



البحث العلمي وسبلنا للحياة المتعلمة



الكشف عن التباين الوراثي والبصمة الوراثية لخمسة اصناف من نبات الفجل المستزرعة في العراق

باستخدام مؤشرات الـ RAPD-PCR

أحمد فيصل محمد العزاوي ، عقيل حسين علي العاصي ، رافع زيدان مخاف السكمانى

قسم علوم الحياة ، كلية العلوم ، جامعة تكريت ، تكريت ، العراق

الملخص

هدف البحث: الكشف عن العلاقة الوراثية والبعد الوراثي لخمسة اصناف من نبات الفجل المزروعة في العراق باستخدام المؤشرات الجزيئية. **طرق العمل:** زرعت بذور اصناف نبات الفجل (الاحمر الدائري و الابيض الجزري و الاسود الدائري والابيض الدائري والاحمر الدائري) في تاريخ 8 / 10 / 2019 . تم جمع العينات من محافظة صلاح الدين / قضاء بلد/ ناحية يثرب، بعد شهر من موعد الزراعة حيث تم اخذ من كل عينة 2 غم وتم عزل الـ DNA بالاعتماد على طريقة الـ CTAP وتم قياس نقاوة وتركيز الـ DNA وذلك عن طريق جهاز Nanodrop حيث تراوحت النقاوة ما بين (2.06-2.66) بينما تراوحت التراكيز ما بين (135-488.3). بينت النتائج ان جميع البرايمرات لها مواقع ارتباط على جينوم النبات وانتجت الحزم والتي كانت متوزعة ومختلفة بين العامة والمتباينة اظهرت نتائج هذا البحث حزم مختلفة المواقع حيث كان مجموع المواقع (90) موقع، منها (9) مواقع عامة و(81) موقع متباين(مختلف) وتميز البرايمر (P4) بأعلى عدد بلغت (11) موقع من المواقع وكذلك انتج البرايمر (P11) اقل عددا من المواقع حيث بلغ (3) مواقع وكان مجموع الحزم المنتجة من هذه المواقع هي (215) حزمة، من هذه الحزم (170) حزمة مختلفة و (45) حزمة عامة ، كما انتج البرايمر (P4) اكثر عددا بلغ (27) حزمة، بينما انتج البرايمر (P11) اقل عددا حيث بلغ (4) حزم فقط ، اما نسبة التباين العامة فقد بلغت 79%. وأظهرت النتائج حزم مميزة كان مجموعها (45) حزمة، حيث كان منها (32) حزمة فريدة، و (13) حزمة غائبة، وتميز الصنف الابيض الدائري بأعلى عدد للحزم الفريدة اذ بلغت (11) حزمة بينما حصل الصنف الابيض الجزري على اقل عدد من الحزم الفريدة اذ بلغت (3) حزم فقط ، اما بالنسبة للحزم الغائبة فقد تميز الصنفان الابيض الدائري والاحمر الدائري بعدم انتاج الحزم الغائبة بينما حصل الصنف الابيض الجزري على أعلى عدد من الحزم الغائبة فكانت (9) حزم . ومن نتائج البعد الوراثي بتفاعلات الـ RAPD-PCR تبين ان نتائج قيم البعد الوراثي تراوحت نسبتها بين (0.372-0.969) ، و كان اقل بعد وراثي هو بين الصنف الابيض الدائري والاحمر الدائري اذ بلغ (0.327) وهذا يدل على ان هذين الصنفين هما الاكثر تشابها ضمن الاصناف المدروسة ، وكان اعلى بعد وراثي هو بين الصنف الاحمر الدائري والابيض الجزري ببعد وراثي (0.969) مما يدل على انهم اكثر اختلافا ضمن الاصناف المدروسة.

الاستنتاج: يمكن ايجاد العلاقة الوراثية لتلك الاصناف وكذلك القرابة الوراثية لتلك الاصناف وتحديد البصمة الوراثية لها باستخدام مؤشرات الـ RAPD-PCR وكذلك تجنب تأثير عوامل الزراعة والبيئة التي تغير من صفات الصنف المستزرع في بيئات دخيلة غير البيئة الاصلية له .

الكلمات المفتاحية: الـ RAPD-PCR ، التباين الوراثي ، البصمة الوراثية ، نبات الفجل

المقدمة

مبكر من 2700 قبل الميلاد (Weaver and William, 1997). يتطلب فترة نمو من (45_70) يوم وعادة ما يزرع في موسم الخريف (Peterson and Cass., 2018). تم العثور على أكبر تنوع من أصناف الفجل في شرق البحر الأبيض المتوسط وبالقرب من بحر قزوين ، مما يشير إلى منطقة منشأ مختلفة (Jing et al., 2014). يستخدم الفجل بشكل أساسي للاستهلاك

الفجل *Raphanus sativus* ، التي تنتمي إلى عائلة Brassicaceae هو من الخضروات السنوية موجودة في جميع أنحاء العالم ويعرف الآن بشكل شائع كجذر أحمر بصلي صغير. وتشير أقدم "المراجع الأدبية والبقايا الأثرية" بأنه لا يوجد اتفاق على أي من الحضارات القديمة التي زرعت الفجل أولا الاغريق، المصريون ام الصينيون. يقول البعض أن الفجل قد أكل في مصر القديمة في وقت

المواد وطرق العمل

جمع العينات: زرعت بذور اصناف نبات الفجل (الاحمر الدائري و الابيض الجزري و الاسود الدائري والابيض الدائري والاحمر الدائري) في تاريخ 8 / 10 / 2019 في مزرعتي بناحية يثرب محافظة صلاح الدين. بعد حراثة الارض زرعت البذور وبشكل عشوائي في الواح ذات طول (2) متر وعرض (1) متر وكانت المسافة بين صنف واخر هي (25)سم (البرنس،1996) وكانت البذور على عمق (2_1) سم ثم سقيت بهدوء تجنباً لانجراف البذور مع تيار الماء بعد ذلك تم السقي كلما دعت الحاجة اعتماداً على رطوبة التربة وحاجة النبات. تم جمع العينات من نبات الفجل بعد شهر من موعد الزراعة حيث تم اخذ(4_5) اوراق فتيحة من القمة النامية للنبات اي بوزن (2) غم وبعدها وضعت في اكياس خاصة معلمة ونقلت الى المختبر مباشرة لاجراء عملية الاستخلاص لل DNA ، منها.

طريقة الاستخلاص لل DNA : DNA Extraction

تم استخلاص ال DNA من نبات الفجل عن طريق استخدام مادة الـ cetyl trimethylammonium bromide (CTAB) وفقاً لما ذكره (Huang et al., 2013) و (السكمانى، 2017).

تركيز و تنقية الدنا (DNA) : DNA purification

تم قياس تركيز ونقاوة ال DNA باستعمال جهاز ال (nano drop)، اخذت كمية قليلة جداً من الدنا DNA المجيني المستخلص سابقاً وبعدها وضعت في المكان الملائم للعينة، بعدها تمت معايرة الجهاز على محلول الاذابة، وتم تثبيت وحدة التركيز للـ DNA بـ 1 ng/µl بعدها سيعطي الجهاز بقياس التركيز بال ng/ml ، والنقاوة بدقة عالية، ثم بعدها نخفف العينة الى ان يصل تركيز ال DNA 50 ng/µl، ومن ثم بعدها حفظت بالمجمدة لحين الاستعمال.

طريقة ترحيل لل DNA المجيني: Genome DNA

تم تحضير المحاليل والمواد اللازمة والهلام ، وتحميل العينات في عملية الترحيل الكهربائي كما في الطريقة المسبقة التي ذكرها (السكمانى، 2017).

اجراء تفاعلات (RAPD-PCR) :

تم إجراء تقنية الـ RAPD بالاستناد إلى (السكمانى، 2017). لخمسة اصناف من نبات الفجل باستخدام (13) بادئا موضحة في الجدول (2) وكذلك تم إجراء التفاعلات بحسب الجدول (3,4).

البشري في شرق آسيا ، بما في ذلك كوريا والصين واليابان (Seo et al., 2018). أن العديد من أنواع الفجل المختلفة تنتشر في جميع أنحاء أوروبا وآسيا، حيث تفضل البلدان المختلفة أصناف معينة. مثلاً الفجل الأسود لـ R. niger كان مفضلاً في إسبانيا، كما ان هناك صنف اوربي آخر R. radicularis. إضافة الى اصناف اخرى مختلفة تم زراعتها في آسيا مثل R. longipinnatus، المعروف أيضاً باسم Daikon، في الصين، و R. raphanistroides متنوعة في اليابان (Pojer et al., 2013). يلعب الصنف الاوربي دوراً مهماً في علاج بعض الامراض حيث استخدم كنبات طبي منذ زمن طويل ومن المعروف باسم Mooli أو موللي في الهندية والبنجابية. له آثار ملين على الأمعاء و بمثابة فاتح الشهية (Waheed, et al., 2019). تستخدم لعلاج ضعف الكبد وعسر الهضم (Banihani, 2017). ارتبطت الأنشطة الطبية للنباتات منذ فترة طويلة بإنتاج المستقلبات الثانوية التي تشمل كليكوسيدات، قلويدات، الفلافونويد، التانينات، التربين، الكومارين، إلخ هي مواد كيميائية نشطة بيولوجياً، يتم توليفها بشكل طبيعي في جميع أنحاء جسم النبات (Agnieszka Kicel, 2020) وتستخدم كمضاد للأورام (Kim, et al., 2011). وتستخدم كمضاد للسكري وكذلك تستخدم لعلاج ضعف الكبد وعسر الهضم (Banihani, 2017). وتستخدم كمضاد للتكاثر (Manivannan et al., 2019) كما أنها معروفة جيداً لاستخدامها في علاج التهاب الشعب الهوائية والإنسعال (Banihani, 2017). ان اكتشاف تقنية الـ PCR في العقدين الماضيين ساعدت العديد من الباحثين على استنباط مؤشرات مختلفة تعتمد على تلك التقانة ساهمت بشكل كبير في تقييم الاصول الوراثية وكشف التباين الوراثي وتحديد هوية الانواع من خلال البصمة الوراثية وكذلك تحديد الجينات المسؤولة عن العديد من الصفات المهمة في تربية النبات ومنها الفجل ومن هذه المؤشرات هي Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) و Inter-Simple Sequence Repeat (ISSR) و Amplified Fragment Length Polymorphism (AFLP). (Xuxiao et al., 2009). استخدمت تقنية الـ RAPD لهذا الغرض لتفوقها من حيث السهولة والدقة وإمكانية الكشف بأوسع مساحة من جينوم النبات Plant genome وقلّة التكلفة مقارنة بالمؤشرات الأخرى (السكمانى، 2017). هدف البحث هو ايجاد العلاقة الوراثية والبصمة الوراثية لخمسة اصناف من الفجل المستزرع باستخدام مؤشرات الـ RAPD-PCR.

جدول 2 : يوضح البادئات المستخدمة في الدراسة

no.	Primer	Sequence 5'→→→3'	no.	Primer	Sequence 5'→→→3'
P1	OP A-01	CAGGCCCTTC	P8	OP C-16	CACACTCCAG
P2	OP B-04	GGACTGGAGT	P9	OP C-10	TGTCTGGGTG
P3	OP B-12	CCTTGACGCA	P10	OP D-03	GTCGCCGTCA
P4	OP C-08	TGGACCGGTG	P11	OP D10	GGTCTACACC
P5	OP H-16	TCTCAGCTGG	P12	OP D-18	GAGAGCAAC
P6	OP J-04	CGGAACACGG	P13	OP Y-04	GGCTGCAATG
P7	OP B-20	GGACCCTTAC			

النتائج والمناقشة

نتائج مؤشرات الـ RAPD :

ان تقنيات الـ RAPD تستعمل برايمرات قصيرة (Short primer)، حيث تكونت من (10) قواعد نايتروجينية والتي من خلالها تكشف عن التباينات او الاختلافات بين الانواع وذلك من خلال الكشف او التعرف المنفرد على موقع معين من المواقع أو من عدمه ، Waly *et al.*, (2012). اما بالنسبة لتركيز البرايمر فقد كان (10) بيكو مول، حيث كان افضل تركيز للحصول على النتائج الجيدة وقد وضحت هذه الدراسة ان زيادة تركيز البرايمر يؤدي الى ظهور الحزم غير المتخصصة او غير الدقيقة والتي تسمى بـ primer dimer وان من هذه الدراسة تبين ان تقليل التركيز يؤدي الى ظهور حزم غير واضحة (شاحبة). اما بالنسبة لمحتويات التفاعل فقد تبينت نتائج هذا البحث أن الـ green master mix يكون افضل من المكونات المنفصلة وذلك لسهولة تحضيرها وايضا ضبط القياسات ولا يحتاج الى محلول التحميل اثناء الترحيل على هلام الاكاروز. ان الحجم الذي استعمل في الدراسة هو (25) مايكرو ليتر، وكان حجم الماستر هو (5) ميكرو ليتر، وتم الحصول على هذه النتائج الجيدة.

تمت في هذه الدراسة، دراسة التباين الوراثة لخمس اصناف من نبات الفجل باستعمال تقنيات الـ RAPD، حيث استخدمنا (13) برايمر عشوائي وكانت جميع البرايمرات لها ارتباط على الجينوم، وبعدها أنتجت حزم غير متشابهة (مختلفة) ومتوزعة بين احادية الشكل (Monomorphic bands) وبين متعددة الاشكال (polymorphic)، ثم تم الكشف عنها على هلام الاكاروز وذلك بوجود الدليل الجيني DNA markers (DNA ladder 100bp)، بعدها ظهرت النتائج البرايمرات اشكال مختلفة من الحزم كما موضحة في الجدول (5) وكان المجموع الكلي للمواقع التي تعرفت عليها البرايمرات، على مجين العينات المدروسة هي (90) موقع، منها (9) مواقع فقط عامة لكافة العينات و (81) موقع متباين (غير متشابه)، حيث تميز البرايمر (p4) ب أعلى عدد للموقع المنتجة في الهلام، حيث بلغت (11) موقع ، بينما انتج البرايمر (p11) اقل عددا للمواقع حيث بلغت (3) مواقع فقط. حيث كان مجموع الحزم المنتجة (Total bands) من هذه المواقع بلغت (215) حزمة، منها (170) حزمة متباينة (غير متشابهة) polymorphic bands، و(45) حزمه عامه (main bands)، وكما انتج البرايمر (p4) أعلى نسبة من عدد الحزم اذ بلغت (27) حزمة، وكذلك ا انتج البرايمر (p11) اقل نسبة من عدد من الحزم إذ بلغت (4) حزم فقط، اما النسبة العامة للتباين variation ratio للبرايمرات المنتجة حيث بلغت 79% . (العاصي، 2002، (Kong, et al., 2011).

جدول 3 : يوضح المحاليل المستخدمة في اجراء تفاعلات الـ RAPD.

(السكمانى ، 2017)

ت	المكونات	التركيز النهائي	الحجم لعينة واحدة
1	خليط التفاعل Green master mix	1x	12.5 مايكروليتر
2	البادئ primer	10 بيكومول	2.0 مايكروليتر
3	ماء مقطر nuclease free water	-	8.5 مايكروليتر
4	قالب الدنا DNA template	50.25 ng	2 مايكروليتر

من خلال هذه النتائج تبين ان افضل برنامج استعمل على جهاز المبلر الحراري thermocycler هو البرنامج الموضح بالجدول (4). حيث كانت درجة حرارة المسخ الاولى هي (4) دقائق بدرجة حرارة (94)°م ، بسبب الضمان لفك الشريط المزدوج وذلك لضمان التعرف البرايمر على اغلب مواقع الارتباط في كل العينات المدروسة الداخلة في البرنامج . أما في مرحلة المسخ الاعتيادي حيث تمت بدرجة حرارة (93)°م ولمدة (45) ثانية، وتعتبر درجة حرارة الارتباط هي من اولويات تصميم البرنامج، حيث كلما كانت درجة حرارة الارتباط ملائمة للبرايمر، كلما كانت النتائج جيدة و دقيقة والحزم واضحة. تعتمد درجة حرارة الارتباط على محتوى البرايمر من القواعد النايتروجينية فقد كانت درجة الحرارة 36 م وبزمن دقيقة واحدة من افضل واحسن النتائج وتعتبر الاستطالة بدرجة حرارة 72 وبزمن 1.5 دقيقة ، واستطالة نهائية بزمن 10 دقائق ثابتة في اغلب البحوث وذلك لكونها ملائمة لجميع اطوال القطع المتضاعفة في التفاعل. بينما بالنسبة لعدد الدورات فقد دورة ملائمة للحصول على حزم دقيقة واضحة، حيث كان هذا البرنامج هو ملائم لأغلب البحوث التي استعملت تطبيقات الـ RAPD في دراسة البصمة الوراثية والتباين الوراثي (Tahir, 2015).

الجدول 4 : برنامج لاجراء تفاعل الـ PCR.

المرحلة	درجة الحرارة °C	الزمن اللازم	عدد الدورات
المسخ الأولي	94	5 دقائق	1
المسخ الاعتيادي	93	45 ثانية	40
	36	45 دقيقة	
ارتباط البادئ	72	1 دقيقة	

التحليل الاحصائي

في هذه الدراسة تم اخذ نتائج العينات المضاعفة للبرايمرات المستعملة في تقنيات الـ RAPD ومن ثم تحويلها في الجداول بالاعتماد على وجود او غياب (عدم وجود) حزمة الـ DNA وتم مقارنتها بين العينات المختلفة (الغير متشابهة) حيث نرزم لوجود الحزمة بالرقم (1) ونرمز لغياب (عدم وجود) الحزمة بالرقم (0)، بعدها تم احتساب معامل التشابه الوراثي وكذلك احتساب البعد الوراثي ما بين العينات الداخلة في الدراسة، بتطبيق المعامل (Nei's 72) . (Nei and Li., 1979). وذلك من خلال البرنامج الاحصائي الاتي NTSYS-PC 2.02 .

الجدول 5 نتائج البادئات المستخدمة في تفاعلات الـRAPD للعينات المدروسة

ن	اسم البادئ	عدد المواقع التي انتجها	عدد المواقع العامة	عدد المواقع المتباينة	عدد الحزم الكلي للبادئ	عدد الحزم العامة	عدد الحزم المتباينة	عدد الحزم الفريدة	عدد الحزم الغائبة	نسبة التباين %
1	P1(OP A-01)	7	-	7	13	-	13	2	-	100
2	P2(OP B-04)	9	1	8	25	5	20	1	2	80
3	P3(OP B-12)	8	-	8	18	-	18	2	2	100
4	P4(OP C-08)	11	2	9	27	10	17	6	2	62
5	P5(OP H-16)	5	1	4	14	5	9	1	-	64
6	P6(OP J-04)	7	-	7	17	-	17	1	2	100
7	P7(OP B-20)	7	-	7	15	-	15	3	1	100
8	P8(OP C-16)	7	1	6	22	5	17	2	3	77
9	P9(OP C-10)	5	1	4	11	5	6	3	-	54
10	P10(OP D-03)	10	1	9	21	5	16	4	-	76
11	P11(OP D10)	3	-	3	4	-	4	2	-	100
12	P12(OP D-18)	4	2	2	12	10	2	2	-	16
13	P13(OP Y-04)	7	-	7	16	-	16	2	1	100
	Total	90	9	81	215	45	170	31	13	79

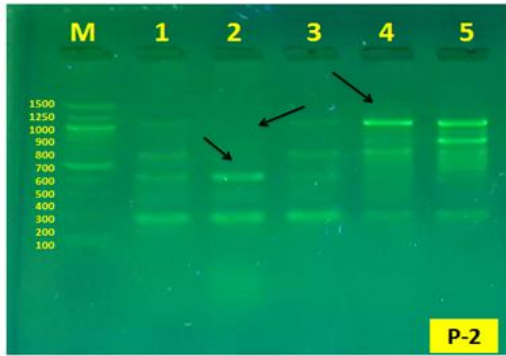
موقع تعرف البرايمر في صنف واحد دون الاصناف الاخرى، وبالنتيجة تؤدي الى الغاء ذلك التعرف واختفاء الحزمة، وهذا ما يتفق مع النتائج لاغلب الباحثين، (Sarkhosh et al., 2006). من خلال النتائج تباينت الحجوم الجزيئية للحزم الناتجة، حيث تراوحت بين (100 – 2000bp)، و كان اقل الحجم الجزيئي هو (100bp) في البرايمر (P10)، وكان أعلى الحجم الجزيئي في البرايمر (P12) فبلغ الحجم الجزيئي له (2000 bp). في حين ان النسبة الكلية لكفاءة البرايمرات proficiency المستعملة في الدراسة قد التباينت بين العينات الداخلة في الدراسة، حيث كانت أعلى كفاءة هو للبرايمر (P4) حيث بلغت (12.5)، وأقل كفاءة للبرايمر (P11) بلغت (1.8). أما بالنسبة للقدرة التمييزية Discrimination ability للبرايمرات، حيث تميز البرايمر (P2) بأعلى نسبة القدرة التمييزية اذ بلغت (11.7) بينما كتبت أقل القدرة التمييزية للبرايمر (P12) حيث بلغت (1.1). (السكمانى، 2017).

وكما ظهرت الدراسة ايضاً بوجود حزم متميزة (حزم غائبة Absent band، حزم فريدة Unique band) كما موضح في الجدول (6)، حيث كان مجموع الحزم المتميزة الناتجة عن البرايمرات هو (45) حزمة، كان منها (32) حزمة فريدة، و (13) حزمة غائبة. حيث تميز الصنف الابيض الدائري بأكثر نسبة من الحزم الفريدة اذ بلغت (11) حزمة فقط، في حين حصل الصنف الابيض الجزري على اقل نسبة من عدد الحزم الفريدة حيث بلغت (3) حزمة فقط. أن النسبة للحزم الغائبة فقد تميز الصنفان الابيض الدائري والاحمر الدائري بعدم انتاج الحزم الغائبة بينما حصل الصنف الابيض الجزري على اعلى نسبة عدد من الحزم الغائبة فبلغت (9) فقط، وتستعمل هذه الحزم كأنها صفة تمييزية وتشخيصية لانواع الصناف المدروسة، ان ظهور هذه الحزم في صنف واحد مما يدل على حدوث الطفرة في موقع من المواقع، مما ادى الى تعرف البرايمر لهذه المواقع وكذلك ظهور الحزمة الفريدة فيها، وبينما في الحزم الغائبة إذ تحدث الطفرة في

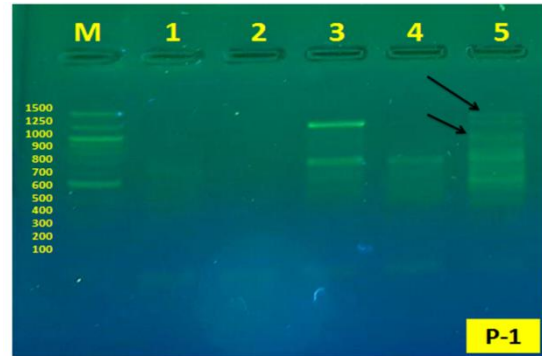
المؤتمر الدولي الثاني والعلمي الرابع لكلية العلوم – جامعة تكريت / ج 1

الجدول 6: يمثل الحزم المتميزة وكذلك الكفاءة للبراميرت والقدرة التمييزية للبراميرت المستخدمة في الدراسة

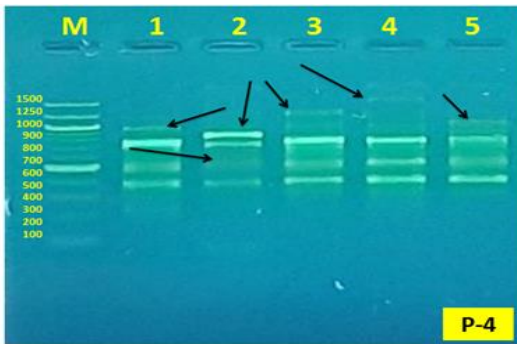
التسلسل	اسم البادئ	الجمع الجزيئي	الإصناف المدروسة										الكفاءة	القدرة التمييزية	
			A1		A2		A3		A4		A5				
			فريدة	غائبة	فريدة	غائبة	فريدة	غائبة	فريدة	غائبة	فريدة	غائبة			
1	P1(OP A-01)	400-1500	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	-	6.0	7.6
2	P2(OP B-04)	200-1500	-	-	-	2	-	-	-	1	-	-	-	11.6	11.7
3	P3(OP B-12)	450-1200	1	-	-	-	-	2	-	1	-	-	-	8.3	10.5
4	P4(OP C-08)	250-1700	2	-	1	2	1	-	1	-	1	-	12.5	10	
5	P5(OP H-16)	300-1600	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	6.5	5.2	
6	P6(OP J-04)	500-1750	2	-	-	2	-	-	-	-	-	-	7.9	10	
7	P7(OP B-20)	200-1650	1	-	-	-	-	1	2	-	-	-	6.9	8.8	
8	P8(OP C-16)	100-1000	-	1	-	2	-	-	1	-	1	-	10.2	10	
9	P9(OP C-10)	300-1000	-	-	-	-	3	-	-	-	-	-	5.1	3.5	
10	P10(OP D-03)	400-2000	2	-	-	-	-	-	2	-	-	-	9.7	9.4	
11	P11(OP D10)	900-1500	-	-	-	-	1	-	1	-	-	-	1.8	2.3	
12	P12(OP D-18)	300-1200	1	-	-	-	-	-	1	-	-	-	5.5	1.1	
13	P13(OP Y-04)	400-1500	-	-	1	1	-	-	1	-	-	-	7.4	9.4	
المجموع			9	1	3	9	5	3	11	-	4	-	99.4	99.5	
			10		12		8		11		4				
			45												



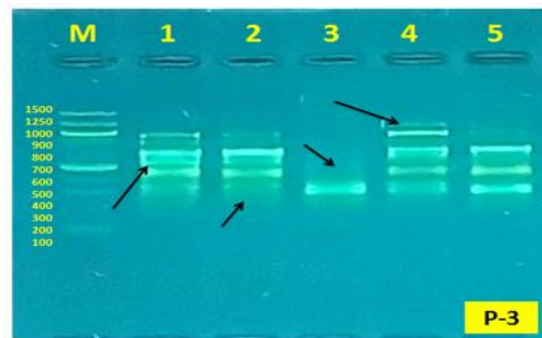
الصورة (2) نواتج البادئ P2 للأصناف الخمسة للفجل على هلام الاكروز



الصورة (1) نواتج البادئ P1 للأصناف الخمسة للفجل على هلام الاكروز

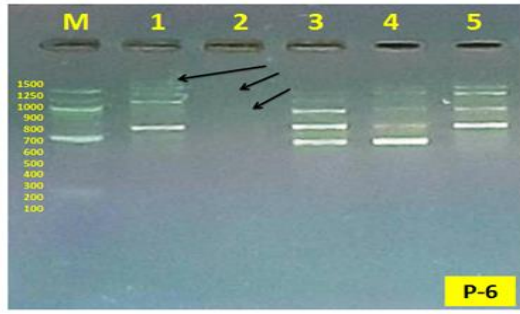


الصورة (4) نواتج البادئ P4 للأصناف الخمسة للفجل على هلام الاكروز

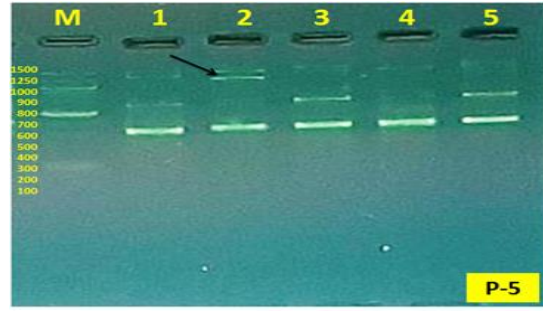


الصورة (3) نواتج البادئ P3 للأصناف الخمسة للفجل على هلام الاكروز

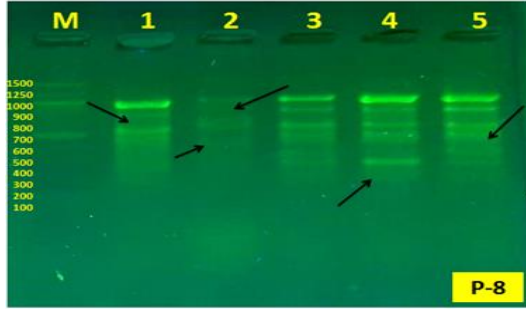
المؤتمر الدولي الثاني والعلمي الرابع لكلية العلوم – جامعة تكريت / ج 1



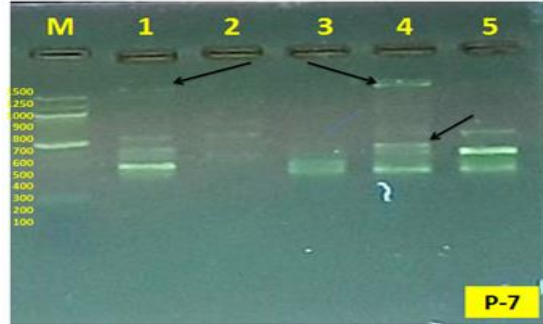
الصورة (6) نواتج البادئ P6 للأصناف الخمسة للفجل على هلام الاكروز



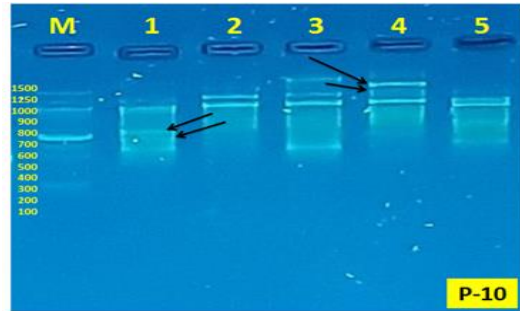
الصورة (5) نواتج البادئ P5 للأصناف الخمسة للفجل على هلام الاكروز



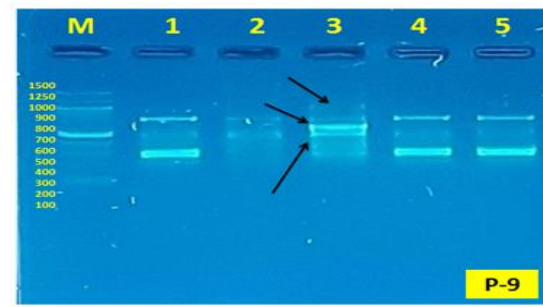
الصورة (8) نواتج البادئ P8 للأصناف الخمسة للفجل على هلام الاكروز



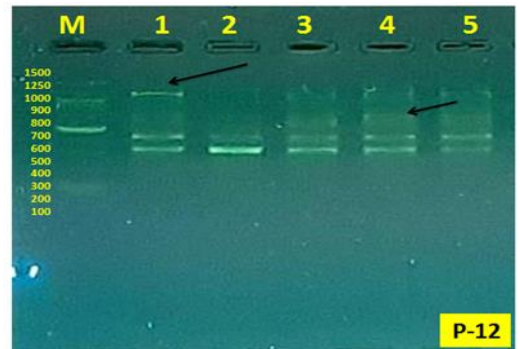
الصورة (7) نواتج البادئ P7 للأصناف الخمسة للفجل على هلام الاكروز



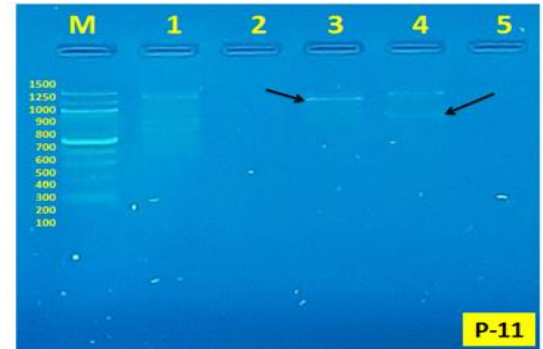
الصورة (10) نواتج البادئ P10 للأصناف الخمسة للفجل على هلام الاكروز



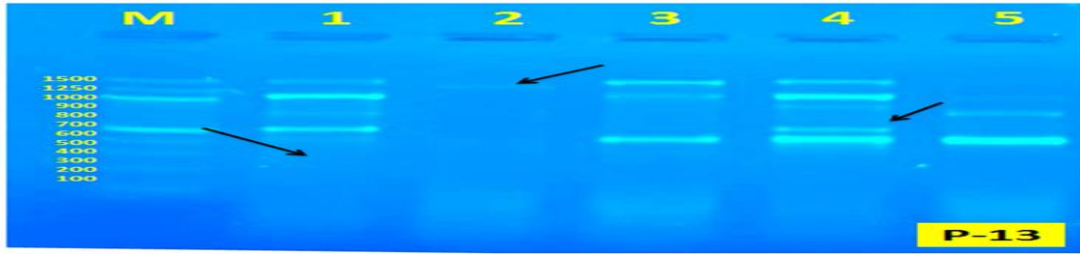
الصورة (9) نواتج البادئ P9 للأصناف الخمسة للفجل على هلام الاكروز



الصورة (12) نواتج البادئ P12 للأصناف الخمسة للفجل على هلام الاكروز



الصورة (11) نواتج البادئ P11 للأصناف الخمسة للفجل على هلام الاكروز

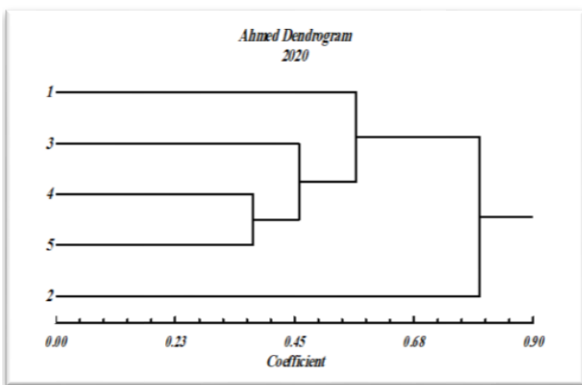


الصورة (13) نواتج البادئ P13 للأصناف الخمسة للفجل على هلام الاكروز

والمتممته التركيب الوراثي للصفة الابيض الجزري تملك اقل تشابه بينها من بين المجاميع الداخلة في الدراسة . من خلال هذه النتائج يتبين وجود درجة من الاختلاف الوراثي بين التركيب الوراثية الداخلة في الدراسة وهذا قد انطبق على الطراز المظهري للصفات الكمية للتركيب الوراثية ويرجع السبب الى أمرين ، الأول : قد تكون الاختلافات الوراثية بين بعض التركيب في الطراز المظهري هو ناتج تأثير البيئة وهذا ما يعول عليه في الكثير من برامج تربية النبات، أما الأمر الثاني قد يظهر تشابه عالي وراثياً بين التركيب الوراثية ولا يتوافق مع الطراز المظهري ويرجع ذلك الى التشابه في المناطق غير المشفرة للجينات في النبات وهذا يتفق مع اغلب الباحثين في مجال التربية للنبات ، (السكمانى ، 2017).

الجدول 7: قيم البعد الوراثي للتركيب الوراثية لنبات الفجل قيد الدراسة

	P1	P2	P3	P4	P5
P1	0.000				
P2	0.611	0.000			
P3	0.612	0.969	0.000		
P4	0.557	0.732	0.490	0.000	
P5	0.528	0.885	0.427	0.372	0.000



مخطط (1) يوضح العلاقة الوراثية للأصناف الخمسة بالاعتماد على البعد الوراثي لمؤشرات الـ RAPD-PCR

الاستنتاج

تعد مؤشرات الـ RAPD-PCR من افضل التقنيات الجزيئية في تقدير وكشف التباين الوراثي وكذلك البصمة الوراثية للأصناف الخمسة

تقدير البعد الوراثي :

في هذا البحث تم كشق البعد الوراثي من خلال النتائج لتفاعلات الـ RAPD بين الاصناف الخمسة لنبات الفجل باستعمال البرنامج الوراثي التالي (NTSYS-PC.version 2.02i) ، (Nei and Li , 1979). يوضح هذا الجدول (7) نتائج البعد الوراثي لأصناف الخمسة لنبات الفجل الداخلة في الدراسة باستعمال (13) برايمر عشوائياً من برايمرات الـ RAPD ، كشفت نتائج التحليل الاحصائي أن نتائج البعد الوراثي تراوحت ما بين (0.372 - 0.969) ، كان اقل نسبة البعد الوراثي ما بين الصنفين p4 و p5 حيث بلغ (0.372) وتفسر هذه النتيجة ان هناك نسبة التشابه الكبيرة بين الصنفين الابيض الدائري والاحمر الجزري وضمن الاصناف الداخلة في الدراسة ، حيث كان أعلى نسبة البعد الوراثي كانت بين الصنف الاحمر الدائري والابيض الجزري اذ بلغت (0.969) وتفسر هذه النتيجة ان أقل نسبة تشابه بين الصنفين من الاصناف الداخلة في الدراسة وهذه النتائج تتفق مع ما ذكره (السكمانى ، 2017).

6- التحليل ، العنقودي :

بالاستناد على نتائج البعد الوراثي للأصناف الداخلة في الدراسة والتي تمت الحصول ، عليها من النتائج الـ RAPD تم اجراء مجموعة التحليل العنقودي ، الموجودة في شكل المخطط (1) . اظهرت علاقة وراثية وذلك من خلال شكل المخطط (2) ، حيث صنفنا الى المجموعتين الرئيسيتين هي مجموعة (A) و (B) حيث تضمنت المجموعة (A) الصنف الابيض الجزري فقط ، وهذا يدل على أن الصنف الابيض الجزري هو الاكثر اختلافا عن بقية الاصناف ، فهو يملك اعلى نسبة البعد الوراثي ضمن الاصناف الداخلة في الدراسة ، حيث شملت المجموعة (B) على الاصناف الاربعة الباقية ، وصنفت مجموعة (B) الى المجموعتين الفرعيتين هي المجموعة B1 و B2 حيث شملت مجموعة (B1) الصنف الاحمر الدائري ، بينما مجموعة B2 ايضا صنفت الى المجموعتين الفرعية هي (B2a و B2b) ، قد شملت مجموعة (B2a) الصنف الاسود الدائري أما المجموعة (B2b) فقد ضمت باقي الاصناف ، وقد انقسمت مجموعة (B2b) الى مجموعتين فرعيتين اخرى كانت المجموعة الاولى (B2b1) وقد ضمت الصنف الابيض الدائري والمجموعة الثانية (B2b2) هذه المجموعة ضمت الصنف الاحمر الجزري وتملك هذه المجموعة اعلى تشابه بينها من بين المجاميع الداخلة في الدراسة . أما المجموعة A

تأثير عوامل الزراعة والبيئة التي تغير من صفات الصنف المستزرع في بيئات دخيلة غير البيئة الاصلية له .

black radish (*Raphanus sativus* L. var niger) in alimentary hyperlipidaemia in rats. *Phytother Res.* 2005. 19(7): 587–591.

• **Nei, M. and W.H. Li (1979)**. Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases. *Proceeding of the National Academy of Science, USA.* 74, 5269-5273. C. F. by Henry, R.J. (1997).

• Peterson, Cass. "[Radishes: Easy to Sprout, Hard to Grow Right](#)" Archived 2018-02-05 at the [Wayback Machine](#). *The New York Times*,. Retrieved February 5, 2018.

• Pojer E, Mattivi F, Johnson D and Stockley C S. 2013. The case for anthocyanin consumption to promote human health:A review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 12: 483-508.

• Rubatzky, Vincent E, and Yamaguchi, Mas. *World Vegetables: Principles, Production and Nutritive Values*. New York: Chapman &Hall, 1997.

• Sarkhosh, A., Zamani, Z., Fatahi, R., Ebadi, A., 2006. RAPD markers reveal polymorphism among some Iranian pomegranate (*Punica granatum* L.) genotypes. *Sci. Hortic.* 111 (1), 24–29.

• Seo, M.-S.; Chung, J.-H.; Park, B.-S.; Kim, J.S. Analysis of Sugars Content by Genotypes in 82 Radish(*Raphanus sativus* L.). *Korean J. Plant Res.* 2018.

• **Tahir, A.nawroz (2015)**.identification of genetic variation in some faba bean (*Vicia faba*) genotypes grown in Iraq estimated with RAPD and SDS-PAGE of seed proteins. *Indian journal of biotechnology.* 14 (1). pp 351-356.

• Waheed A, Hamid FS, Madiha B, Seemab A, Naveed A, Nadia K, Sohail A, Saqib M, Hina G. GC-MS analysis of chemical components seed oil of *Raphanus sativus* L. 2019;5(3):112–118.

• **Waly, C.; Bordeos, A.; Madamba, M.R.; Baraoidan, M. ;Ramos, M.; Wang, G.L.; Leach, J.E. and Leung, H. (2012)**. Rice lesion mimic mutants with enhanced resistance to diseases. *Mol. Genet. Geno.*279:605-614.

• Weaver, William Woys. *Heirloom Vegetable Gardening*. New York: Henry Holt and Company, 1997.

• **Xuxiao, Z., Liw J., Guan, S. Wang, Q. Liu, G.P. Jerrey and R. Redden, (2009)**. Molecular variation among Chinese and global winter faba bean germplasm. *Teor. Appl. Genet.* 118: 971-978.

المدروسة من الفجل وكذلك ايجاد العلاقة الوراثية لتلك الاصناف وكذلك القرابة الوراثية لها وتحديد البصمة الوراثية لها وكذلك تجنب

المصادر

• **السكمانى ، رافع زيدان مخلف. (2017)** . استخدام المؤشرات المظهرية والجزئية لتقييم الاداء الوراثي لعدد من الانماط الوراثية لنبات الباقلاء وهجنها الفردية (*Vicia faba* L.) . اطروحة دكتوراه . علوم حياة كلية التربية للعلوم الصرفة - جامعة تكريت .

• **العاصي ، عقيل حسين علي (2002)**. استخدام مؤشرات الدنا في تحليل التنوع الوراثي للشعير (*Hordeum vulgare* L.) المشروع في العراق . اطروحة دكتوراه . كلية التربية ابن الهيثم-جامعة بغداد.

• **Abinaya Manivannan, Jin-Hee Kim, Do-Sun Kim, Eun-Su Lee, and Hye-Eun Lee** Deciphering the Nutraceutical Potential of *Raphanus sativus*—A Comprehensive Overview *Nutrients.* 2019 Feb; 11(2): 402.

• **Agnieszka Kicel, . (2020)**. An Overview of the Genus *Cotoneaster* (Rosaceae): Phytochemistry, Biological Activity, and Toxicology Department of Pharmacognosy, Faculty of Pharmacy, Medical University of Lodz, 1 Muszynskiego, 90-151 Lodz, Poland;(A.O.);(M.A.O.).

• **Banihani, Saleem Ali, Radish (Raphanus sativus) and Diabetes** Department of Medical Laboratory Sciences, Jordan University of Science and Technology, Irbid 22110, Jordan; 2017, 9, 1014.

• **Cowan MM.** Plant products as antimicrobial agents. *Clin Microbiol Rev*1999. 12:564-582.

• **Gutierrez RM, Perez RL.** *Raphanus sativus* (radish): their chemistry and biology. *Sci World J.* 2004. 4:811–837.

• **Huang, Q.X. ;Wang, X.C. ;Kong, H. ;Guo, Y.L. and Guo, A.P. (2013)**. An efficient DNA isolation method for tropical plants. *Afr. J. Bio.* 12(19):2727-2732.

• **Jing P, Zhao S, Ruan S, Sui Z, Chen L, Jiang L and Qian B.** 2014. Quantitative studies on structure-ORAC relationships of anthocyanins from eggplant and radish using 3D-QSAR *Food chemistry* 145: 365-71.

• **Kim WK, Kim JI, Jeong DH, Chun YH, Kim SH, Cho KJ, Chang MJ.** Radish (*Raphanus sativus* L. leaf) ethanol extract inhibits protein and mRNA expression of ErbB2 and ErbB3 in MDA-MB-231 human breast cancer cells. *Nutr Res Pract*2011. 5(4): 288-293.

• **KONG, Q. et al.** Genetic Diversity of Radish (*Raphanus sativus* L.) Germplasm resources revealed by AFLP and RAPD markers. *Plant Molecular Biology Reporter*, v. 29, n. 1, p. 217-223, 2011.

• **Lugasi A, Blazovics A, Hagymasi K, Kocsis I, Kery A** Antioxidant effect of squeezed juice from