



## دراسة جغرافية بيئية ووراثية لبعض جماعات اللوز العربي *Prunus arabica* (Olivier) Meikle في البادية السورية

### Geographical Ecological and Genetic Study of Some Arabian Almond *Prunus arabica* (Olivier) Meikle Populations in the Syrian Steppes

د. أكرم الخوري<sup>(1)</sup> د. زهير الشاطر<sup>(2)</sup> د. سلام لاوند<sup>(3)</sup> د. محمد قريبيصة<sup>(1)</sup> د. عماد القاضي<sup>(4)</sup>

- (1) قسم الموارد الطبيعية المتجددة والبيئة - كلية الزراعة - جامعة دمشق - سورية.
- (2) قسم الحراج و البيئة - كلية الزراعة - جامعة تشرين - سورية.
- (3) قسم المحاصيل - كلية الزراعة - جامعة دمشق - سورية.
- (4) كلية العلوم - جامعة دمشق - سورية.

#### الملخص

يُعد اللوز العربي *Prunus arabica* من أكثر الأنواع التابعة للجنس *Prunus* تحملاً للجفاف والقارية. يتعرض هذا النوع في القطر العربي السوري إلى تدمير موائله ورعي جائر أدى إلى تقلص رقعة انتشاره بشكل كبير وأصبح مهدداً بالانقراض، ما يشكل خسارة كبيرة للتراث الحيوي الوطني والإقليمي.

ينتشر اللوز العربي على شكل جماعات تحتوي كل منها على تجمع أو أكثر من مجموعة من الأفراد المتقزمة (على الأرومة نفسها). تمت دراسة جماعات هذا النوع في منطقة انتشاره الرئيسي في الجزء السفلي من وادي اللوزة في البادية السورية (قرب تدمر) خلال العام 2010، حيث تم قياس مساحة الافتراض، القطر والارتفاع السائدين وعدد الثمار وشدة الرعي لـ 114 تجمعاً (أرومة) تتوزع على حافتي المسيل المائي على مسافة 2 كم تقريباً. من ناحية أخرى، تم تحديد درجة القرابة الوراثية بين عدة طرز بيرية من اللوز العربي وأخرى من اللوز الوزالي *Prunus spartioides* وذلك باستخدام تقانة ISSR.

أظهرت النتائج تميز هذه التجمعات بأقطار وارتفاعات صغيرة (1.04 سم للقطر و 57.5 سم للارتفاع بالمتوسط) وبمساحات افتراض تصل حتى 15م<sup>2</sup>، كما أظهرت تعرض جميع الجماعات التي تم حصرها لرعي شديد (درجة 1)، وبلغ متوسط إنتاج الثمار 6.5 ثمرة في التجمع الواحد. من ناحية أخرى، أظهرت الدراسة الاحصائية ارتباط كل من قطر الأفرع السائدة وارتفاعها إيجابياً مع مساحة افتراض الجماعة الواحدة (\*\*)، وارتباط كل من مساحة الافتراض والقطر المتوسط سلبياً بالبعد عن المسيل المائي (\*\*). وإيجابياً بموقع الجماعة بالنسبة لهذا المسيل (أعلى أو أسفل المسيل) (\*\*). من جهة أخرى، تم حصر الأنواع النباتية المرافقة للوز العربي في موقع الدراسة.

أظهرت الدراسة تنوعاً وراثياً واضحاً على مستوى الموقع الواحد، وتباعداً وراثياً بين الطرز التي تعود للوز العربي والمجموعة من البادية السورية وتلك العائدة للوز الوزالي والمجموعة من ريف دمشق وأوصت بضرورة استمرار التحري عن انتشار اللوز العربي في مواقع أخرى، ولاسيما في المسيلات المائية بعد وضوح ارتباط وجود هذا النوع بذلك النمط من الموائل الحرجة، والحاجة الملحة لحماية هذه الجماعات بشكل كامل مع ضرورة التعمق في دراسة التنوع الوراثي لهذا النوع والعمل على حمايته.

**الكلمات المفتاحية:** اللوز العربي، البادية، التنوع الحيوي، التقانة الحيوية، الرعي، سورية.

## Abstract

In the Syrian steppe, the Arabian almond (*Prunus arabica*) is one of the most drought and continental conditions-tolerant species related to genre Prunu . This species suffers from high degree of overgrazing reducing largely the area of its spread and threatening its existence which can be considered as a national and regional loss of biological patrimony.

The populations of this species have been studied in its natural spread in the downer part of Al-loweizeh valley near Palmyra during 2010. Surface, dominant diameter and height, number of fruits and grazing intensity were measured in 114 groups of Arabian almond (population continues one or more groups and each group is constituted of many individuals having often the same stool) in the two sides of the valley along almost 2km.

The genetic relative degree between many wild genotypes of the Arabian and the spartioid *Prunus spartioides* almond has been determined utilizing the ISSR technique.

The results have showed small diameters and heights (1.04 cm for diameter and 57.5cm for height in average) with surfaces up to 15m<sup>2</sup>.

The study have also showed that all the populations suffer from overgrazing (degree1), while the number of fruits by population was 6.5 fruits in average.

Statistical analysis has showed a positive correlation (\*\*) between the surface of the population in one side and the diameter and height in the other side. It has also showed a negative correlation (\*\*) between the mean diameter and surface of the population and the distance from the valley, and a positive correlation (\*\*) with the location of the population along the river (up or down).

The study has showed a high degree of genetic diversity in the samples collected from the Syrian steppe (near Palmyra) and a genetic divergence between these samples and those collected in the country side of Damascus.

The study has recommended the necessity to continue exploring the presence of Arabian almond in other sites especially in the valleys since this species is correlated to such a habitat and the importance of comprehensive protection of these populations. The study also highlighted the importance of further study of the genetic diversity of this species and its conservation.

**KeyWords:** Arabian almond (*Prunus arabica* Olivier Meikle), ISSR technique, Biodiversity, Over grazing, Syrian Steppe.

## المقدمة

خضعت منطقة شرق المتوسط إلى ضغط بشري كبير خلال التاريخ فهي من أوائل المناطق التي بدأ الإنسان فيها بممارسة الزراعة وتربية الحيوان، وقد أدت النشاطات البشرية المختلفة 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 (Quézal وزملاؤه، 1999).

إزاء هذا الوضع بدأ الإنسان ينتبه إلى خطورة هذه الممارسات وبرزت بشكل واضح أهمية إعادة تقييم وضع التنوع الحيوي النباتي في شرق المتوسط بهدف إدارته بطريقة توقف من تدهوره وإعطائه الأهمية التي يستحقها، كما ازدادت الجهود الدولية الداعية إلى ضرورة صون التنوع الحيوي بعد التوقيع على اتفاقية التنوع الحيوي خاصة في ريو دي جانيرو عام 1992 على هامش مؤتمر الأمم المتحدة للبيئة والتنمية (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 اللوز العربي (*Prunus arabica* (Olivier) Meikle (= *Amygdalus Arabica*) من الأنواع التي تعرضت لضغط بشري مكثف في

مناطق انتشاره الطبيعي. ينتشر هذا النوع طبيعياً في جنوبي تركيا وشمال غربي إيران وغربي العراق وفي بعض أجزاء لبنان وفلسطين والأردن وسورية (Zohary و Browicz، 1996)، كما يمتد نطاق انتشار هذا النوع في المنطقة العربية جنوباً حتى أطراف الخليج العربي وخليج عمان (في منطقة مسندم وجزء من جبل هجار)، حيث يظهر نبت جفاً في مشترك بين فلورا الصحاري العربية والفلورا الإيرانية الطورانية.

أما في سورية فقد أشار Mouterde (1966)، إلى وجود اللوز العربي في البادية السورية باسم *Amygdalus arabica* Oliv. قرب تدمر في حين أشار إلى نوع آخر مشابه هو اللوز الوزالي باسم *Amygdalus spartioides* Sp. في سوق وادي بردى والزبداني، في حين عُد النوعان نوعاً واحداً في أغلب الدراسات التصنيفية لجنس اللوز (Zohary و Browicz، 1996، Scocias i Company، 1998).

من ناحية أخرى، أظهرت تحريات شلبي وزملائه (1997) وجود اللوز العربي في البادية السورية على طريق تدمر السبع بيار ووادي شمال بئر العلنية ومنطقة خنيفيس على تربة رملية حصوية متوضعة على أطراف أحد الوديان ومجاري المياه الموسمية

يعد الجنس *Prunus* من الأجناس المعقدة من الناحية التصنيفية بسبب وجود ظاهرة التعدد الشكلي *Polymorphism* وبسبب مرونته البيئية العالية (Donmez و Yildirimli، 2000). وقد تباينت وجهات نظر المصنفين بالنسبة للوضع التصنيفي للجنس *Prunus*، والاتجاه الحديث (Lee و Wen، 2001) يقسمه إلى خمسة تحت أجناس (يعاملها البعض كأجناس مستقلة ضمن الفصيلة الوردية *Rosaceae*).

يتميز الجنس *Prunus* باحتوائه على أنواع ذات أهمية اقتصادية وبيئية كبيرة (Bortiri وزملاؤه، 2002)، وينتشر أغلبها في المناطق نصف الجافة (Donmez و Yildirimli، 2000).

يُعد اللوز العربي من أكثر الأنواع التابعة للجنس *Prunus* تحملاً للجفاف والقارية في سورية، ويمكنه العيش على الترب الحصوية المتوضعة على أطراف المسيلات إلا أن رقعة انتشار هذا النوع قد تقلصت بشكل كبير لتقتصر على حواف بعض المسيلات المائية وذلك على شكل جماعات محدودة المساحة. لقد أدى النشاط البشري المكثف الذي يتعرض له هذا النوع، ولاسيما الرعي الجائر إلى تقلص رقعة انتشاره بشكل كبير في سورية وأصبح مهدداً بالانقراض بشكل فعلي ما يتطلب صونه والمحافظة عليه.

وبهدف الإسهام في حل الإشكالات التصنيفية المرتبط باعتماد كل من اللوز العربي واللوز الوزالي نوعاً واحداً أم نوعين مستقلين تم اللجوء إلى دراسة التعدد الشكلي لـ DNA باستخدام تقانة ISSR.

تعد تقانة التتابع الترادفية البسيطة الداخلية (Inter Simple Sequence Repeats- ISSR) واحدة من التقانات المهمة المعتمدة على التفاعل التسلسلي البوليميري (Polymerase Chain Reaction- PCR) وقد طبقت من قبل Ziekiewicz وزملائه (1994) وهي مؤشرات جزيئية مثالية للأسباب التالية:

- تضخم منطقة التتابع الترادفية البسيطة ويستخدم بادئ وحيد ومؤلف من قطع متكررة ومحاط في بعض الأحيان بـ 2 إلى 4 نيكلوتيدات إما في المنطقة 3' أو 5'. وتوصف تقانة ISSR بأنها أكثر تكرارية من تقانة RAPD بسبب طول البادئ المستخدم والذي يعكس درجة حرارة عالية لمرحلة تشفع البادئات (Borent و Branchard، 2001؛ Chowdhury وزملاؤه، 2002).

- إمكانية الكشف عن التتابعات النيكلوتيدية ذات السيادة في التوريث.

- وفرتها ووجودها في مجينات حقيقيات النوى النباتية ولا تحتاج إلى معلومات عن التسلسل الجيني المدروس (Tautz و Renz، 1984؛ Kijas وزملاؤه، 1995).

- نتائجها ثابتة وسريعة عند تكرارها، كما أنها تتطلب كمية قليلة من الحمض النووي DNA، ويمكن أتمتها Automation حيث يمكن نشر البادئات وتبادلها بسهولة بين المخابر بمجرد معرفة التسلسل النيكلوتيدي لها. وتكشف نسباً عالية من التعددية الشكلية *polymorphism* وبمقدرة تقانة SSR نفسها، واستخدمت لدراسة التنوع الوراثي في البطاطا (Boret وزملاؤه، 2002)، والشعير (Ferández وزملاؤه، 2002) والررز (Joshi وزملاؤه، 2000) والقمح (Ogihara و Nagaoka، 1997).

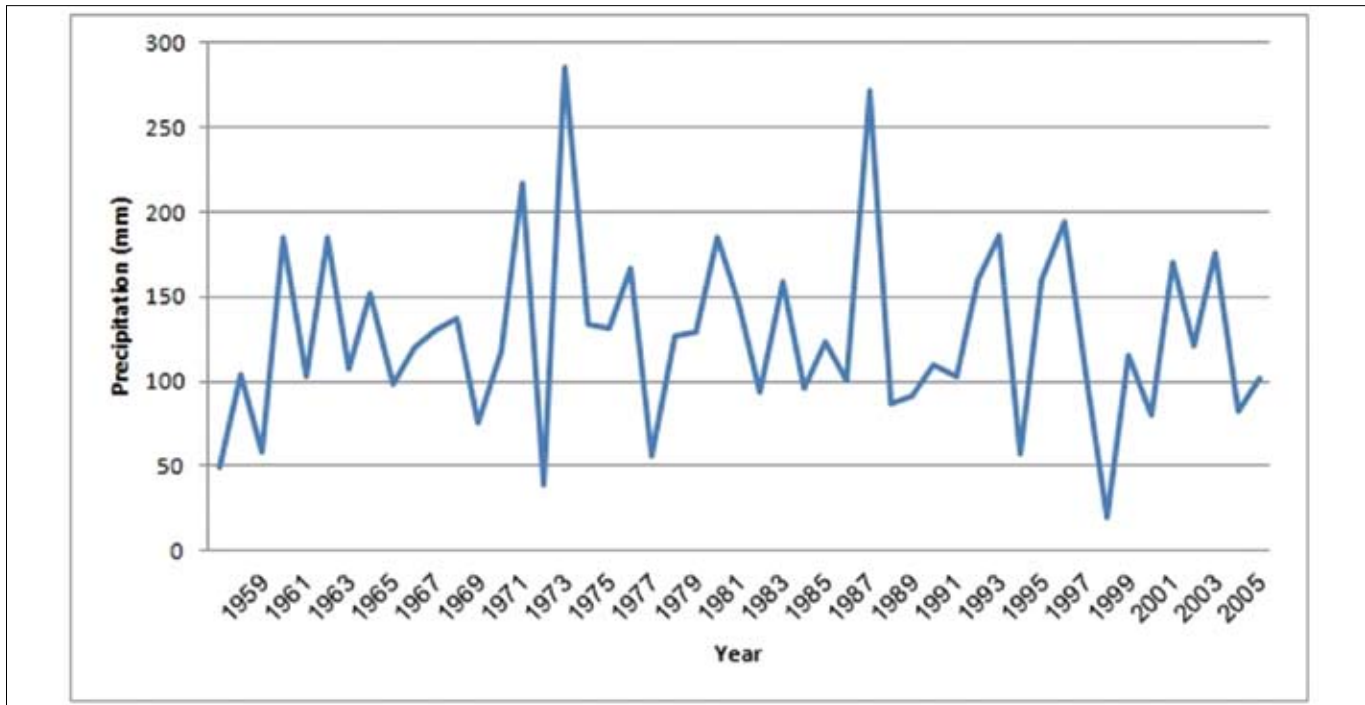
تتناول أغلب الدراسات المتعلقة باللوز العربي الوضع التصنيفي للوز بشكل عام ضمن العائلة الوردية (Zohary و Browicz، 1996) إضافة لإكثاره واستخدامه كأصل للتطعيم (Abu-Laila، 1995؛ Khalil و Al-Eisawi، 2000)، في حين أن الدراسات التي تهتم بدراسة الناحية البيئية والوراثية للوز بشكل عام واللوز العربي بشكل خاص، أي دراسة المجتمعات النباتية التي ينمو بها ووضعها كنوع مهدد، قليلة جداً إن لم تكن نادرة. انطلاقاً من ذلك يهدف البحث إلى حصر أهم المواقع التي ينتشر فيها اللوز العربي في سورية ودراسة وتوصيف تجمعاته وطريقة توزيعه في بيئته وأهم الأنواع النباتية المرافقة له، إضافة لتحديد درجة القرابة الوراثية بين عينات من اللوز العربي تم جمعها من موقع وادي اللوز قرب تدمر وأخرى من اللوز الوزالي تم جمعها من وادي الدريج ومعرونة شمال دمشق وذلك باستخدام تقانة ISSR.

يندرج هذا البحث ضمن دراسة يقوم بها المركز العربي لدراسة المناطق الجافة والأراضي القاحلة (أكساد) بهدف حصر أماكن انتشار نبات اللوز العربي والتعرف على وضعه البيئي الحالي بهدف حمايته وزيادة مساحة انتشاره في المستقبل تماشياً مع أهداف الاتفاقية الدولية للتنوع الحيوي.

## مواد البحث وطرائقه

### 1-مواقع الدراسة

تم البحث عن وجود اللوز العربي في بعض الأودية والمسيلات المائية القريبة من تدمر في البادية السورية وفي وادي الدريج ومعرونة قرب دمشق. تم التوسع في دراسة جماعات اللوز العربي من الناحية البيئية في الجزء الأسفل من موقع وادي اللويزة جنوبي تدمر الذي يتميز بوجود بارز لهذا النوع مقارنةً بالمواقع الأخرى التي تم رصدها وهو عبارة عن مسيل مائي مؤقت عرضه 30 إلى 40 م يرفده مسيل أقل عرضاً (5م). يتراوح الارتفاع عن سطح البحر بين 425م في أسفل المسيل و457م في أعلى منطقة تم إجراء الكشف فيها. يتميز مناخ المنطقة بكونه قاري جاف وتظهر المعطيات المناخية لمحطة تدمر خلال الفترة (1958 إلى 2008) معدلاً منخفضاً من الهطول المطري السنوي بشكل عام (135 ملم)، وتتفاوت كمية الهطول سنوياً بشكل كبير مع وجود سنوات جافة وسنوات أخرى نادرة الهطول (الشكل 1). تربة الموقع رملية سلتية - حصوية ضعيفة المحتوى من المادة العضوية ويوضح الجدول 1 التحليل الفيزيائي والكيميائي للتربة في الموقع المدروس.



الشكل 1. كميات الهطول السنوي خلال الفترة (1958 إلى 2008) في محطة تدمر المناخية (المصدر: وزارة الدولة لشؤون البيئة، 2009).

### الجدول 1. التحليل الفيزيائي والكيميائي للتربة في الموقع المدروس.

| قوام التربة   | التحليل الميكانيكي للتربة (%)<br>من وزن التربة |      |      | المادة<br>العضوية<br>(%) | الكربون<br>العضوي<br>(%) | متاح K<br>(مغ / كغ) | متاح P<br>(مغ / كغ) | ECe<br>(ds/m) | PH  | عجينة مشبعة                       |
|---------------|--|------|------|--------------------------|--------------------------|---------------------|---------------------|---------------|-----|-----------------------------------|
|               | طين  | سلت  | رمل  |                          |                          |                     |                     |               |     |                                   |
| رملية - سلتية | 11.2   | 20.4 | 68.4 | 0.30                     | 0.17                     | 206.5               | 7.53                | 2.79          | 7.9 | سطح التربة<br>على جانبي<br>المسيل |
| رملية - سلتية | 19.2   | 18.4 | 62.3 | 0.45                     | 0.26                     | 254.6               | 19.57               | 0.56          | 8.4 | 0 إلى 25 سم                       |
| غضارية        | 41.2   | 29.4 | 29.4 | 0.60                     | 0.35                     | 408.4               | 16.58               | 1.63          | 7.8 | 25 إلى 55 سم                      |

## 2-التوصيف البيئي لجماعات اللوز العربي في موقع وادي اللويزة



الشكل 2. جماعة مكونة من ستة تجمعات (أرومات) من اللوز العربي على حافة المسيل المائي.



الشكل 3. إحدى جماعات اللوز العربي المكونة من تجمع واحد معرض لرعي شديد.

يوجد اللوز العربي في هذا الموقع ضمن جماعات شجيرية متقزمة (نتيجة تعرضها للرعي الجائر) ناتجة عن غياب الساق الرئيسية ونمو الأفرع الجانبية فوق سطح الأرض، وهي ذات مساحات افتراش مختلفة.

تتوزع هذه الجماعات نفسها على حافتي المسيل على شكل تجمعات (التجمع هو مجموعة من الأفراد من الأرومة نفسها) يتراوح عددها بين تجمع واحد منفرد (أرومة واحدة) و17 تجمعاً (أرومة) بمتوسط قدره حوالي 7 تجمعات (أرومات) في الجماعة الواحدة (الشكل 2).

تم قياس البيانات التالية في كل تجمع من الجماعات المدروسة:

- الاحداثيات والارتفاع عن سطح البحر.
- البعد عن المسيل المائي.
- مساحة افتراش التجمع: من خلال قياس قطر افتراش التاج من جهتين متعامدتين.
- الارتفاع السائد (ارتفاع أعلى فرع في التجمع).
- متوسط القطر عند القاعدة لأكثر 3 أفرع في التجمع.
- عدد الثمار: وذلك في التجمعات التي تم قياسها قبل النضج فقط نظراً لاحتمال تعرضها للتجمع أو للسقوط بعد ذلك مع الإشارة إلى استمرار ملاحظتها وجمعها في الكشوف التي تمت لاحقاً.
- شدة الرعي: حيث تم وضع مقياس بأربع درجات:
  1. شديد: أكثر من 50% من أفرع التجمع متعرضة للرعي (الشكل 3).
  2. متوسط: 25 إلى 50% من أفرع التجمع متعرضة للرعي.
  3. ضعيف: أقل من 25% من أفرع التجمع متعرضة للرعي.
  4. معدوم: لا يوجد رعي.

## 3-القربا الوراثية بين بعض المجتمعات المدروسة

- تم تحديد درجة القرابة الوراثية بين عدة أفراد برية من اللوز العربي جُمعت من مجتمعات مختلفة على المسيل نفسه وأخرى للوز الذي تم جمعها من وادي الدريج ومعرونة شمالي دمشق (الجدول 2) وذلك باستخدام تقانة ISSR في مخبر المركز العربي لدراسات المناطق الجافة والأراضي القاحلة (أكساد).

- تم استخلاص الحمض الريبي النووي DNA باستخدام Kit (Qiagene) .

- تم التقدير الكمي والنوعي للحمض النووي DNA بواسطة الأشعة فوق البنفسجية: لتقدير كمية الحمض النووي DNA وتحديد نقاوته حيث يعتمد الجهاز في عمله على قياس كمية الحمض النووي الموجودة عن طريق تقديره لامتصاص الحمض النووي DNA للأشعة فوق البنفسجية بموجات طولها 260 و280 نانومتر. حيث ذكر Maniatis وزملاؤه (1982) أن النسبة بين قراءة الموجة 260 نانومتر والموجة 280 نانومتر (OD 260 / OD 280) تساعد على تقدير نقاوة الحمض النووي إذ يجب أن تتراوح هذه النسبة بين 1.8-2. ثم مددت عينات الـ DNA للحصول على تركيز 25 نانوغرام / ميكرو لتر كما تم التقدير النوعي على هلامة Agaros، إذ يظهر الحمض النووي DNA ذو النوعية الجيدة على شكل حزمة (Band)، بينما يكون الحمض النووي DNA سيء النوعية مبعثراً وغير واضح الحدود (Smear).

تعتمد تقانة ISSR (Inter Simple Sequence Repeats)، المطبقة لإجراء الدراسة الجزيئية، بشكل أساس على تفاعل البلمرة المتسلسل (PCR) Polymerase Chain Reaction وتتميز هذه التقانة عن التقانات الأخرى بسهولة وسرعتها فهي لا تتطلب وقتاً طويلاً (Williams وزملاؤه، 1990) بالإضافة إلى ما تملكه هذه من وثوقية وتخصصية عالية كونها تحتاج لبادئات ذات عدد أسس كبير ويتم بهذه التقانة تضخيم الحمض النووي DNA حيث يتم خلال تفاعل البلمرة إكثار قطعة من الحمض النووي DNA والحصول على عدد كبير من السلاسل الجديدة وذلك بعدد من الدورات يصل

الجدول 2. مواقع العينات المجموعة.

| رقم العينة | المكان الذي جمعت منه العينات في المنطقة المدروسة                   |
|------------|--|
| 1          | وسط المسيل   |
| 2          | 500م عن الأولى باتجاه أعلى المسيل                                  |
| 3          | 100م عن الثانية باتجاه الجنوب                                      |
| 4          | منتصف المسيل، 300م عن الثالثة باتجاه أعلى المسيل (متعرضة لري ضعيف) |
| 5          | 300م عن الرابعة باتجاه أعلى المسيل (تتميز بأفرع طويلة)             |
| 6          | 200م عن السابقة جنوب المسيل  |
| 7          | 100م عن السابقة  |
| 8          | 500م عن السابقة وسط المسيل   |
| 9          | أعلى المسيل  |
| 10         | معرونة حفير  |
| 11         | وادي الدريج (شمال)   |
| 12         | وادي الدريج (جنوب)   |
| 13         | وادي الدريج (قرب الطريق)   |

الجدول 3. التسلسل النكليوتيدي للبادئات المختبرة في تقانة ISSR ودرجة الالتحام.

| الرقم | التسلسل النكليوتيدي للبادئات | درجة الالتحام (°م) |
|-------|------------------------------|--------------------|
| 1     | AGAGAGAGAGAGAGAGC            | C 52°              |
| 2     | GAGAGAGAGAGAGAGAT            | C 50°              |
| 3     | CTCTCTCTCTCTCTG              | C 52°              |
| 4     | CACACACACAACAG               | C 48°              |
| 5     | TCTCTCTCTCTCTCTCC            | C 52°              |
| 6     | TGTGTGTGTGTGTGTGAA           | C 52°              |
| 7     | TGTGTGTGTGTGTGTGG            | C 52°              |
| 8     | ACACACACACACACCGG            | C 56°              |
| 9     | CACACACACACACAAT             | C 52°              |
| 10    | CACACACACACACAAC             | C 54°              |
| 11    | CACACACACACACAGT             | C 54°              |
| 12    | CACACACACACACAGAC            | C 58°              |
| 13    | GGTCACACACACACACAC           | C 56°              |
| 14    | CGTCACACACACACACAC           | C 56°              |
| 15    | CAGCACACACACACACAC           | C 56°              |
| 16    | CAGCTCTCTCTCTCTCTC           | C 58°              |
| 17    | CTCTCTCTCTCTCTCTG            | C 68°              |
| 18    | CACCACCACCACCACCACCT         | C 72°              |
| 19    | GTCACCACCACCACCACCAC         | C 76°              |
| 20    | AGAGAGAGAGAGAGAGT            | C 50°              |

حتى (40) دورة.

أجري اختبار 22 بادئة تم الحصول عليها من الهيئة العامة للطاقة الذرية في سورية بتركيز (10 Micromole) كما استخدم (2 X PCR Master Mix) الذي تم الحصول عليه من شركة (Fermentas, Germany) الحاوي على المكونات التالية: Taq-Polymerase, (dNTPs MgCl<sub>2</sub>) ويوضح الجدول 3 التسلسل النكليوتيدي للبادئات المستخدمة في الدراسة.

ويتم هذا التفاعل في جهاز التدوير الحراري من شركة APOLLO (USA)، موديل ATC401 وفقاً للظروف التالية:

1- الانفصال: عند درجة حرارة 94 م° مدة 5 دقائق ليتم انفصال سلسلي الحمض النووي DNA.

2- 35 دورة تتضمن كل منها المراحل التالية:

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

الالتحام: عند حرارة 51 م° لمدة دقيقة واحدة.

الاستطالة: عند حرارة 72 م° لمدة دقيقة.

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

ثم تحفظ العينات في درجة حرارة 4 م° لتفصل الحزم بعدها بالترحيل على هلامة الأغاروز (Agarose).

4- الرحلان الكهربائي والتلوين والتصوير حيث يتم

الترحيل على هلامة الأغاروز 2% بمرور حقل كهربائي قدره

100 فولت ولمدة ساعتين ونصف وذلك لفصل حزم الحمض

النووي DNA الناتجة عن التضخيم ثم تضاف 5 µl من صبغة

الايثيديوم برومايد (50 mg/ml) كما يتم حقن عينة من مؤثر الحمض النووي (DNA) 100-bp من شركة (Fermentas Germany) وذلك

لتحديد الحجم الجزيئي للحزم الناتجة ليتم بعد ذلك الترحيل. بعد ذلك يتم تصوير الهلامية بجهاز تصوير هلامية الآغاروز (AgleEye II Staratagene) وبعد أن يتم التأكد من نوعية وكمية الحمض النووي (DNA) يتم تمديدها بالشكل الصحيح ونبدأ باستخدام التقانة اللازمة لتضخيم الحمض النووي (DNA) ودراستها بالاعتماد على التفاعل التسلسلي البوليميري PCR (Polymerase Chain Reaction-PCR-based methods).

### التحليل الإحصائي للبيانات:

تم حساب المتوسطات باستخدام برنامج Excel وتم قياس شدة الارتباط بين العوامل المختلفة باستخدام معامل ارتباط الصفوف ل سبيرمان (Wonnacott و Wonnacott ، 1995 ، Falissard ؛ 1998).

تم تحديد وإعطاء رمز للعبء الحرجة التي لا يكون هناك ارتباط عندها وهي:

لا يوجد ارتباط  $p > 0.05$ ، ارتباط معنوي:  $p \leq 0.05$  (\*)،  $p \leq 0.01$  (\*\*)،  $p \leq 0.001$  (\*\*\*) .

تم تنفيذ هذا الاختبار باستخدام البرنامج الإحصائي SPSS.

فيما يخص الدراسة الجزيئية فقد جمعت نتائج عملية التضخيم في جداول اعتماداً على مقارنة وجود أو غياب حزم الحمض النووي DNA بين النباتات التي جمعت من المواقع المختلفة، حيث أعطي الرقم (1) عند وجود حزمة الحمض النووي DNA والرقم (0) عند عدم وجود الحزمة، ذلك يتضمن الحزم الواضحة فقط وقد نظمت الجداول لكل بادئة على حدة، ورسمت شجرة القرابة الوراثية (Dendrogram) بتطبيق متوسطات المجموعات الزوجية غير المزانة (UPGMA) Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Averaging باستخدام برنامج Pop gene 1.31 الإحصائي حيث استخدم هذا التحليل لحساب المسافة الوراثية (Nie، 1972).

## النتائج والمناقشة

### 1- حصر مواقع انتشار اللوز العربي

تم العثور على اللوز العربي في موقع وادي اللوزة جنوبي تدمر بشكل أساس (قبل تدمر بـ 15 كم تقريباً باتجاه الشرق)، وهو مسيل مائي يتجه من الشمال إلى الجنوب بعرض يبلغ متوسطه 35 م تقريباً، ويتقاطع مع الطريق المؤدية إلى مركز إكثار النخيل في الموح. تم كذلك العثور على جماعات قليلة منه في عدة مسيلات أخرى تقع قبل المسيل المذكور باتجاه طريق دمشق- تدمر (3435173:N ; 03819167:E) كما يوجد جماعات منه في مسيل آخر يقع بالقرب من الطريق العام دمشق- تدمر وإلى اليسار منه قبل مفرق الصوانة بـ 2 كم تقريباً. من ناحية أخرى، تم العثور على بعض الأفراد من اللوز الوزالي في وادي الدريج ومعرونة شمالي دمشق. تم توصيف الجماعات الموجودة على جانبي المسيل الأساسي من الناحية البيئية في حين تمت دراسة القرابة النباتية بين عينات مجموعة من جميع المواقع المدروسة.

### 2- التوصيف البيئي لجماعات اللوز العربي في موقع

#### وادي اللوزة

يوجد اللوز العربي في موقع وادي اللوزة في جماعات تحوي كل جماعة منها تجمعاً أو أكثر من الأفراد، وينشأ كل تجمع من هذه التجمعات عن نمو أفرع عديدة على الأرومة نفسها غالباً مع غياب الساق الرئيسية نتيجة الرعي الذي لا يسمح ببروز وسيادة هذه الساق.

بلغ عدد التجمعات التي تم قياسها 114 تجمعاً على جانبي المسيل على امتداد 2 كم تقريباً. يدل وجود هذه التجمعات على حافتي المسيل المائي على أهمية الرطوبة الأرضية لهذا النوع.

تراوحت مساحة الافتراش التي يحتلها التجمع الواحد بين عدة سنتمترات مربعة في حال وجود فرع واحد لنبات قتي في التجمع، وحوالي

15 م<sup>2</sup> عند وجود تجمع كبير من هذه الأفراد وبلغ متوسط هذه المساحة لجميع التجمعات المقاسة (1.5 ± 0.4 م<sup>2</sup>). أظهرت المشاهدات الشخصية ظهور أفرع ناتجة عن نموات جذرية ما يستدعي التفكير بإمكانية إكثار هذا النوع خضرياً بالعقل الجذرية (الشكل 4).

الشكل 4. الأفرع الناتجة عن النموات الجذرية.



تراوح قطر الأفرع السائدة في كل تجمع بين 0.2 و 2.3 سم بمتوسط قدره  $1.04 \pm 0.1$  سم كما تراوح الارتفاع السائد للتجمع الواحد بين 10 سم و 130 سم بمتوسط قدره  $57.5 \pm 4.8$  سم علماً أن هذا الارتفاع غير ثابت إذ يعطي اللوز العربي أفرعاً حديثة طويلة لكنها سرعان ما تتعرض للرعي، فقد أظهرت الدراسة تعرض جميع الجماعات التي تم حصرها لرعي قوي (درجة 1) إلا في بعض الأماكن النادرة المرتفعة والواقعة على حافة المسيل التي لا تستطيع الحيوانات الوصول إليها والتي وصل طول الفرع بعمر سنة فيها حتى 140 سم في نهاية الموسم.

تراوح عدد الثمار في التجمع الواحد بين 5 و 12 ثمرة بمتوسط قدره  $6.5 \pm 2$  ثمرة مع الإشارة إلى أن المتوسط قد تم حسابه بالنسبة للتجمعات التي تمت دراستها قبل نضج الثمار أي في بداية الصيف فقط وعددها 12 تجمعاً نظراً لتساقط الثمار عند النضج ويعد هذا الانتاج من الثمار جيداً بالنسبة للتهديد الذي تتعرض له هذه الجماعات.

أظهرت الدراسة الاحصائية وجود ارتباط معنوي قوي (\*\*\*) بين متوسط القطر للأفرع السائدة وارتفاع هذه الأفرع، كما أظهرت وجود ارتباط معنوي قوي (\*\*\*) بين مساحة افتراش التجمع الواحد وارتفاع هذه الأفرع.

من ناحية أخرى لم يتأثر عدد الثمار في التجمع الواحد بالقطر المتوسط أو بالارتفاع السائد، في حين تأثر هذا العدد ايجابياً بشكل قوي (\*\*\*) بمساحة افتراش التجمع الواحد، وهذا يدل على فتوة الجماعات وحيويتها العالية.

أظهرت الدراسة وجود علاقة ارتباط سلبية ولكنها غير معنوية بين كل من مساحة الافتراش والقطر المتوسط والارتفاع السائد من جهة، والبعد عن المسيل المائي من جهة أخرى. يمكن تفسير عدم معنوية هذا الارتباط بكون البعد عن المسيل المائي يصبح عاملاً محددًا بعد مسافة معينة أي يختفي عندها النوع بشكل كامل، هذا فضلاً عن تأثير الرعي الجائر الذي يُضعف أثر عامل البعد عن حافة المسيل.

أظهرت الدراسة كذلك وجود ارتباط معنوي سلبي قوي (\*\*\*) بين موقع التجمع بالنسبة للمجرى المائي (أعلى أو أسفل المجرى) من جهة وبين مساحة

#### الجدول 4. الأنواع النباتية المرافقة للوز العربي في مواقع الدراسة.

| الاسم العربي   | الأسم العلمي  |
|--|---|
| القيصوم  | <i>Achillea fragrantissima</i> (Forssk.)Sch.        |
| الختمية الدمشقية   | <i>Alcea damascena</i> Mouterd                      |
| العاقول المغربي-العاكول-الحاج                                  | <i>Alhagi maurorum</i> Medik.                       |
| الشبح العشبي الأبيض  | <i>Artemisia herba-alba</i> Asso.                   |
| القطف الملحي - الرغل   | <i>Atriplex halimus</i> L.                          |
| خردل بري - اليهق   | <i>Brassica tournefortii</i> Gouan                  |
| الحنظل   | <i>Citrullus colocynthis</i> (L.) Schrad.           |
| العلندی-الايفيدرا المجنحة                                      | <i>Ephedra alata</i> Decaisne                       |
| حلاب   | <i>Euphorbia cheiradenia</i> Boiss.                 |
| محبة الجبس مثقوبة الورق  | <i>Gypsophila perfoliata</i> L.                     |
| الزريقاء الأوربية- السكران-عفن                                 | <i>Heliotropium lasiocarpum</i> Fischer & C. A. Mey |
| أم لبيدة - أم وجع كبد  | <i>Herniaria hirsuta</i> L.                         |
| الخافور-الشعير البري-شويرب                                     | <i>Hordeum glaucum</i> Steud.                       |
| قنبوع-كوليريا  | <i>Koeleria cristata</i> (L.) Bertol.               |
| الخبيزة المصرية  | <i>Malva aegyptia</i> L.                            |
| حرمل   | <i>Peganum harmala</i> L.                           |
| الربل البيضوي-لسان الحمل البيضوي-القطونة-القريظة-الزياد-الينمة | <i>Plantago ovata</i> Forssk.                       |
| الخرينبية-خرنوب الماعز-ينبوت                                   | <i>Prosopis farcta</i> (Banks) Macbride.            |
| الروثا   | <i>Salsola vermiculata</i> L.                       |
| براقيم-نويمية  | <i>Salvia lanigera</i> Poir.                        |
| الركيجة-النعيمة-الركيشة-زريع-منشقة العصافة العربية             | <i>Schismus arabicus</i> Nees.                      |
| الجعدة الرمادية  | <i>Teucrium polium</i> L.                           |



افتراض التجمع وقطره المتوسط من ناحية أخرى، أي أن التجمعات الموجودة في أسفل المجرى كانت مساحتها أكبر وأقطارها أضخم من تلك الموجودة في أعلى المجرى، في حين لم يلحظ أي ارتباط بين موقع التجمع بالنسبة للمجرى المائي والارتفاع السائد، وهذا يمكن أن يعزى لتأثير الارتفاع بعوامل أخرى أهمها الرعي الجائر، فضلاً عن تأثير الجسر المقام أسفل موقع الدراسة والذي عرقل نسبياً حركة المياه والحصى في المسيل وبالنتيجة زيادة التغذية الأرضية المائية. أما بالنسبة للأنواع المرافقة للوز العربي والتي شملت أغلب الكشوف المنفذة في مواقع الدراسة فقد تمت جدولتها (الجدول 4).

### 3- التحليل الجزيئي

-التعددية الشكلية Polymorphism الناتجة عن تطبيق تقانة ISSR:

تضمنت الدراسة اختبار 22 بادئة حيث أعطت 17 بادئة منتجات تضخيم في تفاعل البلمرة المتسلسل ولم تعط 5 بادئات منتجات تضخيم، وقد أثبتت البادئات المستخدمة فعاليتها في إعطاء تعددية شكلية بين الأنواع المدروسة، ونجم عن استخدام هذه البادئات ما مجموعه 174 أنيلاً (قريباً)، حيث أعطت جميع هذه البادئات تعددية شكلية (Polymorphic) وكانت نسبة التعددية 96.19%، كما تراوح عدد الحزم لكل بادئة بين 3 حزم كأقل عدد مع البادئة (P13) و20 حزمة كأعلى عدد مع البادئة (P28) كما هو مبين في الجدول 5.

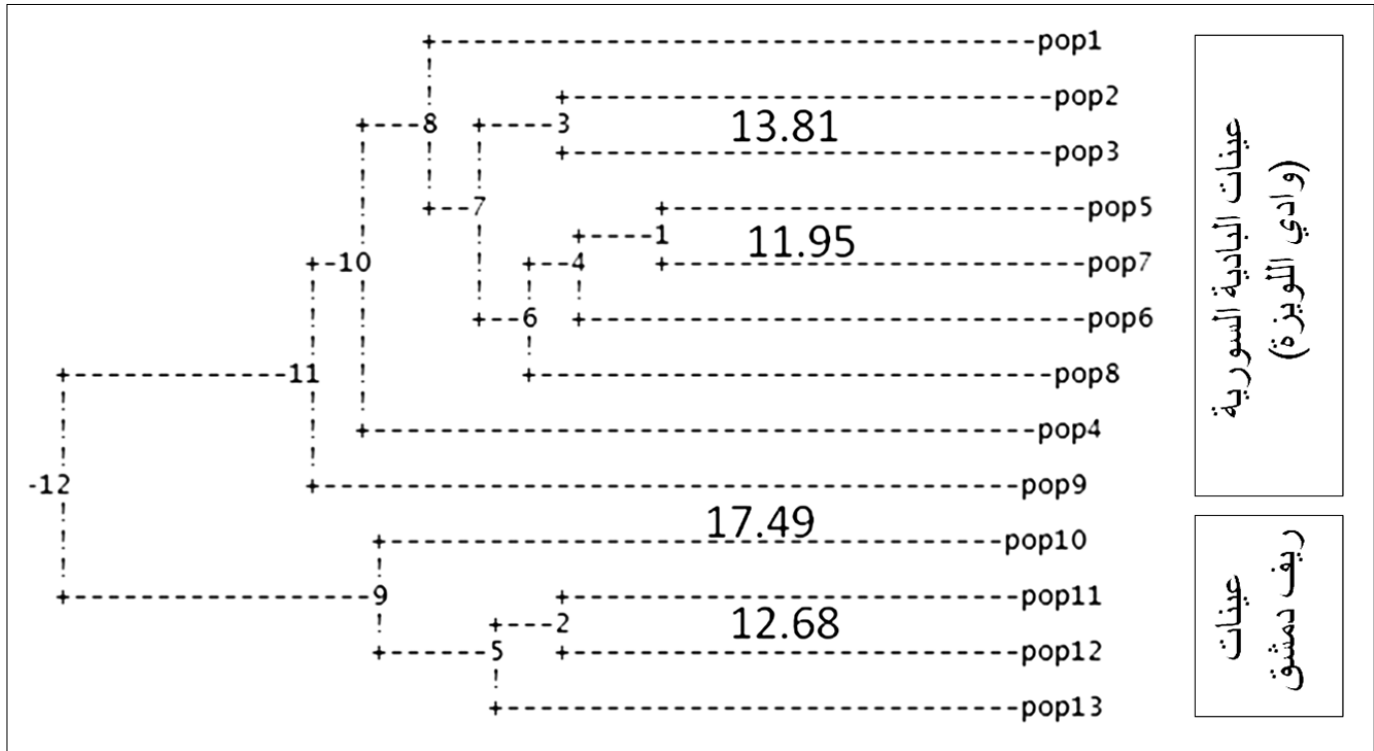
الجدول 5. رموز البادئات المستخدمة، وعدد الحزم الكلية والمتباينة، والنسبة المئوية للتعددية الشكلية (%) في العينات المدروسة.

| اسم البادئ | عدد الحزم الكلية | عدد الحزم المتباينة | النسبة المئوية للتعددية الشكلية (%) |
|------------|------------------|---------------------|-------------------------------------|
| P1         | 11               | 10                  | 90                                  |
| P2         | 15               | 15                  | 100                                 |
| P3         | 12               | 9                   | 75                                  |
| P5         | 8                | 8                   | 100                                 |
| P8         | 19               | 19                  | 100                                 |
| P9         | 3                | 3                   | 100                                 |
| P12        | 16               | 15                  | 93.75                               |
| P13        | 3                | 3                   | 100                                 |
| P14        | 10               | 10                  | 100                                 |
| P15        | 8                | 8                   | 100                                 |
| P16        | 7                | 6                   | 85.71                               |
| P17        | 10               | 10                  | 100                                 |
| P24        | 10               | 10                  | 100                                 |
| P25        | 4                | 4                   | 100                                 |
| P27        | 7                | 7                   | 100                                 |
| P26        | 11               | 10                  | 90.90                               |
| P28        | 20               | 20                  | 100                                 |
| المجموع    | 174              | 167                 | 1635.36                             |
| المتوسط    | 10.23            | 9.8                 | 96.19                               |

### 4- التحليل العنقودي Cluster analysis للعينات المدروسة والشاهد الناتج عن استخدام تقانة ISSR:

يسمح التحليل العنقودي بتقسيم العينات المدروسة إلى مجموعات، وتعكس هذه المجموعات درجة القرابة الوراثية فيما بينها، وقد تتجمع العينات ضمن مجموعة واحدة بناءً على موطنها الأصلي أو بناءً على أصلها ونسبها.

أجري التحليل العنقودي للنتائج التي تم الحصول عليها وذلك لإنشاء شجرة القرابة الوراثية (Dendrogram) لتحديد درجة القرابة الوراثية ورسم شجرة القرابة الوراثية بين العينات المدروسة. ولوحظ من الشكل 5 أن هذه العينات انقسمت إلى تحت عنقودين ضم الأول العينات من 1 إلى 9: حيث وجد أن العينتين 5 و7 كانتا على درجة عالية من القرابة الوراثية بمسافة 11.95، في حين ضم تحت العنقود الثاني العينات من 10 إلى 13 وانقسمت عيناته إلى تجمعين ضم الأول العينة 10 حيث بلغت المسافة الوراثية 19.54، في حين ضم التجمع الثاني العينات 11 و12 و13.



الشكل 5. التحليل العنقودي (Cluster Analysis) للعينات المدروسة والشاهد، الناتج عن استخدام تقانة ISSR بتطبيق (Nie, 1972) حيث الأرقام (1-9) عينات البادية السورية (وادي اللوزة) والأرقام من (10-13) عينات ريف دمشق.

## الاستنتاجات والمقترحات

- يحتل اللوز العربي رقعة انتشار محدودة في البادية السورية، حيث أن ارتباط وجوده ببيئة خاصة بالقرب من المسيلات المائية، وتعرضه إلى درجة شديدة من الرعي يجعله عرضةً للتهديد على المدى القريب إذا لم تتخذ إجراءات سريعة لحمايته في مواقعه الطبيعية.
- إن النمو السريع لهذا النوع والارتباط بين خصائصه الشجرية (قطر، ارتفاع، افتراش) إضافةً إلى الانتاج الجيد من البذور يبرز ضرورة تربية هذا النوع على ساق واحدة في المراحل الأولى ما يكسبه حماية من الرعي في السنوات اللاحقة ويوفر مصدراً للبذور يفيد في احتلال مواقع جديدة.
- تظهر النتائج أيضاً وجود تنوع وراثي واضح على مستوى العينات المجموعة ضمن الموقع الواحد وهو ما يستحق الدراسة بشكل أعمق إذ أظهرت المشاهدات وجود اختلافات في بعض الصفات المورفولوجية كلون الأزهار، كما لوحظ وجود بعض الجماعات التي لم تتعرض للرعي والتي ظهرت منفصلة في التحليل العنقودي (pop4)، ما يبرز أهمية التحري عن إمكانية ارتباط هذا التنوع بخصائص مهمة كدرجة الاستساغة أو غيرها.
- من ناحية أخرى، تبتعد العينات التي مصدرها ريف دمشق وراثياً عن العينات التي جمعت في مواقع من البادية السورية بشكل واضح ما يعزز اعتبار اللوز الوزالي نوعاً مختلفاً عن اللوز العربي، ويبرز ضرورة الاستمرار في دراسة القرابة بين هذه الجماعات المنفصلة جغرافياً والبت بشكل حاسم باعتبار اللوز الوزالي نوعاً مختلفاً عن اللوز العربي.
- تظهر هذه الدراسة ضرورة استمرار التحري عن وجود اللوز العربي في مواقع أخرى، ولاسيما في المسيلات المائية بعد وضوح ارتباط وجود هذا النوع بذلك النوع من الموائل الحرجة، كما أظهرت الحاجة الملحة لحماية هذه الجماعات بشكل كامل من خلال سياج مانع ومتابعة نموها وتطورها في تلك الظروف، ويمكن البدء بمساحة قليلة ريثما يتم اقتراح حماية الموقع ككل.
- من ناحية أخرى، فإنه يبدو مهماً ضرورة إعادة تأهيل بعض المواقع عن طريق إنتاج الغراس ودراسة إمكانية التجديد الخضري لهذا النوع.

## المراجع

- وزارة الدولة لشؤون البيئة في الجمهورية العربية السورية. 2009. نشاطات التمكين من أجل إعداد البلاغ الوطني، تقييم حساسية المراعي في سورية للتغيرات المناخية 41 ص.

- شليبي . م.ن ، الرئيس . ر ، غزال . ع ، غزال أسود . 1997. تحريات بيئية اولية وجغرافية نباتية حول الاصول البرية لجنس اللوز. *Amygdalus* في سورية.

- Abu-Laila, K.M.A. 1995. Propagation of *Amygdalus arabica* Oliv. by stem cuttings and seeds. Jordan Univ, Amman, 91p.
- Baskent, E.Z., S. Baskaya and S. Terzioglu. 2009. Developing and implementing the ecosystem based multiple use forest management planning approach (ETCAP) in Turkey. In: Modelling, valuing and managing Mediterranean forest ecosystems for non-timber goods and services. Palahi M. Birot Y. Bravo F. and Gorris E. (eds.), EFI Proceedings, 57: 97-109.
- Bornet, B.; F. Goraguer, G. Joly and M. Branchard, 2002. Genetic diversity in European and Argentinean cultivated potatoes (*Solanum tuberosum* subsp. *tuberosum*) detected by inter-simple sequence repeats (ISSRs). Genome 45: 481-484.
- Bornet, B. and M. Branchard. 2001. Non-anchored inter-simple sequence repeat (ISSR) markers: reproducible and specific tools for genome fingerprinting. Plant Molecular Biology Reporter 22:427-432.
- Bortiri, E., S-H. Oh, F-y. Gao and D. Potter. 2002. The phylogenetic utility of nucleotide sequences of sorbitol 6-phosphate dehydrogenase in *Prunus* (Rosaceae). American Journal of Botany, 89(11): 1697-1708.
- Browicz K. and D. Zohary, 1996. The genus *Amygdalus* L. (Rosaceae): Species relationships, distribution and evolution under domestication. Genetic Ressources and Crop Evolution, 43: 229-247.
- 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.
- Donmez A. and S. Yildirimli .2000. Taxonomy of the genus *Prunus* L. (Rosaceae) in Turkey. Turk. J. Bot. 24: 187-202.
- Falissard B. 1998. Comprendre et utiliser les statistiques dans les sciences de la vie. Collection Evaluation et Statistique. Masson (Ed.), Paris, 332 p.
- Fernández, ME.; AM. Figueiras and C. Benito, 2002. The use of ISSR and RAPD markers for detecting DNA polymorphism, genotype identification and genetic diversity among barley cultivars with known origin. Theoretical and Applied Genetics 104: 845-851.
- Joshi, S.P.; V.S. Gupta, R.K. Aggarwal, P.K. Ranjekar and D.S. Brar. 2000. Genetic diversity and phylogenetic relationship as revealed by inter-simple sequence repeat (ISSR) polymorphism in the genus *Oryza*. Theoretical and Applied Genetics 100:1311-1320.
- Khalil R.Y. and D.M. Al-Eisawi. 2000. Seed germination of *Amygdalus arabica* oliv. as influenced by stratification and certain plant bioregulators. Acta Horticulturae , Vol.517.
- Kijas, J.M.H.; J.C.S. Fowler and M.R. Thomas. 1995. An evaluation of sequence tagged microsatellite site markers for genetic analysis within Citrus and related species. Genome 38:349-355.
- Lee, S., J. Wen. 2001. A phylogenetic analysis of *Prunus* and the Amygdaloideae (Rosaceae) using ITS sequences of nuclear ribosomal DNA. American Journal of Botany 88 (1): 150-160.
- Maniatis, T., E.F., Fritsch, and J. Sambrook. 1982. Molecular cloning: Laboratory manual. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor/ NY.
- Mouterde P. 1966, 70, 80. Nouvelle flore du Liban et de la Syrie. 3T et Atlas, Dar Al Mashreq, Beyrouth, Liban.
- Nagaoka, T. and Y. Ogihara, 1997. Applicability of inter-simple sequence repeat polymorphisms in wheat for use as DNA markers in comparison to RFLP and RAPD markers. Theoretical and Applied Genetics 94: 597-602.
- Nei, 1972. Am. Nat. 106:283-292.
- Quézel, P., R. Médail, R. Loisel and M. Barbero. 1999. Biodiversity and conservation of forest species in the Mediterranean basin. Unasylva, 50, 197: 11p.
- Scocias i Company R. 1998. La taxonomie de l'Amandier. Cahiers options Méditerranéennes (France), 33: 1022-1379.
- Tautz, D. and M. Renz, 1984. Simple sequences are ubiquitous repetitive components of eukaryotic genomes. Nucleic Acids Research 12:4127-4138.
- Williams, J.G.K., A.R. Kubelik, K.J. Livak, J.A Rafalski, and S.V. Tingey. 1990. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. Nucleic Acids Research 18(22):6531-6535.
- Wonnacott T.H. and R.J. Wonnacott. 1995. Statistique: Economie, Gestion, Sciences, Médecine. 4 ème édition. Economica, Paris, 919 p.
- Ziekiewicz, E., A. Rafalski and A. Labuda. 1994. Genome fingerprinting by simple sequence repeat (SSR) anchored polymerase chain reaction amplification. Genomics 20:178-183.

Ref : 257 / Accepted 8 -2013