



وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
جامعة كربلاء
كلية العلوم
قسم علوم الحياة

تشخيص التباين الوراثي لبعض التراكيب الوراثية للذرة الصفراء باستعمال
مؤشرات جزيئية والمحتوى البروتيني

مقدمة إلى مجلس كلية العلوم / جامعة كربلاء
وهي جزء من متطلبات نيل درجة الماجستير في علوم الحياة

كتبت بواسطة

علي كريم حسن
بكالوريوس علوم حياة (٢٠٠٨) / جامعة بابل

بإشراف
أ.د. بلقيس هادي هاشم

رجب / ١٤٤٥ هـ

شباط / ٢٠٢٤ م

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

الْحَمْدُ لِلَّهِ الَّذِي هَدَانَا لِهَذَا
وَمَا كُنَّا لِنَهْتَدِيَ لَوْلَا أَنْ هَدَانَا
اللَّهُ

صَدَقَ اللَّهُ الْعَلِيُّ الْعَظِيمُ
سورة الأعراف آية (٤٣)

إقرار المشرف

اشهد إن إعداد هذه الرسالة قد جرى تحت إشرافي في جامعة كربلاء بوصفها جزءاً من متطلبات
نيل شهادة ماجستير علوم في علوم الحياة .


التوقيع: 
الاسم: بلقيس هادي هاشم

المرتبة العلمية: أستاذ

التاريخ: / / 2024

توصية رئيس قسم علوم الحياة

بناءً على التوصيات المشرف، أحيل هذه الدراسة إلى لجنة المناقشة لدراستها وبيان الرأي فيها.

التوقيع: 
الاسم: أ.م.د. خالد علي حسين
المرتبة العلمية: أستاذ

العنوان: رئيس قسم علوم الحياة

التاريخ: / / 2024

اقرار لجنة المناقشة

نحن اعضاء لجنة المناقشة نشهد اننا اطلعنا على هذه الرسالة الموسومة (تشخيص التباين الوراثي لبعض التراكيب الوراثية للذرة الصفراء باستعمال مؤشرات جزيئية والمحتوى البروتيني) وناقشنا الطالب (علي كريم حسن) في محتوياتها وفيما له علاقة بها بتاريخ 2023\12\27 ونرى انه جدير بالقبول لنيل شهادة الماجستير في علوم الحياة

رئيس اللجنة

التوقيع :- 

الاسم:- د. هدى جاسم محمد

المرتبة العلمية :- استاذ

مكان العمل:- جامعة بابل | كلية العلوم للنبات

التاريخ:- 2024\ 1 \ 25

عضو اللجنة

التوقيع :- 

الاسم:- د. زينة ثامر عبد الحسين

المرتبة العلمية:- استاذ مساعد

مكان العمل:- جامعة كربلاء | كلية العلوم

التاريخ:- 2024\ 1 \ 25

عضو اللجنة

التوقيع :- 

الاسم:- د. علي ناظم فرهود

المرتبة العلمية :- استاذ مساعد

مكان العمل:- جامعة كربلاء | كلية الزراعة

التاريخ:- 2024\ 1 \ 25

عضو اللجنة (المشرف)

التوقيع :- 

الاسم:- د. بلقيس هادي هاشم

المرتبة العلمية:- استاذ

مكان العمل :- جامعة كربلاء | كلية العلوم

التاريخ:- 2024 \ 1 \ 25

مصادقة عميد كلية العلوم | جامعة كربلاء

التوقيع 

الاسم:- د. حسن جميل جواد الفتلاوي

المرتبة العلمية:- استاذ

مكان العمل :- جامعة كربلاء | كلية العلوم

التاريخ :- 2024\ 1

إهداء

إلى معلم البشرية الأول محمد (صلى الله عليه واله وسلم).
إلى والدي ووالدتي حفظهم الله .
إلى زوجتي و اولادي الاعزاء.
إلى أختي وأخواني وفاء وعرفانا .
إلى كل من لم يدخر جهداً في مساعدتي
إلى أساتيذني ، واهل الفضل عليّ الذين غمروني بالحب والتقدير والنصيحة والتوجيه
والإرشاد.

أهدي جهدي هذا

الباحث علي

شكر وتقدير

الحمد لله رب العالمين و الصلاة والسلام على أشرف الإتياء و المرسلين سيدنا محمد وعلى آله الطيبين و صحبه و المنتجبين .

أما بعد:

فإنني أشكر الله تعالى إذ أعطاني الصحة والصبر والمعرفة لإكمال هذه الرسالة فله الحمد على جزيل فضله و نعماته .

ويشرفني إن أقدم شكري وتقديري لأستاذتي الفاضلة الدكتورة (بلقيس هادي هاشم) لأشرافها على هذه الرسالة ، وما قدمته من نصح وتوجيه ساعد في اخراج هذا النتاج العلمي وساهم في تجاوز الكثير من الصعاب.

ويطيب لي إن اوجه خالص الشكر والتقدير إلى عمادة كلية العلوم وقسم علوم الحياة للمساعدة التي قدموها لي خلال مدة الدراسة .

و من العرفان إن اقدم شكري وامتناني إلى زملاني طلبة الدراسات العليا لما قدموه من المساعدة خلال مدة البحث .

و أخيراً خالص تقديري لكل من ساعدني و أعانني في إنجاز هذه الرسالة ، فلهم في النفس منزلة و إن لم يسعف المقام ذكرهم ، فهم أهل للفضل و الخير والشكر

الباحث علي

الخلاصة

أجريت الدراسة الحالية لتقدير التنوع الوراثي لـ ١٠ تراكيب وراثية للذرة المزروعة في العراق باستخدام بعض معلمات (DNA Markers) الحمض النووي القائمة على تفاعل البلمرة المتسلسل (PCR) Polymerase Chain Reaction بهدف تحديد التباين الوراثي بين ١٠ تراكيب وراثية محلية ومدخلة من الذرة الصفراء (سومر، فجر ١، المها، بغداد ٣، الهجين نهرين، DKC 6777، ZP.glorya، Syngenta PLOWEER KWS) باستخدام ١٣ بادئ مستهدفة لكودون البداية (SCOT) و المحتوى البروتين الكلي للذرة. تم جمع العينات بتاريخ ١ - ١٢ - ٢٠٢٢ و استخلص المادة الوراثية من الاوراق الفتية في كلية العلوم في جامعة كربلاء و مركز الامين التخصصي للتقانات الاحيائية في العتبة العلوية المقدسة وقياس نقاوة DNA و تركيزه ثم أجريت تفاعل البلمرة المتسلسل باستخدام ١٣ معلمات SCOT. كذلك استخلص محتوى البروتين الكلي من البذور بتقنية -sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis (SDS_PAGE) و معرفة تسلسل القواعد النيروجينية للتراكيب قيد الدراسة.

اظهرت نتائج الكشف الجزيئي باستعمال مؤشرات Scot (start Codon Target) لدراسة التباين بين الأنماط الجينية المدروسة عن طريق وجود حزم أحادية ومتعددة الأشكال وفريدة من نوعها وإعطاء بعض البادئات المستعملة في الدراسة بصمة فريدة لبعض التراكيب الوراثية لنبات الذرة الصفراء. كما تم الكشف عن التحليل التجميعي (شجرة العلاقة الوراثية) بين التراكيب الوراثية قيد الدراسة. تم حصول أعلى قيمة لمحتوى تعدد الاشكال بواسطة البادئ SCOT-6٠ و SCOT-63.

واظهرت النتائج اعلى نسبة تشابه وراثي بين المها والفجر ١ والتي بلغت (٠,٨٤٢١٠٥) واقل نسبة التشابه وراثي بين التركيبيين بين المها و Syngenta فهو (٠,٤٢٨٥٧١) اعتمادا على مقياس Jaccard لعشرة تراكيب وراثية و بناءً على علامات SCOT في شجرة النشوء والتطور، تم ترتيب التراكيب الجينية للذرة ذات الأصول الجغرافية الأكثر ارتباطاً في نفس المجموعة. بينما أنماط البروتين الكلي أعطت عددا من الحزم الرئيسية بلغ ١٢ حزمة تباينت في اوزانها بين ١٧-٢٤٥ KDa، وعدد الحزم الكلي بلغ ١٠٨ حزمة وكان من بينها ٨ من الحزم المتماثلة و ٤ من الحزم المتغايرة. اذا بلغت نسبة التباين (الاختلاف) بين التراكيب ٢٦% مما يدل ان نسبة التماثل (التشابه) ٧٤%. ان مستوى التماثل أعلى من مستوى التباين بين التراكيب الوراثية قيد الدراسة ويعود إلى المنشأ الجغرافي لها ومادتها الوراثية او ان النبات ناتج عن التهجين

بين الانواع Interspecific . حيث وجد اعلى نسبة تشابه بين سومر و الفجر والتي بلغت (١) واقل نسبة التشابه ٠,٦ بين التراكيب سومر و افجر مع التراكيب DKC 6777 , Syngenta PLOWEER KWS ، ZP.glorya , . اذ يمكن أن تكون النتائج الحالية بمثابة دليل توجيهي لاختيار الأنماط الجينية الواعدة للذرة لبرامج التربية المستقبلية للحصول على التهجين الأمثل في الذرة .

قائمة المحتويات

الصفحة	المحتويات	التسلسل
III	الخلاصة	
V	قائمة المحتويات	
V	قائمة الأشكال	
X	قائمة الجداول	
1	الفصل الأول: المقدمة	١-١
4	إستعراض المراجع	٢-١
4	أصل وتسمية النبات	1.2.1
5	تصنيف النبات والوصف المظهري	2.2.1
٧	أهمية الاقتصادية والغذائية	3.2.1
9	التنوع الجيني	4.2.1
10	المؤشرات الجزيئية	1.4.2.1
11	البروتين الكلي	2.4.2.1
١٤	تسلسل الحمض النووي (DNA Sequence)	3.4.2.1
	الفصل الثاني: المواد وطرائق العمل	
١٦	المواد وطرق العمل Materials and Methods	٢
16	جمع النماذج النباتية	1.2
17	الأجهزة والمواد الكيميائية والاحيائية المستخدمة في التجربة	2.2
18	الأجهزة والمعدات المختبرية Laboratory Equipment and Apparatus	3.2
١٩	جمع العينات النباتية	4.2
19	خطوات استخلاص الـ DNA من النماذج النباتية	5.2
٢٠	قياس تركيز DNA وتقدير نقاوته	1.5.2
٢٠	البادئ Primers	6.2
21	خليط التفاعل Reaction Mixture (Master Mix)	7.2
21	الدليل الحجمي Ladder	8.2
22	تفاعل البلمرة المتسلسل Polymerase Chain Reaction	٩,٢
23	الترحيل الكهربائي على هلام الاكاروز Agarose Gel Electrophoresis	1.9.2
23	الدراسة البروتينية Protein Study	10.2
24	استخلاص البروتين Protein extraction	1.10.2
25	الترحيل الكهربائي على هلام Polyacrylamide	2.10.2

26	تحديد تسلسل القواعد النيتروجينية للحامض النووي (DNA)	11.2
27	تحليل النتائج Data Analysis	١٢,٢
	الفصل الثالث: النتائج والمناقشة	
28	النتائج والمناقشة (Results and Discussion)	3
28	استخلاص الحامض النووي Genomic DNA Isolation	1.3
29	نتائج تضاعف DNA المعتمد على مؤشرات Scot	١,١,٣
46	البعد الوراثية بين تراكيب نبات ذرة باستعمال تقنية Jaccard	3.3
47	شجرة العلاقة الوراثية	٤-٣
48	٥,٣ الدراسة البروتينية	5.3
52	تحديد التسلسل النيوكليوتيدي DNA Sequencing	6.3
٥٦	الاستنتاجات والتوصيات	
٥٦	الاستنتاجات	١-٤
٥٧	التوصيات	٢-٤
٥٨	المصادر	

قائمة الاشكال

رقم الصفحة	العنوان	التسلسل
٦	التصنيف العلمي لنبات الذرة الصفراء (<i>Zea mays</i> L.)	1.1
٢٩	نواتج تضاعف البادئ Scot 9 & Scot 8 المرحلة على هلام الأكاروز بتركيز ١,٥ % لمدة ساعتان مع الدليل الحجمي القياسي (M) بتييار ٣٠ أمبير وبفولتية مقدارها ٧٠ فولت وحسب الترتيب الآتي للتراكيب الوراثية ذرة: ١) سومر، ٢. فجر ١، ٣. المها، ٤. بغداد ٣، ٥. الهجين نهريين، ٦. ZP.glorya .7. DKC 6777، ٨. PLOWEER 9. KWS . 10. Syngenta	1.3
31	نواتج تضاعف البادئ Scot 12 & Scot 23 المرحلة على هلام الأكاروز بتركيز ١,٥ % لمدة ساعتان مع الدليل الحجمي القياسي (M) بتييار ٣٠ أمبير وبفولتية مقدارها ٧٠ فولت وحسب الترتيب الآتي للتراكيب الوراثية: ١) سومر، ٢. فجر ١، ٣. المها، ٤. بغداد ٣، ٥. الهجين نهريين، ٦. ZP.glorya .7. DKC 6777، ٨. PLOWEER 9. KWS . 10. Syngenta	2.3
32	نواتج تضاعف البادئ Scot 29 & Scot 30 المرحلة على هلام الأكاروز بتركيز ١,٥ % لمدة ساعتان مع الدليل الحجمي القياسي (M) بتييار ٣٠ أمبير وبفولتية مقدارها ٧٠ فولت وحسب الترتيب الآتي للتراكيب الوراثية ذرة: ١) سومر، ٢. فجر ١، ٣. المها، ٤. بغداد ٣، ٥. الهجين نهريين، ٦. ZP.glorya .7. DKC 6777، ٨. PLOWEER 9. KWS . 10. Syngenta	3.3
34	نواتج تضاعف البادئ Scot 40 & Scot 44 المرحلة على هلام الأكاروز بتركيز ١,٥ % لمدة ساعتان مع الدليل الحجمي القياسي (M) بتييار ٣٠ أمبير وبفولتية مقدارها ٧٠ فولت وحسب الترتيب الآتي للتراكيب الوراثية ذرة: ١) سومر، ٢. فجر ١، ٣. المها، ٤. بغداد ٣، ٥. الهجين نهريين، ٦. DKC 6777 . 7. ZP.glorya، ٨. PLOWEER 9. KWS، ١٠. Syngenta	4.3
34	نواتج تضاعف البادئ Scot 36 & Scot 6 المرحلة على هلام الأكاروز بتركيز ١,٥ % لمدة ساعتان مع الدليل الحجمي القياسي (M) بتييار ٣٠ أمبير وبفولتية مقدارها ٧٠ فولت وحسب الترتيب الآتي للتراكيب الوراثية ذرة: ١) سومر، ٢. فجر ١، ٣. المها، ٤. بغداد ٣، ٥. الهجين نهريين، ٦. DKC 6777 . 7. ZP.glorya، ٨. PLOWEER 9. KWS، ١٠. Syngenta	5.3
35	نواتج تضاعف البادئ Scot 60 & Scot 53 المرحلة على هلام الأكاروز بتركيز ١,٥ % لمدة ساعتان مع الدليل الحجمي القياسي (M) بتييار ٣٠ أمبير وبفولتية مقدارها ٧٠ فولت وحسب الترتيب الآتي للتراكيب الوراثية ذرة: ١) سومر، ٢. فجر ١، ٣. المها، ٤. بغداد ٣، ٥. الهجين نهريين، ٦. DKC 6777 . 7. ZP.glorya، ٨. PLOWEER 9. KWS، ١٠. Syngenta	6.3
36	نواتج تضاعف البادئ Scot 63 المرحلة على هلام الأكاروز بتركيز ١,٥ % لمدة ساعتان مع الدليل الحجمي القياسي (M) بتييار ٣ أمبير وبفولتية مقدارها ٧٠ فولت وحسب الترتيب الآتي للتراكيب الوراثية: ١) سومر، ٢. فجر ١، ٣. المها، ٤. بغداد ٣، ٥. الهجين نهريين، ٦. DKC 6777 . 7. ZP.glorya، ٨. PLOWEER 9. KWS، ١٠. Syngenta	7.3
40	شجرة العلاقة الوراثية Dendrogram بين التراكيب الوراثية لنبات ذرة المدروسة باستعمال مقياس Jaccard للتراكيب الوراثية	8.3

41	حزم البروتين الكلي للبذور (17 KDa - 245 KD) لعشر تراكيب وراثية من ذرة وحسب الترتيب الآتي للتراكيب الوراثية ذرة: ١. سومر ٢. فجر ١ ٣. المها ٤. بغداد ٣ ٥. الهجين نهرين ٦. KWS 9. PLOWEER 8. ZP.glorya 7 . DKC 6777 . Syngenta 10.	9.3
٤٣	شجرة العلاقة الوراثية Dendrogram بين التراكيب الوراثية لنبات ذرة المدروسة باستعمال مقياس Upgma بناء على كمية البروتين الكل في البذور وحسب الترتيب الآتي للتراكيب الوراثية ذرة: ١. سومر ٢. فجر ١ ٣. المها ٤. بغداد ٣ ٥. الهجين نهرين ٦. KWS 9. PLOWEER 8. ZP.glorya 7 . DKC 6777 . Syngenta 10.	١٠-٣
٤٤	النسبة المئوية لأنواع نيوكليوتيدات الموجودة لتسلسل العينة سومر والتي تحمل رقم انضمام الجيني (OR506162)	11-3
44	محاذاة تسلسل القواعد النيتروجينية للعينة قيد الدراسة التي تحمل رقم انضمام جين OR506162 مع العينة الموجودة في مصر التي تحمل رقم انضمام جيني : ID MF780726.1 والتي أظهرت نسبة تطابق % ٩٣ في برنامج Blast	12-3
44	محاذاة تسلسل القواعد النيتروجينية بين العينة قيد الدراسة والتي تحمل رقم انضمام الجيني (OR506162) مع عدد من النماذج مسجلة في البنك الجينات العالمي NCBI	13-3
٤٥	النسبة المئوية لأنواع نيوكليوتيدات الموجودة لتسلسل العينة فجر ١ والتي تحمل رقم انضمام الجيني (OR506165)	14-3
45	محاذاة تسلسل القواعد النيتروجينية بين العينة قيد الدراسة التي تحمل رقم انضمام جيني OR506165 مع العينة الموجودة في ولايات المتحدة التي تحمل رقم انضمام جيني ID : EU955045.1 والتي أظهرت نسبة تطابق . % ٨٦ في برنامج Blast	15-3
45	محاذاة تسلسل القواعد النيتروجينية بين العينة قيد الدراسة والتي تحمل رقم انضمام الجيني (OR506165) مع عدد من النماذج مسجلة في البنك الجينات العالمي NCBI	16-3
46	النسبة المئوية لأنواع نيوكليوتيدات الموجودة لتسلسل العينة المها والتي تحمل رقم انضمام الجيني (OR506168)	17-3
46	محاذاة تسلسل القواعد النيتروجينية بين العينة قيد الدراسة التي تحمل رقم انضمام جيني OR506168 مع العينة الموجودة في ولايات المتحدة والتي تحمل رقم انضمام جيني ID : EU955045.1 والتي أظهرت نسبة تطابق % ٩٨ في برنامج Blast	18-3
46	محاذاة تسلسل القواعد النيتروجينية بين العينة قيد الدراسة والتي تحمل رقم انضمام الجيني (OR506168) مع عدد من النماذج مسجلة في البنك الجينات العالمي NCBI	19-3
47	النسبة المئوية لأنواع نيوكليوتيدات الموجودة لتسلسل العينة بغداد ٣	20-3
47	محاذاة تسلسل القواعد النيتروجينية بين العينة قيد الدراسة مع العينة الموجودة في المكسيك التي تحمل رقم انضمام جيني ID : E46637.1 والتي أظهرت نسبة تطابق % ٨٩ في برنامج Blast	21-3
47	محاذاة تسلسل القواعد النيتروجينية بين العينة قيد مع عدد من النماذج مسجلة في البنك الجينات العالمي NCBI	22-3
48	النسبة المئوية لأنواع نيوكليوتيدات الموجودة لتسلسل العينة الهجين نهرين	23-3

48	محاذاة تسلسل القواعد النتروجينية بين العينة قيد الدراسة مع العينة الموجودة في ولايات المتحدة التي تحمل رقم انضمام جيني EU955045.1 : ID والتي أظهرت نسبة تطابق % ٨٠ في برنامج Blast	24-3
48	محاذاة تسلسل القواعد النيتروجينية بين العينة قيد مع عدد من النماذج مسجلة في البنك الجينات العالمي NCBI	25-3
49	النسبة المئوية لأنواع نيوكليوتيدات الموجودة لتسلسل العينة DKC 6777	26-3
49	محاذاة تسلسل القواعد النتروجينية بين العينة قيد الدراسة مع العينة الموجودة في ولايات المتحدة التي تحمل رقم انضمام جيني BT016655.1 : ID والتي أظهرت نسبة تطابق % ٨٦ في برنامج Blast	27-3
49	محاذاة تسلسل القواعد النيتروجينية بين العينة قيد مع عدد من النماذج مسجلة في البنك الجينات العالمي NCBI	28-3
50	النسبة المئوية لأنواع نيوكليوتيدات الموجودة لتسلسل العينة Zp.glorya	29-3
50	محاذاة تسلسل القواعد النتروجينية بين العينة قيد الدراسة مع العينة الموجودة في ولايات المتحدة التي تحمل رقم انضمام جيني EU955045.1 : ID والتي أظهرت نسبة تطابق % ٨٩ في برنامج Blast	30-3
50	محاذاة تسلسل القواعد النيتروجينية بين العينة قيد مع عدد من النماذج مسجلة في البنك الجينات العالمي NCBI	31-3
51	النسبة المئوية لأنواع نيوكليوتيدات الموجودة لتسلسل العينة PLOWEER والتي تحمل رقم انضمام الجيني (OR511475)	32-3
51	محاذاة تسلسل القواعد النتروجينية بين العينة قيد الدراسة التي تحمل رقم انضمام جيني OR511475 مع العينة الموجودة في ولايات المتحدة التي تحمل رقم انضمام جيني EU955045.1 والتي أظهرت نسبة تطابق % ٩٣ في برنامج Blast	33-3
51	محاذاة تسلسل القواعد النيتروجينية بين العينة قيد الدراسة والتي تحمل رقم انضمام الجيني (OR511475) مع عدد من النماذج مسجلة في البنك الجينات العالمي NCBI	34-3
52	النسبة المئوية لأنواع نيوكليوتيدات الموجودة لتسلسل العينة KWS	35-3
52	محاذاة تسلسل القواعد النتروجينية بين العينة قيد الدراسة التي تحمل رقم انضمام جيني OR511499 مع العينة الموجودة في ولايات المتحدة التي تحمل رقم انضمام جيني EU955045.1 والتي أظهرت نسبة تطابق % ٩٠ في برنامج Blast	36-3
52	محاذاة تسلسل القواعد النيتروجينية بين العينة قيد مع عدد من النماذج مسجلة في البنك الجينات العالمي NCBI	37-3
53	النسبة المئوية لأنواع نيوكليوتيدات الموجودة لتسلسل العينة Syngenta والتي تحمل رقم انضمام الجيني (OR511499)	38-3
53	محاذاة تسلسل القواعد النتروجينية بين العينة قيد الدراسة مع العينة الموجودة في ولايات المتحدة التي تحمل رقم انضمام جيني EU955045.1 : ID والتي أظهرت نسبة تطابق % ٨٨ في برنامج Blast	39-3
53	محاذاة تسلسل القواعد النيتروجينية بين العينة قيد الدراسة والتي تحمل رقم انضمام الجيني (OR511499) مع عدد من النماذج مسجلة في البنك الجينات العالمي NCBI	40-3

٥٤	شجرة العلاقة الوراثية بين التراكيب الوراثية لنبات ذرة المدروسة بالاعتماد على تسلسل القواعد النروجينية	41-3
----	---	------

قائمة الجداول

رقم الصفحة	العنوان	التسلسل
16	التراكيب الوراثية المدروسة مع أصل نشؤها	1.2
17	المواد الكيميائية والاحيائية المستخدمة في الدراسة	2.2
18	الاجهزة والمعدات المختبرية Laboratory Equipment and Apparatus	3.2
21	أسم البادئ وتسلسل النيوكليوتيدات	٤.٢
21	مكونات خليط التفاعل Master mix.	٥.٢
22	وصف الدليل الحجمي للـ DNA	٦.٢
23	خطوات عمل جهاز البلمرة المتسلسل	7.2
26	التراكيز % والمكونات ml المعتمدة في تحضير الهلام	8.2
26	الجدول (٨-٢): أسم البادئ وتسلسل النيوكليوتيدات له	٩.٢
27	قياس تركيز DNA وتقدير نقاوته لتراكيب الوراثية لنبات الذرة الصفراء	١.٣
30	نتائج تضاعف البادئ Scot 8 المُرحلة على هلام الأكاروز بتركيز ١,٥ % لمدة ساعتان مع الدليل الحجمي القياسي (M) بتيار ٣ أمبير وبفولتية مقدارها ٧٠ فولت لظهور الحزم ١ و غياب الحزم ٠.	2-3
30	نتائج تضاعف البادئ Scot 9 المُرحلة على هلام الأكاروز بتركيز ١,٥ % لمدة ساعتان مع الدليل الحجمي القياسي (M) بتيار ٣ أمبير وبفولتية مقدارها ٧٠ فولت لظهور الحزم ١ و غياب الحزم ٠.	3-3
31	نتائج تضاعف البادئ Scot 12 المُرحلة على هلام الأكاروز بتركيز ١,٥ % لمدة ساعتان مع الدليل الحجمي القياسي (M) بتيار ٣ أمبير وبفولتية مقدارها ٧٠ فولت لظهور الحزم ١ و غياب الحزم ٠.	4-3
32	نتائج تضاعف البادئ Scot 23 المُرحلة على هلام الأكاروز بتركيز ١,٥ % لمدة ساعتان مع الدليل الحجمي القياسي (M) بتيار ٣ أمبير وبفولتية مقدارها ٧٠ فولت لظهور الحزم ١ و غياب الحزم ٠.	5-3
33	نتائج تضاعف البادئ Scot 29 المُرحلة على هلام الأكاروز بتركيز ١,٥ % لمدة ساعتان مع الدليل الحجمي القياسي (M) بتيار ٣ أمبير وبفولتية مقدارها ٧٠ فولت لظهور الحزم ١ و غياب الحزم ٠.	6-3
33	نتائج تضاعف البادئ Scot 30 المُرحلة على هلام الأكاروز بتركيز ١,٥ % لمدة ساعتان مع الدليل الحجمي القياسي (M) بتيار ٣ أمبير وبفولتية مقدارها ٧٠ فولت لظهور الحزم ١ و غياب الحزم ٠.	7-3

35	نتائج تضاعف البادئ Scot 53 المُرحلة على هلام الأكاروز بتركيز ١,٥ % لمدة ساعتان مع الدليل الحجمي القياسي (M) بتييار ٣ أمبير وبفولتية مقدارها ٧٠ فولت لظهور الحزم ١ و غياب الحزم ٠ .	8-3
36	نتائج تضاعف البادئ Scot 60 المُرحلة على هلام الأكاروز بتركيز ١,٥ % لمدة ساعتان مع الدليل الحجمي القياسي (M) بتييار ٣ أمبير وبفولتية مقدارها ٧٠ فولت لظهور الحزم ١ و غياب الحزم ٠ .	9-3
37	نتائج تضاعف البادئ Scot 60 المُرحلة على هلام الأكاروز بتركيز ١,٥ % لمدة ساعتان مع الدليل الحجمي القياسي (M) بتييار ٣ أمبير وبفولتية مقدارها ٧٠ فولت لظهور الحزم ١ و غياب الحزم ٠ .	10-3
37	الحجم الجزيئي للحزم ، تكرار الأليل الرئيسي ، عدد الأليلات ، التنوع الجيني ، التغاير الوراثي ، ومحتوى المعلومات متعددة الأشكال .	١١-٣
38	التحليل التجمعي لشجرة العلاقة الوراثية لعشرة تراكيب وراثية من الذرة اعتمادا على معامل مقياس Jaccard	١٢-٣
41	حزم البروتين الكلي للذرة (245 KD -17 KD) لعشر تراكيب وراثية من ذرة المرحل على هلام اكريل امايد . ظهور الحزمة (١) و غياب الحزمة (٠)	١٣-٣
42	عدد حزم البروتين الكلي للذرة المرحل على هلام البولي اكريلامايد.	14-3
٤٣	التحليل التجمعي لشجرة العلاقة الوراثية لعشرة تراكيب وراثية من الذرة اعتمادا على معامل مقياس Upgma بناءا على كمية البروتين الكل في البذور للتراكيب الوراثية	١٥-٣

١-١ المقدمة

يعتبر نبات الذرة الصفراء من المحاصيل الحقلية الأكثر انتشارًا وأهمها على مستوى العالم، حيث يتم زراعتها للاستفادة من فوائدها الاقتصادية والغذائية. ويتميز نبات الذرة الصفراء بتنوعه الوراثي الكبير، حيث يوجد العديد من الأصناف المختلفة التي تختلف في خصائصها الوراثية المختلفة، مثل الحجم والشكل واللون والقدرة على التحمل للظروف البيئية المختلف (Xu et al., 2020). فضلا عن ذلك يتم استخدامها في صناعة العديد من المنتجات الصناعية والغذائية مما يجعله موضع اهتمام العديد من الباحثين في مجال الوراثة والزراعة (Uarrota et al., 2011). يعد التنوع الجيني للذرة ضروريًا للحفاظ على إنتاجيتها ومرونتها وتحسينها. أحدثت الواسمات الجزيئية ثورة في تحديد وتوصيف التنوع الوراثي في الذرة والمحاصيل الأخرى (Garland, & Curry, 2022). إنها توفر طريقة سريعة ودقيقة وفعالة من حيث التكلفة لتحديد الأنماط الجينية المختلفة، وهو أمر مفيد لبرامج التربية والأبحاث الجينية (Bohar et al., ٢٠٢٠).

أصبحت الواسمات الجزيئية أداة أساسية في علم الوراثة وتربية المحاصيل الحقلية، بما في ذلك الذرة الصفراء. يمكن تعريفها إنها علامات قائمة على الحمض النووي يمكن استخدامها للكشف عن الاختلاف الجيني بين الأفراد أو السكان. جعل استخدام الواسمات الجزيئية من الممكن تحديد الأنماط الجينية المختلفة في الذرة، وهو أمر ضروري لبرامج التربية والبحوث الجينية (Mammadov et al., 2012). بشكل أكثر تحديدًا من خلال التعريف الوراثي الطبيعي، والذي يعتمد على تحليل الجينوم الكامل للنبات. بواسطة تحليل الحمض النووي الريبوزي (RNA) و المنقوص الاوكسجين (DNA). وقد أظهرت الدراسات وجود ما يقرب من ٣٢٠٠٠ جين في جينوم الذرة الصفراء، وتوفر الدراسات الوراثية للذرة الصفراء فهمًا أفضل للعلاقة بين الجينات وخصائص النبات، وتمكن الباحثين من تطوير أصناف جديدة من الذرة الصفراء التي تتميز بصفات محسنة مثل المقاومة للأمراض والتحمل للظروف البيئية القاسية (Xu et al., 2020).

فضلا عن ذلك هناك علاقة بين تشخيص التيبان الوراثي والمحتوى البروتيني الكلي في بذور النبات. لذلك يعتبر بروتين الكلي المخزن في البذور علامة مفيدة لدراسة التنوع الوراثي بين الأصناف استخدام التحليل الكهربائي لهلام بولي أكريلاميد كبريتات دوديسيل الصوديوم بتقنية تسمى SDS-PAGE و تقنية مختبرية مستخدمة على نطاق واسع لفصل البروتينات بناءً على وزنها الجزيئي وشحنتها الكهربائية بصمة البروتين يتم استخراج البروتينات من أجزاء مختلفة من

النبات مثل الأوراق والبراعم والبذور لها دورًا رئيسيًا في التحقيق والتعرف على الاختلاف في الفيزيائية والكيميائية خصائص البروتينات (Akber *et al.*, 2012).

إن الغرض من تحديد تسلسل DNA هو تأكيد لنتائج التشخيص الجزيئي للتراكيب الوراثية قيد الدراسة بالإضافة إلى معرفة مع من يكون تشابهها من بين التراكيب الوراثية العالمية ، والكشف عن وجود طفرات جينية أو عدمها ، لأن التشخيص الدقيق على المستوى الجزيئي المتمثل بمعرفة التشابه ل DNA التراكيب الوراثية له فائدة تشخيصية فضلاً عن إمكانية استعمال بعض من هذه التراكيب الوراثية في التطبيقات العملية أو في استعمالها لدراسات الوراثة الجزيئية. في السنوات الأخيرة، أصبح استخدام الواسمات الجزيئية شائعاً بشكل متزايد في أبحاث الذرة. تم استخدام أنواع مختلفة من الواسمات الجزيئية ، مثل تعدد أشكال طول الجزء المقيد (RFLP) ، وتعدد الأشكال المتضخم لشظية (AFLP) ، وتكرار التسلسل البسيط (SSR) ، وتعدد أشكال النوكليوتيدات المفردة (SNP)، لدراسة التنوع الجيني للذرة. (Shah *et al.*, 2021).

وفقاً للبحث العلمي ، فإن استخدام الواسمات الجزيئية لتحديد الأنماط الجينية في الذرة له تطبيقات عديدة. يسمح بتحديد التنوع الجيني داخل السكان ، وهو أمر حاسم لتطوير أنواع جديدة ذات سمات مرغوبة. يمكن استخدامه أيضاً لدراسة الأساس الجيني للسمات المعقدة ، مثل المحصول ومقاومة الأمراض وتحمل الجفاف ، والتي تعتبر حيوية لتحسين الذرة (Zhang *et al.*, 2019). يوفر تحديد الأنماط الجينية في الذرة باستخدام الواسمات الجزيئية العديد من المزايا منها يتيح تحديد التنوع الجيني داخل مجتمع ما، وهو أمر ضروري في برامج التربية التي تهدف إلى تطوير أصناف جديدة ذات سمات محسنة. ويسمح بتحديد سمات معينة مرتبطة بأنماط وراثية معينة، والتي يمكن استخدامها لتطوير أصناف جديدة ذات سمات مرغوبة و طريقة سريعة ودقيقة لتحديد الأنماط الجينية المختلفة ، وهو أمر مفيد للبحث الجيني (Muhammad *et al.*, 2015). لذا جاءت هذه الدراسة بهدف تسليط الضوء على جانب التنوع الوراثي لعشرة تراكيب وراثية من الذرة الصفراء المزروعة داخل العراق و احتسابها ضمن أولويات التنمية الزراعية باستخدام طرق حديث كفيلة بتميز مدى الاختلاف و التشابه بين التراكيب من خلال.

١- استخدام تقنية SCOT- PCR والتي تظهر التباين والاختلاف في عدد وحجم القطع المتضاعفة في مناطق معينة من جينوم للتراكيب الوراثية قيد الدراسة.

٢- دراسة التباين التراكيب الوراثية بالاعتماد على التنميط الكيميائي للبروتين.

٣- دراسة التباين الوراثي بالاعتماد على مناطق ITS والتي تظهر التباين على شكل الاختلاف في تسلسل القواعد النايتروجينية بين التراكيب.

٢-١ استعراض المراجع

١,٢,١ أصل وتسمية النبات:

أن كلمة "ذرة" مشتقة من الاسم الأصلي "ماهيز" في ساراواك - لغة منطقة البحر الكاريبي (Doebly, 2015). أيضا محصول الذرة يعتقد أنها نشأت من أعشاب برية تسمى teosintes منذ حوالي ١٠٠٠٠ سنة في أمريكا الوسطى المنطقة (المعروفة اليوم باسم المكسيك وغواتيمالا و هندوراس (Galinat, 1988).

أيضاً الذرة من حيث الجينوم لها علاقة مع الذرة الرفيعة *Sorghum bicolor. L* ومن المفترض أن يكون المحصولان منفصلين عن بعضنا البعض منذ حوالي ١٢ مليون سنة يُعتقد أن الذرة قد تم تدجينها كمصدر من المواد الغذائية منذ حوالي ٦٠٠٠ سنة. تم زراعة المحصول في القرن الخامس عشر في الأمريكتين من قبل المسافرين الأوروبيين ثم في وقت لاحق، انتشر إلى أفريقيا جنوب الصحراء الكبرى وبقية دول العالم متأخر واحتفظت كل منطقة بأصناف معينة من الذرة تتكيف مع ظروفها (Da Fonseca et al., 2012)

وجدت أصلاً في جنوب أمريكا ونقلت إلى الأنديز، وذلك يرجع إلى حوالي ٤٠٠٠ سنة وقد وجدت "الأنكا" في البيرو حبوب تمثل أصنافاً مختلفة من الذرة ومن هناك امتدت شمالاً وكان لها أثر بارز في حضارة "المايا والأزتكت"، وروي أن الهنود زرعوها في نيومكسيكو منذ ألفي سنة قبل الميلاد، وحين زار الأوروبيون أمريكا لأول مرة كانت الذرة تزرع في وادي سانت لورانس المنخفضة إلى تشيلي والأرجنتين (García-Lara & Serna-Saldivar, ٢٠١٨).

والمعروف أن "كريستوفر كولومبس" قد أدخل الذرة إلى أوروبا وإن الذي نقلها من البيرو إلى أوروبا هو "فرنانديز" وأول مازرعت في أوروبا زرعت في إسبانيا أولاً ثم فرنسا وكانت آنذاك تزرع كعلف للماشية، ثم انتشرت زراعة الذرة في جميع أنحاء العالم. الجزء المستخدم من الذرة طبيياً البذور وشبشول الذرة أو مايعرف بشعر الذرة الذي يعرف علمياً باسم Cornsilk وجنين حبة الذرة. وافترض (Piperno, 2011)

٢,٢,١ تصنيف النبات و الوصف المظهري

الذرة المزروعة ، وتسمى أيضًا "الذرة" في بعض أجزاء من العالم ينتمي إلى جنس *Zea* من عشيرة *Andropogoneae* في عائلة *Poaceae* ، فصيلة فرعية *Panicoideae* . هناك ستة أنواع برية أخرى من الذرة التي تنتمي إلى نفس الجنس لكنها برية الأعشاب تسمى (teosintes) ولا يتم استخدامها في الزراعة. ستة أنواع من الذرة ماعدا *Zea mays* . يمكن تصنيف نباتات الذرة إلى عدة فئات مختلفة بناءً على خصائصها المظهرية كما في الشكل (١-١). (Ranum et al., 2014).

Kingdom: Plantae

Sub kingdom: Tracheobionta (vasculer plants)

Supper- division: Spermatophyta (seed plant)

Division: Magnoliophyta (Flowering plants)

Class: Liliopsida (Monocotyledon)

Subclass: Commelinidae

Order: Cyperales

Tribe: Andropogoneae

Family: Poaceae

Subfamily: Panicoideae

Genus: Zea

Species: Zea myes

Sub species: myes

الشكل (١, ١) : تصنيف العلمي للنبات الذرة الصفراء (Awata *et al.* , 2019)

اما الوصف المظهري لنباتات الذرة تميز بمجموعة واسعة من الخصائص المظهرية، بما في ذلك عادة نموها ، وهيكل الأوراق ، ونوع الإزهار. كما يلي (Foerster *et al.*, ٢٠١٥).

١- **عادة النمو:** يمكن أن تنمو نباتات الذرة حتى يصل طولها إلى عدة أمتار ، ولها جذع واحد مغطى عادةً بأوراق طويلة وضيقة. يتم ترتيب الأوراق بالتناوب على طول الساق وعادة ما يتراوح طولها بين ٣٠ و ١٠٠ سم ، حسب النوع. يمكن أن تكون نباتات الذرة إما محددة أو غير محددة ، حيث تصل النباتات المحددة إلى ارتفاع ثابت وتنتج أذنًا واحدة ، بينما تستمر النباتات غير المحددة في النمو وتنتج أذنًا حتى يتم قتلها بسبب الصقيع أو العوامل البيئية الأخرى.

٢- **الإزهار:** يُطلق على نبتة الذرة اسم الأذن أو الكوز ، وتتكون من محور مركزي يسمى rachis ، وهو مغطى بصفوف من الأزهار الصغيرة تسمى spikelets. تحتوي كل شوكة على مبيض واحد يتطور إلى نواة بعد التلقيح. يتم ترتيب الحبات في صفوف على قطعة خبز ، وهي مغطاة بقشرة أو قشور تحميها من العناصر.

٣- **نوع النواة:** يمكن أن تختلف حبات الذرة في الحجم والشكل واللون وتكوين السويداء حسب الصنف. تشمل أنواع النواة الأكثر شيوعًا دنت والصوان والدقيق والحلو.

٤- **نظام الجذر:** تحتوي نباتات الذرة على نظام جذر ليفي يتكون من العديد من الجذور الصغيرة التي تنتشر أفقيًا من قاعدة الساق. الجذور قادرة على الوصول إلى أعماق تصل إلى مترين بحثًا عن الماء والمغذيات .

٣,٢,١ أهمية الاقتصادية والغذائية

تعتبر الذرة من المحاصيل الأساسية المهمة في معظم البلدان النامية وإنه بتزايد الطلب العالمي، اذ كان هناك طلب نسبته % ٤٠ على الذرة مقارنة بالحبوب الرئيسية في العالم كغذاء أساسي حيوي للعديد من المناطق الفقيرة في العالم في عام ٢٠١٠ (Foley *et al.* , 2020). بينما كانت نسبة المحصول من إنتاج المحاصيل في أفريقيا جنوب الصحراء الكبرى وجنوب آسيا واللاتينية أمريكا تمثل % ٧٣ و % ٤٦ و % ٤٤ على التوالي (Stuch *et al.*, 2021).

ان محصول الذرة له دورًا غذائيًا رئيسيًا في تلك المناطق مثل نظام غذائي أساسي لحوالي ٢٠٠ مليون شخص (Du Plessis, 2003). فضلا عن ذلك الذرة يعتبر محصولًا رئيسيًا للغذاء والعلف الحيواني ، اذ يحتل المحصول المرتبة الأولى في إنتاج العلف العالمي (Shavanov, M.) (V, ٢٠٢١).

توجد قيمة اقتصادية في جميع أجزاء الذرة مثل الحبوب والحريرة والساق والأوراق وعرانيس استخدامات جميعاً في إنتاج المنتجات الغذائية وغير الغذائية (Adebisi *et al.*, 2014). فضلاً عن الناحية الصناعية المتزايدة للذرة في الإنتاج الوقود الحيوي مثل الإيثانول والنشا (Yu, J. K., & Moon, Y. S., 2021).

وقد أدى هذا إلى زيادة الطلب على الذرة مما أدى إلى ارتفاع أسعار المنتجين علاوة على ذلك، يمكن استخدام الزيت المستخرج من البذور بعد المعالجة كمواد للطهي والسمن وتتبيل السلطة، بينما يمكن استخدام المادة القابلة للذوبان. تعد الذرة أكثر المحاصيل نموًا في جميع أنحاء العالم والحبوب الأكثر تداولاً بعد القمح والأرز (Smale, 2001).

الذرة هو محصول مهم لمساهمة الكبيرة في الاقتصاد العالمي وخاصة في العالم المتقدم حيث يستخدم كقود حيوي بديل للوقود الاحفوري الذي يطلق الكميات الضخمة من ثاني أكسيد الكربون سنويًا إلى الغلاف الجوي وعلى المناخ سلبيًا، على سبيل المثال في الولايات المتحدة الأمريكية يذهب حوالي ٤٠% من الانتاج الكلي إلى إنتاج الإيثانول سنويًا (Popp *et al.*, 2014) تعد الذرة الصفراء مصدرًا قيمًا للكربوهيدرات والبروتين والألياف والفيتامينات والمعادن مثل فيتامين C وفيتامين A والبوتاسيوم والمغنيسيوم، مما يجعلها جزءًا مهمًا من نظام غذائي صحي يتم استخدامه في العديد من الوصفات الغذائية، مثل الفشار والذرة المسلوقة، وهو مصدر جيد للألياف الغذائية التي يمكن أن تحسن صحة الجهاز الهضمي وتخفف مستويات الكوليسترول في الدم. والبروتين لأنها تحتوي على كميات معتدلة من البروتين، الذي يعد أساسيًا لبناء الأنسجة والعضلات (Ross *et al.*, 2017). فضلاً عن ذلك تقلل من مخاطر الإصابة بالأمراض المزمنة أيضًا لاحتوائها على مضادات الأكسدة الطبيعية، مثل الكاروتينات والفلافونويد، والتي يمكن أن تقوي جهاز المناعة وتساعد في الحفاظ على صحة الجسم من التلف الخلوي وأمراض القلب والسرطان (van Huizen & Plantenga, 2018).

٤.٢.١ التنوع الجيني:

ان الاختلافات الموجودة بين الافراد او المجتمعات التابعة لنوع معين تدعى بالتنوع الوراثي و هو احد الجوانب الاساسية للتنوع الحيوي والتي تعني التنوع الموجود بين الانواع المختلفة كالنباتات في مجتمعاتها الطبيعية وان المحافظة على مستوى عالٍ من التنوع الحيوي ضروري جداً للحفاظ على ثبات النظام البيئي (Laikre *et al.*, 2020).

ان دراسة التنوع الوراثي لها أهمية كبيرة جدا في علوم الحياة والتطبيقية كعلم البيئة ودراسات التطور والدراسات التصنيفية لجميع الاحياء ومنها تربية وتحسين النباتات ،لان المصادر الوراثية النباتية من المكونات المهمة جداً للتنوع الحيوي اذ يوجد حوالي ٣٠٠٠٠٠٠ نوع نباتي، فضلا عن ذلك ان التغيرات بين الانواع النباتية قد تحدث بشكل طبيعي عن طريق الطفرات الوراثية، التكاثر الجنسي، الهجرة ، والانحراف الوراثي والانتخاب (Angst *et al.*, ٢٠٢٢) .

ويتم دراسة التنوع الوراثي على عدة مستويات هي بين الانواع و بين التجمعات التابعة للنوع الواحد لأهميتها في الدراسات التصنيفية من خلال معرفة طبيعة الاختلاف بين الانواع ، فضلا عن ذلك يستخدم التنوع الوراثي في عمليات تنقية البذور من خلال مطابقتها مع البذور الاصلية كما ان معرفة هوية الانواع مفيدة جدا لأجراء دراسات التأثيرات البيئية عليها (Frischie *et al.*,2020).

أيضا تكمن أهمية التنوع الوراثي بين الانواع لمهتمين في تربية وتحسين النباتات من خلال دراسة الانواع المتولدة والمختلفة للاستفادة في اختيار المصادر الوراثية الملائمة واجراء التهجين بينها ينتج عنها تراكيب وراثية جديدة أي اختبار آباء تحمل صفات مرغوبة لنقل تلك الصفات في هجين واحد، بينما التنوع الموجود ضمن التجمعات مهم لإعطاء هوية الصنف واختبار الاباء وكيفية انتقال الصفات الوراثية الى بعض افراد الجيل الاول الناتج من التهجين دون البقية ام اختلاف مستويات التنوع الوراثي اختلفت طرق دراستها (Wagner *et al.*, 2020).

من اهم النباتات الاستراتيجية نبات الذرة الذي اشتهر بتنوعه الجيني ، مع العديد من الأصناف المختلفة التي تختلف في الحجم والشكل واللون والتكيف مع الظروف البيئية المختلفة يحتوي جينوم الذرة على ما يقرب من ٣٢٠٠٠ جين ، وهو ما يعادل ١٠ أضعاف عدد الجينات في الجينوم البشري (Tsfaye *et al.*, ٢٠٢١) .

نتيجة أهمية التنوع الوراثي للنوع الواحد اهتم الباحثون بدراسة التشابه والاختلاف بين الافراد و المجتمعات التابعة له باستخدام تقنيات و طرق تعتمد على المؤشرات (markers) التي تعد صفة مميزة لاستدلال وجود موقع معين (locus) على الكروموسوم او الجين الذي يكون مختلف في الأفراد المدروسة ، وان معرفة هذا الموقع يساعد في دراسة توارث صفة معينة او

جين معين فالجينات القريبة جداً من المؤشر تتوارث معها وقد تكون هذه المؤشرات قابلة للكشف من خلال تطبيق تقنيات معينة (Rothberg *et al.*, ٢٠١١).

١.٤.٢.١ المؤشرات الجزيئية: Molecular Indicators

تُستخدم العلامات الجزيئية للكشف عن الاختلافات الجينية بين الأفراد في مجتمع ما، ويمكن استخدامها لمناطق معينة من الحمض النووي باستخدام تقنيات مثل RFLP (تعدد أشكال طول الجزء المقيد)، و AFLP (تعدد أشكال طول الجزء المضخم)، و SNP (تعدد أشكال النوكليوتيدات المفردة) ، SCoT (استهداف كودون البداية) (Dorado *et al.*, ٢٠١٧). وإن من أهم ميزات المؤشرات الجزيئية هو عدم تأثرها بنوع النسيج أو المرحلة التطورية للنسيج، بالإضافة إلى قدرتها على كشف عدد كبير من التباينات، الأمر الذي يجعلها قادرة على معرفة الاختلافات مهما كانت طفيفة ومهما كانت الأفراد متقاربة، بالإضافة إلى قدرتها على تتبع التغيرات الوراثية عبر الأجيال ولذلك فإن أهم مجالات تطبيقها هو حساب مستوى التباين بين أفراد الصنف الواحد وكذلك تشخيص حالة heterozygosity ، فضلاً عن معدل حصول التلقيح الذاتي وانتخاب النباتات بعد عملية التربية والتهجين ذات الصفات المرغوبة، ونقل الجينات ضمن حقل جديد يطلق عليه الانتخاب المعتمد على المؤشرات (Voichek & Weigel ٢٠٢٠)

أما مؤشرات الـ DNA التي تعتمد على تقانة التهجين الجزيئي ، فتشمل تباين لأطوال مقاطع التقييد ، والتي تعتمد أساساً على عملية التهجين الجزيئي لـ DNA المهضوم ، والذي يكون مثبت على أغشية ذات طبيعة خاصة مع مجس ملائم ، والذي يتكون من جزء مكلون من الجينوم أو Cdna ، حيث يتم الكشف عن مناطق الارتباط التي تكون حسب مادة التعليم ، وتتميز هذه التقانة بأن مؤشراتهما من نوع السيادة المشتركة Co - dominant ، حيث يمكن متابعة انتقال القطع إلى الأجيال اللاحقة ، لما لها من قدرة على تمييز الأليلات المتماثلة عن الأليلات المتباينة ، فضلاً عن قدرتها على تحديد نسخة مفردة من DNA وكشفها ، ولهذا تضمنت الدقة في تحليلاتها ، حيث لا تحتاج معرفة مسبقة بالتتابعات النيكلوتيدية للدنا المرغوب (Burr *et al.*, ١٩٨٨) .

أما بالنسبة للمؤشرات التي تعتمد على تقنية تفاعل البلمرة المتسلسل فيمكن تعريف هذه الطريقة بأنها التقنية التي يتضاعف بها تتابع DNA معين بشكل أنزيمي ملايين المرات خارج الجسم الحي بوجود البادئات وبزمن قصير ، وبالرغم من الاهتمام الكبير بهذه التقنية في البداية ، إلا أن الـ PCR تعد اليوم التقنية الأكثر رواجاً في مجال العمل في المختبرات العالمية للوراثة الجزيئية وذلك لخصوصيتها وقدرتها على العمل مع عدد كبير من النماذج، فضلاً عن أنها لا

تتطلب كمية كبيرة من DNA (Ding *et al.*, ٢٠٢٠). تعتمد هذه التقنية على أنواع البادئات المستخدمة مثل بادئ single nucleotide polymorphisms (SNP) هو تعددات أشكال النوكليوتيدات المفردة (SNPs) هي الشكل السائد للتنوع الجيني الذي يحدث بشكل طبيعي وتوفر تبايناً مناسباً للتمييز بين الأفراد. ونتيجة لذلك أصبحت علامة الحمض النووي المفضلة لدراسات التنوع. بالإضافة إلى ذلك، تعد تعدد الأشكال (SNP) مفيدة لدراسة التباين الوراثي بسبب تكلفتها المنخفضة لكل نقطة بيانات، وانخفاض معدلات خطأ التنميط الجيني، وخصوصية الموضع، والوفرة الجينومية العالية، وإمكانية تحليل الإنتاجية العالية، والسيادة المشتركة. وبالتالي، توفر SNPs فرصة لتقييم التنوع الوراثي المحلية في جنوب إفريقيا والأصول الوراثية للذرة الاستوائية وشبه الاستوائية الغربية التي تم تطويرها لبرامج تربية الذرة الوطنية في أفريقيا جنوب الصحراء الكبرى (Dube, *et al.* 2023). بينما مؤشرات تكرار التسلسل البسيطة (SSR) هي تقنية مفيدة في التعرف على العديد من الأنواع نتيجة التكرارية العالية، وذات محتوى تعدد الأشكال في جينوم النبات عند مقارنتها في دراسة التنوع الوراثي لتمييزها بالدقة الكبيرة المتمثلة بقدرتها على إظهار التباين الوراثي مهما كان حجمه وقدرتها على التمييز بين الأليات المتباينة والمتماثلة وسهولة تطبيقها وتحليل نتائجها فضال عن دورها في توضيح العلاقات التطورية وتصنيف المجموع الوراثية (Bocianowski, *et al.* ٢٠٢١). بينما تعتبر تقنية تعدد الأشكال المستهدفة بكدون البداية (Start Codon Targeted Marker Polymorphism) SCoT ذات أهمية كبيرة في علم الوراثة النباتية وعلم الجينوم والتربية الجزيئية نظراً لميزاتها العديدة المرغوبة. تستهدف علامة SCoT المنطقة المحيطة بكدون البداية، وهي منطقة محفوظة للغاية في جينات النبات. ولذلك، يمكنه تمييز الاختلافات الجينية في جين معين يرتبط بسمة معينة. فضلاً على إنها علامة جزيئية بسيطة وجديدة وفعالة من حيث التكلفة ومتعددة الأشكال وقابلة للتكرار ولا توجد حاجة لمعلومات تسلسلها المسبقة. تم استخدام علامات SCoT في العديد من الأنواع النباتية ذات الأهمية التجارية وغير المستغلة بشكل كافٍ لمجموعة متنوعة من التطبيقات، بما في ذلك تحليل التنوع الجيني، والعلاقات الوراثية بين الأنواع/العامة، وتحديد الصنف/الهجين/الأنواع، وتحديد الجنس، وبناء خريطة الروابط، رسم خرائط/تحليل الارتباط، والتعبير الجيني التفاضلي، وتحليل الإخلاص الوراثي للنباتات التي يتم تربيتها في زراعة الأنسجة (Rai M. K. 2023). الأمر الذي جعل مربو الذرة يستخدمون التوصيف الجزيئي لتحليل مواقع السمات الكمية، فضلاً عن رسم الخرائط الجينية وتقييم التنوع الجيني من بين تلك العلامات، اكتسبت العلامات الجزيئية SCoT شعبية أكبر مقارنة بأنظمة علامات الحمض النووي الرائدة الأخرى مثل RAPD و ISSR كون لديه العديد

من المزايا، بما في ذلك التصميم التمهيدي الأبسط، والتكلفة المنخفضة، وكفاءة تعدد الأشكال الأعلى، وإمكانية التكاثر الأعلى، وقيم PIC العالية، وقابلية حل أفضل للعلامات لذلك يعد (SCoT) تقنية وراثية جزيئية جيدة ومفيدة كونها تعمل اختزال الوقت فضلا عن زيادة في الدقة في برامج التربية السريعة للذرة (Rizk et al., ٢٠٢١). وقد نجح الباحثون الزراعيون في استخدام هذه العلامات في التحليلات الجينية وبصمات الأصابع. أظهرت إحدى الدراسات أن التباين الوراثي داخل المناطق الجغرافية كان أعلى (٥٠,٩٩%) منه فيما بينها (٤٩,٠١%) باستخدام نطاق قيمة PIC (محتوى المعلومات متعدد الأشكال) الذي يستهدف كودون البداية (SCoT) (Zhang et al., ٢٠١٥). نظرا لسرعة ودقة و انخفاض تكلفة هذه التقنية في دراسة التنوع الجيني لنباتات عديدة مثل دراسة التحليل الوراثي للتنوع داخل الأصول الوراثية المحلية لقصب السكر في الصين على أساس تعدد الأشكال المستهدف لكودون البداية (Que, et al., ٢٠١٤). أيضا تم دراسة التنوع الجيني في بعض أشجار النفضية مثل العنب لتحديد الاستخدام المحتمل لعلامات SCoT في العنب وتقييم التنوع الوراثي والعلاقات بين الأصناف المحلية الصينية وعنب المائدة وعنب النبيذ والأنواع البرية من خلال تضخيم علامات SCoT-PCR (Guo, et al., ٢٠١٤). فضلا عن ذلك تم استخدام علامات جزيئية مختلفة للكشف عن تعدد الأشكال وتمييز التباين بين خطوط البطاطا الحلوة من بينها علامات SCoT لدراسة التنوع الوراثي لـ ٤٠ مدخلاً من البطاطا الحلوة باستخدام ١٠ بادئات SCoT. تم إنشاء إجمالي ١٢٨ نطاقاً، منها ٧٥ نطاقاً متعدد الأشكال بين المدخلات إلى تجميع الأنماط الجينية في ثلاث مجموعات رئيسية (Nair et al., ٢٠١٦). أيضا تم دراسة بادئات SCoT لتحديد التباين الوراثي بين ١٠ طرز وراثية محلية ومدخلة من الذرة الصفراء باستخدام ١١ بادئ مستهدفة لكودون البداية (SCoT) (Al-٢٠٢٠). (Tamimi).

٢.٤.٢.١ البروتين الكلي

بعد اكتشاف أن البروتينات والإنزيمات هي نتائج المعلومات المخزنة في الجينات، يتم استخدامها كمؤشرات كيميائية حيوية في هيئة بروتينات لتحليل التنوع الجيني للسكان. تعتمد الدراسة الكيميائية الحيوية وخاصة البروتينات على فصل البروتين إلى انماط ذات نطاقات محددة ، فضلا انها تُستخدم على نطاق واسع لإجراء تقييم للتنوع الجيني. يرجع تفضيله على الصفات المورفولوجية الزراعية إلى قدرته على التعامل مع المعلومات الوراثية بشكل شبه حقيقية (Iqbal et al., 2014). ان

التنميط الكيميائي الحيوي أداة مفيدة لتقييم الجودة الفسيولوجية لبذور الذرة. من خلال تحليل التركيب الكيميائي الحيوي للبذور، قد يكون من الممكن التنبؤ بإنباتها وحيويتها، بالإضافة إلى استجابتها لظروف التخزين. من خلال فهم العلاقة بين الكيمياء الحيوية للبذور والجودة الفسيولوجية، يمكن لمنتجي البذور اختيار البذور ذات السمات البيوكيميائية المرغوبة المناسبة للحفاظ على جودة البذور وضمان إنتاج محصول ناجح (Nerling, ٢٠١٨).

اذ ان محتوى البروتين المستخلص من بذور الذرة هو سمة كمية تحددها بشكل رئيسي التأثيرات المضافة لجينات متعددة تتفاعل مع بعضها البعض. تتمتع هذه السمة بألية وراثية معقدة ويمكن أن تتأثر بالتفاعل بين النمط الوراثي والبيئة (Zhang et al., 2021). يمكن استخراج البروتينات من أجزاء مختلفة من النبات مثل الأوراق والبراعم والبذور وغيرها باستخدام تقنيات متعددة أهمها الترحيل الكهربائي على هلام كبريتات دوديسيل الصوديوم بولي أكريلاميد (SDS-PAGE) لأنها تقنية فعالة قابلة للتكرار وسريعة (Khan et al., 2013). اذ لعب الترحيل الكهربائي دوراً رئيسياً اذا اصبح من الممكن التعرف على الاختلاف الفيزيائية والكيميائية للبروتينات التي يمكن اعتمادها كطريقة لدراسة التباين الوراثي لأصناف الذرة المختلفة (Jorrín-Novo et al., 2018). أجريت دراسة لتوصيف ٢٢ صنفاً من الطماطم اعتماداً على البروتين الكلي المخزن في البذور باستخدام الترحيل الكهربائي على هلام بولي أكريلاميد كبريتات دوديسيل الصوديوم (SDS-PAGE). تظهر أصناف الجنس بصمات مميزة ويكشف التحليل الشامل للنتائج عن وجود مستوى عال من التجانس (Al-Tamimi & Khayoon 2015).

و في دراسة أخرى تم تقييم ٢٠ نمطاً وراثياً من الذرة من أجل استخلاص البروتين الكلي المخزن في البذور باستخدام تقنية الترحيل الكهربائي على هلام بولي أكريلاميد كبريتات دوديسيل الصوديوم (SDS-PAGE) من خلال وحدة الألواح العمودية. كان عدد نطاقات البروتين الإجمالية القابلة للتسجيل ثلاثة وعشرون نتيجة لتقنية SDS-PAGE من بين ثلاثة وعشرين نطاقاً متعدد الببتيد، كانت موجودة بشكل شائع للتباين الوراثي في البولي ببتيدي المخزن للبذور والمحدد بتقنية SDS-PAGE و هو مفيد لتحديد التنوع الوراثي بين مدخلات الذرة (Vivodík et al., 2017).

٣.٤.٢.١ تسلسل الحمض النووي DNA sequence

تسلسل الحمض النووي هو ترتيب محدد للنوكليوتيدات (الأدينين، الثايمين، السيتوزين، والجوانين) داخل جزيء الحمض النووي (Demir. 2021). وهو بمثابة الوحدة الأساسية للوراثة ويحمل المعلومات الوراثية التي تحدد سمات وخصائص الكائن الحي. تسلسل الحمض النووي

ضروري لمختلف العمليات البيولوجية، بما في ذلك التعبير الجيني، وتخليق البروتين، ووراثية السمات الوراثية (Panchal, 2022). يعد تسلسل الحمض النووي للذرة أمرًا بالغ الأهمية لفهم تركيبها الجينية، ودراسة التعبير الجيني، وتحديد الاختلافات الجينية، وتطوير أصناف محسنة من خلال الهندسة الوراثية أو برامج التربية. يستخدم الباحثون تسلسل الحمض النووي لكشف المعلومات الوراثية المشفرة في جينوم الذرة، والتي يمكن أن تؤدي إلى التقدم في الزراعة وتحسين المحاصيل. هناك تقنيات في دراسة وتحليل تسلسل الحمض النووي من اهم تقنيّة Cleaved sequence (CAPS) amplified polymorphic هي احدى تقنيات البيولوجيا الجزيئية تستخدم لتحديد والتمييز بين تسلسلات الاحماض النووي المحددة. وهو ينطوي على استخدام إنزيمات التقييد لقطع شظايا الاحماض النووي المتضخمة، وإنشاء أشكال متعددة يمكن اكتشافها عن طريق الفصل الكهربائي للهلام. في تحليل CAPS، يتم تضخيم منطقة معينة من الحمض النووي باستخدام تفاعل البلمرة المتسلسل (PCR). يتم بعد ذلك إخضاع جزء الحمض النووي المضخم لعملية الهضم باستخدام إنزيم تقييد يتعرف على الحمض النووي ويقطعه في مواقع التعرف المحددة. يؤدي وجود أو عدم وجود مواقع انقسام إنزيم التقييد داخل الجزء المضخم إلى أحجام مختلفة للأجزاء، والتي يمكن فصلها وتصورها على مادة هلامية. يمكن استخدام الاختلافات في أحجام الأجزاء الناتجة عن CAPS لتحديد الاختلافات الجينية، مثل تعدد أشكال النوكليوتيدات المفردة (SNPs) أو عمليات الإدراج أو الحذف. يمكن أن تكون هذه المعلومات ذات قيمة لمختلف التطبيقات، بما في ذلك التنميط الجيني، ورسم الخرائط الجينية، وتشخيص الأمراض، والاختيار بمساعدة الواسمات في تربية النباتات. يعد تحليل CAPS تقنية بسيطة نسبيًا وفعالة من حيث التكلفة، مما يجعلها مستخدمة على نطاق واسع في أبحاث وتشخيص البيولوجيا الجزيئية. فهو يوفر طريقة موثوقة وفعالة للكشف عن تسلسلات معينة من الحمض النووي وتحليل التباين الجيني تعتبر من التقنيات التي تحدد موقع واحد Locus في وضع الخرائط الوراثية ودراسة التنوع الوراثي و تحديد مواقع Loci الصفات الكمية وعمليات الاستنساخ وعزل ونقل المورثات في مجال الهندسة الوراثية والمستخدمة كثيرا في المجالات الطبية، الصيدلانية، الزراعية والبيولوجية (Singh & Hazarika, 2019). بينما تقنية internal transcribed spacers (ITS) هي مناطق الفاصل الداخلي (ITS) هي أجزاء من الحمض النووي موجودة داخل الجينات التي تشفر الحمض النووي الريبسي rRNA في الكائنات حقيقية النواة. تقع هذه المناطق، بما في ذلك ITS1 وITS2، بين جينات (rRNA) الوحدة الفرعية الصغيرة (S18) والوحدة الفرعية الكبيرة (S28). وهي تستخدم عادة في البيولوجيا الجزيئية للدراسات التطورية وتحديد الأنواع بسبب تباينها بين الأنواع المختلفة.

غالبًا ما يستخدم الباحثون تسلسلات ITS لاستنتاج العلاقات التطورية وتصنيف الكائنات الحية وتحديدتها. على الرغم من أن جينات rRNA محفوظة بشكل جيد إلى حد ما، إلا أن منطقة ITS الموجودة بين جينات rRNA، وخاصة تلك الموجودة بين جينات rRNA S16 و S23، تظهر تباينًا أكبر في الطول والتسلسل حتى داخل النوع الواحد. يسمح موقع ITS المحاط بجينات rRNA S16 و S23 المحفوظة للغاية بتضخيم PCR باستخدام البادئ العالمي المصمم للمناطق المحفوظة في الطرف 3 من الرنا S16 rRNA والنهائية 5 لجينات rRNA S23.

٢. المواد وطرق العمل Materials and Methods

١,٢ جمع النماذج النباتية

زرعت بذور نبات ذرة صفراء للتراكيب الوراثية عشرة في أصص وذلك بأخذ (١٠) بذور لكل صنف حتى ظهور الأوراق منها. تم الحصول على التراكيب الوراثية (العينات) من مصدرين، الاول \ دائرة البحوث التابعة الى وزارة الزراعة والكائن مقرها في محافظة بغداد \ قضاء ابو غريب حيث تم الحصول على خمسة تراكيب وراثية (محلية) وهي (سومر ، فجر-١- ، المها ، بغداد-٣- ، الهجين نهريين)

المصدر الثاني \ مكتب التبنانة للزراعة ، الكائن في محافظة بغداد \ منطقة الكرادة ، حيث تم الحصول على خمسة تراكيب وراثية (مدخلة) وهي ، ZP.glorya ، DKC 6777 ، PIOWEER ، KWS ، Syngenta

جدول (١,٢): التراكيب الوراثية المدروسة مع أصل نشؤها

الصنف التركيبي (العينات)	المصدر	الاصل
سومر	دائرة البحوث	هجين محلي
فجر-١-	دائرة البحوث	هجين محلي
المها	دائرة البحوث	هجين محلي
بغداد-٣-	دائرة البحوث	هجين محلي
الهجين نهريين	دائرة البحوث	هجين محلي
DKC 6777	مكتب التبنانة للزراعة	مدخل (تركيا)
ZP.glorya	مكتب التبنانة للزراعة	مدخل (يوغسلافيا)
PIOWEER	مكتب التبنانة للزراعة	مدخل (امريكا)
KWS	مكتب التبنانة للزراعة	مدخل (المانيا)
Syngenta	مكتب التبنانة للزراعة	مدخل (سويسرا)

٢,٢ المواد الكيميائية والاحيائية المستخدمة في التجربة:

استعملت المواد الكيميائية والاحيائية المستخدمة في الدراسة في جدول (٢,٢)

الجدول (٢-٢): المواد الكيميائية والاحيائية المستخدمة في الدراسة

ت	المواد الكيميائية	المنشأ	الشركة المصنعة
1	أكاروز 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
٥	النيتروجين 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 Ladder	USA	Promega
10	بيروكسيد الهيدروجين H ₂ O ₂	England	BDH
11	كاشف الأوكسيديز Oxidase reagent	England	BDH
12	مانيتول Mannitol	England	BDH
13	كاشف DNase	England	BDH
14	كاشف Urease	England	BDH
15	المحلول الملحي الفسلجي	France	Biomerieux

٣. ٢ الاجهزة والمعدات المختبرية Laboratory Equipment and Apparatus

استعملت الاجهزة والمعدات المختبرية المثبتة في جدول (٣,٢)

الجدول (٣-٢) الاجهزة والمعدات المختبرية المستعملة في الدراسة

ت	المعدات	المنشأ	الشركة المصنعة
١	المؤصدة Autoclave	Japan	Sony
٢	كاميرا رقمية Digital camera	Japan	CYAN-Cypress
٣	انابيب ابندروف Eppendorf tubes	Belgium	BioBasic Inc.
٤	نظام تصوير الهلام Gel documentation system	Korea	Bioneer
٥	جهاز الترحيل الكهربائي الافقي Horizontal Gel electrophoresis	Korea	Bioneer
٦	حاوية النتروجين السائل Liquid Nitrogen container	USA	Native Industrialization
٧	جهاز الطرد المركزي Microcentrifuge	Germany	Hermel
٨	أطراف الماصة الدقيقة (كل الاحجام) Micropipette tips(all size)	Germany	Hettich
٩	الماصة الدقيقة (كل الاحجام) Micropipettes (all size)	Germany	Slamed
١٠	جهاز البلمرة الحراري Thermo cycler	Germany	Analytik Jena
١١	جهاز الأشعة فوق البنفسجية UV- Transilluminator	Germany	Analytik Jena
١٢	مطياف الضوئي Uv.visible Spectrophotometer	Japan	Shimadzu
١٣	حجرة التعقيم Hood chamber	Iraq	Native Industrialization
١٤	ميزان حساس Sensitive balance	Germany	Bioneer
١٥	ثلاجة Refrigerator	Japan	Marubeni
١٦	جهاز تقطير ماء Water distillatory	Japan	Ogawa
١٧	جهاز قياس الرقم الهيدروجيني pH-meter	Denmark	Radio meter
١٨	حاضنة Incubator	Germany	Binder
١٩	فرن كهربائي Electrical oven	England	Gallen kamp
٢٠	قطينة Cotton swabs	England	Shandon
٢١	المزج الدوار Vortex mixer	England	Gallen kamp
٢٢	انابيب اختبار بلاستيكية معقمة plastic disposable test tubes	Jordan	AFMA
٢٣	ميزان حساس Sensitive balance	Switzerland	Meter
٢٤	مسخنة حرارية Hot plate	England	Gallen kamp

٤.٢. جمع العينات النباتية Collection of plant samples

تم الحصول على العينة من مكانين دائرة البحث تابعة للوزارة الزراعة و مكتبة التبانة، وقد تم العمل في مختبر الوراثة الجزيئية في قسم علوم الحياة / كلية العلوم في جامعة كربلاء و مركز الامين في العتبة العلوية المقدسة في محافظة النجف.

٥,٢ خطوات استخلاص الـ DNA من النماذج النباتية DNA Isolation from Plant Samples

Plant Samples

بعد جمع التراكيب الوراثية تم زراعتها في اصص (سنادين) وبعد الانبات تم جمع الاوراق الفتيه لكل نبات ، بعد ذلك تم العمل داخل المختبر حيث تم استخلاص المادة الوراثية وكما يلي :

١. طحن الاوراق بواسطة الهاون وباستعمال النيتروجين السائل لغرض تحطيم الجدار الخلوي.

تم اخذ ٤٠ ملغ من كل عينة في انبوب اختبار ١,٥ مل .

٢. اضافة ٦٠٠ مايكروليتر من Nuclei Lysis Solution لتحطيم الغشاء النووي ثم الرج باستعمال جهاز vortex لمدة ٣ ثانية

٣. وضع العينات في الفرن بدرجة ٦٥ درجة لمدة ١٥ دقيقة .

٤. اضافة ٣ مايكروليتر من مادة RNase Solution والخلط باليد ٢_٥ مرات ثم وضع العينات في الحاضن بدرجة ٣٧ درجة لمدة ١٥ دقيقة بعد ذلك تترك بدرجة حرارة الغرفة لمدة ٥ دقائق.

٥. اضافة ٢٠٠ مايكرو ليتر من مادة Protein Precipitation Solution والرج بواسطة جهاز vortex بأقصى سرعة لمدة ٢٠ ثانية

٦. وضع العينات في جهاز الطرد المركزي لمدة ٣ دقيقة بسرعة ١٣٥٠٠ ستشكل البروتينات المترسبة حبيبات ضيقة.

٧. قمنا بازالة المادة الطافية بعناية التي تحتوي على المادة النووية (تاركا الحبيبات البروتينية) ونقل الراشح الى انابيب نظيفة سعة ١,٥ مل يحتوي على ٦٠٠ مايكروليتر من Isopropanol بدرجة حرارة الغرفة.

٨. نقوم بتقليب العينات برفق حتى تتشكل خيوط الحمض النووي وتكون خيوط مرئية.

٩. وضع الانابيب في جهاز الطرد المركزي بسرعة ١٣٥٠٠ لمدة دقيقة واحدة بدرجة حرارة الغرفة.
١٠. نصب بعناية المادة الطافية ثم نضيف ٦٠٠ مايكروليتر من مادة الايثانول ٧٠% ونقلب الانبوبة برفق عدة مرات لفرض غسل الحمض النووي ، نضع العينات في جهاز الطرد المركزي لمدة دقيقة واحدة بسرعة ١٣٥٠٠.
١١. نسحب الايثانول بعناية لان المادة النووية تكون هشّة بواسطة ماصة .
١٢. نقلب الانبوبة على ورق نشاف لمدة ١٥ دقيقة لتجفيف الحبيبات.
١٣. اضافة ١٠٠ مايكروليتر من محلول DNA Rehydration Solution لترطيب الحمض النووي بعدها يترك في الحاضنة لمدة ساعة كاملة بدرجة ٦٥ درجة ويخلط الانبوب بشكل دوري عن طريق النقر بلطف على الانبوب.
١٤. تحزن العينات بدرجة ٢_٨ درجة .
- المواد المستخدمة في عملية الاستخلاص من شركة Promega امريكية الصنع

١,٥,٢ قياس تركيز DNA وتقدير نقاوته

تم قياس تركيز DNA وتقدير نقاوته باستعمال جهاز Uv.visible Spectrophotometer عند الطولين الموجيين ٢٦٠ و ٢٨٠ نانوميتر . كما تم حساب تركيز DNA حسب المعادلة (٢-١)

$$\text{Concentration of DNA} = \text{O.D} * 260 * 50 * \text{Dilution factor} / 1000 \quad (2-1)$$

اما إيجاد نقاوة DNA تم حسابه حسب معادلة (٢-٢) .

$$\text{Purty of DNA} = \text{O.D}_{260} / \text{O.D}_{260} \geq 1.8 \quad (2-2)$$

حيث ان O.D هي Optical density

٦.٢. البادئات Primers

جهزت البادئات Primers المعتمدة في هذه الدراسة من قبل شركة Macrogen المنشأ Korea وكان عددها ١٣، خففت البادئات بإضافة الماء ثنائي التقطير للحصول على التركيز ١٠٠ بيكومول / مايكروليتر بحسب النشرة المرفقة من الشركة المجهزة ، ثم حضر التركيز المطلوب بأخذ ١٠ مايكروليتر من المحلول الاصلي واكمل الحجم الى ١٠٠ مايكروليتر بإضافة ماء ثنائي التقطير ليصبح جاهزا للاستعمال ، استعمل في هذه الدراسة البادئ المجز من شركة كما موضح في (جدول ٢-٤) .

جدول (٢-٤) أسم البادئ وتسلسل النيوكليوتيدات له (Collard and Mackill, 2009).

ت	اسم البادئ	تسلسل النيوكليوتيدات (5' → 3')
1	Scot 6	5'-CAACAATGGCTACCACGC-3'
2	Scot 8	5'-CAACAATGGCTACCACGT-3'
٣	Scot 9	5'-AACAAATGGCTACCAGCA-3'
4	Scot 12	5'-ACGACATGGCGACCAACG-3'
5	Scot 23	5'-CACCATGGCTACCACCAG-3'
6	Scot 30	5'-CCATGGCTACCACCGGCG-3'
7	Scot 40	5'-CAATGGCTACCACTACAG-3'
8	Scot 44	5'-CAATGGCTACCATTAGCC-3'
9	Scot 54	5'-ACAATGGCTACCACCAGC-3'
10	Scot 60	5'-ACAATGGCTACCACCACA-3'
11	Scot 63	5'-ACCATGGCTACCACGGGC-3'
12	SCoT-29	5'-CCATGGCTACCACCGGCC-3'
13	SCoT-36	5'-GCAACAATGGCTACCACC-3'

٧.٢ خليط التفاعل (Master Mix) Reaction Mixture

جهاز مكونات Master mix من قبل شركة Promega في أنابيب معقمة وتحتوي على المكونات التالية وبالتراكيز المبينة في الجدول (٢-٥)

جدول (٢-٥) مكونات خليط التفاعل Master mix.

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

٨.٢ الدليل الحجمي Ladder

جهاز الدليل الحجمي ladder1 المستعمل في هذه الدراسة من قبل شركة Promega - USA بتركيز ١٥٠ ng/µl ، وبحجم ٢٥٠ مايكروليتر و يتراوح مدى من ١٠٠ - ٢٠٠٠ زوج

قاعدي (١٣ حزمة) . بينما جهاز الدليل الحجمي ladder2 المستعمل في هذه الدراسة من قبل شركة Smobio ذات المنشأ التايوان بتركيز ١٥٠ ng/μl ، وبحجم ٥٠٠ مايكروليتر و يتراوح مدى من ١٠٠ - ٣٠٠٠ زوج قاعدي (١٢ حزمة) كما مبين في جدول (٢-٦).

جدول (٢-٧) وصف الدليل الحجمي للـ DNA

الوصف	DNA دليل
حزمة ١٣ ١٠٠ - ٢٠٠ - ٣٠٠ - ٤٠٠ - ٥٠٠ - ٦٠٠ - ٧٠٠ - ٨٠٠ - ٩٠٠ ١٠٠٠ - ١٢٠٠ - ١٦٠٠ - ٢٠٠٠ زوج قاعدي الحزم الاكثر شدة وتآلق ١٠٠ ، ٥٠٠ ، ١٥٠٠ bp	DNA Ladder1
حزمة ١٣ ١٠٠ - ٢٠٠ - ٣٠٠ - ٤٠٠ - ٥٠٠ - ٦٠٠ - ٧٠٠ - ٨٠٠ - ٩٠٠ ١٠٠٠ - ١٥٠٠ - ٣٠٠٠ زوج قاعدي الحزم الاكثر شدة وتآلق ١٠٠ ، ٥٠٠ ، ١٥٠٠ bp	DNA Ladder2

٩.٢ تفاعل البلمرة المتسلسل Polymerase Chain Reaction

تم تطبيق المؤشر الجزيئي المعتمد في هذه الدراسة Scot من خلال تقنية PCR وفق الخطوات الآتية:

١. أجري العمل بارتداء القفازات وفي حجرة التعقيم Hood مع حفظ المحاليل كافة على الثلج.
٢. أضيفت ١٠ مايكرو ليتر من قالب DNA الى ٢,٥ مايكرو ليتر من البادئ و ٥ مايكروليتر من master mix و اكمل الحجم الى ٢٠ مايكروليتر من الماء المقطر إلى أنبوبة التفاعل الرئيس Master Reaction الجاهزة ويصبح حجم المحلول ٢٠ مايكرو ليتر، ثم نقل المزيج الى Vortex لثواني.
٣. ثم وضعت بعدها في جهاز المبلر الحراري Thermocycler على برنامج خاص وكما موضح في جدول (٢-٧) التالي:

جدول (٧-٢) خطوات عمل جهاز البلمرة المتسلسل

الخطوة	درجة الحرارة	الوقت	عدد الدورات
Initial Denaturation	94C°	5 min	1 cycle
Denaturation	95C°	30S	35 cycles
Annealing	50C°	1 min	
Extension	72C°	2 min	
Final Extension	72C°	5 min	1 cycle

بعد انتهاء وقت التفاعل رفعت الأنابيب من جهاز المبلر الحراري وباستعمال الجل المكون من مادة الاكاروز ويتركز ١,٥ % حيث يتم عمل شريحة الاكاروز عن طريق اذابه المادة في محلول منظم وتسخينه حتى يصبح المحلول صافيا تماما ومن ثم صب الاكاروز في أناء خاص حتى يبرد مما ينتج عنه مادة جيلاتينية مرنة يتم استعمالها في عملية الفصل ولمدة زمنية مقدارها ساعتان وبفولتية مقدارها ٧٠ فولت. بعدها عرضت منتجات PCR المرحلة على الهلام للأشعة فوق البنفسجية بواسطة جهاز الـ Gel documentation system للتصوير (Gao, et al., ٢٠٢٠).

١.٩,٢ الترحيل الكهربائي على هلام الاكاروز Agarose Gel Electrophoresis

أجري الترحيل الكهربائي وفقا (Sambrook and Russell, 2006) كما يأتي :

١. ثم إعداد لوح التحميل باستعمال لوح زجاجي إذ تحاط حافات اللوح بشريط لاصق قوي ويثبت عليه المشط الخاص لتكوين الحفر عند أحد أطراف الهلام.
٢. يحضر هلام الأكاروز بتركيز ١,٥ % عن طريق إذابة ١,٥ غم من الاكاروز في ١٠ مل من داري TBE10 × ثم يكمل إلى ١٠٠ مل من الماء المقطر.
٣. يسخن الخليط في فرن الميكروويف حتى يذاب كل مسحوق الاكاروز، ويستخرج المحلول من الميكروويف قبل وصوله إلى مرحلة الغليان.
٤. يترك الهلام ليبرد إلى ٦٥ مئوية.
٥. أضيف ٥ مايكروليتر من محلول بروميد الأثديوم (١٠ ملغم / مل) بعد أن يبرد الخليط، ويخلط بلطف.

٦. يسكب الهلام ببطء في رف الهلام، مع تجنب أي فقاعات في الهلام، ولا يسمح للهلام أن ينشوه ويترك لمدة تصل من ٢٠ إلى ٣٠ دقيقة.
٧. رفع المشط والشريط اللاصق بهدوء من الاكاروز المتصلب وثبتت الصفيحة على مسندها في وحدة الترحيل الكهربائي الأفقية المتمثلة بالحوض المستعمل للترحيل الكهربائي وملئ الحوض بدارى TBE بحيث يغطي سطح الهلام.
٨. تم إضافة ٥ مايكروليتر من الدليل الحجمي DNA Ladder في أول حفرة.
٩. وضع ٣ مايكروليتر من عينة DNA على غطاء شمعي مطاط Parafilm ، وخلط مع ٢ مايكروليتر من صبغة التحميل ، ومزج جيدا باستعمال ماصة دقيقة .
١٠. بعد ذلك تم إغلاق جهاز الترحيل الكهربائي ومرر التيار الكهربائي بمقدار ٧٠ فولت لمدة ٤٥ دقيقة.
١١. فحص الهلام باستعمال مصدر للأشعة فوق البنفسجية UV transilluminator عند طول موجي (٢٤٠، ٣٦٦ نانوميتر) صور بعدها الهلام.

١٠,٢ الدراسة البروتينية Protein Study

١,١٠.٢ استخلاص البروتين Protein extraction

تم استخلاص بروتين الحبوب الكلي باستعمال محلول دارى (محلول منظم) Buffer solution وكما يأتي :

المحلول الدارى : اعتمدت طريقة (Vishwanath, 2011) مع بعض التحويرات . طحنت البذور لكل صنف واخذ مسحوق البذور بوزن ٠,٠٢ غم ووضع في أنبوبة ابتدروف وأضيف لها ٢٠٠ مايكروليتر من المحلول الدارى لاستخلاص البروتين (٨,٨ pH , ٢٥ mM Tris base) وتم السحق باستعمال Micropestil لتسهيل امتزاج المسحوق مع المحلول الدارى مع المزج vortex لمدة دقيقة لضمان الامتزاج الكامل حفظ المزيج في الثلاجة بدرجة ٨ C لمدة ليلة كاملة. لاستخلاص البروتين ثم طرد مركزيا بسرعة rpm 10.000 لمدة ١٥ دقيقة وجمع الطافي. أذيب مستخلص المزيج البروتيني في حجم مساوي له من المحلول الدارى (2 , pH6.8, ٠,٠٦ M Tris base) ، وحمض بدرجة ٦٠-٧٠ C ، في حمام مائي لمدة ١٠ دقائق ، برد بعدها حالا على الثلج لمدة ٥ دقائق وطرده المزيج مركزيا بسرعة rpm 10.000 لمدة ٥ دقائق . استعمل المحلول الطافي النهائي لغرض التحميل على الهلام . رحلت العينات عند تيار كهربائي ١,٥ A والفولتية ١٢٠ V تم إيقاف الترحيل الكهربائي عند

وصول الصبغة إلى أسفل Resolving gel صبغ الهلام بعدها Coomassie brilliant blue لمدة ليلة كاملة . بعدها أزيلت الصبغة بمحلول إزالة الصبغة Distaining solution لغاية زوال الصبغة تماما وظهور الحزم بشكل

٢,١٠.٢ الترحيل الكهربائي على هلام Polyacrylamide

أجري الترحيل الكهربائي وفقا لـ (Sambrook and Russell, 2006) كما يأتي :

١. المحلول A (acrylamide solution 30 %) حضر بإذابة g ٢٩,٢ من Acrylamide و ٠,٨ Bise و بكمية من الماء المقطر المعقم واكمل الحجم الى ١٠٠ ml
٢. المحلول B (١,٥M tris buffer , pH8.8) :- حضر بإذابة g ١٨,١٧ Tris و SDS g ٠,٤ بكمية من الماء المقطر المعقم وضبطت قيمة ال pH لغاية ٨,٨ باستعمال HCl واكمل الحجم الى ١٠٠ ml
٣. المحلول C (٠,٥M trisbuffer , pH6.8) :- حضر بإذابة g ٦,٠٦ Tris و SDS g ٠,٤ بكمية من الماء المقطر المعقم وضبطت قيمة ال pH لغاية ٦,٨ باستعمال HCl واكمل الحجم الى ١٠٠ ml
٤. المحلول D :- (ammonium persulfate 10 %) حضر بإضافة ١ ml من الماء المقطر المعقم الى g 0.1 ammonium persulfate يحضر هذا المحلول انيا
٥. محلول الهلام Gel solution يوضح الجدول ١٠,٣ حجم المحاليل ب ml وتركيز الهلام % المعتمدة في تحضير هلام البولي اكريل امايد بتركيز % ١٢,٥ .
٦. المحلول القياسي ١٠% SDS تم اذابة g ١٠ من SDS في كمية من الماء واكمل الحجم الى ١٠٠ ml
٧. تحضير العينة : -حضر بتركيز ٥x وحجم المحلول النهائي, Trisbase 60 Mm, ١٠ ml (pH ٦,٨ , glycerol 2.5ml + SDS 0.2 gm + bromophenol blue 0.01g و mercapto و ml ethanol ٠,٥) ولغرض الترحيل يتم المزج بين مستخلص البروتين وبقر العينة بنسبة ١ : ٤ ثم حضن المزيج في انبوبة ابتدروف في حمام مائي بدرجة ١٠٠ درجة مئوية لمدة ٢ دقيقة.
٨. المحلول الداري للترحيل الكهربائي : - حضر بإضافة ١٠ mL من SDS1096 و ٣٩ من Tris Base و ١٤,٤ من Glycine وأكمل الحجم الى واحد لتر من الماء المقطر المعقم .

٩. محلول الصبغة - **staining** : تم اضافة كمية من الماء الى ٢,٥٩ من Coomassi Brilliant Blue و ٥٠٠ ml من ١٠٠ ml methanol من acetic acid ثم اكمل الحجم الى واحد لتر .

١٠. محلول ازالة الصبغة - **Destaining** تم اضافة كمية من الماء الى ٢٥٠ ml من ٧٠ ml methanol من acetic acid و اكمل الحجم الى واحد لتر

الجدول ٧,٢ : التراكيز % والمكونات ml المعتمدة في تحضير الهلام

Stacking gel 14.5 % (concentration)	Separation 12 % (resolving gel)	
0.9	7.5	Sol .A
-	4.5	Sol .B
1.5	-	Sol .C
0.018	0.07	Sol .D
0.01	0.01	TEMED
3.6	6	Water

١١,٢ . تحديد تسلسل القواعد النيتروجينية للحامض النووي (DNA)

استعملت تقنية PCR لتضخيم منطقة ITS باستعمال البادئ المبين في جدول (٢-٨)

الجدول (٢-٨): أسم البادئ وتسلسل النيوكليوتيدات له (Funk, 2007)

البادئات	(٣'-٥') تسلسل النيوكليوتيدات	
IT'S A	GGAAGGAGAAGTCGTAACAAGG	Forward
ITS b	CTTTTCCTCCGCTTATTGATATG	Inverse

خط حجم ما يقارب ٣ مايكرو لتر من الدنا المستخلص مع ١,٥ مايكرو لتر من كل بادئ -

ITSA و ITSB - و اضيف الى انبوبة PCR المعدة والحاوية على مكونات Master mix

واضيف الماء منقوص الأيونات لإكمال الحجم الى ٢٠ مايكرو لتر ، ثم مزج الخليط جيدا بوضع الانبوبة في جهاز المازج الكهربائي Vortex ، ونقلت الانبوبة إلى جهاز الدورة الحراري PCR-Thermal cycler لإتمام تفاعل البلمرة المتسلسل. ، درس التسلسل النيوكلوتيدي للدنا DNA sequencer وذلك بتحديد تسلسل الجين ITS الناتج من تفاعل البلمرة المتسلسل باستخدام البادئ المصمم من قبل شركة Macro gen الكورية والمحدد تسلسله النيوكلوتيدي .

بعد إجراء فحص الـ PCR تم ارسال ناتج تفاعل PCR product الى شركة Macro company وذلك لأجراء تسلسل الحامض النووي باستخدام جهاز (genetic analyzer) كذلك تم استخدام برنامج قاعدة بيانات الـ PLAST وبرنامج الـ Mega6 لتحليل النتائج المتعلقة بتسلسلات النيوكلوتيدات لنوع النباتي قيد الدراسة ورسم الشجرة التطورية Phylogenetic analysis .

١٢،٢ تحليل النتائج Data Analysis

استخدم جهاز UV - band لايجاد التسلسلات الى منحنيات على محورين متعامدين يمثل المحور X الأحجام الجزيئية للحزم الناتجة في يمثل المحور Y درجة كثافة الحزمة وذلك باستعمال البرنامج (Genetic collection Version ٢,٠ ، Analyser) وحولت قيم المنحنيات الى قيم رقمية للأحجام الجزيئية للحزم باستعمال البرنامج ٣,٧ Gen Mapper Ver ، وحللت النتائج الناتجة باستعمال برنامج (power marker, V.3) في الحاسوب لحساب عدد الاليلات ، التغيرات الوراثي ، التنوع الجيني ومحتوى تعدد الاشكال والتكرار الاليلي الرئيس وهي بيانات مطلوبة في دراسة التباين الوراثي للتراكيب . تم اعتماد Neighbore joining method للحصول على شجرة العلاقات الوراثية (النشوء والتطور) تعتمد على برنامج PAST ، لاستخراج البعد الوراثي وتوضيح الشجرة.

حساب متوسط قيمة (PIC) Polymorphie Information Content

أن المؤشرات التي يظهر القيمة عالية فيها تعد من المؤشرات ذي قيم معلوماتية عالية (Al-Judy 2004) . وقيم القوة التمييزية للتباين الشكلي أو التعدد الشكلي في الحقيقة هي نسبة عدم التماثل الوراثي مطروح منها عامل التكرار الاليلات وحسب هذا يجب ان تكون قيمته دائما اقل من نسبة عدم التماثل الوراثي (Botstein et al., 1980) . وأن هذه القيمة معتمدة في تقييم المؤشرات الوراثية . وتساهم بصورة فعالة في معرفة نسب الخلط الاليلي في المعادلات الإحصائية.

٣ النتائج والمناقشة (Results and Discussion)

١,٣ استخلاص الحامض النووي Genomic DNA Isolation

تم استخلاص الحامض النووي الجينومي من الأوراق الفتية لتراكيب الوراثة وفقاً للطريقة الموصوفة بواسطة عدة خاصة جاهزة من شركة (Geneaid Biotech Ltd) Company Promega وبعد عملية الاستخلاص أهم العمليات الواجب إجراؤها لتقييم كفاءة عملية العزل هو تقدير تركيز ونقاوة DNA التي على أساسها نستمر بالعمليات اللاحقة التي من أجلها استخلاص الدنا تراوح تركيز الحامض النووي المعزول بين ١٥٣ - ٣١٥ نانو غرام / مايكروليتر بنقاوة قدرها ١,٨ ، إذ تم تقديرها من خلال جهاز Uv. visible Spectrophotometer عند الطولين الموجيين ٢٦٠ و ٢٨٠ نانوميتر . وتعود النقاوة الجيدة للحامض النووي الى الطريقة المتبعة في الاستخلاص كونها ذات كفاءة عالية وملائمة لعزل الدنا من النباتات كما تمتاز بالسرعة والبساطة إذ تعمل المواد الكيميائية المكونة للمحاليل على إزاحة مكونات الخلية غير المرغوبة والمحافظة على الحامض النووي المستخلص كما في الجدول (١-٣).

جدول (١-٣) قياس تركيز DNA وتقدير نقاوته لتراكيب الوراثة لنبات الذرة الصفراء

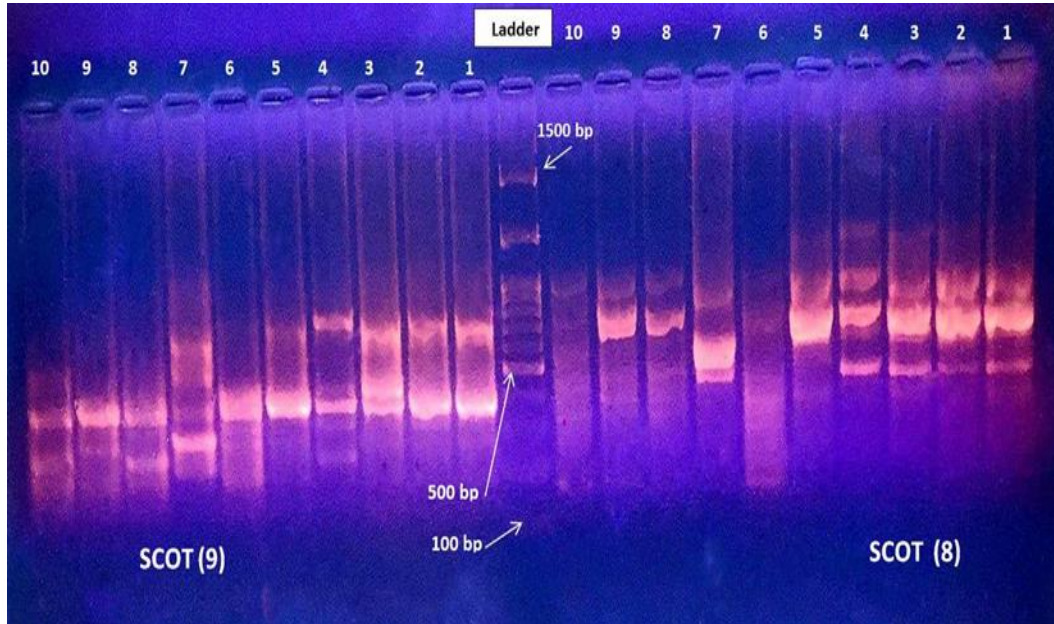
Plant number	Concentration (ng/ml)	Purity (A260/A280)
1	702.3	1.82
2	467.5	1.84
3	550.6	1.80
4	816.9	1.79
5	356.8	1.83
6	479.3	1.78
7	614.5	1.89
8	905.7	1.90
9	614.9	1.87
10	945.8	1.86

٣.١.١ نتائج تضاعف DNA المعتمد على مؤشرات Scot

البادئ Scot 8 و Scot 9

ظهرت نتائج البادئ Scot 8 ، تراوح مدى الحجم الجزيئي للحزم بين ٤٥٠-١٢٠٠ bp زوج قاعدي ، تكرار الأليل الرئيسي ٠,٧٠٠٠ ، وعدد الأليلات كانت ٦,٠٠٠ ، والتنوع الجيني ٠,٤٩٠٠ ، ومحتوى تعدد الأشكال ٠,٤٧٠١ .

وظهرت نتائج البادئ Scot 9 ، تراوح مدى الحجم الجزيئي للحزم بين ٢٥٠-٨٠٠ bp زوج قاعدي ، تكرار الأليل الرئيسي ٠,٦٧٥٠ ، وعدد الأليلات كانت ٩,٠٠٠ ، والتنوع الجيني ٠,٥٢٦٣ ، ومحتوى تعدد الأشكال ٠,٥٠٩٥ . كما في الشكل (١-٣) و الجدولين (٢-٣) و (٣-٣).



شكل (١,٣) : نواتج تضاعف البادئ Scot 8 & Scot 9 المرحلة على هلام الأكاروز بتركيز ١,٥ % لمدة ساعتان مع الدليل الحجمي القياسي (M) بتيار ٣٠ أمبير وبفولتية مقدارها ٧٠ فولت وحسب الترتيب الآتي للتراكيب الوراثية ذرة: ١: (١. سومر، ٢. فجر ١ ، ٣. المها، ٤. بغداد ٣ ، ٥. الهجين نهريين ، ٦. DKC ٦٧٧٧ ٧. ZP.glorya ، ٨. PLOWEER ٩. KWS ، ١٠. Syngenta .

جدول (٣-٢) نتائج تضاعف البادئ Scot ٨ المُرحلة على هلام الأكاروز بتركيز ١,٥ % لمدة ساعتان مع الدليل الحجمي القياسي (M) بتيار ٣ أمبير وبفولتية مقدارها ٧٠ فولت لظهور الحزم ١ و غياب الحزم ٠.

تسلسل الحزم	450 bp	700 bp	1000 bp	1200 bp
1	1	0	1	0
2	1	0	1	1
3	1	0	1	1
4	1	0	1	1
5	1	0	1	0
6	0	0	0	0
7	1	1	0	0
8	0	0	1	0
9	0	0	1	0
10	0	0	1	0

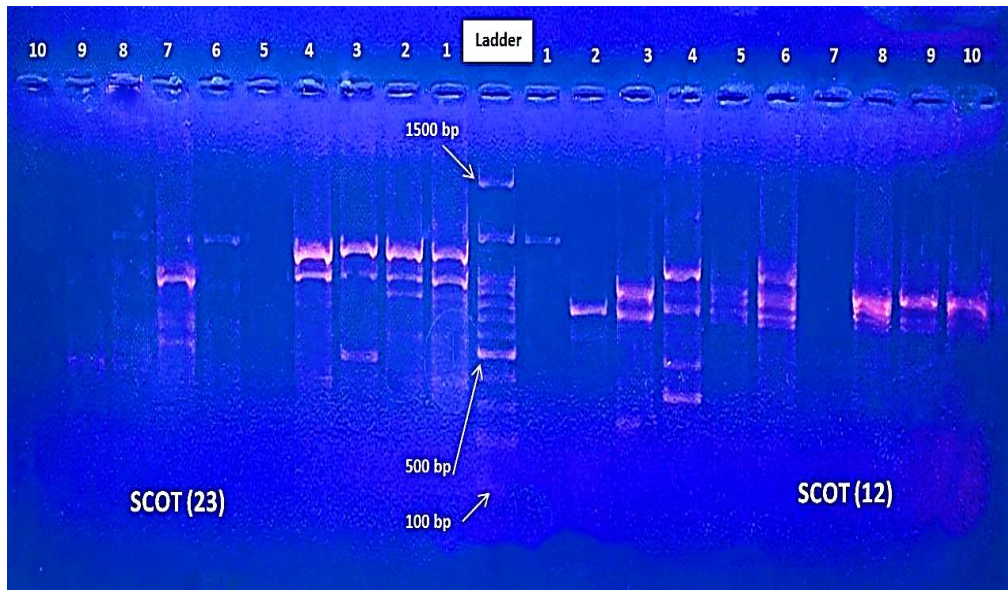
جدول (٣-٣) نتائج تضاعف البادئ Scot 9 المُرحلة على هلام الأكاروز بتركيز ١,٥ % لمدة ساعتان مع الدليل الحجمي القياسي (M) بتيار ٣ أمبير وبفولتية مقدارها ٧٠ فولت لظهور الحزم ١ و غياب الحزم ٠.

التسلسل ل	250 bp	270 bp	300 bp	400 bp	450 bp	500 bp	650 bp	700 bp	800 bp
1	0	0	0	1	0	0	0	1	0
2	0	0	0	1	0	0	0	1	0
3	0	0	0	1	1	0	0	1	0
4	1	0	1	1	0	0	0	0	1
5	0	0	0	1	0	0	0	1	0
6	0	0	0	1	1	0	0	0	0
7	0	1	0	1	0	1	1	0	0
8	1	0	0	1	0	0	0	0	0
9	0	1	0	1	0	0	0	0	0
10	1	0	0	1	0	0	0	0	0

البادئ Scot 12 و Scot 23

ظهرت نتائج البادئ Scot 12 ، تراوح مدى الحجم الجزيئي للحزم بين ١٢٠٠-٣٠٠ bp زوج قاعدي ، تكرار الأليل الرئيسي ٠,٦٠٠٠ ، وعدد الأليلات كانت ١٥,٠٠٠ ، والتنوع الجيني ٠,٦٢٧٥ ، ومحتوى تعدد الأشكال ٠,٦١٨٤

وظهرت نتائج البادئ Scot 23 ، تراوح مدى الحجم الجزيئي للحزم بين ١٢٠٠-٣٠٠ bp زوج قاعدي ، تكرار الأليل الرئيسي ٠,٦٠٠٠ ، وعدد الأليلات كانت ١٣,٠٠٠ ، والتنوع الجيني ٠,٦٢١٣ ، ومحتوى تعدد الأشكال ٠,٦٠٧٥ كما في شكل (٤,٣) و الجدولين (٤-٣) و (٥-٣)



الشكل (٣-٢) : نواتج تضاعف البادئ Scot 23 & Scot 12 المرحلة على هلام الأكاروز بتركيز ١,٥ % لمدة ساعتان مع الدليل الحجمي القياسي (M) بتييار ٣٠ أمبير وبفولتية مقدارها ٧٠ فولت وحسب الترتيب الآتي للتركيب الوراثية: (١. سومر، ٢. فجر ١، ٣. المها، ٤. بغداد ٣، ٥. الهجين نهرين ، ٦. Syngenta ٧ DKC 6777 ، ٨. PLOWEER ٩. KWS ، ١٠. ZP.glorya)

جدول (٣-٤) نتائج تضاعف البادئ Scot 12 المرحلة على هلام الأكاروز بتركيز ١,٥ % لمدة ساعتان مع الدليل الحجمي القياسي (M) بتييار ٣ أمبير وبفولتية مقدارها ٧٠ فولت لظهور الحزم ١ و غياب الحزم ٠.

1200 bp	1100 bp	1000 bp	950 bp	900 bp	850 bp	800 bp	750 bp	400 bp	300 bp	التسلسل
1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	2
0	0	0	1	0	1	0	0	0	1	3
0	1	0	0	1	0	0	1	1	0	4
0	0	1	1	1	1	0	0	0	0	5
0	1	1	1	1	1	0	0	0	0	6
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	7
0	0	1	1	1	1	0	0	0	0	8
0	0	1	0	1	1	0	0	0	0	9
0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	10

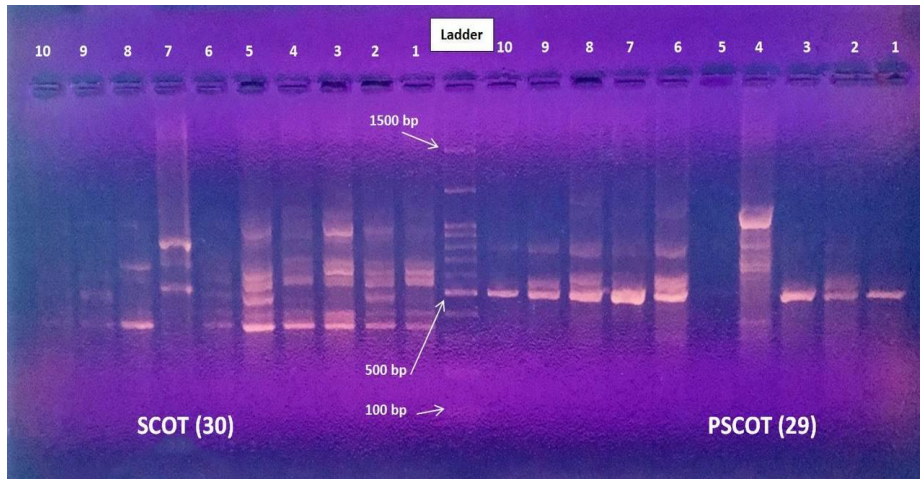
جدول (٣-٤) نتائج تضاعف البادئ Scot 23 المرحلة على هلام الأكاروز بتركيز ١,٥ % لمدة ساعتان مع الدليل الحجمي القياسي (M) بتيار ٣ أمبير وبفولتية مقدارها ٧٠ فولت لظهور الحزم ١ و غياب الحزم ٠.

التسلسل	300 bp	350 bp	400 bp	600 bp	900 bp	950 bp	1000 bp	1100 bp	1200 bp
1	1	0	1	0	1	0	1	0	1
2	1	0	1	1	1	0	1	0	1
3	0	1	0	0	0	0	1	0	1
4	1	0	0	0	0	0	1	1	0
5	0	0	0	0	0	0	0	0	0
6	0	0	0	0	0	0	0	0	1
7	0	0	1	1	0	1	1	0	1
8	1	0	0	0	0	0	0	0	1
9	1	0	0	0	0	0	0	0	0
10	0	0	0	0	0	0	0	0	0

البادئ Scot 29 و Scot 30

ظهرت نتائج البادئ Scot 29 ، تراوح مدى الحجم الجزيئي للحزم بين ١٢٠٠-٣٥٠ bp زوج قاعدي ، تكرار الأليل الرئيسي ٠,٦٥٠٠ ، وعدد الأليلات كانت ١٠,٠٠٠ ، والتنوع الجيني ٠,٥٦١٣ ، ومحتوى تعدد الاشكال ٠,٥٤٧٣

وظهرت نتائج البادئ Scot 30 ، تراوح مدى الحجم الجزيئي للحزم بين ١١٠٠-٣٥٠ bp زوج قاعدي ، تكرار الأليل الرئيسي ٠,٤٠٠٠ ، وعدد الأليلات كانت ١٥,٠٠٠ ، والتنوع الجيني ٠,٨٠٢٥ ، ومحتوى تعدد الاشكال ٠,٧٨٩٤ ، شكل (٣,٣) و الجدولين (٦-٣) و (٧-٣) .



شكل (٣,٣) : نواتج تضاعف البادئ Scot 30 & Scot 29 المرحلة على هلام الأكاروز بتركيز ١,٥ % لمدة ساعتان مع الدليل الحجمي القياسي (M) بتيار ٣٠ أمبير وبفولتية مقدارها ٧٠ فولت وحسب الترتيب الآتي للتراكيب الوراثية ذرة: (١. سومر، ٢. فجر ١، ٣. المها، ٤. بغداد ٣، ٥. الهجين نهري، ٦. Syngenta ٧ DKC 6777 ، ٨. PLOWEER ٩. KWS ، ١٠. ZP.glorya .

جدول (٦-٣) نتائج تضاعف البادئ Scot 29 المُرحلة على هلام الأكاروز بتركيز ١,٥ % لمدة ساعتان مع الدليل الحجمي القياسي (M) بتيار ٣ أمبير وبفولتية مقدارها ٧٠ فولت لظهور الحزم ١ و غياب الحزم ٠.

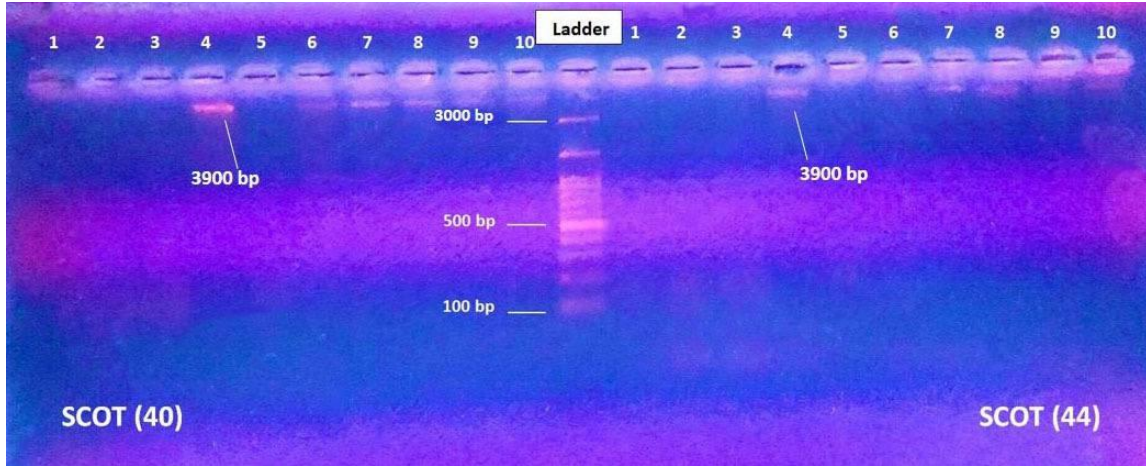
التسلسل	350 bp	500 bp	550 bp	700 bp	800 bp	1100 bp	1200 bpp
1	0	1	0	0	0	0	0
2	0	1	1	0	0	0	0
3	0	1	0	0	0	0	0
4	1	0	0	1	1	1	1
5	0	0	0	0	0	0	0
6	0	1	1	0	1	0	1
7	0	1	0	0	1	0	0
8	0	1	1	0	1	0	1
9	0	1	1	0	1	0	0
10	0	1	0	0	1	0	0

جدول (٧-٣) نتائج تضاعف البادئ Scot 30 المُرحلة على هلام الأكاروز بتركيز ١,٥ % لمدة ساعتان مع الدليل الحجمي القياسي (M) بتيار ٣ أمبير وبفولتية مقدارها ٧٠ فولت لظهور الحزم ١ و غياب الحزم ٠.

التسلسل ل	350 bp	400 bp	450 bp	550 bp	700 bp	900 bp	1000 bp	1100 bp
1	1	1	0	1	1	0	1	0
2	1	1	1	1	1	0	1	0
3	1	1	0	1	1	1	1	1
4	1	1	1	1	1	1	1	1
5	1	1	1	0	0	0	1	0
6	1	1	1	0	0	0	0	0
7	0	0	1	0	1	1	0	0
8	0	1	0	1	1	0	0	0
9	1	0	0	0	0	0	0	0
10	0	1	0	0	0	0	0	0

البادئ Scot 40 و Scot 44

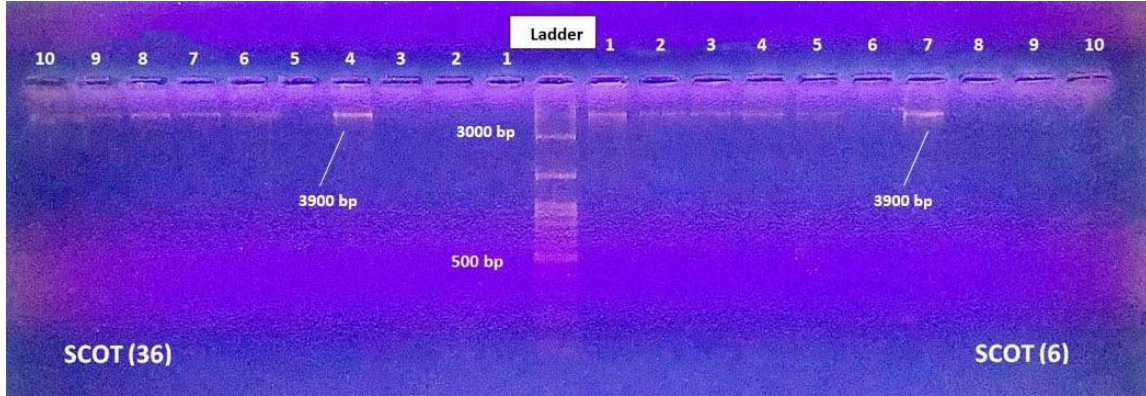
نلاحظ في الشكل (٤-٣) نتائج البادئ Scot40 و Scot 44 مدى الحجم الجزيئي للحزمة منفردة قيمتها ٣٩٠٠ bp زوج قاعدي ، تكرار الأليل الرئيسي ١,٠٠٠٠ ، وعدد الأليلات كانت ١,٠٠٠٠ .



الشكل (٣-٤) : نواتج تضاعف البادئ Scot 40 & Scot 44 المرحلة على هلام الأكاروز بتركيز ١,٥ % لمدة ساعتان مع الدليل الحجمي القياسي (M) بتييار ٣٠ أمبير وبفولتية مقدارها ٧٠ فولت وحسب الترتيب الآتي للتراكيب الوراثية ذرة: (١. سومر، ٢. فجر ١، ٣. المها، ٤. بغداد ٣، ٥. الهجين نهرين، ٦. ZP.glorya 7 DKC 6777 ، ٨. Syngenta ٩. KWS ، ١٠. PLOWEER .

البادئ Scot 36 و Scot 6

أظهرت الشكل (٣-٥) نتائج البادئ Scot 6 مدى الحجم الجزيئي للحزمة منفردة قيمتها ٣٩٠٠ bp زوج قاعدي، تكرار الأليل الرئيسي ١,٠٠٠٠، وعدد الأليلات كانت ١,٠٠٠٠ .

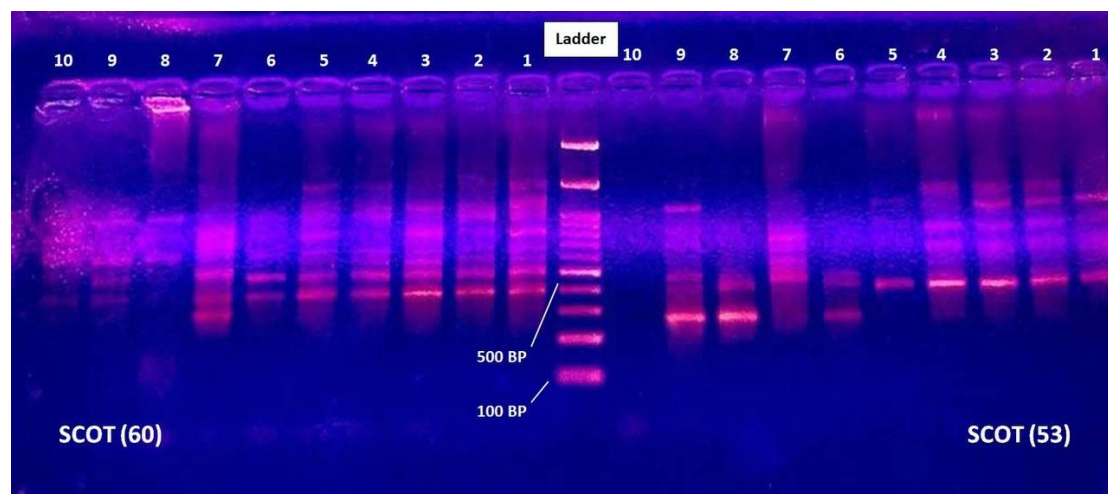


الشكل (٣-٥) : نواتج تضاعف البادئ Scot 36 & Scot 6 المرحلة على هلام الأكاروز بتركيز ١,٥ % لمدة ساعتان مع الدليل الحجمي القياسي (M) بتييار ٣٠ أمبير وبفولتية مقدارها ٧٠ فولت وحسب الترتيب الآتي للتراكيب الوراثية ذرة: (١. سومر، ٢. فجر ١، ٣. المها، ٤. بغداد ٣، ٥. الهجين نهرين، ٦. ZP.glorya 7 DKC 6777 ، ٨. PLOWEER ٩. KWS ، ١٠. Syngenta .

البادئ Scot 60 و Scot 53

ظهرت نتائج البادئ Scot 53 ، تراوح مدى الحجم الجزيئي للحزم بين ١٧٠٠-٢٥٠ bp زوج قاعدي، تكرار الأليل الرئيسي ٠,٤٧٥٠، وعدد الأليلات كانت ١٣,٠٠٠، والتنوع الجيني ٠,٧٤٠٠، ومحتوى تعدد الأشكال ٠,٧٢٣٦ .

وظهرت نتائج البادئ Scot 60 ، تراوح مدى الحجم الجزيئي للحزم بين 300-1800 bp زوج قاعدي ، تكرار الأليل الرئيسي 2500 ، وعدد الأليلات كانت 15,000 ، والتنوع الجيني 8788 ، ومحتوى تعدد الأشكال 8687 ، شكل (3-6) كما في الجدولين (3-8) و (3-9).



الشكل (3-6) : نواتج تضاعف البادئ Scot 60 & Scot 53 المرحلة على هلام الأكاروز بتركيز 1,5 % لمدة ساعتان مع الدليل الحجمي القياسي (M) بتيار 30 أمبير وبفولتية مقدارها 70 فولت وحسب الترتيب الآتي للتراكيب الوراثية ذرة: (1. سومر، 2. فجر 1، 3. المها، 4. بغداد 3، 5. الهجين نهريين ، 6. Syngenta 7 DKC 6777 ، 8. PLOWEER ، 9. KWS ، 10. ZP.glorya .

جدول (3-8) نتائج تضاعف البادئ Scot 30 المرحلة على هلام الأكاروز بتركيز 1,5 % لمدة ساعتان مع الدليل الحجمي القياسي (M) بتيار 3 أمبير وبفولتية مقدارها 70 فولت لظهور الحزم 1 و غياب الحزم 0 .

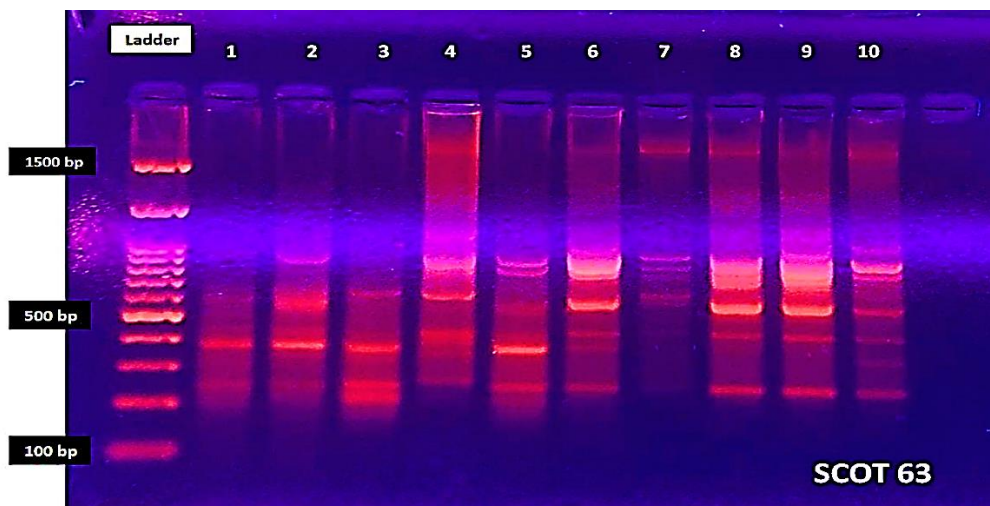
1700 bp	1200 bp	1100 bp	1000 bp	600 bp	450 bp	400 bp	250 bp	التسلسل
1	0	1	1	0	0	1	0	1
1	1	1	1	0	0	1	0	2
1	1	1	1	0	0	1	0	3
1	1	1	1	0	0	1	0	4
0	0	1	1	0	0	1	0	5
0	0	0	0	0	1	1	1	6
1	0	0	1	1	0	0	0	7
0	0	0	0	0	0	1	1	8
0	0	1	1	0	1	1	1	9
0	0	0	0	0	0	0	0	10

جدول (٩-٣) نتائج تضاعف البادئ Scot 30 المرحلة على هلام الأكاروز بتركيز ١,٥ % لمدة ساعتان مع الدليل الحجمي القياسي (M) بتيار ٣ أمبير وبفولتية مقدارها ٧٠ فولت لظهور الحزم ١ و غياب الحزم ٠.

التسلسل	300 bp	400 bp	500 bp	600 bp	700 bp	1000 bp	1100 bp	1200 bp	1800 bp
1	0	1	1	1	1	1	1	1	0
2	0	1	1	1	1	1	0	1	0
3	0	1	1	1	1	0	1	0	0
4	0	1	1	1	0	1	0	1	0
5	0	1	1	1	1	1	1	1	0
6	0	1	1	1	0	0	0	0	0
7	1	1	1	1	1	0	0	0	0
8	0	0	0	1	1	1	0	0	1
9	0	1	1	1	1	1	0	0	0
10	0	1	1	1	1	1	1	0	0

البادئ . Scot 63

ظهرت نتائج البادئ Scot 63 ، تراوح مدى الحجم الجزيئي للحزم بين ٢٠٠-١٦٠٠ bp زوج قاعدي ، تكرار الأليل الرئيسي ١,٠٠٠٠٠ ، وعدد الأليلات كانت ٢١,٠٠٠ ، والتنوع الجيني ٩٣٦٣ ، ومحتوى تعدد الأشكال ٩٣٢٦ ، كما في الشكل (٧-٣) و الجدول (١٠-٣)



شكل (٧-٣) : نواتج تضاعف البادئ Scot 63 المرحلة على هلام الأكاروز بتركيز ١,٥ % لمدة ساعتان مع الدليل الحجمي القياسي (M) بتيار ٣ أمبير وبفولتية مقدارها ٧٠ فولت وحسب الترتيب الآتي للتراكيب الوراثية : (١) .سومر، ٢. فجر ١ ، ٣. المها ، ٤. بغداد ٣ ، ٥. الهجين نهري ، ٦. ZP.glorya DKC 6777 ، ٧. Syngenta ، ٨. PLOWEER ، ٩. KWS ، ١٠.

جدول (٣-١٠) نتائج تضاعف البادئ Scot 63 المُرحلة على هلام الأكاروز بتركيز ١,٥ % لمدة ساعتان مع الدليل الحجمي القياسي (M) بتيار ٣ أمبير وبفولتية مقدارها ٧٠ فولت لظهور الحزم ١ و غياب الحزم ٠.

1600 bp	1100 bp	1050 bp	950 bp	900 bp	800 bp	650 bp	600 bp	550 bp	450 bp	400 bp	350 bp	250 bp	200 bp	التسلسل
0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	1	0	1
0	0	0	1	0	0	0	1	1	1	1	0	1	1	2
0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	1	0	1	1	3
1	1	0	0	1	0	1	0	1	1	1	1	0	0	4
0	0	0	0	1	0	0	1	1	1	0	0	1	1	5
1	0	0	1	1	1	0	1	1	1	0	0	1	0	6
1	0	0	1	1	1	1	1	1	0	0	0	1	0	7
1	0	0	0	1	1	0	1	1	0	0	0	1	0	8
1	1	0	1	1	1	0	1	1	0	0	0	1	0	9
1	0	1	0	1	1	0	1	1	0	1	0	1	0	10

جدول (٣-١١) : الحجم الجزيئي للحزم ، تكرار الأليل الرئيسي ، عدد الأليلات ، التنوع الجيني ، التغيرات الوراثي ، ومحتوى المعلومات متعددة الأشكال.

محتوى المعلومات متعددة الأشكال	التغيرات الوراثي	التنوع الجيني	عدد الأليلات	تكرار الأليل الرئيسي	الحجم الجزيئي للحزم bp	البادئ
0.6017	0.7500	0.6632	4.0000	0.4583	1200-450	scot 8
0.7716	1.0000	0.7959	9.0000	0.3462	800-250	scot 9
0.8343	0.8750	0.8516	10.0000	0.2188	1200-300	scot12
0.7995	0.8750	0.8203	9.0000	0.3125	1200-300	scot23
0.7384	0.8571	0.7704	7.0000	0.3571	1200-350	scot 29
0.8433	0.9167	0.8594	8.0000	0.2083	1100-350	scot 30
0.8168	1.0000	0.8379	7.0000	0.2143	1700-250	scot53
0.8436	1.0000	0.8600	9.0000	0.1833	1800-300	scot 60
0.9013	1.0000	0.9086	14.0000	0.1389	1600-200	scot 63
0.0000	0.0000	0.0000	1.0000	1.0000	3900	scot 36
0.0000	0.0000	0.0000	1.0000	1.0000	3900	scot 6
0.6500	0.7522	0.6697	7.1818	0.4034		Mean

تم اختبار ١٣ بوادئ الموضحة في جدول (٣-١٠) أعلاه إذ أعطت تضاعف في مواقع معينة لجينوم نبات ذرة وأنتجت حزم مختلفة في العدد والحجم الجزيئي باختلاف البادئ المستعمل، ولغرض تسجيل البيانات وتحليلها ثم ترحيلها على هلام الأكاروز بعد إكمال برنامج PCR.

أظهرت الصور حزم متماثلة كحزمة واحدة أو متباينة كحزمتين وتم تسجيل الملاحظات لكل مؤشر اعتمادا على حجم ونوع موقعه الحزم (Homozygote Heterozygote) كون مؤشرات Scot ذات سيادة مشتركة لذا فإن متباينة الزيجة تظهر بحزمتين متخصصة ويمكن تحديدها بسهولة (Wu et al., 2010). مما يزيد من كفاءة ودقة قياس الوراثة السكانية بالمقارنة مع المؤشرات الأخرى. (Wang et al., 2009)

لم تظهر بعض التراكيب الوراثية المستعملة في هذه الدراسة حزم عند تطبيق بعض البوائى مع DNA لعدم وجود تتابعات من القواعد النتروجينية المكمل للبادئ في الشريط المفرد من قالب DNA وهذا يعني أن البادئ غير متخصص على جينات هذا التراكيب ، مما يدل أن هذه الجينات ليس لها فعالية فهي أما مواقع ذات اليلات متتحية يكشف عنها البادئ أو أنها جينات موجودة في DNA المايوتوكونديريا أو البلاستيدات الموجودة في الساييتوبلازم وذات تعبير جيني غير مؤثر ، بينما بقية التراكيب الوراثية تمتلك مواقع جينية سائدة (Nishiguchi et al., 2008) .

٣,٣ الابعاد الوراثية و شجرة العلاقة الوراثية بين التراكيب قيد الدراسة باستعمال تقنية

Jaccard

عند حساب قيم الابعاد الوراثية باستعمال Jaccard للتراكيب الوراثية ١٠ المستعملة في الدراسة مقدرة كنسبة مئوية بحسب ما هو موضح في جدول (٣-١٢) .

جدول (٣-١٢) التحليل التجمعي لشجرة العلاقة الوراثية لعشرة تراكيب وراثية من الذرة اعتمادا على معامل مقياس Jaccard

syngenta	KWS	PLOWEER	ZP.glorya	DKC 6777	الهجين النهريين	بغداد ٣	المها	فجر ١	سومر	
									0.0000	سومر
								0.0000	0.3095	فجر ١
							0.0000	0.4490	0.4419	المها
						0.0000	0.5932	0.5500	0.6071	بغداد ٣
					0.0000	0.6429	0.5227	0.4667	0.4615	الهجين النهريين
				0.0000	0.5953	0.7167	0.7308	0.6792	0.7551	DKC 6777
			0.0000	0.6667	0.7400	0.7143	0.7037	0.6296	0.6735	ZP.glorya
		0.0000	0.7143	0.4474	0.6512	0.7119	0.7500	0.6731	0.6957	PLOWEER
	0.0000	0.4474	0.6383	0.4211	0.5610	0.6949	0.7547	0.6275	0.6739	KWS
0.0000	0.5143	0.5000	0.6667	0.5946	0.6216	0.7455	0.7660	0.7347	0.7073	Syngenta

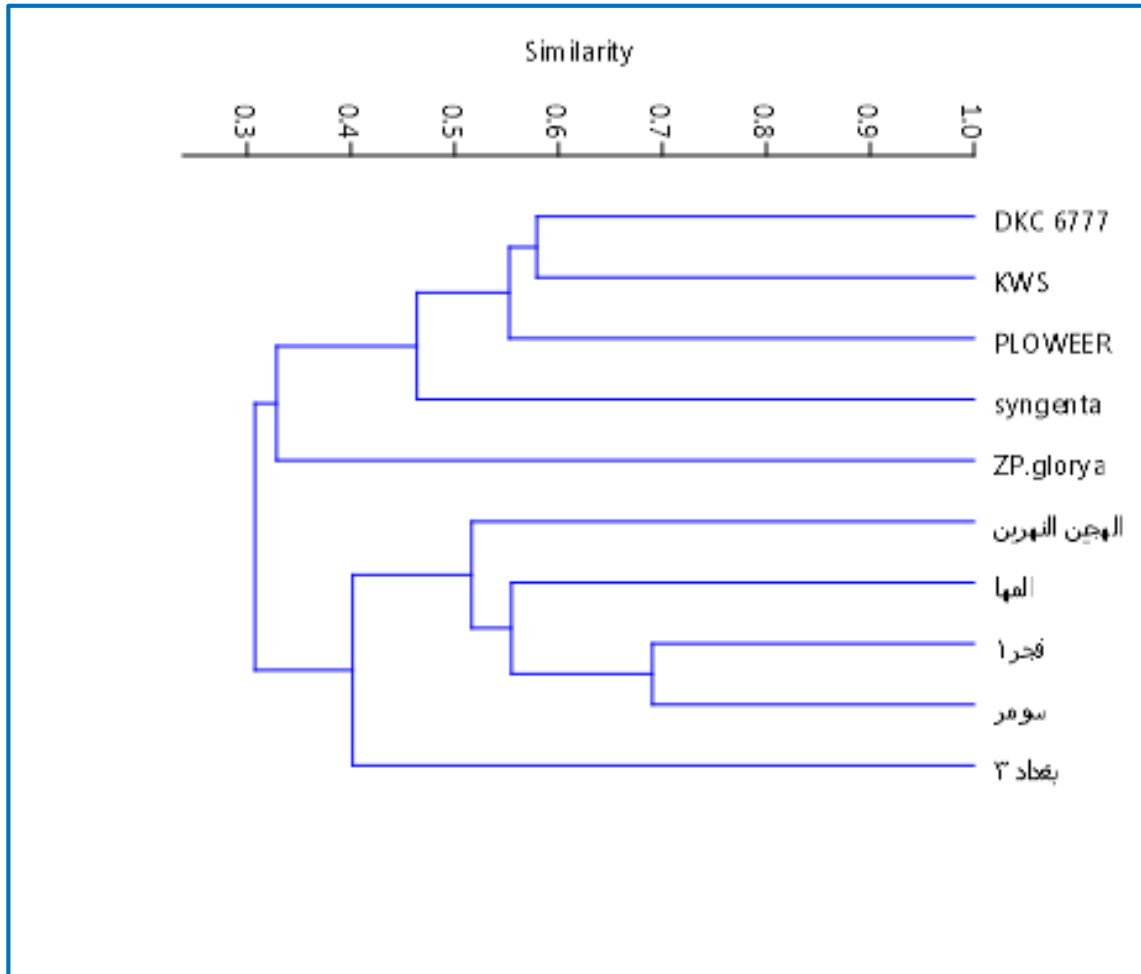
اعتمدت نتائج البادئات التي استعملت في تقدير نسبة التباين الوراثي Genetic distance بين كل تركيبين من التراكيب الموصوفة والمنتخبة من قبل (Schmitt, 1981) استناداً الى وجود الحزم المشتركة بين زوج من تلك النباتات ، وبعد إدخال البيانات التي كانت ناتج من استعمال البادئات في البرنامج المعد خصيصاً لهذا الغرض على الحاسب الآلي تم إيجاد البعد الوراثي بين التراكيب المختارة لنبات ذرة وكما موضح في الجدول اعلاه كما استعملت علامة Scot لتقدير التباين الوراثي والقرابة بين ١٠ تراكيب لنبات ذرة وعلى الرغم من الطبيعة الفطرية لأنواع إن التباين الوراثي هو الصفة العامة على قرابة التراكيب وكان التباين بين الصنفين سومر و الفجر ١ اقل قيمة بلغت (٠,٣٠٩٥) وهذه النسبة تشير الى أن التشابه فيه أعلى ما يمكن وكذلك كان اقل بعد وراثي نتيجة تطابق المادة الوراثية لأي عينتين من العينات المدروسة تعني البعد الوراثي بينهما يكون صفر ودرجة التشابه الوراثي تساوي ١ اي ١٠٠ % ، مما يدل على انتمائهما لمجموعة واحدة ، وكذلك اشتراكهما بنفس اليليلات التي نحدرا اليهما من سلف مشترك ancestor وعلى هذا الاساس تبنى العلاقة الوراثية بينما اظهر صنفى المها و Syngenta اعلى قيمة تباين بلغت (٠,٧٦٦٠) لانها ليس من اسلاف مشتركة فضلاً عن الاختلاف في الظروف البيئية (Ashfaq and Khan., 2012) .

ظهرت نتائج التحليل التجميعي في شكل (٣-٨) على شكل شجرة العلاقة الوراثية (dendrogram) إلى مجموعتين وراثيتين رئيسيتين هما المجموعة الأولى فيها خمسة تراكيب مدخلة هي DKC 6777 , ZP.glorya, PLOWEER, KWS, syngenta حيث وجد ان تركيبان DKC 6777 و KWS ضمن مجموعة فرعية واحدة . بينما المجموعة الثانية ضمت خمسة تراكيب محلية هي سومر، و فجر ١، و المها، و بغداد ٣، و الهجين النهرين. فضلاً أن بعض التراكيب ترتبت ضمن مجموعة واحدة وهذا يعود سببه الى أصولها المشتركة كما في التراكيب فجر ١ ، و سومر .

أما بقية التراكيب فقد تجمعت معاً ليس اعتماداً على أصولها فقط وهذا ربما يعود سببه الى اختلافات في الصفات المظهرية وبعض الجينات المتعلقة بمقاومة الاجهادات الحية وغير الحية كما أن بعض التراكيب تدرج تحت مسميات مختلفة لأغراض تجارية أو تعود الى التهجينات وبرامج التربية لهذه التراكيب (Chen at el., ٢٠٢٠) .

وجد ان أهمية إيجاد البعد الوراثي لمربي النبات الناتج عن طريق التحليلات الوراثية بين التراكيب على مستوى الدنا التي تساعده في ظهور صفات مرغوبة وتكوين توافقات وراثية جديد وخاصة عند تطوير النباتات من ناحية مقاومتها للأمراض والظروف البيئية غير ملائمة عن طريق

اختيار اباء ملائمة ، وذلك لأنه ، من الصعوبة إيجاد البعد الوراثي بين التراكيب اعتماداً على الصفات المظهرية (Lucchini *at el.*, 2002)

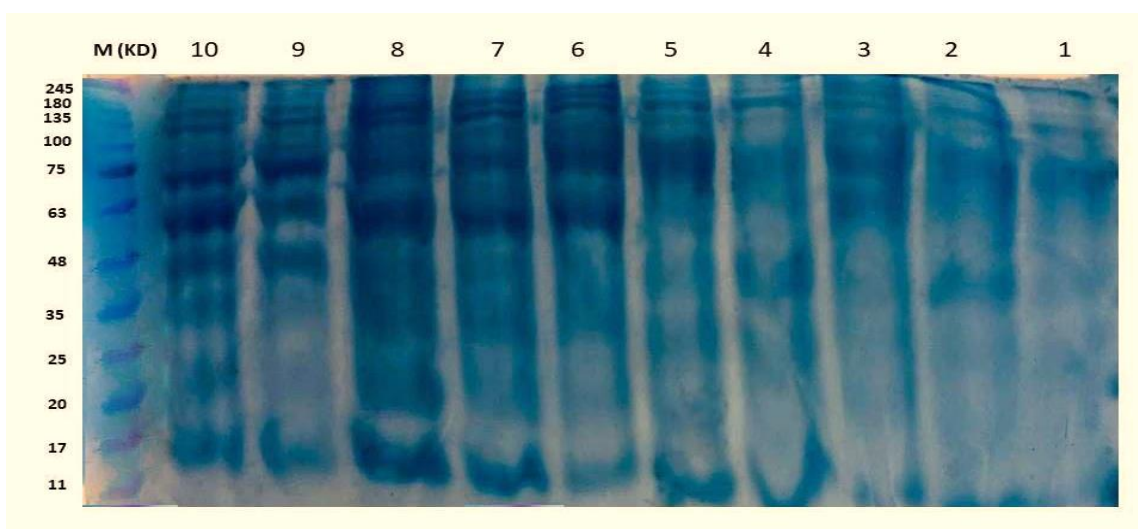


الشكل (٣-٨) شجرة العلاقة الوراثية Dendrogram بين التراكيب الوراثية لنبات ذرة المدروسة باستعمال مقياس Jaccard للتراكيب الوراثية

٤,٣ الدراسة البروتينية

تبين النتائج في جدول (٣-١٣) ان أنماط البروتين الكلي أعطت بصمة منفردة للتراكيب الوراثية قيد الدراسة وهذا يؤكد اهمية بروتين البذور كأحد طرق تشخيص الوراثي (Vishwanath *et al.*, 2011).

ظهرت ٨ حزم (٢٤٥ و ٢٠٠ و ١٨٠ و ١٣٥ و ١٠٠ و ٧٥ و ٤٨ و ١٧) في كل التراكيب الوراثية وكانت الحزم الأخرى متباينة في الظهور بين التراكيب المدروسة . ويبين الجدول ان عدد الحزم لكل صنف تراوح بين ٩-١٢ حزمة. يظهر الشكل (٣-٩) أنماط حزم البروتين الكلي المرحل على هلام البولي اكريل امايد .



الشكل (٣-٩) : حزم البروتين الكلي للبذور (245 KDa -17 KD) لعشر تراكيب وراثية من ذرة وحسب الترتيب الآتي للتراكيب الوراثية ذرة: ١. سومر ٢. فجر ١ ٣. المها ٤. بغداد ٣ ٥. الهجين نهري ٦. Syngenta PLOWEER ٨. ٩. KWS . ZP.glorya 7 DKC 6777 . ١٠.

الجدول (٣-١٣): حزم البروتين الكلي للبذور (245 KDa -17 KD) لعشر تراكيب وراثية من ذرة المرحل على هلام اكريل امايد. . ظهور الحزمة (١) وغياب الحزمة (٠)

No .	245 KD	200 KD	180 KD	135 KD	100 KD	75 KD	63 KD	48 KD	35 KD	25 KD	20 KD	17 KD
1	1	1	1	1	1	1	0	1	0	1	0	1
2	1	1	1	1	1	1	0	1	0	1	0	1
3	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	0	1
4	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1
5	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1
6	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
7	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
8	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
9	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	1
10	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1

توضح النتائج في جدول (٣-١٣) ان أنماط البروتين الكلي أعطت عددا من الحزم الرئيسية بلغ ١٢ حزمة تباينت في اوزانها بين 17 KD و 245 KD ، وعدد الحزم الكلي بلغ ١٠٨ حزمة وكان من بينها ٨ من الحزم المتماثلة و ٤ من الحزم المتغايرة. بلغت نسبة التباين (الاختلاف) بين التراكيب ٢٦% مما يدل ان نسبة التماثل (التشابه) ٧٤% . ان مستوى التماثل أعلى من مستوى التباين بين التراكيب المدروسة .

الجدول (٣-١٤) : عدد حزم البروتين الكلي للبدور المرحل على هلام البولي اكريلاميد.

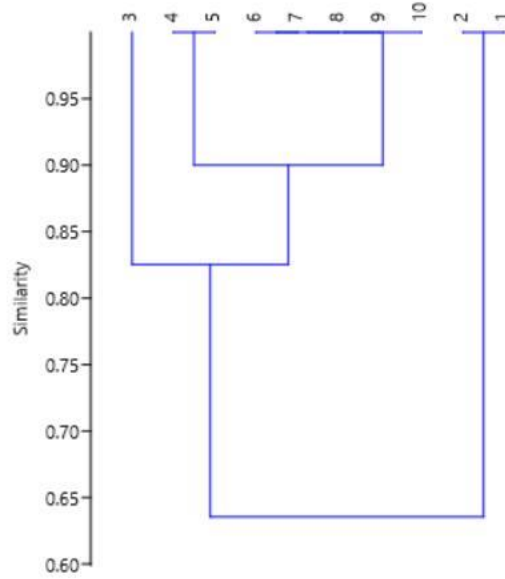
عدد الأصناف المشخصة	التغاير	الحزم المتغايرة	الحزم المتماثلة	عدد الحزم الكلي	عدد الحزم الرئيسية	الاحجام الجزيئية للحزم بوحدة KDa
10	32	4	8	108	12	17-245

وكانت نتائج التحليل التجميحي التي تظهر على شكل شجرة (dendrogram) شجرة العلاقة الوراثية) إلى مجموعتين وراثيتين رئيسيتين ضمت المجموعة الأولى تركيبين ١ و ٢ والمجموعة الثانية ضمت باقي التركيب الوراثية أظهرت شجرة العلاقة الوراثية أن بعض التركيب ترتبت ضمن مجموعة واحدة وهذا يعود سببه الى أصولها المشتركة كما في التركيب فجر ١ والمها وبغداد ٣ والهجين نهرين كونها تركيب محلية (الشكل ٣، ١٠)

وعند حساب قيم تشابه الوراثية للتركيب الوراثية لنبات الذرة المستعملة في الدراسة مقدرة كنسبة مئوية بحسب ما هو موضح في الجدول(٣-٥) واطهرت النتائج اعلى نسبة تشابه بين ١ و ٢ والتي بلغت (١) و اقل نسبة التشابه ٠,٦ بين التركيب ٢, ١ مع التركيب ٤, ٥, ٦, ٧, ٨, ٩, ١٠.

الجدول (٣-١٥): التحليل التجميحي لشجرة العلاقة الوراثية لعشرة تركيب وراثية من الذرة اعتمادا على معامل مقياس Upgma بناء على كمية البروتين الكل في البذور للتركيب الوراثية

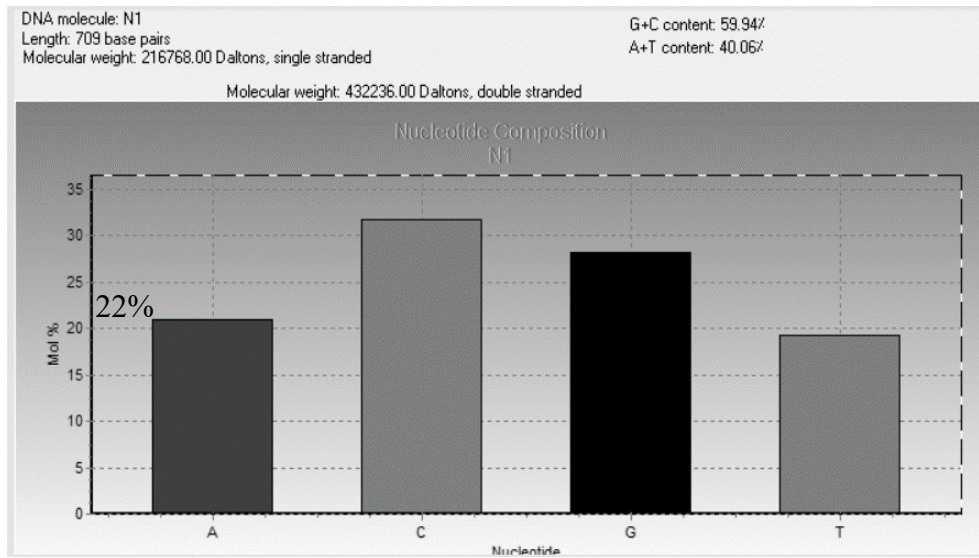
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1	1									
2	1	1								
3	0.75	0.75	1							
4	0.6	0.6	0.8	1						
5	0.6	0.6	0.8	1	1					
6	0.6	0.6	0.8	0.9	0.9	1				
7	0.6	0.6	0.8	0.9	0.9	1	1			
8	0.6	0.6	0.8	0.9	0.9	1	1	1		
9	0.6	0.6	0.8	0.9	0.9	1	1	1	1	
10	0.6	0.6	0.8	0.9	0.9	1	1	1	1	1



الشكل (٣-١٠) شجرة العلاقة الوراثية Dendrogram بين التراكيب الوراثية لنبات ذرة المدروسة باستعمال مقياس Upgma بناء على كمية البروتين الكل في البذور وحسب الترتيب الآتي للتراكيب الوراثية ذرة: ١. سومر ٢. فجر ١ ٣. المها ٤. بغداد ٣ ٥. الهجين نهريين ٦. ZP.glorya 7 DKC 6777 . ٧. Syngenta PLOWEER ٨. ٩. KWS ١٠.

٥.٣ تحديد التسلسل النيوكليوتيدي DNA Sequencing

تم تضخيم مناطق ITSA و ITSB الموجودة بين جينات عشر تراكيب وراثية وأظهرت نتائج حساب نسب كل قاعدة نتروجينية للعينات التي تضم رقم انضمام جيني OR506162 وبمساعدة برنامج GC Content Calculator Vector Builder أن طول القطعة الجينية هو 709 bp وكانت نسب كل قاعدة كالتالي.



شكل (١١, ٣): النسبة المئوية لأنواع نيوكليوتيدات الموجودة لتسلسل العينة سومر والتي تحمل رقم انضمام الجيني (OR506162)

Download GenBank Graphics Next Previous Descriptions

Zea mays strain M231 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene, complete sequence; and internal transcribed spacer 2, partial sequence

Sequence ID: [MF780726.1](#) Length: 651 Number of Matches: 1

Range 1: 154 to 314 GenBank Graphics Next Match Previous Match

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
231 bits(125)	3e-59	149/161(93%)	0/161(0%)	Plus/Plus
Query 252	ACGACTCTCGGCAACGGATATCTCGGCTCTCGCATCGATGAAGAACGTAGCGAAATGCCA	311		
Sbjct 154A.....	213		
Query 312	TACTTGGTGTGAATTGCAGAATCCCGTGAACCATCGAGTCTTTGAACGCTTGTTCGCCCC	371		
Sbjct 214C.....T.....AA.....	273		
Query 372	CAAGCCGTTAGGCCGAGGGCAGCTGCCTGGGTGTCACGC	412		
Sbjct 274	G.....T.CT..G.....C.....	314		

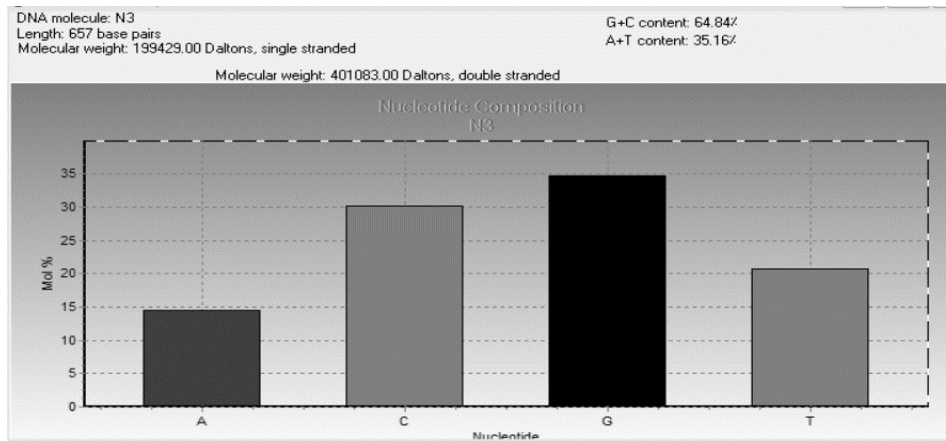
شكل (١٢, ٣) محاذاة تسلسل القواعد النيتروجينية للعينة قيد الدراسة التي تحمل رقم انضمام جين OR506162 مع العينة الموجودة في مصر التي تحمل رقم انضمام جيني ID : MF780726.1 والتي أظهرت نسبة تطابق ٩٣ % في برنامج Blast

lcl|Query_58623

0.009

Zea mays strain M231 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene, complete sequence; and intern...
Zea mays strain M10 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene, complete sequence; and internal...
Zea mays clone 16139 mRNA sequence
Zea mays cultivar Talar f1 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene, complete sequence; and int...
Zea mays clone 1503689 mRNA sequence
Zea mays cultivar almaha internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene, complete sequence; and int...
Zea mays cultivar drachma internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene, complete sequence; and in...
Zea mays clone 4562 mRNA sequence

شكل (١٣, ٣) محاذاة تسلسل القواعد النيتروجينية بين العينة قيد الدراسة والتي تحمل رقم انضمام الجيني (OR506162) مع عدد من النماذج مسجلة في البنك الجينات العالمي NCBI



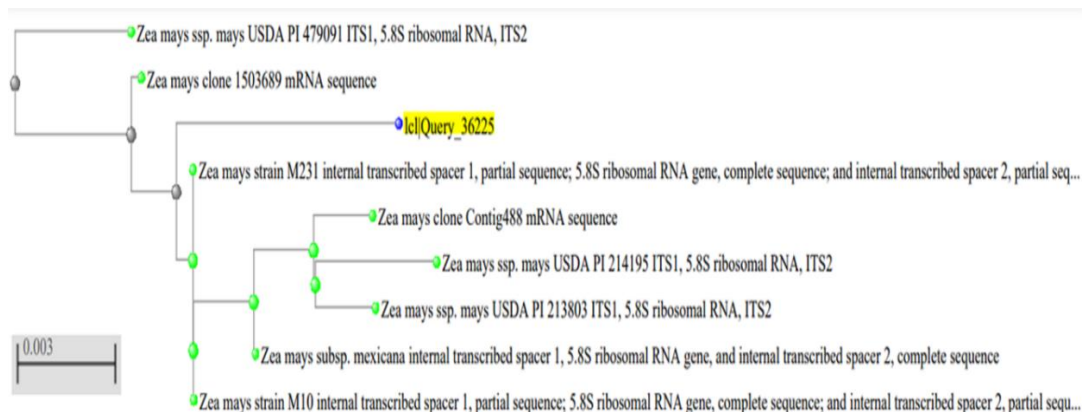
شكل (١٧, ٣): النسبة المئوية لأنواع نيوكليوتيدات الموجودة لتسلسل العينة المها والتي تحمل رقم انضمام الجيني (OR506168)

Download GenBank Graphics

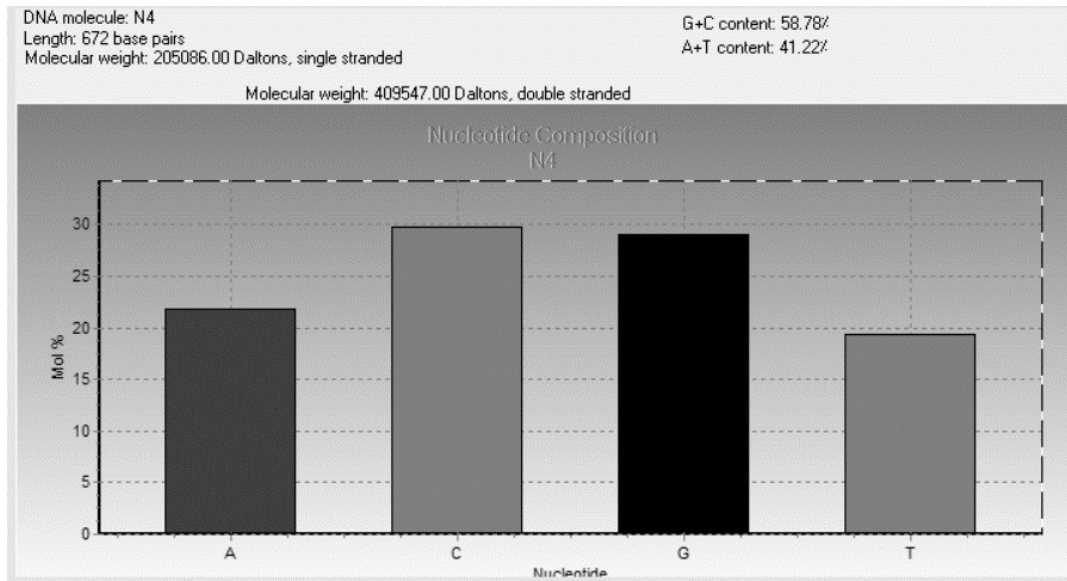
Zea mays clone 1503689 mRNA sequence
 Sequence ID: **EU955045.1** Length: 1068 Number of Matches: 1
 Range 1: 172 to 736 GenBank Graphics

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
990 bits(536)	0.0	559/569(98%)	5/569(0%)	Plus/Minus
Query 5	CGGGTAGT-CCGACTGACTGGGGTCGCGGTCCGAGGGCAAGCTCGGTGCTCGATGGG	63		Plus
Sbjct 736C.....	677		Plus
Query 64	TCCTTAGGGCCGAATGGCCGGCCGCGCCGGGACGCTGCACCGAGAACAACAACCTTGAT	123		Plus
Sbjct 676	617		Plus
Query 124	GTCGCCACACAGTGTCTGCGCCCGCGCGGTTCCCGGCGAGCCCTGCTTCGGCCACCT	183		Plus
Sbjct 616	557		Plus
Query 184	CGCCGTGCGGGGCGGGGGCCAGACGCCACGTCCCTCGCCCCGCEEEEEETGTTGGGAG	243		Plus
Sbjct 556C.....	497		Plus
Query 244	TGCTTTTGGCGTGACGCCAGGCAGACGTGCCCTCCGCCAGAAAGGCTTCGGGCGCAACT	303		Plus
Sbjct 496	437		Plus
Query 304	TGCGTTCAAAAACTCGATGGTTTCGCGGGATTCTGCAATTCACACCAGGTATCGCATTTG	363		Plus
Sbjct 436	377		Plus
Query 364	CTACGTTCTCATCGATGCGAGAGCCGAGATATCCGTGCCGAGAGTCTGTCTGATTAAG	423		Plus
Sbjct 376T.....G.....	317		Plus
Query 424	GTGTAACCGCTGCCCTGGGAGCGGAAGGCGGGCCGACCGCTCCGCGGGGCGAGGAGT	483		Plus
Sbjct 316	257		Plus
Query 484	ACTGGTGTTCCTTGGCGCCCGGGCGCCGTGGGTTCTTTTTCGCGGCECCCCCTTTC	543		Plus
Sbjct 256A.....	199		Plus
Query 544	CCGCGGAGGTTCEEEEEEECCAGCTGTG	572		Plus
Sbjct 198G.....	172		Plus

شكل (١٨, ٣) محاذاة تسلسل القواعد النيتروجينية بين العينة قيد الدراسة التي تحمل رقم انضمام جيني OR506168 مع العينة الموجودة في ولايات المتحدة والتي تحمل رقم انضمام جيني : ID EU955045.1 والتي أظهرت نسبة تطابق % ٩٨ في برنامج Blast



شكل (١٩. ٣) محاذاة تسلسل القواعد النيتروجينية بين العينة قيد الدراسة والتي تحمل رقم انضمام الجيني (OR506168) مع عدد من النماذج مسجلة في البنك الجيني العالمي NCBI



شكل (٣، ٢٠): النسبة المئوية لأنواع نيوكليوتيدات الموجودة لتسلسل العينة بغداد ٣

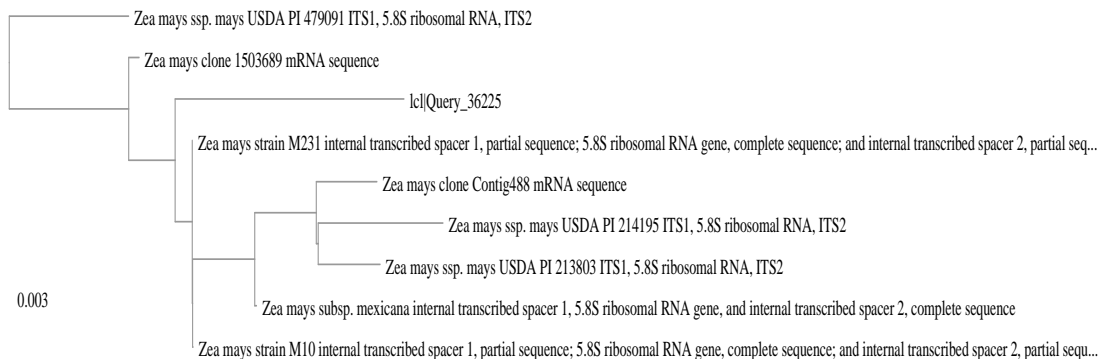
[Download](#) [GenBank Graphics](#)

Zea mays ssp. mexicana Doebley M075 ITS1, 5.8S ribosomal RNA, ITS2
Sequence ID: [U46637.1](#) Length: 598 Number of Matches: 1

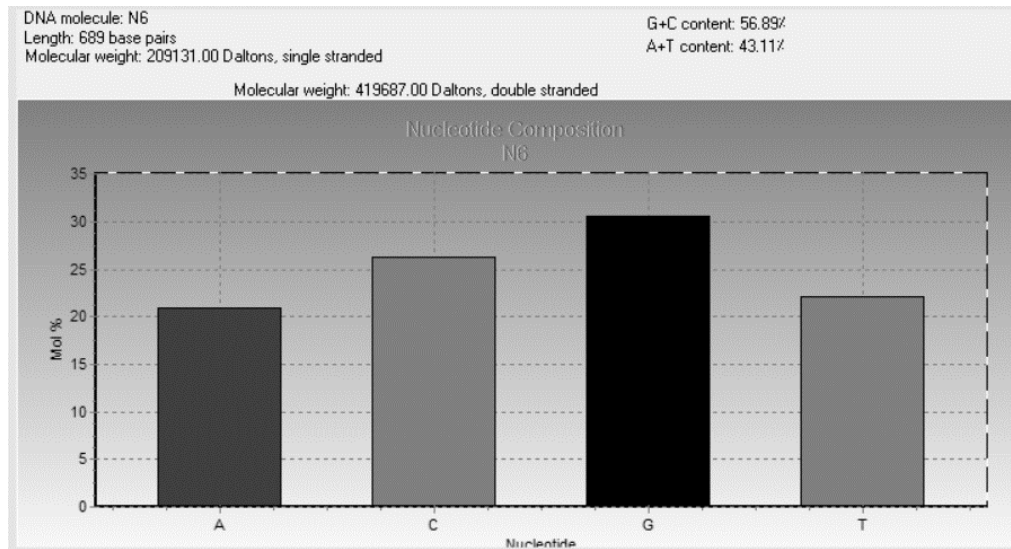
Range 1: 219 to 401 [GenBank](#) [Graphics](#) [Next Match](#) [Previous Match](#)

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
226 bits(122)	1e-57	164/184(89%)	3/184(1%)	Plus/Plus
Query 232	GACTCTCGCCAACGGATATCTCGGCTCTCGCATCGATGAAGAACGTAACGAAATGCGATA	291		
Sbjct 219G.....G.A.....	278		
Query 292	CCTGGTGTGAATTGCAGAATCCCGGAATCATCGAGTCTTTGAACGTTAGTTGCCCCGA	351		
Sbjct 279C.....T.....CA.....	338		
Query 352	GGCCA-CTCGCCGAGGGCAGCCTGCCTGGCCGTACGCCGAGACACGCTCCCA-CTCC	409		
Sbjct 339	A...TT...G.....T.....G.....A.A.G.A.....A.A.	397		
Query 410	CCTC 413			
Sbjct 398 401			

شكل (٣، ٢١): محاذاة تسلسل القواعد النيتروجينية بين العينة قيد الدراسة مع العينة الموجودة في المكسيك التي تحمل رقم انضمام جيني E46637.1 ID والتي أظهرت نسبة تطابق % ٨٩ في برنامج Blast



شكل (٣، ٢٢): محاذاة تسلسل القواعد النيتروجينية بين العينة قيد الدراسة مع عدد من النماذج مسجلة في البنك الجينات العالمي NCBI



شكل (٣, ٢٦): النسبة المئوية لأنواع نيوكليوتيدات الموجودة لتسلسل العينة DKC 6777

[Download](#) [GenBank Graphics](#)

Zea mays clone Contig488 mRNA sequence

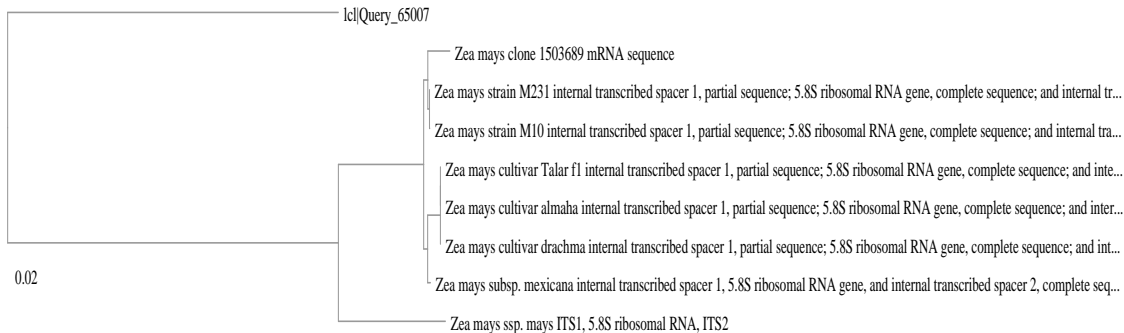
Sequence ID: [BT016655.1](#) Length: 1652 Number of Matches: 1

Range 1: 198 to 418 [GenBank](#) [Graphics](#)

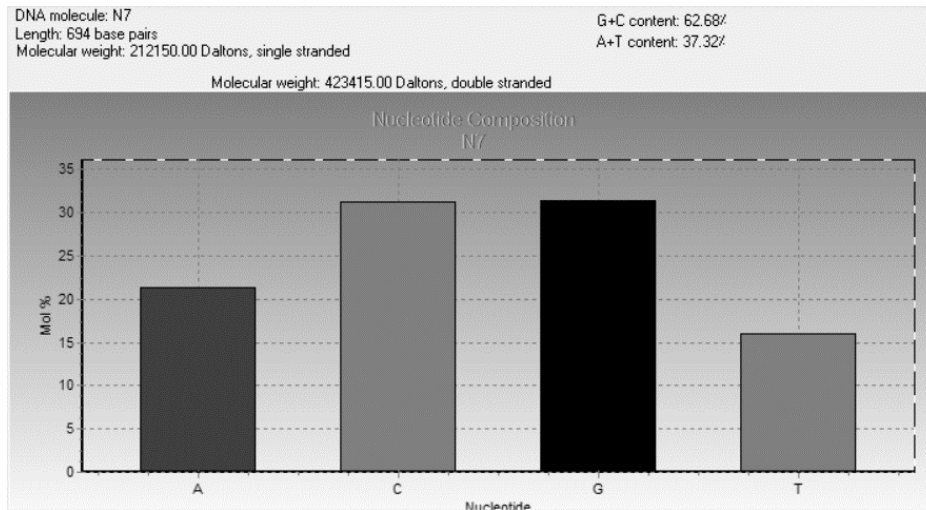
[Next Match](#) [Previous Match](#)

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
233 bits(126)	9e-60	193/225(86%)	5/225(2%)	Plus/Plus
Query 1	CTGCGGAAGGATCATTGCCGTGACCCTTAAACAAAAACAGACC	CGCGAACGAGTCACCCG	60	
Sbjct 198	257	
Query 61	CCGCCGGGCTCCGGCCGGAACGCTGccccccccAACTCTCCCGGGGAAA	gggggggg	120	
Sbjct 258C.....G.....C.....G.....	314	
Query 121	CCGaaaaaaaaaCCCAGGGCGCCCGGGCGCAAAGAACACCTTTATTCCC	-CCTCGCC	179	
Sbjct 315	...CG...G...C...C...C...G...AG..C.A.T...-	373	
Query 180	GCggggggggggggggCCCCGTTTTCCCTCCCGGGCGGGGGTTAC		224	
Sbjct 374	...C..A.C..TC.....CC....GT....A....A.C.....	418	

شكل (٣, ٢٧) محاذاة تسلسل القواعد النيتروجينية بين العينة قيد الدراسة مع العينة الموجودة في ولايات المتحدة التي تحمل رقم انضمام جيني BT016655.1 ID والتي أظهرت نسبة تطابق % ٨٦ في برنامج Blast



شكل (٣, ٢٨) محاذاة تسلسل القواعد النيتروجينية بين العينة قيد الدراسة مع عدد من النماذج مسجلة في البنك الجينات العالمي NCBI



شكل (٣, ٢٩): النسبة المئوية لأنواع نيوكليوتيدات الموجودة لتسلسل العينة *Zp.glorya*

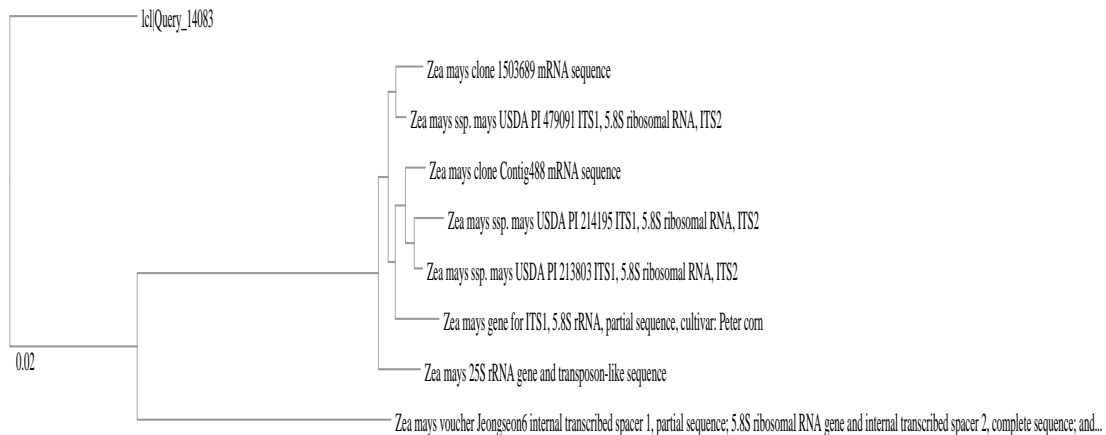
Download GenBank Graphics

Zea mays clone 1503689 mRNA sequence
Sequence ID: [EU955045.1](#) Length: 1068 Number of Matches: 1

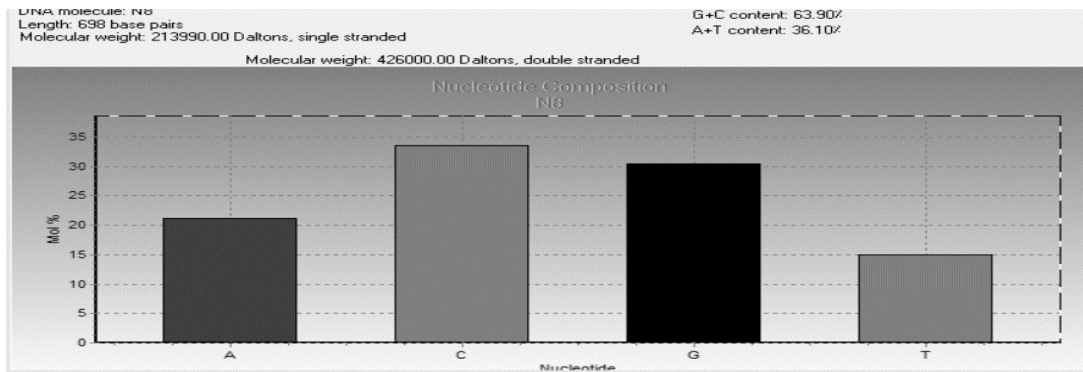
Range 1: 86 to 575 GenBank Graphics

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
592 bits(320)	1e-167	437/493(89%)	9/493(1%)	Plus/Plus
Query 2	GGTG-A-CTGCGG-ACGA-CATTGCCGTGACCCCTAAACAAAACAGACCGGAACGAGTC	57		
Sbjct 86	...A.C...A.G..T.....	145		
Query 58	ACCCGTGCCCGCGGGCTCCGGCCCGGCACGCTGccccccGAACCTCCCGGGGAAggg	117		
Sbjct 146	...T.....	205		
Query 118	gggggCCGCGaaaaaaaaaCACCAGCGCCCCGGGCGCAAGGAACACAGTACTACCTCC	177		
Sbjct 206	...T...G.....	265		
Query 178	TGCCCGGGGAGGGGTCGGCCCGCTTCGCTCCCGGGGAGGGGTTACCCCTTAATCGA	237		
Sbjct 266	...C...C.....A...C.....A.C.....	325		
Query 238	CACGACTTTCGGCAACGAAATCCGGGCTCTCGCTTCGATGAAAAGGAGGCAAAAGGCG	297		
Sbjct 326	...C...T...TC...A...G...C.TA...T...	385		
Query 298	A-ACCTTGGGGGAATTGCAAAACCCCGCAACCATCGGTTTTTAAACGCAAGTTGCGC	356		
Sbjct 386	...T...T..T...G..T...AG...G.....	444		
Query 357	CCGAAGCCTTCTGGGGGAGGGCACGCTGCGGGGCGTcccccaaaagaaactcccaac	416		
Sbjct 445	...C.....T...A.G.....C.....	504		
Query 417	acccccgggggg-gaaggaatgggggtttgccccccccccCGCACggggggggggg	475		
Sbjct 505	...C...C..G...CGT..C..C.G.....G.G-.....C.A..T...	563		
Query 476	gCCGAACAAGGGG	488		
Sbjct 564GC.....	575		

شكل (٣, ٣٠) محاذاة تسلسل القواعد النيتروجينية بين العينة قيد الدراسة مع العينة الموجودة في ولايات المتحدة التي تحمل رقم انضمام جيني ID : EU955045.1 والتي أظهرت نسبة تطابق % ٨٩ في برنامج Blast



شكل (٣, ٣١) محاذاة تسلسل القواعد النيتروجينية بين العينة قيد الدراسة مع عدد من النماذج مسجلة في البنك الجيني العالمي NCBI



شكل (٣٢,٣): النسبة المئوية لأنواع نيوكليوتيدات الموجودة لتسلسل العينة **PLOWEER** والتي تحمل رقم انضمام الجيني (**OR511475**)

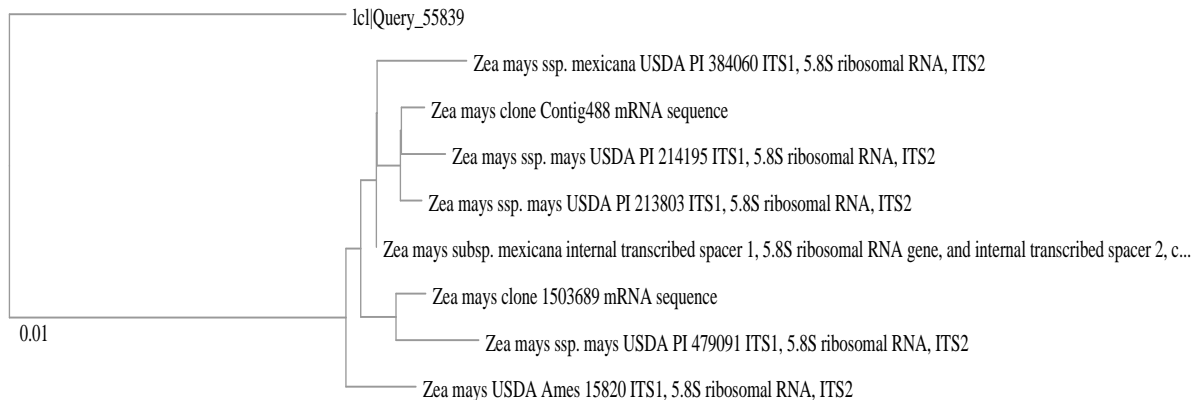
Download GenBank Graphics

Zea mays clone 1503689 mRNA sequence
Sequence ID: **EU955045.1** Length: 1068 Number of Matches: 1

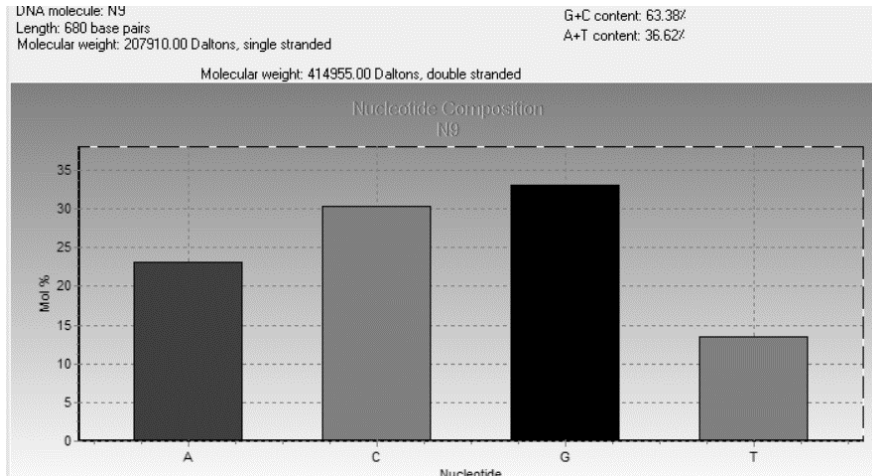
Range 1: 85 to 748 GenBank Graphics

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
952 bits(515)	0.0	622/672(93%)	13/672(1%)	Plus/Plus
Query 1	AGGTGAA-CTGCGG-AGGA-CATTGCCGTGACCTTAAACAAAACAGACC	57		
Sbjct 85C.....A.....T.....	144		
Query 58	CACCCGTGCCGCGGGGCTCCGGCCCGGCACGCTGCCCCCGAACCTCCCGCGGGGAAgg	117		
Sbjct 145T.....	204		
Query 118	ggggggC CGCGaaaaaaCCACGGCGCCCGGGCGCCAAGGAAACACAGTACTACCTC	177		
Sbjct 205T.....G.....	264		
Query 178	CTGCCC GGGGAGGGGTCGGCCCGCCTTCCGCTCCCGGGCAGGGGTACACCTTAATCG	237		
Sbjct 265C.....C.....A.....C.....	324		
Query 238	ACACAACTCTCGGCAACGGATATCTCGGCTCTCGCATCGATGAAAAACGTAGCAAAAGGC	297		
Sbjct 325G.....T.....G.....	384		
Query 298	GATACCTGGGGTGAATTGCAAAATCCC GCGAACCATCGAGTTTTTGAACGCAAGTTGCGC	357		
Sbjct 385T.....G.....	444		
Query 358	CGAAGCCTTCTGGCGGAGGGCAGCTGTCCTGGGCGTCACGCCAAAAAACACTCCCAAC	417		
Sbjct 445G.....	504		
Query 418	AccccccCGGGGGGAGGGACGTGGGCTCTGGCCCCCGCCGACGGCGAGGTGGGC	477		
Sbjct 505C.....CG.....G.....	564		
Query 478	CGAAGCAGGGGCTGCTCGGCGACCCGCGCCGGGCGCAGCACTTTGTGGGCGACATCAAT	537		
Sbjct 565G.....A.....G.....G.....	622		
Query 538	TTGTTCTTCTCGGAGCATCGTCGGGGCCGCGGGCCGGCTATTAGCCCTGAAAGCAC	597		
Sbjct 623G.....T.....CG.....G.....G.....G.....	677		
Query 598	CCATCGAGCGACCGAGCTTGTCTCTGACCGGACCCAGGTCA-TCTTACTCCCGT	656		
Sbjct 678G.....G.....GGG.....A.....C.....	736		
Query 657	TTA-TTTAAGCA	667		
Sbjct 737G.....	748		

شكل (٣٣,٣) محاذاة تسلسل القواعد النيتروجينية بين العينة قيد الدراسة التي تحمل رقم انضمام جيني **OR511475** مع العينة الموجودة في ولايات المتحدة التي تحمل رقم انضمام جيني : **ID : EU955045.1** والتي أظهرت نسبة تطابق % ٩٣ في برنامج **Blast**



شكل (٣٤,٣) محاذاة تسلسل القواعد النيتروجينية بين العينة قيد الدراسة والتي تحمل رقم انضمام الجيني (**OR511475**) مع عدد من النماذج مسجلة في البنك الجينات العالمي **NCBI**



شكل (٣٥، ٣): النسبة المئوية لأنواع نيوكليوتيدات الموجودة لتسلسل العينة KWS

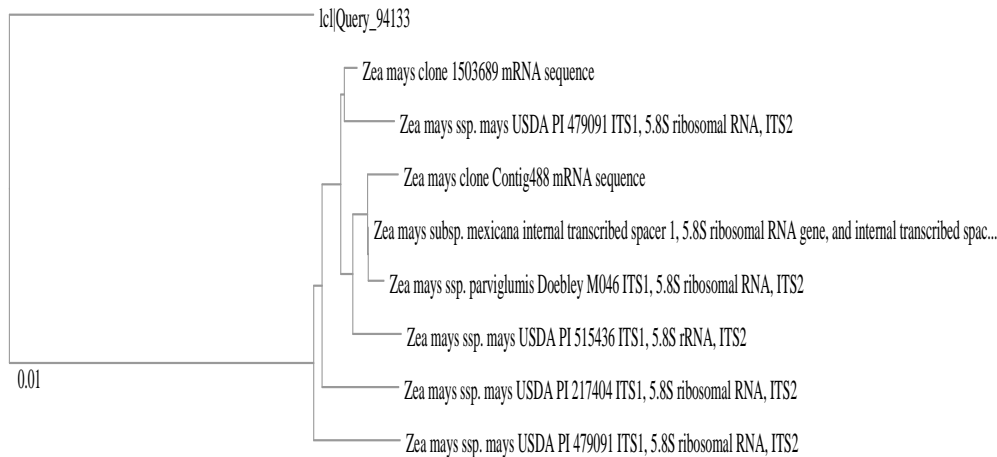
Download GenBank Graphics

Zea mays clone 1503689 mRNA sequence
Sequence ID: [EU955045.1](#) Length: 1068 Number of Matches: 1

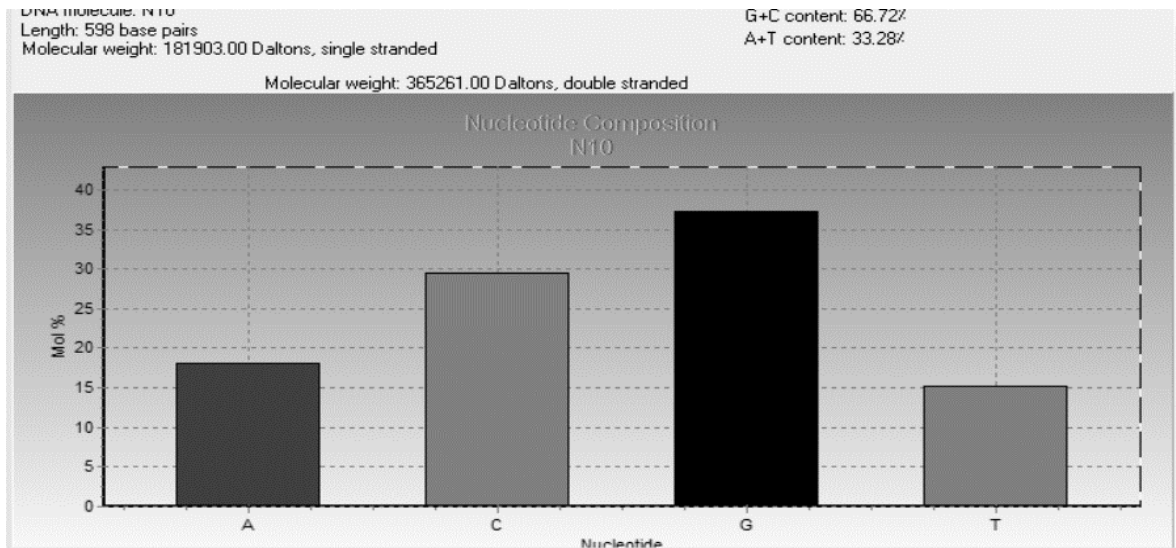
Range 1: 94 to 569 GenBank Graphics

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
603 bits(326)	6e-171	431/481(90%)	10/481(2%)	Plus/Plus
Query 1	TGCGGGAAGGGATCATTGCCGTGACCCTTAAACAAAACAGACCGGAACGAGTCACCCGT	60		
Sbjct 94	151		
Query 61	GCCGCCGGGCTCCGGCCGGCACGCTGCCCCCGAACCTCCCGCGGGAAAGGGGGGC	120		
Sbjct 152T.....	211		
Query 121	CGCGAAAAAACCCTCCGGGCCCCGGGGCCAAGGAACACAGTACTACCCCTGCCCC	180		
Sbjct 212G.....C.....T.....	271		
Query 181	GCGGAGCGGGGGGCC--CCTTCGCTCCAGGGGAGCGGTACGCCTTAATCGACGG	238		
Sbjct 272T--CG.....A.....	329		
Query 239	ACTCTGGCAACGGATATCTCGGCTCTCGCTCCATGAGGAAGGAGCAAAAATGCGATAC	298		
Sbjct 330A..G...A...C.TA.....	389		
Query 299	CTGGGTGAATTACAGGATCCCGCAACCATCGAGTTTTGAA-GCAATGGCGCCGAA	357		
Sbjct 390T.....G..A.....C....G.T.....	449		
Query 358	GCTTTTTGGGG-GGCGCGAGTGCCTGGGCGTCCGCCAAAAAACCCCAACACCCC	416		
Sbjct 450C..C...C..A...A..TC...C.....A.....G...T.....	509		
Query 417	CCCCGGGGGAGGG	475		
Sbjct 510G.....C.....AC.T..C.....-.....C.....C.A.....C.....	568		
Query 476	G	476		
Sbjct 569	.	569		

شكل (٣٦، ٣) محاذاة تسلسل القواعد النيتروجينية بين العينة قيد الدراسة التي تحمل رقم انضمام جيني OR511499 مع العينة الموجودة في ولايات المتحدة التي تحمل رقم انضمام جيني ID : EU955045.1 والتي أظهرت نسبة تطابق % ٩٠ في برنامج Blast



شكل (٣٧، ٣) محاذاة تسلسل القواعد النيتروجينية بين العينة قيد مع عدد من النماذج مسجلة في البنك الجينات العالمي NCBI



شكل (٣، ٣٩): النسبة المئوية لأنواع نيوكليوتيدات الموجودة لتسلسل العينة Syngenta والتي تحمل رقم انضمام الجيني (OR511499)

Alignment view: Pairwise with dots for identities

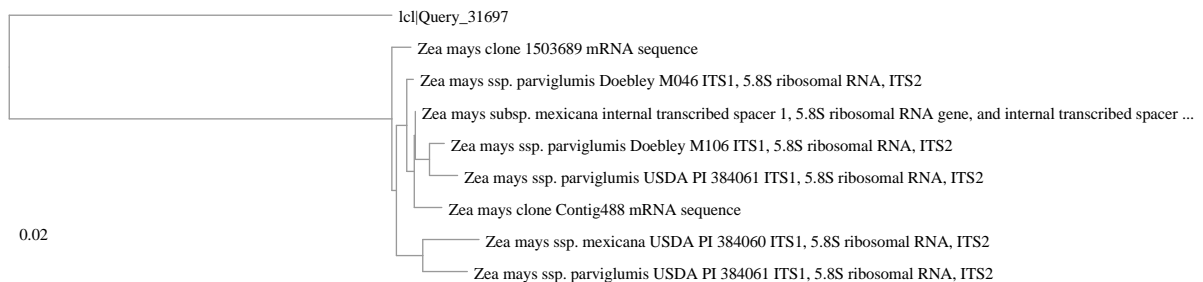
Download GenBank Graphics

Zea mays clone 1503689 mRNA sequence
 Sequence ID: [EU955045.1](#) Length: 1068 Number of Matches: 1

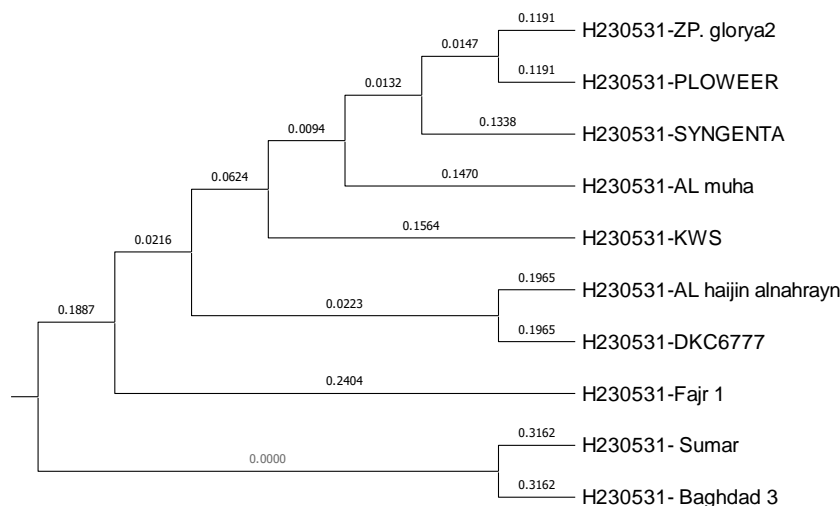
Range 1: 97 to 524

	Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
	497 bits(269)	2e-139	378/431(88%)	5/431(1%)	Plus/Plus
Query	4		GGAAGGGATCATTGCCGTGACCC	TTAAACAAAACAGACCGCAACGAGT	CACCCGTGCCG 63
Sbjct	97	 155
Query	64		CCGGGCTCCGGCCCGGCACGCTG	CCCCCGGAACCTCCCGCGGGGAA	ggggggggCCGGG 123
Sbjct	156	T.....C..... 215
Query	124		aaaaaaaaCCACAGGGGCCCGGGG	GCAAGGAAAACAGTACTACCTCT	GGCCCCGGGG 183
Sbjct	216	G.....C.....CT.....C..... 275
Query	184		AgggggggggCCCCTTTCCGCTT	CCCGGGGC-GCGGGTTACCCCTT	TATTCGCCCCGACTCT 242
Sbjct	276		..C..TC.....A.....A.....A.....A..... 334
Query	243		CGGCAACGGATATTTTCGGCCCT	TGCTTCGATGAAAAAGGAAGCAA	AAGGCGAAACCTGGT 302
Sbjct	335	C.....T.....C.....A.....G.....C.....T..... 394
Query	303		GTGA-TTGCCAAATCCCCGGGA	ACCCTGTTTTTGAACGCAATTTG	CGCCCGAAGCTT 361
Sbjct	395	A.....AG.....C.....T.....A.....G..... 453
Query	362		TCggggggggggggCGCCTGCGT	GGGCGTCACGCaaaaaaaCAccc	cccaaaaacccccccc 421
Sbjct	454		..T..C.....CA..T.....C.....G.....T.....C.....G..... 513
Query	422		gggggggggggg		432
Sbjct	514		C.....C.....		524

شكل (٣، ٤٠): محاذاة تسلسل القواعد النترجينية بين العينة قيد الدراسة مع العينة الموجودة في ولايات المتحدة التي تحمل رقم انضمام جيني EU955045.1 والتي أظهرت نسبة تطابق % ٨٨ في برنامج Blast



شكل (٤١, ٣) محاذاة تسلسل القواعد النيتروجينية بين العينة قيد الدراسة والتي تحمل رقم انضمام الجيني (OR511499) مع عدد من النماذج مسجلة في البنك الجينات العالمي NCBI



شكل (٤٢, ٣) شجرة العلاقة الوراثية بين التراكيب الوراثية لنبات ذرة المدروسة بالاعتماد على تسلسل القواعد النيتروجينية

يوضح الشكل (٤٢. ٣) شجرة العلاقة الوراثية للتراكيب الوراثية قيد الدراسة فيما بينها اعتماداً على تسلسل القواعد النيتروجينية حيث وجد ان اكبر درجة تشابه كان بين التركيبين سومر وبغداد ٣ وقد بلغت (٠,٣١٦٢) اما اقل درجة تشابه كانت بين التركيبين سومر وبغداد ٣ مع التركيب syngenta بلغت (٠,١٣٣٨) . فضلا عن مقارنتها مع العينات القياسية و المسجلة عالميا في موقع بنك الجينات Genebank التابع للمركز الوطني لمعلومات التقنية الحياتية NCBI (Masuka et al., 2017) .

إن الغرض من تحديد تسلسل DNA هو تأكيد لنتائج التشخيص الجزيئي للتراكيب الوراثية قيد الدراسة بالإضافة إلى معرفة مع من يكون تشابهها من بين التراكيب الوراثية العالمية ، والكشف عن وجود طفرات جينية أو عدمها، وهذه النتائج تؤكد صحة تشخيص التراكيب الوراثية قيد الدراسة الحالية مع مقارنتها مع تراكيب وراثية قياسية عالمية لمعرفة تسلسل القواعد النيتروجينية والتي تمثل المورثة المرجعية (Refrence gene) لتشخيص التراكيب الوراثية . بعد إحداث الطفرات

في النبات مصدراً مستمراً للتباين للحصول على تراكيب جديدة، والطفرة تتناول مختلف الصفات المورفولوجية والفسولوجية والبيوكيميائية للنبات. (Katsanis *et al.*, 2013).

عند دراسة التباين الوراثي للتراكيب الوراثية قيد الدراسة من خلال رسم شجرة العلاقة الوراثية باستعمال تقنيات SCOT والمحتوى البروتين الكلي المستخلص من البذور و مقارنته مع تسلسل القواعد النيروجينية . نلاحظ ان درجة التباين في تقنية SCOT و الشجرة العلاقة الوراثية كانت مقارنة الى التباين في شجرة العلاقة الوراثية المعتمدة على تسلسل القواعد النيروجينية اكثر من تقنية البروتين الكلي المستخلص من البذور نتيجة ان تقنية SCOT تعتمد على المادة الوراثية و لا تتأثر بالعوامل البيئية و عمر النبات او الجزء المستخلص منه الحمض النووي ، اما تقنية استخلاص البروتين الكلي من البذور انها تتأثر بظروف البيئية و ظروف أخرى ما بعد التخزين مثل الرطوبة و فتره التخزين (Attia, *et al.* 2022).

الاستنتاجات

١. تعد مؤشرات ال Scot اداة فعالة لتحليل التنوع الوراثي 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 ، وتعتبر Scot اداة قوية ومفيدة لتحديد التراكيب في نبات الذرة الصفراء وتعدد الاشكال المكتشفة بين التراكيب التي يمكن استعمالها في برامج التربية لتحقيق اقصى قدر من استعمال الموارد الوراثية
٢. ان مؤشرات ال SCOT اكثر كفاءة من بروتين البذور الكلي في كشف التباير الوراثي .
٣. واطهرت النتائج ان اعلى مستوى تعدد الاشكال حققه البادئ 60 , 63 SCOT اما البادئات الأكثر تمييز و تخصص هما 44 , 40 , 36 SCOT كان تخصص لتركيب الوراثي بغداد ٣ اما 6 SCOT كان تميز لتركيب الوراثي ZP. Gloria

التوصيات

١. اعتماد مؤشرات Scot مع DNA في تراكيب وراثية اخرى من النباتات لما له من اهمية في دراسة التنوع الوراثي وبشكل ممتاز.
٢. اجراء دراسات مماثلة بتطبيق مؤشر Single Nucleotide Polymorphism (SNP) على اكبر عدد من التراكيب الوراثية للذرة الصفراء المحلية والاجنبية من أجل تشخيصها ودراسة علاقتها الوراثية وقد تأخذ بنظر الاعتبار من أجل ادخالها ضمن خطة الزراعة و توسيع الدراسة للتسلسلات النيوكليوتيدية من اجل أنشاء بيانات خاصة بتسلسلات الاصناف النباتية وادراجها ضمن بيانات موقع الجينات العالمية (NCBI).
٣. الكشف عن التعبير الجيني في تراكيب وراثية محلية واجنبية اخرى لأجراء المقارنة بينها لغرض الحصول على افضل الاصناف.
٤. اجراء المزيد من الدراسات بمقارنة تقانة Scot مع تقنيات RAPD , ISSR , SSR

Reference

- Adebisi, M.A., Esuruoso, O.A., Adetumbi, J.A., Abdul-Rafiu, A.M., Kehinde, T.O., Ajani, O.O. and Agboola, D.A., (2014). Shelf life of Kenaf (*Hibiscus cannabinus* L.) seed stored under humid tropical conditions. *Plant Breeding and Seed Science*, 67(1), p.75.
- Akber, A., Portale, A.A. and Johansen, K.L., 2012. Pedometer-assessed physical activity in children and young adults with CKD. *Clinical Journal of the American Society of Nephrology: CJASN*, 7(5), p.720.
- Al-Judy, N.J., (2004) . Detecting of DNA fingerprints and genetic relationship analysis in local and improved rice (*Oryza sativa* L.) varieties in Iraq using *RAPD* markers (Doctoral dissertation, Ph. D thesis, College of Science, Baghdad University).
- Al-Tamimi, A. J. (2020). Genetic variation among Zea mays genotypes using start codon targeted marker polymorphism. *SABRAO Journal of Breeding and Genetics*, 52(1), 1-16.
- Al-Tamimi, A. J. T., Al-Badeiry, N. A., & Khayoon, S. Q. (2015). Genetic characterization of 22 of Tomato (*Lycopersicon esculentum* L.) genotypes using SDS-PAGE method. *Int. J. Sci. Eng. Res*, 6(1), 897-901.
- Angst, P., Ameline, C., Haag, C. R., Ben-Ami, F., Ebert, D., & Fields, P. D. (2022). Genetic drift shapes the evolution of a highly dynamic metapopulation. *Molecular Biology and Evolution*, 39(12), msac264.
- Ashfaq, M., & Khan, A. S. (2012). Genetic diversity in basmati rice (*Oryza sativa* L.) germplasm as revealed by microsatellite (SSR) markers. *Russian journal of genetics*, 48, 53-62.
- Attia, A. O., Ismail, I. A., Dessoky, E. D. S., & Aljuaid, B. S. (2022). Using of DNA-Barcoding, SCoT and SDS-PAGE Protein to Assess Soma-Clonal Variation in Micro-Propagated Fig (*Ficus carica* L.) Plant. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 25(5). <https://doi.org/10.3923/pjbs.2022.415.425>

- Bocianowski, J., Nowosad, K., Wróbel, B., & Szulc, P. (2021). Identification of associations between SSR markers and quantitative traits of maize (*Zea mays* L.). *Agronomy*, 11(1), 182.
- Bohar, R., Chitkineni, A., & Varshney, R. K. (2020). Genetic molecular markers to accelerate genetic gains in crops. *Biotechniques*, 69(3), 158-160.
- Botstein, D., White, R.L., Skolnick, M. and Davis, R.W., (1980). Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. *American journal of human genetics*, 32(3), p.314.
- Burr, B., Burr, F.A., Thompson, K.H., Albertson, M.C. and Stuber, C.W., (1988). Gene mapping with recombinant inbreds in maize. *Genetics*, 118(3), pp.519-526.
- Chen, Q., Samayoa, L. F., Yang, C. J., Bradbury, P. J., Olukolu, B. A., Neumeyer, M. A., ... & Doebley, J. F. (2020). The genetic architecture of the maize progenitor, teosinte, and how it was altered during maize domestication. *PLoS genetics*, 16(5), e1008791.
- Collard, B.C. and Mackill, D.J., 2009. Start codon targeted (SCoT) polymorphism: a simple, novel DNA marker technique for generating gene-targeted markers in plants. *Plant molecular biology reporter*, 27, pp.86-93.
- Da Fonseca, P. C. A., He, J., & Morris, E. P. (2012). Molecular Model of the Human 26S Proteasome. *Molecular Cell*, 46(1). <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2012.03.026>.
- Demir, A. Y. (2021). CHAPTER XII THE JOURNEY OF NUCLEOTIDES: DNA SEQUENCING. *Medical and Health Research Theory, Method and Practice*, 165.
- Ding, Y., Weckwerth, P. R., Poretsky, E., Murphy, K. M., Sims, J., Saldivar, E., ... & Huffaker, A. (2020). Genetic elucidation of interconnected antibiotic pathways mediating maize innate immunity. *Nature plants*, 6(11), 1375-1388.

- Dorado, G., Unver, T., Budak, H., & Hernández, P. (2016). Molecular Markers. Reference Module in Biomedical Sciences. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-801238-3.08996-0>.
- du Plessis, J. (2003) Maize Production. Department of Agriculture, Directorate Agricultural Information Services Private Bag X144, Pretoria, 0001 South Africa, 38.
- Dube, S. P., Sibiya, J., & Kutu, F. (2023). Genetic diversity and population structure of maize inbred lines using phenotypic traits and single nucleotide polymorphism (SNP) markers. *Scientific Reports*, 13(1), 1-12. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-44961-3>.
- Foerster, J. M., Beissinger, T., de Leon, N., & Kaeppler, S. (2015). Large effect QTL explain natural phenotypic variation for the developmental timing of vegetative phase change in maize (*Zea mays* L.). *Theoretical and Applied Genetics*, 128, 529-538.
- Foley, D. J., Thenkabail, P. S., Aneece, I. P., Teluguntla, P. G., & Oliphant, A. J. (2020). A meta-analysis of global crop water productivity of three leading world crops (wheat, corn, and rice) in the irrigated areas over three decades. *International Journal of Digital Earth*, 13(8), 939-975.
- Frischie, S., Miller, A. L., Pedrini, S., & Kildisheva, O. A. (2020). Ensuring seed quality in ecological restoration: native seed cleaning and testing. *Restoration Ecology*, 28, S239-S248.
- Funk, J.L. and Rogge, R.D., (2007). Testing the ruler with item response theory: increasing precision of measurement for relationship satisfaction with the Couples Satisfaction Index. *Journal of family psychology*, 21(4), p.572.
- Galinat, W. C. (1988). The history and evolution of maize. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 7(3). <https://doi.org/10.1080/07352688809382264>.
- García-Lara, S., & Serna-Saldivar, S. O. (2018). Corn History and Culture. In *Corn: Chemistry and Technology*, Third Edition. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-811971-6.00001-2>.

- García-Martínez, J., Bescós, I., Javier Rodríguez-Sala, J., & Rodríguez-Valera, F. (2000). RISSC: A novel database for ribosomal 16S–23S RNA genes spacer regions. *Nucleic Acids Research*, 29(1), 178-180.
<https://doi.org/10.1093/nar/29.1.178>.
- Garland, S., & Curry, H. A. (2022). Turning promise into practice: Crop biotechnology for increasing genetic diversity and climate resilience. *PLoS Biology*, 20(7), e3001716.
- Guo, D.-L., Zhang, J.-Y., & Liu, C.-H. (2011). Genetic diversity in some grape varieties revealed by SCoT analyses. *Molecular Biology Reports*, 39(5), 5307–5313. doi:10.1007/s11033-011-1329-6
- Hao, D. C., Gu, X., & Xiao, P. G. (2014). *Potentilla* and *Rubus* medicinal plants: Potential non-Camellia tea resources. *Medicinal Plants*, 373-430.
<https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100085-4.00010-4>.
- Iqbal, J. A. V. E. D., Shinwari, Z. K., Rabbani, M. A., & Khan, S. A. (2014). Genetic variability assessment of maize (*Zea mays* L.) germplasm based on total seed storage proteins banding pattern using SDS-PAGE. *Eur. Acad. Res*, 2(2), 2144-2160.
- Jorrín-Novo, J. V., Valledor-González, L., Castillejo-Sánchez, M. A., Sánchez-Lucas, R., Gómez-Gálvez, I. M., López-Hidalgo, C., ... & Vargas Perez, J. D. (2018). Proteomics analysis of plant tissues based on two-dimensional gel electrophoresis. *Advances in Plant Ecophysiology Techniques*, 309-322.
- Katsanis, S. H., & Katsanis, N. (2013). Molecular genetic testing and the future of clinical genomics. *Nature Reviews. Genetics*, 14(6), 415.
<https://doi.org/10.1038/nrg3493>.
- 1- Khan, H.A.A., Shad, S.A. and Akram, W., (2013) . Resistance to new chemical insecticides in the house fly, *Musca domestica* L., from dairies in Punjab, Pakistan. *Parasitology research*, 112, pp.2049-2054.

- Laikre, L., Hoban, S., Bruford, M. W., Segelbacher, G., Allendorf, F. W., Gajardo, G., ... & Vernesi, C. (2020). Post-2020 goals overlook genetic diversity. *Science*, 367(6482), 1083-1085.
- Lucchini, V., Fabbri, E., Marucco, F., Ricci, S., Boitani, L. and Randi, E., 2002. Noninvasive molecular tracking of colonizing wolf (*Canis lupus*) packs in the western Italian Alps. *Molecular Ecology*, 11(5), pp.857-868.
- Mammadov, J., Aggarwal, R., Buyyarapu, R. and Kumpatla, S., 2012. SNP markers and their impact on plant breeding. *International journal of plant genomics*, 2012.
- Masuka, B. P., van Biljon, A., Cairns, J. E., Das, B., Labuschagne, M., MacRobert, J., ... & Semagn, K. (2017). Genetic diversity among selected elite CIMMYT maize hybrids in East and Southern Africa. *Crop Science*, 57(5), 2395-2404.
- Muhammad, R. W., Qayyum, A., Ahmad, M. Q., Hamza, A., Yousaf, M., Ahmad, B., Younas, M., Malik, W., Liaqat, S., & Noor, E. (2017). Characterization of maize genotypes for genetic diversity on the basis of inter simple sequence repeats. *Genetics and molecular research : GMR*, 16(1), 10.4238/gmr16019438. <https://doi.org/10.4238/gmr16019438>.
- Nair, A. G., Vidya, P., & Mohan, C. (2016). Analysis of genetic variability in sweet potato accessions using Start Codon Targeted (SCoT) polymorphism. *International Journal of Biotechnology and Biochemistry*, 12(2), 111-121.
- Nishiguchi, K., Utani, K. and Fujimori, E., (2008). Real-time multielement monitoring of airborne particulate matter using ICP-MS instrument equipped with gas converter apparatus. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 23(8), pp.1125-1129.
- O Awata, L. A., Tongoona, P., Danquah, E., Ifie, B. E., Suresh, L. M., Jumbo, M. B., Marchelo-D, P. W., & Sitonik, at. (2019). Understanding tropical maize (*Zea mays* L.): The major monocot in modernization and sustainability of agriculture in sub-Saharan Africa. *IJAAR*, 7. <https://doi.org/10.33500/ijaar.2019.07.004>.

- Panchal, S. (2022). Fundamentals of Genetics. In Genetics Fundamentals Notes (pp. 3-51). Singapore: Springer Nature Singapore.
- Piperno, D.R., 2011. The origins of plant cultivation and domestication in the New World tropics: patterns, process, and new developments. *Current anthropology*, 52(S4), pp.S453-S470.
- Popp, J., Lakner, Z., Harangi-Rákos, M., & Fári, M. (2014). The effect of bioenergy expansion: Food, energy, and environment. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 32, 559-578. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2014.01.056> .
- Que, Y., Pan, Y., Lu, Y., Yang, C., Yang, Y., Huang, N., & Xu, L. (2014). Genetic analysis of diversity within a Chinese local sugarcane germplasm based on start codon targeted polymorphism. *BioMed research international*, 2014, 468375. <https://doi.org/10.1155/2014/468375>
- Rai M. K. (2023). Start codon targeted (SCoT) polymorphism marker in plant genome analysis: current status and prospects. *Planta*, 257(2), 34. <https://doi.org/10.1007/s00425-023-04067-6>.
- Ranum, P., Peña-Rosas, J.P. and Garcia-Casal, M.N., 2014. Global maize production, utilization, and consumption. *Annals of the new York academy of sciences*, 1312(1), pp.105-112.
- Rizk, R. M., Zayed, E. M., Amin, A. H., Omar, A. A., & Oraby, H. F. (2024). Effectiveness of DNA barcoding, SCOT markers and phytochemical characterization in biodiversity assessment of some Zea mays hybrids. *South African Journal of Botany*, 165, 59-69. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2023.12.020>.
- Ross, R. D., Srivastava, S., Cabrera, A. G., Ruch-Ross, H. S., Radabaugh, C. L., Minich, L. L., Mahle, W. T., & Brown, D. W. (2017). The United States pediatric cardiology 2015 workforce assessment: A survey of current training and employment patterns: A Report of the American College of Cardiology, American Heart Association, American Academy of Pediatrics Section on Cardiology and Cardiac Surgery, and Society for Pediatric Cardiology Training

- Program Directors. Progress in Pediatric Cardiology, 44, 67-71. <https://doi.org/10.1016/j.ppedcard.2016.09.001> .
- Rothberg, J.M., Hinz, W., Rearick, T.M., Schultz, J., Mileski, W., Davey, M., Leamon, J.H., Johnson, K., Milgrew, M.J., Edwards, M. and Hoon, J., (2011). An integrated semiconductor device enabling non-optical genome sequencing. *Nature*, 475(7356), pp.348-352.
- Schmitt, J.C., (1981), April. Gherardo Ortalli, «Pingatur in Palatio...». La pittura infamante nei secoli XIII-XVI, Rome, Società Editoriale Jouvence, «Storia 1», 1979, 206 p. In *Annales. Histoire, Sciences Sociales* (Vol. 36, No. 2, pp. 231-232). Cambridge University Press.
- Shah, A.S., Gribben, C., Bishop, J., Hanlon, P., Caldwell, D., Wood, R., Reid, M., McMenamin, J., Goldberg, D., Stockton, D. and Hutchinson, S., 2021. Effect of vaccination on transmission of SARS-CoV-2. *New England Journal of Medicine*, 385(18), pp.1718-1720.
- Shavanov, M. V. (2021). The role of food crops within the Poaceae and Fabaceae families as nutritional plants. In IOP Conference Series: Earth and Environmental Science (Vol. 624, No. 1, p. 012111). IOP Publishing.
- Singh, H. R., & Hazarika, P. (2019). Biotechnological Approaches for Tea Improvement. *Biotechnological Progress and Beverage Consumption*, 111-148. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-816678-9.00004-7>.
- Singh, R., Upadhyay, A.K., Chandra, P. and Singh, D.P., (2018). Sodium chloride incites reactive oxygen species in green algae *Chlorococcum humicola* and *Chlorella vulgaris*: implication on lipid synthesis, mineral nutrients, and antioxidant system. *Bioresource Technology*, 270, pp.489-497.
- Smale, S. T. (2001). Core promoters: Active contributors to combinatorial gene regulation. In *Genes and Development* (Vol. 15, Issue 19). <https://doi.org/10.1101/gad.937701>.

- Stuch, B., Alcamo, J., & Schaldach, R. (2021). Projected climate change impacts on mean and year-to-year variability of yield of key smallholder crops in Sub-Saharan Africa. *Climate and Development*, 13(3), 268-282.
- Tesfaye, D., Abakemal, D., & Habte, E. (2021). Genetic variability, heritability and genetic advance estimation of highland adapted maize (*Zea mays* L.) genotypes in Ethiopia. *Journal of Current Opinion in Crop Science*, 2(2), 184-191.
- Uarrotta, V. G., Schmidt, E. C., Bouzon, Z. L., & Maraschin, M. (2011). Histochemical analysis and protein content of maize landraces (*Zea mays* L.). *Journal of Agronomy*, 10(3), 92-98. <https://doi:10.3923/ja.2011.92.98>.
- Uarrotta, V.G., Stefen, D.L.V., Leolato, L.S., Gindri, D.M. and Nerling, D., (2018). Revisiting carotenoids and their role in plant stress responses: from biosynthesis to plant signaling mechanisms during stress. *Antioxidants and antioxidant enzymes in higher plants*, pp.207-232.
- van Huizen, T. and Plantenga, J., (2018). Do children benefit from universal early childhood education and care? A meta-analysis of evidence from natural experiments. *Economics of Education Review*, 66, pp.206-222.
- Vishwanath, A., Herath, T.C., Chen, R., Wang, J., Rao, H.R., Chen, R., Wang, J., & Rao, H.R. (2011). Why do people get phished? Testing individual differences in phishing vulnerability within an integrated, information processing model. *Decis. Support Syst.*, 51, 576-586.
- Vivodík, M., Balážová, Ž., Gálová, Z. and Petrovičová, L., (2017). Genetic diversity analysis of maize (*Zea mays* L.) using SCoT markers. *The Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*, 6(5), p.1170.
- Vivodík, M., Gálová, Z., Balážová, Ž. and Petrovičová, L., 2016. Start codon targeted (SCOT) polymorphism reveals genetic diversity in European old maize (*Zea mays* L.) genotypes. *Potravinarstvo Slovak Journal of Food Sciences*, 10(1), pp.563-569.
- Vivodík, M., Lenka, P., Balážová, Želmíra, & Gálová, Z. (2017). Genetic Variation of Maize Genotypes (*Zea mays* L.) Detected Using SDS-Page.

- Agrobiodiversity for Improving Nutrition, Health and Life Quality, (1). Retrieved from <https://agrobiodiversity.uniag.sk/scientificpapers/article/view/129>.
- Voichek, Y., & Weigel, D. (2020). Identifying genetic variants underlying phenotypic variation in plants without complete genomes. *Nature Genetics*, 52(5), 534-540.
- Wagner, M. R., Roberts, J. H., Balint-Kurti, P., & Holland, J. B. (2020). Heterosis of leaf and rhizosphere microbiomes in field-grown maize. *New Phytologist*, 228(3), 1000-1069.
- Wang, X., Filippenko, A. V., Ganeshalingam, M., Li, W., Silverman, J. M., Wang, L., ... & Wong, D. S. (2009). Improved distances to Type Ia supernovae with two spectroscopic subclasses. *The Astrophysical Journal*, 699(2), L139.
- Wu, L., Zhou, H., Zhang, Q., Zhang, J., Ni, F., Liu, C., & Qi, Y. (2010). DNA methylation mediated by a microRNA pathway. *Molecular cell*, 38(3), 465-470.
- Xu, X., Chen, P., Wang, J., Feng, J., Zhou, H., Li, X., Zhong, W. and Hao, P., 2020. Evolution of the novel coronavirus from the ongoing Wuhan outbreak and modeling of its spike protein for risk of human transmission. *Science China Life Sciences*, 63, pp.457-460.
- Yang, Y., Zhang, Y., Huang, C., Chen, Q., & Gao, W. (2023). Development of Cleaved Amplified Polymorphic Sequence Marker for Cap Color Identification in *Pleurotus cornucopiae*. *Horticulturae*, 9(11), 1238. <https://doi.org/10.3390/horticulturae9111238>
- Yu, J., & Moon, Y. (2021). Corn Starch: Quality and Quantity Improvement for Industrial Uses. *Plants*, 11(1), 92. <https://doi.org/10.3390/plants11010092>.
- Zhang, J., Xie, W., Wang, Y., & Zhao, X. (2015). Potential of start codon targeted (SCoT) markers to estimate genetic diversity and relationships among Chinese *Elymus sibiricus* accessions. *Molecules*, 20(4), 5987-6001.

-
- Zhang, S., Hao, D., Zhang, S., Zhang, D., Wang, H., Du, H., ... & Yu, D. (2021). Genome-wide association mapping for protein, oil and water-soluble protein contents in soybean. *Molecular Genetics and Genomics*, 296, 91-102.
- Zhang, S., Yao, L., Sun, A. and Tay, Y., 2019. Deep learning based recommender system: A survey and new perspectives. *ACM computing surveys (CSUR)*, 52(1), pp.1-38.

Summary

The current study was conducted to estimate the genetic diversity of 10 genotypes of maize grown in Iraq using some DNA markers based on the polymerase chain reaction (PCR) with the aim of determining the genetic variation between 10 local and introduced genotypes of yellow maize (Sumer , Fajr 1, Al Maha, , Baghdad 3, Hybrid Two Rivers, DKC 6777 ZP.glorya, PLOWEER KWS Syngenta) using 13 primers targeting the start codon (SCOT) and the total protein content of the seeds. Samples were collected on 12/1/2022, and the genetic material was extracted from the young leaves at the College of Science at the University of Karbala and the Al-Amin Specialized Center for Biotechnology in the Holy Shrine of the Holy Shrine. The purity and concentration of the DNA was measured, then the polymerase chain reaction was conducted using 13 SCOT parameters. Also, extracting the total protein content from the seeds using the sodium dodecyl sulfate–polyacrylamide gel electrophoresis (SDS_PAGE) technique and knowing the sequence of the nitrogenous bases of the structures under study.

The results of molecular detection using (start codon target) Scot indicators to study the variation between the studied genotypes showed the presence of unique monomorphic and polymorphic packages, and some of the primers used in the study gave a unique fingerprint for some of the genotypes of the yellow corn plant. A cluster analysis (genetic relationship tree) between the genotypes under study was also revealed. The highest value of polymorphism content was obtained with primers SCOT-60 and SCOT-63.

The results showed the highest percentage of genetic similarity between Al Maha and Al Fajr 1, which amounted to (0.842105), and the lowest percentage of genetic similarity between the two structures, between Al Maha and Syngenta, which was (0.428571), based on the Jaccard scale for ten genotypes and based on the SCOT scores in the phylogenetic tree. The genotypes were arranged. For maize with more geographically related origins in the same group. While the patterns of the total protein gave a number of main bands amounting to 12 bands whose weights varied between 17-245 KDa, and the total number of bands amounted to 108 bands, including 8 identical bands and 4 heterogeneous bands. If the percentage of variation (difference) between the structures is 26%, which indicates that the percentage of similarity (similarity) is 74%. The level of similarity is higher than the level of variation between the genotypes under study and is due to their geographical origin and genetic material, or to the fact that the plant is the result of interspecific hybridization. Where the highest percentage was found



UNIVERSITY OF KERBALA

College of Science

Department of Biology

Diagnosing genetic variation of some *Zea mays* L genotypes using
molecular markers and protein content.

A thesis

Submitted to the council of the College of Science \ University of Kerbala
in partial of fulfillment of requirements for degree of Master of Science in
Biology

Written By

Ali Kareem Hasan

Bsc. Biology 2008 / University of Babylon

Supervised by

Prof. Dr. Balqees Hadi Hashem

Rajab 1445 A.H

Februatry 2024 A.D