

تحديد البصمة الوراثية لستة من أصناف نخيل التمر *Phoenix dactylifera L.* باستعمال المؤشرات الجزيئية**للتضاعف العشوائي متعدد الاشكال RAPD-PCR****عقيل هادي عبد الواحد****قسم البستنة وهندسة الحدائق - كلية الزراعة - جامعة البصرة - العراق****Aqeelhadi6@gmail.com****الخلاصة**

أجريت الدراسة في مختبرات الوراثة الجزيئية في كلية الزراعة جامعة البصرة، بهدف إيجاد التقارب والعلاقات الوراثية فضلا عن إيجاد البصمة الوراثية لستة من اصناف النخيل النادرة هي (دكله موسى و دكله حسين وعويينة ايوب، ويويكي وعويد وبرحي احمر) وذلك باستعمال المؤشرات الجزيئية للتضاعف العشوائي متعدد الاشكال المعتمدة على تضخيم الدنا المجيني بتقنية PCR باستعمال ستة بادئات عشوائية، اوضحت النتائج ان هناك اربعة عناقيد شمل اقرب مسافة وراثية بين دكله حسين ودكله موسى تلاه الاصناف الاخرى. استخدمت تحليلات إحصائية متقدمة منها إيجاد مكونات التحليل العائلي Principal component analysis PCA وتحليل الجار الاقرب Neighbour joining clustering

الكلمات المفتاحية: نخلة التمر ، البصمة الوراثية ، RAPD ، PCA ، الجار الاقرب.

المقدمة

Introduction

تتنمي نخلة التمر Date Palm إلى العائلة النخيلية *Arecaceae* وتضم أكثر من 200 جنس وحوالي 4000 نوع وتعد أكثر العوائل النباتية فائدة للإنسان بعد العائلة النجيلية *Gramineae* ، وقد عرفت النخيل قبل 4000 سنة قبل الميلاد ونشأ. في بلاد ما بين النهرين (Hader *et al*, 2012)، احتل العراق موقع الصدارة في أعداد أشجار النخيل الذي وصل إلى 32 مليون نخلة عام 1952 وكان فيه أكبر غابة لأشجار النخيل بالعالم في شبه جزيرة الفاو، كما كان البلد الأول في الإنتاج والتصدير على مستوى العالم، إلا أن عدد النخيل انخفض الى 14765000 نخلة وبمعدل إنتاج سنوي 655450 طن حسب إحصائية (الجهاز المركزي للإحصاء 2013) وقد حدد العديد من الأصناف لنخيل التمر تزيد عن 600 صنف (البكر، 1972) وبعض هذه الأصناف تتميز بالعديد من الصفات النوعية التي يجب الحفاظ عليها واكثارها.

إن ظهور العديد من السلالات التي أصبحت بعد حين من الزمن أصناف ترقى الى الأصناف الجيدة وواسعة الانتشار، فكان لا بد من إيجاد طريقة يمكن من خلالها توثيق تلك الأصناف بما لا يدع مجالاً للخلط إذ ظهرت العديد من التسميات قد تعود لنفس الصنف ولكن نتيجة لنموها وتعرضها الى بيئات مختلفة كانت لها صفات مظهرية مختلفة وتبعاً لذلك سميت من قبل غير المتخصصين تسميات مختلفة والتي قد تعود لنفس الصنف ، كما انه يمكن ان يعطي اسم واحد لأكثر من صنف لكون الصفات المظهرية تتماثل فيما بينها.

ومن هذا المنطلق عكف علماء التصنيف والتوثيق في إيجاد سبل لمنع الخلط الذي يحصل بين الأصناف وقد تدرجت العلوم التي تضع الأسس العلمية في تحديد الصفات المميزة التي أطلق عليها المؤشرات *Markers* التي هي السمة التي يمكن من خلالها التمييز والتفريق بين الافراد او الأصناف والتي هي تكون على درجة عالية من الثبات وتعطي اعلى نسبة تباين واختلاف، فظهرت بايدي ذي بدء المؤشرات المظهرية، ومن ثم المؤشرات الخلوية والبروتينية والانزيمية فالجزيئية (عبد الواحد، 2011).

ولتلافي الخلط بين الأصناف والتسميات، هدفت الدراسة الى استخدام ستة من المؤشرات الجزيئية للتضاعف العشوائي متعدد الاشكال *Polymorphic Amplification Random (RAPD-PCR) DNA* لتحديد البصمة الوراثية والبعد الوراثي لستة من أصناف النخيل النادرة والتي قليلا ما تم تحديد خواصها الجزيئية، مع استخدام أدوات تحليل متقدمة لهذا الغرض كالتحليل العاملي والجار الاقرب.

المواد وطرائق العمل

Materials and Methods

استخلاص الدنا المجيني

استخلص الدنا المجيني من اوراق ستة اصناف من نخيل التمر هي (دكلة حسين و دكلة موسى و عوينة أيوب وعويد وبوكي وبرحي احمر)، إذ انتخبت الأوراق حديثة التكوين القريبة من القمة النامية والبيضاء اللون التي تمتلك القليل من

الصبغة الخضراء، جلبت الى المختبر وعقمت بواسطة قطعة من القطن محتويه على 70% كحول اثيلي وذلك للتخلص من الغبار والمسببات المرضية خوفا من تلوث عينة دنا المجيني للمستخلص. طحنت العينة باستعمال النتروجين السائل في هاون خزفي ولعدة مرات حتى الوصول الى مسحوق ناعم ابيض اللون. استخلص الدنا المجيني باستخدام العدة الجاهزة (كت) peq_LAP من شركة VWR الأمريكية. وحسب التعليمات المرفقة مع العدة الجاهزة، بعد ذلك رحل الجينوم المستخلص على هلام الاكاروز 2% بجهاز الترحيل الكهربائي Electrophoresis للتأكد من نجاح عملية الاستخلاص، كما تم تقدير نقاوة الجينوم المنتج باستخدام جهاز Nanodrop على طول موجي 260 و 280 نانوميتر.

تفاعل التضخيم العشوائي لقطع الحامض النووي DNA باعتماد تقانة Polymorphic Amplification Random DNA (RAPD-PCR)

تم استخدام ستة بادئات عشوائية موضحة في الجدول (1) وتم إعداد تفاعل جهاز التدوير الحراري PCR بحسب ما ورد في جدول(1) وتوصيه الشركة المجهزة لمواد التفاعل. كان حجم عينة التفاعل 25 مايكروليتر تحتوي على المواد التالية Green Master Mix بحجم 12.5 مايكروليتر و 2 مايكروليتر من البوادئ Primer ، كما أضيف 5 مايكروليتر من الدنا المجيني وبعدها يكمل الحجم الى 25 مايكروليتر بالماء المقطر الخالي من الايونات. بعد انتهاء برنامج التضخيم حمل ناتج PCR على هلام الاكاروز بتركيز 1.5% لبيان الحزم الناتجة من التضاعف.

تحليل النتائج

حللت النتائج بعد ان حددت مواقع الحزم باستعمال حزمة البرنامج الجاهزة Photocap، وعُبر عن الحزمة الظاهرة برقم (1) في حين عبر عن غياب الحزمة ب (0)، تم حساب النسبة المئوية للتعدد الشكلي Polymorphism وكفاءة البادئ والقوة التشخيصية وعدد الحزم الفريدة وعدد الحزم الكلية والنسب المئوية للحزم الفريدة بإتباع القوانين التالية .

حسبت المعلمات الآتية لأخذها من صورة الهلام:

عدد الحزم الكلية المنتجة من كل بادئ.

كفاءة البادئ % Primer efficiency وحسبت من القانون

$$\text{كفاءة البادئ} = \frac{\text{عدد الحزم الكلية التي أنتجها البادئ}}{\text{عدد الحزم الكلية لكل البادئات}} \times 100$$

عدد الحزم المتشابهة (المتماثلة) Monomorphic bands

عدد الحزم ذات التعدد الشكلي (المتباينة) Polymorphic bands

النسبة المئوية للتعدد الشكلي (للتباين) وحسبت كالآتي:

$$100 \times \frac{\text{عدد الحزم ذات التعدد الشكلي المنتجة من البادي}}{\text{عدد الحزم الكلية المنتجة من البادي}} = \text{النسبة المئوية للتعدد الشكلي}$$

القوة التشخيصية للبادي Discrimination power وهذه حسبت كالآتي:

$$100 \times \frac{\text{عدد الحزم ذات التعدد الشكلي المنتجة من البادي}}{\text{عدد الحزم ذات التعدد الشكلي المنتجة من كل البادئات}} = \text{القوة التشخيصية للبادي}$$

جدول (1) صفات ستة من بوادي المستخدمة في تقانه RAPD

Name	Sequence(5'-3')	MW	TM	%GC
OPH-03	AGACGTCCAC	2996.98	29.5	60
OPH-06	ACGCATCGCA	2996.98	29.5	60
OPH-07	CTGCATCGTG	3019	29.5	60
OPA-01	CAGGCCCTTC	2963.97	33.6	70
OPH-04	GGAAGTCGCC	3053.01	33.6	70
OPH-05	AGTCGTCCCC	2963.97	33.6	70

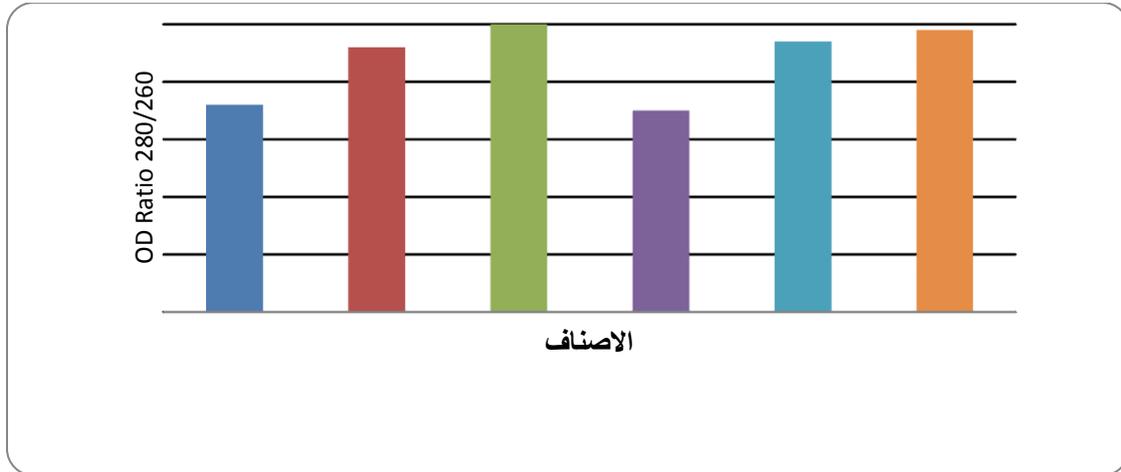
أجري التحليل الإحصائي باعتماد برنامج PAST ver 91.1. لإجراء التحليل العنقودي Cluster analysis analysis dendrogram الذي اعتمد على نسبة التشابه الوراثي لمعامل جاكارد Jaccard coefficient's لرسم مخطط التحليل العنقودي . كما تم استخراج مصفوفة التشابه والبعد الوراثي Similarity matrix فضلا عن إيجاد مكونات التحليل العنقودي PCA وتحليل الجار الاقرب Neighbour joining clustering

Results and Discussion

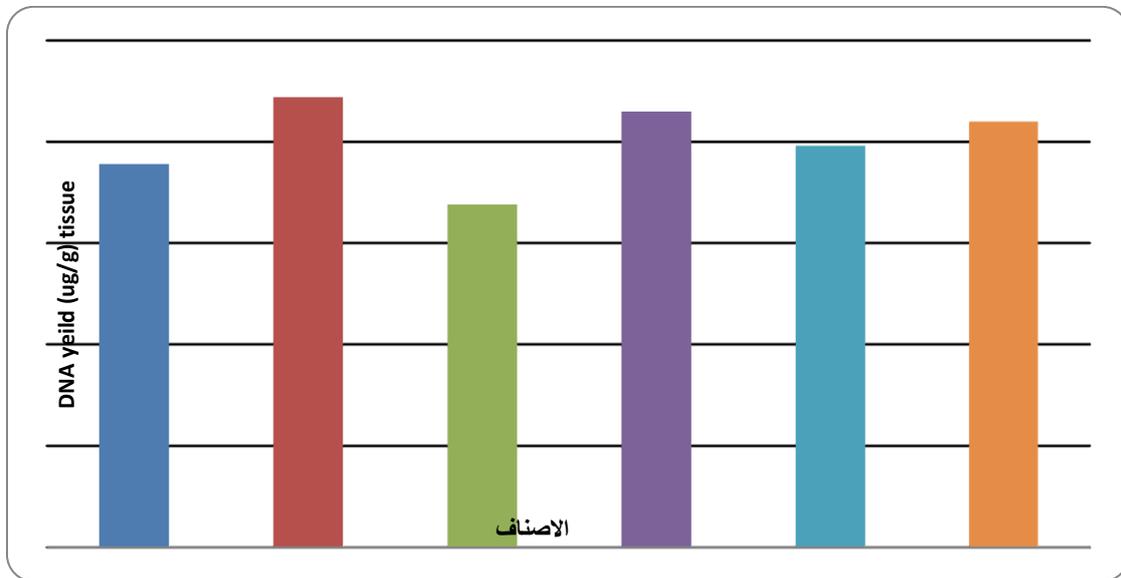
النتائج والمناقشة

لوحظ من لوحه (1) ناتج الترحيل الهلامي للدنا المجيني لاصناف النخيل التمر النادره قيد الدراسة، أن حزم الدنا على هلام الاكاروز كان واضحا وبشكل جيد وهذا يدل الى ان عملية الاستخلاص هي عملية ناجحة قد استطاعت العدة الجاهزة المستخدمة في عملية الاستخلاص من الحصول على كمية ونوعية من الدنا يمكن استخدامها لتضخيم قطع الدنا ببرنامج PCR لايجاد التقارب الوراثي وتحديد البصمة الوراثية بتقنية RAPD، ويوضح شكل(1) أعلى امتصاصية للدنا المجيني المستخلص من أصناف النخيل الستة على طول موجي 280 و 260 اذ يتضح ان اغلب النسب بين

الامتصاصية المتحققة من الطولين الموجبين كانت بين 1.8-2.0 وهو دليل على نقاوه DNA المستخلص وعدم وجود نسبة تلوث سواء بالبروتينات او RNA (Ahmad *et al.*, (2004) و Arif *et al.*, 2010)، كما يوضح الشكل (2) كمية الدنا المستخلص، إذ يتضح ان العدة الجاهزة المستعمله أعطت كمية من الدنا المجيني هي كافيه لتقنية RAPD والتقانات الاخرى المعتمدة على PCR وهي تقنية تحتاج كمية قليل من قالب الدنا لايتجاوز 100نانوغرام (Arif *et al.*,2010 و Hussein, 2015).

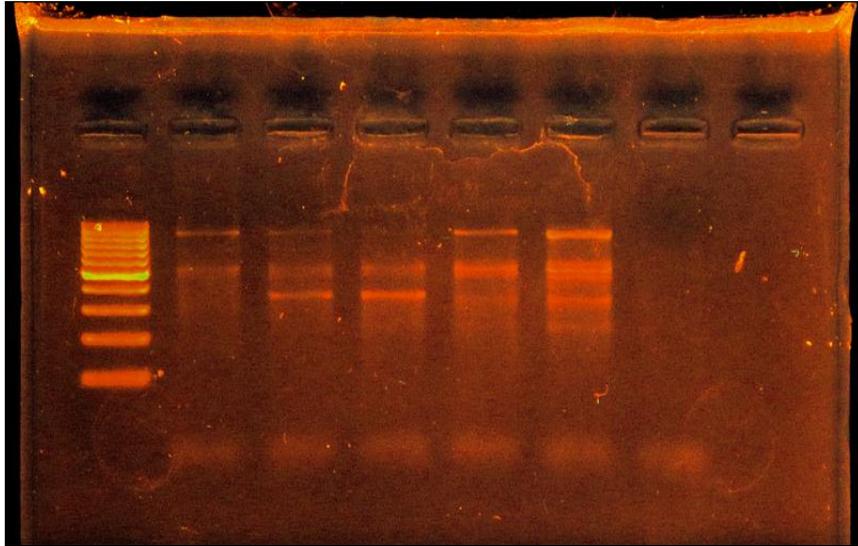


شكل (1) النسبة بين اعلى امتصاص على طول الموجي 260 و 208 للدنا المجيني المستخلص من اوراق ستة من اصناف النخيل النادرة

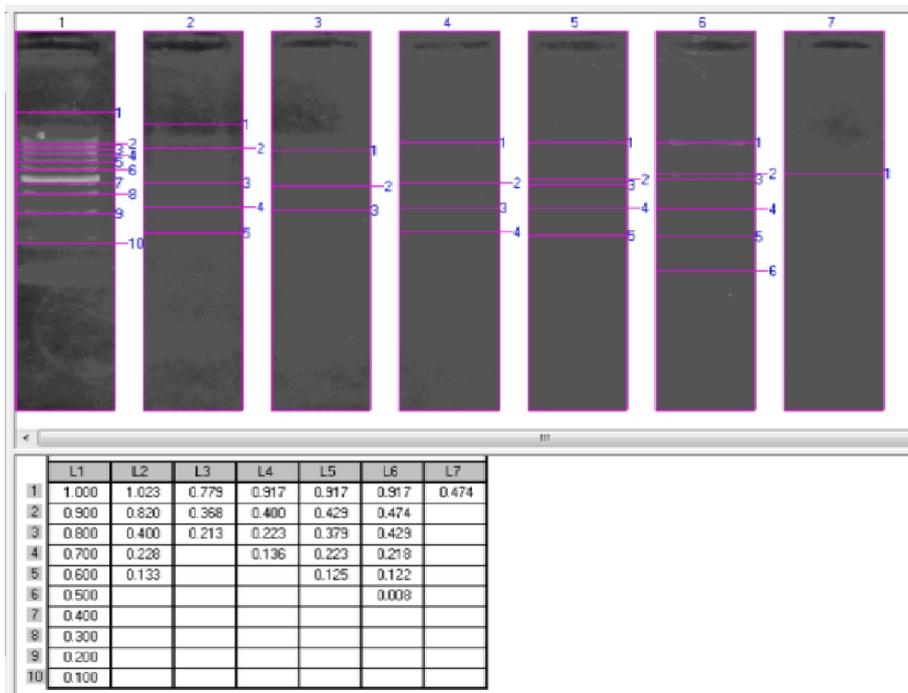


شكل (2) كمية الدنا المجيني المنتج من ستة اصناف من نخيل التمر النادر المستخلص بالعدة الجاهزة
peq_LAP

يتبين من لوحه (2 و 3) نتيجة التضخيم وجانب من عملية تحديد الحزم باستخدام حزمة البرنامج الجاهزه Photocapt للبادئ OPA-01 والذي عبر عنها ب (1) لوجود الحزمة و (0) لغيابها، اما الوزن الجزيئي فاستخدم لاستخراج قيم .PAC

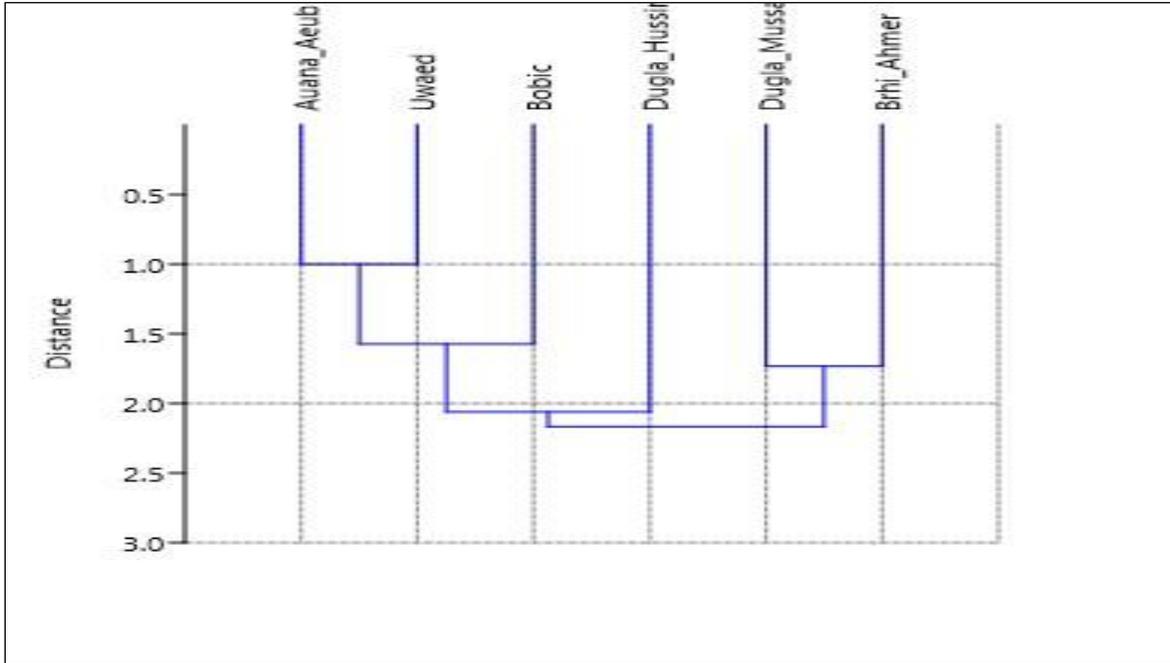


لوحه (1) نتيجة التضخيم لبادي OPA_01 لسته من أصناف النخيل النادرة (من اليسار الى اليمين)الادر، دكله حسين، دكله موسى، عوينة ايوب، عويد ، بويكي، برحي احمر

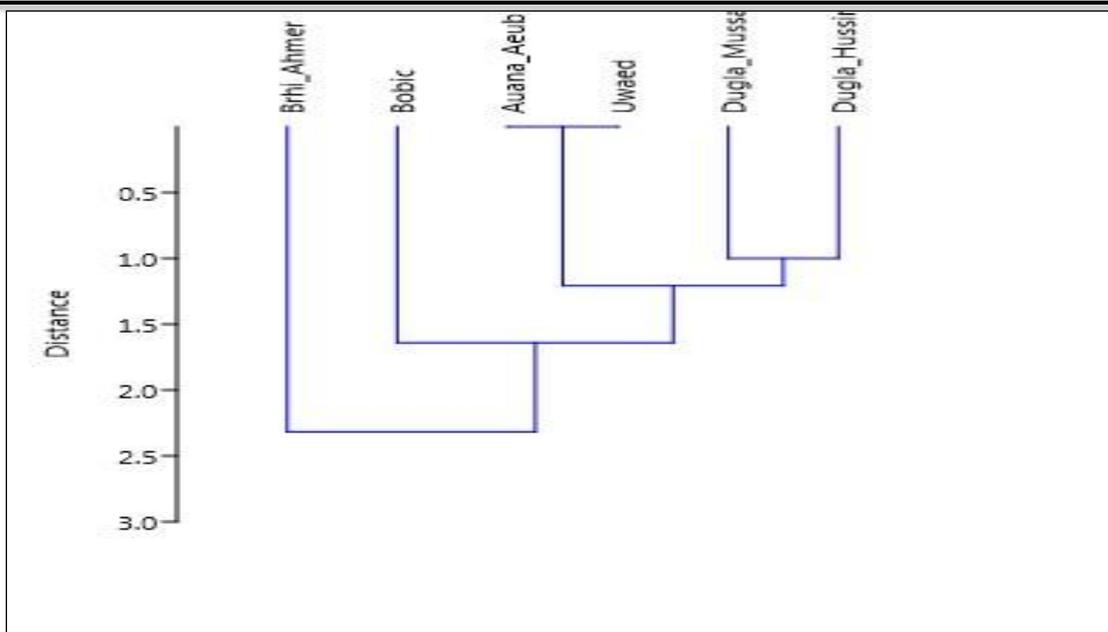


لوحه (2) جانب من تحديد الحزم باستخدام برنامج Photocapt لسته من اصناف النخيل النادرة بالاعتماد على البادئ OPA_01

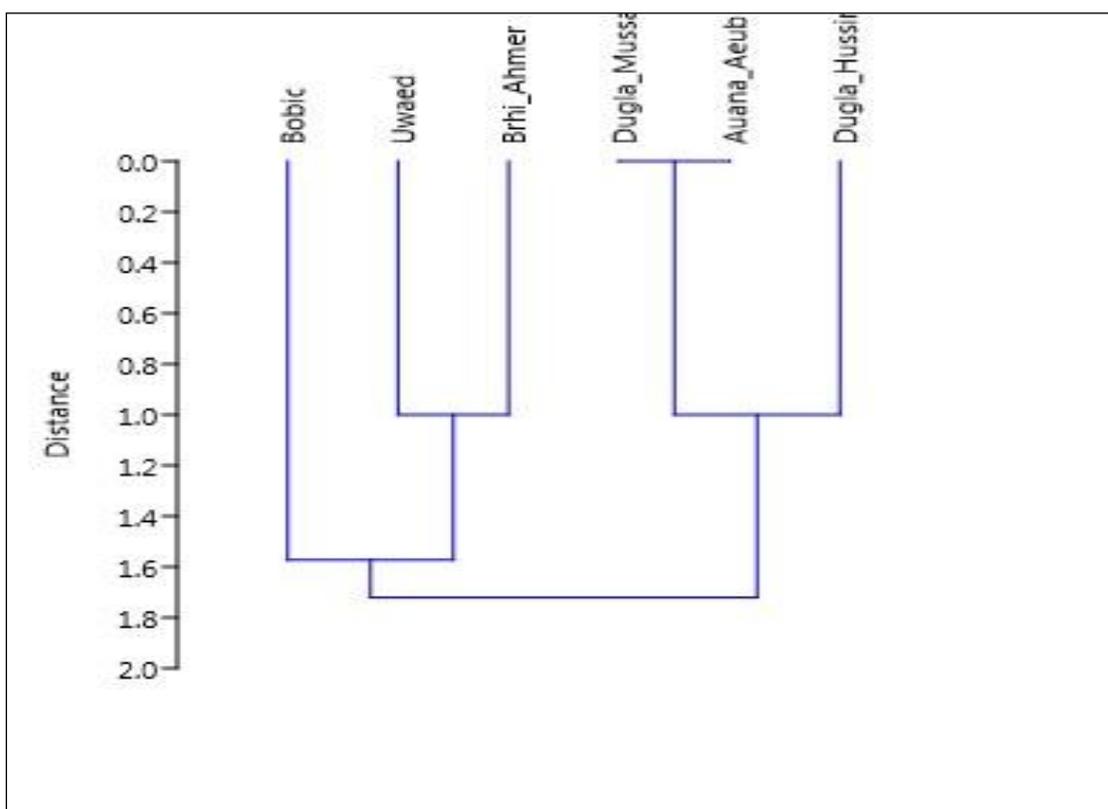
اذ لوحظ من شكل (3) المخطط العنقودي الشجري لأصناف النخيل قيد الدراسة إن استخدام البادئ OPH_03 أعطى تقارب وراثي بين صنف عويد وعوينه ايوب في عنقود واحد وتقارب مع الصنف بوبكي، في حين لوحظ ان المخطط العنقودي الشجري للبادئ OPH_06 شكل (4) قد أوضح ان اقل مسافة وراثية واكبر تشابه كان بين صنف عويد وعوينة ايوب وشكل صنف البرحي الاحمر عنقود مستقلا بذاته، اما البادي OPH_07 فقد سجل اقرب صنفين هي دكله موسى وعوينه ايوب (شكل،5)، وقد سجل صنف البوبكي ودكله حسين اقرب الاصناف عند استعمال البادئ OPA_01 (شكل،6)، وسجل البادئ OPH_04 ثلاثة عناقيد كان اقرب مسافة وراثية للصنفين بوبكي وعوينة ايوب (شكل،7)، واتفق البادئ OPH_04 مع البادئ OPH_05 في موقع جميع الأصناف قيد الدراسة من حيث البعد الوراثي والعنقود الشجري شكل (8). ان لكل بادئ خصوصية معينة في ايجاد التباين الوراثي بين الاصناف وقد يكون لبادئ ما تاثير اكبر من بادئ اخر، فالبادئ OPH-03 المستخدم في هذه الدراسة استخدم من قبل Ali *et al.*, (2008) على نبات القطن و واوصى به Demir(2010) في ايجاد التباين الوراثي لاصناف من الباذنجان، واستخدمه Rao *et al.*, (2014) في ايجاد التباين الوراثي وارسم العلاقات الوراثية بين اصناف قصب السكر. اما البادئ OPH-05 فقد استخدم من قبل (Solar *et al.*, 2005 و Yadav *et al.*, 2012) في ايجاد التباين في عدد من النباتات، الا ان هذه البوادئ قليلا ما استخدمت في ايجاد التباين الوراثي بين اصناف النخيل لذا جمعت هذه الدراسة بين استخدام انواع جديدة من البوادئ على اصناف نادرة من النخيل.



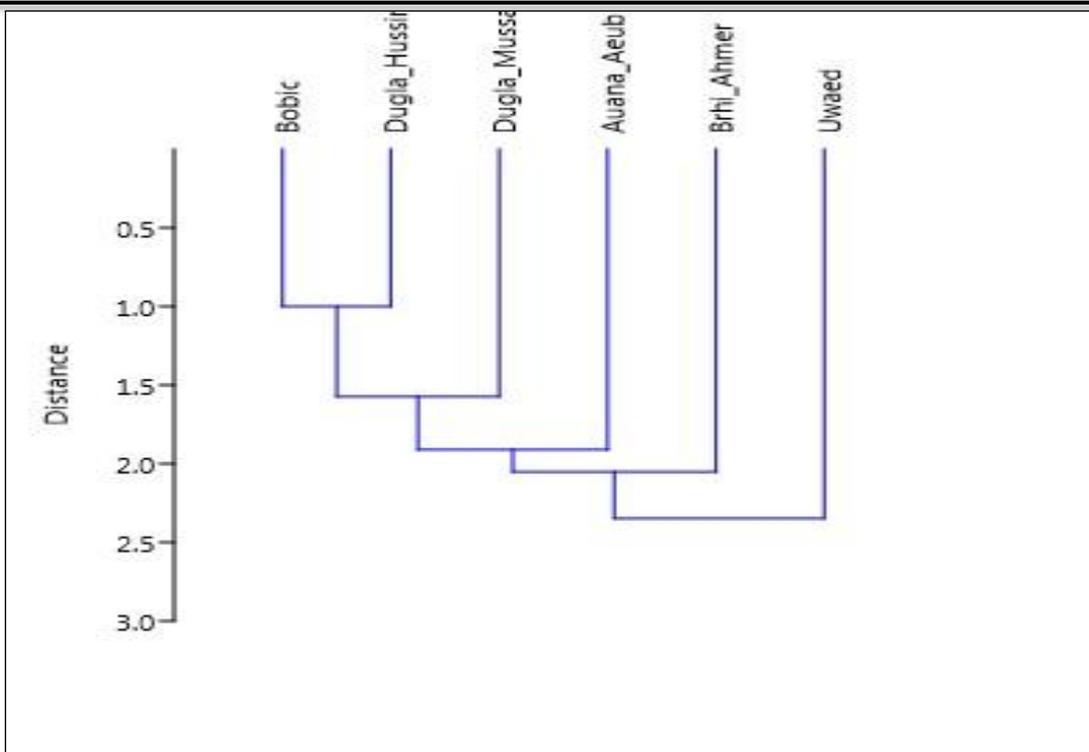
شكل (3) شجرة التقارب Dendrogram لسنة اصناف من نخيل التمر النادر باعتماد على البادئ OPH_03



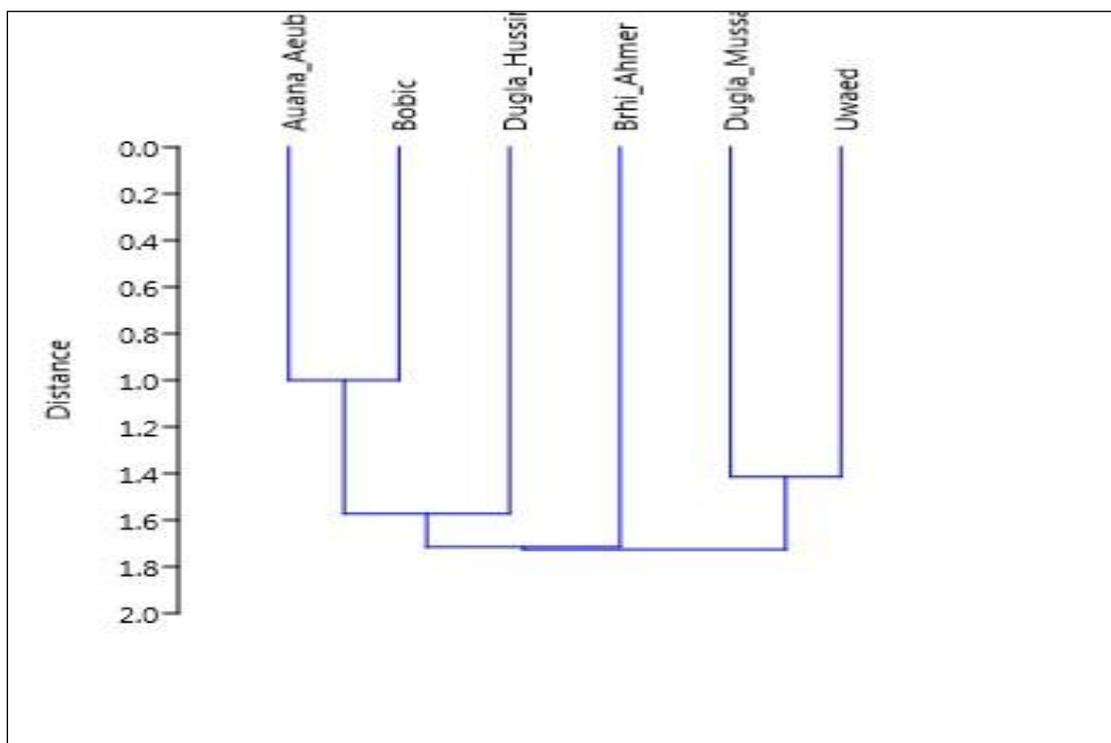
شكل (4) شجرة التقارب Dendrogram لستة اصناف من نخيل التمر النادر باعتماد على البادئ OPH_06



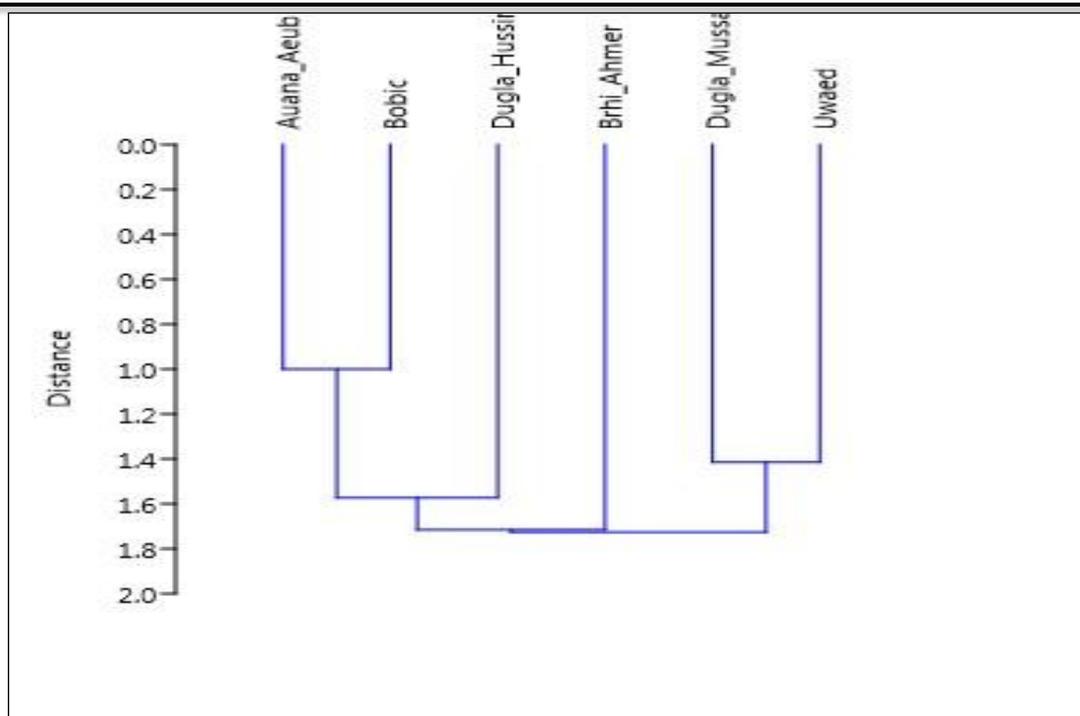
شكل (5) شجرة التقارب Dendrogram لستة اصناف من نخيل التمر النادر باعتماد على البادئ OPH_07



شكل (6) شجرة التقارب Dendrogram لستة اصناف من نخيل التمر النادر باعتماد على البادئ OPA_01



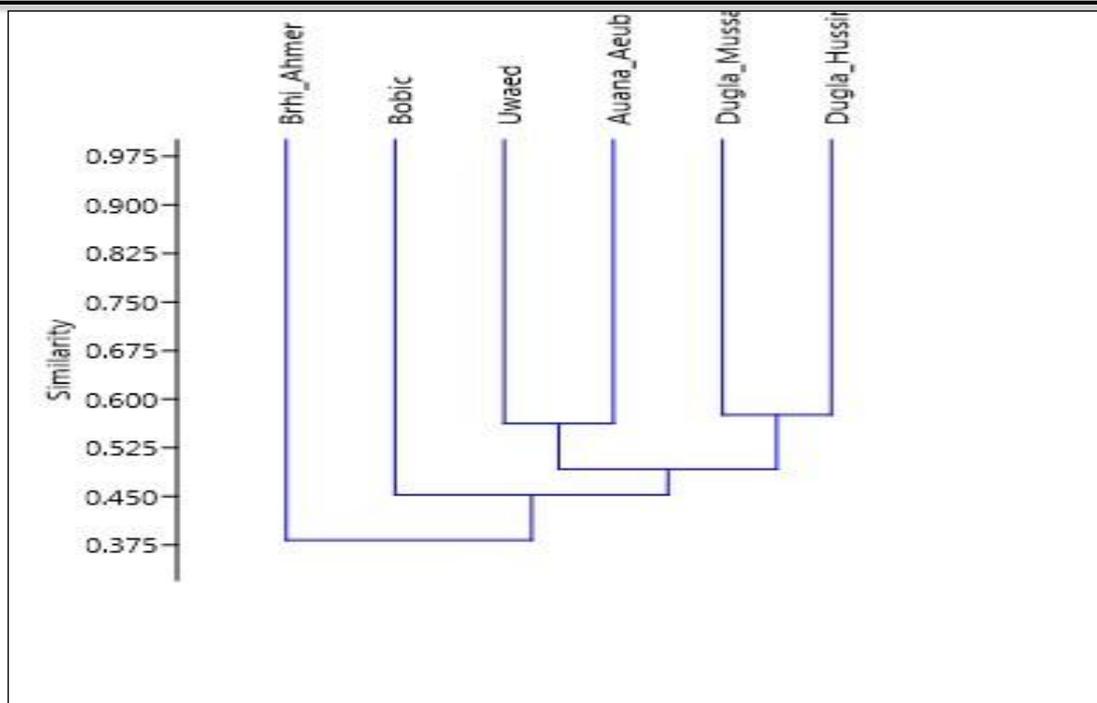
شكل (7) شجرة التقارب Dendrogram لستة اصناف من نخيل التمر النادر باعتماد على البادئ OPH_04



شكل (8) شجرة التقارب Dendrogram لستة اصناف من نخيل التمر النادر باعتماد على البادئ OPH_05

ان ايجاد توليفة من عدد من البوادئ يمكن ان تشكل فارق في ايجاد التباين الوراثي بين اصناف النخيل وتجعلها اداة قوية في ذلك فقد لوحظ ان هذه البوادئ ذات تشكل وراثي جيد في العديد من النباتات ولكنها قليلا ما استخدمت على أصناف النخيل في إيجاد التنوع ورسم العلاقات الوراثية بين أصناف النخيل النادرة قيد الدراسة والموضحة بالشكل (9)، اذ يتبين من التحليل العنقودي ان شجرة التقارب قد جمعت اصناف النخيل قيد الدراسة بأربعة عناقيد تضمن العنقود الأول صنف دكة حسين ودكلة موسى بنسبة تشابه بلغ 0.57 في حين تمثل العنقود الثاني بجمع صنف عوينة ايوب وعويد في عنقود واحد كان نسبة التشابه به 0.56، بعد هذا نلاحظ من الشكل ادراج الصنف البوكي في عنقود لوحدة ليعطي قيمة تماثل او تشابه بلغت 0.55 مع صنف النخيل عوينة ايوب جدول (2) ، ويظهر ابعده هذه الأصناف في عنقود منفرد صنف النخيل برحي احمر ليسجل قيمة تماثل او تشابه تبلغ 0.41 مع الصنف بويكي.

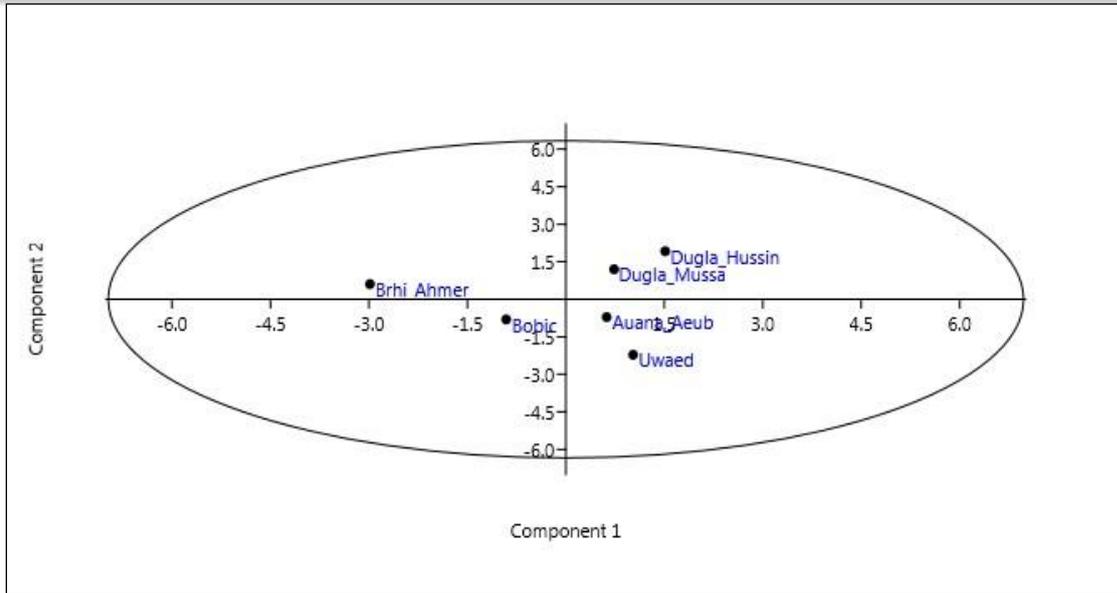
ان استعمال بوادئ تقنية RAPD هي اداة قوية في ايجاد التباين الوراثي بين اصناف نخيل التمر وقد استخدمت من قبل العديد من الباحثين منها (Pathak *et al.*, 2008) و Haider *et al.*, 2012 و Srivashtav *et al.*, 2015) كما ان نتيجة التحليل العاملي PCA يؤيد ما توصل به التحليل العنقودي كما يتضح من شكل (10) والذي يبين تجمع اصناف دكلة حسين ودكلة موسى في مكون و يتجمع صنف عوينة ايوب وعويد بالقرب منها، في حين رسم الصنفين البوكي والبرحي الاحمر في مكون اخر ، وهذا يتفق بالاجمال مع ما اوضحة العديد من الباحثين في استعمال هذا النوع من التحليل في ايجاد العلاقة الوراثية بين الاصناف (Khanam *et al.*, 2012) و Elhoumaizi *et al.*, 2012 و Marsafari and Mehrabi, 2013 و Haider *et al.*, 2015)



شكل (9) المخطط الشجري لستة اصناف من نخيل التمر النادرة بالاعتماد على ستة من البوادئ تقنية RAPD

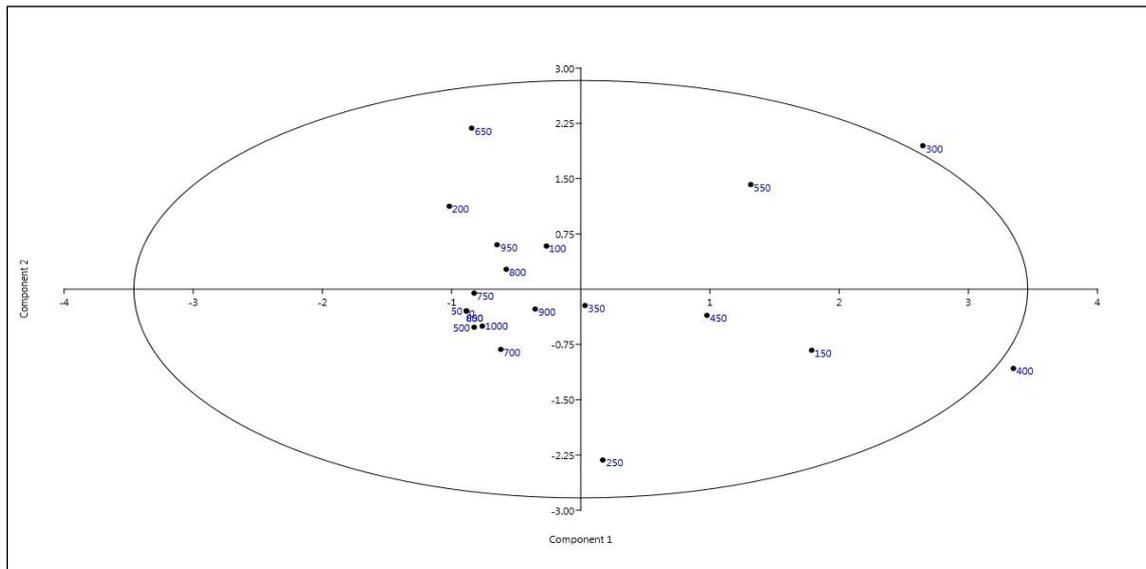
جدول (2) مصفوفة التشابه والمسافة الوراثية لستة من اصناف نخيل التمر النادره

Similarity and distance indices						
	Dugla_Huss	Dugla_Mus	Auana_Aeu	Uwaed	Bobic	Brhi_Ahmer
Dugla_Huss	1	0.57575758	0.5625	0.43589744	0.41666667	0.35897436
Dugla_Mus	0.57575758	1	0.48387097	0.48571429	0.42424242	0.4
Auana_Aeu	0.5625	0.48387097	1	0.5625	0.55172414	0.38235294
Uwaed	0.43589744	0.48571429	0.5625	1	0.41666667	0.35897436
Bobic	0.41666667	0.42424242	0.55172414	0.41666667	1	0.41176471
Brhi_Ahmer	0.35897436	0.4	0.38235294	0.35897436	0.41176471	1

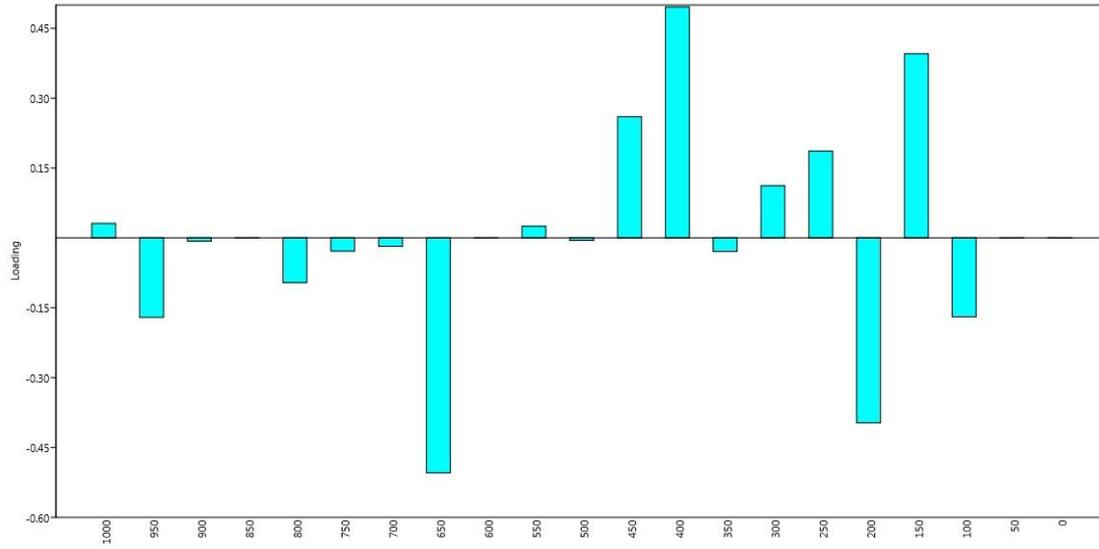


شكل (10) تحليل المكونات الأساسية لستة اصناف من نخيل التمر النادرة

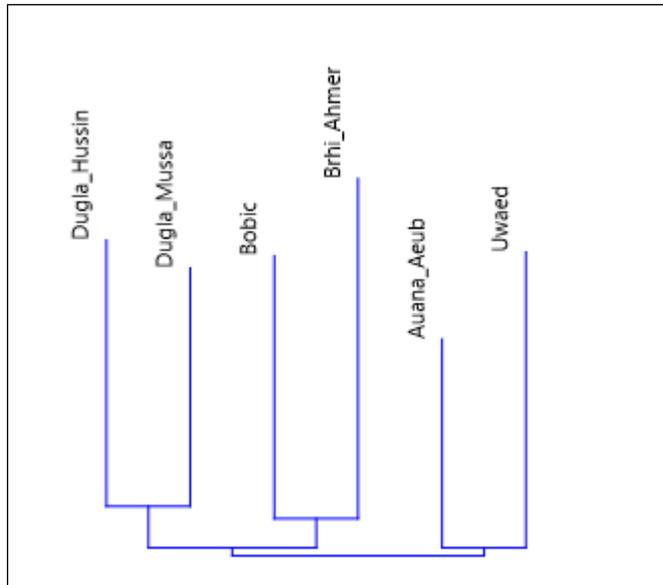
ونلاحظ من الشكل (11) الذي يمثل نتيجة التحليل العائلي PCA ان الحزم التي أعطت أعلى تباين بين البوادي والأصناف قيد الدراسة هي الحزم المتمحورة حول المركز بالرغم من ان هذه الحزم يمكن التفريق بين عدد قليل من الاصناف ولكن يمكن استخدام الحزم 300 و 400 مع الحزمتين 150 و 250 في ايجاد مجمل التباينات بين الاصناف قيد الدراسة والذي يوضحه في تحديد نسب التباين من المكون الاول (شكل،12) . كما تتفق النتائج المستحصل عليها مع تحليل الجار الاقرب (شكل،13) اذ يتبين انه يتطابق مع التحليل العنقودي ومن هذا نستنتج ان كلا التحليلين يمكن ان يجمعان الاصناف في عناقيد على اساس التقارب في الصفات المدروسة وهي اداة قوية في ايجاد التقارب والعلاقات الوراثية فضلا عن ايجاد البصمة الوراثية.



شكل (11) قيم الحزم التي اعطت اعلى تباين بين البوادي والاصناف نخيل التمر



شكل (12) نسب أسهام المكون الاول في التباين بين الحزم الناتجة من البوادئ لستة اصناف من نخيل التمر النادره



شكل (13) تحليل الجار الاقرب لستة من اصناف النخيل النادرة على اساس قيم الوزن الجزيئي لقيم حزم تضخيم تقنية التضاعف العشوائي متعدد الاشكال RAPD-PCR

ان فعالية البوادئ المستخدمة يمكن اجمالها في جدول (3) حيث يتبين ان أعلى عدد حزم كلي سجل من قبل البادي OPA-01 اذ اعطى 28 حزمة باعلى عدد حزم ذات تشكّل وراثي بلغ 9 حزم في حين سجل عدد حزم فريدة بلغ 3 حزمه، وسجل البادئ OPH-06 اعلى حزم فريدة بلغت 4 حزم، في حين سجل البادي OPH-03 اعلى نسبة تشكّل وراثي بلغ 33.33% واقل نسبة للتشكّل الوراثي كان من نصيب البادئ OPH_04 و OPH_05 ان اعلى قوه

تشخيصية كانت من قبل البديء OPA-01، ان الدراسة الحالية تتفق بشكل عام مع كل من (Haider *et al.*, 2012) و (Srivastav *et al.*, 2015).

نستنتج من الدراسة الحالية ان بوادئ تقنية RAPD هي اداة قوية في ايجاد التباين الوراثي ورسم شجرة القرابة بين أصناف النخيل ويمكن اعتمادها لهذه الغاية فقد وجد ان دكله موسى ودكلة حسين الاكثر تقارب من الناحية الوراثية تلاه صنفى البويكي و البرحي الاحمر. كما ان وسائل التحليل العاملي والجار الاقرب هي ادوات يمكن الاعتماد عليها في تلخيص البيانات الإحصائية وفي استخراج العلاقات الوراثية ومسافات البعد بين اصناف النخيل

جدول (3) بعض خواص البوادئ المستخدمة في تقنية RAPD-PCR لستة من اصناف نخيل التمر النادرة

البوادئ	عدد الكلي للحزم	أعلى عدد الحزم/الصف	عدد الحزم المتشابهة Mono	عدد الحزم المتباينة Poly	عدد الحزم الفريدة Uniq	النسبة المئوية للنسبة المئوية للشكلية	النسبة المئوية للحزم الفريدة	كفاءه البادئ	القوه التشخيصية
OPH-03	24	9	1	8	2	33.33	22.22	16	19.51
OPH-06	25	9	2	7	4	28	44.44	16.66	17.07
OPH-07	23	7	2	5	2	21.73	28.57	15.33	12.19
OPA-01	28	10	1	9	3	32.14	30	18.66	21.95
OPH-04	25	8	2	6	3	24	37.5	16.66	14.63
OPH-05	25	8	2	6	3	24	37.5	16.66	14.63
Total	150	51	10	41	17				

References

المصادر

- البيكر، عبد الجبار (1972)، نخلة التمر ماضيها وحاضرها والجديد في زراعتها وصناعتها وتجاريتها. مطبعة العاني - بغداد-1085 صفحة .
- الجهاز المركزي للإحصاء (2013). الإحصائية السنوية. بغداد، جمهورية العراق.
- عبد الواحد، عقيل هادي (2011). دراسة البصمة الوراثية لصنفين من افضل نخيل التمر *Phoenix dactylifera L.* وتأثير لقاكما في الصفات الفيزيائية والكيميائية لثمار صنف الحلاوي، اطروحة دكتوراه، كلية الزراعة- جامعة البصرة-العراق.
- Ahmad, S. M., M. M. Ganaie, P. H. Qazi, V. Verma, S. F. Basir and G. N. Qazi(2004).Rapid dna isolation protocol for angiospermic plants. Bulg. J. Plant physiol, 30(1-2), 25-33
- Ali, M. A., M. T. Seyal, S. I. Awan, S. N., S. Ali and A. Abbas (2008).Hybrid authentication in upland cotton through RAPD analysis. Aust. J. of Crop Science. 2(3):141-149.
- Arif, I. A., M. A. Bakir, H. A. Khan, A. Ahamed, A. H. Al Farhan, A. A. Al Homaidan, M. Al Sadoon, A. H. Bahkali and M. Shobrak(2010).A Simple Method for DNA Extraction from Mature Date Palm Leaves: Impact of Sand Grinding and Composition of Lysis Buffer. Int. J. Mol. Sci. , 11, 3149-3157
- Demir, K., M. Bakır, G. Sarıkamış and S. Acunalp(2010).Genetic diversity of eggplant (*Solanum melongena*) germplasm from Turkey assessed by SSR and RAPD markers. Genetics and Molecular Research 9 (3): 1568-1576
- Elhoumaizi, M. A., M., A. Oihabi and C. Cilas (2012). Phenotypic diversity of date-palm cultivars (*Phoenix dactylifera L.*) from Morocco. Genetic Resources and Crop Evolution 49: 483-490.
- Haider , N. I. Nabulsi and N. MirAli(2012).Phylogenetic relationships among date palm (*Phoenix dactylifera L.*) cultivars in Syria using RAPD and ISSR markers. Journal of Plant Biology Research, 1(2): 12-24
- Haider. M. S., J. A. Khan , M.J. jaskani , s. A. Naqvi , M. Hameed , M. Azam , A. A. Khan and J. C. Pintaud (2015). Assessment of morphological attributes of date palm accessions of diverse agro-ecological origin, Pak. J. Bot., 47(3): 1143-1151.
- Hussein ,M. A (2015).Determination of sex-specific dna markers date palm (*phoenix dactylifera l.*) Grown in Egypt utilizing nuclear microsatellite markers. J.Agric.Chem.and Biotechn., Mansoura Univ. Vol. 6(7): 237 – 246.

- Khanam, S., A. Sham, J. L. Bennetzen and M. A. M. Aly (2012). Analysis of molecular marker-based characterization and genetic variation in date palm (*Phoenix dactylifera* L.). *AJCS* 6(8):1236-1244.
- Marsafari, M . and A. A. Mehrabi (2013).Molecular identification and genetic diversity of Iranian date palm (*Phoenix dactylifera* L.) cultivars using ISSR and RAPD markers. *AJCS* 7(8):1160-1166.
- Pathak, M. R. and R. Y. Hamzah (2008). RAPD analysis of date palm cultivars of Barhain. *Floriculture and Ornamental Biotechnology* 2(1),9-11.
- Solar A., A. P.sek and F. S. tampar (2005). Phenotypic and genotypic diversity of European chestnut (*Castanea sativa* Mill.) in Slovenia – opportunity for genetic improvement. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 52: 381–394.
- Srivastav, V. S., C. V. Kapadia, M. K. Mahatma, S. K. Jha, S. Jha and T. Ahmad (2013).Genetic diversity analysis of date palm (*Phoenix dactylifera* L.) in the Kutch region of India using RAPD and ISSR markers. *Emir. J. Food Agric.* 25 (11): 907-915
- Yadav. K., S. K. Yadav, A. Yadav, V. P. Pandey and U. N. Dwivedi (2012).Genetic Diversity of Pigeonpea (*Cajanus cajan* (L.) Millsp.) Cultivars and Its Wild Relatives Using Randomly Amplified Polymorphic DNA (RAPD) Markers. *American Journal of Plant Sciences*, 3, 322-330.

DNA fingerprint determination for six date palm *Phoenix dactylifera* L. cultivars

using of RAPD-PCR molecular technique

Aqeel Hadi Abdulwahid

College of agriculture- university of Basrah- Iraq

Aqeelhadi6@gmail.com

Abstract

The study was conducted in the molecular genetics laboratories at the College of Agriculture, University of Basrah. In order to find the similarities and genetic distance as well as fingerprint of DNA profile by RAPD-PCR for six date palm cultivars (Dalka Mousa, Dakla Hussein, Aouina Ayoub, Bubki, Awaid and Burhi Ahmar) using six RAPD random primers. Results showed four grouping including the closest genetic distance between the Dokla Hussein and Dokla Moses followed by other cultivars. Advanced statistical analyses were used to find the principal components analysis PCA and neighbor joining clustering