

## التباين الوراثي لثمار الفلفل الحلو *Capsicum annuum* L. لعينات محلية ومستوردة في العراق باعتماد تقانة RAPD-PCR

إحسان عرفان حسين

شيماء صباح مهدي

قسم علوم الحياة/ كلية التربية للعلوم الصرفة ( أبن الهيثم)/ جامعة بغداد

استلم البحث في: 17/اب/2015، قبل البحث في: 15/تشرين الثاني/2015

### الخلاصة

درس التباين الوراثي في 22 عينة محلية ومستوردة من ثمار الفلفل الحلو التي جمعت من السوق المحلية العراقية باعتماد تقانة الدنا متعدد الأشكال المضخم عشوائياً (Random amplified polymorphic DNA (RAPD-PCR). أستعملت خمس بادئات عشوائية في هذه الدراسة وأن هذه البادئات قد أنتجت 292 حزمة تراوحت أحجامها الجزيئية بين 1.8 كيلو زوج قاعدة (1800 زوج قاعدي) و 150 زوج قاعدي. كانت نسبة التعدد الشكلي لجميع البوادئ 100% مع ظهور حزمة متميزة واحدة وبحجم جزيئي 1.8 كيلو زوج قاعدة عندما أستعمل البادئ C52، بينما لم تنتج البادئات الأخر أي حزم متميزة. نتائج شجرة القرابة الوراثية التي رسمت بالأعتماد على النتائج المتحصل عليها من استعمال البادئات العشوائية وبالاعتماد على مقياس Jaccard للتشابه الوراثي قد وزعت العينات ضمن التحليل العنقودي إلى ثماني مجاميع رئيسية. أظهرت شجرة القرابة وجود تشابه عال بين ثمار الفلفل الحلو العراقي/اليوسفية الأخضر وثمار الفلفل الحلو الأردني الأصفر بنسبة 0.84 وهي أعلى قيمة تشابه، بالمقارنة مع تشابهه وبقية صفر بين ثمار الفلفل الحلو الإيراني الأصفر وبين عينات ثمار الفلفل الحلو الأخرى. نسبة التشابه العالية ظهرت أيضاً بين ثمار الفلفل الحلو الإيطالي البرتقالي والأحمر وبقية 0.74 وكذلك بين ثمار الفلفل الحلو الأسباني الأحمر وثمار الفلفل الحلو الإيطالي الأخضر وبقية 0.73 وبين ثمار الفلفل الحلو الإيراني الأحمر والأردني الأخضر وبقية 0.72 وبين ثمار الفلفل الحلو العراقي/الصويرة الأخضر وبين ثمار الفلفل الحلو العراقي/يوسفية الأخضر وثمار الفلفل الحلو الأردني الأصفر (يقعان في نفس تحت المجموعة) وبقية 0.69. ثمار الفلفل الحلو العراقي/بلد الأخضر وثمار الفلفل الحلو الصيني الأحمر قد أظهرت تشابهاً وراثياً وبقية 0.61. أظهرت قيم البعد الوراثي بين عينات ثمار الفلفل الحلو المدروسة أعلى قيمة كانت بين عيني ثمار الفلفل الحلو الصيني الأصفر والإيراني الأخضر وبقية 5.0، بينما كان أقل بعد وراثي بين عيني ثمار الفلفل الحلو الأسباني الأخضر والإيطالي الأصفر إذ كانت القيمة مساوية إلى 1.0.

الكلمات المفتاحية: Genetic variation ، *Capsicum annuum* L. ، RAPD ، Bell pepper

## المقدمة

يعد الفلفل *Capsicum annuum* L. بمختلف أنواعه من الخضراوات عالية القيمة الغذائية، ومصدراً مهماً لفيتامينات A، C، و E وللعديد من المواد المضادة للأكسدة Antioxidant، ويستعمل كمنكه وملون طبيعي للطعام فضلاً عن فوائده الطبية العديدة كمضاد للالتهابات Anti-inflammatory ومضاد للحساسية Anti-allergenic ومضاد للسرطن Anti-carcinogenic، إذ تم إثبات إمكانية تقليل خطر السرطان باستعمال الفلفل الأحمر الناضج [1,2,3]. يعود الفلفل للعائلة الباذنجانية Solanaceae ويضم 27-30 نوعاً معروفاً، خمسة منها فقط مدجنة Domesticated وهي *Capsicum annuum*، *C. baccatum*، *C. chinense*، *C. frutescens* و *C. pubescens* [4,5]. يعتقد أن هذه الأنواع الخمسة المدجنة مشتقة من ثلاثة أنساب وراثية متميزة وأن كل من *C. pubescens* و *C. baccatum* مشتقان من نسبين مستقلين، بينما الأصناف الباقية *C. annuum*، *C. chinense* و *C. frutescens* مشتقة من سلف قد يكون منحدراً من نوع مستقل أو غير مستقل ويعتقد بأن أصل الفلفل منحدراً من أميركا الجنوبية [6,7]. أن الفلفل *C. annuum* يعد من أهم هذه الأنواع الخمسة ويضم النوع الحار Pungent (Hot) والنوع البارد Sweet (mild). الفلفل الحار يحتوي على مركبات قلوية مسؤولة عن الطعم الحار وهي (Capsaicinoids) وهذه لها فوائد طبية عديدة وكذلك لها أهمية في الصناعات الدوائية يفنق لها الفلفل الحلو ولكن هذا لا يمنع كونه مصدراً مهماً للمغذيات Nutrients مثل الكاروتينات والفينولات والفيتامينات [3]. أن تصنيف هذا الجنس محير وصعب أحياناً عند الاعتماد على المعلومات المظهرية فقط Morpho-agronomic data [5]، وذلك لتأثر الصفات المظهرية بالعوامل البيئية وعدم دقتها في التمييز بين الطرز الجينية المتقاربة [8].

أن مجين الـ *Capsicum* يتألف من 12 زوجاً كروموسومياً مع حجم مجيني لأحادي المجموعة الكروموسومية يقدر بـ 3.3-3.6 كيكا زوج قاعدة [9,10]. أن المعلومات عن التغيرات الوراثية تساعد في زيادة كفاءة، تطوير وتحسين الأنواع، إذ أن العديد من المزارعين أتجهوا إلى المزروعات ذات الإنتاج العالي والصفات المرغوبة بدلاً من المزروعات التقليدية Traditional cultivars [11,12]، وبالرغم من كون الفلفل من أكثر الخضراوات المستزرعة، لكنه لم يحظ بدراسة كافية من الناحية الوراثية والجزيئية مقارنة بالمحاصيل الأخرى، إذ أن الصعوبة تكمن في إيجاد واصمات وراثية DNA markers جيدة لدراسة الفلفل لأن مجينه عالي الثبات Highly conserved خصوصاً الفلفل المستزرع الذي يعتبر أقل تنوعاً من الأشكال البرية فضلاً عن أن الفلفل الحلو ذو الثمرة الكبيرة يظهر تنوعاً قليلاً مقارنة بتنوع ثمرة الفلفل الحار الصغيرة [13]. التنوع الوراثي وتشخيص مزروع الفلفل قد درس في العديد من الدراسات باستعمال Isozyme والتعدد الشكلي للبروتينات Protein polymorphism [14,15,16,17,18,19]، ولقد وجد [16] أن التغيرات في الـ Isozyme قليل جداً في ضروب الفلفل *C. annuum*، ولذلك يستعمل تحليل الـ Isozyme في برامج تربية الفلفل لاسيما عند أشراك أنواع مختلفة من *Capsicum* في مثل هذه البرامج. الواصمات الجزيئية Molecular markers التي تعد الأفضل في فهم المجين والتغيرات الجيني، وكذلك في توضيح العلاقات الجينية بين الأنماط الجينية Genotypes لكونها غير متأثرة بالعوامل البيئية، وكما أنها تكون سريعة وأكثر كفاءة في كشف الفروقات بين النباتات بشكل أكثر من الصفات المظهرية [20]. استعملت العديد من الواصمات الجزيئية في دراسة التنوع الوراثي في الفلفل مثل RAPD [1,21]، AFLP [22,23,24]، RFLP [25,26]، SSR [27]. أن استعمال طريقة RAPD أو استعمال ISSR في دراسة التباينات على مستوى الدنا كواصم للتحقق من العلاقات التطورية بين النباتات التي تم تشخيصها بوضوح [28,29]. الواصم الجزيئي RAPD يستعمل في مثل هذه الدراسات لعدة أسباب منها البساطة واختزال الوقت في ظهور النتائج والكلفة القليلة مقارنة بباقي الواصمات الوراثية [30]، إذ لا يتم استعمال مجسات مشعة Radioactive probes ولا يتطلب المعرفة المسبقة لتسلسل الدنا في تصميم البودائ Primers design، وكذلك يتطلب كمية قليلة من قالب الدنا DNA. إن طريقة RAPD يمكنها أن تجهز معلومات دقيقة لفصل الأنواع وتصنيفها ورسم الشجرة الوراثية Dendrogram [1,5]. أن هدف هذه الدراسة هو دراسة إمكانية تحديد التعدد الشكلي Polymorphism لثمار الفلفل الحلو الكبيرة Bell pepper المزروعة محلياً والمستوردة من بلدان أخرى باستعمال RAPD markers وتحديد القرابة الوراثية بين ضروب الفلفل المدروسة باستعمال تقانة Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean (UPGMA).

## المواد وطرائق العمل

## جمع العينات

جمعت 22 عينة من ثمار الفلفل الحلو Bell pepper المحلية والمستوردة من السوق المحلية العراقية في محافظة بغداد وصنفت بالاعتماد على شكل الثمرة لعدم وجود السيقان والأوراق النباتية ولم يتسنى لنا معرفة فيما إذا كانت العينات ضروب مستزرعة أو نباتات محورة وراثياً لعدم معرفة المصدر الحقيقي للبلاد المصدر لتلك الثمار (جدول 1).

## البودائ المستعملة

تم تصنيع البودائ Primers في شركة Alpha DNA الكندية وحسب الطلب. تم استعمال 5 أنواع من البودائ الخاصة بدراسات RAPD-PCR وحسب المراجع العلمية المختصة في دراسات التنوع الوراثي لثمار الفلفل الحلو. البادئ الأول المستعمل هو (5'-GTTTCGCTCC-3') OPB-01 والبادئ الثاني (5'-CCTTGACGCA-3') OPB-12

والبيدات الثالث (5'-GGAGGGTGTGTT-3') OPB-15 بحسب المصدر [30] والبيدات الرابع (5'-C43 (3'-GGCGGCACAGGA-5') والبيدات الخامس (5'-GTTCGACGGACGT-3') C52 بحسب المصدر [1]. تم أذابة هذه البيدات باستعمال الماء الخالي من أنزيم النيوكليز Nuclease-Free water وحسب النشرة المرفقة من قبل الشركة.

### استخلاص الدنا الكلي من ثمار الفلفل الحلو Bell pepper

أستخلص الدنا الكلي من ثمار الفلفل الحلو بحسب طريقة [31] مع بعض التحويلات. أخذ غرام واحد تقريباً من ثمار الفلفل الحلو المجفف بالنتروجين السائل Liquid nitrogen ووضع في أنبوبة Eppendorf بحجم 1.5 مليلتر. سحقت أنسجة ثمار الفلفل الحلو في 100 مايكرومليلتر من داري أستخلاص الدنا DNA extraction buffer باستعمال قضيب بلاستيكي لمدة من 15-20 ثانية. يتكون هذا الداري من (100 ملي مولر Tris-HCl pH=7.5 و 50 ملي مولر EDTA pH=7.5 و 500 ملي مولر NaCl و 10 ملي مولر من  $\beta$ -mercaptoethanol). أضيف 300 مايكرومليلتر إضافي من داري أستخلاص الدنا وسحقت أيضاً أنسجة ثمار الفلفل لمدة من 15-20 ثانية وكما في أعلاه. أضيف 40 مايكرومليلتر من محلول SDS بتركيز 20% وتم خلطه بالهزاز Vortex لمدة 30 ثانية. حضنت العينة تحت حرارة 65 °م لمدة 15 دقيقة لغرض تحليل الخلايا. أضيف 10 مايكرومليلتر أنزيم من DNase-free RNase A من المحلول الخزين 10 مليغرام/مليلتر وحضنت تحت حرارة 37 °م لمدة 60 دقيقة. أضيف 200 مايكروغرام من أنزيم Proteinase K أو 10 مايكرومليلتر من المحلول الخزين 20 مليغرام/مليلتر وحضنت تحت حرارة 50 °م لمدة 60 دقيقة. أضيف حجم متساو إلى العينة من خليط Phenol/Chloroform/Isoamyl alcohol (25:24:1) وخلطت باستعمال الهزاز لمدة 30 ثانية ومن ثم نبذت مركزياً عند 13000 دورة/دقيقة لمدة 10 دقائق تحت حرارة 4 °م. نقل الجزء الطافي إلى أنبوبة Eppendorf جديدة وأستخلص الدنا مرة أخرى مع خليط Phenol/Chloroform/Isoamyl alcohol (25:24:1) ومن ثم نبذت مركزياً عند 13000 دورة/دقيقة لمدة 10 دقائق تحت حرارة 4 °م ونقل الجزء الطافي إلى أنبوبة جديدة. أضيف 500 مايكرومليلتر من الكلورفورم ومن ثم نبذت مركزياً عند 13000 دورة/دقيقة لمدة 10 دقائق تحت حرارة 4 °م لغرض التخلص من الفينول المتبقي، ويمكن إعادة هذه الخطوة مرة أخرى. نقل الجزء الطافي إلى أنبوبة اختبار جديدة وأضيف 1/10 من حجم العينة مادة من مادة خلاص الصوديوم NaOAc بتركيز 3 مولاري وأضيف حجمان من مادة الأيثانول Ethanol أيضاً بتركيز 95% وخلط جيداً وحضنت العينة عند حرارة 20- °م لمدة 30 دقيقة لغرض ترسيب الدنا. نبذت العينة مركزياً عند 13000 دورة/دقيقة لمدة 30 دقيقة تحت حرارة 4 °م. تم التخلص من الجزء الطافي وغسل الجزء الراسب (الدنا) باستعمال كحول الأيثانول بتركيز 70% ونبذت العينة مركزياً عند 13000 دورة/دقيقة لمدة 10 دقائق تحت حرارة 4 °م وتم التخلص من الجزء الطافي ومن ثم جففت العينة بتركها لمدة 10 دقائق في المختبر لغرض التخلص من الأيثانول المتبقي وعلقت مرة أخرى في 100 مايكرومليلتر من TE buffer الذي يتكون من 10 مليمولر من Tris-HCl pH=8 و 1 مليمولر من EDTA. عين تركيز ونقاوة الدنا باستعمال الـ Nanodrop باستخراج نسبة A<sub>260</sub>/A<sub>280</sub> وأن الدنا النقي تكون قيمة نسبة الأمتصاص له هي 1.8±0.1 [32]، وحفظت العينة بعد ذلك تحت حرارة 20- °م.

### التباين الوراثي لثمار الفلفل الحلو باعتماد طريقة RAPD-PCR

درس التباين الوراثي لثمار الفلفل الحلو باعتماد تقانة الدنا متعدد الأشكال مضخم عشوائياً Random amplified polymorphic DNA (RAPD-PCR). حضر الخليط الأساسي Master Mix للبيدات الأول OPB-01 والبيدات الثاني OPB-12 والبيدات الثالث OPB-15 بحسب المصدر [30]، والبيدات الرابع C43 والبيدات الخامس C52 بحسب المصدر [1] تحت ظروف مبردة مع بعض التحويلات. استعمل Go Taq® Green Master Mix المزود من شركة Promega الأميركية بحجم 12.5 مايكرومليلتر وبتركيز 1X والبيدات Primer بحجم 2.5 مايكرومليلتر وبتركيز 1 مايكرومولر وقالب الدنا DNA template بحجم 2 مايكرومليلتراً وبتركيز 100 نانوغرام وكان الحجم الكلي للتفاعل 25 مايكرومليلتراً. وضعت العينات في جهاز التدوير الحراري Thermocycler لغرض تضخيم الدنا وضبط برنامج الجهاز للحصول على ظروف التفاعل للبيدات OPB-01، OPB-12، و OPB-15 كانت لمسح قالب Denature template بدرجة حرارة 94 °م ولمدة 5 دقائق والمسح الابتدائي Initial denaturation بدرجة حرارة 94 °م لمدة 30 ثانية وألتحام البيدات Annealing بدرجة حرارة 38.60 °م ولمدة دقيقة واحدة والاستطالة Extension بدرجة حرارة 72 °م لمدة دقيقتين والاستطالة النهائية Final Extension بدرجة حرارة 72 °م لمدة 10 دقائق. مراحل المسح الابتدائي وألتحام البيدات والاستطالة كانت لـ 45 دورة. وظروف التفاعل للبيدات C43 و C52 لمسح قالب Denature template بدرجة حرارة 94 °م لمدة 5 دقائق والمسح الابتدائي Initial denaturation بدرجة حرارة 94 °م لمدة 30 ثانية وألتحام البيدات Annealing بدرجة حرارة 56 °م للبيدات C43 و 52.58 °م للبيدات C52 لمدة 15 ثانية والاستطالة Extension بدرجة حرارة 72 °م لمدة دقيقة واحدة والاستطالة النهائية Final Extension بدرجة حرارة 72 °م لمدة 5 دقائق. مراحل المسح

الابتدائي وألتحام البادئ والأستطالة كانت لـ 40 دورة. حملت نواتج تضخيم الدنا الناتج من استعمال البادئات أعلاه لعينات الفلفل الحلو في المكان المخصص لها في هلام الأكاروز الذي كان بتركيز 1.5%، كما حمل الواصم الجزيئي الوراثي بحسب النشرة المرفقة معه الذي كان بحجم 1.5 كيلو زوج قاعدة. حملت صبغة التحميل البروموفينول الأزرق Bromophenol blue في كل عينة بحجم 3 مايكرومليتر ورحلت العينات كهربائياً من القطب الأسود السالب باتجاه القطب الأحمر الموجب تحت جهد كهربائي 75 فولتاً ولمدة من 3-4 ساعات. صبغ هلام الأكاروز بصبغة الأثيديوم برومايد Ethidium bromide (EtBr) لمدة 15 دقيقة، وشوهدت وصورت قطع الدنا المتضخمة بواسطة جهاز توثيق الهلام Gel documentation system المزود بكاميرا خاصة.

### التحليل الأحصائي

حولت نتائج الحزم المتحصل عليها بتقانة RAPD-PCR إلى مصفوفة ثنائية البعد Two-dimensional matrix وذلك بأعطاء رقم 1 عند وجود الحزمة ورقم 0 لعدم وجودها. حللت النتائج باستعمال برنامج أحصائي متخصص Past software ver. 1.92 [33]. درست العلاقة الوراثية بين ضروب الفلفل الحلو المدروسة باستعمال تقانة UPGMA، إذ درست شجرة القرابة الوراثية Dendrogram باستعمال مقياس Jaccard للتشابه الوراثي كما درس البعد الوراثي بالاعتماد على نسبة التشابه Euclidean coefficient بين عينات الفلفل الحلو المدروسة. تم حساب النسبة المئوية لعدد الحزم المتعددة الأشكال Polymorphic bands بتقسيم عددها على عدد الحزم الرئيسية مضروباً في 100.

### النتائج والمناقشة

#### نتائج التضخيم العشوائي للدنا متعدد الأشكال باستعمال تقانة RAPD-PCR في ثمار الفلفل الحلو

استعملت خمس بوادئ في التضخيم العشوائي للدنا متعدد الأشكال لغرض تعيين التباين الوراثي في ثمار الفلفل الحلو للعينات المحلية والمستوردة في العراق. أنتجت البادئات المستعملة في هذه الدراسة 292 حزمة. البادئ OPB-01 أنتج 81 حزمة تباين عددها من 2-6 حزم وبحجم جزيئي يتراوح بين 1.5 كيلو زوج قاعدة وبين 450 زوج قاعدي، إذ كان أقل عدد من الحزم قد أنتجت من عينة ثمار الفلفل الحلو الصيني البرتقالي، بينما عينات ثمار الفلفل الحلو الأردني البرتقالي، الأسباني الأخضر، العراقي/بلد الأخضر، الصيني الأحمر والأصفر والأيراني البرتقالي والأصفر لم تنتج أي حزم عندما أستعمل هذا البادئ. كانت نسبة التعدد الشكلي لهذا البادئ 100% ولم يظهر هذا البادئ أي حزم متميزة (شكل 1 أ، ب؛ جدول 2). البادئ OPB-12 أنتج 49 حزمة تباين عددها من 2-6 حزمة وبحجم جزيئي يتراوح بين 1.2 كيلو زوج قاعدة وبين 200 زوج قاعدي، كان أقل عدد من الحزم قد أنتجت من عينة ثمار الفلفل الحلو الأردني الأحمر والصيني البرتقالي، بينما عينات ثمار الفلفل الحلو الأردني البرتقالي، الأردني الأخضر، الأسباني الأخضر، العراقي/بلد الأخضر، الأسباني الطويل الأخضر، الأيراني الأحمر والبرتقالي والأصفر والأيطالي الأصفر لم تنتج أي حزم عندما أستعمل هذا البادئ. كانت نسبة التعدد الشكلي لهذا البادئ 100% ولم يظهر هذا البادئ أي حزم متميزة (شكل 2 أ، ب؛ جدول 2). البادئ OPB-15 أنتج 48 حزمة تباين عددها من 1-6 حزمة وبحجم جزيئي يتراوح بين 1.5 كيلو زوج قاعدة وبين 250 زوج قاعدي، إذ كان أقل عدد من الحزم قد أنتجت من عينة ثمار الفلفل الحلو الأيطالي البرتقالي، بينما عينات ثمار الفلفل الحلو الأردني البرتقالي والبرتقالي والأحمر، الأسباني الأخضر، الصيني البرتقالي، الأيراني البرتقالي والأصفر والأخضر، الأيطالي الأحمر الأشكال ينتج بسبب وجود الطفرات الوراثية أو بسبب حدوث إعادة الترتيب في تسلسلات النيكلوتيدات في مناطق البوادئ أو في المناطق المحصورة بين البوادئ ولهذا فإن تعدد الأشكال يعين بوجود أو عدم وجود الحزم عند استعمال تقانة RAPD، كما أن البوادئ العشوائية تعتبر واصمات جزيئية سائدة ولهذا لا يمكن استعمالها في تشخيص الكائنات المتباينة الزيجة Heterozygotes، كذلك يجب على البادئ العشوائي أن يلتحم Anneal باتجاه خاص، أي أن كل بادئ ينتج باتجاه البادئ الآخر، كما أنه يجب أن تكون مسافة معينة بينهما وعندما تكون المسافة كبيرة بين البادئين فلا يتم أكمال تفاعل PCR ولا يؤدي إلى إنتاج حزم [34]، ولهذا فإن عدم ظهور حزم قد يعود للأسباب أعلاه. كانت نسبة التعدد الشكلي لهذا البادئ 100% ولم يظهر هذا البادئ أي حزم متميزة (شكل 3 أ، ب؛ جدول 2). البادئ C43 أنتج 78 حزمة تباين عددها من 1-8 حزمة وبحجم جزيئي يتراوح بين 1.4 كيلو زوج قاعدة وبين 150 زوج قاعدي، إذ كان أقل عدد من الحزم قد أنتجت من عينة ثمار الفلفل الحلو الأسباني الطويل الأخضر، بينما عينات ثمار الفلفل الحلو الأردني الأخضر، الأسباني الأخضر والأحمر، الصيني الأصفر والأيراني الأصفر لم تنتج أي حزم عندما أستعمل هذا البادئ. كانت نسبة التعدد الشكلي لهذا البادئ 100% ولم يظهر هذا البادئ أي حزم متميزة (شكل 4 أ، ب؛ جدول 2). البادئ C52 أنتج 36 حزمة تباين عددها من 1-4 حزم وبحجم جزيئي يتراوح بين 1.8 كيلو زوج قاعدة وبين 220 زوج قاعدي، إذ كان أقل عدد من الحزم قد أنتجت من عينة ثمار الفلفل الحلو الأسباني الأخضر والأحمر، العراقي/بلد الأخضر، الأسباني الطويل الأخضر، الأيراني البرتقالي والأيطالي الأخضر، بينما عينات ثمار الفلفل الحلو الأردني البرتقالي، الصيني الأصفر والبرتقالي والأيراني الأصفر لم تنتج أي حزم عندما أستعمل هذا البادئ. كانت نسبة التعدد الشكلي لهذا البادئ 100% مع ظهور حزمة متميزة واحدة وبحجم جزيئي 1.8 كيلو زوج قاعدة ظهرت عند استعمال هذا البادئ في عينة الفلفل الأسباني الأحمر ولم



تظهر في بقية العينات وعند استعمال البودائ الأخرى (شكل 5 أ، ب؛ جدول 2). أن هذه الدراسة قد نجحت في التمييز بين عينات ثمار الفلفل الحلو المحلية والمستوردة وقد أظهرت هذه النتائج تبايناً واضحاً لاسيما في نسبة عدد الحزم المتعددة الأشكال المتحصل عليها عند استعمال هذه البادئات العشوائية. البادئات المستعملة في هذه الدراسة قد أخذت من الدراسة التي قام بها الباحثون [30]، والذين أستعملوا 13 بادئاً عشوائياً كان منها 9 بادئات متعددة الأشكال المظهرية في دراسة التباين الوراثي لـ 23 من الفلفل الحلو والحار. أنتجت هذه البادئات المتعدد الأشكال المظهرية 63 حزمة مع حجم جزيئي لها يتباين من 391 زوج قاعدي إلى 2754 زوج قاعدي والتي كان منها 35 حزمة أحادية الشكل Monomorphic bands و 28 حزمة متعددة الأشكال مع نسبة مئوية للتعدد الشكلي كان 44.4%. كان عدد الحزم المنتجة من قبل البادئات العشوائية المستعملة يتراوح من 5 للبادئ OPB-10 إلى 9 حزم للبادئان OPB-01 و OPB-15 مع معدل 7 حزم لكل بادئ، كما كانت نسبة الحزم المتعددة الأشكال تتباين من 14.29 إلى 66.7%. وفي دراسة أخرى قام بها [5] لأيجاد التباين الوراثي بين مستزرعات أنواع من الفلفل الحلو باستعمال الواصم الجزيئي العشوائي RAPD، وجدوا هؤلاء الباحثين بأن هناك تباينات وراثية ضمن وبين أنواع الفلفل الحلو المدروسة، وأن هذه النتائج كانت متوافقة مع التصنيفات النباتية والمظهرية-الزراعية Botanical and morpho-agronomic classification.

## مخطط التحليل العنقودي (شجرة القرابة) لثمار الفلفل الحلو بالاعتماد على نتائج تقانة RAPD-PCR

رسمت شجرة القرابة الوراثية اعتماداً على النتائج المتحصلة من استعمال البادئات العشوائية وباستعمال تقانة RAPD-PCR على عينات ثمار الفلفل الحلو المدروسة وباستعمال مقياس Jaccard للتشابه الوراثي. يتضح من الشكل (6) بأن العينات قد توزعت ضمن التحليل العنقودي في ثمان مجاميع رئيسية. المجموعة الأولى ضمت ثمار الفلفل الحلو الأسباني الأخضر والمجموعة الثانية تكونت من تحت مجموعة واحدة ضمت ثمار الفلفل الحلو الأردني والأيراني البرتقالي، أما المجموعة الثالثة فضمت ثمار الفلفل الحلو الصيني الأصفر والمجموعة الرابعة ضمت ثمار الفلفل الحلو الصيني البرتقالي. المجموعة الخامسة ضمت ثمار الفلفل الحلو الأسباني الطويل الأخضر، بينما تكونت المجموعة السادسة من اثنين من تحت المجموعة ضمت تحت مجموعة الأولى ثمار الفلفل الحلو الأردني الأحمر والأسباني الطويل الأحمر والأيطالي الأصفر، أما تحت المجموعة الثانية فقد ضمت ثمار الفلفل الحلو الأسباني الأحمر والأيطالي الأخضر والبرتقالي والأحمر والأيراني الأخضر. المجموعة السابعة فتكونت من ثلاث تحت المجموعة. ضمت تحت المجموعة الأولى ثمار الفلفل الحلو العراقي/الصويرة واليوسفية الأخضر والأردني الأصفر، بينما ضمت تحت المجموعة الثانية ثمار الفلفل الحلو الأيراني الأحمر والأردني الأخضر، أما تحت المجموعة الثالثة فقد ضمت ثمار الفلفل الحلو الصيني الأحمر والعراقي/بلد الأخضر، وأخيراً المجموعة الثامنة التي ضمت ثمار الإيطالي الأصفر.

لقد أوضح هذا المخطط وجود تشابه عال بين ثمار الفلفل الحلو العراقي/اليوسفية الأخضر وثمار الفلفل الحلو الأردني الأصفر ونسبة 0.84 وهي أعلى قيمة تشابه بالمقارنة مع تشابه بقيمة صفر بين ثمار الفلفل الحلو الأيراني الأصفر وبين عينات ثمار الفلفل الحلو الأخرى. نسبة التشابه العالية قد ظهرت أيضاً بين ثمار الفلفل الحلو الإيطالي البرتقالي والأحمر وبقيمة 0.74 وكذلك بين ثمار الفلفل الحلو الأسباني الأحمر وثمار الفلفل الحلو الإيطالي الأخضر وبقيمة 0.73 وبين ثمار الفلفل الحلو الأيراني الأحمر والأردني الأخضر وبقيمة 0.72 وبين ثمار الفلفل الحلو العراقي/الصويرة الأخضر وبين ثمار الفلفل الحلو العراقي/يوسفية وثمار الفلفل الحلو الأردني الأصفر (يقعان في نفس تحت المجموعة) وبقيمة 0.69. ثمار الفلفل الحلو العراقي/بلد الأخضر وثمار الفلفل الحلو الصيني الأحمر أظهرتا تشابهاً وراثياً وبقيمة 0.61. أن الشخصية التصنيفية Taxonomic identity لأنواع الفلفل *Capsicum species* تكون صعبة لأن يظهر تباينات خصوصاً في الشكل المظهري للثمار والتي تعتبر من المنتجات المهمة اقتصادياً [21]، فقد وجد هذا الباحث وآخرون في دراسة التباين المظهري ولون الثمار في أنواع الفلفل *Capsicum* وباستعمال 27 واصم جزيئي عشوائي RAPD تشابهاً وراثياً ونسبة 23-88%. وفي دراسة على عشرة مستزرعات من الفلفل في تايلند باستعمال الواصم العشوائي RAPD وجد الباحثون أن قيم التشابه الوراثي بين هذه المستزرعات تتباين من 0.209 و 0.891 [1]. وجد الباحثون [30] نسبة تشابه تراوحت من 0.42 إلى 0.97 في دراسة على 23 نمطاً وراثياً من الفلفل الحار. تعد هذه الدراسة من أول الدراسات في العراق لدراسة التباين الوراثي في ثمار الفلفل الحلو المحلية والمستوردة، وبالنظر لعدم وجود مصادر رسمية تؤكد أصل ومنشأ عينات ثمار الفلفل الحلو المستوردة كان من الصعوبة إجراء مقارنة مع ثمار الفلفل الحلو في بلدانها الأصلية مما يستلزم إجراء دراسات مستقبلية للتسلسل الجيني DNA sequencing للحزم الناتجة في هذه الدراسة أو لجينات معينة ومقارنتها مع الجينوم الكامل للفلفل والمنشور في المواقع العالمية مثل <http://genome.ucsc.edu> و <http://www.ncbi.nlm.nih.gov> لغرض معرفة المنشأ الحقيقي لتلك الثمار المستوردة.

## قيم الأبعاد الوراثية بين عينات ثمار الفلفل الحلو بالاعتماد على نتائج تقانة RAPD-PCR

قدر البعد الوراثي بين عينات ثمار الفلفل الحلو المدروسة باستعمال البرنامج الأحصائي Past اعتماداً على نسبة التشابه باستعمال معامل أحصائي هو Euclidean coefficient وكما في الجدول (3). أظهرت النتائج بأن أعلى قيمة بعد وراثي بين عينتي ثمار الفلفل الحلو الصيني الأصفر والأيراني الأخضر وبقيمة 5.0، بينما كان أقل بعد وراثي بين عينتي

ثمار الفلفل الحلو الأسباني الأخضر والأيطالي الأصفر إذ كانت القيمة مساوية إلى 1.0. بقية عينات ثمار الفلفل الحلو المدروسة فقد تراوحت قيم أبعادها الوراثية بين 1.0 و 5.0. أوضحت هذه النتائج أن الأقل تشابها يملك أكبر بعد وراثي.

## المصادر

1. Sitthiwong, K.; Matsui, T.; Sukprakarn, S.; Okuda, N. and Kosugi, Y. (2005). Classification of pepper (*Capsicum annuum* L.) accessions by RAPD analysis. *Biotechnology*. 4(4):305-309.
2. Kumari, S. (2013). Genetic variability studies in bell pepper (*Capsicum annuum* L.). *Asian J. Horticulture*. 8(1): 280-284.
3. Shaha, R.K.; Rahman, S. and Asrul, A. (2013). Bioactive compounds in chilli peppers (*Capsicum annuum* L.) at various ripening (green, yellow and red) stages. *Ann. Biolo. Res.* 4(8):27-34.
4. Andrews, J. (1984). *Peppers: The domesticated capsicums*. Austin: University of Texas Press.
5. Rabelo da Costa, F.; Pereira, T. N. S. P.; Vitória, A. P.; de Campos, K. P.; Rodrigues, R.; da Silva, D. H. and Pereira, M. G. (2006). Genetic diversity among *Capsicum* accessions using RAPD markers. *Crop Breeding and Appl. Biotech.* 6:18-23.
6. Eshbaugh, W. H. (1993). Peppers: History and exploitation of a serendipitous new crop discovery. In Janick J; Simon, J. F., editors. *New crops*. New York, USA: Wiley pp.132-139.
7. Pickersgill, B. (1997). Genetic resources and breeding of *Capsicum* spp. *Euphytica*. 96:129-133.
8. Aktas, H.; Abak, K. and Sensoy, S. (2009). Genetic diversity in some Turkish pepper (*Capsicum annuum* L.) genotypes revealed by AFLP analyses. *African J. Biotech.* 8(18):4378-4386.
9. Arumuganathan, K. and Earle, E. (1991). Nuclear DNA content of some important plant species. *Plant Mol. Bio. Reporter* 9:208-218.
10. Moscone, E. A.; Baranyi, M.; Ebert, I., Greilhuber, J.; Ehrendorfer, F., et al. (2003). Analysis of nuclear DNA content in *Capsicum* (solanaceae) by flow cytometry and feulgen densitometry. *Ann. Bot.* 92:21-29.
11. Geleta, L. F.; Labuschagne M. T. and Viljoen C. D. (2005). Genetic variability in pepper (*Capsicum annuum* L.) estimated by morphological data and amplified fragment length polymorphism markers. *Biodivers Conserv* 14, 2361-2375. doi:10.1007/s10531-004-1669-9.
12. Krishnamurthy, S. L.; Rao, A. M.; Reddy, M. K.; Reddy, S.; Ramesh, S.; Hittalmani, S. and Rao, M. G. (2013). Limits of parental divergence for the occurrence of heterosis through morphological and AFLP marker in chili *Capsicum annuum* L. *Current Sci.* 104(6):738-746.
13. Kochieva, E. Z. and Ryzhova, N.N. (2003). Molecular AFLP analysis of the genotypes of pepper *Capsicum annuum* cultivars. *Russian J. Genet.* 39(12):1345-1348.
14. Panda, R. C.; Aniel Kumar, O. and Raja Rao, K.G. (1986). The use of seed protein electrophoresis in the study of phylogenetic relationships in chili pepper (*Capsicum* L.). *Theor. Appl. Genet.* 72:665-670.
15. Conicella, C.; Errico, A. and Saccardo, F. (1990). Cytogenetic and isozyme studies of wild and cultivated *Capsicum annuum*. *Genome*. 33:279-282.
16. Belletti, P.; Lanteri, S. and Saracco, F. (1992). Allozyme variability in *Capsicum*. In: *Proceedings of the Eighth Meeting on Genetics and Breeding on Capsicum and Eggplant*, Rome, Italy, 7-10 September 1992, pp. 221-226.
17. Posch, A.; van den Berg, B. M.; Durantón, C. and Görg, A. (1994). Polymorphism of pepper (*Capsicum annuum* L.) seed proteins studied by two dimensional electrophoresis

- with immobilized pH gradients: methodical and genetic aspects. *Electrophoresis* 15, 297–304.
18. Lucchese, C.; Dinelli, G.; Miggiano, A. and Lovato, A. (1999). Identification of pepper (*Capsicum* spp.) cultivars by field and electrophoresis tests. *Seed Sci. Technol.* 27, 37–47.
  19. Odeigah, P. G. C.; Oboh, B. and Ahhalokpe, I. O. (1999). The characterization of Nigerian varieties of pepper, *Capsicum annuum*, and *Capsicum frutescens* by SDS-polyacrylamide gel electrophoresis of seed proteins. *Genet. Res. Crop Evol.* 46, 127–131.
  20. Hayden, M. J.; Tabone, T. L.; Nguyen, T. M.; Coventry, S.; Keiper, F.J.; Fox, R. L.; Chalmers, K. J.; Mather, D. E. and Eglinton J. A. (2010). An informative set of SNP markers for molecular characterization of Australian barley germplasm. *Crop Plant Sci.* 61:70-83.
  21. Thul, S. T.; Darokar, M. P.; Shaseny, A. K. and Khanuja, S. P. S. (2011). Molecular profiling of genetic variability in *Capsicum* species based on ISSR and RAPD markers. *Mol. Biotechnol.* 51(2):137-147.
  22. Vos, P.; Hogers, R.; Bleeker, M.; Reijanas, M.; de Lee, T. V.; Hornes, M.; Frijters, A.; Pot, J.; Peleman, J.; Kuiper, M. and Zabeau, M. (1995). AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. *Nucleic Acid Res.* 23(21):4407-4414.
  23. Paran, I.; Atergoot, E. and Shifriss, C. (1998). Variation in *Capsicum annuum* revealed by RAPD and AFLP markers. *Euphytica* 99:167-173.
  24. Toquica, S. P.; Rodriguez, F.; Martinez, E.; Duque, M. C. and Tohme, J. (2003). Molecular characterization by AFLPs of *Capsicum* germplasm from the Amazon department in Columbia, characterization by AFLPs of *Capsicum*. *Genet Res Crop Evol.* 50:639-647.
  25. Prince, J. P.; Loiaza, F. and Tanksley, S. D. (1992). Restriction fragment length polymorphism and genetic distance among mexican accessions of *Capsicum*. *Genome* 35: 726-732.
  26. Prince, J. P.; Lackney, V. K.; Angeles, C.; Blauth, J. R. and Kyle, M. M. (1995). A survey of DNA polymorphism within the genus *Capsicum* and the fingerprinting of pepper cultivars. *Genome* 38:224-231.
  27. Hanáček, P.; Vyhnanek, T.; Rohrer, M.; Cieslarova, J. and Stavělikova, H. (2009). DNA polymorphism in genetic resources of red pepper using microsatellite markers. *Hort Sci. (PRAGUE)*. 36: 127-132.
  28. Rodrigues, J. M.; Berke, T.; Engle, L. and Nienhuis, J. (1999). Variation among and within *Capsicum* species revealed by RAPD markers. *Theoretical and Appl. Genet.* 99:147-156.
  29. Ince, A. G.; Karaca, M. and Onus, A. N. (2010). Genetic relationships within and between *Capsicum* species. *Biochem. Genet.* 48:83-95.
  30. Bahurupe, S. B.; Sakhare, S. B.; Kulwal, P.L.; Akhare, A. A. and Pawar, B. D.(2013). Genetic diversity analysis in chilli (*Capsicum annuum* L.) using RAPD markers. *The Bioscan.* 8(3):915-918.
  31. Kang, T. J. and Yang, M. S. (2004). Rapid and reliable extraction of genomic DNA from various wild-type and transgenic. *BMC Biotechnology.* 4(20):1-12.
  32. Clark, M. S. (1997). In: *Plant Molecular Biology - A Laboratory Manual*, pp 305-328, Springer-Verlog Berlin Heidelberg, New York.
  33. Hammer, Ø.; Harper, D. A.T. and Ryan, P. D. (2001). PAST: Palaeontological statistics software package for education and data analysis. *Paleontologia Eletronica.* 4(1):1-9.
  34. Kumar, N. S. and Gurusubramanian, G. (2011). Random amplified polymorphic DNA (RAPD) markers and its applications. *Sci. Vis.* 11 (3):116-124.

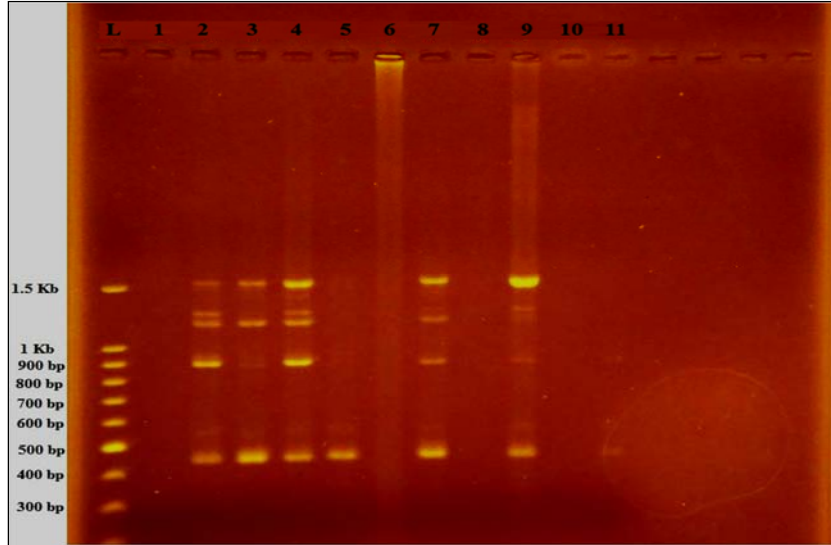
جدول (1): العينات المدروسة المحلية والمستوردة والمتحصل عليها من السوق العراقية في محافظة بغداد

ت	نوع ومصدر إنتاج العينة	لون الثمرة
1	فلفل حلو أردني	أخضر، أحمر، برتقالي، أصفر
2	فلفل حلو عراقي / منطقة بلد	أخضر
3	فلفل حلو عراقي / منطقة اليوسفية	أخضر
4	فلفل حلو عراقي / منطقة الصويرة	أخضر
5	فلفل حلو أسباني	أخضر، أحمر
6	فلفل حلو أسباني طويل	أخضر، أحمر
7	فلفل حلو صيني	أحمر، برتقالي، أصفر
8	فلفل حلو إيراني	أخضر، أحمر، برتقالي، أصفر
9	فلفل حلو أيطالي	أخضر، أحمر، برتقالي، أصفر

جدول (2): نواتج الحزم المتعددة الأشكال والنسبة المئوية للتعدد الشكلي

ت	أسم البادئ	عدد الحزم الرئيسية	عدد الحزم المتعددة الأشكال	النسبة المئوية للتعدد الشكلي
1	OPB-01	6	6	%100
2	OPB-12	6	6	%100
3	OPB-15	6	6	%100
4	C43	8	8	%100
5	C52	4	4	%100

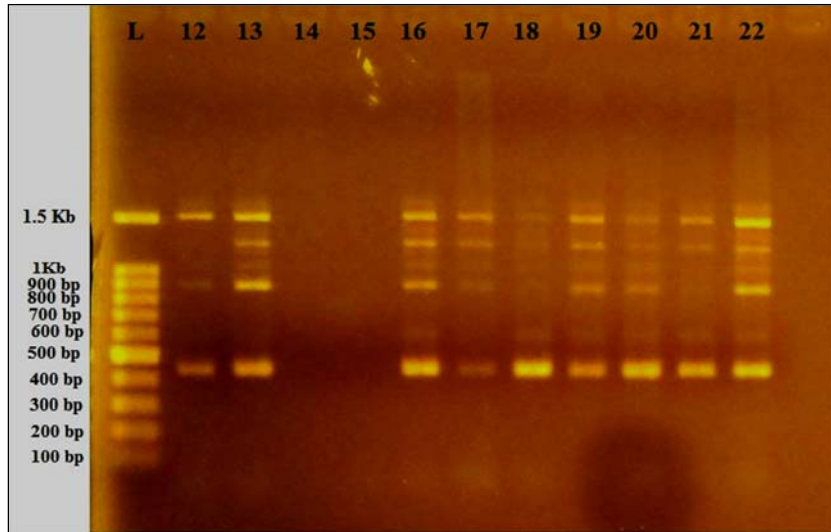




شكل (أ): هلام الترحيل الكهربائي بتركيز 1.5% لدنا ثمار الفلفل الحلو باستعمال البادئ OPB-01

وتقانة التضخيم العشوائي للدنا متعدد الأشكال RAPD-PCR

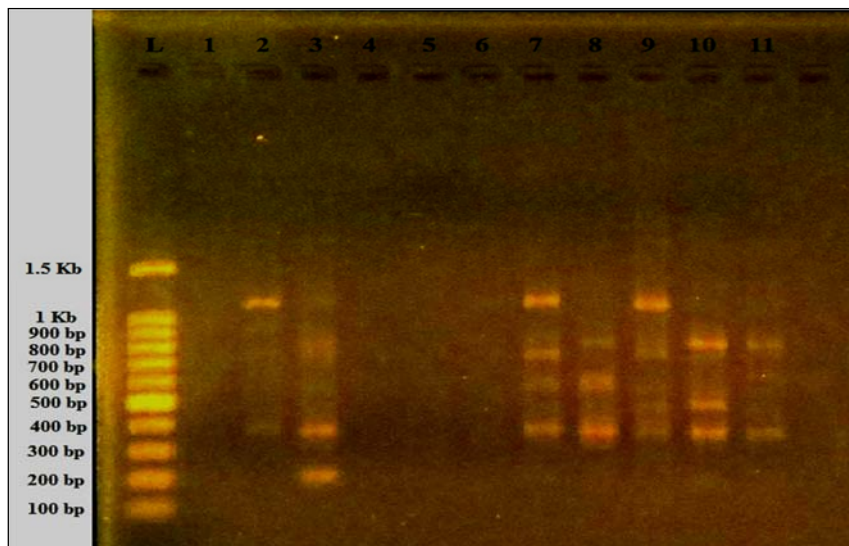
L: الدليل الحجمي (1.5 كيلو زوج قاعدة)، 1: فلفل أردني برتقالي، 2: فلفل أردني أحمر، 3: فلفل أردني أصفر، 4: فلفل أردني أخضر، 5: فلفل أسباني أخضر، 6: فلفل عراقي/بلد أخضر، 7: فلفل عراقي/يوسفية برتقالي، 8: فلفل صيني أحمر، 9: فلفل عراقي/صويرة أخضر، 10: فلفل صيني أصفر، 11: فلفل صيني برتقالي.



شكل (ب): هلام الترحيل الكهربائي بتركيز 1.5% لدنا ثمار الفلفل الحلو باستعمال البادئ OPB-01

وتقانة التضخيم العشوائي للدنا متعدد الأشكال RAPD-PCR

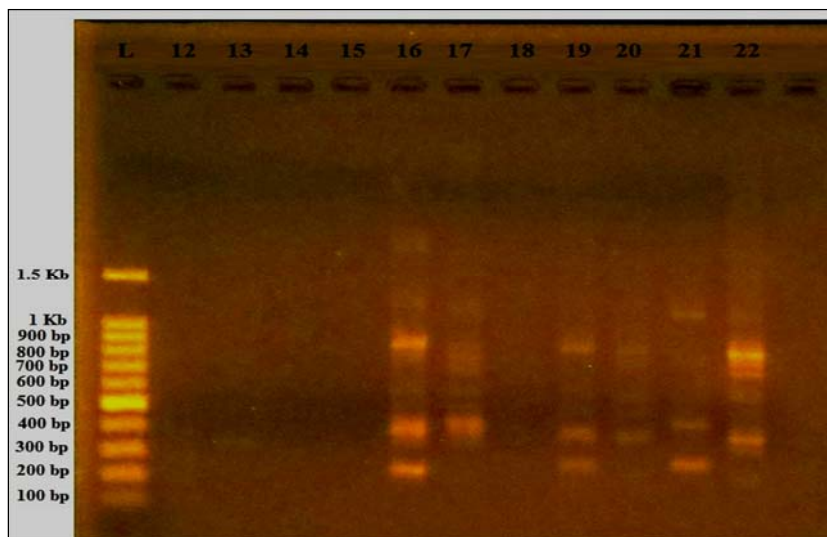
L: الدليل الحجمي (1.5 كيلو زوج قاعدة)، 12: فلفل أسباني طويل أخضر، 13: فلفل إيراني أحمر، 14: فلفل إيراني برتقالي، 15: فلفل إيراني أصفر، 16: فلفل إيطالي أحمر، 17: فلفل إيطالي برتقالي، 18: فلفل إيطالي أصفر، 19: فلفل إيطالي أخضر، 20: فلفل أسباني أحمر، 21: فلفل أسباني طويل أحمر، 22: فلفل إيراني أخضر.



شكل (أ): هلام الترحيل الكهربائي بتركيز 1.5% لدنا ثمار الفلفل الحلو باستعمال البادئ OPB-12

وتقانة التضخيم العشوائي للدنا متعدد الأشكال RAPD-PCR

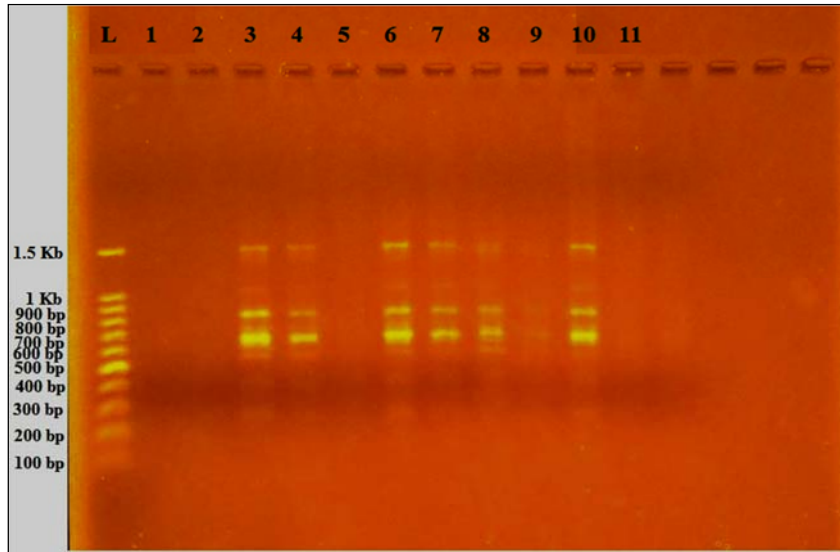
L: الدليل الحجمي (1.5 كيلو زوج قاعدة)، 1: فلفل أردني برتقالي، 2: فلفل أردني أحمر، 3: فلفل أردني أصفر، 4: فلفل أردني أخضر، 5: فلفل أسباني أخضر، 6: فلفل عراقي/بلد أخضر، 7: فلفل عراقي/يوسفية أخضر، 8: فلفل صيني أحمر، 9: فلفل عراقي/صويرة أخضر، 10: فلفل صيني أصفر، 11: فلفل صيني برتقالي.



شكل (ب): هلام الترحيل الكهربائي بتركيز 1.5% لدنا ثمار الفلفل الحلو باستعمال البادئ OPB-12

وتقانة التضخيم العشوائي للدنا متعدد الأشكال RAPD-PCR

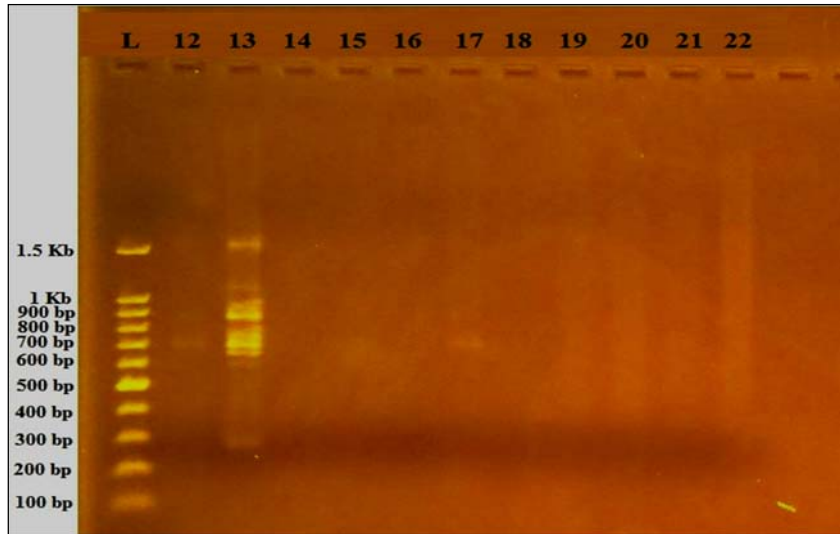
L: الدليل الحجمي (1.5 كيلو زوج قاعدة)، 12: فلفل أسباني طويل أخضر، 13: فلفل إيراني أحمر، 14: فلفل إيراني برتقالي، 15: فلفل إيراني أصفر، 16: فلفل أيطالي أحمر، 17: فلفل أيطالي برتقالي، 18: فلفل أيطالي أصفر، 19: فلفل أيطالي أخضر، 20: فلفل أسباني أحمر، 21: فلفل أسباني طويل أحمر، 22: فلفل إيراني أخضر.



شكل (3أ): هلام الترحيل الكهربائي بتركيز 1.5% لدنا ثمار الفلفل الحلو باستعمال البادئ OPB-15

وتقانة التضخيم العشوائي للدنا متعدد الأشكال RAPD-PCR

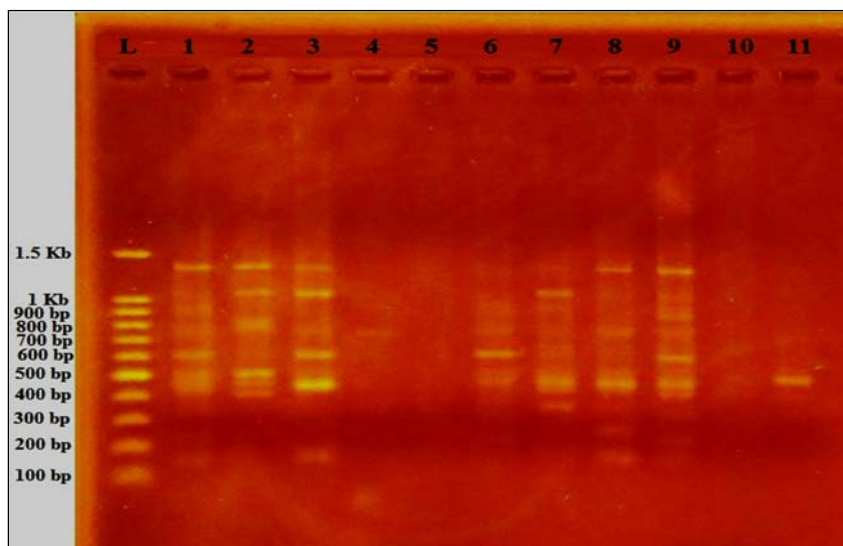
L: الدليل الحجمي (1.5 كيلو زوج قاعدة)، 1: فلفل أردني برتقالي، 2: فلفل أردني أحمر، 3: فلفل أردني أصفر، 4: فلفل أردني أخضر، 5: فلفل أسباني أخضر، 6: فلفل عراقي/بلد أخضر، 7: فلفل عراقي/يوسفية أخضر، 8: فلفل صيني أحمر، 9: فلفل عراقي/صويرة أخضر، 10: فلفل صيني أصفر، 11: فلفل صيني برتقالي.



شكل (3ب): هلام الترحيل الكهربائي بتركيز 1.5% لدنا ثمار الفلفل الحلو باستعمال البادئ OPB-15

وتقانة التضخيم العشوائي للدنا متعدد الأشكال RAPD-PCR

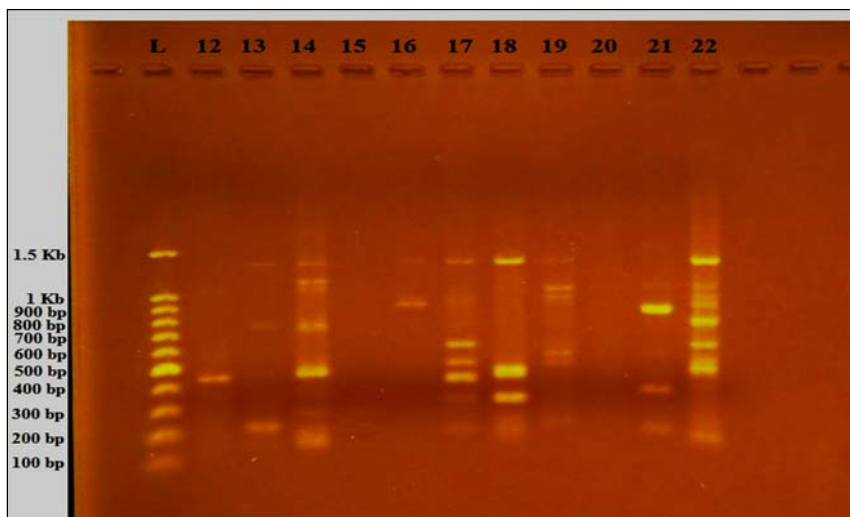
L: الدليل الحجمي (1.5 كيلو زوج قاعدة)، 12: فلفل أسباني طويل أخضر، 13: فلفل إيراني أحمر، 14: فلفل إيراني برتقالي، 15: فلفل إيراني أصفر، 16: فلفل إيطالي أحمر، 17: فلفل إيطالي برتقالي، 18: فلفل إيطالي أصفر، 19: فلفل إيطالي أخضر، 20: فلفل أسباني أحمر، 21: فلفل أسباني طويل أحمر، 22: فلفل إيراني أخضر.



شكل (أ4): هلام الترحيل الكهربائي بتركيز 1.5% لدنا ثمار الفلفل الحلو باستعمال البادئ C43 وتقانة

#### التضخيم العشوائي للدنا متعدد الأشكال RAPD-PCR

L: الدليل الحجمي (1.5 كيلو زوج قاعدة)، 1: فلفل أردني برتقالي، 2: فلفل أردني أحمر، 3: فلفل أردني أصفر، 4: فلفل أردني أخضر، 5: فلفل أسباني أخضر، 6: فلفل عراقي/بلد أخضر، 7: فلفل عراقي/يوسفية أخضر، 8: فلفل صيني أحمر، 9: فلفل عراقي/صويرة أخضر، 10: فلفل صيني أصفر، 11: فلفل صيني برتقالي.

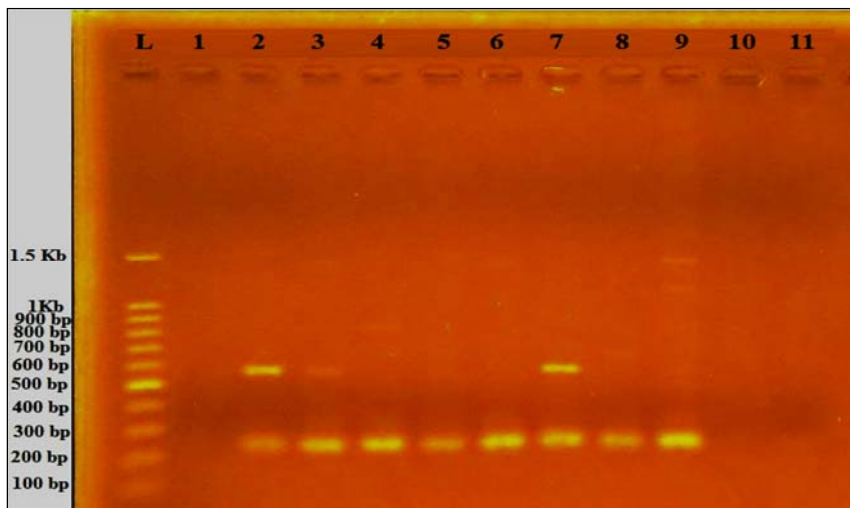


شكل (ب4): هلام الترحيل الكهربائي بتركيز 1.5% لدنا ثمار الفلفل الحلو باستعمال البادئ C43 وتقانة

#### التضخيم العشوائي للدنا متعدد الأشكال RAPD-PCR

L: الدليل الحجمي (1.5 كيلو زوج قاعدة)، 12: فلفل أسباني طويل أخضر، 13: فلفل إيراني أحمر، 14: فلفل إيراني برتقالي، 15: فلفل إيراني أصفر، 16: فلفل إيطالي أحمر، 17: فلفل إيطالي برتقالي، 18: فلفل إيطالي أصفر، 19: فلفل إيطالي أخضر، 20: فلفل أسباني أحمر، 21: فلفل أسباني طويل أحمر، 22: فلفل إيراني أخضر.

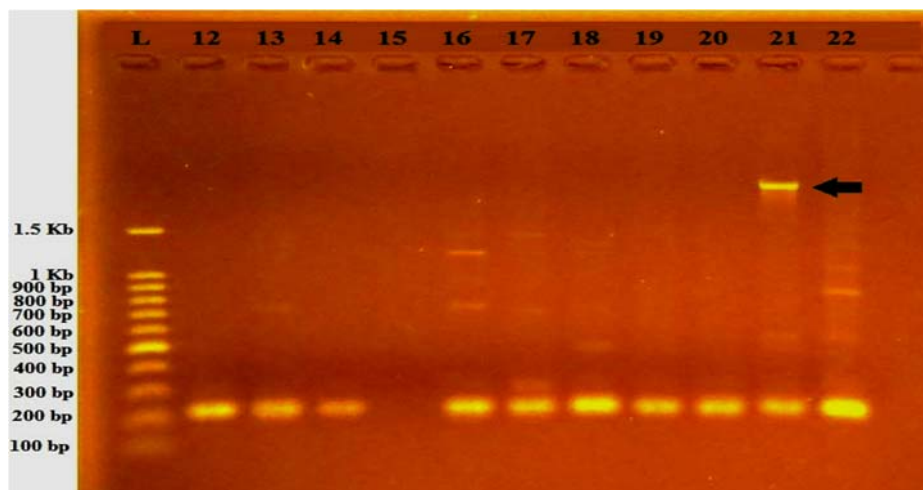




شكل (5أ): هلام الترحيل الكهربائي بتركيز 1.5% لدنا ثمار الفلفل الحلو باستعمال البادئ C52 وتقانة

#### التضخيم العشوائي للدنا متعدد الأشكال RAPD-PCR

L: الدليل الحجمي (1.5 كيلو زوج قاعدة)، 1: فلفل أردني برتقالي، 2: فلفل أردني أحمر، 3: فلفل أردني أصفر، 4: فلفل أردني أخضر، 5: فلفل أسباني أخضر، 6: فلفل عراقي/بلد أخضر، 7: فلفل عراقي/يوسفية أخضر، 8: فلفل صيني أحمر، 9: فلفل عراقي/صويرة أخضر، 10: فلفل صيني أصفر، 11: فلفل صيني برتقالي.



شكل (5ب): هلام الترحيل الكهربائي بتركيز 1.5% لدنا ثمار الفلفل الحلو باستعمال البادئ C52 وتقانة

#### التضخيم العشوائي للدنا متعدد الأشكال RAPD-PCR

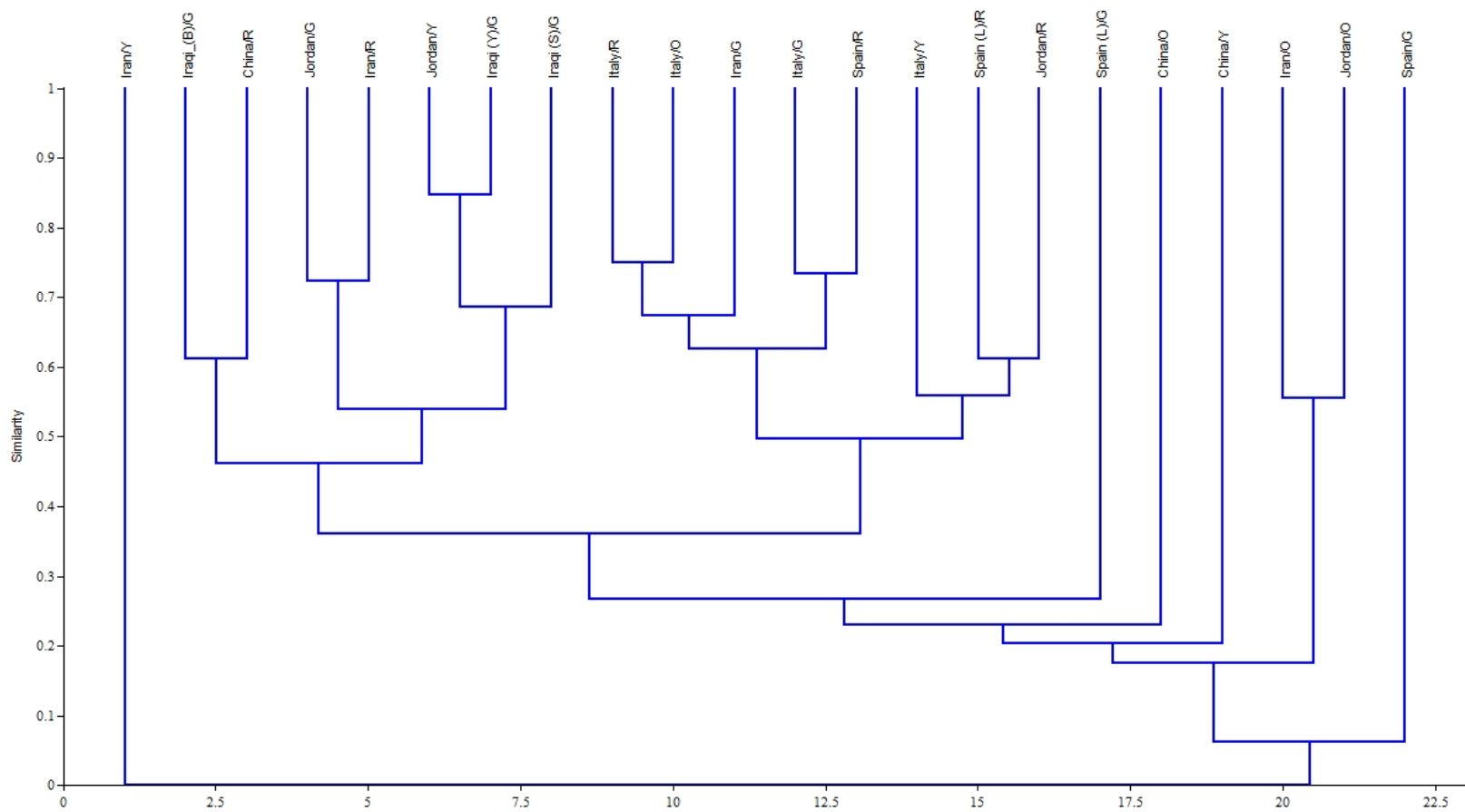
L: الدليل الحجمي (1.5 كيلو زوج قاعدة)، 12: فلفل أسباني طويل أخضر، 13: فلفل إيراني أحمر، 14: فلفل إيراني برتقالي، 15: فلفل إيراني أصفر، 16: فلفل أيطالي أحمر، 17: فلفل أيطالي برتقالي، 18: فلفل أيطالي أصفر، 19: فلفل أيطالي أخضر، 20: فلفل أسباني أحمر، 21: فلفل أسباني طويل أحمر، 22: فلفل إيراني أخضر. السهم يوضح الحزمة المتميزة.



جدول (3): قيم الأبعاد الوراثية لعينات الفلفل المستوردة بأعداد نتائج تقانة الدنا متعدد الأشكال مضخم عشوائياً (RAPD-PCR)

Samples	Jordan /O	Jordan /R	Jordan /Y	Jordan /G	Spain/ G	Iraqi (B)/G	Iraqi (Y)/G	China/ R	Iraqi (S)/G	China/ Y	China/ O	Spain (L)/G	Iran/R	Iran/O	Iran/Y	Italy/ R	Italy/ O	Italy/ Y	Italy/ G	Spain/ R	Spain (L)/R	Iran/G
Jordan/O	0																					
Jordan/R	3.464	0																				
Jordan/Y	4.359	3	0																			
Jordan/G	4.472	3.742	3.317	0																		
Spain/G	2.828	3.742	4.796	3.742	0																	
Iraqi (B)/G	3.162	4	3.606	3.162	3.162	0																
Iraqi (Y)/G	4.359	3	2	3.317	4.796	3.606	0															
China/R	3.317	4.359	3.464	4.123	4.123	2.646	3.162	0														
Iraqi (S)/G	4.359	3.317	2.828	3.606	4.796	4.123	3.162	3.742	0													
China/Y	4.123	4.796	4	3.606	3.317	3	4.243	3.464	4.690	0												
China/O	3	3.317	4.243	4.123	2.646	3.606	4.243	4	4.243	3.464	0											
Spain (L)/G	3.317	3.317	4.243	3	2.236	3.317	4.243	4.243	4.472	3.742	2.828	0										
Iran/R	4.359	3.873	3.464	2.236	3.873	3	3.464	3.742	3.464	3.742	4	3.464	0									
Iran/O	2	3.464	4.359	4.243	2.450	3.162	4.583	3.317	4.123	4.123	3.317	3	3.873	0								
Iran/Y	2.646	3.873	4.899	3.873	1	3.317	4.899	4.243	4.899	3.162	2.450	2.450	4	2.646	0							
Italy/R	4.472	3.162	3.873	4	4	4.690	3.873	4.796	3.606	4.359	3.606	3.873	4.123	4.472	4.123	0						
Italy/O	4.359	3.317	4	3.873	4.123	4.583	3.464	4.243	3.742	4.472	3.742	3.742	3.742	4.359	4.243	2.236	0					
Italy/Y	3.873	2.646	4	3.317	3.317	4.123	4	4.690	3.742	4.690	3.464	3.162	3.162	3.606	3.464	3	2.828	0				
Italy/G	4.243	3.162	3.873	3.742	3.742	4.472	3.873	4.359	3.873	4.123	3.606	3.317	3.873	3.742	3.873	2.450	2.646	3	0			
Spain/R	4.243	3.162	4.123	3.464	3.162	4.472	3.873	4.583	4.123	3.873	3	3	3.873	4	3.317	2.450	2.646	3	2	0		
Spain (L)/R	4.123	2.646	3.742	3.873	3.606	4.359	4	4.690	3.742	4.472	3.464	3.162	4.243	3.873	3.742	3.317	3.464	2.828	3	3.317	0	
Iran/G	4	3.162	3.873	4.243	4.472	4.690	3.606	4.123	3.317	5	3.873	4.123	4.123	4	4.583	2.828	2.646	3	2.828	3.162	3.606	0

أعلى قيمة بعد وراثي	
أقل قيمة بعد وراثي	



شكل (6): شجرة القرابة الوراثية Dendrogram اعتماداً على نتائج التضخيم العشوائي للDNA متعدد الأشكال بأستعمال تقانة RAPD-PCR لعينات ثمار الفلفل المدروسة بحسب معامل Jaccard للتشابه الوراثي

## Genetic diversity of *Capsicum annuum* L. in local and imported samples in Iraq by using RAPD-PCR

Ihsan A. Hussein  
Shaymaa S. Mahdi

Dept. of Biology/ College of Education for Pure Science ( Ibn- Al Haithim)/  
University of Baghdad

Received in:17/August/2015,Accepted in:15/November/2015

### Abstract

Genetic variation was studied in 22 local and imported samples collected from local Iraqi market by using random amplified polymorphic DNA (RAPD-PCR). Five randomly primers set were used in this study. These primers produced 292 bands. Molecular weights of these bands ranged between 1.8 Kb (1800 bp) to 150 bp. The percentage of polymorphic bands is 100%, with one distinguished band which is produced by using C52 primer. The other primers did not produce any distinguished band. The results of Dendrogram of the studied samples depended on RAPD-PCR results by using Jaccard coefficient for genetic similarity was distributed the samples into 8 groups. This Dendrogram revealed a higher similarity between Iraqi/Yousifia green bell pepper and Jordanian yellow bell pepper with 0.84 values. This value is the highest between samples in comparison with lowest values (0.0) which are found between Iranian yellow bell pepper and the other samples. There are another high values were revealed between Italian orange and red bell pepper with 0.74 values. Also, other high similarity values revealed between Spanish red bell pepper and Italian green bell pepper with 0.73 values; Iranian red bell pepper and Jordanian green bell pepper with 0.72 values; Iraqi/Souwyera green bell pepper and Iraqi/Yousifia green bell pepper with Jordanian yellow bell pepper (the last two samples in same subgroup) with 0.69 values, and last between Iraqi/Balad green bell pepper and Chinese red bell pepper with 0.61 values. The genetic distance between studied samples by using Euclidean coefficient revealed the highest values between Chinese yellow bell pepper and Iranian green bell pepper with 5.0 values, in comparison with the lowest genetic distance between Spanish green bell pepper and Italian yellow bell pepper with 1.0 value.

**Keywords:** Genetic variation, *Capsicum annuum* L. , RAPD, Bell pepper