



الجمهورية العربية السورية
وزارة التعليم العالي
جامعة دمشق - كلية الزراعة
قسم علوم البستنة



الوصيف الجزيئي لبعض أصناف وطرز جنسي الدراق واللوز المنتشرة في سورية

*Molecular Characterization of Some Peach and
Almond Varieties and Genotypes in Syria.*

أطروحة أعدت لإستكمال مستلزمات الحصول على درجة الدكتوراه
في علوم البستنة

إعداد
صبا ياسين سرحان

المشرف المشارك
د. وائل اليوسف

الهيئة العامة للبحوث العلمية الزراعية

المشرف العلمي
أ. د. فيصل حامد

كلية الزراعة - جامعة دمشق

الفهرس

الصفحة

الموضوع

الملخص

المقدمة

1

أهداف البحث

6

الفصل الأول: الدراسة المرجعية

1-دراسة الصفات الشكلية للدراق

7

2-دراسة الصفات الشكلية للوز

13

3-تقنية تكراريات التسلسلات البسيطة (Simple Sequence Repeat) SSR

19

4- الكشف عن التغيرات النيكليوتيدية ودراسة العلاقات التطورية

34

5- تقنية EcoTILLING (Targeting Induced Local Lesions in Genomes)

44

الفصل الثاني: مواد وطرائق البحث

1- المادة النباتية

48

2- دراسة الموصفات الشكلية

49

2-1-دراسة الموصفات الشكلية للدراق

49

2-2-دراسة الموصفات الشكلية للوز

50

3- الدراسة الجزيئية

54

3-1 - استخلاص الدنا DNA extraction

54

3-2- اختبار نوعية وتركيز الدنا (Determination of DNA quality and

55

(concentration

3-3- تقنية تكراريات التسلسلات البسيطة (SSR (Simple Sequence Repeat

56

3-3-1- تضخيم الدنا: DNA Amplification

56

3-3-2- الرحلان الكهربائي لنواتج تفاعل البلمرة المتسلسل (PCR Product

58

(electrophoresis

3-4-تقنية EcoTILLING

59

3-5- التحليل الاحصائي

63

الفصل الثالث: النتائج والمناقشة

1- نتائج دراسة الموصفات الشكلية للدراق

66

66	1-1 قوة النمو وطبيعة التفرع
67	2-1 صفات الأوراق
68	3-1 الصفات الزهرية
68	4-1 مواعيد الإزهار والنضج
70	5-1 الإنتاجية
73	6-1 الارتباط بين الصفات الشكلية في الدراق
74	7-1 التحليل العنقودي و تحديد درجة القرابة في الموصافات المورفولوجية
76	2- نتائج دراسة الموصافات الشكلية للوز
76	1-2 قوة وطبيعة التفرع
77	2-2 موصافات الأوراق
79	3-2 الصفات الزهرية
79	4-2 مواعيد الإزهار والنضج
82	5-2 النتائج الخاصة بالثمار والنوى والبذور
84	6-2 وزن النوى، نسبة التصافي ودرجة قساوتها
85	7-2 دراسة البذور
87	8-2 الانتاجية
88	9-2 ازدواجية البذور
88	10-2 الارتباط بين الصفات الشكلية في اللوز
90	11-2 التحليل العنقودي و تحديد درجة التشابه في الموصافات المورفولوجية للوز
93	3- الدراسة الجزيئية للأصناف والطرز المدروسة باستخدام تقنية SSR
93	3-1- التعددية الشكلية (Polymorphism) بين أصناف الدراق والنكتارين المدروسة باستخدام تقنية الـ SSR
100	3-2- تمييز أصناف الدراق باستخدام الواسمات الفريدة (unique bands) الناتجة عن استخدام تقنية SSR
102	3-3- تحديد درجة التشابه الوراثية (Genetic similarity) بين أصناف الدراق والأصل GF677
103	3-4- التحليل العنقودي (cluster analysis) لأصناف الدراق المدروسة
106	3-5- توزيع القرائن بين أصناف الدراق والنكتارين وفق مخطط التحليل العنقودي
107	3-6- التعددية الشكلية (Polymorphism) بين أصناف وطرز اللوز المدروسة باستخدام تقنية الـ SSR

- 113 7-3- تمييز أصناف وطرز اللوز والأصل GF677 باستخدام الواسمات الفريدة (unique bands) الناتجة عن استخدام تقنية SSR
- 117 8-3- تحديد درجة التشابه الوراثية (Genetic similarity) بين أصناف وطرز اللوز المدروسة والأصل GF677
- 119 9-3- التحليل العنقودي (cluster analysis) لأصناف اللوز والطرز المدروسة والأصل GF677
- 120 10-3- توزيع القرائن بين أصناف وطرز اللوز المدروسة وفق مخطط التحليل العنقودي
- 121 11-3- مقارنة المؤشرات الجزيئية بين اللوز والدراق
- 121 1-11-3- التعددية الشكلية
- 123 2-11-3- العلاقات الوراثية التطورية وتحليل التنسيق الأساسي (PCOA)
- 126 4- مقارنة نتائج الدراسة الشكلية والجزيئية بين أصناف وطرز الدراق واللوز المدروسة
- 131 5- الكشف عن التغيرات النيكلوتيديّة باستخدام تقنية EcoTILLING
- 131 5-1- الكشف عن منتجات التضخيم والقطع باستخدام تقنية EcoTILLING في مورثة *rbcl*
- 132 5-2- الكشف عن منتجات التضخيم والقطع باستخدام تقنية EcoTILLING في مورثة *matK*
- 137 5-3- الكشف عن منتجات التضخيم والقطع باستخدام تقنية EcoTILLING في مورثة 18S rRNA
- 138 5-4- التغيرات النيكلوتيديّة ضمن مورثة *rbcl*
- 140 5-5- التغيرات النيكلوتيديّة ضمن مورثة *matK*
- 142 5-6- التغيرات النيكلوتيديّة ضمن مورثة 18S rRNA
- 142 5-7- التغيرات النيكلوتيديّة ضمن المورثات المدروسة بين الدراق واللوز
- 143 5-8- معدل التباعد بين أزواج التسلسلات بين الأنواع المدروسة Two parameter distance
- 144 6- العلاقات التطورية بين الأجناس المدروسة بالاعتماد على المورثات المدروسة
- 144 6-1- شجرة العلاقات التصنيفية والتطورية الناتجة عن تسلسلات مورثة *rbcl*
- 145 6-2- شجرة العلاقات التطورية الناتجة عن تسلسلات مورثة *matK*
- 147 6-3- شجرة العلاقات التطورية الناتجة عن تسلسلات مورثة 18S rRNA
- 148 6-4- شجرة العلاقات التطورية الناتجة عن تسلسلات المورثات المدروسة
- 156 7- التحليل العنقودي الناتج عن دمج تقنية SSR و نتائج سلسلة المورثات معاً

الاستنتاجات والتوصيات

158	1- الاستنتاجات
159	2- التوصيات
	المراجع
160	المراجع العربية
161	المراجع الأجنبية
184	الملحق

فهرس الجداول

الصفحة	الموضوع
36	الجدول(1): المعايير التصنيفية الأساسية للجنس <i>Prunus s.l</i>
48	الجدول(2): أسماء أصناف الدراق واللوز والطرز المدروسة والرقم التسلسلي لها في الدراسة
51	الجدول(3): معيار صفات الأوراق لبعض الأصناف المحلية والمدخلة من اللوز
52	الجدول(4): معيار صفات النوى للطرز والأصناف المحلية والمدخلة من اللوز
52	الجدول(5): معيار دليل شكل النوى لأصناف وطرز اللوز المدروسة
53	الجدول(6): معيار قساوة ثمار الأصناف المحلية والمدخلة من اللوز
53	الجدول(7): معيار صفات البذور للأصناف المحلية والمدخلة من اللوز
57	الجدول(8): التسلسل النكليوتيدي للمرئسات المستخدمة في تقنية تكراريات التسلسلات البسيطة SSR والنسبة المئوية GC % وعدد التكراريات لكل مرئسة مع حرارة الالتحام المناسبة لكل زوج.
58	الجدول(9): مكونات تفاعل البلمرة المتسلسل PCR لتقنية SSR
58	الجدول(10): برنامج عمل تفاعل البلمرة المتسلسل PCR
60	الجدول(11): أسماء المرئسات المستخدمة في تضخيم مورثات الدراسة
60	الجدول(12): مكونات تفاعل البلمرة المتسلسل PCR لتقنية EcoTILLING
61	الجدول(13): برنامج عمل تفاعل البلمرة المتسلسل PCR
66	الجدول(14): متوسط محيط الساق (سم) للأشجار المدروسة
67	الجدول(15): متوسط طول وعرض الأوراق والمساحة الورقية للأصناف المدروسة
68	الجدول(16): الصفات الزهرية للأصناف المدروسة
69	الجدول(17): الأطوار الفنولوجية لأصناف الدراق والنكتارين المدروسة
70	الجدول(18): مواعيد نضج ثمار أصناف الدراق المدروسة ومتوسط عمرها
71	الجدول(19): صفات ثمار أصناف الدراق والنكتارين المدروسة
72	الجدول(20): الإنتاجية ومتوسط وزن الثمار للأصناف المدروسة
73	الجدول(21): مواصفات لب الثمرة وطعمها وشكل البذرة والتصاقها للأصناف المدروسة
74	الجدول(22): قيم معامل الارتباط بين الصفات الكمية لأصناف الدراق والنكتارين المدروسة
75	الجدول(23): درجات التشابه الشكلي بين أصناف الدراق والنكتارين المدروسة
77	الجدول(24): متوسط محيط الساق وطبيعة النمو للأصناف المدروسة
78	الجدول(25): متوسط طول وعرض الأوراق ودليل الشكل واللون والمساحة الورقية للأصناف والطرز المدروسة
79	الجدول(26): صفات الأزهار وطبيعة الحمل في أصناف وطرز الدراسة
80	الجدول(27): مواعيد الإزهار ومدة الإزهار في الأصناف والطرز المدروسة
81	الجدول(28): مواعيد بدء نضج أصناف وطرز اللوز ومتوسط عمر الثمرة خلال سنتي الدراسة

- الجدول(29): مواصفات النوى متوسط طول وعرض النواة ودليل شكلها وحجمها، ومواصفات المحيط
83 الثمري
- الجدول(30): متوسط وزن النواة ومتوسط وزن البذرة ونسبة التصافي في أصناف وطرز الدراسة
85
- الجدول(31): متوسط طول وعرض البذرة ودليل الشكل وبعض المواصفات الشكلية للبذرة في أصناف
86 وطرز الدراسة.
- الجدول(32): متوسط إنتاج الشجرة من الثمار الجافة (كغ/ شجرة) ومتوسط إنتاج كل صنف في وحدة
87 المساحة كغ/دونم خلال سنتي الدراسة.
- الجدول(33): النسبة المئوية لازدواجية البذور في أصناف وطرز اللوز المدروسة
88
- الجدول(34): قيم معامل الارتباط بين الصفات الكمية لأصناف اللوز المدروسة
90
- الجدول(35): درجات التشابه الشكلي بين أصناف وطرز اللوز المدروسة
91
- الجدول(36): عدد القرائن الناتجة عن أزواج المرئسات المستخدمة في تقنية SSR وتكرارية القرين
96 (Pi) والتعددية الشكلية الناتجة وقيم التغاير المورثي المتوقع (He) والملحوظ (Ho) ومعامل التعددية
الشكلية (PIC) أطوال الحزم الناتجة (bp) في أصناف الدراق والنكتارين المدروسة والأصل
GF677.
- الجدول (37): أصناف الدراق والنكتارين وأسماء المرئسات التي حدد عندها حزم فريدة مع أوزانها
100 الجزئية
- الجدول (38): اسم المرئسة والأصناف التي حدد عنها غياب القرين
101
- الجدول(39): درجة التشابه الوراثية بين أصناف الدراق المدروسة والأصل GF677 باستخدام تقنية
103 SSR بالاعتماد على معامل Dice
- الجدول (40): عدد القرائن الناتجة عن أزواج المرئسات المستخدمة في تقنية SSR و تكرارية القرين
108 (pi) وعدد الأنماط الناتجة وقيم التغاير المورثي المتوقعة (He) والملحوظة (Ho) وحجم القرائن
الناتجة ودليل الثباتية (F)، ومعامل التعددية الشكلية (PIC) بين أصناف وطرز اللوز المدروسة.
- الجدول(41): يبين القرائن المميزة عند الأصناف والأصول المدروسة واسم المرئسة والوزن الجزئي
114 للقرين (bp)
- الجدول(42): اسم المرئسة والأصناف التي حدد عنها غياب القرين
116
- الجدول(43): درجة التشابه الوراثية بين أصناف وأصول اللوز المدروسة استخدام تقنية SSR
118
- الجدول(44): التغاير المورثي بين مجموعتي أصناف الدراق واللوز المدروسة
122
- الجدول(45): مجموعات أصناف الدراق والنكتارين التي أظهرت أعلى درجة تشابه على المستويين
128 الشكلي والجزئي
- الجدول(46): مجموعات أصناف وأصول اللوز المدروسة والتي أظهرت أعلى درجة تشابه على
130 المستويين الشكلي والجزئي
- الجدول(47): التغايرات النيكلوتيدية الموجودة ضمن المورثة *rbcL* بين الأجناس المدروسة
139
- الجدول(48): التغايرات النيكلوتيدية الموجودة ضمن المورثة *matK* بين الأجناس المدروسة
140
- الجدول(49): التغايرات النيكلوتيدية الموجودة بين تسلسلات المورثات المدروسة بين جنسي اللوز
142

والدراق

الجدول (50): معدل التباعد بين أزواج تسلسلات المورثات المدروسة بين أنواع الدراسة وأنواع العائلة
الوردية *Rosaceae*

الجدول (51): قيم درجات الموثوقية بالنسبة لمختلف القطاعات باستخدام أجزاء المورثات المدروسة

فهرس الأشكال

	الموضوع
1	الشكل(1): المناطق المنتجة للدراق بشكل رئيسي عالمياً حسب احصائيات FAO لعام 2013
2	الشكل(2): المناطق المنتجة للوز بشكل رئيسي عالمياً حسب احصائيات FAO لعام 2013
76	الشكل(3): مخطط التحليل العنقودي بين أصناف الدراق والنكتارين الناتج عن الصفات الشكلية، بحسب طريقة Ward وباعتماد على معامل Dice
92	الشكل(4): مخطط التحليل العنقودي بين أصناف وطرز اللوز الناتج عن الصفات الشكلية، بحسب طريقة Ward وباعتماد على معامل Dice
94	الشكل(5): نماذج الحزم الناتجة عن تضخيم المرئسة UDP96-018 في عينات الدراق واللوز المدروسة
94	الشكل(6): نماذج الحزم الناتجة عن تضخيم المرئسة UDP96-003 في عينات الدراق واللوز المدروسة
95	الشكل(7): نماذج الحزم الناتجة عن تضخيم المرئسة UDP98-412 في عينات الدراق واللوز المدروسة
100	الشكل(8): نموذج الواسمات الفريدة الناتجة عن زوج المرئسات UDP96-018 عند الصنف ماي كريست
101	الشكل(9): بعض من نماذج القرائن الغائبة عند تضخيم المرئسة CPDCT 025 في عينات الدراق المدروسة
105	الشكل(10): مخطط التحليل العنقودي لأصناف الدراق والنكتارين المدروسة والأصل GF677 الناتج عن تقنية SSR، بالاعتماد على معامل Dice
106	الشكل(11): توزيع ومساهمة أصناف الدراق والنكتارين في المجموعتين بناء على توزيع قرائن مواقع التكراريات البسيطة لديها
109	الشكل(12): نماذج الحزم الناتجة عن تضخيم المرئسة UDP96-005 في عينات الدراق واللوز المدروسة
109	الشكل(13): نماذج الحزم الناتجة عن تضخيم المرئسة UDP98-409 في عينات الدراق واللوز المدروسة
114	الشكل(14): نماذج القرائن المميزة الناتجة عن زوج المرئسات UDP98-405 بين الأصناف وطرز اللوز المدروسة
115	الشكل(15): نماذج القرائن المميزة الناتجة عن زوج المرئسات UDP98-409 في أصناف اللوز المدروسة
116	الشكل(16): غياب الموقع UDP98-412 من صنف اللوز جادوما
117	الشكل(17): نماذج غياب القرائن من الصنف بابنس والطرز شرقي 1 وشرقي 2 و GF677 عند زوج المرئسات Pchgms14
119	الشكل(18): مخطط التحليل العنقودي لأصناف وطرز اللوز المدروسة الناتج عن تقنية SSR، بالاعتماد على معامل Dice
121	الشكل(19): توزيع ومساهمة أصول وأصناف اللوز في المجموعات الأولى والثانية والثالثة بناء على توزيع قرائن مواقع التكراريات البسيطة لديها
123	الشكل(20): تحليل المكونين الرئيسين (PC1 و PC2) لتحليل التنسيق الرئيسي PCOA بالاعتماد على جدول التشابه الوراثي للأصناف والطرز المدروسة من كلا الجنسين.
125	الشكل(21): مخطط التحليل العنقودي لأصناف الدراق واللوز والأصول المدروسة الناتج عن تقنية SSR وفق معامل

	Dice
126	الشكل(22): توزع ومساهمة أصناف الجنسين في المجموعات بناء على توزع قرائن مواقع التكراريات البسيطة لديها
127	الشكل(23): مخطط التحليل العنقودي بين أصناف الدراق والنكتارين الناتج عن الصفات الشكلية والمعلومات الجزيئية
129	الشكل(24): مخطط التحليل العنقودي بين أصناف اللوز والأصول البرية الناتج عن الصفات الشكلية والمعلومات الجزيئية
131	الشكل(25): بعض نتائج تضخيم مورثة <i>rbcl</i> بين عينات اللوز والدراق المدروسة بطول bp600
132	الشكل(26): نواتج هضم أنزيم CEL1 في تسلسلات مورثة الـ <i>rbcl</i> في العينات المدروسة
133	الشكل(27): بعض نتائج تضخيم جزء المورثة <i>matK-1</i> (bp411) بين بعض عينات اللوز والدراق والأصول المدروسة
133	الشكل(28): بعض نتائج تضخيم جزء المورثة <i>matK-2</i> (bp438) بين بعض عينات اللوز والدراق والأصول المدروسة
135	الشكل(29): نواتج هضم أنزيم CEL1 في تسلسلات مورثة الـ <i>matK-1</i> في العينات المدروسة
136	الشكل(30): نواتج هضم أنزيم CEL1 في تسلسلات مورثة الـ <i>matK-2</i> في عينات اللوز والأصول المدروسة
136	الشكل(31): نواتج هضم أنزيم CEL1 في تسلسلات مورثة الـ <i>matK-2</i> في عينات الدراق المدروسة
137	الشكل(32): نتائج تضخيم مورثة 18S rRNA بين عينات اللوز والدراق المدروسة بطول bp555
138	الشكل(33): نواتج هضم أنزيم CEL1 في تسلسلات جزء المورثة 18S rRNA في العينات المدروسة
139	الشكل (34): نماذج التغايرات النيكلوتيدية ضمن مورثة <i>rbcl</i> بين تسلسلات عينات الدراسة
141	الشكل (35): نماذج التغايرات النيكلوتيدية ضمن مورثة <i>matK-1</i> بين تسلسلات عينات الدراسة
141	الشكل (36): نماذج التغايرات النيكلوتيدية ضمن مورثة <i>matK-2</i> بين تسلسلات عينات الدراسة
145	الشكل(37): شجرة العلاقات التطورية بين الأنواع المدروسة باستخدام تسلسلات مورثة <i>rbcl</i> بالاعتماد على طريقة Maximum Composite Likelihood
146	الشكل(38): شجرة العلاقات التطورية والتصنيفية بين الأنواع المدروسة باستخدام تسلسلات مورثة <i>matK</i> بالاعتماد على طريقة Maximum Composite Likelihood
147	الشكل(39): شجرة العلاقات التطورية بين الأنواع المدروسة باستخدام تسلسلات مورثة 18S rRNA بالاعتماد على طريقة Maximum Composite Likelihood
151	الشكل(40): شجرة العلاقات التطورية بين الأنواع المدروسة وباستخدام تسلسلات المورثات المدروسة بالاعتماد على طريقة Maximum Composite Likelihood
153	الشكل (41): شجرة العلاقات التطورية بين الأنواع المدروسة من العائلة الوردية والعائلات الأخرى باستخدام تسلسلات المورثات المدروسة بالاعتماد على طريقة Maximum Composite Likelihood
157	الشكل(42): التحليل العنقودي بين الأصناف والأنواع المدروسة باستخدام تقنية SSR وتسلسلات المورثات المدروسة.

المخلص:

تم إجراء هذا البحث في مخابر قسم التقانات الحيوية في الهيئة العامة للبحوث العلمية الزراعية وقسم علوم البستنة في كلية الزراعة- جامعة دمشق. يرمي هذا البحث إلى تقييم التنوع الشكلي لثمانية وعشرين صنفاً وطراراً من أصناف الدراق واللوز المحلية والمدخلة إلى سورية ودراسة تنوعها الوراثي باستخدام معلمات تكراريات التسلسلات البسيطة (SSR). كما استخدمت تقنية EcoTILLING المعدلة للكشف عن التغيرات النيكلوتيدية SNPs بين أجزاء من مورثات *rbcl* و *matK* و 18S rRNA بين الأنواع المدروسة، مما سمح بدراسة جزء من العلاقات الوراثية التطورية بين الدراق واللوز *Amygdalus* و *Persica* وتقييم الحالة التصنيفية لهما بالاعتماد على دنا النواة والصانعات ووضع قاعدة لأساس منهجي تصنيفي ضمن إطار العمل في دراسات العلاقات التطورية.

وزع التحليل العنقودي أصناف الدراق المدروسة إلى ثلاث مجموعات، ضمت المجموعة الأولى الصنفين جيوبا ووينبرجر وشملت المجموعة الثانية أصناف النكتارين كالديسي 2000، فلافور توب، فينوس ونكتاروز مع صنف الدراق بونتينيا أما المجموعة الثالثة فضمت باقي أصناف الدراق جميعها. ولقد فصل التحليل العنقودي الأصناف المدروسة وفقاً لوزن الثمرة وموعد الإزهار. بينما أظهر التحليل العنقودي لدراسة الموصفات الشكلية تمايزاً بين أصناف وطرز اللوز المدروسة حيث اجتمعت ضمن مجموعتين ضمت المجموعة الأولى الطرز البرية والصنفين عوجة وشامي فرك بينما تجمعت باقي الأصناف المزروعة في المجموعة الثانية. أظهرت تقنية SSR بين أصناف الدراق والنكتارين أعلى درجة قرابة وراثية بين الصنفين وينبرجر وجيوبا (1) وأقل درجة تشابه وراثي بين الصنف فينوس والأصل GF677 (0.40)، أما القيمة المتوسطة لدرجات التشابه فكانت (0.82). وزع التحليل العنقودي الناتج عن تقنية SSR أصناف الدراق والنكتارين المدروسة في عنقودين رئيسيين منفصلين على درجة تشابه 0.76 وجاء الأصل GF677 منفرداً ومرتبطة مع العنقودين عند درجة موثوقية 100%، انتظم في العنقود الأول جميع أصناف النكتارين باستثناء الصنف نكتاروز الذي جاء مع أصناف الدراق في العنقود الثاني.

وقد لوحظ أن توزع الأصناف ضمن المجموعتين كان مرتبطاً وبشكل أساسي بتوزع مجموعة من القرائن التي تعود لثلاثة من مواقع التكراريات البسيطة، حيث أن جميع أصناف النكتارين التي حددت عندها القرائن ^(195, 160)CPDCT025 و ³⁶⁰Pchgms20 توضع في المجموعة الأولى، وكذلك جميع أصناف الدراق التي حدد عنها القرين ¹⁵³UDP96-008 وغياب الموقع CPDCT025 توضع في المجموعة الثانية.

أما أعلى درجة قرابة وراثية بين أصناف اللوز والأصول المدروسة كانت بين الصنفين جادرماء وقسطنطين (0.76)، وكانت أقل نسبة تشابه وراثي بين الصنف جادرماء والأصل GF677 (0.12) بمتوسط تشابه بلغ 0.38، وزع التحليل العنقودي الناتج عن تقنية SSR أصناف وطرز اللوز المدروسة في ثلاث مجموعات ضمت المجموعة الأولى جميع الطرز (شرقي 1، شرقي 2، كورشنسكي) وارتبط معها الأصل GF677 بينما ارتبطت المجموعتين الثانية والثالثة على المستوى 0.56، حيث ضمت المجموعتين الثانية والثالثة باقي الأصناف المدروسة.

لقد أظهرت النتائج ارتباط توزع الأصناف والأصول بتوزع مجموعة من القرائن التي تعود إلى عدد من المواقع البسيطة حيث ميز القرين ⁽²⁶⁴⁾UPD98-021 المجموعتين الثانية والثالثة وكان غائباً عن المجموعة الأولى، أما القرين ⁽⁸⁷⁾UDP96-010 فقد ميز أصناف تحت العنقود الثالث.

اعتماداً على قيم معامل التعددية الشكلية الناتجة امتلكت المرستين CPDCT025 و UDP97-402 أعلى قيمة لمعامل PIC وهي 0.65 والتي استطاعت التمييز بكفاءة بين أصناف الدراق والنكتارين المدروسة و امتلكت المرستات UDP96-005، UDP96-003 أعلى قيم (0.90) للتمييز بين أصناف وأصول اللوز المدروسة.

ساعدت تقنية EcoTILLING في الكشف عن التغيرات النيكلوتيديّة حيث احتوت منطقة مورثة الـ *rbcl* المدروسة ثلاثة أنماط من التغيرات النيكلوتيديّة منها تغيّرين من نوع transition وتغيّر واحد من نوع transversion وتغيّر من نمط إدخال لنيكلوتيد واحد بين عينات اللوز والمشمش المرجع.

كما احتوت منطقة مورثة الـ *matK* المدروسة على تبايرين نيكلويتيدين من النوع transition إضافة إلى تبايرين من نوع إدخال لنيكلوتيد واحد بين عينات الأجناس المدروسة والمشمش المرجع، بينما لم يلحظ أي تباير في منطقة مورثة الـ 18S rRNA المدروسة. أما شجرة العلاقات التطورية المعتمدة على دمج المورثات الثلاث بين الأنواع المدروسة والأنواع الأخرى من موقع NCBI والتي شملت العائلة الوردية قسمت إلى ثلاثة قطاعات رئيسية توافقت مع تحت العائلات الثلاثة الوردية، التفاحية والخوخية (*Prunoideae*, *Pomoideae*, *Rosoideae*): ضم القطاع الأول (paraphyletic) (100%) كل العينات في الدراسة الحالية والتي تتبع لتحت العائلة *Prunoideae* حيث جاء المشمش *Armenica* منفصلاً عن باقي عينات اللوز والدراق المدروسة ضمن مجموعة وبقيت أصناف اللوز والدراق ضمن مجموعة ثانية (99%) تمايزت ضمنها تحت مجموعتين الأولى لأصناف وأنواع اللوز المدروسة ومع الأصل GF677 (86%) والثانية لأصناف الدراق المدروسة (64%). أما أنواع الجنس *Prunus* فتجمعت جميعها ضمن قطاع واحد (paraphyletic) (100%) حيث تم التمييز بين تحت قطاعين ضم القطاع الأول paraphyletic مجموعة الدراق، اللوز والمشمش (*Amygdalus*, *Persica*, *Armeniaca*) بدرجة موثوقية 99%، والقطاع الثاني monophyletic ضم مجموعة (*Padus*, *Davidiana*, *Cerasus*) بدرجة موثوقية 58%.

كلمة شكر

أتقدم في ختام عملي بالشكر والامتنان وفائق الاحترام إلى الأستاذ الدكتور فيصل حامد المشرف العلمي والدكتور وائل اليوسفة المشرف المشارك على هذه الأطروحة لعطائهما اللامحدود وتعاملهما المخلص طيلة فترة الدراسة.

أشكر لجنة الحكم الدكتور نزار مير علي والدكتورة سلام لاوند والدكتور عماد الصوص والدكتورة راما عزيز لتقييمهم للبحث وإحسانهم له.

والشكر موصول إلى عمادة كلية الزراعة بجامعة دمشق ورئيس قسم علوم البساتين، وناثبي العميد العلمي والإداري. كما أتوجه بالشكر الجزيل إلى الهيئة العامة للبحوث العلمية الزراعية ممثلة بالمدير العام الدكتور حسين الزعبي لما قدموه لي طوال سنوات البحث من دعم مادي وعلمي وتشجيع مستمر.

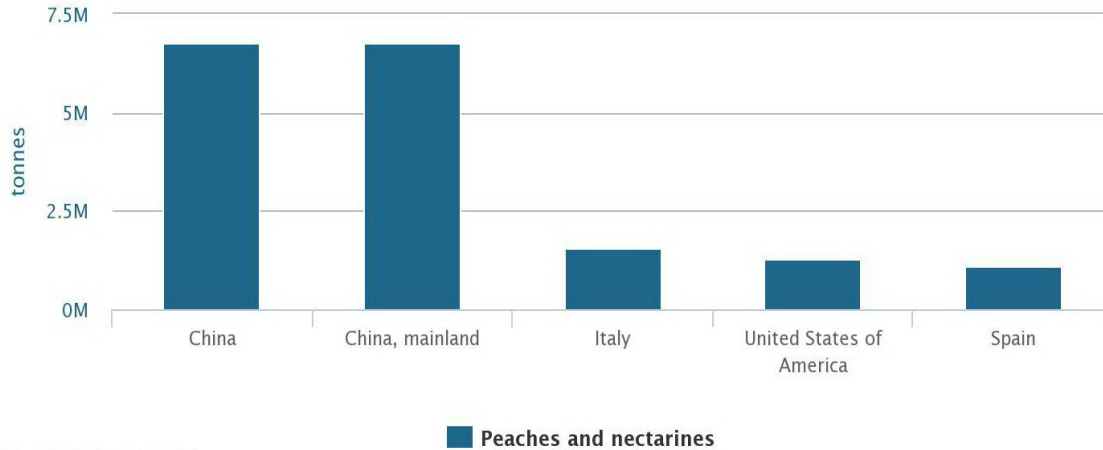
وأخص بالشكر المهندسة إيمان مطر في قسم البستنة في الهيئة العامة للبحوث العلمية الزراعية للمساعدة وتقديم النصح في التوصيف الشكلي للأصناف المدروسة، وكذلك الدكتورة ميسون صالح من الهيئة العامة للبحوث العلمية الزراعية للمساعدة في برامج التحليل الإحصائية.

وكل الشكر والامتنان لزوجتي العزيز المهندس حسام الفاعوري على دعمه ومساندته لي في مسيرتي بغية وصولي إلى هذا الهدف وعمله بتفان وإخلاص بهدف إسعادي وتخفيف أعبائي، وابني الحبيب محمد زهرة عمري وفلذة كبدي لك مني كل الشكر والحب على وقوفك معي ومساندتي ودعمي ومواساتي مع صغر سنك إلا أنك كنت لي أكبر داعم ومساند لي في دربي الذي استمر طويلاً.

المقدمة Introduction

تعد العائلة الوردية Rosaceae من العائلات النباتية ذات الأهمية الاقتصادية في مغلفات البذور وهي تحوي ما يقارب مائة جنس وثلاثة آلاف نوع نباتي تقريباً تنتشر حول العالم (Takhtajan, 1997). تظهر أجناس وأنواع العائلة الوردية تنوعاً ملحوظاً في أنماط وأطوار النمو، أشكال الأوراق ونمط الثمار ومواصفاتها الشكلية وبالاعتماد على نمط الثمرة والتي ترتبط بشكل وثيق بالعدد الصبغي تُقسم العائلة الوردية وبشكل تقليدي إلى 4 تحت عائلات وهي: التفاحية *Pomoideae* ($x=17$)، الخوخية *Prunoideae* ($x=8$)، الوردية *Rosoideae* ($x=7,8,9$) والاكليبية *Spiraeoideae* ($x=9$) (Potter, 2003).

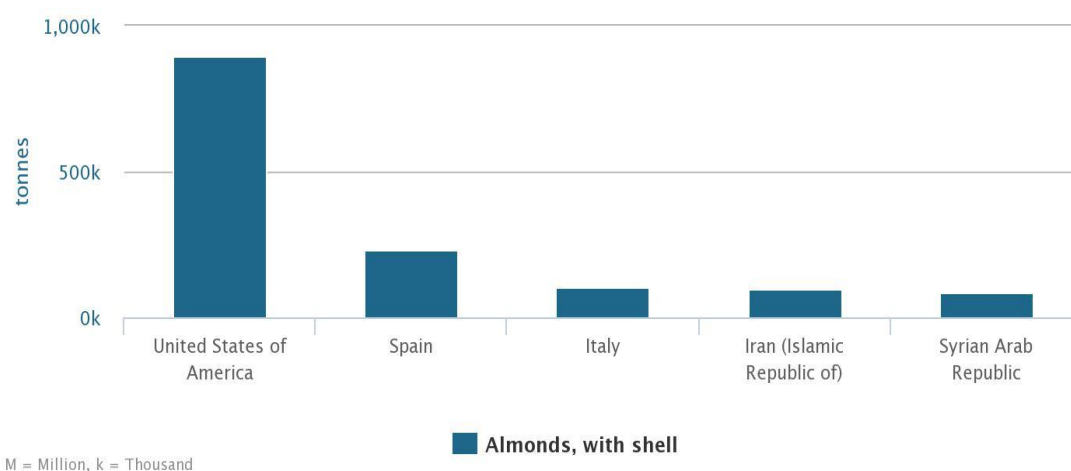
يتبع الدراق *Persica* تحت العائلة *Prunoideae* والعائلة الوردية *Rosaceae*، ويأتي الدراق بالمرتبة الثالثة عالمياً بعد التفاح والإجاص من حيث الأهمية بين أشجار فاكهة المناطق المعتدلة، وهو أهم أشجار الفاكهة ذات الثمار النووية عالمياً، وتنتشر زراعته بشكل رئيسي شرق وغرب آسيا ومنطقة حوض المتوسط وفي القارة الأمريكية، حيث يبلغ الإنتاج العالمي من الدراق 21638 مليون طن تقريباً (FAO, 2013) (الشكل، 1). أما في سورية فيقدر الإنتاج بما يقارب 54753 ألف طن سنوياً بمساحة 6611 هكتار حيث تحتل محافظة حماة المرتبة الأولى من حيث الإنتاجية والمساحة المزروعة تليها بعد ذلك محافظة دمشق (المجموعة الإحصائية الزراعية السنوية، 2013). ويعد الموطن الأصلي للدراق الصين و انتقل منها إلى حوض البحر المتوسط عن طريق إيران (Hedrick, 1917).



الشكل (1): المناطق المنتجة للدراق بشكل رئيسي عالمياً حسب إحصائيات FAO لعام 2013

يشمل *Persica* أصنافاً ذات أنماط مختلفة بدءاً من الأصناف ذات القشرة الزغبية ذات النواة الحرة أو اللاصقة (الدراق) إلى الأصناف ذات القشرة الملساء ذات النواة الحرة أو اللاصقة (النكتارين) (Bretaudeau and Faure, 1991).

يتبع اللوز *Amygdalus* إلى تحت العائلة *Prunoideae*، إذ يعد من أكثر أشجار الفاكهة انتشاراً في العالم، وهي على الأغلب أقدم أشجار الفاكهة المزروعة وذلك في الألفية الثالثة قبل الميلاد (Spiegel-Roy, 1986). يتألف هذا الجنس من ستة وعشرين من الأنواع الخصبية فيما بينها والتي تمتد على مساحات جغرافية متباعدة، في جنوب غرب آسيا والقليل يمتد إلى جنوب شرق أوروبا، وحوض البحر المتوسط وغرب الصين (Browicz and Zohary, 1996). يبلغ الإنتاج العالمي من اللوز 2917894 مليون طن (FAO, 2013) حيث تحتل القارة الأمريكية المرتبة الأولى من حيث الإنتاجية، وللقطر العربي السوري مكانة مميزة بين أكثر الدول المنتجة للوز في العالم إذ يشغل المركز الخامس بإنتاجية تعادل 83,229 ألف طن في عام 2013 وبمساحة مزروعة 71,563 هكتار (الشكل، 2)، حيث تحتل محافظة حمص المرتبة الأولى من حيث المساحة والإنتاجية تليها محافظة حماة (المجموعة الإحصائية الزراعية السنوية، 2013).



الشكل(2): المناطق المنتجة للوز بشكل رئيسي عالمياً حسب احصائيات FAO لعام 2013

يؤكد Candolle (1983) أن اللوز الشائع *Amygdalus communis* L. ينتشر برياً في المناطق الحارة والجافة من حوض البحر المتوسط، وكذلك في المنطقة المعتدلة من غرب آسيا، وقد أشار إلى وجوده تاريخياً في بلاد ما بين النهرين وعلى امتداد سلسلة جبال لبنان الشرقية، وانتقلت زراعته بعد ذلك لشمال إفريقيا والقارة الأوروبية، كما ينتشر في أقاليم الشرق

الأدنى وآسيا الوسطى ما يقارب 85% من أنواع الجنس *Amygdalus* (Micke and Kester, 1997).

تعد هجائن اللوز والدراق من أكثر الأصول المستخدمة لأنواع اللوزيات، ومنها الأصل GF677 وهو أصل قوي النمو، يتميز بتحملة للجفاف والأثرية الكلسية، وذو درجة توافق جيدة مع أصناف الدراق واللوز ولا يعطي الطعم المر للأصناف المطعمة عليه (Inglese et al., 1981; Bernhard and Grasselly, 1990; Cambra, 2001)، كما استعمل النوع *A. korschinskii* ضمن برنامج التحسين الوراثي للوز من قبل Rickter (1972) بغية تأخير موعد الإزهار تجنباً لخطر الصقيع الربيعي أولاً وللتبكير في موعد النضج ثانياً، إضافة إلى أن الغراس الناتجة من بذوره متجانسة وتعد أصولاً جيدة لأنواع اللوز والخوخ والدراق خاصة في الزراعات المطرية. ويذكر Hartman (1975) أن اللوز البري يتحمل الأثرية العميقة والغدقة وتتميز غراسه بأنها متحملة لحموضة التربة وأملاح البورون أكثر من بقية الأصول المستخدمة وهي ذات تأثير واضح على صفات الثمار (Zarrouk et al., 2005)، لذلك فإن الأصل المناسب يجب أن يمتلك مجالاً واسعاً من الصفات المتوافقة مع الأصناف لزيادة تأقلمها مع الإجهادات الإحيائية واللاإحيائية. كما أن تقييم التنوع الوراثي والعلاقات بين الأصناف المزروعة والأنواع البرية القريبة ذو أهمية كبيرة في تحديد المورثات وتطوير الاستراتيجيات الأفضل في حفظ وتعريف المصادر الوراثية (Tahan et al., 2009; Hend et al., 2009)، وفي كشف منشأ وأصل كل نوع أو صنف (Maghuly, 2004).

يعد كل من الدراق واللوز من النباتات المرجعية أو الموديل (model species) للدراسات الوراثية ضمن العائلة الوردية Rosaceae (Abbott et al., 2002)، ويعود ذلك لصغر حجم الجينوم (Baird et al., 1994; Dickson et al., 1992) والعدد الصبغي المضاعف ($2n=16$) (Jelenkovic and Harrington, 1972)، وكذلك قصر فترة الحداثة (2-3 سنوات حتى الإزهار) مما يسهل الدراسات الوراثية لهذه الأجناس مقارنة بالأجناس الأخرى متعددة الصيغة الصبغية (*Cerasus*) وبالتالي فهذا ينعكس على جدوى استخدام المؤشرات الجزيئية في عمليات الانتخاب MAS (Marker Assisted Selection) ضمن برامج التربية كونها تختصر الوقت وتسمح بالانتخاب المبكر لمواصفات الثمار المرغوبة وذلك بفترة طويلة تسبق التعبير عنها (Hesse, 1975).

ويما أن توصيف أنواع *Persica* و *Amygdalus* وتمييزها يتم بشكل تقليدي بناءً على الصفات الشكلية والفيزيولوجية للثمار مما يؤدي إلى انخفاض التنوع فيما بينها، كما أنها تحتاج على الأقل من 3 إلى 4 سنوات لتعطي نتائجها فضلاً عن أنها تتأثر بالظروف البيئية (Bhat *et al.*, 2010). حاول العلماء استخدام شببهات الأنزيمات في توصيف أصناف الدراق واللوز (Isozyme) إلا أنها لم تكشف عن تعددية شكلية عالية لتعريف كل الأصناف وتوضيح العلاقات فيما بينها (Cerezo *et al.*, 1989; Messeguer *et al.*, 1987) ولكن مع التطور الكبير في استخدام المعلومات الجزيئية المعتمدة على الاختلاف على مستوى المادة الوراثية DNA والتي تتميز بكثرة عددها وعدم ارتباطها بالأطوار الفينولوجية للنبات وعدم تأثرها بالظروف البيئية، تم وخلال العقدين الأخيرين إنتاج جيل جديد من المعلومات أصبحت بدورها الأداة الهامة والفعالة في دراسات التنوع الوراثي والبصمة الوراثية في الدراق واللوز مثل التباين في أطوال القطع المضخمة (AFLPs) (Amplification Fragment Length Polymorphism) (Aranzana *et al.*, 2003b) وتقنية الدنا المتعدد الأشكال المضخم عشوائياً (RAPDs) (Random Amplified Polymorphic DNA) (Warburton and Martinez-Gomez *et al.*, 2003) (Simple Sequence Repeat) (Bliss, 1996; Bartolozzi *et al.*, 1998; MirAli and Nabulsi, 2003)، وتقنية تكراريات التسلسلات البسيطة (Simple Sequence Repeat) (Martinez-Gomez *et al.*, 2003 a,b; Xu *et al.*, 2004; Sanchez-perez *et al.*, 2006; Shiran *et al.*, 2007; Bouhadida *et al.*, 2007b; Zeinalabedini *et al.*, 2008).

تعد التغيرات النيكلوتيديّة على مستوى نيكلويتيد واحد (Single nucleotide polymorphism) هي شكل من أشكال التنوع الوراثي الأكثر وفرة في دنا النباتات (Zhu *et al.*, 2003) وهي العامل الرئيسي المحدد للاختلافات المظهرية الموروثة في الجينوم، كما أنها السبب في التنوع الوراثي في المجتمعات النباتية (Wright *et al.*, 2005; Kumar *et al.*, 2009). تتمثل هذه التغيرات إما بشكل تغاير نيكلويتيدي واحد (SNP) (تحويل أو إبدال) (Brookes, 1999) أو الحذف أو الإدخال لمقاطع مورثية (Appleby *et al.*, 2009) ولقد تمت دراسة العديد من الأنواع النباتية ذات الجينوم المعروف التسلسل بتحليل الـ SNP مثل *Arabidopsis* (Drenkard *et al.*, 2000) و الشعير (Rostoks *et al.*, 2006) والذرة

(Batley *et al.*, 2003). في الوقت الحالي استخدمت التغيرات النيكلوتيدية لبعض المورثات المتعلقة في دراسات العلاقات التطورية والتصنيفية مع تقنية سلسلة الحموض النووية، لاستنتاج العلاقات التطورية عبر التاريخ للعالم النباتي، فلقد درست مثلاً على العائلة الوردية بشكل عام (Cabrera *et al.*, 2012; Fernandez i Marti *et al.*, 2012; Martinez-Garcia *et al.*, 2012) وعلى الجنس *Prunus* خاصة بهدف توضيح العلاقات التصنيفية الشائكة في كل منهما (Potter *et al.*, 2007, 2002; Potter, 2003, Potter and Parfitt, 2001; Bortiri *et al.*, 2006).

أهداف البحث:

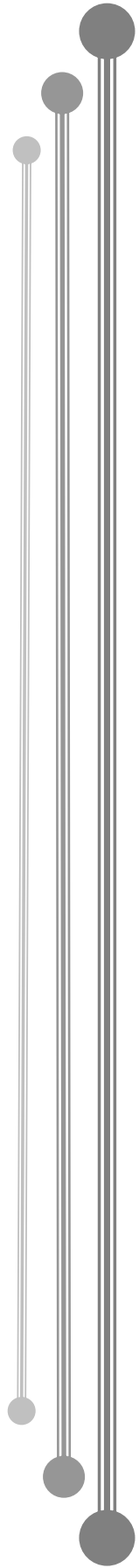
بما أن الطرز والأصناف المحلية المدخلة من الدراق واللوز لم تحظ بالدراسة الكافية ولم توصف أوتقيم ليكون لكل منها هوية محددة، مع الإشارة إلى تميز هذه الطرز والأصناف بقوة تأقلمها مع البيئة المحلية وإنتاجيتها الكبيرة، وبسبب أهميتها الغذائية والاقتصادية والطبية فإنه بات من الأهمية بمكان العمل على توصيف وتقييم لبعض من هذه الطرز والأصناف المحلية والمدخلة من كلا الجنسين، كونها مصدراً مهماً للتنوع الوراثي الذي يشكل المادة الأولية في برامج التحسين الوراثي. وبناء على ما ذكر فإن هذه الدراسة ترمي لتحقيق الأهداف التالية:

1. دراسة وتقييم التنوع الشكلي (الصفات الشكلية الكمية والنوعية) لبعض أصناف الدراق واللوز المحلية والمدخلة إلى سورية وبعض الطرز البرية القريبة ودراسة العلاقات بين الصفات النوعية لثمارها وبعض الصفات الإنتاجية.
2. دراسة التنوع الوراثي للأصناف المحلية والأجنبية من الدراق واللوز باستخدام معلومات تكراريات التسلسلات البسيطة (SSR) وتحديد غناها بالقرائن ودراسة بنية التباير فيها وتحديد مواقع من التكراريات البسيطة التي تمتلك مقدرة عالية على توصيف وتمييز الأصناف بين وضمن الأجناس المدروسة.
3. استخدام تقنية Eco TILLING المعدلة بإجراء مسح منخفض التكلفة وموثوق النتائج للكشف عن التغيرات النيكلو تيديية SNPs بين جينومي الدراق واللوز وربطها بترميز الدنا.
4. بما أن كل الدراسات السابقة لتصنيف لكل من *Persica* و *Amygdalus* كانت بالاعتماد على التوصيف الشكلي فقط كما أن دراسات الاختلافات الشكلية الصغرى مثل دراسة حبوب اللقاح والبنية التشريحية للورقة لم تعط الاختلافات الواضحة لحل العلاقات التصنيفية بينهما، لذلك كان هدف هذه الدراسة دراسة جزء من العلاقات الوراثية التطورية بين *Amygdalus* و *Persica* وتقييم الحالة التصنيفية لهما بالاعتماد على دنا النواة والصانعات ووضع أساس منهجي تصنيفي ضمن إطار العمل في دراسات العلاقات التطورية.

الفصل الأول

الدراسة المرجعية

LITERATURE REVIEW



1- دراسة الصفات الشكلية للدراق:

قام Scorza و Tworkoski في عام 2001 بدراسة وتوصيف المجموع الخضري والجذري لأربعة أنماط شجرية من الدراق *Persica* وهي ذات التاج المتراس (compact)، القزمة (dwarf)، العمودية (pillar)، النموذجية (standard) بسبب الحاجة الملحة لتطوير أصناف جديدة تملك المجموع الخضري الذي يسمح بتمرير جيد لأشعة الشمس ولا تحتاج للتقليم المستمر، بالإضافة للإنتاجية العالية تحت ظروف الزراعة الكثيفة، حيث درست: المساحة الورقية، عدد الأوراق، ارتفاع الشجرة وعدد العقد الساقية ومتوسط قطر التاج حيث بينت النتائج وجود اختلافات واضحة بين الأنماط الأربعة المدروسة إذ أن الأشجار ذات التاج المتراس كان لديها ضعف عدد الأوراق (1350/شجرة) ونصف المساحة الورقية (6 سم²/ ورقة) مقارنة بالأشجار النموذجية أو العمودية أما أشجار النمط العمودي كانت تملك نفس المساحة الورقية ولكن بقطر تاج أضيق مقارنة بالنموذجية والمتراسة أما الأشجار القزمة كان عدد أوراقها أقل، ولديها أقل مساحة ورقية كما بلغ ارتفاع الأشجار القزمة 10/1 من ارتفاع أنماط النمو الأخرى ولكنها امتلكت نفس عدد العقد على طول المحور الأساسي للمجموع الخضري ما يقترح أنها تقع تحت تأثير مورثات محافظ عليها وراثياً بين أنماط النمو الأربعة.

قامت Chalak ورفاقها في عام 2006 بتوصيف 27 مدخل من الدراق المزروع والمنتشر في مناطق مختلفة من لبنان حيث تمت دراسة عشرة من الصفات الكمية المرتبطة بمواعيد الإزهار ومواعيد النضج والمواصفات الشكلية للأوراق والثمار (شكل الورقة، شكل الغدد، شكل الأزهار، شكل الثمار، لون القشرة، لون اللب، التصاق النواة) حيث أظهر تحليل المكونات الرئيسية (Principal component analysis PCA) أن 68% من التباين الكلي قد شاركت فيه كل الصفات المدروسة حيث شكلت مواعيد الإزهار ومواعيد النضج والتصاق النواة بالللب المكون الأول والذي يشكل تقريباً 26% من التباين أما المكون الثاني فشكل 22% ويضم لون اللب وشكل الأزهار أما المكون الثالث فشكل 20% وهو يشمل شكل الثمار، و تم تقسيم الأصناف بحسب موعد نضجها إلى مبكرة ومتوسطة ومتأخرة ومتأخرة جداً.

لدراسة مراحل نمو وتطور ثمار الصنف 'Aurora-1' تم قطاف الثمار بعد 20 يوم من العقد وأسبوعياً حتى الوصول إلى مرحلة النضج الكامل (111 يوم)، ومن خلال قياس طول وعرض الثمرة وجد أن ثمار هذا الصنف تظهر منحنى النمو القياسي السيني (على شكل حرف C) للثمار حيث بلغ ارتفاع الثمرة في نهاية طور النضج 59.84 ± 6.9 مم أما قطر الثمرة فكان 50.30 ± 5.8 مم كما كان هناك ازدياد في وزن الثمرة من 41.08 غ إلى 58.82 غ

(43%) في الفترة الواقعة بين اليوم 99 واليوم 111. كما انخفضت نسبة الحموضة وصلابة اللب بنسبة مماثلة لزيادة محتوى المواد الصلبة والسكر المنحل خلال فترة النضج، وتغير لون اللب من الأصفر المخضر إلى الأصفر الغامق أما لون الثمرة الأساسي في العينتين الأوليتين من مواعيد القطف أظهر قيماً مشابهة للتغير في لون اللب من الأصفر المخضر إلى البرتقالي بعد ذلك اختلف اللون بشكل واضح من الأصفر المخضر إلى الأحمر الغامق المميز للصنف، أظهرت النتائج أنه خلال 90 إلى 97 يوم تصل الثمار إلى النضج الفيزيولوجي ومن اليوم الرابع بعد المئة إلى 111 يوم تصبح كاملة النضج (Junior *et al.*, 2007).

وفي مجال تطوير مقاييس توصيف الثمار الرئيسية حلل Cheng في عام (2008) الصفات الكمية لثمار ثماني مئة مدخل وسبع مئة صنف من الدراق والنكتارين (وهي الأصناف الناتجة عن حدوث طفرة متحبة للمورثة المسؤولة عن أوبار الثمرة لأحد أصناف الدراق)، حيث تمت دراسة خمسة صفات وهي فترة نضج الثمرة، حجم الثمرة، محتوى المواد الصلبة الذائبة، محتوى الثمار من فيتامين C ونسبة المواد الصلبة الذائبة إلى الحموضة المعايرة. وتمت دراسة معامل الارتباط بين الصفات المدروسة حيث ارتبطت فترة نمو الثمرة بحجم الثمار وتركيز المواد الصلبة الذائبة والسكر المنحل والحموضة المعايرة ومحتوى الثمار من فيتامين C، كما كان هناك ارتباط إيجابي بين حجم الثمرة ومحتوى الثمار من فيتامين C ومحتوى الثمار من المواد الصلبة الذائبة والسكر المنحل وكذلك بين محتوى فيتامين C ونسبة المواد الصلبة إلى الحموضة.

درس Villagomez ورفاقه في عام 2009 تسع وخمسين صفة من الصفات الشكلية والفيزيولوجية لأربعة وعشرين صنفاً من الدراق حيث تجمعت الأصناف المدروسة في ثلاثة مجموعات من حيث موعد النضج (مبكرة، متوسطة، متأخرة) ومن كل مجموعة تم انتخاب الصنف الأفضل من حيث نوعية الثمار ووزنها حيث كانت الأصناف Roxana و San Gabriel وسلالات Zacatecas على التوالي هي الأفضل في كل مجموعة، ومن تحاليل الصفات الشكلية انفصلت الأصناف إلى مجموعتين حيث انضم الصنف San Gabriel إلى المجموعة الأولى رغم صفاته المختلفة عن باقي الأصناف في تلك المجموعة، أما المجموعة الثانية فقد ضمت كافة الأصناف ذات صفة النمو الأفقي.

يعد صنف الدراق A72 وهو طفرة شبه قزمية وصفها Monet و Salesses عام (1975) وهي تختلف شكلياً ووراثياً عن الدراق القزم dw dw والذي وصفه Lammeits (1945) إذ تمت زراعة البذور من أحد الأشجار التي تم تلقيحها ذاتياً وفصل البادرات عن بعضها حسب طولها إلى ثلاث مجموعات وسمي النمط nn بالقزمية وأما المتوسطة كانت Nn

والطويلة NN، وبأخذ ست عشرة شجرة من كل نمط ودراسة مواصفاتها الشكلية: ارتفاع الشجرة، قطر التاج عند العرض الأعظمي للشجرة، قطر الجذع بالقرب من مستوى التربة، طول الأغصان في المرتبة الأولى والثانية، عدد العقد على المرتبة الثانية من الأغصان، عدد الفروع الجانبية، الزوايا بين الأغصان، حجم الورقة. وبمقارنة الصفات السابقة بين الدراق القزم dw والنمط nn وجد بأن أشجار الأخير كانت أقصر وأضيق وقطر الجذع أصغر وعدد أغصان المرتبة الأولى أقل، والأوراق أصغر والمسافة بين العقد أقصر مما ساهم بصغر حجم الشجرة وكان المتغير الوحيد للفصل الواضح بين النمطين هو متوسط طول الورقة حيث أنه إذا كان المتوسط أقل من 15.36 سم فالنمط هو nn وإذا كان أكبر فالنمط هو dw dw. أما النمط Nn فقد تميز عن النمط NN والأشجار النموذجية بقلة أغصانه الجانبية مع زيادة طولها. وقد أظهر هذا النمط وبشكل واضح نمط التغصن على شكل شوكة (Forked branching) وهو مرتبط بنسبة البراعم القمية وإنتاج الأغصان الجانبية (Drenou, 2000) هذا النمط لوحظ أيضاً في النسل الناتج من التلقيح الذاتي للـ A72 وفي الهجن الناتجة عن الـ A72 والأشجار العمودية، هذا النمط المختلف من توزيع الأغصان يوضح صفة التغصن الفريدة للـ A72 والتي لم يتم وصفها مسبقاً في الدراق (Hu and Scorza , 2009).

تمت دراسة تأثير أصناف النكتارين وموعد القطاف على لون الثمار وحجمها وبعض الصفات النوعية للثمار حيث تم إجراء التحاليل على أصناف مختلفة الطعم منها الحلوة ومنها الحامضية المذاق حيث صنفت الأصناف الستة في ثلاث مجموعات ضمت كل منها صنفين لهما موعد القطاف ذاته أحدهما حلو والآخر حامضي ما عدا المجموعة اللي تضم الصنفين Big Top و Mesembrine وهما من الأصناف السكرية حيث تم قطاف الثمار بخمسة مواعيد مختلفة تفصل بينها ثمانية أيام. أظهرت الأصناف السكرية (الحلوة) كثافة أكبر بلون القشرة المحمر مقارنة بالأصناف الحامضية بينما كان ظهور اللون الأحمر في تلك الأخيرة أبكر مقارنة بالأصناف الحلوة. إن الأصناف السكرية أظهرت أيضاً اختلافاً واضحاً في اللون الأحمر بين الطرف المعرض للضوء والطرف المظلل من الثمرة. إن تطور وزن الثمرة ونسبة المواد الصلبة الذائبة خلال مواعيد القطاف المختلفة كانت متشابهة لكلا المجموعتين من الأصناف، أظهرت الأصناف الحامضية انخفاضاً سريعاً ومعنوياً في صلابة الثمار وخاصة في الأصناف المبكرة النضج مثل الصنف Alice إذ أن نسبة السكر إلى الحمض في أصناف النكتارين الحلوة كانت 2-3 مرات أعلى من تلك الحامضية (Iglesias and Echeverría, 2009).

بهدف البحث عن الهجن الأكثر تفوقاً من الدراق والنكتارين والملائمة للصناعة الإسبانية وللظروف المناخية في منطقة حوض المتوسط درس Cantin وزملاؤه في عام 2010

المواصفات الشكلية 1111 طراز وراثي ناتجة من خمسة عشر هجين من الدراق والنكتارين إذ تبين عدم وجود فروق معنوية بين الأصناف في موعد بدء الإزهار إلا أنه وجدت اختلافات واضحة في موعد الإزهار الأعظمي وموعد نهاية الإزهار، وهذا يعود لطول فترة الإزهار في مختلف الأصناف وبالنسبة لموعد القطاف فقد وجدت اختلافات معنوية في موسم القطاف بين الطرز المدروسة تفاوتت من أواخر أيار وحتى منتصف أيلول كما كانت هناك فروق معنوية عند مقارنة الانتاجية ووزن الثمرة بين الثمار الدائرية والمسطحة. كما ظهرت فروق واضحة بنسبة اللون الأحمر في لون الثمرة الأساسي تراوح من 8% الى 100% كما وقد تفاوتت صلابة الثمار في العينات المدروسة بين 10.5 إلى 48.6 نيوتن وكذلك كانت الفروق معنوية في شكل الثمرة وحجمها أما بالنسبة للارتباط بين الصفات كان هناك ارتباط معنوي بين وزن الثمرة وموعد القطاف حيث أن الأصناف المبكرة تكون ثمارها أصغر عادة و كانت أعلى قيمة لمعامل الارتباط (0.581) في الطرز الناتجة من الهجين بين (Rich lady× VAC-9511) أما احمرار القشرة فقد ارتبط ايجابياً بلون غلاف الثمرة الداخلي وتراوحت قيم المعامل بحسب الهجن المدروسة.

قام Nisar و Ullah في عام 2011 بدراسة 20 نمط وراثي من الدراق في الباكستان وتم تقييمها وفقاً للمواصفات الشكلية الكمية (حجم الورقة، حجم الزهرة، وزن الثمرة، ووزن الـ 10 ثمار) والنوعية (لون الأزهار وشكلها، حجم النبات، لون الورقة وشكلها، لون الثمرة وشكلها) حيث أعطت النتائج مستوى معنوياً من التنوع الوراثي في صفة حجم الورقة حيث بلغ معامل الاختلاف 29.46% وفي صفة وزن الثمرة (11.36%) وفي لون الزهرة وشكل الزهرة.

ولدراسة قوة النمو والإنتاجية وصلابة الثمار ووزن الثمرة ومحتوى المواد الصلبة الذائبة للصنفين Redhaven و Royal Glory تم تطعيمهما على سبعة أصول مختلفة، كان تأثير الأصول على حجم الشجرة واضحاً في كلا الصنفين حيث أن الأصل Ishtara أعطى أضعف نمو شجري أما الأصول Adesoto و Penta كان نموها شبه قوي أما الأصول Barrier 1 و GF 677 و Monegro أعطى أقوى نمو خضري، تم تسجيل أعلى إنتاجية في الصنف Redhaven بينما لم تكن هناك فروق معنوية في الإنتاجية في الموسم الرابع بين الأصول لكلا الصنفين لم يكن للأصول أي تأثير على محتوى الثمار من المواد الصلبة في الصنف Redhanven بينما كان لها تأثير في الصنف Royal Glory، كما كان لها تأثير معنوي على محتوى ثمار كلا الصنفين من السكر والأحماض العضوية والفينولية في اللب (Orazem et al., 2011).

وفي الآونة الأخيرة تطورت زراعة النكتارين بشكل واسع نتيجة تأقلم هذه الأصناف مع مختلف الظروف البيئية وبسبب نضجها المبكر (Seferoglu and Tekintas, 2004;) وبهدف دراسة الصفات الزراعية والصفات النوعية للثمار لستة أصناف من النكتارين تحت ظروف الزراعة الكثيفة ولمدة ثلاث سنوات متتالية من أجل الحصول على أصناف جديدة من النكتارين ملائمة للتسويق التجاري وذات ثمار جيدة النوعية في Serbia تمت دراسة مواعيد الإزهار والنضج وأخذ القراءات الثمرية التالية: وزن الثمرة، طول وعرض وسماكة الثمرة وصلابة اللب وكانت الاختلافات بين الأصناف في مراحل الإزهار أقل من تلك الاختلافات بين سنوات الدراسة، كما وجدت فروق معنوية بين السنوات في معدل نمو الثمرة بالنسبة للصنف الواحد فكل الأصناف كانت ذات نمو ثمري أسرع في عام 2010 مقارنة بعامي 2009 و 2011 إذ سجل الصنفان Mayfire و Weinberger أعلى معدل نمو ثمري، أما بالنسبة للصفات الفيزيائية المدروسة سجل كلاً من الصنفين Caldesi و 2000 Syrio أعلى القيم وبفروق معنوية واضحة من حيث وزن الثمرة وطول وعرض الثمرة وحجم الثمرة وسماكة وصلابة اللب أما أقل القيم فقد سجلت عند الصنفين Mayfire و Nectred4 (Milošević' et al., 2012).

قام Echeverría وزملاؤه في عام 2012 بدراسة تأثير أصناف من أنماط مختلفة من الدراق والنكتارين ومواعيد القطاف على لون الثمار والصفات النوعية لها، حيث تم إجراء التجارب على أصناف ذات طعم مختلف (حامضية وحلوة) ومختلفة الأشكال (دائرية ومسطحة) من أشجار بعمر خمس سنوات، تم تقسيم الأصناف الستة إلى ثلاثة أزواج لكل زوجين موعد القطاف ذاته وكل زوج مؤلف من صنف حلو وصنف حامضي. تم قطاف الأصناف بفواصل زمنية مدتها 10 أيام بين أربعة مواعيد مختلفة اثنان منها قبل موعد القطاف وواحد عند موعد القطاف والآخر بعد موعد القطاف التجاري. في كافة مواعيد القطاف أظهرت الأصناف الحلوة Honey Royale و Big Nectared ثلوناً أحمرًا شديداً وينسب عالية غطت سطح الثمرة وأما الأصناف الحامضية أظهرت قيماً منخفضة من اللون مثل الصنف Red Jim وبوقت مبكر. أما بالنسبة لتطور محتوى الثمار من المواد الصلبة خلال مواعيد القطاف المختلفة كان متماثلاً في كلا المجموعتين كما انخفضت صلابة الثمار في الأصناف الدائرية الحلوة عن الأصناف الحامضية ولكن هذه الحالة كانت العكس في الأصناف ذات الثمار المنبسطة.

تمت دراسة الصفات الزراعية والنوعية لثمار صنف الدراق: صنف الدراق Tebana وصنف النكتارين Queen Giant بعد تطعيمهما على خمسة أصول وراثية ناتجة من تهجين اللوز والدراق وأصل ناتج من تهجين *P.davidiana* مع الدراق، ومن الصفات المدروسة قطر

الجذع حيث أعطى الأصل Adarcias أقل قوة نمو بين الأصناف المدروسة مقارنة بالأصل GF677 كما كان أعلى متوسط لإنتاجية الثمار عند الصنف Queen Giant المطعم على الأصلين Felinem و GF677 أما الصنف Tebana كانت أعلى إنتاجية له عند تطعيمه على كل من Cadaman و GF677 وبدراسة الارتباط بين الصفات كان هناك ارتباط ايجابي معنوي بين متوسط محيط الجذع والإنتاجية للصنف Queen Giant ($r=0.556$) وفي الصنف Tebana ($r=0.688$) وكان الارتباط سلبياً وبشكل معنوي بين متوسط محيط الجذع ووزن الثمار بالنسبة للصنف الأخير (Font i Forcada *et al.*, 2013a).

وبدراسة أخرى وصف Font i Forcada وزملاؤه في عام 2013b أربعة وتسعين صنفاً من الدراق المحلي في اسبانيا وأصناف حديثة عالمياً مأخوذة من برامج تربية حديثة، إذ تمت دراسة إحدى عشرة صفة مرتبطة بالأزهار والأوراق والثمار وهي : لون المآبر، نمط الإزهار (showy)، كثافة الإزهار، حجم الزهرة، لون اللب، طبيعة اللب، نمط الثمرة (دراق، نكتارين)، شكل الغدد، لون البتلات، شكل الثمرة، شكل البذرة بالإضافة إلى دراسة خمس عشرة صفة أخرى (وزن الثمرة، صلابة اللب، محتوى المواد الصلبة الذائبة) ولمدة ثلاث سنوات متوالية وبحساب معامل الارتباط بين أزواج الصفات المدروسة ظهر ارتباط قوي ومعنوي بين موعد القطف ووزن الثمرة وتركيز المواد الصلبة الذائبة، والسكريات. هذه النتائج بينت أنه عندما تم قطف الثمار بوقت متأخر كانت أكبر وأكثر حلاوة. كما كان هناك ارتباط سلبي ومعنوي بين موعد القطف وصلابة اللب وبين دليل النضج وصلابة اللب وهذا يقودنا إلى أن الثمار الأقل صلابة ارتبطت بمواعيد القطف المتأخر وبالتراكيز الأعلى من السكريات. وعند دراسة بنية مجتمع الأصناف المدروسة تم التمييز بين تحت مجموعتين ضمت الأولى الأصناف المحلية والأخرى شملت الأصناف الأجنبية مع بعض التداخلات البسيطة بين المجموعتين.

درس Fathi وزملاؤه في عام 2013 ولمدة عامين متتالين بعض أصناف الدراق المنتشرة في مصر حيث درسوا موعد الإزهار الأعظمي، بدء تشكل الثمار، موعد القطف، قوة النمو الخضري، بدء تشكل الأزهار، بدء تشكل الثمار وبعض المؤشرات الإنتاجية مثل إنتاجية/ شجرة، وعدد الثمار بالشجرة وبالنسبة لمواصفات الثمرة فقد وصفوا شكل الثمرة، سماكة اللب، وزن اللب، وزن البذور، كثافة اللب وصلابته. وقد ميزوا بذلك أن الصنف Mawy كان الأكثر تبكيراً بمواعيد أوج الإزهار وسقوط البتلات وبدء تشكل الثمار والقطف وكان الأقوى في النمو الخضري بينما كان الصنف Dakahli يتميز بإزهاره المتأخر وبالتالي سقوط البتلات والعقد والقطف المتأخر، أما أعلى نسبة عقد للثمار كانت عند الصنف Sultany1 بينما كانت أعلى نسبة إزهار في الصنفين Early Sinai و Sultany2. كل الأصناف المدروسة تميزت بالثمار الدائرية

وتتراوح لونها من الأخضر الفاتح مع وجود اللون الأحمر إلى الأصفر المخضر وكان لون اللب أبيضاً أو كريماً أو برتقالياً.

جمع Font i Forcada زملاؤه في عام 2014 البيانات الشكلية لصفات الأشجار والثمار على مدى ثلاث سنوات متتالية من مجمع وراثي لأربعة وتسعين مدخلاً من الدراق والنكتارين تشمل أصنافاً إسبانية محلية وأصنافاً أجنبية وتم تقييم صفات الأشجار بدراسة مواعيد الإزهار والقطف وقوة النمو والإنتاجية ومواصفات الأزهار والأوراق والثمار مثل الوزن الطازج والصلابة، نسبة المواد الصلبة الذائبة ودليل النضج ولوحظت اختلافات واضحة بين الصفات وارتباطات معنوية بين الصفات المدروسة.

2 - دراسة الصفات الشكلية للوز:

استخدم Lansari ورفاقه في عام 1994 تحليل المكونات الرئيسية لمقارنة صفات البذرة والثمرة، ونمط النمو وصفات الورقة عند سبع وستين سلالة من اللوز المغربي وأربعة عشر صنفاً أجنبياً، وأوضحت النتائج أن ثمانية من صفات البذرة والثمرة كانت مسؤولة عن التباين بالمكون الأول بينما كان الفصل في المكون الثاني متعلقاً بخمسة من النسب المحسوبة بين صفات البذرة والثمرة وصفة واحدة للأوراق أما في المكون الثالث سيطرت أربعة من الصفات الورقية واثنين للثمار على التباين فيه، كما تجمعت السلالات من مناطق الجمع المتشابهة، ولم تتفصل بدورها عن الأصناف الأجنبية. تميزت ثلاثة من تلك السلالات بثمار وبذور كبيرة الحجم، وتمتعت سبعة من السلالات بالكثافة العالية في عدد البزاعم مما أدى إلى تفوقها بالإنتاجية، كما مالت السلالات المغربية لأن تكون ذات أوراق صغيرة مقارنة بالأصناف الأجنبية.

يعد شجر اللوز من أبكر أنواع أشجار المناطق المعتدلة بالإزهار، فقد قام Bernad و Socias i Company في عام 1995 بدراسة تطور الأزهار ونوعيتها في عشرة أصناف من اللوز (*Prunus amygdalus*) حيث كانت أول الأزهار المتفتحة المبكرة هي الأفضل مقارنة بالأزهار المتفتحة فيما بعد من حيث مساهمتها في عقد الثمار، وعكس مكان تواضع المآبر أعلى من الميسم في ثلاثة من الأصناف العشرة المدروسة إمكانية نجاح التلقيح الذاتي الطبيعي في تلك الأصناف.

درس Socias i Company و Rallo-Garcia في عام 1996 بعض أصناف اللوز في جزيرة مايوركا الإسبانية ونصح بزراعة الأصناف المبكرة الإزهار Jordan، Desmayo، Ferraduel ayles في المناطق التي لا تتعرض للصقيع والأصناف المتأخرة مثل Ferraduel ayles

في المناطق الباردة. وبما أن الصقيع الربيعي هو العامل المحدد والمنظم لعدم انتظام إنتاجية اللوز في أوساط الأناضول لذلك تعد الأصناف المتأخرة في إزهارها أو المحتملة للبرودة هي أصناف هامة في تلك المناطق لإعطاء محصول جيد من اللوز (Kuden, 1997).

وجد Talhouk ورفاقه في عام 1997 أن معظم أصناف اللوز ذات الغلاف الخشبي الهش ذات نسبة عالية من البذور المزدوجة تتراوح بين 16-47% وتتحدد هذه الظاهرة بأسباب وراثية ذات علاقة بالصنف من جهة وأحياناً تلعب البيئة دوراً في زيادة هذه الظاهرة أو الحد منها.

جمع Talhouk ورفاقه في عام 2000 مئةً وتسعاً وأربعين عينة من أنواع اللوز البري في لبنان وتم توصيفها بثلاث عشرة صفة كمية وأربع صفات نوعية، بينت النتائج التنوع الوراثي العالي بين الأنواع المدروسة *A. communis*، *A. korschinskii* و *A. orientalis* ووضح تحليل القطاعات الرئيسي أن صفات وزن الثمرة، حجمها وعرضها، حجم البذرة وقساوة قشرتها قد شكلت المكون الرئيس الأول للتغاير (38.7%) في النوع *A. communis* و (46.7%) في النوع *A. orientalis*، بينما شكلت صفات الورقة المكون الرئيس الثاني بنسبة 18% و 23.2% من التغاير الكلي في كلا النوعين السابقين على التوالي. لم يكن هناك أي ارتباط معنوي بين صفات الورقة ومواصفات الثمرة في كلا النوعين. كما أظهرت النتائج أن مواصفات الأوراق الكمية في الأنواع الثلاثة تأثرت بالهطولات المطرية وليس بارتفاع المنطقة حيث أن العينات المأخوذة من المناطق الجافة كانت ذات أوراق أصغر مقارنة بالعينات المأخوذة من المناطق الرطبة.

قام قلاش في عام 2000 بدراسة اثنين وعشرين صنفاً من أصناف اللوز المحلية والأجنبية ومدى ملاءمتها للظروف البيئية والمناخية للمنطقة الشمالية في سورية، وقد أظهرت النتائج تباين الأصناف في مواصفاتها من حيث قوة النمو ومواعيد الإزهار وشكل الأشجار وكمية الإنتاج ومواصفات الثمار، كما تميزت الأصناف الأجنبية بصفة التأخر في موعد بدء الإزهار أما من حيث وفرة الإنتاج فقد تميز الصنفان تكساس ونك بلوس ألتر بالإنتاجية العالية، وتميزت الأصناف شامي فرك ونك بلوس ألتر وكيلاي بقشرتها الهشة وبنسبة التصافي المرتفعة (< 40%).

قام معهد باري بإيطاليا بالعمل على حماية الأصول الوراثية للوز (*P. amygdalus*) وذلك من خلال جمع العديد من الطرز والأنماط ذات الأهمية الوراثية، حيث تمت دراسة التنوع الشكلي لهذا المجتمع كاملاً بهدف وضع نواة تتضمن كافة الطرز ذات الاختلافات الواسعة

وبالاعتماد على عشرين صفة كمية للنبات والبذور والثمار تم تقسيم ثمانية وثمانين مدخلاً من المدخلات ضمن سبعة مجموعات، ودرس مستوى التشابه بينها، وباستخدام تحاليل التباين حددت الصفات التي كانت ذات قدرة تمييزية بين المجموعات مثل صفة ازدواجية البذور، حجم البذرة والثمرة، موعد الإزهار ونسبة التصافي (De Giorgio and Polignano, 2001).

هناك نوعان من اللوز البري ينموان بشكل طبيعي في منطقة الأناضول وهما *A. orientalis* و *A. turcomanica* وصف Ak وزملاؤه في عام 2001 هذين النوعين حيث تميزت أوراق النوع الأول بأنها موبرة رمادية اللون وكبيرة وكذلك الأغصان كانت موبرة وهو يزهر قبل النوع *A. turcomanica*، أما أوراق النوع الثاني فهي غير موبرة خضراء اللون أصغر من أوراق النوع الشرقي الأول وهو ذو إزهار متأخر أما الأغصان فهي غير موبرة وشائكة، ويتميز بالأشجار القزمة.

تتميز الأصناف البرتغالية بالعديد من الصفات الإنتاجية المرغوبة إلا أنها تعاني من الصقيع المتأخر خلال مرحلة الإزهار مما حد من انتشار زراعتها، لذلك تم جمع هذه الأصناف وتطعيمها على الأصل GF677 لحفظ وحماية هذه المادة الوراثية ثم تم اختيار ثلاثة عشر صنفاً منها وتوصيفها، ولوحظ وجود فروق معنوية في وزن وطول وعرض الثمرة وفي مواصفات البذرة، كما قسم التحليل العنقودي بالاعتماد على الصفات المدروسة الأصناف إلى ثلاث مجموعات وبقي صنفان بشكل منفرد، شملت المجموعة الأولى تحت ثلاث مجموعات تميزت تحت المجموعة الأولى بالأصناف ذات الثمار والبذور القصيرة أما تحت المجموعة الثانية فتميزت بالثمار ذات السماكة المنخفضة مع البذور الضخمة (Cordeiro et al., 2001).

وضع الرئيس في عام 2002 توصيفاً وتقييماً لعدد من المصادر الوراثية للوز الحلو في المجمع الوراثي التابع للمركز العربي لدراسة المناطق الجافة والأراضي القاحلة، وخلص إلى أن معظم المصادر الوراثية الموجودة في المجمع الوراثي متأخرة الإزهار (خلال شهر آذار) مما يحميها من خطر الصقيع الربيعي، كما وجد أصنافاً وسلالات ذاتية التلقيح، وأصنافاً أخرى انعدمت فيها الإزدواجية.

جمع حماشا في عام 2002 عينات نباتية من ثلاثة أنواع تابعة للجنس *Amygdalus* والمنتشرة في الأردن وهي اللوز الشائع *A. communis* L واللوز كورشنسكي *A. korshinskyi* واللوز الصحراوي *A. arabica* وذلك من أحد عشر مجتمعاً للوز البري. تم إجراء التوصيف المورفولوجي لهذه المجتمعات من حيث مواصفات الأوراق والأزهار والثمار وطبيعة النمو، دلت النتائج على أن الصفات الكمية المتعلقة بالأوراق والأزهار وطبيعة النمو

للأنواع الثلاثة اعتمدت على كمية الأمطار وليس الارتفاع عن سطح البحر إذ أن أوراق الأشجار الموجودة في المناطق الجافة وأزهارها كانت أصغر حجماً من تلك الموجودة في المناطق الأكثر رطوبة أما صفات الثمار الكمية والنوعية فلم تختلف في كلا المنطقتين. كشف التوصيف المورفولوجي أن اللوز الشائع واللوز كورشنسكي أقرب إلى بعضهما البعض من اللوز الصحراوي.

قام Kodad و Socias i Company في عام 2005 بدراسة كثافة البراعم الزهرية ومواعيد الإزهار والصفات الشكلية للأزهار عند سبعة أصناف من اللوز (*Prunus amygdalus*) تراوحت كثافة البراعم الزهرية من 0.25 إلى 1.19 برعم/سم وبفروق معنوية واضحة بين الأصناف. كان موعد الإزهار متأخراً بالنسبة لكل الأصناف المدروسة حيث تفتحت أول الأزهار في الأسبوع الثالث من شباط مما سمح بتجنب الصقيع الربيعي، كما دل توضع الميسم إلى إمكانية حدوث التلقيح الطبيعي في صنفين من الأصناف المنتخبة.

يعد اللوز من أهم الأشجار المزروعة في لبنان إلا أن هوية أغلب الأصناف المزروعة حسب مواقع انتشارها غير محددة إلى الآن، لذلك هدفت دراسة Chalak ورفاقها عام (2007) إلى تقييم التنوع الوراثي لأصناف اللوز المزروعة باستخدام الصفات الشكلية حيث تم جمع ست وثلاثين عينة من أصناف اللوز المزروعة ودراستها باستخدام عشرين صفة كمية ونوعية ترتبط بشكل أساسي بالثمرة، حيث تبين وجود تنوع عالٍ بين العينات المدروسة وربما يعود ذلك إلى الاختلافات الوراثية فيما بينها وبالاعتماد على الصفات النوعية تم رسم شجرة القرابة الشكلية التي فصلت العينات المدروسة ضمن ثلاثة مجموعات رئيسية بمتوسط نسبة تشابه تعادل 0.37 باستثناء وجود حالتين من المدخلات المترادفة.

بعد عدة سنوات من الزيارات لمواقع في هضبة Slankamen في صربيا وتقييم لأكثر من 300 شجرة من اللوز، انتخب Colic و Zec في عام 2007 عشرين طرازاً وراثياً بسبب الإنتاجية المرتفعة الجيدة والمنظمة وتمت دراسة الموصفات الشكلية والثمارية لتلك الطرز حيث كان التباين الأكبر واضحاً في طبيعة النمو، شكل الثمرة ولون القشرة كما تميزت الطرز المدروسة بقوة النمو والتاج المفترش والإزهار المتأخر (3-13 نيسان) وذلك باعتبار أن بدء الإزهار هو من العوامل الأساسية لتقييم أفضل الطرز المنتخبة.

قام يعقوب في عام 2008 بدراسة توصيفية لبعض طرز جنس اللوز *Amygdalus* في المنطقة الساحلية وأشار إلى وجود بعض الطرز ذات الموصفات التجارية المرغوبة مثل وزن

النواة حيث كانت أكبر قيمة لمتوسط وزن النواة عند الطراز B أما بالنسبة لنسبة التصافي فقد كانت أعلى نسبة عند الطراز C كما انعدمت نسبة البذور المزدوجة عند الطرز D، E، F، G، K.

تميز أصناف اللوز من قبل المنتجين إما أنها ذات قشرة قاسية أو طرية ولكن هذه الصفة تعود إلى اختلافات في مورفولوجية القشرة وصفاتها الفيزيائية، لذلك تم تقييم ثمانية أصناف من اللوز خلال موسمين متتاليين من خلال وزن الثمرة ووزن البذرة ونسبة ازدواجية البذور، وصلابة القشرة. كانت هناك فروق معنوية بين سنتي الدراسة بالنسبة لكل الصفات المدروسة كما وجد هناك ارتباط معنوي إيجابي على مستوى 1% بين صفة متوسط وزن الثمرة مع وزن البذرة، وأعلى قيمة ارتباط سلبي قوي كانت بين صفة ازدواجية البذور وصلابة القشرة (Ledbetter, 2008).

درس Fathi ورفاقه في عام 2008 التنوع الوراثي بين ستة وخمسين طرازاً من اللوز الحلو *Prunus dulcis* باستخدام 35 معلم من معلمات تكراريات التسلسلات البسيطة (SSR) وأربع عشرة صفة مورفولوجية منها ما يتعلق بالورقة مثل شكل الورقة طولها وعرضها، منها ما يتعلق بالبذرة أو الثمرة مثل طول البذرة وعرضها ووزن الثمرة، نسبة البذور. أوضحت نتائج الدراسة الشكلية مجال كبير من التباين بين الطرز المدروسة حيث كانت نسبة معامل الاختلاف (CV%) مرتفعة في كل من الصفات التالية: إنتاجية البذور، شكل الورقة والنسبة المئوية للبذور.

قام الفوزو في عام 2010 بتوصيف شامل لستة عشر طرازاً محلياً وصنفاً مدخلاً من اللوز في المجمع الوراثي التابع لمركز البحوث العلمية الزراعية في حمص من الناحية المورفولوجية والبنية حيث تبين أن معظم الطرز المحلية والأصناف المدخلة كانت متأخرة الإزهار، وقد تفاوتت نسبة التصافي بين الطرز المحلية والأصناف المدخلة والتي تراوحت بين 22.73% و 41.24%. وانعدمت ازدواجية البذور في الطراز المحلي 106، كما تبين وجود علاقة عكسية بين نوع القشرة ونسبة التصافي كما أن المعطيات الشكلية والكمية الطلعية أظهرت التقارب الضيق جداً بين حبوب الطلع في الطرز والأصناف المدروسة وتمت دراسة ظاهرة عدم التوافق الذاتي إذ أظهرت الطرز 101، 108، 110 العقم الذاتي الكامل.

وبهدف عزل طرز بيئية من تجمعات طبيعية للوز (*Amygdalus communis* L.) في منطقة Dalmatian في كرواتيا والتي تتمتع بصفات إيجابية مرغوبة مثل الإزهار المتأخر والنسبة العالية من التوافق الذاتي والنسبة المنخفضة من ازدواجية البذور، تمت دراسة سبعة أنماط بيئية لمدة ثلاثة أعوام من الناحية الشكلية في الموقع، أظهرت ثلاثة أنماط منها K4، K5 و K6 نتائج مقبولة من حيث موعد الإزهار، حجم الثمرة، ازدواجية البذور وطعمها، ونسبة

التوافق الذاتي. مما ساعد في إدخالها في برامج التربية للوز في كرواتيا لاحقاً (Strikic et al., 2010).

درس Nikoumanesh ورفاقه في عام 2011 التنوع و العلاقات الوراثية ضمن برامج التربية باستخدام الأصول الوراثية للوز بين خمسة وخمسين طرازاً من اللوز الإيراني وسبعة أنواع برية تابعة للجنس *Prunus* حيث أظهرت نتائج تحليل المكونات الرئيسي أن 67.6% من التباير الشكلي الكلي كان في السنة الأولى من الدراسة و 68.06% في السنة الثانية. كانت الصفات الورقية شبه المسيطرة في المكون الأول وتشكل القسم الأكبر من التباير، كما ارتبطت كل من طول الورقة وعرضها ارتباطاً عالياً بالمساحة الورقية وكذلك بقوة النمو، كما كان معامل الارتباط سلبياً بين نسبة طول إلى عرض الورقة مع قوة النمو، كما تم رسم شجرة القرابة بناء على الموصفات الشكلية وفق طريقة Ward المرتببة حيث توضع العينات المدروسة كلاً وفق النوع الذي تنتمي له.

قيم Kadkhodaei ورفاقه في عام 2011 تسعاً وثلاثين صفة مورفولوجية لدراسة التنوع الشكلي بين ثلاثة وخمسين صنفاً من أصناف وسلالات اللوز الحلو المنتخبة (*Prunus dulcis*) من مناطق جغرافية مختلفة. أكد تحليل البيانات الشكلية وجود اختلافات معنوية بين الطرز الوراثية في كافة الصفات المدروسة، كما فصل مخطط التحليل العنقودي الموصفات الشكلية ضمن مجموعتين هما الأصناف المزروعة والتي شملت تحت خمس مجموعات ومجموعة الأنواع البرية، بلغ متوسط التشابه الوراثي الشكلي 0.59، وبمقارنة متوسطات الصفات بين تحت المجموعات المدروسة تم تحديد المجموعات التي تحوي الاصناف الأفضل من حيث الإنتاجية.

وبهدف دراسة الصفات الشكلية والفيزيائية لثمار اللوز ومقارنة المحتوى الكيميائي للقشور تم انتخاب أربعين طرازاً وراثياً في إيران ودراسة بعضاً من صفاتها مثل سهولة تفتح الثمرة، مواعيد القطاف، شكل الثمرة كثافة لون القشرة، العلامات على القشرة الخارجية ، قساوة القشرة، كثافة لون البذرة طعم البذرة وحجمها ووزن الثمرة والبذرة، إذ تراوحت صفة سهولة التفتح من المتوسطة إلى المرتفعة وكانت معظم الطرز ذات ثمار متطاولة (19 طراز) واثنى عشر ذات ثمار بيضوية والباقي قلبية الشكل، لم تكن هناك قشرة قاسية أو قاسية جداً بين الطرز المدروسة، معظم بذور الطرز كانت فاتحة اللون إلى متوسطة حلوة الطعم باستثناء طرازين (البذور داكنة اللون، ذات طعم مر) وظهرت الفروقات المعنوية بين قيم متوسطات وزن وطول وعرض وسماكة الثمرة على مستوى ثقة 5% (Esfahlan et al., 2012).

قام Banizi ورفاقه في عام 2014 بدراسة التنوع في النسل الناتج عن تهجين Shahrood1× Shahrood12 مع الآباء حيث وجد تحليل المكونات الرئيسية 30 نمط شكلي بين النسل الناتج تمت مقارنة الصفات الهامة مثل موعد الإزهار، حجم الشجرة، المقاومة للصقيع، نمط النمو، الكثافة الزهرية مع الآباء مما أظهر التوزع غير المتماثل بين الأصناف، بالاعتماد على البيانات الشكلية باستخدام تحليل القطاعات بطريقة Ward تم فصل المجتمع المدروس إلى أربعة مجموعات وفقاً لارتفاع الشجرة، إذ انفصلت بعض الطرز مع الأب Shahrood1 وأخرى مع الأب Shahrood12 وتجمعت الطرز الباقية في القطاعين الأخيرين.

3- تقنية تكراريات التسلسلات البسيطة SSR (Simple Sequence) (Repeat):

عرف Khal في عام 2001 مواقع تكراريات التسلسلات البسيطة (Microsatellite) بأنها تتابعات ترادفية لسلسلة قصيرة من القواعد الأزوتية ذات أطوال بين 2 و 6 أزواج قاعدية ذات تكرارية متوسطة ومرتبة ترادفياً، توجد بشكل كبير وبسلسلات ذات طبيعة متغيرة في المادة الوراثية للفطور والنباتات والحيوان والإنسان لذلك تعد أحد أهم صفوف المادة الوراثية المتكررة Repetitive DNA (Tautz and Rentz, 1984 ; Tautz, 1989)، ويعود التباين في مواقع تكراريات التسلسلات البسيطة إلى تباين عدد نسخ أو عدد مرات تكرار الوحدات التكرارية الثنائية أو الثلاثية أو الرباعية في الجينوم من 5 إلى 50 نسخة مثل 29(AT) أو 16(CAC) أو 32(GACA) وهي تتواجد بغزارة في النبات وتوجد مرة كل 6-7 آلاف زوج قاعدي (Cardle *et al*., 2000).

تحاط مواقع تكراريات التسلسلات البسيطة من جانبيها بتسلسلات نيكليوتدية، عادة ما تكون فريدة ومحددة للنوع أو الجنس، وبالاعتماد على هذه التسلسلات يمكن تصميم مرئيتين متخصصتين إحداها مكملة لهذه التسلسلات الفريدة على إحدى سلسلتي الدنا والمرئسة الأخرى مكملة لهذه التسلسلات الفريدة على السلسلة الأخرى بحيث يكون اتجاه كلا المرئيتين نحو داخل مواقع تكراريات التسلسلات البسيطة وذلك لتضخيمها (Tautz, 1989).

ونظراً لاختلاف عدد نسخ الوحدة التكرارية في مواقع تكراريات التسلسلات البسيطة على الجينوم فإن نواتج تضخيم تقانة تفاعل البلمرة المتسلسل PCR وباستخدام مرئيتين متخصصتين

بالموقع تكون بأطوال مختلفة وعليه يمكن فصل وتحديد منتجات التضخيم المختلفة الأطوال على هلامة الآغاروز أو الميتافور أو الأكريلاميد.

ويمكن تحديد مواقع تكراريات التسلسلات البسيطة بعدة طرق مثل البحث ضمن قواعد بيانات الدنا مثل EMBL and Genbank أو من خلال معرفة التتابع النيكلوتيدي لقطع صغيرة من الدنا (200-600 زوج قاعدي) (Powell *et al.*, 1996).

أصبحت معلّات تكراريات التسلسلات البسيطة هي المعلّات الوراثية المختارة لتحديد البصمة الوراثية في أنواع نباتية عديدة (Tautz, 1989) وذلك لأن هذه المعلّات تعتمد على تقانة تفاعل البلمرة المتسلسل PCR وذات تباين وتكرارية عالية وعادة ما تكون متعادلة السيادة وموجودة بغزارة ضمن المادة الوراثية لحقيقيات النوى (Powell *et al.*, 1996; Gupta and Varshney, 2000).

استخدمت تقنية تكراريات التسلسلات البسيطة في توصيف معظم أنواع الفاكهة، وكذلك في دراسات التنوع الوراثي، وتحديد درجة التشابه الوراثية. حيث طبقت على نطاق واسع في رسم الخرائط الوراثية وتحليل البنية الوراثية للجماعات (Barreneche *et al.*, 1998). واستخدمت بشكل واسع في العائلة الوردية (*Rosaceae*) وكانت بداية على التفاح لتوصيف مصادر التفاح الوراثية وذلك من قبل Hokanson ورفاقه في عام 1998.

استطاع Cipriani ورفاقه في عام 1999 تحديد سبعة عشر زوجاً من مرئسات تكراريات التسلسلات البسيطة التي تم عزلها وتحديد تتابعها من مكتبتَي الجينوم للدرّاق واللّتين تعدان غنيتين بتتابعات AC/GT و AG/CT وتطبيقها على عشرة طرز وراثية من الدّراق والنكتارين أظهرت خمسة عشر من المواقع (نسبة 88%) تعددية شكلية، وبمعدل 2-4 قرين لكل موقع وكان متوسط التباير المورثي لكل المواقع 0.32 والتي تعد قيمته أكثر معنوية من تلك التي أظهرتها شبّهات الأنزيمات والمعلّات الجزيئية الأخرى (RFLP، RAPD). كما أعطت أزواج المرئسات العشرة السابقة نتائج تضخيم إيجابية عندما طبقت على أنواع مختلفة من الجنس *Prunus sp* (الخوخ الأوروبي، الخوخ الياباني، المشمش، اللوز، الدّراق، النكتارين، الكرز الحلو والكرز الحامض) كما أعطت ثلاثة أزواج من المرئسات نتائج مماثلة في التفاح (*Malus. sp*)

مما بين القابلية العالية لانتقال معلّات SSR بين الأنواع والأجناس (Cross-species transportability).

تمكن Testolin وآخرون عام 2000 من عزل وتحديد التتابعات لستة وعشرين موقعاً من تكراريات التسلسلات البسيطة Microsatellite مشتقة من مكتبة الجينوم للدراق كانت سبعة عشر منها هي نفس المواقع المحددة من قبل Cipriani ورفاقه عام 1999 وتسعة مواقع جديدة أخرى ثم استخدمت هذه المواقع للتمييز بين خمسين صنفاً من الدراق والنكتارين فأظهرت كل المواقع تعددية شكلية تراوحت من 2-8 قرائن للموقع الواحد وكان متوسط قيمة التغير المورثي لكل المواقع 0.47 وأبدت هذه المجموعة من المواقع القدرة على تمييز كافة الأصناف المدروسة باستثناء الأصناف المختلفة بطفرة أو الأصناف التي يعتقد بأن لها نفس النسب، ولذلك أوصي باستخدام هذه المواقع كمؤشرات جزيئية لتحديد البصمة الوراثية للدراق.

قام Sosinski ورفاقه عام 2000 بتوصيف معلّات تكراريات التسلسلات البسيطة في الدراق (*Prunus persica*) إذ أنه بعد فحص مكتبة الجينوم للدراق وجد أن تتابعات السيتوزين-ثيمين (CT) تظهر كل 100 ألف زوج قاعدي وتتابعات السيتوزين-أدينين (CA) تظهر كل 420 ألف زوج قاعدي أما تتابعات الأدينين-غوانين-غوانين (AGG) فتظهر كل 700 ألف زوج قاعدي. وبعد تحديد التتابعات تمّ تصميم المرئسات المخصصة لتفاعل البلمرة المتسلسل وذلك لتضخم المنطقة الحاوية على تكراريات التسلسلات البسيطة وتقييم التعددية الشكلية بين ثمانية وعشرين صنفاً من الدراق حيث أعطى كل زوج من المرئسات من 1-4 قرين لكل موقع.

لدى فحص مكتبة الجينوم في الدراق الغنية بالتتابعات النيكلوتيدية سيتوزين-ثيمين (CT) حدد Dirlewanger ورفاقه عام 2002a واحداً وأربعين موقعاً لتكراريات التسلسلات البسيطة وصممت أزواج مرئسات للمناطق المحيطة بتكراريات التسلسلات البسيطة ثم قيّمت هذه المرئسات على سبعة وعشرين صنفاً من الدراق وواحد وعشرين صنفاً من الكرز الحلو فأعطت جميعها نواتج تفاعل بلمرة متسلسل مضخمة في الدراق وقد أعطت ستة أزواج من المرئسات (10%) نواتج تفاعل بلمرة متسلسل مضخمة لعدة مواقع من تكراريات التسلسلات البسيطة في العينة الواحدة بينما أعطى ثلاثة وثلاثين زوجاً من المرئسات نواتج تفاعل بلمرة متسلسل مضخمة في الكرز الحلو وقد أعطت ثمانية (20%) منها نواتج تفاعل بلمرة متسلسل

مضخمة لعدة مواقع من تكراريات التسلسلات البسيطة في العينة الواحدة، ومن بين ثلاثة وثلاثين موقعاً مفرداً لتكراريات التسلسلات البسيطة في الدّراق والكرز الحلو أعطى ثلاثة عشر منها تعددية شكلية في كل من الدّراق والكرز الحلو وتسعة عشر آخر كان ذا تعددية شكلية في الدّراق فقط وواحد في الكرز الحلو فقط، تراوح عدد القرائن في كل موقع من 1 وحتى 9 للدراق ومن 1 حتى 6 في الكرز الحلو أما قيمة التباين المورثي تراوحت بين 0.07 و 0.79 للدراق وبين 0.39 وحتى 0.76 للكرز الحلو، أما متوسط قوة التمييز (Discrimination power) كانت 0.54 و 0.72 للدراق والكرز على التوالي وبذلك تم تمييز كل أصناف الدّراق والكرز الحلو باستخدام ثلاثة مواقع لتكراريات التسلسلات البسيطة فقط. وتستخدم هذه المواقع الأكثر فعالية في تمييز المدخلات لأجل تحديد البصمة الوراثية للدراق والكرز الحلو بالمجمع الوطني الفرنسي وفي تحاليل التوافق الجيني (Synteny) في الجنس *Prunus*.

تتمة لدراساته السابقة درس Dirlewanger ورفاقه عام 2002b إمكانية انتقال معلّات تكراريات التسلسلات البسيطة بين الأنواع والأجناس والفصائل النباتية المختلفة حيث استخدمت أزواج المرئسات السابقة في دراسة التباين الوراثي في أنواع الجنس المركب *Prunus* وهي الكرز الحلو مازارد *P. avium mazzard* والكرز الحامض *P. cerasus*، الخوخ الأوربي *P. domestica*، اللوز *P. amygdalus*، المشمش *P. armeniaca* ووخ مايروبلان *P. cerasifera* Ehrh وأجناس أخرى تتبع الفصيلة الوردية وهي التفاح *Malus* والفريز *Fragaria* وكذلك أنواع أخرى لا تتبع الفصيلة الوردية وهي الكستناء *Castanea*، الجوز *Juglans* والعنب *Vitis*. أعطت 75.6% من المرئسات تضخيماً في كل أنواع الجنس *Prunus* و 29.3% منها تضخيماً في كل الأنواع المدروسة من العائلة الوردية في حين أعطت 80.5%، 43.9%، 31.7% من المرئسات تضخيماً في الكستناء، العنب والجوز على التوالي.

توصل Aranzana ورفاقه في عام 2002 لحقيقة تثبت أن تكراريات التسلسلات البسيطة هي معلّات فعّالة ومؤثرة في التطبيقات الوراثية وبرامج التربية في الدّراق وذلك من خلال تطوير خمسة وثلاثين موقعاً لتكراريات التسلسلات البسيطة (SSR) من بنك المورثات في الدّراق الغنية بتتابعات السيتوزين-ثيمين/الأدينين-غوانين (AG/CT) ولقد وجد أن أربعة وعشرين منها ذات تعددية شكلية عند اختبارها على أربعة عشر صنفاً من الدّراق وأحد عشر صنفاً من

النكتارين، حيث ظهر ما مجموعه 82 قرين في المواقع ذات التعددية الشكلية، ووجد أنه كلما ازداد عدد التتابعات في المواقع كلما ازداد عدد القرائن المرتبطة بها كما تمكنوا من تمييز جميع الأصناف كل على حده ماعدا صنفين منها ولقد أثبتوا أن ثلاثة مواقع لتكراريات التسلسلات البسيطة (SSR) تعد كافية لتمييز أربعة وعشرين طرازاً من أصل خمسة وعشرين ونتيجة للتحليل العنقودي تجمعت كل أصناف النكتارين في عنقود منفرد بينما كانت أصناف الدراق أكثر تبايناً من النكتارين.

عزل Testolin وزملاؤه عام 2002 ستة وعشرين موقعاً لتكراريات التسلسلات البسيطة من مكتبتي الجينوم للدراق (*Prunus persica* L) والغنية بتتابعات الأدينين-سيتوزين/غوانين-ثيمين (AC/GT) والأدينين-غوانين/سيتوزين-ثيمين (AG/CT) على التوالي، ولقد تم فحص قابلية الانتقال للمعلومات ضمن الجنس *Prunus* على أنواع تابعة للجنس *Prunus* وهي الدراق، النكتارين، اللوز، المشمش، الخوخ الأوربي، الخوخ الياباني، الكرز الحلو، الكرز الحامض بالإضافة للتفاح. وكانت النتيجة أنه أكثر من نصف تكراريات التسلسلات البسيطة (52%) أعطت تضخيماً صحيحاً في كل أنواع الجنس *Prunus* حيث كان حجم قطع الدنا المضخمة ضمن مجال الحجم المتوقع منسجمة في عددها مع المستويات المعروفة من الصيغة الصبغية ولقد كان معدل التضخيم منخفضاً عند الأنواع ذات العلاقة الوراثية التطورية الأقل مع الدراق مثل الخوخ الأوربي والياباني والكرز.

ونظراً إلى أن رسم خرائط مواقع تكراريات التسلسلات البسيطة يحتاج إلى زمن طويل وتكلفة مرتفعة إضافة إلى أن معظم هذه المواقع غير مرتبطة بشكل محدد مع مواقع المورثات المهمة سعى Wang ورفاقه في عام 2002 إلى الجمع بين تقنية رسم الخرائط القليلة التكلفة نسبياً وبين التحديد السريع لمواقع تكراريات التسلسلات البسيطة المعروفة مسبقاً بواسطة تقنية AFLP في المناطق المهمة من الخريطة الوراثية وبفضل هذا الاتجاه تم تطبيق هذه الاستراتيجية لتحديد مواقع تكراريات التسلسلات البسيطة المرتبطة بصفتين هامتين تورثان بسهولة في الدراق وهما المقاومة لنيماتودا تعقد الجذور وصفة النمو الدائم (Evergrowing) كما تمكنوا من إثبات قابلية معلومات تكراريات التسلسلات البسيطة بين أنواع الجنس *Prunus* الأخرى بما فيها المشمش.

لدى تحديد أربعة وأربعين موقعاً لتكراريات التسلسلات البسيطة من مكتبة الجينوم للوز والغنية بتتابعات الأدينين- سيتوزين (AC) وتسعة وتسعين موقعاً من المشمش والغنية بتتابعات الأدينين -غوانين (AG) استطاع Messina وزملاؤه في عام 2003 من إثبات الكفاءة العالية لبرنامج تحديد المواقع المستخدم في المشمش حيث تم تحديد 99 موقعاً من أصل 127 موقعاً متوقعاً مقارنة مع اللوز (44 موقعاً من أصل 93 موقعاً متوقعاً) وبعدها تم تصنيع المرئسات الملائمة لعشرين موقعاً من كل من مكتبي الجينوم وتطبيقها على ثمانية أنواع تتبع الجنس *Prunus* (اللوز، الدراق، النكتارين، المشمش، الخوخ الأوربي، الخوخ الياباني، الكرز الحلو والكرز الحامض) بالإضافة للتفاح *Malus domestica* تم إثبات قابلية الانتقال الواسعة لمعلومات تكراريات التسلسلات البسيطة SSR بين أنواع الجنس *Prunus*.

وفي دراسة مغايرة عما سبق قام Yamamoto وزملاؤه عام 2003 بتحليل الأبوة للدراق الياباني باستخدام معلومات تكراريات التسلسلات البسيطة حيث درس الأصل لستة عشر صنفاً من الدراق (تسعة منها ربيت بالتهجين المتحكم به، اثنان منها كانت طفرات برعمية، وخمسة منها من بادرات) باستخدام سبعة عشر معلماً من تكراريات التسلسلات البسيطة حيث تم إثبات العلاقات بين النسل والآباء في تسعة أصناف مهجنة وذلك لأن قرائن تكراريات التسلسلات البسيطة قد انتقلت للأصناف من آباءها في كل المواقع المدروسة، وأثبتت هذه الدراسة تطور بعض الأصناف من أصناف أصلية بالطفرة البرعمية بناءً على التشابه في نمط انعزال مواقع التتابعات. كما أثبتت الدراسة أن بعض أصناف الدراق غير معروفة النسب تشاركت بقرين واحد مع الأب الافتراضي في كل موقع لتكراريات التسلسلات البسيطة ولقد اقترحت الدراسة أن هذه الأصناف لم تكن طفرات ولكن ناتجة عن بادرات للأب الافتراضي مما أكد فاعلية معلومات تكراريات التسلسلات البسيطة في تحاليل الأبوة.

تم اختبار العلاقات الوراثية بين الدراق [*Prunus persica* (L.) Batsch] واللوز [*P. dulcis* (Mill.) D.A. Webb] وعشرة أنواع مرتبطة تابعة للجنس *Prunus* ضمن تحت الجنس *Amygdalus* باستخدام مواقع تكراريات التسلسلات البسيطة، حيث تراوح عدد القرائن في كل من أصناف اللوز والدراق من 1 إلى ثلاثة بينما في الأنواع البرية المرتبطة تراوح العدد من 1 إلى عشرة. وأوضحت النتائج تنوعاً وراثياً عالياً بين المادة الوراثية للأنواع المرتبطة وكذلك

قوة معلمات التكراريات المطورة من أحد أنواع الجنس *Prunus* لتوصيف الأنواع المرتبطة الأخرى، عند حساب متوسط عدم التماثل ورسم شجرة القرابة الوراثية انقسمت الأصناف إلى أربع مجموعات انفصلت فيها أصناف الدراق مع *P. davidiana* و *P. mira* أما المجموعة الثانية ضمت أصناف اللوز جميعها، وشملت المجموعة الثالثة كل من النوعين *P. glandulosa* و *P. scorpia* والمجموعة الأخيرة ضمت باقي الأنواع المرتبطة (Martinez-Gomez *et al.*, 2003a).

وبدراسة مكملية لما سبق قام Martinez-Gomez ورفاقه (b 2003) بدراسة التنوع الوراثي باستخدام 18 موقع من مواقع التكراريات في 30 صنفاً من اللوز وعشرين صنفاً من أصناف الدراق التجارية وخمسة عشرة صنفاً من أصناف التصنيع وعشرة أصول وراثية لتحديد القرابة الوراثية بين الأصناف ولتوصيف التنوع الوراثي بين وضمن الأنواع. تراوح عدد القرائن الناتجة من الدراق من 1 إلى 6 بينما في اللوز كان المجال من 3 إلى 9 قرين. تجمعت أصناف الدراق في عشرة مجموعات تتوافق مع مناطق النشوء، حيث أن معظم أصناف الدراق التجارية انفصلت عن أصناف التصنيع مما يؤكد الاختلاف في الأصل الجغرافي. أما في اللوز فانفصلت الأصناف من مجموعتين رئيسيتين الأولى ضمت الأصناف الآتية من كاليفورنيا أما الثانية ضمت الأصناف الأوربية.

استطاع Testolin ورفاقه عام 2004 اختبار التعددية الشكلية وقابلية الانتقال لعشرين معلماً من تكراريات التسلسلات البسيطة المصممة بناءً على مواقع تكراريات التسلسلات البسيطة من مكتبة الجينوم للوز (*Prunus amygdalus* Batsch) والغنية بتتابعات الأدنين – سيتوزين (AC) على سبعة أنواع مختلفة تابعة للجنس *Prunus* هي الدراق، النكتارين، المشمش، الخوخ الأوربي، الخوخ الياباني، الكرز الحلو والكرز الحامض بالإضافة للتفاح حيث تراوحت قيمة التباير المورثي المتوقعة بين 0.62 و 0.89 وقد أعطت 30% من المرئسات تضخيماً واضحاً في أنواع الجنس *Prunus* كما أعطى زوجين من المرئسات تضخيماً في التفاح.

استطاع Dirlewanger ورفاقه في عام 2004 مقارنة الجينوم بين سبعة أصناف مضاعفة الصيغة الصبغية تابعة للجنس *Prunus* ($X=8$) (اللوز، الدراق، المشمش، الكرز، *P. cerasifera*، *P. davidiana*، *P. ferganesis*) وذلك باستخدام خريطة المرجع للجنس

Prunus (*Prunus* reference map) والتي تشمل 562 من المَعْلَمَات الجزيئية القابلة للانتقال (RFLP, SSR) بالإضافة لثلاثة عشرة خريطة مبنية على مجموعات أصغر من هذه المَعْلَمَات واعتمدت المقارنة على تطابق المَعْلَمَات (*colinearity*) حيث أظهرت النتائج المبدئية لمقارنة الخرائط بين التفاح والمشمش مستوىً عالياً من التوافق (*synteny*) بين الجنسين، كما تم اكتشاف مناطق وراثية محافظة بين جنس *Prunus* وجنس *Arabidopsis*. وبمقارنة بيانات الخرائط المختلفة أمكن تحديد مواقع المورثات الثمانية والعشرين الأساسية التي تؤثر على الصفات الإنتاجية الموجودة في الأنواع المختلفة للجنس *Prunus* وذلك من خلال دراسة 277 زوجاً من مرئسات تكراريات التسلسلات البسيطة في 101 من نباتات الجيل الأول الناتجة عن التصالب الثلاثي ضمن الجنس *Prunus* بين الخوخ الكرزي مع هجين اللوز والدراق حيث ارتبطت المَعْلَمَات بشكل قوي مع المورثات الأساسية المسؤولة عن الصفات الهامة (المقاومة للأمراض والحشرات، كمية الثمار، عدم التوافق الذاتي وغيرها) وهي بدورها تستخدم حالياً في عمليات الانتخاب بمساعدة مَعْلَمَات جزيئية (*Marker assisted selection*) في برامج التربية.

طبقت تقنية تكراريات التسلسلات البسيطة للبحث عن مَعْلَمَات جديدة يمكنها أن تميز بين الأصناف ولإثبات أنها هي الطريقة الأسرع للتحكم بالنوعية وثباتية الصنف وذلك من قبل Bowley عام 2004 حيث درس ثمانية وأربعين صنفاً من الفريز، سبعة عشر صنفاً من توت العليق، أربعين صنفاً من الكرز الحلو، ستة عشر صنفاً من الكرز الحامض، تسعة أصناف من الخوخ الياباني، اثنين وسبعين صنفاً من الخوخ الأوروبي، اثنين وستين صنفاً من الدراق، خمسة أصناف من النكتارين، خمسة أصناف من المشمش وستة أصول من الكرز وباستخدام مرئسات متخصصة لكل نوع تم التمييز بين معظم أصناف النوع بثلاثة أزواج من المرئسات فقط ما عدا أصناف الدراق التي استلزم تمييزها عن بعضها استخدام سبعة أزواج من المرئسات المتخصصة وتم استنتاج أن البصمة الوراثية المعتمدة على تكراريات التسلسلات البسيطة ليست ملائمة لتحديد الطفرات الثانوية مثل التغير في لون الأزهار لكنها تعد وسيلة فعالة للكشف عن الأصناف التجارية المغايرة للطراز الحقيقي أو المعتمد.

بما أن عملية توصيف الأصول الوراثية بالنسبة للأشجار المثمرة تحتاج إلى تقنية فعالة وسريعة لذلك تم استخدام تقنية تكراريات التسلسلات البسيطة في التوصيف الجزيئي لتسعة وعشرين نوعاً من أصول الجنس *Prunus* وذلك من خلال تحليل دنا الأصول باستخدام خمسة مواقع تكرارية، حيث نتج عنها 81 قرين سمحت لكل نمط وراثي بأن يكون مميزاً، حيث فصل مخطط التحليل العنقودي الطرز المدروسة تحت مجموعتين الأولى ضمت الأصول التي تتبع تحت الجنس *Prunophora* والثانية تحت الجنس *Amygdalus* (Bianchi et al., 2004).

تم تطبيق تحاليل البصمة الوراثية على ثلاثة عشرة صنفاً من الجنس *Prunus* باستخدام سبعة مواقع من التكراريات البسيطة أعطت المواقع المستخدمة تعددية شكلية عالية ونمطاً فريداً مميزاً لأحد عشر من الأصناف المدروسة، حيث كان عدد القرائن الناتجة مرتفعاً (10.2) وتراوح حجوم القرائن من 194 إلى 242 زوج قاعدي، وتراوح قيمة التغاير المورثي المتوقع من 0.75 إلى 0.86، بمتوسط قدره 0.79 وتراوح قيم معامل التعددية الشكلية من 0.69 إلى 0.81 بمتوسط 0.79 بين المواقع المدروسة (Gomez, 2004).

في دراسة أخرى حدد Mnejja ورفاقه عام 2005 مجموعة جديدة تتألف من 47 موقعاً من تكراريات التسلسلات البسيطة مشتقة من مكتبة الجينوم للوز والغنية بتتابعات السيتوزين-ثيمين/أدينين-غوانين (CT/AG) كانت 42 منها ذات تعددية شكلية عند دراستها على ثمانية أصناف من اللوز وواحد وثلاثين منها كانت ذات موقع واحد وكان متوسط عدد القرينات في الموقع 6.6 ومتوسط التغاير المورثي الملحوظ 0.65 والمتوقع 0.76 مما دل على تنوع وراثي عالي وكذلك كانت قابلية انتقال هذه المعلنات مرتفعة (83-100%) إلى أنواع مختلفة من الجنس *Prunus* مثل الدراق، الكرز الحلو، الخوخ الياباني والمشمش.

ونظراً لقابلية الانتقال والتوريث بين مواقع تكراريات التسلسلات البسيطة الدقيقة تم استخدام ستة من مواقع الدراق على واحد وعشرين صنفاً من اللوز و180 من الهجن الناتجة من الصنف الفرنسي R1000 والصنف الإسباني Desmayo Langueta، أوضحت نتائج التوصيف الجزيئي للأصناف المدروسة باستخدام المواقع الستة المتعددة شكلياً مستوى عالياً من التغاير المورثي حيث تراوح عدد القرائن من 4 إلى 13 أما في الهجن ظهر بوضوح الانعزال

متبادل السيادة لمعلومات التكراريات، مما يؤكد قيمة تلك المعلومات لتمييز مختلف الهجن وتوصيف المورثات المتوفرة من اللوز في برامج التربية (Arus *et al.*, 2005).

تم استخدام أربعة وخمسين موقعاً من مواقع SSR والمطورة حديثاً من الدراق كانت سبعة وعشرون منها تستخدم في تحاليل النشوء والتطور والبصمة الوراثية للأصناف الصينية، في رسم شجرة النشوء والتطور وبالاعتماد على 178 قرين متعدد شكلياً انفصلت الأصناف الآتية من الصين عن أصناف حوض المتوسط في مجموعتين مستقلتين (Ma *et al.*, 2005).

قامت Chalak ورفاقها 2006 بدراسة مبدئية لسبعة وعشرين مدخلاً من أصناف الدراق المزروعة والمنتشرة في مناطق مختلفة من لبنان وذلك باستخدام عشرة صفات شكلية وستة عشر موقعاً من مواقع تكراريات التسلسلات البسيطة حيث أعطت تعددية شكلية بمعدل 4.5 قرين/موقع وبقوة تضخيم بلغت أعلى من 0.71.

درس Wunsch ورفاقه 2006 خمسة وثمانين صنفاً من أصناف الدراق الاسبانية المحلية باستخدام عشرة من مواقع تكراريات التسلسلات البسيطة وذلك بهدف توصيف تلك الأصناف وتحديد التشابه الوراثي بينها، أعطت المواقع 35 حزمة بين الأصناف الخمسة والثمانين المدروسة مما ميز بين 46 نمط وراثي كان واحدٌ وثلاثون منها مرتبطاً بأصناف فريدة أما بقية الأنماط فهي تتوافق مع مجموعتين الأولى تألفت من اثنتين إلى خمسة أصناف والأخرى ضمت 17 من الأصناف غير القابلة للتمييز، إن معدل التشابه الوراثي الناتج عن البيانات الجزيئية فصل معظم الأصناف ذات الثمار المسطحة وذات اللب الأبيض عن بقية الأنماط المدروسة والتي كانت أغلبها أصنافاً محلية ذات اللب الأصفر الصلب.

استطاع Xie ورفاقه 2006 استخدام ستة عشر موقعاً من مواقع التكراريات البسيطة لتحاليل التنوع الوراثي لثلاثة وعشرين صنفاً من اللوز من الصين إضافة إلى خمسة عشر صنفاً عالمياً، حيث نتج 117 قرين في ستة من مواقع التكراريات المدروسة ونتيجة تحليلها للكشف عن التغيرات بين الأصناف المدروسة بالنسبة للمواقع ذات التكراريات من AG/CT لم توجد أية إدخالات أو حذف في المناطق المحيطة بالقرائن الثماني والتسعين المدروسة، كان الاختلاف في حجم القرائن لهذه المواقع يعود إلى تغير بنية التكراريات من قطع أو حدوث تكرار جديد

بالإضافة الى تغيير عدد التكراريات AG/CT، كما تبين وجود إبدال في المناطق التكرارية في موقعين من مواقع التكراريات.

تمت دراسة العلاقات الوراثية بين ستة وتسعين طرازاً وصنفاً من الدراق والنكتارين (*Prunus persica*) من مناطق جغرافية مختلفة من الصين واليابان وشمال أمريكا وجنوب كوريا باستخدام ثلاثة وثلاثين موقعاً من مواقع التكراريات البسيطة حيث أنتجت 283 قريناً بمتوسط 8.3 قرين/ موقع تراوحت قيم معامل التعددية الشكلية بين 0.40 إلى 0.98 بمتوسط 0.80، فصل مخطط التحليل العنقودي الطرز والأصناف المدروسة إلى ست مجموعات وفقاً لمواطنها الجغرافية (Yoon *et al.*, 2006).

تم توصيف تسع عشرة سلالة من صنف الدراق (Miraflores) غير معروفة النسب في اسبانيا وذلك لمعرفة التنوع الوراثي بينها ولتوضيح علاقاتها المحتملة مع عشرة أصناف تقليدية من الدراق وذلك باستخدام عشرين زوجاً من المرسئات المطورة من الدراق وذات التعددية الشكلية العالية وكانت النتيجة الحصول على ستة وأربعين قريناً بمعدل 1 إلى 6 قرائن وبمتوسط 2.3 قرين للموقع و كانت أربعة عشر من مواقع تكراريات التسلسلات البسيطة ذات تعددية شكلية في الطرز الوراثية المدروسة كما ساعد رسم شجرة التشابه الوراثي في ترتيب الطرز الوراثية بحسب علاقاتها الوراثية (Bouhadida *et al.*, 2007a).

درس Zeinalabedini ورفاقه في عام 2007 التنوع الوراثي لأنواع مختلفة من اللوز البري وخمسة أصناف مزروعة من اللوز من اسبانيا وإيطاليا وأمريكا باستخدام ستة عشر مواقع للتكراريات البسيطة في حيث بلغ عدد القرائن 200 تراوح عددها من 7 إلى 16 قرين بمتوسط 12.5 قرين/ موقع وتراوحت قيمة التباير المورثي المتوقع بين 0.54 و 0.93 و متوسط قيمة معامل التعددية الشكلية 0.81.

وصف Rojas ورفاقه 2008 مئة وسبعة عشر صنفاً من أصناف الدراق والنكتارين باستخدام تسعة مواقع SSR، حيث استطاعوا تمييز مئة وصنفين من أصل الأصناف المدروسة باستخدام سبعة مواقع فقط بينما الأصناف الخمسة الأخرى تم تمييزها باستخدام ثلاثة معلمات

إضافية كان متوسط التباير المورثي المتوقع 0.55 أما مخطط الارتباط المتجاور (neighbor joining) يظهر مع بعض الاستثناءات أن أصناف الدراق والنكتارين قد تجمعت بشكل منفصل.

قام Fathi ورفاقه 2008 بدراسة التنوع الوراثي بين ستة وخمسين طرازاً وراثياً من اللوز باستخدام 35 موقع من مواقع التكراريات البسيطة مع أربع عشرة صفة شكلية. حيث تبين من أصل المواقع الخمسة والثلاثين المدروسة كان هناك خمسة وعشرون موقعاً متعدداً شكلياً نتج عنها 215 قرين والتي تراوح عددها من 2 إلى 16 بمتوسط قدره 8.76 قرين/موقع، أما تحليل القطاعات المتجاورة فصل الطرز المدروسة ضمن خمسة مجموعات رئيسية.

وباستخدام عشرين زوج من أزواج مرئسات مواقع التكراريات التسلسلات البسيطة والمطورة من الدراق تم توصيف والكشف عن العلاقات الوراثية بين أربعة وأربعين سلالة تمثل ثلاثة مجموعات من الأصول وهي مجموعة الأصول المرتبطة بالدراق (*P. dulcis* × *P. persica*) وأصول خوخ مايروبلان - ماريانا فيها يعد (*P. cerasifera*) كنبات أب والثالثة الخوخ المقصر (*P. insititia*, *P. domestica*, *P. domestica* × *P. spinosa*) أعطت ثمانية عشرة من المرئسات المستخدمة نواتج تضخيم في مجموعة أصول الدراق وثلاثة عشر معلماً آخر أعطت تعددية شكلية لخوخ مايروبلان - ماريانا ومجموعة أصول الخوخ المقصرة وعند حساب معامل داييس للتشابه ورسم شجرة القرابة الوراثية فصلت السلالات المدروسة ضمن ثلاثة مجموعات تتوافق مع تصنيفها النباتي ومواصفاتها المورفولوجية، كما تبين أنه مجموعة من ثلاثة مواقع (BPPCT001, CPPCT022, UDP98-407) كانت قادرة على التمييز بين جميع السلالات المدروسة، وعند تحليل ضمن المجموعات استطاعت مجموعتين أخريين من ثلاثة من المواقع التمييز بين سلالات الأصول المرتبطة بالدراق وسلالات خوخ مايروبلان - ماريانا، وأما المجموعة الأخيرة تمكن موقع واحد من فصل جميع سلالاتها (Bouhadida *et al.*, 2009).

إن التوصيف المبكر والدقيق لأصناف اللوز (*Prunus dulcis*) يعد عاملاً مهماً بالنسبة لمربي النبات وفي المشاتل، لذلك تمت دراسة مواقع التكراريات التسلسلية البسيطة المطورة مسبقاً لكشف قدرتها على تمييز أصناف اللوز المزروعة حديثاً، وقام Dangi ورفاقه في عام (2009) باختيار اثني عشر موقعاً ذو تعددية شكلية عالية بسبب توصيفها لثمانية عشرة

صنفاً من اللوز في كاليفورنيا والتي تعد متقاربة وراثياً فيما بينها، كما أفادت تلك المواقع في تقييم العلاقات بين الآباء والنسل الناتج بالنسبة لتلك الأصناف.

وصف Fernandez i Marti ورفاقه 2009 ثلاثة وتسعين صنفاً من أصناف اللوز منها ثلاثة وستون صنفاً اسبانياً من مناطق جغرافية مختلفة باستخدام تسعة عشر موقعاً من مواقع التكراريات البسيطة والمنتخبة بسبب تعدديتها الشكلية العالية في اللوز وأنواع الجنس *Prunus* كل المرئسات أعطت تضخيماً في كل الاصناف منتجة 323 حزمة بمتوسط 17 قرين/ موقع تراوح عددها من 4 الى 33 قرين وتراوح حجم القرائن من 88 الى 260 زوج قاعدي، بلغت قيمة التغاير المورثي المتوقعة 0.72 وكانت أعلى من دراسات سابقة على اللوز، كما فصل المخطط الناتج معظم الأصناف تبعاً لمناطقها الجغرافية.

تمت دراسة مئة وخمسة وخمسين صنفاً من الدراق من مناطق مختلفة (آسيا، البرازيل، أوروبا، وأمريكا) باستخدام سبعة مواقع من التكراريات البسيطة وذلك لكشف العلاقات الوراثية بين أصناف الدراق التي تحتاج لدرجات حرارة منخفضة ومختلفة. حيث تبين وجود تنوع وراثي عالي من 0.33 بين أصناف تايلاند إلى 0.97 بين الأصناف البرازيلية. أكثر القطاعات بعداً كانت أصناف الدراق من تايلاند وتايوان والأصناف المحلية من الصين (Anderson, 2010).

بهدف دراسة التنوع الوراثي لخمسين طراز وراثي من اللوز التونسي وعلاقتها مع الأصناف الأوروبية والأمريكية، تم استخدام عشرة من مواقع التكراريات البسيطة حيث أعطت النتائج 159 قريناً وتراوحت أطوالها من 116 إلى 227 زوج قاعدي. إن عدد القرائن بالموقع تراوح بين 12 إلى 23 بمتوسط 15.9 قرين/ موقع بلغت قيمة التغير المورثي المتوقع والملاحظة 0.86 و 0.68 على التوالي، أوضحت النتائج أن هذه المواقع استطاعت التمييز بين الاثنين وثمانين طرازاً وعند حساب معامل Dice للتشابه الوراثي ورسم شجرة القرابة الوراثية كان التنوع الوراثي بين الطرز المحلية كبيراً مع فصل جغرافي واضح بين طرز المنطقة الشمالية والجنوبية (Gouta et al., 2010).

تعد المعلومات الجزيئية المطورة من جينوم الجنس *Prunus* أداة فعالة في دراسة تطور التركيب الوراثي ودراسة بنيته. لذلك تم جمع مئتين وثمانية طرازاً وصنفاً من اللوز من مناطق

جغرافية مختلفة من إيران بالإضافة لبعض الأصناف الأجنبية وهجنها مع الأصناف الإيرانية وتمت دراستها باستخدام تسعة مواقع تكرارية مطورة مسبقاً من اللوز أعطت نتائج التضخيم 152 قرين (20.9 قرين/موقع) بمتوسط قدره 16.87 قرين/موقع. كان متوسط قيمة معامل التعددية الشكلية مرتفعاً 0.81 وقيمة التباير المورثي المتوقع 0.83 مما سمح بتمييز 98% من الطرز المدروسة باستخدام خمسة مواقع فقط، فصل مخطط التحليل العنقودي الأصناف والطرز المدروسة ضمن مجموعتين المجموعة الأولى ضمت الأصناف الأجنبية والمجموعة الثانية ضمت طرز اللوز الإيراني جميعها (Kadkhodaei *et al.*, 2010).

قام Aranzana ورفاقه 2010 بدراسة التوزع وبنية التباير الوراثي بين الأصناف الأمريكية والأوربية التجارية وكذلك الأصناف الإسبانية القديمة والعديد من الطرز المستخدمة في برامج التربية المبكرة للدراق في أمريكا لذلك تم توصيف 224 صنفاً من الدراق باستخدام خمسين موقع من مواقع التكراريات البسيطة، حيث انقسمت أصناف الدراق في ثلاثة مجموعات رئيسية وهي: أصناف الدراق الطرية، أصناف النكتارين الطرية والأصناف الصلبة حيث كان لدى هذه الأخيرة أعلى معدل من عدد القرائن مقارنة بالمجموعتين السابقتين، كما انفصلت الأصناف الأمريكية الأساسية مع أصناف الدراق الطرية التجارية مما يدل على أن المادة الوراثية خاصتها ظهرت بوضوح في الأصناف الحديثة.

باستخدام ثمانية من مواقع التكراريات البسيطة تم التوصيف الجزيئي لتسعة أصناف من الدراق (*Prunus persica*)، حيث أنتجت 19 قريناً ثلاثة عشرة منها كانت متعددة شكلياً. خمسة قرائن فقط قد وجدت مميزة لبعض الأصناف مثل الصنف الأردني والصنف السوري (السلالة 3) تراوحت قيم التشابه المورثي من 88.9% إلى 41.4% (Nagaty and El-Assal, 2011).

ولدراسة التنوع الوراثي والشكلي لثلاثة وخمسين صنفاً من أصناف اللوز جمعت من مناطق جغرافية مختلفة تم استخدام تسعة وثلاثين صفة شكلية وتسعة مواقع من مواقع التكراريات البسيطة حيث تراوح عدد القرائن الناتجة من 8 الى 17 بمتوسط 12.86 قرين/موقع، حيث كان الموقعان UDA-002 و UDA-005 أكثر المواقع فعالية في الكشف عن التعددية الشكلية حيث أعطى كل منهما 17 و 15 قريناً متعدداً شكلياً على التوالي موزعة بين كل الأنماط

المدروسة وبالاعتماد على قيم معامل التعددية الشكلية (PIC) كان الموقع UDA-023 هو أكثر المواقع فاعلية، كان متوسط القرائن المتعددة شكلياً 5.59 ومتوسط قيمة التباير المورثي المتوقعة 0.8 ومتوسط قيمة معامل التعددية الشكلية 0.89 وكان متوسط التشابه المورثي 0.23 (Kadkhodaei *et al.*, 2011).

استخدم Gouta ورفاقه في عام 2012 عشرة من مواقع التكراريات البسيطة لدراسة التعددية الشكلية بين أربعة وخمسين طرازاً وراثياً من اللوز التونسي. أوضحت نتائج التضخيم عن 130 قرين و 250 تعددية شكلية وذلك بهدف وضع مفتاح تصنيفي لكل نمط مدروس، تم تحليل البيانات بشكل منفصل لكل موقع، كان أكثر المواقع تعددية هو الموقع CPDCT042 حيث اعتمد كأول موقع، بعدها اعتمد الموقعين CPDCT042 والموقع CPDCT025 كموقعين كافيين للتمييز بين كافة الأصناف والطرز المدروسة.

تم تقييم التنوع الوراثي لأصناف اللوز المغربية (*Prunus dulcis*) البذرية المنشأ والمزروعة في مناطق بيئية جغرافية مختلقة باستخدام ستة عشرة موقعاً من التكراريات البسيطة، حيث تم الكشف عن 238 قرين بمتوسط 14.88 قرين/موقع، يتراوح عدد القرائن من 4 إلى 24 وتراوح طول القرين بين 84 في الموقع UDP96-003 و 253 زوج قاعدي في الموقع UDP96-018، كما ظهر جلياً التنوع الوراثي العالي للأصناف المحلية إذ تجمعت في ثلاثة مجموعات رئيسية تبعاً للمناطق البيئية ومقارنة بالتجمع الوراثي لمنطقة حوض المتوسط من الشرق الى الغرب فإن التنوع الوراثي للأصناف المغربية يميل لأن يكون محدوداً (Elhamzaoui *et al.*, 2012).

قام Font i Forcada وزملاؤه (2013b) بدراسة أفضل معلمات التكراريات البسيطة والمرتبطة بالصفات الشكلية لتوصيف أربعة وتسعين صنفاً من أصناف الدراق والنكتارين الاسبانية وبعض الأصناف الحديثة باستخدام 40 موقعاً من مواقع التكراريات البسيطة والتي تنتوزع في جينوم الدراق حيث فصل تحليل بنية المجتمعات المدروسة الأصناف المحلية عن الأجنبية مع بعض الخلط بين المجموعتين وكانت أصناف الدراق الاسبانية أقل تنوعاً عنها في الأصناف الاجنبية حيث بلغ متوسط عدد القرائن في الموقع 5.10 حيث كشف الموقع BPPCT025 أعلى عدد من القرائن (11) وبلغ متوسط قيمة التباير المورثي الملحوظة و

المتوقعة 0.48 و 0.49 على التوالي، حيث تبين أن قيم المؤشرات الجزيئية كانت أعلى منها في الأصناف الحديثة عنها في المحلية بينما كان عدد القرائن في المواقع الأربعين أعلى منها في الأصناف المحلية (172) عنه في الأصناف الحديثة.

تم تقييم التباين الوراثي بين 82 طرازاً وراثياً من اللوز (*Prunus dulcis*) باستخدام عشرة مواقع تكرارية بسيطة، تميز خمسون طرازاً من اللوز التونسي بالإضافة إلى سلالات محلية أثناء البحث في مواقع مختلفة في شمال ووسط تونس ومن خلال تحليل التباين الوراثي الجزيئي لأحد عشرة مجتمع نباتي من تلك المناطق المختلفة ومن مناطق أجنبية، وجد أن التباين الأكبر كان موجوداً ضمن المناطق الجغرافية وأوضحت هذه النتائج أن التنوع لوراثي بين أصناف اللوز المحلية كان واضحاً مع فصل واضح بين أصناف المنطقة الشمالية والمنطقة الجنوبية (Gouta *et al.*, 2013).

4- الكشف عن التغيرات النيكلوتيديّة ودراسة العلاقات التطورية:

تعد التغيرات النيكلوتيديّة على مستوى نيكلوديد واحد (Single nucleotide polymorphism) هي شكل من أشكال التنوع الوراثي الأكثر وفرة في دنا النباتات (Zhu *et al.*, 2003) وذلك بمعدل تباين واحد كل 100-300 زوج قاعدي في بعض الأنواع النباتية (Appleby *et al.*, 2009)، تمت دراسة العديد من الأنواع النباتية ذات الجينوم المعروف التسلسل بتحاليل الـ SNP مثل *Arabidopsis* (Drenkard *et al.*, 2000) والشعير (Rostoks *et al.*, 2006) والذرة (Batley *et al.*, 2003)، إذ تعد الـ SNPs هي العامل الرئيسي المحدد للاختلافات المظهرية الموروثة في جينوم النبات، كما أنها السبب في التنوع الوراثي في المجتمعات النباتية (Wright *et al.*, 2005; Kumar *et al.*, 2009) يمكن أن تكون هذه التغيرات طبيعية ضمن مجتمعات نباتية مختلفة، أو محدثة من خلال المعاملة بالمطفرات (Till *et al.*, 2007)، تتمثل هذه التغيرات إما بشكل تباين نيكلوتيدي واحد SNP (تحول أو إبدال) (Transition or transversion) (Brookes, 1999) أو حذف (deletion) أو إدخال (insertion) لمقاطع مورثية (Appleby *et al.*, 2009) وبالتالي هذه الطفرات يمكن أن تكون ذات قيمة أو لا قيمة لها حيث وجد أن هناك ارتباطات محددة بين التغيرات النيكلوتيديّة وبين العديد من الصفات التصنيفية للنباتات (Chen *et al.*, 2011).

تعد التغيرات من نوع transition هي طفرة نقطية تتمثل بتحول نيكلو تيد البيورين إلى بيورين آخر (A ↔ G) أو نيكلو تيد بيريميدين إلى بيريميدين آخر (C ↔ T) وبشكل تقريبي اثنان من ثلاثة تغيرات نيكلو تيدية هو من النوع transition أما التغير من نوع transversion فهو استبدال لنيكلوتيد البيورين (حلقتين) إلى البيريميدين (وحيد الحلقة) أو بالعكس (Collins and Jukes, 1994).

وفي الوقت الحالي بدء باستخدام الـ SNP لمسح الجينوم كاملاً من أجل دراسات التنوع الوراثي، البصمة الوراثية، ودراسات النشوء والتطور في العائلة الوردية (Cabrera *et al.*, 2012; Fernandez i Marti *et al.*, 2012; Martinez–Garcia *et al.*, 2012; Le Dantec *et al.*, 2010; Wu *et al.*, 2009; Change *et al.*, 2008) فعلى سبيل المثال قد تم تحديد أكثر من 15000 تغير نيكلو تيدي (SNP) في الدراق (Verde *et al.*, 2012; Arus *et al.*, 2012; Ahmad *et al.*, 2011) كان 7500 منها ذات فعالية عالية في رسم الخرائط الوراثية للعديد من المجتمعات (Martinez–Garcia *et al.*, 2012; Verde *et al.*, 2012).

تعد عملية سلسلة الحموض النووية منهجاً جديداً في مجال التصنيف النباتي، إذ أن قوة هذه التقنية والبيانات الناتجة عنها تجعل منها من أكثر الطرائق المستخدمة جزيئياً لاستنتاج العلاقات التطورية عبر التاريخ للعالم النباتي، وذلك يعود لسببين رئيسين: أولاً إن النيكلو تيدات (الأزواج القاعدية) هي الوحدات الرئيسية للمعلومات المشفرة في الأعضاء النباتية ثانياً: يعد حجم البيانات الفعالة الناتجة هائلاً لذلك فإن هذه التغيرات الفعالة تعد تصنيفياً نبعاً لا ينضب من المعلومات.

يعد تصنيف الجنس *Prunus* ورسم حدوده أمراً مثيراً للجدل ويعود هذا الجدل التصنيفي إلى النقص في إطار العمل على مستوى العلاقات التطورية، إذ اعتمد معظم الباحثين المذكورين في الجدول (1) على صفات شكلية محددة في عملية التصنيف مثل صفات الثمار وطبيعة الإزهار (Mc Vaugh, 1951)، ومن هذا المنطلق فإن نظام التصنيف المعتمد على الصفات بالنسبة للجنس *Prunus* s.l وتحت العائلة *Amygdaloideae* يجب أن يكون ضمن إطار دراسة علاقات النشوء والتطور، درس عدداً من العلماء العلاقات التطورية لهذا الجنس (Mowrey and Werner, 1990; Uematsu *et al.*, 1991; Badenes and Parfitt, 1995) إلا أن عدد العينات في تلك الدراسات كان محدوداً.

الجدول (1): المعايير التصنيفية الأساسية للجنس *Prunus s.l.*

العينات المميزة	المرتبة	اسم العالم النباتي
<i>Amygdalus, Armeniaca, Cerasus, Laurocerasus, Persica, Prunus</i>	جنس	(1700) Tournefort
<i>Armeniaca, Cerasus, Padus, and Prunus</i>	جنس	(1754) Linnaeus
<i>Amygdalus, Amygdalopsis, Armeniaca, Ceraseides, Cerasus, Laurocerasus, and Prunus</i>	تحت جنس	Bentham and Hooker (1865)
<i>Amygdalus, Cerasus, Chamaeamygdalus, Emplectocladus, Microcerasus, Padus, and Prunophora</i>	تحت جنس	(1894) Focke
<i>Amygdalus, Cerasus, Padus, and Prunophora</i>	تحت جنس	(1911) Koehne
<i>Amygdalus, Cerasus, Laurocerasus, Padus, and Prunophora</i>	تحت جنس	(1940) Rehder
<i>Laurocerasus, Padus, and Prunus</i>	جنس	(1964) Hutchinson
<i>Amygdalus, Armeniaca, Cerasus, Laurocerasus, Padus, Persica, and Prunus</i>	جنس	(1971) Komarov
<i>Amygdalus, Armeniaca, Cerasus, Laurocerasus, Padus, and Prunus</i>	جنس	(1986) Yu et al
<i>Amygdalus, Cerasus, Laurocerasus, Padus, and Prunus</i>	تحت جنس	Ghora and Panigrahi (1995)

تعد التحاليل التي قام بها Mowrey و Werner في عام 1990 هي الدراسة التطورية الأشمل لهذا الجنس حيث قام الباحثان بدراسة الاختلاف الناتج عن شبّهات الأنزيمات لأربعة وثلاثين نوعاً تتبع لثلاثة تحت أجناس (*Amygdalus, Cerasus, Prunus*) إذ نتجت عن هذه الدراسة ثلاث مجموعات توافقت مع تحت الأجناس الثلاث بوجود بعض الاستثناءات.

إن تطور المورثات المختلفة أو أجزاء من المورثات وفق معدلات مختلفة يجيب على العديد من الأسئلة ضمن المستويات التصنيفية المختلفة ويعد دنا الصانعات ملائم تماماً للدراسات التطورية والتصنيفية، ذلك لأن دنا الصانعات هو أولاً: مكون وافر نسبياً من الدنا الكلي للنبات وهذا مما يسهل عملية الاستخلاص والتضخيم والسلسلة (حجم الجينوم صغير وبسيط)، ثانياً: يحوي نسخة واحدة من المورثات (تورث من أحد الأبوين)، ثالثاً: ذو معدل ثباتية في الإبدالات النيكلوتيديّة، رابعاً: غير مأشوبة (recombinant) وأحادي الصيغة (haploid) وأخيراً: يحوي قاعدة وراثية واسعة من المعلومات الوراثية لذلك تتم وبشكل واسع دراسة البنى

التصنيفية بالاعتماد على البيانات الجزيئية من دنا الصانعات (Weising and Gardner, 1999).

هناك العديد من الدراسات المرجعية التي تدعم تطبيق أكثر من موقع وراثي للتمييز بين الأنواع النباتية فقد أوصى المرجع الرئيسي لمجموعات العمل النباتية في جمعية ترميز الاحياء (CBOL)(Consortium for the barcode of Life) (Consortium for the barcode of Life) بأساس عمل لترميز الأنواع النباتية وذلك باستخدام أجزاء مرمزة من مورثات دنا الصانعات *matK* و *rbcl* (CBOL Plant Working Group , 2009) حيث تعد المورثة الأولى سهلة التضخيم والسلسلة والمطابقة في معظم النباتات على الرغم من قدرتها التمييزية المتواضعة (Newmaster *et al.*, 2006; Hollingsworth *et al.*, 2011) وهذا يقابله صعوبة تضخيم المورثة الثانية *matK* ذات القدرة التمييزية العالية والتي تعد المنطقة المرمزة الأسرع لدنا الصانعات (Hilu and Liang, 1997).

تعد مورثة الصانعات المرمزة *rbcl* المورثة الأكثر استخداماً في التحاليل التصنيفية والنشوء والتطور (Chase *et al.*, 1993; Donoghue *et al.*, 1993)، تمتلك هذه النسخة المفردة من المورثة تقريباً طول 1430 زوج قاعدي، خالية من الطفرات على طولها إلا عند النهاية 3' وهي ذات معدل تطوري ثابت نسبياً مناسب للكشف عن علاقات القرابة بين العائلات أو المستويات الأعلى إضافة إلى توافر المرئسات المحافضة والتي تسمح بالتضخيم السريع والسلسلة لهذه المورثة (Freshwater and Rueness, 1994)، وظيفتها ترميز الوحدة الكبيرة من أنزيم RUBISCO (ribulose1, 5bisphosphate carboxylase/oxygenase) وهو أنزيم يسهل عملية تثبيت CO₂ في دورة كالفن (Valentin and Zetsche, 1989) وقد استخدمت هذه المورثة بشكل واسع لتوضيح العلاقات بين وضمن الأنواع في دراسات النشوء والتطور لأكبر العائلات النباتية *Orchidaceae* (Cameron *et al.*; 1999) وفي مجال أوسع استخدمت لبناء العلاقات التطورية لمجموعة مغلفات البذور (Olmstead *et al.*, 1992; Chase *et al.*, 1993; Qiu *et al.*, 1993).

وجد بعض الباحثين أنه من المهم أيضاً تركيز الاهتمام في البحث عن مناطق من الدنا ذات معدل تطوري أسرع من المورثة السابقة وتسهل عملية التصنيف والعلاقات التطورية على

مستويات تصنيفية أدنى من العائلة ولذلك اعتبرت مورثة *matK* هي الخيار الواعد في هذا المجال. تم اكتشاف هذه المورثة من قبل Sugita ورفاقه عام 1985 من نبات التبغ (*Nicotiana tabacum*) وذلك عند سلسلة مورثة *trnK* المشفرة للـرنا الناقل (الخاص بالحمض الاميني Lys) بالكودون (UUU) والتي تسيطر على إطار القراءة المفتوح من الصانعات إذ وجد أن هناك 509 كودونات تشرف على إطار القراءة المفتوح (ORF) في منطقة الانترون في مورثة *trnK* وهو ليس له أي دلالة وظيفية، بعد ذلك وجد Neuhaus و Link في عام (1987) أن هذه الحلقة غير المرمزة من الرنا الناقل (Lys) قد قطعت ب 2574 زوج قاعدي تحتوي على اطار قراءة مفتوح مؤلف من 524 حمض أميني في نبات *Sinapis alba* مما أكد أن لها دور وظيفي في إكمال (قطع الانترونات أثناء عملية النسخ) (maturase). وللمرة الأولى وبالاغتماد على نتائج دراسات التطابق وجد هذا الاطار المفتوح (*matK*) بالتسلسل الكامل في دنا صانعات نبات الأرز (*Oryza sativa*) كما وجد أيضاً في نوعين من الصنوبر (*P. contorta*, *P. thunbergii*) (Lidholm and Gustafsson, 1991) هذا الإطار المفتوح محاط بمنطقتين اكسون من مورثة *trnK* وخلال عملية التطور تفقد المنطقتان الاولى والثانية في بعض الحالات ولكن بقاء الأخيرة يدعم نظرية أن مورثة *matK* لها دور أساسي في ربط الرنا.

تتميز مورثة *matK* بمعدل عالٍ من التغيرات (ثلاث مرات أسرع من المورثات الاخرى مثل *atpB* و *rbcl*) بطول مناسب 1500 زوج قاعدي وتنخفض نسبة الابدال (transition) في النيكلوتيدات عن التحول (transversion) بالإضافة إلى وجود طفرات في المقاطع المحافظة (الثابتة) كما تبدي منطقة 5' في تلك المورثة تغييراً أكبر من منطقة 3' لذلك فهي تستخدم وبشكل فعال في دراسة العلاقات التطورية للنباتات وعلى مستويات تصنيفية مختلفة (Tamura *et al.*, 2004; Koch *et al.*, 2001; Fuse and Tamura, 2000; Ito *et al.*, 1999; Brochmann *et al.*, 1998; Steele and Vilgalys, 1994).

هناك العديد من الدراسات التي استخدمت هذه المورثة في بناء العلاقات التطورية شملت ست عائلات وهي Saxifragaceae حيث وجد أنها تطورت أسرع ثلاث مرات من مورثة *rbcl* (Johnson *et al.*, 1996)، أما تغيير تسلسل هذه المورثة في العائلة Polemoniaceae كان ضعف التغيير الناتج من مورثة *rbcl* حيث تركزت الإبدالات في موقع الكودون الثالث في

مورثة *rbcl* ولكنها توزعت على كامل مواقع الكودونات في مورثة *matK* (Johanson and Jarrell and) (Soltis, 1995) كما استخدمت في الفصيلة السحلبية *Orchidaceae* (Clegg, 1995) والآسية *Myrtaceae* (Gadek et al., 1996)، الكلئية *Poaceae* (Liang and Hilu, 1996) والكرفسية *Apiaceae* (Plunkett et al., 1996) والنباتات الزهرية (Hilu and Liang, 1997).

تستخدم المورثات الأساسية والمحافظة (Housekeeping genes) في العديد من الدراسات التطورية بين المجموعات الرئيسية للنباتات (Shinwari et al., 2011) إن الرنا الريبوزومي قد استخدم بشكل متكرر في دراسة تاريخ العلاقات التطورية على مستويات عميقة، يتألف الرنا المكون للجسيم الريبوي من وحدتين الكبيرة (LSU) والوحدة الصغيرة (SSU) والتي تتمثل بمورثتي (18S rRNA, 16S) إن مورثة 18S rRNA هي من المورثات الأساسية (HKGs) والمعبر عنها في كل الأنسجة وأنماط الخلية المختلفة (Maroufi et al., 2010) وهي من أكثر مورثات دنا النواة استخداماً في دراسات التطور على المستويات التصنيفية العالية للنباتات (Soltis et al., 2000) فهي سهلة التضخيم بسبب ثباتية المناطق المحيطة بها مما سمح بتوفر مرئسات خاصة للكشف عنها بسهولة كما أنها ذات معدلات تطورية بطيئة مما يجعلها من المورثات الهامة في دراسات النشوء والتطور (Meyer et al., 2010). أثبتت مورثة 18S rRNA قدرتها على توضيح العقد ضمن المستويات التصنيفية على مستوى الأجناس وذلك لأنها تتألف من مناطق محافظة بشكل كبير بين الأنواع وذات درجة عالية من الثبات الوظيفي مع معدلات تطورية منخفضة (Zimmermann et al., 2011).

استخدمت مورثة 18S rRNA على نطاق واسع في الدراسات التطورية للطحالب الخضراء حيث تم تمييز معظم الأنواع الموجودة في بحيرات Kizilirmak في تركيا (Soylu and Gonulol, 2012) وفي العلاقات التطورية بين ثنائيات الفلقة ووحيداتها في مغلفات البذور حيث أثبتت أن ثنائيات الفلقة هي من الأجداد لوحيدات الفلقة ولا يوجد هناك انفصال واضح بينهما (Hussain et al., 2008)، وباعتماد على هذه المورثة ومورثة *matK* معاً تمت دراسة العلاقات التطورية ضمن العائلة الوردية والجنس *Prunus* (Oh and Potter, 2005; Potter et al., 2007; Shi et al., 2013).

لدى دراسة العلاقات التطورية بين تسلسلات مورثة *rbd* ضمن العائلة الوردية وجد Morgan ورفاقه في عام 1994 مجموعات monophyletic للأجناس وهي متوافقة مع بعض الاستثناءات مع كل تحت العائلات ماعدا الاكليلية *Spiraeoideae* والتي ظهرت كقطاع polyphyletic الأصل، كما بينت النتائج الموثوقة العالية في فصل تحت العائلة الوردية *Rosoideae* وتحت العائلة التفاحية *Pomoideae* أما تحت العائلة اللوزية *Amygdaloideae* كانت ذات درجات موثوقية منخفضة وقد شملت الأجناس *Prunus*، *Exochorda*، *Oemleria*، *Prinsepia*.

استخدمت مناطق محددة من دنا الصانعات لتحديد العلاقات التطورية والتصنيفية لثمانية أفراد مزروعة وبعض الأنواع التابعة للجنس *Prunus* وأوضحت هذه الدراسة أن تحت الجنس *Amygdalus* و *Prunus* يرتبطان ارتباطاً عالياً وثيقاً مع بعضهما بعضاً مقارنة بارتباطهما بتحت الجنس *Cerasus* (Badenes and Parfitt, 1995).

استخدم Lee و Wen في عام 2001 تسلسلات منطقة ITS في دنا النواة لدراسة العلاقات التطورية ضمن الجنس *Prunus* حيث كشفت النتائج عن العلاقات الوراثية القريبة بين تحت الجنس *Amygdalus* و *Prunus* كما وجد أن تحت الجنس *Padus* و *Laurocerasus* مرتبطين ارتباطاً وثيقاً يشكل قطاعاً تشعبي التطور (paraphyletic) عند القاعدة الشجرية التصنيفية.

اعتمد Bortiri ورفاقه في عام 2001 منطقة الفاصل في النواة ITS ومنطقة الفاصل *trnL-F* في الصانعات لدراسة العلاقات التطورية للجنس *Prunus*، إذا كانت مقدرة التمييز لمنطقة *trnL-F* منخفضة نسبياً وعند دمج البيانات من كلا المنطقتين وافقت النتائج نتائج كل من Lee و Wen (2001).

وبهدف دراسة العلاقات التصنيفية بين اثنين وعشرين نوعاً تتبع للجنس *Prunus* أضاف Bortiri ورفاقه في عام 2002 مورثة *s6pdh* إضافة للمناطق في الدراسة السابقة حيث تبين من خلال دمج النتائج انفصال الأنواع ضمن قطاعين يضم الأول تحت الأجناس التالية: *Cerasus*، *Laurocerasus* و *Padus* أما القطاع الثاني فقد ضم تحت الجنس

Amygdalus و *Emplectocladus* و *Prunus* ولكن بقيت درجات الموثوقية منخفضة كما هي في الدراسة السابقة.

تمت دراسة العلاقات التطورية باستخدام بيانات السلسلة الناتجة عن منطقتين من دنا الصانعات وهي مورثة *matK* ومنطقة *trnL-trnF* في العائلة الوردية وقد تشكلت مجموعات monophyletic من تحت العائلتين التفاحية *Pomoideae* و الوردية *Rosoideae* لكن شكلت تحت العائلة الاكليلية *Spiraeoideae* مجموعة polyphyletic بينما بقي كل من موقع الجنس *Prunus* الأكثر أهمية اقتصادية وتحت العائلة اللوزية *Amygdaloideae* غير واضح المعالم (Potter et al., 2002).

ركز كل من Shaw و Small في عام 2004 دراستهما على الجنس *Prunus* القسم *Prunocerasus* وبعض العينات التي تشمل تحت الأجناس ضمن الجنس *Prunus* باستخدام سبعة مناطق من دنا الصانعات حيث أظهرت النتائج فرضية تطورية واضحة التمييز تظهر وبدرجة موثوقية عالية انفصال تحت الجنس *Prunus* قسم *Prunus* وتحت الجنس *Prunus* القسم *Prunocerasus* وتحت الجنس *Amygdalus* كما تجمعت ثلاثة أنواع تتبع لتحت الجنس *Cerasus* قسم *Microcerasus* ضمن قطاع *Pruno- Amygdaloid* والذي كان قطاعاً شقيقاً لأنواع أخرى تتبع تحت الجنس *Cerasus*.

استخدم Ince ورفاقه في عام 2005 مورثة الصانعات *matK* والتي تعد من أكثر المورثات تغاييراً لدراسة مئة واثنين وأربعين نوعاً نباتياً تنتمي لعائلات نباتية مختلفة حيث تمت مطابقتها واستخدام طريقة الاختزال الأعظمي لبناء العلاقات التطورية، أوضحت الشجرة الناتجة العلاقات بين العائلات النباتية *Fabaceae*، *Rosaceae*، *Moraceae*، *Cannabaceae* و *Malvaceae* و *Brassicaceae* وضمن العائلات والأجناس والأنواع.

درس Bortiri ورفاقه عام 2006 الصفات الشكلية إضافة إلى بيانات منطقة ITS لدراسة تصنيف الجنس *Prunus* ووجدوا أن المجموعة الأساسية من تحت الجنس *Amygdalus* تتبع إلى قسم اللوز *Amygdalus* وبدرجة عالية من الموثوقية، بينما شكل

القسم *Chamaeamygdalus* المتمثل بـ *P. tenella* و *P. petannikowii* قطاعاً شقيقاً لكن بدرجة موثوقية منخفضة.

تم فحص العلاقات التطورية بين ثمانية وثمانين جنساً تتبع للعائلة الوردية باستخدام بيانات السلسلة الناتجة من ستة مورثات من دنا النواة (*18S*, *gbssi1*, *gbssi2*, *ITS*, *pgip*,) وأربعة مناطق من دنا الصانعات (*matK*, *ndhF*, *rbcL*, *trnL-trnF*) حيث تشكلت مجموعات monophyletic بدرجات موثوقية عالية متوافقة بقوة مع تحت العائلات المحددة وهي *Rosoideae* ضمت الأجناس *Rosa*, *Rubus*, *Filipendula* وتحت العائلة *Dryadoideae* و *Spiraeoideae* (Potter et al., 2007).

قام Wen ورفاقه في عام 2008 بدراسة التسلسلات الناتجة عن مورثة الصانعات *ndhF* و *ITS* النواة لتحديد العلاقات التصنيفية والتطورية لأنواع الجنس *Prunus*، حيث توافقت البيانات الناتجة من كلا المورثتين أن الجنس *Prunus* و *Maddenia* يشكلان مجموعة (monophyletic group)، كما أن البيانات الناتجة شكلت مجموعتين رئيسيتين ضمن الجنس *Prunus*: الأول يضم تحت الجنس *Laurocerasus* و *Padus* وكذلك الجنس *Maddenia* والآخر ضم تحت الأجناس *Amygdalus*، *Cerasus* و *Prunus* واختلفت المورثتان فقط في العلاقات بين الأنواع والتمركز النسبي لمجموعة *Padus/Laurocerasus* بين الأجناس.

قيم Quan و Zhou في عام 2011 أحد عشر موقعاً من الدنا (*atpB-rbcL*, *trnH-psbA*, *trnL-F*, *trnS-G*, *atpF-H*, *rbcL*, *matK*, *rpoB*, *rpoC1*, *nad1*, *ITS*) لاختبارها في ترميز الدنا على ثمانية وثلاثين عينة من أنواع القسم *Persica* والذي يتبع الجنس *Prunus* حيث استطاعت المورثتان *atpB-rbcL* و *trnL-F* من تمييز كافة الأنواع المدروسة.

قام Dong وزملاؤه عام 2012 بدراسة تسعة مواقع من دنا الصانعات لترميز الدنا أبدت من قدرة متوسطة الى عالية للتمييز بين أنواع الجنس *Prunus* والقسم *Persica* وعند الجمع بين بيانات *psbM-trnD* والفاصل المورثي *clpP* تم التمييز بين الانواع الستة المدروسة بشكل أفضل من استخدام مورثتي *matK* و *rbcL*.

درس Oh و Yazbek (2013) العلاقات التطورية عند اثنين وعشرين نوعاً تتبع لتحت الجنس *Amygdalus* باستخدام ستة مواقع وراثية من دنا الصانعات (*ndhF-rpl32, rpl16,*)، ومورثة من دنا النواة (*s6pdh*)، حيث شملت حدود تحت الجنس *Amygdalus* كل من اللوز والدراق ضمن تحت قطاعين هما *Persica* و *Amygdalus* وبدرجات موثوقية عالية.

قام Shi ورفاقه في عام 2013 بدراسة علاقات التطور والقرابة بين 84 نوعاً من الجنس *Prunus L. sensu lato* باستخدام اثنتي عشر مورثة من دنا الصانعات منها مورثتي *matK* و *rbcL* بالإضافة الى ثلاث مورثات نووية وذلك للكشف عن العلاقات ضمن الجنس الواحد، إن نتائج هذه التحاليل استخدمت لتطوير تصنيف جديد بالاعتماد على العلاقات التطورية لهذا الجنس حيث أظهرت النتائج انقسام الجنس إلى ثلاثة قطاعات وبقيم موثوقية عالية: وهي تحت الجنس *Padus* وتحت الجنس *Cerasus* وتحت الجنس *Prunus* وقسم تحت الجنس *Prunus* إلى سبعة اقسام أحدها كان القسم *Persica*.

يعد اللوز جنساً منفصلاً في أبحاث التوزع الجغرافي في المناطق الآسيوية إلا أنه يعد تحت جنس أو قسم يتبع الجنس *Prunus L.s.l* في دراسات أخرى، من هذا المنطلق تمت دراسة العلاقات التطورية للوز البري في إيران باستخدام الفواصل الوراثية لاثنتين من المورثات النووية واثنين من مورثات الصانعات، تطابقت البيانات الناتجة من تسلسل الفواصل الوراثية (Spacers) في دنا النواة والصانعات حيث شكلت كل أنواع اللوز الإيراني الأربعين المدروسة قطاعاً واحداً (monophyletic) أما تحت الجنس *Cerasus* فشكل قطاعاً شقيقاً مع *Amugdalus* وتجمعت كل الأنواع البرية للوز ضمن القطاع monophyletic وقد ضم تحت قطاعين، كما أن الحالة التصنيفية لتحت الجنس (*Amugdalus* و *Dodecandra*) لم تنطبق مع العلاقات التطورية الناتجة في دراسات سابقة ومنه فإن هذه الدراسة دعمت فكرة العلاقات المتشابهة للهجن والأنواع التابعة للجنس *Amugdalus* (Vafadar et al., 2014).

5- تقنية Targeting Induced Local Lesions in) EcoTILLING (Genomes):

إن الكشف عن التغيرات في المورثات الهامة وظيفياً وتحديد علاقاتها مع الأنماط الشكلية النموذجية يعد تقدماً كبيراً في مجال التحسين الوراثي للنباتات ومع التطور السريع في تقنية السلسلة أصبحت تسلسلات الكثير من دنا النباتات معروفة ومتاحة مما جعل بالإمكان استخدامها في الوراثة العكسية بهدف الكشف عن وظيفة المورثة ولهذا الغرض هناك طرق عديدة للكشف عن التغيرات النيكلوتيدية الطبيعية أو المحدثّة في الجينوم مثل Denaturing HPLC (High performance liquid chromatography) (Underhill *et al.*, 1997)، SSCP (Single strand conformation polymorphism) (Gross *et al.*, 1999). إلا أن هذه التقنيات لم تستطع الكشف عن الطفرات الصغيرة في التسلسلات المختلفة ومنها أيضاً تقنية RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism) وهي الأقدم ولكنها الأفضل من بين أنظمة المعلومات المستخدمة في تحديد الطفرات والبحث عن تغيرات المورثات في النباتات (Simsek, 2009).

تعد طريقتي TILLING (Targeting Induced Local Lesions IN Genomes) و EcoTILLING من تقنيات الوراثة العكسية والملائمة لمعظم النباتات في الكشف السريع عن الطفرات النقطية والتغيرات الطبيعية على التوالي، حيث تسمح هذه الطريقة بتمييز التغيرات النيكلوتيدية على مستوى زوج قاعدي واحد (bp) في المورثة الهدف وبفاعلية كبيرة (McCallum *et al.*, 2000). تدعى تقنية استخدام TILLING في البحث عن التغيرات الطبيعية في المورثات الـ EcoTILLING (Till *et al.*, 2004; Comai *et al.*, 2004)، حيث استخدمت وينجاح في فحص التغيرات الوراثية في معظم الأنواع النباتية باستخدام أنزيم القطع CEL1 (Gilchrist *et al.*, 2006; Rakshit *et al.*, 2007; Elias *et al.*, 2009; Till *et al.*, 2010; Fusari *et al.*, 2011). تتميز هذه التقنية بسرعتها وسهولة الكشف عن الطفرات واختصار السلسلة الكاملة للعينات المدروسة كما أنه يمكن تطبيقها على العديد من الأنواع النباتية ذات حجم الجينوم الصغير أو الكبير (Simsek and Aka Kacar, 2010).

لإحدى وأربعين شجرة جمعت من واحد وأربعين مجتمع نباتي في كندا وأريغون حيث قيمت تسعة مواقع خرائطية منفصلة عن طريق خلط دنا عناصر المجتمعات مع دنا نمط وراثي مرجعي، أعطت كل مورثة بعض المواقع المتعددة شكلياً بعدد من التغيرات في النيكلوتيد واحد SNPs يتراوح ما بين 1 الى 23 وبمتوسط بلغ 6.78 كان متوسط عدد SNPs للمواقع المرمزة وغير المرمزة 1.229 و 1.64 زوج قاعدي على التوالي إضافة الى أن هذه الدراسة كانت أول تقرير ناجح لتقييم التباير المورثي للأشجار باستخدام تقنية EcoTILLING.

بحث Raghavan ورفاقه في عام 2007 عن طريقة لتسهيل الكشف عن منتجات قطع أنزيم CEL1 على هلامة الأغاروز لجعل تقنية Ecotilling أكثر سهولة في الاستخدام في المناطق النامية، لذلك استخدموا مورثات مرتبطة بالجهد للكشف عن الـ SNPs في 48 نمط وراثي من الأرز بمقارنته وبشكل مفرد لكل نمط وراثي مع دنا الشاهد IR64 و Nipponbare حيث وجدت النتائج ذاتها عند مقارنتها مع النتائج الناتجة على هلامة Li-Cor ، واستطاعوا الكشف عن الطفرات حتى عند دمج 8 عينات من الدنا وقد وجدوا أن عدد التغيرات الناتجة تزداد مع تحليل قطع أكبر من الدنا (ما يقارب 3kb).

تطبيق قيم آخر لهذه التقنية هو البحث عن التغيرات في المورثات المسؤولة عن المقاومة وذلك لتساعد في تسريع عملية تحديد القرائن المسؤولة عن مقاومة العديد من الأمراض ففي عام 2006 فحص Mejlhede وزملاؤه تغيرات قرائن محددة باستخدام تقنية EcoTILLING في كل من مورثتي mlo و Mla وهما المورثتان المسؤولتان عن المقاومة في نبات الشعير *Hordeum vulgaris* ضد الفطريات الممرضة والتي تسبب مرض powdery mildew، استطاعت هذه الدراسة مقارنة بالطرائق الكلاسيكية تحديد القرائن المقاومة للمرض والكشف عن بعض التغيرات في مورثتي المقاومة اللتان يمكن أن تستخدم في مجال تربية المحاصيل المقاومة ضد الأمراض فيما بعد.

وبدراسة مشابهة تم توظيف تقنية EcoTILLING في البحث عن تغيرات طبيعية في المورثات المقاومة لمرض التبقع الفيروسي النكروزي للبطيخ الأصفر Melon Necrotic Spontinus(MNSV) في كل أنواع الجنس *Cucumis* استطاع Nieto وزملاؤه عام 2007 تحديد ستة تغيرات شكلية ضمن 113 عينة ولكن موقع واحد فقط أنتج حمض أميني مرتبط به

غير مقاوم للمرض وبذلك أظهرت هذه التقنية وعداً جديداً لتسريع أو حفز عملية تحديد القرائن الطبيعية المسؤولة عن مقاومة الأمراض والتي يمكن أن تستخدم في تربية المحاصيل.

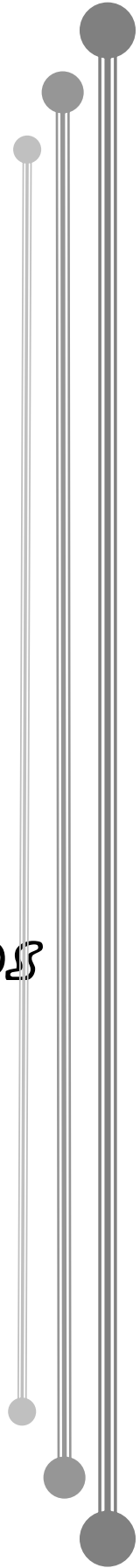
بهدف تبسيط طريقة الكشف عن التغيرات النيكلوتيدية والتقليل من التكاليف تم استخدام طريقة ECOTILLING المعتمدة على الأغاروز على مورثة VRN-AI vernalization في مجتمع طبيعي مؤلف من 106 مدخل من أصناف القمح سداسي الصيغة الصبغية ودراسة ارتباطها بأنماط شكلية ربيعية أو شتوية وبالاعتماد على التغيرات النيكلوتيدية الناتجة تم تقسيم المدخلات إلى ثلاثة أنماط A، B، C بالاعتماد على خمسة وستة وثلاثة من التغيرات على التوالي. ارتبط النمط الشتوي بالنمطين A و B بينما النمط الربيعي ارتبط بالنمط C وبعد إجراء عملية السلسلة تم الكشف عن ثلاثة تغيرات نيكلوتيدية (A/- في الانترون الرابع و -/A في الانترون السادس و T/C في الاكسون السابع) وبذلك تم التأكد من أن طريقة ECOTILLING في الكشف عن قطع الدنا باستخدام هلامة الأغاروز تعد طريقة فعالة للكشف عن الـ SNP في مورثات المادة النباتية متعددة الصيغة الصبغية مثل القمح (Chen *et al.*, 2011).

تم الكشف عن المواقع المتعددة شكلياً في مورثة دنا الصانعات *rbcl* في خمسة أنواع تتبع للجنس *Eryngium* ونمطين بيئيين من النوع *E. creticum* من مواقع مختلفة في سورية قامت Jawdat ورفاقها في عام 2013 باستخدام تقنية EcoTILLING حيث أظهرت النتائج وجود أربعة تغيرات نيكلوتيدية في الأنواع الخمس وكذلك الأنماط المدروسة على شكل (A/G و C/T) transition.

الفصل الثاني

مواد البحث وطرائقه

MATERIAL AND METHODS



تم إنجاز هذا البحث في قسم التقانات الحيوية في الهيئة العامة للبحوث العلمية الزراعية. وفي قسم علوم البستنة في كلية الزراعة - جامعة دمشق ومخابر كلية الزراعة، وذلك خلال الفترة بين 2012-2015.

1- المادة النباتية:

تمت الدراسة على اثني عشر صنفاً من الدراق والنكتارين والمدخلة إلى سورية في عام 2001 من معهد باري في إيطاليا (الجدول، 2)، حيث تم تطعيمها على الأصل GF677 في حقل التجارب التابع لمحطة بحوث سرغايا-ريف دمشق، وزرعت على مسافات 4×4 م بين الأشجار، ضمن الشروط المثلى من تنفيذ الخدمات الحقلية كالري والتسميد ومقاومة الآفات والأمراض، و على اثني عشر صنفاً من أصناف اللوز المحلية والأجنبية المدخلة بعمر 11 سنة ومزروعة في المجمع الوراثي في محطة بحوث حوط- السويداء، ضمن ثلاثة مكررات في كل مكر عشرة أشجار من كل صنف والمسافة بين الاشجار 6×6 م ومطعمة على أصل بذري مر. إضافة إلى طرازين وراثيين من اللوز الشرقي *A. orientalis* وطراز يتبع النوع كورشنسكي *A. korschinskii* وعينة من المشمش الكلابي كشاهد للدراسة الجزيئية (الجدول، 2).

الجدول(2): أسماء أصناف الدراق واللوز والطرز المدروسة والرقم التسلسلي لها في الدراسة

التسلسل	اسم الصنف أو الطراز	التسلسل	اسم الصنف أو الطراز
1	Ferraduel	13	Weinberger
2	Jaderma	14	Gioia
3	Constantini	15	Flavor Top
4	Flots	16	Venus
5	Forna	17	Caldesi2000
6	Desmayo rojo	18	Nectaross
7	Dafadii	19	Laure
8	Shami Furk	20	Maycrest
9	Hama34	21	Domiziana
10	Hama47	22	Pontina
11	Babnis	23	Romestar
12	Oja	24	Villa Adriana
25	<i>A.orientalis1</i>	لوز شرقي1	القلمون(رأس معرة)
26	<i>A.oreintalis2</i>	لوز شرقي2	القلمون(رأس معرة)
27	GF677	GF677	إيطاليا
28	<i>A.korschinskii</i>	كورشنسكي	سويداء
29	<i>Armeniaca</i>	مشمش كلابي	جوسية الخراب

2- دراسة الموصفات الشكلية:

2-1- دراسة الموصفات الشكلية للدراق:

تمت دراسة الصفات الشكلية والإنتاجية لكل صنف خلال العامين 2013 و2014.

1- قوة النمو: تم تقدير قوة النمو بقياس محيط ساق الشجرة على ارتفاع 15/ سم من نقطة التطعيم، والوقت المناسب لأخذ قياس محيط الساق أثناء سكون النبات في كانون الثاني وأوائل شباط، وتحديد طبيعة النمو وسماكة الأفرع بعمر سنة وقياس طول السلاميات فيها.

2- مواعيد الإزهار: تم تسجيل مواعيد الإزهار لكل صنف وفقاً لـ Fleckinger (1945) وهي بداية موعد الإزهار (مرحلة E) أي تفتح 5-10 من الأزهار تفتحاً كاملاً وأوج الإزهار (مرحلة F) أي تفتح 75% من الأزهار تفتحاً كاملاً، ونهاية الإزهار (مرحلة G) أي عند سقوط 90% من البتلات الزهرية سقوطاً كاملاً.

3- مواعيد النضج: تم حساب متوسطات مواعيد النضج لكل صنف، حيث اعتمد نضج الثمرة على أساس توقف نموها، بداية انخفاض صلابتها، بداية ظهور اللون الأساسي الأصفر أو البرتقالي للثمرة (كما هو موضح لكل صنف) وأن تكون سهلة الفصل عن الشجرة.

4- قراءات موصفات الورقة: طول الورقة وعرضها، شكل الغدد الورقية، ودليل المساحة الورقية حيث تم حسابها من المعادلة:

$$LA = -0.5 + 0.23 * L/W + 0.67 * L * W$$

حيث L: طول الورقة و W: عرض الورقة. (Demirsoy *et al.*, 2004).

5- قراءات الأزهار: توضع البراعم الزهرية، شكل الزهرة (وردية أو شعاعية، جرسية)، الكثافة الزهرية (عالية، متوسطة، قليلة)، حجم الزهرة ولونها.

6- الانتاجية: تم تحديد الانتاجية (كغ/ دونم) لكل صنف ومتوسط وزن الثمرة (غ) .

7- قراءات الثمار (موصفات الثمار الكمية والنوعية):

تم تقييم الصفات النوعية للثمار بأخذ عينة مؤلفة من عشرة ثمار من كل شجرة وفقاً (Bellini *et al.*, 1984). فبعضها درست نظرياً كصفة بسيطة مثل دراق أو نكتارين، ذات لب أبيض أو أصفر، ثمرة دائرية أو مسطحة، النواة لاصقة أو حرة، والبعض الآخر مثل تلون القشرة

بالألوان الاضافية (الأحمر)، شكل الثمرة، تم تسجيلها باستخدام قياسات معيارية مناسبة لكل منها، حيث تم حساب التلون الأحمر للقشرة بحساب نسبة سطح القشرة ذو اللون الأحمر، شكل الثمرة وحجمها ومتوسط محيط الثمرة، وزن الثمرة (غ)، الزغبية، سماكة القشرة، لون اللب، صلابته والقوام.

8- قراءات البذور: تم تحديد حجمها وشكلها والتصاقها باللب.

2-2- دراسة الموصفات الشكلية للوز:

تمت دراسة أهم الصفات الشكلية الكمية والنوعية المحددة للأصناف المحلية والمدخلة والطرز البرية اعتماداً على موصف المعهد الدولي للمصادر الوراثية النباتية (IPGRI) (Almond descriptor) (Gulcan, 1985)، حيث تم أخذ القراءات التالية:

1- دراسة طبيعة النمو.

2- قوة النمو: عن طريق قياس محيط الساق على ارتفاع 15 سم من نقطة اتصال الطعم بالأصل وهي منطقة خالية من العقد في وقت سكون العصارة في شهر كانون الثاني.

3- قراءات موصفات الورقة:

جمعت الأوراق بحيث تكون كاملة النضج في شهر أيار من كل عام من منتصف الأفرع بعمر السنة والتي يتراوح طولها بين 25 إلى 30 سم بارتفاع تقريباً 1.8 متر حول محيط الشجرة وبمعدل 100 ورقة من كل شجرة من أشجار الأصناف المحلية والمدخلة ومن مواقع مختلفة شملت كامل محيط الشجرة المدروسة ودونت موصفاتهما وتم حساب مايلي:

- طول الورقة وعرضها: وفقاً للقيم قسمت الأصناف استناداً لأطوال أبعاد أوراقها إلى مجموعات حسب قانون المدى الفتوي (خدام ويعقوب، 1994) الجدول (3).

- شكل الورقة: تم تحديد شكل الأوراق اعتماداً على حساب نسبة العرض إلى الطول حسب (القيم، 1999) ثم تم وضع معيار الشكل وفقاً لما ذكره (Shukla and Missra, 1979) حول تعريف أشكال الأوراق بالإضافة إلى الملاحظات النظرية لأوراق اللوز وفق جدول (3).

- حساب متوسط مساحة الورقة /سم²: تم حساب متوسط مساحة كل ورقة بالاعتماد على معادلة

$$S=0.785 \times (L.W)$$

S: مساحة الورقة/سم²، L: طول الورقة /سم، W: عرض الورقة/سم (Ajayi, 1990) واستناداً إلى قيم متوسط مساحة الأوراق المحسوبة وضع معيار لوصف الأوراق حسب مساحتها وفق الجدول (3).

الجدول(3): معيار صفات الأوراق لبعض الأصناف المحلية والمدخلة من اللوز

الصفة المدروسة	طول الورقة/سم	عرض الورقة/سم	مساحة الورقة/سم ²	دليل الشكل
1	قصيرة >4.76	قليل >1.66	صغيرة >9.39	متطاولة >0.29
2	متوسطة 4.76_6.36	متوسطة 1.66_2.38	متوسطة 9.39_12.27	اهليلجية متطاولة 0.29_0.39
3	طويلة <6.36	عريضة <2.38	كبيرة <12.27	اهليلجية <0.39

4- الإزهار: تمت دراسة المواصفات الشكلية على الأزهار بفحص 20 زهرة من كل صنف تؤخذ بشكل عشوائي من محيط التاج وفي بداية الإزهار ومدة الإزهار: عدد الأيام من بداية الإزهار وحتى نهايته.

مواعيد الإزهار: وتنقسم إلى ثلاثة أقسام: بدء الإزهار عند تفتح 10% من الأزهار، أوج الإزهار عند تفتح 75% من الأزهار، نهاية الإزهار: عند سقوط 90% من البتلات، حيث تم تحديد مواعيد الإزهار كالتالي:

1- مبكر: في الفترة ما بين (10- 14 شباط)

2- متوسط: في الفترة ما بين (15-28 شباط)

3- متأخر: بدءاً من 1 آذار

5- مواعيد النضج: تصلب وتشقق المحيط الثمري الأخضر لـ (5-10) ثمار تشققاً كاملاً.

مبكر: في النصف الثاني من تموز

متوسط: من 1 آب إلى 20 آب.

متأخر: من 20 آب إلى بداية إيلول.

عمر الثمرة : الفترة بين أوج الإزهار وبدء النضج.

6- المواصفات الرئيسية للنوى:

- دراسة الثمار: جمعت الثمار بشكل عشوائي من كل صنف أو طراز بمعدل 100 ثمرة وذلك بعد اكتمال نضجها وأخذت القراءات التالية:

أبعاد النواة: وهي طول النواة وعرضها/سم، كما قسمت النوى وفقاً لأوزانها إلى مجموعات كما هو موضح في الجدول (4).

الجدول(4): معيار صفات النوى للطرز والأصناف المحلية والمدخلة من اللوز

الصفة وتبايناتها		طول النواة/سم		عرض النواة/سم		وزن النواة/غ	
1	قصيرة	3.19>	قليل	2.43>	خفيفة	3.75>	
2	متوسطة	4.01-3.19	متوسط	2.76-2.43	متوسطة	4.67-3.75	
3	طويلة	4.01<	عريض	2.76<	ثقيلة	4.67<	

- دليل شكل النواة: استناداً للعلاقة: عرض النواة/ طولها×100 واستناداً لمتوسط دليل شكل النوى تم تقسيم الأصناف المحلية والمدخلة إلى مجموعات (الجدول، 5).

الجدول(5): معيار دليل شكل النوى لأصناف وطرز اللوز المدروسة

صفة الشكل	متطاولة مستدقة	مستطيلة الشكل	اهليلجية	اهليلجية عريضة	قلبية الى دائرية
دليل الشكل	40>	50-40	60-50	70-60	70 <

- درجة قساوة النوى:

تم تقديرها استناداً إلى نسبة التصافي والتي تعطى بالقانون التالي:

$$T = WK/WS \times 100$$

حيث T: نسبة التصافي، WK: وزن البذرة، WS: وزن النواة.

ويوجد ارتباط عكسي بين قساوة القشرة ونسبة التصافي (Kester and Asay, 1975)، لذا قسمت النوى وفقاً لدرجة قساوتها إلى مجموعات (الجدول، 6).

الجدول(6): معيار قساوة ثمار الأصناف المحلية والمدخلة من اللوز

درجة القساوة	صلبة جداً	صلبة	نصف هشة	هشة	هشة جداً
نسبة التصافي	>25%	25-40%	40-53%	53-60%	<60%

7- دراسة البذور: تم أخذ القراءات التالية:

طول البذرة وعرضها/ سم، وزن البذرة/غ، (الجدول، 7).

الجدول(7): معيار صفات البذور للأصناف المحلية والمدخلة من اللوز

الصفة	طول البذرة	عرض البذرة	وزن البذرة
1	قصيرة	>2.05	قليلة
2	متوسطة	2.05-2.56	متوسطة
3	طويلة	<2.56	عريضة

دليل شكل البذرة استناداً للعلاقة: عرض البذرة/طولها $\times 100$

الصفة 1- ضيقة 2- متوسطة 3- عريضة

دليل الشكل >0.39 0.39-0.59 <0.59

- ازدواجية البذور: تم تصنيف اللوز وفقاً لازدواجية البذور حسب (Gulcan, 1985)

الدرجة	ازدواجية البذور %
1	0
2	1-5
3	6-10
4	11-20
5	21-30
6	31-40
7	<40

8- الإنتاج: تقدير الإنتاج من (0-5) حسب قانون المدى الفئوي (خدام ويعقوب، 1994):

0: لا يوجد 1: ضعيف جداً أقل من 3كغ/ شجرة 2: ضعيف 3-6 كغ/ شجرة 3: متوسط 6-10 كغ/ شجرة 4: جيد 10-15 كغ/ شجرة 5: جيد جداً أكثر من 15 كغ/ شجرة.

3- الدراسة الجزيئية:

تم جمع العينات النباتية في بداية شهر نيسان وأخذت النموات الورقية الحديثة (عمر 3-4 أسابيع) والخالية من الإصابات المرضية والحشرية، ومن شجرة واحدة ممثلة لكل صنف أو أصل، تم غسل العينات وتنظيفها بالماء المقطر وثم وضعها في أكياس بلاستيكية شفافة محكمة الإغلاق وحفظها على درجة حرارة -80 م° لحين الاستخدام.

1-3 - استخلاص الدنا DNA extraction:

تم استخلاص الدنا (DNA) من العينات الورقية بطريقة CTAB كما هو مذكور عند Hormaza عام 1998 مع تعديلات بسيطة و ذلك وفق الخطوات التالية:

-تم طحن العينات ضمن أنابيب Eppendorf سعة 2 مل باستخدام كرية طحن بعد تبريدها بالآزوت السائل لتسهيل عملية طحن العينة بجهاز الطحن (Retsch 101 m) لمدة دقيقة واحدة وعلى سرعة 20 هرتز/دقيقة وتم الحصول على مسحوق ناعم من المادة النباتية.

-أخذت كمية 0.5 غرام من العينة المطحونة، ووضعت في أنابيب Eppendorf معقمة سعة 2مل ومرقمة حسب أرقام العينات النباتية، ثم أضيف لكل أنبوب 800 ميكروليتر من محلول الاستخلاص CTAB والمكون من: mM100 من Tris-HCl (pH 8.0)، 1.4 M من NaCl، 20 mM EDTA (pH 8.0)، 2% من CTAB، 1% من PVP، 0.2% من β -mercaptoethanol.

-تم مزج العينات على الرجاج لمدة 60 ثانية لمزج الخليط جيداً، ثم تم تحضين العينات على درجة حرارة 65 م° ضمن حمام مائي لمدة نصف ساعة مع المزج كل 10 دقائق.

-ومن ثم تمت إضافة حجم مماثل من كلورفورم: أيزوأميل الكحول (24:1) تحت المخلية ثم تم تحريك الأنابيب برفق بشكل شاقولي لمدة عشر دقائق.

- تم تنقيط العينات في جهاز الطرد المركزي لمدة 15 دقيقة وبسرعة 6000 دورة / دقيقة على درجة حرارة الغرفة (20م°) حتى تشكل طوران علوي (upper aqueous phase) وطور

سفلي، ثم تم نقل 700-800 ميكروليتر من الطور العلوي المنفصل بحذر إلى أنابيب Eppendorf جديدة سعة 2 مل.

-أعيدت الخطوات من الاستخلاص بالكلوروفوم:أيزوأميل الكحول من جديد

- ثم تمت إضافة 500 ميكروليتر من إيزوبروبانول البارد لترسيب DNA العينات مع التحريك بلطف وحفظها على حرارة -20 °م مدة 30 دقيقة.

- تم تثفيل العينات في جهاز الطرد المركزي لمدة 5 دقائق وبسرعة 11000 دورة /دقيقة وبدرجة حرارة +4 °م ثم تم التخلص من الرشاحة بحذر لتجنب سقوط الكرية المترسبة، وغسلت الكرية المترسبة في 500 ميكروليتر من محلول الغسيل المكون من الأمونيوم أسيتات 10مل مولار في 76% إيثانول لمدة 30 دقيقة.

- تم تثفيل العينات لمدة 5 دقائق بسرعة 6000 دورة / دقيقة على درجة حرارة +4 °م وأزيلت الرشاحة بحذر وجففت كرية الدنا لمدة 45 دقيقة تحت المخلية.

- تم حل كرية الدنا في 200 ميكروليتر من محلول TE (pH8.0) , 10mM Tris-HCl, 1mM EDTA).

- للتخلص من RNA تمت إضافة 2 ميكروليتر من محلول أنزيم RNase بتركيز 10 مل/مل وحضنت العينات على درجة حرارة 37 °م لمدة 30 دقيقة وحفظت بدرجة حرارة +4 °م لمدة 24 ساعة ومن ثم خزنت على درجة حرارة -20 °م لحين الاستخدام.

3-2- اختبار نوعية وتركيز الدنا (Determination of DNA quality and concentration):

تم قياس تركيز الدنا (DNA) الناتج بالاعتماد على طريقة الرحلان الكهربائي باستخدام هلامة أغاروز (agarose gel) تركيز 1% مضافاً لها مادة Ethidium bromide، مع معلّم قياسي (LAMPDA DNA) معروف التركيز (Precision Molecular Mass Standard) من شركة BIO RAD وتم الرحلان على 80-90 فولت لمدة ساعة واستخدمت الأشعة فوق البنفسجية (UV) لتظهير حزم الدنا وتم تحديد تراكيز الدنا بمقارنة كثافة الحزم للدنا المعزول مع كثافة حزم المعلم مع تراكيز المعلم و قيس أيضاً تركيز ونقاوة الدنا في العينات باستخدام

مقياس الطيف الضوئي (spectrophotometer) على طول موجة 260 و 280 نانومتر حيث كانت دنا كافة العينات ذات نقاوة عالية (1.8-2).

ثم تم توحيد تركيز الدنا لكافة العينات (بمحلول TE) إلى 50 نانوغرام بالميكروليتر وهو التركيز المطلوب في تقنية SSR لتفاعل البلمرة المتسلسل (PCR) و 0.5 نانوغرام بالميكروليتر وهو التركيز المناسب لتقنية EcoTILLING.

3-3- تقنية تكراريات التسلسلات البسيطة SSR (Simple Sequence Repeat):

3-3-1- تضخيم الدنا DNA Amplification:

تم استخدام 26 زوجاً من مرئسات تكراريات التسلسلات البسيطة SSR (primer-pairs) والمطورة من الدراق واللوز والمصنعة لدى شركة MWG GmbH الألمانية والتي تم اختيارها بسبب تعدديتها الشكلية العالية في الدراق (Cipriani *et al.*, 1999; Sosiniski *et al.*, 2000) واللوز (Aranzana *et al.*, 2002; Mnejja *et al.*, 2005) وتغطي جينوم الدراق واستخدمت سابقاً في توصيف الأصناف ورسم الخرائط الوراثية (Testolin *et al.*, 2000) وفي دراسات النشوء والتطور في الدراق وأجناس أخرى مرتبطة بها (Aranzana *et al.*, 2003a; Bouhadida *et al.*, 2007b; 2009) إن التضخيم الناجح لهذه المعلامات في الدراق وباقي الأنواع الأخرى يوضح التوافق الجيني العالي بين هذه الأنواع (Aranzana *et al.*, 2003b)، كما تم حساب درجات حرارة الالتحام المناسبة لكل زوج من المرئسات حيث اختلفت درجات الحرارة حسب عدد القواعد ونسبة GC حيث ترتفع بارتفاع هذه النسبة (الجدول، 8).

الجدول (8): التسلسل النكليوتيدي للمرسات المستخدمة في تقنية تكراريات التسلسلات البسيطة SSR والنسبة المئوية GC % وعدد التكراريات لكل مرئسة مع حرارة الالتحام المناسبة لكل زوج.

اسم المرئسة	التسلسل النيكلوتيدي	GC%	التكراريات	حرارة الالتحام (°م)	المرجع
Cipriani <i>et al.</i> , 1999	F ^{5'} AGTTTGATTTTCTGATGCATCC ^{3'} R ^{5'} TGCCATAAGGACCGGTATGT ^{3'}	36.4	(CA)17	53	UDP96-001
		50			
	F ^{5'} TTGCTCAAAAGTGTCGTTGC ^{3'} F ^{5'} ACACGTAGTGCAACACTGGC ^{3'}	45	(CT)11(CA)28	54	UDP96-003
		55			
	F ^{5'} GTAACGCTCGTACCACAAA ^{3'} R ^{5'} CCTGCATATCACCACCCAG ^{3'}	50	(AC)16TG(CT)2CA(C T)11	54	UDP96-005
		57.9			
	F ^{5'} TTGTACACACCCTCAGCCTG ^{3'} R ^{5'} TGCTGAGGTTTCAGGTGAGTG ^{3'}	55	(CA)23	55	UDP96-008
		55			
	F ^{5'} CCCATGTGTGTCCACATCTC ^{3'} R ^{5'} TTGATGATTCCATGCGTCTC ^{3'}	55	(GT)21(GAGT)4(GA) 18	54	UDP96-010
		45			
	F ^{5'} TTCTAATCTGGGCTATGGCG ^{3'} R ^{5'} GAAGTTCACATTTACGACAGGG ^{3'}	50	(AC)21	55	UDP96-018
		45.5			
	F ^{5'} TTGGTCATGAGCTAAGAAAACA ^{3'} R ^{5'} TAGTGGCACAGAGCAACACC ^{3'}	36.4	(TG)18(AG)7	52	UDP96-019
		55			
	F ^{5'} TCCCATACCAAAAAAACACC ^{3'} R ^{5'} TGGAGAAGGGTGGGTACTTG ^{3'}	36.4	(AG)17	52	UDP97-402
		55			
	F ^{5'} ACGTGATGAAGTACACCCA ^{3'} R ^{5'} GAGTCTTTGCTCTGCCATCC ^{3'}	50	(AG)9	54	UDP98-405
		55			
	F ^{5'} TCGGAACTGGTAGTATGAACAGA ^{3'} R ^{5'} ATGGGTCGTATGCACAGTCA ^{3'}	41.7	(AG)15	54	UDP98-406
		50			
	F ^{5'} GCTGATGGGTTTTATGGTTTTTC ^{3'} R ^{5'} CGGACTCTTATCCTCTATCAACA ^{3'}	40.9	(AG)19	55	UDP98-409
		43.5			
	F ^{5'} AAGCAGCAATTGGCAGAATC ^{3'} R ^{5'} GAATATGAGACGGTCCAGAAGC ^{3'}	45	(GA)22(CA)11	54	UDP98-021
		50			
	F ^{5'} AAGCCATCCACTCAGCACTC ^{3'} R ^{5'} CCAAAAACCAAAACCAAGG ^{3'}	55	(TC)16	50	UDP98-411
		40			
	F ^{5'} AGGGAAAGTTTCTGCTGCAC ^{3'} R ^{5'} GCTGAAGACGACGATGATGA ^{3'}	50	(AG)28	54	UDP98-412
		50			
Sosiniski <i>et al.</i> , 2000	F ^{5'} GTCAATGAGTTCAGTGTCTACACTC ^{3'} R ^{5'} AATCATAACATCATTAGCCACTGC ^{3'}	44	(CT)24	57	Pchgms2
		40			
	F ^{5'} ATCTTCACAACCCTAATGTC ^{3'} R ^{5'} GTTGAGGCAAAAGACTTCAAT ^{3'}	40	(CT)21	50	Pchgms4
		38.1			
	F ^{5'} CGCCCATGACAACTTA ^{3'} R ^{5'} GTCAAGAGGTACACCAG ^{3'}	47.1	(CA)9(TA)8	50	Pchcms5
		52.9			
	F ^{5'} AAGCAATAAAACCAGCAGCAA ^{3'} R ^{5'} TCAATCAATTGGCATGTTTCG ^{3'}	38.1	(TA)11	52	pchgms11
		40			
	F ^{5'} GCAAAGAGTACAACAATATCTACCG ^{3'} R ^{5'} GGATGGTGAAGACGATGAGG ^{3'}	40	(CT)11(CAA)11	54	pchgms14
		55			
	F ^{5'} ATGCACTCAAGTGGCAAGC ^{3'} R ^{5'} GGTTTTTGAAGCAAGATGCAC ^{3'}	52.6	(AT)8	52	pchgms17
		42.9			
	F ^{5'} GGGGGTTTGGTTAAGATCG ^{3'} R ^{5'} CCTTACCCCTTACCATT ^{3'}	52.6	(TA)15(TC)11	52	pchgms20
		55			
	F ^{5'} ACCACCATTTTGGCTCTCTG ^{3'} R ^{5'} ACCACCACAACCAACCAT ^{3'}	50	(TA)14	53	pchgms21F1
		45			pchgms21R1
	F ^{5'} CATGCAACCCAAAACCATCT ^{3'} R ^{5'} CAACGAGCTCCCATGACTTT ^{3'}	45	(TA)12	53	pchgms21R2
		50			pchgms24
F ^{5'} ACCACCACAACCAACCAT ^{3'} R ^{5'} TTCCCTAACGTCCTTGACAC ^{3'}	45	(CT)10	60	CPDCT025	
	55				
Mnejja <i>et al.</i> , 2005	R ^{5'} TGTGGATCAAGAAAGAGAACCA ^{3'}	40.9			
Aranzana <i>et al.</i> , 2003a	F ^{5'} TGAATATTGTTCTCAATTC ^{3'} R ^{5'} CTCTAGGCAAGAGATGAGA ^{3'}	30		50	CPPCT030
		47.4			

ثم تم القيام بتفاعلات تضخيم الدنا حسب Cipriani ورفاقه عام 1999 مع إجراء بعض التعديلات من حيث درجات الحرارة وتم تحضير حجم تفاعل 25 ميكرو لتر (الجدول،9)

الجدول(9): مكونات تفاعل البلمرة المتسلسل PCR لتقنية SSR

المادة	التركيز النهائي
Taq buffer	1X
MgCl ₂	2mM
dNTPs	0.32mM
primer F	4 p.m
primer R	4 p.m
Taq DNA polymerase	0.02 U
DNA	50 ng
H ₂ O	تكملة الحجم إلى 25 ميكرو لتر

تم ضبط برنامج جهاز التدوير الحراري PCR طراز Mastercycler–Eppendorf وبعدد دورات بلغ 35 دورة، إذ تكونت كل دورة من ثلاث مراحل تؤدي إلى تركيب وتضخيم سلاسل جديدة من الدنا (DNA) وهي التسخن، الالتحام، الاستطالة (الجدول،10).

الجدول(10): برنامج عمل تفاعل البلمرة المتسلسل PCR

عدد الدورات	الدورة	الزمن / د	الحرارة / م°
1	التسخن المبدئي (Initial Denaturation)	5	95
35	التسخن (Denaturation)	1	95
	الالتحام (Annealing)	1	حسب حرارة المناسبة لكل زوج من المرئسات
	الاستطالة (Extension)	1	72
1	الاستطالة النهائية (Final Extension)	10	72
حفظ		لا نهاية	4

3-3-2-الرحلان الكهربائي لنواتج تفاعل البلمرة المتسلسل (PCR Product electrophoresis):

تم فصل نواتج التفاعل على هلامة الميثافور آغاروز تركيز 3%:

تم تحليل نواتج تفاعل البلمرة المتسلسل بتحميل 10 ميكروليتر من منتجات تفاعل البلمرة بعد صبغها بصبغة التحميل (6X loading buffer) على هلامة الميثافور 3% (SFR super fine resolution agrose gel (Ameresco, USA) والتي تحتوي على الإيثيديوم برومايد (Romero *et al.*, 2003; Rasouli *et al.*, 2012)، في جهاز الرحلان الكهربائي (BIORAD, USA) وبتطبيق جهد كهربائي مقداره 90-110 فولت لمدة ساعتين .
تم تظهير حزم الدنا (DNA) بتعريض الهلامة للأشعة فوق البنفسجية وتم التصوير باستخدام جهاز توثيق الهلامة (Gel Documentation) وقيس حجم الحزم الناتجة باستخدام معّلم DNA القياسي (20 bp) (Fermentas, Lithuania).

3-4-تقنية EcoTILLING:

تم استخدام دنا المشمش الكلابي كشاهد لصلته وقربته الوراثية مع الأجناس المدروسة (*Amygdalus و Persica*). وتمت الدراسة على ثلاثة من المورثات مورثتي دنا الصانعات *matK* و *rbcl* إضافة إلى مورثة دنا النواة 18S rRNA.

1- تصميم المرئسات:

تم تصميم المرئسات باستخدام برنامج Primer-BLAST على موقع NCBI (National Center for Biotechnology Information) بالاعتماد على النقاط التالية: أن يكون طول المرئسة بين 18 الى 25 زوج قاعدي، ومحتواها من الغوانين والسيتوزين بين 40-60%، درجة حرارة الالتحام بين 55-65°م، وتم تصنيع المرئسات لدى شركة MWG (GmbH).

في مورثة الـ *rbcl* تم استخدام زوج المرئسات الموصى بها من قبل Shokralla ورفاقه (2010) وذلك لتضخيم ما يقارب 600 زوج قاعدي من المورثة، أما مورثة الـ *matK* تم تصميم زوجين من المرئسات بالاعتماد على تسلسل مورثة الـ *matK* من الجنس *P. Persica* والمرمزة على موقع NCBI بالرمز GU363751.1. بحيث يكون هناك تداخل بين القطعتين المضخمتين بمقدار 155 زوج قاعدي من أجل أكبر تغطية ممكنة للمورثة المدروسة وبالنسبة لمورثة 18SrRNA تم تصميم زوج واحد من المرئسات من تسلسل المورثة المرمزة بالرمز L28749.1 وهي موضحة في الجدول (11).

الجدول (11): أسماء المرئسات المستخدمة في تضخيم مورثات الدراسة

اسم المورثة	التسلسل النيكلوتيدي للمرئسة 5'→3'	موقع بدء التضخيم	طول القطعة المضخمة
<i>rbcL</i>	F- ^{5'} ATGTCACCACAAACAGAGACTAAAGC ^{3'} R- ^{5'} GTAAAATCAAGTCCACCRCG ^{3'} .		600
<i>matK1</i>	F- ^{5'} TCCGGCCTCCATCTTATGGTTCT ^{3'} R- ^{5'} TCCGATGAATCCGCCCAGGTG ^{3'}	82 512	411
<i>matK2</i>	F- ^{5'} GACGCCTCTTCTTTGCATTTAT ^{3'} R- ^{5'} CGGTTGAGACCACACATAAGAA ^{3'}	357 767	438
<i>18S rRNA</i>	F- ^{5'} CTGCCCCGTTGCTCTGATGAT ^{3'} R- ^{5'} CGTAGGCTTGCTTTGAGCAC ^{3'}	228 763	555

تم التأكد من قدرة المرئسات المصممة على تضخيم الجزء المطلوب من المورثة الهدف بإجراء تفاعل البلمرة المتسلسل بحجم تفاعل 15 ميكروليتر (الجدول، 12) وفق برنامج تفاعل البلمرة الموضح في الجدول (13).

تم تحميل 1 ميكرو ليتر من نواتج التفاعل على هلامة أغاروز (1.5%) والتي تحتوي على الإيثيديوم برومايد في جهاز الرحلان الكهربائي (BIORAD, USA) وتطبيق جهد كهربائي مقداره 90 فولت لمدة ساعة وتم تظهير حزم الدنا (DNA) بتعريض الهلامة للأشعة فوق البنفسجية وتم التصوير باستخدام جهاز توثيق الهلامة (Gel Documentation) وقياس حجم الحزم الناتجة باستخدام معلّم DNA القياسي (100 زوج قاعدي) (Fermentas, Lithuani).

الجدول (12): مكونات تفاعل البلمرة المتسلسل PCR لتقنية EcoTILLING

المادة	التركيز النهائي
Taq buffer	1X
MgCl ₂	1.67mM
dNTPs	0.33mM
primer F	0.33 p.m
primer R	0.33 p.m
Taq DNA polymerase	0.16 U
DNA	5 ng
H ₂ O	تكملة الحجم إلى 15 ميكروليتر

الجدول(13): برنامج عمل تفاعل البلمرة المتسلسل PCR

عدد الدورات	الدورة	الزمن/ دقيقة	الحرارة/ درجة مئوية
1	التمسخ (Denaturation)	5	95
40	التمسخ (Denaturation)	1	95
	الالتحام (Annealing)	1	60
	الاستطالة (Extension)	1	72
	الاستطالة (Extension)	10	72
1	الاستطالة (Extension)	10	72
حفظ		لا نهاية	4

تقنية EcoTILLING: تم تطبيق التقنية وفق الخطوات التالية:

1- خلط الدنا: تم دمج دنا العينات المدروسة التابعة لكل من جنسي الدراق واللوز مع دنا الشاهد مشمش الكلابي بنسبة 1:1 بحيث استخدم 2.5 نانوغرام من دنا العينة المدروسة مع 2.5 نانوغرام من دنا الشاهد.

2- تضخيم وتشكيل جداول الدنا المضاعفة المتغايرة باستخدام تفاعل البلمرة المتسلسل: تم ضبط برنامج جهاز التدوير الحراري PCR طراز Mastercycler-Eppendorf وتحضير حجم تفاعل نهائي 15 ميكرو لتر وفق الجدول (13) التفاعل السابق مع زيادة مرحلتين الأولى هي التمسح على درجة حرارة 99 م° ولمدة 10 دقائق ثم مرحلة renatured على درجة حرارة 72 م° لمدة 20 ثانية تليها 69 دورة مع انقاص لدرجة الحرارة بمعدل 0.3 درجة مئوية في كل دورة (Raghavan et al., 2007). تم التأكد من نتيجة التفاعل بتحميل 1 ميكرو ليتر من نواتج التفاعل على هلامة أغاروز (1.5%) والتي تحتوي على الإيثيديوم برومايد في جهاز الرحلان الكهربائي (BIORAD, USA) وبتطبيق جهد كهربائي مقداره 90 فولت لمدة ساعة وتم تطهير حزم الدنا (DNA) بتعريض الهلامة للأشعة فوق البنفسجية وتم التصوير باستخدام جهاز توثيق الهلامة (Gel Documentation) وقيس حجم الحزم الناتجة باستخدام معلم DNA القياسي (100,20 زوج قاعدي) (Fermentas, Lithuani).

3- الهضم باستخدام أنزيم CEL1 لجداول الدنا المتغايرة:

تم أخذ 10 ميكرو ليتر من نواتج تفاعل البلمرة المتسلسل وإضافة 10 ميكرو ليتر من مزيج أنزيم الهضم CEL1 (2 µl CJE preparation, 3µl CJE buffer , 5 µl dd H₂O) لكل تفاعل. تم تفاعل هضم الانزيم على درجة حرارة 45 درجة مئوية لمدة 15 دقيقة، بعدها تم

إيقاف عمل الانزيم باضافة 5 ميكروليتر من محلول EDTA (0.225mM) بعد ذلك أضيف 5 ميكروليتر من صبغة التحميل 6X على درجة حرارة 85 °م لمدة 25 دقيقة بهدف زيادة تركيز الدنا وسهولة تظهيره على هلامة الميثافور أغاروز فيما بعد (Raghavan et al., 2007).

4- الكشف عن نواتج عملية الهضم: تم فصل الحزم الكاملة والمقطوعة على هلامة ميتافور أغاروز (super fine resolution agrose gel (SFR) Ameresco, USA) تركيز 4% في محلول TBE (1% Tris-borate EDTA) والتي تحتوي على الإيثيديوم برومايد (0.5 غ/مل) على 120 فولت لمدة 90 - 120 دقيقة، تم التظهير بتعريض الهلامة للأشعة فوق البنفسجية وتم التصوير باستخدام جهاز توثيق الهلامة (Gel Documentation) وقيس حجم القطع الناتجة باستخدام معّلم DNA القياسي (100 زوج قاعدي) (bp20) (Fermentas, Lithuania يدل ظهور حزمًا إضافة إلى الحزمة الأصلية الكاملة على وجود الـ SNP بين سلسلتي الدنا وبالتالي وجود اختلاف في التسلسل النيكلوتيدي بين العينات المدروسة مع الشاهد.

5- إجراء تفاعل البلمرة المتسلسل لعينات الدنا التي أظهرت الاختلاف كل على حدة (دون الشاهد) وفق شروط وبرنامج تفاعل البلمرة المتسلسل PCR السابق وبحجم تفاعل نهائي 15 (الجدول، 12) وبتميل 1 ميكروليتر من نواتج التفاعل تم التأكد من نتيجة التفاعل على هلامة أغاروز (1.5%) وبعد ذلك تم إرسال نواتج التفاعل إلى عملية السلسلة بمعدل ستة عينات تشترك بنفس النمط من التغاير إضافة إلى النوع شرقي 1 والنوع كورشنسكي والأصل GF677 وعينة الشاهد المشمش الكلابي والتي تمت باستخدام جهاز ABI Prism 310 automated sequencer (Applied Biosystem. USA).

3-5- التحليل الاحصائي:

1- الدراسة الشكلية:

تم قراءة الصفات الشكلية بالاعتماد على موصف الدراق واللوز (Descriptor) المعتمدين من قبل المعهد الدولي للمصادر النبات الوراثية IPGRI (International plant genetic resources institute) (Bellini *et al.*, 1984; Gulcan, 1985). تم استخدام برنامج Gene STAT 12 لتحليل التباين وفق تصميم قطاعات عشوائية كاملة ثنائية الاتجاه ANOVA (two-way) بين الأصناف والطرز، لحساب قيمة أقل فرق معنوي بين الأصناف (LSD) عند مستوى 5% مع اختبار (student ized range in LSD test) وحساب معامل التباين cv% لمعرفة دقة التجربة. وتم حساب معامل الارتباط البسيط (Pearson)، بين الصفات المدروسة حيث تم قياس معنوية الارتباط على مستويي دلالة 5% و 1% (Onwuegbuzie *et al.*, 2007).

تم حساب مصفوفة نسب التقارب حسب Dice (1945) باستخدام برنامج PAST (Paleontological Statistics, ver. 1.67)، ومن ثم تم رسم شجرة القرابة الوراثية بين الأصناف بتطبيق طريقة Ward المرتببة (Ward Hierarchical Method) الذي يعتمد على تمييز الحد الأدنى من التباينات ضمن المجموعات (Ward, 1963) باستخدام برنامج NCSS (Hintze, 2007).

2- تقنية SSR:

تم تحديد درجة التشابه الوراثية من خلال حساب مصفوفة نسب التقارب ورسم شجرة القرابة الوراثية بين الأصناف والطرز فقد تم ترميز أي قرين ذو وزن جزيئي محدد عند أي صنف أو طراز بالرقم (1) وعدم تواجده بالرقم (0) حيث تمت قراءة الأوزان الجزيئية للقارئ باستخدام برنامج Gel Quant (ver 1.8.2) (Lazar, 2010). وتم على أساس مصفوفة (binary matrix) تم حساب مصفوفة نسب التقارب حسب Dice (1945) باستخدام برنامج PAST (Paleontological Statistics, ver. 1.67). ومن ثم تم رسم شجرة القرابة الوراثية بين الطرز بتطبيق طريقة وارد المرتببة (Ward Hierarchical Method) الذي يعتمد على تمييز الحد الأدنى للتباينات ضمن المجموعات (Ward, 1963) باستخدام برنامج NCSS 2007 (Hintze, 2007). كما تم حساب قيم الموثوقية Bootstrap لتحديد موثوقية حدود

مخطط التحليل برسم 1000 عينة عشوائية للقطع المتعددة شكلياً باستخدام البرنامج الإحصائي PAST (Hammer *et al.*, 2001).

تم حساب العدد الكلي للقرائن الناتجة في الموقع (A) والتعددية الشكلية (توزع القرائن بين الأنماط المدروسة) ومعامل التعددية الشكلية (Polymorphic Information Content) وفقاً لطريقة (Botstein, 1980) وقيمة التباير المورثي المتوقعة H_e (Expected heterozygosity) وقيمة التباير المورثي الملحوظة H_o (Observed heterozygosity) حيث تحسب قيمة معدل التباير المورثي المتوقعة من المعادلة:

$$H_e = 1 - \sum P_i^2 \quad (\text{Powell } et al., 1996)$$

حيث P_i : تكرارية القرين في الموقع i .

أما نسبة التباير المورثي الملحوظ فهي نسبة الأفراد غير المتجانسة بين الأفراد المدروسة وذلك باستخدام برنامج Power marker version 3.01 (Liu and Muse, 2005).

تم حساب معامل الارتباط Mantel (Mantel, 1967) لدراسة الارتباط بين الدراسة الشكلية والجزيئية باستخدام SSR

3- التبايرات النيكلوتيدية والعلاقات التصنيفية:

تم تحرير وتعديل (edit) ومطابقة التسلسلات للمورثات المدروسة باستخدام برنامج Bio Edit (Hall, 1999). ثم تمت مقارنة التسلسلات الناتجة للمورثات المدروسة ($rbdL$, $matK$) باستخدام برنامج BLASTn (nucleotide blast) Basic Local Alignment Search Tool) على موقع NCBI لمعرفة فيما إذا كان التسلسل الناتج مطابق للمورثة الهدف وتسلسلات الدنا الناتجة من الجنسين المدروسين وذلك بالاعتماد على نسبة التماثل (Identity).

وتم حساب عدد المواقع المتغيرة، ونوعها (transition, transversion, deletion, insertion)، كمؤشرات لقدرة المورثة على إثبات التغيرات ومعدل البعد بين أزواج التسلسلات في العينات المدروسة (Two parameters distance) (Kimura, 1980).

رسم شجرة العلاقات التطورية بالاعتماد على التسلسلات النيكلوتيدية للأجناس المدروسة مع إضافة تسلسلات لأنواع وأجناس أخرى تتبع العائلة الوردية والنوع *Solanum lycopersicum* (Solanaceae) والنوع *Arabidopsis thaliana* (Brassicaceae) كعينات شاهد من عائلات أخرى تم الحصول عليها من موقع NCBI (ملحق 2) باستخدام البرنامج الإحصائي MEGA5 (Tamura et al., 2011). تم رسم شجرة العلاقات التطورية بين الأجناس باستخدام حساب (Maximum Composit Likelihood) بين الاستبدالات وبطريقة المتوسطات الحسابية للمجاميع الزوجية غير المزنة UPGMA (Unweighted Pair Group Method using arithmetic Average) (Sneath and Socal, 1973)، كما تم حساب درجات Bootstrap لتحديد موثوقية حدود مخطط التحليل برسم 1000 عينة عشوائية (Felsenstein, 1985).

اعتمدت المعايير الأساسية في العلاقات التصنيفية بحيث أن يتصف القطاع بالمعايير التالية: 1- الانسجام بين مجموعات البيانات: يجب ألا يكون monophyly المجموعة الناتجة متناقضاً (بموثوقية عالية 95% أو أكبر) مع أي من التحاليل الأخرى لبيانات المورثات منفردة أو لأي أجزاء منها.

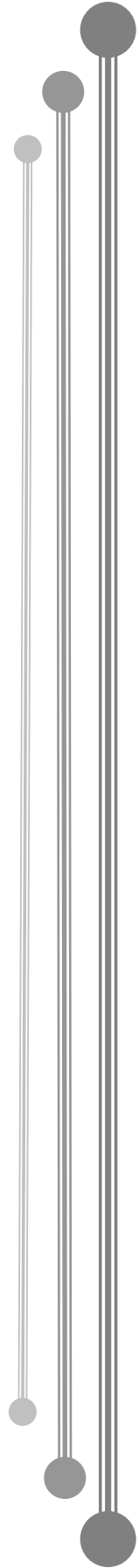
2- الموثوقية: يجب أن يكون monophyly المجموعة مدعوماً على الأقل بدرجات موثوقية 85% أو أكثر عند جمع كافة بيانات المورثات المدروسة.

3- الثباتية مع التصنيفات السابقة قدر الامكان ضمن مجال التمييز فقط بين المجموعات monophyletic لذلك نبحت عن جعل التصنيف ثابتاً قدر الامكان مع التصنيف السابقة وخاصة ضمن حدود الأرقام والحدود للأجناس والأنواع (Potter et al., 2002).

الفصل الثالث

النتائج والمناقشة

*RESULTS AND
DISCUSSION*



1- نتائج دراسة المواصفات الشكلية للدراق:

1- 1 قوة النمو وطبيعة التفرع:

تباينت طبيعة النمو لتيجان الأصناف المدروسة بين القائمة والمنتشرة. كما أوضحت النتائج كما هو مبين في الجدول (14) وجود فروق معنوية بين الأصناف في متوسط محيط الساق وفي صفة طول السلاميات على أفرع بعمر سنة، إذ تراوح متوسط محيط الساق بين الأدنى/39.94/ سم للصنف جيويو و الأعلى/49.70/ سم للصنف دوميسيانا، حيث أثبت الأخير تفوقه معنوياً على مستوى 5% بين الأصناف المدروسة في متوسط محيط الساق وكانت هناك فروقات معنوية بين سنتي الدراسة في كل من الصفتين السابقتين.

الجدول(14): طبيعة التفرع ومتوسط طول السلاميات ومحيط الساق (سم) للأشجار المدروسة

التسلسل	اسم الصنف	طبيعة التفرع	متوسط طول السلاميات	متوسط محيط الساق/ سم
1	دوميسيانا	منتشر	2.64 ^g	49.70 ^a
2	ماي كريست	منتشر	2.87 ^{ed}	45.46 ^b
3	فيلا أدريانا	منتشر	3.04 ^a	45.30 ^{bc}
4	كالديسي 2000	قائم	2.90 ^{ed}	44.64 ^{cd}
5	وينبرجر	شبه قائم	2.66 ^g	44.47 ^d
6	لاور	منتشر	3.04 ^a	44.47 ^d
7	فلافور توب	شبه قائم	3.00 ^{ab}	44.12 ^d
8	فينوس	قائم	2.97 ^{cb}	43.28 ^e
9	بونتينا	شبه قائم	2.76 ^f	43.08 ^e
10	روم ستار	شبه قائم	2.74 ^f	42.79 ^e
11	نكتاروز	شبه قائم	2.93 ^{cd}	40.81 ^f
12	جيويو	شبه قائم	2.85 ^e	39.94 ^g
	أقل فرق معنوي LSD5%		0.062	0.71
	معامل التباين Cv%		1.9	1.4

تدل الأحرف a،b،c،d،e،f،g على العلاقة بين الأصناف المدروسة، حيث يشير الحرف المشترك بين صنفين في العاود الواحد على أن الاختلاف بينهما غير معنوي.

1-2 صفات الأوراق (طول الورقة وعرضها والمساحة الورقية):

تميزت كافة الأصناف المدروسة بأوراق رمحية الشكل مستدقة الطرف ذات الحواف المسننة كانت الغدد الورقية كلوية الشكل لكل الأصناف المدروسة ما عدا الصنف ماي كريست كانت كروية الشكل. بينت النتائج وجود فروقاً معنوية بين الأصناف المدروسة في كل من طول وعرض الورقة وبالتالي المساحة الورقية بين الأصناف المدروسة وبين سنتي الدراسة في السنة الأولى كان المتوسط 27.54 وفي السنة الثانية 29.78 (الجدول، 15). إذ كانت أعلى مساحة ورقية في الصنف وينبرجر بقيمة 35.61 وأعلى قيمة لمتوسط عرض الورقة 3.90 عن باقي الأصناف المدروسة وبفروقات معنوية. أما أعلى قيمة لمتوسط طول الورقة كانت عند الصنف دوميسيانا 15.27 وبفريقٍ معنويٍ عن بقية الأصناف المدروسة.

الجدول(15): متوسط طول وعرض الأوراق والمساحة الورقية للأصناف المدروسة في سنتي الدراسة

اسم الصنف	الورقة		المساحة الورقية سم ²
	متوسط الطول/سم	متوسط العرض/سم	
وينبرجر	13.53 ^{bcd}	3.90 ^a	35.61 ^a
دوميسيانا	15.27 ^a	3.42 ^{bc}	35.52 ^{ab}
فلافور توب	14.83 ^{ab}	3.37 ^{bc}	34.00 ^{ab}
روم ستار	14.13 ^{abc}	3.50 ^b	33.56 ^{ab}
نكتاروز	13.42 ^{cd}	3.42 ^{bc}	31.67 ^{abc}
كالديسي 2000	13.25 ^{cd}	3.40 ^{bc}	30.92 ^{bcd}
فينوس	12.75 ^{de}	3.13 ^{cd}	27.14 ^{cde}
جيويا	11.75 ^e	3.35 ^{bc}	26.70 ^{de}
فيلا أدريانا	11.80 ^e	3.30 ^{bc}	26.41 ^{def}
بونتينيا	12.65 ^{de}	2.58 ^e	22.52 ^{efg}
ماي كريست	12.48 ^{de}	2.53 ^e	21.82 ^{fg}
لاور	9.47 ^f	2.82 ^{de}	18.08 ^g
LSD5%	1.364	0.364	6.646
Cv%	9.0	9.7	13.9

تدل الأحرف g,f,e,d,c,b,a على العلاقة بين الأصناف المدروسة، حيث يشير الحرف المشترك بين صنفين في العمود الواحد على أن الاختلاف بينهما غير معنوي.

3-1 الصفات الزهرية:

تميزت كافة الأصناف المدروسة بالأزهار وردية الشكل ما عدا الأصناف كالديسي 2000، لاور وروم ستار بأنها جرسية الشكل. تراوح اللون بين الزهري الغامق والفاتح، كان توضع البراعم الزهرية منتظماً عند كافة الأصناف باستثناء الصنف لاور كانت البراعم في الوسط والقمة كما كانت الكثافة الزهرية من جيدة إلى جيدة جداً في كل الأصناف ما عدا الصنف لاور كانت متوسطة (الجدول، 16).

الجدول(16): الصفات الزهرية للأصناف المدروسة

اسم الصنف	توضع البراعم	الأزهار		
		الشكل	الحجم	اللون
وينبرجر	منتظم	وردية	كبير	زهر فاتح
جيوبا	منتظم	وردية	كبير	زهر غامق
فلافور توب	منتظم	وردية	متوسطة	زهر فاتح
فينوس	منتظم	وردية	كبير	زهر غامق
كالديسي 2000	منتظم	جرسية	صغير	زهر غامق
نكتاروز	منتظم	وردية	كبير	زهر شاحب
لاور	بالوسط والقمة	جرسية	صغير	زهر فاتح
ماي كريست	منتظم	وردية	كبير	زهر فاتح
دوميسيانا	منتظم	وردية	صغير	زهر غامق
بونتينا	منتظم	وردية	كبير	زهر فاتح
روم ستار	منتظم	جرسية	صغير	زهر فاتح
فيلا أدريانا	منتظم	وردية	كبير	زهر فاتح

4-1- مواعيد الإزهار والنضج:

أ- مواعيد الإزهار:

يعد الإزهار المبكر من الصفات المرغوبة في منطقة حوض المتوسط وذلك للحصول على الانتاج بوقت مبكر (George and Nissen, 1992; Caruso and Sottile, 1999) ولكن الأصناف ذات الإزهار المتأخر تعد الأنسب تقادياً لخطر الصقيع الربيعي والذي يمكن أن يقلل من الانتاج في بعض السنوات. وفي الدراسة الحالية لوحظ عدم تواجد اختلافات بين الأصناف بالنسبة لموعد بداية الإزهار وفي أوج الإزهار وفي نهاية الإزهار وذلك يبرر عدم

وجود فروق معنوية في طول فترة الإزهار بين الأصناف المدروسة، إلا أن جميع الأصناف المدروسة كانت مبكرة نوعاً ما بالإزهار ومقاربة فيما بينها بمواعيد الإزهار (الجدول، 17) .

الجدول(17): الأطوار الفنولوجية لأصناف الدراق والنكتارين المدروسة

اسم الصنف	مواعيد				مدة الإزهار (يوم)
	بدء الانتفاخ	بدء الإزهار	أوج الإزهار	نهاية الإزهار	
جويوا	3/2	3/8	3/14	3/19	11
فلافور توب	3/2	3/8	3/14	3/19	11
فينوس	3/2	3/8	3/14	3/19	11
وينبرجر	3/4	3/10	3/16	3/21	11
كالديسي 2000	3/4	3/10	3/16	3/19	9
نكتاروز	3/4	3/10	3/16	3/21	11
دوميسيانا	3/4	3/10	3/16	3/21	11
بونتينيا	3/4	3/10	3/16	3/21	11
فيلا أدريانا	3/4	3/10	3/16	3/21	11
ماي كريست	3/4	3/10	3/16	3/21	11
روم ستار	3/4	3/10	3/16	3/21	11
لاور	3/6	3/12	3/18	3/24	12

ب- مواعيد النضج:

يظهر الجدول (18) تصنيف الأصناف المدروسة وفقاً لمواعيد النضج وقد امتدت المواعيد من 18 تموز إلى 16 إيلول حيث صنفت الأصناف من المبكرة بالنضج إلى المتأخرة فالأصناف المبكرة نضجت من تاريخ 18 تموز إلى 30 تموز أما الأصناف المتوسطة النضج من 30 تموز إلى 20 آب أما الأصناف المتأخرة فهي التي نضجت في وسط إيلول إذ لوحظت صفة التأخير في النضج في الصنف لاور .

كما أن فترة نمو الثمرة أو ما يسمى عمر الثمرة (عدد الأيام من الإزهار الأعظمي وحتى النضج) (Cantin *et al.*, 2010) بقيت ثابتة أو شبه ثابتة تقريباً لكل صنف خلال سنتي الدراسة، على الرغم من أن مواعيد الإزهار والنضج تتغير سنوياً بالاعتماد على الظروف البيئية وخاصة الحرارة (Sánchez-Pérez *et al.*, 2007, Mounzer *et al.*, 2008, Ruiz and Egea, 2008)، إلا أن هذه الصفة تعتمد بشكل رئيسي على خصائص الصنف الوراثية (Cunha *et al.*, 2007; Cheng, 2008; Mounzer *et al.*, 2008)، لذا كان

الفارق الرئيس بين تلك الأصناف هو طول فترة نمو الثمرة. في الدراسة الحالية تراوحت فترة نمو الثمرة من 127-160 يوم لكل الأصناف ما عدا الصنف لاور الذي أظهر الفترة الأطول (183 يوم) وبالنتيجة كان هو الصنف الأخير في موعد النضج أما أقصر فترة لنمو الثمرة وأبكر الأصناف نضجاً كانت عند الأصناف فلافور توب ، ماي كريست ووينبرجر .

الجدول(18): مواعيد نضج ثمار أصناف الدراق المدروسة ومتوسط عمرها

اسم الصنف	موعد النضج	متوسط عمرالثمرة (يوم)
فلافور توب	7/18	127
ماي كريست	7/20	127
وينبرجر	7/20	127
دوميسيانا	7/21	128
كالديسي 2000	7/30	137
جيوبا	7/30	139
بونتيننا	8/12	150
روم ستار	8/18	156
فيلا أدريانا	8/18	156
فينوس	8/20	160
نكتاروز	8/20	158
لاور	9/16	183

5-1- الإنتاجية:

غلبت على الثمار المدروسة الشكل المستدير والبيضوي، لوحظ ستة منها من أصناف النكتارين ذات قشرة ملساء منها. والستة الأخرى من أصناف الدراق ذات القشرة الزغبية كما هو مبين في الجدول(19).

يؤثر لون القشرة الأساسي معنوياً على رضا المستهلك والسوق بالنسبة لأصناف الدراق والنكتارين (Scorza and Sherman, 1996; Liverani *et al.*, 2002) كما وتتغير نسبة التلون باللون الأحمر للقشرة بين الأصناف (من 5 إلى 100%) حيث أظهر كل من الصنفين روم ستار و وينبرجر أعلى نسبة من التلون الأحمر 85-100% على سطح الثمرة وهذا مما يؤثر إيجابياً على جاذبية ثمارهما. ومن ناحية أخرى أظهر الصنف فيلا أدريانا أقل نسبة من التلون 30% لذا كانت ثماره أقل جاذبية بين الأصناف (الجدول،19).

الجدول(19): صفات ثمار أصناف الدراق والنكتارين المدروسة

اسم الصنف	الثمرة		القشرة		
	الشكل	الحجم	الزغبية	اللون الرئيسي	التلون بالأحمر%
وينبرجر	متطاوّل	متوسط	غائبة	أصفر كريمي	85-100%
جبويا	متطاوّل	متوسط	غائبة	برتقالي	80-100%
فلافور توب	مستدير	كبير	وسط	برتقالي	60-80%
فينوس	متطاوّل	كبير	غائبة	كريمي مخضر	60-80%
كالديسي 2000	بيضوي	كبير	غائبة	أخضر	90%
نكتاروز	مستدير	كبير	غائبة	برتقالي مخضر	70-90%
لاور	مستدير	كبير جدا	عالية	أصفر مخضر	60-80%
ماي كريست	مستدير مفلطح	متوسط	وسط	برتقالي	80-100%
دوميسيانا	مستدير	متوسط	وسط	برتقالي	80-100%
بونتينيا	مستدير	كبير جدا	وسط	برتقالي	75-85%
روم ستار	مستدير مفلطح	كبير	وسط	أصفر	85-100%
فيلا أدريانا	مستدير	متوسط	وسط	أصفر	5-30%

كانت الفروقات كبيرة في متوسط وزن الثمرة بين الأصناف المدروسة من 114.7 غ إلى 224 غ (الجدول، 20) وذلك يعود لتأثير عوامل متعددة منها: الصنف وشكل الثمرة وعمليات الخدمة المطبقة وهذا يتوافق مع الأبحاث السابقة التي أثبتت وجود اختلاف كبير في هذه الصفة (Quilot *et al.*, 2004; Iglesias and Echeverria, 2009). بلغ أعلى متوسط لوزن الثمرة عند الصنف لاور إذ ارتبط المتوسط الأعلى لوزن الثمار مع صفة النضج المتأخر، وبالمقابل أظهر الصنفين فيلا أدريانا و وينبرجر أقل وزن للثمرة بين الأصناف المدروسة وقد جاءت هذه النتيجة متوافقة مع دراسات سابقة لـ Milosevic ورفاقه عام 2012 بالنسبة لصنف الدراق وينبرجر. أما بالنسبة لمتوسط محيط الثمرة كانت أعلى قيمة له عند الصنف لاور وأصغرها كان عند الصنف ماي كريست وبفروقات معنوية بين الأصناف المدروسة وهذا أدى إلى فروق واضحة بين أشكال وحجوم ثمار الأصناف المدروسة، إذ تراوح شكل ثمار الأصناف المدروسة من المستديرة إلى المتطاولة (الجدول، 20).

يعد وزن الثمرة هو العامل الوراثي والكمي المحدد لكل من الإنتاجية، نوعية الثمار ورغبة المستهلك (Dirlewanger *et al.*, 1999)، نتيجة لذلك وجد مجال كبير من الفروقات عند دراسة الانتاجية بين الأصناف المدروسة (من 10 كغ إلى 50 كغ/ شجرة) وكانت الفروق

معنوية بين الأصناف المدروسة وبين سنتي الدراسة إذ كانت السنة الأولى أعلى بالإنتاجية (2031.8 كغ/ دونم) من السنة الثانية (1993.2 كغ/ دونم) وبفارق معنوي على مستوى 5% (19.06)، أما بين الأصناف فقد تفوق الصنف روم ستار معنوياً على باقي الأصناف بمتوسط إنتاجية بلغ 3091 كغ/دونم، بينما كان الصنف فينوس هو الصنف الأقل إنتاجية وبفارق معنوي عن باقي أصناف الدراسة (الجدول، 20). إن الاختلافات الملحوظة تؤكد التحكم الوراثي الكمي بصفة الإنتاجية وقد أكد هذا سابقاً (Dirlewanger *et al.* 1999; Dirlewanger *et al.*, 2004). وبمقارنة النتائج كان الصنف دوميسيانا هو الأفضل من حيث الإنتاجية بين الأصناف مبكرة النضج بينما كان الصنف روم ستار هو الصنف الأكثر تفوقاً في الانتاجية بين الأصناف متوسطة النضج إضافة لوزن ثماره الجيد (197.37 غ).

الجدول(20): الإنتاجية ومتوسط وزن الثمار للأصناف المدروسة

التسلسل	الصنف	الانتاجية كغ/دونم	محيط الثمرة/ سم	وزن الثمرة /غ
1	روم ستار	3091 ^a	20.67 ^{abcd}	180.9 ^b
2	لاور	2829 ^b	24.18 ^a	224.0 ^a
3	نكتاروز	2820 ^b	21.28 ^{abc}	151.3 ^d
4	بونتين	2480 ^c	22.32 ^{ab}	175.1 ^{bc}
5	فيلا أدريانا	2435 ^c	18.83 ^{bcd}	121.8 ^{gh}
6	دوميسيانا	2113 ^d	18.72 ^{cd}	137.9 ^{ef}
7	وينبرجر	2030 ^e	18.03 ^{cd}	114.7 ^h
8	ماي كريست	1860 ^f	13.15 ^e	127.6 ^{fg}
9	فلافور توب	1837 ^f	17.47 ^d	175.8 ^{bc}
10	كالديسي 2000	1310 ^g	20.95 ^{abcd}	151.6 ^d
11	جيوي	728 ^h	20.00 ^{bcd}	147.5 ^{de}
12	فينوس	616 ⁱ	20.73 ^{abcd}	164.4 ^c
	LSD%5	46.69	3.547	12.57
	Cv%	2.0	15.5	6.9

تدل الأحرف a,b,c,d,e,f,g,h,i على العلاقة بين الأصناف المدروسة، حيث يشير الحرف المشترك بين صنفين في العمود الواحد على أن الاختلاف بينهما غير معنوي.

تعد صلابة الثمار هي صفة نوعية هامة في برامج التربية ولقد اختلفت الأصناف المدروسة في صلابتها بين المتوسطة والجيدة (الجدول، 21). كل الأصناف المدروسة كانت ذات لب أصفر ما عدا الصنف كالديسي 2000 ذو اللب الأبيض كما أنها من الأصناف السكرية مع وجود حموضة بسيطة في الصنفين وينبرجر وكالديسي 2000. تميزت أصناف النكتارين أن

ثلاثة منها ذات بذرة نصف لاصقة والثلاثة الأخرى منفصلة البذرة أما أصناف الدراق الثلاثة منها ذات بذور لاصقة والأخرى كانت حرة كما هو موضح في الجدول (21).

الجدول (21): مواصفات لب الثمرة وطعمها وشكل البذرة والتصاقها للأصناف المدروسة

البذرة		اللب				اسم الصنف
الشكل	الالتصاق	الطعم السكري	الصلابة	القوام	اللون	
كروي	شبه لاصقة	جيد مع حموضة	متوسطة	متوسط	أصفر	وينبرجر
شبه كروي	شبه لاصقة	جيد	جيدة	متوسط	أصفر مع تلوين انتوسيانين	جيوبا
بيضوي	منفصلة	جيد	جيدة	خشن	اصفر معرق بالاحمر	فلافلور توب
بيضوي	شبه لاصقة	جيد	متوسطة	متوسط	أصفر معرق بالاحمر	فينوس
بيضوي	منفصلة	جيد مع حموضة	جيدة	ناعم	أبيض	كالديسي 2000
شبه كروي	منفصلة	جيد	جيدة	ناعم	أصفر	نكتاروز
بيضوي	لاصقة	جيد جدا	جيدة	ناعم	أصفر معرق بالأحمر	لاور
كروي	لاصقة	جيد	جيدة	ناعم	أصفر	ماي كريست
بيضوي	منفصلة	جيد	متوسطة	ناعم	برتقالي	دوميسيانا
شبه كروي	منفصلة	جيد	جيدة	ناعم	أصفر	بونتينا
شبه كروي	منفصلة	جيد	جيدة	متوسط	أصفر معرق بالاحمر	روم ستار
كروي	لاصقة	جيد	جيد	متوسط	أصفر برتقالي	فيلا أدريانا

1-6- الارتباط بين الصفات الشكلية في الدراق:

يظهر الجدول (22) الارتباط بين الصفات الكمية المدروسة معظمها كانت معنوية على الرغم من عدم وجود قيم عالية لمعامل الارتباط عند اعتماد دراسة كل الأصناف مع بعضها بعضاً. حيث ارتبط موعد النضج معنوياً بوزن الثمرة ($r=0.562$) على مستوى 1% وذلك يعني أن الأصناف ذات النضج المبكر كانت ثمارها صغيرة مقارنة بالأصناف متأخرة النضج وهذا يتوافق مع ما وجدته Cantin وزملاؤه عام 2010 حيث بلغ معامل الارتباط لهاتين الصفتين 0.581 على مستوى 1% وذلك ما يعكس الارتباط الايجابي المعنوي بين صفتي موعد النضج ومتوسط محيط الثمرة ($r=0.545$, $P \leq 0.01$) كما أكد ذلك دراسات سابقة على كل من جنسي الدراق والمشمش (Dirlewanger *et al.*, 1999; Lopez and DeJong, 2007; Ruiz and Egea, 2008; Font i Forcada *et al.*, 2013b)، كما أن وزن الثمرة بدوره ارتبط إيجابياً وبشكل معنوي مع محيط الثمرة ($r=0.420$, $P \leq 0.01$).

كما ارتبط طول السلاميات في الأفرع السنوية مع صفة محيط الساق ارتباطاً إيجابياً معنوياً ($P \leq 0.01$, 0.584) مما يؤكد أن الأصناف قوية النمو هي الأصناف ذات الأفرع السنوية الأطول. وارتبطت المساحة الورقية بطول الورقة ارتباطاً معنوياً إيجابياً أعلى من ارتباطها بصفة عرض الورقة (0.841، 0.796) على التوالي. إن نجاح عملية التربية لصفة ما يعتمد على التغيرات في النمط الوراثي لهذه الصفة وعلى معاملات الارتباط للأنماط الوراثية بين الصفات ضمن مجتمعات التربية، لذلك فإن معاملات الارتباط الظاهرية هي مؤشرات جيدة وهامة لأخذها بالحسبان في برامج التربية.

الجدول(22): قيم معامل الارتباط بين الصفات الكمية لأصناف الدراق والنكتارين المدروسة

الصفة	محيط الساق	طول السلامية	مدة الإزهار	موعد النضج	وزن الثمرة	الإنتاج	طول الورقة	عرض الورقة	مساحة الورقة	محيط الثمرة
محيط الساق	1									
طول السلامية	0.584**	1								
مدة الإزهار	-0.033	0.026	1							
موعد النضج	-0.240*	0.133	0.383**	1						
وزن الثمرة	-0.003	0.300*	0.294*	0.562**	1					
الإنتاجية	0.076	-0.048	0.377**	0.352**	0.225	1				
طول الورقة	0.339**	0.131	-0.286*	-0.524**	-0.152	-0.016	1			
عرض الورقة	0.003	-0.055	-0.213	-0.222	-0.255*	-0.048	0.351**	1		
مساحة الورقة	0.220	0.059	-0.294*	-0.438**	-0.221	-0.017	0.841**	0.796**	1	
محيط الثمرة	-0.232*	0.008	0.068	0.545**	0.420**	0.157	-0.220	-0.034	-0.148	1

حيث * الارتباط معنوي عند مستوى دلالة 5% ، ** الارتباط معنوي عند مستوى دلالة 1%

7-1- التحليل العنقودي و تحديد درجة التشابه في الموصفات المورفولوجية:

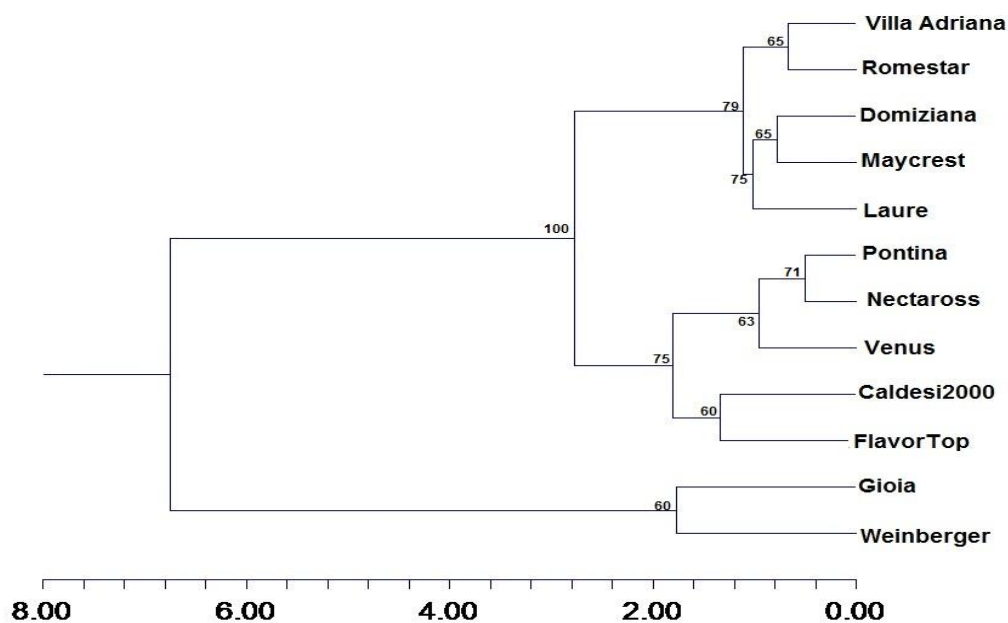
تم استخدام مجموعة الموصفات المورفولوجية الرئيسة للأصناف المدروسة بهدف تحديد القرابة فيما بين هذه الأصناف وذلك من خلال تحويل الموصفات النوعية إلى كمية حيث تم تشكيل مصفوفة أعطي فيها لتوفر الصفة الرمز (1) ولغيابها (0) وباعتماد على معامل Dice (Dice, 1945) حيث كانت أعلى درجة قرابة بين الصنفين: "جيويا" و"وينبرجر" (0.68) وهما صنفين من أصناف النكتارين يتميزان بشكل الثمرة المتطاوول والبذرة الكروية شبه اللاصقة وهما من الأصناف المبكرة الإزهار، وأقل درجة قرابة كانت بين الصنفين: "وينبرجر" و"لاور" (0.29)

وبمتوسط تشابه كلي بين كل الأصناف المدروسة قدره 0.48 مما يدل على الفروقات الشكلية الواسعة بين الأصناف المدروسة (الجدول،23).

الجدول(23): درجات التشابه الشكلي بين أصناف الدراق والنكتارين المدروسة

فيلادريانا	روم ستار	بونتينيا	دوميسيانا	ماي كريست	لاور	نكتاروز	كالديسي 2000	فينوس	فلافور توب	جيوبا	وينبرجر	
											1	وينبرجر
										1	0.677	جيوبا
									1	0.484	0.484	فلافور توب
								1	0.548	0.645	0.548	فينوس
							1	0.613	0.613	0.516	0.387	كالديسي
						1	0.516	0.548	0.548	0.581	0.548	نكتاروز
					1	0.452	0.548	0.387	0.484	0.355	0.290	لاور
				1	0.452	0.387	0.323	0.387	0.419	0.387	0.452	ماي كريست
			1	0.387	0.419	0.387	0.484	0.419	0.484	0.387	0.419	دوميسيانا
		1	0.419	0.484	0.548	0.645	0.452	0.548	0.548	0.484	0.548	بونتينيا
	1	0.548	0.355	0.323	0.387	0.581	0.419	0.484	0.516	0.419	0.484	روم ستار
1	0.387	0.548	0.516	0.484	0.484	0.452	0.387	0.484	0.484	0.516	0.581	فيلادريانا

وزع التحليل العنقودي الأصناف المدروسة إلى ثلاث مجموعات، ضمت المجموعة الأولى الصنفين جيوبا ووينبرجر وشملت المجموعة الثانية أصناف النكتارين كالديسي 2000 و فلافور توب، فينوس و نكتاروز مع صنف الدراق بونتينيا أما المجموعة الثالثة فضمت باقي أصناف الدراق جميعها. ولقد فصل التحليل العنقودي الأصناف المدروسة وفقاً لوزن الثمرة وموعد الإزهار إذ تماثلت أصناف المجموعة الأولى بكل المواصفات الشكلية ما عدا طول لورقة ولون الزهرة، أما المجموعة الثانية كانت مبكرة في موعد إزهارها وذات المتوسطات الأعلى من وزن الثمرة وحجمها. ومن مخطط التحليل العنقودي للصفات الشكلية تبين عدم الفصل الواضح بين الأصناف المدروسة كأصناف دراق وأصناف نكتارين حيث تداخلت الأصناف ضمن المجموعات وهذا يؤكد عدم مقدرة الصفات الشكلية وحدها على الفصل الواضح بين الأصناف المدروسة (الشكل، 3).



الشكل (3): مخطط التحليل العنقودي بين أصناف الدراق والنكتارين الناتج عن الصفات الشكلية، بحسب طريقة Ward وبالاغتماد على معامل Dice.

2- نتائج دراسة الموصفات الشكلية للوز:

1-2 قوة وطبيعة التفرع:

أوضحت النتائج وجود فروقات معنوية بين الأصناف في قوة نموها، إذ تراوح متوسط محيط الساق بين /40.66/ سم للصنف ديسماروخو و/56.52/ سم للصنف حماة 34 وبفارق قدره (15.8) سم، تفوق الصنف حماة 34 معنوياً على كافة الأصناف المدروسة أما بالنسبة لطبيعة النمو فكانت معظم الأصناف المدروسة ذات تاج قائم واثنان منها ذات تاج منتشر وصنف متهدل وصنف قائم منتصب أما الطرز البرية امتلكت جميعها تاج شديد الانتشار (الجدول، 24).

الجدول(24): متوسط محيط الساق وطبيعة النمو للأصناف المدروسة

التسلسل	اسم الصنف/ الطراز	متوسط محيط الساق/ سم	طبيعة التفرع
1	ديسماروخو	40.66 ^h	متهدل
2	فورنا	43.18 ^g	قائم جداً
3	فلوتس	43.26 ^g	قائم منتصب
4	بابنس	46.16 ^f	قائم جداً
5	قسطنطين	46.26 ^f	قائم جداً
6	فيرادويل	48.26 ^e	قائم جداً
7	جادرما	49.30 ^d	قائم جداً
8	عوجا	49.54 ^d	منتشر
9	شامي فرك	51.64 ^c	منتشر
10	حماة 47	52.50 ^b	قائم جداً
11	ضفادعي	53.06 ^b	قائم جداً
12	حماة 34	56.52 ^a	قائم جداً
13	شرقي 1		شديد الانتشار
14	شرقي 2		شديد الانتشار
15	كورشنسكي		شديد الانتشار
	LSD.05	0.637	
	CV%	1.1	

تدل الأحرف a,b,c,d,e,f,g على العلاقة بين الأصناف المدروسة، حيث يشير الحرف المشترك بين صنفين في العامود الواحد على أن الاختلاف بينهما غير معنوي.

2-2- مواصفات الأوراق:

تراوحت أشكال أوراق الأصناف والطرز المدروسة من متطاولة الى إهليلجية الجدول(25)، بينت النتائج وجود فروق معنوية بين الأصناف والطرز المدروسة في المساحة الورقية وعرض الورقة على مستوى 5% وفي متوسط طول الورقة وبين سنتي الدراسة حيث كانت في السنة الأولى(5.966،2.144،10.890) أفضل من السنة الثانية (2.016،10.135،5.833) وربما يعود ذلك إلى ارتفاع معدل الهطول المطري في تلك السنة، إذ كانت أعلى مساحة ورقية في الصنف جادرما وتميز الطراز شرقي 2 بأصغر مساحة ورقية (0.61 سم²). بلغت أعلى قيمة لمتوسط عرض الورقة في الصنف جادرما وبفارق معنوي واضح عن باقي

الأصناف المدروسة، أما أعلى قيمة لمتوسط طول الورقة كانت عند الصنف فورنا. تماثلت النتائج مع نتائج Palasciano ورفاقه (2005) من حيث المساحة الورقية وتباينها بين الأصناف والطرز المدروسة حيث وجد أن أصناف اللوز المزروعة لديها مساحة ورقية أكبر من 10 سم² بينما المساحة الورقية لطرز اللوز البري كانت أقل من 10 سم² وبالنسبة للنتائج السابقة كانت أقل مساحة ورقية من بين الأصناف المزروعة المدروسة 13.1 سم² وهي تعود للصنف Marcona بينما كانت أقل مساحة ورقية في هذه الدراسة تعود للصنف ديسماروخو (9.39)، كما وجد Akbar و Houshang في عام 2013 فروقات معنوية في طول وعرض الورقة بين الأصناف الإيرانية المدروسة تراوحت من 4.85 إلى 5.58 سم لطول الورقة ومن 1.38 إلى 1.60 سم لعرض الورقة بينما تميزت الأصناف المحلية في هذه الدراسة بمتوسطات أعلى من طول الورقة تراوحت من 8.34 إلى 4.76 وعرض تراوح من 3.33 إلى 2.15 وبالتالي بمساحات ورقية أعلى.

الجدول (25): متوسط طول وعرض الأوراق ودليل الشكل واللون والمساحة الورقية للأصناف والطرز المدروسة

التسلسل	الصنف/الطرز	الورقة				المساحة الورقية
		م. الطول	م. العرض	دليل الشكل	اللون	
1	جادرما	8.17 ^b	3.33 ^a	3	2	21.31 ^a
2	عوجة	8.34 ^b	2.40 ^d	1	1	15.71 ^b
3	فورنا	8.75 ^a	2.17 ^{ef}	1	1	14.90 ^{bc}
4	حماة 47	6.80 ^d	2.63 ^c	2	1	14.03 ^c
5	بابنس	6.99 ^{cd}	2.23 ^e	2	2	12.27 ^d
6	فيرادويل	6.42 ^e	2.38 ^d	2	1	12.01 ^d
7	قسطنطين	6.12 ^f	2.42 ^d	3	1	11.63 ^{de}
8	شامي فرك	4.76 ^h	3.08 ^b	3	2	11.47 ^d
9	ضفادعي	6.36 ^{ef}	2.15 ^{ef}	2	2	10.72 ^{ef}
10	حماة 34	5.78 ^g	2.20 ^e	2	1	9.99 ^g
11	فلوتس	6.13 ^f	2.05 ^f	2	2	9.88 ^g
12	ديسمايوروخو	7.20 ^c	1.66 ^g	1	1	9.39 ^g
13	كورشنسكي	3.5 ⁱ	1.25 ^h	2	2	3.02 ^h
14	لوز شرقي 1	1.5 ^j	0.70 ⁱ	3	3	0.75 ⁱ
15	لوز شرقي 2	1.6 ^j	0.55 ^j	2	3	0.61 ⁱ
LSD5%		0.284	0.143			0.971
Cv%		4.2	5.9			8.0

تدل الأحرف j,i,h,g,f,e,d,c,b,a على العلاقة بين الأصناف والطرز المدروسة، حيث يشير الحرف المشترك بين صنفين في العمود الواحد على أن الاختلاف بينهما غير معنوي. لون الورقة: 1-أخضر فاتح، 2-أخضر غامق، 3-رمادي، دليل الشكل: 1-متطاولة، 2-اهليلجية متطاولة، 3-اهليلجي.

3-2- الصفات الزهرية:

تميزت كافة الأصناف والطرز المدروسة بأزهار بيضاء أو زهرية اللون وكان توضع البراعم الزهرية إما مفرداً أو في باقات زهرية على دوابر كما هو موضح في الجدول (26).

الجدول(26): صفات الأزهار وطبيعة الحمل في أصناف وطرز الدراسة

اسم الصنف	طبيعة الحمل	لون الزهرة
فيرادويل	مفرد على دوابر	زهر فاتح
جادرما	باقات زهرية على دوابر	أبيض مع تلون زهري في القاعدة
قسطنطين	مفرد على دوابر	أبيض
فلوتس	باقات زهرية على دوابر	أبيض ناصع
فورنا	باقات زهرية على دوابر	أبيض
ديسمايوروخو	باقات زهرية على دوابر	أبيض مشوب بلون زهري فاتح
ضفادعي	مفرد على دوابر	أبيض ناصع
شامي فرك	باقات على دوابر	زهر فاتح
حماة 34	باقات على دوابر	زهر فاتح
حماة 47	باقات على دوابر	زهر فاتح
بابنس	باقات على دوابر	زهر فاتح
عوجة	باقات زهرية على دوابر	زهر فاتح
شرقي 1	مفردة على دوابر	أبيض
شرقي 2	مفردة على دوابر	أبيض
كورشنسكي	الطرود الباقية والباقات الزهرية	أبيض مع تلون زهري في القاعدة

4-2- مواعيد الإزهار والنضج:

أ- مواعيد الإزهار:

تعد مدة الإزهار صفة هامة جداً في اللوز لأن شجرة اللوز من أكثر الأشجار تبكيراً في إزهارها في نهاية الشتاء وأوائل الربيع وهذا عادة ما يؤدي إلى تضررها بالصقيع كما يؤثر الجو البارد والغائم على عملية التلقيح والإخصاب (Vergas and Romero, 2001b) يعد الإزهار المتأخر هو الهدف في معظم دراسات برامج التربية للوز وهو صفة مميزة للصنف ولها علاقة كبيرة بالإنتاج إذ تحدد إمكانية تفادي خطر الإصابة بالصقيع الربيعي مما يؤدي إلى زيادة الانتاج في وحدة المساحة (Socias i Company *et al.*, 1999).

يبين الجدول (27) الأطوار الفينولوجية لإزهار اللوز إذ يلاحظ أن أبكر الأصناف من حيث بدء الإزهار هو الصنف قسطنطين (10 شباط) يليه الصنف حماة 34 (12 شباط) أما أكثر الأصناف تأخراً فهو الصنف فيرادويل (15 آذار) يليه الصنف فورنا (12 آذار). وقد بلغ الفارق الزمني بين أبكر الأصناف وأكثرها تأخراً بالإزهار 50/ يوم وبلغت أطول فترة إزهار 24/ يوم للصنفين صفادعي وقسطنطين، حيث يتأثر طول هذه الفترة بعوامل عديدة مثل الصنف، الأصل، الموقع والارتفاع ودرجات الحرارة، والرطوبة في فصلي الربيع والشتاء.

الجدول(27): مواعيد الإزهار ومدة الإزهار في الأصناف والطرز المدروسة

الصنف/ الطراز	الإزهار			مدة/ يوم
	بداية	أوج	نهاية	
قسطنطين	2/10	2/25	3/5	24
حماة 34	2/12	2/24	3/1	18
حماة 47	2/13	2/26	3/7	23
صفادعي	2/14	2/21	3/9	24
شامي فرك	2/22	3/1	3/11	18
عوجا	2/24	3/5	3/15	20
ديسمايوروخو	2/27	3/7	3/17	18
بابنس	2/28	3/5	3/13	19
جادرما	3/2	3/11	3/15	14
فلوتس	3/11	3/20	3/25	15
فورنا	3/12	3/21	3/25	14
فيرادويل	3/15	3/25	3/31	17
شرقي 1	2/28	3/5	3/13	14
شرقي 2	2/26	3/6	3/16	18
كورشنسكي	3/1	3/10	3/14	14

ب- مواعيد النضج:

بينت النتائج (الجدول، 28) وجود اختلاف كبير بين الأصناف في بدء نضج الثمار وفي فترة النضج، فالصنف حماة 47 هو أبكر الأصناف بالنضج (28/ تموز) يليه الصنف حماة 34 (3/ آب)، أما الصنف جادرما فكان أكثر الأصناف تأخراً في النضج (3/ أيلول) وبفارق زمني 38 يوماً أما الأصناف صفادعي وفلوتس وفورنا فهي من الأصناف المتوسطة في

موعد النضج في منتصف شهر آب، إن هذا الفارق الزمني الطويل يعد من العوامل الإنتاجية والتسويقية الهامة.

كما أن فترة نمو الثمرة أو ما يسمى عمر الثمرة (عدد الأيام من الإزهار الأعظمي وحتى النضج) بقيت ثابتة أو شبه ثابتة تقريباً لكل صنف خلال سنتي الدراسة، على الرغم من أن مواعيد الإزهار والنضج تتغير سنوياً بالاعتماد على الظروف البيئية وخاصة الحرارة ، إلا أن هذه الصفة تعتمد بشكل رئيسي على خصائص الصنف الوراثية (Sanchez-Perez *et al.*, 2007) لذا كان الفارق الرئيس بين تلك الأصناف هو طول فترة نمو الثمرة. في الدراسة الحالية تراوحت فترة نمو الثمرة من 184 عند الصنف قسطنطين إلى 142 يوم عند الصنف صفادعي (الجدول،28).

الجدول(28): مواعيد بدء نضج أصناف وطرز اللوز ومتوسط عمر الثمرة خلال سنتي الدراسة

الصنف / الطراز	تاريخ أوج الازهار	تاريخ بدء النضج	(عمرالثمرة)/يوم
حماة 47	2/26	7/28	153
حماة 34	2/24	8/3	161
عوجة	3/12	8/6	148
صفادعي	3/27	8/15	142
فلوتس	3/20	8/17	151
فورنا	3/21	8/19	152
شامي فرك	3/1	8/21	174
فيرادويل	3/25	8/25	154
ديسمايوروخو	3/7	8/28	175
قسطنطين	2/25	8/28	184
بابنس	3/5	8/28	155
جادرما	3/11	9/3	177
شرقي 1	3/5	7/27	123
شرقي 2	3/6	8/1	129
كورشنسكي	3/10	8/25	157

2-5- النتائج الخاصة بالثمار والنوى والبذور:

في مجموعة الأصناف المدروسة كانت معظم نوى الثمار قلبية إلى دائرية الشكل (46.66%) أما علامات القشرة الخارجية كانت على شكل نقاط تختلف كثافتها بين المتوسطة إلى المرتفعة، قشرة النواة غير متفتحة في معظم الأصناف والطرز المدروسة ما عدا الصنفين شامي فرك وفورنا، كانت الفروق معنوية بين الأصناف والطرز المدروسة وبين سنتي الدراسة في صفتي متوسط طول وعرض النواة حيث كانت السنة الاولى أعلى من الثانية، أعلى متوسط لطول النواة كان في الصنف عوجا وأقلها في الطراز شرقي 1، أما الصنف جادما سجل أكبر عرض للنواة (3.46) (الجدول، 29). توافقت النتائج مع دراسات سابقة للباحثين Akbar و Houshang في عام 2013 حيث كانت هناك فروق معنوية في متوسط طول النواة تراوحت بين 4.88 الى 8.62 ولكنها لم تكن معنوية بالنسبة لعرض النواة إلا أنها كانت معنوية في دراستنا الحالية، أما في دراسات Esfahlan ورفاقه على الأصناف الايرانية في عام 2012 كانت معظم الاصناف ذات ثمار من بيضية الى متطاولة وتراوحت كثافة لون القشرة من متوسطة إلى غامقة ومن متوسطة التتقر الى كثيفة.

الجدول (29): مواصفات النوى متوسط طول وعرض النواة ودليل شكلها وحجمها، ومواصفات القشرة

الصف / الطرز	النواة						القشرة	
	طول/سم	عرض/سم	دليل الشكل	حجم	كثافة لون	العلامات	التفتح	
فيرادويل	4.02 ^f	2.82 ^{cd}	4	وسط	فاتح جدا	كثير التتقيط	غير متفتحة	
جارما	4.49 ^c	3.46 ^a	5	كبير	فاتح	متوسط التتقيط	غير متفتحة	
قسطنطين	4.28 ^e	2.41 ^{gh}	3	صغير	غامق	متوسط التتقيط	غير متفتحة	
فلوتس	3.76 ^g	2.86 ^{cd}	5	كبير	متوسط	كثير التتقيط	غير متفتحة	
فورنا	3.80 ^g	2.77 ^d	5	كبير	متوسط	متوسط التتقيط	متفتحة	
ديسماوروخو	3.77 ^g	3.36 ^b	5	وسط	متوسط	كثير التتقيط	غير متفتحة	
ضفادعي	5.77 ^b	2.67 ^e	2	كبير	متوسط	كثير التتقيط	غير متفتحة	
شامي فرك	3.01 ^j	2.23 ^h	5	صغير	غامق	متوسط التتقيط	متفتحة	
حماة 34	4.37 ^d	2.50 ^{fg}	3	متوسط	فاتح	كثير التتقيط	غير متفتحة	
حماة 47	4.51 ^c	2.88 ^c	4	كبير	متوسط	كثير التتقيط	غير متفتحة	
بابنس	3.12 ⁱ	2.41 ^{gh}	5	متوسط	متوسط	كثير التتقيط	غير متفتحة	
عوجة	6.56 ^a	2.55 ^f	1	كبير	فاتح	قليل التتقيط	غير متفتحة	
شرقي 1	1.72 ^l	1.06 ⁱ	3	صغير	متوسطة	خطوط	غير متفتحة	
شرقي 2	1.80 ^k	1.04 ⁱ	3	صغير	غامق	خطوط	غير متفتحة	
كورشنسكي	3.19 ^h	2.43 ^g	5	متوسط	غامق	كثير التتقيط	غير متفتحة	
LSD 5%	0.062	0.095						
CV%	1.4	3.3						

تدل الأحرف a, b, c, d, e, f, g, h, i, j على العلاقة بين الأصناف والطرز المدروسة، حيث يشير الحرف المشترك بين صنفين في العمود الواحد على أن الاختلاف بينهما غير معنوي. دليل الشكل: 1-متطاوله مستدقة، 2- مستطيلة الشكل، 3- اهليلجية، 4- اهليلجية عريضة، 5- قلبية إلى دائرية.

2-6- وزن النوى، نسبة التصافي ودرجة قساوتها:

كانت هناك فروق معنوية واضحة في وزن النواة بين الأصناف والطرز المدروسة (الجدول، 30) ووفقاً لموصف اللوز يعد الصنفان شامي فرك وقسطنطين من الأصناف ذات الثمار الخفيفة بينما الأصناف حماة 47، فلوتس، ضفادعي وجادرمات تتبع لمجموعة الأصناف ذات الثمار الثقيلة بينما باقي الأصناف فهي ذات ثمار متوسطة الوزن، إذ بلغ أعلى متوسط لوزن النواة ووزن البذرة عند الصنف جادرمات (8.22، 1.93) وبفارق معنوي عن باقي الأصناف والطرز المدروسة أما أقل القيم كانت عند طراز اللوز الشرقي (0.60، 0.32)، و كان أقل وزن للنواة بين الأصناف المزروعة عند الصنف شامي فرك (1.72).

تتأثر صفة قساوة القشرة بنسب المواد الكيميائية الموجودة فيها، ومورفولوجيا القشرة، ومحتواها من الألياف ومدى التصاق طبقاتها (Ledbetter, 2008)، تباينت الأصناف في قساوتها من أصناف ذات قشرة هشة وتتميز بنسبة تصافي مرتفعة مثل الصنف شامي فرك (60.75%)، إلى أصناف ذات القشرة القاسية مثل حماة وهي ذات نسبة تصافي منخفضة (17.17%)، بينما تراوحت هذه النسبة بين 22.73% و 41.24% عند دراسة طرز وأصناف من اللوز المدخلة في المجمع الوراثي لأصناف اللوز في حمص (الفوزو، 2010). كانت الفروق معنوية بين الأصناف والطرز المدروسة في تلك الصفة (الجدول، 30) حيث تراوح وزن النوى في الدراسة الحالية من 0.60 إلى 8.22 ووزن البذرة من 0.32 إلى 1.93 وتقاربت النتائج مع نتائج دراسات Esfahlan ورفاقه على الأصناف الإيرانية عام 2012 إذ تراوح ووزن الثمرة من 3.23 الى 8.34 ووزن البذور من 0.89 إلى 1.39.

الجدول(30): متوسط وزن النواة ومتوسط وزن البذرة ونسبة التصافي في أصناف وطرز الدراسة

الصنف/ الطراز	متوسط وزن النواة /غ	متوسط وزن البذرة /غ	نسبة التصافي%	درجة القساوة
شرقي 1	0.60 ^j	0.32 ^h	53.57 ^c	4
شرقي 2	0.64 ^j	0.36 ^h	56.29 ^b	4
كورشنسكي	1.65 ⁱ	0.8 ^g	48.52 ^d	3
شامي فرك	1.72 ⁱ	1.04 ^f	60.57 ^a	5
قسطنطين	2.61 ^h	1.06 ^{ef}	40.88 ^e	3
بابنس	3.75 ^g	1.04 ^f	27.81 ^f	2
عوجة	4.08 ^f	1.15 ^{de}	28.11 ^f	2
حماة 34	4.31 ^e	0.74 ^g	17.17 ^h	1
فورنا	4.43 ^e	1.79 ^b	40.52 ^e	3
ديسمايوروخو	4.66 ^d	1.21 ^d	26.02 ^f	2
فيرادويل	4.67 ^d	1.22 ^d	26.22 ^f	2
حماة 47	5.22 ^c	1.15 ^{de}	22.02 ^g	1
فلوتس	5.30 ^c	1.47 ^c	27.78 ^f	2
ضفادعي	6.93 ^b	1.49 ^c	21.57 ^g	1
جادرما	8.22 ^a	1.93 ^a	23.48 ^g	1
LSD 5%	0.163	0.098	2.44	
CV%	3.6	7.6	6.1	

تدل الأحرف j,i,h,g,f,e,d,c,b,a على العلاقة بين الأصناف والطرز المدروسة، حيث يشير الحرف المشترك بين صنفين في العامود الواحد على أن الاختلاف بينهما غير معنوي. درجة القساوة: 1 صلبة جداً، 2 صلبة، 3 نصف هشة، 4 هشة، 5 هشة جداً.

7-2- دراسة البذور:

تباينت الأصناف والطرز المدروسة في متوسطات طول البذرة وعرضها، وفي مواصفاتها كانت أطول البذور في الصنف عوجة (3.74) وبفرق معنوي واضح عن باقي الأصناف والطرز المدروسة أما عرضها كانت عند الصنف جادرما (1.81)، تراوحت كثافة اللون البني للبذور بين الغامق والمتوسط وكانت زغبية البذور بين القليلة إلى المرتفعة. ووفقاً لموصف اللوز تراوح شكل البذور بين الضيقة (نسبة عرض/ طول >0.39 سم) بينما الأصناف ذات البذور متوسطة العرض (0.39-0.59) أما البذور العريضة (<0.59) وهي صفة مميزة للصنف.

تعد صفة طعم البذور هي صفة حسية تختلف حسب الصنف أو الطراز المدروس ويمكن أن تصنف الأصناف من حلوة ومتوسطة الحلاوة إلى مرة. يؤدي طحن بذور اللوز المر

إلى حلمة الأميغدالين حيث تتحول أنزيمياً إلى البينز ألدهيد والسيانيد وهي مركبات سامة وبكلمة أخرى تعد صفة المرارة خلل كيميائي ينتج في اللوز البري كنوع من التأقلم البيئي مع الظروف المحيطة (Vergas *et al.*, 2001a) ويبين الجدول (31) أن جميع الأصناف المدروسة كانت ذات بذور حلوة الطعم والتي ينخفض فيها المحتوى من غليكوزيد الاميغدالين بينما تميزت بذور الطرز البرية المدروسة بالطعم المر.

الجدول(31): متوسط طول وعرض البذرة ودليل الشكل وبعض مواصفات الشكلية للبذرة في أصناف وطرز الدراسة.

اسم الصنف	البذرة					
	م. الطول	م. العرض	دليل الشكل	كثافة لون	التجاعيد	زغبية
فيرادويل	2.05 ^h	1.66 ^c	3	غامق	متوسطة	متوسطة
جادرما	2.66 ^d	1.81 ^a	3	متوسطة	متوسطة	متوسطة
قسطنطين	2.31 ^{fg}	1.15 ^j	2	غامق	قليلة	متوسطة
فلوتس	2.56 ^{de}	1.56 ^d	3	غامق	قليلة	متوسطة
فورنا	2.96 ^c	1.76 ^b	2	غامق	متوسطة	قليلة
ديسمايوروخو	2.15 ^{gh}	1.31 ^h	3	غامق جدا	قليلة	قليلة
ضفادعي	3.22 ^b	1.46 ^e	2	غامق	قليلة	عالية
شامي فرك	1.82 ⁱ	1.36 ^g	3	غامق	متوسطة	متوسطة
حماة 34	2.57 ^{de}	1.16 ^j	2	غامق	قليلة	متوسطة
حماة 47	2.32 ^{fg}	1.40 ^f	3	متوسط	قليلة	متوسطة
بابنس	2.13 ^{gh}	1.15 ^j	2	متوسط	قليلة	قليل
عوجة	3.74 ^a	1.46 ^e	1	غامق	كثيرة	عالية
شرقي 1	1.37 ^j	0.48 ^l	1	غامق	قليلة	عالية
شرقي 2	1.38 ^j	0.50 ^k	1	غامق	قليلة	عالية
كورشنسكي	2.40 ^{ef}	1.30 ⁱ	2	وسط	متوسط	متوسطة
LSD 5%	0.230	0.008				
CV%	8.4	0.5				

تدل الأحرف j,i,h,g,f,e,d,c,b,a على العلاقة بين الأصناف والطرز المدروسة، حيث يشير الحرف المشترك بين صنفين في العمود الواحد على أن الاختلاف بينهما غير معنوي. دليل الشكل: 1- ضيقة، 2- متوسطة، 3- عريضة.

2-8- الإنتاجية:

يعد وزن الثمرة والبذرة من الصفات الكمية الوراثية الهامة بما أنها المحدد الأساسي للإنتاجية. نتيجة الدراسة تبين وجود تباين كبير في الإنتاجية بين الأصناف المدروسة حيث تفاوتت الإنتاجية من 3.02 إلى 21.50 كغ/ شجرة وكانت الفروق معنوية بين الأصناف المدروسة على مستوى 5% حيث تفوق الصنف فيرادويل معنوياً على باقي الأصناف بمتوسط إنتاجية بلغ 597.31 كغ/ دونم، بينما كان الصنف عوجة وفلوتس هي الأصناف الأقل إنتاجية (83.9، 85.9 كغ/ دونم) وبفارق معنوي عن باقي أصناف الدراسة (الجدول، 32). إن الاختلافات الملحوظة تؤكد التحكم الوراثي الكمي بصفة الإنتاجية وقد أكد هذا سابقاً (Dirlewanger *et al.*, 2004). وبمقارنة النتائج كان الصنف فورنا هو الأفضل من حيث الإنتاجية بين الأصناف متوسطة النضج بينما كان الصنف فيرادويل هو الصنف الأكثر تفوقاً بين الأصناف متأخرة النضج إضافة لوزن ثماره الجيد (4.67 غ).

الجدول(32): متوسط إنتاج الشجرة من الثمار الجافة (كغ/ شجرة) ومتوسط إنتاج كل صنف في وحدة المساحة كغ/دونم خلال سنتي الدراسة.

اسم الصنف	الإنتاج كغ/ الشجرة	الإنتاج كغ/دونم	الإنتاجية
عوجة	3.02	83.9 ^k	1
فلوتس	3.09	85.9 ^j	
شامي فرك	4.40	122.3 ⁱ	2
جادرما	6.54	181.7 ^h	3
ضفادعي	7.64	212.2 ^g	
بابنس	8.03	223.1 ^f	
حماة 34	9.60	266.8 ^e	
قسطنطين	10.11	280.8 ^d	4
حماة 47	10.87	301.9 ^c	
فورنا	10.90	302.7 ^c	
ديسمايوروخو	15.34	426.2 ^b	
فيرادويل	21.50	597.31 ^a	5
LSD.05		1.126	
CV%		0.4	

تدل الأحرف j,i,h,g,f,e,d,c,b,a على العلاقة بين الأصناف والطرز المدروسة، حيث يشير الحرف المشترك بين صنفين في العمود الواحد على أن الاختلاف بينهما غير معنوي. الإنتاجية: 1- ضعيف جداً، 2- ضعيف، 3- متوسط، 4- جيد، 5- جيد جداً.

9-2- ازدواجية البذور:

يبين الجدول (33) نسبة البذور المزدوجة في الأصناف المدروسة، كانت نسبة الازدواجية معدومة عند الأصناف فيرادويل وفلوتس وفورنا وطرار شرقي 2 وأعلى نسبة هي عند الصنف شامي فرك.

الجدول(33): النسبة المئوية لازدواجية البذور في أصناف وطرز اللوز المدروسة

التسلسل	اسم الصنف	ازدواجية البذور %	درجة الازدواجية
1	فيرادويل	0	1
2	فلوتس	0	
3	فورنا	0	
4	شرقي 2	0	
5	عوجة	10	3
6	جادرما	10	
7	كورشنسكي	10	
8	بابنس	11	4
9	ضفادعي	15	
10	شرقي 1	17	
11	حماة 47	18	
12	حماة 34	19	
13	قسطنطين	25	5
14	ديسمايوروخو	35	
15	شامي فرك	75	7

10-2- الارتباط بين الصفات الشكلية في اللوز :

إن الارتباط القوي بين الصفات يكون له دور في انتخاب الصفات المرغوبة والتي يمكن أن يرافقها وجود صفات أخرى مرتبطة بها سلباً أو إيجاباً (Dicenta and Garcia, 1992). في هذه الدراسة كان الارتباط ملحوظاً بين معظم الصفات المدروسة. إن وجود ارتباط إيجابي قوي بين طول الورقة وعرض الورقة ($r=0.73$) ومع المساحة الورقية (0.90، 0.91) على التوالي وأيضاً الصفات المرتبطة بالنمو مثل محيط الساق مع المساحة الورقية (0.96) يشير إلى

أن كلما ازداد اتساع الورقة نحصل على نمو خضري أقوى، توافقت هذه النتيجة مع ما وجدته Banizi ورفاقه عام (2014) من ارتباط معنوي بين طول الورقة وعرضها (0.57) وبين عرض الورقة والمساحة الورقية (0.93) وهذا أيضاً توافق مع نتائج (Talhouk *et al.*, 2000 ; Sorkheh *et al.*, 2010) (الجدول، 34).

هذا الارتباط يعد ملائماً كعلاقة مناسبة لتحسين الأصول القوية والملائمة للظروف الجافة حيث أنه لا بد من النمو السريع والقوي في بداية دورة الحياة مما يساعد على الحفاظ على قوة نمو النسل وأيضاً للوصول الى الحجم المناسب للتطعيم بالسرعة الممكنة في المشاتل. كما ارتبطت أيضاً تلك الصفات ارتباطاً إيجابياً قوياً مع طول النواة وعرضها ووزن النواة ووزن البذرة.

كما وجد ارتباط قوي بين طول النواة مع عرضها وطول البذرة وعرض البذرة ووزن النواة وكذلك كان الارتباط قوياً بين عرض النواة وعرض البذرة ووزن النواة ووزن البذرة وهذا توافق مع ما وجدته Banizi ورفاقه عام 2014 في الارتباط بين حجم النواة مع وزن الثمرة (0.65) ومع عرض البذرة (0.55) وطول البذرة (0.66).

كما كان الارتباط إيجابياً وقوياً بين وزن البذرة ووزن النواة (0.82) على مستوى 1% في الجدول (34). وكان ذلك موافق لدراسات سابقة في أشجار اللوزيات (Sorkheh *et al.*, 2010; Ledbetter, 2008; Tavassolian, 2008; Hardner *et al.*, 2001; Talhouk *et al.*, 2000; Rink *et al.*, 1997; Thompson and Baker, 1993; Kester *et al.*, 1977). كما وجد أعلى ارتباط معنوي سلبي بين نسبة التصافي ووزن النواة (-0.82) وهي متوافقة مع ما وجدته Sanchez-Perez ورفاقه عام 2007 (-0.84) في توصيف أصناف اللوز الأوروبية، وهذا يعد نتيجة منطقية لأنه عند زيادة مادة النواة والقشرة تزداد معها صلابة القشرة وتكون أصعب في التكسير.

يلاحظ من النتائج وجود ارتباط إيجابي بين متغيرات البذرة والنواة وهو بذلك على توافق مع ما وجدته (Tavassolian, 2008 ; Thakur *et al.*, 2005; Banizi *et al.*, 2014) (Rasouli *et al.*, 2013) لذلك فإن هذه المعايير تستخدم للتنبؤ بكل منها عن الأخرى.

الجدول(34): قيم معامل الارتباط بين الصفات الكمية لأصناف اللوز المدروسة

	طول النواة	عرض النواة	طول البذرة	عرض البذرة	وزن النواة	وزن البذرة	نسبة التصافي	محيط الساق	طول الورقة	عرض الورقة	مساحة الورقية
ل النواة	1										
ع النواة	.63**	1									
ل البذرة	.82**	.50**	1								
ع البذرة	.55**	.76**	.63**	1							
و النواة	.58**	.65**	.59**	.75**	1						
و البذرة	.47**	.66**	.59**	.89**	.82**	1					
التصافي	-.63**	-.62**	-.53**	-.51**	-.82**	-.46**	1				
م الساق	.28*	-.39**	.11	-.20	.08	-.34**	-.18	1			
ل الورقة	.67**	.75**	.69**	.82**	.77**	.83**	-.67**	-.36**	1		
ع الورقة	.48**	.55**	.48**	.74**	.63**	.69**	-.43**	.43**	.73**	1	
م ورقية	.56**	.59**	.57**	.79**	.79**	.82**	-.57**	.09	.90**	.91**	1

حيث * الارتباط معنوي عند مستوى دلالة 5% ، ** الارتباط معنوي عند مستوى دلالة 1%

11-2- التحليل العنقودي و تحديد درجة التشابه في المواصفات المورفولوجية للوز:

تم استخدام مجموعة المواصفات الشكلية، والإنتاجية الرئيسة للأصناف المدروسة بهدف تحديد القرابة فيما بين هذه الأصناف وذلك من خلال تحويل الصفات النوعية إلى كمية حيث تم تشكيل مصفوفة أعطي فيها لتوفر الصفة الرمز (1) ولغيابها (0) وعلى أساسها تم حساب معامل الارتباط حسب Dice (1945) باستخدام برنامج PAST (الجدول، 35) أظهرت النتائج أن أعلى درجة تشابه كانت بين الطرازين شرقي 1 وشرقي 2 (0.86) وبين الأصناف كانت عند الصنفين: "ضفادعي" و"حماة 34" (0.68) وهما صنفان يشتركان بالعديد من الصفات الشكلية فهما من الأصناف المبكرة بالإزهار ومتوسطة موعد النضج ذات تاج قائم جداً والأوراق الاهليلجية المتطاولة كل منهما له بذرة وثمره طويلة ونسبة الازدواجية في البذور هي 10%، وأقل درجة تشابه شكلي كانت بين الصنف: "جادرما" و الطراز "شرقي 2" (0.07) وبمتوسط تشابه شكلي بين جميع الأصناف والطرز قدره 0.37 (الجدول، 35)، توافق ذلك مع متوسط التشابه الشكلي عند Chalak ورفاقها عام 2007 (0.37) على أصناف اللوز في لبنان. وكان

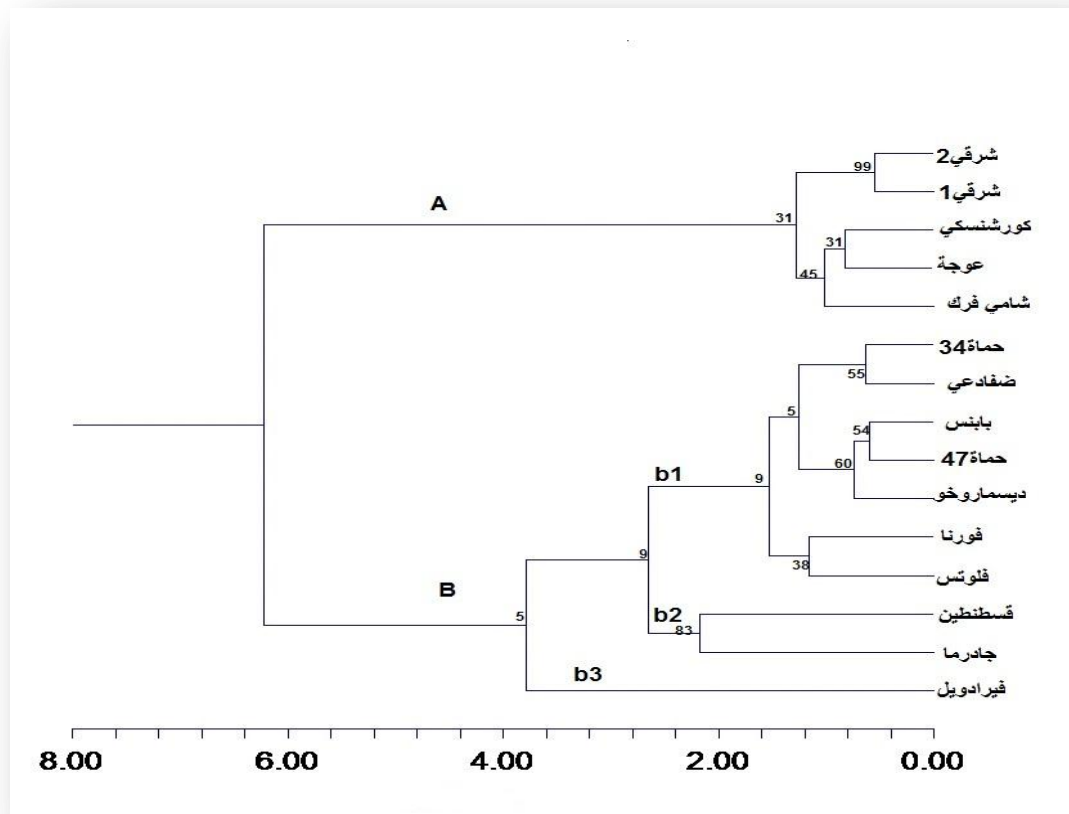
أقل من متوسط التشابه الشكلي (0.59) عند Kadkhodaei ورفاقه (2010) مما يدل على الفروقات الشكلية الواسعة بين الأصناف المدروسة، وهذا يعود بشكل رئيسي للاختلافات الوراثية إذ أن بعض الاصناف تتبع نفس المنطقة البيئية ولكنها أعطت مواصفات ثمرية مختلفة مثل حماة 34 وحماة 47 وذلك غالباً لأن الأصناف المحلية في سورية تم اكثارها بواسطة البذور لزمن طويل وهذا ما أكدته أيضاً دراسات (Chalak et al., 2007) في لبنان ودراسات Lansari ورفاقه (1994) على أصناف وسلالات اللوز المغربي إذ كان هناك تنوع وراثي كبير بين الاصناف المغربية ناتجة عن التوزع الجغرافي الواسع والظروف البيئية المختلفة وانتشار الاكثار البذري الواسع.

الجدول(35): درجات التشابه الشكلي بين أصناف وطرز اللوز المدروسة

	قبرادويل	جادرما	قسطنطين	فلوتس	فورنا	دسماروخو	ضفادعي	شامي فرك	حماة 34	حماة 47	بابنس	عوجا	شرقي 1	شرقي 2	كورشنسكي
قبرادويل	1														
جادرما	0.500	1													
قسطنطين	0.426	0.361	1												
فلوتس	0.567	0.467	0.361	1											
فورنا	0.441	0.475	0.333	0.508	1										
دسماروخو	0.533	0.333	0.393	0.533	0.441	1									
ضفادعي	0.433	0.433	0.492	0.600	0.407	0.300	1								
شامي فرك	0.233	0.333	0.426	0.333	0.271	0.333	0.233	1							
حماة 34	0.500	0.333	0.492	0.400	0.407	0.467	0.667	0.333	1						
حماة 47	0.500	0.467	0.393	0.467	0.441	0.600	0.500	0.267	0.567	1					
بابنس	0.500	0.433	0.361	0.467	0.373	0.633	0.433	0.367	0.533	0.6	1				
عوجا	0.400	0.433	0.328	0.333	0.407	0.333	0.367	0.333	0.433	0.367	0.367	1			
شرقي 1	0.102	0.102	0.300	0.203	0.138	0.169	0.271	0.305	0.237	0.203	0.271	0.203	1		
شرقي 2	0.169	0.068	0.300	0.271	0.172	0.169	0.271	0.339	0.271	0.136	0.237	0.237	0.862	1	
كورشنسكي	0.305	0.339	0.333	0.305	0.276	0.407	0.237	0.271	0.339	0.271	0.407	0.136	0.310	0.379	1

أظهر التحليل العنقودي تمايزاً يعود إلى التشابه بالمظهر بين الأصناف والطرز الوراثية حيث حسب شجرة الارتباط اجتمعت أصناف وطرز اللوز ضمن مجموعتين (الشكل، 4): ضمت المجموعة الأولى الطرز البرية والصنفين عوجة وشامي فرك بينما تجمعت باقي الأصناف المزروعة في المجموعة الثانية، تقسم تلك الأخيرة إلى ثلاث مجموعات الأولى ضمت كل الأصناف ما عدا الصنفين قسطنطين وجادرما اللذين جاءا في تحت المجموعة الثانية وجاء الصنف فيرادويل منفرداً تحت المجموعة الثالثة. إن مجموعة اللوز البري وصنفي عوجة وشامي

فرك تميزت بموعد إزهار متوسط وبالمتوسطات الأدنى في صفة وزن النواة بينما كانت متوسطات تحت المجموعة الأولى من المجموعة الثانية (جادرما وقسطنطين) هي الأدنى من متوسط عرض الورقة والأعلى من طول الورقة وعرض البذرة وتتميز بأنها أصناف ذات نضج متأخر أما تحت المجموعة الثانية فاجتمع فيها الصنفين فلوتس وفورنا ولهما موعد إزهار متأخر وموعد نضج متوسط وأعلى متوسطات في عرض النواة ووزن البذرة وتتميز بحجم النواة الكبير ولكن متوسط صفتي طول النواة والقساوة كانا الأعلى في مجموعة حماة 34 وضفادعي وهما لهما موعد إزهار مبكر وموعد نضج متوسط، أما متوسطات تحت المجموعة الثالثة (ديسماروخو، حماة 47 وبابنس) كانت بالوسط بين المجموعتين السابقتين من حيث طول البذرة وعرض البذرة ووزن البذرة وعرض الورقة ومن هنا نجد أن تحت المجموعة الثانية تحمل أعلى متوسطات بالنسبة للصفات الانتاجية لذلك فإن تحت هذه المجموعة تشمل الأصناف الأفضل من حيث الإنتاج (الشكل،4).



الشكل(4): مخطط التحليل العنقودي بين أصناف وطرز اللوز الناتج عن الصفات الشكلية، بحسب طريقة Ward وبالاغتماد على معامل Dice

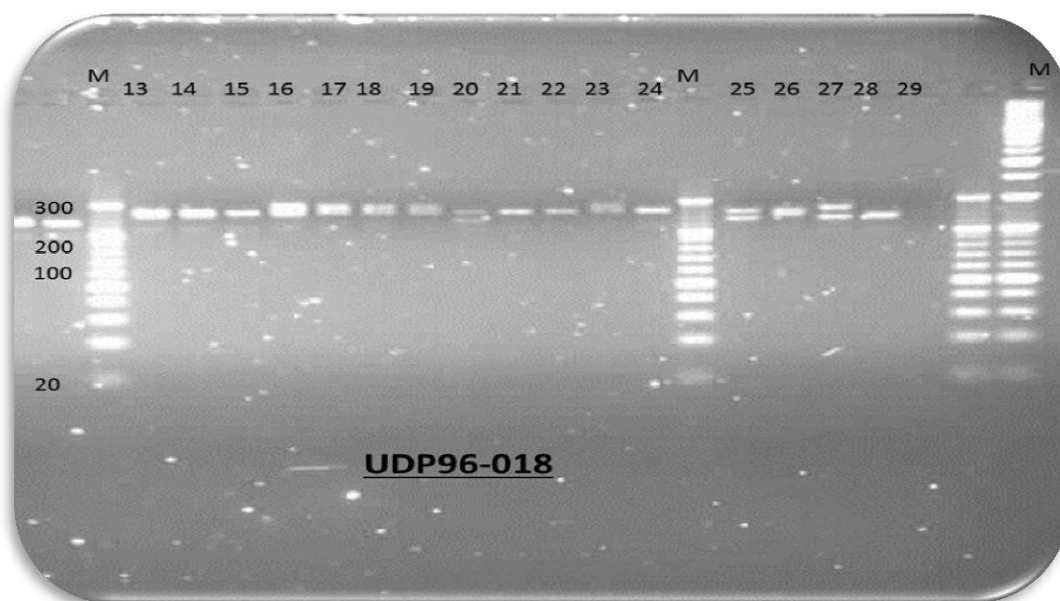
3- الدراسة الجزيئية للأصناف والطرز المدروسة باستخدام تقنية SSR:

3-1- التعددية الشكلية (Polymorphism) بين أصناف الدراق والنكتارين المدروسة باستخدام تقنية الـ SSR :

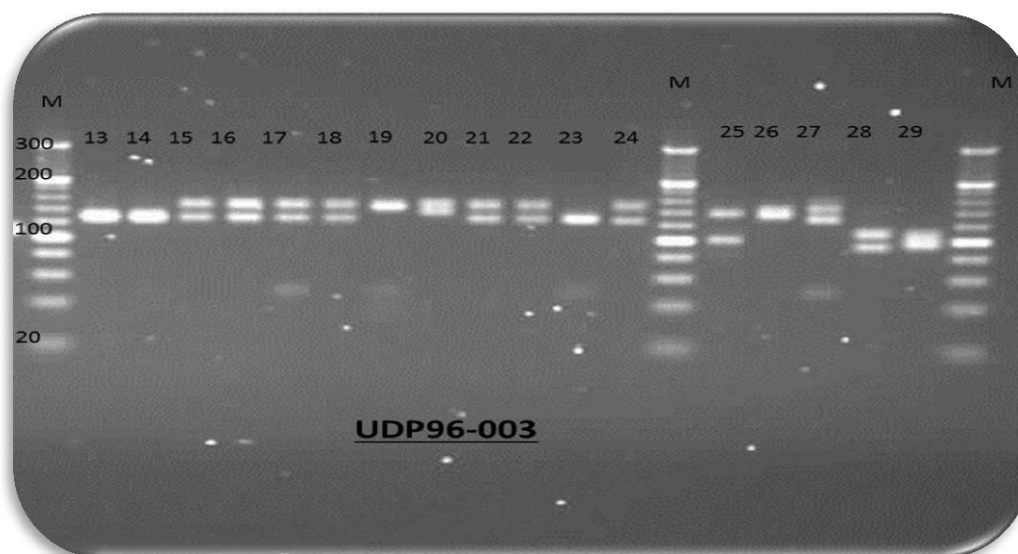
ينتج التعدد الشكلي في تقنية SSR عن الاختلاف في عدد الوحدات التكرارية في موقع التسلسلات التكرارية البسيطة عند استخدام أزواج المرئسات المصممة وفقاً للمنطقة المحيطة بالموقع وبالتالي يتحدد التعدد الشكلي باختلاف أطوال منتجات التضخيم لهذه المناطق باستعمال تقانة تفاعل البلمرة المتسلسل.

أعطت جميع أزواج المرئسات المستخدمة (26 زوج) على أصناف الدراق والنكتارين والأصل GF677 منتجات تضخيم في تفاعل البلمرة المتسلسل.

بلغ عدد القرائن الناتجة من التضخيم ما مجموعه 70 قرين، وتراوح عددها بين المواقع المختلفة من 1-5 قرين بمتوسط 2.69 قرين/ موقع، حيث أعطت المرئستين UDP96-018 و UDP96-003 أعلى تعددية شكلية من حيث عدد القرائن (5 قرائن) (الأشكال، 5، 6) بين الأصناف المدروسة، بينما ثلاثة أزواج من المرئسات وهي Pchgms11، UDP98-412، و UDP98-021 و UDP96-019 أعطت عدد من القرائن (1 قرين) (الجدول، 36، الشكل، 7) ويعمل الاختلاف بعدد القرائن حسب المواقع المدروسة ببنية الوحدات التكرارية لمواقع التتابعات فيكون التباين منخفضاً عندما تكون الوحدات التكرارية في الموقع بسيطة وغالباً قصيرة.



الشكل (5): نماذج الحزم الناتجة عن تضخيم المرئسة UDP96-018 في عينات الدراق المدروسة على هلامة ميتافور أغاروز تركيز 3% حيث الأقسام: 13-24 تشير إلى أصناف الدراق ومن 25-28 الأصول وفق تسلسلها ضمن الدراسة سابقاً، M : المعلم القياسي bp20.



الشكل (6): نماذج الحزم الناتجة عن تضخيم المرئسة UDP96-003 في عينات الدراق حيث الأقسام: 13-24 تشير إلى أصناف الدراق ومن 25-28 الأصول، M : المعلم القياسي bp20.

الجدول(36): عدد القرائن الناتجة عن أزواج المرئسات المستخدمة في تقنية SSR (Na) و تكرارية القرين (Pi) والتعددية الشكلية الناتجة وقيم التغاير المورثي المتوقع (He) والملحوظ (Ho) ومعامل التعددية الشكلية (PIC) أطوال الحزم الناتجة (bp) في أصناف الدراق والنكتارين المدروسة والأصل GF677.

المريسة	عدد القرائن	تكرارية القرين	التعددية الشكلية	التغاير المورثي المتوقع	التغاير المورثي الملحوظ	معامل التعددية الشكلية	أطوال الحزم (bp)
UDP96-001	2	0.92	2	0.13	0.00	0.00	121-100
UDP96-003	4	0.50	5	0.51	0.69	0.56	139-85
UDP96-005	4	0.85	3	0.26	0.23	0.28	221-146
UDP96-008	4	0.62	4	0.45	0.23	0.57	190-153
UDP96-010	3	0.92	2	0.14	0.08	0.15	168-94
UDP96-018	5	0.46	5	0.62	0.54	0.57	300-248
UDP96-019	1	1.00	1	0.00	0.00	0.00	229-210
UDP97-402	3	0.62	4	0.48	0.15	0.65	143-127
UDP98-405	3	0.92	2	0.14	0.08	0.00	135-115
UDP98-406	4	0.88	3	0.21	0.15	0.15	126-88
UDP98-409	2	0.96	2	0.07	0.08	0.00	160-126
UDP98-021	1	1.00	1	0.00	0.00	0.00	252-230
UDP98-411	2	0.96	2	0.07	0.08	0.00	187-158
UDP98-412	1	1.00	1	0.00	0.00	0.00	157-117
Pchgms2	3	0.92	3	0.14	0.15	0.00	180-127
Pchgms4	2	0.96	2	0.07	0.08	0.00	180-122
Pchgms5	2	0.69	2	0.34	0.00	0.00	265-247
Pchgms11	1	1.00	1	0.00	0.00	0.45	232
Pchgms14	2	0.92	2	0.13	0.00	0.00	114-102
Pchgms17	2	0.54	2	0.37	0.00	0.38	234-220
pchgms20	3	0.73	3	0.38	0.38	0.40	415-320
pchgms21F1/R1	2	0.96	2	0.07	0.08	0.00	310-240
pchgms21F1/R2	3	0.92	2	0.14	0.08	0.00	266-242
Pchgms24	4	0.73	3	0.38	0.46	0.28	78-113
CPDCT025	5	0.46	4	0.64	0.46	0.65	237-160
CPPCT030	2	0.96	2	0.07	0.08	0.00	170-143
المتوسط	2.69	0.82	2.5	0.22	0.16	0.20	

كان عدد القرائن الناتجة ضمن الحدود التي وجدت في دراسة Chalak ورفاقها (2006) على عشرين صنف من الدراق باستخدام أربعة مرئسات من مرئسات SSR حيث بلغ عدد القرائن 72 قرين ولكن بمتوسط أعلى من الدراسة الحالية 4.5 قرين/موقع وكانت أعلى مما وجدته Wunsch ورفاقه (2006) عند استخدام عشرة مرئسات من مرئسات SSR ثمانية منها كانت مشتركة مع الدراسة الحالية على خمسة وثمانين طرازاً وراثياً من الدراق (35 قرين) تراوحت من 2 إلى 6 قرين/موقع، وأعلى من عدد القرائن (59 قرين) الناتج من دراسة Rojas ورفاقه (2008) على 117 صنف من الدراق باستخدام تسعة مرئسات من مرئسات SSR تراوحت من 4 إلى 9 قرين/موقع، وكذلك من 46 قرين عند دراسة 16 سلالة من صنف الدراق Miraflores باستخدام عشرين موقعاً تكرارياً وتراوحت من 1 إلى 6 موقع (Bouhadida *et al.*, 2007a)، ويعود سبب الارتفاع في عدد القرائن الناتج في الدراسة الحالية هو استخدام عدد أعلى من مرئسات SSR عن الدراسات السابقة (26 موقع). كما تراوح عدد أنماط التعددية الشكلية من نمط وحيد في المواقع غير المتعددة شكلياً إلى خمسة أنماط عند الموقع UDP96-018 والموقع UDP96-003 بمتوسط قدره 2.5 كان متقارباً مع متوسط الأنماط الشكلية 2.75 الناتج عند Bouhadida ورفاقه (2007a).

إن متوسط عدد القرائن (2.69 قرين/موقع) كانت أعلى من 2.3 قرين/موقع عند سلالات الدراق Miraflores وضمن الحدود الناتجة من دراسات سابقة على الدراق 2.6 قرين/موقع في 28 صنفاً باستخدام ثمانية من المرئسات (Sosinski *et al.*, 2000) و3.2 قرين/موقع عند دراسة 24 صنفاً باستخدام 24 موقع من التكراريات (Aranzana *et al.*, 2002) و3.5 قرين/موقع عند دراسة 85 طراز وراثي للدراق (Wunsch *et al.*, 2006) و4.2 قرين/موقع في 27 صنفاً (Dirlewanger *et al.*, 2002a) و4.5 قرين/موقع في 50 صنفاً باستخدام 26 موقعاً (Testolin *et al.*, 2000) ولكنه منخفضاً عن دراسات سابقة على الدراق والنكتارين مثل 5.10 قرين/موقع (Font i Forcada *et al.*, 2013b) ومن المتوسط 6.36 عند (Aranzana *et al.*, 2010) ومن القيمة 6.6 على 117 صنف من الدراق (Rojas *et al.*, 2008) و6.73 (Bouhadida *et al.*, 2011) و7.3 عند دراسة 212 صنفاً من الدراق باستخدام 16 موقع من التكراريات (Aranzana *et al.*, 2003b) و8.6 قرين

/ موقع (Yoon *et al.*, 2006)، وربما يعود هذا الانخفاض النسبي في متوسط عدد القرائن مقارنة بما سبق من الدراسات هو تماثل منشأ هذه الأصناف بما أن معظمها أصناف إيطالية المنشأ بينما في الدراسات السابقة كانت الطرز المدروسة من مناطق جغرافية مختلفة أو من الصين التي تعد الموطن الأصلي للدراق وبالتالي الطرز والأصناف هناك تعد مصدر تباين وراثي كبير، ويرجح أن يعود الاختلاف في فعالية كل موقع إلى عدد الأصناف المدروسة مما يعكس الفرصة الأكبر لإيجاد عدد أكبر من القرائن كلما ازداد عدد الأنماط المدروسة.

ومن خلال تحليل كل المواقع كان متوسط قيمة التباير المورثي الملحوظ 0.16 وقريبة من القيمة 0.18 (Bouhadida *et al.*, 2007a) أخفض من 0.34 (Rojas *et al.*, 2008) ومن 0.48 (Font i Forcada *et al.*, 2013b) و 0.35 (Aranzana *et al.*, 2010) ومن نتيجة Bouhadida ورفاقه (2011) 0.23. كما أن قيمة متوسط التباير المورثي المتوقع 0.22 أيضاً كانت متقاربة مع ما وجده Bouhadida ورفاقه (2007a) على سلالات الدراق Miraflores (0.29) أقل مما وجده Rojas ورفاقه (2008) هي 0.55. وأقل من 0.5 (Aranzana *et al.*, 2003b) ومن 0.58 (Chalak *et al.*, 2006) وتشير هذه النتائج إلى التنوع المنخفض في المادة المدروسة والذي يعود سببه التماثل العالي في جينوم هذه الأصناف.

كذلك لوحظ أن 12 مرئسة (46.2%) من المرئسات المستخدمة أظهرت تعددية شكلية (polymorphic) ميزت بين الأصناف المدروسة وهي كانت أخفض من النسبة 88% و 68.6% و 70% عند كلاً من (Cipriani *et al.*, 1999) و (Aranaza *et al.*, 2002) و (Bouhadida *et al.*, 2007a) على التوالي. وقد يعزى السبب في ذلك إلى أن الأصناف المدروسة لها نفس المنشأ (أصناف إيطالية المنشأ) وهذا ما قد يؤكد أن يكون لها نفس النسب، أما ما تبقى من المرئسات (53.85%) فلم تظهر أية تعددية شكلية (monomorphic).

ولتحديد أفضل المواقع التكرارية لتوصيف الأصناف المدروسة صنفنا هذه المعلومات وفقاً لعدد أنماط التعددية الشكلية الناتجة حيث أعطى الموقعين UDP96-003 و UDP96-018 أعلى عدد من الأنماط الناتجة (5) وكان عدد القرائن في كلا الموقعين 4 و 5 على التوالي والموقع CPDCT025 بأربعة أنماط وخمسة قرائن، وأقل قيم لهذين المؤشرين هي عند المواقع

UPD96-019 و UPD98-021 و UDP98-412 و Pchgms11 والتي نتج عنها نمط واحد وقرين واحد.

إن عدد الحزم الظاهرة وأوزانها الجزيئية يرتبط بشكل مباشر مع بنية (motif structure) وعدد القواعد الآزوتية عند المرئسات المستخدمة (Huang *et al.*, 2002)، لذلك فإن حساب معامل التعددية الشكلية PIC لكل مرئسة على حده يعد كمعيار يدل على الإمكانية والمقدرة الخاصة للمرئسات المستخدمة على تمييز وإظهار التباينات الوراثية بين الطرز المختلفة وبالتالي كلما اقتربت قيمة PIC من (1) كلما كانت المقدرة على تمييز وإظهار التباينات الوراثية أكبر. وفقاً للجدول (36) نلاحظ أن قيم المعامل كانت من منخفضة إلى متوسطة، حيث تراوحت قيمة PIC من 0 حتى 0.65 وهذا يدل على أن مواقع التكراريات البسيطة باستخدام المرئسات الخاصة بها أظهرت مقدرة منخفضة إلى متوسطة على تمييز الأصناف المدروسة وإظهار التنوع والتباين الوراثي بينها وذلك يعود، كما عللنا سابقاً، أن الأصناف المدروسة لها نفس المنشأ ولها نفس النسب مثلاً أغلب الأصناف تشترك بالأب Stark Redgold وهذا بدوره يزيد من خاصية التماثل المورثي (homozygous) لديها. واعتماداً على قيم المعامل الناتجة من الممكن تمييز المرئسة CPDCT025 و المرئسة UDP97-402 ذات أعلى قيمة للمعامل PIC وهي 0.65 حيث استطاع أن يظهر أربعة أنماط شكلية لوحظت عند الأصناف المدروسة بنسب متفاوتة. هذين الموقعين أعطيا ثمانية قرائن بمتوسط 4 قرين/موقع وبقية 0.56 He، هذه القيم الجديدة تعد أقرب لدراسات Testolin ورفاقه (2000) و Aranzana ورفاقه (2002) و Dirlewanger ورفاقه (2002 a). ومن الجدير بالذكر أن المرئسة CPDCT025 مطور أصلاً من جينوم اللوز (*Amygdalus*) واستطاع أن يظهر تعددية شكلية عالية عند أصناف الدراق المدروسة، وهذا ما يؤكد كما ذكرنا سابقاً قابلية انتقال مواقع تكراريات التسلسلات البسيطة (SSRs) بين الأنواع (Martinez-Gomez *et al.*, 2003a).

اختلفت أعداد القرائن في أصناف الدراق والنكتارين المدروسة وذلك باستخدام أزواج المرئسات الست والعشرين المستخدمة، حيث تراوح عددها بين 32 و 39 قرين وبلغ عددها 47 قرين في الأصل GF677، أعطت أصناف النكتارين ما مجموعه 38 قرين وأصناف الدراق 36 قرين، كما وجدت اختلافات في المؤشرات الجزيئية المدروسة بين الدراق والنكتارين حيث كانت

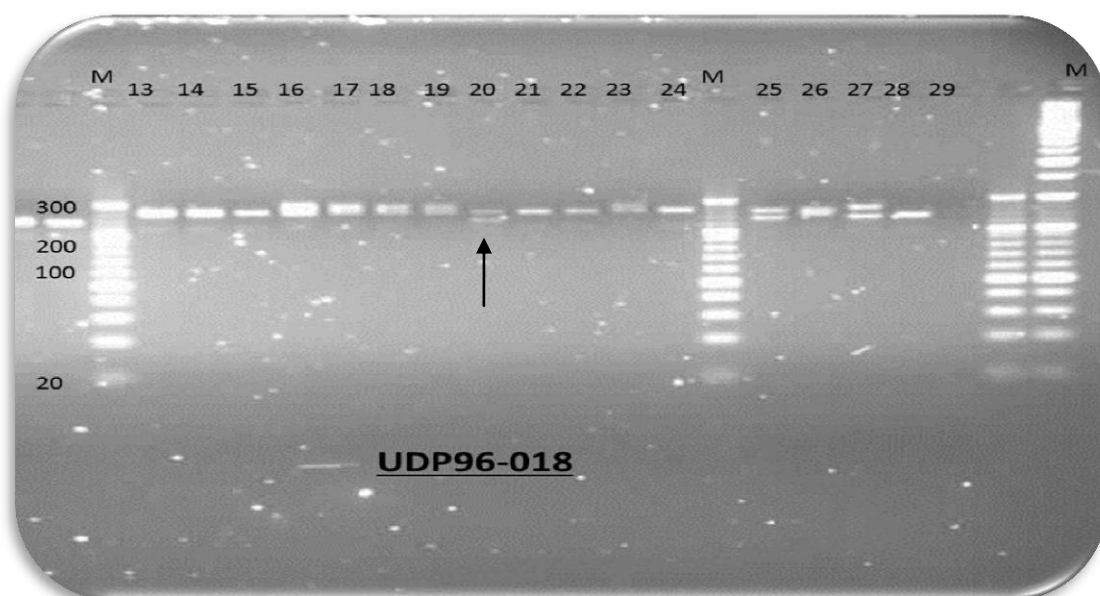
أصناف الدراق أقل في عدد القرائن وقيمة التباير المورثي الملحوظ Ho 0.076 والمتوقع He 0.087 أما في النكتارين كانت القيم 0.16 و 0.13 على التوالي، وهذا قد يدل على أن مستوى التباير في الدراق أقل منه في النكتارين في الدراسة الحالية مع الأخذ بالحسبان استخدام نفس العدد من الأصناف عند المقارنة.

2-3- تمييز أصناف الدراق باستخدام الواسمات الفريدة (unique bands) الناتجة عن استخدام تقنية SSR:

استطاعت بعض معلمات مواقع تكراريات التسلسلات البسيطة من تمييز أربع واسمات فريدة (Unique bands) لصنفين من الأصناف المدروسة وهما ماي كريست (دراق) وفينوس (نكتارين) (الجدول، 37 و الشكل، 8).

الجدول (37): أصناف الدراق والنكتارين وأسماء المرئسات التي حدد عندها حزم فريدة مع أوزانها الجزيئية

اسم الصنف	المرئسة	الوزن الجزيئي (bp)
ماي كريست	UDP96-018	248
ماي كريست	UPD98-406	126
ماي كريست	CPDCT025	237
فينوس	Pchgms20	180

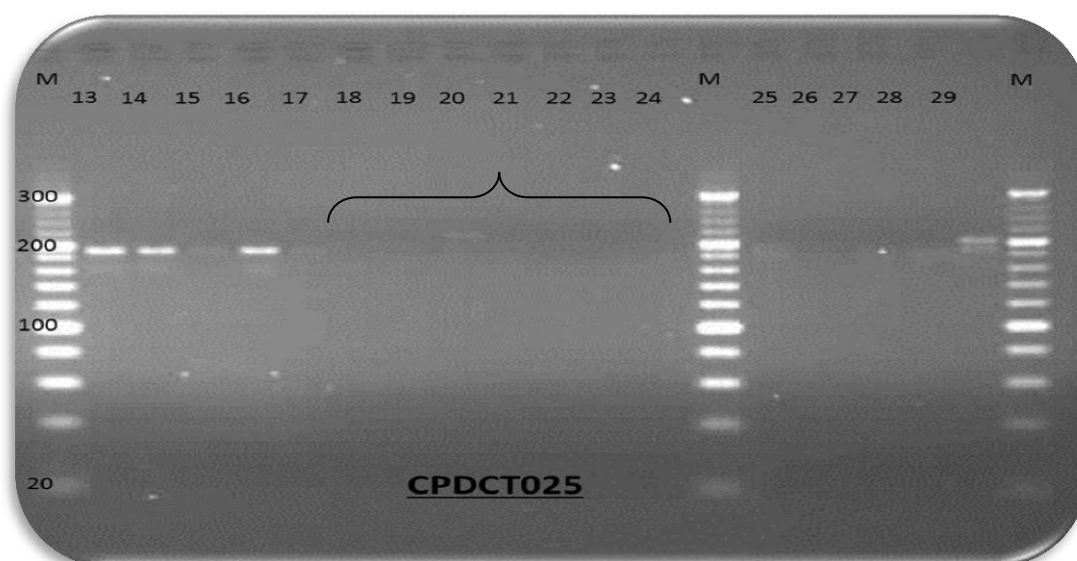


الشكل (8): نموذج الواسمات الفريدة الناتجة عن زوج المرئسات UDP96-018 عند الصنف ماي كريست ، M المعلم القياسي bp20 وتمت الإشارة إلى الواسمات الفريدة بالأسهم.

كذلك لوحظ أن ثلاث من المرئسات المستخدمة لم تظهر أية نواتج تضخيم (null alleles) من صنف إلى ثمانية أصناف حسب المواقع المدروسة (الجدول، 38 والشكل، 9)، وكما كان ملاحظاً أن غالبيتها كانت من أصناف الدراق. وهذا يمكن أن يعلّل باحتمال حدوث طفرة بالتسلسلات النيكليوتيدية في المنطقة المحيطة بمواقع تكراريات التسلسلات البسيطة في مكان تصميم المرئسة وأيضاً احتمالية أن يكون لهذه الأصناف نفس النسب زاد من عدد الأصناف المتشابهة بهذه الظاهرة.

الجدول (38): اسم المرئسة والأصناف التي حدد عنها غياب القرين

المرئسة	الأصناف المحدد عندها null alleles
Pchgms17	فلافور توب، ماي كريست، دوميسيانا، بونتينا، روم ستار، فيلا أدريانا
pchgms20	فيلا أدريانا
CPDCT025	نكتاروز، لاور، دوميسيانا، بونتينا، روم ستار، فيلا أدريانا



الشكل (9): بعض من نماذج القرائن الغائبة عند تضخيم المرئسة CPDCT 025 في عينات الدراق المدروسة. حيث الأرقام من 13-24 تشير إلى أصناف الدراق ومن 25-28 الأصول وفق تسلسلها ضمن الدراسة المذكور سابقاً، M : المعلم القياسي 20bp.

3-3- تحديد درجة التشابه الوراثية (Genetic similarity) بين أصناف الدراق والأصل GF677:

تم تحديد درجة التشابه الوراثية بين الأصناف المدروسة والأصل GF677 بالاعتماد على معامل Dice (الجدول، 39) حيث كانت أعلى درجة تشابه وراثي بين الصنفين وينبرجر وجيويا (1.00) وأقل درجة تشابه وراثي بين الصنف فينوس والأصل GF677 (0.395) بينما كانت أقل درجة تشابه بين الأصناف بين الصنف ماي كريست مع وينبرجر وجيويا (0.676)، أما القيمة المتوسطة لدرجات التشابه فكانت (0.82) وهذا يؤكد وجود تقارب وراثي كبير بين معظم الأصناف المدروسة. تبين وجود انخفاض طفيف في درجات التشابه بين صنف الدراق ماي كريست وسائر الأصناف المدروسة بمتوسط درجة تشابه (0.74) وهي أقل من المتوسط العام ويرجح ذلك كون هذا الصنف هو الصنف الوحيد في الدراسة الناتج عن طفرة برعمية للصنف Spring Crest.

لم يتم التمييز بين الصنفين وينبرجر وجيويا بأي موقع من مواقع التكراريات المدروسة وهذا وافق دراسات Rojas ورفاقه (2008) عند دراسة 117 صنف من الدراق والنكتارين حيث وجد عدة أزواج من الأصناف التي لم تكن قابلة للتمييز وربما يعود السبب في ذلك للتشابه العالي بمواصفاتها الشكلية أو بسبب أنها تختلف بواحد أو القليل من أعداد تكراريات التسلسلات البسيطة (Testolin *et al.*, 2000).

الجدول(39): درجة التشابه الوراثية بين أصناف الدراق المدروسة والأصل GF677 باستخدام تقنية SSR

بالاعتماد على معامل Dice

GF677	فيلادريانا	روم ستار	بونتينيا	دوميسينا نا	ماي كريست	لاور	نكتاروز	كالديسي 2000	فينوس	فلافور توب	جيويا	وينبرجر	
												1	وينبرجر
											1	1	جيويا
										1	0.930	0.930	فلافور
									1	0.907	0.919	0.919	فينوس
								1	0.933	0.861	0.873	0.873	كالديسي
							1	0.899	0.833	0.783	0.794	0.794	نكتاروز
						1	0.954	0.853	0.789	0.735	0.746	0.746	لاور
					1	0.853	0.812	0.750	0.693	0.722	0.676	0.676	مايكريست
				1	0.870	0.923	0.939	0.841	0.778	0.812	0.765	0.765	دوميسيانا
			1	0.985	0.882	0.938	0.923	0.824	0.761	0.794	0.746	0.746	بونتينيا
		1	0.925	0.941	0.873	0.896	0.912	0.817	0.757	0.761	0.743	0.743	روم ستار
	1	0.896	0.938	0.954	0.824	0.875	0.923	0.824	0.761	0.794	0.746	0.746	فلادريانا
1	0.430	0.439	0.456	0.450	0.458	0.481	0.475	0.434	0.395	0.410	0.439	0.439	GF677

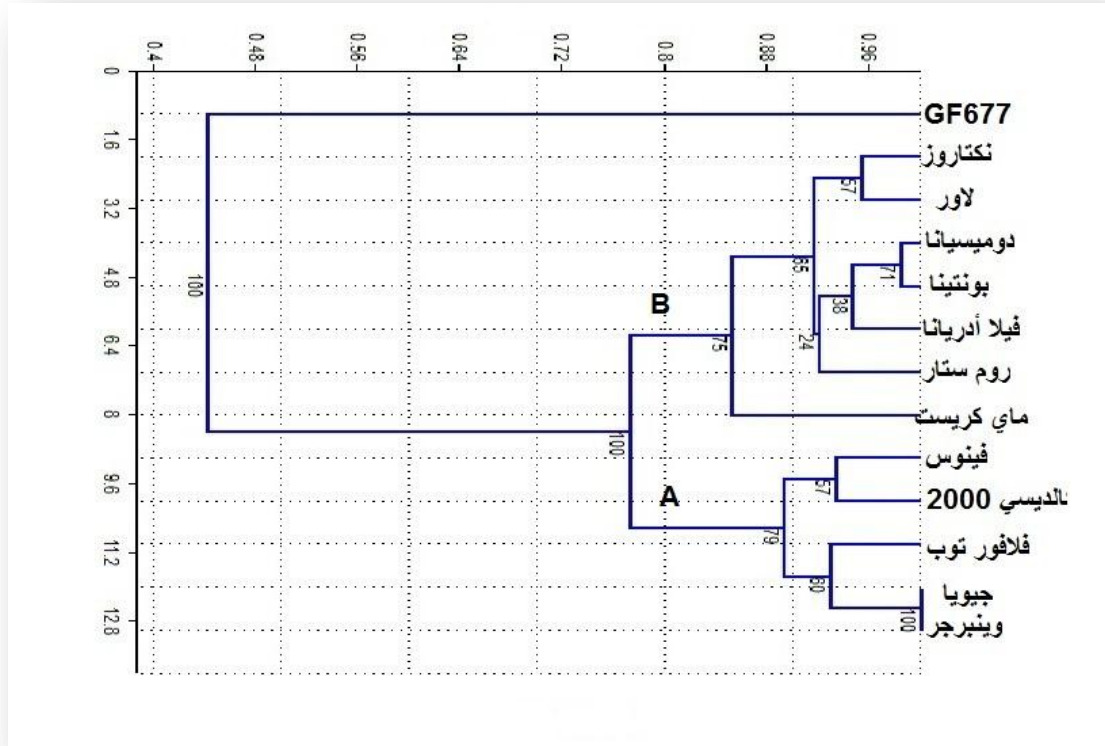
3-4- التحليل العنقودي (cluster analysis) لأصناف الدراق المدروسة:

يسمح التحليل العنقودي بتقسيم الأصناف والطرز المدروسة إلى مجموعات، وتعكس هذه المجموعات درجة التشابه الوراثية فيما بينها، وقد تتجمع الأصناف المدروسة ضمن مجموعة واحدة وفقاً لموطنها الجغرافي، أو وفقاً للأصل والنسب (Hormaza, 2002).

اجتمعت أصناف الدراق والنكتارين حسب نتائج التحليل العنقودي الناتج عن تقنية SSR في مجموعتين رئيسيتين منفصلتين (الشكل، 10) على مستوى تشابه 0.76 وهذا التوزيع تدعمه درجة موثوقية (Bootstrab) عالية بلغت 100 % وجاء الأصل GF677 منفرداً وارتبط مع المجموعتين (A و B) على أعلى مستوى هرمي عند مستوى تشابه (0.44) ودرجة موثوقية 100%. انتظم في المجموعة الأولى (A) جميع أصناف النكتارين باستثناء الصنف نكتاروز الذي جاء مع أصناف الدراق في المجموعة الثانية وبدوره انقسمت المجموعة الأولى إلى تحت مجموعتين: الأولى ضمت الصنفين وينبرجر وجيويا بأعلى نسبة تشابه (1) وقيمة موثوقية بلغت 100% وارتبط معهما الصنف فلافور توب على المستوى 0.90 تقريباً وقيمة موثوقية 60%، أما تحت المجموعة الثانية ضمت الصنفين كالديسي 2000 وفينوس وربما يعود ذلك

لاشتراكهما بنفس الأب ستارك ريد غولد الذي منحهما قرابة وراثية مرتفعة. أيضاً انقسمت المجموعة الثانية إلى تحت مجموعتين: ضمت الأولى الأصناف روم ستار، فيلا أدريانا، بونتينا ودوميسيانا وضمت تحت المجموعة الثانية الصنفين لاور ونكتاروز وجاء الصنف ماي كريست منفرداً ومرتبلاً بتحت المجموعتين عند المستوى 0.87 وقيمة موثوقية 75%.

تؤكد قيم الموثوقية العالية عند تحت المجموعات (<0.60%) أن هذه الأصناف التي تجمعت مع بعضها بعضاً هي في الواقع متشابهة وراثياً. فمثلاً إن وجود الصنف فلافورتوب مع الصنفين وينبرجر وجيويا بدرجة تشابه 0.93 يبين اشتراكه معهما بالمواقع ذاتها مع اختلافات بسيطة وقد لوحظت عند أربعة مواقع حيث في الموقع UDP96-003 تم تحديد قرين جديد بوزن (bp139) بينما عند الصنفين الآخرين كان هناك قرين آخر (bp138) عند الموقع UPD97-402 ولوحظ غياب الموقع Pchgms17 والموقع Pchgms24 (bp98) كلياً. هذه الاختلافات البسيطة بين هذه الأصناف غالباً يمكن تبريرها بحدوث طفرات في مواقع التكراريات أو في المنطقة البسيطة المحيطة بها (Aranzana *et al.*, 2003b).



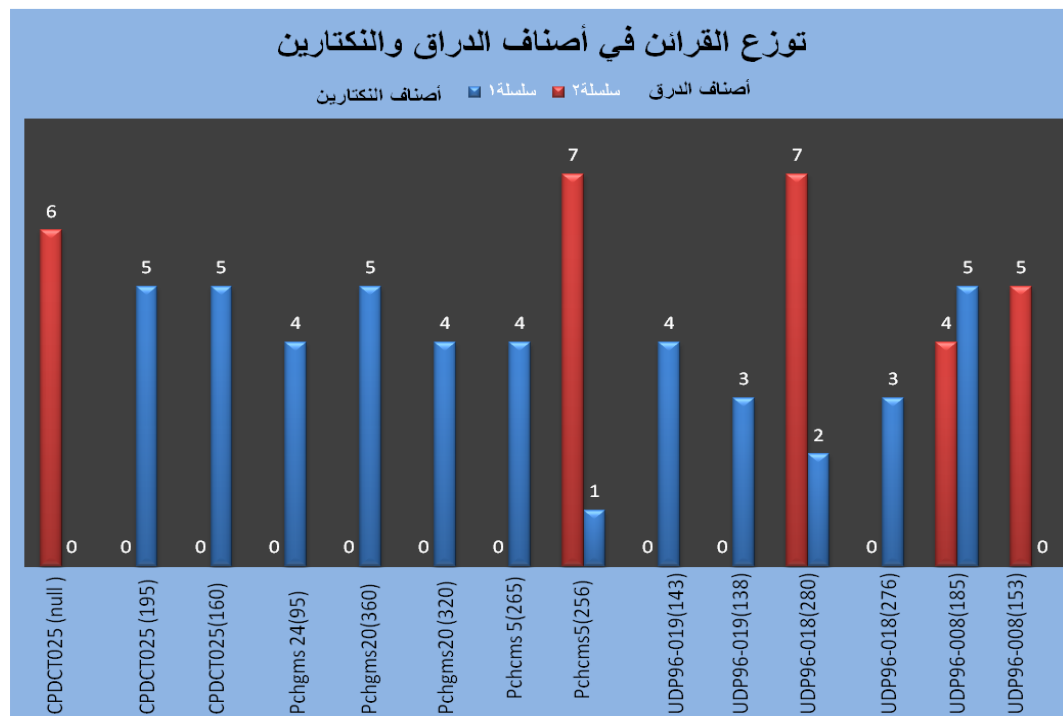
الشكل (10): مخطط التحليل العنقودي لأصناف الدراق والنكتارين المدروسة والأصل GF677 الناتج عن تقنيّة SSR، بالاعتماد على معامل Dice.

حسب شجرة القرابة يلاحظ وجود مجموعات من الأصناف المرتبطة بشكل واضح فيما بينها على المستوى الجزئي كذلك هذه المجموعات يمكن توصيفها بأنها أيضاً أصناف متماثلة في صفاتها الشكلية بشكل كبير ، لكن يمكن تمييزها بوحدة أو أكثر من الصفات الشكلية مثل مواعيد النضج أو صفات شكلية أخرى فعلى سبيل المثال إن الصنفين وينبرجر وجيويو في المجموعة A والصنفين دوميسيانا وبونتينا في المجموعة B يمكن التمييز فيما بينهم بمواعيد النضج (مبكر أو متوسط على التوالي) وفي صفة وزن الثمرة. حيث أن الصنفين وينبرجر وجيويو يتميزان بموعد نضج مبكر ووزن ثمرة (114.7، 147.5) على التوالي أما الصنفين الآخرين يتميزان بموعد نضج متوسط ووزن ثمرة (137.9، 175.1) على التوالي، إن التماثل العالي لهذه الأصناف يجعل من الضروري تحليلها باستخدام عدد أكبر من مواقع التكراريات البسيطة والمرتبطة بشكل مباشر مع مورثات مسؤولة عن صفات كمية أو نوعية مميزة وذلك من أجل فصل كل منها بشكل أدق وأوضح.

كذلك درجة التشابه العالية للصنف لاور وهو صنف أمريكي المنشأ مع مجموعة أصناف الدراق الإيطالية يؤكد وجود التماثل الكبير في المادة الوراثية وهذا يؤكد نتيجة تبادل المادة الوراثية الأصناف عالمياً والاستخدام الواسع للأصناف الإيطالية أو الأمريكية في برامج تربية الدراق (Okie, 1998).

3-5- توزيع القرائن بين أصناف الدراق والنكتارين وفق مخطط التحليل العنقودي:

بشكل عام أظهرت النتائج أن أصناف الدراق والنكتارين ضمن المجموعتين تباينت فيما بينها بعدد من الحزم حسب مواقع التكراريات البسيطة المدروسة لديها، وفقاً للشكل (11) نلاحظ أن توزيع الأصناف ضمن المجموعتين كان مرتبطاً وبشكل أساسي بتوزيع مجموعة من القرائن التي تعود لثلاثة من مواقع التكراريات البسيطة، حيث أن جميع أصناف النكتارين التي حدد عندها القريين 160،195 زوج قاعدي باستخدام المرئسة CPDCT025 و 360 bp باستخدام المرئسة Pchgms20 توضع في المجموعة الأولى، وكذلك جميع أصناف الدراق التي حدد عندها القريين 153 bp باستخدام المرئسة UDP96-008 والتي حدد عندها أيضاً null allele باستخدام المرئسة CPDCT025 توضع في المجموعة الثانية.



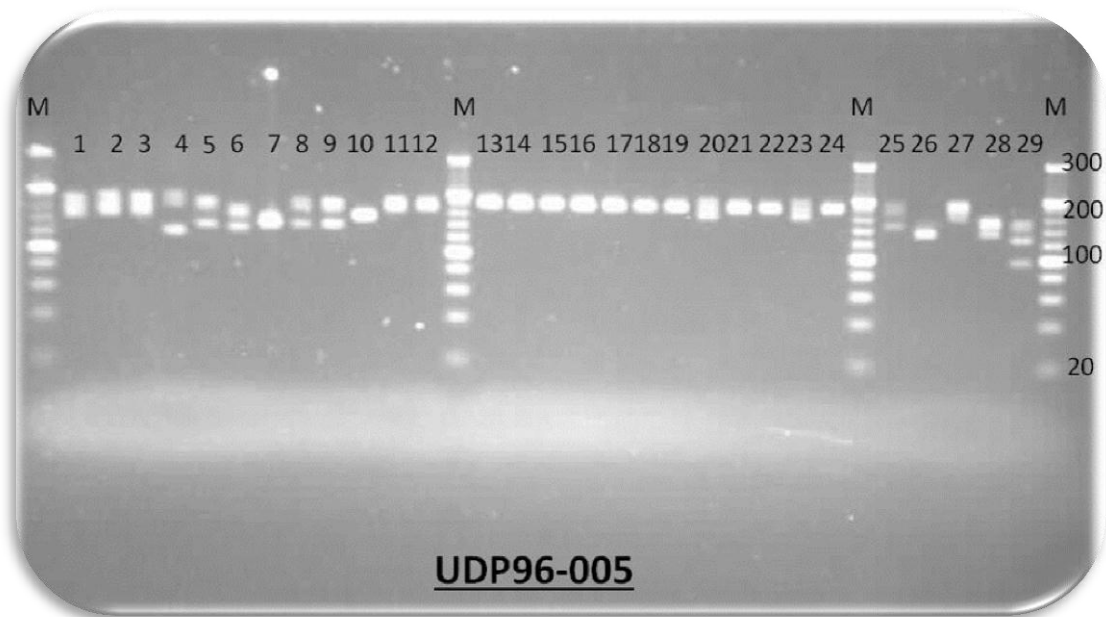
الشكل (11): توزيع ومساهمة أصناف الدراق والنكتارين في المجموعتين بناء على توزيع قرائن مواقع التكراريات البسيطة لديها

3-6- التعددية الشكلية (Polymorphism) بين أصناف وطرز اللوز المدروسة باستخدام تقنية الـ SSR :

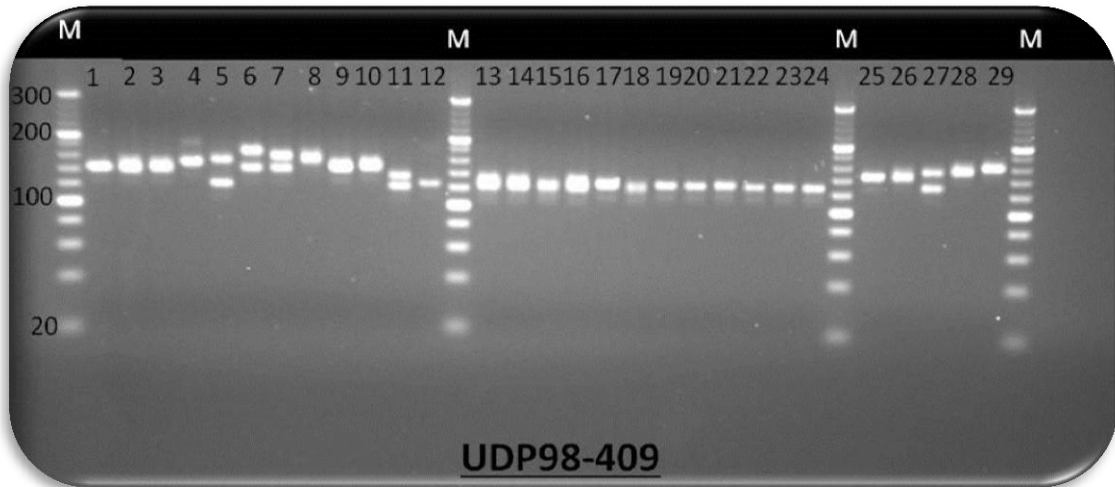
أعطت جميع أزواج المرئسات المستخدمة (26 زوج) 154 قريناً، وتراوح عدد القرائن في المواقع المختلفة بين 2-12 قرين بمتوسط 5.92 قرين/موقع، حيث أعطى زوج المرئسات UDP96-003 و UDP96-005 أعلى عدد من القرائن (12 و 11 قرين على التوالي) بينما أعطى زوج المرئسات Pchgms11 أقل عدد من القرائن (2 قرين) (الجدول، 40 والأشكال 12، 13). تباين عدد الأنماط الشكلية الناتجة من 5 عند الموقع Pchgms 11 إلى 12 عند الموقعين UDP96-003 و UDP96-005. كما بلغ متوسط قيمة التباين الملحوظ (Ho) 0.31 تراوحت من 0 (في المواقع Pchgms11، Pchgms 14، Pchgms14، Pchgms17، UDP98-021، UDP97-402) إلى 0.94 (في الموقع Pchgms 21). أما قيم التباين المورثي المتوقع (He) تراوحت من 0.11 (Pchgms11) إلى 0.88 في الموقع (UDP96-003) وبمتوسط قدره 0.61. أظهرت قيم معامل التعددية الشكلية (PIC) أن أكثر المواقع فعالية في تمييز الأصناف والطرز وإظهار تعددية شكلية مرتفعة كانت عند الموقع UDP96-003 (0.87) وأقلها فعالية كان الموقع Pchgms 11 (0.11).

الجدول (40): عدد القرائن الناتجة عن أزواج المرئسات المستخدمة في تقنية SSR (Na) و تكرارية القرين (pi) وعدد الأنماط الناتجة وقيم التغاير المورثي المتوقعة (He) والملاحظة (Ho) وحجم القرائن الناتجة ودليل الثباتية (F)، ومعامل التعددية الشكلية (PIC) بين أصناف وطرز اللوز المدروسة.

المرئسة	عدد القرائن	تكرارية القرين	التعددية الشكلية	التغاير المورثي الملحوظ	التغاير المورثي المتوقع	معامل التعددية الشكلية	أطوال الحزم (bp)
UDP96-001	5	0.44	8	0.38	0.62	0.81	140-100
UDP96-003	12	0.22	12	0.31	0.87	0.90	132-85
UDP96-005	11	0.22	12	0.69	0.86	0.90	221-136
UDP96-008	5	0.44	5	0.25	0.59	0.70	190-153
UDP96-010	5	0.56	5	0.06	0.56	0.61	168-84
UDP96-018	5	0.72	6	0.13	0.44	0.51	300-248
UDP96-019	8	0.41	8	0.44	0.70	0.80	259-210
UDP97-402	3	0.81	3	0.00	0.29	0.32	143-127
UDP98-405	7	0.53	8	0.50	0.64	0.85	168-115
UDP98-406	6	0.50	10	0.56	0.65	0.81	126-88
UDP98-409	10	0.38	11	0.38	0.78	0.85	189-120
UDP98-021	4	0.75	4	0.00	0.39	0.41	264-230
UDP98-411	7	0.28	11	0.44	0.78	0.88	203-158
UDP98-412	5	0.53	7	0.25	0.59	0.74	157-114
Pchgms2	5	0.78	4	0.13	0.35	0.42	158-127
Pchgms4	3	0.88	3	0.06	0.21	0.23	180-122
Pchgms5	4	0.63	5	0.19	0.51	0.64	273-247
Pchgms11	2	0.94	2	0.00	0.11	0.12	232
Pchgms14	5	0.44	5	0.00	0.66	0.70	114-102
Pchgms17	3	0.81	3	0.00	0.29	0.32	234-220
pchgms20	6	0.56	7	0.13	0.60	0.70	415-390
pchgms21F1/pchgms21R1	3	0.44	4	0.94	0.54	0.37	310-240
pchgms21F1/pchgms21R2	8	0.25	9	0.19	0.82	0.85	266-223
Pchgms24	7	0.41	8	0.88	0.71	0.82	113-78
CPDCT025	8	0.28	11	0.69	0.81	0.89	222-157
CPPCT030	7	0.34	9	0.56	0.73	0.85	178-137
المتوسط	5.92	0.52	6.92	0.31	0.58	0.67	



الشكل (12): نماذج الحزم الناتجة عن تضخيم المرئسة UDP96-005 في عينات الدراق واللوز المدروسة حيث الأرقام من 1-12 تشير إلى أصناف اللوز و13-24 إلى أصناف الدراق ومن 25-28 الأصول وفق تسلسلها ضمن الدراسة المذكور سابقاً، M : المعلم القياسي bp20.



الشكل (13): نماذج الحزم الناتجة عن تضخيم المرئسة UDP98-409 في عينات الدراق واللوز المدروسة حيث الأرقام من 1-12 تشير إلى أصناف اللوز و13-24 إلى أصناف الدراق ومن 25-28 الأصول وفق تسلسلها ضمن الدراسة المذكور سابقاً، M : المعلم القياسي bp20.

تم اختيار مواقع التكراريات البسيطة المستخدمة في هذه الدراسة بناء على دراسات سابقة وذلك بالاعتماد على المعدل العالي من تعددية القرائن (Cipriani *et al.*, 1999; Sosinski *et al.*, 2000). توافقت نتائج الدراسة الحالية مع دراسات Sosinski ورفاقه (2000) وXie ورفاقه (2006) والتي تؤكد قدرة مواقع التكراريات الانتقال بين الأنواع والأجناس.

أعطت مواقع التكراريات البسيطة ما مجموعه 154 قريناً تراوحت من 2 إلى 12 كانت أقل من عدد القرائن الناتجة (238) عند دراسة Elhamzaoui ورفاقه (2012) لمئة وسبعة وعشرين صنفاً تراوحت من 4 إلى 24 قرين وقريبة من عدد القرائن 159 قرين تراوحت من 12 إلى 23 (Gouta *et al.*, 2010) وأكبر من 53 قرين عند Sanchez-Perez ورفاقه (2006).

إن متوسط عدد القرائن حسب المواقع المدروسة كان 5.92 وهذا أعلى من القيمة 4.7 عند Martinez-Gomez ورفاقه (2003a) ويعد قريباً وضمن الحدود لدراسات Testolin ورفاقه (2004) و Mnejja ورفاقه (2005) و Shiran ورفاقه (2007) حيث كان المتوسط (8.4 و 6.6 و 6.64 قرين/موقع) عند دراسة 8 و 16 و 39 طراز وراثي على التوالي ولكنه منخفضاً عند مقارنته مع نتائج Elhamzaoui ورفاقه (2012) (14.88) على 127 صنفاً من اللوز المغربي ومن القيمة 12.86 بين 53 صنفاً من أصناف اللوز الإيراني Kadkhodaei *et al.*, 2011) ومن 15.9 في 82 نمط وراثي (Gouta *et al.*, 2010) ويعود هذا الارتفاع في القيم السابقة بسبب ارتفاع عدد الأنماط المدروسة مقارنة بعدد الأنماط في الدراسات ذات القيم المتقاربة في قيمة متوسط عدد القرائن مع الدراسة الحالية

تراوح عدد أنماط التعددية الشكلية من 2 في الموقع Pchgms11 إلى 12 في الموقعين UDP96-005، UDP96-003 وبمتوسط 6.92 وتراوحت تكرارية القرين من 0.22 إلى 0.94 بينما تراوح عدد الأنماط عند Gouta ورفاقه (2010) بين 27 إلى 49 وتكرارية القرين من 0.01 إلى 0.37.

إن متوسط قيمة التباير المورثي الملحوظ Ho 0.31 كانت منخفضة أيضاً عن القيم (0.50 و 0.54 و 0.59 و 0.68) عند كل من Shiran ورفاقه (2007) و Kadkhodaei

ورفاقه (2011) و Elhamzaoui و رفاقه (2012) و Gouta و رفاقه (2010) على التوالي وهذا يعود لظهور التنوع الوراثي بين الانواع نتيجة لطرق اكثارها القديمة بواسطة البذور وظاهرة عدم التوافق الذاتي في اللوز مقارنة بباقي الأجناس الأخرى مثل الدراق. ويعود أيضاً ارتفاع هذه القيم لاستخدام مواقع تكراريات مختلفة، أو لارتفاع عدد الطرز والأصناف المدروسة حيث كانت 39، 53، 127 على التوالي حسب الدراسات المذكورة إضافة إلى أن الأصناف المدروسة والمختارة مسبقاً من أصناف محلية وأجنبية يمكن أن يحد من التنوع الوراثي بين هذه الأصناف.

إن متوسط قيمة التباير المورثي المتوقع He 0.58 تراوحت من 0.11 عند الموقع Pchgms11 إلى 0.87 في الموقع UDP96-003، حيث بالمقارنة مع نتائج Gouta بلغ متوسط قيمة الـ He 0.86 حيث تراوحت من 0.81 إلى 0.92 عند Gouta و رفاقه (2010) و 0.69 عند Fathi و رفاقه (2008) ويعود ارتفاع هذه القيمة إلى خاصية التلقيح الخلطي وظاهرة عدم التوافق الذاتي في اللوز كما أن قيمة التباير تتأثر ليس فقط بعدد القرائن الكلي بل بتكرارية القرين أيضاً.

وبالمقارنة بين مؤشرات التنوع الوراثي لمواقع التكراريات ضمن المجتمعات النباتية للوز التونسي (متوسط عدد القرائن /موقع 15.9، $H_o = 0.68$ ، $PIC = 0.84$) الناتجة من دراسات Gouta و رفاقه (2010)، ومجتمعات اللوز الاسباني (Fernandez i Marti *et al.*, 2009) (متوسط عدد القرائن 17.21 و $H_o = 0.72$) نلاحظ ارتفاعاً في قيم تلك المؤشرات في هذين المجتمعين مقارنة بالدراسة الحالية (متوسط عدد القرائن 5.92، $H_o = 0.31$ ، $He = 0.58$) و يعود ذلك إما لارتفاع عدد الطرز المدروسة في تلك الدراسات السابقة (82، 93 طراز على التوالي) أو إلى طريقة الفصل (capillary electrophoresis) المستخدمة والتي تؤدي إلى الفصل الواضح بين القرائن المتقاربة.

إن الأوزان الجزيئية للقرائن الناتجة في الدراسة كان ضمن المدى الناتج مقارنة مع دراسات أخرى ولكن لوحظ وجود ارتفاع في الوزن الجزيئي في بعض المواقع مثل pchgms20 (320-415) حيث أن الوزن المتوقع من الدراسات السابقة هو 252 وهذا يدل على وجود قرين جديد في أنواع اللوز في الدراسة الحالية لم يتم تحديدها وكشفها مسبقاً في دراسات أخرى. كما اختلف عدد القرائن في أصناف وطرز اللوز المدروسة وذلك باستخدام أزواج المرئسات الست

والعشرين المستخدمة، حيث تراوح عددها بين 30 و 38 أعلاها في الصنف قسطنطين وأدناها في الصنف حماة 47 أعطت أصناف اللوز الأجنبية ما مجموعه 172 أما الأصناف المحلية 236 قرين اما الأصول البرية أعطت 141.

من مقارنة قيم معامل التعددية الشكلية نجد أن 73.07% من المواقع المدروسة كانت فعالة في تمييز الأصناف والطرز حيث أن هذه القيمة تقدر قيمة المعلم في التضخيم ليس فقط من خلال عدد القرائن في الموقع بل أيضاً تكرارية هذه القرائن، في الدراسة الحالية كان متوسط قيمة الـ PIC هو 0.67 وهو كان أعلى من قيمة الـ PIC (0.47) عند Fathi ورفاقه (2008) على 56 صنف من اللوز الإيراني ولكنه كان منخفضاً عن 0.76 عند Elhamzaoui ورفاقه (2012) و 0.89 (Kadkhodaei *et al.*, 2010) و 0.84 (Gouta *et al.*, 2010).

أعطت المرئسات UDP96-005 ، UDP96-003 ، CPDCT025 أعلى قيم للـ PIC حيث تمكنت من إظهار 11 ، 12 ، 8 قرين وتعددية شكلية 12 ، 12 ، 11 على التوالي، توافقت النتائج في هذه الدراسة مع نتائج Elhamzaoui ورفاقه (2012) في بعض المواقع حيث كان الموقع UDP96-003 ذو قيم مرتفعة من He و Ho و PIC وهي (0.80، 0.81، 0.84) على التوالي وفي دراسات Gouta ورفاقه (2010) حيث أعطى الموقع CPDCT025 أعلى قيمة لمعامل التعددية الشكلية PIC.

بلغت نسبة المرئسات التي أظهرت تعددية شكلية 96.15% (25 مرئسة من 26) وهي كانت قريبة من النسبة 100% عند Gouta وزملاؤه (2010) عند دراسة 82 صنف من اللوز وكانت أعلى من النسبة (71.43) عند Fathi وزملاؤه (2008) عندما استخدم 35 مرئسة في دراسة 56 صنف من اللوز وذلك يعود لاستخدام مرئسات أعطت نتائج تضخيم جيدة في دراسات سابقة.

أظهرت الأصناف المحلية تنوعاً وراثياً أكبر من الأصناف الأجنبية في قيم مؤشرات الـ SSR المدروسة حيث كانت تكرارية القرائن المتماثلة في الاصناف الاجنبية (0.63) أعلى منها في الاصناف المحلية (0.57) وهذا انعكس بدوره على قيمة التباير المورثي في الأصناف المحلية (0.48) حيث كانت أعلى منها في الأصناف الأجنبية (0.42).

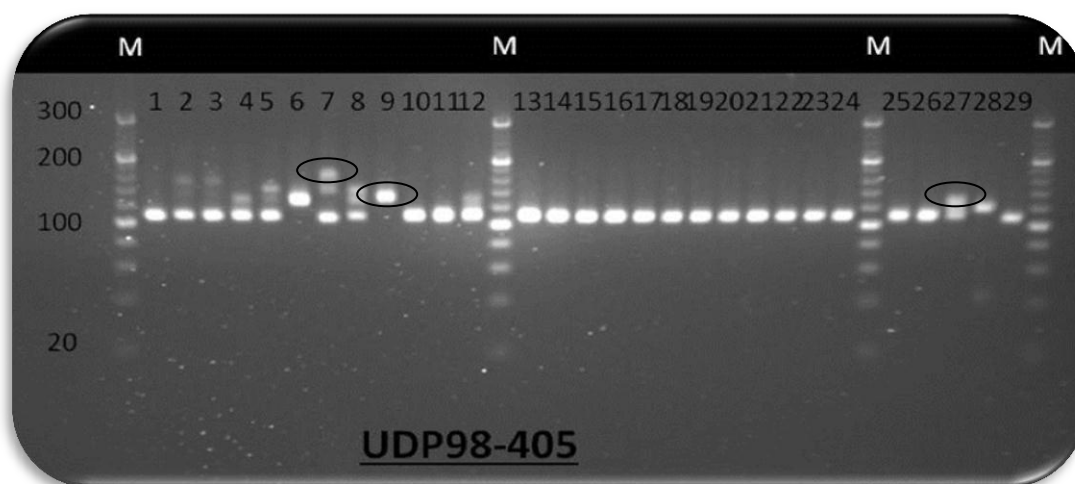
7-3- تمييز أصناف وطرز اللوز والأصل GF677 باستخدام الواسمات الفريدة (unique bands) الناتجة عن استخدام تقنية SSR:

من خلال نتائج الدراسة تبين أن الأصناف والأصول المدروسة من اللوز امتلكت تنوعاً وراثياً واضحاً حيث تم تحديد تعددية شكلية على مستوى الدنا (polymorphism) مميزة عند جميع الأصناف والأصول كما أن عدد القرائن (alleles) والقيم المرتفعة نسبياً لمعامل التعددية الشكلية PIC دلت على القدرة التمييزية الجيدة لمواقع التكراريات المدروسة، حيث أن غالبية المرئسات المستخدمة في البحث (73.07%) أظهرت مقدرة جيدة على تمييز أصول وأصناف اللوز وتراوحت قيمتها حسب الجدول (40) من 0.12 إلى 0.90 واستطاع بعضها تمييز غالبية عينات الدراسة مثل UDP96-003 في حين استطاع البعض الآخر أن يكون مميزاً وبشكل خاص لأصول محددة (الجدول، 41) مما يساعد على التمييز السريع للأصناف المدروسة، كما أن هذه المواقع أظهرت أهمية كبيرة من خلال مقدرتها على تمييز الأصل GF677 بقرائن مميزة عن باقي الأصول (57.14%) ويفسر ذلك بكونه أصل هجين بين اللوز والدراق (الجدول، 41)، الشكل، 14، 15). كذلك نلاحظ أن نسبة القرائن المميزة (Unique bands) بين الأصول (59.57%) كانت أعلى منها بين الأصناف المدروسة (40.43%) مما يدل على التنوع الوراثي الكبير عند هذه الأصول وذلك يعود لكونها أنواعاً برية المنشأ، ويفسر ذلك بكونه أصل هجين بين اللوز والدراق.

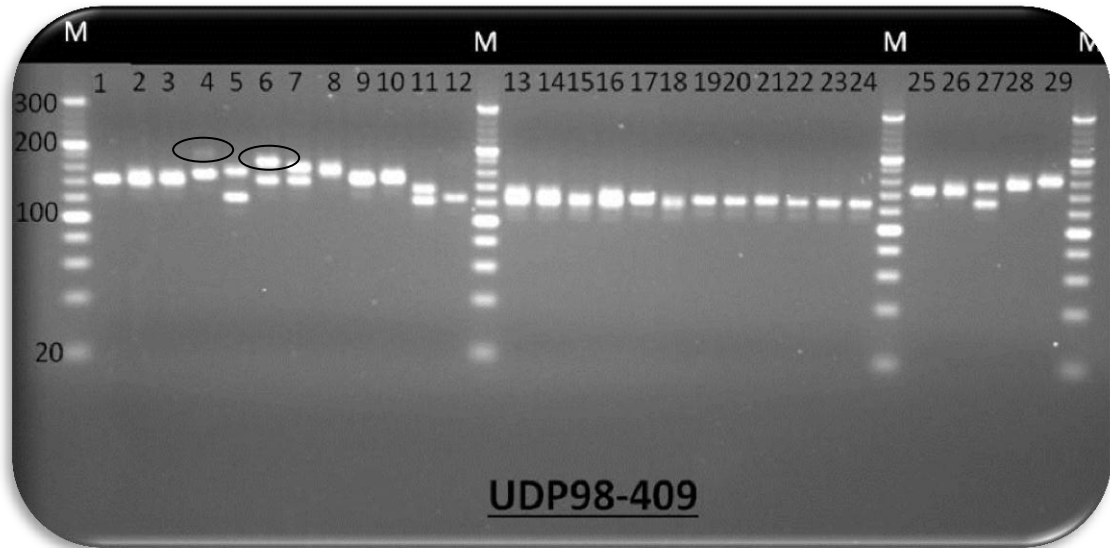
الجدول (41): يبين الواسمات الفريدة عند الأصناف والأصول المدروسة واسم المرئسة والوزن الجزيئي للقرين (bp)

اسم الصنف	اسم المرئسة والوزن الجزيئي للقرين
فيرادويل	Pchgms21R ₂₂₃ UDP96-019 ₂₄₀ UDP96-005 ₁₇₆
قسطنطين	UDP96-010 ₈₄
فلوتس	UDP96-005 ₁₃₆ UDP98-409 ₁₈₉ UDP96-003 ₁₀₈ ,
فورنا	Pchgms24 ₁₀₈ Pchgms20 ₃₉₀
ديسمايوروخو	UPD98-409 ₁₇₆
ضفادعي	UPD98-405 ₁₆₈ , UDP96-001 ₁₂₉
شامي فرك	Pchgms14 ₁₀₉ UDP96-003 ₁₀₂
حماة 34	UPD98-406 ₁₀₀ UDP98-405 ₁₄₂
حماة 47	CPPCT030 ₁₃₇
بابنس	UPD98-409 ₁₃₉
عوجا	UDP96-003 ₁₀₀
لوز شرقي 1	Pchgms20 ₄₁₅ UDP96-003 ₉₂ , UDP96-005 ₂₁₃
لوز شرقي 2	CPPCT030 ₁₅₂ Pchgms2 _{130,150}
لوز كورشنسكي	UPD98-021 ₂₅₂ UDP98-405 ₁₂₅ UDP96-019 ₂₁₀ UDP96-003 _{85,97} Pchgms14 ₁₁₄
GF677	UDP96-003 _{117,132} UDP96-005 ₂₂₁ UDP96-008 ₁₉₀ UDP96-010 ₁₆₈ UDP98-405 ₁₁₈ UDP96-018 ₃₀₀ UDP98-021 ₂₄₄ UDP97-402 ₁₂₇ UDP98-411 ₁₅₈ Pchgms2 ₁₅₈ Pchgms4 ₁₈₀ Pchgms24 ₁₁₃ Pchgms17 ₂₃₄ Pchgms21 ₁₉₅ Pchgms21R ₂₆₆

الرقم اليميني يدل على الوزن الجزيئي للقرائن المميزة والتي تم حسابها باستخدام برنامج Gel Quant.Net (Lazar، 2010).



الشكل (14): نماذج القرائن المميزة الناتجة عن زوج المرئسات UDP98-405 بين الأصناف والطرز اللوز المدروسة حيث M: المعلم القياسي 20bp.



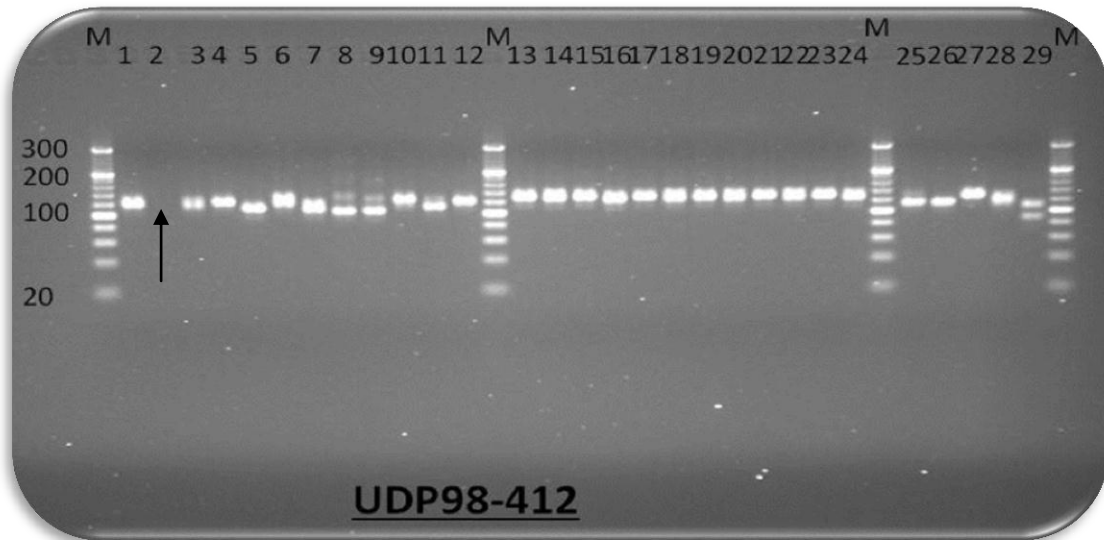
الشكل (15): نماذج القرائن المميزة الناتجة عن زوج المرئسات UDP98-409 في أصناف اللوز المدروسة،

M المعلم القياسي 20bp.

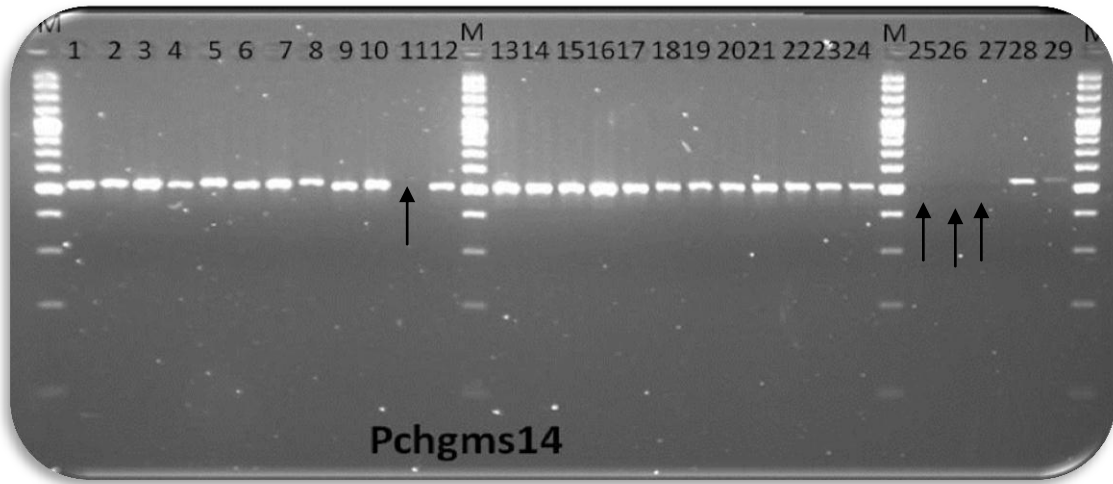
كذلك لوحظ أن تسعة من المرئسات المستخدمة لم تظهر أي نواتج تضخيم (null alleles) عند عدد من الأصناف المدروسة (الجدول، 42 والأشكال، 16، 17)، وهذا يمكن أن يعلل باحتمال حدوث طفرة بالتسلسلات النيكلوتيدية في المنطقة المحيطة بمواقع تكراريات التسلسلات البسيطة في مكان تصميم المرئسة أو أحياناً غياب هذا الموقع تماماً من جنس اللوز مثل Pchgms11. إن غياب القرائن يؤثر كثيراً على قيمة التباير المورثي ويمكن أن يسبب بعض الاختلافات إذ أنها تحسب كتعددية شكلية مميزة للطراز أو الصنف المدروس.

الجدول (42): اسم المرئسة والأصناف التي حدد عنها غياب القرين

المرئسة	الأصناف المحدد عندها null alleles
UDP96-010	فيرادويل، جادرم، فلوتس، حماة34، حماة47، بابنس، شرقي1، شرقي2، كورشنسكي
UDP96-018	ديسماروخو
UDP96-019	فلوتس
UPD97-402	فيرادويل، جادرم، قسطنطين، فلوتس، فورنا، ديساروخو، شامي فرك، حماة47، بابنس، عوجا، شرقي1، شرقي2، كورشنسكي
UDP98-412	جادرم
Pchgms11	كل أصناف وطرز اللوز البرية
Pchgms14	بابنس، شرقي1، شرقي2، GF677
Pchgms17	كل أصناف اللوز والطرز كورشنسكي
Pchgms20	فلوتس
CPDCT025	شرقي2



الشكل(16): غياب الموقع UDP98-412 من صنف اللوز جادرم، حيث الأرقام من 1-12 هي أصناف اللوز، M:المعلم القياسي 20bp.



الشكل (17): نماذج غياب القرائن من الصنف بابنس والطرز شرقي 1 وشرقي 2 و GF677 عند زوج المرئسات Pchgms14، M المعلم القياسي bp20.

8-3- تحديد درجة التشابه الوراثية (Genetic similarity) بين أصناف وطرز اللوز المدروسة والأصل GF677:

تم تحديد نسبة التشابه المورثي بين أصناف وأصول اللوز المدروسة باستخدام معامل Dice، وأظهرت النتائج أن متوسط قيم التشابه الوراثي لأصناف وطرز اللوز المدروسة كانت (0.38) حيث تراوحت بين 0.12 حتى 0.76 (الجدول، 43)، وهي أعلى مما وجدته Kadkhodaei ورفاقه (2010) حيث كانت لديهم 0.23، مما يؤكد على وجود تنوع كبير بين أصول وأصناف اللوز المدروسة. كان أعلى مستوى تشابه وراثي بين الصنفين جادرماء المحلي وقسطنطين التونسي (0.759)، ويعلل ذلك إلى أن لهما نفس النسب أو الأصل الجغرافي وكانت أقل نسبة تشابه وراثي بين الصنف جادرماء والأصل GF677 (0.116).

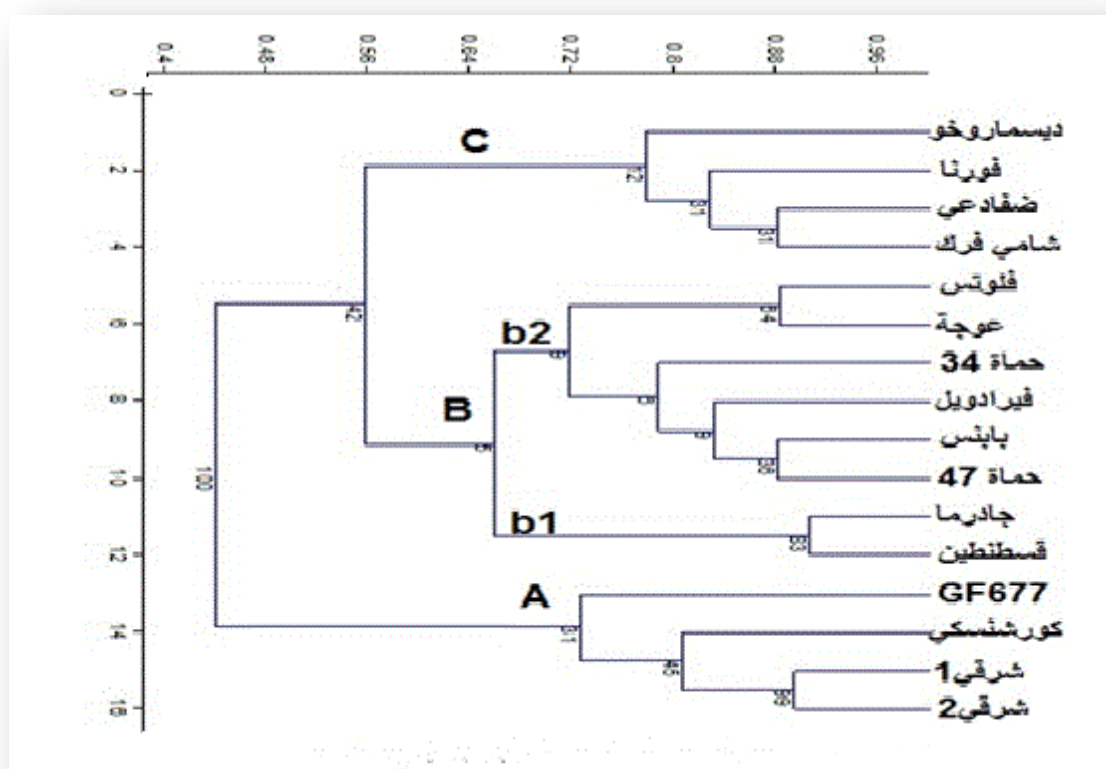
نلاحظ انخفاض نسبة التشابه الوراثي بين الأصل GF677 وأصناف اللوز المدروسة (0.29) مقارنة بنسبة تشابهه مع أصناف الدراق و النكتارين (0.49) مما يدل على قربه وراثياً من الدراق أكثر منه إلى اللوز.

الجدول(43): درجة التشابه الوراثية بين أصناف وأصول اللوز المدروسة استخدام تقنية SSR

كورشنسكي	GF	شرقي 2	شرقي 1	عوجة	بابنس	حماة 47	حماة 34	شامي فرك	ضفادعي	دسمارخو	فورنا	فلوتس	قسطنطين	جادرما	قبرادويل	
															1	فيرادويل
														1	0.541	جادرما
													1	0.759	0.675	قسطنطين
												1	0.538	0.453	0.493	فلوتس
											1	0.378	0.564	0.400	0.548	فورنا
										1	0.459	0.459	0.590	0.427	0.548	دسمارخو
									1	0.432	0.568	0.405	0.436	0.347	0.521	ضفادعي
								1	0.595	0.568	0.568	0.405	0.487	0.347	0.548	شامي فرك
							1	0.526	0.553	0.500	0.553	0.526	0.500	0.338	0.587	حماة 34
						1	0.472	0.429	0.400	0.343	0.457	0.514	0.486	0.451	0.551	حماة 47
					1	0.571	0.579	0.459	0.405	0.459	0.541	0.541	0.590	0.427	0.603	بابنس
				1	0.521	0.522	0.480	0.438	0.411	0.438	0.466	0.603	0.545	0.432	0.500	عوجة
			1	0.384	0.459	0.429	0.342	0.405	0.351	0.351	0.432	0.351	0.410	0.373	0.466	شرقي 1
		1	0.667	0.338	0.389	0.324	0.297	0.361	0.361	0.333	0.306	0.361	0.289	0.274	0.338	شرقي 2
	1	0.145	0.212	0.286	0.259	0.222	0.322	0.306	0.282	0.235	0.282	0.212	0.225	0.116	0.262	GF
1	0.306	0.333	0.378	0.384	0.378	0.371	0.316	0.270	0.243	0.324	0.297	0.324	0.308	0.160	0.329	كورشنسكي

9-3- التحليل العنقودي (cluster analysis) لأصناف اللوز والطرز المدروسة والأصل GF677:

تجمعت الأصناف والأصول المدروسة اعتماداً على درجة التقارب حسب Ward (الشكل، 18)، في ثلاث مجموعات (Clusters): ونلاحظ أن المجموعة الأولى (A) شملت جميع الأصول (شرقي 1، شرقي 2، كورشنسكي) وتتميز هذه الأصول بصغر حجم الورقة والثمرة والطعم المر للبذرة وارتبط معها الأصل GF677. وارتبطت المجموعتين (B) و (C) على المستوى 0.56 وبدرجة موثوقية 42% ثم ارتبطت معهما المجموعة A على أعلى مستوى هرمي بدرجة موثوقية 100%، لوحظ أن العنقود B جمع الصنفين قسطنطين وجاديرما ضمن تحت عنقود (b1) مما يرجح أن يكون لهما أصل مشترك أو ذات قاعدة وراثية مشتركة وارتبط معهما باقي الأصناف حماة 47، بابنس، فيرادويل، حماة 34، عوجة وفلوتس تحت العنقود الثاني (b2)، وجاءت الأصناف شامي فرك، صفادعي فورنا وديسماروخو ضمن العنقود الثالث (C).



الشكل (18): مخطط التحليل العنقودي لأصناف وطرز اللوز المدروسة الناتج عن تقنية SSR، بالاعتماد على معامل Dice.

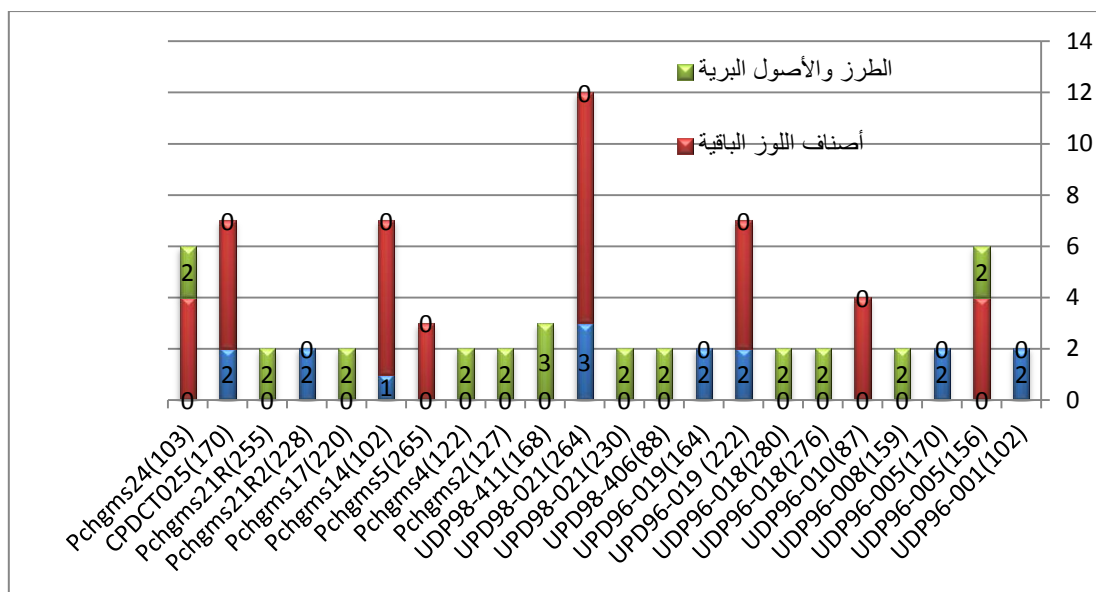
إن توضع الأصناف المحلية مع الأجنبية بشكل متداخل ولا يتوافق مع مواطنها الأصلية يعد نتيجة لانتقال البذور تاريخياً من منطقة لأخرى ومما يدل على أنها تمتلك قاعدة وراثية متشابهة (Fathi *et al.*, 2008).

تميزت المجموعة b1 (جادرما وقسطنطين) بالمتوسطات الأدنى من حيث متوسط عرض الورقة والأعلى من حيث متوسطات طول الورقة وعرض البذرة وتتميز أيضاً بأنها أصناف ذات نضج متأخر وهي بذلك تتطابق مع شجرة الموصفات الشكلية حيث ارتبطت الأصناف السابقة مع بعضها بعضاً مسبقاً في الدراسة الشكلية وهذا يفسر اجتماعها ضمن مجموعة واحدة.

إن قيم الموثوقية المنخفضة عند العقد الطويلة في المخطط تدل على الموثوقية الأقل للتفرعات الرئيسية مما يقترح انتقال بعض الأصناف بين المجموعات. أما قيم الموثوقية العالية عند العقد القصيرة تشير إلى أن الأصناف التي تجمعت معاً هي في الحقيقة متقاربة وراثياً بشكل كبير.

3-10- توزيع القرائن بين أصناف وطرز اللوز المدروسة وفق مخطط التحليل العنقودي:

أظهرت النتائج أن أصول وأصناف اللوز ضمن المجموعات الثلاث تباينت فيما بينها بالعديد من القرائن حسب مواقع تكراريات التسلسلات البسيطة المدروسة لديها، وفقاً للشكل (19) يمكن ملاحظة أن توزيع الأصناف والأصول ضمن العناقيد كان مرتبطاً بتوزيع مجموعة من القرائن التي تعود إلى خمسة مواقع بسيطة، حيث تبين أن القرينين (170) UDP96-005 و (164) UPD96-019 قد ميزا الصنفين جادرما وقسطنطين في تحت المجموعة b1 عن باقي الأصناف والأصول المدروسة وميز القرين (265) Pchgms5 تحت العنقود b2. أما القرين (264) UPD98-021 قد ميز المجموعتين B و C حيث تواجد عند كل الأصناف المدروسة وكان غائباً عند المجموعة A، أما القرين (87) UDP96-010 فقد ميز أصناف تحت العنقود C. من خلال المواقع جميعها يمكن ملاحظة أن الأصناف في المجموعتين B و C تشاركتا معاً في العديد من المواقع مما يدل على مدى التشابه الوراثي بين الأصناف المدروسة بينما لم تشارك المجموعة الأولى A مع الثالثة C في أي موقع من المواقع المدروسة مما يوضح تباعد الأصول وراثياً عن تلك الأصناف.



الشكل (19): توزيع ومساهمة أصول وأصناف اللوز في المجموعات الأولى والثانية والثالثة بناء على توزيع قرائن مواقع التكراريات البسيطة لديها.

3-11-11- مقارنة المؤشرات الجزيئية بين اللوز والدراق:

3-11-1- التعددية الشكلية:

كان التضخيم ناجحاً في كافة مواقع التكراريات المدروسة ما عدا الموقع Pchgms11 عند أصناف اللوز وأصوله البرية حيث لم تظهر أية نتائج تضخيم (null allele) وهذه النتائج تتوافق مع نتائج Cipriani ورفاقه (1999) على مقدرة مواقع التكراريات المدروسة على التضخيم في أنواع وأجناس قريبة وراثياً من الدراق. أظهرت النتائج تماثلاً وراثياً عالياً بين مواقع التكراريات في الدراق واللوز. فمن أصل 26 موقع أعطت تضخيماً واضحاً في الدراق 25 أعطت تضخيماً واضحاً في اللوز (الجدول، 40) هذه النتائج تؤكد العلاقة الوراثية التطورية الوثيقة بين هذين الجنسين (Watkins, 1976).

إن عدد القرائن الناتجة من مواقع تكراريات التسلسلات البسيطة المدروسة في أصناف الدراق واللوز تراوحت من 2 إلى 12 بينما الأنواع البرية القريبة الأخرى أعطت عدداً من القرائن من 2 إلى 6. بلغ عدد القرائن الكلي 45 في الدراق و116 في اللوز بينما في الأنواع القريبة وراثياً كان عدد القرائن 92 إذ يظهر بوضوح الاختلافات بين الأنواع المدروسة وانقسامها في مجموعتين من حيث عدد القرائن. إلا أن قلة عدد العينات المدروسة لا يسمح بتعميم القاعدة على

نطاق واسع بين الجنسين ولكن يؤكد وجود قاعدة وراثية عريضة لأصناف اللوز مقارنة مع أصناف الدراق ضمن العينات المدروسة.

بلغت قيمة التباير المورثي المتوقع في الدراق في الدراسة الحالية 0.16 وبين أصناف وطرز اللوز 0.49 وهذا يتوافق مع نتائج Martinez-Gomez ورفاقه 2003b حيث كانت القيمة عند الدراق (0.22) وعند اللوز (0.56) (الجدول، 44). إن هذا الارتفاع بالتباير المورثي لجنس اللوز عنه في جنس الدراق يعود إلى الاختلاف في طريقة التلقيح في كلا الجنسين حيث يعد الدراق متوافق ذاتياً في معظم أصنافه وأما اللوز فهو عقيم ذاتياً ويحتاج إلى التلقيح الخلطي (McKey et al., 2010). هذه النتائج تؤكد القاعدة الوراثية الضيقة في الدراق عند مقارنتها مع التنوع العالي الملحوظ بين أصناف اللوز هذا الاختلاف أيضاً تم تأكيده من قبل Arulsekhar ورفاقه (1986) باستخدام شبيهات الأنزيمات (Isozyme) وبتقنية RAPD (Warburton and Bliss, 1996) وباستخدام تقنية SSR (Aranzana et al., 2002).

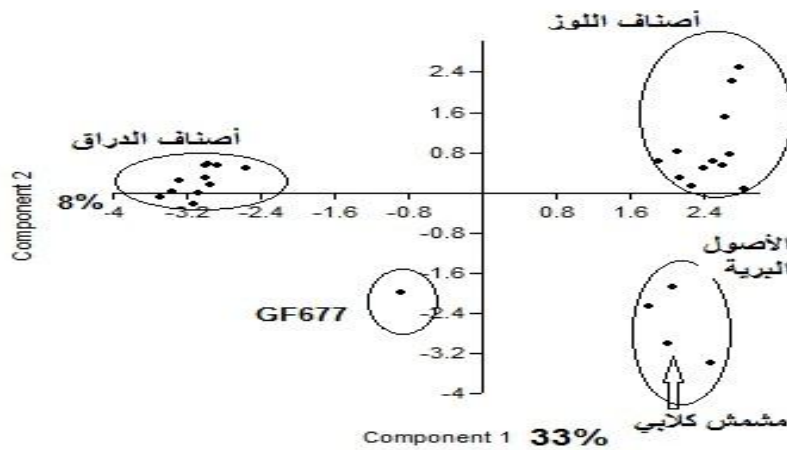
في السنوات الأخيرة كان هناك عدد كبير من الأصناف المنتجة من الدراق ولكن مع انخفاض شديد في تنوعها الوراثي حيث أن معظم الأصناف الحديثة نشأت من الأصناف التي أنتجت ضمن برامج التربية في أمريكا والتي اعتمدت على عدد محدود من الآباء مما أدى إلى انخفاض التنوع الوراثي أو القاعدة الوراثية الضيقة للأصناف التجارية المنتشرة بشكل كبير.

الجدول(44): التباير المورثي بين مجموعتي أصناف الدراق واللوز المدروسة

المجموعة	عدد العينات	عدد القرائن	قرين/موقع	تكرارية القرين	التباير المورثي المتوقع	التباير المورثي الملحوظ	معامل التعددية الشكلية
الدراق	12	45	1.73	0.85	0.16	0.12	0.20
اللوز	12	116	4.46	0.58	0.49	0.29	0.67

3-11-2-العلاقات الوراثية التطورية وتحليل التنسيق الأساسي (PCOA):

أظهرت دراسة العلاقات التطورية بين جنسي الدراق واللوز والأنواع البرية القريبة وراثياً في هذه الدراسة بالاعتماد على تحليل التنسيق الرئيسي (Principle coordinate analysis) PCOA باستخدام برنامج PAST والناتج عن جدول التشابه المورثي توافقاً مع الدراسات التصنيفية لهذه الاجناس سابقاً حيث أعطى محورين أساسيين للتغاير يشكلان 33% و 8% من التغاير الكلي على التوالي (الشكل، 20)، بين هذا التحليل توزع الأصناف والطرز في أربعة مجموعات أساسية، ضمت المجموعة الأولى أصناف الدراق جميعها أما المجموعة الثانية قد ضمت أصناف اللوز المحلي والأجنبي (المزروع) أما المجموعة الثالثة فقد شملت الأصول البرية شرقي 1 وشرقي 2 اللوز كورشنسكي والمشمش الكلابي، وجاء الأصل GF677 منفرداً وأكثر قرباً من مجموعة أصناف الدراق عنه في اللوز. إن نتائج دراسات النشوء والتطور والتي تشمل الاجناس المدروسة بالاعتماد على دنا النواة والصانعات تؤكد وجود علاقة قوية (sisterclades) بين الجنس *Persica* والأصل GF677 وعلاقة وراثية قريبة بين هذا الجنس والجنس *Amygdalus* والأنواع *A. Korschinskii* و *A. orientalis* (Bortiri et al., 2001)، وهذه النتائج أيضاً توافقت مع نتائج Werner و Creller (1997) و Badenes و Parfitt (1995).

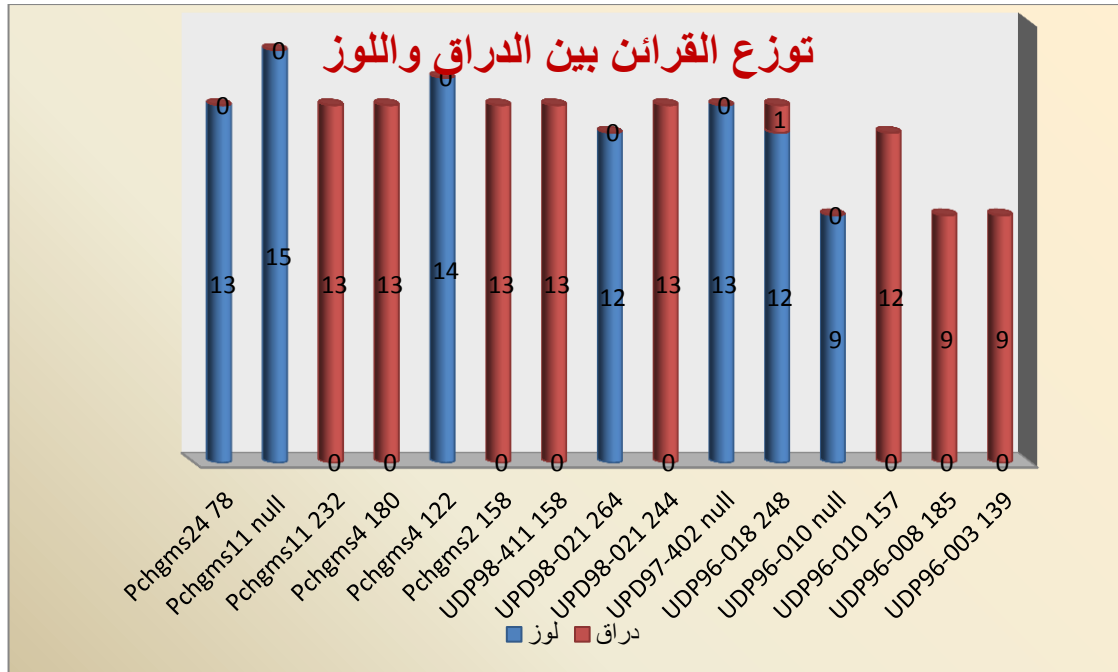


الشكل (20): تحليل المكونين الرئيسيين (PC1 و PC2) لتحليل التنسيق الرئيسي PCOA بالاعتماد على جدول التشابه الوراثي للأصناف والطرز المدروسة من كلا الجنسين.

إن المجموعة الثانية والثالثة (أصناف اللوز المزروع، الأصول البرية) تتجمع معاً ضمن قطاع واحد كما لوحظ انضمام المشمش الكلابي إلى مجموعة الطرز البرية المدروسة.

يعد اللوز الشرقي واللوز كورشنسكي من الأنواع اللوز القريبة وراثياً للأنواع المزروعة (Browicz and Zohary, 1996; Grasselly, 1976) وهي تعد من الأنواع الأبوية لأصناف اللوز الحديثة (Kester *et al.*, 1991) إن الانتقال الطبيعي للمورثات (natural introgression) من الأنواع البرية إلى اللوز قد أكده Kester ورفاقه (1991) و Gradziel (2003).

فصلت شجرة القرابة الوراثية الأصناف المدروسة ضمن ثلاثة مجموعات، ارتبطت المجموعة الأولى A والمجموعة B معاً على مستوى التشابه 0.23 وعند درجة موثوقية 62% ومعهما ارتبطت المجموعة C على أعلى مستوى هرمي عند المستوى 0.15 وبدرجة موثوقية 100%. حيث ضمت المجموعة الأولى A أصناف الدراق والنكتارين والتي بدورها انقسمت إلى ثلاث تحت مجموعات ضمت تحت المجموعة الأولى A1 أصناف النكتارين وتحت المجموعة الثانية A2 أصناف الدراق مع الصنف نكتاروز وجاء الأصل GF677 منفرداً في تحت المجموعة الثالثة A3، أما في المجموعة الثانية B اجتمعت كل أصناف اللوز المدروسة والطرز البرية القريبة وضمت المجموعة الثالثة C المشمش الكلابي منفرداً (الشكل، 21).

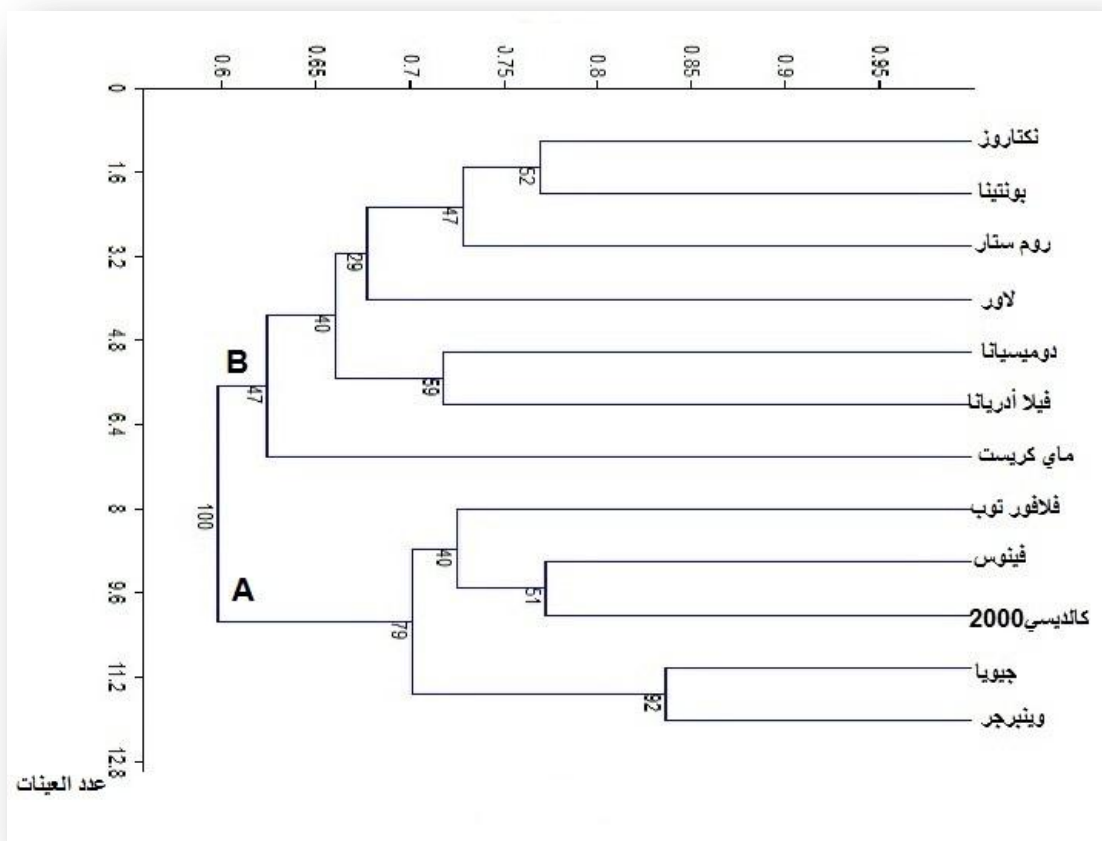


الشكل (22): توزيع ومساهمة أصناف الدراق واللوز في المجموعات بناء على توزيع قرائن مواقع التكراريات البسيطة لديها

4- مقارنة نتائج الدراسة الشكلية والجزيئية بين أصناف وطرز الدراق واللوز المدروسة:

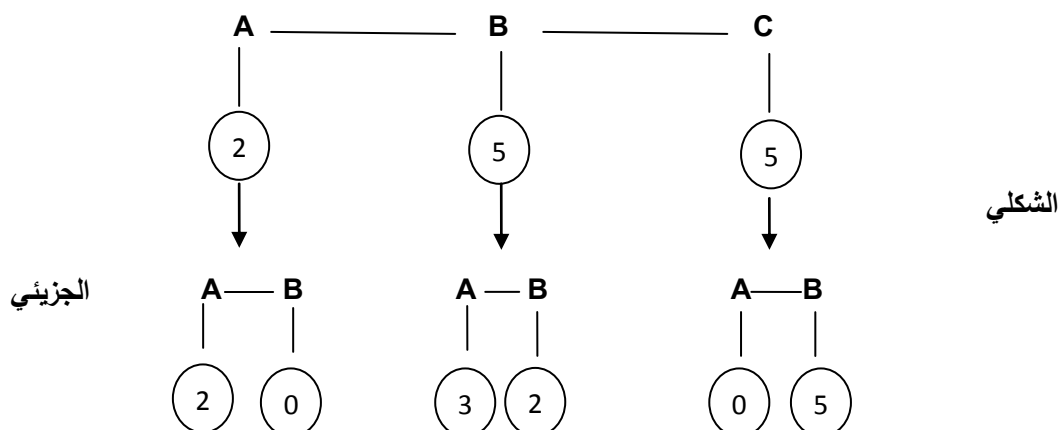
تم استخدام معامل Mantel (Mantel, 1967) لمقارنة مصفوفتي التشابه الوراثي للبيانات الشكلية والجزيئية لأصناف الدراق إذ بلغت قيمة معامل الارتباط ($r=0.67$) وهذا يدل على موافقة متوسطة بينهما.

إذ قسم المخطط الشكلي أصناف الدراق والنكتارين ضمن ثلاث مجموعات رئيسية إنما انضمت مجموعة الصنفين وينبرجر وجيويا معاً في المخطط الجزيئي إلى مجموعة أصناف النكتارين وبقيا مرتبطين معاً كما أظهرت باقي الأصناف توزيعاً أكبر ضمن المجموعات عنه في المخطط الشكلي. ومن خلال دمج كل البيانات تم الحصول على شجرة القرابة (الشكل، 23)، والتي فصلت بوضوح أصناف النكتارين عن الدراق عند مستوى 0.62 وبدرجة موثوقية 100% باستثناء الصنف نكتاروز الذي جاء مع صنف الدراق بونتينيا.



الشكل (23): مخطط التحليل العنقودي بين أصناف الدراق والنكتارين الناتج عن الصفات الشكلية والمعلومات الجزيئية SSR، بحسب طريقة Ward وبالاغتماد على معامل Dice.

من أجل الاستفادة وسهولة التعامل مع العديد من المجموعات البيئية المتنوعة من الأصناف والطرز الوراثية المدروسة من المهم جداً معرفة ودراسة هيكلية التنوع من خلال تحديد البنية الشكلية والوراثية الجزيئية لديها. في الدراسة الحالية أثبتت أن أصناف الدراق والنكتارين كانت ذات تباين وراثي منخفض، لذا تم تقسيمها من خلال دراسة مواصفاتها الشكلية إلى ثلاث مجموعات، وإلى مجموعتين من خلال دراسة المؤشرات الجزيئية SSR لديها. من خلال متابعة توزيع الأصناف ضمن كافة المجموعات الناتجة تم تحديد أربعة مجموعات (الجدول، 45)، الأصناف المجتمعة في كل مجموعة منها تشابهت في ما بينها وبشكل كبير شكلياً وجزيئياً.

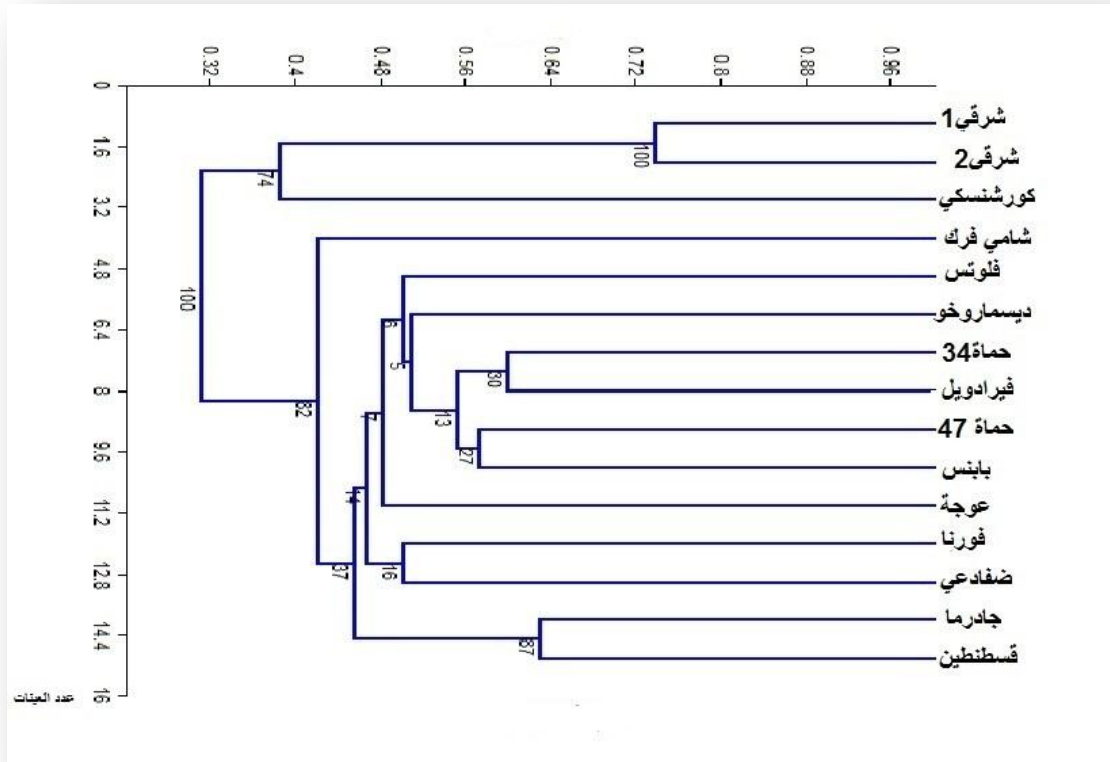


الجدول (45): مجموعات أصناف الدراق والنكتارين التي أظهرت أعلى درجة تشابه على المستويين الشكلي والجزئي

SSR		المجموعات (clusters)	
B	A		
—	جيويا، وينبرجر	A	التحليل الشكلي
نكتاروز، بونتينا	فلافور توب، كالديسي 2000، فينوس	B	
لاور - ماي كريست - دوميسيانا - روم ستار - فيلا أدريانا	—	C	

و بمقارنة مصفوفتي التشابه الوراثي للبيانات الشكلية والجزئية بين أصناف وطرز اللوز المدروسة تم حساب معامل الارتباط Mantel (1967). و كانت قيمة معامل الارتباط ($r=0.50$) وهذا يدل على درجة توافق ضعيفة بينهما.

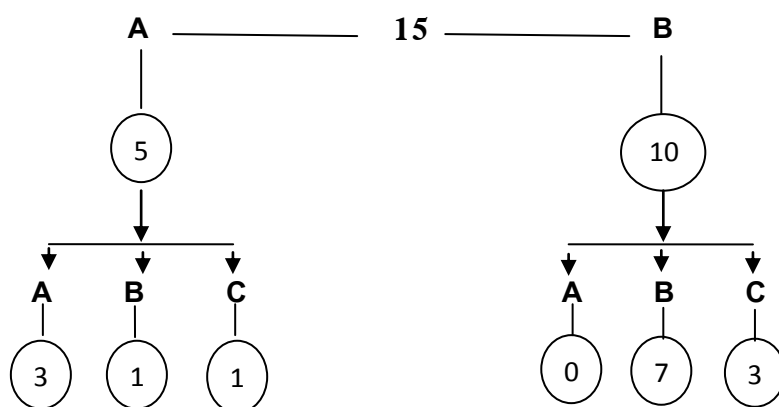
وفق الموصفات الشكلية اجتمعت أصناف وطرز اللوز ضمن مجموعتين ضمت المجموعة الأولى الطرز البرية والصنفين عوجة وشامي فرك بينما تجمعت باقي الأصناف المزروعة في المجموعة الثانية بينما استطاع التحليل العنقودي الناتج عن تقنية SSR فصل الأصول الوراثية ضمن مجموعة منفصلة وأصناف اللوز المدروسة ضمن مجموعتين منفصلتين.



الشكل (24): مخطط التحليل العنقودي بين أصناف اللوز والأصول البرية الناتج عن الصفات الشكلية والمعطيات الجزيئية SSR ، بحسب طريقة Ward وبالاعتماد على معامل Dice.

ومن خلال دمج كل البيانات تم الحصول على شجرة القرابة الوراثية لأصناف وطرز اللوز (الشكل، 24)، والتي فصلت بوضوح أصناف اللوز المزروعة عن باقي الأصول البرية عند درجة موثوقية 74%.

أثبتت الدراسة الحالية أن أصناف وأصول اللوز المدروسة كانت ذات تباين وراثي عال، لذا تم تقسيمها من خلال دراسة مواصفاتها الشكلية إلى مجموعتين، وإلى ثلاثة مجموعات من خلال دراسة المؤشرات الجزيئية SSR لديها. من خلال متابعة توزع الأصناف ضمن كافة المجموعات الناتجة تم تحديد خمسة مجموعات (الجدول، 46)، الأصناف المجمعة في كل مجموعة منها تشابهت في ما بينها وبشكل كبير شكلياً وجزيئياً.



الجدول (46): مجموعات أصناف وأصول اللوز المدروسة والتي أظهرت أعلى درجة تشابه على المستويين الشكلي والجزئي

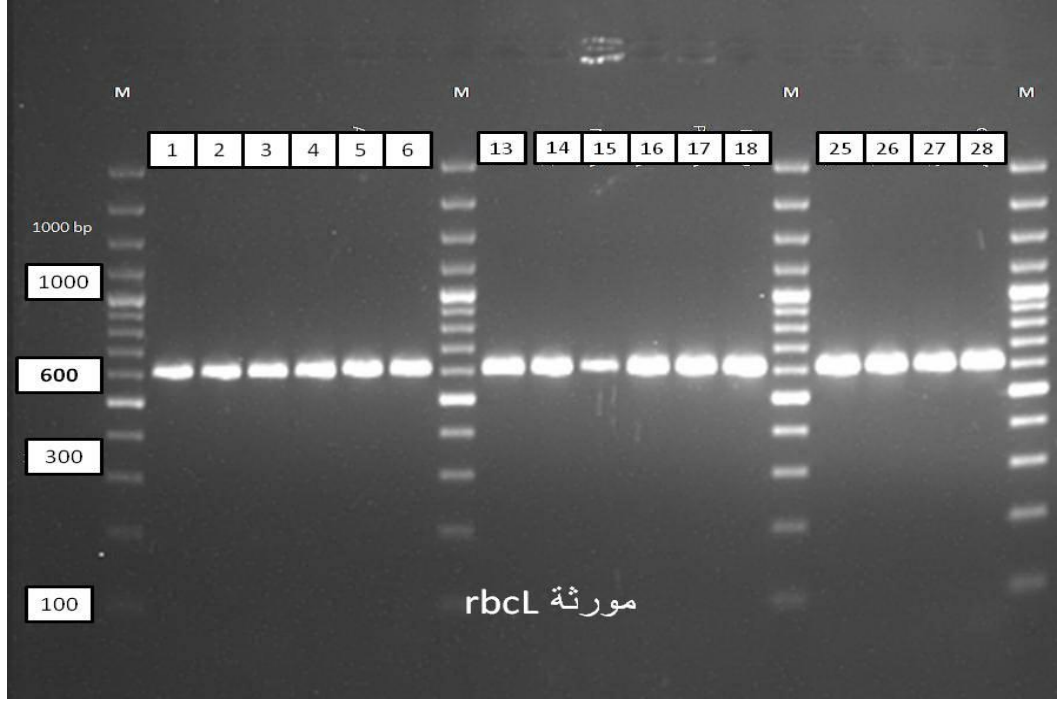
المجموعات (clusters)		التحليل الشكلي	
		B	A
SSR	A	شرقي 1، شرقي 2، كورشنسكي	
	B	قسطنطين، جادرم، حماة 47، بابنس، فيرادويل، حماة 34، فلوتس	
	C	ضفادعي، فورنا، ديسماروخو	

هذه المجموعات من الأصناف والأصول من الممكن الاستفادة منها واستخدامها، مع الأخذ بالحسبان علاقات الارتباط والتباين فيما بينها، من أجل اختيار المادة وراثية لاستخدامها في برامج التربية أو في الأبحاث المتعلقة بتحديد أو عزل مورثات مسؤولة عن صفات مهمة مرغوبة.

5- الكشف عن التغيرات النيكلوتيدية باستخدام تقنية EcoTILLING:

5-1- الكشف عن منتجات التضخيم والقطع باستخدام تقنية EcoTILLING في مورثة *rbcl*:

أعطى زوج المرئسات المستخدم في الكشف عن مورثة *rbcl* منتجات تضخيم بطول 600 زوج قاعدي في كافة العينات المدروسة الشكل (25).

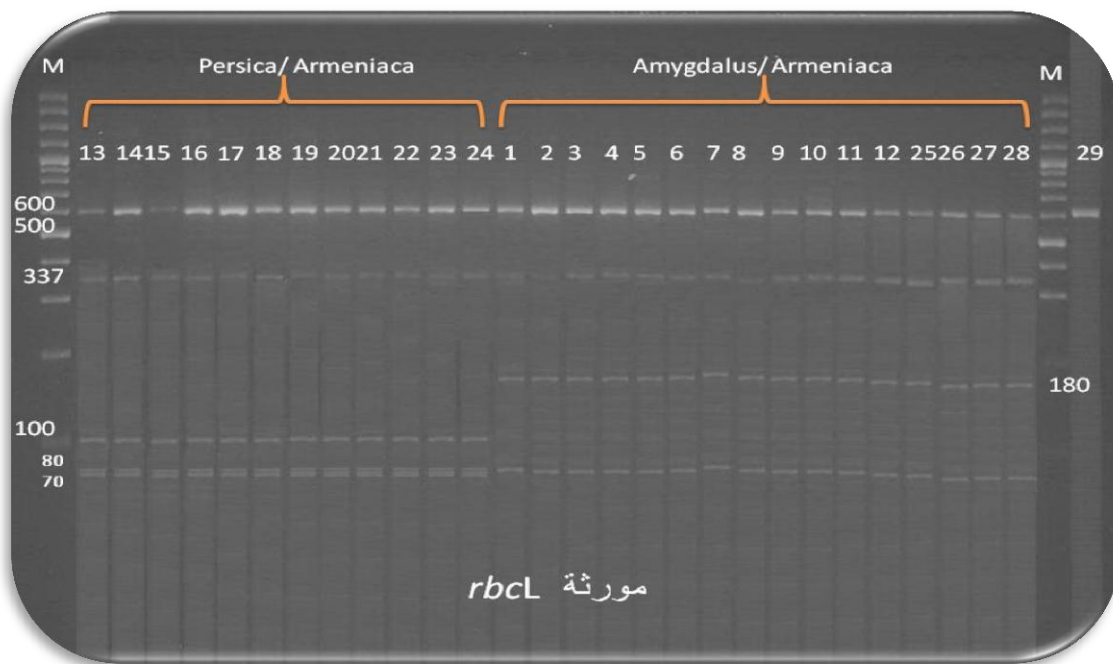


الشكل (25): بعض نتائج تضخيم مورثة *rbcl* بين عينات اللوز والدراق المدروسة بطول 600bp. حيث 1-6: أصناف اللوز، 13-18: أصناف الدراق وفق التسلسل المذكور سابقاً في الدراسة، 25-28: الأصول المدروسة، M: معلم قياسي 100bp.

وعند تطبيق تقنية Ecotilling وتحميل نواتج هضم الدنا بأنزيم CEL1 على هلامة الميتافور أغاروز، تم الكشف عن أربعة من القطع المهضومة في مجموعة عينات (شمش/دراق) المدروسة وثلاثة من القطع في عينات مجموعة (شمش/لوز) إضافة إلى القطعة الأصلية غير المهضومة (600 bp)، حيث أن القطعة الأولى عند كلا المجموعتين والتي قدر طولها بـ 12bp وهي ناتجة عن القطع عند الموقع 12bp نتيجة إدخال (insertion) النيكلوتيد T، لم تظهر إما لأنها قطعة صغيرة لم تفصل على الهلامة أو أن أنزيم القطع CEL1 لم يتعرف عليها كونها في بداية القطعة المضخمة وبطول صغير وهذا يفسر بأن أنزيم CEL1 لم يتمكن

من تمييز كل مواقع عدم التطابق. إن مثل هذه الحالات في عدم مقدرة أنزيم CEL1 بالقطع في كافة المواقع غير المتطابقة لوحظت في دراسات Raghavan رفاقه (2007) وChen ورفاقه (2011).

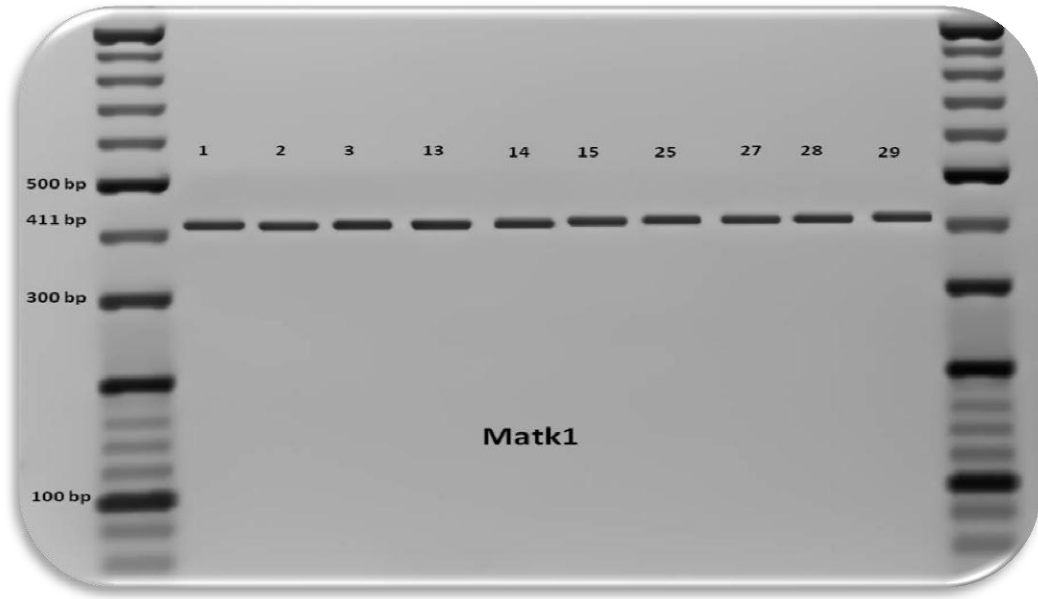
أما القطع عند مجموعة (مشمش/ دراق) وهي (bp100،337،80،70) فكانت ناتجة عن القطع عند الموقع 83، 420 والموقع 500 أما عند المجموعة الثانية (مشمش/ لوز) فكانت القطع (70، 180، 337 bp) ناتجة عن القطع عند المواقع 83 و 420 bp.



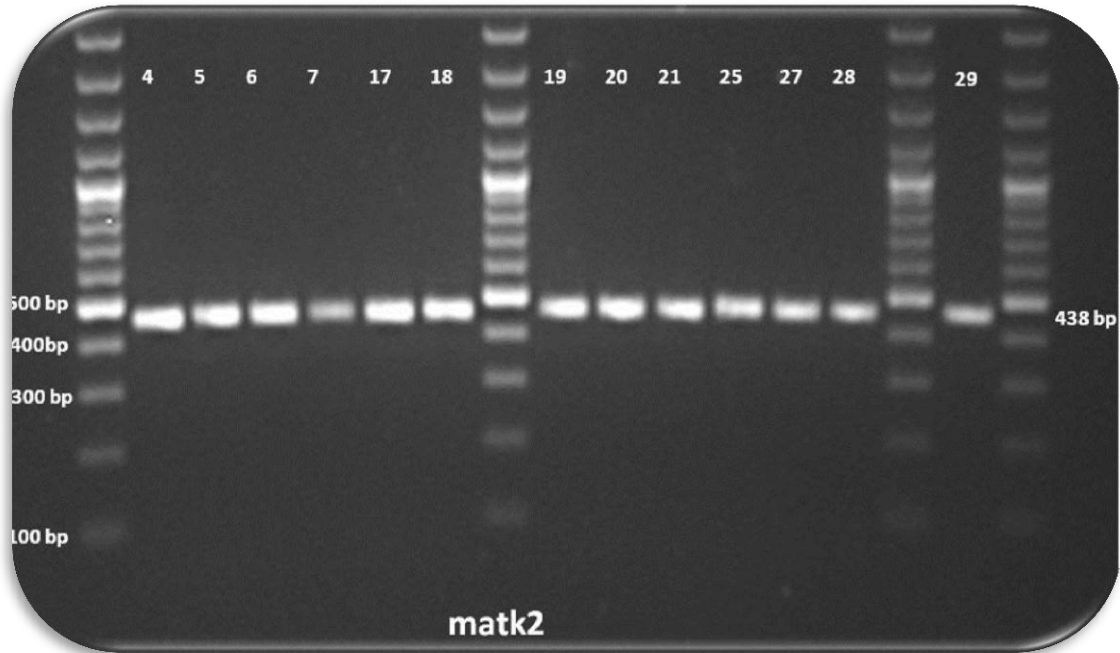
الشكل (26): نواتج هضم أنزيم CEL1 في تسلسلات مورثة الـ *rbcL* في العينات المدروسة: حيث الأرقام 13-24: تمثل مجموعة مشمش/دراق بمنتجات قطع (80، 70، 337، 100 bp) والأرقام 1-12 و 25، 26، 27، 28 تمثل مجموعة مشمش/لوز بمنتجات قطع (337، 180، 70 bp)، M: معلم قياسي 100 bp.

5-2- الكشف عن منتجات التضخيم والقطع باستخدام تقنية EcoTILLING في مورثة *matK*:

أعطى زوجي المرئسات المستخدم في الكشف عن مورثة *matK* نواتج تضخيم بطول 411 bp للقطعة الأولى و 438 bp للقطعة الثانية في كافة العينات المدروسة (الأشكال، 27، 28)



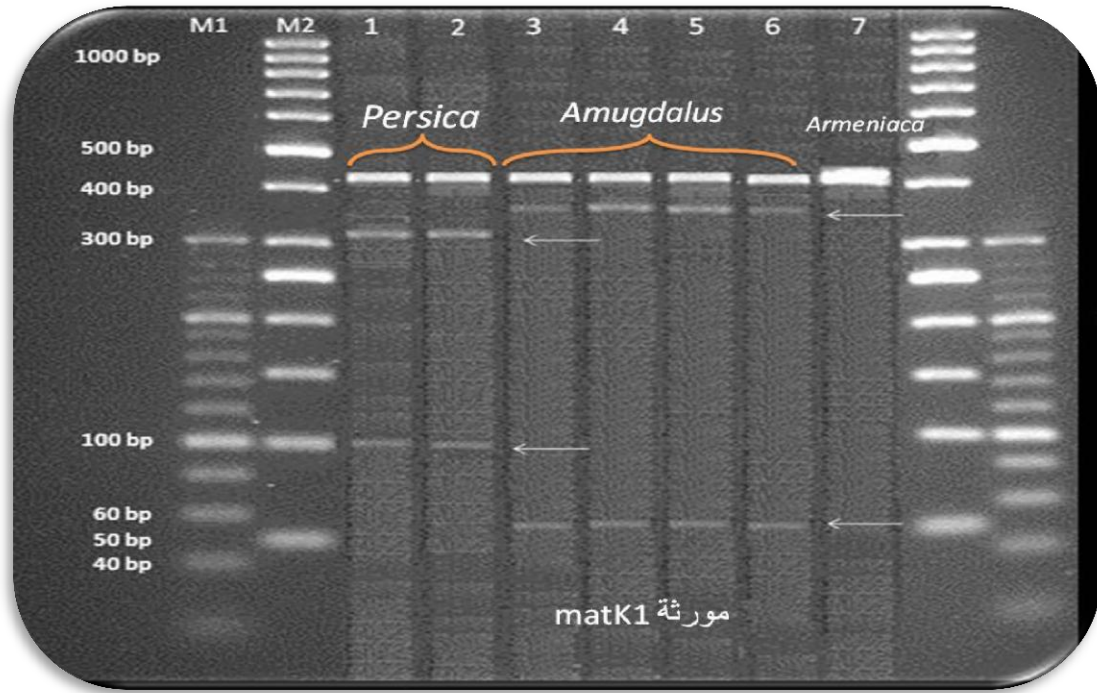
الشكل (27): بعض نتائج تضخيم جزء المورثة *matK-1* (bp411) بين بعض عينات اللوز والدراق والأصول المدروسة: حيث 3-1 أصناف اللوز، 15-13 أصناف الدراق، 29-25: الأصول المدروسة، M: معلم قياسي bp100.



الشكل (28): بعض نتائج تضخيم جزء المورثة *matK-2* (bp438) بين بعض عينات اللوز والدراق والأصول المدروسة: حيث 7-4 أصناف اللوز، 21-17 أصناف الدراق، 29-25: الأصول المدروسة، M: معلم قياسي bp100.

وعند تطبيق تقنية EcoTILLING على جزء المورثة الأول matK1 (bp411) وتحميل نواتج الهضم بأنزيم CEL1 على هلامة الميثافور أغاروز المصبوغة بالايثيديوم برومايد نجد ظهور قطعتين مهضومتين في عينات مجموعة (مشمش/ دراق) بالإضافة إلى القطعة الأصلية (bp411) وهما القطعتان 100 و bp311 وهي ناتجة عن الـ SNP والقطع في الموقع bp100 وقطعتين مهضومتين في عينات مجموعة (مشمش/لوز) وهي بطول حوالي pb50 (وهي ناتجة عن القطع بين موقعي الإدخال 42 و bp55) و bp360 إضافة إلى القطعة الأصلية غير المهضومة في عينات المجموعتين المدروستين وكما هو متوقع إن مجموع حجم القطع يعادل الحجم الكامل للمورثة المضخمة (هي الطول الأصلي للمورثة 411 bp) (الشكل، 29).

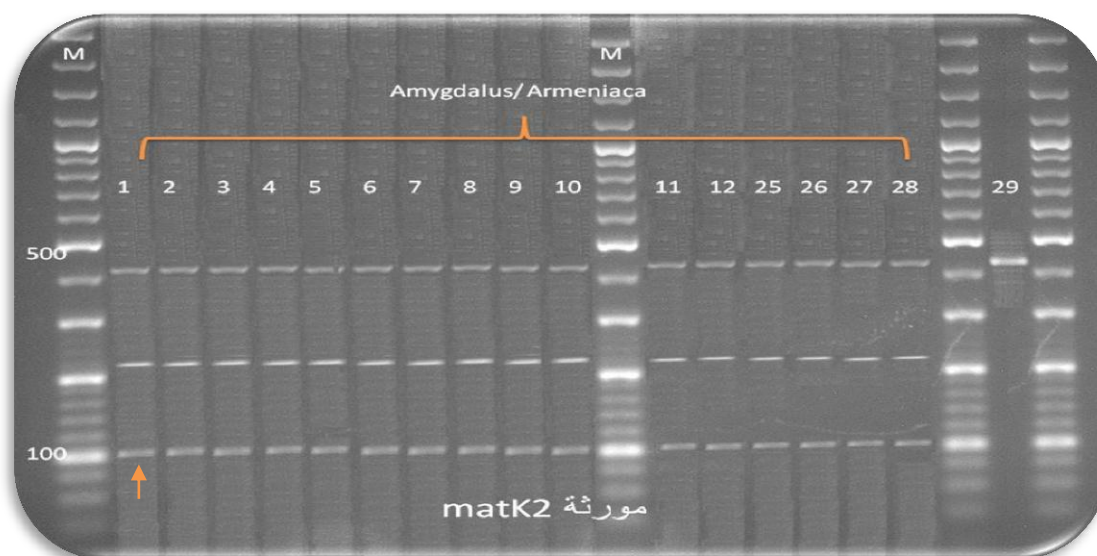
لدى مطابقة أنماط الحزم الناتجة على هلامة الأغاروز مع التسلسلات النيكلوتيديّة الناتجة عن عملية السلسلة نجد هناك تطابق كامل في حالة عينات مجموعة (مشمش/ دراق) أما في حالة عينات مجموعة (مشمش/ لوز) نجد اختلافاً بين أنماط الحزم الناتجة على هلامة الأغاروز وبين التغيرات بين التسلسلات الناتجة عن عملية السلسلة حيث أعطت نتائج السلسلة إدخالين هما (C- و A-) في الموقعين 40 و bp 55 ونظرياً هذا يعني ظهور ثلاثة قطع من الدنا المهضومة على هلامة الأغاروز وهي 15 و 40 و bp356 بالإضافة إلى القطعة الأصلية bp411 إلا أنه عملياً نجد ظهور قطعتين بحجم 360 و bp 50



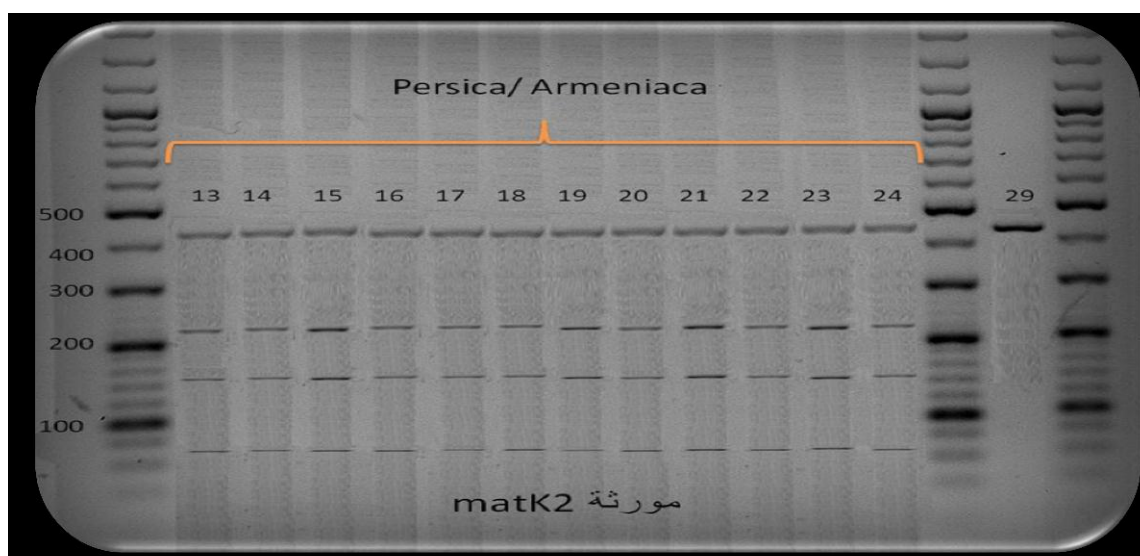
الشكل (29): نواتج هضم أنزيم CEL1 في تسلسلات مورثة الـ *matK-1* في العينات المدروسة: حيث الأرقام 1-2: تمثل مجموعة مشمش/دراق بمنتجات قطع (bp311،100) والأرقام 3-6 تمثل مجموعة مشمش/لوز بمنتجات قطع (bp365 و 40)، M: معلم قياسي bp100.

أما جزء المورثة *matK-2* (bp 438) ظهرت ثلاثة قطع مهضومة في كل من المجموعتين (مشمش/لوز) و (مشمش/دراق) إضافة إلى القطعة الأصلية غير المهضومة. حيث نجد في مجموعة (مشمش/دراق) القطع الثلاث بأطوال 59،154،225 bp ناتجة عن التغيرات والقطع في المواقع (bp225،379) أما في المجموعة الثانية (مشمش/لوز) نجد القطع بطول 93 و 106 و 225 bp ناتجة عن التغيرات والقطع في المواقع (332، 225، 318) إن القطعتين 93 و 106 ظهرتتا كأنهما قطعة واحدة عريضة كما أن القطعة بطول 14 bp (ناتجة عن القطع بين الموقعين 332 و 318) لم تظهر نتيجة تقارب موقعي الـ SNP على سلسلتي الدنا (الشكل 30،31) فلم يستطع أنزيم الـ CEL1 التعرف على موقع التغير الثاني، في الواقع إن قدرة أنزيم CEL1 على القطع في مواقع عدم التطابق بين سلسلتي الدنا المتغيرة تعتمد على العديد من العوامل إذ تنخفض فعالية أنزيم القطع بنسبة 20% في حال كانت مواقع عدم التطابق قريبة جداً من بعضها البعض وهذا ما يطابق الحالة المذكورة آنفاً في الدراسة الحالية (بين الموقعين 318 و 332 bp) (Till et al., 2004). وربما يعود السبب إلى أن مقدرة هلامة

الميتافور أغاروز على فصل القطع الصغيرة المهضومة تعد منخفضة وهناك طرائق أخرى أفضل للفصل في بعض الحالات (Raghavan *et al.*, 2007).



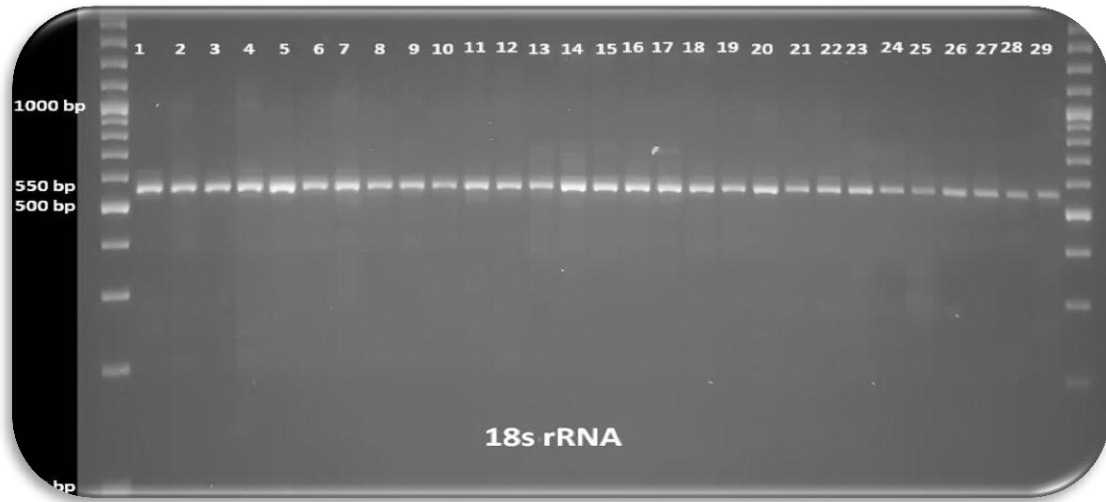
الشكل (30): نواتج هضم أنزيم CEL1 في تسلسلات مورثة الـ *matK-2* في عينات اللوز والأصول المدروسة: وهي تمثل مجموعة مشمش/لوز بمنتجات قطع (93 و 225 و 106 bp) ويشير السهم إلى تواجد الحزمتين معاً (93، 106 bp)، M: معلم قياسي 100 bp.



الشكل (31): نواتج هضم أنزيم CEL1 في تسلسلات مورثة الـ *matK-2* في عينات الدراق المدروسة: وهي تمثل مجموعة مشمش/دراق بمنتجات قطع (59 و 225 و 154 bp)، M: معلم قياسي 100 bp.

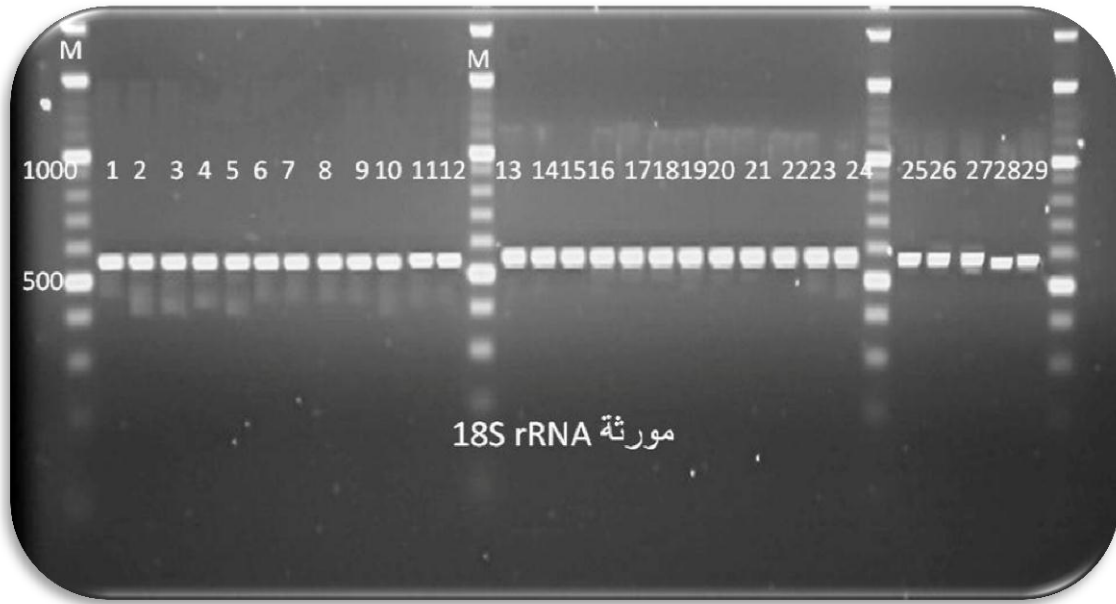
5-3 - الكشف عن منتجات التضخيم والقطع باستخدام تقنية EcoTILLING في مورثة 18S rRNA:

أعطى زوجي المرئسات المستخدم في الكشف عن مورثة 18S rRNA نواتج تضخيم بطول 555 bp في كافة العينات المدروسة الشكل (32)



الشكل (32): نتائج تضخيم مورثة 18S rRNA بين عينات اللوز والدراق المدروسة بطول 555 bp.

وعند تطبيق تقنية Ecotilling وتحميل نواتج هضم الدنا بأنزيم CEL1 على هلامية الميثافور أغاروز، تم الكشف عن حزمة واحدة فقط بطول 555 bp وهو طول المورثة الاصلي غير المهضومة مما يدل على عدم وجود أي تغيرات بين العينات المدروسة وبالتالي تطابق كامل بين تسلسلات عينات دنا الاجناس المدروسة الشكل (33).



الشكل (33): نواتج هضم أنزيم CEL1 في تسلسلات جزء المورثة 18S rRNA في العينات المدروسة حيث من 1-12: أصناف اللوز، 13-24: أصناف الدراق، 25-29: الأصول المدروسة، M: معلم قياسي bp100.

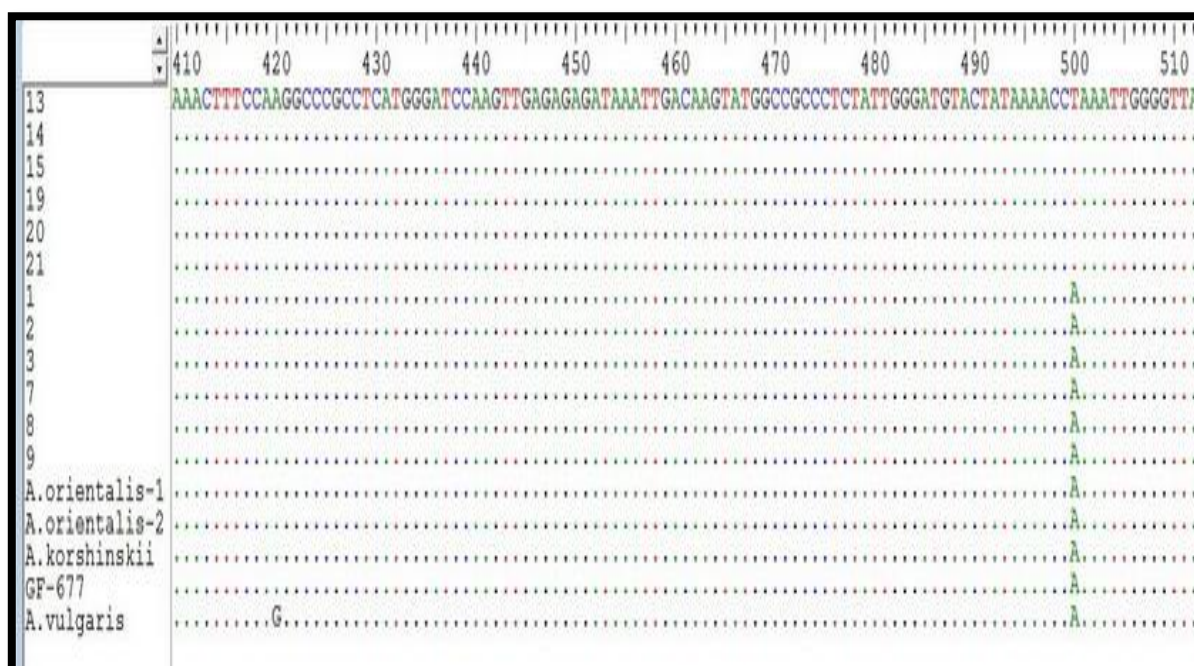
4-5- التغيرات النيكلوتيدي ضمن مورثة *rbcl*:

تمت مقارنة ما مجموعه 557 زوج قاعدي من أصل 600 زوج قاعدي تم تضخيمه من مورثة *rbcl* من العينات التسعة وعشرين المدروسة باستخدام برنامج BLASTn وقد أثبتت التسلسلات الناتجة التطابق بنسبة 100% مع الدراق *Prunus persica* voucher SBB- (Accession JN114836.1) 1089 واللوز *Prunus dulcis* isolate 073 (Accession HQ235358.1) لتسلسلات الدراق واللوز على التوالي ومع النوع *Prunus armeniaca* isolate 415 (HQ235390.1).

احتوت منطقة مورثة الـ *rbcl* المدروسة على ثلاثة تغيرات نيكلوتيدية منها تحولين (transition) في موقع النيكلوتيد 83 و 420 وتغير واحد من نوع ابدال (transversion) في موقع النيكلوتيد 500 وكان هناك تغير من نمط إدخال (insertion) لنيكلوتيد واحد في موقع النيكلوتيد 12 بين كل من الدراق واللوز مقارنة بالمشمش المرجع (الجدول، 47، الشكل 34).

الجدول (47): التغيرات النيكلوتيدية الموجودة ضمن المورثة *rbcl* بين الأجناس المدروسة

النمط	موقع الـ SNP bp	النيكلوتيد المتغير	طبيعة التغير	موقع الإدخال bp	النيكلوتيد المدخل
مشمش/لوز	83 420	T/C G/A	Ts Ts	12	-/T
مشمش/دراق	83 420 500	T/C G/A A/T	Ts Ts Tv	12	-/T



الشكل (34): نماذج التغيرات النيكلوتيدية ضمن مورثة *rbcl* بين تسلسلات عينات الدراسة: حيث أن التغيرات (G/A) (مشمش/لوز ودراق) عند الموقع bp420 ومشمش،لوز/دراق (A/T) عند الموقع bp500 باستخدام برنامج Bio Edit.

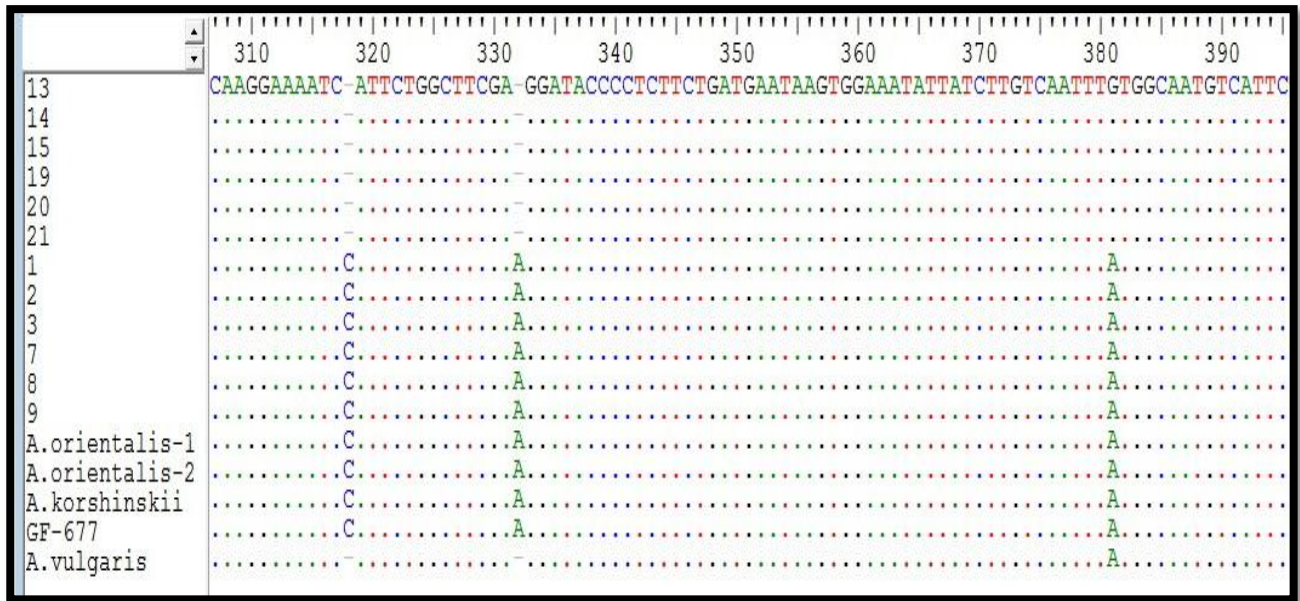
5-5- التغيرات النيكلوتيدي ضمن مورثة *matK*:

تمت مقارنة ما مجموعه 686 زوج قاعدي من أصل 849 زوج قاعدي تم تضخيمها من مورثة *matK* من الأجناس الثلاث باستخدام برنامج BLASTn وقد أثبتت التسلسلات الناتجة التطابق بنسبة 99% مع الدراق (*Prunus persica* isolate SCB 312 Accession KP093794.1) واللوز (*Prunus dulcis* isolate 073 Accession HQ235076.1) والمشمش (*Prunus armeniaca* voucher 090614 Accession KP089842.1).

احتوت منطقة مورثة الـ *matK* المدروسة في مجموعة (مشمش/لوز) على تغيرات نيكلوتيدي من النوع transition (C/T) في موقع النيكلوتيد 225 وإدخالين (-/C, -/A) في الموقعين 318 و 332 وتغيرين نيكلوتيديين من النوع transition في مجموعة مشمش/دراق في الموقعين 225 و 379 (A/G و C/T على التوالي) (الجدول، 48، الأشكال 35، 36).

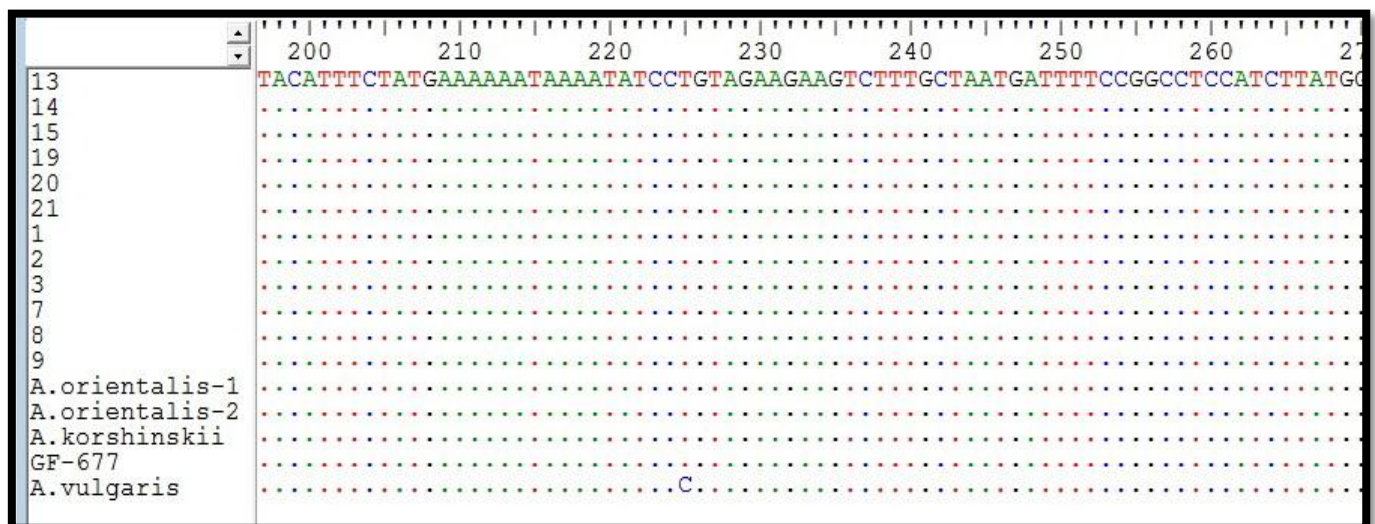
الجدول (48): التغيرات النيكلوتيدية الموجودة ضمن المورثة *matK* بين الأجناس المدروسة

النمط	موقع الـ SNP bp	النيكلوتيد المتغير	طبيعة التغيرات	موقع الإدخال bp	النيكلوتيد المدخل
مشمش/لوز	225	C/T	Ts	318	-/C
				332	-/A
مشمش/دراق	225	C/T	Ts	-	-
	379	A/G	Ts		



الشكل (35): نماذج التغيرات النيكلوتيديّة ضمن مورثة *matK-1* بين تسلسلات عينات الدراسة مشمش ودراق/ لوز (C/-) عند الموقع bp318 ومشمش ودراق/ لوز (A/-) عند الموقع bp332 و تغاير بين مشمش ولوز/ دراق (A/G) عند الموقع

379 باستخدام برنامج Bio Edit



الشكل (36): نماذج التغيرات النيكلوتيديّة ضمن مورثة *matK-2* بين تسلسلات عينات الدراسة مشمش/ دراق ولوز (C/T) عند

الموقع bp 225 باستخدام برنامج Bio Edit

5-6- التغيرات النيكلوتيدية ضمن مورثة 18S rRNA:

تمت مقارنة ما مجموعه 498 من أصل 555 زوج قاعدي من مورثة 18S rRNA بين الأجناس الثلاث باستخدام برنامج BLASTn وقد أثبتت التسلسلات الناتجة التطابق بنسبة 100% مع النوع (*Prunus persica* cultivar Sunfre (Accession AY179547.1) والنوع (*Prunus dulcis* (Accession DQ883676.1).

لم يلاحظ أي نوع من أنواع التغيرات النيكلوتيدية في منطقة مورثة الـ 18S rRNA المدروسة.

5-7- التغيرات النيكلوتيدية ضمن المورثات المدروسة بين الدراق واللوز:

من مطابقة التسلسلات الناتجة ظهرت عدة تغيرات نيكلوتيدية في المورثات المدروسة بين عينات اللوز والدراق المدروسة والمشمش المرجع إذ أن وجود الطفرة سواء كانت إدخال لنيكلوتيد واحد مقابل حذف في الدنا المرجع (المشمش) أو تغير نيكلوتيدي (transition, transversion) بين أحدهما والدنا المرجع فهي حتماً تغير بينهما (*Persica, Amygdalus*). وبالتالي نجد أنه بين الأنواع المدروسة كان هناك تغيرين أحدهما transition والآخر transversion وتغيرين من نوع إدخال (insertion) (الجدول، 49).

بلغت نسبة Ts:Tv بالنسبة لتسلسلات المورثات جميعها 4:1، بينما كانت هذه النسبة في بعض الأنواع النباتية مثل الذرة والفصاة والقمح والشعير واللوتس 3.9، 3.6، 1.9، 1.6 و 2.5 على التوالي (Vitte and Bennetzen, 2006). في الدراسة الحالية كان عدد التغيرات من النوع transition هو الأكثر تكرارية من النوع transversion وتعد هذه الأخيرة هي النمط الأكثر موثوقية في بناء علاقات النشوء والتطور إذ أنها تعكس عمق الاختلافات في القطاعات المحددة للعلاقات التصنيفية (Quicke, 1993).

الجدول (49): التغيرات النيكلوتيدية الموجودة بين تسلسلات المورثات المدروسة بين جنسي اللوز والدراق

المورثة	موقع الـ SNP bp	النيكلوتيد المتغير	طبيعة التغيرات	موقع الإدخال bp	النيكلوتيد المدخل
<i>rbcL</i>	500	A/T	Tv	318	-/C
<i>matK</i>	379	A/G	Ts	332	-/A
18S rRNA	-	-	-	-	-

8-5- معدل التباعد بين أزواج التسلسلات بين الأنواع المدروسة Two parameter distance:

كانت أطول المورثات المدروسة مورثة الـ *matK* وبطول إجمالي للجزيئين المضامين bp686 أما المورثة الأقصر فهي مورثة 18S rRNA (bp555) والأكثر ثباتية والأقل تغيراً بين المورثات المدروسة.

بلغ الطول الكلي للتسلسلات المدروسة 1841 نيكلويتيد وبالمقارنة بين الأنواع المدروسة تراوح البعد بين أزواج التسلسلات (two parameter distance) (Kimura,1980) من 0.072 بين *Armenica* و *Fragaria* إلى 0.001 بين *Persica* و *Amygdalus* بينما كانت ضمن بيانات الدراسة الحالية أعلى قيمة تباعد بين المشمش والدراق 0.003 بالمقارنة مع اللوز حيث كانت 0.002 وهذا ما أكدته نتائج تقنية SSR في الدراسة الحالية. توافقت نتائج الدراسة الحالية مع نتائج Lee و Wen (2001) حيث تراوحت قيم Kimura في دراستهم من 0.00149 إلى 0.08596 بين أنواع الجنس *Prunus* s.l. (الجدول، 50).

الجدول(50): معدل التباعد بين أزواج تسلسلات المورثات المدروسة بين أنواع الدراسة وأنواع العائلة الوردية

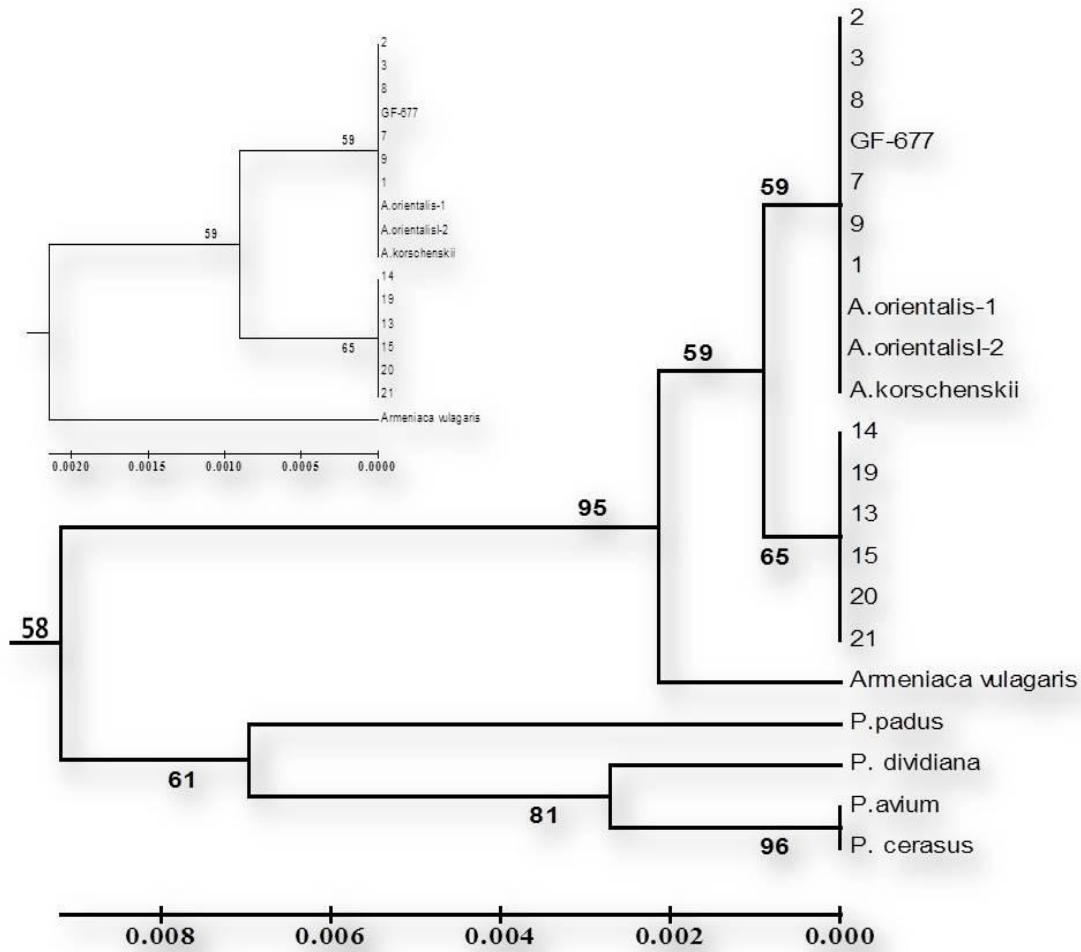
M. domestica	P. communis	Rosa.sp	Fragaria.sp	Rubus.sp	P.cerasus	P.avium	P.padus	P.dividiana	A.vulgaris	GF-677	A.korschiskii	A.orientalis	A. dulcis	P.vulgaris	
															P.vulgaris
														0.001	A. dulcis
													0.000	0.001	A.orientalis
												0.000	0.000	0.001	A.korschiskii
											0.000	0.000	0.000	0.001	GF-677
										0.002	0.002	0.002	0.002	0.003	A.vulgaris
									0.011	0.010	0.010	0.010	0.010	0.008	P.dividiana
								0.013	0.022	0.021	0.021	0.021	0.021	0.020	P.padus
							0.010	0.007	0.016	0.015	0.015	0.015	0.015	0.015	P.avium
						0.001	0.010	0.007	0.016	0.015	0.015	0.015	0.015	0.015	P.cerasus
					0.053	0.053	0.055	0.056	0.063	0.062	0.062	0.062	0.062	0.061	Rubus.sp
				0.028	0.064	0.064	0.066	0.065	0.072	0.071	0.071	0.071	0.071	0.069	Fragaria.sp
			0.023	0.022	0.057	0.057	0.059	0.056	0.063	0.062	0.062	0.062	0.062	0.061	Rosa.sp
		0.058	0.066	0.057	0.035	0.035	0.036	0.031	0.031	0.032	0.032	0.032	0.032	0.032	P. communis
	0.005	0.059	0.067	0.057	0.034	0.034	0.035	0.031	0.031	0.032	0.032	0.032	0.032	0.032	M. domestica

6- العلاقات التطورية بين الأجناس المدروسة بالاعتماد على المورثات المدروسة:

6-1- شجرة العلاقات التصنيفية والتطورية الناتجة عن تسلسلات مورثة *rbcL* :

تجمعت كل الأنواع المدروسة تحت قطاع واحد (paraphyletic) بقيمة موثوقية عالية 95% انفصل القطاع إلى مجموعتين الأولى انفصلت إلى تحت مجموعتين (الشكل، 37)، تجمعت تحت المجموعة الأولى كل أنواع اللوز التابعة للنوع *A. dulcis* والأنواع الأخرى *A. orientalis* و النوع *A. Korscinskii* والأصل GF677 (بدرجة موثوقية 59%) وضمت تحت المجموعة الثانية أصناف *Persica vulgaris* (65%) بينما جاء المشمش *Armeniaca* في المجموعة الثانية مرتبطاً معهما على درجة موثوقية 59 % بينما تجمعت الأنواع الأخرى التي تتبع الجنس *Prunus* (*P. davidiana* و *P. avium* و *P. padus*) تحت قطاع .monophyletic.

شكلت كل الأنواع المدروسة والأنواع التي تتبع الجنس *Prunus* قطاعاً واحداً (paraphyletic) بموثوقية 58% انقسم إلى تحت قطاعين.



الشكل (37): شجرة العلاقات التطورية بين الأنواع المدروسة باستخدام تسلسلات مورثة *rbcl* بالاعتماد على طريقة Maximum Composite Likelihood

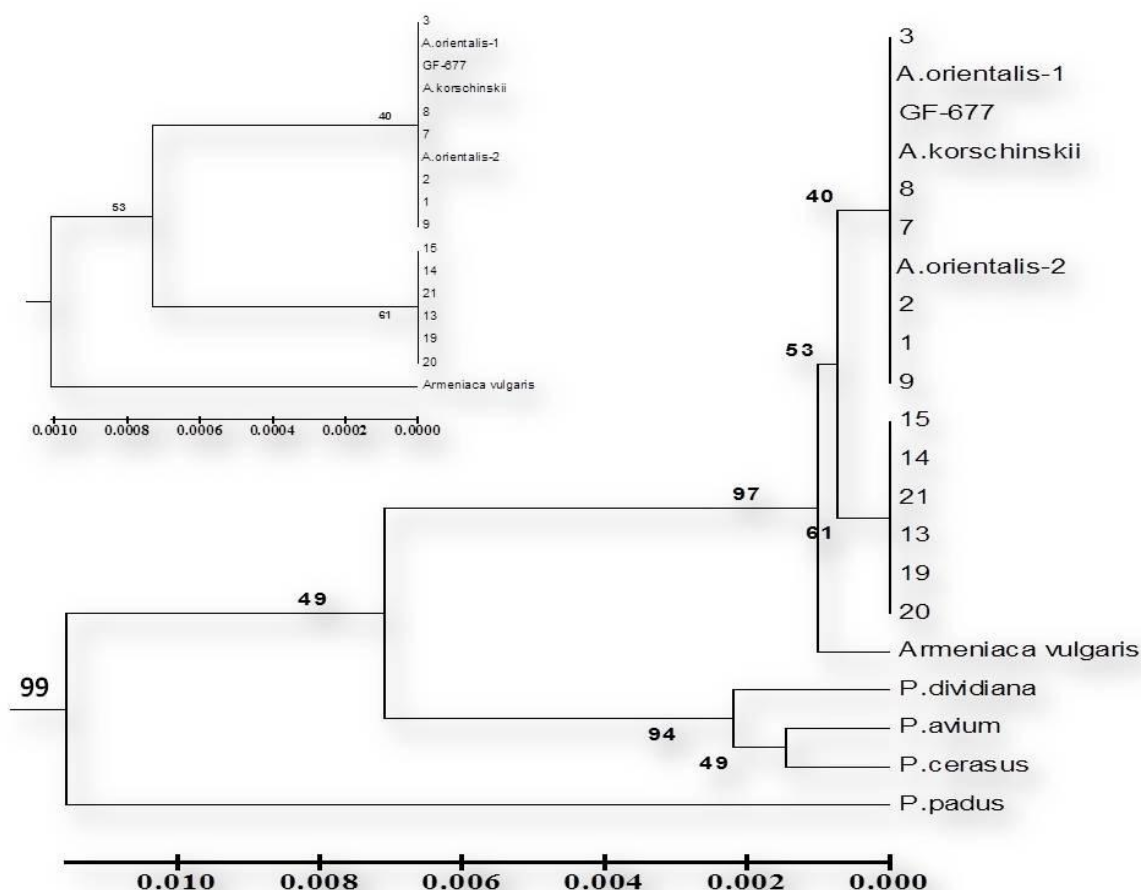
2-6- شجرة العلاقات التطورية الناتجة عن تسلسلات مورثة *matK*:

انقسمت كل العينات المدروسة إضافة إلى الأنواع التي تتبع الجنس *Prunus* إلى قطاعين ضم القطاع الأول مجموعتين رئيسيتين عند درجة موثوقية عالية 97% شملت المجموعة الأولى كل أنواع اللوز والدراق المدروسة ضمن تحت مجموعتين عند درجة موثوقية 53% ارتبط معهما المشمش *Armeniaca* تحت نفس القطاع مشكلاً المجموعة الثانية، وبالتالي شكلت العينات المدروسة قطاعاً paraphyletic (الشكل، 38)، نلاحظ أن الأصل GF677 قد جاء ضمن مجموعة أصناف اللوز وأصوله وذلك لأن مورثتي الصانعات *rbcl* و *matK* هي مورثات مورثة من الأم وهذا يُفسر بأن الأصل GF677 هو هجين بين اللوز كأم و *P. amygdalus* var Garfi والدراق كأب *P. persica* (L.) Batsch var Nemard.

بينما باقي أنواع الجنس *Prunus* شكلت قطاعاً آخر monophyletic) *P. avium*,
P. davidiana, *P. cerasus*) تحت درجة موثوقية عالية 94% وجاء تحت الجنس
P. padus منفرداً ومرتبباً مع القطاع السابق بدرجة موثوقية 49%.

شكلت كل الأنواع المدروسة والأنواع التي تتبع الجنس *Prunus* قطاعاً واحداً
 paraphyletic) بموثوقية 99%.

تطابقت شجرة *matK* في الدراسة الحالية مع نتائج بيانات مورثة *ndhF* عند Wen
 ورفاقه (2008) حيث توضع النوع *P. cerasus* كقطاع شقيق ضمن قطاع polyphyletic
 ضم مجموع كل من *Amygdalus* (*Persica*- *Amygdalus*) و *Armeniaca*.



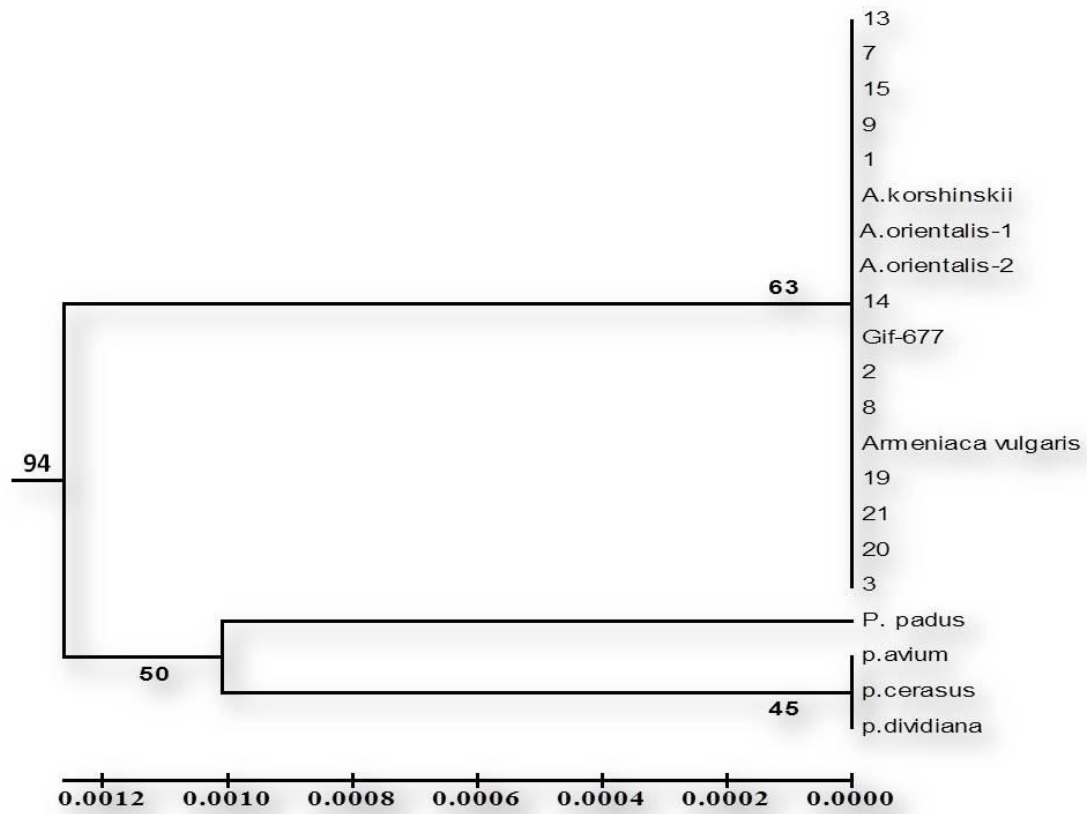
الشكل (38): شجرة العلاقات التطورية والتصنيفية بين الأنواع المدروسة باستخدام تسلسلات مورثة *matK*

بالاعتماد على طريقة Maximum Composite Likelihood

3-6- شجرة العلاقات التطورية الناتجة عن تسلسلات مورثة 18S rRNA:

في شجرة العلاقات التطورية الناتجة عن تسلسلات مورثة 18S rRNA اجتمعت كل الأنواع المدروسة تحت مجموعة واحدة متماثلة بدرجة موثوقية 63% (الشكل، 39) إن اجتماع كل الأنواع السابقة ضمن مجموعة واحدة بدرجة موثوقية منخفضة ممكن أن يرجح بسبب حدوث التهجين بين الأجداد لهذه الأنواع ولكن هذا لا يعط أية استنتاجات نهائية. بينما تجمعت الأنواع الأخرى *P. davidiana* ، *P. avium* و *P. cerasus* تحت مجموعة ثانية متماثلة أيضاً بدرجة موثوقية 45% وجاء النوع *P. padus* منفصلاً عن المجموعة الأولى بدرجة موثوقية 50%.

شكلت كل الأنواع المدروسة والأنواع التي تتبع الجنس *Prunus* قطاعاً واحداً (Paraphyletic) بموثوقية 94%.



الشكل (39): شجرة العلاقات التطورية بين الأنواع المدروسة باستخدام تسلسلات مورثة 18S rRNA

بالاعتماد على طريقة Maximum Composite Likelihood

إن بيانات هذه المورثة تقترح بأن كل من *Persica* و *Amygdalus* قد اختلطا معاً إذ أن التطور في بعض الصفات المحددة لكليهما يمكن أن تكون قد حدثت عدة مرات مما يقترح

توضعهما تحت تحت جنس واحد وهو تحت الجنس *Amygdalus* توافقت نتائج الدراسة الحالية مع نتائج المناطق الوراثية ITS و *ndhF* عند دراسة كل منهما بشكل منفصل (Wen *et al.*, 2004; Shaw and Small, 2008).

4-6- شجرة العلاقات التطورية الناتجة عن تسلسلات المورثات المدروسة:

إن دمج بيانات أجزاء تسلسلات المورثات يزيد من دقة دراسة النشوء والتطور (Joy and Conn, 2001) وبشكل خاص عندما يكون هناك اختلاف بين العقد التصنيفية والتي تبدي درجات موثوقية منخفضة في التحاليل المنفصلة لكل مورثة على حده (Krzywinski *et al.*, 2001) في بعض الحالات إن الجمع بين البيانات المتناقضة يعد ضرورياً للحصول على العلاقات التطورية الحقيقية (Yoder *et al.*, 2001).

بما أن القدرة التمييزية بالنسبة لمواقع الدنا تكون أفضل عند استخدام أكثر من مورثة واحدة لذا تم دمج أجزاء تسلسلات المورثات الثلاث المدروسة ضمن تحليل العلاقات التطورية والذي نتج عنه أن التمييز على مستوى الاجناس والأنواع كان واضحاً باستخدام طريقة Maximum Composite Likelihood إذ إن قيم المسافات بين الاجناس الصغرى كانت واضحة بشكل كبير عنه في المسافات ضمن الأنواع إذ تم تمييز الأنواع وتحت الاجناس بشكل واضح عند تشكيل قطاع واحد (monophyletic) أو (paraphyletic) مع قيم موثوقية عالية أكبر من 70% كما هو في العديد من الدراسات السابقة.

إن معظم التمييز الناتج في شجرة العلاقات التطورية الكلية (الشكل، 40) نتج عن مورثتي الصانعات المدروستين (*matK*, *rbcl*)، كما دعمت البيانات العلاقة الشقيقة بين تحت العائلات *Prunoideae* وتحت العائلتين الأخرين (*Rosoideae*, *Pomoideae*) وبالتالي انفصلت جميع الأنواع المدروسة والتابعة للجنس *Prunus* تحت العائلة *Prunoideae* وجاءت تحت العائلة *Pomoideae* ضمن قطاع شقيق ضم كل من الجنسين *Pyrus* و *Malus* تحت درجة موثوقية 100%، وهذا توافق مع دراسات Potter ورفاقه (2007) في دراسة العلاقات التطورية ضمن العائلة الوردية.

بالاعتماد على نتائج الدراسة الحالية وبالاعتماد على المعايير المعتمدة (ضمن مواد وطرائق البحث) تجمعت كافة الأنواع المدروسة وأنواع الجنس *Prunus* الأخرى ضمن قطاع واحد (paraphyletic) بدرجة موثوقية عالية (100%) (على مستوى جنس واحد) حيث تم التمييز بين تحت قطاعين (على مستوى تحت الأجناس) ضم القطاع الأول (paraphyletic) مجموعة (*Amygdalus, Persica, Armeniaca*) بدرجة موثوقية 99%، والقطاع الثاني (monophyletic) ضم مجموعة (*Padus, Davidiana, Cerasus*) بدرجة موثوقية 58%. توافقت النتائج مع نتيجة Lee و Wen (2001) حيث انقسم الجنس *Prunus* الى تحت قطاعين: الأول ضم مجموعة *Prunus* و *Amygdalus* والثانية *Cerasus-Laurcerasus* وهو يماثل التصنيف القديم من قبل Rehder (1940).

نلاحظ أن الجنس *Prunus* sl قد شكل قطاع (paraphyletic) بدرجة موثوقية عالية 100% إن النقص في الانسجام بين القطاعات في العلاقات التطورية لكل من المورثات المدروسة على حدة ضمن حدود الأجناس الضيقة مثل *Prunus* s.s, *Amygdalus*, *Cerasus*, *Padus* تدعم فكرة استخدام المفهوم العام لجنس *Prunus* الواسع.

تدعم نتائج الدراسة الجزيئية الحالية ما أشار إليه Kalkman (1965) بأن تحت الأجناس في الجنس *Prunus* ليست ذات حدود واضحة شكلياً، كما لاحظ Watkins (1995) حدوث التهجين بشكل واسع وشائع ضمن الجنس *Prunus* حتى بين تحت الأجناس التقليدية.

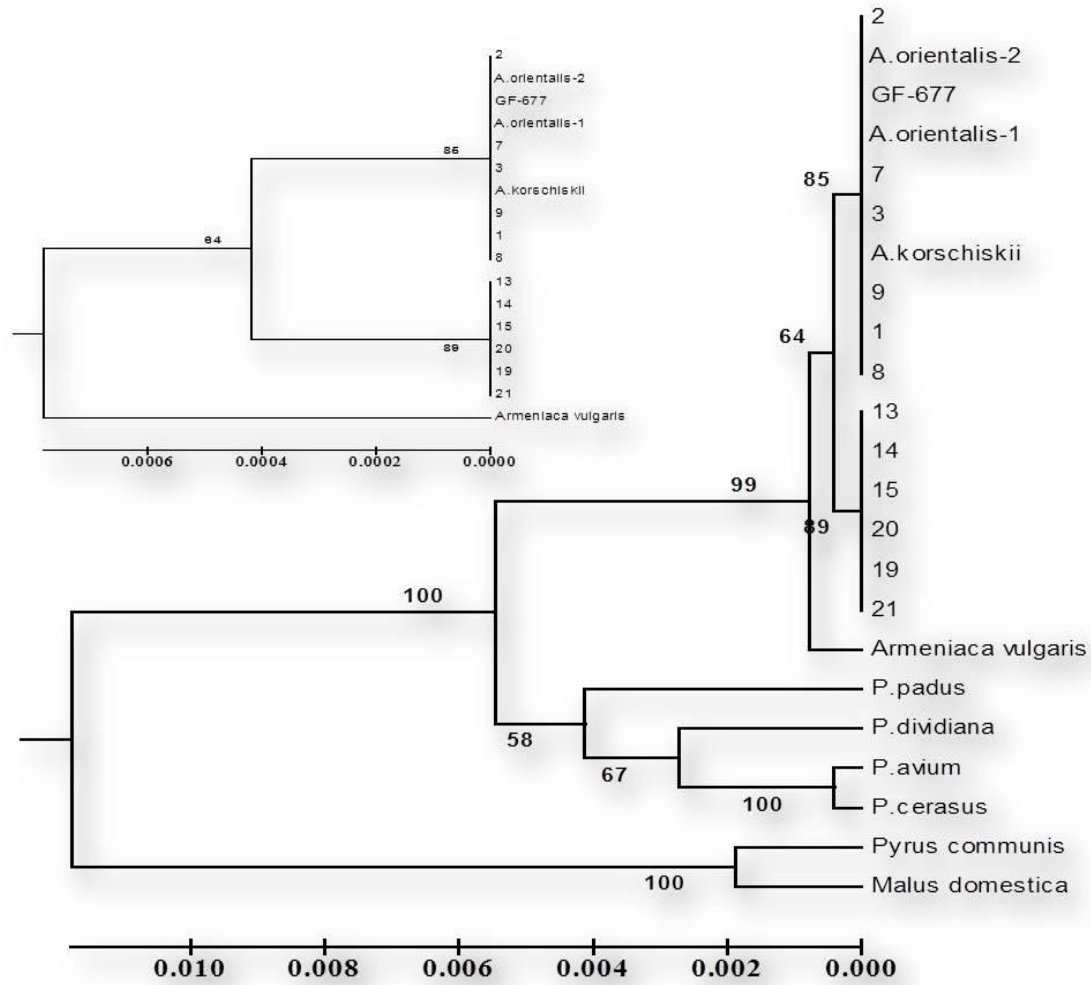
تتصف مجموعة *Prunus/ Amygdalus* بالعلاقات التطورية القريبة من بعضها بعضاً إضافة الى اشتراكهما بالعديد من الصفات وخاصة تتليم النواة (ذات الاخايد أو مجعدة أو منقرة)، وتوضع الأزهار ذات الأعناق القصيرة في باقات، البراعم الابطية وزغبية القشرة واللون الأخضر الباهت. تدعم بيانات المورثات المدروسة ضمن مجموعة *Prunus/ Amygdalus* وبدرجات موثوقية عالية العلاقة القوية بين المشمش *Armeniaca* مع أنواع الدراق واللوز المدروسة.

يرجح التطابق الكامل بين النوع *P. dulcis* والأنواع *P. korshinskii* و *P. orientalis* إلى أن الأنواع البرية للوز قد استخدمت ولزمن طويل كمصدر للمادة الوراثية في برامج تربية اللوز وهذا توافق مع نتائج Bortiri ورفاقه (2001) و Shaw و Small (2004) في تطابق الأنواع مع بعضها البعض ضمن قطاع واحد.

توافقت نتائج الدراسة الحالية مع نتائج دراسات سابقة لـ Potter ورفاقه (2002, 2007) وكذلك دراسات Shaw و Small (2004) و Lee و Wen (2001) إذ جمعت كل عينات اللوز والدراق المدروسة تحت قطاع واحد يوافق تصنيفها تحت تحت جنس واحد وهو تحت الجنس *Amygdalus*. كما توافقت مع نتائج Bouhadida ورفاقه (2007) في فصل كل من اللوز والدراق والهجن بينهما عن المشمش باستخدام مورثة *matK* و *SSR*.

في تحاليل Oh و Yazbek (2013) فصل تحت الجنس *Amygdalus* إلى تحت قطاعين (monophyletic) رئيسيين ضم القطاع الأول أنواع *Persica* (*P. persica*,) أنواع اللوز *Amygdalus* وجاء *P. davidiana* (الثمرة المتوسطة جافة) كقطاع شقيق للدراق بينما جاء في الدراسة الحالية ضمن قطاع (*Cerasus- Padus*) كما انفصل وفقاً لتسلسلات مورثة *s6pdh* كل من النوعين *P. persica* و *P. dulcis* تحت قطاعين وانفصل النوع *A. Korschinskii* ضمن قطاع آخر ولكن بموثوقية منخفضة بينما نتائج مورثات دنا الصانعات شكلت الأنواع الأساسية (*Persica, Amygdalus*) التابعة لتحت الجنس *Amygdalus* قطاعاً واحداً بدرجة موثوقية عالية.

شكلت تحت الاجناس *Amygdalus* (*Persica, Amygdalus*) و *Armenica* (*Prunus*) قطاعاً واحداً (paraphyletic) بدرجة موثوقية 99% وهذا وافق دراسات Wen ورفاقه في عام 2008 باستخدام منطقة ITS حيث ارتبط تحت الجنس *Amygdalus* و *Prunus* بشكل وثيق شكلت مجموعة monophyletic لكن بموثوقية منخفضة.



الشكل (40): شجرة العلاقات التطورية بين الأنواع المدروسة وباستخدام تسلسلات المورثات المدروسة

بالاعتماد على طريقة Maximum Composite Likelihood

أعطت بيانات تسلسلات مورثات *matK* و *rbcL* قيم موثوقية مرتفعة بالنسبة للتوضع النسبي للجنس *Prunus* والأجناس الأخرى المشكلة للثمار ذات النوى الحجرية ضمن العائلة الوردية بشكل يتوافق مع نتائج Potter ورفاقه (2002) في تشكيل كافة الأجناس السابقة قطاعاً شقيقاً مع تحت العائلة *Pomoideae*.

إن قيم الموثوقية المنخفضة في الأغصان الداخلية للشجرة تنتج عن homoplasy (التماثل التطوري للأنواع مع بعضها واختلافها عن السلف المشترك) وهي تقيد حدود التمييز على المستويات التصنيفية الأقل والذي يمكن أن يعزى إلى التاريخ المعقد الذي ينطوي على التفرعات الشبكية (المتداخلة) بين الأنساب كما أن التفرعات القصيرة تعكس الانتقال السريع للأسلاف الرئيسية ضمن تحت العائلة (Hutchinson, 1964).

انقسمت الأنواع المدروسة إلى تحت قطاعين الأول مؤلف من تحت الجنس *Cerasus* و *Padus* بينما في القطاع الثاني جاء تحت الجنس *Armenica* مع تحت الجنس *Amygdalus* الذي ضم كل من *Persica* و *Amygdalus*، وافقت النتائج دراسة Bortiri ورفاقه (2002,2006) في توضع كل من أنواع الدراق واللوز ضمن polytomy (مقطع ضمن العلاقات التطورية لا يمكن توضيحها بشكل كامل كثنائيات) وخالفت النتائج السابقة في انضمام *Armeniaca* معهما وليس منفصلاً كقطاع شقيق آخر.

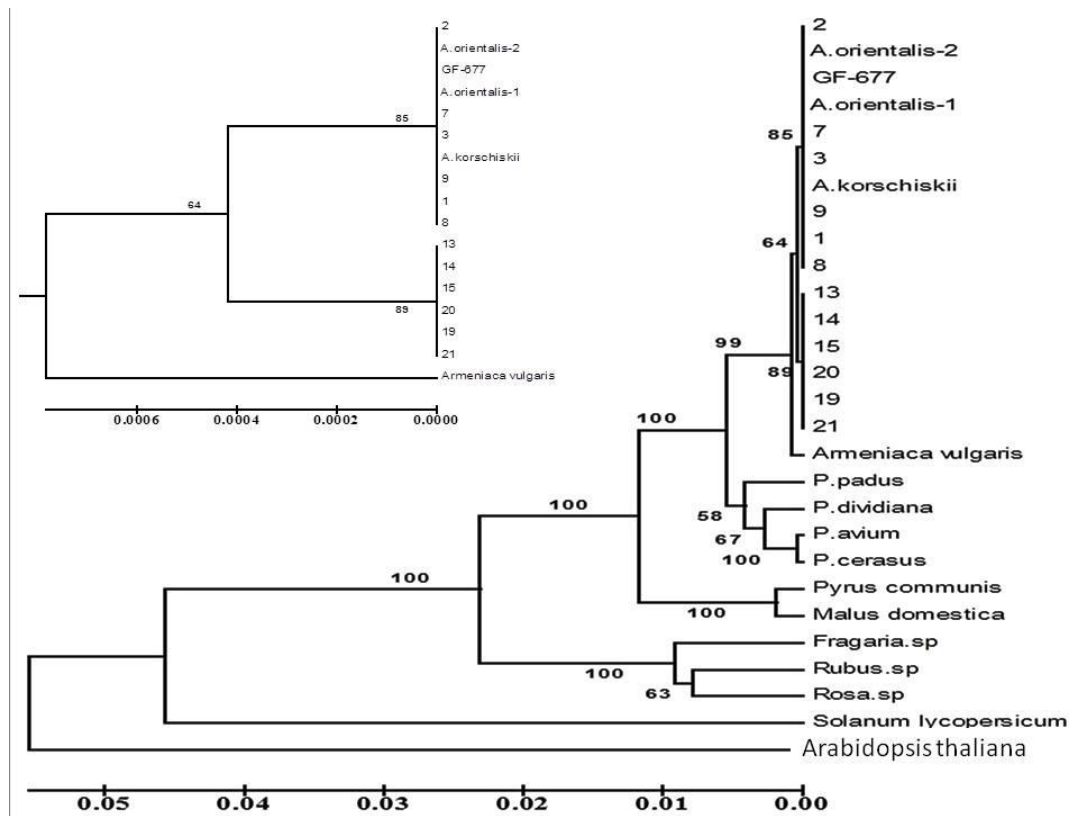
حيث أنها تعامل مبدئياً كجنسين من قبل Tournefort (1700) ولكنهما دمجا في جنس واحد أو تحت جنس واحد عند بعض الباحثين لاحقاً (Rehder, 1940; Yu et al., 2001; Yasuhiro, 1986).

إن الفصل الشكلي الواضح بين الدراق واللوز هو في طبقة الغلاف الثمري المتوسطة (mesocarp) الجافة والمتشقة في اللوز وهي مورثة من الأب المشترك لتحت الجنس *Amygdalus* بينما تكون هذه الطبقة لحمية وغير متفتحة في الدراق ويرجح الباحثون أن هذه الأخيرة مشتقة من الميزوكارب الجافة المتشقة وربما يكون ذلك ناتج عن عمليات التهجين أو الانتخاب للثمرة الغضة في الموطن الأصلي (الصين)، إن القسم *Persica* يعود في أصله إلى الصين أما قسم اللوز هو النوع الأكثر تبايناً في وسط آسيا بينما جاء المشمش تحت القسم *Armenica* وهو يعود إلى الصين أيضاً. كما يعزى انخفاض التباين بين اللوز المزروع والأنواع البرية إلى تدفق المورثات و/أو التطور السريع لأنواع جديدة ضمن المجموعة (Yazbek and Oh, 2013).

أما شجرة العلاقات التطورية بين الأنواع المدروسة والأنواع الأخرى من موقع NCBI والتي شملت العائلة الوردية قسمت إلى ثلاثة قطاعات رئيسية (الشكل، 41) توافقت مع تحت العائلات الثلاثة (*Prunoideae*, *Pomoideae*, *Rosoideae*): القطاع الأول (Paraphyletic) وبدرجة موثوقية عالية 100% ضم كل العينات في الدراسة الحالية والتي تتبع لتحت العائلة *Prunoideae* حيث جاء المشمش *Armenica* منفصلاً عن باقي عينات اللوز والدراق المدروسة ضمن تحت قطاع وبقيت أصناف اللوز والدراق ضمن تحت قطاع بموثوقية عالية 99% تمايزت ضمنه مجموعتين الأولى ضمت أصناف وأنواع اللوز المدروسة

ومع الأصل GF677 بموثوقية 86% والمجموعة الثانية ضمت أصناف الدراق المدروسة بموثوقية 64%. وضم القطاع الثاني جنسي التفاح (*Malus domestica*) والإجاص (*Pyrus communis*) تحت درجة موثوقية 100% التي تتبع لتحت العائلة *Pomoideae*، وشمل القطاع الأخير (monophyletic) كل من الأجناس *Rosa*، *Rubus* و *Fragaria* والتي تتبع لتحت العائلة *Rosoideae* بدرجة موثوقية بلغت 100%.

كما نجد أن كل تحت العائلات السابقة كانت تحت قطاع واحد (Polyphyletic) بدرجة موثوقية عالية 100% و انفصلت بدورها عن العائلتين *Solanaceae* و *Brassicaceae*.



الشكل (41): شجرة العلاقات التطورية بين الأنواع المدروسة من العائلة الوردية والعائلات الأخرى باستخدام

تسلسلات المورثات المدروسة بالاعتماد على طريقة Maximum Composite Likelihood

توافقت نتائج الدراسة الحالية في العلاقات التطورية ضمن العائلة الوردية مع نتائج مورثة *rdL* عند Morgan ورفاقه (1994) ونتائج مورثة *matK* عند دراسات Potter ورفاقه

(2002) من حيث تشكل قطاع polyphyletic بدرجة موثوقية عالية يتبع لتحت العائلة *Pomoideae* وقطاع monophyly بالنسبة لتحت العائلة *Pomoideae*.

إن تحت الجنس *Padus* شكل قطاع monophyletic مع تحت الجنس *Cerasus* بدرجة موثوقية 58% وذلك توافق مع دراسات Wen ورفاقه (2008) باستثناء انضمام *P. davidiana* ضمن هذا القطاع في الدراسة الحالية، إلا أنه جاء مع تحت الجنس *Amygdalus* عند دراسة العلاقات التطورية باستخدام مورثة *ndhF* (Wen et al., 2008).

توافقت نتائج الدراسة الحالية مع Bortiri ورفاقه 2002 و Lee و Wen (2001) في تجمع *Cerasus* مع تحت الجنس *Padus* كما نلاحظ أن *Armenica* تجمع مع تحت الجنس *Prunus* وشكل تحت الجنس *Amygdalus* قطاع شقيق وقريب جداً من تحت الجنس *Prunus* مما يقترح حدوث التهجين ضمن مسيرة تطور أنواع الجنس *Prunus*.

بالمقارنة مع دراسات Potter ورفاقه (2007) على العائلة الوردية نجد أن القيم كانت متقاربة في تلك الدراسة وكانت لتحت العائلات المدروسة بالنسبة لمورثة *rbcl* (98، 100، 100) على التوالي ومورثة *matK* (100، 100، 100) وأعلى في مورثة 18S بقيم (92، -، 73) بينما كانت تلك القيم في الدراسة الحالية وفقاً للجدول (51).

الجدول (51): قيم درجات الموثوقية بالنسبة لمختلف القطاعات باستخدام أجزاء المورثات المدروسة

القطاع	<i>rbcl</i>	<i>matK</i>	18S	كل المورثات
Prunoideae	96	99	94	100
Pomoideae	99	99	99	100
Rosoideae	99	99	98	100

إن استخدام جنس *Prunus* واسع النطاق أو استخدام عدة أجناس ضمن مجال تصنيفي أضيق يعد موضوعاً شائكاً ومثيراً للجدل في العقود الأخيرة، حيث يفضل العديد من العلماء استخدام جنس *Prunus* واسع النطاق (Rehder, 1940 ; Potter *et al.*; 2007; Chin) (et al., 2010; Shi *et al.*, 2013) للأسباب التالية :

أولاً: يعد الجنس *Prunus* s.l. monophyletic (Lee and Wen, 2001; Bortiri *et al.*, 2006; Potter *et al.*, 2007)، إذ إن نظام التفرع وطول التفرعات يعلمنا بمستويات مختلفة من التباين الوراثي والذي يستحق بدوره رتب تصنيفية موافقة لها لذلك إن المجموعات التصنيفية كأنواع أو تحت أجناس هي أفضل في الفصل ضمن مجموعات عنه بتصنيفها كأجناس. كما أن الصفات التشريحية للخشب تؤكد التماثل ضمن جنس *Prunus* s.l. (Zhang, 1992).

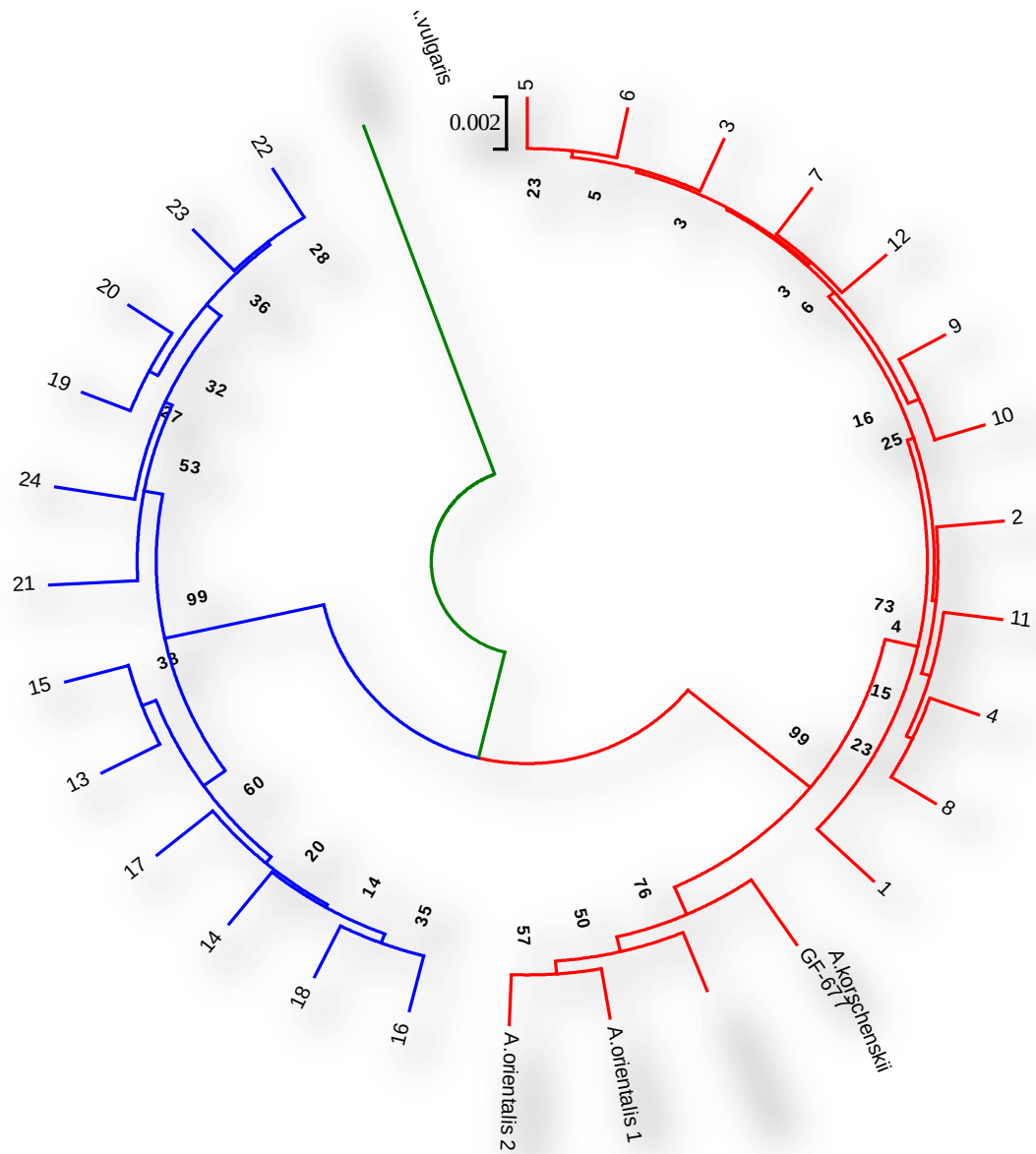
ثانياً: إن أنواع الجنس *Prunus* تبدي ثباتية عالية من الناحية الشكلية فكل الأنواع في هذا الجنس تمتلك نوى حجرية، ومعظم الأنواع لديها غدداً في قاعدة نصل الورقة (Rehder, 1940)، إن طريقة توضع أزهار هذا الجنس تختلف من توضعها في نورات عنقودية (تحت الجنس *Padus*) أو أزهار مفردة (تحت الجنس *Prunus*). كما لاحظ Kalkman (1965) أنه لا توجد حدود واضحة بين مجموعات الجنس *Prunus* لذلك فإنه من الأفضل اعتماد مفهوم الجنس الأوسع مجالاً مع وجود التقسيمات تحت هذا الجنس .

ثالثاً: إن العدد الصبغي الأساسي هو $2n = 8$ وهو نفس العدد للأجناس الواضحة المعالم، كما أن حدوث التهجينات الطبيعية بين المشمش والخوخ والكرز القزم (Watkins, 1995) يشير الى الاختلاف الوراثي الضيق بينها.

رابعاً: الأكثر أهمية أنه لو تم اعتماد تسميات الأجناس ضيقة النطاق سوف تكون هناك تغيرات كبيرة بالأسماء لا يمكن تجنبها مما يسبب صعوبات للمنتجين والباحثين وبالمقابل عند استخدام تسمية الجنس واسع النطاق سيكون هناك القليل من التغيرات في المسميات.

7-التحليل العنقودي الناتج عن دمج تقنية SSR ونتائج سلسلة المورثات معاً:

وزع التحليل العنقودي الناتج (الشكل، 42) عن دمج مصفوفتي عدم التماثل بين بيانات SSR وبيانات سلسلة مورثات الدراسة نجد أنه تم الفصل بين كل من أنواع الدراق واللوز المدروسة ضمن مجموعتين رئيسيتين على درجة موثوقية 99% ضمت المجموعة الأولى تحت مجموعتين: الأولى ضمت كل أصناف اللوز المدروسة والثانية ضمت الأصول الوراثية بينما ضمت المجموعة الثانية أصناف الدراق والنكتارين ضمن تحت مجموعتين ارتبط معهما المشمش عند أعلى مستوى هرمي، تطابق التحليل العنقودي الناتج عن استخدام البيانات الناتجة عن SSR مع تسلسلات المورثات المدروسة مع اختلافات بسيطة من حيث توضع مجموعة الأنواع البرية لوز شرقي 1 ولوز شرقي 2 ولوز كورشنسكي مع الأصل GF677 تحت مجموعة واحدة انضمت لمجموعة أصناف اللوز المدروسة بدرجة موثوقية 76%.

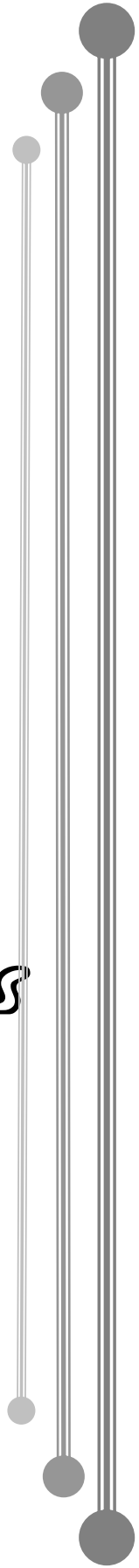


الشكل (42): التحليل العنقودي بين الأصناف والأنواع المدروسة باستخدام تقنية SSR وتسلسلات المورثات المدروسة.

الاستنتاجات

والتوصيات

***CONCLUSIONS AND
RECOMMENDATIONS***



الاستنتاجات:

(1) فصل التحليل العنقودي بالاعتماد على الصفات الشكلية الأصناف المدروسة وفقاً لوزن الثمرة وموعد الإزهار حيث وزع التحليل العنقودي بالاعتماد على الصفات الشكلية أصناف الدراق المدروسة إلى ثلاث مجموعات، ولقد توزعت أصناف وطرز اللوز ضمن مجموعتين رئيسيتين.

(2) بلغ عدد القرائن في الدراق 70 بمتوسط 2.69 قرين/موقع وقيم تغاير مورثي متوقع 0.22، وفي اللوز 154 قرين بمتوسط 5.92 ومتوسط قيمة تغاير مورثي متوقع 0.58 مما يدل على أن التباين الوراثي في جنس اللوز أعلى منه في الدراق وبالتالي هذا أكد الفعالية العالية لمعلومات التكراريات البسيطة على كشف التنوع الوراثي بين أصناف اللوز وفي إعطاء الهوية الوراثية للأصول المدروسة وإيجاد المناطق الوراثية المتماثلة بين الأجناس.

(3) باستخدام طريقة التحليل العنقودي تم تحديد هيكلية التنوع بين وضمن الأصناف والأنواع المدروسة التي تميزت بتحديد مجموعات من الأصناف المتشابهة فيما بينها شكلياً ووراثياً على أعلى المستويات التصنيفية، هذه الهيكلية تساهم في إتاحة إمكانية انتخاب أصناف بمواصفات محددة لاستخدامها ضمن برامج تربية موجهة.

(4) تم الكشف عن وجود تغايرات نيكلويتيدية في تسلسلات المورثات المدروسة باستخدام طريقة بسيطة وقليلة التكاليف EcoTILLING.

(5) استطاعت كل من مورثتي *rbcL* و *matK* التمييز على مستوى الأنواع بوضوح حيث استطاعت كل منهما الفصل بوضوح بين مجموعة أصناف الدراق وأصناف اللوز وطرزه المدروسة.

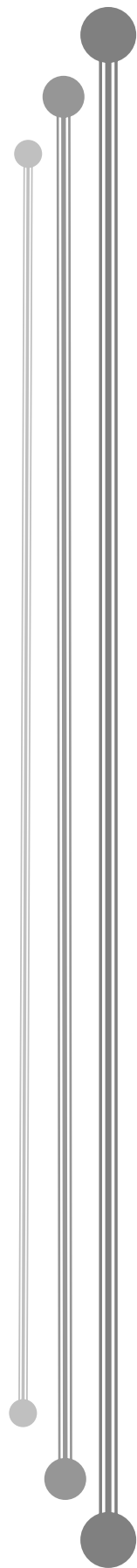
(6) لم تستطع مورثة 18S rRNA التمييز على مستوى الأنواع وبالتالي استطاعت التمييز فقط على مستوى الأجناس وتحت الأجناس.

النوصيات:

- (1) إدخال الأصناف المدروسة ذات الإنتاجية العالية من اللوز والدراق (الصنف روم ستار في الدراق والصنف فيرادويل في اللوز) كمادة وراثية في برامج التحسين الوراثي بغية الحصول على أصناف عالية الإنتاج وذات صفات بيولوجية جيدة.
- (2) الاستفادة من نوع اللوز البري كورشنسكي في إكثار أصناف اللوز المحلية والمدخلة نظراً لتأخر إزهار الأشجار المطعمة عليه وقوة نموه الخصري.
- (3) اعتماد المواقع UDP96-005، UDP96-003، CPDCT025 ذات قيم معامل التعددية الشكلية العالية (0.90، 0.89) لدراسة التنوع الوراثي لأصناف اللوز، والمواقع UDP97-402 و CPDCT025 بقيم معامل (0.65) لدراسة أصناف الدراق.
- (4) استخدام القرائن المميزة الناتجة عن تقنية SSR في التوصيف النباتي لغراس وأشجار الدراق واللوز في المشاتل والمجمعات الوراثية وحقول المزارعين للتأكد من المدخلات الوراثية وتجنب عملية وجود نفس الطراز الوراثي تحت اسمين مختلفين في المجمع الوراثي بسبب اختلافات شكلية عائدة للعوامل البيئية.
- (5) تطبيق تقنية الـ Ecotilling وذلك بسبب بساطتها وقلة تكاليفها على نطاق أوسع على المعلومات المعتمدة على الطفرات وذلك لتوصيف المادة الوراثية ودراسات التطور والنشوء، واستخدام مورثتي *rbd* و *matK* ضمن العائلة الوردية وتحت الجنس *Prunus* كمورثات تصنيفية وذلك للتمييز على مستوى الأنواع وتحت الأجناس.
- (6) زيادة عدد العينات والمورثات المدروسة بهدف الحصول على اختبارات أدق للمخططات التصنيفية وبالتالي الوصول إلى التصنيف الأكثر موثوقية للجنس *Prunus*.

المراجع

REFERENCES



المراجع العربية:

- 1- الرئيس، رفيق. (2002). الموصفات الرئيسية للمصادر الوراثية للوز الحلو في المجمع الوراثي. منشورات المركز العربي لدراسة المناطق الجافة والأراضي القاحلة التابع لجامعة الدول العربية. إكساد.
- 2- الفوزو، طلال. (2010). توصيف وتقييم لبعض الطرز المحلية والأصناف المدخلة من اللوز *Prunus Amygdalus L.* رسالة الدكتوراة. قسم البساتين. كلية الزراعة. جامعة تشرين. 168 ص.
- 3- القيم. فاضل. (1999). دراسة التنوع الوراثي للزيتون البري في الساحل والجبال الساحلية السورية. رسالة دكتوراة. قسم البساتين. كلية الزراعة. جامعة تشرين.
- 4- المجموعة الإحصائية الزراعية السنوية (2013). وزارة الزراعة والإصلاح الزراعي.
- 5- حماشا، حسان رفاعي. (2002). التوصيف المورفولوجي ونبات بذور اللوز البري (*Amygdalus spp.*) في الأردن. رسالة ماجستير. كلية الدراسات العليا. الجامعة الأردنية.
- 6- خدام، علي ويعقوب، غسان. (1994). أساسيات علم الإحصاء وتصميم التجارب الزراعية. مديرية الكتب والمطبوعات الجامعية. كلية الزراعة. جامعة تشرين.
- 7- قلاش، نديم. (2000). دراسة عدد من أصناف اللوز ومدى ملائمتها للمنطقة الشمالية من سورية. مديرية البحوث العلمية الزراعية. وزارة الزراعة والإصلاح الزراعي. سورية.
- 8- يعقوب، غريب. (2008). دراسة توصيفية لجنس اللوز *Amygdalus* في المنطقة الساحلية. أطروحة ماجستير. قسم البساتين. كلية الزراعة. جامعة تشرين.

المراجع الأجنبية

- Abbott, A.; Georgi, L.; Yvergniaux, D.; Inigo, M.; Sosinski, B.; Wang, Y.; Blenda, A. and Reighard, G.(2002). Peach: the model genome for Rosaceae. Acta. Hortic. 575:145-155.
- Ahmad, R.; Parfitt, D.E.; Fass, J.; Ogundiwin, E.; Dhingra, A.; Gradziel, T.M.; Lin, D.; Joshi, N.A.; Martinez-Garcia, P.G. and Crisoto, C.H.(2011). whole genome sequencing of peach (*Prunus persica* L.) for SNP identification and selection. BMC.Genomics.12:569.
- Ajayi, N.O. (1990). Rapid determination of leaf area in ovate vegetable leaves by liner measurements. J. Hort. Sci. 65(1): 1-5.
- Ak, B.E.; Açar, I. and Sakar, E.(2001). An investigation on the determination of pomological and morphological traits of wild almond grown at Sanliurfa province. In : Ak, B.E. (ed.). XI GREMPA Seminar on Pistachios and Almonds. Zaragoza : CIHEAM. Cahiers Options Méditerranéennes. 56:139 -144.
- Akbar, E. and Houshang, N. R.(2013). Evaluation effect early fruit let harvest on the growth indices in almond (*P. amygdalus*). Inter. J. Agri. Crop Sci.5(2): 183-185.
- Anderson, N.A.(2010). Diversity of low chill peaches(*Prunus persica*) from Asia, Brazil, Europe and the USA. Master thesis. Texas A and M University.
- Appleby, N.; Edwards, D. and Batley, J.(2009). New technologies for ultra high throughput genotyping in plants. Methods Mol. Biol. 513: 19-39.
- Aranzana, M.J; Garcia-Mas, J.; Carbo, J. and Arus, P. (2002). Development and variability analysis of microsatellite markers in peach. Plant Breeding. 121(1):87-92.
- Aranzana, M.J; Pineda, A.; Cosson, P.; Dirlewanger, E.; Ascasibar, J.; Cipriani, G.; Ryder, C.D.; Testolin, R.; Abbott, A.; King, G.J.; Iezzoni, A.F. and Arus, P.(2003a). A set of simple sequence repeat (SSR) markers covering the *Prunus* genome. Theoretical and Applied Genetics.106(5): 819-825.
- Aranzana, M.J; Carbo, J. and Arus, P.(2003b). Microsatellite variability in peach [*Prunus persica*]: cultivar identification; marker mutation; pedigree inferences and population structure. Theoretical and Applied Genetics.106(8):1341-1352.
- Aranzana, M. J.; Abbassi, El-K.; Howad, W. and Arus, P.(2010). Genetic variation, population structure and linkage disequilibrium in peach commercial varieties. BMC Genetics. 11: 69.
- Arulsekhar, S.; Parfitt, D.E. and Kester, D.E.(1986). Comparison of isozyme variability in peach and almond cultivars. J. Hered. 77:272-274.
- Arus, P.; Verde, I.; Sosiniski, B.; Zhebentyayeva, T.; Abbott, A.G.(2012). The peach genome . Tree Genet Genomes.8(3). 531-547.
- Arus, P.; Ballester, J.; Dicenta, F.; Martinez-Gomez, P.; Ruiz, C. and Sanchez-Perez, R.(2005). Variability and inheritance of peach SSR sequences in almond genotypes. In: Oliveira, M.M, Cordeiro, V.(ed). XIII GREMAP meeting on almonds and pistachios. Zaragoza: CIHAM. Options Mediterraneennes.63: 275-280.

- Badenes, M.L. and Parfitt, D.E.(1995). Phylogenetic relationships of cultivated *Prunus* species from an analysis of chloroplast DNA variation. *Theoretical and Applied Genetics*. 90(7,8): 1035-1041.
- Baird, W.V.; Estager, A.S. and Wells, J.(1994).Estimating nuclear DNA content in peach and related diploid species using laser flow cytometry and DNA hybridization. *J.Am. Soc. Hortic. Sci.* 119:1312-1316.
- Banizi, R. T.; Imani, A.; Zeinalabedini, M.; Rasouli, M.; Ebrahimi, A. and Piri, S.(2014).The morphological analysis of ‘Shahrood1’× ‘Shahrood12’ population with their parents. *Inter. J. Bio.* 5(12): 320-330.
- Barreneche, T.; Bodenes, C.; Lexer, C.; Trontin, J.F.; Fluch, S.; Streiff, R.; Plomion, C.; Roussel, G.; Steinkellner, H.; Burg, K.; Favre, J.M.; Gloessl, J. and Kremer, A.(1998). A genetic linkage map of *Quercus robur* L. (pedunculate oak) based on RAPD, SCAR, Microsatellite, isozyme and 5S rDNA markers. *Theor. Appl. Genet.* 97: 1090–1103.
- Bartolozzi, F.; Warburton, M.L. Arulsekaran, S. and Gradziel, T.M.(1998). Genetic characterization among California almond cultivars and breeding lines detected by randomly amplified polymorphic DNA (RAPD) analysis, *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 114: 164-169.
- Batley, J.; Barker, G.; O Sullivan, H. and Edwards, K.J.(2003). Mining for single nucleotide polymorphisms and insertions/deletions in maize expressed tag datd. *Plant Physiol.* 132: 84-91.
- Bellini, E.; Watkins, R.; Pomarici, E.(1984). Peach descriptors. International board for plant genetic resources. Rome
- Bentham, G. and Hooker, J. D. (1865). *Genera plantarum*. Reeve and Co. London. UK. Vol. 1.
- Bernad, D. and Socias i Company, R.(1995). Characterization of some self-compatible almonds.II Flower phynology and morphology. *Hort. Science*. 30(2):321-324.
- Bernhard, R. and Grasselly, C.(1981). Les pêchers x amandiers. *L’Arboriculture Fruitière*. 328: 37-42.
- Bhat, Z.; Dhillon, W.; Rashid, R.; Bhat, J.; Dar, W. and Ganaie, M.(2010). The role of molecular markers in improvement of fruit crops. *Not. Sci. Biol.* 2(2): 22-30.
- Bianchi, V. J.; Sansavini, S. and Fachinello, J.C.(2004). Microsatellite marker for identification of *Prunus* spp. rootstocks. *Sci. Agric.* 61(3): 303-306.
- Bortiri, E.; Oh, S.H.; Jiang, J.; Baggett, S.; Granger, A.; Weeks, C.; Buckingham, M.; Potter, D. and Parfitt, E.(2001). Phylogeny and systematics of *Prunus* (Rosaceae) as determined by sequence analysis of ITS and the chloroplast trnL-trnF spacer DNA. *Syst. Bot.*26:797-807.
- Bortiri, E.; Oh, S.H.; Gao, F-Y. and Potter, D.(2002). The phylogenetic utility of nucleotide sequences of sorbitol 6-phosphate dehydrogenase in *Prunus* (Rosaceae). *American Journal of Botany*. 89(11). 1697-1708.
- Bortiri, E.; Heuvel, B.V. and Potter, D.(2006). Phylogenetic analysis of morphology in *Prunus* reveals extensive homoplasy. *Plant Syst. Evol.* 259: 53-71.

- Botstein, D., L. Raymond and L. White.(1980). Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms, *Am. J. Hum. Genet.* 32: 314-331.
- Bouhadida, M.; Casas, M. A; Moreno, M.A. (2007a). molecular characterization of Miraflores peach variety and relatives using SSRs. *Sci. Hort.* 111: 140- 145.
- Bouhadida, M. M.; . Juan, P. E.; Pinochet, G.; Sánchez.J. M.; Ángeles, M. and Yolanda, G.A.(2007b). Chloroplast DNA diversity in *Prunus* and its implication on genetic relationships. *Journal of the American Society for Horticultural Sciences.* 132(5): 670-679.
- Bouhadida, M.; Casas, M. A.; Gonzalo, J.; Arus, P.; Moreno, M.A. and Gogorcena, Y.(2009). Molecular characterization and genetic diversity of *Prunus* rootstock. *Scientia Horticulturae.* 120(2): 237-245.
- Bouhadida, M.; Moreno, M.A.; Gonzalo, J.; Alonso J.M. and Gogorcena, Y.(2011). Genetic variability of introduced and local Spanish peach cultivars determined by SSR markers. *Tree Genet Genomes.*7:257-270.
- Bowley, S. (2004). SR9124.Application of SSR markers for DNA fingerprinting of prunus and fragaria varieties. Ministry of Agriculture, Food and Rural Affairs.
- Bretaudiere, J. and Faure, Y. (1991). Atlas d' Arboriculture fruitière. Tec. and doc. Lavoisier. Paris.3: 244pp.
- Brochmann, C.; Xiang, Q.Y.; Brunsfeld, S.J.; Soltis, D.E. and Soltis, P.S.(1998). Molecular evidence for polyploidy origins in *Saxifraga*(*Saxifragaceae*): the narrow arctic endemic *S.svalbardensis* and its widespread allies. *Amer.J.Botany.* 85:135-143.
- Brookes, A.J.(1999). The essence of SNPs. *Gene.* 234(2): 177-186.
- Browicz, K. and Zohary, D.(1996). The genus *Amygdalus* L. (*Rosaceae*): Species relationships, distribution and evolution under domestication. *Genet. Resour. Crop. Evol.*43:229-247.
- Cabrera, C.; Rosyara, U.R.; De Franceschi, P.; Sebolt, A.; Sooriyapathirana, S.S.; Dirlewanger, E.; Quero-Garcia, J.; Schuster, M.; Lezzoni, A.F. and Van der Knaap, E.(2012). *Rosaceae* conserved orthologous sequences marker polymorphism in sweet cherry germplasm and construction of a SNP-based map. *Tree Genet Genomes.*8:237-247.
- Cambra, R.(1990). Adafuel, an almond x peach hybrid rootstock. *Hort. Science.* 25: 548-584.
- Cameron, K.M; Chase, M.; Whitten, M. Kores, P.; Jarrell, D.; Albert, V.; Yukawa, T.; Hills, H.; Goldman, D.(1999). A phylogenetic analysis of the *Orchidaceae*: evidence from *rbcL* nucleotide sequences. *Am. J. Bot.* 86: 208-224.
- Candolle, A.(1983). Origine des plantes cultivées, ed geanne. Laffitte Marseille. France.
- Cantin, C.M.; Gogorcena,Y. and Moreno, M.(2010). Phenotypic diversity and relationships of fruit quality traits in peach and nectarine (*Prunus persica* (L.) Batsch) breeding progenies. *Euphytica.*171(2):211-226.

- Cardle, L.; Ramsay, L.; Milbourne, D.; Macaulay, M.; Marshall, D. and Waugh, R. (2000). Computational and experimental characterization of physically clustered simple sequence repeats in plants. *Genetics*, 156: 847-854.
- Caruso, T. and Sottile, F.(1999). La peschicoltura autunnale in Sicilia: aspetti ambientali, varietali e culturali. *Frutticoltura*. 2:39-46.
- CBOL Plant Working Group.(2009). A DNA barcode for land plants. *Proc. natl. Acad. Sci. USA*. 106: 12794-12797.
- Cerezo, M.; Socias i Company, R. and Arus, P.(1989). Identification of almond cultivars by pollen isoenzymes. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 114: 164-169.
- Chalak, L.; Chehade, A.; Elbitar, A.; Cosson, P.; Zanetto, A.; Dirlewanger, E. and Aigret, F.(2006). Morphological and molecular characterization of peach accessions(*Prunus persica* L.) cultivated in Lebanon. *Lebanese Science Journal*.7(2):23-31.
- Chalak, L.; Chehade, A. and Kadri, A.(2007). Morphological characterization of cultivated almonds in Lebanon. *Fruits*. 62: 177-186.
- Change, D.; Gasic, K.; Crowhurst, R.N.; Han, Y.; Bassett, H.C. Bowatte, D.R.; Lawrence, T.J.; Rikkerink, E.H.A.; Gardiner, S.E. and Korban, S.S.(2008). Development of a set of SNP markers present in expressed genes of the apple. *Genomics*.92:353-358.
- Chase, M.W.; Morgan, D.; Soltis, D.E.; Olmstead, R.G.; Ses, D.H.; Duvall, M.R.; Hilis, R.; Qiu, Y.L.; Kron, K.A.; Chaeis, J.H.; Kress, W.J.; Donoghue, M.J.; Clark, W.D.; Hedren, M.; Gaut, B.S.; Jansen, R.K.; Kim, K.J.; Wimpee, C.F.; Smith, J.G.; Furnier, G.R.; Straus, S.H.; Xiang, Q.Y.; Plunkett, G.M.; Soltis, P.S.; Swensen, S.; Eguiarte, L.E.; Learn, G.H.; Barrett, S.C.H.; Graham, S. and Libert, V.A.(1993). Phylogenetics of seed plant: An analysis of nucleotide sequences from the plastid gene *rbcL*. *Ann. Missouri Bot. Gard*.80: 528-580.
- Chen, L.; Wang, S.Q. and Hu, Y.G.(2011). Detection of SNPs in the VRN-A1 gen of common wheat (*Triticum sativum* L.) by a modified Ecotilling method using agarose gel electrophoresis. *Australian Journal of Crop Science*. 5(3). 321-329.
- Cheng, Z. P.(2008). Classifying criteria for major fruit traits in *Prunus persica* and correlation analyses among the traits. *The Amer. Pom. Soc.*62(3): 110-118.
- Chin, S.W.; Wen, J.; Johnsonm G. and Potter, D.(2010). Merging *Maddenia* with the morphologically diverse *Prunus* (Rosaceae). *Bot. J. Linn. Soc.* 164:236-245.
- Cipriani, G.; Lot, G.; Huang, W-G.; Marazzo, MT.; Peterlunger, E. and Testolin, R. (1999). AC/GT and AG/CT microsatellite repeats in peach [*Prunus persica* (L.) Batsch]: isolation, characterization and cross-species amplification in *Prunus*. *Theoretical and Applied Genetics*. 99:65–72.
- Colic, S. and Zec, G.(2007). Morphological and pomological traits variability of almond traits variability of almond genotypes from Slankamen hill population. *Genetika*. 39(3).291-296.
- Collins, D.W. and Jukes, T.H.(1994). Rates of transition and ransversion in coding sequences since the human- rodent divergence. *Genomics*. 20(3): 386-396.
- Comai, L.; Young, K.; Reynolds, S.H.; Codomo, C.; Enns, L.; Johanson, J.; Burtner, C.; Henikoff, J.G.; Grene, E.A.; Till, B.J. and Henikoff, S.(2004). Efficient

- discovery of nucleotide polymorphisms in populations by ECOTILLING. *Plant J.* 37: 778-786.
- Cordeiro, V.; Oliveira, M.; Ventura, J. and Monteiro, A.(2001). Study of some physical characters and nutritive composition of the Portuguese's (local) almond varieties. *Cahiers options mediterraneennes.* 56: 333-337.
- Cunha, L.C.; Durigan, M.FB.; Mattiuz, B.H.; Martins, R.N. and Durigan, J.F.(2007). Characterization of the maturation curve in 'Auoroa-1' peaches in the region of Jaboticabal SP. *Revista Brasileira de Fruticultura.*29:661-665.
- Dangl, G.S.; Yang, J.; Golino, D.A. and Gradziel, T.(2009). A practical method for almond ultivar identification and parental analysis using simple sequence repeat markers. *Euphytica.*168: 41-48.
- De Giorgio, D. and Polignano, G.B.(2001). Evaluation the biodiversity of almond cultivars from a germplasm collection field in Southern Italy. *Sustaining the global farm.*56: 305-311.
- Demirsoy, H.; Demirsoy, L.; Uzun, S. and Ersoy, B.(2004). Non-destructive leaf area estimation in peach. *Europ. J. Hort. Sci.* 69 (4): 144–146.
- Dice, L.R. (1945). Measures of the amount of ecologic association between species. *Ecology.*26: 297-302.
- Dicenta, F. and Garcia, J.E.(1992). Phenotypical correlations among some traits in almond. *J. Genet. Breed.* 46: 241-246.
- Dickson, E.E.; Arumuganathan, K.; Kresovich, S. and Doyle, J.J.(1992).Nuclear DNA contenet variation within the Rosaceae. *Am. J. Bot.* 79:1081-1086.
- Dirlewanger, E.; Moing, A.; Rothan, C.; Svanella, L. ; Pronier, V.; Guye, A.; Plomion, C. and Monet, R. (1999). Mapping QTLs controlling fruit quality in peach [*P. persica* (L.) Batsch]. *Theor. Appl. Genet.* 98:18-31.
- Dirlewanger, E.; Cosson, P.; Tavaud, M.; Aranzana, M.J.; Poizat, C.; Zanetto, A.; Aru`s, P. and Laigret, F.(2002a). Development of microsatellite markers in peach (*Prunus persica* L. Batsch) and their use in genetic diversity analysis in peach and sweet cherry (*Prunus avium* L.). *Theoretical and Applied Genetics.*105: 127-138.
- Dirlewanger,E.; Cosson,P.; Tavaud,M.; Poizat,C.; Moing,A.; Zanetto,A.; Aranzana,M.J. and Aru`s,P.(2002b).Development of peach SSRs and their use in fingerprinting peach and sweet cherry cultivars. *ISHS Acta Horticulturae.*592:V International Peach Symposium.
- Dirlewanger, E.; Graziano, E.; Joobeur, T.; Garriag-Caldere, F.; Cosson, P.; Howad, W. and Aru`s, P. (2004).Comparative mapping and marker-assisted selection in Rosaceae crops. *PNAS.*101 (26):9891-9896.
- Dong, W.; Liu, J.; Yu, J.; Wang, L. and Zhou, S.(2012). Highly variable chloroplast markers for evaluating plant phylogeny at low taxonomic levels and for DNA barcoding. *PLoS ONE.*7(4).
- Donoghue, M.J.; Olmstead, R. G.; Smith, J.F. and Palmer, J.D.(1993). Phylogenetic relationships of Dipsacales based on *rbcL* sequences. *Annals of the Missouri Botanic Garden.* 79: 333-345.

- Drenkard, E.; Richter, B.G. Rozen, S.; Stutius, L.M.; Angell, N.A.; Mindrino, M.; Cho, R.J.; Oefner, P.J.; Davis, R.W.; Ausubel, F.M.(2000). A simple procedure for the analysis of single nucleotide polymorphisms facilitates map-based cloning in *Arabidopsis*. *Plant Physiol.* 124: 1483-1492.
- Drenou, C. (2000). Pruning trees: The problem of forks. *J. Arboriculture.* 26:264-269.
- Echeverría, G.; Cano, J.; Alonso, I. and Iglesias, I. (2012). The Influence of peach and nectarine cultivar on fruit colour, fruit quality and consumer acceptance. *Acta Hort. (ISHS).* 962:481-488
- Elhamzaoui, A.; Oukabli, A.; Charafi, J. and Moumni, M.(2012). Assessment of genetid diversity of Moroccan cultivated almond (*Prunus dulcis* Mill. DA Webb) in its area of extreme diffusion, using nuclear microsatellites. *American Journal of plant sciences.* 3: 1294-1303.
- Elias, R.; Till, B.J. Mba, C. and Al-Safadi, B.(2009). Optimizing TILLING and Ecotilling techniques for potato (*Solanum tuberosum* L.). *BMC. Res. Notes.* 2(10): 1186-1756.
- Esfahlan, A. J.; Esfahlan, R. J.; Jamei, R. and Ali Esfahlan, J. (2012). Morphology and physicochemical properties of 40 genotypes of almond (*Amygdalus communis* L.) fruits. *Euro. J. Exp. Bio.* 2 (6): 2456-2464.
- FAO stat. (2013). Food and Agriculture Organization of the United Nations. Rome. Italy.
- Fathi, A.; Ghareyazi, B.; Haghnazari, A.; Reza Ghaffari, M.; Pirseyedi, S.M. Kadkhodaei, Reza Naghavi, M.; Mardi, M.(2008). assessment of the genetic diversity of almond (*Prunus dulcis*) using microsatellite markers and morphological traits. *Iranian Journal of Biotechnology.* 6(2):98-106.
- Fathi, M. A.; Hussein, SH.M. and Mohamed, S.Y.(2013). Horticultural and molecular genetic evaluation of some peach selected strains cultivated under Kalubiah governate conditions. *J. Am. Sci.* 9:12-23.
- Felsenstein, J.(1985). Confidence limits on phylogenies: An approach using the bootstrap. *Evol.* 39: 783-791.
- Fernandez i Marti, A.; Alonso, J.M.; Espiau, M.T.; Rubio- Cabetas, M.J. and Socias i Company, R.(2009). Genetic diversity in Spanish and foreign almond germplasm assessed nby molecular characterization with simple sequence repeats. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 134(5): 535-542.
- Fernandez i Marti, A.; Athanson, B.; Koepke , T.; Font i Forcada, C.; Dhingra, A. and Oraguzie, N.(2012). Genetic diversity and relatedness of sweet cherry (*prunus avium* L.). cultivars based on single nucleotide polymorphic (SNP) markers. *Frontiers Plant Sci.* 3:116.
- Fleckinger, J.(1945). Notations phenologiques et representations graphiques du development des bourgeons de poiriers. *Congres de Paris de l'Association francaise pour l'avancement des Sciencies*, Paris, pp. 118.
- Focke, W. O.(1894). Rosaceae. In: Engler, A. and Prantl, K.(eds.). *Die natu"rlichen pflanzenfamilien.* Engelmann, Leipzig, Germany. III(3): 1–61.

- Font i Forcada, C.; Gogorcena, Y. and Moreno, M.A.(2013a). Agronomical and fruit quality traits of two peach cultivars on peach-almond hybrid rootstocks growing on mediterranean conditions. *Scientia Horticulturae*. 140:157-163.
- Font i Forcada, C.; Moreno, M.A. Gogorcena, Y.(2013b). Population structure and marker-trait associations for pomological traits in peach and nectarin cultivars. *Tree Genet. Genomes*.9: 331-349.
- Font i Forcada, C.; Gradziel,T.; Gogorcena, Y. and Moreno, M.(2014). Phenotypic diversity among local Spanish and foreign peach and nectarine (*Prunus persica*(L.) Batsch) accessions. *Euphytica*.197:261-277.
- Freshwater, D.W. and Rueness, J.(1994). Phylogenetic relationships of some European Gelidium (Gelidiales, Rhodophyta) species, based on rbcL nucleotide sequence analysis. *Phycologia*. 33(3). 187-194.
- Fusari, C.M.; Lia, V.V.; Nishinakamasu, V.; Zubrzycki, J.E. and Puebla, A.F. (2011). Single nucleotide polymorphism genotyping by heteroduplex analysis in Sunflower (*Helianthus annuus* L.). *Mol. Breed*. 28: 73-89.
- Fuse, S. and Tamura, M.M.(2000). A phylogenetic analysis of the plastide matK gene with emphasis on Melanthiaceae sensu lato. *Plant Biol*.2: 413-427.
- Gadek, P. A.; Wilson, P. G. and Quinn, C. J.(1996). Phylogenetic reconstruction in Myrtaceae using *matK*, with particular reference to the position of 41 Psiloxylon and Heteropyxis. *Australian Systematic. Botany*. In press.
- George, A.P. and Nissen, R.J. (1992). Effects of water stress, nitrogen and paclobutrazol on flowering, yield and fruit quality of the low-chill peach cultivar Flordaprince. *Sci. Hort*. 49:197-209.
- Ghora, C. and Panigrahi, G.(1995). The family Rosaceae in India. Bishen Singh Mahendra Pal Singh. Dehra Dun. India. Vol. 2.
- Gilchrist, E.J.; Haughn, G.W.; Ying, C.C. Otto, S.P.; Zhuang, J.; Cheung, D.; Hamberger, B.; Aboutorabi, F.; Kalynyak, T.; Johanson, L.; Bohlmann, J.; Ellis, B.E. Douglas, C.J. and Cronk, Q.C.(2006). Use of ECOTILLING as an efficient SNP discovery tool to survey genetic variation in wild populations of : *Populus trichocarpa*. *Mol. Ecol*. 15: 1367-1378.
- Gomez, E.(2004). Molecular identification of seven *Prunus* rootstocks using simple sequence repeats. Master thesis. Faculty of Agronomy and Forestry. Pontificia university. Chile.
- Gouta, H.; Ksia, E.; Mliki, A. and Gogorcena, Y.(2013). Molecular variance of the Tunisian almond germplasm assessed by simple sequence repeat (SSR) markers. *African Journal of Biotechnology*. 12(29). 4569-4577.
- Gouta, H.; Ksia, E.; Buhner-Zaharieva, T.; Mliki, A. and Gogorcena, Y.(2012). Development af an SSR-based identification key for Tunisian local almonds. *Scientia Agricola*. 69(2): 108-113.
- Gouta, H.; Ksia, E.; Buhner, T.; Moreno, M.A.; Zarrouk, M.; Mliki, A. and Gogorcena, Y.(2010). Assessment of genetic diversity and relatedness among Tunisian almond germplasm using SSR markers. *Hereditas*. 147: 283-292.
- Gradziel, T.M. (2003). Interspecific hybridizations and subsequent gene introgression within *Prunus* Subgenus Amygdalus. *Acta. Hort*. 622: 249–255.

- Grasselly, C.(1976). Origine et evolution de l amandier cultive. Options Mediterraneennes.32:45-49.
- Gross, E.; Arnold, N.; Goette, J.; Schwarz-Boeger, U. and Kiechle, M.(1999). A comparsion of BRCA 1 mutation analysis by direct sequencing, SSCP and DHPLC. Hum. Genet. 105: 72-78.
- Gulcan, R.(1985). Descriptor list for almond (*Amygdalus amygdalus*). (Revised edn). International Board of Plant Genetic Resources. Rome.
- Gupta, P.K. and Varshney, R.K. (2000).The development and use of microsatellite markers for genetic analysis and plant breeding with emphasis on bread wheat. Euphytica. 113:163-185.
- Hall, T. A. (1999). BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for windows 95/98/NT. Nucl. Acids. Symp.Ser.41:95-98.
- Hammer, O.; Harper, D.A.T. and Ryan, P.D. (2001). PAST: Paleontological statistics software package for education and data analysis.Palaeontologia Electronica.4 (1):9pp.
- Hardner, C.; Winks, C.; Stephenson, R. and Gallagher, E. (2001). Genetic parameters for nut and kernel traits in macadamia. Euphytica. 117: 151–161.
- Hartman, T.(1975). Plant propagation. Principles and practices. Prentice- Hall. Inc. England cliffs. New Jersey. 662pp.
- Hedrick, U.P. (1917). The peaches of New York, Report of the N.Y. Agricultural experiment station for the year 1916. N.Y. Agricultural Experiment Station, Geneva.
- Hend, B.T.; Ghada, B.; Sana, B.M.; Mohamed, M.; Mokhtar, T.; Amel, S.H.(2009). Genetic relatedness among Tunisian plum cultivars by random amplified polymorphic DNA analysis and evaluation of phenotypic characters. Sci. Hortic. 121: 440-446.
- Hesse, C. (1975). Peaches. In Advances in fruit breeding. J. Janick and J. Moore (eds). Purdue University Press, West Lafayette, Ind. pp. 285–335.
- Hilu, K.W. and Liang, H.(1997). The *matK* gene: Sequences variation and application in plant systematics. American Journal of Botany. 84: 830-839.
- Hintze, J. (2007). NCSS 2007. NCSS, LLC. Kaysville, Utah, USA. www.ncss.com.
- Hokanson, S.C.; Szewc-McFadden, A.k.; Lamboy, W.F.; McFerson , JR.(1998). Microsatellite (SSR) markers reveal genetic identities, genetic diversity and relationships in a *Malus × domestica* Borkh. Core subset collection. Theor. Appl. Genet. 97:671–683.
- Hollingsworth, P.M.; Graham, S.W. and Little, D.P.(2011). Choosing and using a plant DNA barcode. PloS ONE. 6(10).1371.
- Hormaza, J.I. (1998).Early selection in cherry combining RAPDs with embryo culture. Scientia Horticulturae.79:121-126.
- Hormaza, J.I. (2002).Molecular characterization and similarity relationships among apricot (*Prunus armeniaca* L.) genotypes using simple sequence repeats. Theoretical and Applied Genetics.104: 321-328.

- Hu, D. and Scorza, R.(2009). Analysis of the 'A72' peach tree growth habit and its inheritance in progeny obtained from crosses of 'A72' with columnar peach trees. J. Amer. Soc. Hort.Sci.134(2): 236-243.
- Huang, X.Q.; Borner, A.; Roder, M.S. and Ganai, M.W. (2002). Assessing genetic diversity of wheat (*Triticum aestivum* L.) germplasm using microsatellite markers. Theor. Appl. Genet. 105: 699-707.
- Hussain, M. A.; Verma, V. and Zamil Abidin, M.(2008). Molecular analysis of dicot-monocot split and relationship among major angiosperm groups. African Journal of Plant Science. 2 (1):1-4.
- Hutchinson, J.(1964). The genera of flowering plants. Clarendon Press. Oxford. UK. Vol.1.
- Iglesias, I and Echeverria, G.(2009). Differential effect of cultivar and harvest date on nectarine colour, quality and consumer acceptance. Sci. Hort.120(1):41-50.
- Ince, A. G.; Karaca, M.; Onus, A.N. and Bilgen, M.(2005). Chloroplast *matK* gene phylogeny of some important species of plants. Akdeniz Universitesi Ziraat Fakultesi Dergisi. 18(2). 157-162.
- Inglese, P.; Caruso, T.; Gugliuzza, G. and Pace, L.S.(2001). The effect of crop load and rootstock to dry matter and carbohydrate partitioning in peach trees(*Prunus persica* L. Batch). Acta. Hort. 557: 447-456.
- Ito, T.; Katayama, Y. and Hiramatsu, K.(1999). Cloning and nucleotide sequence determination of the entire mec DNA of pre-methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* N315. Antimicrob Agents Chemother.43(6):1449-58.
- Jarrel, D.C. and Clegg, M. T.(1995). Systematic implications of the chloroplast-encoded *matK* gene on the tribe Vandeeae (Orchidaceae). American Journal of Botany. 82: 137.
- Jawdat, D., Elias, R., Al- Faoury, H. and Al-Safadi, B.(2013). Identification of a polymorphic region in the chloroplast gene *rbcL* by EcoTilling. Inter. J. Bot. 9:140-146.
- Jelenkovic, G. and Harrington, E.(1972). Morphology of the pachytene chromosomes in *Prunus persica*.Can.J.Genet.Cytol. 14:317-324.
- Johnson, L. A. and D. E. Soltis.(1995). Phylogenetic inference in Saxifragaceae sensu stricto and Gilia (Polemoniaceae) using *matK* sequences. Annals of the Missouri Botanic Garden. 82: 149-175.
- Johnson ,L. A.; Schultz, J.L.; Soltis, D.E. and Soltis, P.S.(1996). Monophyly and generic relationships of Polemoniaceae based on *matK* sequences. American Journal of Botany. 83: 1207-1224.
- Joy, D. A. and Conn, J. E.(2001). Molecular and morphological phylogenetic analysis of an insular radiation in Pacific black flies (*Simulium*). Systematic Biology 50: 18–38.
- Junior, L.; Durigan, M.; Mattiuz, B.H.; Martins, R. and Durigan, J.(2007). Characterization of the maturation curve in 'Aurora-1' peaches in the region of Jaboticabal-SP. Rev. Bras. Frutic. 29(3):661-665.
- Kadkhodaei, S.; Shahanazari, M.; Khayyam Nekouei, M.; Ghasemi, M.; Etminani, H.; Imani, A. and Arbakariya Ariff, B.(2011). A comparative study of morphological

- and molecular diversity analysis among cultivated almonds (*Prunus dulcis*) Australian Journal of crop sciences.5(1):82-91.
- Kadkhodaei, S.; Elahy, M.; Nekouei, M.; Khayyam, A; Imani, A.; Shahnazari, M.; Mardi, M.; Javanmard, A. and Ariff, Arbakariya. (2010). A panel of cultivar specific marker based on polymorphisms at microsatellite markers for Iranian cultivated almonds(*Prunus dulcis*). Australian Journal of Crop Science. 4 (9): 730-736.
- Kahl, G. (2001).The Dictionary of Gene Technology. Wiley-VCH.Weinheim.
- Kalkman, C.; (1965). The old world species of *Prunus* sugen. *Laurocerasus* including those formerly referred to Pygeum. Blumea. 13: 1-115.
- Kester, D.E.; Gradziel, T.M. and Grasselly, C.(1991). Almonds (*Prunus*). In: Moore, J.M. and J.R. Ballington (eds), Genetic resources of temprate fruit and nut crops. pp:701-758.Published by the International Society for Horticultural Sciences, Wageningen, The Netherlands.
- Kester, D.E.; Hansche, P.E.; Beres, V. and Asay, R.N.(1977). Variance components and heritability of nut and kernel traits in almond. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 102 (3): 264– 266.
- Kester, D.E. and Asay,R. (1975). Almonds. In: Janick, J. and Moore, J.N.(eds). Advances in fruit breeding.Purdue Univ. Press. 387-419.
- Kimura, M.(1980). A simple method for estimating evolutionary rates of base substitutions through comparative studies of nucleoitde sequences. J. Mol. Evol. 16(2). 111-120
- Koch, M.; Haubold, B. and Mitchell-Olds, T.(2001). Molecular systematic of the *Brassicaceae*: Evidence from coding plastidic *matK* and nuclear *chs* sequences. Amer. J. Botany. 88:534-544.
- Kodad, O.; Socias i Company, R.(2005). Floral characterization of some self-compatible almond selections. In : Oliveira, M.M.; Cordeiro, V. (eds.). XIII GREMPA Meeting on Almonds and Pistachios . Zaragoza CIHEAM.63:161-166.
- Koehne, B. A. E.(1911). Die Gliederung von *Prunus* subgen. *Padus*. Verhandhunben des botanischen Vereins der Provinz Brandenburg. Berlin. 52: 101–108.
- Komarov, V. L.(1971). Rosaceae: Rosoideae, Amygdaloideae. In Flora of the U.S.S.R. English translation. Smithsonian Institution, Washington, D.C., USA.10: 1–512.
- Krzywinski, J.; Wilkerson,R. C. and Besansky, N. J.(2001). Towards understanding Anophelinae (Diptera, Culicidae) phylogeny: insights from nuclear single-copy genes and the weight of evidence. Systematic Biology. 50: 540–556.
- Kuden, A.B.(1997). Almond germplasm and production in Turkey and the future of almonds in the gap area. Second international symposium on pistachios and almonds. California, USA. pp: 29-33.
- Kumar, P; Gupta, V.K.; Misra, A.K.; Modi, D.R. and Pandey B.K.(2009). Potential of molecular markers in plant biotechnology. Plant Omics Journal. 2:141-162.
- Lammeits, W.E. (1945). The breeding of ornamental peaches for mild climates. Inheritance of tree and flower characters. Amer. J. Rot. 32:223-231.

- Lansari, A.; Iezzoni, A. F. and Kester, D.E.(1994). Morphological variation within collections of Moroccan almond clones and Mediterranean and North American cultivars. *Euphytica*. 78:27-41.
- Lazar, I. (2010). Gel Analyzer a: Freeware 1D gel electrophoresis image analysis software. Available online: <http://www.gelanalyzer.com>.
- Le Dantec, L.; Cardinet, G.; Bonet, J.; Fouche, M.; Boudehri, K.; Monfort, A.; Poessel, J.L.; Moing, A. and Dirlewanger, E.(2010). Development and mapping of peach candidate genes involved in fruit quality and their transferability and potential use in other Rosaceae species. *Tree Genet Genomes*. 6: 995-1012.
- Ledbetter, C.A. (2008). Shell cracking strength in almond (*Prunus dulcis* [Mill.] D.A.Webb.) and its implication in uses as a value- added product. *Bioresource Technology*. 99: 5567-5573.
- Lee, S. and Wen, J.(2001). Phylogenetic analysis of *Prunus* and the *Amygdaloidea* (Rosaceae) using ITS sequences of nuclear ribosomal DNA. *Am. J. Bot.* 88:150-160.
- Liang, H. and Hilu, K. W.(1996). Application of the *matK* gene sequences to grass systematics. *Canadian Journal of Botany*.74: 125-134.
- Lidholm, J. and Gustafsson, P.(1991). A three-step model for the rearrangement of the chloroplast *trnK-psbA* region of the gymnosperm *Pinus contorta*. *Nucleic Acids Research*. 19: 2881-2887.
- Linnaeus, C.(1754). *Genera plantarum*, 5th ed. Stockholm, Sweden.
- Liu, X.; Reighard, G.L.; Swire-Clark, G.A. and Baird, W.V.(2007). Peach rootstock identification by DNA- fingerprinting with microsatellites (SSR) markers. *J. Am. Pomol. Soc.* 61: 162-166.
- Liu, K.; Muse, S.V.(2005).Power Marker: An integrated analysis environment for genetic marker analysis.*Bioinformatic*.21(9):2128.
- Liverani, A.; Giovannini, D. and Brandi, F.(2002). Increasing fruit quality of peaches and nectarines: the main goals of ISF-FO(Italy). *Acta. Horticultureae*.592:507-514.
- Lopez, G, De Jong, T.M.(2007). Spring temperature have a major effect on early stages of peach fruit growth. *J. of Hort. Sci. and Bio*.82:507-512.
- Ma, R.; Xie, H.; Xu, Y.; Ma, Y.; Jiang, Y. Q. and Cao, M. Q.(2005). Molecular analysis of almond germplasm in china. In: Oliveira, M.M.(ed), Cordeiro, V.(ed). XIII GREMPA Meeting on almonds and pistachios. Zaragoza: CIHAM. Options Mediterraneennes.63: 281-290.
- Maghuly, F.; Camara Machado, A.; Ruthner, S.Z.; Pedryc, A.; Bisztray, G.; Katinger, H. and Laimer, M.(2004). Biotechnology of temperate fruit trees and grapevines. IV. CHB. Symposium. Book of abstracts. 204.
- Mantel, N.(1967). The detection of disease clustering and generalized regression approach. *Cancer. Res.* 27:209-220.
- Maroufi, A.; Bockstaele, E.V. and Loose, M.D.(2010). Validation of reference genes for gene expression analysis in chicory (*Cichorium intybus*) using quantitative real-time PCR. *BMC Molecular Biology*. 11: 15.

- Martinez-Garcia, P.J.; Parfitt, D.E.; Ogundiwin, E.A.; Fass, J.; Chan, H.M.; Ahmad, R.; Lurie, S.; Dandekar, A.; Gradziel, T.M.; Crisosto, C.H.(2012). High density SNP mapping and QTL analysis for fruit quality characteristics in peach(*Prunus persica* L.). *Tree Genet Genomes*.9(1):19pp.
- Martinez-Gomez, P.; Arulsekhar, S.; Potter, D. and Gradziel, T.M.(2003a). Relationships among peach, almond, and related species as detected by simple sequence repeat markers. *J. Amer. Hort. Sci.* 128(5): 667-671.
- Martinez-Gomez, P.; Arulsekhar, S.; Potter, D.(2003b). An extended interspecific gene pool available to peach and almond breeding as characterized using simple sequence repeat (SSR) markers. *Euphytica*.131: 313- 322.
- McCallum, C.M.; Comai, L.; Grene, E.A. and Henikoff, S.(2000). Targeted screening for induced mutations. *Nat. Biotechnol.* 18: 455-457.
- McKey, D.; Elias, M.; Pujol, B. and Duputie, A.(2010). The evolutionary ecology of clonally propagated domesticated plants. *New Phytol.* 186:318-332.
- McVaugh, R. (1951). A revision of the North American black cherries (*Prunus serotina* Ehrh., and relatives). *Brittonia*.7: 279–315.
- Mejlhede, N.; Kyjovska, Z.; Backes, G.; Burhennem K.; Rasmussen, S. k. and Jahoor, A.(2006). EcoTILLING for the identification of allelic variation in the powdery mildew resistance genes mlo and Mla of barley. *plant Breeding*. 125: 461-467.
- Messeguer, R.; Arus, P. and Cerrera, M.(1987). Identification of peach cultivars with pollen isozymes. *Scientia Hort.* 31: 107-117.
- Messina, R; Lain, O.; Marrazzo, M.T.; Huang, W-G.; Cipriani, G. and Testolin, R. (2003). Isolation of microsatellites from almond and apricot genomic libraries and testing for their transportability across different *Prunus* species. *ISHS Acta Horticulturae*. XI Eucarpia Symposium of Fruit Breeding and Genetics.663.
- Meyer, A.; Todt, C.; Mikkelsen, N. T. and Lieb, B. (2010). "Fast evolving 18S rRNA sequences from Solenogastres (Mollusca) resist standard PCR amplification and give new insights into mollusk substitution rate heterogeneity". *BMC Evolutionary Biology* 10: 70.
- Micke, W.C. and Kester, D.E. (1997). Almond growing in California. Second international symposium on pistachios and almonds. California, USA.pp: 21-28.
- Milošević, T.; Milošević, N. and Glišić, I.(2012).Evaluation of fruit growth and postharvest physical and chemical properties of nectarine{*Prunus persica* var. nectarine(Ait.)Maxim.}. *Acta. Sci. Plo. Hortorum Cultus*.11(5): 17-30.
- MirAli, N. and Nabulsi, I.(2003). Genetic diversity of almonds (*Prunus dulcis*) using RAPD technique. *Scientia. Hort.* 98:461-471.
- Mnejja, M.; Garcia-Mas, J.; Howad, W. and Aru's, P. (2005). Development and transportability across *Prunus* species of 42 polymorphic almond microsatellites. *Molecular Ecology Notes*.5 (3): 531-535.
- Monet, R. and Salesses, G. (1975). Un nouveau mutant (IC nanisme chez Ic pécher. *Annales Amelioration Plantes*. 25:353-359.
- Moreno, M.A.; Tabuenca, M. C. and Cambra, R.(1995). Adesoto101, a plum rootstock for peaches and other stone fruit. *Hort. Sciences*.30: 1314-1315.

- Morgan, D.R.; Soltis, D. E. and Robertson, K.R.(1994). Systematic and evolutionary implications of *rbcL* sequence variation in Rosaceae. *American Journal of Botany*.81: 890-903.
- Mounzer ,O.H.; Conejero, W.; Nicolas, E. ; Abrisqueta, I.; Garcia-Orellana, Y.V.; Tapia, L.M.; Vera, J. Abrisqueta, J.M.; Ruiz-Sanchez, M.C. (2008). Growth pattern and phenological stages of early-maturing peach trees under a Mediterranean climate. *Hort. Science*. 43:1813-1818.
- Mowrey, B. D. and Werner, D. J.(1990). Phylogenetic relationships among species of *Prunus* as inferred by isozyme markers. *Theoretical and Applied Genetics*. 80: 129–133.
- Nagaty, M.A. and El-Assal, S.E.D.(2011). Molecular, flowering and fruiting characterization of some local peach (*Prunus persica* (L.) Batsch) cultivars grown in west region of KSA. *Arab J. Biotech*. 14(1): 61-76.
- NCBI National Center for Biotechnology Information.<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>.
- Neuhaus, H. and Link, G.(1987). The Chloroplast tRNA^{Lys}(UUU) gene from mustard (*Sinapis alba*) contains a class II intron potentially coding for a maturase- related polypeptide. *Current Genetics*. 11: 251-257.
- Newmaster, S.G.; Fazekas, A.J. and Ragupathy, S.(2006). DNA barcoding in land plants: Evaluation of *rbcL* in a multigene tiered approach. *Can. J. Bot*. 84: 335-341.
- Nieto, C.; Piron, F.; Dalmais, M.; Marco, C.F.; Moriones, E.; Gomez-Guillamon, M.L.; Truniger, V.; Gomez, B.; Garcia-Mass, J.; Aranda, M.A. and Bendahmane, A. (2007). EcoTILLING for the identification of allelic variants of melon *elF4E*, a factor that controls virus susceptibility. *BMC. Plant Biol*. 7: 34.
- Nikoumanesh, K.; Ebadi, A.; Zeinalabedini, M. and Gogorcena, Y. (2011). Morphological and molecular variability in some Iranian almond genotypes and related *Prunus* species and their potentials for rootstock breeding. *Sci. Hort*.129 (1): 108-118.
- Nisar, M. and Ullah, I.(2011). Genetic diversity in *Prunus persica* L.(Batsch) reported from Malakand division, Khyber Pakhtunkhwa, Pakistan. *Proceeding of the 1st International Technology, Education and Environment Conference*. African Society for Scientific Research(ASSR).150-159.
- Oh, S. and Potter, D. (2005). Molecular phylogenetic systematics and biogeography of tribe *Neillieae* (Rosaceae) using DNA sequences of cpDNA, rDNA, and LEAFY. *Amer. J. Bot*. 92: 179–192.
- Okie, W.R.(1998). Handbook of peach and nectarine varieties: performance in the Southeastern United States and index of names. USDA. *Agriculture Handbook*. 714.
- Oleykowski, C.A.; Bronson Mullins, C.R.; Godwin, A.K. and Yeung, A.T.(1998). Mutation detection using a novel plant endonuclease. *Nucleic Acids Res*. 26: 4597-4602.

- Olmstead, R.G.; Michaelis, H.J.; Scott, K.M. and Palmer, J.D.(1992). Monophyly of the Asteridae and identification of their major lineages inferred from DNA sequences of *rbcL*. Ann. Missouri Bot. Gard. 79:249-265.
- Onwuegbuzie, A.; Daniel, L. and Leech, N. (2007). Pearson product-moment correlation coefficient. In: Salkind, N. (ed.), Encyclopedia of measurement and statistic.751-756.
- Orazem, P.; Stamper, F. and Hudina, M.(2011). Fruit quality of Redhaven and Royal Glory peach cultivars on seven different rootstocks. J. Agric. Food. Chem.59(17): 394-401.
- Palasciano, M.; Camposeo, S. and Godini, A. (2005). Stomatal size and frequency in wild (*A. webbii*) and cultivated (*A. communis*) almonds. In: Oliveira, M.M. and Cordeiro, V. (eds.). XIII GREMPA Meeting on almonds and pistachios. Options Méditerranéennes. 63: 305-310.
- Potter, D.; Parfitt, E. (2001). Phylogeny and systematics of *Prunus* (Rosaceae) as determined by sequence analysis of ITS and the chloroplast *trnL-trnF* spacer DNA. Sys. Botany. 26: 797-807.
- Potter, D.; Gao, F.; Bortiri, P.E.; Oh, S.H. and Baggett, S.(2002). Phylogenetic relationships in Rosaceae inferred from chloroplast *matK* and *trnL-trnF* nucleotide sequence data. Plant Systematic Evolution. 231: 77-89.
- Potter, D. (2003). Molecular phylogenetic studies in Rosaceae. In: Sharma, A.K. and Sharma, A.(eds).Plant genome: biodiversity and evolution. Biodiversity and Evolution. 2: 319-351.
- Potter, D.; Eriksson, T.; Evans, R.C.; Oh, S.; Smedmark, J.E.E.; Morgan, D.R.; Kerr, M.; Robertson, K.R.; Arsenault, M.; Dickinson, T.A. and Campbell, C.S. (2007). Phylogeny and classification of Rosaceae. Plant Syst. Evol.266: 5-43.
- Plunkett, G. M.; Soltis, D. E. and Soltis, P. S. (1996). Evolutionary Pattern in Apiaceae: Inferences Based on *matK* Sequence Data. Systematic Botany. 21(4): 477-495.
- Powell, W.; Morgante, M.; Andre, C.; Hanafey, M.; Vogel, J.; Tingley, S. and Rafalski, A. (1996). The comparison of RFLP, RAPD, AFLP and SSR (microsatellite) markers for germplasm analysis. Mol. Breed. 2: 225-238.
- Qiu, Y.L.; Chase, M.W.; Les, D.H. and Parks, C.R.(1993) .Molecular phylogenetic of the Magnoliidae: cladistic analyses of nucleotide sequences of the plastid gene *rbcL*. Ann. Missouri Bot. Gard. 80:587-606.
- Quan, X and Zhou, S.L.(2011). Molecular identification of species in *Prunus* sect. *Persica* (Rosaceae), with emphasis on evaluation of candidate barcodes for plants. Journal of Systematics and Evolution.49 (2): 138-145.
- Quicke, D.L.J.(1993). Principle and techniques of contemporary taxonomy. Chapman and Hall. Glasgow. UK.
- Quilot, B.; Wu, B.H.; Kervella, J.; Genard, M.; Foulongne, M. and Moreau, K. (2004). QTL analysis of quality traits in an advanced backcross between *Prunus*

- persica* cultivars and the wild relative species *P. davidiana*. Theor. Appl. Genet. 109:884-897.
- Raghavan, C.; Naredo, M.E.B.; Wang, H.H.; Atienza, G.; Liu, B.; Qiu, F.L.; McNally, K.L. and Leung, H.(2007). Rapid method for detecting SNPs on agarose gels and its application in candidate gene mapping. Mol. Breeding. 19: 87-101.
- Rakshit, A.; Rakshit, S.; Matsumura, H.; Takahashi, Y. and Hasegawa, Y. (2007). Large-scale DNA polymorphism study of *Oryza sativa* and *O. rufipogon* reveals the origin and divergence of Asian rice. Theor. Applied Genet. 114: 731-743.
- Rehder, A.(1940). Manual of cultivated trees and shrubs hardy in North America. 2nd ed. New York. USA. Macmillan.
- Rojas, G.; Mendez, M.A.; Munoz, C.; Lemus, G. and Hinrichsen, P.(2008). Identification of a minimal microsatellite marker panel for the fingerprinting of peach and nectarine cultivars. Mol. Bio. Gen. 11(5).
- Rasouli, M.; Mousavi, A.; Mohammadparast, B. and Martinez-Gomez, P.(2012). Optimization of the analysis of almond DNA simple sequence repeats (SSRs) through submarine electrophoresis using different agarose and staining protocols. Journal of Nuts.3(2). 17-20.
- Rasouli, M.; Fatahi, R.; Zamani, Z.; Imani, A. and Ebadi, A. (2013). Phenotype evolution some of almond cultivars and genotypes with using morphological markers. Iran. J. Hort. Sci.43: 357-370.
- Romero, C.; Muñoz, V.; Lláce, G. and Badenes, M.L. (2003). Genetic diversity of different apricot geographical groups determined by SSR markers. Genome. 46: 244–252.
- Rostoks, N.; Ramsay, L.; MacKenzie, K.; Cardle, L.; Bhat, P.R.; Roose, M.L. Svensson, J.L.; Stein, N.; Varshney, R.K.; Marshall, D.F.; Grainer, A.; Close, T.J. and Waugh, R.(2006). Recent history of artificial outcrossing facilitates whole-genome association mapping in elite inbred crop varieties. Proceedings of National Academy of Science USA. 103(49). 18656-18661.
- Rickter, A.A. (1972). L amandier. Academic des sciences agricoles. Jardin botanique de Nikitski. Yaltas.
- Rink, G.; Loewenstein, E.F.; Garrett, H.E.; Haines, J.K. and Jones, J.E.(1997). Variation in nut, kernel and shell characteristics of *Juglans nigra* L. Acta. Horticultur. 442: 197–204.
- Ruiz, D. and Egea, J. (2008). Phenotypic diversity and relationships of fruit quality traits in apricot (*Prunus armeniaca* L.) germplasm. Euphytica.163 (1):143-158.
- Sanchez-Perez, R.; Ballester, J.; Dicenta, F.(2006). Comparison of SSR polymorphism using automated capillary sequencers, and polyacrelamide and agarose gel electrophoresis: implications for the assessment of genetic diversity and relatedness in almond. Sci. Hort. 108: 310-316.
- Sánchez-Pérez, R.; Howad, D.; Dicenta, F.; Arús, P. and Martínez-Gómez, P. (2007). Mapping major genes and quantitative trait loci controlling agronomic traits in almond. Plant. Breed. 126:310-318.

- Sánchez-Pérez, R.; Ortega, E.; Duval, H.; Martinez-Gomez, P. and Dicenta, F.(2007). Inheritance and relationships of important agronomic traits in almond. *Euphytica*.155: 381-391.
- Scorza, R. and Sherman, W.B.(1996). Peaches. In: Janick, J. and Moore, J.N.(eds). Fruit Breeding. Tree and tropical fruits. Vol1.John Wiley and Sons. New York. 325-440p.
- Scorza, R. and Tworkoski, T.(2001). Root and shoot characteristics of peach trees with different growth habits. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*126(6):785-790.
- Seferoglu, G. and Tekintaş, F.E.(2004). Adaptation of some nectarine cultivars in Aydin Region. *Pak. J. Biol. Sci.* 7: 114–117.
- Serrano, B.; Gomez-Aparisi, J. and Hormaza, J.I.(2002). Molecular fingerprinting of *Prunus* rootstocks using SSRs. *J. Hortic. Sci. Biotech.* 77:368-372.
- Shaw, J. and Small, R.L.(2004). Addressing the "hardset puzzle in American pomology": phylogeny of *Prunus* sect. *Prunocerasus* (Rosaceae) based on seven noncoding chloroplast DNA sequences. *American Journal of Botany.* 91: 985-996.
- Shi, S.; Li, J.; Sun, J.; Yu, J. and Zhou, S.(2013). Phylogeny and classification of *Prunus sensu lato* (Rosaceae). *Journal of Integrative Plant Biology.* 55(11).1069-1079.
- Shinwari, Z.K.; Sultan, S. and Mehmood, T.(2011). Molecular and morphological characterization of selected *Mentha* species. *Pak. J. Bot.*, 43(3): 1433-1436.
- Shiran, B.; Amirbakhtiar, N.; Kiani, S.(2007). Molecular characterization and genetic relationships among almond cultivars assessed by RAPD and SSR marker. *Sci. Hort.*111: 280-292.
- Shokralla, S.; Gregory, A.; Singer, C. and Hajibabaei, M. (2010). Direct PCR amplification and sequencing of specimens' DNA from preservative ethanol. *Bio.techniques*.48:233-234.
- Shukla, P. and Missra, S. 1979. An introduction to taxonomy of angiosperms. Vikas publishing house. PVT LTD. Newdelhi. 576
- Simsek, O.(2009). Determination of allelic diversity of candidate genes responsible for resistance to iron chlorosis by SSCP markers in some Citrus rootstocks. Master thesis. Cukurova University. Institute of basic and applied science. Biotechnology department. 11-12pp.
- Simsek, O. and Aka Kacar, Y.(2010). Discovery of mutations with TILLING and ECOTILLING in plant genomes. *Scientific Research and Essays.* 5(24). 3799-3802.
- Sneath, P.H.A. and Sokal, R.R.(1973). Numerical taxonomy. W,H. Freeman and Company. San Francisco, USA.ISBN: 0-7167-0697-0.
- Socias i Company, R. and Rallo-I- Garcia, J. (1996). Study of the pollination of the main almond cultivars. Mallorca (Spain). *Investigacion agraria produccion proteccion- veytales(españa)* II(1):21-31.
- Socias i Company, R.; Felipe, A.J. and Gomez Aparisi, J. (1999). A major gene for flowering time in almond. *Plant Breed.* 118: 443-448

- Soltis, D.E.; Soltis, P.S.; Chase, M.W.; Mort, M.E. and Albach, D.C.(2000). Angiosperm phylogeny inferred from 18SrDNA, rbcL and atpB sequences. Bot. J. Linn. Soc. 133: 381-461.
- Sorkheh, K.; Shiran, B.; Gradziel, T.M.; Epperson, B.K.; Martínez-Gómez, .P and Asadi, E.(2010). Genetic diversity among cultivated genotypes and related wild species of almond and its relationships with agronomy traits. Euphytica. 156: 327-344.
- Sosinski, B.; Gannavarapu, M.; Hager, L.D.; Beck, L.E.; King, G.J.; Ryder, C.D.; Rajapakse,S.; Baird, M.V.; Ballard, R.E. and Abbott, A.G.(2000). Characterization of microsatellite markers in peach (*prunus persica*L. Batsch). Theoretical and Applied Genetics.101: 421-428.
- Soylu,E. N. and Gonulol, A.(2012). Morphological and 18S rRNA analysis of coccoid green algae isolated from lakes of Kızılırmak Delta. Turk. J. Biol. 36: 247-254.
- Spiegel-Roy, P. (1986). Domestication of fruit trees. In Barigozzi, C.(ed). The origin of domestication of cultivated plants. Elsevier. Amsterdam. 201-211pp.
- Steele, K.P. and Vilgalys, R.(1994). Phylogenetic analysis of *Polemoniaceae* using nucleotide sequences of the plastid gene *matK*. Systematic Botany. 19: 126-142.
- Strikić, F.; Radunić, M.; Pasković, I.; Klepo, T. and Čmelik, Z. (2010). Morphological and pomological traits of almond phenotypes (*Amygdalus communis* L.) isolated from their natural population. A.J.Bio.9(4): 454-460.
- Sugita, M.; Shinozaki, K .and Sugiura, M. (1985). Tobacco chloroplast tRNA Lys (UUU) gene: an open reading frame and a conserved boundary sequence in the intron. Proceedings of the National Academy of Sciences. 82: 3557-3561.
- Szklarz, M. and Radajewska, B.(2009). The effect of mulch type and pruning on growth and yielding of nectarine (*Prunus persica* L.) cv 'Fantasia'. Acta. Sci. Pol. Hortorum Cultus. 8: 45–52.
- Tahan, O.; Geng, Y.; Zeng, L.; Dong, S.; Fei Chen, A. Chen, J.; Song, Z. and Zhong, Y.(2009). Assessment of genetic diversity and population structure of Chinese wild almond, *Amygdalus nana*, using EST- and genomic SSRs. Biochem. Syst. Ecol. 37: 146-153.
- Takhtajan, A.(1997). Diversity and classification of flowering plants. Columbia University Press, Columbia. 643p.
- Talhok, S.N.; Lubani, R.T. Parmaksizian, L. and Nehme, G.A. (1997). Survey and characterization of almond germplasm in Lebanon. Acta. Hort. 47: 101-108.
- Talhok, S.N.; Lubani, R.T.; Baalbaki, R.; Zurayk, R.; Alkhatib, A. ; Parmaksizian, L. and Jaradat, A.A.(2000). Phenotypic diversity and morphological characterization of *Amygdalus* L. species in Lebanon. Genet. Resour. Crop. Evol.47:93-104.
- Tamura, K.; Peterson, D.; Peterson, N.; Stecher, G.; Nei, M. and Kumar, S .(2011). MEGA5: Molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods. Mol. Bio. Evol. 28: 2731-2739.

- Tamura, M.N.; Yamashita, J.; Fuse, S. and Haraguchi, M.(2004). Molecular phylogeny of monocotyledons inferred from combined analysis of plastid *matk* and *rbcL* gene sequences. *Journal of Plant Research*. 117: 109-120
- Tautz, D. (1989). Hyper variability of simple sequences as a general source for polymorphic DNA markers. *Nucleic Acids Res.*17:6463-6471.
- Tautz, D. and Rentz, M. (1984). Simple sequences are ubiquitous repetitive components of eukaryotic genomes. *Nature*. 322: 652-656.
- Tavassolian, I. (2008). Construction of a Microsatellite Based Genetic Linkage Map of Almond. Doctoral Thesis. The University of Adelaide, School of Agriculture. 179 pp.
- Testolin ,R.; Marrazzo, T.; Cipriani, G.; Quarta, R.; Verde, I.; Dettori, M.T.; Pancaldi, M. and Sansavini, S.(2000). Microsatellite DNA in peach *Prunus persica* L. Batsch and its use in fingerprinting and testing the genetic origin of cultivars. *Genome*. 43: 512–520.
- Testolin, R.; Marrazzo, T. and Cipriani, G.(2002).Cross-species amplification of microsatellite markers isolated from peach by means of heterologous primer pairs .*ISHS*.538.
- Testolin, R.; Messina, R.; Lain, O.; Marrazzo, M.T.; Huang, W-G. and Cipriani,G.(2004). Microsatellites isolated in almond from an AC-repeat enriched library. *Mol.Ecol.Notes*.4: 459-461.
- Thakur, B.S.; Sharma, O.C.; Mehta, K.; Sharma, D.P.; Rehalia, A.S. (2005). Genetic divergence in almond (*Prunus amygdalus* Batsch) growing in Kinnaur Himachal Pradesh. *Acta. Hort*. 696: 69-74.
- Thompson, T.E. and Baker, J.F.(1993). Heritability and phenotypic correlations of six pecan nut characteristics. *J. Ame. Soc. Hort. Sci*. 118 (3): 415–418.
- Till, B.J.; Jankowicz- Cieslak, J.; Sagi, L.; Huynh, O.A. and Utsushi, H.(2010). Discovery of nucleotide polymorphisms in the *Musa* gene pool by Ecotilling. *Theor. Appl. Genet*. 121: 1381-1389.
- Till, B.J.; Comai, L. and Henikoff, S.(2007). Tilling and ECOTILLING for crop improvement. *Genomic-Assisted crop improvement. Genomics Approaches and Platforms*. 1:333-349.
- Till, B.J.; Burtner, C.; Comai, L. and Henikoff, S.(2004). Mismatch cleavage by single-strand specific nucleases. *Nucleic Acids Res*. 32: 2632-2641.
- Tournefort, J.P. de.(1700). *Institutiones Rei Herbariae*. 1st ed. Typographia Regia. Paris. France.
- Uematsu, C.; Sasakuma,T. and Ogihara, Y.(1991). Phylogenetic relationships in the stone–fruit group of *Prunus* as revealed by restriction fragment analysis of chloroplast DNA. *Japanese Journal of Genetics*. 66:59– 69.
- Underhill, P.A.; Jin, L.; Lin, A.A.; Mehdi, S.Q. Jenkins, T.; Vollrath, D.; Davis, R.W.; Cavalli-Sforza, L.L. and Oefner, P.J.(1997). Detection of numerous Y chromosome biallelic polymorphisms by denaturing high-performance liquid chromatography. *Genome Res*. 7:996-1005.

- Vafadar, M.; Kazempour Osaloo, S.; Attar, F.(2014). Molecular phylogeny of the genus *Amygdalus* (Rosaceae). based on nrDNA ITS and cp DNA trnS-trnG sequences. Turkish Journal of Botany. 38: 439-452.
- Valentin, K. and Zetsche, K.(1989). The genes of both subunits of ribulose-1, 5-bisphosphate carboxylase constitute an operon on the plastome of a red alga. Curr. Genet. 16: 203-209.
- Vargas, F.J.; Romero, M.A. and Batlle, I. (2001a). Kernel taste inheritance in almond. In: Ak, B.E. (ed.). Cahiers Options Méditerranéennes 56: 129-134
- Vargas, F.J. and Romero, M.A.(2001b). Blooming time in almond progenies. Options Me'diterraneennes. 56:29-34.
- Verde, I.; Bassil, N.; Scalabrin, S.; Gilmore, B.; Lawley, C.T.; Gasic, K.; Micheletti, D.; Rosyara, U.R.; Cattonaro, F.; Vendramin, E.; Main, D.; Aramini, V.; Blas, A.L.; Mockler, T.C.; Bryant, D.W.; Wilhelm, L.; Troggio, M.; Sosninski, B.; Aranzana, M.J.; Arus, P.; Lezzoni, A.; Morgante, M. and Peace, C.(2012). Development and evolution of a 9 K SNP array for peach by internationally coordinated SNP detection and validation in breeding germplasm. PloS ONE.7(4).
- Villagomez, C.M.; Espino, H.; Cedillo, A.; Montero, L.L.; Segovia, C.; Guerra, C.A.; Guerra, G.; Herna'ndez, A. and Lo'pez, P.(2009). Identification of peach genotypes (*Prunus persica* (L.) Batsch) in the north- central region, Mexico. International Journal of Botany. 5(2):160-165.
- Vitte, C. and Bennetzen, J.L.(2006). Analysis of retrotransposon structural diversity uncovers properties and propensities in angiosperm genome evolution. Proceedings National Academic of Science USA. 103(47): 17638-17643.
- Wang, Y.; Georgi, L.L.; Zhebentyayeva, T.N.; Reighard, G.L.; Scorza, R. and Abbott, A.G. (2002). High-throughput targeted SSR marker development in peach (*prunus persica*). Genome.45: 319-328.
- Warburton, M. L. and Bliss, F.A. (1996). Genetic diversity in peach (*Prunus persica* L. Batsch) revealed by randomly amplified polymorphic DNA(RAPD) markers and compared to unbreeding coefficient. J. Am. Soc. Hort. Sci. 121: 1012-1019.
- Ward, J.H. (1963). Hierarchical grouping to optimize an objective function, J. Am. Stat. Assoc.58: 236-244.
- Watkins, R.(1976). Cherry, plum, peach, apricot and almond. In: Simmonds, N.W.(ed). Evolution of crop plants. Longman. London. 342-347pp.
- Watkins, R.(1995). Cherry, plum, peach, apricot and almond. In: Smartt, J. Simmonds, N.(eds). Evolution of Crop Plants. Longman Scientific and Technical. Burnt Mill. 423-428.
- Weising, K. and Gardner, R.C.(1999). A set of conserved PCR primers for the analysis of simple sequence repeat polymorphisms in chloroplast genomes of dicotyledonous angiosperms. Genome.42(1): 9-19.
- Wen, J.; Berggren, S.T.; Lee, C.H.; Ickert-Bond, S.; Yi, T.S.H.; Yoo, K.O.; Xie, L.; Shaw, J. and Potter, D.(2008). Phylogenetic inferences in *Prunus* (Rosaceae) using chloroplast *ndhF* and nuclear ribosomal ITS sequences. J. Syst. Evol.46:322-332.

- Werner, D. J. and Creller, M. A. (1997). Genetic studies in peach, Inheritance of sweet kernel and male sterility. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 122: 215–217.
- Wright, S.I.; Bi, I.V.; Schroeder, S.G.; Yamasaki, M. Doebley, J.F. ; McMullen, M.D.; Gaut, B.S.(2005). The effects of artificial selection on the maize genome. Science. 308: 1310-1314.
- Wu, S.B.; Tavassolian, I.; Rabiei, G.; Hunt, P.; Wirthensohn, M.; Gibson, J.P.; Ford, C.M. and Sedgley, M.(2009). Mapping SNP-anchored genes using high-resolution melting analysis in almond. Mol. Genet. Genomics. 282:273–281.
- Wunsch, A.; Carrera, M. and Hormaza, J.I.(2006). Molecular characterization of local Spanish peach [*Prunus persica*(L.) Batsch] germplasm. Genetic Resources and Crop Evolution. 53: 925-932.
- Xie, H.; Sui, Y.; Chang, F-Q.; Xu, Y. and Ma, R-C.(2006). SSR allelic variation in almond (*Prunus dulcis* Mill.). Theor. Appl. Genet. 112:366-372.
- Xu, Y.; Ma, R. C.; Xie, H. (2004). Development of SSR markers for the phylogenetic analysis of almond trees from China and the Mediterranean region. Genome 47: 1091-1104.
- Yamamoto, T.; Mochida, K.; Lmai, T.; Haji, T.; Yaegaki, H.; Yamaguchi, M.; Matsuta, N.; Ogiwara, I. and Hayashi, T. (2003). Parentage analysis in japanese peaches using SSR markers. Breeding Science.53: 35-40.
- Yasuhiro, E.(2001). Rosaceae. In:Iwatsuki, K. (ed). Flora of Japan. Kodansha Ltd. Tokyo. 127pp.
- Yazbek, M.; Oh, S-H.(2013). Peaches and almonds: Phylogeny of *Prunus* subg. *Amygdalus* (Rosaceae) based on DNA sequence and morphology. Plant Syst. Evol. 299 (8): 1403-1418.
- Yoder, A. D.; Irwin, J. A. and Payseur, B.A.(2001). Failure of the ILDto determine data combinability for slow loris phylogeny. Systematic Biology.50: 408–424.
- Yoon, J.; Liu, D.; Song, W.; Liu, W.; Zhang, A. and Li, S.(2006). Genetic diversity and ecogeographical phylogenetic relationships among peach and nectarine cultivars based on simple sequence repeat (SSR) markers. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 131(4): 513-521.
- Yu, T.T.; Lu, L. T.; Ku, T.C.; Li, C.L. and Chen, S.X.(1986). Rosaceae (3) Prunoideaea. In: Yu, T.T.(ed). Flora Reipublicae Popularis Sinicae. Tomus. Science Press. Beijing. 38:133pp.
- Zarrouk, O.; Gogorcena, Y.; Gomez-Aparisi, J.; Betran, J.A.and Moreno, M.A. (2005). Influence of peach × almond hybrids rootstocks on flower and leaf mineral concentration, yield and vigour of two peach cultivars. Sci. Hortic. 106: 502-514.
- Zeinalabedini, M.; Majourhat, K.; Khayam-Nekoui, M.; Grigorian, V.; Toorchi, M.; Dicenta, F. and Martinez-Gomez, P.(2007). Molecular characterization of almond cultivars and related species using nuclear and chloroplast DNA markers. Journal of Food, Agriculture and Environment.5(3,4): 242-247.
- Zeinalabedini, M.; Majourhat, K.; Khayam-Nekoui, M.(2008). Comparison of the use of morphological, protein and DNA markers in the genetic characterization of Iranian wild *Prunus* species. Sci. Hort. 116:80-88.

- Zimmermann, J.; Jahn, R. and Gemeinholzer, B.(2011). Barcoding diatoms: evaluation of the V4 subregion on the 18S rRNA gene including new primers and protocols. *Org. Divers. Evol.*11: 173-192.
- Zhang, S.Y. (1992). Systematic wood anatomy of the Rosaceae. *Blumea*. 37: 81-158.
- Zhang, Z.G.; Xie, Y.; Li, C.Y.; Lu, C.M.; Wang, Y.Y. and Zhu, Y.Y.(2008). Application of agarose gel electrophoresis in Rice Ecotilling. *Chinese J. Rice Sci.* 22:527-532.
- Zhu, Y.L.; Song, Q.J.; Hyten, D.L.; Van Tassell, C.P.; Matukumalli, L.K.; Grimm, D.R.; Hyatt, S.M.; Fickus, E.W.; Young, N.D. and Cregan, P.B.(2003). Single-nucleotide polymorphisms in soybean. *Genetics*.163(3):1123-1134.

المحقق



ملحق 1

البيانات المناخية لمحطة حوط خلال سنتي الدراسة

2013	م. الحرارة الصغرى	م. الحرارة العظمى	م. الرطوبة الصغرى	م. الرطوبة العظمى	م. الامطار
كانون الثاني	5.41	15.93	43	89.03	161.6
شباط	7.8	16.6	49.8	86.8	26
آذار	10.12	21.16	68.2	80.8	3
نيسان	9.9	20.45	-	-	-
أيار	14.4	27.5	-	-	-
حزيران	16.07	28.9	-	-	-
تموز	22.9	34.8	40.35	82.09	-
أب	21.8	38	22.16	71	-
أيلول	20.1	34.4	29.03	72.7	-
تشرين الأول	14.5	29.7	30.09	59.7	10.8
تشرين الثاني	13.4	24.6	50	84.7	7.2
كانون الأول	7	14.4	63.16	91.32	77.1
المتوسط	11.63	22.9	47.75	78.57	23.81

2014	م. الحرارة الصغرى	م. الحرارة العظمى	م. الرطوبة الصغرى	م. الرطوبة العظمى	م. الامطار
كانون الثاني	7.3	17.9	-	-	0
شباط	3	13	45	83	3.5
آذار	10	21.6	45.4	80.4	76.8
نيسان	16.6	30.8	31.3	84.7	0
أيار	12.1	27.42	41.26	81.74	11.2
حزيران	13.17	30.1	51.93	87.83	0
تموز	14.52	30.42	49.65	89.06	0
أب	16.1	31.65	43.42	88.42	0
أيلول	12.7	25.47	51.97	94.43	0
تشرين الأول	10.39	20.23	60.29	93.8	8.9
تشرين الثاني	7.07	18.07	54.43	85.43	54.4
كانون الأول	3.39	10.81	67.52	97.13	33.1
المتوسط	10.52	23.12	49.28	87.81	15.66

ملحق 2

أسماء أصناف الدراق والنكتارين وأصل كل منها

أصل الصنف	اسم الصنف أو الطراز	
F100-62 × Red June	وينبرجر	Weinberger
May Grand×Stark Red Gold	جيوييا	Gioia
Fairtime تلقىح حر للصنف	فلافور توب	Flavor Top
Stark Redgold × Flamekist	فينوس	Venus
Stark Redgold ×Snow queen	كالديسي2000	Caldesi2000
Le Grand×Stark Red gold	نكتاروز	Nectaross
أمريكي	لاور	Laure
Spring Crest طفرة برعمية للصنف	ماي كريست	Maycrest
Pesco Noce1×South land	دوميسيانا	Domiziana
Fayette ×Stark Red gold	بونتينيا	Pontina
Fayette ×Stark Red gold	روم ستار	Romestar
NJC83 تلقىح حر للصنف	فيلا أدريانا	Villa Adriana

أسماء أصنافه وطرز اللوز وأصل كل منها

مصدر الأصناف	اسم الصنف أو الطراز	المنشأ	سنة الإدخال
الأصناف المحلية	عوجة	Oja	دمشق 1971
	ضفادعي	Dafadii	دمشق 1972
	شامي فرك	Shami Furk	حمص 1973
	جادرما	Jaderma	حماة 1972
	حماة 34	Hama34	حماة 1978
	حماة 47	Hama47	حماة 1978
	بابنس	Babnis	حلب
الصنف التونسي	قسطنطين	Constantini	تونس 1965
الأصناف الأجنبية	فيرادويل	Ferraduel	فرنسا 1968
	فلوتس	Flots	فرنسا 1968
	فورنا	Forna	فرنسا 1968
	ديسمايوروخو	Desmayo rojo	اسبانيا 1968
الأصول البرية	لوز شرقي 1	P.orientalis1	القلمون(رأس المعرة)
	لوز شرقي 2	P.oreintalis2	القلمون(رأس المعرة)
	كورشنسكي	<u>P.korschinskii</u>	بري سويداء

ملحق 3

أرقام ورموز تسلسلات المورثات في عينات الشاهد من موقع NCBI

	<i>matK</i>	<i>rbcL</i>	18s rRNA
<i>Prunus padus</i>	GU363752	AF411485.1	JQ926626.1
<i>Prunus cerasus</i>	FN668844.1	HQ235416.1	FJ899099.1
<i>Prunus avium</i>	AM503828	KP769034.1	FJ899097.1
<i>Fragaria sp</i>	AF288102.1	U06805.1	AF163509.1
<i>Rosa sp</i>	AB039322.1	U06824.1	X66773.1
<i>Arabidopsis thaliana</i>	AF144378.1	U91966.1	X16077.1
<i>Malus domestica</i>	AM042562.1	X69749.1	DQ341382.1
<i>Pyrus communis</i>	JN895841.1	JQ391380.1	AF195622.1
<i>Rubus sp</i>	AF288124.1	KF181537.1	KP125886.1
<i>P.davidiana</i>	HQ235137	KF154865	JF978081.1
<i>Solanum lycopersicum</i>	EF438904.1	KJ652188.1	KJ813746.1

ملحق 4

Abbreviations

AFLPs	Amplification Fragment Length Polymorphism
CBOL	Consortium for the barcode of Life
Denaturing HPLC	High performance liquid chromatography
EcoTILLING	Targeting Induced Local Lesions in Genomes
INDELs	Insertions /deletions
matK	Maturase K
NCBI	National Center for Biotechnology Information
RAPDs	Random Amplified Polymorphic DNA
rbcL	Rubisco-1.5 bisphosphat carboxylase gene
RFLP	Restriction Fragment Length Polymorphism
RUBISCO	ribulose1, 5bisphosphate carboxylase/oxygenase
SNP	Single nucleotide polymorphism
SSCP	Single Strand Conformation Polymorphism
SSR	Simple Sequence Repeat
Ts	transition
Tv	transversion
18S rRNA	18S ribosomal RNA

TBE Buffer 10X

1 Liters

108g Tris base

55g Boric acid

40ml of 0.5M EDTA (pH 8.0)

autoclave for 20 min

Loading Buffer

1. Dissolve in 6.25 ml of H₂O

- .025g of Xylene cyanol
- .025g of Bromophenol Blue
- 1.25ml of 10% SDS
- 12.5ml of glycerol

ملحق 6

صور أصناف الدراق والنكتارين المدروسة



شكل الثمرة وتاج الشجرة في الصنف روم ستار



شكل الثمرة وتاج الشجرة في الصنف دوميساننا



شكل الثمرة وتاج الشجرة في الصنف بونتينا



شكل الثمرة وتاج الشجرة في الصنف فيلادريانا



شكل الثمرة وتاج الشجرة في الصنف ماي كريست



شكل الثمرة وتاج الشجرة في الصنف فينوس



شكل الثمرة في الصنف لاور



شكل الثمرة في الصنف نكتاروز



شكل الثمرة في الصنف كالديسي 2000



شكل الثمرة في الصنف وينبرجر



شكل الثمرة وتاج الشجرة في الصنف جيوييا



شكل الثمرة وتاج الشجرة في الصنف فلافورتوب

ملحق 6

صور أصناف اللوز المدروسة



نوى بذرة الصنف بابنس



نوى بذرة الصنف جادrema



نوى وبذرة الصنف حماة 34



نوى وبذرة الصنف حماة 47



نوى بذرة الصنف ديسماروخو



نوى بذرة الصنف شامي فرك



نوى بذرة الصنف ضفادعي



نوى بذرة الصنف عوجة



نوى بذرة الصنف فلوئس



نوى بذرة الصنف فورنا



نوى بذرة الصنف فيرادويل



نوى بذرة الصنف قسطنطين

ABSTRACT

This investigation was carried out in The General Commission of Scientific Agricultural Research, Department of Biotechnology and in Damascus University, Faculty of Agriculture, Department of Horticulture Science. The aim of the study was to determine the morphological and genetic relationships among twenty eight introduced and local cultivars of almond (*Amygdalus*) and peach (*Persica*) genotypes. SSR markers were used to determine the heterogeneity structure. Modified EcoTILLING technique was also used for the detection of the SNPs between parts of the genes *rbcL*, *matK* and 18S rRNA in the two studied genera. Evolutionary genetic relationships to evaluate the taxonomic level among the two genera depending on nDNA and cp DNA were also studied. The assessment of the basis for the systematic classification within the framework of evolutionary relationships were also examined.

Concerning peach cluster analysis, Peach and nectarine varieties were distributed into three groups, the first group contained Gioia and Weinberger, and the second one included nectarine varieties Caldesi2000 and Flavor Top, Venus and Nectaross with peach cultivar Pontina. The third group incorporated the rest of all peach varieties. The cluster analysis separate the studied varieties according to fruit weight and flowering date.

As for almond, cluster analysis showed specifications differentiated between varieties and genotypes. Samples were clustered into two groups: the first one included wild relatives and both varieties Oja and Shami furk, and the rest of the varieties were gathered in a second group.

SSR analysis among peach varieties showed maximum genetic relationship between the two varieties Weinberger and Gioia (1) and minimum relationship between the two varieties Venus and GF677 (0.40), with the mean value of genetic relationship of 0.82 among all studied varieties.

The cluster analysis based on SSR results grouped the studied peach varieties into two main clusters with similarity degree 0.76 whereas GF677 separated away independently from both clusters (100%), the first cluster contained all nectarines varieties except Nectaross, which came with peach varieties in the second cluster.

The distribution of varieties within the two groups was associated mainly with the distribution of a set of alleles that belonging to three simple sequence repeat sites, the alleles CPDCT025 (195,160 bp) and Pchgms20 (260 bp) identified all nectarine varieties in the first group, as well as, UDP96-008 (153bp) and also CPDCT025(null allele) recognized all varieties of peaches in the second group.

SSR analysis among almond varieties and genotypes, showed maximum genetic relationship between the two varieties Jaderma and Constantini (0.76) and minimum relationship between the two varieties Jaderma and GF677 (0.12), with the mean value of genetic relationship of 0.38 among all studied varieties and genotypes.

The cluster analysis based on SSR results grouped the studied almond varieties and genotypes in three clusters. The first cluster: included all studied genotypes including GF677, the second and third clusters joined with 0.56 similarity degree contained all almond varieties with bootstrab value 42%.

The distribution of cultivars and genotypes within the clusters was linked with the distribution of number of alleles which are associated with five specific simple sequence repeat sites. Clusters B and C were distinguished by the allele UPD98-021 (264) which was absent from cluster A, whereas the allele UDP96-010 (87) characterized the varieties in cluster C.

Highest values of polymorphism information content were attained by CPDCT025 and UDP97-402 (0.65), which were able to distinguish efficiently between studied peaches and nectarines varieties, and for almonds UDP96-005 ,UDP96-003, had the value (0.90) to distinguish among the studied varieties and genotypes.

EcoTILLING technique helped in the detection of SNPs through screening *rbcL* gene via, three SNPs, two of which were transitions and one transversion. One insertion for one nuclotide between peaches and almonds compared to apricot (DNA reference). Meanwhile *matK* gene contained two transitions, and there were two insertions for one nucleotide between almonds and apricot refrence .No variations has been noticed in the 18S rRNA gene.

The evolutionary relationships tree depending on the integration of the three genes between the studied species and other species from NCBI, which belonged to *Rosaceae*, were divided into three main sectors coincided with three subfamilies (*Prunoideae*, *Pomoideae*, *Rosoideae*): the first paraphyletic sector (100%) contained all the samples in the current study, which belong to the subfamily *Prunoideae*.

Armeniaca separated from the rest of the almond and peach samples in one group ,wherease almond and peach remained within a second group (99%). The last group, contained two sub groups, almond and GF677(86%) and the second contained peach cultivars (64%). The species of *Prunus* grouped in one paraphyletic sector (100%), which is divided into two sections the first paraphyletic section contained (*Amygdalus*, *Persica*, *Armeniaca*) (99%), and the another monophyletic section contained (*Padus*, *Davidiana*, *Cerasus*) with bootstrab support (58%).