التوصيف الجزيئي لطرز وراثية من نبات الشربين *Juniperus oxycedrus* L. المنتشر في سورية باستخدام تقنية ISSR

Molecular Characterization of Some Syrian Genotypes of Prickly juniper *Juniperus oxycedrus* L. Using ISSR Technique

جلال فندي[1] وسيم الحكيم[2] محمد عصام حسن آغا[1]

Jalal Fandi[1] Wassim Alhakim[2] M. Issam Hasan Agha[1]

(1) قسم العقاقير والنباتات الطبية - كلية الصيدلة - جامعة دمشق، سورية.

(1) Dept. Pharmacognozy and Medical Plants, Faculty of Pharmacy, Damascus University, Syria.

(2) قسم الموارد الطبيعية المتجددة والبيئة - كلية الزراعة - جامعة دمشق، سورية.

(2) Dept. Natural Renewable Resources and Ecology, Faculty of Agriculture, Damascus University, Syria.

المُلَخَّص

جُمِعَت 10 عينات نباتية من عدة مواقع انتشار نبات الشربين *Juniperus oxycedrus* L. في سورية بهدف دراسة التوصيف الجزيئي وتحديد درجة القرابة الوراثية فيما بينها وذلك باستخدام تقنية ISSR. حيث جربت 23 بادئة وفقط 12 بادئةً أثبتت فعاليتها في إعطاء تعددية شكلية Polymorphic بين العينات النباتية المدروسة ونتج عن استخدامها ما مجموعه 78 حزمة، بنسبة تعددية 98.7%. تراوح عدد الحزم لكل بادئة بين 2 حزمة مع البادئة (ISSR9) و10 حزم مع البادئات (ISSR4.ISSR12) بمتوسط 6.5 حزمةً لكل بادئة، وكانت أقل نسبة مئوية للتعددية الشكلية مع البادئة (ISSR9) بمقدار 50% والأكبر بمقدار100% مع بقية البادئات المدروسة. بينت الدراسة ارتباط العينات المتقاربة وراثياً بالمناطق التي جمعت منها العينات (الموقع الجغرافي)، حيث أن درجة القرابة الوراثية تراوحت مابين (30-86%) حيث كانت أعلى درجة قرابة وراثية 86% بين عينات المواقع اللاذقية (محمية الشوح والأرز) واللاذقية (جب الغار)، في حين كانت أقل درجة قرابة وراثية (30%) بين عينات مواقع حماه (أبوكليفون) وحمص (القصير) مما دل على وجود تباين وراثي كبير بينها. كما أن التحليل العنقودي فرز العينات التي تمَّ جمعها من مناطق متقاربة مع بعضها البعض. أظهرت الدراسة تنوعاً وراثياً كبيراً بين العينات الوراثية ضمن النوع *J. oxycedrus* L. في سورية.

الكلمات المفتاحية: الشربين *Juniperus oxycedrus* L. ، توصيف جزيئي، ISSR، سورية.

ABSTRACT

Ten plant samples were collected from many prickly juniper (*Juniperus oxycedrus*) locations in Syria to determine the molecular characterization and genetic relationship between them using ISSR (Inter Simple Sequence Repeats)technique. Twenty three ISSR primers were tested for this purpose, out of them twelve primers were showed polymorphism, and they

©2022 The Arab Center for the Studies of Arid Zones and Dry Lands, All rights reserved. **ISSN: 2305-5243; AIF-23 (p: 312 - 32)**

generate 78 bands, with percentage of polymorphism 98.7%. Band number of each primer ranged between 2 bands (ISSR9), and 10 bands (ISSR4,ISSR12), with an average band number 6.5 for each primer, the minimum polymorphic percentage was 50% (ISSR9), and the maximum polymorphic percentage was 100% for other primers. The study showed that the genetic correlated samples were taken from nearby locations (geographic correlation), as the genetic relationship ranged between the highest 86% between Latakia (Mahmiet Alshoh and Alarz) and Latakia (Jeb Alghar) and the lowest genetic relationship was 30% between Hamah (Abo klifon) and Homs (Alksier) which refers to high genetic disagreement between them. The cluster analysis showed that the samples were gathered from nearby locations were sited together. The study concluded there is high genetic diversity between the samples of *J.oxycedrus* (prickly juniper) in Syria.

Keywords: *Juniperus oxycedrus* L., Molecular Characterization, Genotypes, ISSR, Syria.

المقدمة

تعد الجمهورية العربية السورية مهداً غنياً بالمصادر الوراثية البرية والمزروعة لعدد كبير من الأنواع النباتية، إذ يوجد طبيعياً نحو 3150 نوعاً نباتياً منها 243 نوعاً متوطناً تتوزع معظمها في الجبال والمرتفعات (الهيكلية الوطنية للسلامة الأحيائية في الجمهورية العربية السورية، 2006). إن التعرف والبحث عن التباينات داخل المصادر الوراثية للنوع له أهمية كبيرة في توسيع معرفتنا بالقاعدة الوراثية لها التي تعد الخطوة الأولى في عملية التحسين الوراثي، لذلك لابد من توصيف وتصنيف هذه المصادر، إن التوصيف الجزيئي لطرز أي نوع وربطها بمعطيات التوصيف المورفولوجي سيمكن من وضع هوية وراثية متكاملة للنوع وتوثيقها، كما أن تحديد التباينات الوراثية بين الطرز المدروسة سيبيّن مدى تأثير البيئة والتوزع الجغرافي على التركيب الوراثي للنوع الواحد فضلاً عن ربط المعطيات الوراثية الناتجة عن تحليل الـ DNA ببعض المواصفات النوعية والكمية المرغوب فيها، وهذا يساعد في تحديد الطرز الوراثية المتميزة بصفات مرغوب فيها، مثل (تحمل الكلس، تحمل الجفاف...) والاستفادة منها في عملية التحسين الوراثي وإكثار ونشر وزراعة الطرز المتميزة منها (شاهرلي والأوبري، 2004).

ينتمي الشربين *Juniperus oxycedrus* L. لجنس العرعر *Juniperus* sp. التابع للفصيلة السروية Cupressaceae، يضم الجنس أكثر من 40 نوعاً موزعة كلها في نصف الكرة الشمالية ماعدا نوعاً واحداً شمال خط الاستواء وجنوبه *J. Procera* في شرق أفريقيا والسعودية (Farjon, 2005).

يعدُّ نبات الشربين *Juniperus oxycedrus* L. من الأنواع النباتية ذات القيمة الاقتصادية العالية (الطبيّة والغذائية والبيئية) (Usher, 1974; Grieve, 1984)، وبالرغم من هذه الأهمية الاقتصادية والاهتمام العالمي بهذا الجنس إلا أن الشربين يعتبر من الأنواع المهملة محلياً والتي تتعرض لمختلف الإجهادات البيئية والتدهور.

لقد أجرى العديد من الباحثين في مناطق مختلفة من العالم أبحاثاً تتعلق بمدى التنوع الوراثي ضمن هذا الجنس للأسباب التي ذكرناها سابقاً، فقد تمكن Adams وآخرون (2003) من تمييز العديد من الطرز الوراثية لدى دراستهم لـ12 تجمعاً من تجمعات العرعر المنتشرة في مناطق مختلفة وذلك بالاعتماد على تقنية ISSR و RAPD . وقد وجد Adams و Demeke (1993)عند دراستهم لأربع وأربعين نوعاً وطرازاً من نبات العرعر المنتشرة في الولايات المتحدة الأميريكية باستخدام مؤشرات الـ RAPD إمكانية تمييز ثلاثة أقسام في الجنس من ناحية القرابة الوراثية، ووجود تباينات وراثية أفضت إلى فرز ضروب وراثية متميزة بقدرتها على تحمل في بعض الإجهادات البيئية كان أهمها الجفاف حيث أوصى الباحثون في دراستهم بالعمل مباشرة على إكثار هذه الضروب الوراثية المتميزة بغية الحفاظ على هذه المصادر الوراثية الهامة.

تُعدّ تقنية (Inter Simple Sequence Repeats- ISSR) واحدةً من التقنيات الهامة التي تعتمد على تفاعل البلمرة المتسلسل (Polymerase Chain Reaction-PCR) وهي من التقنيات الجيدة كونها تُضخم المواقع (bp3000-100) بين التوابع الدقيقة والمتوضعة بشكل متعاكس باستخدام بادئات وحيدة طولها (bp18-16) ومؤلفة من نكليوتيدات متكررة،

ومحاطة في أغلب الأحيان بـ2-4 نكليوتيدات إما في المنطقة َ5 أوَ3 (Bornet et al., 2002; Nagaraju et al., 2002)، حيث أن تقنية ISSR تُوصف بأنها أكثر تكراريةً من تقنية RAPD بسبب طول البادئ المستخدم والذي يعكس درجة حرارة عالية لمرحلة التحام البادئ (Chowdhury وزملاؤه، 2002)، كما أنها تعطي نتائج ثابتة ولو نُفذت في مكررات أو في أماكن متعددة وسريعة وتتطلب كميةً قليلةً من الحمض النووي DNA، ويمكن نشر البادئات وتبادلها بسهولة بين المخابر بمجرد معرفة التسلسل النيكليوتيدي لها. إضافة إلى أنها تكشف نسباً عاليةً من التعددية الشكلية Polymorphism.

يهدف البحث إلى: التوصيف الجزيئي لطرز وراثية من الشربين ***J. oxycedrus*** L. المنتشر في سورية بهدف تحديد درجة القرابة الوراثية فيما بينها باستخدام تقنية ISSR.

مواد البحث وطرائقه

1- المادة النباتية ومكان وزمان تنفيذ البحث:

جمعت 10 عينات من أوراق نبات الشربين *J. oxycedrus* من أشجار معمرة تعبر عن انتشار النبات في الموقع منذ سنوات طويلة في نهاية شهر شباط عام 2011، من 10 مواقع لانتشاره سورية وعلى ارتفاعات متباينة تراوحت ما بين (555- 1471م) عن سطح البحر، ويبين الجدول 1 العينات المدروسة وأماكن جمعها. حيث كانت كل عينة مؤلفة من /30-50/ ورقة مأخوذة من الجزء الوسطي لـ8-10 أغصان بعمر سنة مختارة من كل أجزاء الشجرة. نُفذ البحث في مخبر التقانات الحيوية في كلية الزراعة بجامعة دمشق خلال العام 2012/2011.

الجدول 1. أرقام عينات الشربين *J. oxycedrus* L. المدروسة وأماكن جمعها.

العينة	الموقع	خط العرض	خط الطول	الارتفاع عن سطح البحر (م)
1	حماه (عين الكروم)	35.21145	36.15327	555
2	طرطوس- القدموس	34.53.32	36.08.34	876
3	حمص (القصير- حرف الهوا)	34.506132	36.577077	1044
4	إدلب (جسر الشغور- دركوش)	35.991341	36.383858	870
5	حلب (عفرين- قورنة)	38326.35	36.13426	1256
6	اللاذقية (قمة النبي يونس)	35.38485	36.12984	1471
7	اللاذقية (جب الغار)	3539287	3614353	1225
8	اللاذقية (المقامات)	35.25928	36.12083	1410
9	اللاذقية (صلنفة- محمية الشوح والأرز)	35.36140	36.12944	1326
10	حماه (أبو كليفون)	35.22366	36.14661	591

2- طرق العمل:

- **استخلاص الحمض الريبي النووي DNA بطريقة SDS:**

استُخلص الحمض النووي DNA بطحن 1غرام من الأوراق الخضراء لكل نبات على حدة باستخدام الآزوت السائل حتى الحصول على مسحوق ناعم، نُقل بعدها إلى حوجلة زجاجية سعة 50ml وأضيف لها 10ml من محلول الاستخلاص SDS والمكون من:

. (0.1M Tris-HCl,PH=8.2, 50mM EDTA, 0.1M NaCl, 2% SDS,1mg/ml proteinase K)

حُضنت العينات مدة 60 دقيقةً مع التحريك المستمر ضمن حمام مائي عند 37°م. أُضيف 10ml من مزيج كل من كلوروفورم/كحول أيزواميل بنسبة 1:24 وتركت عدة دقائق على الطاولة الهزازة. نُقل المزيج إلى أنبوب تثفيل سعة 30ml وثُفل (عملية الطرد المركزي) لمدة 10 دقائق بسرعة (10000 rpm) بدرجة حرارة 25°س. نقل الوسط المائي إلى أنبوب نظيف وأُضيف إليه الإيزوبروبانول Iso-propanol (بمعدل 3/2 من حجم الوسط المائي)، ثم نُقل الحمض النووي (DNA) المترسب إلى أنبوب صغير سعة 2ml وأُضيف 0.5ml من محلول الغسيل Washing buffer (كحول إيتيلي 76%) البارد (المحفوظ بدرجة –20°س) ثمَّ تم التثفيل بسرعة (10.000 rpm) لمدة 10 دقائق وبدرجة حرارة 4°س. استبعد الكحول وترك الـ DNA ليجف هوائياً، ثم أُذيبت عينات الحمض النووي (DNA) في 500µl من المحلول المنظم TE (10 mM Tris-HCl, 1mM EDTA). وتمَّ التخلص من الحمض النووي RNA بإضافة 2µl من أنزيم RNase(10 mg/ml) والتحضين على درجة (37°س) مدة نصف ساعة، رسب الـ DNA ثانية وجفف وأذيب بالـ TE للحصول على تركيز ليصبح (40ng/µl) (Maniatis وآخرون، 1982) وعدل من قبل (لاوند، 2002).

3- تطبيق تقنية ISSR:

جربت في هذه الدراسة 23 بادئةً تمَّ الحصول عليها من الهيئة العامة للطاقة الذرية في سورية، ويوضح الجدول 2 التسلسل النيكليوتيدي ودرجة حرارة الالتحام للبادئات المستخدمة في الدراسة.

أُجري تفاعل البلمرة المتسلسل PCR وفقاً لـ Adams وزملاؤه (2003) مع بعض التعديلات (35 دورة، التحطم أو الانفصال 30 ثانية 95°س، الالتحام حسب درجة حرارة البادئات الموضوعة في الجدول2 لمدة 30 ثانية، الاستطالة 1 دقيقة 72°س، ثم 10دقائق على 72°س لإتمام جميع التفاعلات).

الجدول 2. التسلسل النيكليوتيدي لبادئات ISSR المستخدمة في تحليل عينات الشربين المختبرة.

البادئة	التسلسل النيكليوتيدي 3' - 5'	درجة حرارة الالتحام
$ISSR_1$	GAGAGAGAGAGAGAGAGC	52 °م
$ISSR_2$	CACACACACACACACAG	52 °م
$ISSR_3$	GAGAGAGAGAGAGAGACG	56 °م
$ISSR_4$	ACACACACACACACACGG	56 °م
$ISSR_5$	GTGTGTGTGAGAGAGAGA	54 °م
$ISSR_6$	ACACACACACACACATATAT	54 °م
$ISSR_7$	ACACACACACACACACT	50 °م
$ISSR_8$	KKVRVRVTGTGTGTGTGTG	50 °م
$ISSR_9$	CACACACACACACACAA	50 °م
$ISSR_{10}$	GAGAGAGAGAGAGAGAGAGA	58 °م
$ISSR_{11}$	AGGAGGAGGAGGAGG	58 °م
$ISSR_{12}$	CACACACACACACACACACACA	56 °م

4 - التحليل الإحصائي:

جُمعت نتائج عملية التضخيم في جداول اعتماداً على وجود أو غياب حزم الحمض النووي DNA في العينات المدروسة، حيث استخدم الرقم (1) للدلالة على وجود حزمة DNA واضحة فقط والرقم (0) تدل على غياب الحزمة، وقد نُظمت الجداول لكل بادئة على حدة ورُسمت شجرة القرابة الوراثية Dendrogram بتطبيق UPGMA Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Averaging باستخدام برنامج Pop gene 1.31 الإحصائي (yeh, 1999).

الجدول 3 يبين عدد الحزم الكلية للطرز المدروسة وفق البادئات المستخدمة:

البادئ / الطراز	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	المجموع	المتوسط
1	2	1	2	1	0	1	0	3	2	5	4	1	22	1.8
2	4	3	0	2	1	1	3	3	2	4	5	4	32	2.6
3	2	4	2	7	2	2	1	1	2	6	5	7	41	3.4
4	0	0	0	2	2	1	3	0	1	6	0	1	17	1.4
5	0	0	0	0	2	3	4	8	2	5	3	9	36	3
6	0	0	0	0	0	2	6	2	2	7	0	0	19	1.5
7	1	0	0	0	0	1	1	4	2	6	2	0	17	1.4
8	0	0	0	2	0	0	0	0	1	0	0	1	4	0.3
9	0	0	0	0	0	0	2	5	2	4	0	0	13	1.1
10	2	1	3	3	1	2	1	3	1	3	2	2	24	2
													225	

بلغ عدد الحزم الكلية للطرز المدروسة 225 حزمة، وأعطى الطراز 3 أعلى عدد للحزم الكلية وبلغ 41 حزمة مع البادئات المستخدمة، في حين أعطى الطراز 8 أقل عدد للحزم الكلية وبلغ 4 حزم فقط مع البادئات المستخدمة ذاتها.

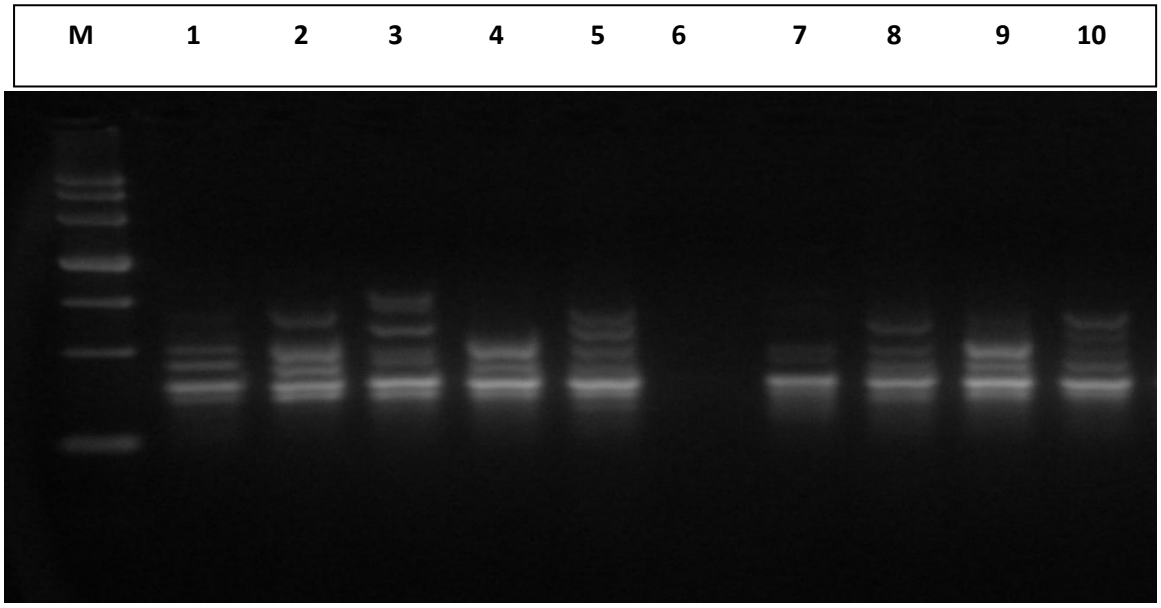
النتائج والمناقشة

- التباين الوراثي بين عينات الشربين:

تضمنت الدراسة اختبار العينات النباتية المدروسة ويبين الجدول3 أن 12 بادئةً من البادئات المستخدمة أعطت منتجات تضخيم في تفاعل البلمرة المتسلسل حيث تمكنت البادئات المستخدمة من كشف تباينات واختلافات بين العينات المدروسة، ونجم عن استخدام هذه البادئات ما مجموعه 79 حزمة، حيث أعطت هذه البادئات تعدديةً شكليةً Polymorphic ونسبة التعددية 98.7%، كما تراوح عدد الحزم لكل بادئة بين 2 وهو أقل عدد مع البادئة (ISSR9) و10 حزم كأعلى عدد مع البادئات (ISSR12,ISSR4) بمتوسط 6.5 حزمةً لكل بادئة، وكانت النسبة المئوية للتعددية الشكلية الأقل مع البادئة (ISSR9) بمقدار 50% والأكبر100% مع بقية البادئات، ويمثل الشكل(1) النماذج التي تمَّ الحصول عليها من حزم DNA.

الجدول 4. رموز البادئات المستخدمة، عدد الحزم الكلية والمتباينة، والنسبة المئوية للتعددية الشكلية % في الطرز الوراثية المدروسة.

اسم البادئ	عدد الحزم الكلية	عدد الحزم المتباينة شكلياً	النسبة المئوية للتعددية الشكلية %
$ISSR_1$	8	8	%100
$ISSR_2$	5	5	%100
$ISSR_3$	6	6	%100
$ISSR_4$	10	10	%100
$ISSR_5$	4	4	%100
$ISSR_6$	3	3	%100
$ISSR_7$	9	9	%100
$ISSR_8$	8	8	%100
$ISSR_9$	2	1	%50
$ISSR_{10}$	8	8	%100
$ISSR_{11}$	6	6	%100
$ISSR_{12}$	10	10	%100
المجموع	79	78	%98.73
المتوسط	6.6	6.5	



الشكل1. صورة هلامة الآجاروز2% لملاحظة التعددية الشكلية الناتجة عن استخدام البادئة (ISSR8) في جميع العينات المدروسة، M يمثل المؤشر الجزيئي لتحديد الأوزان وأحجام حزم الحمض النووي DNA.

تحديد درجة القرابة الوراثية بين العينات المدروسة:

تمت دراسة العلاقة الوراثية بين الطرز الوراثية المدروسة بتطبيق مصفوفة النسب المئوية لعدم التوافق (PDV) Percent Disagreement Values حيث أن ارتفاع قيم هذه المصفوفة يدل على وجود اختلاف وراثي وبازديادها يزداد التباين الوراثي بين الطرازين المدروسين ويتم إنشاء هذه المصفوفة وفقاً لعدد وحدات التضاعف المشتركة بينها. نلاحظ من خلال الجدول 5 أن أقل قيمة لـ PDV هي 0.14 بين الطرازين اللاذقية (محمية الشوح والأرز) واللاذقية (جب الغار)

وهذا يدل على أنهما على درجة كبيرة من القرابة الوراثية، تلاها طرز حماه (عين الكروم) وحماه (أبوكليفون) بقيمة 0.23، كذلك جسر الشغور والمقامات 0.23، بينما كانت أعلى قيمة لها 0.7 بين الطرازين حماه (أبوكليفون) و حمص (القصير) مما يدل على وجود تباين وراثي كبير بينها، تلاها حماه (أبوكليفون) و حلب (عفرين- قورنة) 0.68، ثم حلب (عفرين-قورنة) وحمص (القصير) 0.66، وهذا يشير إلى ارتفاع قيمة الـ PDV في المواقع المتباعدة جغرافياً عن بعضها البعض في معظم العينات المدروسة، وانخفاض قيمة الـ PDV في المواقع المتقاربة جغرافياً.

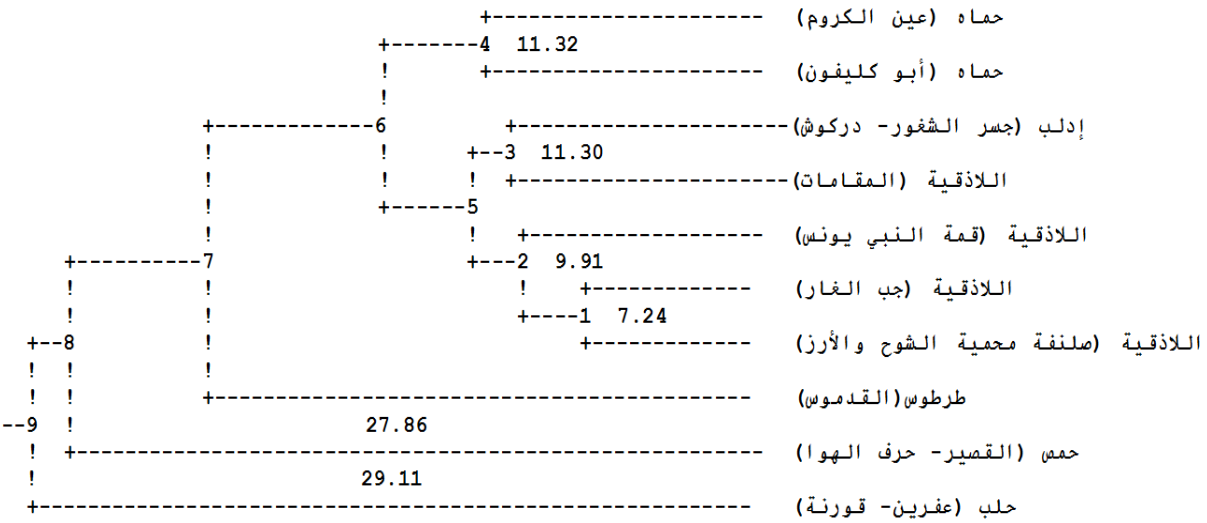
الجدول5. مصفوفة النسب المئوية لعدم التوافق (PDV) بين العينات المدروسة والناتجة عن تطبيق متوسطات المجموعات الزوجية غير المزانة UPGMA بتطبيق تقنية ISSR حسب Nei (1987)

		قيم الـPDV									
	الموقع	حماه-عين الكروم	طرطوس-القدموس	حمص-القصير	إدلب-جسر الشغور	حلب-عفرين-قورنة	اللاذقية-قمة النبي يونس	اللاذقية-جب الغار	اللاذقية-المقامات	اللاذقية-صلنفة-محمية الشوح والأرز	حماه-أبو كليفون
1	حماه-عين الكروم	0									
2	طرطوس-القدموس	0.31	0								
3	حمص-القصير	0.46	0.5	0							
4	إدلب- جسر الشغور	0.35	0.48	0.5	0						
5	حلب-عفرين-قورنة	0.68	0.64	0.66	0.52	0					
6	اللاذقية-قمة النبي يونس	0.30	0.46	0.56	0.21	0.5	0				
7	اللاذقية-جب الغار	0.21	0.39	0.52	0.24	0.45	0.2	0			
8	اللاذقية-المقامات	0.31	0.48	0.58	0.23	0.6	0.27	0.24	0		
9	اللاذقية-صلنفة-محمية الشوح والأرز	0.24	0.46	0.64	0.27	0.46	0.2	**0.14**	0.18	0	
10	حماه-أبو كليفون	0.23	0.52	**0.70**	0.31	0.68	0.39	0.33	0.35	0.3	0

التحليل العنقودي Cluste analysis (شجرة القرابة):

يسمح التحليل العنقودي بتقسيم العينات الوراثية المدروسة إلى مجموعات، وتعكس هذه المجموعات درجة القرابة الوراثية فيما بينها، وقد تتجمع العينات ضمن مجموعة واحدة بناءاً على موطنها الأصلي أو على أصلها ونسبها. أجري التحليل العنقودي للنتائج التي تمّ الحصول عليها وذلك لإنشاء شجرة القرابة الوراثية Dendrogram لتحديد درجة القرابة الوراثية حيث أظهر هذا التحليل أن شجرة القرابة الوراثية قد انقسمت إلى تحت عنقودين رئيسين ضم الأول (عفرين) حيث كان الأبعد وراثياً عن باقي الطرز المدروسة بمسافة 29.11، بينما انقسم تحت العنقود الثاني إلى مجموعتين رئيسيتين ضمت الأولى (حمص- القصير) بمسافة وراثية 27.86 في حين ضمت المجموعة الثانية باقي الطرز المدروسة، وكان ضمن هذه المجموعة الطرز (جب الأحمر وَمحمية الشوح والأرز) الأقرب وراثياً بمسافة 7.24 تلاها الطرز (دركوش وَالمقامات) بمسافة 11.30 والطرز (عين الكروم وَ أبوكليفون) بمسافة 11.32، وكان الطراز (قمة النبي يونس) الأقرب وراثياً إلى الطرازين (جب الأحمر وَمحمية الشوح والأرز) بمسافة 9.91 كما هو موضح في الشكل (2) بناءً على ذلك نلاحظ انفصال شجرة القرابة الوراثية إلى تحت عناقيد بناءً على موقعها الجغرافي في معظم العينات، فجاءت عينات حماه (أبوكليفون وَعين الكروم) في تحت عنقود، وعينات جب الأحمر وقمة النبي يونس ومحمية الشوح والأرز في تحت عنقود حيث تقع المواقع الثلاث على جبل واحد في مواقع متقاربة تشكل قمة النبي يونس قمة الجبل وعلى سفحيه الموقعين

الآخرين، في حين شكلت عينة محافظة طرطوس(القدموس) تحت عنقود منفصل في الشجرة، كذلك حمص(القصير)، وحلب (عفرين) تحت عنقود منفصل آخر، وبهذا يكون تم التوصل إلى تمييز عدة طرز وراثية من عينات الشربين باستخدام تقنية ISSR كما وجد(Adams) وزملاؤه2003.



الشكل 2. شجرة القرابة الوراثية بين عينات الشربين المدروسة

الاستنتاجات والمقترحات

1- أظهرت تقنية ISSR فعاليةً في التمييز بين العينات الوراثية المدروسة حيث أنها كشفت نسباً عاليةً من التعددية الشكلية Polymorphism.

2- تمَّ فصل الطرز المدروسة في شجرة القرابة الوراثية حسب بيئاتها (الموقع الجغرافي) وهذا يمكن أن يساعد في تحديد هوية الطرز الوراثية وتعريفها تبعاً لبيئة المناطق التي تنمو فيها هذه الطرز وخاصة حلب (عفرين قورنة) حيث تفرد هذا الطراز عن بقية الطرز المدروسة، ليتبعه طراز حمص-القصير، ثم طراز طرطوس- القدموس.

3- يمكن العمل مستقبلاً على تحديد الصفات الكمية المسؤولة عن الطرز الوراثية للظروف البيئية المختلفة ومقارنتها مع الطرز القريبة منها وراثياً والنامية في بيئات متباينة نسبياً عن تلك الأولى حيث يساعد ذلك في إكثار الطرز المتحملة والاستفادة منها بإدخالها إلى بيئات أخرى.

المراجع

- **الهيكلية الوطنية للسلامة الأحيائية في الجمهورية العربية السورية** (2006). وزارة الإدارة المحلية والبيئة، سورية – المرفق البيئي العالمي – برنامج الأمم المتحدة للبيئة.
- **شاهرلي، مخلص؛ الأوبري، خالد**.2004. حفظ المصادر الوراثية للأنواع النباتية في سورية، مشروع الحفظ والاستخدام المستدام للتنوع الحيوي الزراعي في المناطق الجافة GEF الهيئة العامة للبحوث العلمية الزراعية، وزارة الزراعة والإصلاح الزراعي.
- **لاوند، سلام**. 2002. الهندسة الوراثية عند نبات الأرابيدوبسيس في نهاية النفس: وظيفة جديدة ضرورية بعد الإنبات ومشابهة لنواقل الأستيل كارنيتين. أطروحة دكتوراه. جامعة جوزيف فورييه، كرونوبل الأولى، فرنسا. الصفحات: 96.

- **Adams, R.; A. Schwarzbach, R. Pandey**. 2003. The concordance of terpenoid, ISSR and RAPD markers, and ITS sequence data sets among genotypes: an example from Juniperus. Biochemical Systematics and Ecology, 31: 375–387
- **Adams, R.; T. demeke,.** 1993. SYSTEMATIC RELATIONSHIPS IN JUNIPERUS BASED ON DNAs(RAPDs).1993. JSTOR: Taxon, vol. 42, no. 3(aug., 1993), pp. 553-571.
- **Bornet, B., Goraguer, F., Joly, G. and M. Branchard**. 2002. Genetic diversity in European and Argentinian cultivated potatoes (Solanum tuberosum subsp. tuberosum) detected by inter-simple sequence repeats (ISSRs). Genome 45 481-484.
- **Chowdhury, M. A; B. Vandenberg and T.Warkentin**. 2002. Cultivar identification and genetic relationship among selected breeding lines and cultivars in chickpea (Cicer arietinum L.). Euphytica 127:317–325.
- **Grieve. A. Modern Herbal**. 1984. Penguin ISBN 0-14-046-440-9,PP:40.
- **Farjon, A.** 2005. Monograph of Cupressaceae and Sciadopitys. Royal Botanic Gardens, Kew. ISBN 1-84246-068-4
- **Nei, M**. 1987. Molecular evolutionary genetics. Columbia University Press, New York, NY.
- **Nagaraju, J., Kathirvel, M., Ramesh Kumar, R., Siddiq, E.A. and Hasnain, S.E**. 2002. Genetic analysis of traditional and evolved Basmati and non-Basmati rice varieties by using fluorescence-based ISSR-PCR and SSR markers. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 99 5836-5841.
- **Usher. G. A Dictionary of Plants Used by Man**. 1974. ISBN 0094579202.PP:66.
- **Yeh F.; R. Yang**. 1999. POPGENE VERSION 1.31 Microsoft Window based Freeware for Population Genetic Analysis Quick User Guide. University of Alberta And Tim Boyle. Centre for International Forestry Research. pp:28.

N° Ref: 445