جامعة الموصل

كلية التربية للعلوم الصرفة

استخدام بعض المعايير التصنيفية ودلائل التضاعف العشوائي لسلسلة الحامض النووي PCR-RAPD في تحديد التباين الوراثي بين أصناف من الفاصوليا *Phaseolus* L. (Fabaceae) المزروعة في حقول محافظة نينوى

نور نبيل يحيى محمد الطالب

أطروحة دكتوراه

علوم الحياة

بإشراف

الأستاذ المساعد
الدكتور عامر محسن محمود

الأستاذ المساعد
الدكتور كمال بنيامين إيشو

١٤٤٣هـ

٢٠٢٢م

الخلاصة

تضمن البحث الحالي استخدام المؤشرات التصنيفية المظهرية والتشريحية والكيميائية وحبوب اللقاح فضلاً عن مؤشرات التضاعف العشوائي لسلسلة الدنا PCR-RAPD لتحديد التباين الوراثي لبعض أصناف أنواع جنس الفاصوليا *Phaseolus* L. من العائلة البقولية Fabaceae المزروعة في حقول محافظة نينوى التي تمثلت بالأصناف ('Dellaregina'، 'Brinco'، Gii- 867، 'Strick'، 'BRS. Executive') للنوع *Phaseolus vulgaris* والأصناف (Brs- pitanjo، 'Tabasco'، Scraletrunner bean، 'Lima beans') للنوع *Phaseolus lanatus* L. والأصناف ('Siscresiatainpaleta'، 'Massorn'، 'Frasca') التابعة للنوع *Phaseolus coccineus* L.. شملت الدراسة المظهرية الصفات العامة للجذور وسيقانها وأوراقها والأزهار والأجزاء الثمرية والبذور فضلاً عن الكساء السطحي lndumentum لها وذلك باستخدام المجهر الضوئي Light microscope (LM) وأظهرت تغايرات في صفات الأوراق والثمار والبذور من حيث الشكل واللون والأبعاد كما ظهر اختلافات في الكساء السطحي والزخرفة السطحية للبذور surface ornamentation باستخدام المجهر الإلكتروني الماسح Scanning Electro Microscope (SEM) لسطح البذور وأمكن تقسيمها إلى خمس مجاميع وهي: الأولى كان شبكي منقر Foreate reticulate في الأصناف ('Brinco' و'Dellaregina' و'Frasca')، والثانية ذات شكل شبكي يحوي على حليمات صغيرة Reticulate papillae وتضم الأصناف ('Tabasco' و 'Lima beans')، أما الثالثة حليمي Muricate وشملت الأصناف ('BRS. Executive' و'Strick' و'Gii-867' و'Scarlet runner bean')، والرابعة ذات شكل منقر Pitted وتضم الأصناف ('Siscresiatain paleta' و'Massorn')، بينما الخامسة: متعددة الاضلاع Polygonal ينفرد بها الصنف ('Brs-Pitanjo'). وأظهرت دراسة حبوب اللقاح أنها من الطراز الثلاثي الفتحات والاخاديد Tricoplorate وأظهرت تغايرات في الزخرفة السطحية لحبوب اللقاح عند فحصها بالاعتماد على المجهر الإلكتروني (SEM) Scanning electron microscope إذ أمكن تقسيمها إلى أربع مجاميع وهي: الأولى: حليمي Muricate وتمثلت بالأصناف 'Strick'، Lima beams، 'Brs-Pitanjo'، 'Siscresiatain paleta'، 'Massorn'، والثانية: مخطط Striate وتضم الأصناف 'BRS. Executive'، 'Gii- 867'، 'Tabasco'، Scarlet runner beam، والثالثة: منقر Pitted وشملت الأصناف 'Brinco'، 'Dellaregina'، 'Frasca'. وأظهرت نتائج الفحوصات التشريحية التي تمثلت بصفات البشرة للأوراق ونظام التعرق إضافة إلى المقطع المستعرض لنصل الوريقات وسويقاتها

وتبين من خلال الدراسة ظهور اختلافات واضحة في خلايا البشرة وتردد الثغور ودليلها الثغري وسمك وعدد طبقات النسيج العمادي والاسفنجي وشكل السويق وسمك الحزم الوعائية والنسيج الكلورنكيمي والكلونكيمي. وفي الدراسة الكيميائية تم تشخيص (5) مركبات فينولية اعتماداً للمركبات القياسية وهي: Gallic acid، Rutin، Keamferol، Qurcetine، Caffic acid إذ أظهرت الأصناف قيد الدراسة تغايرات في تركيز المحتوى الكيميائي لمستخلص أوراق أصناف انوع الجنس المدروسة وذلك باستخدام تقنية كروماتوكرافيا الطور السائل عالي الأداء HPLC وهي: المركبات Gallicacid وCafficacid وKeam ferol وRutin وQurcetine. في حين أظهرت الدراسة الطيفية عند فحص المستخلص الكحولي الكلوروفيلي بجهاز الأشعة فوق البنفسجية Ultraviolet light (uv) تغايرات واضحة ذات اهمية تصنيفية بين أصناف أنواع جنس الفاصوليا *Phaseolus* L. وذلك بالاعتماد على قيمة الامتصاصية λ max الذي يمثل أعلى إمتصاصية. أما المؤشرات الوراثية فتضمنت تقدير التشابه والبعد الوراثي بين أصناف أنواع الجنس المدروسة باستخدام تقانة التضاعف العشوائي المتعدد الأشكال لسلسلة الدنا Random Amplification Polymorphic DNA (RAPD) إذ تم في مكاثرة لقطع الحامض النووي DNA وتضمينها من خلال تفاعل البلمرة المتسلسل Polymerase chain Reaction وذلك باستخدام (13) بادئ عشوائي. ومن خلال شجرة التحليل العنقودي Dendrogram لأصناف أنواع جنس الفاصوليا *Phaseolus* L. أظهرت ثلاث مجاميع رئيسة وهي: المجموعة الرئيسة الأولى First main group شملت هذه المجموعة الأصناف (Gii-867، 'Strick'، 'Dellaregina'، Siscresiatian paleta، 'Lima beans'، Brs-Pitanjo، 'Frasca'، Massaru، 'Brinco') وانقسمت هذه المجموعة إلى مجموعتين فرعية Subgroubs ضمت المجموعة الفرعية الأولى شملت الأصناف ('Frasca', Sis cresiatain, 'Brs-Pitanjo', 'Tabasco', 'Massorn', 'Lima beans') وتراوح التشابه الوراثي ما بين (0.687– 0.883)، أما المجموعة الفرعية الثانية تضم الأصناف ('Brinco', 'Gii-867' 'Strick', Dellaregin,) وتراوح التشابه ما بين (0.766–0.873) وان انتماء هذه الأصناف إلى مجموعة واحدة يدل إلى وجود درجة تشابه أعلى ضمن المادة الوراثية التي يستند بدورها على عدد الحزم المشتركة الناتجة من المؤشرات المستخدم في تفاعلات الـ RAPD وكان التشابه مدعوماً من قبل الدراسات المظهرية والتشريحية إضافة إلى الدراسة الكيميائية. المجموعة الرئيسة الثانية Second main group ضمت هذه المجموعة الصنف 'BRS. Executive' التابع للنوع *Phaseolus vulgaris* إذ لم يرتبط مع أصناف الأنواع قيد الدراسة الا بعدد قليل من مواقع الـ RAPD إذ اظهر تفرد في عدد من المواقع والأحجام الجزيئية.

Summary

The current research included the use of indicators of taxonomic importance and indicators of random amplified polymorphic of DNA PCR-RAPD to determine the genetic distance of some cultivars species of the genus *Phaseolus* L. belong to the (Fabaceae) cultivated in Nineveh Governorate, which were represented by the cultivars (ʻBRS. Executive', ʻStrick', Gii-867, ʻBrinco', ʻDellaregina') of the genus Phaseolus vulgaris and the cultivars (Brs- pitanjo, ʻTabasco', Scraletrunner bean, ʻLima beans') of the genus Phaseoluslanatus and the cultivars (ʻSiscresiatain paleta', ʻMassorn', ʻFrasca') of the Phaseolus coccinens.

The morphological study included the general characteristics of the root, leaves, flowers, fruit parts and seeds, as well as the lndumentum surface covering using a Light microscope (LM). Scanning Electron Microscope (SEM) used for examinate the surface of seeds showed that can be divided into five groupes, namely: Group I: Foreate reticulate in cultivars (ʻBrinco', ʻDellaregina' and ʻFrasca'), Group II: Reticulate shape containing small Reticulate papillae and includes cultivars (ʻLima'Tabasco' and Tabasco' Group III: Papillary muricate and includes cultivars (ʻBRS. Executive', ʻStrick', Gii-867' and ʻScarlet runner bean'), Group IV: Pitted shaped and includes cultivars (ʻSiscresiatain paleta' and ʻMassorn'), Group Fifth: Polygonal unique to the cultivar (ʻBrsjo'Brs-Pitan).

As for the pollen grains, it appeared of the tricoplorate type, and it showed variations in the surface decoration of the pollen grains, when examined by using a scanning electron microscope (SEM) could be divided into four groups, namely: The first group: Papillary muricate and represented by the cultivars ʻ Strick', Lima beams, ʻBrs -Pitanjo', ʻSiscresiatain paleta', ʻMassorn', Group II: Striate scheme and includes

‘BRS cultivars. Executive’, ‘Gii-867’, ‘Tabasco’, Scarlet runner beam, Group III: Pitted beak. Cultivars include ‘Brinco’, ‘Dellaregina’, ‘Frasca’.

As for the anatomical study, the epidermal characteristics of the leaves and the venetation system were represented in addition to the transverse section of the blade and stalk. It was found through the study that clear differences appeared in the epidermal cells, the frequency of the stomata and its guide, the thickness and number of layers of the columnar and spongy tissue, the shape of the stalk, the thickness of the vascular bundles, the thickness of the chlorenchym tissue and the clonaki.

As for the chemical study, (5) phenolic compounds were diagnosed according to the standard compounds (Gallic acid, Rutin, Keampferol, Qurcetine, Caffic acid), which showed variations in the concentration of the chemical content of the extract of the leaves of the genus *Phaseolus* L. using high liquid phase chromatography technique. Performance HPLC.

While the spectroscopic study, upon examination with an ultraviolet light (uv) device, showed clear variations of taxonomic importance between the cultivars of the bean genus Phaseolus L. in the alcoholic extract of chlorophyll, depending on the values of λ max.

The genetic study included estimating the genetic dimension among the cultivars of the genus *Phaseolus* L. using the Random Amplification Polymorphic DNA (RAPD) technology, where the DNA was multiplied and included through the polymerase chain reaction using (13).

Through the dendrogram of the cultivars species of the genus Phaseolus L., it was found that they are divided into three main groups, namely: First main group This group included cultivars (‘Gii-867’, ‘Strick’, ‘Dellaregina’, Siscresiatian paleta, ‘Lima beans’, ‘Brs-Pitanjo’, ‘Frasca’, Massaru, ‘Brinco’) This group was divided into two subgroups

that included the first subgroup of taxa. (‘Frasca’, Sis cresiatain, ‘Brs-Pitanjo’, ‘Tabasco’, ‘Massorn’, ‘Lima beans’) and the genetic similarity ranged between (0.687- 0.883), and the second subgroup includes cultivars (‘Brinco’, ‘Strrick’, Dellaregin). The similarity ranged between (0.766-0.873), and the belonging of these cultivars to one group indicates a higher degree of similarity within the genetic material, which in turn is based on the number of joint bundles resulting from the indicators used in RAPD interactions, and the similarity was supported by morphological and anatomical studies in addition to the chemical study. Second main group This group contained the class ‘BRS. Executive’ of the type Phaseolus vulgaris, where it was not associated with the cultivars of the studied species except with a few sites of the RAPD, where it showed uniqueness in a number of sites and molecular sizes. Except for a few RAPD sites, it showed uniqueness in a number of sites and their molecular sizes. Which made it stay away from everyone as it was characterized by a distinctive pattern that differs clearly with the groups of other types of school.

University of Mosul

College of Education
for Pure Science

Use of Taxonomic Characters and Random Amplification Polymorphic DNA to Determine the Genetic Dividation among varieties of *Phaseouls* L. (Fabaceae) Cultivated in Field of Nineveh-Governorate

Noor Nabeel Yahaya Al-Talib

Ph.D. thesis

Biology

Supervised by

Assist. Prof.
Dr. Amer Mohsen Mahmoud

Assist. Prof.
Dr. Kamal B. Esho

2022 A.D **1443 A.H**