استخدام تقانة التضاعف العشوائي المتعدد الاشكال لسلسلة الدنا في تشخيص بعض الاصناف العراقية من نخيل التمر *Phoenix dactylifera* L.

مهند رشيد حسين الزيدي * شذى عايد يوسف نجم عبد الله جمعة الزبيدي***

*كلية التربية للعلوم الصرفة/قسم علوم الحياة - جامعة ديالى

** دائرة البحوث الزراعية/ وزارة العلوم والتكنولوجيا

الملخص

اجريت هذه الدراسة لتقدير البصمة الوراثية ودراسة العلاقة الوراثية لتسعة اصناف عراقية من نخيل التمر *Phoenix dactylifera* L. وهي اصابع العروس، الزهدي ، السكري، سعادة ، الاشرسي ، البربن ، الشتوي ، الخستاوي ، ونهير السلي. استخدم 20 بادئا" للتحري عن مؤشرات الدنا بتقانة التضاعف العشوائي المتعدد الاشكال لسلسلة الدنا Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) ، اظهرت العديد من البادئات المستخدمة حزما" فريدة لجميع النماذج المدروسة والتي تعد بمثابة بصمة وراثية لتمييز الصنف عن الاصناف الاخرى، اذ اعطى الصنف اشرسي اعلى عدد من الحزم الفريدة (ستة حزم مميزة ذات اوزان جزيئية متباينة) وذلك عند استخدام البوادئ OPA - 08 و OPC - 04 و OPF - 05 و OPF – 12 ، بينما اعطى الصنف زهدي اقل عدد من الحزم الفريدة والتي بلغت حزمة واحدة ذات وزن جزيئي 385 زوج قاعدي عند استخدام البادئ OPB – 05 .

الكلمات المفتاحية: التماثل الوراثي، نخيل التمر ، تقانة RAPD

The Use of Random Amplified Polymorphic DNA to Fingerprint Different Iraqi Varieties of Date Palms (*Phoenix dactylifera* L.)

Mohannad Rasheed H. AL-Zaydi* Shatha Ayed Yousif Najem A. J. AL-Zubaidi***

* College of Ed. of pu. Sci./Bio. Dep.-Diyala University.

******Agri. Research Directorate/ Ministry of Science & Technology.

Received 2 November 2014 ; Accepted 22 January 2015

استخدام تقانة التضاعف العشوائي المتعدد الاشكال لسلسلة الدنا في تشخيص بعض الاصناف العراقية من نخيل التمر *Phoenix dactylifera* L.

مهند رشيد حسين الزيدي شذى عايد يوسف نجم عبد الله جمعة الزبيدي

Abstract

This study was conducted to estimate fingerprint and genetic relationship among 9 Iraqi varieties of date palm *Phoenix dactylifera* L. namely Asabee Aroose, Zahdi, Sukari, Saada, Ashrasy, Barben, Shetwi, Khistawi and Nhair Al Saly. 20 primers were used to detect DNA markers using Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) technique. Analysis showed that many primers gave unique band in all samples made possible fingerprint identification of each cultivar, Ashrasy variety gave highest 6 unique polymorphic bands with primers OPA – 08, OPC – 04, OPF – 05 and OPF – 12, while Zahdy variety gave 1 unique polymorphic band (385 pb) with primer OPB – 05 .

Keywords: genetic similarity, Date Palms, RAPD Technique.

(*) البحث مستل من رسالة الماجستير للباحث الاول

المقدمة

يتبع نخيل التمر الجنس *Phoenix* و النوع *dactylifera* [1]، اذ يتوافر اكثر من 1500 صنف من اصناف النخيل في العالم، اما في العراق فيصل عددها الى اكثر من 600 صنف ويتركز القسم الاكبر منها في جنوب العراق [2، 3]. يصعب تمييزها وخاصة الانثوية عن طريق صفاتها المظهرية وبدون وجود الثمار كون صفات النمو الخضري تتأثر بالظروف البيئية المحيطة. ان التطور الهائل الذي حصل في مجال علم الاحياء الجزيئي molecular biology والنجاحات التي حققتها الهندسة الوراثية genetics engineering وخاصة في عقدي الثمانينيات والتسعينيات من القرن المنصرم ادت الى ظهور العديد من التقنيات المناسبة للتحليل الجزيئي للمادة الوراثية والتي تمتاز بعدم تأثرها بالبيئة وبنوع النسيج والمرحلة العمرية للكائن قيد الدراسة،

اذ وفرت هذه التقنيات الحديثة طرائق كثيرة في الكشف والتمييز المبكر بين الاصناف الزراعية بايجاد نوع من المؤشرات التي تدرس التنوع الوراثي على مستوى الدنا DNA وعدّها مؤشرات وراثية تعرف بمؤشرات الدنا DNA markers وتعد مؤشرات التضاعف العشوائي المتعدد الاشكال لسلسلة الدنا Random Amplify Polymorphic DNA (RAPD) والتي تعتمد على تقانةتفاعل البلمرة المتسلسل Polymerase Chain Reaction (PCR) الاكثر شيوعا بوصفها تتسم بسرعتها وبساطتها وعدم تطلبها لكمية كبيرة من الدنا كما ويمكن تطبيقها على مجتمعات وراثية كبيرة الحجم فضلا عن ذلك فان هذه التقانة تستخدام البادئات العشوائية التي تسمح بتغطية مناطق مختلفة من مجينات الافراد المدروسة. هنالك العديد من البحوث التي استخدمت هذا النوع من المؤشرات اذ اجرى [4] دراسة استخدم فيها 20 بادئ للكشف عن التباينات الوراثية لتسعة اصناف من نخيل التمر وتحديد العلاقة الوراثية بين تلك الاصناف. كما استخدم [5] مؤشرات

RAPD بهدف ايجاد مؤشرات وراثية مرتبطة بتحديد الجنس لعدد من اشجار نخيل التمر العراقية باستخدام 11 بادئا" انتخبت من اصل 31 بادئ، ودلت النتائج الى ظهور تباينات عديدة وواضحة بالاعتماد على الاختلافات في عدد الحزم المتضاعفة وعلى اوزانها الجزيئية. وفي دراسة اجريت من قبل [6] حول مدى الثبات الوراثي لنخيل التمر صنف البرحي والناتجة من الزراعة النسيجية باستخدام 30 بادئ،اذ لوحظ وجود اختلافات وراثية بين النباتات من خلال مقارنة نتائج التحليل مع البصمة الوراثية للصنف الاصل الذي استحثت منه. كما استخدم هذا النوع من المؤشرات من قبل [7] لدراسة التنوع الوراثي وتحديد البصمة الوراثية لـ 23 صنفا" من نخيل التمر المزروعة في سوريا تمثل 18 صنف من الاناث و 5 اصناف من الذكور بوجود 35 من البادئات العشوائية. بالرغم من كون نخيل التمر يعد من الاشجار المهمة في العراق، الا ان الدراسات تكاد تكون نادرة فيما يخص معرفة اصناف نخيل التمر وايجاد البصمة الوراثية الخاصة لكل صنف بالاعتماد على التباينات الوراثية، لذا كان الهدف من البحث هو لتمييز تسعة اصناف عراقية من النخيل بالاعتماد على تقانة RAPD وتحديد البصمة الوراثية لكل منها فضلا عن تحديد العلاقة الوراثية بين تلك الاصناف.

المواد وطرائق العمل

تم جمع عينات النبات من الاوراق (السعف) القريبة من القمة لتسعة اصناف من اناث نخيل التمر المزروعة في محافظة ديالى – بعقوبة وهي : اصابع العروس، الزهدي، السكري، سعادة، الاشرسي، البربن، الشتوي، الخستاوي ونهير السلي، ثم غسلت جيدا" بالماء المقطر ونشفت ووضعت داخل اكياس ورقية مثقبة وتركت العينات حتى جفت تماما (حد التكسر)، اجريت عمليات استخلاص الدنا وتفاعلات البلمرة في مختبر البايولوجيا الجزيئية - قسم الهندسة الوراثية في دائرة البحوث الزراعية/وزارة العلوم والتكنولوجيا. اذ تم استخلاص الدنا المجيني من اوراق نخيل التمر بالطريقة الموصوفة من قبل [8] مع اجراء بعض التحوير. كما تم قياس تراكيز الدنا وتقدير نقاوته بوساطة جهاز قياس تركيز DNA (Nanodrop) . تم اجراء التفاعل باستخدام عدة خليط تفاعل البلمرة الحراري AccuPower® PCR PreMix kit وتم استخدام 20 بادئ عشوائي كما مبينة بالجدول (1) ، وضعت العينات في جهاز البلمرة الحراري PCR ونفذ البرنامج التالي هو دورة واحدة لمدة 4 دقائق على درجة حرارة 94 مْ للمسخ الاولي لشريط الدنا يتبعها 35 دورة تضاعف، تتضمن كل دورة دقيقة واحدة على درجة حرارة 94مْ لمسخ القالب ودقيقة واحدة على درجة حرارة 36مْ لربط البادئات بالقالب الدنا ودقيقة واحدة على درجة حرارة 72 مْ للاستطالة مع دورة اخيرة ولمدة 10 دقائق وعلى درجة حرارة 72 مْ للاستطالة النهائية. بعدها تم ترحيل نواتج التفاعل مع الدليل الحجمي *100 bp* DNA *Ladder* (شركة بايونير الكورية) عبر هلام الاكاروز (تركيز 1% ومصبغ بـ30 نانوغرام من الاثيديوم بروماید) وبوجود المحلول القياسي 1x TBE buffer في جهاز الترحيل الكهربائي الافقي ولمدة 1.45 ساعة. صور الهلام بجهاز تصوير الدنا وبوجود الأشعة فوق البنفسجية.

تم حساب اعداد الحزم الناتجة من التفاعل وتحديد اوزانها الجزيئية باستخدام البرنامج الحاسوبي Photo capt .

استخدام تقانة التضاعف العشوائي المتعدد الاشكال لسلسلة الدنا في تشخيص بعض الاصناف العراقية من نخيل التمر *Phoenix dactylifera* L.

مهند رشيد حسين الزيدي شذى عايد يوسف نجم عبد الله جمعة الزبيدي

جدول 1 . البادئات العشوائية مع التتابعات الخاصة بها.

ت	اسم البادىء	تسلسل البادىء 3 ⟵ 5
1	OPA-01	CAGGCCCTTC
2	OPA-05	AGGGGTCTTG
3	OPA-08	GTGACGTAGG
4	OPA-10	GTGATCGCAG
5	OPA-11	CAATCGCCGT
6	OPA-17	GACCGCTTGT
7	OPA-20	GTTGCGATCC
8	OPB-05	GGAGGGTGTT
9	OPC-04	CCGCATCTAC
10	OPC-08	TGGACCGGTG
11	OPC-15	GACGGATCAG
12	OPE-12	TTATCGCCCC
13	OPF-02	GAGGATCCCT
14	OPF-05	CCGAATTCCC
15	OPF-12	ACGGTACCAG
16	OPH-07	CTGCATCGTG
17	OPH-09	TGTAGCTGGG
18	OPH-16	TCTCAGCTGG
19	OPQ-17	GAAGCCCTTG
20	OPR-07	ACTGGCCTGA

تم حساب النسبة المئوية للتعددية الشكلية Polymorphsim للبادئ والنسبة المئوية للمقدرة التمييزية لكل بادئ والنسبة المئوية لكفاءة كل بادئ من خلال المعادلات االتالية [9].

النسبة المئوية للتعددية الشكلية = (عدد الحزم المتباينة في البادئ / العدد الكلي لحزم البادئ)× 100

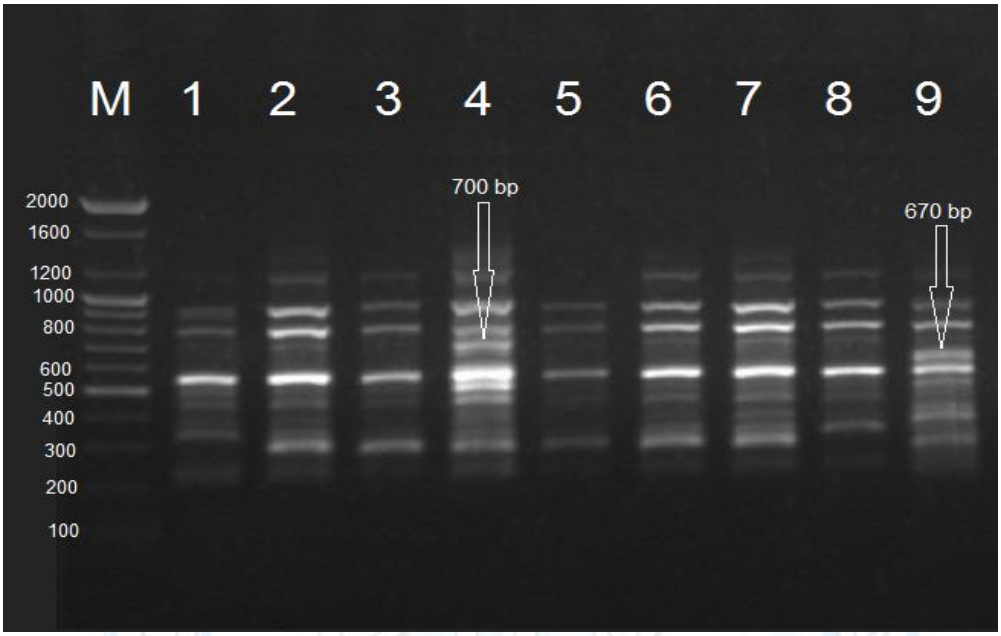
النسبة المئوية للمقدرة التمييزية لكل بادئ =(عدد الحزم المتباينة للبادئ / عدد الحزم المتبايبة لكل البادئات) x 100 النسبة المئوية لكفاءة كل بادئ =(العدد الكلي لحزم البادئ / العدد الكلي لحزم كل البادئات) x 100 . قدرت نسبة التشابه Similarity وشجرة القرابة الوراثية (مخطط التحليل التجمعي) Dendogram باستخدام البرنامج الإحصائي الجاهز SPSS الاصدار 20.

النتائج والمناقشة

تراوحت نقاوة الدنا المعزول من الاوراق الفتية لتسعة اصناف من نخيل التمر ما بين 1.66- 1.92، وهذا دليل على نقاوة جيدة للدنا نتيجة خلوه من الرنا RNA والبروتين [10]. اما بالنسبة لتراكيز الدنا فتراوحت بين 100 و 522.5 نانوغرام/مايكرولتر. تم تخفيف عينات دنا الاصناف للحصول على تركيز 100 نانوغرام/مايكرولتر وهو التركيز االذي استخدم في تفاعلات البلمرة المتسلسل. اعتمدت طريقة تحليل نتائج تفاعلات RAPD على وجود أو غياب الحزم الناتجة من تفاعل RAPD وعلى الاوزان الجزيئية لتلك الحزم [11] والتي تعتمد على عدد والمواقع المكملة لتسلسلات البادئات على شريط الدنا القالب للاصناف المدروسة، كما اهملت الحزم الخفيفة جدا" [12]. ان تشخيص الاصناف وايجاد البصمة الوراثية لكل صنف باستخدام تقانةالتضاعف العشوائي لقطع الدنا (RAPD) يكون بالاعتماد على الحزم الناتجة واحجامها الجزيئية والتي تكون مميزة لذلك الصنف دون بقية الاصناف باستخدام بادئ معين فضلا عن وجود الحزم الفريدة والحزم الغائبة.

التعددية الشكلية polymorphism وكفاءة البواديء وقدرتها التمييزية

اثبتت الدراسة فعالية جميع البواديء المستخدمة في اعطاء تعددية شكلية بين المواقع المدروسة، اذ نتج عن استخدام هذه البوادئ عدد من الحزم بمجموع 187 حزمة منها 157 حزمة اعطت تعددية شكلية (الجدول 2)، وتباينت البادئات في عدد الحزم وكان اقل عدد للحزم هي 5 حزم في البادئ OPA-20، اما اعلى عدد للحزم هي 14 حزمة التي ظهرت في تفاعل البادئ OPH-07 (شكل 1). كما اختلفت البادئات في اعطاء عدد الحزم المتباينة او ذات التعددية الشكلية، اذ كان اقل عدد حزم متباينة (5 حزم) في البادئين OPA-01 و OPA-20 ، في حين كان اعلى عدد من الحزم المتباينة هي 12 حزمة في البادئين OPA-08 و OPH-09. سجلت خصائص المؤشرات بحساب النسبة المئوية للتعددية الشكلية والكفاءة والقدرة التمييزية لكل بادئ، واعطت البوادئ OPA-20 و OPB-05 و OPC – 04 و OPE-12 و OPF-05 و OPH-09 اعلى نسبة مئوية من التباين او التعددية الشكلية وبلغت 100% بسبب ان عدد حزمها المتباينة مساوٍ لعدد حزمها الكلي، اما اقل نسبة مئوية للتعددية الشكلية فكانت 55.6% في البادئ OPA-01 كون عدد حزمه المتباينة تقريبا نصف عدد حزمه الكلية والتي كانت 5 و9 حزم على التوالي. سجلت اعلى كفاءة في البادئ OPH-07 وكانت 7.5% في حين كانت اعلى قدرة تمييزية 7.6 % في البادئين OPA-08 و OPH-09.



الشكل 1 يمثل نواتج تفاعل RAPD-PCR للبادئ OPH – 07 للعينات كافة والمرحلة على هلام الاكاروز بتركيز 1%. اذ يمثل M: الدليل الحجمي،1 – اصابع العروس، 2- زهدي، 3- سكري، 4 - سعادة، 5 - اشرسي، 6 – بربن، 7 - شتوي، 8 - خستاوي، 9- نهير السلي.

لقد أدت تقانة التفاعل التضاعفي لسلسة الدنا إلى تطوير نظام للفحص الجزيئي والذي يتم فيه استخدام تقانةRAPD والتي تعتمد على استخدام تسلسل قواعد نتروجينية من بادئ الدنا، فعندما يجد البادئ مناطق مشابهة له في شريط الدنا يتضاعف الناتج وعند تحليل الناتج تظهر حزم مختلفة تدعى أشكالا مظهرية متعددة او تعددية شكلية [13]، وتكون هذه الاشكال المظهرية ذات توريث [14]. تكمن أهمية تقانة RAPD في تحليل التغايرات الوراثية بين الانواع المختلفة فضلا عن انها تميز بين اصناف النوع الواحد. ومن الجدير الإشارة إلى إن البادئات التي تنتج حزماً متباينة عديدة وفقاً لكل الأسس المعتمدة في إظهار التباين الوراثي تحظى بفرص اكبر في إيجاد حزم فريدة للعينات مع إن الفرص تبقى قائمة بالنسبة للبادئات التي تنتج أعداد قليلة من الحزم المتباينة [15]. كما اكد [16] ان الحزم المتضاعفة التي تظهر على هلام الاكاروز والتي تختلف باوزانها الجزيئية تعتمد على نوع البادئ المستخدم، اذ انها تؤثر على حجم الحزم المتضاعفة. تباينت نتائج تفاعلات RAPD تبعا" للبادئ المستخدم، وكان متوسط عدد الحزم 187 حزمة مضاعفة عبر النماذج التسعة المختلفة من دنا الاصناف والتي تراوحت اوزانها الجزيئية ما بين 100 - 1432 زوج قاعدي، اما الحزم المتباينة والتي تعد اساسية في تقدير القرب الوراثي بين الاصناف فقد بلغ عددها 157 حزمة (جدول2)، اذ اعطى البادئين OPA-08 و OPH - 09 اعلى عدد من الحزم المتباينة والتي بلغت 12 حزمة، بينما اعطى البادئين OPA - 01 و OPA - 20 اقل عدد من الحزم المتباينة والتي بلغت 5 حزم تضاعف. ان اختلاف عدد الحزم الناتجة

جدول (2): نواتج البادئات من الحزم مع نسب كفائتها وقدرتها التمييزية.

رمز البادئ	عدد الحزم الكلي	عدد الحزم ذات التعددية الشكلية	% للتعددية الشكلية للباديء	% لكفاءة البادئ	% للمقدرة التمييزية للباديء
OPA-01	9	5	55.6	4.8	3.2
OPA-05	8	7	87.5	4.3	4.5
OPA-08	13	12	92.3	7.0	7.6
OPA-10	9	7	77.8	4.8	4.5
OPA-11	9	8	88.9	4.8	5.1
OPA-17	10	6	60.0	5.3	3.8
OPA-20	5	5	100.0	2.7	3.2
OPB-05	8	8	100.0	4.3	5.1
OPC - 04	10	10	100.0	5.3	6.4
OPC- 08	9	8	88.9	4.8	5.1
OPC-15	10	9	90.0	5.3	5.7
OPE-12	8	8	100.0	4.3	5.1
OPF-02	8	7	87.5	4.3	4.5
OPF-05	8	8	100.0	4.3	5.1
OPF-12	10	7	70.0	5.3	4.5
OPH-07	14	10	71.4	7.5	6.4
OPH-09	12	12	100.0	6.4	7.6
OPH-16	9	6	66.7	4.8	3.8
OPQ-17	9	7	77.8	4.8	4.5
OPR-07	9	7	77.8	4.8	4.5
المجموع	187	157			

باختلاف الاصناف يبدو منطقياً بسبب التغير في تسلسل الدنا بين الاصناف، اذ ان التفاوت في اعداد الحزم الناتجة يعود الى اختلاف ترتيب القواعد النتروجينية في الانماط الوراثية للاصناف المدروسة وهذه النتيجة تنسجم مع دراسات عديدة في هذا المجال[17، 18، 19]. وبالرغم من ان البوادئ OPA-10 و OPA-11 و OPA-20 و OPC- 08 و OPR-07 نجحت في اظهار عدد من الحزم في الاصناف المدروسة جميعها الا انها فشلت في اظهار حزم فريدة وبالتالي لم تفلح في اظهار اي تباين وراثي بين النماذج المدروسة. تتفق هذه النتائج مع نتائج اخرى توصل اليها الباحث [20] ، اذ استخدموا 42 بادئا" في تمييز 6 اصناف من النخيل، واشاروا الى ان 9 بوادئ فقط نجحت في اعطاء حزم متباينة في اصناف النخيل المختبرة، كما لم تظهر بعض البوادئ حزم تضاعف مثل البادئ OPC – 4 عند تفاعله مع دنا الصنف شتوي والبادئ OPH - 09 عند تفاعله مع دنا اصابع العروس وخستاوي وهذا يعود الى احتمال عدم وجود تطابق كافٍ بين البادئ وقالب الدنا [21] ، او ان التتابع الجينومي للصنف او قالب الدنا يمكن ان يكون مختلفا عن التتابع في البادئ [22]، مما سبب عدم ظهور الحزم. اظهرت العديد من البادئات المستخدمة في الدراسة حزما" فريدة للنماذج المدروسة جميعها والتي تعد بمثابة بصمة وراثية لتمييز الصنف عن الاصناف الاخرى، اذ اعطى الصنف اشرسي اعلى عدد من الحزم الفريدة عند استخدام البوادئ وهي OPA - 08 و OPC - 04 و OPF - 05 و OPF – 12 ، اذ اعطت هذه البوادئ ست حزم مميزة ذات اوزان جزيئية متباينة (جدول 3)، بينما اعطى الصنف زهدي اقل عدد من الحزم الفريدة والتي بلغت حزمة واحدة ذات وزن جزيئي 385 زوج قاعدي عند استخدام البادئ OPB - 05 والتي عُدّت بمثابة مؤشر وراثي يميز الصنف زهدي عن الاصناف المدروسة الباقية. وبالبرغم من ان البادئين OPA – 05 و OPA – 11 امكن بهما ايجاد بصمة وراثية لثلاثة اصناف وهي نهير السلي واشرسي واصابع العروس بالنسبة للباديء OPA – 05 واشرسي وخستاوي واصابع العروس بالنسبة للباديء OPA – 11، الا ان القدرة التميزية لهما لم تكن الاعلى وبالتالي لاتوجد علاقة طردية بين البادئ الذي يستطيع ايجاد بصمة وراثية مميزة في اكبر عدد من الاصناف والقدرة التميزية له، في حين ارتبطت القدرة التمييزية باعلى عدد حزم ذات تعددية شكلية والتي تمثلت في البادئين OPA-08 و OPH-09، اذ كانت النسبة المئوية للتعددية الشكلية هي 92.3 و 100% على التوالي وقدرتهما التمييزية بنسبة 7.6%.

استخدام تقانة التضاعف العشوائي المتعدد الاشكال لسلسلة الدنا في تشخيص بعض الاصناف العراقية من نخيل التمر *Phoenix dactylifera* L.

مهند رشيد حسين الزيدي شذى عايد يوسف نجم عبد الله جمعة الزبيدي

جدول 3 : البادئات التي ميزت الاصناف المدروسة والوزن الجزيئي لكل حزمة مميزة.

ت	الاصناف	رمز البادئ	الوزن الجزيئي للحزم المميزة (زوج قاعدي)	
			الظاهرة	الغائبة
1	اصابع العروس	OPA - 05		605
		OPA - 11		757
		OPA - 17	610	
		OPC - 15	1041 ، 880 ، 578	
		OPE - 12	300	
2	زهدي	OPB - 05	385	
3	سكري	OPB - 05		310
		OPC - 08		260
		OPH - 09	770	
		OPH - 16		490
4	سعادة	OPF - 05		440 ،400 ،350
		OPH - 07	700	
5	اشرسي	OPA - 05		400 ،200
		OPA - 08	1053 ، 910	
		OPC - 04	1385	
		OPF - 05	763	
		OPF – 12	1145 ، 668	
6	بربن	OPA - 01		452
		OPA - 20		275
		OPH - 16	545	
		OPR - 07		595 ، 382
7	شتوي	OPC - 04		490 ،340 ،295 ،148
		OPQ - 17	915	
8	خستاوي	OPA - 01	831	
		OPA - 11		510
9	نهير السلي	OPA - 05	695	
		OPF - 02	790 ،610	
		OPH - 07	670	

تقدير القرب الوراثي بين الاصناف المدروسة

يمثل القرب الوراثي المقياس لدرجة التشابه او التماثل الوراثي genetic similarity بين اي فردين او بين اي مجموعتين من الافراد او حتى بين الانواع العائدة للجنس نفسه . يلاحظ من الجدول (4) ان قيم نسبة التشابه قد تراوحت ما بين 0.291 و 0.511 وكانت اكبر نسبة تشابه بين الصنفين سعادة وشتوي لذلك قد يكون هذين الصنفين هما الاقرب وراثيا من ضمن الاصناف المدروسة، في حين كانت اقل نسبة تشابه بين الصنفين خستاوي ونهير السلي وهذا يعني انهما ابعد الاصناف المدروسة وراثيا. تتفق هذه النتائج مع نتائج العديد من الباحثين والتي اظهرت اختلافات في نسب التشابه بين اصناف النخيل العراقية [19 ، 23، 24]. إن الذي يحدد القرب الوراثي بين الاصناف هو عدد الحزم المشتركة فكلما كثر عدد تلك الحزم قل البعد الوراثي، لذا تدل الحزم المشتركة على تشابه في المادة الوراثية في تلك المنطقة من المجين للأصناف المدروسة والذي قد يمثل تشابها" في الصفات المظهرية وخصوصا الثمار او في صفات اخرى تتعلق بالإنتاجية والتكاثر والمقاومة او التكيف الوراثي للمتطلبات البيئية الملائمة للنمو والانتاج او قد يكون التشابه في منطقة من مناطق الدنا غير المشفرة non_coding DNA والتي ليس لها تعبير جيني [19].

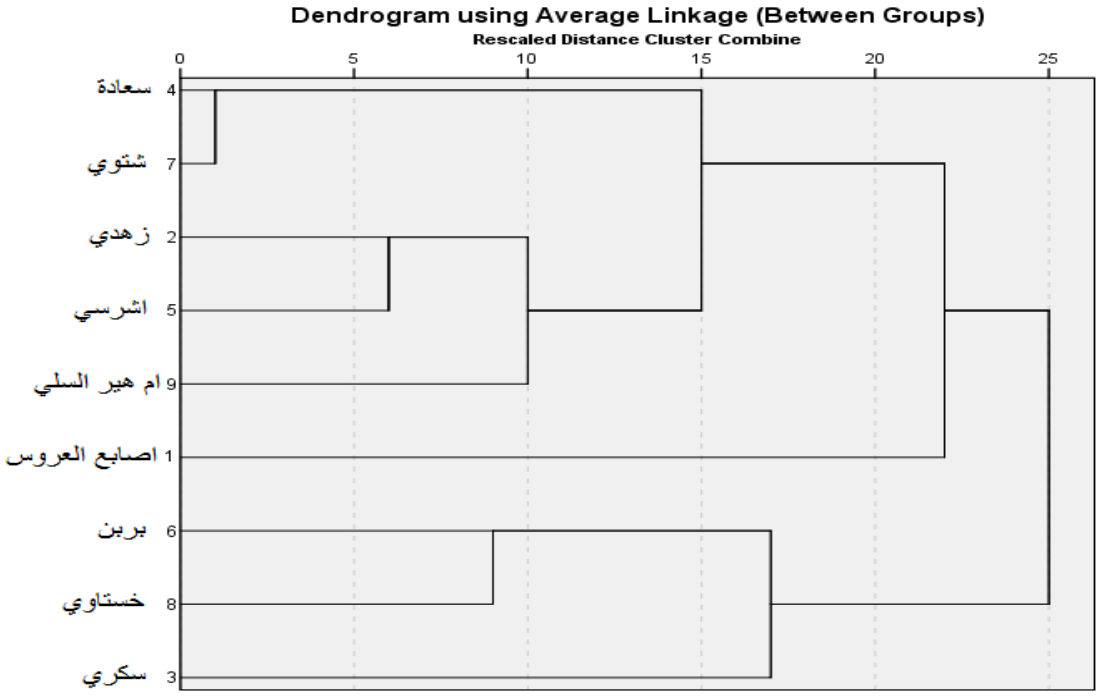
جدول 4 : نسبة التشابه بين اصناف نخيل التمر المدروسة.

الاصناف	نهير السلي	خستاوي	شتوي	بربن	اشرسي	سعادة	سكري	زهدي
اصابع العروس	0.317	0.420	0.351	0.302	0.365	0.402	0.347	0.433
زهدي	0.447	0.347	0.434	0.327	0.473	0.452	0.353	
سكري	0.298	0.402	0.404	0.401	0.330	0.385		
سعادة	0.385	0.327	0.511	0.453	0.400			
اشرسي	0.449	0.298	0.406	0.333				
بربن	0.318	0.453	0.387					
شتوي	0.412	0.336						
خستاوي	0.291							

التحليل العنقودي Cluster analysis

ان ترتيب الاصناف وبالاعتماد على قيم التشابه الوراثية ينتج عنه شكل شبيه بالشجرة تدعى شجرة القرابة الوراثية او مخطط التحليل التجمعي Dendogram ويعتمد على المدى الوراثي الذي ترتبط فيه المجاميع الرئيسية وبالتالي فان وجود قسم من الاصناف في مجموعة معينة يدل على مدى الكم الوراثي المتشابه لاصناف تلك المجموعة [17، 18، 20، 25، 26]0 يلاحظ من الشكل (2) انفصال اصناف النخيل المدروسة الى مجموعتين رئيستين ضمت المجموعة الاولى 3 مجموعات فرعية، وشملت المجموعة الفرعية الاولى على الصنفين شتوي وسعادة اما المجموعة الفرعية الثانية فضمت الاصناف زهدي واشرسي ونهير السلي، ان تواجد صنفي الزهدي والاشرسي ضمن مجموعة فرعية واحدة ربما يعود لكون ثمارهما تعد من الثمار النصف جافة. تمثلت المجموعة الفرعية الثالثة بالصنف اصابع العروس وربما يعود انفصال

هذا الصنف في مجموعة فرعية مقارنة ببقية الاصناف لإنَّ ثمارها تعد من الثمار الطويلة والتي يتراوح طولها عادة بين 4- 4.49 سم [27]، ومن الجدير بالذكر فان اصناف المجموعة الرئيسية الاولى يمتاز حجم جذع النخلة فيها بكونه متوسط – ضخم [27، 28]. انقسمت المجموعة الرئيسة الثانية الى مجموعتين فرعية، ضمت المجموعة الاولى الصنفين بربن وخستاوي في حين ضمت المجموعة الفرعية الثانية الصنف سكري، ان سبب انضمام الاصناف بربن وخستاوي وسكري الى مجموعة رئيسة واحدة قد يعود الى تقارب هذه الاصناف بوصفها من الاصناف متوسطة النضج فضلاً عن تقاربها في بعض الصفات المظهرية للثمار، اذ تمتاز ثمارها بشكل عام بكونها من الثمار الطرية، كما انها تعد من الاوزان المتوسطة، اذ يتراوح اوزان ثمارها بين 10-15 غم [27، 28، 29].



الشكل (2) يمثل مخطط التحليل التجمعي Dendogram لتوضيح العلاقة الوراثية Genetic Relationship فيما بين اصناف نخيل التمر المدروسة .

المصادر

1. البكر، عبد الجبار (1972). نخلة التمر- ماضيها وحاضرها والجديد في زراعتها وصناعتها وتجارتها. مطبعة العاني – بغداد - العراق.

2 . ابراهيم، عبد الباسط عودة (2011) . زراعة النخيل وانتاج التمور في العراق . ورقة علمية، الشبكة العراقية لنخلة التمرhttp://www.iraqi-datepalms.net.

3. Zaid, A. and Arias-Jiménez, E. (2002) . Date Palm Cultivation. FAO plant production and protection paper- 156 Rev.1. Food and Agriculture Organization of the United Nation. Rome, Italy. Available in: http://www.fao.org/docrep/006/y4360e/y4360e00.HTM.

4. جبرائيل، جلادت محمد صالح .(2001). التوصيف الوراثي لعدد من أصناف نخيل التمر (*Phoenix dactylifera* L.) في العراق باستخدام مؤشرات RAPD . مجلة اباء للأبحاث الزراعية، المجلد 11(1) : 138-148.

5. الخطيب، تمارا عدنان (2000). استخدام مؤشرات التضاعف العشوائي المتعدد الأشكال السلسة الدنا (RAPD) في التمييز لجنس وأصناف ذكور نخيل التمر *phoenix dactylifera* L. في العراق. رسالة ماجستير- كلية العلوم- جامعة بغداد/العراق.

6. Ali, T.A.; Jubrail, J. M. and Jassim, A. M. (2006). The use of RAPDs technique for the detection of genetic stability of the regenerated plantles (Barhi cv.) in Iraq. 3rd Inter, Date Palm, Conf. Feb 19-21. Abu-Dhabi. United Arab Emirates: 86-98.

7. Haider, N.; Nabulsi, I. and Mir Ali, N.(2012). Phylogenetic relationships among date palm (*Phoenix dactylifera* L.) cultivars in Syria using RAPD and ISSR markers. J. Plant Bio. Res., 1(2): 12-24.

8. Borges, A.; Rosa, M.; Recchia, G.; de Queiroz- Silva, J.; Bressan, E. and Veasey, E. (2009). CTAB methods for DNA exraction of sweetpototo for microsatellite analysis. Sci. Agric. (Piracicaba, Braz.), 66: 529–534.

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

10. Sharma, P. and Purohit, S. D. (2012). An improved method of DNA isolation from polysaccharide rich leaves of *Boswellia serrata* Roxb. Indian J. Biotech., 11: 67–71.

11. Betancor, L.; Schelotto, F.; Martinez, A.; Pereira, M.; Algorta, G.; Rodríguez, M.; Vignoli, R. and Chabalgoity, J. (2004). Random amplified polymorphic DNA and phenotyping analysis of Salmonella enterica serovar enteritidis isolates collected from humans and poultry in Uruguay from 1995 to 2002. J. Cli. Microbiol., 42(3), 1155–1162.

12. Barone, A.; Sebastiano, A. and Carputo, D. (1999). Chromosome pairing in *Solanum commersonii- S. tuberosum* sexual hybrids detected by commersonii–specific RAPDs and cytological analysis. Genome, 42: 218 –224.

13. Wang,G.; Castiglione, S.; Zhang, J.; Fu, R.; Ma. J.; Li, W.; Sun, Y. and Sala, F. (1994). Hybrid rice (*Oryza sativa* L.): identification and parentage determination RAPD fingerprinting. Plant Cell Rep., 14: 112-115.

14. Milbourne, D.; Meyer, R.; Bradshaw, J.; Baird, E.; Bonar, N.; Provan,J.; Powell,W. and Waugh, R. (1997). Comparision of PCR-based marker systems for the analysis of genetic relationship in cultivated potato. Molecular Breeding, 3:127-136.

15. Williams, J. G. K.; Hanafey, M. K.; Rafalski, J.A. and Tingey, S.V. (1993). Genetic analysis using random amplified polymorphic DNA markers. Methods in Enzymology, 218: 704-740.

16. Dalmasso, A.; Fontanella, E.; Piatti, P.; Civera, T.; Rosati, S. and Bottero, M. (2004). multiplex PCR assay for identification of animal species in feedstuffs. Mole Cell Probes., 18 :81-87.

17. Askari, E.; Al-khalifa, N.; Ohmuka, T.; Al-Hafedh, Y.; Khan, F.; Al-Hindi, A. and Okawara, R. (2003). Molecular phylogeny of seven date palm (*Phoenix dactylifera L.*) cultivars by DNA fingerprinting. Pak. J. Bot., 35(3): 323-330.

18. Eissa, E.; Abd El-Razek, A.; El-Sharabasy, S. and Rizk, R. (2009). Morphological and molecular genetic characterization of soft date palm (*Phoenix dactylifera L.*) cultivars in Egypt. Egypt. J. Genet. Cytol., 38: 269-284.

19. ياسين، معن حسن صالح (2011). تحديد التباين الوراثي لعدد من أصناف نخيل التمر في العراق باستخدام مؤشراتRAPD و ISSR. رسالة ماجستير- كلية العلوم جامعة – تكريت/ العراق.

20. El Kichaoui, A.; Abu Zayed, M., and Ayesh, B. (2013). Genotyping and identification of six date palm (*Phoenix dactylifera* L .) cultivars of the Gaza Strip by random amplification of polymorphic DNA. Emir. J. Food Agric., 25(11), 916–925.

21. Ko, H.; Cowan,D.; Henry,R.; Graham,G.; Blakeney, A. and Lewin,L. (1994). Random amplified polymorphic DNA analysis of Australian rice (*Oryza sativa* L.) varieties. Euphytica, 80: 179-189.

22. Xie,J.; Zapata,A.; Shen,M. and Afza, R. (1998). Salinity tolerant performance and genetic diversity of four rice varieties. Plant Breeding Unit FAO/ IAEA Programme Agriculture and Biotechnology Laboratory.

23. Jubrael, J. M. S.; Udupa, S. M. and Baum, M. (2005). Assessment of AFLP-based genetic relationships among data palm (*Phoenix dactylifera* L.) varieties of Iraq. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 130(3): 442-447.

24. Khierallah, H. S. M.; Al-Sammarraie, S. K. I., and Mohammed, H. I. (2014). Molecular characterization of some Iraqi date palm cultivars using RAPD and ISSR markers. Journal of Asian Scientific Research, 4(9): 490–503.

25. Khierallah, H. S. M.; Bader, S. M.; Baum, M.; Hamwieh, A. (2011). Genetic diversity of Iraqi date palms revealed by microsatellite polymorphism. J. Amer. Soc .Hort.Sci., 136(4): 282–287.

26. Elmeer, K.; Sarwath, H.; Malek, J.; Baum, M. and Hamwieh, A. (2011). New microsatellite markers for assessment of genetic diversity in date palm (*Phoenix dactylifera* L.). 3 Biotech.,1: 91–97.

27 . اطلس اصناف نخيل التمر Fruit Characteristics- غالب، حسام علي (2008). الصفات والخصائص الثمرية. في دولة الامارات العربية المتحدة، الجزء(1)، المجلد (1). اصدارات مركز زايد للتراث والتاريخ.

28 . العكيدي، حسن خالد (2013). وصف لبعض الاصناف العراقية. الشبكة العراقية لنخلة التمر http://www.iraqi-datepalms.net.

29. حسين، فرعون احمد (2009). وصف لبعض اصناف نخيل التمر العراقية . ورقة علمية ، الشبكة العراقية لنخلة التمر http://www.iraqi-datepalms.net .