مجلة جامعة دمشق للعلوم الزراعية ـ (2007) ـ المجلد (23) ـ العدد 2 ـ الصفحات: 219-231

دراسة التنوع الوراثي لبعض طرز الرمان في اليمن باستخدام تحاليل الـ RAPD

فتحي الشاوش[1] و فيصل حامد[2] و عماد العيسى[2]

الملخص

استخدمت تقانة الدنا المضخم عشوائياً (RAPD) لدراسة التنوع الوراثي لبعض طرز الرمان التي بلغ عددها 11 طرازاً وراثياً جمعت من 3 مناطق رئيسية في شرق اليمن ووسطه وشماله (رداع، الحداء، صعدة) خلال العام 2004 م.

تمت عمليه مكاثرة قطع الDNA وتضخيمها خلال التفاعل التسلسلي للبوليميراز(PCR) باستخدام 30 بادئة عشوائية أنتجت 1013 حزمة (شدفة) منها 118 أعطت تعددية شكلية 11.5%، وقد أوضحت النتائج أن الاختلاف الوراثي بين الطرز المستخدمة كان محدوداً حيث تراوحت درجه القرابة بينهما من 59- 96 % بمتوسط قدره 79 %.

أظهر التحليل الإحصائي إمكانية تقسيم الطرز المدروسة إلى مجموعتين: الأولى تضم الطرازين عرقبي ومليس في منطقه الحداء، أما المجموعة الثانية فتضم 9 طرز تنتمي إلى مناطق صعدة ورداع والحداء.

وجدت درجة عالية من القرابة الوراثية (90 – 96 %) بين طرز الرمان خازمي، ليسي 1، ليسي 2، طائفي، أحمر، بلدي في حين عدتْ بعض الطرز أصنافاً مستقلة نظراً لارتفاع درجه الاختلاف الوراثي بينها مثل طرازي الرمان عرقبي ومليس في منطقة الحداء بالإضافة إلى الطرز بحصم، صماطي، ليسي 3 في منطقه صعدة.

الكلمات المفتاحية: الرمان، التنوع الوراثي، التعددية الشكلية، الدنا المضخم عشوائياً (RAPD)، الحامض النووي (DNA) .

---

[1] طالب دكتوراه، [2] أستاذ، قسم علوم البستنة، كلية الزراعة، جامعة دمشق، ص.ب. 30621، سورية.

Study of the Genetic Diversity of Some Pomegranate Types in Yemen using RAPD Analysis

Al Shawish . F . (1)**; Hamed . F .**(2)
and Al – Issa. I(2)

ABSTRACT

Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) was used to evaluate genetic diversity among 11 Yemeny pomegranate types. Samples were collected in 2004 from three main regions: east, middle and north of the country (Rada, Hada and Saada). PCR amplification of pomogranate DNA with 30 random primers generated 1013 bands, 118 of them were polymorphic 11.5%. Results showed that the genetic diversity within the tested types was limited. Similarity values ranged between 59 –96 % with a mean of 79 %. Statistical analysis showed that the types can be divided into two clusters: cluster 1 with Orkobi and Mellies types found in the Hada region; cluster 2 includes nine types belonging to the Saada and Radaa regions .High similarity (90–96%) was obtained with Khazemy, Liessy 1, Liessy 2, Taefi, Ahmer and Balady types. Whereas, some types could be considerd as separate cultivars due to their high genetic diversity such as, Orkoby and Mellies (Hada region) in addition to Bohssom, Sommaty and Liessy 3 in the Saada region.

Key words: Pomegranate, Genetic Diversity, Polymorphism, RAPD, DNA .

---

(1) Ph.D. Candidate, (2) Department of Horticulture Science, Faculty of Agriculture, P.O.Box 30621, University of Damascus, Syria.

المقدمة

ينتمي الرمان *Punica granatum* إلى العائلة الرمانية Punicaceae وتنتشر زراعته في بلدان الشرق الأوسط والأدنى وأمريكا الشمالية وأوربا ويعود هذا الانتشار لتأقلمه مع مدى واسع من الظروف البيئية والمناخية، ويبلغ إنتاج الدول العربية من هذا المحصول المهم قرابة 584.94 ألف طن وتحتل العراق وسورية وتونس المراكز الأولى في الإنتاج، (Anonymus, 2000).

عرف الرمان السوقطري *Punica protopunica* أو *Socotria protopunica* في جزيرة سو قطرة اليمنية على البحر العربي وهو النوع الثاني للجنس Punica (Levin, 1994) ، ويعد هذا الجنس الوحيد في العائلة Punicaceae (Morton, 1987). كما تنتشر باليمن العديد من طرز الرمان المحلي ويبلغ معدل الإنتاج فيها قرابة 21786 طن (الإحصاء الزراعي، 2004). أما على الصعيد العالمي فقد أجريت عدة بحوث على الرمان في مجال التنوع الوراثي (عطية، 1980؛ White، 1997).

ومع ظهور التقانات الحيوية أصبحت دراسة التنوع الحيوي أكثر مداولية ودقة فقد اِستُخدمت تقانة الـ Random Amplified polymorphic DNA (RAPD) في عدد من الدراسات في مجال توصيف المصادر الوراثية النباتية، ففي دراسة قام بها يوسف (2003) على37 طرازاً من الرمان السوري لتحديد درجة القرابة الوراثية بين هذه الطرز باستخدام تقانة الدنا المضخم عشوائياً (RAPD) وجد أن درجة التشابه الوراثي قد تراوحت بين 47- 49% .

كما ساعدت هذه التقانة في تقييم التنوع الوراثي بين 28 صنفاً من الخوخ من خلال استخدام 12 بادئة حيث بلغ عدد الحزم ذات التعددية الشكلية 81 حزمة وتراوحت درجة الاختلاف الوراثي للأصناف المدروسة بين 5–50 % (Raddova *et al.*,2003). وفي دراسة قام بها (Mir Ali and Nabulsi, 2003) استخدمت تقانة الـ RAPD في دراسة العلاقات الوراثية بين 19 صنفاً من اللوز من خلال استخدام 40 بادئة، وقد أوضحت الدراسة أن معدل الاختلاف الوراثي بين الأصناف كان محدوداً وقد تراوحت درجة التشابه بين 70-96 %. وأوضح Oliveira *et al.*, (1999) أنه تم إجراء تحاليل الـ RAPD لدراسة العلاقة الوراثية بين 9 أصناف من الكمثرى المستزرعة وبين 3 من طرزها البرية باستخدام22 بادئة حيث بلغ عدد الحزم الناتجة 358حزمة منها 327 ذات تعددية شكلية في حين بلغت درجة التشابه بين الأصناف والطرز البرية قرابة 63%.

كما وجد Soliman *et al.*, (2003) في دراسته على 4 أصناف من النخيل المؤنث ومقارنتها مع 4 أصناف أخرى غير معروفة من النخيل المذكر باستخدام تقانة الـ RAPD أن درجة التشابه الوراثي بين هذه الأصناف قد تراوحت بين 87.5 – 98.9 %.

وعند دراسة الباحث Karhaloo *et al*., (2003) على 29 صنفاً من المانجو في الهند باستخدام تحاليل الـ RAPD مع 24 بادئة كان عدد الحزم الناتجة 314 حزمة وتراوح معدل التشابه الوراثي بين الأصناف من 32-75%.

كما تمت الاستفادة من تقانة الـ RAPD في العديد من النباتات والمحاصيل، حيث استخدمت في تقييم التنوع الوراثي في التفاح (Landry *et al*., 1994) والتوت (Vijayan *et al*., 2004) والخوخ (Shimada *et al*., 1999) فضلاً عن عدد كبير من المحاصيل الأخرى.

الهدف من الدراسة

تهدف هذه الدراسة إلى تحديد التشابه الوراثي بين أهم طرز الرمان المنتشرة في اليمن والتي تنمو في ثلاث مناطق رئيسية شمال البلاد ووسطها وشرقها هي صعدة والحداء ورداع باستخدام تقانة الـ RAPD .

مواد البحث وطرائقه

1- المادة النباتية

جمعت العينات من مناطق الدراسة (جدول 1) حيث أُخذت أوراق الرمان حديثة السن لكل طراز وغسلت جيداً بالماء المقطر ثم وضعت داخل أكياس ورقية مثقبة، تركت العينات مدة 20 يوماً حتى جفت تماماً، ثم نقلت إلى مختبرات هيئة الطاقة الذرية– قسم التقانة الحياتية بدمشق حتى الاستخدام.

2 - الدراسة الجزيئية

نُفِّذت الدراسة الجزيئية في مختبرات قسم البيولوجيا الجزيئية والتقانة الحياتية-هيئة الطاقة الذرية – دمشق باستخدام تقانة الدنا المضخم عشوائياً (RAPD) على 11 طرازاً وراثياً من الرمان جمعت من ثلاث مناطق رئيسية لإنتاج الرمان باليمن (جدول 1) وقد تضمنت هذه التقانة الآتي:

أ- عزل الـ DNA لكامل الجينوم (DNA Extraction)

عزل الـ DNA لكامل الجينوم من أوراق الرمان اليافعة، حيث جمعت 5-10 أوراق من كل طراز على حدة وغسلت عدة مرات بالماء المقطرالمعقم وعزل الـ DNA بطريقة CTAB (Cetyl Trimethyl Ammonium Bromide)(Williams *et al.*, 1990).

طحنت الأوراق قرابة (1-2) غرام في الهاون الخزفي والمدقة وبوجود النتروجين السائل واستمر الطحن حتى الحصول على بودرة ناعمة وتم خلاله تحطيم الجدار الخلوي للخلايا ثم نقلت البودرة النباتية الناتجة لدورق سعة 50 مل وأضيف إليها 10 مل CTAB2.5 X المسخن مسبقاً حتى درجة حرارة 65 مْ والذي يعمل على تحطيم الغشاء

النووي للخلايا والذي يحتوي على 2.5% CTAB (حجم/ وزن) و100mM (pH =8.0) Tris- HCl و1.5MNaCl و25mM EDTA أيثيلين داي ميثيل تيترا اسيتات و1% P.V.P (Polyvinilpyrolidone) والذي يعمل على التخلص من المركبات الفينولية و0.2 % ميركبتو إيثانول، وضعت الأنابيب في حمام مائي في حرارة 37 مْ طوال الليل (Suman *et al.*, 1999)، ثم أضيف 10 مل من مزيج كلوروفورم /أيزوميل الكحول (1:24)، ولجعل المزيج متجانساً فقد تم المزج بقلب الأنبوب رأساً على عقب وبلطف عدة مرات، بعد ذلك رسبت نواتج فصل الـ DNA بالتثقيل على سرعة 7500 دورة/د. مدة 10 دقائق، وسبق ذلك موازنة بين الأنابيب [كررت إضافة مزيج كلوروفورم/أيزوميل الكحول (1:24) والترسيب بشروط التثفيل السابق نفسها مرة أخرى].

الجدول (1) طرز الرمان المستخدمة مع بعض مواصفاتها ومناطق الزراعة .

المنطقة	الإزهار	صلابة البذرة	لون القشرة	الطراز Types	No
رداع	متوسط	متوسطه	أخضر محمر	طائفي Taefi	1
الحداء	مبكر	طرية	وردي محمر	عرقبي Orkobi	2
الحداء	متوسط	طرية	أصفر وردي	بلادي Balady	3
الحداء	متوسط	طرية	أصفر وردي	مليس Mallies	4
صعدة	مبكر	صلبة	أصفر محمر	بحصم Bohssom	5
صعدة	متأخر	متوسطة	أخضر محمر	خازمي Khazemy	6
صعدة	متوسط	طرية	أخضر مصفر	ليسي 1 Liessy1	7
صعدة	متوسط	طرية	أخضر مصفر	ليسي 2 Liessy2	8
صعدة	متوسط	طرية	أصفر محمر	ليسي3 Liessy3	9
صعدة	متوسط	طرية	أصفر مخضر	صما طي Sommaty	10
صعدة	مبكر	متوسطة	وردي مصفر	أحمر Ahmer	11

نقلت الرشاحة إلى أنبوب تثفيل آخر وأضيف الإيزو بروبانول المبرد بمقدار 0.6 من الحجم والذي يساعد على تكوين طورين اثنين للفصل، ومزجت محتويات الأنبوب بالتحريك رأساً على عقب بلطف عدة مرات، ثم التثقيل على 5000 دورة/ د. مدة 5 دقائق وأخذ الراسب حيث غسلت الـ DNA بالكحول المبرد 70% وجففت وأضيف إليها بفر TE (High salt) والحاوي على [10mM Tris HCl (pH =8.0) و1mM EDTA و1M NaCl] تم التخلص من الـ RNA وذلك بإضافة Rnase وإعادة المعاملة بمزيج كلوروفورم/أيزوميل الكحول (1:24)، كما تمت المعاملة بـ NaCl والغسيل بالكحول والتجفيف ومن ثم الإذابة بالماء المقطر المعقم مرتين ثم حسبت كمية الـ DNA وتركيزه بواسطة جهاز قياس الطيف Spectrophotometer (GeneQuant) من شركة Biosciences Amersham حيث قِيس تركيز الـ DNA عند طول موجة 260 و280 نانوميتراً (نسبة القراءة 280/260 يجب أن تقع بين 1.5-2)، ثم مددت بالماء المقطر للوصول إلى تركيز 10 نانوغرام/ ميكرولتر.

ب- استخدام تقانة الـ RAPD

طبقت تقانة الـ RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) واستخدمت بادئات من شركة (Operon Technologies Inc USA) أذيبت بالماء المقطر لتركيز 20 نانو غراماً/مايكروليتر، وفي هذه التجربة استُخدمت 30 بادئة مختلفة اختيرت بشكل عشوائي ست منها من شركة Amersham والباقي من شركة Operon ولإجراء التفاعل التسلسلي للبوليميراز (PCR) اِستُخدم خليط مكون من 25 ميكروليتراً تضمن الآتي: [67mM is-HCl (pH 8.8)، 16mM (NH4)2SO4، Tween20 0.01%، 3.4 mM MgCl2، 0.15 mM لكل واحد من الأسس (dCTP, dGTP, dTTP, dATP)، 1 وحدة من Taq DNAPolymerase من شركة Eurobio، 25 ng من الـ DNA و60 ng من كل بادئة primer].

أُجري تفاعل الـ PCR باستخدام جهاز Hybaid Thermal Cycler من شركة (Techne Genius) وقد تضمنت ظروف التضخيم ما يأتي:

- تمسخ Denaturation ويتم فيه فصل أولي لجديلتي الـ DNA وذلك في حرارة 94 مْ مدة دقيقة واحدة، تبعها 45 دورة كل دورة تضمنت:
- تمسخ Denaturation في حرارة 94 مْ مدة عشر ثواني.
- التحام Annealing في حرارة 35 مْ مدة عشر ثواني.
- استطالة Extension في حرارة 72 مْ مدة دقيقة وعشر ثواني.
- استطالة Extension نهائي ولدورة واحدة فقط في حرارة 72 مْ مدة دقيقتين ثم الحفظ في حرارة 4 مْ إلى حين استمرار العمل بنواتج التفاعل، بعد ذلك فُصلت نواتج تفاعل الـPCR بهلامة أغاروز 1.2% من شركة MERCK ضمن محلول بفر 0.5X TBE (Tris Borate EDTA) مضافاً إلى تلك الهلامة إثيديوم برومايد من شركة Fluka لكشف حزم الـDNA من خلال ضوء الـUV واستعمل مؤشر قياسي يشير إلى مواقع الحزم وحجمها: 1 Kb Plus DNA Ladder (Ready – Load) من شركة (Invitrogen).

ج- تحليل المسارات الناتجة عن الحزم المضخمة :

أُجريت هذه الدراسة على 11 طراز رمان وقورنت المسارات الناتجة مع بعضها حيث أحصيت الحزم الناتجة عن أجزاء الـ DNA على أساس وجود الحزم (1) أو غياب الحزم (0)، وذلك وفقاً لمعطيات البادئات (30) المستخدمة.

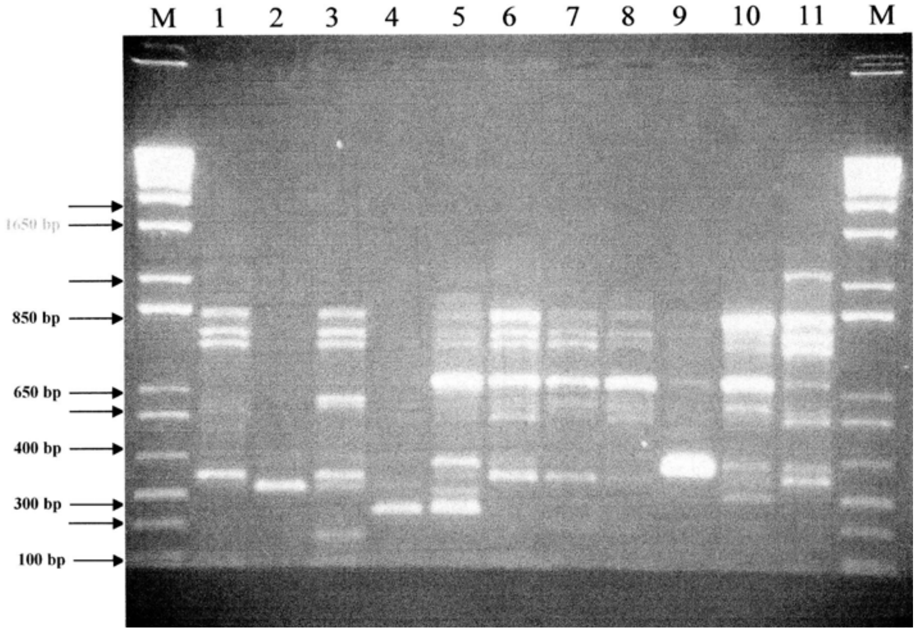
وقد استُخدم تحليل الموادمة البسيطة Simple Matching Similarity Coefficient لوضع الطرز في عناقيد بواسطة طريقة التحليل العنقودي الشبكي التسلسلي التراكمي من برنامج NTSYS-PC-2.01. ويقوم هذا البرنامج بحساب معامل الارتباط بين جميع القراءات ورسم شجرة القرابة الوراثية بين الأشكال المدروسة وذلك باستخدام طريقة المجموعات الزوجية غير المزانة Unweighted Pair Group Mean (UPGMA) Average باستخدام روتين Percent Disagreement Value (PDV) من برنامج STATISTICA (Statsoft, Inc.2003).

النتائج والمناقشة

استخدمت تقانة الـ RAPD في إجراء الدراسة الجزيئية وتحديد العلاقات الوراثية بين طرز الرمان المدروسة حيث يوضح الجدول (2) عدد البادئات المستخدمة في الدراسة وتسلسل الأسس فيها وعدد الحزم (الشدف) الناتجة عن تضخيم الـDNA في 11 طرازاً وراثياً من الرمان، وقد بلغ مجموع الحزم الناتجة عن استخدام 30 بادئة عشوائية 1013 حزمة منها 118 أعطت تعددية شكلية بمتوسط قدره 11.5%، وكان عدد الحزم قد تراوح من 11 في البادئة (OPN-15, OPF-10) إلى 65 في البادئة (OPZ-10). وقد نجحت معظم البادئات المختارة في إعطاء تعددية شكلية بين الحزم الناتجة حيث بلغت أعلى نسبه للتعددية الشكلية 30.3% في البادئة (OPB-20) في حين لم تنجح 4 بادئات في إعطاء أي تعددية شكلية وهي (OPO-10, OPN-20, OPN-15, OPF-10). في حين بلغت التعددية الشكلية الناتجة عن استخدام البادئة Amersham 6 كما يتضح من الشكل (1) نسبة قدرها 22 %. وقد وضعت النتائج على شكل يمثل التحليل العنقودي Dendogram (شكل 2) حسب تحليل UPGMA ومن خلاله نجد أن درجة الاختلاف الوراثي بين الطرز قد تراوحت بين 4 -41 % أي إن درجة القرابة الوراثية كانت من 59 -96%، وتتفق هذه الدراسة مع ما توصل إليه روبين (2003) في دراسته 37 طرازاً من الرمان في سورية باستخدام 17 بادئة عشوائية باستخدام تقانة الـRAPD حيث تراوحت درجة القرابة بين هذه الطرز بين 47-94 %. وعند استعراض العديد من البحوث في حقل الدراسة الجزيئية والبصمة الوراثية لوحظ وجود ندرة في عدد الدراسات الجارية على محصول الرمان مقارنة بمحاصيل الفاكهة الأخرى.

الجدول (2) البادئات المستخدمة ومجموع الحزم (الشُدف) والتعددية الشكلية.

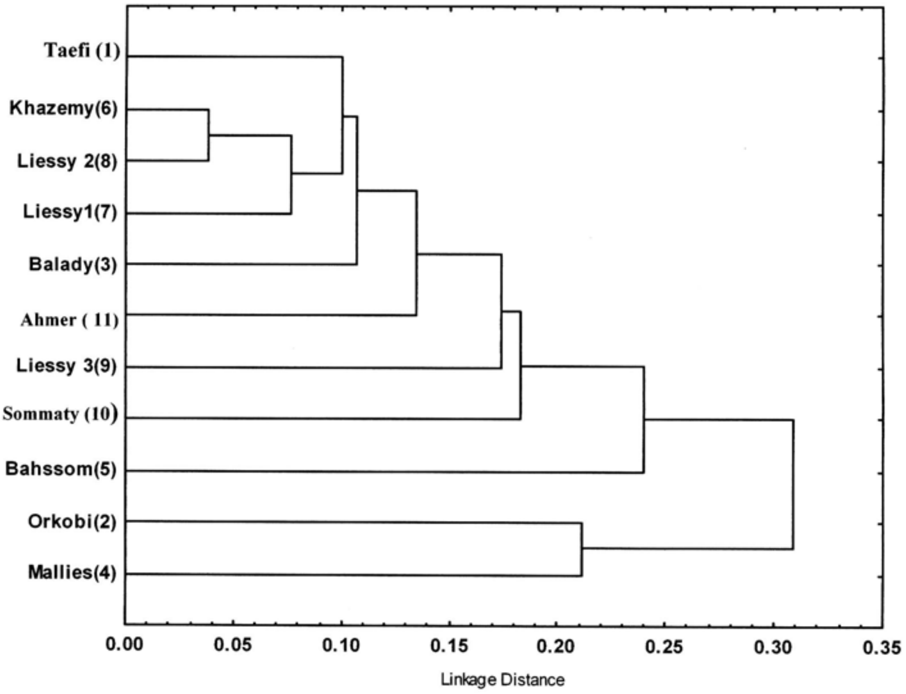
مسلسل	البادئات	أسس البادئة	مجموع الحزم لـ 11 طراز بكل بادئة	مجموع أسطر الحزم	التعددية الشكلية	% للتعددية الشكلية
1	Amersham 1	GGTGCGGGAA	25	10	3	12
2	Amersham 2	GTTTCGCTCC	22	11	2	9.1
3	Amersham 3	GTAGACCCGT	41	11	6	14.6
4	Amersham 4	AAGAGCCCGT	22	11	2	9.1
5	Amersham 5	AACGCGCAAC	48	10	10	21
6	Amersham 6	CCCGTCAGCA	50	11	11	22
7	OPA-05	AGGGGTCTTG	53	6	4	7.5
8	OPA-19	CAAACGTCGG	50	7	6	12
9	OPB-11	GTAGACCCGT	40	6	4	10
10	OPB-12	CCTTGACGCA	13	2	1	8
11	OPB-15	GGAGGGTGTT	61	4	7	11.5
12	OP-B20	GGACCCTTAC	33	10	10	30.3
13	OPC-16	CACACTCCAG	44	10	10	23
14	OPD-10	GGTCTACACC	12	1	1	8.3
15	OP-D11	AGCGCCATTG	35	6	5	14.3
16	OP-D16	AGGGCGTAAG	13	2	1	8
17	OP-D19	CTGGGGACTT	47	5	1	2.1
18	OP-E11	GAGTCTCAGG	40	6	3	7.5
19	OP-E19	ACGGCGTATG	15	3	2	13.3
20	OPF-10	GGAAGCTTGG	11	1	0	0
21	OP-F14	CTGCTGAGGT	22	5	4	18.2
22	OPI-07	CAGCGACAAG	46	8	8	17.4
23	OP-N03	GGTACTCCCC	32	4	3	9.4
24	OP-N15	CAGCGACTGT	11	1	0	0
25	OP-N20	GGTGCTCCGT	55	5	0	0
26	OPO-10	TCAGAGCGCC	44	4	0	0
27	OP-O12	CAGTGCTGTG	27	7	5	18.5
28	OP-O16	TCGGCGGTTC	24	7	7	29.2
29	OPR-19	CCTCCTCATC	12	2	1	8.3
30	OPZ-10	CCGACAAACC	65	6	1	1.5
			1013		118	% 11.5



الشكل (1) هلامة توضح التعددية الشكلية (polymorphism) الناتجة عن تطبيق البادئة Amersham 6 على طرز الرمان المدروسة .

في هذه الدراسة يوضح الشكل (2) شجرة القرابة الوراثية بين الطرز المدروسة، ومن خلاله يمكن ملاحظة درجة التقارب أو التباعد الوراثي بينها، كما يوضح الجدول (3) قيم معامل البعد الوراثي بين هذه الطرز وعلى ضوء ذلك يمكن تقسيمها إلى مجموعتين رئيسيتين:

الأولى: تضم طرازي الرمان عرقبي (أحمر وردي – مبكر) ومليس (أصفر وردي – متوسط) المزروعين وسط البلاد في منطقه الحداء وقد أظهرا درجة اختلاف وراثية عالية مع بقيه الطرز في منطقتي رداع وصعدة، في حين كانت درجة القرابة بينهما ضعيفة وبلغت 79%، فضلاً عن اختلافهما في عدد من الصفات الشكلية (جدول 1) مما يرجح كونهما صنفين مستقلين، وتتفق هذه النتيجة مع ما ذكره Baranski *et al.,* (2001) في تمييزه لبعض أصناف الشوندر بأن الطرز المدروسة وفق طريقة الـ RAPD تمثل أصنافًا منفصلة بحد ذاتها تبعاً لبعدها الوراثي واختلافها الشكلي.



لشكل (2) شجرة التحليل العنقودي (Dendogram) اعتماداً على قيم معامل البعـد الـوراثي باستخدام البيانات الناتجة عن 30 بادئة عشوائية في تحليل الـ UPGMA علـى طرز الرمان المدروسة.

الثانية: تضم 9 طرز وراثية تزرع في مناطق شرق البلاد ووسطها وشـمالها (رداع، الحداء، صعدة) ويمكن تقسيم هذه المجموعة إلى ثلاثة أقسام:

القسم الأول: يضم الطراز بحصم صعدة (حامض- حبات صلبة- مبكر) وقد أظهـر هذا الطراز درجة اختلاف وراثية عاليـة مع معظم الطرز فضلاً عن اختلافـه الشـكلي معها مما يرجح كونه صنفاً مستقلاً.

القسم الثاني: يضم طرازي الرمان صماطي (أصـفر مخضـر) وليسـي3 (أصـفر محمر- ثمار صغيرة) المزروعين في منطقة صعدة وقد أظهرا درجة اخـتلاف وراثيـة عالية عن معظم الطرز، وقد بلغت درجة القرابة الوراثية بينهما 78% مما يرجح كونهما صنفين مستقلين.

الجدول (3) نسبة عدم التوافق بين طرز الرمان باستخدام 30 بادئة بالاعتماد على تحليل UPGMA.

Accesions	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Taefi	0.00										
Orkobi(2)	0.22	0.00									
Balady(3)	0.10	0.28	0.00								
Mallies(4)	0.32	0.21	0.35	0.00							
Bahssom(5)	0.24	0.33	0.26	0.38	0.00						
Khazemy(6)	0.10	0.23	0.10	0.31	0.21	0.00					
Liessy1(7)	0.12	0.26	0.12	0.30	0.26	0.08	0.00				
Liessy 2(8)	0.08	0.24	0.11	0.31	0.23	0.04	0.08	0.00			
Liessy 3(9)	0.20	0.28	0.19	0.37	0.28	0.15	0.17	0.17	0.00		
Sommaty(10)	0.21	0.31	0.21	0.41	0.21	0.15	0.19	0.16	0.22	0.00	
Ahmer(11)	0.14	0.29	0.17	0.36	0.24	0.12	0.13	0.11	0.17	0.15	0.00

القسم الثالث: يضم طرز الرمان (خازمي، ليسي 2، ليسي 1، أحمر) المزروعة في منطقة صعدة، كما يضم الطرازين (طائفي رداع وبلدي الحداء) تميزت هذه الطرز بدرجة قرابة وراثية عالية فيما بينها فقد حقق الطرازان خازمي وليسي2 أعلى درجة للقرابة الوراثية في هذه الدراسة وبلغت 96%، في حين بلغت درجة القرابة 92% بين طرازي الرمان ليسي1 وليسي2 ونظراً لأن هذه الطرز تتشابه في العديد من الصفات الشكلية وتنمو في منطقة بيئية وجغرافية واحدة فهذا يرجح كون هذه الطرز تمثل صنفًا واحداً ويتفق ذلك مع ما ذكره كل من (EL Kassas *et al.*, 1992، Landry *et al.*, 1994، Mir Ali and Nabulsi, 2003، Shimada *et al.*, 1999).

فيما بلغت درجة القرابة الوراثية 90% بين طرازي الرمان خازمي صعدة وطائفي رداع، كما بلغت 86% بين الطرازين طائفي رداع وأحمر صعدة، في حين كانت 90% بين الطراز بلدي الحداء وكل من الطرازين خازمي وأحمر صعدة، ومن هنا نجد أن التشابه الوراثي بين هذه الطرز قد يكون حقيقياً أو أنه ناجم عن تشابه قطع الدنا العشوائية المدروسة تبعاً للبادئات المستخدمة في التحاليل الجزيئية، وعليه يمكن اعتبار كل ثنائية من هذه الطرز عبارة عن طراز وراثي Genotype ولكنه اختلف شكلياً بسبب تأثير الظروف البيئية والجغرافية المختلفة، ويتفق ذلك مع ما أكدته نتائج تطبيق تقانة الـRAPD على عدد من طرز الدراق من وجود درجة قرابة وراثية عالية بين هذه الطرز على الرغم من وجود اختلافات شكلية بينها (Quarta *et al.*, 2001). يلاحظ من هذه النتائج أن تطبيق تقانة الـRAPD في هذه الدراسة قد ساعد ولو بشكل نسبي على فصل طرز الرمان المدروسة وتمييزها وتحديد درجة القرابة الوراثية بينها. ويمكن التوسع مستقبلاً في دراسة هذه الطرز وتكوين خرائط وراثية لكل منها باستخدام تقانات أحدث مثل تقانة الـ SSR والـAFLP.

REFERENCES المراجع

الإحصاء الزراعي. (2004). الإدارة العامة للإحصاء الزراعي، وزارة الزراعة والري، الجمهورية اليمنية، صنعاء.

يوسف، روبين إبراهيم. (2003). تقييم توزيع الرمان وتنوعه واستخدامه في سورية، رسالة ماجستير في الهندسة الزراعية، قسم البساتين، كلية الزراعة، جامعة حلب.

عطية، عبد الصمد. (1980). الرمان، قسم الإعلام، مديرية الإرشاد الزراعي، وزارة الزراعة والإصلاح الزراعي، سورية /26/ صفحة.

Anonymous. (2000). Arab Organization for Agricultural Development, Khartoom - December, 20:115.

Baranski, R., Grzebelus, D. and Frese, L. (2001). Evaluation of genetic diversity in a Garden Beet germplasm collection using RAPD technique. Acta Hort. (ISHS). 546, 165-169.

EL Kassas, S. E., Amen, K. I. A., Hussein, A. A. and Osrnan, S. M. (1992). Effects of certain methods of weed control and nitrogen fertilization on the yield, fruit quality and some nutrient contents of Manfalouty pomegranate trees: 1-Flowering and fruit setting. Assist Jounal of Agricultural Sciences. 23 (3), 183-198.

Karhaloo, J. L., Dwivedi Y. K., Archak, S. and Gaikwad, A. B. (2003). Analysis of genetic diversity of Indian mango cultivars using RAPD markers. Journal of Horticultural Science & Biotechnology. 78(3), 285-289.

Landry, B. S., Li, R. Q., Cheung, W. Y. and Granger, R. L. (1994). Phylogeny analysis of 25 apple rootstocks using RAPD markers and tactical gen tagging. Theor. Appl. Genet. 89, 847- 852.

Levin, G. M. (1994). Pomegranate (*Punica granatum*) Plant Genetic Resources in Turkmenistan. Plant Genetic Resources Newsleter, 97, 31–36.

MirAli, N. and Nabulsi, I. (2003). Genetic diversity of almonds *(Prunus dulcis)* using RAPD technique. Scientia Horticulturae. 98, 461- 471.

Morton, J. E. (1987). Fruits of warm climates. Julia F. Morton, Miami, FL. pp (1-8).

Oliveira, C. M., Mota, M., Monte–Corvo, L., Goulao, L. and Silva, D. M. (1999). Molecular typing of Pyrus based on RAPD markers. Scientia Horticulturae. 79,163 – 174.

Quarta, R., Dettori, M. T., Verde, I., Marchesi, U. and Palombi, M. A. (2001). Characterization and evaluation of genetic diversity in Peach germplasm using RAPD and RFLP markers. Acta Hort. (ISHS) 546, 489 -496.

Raddova, J., Baranek, M., Oukropec, I., Vachun, M. and Pidra, M. (2003). RAPD analysis of peaches within Czech National Collection. Czech J. Genet. Plant Breed. 39 (4), 113 –119.

Shimada, T., Hayama, H., Haji, T., Yamaguchi, M. and Yoshida, M. (1999). Genetic diversity of plums characterized by random amplified polymorphic DNA (RAPD) analysis. Euphytica 109, 143-147.

Soliman, S. S., Ali, B. A. and Ahmed, M. M. (2003). Genetic comparisons of Egyptian date palm cultivars *(Phoenix dactylifera* L.*)* by RAPD–PCR. African Journal of Biotechnology. 2(4), 113 –119.

Statsoft, Inc. (2003). STATISTICA (data analysis software system), version 6.

Suman, P. S. K., Shasang, A. K., Darokar, M. P. and Kumar, S. (1999). Rapid Isolation of DNA from Dry and Fresh Samples of Plants Producing Large Amounts of Secondary Metabolites and Essential Oils. Plant Molecular Biology Reporter 17, 1-7.

Vijayan, k., Srivastava, P.P. and Awasthi, A.K. (2004). Analysis of phylogenetic relationship among five mulberry (Morus) species using molecular markers. N.R.C Research Press. Genume 47(3), 439- 448.

White, G. (1997). Diversity for the future: Pomegranate collectin expanded. Tektran, United State. Department of Agriculture, Agricultural Research Service.

Williams, J.G.K., Kubeliks, A. R., Levak, K. J., Rafalski, J. A. and Tingey, S.V. (1990). DNA Polymorphism Amplification by Arbitrary Primers are Useful as Genetic Markers. Nucleic Acid Research. 18, 6531-6535.

Received	**2005/12/27**	**إيداع البحث**
Accepted for Publ.	**2006/04/19**	**قبول البحث للنشر**