والقدرة التمييزية

البادئات	تسلسل القواعد النتروجينية في البادئ	عدد الحزم المتباينة	عدد الحزم الكلية	نسبة التباين %	كفاءة البادئ %	القدرة التمييزية للبادئ%	حجم القطع (زوج قاعدي)
OPH – 17	CAC TCT CCTC	17	17	100	9.1	10	982-397
OPH – 14	ACC AGG TTGG	31	31	100	16.6	18.2	~2000-352
OPH – 13	GAA TGG GCCA	22	22	100	11.8	12.9	1605-510
OPA – 1	CAG GCCC TC	13	14	92.8	7.4	7.6	984-905
OPA – 2	TGC CGA CCTG	19	23	82.6	12.3	11.2	1705-183
OPA – 4	AAT CGG GCTG	22	32	68.8	17.1	12.9	1620-70
OPA -13	GAA TGG GCCA	14	15	93.3	8	8.3	793-308
OPW – 13	CAC AGC GACA	16	16	100	8.6	9.4	689-263
OPW-11	CTG ATG CGTC	16	17	94.1	9.1	9.4	970-310
المجموع		170	187	-	%100	%100	-

واظهر البادئ OPA – 1 حزمة متباينة للأصناف Novadona , Blanko و Transvalia عند الحجوم الجزيئية 617 , 984 , 325 زوج قاعدي والأصناف Novadona , Blanko , Transvalia و Mammoth عند الحجم الجزيئي 242 زوج قاعدي , في حين أنه إرتبط بموقع فريد للصنف Cardinal عند الحجم الجزيئي 905 زوج قاعدي وبذلك استطاع هذا البادئ من تمييز الصنف Cardinal من خلال هذا الإرتباط , كما إستطاع تمييز الأصناف Babcock , Giant Babcok , Early Grand و Elberta لعدم إمتلاكه مواقع مكملة له ضمن الحمض النووي لهذه الأصناف وكان العدد الكلي للحزم المضاعفة الناتجة 4 حزم وبلغت نسبة التباين 92.8% أما قدرته التمييزية بلغت 7.6% وبكفاءة 7.4 % الجدول (2).

Downloaded from https://edusj.mosuljournals.com/

جدول (2) الحزم المتضخمة مع أحجامها الجزيئية للبادئات (OPH-13, OPH-14, OPH-17, OPA-13, OPA-1)

البادئ	الأصناف										الحجم الجزيئي (زوج قاعدي)	نوع الحزمة
	9	8	7	6	5	4	3	2	1			
OPH-13	0	1	1	1	1	0	1	0	1		1605	متعدد الأحجام
	0	1	1	1	1	0	0	0	1		1214	
	0	1	0	1	1	0	0	0	0		753	
	0	1	1	1	1	0	0	0	1		625	
	0	0	1	0	0	0	1	0	1		510	
OPH-14	0	0	1	1	0	0	1	1	1		More than 2000	متعدد الأحجام
	0	0	1	1	0	0	1	1	1		1715	
	0	0	0	0	0	0	0	1	1		1300	
	0	0	1	1	0	0	0	1	1		1025	
	0	0	1	1	0	0	1	1	1		973	
	0	0	0	0	0	0	1	1	1		845	
	0	1	0	0	0	0	0	1	0		688	
	0	1	1	0	0	0	0	1	1		528	
	0	1	1	0	0	0	0	0	0		352	
OPH-17	0	0	1	1	1	1	1	1	1		982	متعدد الأحجام
	0	0	1	0	1	0	1	0	1		397	
OPW-13	0	0	1	0	1	1	1	0	0		689	متعدد الأحجام
	0	1	1	1	1	1	1	0	0		361	
	1	1	1	1	1	1	1	0	0		263	
OPA-1	0	0	1	0	1	0	1	0	0		984	متعدد الأحجام
	0	0	1	0	1	0	1	0	0		617	
	0	0	1	0	1	0	1	0	0		325	
	0	1	1	0	1	0	1	0	0		242	
	1	0	0	0	0	0	0	0	0		905	فريدة (مميزة)

0 تمثل غياب الحزمة , 1 وجودها .

جاءت نتائج البادئ OPW – 13 مقاربة لنتائج البادئ السابق من حيث ضئآلة مواقع الإرتباط ضمن الحمض النووي لأصناف الخوخ قيد الدراسة حيث أظهر حزمة عند الحجم الجزيئي 689 زوج قاعدي للأصناف Novadona , Early Grand , Blanko و Transvalia وعند الحجم الجزيئي 361 زوج قاعدي للأصناف Novadona , Early Grand , Blanko , Elberta , Transvalia و Mammoth بالإضافة الى الأصناف Novadona , Early Grand , Blanko , Elberta , Transvalia , Mammoth و Cardinal عند الحجم الجزيئي (263) زوج قاعدي وبلغ العدد الكلي للحزم المتضخمة 3 وبلغت نسبة التباين 100% وقدرته التمييزية 9.4% وكفاءته % 8.6 . في حين أن البادئ OPA – 2 وجد فيه العديد من مواقع الارتباط عدا الصنفين Novadona و Early Grand فقد أظهر هلام الأكاروز حزمة متباينة للأصناف السبعة الباقية قيد الدراسة عند الحجوم الجزيئية 1705 , 1208 , 110,415,445,670,978 زوج قاعدي على التوالي من ناحية أخرى اظهر هذا البادئ حزمة فريدة (مميزة) للصنف Blanko عند الحجوم الجزيئية 1314 , 183 , 913 زوج قاعدي كذلك للصنف Babcock عند الحجم الجزيئي 314 زوج قاعدي , واستطاع هذا البادئ تمييز الصنفين Novadona

Downloaded from https://edusj.mosuljournals.com/

وEarly Grand في عدم إمتلاكه مواقع مكملة له ضمن الحمض النووي لهذين الصنفين , كما إستطاع تمييز الصنفين Babcock و Blanko من خلال الحزم الفريدة (المميزة) التي أظهرها هذا البادئ وبلغ العدد الكلي للحزم المتضخمة الناتجة عن إستخدامه 5 حزم إذ كانت نسبة التباين 82.6% وبلغت والقدرة التمييزية 11.2% وكفاءته % 12.3 . أما البادئ OPA–13 أظهر مواقع إرتباط ضئيلة ضمن الحمض النووي للأصناف قيد الدراسة ليعطي حزمة فريدة (مميزة) عند الحجم الجزيئي 793 زوج قاعدي للصنف Elberta وحزم متباينة في جميع الأصناف المدروسة باستثناء هذا الصنف إذ أظهر هذا البادئ حزما عند الحجمين الجزيئيين 428 و 308 زوج قاعدي على التوالي وبذا ميز هذا البادئ الصنف Cardinal لعدم إمتلاكه مواقع متممة له ضمن الحمض النووي له وبلغ العدد الكلي للحزم الناتجة من هذا البادئ 3 , أما نسبة التباين فكانت % 93.3 والقدرة التمييزية 8.3% وكفاءته 8% كما اظهر البادئ OPW–11 حزمة متباينة للأصناف Transvalia و Babcock عند الحجوم الجزيئية 970 , 385,520 زوج قاعدي وحزمة فريدة (مميزة) للصنف Giant Babcock عند الحجم الجزيئي 310 زوجة قاعدية وبذلك كان مميزة لهذا الصنف من خلال هذه الحزمة كما ميز هذا البادئ الصنفين Mammoth و Cardinal في عدم امتلاكه مواقع متممة له ضمن الحمض النووي لهذين الصنفين . أما نسبة التباين لهذا البادئ كانت 94.1% وقدرته التمييزية 9.4% وبكفاءة 9.1% الجدول (3) .

جدول (3): الحزم المتضخمة مع أحجامها الجزيئية للبادئات (OPA-2 , OPA-13 , OPW-11)

البادئ	الأصناف									الحجم الجزيئي (زوج قاعدي)	نوع الحزمة
	9	8	7	6	5	4	3	2	1		
OPA-2	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1705	متعدد الأحجام
	1	0	0	0	0	1	0	1	0	1208	
	0	0	0	0	0	1	1	1	1	978	
	1	1	0	0	0	0	0	0	0	670	
	1	0	0	0	0	0	0	0	1	445	
	0	0	0	0	1	0	0	0	1	415	
	1	0	0	0	0	0	0	0	1	110	
	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1314	فريدة (مميزة)
	0	0	0	0	1	0	0	0	0	913	
	1	0	0	0	0	0	0	0	0	314	
	0	0	0	0	1	0	0	0	0	183	
OPA-13	0	1	0	1	1	1	1	1	1	428	متعدد الأحجام
	0	0	1	1	1	1	1	1	1	308	
	0	0	0	1	0	0	0	0	0	793	فريدة (مميزة)
OPW-11	0	0	1	1	1	1	1	1	1	970	متعدد الأحجام
	0	0	1	1	1	1	0	0	0	520	
	0	0	1	1	0	1	0	1	1	385	
	0	0	0	0	0	0	0	1	0	310	فريدة (مميزة)

0 تمثل غياب الحزمة , 1 وجودها .

Downloaded from https://edusj.mosuljournals.com/

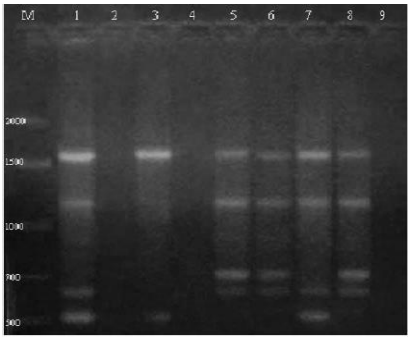
اظهر البادئ OPA −4 العديد من الحزم ضمن هلام الأكاروز منها ما كان متباين 1320 , 890 ,386,479,581 , 230 و 70 زوج قاعدي للأصناف Giant Babcok , Early Grand , Blanko , Elberta , Transvalia , Mammoth و Cardinal على التوالي والاخر فريدة (مميزة) عند الحجوم الجزيئية 1620 , 1493 ,1215 , 900 , 830 , 770 , 640 , 605 , 505 , 410 و 312 زوج قاعدي على التوالي أيضا وتميز بارتباطه بالحمض النووي لجميع أصناف الخوخ المدروسة دون استثناء , وبلغ العدد الكلي للحزم المتضاعفة الناتجة منه 5 حزم وكانت نسبة التباين 68.8% وبلغت قدرته التمييزية 12.9% وبكفاءة 17.1% الجدول (4).

جدول (4) يمثل الحزم المتضخمة مع أحجامها الجزيئية للبادئ (OPA-4)

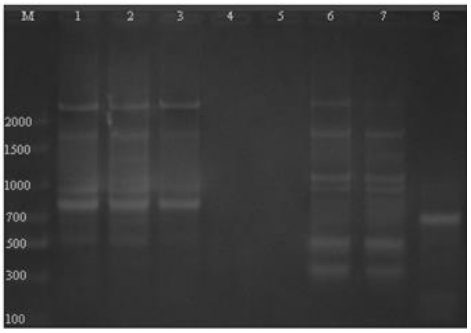
نوع الحزمة	الحجم الجزيئي (زوج قاعدي)	الأصناف								
		1	2	3	4	5	6	7	8	9
فريدة (مميزة)	1620	0	0	0	0	1	0	0	0	0
	1215	0	0	0	0	0	0	0	1	0
	900	0	0	0	0	0	0	0	1	0
	830	0	0	0	0	0	0	0	1	0
	770	0	0	0	0	0	0	0	0	1
	640	0	0	0	0	0	0	0	0	1
	605	0	0	0	0	0	0	0	1	0
	505	0	0	0	0	0	0	0	1	0
	410	0	0	0	0	0	0	0	0	1
	312	0	0	0	1	0	0	0	0	0
متعدد الأحجام	1493	1	0	0	0	1	0	0	0	0
	1320	0	0	0	0	1	0	0	0	1
	890	0	0	1	1	1	0	1	0	0
	581	0	1	0	1	0	1	0	0	0
	479	0	0	1	1	0	1	0	0	0
	386	0	0	0	0	0	1	1	0	0
	230	0	1	1	0	0	1	0	0	0
	70	0	1	1	0	0	1	0	0	0

حيث 0 غياب الحزمة 1 يمثل وجودها

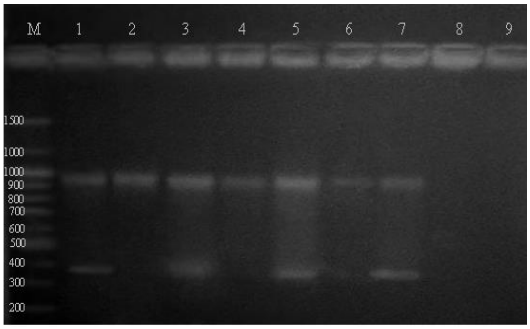
Downloaded from https://edusj.mosuljournals.com/



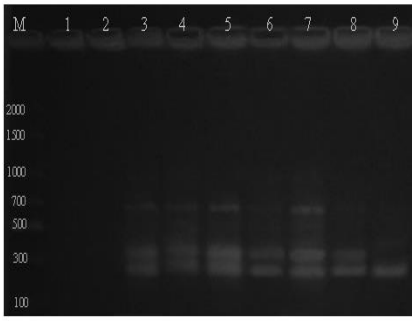
OPH-13



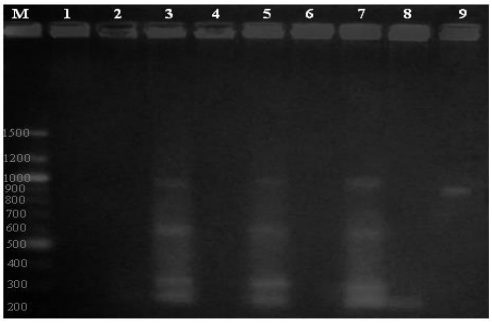
OPH-14



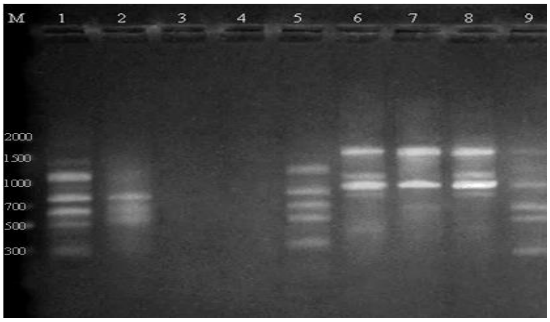
OPH-17



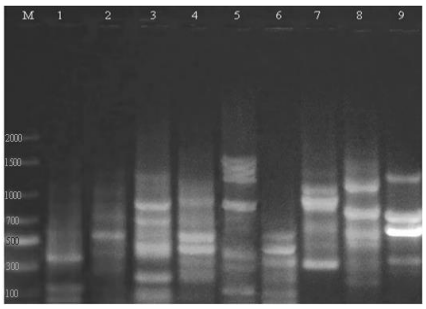
OPW-13



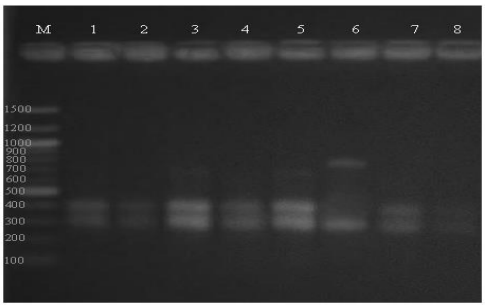
OPA-1



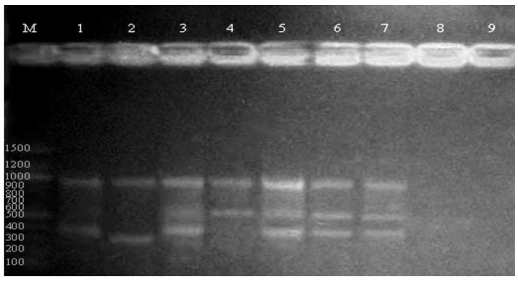
OPA-2



OPA-4



OPA-13



OPW-11

شكل (2) هلام الأكاروز نواتج التضخيم العشوائي للبادئات المستعملة في أصناف الخوخ المدروسة (1. Babcock 2. Giant 3. Babcok Novadona 4. Early Grand 5. Blanko 6. Elberta 7. Transvalia 8. Mammoth 9. Cardinal) والمسار M يمثل الدليل الحجمي (100 زوج قاعدي) .

Downloaded from https://edusj.mosuljournals.com/

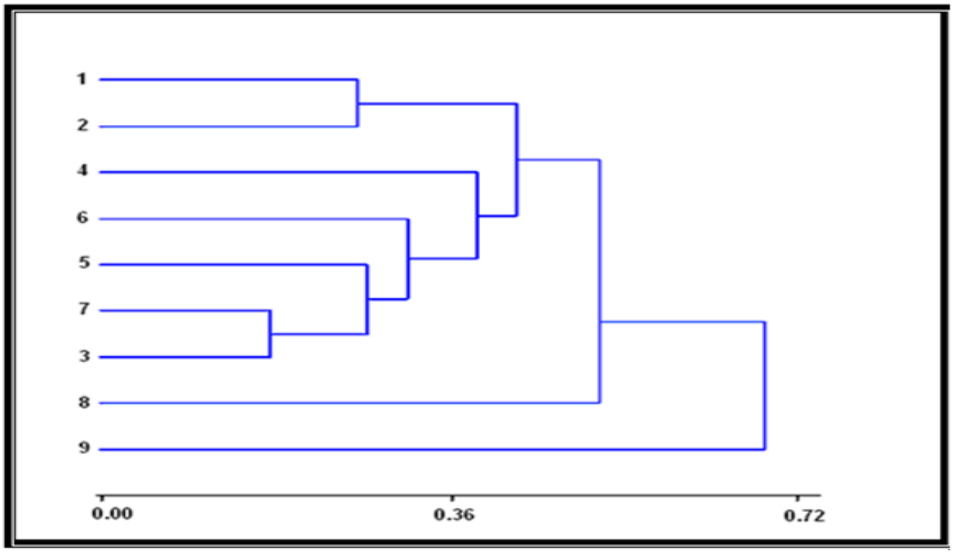
من خلال إدراج مخرجات النتائج الرقمية التي تم تمثيلها بالرمز 1 لوجود الحزمة و 0 لفقدان الحزمة ضمن برنامج UPGMA الإحصائي يشير الجدول (5) درجة التباين الوراثي بين أصناف الخوخ المدروسة باستخدام معامل التحليل الاحصائي PAST , إذ بلغت أعلى قيمة 0.72641 ضمن الصنف Transvalia , في حين أن أقل قيمة كانت 0.108 ضمن الصنف Cradinal وتراوحت قيم باقي الأصناف بينهما , وهذا جاء متوافقة مع نتائج الدراسة الحالية عند المستوى الجزيئي التي أظهرت تباعد وراثي واضح للصنفين Cardinal , Mammoth ومتفقة لما أشار إليه [2] أن بادئات الـ RAPD تعد أدوات مهمة جدا في معرفة وتحديد التشابه الوراثي بين أشجار الفاكهة وتستخدم هذه البادئات بكثرة مع أشجار الخوخ والمشمش , فضلا عن دراسة [3] التي أكدت على إستخدام بادئات الـ RAPD لتعريف وتحديد التنوع الوراثي والعلاقات الوراثية بين 28 صنفا من الخوخ.

جدول (5) مصفوفة التشابه بين أصناف الخوخ *P.persica* المدروسة بالاستناد الى معاملات التشابه وفق PAST

	1	2	3	4	5	6	7	8	9
1	0.00000								
2	0.61738	0.00000							
3	0.52174	0.52907	0.00000						
4	0.22857	0.34483	0.51429	0.00000					
5	0.37037	0.29167	0.66667	0.51163	0.00000				
6	0.54167	0.52381	0.58333	0.46649	0.60714	0.00000			
7	0.56601	0.36364	0.72641	0.41026	0.62069	0.65385	0.00000		
8	0.28571	0.16667	0.23811	0.19355	0.32067	0.45455	0.43478	0.00000	
9	0.12121	0.11869	0.17290	0.19067	0.19756	0.11429	0.10811	0.13793	0.00000

من خلال التحليل العنقودي Cluster Multivariate لتحديد طبيعة العلاقة الوراثية أظهرت شجرة التباين الوراثي الاصناف الخوخ المدروسة مجموعة رئيسية شملت الأصناف Babcock , Giant Babcok , Novadona , Early Grand , Blanko , Elberta و Transvalia وكان كل من الصنفين Babcock و Giant Babcock على التوالي فضلا عن الصنفين Novadona و Transvalia على التوالي الأكثر قرابة مع بعضها , وهذا دليل الى وجود درجة تشابه أعلى ضمن المادة الوراثية من الأصناف الأخرى والتي تستند بدورها على عدد الحزم المشتركة الناتجة من البادئات المستخدمة في تفاعلات تقانة الـ RAPD الشكل (3) .

Downloaded from https://edusj.mosuljournals.com/



شكل (3) شجرة التباين الوراثي dendogram لأصناف الخوخ *P.persica* قيد الدراسة ناتجة عن تحليل بيانات الـ RAPD وفق PAST.

.1)Babcock . 2 Giant Babcok.3 Novadona .4 Early Grand.5 Blanko .6 Elberta .7 Transvalia .8 Mammoth .9 Cardinal. (

المناقشة Discussion

إن الإختلاف في أنواع وأعداد وحجوم حزم التضخيم لأصناف الخوخ قيد الدراسة قد يعود سببه الى قدرة البادئ على تحديد وإيجاد مواقع إرتباط له يتناسب مع حجم معين من المادة الوراثية ضمن الحمض النووي للنباتات المدروسة وهذا يدل بدوره على وجود تباين وراثي بين الأصناف إعتمادا على تسلسل القواعد النيتروجينية للحمض النووي , أو قد يفسر على أساس حدوث طفرة ضمن الحمض النووي للأصناف المدروسة إما بالحذف أو الإستبدال أو الإضافة لأحد النيوكليوتيدات وهذا ما أكده [17] .

إن التغايرات الظاهرة فيما بين الأصناف ربما يرجع الى تراكم الطفرات الجسمية بفعل العوامل الداخلية الوراثية خلال فترة النمو الخضري للنبات كما إن تفاعلات الـ RAPD تتصف بحساسيتها لأي تغيير في مكونات تفاعلاتها لذلك يصعب إعادتها والحصول على نفس النتيجة لأن نتائجها تتأثر بتغير تراكيز مكونات التفاعل والظروف المحيطة وإن بعض البادئات المستخدمة أعطت حزمة فريدة لعدد من الأصناف ويعد ظهور الحزمة الفريدة أو (المميزة) Unique band من أهم الصفات التشخيصية المعتمدة في تمييز الأنواع والأصناف , إذ أن ظهور تلك الحزمة في نوع معين يدل على وجود ذلك التسلسل ضمن الحمض النووي المجيني لذلك الصنف دون الأصناف الأخرى قيد الدراسة [14]. ويدعى غياب الحزمة العامة (الرئيسية) Main band لصنف معين دون غيره من الأصناف المدروسة بالحزمة الغائبة (Absent) وهذا الغياب يعد بمثابة دليل التمييز لذلك الصنف [18] . ويلاحظ من نتائج هذه الدراسة أنها قد ساعدت في تشخيص وتحديد درجة القرابة الوراثية بين اصناف الخوخ المدروسة ويمكن التوسع مستقبلا في دراسة هذه الاصناف وأصناف أخرى وتكوين خرائط وراثية لكل منها باستخدام تقانات احدث مثل تقانة Site Specific Recombines (SSR) و Amplified fragment length polymorphism (AFLP) .

Downloaded from https://edusj.mosuljournals.com/

References المصادر

[1] Al-Rawi, Ali and Al- Duri, Aadel. (2000). Fruits Production, Books home for printing and distribution, Mosul University. (in Arabic)

[2] Patrol researches institute. (2003). Production of Peach in Egypt, Agricultural research center , Central Administration of Agricultural Guidance in the Ministry of Agriculture and Land Reclamation , Egypt. (in Arabic)

[3] Yaman, K.; Rawasut, A.; Yamak, G. and Hanjo, H.(2004). Relationship between chilling and heat requirement for flowering in ornamental Reseaches. J. Jap. Soc. Hort. Sci. 73 (6): 519-523.

[4] Wunsch, A. and Hormaza, J.J. (2002). Cultivar identification and genetic fingerprinting of temperature fruit tree species using DNA markers. J. Euphytica. 125: 59-67.

[5] Raddova, J.; Baranck, M.; Oukropec, I. and Vanchhun, M. (2003). RAPD analysis of peach with in Czech National collection. Czech J. Genet. 39(4):113-119.

[6] Mir, A. and Nabulsi, I. (2005). Genetic diversity of almonds (*Prunus dulcus*) using RAPD technique. Scientia Hort. cultivars 98:461-471.

[7] Oliveira, C.M.; Mota, M.; Monte-corvo, L.; Goulao, L. and Silva, D.M .(1999). Molecular typing based on RAPD markers. Sci .Hort. 79:163- 174.

[8] Landry, B.S.; Li, R.Q.; Cheung, W.Y. and Granger R.L.(1994). Phylogeny analysis of 25 apple rootstocks using RAPD markers and tactical gen tagging. Theor. Appl. Genet. 89: 847-852.

[9] Cipriani, G; lot, G.; Huarg, W.G.; Mavrazo, M.T.; Peterlunger, E. and testolin, R. (1999). AG/6T and AG/CT Microsatelite repeats in peach *Prunus persica* (L.) Batsch: Isolation, characterization and cross-species amplification in *Prunus*. Theor. APP. Genet. 99:65-72.

[10] Weigand, F.; Baum, M. and Udupa, S. (1993). DNA Molecular marker techniques, technical manual, No. 20. Introductional center for agricultural research in the dry area. Aleppo, Syria.

[11] Maniatis , T. ; Fritsch , E. F. and Sambrook , J. (2000). In vitro Application of DNA by the polymers Chain Reaction, in Molecular cloning : A Laboratory Manual , 2d ed. Cold spring Harbor Laboratory press , New York, USA , pp. 691.

[12] Williams, C.E. and St-Clair, D.A. (1993). Phonetic relationships and level of variability detected by restriction fragment length polymorphism and random amplified DNA analysis of cultivated and wild accessions of *Lycopersican esculentum*. Genome .36: 619-930.

[13] Øyvind Hammer. (2009). PAST, PAlenological Statistics. Version1.94b, Reference manual, Natural History Museum, University of Oslo.

[14] Ercisly, S.; Agar, G.; Yildirim, N.; Esitkrn, A. and Orhan, E. (2009). Identification of apricot cultivars in Turkey *Prunus persica* (L.) using RAPD markers. J. Romanian Biotechnol let. 14 (4): 4582-4588.

Downloaded from https://edusj.mosuljournals.com/