

تحديد البعد الوراثي لأصناف مختلفة من الباميا (*Abelmoschus esculentus* L.) باستخدام

مؤشرات RAPD

عمار هاشم سعيد	ماجد خليف الكمر	عقيل حسين العاصي
قسم البستنة / كلية الزراعة	قسم البستنة / كلية الزراعة والغابات	قسم علوم الحياة / كلية العلوم
جامعة تكريت	جامعة الموصل	جامعة تكريت

الخلاصة

أجريت هذه الدراسة في أثناء الموسم الزراعي 2012/2011 في حقل أبحاث الخضار/ قسم البستنة وهندسة الحدائق/كلية الزراعة والغابات/جامعة الموصل ، بهدف دراسة القرب والبعد الوراثي باستخدام المؤشرات الجزيئية في نبات الباميا (*Abelmoschus esculentus* L.). استخدمت في الدراسة (7) أصناف من مناشئ مختلفة هي: (1) Clemson spineless (2) Cleson (3) Clemson spineless (4) Samara (5) Sultani (6) موصلية (7) بتراء، وأدخلت في تهجينات تبادلية Diallels Cross ، استخدمت 26 بادئاً عشوائياً في مؤشرات RAPD إلا أن 18 منها فقط أنتجت 135 حزمة ، وكانت الحزم الناتجة جميعها متباينة الموقع Polymorphic bands واعتمدت نتائجها لتحليل التنوع الوراثي للنماذج المدروسة من نبات الباميا ، ومن بين الـ 18 بادئاً هناك 13 بادئاً تمكن من تحديد بصمة DNA لثلاثة عشر تركيباً وراثياً وزعت على (3) آباء هي Cleson و Sultani و موصلية ، و (9) هجائن هي (1×2) و (1×4) و (1×5) و (1×6) و (1×7) و (2×3) و (2×4) و (2×5) و (2×6) و (2×7) ، أما أكبر بعد وراثي كان بين الاب (5) والهجين (3×7) بلغ (0.937) وتراوحت بقية التركيب الوراثية بين هذا المدى . أما تحليل العلاقة الوراثية فقد اظهر وجود خمس مجموعات رئيسية ، ضمت المجموعة الأولى الآباء (1) و (2) و (3) و (4) و (6) و (7) والهجائن (1×2) و (1×3) و (1×4) و (1×5) و (1×6) و (1×7) و (2×3) و (2×4) و (2×5) و (2×6) و (2×7) وضمت المجموعة الثانية الاب (5) فقط وضمت الثالثة الهجائن (2×3) و (2×4) و (2×5) و (2×6) و (2×7) و (3×4) و (3×5) و (3×6) و (3×7) وضمت المجموعة الرابعة الهجائن (3×4) و (3×5) و (3×6) و (3×7).

الكلمات الدالة:

الباميا ، البعد الوراثي

للمراسلة:

عمار هاشم سعيد

جامعة تكريت / كلية

الزراعة / قسم علوم

البستنة

Estimating genetic distance to variety of okra (*Abelmoschus esculentus*

L.) by rapd marker

Ammar Hashim Saied
College of Agriculture
University of Tikrit

Majd Khleef AL-Kummer
College of Agriculture and Forestry
University of Mosul

Akeel Hussein AL-Asie
College of Science
University of Tikrit

KeyWords:

Okra , variety

Correspondence:

Ammar Hashim Saied

University of Tikrit-
College of
Agriculture

Abstract

This study was carried out during the growing seasons (2011/2012) at Vegetative Research Field, Department of Horticulture and Landscape design, College of Agriculture and Forestry, Mosul University . The objectives of this research was to study: the architecture of qualitative and quantitative traits of yield in okra plant ; combining ability , heterosis and correlation between the traits of the parents and first . Seven genetics line okra were used in this study namely (1- Clemson spineless, 2-Cleson, 3-Clemson spineless 80, 4-Sultani, 5-Samara, 6-Moslyly and 7-Batra) . These genotypes were crossed in all possible combinations (Full Diallel Cross). The seeds of seven parents and their first including reciprocals were sown using Randomized Complete Block Design with three replications . The following traits were studies : estimate the molecular markers (fingerprint) of the parents and their first including reciprocal, at the laboratories of the molecular biology/Department of biology/College of Sciences/Tikrit University. The results can be summarized as follows :-Genomic DNA from 1.5- 2g of fresh tissue was isolated, a range yields were in the range of 300-500μL. DNA polymorphisms were scored within amplified bands on either agarose gels or electrophoresis according to DNA marker type. Data were further analysis further using the NTSYS-PC software to determine Genetic Distance (GD) and Genetic Relationship (GR) among barley varieties. The overall results obtained are as follows : In the RAPD experiments, 28 different primers were tested, only 20 primers produced amplified bands and the total number of these bands were 135.All them polymorphic bands. Only thirteen line were fingerprinted namely Local parents Cleson, Sultani, Moslyly and Hybrid (1x2), (1x4), (1x5), (1x6), (2x4), (3x4), (3x6), (5x6), (3x7), The lowest (0.137) GD calculated was found between (7x2) and (6x4) and the highest (0.937) GD was found between (5) and (7x3) . RAPD – based markers molecular dendrogram (DG) showed two group clusters, the first included (6) parent and hybrid(1x2),(1x3),(1x4), (1x5), (1x6), (1x7), (2x3), (2x4), (2x5),the second included parent (5) the three groupincluded hybrid (2x6) , (2x7) , (3x4) , (3x5) , (4x6) , (4x5) , (6x7) , (5x7) , (4x7) , and the four clusters included (3x6),(3x7),(5x6) .

** البحث مستل من اطروحة دكتوراه للباحث الاول .

المقدمة

في تقييم الأداء الوراثي للنبات وتوضيح العلاقات الوراثية ضمن وبين النوع الواحد (Aladele وآخرون, 2008). استخدم Aladele وآخرون (2008) تقنية الـ RAPD لدراسة العلاقة الوراثية لـ 93 تركيب وراثي من الباميا , 50 تركيب وراثي إفريقي و 43 تركيب وراثي آسيوي حيث أوضح التحليل الجزيئي ان جميع البادئات الثلاثة عشر المستخدمة أظهرت تنوع أكثر في التراكيب الوراثية للباميا الآسيوية من الأفريقية وأشارت الدراسة ان هذا التنوع يشير ان هذه التراكيب جمعت من ست مناطق مختلفة , ويوضح Saifullah وآخرون (2010) في دراسة تقييم التنوع الوراثي لـ 121 تركيباً وراثياً في الباميا باستخدام مؤشرات الـ RAPD ان البادئات العشوائية المستخدمة اعطت 38 حزمة مختلفة , وأشار مخطط dendrogram للحزم الناتجة إلى وجود 8 مجاميع طبقاً لتنوع هذه التراكيب كما ان تقنية التحليل الوراثي كانت مشابهة لما موجود بالطرز المظهرية , وأشارت الدراسة إلى وجود قاعدة وراثية عالية للتنوع الوراثي يمكن ان تستغل في برامج التربية , ويضيف Kumar و Ananthanarayanan (2010) في دراسة التقنية الحيوية والبصمة الوراثية لمؤشرات الـ DNA في الباميا من خلال تطبيق تقنية الـ RAPD PCR لتوضيح التشابه بين 84 تركيباً وراثياً وباستخدام 60 بادناً عشوائياً , تبين من خلالها ان 8 بادئات اعطت polymorphism وتضخيم جيد لحزم الـ DNA, كما أعطى البادئ OPF 10 قدرة تمييزية أعلى بينما أعطى البادئ OPG 10 قدرة تمييزية أوطأ , وبينت نتائج الدراسة ان المخطط العنقودي كشف وجود علاقة ارتباط بين التراكيب الوراثية الـ 84 من خلال تقسيمها إلى مجموعتين رئيسيتين .

وفي دراسة أجراها Nwangburuka وآخرون (2011) حول التوصيف الجزيئي لتسعة وعشرون تركيب وراثي من الباميا باستخدام تقانة RAPD تبين من خلالها وجود Polymorphism بنسبة 61,4% , كما وضحت الدراسة ان البادئ OPX 17 كان الأكثر من بين البادئات المستخدمة في تعدد أشكال الحزم إذ اختلف في 8 حزم من بين 12 حزمة وأظهر polymorphism بنسبة 67% بينما أعطى البادئ OPY02 (6) حزم متعددة الشكل من بين (8) حزم منتجة وينسبة polymorphism قدرها 75% كما قد كشفت الدراسة من خلال المخطط العنقودي وجود خمس مجاميع رئيسية وان التركيبين المتباعدين جداً يبينان ان أصلهما الوراثي متنوع إلى حد كبير , واستنتج Prakash وآخرون (2011) في دراسة العلاقة الوراثية بين 44 تركيب وراثي من نبات الباميا باستخدام 14 بادئ بواسطة تقنية الـ RAPD بأن جميع البادئات أظهرت اختلاف واضح بين التراكيب الوراثية من خلال الحزم الناتجة

تعد الباميا (Okra) (*Abelmoschus esculentus* L.) محاصيل الخضر الصيفية الشائعة وهي تعود إلى العائلة الخبازية Malvaceae يعتقد أن موطنها الأصلي المناطق التي تضم الحبشة وإريتريا والسودان ومصر , وهي من النباتات الذاتية التلقيح (مطلوب وآخرون, 1989), ونبات الباميا من الخضراوات ذات القيمة الغذائية العالية وهي غنية بالعناصر الغذائية , إذ يضم كل 100 غم من الثمار الخضراء الصالحة للأكل 10.4 غم مادة جافة و 31 سرعة حرارية 90 ملغم كالسيوم و 1 ملغم حديد و 10 ملغم كاروتين و 7.6% كاربوهيدرات و 0.3% زيوت و 0.051% فسفور , و 1,8 غم بروتين , 0.07 غم ثيامين , 0.08 غم رايبوفلافين , 0.8 غم نياسين , 18.0 غم فيتامين C وتزرع الباميا لتؤكل ثمارها وقد تجفف أو تجمد وتؤكل مطبوخة مع بعض الخضراوات وخاصة الطماطة وهي الشائعة في العراق , كما قد يستعمل مسحوق الثمار لإضافة النكهة إلى الأطعمة (مطلوب وآخرون , 1989) , وبلغت المساحة المزروعة في العراق (19,5) الف هكتار وبلغت الإنتاجية (7744) كغم/هكتار , أما الإنتاج الكلي فقد بلغ (151) الف طن (المنظمة العربية للتنمية الزراعية , 2011) .

تستخدم تقنية المضمخ العشوائي Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) لتوضيح العلاقات الوراثية بين الصفات للمحاصيل المختلفة , وتُظهر هذه العلامات الوراثية قيماً عظمية وموثوقاً بها وأن إمكانية الحصول على هذه العلاقات الوراثية بواسطة هذه التقنية تتميز بالسرعة الكبيرة , وأن التصنيف الوراثي الجزيئي للتراكيب الوراثية يتفوق على تركيب الشكل الظاهري , فالوراثة الجزيئية لا تتأثر بالظروف البيئية , ويمكن أن تستعمل للتمييز بين التراكيب الوراثية في الباميا والارتباط بين هذه التراكيب (Aladele وآخرون, 2008) .

ان معرفة التنوع والعلاقات الوراثية بين أصناف الباميا يلعبان دوراً مهماً في برامج التربية للنبات ومن خلال وجود تراكيب وراثية عديدة من الباميا فقد اعتبرت هذه التراكيب قاعدة وراثية كبيرة يُستند عليها لتقييم النبات من خلال اختلاف التنوع الوراثي لهذه التراكيب , ولقد كان قياس التمثيل والتنوع الوراثي هدفاً رئيساً في علوم الحياة التطورية وبما ان اختلاف التراكيب الوراثية لنبات الباميا يختلف معه المظهر الخارجي للنبات لذا فان تقييم هذه الصفات يتطلب وصول النبات لمرحلة النضج الكامل حتى يتم التحقق من هذه الصفات الخاصة بالتركيب الوراثي , ولقد اختصرت تقنية الوراثة الجزيئية هذه الفترة واثبتت هذه التقنية بأنها أداة قوية

تصميم القطاعات العشوائية الكاملة R.C.B.D بواقع ثلاث مكررات .

تم عزل الـDNA وفقاً لما ذكره (Weigand وآخرون , 1993) المعتمدة على طريقة (Sahgai-Maroo وآخرون , 1984) باختناز 0.5 – 1 غممن الأوراق الفتية حيث وضعت في صحن خزفي واضيف اليها النتروجين السائل وتم سحق أجزاء الورقة ثم نقل المسحوق إلى أنابيب زجاجية معقمة وأضيف اليها مباشرة 6 مل من محلول الاستخلاص CTAB الذي تم اخذه مباشرة من الحمام المائي بدرجة 65°م ثم قلب الالنبوية لحين تجانس الخليط و تترك للتحضين في الحمام المائي على درجة 65°م ولمدة من 60 – 90 دقيقة, واستخدم في استخلاص الـ DNA المحلول المتكون من المواد 1.4 مولار NaCl و 100 ملي مولار Tris-HCl و 20 ملي مولار EDTA Na₂ و 2% CTAB و 0.5 مولار كلوكوز (Maniatis وآخرون , 1982) و محلول كلوروفورم كحول أيزوأميل (1:24) و محلول الغسل و محلول تدويب الـ DNATE buffer .

رُفعت بعدها الأنابيب من الحمام المائي, بعدها تم إضافة محلول كلوروفورم : كحول ايزوأميل (1:24) مع رج الأنابيب بهدوء لمدة 15-20 دقيقة , تم وضع الأنابيب بعد التحريك في جهاز الطرد المركزي ونبذت على سرعة 4000 دورة/ دقيقة لمدة 15 دقيقة وعلى حرارة 4° م , وبعد انتهاء عملية النبذ سحبت من الأنابيب الطبقة المائية الراقدة العليا بواسطة ماصة دقيقة Micropipette وتم إعادة مرحلة النبذ نفسها وتحت نفس الظروف أعلاه , سحبت الطبقة المائية بواسطة الماصة إلى أنابيب جديدة معقمة بعد انتهاء النبذ واضيف لها حجم مماثل من كحول ايزوبروبانول المبرد لكل عينة بعدها تم قلب الأنابيب بهدوء لمزج الكحول بالعينة بشكل جيد , في هذه الأثناء تتكون كتلة بيضاء هي عبارة عن خيوط الـ DNA , تم رفع هذه الكتلة إلى أنبوب آخر يحتوي على 5 مل من محلول الغسل , تبقى خيوط الـDNA مدة 20 – 30 دقيقة في محلول الغسل, بعدها يتم رفع خيوط الـDNA من محلول الغسل إلى أنابيب جديدة تحتوي على كمية 300 – 400 مايكروليتر من محلول الإذابة TE Buffer وتترك الخيوط إلى أن تنوب بشكل كامل ثم تحفظ العينات Stock sample على درجة حرارة -20°م لاستخدامها لاحقاً.

حضر هلام الأكاروز بتركيز 0,8 بإضافة 1,2غم من الاكاروز إلى 150 مل من 1 X TBE ووضع في جهاز التحريل الكهربائي وتم توصيل أقطاب التيار الكهربائي بوضع القطب السالب من جهة الحفر والقطب الموجب من الجهة الثانية لكي تتم حركة عينة الـDNA من القطب السالب إلى

بالتحليل الجزيئي , كما كشفت الدراسة أن البادئ OPD-05 أعطى 10 حزم مختلفة من بين 11 حزمة أنتجها ونسبة polymorphism 90,9% , وان نسبة الـ polymorphism لجميع البادئات كانت 74,03% , و اظهر المخطط العنقودي للتحليل الجزيئي وجود مجموعتين رئيسيتين و تحت كل مجموعة تم توصيف الصفات الخاصة بالبنية الوراثية والشكل الظاهري للأصناف المختلفة .تم تنفيذ هذه الدراسة بهدف التعرف على البعد الوراثي بين التراكيب الوراثية والعلاقة بين الأصناف وهجتها التبادلية باستخدام تقنية المؤشرات الجزيئية Molecular Marker .

المواد وطرائق العمل :

نفذت الدراسة في الحقل التابع لقسم البستنة وهندسة الحدائق - كلية الزراعة والغابات/ جامعة الموصل خلال الموسم الزراعي الربيعي (2011) وتضمن زراعة بذور لسبعة أصناف من الباميا أعطيت الأرقام من (1-7) بتاريخ 2011/4/5 على مرز طول كل مرز 6 م ولكل صنف 4 مرز , وكانت المسافة بين مرز وآخر 75 سم و المسافة بين جوره وأخرى 50 سم , وبواقع 12 جوره في كل مرز, وعند وصول النباتات لمرحلة التزهير اجريت عملية التهجين التبادلي بين الاصناف المستخدمة في البحث وذلك في بداية الشهر السادس (حزيران) حيث أجريت عملية إزالة المتوك لأزهار الباميا (الأمهات) في المساء قبل تفتح الأزهار بفترة (12-14) ساعة , لان تفتح الأزهار يكون صباحاً وتكون المياسم جاهزة للتلقيح ب (6) ساعات قبل تفتح الزهرة (فندري , 1983 و المحمد وآخرون 2003) , وذلك من خلال فتح الأوراق الكأسية و إزالة الأوراق التوجية بشفرة دون التأثير في الأنبوية السدائية بعدها قشطت الأنبوية السدائية المتكونة من خمسة اسدية ملتحمة التي تحيط بالقلم , حيث تكون المتوك وقتها غير متفتحة وجالسة على الأنبوية السدائية , بعد ذلك أعيدت الأوراق الكأسية لحالتها الطبيعية ووضع كيس على الزهرة لمعرفة الزهرة التي أزيلت منها الأعضاء الذكرية .

وعند صباح اليوم التالي قطعت الأزهار التي استخدمت لغرض الحصول على حبوب اللقاح منها, ونثرت حبوب اللقاح على ميسم الزهرة المستخدمة كأم من خلال دعك الأنبوية السدائية , ثم وضعت بطاقة على الزهرة الملقحة تحمل رقم الصنف المستخدم كآب و تأريخ التهجين , بعدها تم إعادة التكييف ثانياً , وبعد مرور يوم أو يومين على التلقيح (التهجين) تم رفع الكيس من فوق الزهرة, وحين وصول الثمار لمرحلة النضج التام للبذور وهي مرحلة تيبس الثمار على النبات , قطفت مع بطاقة معلومات التهجين المثبتة عليها ووضعت في أكياس ورقية و استخراج بذورها , وفي الموسم التالي 2012 تم زراعة بذور الاباء والهجن الناتجة منها وفق

DNA لجميع العينات بواسطة محلول TE لغرض الحصول على التركيز المطلوب لإجراء تفاعلات الـ RAPD ويكون بحدود (40-50) نانوغرام/مايكروليتر لكل عينة , تم إضافة لكل Eppendorff tube المحتوي على مكونات التفاعل 16,5 مايكروليتر ماء مقطر و 0,5 مايكروليتر Primer و آخر مرحلة يضاف 1 مايكروليتر من الـ DNA لتكتمل مكونات أنبوبة Eppendorff tube 20 مايكروليتر , و أدخلت الأنابيب الحاوية على خليط التفاعل والعينات إلى جهاز المبلر الحراري Thermo cycler Reaction لإجراء تفاعل التضاعف وطبق البرنامج المناسب للتضاعف وعلى جميع التفاعلات لكل العينات وتم تنفيذ البرنامج كما يلي :

الموجب بعدها يتم إيقاف الترحيل عند وصول الصبغة الزرقاء إلى ما قبل نهاية الهلام . يرفع اللوح مع الهلام ويوضع في حوض يحتوي على لتر من محلول صبغة بروميد الايثيديوم التي تم تحضيرها مسبقاً و يترك لمدة نصف ساعة مع تحريك مستمر وهادئ . يتم فحص الهلام بوضعه على جهاز الأشعة فوق البنفسجية وعند طول موجي 260 نانوميتر لرؤية حزم الـ DNA .

تم إجراء تفاعلات الـ RAPD بالاستناد إلى Williams وآخرون (1990) على عينات DNA واستخدم الـ Kit المجهد من قبل شركة Bioneer الكورية . وجهزت البادئات العشوائية من قبل شركة Operon Technologies U.S.A , وكما مبينة في الجدول (1) . تم ضبط تركيز الـ

الجدول رقم (1) البادئات المجهزة من شركة OPERON مع تتابعاتها.

تتابعه	البادئ	ت	تتابعه	البادئ	ت
⁵ TGGTGGACCA ³	OPL-20	14	⁵ AGGTGACCGT ³	OPA-18	1
⁵ TCTGTCCCC ³	OPM-08	15	⁵ CAAACGTCGG ³	OPA-19	2
⁵ AGGTCTTGGG ³	OPM-20	16	⁵ GGTCCCTGAC ³	OPA-06	3
⁵ CAGCCCAGAG ³	OPN-07	17	⁵ TCCGCTCTGG ³	OPB-14	4
⁵ AAGCGACCTG ³	OPN-16	18	⁵ GATGACCGCC ³	OPC-05	5
⁵ GTGGTCCGCA ³	OPP-09	19	⁵ ACCCGGTCAC ³	OPD-20	6
⁵ TCCCGCCTAC ³	OPP-10	20	⁵ CACCAGGTGA ³	OPE-10	7
⁵ GGGACGATGG ³	OPQ-01	21	⁵ GGTGACTGTG ³	OPE-16	8
⁵ GAGCGCCTTG ³	OPQ-06	22	⁵ GGTCGGAGAA ³	OPH-01	9
⁵ GAAGCCCTTG ³	OPQ-17	23	⁵ GGAGGAGAGG ³	OPI-02	10
⁵ TCGCCCAGTC ³	OPQ-20	24	⁵ AGAGGGCACA ³	OPI-12	11
⁵ GTCTACGGCA ³	OPR-06	25	⁵ CCACACTACC ³	OPJ-13	12
⁵ AGATCCCGCC ³	OPV-14	26	⁵ ACGCCAGTTC ³	OPJ-17	13

قدرت الكفاءة لكل بادئ باستخدام المعادلة (Grudman وآخرون , 1995):
الكفاءة = (عدد الحزم المتباينة لكل بادئ العدد الكلي لحزم التضاعف لكل بادئ) × 100%
و القدرة التمييزية تم إيجادها اعتماداً على المعادلة التالية:
القدرة التمييزية = (عدد الحزم المتباينة لكل بادئ العدد الكلي للحزم المتباينة لجميع البادئات) × 100%
يتم تحويل النتائج التي نحصل عليها والتي تظهر في الهلام إلى جداول التوصيف وذلك بوضع (1) عند وجود الحزمة و (0) عند غياب الحزمة بغية إيجاد العلاقة الوراثية بين الأصناف (الأباء) والأجيال المنتجة ، ويتم تحويل بيانات التوصيف إلى قيم التشابه (Similarity) المقدر باستخدام الحاسوب ضمن برنامج (SIMQUL) (Similarity for) (qualitative data) والذي يعتمد على معادلة Nei و Lei (1972):

$$\text{Similarity} = 2n_{xy} / (n_x + n_y)$$

- 1- دورة واحدة تستمر (4) دقائق على درجة حرارة 94°م للسخ الأولي لشريط الـ DNA .
- 2- (40) دورة تضاعف كل دورة تستمر (30) ثانية على درجة حرارة 92°م لمسح الشريط المزدوج و (45) ثانية بدرجة حرارة 36°م لارتباط البادئ بالـ DNA و (45) ثانية أخرى بدرجة حرارة 72°م لاستطالة البادئ .
- 3- آخر دورة تبقى لمدة (7) دقائق وعلى درجة حرارة 72°م لاستكمال مرحلة الاستطالة .
- 4- بعد انتهاء مراحل التفاعل ترفع الأنابيب من جهاز المبلر الحراري و يسحب منها (5) مايكروليتر وتحمل العينات في حفر هلام الاكاروز الذي تم تحضيره سابقاً بتركيز 1,2 مع الـ Marker المعلوم الحجم الجزيئي , ثم تُرحل العينات في جهاز الترحيل, وبعد انتهاء الوقت يصبغ الهلام بغمرة بصبغة بروميد الايثيديوم لمدة 30 دقيقة مع التحريك ثم تعريضه لمصدر للأشعة فوق البنفسجية لغرض تصوير الهلام .

البادئات ذات الحزم المتباينة بالعدد والموقع

Polymorphic bands

وهي البادئات التي أنتجت حزماً متباينة بالعدد والوزن الجزيئي بين التراكيب الوراثية للآباء والهجائن التبادلية بعد ترحيلها على هلام الأكاروز وتمثلت بـ 18 بادئ أنتجت (135) حزماً متباينة من مجموع (135) حزماً ، وقد تم تقسيمها إلى نوعين من الحزم حسب نمط التمييز :

النوع الأول : البادئات التي أظهرت حزماً مميزة Unique Bands:

بينت هذه الدراسة وجود 13 بادئاً من هذا النوع تمكنت من تشخيص 19 تركيباً وراثياً من الباميا ، وبلغت نسبة هذه البادئات 72,2 % من مجموع البادئات التي أظهرت نواتج تفاعل ، وأنتج هذا النوع من البادئات عدد من الحزم بلغ 103 حزماً ، وكان عدد الحزم المتباينة التي سجلتها 103 حزماً بلغت نسبتها 76,3 % من مجموع الحزم المتباينة التي ظهرت في هذه الدراسة وشملت البادئات (OPA-18 و OPD-20 و OPE-16 و OPH-01 و OPI-02 و OPI-12 و OPJ-13 و OPL-20 و OPM-08 و OPN-07 و OPP-09 و OPQ-06 و OPQ-20) .والاشكال 1 و 2 و 3 و 4 توضح نواتج تفاعل بعض البادئات المستخدمة ، كما يبين الجدول (2) عدد الحزم الناتجة والمميزة والغائبة والكفاءة والقدرة التمييزية لكل بادئ .

النوع الثاني من البادئات:

هي البادئات التي أظهرت حزماً متباينة بين التراكيب الوراثية المدروسة إلا أنها لم تتمكن من تحديد تركيب وراثي معين من بين التراكيب الأخرى ، وبلغ عددها (5) بادئات وبلغت نسبتها 27,8 % من مجموع البادئات التي أظهرت نواتج تفاعل ، وكان لهذه البادئات مجموع من الحزم بلغ (32) حزماً جميعها متباينة الأوزان الجزيئية بلغت نسبتها 23,7 % من بين الحزم المتباينة الكلية ، وان سبب تباين الحزم الناتجة يعود إلى اختلاف المادة الوراثية لكل تركيب وراثي في هذه الدراسة وهي (OPA-19 و OPE-10 و OPQ-17 و OPR-06 و OPV-14) .

مناقشة نتائج تفاعلات الـ RAPD :

إن عدم الحصول على أي نواتج تضاعف عند استخدام البادئات (, OPP-10 , OPJ-17 , OPB-14 , OPC-05 , OPM-20 , OPN-16 , OPQ-01 , OPA-06) يمكن تفسيره بأن تلك البادئات لم تجد موقعا مكملاً على المجين ، وهذه الحالة شائعة ، فقد وجد في دراسات عدة أن هناك نسبة من البادئات لم تظهر نواتج تضاعف ، وانفقت هذه النتيجة مع (العاصي ، 2002) و (Rawashdeh و Amri 2006)

تقدير النسبة المئوية للبعد الوراثي (Genetic distance) بين الآباء والأجيال والتي تعتمد على نتائج التشابه الوراثي وفقاً للمعادلة التالية (Lei و Nei ، 1979) :

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

حيث إن nxy = عدد -

x و y الحزم المشتركة بين النموذجين الآباء والجيل التالي
nx = عدد الحزم الكلية في النموذج x
ny = عدد الحزم الكلية في النموذج y

يعتمد مخطط التحليل التجميعي على قيم الأبعاد الوراثية التي يتم الحصول عليها من الخطوة السابقة وذلك وفقاً لطريقة UPMA cluster analysis حيث يتم إدخال هذه القيم في الحاسوب الآلي ضمن برنامج (NTSYS- PC) وبالتالي الحصول على مخطط التحليل التجميعي الذي يوضح المجاميع الوراثية القريبة والبعيدة من بعضها البعض ولجميع التراكيب الوراثية (Rohlf ، 1993) .

النتائج والمناقشة

يتضح من نواتج تفاعلات الـ RAPD المطبقة على التراكيب الوراثية للباميا ان البادئات قسمت كما يلي :-

المجموعة الأولى :-

وهي البادئات التي لم تظهر أي ناتج تضاعف لحزم الـ DNA على هلام الأكاروز وبلغ عددها (8) بادئات عشوائية:

OPC-05 , OPB-14 , OPJ-17 , OPP-10 , OPM-20 , OPN-16 , OPQ-01 , OPA-06 ، وشكلت نسبة 30,76 % من مجموع البادئات المستخدمة، وتكمن أهمية البادئات التي لم تظهر حزم تضاعف في هذه الدراسة في كونها مفتاح لهذه التراكيب الوراثية، بحيث أن أي تركيب وراثي يظهر حزم تضاعف باستخدام هذه البادئات يكون خارج التراكيب الوراثية الداخلة في هذه الدراسة .

المجموعة الثانية :-

تضمنت هذه المجموعة (18) بادئاً وجدت لتتابعاتها مواقع مكملة على الـ DNA المجيني للآباء والهجائن التبادلية المدروسة لنبات الباميا وكون هذا العدد من البادئات نسبة 69,24 % من مجموعة البادئات الكلية التي ادخلت في تفاعلات الـ RAPD ، و قد أنتجت هذه البادئات عدداً من الحزم بلغ مجموعها 135 حزماً وبمعدل 7,5 حزماً لكل بادئ.

إن ناتج هذه البادئات قد اختلف من حيث العدد والوزن الجزيئي للحزم الناتجة من بادئ إلى آخر ويعمل سبب هذا الاختلاف إلى تباين التراكيب الوراثية فيما بينها .

400 , 500 , 700 مما يجعل هذه الحزم تمثل الطراز للأب والتي يعول عليها في الكثير من دراسات المقارنة والتشخيص وغيرها , كما أنتجت بعض البادئات أكثر من حزمة متميزة مما أعطى هذه البادئات فعالية كبرى في تمييز أكثر من تركيب وراثي واحد بنفس الوقت متفوقة بذلك على البادئات التي أظهرت حزم متباينة كما في البادئ OPE-16 الذي كانت له القدرة على تمييز 3 تراكيب وراثية, والبادئات (OPA-18 و OPI-02 و OPI-12 و OPJ-13 و OPQ-06) التي كانت لها القدرة على تمييز تركيبين وراثيين لكل منهما , كما أن البادئان OPI-02 و OPJ-13 غابت فيهما الحزمة العامة 800 و 700 على التوالي للهجين التبادلي 6×3.

تقدير البعد الوراثي بالاعتماد على نتائج الـ RAPD :

استخدمت نتائج كافة البادئات بمجموعتيها الأولى والثانية من نتائج تفاعلات مؤشرات الـ RAPD بهدف تقدير البعد الوراثي بين التراكيب الوراثية المدروسة (الأباء والهجائن التبادلية) وذلك عن طريق البرنامج الوراثي NTSYS_PC (Version 1,7) المعد لذلك باستخدام الحاسوب والذي يعتمد على وجود الحزم المشتركة بين كل تركيب وراثي وكذلك الفريدة والغائبة ومعتمداً في تحليلاته على معادلة Nei (1979) , وتمثلت النتيجة بالجدول (3) الذي يوضح قيم الأبعاد الوراثية التي تراوحت بين (0.137) و (0.937) , ففي حالة تتطابق المادة الوراثية بين تركيبين وراثيين فهذا يدل على أن البعد الوراثي بينهما يجب أن يكون مساوياً للصفر, أما نسبة التشابه الوراثي فتكون مساوية لـ 1 (100%) (Essleman وآخرون, 2000) والتطابق هنا يحدث عند عدم وجود تباين وراثي بين الأصناف باستخدام عدد من البادئات, لكن عند استخدام عدد أكثر من البادئات أو استخدام مؤشر وراثي آخر قد تختلف النتيجة وذلك لاختلاف مناطق الارتباط حسب تسلسل البادئ المستخدم , واستناداً إلى نتائج البعد الوراثي , فقد تم استخراج التحليل التجميعي المتمثل بالشكل (5) لكافة التراكيب الوراثية قيد الدراسة وذلك لإظهار العلاقات الوراثية التي تربط الأباء مع الهجائن التبادلية للبياميا وتوزيعها بشكل مجاميع.

إن الذي يحدد القرب أو البعد الوراثي بين الأصناف هو عدد الحزم المشتركة فكلما كثر عدد تلك الحزم قل البعد الوراثي والعكس صحيح , فتلك الحزم المشتركة تدل على تشابه في المادة الوراثية في تلك المنطقة من المجين للأصناف المدروسة الذي قد يمثل تشابهاً في الصفات المظهرية وخصوصاً الثمار أو في صفات أخرى تتعلق بالإنتاجية والتكاثر والمقاومة للأمراض أو التشابه في التكيف الوراثي للمتطلبات البيئية الملائمة للنمو والإنتاج أو غير ذلك من الصفات الكثيرة أو قد يكون التشابه في منطقة

و (Aladele وآخرون, 2008) و (Saifullah وآخرون , 2010) و (Nwangburuka وآخرون, 2011) وهذه البادئات لها فائدة في الكشف عن مجموع هذه التراكيب الوراثية , إذ إن أي تركيب وراثي يظهر ناتج تفاعل باستخدام هذه البادئات يفسر بأن هذه المادة الوراثية التي أظهرت حزماً هي خارج إطار هذه التراكيب الوراثية .

أن وجود التباين بين التراكيب الوراثية للبياميا يرجع إما نتيجة غرس insertion قطعة كبيرة من الـ DNA بين مواقع ارتباط البادئ؛ مما يتجاوز قابلية الـ PCR , والنتيجة فقدان في القطع, أو حذف deletion قطعة صغيرة من الـ DNA مما يؤدي إلى تغيير في حجم القطع المتضاعفة أو حذف احد موقعي ارتباط البادئ ينتج عنه أما فقدان قطعة, أو زيادة في حجم القطعة المضاعفة أو استبدال نيوكليوتيدة ضمن احد أو كلا موقعي ارتباط البادئ مما يؤدي إلى وجود أو غياب التباين أو إلى تغيير في حجم القطعة المضاعفة (Weising وآخرون, 2005) .

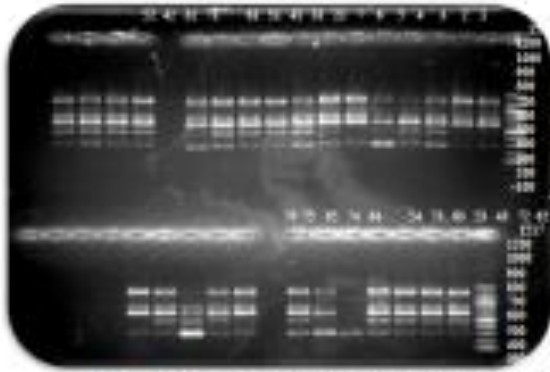
والجدول (2) يوضح عدد الحزم الناتجة والكفاءة والقدرة التمييزية لكل بادئ , إذ يتبين من الجدول ان جميع البادئات المستخدمة أظهرت حزم متباينة في الموقع والعدد والحجم, ومن بين تلك الحزم توجد ما يعرف بالحزم الفريدة التي لها دور في تحديد البصمة الوراثية للتركيب وراثي معين (احد الأباء أو الهجائن) دون باقي التراكيب الوراثية الداخلة في الدراسة, فوجود الحزم الفريدة يوفر الجهد والوقت والتكلفة , لأنها تعطي نتائج ذات ميزة عالية بوقت قياسي , وان وجود الحزم الفريدة لا يقل أهمية عن غياب حزمة رئيسية من صنف أو هجين معين فهي أيضاً مهمة في تحديد البصمة الوراثية لذلك الصنف من بين الأصناف الداخلة في الدراسة , كما أن البادئات التي تؤدي نتائج تفاعلاتها إلى وجود حزماً متباينة عدة تكون فرصتها أكبر في إيجاد حزم فريدة للتركيب الوراثية الداخلة في الدراسة , مع بقاء الفرص سانحة بالنسبة إلى البادئات التي تنتج أعداداً قليلة من الحزم المتباينة (Williams وآخرون, 1993) غير أن هذه الحزم الفريدة أو الغائبة قد لا تميز الأصناف التي ظهرت بها عن باقي الأصناف عند زيادة عدد الأصناف الداخلة في الدراسة .

وتشير نتائج الجدول (2) إلى أن هناك بادئات امتازت نتائجها بإفراز عدد من الأصناف والهجائن تميزت من خلال أكثر من بادئ كما هو الحال للهجين التبادلي (5×1) إذ أظهر مؤشرات مع البادئات (OPM-08 و OPP-09 و OPQ-20 1000 و 1500 و 300) وكذلك الهجين التبادلي (4×3) مع البادئ (OPH-01 300 و 316) والهجين التبادلي (3×7) مع البادئات (OPD-20 1200 و OPN-07) , أما الأب 5 فقد أظهر 4 حزم متميزة مع البادئ OP-L20 900

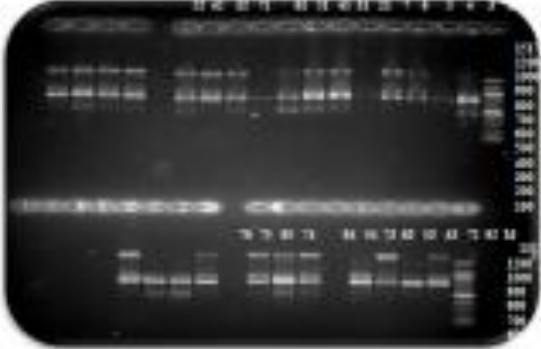
من المناطق غير المشفرة التي ليس لها تعبير جيني وتعرف بـ Non_coding DNA , أما الأصناف البعيدة وراثياً عن بعضها فهي التي تشترك بأقل عدد من الحزم مع بعضها ، وذلك لوجود اختلافات في تسلسل النيكليوتيدات في المجين لتلك الأصناف ويتضح هنا دور استخدام بادئات مختلفة تستهدف عدة مناطق من المجين ، وبذلك يظهر الاختلاف إن وجد بين الأصناف المدروسة حسب تسلسل البادئ ودرجة الاختلاف بين مجينات الأصناف المدروسة ، ياسين (2008) .

إن ظهور التراكيب الوراثية للياميا في هذه الدراسة بهذا الترتيب اعتماداً على نتائج مؤشرات الـ RAPD جاءت متوافقة مع الانحدار لهذه التراكيب الوراثية بشكل عام كون إن اغلب هذه التراكيب اشترك بأكثر من أب في استنباطها بالإضافة إلى إن الظروف البيئية المحيطة بأغلب مناطق زراعة هذه التراكيب تكاد تكون متماثلة مما يؤثر في طبيعة تصفية خطوطها من قبل المرابي والذي سينتخب من هو ملائم لهذه البيئة ، لذا فان بناء شجرة النسب Phylogenetic أو ما يسمى بالتحليل التجميعي المعتمد على قيم الأبعاد الوراثية له ما يُسوغه في كافة الدراسات التي تتوخى استنباط صنف جديد أو تحسين إنتاجه مع تقليص الفترة اللازمة لذلك في آن واحد ، لأن ذلك يظهر التباين الوراثي بين الآباء كخطوة أولى من ثم مقارنة الأفراد الناتجة بالآباء في عمليات التربية والتحسين ، وبهذا يكون الاستثمار الأمثل لمثل هذه المؤشرات من خلال الأخذ بنظر الاعتبار جميع نتائج البادئات التي استخدمت من هذه الدراسة حتى تلك التي لم تظهر نواتج على الهلام (المجموعة الأولى) كونها تستخدم لاستبعاد أي صنف من الياميا لا ينتمي إلى هذه المجموعة من الأصناف التي أدخلت للدراسة ومن ثم حذف أي صنف يظهر حزماً متباينة مع البادئات التي أظهرت أصناف الياميا المدروسة حزماً متماثلة معها .

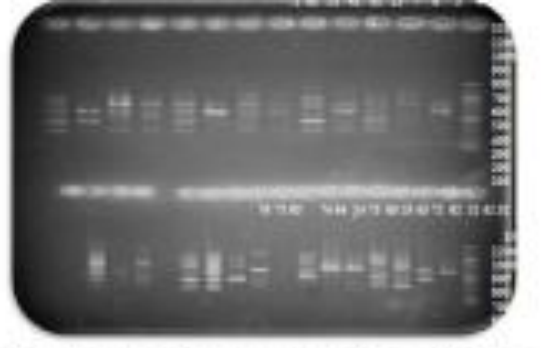
لقد بينت نتائج التحليل التجميعي للتراكيب الوراثية المدروسة لنبات الياميا وكما موضحة في الجدول (3) والشكل (5) أن الآباء 1 و 2 و 3 و 4 وقعوا ضمن مجموعة واحدة وكانت قريبة وراثياً ، كما أظهر التحليل التجميعي أن الأب (5) هو الأب الوحيد الذي ابتعد في تصنيفه الوراثي عن باقي الآباء قيد الدراسة ، ويتضح ذلك من ملاحظة المخطط التجميعي في الشكل (5) وقد أعطى أعلى القيم للبعد الوراثي عن باقي الآباء وكما هو مبين في الجدول (3) ، وان طبيعة وصفه الظاهري عزز هذا التصنيف الوراثي فكان هذا التركيب مختلفاً تماماً عن كل الآباء المدروسة وبهذا يمكن الاستفادة منه لادخاله في برامج التربية لإنتاج هجن تتميز بقوة هجين عالية .



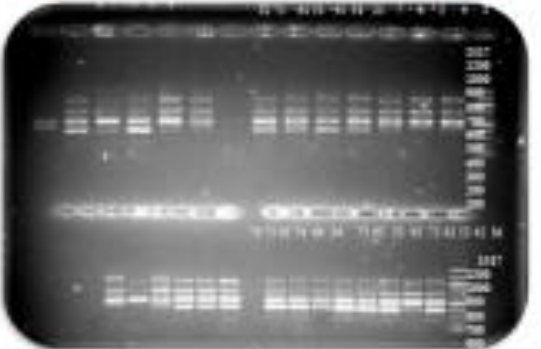
شكل (5) نتائج تحليل البادئات RAPD لمجموعة (1) من أصناف الياميا المدروسة



شكل (6) نتائج تحليل البادئات RAPD لمجموعة (2) من أصناف الياميا المدروسة



شكل (7) نتائج تحليل البادئات RAPD لمجموعة (3) من أصناف الياميا المدروسة

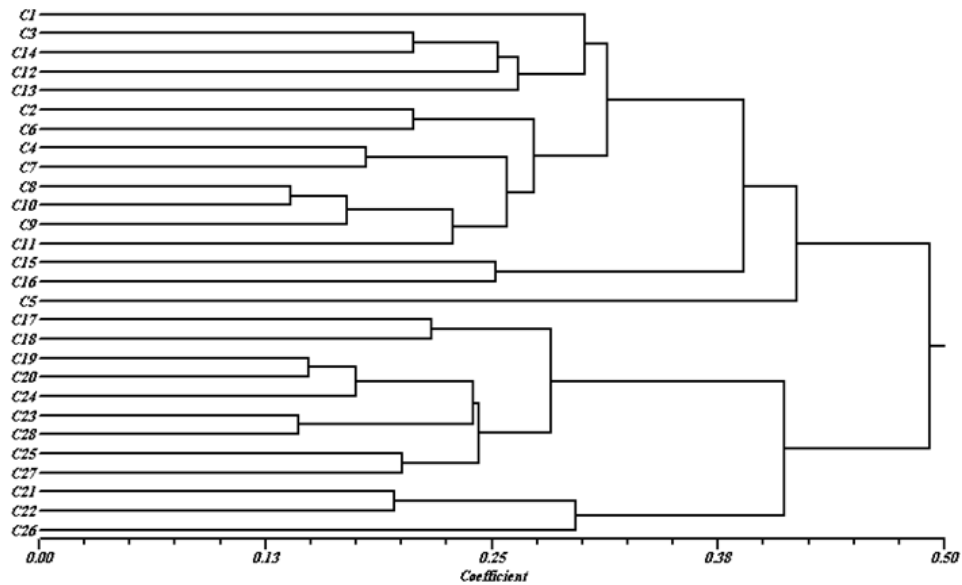


شكل (8) نتائج تحليل البادئات RAPD لمجموعة (4) من أصناف الياميا المدروسة

الجدول رقم (2) نواتج التضاعف والقطع المتمثلة والمتباينة لبيانات مؤشر الـ RAPD

اسم البادئ	مواقع الارتباط	المواقع المتباينة	المواقع المتمثلة	مدى الوزن الجزيئي للمواقع bp	الكفاءة %	القدرة التمييزية %	الوزن الجزيئي للحزم المميزة bp	
							الظاهرة	التركيبة الوراثية المميزة
OPA-18	7	7	0	600-1200	5.19	5.19	1100	2
OPA-19	9	9	0	400-1200	6.67	6.67	-	-
OPD-20	9	9	0	300-1174	6.67	6.67	1100	73
OPE-10	1	1	0	700	0.74	0.74	-	-
OPE-16	8	8	0	400-1200	5.93	5.93	700 500 400	21 41 6
OPH-01	9	9	0	300-1200	6.67	6.67	316 300	43
OPI-02	6	6	0	500-1531	4.44	4.44	1100	63
OPI-12	7	7	0	400-1432	5.19	5.19	1100	76
OPJ-13	6	6	0	300-871	4.44	4.44	800	56 63
OPL-20	4	4	0	400-900	2.96	2.96	900 700 500 400	5
OPM-08	7	7	0	800-1531	5.19	5.19	1122	51
OPN-07	15	15	0	300-1380	11.11	11.11	1200 1161 400	73 65 61
OPP-09	4	4	0	900-1200	2.96	2.96	1200	51
OPQ-06	10	10	0	400-1100	7.41	7.41	600	42
OPQ-17	10	10	0	300-1200	7.41	7.41	-	-
OPQ-20	11	11	0	300-1737	8.15	8.15	1000 300	51
OPR-06	8	8	0	300-1318	5.93	5.93	-	-
OPV-14	4	4	0	300-1000	2.96	2.96	-	-

الشكل رقم (5) يمثل العلاقات الوراثية للتماذج الباطية المدروسة وفقاً لمؤشر الـ RAPD
Recip. Analysis



الجدول رقم (3) قيم الأبعاد الوراثية بين الآباء والهجن لنبات الباميا بالاعتماد على مؤشرات الـ RAPD

7×6	7×5	6×5	7×4	6×4	5×4	7×3	6×3	5×3	4×3	7×2	6×2	5×2	4×2	3×2	7×1	6×1	5×1	4×1	3×1	2×1	7	6	5	4	3	2	1																									
																											0.00	1																								
																											0.00	0.25	2																							
																										0.00	0.24	0.26	3																							
																									0.00	0.18	0.25	0.29	4																							
																								0.00	0.33	0.24	0.41	0.42	5																							
																								0.00	0.55	0.32	0.34	0.21	0.32	6																						
																								0.00	0.18	0.38	0.18	0.24	0.28	0.35	7																					
																								0.00	0.23	0.35	0.43	0.39	0.32	0.36	0.33	2×1																				
																								0.00	0.20	0.21	0.28	0.40	0.29	0.28	0.25	0.34	3×1																			
																								0.00	0.14	0.14	0.19	0.24	0.41	0.30	0.26	0.26	0.27	4×1																		
																								0.00	0.21	0.22	0.25	0.21	0.22	0.47	0.25	0.35	0.27	5×1																		
																								0.00	0.39	0.31	0.36	0.21	0.37	0.48	0.32	0.38	0.27	0.46	0.38	6×1																
																								0.00	0.28	0.25	0.26	0.27	0.36	0.31	0.36	0.36	0.25	0.24	0.33	0.27	7×1															
																								0.00	0.27	0.34	0.27	0.26	0.22	0.35	0.37	0.46	0.32	0.21	0.32	0.30	3×2															
																								0.00	0.22	0.28	0.34	0.42	0.36	0.40	0.41	0.43	0.41	0.56	0.40	0.34	0.38	0.32	4×2													
																								0.00	0.25	0.24	0.43	0.41	0.46	0.35	0.40	0.36	0.52	0.54	0.54	0.47	0.37	0.49	0.38	5×2												
																								0.00	0.30	0.35	0.44	0.41	0.47	0.46	0.52	0.61	0.54	0.55	0.60	0.57	0.46	0.48	0.58	0.56	6×2											
																								0.00	0.22	0.32	0.35	0.35	0.37	0.41	0.43	0.35	0.42	0.39	0.46	0.51	0.55	0.44	0.43	0.49	0.41	7×2										
																								0.00	0.17	0.30	0.42	0.47	0.45	0.47	0.53	0.26	0.37	0.41	0.37	0.40	0.35	0.70	0.47	0.55	0.45	0.59	4×3									
																								0.00	0.15	0.26	0.37	0.48	0.53	0.46	0.54	0.52	0.34	0.42	0.44	0.40	0.51	0.47	0.70	0.65	0.64	0.59	0.68	5×3								
																								0.00	0.65	0.55	0.40	0.35	0.51	0.40	0.55	0.49	0.48	0.62	0.71	0.70	0.69	0.71	0.81	0.69	0.56	0.64	0.64	0.56	6×3							
																								0.00	0.20	0.52	0.41	0.28	0.28	0.44	0.37	0.46	0.40	0.39	0.54	0.57	0.68	0.53	0.53	0.62	0.57	0.55	0.54	0.63	0.48	7×3						
																								0.00	0.24	0.36	0.33	0.26	0.30	0.26	0.54	0.36	0.48	0.50	0.45	0.40	0.44	0.52	0.42	0.36	0.44	0.69	0.54	0.56	0.50	0.60	5×4					
																								0.00	0.23	0.40	0.52	0.20	0.15	0.30	0.31	0.38	0.49	0.50	0.58	0.53	0.34	0.44	0.40	0.45	0.41	0.44	0.63	0.52	0.58	0.52	0.69	6×4				
																								0.00	0.20	0.22	0.32	0.47	0.28	0.28	0.26	0.29	0.38	0.40	0.43	0.47	0.39	0.51	0.47	0.46	0.46	0.47	0.62	0.49	0.48	0.44	0.60	0.67	7×4			
																								0.00	0.30	0.47	0.35	0.30	0.30	0.43	0.47	0.32	0.34	0.42	0.39	0.40	0.51	0.33	0.65	0.55	0.54	0.48	0.59	0.73	0.60	0.54	0.53	0.70	0.54	0.6×4		
																								0.00	0.39	0.20	0.22	0.24	0.49	0.64	0.25	0.21	0.26	0.37	0.40	0.48	0.38	0.56	0.45	0.40	0.34	0.36	0.32	0.40	0.42	0.67	0.47	0.53	0.40	0.50	7×5	
																								0.00	0.24	0.45	0.29	0.20	0.14	0.28	0.42	0.23	0.19	0.25	0.26	0.45	0.38	0.40	0.43	0.51	0.32	0.43	0.42	0.41	0.38	0.36	0.69	0.51	0.56	0.43	0.48	7×6

accessions by DNA markers , Journal of Biotechnology. 2(3) : 45-51 .

Maniatis, T.; E.F. Fritsch; and J. Sambrook (2001). *In Vitro* application of DNA by the polymerase Chain Reaction, in Molecular Cloning: A Laboratory Manual. 2nd ed. , Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York, USA, p.691.

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).

Nwangburuka, C. C.; O. B. Kehinde; D. K. Ojo; A. R. Popoola; O. Oduwaye; O. A. Denton and M. Adekoya (2011). Molecular characterization of Twenty-nine Okra Accessions using the random amplified polymorphic DNA (RAPD) molecular marker J. of L. and Ph. Sci.ac. Satech, 4(1): 1-14 .

Prakash, K. M. P. and K.V. Ravishankar (2011). Assessment of genetic relatedness among okra genotypes (*Abelmoschus esculentus* L. Moench) using RAPD markers. Electronic Journal of Plant Breeding, 2(1):80-86 .

Rawashdeh, I. and A. Amri, (2006). Genetic characterization varieties using RAPD markers. Jordan of Agri. Sci. 2(3):234-242.

Rohlf, F.J.(1993) Numerical taxonomy and multivariate analysis system. Version 1.80 Exeter software. Setauket. N. Y.

Saghai- Maroof, M. A.; K. M. Soliman, R. A. Jorgensen, and R. W. Allard (1984). Ribosomal DNA spacer length polymorphisms in barley: Mendelian inheritance, chromosomal location and population dynamics *Proc. Natl. Acad. Sci, USA*. 81: 8014-8018

Saifullah M.; M.G. Rabbani and E. J. Garvey(2010). Estimation of genetic diversity of okra (*Abelmoschus esculentus*

المصادر

مطلوب ،عدنان ناصر وعز الدين سلطان محمد و كريم صالح عبدول (1989). إنتاج الخضراوات ،الجزء الثاني(الطبعة المنقحة)،جامعة الموصل-وزارة التعليم العالي والبحث العلمي. العراق.

المنظمة العربية للتنمية الزراعية (2011). جامعة الدول العربية , الكتاب السنوي للاحصاءات الزراعية - المجلد (31).

ياسين , معن حسن صالح (2011). تحديد التباين الوراثي لعدد من أصناف نخيل التمر في العراق باستخدام مؤشرات RAPD وISSR. رسالة ماجستير, كلية العلوم/جامعة تكريت. العراق.

العاصي, عقيل حسين علي (2002). استخدام مؤشرات ألدنا في تحليل التنوع الوراثي للشعير (*Hordeumvulgare* L.) المزروع في العراق . اطروحة دكتوراه . كلية التربية/ابن الهيثم - جامعة بغداد . العراق .

Aladele, S. E. ; O. J. Ariyo and R. de Lapena (2008). Genetic relationships among West African okra (*Abelmoschus caillei*) and Asian genotypes (*Abelmoschus esculentus*) using RAPD . African J. of Biotechnology, 7 (10): 1426-1431.

Esselman, E. J. D. J. , Crawford, S. Brauner, T. F. Stuessy, G. J. Anderson, and Mariosilva, O. (2000). RAPD markers diversity within and divergence among species of *Dendroseris* (Asteraceae : lactuceae). Am. J. Bot. 87: 591-609.

Grudman, H; C. Schneider, D; Hartung, F. D; Daschner, and T. L; Pith (1995). Discriminatory power of three DNA typing techniques for plant aeruginosn. J. clin. Microbiol. 3: 528-532.

Kumar, G. M. P; and T. V. Ananthanarayanan (2010). Molecular fingerprinting of okra

- Williams, J.G.K; A.R., KubelikK.J., , Livak, J.A. Rafalski, and S.V. Tingey, (1990). DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. Nucl. Acids Rese. 18: 6531-6535.
- Williams , C. E. and D. A. St-Clair , (1993).Phenetic relationships and level of variability detected by restriction fragment length polymorphism and random amplified DNA analysis of cultivated and wild accessions of *Lycopersicon esculentum* . Genome. 36: 619-630.
- L. Moench) using RAPD markers SAARC. J. Agri., 8(2) : 19-28 .
- Weigand, F.; Baum, M. and Udupa, S. (1993). DNA molecular marker techniques, technical manual. No.20. International Center for Agricultural Research in the Dry Areas. Aleppo, Syria.
- Weising, K. ; H. Nybom; K. Wolff, and G. Kahl, (2005). DNA fingerprinting in plants Principles, Methods, and Applications 2nd Edition. Taylor & Francis Group.