# دراسة البيئة الذاتية لنبات الإيفدرا *Ephedra alata* Decne في القلمون الأدنى (ريف دمشق) وتوصيفها جزيئياً

# Study the Micro environment of *Ephedra alata* Decne Plant in Lower Qalamoun (Damascus countryside) and its Molecular characterization

م. نوار معتوق[1] د. محمد قربيصة [2] د. سلام لاوند[3]

Eng. Nawar Matouk [1] Dr. Mohamed Kurbaisa [2] Dr. Salam Lawand[3]

(1) طالب ماجستير، جامعة دمشق، كلية الزراعة، قسم الموارد الطبيعية المتجددة والبيئة

(1) Master's student, Damascus University, Faculty of Agriculture, Department of Renewable Natural Resources and Environment.

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

(2) Damascus University, Faculty of Agriculture, Department of Renewable Natural Resources and Environment

(3) جامعة دمشق، كلية الزراعة، قسم المحاصيل.

(3) Damascus University, College of Agriculture, Department of Agronomy.

## الملخص

نفذ البحث في القلمون الأدنى (معربا-التل-الدريج-منين-الربوة-قاسيون) من ريف دمشق خلال الفترة 2018-2019 بهدف دراسة البيئة الذاتية لنبات الإيفدرا *Ephedra alata* Decne وتوصيفها جزيئياً. أظهرت النتائج توزع نبات الإيفدرا بشكل غير منتظم في عموم منطقة البحث وتركزه في المواقع ذات الطبيعة الجبلية عالية الانحدارات نسبياً (20-60%) وذات التكشفات الصخرية العالية ضمن الصدوع والشقوق. ويعيش نبات الإيفدرا في ظروف مناخ جاف في نطاق الطابق البيومناخي الجاف البارد (Q=20.9, m=1.5c°)، وذلك على ترب غير مالحة تميل للقاعدية (pH=8.1-8.66) وذات محتوىً من المادة العضوية يتراوح بين المنخفض والكافي (0.34 % و 1.72)، وذات محتوىً منخفض نسبياً من الآزوت الكلي (0.022% و0.071) والفوسفور (أقل من 8 ppm) ومتباين من البوتاسيوم بين المنخفض والعالي (114.33 ppm و 312.5). يمتد فصل الإزهار بدءاً من تمايز البراعم الجنسية وحتى انتهاء الإزهار ثلاثة أشهر(آذار-نيسان-أيار). يتأثر تجدد نبات الإيفدرا ونموه الخضري سلباً بالرعي في حين يملك قدرة كبيرة جداً على التجدد بعد الحريق. ورغم الطبيعة الحرجة لمواقع نبات الإيفدرا رافقته حاشية نباتية غنية نسبياً (101 نوعاً) تباينت بتباين المواقع. أظهرت تقانة ISSR تعددية شكلية بلغت 93.8 %، ناتجة عن استخدام 20 بادئة وبالتالي فعالية في التمييز بين عينات الإيفدرا المدروسة، وعكست شجرة القرابة الوراثية التوزع الجغرافي للعينات المدروسة (جنوبي غربي-قاسيون والربوة، جنوبي شرقي-معربا أعلى ومعربا أدنى، وشمالي إلى شمالي شرقي -منين والدريج والتل).

**كلمات مفتاحية:** الإيفدرا، بيئة ذاتية، توصيف جزيئي، قلمون أدنى، سورية.

©2023 The Arab Center for the Studies of Arid Zones and Dry Lands, All rights reserved. **ISSN: 2305-5243; AIF-023 (p: 82 - 96)**

## Abstract

The research was carried out in the lower Qalamoun region (Maaraba- Al-Tal -Al-Draij - Minin- al-Rabwah - Qassioun) of Damascus countryside during the period 2018-2019 with the aim of studying the Micro environment of *Ephedra alata* Decne and its molecular characterization.The results showed the distribution of ephedra plant irregularly all over the research area and its concentration in sites which have a relatively slope high mountainous nature (20-60%) with an uncovered high rock within cracks and crevices. Ephedra lives in dry climatic conditions in the cold dry bioclimatic floor (Q = 20.9, m = 1.5c °), on non-saline soils that tends to be basal (pH = 8.1-8.66) and have an organic material content ranging from low to adequate (0.34 to 1.72%), with a relatively low total nitrogen content (0.022 and 0.071%) and phosphorous (less than 8 ppm) and potassium contrasted between the low and the high (114.33 and 312.5 ppm). The flowering season continues from differentiation of sexual buds until the end of flowering three months (March-April-May). Ephedra regeneration and vegetative growth is negatively affected by grazing, while it has a very large ability for regeneration after it is burnt. Despite the critical nature of the ephedra plant sites, it was accompanied with a relatively rich plant footnote (101 species), which contrasted with the contrasting of sites. The ISSR technique showed a polymorphism of 93.8%, resulted from the use of 20 prefixes which were effective in distinguishing among studied ephedra samples, and the Dendrogram reflected the geographical distribution of the studied samples (southwest-Qassioun and al-Rabwah, southeast-up and down of Maaraba and north-northeast Minin, Al-Draij and Al-Tal).


**Key words**: Ephedra alata, Micro environment, Molecular characterization, lower Qalamoun, Syria.

## المقدمة

خضعت منطقة شرق المتوسط إلى ضغط بشري كبير عبر التاريخ، إذ أدت النشاطات البشرية المختلفة خلاله من رعي جائر واحتطاب وزراعة غير منظمة وحرائق إلى زوال العديد من النظم البيئية واختفاء العديد من الأنواع النباتية، وبالتالي زوال جزء من المخزون الوراثي المهم الذي تطور عبر ملايين السنين وتهديد الكثير من الأنواع الأخرى بالانقراض (Quezel وزملاؤه ،1999).

إزاء هذا الوضع بدأ الانسان ينتبه إلى خطورة هذه الممارسات، وبرزت بشكل واضح أهمية إعادة تقييم وضع التنوع الحيوي النباتي في شرق المتوسط بهدف إدارته بطريقة توقف تدهوره، وتعطيه الأهمية التي يستحقها، كما ازدادت الجهود الدولية الداعية إلى ضرورة الحفاظ على التنوع الحيوي بعد التوقيع على اتفاقية التنوع الحيوي في ريو دي جانيرو 1992. (Baskent وزملاؤه ،2009)

ضمن هذا الإطار بدأت الحكومات والمنظمات الدولية بتقييم الوضع البيئي للعديد من الأنواع، وتحديد المهددات ودرجة التهديد التي تتعرض لها، وذلك بغرض حمايتها والاستفادة منها بالشكل الأمثل.

يعدّ نبات الإيفدرا *Ephedra alata* Decne. من الأنواع التي تعرضت لضغط بشري مكثف، ولاسيما الرعي الجائر وذلك في مناطق انتشاره الطبيعي، مما أدى إلى تقلص رقعة انتشاره بشكل كبير في سورية، وأصبح مهدداً بالانقراض بشكل فعلي، الأمر الذي يتطلب صونه والمحافظة عليه.

ولما كان هذا النوع ينتشر على شكل أفراد متفرقة في بعض مناطق القلمون الأدنى من ريف دمشق (سورية) في ظروف متباينة من التربة والصخرة الأم مع تشابه واختزال بعض صفاته الشكلية، وندرة الدراسات البيئية حول هذا النوع، وتوصيفه جزيئياً كان لابدّ من دراسة البيئة الذاتية له في بيئاته المختلفة، وكذلك تحري ما إذا كان لهذه العوامل المختلفة، ولا سيما التربية تأثير في الطابع الوراثي، وذلك من خلال التوصيف الجزيئي لأفراد من هذا النوع من البيئات المختلفة لمنطقة الدراسة باستخدام تقانة ISSR ( Inter Simple Sequence Repeats) التكرارات الترادفية البسيطة الداخلية.

**الدراسة المرجعية:**

تتبع الإيفدرا .*Ephedra alata* Decne عائلة Ephedraceae وهي جنبة صغيرة منتصبة أو مستلقية تشكل كتلاً كثيفة، معمرة، دائمة الخضرة، ثنائية المسكن، رمادية مخضرة اللون، السوق قاسية، صلبة، خشنة، متمفصلة-عقدية، فاتحة اللون، عليها أوراق مختزلة مثلثية حرشفية تقتصر على غمد غشائي بسيط طوله 3-4 مم ( نادراً 5مم)، وعرضه 1-2 مم، الأزهار صفراء وحيدة الجنس، الذكرية منها لاطئة تجتمع في مجموعات كروية الشكل تخرج من آباط الأوراق في قمة أفرع صغيرة، طولها نحو 3 سم، متجمعة في 3-7 أشفاع، وتحمل الزهرة 4-6 أسدية، المخاريط الانثوية صغيرة منفردة وبقياس 5 ×7 مم إبطية لاطئة أو قمية في نهاية أفرع صغيرة طولها نحو 2 سم، تحمل خمسة قنابات حرة جافة و ورقية، ولا تتحول إلى غلاف لحمي وإنما تصبح قاسية متهشمة، البذور مستطيلة كليلة القمة، عرضها نحو 2.5 مم وطولها نحو 6 مم، تتحرر الأبواغ في منتصف آذار (مارس) وتظهر الثمار في أيار( مايو) (أكساد، 2012 ؛ اطلس التنوع الحيوي في سورية،2001؛ Mouterde، 1966).

تنمو الإيفدرا على ارتفاعات من 50 إلى 1200م فوق مستوى سطح البحر، مقاومة للجفاف والصقيع، تصلح للبيئة الجافة الصحراوية، تنمو طبيعياً في الأماكن الجافة الرملية أو المحجرة، يسهم هذا النبات في بناء التربة الرملية، إذ تمتد جذوره عدة أمتار في التربة، ينمو في كثير من الأحيان بالقرب من الوديان مع الحد الأدنى من المياه، أو على الكثبان الرملية في المناطق الجافة والحارة (Bell و Bachman، 2011).

ينتشر في شبه الجزيرة العربية وبلاد الشام وشمالي افريقيا، وأصبح نادراً في العديد من الدول العربية (أكساد، 2012). انتشاره محدود في الفلورة السورية إذ يصادف في خان ديماس، جبل قاسيون، معربا، يبرود، جبل أبو قوش، الجُبة، القريتين، مطار التيفور، تدمر حتى البوكمال، جبل عبيد، قصر الحير، تل عويد (Mouterde، 1966).

أوضحت دراسة في محمية سانت كاترين–جنوب سيناء مصر أن هناك علاقة عكسية معنوية بين ازدهار النبات والضغط الذي يسببه الرعي وأنّ 12 فصيلة من بينها Ephedraceae تأثرت بالرعي الجائر في المنطقة (Rebecca وFrancis، 2005).

يمتلك هذا النوع خواص طبية مهمة وفعالية بيولوجية إذ يستعمل في علاج نوبات السعال التقلصي، ولإنقاص الوزن عند البدينين، ولعلاج مرض الانسداد الرئوي المزمن (COPD)، والتهاب واحتقان الجيوب الأنفية، ونزلات البرد والأنفلونزا، ولعلاج ضغط الدم المنخفض. يستعمل منقوع الإيفدرا الساخن في علاج الروماتيزم، ويتمتع قلويد الإيفيدرين بتأثير مشابه لعمل نظير الودي sympathmimetic (مقبض للأوعية) مما يعطيه خواص رافعة للضغط، ويستعمل ممدداً لحدقة العين، ويستعمل في علاج حمى القش، وتخفيف التعرق، وهو منشط للجملة العصبية المركزية، ومقوّ لأداء الرياضيين. كما يستعمل في منع احتباس السوائل في الجسم، والحد من ضيق التنفس والحمى المصحوبة بعدم التعرق، ويسرع من شفاء الجروح الجلدية وقرحة المعدة. يتمتع نبات الإيفدرا بخواص مناهضة لمستقبلات ألفا 1، الفا 2 وبيتا 2، ومضاد للفيروسات، ومنشط للفعالية الجنسية عند الذكور، وفعالية مثبطة للأنزيمات المضادة للدوار، ولمعالجة السعال الديكي والحمى والشري وأمراض المفاصل والوذمة وآلام العظام (أكساد، 2012؛ الحكيم، 2012؛ Bell وBachman، 2011).

أشار العودات وبركوده (1979) إلى أن كمية الأمطار السنوية تحتل المركز الأول في توزع وانتشار الأنواع النباتية.

تعد الحرارة من أهم العوامل البيئية التي تؤثر في توزيع وانتشار النبت الحراجي، وإن العوامل الطبوغرافية عبر تأثيرها في التربة والمناخ تؤدي دوراً مهماً في تحديد طبيعة النبت في منطقة ما، ويعد عامل شكل الأرض والارتفاع عن سطح البحر واتجاه المعارض ودرجة الميل، إضافة إلى عمق التربة من العناصر ذات الدور الحاسم في تحديد وتوزع الأنواع، وإن الاختلاف في الطابع الظاهري للأفراد يعود الى الطابع الوراثي في جزء منه وإلى الوسط في جزئه الآخر (عبيدو، 2000).

إنّ الاعتماد على الصفات الشكلية لدراسة التنوع النباتي غير كافٍ، وبشكل خاص عند وجود تقارب كبير بين النباتات المدروسة، وهذه الصفات المظهرية شديدة التأثر بالظروف البيئية المحيطة بالنبات، إذ تعد التباينات الشكلية من المعايير الأولى التي استخدمت في عملية التوصيف والتصنيف ودراسة التباينات بين الأنواع المختلفة وضمنها، إلا أنه في الآونة الأخيرة وفي ظل التطور المتسارع في علم التقانات الحيوية، اكتشفت معايير ومؤشرات أكثر دقة يمكنها تحقيق هذا الهدف وتطويره، أهمها دراسة التنوع الوراثي باستخدام المعلمات الجزيئية التي تستند إلى معلومات مأخوذة من جزيئة الحمض النووي الريبي منقوص الاوكسجين DNA والتي تسمح بالتمييز بين فردين محددين، فأمكن من خلالها التغلب على سلبيات التقانات السابقة لكونها تتميز بأنها معلمات لا تتأثر بالظروف البيئية المحيطة ولا تتأثر نتائجها بعمر النسيج النباتي المستخدم في الدراسة ونوعه، كما تتميز بسرعة الحصول على النتائج ودقتها في كثير من الحالات، ولها القدرة على كشف نسبة أكبر من التباينات الوراثية وتغطية مناطق مجيّن (Genome) النبات كافةً.

وبالرغم من أهمية الصفات المورفولوجية واستخدامها في تصنيف المجاميع النباتية فإنّ بعض النباتات -ومنها أنواع جنس الإيفدرا- تتميز بتشابه واختزال العديد من صفاتها الشكلية، الأمر الذي يصعب معه تصنيفها، لذلك يمكن الاعتماد على التوصيف الجزيئي لمثل هذه النباتات والذي يعتمد على طرائق التقانات الحيوية الحديثة.

دُرس التوصيف الجزيئي لجنس الإيفدرا باستخدام تقانة RAPD لستة طرز جُمعت من مناطق جغرافية مختلفة من الباكستان باستخدام تسع بادئات أعطت حزماً متعددة شكلية بلغت 6-49%، ووجد أن الطراز من وادي سوات في الشمال الغربي من باكستان كان الأبعد وراثياً عن بقية الطرز(Ghafoor وزملاؤه، 2007).

قام الخوري وزملاؤه (2014) بدراسة جغرافية بيئية ووراثية لبعض جماعات اللوز العربي في البادية السورية، وتم تحديد درجة القرابة الوراثية بين عدة طرز برية من اللوزالعربي *Prunus arabica*، وأخرى من اللوز الوزالي *Amygdalus spartioides*، وذلك باستخدام تقانة ISSR، وأظهرت الدراسة تنوعاً وراثياً واضحاً على مستوى الموقع الواحد، وتباعداً وراثياً بين الطرز التي تعود للوز العربي المجموعة من البادية السورية، وتلك العائدة للوز الوزالي المجموعة من ريف دمشق.

**هدف البحث:** يهدف البحث إلى دراسة البيئة الذاتية لنبات الإيفدرا *Ephedra alata* وتوصيفه جزيئياً باستخدام تقانة ISSR في القلمون الأدنى (سورية).

## مواد وطرائق البحث

### منطقة الدراسة:

تقع منطقة الدراسة شمالي مدينة دمشق بين درجتي عرض '31 °33 و'38 °33 شمالي خط الاستواء، وخطي طول "30 '15 °36 و "30 '18 °36 شرقي غرينتش تقريباً وعلى ارتفاع يتراوح بين 700 م و 1100م تقريباً، متضمنة بذلك جبال وأودية في كل من معربا والتل ومنين والدريج وجبل قاسيون حتى الربوة وهي ذات تكشفات صخرية تتبع أطوار مختلفة من أحقاب جيولوجية مختلفة منها الطور التوروني والطور السينوني من الكريتاسي الأعلى، وكذلك تكشفات النيوجين، كما تتميز منطقة الدراسة بطبوغرافيا حادة، إذ يغلب عليها الطبيعة الجبلية ذات الانحدارات المتباينة بين الضعيفة والشديدة، ومعارض متباينة ترتكز فيها الشرقية والغربية، تربتها كلسية عموماً.

يتراوح معدل الهطول المطري بين 180 و230 ملم /سنة. والرياح السائدة في المنطقة غربية، يبلغ معدل درجة الحرارة الصغرى 6 إلى 8 م° والعظمى 22 إلى 24 م° ومعدل درجة الحرارة الصغرى المطلقة -6 إلى -8 م°، ومعدل درجة الحرارة العظمى المطلقة 40-42 م° (الاطلس المناخي لسوريا، 1977).

تم تنفيذ كل من التحاليل المتعلقة بالخصائص الفيزيائية والكيميائية للتربة في مخبر الأراضي في قسم التربة، والتحاليل المتعلقة بالتوصيف الجزيئي في مخبر التقانات الحيوية في كلية الهندسة الزراعية بجامعة دمشق.

### مواد البحث:

خرائط طبوغرافية، GPS، بوصلة، أطالس وفلورات، مكبرة (مجهر)، معطيات مناخية، أكياس نايلون، الأجهزة والمواد اللازمة لتحاليل التربة وإجراء الدراسة الجزيئية.

### طرائق البحث:

### 1– دراسة بيئة منطقة البحث:

**1-1- دراسة العوامل المناخية:** الهطولات (مم)، درجات الحرارة الصغرى والمتوسطة والعظمى (م°)، الرياح. وتحديد الطابق البيومناخي حسب أمبرجيه (في عبيدو، 2000)

$$Q=2000\ p\ /(M^2- m^2)$$

حيث Q: المعامل الحراري الرطوبي.
P: معدل الهطول السنوي (مم).
M: متوسط درجة الحرارة العظمى لأحر شهر في السنة /كالفن.
m: متوسط درجة الحرارة الصغرى لأبرد شهر بالسنة /كالفن.

وتحديد طول مدة الجفاف وشدته حسب معامل غوسان وبانيول (Bagnouls وGaussen،1953) بالعلاقة:

$$p \leq 2t$$

حيث P: معدل الهطول الشهري (مم).
t: درجة الحرارة (م˚).

تم الاعتماد على المعطيات المناخية لمحطتي المزة ومطار دمشق الدولي خلال الفترة الممتدة بين 2005 و2018، وإجراء التعديلات على المعطيات المناخية بما يتوافق مع ارتفاع كل من مواقع الدراسة السبعة بخفض درجة الحرارة بمقدار 0.65 م˚ لكل 100م ارتفاع، وتعديل معدل الهطول لمواقع الدراسة بتوزيع فرق الهطولات بين محطة التل ومحطتي المزة ومطار دمشق الدولي تبعاً لارتفاعات مواقع الدراسة.

**2-1-دراسة العوامل الطبوغرافية والأرضية:**

- تحديد الارتفاع عن سطح البحر واتجاه المعرض والانحدار: وذلك باستخدام الخارطة الطبوغرافية لشمالي دمشق بمقياس رسم (1/100000)، وبالاعتماد على موقع Google earth، واستخدام البوصلة، وحددت إحداثيات المواقع عند النبات المدروس.
- تحديد الخواص الكيميائية والفيزيائية للتربة: تم أخذ عينات التربة من مواقع الدراسة على عمق يتراوح بين 10و20 سم من سطح التربة ثم اجراء القياسات التالية:

- تقدير درجة حموضة التربة باستعمال مستخلص العجينة المشبعة بجهاز pH meter (Peech، 1965).

- قياس الناقلية الكهربائية للتربة (EC) بجهاز التوصيل الكهربائي في مستخلص 10:1 (Peech، 1965).

- أجري التحليل الميكانيكي للتربة بطريقة الهيدروميتر، وتحديد نوع التربة حسب مثلث تصنيف قوام التربة (الأمريكي).

- تقدير محتوى كربونات الكالسيوم باستخدام جهاز الكالسيميتر. (Balazs وزملاؤه، 2005).

- تقدير الكربون العضوي بالأكسدة الرطبة بوساطة ديكرومات البوتاسيوم (Jackson، 1958).

- تقدير العناصر الكبرى الكلية والمتاحة} الآزوت الكلي بطريقة كلداهل، الفوسفور المتاح بطريقة Olsen وزملاؤه (1995)، البوتاسيوم المتاح (FAO ،2007) بجهاز مطيافية اللهب (الفلام فوتوميتر) }.

**3-1- دراسة العوامل الحيوية:**

النشاط البشري والرعي والغطاء النباتي المرافق، و تم تصنيف و توصيف أهم مكونات الغطاء النباتي، ولاسيما الطبيعي المرافق لنبات الإيفدرا بالاستعانة بالأطالس والفلورات النباتية (أطلس التنوع الحيوي في سورية، 2001؛ أكساد، 2012؛ Mouterde، 1966).

**2- الدراسة الجزيئية (التوصيف الجزيئي):**

**2-1- تعقيم العينة النباتية:**

عُقمت العينة النباتية (الأفرع الفتية) بنقعها في مادة الإيتانول تركيز 70% لمدة 30 ثانية، ثم نقلت على التوالي إلى ثلاثة أوعية يحوي كل منها ماءً مقطراً معقماً، وتركت في كل وعاء لمدة 5 دقائق، ثم وضعت في وعاء يحوي مادة كلوروكس 5% لمدة 5 دقائق، ثم نقلت مرة أخرى لتنقع في الماء المقطر ثلاث مرات كل منها 5 دقائق، بعدها أُخذت الأفرع الفتية من أجل استخلاص DNA للدراسة الوراثية.

**2-2- استخلاص DNA بطريقة CTAB:**

استخلص DNA من الأفرع الفتية بعمر 2 إلى 3 أسابيع بطحن 1 غرام من الأفرع الطازجة باستخدام الآزوت السائل حتى الحصول على مسحوق ناعم وفقاً لما أشار إليه Murray وThompson (1980)، نقل بعدها إلى حوجلة زجاجية سعة 50 مل وأضيف لها 10 مل من محلول الاستخلاص CATB والمكون من:

Tris-HCl (pH 8.2) 0.1 M, EDTA 0.05 M, NaCl 0.1 M, CTAB 2%, proteinase K 1 mg/ml.

حُضنت العينات لمدة 60 دقيقة مع التحريك المستمر ضمن حمام مائي عند 65 م˚ ، و أضيف 10مل من مزيج من كلوروفورم و أيزواميل كحول بنسبة 1:24، ثم نقل المزيج إلى أنبوب تثفيل سعة 30 مل، وثُفّل بالطرد المركزي لمدة 10 دقائق بسرعة 10000 دورة/دقيقة على درجة حرارة 4 م˚، وأضيف الإيزوبروبانول (Iso-propanol ) بمعدل 3/2 من حجم الوسط المائي، ونقل DNA المترسب إلى أنبوب صغير سعة 2 مل، ثم أضيف 0.5 مل من محلول الغسيل (كحول إيتيلي 76%) البارد (المحفوظ بدرجة – 20 م˚)، وثُفل بسرعة 10000دورة/دقيقة لمدة 10 دقائق وبدرجة حرارة 4 م˚. بعد ذلك أذيبت عينات DNA في 500 ميكرولتر من المحلول المنظم TE المكون من 1ميلي مول EDTA و10 ميلي مول Tris-HCl، ثم تم التخلص من الرنا (RNA) بإضافة 2 ميكروليتر من إنزيم RNase (10ملغ/مل) والتحضين على درجة 37م˚ لمدة نصف ساعة.

**2-3- التقدير الكمي والنوعي لـ DNA بوساطة الأشعة فوق البنفسجية:**

استخدم المطياف UV. Spectrophotometer (Genova) لتقدير كمية DNA وتحديد نقاوته، إذ يعتمد الجهاز في عمله على قياس كمية DNA الموجودة عن طريق تقديره لامتصاص DNA للأشعة فوق البنفسجية بموجات طولها 260 و280 نانومتر.

**2-4- تطبيق تقانة ISSR:**

استخدم في الدراسة 20 بادئة تم الحصول عليها من الهيئة العامة للطاقة الذرية في سورية، ويوضح الجدول 1 التسلسل النيكليوتيدي ودرجة حرارة الالتحام للبادئات المستخدمة.

**جدول 1. التسلسل النيكليوتيدي للبادئات المستخدمة في تقانة ISSR ودرجة حرارة الالتحام (م)°.**

| البادئة | التسلسل النيكليوتيدي 3' - 5' | درجة حرارة الالتحام (م°) |
|---|---|---|
| ISSR-2 | GAGAGAGAGAGAGAGAC | 52 |
| ISSR-4 | CACACACACACACACAG | 52 |
| ISSR-6 | GAGAGAGAGAGAGAGACG | 56 |
| ISSR-7 | TCTCTCTCTCTCTCTCGA | 54 |
| ISSR-9 | ACACACACACACACACGG | 56 |
| ISSR-14 | CCAGGTGTGTGTGTGTGT | 56 |
| ISSR-15 | GTGTGTGTGAGAGAGAGA | 54 |
| ISSR-16 | ACACACACACACACATATAT | 54 |
| ISSR-18 | CCTCTCTCTGTGTGTGTG | 56 |
| ISSR-20 | CACACACACACACACACACA | 56 |
| ISSR-22 | GAGAGAGAGAGAGAGAGAGA | 54 |
| ISSR-25 | AGGAGGAGGAGGAGGAGG | 54 |
| ISSR-32 | AGAGAGAGAGAGAGAGT | 52 |
| ISSR-33 | GAGAGAGAGAGAGAGAT | 52 |
| ISSR-34 | CTCTCTCTCTCTCTCTT | 52 |
| ISSR-35 | CACACACACACAACAG | 52 |
| ISSR-36 | TCTCTCTCTCTCTCTCC | 52 |
| ISSR-37 | TGTGTGTGTGTGTGTGG | 52 |
| ISSR-40 | ACACACACACACACACTT | 52 |
| ISSR-41 | TGTGTGTGTGTGTGTGAA | 52 |

أُجري تفاعل البلمرة المتسلسل PCR وفقاً لـ Lawyer وزملائه (1993) مع بعض التعديلات، فكان حجم التفاعل النهائي 25 µl ميكرولتر باستخدام 2X Master mix، تم الحصول عليه من شركة Fermentas الألمانية، ويتكون التفاعل من 2 ميكرولتر من البادئ بتركيز 10 ميلي مول و12.5 ميكرولتر من Master mix، و8.5 ميكرولتر ماءً مقطراً، وDNA بتركيز 40 نانوغرام/ميكرولتر.

ويتم هذا التفاعل في جهاز التدوير الحراري وفقاً للظروف التالية:

1- الانفصال: عند درجة حرارة 94 م° لمدة 5 دقائق ليتم انفصال سلسلتي DNA.

2- 40 دورة تتضمن كل منها المراحل التالية:

2-1-التحطم: يتم عند حرارة 94 م° لمدة 30 ثانية.

2-2-الالتحام: حسب درجة حرارة الالتحام لكل بادئ من الجدول 1 وذلك لمدة دقيقة واحدة.

2-3-الاستطالة عند حرارة 72م° لمدة دقيقة.

3- اكتمال التفاعل عند درجة حرارة 72م° لمدة عشر دقائق.

ثم تحفظ العينات في درجة حرارة 4 م°، بعد ذلك نقوم يتم الترحيل على هلامة الآجاروز.

**2-5 -الرحلان الكهربائي والتلوين والتصوير:**

تم الترحيل على هلامة الآجاروز 2% في المحلول المنظم 1X TBE المكون من:

(10X TBE buffer = 108 g Tris borate + 55 g Boric acid + 9.2 EDTA, pH 8.0)

والمضاف إليها 5 ميكرولتر من صبغة الايثيديوم بروميد (10ملغ/مل)، حيث حملت عينات الحمض النووي DNA على هلامة الآجاروز بإضافة 5 ميكرولتر من سائل التحميل الخاص (1X Loading buffer Bromophenol blue) المكون من:

(15% Ficoll 400 + 1.03 % Bromophenol blue + 0.03 % xylene cyanol FF + 0.4 % Orange G + 10 mM Tris-HCl + 50 mM EDTA)

كما تم حقن مؤشر من DNA 1Kpb من شركة Fermentas الألمانية، وذلك لتحديد الحجم والوزن الجزيئي للحزم الناتجة، ليتم بعد ذلك الترحيل بمرور حقل كهربائي قدره 100 فولط وذلك لفصل حزم DNA الناتجة عن التضخيم، لتصور الهلامة بعد ذلك بجهاز تصوير هلامة الآجاروز Image Analyzer (Agle Eye II Staratagene) (Serwer، 1983).

**2-6- التحليل الإحصائي:**

جُمعت نتائج عملية التضخيم الناتجة عن تطبيق تقانة ISSR في جداول اعتماداً على وجود أو غياب حزم DNA في العينات المدروسة، حيث يدل الرقم 1 على وجود حزمة الحمض النووي الواضحة فقط والرقم 0 يدل على غياب الحزمة بحسب Nei (1987)، وأُجري التحليل الإحصائي باستخدام البرنامج POPGENE V1.31 (Yeh وزملاؤه، 1999).

وتمت دراسة العلاقة الوراثية بين الطرز الوراثية المدروسة بتطبيق مصفوفة النسب المئوية لعدم التوافق Percent (PDV) 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 وفقاً لـ Nei (1972).

أُجري التحليل العنقودي اعتماداً على نتائج المسافة الوراثية بين الطرز المدروسة وفقاً لمعادلة Nei (1978)، ونُظمت الجداول لكل بادئة على حدة، ورسمت شجرة القرابة الوراثية (Dendrogram) بتطبيق متوسطات المجموعات الزوجية غير المتزنة (UPGMA) بحسب (Yeh وزملاؤه، 1999).

حسبت قيم معامل التعددية الشكلية للبادئات المستخدمة وفق المعادلة:

$$PIC = 1-\Sigma(Pij)^2$$

حيث Pij تكرارية ith الناتجة عن استخدام البادئ jth من جميع العينات المدروسة (Botstein وزملاؤه، 1980).

## النتائج والمناقشة

### 1-دراسة البيئة الذاتية

### 1-1- العوامل المناخية:

تباينت الهطولات في منطقة البحث بين أمطار وثلوج وبرد مع سيادة الهطول المطري وندرة البرد. وتركزت خلال أشهر كانون الأول (ديسمبر) وكانون الثاني (يناير) وشباط (فبراير) (الجدول 2) في حين انحبست الهطولات خلال أشهر حزيران (يونيو) وتموز (يوليو) وآب (أغسطس) غالباً.

**جدول 2. معدل الهطول المطري الشهري والسنوي في المحطات الافتراضية لمواقع الدراسة للفترة 2005-2018.**

| الأشهر / المحطات | ك2 (يناير) | شباط (فبراير) | آذار (مارس) | نيسان (أبريل) | آيار (مايو) | حزيران (يونيو) | تموز (يوليو) | آب (أغسطس) | أيلول (سبتمبر) | ت1 (أكتوبر) | ت2 (نوفمبر) | ك1 (ديسمبر) | المعدل السنوي (مم) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| معربا أدنى | 44.5 | 37.5 | 14.6 | 13.5 | 9.9 | 0 | 0 | 0.1 | 1.1 | 11.7 | 21.2 | 45.1 | 199.2 |
| معربا أعلى | 46.4 | 38.9 | 15.3 | 14.1 | 10.3 | 0 | 0 | 0 | 1.2 | 12.2 | 22.2 | 47 | 207.6 |
| التل | 49.3 | 41.1 | 16.3 | 14.9 | 11 | 0 | 0 | 0.2 | 1.3 | 13 | 23.5 | 49.9 | 220.5 |
| منين | 51.5 | 43 | 17 | 15.6 | 11.5 | 0.2 | 0 | 0.2 | 1.3 | 13.5 | 24.5 | 52.2 | 230.5 |
| الدريج | 47.6 | 40 | 15.7 | 14.4 | 10.6 | 0 | 0 | 0.1 | 1.2 | 12.5 | 22.7 | 48.2 | 213 |
| قاسيون | 44.7 | 37.3 | 14.8 | 13.6 | 10 | 0 | 0 | 0 | 1.2 | 11.8 | 21.4 | 45.2 | 200 |
| الربوة | 41.2 | 34.5 | 13.6 | 12.5 | 9.2 | 0 | 0 | 0 | 1.1 | 10.8 | 19.4 | 41.7 | 184 |

ومن معطيات الجدول عموماً يظهر أن جميع مواقع منطقة الدراسة يسيطر عليها الجفاف، وهذا يعني أن نبات الإيفدرا في منطقة البحث متكيف مع الجفاف، وهذا يتفقُ مع ما أورده Bell وBachman (2011).

تجدر الإشارة هنا إلى أن نبات الإيفدرا لا يستفيد من كامل الهطولات بسبب الطبيعة التضريسية الحرجة الصخرية أحياناً وشديدة الانحدار أحياناً أخرى. من جهة أخرى بلغ متوسط درجة الحرارة في منطقة البحث حسب المحطات الافتراضية 16.14 م°، حيث تراوح هذا المتوسط بين 15.1 م° في موقع منين و17.6 م° في موقع الربوة (الجدول 3)، ويرجع ذلك بشكل أساسي إلى تباين الارتفاع عن سطح البحر بين الموقعين (715- 1100 م على التوالي).

**جدول 3. درجة الحرارة الشهرية المتوسطة(T) والصغرى لأبرد شهر(m) والعظمى لأحر شهر(M) بالسنة في المحطات الافتراضية لمواقع الدراسة للفترة 2005-2018.**

| الأشهر / المحطات | ك2 (يناير) | شباط (فبراير) | آذار (مارس) | نيسان (أبريل) | آيار (مايو) | حزيران (يونيو) | تموز (يوليو) | آب (أغسطس) | أيلول (سبتمبر) | ت1 (أكتوبر) | ت2 (نوفمبر) | ك1 (ديسمبر) | M | M |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| معربا أدنى | 6.6 | 7.4 | 11.5 | 15.7 | 20.2 | 24.4 | 27.1 | 27.1 | 23.8 | 18.4 | 11.4 | 6.6 | 1.9 | 36.4 |
| معربا أعلى | 6.2 | 7 | 11.1 | 15.3 | 19.8 | 24 | 26.7 | 26.7 | 23.4 | 18 | 11 | 6.3 | 1.5 | 36 |
| التل | 5.6 | 6.4 | 10.5 | 14.7 | 16.2 | 23.4 | 26.1 | 26.1 | 22.8 | 17.4 | 10.4 | 5.7 | 0.8 | 35.3 |
| منين | 5 | 5.8 | 9.9 | 14.1 | 18.6 | 22.8 | 25.5 | 25.5 | 22.2 | 16.8 | 9.8 | 5.1 | 0.3 | 34.8 |
| الدريج | 6 | 6.8 | 10.9 | 15.1 | 19.6 | 23.8 | 26.5 | 26.5 | 23.2 | 17.8 | 10.8 | 6.1 | 1.2 | 35.7 |
| قاسيون | 5.4 | 6.2 | 10.3 | 14.5 | 19 | 23.2 | 25.9 | 25.9 | 22.6 | 17.2 | 10.2 | 5.5 | 0.6 | 35.1 |
| الربوة | 7.5 | 8.3 | 12.4 | 16.6 | 21.1 | 25.3 | 28 | 28 | 24.7 | 19.3 | 12.3 | 7.6 | 4.3 | 36.6 |

يلاحظ أن أدنى متوسط درجة حرارة شهري كان خلال الأشهر كانون الأول (ديسمبر) وكانون الثاني (يناير) وشباط (فبراير) (6.0، 6.1، 6.5 على التوالي)، في حين كان أعلى متوسط درجة حرارة شهري خلال شهري تموز(يوليو) وآب(أغسطس) (26.5 م°). كما يلاحظ أن متوسط درجة الحرارة الدنيا لأبرد شهر في السنة تراوح بين 0.3 م°(منين) و4.3 م°(الربوة) وبالمتوسط 1.5 م°، وتراوح متوسط درجة الحرارة العظمى لأحر شهر في السنة بين 34.8 م° (منين) و36.6 م° (الربوة) وبالمتوسط 35.7 م°، فيما بلغ التباين الحراري السنوي في منطقة البحث بالمتوسط 34.2 م°. وهذا يعني أن نبات الإيفدرا في منطقة البحث يتمتع بمرونة بيئية تجاه عامل الحرارة، وهذا يتوافق مع ما أشار إليه Bell وBachman (2011).

كما تراوح طول الفترة الجافة في منطقة البحث بين سبعة أشهر وأربعة وعشرين يوما في موقع منين وثمانية أشهر ونصف تقريباً في موقع الربوة، علما أنه في السنوات الجافة والتي تترافق عادة بصيف حار تتجاوز فترة الجفاف في منطقة البحث عموماً تسعة أشهر، وهذا يؤكد تحمل نبات الإيفدرا للجفاف وطول مدته خلال السنة وهذا يتفقُ مع ما أورده كل من Bell و Bachman (2011) وMouterde (1966).

أظهرت النتائج أن مواقع الدراسة تنتمي إلى الطابق البيومناخي الجاف السفلي البارد (Q=20.9, m=1.5) باستثناء موقع الربوة الذي ينتمي إلى الطابق البيومناخي الجاف السفلي المعتدل (Q=23, m=4.3)، وهذا بدوره يؤكد مرونة نبات الإيفدرا وقدرته على تحمل الجفاف، والعيش في الطابق البيومناخي الجاف، وهذا يتفقُ مع ما أشار إليه كل من Bell و Bachman (2011 ) و Mouterde (1966).

**2-1-الطبوغرافيا:**

تم عرض نتائج قياسات الارتفاعات المتباينة عن سطح البحر لمواقع الدراسة الممثلة لنباتات الإيفدرا المدروسة في الجدول 4 مع احداثيات كل موقع.

**جدول 4. احداثيات كل موقع وارتفاعه عن سطح البحر وانحداره واتجاه معرضه**

| المواقع | الإحداثيات | | الارتفاع عن سطح البحر(م) | الانحدار (الميل) (%) | الاتجاه (المعرض) |
|---|---|---|---|---|---|
| | East (شرق) | North (شمال) | | | |
| معربا أدنى | 36° 18' 24" | 33° 34' 12" | 855 | > 60 | غربي |
| معربا أعلى | 36° 18' 05" | 33° 34' 24" | 917 | > 30 | شرقي |
| التل | 36° 18' 10" | 33° 37' 12" | 1020 | > 20 | غربي |
| منين | 36° 18' 13" | 33° 38' 06" | 1100 | > 30 | جنوبي غربي |
| الدريج | 36° 17' 00" | 33° 35' 39" | 957 | > 40 | شرقي |
| قاسيون | 36° 17' 22" | 33° 32' 51" | 1040 | > 25 | شرقي |
| الربوة | 36° 15' 27" | 33° 31' 10" | 715 | > 60 | شرقي |

يلاحظ أن نبات الإيفدرا في مختلف مواقع منطقة البحث قد نما على ارتفاعات متباينة تراوحت بين 715 م (الربوة) و1100 م (منين). علماً أنه لوحظ انتشار نبات الإيفدرا خارج حدود النطاق الارتفاعي، وهذا يتوافق مع ما أورده Bell وBachman (2011).

ويلاحظ من معطيات الجدول 4 يلاحظ أن انتشار نبات الإيفدرا في مواقع الدراسة تركز على السفحين الشرقي (معربا أعلى والدريج وقاسيون والربوة) والغربي (معربا أدنى والتل ومنين) بشكل عام، ولعل ذلك مرتبط بطبيعة اتجاه الأودية، وهذا لا يعني بالضرورة إمكانية غياب نبات الإيفدرا عن المعارض الأخرى فيما لو توفرت في منطقة البحث.

كما يلاحظ من معطيات الجدول 4 أن نبات الإيفدرا تتوضع على انحدارات متباينة على السفوح تراوحت بين 20% في موقع التل وأكثر من 60% في موقع الربوة (الشكل 1)

**الشكل 1. نبات الإيفدرا على جرف صخري حرج. (موقع معربا أدنى).**

### 1-3-العوامل الأرضية:

إن تربة مواقع الدراسة متباينة، ففي موقع التل التربة زراعية كلسية متباينة العمق علماً أنها تتوضع على لسان (جيب) من الكونغلوميرا الحصوية المتكشفة في أعالي الموقع والتابعة لحقبة النيوجين.

في حين تغيب التربة تقريباً في موقع معربا أدنى إلا في بعض الصدوع والشقوق الضيقة محدودة الانتشار ضمن الصخور الكلسية الدولوميتية القاسية الغنية بعنصر المغنزيوم عادةً العائدة للطور التوروني من الكريتاسي الأعلى.

أما في موقع معربا أعلى فيلاحظ أن نبات الإيفدرا نما في أعلى السفح أسفل جلاميد صخرية ضخمة من الصوان الغني بعنصر السيليسيوم والمتوضعة على صخور كلسية حوارية ومتداخلة معها موضعياً من الطور السينوني من الكريتاسي الأعلى.

وأما في موقع منين فيتوضع النبات في الجزء السفلي تقريباً من السفح على صخرة أم كلسية حوارية من تكشفات الطور السينوني من الكريتاسي الأعلى محفوفاً بحطام التعرية الريحية والمائية وبعض النشاطات البشرية.

وفي موقع الدريج ينمو نبات الإيفدرا في الجزء العلوي من السفح على تربة ضحلة نسبياً ناشئة عن الصخرة الأم للطور السينوني من الكريتاسي الأعلى.

وأما في موقع قاسيون فينمو نبات الإيفدرا على صخرة أم تتبع الطور التوروني من الكريتاسي الأعلى مع قليل من بقايا الصخور الكلسية الحوارية التابعة للطور السينوني من الكريتاسي الأعلى.

وفي موقع الربوة ينمو نبات الإيفدرا في شقوق أو جيوب بين الكتل الصخرية الكلسية القاسية نسبياً.

**- الخصائص الفيزيائية والكيميائية للتربة:**

**أ-قوام التربة:**

**جدول 5. توصيف قوام التربة في مواقع الدراسة.**

| المواقع | الطين (%) | السلت (%) | الرمل (%) | قوام التربة |
|---|---|---|---|---|
| **التل** | 30.3 | 30.9 | 38.8 | لومية طينية |
| **منين** | 13.7 | 20.9 | 65.4 | لومية رملية |
| **معربا أعلى** | 16.2 | 12.5 | 71.3 | رملية لومية |
| **معربا أدنى** | 24.4 | 21.8 | 53.8 | لومية طينية رملية |
| **الدريج** | 21.9 | 22.7 | 55.4 | لومية طينية رملية |
| **قاسيون** | 16.2 | 20 | 63.8 | لومية رملية |
| **الربوة** | 23.7 | 15 | 61.3 | لومية طينية رملية |

يلاحظ أن أغلب ترب المواقع التي ينمو فيها نبات الإيفدرا ذات قوام لومي رملي (منين، معربا أدنى، الدريج، قاسيون، الربوة) في حين كان قوام التربة رملياً لومياً في معربا أعلى، ولومياً طينياً في موقع التل. وعموماً يلاحظ انخفاض نسبة كل من الطين والسلت في جميع مواقع الدراسة إذ مجموع نسبتيهما أقل من نسبة الرمل فيه.

بالمحصلة النهائية يلاحظ أن نبات الإيفدرا في عموم منطقة الدراسة يجود في الترب الرملية اللومية واللومية الرملية بغض النظر عن سَمكها ودرجة تغطيتها للصخرة الأم وهذه النتيجة تتوافق مع ما ذكره Bell وBachman (2011).

**ب- الخصائص الكيميائية:**

يظهر الجدول 6 درجة حموضة التربة (pH)، وكربونات الكالسيوم في مواقع الدراسة ونسبة المادة العضوية (%) والملوحة (الناقلية الكهربائية EC) و محتوى التربة من العناصر الكبرى (N,P,K) في مواقع الدراسة.

**جدول 6. الخصائص الكيميائية لتربة مواقع الدراسة.**

| المواقع | pH | كربونات (0.5غ ) الكالسيوم(ml) | (µs) EC | المادة العضوية (%) | | (%) N | ppm) (P | (ppm) K |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **التل** | 8.32 | 61 | 281 | 1.72 | كاف | 0.051 | 9.03 | 221.03 |
| **منين** | 8.35 | 76.5 | 268 | 1.71 | كاف | 0.063 | 6.13 | 228.66 |
| **معربا أعلى** | 8.3 | 35 | 286 | 1.48 | كاف | 0.071 | 7.85 | 312.5 |
| **معربا أدنى** | 8.10 | 52.5 | 638 | 0.34 | منخفض | 0.022 | 6.7 | 190.55 |
| **الدريج** | 8.37 | 51.5 | 122.4 | 1.66 | كاف | 0.062 | 6.6 | 129.57 |
| **قاسيون** | 8.66 | 55 | 163.2 | 0.61 | منخفض | 0.033 | 4.75 | 114.33 |
| **الربوة** | 8.31 | 72.5 | 514 | 0.55 | منخفض | 0.034 | 11.03 | 137.2 |

يلاحظ أن رقم ال pH في تربة المواقع جميعها يميل إلى القاعدية، ويرجع ذلك إلى تداخل جملة من العوامل، ولا سيما الطبيعة الكلسية التي تميز جبال القلمون عموماً. كما لوحظ أن محتوى التربة من كربونات الكالسيوم (في 0.5غ من التربة) تتراوح بين 35 مل (معربا أعلى) و76.5 مل (منين)، ويرجع هذا التباين غالباً إلى خصائص الصخرة الأم من حيث المنشأ من جهة وإلى خصائص الموقع الموضعية على السفح من جهة أخرى. وهذه النتائج تتوافق مع خصائص ترب مناطق انتشار نبات الإيفدرا التي أشار إليها Mouterde (1966). تباينت نسبة المادة العضوية في ترب مواقع الدراسة متباينة بشكل واضح، وتراوحت بين 0.34% (معربا أدنى) و1.72% (التل A)، وقد يرجع انخفاض نسبة المادة العضوية في تربة معربا أدنى إلى التكشف الكبير للصخرة الأم الكلسية القاسية، وبالمقابل فإن الارتفاع النسبي للمادة العضوية في موقع التل يعود إلى النشاط الزراعي في الموقع. يلاحظ أن ترب المواقع جميعها تقع في حدود الترب غير المالحة، وإن عدم ملوحة التربة في عينات جميع المواقع يرجع غالباً إلى عدم ملوحة الصخرة الأم، والطبيعة التضريسية الجبلية ذات الانحدارات العالية نسبياً مع تكشف الصخرة الأم بنسب مرتفعة، الأمر الذي يساعد على انغسال الأملاح، وعموماً يتوافق ما تقدم أعلاه مع ما أشار إليه عبيدو (2000). تباينت نسبة الازوت الكلي في ترب المواقع المختلفة وتراوحت بين 0.022% (معربا أدنى) و0.071% (معربا أعلى)، وقد يرجع هذا التباين إلى تباين الترب في المواقع المختلفة بالمنشأ من جهة، والغطاء النباتي نوعاً وكماً من جهة أخرى، بالإضافة إلى تباين النشاطات البشرية المختلفة باختلاف المواقع.

أما ما يتعلق بمحتوى التربة من الفوسفور فيلاحظ أن معظم ترب المواقع كانت فقيرة بالفوسفور، إذ كان محتواها أقل من 8 ppm، باستثناء تربتي التل والربوة اللتين تعدان متوسطتي المحتوى من الفوسفور وقد يرجع ذلك إلى النشاط الزراعي والرعي في موقع التل، والنشاط السياحي (المطاعم) في موقع الربوة. وأخيراً يلاحظ تباين الترب من حيث محتواها من البوتاسيوم، فكانت ترب مواقع قاسيون و الدريج والربوة فقيرة بالبوتاسيوم (114.33 ppm، 129.57، 137.2 على التوالي)، في حين كان محتوى تربة موقع معربا أعلى من البوتاسيوم عالياً (312.5 ppm)، أما ترب باقي المواقع فكان محتواها من البوتاسيوم متوسطاً ولعل ذلك مرتبط بمنشأ تلك الترب من الصخرة الأم، وفعالية عمليات الحت والتعرية والترسيب المختلفة، إضافة إلى تباين النشاطات البشرية في المواقع.

### 1-4-العوامل الحيوية:

تتمثل العوامل الحيوية في منطقة البحث في جملة من النشاطات البشرية كالزراعة والرعي والاحتطاب وجمع النباتات الطبية والعطرية والسياحة. إضافة إلى النبت الطبيعي المرافق والحيوانات البرية وعلاقة تلك المكونات بعضها ببعض، وأثرها في انتشار ونمو نبات الإيفدرا ضمن مواقع منطقة الدراسة.

من خلال الجولات الحقلية في مواقع الدراسة لرصد نبات الإيفدرا في أطوار فينولوجية مختلفة تم رصد وتصنيف معظم الأنواع النباتية المرافقة والتي بلغ عددها في عموم منطقة البحث 101 نوعاً تنتمي بمجموعها إلى 70 جنساً، وتتبع لـ 32 فصيلة ويلاحظ أن الفصيلة النجمية (Asteraceae) تحتل المرتبة الأولى بين الفصائل، إذ تضم 23 نوعاً، يليها الفصيلة النجيلية (Poaceae)، وتضم 12 نوعاً. كما يلاحظ أن عدد الأنواع تباين بشكل كبير بين المواقع المدروسة إذ تراوح بين 17 نوعاً (في موقع الربوة) و62 نوعاً (في موقع قاسيون)، ويعود هذا التباين غالباً إلى تأثير جملة من العوامل أهمها الحماية والنشاط البشري والطبوغرافيا، ولا سيما الانحدار، وكذلك التكشفات الصخرية ودرجة تغطية التربة لأرض الموقع، وهذا يتوافق مع ما ذكره Mouterde (1966).

## 2-نتائج دراسة التوصيف الجزيئي:

### 1-2-التعددية الشكلية polymorphism:

تراوحت تراكيز الـ DNA بين 0.75- 1.35 g/mlµ وتراوحت نقاوة العينات بين 1.8- 2. ويبين الجدول 7 أن 12 بادئة من البادئات المستخدمة أعطت منتجات تضخيم في تفاعل البلمرة المتسلسل PCR ونجم عن استخدامها ما مجموعه 90 حزمة، وأعطت تعددية شكلية Polymorphic بلغت نسبتها 93.8 %، كما تراوح عدد الحزم لكل بادئة بين خمس حزم كأقل عدد مع البادئة ISSR36 و10 حزم كأعلى عدد مع البادئة ISSR4 بمتوسط قدره 7.5 حزمة، وكانت النسبة المئوية للتعددية الشكلية الأقل مع البادئة ISSR9 بمقدار50%، والأكبر مع البادئات ISSR2 وISSR4 وISSR15 و ISSR33 و ISSR34 و ISSR35 و ISSR36 و ISSR40 و ISSR41 بمقدار 100%. في حين لم تعط 6 بادئات منتجات تضخيم، كما تراوحت قيم معامل التعددية الشكلية (PIC) بين 0.281 عند البادئة ISSR15 و0.377 عند البادئة ISSR4، بمتوسط 0.361.

**جدول 7. رموز البادئات المستخدمة، وعدد الحزم الكلية والمتباينة، والنسبة المئوية للتعددية الشكلية (%) في المدخلات المدروسة.**

| اسم البادئ | عدد الحزم الكلية | عدد الحزم المتباينة شكليا | النسبة المئوية للتعددية الشكلية (%) | معامل التعددية الشكلية PIC |
|---|---|---|---|---|
| ISSR-2 | 8 | 8 | 100 | 0.373 |
| ISSR-4 | 10 | 10 | 100 | 0.377 |
| ISSR-9 | 6 | 3 | 50 | 0.371 |
| ISSR-14 | 9 | 8 | 88.9 | 0.372 |
| ISSR-15 | 7 | 7 | 100 | 0.281 |
| ISSR-32 | 8 | 7 | 87.5 | 0.370 |
| ISSR-33 | 6 | 6 | 100 | 0.372 |
| ISSR-34 | 7 | 7 | 100 | 0.370 |
| ISSR-35 | 9 | 9 | 100 | 0.371 |
| ISSR-36 | 5 | 5 | 100 | 0.363 |
| ISSR-40 | 7 | 7 | 100 | 0.345 |
| ISSR-41 | 8 | 8 | 100 | 0.368 |
| المجموع | 90 | 85 | | |
| المتوسط | 7.5 | 7.08 | 93.8 | 0.361 |

### 2-2- تحديد درجة القرابة الوراثية بين المدخلات المدروسة:

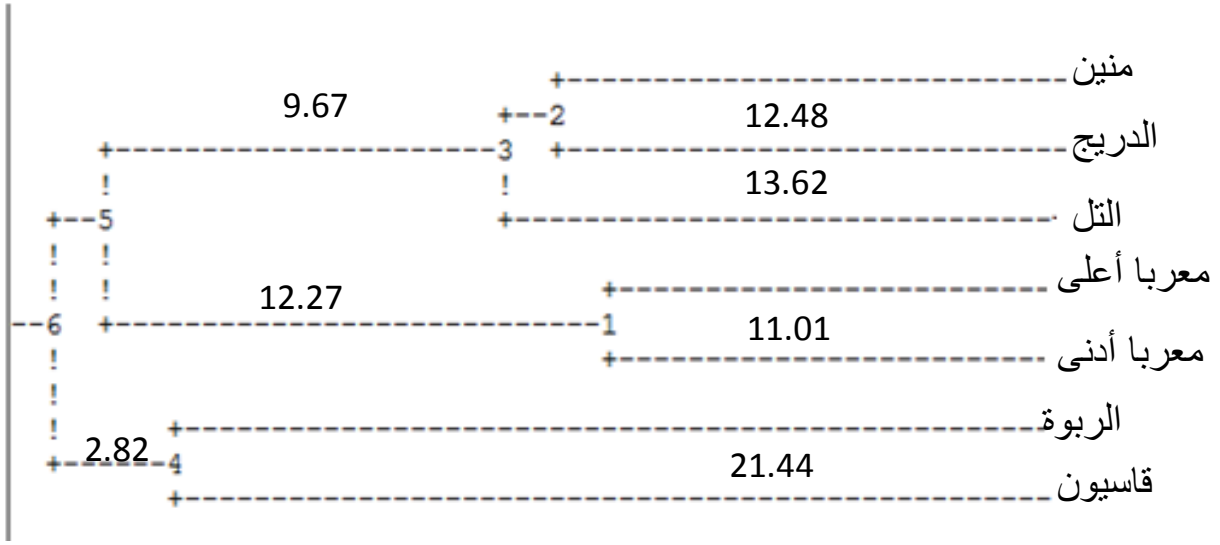
يلاحظ من الجدول (8) أن أقل قيمة لـمصفوفة النسب المئوية لعدم التوافق (PDV) هي **0.2202** بين الطرازين معربا أعلى و الربوة، وهذا يدل على أنهما على درجة كبيرة من القرابة الوراثية، بينما كانت أعلى قيمة لـ PDV **0.6477** بين الطرازين التل و معربا أدنى مما يدل على وجود تباين وراثي كبير بينهما حسب Nei (1972).

**جدول 8. مصفوفة النسب المئوية لعدم التوافق (PDV) بين المدخلات المدروسة بتطبيق تقنية ISSR حسب Nei (1987).**

| | عين منين | الدريج | التل | معربا أعلى | معربا أدنى | الربوة | جبل قاسيون |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **منين** | **0** | | | | | | |
| **الدريج** | **0.2647** | **0** | | | | | |
| **التل** | **0.2497** | **0.2800** | **0** | | | | |
| **معربا أعلى** | **0.4290** | **0.5423** | **0.3112** | **0** | | | |
| **معربا أدنى** | **0.4654** | **0.3272** | **0.6477** | **0.5831** | **0** | | |
| **الربوة** | **0.5625** | **0.4841** | **0.4654** | **0.2202** | **0.4841** | **0** | |
| **قاسيون** | **0.5831** | **0.3939** | **0.4841** | **0.5423** | **0.4290** | **0.343** | **0** |

### 2-3-التحليل العنقودي Cluster analysis (شجرة القرابة):

أجري التحليل العنقودي للنتائج التي تم الحصول عليها، وذلك لإنشاء شجرة القرابة الوراثية Dendrogram، وتحديد درجة القرابة الوراثية (الشكل 2).




**الشكل 2. التحليل العنقودي للطرز المدروسة باستخدام تقانة ISSR.**

من الشكل 2 انفصلت شجرة القرابة الوراثية إلى تحت عنقودين، ضم العنقود الأول العينات الربوة وجبل قاسيون بمسافة وراثية 21.44، بينما انفصل العنقود الثاني إلى تحت عنقودين ضم تحت العنقود الأول معربا أعلى ومعربا أدنى بمسافة وراثية 11.01 وكانا الأقرب وراثياً بين العينات المدروسة، في حين انقسم تحت العنقود الثاني إلى تحت عنقودين، ضم العنقود الأول عينات التل بمسافة وراثية 13.62، في حين ضم تحت تحت العنقود الثاني العينات المجموعة من منين والدريج بمسافة وراثية 12.48.

**الاستنتاجات**

1. يتوزع نبات الإيفدرا في عموم منطقة البحث بشكل غير منتظم، ويتركز في المواقع ذات الانحدارات العالية نسبياً (20-60%) والتكشفات الصخرية العالية ضمن الصدوع والشقوق.
2. يعيش نبات الإيفدرا في عموم منطقة البحث في ظروف مناخ جاف في نطاق الطابق البيومناخي الجاف البارد(Q=20.9).
3. ينمو نبات الإيفدرا في عموم منطقة البحث على ترب غير مالحة تميل للقاعدية (pH=8.1-8.66) وذات محتوىً من المادة العضوية يتراوح بين المنخفض والكافي (0.34 و1.72 %)، وذات محتوىً منخفض نسبياً من الآزوت الكلي (0.022 و0.071 %) والفوسفور (أقل من 8 ppm)، ومتباين من البوتاسيوم بين المنخفض والعالي (114.33 و312.5ppm).
4. يتأثر تجدد نبات الإيفدرا ونموه الخضري سلباً بالرعي في حين يملك قدرة كبيرة جداً على التجدد بعد الحريق.
5. يمتد فصل الإزهار بدءاً من تمايز البراعم الجنسية وحتى انتهاء الإزهار لمدة ثلاثة أشهر (من آذار/مارس حتى أيار/مايو).
6. رغم الطبيعة الحرجة لمواقع نبات الإيفدرا رافقته حاشية نباتية غنية نسبياً (101 نوعاً) تباينت بتباين المواقع.
7. أظهرت تقانة ISSR تعددية شكلية بلغت 93.8 %، ناتجة عن استخدام 20 بادئة، وبالتالي فعالية في التمييز بين عينات الإيفدرا المدروسة.
8. عكست شجرة القرابة الوراثية التوزع الجغرافي للعينات المدروسة (عنقود جنوبي غربي يضم مواقع قاسيون والربوة، وتحت عنقود جنوبي شرقي يضم مواقع معربا أعلى ومعربا أدنى، وتحت عنقود شمالي إلى شمالي شرقي يضم مواقع منين والدريج والتل).

**التوصيات والمقترحات**

1. التوسع في دراسة البيئة الذاتية والتوصيف الجزيئي لنبات الإيفدرا في مناطق انتشاره على مستوى القطر.
2. إعلان بعض مواقع انتشاره محميات طبيعية، ومحاولة اكثاره بذرياً وخضرياً.
3. العمل مستقبلاً على تحديد مواقع المورثات المسؤولة عن الصفات المهمة باستخدام QTLs وعزلها، والاستفادة منها في برامج التربية واستخدامها كآباء في عمليات التهجين لاختيار الآباء المتباعدة وراثياً ضمن كل مجموعة.

## المراجع


- أطلس التنوع الحيوي في سورية، 2001، الجمهورية العربية السورية، وزارة الدولة لشؤون البيئة، إدارة الموارد الطبيعية –وحدة التنوع الحيوي.
- أطلس النباتات الطبية والعطرية. المركز العربي، أكساد، 2012. ص278-280.
- الأطلس المناخي لسورية، 1977، المديرية العامة للأرصاد الجوية، وزارة الدفاع.
- الحكيم وسيم، 2012–2011، النباتات الطبية والعطرية، منشورات جامعة دمشق، كلية الزراعة.
- الخوري، أكرم. لاوند، سلام. الشاطر، زهير. القاضي، عماد. وقربيصة، محمد. 2014، دراسة جغرافية بيئية ووراثية لبعض جماعات اللوز العربي .*Prunus arabica* (Olivier) Meikle في البادية السورية.
- عبيدو، محمد. 2000، علم البيئة الحراجية ، منشورات جامعة دمشق.
- العودات، محمد؛ بركوده، يوسف.1979، نباتات سورية–البيئة والغطاء النباتي والأنواع الشائعة، مجلة علوم الحياة، دمشق.

- Bagnouls, F., Gaussen, H. (1953): Saison séche et indice xérothermique. Docum. Pour les Cartes des Prod. Vegel. Serie Generalité 1:1-49.
- Balazs, H., O. Opara-Nadib, & F. Beesea. (2005). Asimple method for measuring the carbonate of soil. Soil Soc. Am. J. 69, 1066-1068, DOI:10.2136/sssaj2004.0010.
- Baskent,E.Z.,S.Baskaya and S.Terzioglu.2009.Developing and Implementing the ecosystem based multiple use forest management planning approach (ETÇAP) in Turkey. In: Modelling, Valuing and

Managing Mediterranean Forest Ecosystems for non–timber goods and services. Palahi M. Birot Y. Bravo F. and Gorriz E.(eds.) , EFI Proeedings , 57 : 97 – 109.

- Bell, A. and Bachman, S. 2011. Ephedra alata. The IUCN Red List of Threatened Species 2011.
- Botstein, D.; R. L. White, M. Skolinek, and R.W. Davis. (1980). Constraction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. Am. J. Hum. Genet.
- FAO 2007. Methods of analysis for soils of arid and semi arid regions. Food and Agriculture Organization, Rome, Italy.
- Ghafoor S, Shah MM, Ahmad H.Molecular characterization of Ephedra species found in Pakistan.Genet Mol Res.2007.11:6(4)11 23–30.
- Jackson, M. L. (1958). "Soil chemical analysis". Prentice Hall Inc.Englewood Cliffe N J.pp 151-153 and 331-334.
- Lawyer, F.; S. Stoffel, R. Saiki, S. Chang, P. Landre, R. Abramson, and D. Gelfand. (1993). High-level expression, purification, and enzymatic characterization of full-length Thermusaquaticus DNA polymerase and a truncated from deficient in 5' to 3' exonuclease activity. PCR methods and applications, 2 (4): 275-287.
- Mouterde P.1966.Nouvelle Flore du Liban et de la Syrie.1T,Dar Al Mashreq, Beyrouth, Liban.
- Murray, M.G. and Thompson, W.F. (1980). Rapid isolation of high molecular weight DNA. Nucleic Acids Res 8: 4321-4325.
- Nei, M. 1987. Molecular Evolutionary Genetics. Columbia University Press, New York, NY.
- Nei, S. M.1972. Interspecific gene differences and evolutionary time estimated from electrophoretic data on.
- Nei, S.M. 1978. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. Genetics 89: 583–590. Newton, C.R. and Graham, A. (1994). PCR, edition, Bios Scientific Publisher Ltd., UK.
- Olsen SR., Cole C.V, Watanabe F.S and Dean L.A, 1995. Estimation of available phosphorus in soils by extraction with sodium bicarbonate. USDA Circ 939.
- Peech, M. (1965). Hydrogen-Ion activity. In C.A.Black (ed),methods of soil analysis, part 2,chemical and microbiological properties. American Soc.Ag.Madison, Wisconson pp.914-926.
- Quezel,P., R. Medail , R. Loisel and M.Barbero.1999.Biodiversity and conservation of forest species in the Mediterranean basin. Unasylv, 50, 197:11p.
- Rebecca Guenther1, Francis Gilbert. Vegetation and Grazing in the St.Katherine Protectorate, South Sinai, Egypt. Egyptian Journal of Biology.2005;7,55-66.
- Serwer, Ph. 1983. "Agarose gels: Properties and use for electrophoresis". Electrophoresis 4(6): 375-382. Doi: 10.1002/elps. 1150040602.
- Yeh, F.C., R.C. Yang and T. Boyle. (1999). POPGENE 32- version 1.31.Population Genetics Software.

**N° Ref: 1001**