

جمهورية العراق

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

جامعة ديالى / كلية التربية - الرازي

قسم علوم الحياة

# دراسة بعض التغيرات الفسلجية والوراثية لصفة تحمل الملوحة في بعض التراكيب الوراثية المنتخبة من الحنطة

(*Triticum spp.*)

رسالة

مقدمه إلى مجلس كلية التربية الرازي - جامعة ديالى

وهي جزء من متطلبات نيل درجة ماجستير علوم

الحياة / نبات

من قِبَل

بلال فاضل زكريا

بإشراف

أ.م.د. إبراهيم إسماعيل حسن

أ.د. وسام مالك داود

ذي الحجة-1432هـ

تشرين الثاني-2011م

## المقدمة

# Introduction

تشهد الثورة العلمية في عصرنا الحاضر وتيرة متسارعة لم يعرف لها نظير في تاريخ البشرية ، وقد فتحت أبواباً عديدة لحل الكثير من المشكلات المختلفة ، وأولها تلك المتعلقة بالأغذية والدواء . في الوقت الذي يتزايد فيه أعداد سكان الكرة الأرضية وتزداد حاجاتهم للغذاء والدواء والكساء وغيره، إن الموارد الطبيعية النباتية والحيوانية تنحسر يوماً بعد آخر نتيجة للتدهور والتلوث الناجم عن الاستغلال المفرط لهذه الموارد ( الحداد واللوزي، 2003 ) ، وتعد ملوحة التربة من المشاكل الرئيسية التي تحدد الإنتاج الزراعي في المناطق المختلفة الجافة منها وشبه الجافة من العالم ( Caesar و Rusitzka ، 1982 ) . إذ تؤدي ملوحة التربة إلى انخفاض في نمو النبات عن طريق التأثير الازموزي ( الشد المائي ) وعدم التوازن الأيوني والتأثير السمي للأيونات الملحية ( Lessani و Marschner ، 1987 ) . واتفق العلماء على أن التأثير الضار أو المميت للنبات يرجع إلى عوامل الإجهاد Stress وتأثيرها المباشر وغير المباشر على سلسلة نقل العناصر ( Abdul Qados ، 2011 ) . لذلك أوضح Epstein و آخرون ( 1980 ) إن تحسين صفة تحمل الملوحة في النباتات كفاء في حل مشكلة الملوحة إذ لوحظ أيضاً من خلال الدراسات والبحوث الجارية أن الأنواع النباتية تختلف في درجة تحملها للملوحة وقد يكون هذا التباين موجود ضمن أصناف النوع الواحد ، وكما هو معلوم في برامج التربية والتحسين ، وان هناك شروطاً يجب توافرها من أجل نجاح مثل هذا البرنامج وهي :-

- 1- وجود اختلافات في صفة تحمل الملوحة في المادة الوراثية المستخدمة .
- 2- اختيار الطريقة الفعالة في تشخيص وانتخاب النباتات المتحملة للملوحة .
- 3- تحديد مرحلة النمو الأكثر حساسية للملوحة (Ralph وآخرون ، 1984 ) .

إذ أن صفة تحمل الملوحة مسيطر عليها وراثيا وقابلة للانتقال عبر الأجيال ( المشهداني وآخرون ، 2003 ) .

وان توريث هذه الصفة في نبات الجت كانت عالية ( Nobele وآخرون ، 1984 ) .  
وان تحديد هذه المورثات في مختلف أنواع المحاصيل باستخدام أدوات التكنولوجيا الحيوية الجديدة ومنها العلامات المعتمدة على الحامض النووي ( DNA ) وهي واحدة من هذه التقنيات الفعالة جداً وأداة مهمة يمكن الوثوق بها لقياس التنوع الوراثي في المحاصيل التي كانت هدفاً رئيساً في التطور البيولوجي ، خلافاً لصفات الشكل الظاهري ( المورفولوجية ) والكيميائية الحياتية ( البايوكيميائية ) ، التي ربما تتأثر بالعوامل البيئية وعمليات النمو التي تستغرق وقتاً طويلاً جداً ، لأن علامات الحامض النووي تكون تصوراً سريعاً عن تسلسل الجينوم ، وبالتالي تمكنا من الكشف عن الاختلافات الوراثية التي تحملها الأفراد المختلفة ( Rabbani وآخرون ، 2008 ) . تركزت الدراسات الوراثية على الحنطة بوصفها من المحاصيل الإستراتيجية ( عبد القادر ، 2003 ) . وفي ظل التطور السريع والمستمر في استخدام مؤشر DNA في السنوات الأخيرة ساعد في الكشف على أنواع حديثة وعديدة من تلك المؤشرات التي تعتمد على واحد من الانجازات البارزة التي تحققت قبل نهاية الألفية الثانية ألا وهي ابتكار تقانة تضاعف سلسلة DNA والتي تعرف بـ ( تفاعل البلمرة المتسلسل PCR ) " polymerase chain reaction " من قبل ( Mullis وآخرون ، 1986 ) التي أحدثت ثورة هائلة في التقانة الإحيائية وجعلت التنبؤ قائماً باستحداث طرائق أخرى في هذا المجال ، إذ تستند هذه التقانة على مضاعفة جزء DNA خارج الجسم الحي *In vitro* ( Mohan ، 1991 ) . وان معرفة المكونات الموروثة وغير الموروثة للصفات الكمية ضروري لأتباع برنامج مناسب للارتقاء بتلك الصفات ، لا تتطلب تقنية PCR-RAPD أي معلومات مسبقة عن تسلسل جينوم الكائن الحي لأخذ البصمات من جينوم الكائن واستخدمت هذه التقنية على نطاق واسع لتقدير تغيرات الوراثة الجزيئية على مستوى العائلة وبين الأنواع وثيقة الصلة في التشخيص ( Rabbani وآخرون ، 2008 ; Shaptadvipa و Sarma ، 2009 ) .

فضلا عن استخدام تقنية Bulk segregate analysis المعتمدة على تقنية PCR لعزل وتحليل التباين الوراثي بين التراكيب الوراثية التي تم تطويرها سابقاً في منظمة الطاقة الذرية العراقية لتتحمل مستويات محدودة من الملوحة من خلال عمليات التعريض والغرلة والانتخاب طيلة فترة البرامج و تم عزل عدد من التراكيب الوراثية المحتملة للملوحة وكان الهدف من الدراسة الحالية استكمال تلك البرامج وتحقيق الأهداف الآتية :-

- 1- معرفة مدى تحمل التراكيب الوراثية قيد الدراسة لملوحة التربة مقارنة مع الصنف المحلي المعتمد .
- 2- تحديد الدراسات الفسيولوجية لتحمل هذه التراكيب الوراثية للملوحة .
- 3- إيجاد الأنماط الوراثية للنماذج المدروسة باستخدام طريقة RAPD – PCR .
- 4- تحديد التقارب الوراثي والعلاقة الوراثية بين التراكيب الوراثية المحتملة للملوحة مقارنة مع الصنفين الحساسين للملوحة .

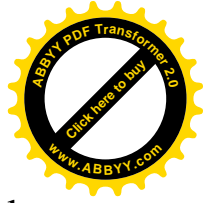
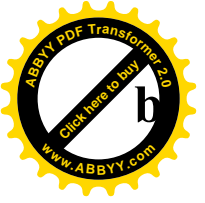


A study was conducted to investigate salt tolerance in wheat genotypes ( N3 and 2H ) compared with the sensitive genotypes Tammooz 2 . which was the sensitive variety . The first stage was conducted in pots using three salinity levels ( 2 , 8 and 15 ds . m<sup>-1</sup> ) . Treatments were distributed in Randomized Complete Block Design (RCBD) with three replicates. As plants reached the tillering stage, fresh and dry weight of shoot and root was recorded. Also, the concentration of sodium, potassium and calcium ions were estimated in the upper leaves of the studied genotypes.

The second stage involved the study of genetic variability of salinity tolerance trait among the studied genotypes the using PCR techniguse with the aid of RAPD- and BSA-DNA markers.

results showed that there was a significant reduction in the means of all studied traits with increasing of salinity level, especially in the third one . There were differences among the selected genotypes in their salt tolerant . However , the genotypes (N3 and 2H) were more tolerance than Tammooz 2. The results also indicated that a progress in salt was successfully achieved in all selected genotypes through breeding program .

The investigation of salinity tolerance mechanisms revealed that it was correlated with a reduction of sodium Na<sup>+</sup> concentration in the upper leaves ( 4.95 and 4.09 mg / g ) , the same increase in potassium ions K<sup>+</sup> ( 7.29 and 8.26 mg / g , respectively ) N3 and 2H in the upper leaves, and increase potassium:sodium ratio which recorded higher values (1.64 and 2.23mg/g). As compared with the sensitive variety (Tammooz 2) , the



results showed that the calcium level in the tolerant plants was more stable than the control variety.

Eight RAPD primers were used in this study, seven of them produced 82 bands in four genotypes. Thirty eight of these bands found to be monomorphic (46.3%), meanwhile 44 band (53.7%) found to be polymorphic. The highest number of polymorphic (10 bands) was produced by OPI-01 primer, while the lowest (2 bands) was produced by OPN-16 primer. The molecular size of the amplified bands by using RAPD primers ranged from 250bp to 1523bp . The results of molecular analysis showed that Dour 85 variety was genetically diverged from the rest of genotypes. This variety can be distinguished with its unique banding pattern across the used primers. The molecular size of these unique bands were 1440bp and 590bp , 446bp and 603bp using OPG-B , OPB-10 and C-08 primers, respectively. Two other unique bands discriminate Tammooz2 variety with the molecular size of 2024bp and 1774bp by using OPO-04 primer.

The (BSA) analysis was implemented with the aid of three primers (N16, C-08 and O-04). The results indicated that these primers were efficiently distinguished between the two bands segregant sets of genotypes (tolerant and sensitive). The N16 and C-08 primers resulted in two unique bands in tolerant genotypes (N3 and 2H) with the molecular size of 402bp and 386bp, respectively. Meanwhile, O-04 primer produced two unique bands in the sensitive varieties at the molecular size of 1710bp and 893bp. Theses unique bands found to be fingerprints for these genotypes.