مجلة جامعة تشرين للبحوث والدراسات العلمية _ سلسلة العلوم البيولوجية المجلد (36) العدد (2) 2014
Tishreen University Journal for Research and Scientific Studies - Biological Sciences Series Vol. (36) No. (2) 2014

دراسة التباينات الوراثية عند نبات القبّار *Capparis spinosa* المنتشر في محافظتي حلب واللاذقية باستخدام تقانة الـAFLP

الدكتورة عزيزة إبراهيم يوسف*
الدكتور عبد اللة بركات**
ديمة علي زريقة***

(تاريخ الإيداع 22 / 1 / 2014. قبل للنشر في 22 / 4 / 2014)

□ ملخّص □

جُمعت عينات من نبات القبّار *Capparis spinosa* من(6) مناطق توزعت في محافظتي حلب واللاذقية. تمت دراسة التباينات باستخدام تقانة الـ AFLP بهدف تحديد الهوية الوراثية للطرز المدروسة باستخدام (3) بادئات أظهرت مكاثرة للـ DNA، وحُسب معامل الاختلاف ومعامل التنوّع الوراثي، وأنشئت شجرة القرابة الوراثية، وأُجري تحليل المكونات الأساسية (A.C.P.)، وحُسبت F– الإحصائية، فأظهرت هذه الدراسة النتائج التالية:

– تأكيد وجود عدد معين من الألليلات (الحزم) التخصصية أو المميزة Discriminate خاصة بكل محافظة،

– دلّ هذا على وجود عزل وراثي وتكاثري محدد وعائق للتدفق المورثي gene flow بين المحافظتين.

– تميّزت اللاذقية بمعدّل تغايرية (0.486) أعلى بقليل من حلب (0.481)، و متوسط معامل التنوّع الوراثي على مستوى البادئات والأفراد (0.677) في حلب أعلى بقليل من اللاذقية (0.653)، ومستوى المجتمعات المختلفة متقاربة جدا" (0.759) في حلب (0.760) في اللاذقية، يُفسّر ذلك وفق ظاهرتي الألليلات الصامتة والتخصصيّة التي تُعزى لحدوث الطفرة بالحذف، وأيضاً لتأثيرات اصطفائية مختلفة ولنظم التكاثر في المحافظتين.

– أكبر قيمة للبعد الوراثي في حلب(0.381) بين (الضاحية و الشيخ سعيد)، وأكبر قيمة للبعد الوراثي في اللاذقية (0.38) بين (العمرونية و جبلة)، بينما أكبر قيمة تشابه (0.637) بين (الشيخ سعيد و تركمان بارح) في حلب، و (0.675) بين (وطى ديرزينون و جبلة) في اللاذقية، وتباين متدرج بين هذه القيم المحسوبة.

– أظهرت دراسة F– الإحصائية تأثير عامل القرابة في بعض المجتمعات وبرز ذلك أكثر أهمية وأكبر نسبياً في حلب منه في اللاذقية، يدّل ذلك على أن نظام التكاثر أكثر انغلاقاً في حلب و يُعزى للتكاثر عن طريق الجوار أو التلقيح الذاتي، وهذا ما أظهر تباينا" وراثيا عالياً بين مجتمعاتها بالمقارنة مع مجتمعات اللاذقية.

– سمحت هذه الدراسة بتحديد بادئات يمكن استخدامها كمؤشرات جزيئية في برامج تحسين القبّار كنبات طبي وغذائي، وأظهرت هذه التقانة كفاءة عالية في دراسة علاقات القرابة بين المجتمعات في المحافظتين.

الكلمات المفتاحية: القبّار ***Capparis spinosa***، التنوّع الوراثي، مؤشرات جزيئية، AFLP ، شجرة القرابة، التحليل العاملي (A.C.P.).

* أستاذة – قسم العقاقير– كلية الصيدلة – جامعة تشرين– اللاذقية – سورية.
** أستاذ مساعد – قسم علم الحياة النباتية– كلية العلوم – جامعة حلب– حلب – سورية.
*** طالبة دراسات عليا (ماجستير) – كلية العلوم – جامعة حلب– حلب – سورية.

مجلة جامعة تشرين للبحوث والدراسات العلمية _ سلسلة العلوم البيولوجية المجلد (36) العدد (2) 2014
Tishreen University Journal for Research and Scientific Studies - Biological Sciences Series Vol. (36) No. (2) 2014

A Comparative Study of Genetic Variations of *Capparis Spinosa* Using AFLP in the Two Cities of Aleppo and Lattakia in Syria

Dr. Aziza Ibrahim Youssef*
Dr. Abd Alah Brkat**
Dimah Ali Zreikah***

(Received 22 / 1 / 2014. Accepted 22 / 4 /2014)

□ ABSTRACT □

Samples of *Capparis spinosa* plant were collected from 6 sites in Aleppo and Lattakia provinces. The genetic variations were studied using the AFLP technique in order to determine the genotypes of the studied types using 3 primers, which showed amplification. Statistical analyses were conducted using the dissimilarity coefficient and genetic diversity coefficient. The A.C.P. and the statistical -F were calculated, and the similarity dendrogram was constructed. The results showed the following:

The presence of a certain number of specific alleles (descriminates) for each province.

The presence of genetic and reproductive isolation deterrent to gene flow between the two provinces.

The heterozygoty average was a little higher in Lattakia (0.486) than in Aleppo (0.481). The mean of genetic diversity coefficient of primers and individuals was a little higher in Aleppo (0.677) than in Lattakia (0.653). The population mean was very close: (0.759) in Aleppo and (0.760) in Lattakia. This may be explained on the basis of silent and specific alleles due to deletion mutations, different selective effects as well as the reproduction system in the two cities.

The greatest genetic distance in Aleppo was (0.381) noted between (Al Dahea and Al Shekh saaed), and in Lattakia (0.38) noted between (Al Amroniah and Jabla). However, the greatest genetic similarity in Aleppo was (0.637) noted between (Al Shekh Saaed and Turkman Bareh), and in Lattakia (0.675) noted between (Wata Deirzenon and Jabla). The variation between these values was graduated.

The study of statistical –F showed the effect of the similarity factor in some populations. This was more significant in Aleppo than in Lattakia, which indicates that the reproduction system is more closed in Aleppo, and this refers as well to inbreeding or self pollination which showed high genetic variations in these populations when compared with Lattakia.

The results of this study helped in determining primers that can be used as molecular markers in a breeding program for *Capparis spinosa* as a medicinal plant. This technique showed high efficiency in studying the similarity relationships between these two cities.

Keywords: *Capparis spinosa*, genetic diversity, molecular markers, AFLP, similarity tree, A.C.P. analysis

* **Professor, Department of Pharmacognosy, Tishreen University, Lattakia, Syria.**
** **Assistant Professor, Department of Botany, faculty of Sciences, Aleppo University, Syria.**
*** **Postgraduate Student, Faculty of Sciences, Aleppo University, Syria.**

مقدمة:

يعتمد بشكل عام توصيف أي كائن حيّ على ثلاثة مؤشرات هي: المورفوبيولوجية، البيوكيميائية والجزيئية، وانّ الاختلافات في المؤشرات المورفولوجية ناتجة عن التفاعل ما بين التركيب الوراثي للفرد و الظروف البيئية التي ينمو فيها، بمعنى آخر تعكس التباينات المورفولوجية مجمل التباينات الوراثية البيوكيميائية والجزيئية.

يعدّ الاعتماد على الصفات الشكلية الظاهرية و الخصائص الفيزيولوجية في النبات لدراسة الاختلافات بين الأفراد محدودة الإمكانيات و صعبة القياس (Tanksley, 1983). تمّت دراسة التباينات الوراثية الظاهرية للعديد من الصفات المورفولوجية للمجموع الخضري، الزهري و الثمري، حيث برزت هذه التباينات بوضوح بين وداخل المجتمعات في محافظتي اللاذقية و طرطوس عند نبات النعناع المائي *Mentha aquatica L.* (يوسف وآخرون، 2011)، و بين النوعين وداخل مجتمعات النوع الواحد عند نوعي نبات الطيون الطبيين *Inula viscosa & Inula graveolens* (شعبان، 2012)، كذلك لوحظت التباينات المورفولوجية على مستوى المواقع وعلى مستوى المحافظات عند نبات القبار *Capparis spinosa* في محافظتي حلب واللاذقية في سورية (يوسف وآخرون، 2013)، كما دُرست الصفات المورفولوجية عند مجتمعات نبات القبّار المزروعة في شروط بيئية ملائمة على منحدرات مختلفة في تركيا بهدف دراسة العلاقة بين الظروف البيئية (درجة الحرارة، الهطول المطري)، وإنتاج براعم القبّار (Aytac *et al.*, 2009).

لوحظ من خلال هذه الدراسات للصفات المورفولوجية أنّها لا تعطي دقة كافية للنتائج وذلك لأن أغلب الأنواع متشابهة من الناحية الشكلية مع بعضها البعض في كثير من الصفات وقد تتمايز فيما بينها في بعض الصفات فقط، لذا لا يمكن الاعتماد عليها بشكل كامل في تحديد الاختلافات و دراسة درجات القرابة الوراثية بين الأفراد لأن الصفات الشكلية تتأثر بالظروف البيئية، لهذا تم اللجوء إلى استخدام المؤشرات البيوكيميائية: كاستخدام الرحلان الكهربائي في دراسة (الأنزيمات و البروتينات) عبر هلامة من النشاء أو من البولي أكريلاميد (Hunter and Markert, 1957) أو في دراسة الايزوزيمات (Melchinger, 1990).

تمّ استخدام المؤشرات البيوكيميائية إلى جانب المؤشرات المورفولوجية للتمييز بين نوعين من جنس الجلبان *Lathyrus* من الناحية التكاثرية من خلال دراسة تنظيم البنية الأليلية (المورثية النظيرة) وبنية الأنماط الوراثية، حيث ظهر تباعد وانعزال وراثي بين مجتمعات النوعين (*L. latifolus & L. sylvestris*)، و كان الاختلاف بين هذه المجتمعات أقل عند الأنواع ذات النظام التكاثري المغلق مقارنةً مع خلطية الإخصاب (Youssef.,1989). قامت (أشتر و آخرون، 2008، أشتر، 2009) باستخدام (3) مؤشرات للتوصيف الوراثي لنبات القمح السوري هي: المورفولوجية و البيوكيميائية SDS-PAGE وA-PAGE و الوراثية ISSR(Inter Simple Sequence Repeat) لتحديد هوية أهم الطرز الوراثية للقمح في سورية المستخدمة في برامج التربية، والكشف عن درجة النقاوة الوراثية بين الأصناف الحديثة والقديمة للقمح السداسي و الرباعي.

تطورت التقانات الحيوية في نهاية القرن العشرين وبداية القرن الحادي والعشرين وساهم ذلك باستخدام المؤشرات الجزيئية Molecular Markers لدقتها في الكشف المباشر، التوصيف، و إبراز التباينات على مستوى المادة الوراثية الـDNA، و التنوع الوراثي في المجتمعات النباتية. و ساعد في ذلك استخدام التفاعل التسلسلي للبوليميراز أو تفاعل البلمرة PCR (Polymerase chain reaction) الذي استخدمه لأول مرة (Mullis *et al*,. 1986) .

و قد استخدمت فيما بعد هذه التقانات المتنوعة التي تعتمد على تفاعل الـ PCR لأهداف مختلفة وفي مجالات عديدة من رسم الخرائط الارتباطية الوراثية، تحديد هوية الأصناف النباتية، تحليل الانعزالات الوراثية، دراسة عوامل القرابة للأنواع، وتحليل المجن الوراثية DNA genome ، خاصة عندما أمكن مكاثرة Amplification قطع محددة من الـ DNA و ذلك باستخدام بادئات عشوائية أو متخصصة مصممة لهذا الهدف .(Ayad *et al.*, 1997; Karp *et al.*,1997)

استخدمت مؤشرات الـ RAPD لدراسة التنوع الوراثي لمجتمعي القبّار *C.deciduas* في السعودية (روضة خريم و المدينة)، و أظهر التحليل العنقودي أن معامل التشابه وصل إلى (84–93%) ضمن مجتمع روضة خريم وهو أكبر منه بين المجتمعين(77%)، مما يدل على أن هذا المجتمع معزول و التباين الوراثي بين أفراده منخفض جدا" (Abdel- Mawgood *et*

(2005 .,*al*، يعود ذلك إلى أن الانجراف الوراثي يخفض في المجتمعات المعزولة من التباين الوراثي ويزيد من مستويات عدم التهجين و بالنتيجة يقلل من المقدرة الأساسية على التكيف مع التغيرات البيئية، أي يزيد من عدد الأفراد متماثلة اللواقح الذي يترافق مع نقصان في القيمة الاصطفائية للأفراد، (Ellstrand and Elam,. 1993) كما أن التنوع الوراثي ضمن المجتمع يعتبر في غاية الأهمية وذلك للتأقلم مع تبدلات الظروف البيئية و مع مرور الزمن للحفاظ على الأنواع (Hanski and Ovaskainen,.2000).

يمكن حالياً مع تطور التقانات الحيوية المستخدمة في دراسة المؤشرات الجزيئية، تطبيق تقانة تتمتّع بالمقدرة على إبراز تباينات التحاليل الجزيئية الوراثية من خلال معرفة النسب المئوية للتعددية الشكلية للحزم Polymorphic bands، وتُعدّ الـ AFLPأكثر التقانات الوراثية شيوعاً ودقّةً، وقدرة على إظهار هذه التباينات، حيث أثبتت أنها ذات فعالية عالية في تحديد التنوع الوراثي لكثير من أنواع المحاصيل الزراعية مثل البازلاء (Lu *et al*, 1996)، والكرمة أو العنب (Sensi *et al*, 1996)، وأيضاً استخدمت في تقييم التنوع في الفستق الحلبي السوري (Ibrahim Basha *et al*, 2006). كما استخدمت لدراسة القرابة للمجتمعات الطبيعية للنوع(Krauss and Peakall, *persoonia mollis* 1998) ، وتحديد علاقات القرابة بين أنواع الرز (Aggarwal *et al*,. 1999)، و رسم الخريطة الوراثية للعدس (Eujayl *et al*,. 1998).

طبّقنا تقانة الـAFLP في دراسة الجانب الجزيئي للقبّار *C.spinosa*، الذي يتبّع إلى الفصيلة القبّارية *Capparidaceae*، وتجدر الإشارة إلى أنّه تمّ استخدام تقانات عديدة للدراسات الجزيئية عند هذا النبات، نذكر منها دراسة التنوع الوراثي لـ(15) مجتمعاً طبيعياً من القبّار في تركيا باستخدام طريقة الـ RAPD، أعطى تحليل المكونات الأساسية (87.42)% من التباين الوراثي الكلي مما أظهر العزل بين المجتمعات المختلفة اعتمادا" على مصفوفة الاختلاف (5) أصناف مختلفة (Ozbek and Kara,. 2013). كما درست العلاقات الوراثية (درجة القرابة) لـ (90) مجتمعاً برياً من *C. spinosa* باستخدام تقانتي الـ RAPD و الـ ISSR وأظهر تحليل التباين الجزيئي أن التباين الكلي ضمن المجتمعات كان في الحد الأعظمي ويتبعه التباين بين المجتمعات (Bhoyar *et al*,. 2012). و استخدمت تقانة الـAFLP لتحديد علاقات القرابة بين أنواع القبّار وذلك لـ (45) مدخلاً في اسبانيا والمغرب وسورية، وتبين أن الأصل الأبوي المهجّن الذي أعطى الـ *C. spinosa* يعود على الأرجح إلى التهجين بين *C. Orientalis* و *C. Sicula* (Cristina *et al*,. 2005).

أظهرت الدراسات التي أجريت على نبات القبّار (براعم، أوراق، ثمار، سوق، قشور الجذر) أن له خواص طاردة للديدان، فعالية مضادة لتليّف أنسجة الجلد وفي معالجة الالتهابات و أمراض الروماتيزم، و إضافة إلى أهميته الغذائية حيث تُستخدم الأجزاء الهوائية الطازجة (الثمار والبراعم الزهرية) و تؤكل على شكل مخللات، أو تضاف ثماره كمنكهة إلى العديد من المأكولات (Zhou *et al*., 2010; Caboni *et al*., 2012; Lan cao, *et al*., 2009).

أهمية البحث وأهدافه:

تهدف هذه الدراسة إلى معرفة التباين والتنوع الوراثي عند نبات القبّار *Capparis spinoa* في عدة مناطق من حلب و اللاذقية وذلك من خلال دراسة المؤشرات الجزيئية باستخدام تقانة الـ AFLP التي تساعد بإظهار التباينات الوراثية وتحديد الطرز الوراثية ودرجة القرابة والتنوّع الوراثي حيث يُستفاد من ذلك بإدخال هذا النبات الطبي في برنامج التحسين الوراثي وزيادة إنتاجية المواد الفعالة.

طرائق البحث ومواده:

1- المادة النباتية: استخدمت في هذه الدراسة (28) عينة نباتية تمثل(28) طرازاً وراثياً للقبّار *C. spinosa* (شكل رقم 1) مأخوذة من (6) مناطق جغرافية مختلفة منها (3) مناطق في محافظة حلب هي: تركمان بارح (T)، الضاحية

(D)، الشيخ سعيد (S)، و (3) مناطق في محافظة اللاذقية هي: العمرونية (A)، وطى ديرزينون (W)، جبلة (J). حيث أخذت 5 عينات من كل موقع و4 عينات فقط من موقعي الضاحية و وطى ديرزينون، مع الاشارة إلى أن عملية الجمع تمّت خلال العام 2010.

2- الطرائق المستخدمة:

تمّ إجراء التحاليل الوراثية في المركز الدولي للبحوث الزراعية في المناطق الجافة (إيكاردا) ICARDA- في حلب وذلك خلال عامي (2011–2012) وفق الخطوات التالية:

I. استخلاص الـ DNA: تم عزل الـ DNA لكامل الجينوم من الأنسجة الورقية بطريقة Cetyl Trimethyl Ammonium Bromide (CTAB)، تبعاً لما استخدمه (Murray&Thompson, 1980).

II. تقييم جودة الـ DNA Qualification DNA : بوساطة جهاز رحلان كهربائي أفقي وباستخدام هلامة الأغاروز، ليصار لاحقاً إلى إظهار حزم الـ DNA بوساطة الأشعة فوق البنفسجية UV وذلك بعد معاملة الهلامة بمحلول بروميد الايثيديوم الذي يرتبط مع الـ DNA مشكلاً معقداً يتوهج إثر تعرضه للأشعة فوق البنفسجية، حيث أن جزيئات الحمض النووي الـ DNA تهاجر على هلامة الأغاروز كعصابات أو شرائط أو بقع.

III. استخدام تقانة الـPCR (Polymerase Chain Reaction):

تم مكاثرة قطع عشوائية من الـDNA باستخدام التفاعل التسلسلي للبوليميراز: وهو تقنية بسيطة وسريعة، حيث ابتداء" من عدد قليل من جزيئات الـ DNA يمكن الحصول على أعداد كبيرة جداً تصل إلى الملايين.

IV. استخدام تقانة التعددية الشكلية لطول قطع الـDNA المكاثرة (المضخمة) AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism):

تتألف خطوات هذه التقانة من (4) مراحل أساسية حسب (Vos *et al*,. 1995) وهي:

1. هضم الـ DNA (DNA Digestion): يتم فيها تقطيع الـ DNA بوساطة أنزيمات التحديد أو التقطيع، عادة يستخدم أنزيمين هما:
   - Frequent cutter (Msel): موقع التمييز Recognition Site رباعي.
   - Rare cutter (PstI): موقع التمييز Recognition Site سداسي.
2. ربط الـ DNA (DNA Ligation): يتم ذلك بوساطة الوصلات أو الملئمات adapters مصممة بناءً على أنزيمات التقطيع والتي تم استخدامها سابقاً.
3. المكاثرة الأولية للـ Pre-amplification DNA: يتم فيها استخدام بادئات Primers تكون متممة لإحدى السلسلتين في النهايات معروفة تتابع الأسس الأزوتية.

4. المكاثرة الانتقائية للـ Selective-amplification DNA: يتم اختيار مجموعة من قطع الـ DNA بناء" على الأسس الآزوتية الإضافية.

التسلسل النيكلوتيدي للبادئات المستخدمة في التفاعل:

P-GAC TGC GTA CAT GCA G GAAM-GAT GAG TCC TGA GTA A ACC
P-GAC TGC GTA CAT GCA G TGC M-GAT GAG TCC TGA GTA A ACG
P-GAC TGC GTA CAT GCA G CCGM-GAT GAG TCC TGA GTA A AGC

V. تحضير هلامة البولي أكريلاميد والرحلان الكهربائي

VI. مرحلة الكشف (التظهير)

- الطرق الإحصائية المستخدمة :

دونت نتائج عمليات المكاثرة للبادئات الثلاث وتم ترتيبها في جداول خاصة اعتماداً على وجود (1) أو غياب (0) قطع معينة من الـ DNA في العينات المختلفة المدروسة، اعتمدت طريقة (Jaccard, 1908) لحساب معامل الاختلاف لثلاث بادئات "1 (P.ACCM.GAA)، 2 (P.ACGM.TGC)، 3(P.AGCM.CCG) "ومقارنتها بين أفراد ومناطق المحافظتين، وذلك حسب المعادلة التالية:

$$GD(ij) = b+c / (a + b + c)$$

حيث أنّ: $\mathbf{GD}_{(ij)}$ = يُمثّل درجة الاختلاف الوراثي بين الفرد i والفرد j ، وتتراوح بين (0 – 1).

a = تُمثّل عدد حزم الـ DNA المشتركة في كلا الفردين i & j .

b = تُمثّل عدد الحزم الموجودة في الفرد i والغائبة في الفرد j .

c = تُمثّل عدد الحزم الموجودة في الفرد j والغائبة في الفرد i .

حُسب معدّل التغايرية الملاحظة (التجريبية) Average of Observed Heterozygoty كالتالي:

$\mathbf{H_O = 1/N\sum H_i}$ = (العدد الكلي المدروس/ عدد متخالف اللواقح (المتغاير) الملاحظ)

حُسب معامل التنوّع الوراثي Genetic Diversity (GD) وفق المعادلة التالية لـ (Crossa *et al*, 1993):

$$\mathbf{GD= 1-\sum_{i=1}^{j} P^2_{ij}}$$

حيث أن: P_{ij} يُمثّل تكرار الأللیل(j) على الموقع الوراثي locus (i) .

كما تمّ رسم شجرة القرابة للعلاقات الوراثية بين الأفراد والمناطق المدروسة باستخدام طريقة المتوسط الحسابي للمجموعات الزوجية غير المزانة (**UPGMA**) The Unweighed Pair Group Method with Mean Arithmetic، واستخدم أيضاً تحليل المكونات الأساسية Analysis of the Principal Components للتأكد من الفصل والعزل الوراثي (جراء رسم الشجرة العنقودية) وإبراز درجة المساهمة في التباين المفسر بينها، أجريت هذه التحاليل الإحصائية لدراسة المؤشرات الجزيئية باستخدام برنامج Genstat، و WAD-Analyses des Données لتحليل المكونات الأساسية، كما استخدمت طريقة F – الإحصائية: **F- statistical** Methode of وفق طريقة (Wright, 1951, 1965,1978)، حيث يمكن من خلال هذه الطريقة تقدير :

1– نظام التكاثر في المجتمعات، 2 – درجة الانعزال بين المجتمعات.

فهي تساعد على تحليل ودراسة تنظيم التباينات الوراثية داخل وبين المجتمعات، وكذلك تسمح دراسة كل موقع Locus وبشكل متتال بتحليل وقياس النقص في نسبة متخالف اللواقح بين وداخل المجتمعات، وذلك من خلال حساب المؤشرات indices الثلاثة وهي:

F_{IT} : تُعبّر عن نقصان نسبة متخالف اللواقح في المجموع العام للمجتمعات (داخل النوع الواحد).

F_{IS} : تُعبّر عن متوسط نقصان نسبة متخالف اللواقح داخل المجتمعات (بين الأفراد للمجتمع الواحد).

ويُعبّر هذان المؤشران F_{IT} & F_{IS} عن الارتباطات العروسية بين المورثات النظيرة "Alleles" في موقع واحد عند الأفراد بالقياس إلى: إما المجتمعات التي تنتمي إليها هذه الأفراد، أو المجموع الكلي للأفراد.

F_{ST} : تعبر عن التباين بين المجتمعات.

ويمثل هذا المؤشر الارتباط العروسي بين المورثات النظيرة المأخوذة اعتباطاً في المجتمعات بالقياس إلى المجموع الأساسي، فهذا المؤشر يُلائم إذاً قياس التباينات الوراثية بين المجتمعات. ولا بد من التنويه بأنه كلما كانت قيم (F_{ST}) كبيرة كلما كان الاختلاف أكبر والتنوّع ذو أهمية أكثر. ترتبط هذه المؤشرات الثلاثة بالعلاقة التالية:

$$(1 - F_{IT}) = (1 - F_{IS})(1 - F_{ST})$$

تُحسب عموماً قيم المؤشرين F_{IT} & F_{IS} ، بمقارنة نسب متخالف اللواقح المشاهدة (أو التجريبية) Observed Heterozygous ويُرمز لها بـ (H_o) وذلك إما: في المجتمعات، أو في المجموع الكلي لتلك المجتمعات المعتبرة كوحدة مستقلة، إلى نسبة متخالف اللواقح المتوقعة expected Heterozygous ويرمز لها بـ (H_e) لكن مع افتراض الاتحاد الاعتباطي للأعراس إما في المجتمعات وإما في المجموع الكلي. بحيث يحسب المؤشران وفق الآتي:

$$F_{IS} = 1 - H_O / H_e \quad F_{IT} = 1 - H_O / H_e$$

تتغير عادةً قيم المؤشرين F_{IT} & F_{IS} ما بين (−1 إلى +1)، ويمكن عندئذٍ أن يكون:

- اتحاد الأعراس اعتباطي أو بالصدفة أي التلقيح حُرّ free pollination عندما: $F_{IT} \& F_{IS} = 0$
- نقصان في نسبة متخالف اللواقح decrease of heterozygous عندما: $F_{IT} \& F_{IS} > 0$
- زيادة في نسبة متخالف اللواقح increase of heterozygous عندما: $F_{IT} \& F_{IS} < 0$

تُحدّد قيم المؤشر F_{ST} بالطريقة التالية: $F_{ST} = S^2 / P(1 - P)$

حيث أن:- S^2 : التباين Variance بين المجتمعات للتكرار الأُلليلي المعتبر.

- P : التكرار المتوسطي Frequence moyenne للمورثات النظيرة في المجموع الكلي للمجتمعات.

لقد أشار الباحثان (Weir and cockerham, 1984) إلى إمكانية تقدير هذه المؤشرات اعتباراً من عدد محدود من المجتمعات الطبيعية وبحجم متغير، فكان التقدير دقيقاً واستخدمت الطريقة المصححة فيما بعد تم الحصول على تباينات تقدير F− الإحصائية بمساعدة طريقة Jacknife (Miller, 1974).

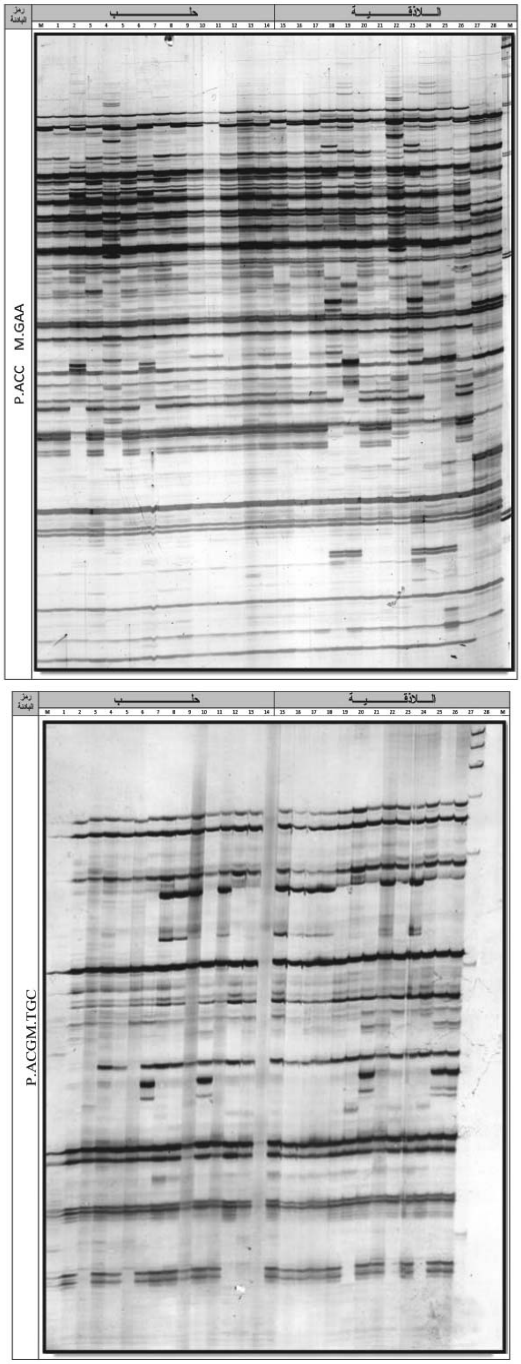
النتائج والمناقشة:

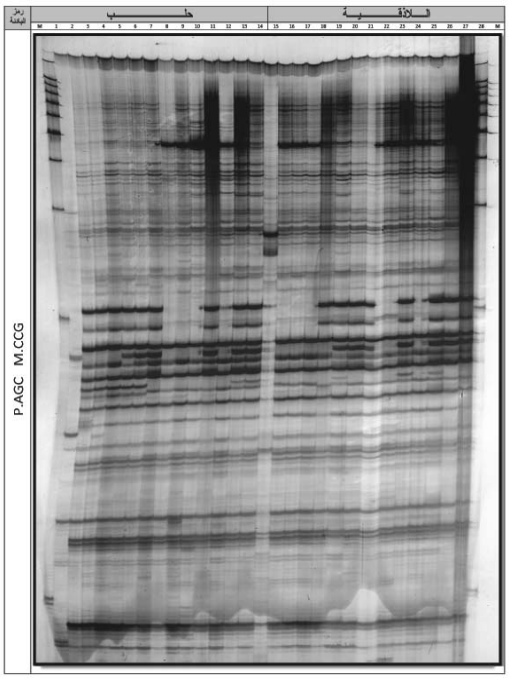
1- تحديد العلاقات الوراثية بين المناطق المختلفة المدروسة في محافظتي حلب واللاذقية :

1.1 - تحديد التباين الوراثي الناتج عن استخدام تقانة الـ AFLP:

تُعدّ تقانة الـ AFLP من أكثر تقنيات البصمة الوراثية شيوعاً وقدرة على التمييز في الوقت الحالي، حيث طبقت هذه التقانة على مجموعة كبيرة من النباتات و لأهداف مختلفة و تعد حاليا" من أكثر تقانات المؤشرات الجزيئية التي تستخدم في بحوث تحسين المحاصيل.

فقد ساهمت البادئات الثلاث المستخدمة بتحديد الهوية الوراثية المميزة لكل فرد من حيث العدد لمختلف قطع الـ DNA المكاثرة، التي يُمكن مقارنتها بين المجتمعات، والتي أظهرت بوضوح التباين الوراثي بين هذه الطرز تبعاً للمجتمعات المدروسة في المحافظتين (شكل رقم 2).


حلب
اللاذقية
P.ACC M.GAA
P.ACGM.TGC



شكل رقم(2):يظهر قطع الـ DNA الناتجة بعد المكاثرة بالبادئات المشار إليها وتعريضها للرحلان الكهربائي

M: مؤشر لمعرفة الوزن الجزيئي للـ DNA.

حلب (الموقع+ رقم العينة)
تركمان بارح (5-4-3-2-1)، الضاحية (9-8-7-6)،
الشيخ سعيد (14-13-12-11-10)

اللاذقية (الموقع+ رقم العينة)
العمرونية (19-18-17-16-15)،وطى ديرزينون (23-22-21-20)
جبلة (28-27-26-25-24)

كذلك أظهرت نتائج هذه الدراسة لـ (3) بادئات (جدول رقم 1) تباينا" وراثيا" في نواتج المكاثرة مابين قطع الـ DNA للطرز المدروسة تبعاً للبادئات المستخدمة وتركيبها النيكليوتيدي، حيث أنّه كان العدد الكلي لحزم

جدول (1) : يبين البادئات الـ /3/ التي أعطت مكاثرة للـDNA و ترتيبها النيوكليوتيدي

الرقم	البادئة	الترتيب النيوكليوتيدي
1	P.ACC M.GAA	P-GACTGCGTACATGCAGGAA M-GATGAGTCCTGAGTA A ACC
2	P.ACG M.TGC	P-GACTGCGTACATGCAGTGC M- GAT GAG TCC TGA GTA A ACG
3	P.AGC M.CCG	P-GACTGCGTACATGCAGCCG M-GATGAGTCCTGAGTA A AGC

الـ DNA (239) حزمة (جدول رقم 2)، وعدد الحزم المتباينة (214) في محافظة حلب، في اللاذقية (201) ، مع تعدديّة شكلية على التتالي بنسبة 89.54% و84.10% على مستوى المحافظتين، كما لوحظ تبعاً للبادئات التي أعطت مكاثرة وجود اختلاف في عدد الحزم أو الألّيلات الناتجة، وأيضاً وجود (5) أللّيلات مميّزة أو تشخيصية فقط لمحافظة حلب و(5) أللّيلات مميّزة فقط لمحافظة اللاذقية على مستوى البادئة 1، و(3) ألّيلات مميزة لـ حلب و (2) مميزة لـ اللاذقية على مستوى البادئة 2، و(4) أللّيلات مميزة لـ حلب و (2) مميزة لـ اللاذقية على مستوى البادئة 3، ويُفسر ذلك بوجود بداية عزل تكاثري ووراثي بين المحافظتين، يعود ذلك لعوامل تؤثّر على التوريث ونشوء الأنواع وأهمها عامل الطفرة Mutation والانتخاب Selection.

جدول رقم (2): التباينات الوراثية للبادئات الثلاث المستخدمة (عدد حزم الـ DNA الكلية، والمتباينة، والتعددية الشكلية%)

المحافظة	رقم البادئة	رمز البادئة	عدد حزم DNA الكلية	التعددية الشكلية (عدد حزم DNAالمتباينة)	النسبة المئوية للتعددية الشكلية %
حلب	1	P.ACC M.GAA	69	61	88,40
	2	P.ACG M.TGC	79	69	87,34
	3	P.AGC M.CCG	91	84	92,31
	المجموع	3	239	214	89,54
اللاذقية	1	P.ACC M.GAA	69	54	78,26
	2	P.ACG M.TGC	79	67	84,81
	3	P.AGC M.CCG	91	80	87,91
	المجموع	3	239	201	84,10

تميّزت البادئة 2 بتعدديّة شكلية متشابهة تقريبا" ومقدرة عالية على كشف التباينات الوراثية في المحافظتين لكن بدرجة أقل من البادئة الثالثة 3، بينما تميّزت كلا البادئتين1 و 3 بدرجة أعلى مميزة لـ محافظة حلب بكشف التباينات أكثر من محافظة اللاذقية، ويُفسر هذا بوجود عدد من الحزم أو الأليلات التخصصية لهذه البادئات لكل محافظة عن الأخرى فمجموعها في محافظة حلب (12) أليل تخصصي أعلى منه في اللاذقية (9) أليلات وتحديدا" في البادئة 2 و3، يُعزى ذلك لتأثير الطفرة وفق نظرية الأليل الصامت Null Allele (جدول رقم 3). ويتوافق ذلك مع نتائج بعض الباحثين باستخدام الـPCR–RAPD في دراسة القرابة الوراثية لبعض أنواع النعناع (يوسف وآخرون، 2011؛ Khanuja *et al*., 2000) وعند نوعي الطيون الطبيين (شعبان، 2012) و عند القبّار (Bhoyar *et al*,. 2012) والـ AFLP في تحديد علاقات القرابة لبعض أنواع القبّار (Cristina *et al*,. 2005).

يمكن تصنيف الأليلات الناتجة عن دراسة المؤشرات الجزيئية كما يلي:

1. أليلات صامته Null Alleles: أليلات غير ظاهرة لعدم حدوث تضاعف المواقع المدروسة عند الأفراد المعنية.
2. أليلات تخصصية (أو مميزة أو تشخيصية Specifique Alleles (Discriminate: هي أليلات تظهر لمرّة واحدة ضمن مجتمع واحد فقط وعدم ظهورها عند المجتمعات الأخرى، حيث يلعب هذا النوع من الأليلات دوراً هاماً كعامل رئيسي مساهم في رفع قيمة معامل التنوّع والعزل الوراثي.
3. أليلات نادرة Rare Alleles: هي الأليلات التي تتراوح نسبة تكرارها بين ($0 < f < 5\%$).
4. أليلات متكررة Frequent Alleles :الأليلات التي تتراوح نسبة تكرارها بين ($5 < f < 50\%$).
5. أليلات شائعة Commun Alleles: هي الأليلات التي كانت نسبة تكرارها($50 < f < 100\%$).

جدول رقم (3): يُظهر أنواع الأليلات (الحزم) الموجودة للبادئات الثلاث في المحافظتين

المحافظة	رمز البادئة	الأليلات الصامتة	الأليلات النادرة	الأليلات المتكررة	الأليلات الشائعة	التخصصية
حلب	1. P.ACC M.GAA	5	0	44	9	5:(6,9,32,44,62)
	2. P.ACG M.TGC	3	0	45	22	3:(6,66,71)
	3. P.AGC M.CCG	3	0	47	24	4: (3,19,24,33)
	المجموع	11	0	136	55	12
اللاذقية	1. P.ACC M.GAA	5	0	30	19	5: (4,20,37,41,43)
	2. P.ACG M.TGC	4	0	45	20	2: (22,45)
	3. P.AGC M.CCG	5	0	41	30	2: (9,39)
	المجموع	14	0	116	69	9

1.2 - تقدير التنوّع الوراثي:

لوحظ أن متوسط معدّل التغايريّة $\overline{Ho}$ 0.035 ±0.481 = في محافظة حلب أقل منه في محافظة اللاذقية $\overline{Ho}$ = 0.034 ±0.486، كما تبيّن من خلال حساب معامل التنوّع الوراثي على مستوى الحزم أو الأثليلات لكل بادئة وعلى مستوى الأفراد في المناطق المختلفة للمحافظتين (جدول رقم 4)، أن أكبر قيمة لهذا المعامل في حلب هي على التتالي (0.709& 0.785) في البادئة 2 وفي اللاذقية (0.707& 0.794) في البادئة 2، بينما كانت أصغر قيمة لهذا المعامل على التتالي في حلب هي (0.643& 0.722) في البادئة 3، وفي اللاذقية (0.624& 0.731) في البادئة 3، يُفسر ذلك أن البادئة 2 لعبت دوراً أساسياً بمساهمتها في هذا التنوع الوراثي بين الأفراد في حين كان للبادئة 3 الدور الأساسي في إظهار أعلى درجة تشابه (أقل تنوع) في المحافظتين، في حين تبيّن أن متوسط معامل التنوع الوراثي على التتالي(0.033±0.759 & 0.033±0.677) في حلب أعلى منه بقليل في اللاذقية (0.032 ±0.76 & 0.047 ±0.653)، مما يدل على أن درجة التنوع عالية جداً، ويُفسّر ذلك بتأثير عدّة عوامل وراثية في إبراز هذا التنوّع الوراثي والتباينات الوراثية على مستوى المجتمعات والمحافظتين وأهمّها عامل الطفرة Mutation، ونظام التكاثر Reproduction System (Palermo *et al*., 2002;Ayres and Ryan, 1999) و يتطابق ذلك مع نتائج بعض الباحثين في دراسة التنوع الوراثي عند القبّار (Ozbek *et al*,. 2013).

جدول رقم (4): يظهر معامل التنوع الوراثي على مستوى الحزم و الأفراد لمختلف المناطق في المحافظتين.

على مستوى الأفراد					على مستوى الحزم					
متوسط معامل التنوع الوراثي $\overline{GD}$	معامل التنوع الوراثي GD	متوسط معدّل التغايرية $\overline{Ho}$	معدّل التغايرية H_o	N	متوسط معامل التنوع الوراثي $\overline{GD}$	معامل التنوع الوراثي GD	متوسط معدّل التغايرية $\overline{Ho}$	معدّل التغايرية H_o	N	رمز البادئة	المحافظة
0.759 ± 0.033	0.77	0.478 ± 0.027	0.463 ± 0.10	69	0.677 ± 0.033	0.678	0.481 ± 0.035	0.467 ±0.33	14	1.P.ACCM.GAA	حلب
	0.785		0.462 ± 0.17	79		0.709		0.454 ± 0.3	14	2.P.ACGM.TGC	
	0.722		0.509 ± 0.12	91		0.643		0.521 ± 0.32	14	3.P.AGC M.CC	
0.76 ± 0.032	0.755	0.486 ± 0.033	0.491 ± 0.04	69	0.653 ± 0.047	0.627	0.486 ± 0.034	0.490 ± 0.36	14	1.P.ACCM.GAA	اللاذقية
	0.794		0.450 ± 0.01	79		0.707		0.450 ± 0.31	14	2.P.ACGM.TGC	
	0.731		0.516±0.01	91		0.624		0.518 ± 0.34	14	3.P.AGC M.CC	

يُبيّن حساب معامل التنوّع الوراثي تبعاً لمناطق المحافظتين، وجود تدرج في قيم هذا المعامل يتراوح بين (0.594 (تركمان بارح،3)– 0.913 (الشيخ سعيد،2) وبقيم متوسطة بين (0.12±0.701 /تركمان بارح–0.13±0.806 / الشيخ سعيد) في محافظة حلب، وبين (0.699(جبلة،2)–0.895(العمرونية،2) وبقيم متوسطة بين (0.02±0.727 / جبلة – 0.08±0.808 / العمرونية) في اللاذقية ، وبمقارنة هذا المعامل بين المحافظتين (جدول رقم 5)، كانت قيم متوسط معامل التنوع الوراثي متقاربة (0.02±0.75) في حلب، (0.03±0.759) في اللاذقية، ويُفسّر ذلك بوجود تباينات وراثية ضمن المجتمعات في المحافظة الواحدة أعلى منه بين المجتمعات في المحافظتين ويُعزى ذلك إلى نظام التكاثر الذي يميل للتكاثر الذاتي Self reproduction (Zhang and Tan, 2008, 2009)، أو التكاثر عن طريق الجوار (بين الآباء والأبناء والأخوة والأخوات وأبناء العمومة و الخؤلة) فيؤدي لانخفاض في معدّل متخالف اللواقح نتيجة عامل القرابه Similarity factor (Ellstrand and Elam,. 1993).

جدول رقم (5): يُظهر معامل التنوع الوراثي على مستوى المناطق في محافظتي حلب و اللاذقية.

	محافظة حلب				محافظة اللاذقية			
رمز البادئة	P1: تركمان بارحGD	P2: الضاحيةGD	P3: الشيخ سعيدGD	∑ GD (مناطق)n=3	P4: العمرونيةGD	P5: وطى ديرزينونGD	P6: جبلةGD	∑ GD (مناطق)n=3
1-P.ACCM.GAA ∑n=893	0.837 n= 134	0.81 n= 116	0.663 n= 200	0.77±0.094	0.803 n= 123	0.727 n= 143	0.735 n= 177	0.755±0.042
2-P.ACGM.TGC ∑n= 1002	0.673 n=104	0.689 n=175	0.913 n= 225	0.758±0.134	0.895 n= 138	0.787 n=145	0.699 n= 215	0.793±0.098
3-P.AGC M.CCG ∑n= 1308	0.594 n= 178	0.731 n=182	0.842 n=290	0.722±0.124	0.725 n=238	0.721 n= 191	0.747 n= 229	0.731±0.014
∑GD n=3 (بادئات)	0.701±0.12	0.743±0.06	0.806±0.13	0.75±0.02	0.808±0.08	0.745±0.04	0.727±0.02	0.759±0.03

n: عدد الحزم التي أعطتها كل بادئة في كل منطقة في المحافظتين.

1.3- تحديد درجة الاختلاف والتشابه الوراثي بين المناطق المختلفة المدروسة في المحافظتين:

تم الاعتماد على نتائج الـ AFLP على كافة الطرز الوراثية المدروسة من حيث وجود (1) أو غياب (0) حزم الـ DNA المكاثرة تبعاً للبادئات المستخدمة في تنظيم الجداول الأساسية التي اعتمدت في حساب معامل الاختلاف والتشابه الوراثي بين الطرز في المناطق المختلفة في المحافظتين تبعاً لطريقة (Jaccard,1908) وأيضاً اعتمدت كأساس في إنشاء شجرة القرابة (التدرج العنقودي) ما بين المناطق المختلفة للمحافظتين.

تبيّن من حساب معامل الاختلاف والتشابه الوراثي بين الطرز لمختلف المناطق في المحافظتين (جدول رقم6)، وإنشاء شجرة القرابة وتحديد درجة القرابة بين مناطق المحافظتين (شكل رقم3)، ومقارنة النتائج فيما بينها أن معامل الاختلاف يتراوح:

-في حلب بين حده الأدنى (0.363) في مناطق (الشيخ سعيد – تركمان بارح) وحده الأعلى(0.381) في مناطق (الضاحية – الشيخ سعيد) المتمثلة على التتالي بأكبر تشابه وراثي فيما بينها بقيمة (0.637) وبأقل تشابه وراثي بقيمة (0.620) .

-و يتراوح في اللاذقية بين حده الأدنى (0.325) في مناطق (دير زينون – جبلة) وحده الأعلى (0.380) في مناطق (العمرونية – جبلة) المتمثلة على التتالي بأكبر تشابه وراثي بقيمة (0.675)، و بأقل تشابه وراثي بقيمة (0.620).

-و تتدرج قيم هذا الاختلاف الوراثي على مستوى المحافظتين بين (0.325– 0.530) المقابل على التتالي للمجتمعين (جبلة– ديرزينون في اللاذقية) أي أن أكبر تشابه وراثي بينهما قيمته (0.675)، وبين الحد الأعلى للاختلاف بين مجتمعي (وطى ديرزينون في اللاذقية – الضاحية في حلب) وبالتالي يُقابل أقل تشابه وراثي بينهما وقيمته (0.470).

نستنتج مما سبق بأن درجة الاختلاف بين مجتمعات اللاذقية هي أقل (يعني ذلك أنها تتمتّع بأكبر درجة من التشابه الوراثي) منها بين مجتمعات حلب (أي أنها تتمتع بأقل درجة من التشابه الوراثي). و يتطابق ذلك مع نتائج باحثين آخرين في دراسة التنوع الوراثي عند القبّار في السعودية (روضة خريم و المدينة) حيث كانت درجة الاختلاف بين مجتمعات روضة خريم قليلة جدا" أي أنها تتمتع بأكبر درجة من التشابه الوراثي فيما بينها إذ وصل معامل التشابه إلى (84–93%)، (Abdel-Mawgood *et al*,. 2005)، وكذلك في دراسة التباينات الوراثية عند نبات النعناع المائي في محافظتي اللاذقية وطرطوس *Mentha aquatica L.* (يوسف وآخرون، 2011).

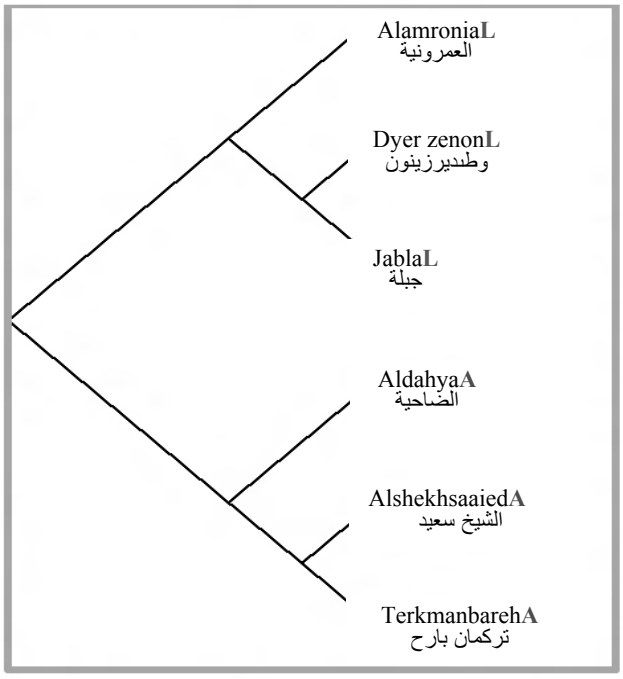
جدول رقم (6): يظُهر مصفوفة النسب المئوية للتوافق بين المجتمعات المدروسة الناجمة بتطبيق برنامج (Jaccard, (UPGMA 1908)، حيث أن (A) = محافظة حلب، (L) = محافظة اللاذقية .

المناطق	تركمان بارح A	الضاحية A	الشيخ سعيد A	العمرونية L	وطىديرزينون L	جبلة L
تركمان بارحA	0					
الضاحيةA	0.3639	0				
الشيخ سعيدA	0.3633	0.3805	0			
العمرونيةL	0.4675	0.4627	0.4024	0		
وطىديرزينونL	0.3663	0.5296	0.4456	0.3302	0	
جبلةL	0.3621	0.4107	0.4059	0.3799	0.3249	0

1.4-التحليل العنقودي (رسم شجرة القرابة) بين المناطق المختلفة المدروسة في المحافظتين :

تبين من خلال رسم شجرة القرابة Dendrogram (شكل رقم 3) تبعاً لمعامل الاختلاف (Jaccard,1908)، أنه يوجد:

– عزلاً وراثياً كلياً يفصل بين المحافظتين، حيث توزعت المجتمعات المختلفة لكلٍّ منهما على محورين منفصلين:



شكل رقم (3): يظهر شجرة القرابة للطرز الوراثية في المناطق المختلفة وفق معامل اختلاف (Jaccard, 1908)، حيث أن (A) = محافظة حلب، (L)= محافظة اللاذقية.

– **الأول:** يضم تجمعات لمجتمعات محافظة اللاذقية الذي توزّع بدوره إلى تحت مجموعتين، حيث انفردت الأولى بمنطقة العمرونية، وضمّت الثانية منطقتي وطى ديرزينون و جبلة وظهرت أكبر مسافة بين منطقتي (العمرونية و جبلة).

– **الثاني:** يضم تجمعات لمجتمعات حلب المتوزّعه بدورها إلى تحت مجموعتين، فانفردت الأولى بمنطقة الضاحية، وضمّت الثانية منطقتي الشيخ سعيد و تركمان بارح وبرزت أكبر مسافة أيضاً بين منطقتي (الضاحية و تركمان بارح).

_ لوحظ أن أكبر بعد وراثي على مستوى المحافظتين هو بين مجتمعي العمرونية في اللاذقية و تركمان بارح في حلب، يُفسّر ذلك بوجود عدد معين من الأليلات التخصصية أو المميزة Discriminante، وهذا ما دلّ على وجود عزل وراثي وتكاثري محدد وعائق للتدفق المورثي gene flow بين المحافظتين، ويتوافق هذا مع نتائج دراسة المؤشرات الجزيئية باستخدام الـ PCR-RAPD من قبل (معلا وآخرون، 1999) عند نبات الجرجير التي أظهرت تباينا" في تجمّع المجتمعات في محافظتي اللاذقية و طرطوس تبعاً لدرجة القرابة، وأيضاً عند الطيون (شعبان، 2012) وعند النعناع (يوسف وآخرون، 2011).

يُفسّر ما سبق بظاهرتي الأليلات الصامتة (Null Alleles)، والتخصصية (جدول رقم3) وذلك بوجود أليلات تخصصية لمحافظة حلب بتكرار(7.25%) للبادئة 1 التي تُعتبر صامته في مجتمعات اللاذقية، وذات التكرار في اللاذقية لأليلات تخصصية بالنسبة للبادئة 1 وهي على العكس أليلات صامته في حلب، وأيضاً وجود أليلات تخصصية لـ اللاذقية بتكرار (2.53%) للبادئة 2 وهي أليلات صامتة بالنسبة لـ حلب، وكذلك بتكرار(4.39%) للبادئة 3 في حلب وهي أليلات صامتة بالنسبة لمحافظة اللاذقية، وهذا ما يُفسّر بروز العزل والتنوّع الوراثي بين المحافظتين. في حين لوحظ أن النسبة المئوية للحزم المعدومة هي (18.83%) في الشيخ سعيد في حلب و(22.25%) في العمرونية في اللاذقية. ويعزى وجود الأليلات الصامتة إلى حدوث الطفرة من المرجح أن تكون طفرة بالحذف Deletion التي يُمكن حدوثها في مكان التحام البادئة المحيطة بقطعة الـ DNA مما يؤدي لعدم اكتمال الالتحام وبالتالي عدم المكاثرة خلال مراحل تقانة الـ AFLP، ولوحظ أن ظاهرة الأليلات الصامتة شائعة نسبياً باستخدام مؤشر الـSSR (Devos *et al.*, 1995, Plaschke *et al.*, 1995)، أو ربما يُعزى ذلك لحدوث

تكاثر خلطي mix reproduction (بين الجوار) وهذا ما يُشير له متوسط معدّل التنوّع (0.677) في حلب أعلى منه في اللاذقية (0.653)، حيث لوحظ بدراسة المعيار المورفولوجي أن وجود تباين ظاهري (σ^2P) أقل بين مجتمعات اللاذقية (أي أكثر تشابهاً) منه في حلب، رغم وجود التكاثر اللاجنسي في مجتمعات المحافظتين، لكنها تتمتع بالقدرة على التكاثر الجنسي، فإنه يميل للتكاثر بين الجوار إضافة للذاتي في حلب (وجود نباتات خنثوية – مذكرة) ويميل للتكاثر الذاتي أو اللاجنسي في اللاذقية، يتوافق هذا مع نظرية (Bawa and webb, 1984, Queller,1983,1984, Charlesworth and Charlesworth, 1981, Cruden, 1976).

2- تحليل المكونات الأساسية Analysis of the Principal Components (A.C.P.) للمناطق في المحافظتين:

تمّ استخدام تحليل المكونات الأساسية .A.C.P بهدف الكشف عن العوامل المشتركة المتعدّدة المؤثّرة في عدد من الظواهر المختلفة، أي تكثيف أعداد كبيرة من المتغيّرات تبعاً لعدد علاقاتها الارتباطية في عدد من المحاور أو العوامل (Dervin, 1988) ، والـ .A.C.P أساساً عبارة عن طريقة وصفية يعود استخدامها تاريخياً إلى (Hotelling,1933) الذي نشر أول بحث باستخدامه هذا التحليل المتعدّد المتغيّرات، والذي يُبرز من خلال التمثيل البياني المعلومات الأساسية المُتَضمّنة في جدول المعطيات وإظهارها بوضوح ليس فقط لمتغيّر بمفرده وإنّما لمجموع المتغيرات بشكل متعارض أو متوافق معاً، ويكمن ذلك بتحويل P متغيّر أساسي أقل أو أكثر ارتباطاً فيما بينها إلى P متغيّر جديد غير مرتبط، تدعى بالمكونات الأساسية، تسمح بإعطاء تفسيرات عديدة لمعالجة المعطيات النصيّة، ومعرفة درجة تباينها وأسباب هذا التباين، وأيضاً التعامل مع البيانات بشكل مُختصر من خلال أقل عدد ممكن من العلاقات الخطية المفسرة بمجملها لأعلى نسبة من التباينات، وذلك بفضل إظهار المؤشرات أو الأفراد في الفضاء space ذاته، فنحصل على تطابق بين الاثنين على الخارطة العامليه factorial map ذاتها، ويساهم التمثيل البياني بإظهار تجمعات، أو تعارض، أو توجهات، فيُمكن تمييزها بسهولة، في حين لا يمكن ذلك مباشرةً على جدول المعطيات (Davis, 1986, Philippeau, 1986, Harper, 1999).

تم إجراء تحليل الـ .A.C.P على (3) بادئات على مستوى المناطق الست في محافظتي حلب و اللاذقية، و تبين من النتائج أن التابعين (أو الدالتين) المتوافقين المميّزين للمحور الأول والثاني تُمثّل ما مجموعه (66.91%) من التباين الكلي للمتغيّرات الوراثية (جدول رقم7) حيث مثّل التابع المميز للمحور الأول (47.49%) من التباين الكلي، بينما مثّل التابع المميز للمحور الثاني (19.42%). وحُسب معامل التحديد $R^2 = COS^2$ الذي يُمثّل مربع معامل الارتباط بين المتغيّرات الوراثية الجزيئية (البادئات) والمحور، بحيث أنه كلما كانت قيمة هذا المعامل مرتفعة، كانت الصفة مرتبطة مع المحور، ويُشير ذلك إلى أنّ التمثيل Representation يكون جيدا" على هذا المحور، أي يكون معامل التحديد قريب من الواحد، وهذا يدل على وجود نوع من التجانس بالنسبة للمتغيّر المدروس بين مختلف المجتمعات أو الأفراد. وتبيّن أن البادئات الأساسية المساهمة في تشكيل المحور الأول تتدرج حسب تفوقها في تلك المساهمة (التباين المفسر) كالتالي:(2)، و(3)، والتي ساهمت معاً في رسم المحور الأول أفقياً مسحوبةً باتجاه القيم الموجبة وفق التابع المميز للمحور الأول (شكل 4)، و تأتي أولاً البادئة (3)، و التي تُمثّل بنسبة (25,93%) من التباين المفسر على المحور الأول وبمعامل تحديد $R^2 = 0.78$ ، وبدرجة تالية البادئة (2) التي تُمثّل بنسبة (12.85%) من التباين المفسر و بمعامل تحديد $R^2 = 0.39$، تساهم أيضاً المتغيّرات الوراثية في رسم المحور الأول أفقياً باتجاه القيم السالبة، وهي البادئة (1) الممثلة بقيمة (8.70%) من التباين المفسر و بمعامل تحديد $R^2 = 0.26$.

جدول رقم(7): يُبيّن التوابع الدّالة على المحورين بالنسبة للمتغيرات الوراثية الجزيئية لمختلف المناطق في المحافظتين.

المتغيّرات	الارتباط بالمحور I	معامل التحديد $R^2 = cos^2$	التباين المفسر	الارتباط بالمحور II	معامل التحديد $R^2 = cos^2$	التباين المفسر
1-(P.ACC M.GAA)	-0.511	0.26	8.70	0.411	0.17	5.63
2-(P.ACG M.TGC)	0.621	0.39	12.85	0.438	0.19	6.39
3-(P.AGC M.CCG)	0.882	0.78	25.93	0.471	0.22	7.39
النسبة المئوية للتباين الكلي %			%47.49			%19.42

تساهم كذلك المتغيّرات الوراثية الجزيئية في رسم المحور الثاني عمودياً باتجاه القيم الموجبة وتتدرج تبعاً لمساهمتها في التباين المفسر كالتالي: البادئة (3)، (2)، و(1) و تأتي أولا" البادئة (3) الممثلة بقيمة (7.39%) من التباين المفسر وبمعامل تحديد $R^2 = 0,22$، و بدرجة تالية البادئة (2) الممثلة بقيمة (6.39%) من التباين المفسر وبمعامل تحديد $R^2 = 0,19$، وبدرجة ثالثة البادئة (1) الممثلة بقيمة (5.63%) من التباين المفسر وبمعامل تحديد $R^2 = 0,17$.

يُظهر تحليل الـ A.C.P. من خلال النتائج الحاصلة بالمقارنة بين حلب واللاذقية في مختلف المناطق(شكل رقم 4)، وجود تباين واضح بين المجتمعات تبعاً للمحافظتين من خلال انتشارها على المحور I و II وفق المتغيّرات الوراثية الجزيئية المدروسة التي ساهمت بشكل خاص برسم هذين المحورين المسحوبة باتجاه القيم الموجبة والسالبة فنجد أنه بالنسبة لـ:

-محافظة حلب: لوحظ أن كلّ المجتمعات مسحوبة باتجاه القيم الموجبة فقط على المحور I بينما انسحبت جميعها أيضا" باتجاه القيم السالبة على المحور II.

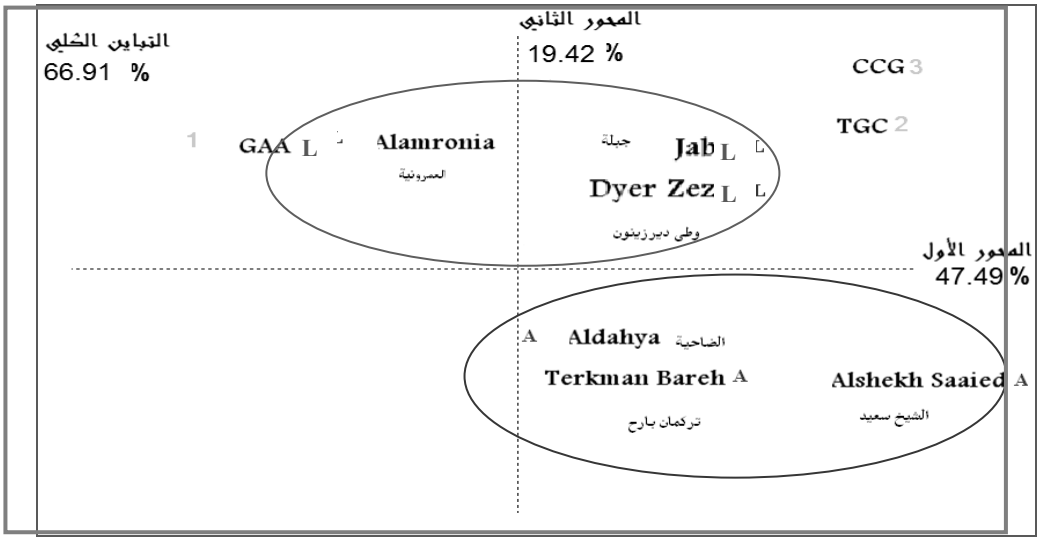
-محافظة اللاذقية: لوحظ أن مجتمعي (جبلة، وطى ديرزينون) مسحوبان باتجاه القيم الموجبة، و انسحب مجتمع (العمرونية) باتجاه القيم السالبة على المحورI، بينما انسحبت كل المجتمعات باتجاه القيم الموجبة على المحورII.

نستنتج من خلال إجراء تحليل المكونات الأساسية .A.C.P على مستوى (المجتمعات في المحافظتين) النقاط التالية :

-وجود فصل وعزل وراثي واضح بين مجتمعات المحافظتين، (مثلما لوحظ ذلك عند الجلبان باستخدام المؤشرات البيوكيميائية (Youssef, 1989)، حيث انعزلت مجتمعات محافظة حلب بتوزعها بشكل متقارب من جانب ، عن مجتمعات اللاذقية من جانب آخر، ولعبت البادئتان (2) و(3) دوراً هاماً في هذا التوزّع على المحورين، والبادئة (1) بدرجة أقل.

- وجود تباين وراثي واضح بين مجتمعات كلٍّ من المحافظتين من خلال توزعها علىالمحورين.

وتتوافق هذه النتائج مع ما توصّل إليه الباحثون عند البطاطا المزروعة محلياً (يوسف، 2002) والحلوة (يوسف و صبيحة، 2005) والنعناع (Abbaszadeh *et al*., 2009) والطيون (شعبان، 2012) و القبّار (Ozbek and Kara, 2013).



شكل رقم (4): يُمثّل تحليل المكونات الأساسية .A.C.P الذي يُبيّن توزّع المجتمعات المختلفة لنبات القبّار بالنسبة للمتغيّرات الوراثية الجزيئية المدروسة في محافظتي حلب واللاذقية، حيث أن: (A) = محافظة حلب، (L)= محافظة اللاذقية، البادئات: 3،2،1.

3- طريقة F - الإحصائية: Methode of F- statistical:

أظهرت النتائج من خلال حساب المؤشرات الثلاث وفق طريقة (Wright, 1951, 1965, 1978) النقاط التالية:

1) تختلف المؤشرات الإحصائية الثلاثة جوهرياً عن الصفر عند القبّار في المحافظتين، والذي يدلّ على:

-أن نظام الارتباط العروسي غير معدوم بين الأليلات Alleles في موقع واحد عند الأفراد بالقياس إلى: إما للمجتمعات، أو للمجموع الكلي لهذه المجتمعات التي تنتمي إليها هذه الأفراد (يعني ذلك أن التهجينات بين الأعراس لا تجري بشكل عشوائي أو بالصدفة و بالتالي نظام التلقيح المطبق هو غير حرّ أو بانمكتي Panmixie) وإنما تدل النتائج على أنها أنظمة تكاثر ذات ارتباط عروسي موجب وهي تتمثل بأنظمة التكاثر (الذاتي الأعراس، بين الأفراد المتشابهة، و بين الأقارب)،

-وجود نقصان في نسبة متخالف اللواقح في المجموع العام للمجتمعات المحسوب على المجموع الكلي للنوع (F_{IT})، كذلك نقصان في نسبة متخالف اللواقح داخل المجتمعات، حيث يُفسّر ذلك بتدفق مورثيgene flow محدود بين و أيضاً داخل المجتمعات (F_{IS}). فيلاحظ من قيم (F_{IS}) المختلفة في المحافظتين (جدول 8)، و بالتالي تصبح هذه المجتمعات أكثر انغلاقاً و انعزالاً، و التنوع الوراثي بينها في المحافظتين أكثر تبايناً، حيث تكون عموماً درجة الاختلاف بين المجتمعات ذات النظام التكاثري المغلق أشد منه عند الخلطية الإخصاب .

-أن هناك مجتمعات تّظهر تأثير لعامل القرابة Similarity factor أكثر من الأخرى، ويعود مصدر هذه القرابة المشاهدة إلى سببين أساسيين هما:

1. إما تكاثر عن طريق الجوار.
2. أو عن طريق التلقيح الذاتي Self pollination.

مهما يكن المصدر، يوجد هناك أيضاً تفسيرات لهذا التغيّر هي:

1) التوزّع المكاني للأفراد في منبتها الأصلي، حيث يُسبب عدد الجيران الأساسيين الذين يساهمون في تهيئة الفرد النسل، تغيّرات هامة على مستوى القرابة في المجتمعات، (Wright, 1943; Levin and Kester, 1974; Handel, 1983; Valero,1987; Youssef,1989)

-وجود تعدّد شكلي لنظام التكاثر عند القبّار، إذ تتغيّر نسبة الأفراد التي تتلقح ذاتياً تبعاً للمجتمعات.

2) يُلاحظ أن قيم المؤشرات الإحصائية المحسوبة F_{IT} & F_{IS} أكثر أهمية في محافظة حلب من اللاذقية وأن الـ F_{ST} هي متقاربة نسبياً ، مما يؤكد أن نظام التكاثر في حلب أكثر انغلاقاً وهذا ما أظهر درجة تباين وراثي عالية بين مجتمعاته.

3) يُلاحظ أن المواقع المدروسة لم تكن حيادية اصطفائياً، بل تُنبّئ التباينات بين المجتمعات بتأثيرات اصطفائية مختلفة إضافة للطفرة التي تلعب دوراً هاماً في تباينات العامل الوراثي ($\sigma^2_G= \sigma^2_A+\sigma^2_D+\sigma^2_I$) في المحافظتين.

4) يُلاحظ من خلال حساب العلاقة التالية لـ (Wright, 1978):

$$\mathbf{F_{ST} = 1- (1- F_{IT}) / (1- F_{IS})}$$

حيث عبّر عن التباين بين المجتمعات لقيمة F_{ST} وفق التصنيف التالي:

$0 < F_{ST} < 0.05$: تباين ضعيف $0.05 < F_{ST} < 0.15$: تباين حديث

$0.15 < F_{ST} < 0.25$:تباين هام $F_{ST} > 0.25$:تباين هام جداً

و بما أنّ قيمة ($F_{ST} < 0.05 = 0.116 -$) في حلب وأيضاً قيمة ($F_{ST} < 0.05 = 0.17 -$) في اللاذقية يدلّ ذلك على أنّ التباين بين المجتمعات لكل محافظة هي ضعيفة أو قليلة في حين أن التباين بين مجتمعات المحافظة الواحدة بالمقارنة مع المحافظة الأخرى هو هام و يُؤكّد العزل الوراثي بين المحافظتين.

جدول رقم (8): F– الإحصائية: المؤشرات الثلاثة المتوسطة الناتجة عن 3 بادئات عند المحافظتين.

F -الإحصائية	حلب	اللاذقية
	الانحراف المعياري ± المتوسط	الانحراف المعياري ± المتوسط
F_{IT}	0.287*** ± 0.07	0.250*** ± 0. 08
F_{IS}	0.361*** ± 0.05	0.359*** ± 0.06
F_{ST}	0.109*** ± 0.01	0.119*** ± 0.02

*** : معنوية من أجل P < 0.001

الاستنتاجات والتوصيات:

–تأكيد وجود عدد معين من الأللیلات (الحزم) التخصصية أو المميزة Discriminante خاصة بكل محافظة.

–يدل هذا على وجود عزل وراثي وتكاثري محدد وعائق للتدفق المورثي gene flow بين المحافظتين(حيث انعزلت مجتمعات حلب عن مجتمعات اللاذقية)، لعب في إبرازه المعيار الجزيئي(خاصة البادئتين 2 &3 المتميزتين أعلى نسبة تعددية شكلية وهي أكبر في حلب منها في اللاذقية)، كما أبرزته نتائج دراستنا للمعيار المورفولوجي، الذي أظهره رسم شجرة القرابة الوراثية، وأكّد أيضاً التحليل العاملي للمكونات الأساسية (A.C.P.) وجود هذا العزل، وتباين وراثي(σ^2_G) واضح بين مجتمعات كلٍّ من المحافظتين .

–تميّزت محافظة اللاذقية بمعدّل تغايرية (0.486) أعلى بقليل من محافظة حلب(0.481)، لوحظ أن قيمة متوسط معامل التنوّع الوراثي على مستوى (حزم) البادئات والأفراد (0.677) في حلب أعلى بقليل من اللاذقية (0.653)، ومستوى المجتمعات المختلفة متقاربة جداً (0.759) في حلب (0.760) في اللاذقية، وهناك تدرج في التنوّع الوراثي للمجتمعات المدروسة في المحافظتين ما بين هذه القيم المحسوبة.

–لوحظ أن أكبر قيمة (للبعد الوراثي= 1– معامل التشابه) في مجتمعات حلب (0.381) بين (الضاحية و الشيخ سعيد)، وأكبر قيمة للبعد الوراثي في مجتمعات اللاذقية (0.38) أيضاً بين (العمرونية و جبلة)، في حين لوحظ أن أكبر قيمة تشابه (0.637) بين (الشيخ سعيد و تركمان بارح) في حلب، وأكبر قيمة تشابه (0.675) بين (وطى ديرزينون وجبلة) في اللاذقية، وهناك تدرج في التباينات الوراثية للمجتمعات بين هذه القيم لمعاملي البعد والتشابه الوراثي.

–أظهرت دراسة F– الإحصائية تأثير عامل القرابة في بعض المجتمعات وبرز ذلك أكثر أهمية وأكبر نسبياً في محافظة حلب منه في اللاذقية رغم أن الـ FST كانت متقاربة نسبيا" ففي حلب (FST= 0.109) و في اللاذقية (FST= 0.119)، يدّل ذلك على أن نظام التكاثر أكثر انغلاقاً في حلب و يُعزى للتكاثر عن طريق الجوار أو التلقيح الذاتي، وهذا ما أظهر تباينا" وراثيا عالياً بين مجتمعاتها بالمقارنة مع مجتمعات اللاذقية.

–سمحت نتائج هذه الدراسة بتحديد بادئات يمكن استخدامها كمؤشرات جزيئية في برامج تحسين القبّار كنبات طبي وغذائي، وأظهر استخدام هذه التقانة كفاءة عالية في دراسة وتحديد علاقات القرابة بين المجتمعات المختلفة المدروسة في المحافظتين.

المراجع:

1. أشتر، سها؛ معلا، محمد؛ مير علي، نزار؛ كحلوت، عبد الرحمن: *تحديد مقدرة تقنيتي الرحلان الكهربائي SDS-PAGE و A- PAGE على الكشف عن حالة عدم التجانس الوراثي ضمن بعض أصناف القمح القاسية والطرية*. مجلة جامعة تشرين للدراسات والبحوث العلمية، سلسلة العلوم البيولوجية، المجلد (30) العدد (3)، 2008، 250-261.
2. أشتر، سها: *تقييم بعض الطرز الوراثية من الأقماح السورية (السداسية والرباعية) باستخدام معلمات بيوكيميائية وجزيئية مختلفة*. أطروحة دكتوراة، قسم المحاصيل، كلية الزراعة، جامعة تشرين،2009، 204 صفحة.
3. معلا، محمد يحيى؛ يوسف، إبراهيم عزيزة و طيوب، غالب: *استخدام تقنية PCR-RAPD في دراسة التباينات الوراثية لمجموعة من الطرز الوراثية من الجرجير Nasturtium officinale المنتشر في المنطقة الساحلية*. مجلة جامعة تشرين للدراسات والبحوث العلمية، سلسلة العلوم الأساسية، المجلد (23) العدد (10)، 1999، 197-207.
4. يوسف، عزيزة إبراهيم: دراسة تأثير الإصابة الفيروسية على الصفات الإنتاجية لبعض أصناف البطاطا المزروعة محلياً. مجلة جامعة تشرين للدراسات والبحوث العلمية، المجلد، 24، العدد 12،2002، 121-141.
5. يوسف، عزيزة إبراهيم؛ صبيحة، إبراهيم. دراسة الإنتاج والنوعية لسبع أصناف من البطاطا الحلوة (Sweet potato) *Ipomapatats*. مجلة مؤتة للبحوث والدراسات، الأردن، سلسلة العلوم الطبيعية والتطبيقية، المجلد 20، العدد2005،2، 21- 38.
6. يوسف، إبراهيم عزيزة؛ ديب، جورج؛ بيطار، غادة: *دراسة التباينات الوراثية لمجموعة من الطرز الوراثية من النعناع المائي Mentha aquatica المنتشر في المنطقة الساحلية باستخدام تقنية الـPCR-RAPD* ، مجلة جامعة تشرين للدراسات والبحوث العلمية،سلسلة العلوم البيولوجية، المجلد، 33، العدد 4 ، 2011، 183-198.
7. شعبان، رولا: *دراسة بيولوجية و وراثية لبعض أنواع الطيون .Inula L في الساحل السوري*. كلية العلوم، جامعة تشرين. 2012، 120 صفحة.
8. يوسف، إبراهيم عزيزة؛ بركات، عبد الله؛ زريقة، علي ديمة (2013): *دراسة مقارنة للمتغيرات المورفولوجية لنبات القبّار Capparis spinosa التي تعكس التباينات الوراثية الظاهرية بين المجتمعات المدروسة في محافظتي اللاذقية وحلب في سوريا*.مجلة جامعة تشرين للدراسات والبحوث العلمية، سلسلة العلوم البيولوجية (قبلت للنشر بتاريخ 2013/7/29) .
9. ABBASZADEH, B.; FARAHANI, H. A. ; VALADABADI, S. A. and MOAVENI, P: *Investigation of variations of morphological values and flowering shoot yield in different mint species at Iran*. Journal of Hortticulture and Forestry, Vol. 1, N°17, 2009, 109-112.
10. ABDEL-MAWGOOD, A. L.; ASSAEED, A.; ABDALLATIF, T: *Genetic Diversity In An Isolated Population Of Capparis decidua*. The Role of Biotechnology, 2005, 185-186.
11. AGGARWAL, R. K., BRAR, D. S., NANDI, S., HUANG, N., KHUSH, G. S: *Phylogenetic Relationships among Oryza Species Revealed by AFLP Markers*. Theoretical and Applied Genetics. 98: 1999, 1320-1328.

12. AYAD, W. G., HODGKIN, T., JARADAT, A., RAO, V. R:*Molecular genetic techniques for plant genetic resources.* Report for and IPGRI Workshop 9-11 October 1995, IPGRI, Rome, Italy. 1997, Pp: 11-22.
13. AYRES, D.R. and RYAN, F. J:*Genetic Diversity and Structure of the Narrow Endemic Wyethia reticulata and its Congener W. bolanderi (Asteraceae) Using RAPD and Allozyme Techniques*. California, American Journal of Botany, Vol. 86, Nº3, 1999, 344-353.
14. AYTAC, Z; KINACI, G; CEYLAN, A:*Yield and some Morphological Characteristics of Caper (Capparis spinosa L.) Population Cultivated at Various Slopes in AEGEAN Ecological Conditions*. Pak. J. Bot, 2009, 41(2): 591-596.
15. BAWA, K. and WEBB, C.J. *Flower, fruit and seed abortion in tropical forest trees*. 1984.
16. BHOYAR, S. M.; MISHRA, P. G.; NAIK, K. P.; MURKUTE, A. A.; SRIVASTAVA, R. B: *Gentic Variability Studies Among Natural Populations Capparis spinosa from Cold Arid Desert of Trans-Himalayas Using DNA Markers*. The National Academy of Sciences, India, 35(6) 2012, 505-515.
17. CABONI, P.; SARAIS, G.; AISSANI, N.; TOCCO, G.; SASANELLI, N.; LIORI, B.; CARTA, A.; ANGIONI, A: *Nematicidal Activity of 2-Thiophenecarboxaldehyde and Methyl isothiocyanate from Caper (Capparis spinosa) against Meloidogyne incogniya*. 60(30), 2012, pp. 7345-7351.
18. CHARLESWORTH, D. and CHARLESWORTH, B. *Allocation of resources to male and female functions of hermaphrodites* .Biol. J. Linn. Soc, 15, 1981, 57 -74.
19. CRISTINA, I.; ROBEN, C.; FRANCISCO, A.; DIEGO, R.; MIKE, F: *AFLP Fingerprinting in Capparis subgenus Capparis related to The commercial sources of Capers*. Vol 52, 2005, p.p. 137-144.
20. CROSSA, J.; HERNANDEZ, C.M.; BRETTING, P.; EBERHART, S.A. and TABA S: *Statistical genetic considerations for maintaining germ plasm collections*. *Theor. Appl. Genet.*86, 1993, 673-678.
21. CRUDEN, R.W. *Intra-specific variation in Pollen-ovule ratio and nectar secration-prelimnary evidence of ecotypic adaptation*. Ann. Misiour, Gard, 63, 1976, 277-289.
22. DAVIS, J.C: *Statistics and Data Analysis in Geology*. John Wiley & Sons, 1986.
23. DERVIN, C:*Commenntinterpreter les résultats d´ une analyse factorielle des correspondances* (I.T.C.F) I.N.RN. 1988.
24. DEVOS, K.M.; BRYAN, G.J.; COLLINUS, A.J. and GALE, M.D: *Application of two microsatellite sequences in wheat strong proteins as molecular markers*. Theor. Appl. Genet. 90, 1995, 247-252.
25. ELLSTRAND, N.C. and ELAM, D.R: *Population Genetic Consequences of Small Population size*: Implications for plant conservation. Annual Review of Ecology and Systematics 24: 1993, 217-243.
26. EUJAYL, I., BAUM, M., POWELL, W., ERSKINE, W., PEHU, E: *A genetic linkage map of lentil (Lens sp.) based on RAPD and AFLP markers using recombinant inbred lines.*TheorAppl Gene.97:1998, 83–89.
27. HANDEL, S. N: *Pollination ecology, plant population structure and gene flow*. In Pollination Biology, L. Real (editor), Academic Press N.Y., 1983, 163-211.
28. HARPER, D.A.T. (ed.): *Numerical Palaeobiology*. John Wiley & Sons. 1999.
29. HANSKI I. and OVASKAINEN O: *The Metapopulation Capacity of a Fragmented Landscape.* Nature. 404: 2000, 755-758.

30. HOTELLING, H: *Analysis of a complex of statistical variables into principal components*. Journal of Educational Psychology, Vol. 24, Nº 6, 1933, 417-441.
31. HUNTER, R. L A and MARKET, C. L: *Histochemical demonstration of enzymes separated by zone electrophoresis in starch gels.Science*. 125: 1957, 1294-1295.
32. IBRAHIM BASHA, A., PADULOSI, S., HADJ HASSAN, A.,CHABANE, K., DULLOO, E., AUGUSTO, M., PORCEDDU, E: *Genetic diversity of Syrian pistachio (Pistaciavera L.) varieties evaluated by AFLP markers*. Genet Resour Crop Evol. DOI 10.1007/s10722-006-9202-5. 2006, Online first.
33. JACCARD, P: *Nouvelles rescherches sur la distribution florale.* Bull. Soc. Vaud. Sci. Nat. 44, 1908, 223-270
34. KARP, A., KRESOVICH, S., BHAT, K. V., AYAD, W. G., HODGKIN, T: *Molecular tools in plant genetic resources conservation: a guide to the technologies*. 1st ed. IPGRI Technical Bulletin NO. 2. IPGRI, Rome, Italy, 1997, Pp. 9-21.
35. KHANUJA, S.P.S.; SHASANY, A.K.; SRIVASTAVA, A. and KUMAR, S: *Assessment of genetic relationships in Mentha species*. Euphytica 111, 2000, 121-125.
36. KRAUSS, S. L. and PEAKALL, R:*An Evaluation of The AFLP Fingerprinting Technique for The Analysis of Paternity in Natural Populations of Persooniamollis* (*Proteaceae*). Australian Journal of Botany. 46: 1998, 533-546.
37. LAN CAO, Y; LI, X; ZHENG, M: *Capparis spinosa Protects Against Oxidative Stress in Systemic Sclerosis Dermal Fibroblasts*. Archives of Dermatological Research, 2009, vol. 302, 349-355.
38. LEVIN, D.A. and KESTER, H.W: *Gene flow in seed plants*. Evol. Biol., 7, 1974, 139-220.
39. LU, J., KNOX, M. R., AMBROSE, M. J., BROWN, J. K. M., ELLIS, T. H. N:*Comparative Analysis of Genetic Diversity in Pea Assessed by RFLP- and PCR-Based Methods*. Theoretical and Applied Genetics. 93: 1996, 1103–1111.
40. MELCHINGER, A. E:*Use of Molecular marker in breeding for oligogenic disease resistance.* Plant Breeding.1990, 104: 1-9.
41. MILLER, R.G: *Jackknife – a review*. Biometrika. 61, 1974, 1-15.
42. MULLIS, K.; FALOONA, S.; SCHARF , S.; SAIKI, R.; HORN, G.; and ERLICH, H: *Specific Enzymatic Amplification of DNA in Vitro: The Polymerase Chain Reaction*. Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol. 51, 1986, 263-273.
43. MURRAY, M. G and THOMPSON, W. F: *Rapid isolation of high molecular weight plant DNA.* Nucleic Acid Res. 8: 1980, 4321-4325.
44. OZBEK, O. and KARA, A: *Genetic Variation in Natural Populations of Capparis from Turkey, As Revealed By RAPD Analysis*. No: 61, 2013.
45. PALERMO,A.M.; PELLEGRINO, G.; NOCE, M. E. ; BERNARDO, L. and MUSACCHIO, A: *Patterns of genetic variability in populations of Adenostyles Cass. Complex (Asteraceae) along the Apennine chain.* Italy,Delpinoa, n.s. 44, 2002, 103-114.
46. PLASCHKE, J. GANAL, M.W. and RÖDER, M.S: *Detection of genetic diversity in closely related bread wheat using microsatellite markers*. Theor. Appl. Genet. 91, 1995, 101-1007.
47. PHILIPPEAU, G: *Comment interpréter les resultants d´ une analyse en composantes principales?*. Institut Technique des Céréales et des Fourrages, 1986, 63.

48. QUELLER, D.C. *Sexual selection in hermaphroditic plants* .Nature. 1983, 305, 706 - 707.
49. QUELLER, D.C*: Pollen-ovule ratios and hermaphroditic sexual allocation strategies*. Evolution.Vol .38, N°. 5, 1984, 1148 -1151.
50. SENSI, E., VIGNANI, R., RHODE, W., BIRICOLTI, S: *Characterization of Genetic Biodiversity with Vitis vinifera L. Sangiovese and Colorino Genotypes by AFLP and ISTR DNA Marker Technology.*Vitis. 35: 1996, 183–188.
51. TANKSLEY, S. D:*Gene mapping. In: Isozymes in Plant Genetics and Breeding,* Part A, Edited by S. D. Tanksley, and T. Orton, Elsevier, Amsterdam, 1983, Pp. 109-138.
52. VALERO, M.; HOSSAERT, M.; CARON, B., YOUSSEF A.and VERNET PH: *Alloction des ressources chez deux espéces de légumineuses: Lathyrus latifolius et lathyrus sylvestris*. In Colloque National du C.N.R.S. Biologie des Population, J.M. Legay (editor). 1987.
53. VOS, P., HOGERS, R., BLEEKER, M., REIJANS, M., VAN DE LEE, T., HORNES, M. FRIJTERS, A., POT, J., PELEMAN, J., KUIPER, M., ZABEAU, M: *AFLP: a New Technique for DNA Fingerprinting.* Nucleic Acids Research. 23: 1995, 4407-4414.
54. WEIR, B.S. and COCKERHAM, C.C: *Estimating F-statistics for the analysis of population structure*. Evolution, 38, 1984, 1358 -1370.
55. WRIGHT, S: *Isolation by distance Genetics*. 28, 1943, 114-138.
56. WRIGHT, S: *The genetical structure of populations*. Ann. Eugenics, 15, 1951, 323-354.
57. WRIGHT, S: *The interpretation of population structure by F- statistics with special regards to system of mating*. Evolution, 19, 1965, 395- 420
58. WRIGHT, S:*Evolution and the genetics of populations. Vol 4. Variability within and among natural populations.* Chicago, University of Chicago Press, 1978.
59. YOUSSEF, AZIZA. *Variabilitée genetique, et Regime de la reproduction chez Lathyrus*. These de Doctorat , Univ. Lile, France, 1989, 220.
60. ZHANG,T and TAN,D.Y: *Adaptive Significances of Sexual System in Andromonoecious Capparis spinosa (capparaceae).* Journal of Systematics and Evolution, vol. 46, 2008: 861-873.
61. ZHANG, T and TAN, D.Y: *An Examination of the Function of Male Flowers in an Andromonoecious Shrub Capparis spinosa*. Journal of Integrative Plant Biology, vol. 51, 2009: 316-324.
62. ZHOU, H.; JIAN, R.; KANG, J.; HUANG, X.; LI, Y.; ZHUANG, C.; YANG, F.; ZHANG, L.; FAN, X.; WU, T.; WU, X. : *Anti-Inflammatory Effects of Capers (Capparis spinosa L.) Fruit Aqueous Extract and The Isolation of Main Phytochemicals.* 58(24), 2010, pp. 12717-12721.

E. Mail: dimahfj@yahoo.com