

## Genetic diversity in some wild *Thymus* species distributed in Latakia (Syria) as detected by RAPD markers

Dr. Talal Ameen\*  
Dr. Hafez Mahfoud  
Malak Saboh

(Received 25 / 9 / 2018. Accepted 9 / 6 / 2019 )

### □ ABSTRACT □

This research has been conducted through 2016-2017 in Latakia to determine the genetic relationship between twelve natural accessions that belongs to three wild *Thymus* species (*Thymus syriacus*, *Thymus capitatus*, *Thymus sp.*) from different geographical and bioclimatic zones in Latakia, using RAPD markers (Random amplified polymorphic DNA). Twelve oligonucleotide primers were screened, and among them, 10 primers showed clear polymorphic patterns between the studied species. A total number of 103 bands were detected from 10 RAPD primers, of which 81 were polymorphic (78.64%), with an average of 8.1 polymorphic bands per primer. The large proportions of genetic variation (50%) were observed within accessions from Aldaliah zone (*Thymus sp.*) and Solas zone (*T. syriacus*), while low proportions of genetic variation were observed within Solas and Kasab accessions (*T. syriacus*). Some primers such as OPTH-4 and OPAN-08 show high ability to detect genetic variation within the studied species.

**KEYWORDS:** *Thyme*; RAPD; Genotypes; Cluster Analysis

---

\*<sup>2</sup> Professor , Department of Forestry and Ecology, Faculty of Agriculture , Tishreen University , Lattakia , Syria.

<sup>3</sup> Researcher - department of biotechnology. General Commission for Scientific, Agricultural Research-Latakia-Syri

<sup>1</sup> Postgraduate student, Department of Forestry and Ecology, Faculty of Agriculture , Tishreen University , Lattakia , Syria. malak.saboh@gmail.com

## التنوع الوراثي لبعض أنواع الزعتر البري *Thymus sp.* المنتشرة في اللاذقية (سورية) وفقاً لتقنية الـ RAPD

د. طلال أمين<sup>2</sup>

د. حافظ محفوض<sup>3</sup>

م. ملك صبوح<sup>1</sup>

(تاريخ الإيداع 25 / 9 / 2018. قبل للنشر في 9 / 6 / 2019)

### □ ملخص □

أجري البحث خلال عامي 2016-2017 في محافظة اللاذقية على 12 طرازاً تتبع لثلاثة أنواع من الزعتر *Thymus* (*Thymus capitatus*, *Thymus syriacus*, *Thymus sp.*) منتشرة في مناطق جغرافية متباينة من محافظة اللاذقية. تم استخدام تقنية الـ RAPD لتحديد القرابة الوراثية بين هذه الطرز. تم اختبار 12 بادئة عشوائية أظهرت 10 بادئات منها كفاءة عالية في كشف الاختلافات الوراثية بين الأنواع المدروسة أعطت البادئات العشر مجتمعة 103 حزمة، منها 81 حزمة متباينة (64,78%) بمعدل (1,8) حزمة متباينة للبادئة الواحدة. بلغت أعلى نسبة من التباين ضمن شجرة القرابة الوراثية (50%) بين طرز النوع *Thymus sp.* المنتشرة في موقع الدالية مع طرز النوع *T. syriacus* المنتشرة في موقع سولاس، بينما بلغت هذه النسبة أديها بين طرز النوع *T. syriacus* المنتشرة في موقعي سولاس وكسب، أظهرت بعض البادئات (OPAN-08, OPTH-4) كفاءة في كشف التباينات الوراثية بين الأنواع المدروسة.

الكلمات المفتاحية: الزعتر، تقنية RAPD، طرز وراثية، تحليل عنقودي.

<sup>2</sup> أستاذ - قسم الحراج والبيئة كلية الزراعة - جامعة تشرين - اللاذقية - سورية.

<sup>3</sup> باحث - قسم التقانات الحيوية - الهيئة العامة للبحوث العلمية الزراعية - اللاذقية - سورية

<sup>1</sup> طالبة دكتوراه - قسم الحراج و البيئة - كلية الزراعة - جامعة تشرين - اللاذقية - سورية. malak.sabboh@gmail.com

**مقدمة:**

تتميز الغابات السورية بالتنوع الحيوي الكبير وتعتبر أحد أهم الموارد الطبيعية بالنظر لما تقدمه من فوائد بيئية واقتصادية واجتماعية وزراعية، كما تعد موطناً للعديد من الأنواع النباتية البرية المفيدة في الإنتاج الزراعي عموماً وفي تحسينه خصوصاً، وتعاني الغابات ومعها الغطاء الأرضي الحي في وقتنا الحالي من تدهور وأفول العديد من الأنواع النباتية البرية نتيجة للحرائق ولأعمال القطع والرعي الجائرين، فضلاً عن القطف العشوائي للنباتات الطبية والعطرية لأغراض طبية وتجميلية وغذائية (Aafi and Pam, 2013)، ففي السنوات الأخيرة ازداد الاهتمام بالنباتات البرية الطبية والعطرية في تحضير الغذاء والدواء في العديد من دول العالم مستفيدين من محتواها من العناصر الغذائية والطبية لدورها الهام في تدعيم الصحة العامة والأمن الغذائي في عالم يتزايد سكانه بصورة مضطربة (Daughty, 1979; Ogle and Grivette, 1985)، وفي سورية بدأت تتبوأ في الآونة الأخيرة النباتات العشبية النامية في الحراج ومحيطها أهمية اقتصادية وزراعية كبيرة لاحتوائها على أكثر من 2000/ نوعاً من النباتات الطبية والعطرية التي تعود إلى العديد من الأجناس كجنس الزعتر *Thymus Sp.* والختمية *Marsh Mallow* ، والميرمية *Salvia officinalis* واكليل الجبل *Rosmarinus officinalis* (معلا وآخرون، 2013)، إلا أن هذا التنوع تراجع بشكل كبير في الأراضي الحراجية ويات العديد من تلك الأنواع مهدداً بالانقراض بما فيها أنواع جنس الزعتر *Thymus sp.* (معلا و آخرون، 2013).

يتبع جنس الزعتر *Thymus sp.* لرتبة Lamiales ، العائلة الشفوية Lamiaceae التي تضم ما يقارب 220 جنس و يعتبر جنس الزعتر *Thymus sp.* واحداً من أهم ثمانية أجناس في الفصيلة قياساً إلى أهمية نباتاته ولعدد الأنواع التابعة له إذ يقدر بـ 300 نوع (Sunar et al., 2009; Yousefi et al., 2015) تنتشر بشكل أساسي في منطقة حوض المتوسط وشمال افريقيا.

أما في سوريا فقد أشار Stahl-Biskup (1960) إلى انتشار بعض أنواع الزعتر البري في المناطق الجبلية والأودية من الساحل السوري، كما ذكر Mouterde (1966) في دراسته للفلورا السورية اللبنانية وجود ثمانية أنواع من الزعتر البري تتبع للجنس *Thymus sp.* منتشرة في منطقة شرق حوض البحر المتوسط وإيران وهناك ستة أنواع منتشرة في سوريا أربعة منها تتواجد في الساحل السوري وهي الزعتر الشائع *T. vulgaris* والزعتر السوري *T. syriacus* إضافة إلى النوعين *T. cilicicus* و *T. hirsutus* . يعد التوصيف المورفولوجي (الشكلي) خطوة مهمة في إعطاء هوية واضحة قابلة للتحليل والتمييز بين النباتات بشكل عام سواء في الحقل أو في المخبر (AL-Atawneh et al., 2009). وقد استخدمت المؤشرات المظهرية المعتمدة على الصفات الخارجية الشكلية للأوراق والأزهار والبذور بشكل عام لوضع عدة مفاتيح تصنيفية خاصة بنباتات الفصيلة الشفوية (Sell and Murrell, 2010) ، ولأنواع جنس الزعتر بشكل خاص (Solyman and Alkowni, 2014) و(لايقة، 2010; معلا وآخرون، 2013). بالرغم من أهمية الصفات الشكلية والخصائص الفسيولوجية إلا أن الحاجة للمؤشرات الجزيئية على مستوى DNA أصبحت أكثر أهمية كونها تستخدم لتحديد الهوية الوراثية للطرز والأنواع النباتية كما تعتبر طرائق موثوقة لتقييم التنوع الوراثي وتحديد القرابة الوراثية فهي تمتاز بدقتها، نظراً لعدم تأثرها بالظروف البيئية المحيطة إضافة لقدرتها على كشف التغيير على مستوى الـ DNA.

استخدمت تقنيات البصمة الوراثية مثل ISSR, SSR, RAPD بشكل واسع في التوصيف الجزيئي لنباتات العائلة الشفوية بشكل عام ونظراً لأهمية جنس الزعتر *Thymus Sp.* بشكل خاص، فقد تناولته العديد من الدراسات المحلية والعالمية، ففي سوريا استخدمت عزيز (2006) تقنية الـ RAPD لتحديد درجة القرابة بين بعض الطرز البرية لنبات الزعتر السوري (*Thymus Syriacus*) حيث أظهرت النتائج وجود علاقة ارتباط بين الطرز المدروسة و مواقع انتشارها الجغرافية، وأثبتت النتائج فعالية طريقة الـ RAPD في تحديد هوية الطرز المدروسة و الكشف عن درجة القرابة فيما بينها. كما قامت عزيز وآخرون (2008) بدراسة لاحقة استخدمت فيها تقنية الـ RAPD أيضاً لتحديد وجود اختلافات وراثية بين طرز تنبع لنوع الزعتر *Thymus serpyllum* المنتشرة في مناطق مختلفة من سوريا (حماء، حلب، طرطوس، اللاذقية) اختبرت فيها 20 بادئة أعطت بمجمها تعددية شكلية، حيث أظهرت شجرة القرابة الوراثية وجود نسبة تباين تراوحت بين 2-20% بين الطرز المدروسة وأشارت إلى انخفاض درجة التباين الوراثي ضمن طرز الموقع الواحد مقارنة بطرز المواقع المختلفة وبالتالي أشارت الدراسة لوجود علاقة ارتباط قوية بين الطرز المدروسة ومواقع انتشارها. وقد تم دراسة التنوع الوراثي لخمس أنواع من الزعتر (*T. syriacus, T. fruticosus, T. incanus, T. majorana, T. capitatus*) المنتشرة في فلسطين باستخدام تقنية الـ RAPD و ذلك باختبار عشرة بادئات عشوائية، أظهرت ثمانية بادئات منها كفاءة عالية في إظهار التباين الوراثي بين طرز الأنواع المدروسة، استخدمت أفضل ثلاثة بادئات (البادئات التي أعطت أكبر عدد من الحزم المتباينة) في رسم شجرة القرابة الوراثية للأنواع المدروسة، أظهرت شجرة القرابة وجود نسبة تشابه وراثي بين أنواع الزعتر تراوحت بين (18-68%)، ظهر التقارب الوراثي بشكل واضح بين النوع *T. syriacus* و النوعين *T. majorana, T. capitatus* من جهة كونها وقعت ضمن مجموعة وراثية واحدة في شجرة القرابة العنقودية، في حين شكل النوعين *T. fruticosus, T. incanus* مجموعة وراثية أخرى (Solyman and Alkowni, 2014).

قام Alamdary وآخرون (2011) بتطبيق تقنية الـ RAPD لتحديد درجة التباين الوراثي بين 13 طرازاً برياً تابعة للأنواع (*T. daenansis, T. fedtschenkoi, T. pubescens and T. migricus*) المنتشرة في مناطق جغرافية متباعدة في إيران ونتيجة الدراسة لوحظ وجود درجة تباين وراثي بين طرز الأنواع المدروسة وصلت لـ 80%. لتحديد درجة التباين الوراثي ضمن طرز النوع *T. vulgaris* المنتشرة في خمسة مواقع متباينة في سوريا، اختبرت Khalil وآخرون (2012) 27 بادئة RAPD عشوائية، أظهرت البادئات كفاءة في كشف التباينات الوراثية ضمن الطرز المدروسة حيث أعطت البادئات المختبرة 198 حزمة بلغت نسبة الحزم المتباينة منها 90.91%، وأظهرت الدراسة وجود تقارب وراثي بين طرز الموقع الواحد وتباين واضح بين طرز المواقع المختلفة، درس Hadi Ali وآخرون (2012) درجة القرابة الوراثية بين نوعي الزعتر *T. capitatus* و *T. algeriensis* المنتشرين برياً في تونس والمختلف عليهما تصنيفياً في اعتبارهما نوعين منفصلين أو طرز متباينة عائدة لنوع واحد ولتحقيق ذلك استخدموا تقنية الـ RAPD لاختبار درجة القرابة بين 18 طراز منتشرة برياً وعائدة للنوعين المدروسين باستخدام 7 بادئات عشوائية وقد أظهرت النتائج وجود تباين وراثي واضح بين الطرز المدروسة وأظهرت شجرة القرابة الوراثية توزع الطرز في مجموعتين متباعتين وراثياً ضمت المجموعة الأولى جميع الطرز العائدة للنوع *T. capitatus* والمجموعة الثانية ضمت طرز النوع *T. algeriensis* وهذا يؤكد استقلالية النوعين المدروسين.

استخدم Yousefi وآخرون (2015) تقنية الـ RAPD لتحديد درجة القرابة الوراثية لـ 13 طراز من الزعتر المنتشرة في إيران تتبع لأنواع بعضها معروفة وأخرى غير مصنفة (*Thymus sp., T. kotschyanus, T. daenansis*)

إضافة لطراز يتبع للنوع (*T. vulgaris*) تم إدراجه ضمن هذه الدراسة (مصدره انكلترا) وذلك باستخدام 20 بادئة عشوائية، أعطت البادئات المختبرة 512 حزمة منها 483 حزمة متباينة، وتوزعت الطرز المدروسة ضمن شجرة القرابة الوراثية في أربع مجموعات متباينة وراثياً ولكن الملفت للنظر وجود تقارب وراثي كبير بين طرز الموقع الجغرافي الواحد بالرغم من كونها تتبع لنوعين مدروسين أو أكثر، بينما انفرد طراز النوع (*T. vulgaris*) وحيداً في مجموعة مستقلة.

### أهمية البحث وأهدافه:

تعتبر منطقة الساحل السوري أحد مناطق الانتشار الطبيعية الهامة لنبات الزعتر (*Thymus*)، حيث يتواجد على ارتفاعات مختلفة بدءاً من سطح البحر و لارتفاعات تتجاوز الـ (1000) م، وبالرغم من الأهمية الاقتصادية الكبيرة لهذا النبات إلا أنه يعاني من مشاكل عديدة أدت لتراجع حاد لبعض أنواعه المنتشرة طبيعياً في الساحل السوري كالزعتر البري *T. cilicicus* Boss. والزعتر السوري *T. syriacus* Boss والزعتر الشائع *T. vulgaris* L. وقد وصفت نباتات هذه الأنواع بأنها مهددة بالانقراض حيث تتضاءل مساحة انتشارها وتكاد تخلو مواقع عديدة من أي أثر لها (معلا و آخرون، 2013)، يعود هذا التدهور نتيجة لأعمال الجني الجائر والقطف الخاطئ للقمم النامية والأفرع الغضة وقلع النباتات من جذورها الذي تسبب في تعطل دورة حياتها وأصبحت بالتالي غير قادرة على نشر بذورها وتجديد نفسها (اشتية وجاموس، 2002؛ علي، 2004).

وبالتالي انطلاقاً من الأهمية الكبيرة لنبات الزعتر وضرورة دراسته وحفظه وإعادة نشر زراعته سواء في مناطق انتشاره الطبيعية المتدهورة أو في حقول المزارعين كنبات اقتصادي هام، يهدف البحث الحالي إلى التوصيف الجزيئي لبعض طرز الأنواع المنتشرة في منطقة الدراسة باستخدام تقنية الـ RAPD (Random Amplification Polymorphic DNA) لإعطائها هوية وراثية خاصة بها والاستفادة منها فيما بعد في عمليات الإكثار و التحسين الوراثي.

### طرائق البحث ومواده :

#### المادة النباتية:

تم اختيار (12) طرازاً حيث الطراز (عبارة عن 10 نباتات منتشرة بنفس الموقع استخلص منها الـ DNA) تتبع لثلاثة أنواع من الزعتر المنتشرة برياً في محافظة اللاذقية من عدة مواقع موضحة في (الجدول 1).

الجدول (1) يوضح مواقع الدراسة من حيث الارتفاع عن سطح البحر والطرز المدروسة

الموقع	الارتفاع عن سطح البحر/ م	النوع	الطرز
سولاس	425-385	<i>T. syriacus</i>	S1, S2, S3
كسب	750-690	<i>T. syriacus</i>	K1, K2, K3
صنوبر جبلة	20-0	<i>T. capitatus</i>	G1, G2, G3
الدالية	700-600	<i>Thymus sp.</i>	D1, D2, D3

#### 1- مواقع التنفيذ:

أجري البحث في مركز البحوث العلمية الزراعية في محافظة اللاذقية (شعبة التقانات الحيوية) وجامعة تشرين - كلية الزراعة (قسم الحراج والبيئة) خلال عامي 2016 - 2017 .

## 2- طريقة العمل:

3-1- تم جمع العينات النباتية من الطرز المدروسة من نموات ورقية حديثة من كل نبات على حدا حيث نُقلت ضمن أوعية مبردة (تحتوي ثلج) إلى المخبر، ثم نظفت وغُسلت بالماء المقطر وحُفظت في المجمدة على درجة حرارة (-80) م إلى حين استخدامها لاستخلاص الـ DNA.

3-2- استخلاص الـ DNA واختبار نوعيته: تم استخلاص الـ DNA الكلي من الطرز المدروسة وفق طريقة ( Doyle and Doyle, 1990) مع إضافة الـ PVP 1% لتقليل عمليات الأكسدة ضمن مراحل الإستخلاص. وبعد الانتهاء من استخلاص الـ DNA تم اختبار نوعيته بواسطة جهاز الرحلان الكهربائي باستخدام هلامه أغاروز 1%، وبوجود الـ DNA القياسي.

## 3-3- مكثرة الحمض النووي DNA باستخدام تقانة RAPD:

تمت مكثرة الحمض النووي باستخدام جهاز التفاعل السلسلي للبوليميراز PCR بحجم تفاعل 25 ميكرو لتر لكل عينة (جدول 2) ، أجري التفاعل وفق المراحل المبينة في الجدول (3) وأدى إلى تصنيع سلاسل جديدة من الـ DNA و ذلك باستخدام 12 بادئة عشوائية أظهرت عشر بادئات منها تعددية شكلية (جدول 4).

## 3-4- تظهير نواتج تفاعل الـ PCR:

تم فصل نواتج التفاعل بواسطة جهاز الرحلان الكهربائي باستخدام هلامه من الأغاروز بتركيز 1,5%، تحتوي على الإيثيديوم برومايد 0.5 ng/ml، ومحلول رحلان 1% TBE buffer (PH 8)، وتطبيق جهد كهربائي مقداره 80 فولت لمدة ساعتين ونصف، ثم تصوير الهلامه بتعريضها للأشعة فوق البنفسجية (UV) باستخدام جهاز Gel doc، وبوجود الماركر القياسي (1000bp).

الجدول (2) يوضح مكونات تفاعل الـ PCR في الدراسة الحالية

الكمية / $\mu\text{L}$	التركيز	مكون التفاعل
2,5	200 mM Tris-HCl PH8 500 mM KCl	محلول منظم (buffer 10x PCR)
2,5	2 mM	مزيج نيوكليوتيدات DNTPs
1,25	20 p mo/ $\mu\text{L}$	البادئة Primer
1,4	25mM	MgCl <sub>2</sub>
0,2	(1 unit)	Taq polymerase
16,15	-	ماء مقطر H <sub>2</sub> O
1	5ng	DNA
25		المجموع الكلي

الجدول (3) يوضح مراحل تفاعل الـ PCR في الدراسة الحالية

المرحلة	درجة الحرارة (م)	الزمن	عدد الدورات
مرحلة تمهيدية	94	2 دقيقة	1
فصل سلاسل الـ DNA (Denaturation)	94	30 ثانية	45
	34 - 32	1 دقيقة	
	72	2 دقيقة	
التحام البادئة بـ DNA (Annealing)			
مرحلة الإستطالة (Extension)			
مرحلة نهائية	72	10 دقيقة	1
حفظ	4	لا نهائية	-

الجدول (4) البادئات المستخدمة مع تسلسلها النيوكليوتيدي ودرجة الحرارة اللازمة لالتحام البادئة

الرقم	اسم البادئة	التسلسل (3' - 5')	النيوكليوتيدي	درجة حرارة التماس (م)
1	OPD-19	5'-CTGGGGACTT-3'	34	
2	OPH-16	5'-TCTCAGCTGG-3'	34	
3	OPH-18	5'-GAATCGGCCA-3'	34	
4	OPY-07	5'-AGAGCCGTCA-3'	34	
5	OPAG-02	5'-CTGAGGTCCT-3'	32	
6	OPAN-08	5'-AAGGCTGCTG-3'	34	
7	OPTH-01	5'-GAATGCTCCG-3'	34	
8	OPTH-02	5'-CTAACCGGCA-3'	32	
9	OPTH-03	5'-CGGAGGCATA-3'	32	
10	OPTH-04	5'-TTGCCGTGAT-3'	34	

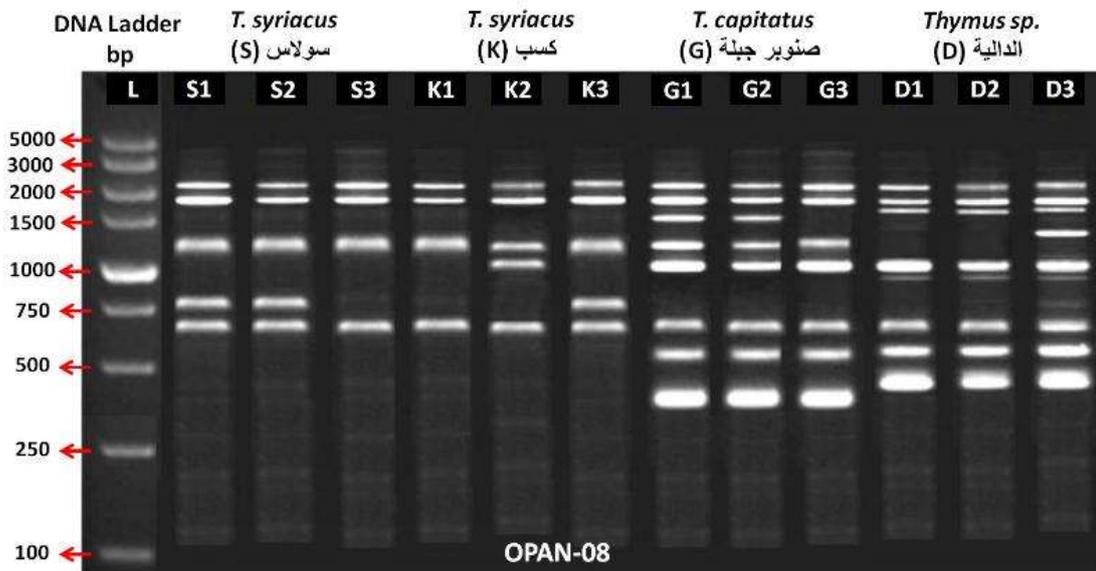
#### 4- أخذ القراءات والتحليل الإحصائي:

أخضعت النتائج للبرنامج الإحصائي NTSYS (Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System)، وتم إجراء التحليل العنقودي (Cluster analysis) الذي يعتمد على نسبة عدم التشابه الوراثي من خلال طريقة (UPGMA: Unweighted Pair Group Method with Arithmetic mean) وذلك لرسم شجرة القرابة الوراثية بين الطرز المدروسة على شكل عنقودي Dendrogram، إذ ادخل في التحليل الحزم الواضحة التي تتصف

بالتكرارية وذات الوزن الجزيئي (2500bp -200bp) حيث وضعت المعطيات في جداول أعطيت الحزمة الموجودة رقم (1) و في حال غيابها رقم (0) .

### النتائج والمناقشة:

أظهرت عشر بادئات (من أصل 12 بادئة مختبرة) كفاءة عالية في كشف الاختلافات الوراثية بين الطرز المدروسة (الشكل 1). حيث أعطت البادئات المختبرة 103 حزم في الطرز مجتمعة بمعدل (10.3 حزمة) للبادئة الواحدة، وصل عدد الحزم المتباينة (polymorphic) إلى 81 حزمة شكلت نسبة (78.35%) من إجمالي عدد الحزم التي أعطتها البادئات مجتمعة، في حين بلغت نسبة الحزم المتشابهة (monomorphic) (21.36%). أعطت البادئة (OPAN-08) أعلى عدد من الحزم الكلية (13 حزمة) (الشكل 1)، بينما أظهرت البادئة (OPD-19) أعلى نسبة من الحزم المتباينة (90.08%)، في حين أعطت البادئة (OPH-2) أدنى عدد من الحزم (7 حزم) والبادئة (OPH-03) أدنى نسبة من الحزم المتباينة (70%) (الجدول 5). كما أظهرت النتائج وجود تباين واضح في عدد قطع الـ DNA المكاثرة ضمن طرز الزعتر المدروسة وذلك وفقاً لطرز كل موقع على حدى بغض النظر عن النوع الذي تتبع له، حيث وجد أكبر عدد من القطع المكاثرة لدى طرز موقع صنوبر جبلة (67) قطعة من بينها (7) قطع متباينة، بينما سجل أدنى عدد من القطع المكاثرة لدى طرز موقع كسب (54) قطعة منها (9) قطع متباينة، أما أعلى نسبة تباين ضمن القطع المكاثرة فكانت لدى طرز موقع الدالية (23.33%) في حين سجلت أدنى نسبة لدى طرز موقع صنوبر جبلة (10.44%) كما هو موضح في الجدول (6) . و تفسر نسب التباين المرتفعة ضمن طرز كسب مقارنةً بطرز الدالية، كون طرز كسب قد جمعت من مواقع متباعدة نوعاً ما وبالتالي قد تؤثر الظروف البيئية على تراكيبيها الوراثية ولو بدرجة محدودة في حين تم جمع طرز الدالية من موقع واحد لتعذر العثور على مواقع انتشار أخرى لهذا النوع .



الشكل (1) نموذج من الحزم الناتجة عن البادئات المستخدمة في توصيف طرز الزعتر المدروسة (البادئة OPAN-08).

الجدول (5) عدد الحزم الكلية والحزم المتباينة ونسبة التباين الناتجة عن استخدام 10 بادئات RAPD لتوصيف طرز الزعتر البري المدروسة *Thymus sp.*

الرقم	اسم البادئة	عدد الحزم الكلية	عدد الحزم المتباينة	نسبة التباين %
1	OPD-19	12	10	90.08
2	OPH-16	10	9	90
3	OPH-18	8	6	75
4	OPY-07	11	9	81.81
5	OPAG-02	10	8	80
6	OPAN-08	13	10	76.92
7	OPTH-01	11	8	72.72
8	OPTH-02	7	6	85.71
9	OPTH-03	10	7	70
10	OPTH-04	11	8	72.72
	المجموع	103	81	78.64

جدول (6): عدد قطع الـ DNA المكاثرة ضمن طرز الزعتر *Thymus sp.* وفقا للمواقع المدروسة (الكلية والمتشابهة والمختلفة).

الطرز المدروسة	العدد الكلي للقطع المكاثرة	عدد القطع المتشابهة	عدد القطع المختلفة	نسبة التباينات %
طرز سولاس	67	57	10	14.92
طرز كسب	54	45	9	16.66
طرز صنوبر جبلة	67	60	7	10.44
طرز الدالية	60	46	14	23.33

أظهرت الشجرة العنقودية (الشكل 2) اختلافات وراثية واضحة بين أنواع الزعتر حيث توزعت الأنواع في مجموعتين:

المجموعة الأولى : الدالية ضمت الطرز التالية  $D_1, D_2, D_3$  حيث بلغت نسبة التباين (50%) بين طرز النوع *Thymus sp.* (موقع الدالية) مع طرز النوع *T. syriacus* (موقع سولاس) ومع طرز *T. Capitatus* (موقع صنوبر جبلة). و بلغت نسبة التباين أعلاها للطرازين ( $D_1$  و  $D_3$ ) التابعين للنوع *Thymus sp.* من موقع الدالية (9,7%).

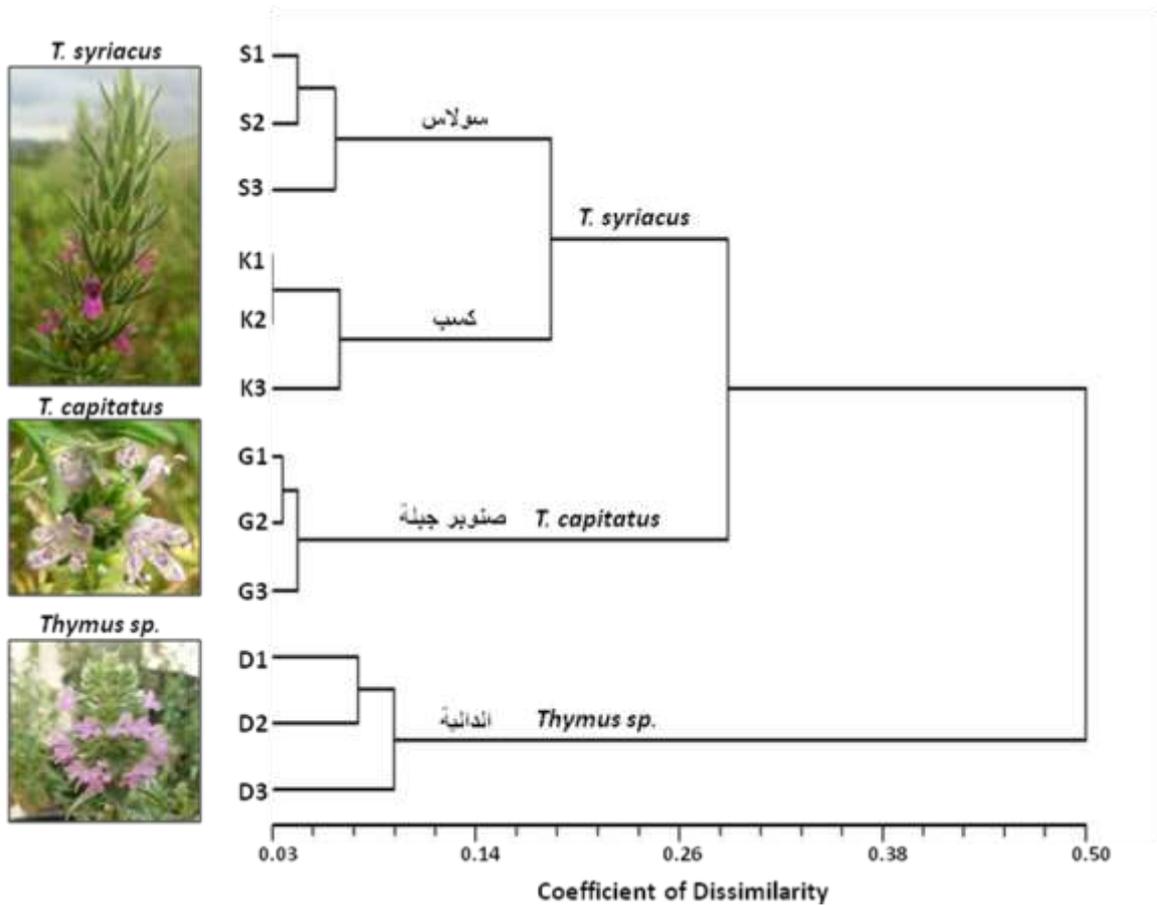
المجموعة الثانية: قسمت لتحت مجموعتين :

أ- ضمت طرز صنوبر جبلة  $G_1, G_2, G_3$  حيث بلغت نسبة التباين أداها (3%) بين الطرازين ( $G_1, G_2$ ) التابعين لنوع الزعتر *T. Capitatus*

ب- تفرعت لفرعين أساسيين:

الفرع الأول: كسب  $K_1, K_2, K_3$  حيث بلغت نسبة التباين الوراثي أداها (3%) بين الطرازين ( $K_2, K_1$ ) التابعين لنوع الزعتر *T. syriacus*

الفرع الثاني: سولاس  $S_1, S_2, S_3$  حيث بلغت نسبة التباين الوراثي أداها (5%) بين الطرازين ( $S_2, S_1$ ) التابعين لنوع الزعتر *T. syriacus*



الشكل (2) شجرة القرابة الوراثية بين طرز الزعتر المدروسة *Thymus sp.* اعتمادا على نتائج تقنية الـ RAPD

أظهرت تقنية الـ RAPD كفاءة عالية في كشف التباينات الوراثية ضمن الأنواع المدروسة، حيث توزعت الطرز ضمن شجرة القرابة العنقودية في مجموعات تبعاً لتقاربها الجغرافي و الوراثي كما في طرز النوع *T. syriacus* المنتشرة في موقعي سولاس وكسب المتقاربين جغرافياً (منطقة اللاذقية)، بينما ظهرت طرز موقع صنوبر جبلة (*T. capitatus*)

في مكان متوسط بين طرز موقعي سولاس وكسب (*T. syriacus*) من جهة وطرز موقع الدالية (*Thymus sp.*) وقد ظهر هذا الارتباط في العديد من الدراسات السابقة التي تناولت أنواع الزعتر ( Rahimmalek et al., 2009; Yousefi et al., 2015) أو أنواعاً أخرى من النباتات العطرية التي تتبع للعائلة الشفوية ( Liu et al., 2006; Agostini et al., 2008). وعلى النقيض، هناك دراسات عديدة تناولت درجة الارتباط والتباين الوراثي بين أنواع الزعتر باستخدام العديد من التقنيات الوراثية كتقنية الـ RAPD ( Trindade et al., 2008; Alamdary et al., 2011) وتقنية الـ ISSR (Smolik et al., 2009) لكنها أظهرت نتائج مخالفة للدراسة الحالية من حيث وجود تقارب وراثي بين الطرز المتقاربة جغرافياً.

بعض البادئات أظهرت فعالية في كشف التباينات الوراثية بين الأنواع المدروسة كالبادئين (OPTH-4, OPY-07) وهذه النتيجة توصل إليها بشكل مماثل (Solyman and Alkowni, 2014) في دراستهم لأنواع الزعتر في فلسطين حيث أعطت بعض البادئات ضمن دراستهم حزاماً متباينة تبعاً للنوع المدروس . ومن ناحية أخرى فإن التباين الوراثي الذي أظهرته دراستنا الحالية ضمن طرز النوع الواحد يؤكد نتائج بعض الدراسات المورفولوجية السابقة كدراسة معلا وآخرون (2013) لتوصيف بعض طرز النوع *Thymus vulgaris* المنتشرة في الساحل السوري حيث أكدوا وجود فروق معنوية في الصفات المورفولوجية للطرز المدروسة وربطوها نظرياً بتباينات وراثية محتملة.

### الاستنتاجات والتوصيات:

- 1- أظهرت الدراسة وجود تنوع وراثي جيد سواء بين أنواع الزعتر المدروسة أو بين بعض الطرز ضمن النوع الواحد
- 2- يجب المحافظة على هذه الأنواع و العمل على إكثارها بالطرق المختلفة ( بذرياً و خضرياً ) للحفاظ عليها كونها مهددة بالانقراض و التوسع بزراعتها.
- 3- التوسع بالدراسة لتشمل جميع أنواع الزعتر المنتشرة في سورية ضمن مواقع انتشارها الطبيعي.

### المراجع:

- 1- اشنية، محمد سليم ؛ جاموس، رنا ماجد. القائمة الحمراء للنباتات المهددة في الضفة الغربية وقطاع غزة ودور الحدائق النباتية في حفظه (وحدة أبحاث التنوع الحيوي والتقنية الحيوية، مركز أبحاث التنوع الحيوي ، فلسطين). سلسلة دراسات التنوع الحيوي والبيئة، العدد رقم (2) آب ، 2002، 17.
- 2- عزيز، راما. التوصيف الجزيئي ودرجة القرابة بين بعض الطرز البرية لنبات الزعتر *Thymus Syriacus Boiss* في سوريا باستخدام تقانة التضخيم العشوائي متعدد الأشكال للدنا. مؤتمر التنمية الزراعية المستدامة والأمن الغذائي، كلية الزراعة، جامعة تشرين 27-30 تشرين الثاني، 2006.
- 3- عزيز، راما؛ حامد، فيصل؛ عبد الله، نجلاء. التوصيف الجزيئي ودرجة القرابة بين بعض الطرز البرية لنبات الزعتر *Thymus serpyllum* في سورية باستخدام تقانة التضخيم العشوائي متعدد الأشكال للدناRAPD. مجلة جامعة دمشق للعلوم الزراعية، المجلد(24)، العدد 1، 2008، 263-282.
- 4- علي، محمود. مشروع صون التنوع الحيوي وإدارة المحميات(SY-GE-57109)- مشروع الأرز والشوح، صنفقة، سورية- أيلول، 2004، 137.

- 5- لايقة، سرحان. دراسة تصنيفية لثلاثة أنواع من الزعتر *Thymus L.* من الفصيلة الشفوية *Lamiaceae* في المنطقة الساحلية السورية. مجلة جامعة تشرين للبحوث و الدراسات العلمية- سلسلة العلوم البيولوجية المجلد (32) العدد (5) ، 2010.
- 6- معلا، نزار؛ حربا، نزار؛ علي، عزام. تقدير الثيمول، الكارفكرول ومركبات البينين باستخدام الكروماتوغرافيا الغازية في الزيت العطري للزعتر البري في الساحل السوري. مجلة جامعة تشرين للبحوث و الدراسات العلمية، سلسلة العلوم البيولوجية المجلد (35) العدد (6) ، 2013.
- 7- AAFI, A., PAM, P. *Monographie de plantes aromatiques et médicinales du Maroc : Origanum compactum, Projet PAM, Centre de Recherche Forestière, HCEFLCD, Maroc, 2013.*
- 8- ALAMDARY, S.B.L., SAFAMEJAD, A., REZAEI, M, *Evaluation of Genetic Variation between Thymus Accessions Using Molecular Markers.* J. Basic. Appl. Sci. Res. 1(12) , 2011, 2552-2556.
- 9- AL-ATAWNEH, N., SHEHADEN, A., AMRI, A., Maxted, N. *Conservation Field Guide to Medics.* ICARDA. Syria. 2009.
- 10- AGOSTINI, G., ECHEVERRIGARY, S., SOUZA-CHIES, T. *Genetic relationships among South American species of Cunila D Royen ex L. based on ISSR.* Plant System Evol. (274), 2008, 135-141..
- 11- DAUGHTY, J. *Dangers of reducing the range of food choice in developing countries.* Ecol. Food Nutr, 1979, 8: 275- 283.
- 12- DOLYE, J.J., DOLYE, J.L. *Isolation of plant DNA from fresh tissue.* Focus 12:13-15. Devi et al. SpringerPlus 2013, 1990, 2:669.
- 13- HADI-ALI, I.B., GUETAT, A., BOUSSAID, M. *Inter-specific relationships among two Tunisian Thymus taxa: Thymus capitatus Hoffm. et Link. And Thymus algeriensis Boiss. et Reut. using molecular markers.* African Journal of Biotechnology, 11(36), 2012, 8810-8819.
- 14- KHALIL, R., KHALIL, R., Li, Z. *Determination of genetic variation and relationship in Thymus vulgaris populations in Syria by random RAPD markers.* Plant Biosystems, 146(1), 2012, 217-225.
- 15- LIU, J., WANG, L., GENG, Y., WANG, Q., LUO, L., ZHONG, Y. *Genetic diversity and population structure of Lamiophlomis rotata (Lamiaceae), an endemic species of Qinghai-Tibet Plateau.* Genetica (128), 2006, 385-394.
- 16- MOUTERDE, P. *Nouvelle Flore du Liban et de la Syrie.* Tome I, II, III. Dar el-Machreq, Beyrouth, Liban, 1966, 1983.
- 17- OGLE, B.M., GRIVETTE, L.E. *Edible wild plants in the Kingdom of Swaziland, Southern Africa: A cultural, ecology and nutritional study. Part 2. Demographics, species availability and dietary use, analysis by ecological zone.* Ecology of Food and Nutrition, (17)1985, 1-30..
- 18- RAHIMALEK, M., BAHNINEJAD, B., KHORRAMI, M., TABATABAI, S.B.E. *Genetic variability and geographic differentiation in Thymus daenensis subsp. Daenensis an endangered medicinal plant, as revealed by inter simple sequence repeat (ISSR) markers.* Biochem Genetic. (47), 2009, 831-842..
- 19- SELL, P., MURRELL, G. *Flora of Great Britain and Ireland . Vol. 3.* <http://www. Cambridge. Org /9780521553377>.2010.
- 20- SOLYMAN, E., ALKOWNI, R. *RAPD for Assesment of Thymes Genetic Diversity in Palestine.* Palestine Technical University Research Journal, 2(2), 2014, 01-08.

- 21- SMOLIK, M., JADCZAK, D., KORZENIEWSKA, S. *Assess-ment of morphological and genetic variabil-ity in some Thymus accessions using mo-lecular markers.* Not Bot Horti Agrobo. (37), 2009, 234-240.
- 22- SUNAR. S., AKSAKAL, Q., YILDIRIM, N., AGAR, G., GULLUCE, M., SAHIN, F. *Genetic diversity andvrelationships detected by FAME and RAPD analysis among Thymus species growing in eastern Anatolia region of Turkey.* Rom. Biotechnol. Letters 14, 2009, 4313-4318.
- 23- STAHL- BISKUP, E. *The chemical composition of Thymus oils.* A review of the literature - 89. J. Essent. Oil Res. 1991, 1960, 61- 82.
- 24- TRINDADE, H., COSTA, M.M., LIMA, S.B., PEDRO, L.G., FIGUEIRE-DO, A.C., BARROSO, J.G. *Genetic diversity and chemical polymorphism of Thymus-caespititius from Pico, Saõ Jorge and Ter-ceira islands (Azores).* Biochem System Ecol (36), 2008, 790–797.
- 25- YOUSEFI, V., NAJAPHY, A., ZEBAJADI, A., SAFANI, H. *Genetic diversity and dispersion in Thymus SPP. As detected by RAPD markers.* Philippene Journal of Crop Scieyce, 40 (1), 2015, 82-88.