جمهورية العراق
وزارة التعليـــم العالـــي والبحـــث العـلمـــي
جامعـــة كـربـلاء
كلية التربية للعلوم الصرفة –قسم علوم الحياه

تحليل التنوع الوراثي لبعض أصناف الرز *Oryza sativa L.* باستخدام بعض المؤشرات الجزيئية

أطروحة مقدمة إلى مجلس
كلية التربية للعلوم الصرفة / جامعة كربلاء
وهي جزء من متطلبات نيل شهادة الدكتوراه فلسفة في علوم الحياة
الوراثة الجزيئية - نبات

من قبل
زينة ثامر عبد الحسين الرفيعي

بإشراف
أ.م .د. نضال عبد الحسين مسان
جامعة الكوفة/ كلية التربية للبنات

2017 م
1438هـ

بسم الله الرحمن الرحيم

(وَقُــــــــل رَّبِّ زِدْنِــــــــي عِلْمًــــــــا)

صدق الله العلي العظيم

سورة طه الآية (114)

الخلاصة

قدر التنوع الوراثي لأحد عشر صنفا معتمدا وخمسة تراكيب وراثية من الرز المدخلة باستعمال مؤشرات جزيئية ومؤشرات مظهرية .ومن خلال إجراء تجربة بالتعاون مع مركز أبحاث المشخاب في محافظة النجف خلال العام 2015، اذ تم تسجيل البيانات لبعض الصفات المظهرية مثل (ارتفاع النبات، طول الدالية، عمر النبات من الابذار الى النضج الفسلجي ، وزن آلف حبة و وزن الحاصل كغم /دونم) التي أوضحت تباينا وراثيا عاليا بين الأصناف والتراكيب الوراثية قيد الدراسة للصفات أعلاه.

أما مؤشرات التكرار المتسلسل البسيطة Simple Sequence Repeat (SSR) المعتمد على تفاعلات انزيم البلمرة المتسلسل اذ تم عزل الدنا من أوراق نبات الرز بعد 25 يوم من البذار. أظهرت النتائج الحصول على 149 اليل باستعمال27 بادئ تراوحت أحجامها الجزيئية بين 66.873 -1015.402زوج قاعدي ، بلغ أكبر عدد اليلات 9 اليل سجله كل من البادئ RM3412 وRM335 اما اقل عدد اليلات بلغ 2 اليلات سجلها كل من البادئ RM201، RM10772،RM236 وRM122 .اما محتوى التنوع الوراثي Polymorphism information content (PIC) الذي يمثل انعكاس للتنوع الاليلي بين الأصناف والتراكيب تراوحت قيمه بين 0.0587 -0.8595 .كما تراوحت قيم التنوع الوراثي بين 0.0605- 0.8730اذ سجل البادئ RM3412 أعلى قيم التنوع الوراثي ،إما اقل قيمه تنوع وراثي فسجله البادئ RM10772 .سجل البادئ RM7443 أعلى قيم لمتباينة الزيجة Heterozygot بلغت 0.8000 . كما تباينت البادئات في إعطاء بصمة الوراثية المميزة لأصناف والتراكيب فيما بينها اذ اعطى البادئين RM224, RM8085 بصمة وراثية مميزة لأربعة من الأصناف والتراكيب. اقل بعد وراثي بلغ 0.4259 بين التركيب الوراثي الاول والثاني وهذا يعني وجود تشابه بدرجة عالية بين التركيبين الوراثين . ان نسبة التشابه الوراثي لجميع الأصناف والتراكيب تراوحت بين 0.0793 - 0.5741 اعتمادا على قيم الإبعاد الوراثية التي تراوحت بين 0.4259 - 0.9207 التي تشير الى نسبة تنوع وراثي كبير تراوحت بين 42% -92%، وهذا يكشف عن تباين وراثي عالي بين الأصناف والتراكيب مما يجعلها مصادر وراثي مهمة . بينت نتائج التحليل التجميعي عن تكون سبعة مجاميع رئيسية Main Cluster على مقياس بعد مقداره 0.12 . لم توزع الأصناف والتراكيب بشكل عشوائي بل وزعت اعتمادا على الأصل او سلف مشترك وهذا يرجع الى كفاءة مؤشرات SSR في الكشف عن التنوع الوراثي في نبات الرز

كما امكن بواسطه مؤشرات التكرار المتسلسل البسيطة Simple Sequence Repeats (SSR) من الكشف عن مواقع الصفات الكمية المرتبطة بصفة تحمل الجفاف والجينات المتحمله للملوحة والجينات المقاومة لمرض اللفحة البكترية Bacterial Leaf Blight Resistance الناجم عن بكتريا(Xoo)*Xanthomonas oryzaepv.oryzae* والجينات المقاومة للمرض لفحة غمد الرز - Sheath Blight Resistance الناجم عن فطر*Rhizoctonia solani* والجينات المقاومة لبعض الطرز البايلوجية للمرض brown plant hopper الناتج عن حشرة *Nilaparvata lugens Stal*. والجينات المقاومة لبعض الطرز البايلوجية لمرض gall midge resistance الناتج عن حشرة (Wood-Mason) *Orseolia oryzae*.

المقدمة

التنوع الحيوي Biodiversity هو مقياس لمدى صحة الأنظمة البيولوجية والأساس الذي تعتمد علية الكثير من دراسات علم الأحياء وهو مزيج بين الاختلافات الوراثية والتأثيرات البيئية ويعد القيمة المعتمد عليها في ادارة الموارد الطبيعية و أحد مقومات المجتمع الحي لكي يحافظ على ثباته واستقراره وأداء وظائفه ، سواء كان التباين على مستوى الأفراد أو الجماعات. وتعد المصادر الوراثية النباتية من مكوناته المهمة لوجود مدى واسع من التغايرات بين الانواع والتي تحدث بشكل طبيعي او مستحدث خصوصا بعد التطور الهائل في مجال الهندسة الوراثية وازالة الحواجز بين الانواع إذ من الممكن الحصول على اعداد جديدة لامتناهية من التراكيب الوراثية (Weihua واخرين 2017).

لذا يتطلب وضع الخطط للاستفادة من تعدد مصادر النباتات في تحسين معدل الإنتاج كما ونوعا.ويعتمد قياس التنوع على الصفات المظهرية رغم مساوئها فهي تتأثر بالعوامل البيئية وتتطلب نمو النبات الى مرحلة معينة لأخذ العينة ويتحكم اكثر من جين في اظهار الصفة المظهرية مما يجعل عملية تتبع التوريث عملية صعبة في برامج التربية .أما المؤشرات التي تعتمد على البروتينات والانزيمات فتكون نتائجها أكثر دقة من مؤشرات الصفات المظهرية لان البروتين هو نتاج الجين ولكنها ايضا تتأثر بالظروف البيئية وترتبط بمراحل معينة ونسيج معين. ومع تقدم علم الوراثة وعلم الإحياء الجزيئي قاد إلى تطوير العديد من المؤشرات الجزئية التي يمكن ان تستخدم في دراسة التنوع الوراثي (Yadav واخرون 2013) وهناك أنواع مختلفة من المؤشرات الجزيئية المتوفرة وكل مؤشر يختلف من حيث المبدأ والتطبيق وكمية الحامض النووي وكمية التباين polymarphis المكتشفة حيث تعكس التباينات الطبيعية الموروثة من تتابع النيوكليوتيدات في دنا الأصناف المدروسة (Thaura وآخرون 2008) ولمؤشرات الدنا عدة مميزات منها كثرة أعدادها وسرعة الحصول عليها وعدم تأثرها بالبيئة وبنوع النسيج والمرحلة العمرية للكائن قيد الدراسة، فضلاً عن أنها تستطيع الكشف عن التغيير في أجزاء الدنا المشفر و غير المشفرة كما تمتاز بتجاوز التأثيرات الداخلية للجينات (Netravati وآخرون 2013). لذا تكون المؤشرات الجزيئية البديل الأفضل في دراسة التنوع الوراثي وإيجاد البصمة الوراثية المميزة للأصناف والتراكيب الوراثية مما يساعد في توسيع القاعدة الوراثية واعتماد الأصناف المقاومة للاجهادات الحيوية والاصناف المتحملة للاجهادات الغير حيوية في الانتخاب والتهجين وبرامج التربية المستقبلية .

وحسب إحصائيات منظمة الزراعة والأغذية الدوليه Food And Agricultwe Organization (الفاو،2014) يعد العراق من الدول المستوردة للرز حيث بلغ استيراده في السنة 2014 (3.1 مليون طن من الأرز) في حين بلغ إنتاج العراق في نفس السنة من هذا المحصول 403.000 إلف طن (الجهاز المركزي للإحصاء ،2015). انخفضت الإنتاجية بمقدار 48.8 إلف طن عن الموسم الماضي الذي كان يقدر (451.800) إلف طن أي كانت نسبة الانخفاض 10.8 %بسبب شحه المياه والوضع الأمني وعدم إمكانية الوصول إلى حقول الرز (الجهاز المركزي للإحصاء 2015).

لذا جاءت هذه الدراسة لتسليط الضوء على جانب التنوع الوراثي للأصناف و التراكيب الوراثية في الرز(*Oryza sativa L.*) داخل العراق واحتسابه ضمن أولويات التنمية الزراعية باستخدام طرق حديثة كفيلة بضمان تمييز الاختلاف وتعيينها بين الأصناف أو التراكيب ليتسنى تشخيصها، وتحديد البصمة الوراثية الخاصة بكل صنف للاستفادة منها في مختلف المجالات. ولتقليل خسارته الفادحة في محصول بسبب الضغوط الاجهادات الحيوية وغير حيوية المختلفة فالجفاف والملوحة والضغط الازموزي والإمراض التي تعد تهديدات خطيرة لإنتاج الرز في جميع أنحاء العالم (2009,Wassmann).

أهداف البحث:-

1. الكشف عن التباينات الوراثية بين التراكيب الوراثية المدروسة والتي تظهر على شكل اختلاف في عدد وحجم القطع المتضاعفة من مجين تلك الاصناف و التراكيب .
2. إيجاد البصمة الوراثية الجزيئية المميزة للتراكيب الوراثية المدروسة والتي تعد بمثابة الهوية الوراثية (التوثيق الجيني) التي تستخدم لتشخيص تلك الأصناف.
3. تحديد العلاقة الوراثية بين الأصناف والتراكيب المدروسة وذلك بتوزيعها إلى مجاميع استناداً إلى درجة التشابه الوراثي بينها ليتسنى توجيه المربي بالاختيار المناسب للآباء لإجراء عمليات التربية.
4. مقارنة كفاءة البادئات في التشخيص الجزيئي للأصناف والتراكيب المدروسة مع بعضها البعض منفردا وكفاءتها معا لمعرفة العلاقة البعد والتشابه بين الأصناف وللاستفادة منها في توسيع القاعدة الوراثية
5. إيجاد قاعدة بيانات عن دنا الأصناف المدروسة ليتسنى الاستفادة منها مستقبلاً في إيجاد المؤشرات المرتبطة بصفات معينة أو بناء الخرائط الوراثية لتلك الأصناف.
6. الكشف عن الجينات المقاومة المرتبطة بموقع الصفات الكمية لبعض الاجهادات الحيوية و والجينات المتحملة للاجهادات اللاحيوية

2-1الرز واهميته

يعد الرز *Oryza sativa L* من المحاصيل الحقلية المهمة في العالم وخاصة بلدان جنوب وشرق قارة آسيا التي تتصدر قائمة الدول في انتاج وتصدير مادة الرز ويوفر 27%من امدادت الطاقة الغذائية في جميع أنحاء العالم وهو غذاء لنصف سكان العالم (Vanniarajan 2012 ,) .

ان عدد كروموسومات الرز في جنس Oryza هو 12 = n وقد يكون ثنائي المجموعة الكرموسومية (2n = 24) Diploid وفي بعض الأنواع البرية تكون رباعية المجموعة (4n = 48) Tetraploid وان كرموسومات الرز بصورة عامة تمتاز بصغر حجمها لذا تميزها يصعب بعضها عن بعض وان أقصر كرموسوم فيها هو كرموسوم رقم 12 وأطول كرموسوم هو كرموسوم رقم 1 يمكن مشاهدتها في الانقسام اللاختزالي الأول في الدور الضام Pachytene stage، وقد اثبتت الدراسات البيولوجية الجزيئية بان محتوى الدنا DNA content في نواة الرز يقدر 0.6 بيكوغرام وهذا يكافئ 430 كيلو زوج قاعدي (Bennetzen وآخرين 2002)(Chaoوآخرين 2003) ان عدد الجينات في مجين الرز تقدر بين 30,000 الى 50,000 جينا (Joshi وآخرين 2000). كما تم التعرف على مئات الجينات التي ترتبط بالصفات الفسلجية والمظهرية وايجاد 11خريطة وراثية للرز في البرنامج العالمي الذي اقامتة كل من الولايات المتحدة ،الصين، اليابان ،كوريا والفلبين (Sakata وآخرين 2000 و ، Sasaki 2002) . وان الرز يحتوي على تنوع وراثي هائل يمكن استخدامة لتوسيع بركة الجين وتطوير التراكيب الوراثية (Kobayashi وآخرين 2006) وان تطور علم الجينوم للرز يمكن أن يكون نقطة تحول لانها سوف تجعل من السهل نقل الصفات المفيدة لانواع متكيفة محليا. وان التنوع الوراثي هو الطريق الامثل لضمان تمييز الاختلافات وتعيينها بين الاصناف أو الضروب ليتسنى تشخيصه . وبناءاً على هذا المدى الواسع والاهمية الكبيرة لهذا المحصول الذي ضم الكثير من التنوع الوراثي، فقد برزت الحاجة الى تحديد البصمة الوراثية الخاصة بكل صنف للاستفادة منها في مختلف المجالات.

2-2 التنوع الوراثي Genetic divesity

التنوع الوراثي Genetic diversity هو الركيزة الاساسة في التنوع البايولوجي والتنوع داخل الأنواع وبين الأنواع أو تنوع مورثة داخل نوع معين ، مقابلة للعدد الكلي للمميزات الجينية في البناء الجيني للنوع ، فهو بذلك يعكس مستوى التنوع داخل النوع ذاته. وهوضروري ايضا

لحفظ التنوع بين الأنواع بشكل عام والعكس بالعكس (Richard وآخرين 2007) أي أن زيادة التنوع الوراثي للأنواع ليس بالضرورة أن يكون مرتفعا فقط في الأماكن التي تأوي أعدادا أكبر من الأنواع وهذا ما أكدته دراسة أوربية حديثة أجريت على النباتات (Taberlet ,2012) كما أن انخفاض التنوع الوراثي يؤدي الى فقدان التنوع الحيوي بشكل كبير وضعف النظم البيئية. لذا ان فالتنوع الوراثي هو أحد الوسائل التي من خلالها تتمكن الكائنات الحية من التأقلم مع المتغيرات البيئية بتفاوت كبير لان بعض الأفراد تملك تنوعا أليليا أكثر ملائمة لبيئته و أكثر قابلية للتعايش وإنتاج ذرية متحمل . لذا فهو مفتاح لقدرة الأنواع والمجتمعات على الاستمرارية على مدى فترات التطور الزمني من خلال بيئات متغيرة . وبصورة ادق هو الاختلاف في عدد الاليلات بين افراد النوع الواحد (Kumar وآخرين 2012).

وان الاختلاف الوراثي بين افراد النوع نفسه ويمكن ان يتجلى في تسلسل الحامض النووي وفي خصائصة الكيميائية مثل تركيب البروتين وخصائص الانزيمات أو اختلاف فسلجي كالاختلاف في تحمل الاجهادات الاحيائية (Zhangوآخرين.(2013 ومعدلات النمو أو الاختلاف في المواصفات المظهرية مثل لون أوشكل(Salamوآخرين (2011 .

وتعد المصادر الوراثية النباتية من المكونات المهمة جداً للتنوع الحيوي اذ يوجد حوالي 300000 نوع نباتي(pluss,2004)، وان التغايرات بين الأنواع النباتية قد تحدث بشكل طبيعي وذلك عن طريق الطفرات والانتخاب والهجرة والتكاثر الجنسي واعادة التشكيل والانجراف الوراثي العشوائي. وقد تحدث التغايرات بين الأنواع النباتية بشكل مستحدث وذلك من أجل تحسين المحاصيل الزراعية سواء بزياده تحملها للأمراض والظروف البيئية غير الملائمة أو بزيادة انتاج تلك المحاصيل وهذا يحدث أما باجراء عملية التطفير الاصطناعي (Artificial Mutation) أو بالطرق التقليدية كالتهجين بين أنواع معينة لتكوين تراكيب وراثية جديدة (pluss,2004).وان الاعتماد على الاساليب الحديثة للتقنية الحيوية Biotechnology كعملية نقل الجينات الكلونة cloning واستخدام تقنية زراعة الأنسجة وربطها بالهندسة الوراثية تساعد على انتاج نباتات ذات صفات مرغوبه Sajib) وآخرين 2012) كما ان التطور السريع في مجالات الهندسة الوراثية وسقوط الحواجز بين الأنواع اصبح بالامكان الحصول على اعداد لا متناهية من التراكيب الوراثية الجديدة(Vikramوآخرين 2011) ،وبهذا ازدادت مصادر التنوع الوراثي للنباتات لذا تم وضع الخطط لجمع تلك المصادر لاغلب النباتات المهمة اقتصادياً وحتى نباتات الادغال للأستفادة ولاجراء الدراسات اللازمة عليها (Khoury وآخرين 2010) .

يعتمد التنوع الوراثي للأنواع النباتات على عوامل مختلفة منها العوامل البيئية والجغرافية ونظام التربية وعوامل بشرية (Gerrano وآخرين (2010.

وان دراسة التنوع الوراثي للمحاصيل امر ضروري للحصول على الاستخدام الرشيد للموارد الوراثية وهو من الامور الأساسية لمربي النبات فهو يساهم في مراقبة الاصول الوراثية ويمكن استخدامها للتنبؤ بمكاسب وراثية محتملة(Chakravarthi و 2006،Naravaneni) كما يمكن استخدامها في تطوير المادة الوراثية للأصناف المحلية واختيار الخطوط الابوية في برامج التربية فهو أمان لزيادة الانتاجية للبلدان وله اهميه كبير في الامن الغذائي لذا من المهم جدا تقييم التنوع الوراثي لمحاصيل الحبوب . كما أن تزايد الضغط السكاني ،وتدهور الزراعة ،وازالة الغابات والتوسع العمراني ،وزيادة الاجهادات البيئية أدت الى انقراض الكثير من أنواع النباتات وخاصة المهمة مثل محاصيل الحبوب . كما ان الاستمرار في زراعة الاصناف المحسنة لفترات طويلة ادت الى تقلص القاعدة الوراثية لانها اصناف متجانسة وراثيا تكون اكثر عرضة للافات والامراض مما يؤدي الى الانقراض بعضها وهذا يؤثر في التنوع البايولوجي بسبب انخفاض في الاليلات الجينية التي تسيطر على الاستجابة لتاقلم الظروف المناخية (Jump و nuelas 2005). ففي مرحلة ازدهار الثورة الخضراء فقدت اعداد كبير من السلالات ذات الصفات النوعية الجيدة المقاومة للاجهادات الحيوية وغير الحيوية لكونها قليلة الانتاجية وستبدالها بأصناف عالية الانتاجية ذات القاعدة الوراثية الضيقة ولفترة طويلة ادى الى فقدان التنوع الوراثي وهذا ادى الى فقدان السلالات المحلية مثل أصناف الرز العطرية (Hanamaratti وآخرين 2008 و 2005، Joshi) كما انها تحوي على عدد من الصفات النوعية الاخرى لابأس بها عكس الاصناف عالية الغلة التي تكون محدودة بسبب تشكل الزيجات المتماثلة (Huang وآخرين 2010 و Pervaiz وآخرين 2011) تكون ذات تباين وراثي منخفض لذا تكون اقل فائدة ،لان جيناتها محدوده ولاتمتلك القدرة على التحمل تحث ظروف بيئة متنوعة .

ومن جهة أخرى أدى الاستغلال التجاري الى خفض القاعدة الوراثية لأنه اعتمد اصنافا عالية الانتاجية وان هذه الاصناف التجارية تمتاز بان مستوى التشابه الوراثي عالي جدا (Thaura وآخرين 2008). بعد نهوض العلوم والتكنلوجيا الزراعية اصبح اكثر اهمية للنظر في الزراعة ليس فقط بوصفها الألـه المنتجة بل انها مصدرمهم لتوليد سبل العيش والحفاظ على الاصول الوراثية للمحاصيل الزراعية وان البعد الوراثي يلعب دورا في توفير التكيف للجينات المتنحية مما يؤدي الى زيادة التأقلم مع البيئة (Narain ،2000) لذا كان من الضروري ايلا

اهمية لتحسين وتقييم الاصول الوراثية ذات الجودة ولابد من جمعها وتنقيتها من اجل التنوع الوراثي واستغلالها والحفاظ عليها عن طريق توصيف لحماية الموارد البيولوجية الفريدة من نوعها لأنها قد تعاني من انقراض بسبب تنافس الاصناف عالية الانتاجية (Ram وآخرين 2007) . فالأصناف الوراثية التقليدية تتمتاز باستقرارية عالية لتكيفها مع مرور الوقت مع الظروف البيئية (Evenson و Gollin،2003)

ويمكن دراسة التنوع الوراثي على عدة مستويات منها بين الانواع (Interspecies) فالتنوع الوراثي بين الانواع مهم في الدراسات التصنيفية ومعرفة طبيعة القرابة العائلية consanguinity بين انواع الجنس الواحد او مدى الاختلاف بينه وبين غيره من الانواع لما لذلك من جوانب تطبيقية مهمة خاصة في حفظ تلك الانواع وفي عمليات تنقية البذور باستبعاد البذور التي لا تتطابق مع البذور الاصلية، وكذلك لحفظ حقوق مربي النبات عند اكتشافه لصنف جديد، كما ان معرفة هوية النوع مفيدة لاجراء الدراسات التطويرية والبيئية عليها هذا فضلاً عن اهميتها في تجارب التهجين (Jubrael و Ali,2009).

اما دراسة التنوع الوراثي ضمن الانواع (Intraspecies)،اي الاصناف التابعة للنوع الواحد فهي مهمة لتحديد هوية الصنف وتقدير القرب او البعد الوراثي بين الاصناف لما لذلك من اهمية في برامج التربية من خلال الاختيار الانسب للآباء التي تحمل الصفات المرغوبة (Poornimaو Ambika،2012) ولدراسة التنوع الوراثي بين الافراد او المجاميع السكانية (populations) التابعة للنوع الواحد فان ذلك يعتمد عادة على الطرق التي تستخدم المؤشرات (Markers) والتي تختلف فيما بينها من جانب، وبين طبيعة الافراد المدروسة من جانب آخر، ويمكن تعريف المؤشر Marker بانه التقنية Technology التي من خلالها يتم الاستدلال على وجود موقع معين على الكروموسوم او المجين مما يساعد في دراسة توارث صفة معينة او جين معين فالجينات القريبة جداً من المؤشر تتوارث معاً، وهذه المؤشرات اما ان تكون مظهرية Morphological قابلة للكشف بالعين المجردة او ان تكون جزيئية Molecular كالمتناظرات الانزيمية Isozyme ومؤشرات الدنا (Khan وآخرين 2014) ومن المتطلبات التي يجب توافرها في كل المؤشرات الوراثية هي انها يجب ان تكون متوارثة heritable ولها القدرة على التمييز بين الافراد المدروسة، وتعطي نتائج قابلة للمقارنة وفي نفس الوقت سهلة القياس والتطوير(Rahman وآخرين 2012) ،كما اصبح التقييم الجزيئي للمحاصيل في العصر الحديث ضروري لان يهتم بداسة التنوع الوراثي للسلالات المحلية المتاحة(Mahajan وآخرين

2012) و ان استخدام المؤشرات الجزيئية ضروري في دراسة التنوع الوراثي لرسم الخرائط الوراثية وعلاقتة بالانتخاب في برامج التربية(Lapitan وآخرين 2007) .

2- 3 طرائق قياس التنوع الوراثي

2-3-1المؤشرات المظهرية والمؤشرات الانزيمية

اعتمدت دراسة التنوع الوراثي ولعقود طويلة على المؤشرات المظهرية لاظهار التباين بين الافراد فيه مهمه لمربي النبات لانها تكشف عن صفات هامة لمربي النبات كما أنها ضرورية في الدراسة التصنيفية للنباتات حيث تعتمد على الصفات الكمية كما انها تمتاز بسهول وقلة تكلفتها الاأنها قد تتاثر تعبيراتها الجينية بظروف البيئية كما ان اعداد المؤشرات قليلة، اي انها تمثل عدد قليل من المواقع في المجين و تحتاج وقت طويل كما انها تمتاز بتأثرها بطروف البيئية وبعدم الثبوتية بسبب تحكم اكثر من جين في بعض الصفات المظهرية ما يؤدي الى صعوبة تتبع توارث صفة معينة خاصة في برامج التربية (Thaura وآخرين 2008)

أما بالمؤشرات الانزيمية (النظائر) Isozyme markers المعتمدة على المحتوى البروتيني الكلي Total Protein والمتناظرات الانزيمية Isozymes اذ تصنف هذه المؤشرات ضمن المؤشرات الجزيئية Molecular لان الـ بروتين هوناتج تعبير الجين . اسد تخدمت المؤشرات الانزيمة على مدى واسع في دراسة تقيم التنوع الوراثي وتميز للاصناف الرز البرية و من قبل (Ishikawa وآخرين 2005).استعمل (Elizabethوآخرين 2011)المؤشرات الانزيمية لتقيم التنوع الوراثي لأصناف الرز البرية في امريكا باستخدام أربعة أنواع من الانزيمات لغرض تميز وحماية الاصول الوراثية للرز . كما تم تصنيف وتشخيص اصناف الرز في الهند باستخدام تسعة انواع من الانزيمات لغرض دراسة التنوع الوراثي من قبل (Siva وآخرين 2013) وبرغم الدقة العالية لهذه المؤشرات الانزيمية في دراسة التنوع الوراثي الا أنها محددة بنسيج معين وبمرحلة معينة من التطور وان عدد المواقع المرتبطة بالجين قليلة لاتظهر تباين كثير بين الافراد .

2- 2-3المؤشرات الجزيئية

هي تتابعات الحامض النووي أو الجين للكشف عن مواقع محدده على الكروموسوم (Schulmann ،2007) تساعد في دراسات العلاقة الوراثية بين الافراد ولكشف الاختلافات بين الأنواع ورسم الخرائط الوراثية والكشف عن الطفرات التي ترتبط بالامراض الوراثية واختبارات الابوه ودراسة المجتمعات وعلم الأوبئة ودراسة التنوع الوراثي وخاصة في مجال المحاصيل الزراعة كما تلعب دورا كبيرا ومهما بدراسة التنوع الوراثي والكشف عن التراكيب الوراثية المقاومة والمتحملة للاجهادات الحيوية وغير الحيوية وتساعد ايضا في الانتخاب (Molekularno وآخرين 2014) .وبما انها تظهر التغايرات على مستوى الحمض النووي لذا تمتاز بالأستقرارية وعدم التأثر بعوامل البيئة كما تمتاز بعدم تاثرها بالمرحلة التطورية ونوع النسيج كما أن لها القدرة في الكشف عن مئات المواقع وبعدة اليلات للموقع الواحد ،ويمكن تطبيقها على أي جزء من الجينوم سواء أكان مشفرا أو غير مشفر أو مناطق تنظيم ولها القدرة على تتبع التغايرات الوراثية من جيل الى آخر لانها تتبع قوانين مندل في التوارث (Semagn وآخرين (2006 كما لها القدره على تميز الاشكال التي لايمكن تميزها عن طريق دراسة المؤشرات المظهرية والبروتينية.ولاتحتاج الى وقت محدد Netravati) وآخرين 2013) يمتاز مؤشرالدنا بقدرتها على كشف التباين في توريث التتابعات المتماثلة للحامض النووي بين الافراد الناتجة عن حذف أواضافة أواعادة الترتيب للنتوكليوتيدات بسبب الطفرات لذا اعتمدت في تشخيص العلاقة الوراثية وتحديد البصمة الوراثية .وهي تقنية هامة ودقيقة للكشف عن التراكيب الوراثية المقاومة للاجهادات الحيوية وغير الحيوية وانتخاب الخطوط لاجل تطوير الضروب أو الأنواع و تطوير الخطط الملائمة في حفظ الأنواع (He وآخرين 2012 و Khan وآخرين 2014 و Mondalو اخرون 2014) .ومن أهم مجالات تطبيق مؤشرات الدنا هو في تشخيص النباتات وقد يكون البديل الافضل للكشف عن التنوع الوراثي بين اصناف من الرز وتحديد التشابه الوراثي بينها (Zhang وآخرين 2013)(Rahman وآخرين 2012) (Choudhury وآخرين 2014) ويساعد على تشخيض حالة heterozygosity وحساب مستوى التباين بين افراد الصنف الواحد واختيار النباتات التي تحمل الصفات المرغوبه تدعى الانتخاب المعتمد على المؤشرات(Markers assisted selection Ahasanu (MAS) وآخرين 2014) كما تساعد هذه المؤشرات على تشخيص الجينات المرتبطة بموقع الصفات الكمية ((QTL Quantitative Trait Loci في الرز Ahasanu) وآخرين 2014) . وان تقدم التقنيات

الجزيئية وفرت مجموعة متنوعة من المؤشرات الجزيئية ومنها تباين اطوال مقاطع التقييد Restriction Fragment Length Polymorphisms (RFLP) و التفاعل العشوائي متعددة الاشكال لسلسلة الدنا DNA(RAPD of Polymorphic Random Amplification) و تباين أطوال قطع الدنا المتضاعفة (AFLP)– Amplified Fragment Length Polymorphisms و التتابعات القصيرة المتكررة Simple Sequence Repeat (SSR)و التباين نيوكليدة مفردة Single Nucleotide Polymorphism (SNP) و Expressed Sequence Tag (EST) و موقع تسلسل الهدف Sequence-tagged site (STS)

ساعدت التقانات الاحيائية مربي النبات على اختصار الوقت والجهد والتكلفة في دراسة التنوع وفي برامج التربية والتحسين وفي التشخيص المبكر للتراكيب الوراثية ذات الصفات الواعدة ولاسيما المقاومة للإجهاد الحيوي والمتحملة للاجهاد اللاحيوي، اذ يمكن من خلالها الكشف عن التغايرات الوراثية على مستوى DNA (بكتاش وعبد الحميد ، 2015).مقارنة بالطرق التقليدية ممكن ان تكون مكلفة وتستغرق وقتا طويلا وجهدا كبيرا وتتطلب عينة كبيرة الحجم ، التراكب الوراثية تحت الاجهاد يكمن أن تتغير بسبب العوامل البيئية مثل درجة الحرارة والرطوبة . وبهذا اصبحت مؤشرات الدنا أداة لايمكن الاستغناء عنها كما أن هناك أنواع من المؤشرات المستخدمة لازال التطور مستمر في انواعها واعدادها وطرق الكشف عنها .

وهناك نوعين من المؤشرات اعتمادا على نوع التقانة المستخدمة في الكشف :

2-4 مؤشرات الدنا المعتمدة على تقانة التهجين الجزيئي

(Molecular Hybridization-based DNA Markers)

ظهرت أولى مؤشرات الدنا المعتمدة على التهجين الجزيئي بعد اكتشاف إنزيمات التقييد Restriction enzymes عام 1968 ومنها تباين اطوال مقاطع التقييد أو الـ RFLPالتي تعتمد على عملية التهجين الجزيئي الدنا المهضوم المثبت على اغشية خاصة مع مجس مناسب ثم الكشف عن مناطق الارتباط ، وان تقنية RFLP تعتمد على الاختلاف في طرز التقطيع التي تحدث بسبب حذف أو اضافة أو استبدال أو الطفرة نيوكليوتيدة واحدة في موقع القطع مما يؤدي الى تباين اطوال القطع الناتجة . وتمتاز هذه المؤشرات بانها ذات سيادة مشتركة Co-dominant اي لها القدرة على تميز الاليلات المتباينة Heterozygous من الاليلات المتماثلة وكشف الدنا المفرد ايضا(Hartl و Jones, 2005) ومن مميزاتها انها لاتحتاج الى معرفة

مسبقة بالتتابعات النيوكليوتيدية للحامض النووي وعند اعادة اجراء الاختبار يمكن الحصول على نفس النتائج وتمتاز بالكفائة العالية وتحتاج الى كميات كبيرة من الدنا عالي النقأوة (Anand، 2006).وهناك تقنية تدعى AFLP مشتقة من تباين اطوال مقاطع التقييد أو الـ RFLPالتي تجمع بين الهضم الانزيمي من RFLPوالتضخيم من PCRوبهذا يمكن الكشف عن الكثير من الاختلافات وتستخدم في دراسة التنوع ورسم الخرائط الوراثية.

2-5مؤشرات الـ DNA المعتمدة على تفاعل انزيم البلمرة المتسلسل Polymerase Chain Reaction (PCR)

تعتبر التقنية الاقدم من الناحية النظرية والاكثر تنوعا من الناحية العملية(Sambrookو Russell،2001) وهي تضاعف تتابعات ال DNA انزيميا بملايين المرات خارج جسم الكائن الحي بوجود بادئ يرتبط بتتابع مكمل له على شريط ال DNA القالب (Sinclair،2002)وهي التقنية الاكثر استخدأما في مختبرات الوراثة الجزيئية (Kumar وآخرين 2009)وقد فتحت سبلا جديدة للبحث والتجارب والتحليلات مثل اختبارات الابوة والبصمة الوراثية والكشف عن الامراض الوراثية والطفرات وتحليل الحامض النووي القديم(2006) ،Riaz وفي برامج التربية اللازمة الانتاجية العالية(Weisingوآخرين 2005)- (أن اساس عمل هذه التقنية هي مضاعفة قطع معينة أو عشوائية من DNA خارج الجسم باستخدام جهاز Thermal cycler بوجود بادئا الذي يتكامل مع شريط DNAالقالب بمساعدة انزيم تضاعف DNA (DNA-PolymeraseI (Taq مع محلول منظم وقواعد نايتروجينية للحصول على كميات كبيرة من قطع DNAالمتضاعفة .

2-6 تقانة المقاطع البسيطة المتكررة Simple Sequence Repeats (SSR)

هي احدى المؤشرات الجزيئية الحديثة المهمة تستخدم في الكشف عن التنوع الحيوي والتباين الوراثي للنباتات والحيوانات ودراسة العلاقة الوراثية (Pervaiz وآخرين 2010) و(Zhao وآخرين 2010) ورسم الخرائط الوراثية وتساعد في عملية الانتخاب ومجالات البيئة الجزيئة(Zhang وآخرين 2013) ورسم مواقع الصفات الكمية Qtl (Guo وآخرين 2010) و في تحليل الطفرات(Li وآخرين 2010) . وتوزع في جميع مناطق الجينوم كما يمكن ان تكون موجودة في البلاستيدات وجينوم المايكوندريا (Chung وآخرين 2006) (Rajendrakumar

وآخرين(2007 تمتاز هذه المؤشرات بوفرة وجودها وتوزيعها العالي في جينوم حقيقية النوى ولها القدرة على التميز بين الأنواع المختلفة والاصناف للنوع الواحد والتميز بين سلالات الصنف الواحد.وهي الاختيار الافضل لكونه ذات سيادة مشتركة وتكشف عن مستوى عالي من التباين Polymorphism (Wang وآخرين ,2013)(Xuوآخرين 2012)كما لها القدرة على التميز بين النباتات الهجينة والنقية وراثيا أو الخلطية وراثيا ويمكن استخدامها في دراسة المجتمعات أو العشائر التي تمتلك اعدادا كبيرة ، كما تمتاز هذه الموشرات بعدم احتياجها لكمية كبيرة من الحامض النووي ولايتطلب ان يكون ذو جودة عالية لان البادئ طويل وتمتاز بدقتها ونجاحها كما تمتاز هذه الطريقة انها ترتكز على اظهار التباينات الوراثية في المناطق الجانبية لمواقع المكررات الترادفية الموجودة بصورة طبيعية في مجين الكائن بينما في مؤشرات الـ AFLP يقوم الباحث ببناء تلك الجوانب. وقد تصنف اعتمادا على الموقع مثل نووي((nuSSRs أو بلاسيدات (cpSSRs) أو المايكوندريا mtSSRs)) (Oliveira وآخرين 2006)و(Wang وآخرين 2009) (Kalia وآخرين 2011)و(Terra وآخرين 2011).

أما معوقات هذه الموشرات فتكلفتها عالية وان دراسة التباينات الوراثية للبادئ الواحد تكون حصرا على موقع وراثي واحد ولايمكن تطبيقة على انواع اخرى ويجب معرفة التتابع النيوكليدات المحيطة بمناطق SSR لتصميم البادئات (Hasoon، 2014).كما ان تصميم البادئ تتطلب وقتا طويلا وخبرة عالية.

2-7 دراسة التنوع الوراثي في الرز باستخدام تقنية SSR-PCR

التنوع الوراثي هو واحد من المجالات ذات الأولوية لزيادة عائدة غلة والتغلب على تلك المعوقات ، وان المؤشرات الجزيئي تساعد على الانتخاب بسرعة ملحوظة وكفاءة ودقة كبيرة في برامج التربية من الطرق التقليدية لان التسلسل الجينوم يعطي جودة عالية (Irgs،2005) وان تقنية SSR-PCR هي الابرز بسبب استناخها العالي ومتعدد الاليلات ومورت بسيادة مشتركة وتغطي كل الجينوم كما تمتاز باستخدم كمية صغيرة من العينة ولا تتاثر بالعوامل البيئية. تستخدم على نطاق واسع في علاقة النشوء والتطور وتحليل التنوع بين الاصناف(Dasوآخرين 2013 و Babu وآخرين 2014) ورسم الخرائط(Zhang وآخرين 2013) وتحديد وتوصيف الصفات المهمة المرتبطة) Wang QTL وآخرين 2012 و Bernier وآخرين 2007) كما يستخدم في تحليل التنوع الجيني(Shahوآخرين 2013 و

Berilusوآخريـن 2013) وقـد وضـحت عـدد صـفات الارز مثـل الجفـاف (Lin وآخري ن 2007و Venuprasadوآخرين 2012) والملوحة (Linh وآخري ن 2012 و Haque وآخري ن 2012) باضافة الـى التوصـيف الجزيئـي علـى مستوى الحـامض النـووي والاداء الفسـيولوجي تحت الضغط الازموزي . لذا استخدامت مؤشرات SSR في دراسة التباين الوراثي في تربية الرز من اجل التكيف مع ظروف الاجهاد الحيـوي وغيـر الحيـوي فـي المسـتقبل (Ali وآخري ن 2014).لاحظ Mamunur وآخرين(2012)وجود تباين وراثي عالي بين 21 صنف من الرز الآسيوي باستخدام 34مؤشر من نوع ((SSR وكان عدد الاليلات الكلية 142بواقع 2-11 اليـل لكل موقع وبمعدل 4.18 ، كما تم اكتشاف 24 اليل فريد مـن نوعهـا فـي 14 موقـع حيـث يمكـن استخدامها لتحديد الهية والتوصيف الجزيئي ، أمـا قيمـة محتـوى تعـدد الاشـكال ترأوحـت بيـن 0.157-0.838 وبمعدل بلغ 0.488 وهذا يدل على وجود اختلاف واضح بيـن الاصـناف وعنـد اجراء رسم الشجرة الوراثية فقد انقسمت الاصناف الى خمس مجاميع وبمعدل تشـابه يصـل الـى 0.50 .

بين Ahasanulوآخرين(2014)عند تقيم التنوع الوراثي للرز باستخدام خمسة بادئات مـن الدنا نوع SSR المرتبطـة بمـدة النمـو وبعـدد ايـام الـتزهير. بلغـت عـدد الاليلات الكليـة 17 اليـل وبمعدل 5.66 اليل لكل موقع أما محتوى تعـدد الاشـكال ترأوحـت بيـن 0.35–0.798 أمـاقيم البعد الوراثي ترأوحت بين 0.46-0.82وبمعدل 0.59كمـا قسـمت الـتراكيب الوراثيـة الـى اربعـة مجاميع وبمعامل تشـابه قـدر بـ 0.39 عنـد رسـم الخريطـة لوراثيـة أو الشـجرة العلاقـة الوراثيـة ويمكن الاستفادة من هذة النتائج في تحديد الخطوط الرز المناسبة في الانتخاب واختيار الابـاء فـي التهجين ذات مدة النمو القصيرة .

لاحظ Isratوآخرين(2014)عند تحليـل التنـوع الـوراثي لـرز الاسـيوي بسـتخدام الصـفات المظهرية ومؤشرات الدنا مـن نـوع SSR استخدام 24 سـلالة محليـة مـع اربعـة اصـناف عاليـة الانتاجية لغرض تحديد التركيب الوراثي المميـز لتحسـين الحاصـل ومعرفـة البعـد الـوراثي بينهـا لاحظ ان التحليل العلاقة الوراثية ورسم الشجرة الوراثية على اساس الصفات المظهرية تقسم الـى اربعة مجاميع وبمعامل تشابة يقدر 0.98 كما لاحظ وجود اختلافات معنويه بصـفة عـدد الافـرع الكلي وعدد الافرع الخصبة وطول السنبلة وعدد السـنيبلات فـي السـنبلة . أمـا بالنسـبة لمؤشـرات SSR فقد اظهرت التحليل العلاقة الوراثية ورسم الشجرة الوراثية تقسم الى ستة مجاميع وبمعامل تشابة بلغ 0.17 ، وان عدد الاليلات الكلي بلغ 321 اليل وبواقـع 6-12 اليـل لكـل موقـع وبمعـدل

11.88 اليل وان اعلى نسبة تكرار لاليل بلغت 0.40 أما معدل التنوع الوراثي قدر 0.85 أما محتوى تعدد الاشكال تراوحت بين 0.68 الى 0.94 وبمعدل 0.84 وان هذه النتائج جدا مهمة لانتخاب الاباء ومعرفة التركيب المميز. درس Shahid وآخرين(2013) التنوع الوراثي بين 40 صنفا من الرز باستخدام المؤشر SSR للكشف عن وجود التباين وراثي لاحظ ان مجموع الكلي لالليلات 66 اليل تراوحت بين 2-4 اليلات لكل موقع وبمعدل 2,75.أما البعد الوراثي بلغ 0.447 واما محتوى تعدد الاشكال بلعت 0.3785 وان رسم الشجرة الوراثية اشار الى تقسيم الاصناف الى ثلاث مجاميع . استخدم Ashu وآخرين (2015) تقانة SSR للكشف عن التغايرات الوراثية وتميز هوية الاصناف والبصمة الحامض النووي لـ 30 صنفا من الرز باستخدام عشر مؤشرات بلغ اعلى محتوى تعدد الاشكال 0.99 كما بلع العدد الكلي للاليلات 23 اليل. اشار Shahriar وآخرين(2015) عند تحليل التنوع الوراثي لاربعة وعشرين صنف من الرز باستخدام 19 بادئ من نوع SSRكانت عدد الاليلات الكلية 110 اليل بواقع 3-12 اليل لكل موقع وبمعدل 5.79 اليل ،سجل المؤشر Rm493 اعلى محتوى تعدد الاشكال بلغ 0.87 أما أقل محتوى بلغ 0.36 سجلة البادئ Rm18 ،اما نتائج التحليل العنقودي قسمة الاصناف الى ستة مجاميع وبمعامل تشابة بلغ 32%اما قيم التنوع الوراثي تراوحت بين 0.43-0.88 وبمعدل 0.69 وسجل البادئ Rm493كافضل مؤشر لدراسة التنوع الوراثي اذ اعطى اعلى معدل لالليلات واعلى قيم لمحتوى التعدد الاشكال والتنوع والوراثي .

لاحظ Sadiaوآخرين(2012) عند تقيم التنوع الوراثي اثناعشر صنف من الرز المزروعة في بطيقة المياة العميقة باستخدام 18بادئ من نوع SSR بلغ عدد الاليلات الكلية 79اليل وبمعدل 4.38 اليل أمامحتوى تعدد الاشكال تراوحت بين 0.47 - 0.78 وبمتوسط بلغ 0.63 تراوحت قيم التنوع الوراثي بين 0.14-0.89 وكان افضل بادئ هو 13Rm أما التحليل العنقودي لعلاقة الوراثية بين الاصناف فقد قسم الى اربعة مجاميع وبمعامل تشابة بلغ 33%وهذة النتائج تساعد في اختيار الاباء في برامج التربية .

بين Ravindra وآخرين(2012) عند تقييم التنوع الوراثي للاربعة وستين صنفا باستخدام 20 بادئ من نوع مؤشرا من SSR ان ثمان بادئات فقط اعطت تنوع وراثي وتعدد اشكال عالي يصل الى 0.98 واقل محتوى لتعدد الاشكال بلغ 0.36 ،أما التحليل العنقودي لدراسة العلاقة الوراثية فقد قسمت الاصناف الى ثمان مجاميع وبمعامل تشابة 0.40 ،كما سجل البادئ 47 Rm افضل بادئ ، وهذا يساعد على تحديد وتوصيف الانماط الوراثية ويمكن استخدام المعلومات في

برامج التربية .لاحظ Berilus وآخرين (2013)عند دراسة التنوع الوراثي لاربعة وعشرين صنفا من الرز باستخدام 30 بادئ من نوع SSRتم الحصول على مجموعة واسعة من التباين بين الاصناف وكان معامل التنوع الوراثي 0.06 -0.94 وسجل البادئ 44Rm اعلى تنوع وراثي بلغ 0.99 أما التحليل العنقودي فقسم الاصناف الى ستة مجاميع اعتمادا على البعد الوراثي

2-8 استخدام تطبيقات تقنية SSR-PCR في الرز

2-8-1 الاجهاد اللاحيوي

الاجهاد اللاحيوي هو عامل مسلط من قبل البيئة يؤثر في الأداء الأمثل للكائن الحي (Vahdati و Leslie، 2013). مما يؤدي الى انحرافة عن الحالة المثلى (Larcher، 2003) ومن الاجهادات غير الحيوية الملوحة ،الجفاف ،الحرارة ،البرودة ،التجميد وتحمل العناصر الثقيلة. ان استجابة النبات لشروط الاجهاد تحدث من خلال عدد تغيرات على المستويات الفسلجية من خلال تغير التعبير الجيبي لجينات الحث Philippe) وآخرين 2010). اشارت الدراسات الى أن التعبير الجيني يشارك فيه عدد من الموروثات المسؤولة عن الكثير من المسارات الأيضية في النباتات المتأثرة تحت الإجهادات غير الحيوية (Ray وآخرين، 2011)، فضلاً عن ذلك فإن استجابة عوامل الاستنساخ منسقة من موروثات معنية في إعادة التدفقات الأيضية (2013) ،Jain. على المستوى الجزيئي تتحفز مورثات لإنتاج بروتينات معينة كآليات دفاعية عند تعرض النبات للإجهادات البيئية, اذ تشارك هذه البروتينات في التخليق الحيوي لمركبات واقية ازموزية، وتنظيم انزيمات إزالة السموم والنقل، فضلاً عن تفعيل البروتينات التنظيمية (عوامل النسخ), هذه الجزيئات ضرورية في تنظيم نقل الإشارة واستجابة الموروثات لتعبير الجيني (Krasensky وآخرين، 2012). تعرف عوامل الاستنساخ (TFs)- Transcription factors, بانها جزيئات صغيرة ترتبط بمواقع معينة على جزيئة الحامض النووي (Deoxyribonucleic acid)من اجل تنشيط أو إلغاء عمل بعض المورثات (اسماعيل، 2013). يعد تراكم البروتينات في داخل الخلايا من اهم الآليات لمواجهة الاجهادات البيئية والناتجة عن تفعيل مواقع اليلية. وان تباين الأنواع النباتية ،وأصناف النوع الواحد للمحاصيل في تحمل الاجهاد يرجع سببه إلى تعديلات وراثية مختلفة. ان تقيم التنوع الوراثي الرز المتحمل للاجهادات بصورة عامة، هو أحد المجالات ذات الأولوية في بحوث الرز(Faridulوآخرين2012)(Vanniarajanوآخرين 2012) . وان استقرار حاصل الرز يحتاج

الى انتاج انواع جديدة أو تحسين انتاجية الاصناف الحالية تحت ظروف الاجهاد، لأن الأصناف المقاومة للاجهاد هي الافضل في ظل ضروف البيئة المحدودة (Blum 2006,). لوحظ وجود اختلافات بين الأنواع والاصناف النباتية في طريقة تفادي الاجهاد الازموزي التي تفرضها ملوحة التربة من خلال آليات مثل التحمل، والكفاءة في استبعاد الملح ،والتغيرات في توازن العناصر الغذائية للتكيف التناضحي . وتعتمد هذه الاستجابات على التركيب الوراثي، والاجهاد الملحي ومدة التعرض للإجهاد (Munns و2008 ،Tester). من آليات تحمل النباتات للملوحة هي آليات تنظيم الضغط الإزموزي الذي يحافظ على حجم الخلية من خلال زيادة تركيز العصير الخلوي داخل الخلية، ويتم من خلال تنظيم عمليات تدفق المواد الايضية. أن صفة تحمل الملوحة موروثة مسيطر عليها وراثياً بعدد من الموروثات قابلة للانتقال عبر الأجيال. ولهذه المورثات دور كبير ومهم بقدرة النباتات على النمو في تراكيز عالية من الملح (Ruisheng وآخرين، 2004).

1-1-8-2 التحري عن الجينات المتحملة للجفاف

الجفاف أحد المشاكل البيئية الاكثر تعقيدا التي تواجة محصول الرز مثل الملوحة والافات والامراض التي تحدث في أي لحظة خلال نمو المحصول ،وان تاثيره يكون معقدا وينطوي على العديد من التغيرات في المستويات الفسلجية والكيموحيوية والجزيئة وبهذا يشكل اكبر تحدي لعلماء الزراعة(Atkinsonو 2012 ،Urwinو Saikumar وآخرين 2014و Bargaz وآخرين، 2015). وان زيادة الري للتقليل من حد مشكلة الجفاف ليس خيارا قابلا للتطبيق بسبب ندرة المياة الحالية. ولكون الرز من المحاصيل الحساسة للغاية وخاصة في مرحلة الانتاجية حتى في حالات الاجهاد المعتدل لأنه يؤدي الى خفض حاد في محصول الحبوب(Saborو 2014،Arif) لذا يعد فهم الاساس الوراثي لتحمل الجفاف في الرز امرا اساسيا لمربي النبات ليمكنهم من تطوير وانتاج الاصناف الجديدة التي تحمل صفة تحمل الجفاف، ويتم ذلك من خلال تحديد مواقع الصفات الكمية أو الجينات المرشحة candidate genes (Shuklaوآخرين 2012).

لاحظ Bimpong وآخرين) 2011) بان الجفاف يؤثر سلبا في نوعية الحبوب عند دراسة للصفات المرتبطة مع أداء الرز تحت الاجهاد الجفاف مثل شكل الجذر ، نفاذية الجذور ،ولف

الأوراق ،انخفاض مساحة الورقة ،التزهير المبكر ،النضج المبكر للحبوب ،التكيف الازموزي، تراكم المواد المذابة مثل البرولين والسكريات ،وزيادة انتاج الابسسك اسد وغلق الثغور .

ويختلف تاثير الجفاف اعتمادا على شدة الجفاف وقت حدوث وقد ترتفع الخسارة بالمحصول من 15%-50% وقد يصبح الوضع اكثر خطورة بسبب تغير المناخ عالميا (Srividhya وآخرين، 2010) وتعد مرحلة الانتاجية هي الاكثر تاثرا بالجفاف لانها تؤدي الى فقدان الحاصل (Sabarو Arif،2014) . كما أن الاختلاف في شدة الجفاف من موسم الى آخر ومن مكان الى آخر يتطلب زراعة اصناف رز متحمله لمستويات مختلفة من الجفاف وان صفة تحمل الجفاف صفة معقدة يسيطر عليها عدد من الجينات polygene تعتمد على تقييم النمط المظهري لذا تكون من اصعب الصفات تميزا في الدراسة ،فظهور المؤشرات الجزيئية قد احدثت ثورة في التحليل الوراثي للصفات المعقدة حيث بذلت جهود كبيرة في تحديد مواقع الصفات الكمية QLTSالكامنة وراء الصفات المرتبطة بتحمل الجفاف وخاصة صفات الحاصل ومكوناته وصفات الجذور، وساعدت تقنية SSR-PCRفي الكشف عن الكثير من الصفات الكمية المرتبطة بالجفاف ومواقع الصفات الكمية ومنها الحاصل ومكوناتة (Vikram وآخرين 2011و Boopathi وآخرين 2011). وتم الكشف أيضا عن عدد من الصفات المتعلقة بالجذور والجهد الازموزي وصفات أخرى ترتبط بتحمل الجفاف من قبل Kamoshita وآخرين(2008) و Sujiوآخرين(2011).كما استطاع الباحث Salunkheو آخرون (2011) باستخدام 12بادئ من SSR تحديد صفات الجذر المرتبطة بقوة بتحمل الجفاف،كما بين الباحث Vasant(2012) باستخدام 14 بادئ من نوع SSR صفات االحاصل ومكوناته المرتبطة بالجفاف .اما صفة طول الجذر المرتبطة بالجفاف بينها الباحث Srividhya وآخرين(2010). والصفات خضوبة السنابل المرتبطة بالجفاف من قبل الباحث Yueوآخرين(2006) وصفة سمك الجذر(Quوآخرين 2008) والوزن الطري للجذور(Kanbar و Shashidhar،2011) . ان تحليل الوضائف والصفات للجينات تساعد على تقديم معلومات قيمة في التربية الجزيئية للرز (Hao و HX،2010). درس Nitika وآخرين(2014) تحديد ورسم خريطة مواقع الصفات الكمية لحاصل الحبوب العالي لرز تحت الاجهاد الجفاف باستخدام مؤشرات SSR،ان استخدام المؤشرات الجزيئية هي الافضل لرسم مواقع الصفات الكمية المرتبطة بالاجهاد الجفاف (Yadawوآخرين 2013). كما اشار Manikanda وآخرين(2013)عند دراسة تحليل موقع الصفات الكمية qtl12.1 الحاصل العالي لرز تحت

ضغط الاجهاد الجفاف باستخدام مؤشر SSR لابوين احدهم حساس والآخر مقاوم مع افراد الجيل الثاني والثالث لاحظ أن الجين يقع بين مؤشرات RM511–RM28048 –RM27933 على كروموسوم رقم 12.وأن المؤشر RM27933يمكن أن يستخدم مؤشر مرشح لموقع الصفات الكمية qtl12.1 في برامج التربية مستقبليا . دراس Ramadan وآخرين(2015) تحليل التنوع الوراثي تحث الاجهاد الجفاف لسبعة أصناف من الرز باستخدام 46 بادئ من نوع SSRاظهرت النتائج بان ثلاث اصناف متحمله للجفاف هي Moroberekan ، Azuciena و IRAT170 وصنفين معتدلة التحمل IET1444 و Giza178وصنفين حساسة للجفاف IR64 و Giza177 كما بلغ العدد الكلي لاليلات 127اليل بين 2-6 اليل لكل موقع بمتوسط بلغ 2.76، أما محتوى تعدد الاشكال تراوحت بين 0.21 – 0.79 سجل معامل الارتباط قيم عاليا جدا بين عدد الاليلات ومحتوى تعدد الاشكال بلغ 0.93 أما التحليل العنقودي فقد قسم الاصناف الى مجموعتين وبمعامل التشابة بلغ 0.07 وان افضل بادئ يرتبط بالكشف عن صفات بتحمل الجفاف هو RM472.

بين Jungوآخرين (2014)عند دراسة التنوع الوراثي لخمسة اصناف كورية مع سبعة خطوط متحمله لجفاف باستخدام 125بادئ من نوع SSR للكشف عن صفات الحاصل تحت الجفاف اظهرت النتائج بأن 12 بادئ استطاع من تميز ثلاثة مواقع للصفات الكمية المرتبطة بالجفاف(DTY1.1, DTY2.2, DTY3.1) في صنفان من الاصناف الكورية وثلاثة من الخطوط الهندية.

لاحظ Noorzuraini و اخرون(2013) عند دراسة موقع الصفات الكمية المرتبطة بحاصل الحبوب تحت الاجهاد المائي لـ 94 تركيبا وراثيا من الرز باستخدام 119 بادئ من مؤشرات SSR منها 45 بادئ ارتبط بموقع حاصل الحبوب تحت الاجهاد المائي وان اعلى قيمة لمحتوى تعدد الاشكال كانت 0.89 كما بلغ اعلى تنوع وراثي 0.90 أما التحليل العنقودي لمعرفة مدى القرابية بين الاصناف فقط قسمت الى 7مجاميع عند استخدام 119 بادئ أما عند استخدام 45 مؤشرا فقط اعطى تسعة مجاميع .

بين Celestine وآخرين(2016)عند فحص 11صنفا من الرز و 19 السلالات المزروعة في نيجيريا لتحمل الجفاف باستخدام تقنية SSR وكانت عدد البادئات 20 بادئا، اظهرت النتائج بان العدد الكلي الاليلات بلغ 221 ،كما بلغ اعلى قيمة لمحتوى تعدد الاشكال

0.95 وبمتوسط مقدار 0.77 .كما انقسمت بالاصناف والسلالات بالتحليل العنقودي الى ستة مجاميع

2-8-1-2 التحري عن الجينات المتحملة الملوحة :

تعد مشكلة الملوحة من المشاكل الأساسية في المناطق اليابسة ومنها العراق ،وهي من اهم المخاطر الطبيعية التي تؤثر في انتاجية المحاصيل الزراعية بعد الجفاف ،وهناك مساحات كبيرة في العالم تتوفر فيها عناصر الإنتاج الزراعي ولكنها أُسقطت من قائمة الأراضي المنتجة بسبب تجمع الأملاح في التربة، و تقدر نسبة هذه الاراضي في جميع انحاء العالم 20%اي مايعادل 45 مليون هكتار تعاني من مشكلة الملوحة بدرجات مختلفة (FAO ,2010). وفي آسيا تبلغ المناطق اليابسة التي تعاني من مشكلة الملوحة 21.5 مليون هكتار، ويعتقد الباحثون ان 50% من الارضي الخصبة قد تفقد في القرن الواحد والعشرون بسبب الجفاف والري بمياة مالحة(Linh وآخرين(2012 . فملوحة التربة تفرض قيود على نمو وتطور نبات الرز مما يسبب خسائر في المحصول اكثر من 50% وان كل وحدة ملوحة زائده تخفض حاصل الرز الى اكثر من 12% (Redfern وآخرين 2012) .وان زراعة النباتات الحساسة أو محدودة التحمل للملوحة في بيئات ذات مستوى ملحي عالي يتطلب من النباتات استخدام طاقة كبيرة لتحمل أو متحمله الملوحة إلى حدود معينة للنمو في هذه البيئات مما يؤدي إلى تأثيرات فسلجية وبايوكيميائية من خلال تأثيره في زيادة الاجهاد الأزموزي والتأثير السمي للأيونات والاختلال الايوني داخل خلايا النبات (Karim، 2007)، بسبب تراكم ايونات الصوديوم والكلوريد في الخلايا، مما يسبب اضطرابات فسيولوجية كبيرة وخاصة في معدلات النمو والإنتاجية (Khan وآخرين، 2013). وان وجود فهم شامل حول كيفية استجابة النباتات على مستويات مختلفة من الإجهاد الملحي والنهج المتكامل للجمع بين الوسائل الجزيئية مع الاليات الفسيولوجية والبايوكيميائية أمر لابد منه لاستنباط نباتات تتحمل الاجهاد الملحي (Gupta و Huang، 2014). اذ اثبتت الدراسات أن استجابة النبات للإجهاد الملحي تختلف تبعاً للنوع وللجنس حتى ضمن الصنف الواحد. وتشير الدراسات إلى إن بعض النباتات تمتلك آليات تحمل الملوحة من

خلال القيام بتغيرات مختلفة جزيئية، فسيولوجية وكيموحيوية (2013) ،Ditta(Alam وآخرين، 2015).

ونظراً لأهمية هذه المشكلة وتأثيراتها السلبية المباشرة في الإنتاج الزراعي وخاصة انخفاض الإنتاجية في وحدة المساحة التي تؤثر سلباً في كميات الغذاء المنتجة لسكان العالم ، الذين هم في تزايد مستمر ولأجل الحد من تأثير هذه المشكلة فقد عمل مربو النباتات على وضع برامج بحثية تهدف إلى استنباط أصناف جديدة من المحاصيل الستراتيجية وخاصة الرز المتحملة للملوحة باستخدام طرائق التربية التقليدية والتقانات الحديثة . ومن المعروف أن اصناف الرز تظهر تباينا في تحمل الملوحة(Sabouriوآخرين 2009) وأنه قد تتحمل الملوحة نسبيا في مراحل الانبات أما في مراحل الازهار ومرحلة نشوء السنابل يكون حساس وهذه المراحل هي الاكثر ارتباطا بالمحصول(zengوآخرين 2001) لذا كان من الضروري ايجاد أوالكشف عن اصناف الرز المتحملة للملوحة واعتمادها، وبمان الطرق التقليدية في اختبار أو الكشف عن النباتات المتحملة لملوحة ليست سهلة بسبب التاثيرات البيئية الكبيرة وانخفاض قابلية التوريث .حيث ان عدد من صفات النمو المورفلوجية والفسلجية تتاثر بواسطة NaCl (Salam وآخرين (2011 بينما استخدام التقنيات الوراثة الجزيئية تكون أكثر كفاءة لانها تعتمد على مجموعة واسعة من الاساليب المبتكرة لتحسين الاستراتيجيات في تربية النبات وتطوير اصناف جديدة وأن تقنية SSR هي التقنية الأكثر فاعلية وفائدة في دراسة التنوع الوراثي ولها أثر فعال في الكشف عن الجينات تحمل الملوحة ويمكنها الكشف في كلا المرحلتين الخضرية والتكاثرية(Saqib وآخرين (2012 وان استخدام هذه التقنية فضلاً عن الطرائق التقليدية قد تساعد في الكشف عن التراكيب الوراثية المتحملة للملوحة في العديد من النباتات كالحنطة والشعير والرز . لاحظ Deepti وآخرين(2013) عند التوصيف الوراثي لتسعة عشر تركيبا وراثيا من الرز والكشف عن الجينات المتحملة للملوحة باستخدام تقنية الـ SSR-PCRاذا كان عدد البادئات 39 بادئا، لاحظ ان 26 بادئا فقط له القدرة على تحديد الجينات المتحمله للملوحة ومنها 16 بادئا تقع على كرموسوم رقم واحد ،بلغت عدد الاليلات الكلية 185اليلا بمعدل 3-11 لكل موقع وبمتوسط 7.1 اليل أما محتوى تعدد الاشكال تراوحت بين 0.50 -0.89.

بين Mehede وآخرين(2014)عند تقييم 27صنفا من الرز تحت الاجهاد الملحي في مرحلتي الابذار والانتاجية باستخدام المؤشرات المظهرية والمؤشرات الجزيئية ،اظهرت نتائج

المؤشرات الجزيئة باستخدام 3 بادئات من نوع SSR ان سبعه اصناف وراثية متحملة للملوحة وعشره اصناف كانت غير متحملة، وكانت النتائج المتفق عليها هي سته اصناف متحملة ،في كل من نتائج المؤشرات المظهرية والمؤشرات الجزيئية يمكن استخدام هذه الاصناف في برامج التربية المستقبلية. اشار Nantawan وآخرين(2011)عند تقيم التنوع الوراثي لـ 30 صنفا من الرز المتحملة للملوحة باستخدام 20 بادئا من نوع SSRتمكن من تقسيمها الى خمسة مجاميع خمسة منها متحملة للملوحة وعشرة اصناف معتدلة التحمل للملوحة وتسعة معتدلة الحساسية للملوحة واربعة حساسة واثنان جدا حساسة للملوحة وحصل على 190 اليل وتراوح محتوى تعدد الاشكال بين 0.6894-0.8947 وبلغ اعلى قيم للتنوع الوراثي 0.82 أما التحليل العنقودي فقد قسم اصناف الرز اعتمادا على القرابية الوراثية التي لاتتفق مع مستوى التحمل للملوحة ،تساعد هذه النتائج في برامج التربية المستقبلية .

2-8-2 الاجهاد اللاحيوي

2-8-2-1 التحري عن جينات المقاومة للفحة البكترية Bacterial Leaf Blight Resistance

للفحة البكترية Bacterial Leaf Blight تسبب بكتريا Xanthomonas oryzaepv.oryzae(Xoo) وهو من الامراض المدمرة على نطاق واسع (Pradhan وآخرين 2015) كما تسبب خسارة في المحصول قد تصل الى 50%اعتمادا على مرحلة النمو،وغالبا مايحدث المرض في موسم الحصاد الثاني،ولقد اصبح هذا المرض اشد خطورة بسبب تغيرات المناخ (Wang وآخرين 2013) ولاتوجد مبيدات كيميائية فعالة ضد المرض ،وان الطريقة الوحيدة لحماية المحاصيل هي استخدام الاصناف المقاومة للمرض، وحتى الان اكثر من 30 جينا مقاوم المرض تم تحديده (Dokku a-b وآخرين 2013) و Suhوآخرين (2013)و Kumar وآخرين(2014) و Pradhanوآخرين(2015) والوقاية من المرض تتطلب مراقبة مستمرة الاسمدة ،وتربية اصناف مقاومة له وتتحكم بصفة المقاومة جينات متعدده Polygenes وان اكتشاف الجينات المقاومة المرض تعتبر من اهم المجالات لبرامج التربية وتعد من البحوث الرائدة وقد تم تحديد اكثر من 40 جينا مقاوم للمرض للرز المزروع والبري، وتم تحديث اكثر من 30 جينا مقاوما في الرز المزروع احد عشر منها هي جينات متنحية (Wangوآخرين 2009)كما اشار Chen وآخرين(2011) عند التحليل الوراثي ورسم الخرائط

الجزيئية للجين المتنحي xa34(t) المقاوم لمرض الفحة البكترية الذي تصيب نبات الرز تبلغ جينات المقاومة 34 جينا منها 23 جينا سائد واحد عشر جينا متنحي .ومن جينات المقاومة الرئيسة Xa4, و xa5, Xa7, xa13, Xa21 (Perumalsamyوآخرين 2010). وان وجود احد الجينات المقاومة الرئيسة قادرة على منح صفة مقاومة دائمية للمرض مثل جين xa13و xa5 (Rajpurohit وآخرين 2010). لاحظ Siriporn وآخرين(2009) عند دراسة لجين المقاومة xa33 لمرض لفحة البكترية في الرز باستخدام تقنية SSR-pcr لـ 139 سلالة مع 12 بادئا من نوع SSR لتميز البادئات الذي ترتبط مع الجين حصل على اربعة بادئات RM30, RM7243, RM5509 , RM400 فقط تقع على كرموسوم 6 يمكنها التميز بين السلالة المقاومة والحساسة . لاحظ Mohammad وآخرين(2015)عند دراسة التنوع الوراثي باستخدام تقنية SSR وتحديد مكان الجينات الرئيسة للمقاومة مرض اللفحة البكترية استطاع من تحديد اكثر من 38 جينا مقاوما كما اكد ان المقاومة الكيميائية غير مجدية أما المقاومة الجينية للمرض فهي اهم بكثير عن طريق رزاعة الاصناف الحأوية على جينات مقاومة لمرض . بين Anilوآخرين(2015) عند دراسة تميز الجينات المقاومة لمرض اللفحة أوراق البكترية ل 35 طرازا الرز البرية باستخدام تقنية SSRوجد أن احد عشر طراز معتدل المقاومة وواحد وعشرون طرازا معتدل الحساسية وثلاثة طرز حساسة ولم يعثر على طراز مقاوم لسلالة BX043 كما تم تشخيص جينين من بين ثلاثة جينات مقاومة xa5, Xa4, and Xa2 . درس Singh وآخرين(2015) التحري عن جينات المقاومة لمرض لفحة البكترية Xa21, xa13 و xa5في اربعة وثلاثين صنفا من الرز اضهرت النتائج ان سبعة اصناف مقاومة واربعة اصناف متوسطة المقاومة وستة اصناف متوسطة الحساسية للمرض وسبعة عشر صنف حساس لمرض حيث لاحظ عدم وجود جينين المقاومة Xa21, xa13 بينما احتوى عشرون صنفا على جين xa5، ويمكن نتقل صفة المقاومة لتكيفها بشكل جيد الى الاصناف ذات الانتاجية العالية يعتبر من اهم مشاريع المختصين ببرامج التربية . لاحظ Toufique وآخرين(2015)عند دراسة التنوع الوراثي لسبعة عشر سلالة من الرز باستخدام بادئين من نوع SSR(RM122و RM390) للتحري عن جين (xa5) المقاوم لمرض لفحة البكترية اظهرت النتائج ان عدد الاليلات في البادئ RM122 كانت 7بينما عدد الاليلات في البادئ الثاني RM390 كانت عشرة اليلات أما قيمة التنوع الوراثي بلغت له 0.90 ومحتوى تعدد الاشكال بلغت 0.90 بينما

فـي البـادئ الأول RM122بلغـت 0.70 ومحتـوى تعـدد الاشـكال بلغـت 0.67 وقـد تقسـمت السلالات الى ستة مجاميع وبمعامل تشابه مقداره 0.13.وبلغت عدد سلالات المقاومة 10 .

2-8-2-2التحـري عـن جينـات المقاومـة لمـرض للفحـة الغمـد - Sheath Blight Resistance

مرض لفحة غمد الرز واحد من الامراض الاكثر تـدميرا فـي جميـع انحـاء العـالم (Khush و Jena 2009) الناجم عن فطر *Rhizoctonia solani* وهواحد انـواع الفطريـات النخرية وقد يؤدي الى خسـارة فـي المحاصـيل تصـل الـى 50% وقـد تصـل الـى 100%بسـبب الاصـناف الحساسة للمرض. وان صفة المقاومة هي صفة كمية ،وان جينات الرز من بين معظم الجينات الدفاع ضد مسببات المرض وان هذا المرض من العقبات الرئيسة لتقليل مـن الانتاجيـة، وان طرق التربية التقليدية لاتفي باغراض التخلـص مـن المـرض علـى العكـس مـن المؤشـرات الجزيئية والتحسين الوراثي في مساهمتها فـي الكشـف والقضـاء علـى المـرض ورفـع الانتاجيـة وتساعد على الحد من استعمال المبيدات . ان الجينـات الفعالـة لمقاومـة المـرض تسـتمر لبعـض سنوات فقط، بسبب تغير خطورة مسببات الممرض تغير من اجل التكيف مـع البيئـة لـذلك هنـاك حاجـة ملحـة ومسـتمرة لتوسـيع المحتـوى الـوراثي أوالتبـاين التنـوع الـوراثي للـرز وقـد يكـون الاصناف البرية من اهم المصادر للتنـوع وزيـادة الجينـات المقاومـة (Aliوآخريـن 2014) . وتختلف مستويات التعرض لمسببات المرض بيـن اصـناف الـرز لـوحظ هـذا فـي ظـل ظـروف الحقل (Jia وآخرين 2007).وان المرض يتأثر بعدة عوامل بيئية منها الضوء والرطوبة ودرجة الحـرارة ومعـدل السـماد النـتروجيني ومسـتويات السـلكا فـي التربيـة ومرحلـة النمـو واسـلوب الزراعـة (Rodrigues وآخري ن 2003). تـم تحديـد جينـات المقاومـة للمـرض مـن قبـل Jiaوآخريـن(2009) و Zuo وآخري ن (2010) و Srinivasachary و (Savary(2011 Liuوآخرين(2013) ومع ذلك فان معظـم مواقـع الصـفات الكميـة المرتبطـة بجينـات المقاومـة تفتقر الى المزيد من الادلة ضد مرض لفحة الغمد .تمكن الباحثون Eizenga وآخرين (2013) من الحصول على جينات مقاومة في صنفين برية من الرز *O. rufipogon, O. nivara*. ان

الاصناف البرية تحوي العديد من جينات المقاومة للامراض الفطرية والحشرات والاجهادات الغير حيوية (Aliوآخرين 2010) . تم تحديد العديد من مواقع الصفات الكمية المرتبطة بجينات المقاومة لمرض لفحة الغمد في العديد من السلالات النقية (Nelsonوآخرين 2012) كما تم العثور على مواقع لصفات الكمية على الجزء الاسفل لكروموسوم 9 باستخدام مؤشرات الدنا عند دراسة للتحري عن جينات المقاومة ل 13صنفا من الرز استنتج ان الجينات موجودة فقط على اربعة اصنات (Silva وآخرين 2012). لاحظ Fumioوآخرين(2013)عن التحقق من موقع الصفات الكمية للرز المقاوم لمرض لفحة الغمد ل 33 سلالة وراثية باستخدام 21 بادئ من نوع SSR ولمدة ثلاث سنوات ان ثلاث سلالات فقط تحوي الجين المقاوم لمرض لفحة الغمد فقط . بين Liu وآخرين(2009)عند التحري عن موقع الصفات الكمية المرتبطة بالمقاومة مرض لفحة غمد الرز لافراد الجيل الناتج من تهجين صنفين من الرز((Lemont يمتاز بنضج مبكر وقصير القامة ويعتبر صنف حساس للمرض من اصل ياباني تم تضريبة مع صنف 85 Jasmineالذي يمتاز بصفة طول الحبة ومقاوم لمرض لفحة الغمد وهومن اصل هندي وباستخدام تقنية SSR كانت عدد البادئات 199تم تميز عشرمن مواقع لصفات الكمية المرتبطة بجينات المقاومة تقع عل كروموسوم 1،2،3،5،6،9 وكانت افضل البادئات في تميز RM215 , RM245 يمكن استخدامها في برامج التربية المستقبلية . بين Liuوآخرين (2013) عند التحري عن موقع الصفات الكمية المرتبطة بمقاومة مرض للفحة غمد الرز لافراد الجيل الناتج من تهجين صنفين من الرز Lemont الذي يمتاز بنضج مبكر وقصير القامة ويعتبرصنف حساس لمرض من اصل ياباني تم تضريبة مع صنف 85 Jasmineالذي يمتاز بصفة طول الحبة ومقاوم لمرض لفحة الغمد وهو من اصل هندي تحت ظروف الحقل تمت الدراسة في مرحلة مبكرة من النمو الخضري باستخدام تقنية SSR بينت النتائج تميز موقع الجين qShB9-2 المرتبط بالظهار الصفة الكمية لمقاومة المرض على كرموسوم رقم 2 بواسطة البادئات RM221 و RM112. كما لاحظ Shailesh وآخرين(2015) عند استخدم تقنية SSR-PCR في التحري عن موقع الصفات الكمية المرتبطة بمقاومة مرض لفحة الغمد الرز لـ 40 تركيب وراثي من الرز منها ثمانية اصناف برية واربع سلالات وستة وعشرون صنف مزروع واثنين خطوط تربية وقد اجري تهجين بين هذه التراكيب ،ان البادئين RM336و RM205يرتبط بعلاقة وثيقة مع معظم مواقع الصفات الكمية المرتبطة بـ qshb7.3 و qshb9.2على التوالي وقد قسم النبات الى 5 مجاميع اعتماده على العلاقة بين

ارتفاع النبات ومقاومة المرض ،1-20 مقاوم للمرض ،21-30 معتدل المقاومة ،31-45 معتدل الحساسية ،46-ـ 65حساس للمرض ، 66-100 عالي الحساسية. لاحظ كل من Srinivasachary و) Savary2011) و Zuo وآخرين(2010) ان صفتي تاريخ التزهيرو تاخر النضج يرتبطان ارتباطا معنوي مع مقاومة المرض.

2-8-2-3 التحري عن جينات المقاومة لمرض brown planthopper

تتاثر انتاجية الرز سلبيا من قبل العديد من العوامل الاجهاد الحيوي وغير الحيوي يصل معدل الفقدان الى 52% من اجمال الانتاجية العالمية سنويا ويقارب 21%بسبب الاضرار الناتجة بسب هجوم الأفات الحشرية (Brookesو Barfoot،2003)ومن اهم هذة الحشرات *Nilaparvata lugens Stal*. التي تسبب مرض (brown plant hopper (BPH الذي يعتبراحد آفات الرز الاكثر تدميرا مما تسبب بخسارة كبيرة في الحاصل في جميع انحاء العالم (Krishnaiah و Varma،2012) بسبب التغدية المباشرة على النبات ولها القدرة على تدمير الحقل بفترة زمنية محددودة اذا تصبح النباتات المصابة جافة وبنية اللون بسبب استهلاكها اكثر من 28%من مجموع المادة الحافة في مرحلة الانتاجية (Yangوآخرين 2002).كما تعتبر مصدرا ناقلا لامراض الفايروسية .

منذ أوائل عام 2000 وبعد انتشار المرض بشكل كبير أولت اهمية كبيرة لتطوير فعاليات المقاومة للسيطرة الاقتصادية ضد هذه الآفة الحشرية وخاصة في جنوب شرق آسيا (Wang وآخرين 2010). وان الدراسات السابقة توكد على ان المرض يقع تحث سيطرة الجينات المتعدده polygenes وان السيطرة الجينية ضد هذا المرض هي الفعالة (Du وآخرين 2009). اذ لوحظ أن الاصناف التي تحمل جين المقاومة تعتبر مستقرة وآمنة على مدى طويل من الزمن وان مؤشرات الجزيئية هي التقنية الاقوى التي يمكن ان توفر معلومات واقعية حول مقاومة ومن خلال انشاء خريطة جينية عالية الدقة (Alsaleh وآخرين 2014).كما اصبحت الاداة المهمة في تربية النبات في السنوات الاخيرة وتستخدم الان للكشف عن الصفات قيمة في الافراد والسكان مثل صفة مقاومة الحشرات(Furbankو Tester،2011) و Miah وآخرين ، 2013) و Balta وآخرين 2014).ان المؤشرات الدنا وخاصة مؤشرات SSRتستخدم على نطاق واسع لتميز الجينات المقاومة للمرض . وان استخدام اصناف مقاومة للمرض ودراسة العلاقة الوراثية بينها والتنوع الوراثي لها تعد من اهم الطرق لمكافحة هذه الحشرة (Ram

وآخرين 2007) .بين الباحث Sai وآخرين(2013)عند دراسة التنوع الوراثي لثمانية وعشرين تركيبا وراثيا باستخدام 33 بادئ من نوع SSR مع الكشف عن جينات المقاومة للمرض brown planthopper (BPH) حصل على نتائج ان الجينات تقع على كرموسوم رقم 2،3،4،5،6،8،10،11،12 وان عدد الاليلات الكلية 155 اليل وبمعدل 4.6 اليل لكل موقع وان قيمة التنوع الوراثي تراوح بين 0.15-0.86 أما محتوى تعدد الاشكال تراوحت قيمته بين 0.13 -0.88.

لاحظ Mahmoodrezaوآخرين(2015)عند استخدامه 28 بادئا من نوع SSRلتحري عن جينات المقاومة للمرض brown planthopper ضد biotype2 ل 108 السلالات الناتجة عن تضريب الصنف Rathu Heenati مع الصنف MR276 اذ اختبر كل من الآباء والسلالات الناتجة حصل على ستة بادئات تكشف عن جينات المقاومة لكلا االجيلين الثاني والثالث.

تعتبر الاصناف البرية المصدر للجينات المقاومة فتعمل على تطوير صفة المقاومة لدى الاصناف المحلية حيث لاحظ Md وآخرين(2009)عند التحري عن جينين Bph20(t)و (Bph21(t المقاومة لمرض brown planthopper من نوع biotype 1 في الاصناف البرية باستخدام 143 بادئا وجد ان Bph20(t)يقع على الذراع القصير لكرموسوم رقم 4 أما جين Bph21(t) يقع على الذراع الطويلة لكرموسوم رقم 12 كما اجرى الباحث تضريب بين الصنف البري المقاوم مع صنف حساس من اصل ياباني Korean .استطاع (Changوآخرين 2006)عند التحري عن جين المقاومة Bph9 باستخدام تقنية SSRلاصناف الرز الهندية ان يجد موقع الجين باستخدام مؤشرات SSR يقع بين البادئ RM463و RM5341على كرموسوم رقم 12 تبعد المسافة بمقدار 6.8 cm و 9.7 cM على التوالي. استطاع Jenaو (Kim(2010 من تمييز اكثر من عشرين جينا مقاوم في الاصناف البرية والاصناف المستزرعة .ان تطور انواع جديد من الطرز البايولوجية (biotype) تؤدي الى تغلب على المقاومة الاصناف مما يهدد في انتشار المرض في حقول الرز لذا يتطلب تطوير الاصناف المقاومة وانتاج اصناف مقاومة جديد عن طريق برامج التربية (Horgan،2009) فعلى سبيل المثال صنف IR26 هو صنف تجاري مقاوم للمرض brown planthopper (BPH) من طراز biotype 1انتاج عام 1973يحمل جينا المقاوما لمرض BPH1بعد سنين قليله اصبح حساس للمرض بسبب ظهور طرز بايلوجية جديدة حيث ان طراز الحشرة البري ممكن تكيفها

مع الصنف المقاوم بعد سبعة الى عشرة اجيال . ان جين 1BPH و 2BPH فقدت مقاومتها تقريبا في الحقول بسبب ظهور طرز جديدة biotype للمرض بينما جين 3BPH و 4 BPH مازال يحتفظ بمقاومة في بعض مناطق آسيا(Fujitaوآخرين 2009و Jenaو Kim 2010) . ان المقاومة الدائمية والطويلة الأمد تعتمد على مدى قدرة تكيف المرض مع جينات المقاومة لصنف المزوع .لذا برامج التربية وتطوير الاصناف الجديدة يجب ان تاخذ هذا الامر بنظر الاعتبار اعتمادا على التقنيات الوراثية والفسلجية (Chenوآخرين 2009).

4-2-8-2 التحري عن جينات المقاومة لمرض gall midge resistance genes

حشرة (Wood-Mason) *Orseolia oryzae* هي عبارة عن نوع من الذباب تشبه البعوض، لون الانثى وردي أما الذكر فلونه بني ،تضع الانثى بيوض من 100-150 بيضة على النبات، بعد 14 يوما تفقس على شكل ديدان صغيرة تزحف الى غمد الورقة الى ان تصل الى منطقة المرستيم القمي تبداء بالتغذية حيث تعمل على تمزيق الأنسجة وامتصاص العصير الخلوي وتستمر مدة أسبوعين مما يؤدي الى فشل الأفرع على تكوين سنابل وتتحول الورقة الى شكل انبوبي بدل من شكلها الطبيعي (Bentur وآخرين 2003) كما تعرف هذه الحشرة بان لها طرز بايلوجية عديدة ، تم تحديدها في بلدان آسيا 14 طرازا ،وعشرة طرز تم تحديدها في الهند والصين كما تم تحديد طراز واحد في سيريلانكا وتايلنده (Katiyar وآخرين 2000) .

ان مقاومة النبات المضيف يعتبر أفضل إستراتيجية لمكافحة المرض gall midge وأفضل اقتصاديا وبيئيا.اذ ان استعمال المؤشرات الجزيئية اثبتت جودتها في الكشف عن جينات المقاومة لمرض gall midgeفي أصناف الرز ويمكن استخدامه كمنهاج مستمر وفعال لكشف عن الأصناف المقاومة (Dutta وآخرين 2014 و Sundaramوآخرين 2008).اذ استطاع Himabindu وآخرين(2010) من تعين جين Gm11t المقاوم لمرض gall midge على كروموسوم رقم 12 باستخدام تقنية SSR حيث استخدم 471 بادئا حصل على 56 بادئا اعطا قيم لمحتوى تعدد الإشكال مرتفع وتم رسم الخريطة بين البادئين هما RM28574 و RM28706 على بعد 4.4 و 3.8 على التوالي ،مستقبلا يمكن الاستفادة من هذة الدراسة في كلونة الجين أو انتخاب المعتمد على وجود الجين .كما أجرى Sama وآخرين(2012) دراسة عن تميز جين Gm8المقاوم للمرض gall midge في اصناف الرز الأسيوية باستخدام

مؤشرات SSR توصل الى أن هذا الجين يستطيع مقاومة خمسة طرز بايلوجية للمرض biotypes(GMB4، GMB3، GMB2، GMB1و GMB4) وتم تحديد تسعة تراكيب وراثية مقاومة لمرض gall midge تحمل الجين GM8 . اشار Dutta وآخرين (2014) الى وجود احد عشر جينا مقاوم لمرض gall midgeفي اصناف الرز ضد سبعة طرز بايلوجية. كما استطاع Sama وآخرين(2014) من تحديد جين المقاومة GM 3 على كرموسوم رقم 4 في أصناف الرز .

لذا كان من الضروري تسليط الضوء على جانب التنوع الوراثي للأصناف و التراكيب الوراثية في الرز (*Oryza sativa L.*) داخل العراق باستخدام طرق حديثة مثل مؤشرات الجزيئية ومنها تقانة SSR لتمييز الاختلاف وتعيينها بين الأصناف أو التراكيب ليتسنى تشخيصها، وتحديد البصمة الوراثية الخاصة بكل صنف للاستفادة منها في مختلف المجالات اذا تعد الدراسات الاولى من نوعها داخل العراق .

3. المواد وطرائق العمل

3. 1. المواد الكيميائية Chemicals Materials

استعلمت المواد الكيميائية المثبتة في جدول 1.

جدول (1) المواد الكيميائية المستعملة في هذه الدراسة.

ت	المواد الكيميائية	المنشأ	الشركة المصنعة
1	آكاروز Agarose	Canada	BHD
2	ماء مقطر منزوع الايونات Deionized Distilled Water	USA	Sigma
3	كحول الايثانول Ethanol	UK	GCC
4	صبغة بروميد الاثيديوم Ethidium Bromide stain	USA	Siga
5	النتروجين السائل Liquid nitrogen	العراق	محلي
6	دارئ TBE	USA	Promega
7	دارئ TE	USA	Promega
8	صبغة بروموفينول الزرقاء Bromophenol Blue(BPB)	UK	Sigma
9	الدليل الحجمي Molecular Weight marker	UK	Bionear

3. 2.الأجهزة والمعدات المختبرية Laboratory Equipments and Apparatus

استعملت الأجهزة والمعدات المختبرية المثبتة في جدول 2

جدول(2) الأجهزة والمعدات المختبرية المستعملة في هذه الدراسة.

ت	المعدات	المنشا	الشركة المصنعة
1	الموصدة Autoclave	Japan	Sony
2	كاميرا رقمية Digital camera	Japan	CYAN-Cypress
3	انابيب ابندروف Eppendrof tubes	Belgium	BioBasic Inc.
4	ورق ترشيح Filter paper	Korea	BioBasic Inc.

5	مجمدة Freezer	Lebanon	Concord
6	نظام تصوير الهلام Gel documentation system	UK	Cleaver Scientific
7	جهاز الترحيل الكهربائي الافقي Horizontal Gel electrophoresis	Korea	Joagene Bioscience
8	حاوية النتروجين السائل Liquid Nitrogen container	USA	Native Industrialization
9	جهاز الطرد المركزي Microcentrifuge	Germany	Witeg
10	أطراف الماصة الدقيقة (كل الاحجام) Micropipette tips(all size)	Germany	Hettich
11	الماصة الدقيقة (كل الاحجام)(Micropipettes (all size	Germany	Slamed
12	جهاز البلمرة الحراري Thermo cycler	UK	Native Industrialization
13	Bio Drop	England	Cleaver Scientific
14	جهاز الأشعة فوق البنفسجية UV- Transilluminator	UK	LAB- LINE
15	محرك مغناطيسي Vortex mixer	USA	Tomy
16	حجرة التعقيم Hood chamber	Iraq	Native Industrialization
17	ميزان حساس Sensitive balance	Germany	Sartorius

3.3 .طرئق العمل Methods

3. 1.3 جمع النماذج النباتية Collection of plant samples

جمعت العينات بالتعاون مع محطة أبحاث الرز في المشخاب / محافظة النجف ، لاحد عشرصنفا معتمدا من قبل وزارة الزراعة والشركة العامة لتصديق الحبوب مع خمسة أصناف مدخلة (اربعة منها مدخلة من فيتنام وصنف مدخل من تايلند) وهي في طور الاعتماد, وجميعها يجري إكثارها ذاتيا داخل المحطة الابحاث ضمن خطة وزارة الزراعة في العراق . وكما مبين في جدول **رقم 3.**

جدول(3) الأصناف والتراكيب الوراثية المدروسة مع مصدرها واصل نشوئها.

ت	اسم التركيب الوراثي	المصدر Source	أصل النشوء Pedigree
1	اباء 1	محطة أبحاث الرز في المشخاب	فيتنام /أجريت عليه بعض التحسينات داخل مركز اباء – تحمل ملوحة
2	عنبر البركة	محطة أبحاث الرز في المشخاب	هندي
3	فرات 1	محطة أبحاث الرز في المشخاب	تايلندي– المعهد ابحاث الرز العالمي Research International Rice Institute (irri)
4	غدير	محطة أبحاث الرز في المشخاب	فيتنام - المعهد ابحاث الرز العالمي

			Research International Rice Institute (irri)
5	برنامج 4	محطة أبحاث الرز في المشخاب	المعهد ابحاث الرز العالمي Research International Rice Institute (irri)
6	ياسمين	محطة أبحاث الرز في المشخاب	فيتنام
7	بحوث 1	محطة أبحاث الرز في المشخاب	تركي
8	عنبر 33	محطة أبحاث الرز في المشخاب	صنف محلي قديم
9	دجلة	محطة أبحاث الرز في المشخاب	صيني
10	مشخاب 2	محطة أبحاث الرز في المشخاب	صنف محلي-ادخل من معهد ابحاث الرز العالمي /وهو صنف يتحمل الجفاف Research International Rice Institute (irri)
11	مشخاب 1	محطة أبحاث الرز في المشخاب	صنف محلي –ادخل من معهد ابحاث الرز العالمي Research International Rice Institute (irri)
1	التركيب الوراثي الاول	محطة أبحاث الرز في المشخاب	فلبين / معهد ابحاث الرز العالمي Research International Rice Institute (irri)
2	التركيب الوراثي الثاني	محطة أبحاث الرز في المشخاب	فلبين /معهد ابحاث الرز العالمي Research International Rice Institute (irri)
3	التركيب الوراثي الثالث	محطة أبحاث الرز في المشخاب	فلبين / معهد ابحاث الرز العالمي Research International Rice Institute (irri)
4	التركيب الوراثي الرابع	محطة أبحاث الرز في المشخاب	فلبين /معهد ابحاث الرز العالمي Research International Rice Institute (irri)
5	التركيب الوراثي الخامس	محطة أبحاث الرز في المشخاب	تايلندي-معهد ابحاث الرز العالمي Research International Rice Institute (irri)

تم عزل الدنا من الأوراق بعد 25 يوما من الزراعة حسب طريقة Saghai-Maroof وآخرين(1984).طبقا لخطوات العزل المرفقة بعدة الاستخلاص Protocol Genomic DNA plant kit المجهزة من شركة Geneaid ،بعدها استخدم جهاز bio drop لقياس تركيز الدنا اذ تعد خطوة مهمة من ضمن خطوات استخلاص الدنا من النبات (Sambrookوآخرون 1989).

3 .3 .2. الصفات المظهرية المدروسة

ارتفاع النبات بـ (سم) تم قياس عشر نباتات عشوائية عند النضج الفسلجي ،قياس طول الدالية تم من خلال قياس عشر داليات عشوائية عند النضج الفسلجي ،وزن 1000 حبة بالغرام تم وزن 1000 حبة بالميزان الكهربائي الحساس لعشر نباتات عشوائية ، حاصل الحبوب كغم /دونم حصد

خطان محروسان من كل تركيب وراثي وتم وزنه ،عمر النبات بحساب عدد الايام من الزراعة الى النضج الفسيولوجي.

3. 3. 3. الدراسة الجزيئية Molecular study

3-4-2-1. البادئات Primers

جهزت البادئات المعتمدة في هذه الدراسة من قبل شركة Bioneer في شكل مجفد Lyophilized وكان عددها 35 بادئا، وتم تحضيرها باستعمال دارئ TE للحصول على التركيز النهائي (المحلول الأصلي) 100 بيكومول/ مايكروليتر، ومن هذا المحلول تم تحضير البادئ الذي يستعمل في تفاعل البلمرة بتركيز 10 بيكومول/ مايكروليتر. جدول رقم 4 .

جدول(4) أسم البادئ وتسلسل النيوكليوتيدات.

ت	اسم البادئ	Traita ssociat ed /QTL	رقم الكر مو سوم	Repeat motif	تسلسل النيوكليوتيدات (5'→ 3')	المصدر
1	RM8094	Saltol1-1	1	(AT)31	Forward : AAGTTTGTACACATCGTATACA Reverse: CGCGACCAGTACTACTACTA	(M. R. Islamوآخرون2011)
2	RM3412	Salt Tol	1	(TA)34	Forward :AAAGCAGGTTTTCCTCCTCC Reverse: CCCATGTGCAATGTGTCTTC	(M. R. Islamوآخرون2011)
3	RM25	Saltol8-1	8	(GA)18	Forward : GGAAAGAATGATCTTTTCATGG Reverse: CTACCATCAAAACCAATGTTC	(M. R. Islamوآخرون2011)
4	RM25519	Saltol10-1	10	(TA)42	Forward GGTGATTAATTACTGGTCGGAAGG Reverse: GCTGGTTTGATCGGAATTACAGG	(M. R. Islamوآخرون2011)
5	RM10772	SalT	1	(CTT)16	Forward : GCACACCATGCAAATCAATGC Reverse: CAGAAACCTCATCTCCACCTTCC	(Mehedeوآخرون 2014)
6	RM336	SalT	7	(CTT)18	Forward :CTTACAGAGAAACGGCATCG Reverse: GCTGGTTTGTTTCAGGTTCG	(Md وآخرون 2015)
7	RM296	SalT	9	(GA)10	Forward : CACATGGCACCAACCTCC Reverse: GCCAAGTCATTCACTACTCTGG	(Mehede وآخرون 2014)
8	RM510	SalT	6	(GA)15	Forward : AACCGGATTAGTTTCTCGCC Reverse: TGAGGACGACGAGCAGATTC	(Md وآخرون 2015)
9	RM585	SalT	6	(TC)45	Forward :CAGTCTTGCTCCGTTTGTTG Reverse: CTGTGACTGACTTGGTCATAGG	(Md وآخرون 2015)
10	RM341	SalT	2	(CTT)20	Forward : CAAGAAACCTCAATCCGAGC Reverse: CTCCTCCCGATCCCAATC	(harathkumar وآخرون) (2014
11	RM201	*qDTY1*	9	(CT)17	Forward : CTCGTTTATTACCTACAGTACC Reverse: CTACCTCCTTTCTAGACCGATA	(Kanbar و Shashidhar (2011
12	RM212	qDTY1.2	1	(CT)24	Forward :CCACTTTCAGCTACTACCAG Reverse: CACCCATTTGTCTCTCATTATG	(Swamy وآخرون 2011)
13	RM302	*qDTY1*	1	(GT)30(AT)8	Forward : TCATGTCATCTACCATCACAC Reverse: ATGGAGAAGATGGAATACTTGC	(Salunkheوآخرون (2011
14	RM3825	qDTY1.2	1	(GA)21	Forward :AAAGCCCCCAAAAGCAGTAC Reverse: GTGAAACTCTGGGGTGTTCG	(Salunke وآخرون 2011)
15	RM8085	*qDTY1*	1	(AG)26	Forward : TGCGTTTCGATTTCTTTTTA	(Salunkhe وآخرون

					Reverse: GGAAAGTTGTGTTCTTTGGC	(2011
16	RM278	*qDTY1*	9	(GA)17	Forward : GTAGTGAGCCTAACAATAATC Reverse: TCAACTCAGCATCTCTGTCC	(Qu وآخرون 2008)
17	RM315	*qDTY1.1*	1	(AT)4(GT)10	Forward : GAGGTACTTCCTCCGTTTCAC Reverse: AGTCAGCTCACTGTGCAGTG	(Vikramوآخرون 2010)
18	RM259	*qDTY1*	1	(CT)17	Forward : TGGAGTTTGAGAGGAGGG Reverse: CTTGTTGCATGGTGCCATGT	(Liوآخرون2009)
19	RM236	*qDTY1*	2	(CT)18	Forward :GCGCTGGTGGAAAATGAG Reverse: GGCATCCCTCTTTGATTCCTC	(Brondaniوآخرون2002)
20	RM3339	*qDTY1*	11	(CT)15	Forward : TGCTGCTCGTCTCCATGG Reverse: GAAACCAACGAGCAAACGG	(Jiangboوآخرون2012)
21	RM122	BLB X5	5	(GA)7A(GA)2A(GA)11	Forward :GAAGGAGGTATGCCTTTGTTGGAC Reverse: GAGTCGATGTAATGTCATCAGTGC	(Toufiqueوآخرون 2015)
22	RM3907	BLB X5	5	(GT)20	Forward :CGTCAATGGGGTAGGTCTTG Reverse: GGAGGCCAAGGAAGAGGTAG	(Toufiqueوآخرون 2015)
23	RM21	BLB X13	11	(GA)18	Forward :ACAGTATTCCGTAGGCACGG Reverse: GCTCCATGAGGGTGGTAGAG	(Nguyen وNguyen, 2004)
24	RM190	BLB X13	6	(AT)38	Forward : CTTTGTCTATCTCAAGACAC Reverse: TTGCAGATGTTCTTCCTGATG	(Nguyen وNguyen, 2004)
25	RM224	SBh qSBR1	11	(AAG)8(AG)13	Forward :ATCGATCGATCTTCACGAGG Reverse: TGCTATAAAAGGCATTCGGG	(Channamaوآخرون 2010)
26	RM7443	ShB	11	(GTTT)7	Forward :ACACTGTACACCACACTTCAGC Reverse: CAGGGAAATGACACTGTCCC	(Channamaوآخرون2010)
27	RM205	qshb9.2	9	CT)25	Forward : CTGGTTCTGTATGGGAGCAG Reverse: CTGGCCCTTCACGTTTCAGTG	(Yadavوآخرون2015.)
28	RM23956	Gm1	9	(AT)30	Forward :GTCTCTCCCTCTCTCATCTTGTCG Reverse: CCCTATTCATGTGCAATGGAACC	(2007,Sundaram)
29	RM547	Gm4	8	(ATT)19	Forward :TAGGTTGGCAGACCTTTTCG Reverse: GTCAAGATCATCCTCGTAGCG	(Arundathi وآخرون2010)
30	RM28574	Gm11	12	(AG)29	Forward :TAGTTTGGTGAAGTGGCATTGG Reverse:ATAGTAGGGCAAGGATTCAGAAGAGG	(Himabinduوآخرون2010)
31	RM589	Bph3	6	(GT)24	Forward :ATCATGGTCGGTGGCTTAAC Reverse: CAGGTTCCAACCAGACACTG	(Jairinوآخرون2007)
32	RM8213	Bph3-4	4	(TC)10	Forward :AGCCCAGTGATACAAAGATG Reverse: GCGAGGAGATACCAAGAAAG	(Sunوآخرون 2005)
33	RM335	Bph12(t)	4	(CTT)25	Forward :GTACACACCCACATCGAGAAG Reverse: GCTCTATGCGAGTATCCATGG	(Yangوآخرون2002)
34	RM5479	,Bph26	12	(TC)21	Forward AACTCCTGATGCCTCCTAAG Reverse: TCCATAGAAACAATTTGTGC	(Myintوآخرون2012)
35	RM119	Bph6	4	(GTC)6	Forward : CATCCCCCTGCTGCTGCTGCTG Reverse: CGCCGGATGTGTGGGACTAGCG	(Qiuوآخرون2010)

2-2-4-3 . خليط التفاعل: Reaction Mixture (Master Mix)

جهز خليط التفاعل الرئيسي Master mix من قبل شركة Bioneer في أنابيب خاصة معقمة وتحتوي كل أنبوبة المكونات التالية وبالتراكيز المبينة إزاء كل مادة،

جدول (5) مكونات خليط التفاعل الرئيسى Master mix**.**

المكونات Component	حجم التفاعل Reaction size (20µl reaction)
DNA polymerase	1Unit

250 µM	Each: dNTP (dATP,dCTP,dGTP,dTTP)
10 mM	Tris-HCl (pH 9.0)
30 mM	KCl
1.5 mM	$MgCl_2$
5 µM	Stabilizer and tracking dye

3-4-2-3 . الدليل الحجمي للـ DNA Molecular Size of Markers DNA

جهز الدليل الحجمي المستعمل في هذه الدراسة من قبل شـركة Bioneer - USA بـتركيـز 150 ng/$\mu\ell$ ، وبحجم 250 مايكروليتر ومدى يتراوح من 25 - 2000 زوج قاعدي (17 حزمة)، جدول 6.

جدول (5)وصف الدليل الحجمي للـ DNA.

دليل DNA	الوصف
100 bp Plus DNA Ladder	17 حزمة 25 – 50 – 75 – 100 – 125 – 150 – 175 – 200 – 300 – 400 – 500 – 600 – 700 – 800 – 900 – 1000 – 2000 زوج قاعدي تظهر الحزم كافة بكثافة متساوية ما عدا الحزم 500،150 ، 1000 ، 2000 bp تكون أكثر شدة وتألق

3-4-2-4. عزل الـ DNA من النماذج النباتية DNA Isolation from Plant Samples

تم عزل الـ DNA من أوراق نباتات الرز المعتمدة في الدراسة باستعمال عدة استخلاص جاهزة Kit مجهزة من شركة Geneaid، للحصول على DNA نقي من الأنسجة النباتية وكما موضحة في الخطوات التالية:

1. أخذ 25 ملغم من الأوراق النباتية الجافة ووضعها في هاون خزفي وسحقها بالنتروجين السائل من خلال إضافته حوالي 4 – 5 مرات إلى أن تصبح بشكل مسحوق ناعم (powder).
2. نقل مسحوق الأوراق إلى أنبوبة ابندروف.
3. أضيف 400 µl من دارئ GP1 buffer أو دارئ GPX1 buffer من إلى العينة ومزج الخليط بواسطة الهزاز.
4. حضن الخليط بدرجة حرارة 60 مئوية لمدة 10 دقائق. وخلال هذه الفترة تقلب الأنبوبة كل خمس دقائق. في نفس الوقت يوضع 100 µl من دارئ الشطف Elution buffer في أنبوبة ابندروف ووضعها في الحمام المائي لغرض استخدامها في الخطوة الأخيرة من الاستخلاص.
5. أضيف 100 µl من دارئ GP2 buffer ومزج بواسطة الهزاز وحضن في الثلج لمدة 3 دقائق.
6. وضع عمود التصفية Filter column في 2 ml انابيب الجمع collection tube.
7. نقل المزيج إلى انابيب عمود التصفية Filter column ونبذ لمدة دقيقة وبسرعة 1000 xg.
8. استبعد عمود التصفية Filter column ونقل العالق في انابيب الجمع collection tube إلى أنبوبة ابندروف جديدة.
9. أضيف 1.5 من حجم GP3 buffer (المحتوي على الأيزوبروبانول) للخليط ومزج بالهزاز لمدة 5 ثواني. (مثلا 750 µl GP3 buffer إلى 500 µl من الخليط).
10. وضع عمود GD column في 2 ml انابيب الجمع collection tube.
11. نقل 700 µl من المزيج (والمحتوي على أي راسب) إلى عمود GD column.
12. نبذ بسرعة 16000 xg – 14000 ولمدة 2 دقيقة.
13. استبعد المتدفق في 2 ml انابيب الجمع collection tube وأضيف المتبقي من الخليط إلى عمود GD column و نبذ بسرعة 16000 xg – 14000 ولمدة 2 دقيقة.

14. استبعد المتدفق ووضع عمود GD column في 2 ml انابيب الجمع collection tube.
15. أضيف 400 µl من W1 buffer إلى عمود GD column ونبذ بسرعة 14000 – 16000 xg ولمدة 30 ثانية.
16. استبعد المتدفق ووضع عمود GD column مرة أخرى في 2 ml انابيب الجمع collection tube.
17. أضيف 600 µl مندارئ الغشل Wash buffer (المحتوي على الايثانول) إلى عمود GD column.
18. نبذ بسرعة 16000 xg – 14000 ولمدة 30 ثانية.
19. استبعد المتدفق ووضع عمود GD column مرة أخرى في 2 ml انابيب الجمع collection tube.
20. نبذ مرة أخرى ولمدة 3 دقائق وبسرعة 16000 xg – 14000 لجفاف أرضية العمود.
21. (الخطوة الاختيارية) أضيف 400 µl من الأيثانول المطلق إلى عمود GD column.
22. نبذ بسرعة 16000 xg – 14000 ولمدة 30 ثانية.
23. استبعد المتدفق ووضع عمود GD column مرة أخرى في 2 ml انابيب الجمع collection tube.
24. نبذ مرة أخرى ولمدة 3 دقائق وبسرعة 16000 xg – 14000 لجفاف أرضية العمود.
25. نقل عمود GD column الجاف إلى أنبوبة ابندروف جديدة.
26. أضيف 100 µl من دارئ Elution buffer (الساخن) إلى مركز أرضية العمود.
27. ترك جانبا لمدة 3 – 5 دقائق لكي يمتص دارئ Elution buffer من قبل أرضية العمود.

نبذ بسرعة 16000 xg – 14000 ولمدة 30 ثانية.

3-4-2-5. الترحيل الكهربائي على هلام الاكاروز: Agarose Gel Electrophoresis

أجري الترحيل الكهربائي وفقا ل Sambrook و Russel (2001) كما يلي:

1. تم إعداد لوح التحميل باستخدام لوح زجاجي إذ تحاط حافات اللوح بشريط لاصق قوي ويثبت عليه المشط الخاص لتكوين الحفر عند احد أطراف الهلام.
2. حضر هلام الاكاروز بتركيز 1.5٪ عن طريق إذابة 1.5 غم من الاكاروز في 10 مل من دارئ 10x TBE وثم يكمل إلى 100 مل من الماء المقطر.
3. سخن الخليط في فرن الميكروويف حتى يذاب كل مسحوق الاكاروز، ونخرج المحلول من الميكروويف قبل وصوله إلى مرحلة الغليان.
4. ترك الهلام ليبرد إلى 65 مئوية.
5. أضيف 3 مايكروليتر من محلول بروميد الاثيديوم (10 ملغم/ مل) بعد أن يبرد الخليط، يخلط بلطف.
6. سكب الهلام ببطء في حوض الهلام، وتجنب تكون أي فقاعات في الهلام لذا يجب إزالتها وتركه لمدة تصل من 20 إلى 30 دقيقة.
7. رفع المشط والشريط اللاصق بهدوء من الاكاروز المتصلب وثبتت الصفيحة على مسندها في وحدة الترحيل الكهربائي الأفقية المتمثلة بالحوض المستعمل للترحيل الكهربائي وملء الحوض بدارئ TBE بحيث يغطي سطح الهلام.
8. تم إضافة 5 مايكروليتر من الدليل الحجمي DNA Ladder في أول حفرة. واستعمل هذا لمعرفة حجم قطع DNA المفصولة.

9. وضع 8 مايكروليتر من عينة DNA على غطاء شمعي مطاط Parafilm، ويخلط مع 2 مايكروليتر من صبغة التحميل (برومفينول الزرقاء) ، ويخلط جيدا باستخدام ماصة دقيقة.
10. بعد ذلك إغلاق جهاز الترحيل الكهربائي ومرر التيار الكهربائي بمقدار 70 فولت ،من 45 دقيقة الى ساعة .
11. فحص الهلام باستعمال مصدر للأشعة فوق البنفسجية UV transilluminator عند طول موجي (240، 366 نانوميتر)، صور بعدها الهلام.

6-2-4-3 . تفاعل البلمرة المتسلسل Polymerase Chain Reaction

إذ تم تطبيق المؤشر الجزيئي المعتمد في هذه الدراسة SSR من خلال تقنية PCR وفق الخطوات التالية:

1. أجري العمل بارتداء القفازات وفي حجرة التعقيم Hood مع حفظ المحاليل كافة على الثلج.
2. أضيفت 10 مايكروليتر من قالب DNA، 2.5 مايكروليتر من كل بادئ،13 مايكروليتر ماء مقطر منزوع الايونات إلى أنبوبة التفاعل الرئيسي Master Reaction الجاهزة ليصل حجم المحلول 33 مايكروليتر.
3. ثم وضعت في جهاز المبلمر الحراري Thermocycler على برنامج خاص بالبادئات وكما يلي:

البادئ	الخطوة	درجة الحرارة	الوقت
جميع البادئات اعتمدت هذا البرنامج	Initial Denaturation	95C°	5 min
	No. of Cycles = 35 Cycles		
	Denaturation	95C°	30S
	Annealing	55C°	30S
	Extension	72C°	1 min
	Final Extension	72C°	5 min

بعد انتهاء وقت التفاعل رفعت الأنابيب من PCRوتم سحب 10 مايكروليتر من الأنابيب وتحميلها بحفر هُلام الآكاروز المحضر مسبقاً بتركيز 1.5%, مع تحميل الدليل الحجمي DNA ladder على أحد الجوانب. ثم رحلت العينات وذلك بتشغيل جهاز الترحيل الكهربائي gel

Electrophoresis لمدة ساعة واحدة. بعدها تعريض الهلام للأشعة فوق البنفسجية على جهاز الـ Gel documentation system للتصوير.

5-3 . تحليل البيانات Data Analysis

باستخدام uvband تم معرفة عدد الحزم المتضاعفة وأوزانها الجزيئية وبعدها تم تحويل بيانات التوصيف Characterization data يدويا إلى جداول تبين وجود الحزمة عن عدمها لكل عينة من العينات المدروسة وذلك بوضع 1 عن وجود الحزمة و0 عند غيابها.

اولا: تم حساب عدد الاليلات واعلى تكرار للاليل ومتباينة الزيجة Heterozygosity ومحتوى التعدد الشكليPolymorphism Information Content (PIC) والتنوع الوراثي بأستعمال جهاز الحاسوب الالي وفق البرنامج الاحصائي Power Marker V3.25 (LiuوMuse، 2005). وحسب معادلات التالية :

$$PIC_l = 1 - \sum_{i=1}^{n} p_{il}^2$$

PIC=محتوى التعدد الشكلي Polymorphism information content

Pil=تكرار ارليلات

I= الاليلات لكل بادئ

N= عدد الاليلات الكلي

إما متباينة الزيجة Heterozygosity يمكن حسابها بالمعادلة التالية

He = 1 – Σ pi2

Σ pi مجموع التكرارات الاليلية للبادئات

ثانيا: تم حساب معامل البعد الو ا رثي وكذلك معامل التشابه للأصناف والتراكيب الوراثية المدروسة استنادا الى معادلة Nei's 73 (Nei وLi،1979) باستعمال جهاز الحاسوب الآلي وفق البرنامج الاحصائيPower Marker V3.25 (Liu وMuse، 2005) وكما موضح في المعادلة الاتية :

$$GD_{XY} = 1 - (\frac{2N_{XY}}{[N_X + N_Y]})$$

Similarity = 2nxy / nx + ny

إذ إنَّ

Similarity= التشابة

Genetic Distance =البعد الوراثي

n x y= تمثل عدد الحزم المشتركة بين الانموذجين y و x التي تمثل أياً من التراكيب قيد الدراسة.

n x= عدد الحزم الكلية في الانموذج x

n y= عدد الحزم الكلية في الانموذج y

ثالثا: ثم أجري التحميل العنقودي Cluster analysis لرسم مخططDendrograme ما بين المدخلات باستخدام طريقة Unweighted Per Group Method Arithmetic (UPGMA) يعتمد على معامل البعد الوراثي والتكرار الاليلي بجمع الأفراد المتشابهة جداً في مجموعة واحدة ثم ترتبط المجاميع المتشابهة معاً وهكذا الى ان يتم ادخال كل العينات المدروسة بمجموعة واحدة باستعمال جهاز الحاسوب الالي وفق البرنامج الاحصائيPower Marker V3.25 (Liu و Muse، 2005) وكما موضح في المعادلة الاتية :

GD= 1- [2×(Nij / Ni + Nj)]

إذ أن Nij : تمثل عدد الحزم المشتركة بين الأنموذج j,i .

Ni : تمثل عدد الحزم في الأنموذج i .

Nj : تمثل عدد الحزم في الأنموذج j

اما حساب النسبة المئوية لكفاءة البادئات المستخدمة =العدد الكلي لحزم البادىء / العدد الكلي لحزم جميع البادئات ×100

رابعا :تم التحليل الإحصائي للصفات الخضرية باستخدام برنامج(SPSS النسخة 19)، ثبتت النتائج على النحو متوسط ± الخطا القياسي. لدراسة التباينات للصفات الكمية للاصناف والتراكيب الوراثية باستخدام اختبارANOVA . القيم المعنوية $P \leq 0.05$.

4-1 تحليل التنوع بواسطة المؤشرات المظهرية

أجريت تجربة حقلية خلال موسم النمو 2015- 2016 بمحطة أبحاث الرز في المشخاب / محافظة النجف ، وقد تم تسجيل بعض الصفات المظهرية للتراكيب الوراثية (ارتفاع النبات، طول الدالية، عمر النبات ، وزن ألف حبة و وزن الحاصل) أوضحت نتائج تحليل التباين وجود اختلافات معنوية في الصفات بشكل كبير لجميع الأصناف والتراكيب الوراثية ، اذ تراوح متوسط ارتفاع النباتات بين 70-145سم سجل كل من صنف إباء وعنبر 33 أعلى متوسط لارتفاع النباتات بلغ 145سم أما أقل متوسط ارتفاع سجله الصنف بحوث1 بلغ 70سم جدول رقم (7) وتعتبر صفة ارتفاع النبات من الصفات الأساسية التي تقع تحت تأثير السيطرة الوراثية كما تتأثر بعوامل بيئية وتتفق هذه الدراسة معSanjay وآخرين (2014) الذي لاحظ اختلاف بطول النبات بين الأصناف في المراحل الخضرية . كما اختلفت الأصناف والتراكيب الوراثية بصفة وزن ألف حبة إذ تراوح متوسط وزن ألف حبة بين 16-30 غم، سجل الصنف بحوث1 أعلى متوسط لصفة وزن إلف حبة أما التركيب الوراثي الرابع فسجل اقل متوسط جدول رقم (7) تتفق مع دراسة Isratوآخرين (2014)، كما تباين متوسط عمر النبات إذ تراوح بين 100-150يوما سجل الصنف مشخاب1 أعلى متوسط أما اقل متوسط للعمر النبات سجله الصنف بحوث1 ، كما تشابه كل من صنف عنبر البركة وغدير وياسمين والتركيب الوراثي الثاني والخامس بنفس المتوسط عمر النبات بلغ 130يوما كما تشابه كل من صنف فرات ودجلة والتركيب الوراثي الأول بنفس المتوسط لعمر النبات بلغ 135 يوما .تباينت قيم متوسط طول الداليا بين 17- 30 سم إذ سجل الصنف اباء1 أعلى متوسط لطول الدالية أما أقل متوسط سجل من قبل الصنف بحوث1جدول رقم (7)تتفق مع دراسةSohrabi وآخرين (2012) . كما تباينت متوسطات وزن الحاصل بشكل كبير بين الاصناف و التراكيب الوراثية إذ تراوح بين850-1800 كغم/ الدونم سجل كل من الصنف فرات1 وياسمين ودجلة ومشخاب1 أعلى متوسط لوزن الحاصل أما اقل متوسط سجله الصنف بحوث1 جدول رقم (7) تتفق مع دراسات الباحث Choudhury وآخرين(2014) ، إن الاختلاف بالصفات المظهرية ترجع إلى التباين في العوامل الوراثية وتأثير العوامل البيئية وان استخدام الصفات الكمية تعتبر تقنية بسيطة لقياس الاختلاف الوراثي تحث تأثير بيئة تخدم مربي النبات بالنسبة للصفات المرتبطة بلأنتاجية ولكن عدم وجود معرفة تداخل العلاقات بين مختلف الصفات من جهة وتأثرها بعوامل بيئية من جهة أخرى قد تعطي نتائجا ضعيفه لذا يفضل تقدير التنوع الوراثي باستخدام الصفات المظهرية مع المؤشرات الجزيئية لنحصل على مستويات أعلى من تعدد الإشكال ونتخلص من تأثير البيئة (Ahmad وآخرين 2011) و(Israt وآخرين 2014)

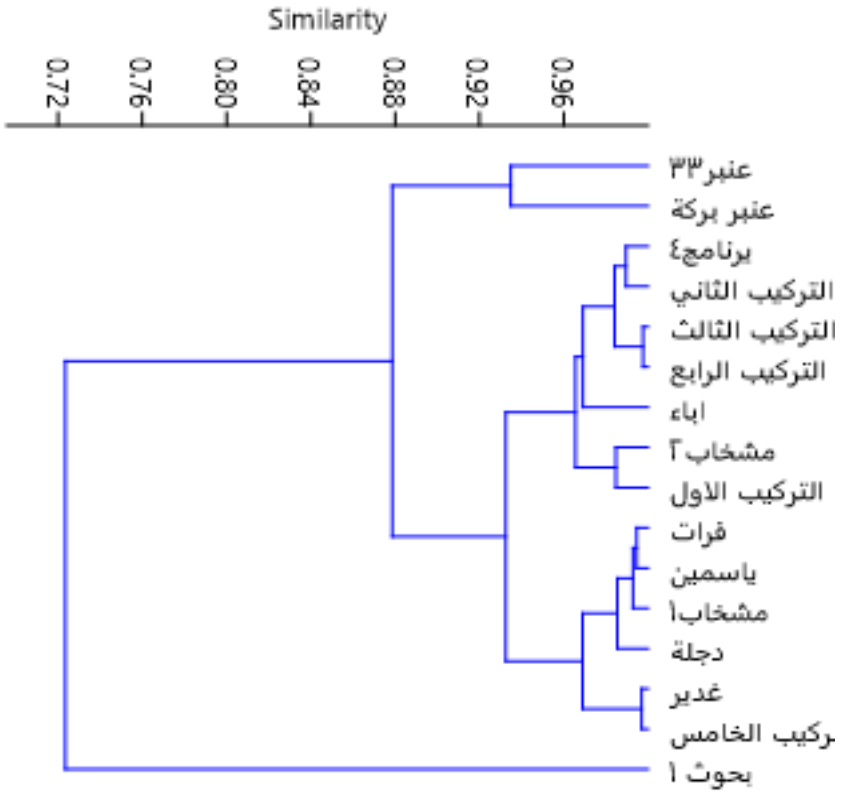
جدول رقم (7) التباين بين الأصناف والتراكيب الوراثية باستعمال المؤشرات المظهرية

Means ±Std. Error الأصناف والتراكيب الوراثية																
	اباء	عنبر البركة	فرات 1	غدير	برنامج4	ياسمين	بحوث1	عنبر33	دجلة	مشخاب2	مشخاب1	تركيب وراثي الاول	تركيب الوراثي الثاني	التركيب الوراثي الثالث	التركيب الوراثي الرابع	التركيب الوراثي الخامس
Plant height(cm)	145.00±2.08 a	90.67+2.33 b	80.00±3.05 c	90.00±1.15 b	79.00±2.08 c	90.00±2.51 b	70.00±1.52 d	145.00±1.00 a	135.00±2.08 a	85.00±0.57 cef	87.00±1.00 bef	135.00±2.51 a	87.00±0.57 bef	87.00±1.15 bef	86.00±1.52 cef	90.00±0.57 b
plant age(day)	±1.00 145.00 a	±1.15130.00 b	±2.08 135.00 c	±2.51 130.00 b	±2.08 125.00 d	±1.15 130.00 b	±1.15 100.00 e	±1.73140.00 f	±1.15135.00 c	±1.73135.00 c	±1.73150.00 g	±1.45135.00 c	±1.15130.00 b	±1.15127.00 d	±0.57125.00 d	±1.154 130.00 b
grain yield gm	±23.09 1500 a	±11.541200 b	±17.32 1800 c	±26.261699 d	±27.62 1555 d	±5.771800 c	±6.00 853.33 e	±284.801333 b	±14.431800 c	±22.001603 d	±22.571803 c	±30.591600 d	±8.811533.3 f	±57.731500 f	±23.111502 f	±16.251703 c
panicles length(cm)	±1.1530.00 a	±0.5728.00 a	±0.5725.0 b	±1.1526.0 b	±1.11522.0 c	±1.7323.0 c	±0.5717.0 e	±1.7328.00 a	±0.5726.00 b	±0.0024.00 c	±0.5725.00 b	±1.1523.00 c	±0.5723.00 c	±0.5721.00 f	±0.8823.00 c	±0.5721.00 f
wof thousand grain (gm)	±0.5722.00 a	±0.5727.00 b	±1.1524.0 c	±0.5721.0 d	±1.1521.0 d	±1.1519.0 f	±1.1530.0 e	±1.1520.00 f	±0.0024.00 c	±0.5722.00 a	±0.5722.00 a	±0.5725.00 g	±0.5723.00 a	±0.5717.00 h	±1.1516.00 h	±0.5734.00 k

the results were expressed as Means ±Std. Error. Statistical analysis for the significance of differences of the quantitative data was done by using ANOVA test for more than two independent means. P-values ≤ 0.05 were considered statistically significant. L.S.D.5%

تم التحليل الإحصائي باستخدام برنامج(SPSS النسخة 19)، تبتت النتائج على النحو متوسط ± الخطا القياسي. لدراسة الاختلافات في البيانات الكمية لتراكيب الوراثية باستخدام اختبارANOVA . القيم المعنوية P ≤ 0.05

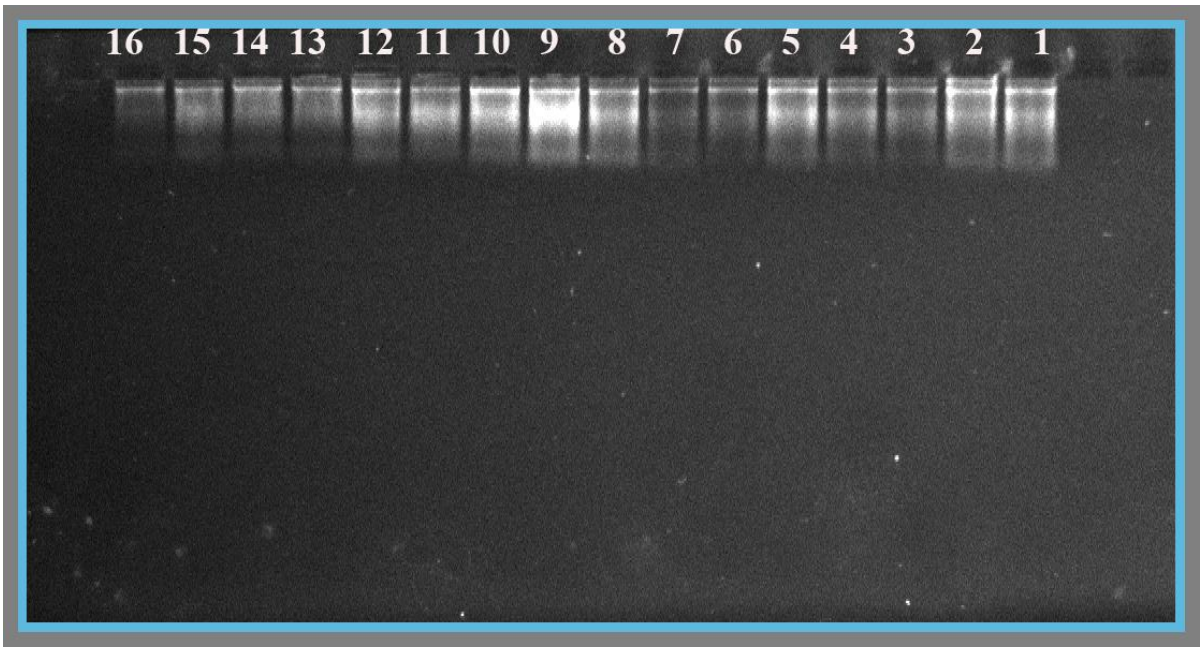
كما أوضحت نتائج التحليل التجمعي لاحد عشر صنفا وخمسة تركيب وراثية قيد الدراسة باستعمال الصفات المظهرية ومعامل تشابه مقداره 0.88 تنقسم إلى ثلاث مجاميع رئسيه ضمت المجموعة الأولى كل من الصنف عنبر33 وعنبر البركة أما المجموعة الثانية ضمت ثمان أصناف وخمسة تراكيب وراثية . أما المجموعة الثالثة ضمت صنف بحوث1فقط



الشكل (1) يوضح التحليل ألتجمعي لاحد عشر صنفا وخمسة تركيب وراثية من الرز اعتمادا على بعض المؤشرات المظهرية لرسم شجرة العلاقة الوراثية تحت معامل تشابه مقداره 0.88.

4-2الدراسات الجزيئية Molecular study

تراوح تركيز الحامض النووي المعزول(125 - 589) نانوغرام /ميكرليتر بنقاوة قدرها 1.8- 1.9 تم تحديدها بجهاز biodrop بنسبة A280 / A 260 وكان الحجم الجزيئي للعينات50الى 150 Kb لان الطريقة المتبعة في الاستخلاص هي الطريقة الكفوءة والملائمة لعزل الدنا من النباتات كما تمتاز بالسرعة والبساطة إذ تعمل المواد الكيماوئية المكونة لمحاليل العزل على إزاحة إحدى مكونات الخلية غير المرغوبة و المحافظة على الحامض النووي المستخلص مما يساعد فيإنتاج حزم واضحة تتفق مع Xiaohuaوآخرين(2010). استخدم نسبة 1.5الاكاروز للترحيل الكهربائي (شكل 2) لتقييم مستوى الحامض النووي المعزول إذ يعمل جهاز الترحيل على فصل الحزم حسب الاحجام الجزيئية فالحزم ذات الوزن الجزيئي الصغير ترحل إلى مسافات ابعد و أسرع من الحزم ذات الحجم الجزيئي الكبير. أظهرت نتائج الفصل الكهربائي إن الحزم اغلبها اقرب إلى أعلى الهلام يدل موقعها وشدتها إلى كونها ذات نوعية جيدة وإحجامها الجزيئية عالية كما قدرت نوعية الحامض النووي من خلال تألق العينات باستخدام صبغة الاثديوم بروماید .ethidium bromide.



شكل (2) يوضح عينات الدنا المعزولة من أصناف وتراكيب الوراثية للرز والمرحلة على1.5 %هلام الاكاروز لمدة ساعة وتمثل الأرقام تسلسل الأصناف: 1-اباء ، 2-عنبر البركة ، 3- فرات1، 4-غدير ، 5- برنامج4 ،6- ياسمين ،7-بحوث1 ،8- عنبر33، 9- دجلة 10مشخاب2 ،11 –

مشخاب1-12 التركيب الوراثي الأول -13 التركيب الوراثي الثاني-14 التركيب الوراثي الثالث -15- التركيب الوراثي الرابع -16-التركيب الوراثي الخامس

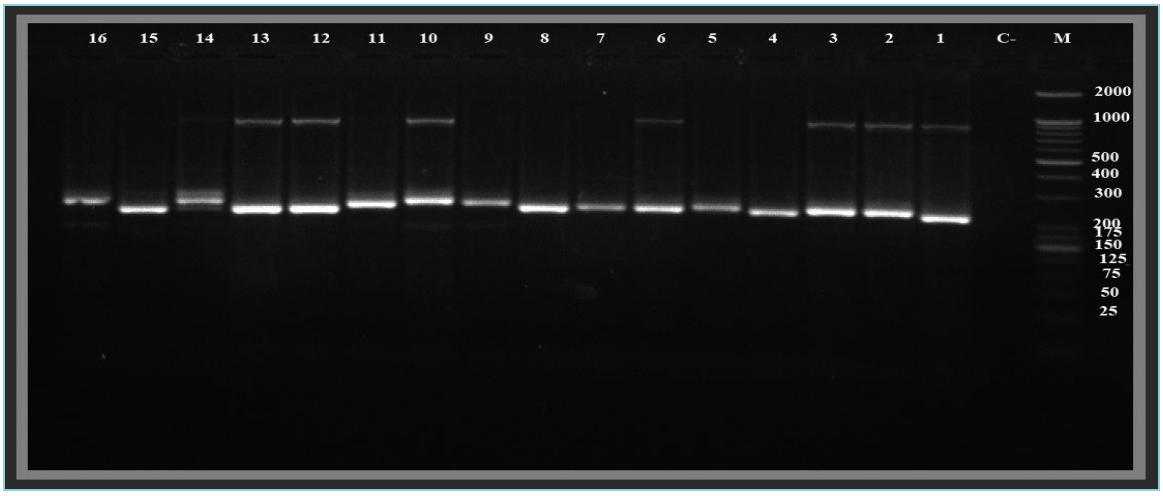
4-3- تحليل تقنية التكرارات التتابعية البسيطة Simple Sequence (SSR) Repeats

أجريت العديد من التجارب لتحسين ظروف تجربة PCR-SSR لـ 35 بادئا من SSR مع دنا الرز ، ثمانية من البادئات لم تعط اي نتيجة على الرغم من تكرارها أكثر من مرة قد يكون بسبب غياب الموقع المكملة لتسللسلات تلك البادئات هو عدم وجود الجين المسؤول عن الصفة في الأصناف والتراكيب قيد الدراسة (RM5479, RM119, RM25519, RM336 , RM302, RM315 , RM190و RM205) تتفق مع دراسة Ahasanu وآخرين (2014)، بينما 27 بادئا أعطى تضاعف في مناطق مخصصة أنتج حزم مخصصة كما ان اختلف عدد الحزم و اوزانها الجزيئية باختلاف البادئ المستخدم ،ولغرض تسجيل البيانات وتحليلها تم ترحيلها على هلام الاكاروز بعد إكمال برامج PCR أظهرت الصور حزم متماثلة كحزمة واحده او متباينة كحزمتين وقد تم تسجيل الملاحظات لكل مؤشر اعتمادا على حجم و نوع موقع الحزم (homozygote وhetrozygot)، كون مؤشرات SSR ذات سيادة مشتركة لذا فانها متباينة الزيجة تظهر بحزمتين متخصصة لموقعين ويمكن تحديدها بسهولة (Wu وآخرين 2010) مما يزيد من كفاءة ودقة اجراءات قياس الوراثة السكانية بالمقارنة مع المؤشرات الأخرى(Wang وآخرين 2009). أوضحت نتائج التضاعف لكل بادئ كما يلي :

1- نتائج تضاعف البادئ RM8094

يستعمل هذا البادئ لكشف عن مواقع الصفات الكمية المرتبطة بصفة تحمل الملوحة في مرحلة البذار لجينوم الرز ويقع على كرموسوم رقم 1 (جدول رقم4). إذ تمكن هذا البادئ من التعرف على التتابعات المكملة له في DNA الأصناف والتراكيب الوراثية قيد الدراسة واظهر تباينا واضحا في العدد والحجم الجزيئي إذ تراوحت إحجامها بين 209 - 1015.402 زوجا قاعديا أما عدد الحزم المتضاعفة بلغت 23 حزمة مما أدى الى ارتفاع نسه كفاءة البادئ لتصل الي 4.81% ، سجل الحجم الجزيئي 209 زوجا قاعديا اعلى نسه لتردد الاليل بلغت 0.2500.اما عدد الاليلات الكلي بلغ 8 اليل وهذا انعكس على ارتفاع قيم التنوع الوراثي ومحتوى تعدد الإشكال التي بلغت 0.8379 و 0.8184على التوالي وهذا يعزى الى وجود اختلافات بالتسلسل النيوكلوتيدي في جينوم الأصناف مما يؤثر في مواقع ارتباط البادئات وقد تعود هذه الاختلافات عن استبدال زوج من النيوكلوتيدات Deletionsاو الحذف Insertions او الادخال Substitutions او لحدوث طفرات معينة و تشير القيمة العالية لمحتوى التعدد الشكليPIC ان البادئ المستخدم قد اظهر كفاءة

عالية في ايجاد التنوع الوراثي لذا يفضل استعمال البادئ في دراسة التغايرات الوراثية للتراكيب في برامج التربية والانتخاب المعتمدة على المؤشرات الجزيئية يتفق مع Babu وآخرين(2014) وGanie وآخرين (2016) ،كما بلغت قيم متباينة الزيجة لهذا البادي 0.4375 هذا يعود الى ظهور الحزم المتعددة فقط في سبعة مواقع أما باقي الحزم كانت منفردة تتفق مع دراسة Islam وآخرين(2012). ،أما عدد الاليلات النادرة بلغ اليل واحد لذا استطاع هذا البادئ من أعطاء بصمة وراثية مميزة للصنف فرات1 جدول رقم (9).

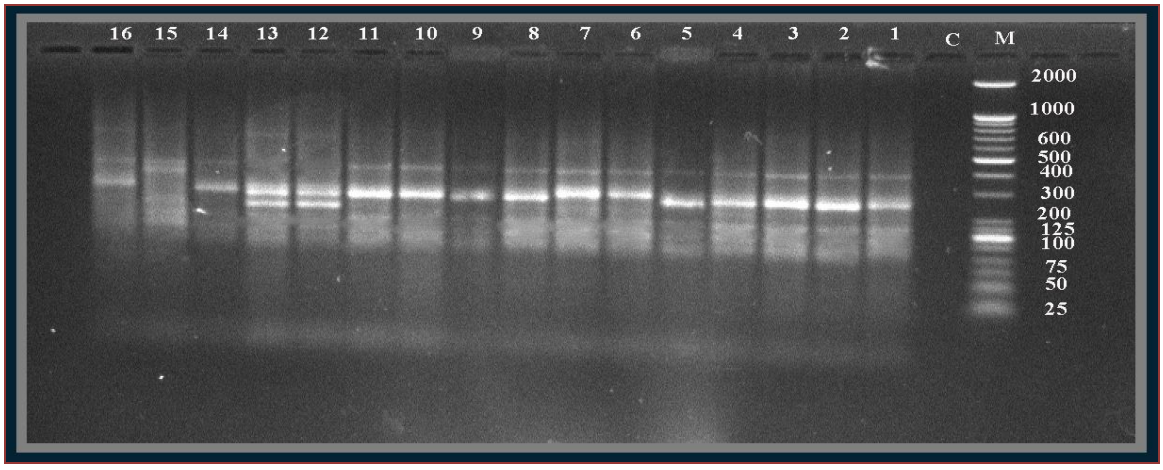


شكل (3) يوضح نتائج البادئ RM8094المرحلة على هلام الاكاروز بتركيز 1.5% لـ مدة ساعة مع الدليل الحجمي القياسي M 25- bp 2000 bp. لـ 1-اباء ، 2-عنبرالبركة ، 3- فرات1، 4-غدير ، 5- برنامج4 ،6- ياسمين ،7- بحوث1 ،8- عنبر33، 9- دجلة 10مشخاب2 ،11 –مشخاب1، 12-التركيب الوراثي الاول ، 13-تركيب الوراثي الثاني ، 14-التركيب الوراثي الثالث ، 15- التركيب الوراثي الرابع ، 16- التركيب الوراثي الخامس

2- نتائج تضاعف البادئ RM3412

يستعمل هذا البادئ للكشف عن مواقع الصفات الكمية المرتبطة بصفة تحمل الملوحة في مرحلة البذار لجينوم الرز ويقع على كرموسوم رقم 1 (جدول رقم 4) ،أوضحت النتائج ان عدد الحزم المتضاعفة بلغت 28حزمة وهذا ينسجم مع هدف استخدام هذا النوع من مؤشرات الدنا أي زيادة عدد الحزم الناتجة إثناء تطبيقه ،إذ تمكن هذا البادئ من التعرف على التتابعات المكملة له في DNA الأصناف والتراكيب قيد الدراسة لذا ارتفعت نسبة كفاءة هذا البادئ الى 5.85%. كما اظهر تباينا واضحا في العدد والحجم الجزيئي للحزم إذ تراوحت بين 260.76 bp -391.979 ، اذ سجل الحجم الجزيئي318.809 نسبة تردد لاليل بلغ 0.1875 ،أما عدد الاليلات الكلية بلغ 9 اليلات وهذا ناتج من اختلاف عدد المواقع المكملة لتسلسل البادئ في تلك الأصناف و التراكيب والناتجة من الاختلاف المادة الوراثية ، وانعكس على ارتفاع قيم التنوع الوراثي ومعامل التعدد الشكلي في هذه الدراسة بلغت 0.8730 ، 0.8595 على التوالي وهذا يعزى الى

وجود اختلافات بالتسلسل النيوكلوتيدي في جينوم الأصناف مما يؤثر في مواقع ارتباط البادئات وقد تنتج هذه الاختلافات عن استبدال زوج من النيوكلوتيدات Deletions او الحذف Insertions او الادخال Substitutions او حدوث طفرات معينة و تشير القيمة العالية لمحتوى التعدد الشكليPIC ان البادئ المستخدم قد اظهر كفاءة عالية في ايجاد التنوع الوراثي لذا يفضل استعمال البادئ في دراسة التغايرات الوراثية للتراكيب في برامج التربية والانتخاب المعتمدة على المؤشرات الجزيئية تتفق مع دراسة Chowdhury وآخرين (2016) الذي لاحظ ان هذا البادئ أفضل بادئ لدراسة التنوع الوراثي لصفات تحمل الملوحة في مرحلة البذار، كما بلغت قيم متباينة الزيجة 0.7500 بسبب ارتفاع عدد الحزم المتعدده بين الأصناف والتراكب قيد الدراسة ، كما بلغ عدد الاليلات النادرة أليل واحد ،تمكن من إعطاء بصمة وراثية مميزة للتركيب الوراثي الرابع جدول رقم (9)يتفق مع Babu وآخرين(2014)

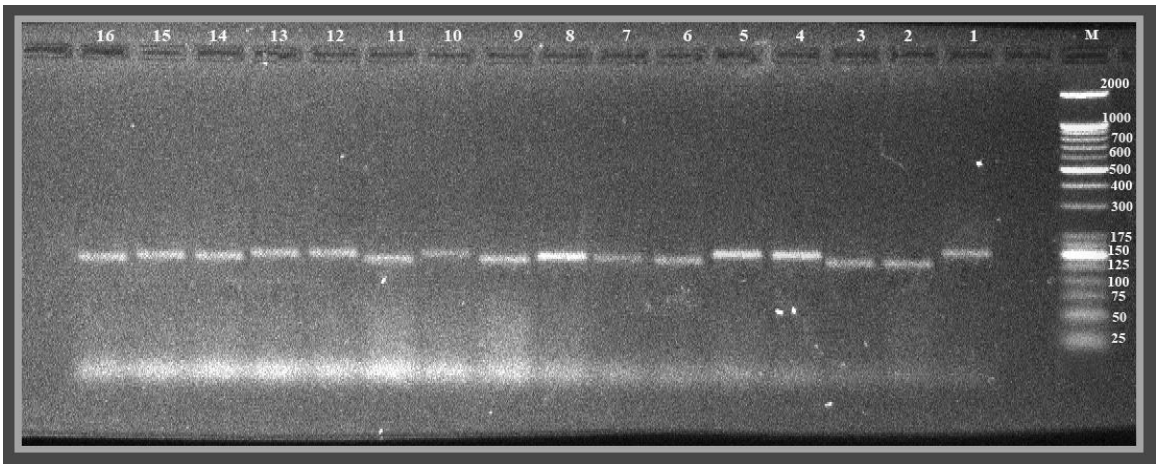


شكل (4) يوضح نتائج البادئ RM3412المرحلة على هلام الاكاروز بتركيز 1.5% لـ مدة ساعة مع الدليل الحجمي القياسيM 25 bp- 2000 bp. لــ - 1-اباء ، 2-عنبرالبركة ، 3- فرات1، 4-غدير ، 5- برنامج4 ،6- ياسمين ،7- بحوث1 ،8- عنبر33، 9- دجلة 10مشخاب2 ،11 –مشخاب1، 12-تركيب وراثي الاول ، 13-تركيب الوراثي الثاني ، 14-التركيب الوراثي الثالث ، 15- التركيب الوراثي الرابع ، 16- التركيب الوراثي الخامس ،

3- نتائج تضاعف البادئ RM25

يستعمل هذا البادئ للكشف عن مواقع الصفات الكمية المرتبطة بصفة تحمل الملوحة في مرحلة البذار للجينوم الرز ويقع على كرموسوم رقم 5 (جدول رقم 4) إذ تمكن هذا البادئ من التعرف على التتابعات المكملة له في DNA الأصناف والتراكيب قيد الدراسة واظهر تباينا واضحا في العدد و المواقع والحجم الجزيئي للحزم إذ تراوحت احجامها بين129.002- 152.639 زوج قاعدي، سجل الحجم الجزيئي

146زوجا قاعديا اعلى تردد للاليل بلغ0.3125 إما العدد الكلي للحزم المتضاعفة بلغت 16 حزمة مما ادى الى انخفض نسبة كفاءة البادئ لتصل الى 3.34%.أما عدد الاليلات الكلية بلغ4 اليلات . انعكس على قيم التنوع الوراثي الذي بلغ 0.7344 وقيم محتوى تعدد الاشكال الذي بلغ 0.6854 يلاحظ ارتفاع قيم التنوع الوراثي ومحتوى تعدد الإشكال وهذا يعزى الى وجود اختلافات بالتسلسل النيوكلوتيدي في جينوم الأصناف مما يؤثر في مواقع ارتباط البادئات وقد تنتج هذه الاختلافات عن استبدال زوج من النيوكلوتيدات Deletionsاو الحذف Insertions او الادخال Substitutions او حدوث طفرات معينة ويتفق مع دراسة Sadia وآخرين(2012) ،جميع الحزم كانت منفردة لذا لم تسجل قيم لمتباينة الزيجة وهذا يتفق مع دراسة Islamوآخرين(2011) ،لم يتمكن هذا البادئ من أعطاء بصمة وراثية مميزة لاي صنف او تراكيب وراثية لذا لم يتفق مع دراسة Yanfangوآخرين (2012).

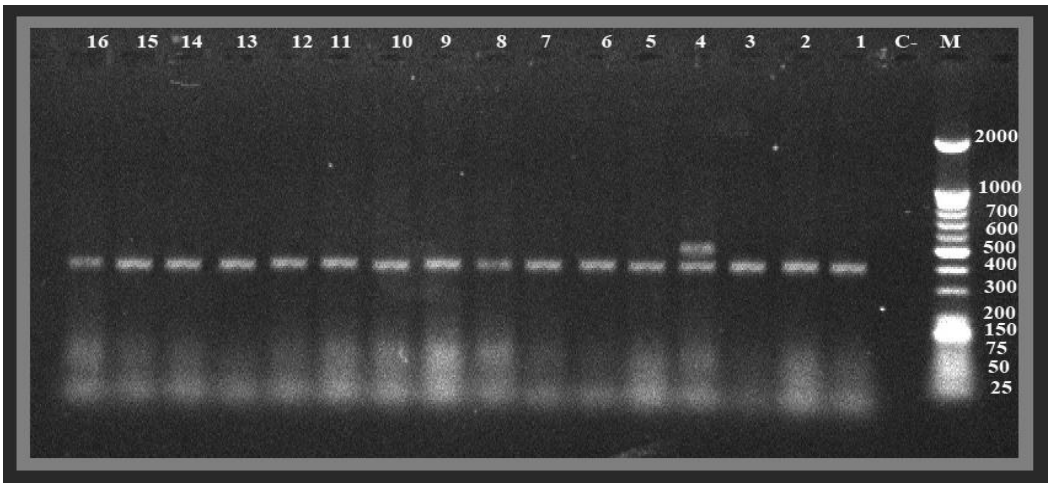


شكل (5) يوضح نتائج البادئ RM25المرحلة على هلام الاكاروز بتركيز 1.5% لـ مدة ساعة مع الدليل الحجمي القياسيM 25 bp -2000 bp لــ لاصناف والتراكيب الوراثية التالية 1-اباء ، 2-عنبرالبركة ، 3- فرات1، 4-غدير ، 5- برنامج4 ،6- ياسمين ،7-بحوث1 ،8- عنبر33، 9- دجلة 10مشخاب2 ،11 –مشخاب1، 12-التركيب الوراثي الاول ، 13-التركيب الوراثي الثاني ، 14-التركيب الوراثي الثالث ، 15- التركيب الوراثي الرابع ، 16- التركيب الوراثي الخامس

4- نتائج تضاعف البادئ RM10772

يستعمل هذا البادئ للكشف عن مواقع الصفات الكمية المرتبطة بصفة تحمل الملوحة لجينوم الرز ويقع على كرموسوم رقم 1 (جدول رقم 4) تمكن هذا البادئ من التعرف على التتابعات المكملة له في DNA الأصناف والتراكيب قيد الدراسة اذ بلغ عدد الحزم المتضاعفة 17حزمة انعكس على كفاءة هذا

البادي فبلغت3.55% ،كما أظهرت الحزم تباينا واضحا في مواقع والحجم الجزيئي لها إذ تراوحت إحجامها بين 422.697-500 زوج قاعدي. كما سجل الحجم الجزيئي 422.697 زوجا قاعديا أعلى تردد اليل بلغ 0.9688 إما عدد الاليلات بلغ اليلان انعكس على انخفاض قيم التنوع الوراثي الذي بلغ 0.0605 وقيم محتوى تعدد الإشكال بلغ 0.0587 يلاحظ انخفاض في قيم التنوع الوراثي ومحتوى تعدد الإشكال وهذا تعزى الى وجود اختلاف قليل بالتسلسل النيوكلوتيدي في جينوم الأصناف مما يؤثر في مواقع ارتباط البادئات لذا يعد هذا البادئ غير كفوء في دراسة التنوع الوراثي لانخفاض قيم محتوى التعدد الشكلي اقل من 0.5 Chemutai وآخرين(2016)، سجل هذا البادئ نسبة تباين الزيجة بلغ 0.0625 بسبب ظهور حزم متعدد واحدة في صنف غدير أما الباقي كانت حزم مفردة تتفق مع دراسة Mohammadi وآخرين(2010) ، بلغ عدد الاليلات النادرة اليل واحد لذا تمكن هذا البادئ من أعطاء بصمة وراثية مميزة لصنف غدير فقط جدول رقم (9).يتفق مع دراسة Mehede وآخرين (2014)

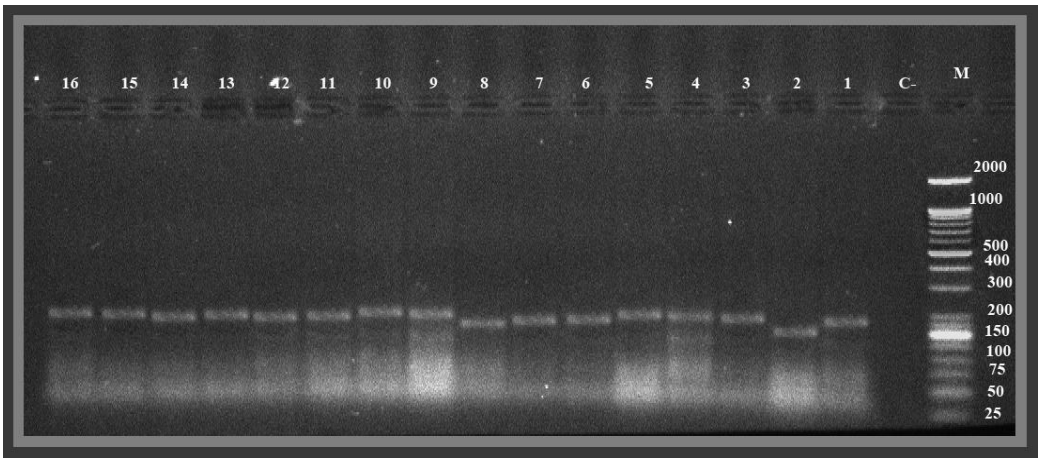


شكل (6) يوضح نتائج البادئ RM10772المرحلة على هلام الاكاروز بتركيز 1.5% لـ مدة ساعة مع الدليل الحجمي القياسيM 25 bp -2000 bp. لــ الأصناف والتراكيب الوراثية التالية 1-اباء ، 2-عنبرالبركة ، 3- فرات1، 4-غدير، 5- برنامج4 ،6- ياسمين ،7-بحوث1 ،8- عنبر33، 9- دجلة 10مشخاب2 ،11 –مشخاب1، 12-التركيب الوراثي الاول ، 13-التركيب الوراثي الثاني ، 14-التركيب الوراثي الثالث ، 15- التركيب الوراثي الرابع ، 16- التركيب الوراثي الخامس

5- نتائج تضاعف البادئ RM296

يستعمل هذا البادئ للكشف عن مواقع الصفات الكمية المرتبطة بصفة تحمل الملوحة للجينوم الرز ويقع على كرموسوم رقم 9 (جدول رقم 4) إذ تمكن هذا البادئ من التعرف على التتابعات المكملة له في

DNA جينوم الأصناف والتراكيب قيد الدراسة واظهر تباينا واضحا في لمواقع والحجم الجزيئي إذ تراوح إحجامها بين 157.634- 249.245 زوجا قاعديا بلغ عدد الحزم المتضاعفة 16 حزمة لذا كانت نسبة كفاءة هذا البادي منخفضة بلغت 3.34%. سجل الحجم الجزيئي 318.788أعلى نسبه تردد الاليل بلغ 0.5625، أما عدد الاليلات الكلية بلغ 6 اليلات انعكست على قيم التنوع الوراثي وقيم محتوى التعدد الإشكال بلغت 0.6406 ،0.6121 على التوالي وهذا تعزى الى وجود اختلافات بالتسلسل النيوكلوتيدي في جينوم الأصناف مما يؤثر في مواقع ارتباط البادئات وقد تعود هذه الاختلافات عن استبدال زوج من النيوكلوتيدات Deletionsاو الحذف Insertions او الادخال Substitutions تتفق مع دراسة Haque وآخرين(2012) أما عدد الاليلات النادرة بلغ اليلان لذا تمكن هذا البادئ من أعطى بصمة وراثية مميزة لصنف عنبر البركة وصنف بحوث1 جدول رقم (9).جميع الحزم كانت مفردة لذا لم تسجل قيم لمتباينة الزيجة .

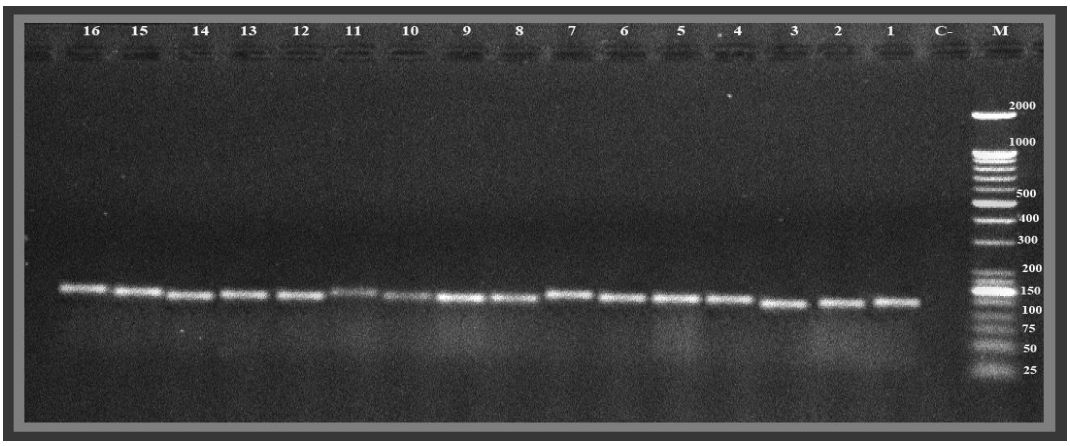


شكل (7) نتائج البادئ RM296 المرحلة على هلام الاكاروز بتركيز 1.5% لـ مدة ساعة مع الدليل الحجمي القياسي M 25- bp 2000 bp لـ الاصناف و التراكيب الوراثية التالية 1-اباء ، 2-عنبرالبركة ، 3- فرات1، 4-غدير ، 5- برنامج4 ،6- ياسمين ،7- بحوث1 ،8- عنبر33، 9- دجلة 10مشخاب2 ،11 –مشخاب1، 12-التركيب الوراثي الاول ، 13-التركيب الوراثي الثاني ، 14-التركيب الوراثي الثالث ، 15- التركيب الوراثي الرابع ، 16- التركيب الوراثي الخامس

6- نتائج تضاعف البادئ RM510

يستعمل هذا البادئ للكشف عن مواقع الصفات الكمية المرتبطة بصفة تحمل الملوحة لجينوم الرز ويقع على كرموسوم رقم 6 (جدول رقم 4) أوضحت النتائج ان عدد الحزم المتضاعفة بلغت 16حزمة إذ تمكن هذا البادئ من التعرف على التتابعات المكملة له في DNA الأصناف والتراكيب قيد الدراسة واظهر تباينا

واضحا في مواقع والحجم الجزيئي لها إذ تراوحت إحجامها بين 122 -150.55 زوجا قاعديا لذا انخفضت نسبة كفاءة هذا البادي الى 3.34%، سجل الحجم 141.421أعلى تردد للاليل بلغ 0.2500، أما عدد الاليلات الكلية لهذا البادئ بلغ 8 اليلات انعكس على قيم التنوع الوراثي وقيم محتوى متعدد الإشكال التي بلغت 0.8438 ،0.8253على التوالي يلاحظ ارتفاع قيم التنوع الوراثي ومحتوى تعدد الإشكال وهذا يعزى الى وجود اختلافات بالتسلسل النيوكلوتيدي في جينوم الأصناف مما يؤثر في مواقع ارتباط البادئات وقد ينتج هذه الاختلافات عن استبدال زوج من النيوكلوتيدات Deletions او الحذف Insertions او الادخال Substitutions او لحدوث طفرات معينة و تشير القيمة العالية لمحتوى التعدد الشكليPIC ان البادئ المستخدم قد اظهر كفاءة عالية في ايجاد التنوع الوراثي لذا يفضل استعمال البادئ في دراسة التغايرات الوراثية للتراكيب في برامج التربية والانتخاب المعتمدة على المؤشرات الجزيئية . نلاحظ ان جميع الحزم كانت منفردة لذا لم تسجل قيم لمتباينة الزيجة ، أما عدد اليلات النادرة بلغ 3 اليلات لذا تمكن هذا البادئ من اعطاء بصمة وراثية مميزة لصنف اباء1،غديروبحوث1 جدول رقم (9) هذا يتفق مع دراسة Moniruzzaman وآخرين(2012)

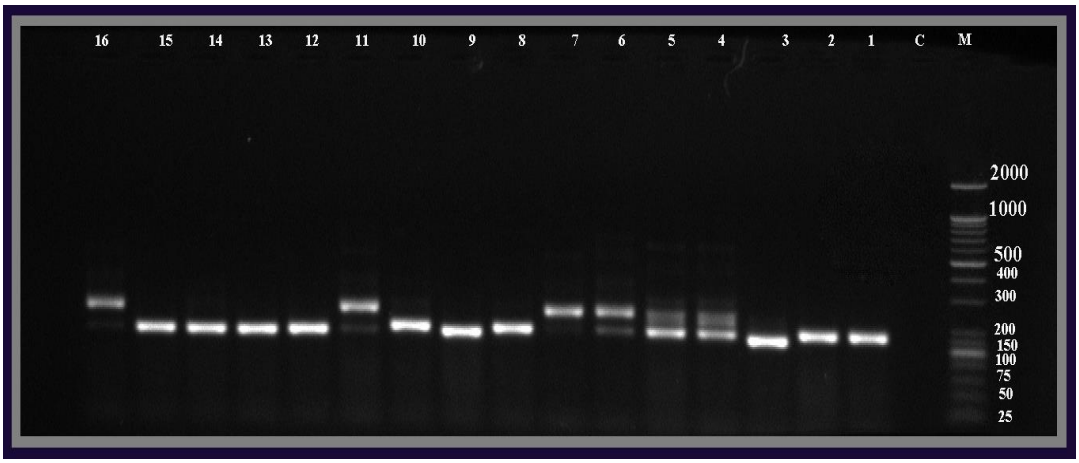


شكل (8) يوضح نتائج البادئ RM510المرحلة على هلام الاكاروز بتركيز 1.5% لـ مدة ساعة مع الدليل الحجمي القياسيM 2000 bp -25 bp لـلأصناف والتراكيب الوراثية التالية 1-اباء ، 2-عنبرالبركة ، 3- فرات1، 4-غدير ، 5- برنامج4 ،6- ياسمين ،7-بحوث1 ،8- عنبر33، 9- دجلة 10مشخاب2 ،11 –مشخاب1، 12-التركيب الوراثي الاول ، 13-التركيب الوراثي الثاني ، 14-التركيب الوراثي الثالث ، 15- التركيب الوراثي الرابع ، 16- التركيب الوراثي الخامس

7- نتائج تضاعف البادئ RM585

يستعمل هذا البادئ للكشف عن مواقع الصفات الكمية المرتبطة بصفة تحمل الملوحة لجينوم الرز ويقع

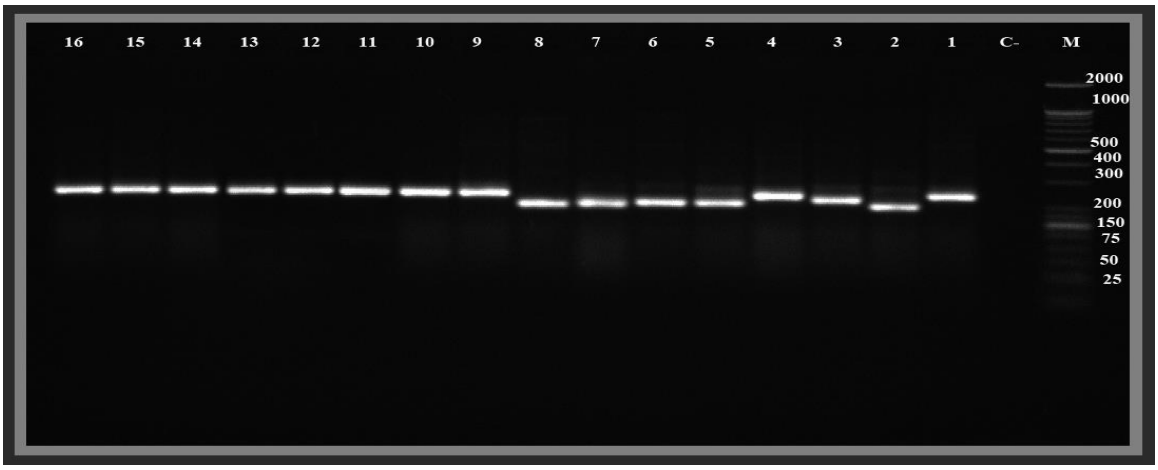
على كرموسوم رقم 6 جدول رقم 4 إذ تمكن هذا البادئ من التعرف على التتابعات المكملة له في DNA الأصناف والتراكيب قيد الدراسة واظهر تباينا واضحا في مواقع والحجم الجزيئي إذ تراوح إحجامها بين 175.312 -285.387 زوجا قاعديا إذ بلغ عدد الحزم المتضاعفة 19 حزمة لذا ارتفعت نسبة كفاءة هذا البادئ الى 3.97% ،سجل الحجم 349.213 أعلى نسبة تردد لاليل بلغ 0.2500 أما عدد الاليلات الكلية لهذا البادئ بلغ8 اليل انعكس على قيم التنوع الوراثي وقيم محتوى متعدد الإشكال التي بلغت0.8037،0.8262على التوالي يلاحظ ارتفاع قيم التنوع الوراثي ومحتوى تعدد الإشكال وهذا يعزى الى وجود اختلافات بالتسلسل النيوكلوتيدي في جينوم الأصناف مما يؤثر في مواقع ارتباط البادئات وقد ينتج هذه الاختلافات عن استبدال زوج من النيوكلوتيدات Deletionsاو الحذف Insertions او الادخال Substitutions او لحدوث طفرات معينة و تشير القيمة العالية لمحتوى التعدد الشكليPIC ان البادئ المستخدم قد اظهر كفاءة عالية في ايجاد التنوع الوراثي لذا يفضل استعمال البادئ في دراسة التغايرات الوراثية للتراكيب في برامج التربية والانتخاب المعتمدة على المؤشرات الجزيئية ، أوضحت النتائج تضاعف هذا البادئ وجود ثلاث حزم متعدد والباقي حزم مفردة لذا سجل نسبة متباينة الزيجة بلغت 0.1875 يتفق مع Moniruzzaman وآخرين(2012) .



شكل (9) يوضح نتائج البادئ RM585المرحلة على هلام الاكاروز بتركيز 1.5% لـ مدة ساعة مع الدليل الحجمي القياسي M bp 25- bp 2000 لـلأصناف والتراكيب الوراثية التالية 1-اباء ، 2-عنبرالبركة ، 3- فرات1، 4-غدير ، 5- برنامج4 ،6- ياسمين ،7-بحوث1 ،8- عنبر33، 9- دجلة 10مشخاب2 ،11 –مشخاب1، 12-التركيب الوراثي الاول ، 13-التركيب الوراثي الثاني ، 14-التركيب الوراثي الثالث ، 15- التركيب الوراثي الرابع ، 16- التركيب الوراثي الخامس

8- نتائج تضاعف البادئ RM341

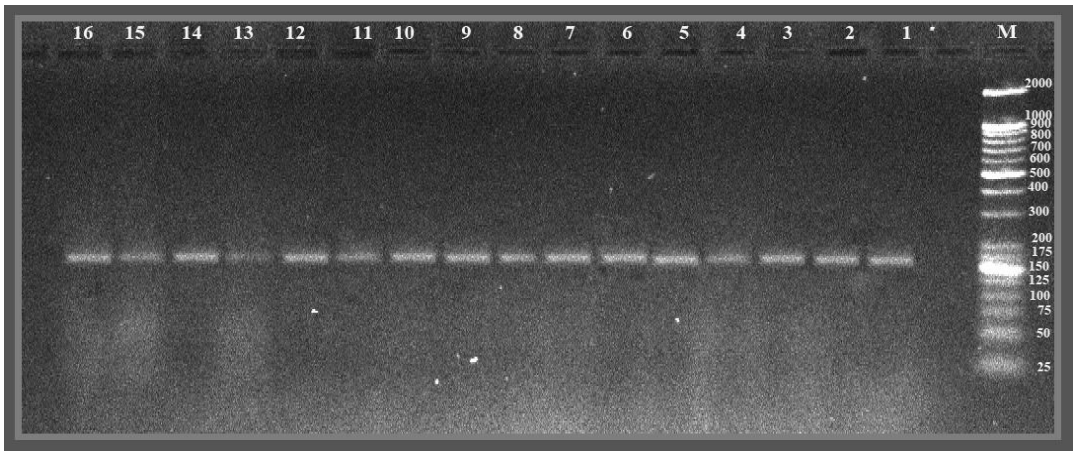
يستعمل هذا البادئ للكشف عن التغايرات الوراثية للجينوم الرز ويقع على كرموسوم رقم 2 (جدول رقم 4) إذ تمكن هذا البادئ من التعرف على التتابعات المكملة له في DNA الأصناف والتراكيب قيد الدراسة واظهر تباينا واضحا في مواقع والحجم الجزيئي إذ تراوح إحجامها بين 205.321 -269.184 زوجا قاعديا أما عدد الحزم المتضاعفة بلغ 16 حزمة لذا انخفضت كفاءة النسبية لهذا البادئ لتصل 3.34% سجل الحجم 269.184 أعلى نسبة لتردد لاليل بلغ 0.6250 يتفق مع دراسة Basabdatt وآخرين(2013)،اما عدد الاليلات الكلية لهذا البادئ بلغ 4 اليلات ، انعكاس على قيم المنخفضة للتنوع الوراثي وقيم محتوى متعدد الإشكال التي بلغت 0.5391 , 0.4831 على التوالي يلاحظ انخفاض في قيم التنوع الوراثي ومحتوى تعدد الإشكال وهذا تعزى الى وجود اختلاف قليل بالتسلسل النيوكلوتيدي في جينوم الأصناف مما يؤثر في مواقع ارتباط البادئات لذا يعد هذا البادئ غير كفوء في دراسة التنوع الوراثي لانخفاض قيم محتوى التعدد الشكلي اقل من0.5 يتفق مع Chemutai وآخرين(2016). كل الحزم كانت مفردة لذا لم يتفق مع الباحث Anandan وآخرين (2016) الذي سجل قيم متباينة الزيجة عالية جدا . أما عدد الاليلات النادرة بلغ اليلان فقط لذا تمكن هذا البادئ من أعطاء بصمة وراثية مميزة لصنف عنبر البركة وصنف فرات1جدول رقم (9) يتفق مع الباحث Anandan وآخرين(2016).



شكل (10) يوضح نتائج البادئ RM341المرحلة على هلام الاكاروز بتركيز 1.5% لـ لـ مدة ساعة مع الدليل الحجمي القياسي M 25 bp -2000 bp لـلأصناف والتراكيب الوراثية التالية 1-اباء ، 2-عنبرالبركة ، 3- فرات1، 4-غدير ، 5- برنامج4 ،6- ياسمين ،7-بحوث1 ،8- عنبر33، 9- دجلة 10مشخاب2 ،11 –مشخاب1، 12-التركيب الوراثي الاول ، 13-التركيب الوراثي الثاني ، 14-التركيب الوراثي الثالث ، 15- التركيب الوراثي الرابع ، 16- التركيب الوراثي الخامس

9- نتائج تضاعف البادئ RM201

يستعمل هذا البادئ للكشف عن مواقع الصفات الكمية المرتبطة بصفة تحمل الجفاف لجينوم الرز ويقع على كرموسوم رقم 9 (جدول رقم 4) بلغ عدد الحزم المتضاعفة 16 حزمة إذ تمكن هذا البادئ من التعرف على التتابعات المكملة له في DNA الجينوم للأصناف والتراكيب قيد الدراسة واظهر تباينا واضحا في مواقع والحجم الجزيئي إذ تراوح إحجامها بين 140.522 -158 زوجا قاعديا ،سجل الحجم الجزيئي 158أعلى نسبة لتردد لاليل 0.62505 ،بلغ عدد الاليلات الكلية لهذا البادئ اليلان يتفق مع دراسة Sanjay وآخرين(2014) ، انعكس على انخفاض قيم التنوع الوراثي وقيم محتوى متعدد الإشكال الذي بلغ 0.4688, 0.3589على التوالي وهذا تعزى الى وجود اختلاف قليل بالتسلسل النيوكلوتيدي في جينوم الأصناف مما يؤثر في مواقع ارتباط البادئات لذا يعد هذا البادئ غير كفوء في دراسة التنوع الوراثي لانخفاض قيم محتوى التعدد الشكلي يتفق مع Zahida وآخرين(2010) بينما اختلف مع Sanjay وآخرين(2014). نلاحظ ان كل الحزم كانت مفردة وهذا لم يتفق مع Salgotra وآخرين(2015) الذي سجل قيم متباينة الزيجة عالية . بلغت نسبة كفاءة هذا البادي 3.34%

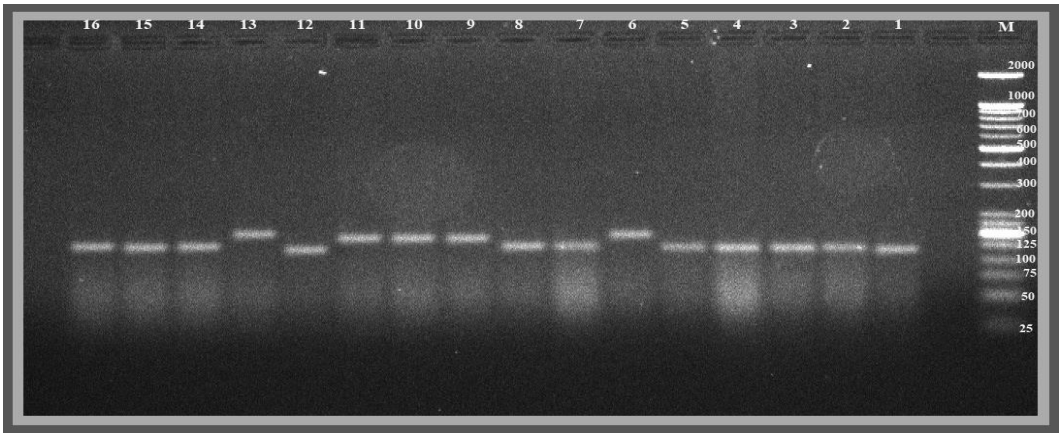


شكل (11) يوضح نتائج البادئ RM201المرحلة على هلام الاكاروز بتركيز 1.5% لـ مدة ساعة مع الدليل الحجمي القياسي M 25 bp -2000 bp لـلأصناف والتراكيب الوراثية التالية 1-اباء ، 2-عنبرالبركة ، 3- فرات1، 4-غدير ، 5- برنامج4 ،6- ياسمين ،7-بحوث1 ،8- عنبر33، 9- دجلة 10مشخاب2 ،11 –مشخاب1، 12-التركيب الوراثي الاول ، 13-التركيب الوراثي الثاني ، 14-التركيب الوراثي الثالث ، 15- التركيب الوراثي الرابع ، 16- التركيب الوراثي الخامس

10- نتائج تضاعف البادئ RM212

يستعمل هذا البادئ للكشف عن مواقع الصفات الكمية المرتبطة بصفة تحمل الجفاف لجينوم الرز ويقع على كرموسوم رقم1 (جدول رقم 4) أوضحت النتائج ان عدد الحزم المتضاعفة بلغت 16حزمة إذ تمكن

هذا البادئ من التعرف على التتابعات المكملة له في DNA الجينوم للأصناف والتراكيب قيد الدراسة واظهر تباينا واضحا في مواقع والحجم الجزيئي لها إذ تراوحت إحجامها بين 115.423 – 150 زوج قاعدي، سجل الحجم20.904 أعلى نسبة لتردد لاليل بلغ 0.5000 أما عدد الاليلات الكلية لهذا البادئ بلغ6 اليلات انعكس على قيم التنوع الوراثي وقيم محتوى متعدد الإشكال التي بلغت 0.6875, 0.6539على التوالي وهذا تعزى الى وجود اختلافات بالتسلسل النيوكلوتيدي في جينوم الأصناف مما يؤثر في مواقع ارتباط البادئات وقد تعود هذه الاختلافات عن استبدال زوج من النيوكلوتيدات Deletions او الحذف Insertionsاو الادخال Substitutions يتفق مع Adegbaju وآخرين(2015) بينما اختلف مع Salgotra وآخرين (2015) وقد يرجع الاختلاف الكبير في اعداد الاليل الى الاختلاف في الأصول الوراثية المستخدمة في تلك الدراسات. بينما بلغ عدد الاليلات النادرة 3 اليل لذا تمكن هذا البادئ من أعطاء بصمة وراثية مميزة لصنف عنبر البركة ،صنف ياسمين و التركيب الوراثي الثاني جدول رقم (9) يتفق مع الباحث Anandan وآخرين(2016).بلغت كفاءة هذا البادي3.34%.

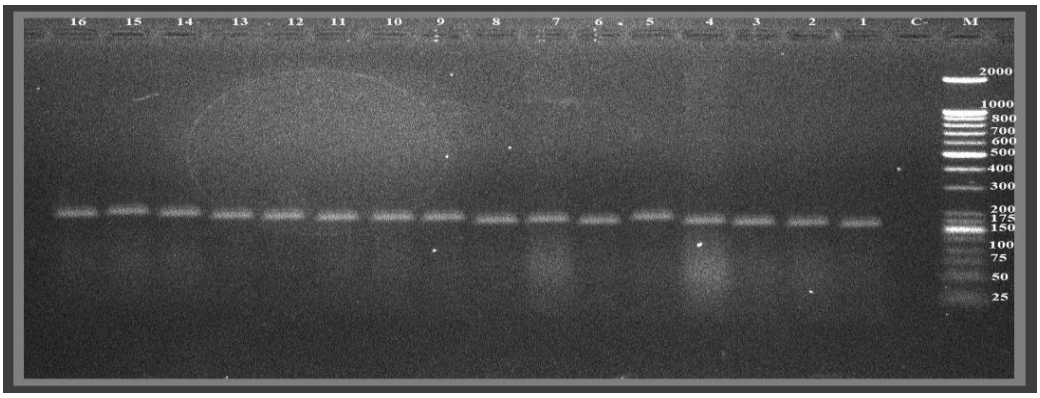


شكل (12) يوضح نتائج البادئ RM212المرحلة على هلام الاكاروز بتركيز 1.5% لـ مدة ساعة مع الدليل الحجمي القياسي M bp 25- bp 2000 لـلأصناف والتراكيب الوراثية التالية 1-اباء ، 2-عنبرالبركة ، 3- فرات1، 4-غدير ، 5- برنامج4 ،6- ياسمين ،7-بحوث1 ،8- عنبر33، 9- دجلة 10مشخاب2 ،11 –مشخاب1، 12-التركيب الوراثي الاول ، 13-التركيب الوراثي الثاني ، 14-التركيب الوراثي الثالث ، 15- التركيب الوراثي الرابع ، 16- التركيب الوراثي الخامس

11- نتائج تضاعف البادئ RM3825

يستعمل هذا البادئ للكشف عن مواقع الصفات الكمية المرتبطة بصفة تحمل الجفاف لجينوم الرز ويقع على كرموسوم رقم1 (جدول رقم 4) بلغ عدد الحزم المتضاعفة 16 حزمة إذ تمكن هذا البادئ من

التعرف على التتابعات المكملة له في DNA الجينوم للأصناف والتراكيب قيد الدراسة واظهر تباينا واضحا في مواقع والحجم الجزيئي إذ تراوح إحجامها بين 159.791 -197.601 زوجا قاعديا ،سجل الحجم الجزيئي 197.601 زوجا قاعديا أعلى تردد لاليل بلغ 0.6875،أما عدد الاليلات الكلية لهذا البادئ بلغ 3 اليلات. انعكس هذا النتائج على انخفاض قيم التنوع الوراثي وقيم محتوى متعدد الإشكال الذي بلغت 0.4609, 0.3977 على التوالي وهذا تعزى الى وجود اختلاف قليل في بالتسلسل النيوكلوتيدي في جينوم الأصناف مما يؤثر في مواقع ارتباط البادئات يتفق مع Alpana وآخرين(2017). اظهر هذا البادئ حزم منفردة لكل الأصناف والتراكيب قيد الدراسة يتفق مع Ramadan وآخرين(2015) . بلغ عدد الاليلات النادرة اليل واحد لذا تمكن هذا البادئ من أعطاء بصمة وراثية مميزة لصنف برنامج4 جدول رقم (9) اتفق مع الباحث Anandan وآخرين (2016). بلغت كفاءة هذا البادي بـ3.34%.

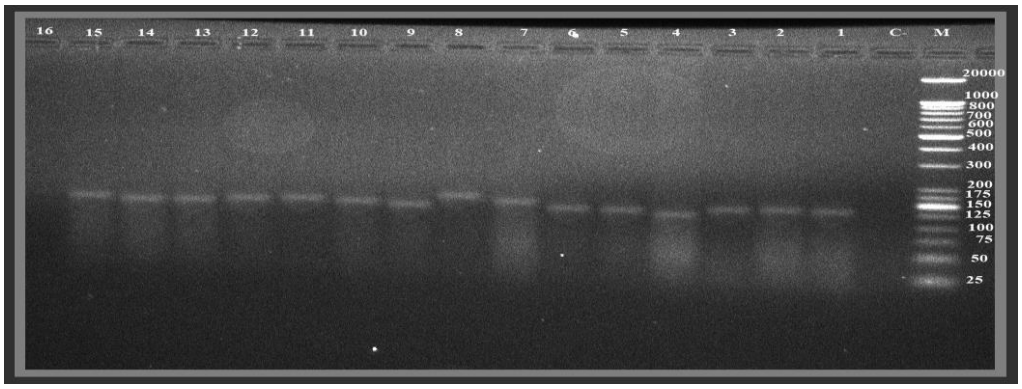


شكل (13) يوضح نتائج البادئ RM3825المرحلة على هلام الاكاروز بتركيز 1.5% لـ مدة ساعة مع الدليل الحجمي القياسي M 25- bp 2000 bp لـلأصناف والتراكيب الوراثية التالية 1-اباء ، 2-عنبرالبركة ، 3- فرات1، 4-غدير ، 5- برنامج4 ،6- ياسمين ،7-بحوث1 ،8- عنبر33، 9- دجلة 10مشخاب2 ،11 –مشخاب1، 12-التركيب الوراثي الاول ، 13-التركيب الوراثي الثاني ، 14-التركيب الوراثي الثالث ، 15- التركيب الوراثي الرابع ، 16- التركيب الوراثي الخامس

12- توضح نتائج تضاعف البادئ RM8085

يستعمل هذا البادئ للكشف عن مواقع الصفات الكمية المرتبطة بصفة تحمل الجفاف لجينوم الرز ويقع على كرموسوم رقم 1 (جدول رقم 4) إذ تمكن هذا البادئ من التعرف على التتابعات المكملة له في DNA الجينوم للأصناف والتراكيب قيد الدراسة واظهر تباينا واضحا في مواقع والحجم الجزيئي إذ تراوح إحجامها بين 168.979-120.847 زوج قاعدي، اما عدد الحزم المتضاعفة بلغ 15 حزمة لذا انخفض نسبة الكفاءة لهذا البادئ لتصل 3.13% ، كما سجل الحجم 122.802bpأعلى نسبة تردد لاليل بلغ

0.2667،أما عدد الاليلات الكلية بلغ 8 اليلات، انعكس على ارتفاع قيم التنوع الوراثي وقيم محتوى تعدد الإشكال الذي بلغ 0.8356, 0.8159على التوالي وهذا يعزى الى وجود اختلافات بالتسلسل النيوكلوتيدي في جينوم الأصناف مما يؤثر في مواقع ارتباط البادئات وقد ينتج هذه الاختلافات عن استبدال زوج من النيوكلوتيدات Deletions او الحذف Insertions او الادخال Substitutions او لحدوث طفرات معينة و تشير القيمة العالية لمحتوى التعدد الشكليPIC ان البادئ المستخدم قد اظهر كفاءة عالية في ايجاد التنوع الوراثي لذا يفضل استعمال البادئ في دراسة التغايرات الوراثية للتراكيب في برامج التربية والانتخاب المعتمدة على المؤشرات الجزيئية لم يتفق مع Anandan وآخرين(2016) قد يرجع هذا التباين إلى اختلاف في المادة الوراثية التي يحتوي المجين ، لم يجد البادئ التتابعات المكملة له عند التركيب الوراثي الخامس وبالتالي لم تظهر اي حزمة تضاعف وبذلك يمكن اعتبارها بصمة وراثية لهذا التركيب في هذا البادئ . بلغ عدد الليلات النادرة 4 اليلات لذا استطاع هذا البادئ من أعطاء بصمة وراثية مميزة لكل من صنف برنامج4 وعنبر33و مشخاب2 والتركيب الوراثي الرابع جدول رقم (9).كما لم تسجل قيم متباينة الزيجة لان كل الحزم كانت مفردة .

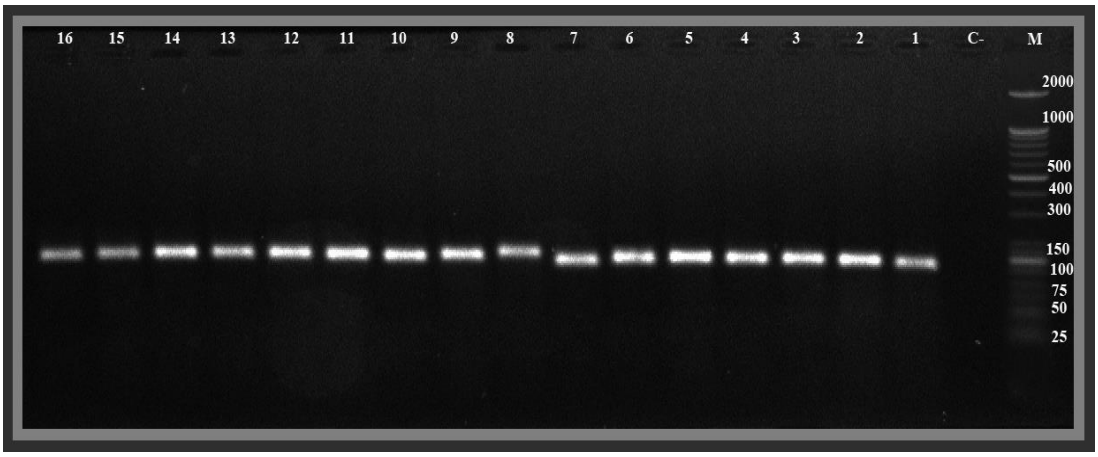


شكل (14) يوضح نتائج البادئ RM8085المرحلة على هلام الاكاروز بتركيز 1.5% لـ مدة ساعة مع الدليل الحجمي القياسي bp M -25 2000 bp لـلأصناف والتراكيب الوراثية التالية 1-اباء ، 2-عنبرالبركة ، 3- فرات1، 4-غدير ، 5- برنامج4 ،6- ياسمين ،7-بحوث1 ،8- عنبر33، 9- دجلة 10مشخاب2 ،11 –مشخاب1، 12-التركيب الوراثي الاول ، 13-التركيب الوراثي الثاني ، 14-التركيب الوراثي الثالث ، 15- التركيب الوراثي الرابع ، 16- التركيب الوراثي الخامس

13- نتائج تضاعف البادئ RM278

يستعمل هذا البادئ للكشف عن مواقع الصفات الكمية المرتبطة بصفة تحمل الجفاف لجينوم الرز ويقع على كرموسوم رقم 9 (جدول رقم 4) أوضحت النتائج ان عدد الحزم المتضاعفة بلغ16حزمة مما

منحته كفاءة مقدارها3.34% اذ تمكن هذا البادئ من التعرف على التتابعات المكملة له في DNA الجينوم للأصناف والتراكيب قيد الدراسة واظهر تباينا واضحا في مواقع والحجم الجزيئي لها إذ تراوحت إحجامها بين 141-159.27 زوجا قاعديا سجل الحجم الجزيئي141bp أعلى تردد لاليل بلغ 0.5625 .أما عدد الاليلات الكلية بلغ 3 اليلات فقط انعكس على انخفاض قيم التنوع الوراثي ومحتوى التعدد الشكلي التي بلغت 0.5391, 0.4465 على التوالي وهذا تعزى الى وجود اختلاف قليل بالتسلسل النيوكلوتيدي في جينوم الأصناف مما يؤثر في مواقع ارتباط البادئات لذا يعد هذا البادئ غير كفوء في دراسة التنوع الوراثي لانخفاض قيم محتوى التعدد الشكلي يتفق مع Ramadan وآخرين(2015) بينما اختلف مع Tirthankarو Somnath (2013) .أما عدد الاليلات النادرة بلغ اليل واحد لذا تمكن هذا البادئ من أعطى بصمة وراثية مميزة لصنف عنبر33 جدول رقم (9) كما أوضحت نتائج التضاعف ان جميع الجزم كانت منفردة لذا لم تسجل حالات متباينة زيجة .

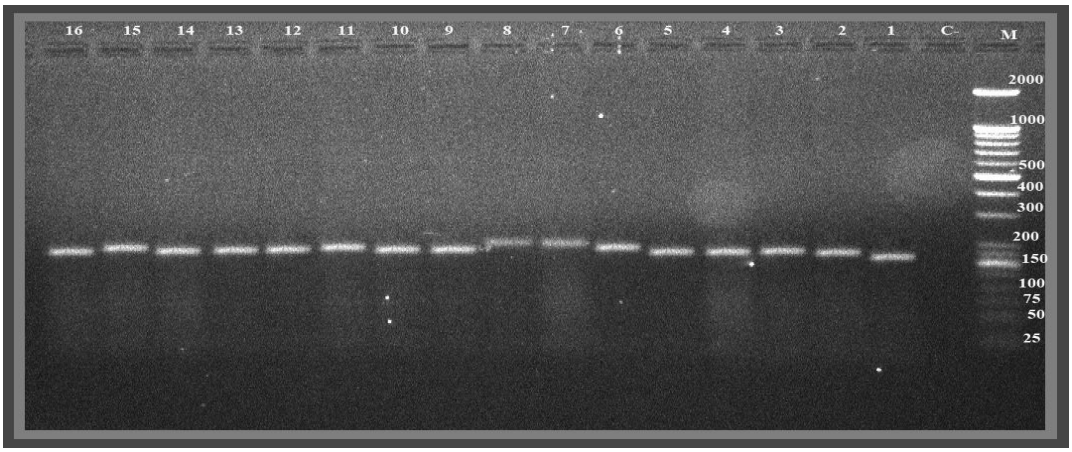


شكل (15) يوضح نتائج البادئ RM278المرحلة على هلام الاكاروز بتركيز 1.5% لـ مدة ساعة مع الدليل الحجمي القياسي M bp 25- 2000 bp لـلأصناف والتراكيب الوراثية التالية 1-اباء ، 2-عنبرالبركة ، 3- فرات1، 4-غدير ، 5- برنامج4 ،6- ياسمين ،7-بحوث1 ،8- عنبر33، 9- دجلة 10مشخاب2 ،11 –مشخاب1، 12-التركيب الوراثي الاول ، 13-التركيب الوراثي الثاني ، 14-التركيب الوراثي الثالث ، 15- التركيب الوراثي الرابع ، 16- التركيب الوراثي الخامس

14-نتائج تضاعف البادئ RM259

يستعمل هذا البادئ للكشف عن مواقع الصفات الكمية المرتبطة بصفة تحمل الجفاف لجينوم الرز ويقع على كرموسوم رقم 1 (جدول رقم 4) إذ تمكن هذا البادئ من التعرف على التتابعات المكملة له في DNA

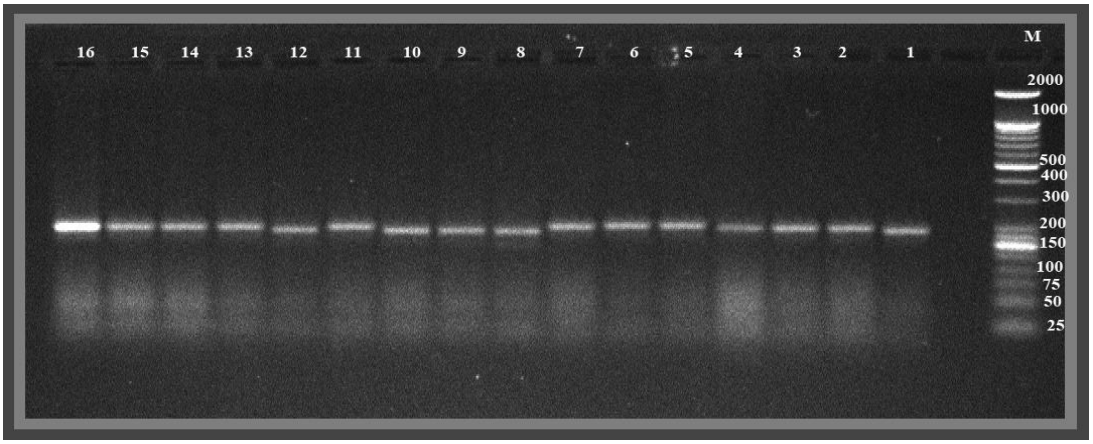
الجينوم للأصناف والتراكيب قيد الدراسة واظهر تباينا واضحا في مواقع والحجم الجزيئي إذ تراوح إحجامها بين212.276-155.448 زوجا قاعديا بلغ عدد الحزم المتضاعفة 16 حزمة منحت كفاءة لهذا البادي مقدارها 3.34%. أما أعلى نسبة لتردد الاليل بلغ 0.1875 سجلها الحجم الجزيئي 162زوجا قاعديا ،بلغ عدد الاليلات التي سجلها هذا البادي 7 اليلات انعكس على ارتفاع قيم التنوع الوراثي التي بلغت 0.8438 وقيم محتوى التعدد الشكلي التي بلغ 0.8238 وهذا يعزى الى وجود اختلافات بالتسلسل النيوكلوتيدي في جينوم الأصناف مما يؤثر في مواقع ارتباط البادئات وقد ينتج هذه الاختلافات عن استبدال زوج من النيوكلوتيدات Deletionsاو الحذف Insertions او الادخال Substitutions او لحدوث طفرات معينة و تشير القيمة العالية لمحتوى التعدد الشكليPIC ان البادئ المستخدم قد اظهر كفاءة عالية في ايجاد التنوع الوراثي لذا يفضل استعمال البادئ في دراسة التغايرات الوراثية للتراكيب في برامج التربية والانتخاب المعتمدة على المؤشرات الجزيئية يتفق مع Masuduzzamanوآخرين(2016) بينما لم يتفق مع Sanjayوآخرين(2014) . أما عدد الاليلات النادرة بلغ اليلان لذا تمكن هذا البادئ من أعطاء بصمة وراثية مميزة لصنف اباء1 ومشخاب1 جدول رقم (9). أوضحت نتائج التضاعف ان جميع جزم لهذا البادئ كانت مفردة لذا لم يتفق مع Kyung وآخرين(2015).



شكل (16) يوضح نتائج البادئ RM259المرحلة على هلام الاكاروز بتركيز 1.5% لـ مدة ساعة مع الدليل الحجمي القياسي M 25- bp 2000 bp لـلأصناف والتراكيب الوراثية التالية 1-اباء ، 2-عنبرالبركة ، 3- فرات1، 4-غدير ، 5- برنامج4 ،6- ياسمين ،7-بحوث1 ،8- عنبر33، 9- دجلة 10مشخاب2 ،11 –مشخاب1، 12-التركيب الوراثي الاول ، 13-التركيب الوراثي الثاني ، 14-التركيب الوراثي الثالث ، 15- التركيب الوراثي الرابع ، 16- التركيب الوراثي الخامس

15- توضح نتائج تضاعف البادئ RM236

يستعمل هذا البادئ للكشف عن مواقع الصفات الكمية المرتبطة بصفة تحمل الجفاف للجينوم الرز ويقع على كرموسوم رقم 2 (جدول رقم 4) إذ تمكن هذا البادئ من التعرف على التتابعات المكملة له في DNA الجينوم للأصناف والتراكيب قيد الدراسة إذ بلغ عدد الحزم المتضاعفة 16 حزمة مما منحته نسبة الكفاءة بلغت3.34%،كما اظهر تباينا واضحا في مواقع والحجم الجزيئي إذ تراوح إحجامها بين 191.109 - 200.535 زوج قاعدي، سجل الحجم الجزيئي 200.535 حجم جزيئي أعلى نسبة لتردد لاليل بلغ 0.7500. أما عدد الاليلات الكلية بلغ اليلان فقط انعكس على انخفاض قيم التنوع الوراثي ومحتوى التعدد الشكلي التي بلغت 0.3750, 0.3047 على التوالي يتفق مع Singh وآخرين(2015) بينما لم يتفق مع Sanjayوآخرين(2014) لذا يعد هذا البادئ غير كفوء في دراسة التنوع الوراثي لانخفاض قيم محتوى التعدد الشكلي اقل من 0.5 يتفق مع (Chemutai وآخرين 2016). أوضحت النتائج التضاعف إن جميع الجزم كانت منفردة لذا لم تسجل حالات متباينة زيجة وهذا لم يتفق مع (Singh وSengar 2015)إذ كانت كل الحزم متباينة الزيجة .

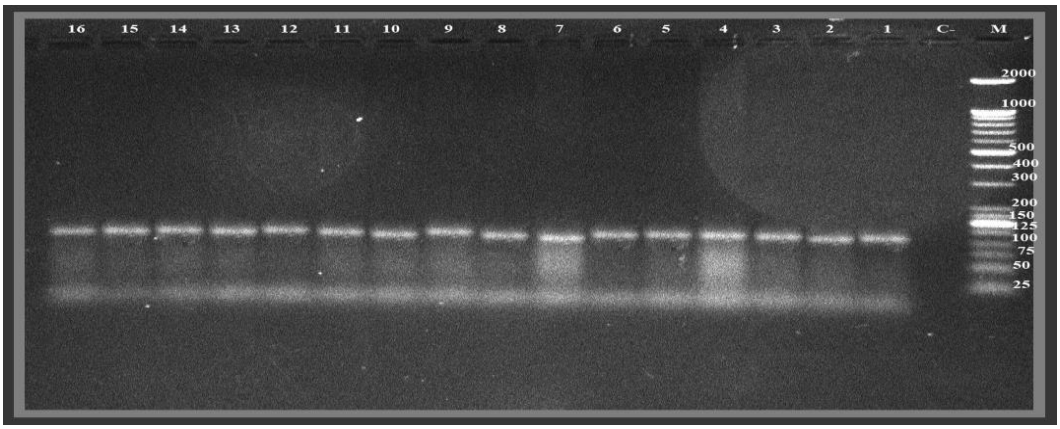


شكل (17) يوضح نتائج البادئ RM236المرحلة على هلام الاكاروز بتركيز 1.5% لـ مدة ساعة مع الدليل الحجمي القياسي M 25- bp 2000 bp لـلأصناف والتراكيب الوراثية التالية 1-اباء ، 2-عنبرالبركة ، 3- فرات1، 4-غدير ، 5- برنامج4 ،6- ياسمين ،7-بحوث1 ،8- عنبر33، 9- دجلة 10مشخاب2 ،11 –مشخاب1، 12-التركيب الوراثي الاول ، 13-التركيب الوراثي الثاني ، 14-التركيب الوراثي الثالث ، 15- التركيب الوراثي الرابع ، 16- التركيب الوراثي الخامس

16- نتائج تضاعف البادئ RM3339

يستعمل هذا البادئ للكشف عن التغايرات الوراثية لجينوم الرز ويقع على كرموسوم رقم 11 (جدول

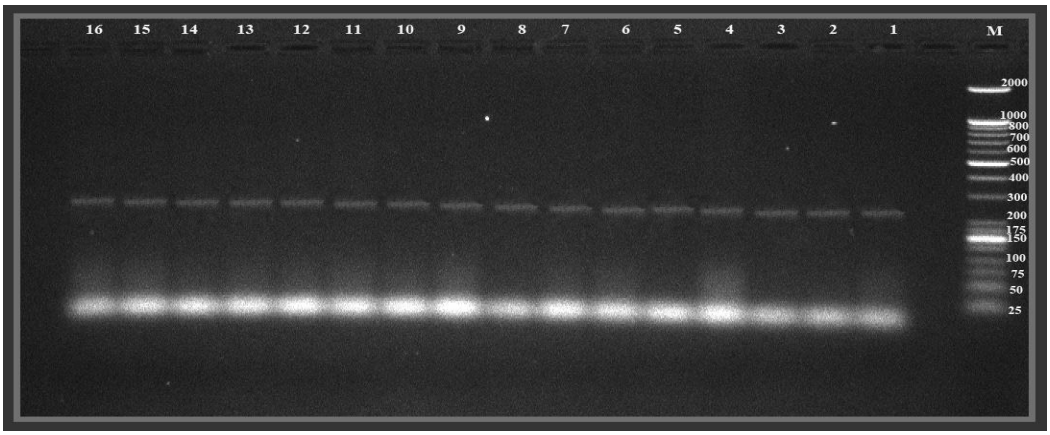
رقم 4) أوضحت النتائج ان عدد الحزم المتضاعفة بلغ 16حزمة مما منحته كفاءة مقدارها3.34% اذ تمكن هذا البادئ من التعرف على التتابعات المكملة له في DNA الجينوم للأصناف والتراكيب قيد الدراسة واظهر تباينا واضحا في مواقع والحجم الجزيئي لها إذ تراوحت إحجامها بين112.822-87.748 زوجا قاعديا ،بلغ أعلى نسبة تردد الاليل 0.3125 سجل الحجم الجزيئي 106.044زوجا قاعديا .أما عدد الاليلات التي سجلها هذا البادئ بلغ 6 اليلات هذا النتائج انعكس على ارتفاع قيم التنوع الوراثي الذي بلغ 0.7813 وقيم محتوى التعدد الشكلي التي بلغت0.7484 وهذا يعزى الى وجود اختلافات بالتسلسل النيوكلوتيدي في جينوم الأصناف مما يؤثر في مواقع ارتباط البادئات وقد ينتج هذه الاختلافات عن استبدال زوج من النيوكلوتيدات Deletionsاو الحذف Insertions او الادخال Substitutions او لحدوث طفرات معينة و تشير القيمة العالية لمحتوى التعدد الشكليPIC ان البادئ المستخدم قد اظهر كفاءة عالية في ايجاد التنوع الوراثي لذا يفضل استعمال البادئ في دراسة التغايرات الوراثية للتراكيب في برامج التربية والانتخاب المعتمدة على المؤشرات الجزيئية وهذا لم يتفق مع Jiangbo وآخرين(2012). بلغ عدد الاليلات النادرة اليلان فقط لذا تمكن هذا البادئ من أعطاء بصمة وراثية مميزة لصنف برنامج4 والتركيب الوراثي الخامس جدول رقم (9). أوضحت النتائج التضاعف ان جميع جزم لهذا البادئ كانت مفردة .



شكل (18) يوضح نتائج البادئ RM3339المرحلة على هلام الاكاروز بتركيز 1.5% لـ مدة ساعة مع الدليل الحجمي القياسي M 25- bp 2000 bp لـلأصناف والتراكيب الوراثية التالية 1-اباء ، 2-عنبرالبركة ، 3- فرات1، 4-غدير ، 5- برنامج4 ،6- ياسمين ،7-بحوث1 ،8- عنبر33، 9- دجلة 10مشخاب2 ،11 –مشخاب1، 12-التركيب الوراثي الاول ، 13-التركيب الوراثي الثاني ، 14-التركيب الوراثي الثالث ، 15- التركيب الوراثي الرابع ، 16- التركيب الوراثي الخامس

17- نتائج تضاعف البادئ RM122

يستعمل هذا البادئ للكشف عن مواقع الجنات المقاومة لمرض للفحة أوراق الرز Bacterial Leaf Blight Resistance في جينوم الرز ويقع على كرموسوم رقم 5 (جدول رقم 4) أوضحت النتائج ان عدد الحزم المتضاعفة بلغت 16حزمة مما منحته كفاءة مقدارها 3.34% اذ تمكن هذا البادئ من التعرف على التتابعات المكملة له في DNA الجينوم للأصناف والتراكيب قيد الدراسة واظهر تباينا واضحا في مواقع والحجم الجزيئي لها إذ تراوحت إحجامها بين 240.612-227.382 زوج قاعدي، سجل الحجم الجزيئي 240.612 أعلى نسبة لتردد الاليل بلغ 0.5000 ،بلغ عدد الاليلات التي سجلها هذا البادي اليلان فقط انعكس هذا النتائج على انخفاض قيم التنوع الوراثي الذي بلغ0.5000 وقيم محتوى التعدد الشكلي التي بلغت 0.3750 يتفق مع Zahida وآخرين(2010). لذا يعد هذا البادئ غير كفوء في دراسة التنوع الوراثي لانخفاض قيم محتوى التعدد الشكلي اقل من0.5 يتفق مع Chemutai وآخرين(2016) ،أوضحت النتائج التضاعف ان جميع جزم لهذا البادئ كانت مفردة وهذا يتفق مع Faridu وآخرين (2012).

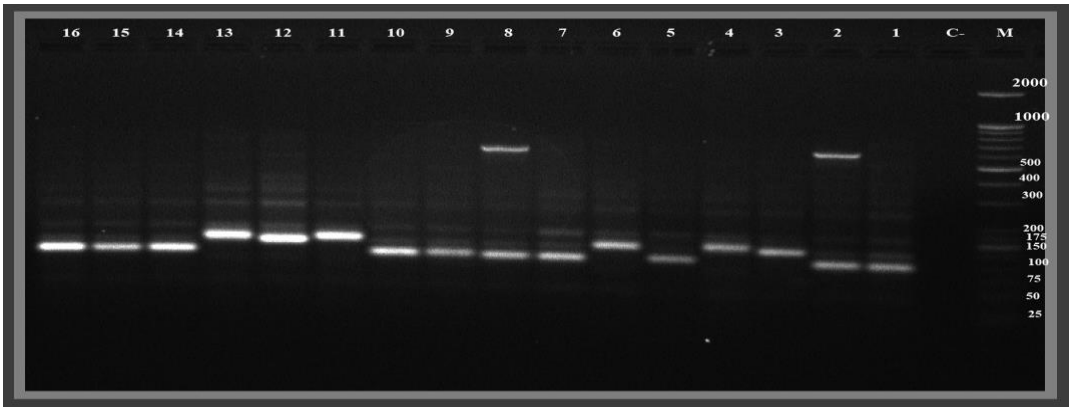


شكل (19) يوضح نتائج البادئ RM122المرحلة على هلام الاكاروز بتركيز 1.5% لـ مدة ساعة مع الدليل الحجمي القياسي M 25 bp -2000 bp لـلأصناف والتراكيب الوراثية التالية 1-اباء ، 2-عنبرالبركة ، 3- فرات1، 4-غدير ، 5- برنامج4 ،6- ياسمين ،7-بحوث1 ،8- عنبر9،33- دجلة 10مشخاب2 ،11 –مشخاب1، 12-التركيب الوراثي الاول ، 13-التركيب الوراثي الثاني ، 14-التركيب الوراثي الثالث ، 15- التركيب الوراثي الرابع ، 16- التركيب الوراثي الخامس

18- توضح نتائج تضاعف البادئ RM3907

يستعمل هذا البادئ للكشف عن مواقع الجنات المقاومة لمرض للفحة أوراق الرز Bacterial Leaf Blight Resistance في جينوم الرز ويقع على كرموسوم رقم 5 (جدول رقم 4) تمكن هذا البادئ من التعرف على التتابعات المكملة له في DNA الجينوم للأصناف والتراكيب قيد الدراسة واظهر تباينا

واضحا في مواقع والحجم الجزيئي لها إذ تراوحت إحجامها بين 688.903-90.685 زوجا قاعديا سجل الحجم الجزيئي 135زوجا قاعديا أعلى نسبة لتردد لاليل بلغ 0.4063.أما عدد الحزم المتضاعفة بلغ 18 حزمة لذا ارتفاع كفاءة هذا البادئ الى 3.76% ، أما عدد الاليلات الكلية بلغ 6 اليلات ، انعكس هذا النتائج على ارتفاع قيم التنوع الوراثي ومحتوى التعدد الشكلي التي بلغت 0.7402, 0.7043على التوالي وهذا يعزى الى وجود اختلافات بالتسلسل النيوكلوتيدي في جينوم الأصناف مما يؤثر في مواقع ارتباط البادئات وقد ينتج هذه الاختلافات عن استبدال زوج من النيوكلوتيدات Deletionsاو الحذف Insertions او الادخال Substitutions او لحدوث طفرات معينة و تشير القيمة العالية لمحتوى التعدد الشكليPIC ان البادئ المستخدم قد اظهر كفاءة عالية في ايجاد التنوع الوراثي لذا يفضل استعمال البادئ في دراسة التغايرات الوراثية للتراكيب في برامج التربية والانتخاب المعتمدة على المؤشرات الجزيئية يتفق هذا النتائج مع Toufique وآخرين(2015) .بلغ عدد الاليلات النادرة اليل واحد سجله صنف فرات1 , إما قيم متباينة الزيجة بلغت 0.1250 تتفق مع Toufique وآخرين (2015).

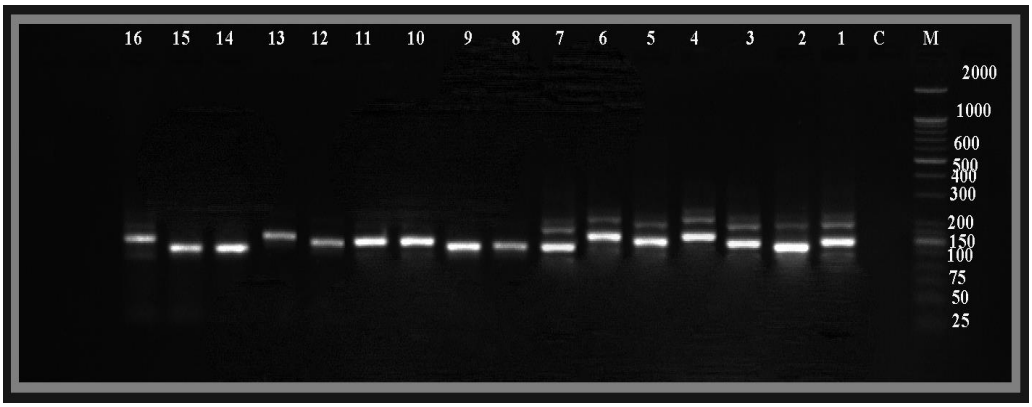


شكل (20) نتائج البادئ RM3907المرحلة على هلام الاكاروز بتركيز 1.5% لـ مدة ساعة مع الدليل الحجمي القياسي M bp 25- 2000 bp لـلأصناف والتراكيب الوراثية التالية 1-اباء ، 2-عنبرالبركة ، 3- فرات1، 4-غدير ، 5- برنامج4 ،6- ياسمين ،7-بحوث1 ،8- عنبر33، 9- دجلة 10مشخاب2 ،11 –مشخاب1، 12-التركيب الوراثي الاول ، 13-التركيب الوراثي الثاني ، 14-التركيب الوراثي الثالث ، 15- التركيب الوراثي الرابع ، 16- التركيب الوراثي الخامس

19- نتائج تضاعف البادئ RM21

يستعمل هذا البادئ للكشف عن مواقع الجنات المقاومة لمرض لفحة أوراق الرز Bacterial Leaf Blight Resistance في جينوم الرز ويقع على كرموسوم رقم 11 (جدول رقم 4) أوضحت نتائج

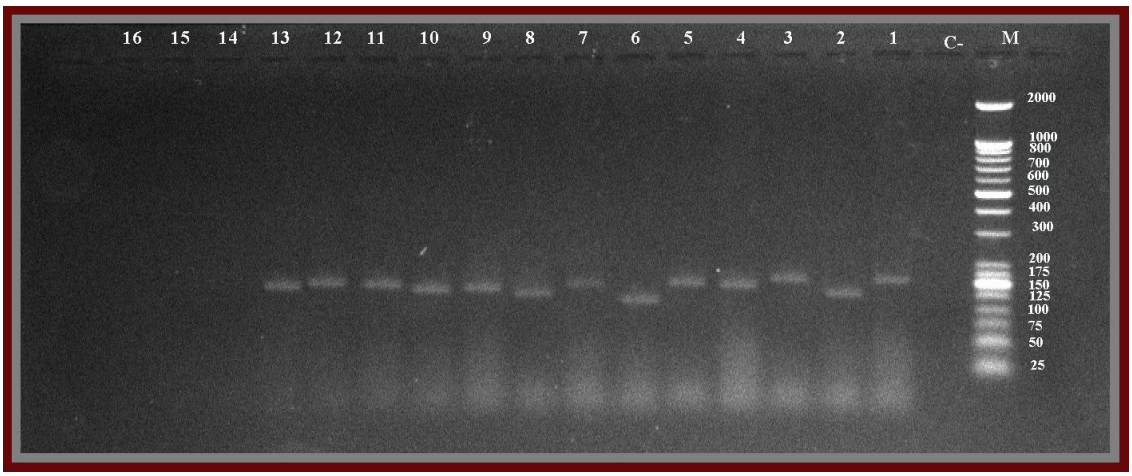
التضاعف لهذا البادئ 23 حزمة مما منح كفاءة مقدارها 4.81% ،إذ تمكن هذا البادئ من التعرف على التتابعات المكملة له في DNA الجينوم للأصناف والتراكيب قيد الدراسة واظهر تباينا واضحا في مواقع والحجم الجزيئي لها إذ تراوحت إحجامها بين 104-216.127 زوجا قاعديا كما سجل الحجم الجزيئي 196زوجا قاعديا أعلى نسبة لتردد لاليل بلغ 0.2500.بلغ عدد الاليلات الكلية 7 اليل، انعكس على ارتفاع قيم التنوع الوراثي ومحتوى التعدد الشكلي التي بلغت 0.8281, 0.8055على التوالي يعزى الى وجود اختلافات بالتسلسل النيوكلوتيدي في جينوم الأصناف مما يؤثر في مواقع ارتباط البادئات وقد ينتج هذه الاختلافات عن استبدال زوج من النيوكلوتيدات Deletionsاو الحذف Insertions او الادخال Substitutions او لحدوث طفرات معينة و تشير القيمة العالية لمحتوى التعدد الشكليPIC ان البادئ المستخدم قد اظهر كفاءة عالية في ايجاد التنوع الوراثي لذا يفضل استعمال البادئ في دراسة التغايرات الوراثية للتراكيب في برامج التربية والانتخاب المعتمدة على المؤشرات الجزيئية تتفق مع دراسة Ravindra وآخرين(2012). بلغ عدد الاليلات النادرة اليلا واحدا لذا تمكن هذا البادئ من أعطى بصمة وراثية مميزة لصنف غدير جدول رقم (9) ، سجل هذا البادئ قيم لمتباينة الزيجة بلغ 0.3750 يتفق مع نتائج Shailesh وآخرين(2015).



شكل (21) يوضح نتائج البادئ RM21المرحلة على هلام الاكاروز بتركيز 1.5% لـ مدة ساعة مع الدليل الحجمي القياسي M bp 25- bp 2000 لـلأصناف والتراكيب الوراثية التالية 1-اباء ، 2-عنبرالبركة ، 3- فرات1، 4-غدير ، 5- برنامج4 ،6- ياسمين ،7-بحوث1 ،8- عنبر33، 9- دجلة 10مشخاب2 ،11 –مشخاب1، 12-التركيب الوراثي الاول ، 13-التركيب الوراثي الثاني ، 14-التركيب الوراثي الثالث ، 15- التركيب الوراثي الرابع ، 16- التركيب الوراثي الخامس

20- تضاعف البادئRM224

يستعمل هذا البادئ للكشف عن مواقع الجينات المقاومة للمرض لفحة الغمد Sheath Resistance Blight الناجم عن فطر Rhizoctonia solani في جينوم الرز ويقع على كرموسوم رقم 11 (جدول رقم 4) أوضحت نتائج ان هذا البادي سجل اقل عدد حزم تضاعف بلغت 13 حزمة لذلك انخفضت كفاءة الى 2.71% ،إذ تمكن هذا البادئ من التعرف على التتابعات المكملة له في DNA الجينوم للأصناف والتراكيب الوراثيه فقط واظهر تباينا واضحا في مواقع والحجم الجزيئي لها إذ تراوحت إحجامها بين -163.416 120.249 زوج قاعدي، سجل الحجم الجزيئي 155.73زوجا قاعديا أعلى نسبة لتردد الاليل بلغ 0.2308،أما عدد الاليلات الكلية بلغ 8 اليلات انعكس على ارتفاع قيم التنوع الوراثي ومحتوى التعدد الشكلي التي بلغت 0.8521, 0.8348على التوالي وهذا يعزى الى وجود اختلافات بالتسلسل النيوكلوتيدي في جينوم الأصناف مما يؤثر في مواقع ارتباط البادئات وقد ينتج هذه الاختلافات عن استبدال زوج من النيوكلوتيدات Deletionsاو الحذف Insertions او الادخال Substitutions او لحدوث طفرات معينة و تشير القيمة العالية لمحتوى التعدد الشكليPIC ان البادئ المستخدم قد اظهر كفاءة عالية في ايجاد التنوع الوراثي لذا يفضل استعمال البادئ في دراسة التغايرات الوراثية للتراكيب في برامج التربية والانتخاب المعتمدة على المؤشرات الجزيئية يتفق مع Kyung وآخرين (2015) ،أما عدد الاليلات النادر بلغ 4 اليلات لذا تمكن هذا البادئ من أعطى بصمة وراثية مميزة لصنف غدير، ياسمين، مشخاب2، فرات1 جدول رقم (9) ، أوضحت نتائج التضاعف ان جميع الحزم كانت مفردة وهذا يتفق مع Kyung وآخرين(2015). يفسر غياب الحزمة في التركيب الوراثي الثالث والرابع والخامس بعدم إيجاد البادئ التتابعات المكمل له في التراكيب المذكورة وبالتالي لم تظهر اي حزمة وبهذا يمكن اعتبارها بصمة مميزة لهذه التراكيب في هذا البادئ .

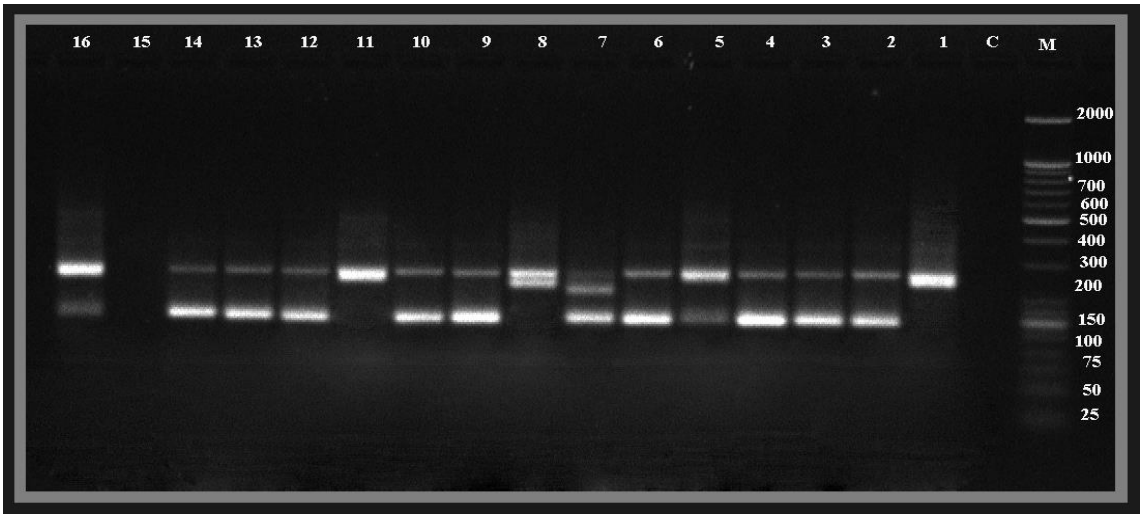


شكل (22) يوضح نتائج البادئRM224المرحلة على هلام الاكاروز بتركيز 1.5% لـ مدة ساعة مع الدليل الحجمي

القياسي M bp 25- bp 2000 لـلأصناف والتراكيب الوراثية التالية 1-اباء ، 2-عنبرالبركة ، 3- فرات1، 4-غدير ، 5- برنامج4 ،6- ياسمين ،7-بحوث1 ،8- عنبر33، 9- دجلة 10مشخاب2 ،11 –مشخاب1، 12-التركيب الوراثي الاول ، 13-التركيب الوراثي الثاني ، 14-التركيب الوراثي الثالث ، 15- التركيب الوراثي الرابع ، 16- التركيب الوراثي الخامس

21- نتائج تضاعف البادئRM7443

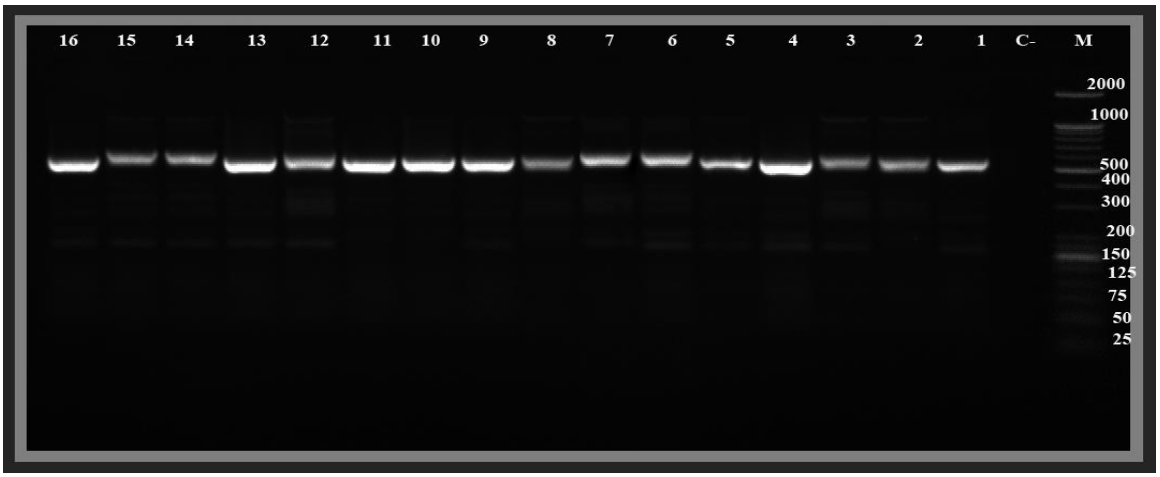
يستعمل هذا البادئ للكشف عن الجينات المقاومة للمرض لفحة الغمد Sheath Resistance Blight الناجم عن فطرRhizoctonia solani في جينوم الرز ويقع على كرموسوم رقم 11 (جدول رقم 4) بلغت عدد الحزم المتضاعفة 28 حزمة لذلك ارتفعت كفاءة البادي إلى 5.85% إذ تمكن هذا البادئ من التعرف على التتابعات المكملة له في DNA الجينوم للأصناف والتراكب واظهر تباينا واضحا في مواقع والحجم الجزيئي لها إذ تراوحت إحجامها بين151-288.714 زوجا قاعديا ، بلغ أعلى نسبة تردد لاليل0.5333، أما عدد الاليلات الكلية بلغ 6 اليل انعكس على القيم التنوع الوراثي ومحتوى التعدد الشكلي التي بلغت0.6000, 0.5333 على التوالي وهذا تعزى الى وجود اختلافات بالتسلسل النيوكلوتيدي في جينوم الأصناف مما يؤثر في مواقع ارتباط البادئات وقد تعود هذه الاختلافات عن استبدال زوج من النيوكلوتيدات Deletions او الحذف Insertions او الادخال Substitutions تتفق هذا النتائج مع Vinita وآخرين(2013). إما عدد الاليلات النادر بلغ اليلان لذا تمكن هذا البادئ من أعطاء بصمة وراثية مميزة لصنف بحوت1وعنبر33 والتركيب الوراثي الخامس جدول رقم (9) ، أوضحت النتائج ارتفاع قيم متباينة الزيجة الى 0.8000 بسبب ظهور13 حزمة المتعددة وهذا لم يتفق مع Vinitaوآخرين(2013)اذ سجل حزم مفردة ولم تظهر حزم متعددة.



شكل (23) يوضح نتائج البادئ RM7443المرحلة على هلام الاكاروز بتركيز 1.5% لـ مدة ساعة مع الدليل الحجمي القياسي M 25- bp 2000 bp لـلأصناف والتراكيب الوراثية التالية 1-اباء ، 2-عنبرالبركة ، 3- فرات1، 4-غدير ، 5- برنامج4 ،6- ياسمين ،7-بحوث1 ،8- عنبر33، 9- دجلة 10مشخاب2 ،11 –مشخاب1، 12-التركيب الوراثي الاول ، 13-التركيب الوراثي الثاني ، 14-التركيب الوراثي الثالث ، 15- التركيب الوراثي الرابع ، 16- التركيب الوراثي الخامس

22- توضح نتائج تضاعف البادئ RM23956

يستعمل هذا البادئ للكشف عن الجينات المقاومة للمرض gall midge resistance genes الناتج بسبب حشرة Orseolia oryzae (Wood-Mason) في جينوم الرز ويقع على كرموسوم رقم 9 (جدول رقم 4) بلغ عدد الحزم المتضاعفة 16 حزمة منحت كفاءة البادئ بقيمة 3.34% اذ تمكن هذا البادئ من التعرف على التتابعات المكملة له في DNA الجينوم للأصناف والتراكب واظهر تباينا واضحا في مواقع والحجم الجزيئي لها إذ تراوحت إحجامها بين 494.041 - 623 زوج قاعدي، بلغ أعلى نسبة تردد لاليل0.5000 ،أما عدد الاليلات الكلية بلغ 3 اليل ، انعكس هذا النتائج على القيم التنوع الوراثي ومحتوى التعدد الشكلي التي بلغت 0.5938, 0.5112على التوالي على التوالي وهذا تعزى الى وجود اختلافات بالتسلسل النيوكلوتيدي في جينوم الأصناف مما يؤثر في مواقع ارتباط البادئات وقد تعود هذه الاختلافات عن استبدال زوج من النيوكلوتيدات Deletions او الحذف Insertions او الادخال Substitutions. ، كما لم سجل قيم لمتباينة الزيجة لذا لم يتفق مع نتائج Shailesh وآخرين(2015).

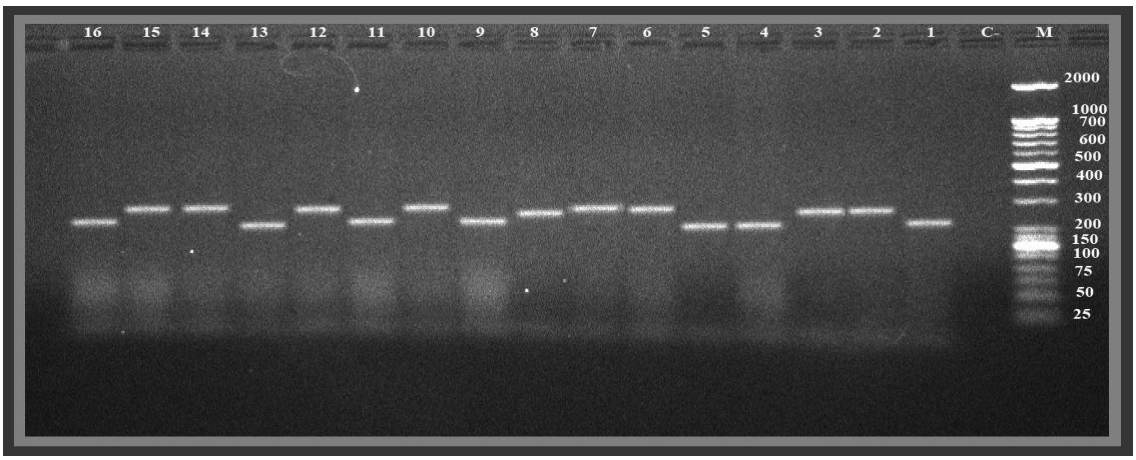


شكل (24) يوضح نتائج البادئ RM23956المرحلة على هلام الاكاروز بتركيز 1.5% لـ مدة ساعة مع الدليل الحجمي القياسي M 25- bp 2000 bp لـلأصناف والتراكيب الوراثية التالية 1-اباء ، 2-عنبرالبركة ، 3- فرات1، 4-غدير ، 5- برنامج4 ،6- ياسمين ،7-بحوث1 ،8- عنبر33، 9- دجلة 10مشخاب2 ،11 –مشخاب1، 12-التركيب الوراثي

الاول ، 13-التركيب الوراثي الثاني ، 14-التركيب الوراثي الثالث ، 15- التركيب الوراثي الرابع ، 16- التركيب الوراثي الخامس

23- نتائج تضاعف البادئ RM547

يستعمل هذا البادئ للكشف عن الجينات المقاومة للمرض gall midge resistance genes الناتج بسبب حشرة Orseolia oryzae (Wood-Mason) في جينوم الرز ويقع على كرموسوم رقم 8 (جدول رقم 4) بلغ عدد الحزم المتضاعفة 16 حزمة منحت هذا البادئ كفاءة مقدارها 3.34% اذ تمكن هذا البادئ من التعرف على التتابعات المكملة له في DNA الجينوم للأصناف والتراكب واظهر تباينا واضحا في مواقع والحجم الجزيئي لها إذ تراوحت إحجامها بين 235-271.304 زوج قاعدي، بلغ أعلى نسبة تردد لاليل 0.4063،أما عدد الاليلات الكلية بلغ 4 اليل. انعكس على قيم التنوع الوراثي ومحتوى التعدد الشكلي بلغت0.7031, 0.6568 على التوالي وهذا تعزى الى وجود اختلافات بالتسلسل النيوكلوتيدي في جينوم الأصناف مما يؤثر في مواقع ارتباط البادئات وقد تعود هذه الاختلافات عن استبدال زوج من النيوكلوتيدات Deletions او الحذف Insertions او الادخال Substitutions يتفق هذا النتائج مع Xiao وآخرين(2013). بلغ عدد الاليلات النادرة اليلان لذا تمكن هذا البادئ من أعطاء بصمة وراثية مميزة لصنف عنبر33و صنف فرات1جدول رقم (9) يتفق مع Nirmala وآخرين (2012) ،أوضحت النتائج إن جميع الحزم التضاعف كانت مفردة لذا لم يسجل قيم متباينة الزيجة .

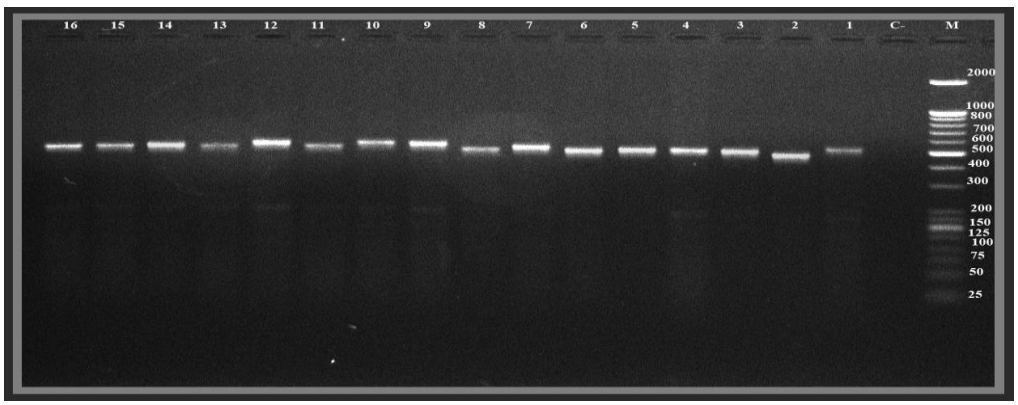


شكل (25) يوضح نتائج البادئ RM547المرحلة على هلام الاكاروز بتركيز 1.5% لـ مدة ساعة مع الدليل الحجمي القياسي M 25- bp 2000 bp لـلأصناف والتراكيب الوراثية التالية 1-اباء ، 2-عنبرالبركة ، 3- فرات1، 4-غدير ،

5- برنامج4 ،6- ياسمين ،7-بحوث1 ،8- عنبر33، 9- دجلة 10مشخاب2 ،11 –مشخاب1، 12-التركيب الوراثي الاول ، 13-التركيب الوراثي الثاني ، 14-التركيب الوراثي الثالث ، 15- التركيب الوراثي الرابع ، 16- التركيب الوراثي الخامس

24- توضح نتائج تضاعف البادئ RM28574

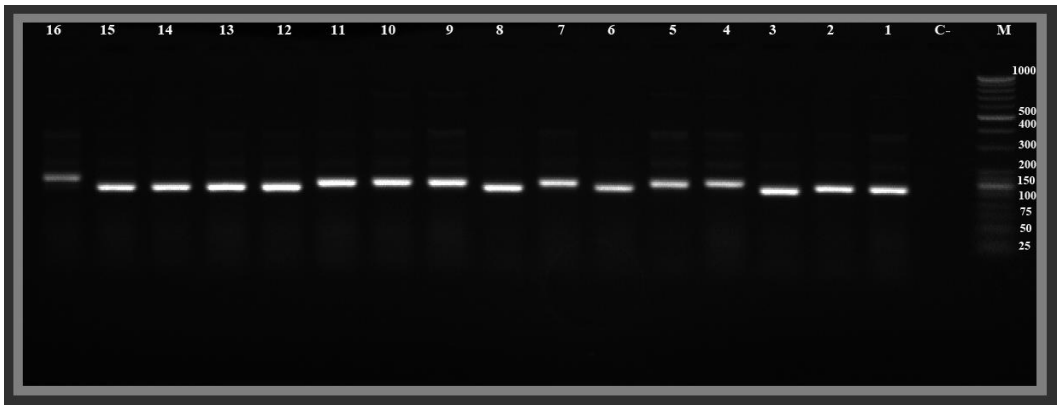
يستعمل هذا البادئ للكشف عن الجينات المقاومة لمرض gall midge resistance genes الناتج بسبب حشرة Orseolia oryzae (Wood-Mason) في جينوم الرز ويقع على كروموسوم رقم 12 (جدول رقم 4) أوضحت النتائج ان عدد الحزم المتضاعفة بلغ 16 حزمة منحت هذا البادئ كفاءة مقدارها 3.34% إذ تمكن هذا البادئ من التعرف على التتابعات المكملة له في DNA الجينوم للأصناف والتراكب واظهر تباينا واضحا في مواقع والحجم الجزيئي لها إذ تراوحت إحجامها بين 494- 585.57 زوجا قاعديا أما أعلى نسبة لتردد لاليل بلغ 0.3125، بلغ عدد الاليلات الكلية 6 اليلات هذا النتائج انعكس على ارتفاع قيم التنوع الوراثي ومحتوى التعدد الشكلي التي بلغت 0.7891, 0.7588 على التوالي وهذا يعزى الى وجود اختلافات بالتسلسل النيوكلوتيدي في جينوم الأصناف مما يؤثر في مواقع ارتباط البادئات وقد ينتج هذه الاختلافات عن استبدال زوج من النيوكلوتيدات Deletionsاو الحذف Insertions او الادخال Substitutions او لحدوث طفرات معينة و تشير القيمة العالية لمحتوى التعدد الشكليPIC ان البادئ المستخدم قد اظهر كفاءة عالية في ايجاد التنوع الوراثي لذا يفضل استعمال البادئ في دراسة التغايرات الوراثية للتراكيب في برامج التربية والانتخاب المعتمدة على المؤشرات الجزيئية . أما عدد الاليلات النادرة بلغ اليل واحد فقط لذا تمكن هذا البادئ من أعطاء بصمة وراثية مميزة لصنف عنبر البركة جدول رقم (9) يتفق مع نتائج Nirmala وآخرين (2012)، لم سجل قيم لمتباينة الزيجة بسبب ظهور الحزم التضاعف المفردة .



شكل (26) يوضح نتائج البادئ RM28574المرحلة على هلام الاكاروز بتركيز 1.5% لـ مدة ساعة مع الدليل الحجمي القياسي M bp 25- bp 2000 لـلأصناف والتراكيب الوراثية التالية 1-اباء ، 2-عنبرالبركة ، 3- فرات1، 4-غدير ، 5- برنامج4 ،6- ياسمين ،7-بحوث1 ،8- عنبر33، 9- دجلة 10مشخاب2 ،11 –مشخاب1، 12-التركيب الوراثي الاول ، 13-التركيب الوراثي الثاني ، 14-التركيب الوراثي الثالث ، 15- التركيب الوراثي الرابع ، 16- التركيب الوراثي الخامس

25- توضح نتائج تضاعف البادئ RM589

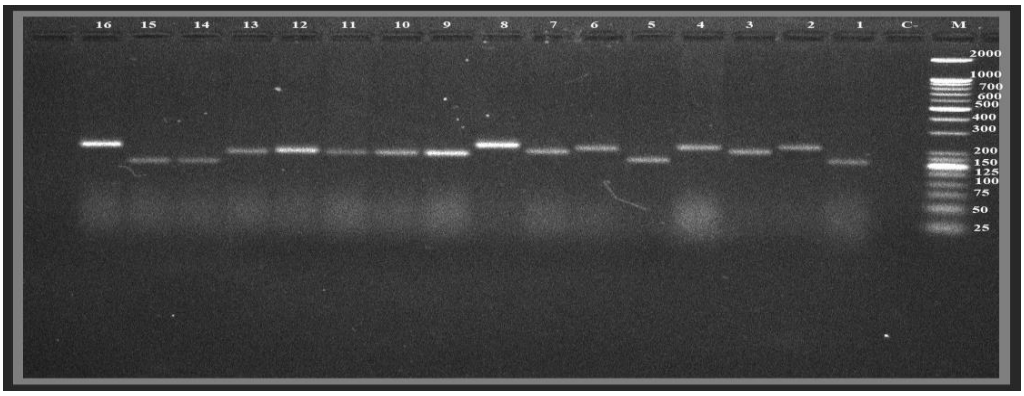
يستعمل هذا البادئ للكشف عن الجينات المقاومة لمرض brown plant hopper (BPH) الناتج بسبب حشرة Nilaparvata lugens في جينوم الرز ويقع على كرموسوم رقم 6 (جدول رقم4) بلغ عدد الحزم المتضاعفة 16 حزمة منحت هذا البادئ كفاءة مقدارها 3.34% إذ تمكن هذا البادئ من التعرف على التتابعات المكملة له في DNA الجينوم للأصناف والتراكب واظهر تباينا واضحا في مواقع والحجم الجزيئي لها إذ تراوحت إحجامها بين 190.638-140.655 زوجا قاعديا بلغ أعلى نسبة لتردد لاليل 0.3750 الذي سجل الحجم الجزيئي 154.138زوجا قاعديا .بلغ عدد الاليلات الكلية 5 اليلات انعكس على ارتفاع نتائج قيم التنوع الوراثي ومحتوى التعدد الشكلي التي بلغت 0.7422, 0.7009على التوالي وهذا يعزى الى وجود اختلافات بالتسلسل النيوكلوتيدي في جينوم الأصناف مما يؤثر في مواقع ارتباط البادئات وقد ينتج هذه الاختلافات عن استبدال زوج من النيوكلوتيدات Deletionsاو الحذف Insertions او الادخال Substitutions او لحدوث طفرات معينة و تشير القيمة العالية لمحتوى التعدد الشكليPIC ان البادئ المستخدم قد اظهر كفاءة عالية في ايجاد التنوع الوراثي لذا يفضل استعمال البادئ في دراسة التغايرات الوراثية للتراكيب في برامج التربية والانتخاب المعتمدة على المؤشرات الجزيئية يتفق مع نتائج Xiao وآخرين(2013).بينما بلغ عدد الاليلات النادرة اليل واحد لذا تمكن هذا البادئ من أعطى بصمة وراثية مميزة للتراكيب وراثية الخامس جدول رقم (9) يتفق هذا النتائج مع Nirmala وآخرين(2012)، لم سجل قيم لمتباينة الزيجة كون كل الحزم التضاعف كانت مفردة .



شكل (27) يوضح نتائج البادئ RM589المرحلة على هلام الاكاروز بتركيز 1.5% لـ مدة ساعة مع الدليل الحجمي القياسي bp M 25- 2000 bp للأصناف والتراكيب الوراثية التالية 1-اباء ، 2-عنبرالبركة ، 3- فرات1، 4-غدير ، 5- برنامج4 ،6- ياسمين ،7-بحوث1 ،8- عنبر33، 9- دجلة 10مشخاب2 ،11 –مشخاب1، 12-التركيب الوراثي الاول ، 13-التركيب الوراثي الثاني ، 14-التركيب الوراثي الثالث ، 15- التركيب الوراثي الرابع ، 16- التركيب الوراثي الخامس

26- نتائج تضاعف البادئ RM8213

يستعمل هذا البادئ للكشف عن الجينات المقاومة للمرض brown plant hopper (BPH) الناتج بسبب حشرة Nilaparvata lugens في جينوم الرز ويقع على كرموسوم رقم 4 (جدول رقم 4). بلغ عدد الحزم المتضاعفة 16 حزمة منحت هذا البادئ كفاءة مقدارها 3.34% إذ تمكن هذا البادئ من التعرف على التتابعات المكملة له في DNA الجينوم للأصناف والتراكب واظهر تباينا واضحا في مواقع والحجم الجزيئي لها إذ تراوحت إحجامها بين177-238.47 زوجا قاعديا .كما بلغ أعلى نسبة لتردد لاليل 0.3125.أما عدد الاليلات الكلية بلغ 6 اليلا انعكس على قيم التنوع الوراثي ومحتوى التعدد الشكلي بلغ 0.7656, 0.7303على التوالي وهذا يعزى الى وجود اختلافات بالتسلسل النيوكلوتيدي في جينوم الأصناف مما يؤثر في مواقع ارتباط البادئات وقد ينتج هذه الاختلافات عن استبدال زوج من النيوكلوتيدات Deletionsاو الحذف Insertions او الادخال Substitutions او لحدوث طفرات معينة و تشير القيمة العالية لمحتوى التعدد الشكليPIC ان البادئ المستخدم قد اظهر كفاءة عالية في ايجاد التنوع الوراثي لذا يفضل استعمال البادئ في دراسة التغايرات الوراثية للتراكيب في برامج التربية والانتخاب المعتمدة على المؤشرات الجزيئية يتفق مع نتائج Roy وآخرين (2016). لم سجل قيم لمتباينة الزيجة بسبب ظهور حزم التضاعف بصورة مفردة اذا لم تتفق مع نتائج Roy وآخرين(2016)اذا اظهر حزم متعددة .

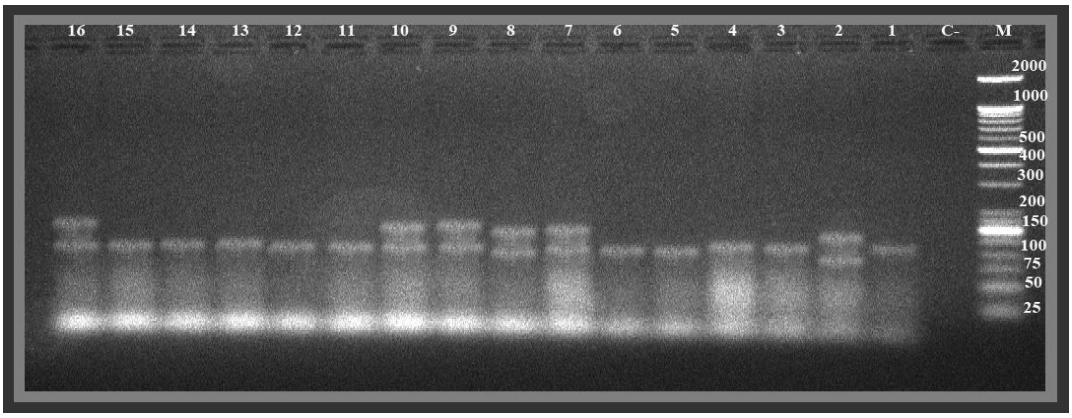


شكل (28) يوضح نتائج البادئ RM8213المرحلة على هلام الاكاروز بتركيز 1.5% لـ مدة ساعة مع الدليل الحجمي القياسي M bp 25- bp 2000 لـلأصناف والتراكيب الوراثية التالية 1-اباء ، 2-عنبرالبركة ، 3- فرات1، 4-غدير ، 5- برنامج4 ،6- ياسمين ،7-بحوث1 ،8- عنبر33، 9- دجلة 10مشخاب2 ،11 –مشخاب1، 12-التركيب الوراثي الاول ، 13-التركيب الوراثي الثاني ، 14-التركيب الوراثي الثالث ، 15- التركيب الوراثي الرابع ، 16- التركيب الوراثي الخامس

28- نتائج تضاعف البادئ RM335

يستعمل هذا البادئ للكشف عن الجينات المقاومة لمرض brown plant hopper (BPH) الناتج بسبب حشرة Nilaparvata lugens في جينوم الرز ويقع على كرموسوم رقم 4 (جدول رقم 4) بلغ عدد الحزم المتضاعفة 22 حزمة أدى الى ارتفاع كفاءة هذا البادئ لتصل الى4.60% إذ تعرف هذا البادئ على التتابعات المكملة له في DNA الجينوم للأصناف والتراكب واظهر تباينا واضحا في مواقع والحجم الجزيئي لها إذ تراوحت إحجامها بين66.873 -146.772 زوج قاعدي. أما أعلى نسبة لتردد لاليل بلغ 0.3125 سجلها الحجم الجزيئي 89.208 زوج قاعدي.، بلغ عدد الاليلات الكلية 9 اليلات انعكس على ارتفاع قيم التنوع الوراثي ومحتوى التعدد الشكلي التي بلغت 0.8125, 0.7895على التوالي وهذا يعزى الى وجود اختلافات بالتسلسل النيوكلوتيدي في جينوم الأصناف مما يؤثر في مواقع ارتباط البادئات وقد ينتج هذه الاختلافات عن استبدال زوج من النيوكلوتيدات Deletionsاو الحذف Insertions او الادخال Substitutions او لحدوث طفرات معينة و تشير القيمة العالية لمحتوى التعدد الشكليPIC ان البادئ المستخدم قد اظهر كفاءة عالية في ايجاد التنوع الوراثي لذا يفضل استعمال البادئ في دراسة التغايرات الوراثية للتراكيب في برامج التربية والانتخاب المعتمدة على المؤشرات الجزيئية يتفق مع نتائج Xiao وآخرين(2013). أما عدد الاليلات النادرة بلغ اليل واحد لذا اعطا هذا البادئ بصمة وراثية مميزة لصنف عنبر البركة فقط جدول رقم (9) يتفق مع نتائج Xiao وآخرين (2013)،بلغت قيم لمتباينة الزيجة

0.3750 وهذا يتفق مع نتائج Rahman وآخرين (2010) .



شكل (29) يوضح نتائج البادئ RM335المرحلة على هلام الاكاروز بتركيز 1.5% لـ مدة ساعة مع الدليل الحجمي القياسي M bp -25 bp 2000 للأصناف والتراكيب الوراثية التالية 1-اباء ، 2-عنبرالبركة ، 3- فرات1، 4-غدير ، 5- برنامج4 ،6- ياسمين ،7-بحوث1 ،8- عنبر33، 9- دجلة 10مشخاب2 ،11 –مشخاب1، 12-التركيب الوراثي الاول ، 13-التركيب الوراثي الثاني ، 14-التركيب الوراثي الثالث ، 15- التركيب الوراثي الرابع ، 16- التركيب الوراثي الخامس

نستنتج من ذلك ان الحجم الجزيئي للحزم الناتجة كانت متنوعة لجميع اصناف و التراكيب الوراثية للرز وقد تراوحت بين66.873 و1015.402 زوج قاعدي إذ سجل البادئRM335 اقل حجم جزيئي أما أعلى حجم جزيئي فقد سجله المؤشر RM8094 جدول رقم (8) ، ويعود السبب في اختلاف حجم الحزم الناتجة من استخدام كل بادئ الى الاختلاف في المواقع المكملة لذلك البادئ بين الأصناف والتراكيب الوراثية قيد الدراسة تتفق مع دراسة Berilus وآخرين(2013) و Israt وآخرين (2014) .

كما اوضحت النتائج ان هناك اختلافا في اعداد الحزم الناتجة لكل بادئ إذ سجل صنف ياسمين اعلى عدد للحزم المتضاعفة لجميع البادئات بلغت (33) ،أما اقل عدد للحزم كانت في التركيب الوراثي الرابع بلغت (26) حزمة. وان هذا الاختلاف بين جميع الأصناف والتراكيب الوراثية يعود لعدم تساوي توزيع المواقع المكملة للبادئات بين التراكيب المدروسة وان اعلى عدد للحزم يدل على وفرة المواقع المكملة للبادئات مما يودي الى زيادة عدد الحزم الناتجة من ارتباط البادئات مع تلك المواقع وان معرفة هذه المواقع مهم في بناء الخرائط الوراثية ويساعد فيتحديد صفات مهمة كتحمل الملوحة وتحمل الجفاف ومقاومة الإمراض (Salgotra وآخرين 2015)

بلغت عدد الاليلات الكلية 149 اليل تم تحديدها في احد عشر صنفا وخمسة تركيب وراثية بمعدل 5.4815 اليل لكل موقع، سجل كل من البادئات (RM122,RM236,RM10772,RM201) اقل عدد من اليلات بلغت 2 اليل أما أعلى عدد الاليلات بلغت 9 اليل سجل كل من البادئ(RM3412,RM335) ، يعزى هذا الاختلاف الى التغاير بين الاصناف و التراكيب الوراثية المدروسة تتفق مع Israt وآخرين (

2014) و Shahid وآخرين (2013) أما عدد الاليلات النادرة بلغت 37 اليل نادر إذ سجل كل من البادئ RM8085و RM224اعلى عدد اليلات بلغ 4اليل جدول رقم (9).

كما وأضحت النتائج عن وجود تباين الى حد كبير للجميع المؤشرات SSR في محتوى التعدد الشكلي Polymorphism information content (PIC) الذي يمثل انعكاس لتنوع الاليلي والتكرار الاليلي بين الأصناف اذ تتراوح قيمة عادة بين الصفر والواحد وعندما تكون أعلى من 0.5 تكون مفيدة جدا في دراسة التنوع الوراثي أما إذ اقتربت من الصفر يدل على عدم كفاءة هذا البادي في دراسة التنوع Chemutai وآخرين (2016). في الدراسة الحالية تراوحت القيمه بين (0.0587-0.8595) إذ سجل البادئ RM3412اعلى قيمة محتوى التعدد الشكلي أما اقل قيمة لمحتوى التعدد الشكلي سجله البادئ RM10772 في جدول (8) تتفق مع Nachimuthu وآخرين(2015) و Ahasanu وآخرين(2014)و Sadia وآخرين(2012)، ،أما قيم التنوع الوراثي تراوحت بين 0.0605- 0.8730 إذ سجل البادئ RM3412 أعلى قيم لتنوع الوراثي أما اقل تنوع وراثي سجله البادئ RM10772 جدول رقم (8) وان انخفاض قيم التنوع قد يعود الى اشتراك التراكيب الوراثية في بركة الجين وهو عكس ما يحصل في برامج التحسين الوراثي التي يتم فيها ادخال جينات جديدة الى التراكيب الوراثية تتفق مع Sadia وآخرين(2012)و Ahasanu وآخرين(2014)، جدول رقم (8) نلاحظ وجود علاقة طرديه بين عدد الاليلات لكل بادئ ومعامل التنوع الوراثي ومحتوى التعدد الشكلي وان القيم العالية لمحتوى التعدد الشكلي و التنوع الوراثي والتباين في عدد الحزم الناتجة وعدد الاليلات تعزى الى الاختلاف بالتسلسل النيوكليوتيدي في المادة الوراثية للنبات وقد يكون سبب ادخال زوج من النيوكليوتيدات Insertionsاو استبدل Substitutions او حذف Deletions بسبب حدوث طفرة معينة (Mujaju وآخرين 2013). سجل كل من البادئ RM7443,RM3412اعلى كفاءة نسبية بلغت 5.85%أما اقل كفاءة بلغت 2.71 سجلها البادئ RM224. كما سجل البادئ RM7443 أعلى قيم لمتباينة الزيجة Heterozygot بلغت 0.800 جدول رقم (8). تباينت البادئات فيما بينها بإعطاء بصمة وراثية مختلفة للاصناف والتراكيب الوراثية قيد الدراسة، فقد امكن بواسطة البادئين RM8085وRM224 من إعطاء بصمة مميزة لاربعة اصناف و تراكيب وراثية جدول رقم (9).

ومن النتائج المهمة في هذه الدراسة التي تم التوصل اليها هو ايجاد مؤشر خاص بالتركيب الوراثي الخامس من الرز وهو غياب حزمة التضاعف للبادئ RM8085 وظهورها في باقي الاصناف و التراكيب الوراثية .كما يعتبر البادئ RM224 مؤشر خاص لثلاث تراكيب وراثية (3 ،4 و5) بسبب غياب حزمة التضاعف

بينما ظهورها في بقية الأصناف والتراكيب الوراثية قيد الدراسة كما يعتبر البادئ RM7443 مؤشر خاص بالتركيب الوراثي الرابع من الرز وهو غياب حزمة التضاعف يعود لسبب عدم وجود المواقع المكملة لتسلسلات ذلك البادئ ضمن مجين التركيب الوراثي قد يكون بسبب حدوث طفرة في الموقع مما يؤدي الى فقدان وظيفة الجين الطبيعية .او حدوث الطفرة في مناطق بناء Binding Rigions للبادئ إذ تثبط درجة التحام البادئ Pirmer Annealing وهذا يتفق مع Chemutai وآخرين (2016)

نلاحظ امكانية PCR-SSR في التميز الأصناف والتراكيب التي لاتمكن التميز بينها على المستوى المظهري إذ اظهرت النتائج بشكل عام وجود كمية عالية من الاختلافات الوراثية مما يؤكد فعالية هذة التقانة حتى عند وجود درجات منخفضة من الاختلافات الوراثية بين الأصناف والتراكيب ،فهي قادرة على تحديد الأصناف التي تختلف عن بعضها البعض بحزمة واحدة على الاقل مما يساعد في الكشف عن العلاقة الوراثية بين الأصناف اذ يعزى الاختلاف بين الأصناف الى اختلاف القاعدة الوراثية كذلك يمكن ان يعطي اعداد الاليلات وقيم التنوع الوراثي فكرة عن القاعدة الوراثية الواسعة بين الأصناف الرز كما ان متباينة الزيجة تعطي قياسا جيد لبعد الوراثي وموقع تعدد الاشكال ويعتبر متباينة الزيجة Heterozygot مقياس واسع النطاق على التنوع الوراثي . ان قدرة المؤشرات SSR في إعطاء اكبر عدد ممكن من الاليلات لكل موقع يساعد في معرفة تعدد الاشكال polymorphism التي تعد من الامور المهمة لمربي النبات ، تتفق مع دراسة كل من Emanuelli وآخرين(2013) وSohrabi وآخرين (2012)و Das وآخرين (2013)و Babu وآخرين(2014) في اهمية مؤشرات SSR واستخدامه على نطاق واسع في دراسة علاقة النشوء والتطور وتحليل التنوع بين التراكيب الوراثية للرز ورسم الخرائط (Zhang وآخرين2013)وتميز الصفات الكمية المهمة (Wangوآخرين2012).

جدول 8 ملخص نتائج تحليل التنوع الوراثي لستة عشر تركيب وراثي من الرز باستخدام 27 بادئا من نوع SSR يتضمن اسم البادئ،عدد الحزم المتضاعفة،حجم الحزم المتضاعفة ، عدد الاليلات ، الاليل الرئيسي ، تكرار لاليل الرئيسي ، عدد الحزم المفردة ،عدد الحزم المتعددة ،متباينة الزيجة heterozygosity ، قيم التنوع الوراثي Gene diversity، محتوى التعدد الشكلي Polymorphism information content (PIC) ، و النسبة المئوية لكفاءة البادئ

النسبة المئوية لكفاءة البادئات	Polymorphism information content (PIC)	Gene Diversity	Heterozygosity	Polymorphic band	monomorphic band	Major. Allele. Frquency	Major. Allele.	Allele No.	Size range(bp)	No. of amplified bands	Marker
%4.81	0.8184	0.8379	0.4375	7	11	0.2500	209	8.0000	1015.402-209	23	**RM8094**
5.85	0.8595	0.8730	0.7500	12	4	0.1875	318.809	9.0000	391.979-260.76	28	**RM3412**
3.34	0.6854	0.7344	0.0000	0	16	0.3125	146	4.0000	152.639-129.002	16	**RM25**
3.55	0.0587	0.0605	0.0625	1	15	0.9688	422.697	2.0000	500-422.697	17	**RM10772**
3.34	0.6121	0.6406	0.0000	0	16	0.5625	318.788	6.0000	249.245-157.634	16	**RM296**
3.34	0.8253	0.8438	0.0000	0	16	0.2500	141.421	8.0000	150.556-122	16	**RM510**
3.97	0.8037	0.8262	0.1875	3	13	0.2500	349.213	8.0000	285.387-175.312	19	**RM585**
3.34	0.4831	0.5391	0.0000	0	16	0.6250	269.184	4.0000	269.184-205.321	16	**RM341**
3.34	0.3589	0.4688	0.0000	0	16	0.6250	158	2.0000	158-140.522	16	**RM201**
3.34	0.3977	0.4609	0.0000	0	16	0.6875	120.904	6.0000	150-115.423	16	**RM212**
3.34	0.4465	0.5391	0.0000	0	16	0.5000	197.601	3.0000	197.601 -159.791	16	**RM3825**
3.13	0.8159	0.8356	0.0000	0	16	0.2667	122.802	8.0000	168.979-120.847	15	**RM8085**
3.34	0.4465	0.5391	0.0000	0	16	0.5625	141	3.0000	159.27-141	16	**RM278**
3.34	0.8238	0.8438	0.0000	0	16	0.1875	162	7.0000	212.276-155.448	16	**RM259**
3.34	0.3047	0.3750	0.0000	0	16	0.7500	200.535	2.0000	200.535-191.109	16	**RM236**
3.34	0.7484	0.7813	0.0000	0	16	0.3125	106.044	6.0000	112.822-87.748	16	**RM3339**
3.34	0.3750	0.5000	0.0000	0	16	0.5000	240.612	2.0000	240.612-227.382	16	**RM122**
3.76	0.7043	0.7402	0.1250	2	14	0.4063	135	6.0000	688.903-90.685	18	**RM3907**
4.81	0.8055	0.8281	0.3750	7	9	0.2500	196	7.0000	216.127-104	25	**RM21**
2.71	0.8348	0.8521	0.0000	0	13	0.2308	155.73	8.0000	163.416-120.249	13	**RM224**

5.85	0.5333	0.6000	0.8000	13	2	0.5333	151	6.0000	288.714-151	28	**RM7443**
3.34	0.5112	0.5938	0.0000	0	16	0.5000	623	3.0000	623-494.041	16	**RM23956**
3.34	0.6568	0.7031	0.0000	0	16	0.4063	235	5.0000	271.304-235	16	**RM547**
3.34	0.7588	0.7891	0.0000	0	16	0.3125	494	6.0000	585.57 -494	16	**RM28574**
3.34	0.7009	0.7422	0.0000	0	16	0.3750	174.138	5.0000	190.638-140.655	16	**RM589**
3.34	0.7303	0.7656	0.0000	0	16	0.3125	208.548	6.0000	238.47-177	16	**RM8213**
4.60	0.7895	0.8125	0.3750	6	10	0.3125	89.208	9.0000	146.772- 66.873	22	**RM335**
	0.6338	0.6772	0.1106			0.4236		5.51		17.70	**Mean**
								150		478	**مجموع**

جدول 9 نتائج البادئات في أعطاء البصمة الوراثية المميزة للاصناف والتراكيب الوراثية من الرز قيد الدراسة

ت	اسم البادئ	الأصناف والتراكيب المميزة البصمة الوراثية	عدد الاليلات النادرة
.1	RM8094	فرات1	1
.2	RM3412	التركيب الوراثي الرابع	1
.3	RM10772	غدير	1
.4	RM296	عنبرالبركة ، بحوث1 ,	2
.5	RM510	اباء1 , غدير ، بحوث1	3
.6	RM341	عنبر البركة فرات1 ,	2
.7	RM212	عنبر البركة،ياسمين ،التركيب الوراثي الثاني	3
.8	RM3825	برنامج4	1
.9	RM8085	برنامج4 ،عنبر33،مشخاب2،التركيب الوراثي الرابعى	4
.10	RM278	عنبر33	1
.11	RM259	اباء1 ,مشخاب1	2
.12	RM3339	التركيب الوراثي الخامس ،برنامج 4	2
.13	RM3907	فرات1	1
.14	RM21	غدير	1
.15	RM224	فرات 1 ،غدير ياسمين ،مشخاب2	4
.16	RM7443	بحوث1،التركيب الوراثي الخامس ،عنبر 33	3
.17	RM547	فرات 1،عنبر33	2
.18	RM28574	عنبرالبركة	1
.19	RM589	التركيب الوراثي الخامس	1
.20	RM335	عنبر البركة	1

4-4 العلاقة الوراثية بين الاصناف التراكيب الوراثية Genetic Relationships

تم تحديد العلاقة الوراثية بين الأصناف والتراكيب الوراثية باستعمال البعد الوراثي وان الاختلاف بين نوعين يمكن ان يقدم تقديرا جيدا عن التباين الوراثي ،وان العلاقة الوراثية بين التراكيب الوراثية أسست من قبل Nei (1972)كما استخدمت من قبل Yu وآخرين(2012) أوضحت النتائج في الجدول رقم (10) إن اقل بعد وراثي بلغ 0.4259 بين التركيب الوراثي الاول والثاني وهذا يعني وجود تشابه بنسبة 57% بين التركيبين الوراثيين عند استخدام تقنية SSR وقد يكون السبب لان التركيبين هما من اصل واحد فلبيني تتفق مع دراسة Mohanty وآخرين(2013)، أعقبها ثاني اقل بعد وراثي بين التركيب الرابع وكل من التركيب الاول والثاني والثالث بلغ 0.5240 وهذا يعني وجود تشابه بنسبة 47% يرجع السبب كون التراكيب من اصل واحد هو فلبيني بينما اعلى بعد وراثي بلغ 0.9207بين صنف بحوث1والتركيب الوراثي الرابع وهذا يدل على انخفاض التشابه بينهما لتصل الى 0.0793 % بسبب اختلاف الأصول الوراثية او قد يكون بسبب برامج التحسن الوراثي التي تجري على الأصناف بمرور الوقت(2011, Singh) .

تراوحت نسبة التشابه الوراثي لجميع الأصناف والتراكيب الوراثية بين (0.0793 - 0.5741) اعتمادا على قيم الابعاد الوراثية التي تراوحت بين (0.4259 -0.9207)التي تشير الى نسبة التنوع الوراثي الكبير (42% -92%) بسبب ارتفاع قيم البعد بين الأصناف والتراكيب الوراثية وهذا يكشف عن تباين وراثي عالي بين الأصناف والتراكيب مما يجعلها مصادر وراثية مهمة إذ يمكن انتخاب الأصناف والتراكيب التي سجلت اعلى بعد وراثي كاأباء في برامج التربية المستقبلية لتحسين أصناف الرز تتفق مع دراسة Israt وآخرين(2014) و Shahid وآخرين (2013) وSadia وآخرين(2012).

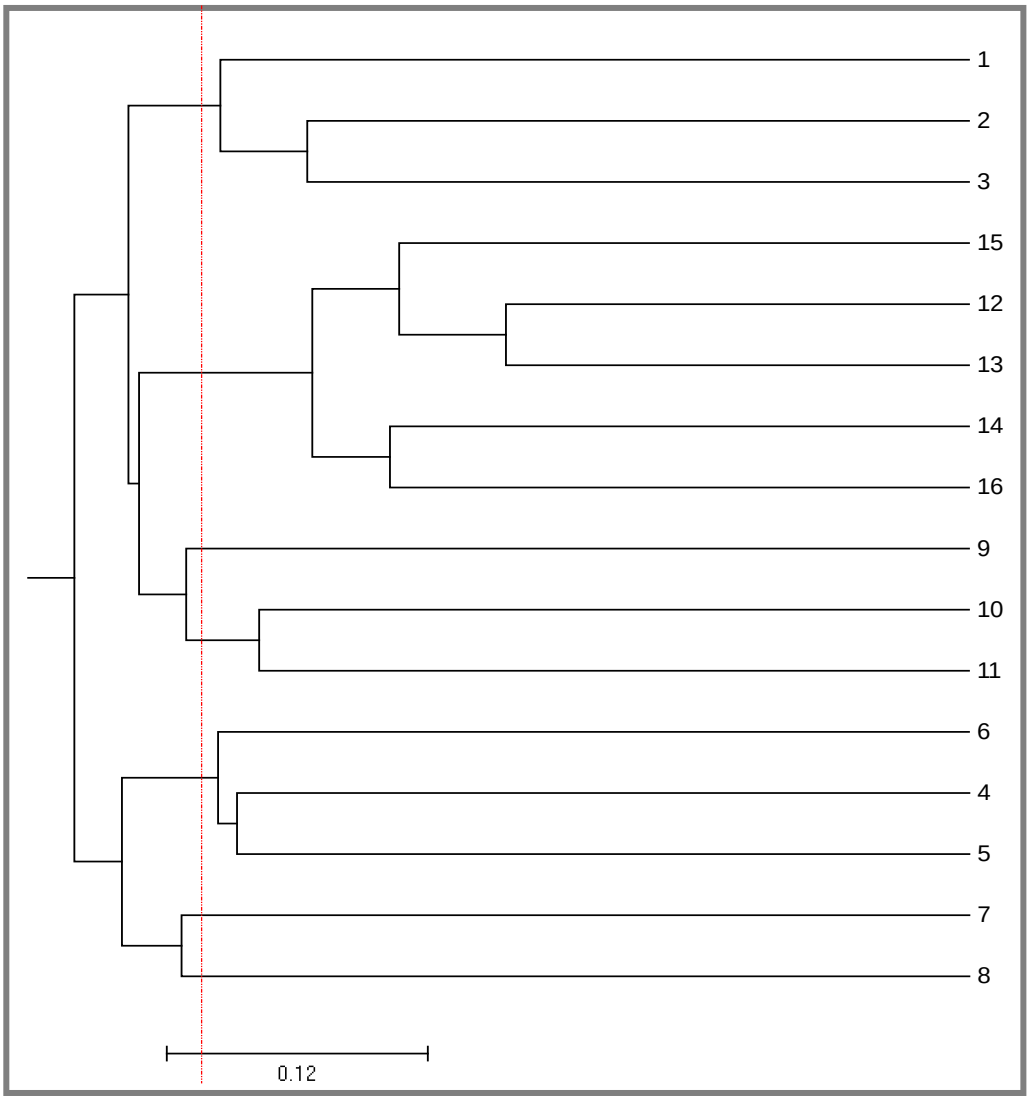
جدول 10 يوضح نتائج العلاقة الوراثية بين الاصناف والتراكيب الوراثية من الرزقيد الدراسة (1-إباء ، 2-عنبر البركة ، 3- فرات1، 4-غدير، 5- برنامج4 ،6- ياسمين ،7-بحوث1 ،8- عنبر9،33- دجلة 10مشخاب2 ،11 –مشخاب1، 12-التركيب الوراثي الأول ، 13-التركيب الوراثي الثاني ، 14-التركيب الوراثي الثالث ، 15- التركيب الوراثي الرابع ، 16- التركيب الوراثي الخامس)

16	15	14	13	12	11	10	9	8	7	6	5	4	3	2	1	
															0.0000	1
														0.0000	0.7037	2
													0.0000	0.6088	0.6736	3
												0.0000	0.8681	0.8889	0.8611	4
											0.0000	0.6736	0.8287	0.8171	0.7940	5
										0.0000	0.6991	0.6829	0.8356	0.8935	0.8218	6
									0.0000	0.7431	0.7708	0.7222	0.8449	0.8287	0.8796	7
								0.0000	0.7245	0.7986	0.8125	0.8287	0.8194	0.8218	0.8565	8
							0.0000	0.7639	0.7222	0.8449	0.8403	0.7083	0.8403	0.7639	0.8843	9
						0.0000	0.7708	0.8750	0.8727	0.8449	0.7500	0.8866	0.7361	0.7523	0.6921	10
					0.0000	0.6528	0.6690	0.7731	0.7870	0.8866	0.8495	0.7986	0.7199	0.7778	0.7060	11
				0.0000	0.8403	0.7639	0.7662	0.8519	0.8912	0.6968	0.7917	0.7662	0.8102	0.7523	0.7292	12
			0.0000	0.4259	0.7847	0.7269	0.7384	0.7963	0.9097	0.7708	0.7546	0.7292	0.8380	0.7523	0.8310	13
		0.0000	0.5553	0.5938	0.7788	0.7764	0.7885	0.7957	0.8510	0.8606	0.7716	0.7981	0.7861	0.7692	0.8558	14
	0.0000	0.5264	0.5240	0.5240	0.8029	0.7837	0.7933	0.8846	0.9207	0.8534	0.7091	0.8798	0.6683	0.7284	0.8221	15
0.0000	0.6075	0.5325	0.6500	0.6900	0.6275	0.7100	0.7675	0.8475	0.7825	0.8350	0.8100	0.8375	0.7800	0.7625	0.7975	16

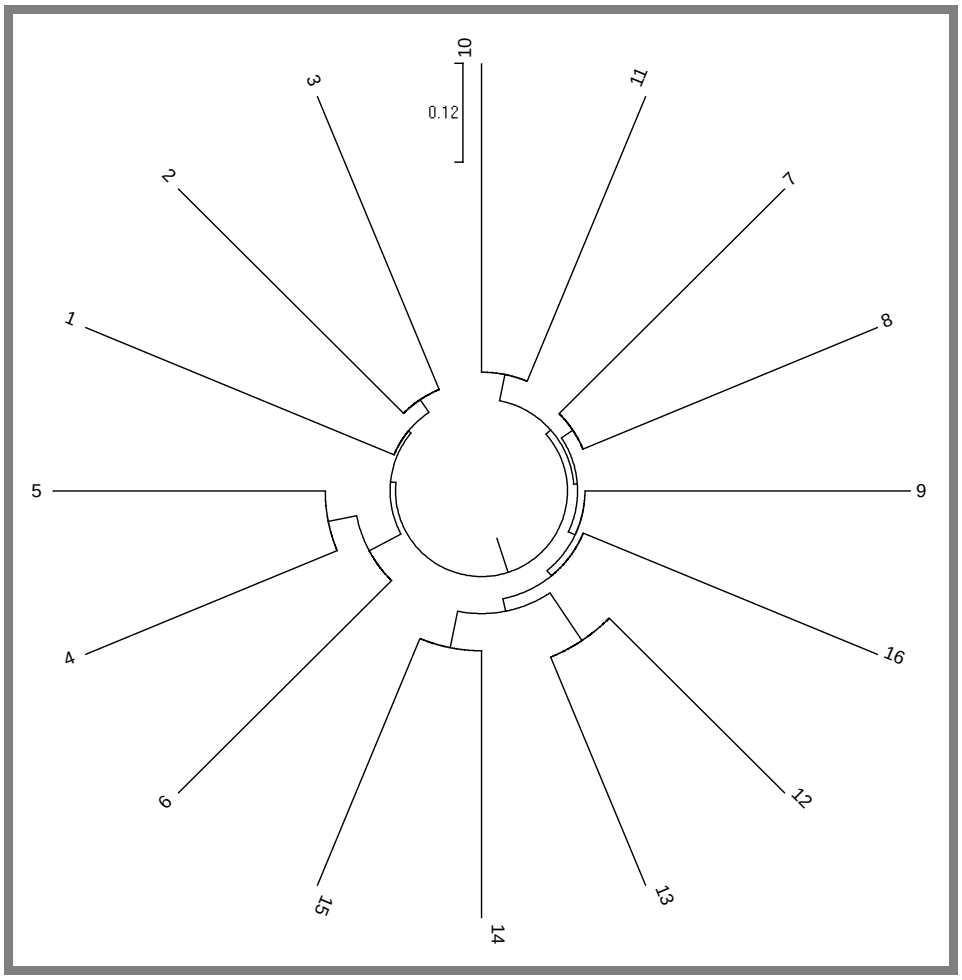
4-5 شجرة العلاقة الوراثية :Relationship genetic Tree

ان التحليل التجمعي Cluster analysis لبناء الشجرة العلاقة الوراثية Dendrograme بطريقة UPGMA يعتمد على معامل البعد الوراثي والتكرار الاليلي .في هذه الدراسة تم رسم شجرة العلاقة الوراثية لاحد عشر صنفا وخمسة تراكيب وراثية من الرز باستخدام مؤشرات SSR إذ كانت عدد البادئات 27 بادئا بينت نتائج التحليل التجميعي عن سبعة مجاميع رئيسية (Main Cluster) عند مقياس البعد مقداره 0.12. اذ تشير المسافة بين المجموعة الواحدة والمجموعات الأخرى الى درجة العلاقة بينهم . فالمجموعات القريبة من بعضها توضع في فروع قريبة من بعضها ضمت المجموعة .ضمت المجموعة الرئيسة الأولى صنف اباء1 من الاصل الفيتامي أجريت علية بعض التحسين الوراثي داخل مركز اباء للأبحاث الزراعية، انضمت معه مجموعة تانوية بنسبة تشابه30% شملت صنف فرات1تايلندي الاصل وصنف عنبر البركة من اصل هندي إذ كانت نسبة التشابه بينهما منخفضة بلغت 40% ان وجود التشابه الوراثي بين أصناف من أسلاف مختلفة في الموقع نفسه قد يكون بسبب تكيفها وراثياً مع الظروف البيئية السائدة في ذلك الموقع، لذا فان المادة الوراثية تشابه بعض الشئ مما أدى إلى انعكاسها في عدد الحزم المشتركة بينها ،اوقد يكون لها قاعدة وراثية مشتركة ،وبالتالي من الممكن ان تتدفق الجينات بين توزيع جغرافية مختلفة. أما المجموعة الرئيسة الثانية نقسمه الى مجموعتين ثانوية Sub-Cluster ضمت الأولى التراكيب الوراثية الأول والثاني بنسبة تشابه 57.5% ونضم التركيب الوراثي الرابع معهم بنسبة تشابه 47% يرجع السبب إلى الأصل المشترك للتركيب إذ ادخلت جميعها من فلبين ،المجموعة الثانوية الأخرى ضمت كل من التركيب الثالث والخامس بنسبة تشابه مقدارها 47%اذ تم إدخالهم من معهد أبحاث الرز العالمي Rice Research Institute (irri) International.أعقبها المجموعة الثالثة التي انفرد بها الصنف دجلة ذو الاصل الصيني، أما المجموعة الرابعة ضمت صنف مشخاب 1 وصنف مشخاب 2 حيت كانت نسبة التشابه 35% وعند مراجعة الأصل الصنفين وجد إنها ادخل من المعهد أبحاث الرز العالمي فلبين Research International Rice Institute (irri) ،تتفق هذا الدراسة مع Sajibوآخرين(2012) و Rahma وآخرين (2012). أما المجموعة الخامسة ضمت صنف الياسمين المدخل من الفيتنام انضمت معها مجموعة الثانوية الأخرى ضمت كل من صنف برنامج4 وصنف غدير اذ كانت نسبة التشابه بينهم 33%.انفرد صنف بحوث1 بالمجموعة السادسة وهو من اصل تركي ، أما المجموعة السابعة ضمت

صنف عنبر33 و يعتبر من الأصناف المحلية القديمة تتفق مع Isratوآخرين(2014). نلاحظ ان تحليل التجمعي Clusterالمعتمد على بيانات SSR لأصناف الرز والتراكيب الوراثية في هذه الدراسة لم توزع بشكل عشوائي بل اثرت على التوزيع الأصل او سلف مشترك فتجمعت ضمن نفس المجموعة اوضمن المجاميع الفرعية تكون من اصل واحد اي ان لها خلفية وراثية متشابه تتفق مع الدراسة Singh و Sengar (2015) كما أثبتت الدراسة الحالية امكانية تميز بين التراكيب من البلدان المختلفة او من الاصول المختلفة وهذا يرجع الى كفاءة مؤشر SSR في الكشف عن التنوع الوراثي في الرز Singh وآخرين (2011) ،لذا استطاعة مؤشرات SSR من تحقيق أهداف هذه الدراسة هو إيجاد العلاقة الوراثية بين الاصناف والتراكيب الوراثية للرز واظهر الاختلاف الوراثي لكل صنف او تركيب . من خلال ايجاد اكبر عدد من التباينات الوراثية ، وقدرته في بناء شجرة العلاقة الوراثية مما يدل على اهمية هذه المؤشرات في تحديد القرابة الوراثية بين اصناف الرز تساعد على فتح آفاقا واسعة في امكانية تنظيم الاصول الوراثية واختيار الاباء الداخلة في برامج التربية والانتخاب المعتمد على المؤشرات الوراثية (Marker-assisted selection) ، و البحث عن جين المقاومة وبناء الخريطة الوراثية تتفق مع كل من Das وآخرين (2013)و Babu وآخرين(2014) و Zhang وآخرين(2014). نلاحظ عدم تطابق شجرة العلاقة الوراثية المعتمدة على الصفات المظهرية مع شجرة العلاقة الوراثية المعتمدة على المؤشرات الجزيئية PCR-SSR يعود السبب الى ان الصفات المظهرية عرضة لتأثر شديده بالظروف البيئية لذا لا تعطي انعكاس حقيقي عن التباين والتنوع الوراثي أما دراسة التنوع الوراثي المعتمد على المادة الوراثية باستخدام المؤشرات الجزيئية يعطي انعكاس حقيقي للتنوع الوراثي بين الأصناف بسبب عدم تداخل العوامل البيئي لذا يفضل استخدام المؤشرات الجزيئية في دراسة التنوع الوراثي.



الشكل (30) التحليل التجمعي لشجرة العلاقة الوراثية لأحد عشر صنفا وخمسة تراكيب وراثية من الرز باستعمال 27 بادئا من نوع SSR (1-إباء1 ، 2-عنبر البركة ، 3- فرات1، 4-غدير ، 5- برنامج4 ،6- ياسمين ،7-بحوث1 ،8- عنبر33، 9- دجلة 10مشخاب2 ،11 –مشخاب1، 12-تركيب وراثي الأول ، 13-تركيب الوراثي الثاني ، 14- التركيب الوراثي الثالث ، 15- التركيب الوراثي الرابع ، 16- التركيب الوراثي الخامس تحت مقياس بعد 0.12



الشكل (31) التحليل التجمعي لشجرة لعلاقة الوراثية بشكل الدائرية لأحد عشر صنفا وخمسة تراكيب وراثية من الرز باستعمال 27 بادئا من نوع SSR،(1-اباء ، 2-عنبر البركة ، 3- فرات1، 4-غدير ، 5- برنامج4 ،6- ياسمين ،7-بحوث1 ،8- عنبر33، 9- دجلة 10مشخاب2 ،11 –مشخاب1، 12-تركيب وراثي الأول ، 13-تركيب الوراثي الثاني ، 14-التركيب الوراثي الثالث ، 15- التركيب الوراثي الرابع ، 16- التركيب الوراثي الخامس تحت مقياس بعد 0.12

4-6 تحليل نتائج مؤشرات SSRفي التحري عن الاجهادات اللاحيوية

4-7تحليل نتائج مؤشرات SSR للجينات المتحملة الجفاف

ان عملية تحديد الجينات المسيطرة على مواقع الصفات الكمية المرتبطة بصفة تحمل الجفاف هو منهج عام لتحديد الجينات المرشحة لتحمل الجفاف وان المؤشرات الجزيئية تساعد مربي النبات في تعقب مواقع الصفات الكمية المرتبطة بصفة تحمل الجفاف المعقدة ، أوضحت النتائج باستخدام ستة بادئات للكشف عن مواقع الصفات الكمية المرتبط بصفة تحمل الجفاف واعتمادا على الحجم الجزيئي لمنتج PCR الموثق بموقع (http://www.gramene.org/ (2008,Gramene) ، ان صنف مشخاب2 أعطى نتيجة موجبة لخمس من الصفات المرتبطة بتحمل الجفاف كونه صنف متحمل تم إدخاله من معهد أبحاث الرز العالمي International Rice Research Institute (irri) لذا اعتمد كصنف مقارنة ، كما أوضحت النتائج ان البادئ RM201 المرتبط بصفة طول الجذر تحت الجفاف أظهرت اليل المتحمل ذو بحجم الجزيئي 158 زوجا قاعديا في 13 صنف وتركيب وراثي جدول رقم (11)،إما البادئRM212 المرتبط بصفة تحمل الأوراق تحت جفاف من خلال لف الورقة وتقليل معدل النتح ظهرت اليل المتحمل ذو الحجم الجزيئي 136زوجا قاعديا في صنف دجلة ومشخاب 1ومشخاب2 جدول رقم (11)تتفق مع Arvindkuma وآخرين(2011)، إما البادئRM259 المرتبط بصفة سمك الجذر تحت جفاف ظهرت اليل المتحمل ذو الحجم الجزيئي 162زوجا قاعديا في صنف ياسمين ودجلة ومشخاب2 جدول رقم (11)،إما البادي RM278المرتبط بصفة اقصى طول للجذر تحت الجفاف اظهر اليل المتحمل ذو الحجم الجزيئي 141زوجا قاعديا في 11 صنفا وتركيب وراثي جدول رقم (11) اذ ان طول الجذر يساعد في التغلغل في أعماق التربة لامتصاص اكبر قدر من الماء مما يؤدي الى تقليل الجفاف تتفق مع نتائج Aziza (2015)، لم يظهر البادئ RM3825 المرتبط بصفة أقصى عدد الجذور تحت الجفاف اليل المتحمل ذو الحجم الجزيئي 147زوجا قاعديا في اي صنف او تراكيب وراثي ولهذه الصفة اثر فعال في أداء المحاصيل الحقلية اذ ان تحسين العائد يتطلب امتصاص الماء و العناصر الغذائية من التربة بقدر كافي ،إما البادئ RM8085المرتبط بصفة التزهير تحت الجفاف ظهرت اليل المتحمل ذو الحجم الجزيئي 126 زوجا قاعديا في صنف دجلة وصنف مشخاب1والتركيب الوراثي الاول جدول رقم (11) وهذا يتفق مع دراسات المعهد أبحاث الرز الاندنوسي Indonesian Center for Rice Research (2011,ICRR).

الجدول (11) نتائج اختبار الصفات الكمية المرتبطة بصفة تحمل الجفاف لستة عشر تراكيبا وراثيا مع ستة بادئات من نوع SSR

Number of postivie	RM8085 126bp	RM3825 147bp	RM278 141bp	RM259 162bp	RM212 136bp	RM201 158bp	الأصناف والتراكيب
1	-	-	-	-	-	+	اباء 1
1	-	-	-	-	-	+	عنبر البركة
1	-	-	-	-	-	+	فرات 1
2	-	-	+	-	-	+	غدير
2	-	-	+	-	-	+	برنامج 4
3	-	-	+	+	-	+	ياسمين
1	-	-	-	-	-	+	بحوث 1
1	-	-	-	-	-	+	عنبر 33
5	+	-	+	+	+	+	دجلة
5	-	-	+	+	+	+	مشخاب 2
4	+	-	+	-	+	+	مشخاب 1
4	+	-	+	+	-	+	التركيب الوراثي الاول
2	-	-	+	-	-	+	التركيب الوراثي الثاني
1	-	-	+	-	-	-	التركيب الوراثي الثالث
1	-	-	+	-	-	-	التركيب الوراثي الرابع
1	-	-	+	-	-	-	التركيب الوراثي الخامس
	3	0	11	4	3	13	

(+) الأصناف والتراكيب التي تمتلك اليل المتحمل (-) الأصناف والتراكيب التي لا تمتلك الاليل المتحمل

4-8تحليل نتائج مؤشرات SSR للجينات المتحملة الملوحة

استعمال المؤشرات SSR في تحديد الجينات المتحمله للملوحة في احد عشر صنفا وخمسة تراكيب وراثية للغرض الاستفادة منها في برامج التربية والانتخاب المعتمد على المؤشرات الوراثية (Marker-assisted selection) ، وبالمعتمدة على الحجم الجزيئي لمنتج PCR الموثق بموقع (http://www.gramene.org/ 2008,Gramene) لكل بادئ ، أوضحت النتائج للبادئات التي تكشف عن اليلات جينات المتحمله لملوحة في مرحلة البذار إن البادئRM25 أظهر الاليل المتحمل في 7 اصناف وتراكيب وراثية بينما RM3412 لم يظهر اليل متحمل في اي صنف او تركيب وراثي ، إما البادئ RM8094 اظهر اليل المتحمل في 5من الأصناف والتراكيب وراثي قيد الدراسة جدول رقم 12 كما اوضحت النتائج ان صنف برنامج 4 والتركيب الوراثي الخامس لم تظهر إي تحمل في مرحلة البذار تتفق مع كل من Islam وآخرين (2011)و Md وآخرين(2015) و Moniruzzaman وآخرين(2012). أما البادئات التي تكشف عن جينات التحمل للملوحة في مراحله ما بعد البذار الى مرحلة النضج أن

البادئ RM585 اظهر اليل المتحمل في خمسه من الأصناف والتراكيب قيد الدراسة إما البادئ RM510 اظهر اليل المتحمل في ستة من الأصناف والتراكيب قيد الدراسة بينما لم يظهر اي اليل متحمل كل من البادئRM10772 وRM296 .نستنتج ان كل من صنف عنبر البركة ، فرات ،غدير،ياسمين ،بحوث1، عنبر33، دجلة ،والتركيب الوراثي الثالث والرابع تحوي اثنان من جينات المقاومة للملوحة تتفق مع دراسة Mehede وآخرين (2014). وكلما ازداد عدد الجينات المتحمل في الصنف الواحد كلما ازدادت مقاومة ذلك الصنف(Chen ، 2009) ، نستنتج ان المؤشرات الجزيئية تستخدم لتميز الجينات المتحمل للملوحة ويمكن ان تكون نقطة استدلال لأجل تحديد الموقع الطبيعي لهذه الجينات لتسهيل انتخاب (Al-Amin وآخرين 2013) وتتفق هذا الدراسة مع دراسات المعهد أبحاث الرز الاندنوسي Indonesian Center for Rice Research (2011,ICRR) كما تتفق مع دراسة مركز أبحاث التربة المالحة في الهند Center Soil Salinity Research Institute(2012, CSSRI).

جدول (12) نتائج الجينات المتحملة للملوحة لأحد عشر صنف وخمسة تراكيب وراثية مع سبعة بادئات من نوع SSR

Number of postivie	RM10772 395bp	RM296 123bp	RM510 122bp	RM585 233bp	RM8094 209bp	RM3412 211bp	RM25 146bp	الأصناف والتراكيب
1	-	-	-	-	+	-	-	اباء 1
2	-	-	+	-	-	-	-	عنبر البركة
1	-	-	+	-	-	-	-	فرات 1
2	-	-	-	+	+	-	-	غدير
1	-	-	-	+	-	-	-	برنامج 4
2	-	-	-	+	-	-	+	ياسمين
2	-	-	-	+	-	-	+	بحوث 1
2	-	-	+	-	-	-	+	عنبر 33
2	-	-	+	-	-	-	+	دجلة
1	-	-	+	-	-	-	-	مشخاب 2
2	-	-	-	+	-	-	+	مشخاب 1
1	-	-	-	-	+	-	-	التركيب الوراثي الاول
1	-	-	-	-	+	-	-	التركيب الوراثي الثاني
2	-	-	+	-	-	-	+	التركيب الوراثي الثالث
2	-	-	-	-	+	-	+	التركيب الوراثي الرابع
1	-	-	-	-	-	-	-	التركيب الوراثي الخامس
	0	**0**	**6**	**5**	**5**	**0**	**7**	

(+) الأصناف والتراكيب التي تمتلك الاليل المتحمل (-) الأصناف والتراكيب التي لاتمتلك الاليل المتحمل

4-9 نتائج التحري عن بعض الجينات المقاومة للاجهادات الحيوية

ان استخدام المؤشرات SSR في تحديد الجينات المقاومة في أصناف الرز هي أداة فعالة وقيمة كما تساعد على معرفة الأصناف التي تمتلك المقاومة الأفقية لغرض الاستفادة منها في برامج التربية والانتخاب المعتمد على المؤشرات الوراثية (Marker-assisted selection) لان الإمراض التي تسببها الفطريات والبكتريا والفايروسات والحشرات هي من العوائق الرئيسة لإنتاج الرز والأكثر خطورة و قساوة. أوضحت النتائج المعتمدة على الحجم الجزيئي لمنتج PCR لجين المقاوم الموثق بموقع (http://www.gramene.org/ 2008,Gramene) إن الجينات المقاومة لمرض brown plant hopper (BPH) ومنها الجين المقاوم لطراز البايلوجي BPH12 اظهره نتائج البادئ RM335 لاليل المقاوم ذو الحجم الجزيئي 104 زوجا قاعديا في صنف عنبر البركة فقط ، كما اوضحت نتائج البادئ RM589 ذو الحجم الجزيئي 186زوجا قاعديا المرتبطة باليل المقاوم لطزار البايلوجي Bph3&Bph4 فظهر في صنف بحوث1، صنف دجلة ،صنف مشخاب2 وصنف مشخاب1 ،أما البادئ RM8213المرتبط باليل المقاوم لطراز البايلوجي QBph4 ذو الحجم الجزيئي 177 زوجا قاعديا ظهراليل المقاوم في صنف أباء وصنف برنامج4 والتركيب الوراثي الثالث والرابع تتفق هذا الدراسة مع دراسة معهد أبحاث الرز الاندنوسي (2011,ICRR)وتتفق مع دراسة Nono وآخرين(2015).وكلما زادت عدد الجينات المقاومة للمرض التي يمتلكها الصنف كلما كانت مقاومة الصنف اكبر ،اذ ان الجين الواحد لا يمتلك مقاومة كاملة لتسيطر على المرض (Chen وآخرين 2006)

جدول(13) يبين الجينات المقاومة لمرض brown plant hopper (BPH) الناتج بسبب حشرة (*Nilaparvata lugens*

Numberof postivie	RM8213 QBph4 177bp	RM589 Bph3&Bph4 186bp	RM335 Bph12(t) 104bp	الأصناف والتراكيب
1	+	-	-	اباء 1
1	-	-	+	عنبر البركة
0	-	-	-	فرات 1
0	-	-	-	غدير
1	+	-	-	برنامج 4
0	-	-	-	ياسمين
1	-	+	-	بحوث 1
0	-	-	-	عنبر 33
1	-	+	-	دجلة
1	-	+	-	مشخاب 2
1	-	+	-	مشخاب 1
0	-	-	-	التركيب الوراثي الأول
0	-	-	-	التركيب الوراثي الثاني
1	+	-	-	التركيب الوراثي الثالث
1	+	-	-	التركيب الوراثي الرابع
0	-	-	-	التركيب الوراثي الخامس
	4	**4**	**1**	

(+) الأصناف والتراكيب التي تمتلك اليل مقاوم (-) الأصناف والتراكيب التي لاتمتلك اليل المقاوم

أوضحت النتائج المعتمدة على الحجم الجزيئي لمنتج PCR الموثقة بموقع (http://www.gramene.org/) (Gramene,2008)للبادئات المرتبطة بالجينات المقاومة للمرض لفحة أوراق Bacterial Leaf Blight Resistance ومنها البادئ RM122 وجد الاليل المقاوم للجين الرئيسي x5 في 6 تراكيب وراثية (صنف أباء ، عنبر البركة ،فرات1 ، غدير ،برنامج4 و صنف ياسمين) .وعند استخدام بادئ ثاني RM3907 لكشف عن نفس الجين المقاوم الرئيسي X5 أظهرت النتائج وجود الاليل المقاوم في صنفبرنامج4 ،وبحوث1،وعنبر33 ودجلة ومشخاب 2 التركيب الوراثي الثالث والرابع والخامس اظهر مقاومة للمرض .أما البادئ RM21 وجد الاليل المقاوم للجين الرئيسي x13 في صنف غدير ،صنف ياسمين ،والتركيب الوراثي الخامس وكان الحجم الجزيئي له 157 زوجا قاعديا تتفق هذه الدراسة مع دراسة معهد أبحاث الرز الاندنوسي (ICRR,2011). وان وجود احد الجينات المقاومة الرئيسة قادرة على منح صفة مقاومة دائميه للمرض Bacterial Leaf

Blight مثل جين xa13 وxa5 (Rajpurohit وآخرين 2010) وفي هذه الدراسة تميز كل من صنف غدير، وصنف برنامج 4 ،وياسمين و التركيب الوراثي الخامس باحتوائهم على جينين من جينات المقاومة الرئيسية جدول رقم 14.

الجدول (14) الجينات المقاومة لمرض Bacterial Leaf Blight الناجم بسبب بكتريا*Xanthomonas oryzaepv.oryzae(Xoo)*

Numberof postivie	RM21 BLB X13 157bp	RM3907 BLB X5 135bp	RM122 BLB X5 227bp	الأصناف والتراكيب الوراثية
1	-	-	+	اباء 1
1	-	-	+	عنبر البركة
1	-	-	+	فرات 1
2	+	-	+	غدير
2	-	+	+	برنامج 4
2	+	-	+	ياسمين
1	-	+	-	بحوث 1
1	-	+	-	عنبر 33
1	-	+	-	دجلة
1	-	+	-	مشخاب 2
0	-	-	-	مشخاب 1
0	-	-	-	التركيب الوراثي الاول
0	-	-	-	التركيب الوراثي الثاني
1	-	+	-	التركيب الوراثي الثالث
1	-	+	-	التركيب الوراثي الرابع
2	+	+	-	التركيب الوراثي الخامس
	3	**8**	**6**	

(+)الأصناف والتراكيب التي تمتلك اليل مقاوم (-) الأصناف والتراكيب التي لاتمتلك اليل مقاوم

أوضحت النتائج المعتمدة على الحجم الجزيئي لمنتج PCR الموثق بموقع (http://www.gramene.org/ 2008,Gramene) إن الجينات المقاومة لمرض لفحة غمد الرز Sheath Blight Resistance ومنها الجين المقاوم لطراز البايلوجي qSBR11-1 ظهر اليل المقاوم في 11 من الأصناف والتراكيب قيد الدراسة باستعمال البادئRM7443ذو الحجم الجزيئي 151زوجا قاعديا .أما الجين المقاوم لطراز البايلوجي qSBR1 فظهر اليل المقاوم في صنف أباء ، برنامج4، بحوث1 باستخدام بادئRM224 ذو الحجم الجزيئي 157زوجا قاعديا تتفق هذه الدراسة مع Shailesh وآخرين(2015)و Liu وآخرين(2013). كما تميز كل من صنف برنامج 4 و صنف بحوث1

باحتوائهم على اثنين من الجينات المقاومة أما صنف اباء 1وعنبر البركة ،وصنف فرات1،وغدير ،وياسمين، ،دجلة ،مشخاب2، التراكيب الوراثية الاول ، الثاني والثالث فامتلكت جين مقاوم واحد .

الجدول (15) الجينات المقاومة لمرض Sheath Blight Resistance الناجم عن فطر *Rhizoctonia solani*

Numberof postivie	RM224 qSBR1 157bp	RM7443 qSBR11-1 151bp	الأصناف والتراكيب الوراثية
1	+	-	اباء 1
1	-	+	عنبر البركة
1	-	+	فرات 1
1	-	+	غدير
2	+	+	برنامج 4
1	-	+	ياسمين
2	+	+	بحوث 1
0	-	-	عنبر 33
1	-	+	دجلة
1	-	+	مشخاب 2
0	-	-	مشخاب 1
1	-	+	التركيب الوراثي الاول
1	-	+	التركيب الوراثي الثاني
1	-	+	التركيب الوراثي الثالث
0	-	-	التركيب الوراثي الرابع
0	-	-	التركيب الوراثي الخامس
	3	**11**	

(+) الأصناف والتراكيب التي تمتلك اليل مقاوم (-) الأصناف والتراكيب التي لا تمتلك اليل مقاوم

أوضحت النتائج المعتمدة على الحجم الجزيئي لمنتج PCR الموثق بموقع (http://www.gramene.org/ 2008,Gramene) أن الجينات المقاومة لمرض gall midge resistance genes اظهر نتائج البادئ RM23956 وجد الاليل المقاوم ضد طرازالبايلوجي GM1 في 8تراكيب وراثية (صنف اباء1، عنبر البركة ،فرات1،ياسمين،عنبر33،والتركيب الوراثي الثالث والرابع) . إما البادئ الثاني RM547 وجد الاليل المقاوم ضد طراز البايلوجي Gm4 اليل المقاوم في صنف أباء ،غدير،برنامج4، دجلة ،مشخاب1 والتركيب الوراثي الثاني والخامس . أما البادئ RM28574 وجد الاليل المقاوم ضد طراز البايلوجي Gm11 في صنف عنبر البركة، ياسمين ،عنبر33،مشخاب1والتركيب الوراثي الثاني تتفق هذه الدراسة مع Sama وآخرين (2014). نلاحظ تميز كل من صنف أباء عنبر البركة ،ياسمين ، عنبر33 ،مشخاب1 والتركيب الوراثي الثاني في هذا الدارسة بامتلاكه اثنين جينات مقاومة ضد اثنين من الطرز البايلوجيه المختلفة ، أما الأصناف فرات1، صنف غدير ، برنامج 4 ،بحوث1 ، دجلة والتركيب الوراثي الثالث والرابع والخامس تميزت باحتوائها .

على جين واحد مقاوم أما صنف مشخاب2 وتركيب الوراثي الأول فلم تظهر أي جين مقاوم ضد الطرز البايلوجية المذكورة تتفق مع دراسة Siva وآخرين (2013). وان زراعة الأصناف التي تحوي جين واحد مقاوم لمرض تسبب انهيار المقاومة بشكل متكرر بسبب ظهور طرز بايلوجية جديدة للمرض أما إذ كانت الأصناف حاوية على جينين او أكثر قد تولد مقاومة لمدة طويلة ضد المرض تتفق مع Dutta وآخرين(2014) و Ramkumar وآخرين(2011).

جدول (16) الجينات المقاومة لمرضgall midge resistance genes الناتج بسبب حشرة Orseolia oryzae (Wood-Mason)

الأصناف والتراكيب الوراثية	RM23956 Gm1 623bp	RM547 Gm4 235bp	RM28574 Gm11 494bp	Numberof postivie
اباء 1	+	+	-	2
عنبر البركة	+	-	+	2
فرات 1	+	-	-	1
غدير	-	+	-	1
برنامج 4	-	+	-	1
ياسمين	+	-	+	2
بحوث 1	+	-	-	1
عنبر 33	+	-	+	2
دجلة	-	+	-	1
مشخاب 2	-	-	-	0
مشخاب 1	-	+	+	2
التركيب الوراثي الاول	-	-	-	0
التركيب الوراثي الثاني	-	+	+	2
التركيب الوراثي الثالث	+	-	-	1
التركيب الوراثي الرابع	+	-	-	1
التركيب الوراثي الخامس	-	+	-	1
	8	7	5	

(+)الأصناف والتراكيب التي تمتلك اليل مقاوم (_) الأصناف والتراكيب التي لاتمتلك اليل مقاوم

نلاحظ دور المؤشرات SSR في اظهار الاختلاف الوراثي بين الأصناف من خلال الاختلاف الاليلي مما يساعد في معرفة البعد الوراثي بين الأصناف لتحديد العلاقة الوراثية فيما بينهم كما نلاحظ دور هذه المؤشرات في إظهار الاليلات المقاومة في الأصناف والتراكيب الوراثية قيد الدراسة اذ تساعد في تنظيم الخطط المستقبلية لمربي النبات و العاملين في مجال الكلونة وتساعد على تحديد موقع الجين لرسم الخرائط الوراثية .

الاستنتاجات

1- تعد مؤشرات التكرار المتسلسل البسيطة (SSR)Simple Sequence Repeat أداة فعالة لتحليل التنوع الوراثي .

2- اذ نجحت الدراسة الحالية في الكشف عن التباينات الوراثية والاختلاف في محتوى التنوع الوراثي نتيجة الاختلاف في عدد وحجم القطع المتضاعفة مما ساعد على تحديد العلاقة الوراثية بين التراكيب المدروسة استناداً إلى درجة التشابه الوراثي المعتمدة على قيم البعد الوراثي بين تلك الأصناف مما يساعد المربي بالاختيار المناسب للآباء بالاعتماد على المؤشرات الوراثية Marker-assisted selection) لإجراء عمليات التربية الناجحة للأصناف والتراكيب قيد الدراسة

3. تم تحديد البصمة الوراثية المميزة لأغلب الأصناف والتراكيب قيد الدراسة والتي تعد بمثابة الهوية الوراثية (التوثيق الجيني) التي تستخدم لتشخيص إذ تمكن البادئين RM8085 ، من إعطاء أعلى بصمة وراثية مميزة لثلاث لأصناف والتركيب الوراثي واحد اما RM244 تمكن من إعطاء أعلى بصمة وراثية مميزة لاربعة لأصناف قيد الدراسة بينما تباينت البادئات الأخر في إعطاء بصمة وراثة بين الأصناف والتركيب الوراثية .

4. تمكنت البادئات في هذه الدراسة من إعطاء معلومات تساعد في بناء قاعدة بيانات عن الأصناف والتراكيب الوراثية والصفات التي تحويها لاستفادة منها في برامج التربية كبناء الخرائط الوراثية

5. التحليل التجمعي Cluster لبناء الشجرة الوراثية Dendrograme بطريقة UPGMA يعتمد على معامل البعد الوراثي والتكرار الاليلي أعطى سبعة مجاميع رئيسة (Main Cluster) على مقياس بعد مقداره 0.12 و لم توزع بشكل عشوائي بل أثرت على التوزيع الأصل أو سلف مشترك لذا يمكن استخدام هذه التقنية في تميز التراكيب بلدان مختلفة

6- نجحت مؤشرات SSR من تحديد الأصناف والتراكيب التي تحوي بعض الجينات المقاومة والمتحمله للاجهادات الحيوية و غير الحيوية .

التوصيات

1- اوصي باستعمال مؤشرات SSR مع دنا أنواع اخرى من النباتات لما له من أهمية في دراسة التنوع الوراثي بشكل ممتاز

2- اوصي باستعمال الاصناف والتراكيب الوراثية التي سجلت أعلى بعد وراثي فيما بينها باعتمادها في برامج التربية كإباء أي تفعيل الانتخاب اعتماد على المؤشرات الوراثية Marker-assisted selection) لإجراء عمليات التربية الناجحة .

3- اوصي بإكمال التجارب الحقلية للأصناف والتراكيب التي تحوي على اليلات الجينات المقاومة والمتحمله للاجهادات الحيوية وغير حيوية لغرض الاستفادة منها في برامج التربية المستقبلية .

4- اوصي باستعمال مؤشرات SSR للكشف او التفريق بين الأصول المختلفة للأصناف وللتراكيب الوراثية المجهولة.

5- اوصي بتجنب استخدام المجموعة التالية من البادئات ((RM190 , RM315, RM5479, RM119, RM25519, RM336 , RM302وRM205) عند محاولة تطبيق مؤشرات الـ SSR على مجين الرز والتراكيب الوراثية قيد الدراسة لعدم إعطائها إي نتيجة .

6- اوصي بزيادة عدد الاصناف المستخدمة

المصادر العربية

اسماعيل، أيمان نعمان. 2013. تحديد تعبير الجين المتحمل للملوحة أصناف الحنطة. رسالة ماجستير. معهد الهندسة الوراثية والتقنيات الإحيائية للدراسات العليا / جامعة بغداد. العراق.

بكتاش وعبد الحميد .2015. التغايرا ت الجزيئية بين سلالات من الذرة الصفر ا ء. مجلة العلوم الزراعية العراقية ،46(3):291- 299.

وزارة التخطيط /الجهاز المركزي للاحصاء .2015. تقرير انتاج الشلب وزهرة الشمس لسنة 2014. مديرية الاحصاء الزراعي الجهاز المركزي للاحصاء العراق .

المصادر الاجنبية

Adegbaju, M. S.; Akinyele, B. O. ; Akinwale, M. G.; Igwe, D.; Osekita, O. S.(2015).Molecular Characterization and Genetic Diversity Analysis of Elite African Lowland Rice Varieties using SSR Marker System. J. Research Studies in Biosciences (IJRSB). 3, 54-65.

Ahasanu, H.; Shamsun, N. B. and Lutful, K. .2014.Genetic diversity assessment of rice (*Oryza Sativa L*) germplasm using ssr markers. J. Res. Agric.. 1,(1): 37-46.

Ahmad, S.; Khan, S.; Ghaffar, M. and Ahmad, F. (2011). Genetic diversity analysis for yield and other parameters in maize (*Zea mays L.*) genotypes. Asian J. Agric. Sci., 3(5): 385-388.

Alam, M. A.; Juraimi, A. S.; Rafii, M. Y.; Hamid, A. A.; Aslani, F. and Alam ,M. Z. (2015). Effects of salinity and salinity induced augmented bioactive compounds in purslane (Portulaca oleracea L.) for possible economical use. J. Food Chemistry 169 :439–447.

Al-amin, M. ; Islam, M.M, ; Begum, S.N. ; Alam, M.S.; Moniruzzaman, M. and Patwary, M.A.C. (2013) Evaluation of rice germplasm under salt stress at the seedling stage through SSR markers. J .Agril Res Innov and tech 3:52-59.

Ali, M.L. ; Sanchez, P.L. ; Yu, S. ; Lorieux, M. ; Eizenga, G.C .(2010). Chromosome Segment Substitution Lines: A Powerful Tool for the Introgression of Valuable Genes from *Oryza* Wild Species into Cultivated Rice (*O. sativa*).J. Rice 3, (4), 218–234.

Ali, S. ; Fakheri, B. ; Noroozi, M. and Moazami, K.h.(2014).Breeding for Resistance to Sheath blight in rice. J. Ijfas. 9.(3).970-979 .

Alpana, A.; Jahangir, I.; Syed, M. Q.; Anantha, S. ;Shankar, P. D. ; Mukund, V.; Nimai, P. M.(2017).Genetic Diversity Analysis of Rice Germplasm in Tripura State of Northeast India Using Drought and Blast Linked Markers. J. Science Direct Rice, 24(1): 10-20.

Alsaleh, A. ; Baloch, F.S.; Derya, M. ; Azrak, M. ; Kilian, B. ; Ozkan, H. ; Nachit, M.(2014). Genetic linkage map of Anatolian durum wheat derived from a cross of Kunduru-1149 × Cham1. J. Plant Mol Biol Rep 33, (2), 209–220 .

Anand, L. (2006). Assessing diversity using molecular and other techniques in tropical fruit crops. J. Trends genet. 112:374-380.

Anandan, A. ; Anumalla, M. ; Pradhan, S.K. and Ali, J. (2016) Population Structure, Diversity and Trait Association Analysis in Rice (*Oryza sativa L.*) Germplasm for Early Seedling Vigor (ESV) Using Trait Linked SSR Markers. j. PLoS ONE 11(3):1-22.

Anil, K. S.; Ekta, D. ; Rohini, N.; Pawan, K. S.; Nagendra, K. S. . (2015).Identification of bacterial leaf blight resistance genes in

wild rice of eastern India and genetic analysis of a rice brown plantho:er (Nilarparvata lugens. Turk .J . Bot . 39: 1060-1066.

Arundathi, N. ; Sangram, M. ; Rudraksh, S.P. ; Lambodar, B. Anand, P. ; Sarat, S. (2010). Flanking microsatellite markers for breeding varieties against Asian rice gall midge. J. Trop. Plant Biol. 3: 219-226.

Ashu, S. ; Sengar, R.S. and Sengar,K. (2015).DNA Fingerprinting Based Decoding of Indica Rice (Oryza sativa L) Via Molecular Marker (SSR, ISSR, & RAPD) in Aerobic Condition , j. Adv Crop Sci. 3: (2) عدد الصفحات

Atkinson, N.J. and Urwin, P.E. (2012). The interaction of plant biotic and abiotic stresses: from genes to the field. J. Exp. Bot. 63:3523-3543.

Aziza A. Aboulila. 2015. Marker assisted selection for genetic improvement of drought tolerance in hybrid rice (*Oryza sativa L*). J. Biotechnology Research. 3(3), 045-054,

Babu, B.K. ; Meena, V. ; Agarwal, V.; Agrawal, P.K. (2014).Population structure and genetic diversity analysis of Indian and exotic rice (*Oryza sativa L.*) accessions using SSR markers. J. Mol Biol Rep.;41(7):4329–39.

Babu, N. N. ; Vinod, K. K. ; Krishnan, S. G.; Bhowmick, P. K.; Vanaja, T.; Krishnamurthy, S. L.; Nagarajan, M. ; Singh, N. K. ; Prabhu, K. V.; Singh, A. K.(2014). Marker based haplotype diversity of Saltol QTL in relation to seedling stage salinity tolerance in selected genotypes of rice. Ind J. Genet Plant Breeding, 74(1): 16–25.

Balta, H.; Karakaş M. O. ; Şentürk, A. F.; Ertuğrul, F.; Hasançebi, S.; Aydın, Y.; Akan, K.; Mert, Z.; Türet, M.; Altınkut, U. A (2014). Identification of an AFLP marker linked with yellow rust resistance in wheat *Triticum aestivumL*. Turk J. Biol 38(3)20-29.

Bargaz, A.; Zaman, A. M. ; Farissi, M.; Lazali, M.; Drevon, J.J.; Maougal, R.T.and Georg, C. (2015). Physiological and molecular aspects of tolerance to environmental constraints in grain and forage legumes. Int. J. Mol. Sci. 16:18976-19008.

Basabdatta, D.; Samik, S.; Swarup, K. P.; Bipasha, R.; Mrityunjay, G.; Manoj, P. and Tapas, K. G.(2013).Genetic diversity and population structure of rice landraces from Eastern and North Eastern States of India . J. BMC Genetics 14,(71) :1-14.

Bennetzen, J.(2002). The rice genome-opening the door to comparative plant biology.J. Science, 296: 60-63.

Bentur, J. S.; Pasalu, I. C.; Sarma, N. P.; Prasada, R. U. and Mishra, B. 2003. Gall midge resistance in Rice: Current Status in India and Future Strategies. DRR Research Paper Series 01/2003.

Berilus S. R.; Pattanayak, A. and Ram, G.(2013). Analysis of Genetic Variability in Rice Cultivars of Arunachal Pradesh (India) Using Microsatellite Marker, African J. Biotechnology,. 12, (8), 798-810.

Bernier, J. ; Kumar, A.; Ramaiah, V.; Spaner, D.; Atlin, G. A. (2007).Large-Effect QTL for Grain Yield under Reproductive-Stage Drought Stress in Upland Rice. J. Crop Sci.;47(2):507–519.

Bharathkumar, S.; Jitendra, K.; Pragnya, P.J.; Sai, K. R.; Chaitanya, K.G. and J.N. Reddy.(2014). A molecular survey in rice germplasms for multiple abiotic stress tolerance to changing climate using

microsatelite (SSR) markers. J. Eco. Env. and Cons. 20 (l) : S277-S282.

Bimpong, I.K.; Serraj, R.; Chin, J.H.; Ramos, J.; Mendoza, E.; Hernandez, J. Mendioro, M.S.and Brar, D.S. (2011). Identification of QTLs for droughtrelated traits in alien introgression lines derived from crosses of rice (Oryza sativa cv. IR64) × O. glaberrima under lowland moisture stress. J. Plant Biol. 54:237-250.

Blum, A. (2006). Drought adaptation in cereal crops: a prologue. In Drought adaptation in cereals. Edited by Ribaut JM. New York, USA: Haworth Food Products Press.:301–333.

Boopathi N M, Thiyagu K, Urbi B, Santhoshkumar M, Gopikrishnan A, Aravind S, Swapnashri G, Ravikesavan R. 2011. Marker-assisted breeding as next-generation strategy for genetic improvement of productivity and quality: Can it be realized in cotton?. Int J. Plant Genom,: 1–16.

Brondani, C. ; N. Rangel ; V. Brondani and E. Ferreira. (2002). QTL ma:ing and introgression of yield-related traits from Oryza glumaepatula to cultivated rice (Oryza sativa) using microsatellite markers. J. Theor. A:l. Genet., 104: 1192-1203.

Brookes ,G. and Barfoot ,P .2003. GM rice: Will this lead the way for global acceptance of GM crop technology? ISAAA Brief no. 28 (1June2005;www.isaaa.org/kc/Publications/pdfs/isaaabriefs/Briefs %2028.pdf).

Brown, T. A. (2006). Gene Cloning DNA Analysis: an introduction. 4th d., Blackwell Publishing Ltd., Oxford, UK.: 181-195. catalyzed reactions: from experiment to computational mechanism.

Celestine, A. A.; Julius, O. F. ; Christopher, J. A. ; Benjamin, E. U. ; David ,O. I. and Richard, O. A..2016. Screening of some rice varieties and landraces cultivated in Nigeria for drought tolerance based on phenotypic traits and their association with SSR polymorphisms. African J. Agricultural Research.. 11(29), 2599-2615.

Cha, R. S and Thilly, W. G. 1993. Specificity, efficiency and fidelity of PCR. PCR-Methods A:l. 3: 118-129.

Chakravarthi , B. K., and R. Naravaneni. 2006. SSR marker based DNA fingerprinting and diversity study in rice (Oryza sativa.L). Afr. J. Biotechnol. 5:684–692.

Chang, C. S. ; Zhai, H. Q. ; Wang, C. M.; Sun, L.H. ;Wan, J. M .2006.SSR Ma:ing of Brown Plantho:er Resistance Gene Bph9 in Kaharamana, an Indica Rice (*Oryza sativa L.*). J. Acata GeneticaSinica, , 33 (3): 262-268.

Channama , l. V. ; Sonah, H. ; Prasad, M. ; Rao, G. J. ; Chand, S. ; Upreti, H.C. Singh, N.K .; Sharma, T.R. (2010). Identification of major quantitative trait lociqSBR11-1for sheath blight resistance in rice. J. Molecular Breeding .25: 155 – 166.

Chao, Y., C. Chen, H. Chen, T. Chow, M. Chung, J.S Hsieh and Y.I. Hsing, 2003. Rice structural and functional genome research in ASPGC, academia sinica. J. Genet. Molecul. Bio., 14(4): 201-206.

Chemutai, L.R. ; Musyoki, M.A. ; Kioko, W.F. ; Mwenda, N.S. ; Muriira, K.G. (2016) .Genetic Diversity Studies on Selected Rice (*Oryza sativa L.)* Genotypes based on Gel Consistency and Alkali Digestion. J. Rice Res 4(172):1-6.

Chen, S.;Liu, X.; Zeng, L.; Ouyang, D. Yang, J.; Zhu, X. 2011. Genetic analysis and molecular ma:ing of a novel recessive gene xa34(t) for resistance against Xanthomonas oryzae pv. oryzae. Theor A:l Genet 122: 1331–1338.

Chen, YH. 2009. Variation in plantho:er–rice interactions: possible interactions among three species? In Plantho:ers: new threats to the sustainability of intensive rice production systems in Asia(eds KL Heong, B Hardy), : 315–326. Los Ban˜os, Phili:ines: International Rice Research Institute

Chen, Z.; Hu, F. ; Xu, P.; Li, J. ; Deng, X. ; Zhou, J. ; Li, F. ; Chen, S.; Tao, D. (2009) QTL analysis for hybrid sterility and plant height in interspecific populations derived from a wild rice relative, Oryza longistaminata. Breeding Science 59:441-445.

Chen, J.W.; L. Wang; X.F. Pang and H.Q. Pan. 2006. Genetic analysis and fine ma:ing of a rice brown plantho:er (*Nilaparvata lugens Stål*) resistance gene bph19(t). J.Mol Genet. Genomics 275: 321-329.

Choudhury B.I. ; M.L. Khan ; S. Dayanandan(2014). Rice Science. 21(2): 90-98.

Chowdhury, A. D. ; G. Haritha ; T. Sunitha ; S. L. Krishnamurthy ; B. Divya, ;G. Padmavathi ; T. Ram ; N. Sarla.(2016).Haplotyping of Rice Genotypes Using Simple Sequence Repeat Markers Associated with Salt Tolerance. J. Rice Science, 23(6): 317–325.

Das, B. ; Sengupta, S. ; Parida, S.K . ; Roy, B.; Ghosh, M. ; Prasad, M. (2013). Genetic diversity and population structure of rice landraces from Eastern and North Eastern States of India. J. BMC Genet.;14(1):71-76

Deepti, D.; Sasisharan, N.; Macwana, S.; Chakraborty, S.; Trivedi, R.; Ravikiran, R.; Shah, G. (2013). Molecular characterization of rice (*Oryza sativa L.*) genotypes for salt tolerance using microsatellite markers. J. Bioscan .8(2):499-502.

Ditta A. (2013) Salt tolerance in cereals: molecular mechanisms and applications In Molecular Stress Physiology of Plants(Rout R.G., editor; and Das B.A., editor. , eds), pp. 133–154..

Dokku, P.; Das, K. M. and Rao, G. J. N. (2013a). Pyramiding of four resistance genes of bacterial blight in Tapaswini, an elite rice cultivar, through marker assisted selection. Euphytica 192, 87–96.

Dokku, P.; Das, K. M.; and Rao, G. J. N. (2013b). Genetic enhancement of host plant-resistance of the Lalat cultivar of rice against bacterial blight employing marker-assisted selection. Biotechnol. Lett. 35, 1339–1348.

Du, B.; Zhang, W. ; Liu, B. ; Hu, J. ; Wei, Z. ;Shi, Z.; He, R. ; Zhu, L.; Chen, R. ; Han, B. (2009). Identification and characterization of Bph14, a gene conferring resistance to brown plantho:er in rice. J. Natl Acad Sci USA 106: 22163–22168.

Dutta, S. S. ; Divya, D. ; Durga, R. C. V. ; Dayakar, R. T. ; Visalakshmi, V. ; Cheralu, C. ; Ibohal, S. K. and Bentur, J. S. (2014). Characterization Of Gall Midge Resistant Rice Genotypes Using

Resistance Gene Specific Markers. J. Experimental Biology and Agricultural Science ; 2(4):439-446.

Eizenga, G.C.; Prasad, B.; Jackson, A.K. ; Jia, M.H. 2013. Identification of rice sheath blight and blast quantitative trait loci in two different O. sativa/O. nivara advanced backcross populations. J. Mol Breed 31(4):889–907.

Elizabeth Ann Veasey1, Eduardo de Andrade Bressan , Maria Imaculada Zucchi ,Roland Vencovsky1 , Daruska Cavalcante Cardim , Rainério Meireles AND da Silva.2011. Genetic diversity of American wild rice species .J. Sci. Agric. (Piracicaba, Braz.),.68, (4),:.440-446 .

Emanuelli F. ; Lorenzi S. ; Grzeskowiak L. ; Catalano V, Stefanini M. ; Troggio, M. ; Myles, S. ; Martinez, J.M. ; Zyprian ,E. ; Moreira, F.M. ; Grando, M.S. (2013). Genetic diversity and population structure assessed by SSR and SNP markers in a large germplasm collection of grape. J. BMC Plant Biology 13:39.

Evenson R. E. and D. Gollin. 2003. Assessing the impact of the Green Revolution, 1960 to 2000. J. Science, . 300, (5620) : 758– 762.

Faridu, I. A. S.; Ali M. R.; Glenn, B. G, and Islam ,M. R.(2012).Genetic diversity analysis of tress tolerant rice (*Oryza sativa L.*) . African Journal of Biotechnology , 11(85), : 15123-15129.

Food and Agriculture Organization. 2010. “Report of salt affected agriculture,” http://www.fao.org

Fujita, D.; Myint, K.K.M. ; Matsumura, M. ;Yasui. H. 2009 The genetics of host-plant resistance to rice plantho:er and leafho:er. InPlantho:ers: new threats to the sustainability of intensive rice

production systems in Asia(eds KL Heong, B Hardy), : 389–399. Los Ban˜os, Phili:ines: International Rice Research Institute.

Fumio, T. S. ; Hidenobu, O. ; Hiroyuki, S. ; Hiroaki, M. ; Yoichiro, K. ; Takeshi, E. and Masahiro, Y.2013. Ma:ing and validation of QTLs for rice sheath blight resistance .J . Breeding Science 63: 301–308 .

Furbank, R.T. and Tester, M. (2011). Phenomics-technologies to relieve the phenotyping bottleneck. J. Trends Plant Sci 16: 635–64

Ganie, S. A.; Borgohain, M. J.; Kritika, K. ; Talukdar, A. ; Pani, D. R. and Monda, T. K.(2016). Assessment of genetic diversity of Saltol QTL among the rice (*Oryza sativa L.*) genotypes. Physiol Mol Biol Plants, 22(1): 107–114.

Gerrano, A. S. (2010). Biodiversity in plant, grain and nutritional characteristics of sorghum (*Sorghum bicolor* L.) Moench) accessions from Ethiopia and South Africa. Ph.D. Thesis. College of Natural and Agricultural Sciences, the University of the Free State. Bloemfontein, South Africa.

Gramene .2008. (http://www.gramene.org/

Guo, Y., B. Cheng And D. Hong. 2010. Construction Of Ssr Linkage Map And Analysis Of Qtls For Rolled Leaf In Japonica Rice. J. Rice Science, 17: 28-34.

Gupta, B. and Huang ,B.. 2014. Mechanism of Salinity Tolerance in Plants: Physiological,Biochemical, and Molecular Chara-cterization. J. of Genomics.:1-18.

Hanamaratti N. G., S. K. Prashanthi, P. M. Salimath, R. R. Hanchinal, H. D. Mohankumar, K. G. Parameshwara:a and S. D. Raikar, .2008.

"Traditional Land Races of Rice in Karnataka: Reservoirs of Valuable Traits. J. Current Science,. 94(2): 242-247.

Hao, W.and Lin, H.X. (2010). Toward understanding genetic mechanisms of complex traits in rice. J. Genet. Genomics.37(10): 653-66.

Haque M. A. ; Mahmud, M. A.; Islam, M. M. and Begum, S. N.(2012). "Identification of ntrogressed Rice Lines of Bi-nadhan-7×FL-378 under Salt Stress through SSR Mark-ers, . J. Bangladesh Agriculture University, . 10(1): 49-54.

Hartl, D.L. and Jones, E.W.(2005). DNA Structure and DNA manipulation. In Genetics: analysis of genes and genomes. 5th ed. Sudbury: Jones and Bartlett Pub. Ch. 2 : 36-85.

Hasoon, W. H. 2014. The role of some physical factors on the germination and growth and yield indicators in the pe:er sweet. Coll. Of Agric .J. At Uni. Of Baghdad.:125.

He, Z. Z.; Xie, F. M.; Chen, L .Y.; Dela, P. M. A.(2012). Genetic diversity of tropical hybrid rice germplasm measured by molecular markers . Rice Sci, 19(3):193–201.

Himabindu, K. K.; Suneetha, A. S . ; Jagadish, B.(2010). A new rice gall midge resistance gene in the breeding line CR57-MR1523, ma:ing with flanking markers and development of NILs. J. Euphytica. 174(2):179-187 .

Horgan, F. 2009 Mechanisms of resistance: a major gap in understanding plantoho:er–rice interactions. In Plantho:ers: new threats to the sustainability of intensive rice production systems in Asia(eds KL Heong, B Hardy), : 281–302. Los Ban˜os, Phili:ines: International Rice Research Institute

Huang X., X. Wei, T. Sang, Q. Zhao, Q. Feng, Y. Zhao, C. Li, C. Zhu, T. Lu, Z. Zhang, M. Li, D. Fan, Y. Guo, A. Wang, L. Wang, L. Deng, W. Li, Y. Lu, Q. Weng, K. Liu, T. Huang, T. Zhou, Y. Jing, W. Li, Z. Lin, E. S. Buckler, Q. Qian, Q-F. Zhang, J. Li and B. Han. 2010 .“Genome-Wide Association Studies of 14 Agronomic Traits in Rice Land-races. J. Nature Genetics, 42, (11) , : 961-967

ICRR (Indonesian Center for Rice Research) 2011. At http://bbpadi.litbang.deptan.go.id/ , accessed February 2011.

CSSRI (Salinity Research Institute Central).2012. https://india.gov.in/central-soil-salinity-research-institute

Irgs. 2005.The map-based sequence of the rice genome . J. Nature. ; 436(7052):793–800.

Ishikawa, R.; Toki, N.; Imai, K.; Sato, Y.I.; Yamagishi, H.; Shimamoto, Y.; Ueno, K.; Morishima, H. and Sato, T. (2005).Origin of weedy rice grown in Bhutan and the force of genetic diversity Genet. Resour .J. Crop Evol., 52, 395-403.

Islam, M. R.; Gregorio, G. B.; Salam, M. A.; Collard, B. C. Y.; Singh, R. K. ; Hassan, L. (2012). Validation of Saltol linked markers and haplotype diversity on chromosome 1 of rice. J.Mol Plant Breeding, 3(10): 103–114.

Islam, M. R.; Salam, M. A. ; Hassan, L.; Collard, B. C. Y.; Singh, R. K. and Gregorio, G. B.2011. QTL ma:ing for salinity tolerance at seedling stage in rice . J. Food Agric. 23 (2): 137-146.

Israt, N.; A.K.M. Mohiuddin ; S. Sultana and Jannatu, F. (2014). Diversity analysis of indica rice accessions (*Oryza sativa L.*) using

morphological and SSR markers . J.Annals Biological Research, , 5 (11):20-31.

Jain, M. 2013. Emerging role of metabolic pathways in abiotic stress tolerance.National Institute of Plant Genome Research (NIPGR), Aruna Asaf Ali Marg, New Delhi – 110067, India J. Plant Biochem Physiol: 11(1):63-70.

Jairin, J. ; Phengrat, K. ; Teangdeerith, S. ; Vanavichit, A. ; Toojinda, T. (2007). Japonicarice germplasm. J. Euphytica 184:23–34.

Jena, K. K. and Kim, S. M. 2010 Current status of brown plantho:er (BPH) resistance and genetics . Rice International Rice Research Institute 3:161–171

Jia, Y. ;Liu, G.J ; Costanzo, S.; Lee, S.H.; Dai, Y.T. (2009) .Current progress on genetic interactions of rice with rice blast and sheath blight fungi. Front Agri in China 3:231–239.

Jia, Y.; Correa,V. F.; Mlung, A.; Zhu, L.; Liu, G.; Wamishe, Y .; Xie, J.; Marchetti, M. A.; Pinson, S. R. M. ; Rutger, J. N. and Correll, J. C. 2007. Rapid determination of rice cultivar response to the sheath blight pathogen Rhizoctonia solaniusing a micro-chamber screening method .J.. Plant Dis. 91:485-489.

Jiangbo, Z. ; Aiqing, Y. ; Zhujun, M. ; Lili, Z. and Guangcun, H. (2012) .Association analysis of important agronomic traits in japonica rice germplasm. African. J. Biotechnology. 11(12), : 2957-2970 .

Joshi B. K., "Rice Gene Pool for Tarai and Inner Tarai Areas of Nepal," Nepal Agric. Research Journal, 6, : 10-22.

Joshi, S.P.; Gupta, V.S.; Aggarwal, R.K.; Ranjekar, P.K. and Brar, D.S. 2000. Genetic diversity and phylogenetic relationship as revealed

by inter simple sequence repeat (ISSR) polymorphism in the genus Oryza. Theor. A:l. Genet. 100: 1311-1320.

Jubrael, J. M. S. and Ali, S. H. (2009). Genetic diversity analysis of a number of grape (Vitis vinifera L.) varieties in Kurdistan region-Iraq using RAPD markers. J. Duhok Univ., 12(1): 17-22.

Jump A. S. and J. Pe˜nuelas, 2005. "Running to stand still: adaptation and the response of plants to rapid climate change,J. Ecology Letters, 8, (9) : 1010–1020.

Jung,P. S.; Yong, J. W. ; Eok,K. A.; Jeong , H. L.; Woon,G. H. ; Myeong, K. K.;Young , C. C. ; Eung,G. J.; Bo, K. K. .2014. Field Performance and SSR Analysis of Drought QTL Introgression Lines of Rice. J. Plant Breed. Biotech. 2(2):158-166.

Kalia, R. K.; Rai, M. K.; Kalia, S.; Singh, R. and Dhawan, A. K. (2011). Microsatellite markers: an overview of the recent progress in plants.j. Euphytica, 177: 309-334.

Kamoshita A, Babu R C, Boopathi N M, Fukai S. 2008. Phenotypic and genotypic analysis of drought-resistance traits for development of rice cultivars adapted to rainfed environments. J. Field Crops Res, 109: 1–23.

Kanbar, A. and Shashidhar, H.E. (2011). Participatory selection assisted by DNA markers for enhanced drought resistance and productivity in rice (Oryza sativa, L.).J. Euphytica, 178(1): 137-150.

Karim, S. 2007. Exploring Plant Tolerance to Biotic and a Biotic Stresses. PhD Dissntation. Faculty of Natural Resources and Agricultural Sciences, Department of Plant Biology and Forest Genetics U:sala, Swedish Uni. of Agri.Sci. : 66.

Katiyar, S. K. ; Chandel, G. ; Tan, Y.; Huang, B.; Nugaliyadde, L.; Fernando, K.; Bentur, J. S.; Inthavong, S.; Constantino, S. and Bennett, J. 2000. Biodiversity of Asian rice gall midge *Orseolia oryzae* (Wood-Mason) from five countries examined by amplified fragment length polymorphisms (AFLP) analysis. Genome 43: 322-333

Khan M.A.I., P.P. Sen, R. Bhuiyan, E. Kabir, A.K. Chowdhury, Y. Fukuta, A. Ali, M.A.Latif, Comptes Rendus Biologies, 2014, 337(5): 318-324.

Khan, M. I. R.; Asgher, M.; Iqbal, N. and Khan, N. A.. 2013. Potentiality of sulfur-containing compounds in salt stress tolerance. In: Ecophysiology and responses of plants under salt stress. Ahmad P, Azooz MM, Prasad MNV. Springer, NY, .443-472.

Khoury, C., B. Laliberté, and L. Guarino. 2010. Trends in ex-situ & in-situ conservation of plant genetic resources: a review of global crop and regional conservation strategies. Genetic Resources and Crop Evolution 57:625-639.

Khush, G.S and Jena, K.K. 2009. Current status and future prospects for research on blast resistance in rice (*Oryza sativa* L.). In: Wang GL, Valent B (eds) Advances in genetics, genomics and control of rice blast disease. Springer, Dordrecht, : 1–10.

Kobayashi, A., K. Ebana, S. Fukuoka and T. Nagamine. 2006. Microsatellite markers revealed the genetic diversity of an Old Japanese Rice Landrace Echizen'. J. Genetic Resources and Crop Evolution, 53: 499-506

Krasensky J, C. Jonak. 2012. Drought, salt, and temperature stress-induced metabolic rearrangements and regulatory networks. J. Exp. Bot.63(4). :608-1593.

Krishnaiah, K. and Varma, N. R. G.2012. Changing Insect Pest Scenario in the Rice Ecosystem –A National Perspective. Directorate of Rice Research Rajendranagar, Hyderabad.: 2-8.

Kumar, A. ; Dixit, S. ; Ram, T.; Yadaw, R. B.; Mishra, K. K.; and Madal, N. P. (2014). Breeding high yielding drought-tolerant rice: genetic variations and conventional and molecular a:roaches. J. Exper. Bot. 65, 6265–6278.

Kumar, A.K. Singh, A.K.and Radha .2012. Evaluation of genetic diversity in rice using simple sequence repeats (SSR) markers Ravindra . J. Biotechnology . 11(84): 14956-14995.

Kumar, P.; Gupta, V. K.; Misra, A. K.; Modi, D. R. and Pandey, B. K. (2009). Potential of molecular markers in plant biotechnology. Plant Omics J., 2(4): 141-162.

Kyung, J. L. ; Jong, R. L. ; Gian, L. ; Ho, S. L. ; Soon, I. K. ; Yong, G. C.; Yang, H. C. ; Kyung, H. M. ; Sok, Y. L. ; Jong, W. C. . (2015).Genetic Diversity Among Korean Rice Landraces (*Oryza sativa L.*) Based on Characters and SSR Markers .J. Plant Breed. Biotech,3(3):216-225.

Lapitan ,V.C.; Brar, D.S.; Abe , T. and Edilberto, D.R.(2007) .Assessment of genetic diversity of Phili:ine rice cultivars carrying good quality traits using SSR markers. J. Breeding Science 57 (4), 263-270 .

Larcher, W. 2003. Physiological Plant Ecology: Ecophysiology and Stress Physiology of Functional Groups. Heidelberg: Springer Verlag;.:345-437.

Li, J.z. ; Xie, Y. ; Dai, A.y. ; Liu, L. f. ; Li, Z.c. (2009). Root and shoot traits responses to phosphorus deficiency and QTL analysis at seedling stage using introgression lines of rice. J. Genet Genomics. 2(36):173–183.

Li, W., J. Wu, S. Weng, D. Zhang, Y. Zhang and C. Shi. 2010. Characterization and fine ma:ing of the glabrous leaf and hull mutants (gl1) in rice (*Oryza sativa L.*). Plant cell reports, 29: 617-627.

Lin M.-H., Lin C.-W., Chen J.-C., Lin Y.-C., Cheng S.-Y., Liu T.-H., Jan F.-J., Wu S.-T., Thseng F.-S. and Ku H.-M.. 2007. "Tagging Rice Drought-Related QTL with SSR DNA Markers .J. Crop Environment & Bioinformatics. 4, (1), : 65-76.

Linh, H.L.; Linh, T.H.; Xuan, T.D.; Ham, L.H.; Ismail, M.A.; Khanh, T.D. 2012. Molecular Breeding to Improve Salt Tolerance of Rice (*Oryza sativa L.*) in the Red River Delta of Vietnam. International J. Plant Genomics. 10: 1-9.

Liu, G.; Jia, Y.; Mclung, A. ; Oard, J.H.; Lee, F.N.; Correll, J.C. 2013. Confirming QTLs and finding additional loci responsible for resistance to rice sheath blight disease.Plant Disease 97:113–117.

Liu, K. and Muse, S.V. (2005) .Power Marker: Integrated analysis environment for genetic marker data; Bioinformatics. 21: 2128–2129.

Liu, G.; Jia, Y.; Correa-Victoria, F. J.; Prado, G. A.; Yeater, K. M.; Mclung,A. and Correll, J. C. 2009. Ma:ing quantitative trait loci

responsible for resistance to sheath blight in rice. Phytopathology 99:1078-1084.

Lo, Y. M. D.; Chiu, R. W. K. and Chan, K. C. A. (2006). Clinical A:lications of PCR. 2nd ed., :: 1-11. Humana Press Inc. New Jersey, USA.

Mahajan R., S. Tabia, G. Raina and N. Mangotra. (2012) . As-sessment of Genetic Diversity of Non-Basmati Rice of Jammu and Kashmir Using Microsatellite Markers. J. Cereals and Oil Seeds. 3, (2), : 21- 27.

Mahmoodreza, S. ; Mohd, R. Y. ; Sadegh, A. ; Mohamed, H, M. ; Nur Azura, A. ;Iffah, H. ;Abdul, R. H. ; Mohammad, A. L. (2015).Marker-assisted selection for rice brown plantho:er *Nilaparvata lugens* resistance using linked SSR markers. Turk J. Biol 39: 666-673

Mamunur , M. Rahman1,2, M. G. Rasaul3, M. A. Hossain4,K. M. Iftekharuddaula4, And H. Hasegawa1 .(2012). Molecular Characterization And Genetic Diversity Analysis Of Rice (*Oryza Sativa L.)*Using Ssr Markers. J. Crop Improvement, 26:244–257.

Manikanda, N. B.; Gat, S. P.; Kavitha1, S. S. R. ;Nithya, W.R.; Arvind, K. . (2013). Evaluation And Bulked Segregant Analysis Of Major Yield Qtl Qtl12.1 ntrogressed into Indigenous Elite Line for Low Water Availability under Water Stress. J. Rice Science, 20(1): 25−30

Masuduzzaman, A.S.M. ; Haque, M. ; Ahmed ,M.M.E. and Mohapatra, C.K. (2016) SSR Marker-based Genetic Diversity Analysis of Tidal and Flood Prone Areas in Rice (*Oryza sativa* L.). J Biotechnol Biomater 6.(241),: 1-9.

Md, L. R. ; Wenzhu, J. ; Sang,H. C. ; Yongli, Q. ; Tae,H. H.; Mi,O. W. ; Joohyun, L. ; Sakina, K. ; Joong, H. C.; Ji, U, J, ; Brar D. S. ; Jena K. K. ; Hee ,J. K .(2009).High-resolution ma:ing of two rice brown plantho:er resistance genes, Bph20(t)and Bph21(t), originating from *Oryza minuta*. J. Theor A:l Genet .119:1237–1246.

Md, F. R. M. ; Mohammad, M. R. ; Jyoti, H. ; Sayda, R. ; Shamsunnahar, B. and Mirza, M. I.. 2015. Genetic diversity and SSR marker assisted salt screening of rice (*Oryza sativa L.)*. J. Biosci Bioeng Commun;(1): 29-37.

Mehede, H.R. ; Lutfu, H. ; Mirza, M. I. ; Arif, H. K. R.; Andmd, J.A. (2014). Evaluation Of Rice Genotypes Under Salt Stress At The Seedling And Reproductive Stages Using Phenotypic And Molecular Markers. Pak. J. Bot., 46(2): 423-432.

Miah, G.; Rafii, M. Y.; Ismail, M. R.; Puteh, A. B.; Rahim, H. A.; Islam,K. N., and Latif, M. A. 2013. A review of microsatellite markers and their a:lications in rice breeding programs to improve blast disease resistance. International J. Molecular Sciences, 14, 22499- 22528 .

Mohammad, N. ; Haj, B. and Sattari, A .2015. Bacterial Blight Resistance in Rice: A Review.J. Ijsrst (1)2: 20-23.

Mohammadi, N. G.; R.K. Singhb ; A. Arzanic ; A.M. Rezaiec; H. Sabourid ; G.B. Gregoriob. (2010). Evaluation of salinity tolerance in rice genotypes .J. Plant Production 4(3): 199-208.

Mohanty, S.; Wassmann, R. ; Nelson, A. ; Moya, : Jagadish, S.V. (2013) Rice and climate change: significance for food security and

vulnerability. International Rice Research Institute Discussion Paper.14- 49

Molekularno, G. ; Markeri, K. O.Za ;Personalizovanu, M.(2014). Molecular Genetic Markers As A Basis For Personalized Medicine J . Med Biochem 33: 8–21.

Mondal TK, Ganie SA (2014) Identification and characterization of salt responsive miRNA-SSR markers in rice (*Oryza sativa*). Gene 535:204–209

Moniruzzaman, M. ; M.S. Alam ; J.A. Rashid ; S.N. Begum and M.M. Islam .(2012).Marker-Assisted Backcrossing For IdentificationOf Salt Tolerant Rice Lines. Int. J. Agril. Res. Innov. and Tech. 2 (2): 1-8.

Mujaju, C. ; J. Sehic and H. Nybom.(2013). Assessment of EST-SSR Markers for evaluating genetic diversity in watermelon accessions from Zimbabwe . American J. Plant Sciences. 4: 1448-1456.

Munns, R. and M. Tester. 2008. Mechanisms of salinity tolerance. J. Annual Review of Plant Biology, 59, : 651–681.

Myint, K.K. ; Fujita, D.; Matsumura, M. ; Sonoda, T. ; Yoshimura, A. ; Yasui, H. (2012). Ma:ing and pyramiding of two majorgenes for resistance to the brown plantho:er (*Nilaparvata lugens* [Stål]) in the rice cultivar ADR52. J. Theor. A:l. Genet. 124: 495-504.

Nachimuthu, V.V. ; Muthurajan, R. ; Duraialaguraja, S. ; Sivakami, R. and Pandian, B. A. (2015). Analysis of Population Structure and Genetic Diversity in RiceGermplasm Using SSR Markers: An Initiative towards Association Ma:ing of Agronomic Traits in *Oryza sativa*. J. Genomics 8: 1-25.

Nantawan, K. ; Jirawat, S. ; Pranee, S.; Piyada, T. .2011. Genetic diversity analysis of rice cultivars (Oryza sativa L.) differing in salinity tolerance based on RAPD and SSR markers. J. Biotechnology.14,(4):1-17.

Narain, P. (2000). "Genetic diversity—conservation and assessment, j. Current Science. 79, (2), : 170–175.

Nei, M. (1972). Genetic distance between populations. American Naturalist, 106: 283-292.

Nei, M. and W. Li. (1979). Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endow nucleases. YadavProc. Nat. Acad. Sci. 76: 5269-5273.

Nelson, J.C. ; Oard, J.H. ; Groth, D.; Utomo, H.S.; Jia, Y. ; Liu, G. ; Moldenhauer, K.A.; Correa-Victoria FJ; Fjellstrom RG; Schef-fler B; Prado, G.A. (2012) .Sheath-blight resistance QTLs in *japonica* rice germplasm. J. Euphytica. 184, , : 23–34.

Netravati, M.; K. C. Samal ; D. N. Bastia and G. R.Rout.(2013). Genetic diversity analysis in aromatic rice genotypes using microsatellite based simple sequence repeats (SSR) marker. J. Biotechnology,. . 12(27), : 4238-4250

Nguyen T. P. and Nguyen T. L. (2004) . Marker Assisted Selection In Rice Breeding For Bacterial Leaf Blight. J. Omonrice 12: 19-26.

Nirmala, R.; Lipi, M. ; Reddy, K. K. and Shashidhar, H. E.(2012).DNA fingerprinting and estimation of genetic diversity among hybrid rice parental lines (*Oryza sativa L.*) using simple sequence repeats (SSR) markers. J .Plant Breeding and Crop Science. 4(11). : 169-174.

Nitika S.; Anshuman, S.; Shalabh, D.;Ma, T. S. C.; Paul, C. 1.; Rajinder ,K. J. and Arvind, K. (2014).Identification and ma:ing of stable QTL with main and epistasis effect on rice grain yield under upland drought stress. J. BMC Genetics, 15:63

Noorzuraini, A. R.; Borromeo,T. H.; Nestor, N. C.; Diaz, N. C.; Diaz, G. M. and Arvind, K. 2013. Diversity assessment of Malaysian rice germplasm accessions for drought tolerant grain yield QTLs. J. Trop. Agri. Food Sci. 4(1): 27-40.

Nono, C. ; Yessikha, V. ;Barus k.; Santika, S. ; Winny, D. ;Widarmi, D. ; Dono,Y.S.; And Murdaningsih, H.K1 .(2015).Identification Of Polymorphism On Simple Sequence RepeatsMarkers Associated With Brown Plantho:er Resistance Genes In Twenty Rice Genotypes And Their Genetic Relationship.j. Kne Life Sciences (2) 98-106.

Oliveira, E. J.; Padua, J. G.; Zucchi, M. I.; Vencovsky, R. and Vieira, M. L. C. (2006). Origin, evolution and genome distribution of microsatellites.j. Gene. Mole. Biol., 29(2): 294-307.

Perumalsamy, S.; Bharani. M.; Sudha, M.; Nagarajan, P.; Arul, L. ; Saraswathi, R.; Balasubramanian, P. ; Ramalingam, J. (2010). Functional marker-assisted selection for bacterial leaf blight resistance genes in rice (*Oryza sativa* L.). Plant Breed 129: 400–406.

Pervaiz Z. H., S. Tehrim, M. A. Rabbani, M. S. Masood and S. A. Malik. 2011 .“Diversity in major seed storage proteins of rice landraces of Pakistan,” Pakistan J. Botany, 43 : 1607-1612.

Pervaiz, Z.H., M.A. Rabbani, I. Khaliq, S.R. Pearce and S.A. Malik. 2010. Genetic diversity associated with agronomic traits using microsatellite markers in Pakistani rice landraces. Electronic . J. Biotechnology, 13: 4-5.

Phili:e, R. ; Courtois, B.; McNally, K.L.; Mournet, P.; El- Malki, R.; Le Paslier, M.C. ; Fabre, D. ; Billot, C. ; Brunel, D.; Glaszmann, J.C. (2010). Structure, allelic diversity and selection of Asr genes, candidate for drought tolerance, in Oryza sativa L. and wild relatives. J. Theor. A:l. Genet. 121:769–787.

Pluss, A. R. (2004). Plant genetic diversity and population differentiation in the fragmented alpine landscape. Ph.D. Thesis. College of Philosophy and Natural Knowledge. Basel University

Poornima, S. and Ambika , S.R. (2012). Intraspecific Diversity and Cnservation of an Important Natural Food Dye Yielding Plant Bixa orellanaL . Indian J. Fundamental and A:lied Life Sciences , 2 (4) :114-125.

Pradhan, S. K.; Nayak, D. K.; Mohanty, S.; Behera, L.; Barik, S. R.; Pandit, E. (2015). Pyramiding of three bacterial blight resistance genes for broad-spectrum resistance in deepwater rice variety, Jalmagna. Rice 8:19.

Qiu, Y. ; Guo, J. ; Jing, S. ; Zhu, L. ; He, G. (2010). High-resolution ma:ing of the brown plantho:er resistance gene Bph6 in rice and characterizing its resistance in the 9311 and Ni:onbare near isogenic backgrounds. J. Theor. A:l. Genet. 121:1601-1611

Qu, Y. ; Mu, P.; Zhang, H. ; Chen, C.Y. ; Gao, Y. ; Tian, Y. ; Wen, F.; Li, Z. (2008). Ma:ing QTLs of root morphological traits at different growth stages in rice .J. Genetica, 133:187–200.

Rahman, M. S.; M. K. H. Sohag and L. Rahman.(2010). Microsatellite based DNA fingerprinting of 28 local rice (*Oryza sativaL.)* varieties of Bangladesh. J. Bangladesh Agril. Univ. 8(1): 7–17.

Rahman, M.M.; M.G. Rasaul; M.A. Hossain; K.M. Iftekharuddaula; H. (2012). Hasegawa, Parent selection for transplanted aman rice breeding by morphological, physiological and molecular diversity analysis," J. Crop Improv., , 6(2):244-257.

Rajendrakumar, P.; Biswal, A. K.; Balachandran, S. M.; Srinivasarao, K. and Sundaram, R. M. (2007). Simple sequence repeats in organellar genomes of rice: frequency and distribution in genic and intergenic regions.J. Bioinformatics, 23:1–4.

Rajpurohit, D.; Kumar, R.; Kumar, M.; Paul, P.; Awasthi, A.A.; Basha, P.O. ; Puri ,A. ; Jhang, T.; Singh, K.; Dhaliwal , H.S. (2010). Pyramiding of two bacterial blight resistance and a semidwarfing gene in Type 3 Basmati using marker-assisted selection.J. Euphytica 178: 111–126.

Ram S. G.; Thiruvengadam ,V. and Vinod ,K. K. 2007. Genetic Diversity among Cultivars, Landraces and Wild Relatives of Rice as Revealed by Microsatellite Markers . J. A:lied Genetics. 48, (4), : 337-345.

Ramadan, E. A.; Elmoghazy A. M.; El-Mowafi H. F. .2015.Molecular Markers based Genetic Diversity Analysis for Drought Tolerance in Rice (*Oryza Sativa, L.)* Using SSR arkers . J. Scientific Research in Agricultural Sciences, 2(Proceedings), : 137-146.

Ramkumar, G. ; Srinivasarao, K. ; MadanMohan, K.; Sudershan, I. ; Sivaranjani, A.K.P. ; Gopalkrishana, K. ; Viraktamath, B. C. ; Madhav, M.S. (2011) Development and validation of functional

marker targeting an InDel in the major rice blast disease resistance gene Pi54 (Pikh). J. Molecular Breeding 27: 129-135.

Ravindra, K. ; Ashwani, K. S; Arun, K. and Radha S.(2012). Evaluation of enetic diversity in rice using simple sequence repeats (SSR) markers . J. Biotechnology. 11(84), : 14956-14995.

Ray, S., Dansana P. K., J. Giri, P. Deveshwar, and R. Arora. 2011. Modulation of transcription factor and metabolic pathway genes in response to water-deficit stress in rice. J. Funct Integr Genomics 11: 157-178.

Redfern, S.K.; Azzu, N.; Binamira, J.S. (2012). Rice in Southeast Asia: facing risks and vulnerabilities to respond to climate change. Build Resilience Adapt Climate Change J. Agri Sector.;23:295-299

Riaz, A. (2006). Assessment of genetic diversity in Rosa Species based on phenotypic and molecular makers. Ph.D. Thesis. Institute Horticultural Sciences. University of Agriculture, Faisalabad-Pakistan.

Richard A. Lankau et Sharon Y. Strauss, (2007). Mutual feedbacks maintain both genetic and species diversity in a plant community, J. Science . 317 . 44:58 : .

Rodrigues, F. Á.; Vale, F. X. R.; Datnoff, L. E.; Prabhu, A. S.; and Korndörfer, G. H. (2003). Effect of ricegrowth stages and silicon on sheath blight development. Phytopathology 93:256-261.

Roy,P.S.; Rao, G.J.N. ; Jena, S. ;Sama, R; Patnaik, A. ; Patnaik, S.S.C. (2016) Nuclear and Chloroplast DNA Variation Provides Insights into Population Structure and Multiple Origin of Native Aromatic Rices of Odisha, India .J. PLos 11(9):1-20.

Ruisheng,G., S. Fonseca, L. G. Puskás, L. Hackler, A. Zvara, D. Dudits, and M. S. Pais. 2004. Transcript identification and profiling during salt stress and recovery of Populus euphratica . j. Tree Physiol; 24 (3): 265-276.

Sabar, M.;and Arif, M. . 2014. Phenotypic response of rice (*Oryza sativa L.)* genotypes to variable moisture stress regimes. Int. J. Agric. Biol, 16, 32–40

Sabouri, H.; Rezai, A. M.; Moumeni, A.; Kavousi, A.; Katouzi,M. and Sabouri ,A. (2009). QTLs ma:ing of physiological traits related to salt tolerance in young rice seedlings. J. Biologia Plantarum 53(4): 657-662.

Sadia, M. ; M. Ashrafuzzaman ; M.d. M. Islam ; S. U. Sikdar and A. Zobayer. (2012). Molecular marker based (SSR) genetic diversity analysis in deep water rice germplasms of Bangladesh . J. Biosciences. 10(2),. 64-72.

Saghai-Maroof, M.A.; Soliman, K.M.; Jorgensen ,R.A. and Allard, R.W. 1984. Ribosomal DNA spacer-lengthpolymorphisms in barley: Mendelian inheritance, chromosomal location, and population dynamics. J.Proceedings National Academy of Sciences, 81: 8014-8018.

Sai, H. A ; Sai, K. S. ; Padma, B. ; Richa, S. ; Ayya:a, D. M. and Vinay S. (2013). Evaluation of rice genotypes for brown plantho:er (BPH) resistance using molecular markers and phenotypic methods. J. Field Crops Res 12(19), : 2515-2525,

Saikumar, S.; Gouda, P.K.; Saiharini, A.; Varma, C.M.K.; Vineesha, O.; Padmavathi, G.; Shenoy, V.V.(2014). Major QTL for enhancing rice grain yield under lowland reproductive drought stress

identified using an *O. sativa/O. glaberrima* introgression line. J. Field Crops Res., 163, 119–131.

Sajib A.M., Hossain M.M., Mosnaz A.T.M.J., Hosneara H., Islam M.M., Ali M.S., Prodhan S.H. (2012).SSR marker-based molecular characterization and genetic diversity analysis of aromatic. . J BioSci. Biotech., , 1(2): 107-116.

Sakata, K.; Antonio, B.A.; Mukai, Y.; Nagasaki, H.; Sakai, Y.; Makino, K. and Sasaki, T. (2000). INE: a rice genome database with an integrated map view. Nucleic Acids Res. 28: 97-101.

Salam, A.; Ali ,Z. and Aslam, M. (2011). Sodium chloride tolerance in rice (*Oryza sativa L.*) At early seedling growth:genotypic variability, identification and selection. Pak. J. Bot. 43(6): 2701-2705.

Salgotra, R. K.; Gupta, B. B.; Javaid, A. ; Sandeep, S.(2015).Genetic Diversity and Population Structure of Basmati Rice (*Oryza sativa L.)* Germplasm Collected from North Western Himalayas Using Trait Linked SSR Markers. J .pone 1(8).1-19.

Salunkhe, A.S. ; Poornima, R. ; Prince, K.S. ; Kanagaraj, P. ; Sheeba, J.A. ; Amudha, K. ; Suji, K. K. ; Senthil, A. ; Babu, R.C. (2011). Fine ma:ing QTL for drought tolerance traits in rice (*Oryza sativa, L.*) using bulk segregant analysis .J. Mol. Biotechnology, 49(1): 90-95.

Sama, V.S.; Rawat, N. Sundaram, R.M. ; Himabindu, K. ; Naik, B.S.; Viratamath, B.C. and Bentur, J.S. (2014). A putative candidate for the recessive gall midge resistance gene gm3 in rice identified and validated. Theoretical and A:lied Genetics. J. Euphytica, 127: 113 –124.

Sama, V. S. ; Himabindu, K. ; Bhaskar, N. S. ; Sundaram, R. M. ; Viraktamath, B. C. and Bentur, J. S. (2012) Ma:ing and marker-assisted breeding of a gene allelic to the major Asian rice gall midge resistance gene Gm8. J. Euphytica, 187 (3). : 393-400.

Sambrook J,; E.F. Fritsch and T. Maniatis 1989. Molecular Cloning: a laboratory manual. NY: Cold Spring Harbor.::2028

Sambrook, J. and Russell, D. W. (2001). In vitro a:lication of DNA by the polymerase chain Reaction, in molecular cloning: Chapter 8: 691-733. A laboratory manual. 3rd ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York.

Sanjay, K. S. ; S. Sharma; G .K. Koutu ; D. K. Mishra ; P. Singh; . P. Kumar and Namita, P. (2014). Genetic Diversity in NPT Lines Derived from indica x japonica Sub-species Crosses of Rice (*Oryza sativa L.*) Using SSR Markers. J. Agricultural Science, 4(3), : 121-132 .

Saqib, Z.A.; Akhtar, J.; Ul-Haq ,M.A. and Ahmad ,I. 2012. Salt induced changes in leaf phenology of wheat plants are regulated by accumulation and distribution pattern of Na+ ion. Pak. J. Agri. Sci., 49: 141-148.

Sasaki, T. 2002. Rice genomics to understand rice plant as an assembly of genetic codes. Current Science 83(7): 834-839.

Schulmann, A.H., 2007. Molecular markers to assess genetic diversity. J. Euphytica, 158(3),: 313-321.

Semagn K., and B.Å., Ndjiondjop M. N. (2006) An overview of molecular marker methods for plants. African J. Biotechnology 5:2540-2568.

Shah S. M., S. A. Naveed and M. Arif.2013. Genetic Diversity in Basmati and Non-Basmati Rice Varieties Based on Microsatellite Markers, Pakistan J. Botany,. 45, (1) , : 423-431.

Shahid, M. S. ; Shahzad, A. N. and Muhammad A .(2013). genetic diversity in basmati and non-basmati rice varieties based on microsatellite markers. J. Bot., 45(S1): 423-431

Shahriar, .K.S. ; Shahanaz .S.; Md.M.H.; Md. M.H..(2015). SSR marker based genetic diversity analysis of modern rice varieties and coastal landraces in Bangladesh . J.Biot .V.14.: 33-41.

Shailesh, D. ; Kumbhar, P. L. ; Kulwal, J. V. ; Patil, C. D. ; Sarawate, A.P.; Gaikwad, A. S.; Jadha,v. (2015). Genetic Diversity and Population Structure in Landraces and Improved Rice Varieties from India.J. Rice Science, 22(3): 99-107.

Shailesh, Y. ; Ghanta, A. ; Ravi R. K. ; Lakshminaryana, R. V. ; Ravuru, S. ; Krishnaveni, D. ; Durgarani, V. ; Farzana, J. ; Yamini, K. N. ; Balram, M. and Ebrahimali, A. S.(2015). Identification of QTLs and possible candidate genes conferring sheath blight resistance in rice *(Oryza sativaL).* J . Springer .4, (175): 2-12.

Shukla, N.; Awasthi, R.P.; Rawat, L.; Kumar, J. 2012. Biochemical and physiological responses of rice *(Oryza sativa L.)* as influenced by Trichoderma harzianum under drought stress. J. Plant Physiol. Biochem. 54, 78–88.

Silva, J. ; Scheffler, B. ; Sanabria, Y.; Guzman, C. ; Galam, D. ; Farmer, A.; Woodward, J.; May, G. ; Oard, J. (2012). Identification Of Candidate Genes In Rice For Resistance To Sheath Blight Disease By Whole Genome Sequencing. J. Thear A:l Genet. V. 124,(1) : 63–74.

Sinclair, A. (2002). Polymerase Chain Reaction. j. Canadian Medical Association, 9: 167-172.

Singh, A. and Sengar, R.S. (2015) .DNA Fingerprinting Based Decoding of Indica Rice (*Oryza sativa L*) Via Molecular Marker (SSR, ISSR, & RAPD) in Aerobic Condition. J. Adv Crop Sci Tech 3,(2): 1-8.

Singh, A.K.; Rohini, N. and Singh, P.K.(2015).Identification Of Bacterial Leaf Blight Resistance Genes In Rice (Oryza Sativa L.). I.J.S.N.6 (2): 283-287

Singh, Y. (2011) Molecular a:roaches to assess genetic divergence in rice. J. GERF Bulletin of Biosciences 2: 41-48.

Singh, V. K. ; Upadhyay, P.; Sinha, P.; Mall, A. K. and Jaiswal, S. K.(2011). Determination of genetic relationships among elite thermosensitive genic Male sterile lines (tgms) of rice (*Oryza sativa l.*) employing morphological and simple sequence repeat (SSR) markers. J. of Genet. 90(1): 11-19.

Siriporn, K. ; Saengchai, S.; , Pattama, S. ; Jirapong, J. ; Siripar. K. ; Apichart, V. and Theerayut, T. .2009. Identification of microsatellite markers (SSR) linked to a new bacterial blight resistance gene xa33(t) in rice cultivar 'Ba7'. Maejo Int. J. Sci. Technol., 3(02), 235-247.

Siva, G. ; Kumar1, K. ; Aruna, K. Ch. ; Durga, V. R. ; Sundaram R. M. ; Vanisree S. ; Jamaloddin, M.d. and Swathi, G.(2013). Study of simple sequence repeat (SSR) polymorphism for biotic stress resistance in elite rice variety JGL 1798. African J. Biotechnology ..12,(40),:5833-5838

Siva, R.; Kuna, K.and Rajasekaran C. (2013). Genetic diversity study of important Indian rice genotypes using biochemical and molecular markers. African J. Biotechnology. 12(10), : 1004-1009.

Sohrabi, M. ; M.Y. Rafii; M.M. Hanafi; A.S.N. Akmar; M.A. Latif. 2012. Genetic Diversity of Upland Rice Germplasm in Malaysia Based on Quantitative Traits. J. Scientific World, : 12: 1-9.

Srinivasachary, W.L. and Savary, S. (2011). Resistance to rice sheath blight *Rhizoctonia solani* disease: current status and perspectives. J. Euphytica 178:1–22

Srividhya, J.; Mourão, M.A.; Crampin, E.J.; Schnell, S. (2010) Enzyme Steele KA, Price AH, Shashidhar HE, Witcombe JR). Marker-assisted selection to introgress of rice QTLs controlling root traits and aroma into an Indian upland rice variety. J. Theor. A:l. Genet., 112: 208–221.

Suh, J. P.; Jeung, J. U.; Noh, T. H.; Cho, Y. C.; Park, S. H.; Park, H. S. (2013). Development of breeding lines with three pyramided resistance genes that confer broad-spectrum bacterial blight resistance and their molecular analysis in rice. Rice, (6):5-10

Suji, K.K. ; Biji, K.R. ; Poornima, R.; Prince, K.S. ; Amudha, K. ; Kavitha, S. ; Mankar, S. ; Babu, R.C. (2011). Ma:ing QTLs for plant phenology and production traits using indica rice (*Oryza sativa L.)* lines adapted to rainfed environment. J. Mol. Biotechnol. 52:151-160.

Sun, L. ; Su, C. ; Wang, C. ; Zai, H. ; Wan, J. (2005). Ma:ing of a major resistance gene to brown plantho:er in the rice cultivar Rathu Heenati. J. Breed. Sci. 55:391-396.

Sundaram, R.M. (2007) Fine ma:ing of rice gall midge resistance genes Gm1 and Gm2 and validation of the linked markers. PhD thesis submitted to University of Hyderabad, Hyderabad, :181.

Sundaram, R.M. ; Vishnupriya, M.R.; Biradar, S.K.; Laha, G.S.; Ashok, R. G ; Shoba, R. N ; Sarma, N.P. ; Sonti, R.V. (2008) Marker assisted introgression of bacterial blight resistance in Samba Mahsuri, an elite indica rice variety. J. Euphytica 160: 411-422.

Swamy, B.P.M.; Vikram, P; Dixit, S. ; Ahmed, H.U. ; Kumar, A. (2011). Meta-analysis of grain yield QTL identified during agricultural drought in grasses showed consensus .J. BMC Genomics, 12:319.

Taberlet, P.; Zimmermann, N.E.; Englisch, T.; Tribsch, A.; Holderegger ,R.; Alvarez, N.; Niklfeld, H.; Coldea, G.; Mirek, Z.; Moilanen, A.; Ahlmer, W.; Marsan, P.A.; Bona, E.; Bovio,M.; Choler, P.; Cieślak, E.; Colli, L.; Cristea, V.; Dalmas, J.P.(2012). Genetic diversity in widespread species is not congruent with species richness in alpine plant communities .J. Ecology Letters 15(12):1439-48

Terra, T. F.; Wietholter, P.; Almeida, C. C. S.; Silva, S. D. A.; Bered, F.; Sereno, M. J. C. M. and Neto, J. F. B. (2011). Genetic variability in maize and teosinte populations estimated by microsatellites markers. Nature, 398: 236-239.

Thaura, G. H. ; Duina, P. D.; Iris, P.A.; Gelis, T. N. ; Alejandro, J. P.; César, P. M.; Joe, M. T.(2008). Assessment of genetic diversity in Venezuelan rice cultivars using simple sequence repeats markers. J. Biotechnology . 11 (5):0717-3458

Tirthankar, B. And Somnath, B.(2013).Microsatellite Marker Based Diversity Analysis For Drought Tolerance In Some Bengal Landraces Of Rice (*Oryza Sativa L.*). J. Agric. Res., 47 (5) : 431 – 435.

Toufique, H. K. ; Fatematuz, Z. E. ; Mehede, H. R. ; Khondoker, M. N. and Mahbubur, R. 2015. Screening of Rice Varieties for Bacterial Leaf Blight Resistance by Using SSR Markers. J. Bioscience and Agriculture Research : 3 (1): 45-58.

Vahdati, K. and C. Leslie. 2013. Abiotic stress in plant responses and a:lications in agriculture .j. ISBN , 51,(8).978-953

Vanniarajan, C.; Vinod, K.K.; Pereira, A. (2012). Molecular evaluation of genetic diversity and association studies in rice (*Oryza sativa, L.).* J. Genetics, 91(1): 1-11.

Vasant, D.V. (2012). Genome wide association ma:ing of drought resistance traits in rice (*Oryza sativa L.).* M Sc. Thesis, Department of Plant Biotechnology, Centre for Plant Molecular Biology and Biotechnology, Tamil Nadu Agricultural University Coimbatore, India.

Venuprasad, R.; Bool, M. E.; Quiatchon, L.; Sta ,M. T.; Cruz, M. ;Amante and G. N. Atlin .(2012), "A Large-Effect QTL for Rice Grain Yield Under Upland Drought Stress on Chro-mosome .J. Molecular Breeding, 30(1): 535-547.

Vikram, P. ; Pandit, A. ; Singh, A.K. ; Singh, S. ; Kumar, A. ; Singh, N.K. (2010). Development and validation of SSR markers for a robust drought tolerant QTL in rice. 3 rd International Rice Congress, 8-(10). 43-32.

Vikram, P. ;Swamy, B.; Dixit, S.; Ahmed, H.U.; Cruz, M.T.S.; Singh, A.K.; Kumar, A. (2011) qDTY1.1, a major QTL for rice grain yield under reproductive-stage drought stress with a consistent effect in multiple elite genetic backgrounds. BMC Genet 12:89

Viljoen, G. J.; Nel, L. H. and Crowther, J. R. (2005). Molecular Diagnostic PCR Handbook. Springer, Netherlands.: 3-45.

Vinita, P.; Nilay, T. ; Prashant, V. ; Nagendra, K. S. and Sanjay, S. (2013) .Molecular and morphological characterization of Indian farmers rice varieties *Oryza sativa L*. J. Ajcs., 7(7):923-932 .

Wang, B.J. ; Xu, H.X. ; Zheng, X.S. ; Fu, Q.; Lu, Z.X. 2010. High temperature modifies resistance performances of rice varieties to brown plantho:er, *Nilaparvata lugens*(Stal). J. Rice Sci 17: 334–338.

Wang C. b; Wen, G.; Lin ,X.; Liu, X. and Zhang, D. 2009 .Identification and fine ma:ing of a new bacterial blight resistance gene, Xa31(t) in rice. Eur. J. Plant Pathol., 123, 235-240.

Wang, C.S.; Wang, A.Z. ; Lin, D.G. 2013. The a:lication of mutants in breeding disease resistance in rice. Paper presented at the Special issue or the symposium on important crop pathogen detection and management, Taichung . J. Plant Pathol.3(4)345-348

Wang, L.;S. Jiao, Y. ;Jiang, H.; Yan, D.; Su, G. ;Sun, X. ;Yan, L. ;Sun, Field Crops Research, 2013, 149(1): 11-9.

Wang, Z. ; Cheng, J.; Chen, Z. ; Huang, J.; Bao, Y.; Wang, J. (2012). Identification of QTLs with main, epistatic and QTL× environment interaction effects for salt tolerance in rice seedlings under different salinity conditions. J. Theor A:l Genet.;125(4):807–815.

Wang, M. L.; Barkley, N. A. and Jenkins, T. M. (2009). Microsatellite markers in plants and insects. Part I. A:lications of biotechnology. Genes, Genomes Genomics, 3: 54–67.

Wassmann, R.; Jagadish, S. V. K., Heuer, S.; Ismail, A. ; Redona, E.; Serraj, R.; Singh, R. K. ; Howell, G.; Pathak, H. and Sumfleth, K. (2009). "Climate Change Affecting Rice Production: The Physiological and Agronomic Basis for Possible Adaptation Strategies," In: D. L. Sparks, Ed., Advances in Agronomy, Elsevier Inc., Academic Press, Burlington, : 59-122.

Weising, K.; Nybom, H.; Wolff, K. and Kahl, G. (2005). DNA Fingerprinting in Plants: Principles, Methods, and A:lications. :: 21-74. 2nd ed., CRC Press Taylor and Francis Group. New York, U.S.A.

Weihua, X.; Yi, X.; Jingjing, Z. ;Wu, Y.; Lu, Z.;Vanessa, H.; Zhi, W.; Hua, Z.; Jianguo, L.; Stephen, P.; Ling, J.; Yang, X,; Xuewei, S.; Enming, R.; Fei, L.; Xiaoke, W.; Gretchen, C. ; and Zhiyun, O. (2017).Strengthening protected areas for biodiversity and ecosystem services in China J.PNAS . 114(7):1601–1606.

Wu, M. ; Jia, X. ; Tian, L. and Lv, B. (2010). Rapid and reliable purity identification of F_1 hybrids of maize (*Zea may* L.) using SSR markers. Molecular Plant Breeding, 4(3): 381-384.

Xiaohua, W. ; Honglang, X. ; Xin, Z. ; Caizhi, L.; Juan, R. ;Fang, W. and Lei, P. (2010). Isolation of High-Quality DNA from a Desert Plant Reaumuria soongorica Genetic Diversity in Plants, Edited By Mahmut Calişkan .1-10.

Xiao ,Q. W.; Soon, W. K. and Yong, J. P .(2013). Evaluation of genetic diversity and linkage disequilibrium in Korean-bred rice varieties using SSR markers . Electronic J. Biotechnology, 16(5),:1-20.

Xu, X.; Liu, X.; Ge, S.;Jensen, J.D.; Hu, F.; Li, X.; Dong, Y.; Gutenkunst, R.N.; Fang, L.; Huang, L.; (2012). Resequencing 50 accessions of cultivated and wild rice yields markers for identifyingagronomically important genes. J. Nat. Biotechnol. 30, 105–114.

Yadav, S. ; Anuradha, G. ; Kumar, R. R.; Vemireddy, L.R. ; Sudhakar, R. ; Donempudi, K. (2015). Identification of QTLs and possible candidate genes conferring sheath blight resistance in rice (*Oryza sativa L.*). J. Springer Plus (4): 175-181.

Yadav, S. ; Singh, A. ; Singh, M. R. ; Goel, N.; Vinod, K. K.; Mohapatra, T. and Singh, A. K. (2013). Assessment of genetic diversity in Indian rice germplasm (*Oryza sativaL.*): use of random versus trait-linked microsatellite markers .J. Genet., 92(3):455-476.

Yadaw, R.B.; Dixit, S. ;Raman, A.; Mishra, K.; Vikram, P.; Swamy, B.P.M; Cruz, M.T.; Maturan, P.; Pandey, M.; Kumar, A. A. 2013. QTL for high grain yield under lowland drought in the background of popular rice variety Sabitri from Nepal. J. Field Crops Res, 144:281–287.

Yanfang, Z.; Guochen, Q. ; Jin, H.; Yang, W.; Jiancheng, W. and Shuijin, Z.(2012.Fingerprinting and variety identification of rice (*Oryza sativa L.*) based on simple sequence repeat markers. J. PO 5(4):421-426.

Yang, H.Y. ; Ren, X. ; Weng, Q. M. ; Zhu, L. L. ; He, G.C. (2002) . Molecular ma:ing and genetic analysis of a rice brown plantho:er (*Nilarparvata lugens Stål*) resistance gene. J. Hereditas 136:39-43

Yu, R. H.; Wang, Y. L.; Sun, Y. S. and Liu, B. L. (2012). Analysis of genetic distance by SSR in waxy maize. Genet. J.Mol. Res., 11(1):254-260.

Yue, B.; Xue, W.; Xiong,L.; Yu, X.; Luo, L.; Cui, K.; Jin, D.; Xing, Y.; Zhang, Q. (2006). Genetic basis of drought tolerance at reproductive stage in rice: Separation of drought tolerance from drought avoidance. Genetics, 172:1213–1228.

Zahida, H. P.; Rabbani, M. A. ; Ishtiaq, K. ; Stephen, R. P; and Salman, A. M.(2010).Genetic diversity associated with agronomic traits using microsatellite markers in Pakistani rice landraces . J. Biotechnology., 13 (3) :1-12.

Zeng, L.; Shannon, M.C. and Lesch, S.M. 2001. Timing of salinity stress affects rice growth and yield components. J. Agric. Water Manage. 48: 191-206.

Zhang, F.; Jiang, Y. Z.;Yu, S. B.; Ali ,J.; Paterson, A. H.; Khush, G. S.; Xu, J .L.; Gao, Y. M. ; Fu, B. Y.; Lafitte, R.(2014). Three genetic systems controlling growth, development and productivity of rice (*Oryza sativa L.*): a reevaluation of the 'Green Revolution. J. Theoretical and A:lied Genetics, (126); 1011-1024

Zhang, P.; Liu, X.; Tong, H.; Lu, Y.; Li, J. (2013). Association Ma:ing for Important Agronomic Traits in Core Collection of Rice (*Oryza sativa L.)* with SSR Markers. J. PLoS One. 9(10): 81-103.

Zhao, K.; M. Wright; J. Kimball; G. Eizenga; A. McClung; M. Kovach; W. Tyagi; M.L. Ali; C.W. Tung and A. Reynolds.(2010). Genomic diversity and introgression in O. sativa reveal the impact of

domestication and breeding on the rice genome. J. PLoS One, 5(5):5 -10

Zuo, S.M. ; Zhang, Y.F. ; Chen, Z.X .; Chen, X.J. ; Pan, X.B. 2010. Current progress on genetics and breeding in resistance to rice sheath blight. J. Scientia Sin Vitae,(40):1014-1023.

Summary

Genetic diversity of eleven cultivars and five genotypes of rice (*Oryza sativa L*), using molecular markers and morphological parameters through an experiment in collaboration with Mashkhab Research Center in AL-Najaf Data of morphological traits were calculated e.g. (plant height, Panicles length, plant age, weight of 1000 grains and grains yield)which showed high variation between cultivars genetic varieties and genetic compositions for all above mentioned traits.

The use of Polymerase Chain Reaction(PCR) based on the marker Simple Sequence Repeats (SSR) ,The DNA was isolated from fresh leaves of rice plant after 25 days from sowing using Genomic DNA plant kit Protocol . The amount of isolated was DNA as sailable amomnt rangea rangd 125-589 ng/µl with purity of 1.8to 1.9 . after agarose gel electrophoresis and staining with ethidium bromide. Results showed that there were 149 alleles by using 27 primers. The range of molecular size 66.873 -1015.402 bp . RM3412 and RM335 primers were the highest number of alleles 9 produced while the lowest number of alleles was 2 alleles recorded by RM201 ,RM10772, RM236 and RM122 primers. The Polymorphism information content (PIC), which is the a reflection of allelic diversity and allelic repetition between cultivars ranged value between 0.0587- 0.8595. As range of genetic dimension values between (0.0605-0.8730). Primers RM7443 Produced the highest value of Heterozygot with 0.8000. two primers (RM8085 and RM224) gave a distinctive genetic fingerprinting of 4 varieties and genotypes under study. The lowest genetic distance 0.4259 between the first and the second genotypes this means that there is a high degree of similarity between these genotype. Ggenetic similarity of percente all cultivars and

genotype ranged between 0.0793 - 0.5741 depending on the genetic distance that ranging from 0.4259 - 0.9207 which refers to the large genetic diversity ranged from 42% - 92% .This reveals a high genetic variation between cultivars making hereditary good sources. Results also showed that Cluster analysis of seven major groups Main Cluster at the level distance scale of 0.12, they were not distributed randomly, but its distribution was common ancestor, and this is due to the efficiency of SSR marker in the detection of genetic diversity in rice plant.

By using Simple Sequence Repeats SSR it is possible able to detect quantitative traits loci that associated with drought tolerance and salinity resistance genes and bacterial leaf blight resistance genes caused by bacteria *Xanthomonas oryzaepv.oryzae* (Xoo). Sheath blight rice resistance genes caused by *Rhizoctonia solani* fungus , resistance genes was for some biotype brown plant hopper of the disease *Nilaparvata lugens Stal*. ,the resistance genes for some biotype disease gall midge resistance caused by an insect *Orseolia oryzae* (Wood-Mason).

Republic of Iraq
Ministry of Higher Education & Scientific Research
University of Karbala
Faculty of Education for pure sciences
Department of Biology

Analysis of genetic diversity of some rice cultiver Oryza sativa L. using some molecular markers

A Thesis

Submitted to the council of the College of Education for pure sciences-University of Kerbala in Partial Fulfillment of the Requirement for Degree of The Doctor of Philosophy in Biology (Molecular Biology / Botany

By

Zeina Thamer Abd ULHussein ALrufaye

Supervised By

Assist. Prof. Dr. Nidhal Abdul Hussein Messan Al–Badeiry

2017 B.C *1438 H*