التوصيف الجزيئي لبعض الطرز البرية من الزعرور *Crataegus azarolus* L. باستخدام تقنية RAPD

جهاد ضميرية[1] و مروان حميدان[2]
و أنس خنشور[1] و أحمد عبد القادر[1]

الملخَّــص

استُخدمت تقنية RAPD المعتمدة على التضخيم العشوائي لقطع الدنا المتباينة شكلياً بهدف التوصيف الجزيئي لمجموعة من الطرز البرية التابعة لنوع الزعرور *C. azarolus* L. المنتشرة في ريف دمشق وتحديد درجة القرابة الوراثية بينها. جمعت 27 عينة من 15 موقعاً في ريف دمشق وتم استخلاص الـ DNA من العينات اعتماداً على طريقة الـ CTAB مع كثير من التعديلات. تمت مكاثرة الحمض النووي DNA بالـ PCR باستخدام 64 بادئة لاختبارات الـ RAPD. أبدت 52 بادئة منها كفاءة في إعطاء تباينات بين الطرز المدروسة، حيث أعطت هذه البادئات 507 حزمة كلية من بينها 256 حزمة متشابهة بنسبة تباين 48.37 %، و251 حزمة غير متشابهة. بلغ متوسط عدد الحزم مع البادئة الواحدة 9.75 حزمة، ومتوسط عدد الحزم المتباينة للبادئة 4.82 حزمة. حُدّدت درجة القرابة الوراثية بين الطرز المدروسة ومُثّلت بشجرة القرابة بناء على مصفوفة التشابه وفق طريقة UPGMA. لم يلاحظ وجود ارتباط بين الطرز القريبة من بعضها بعضاً وراثياً والمناطق التي جمعت منها العينات، وقد توزعت عينات المنطقة الواحدة على كامل أفرع مخطط القرابة. تساهم هذه الدراسة في حفظ التنوع الحيوي للزعرور إذ تسمح بتوصيف بعض الطرز الوراثية، ومن ثم إكثار المتميزة منها ونشر زراعتها، ولاسيما أن بعضها محدودة الانتشار وتتعرض إلى خطر الانقراض.

الكلمات المفتاحية: زعرور، *C. azarolus* L.، التوصيف الجزيئي، التضخيم العشوائي لقطع الدنا المتباينة RAPD.

(1) الهيئة العامة للبحوث العلمية الزراعية، قسم التقانات الحيوية، دوما، دمشق، سورية.
(2) قسم البساتين، كلية الهندسة الزراعية، جامعة تشرين، اللاذقية، سورية.

Molecular Characterization of Some Wild Genotypes of Hawthorn (*Crataegus azarolus* L.) Using RAPD Technique

J. Dumireih[(1)]; M. Houmydan[(2)]; A. Khanshour[(1)] and A. Abdul-Kader[(1)]

ABSTRACT

In the present study, Randomly Amplified Polymorphic DNA (RAPD) technique is employed for identifying 27 hawthorn genotypes collected from 15 different areas around Damascus countryside and revealing their genetic relationships. Leaves were collected from wild hawthorn trees for DNA extraction. The DNA isolation procedure was based on a CTAB method with a substantial modifications. Polymorphism of investigated genotypes was observed with 52 out of 64 tested RAPD prime which gave repeatable polymorphic products producing a total of 507 bands, 256 of them were polymorphic and 251 were monomorphic. The level of polymorphism amounted to 48.37% with an average of 9.75 bands/primer and an average of 4.82 polymorphic bands/primer. Relationship was determined on the base of polymorphic product analysis and presented in the form of dendrogram (UPGMA percent method). There was no correlation between the genotypes which has close genetic relationship and the regions collected from, where samples of one region were distributed all over the dendrogram. The current study contributes in preservation of biodiversity of hawthorn, where it enables characterization of genotypes and then propagating the valuable ones to extend their cultivation, especially because some of them are neglected and endangered by extinction.

Key words: Hawthorn, *Crataegus azarolus* L.; Molecular Characterization; RAPD.

[(1)] GCSAR, Biotechnology Dept., Douma, P.O.Box 113, Damascus, Syria.
[(2)]Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, Tishreen Univ., Latakia, Syria.

المقدمة

تعدُّ الجمهورية العربية السورية مهداً غنياً بالمصادر الوراثية البرية والمزروعة لعدد كبير من الأنواع النباتية، إذ يوجد طبيعياً نحو 3150 نوع نباتي منها 243 نوعاً متوطناً تتوزع معظمها في الجبال والمرتفعات (الهيكلية الوطنية للسلامة الأحيائية في الجمهورية العربية السورية 2006).

إن التعرف والبحث عن التباينات داخل هذه المصادر الوراثية له أهمية كبيرة في توسيع القاعدة الوراثية لها التي تعدُّ الخطوة الأولى في عملية التحسين الوراثي، لذلك لابد من توصيف هذه المصادر وتصنيفها وإكثارها، ومن ثم نقلها إلى المجمعات الوراثية لاستثمارها كأصول برية يمكن التطعيم عليها مستقبلاً أو إدخالها كمادة وراثية في برامج التحسين الوراثي بهدف استنباط أصناف جديدة ذات مردود اقتصادي جيد.

يعدُّ الزعرور من المصادر الوراثية المهمة التي يمكن استثمارها لأغراض عديدة، فهو يستخدم كأصل لبعض الأشجار المثمرة كالتفاح والأجاص نظراً إلى تحمله الظروف البيئية الصعبة، كما يزرع كشجرة، أو سياج للحدائق فضلاً عن قيمته الطبية الكبيرة.

وقد أجريت مجموعة من البحوث العالمية والمحلية بهدف التوصيف المورفولوجي للزعرور (Balta *et al.* 2006, Dowidar *et al.* 2003a ؛ مزهر 1998؛ ضميرية 2001؛ ريا 2005). كما أجريت مجموعة من البحوث بهدف توصيف أنواع الزعرور باستخدام الطرائق البيوكيميائية والكيميائية، (Dowidar *et al.*2003b; Demiray, 2007).

أما الطرائق الحديثة لتصنيف أنواع الزعرور فتعتمد على طرائق التوصيف الجزيئي المختلفة مثل تقنية RFLP وتقنية Sequence Variation (King and Ferris 2002)، كما قام Fineschi *et al.* (2004) باستخدام تقنيتي RFLP وSSR لنوعي الزعرور *C.monogyna* و *C.laevigata*. كما قام Verbylaite *et al*., (2006) باستخدام تقنية DNA sequencing لتحديد درجة القرابة الوراثية لخمسة أنواع من الزعرور. كما قام Albarouki and Peterson (2007) بالتوصيف الجزيئي لثلاثة أنواع من الزعرور المنتشرة في محافظة السويداء وذلك باستخدام تقنية DNA sequencing.

ومن خلال الدراسة المرجعية التي قمنا بها، فإننا لم نجد أي مرجع يشير إلى تطبيق هذه التقنية داخل نوع الزعرور موضوع الدراسة، ولكن هناك مجموعة من البحوث التي استخدمت فيها هذه التقنية على الأنواع النباتية التابعة لتحت الفصيلة التفاحية التي ينتمي لها جنس الزعرور، شملت الأجاص Oliveira *et al.* (1999) و Sharifani and Jackson (2002) و Muzher (2004) والتفاح Zhou and Li (2000) و Goulao *et al.,* (2001) و (2003) Gonzalez *et al*., و Modgil *et al*., (2005) و Iannaccone *et al*., (2007).

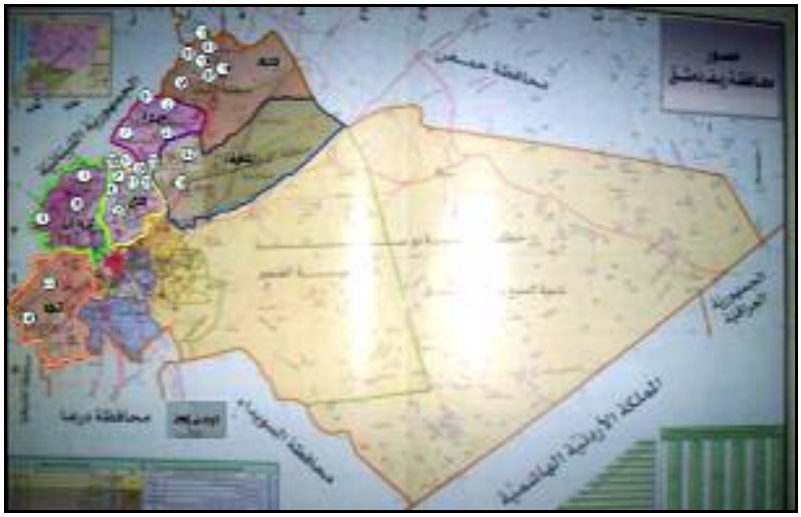
إن التوصيف الجزيئي لبعض الطرز البرية لنوع الزعرور المدروس وربطها بمعطيات التوصيف المورفولوجي سيمكن من وضع هوية وراثية لهذه الطرز وتوثيقها، ومن ثم التغلب على الصعوبات التي تظهر نتيجة الاعتماد على التوصيف المورفولوجي

فقط. كما أن تحديد التباينات الوراثية بين الطرز المدروسة سيبين 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 زراعة الطرز المتميزة منها ولاسيما إذا علمنا أن بعض أنواع الزعرور المنتشرة برياً تتعرض إلى خطر الانقراض نتيجة لعملية التعرية الوراثية وعملية فقد التنوع الوراثي للأنواع. ولذلك أجري البحث الحالي بهدف التوصيف الجزيئي لمجموعة من الطرز البرية التابعة لنوع الزعرور *C. azarolus* L. المنتشرة في ريف دمشق باستخدام تقنية الـ RAPD، وتحديد درجة القرابة الوراثية بينها بغية الاكثار السريع للطرز الوراثية المتميزة منها بزراعة الأنسجة ونشر زراعتها لاحقاً.

مواد البحث وطرائقه

نفذت الدراسة في الهيئة العامة للبحوث العلمية الزراعية، قسم التقانات الحيوية دائرة البيولوجيا الجزيئية، خلال الأعوام 2006–2007.

المادة النباتية: أُجريت هذه الدراسة على مجموعة من الطرز البرية التي تتبع نوع الزعرور *Crataegus azarolus* L.، جُمعت العينات النباتية (27 عينة) من 15 موقعا من ست مناطق في ريف دمشق (شكل 1)، حيث جمعت نموات ورقية حديثة من كل نبات، ونظّفت وغسلت بالماء المقطر وجُففت وحُفظت في الآزوت السائل، خزّنت في درجة حرارة (−80 C°) إلى حين الاستخدام (جدول 1).



الشكل (1) خريطة تبين المواقع التي جُمعت العينات منها

الجدول (1) المواقع التي جمعت منها المادة النباتية لدراسة التوصيف الجزئيي للزعرور المنتشر في ريف دمشق.

اسم المنطقة		بعض المواصفات البيئية للمنطقة	اسم الموقع	رقم العينة
التقسيم الجغراقي	التقسيم الإداري			
القلمون	التل Altal	الارتفاع بين 900-1700 متر، معدل الأمطار 200-350 ملم/ سنة، التربة طينية لومية، غنية بالكلس	رنكوس	8-11-20-23-24-25-21
			تلفيتا	6
			منين	27
جبل الشيخ	قطنا Kattana	تعدُّ منطقة استقرار أولى، معدل الأمطار يصل إلى 800 ملم/سنة، الارتفاع يتراوح بين1000-1500 متر،الأراضي غنية بالحديد	مزرعة بيت جن	4
			حرفا	22
القلمون	القطيفة Quttaifa	الارتفاع 1300-1600 متر، معدل الأمطار 200-250 ملم/ سنة، التربة لومية طينية	عين التينة	16
			معلولا	12
القلمون	النبك Nabek	الارتفاع بين 1500-1800 متر، معدل الأمطار بين200-250 ملم/سنة، الأراضي فقيرة بالمادة العضويةــ تحوي صخوراً قاسية	المشرفة	9
			قارة	10-15-13-18-17-19
القلمون	يبرود Yabroud	الارتفاع 1200-1700 متر، معدل الأمطار 220-250 ملم/ سنة، التربة طينية لومية، كلسية، تحوي صخوراً قاسية	رأس المعرة	2-14
			الصرخة	26
			عسال الورد	7
جبال لبنان الشرقية	الزبداني Zabadani	الارتفاع 1200-1700 متر، معدل الأمطار 500-550 ملم/سنة، التربة طينية إلى طينية لومية	سرغايا	3
			جديدة يابوس	1
			الزبداني	5

التوصيف الجزيئي بتطبيق تقنية
(RAPD) Random Amplified Polymorphic DNA

1- استخلاص الـ DNA الكلي من الأوراق:

استُخلص الـ DNA من العينات حسب طريقة Chaudhry *et al.* (1999) بعد إجراء بعض التعديلات عليها التي تضمنت اضافة ليثيوم كلوريد LiCl بتركيز 8 مولار إلى محلول الاستخلاص و1% (W/V) PVP-10 مع 0.1 % Ascorbic acid وزيادة تركيز الـ CTAB إلى 2% للتخلص من السكريات المتعددة. وقِيسَ تركيز الحمض النووي DNA في العينات باستخدام جهاز السبيكتروفوتوميتر، كما تم التأكد أيضاً من نقاوة الـ DNA بحساب النسبة 280/260، وقد تراوحت بين (1.7- 2) للعينات المدروسة، وهذا يدل على النقاوة الجيدة للـ DNA.

2- مكاثرة الحمض النووي DNA: أُجري ذلك باستخدام جهاز التفاعل السلسلي

للبوليميراز PCR من النوع Mastercycler-Eppendorf بحجم تفاعل 20 ميكرولتراً، و35 دورة حسب الجدولين (2 و3).

الجدول (2) مكونات تفاعل الـ PCR

المادة	الحجم اللازم لعينة واحدة (ميكرو ليتر)
d. H_2O	5.3
5X PCR buffer	4
25 mM MgCl2	1.5
2 mM dNTPs	2
10 p.m/µl primer	2
5 U/µl Taq	0.2
20 ng/µl DNA	5
Total	20 µl

الجدول (3) برنامج عمل الـ PCR

عدد الدورات	الزمن	الحرارة/ درجة مئوية
1	2 دقيقة	94
34	45 ثانية	92
	1 دقيقة	36
	2 دقيقة	72
1	5 دقيقة	72
حفظ	لا نهاية	4

استُخدمت 64 بادئة مصنعة لدى شركة VBC-GENOMICS, GERMANY المشَابهة بتركيبها النيكليوتيدي لبادئات مجموعة RAPD لشركة OPERON Technologies, Inc. على النحو الآتي:

OPA A01, A02, A04, A5, A6, A7, A8, A9, A10, A11, A12, A13, A15, A16, A17, A18, A19, A20;
OPB B01, B03, B05, B6, B07, B14, B15,B16
OPC C03, C04, C11, C12, C13, C14, C15, C16;
OPD D15, D18, D19, D20;
OPE E01, E2, E3, E04, E10, E11, E12, E13, E16, E17,E18, E19;
OPF F01, F2, F03
OPJ J10, J11, J18, J19, J20;
OPL L01, L2, L03, L18, L19, L20

3- الرحلان الكهربائي والتلوين:

فُصلت نواتج التفاعل بواسطة جهاز الرحلان الكهربائي، باستخدام هلامة من الأغاروز 1.5 %، تحتوي على بروميد الإيثيديوم (0.5 مايكروغرام/ مل)، ومحلول

1xTBE buffer، وطُبّق جهد كهربائي مقداره 80 فولتاً مدة ساعتين ونصف، ثم عُرّضت الهلامة للأشعة فوق البنفسجية وصُوّرت باستخدام .Gel doc.

4- التحليل الاحصائي للنتائج:

كررت جميع التفاعلات مرتين على الأقل، ودخل في التحاليل فقط الحزم الواضحة التي تتصف بالتكرارية وذات الوزن الجزيئي بين 500 bp و2.1 kb، جُهّزت المعطيات بشكل جداول حيث أعطيت الحزمة الموجودة رقم 1 وفي حال غيابها رقم 0. وعُولجت البيانات إحصائياً باستخدام برنامج DARwin، (Perrier and Jacqemoud-Collet 2006).

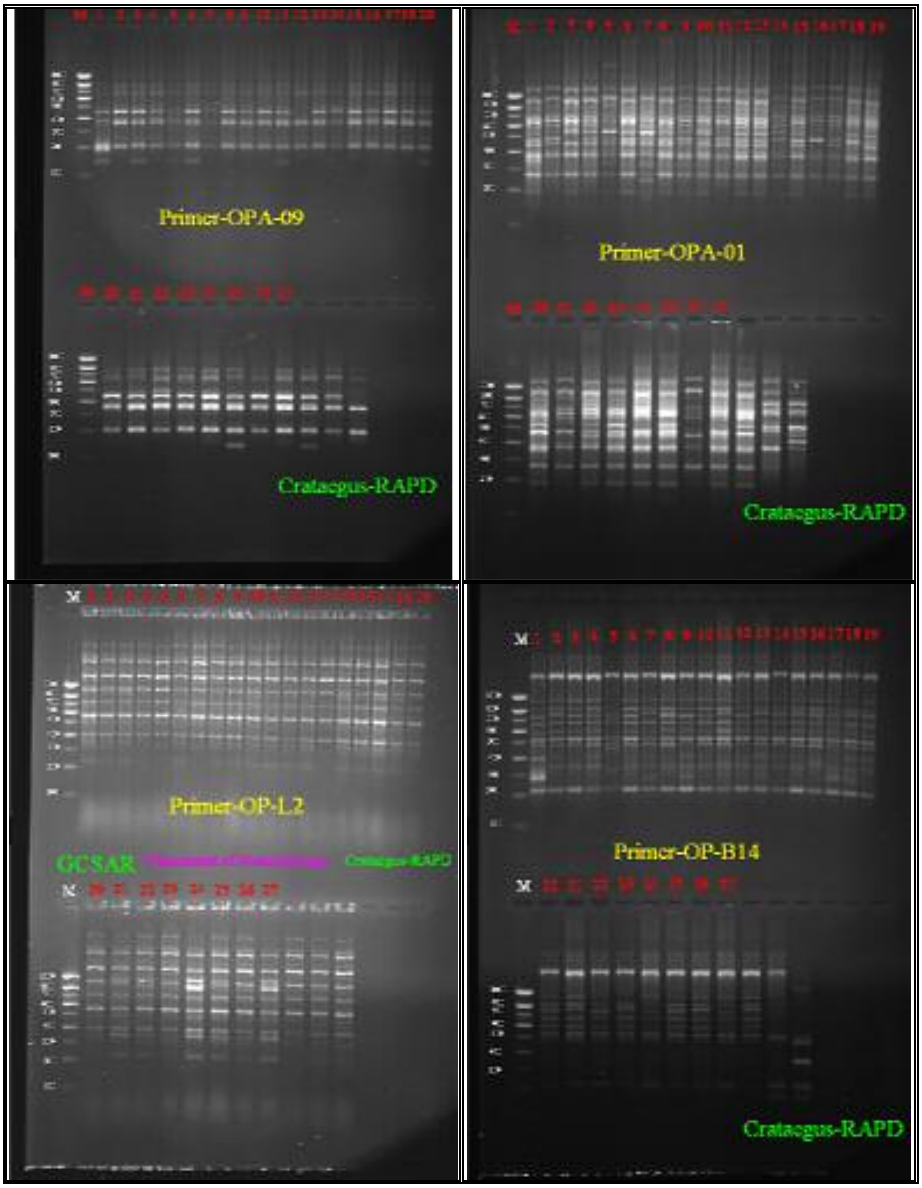
دُرست القرابة الوراثية بين الطرز المدروسة من خلال معامل Jaccard (Jaccard, 1908). واستُخدم التحليل العنقودي الذي يعتمد على نسبة عدم التشابه الوراثي، من خلال طريقة UPGMA Method using Arithmetic Averages Unweighted Pair Group) وذلك لرسم شجرة القرابة الوراثية على شكل عنقودي Dendogram التي تحدد درجة القرابة الوراثية بين طرز الزعرور المدروسة.

النتائج والمناقشة

1- التباينات الشكلية (polymorphism) الناتجة عن استخدام تقنية الـ RAPD في الطرز المدروسة:

أُجري في هذه الدراسة اختبار 64 بادئة وقد أثبتت 52 بادئة كفاءة في كشف اختلافات بين الطرز المدروسة، فيما لم تعطِ البادئات الأخرى اختلافات واضحة. أعطت البادئات المستخدمة 507 حزمة في الطرز المدروسة كافةً من بينها 256 متشابهة (monomorphic) و251 متباينة (polymorphic) وقدرت نسبة التباينات بـ 48.37%، وبلغ متوسط عدد الحزم مع البادئة الواحدة 9.75 حزمة ومتوسط عدد الحزم المتباينة مع كل بادئة 4.82 حزمة. أعطت البادئة OPB-14 أعلى عدد من الحزم (19 حزمة)، في حين أعطت البادئة OPD-19 أقل عدد من الحزم (2 حزمة)، واختلف عدد الحزم تبعاً للطراز المدروس، وقد أعطى الطراز 1 أعلى عدد من الحزم (395 حزمة)، في حين أعطى الطراز 14 أقل عدد من الحزم (336 حزمة).

كما اختلفت البادئات المستخدمة في كشف التباينات الوراثية بين الطرز المدروسة فقد كانت البادئة OPA-01 أفضل البادئات التي أعطت عدداً كبيراً من الحزم (13 حزمة، منها 11 حزمة متباينة بين الطرز) بنسبة تباين 84.6%، في حين أعطت البادئة OPE-11 أقل مستوى من التباين (9 حزم منها حزمة واحدة متباينة بين الطرز) وبنسبة تباين 11.1% (الشكل 2، الجدول4).



الشكل (2) نماذج التباين في الحزم الناتجة عن استخدام بادئات مختلفة فـي طـرز الزعـرور المدروسة.

ملاحظة: M (ماركر SmartLadder,1000 bp, EUROGENTEC, Belgium).
تمثل الأرقام من 1 إلى 27 الطرز البرية المدروسة

الجدول (4) عدد الحزم الكلي، وعدد الحزم المتباينة والنسبة المئوية للتباينات الناتجة عن البادئات المستخدمة في تقنية الـRAPD في الطرز البرية المدروسة للزعرور *Crataegus azarolus* L. المنتشر في ريف دمشق

المرئس	عدد الحزم الناتجة	عدد الحزم المتعددة شكلياً	النسبة المئوية للحزم المتباينة
OPA-01	13	11	84.6
OPA-02	16	10	62.5
OPA-04	10	7	70
OPA-05	10	8	80
OPA-06	3	1	33.3
OPA-07	5	2	40
OPA-08	5	1	20
OPA-09	5	3	60
OPA-10	11	5	45.4
OPA-11	11	7	63.6
OPA-12	14	6	42.8
OPA-13	4	1	25
OPA-15	12	10	83.3
OPA-16	3	2	66.6
OPA-17	10	5	50
OPA-18	11	6	54.5
OPA-19	5	1	20
OPA-20	13	6	46.1
OPB-05	7	5	71.4
OPB-06	7	2	28.6
OPB-07	12	5	41.7
OPB-14	19	11	57.9
OPB-15	17	8	47
OPB-16	14	8	57.1
OPC-03	7	2	28.6
OPC-12	5	3	60
OPC-13	10	6	60
OPC-14	5	3	60
OPC-15	8	2	25
OPC-16	15	6	40
OPC-11	10	2	20
OPD-19	2	2	100
OPD-20	9	3	33.3
OPE-01	7	3	42.8
OPE-17	14	8	57.1
OPE-12	12	6	50
OPE-11	9	1	11.1
OPE-10	3	1	33.3
OPE-19	12	7	58.3
OPE-16	9	6	66.6
OPE-18	7	1	14.3
OPE-13	13	8	61.5
OPF-03	14	8	57.1
OPJ-10	6	4	66.7
OPJ-11	7	3	42.9
OPJ-18	14	6	42.9
OPJ-19	11	3	27.3
OPL-01	8	3	37.5
OPL-02	17	8	47
OPL-03	10	4	40
OPL-18	11	3	27.3
OPL-19	15	8	53.3
المجموع	507	251	
المتوسط	9.75	4.82	48.37

2- تمييز بعض الطرز البرية للزعرور باستخدام قطع الـــ DNA الناتجة عن استخدام تقنية الـــ RAPD:

سمحت تقنية الـــ RAPD بتمييز عشرة طرز وراثية من الزعرور اختلفت عن بعضها بعضاً في عدد قطع الـــ DNA المكتشفة وكذلك في وزنها الجزيئي. مكنتنا هذه التقنية من إيجاد مؤشرات متخصصة بتمييز هذه الطرز، حيث وجد فيها قطع معينة من الـــ DNA تسمح بتمييزها عن غيرها، لذلك تعدُّ هذه القطع من الـــ DNA مؤشرات متخصصة ومميزة للطراز، أي أن هذه القطع وجدت في طراز معين وغابت من الطرز الأخرى (جدول 5). على سبيل المثال، نجد أن تحليل الطراز 5 باستخدام المرئس OPA-02 يعطي ثلاث قطع من الـــ DNA ذات وزن جزيئي يقدر بـــ 500, 750, 1100bp، وجدت هذه القطع في هذا الطراز فقط ولم توجد في أي طراز آخر، ومن ثم يمكن باستخدام مرئسات معينة تمييز بعض الطرز عن بعضها بعضاً، ومن ثم تسهم هذه القطع بتحديد بصمة وراثية مميزة للطراز (جدول 5).

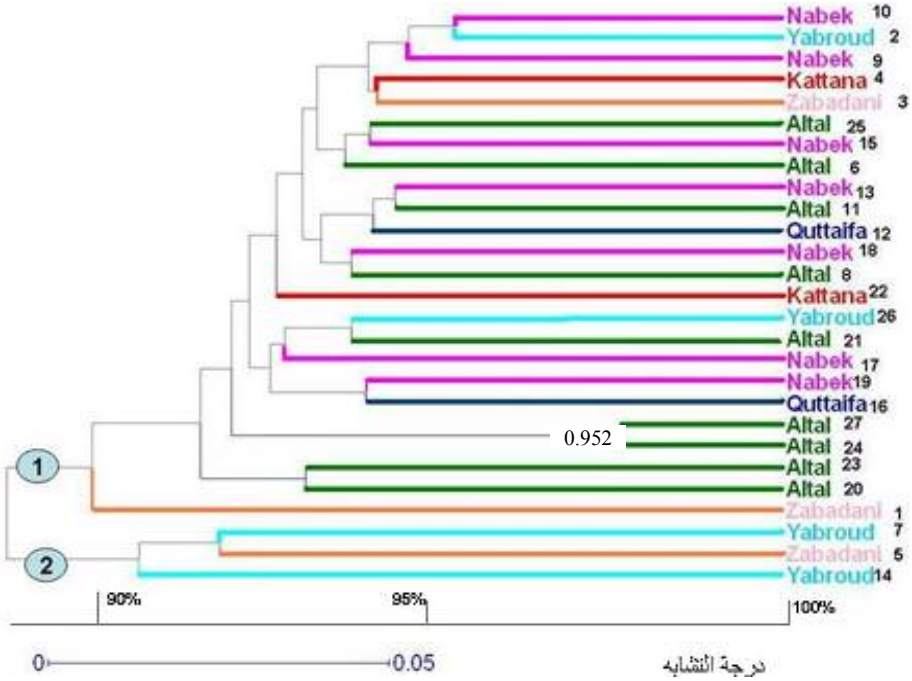
الجدول (5) المرئسات المميزة لبعض الطرز البرية للزعرور *Crataegus azarolus,* L.

رقم الطراز	المرئس	الوزن الجزيئي (b.p)
5	OPA-02	1100
	OPA-02	750
	OPA-02	500
	OPA-11	450
	OPA-19	350
	OPE-12	590
	OPB-14	450
7	OPD-20	1300
20	OPA-04	600
	OPA-04	250
	OPA-04	200
8	OPA-12	290
6	OPA-15	600
	OPA-15	350
19	OPE-12	500
2	OPE-12	190
13	OPB-07	230
16	OPB-14	350
1	OPA-01	350
	OPA-02	250
	OPA-04	550
	OPA-12	450
	OPA-18	180
	OPE-17	280
	OPE-11	390
	OPB-05	270
	OPB-07	550
	OPB-14	1300
	OPB-15	180
	OPB-16	290
	OPB-16	200

3- تحديد درجة القرابة الوراثية بين الطرز البرية المدروسة:

جرى تحديد درجة القرابة الوراثية بين الطرز البرية المدروسة بالاعتماد على معامل Jaccard، ووجدت أعلى قيمة لمعامل القرابة الوراثية 0.952 بين الطـــرازين 27 و24، في حين وجدت قيمة أقل درجة قرابة وراثية 0.678 بين الطـــرازين رقـــم 5 ورقـــم 1، (الشكل 3).

ومما تجدر الإشارة إليه هو الأهمية الكبيرة لتحديد درجة القرابة الوراثية بين الأنواع وضمنها في برامج التحسين الوراثي، وذلك من خلال تقليل عدد المدخلات المستخدمة في التهجين، والاعتماد على الطرز المتباعدة وراثياً، التي تؤمن الحصول على قاعدة وراثية كبيرة (Muzher, 2004).



الشكل (3) شجرة القرابة الوراثية للطرز البرية المدروسة لنوع الزعرور *Crataegus azarolus* L.

ملاحظة: الأرقام (من 1 حتى 27) تمثل الطرز، والأسماء تمثل المناطق التي جُمعت منها العينات.

4- التحليل العنقودي (cluster analysis) للطرز البرية للزعرور:

يمكن من خلال التحليل العنقودي تقسيم الأفراد المدروسة إلى مجموعات تبين درجـــة القرابة الوراثية بين الأفراد المدروسة، وقد تتجمع الأفراد المدروســـة ضـــمن مجموعـــة

واحدة بناءً على موطنها الجغرافي، أو حسب أصلها ونسبها (Hormaza, 2002; Perez *et al.*, 2005).

لوحظ في الدراسة الحالية، أن الطرز المدروسة جميعها كانت مختلفة عن بعضها بعضاً، ومن ثم فإن معدل التشابه كان متبايناً بين الطرز المختلفة. استخدمت قيم التشابه الوراثي في رسم مخطط القرابة بين الطرز المدروسة، وقد أظهر المخطط (شكل3) توزع الطرز على مجموعتين أساسيتين، ضمت الأولى 24 طرازاً، وضمت الثانية بقية الطرز الأخرى حسب ما هو مبين في الجدول (6).

الجدول (6) تقسيم الطرز البرية للزعرور *Crataegus azarolus* L. **المنتشر في ريف دمشق اعتماداً على شجرة القرابة الوراثية**

المجموعة الرئيسية	تحت المجموعة الرئيسية	الطرز
الأولى	تحت المجموعة الرئيسة الأولى	10،2،9،4،3،25،15،6،13،11،1218،8،22 ،16،19،17،21،26 ،24،27، 20، 23
	تحت المجموعة الرئيسة الثانية	1
الثانية	7 ،5، 14	

لوحظ أن الطرز التابعة لكل مجموعة كانت تحمل اختلافات فيما بينها، وكانت هذه الاختلافات أكبر بين طرز المجموعة الأولى مقارنة بالثانية، حيث كانت أعلى درجة اختلاف ضمن المجموعة الأولى بين الطرازين 26 و1 وقد بلغت درجة التشابه بينهما 0.76، وكانت أعلى درجة اختلاف ضمن المجموعة الثانية بين الطرازين 5 و14 وقد بلغت نسبة التشابه بينهما 0.80.

ومن خلال مقارنة المواقع الجغرافية للعينات المدروسة، نلاحظ عدم وجود ارتباط بين الموقع الجغرافي ودرجة القرابة بين الطرز المدروسة، إذ نجد أن الطرز المجموعة من منطقة واحدة قد توزعت على عدة تحت مجموعات (كما في الطرز المجموعة من منطقة الزبداني)، (شكل3)، حيث نجد أنّ الطراز 5 يوجد في المجموعة الثانية والطرازين 1 و 3 في المجموعة الأولى وفي تحت مجموعتين مختلفتين وبعيدتين عن بعضهما بعضاً وراثياً، وهذا يختلف عن النتائج التي توصل إليها (Oliveira *et al*., 1999).

تظهرالدراسة الحالية كفاءة تقنية الـ RAPD في التمييز بين الطرز المدروسة وفي تحديد درجة القرابة الوراثية داخل نوع الزعرور المدروس، كما سمحت بتحديد مجموعة من الطرز الوراثية المتميزة مما أسهم في كشف التنوع الوراثي الكبير لطرز الزعرور المدروسة في ريف دمشق التي يمكن استثمارها والاستفادة منها في المستقبل ولاسيما في إكثار الطرز المحدودة الانتشار باستخدام طرائق زراعة الأنسجة النباتية من أجل الحفاظ عليها بوصفها مصدراً وراثياً مهماً.

REFERENCES المراجع

Albarouki, E. and Peteerson, A. (2007). Molecular and morphological characterization of *Crataegus* L. species (*Rosaceae*) in southern Syria. Botanical Journal of the Linnean Society. 153: 255-263.

Balta, F.M.; Celik, F.; Turkoglu, N.; Ozrrenk, K.and Ozgokce, F. (2006). Some fruit traits of hawthorn (*Crataegus* spp.) genetic resources from Malatya,Turkey. Research Journal of Agriculture and Biological Sciences 2(6):531-536 .

Chaudhry, B.; Yasmeen, A.; Husnain, T.; and Riazuddin, S. (1999). Mini-scale Genomic DNA Extraction from Cotton. Plant Molecular Reporter 17: 1-7.

Demiray, H. (2007). Calcium oxalate crystals of some *Crataegus* (*Rosaceae*) species growing in Aegean region . Biologia, Bratislava,62/1:46-50.

Dowidar, A.E.; Loutfy, M.H.; Kamel, E.A. (2003a). Studies on the *Rosaceae* I- Seed and /or Achene macro and micromorphology. Pakistan Journal of Biological Sciences. 6 (20): 1778-1791.

Dowidar, A.E.; Loutfy, M.H.; Kamel, E.A.; and Hafes, H. H. L. (2003b). Studies on the *Rosaceae* II- SDS-PAGE Seed Protein Electrophoresis and its Significance in the Taxonomy of the Family. Pakistan Journal of Biological Sciences. 6 (21): 1820-1829.

Fineschi, S.; Salvini, D.; Turchini, D. and Vendramin,G. G. (2005). *Crataegus monogyna* Jacq. and *C. laevigata* (poir.) DC. (*Rosaceae, Maloideae*) display low level of genetic diversity assessed by chloroplast markers. Journal Plant Systematics and Evolution 250: 187-196 .

Goulao, L.; Cabrita, L.; Oliveira, C. and Leitao, J. (2001). Comparing RAPD and AFLP TM analysis in discrimination and estimation of genetic similarities among apple (*Malus domestica* Borkh.) cultivars. Euphytica, Vol.119 (3):259-270.

Gonzalez, H.A.; Martinez, P. R. A. and Castano-Tostado, E. (2003). Analysis of Low Chilling Apple (*Malus spp*.) Populations from Central Mexico Based On Molecular Markers RAPD . Acta Horticulturae 606:41-44.

Hormaza, J. I. (2002). Molecular characterization and similarity relationships among apricot (*Prunus armeniaca L.*) genotypes using simple sequence repeats .TAG theoretical and Applied Genetics, vol. 104 (2-3):321-328 .

Iannaccone, M.; Palumbo, D.; Ventimiglia, I.; Patocchi, A.; Spigno, P. and Capparelli, R. (2007). Use of molecular markers and flow cytometry to preserve ancient Annurca apple germplasm. Biotechnology Letters, Vol. 29(2):279-284.

Jaccard, P. (1908). Nouvelles recherches sur Ia distribution flora. Bull. Soc. Nat. 44: 223-270.

King, R.A, and Ferris, C. (2002. A variable minisatellite sequence in the chloroplast genome of *Sorbus* L. (*Rosaceae: Maloideae*). Genome.Vol.45 (3): 570-576.

Modgil, M.; Mahajan, K.; Chakrabarti, S. K.; Sharma, D.R. and Sobti, R.C. (2005). Molecular analysis of genetic stability in micropropagated apple rootstock MM106. Scientia Horticulturae Vol.104(2):151-160.

Muzher, B.M. (2004). Application of biochemical and PCR-based molecular markers to the characterization of Syrian pears (*Pyrus syriaca* Boiss) genotypes. Ph.D. Degree in Agricultural Science. Cairo University.pp:1-108.

Oliveira, C. M.; Mota, M.; Monte-Ccorvo,L.; Goulao, L. and Silva, D. M. (1999). Molecular typing of *Pyrus* based on RAPD markers. Scientia Horticulturae, Vol.79(3-4):163-174 .

Perrier, X and Jacqemoud-Collet, J. P. (2006). DARwin software. http://darwin.cirad.fr/darwin.

Peres, S. R.; Ruiz, D.; Dicenta, F.; Egea, J. and Gomez, M. P. (2005). Application of simple sequence repeat (SSR) markers in apricot breeding: moleculer characterization, protection, and genetic relationships. Scientia Horticultrae, vol. 103(3): 305-315.

Sharifani, M. M. and Jackson, J. F. (2002). Characterization of pear species and cultivars using RAPD primers. Acta Horticulturae .538:499-504 .

This, P.; Cuisset, C. and Boursiquit, J. M. (1997). Development of stable RAPD markers for the identification of grapevine rootstocks and the analysis of genetic relationships. Am. J. Enol. Vitic.48(4): 492-501.

Verbylaite, R., Ford-Lioyd, B., and Newbury, J. (2006). The phylogeny of woody Maloideae (*Rosaceae*) chloroplast trnL-trnF sequence data. BIOLOGIA. Nr. I. P: 60-63.

Zhou, Z. Q. and Li, Y. N. (2000). The RAPD evidence for the phylogenetic relationship of the closely related species of cultivated apple. Genetic Resources and Crop Evaluation, vol. 47 (4): 353-357 .

الهيكلية الوطنية للسلامة الأحيائية في الجمهورية العربية السورية (2006). وزارة الادارة المحلية والبيئة، سورية – المرفق البيئي العالمي- برنامج الأمم المتحدة للبيئة. http://www.unep.org/biosafety/files/SYNBFrepAR.pdf

الحلبي، علا. (2007). التوصيف المورفولوجي والجزيئي لبعض أصناف التفاح المحلية. رسالة ماجستير- جامعة دمشق- كلية الزراعة.

ضميرية، سمر. 2001. دراسة التنوع الحيوي للأنواع البرية من جنسي اللوز والزعرور في المنطقة الشمالية الغربية من ريف دمشق. رسالة ماجستير. كلية الزراعة. جامعة دمشق.

ريا، لينا. 2005. تصنيف الزعرور في المنطقة الشمالية الغربية من سورية. رسالة ماجستير. كلية الزراعة. جامعة تشرين.

مزهر، بيان. 1998. التنوع الحيوي للمصادر الوراثية لبعض الأشجار المثمرة في جنوب سورية /درعا- السويداء/. رسالة ماجستير. كلية الزراعة . جامعة دمشق.

Received	**2008/05/12**	**إيداع البحث**
Accepted for Publ.	**2009/01/19**	**قبول البحث للنشر**

كلمة شكر

يشكر الباحثون الهيئة العامة للبحوث العلمية الزراعية لتقديمها مستلزمات تنفيذ هذا البحث. كما يشكر الباحثون مؤسسة الكسندر فون هامبولد الألمانية لتقديمها أجهزة عديدة كمنحة استخدمت فى هذه الدراسة أهمها: جهاز توثيق الجل وجهاز طرد مركزي صغير وجهاز المطياف الضوئي وغيرها

Acknowledgement

Authors express their thanks to Alexander von Humboldt Foundation, Germany for providing GCSAR many equipments as donation mainly Photo Spectrophotometer and others which Gel Documentation,, Mini-centrifuge, were used in this research.