

## التغيرات الوراثية للشبوي الناتجة عن الصعق الكهربائي باستخدام

## \* تقانة RAPD

سامي كريم محمد أمين  
كلية الزراعة/جامعة بغداد

جانان قاسم حسين  
كلية الزراعة/جامعة بغداد

كاظم ديلي حسن الجبوري  
كلية الزراعة/جامعة بغداد

المستخلص

نفذت التجربة في الظلة الخشبية التابعة لقسم البستنة ا كلية الزراعة ا جامعة بغداد، خلال الموسم الخريفي 2005. لمعرفة تأثير الصعق الكهربائي في التركيب الوراثي لنبات الشبوي *Mathiola incana*. استخدمت شدة تيار (AC) (10,8,6 أمبير) لمدة (2,4,6 دقائق) فضلاً عن معاملة عدم الصعق (القياس) باستخدام جهاز صمم لهذا الغرض. عوملت الأجزاء النباتية البذور المستتبنة والشتلات لنبات الشبوي بالمعاملات آفة الذكر بعد نقعها بمحلول ملح الطعام 1% لثلاث ساعات. زرعت البذور المستتبنة والشتلات في التربة بعد غسلها بالماء العادي لثلاث ساعات أيضاً. تضمنت الدراسة الوراثية أيجاد البصمة الوراثية لعدد من النباتات المنتخبة للشبوي وإيجاد النسبة المئوية للبعد الوراثي باستخدام مؤشرات التضاعفي العشوائي المتعدد الاشكال لسلسلة DNA (RAPD) Randomly Amplified Polymorphic DNA المعتمدة على تقانة PCR وذلك في مختبرات التقانات الحيوية في المركز الدولي للبحوث الزراعية في المناطق الجافة (ICARDA) في الجمهورية العربية السورية. تضمنت مراحل العمل عزل وتنقية DNA الاجزاء النباتية ثم الكشف عن التباينات بين القطع المتضاعفة لكل نبات منتخب بعد ترحيل العينات بجهاز الترحيل الكهربائي في تفاعلات RAPD. أعطت نباتات الشبوي المنتخبة تباينات مظهرية واضحة سواء في المجموع الخضري أو الزهري. بينت نتائج التحليل الوراثي بمؤشرات RAPD وبعد حساب النسبة المئوية للبعد الوراثي بين النباتات المنتخبة ونبات القياس وجود تباينات وراثية فيها . أعطت نباتات الشبوي المنتخبة تباينات مظهرية ووراثية مختلفة أكدتها النسبة المئوية للبعد الوراثي الناتجة من تحليل نتائج مؤشرات RAPD التي بلغت أعلاها 35% في إحدى نباتات المعاملة (10 أمبير X 4 دقائق) عند معاملة بذوره المستتبنة .

The Iraqi Journal of Agricultural Sciences 40 (5):111-123 (2009)

Al-jebory et al.

## THE GENETIC VARIATIONS INDUCED IN *Mathiola incana* BY ELECTRIC SHOCK AS TESTED BY RAPD \*

Kadhim D. Hassen al-jebory  
Coll. of Agric.,  
Univ. of Baghdad

Janan K. Hussein  
Coll. of Agric.,  
Univ. of Baghdad

Sami K. M. Ameen  
Coll. of Agric.,  
Univ. of Baghdad

## ABSTRACT

The study was conducted in the lathhouse of Horticulture Department – College of Agriculture – Baghdad University in fall season 2005 to investigate the effect of electric shock on DNA of *Mathiola incana*. Three levels of electric current severity AC (6,8,10 Ampere) and three timings of electric shock (2,4,6 minutes ) were tested plus the control treatment. A special electric apparatus was prepared for this purpose. Sprouted seeds and seedlings were soaked before the treatments for 3hrs in a 1% NaCl solution. Then they soaked in a fresh water for the same period ( 3hrs ) before they planted in the soil. The genetic study included DNA finger printing for some selected plants of *Mathiola incana*. The Genetic Distance by using Randomly Amplified Polymorphic DNA (RAPD based on Polymerase Chain Reaction (PCR) were applied. The study was carried out at International Center for Agricultural Research in the Dry Areas (ICARDA)-Aleppo-Syria. *Mathiola incana* showed clear morphological differences on either the vegetative or flowering growth. The genetic analyses by using RAPD and Genetic Distance for selected treated plants comparing to untreated plants(control) was performed. High Genetic Distance of *Mathiola incana* plants(35%) in RAPD markers was registered on plants which the sprouted seeds were treated by (10A X 4mins).

Part of Ph.D. dissertation of the second author

مستل من اطروحة دكتوراه للباحث الثاني

## المقدمة

تعد التغيرات الوراثية في المجتمع النباتي هي القاعدة الاساسية لعملية الانتخاب أو التهجين ضمن النوع الواحد لانتاج أصول وراثية جديدة، لذلك فإن أستحداث تغيرات وراثية جديدة سيكون لها دور فعال في توسيع القاعدة الوراثية للنوع وزيادة أحتمال الحصول على اصناف جديدة بصفات متميزة. أن مصادر التغيرات التي يعمل عليها مربو النبات هي أما طبيعية ناتجة من انعزالات التهجين بين افراد الاصناف والطفرات الطبيعية، أو صناعية ناتجة عن أستخدام المطفرات الفيزيائية أو الكيماوية. استثمرت الطاقة الكهربائية لاستحداث تغيرات وراثية في النبات على أعتبار أن التيار الكهربائي العالي الذي تتعرض له النباتات يحدث تغييراً في التركيب الوراثي أو النسيج النباتي نتيجة الفرق العالي بين جهد التيار المنخفض في البذور 6-26 ملي فولت (20) أو البادرات والتيار ذي الفولتية العالية المستخدم في عملية الصعق (10). تختلف التقانات المعتمدة على دراسة DNA عن بعضها البعض بنوع التباينات الوراثية التي تكشفها من بين أهمها التي استخدمت في هذه الدراسة وهي تقانة التضاعف العشوائي المتعدد الاشكال لسلسلة DNA (RAPD) Randomly Amplified Polymorphic DNA التي تعتمد على التفاعل التسلسلي للبوليميريز (PCR) polymerase Chain Reaction المكتشف من قبل Mullis في عام 1983(12)، وتعد تقانة PCR الأكثر استخداماً في مختبرات الوراثة الجزيئية في العالم لما تمتاز به من سرعة وسهولة وكفاءة في العمل، فضلاً عن تحسسها العالي، لذلك اتسعت تطبيقاتها في مجال تشخيص الأمراض الوراثية والمسببات المرضية، وفي تحديد النسب كذلك دراسة DNA الأنواع المنقرضة (27).

تتضمن تقانة RAPD مضاعفة قطع محددة من الحامض النووي DNA للحصول عليها بكمية كافية تسمح برؤيتها بوجود الأشعة فوق البنفسجية للمقارنة بين الأفراد قيد الاختبار ويتم ذلك باستخدام بادئات (Primers) هي عبارة عن قطع قصيرة مفردة من الحمض النووي DNA محددة التركيب النيوكليوتيدي ترتبط بالحمض النووي المكمل لها من DNA الفرد بحيث يمكن رؤيتها على شكل حزم bands

مختلفة الوزن الجزيئي في هلامة من الاكاروز (28) Agarose gel)، ومن ميزات هذه التقانة أمكانية أتمامها وتوفر عدد كبير جدا من البادئات التي يمكن تبادلها بين مراكز البحث، إضافة الى سهولة معرفة التسلسل النيوكليوتيدي للبادئ(28).

درس Martin وآخرين (19) كفاءة هذه التقانة، وحدد ثلاثة مؤشرات جزيئية مرتبطة بمقاومة المرض الذي يسببه الفطر *Pseudomonas* على الطماطة، بعد أن قام بغرلة 144 بادئ خلال شهر واحد فقط. كما درس Nebauer وآخرون (19) التنوع الوراثي لعشائر خطية التلقيح من النوع النباتي *Digitalis obscura* L. حيث حللوا 50 تركيا وراثيا تنتمي الى 6 عشائر باستخدام تقانة RAPD فوجدوا ان معظم الاختلافات الوراثية التي بلغت حوالي 84.8% كانت ضمن العشائر، ونسبة اقل من 9.7% بين المناطق، والنسبة الاقل 5.5% كانت بين العشائر ضمن المناطق. وقدّر البعد الوراثي والعلاقة الوراثية بين 21 صنفا من البطاطا من قبل (2) باستخدام تقانة RAPD، بينت النتائج ان توزيع الاصناف الى مجاميع كان مرتبطا بالصفات المظهرية على الاغلب وياصل تلك الاصناف في بعض الاحيان، مما يجعل امكانية التكهّن ببعض الصفات المظهرية لأحد الاصناف من خلال انتمائها الى مجموعة معينة، وفي دراسة للتشابه الوراثي في 11 صنفا من الرز (7 أصناف عراقية و 4 أجنبية) أختبرت بأستخدام 80 بادئ بتقانة RAPD لوحظ وجود تشابه عالي بين الاصناف العراقية المدروسة في حين كانت درجة التشابه أقل بين الاصناف العراقية والاجنبية (3). استخدمت الباحثة Ali وآخرون (14) مؤشرات RAPD للتحقق من الثبات الوراثي لنباتات النخيل المنتجة بطريقة تكوين الاجنة الجسمية لصنف النخيل البرحي إذ تم أستخدام 30 بادئ ولاحظت أن ثلاث بادئات فقط تم من خلالها الحصول على حزم متباينة وأستنتجت حدوث تغيرات وراثية في نباتات النخيل الناتجة من التقانة المستخدمة، وأشار (15) الى ان مؤشرات RAPD تعد وسيلة فعالة في الكشف المبكر عن التغيرات الوراثية التي تحصل من النباتات المنتجة من زراعة الانسجة النباتية وذلك في دراسة لثلاث أصناف من النخيل هي برحي وسكري وخالص، وبالاشارة الى كفاءة

أجريت عمليات الخدمة من سقي وتسميد وتعشيب ومكافحة كلما دعت الحاجة .

انتخب 15 نباتاً من نباتات الشبوي تميزت بوجود تغيرات واضحة في شكلها المظهري فضلاً عن نباتين من نباتات القياس هما T1 و T2 متشابهين في جميع الصفات عدا لون الازهار احدهما ازهاره قاطية(شكل 2) والثاني قطمر لبيان البعد الوراثي الناتج عن اختلاف هاتين الصفتين . أجريت الاختبارات الوراثية في مختبرات التقانات الحيوية في المركز الدولي للبحوث الزراعية في المناطق الجافة (ICARDA) في الجمهورية العربية السورية. اعتمدت تقنية RAPD لدراسة الاختلافات الوراثية بين النباتات المعاملة بالصعق الكهربائي لنباتات الشبوي.

تم عزل DNA وفقاً لطريقة Weigand وأخرون(29) المعتمدة على طريقة Sahgi-Marroof وأخرون(23)، وقدرت كمية الحامض النووي DNA في العينات باستخدام جهاز (Spectrophotometer Beckman Du-61) الذي يعتمد في عمله على قياس كمية الحامض النووي الموجودة عن طريق امتصاصه للأشعة فوق البنفسجية بموجات طولها 260 و 280 نانوميتر .

اختبرت من خلال البحث مجموعة من البادئات primers ( H12,G20,G16, H15, K18,G15,G14,C11,B15,A11,A3 ) لمعرفة أي منها تعكس تعدداً شكلياً polymorphism في DNA والجدول(1) يوضح هذه البادئات. أجريت كافة تفاعلات التضخيم العشوائي وفقاً لـ (21). مررت نواتج التفاعل عبر هلامة من الآكاروز تركيزها 1.2% في جهاز الترحيل الكهربائي الأفقي لمدة 5 ساعات ويوجد المحلول القياسي 1X TBE (24). صبغت DNA في هلامة الآكاروز بمادة بروميد الاثيديوم تركيز 0.5 مايكروغرام 1 مل ولمدة 30 دقيقة، ثم صورت الهلامة بجهاز فيديو حاسوبي Video imaging system وأخذت القراءات من خلال الصور المحفوظة في الحاسوب مع جهاز الفيديو .

تقانة RAPD في الكشف عن التغيرات الوراثية استخدمت هذه التقانة في مقارنة محصول الرز بسمتي 370 مع اثنين من الطوافر القصيرة الارتفاع المشتقة منه بينما فشلت المؤشرات الانزيمية Isozymes في تشخيصها نتيجة انخفاض مستوى التباينات الوراثية Polymorphism بينهما (4).

تهدف هذه الدراسة الى تحديد التغيرات الوراثية الناتجة عن الصعق الكهربائي للنبور والشتلات المستنبته لنبات حلق السبع من خلال عزل وتنقية DNA ودراسة البصمة الوراثية للنباتات المعاملة وغير المعاملة.

#### المواد وطرائق العمل

أستتبت بذور الشبوي المنتجة من قبل شركة Fito الاسبانية في أطباق بتري وعند ظهور الجذير قسمت إلى مجاميع، غلفت كل مجموعة بورق السيلوفين المثقب ونقعت في محلول كلوريد الصوديوم بتركيز 1% لمدة ثلاث ساعات للسماح بنفاذ المحلول داخل النسيج النباتي لزيادة التوصيل الكهربائي المسلط عليها لاحقاً. استخدمت شدة تيار مختلفة (6,8,10 أمبير) ولمدة زمنية (2,4,6 دقيقة) فضلاً عن معاملة القياس (من دون صعق) حيث أجريت عليها كافة العمليات السابقة عدا استخدام التيار الكهربائي بأستخدام جهاز صمم لهذا الغرض (5) . بعد الانتهاء من عملية الصعق لكل معاملة وضعت البذور في ماء عذب وجاري لمدة ثلاث ساعات لغسل الملح من النسيج النباتي لتجنب الأضرار بالبذور. زرعت البذور في أصص بقطر 15 سم بتاريخ 19\9\2005 لحين وصولها إلى مرحلة الشتل ثم نقلت إلى الأرض المستديمة بتاريخ 15\10\2005 . كما تم تعريض مجموعة من الشتلات (لم تعامل بذورها) لنباتات حلق السبع للصعق الكهربائي بعد بلوغها عمر 2-3 أزواج من الأوراق الحقيقية إذ قسمت الشتلات إلى مجاميع وعوملت بنفس الجهاز والمعاملات السابقة ثم زرعت مباشرة في الأرض المستديمة بتاريخ 20\10\2005.

زرعت جميع النباتات في الارض المستديمة في الظلة الخشبية التابعة لقسم البستنة-كلية الزراعة-جامعة بغداد على خطوط المسافة بين خط وآخر (30سم) وبين نبات وآخر (25سم) في تربة مكونة من 1:3 بيت موس وتربة مزيجة ،

جدول 1. البادئات وتسلسلها النيوكليوتيدي المستخدمة بطريقة RAPD

RAPD	
Primer	5Sequence 3´
A3	AGTCAGCCAC
A11	CAATCGCCGT
B15	AATGGCGCAG
C11	AAAGCTGCGG
G14	GGATGAGACC
G15	ACTGGGACTC
G16	AGCGTCCTCC
G20	TCTCCCTCAG
H12	ACGCGCATGT
H15	AATGGCGCAG
K18	CCTAGTCGAG

(Similarity) (Characterization data) الى قيم التشابه

المقدرة استنادا الى Lei و Nei (22) باستخدام الحاسوب ضمن برنامج (SIMQUL) الذي يعتمد على

$$\text{Similarity} = \frac{2nxy}{nx + ny} \quad \text{المعادلة:}$$

ثم قدرت النسبة المئوية للبعد الوراثي (Genetic distance) بين النباتات الشاذة والتي تعتمد على نتائج التشابه الوراثي وفقا للمعادلة الآتية:

$$\text{Genetic distance} = 1 - \frac{2nxy}{nx + ny} \times 100$$

معاملات الصعق في هذه التجربة ، يتفق هذا مع أغلب النتائج المنشورة في هذا المجال منها (30 و 1 و 2 و 11). أن بعضاً من هذه البادئات لم يُعط أية نتيجة بالرغم من إعادتها أكثر من مرة ربما يعود ذلك الى غياب المواقع المكملة لتسلسلات تلك البادئات في جينوم نباتات الشبوي (2n=14) (31) ، ويتفق ذلك مع نتائج دراسات أخرى لم تتوصل كذلك الى نواتج تضاعف عند تطبيق مؤشرات RAPD كما في استخدام بعض البادئات مع النخيل (25) والحمص (13) وبادئات أخرى لم تعط نتائج كاملة عند استخدامها إذ يلاحظ فقدان الحزم في بعض العينات قيد الاختبار. وبذلك تم اختبار البادئان (B15 و A3) لنباتات الشبوي والتي أظهرت تباينات واضحة بين النباتات المنتخبة (شكل 1).

اعتمدت طريقة تحليل نتائج دراسة العلاقة الوراثية على وجود أو غياب الحزم الناتجة من تضاعف قطع معينة من جينوم النباتات المستخدمة وعلى الأوزان الجزيئية لتلك الحزم التي تعتمد على العدد والمواقع المكملة لتسلسلات

تم تحليل النتائج الوراثية للنباتات المنتخبة التي اعطت اشكالاً مظهرية مختلفة عن باقي النباتات وأجريت لها البصمة الوراثية بطريقة RAPD وتم تحويل النتائج التي ظهرت في الهلام الى جداول التوصيف وذلك بوضع 1 عند وجود الحزمة و 0 عند غيابها.

لغرض ايجاد العلاقة الوراثية بين النباتات الشاذة المنتخبة في هذه الدراسة تم تحويل بيانات التوصيف

حيث ان :

nx y : تمثل عدد الحزم المشتركة بين النموذجين x و y والتي تمثل أياً من النباتين من النباتات المنتخبة.

nx : عدد الحزم الكلية في النموذج x .

ny : عدد الحزم الكلية في النموذج y .

كما تم حساب معامل التباين Coefficient of variation (C.V.%) للنباتات المنتخبة ذات الاختلافات المظهرية والوراثية والناتجة من معاملات الصعق الكهربائي للبذور المستتبتة أو لشتلات نبات الشبوي للتعبير عن مقدار الاختلاف بين المعاملات التجريبية المختلفة ولكل نوع نباتي ، ويعبر معامل التباين عن النسبة المئوية لنسبة الانحراف القياسي إلى معدلها (6).

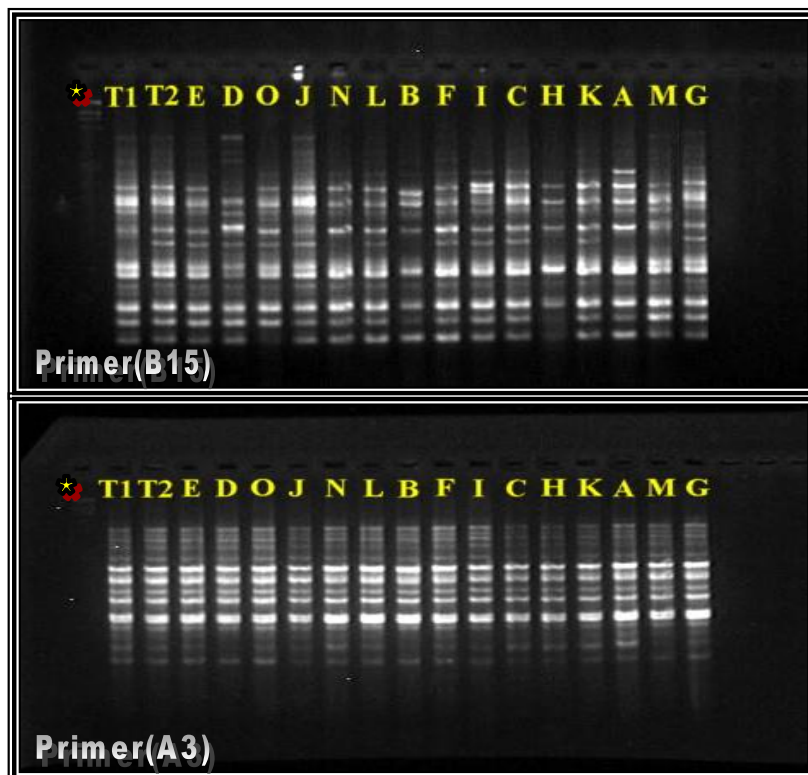
#### النتائج والمناقشة

بينت نتائج تفاعلات RAPD (شكل 1) اختلافات في عدد الحزم المتضاعفة وأوزانها الجزيئية باختلاف البادئ المستخدم والناتجة من الاختلاف في عدد المواقع المكملة لذلك البادئ في جينوم كل نبات من النباتات المنتخبة من

الايلايات للموقع الواحد (2) ويتفق هذا مع ما ذكره Vogt واخرون (28) بعدم الاعتماد على شدة تآلق الحزم كمقياس للتباين لصعوبة ضبط التركيز الدقيق DNA .  
 اعتمدت نتائج البادئين المستخدمين في تقدير نسبة البعد الوراثي Genetic distance بين كل نباتين من النباتات المنتخبة وبين كل نبات منتخب ونبات القياس والموصوفة من قبل Nei و Li (20) والتي تستند على وجود الحزم المشتركة بين زوج من تلك النباتات .  
 أظهرت دراسة البادئين المختبرين لنبات الشبوي وجود اختلافات في عدد الحزم وموقعها بين النباتات المنتخبة مما يشير الى وجود تغيرات وراثية واضحة بين النباتات فضلاً عن وجود اختلافات واضحة بين البادئين (شكل 1)، بعد إدخال البيانات الناتجة من استخدام البادئين في البرنامج المعد خصيصاً لهذا الغرض على الحاسب الآلي تم إيجاد البعد الوراثي بين النباتات المنتخبة وكما موضح في الجدول 2.

البادئات على شريط DNA القالب، املت الحزم الخفيفة جداً و يتفق هذا مع (26 و 16). أما التباين المعتمد على الاختلافات في شدة(Intensity) تآلق الحزم التي تكون ناتجة عادة من ظهور بعض الحزم المتضاعفة معاً في نفس الوزن الجزيئي فتظهر على شكل حزمة سميكة واحدة (هي بالحقيقة أكثر من حزمة (Comigrating bands)) قد تكون ناتجة من حالة homozygote حيث يتم فيها تضاعف نفس الموقع على الاليل الآخر، وبما أنها بنفس الوزن الجزيئي لذلك تتجمع القطع المتضاعفة في تلك المواقع معاً، وأحياناً زيادة تركيز DNA القالب يؤدي إلى تكرار عدد نسخ DNA الهدف مما يؤدي الى تضاعف نفس الموقع أكثر من مرة وبما ان التركيز الدقيق للـ DNA يكون من الصعوبة تحديده لتأثره بعدة عوامل لذلك لا يمكن استخدام الاختلاف في سمك الحزم الناتجة كمقياس للتباين الوراثي خاصة ان مؤشرات الـ RAPD هي من المؤشرات التي تتبع السيادة التامة وبذا فلا يمكن بها تقدير عدد

شكل 1. نتائج تحليل 17 نباتاً منتخباً من نباتات الشبوي المعاملة بالصعق بتقانة RAPD مع البادئين B15 و A3 والمرحلة كهربائياً على هلام الآكاروز بتركيز 1.2%.



✿ الاحرف المثبتة تمثل النباتات المنتخبة.

عن باقي النباتات بسبب كونه اكثر النباتات المزروعة ارتفاعا وبلغ 105سم (شكل 4) كما انه كوّن عدداً كبيراً من الأفرع الذي أدى الى زيادة عدد النورات الزهرية التي زاد طولها وقطرها نتيجة لزيادة عدد الزهيرات وقطر الزهيرة (جدول 3) ولا يفضل زراعة هذا النبات في الحدائق بسبب كبر حجم النبات وانحناء افرعه عند التزهير ويمكن استخدامه كأزهار قطف.

أدى تعريض النباتات B و K للتيار الكهربائي الى تقزمها وزيادة عدد الأفرع وحجم الزهيرات (جدول 3) المتراحمة في النورة الزهرية (شكل 5) وكان النباتان عقيمين لعدم وجود الأعضاء التكاثرية في الزهيرة وتحورها الى بتلات ، نتجت هذه الاختلافات المظهرية عن الاختلافات الوراثية الناتجة عن الصعق الكهربائي إذ أعطى النبات B نسبة بعد وراثي 17.5% و 21% عن نباتي القياس T1 و T2 على الترتيب، اما النبات K فقد اختلف وراثيا بنسبة 17.5% و 16.5% بالتتابع عن نباتي القياس ، علما ان النباتين عموما بنفس المعاملة الكهربائية لكن باختلاف الجزء النباتي إذ ان B عوملت بذوره المستتببة و K عوملت شتلته بالصعق الكهربائي ويعتبر هذان النباتان مناسبان للزراعة في الحدائق لما يمتلكان من صفات مظهرية مناسبة.

اختلف النبات N وراثيا بنسبة 13% و 19.5% عن نباتي القياس T1 و T2 على الترتيب نتيجة للمعاملة بالتيار الكهربائي وادى هذا الاختلاف الوراثي الى اختلاف الشكل المظهري للنبات إذ أعطى عدداً جيداً للأفرع مع قلة عدد النورات الزهرية والزهيرات صغيرة القطر وعددها قليل في النورة الزهرية (جدول 3) ولا تتفتح بشكل كامل (شكل 6)، كما ادت معاملة أخرى بالتيار الكهربائي الى ظهور نبات مشابه في صفاته المظهرية للنبات N وهو النبات D (جدول 3) عدا اختلاف لون الازهار وكونها قطر وبنسبة بعد وراثي مقدارها 19% و 14% عن نباتي القياس T1 و T2 على الترتيب (جدول 2) ولا يمكن استعمالهما للزراعة في الحدائق او لانتاج ازهار القطف.

يتضح من الجدول 3 أن المتغايرين F و G قد اتصفا بقلة عدد الأفرع وعدد النورات الزهرية للنبات وعدد الزهيرات في النورة الزهرية فضلاً عن تقزم النبات (شكل 7) بسبب تأثير

تبين نتائج تفاعلات RAPD وجود اختلافات واضحة بين النباتات المنتخبة في عدد حزم DNA المتضاعفة ومواقعها (الشكل 1). بعد تحويل هذه النتائج التوصيفية الى بيانات رقمية وتحليلها احصائياً من خلال البرنامج المخصص لهذا الغرض للحصول على النسب المئوية للبعد الوراثي وكما موضح في الجدول 2 الذي يبين ان نسبة البعد الوراثي بين نباتي القياس 4% أي ان النباتين متشابهان بنسبة 96%.

ويشير الجدول نفسه الى وجود اختلافات في نسبة البعد الوراثي بين النباتات المنتخبة ونباتات القياس ، إذ اعطى المتغاير H اعلى تباعد وراثي بنسبة 20.5% و 35% عن نباتي القياس T1 و T2 على الترتيب نتيجة المعاملة بالصعق الكهربائي .انعكس هذا التباين الوراثي على الشكل المظهري للنبات إذ اعطى نورات زهرية ذات طول وقطر كبير مع زيادة في قطر الزهيرة (جدول 3) أي يمكن اعتبارها ازهار قطف جيدة مع تحور الأعضاء التكاثرية لكل زهيرة إلى برعم زهري نتج عنه نورة زهرية إي تتكون من كل زهيرة نورة زهرية . ولهذا السبب لم ينتج هذا النبات البذور، كما أعطى المتغاير O نورات زهرية مشابهة تماما لنبات H (شكل 3) بالرغم من اختلاف معاملة الصعق الكهربائي ونسبة التباعد الوراثي التي بلغت 20% و 19% عن نباتي القياس على الترتيب (جدول 2) مع وجود بعض التباينات في الصفات قيد الدراسة عن المتغاير H (جدول 3).

تميز المتغاير C بارتفاعه وكثرة عدد الأفرع (جدول 3) وعدد الزهيرات متوسط في النورة الزهرية والزهيرات قاطية وجاءت هذه الاختلافات في الشكل المظهري نتيجة لتأثير التيار الكهربائي على التركيب الوراثي للنبات فأعطى بعد وراثي بنسبة 20.5% و 19.5% عن نباتي القياس T1 و T2 على الترتيب (جدول 2). في حين أعطى النبات L نسبة بعد وراثي مقدارها 13.5% و 17% على الترتيب عن نباتي القياس إذ كان هذا النبات متشابه نوعاً ما في الصفات المظهرية مع النبات C (جدول 3) فيما عدا كون الزهيرات من نوع القطر .بينما نجد ان البعد الوراثي بين (L و C) كان 12.5% وقد يعود ذلك الى وجود تباينات وراثية اخرى في النباتين غير التي ظهرت في هذا الجيل وربما تظهر في الاجيال اللاحقة عند زراعة بذورها. انتخب النبات I

القياس، وتعتبر هذه النسبة قريبة جدا من نسبة البعد الوراثي بين نباتي القياس التي بلغت 4% فربما قد لا يكون لمعاملات الصعق الكهربائي تأثير في التركيب الوراثي للنباتين E و M .

يشير الجدول (2) الى اختلافات في النسبة المئوية للبعد الوراثي بين النباتات المنتخبة أذ كان اقلها 7% بين النباتين (I و F) الذي يمكن الاستدلال منه ان معاملة هذين النباتين تعطي نفس القدر من التغيرات الوراثية وليس بالضرورة ان تكون في نفس الموقع من DNA. أما اعلى بعد وراثي كان 38.5% بين النباتين (H و D) وهو مؤشر الى ان معاملة هذين النباتين لا تؤثر بنفس القدر من التغيرات في DNA كل منهما.

أوضح معامل التغير العالي (جدول 3) الاختلافات المظهرية بين النباتات المنتخبة، أذ كان كبيرا في ارتفاع النبات وعدد الافرع وعدد النورات الزهرية للنبات وطول النورة الزهرية وعدد الزهيرات في النورة، ومقبولاً في صفتي قطر النورة الزهرية وقطر الزهيرة. مما يدل على عدم تجانس النباتات المنتخبة في صفاتها المظهرية الناتج عن التغيرات الوراثية فيها بسبب الصعق الكهربائي.

الصعق بلغت نسبة البعد الوراثي للمتغاير G 14.5% و 13% وللمتغاير F 13.5% و 13% عن نباتي القياس T1 و T2 على الترتيب (جدول 2). أدى الصعق الكهربائي الى إحداث تغيرات وراثية في نبات A وبنسبة بعد وراثي 14.5% و 12% على الترتيب عن نباتي القياس وانعكس هذا التغير على الصفات المظهرية للنبات اذ كان ابكر النباتات المزروعة في التزهير (أزهر بعد 140 يوماً من الزراعة) وهي من الصفات الجيدة في الحصول على ازهار مبكر الذي ينعكس على اطالة عمر الازهار بسبب انخفاض درجة الحرارة اثناء التزهير، كما كان اقلها ارتفاعا (جدول 3) وأعطى النبات J صفات مظهرية مماثلة رغم اختلاف المعاملة الكهربائية ونسبة البعد الوراثي 9% و 13% عن نباتي القياس على الترتيب .

هذا ولقلة عدد النباتات المتغايرة في نباتات الشبوي انتخب المتغايران E و M اللذان أعطيا نموا طبيعياً لمعرفة ان كان للتيار الكهربائي تأثير في التركيب الوراثي للنباتات المعاملة والتي لم تعط صفات مظهرية غريبة، اتضح من جدول البعد الوراثي (2) اختلاف النبات E وراثياً بنسبة 6% و 2% عن نباتي القياس T1 و T2 على الترتيب اما النبات M فاختلف وراثياً بنسبة 7% و 7.5% على الترتيب عن نباتي

جدول 2. نتائج البعد الوراثي (%) بين نباتات الشبوي المنتخبة بأستخدام البيانات الناتجة من أستخدام البادانات في مؤشرات RAPD ، والاحرف المثبتة تمثل النباتات المنتخبة.

	T1	T2	E	D	O	J	N	L	B	F	I	C	H	K	A	M	G
T1	0.0																
T2	4.0	0.0															
E	6.0	2.0	0.0														
D	19.0	14.0	16.5	0.0													
O	20.0	19.0	13.0	13.5	0.0												
J	9.0	13.0	11.0	15.5	16.0	0.0											
N	13.0	19.5	9.0	23.5	20.5	21.0	0.0										
L	13.5	17.0	11.0	24.5	21.5	14.0	6.5	0.0									
B	17.5	21.0	11.5	24.0	20.5	17.5	9.5	8.0	0.0								
F	13.5	13.0	11.0	16.5	18.0	14.0	7.5	9.0	13.5	0.0							
I	19.0	14.0	8.0	26.5	13.5	15.5	9.0	11.0	14.5	7.0	0.0						
C	20.5	19.5	17.5	22.5	24.0	21.5	19.5	12.5	16.0	22.0	13.5	0.0					
H	20.5	35.0	33.5	38.5	35.5	37.5	30.5	28.5	28.0	33.5	32.5	19.0	0.0				
K	17.5	16.5	15.0	19.0	20.5	22.0	16.5	13.0	17.0	17.5	14.0	10.0	18.5	0.0			
A	14.5	12.0	20.5	25.5	27.5	23.5	7.5	10.0	13.5	15.0	15.5	12.5	21.5	13.0	0.0		
M	7.0	7.5	20.0	11.0	17.0	16.0	22.5	24.5	19.0	20.5	15.5	17.0	26.5	17.5	10.5	0.0	
G	14.5	13.0	11.5	15.5	20.5	14.5	17.0	14.5	22.5	15.0	11.5	13.0	30.5	17.5	11.0	10.5	0.0



جدول 3. بعض الصفات المقاسة لنباتات الشبوي المعاملة بالصعق الكهربائي المنتخبة على اساس أختلاف شكلها المظهري والمتباينة البعد الوراثي عن نباتات القياس.

رمز النبات	المعاملات		الجزء النباتي المعامل	ارتفاع النبات (سم)	عدد الافرع	عدد النورات	طول النورة (سم)	قطر النورة (سم)	عدد الزهيرات	قطر الزهيرة (سم)
	المدة دقائق	التيار امبير								
T1	0 X 0		بذور مستتبنة	40	42	34	17	8.0	35	3.5
T2	0 X 0		شتلات	43	38	31	15	7.5	30	4.0
H	4 X 10		بذور مستتبنة	55	28	11	28	10.5	41	5.5
O	2 X 10		بذور مستتبنة	51	22	9	30	9.5	42	5.0
C	4 X 6		بذور مستتبنة	73	50	45	11	8.0	36	4.0
L	6 X 6		بذور مستتبنة	80	43	34	13	7.5	32	4.5
I	2 X 10		شتلات	105	56	48	25	10.0	45	5.0
B	6 X 10		بذور مستتبنة	30	48	40	21	9.5	38	5.8
K	6 X 10		شتلات	33	41	36	24	9.0	42	5.3
N	2 X 8		شتلات	45	39	16	14	7.0	21	2.5
D	4 X 8		شتلات	47	41	20	12	8.5	19	3.0
G	2 X 10		بذور مستتبنة	31	28	21	18	8.0	27	3.5
F	6 X 8		بذور مستتبنة	34	23	18	20	9.5	28	4.0
A	6 X 8		شتلات	28	25	20	10	9.0	28	4.0
J	4 X 8		شتلات	27	28	22	13	8.0	30	4.0
E	2 X 8		بذور مستتبنة	44	50	42	18	10.5	36	4.5
M	6 X 6		شتلات	47	42	38	20	9.5	40	4.5
معامل التغيرات		C.V.%		43.58	27.51	42.73	32.84	12.29	22.46	20.61

اغلب التغيرات الوراثية كانت عند معاملة البذور المستتبنة عن الشتلات. وهذا يتفق مع ما ذكره الساهوكي (5) في إمكانية إحداث طفرات وراثية عند معاملة خمس سلالات من فول الصويا بالصعق الكهربائي إذ لاحظ بعد خمسة أجيال ان الصعق الكهربائي قد أختزل ارتفاع النباتات وزاد حاصل البذور. كما تتفق النتائج السابقة مع نتائج الساهوكي والسباهي (7 و 8 و 9) عند معاملتهما البذور المستتبنة لنباتات (الحنطة، الشعير، زهرة الشمس والذرة الصفراء)

نستنتج مما تقدم أن استحداث التغيرات الوراثية في النبات بطريقة الصعق الكهربائي هي حقيقة واضحة، أكدها التحليل الوراثي بمؤشرات RAPD، ومعرفة البادئات القادرة على أظهار التباينات الوراثية لنبات الشبوي دون الحاجة إلى اختبار العديد من البادئات. كما ان المعاملات الكهربائية اختلفت في أحداث تغيرات مظهرية ووراثية، وبينت نتائج البعد الوراثي ان النسب المئوية الكبيرة نتجت عن المعاملة بشدة التيار العالي أو عند مدة التعريض الطويلة أو الاثنيين معاً. كما يتضح أن

6. تحفيز إنتاج نسخ إضافية لمواقع جينية معينة بعملية amplification فتظهر صفات جديدة في الكائن الحي، أو حدوث طفرات رجعية back mutation وذلك بأن يتحفز جين طافر مسبقاً فيعود الى حالته الاولى فتتغير الصفة.
7. تحفيز عملية العبور cross-over فتحدث في الانقسام الاعتيادي فيسبب تكوين الكايمرا chimera.
8. التأثير في فعل كودونات الايقاف (stop codons) والمسماة amber codons فتظهر نسخ أخرى لجينات معينة فتتغير الصفة.
9. حث بعض الجينات الساكنة silent genes لتعود فعالة مرة أخرى تحت ظرف بيئي جديد.
10. اتحاد قطعتي كروموسوم لينتكون كروموسوم جديد يحمل اثنين من السنتروميير (dicentric chromosome).
11. وجود مواقع جينية من نوع complex يمكن انه تتحفز فتظهر أكثر من صفة وذلك بعد التأثير في طبيعة التركيب بروتين معين تشبه هذه المواقع حالة cluster genes.
12. احتمال حدوث تضاعف ذاتي لواحد او اكثر من كروموسومات الخلية من خلال عملية endomitosis لتعطي فرد من نوع (endopolyploid).
13. أزاحة انترن معين من الكروموسوم وأحلال أكزون محلّه ليعبر بذلك عن مظهر جديد لصفة معينة بعد حدوث الربط splicing بينهما.
14. التأثير في فعل أنزيم endonuclease أو exonuclease التي تشطر أو اصر نيوكليوتيدات DNA الكائن الحي.
15. التأثير في واحدة أو أكثر من العضيات organelles غير النووية الموجودة في الساييتوبلازم مثل أجسام كولجي والمابتوكونديريا والكلوروبلاست.

بالصعق الكهربائي إذ لاحظوا ظهور نباتات تحمل تغيرات وراثية تختلف عن النباتات غير المعاملة. يمكن أدراج الاحتمالات الممكن حصولها والتي سببت تغيرات النباتات المدروسة في نموها الخضري وآلية ونوعية تزهيرها وفقاً لما ذكره Elsahookie (17) من احتمالات تغير المادة الوراثية التي تتعرض لشد خارجي فيزيائي أو كيميائي يمكن أن تقع في واحد أو أكثر من الآتي:

1. العناصر المنقلة (Transposable Elements=TE) وهي اجسام من المادة الوراثية في الخلية ذات جينوم بحجم 3-304 bp، ويعتقد ان لكل منها انزيما معيناً يقوم بالعمل لإنتاج بروتين معين يحافظ على خاصية التشفير. إذا انتقلت هذه العناصر او تغير عددها او حجمها فقط وقد لا يظهر تأثيرها الوراثي في الكائن الحي، وهي توجد في النبات بأعداد كبيرة متكررة أي انها بعكس حالة polymorphism ذات التعدد الشكلي لنفس الجين على نفس الموقع.
2. العناصر المتكررة (Repetitive Elements=RE) توجد بأعداد كبيرة جدا في الخلية، وربما تشكل نسبة 20% من مجموع جينوم الخلية في بعض النباتات (نسل الذرة الصفراء).
3. فقدان السنتروميير من الكروموسوم فيسمى في هذه الحالة (acentric chromosome).
4. تغيير موقع السنتروميير ليكون عند طرف الكروموسوم فيسمى (acrocentric chromosome).
5. حدوث ما يسمى amber mutation وذلك بتغيير يحدث في DNA الخلية بتغيير موقع كودون ليحل محل كودون آخر.



شكل 3. نبات الشبوي O



شكل 2. نبات الشبوي المقارنة



شكل 5. نبات الشبوي B



شكل 4. نبات الشبوي I



شكل 7. نبات الشبوي G



شكل 6. نبات الشبوي N

## المصادر

10. السباهي ، وليد عبد الرضا جبيل. 1996. احداث تغايرات وراثية في بعض المحاصيل الحقلية بالصعق الكهربائي . اطروحة دكتوراه . قسم المحاصيل الحقلية- كلية الزراعة . جامعة بغداد. ع ص90.
11. خير الله ، حسام سعد الدين محمد . 2007. الاكثار الدقيق لصنفين من نخيل التمر بأستخدام النورة الزهرية ودراسة الثبات الوراثي بأستخدام مؤشرات تباين اطوال قطع DNA المتضاعفة (AFLP). أطروحة دكتوراه . قسم البستنة- كلية الزراعة . جامعة بغداد. ع ص312.
12. سيد ، محمود هيثم . 2001. أستخدام مؤشرات من الDNA في انتخاب مورثات المقاومة للأمراض في الشعير. رسالة ماجستير. قسم المحاصيل الحقلية- كلية الزراعة. جامعة حلب- سوريا. ع ص 177.
13. Ahmed, F. 1999. Random amplified polymorphic DNA. (RAPD) analysis reveals genetic relationships among the annul Cicer species . Theor. Appl. Genet. 98: 657-663 .
14. Ali, T.A., J.M. Jubrail, and A.M. Jassim. 2006. The use of RAPDs technique for the detection of genetic stability of the regenerated plantlets (Barhi cv.) in Iraq. 3<sup>rd</sup> Inter, Date Palm, Conf, Feb, 19-21. 2006. Abu-Dhabi. UAE, p.15-37.
15. Al-Khalifah, N.S. and E. Askari. 2006. Early detection of genetic variation in date palm propagated from tissue culture and offshoots by DNA fingerprinting. In: 3<sup>rd</sup> Inter, Date Palm, Conf, Feb, 19-21. 2006. . Abu-Dhabi. UAE, p.149-160.
16. Barone, A., A. Sebastiano and D. Carputo. 1999. Chromosome pairing in *Solanum commersonii*, *S. tuberosum* sexual hybrids detected by commersonii-specific RAPDs and cytological analysis. Genome 42: 218 –224.
17. Elsahookie, M.M. 2007. An Introduction to Plant Molecular Biology. Ministry of Higher Education and Scientific Research, Baghdad, Iraq. pp.190.
18. Haley, S.D. , L.K. Afanador , P.N. Miklas , J.R. Starely , and J.D. Kelly .1994. Heterogeneous inbred populations are useful as sources of near-isogenic lines for RAPD
1. أشتر ، سها . 1999. تحديد وتقدير التنوع الحيوي في الشعير بأستخدام معلمات الحامض النووي DNA . رسالة ماجستير. قسم المحاصيل الحقلية . كلية الزراعة . جامعة حلب - سوريا . ع ص126.
2. الحسني ، خلود ابراهيم حسن . 2002. استخدام المؤشرات الجزيئية المعتمدة على التفاعل التضاعفي لسلسلة الدنا في دراسة التنوع الوراثي للبطاطا *Solanum tuberosum L.* اطروحة دكتوراه. كلية العلوم . قسم علوم الحياة. جامعة بغداد. ع ص200.
3. التكريتي ، شذى عايد يوسف . 2002. تقويم وأخلاف نباتات الرز المتحملة للملوحة بأستخدام تقانات مختلفة . اطروحة دكتوراه . قسم المحاصيل الحقلية- كلية الزراعة . جامعة بغداد. ع ص135.
4. الساهوكي ، مدحت مجيد . 2006. تربية النبات بمساعدة المعلمات الجزيئية. مجلة العلوم الزراعية العراقية . 37(4): 67-72.
5. الساهوكي ، مدحت مجيد . 1992. تقويم طوافر فول الصويا مستحدثة بطريقة الصعق الكهربائي . مجلة العلوم الزراعية العراقية . 22(2): 99-105.
6. الساهوكي ، مدحت وكريمة محمد وهيب . 1990. تطبيقات في تصميم وتحليل التجارب، جامعة بغداد . وزارة التعليم العالي والبحث العلمي ، العراق. ص 480.
7. الساهوكي، مدحت مجيد ووليد عبد الرضا السباهي a. 2001. أحداث تغايرات وراثية في الحنطة والشعير بالصعق الكهربائي . مجلة العلوم الزراعية العراقية . 32(5): 139-145.
8. الساهوكي، مدحت مجيد ووليد عبد الرضا السباهي b. 2001. تغايرات صفات زهرة الشمس بتأثير الصعق الكهربائي. مجلة العلوم الزراعية العراقية . 32(5): 91-96.
9. الساهوكي، مدحت مجيد ووليد عبد الرضا السباهي c. 2001. تغايرات وراثية للذرة الصفراء مستحدثة بالصعق الكهربائي . مجلة العلوم الزراعية العراقية . 32(5): 101-107.

- .1998. Identification and genetic diversity analysis of date palm (*Phoenix dactylifera L.*) varieties from Morocco using RAPD markers. *Euphytica* 103: 75 – 82.
26. Swoboda, I. and P. L. Bhalla .1997. RAPD analysis of genetic variation in the Australian sunflower *Scaevola*. *Genome*, 40: 600 – 606.
27. Tragoonring, S., V. Kanazin , P.M. Hayes and T.K. Blake .1992. Sequence-tagged-site-facilitated PCR for barley genome mapping. *Theor. Appl. Genet.* 84: 1002 – 1008.
28. Vogt, T.,M. Francoise,K.Frank,J.Welsh and M.Clelland.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.
29. Weigand, F., M. Baum, and S. Udupa .1993. *DNA Molecular Marker Techniques*. Technical manual. No. 20, International Research for Agricultural reearch in the Dry Areas, Aleppo, Syria, pp.118.
30. Williams, J. G. K. , A. R. Kubelik , K., J. Livak , J. A Rafalaki and S. V. Tingey .1990. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucleic Acids Research* 18 (22): 6531 – 6535.
31. Zhang, D. , Q. Yang , W. Bao and Y. Zhang.2004. Molecular Cytogenetic Characterization of the *Antirrhinum majus* Genome. *Genet.* 169:325-335.
- marker localization. *Theor Appl Genet* 88: 337-342.
19. Martin, G.B. , J.G.K. Williams and S.D. Tanksley .1991. Rapid identification of markers linked to a *Pseudomonas* resistance gene in tomato by using random primers and near-isogenic lines. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 88:2336-2340.
20. Mathes, R.K. , A.H. boyd and J.C. viability .1968. physical properties related to seed viability. The 1968 Ann. Meeting South East Reg. Amer. Soc. Agric. Engr., Louisville, Kentucky, USA.63: 6125-6130.
21. Nebauer, S. G. , L. del Castillo-Agudo and J. Segura .1999. RAPD variation within and among natural populations of outcrossing willow – leaved foxglove (*Digitalis obscura L.*). *Theoretical and Applied Genetics*, 98 : 985 – 994.
22. Nei, M. and W.H. Li .1979. Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases. *Proc. Nat. Acad. Sci.(USA)*.74:5269 – 5273.
23. Sahgi-Marroof, M.A. , K.M. Soliman, R.A. Jorgens and R. W. Allard .1984. Ribosomal DNA spacer lenth polymorphisms in barley. *Proc. Natl. Acad. Sci. (USA)*. 81: 8014 – 8018.
24. Sambrook, J. , E.F. Fritsch and T. Maniatis .1989. *Molecular Cloning, a Laboratory Manual*, 2<sup>nd</sup> edn, Cold Spring Harbor Laboratory. Cold Spring Harbor, New York, USA, pp.189.
25. Sedra, M. H. , P. lasherms , P. Trouslot , M. C. Combes and S. Homan