مجلة جامعة الملك سعود، م١٨، العلوم (١) ، ص ص ١٥-٣٤ (١٤٢٦هـ/٢٠٠٥هـ)

استخدام تقنية الترحيل الكهربائي للبروتين الكلي في تمايز أشجار الشماري التابعة للفصيلة الخلنجية (*Arbutus pavarii* Pamp.) (Ericaceae)

رياض عبدالله فتحي الطائي

قسم علوم الحياة، كلية العلوم، جامعة إب، ص.ب. (٧٠٢٧٠)

محافظة إب، الجمهورية العربية اليمنية

(قدم للنشر في ١٤٢٤/١١/١هـ ؛ وقبل للنشر في ١٤٢٥/٦/١٣هـ)

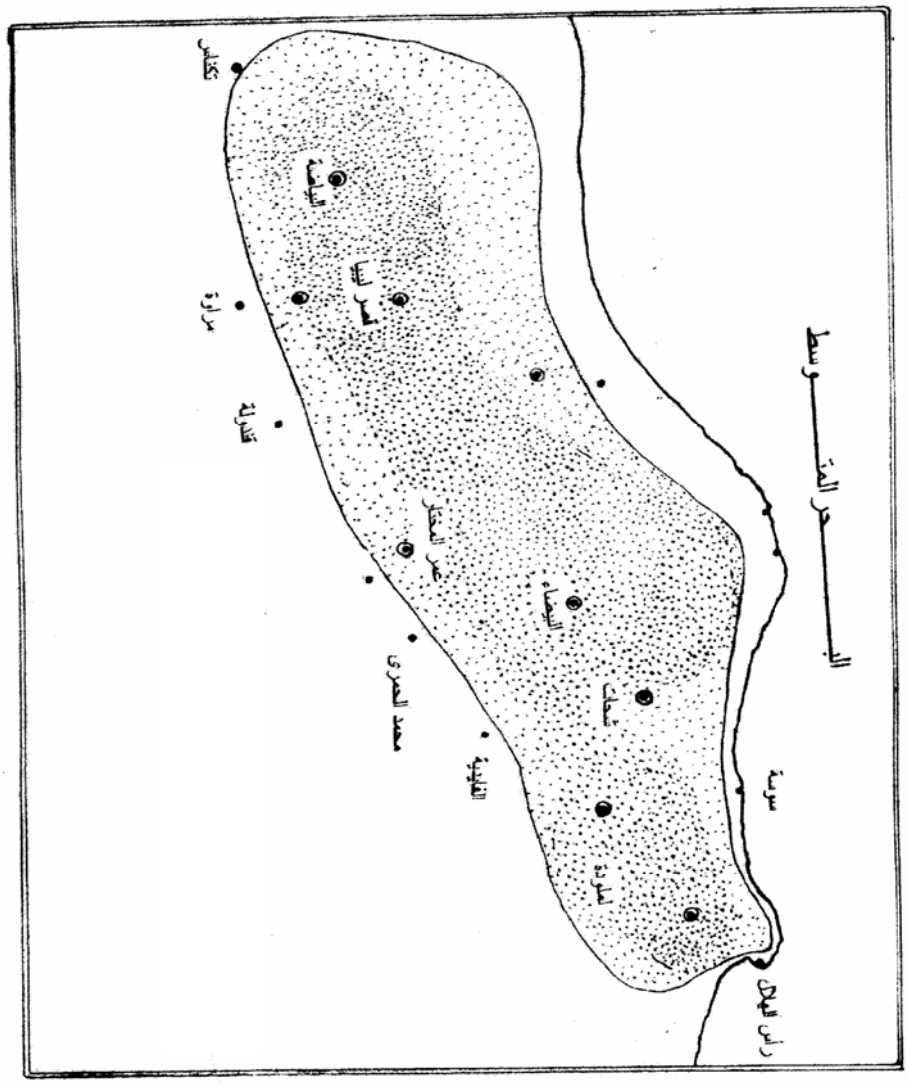
ملخص البحث. تنتشر شجيرة الشماري (*Arbutus pavarii* Pamp.) من الفصيلة الخلنجية (Ericaceae) طبيعيًا في منطقة الجبل الأخضر/ ليبيا وتعتبر ذات أهمية بيئية واقتصادية، إلى جانب استخدامها كغابات وقائية ولصيانة التربة ولأجل الاستفادة من أخشابها ، كما وأن ثمارها تؤكل وتستخدم أزهارها لتربية النحل لإنتاج العسل عالي الجودة (حنون). ونظرا لوجود اختلافات مظهرية في شكل الأوراق وحجومها، والثمار وندرة الدراسات التقسيمية لهذه الاشجار، فقد تم اختيار ١٢ موقعًا تمثل الانتشار الطبيعي للشماري بالجبل الأخضر . وأجريت الدراسات المظهرية على الأوراق والثمار والأزهار واستخدمت تقنية نمط التحزيم للبروتينات الكلية المستخلصة من الأنسجة النباتية بنقلها على هلام الأكريل أمايد بوجود SDS (تقنية الترحيل الكهربائي للبروتين الكلي) ، كما تم قياس طيف البروتين وذلك باستخدام جهاز طيف الامتصاص للأشعة فوق البنفسجية.

أظهرت النتائج وجود اختلافات معنوية في أبعاد الأوراق وفي شكلها غير أنه لم تلاحظ فروق معنوية في حجم ووزن الثمار وفي عدد الأزهار. أما نمط الترحيل الكهربائي للبروتين فقد أظهر وجود ثلاثة تباينات للشماري في منطقة الجبل الأخضر رغم الاختلافات المظهرية، وعليه يمكن اعتماد هذه النتيجة بسبب أن الاختلافات المظهرية قد تكون بتأثير بعض العوامل البيئية أكثر منها بتأثير العوامل الوراثية.

المقدمـــــة

الشماري (Shmari) *Arbutus parvarii* Pamp. جنس *Arbutus* L. من العائلة الخلنجية (الأريكارية Ericaceae Juss.) التي تسمى بفصيلة الهيث (Heath)، وتضم هذه الفصيلة (١٠٣) جنسًا و(٣٣٥) نوعًا من الأشجار والشجيرات والأعشاب حسب ما ذكره[١]، تنتشر في المناطق الباردة وجنوب شرق آسيا إلى الأمريكيتين وهي عبارة عن شجيرات وأشجار صغيرة يتراوح طولها من ١,٥ إلى ٦م.

الانتشار الطبيعي لجنس *Arbutus* الذي يضم (١٤) نوعًا من الأشجار والشجيرات [٢] ، تنتشر في المناطق المعتدلة من الكرة الأرضية في غابات البحر المتوسط [٣] وغرب آسيا وغرب أوروبا وجزر الكناري وفي غرب وشمال أمريكا ومنطقة الساحل بالمحيط الهادي والنوع الوحيد الموجود في ليبيا في الجبل الأخضر هو الشماري(*Arbutus parvarii* Pamp.). فهو ينتشر طبيعيا في الجبل الأخضر بالمناطق الشمالية والوسطى منه ويتركز وجوده في منطقة لملودة وعلى ارتفاعات حوالي ٦٧٥ م فوق سطح البحر حيث الأمطار الغزيرة والرطوبة النسبية المرتفعة، كما ينمو في مناطق الجبل الأخضر الأخرى التي يزيد فيها معدل سقوط الأمطار السنوي عن ٣٠٠ ملليمترا وحيث الترب الجيرية الصخرية الضحلة [٤] وهو مقاوم للظروف البيئية الصعبة والرعي المعتدل. كما ينتشر طبيعيا في مرتفعات منطقة رأس هلال ، مرسى سوسة ، وادي مهبول ، شحات ، الابرق، سيدي مسعود، مدينة البيضاء، وادي الكوف، المرج، تاكنس وغيرها من مناطق الجبل الأخضر[الشكل رقم (١)].



الشكل رقم (١). خارطة تمثل مناطق الانتشار الطبيعي للشماري في منطقة الجبل الأخضر.

والشماري شجيرات دائمة الخضرة ذات قشرة حمراء اللون إلى بنية رقيقة متشققة إلى صفائح صغيرة والأغصان الحديثة غُدّية والأوراق متبادلة سميكة جلدية ملساء السطح العلوي مختلفة الأشكال إما بيضية أو

بيضية مقلوبة أو بيضاوي متطاول رمحية أو مستدقة النهاية يتراوح طولها بين ٤-١١ سم وعرضها بين ١,٥-٤ سم. ويصل طول العنق إلى ١٠ملليمترات. وحواف الورقة مسننة أو تامة [الشكل رقم (٢)].

الشكل رقم (٢). يوضح نصل أوراق الشماري المأخوذة من المواقع المدروسة

تنمو الأزهار بيضاء اللون شمعية - وردية باهتة في نورات عنقودية صغيرة وهي أزهار ثنائية الجنس ويصل عدد المتوك إلى عشرة والمبايض متعددة وقنابية (bracteate) ذات سويقة بطول ٢-٣ ملليمترًا ، أما الكأس فهو أملس ذو خمسة أسنان والتويج بلون أبيض في شكل الجّرة ذات خماسي الأسنان .

الثمار عنبية (berry) قطرها ١,٥-٢ سم ذات لون قرمزي غامق أو برتقالي تحتوي على عدة بذور، والثمرة مكسوة ببعض الحلمات. والبذرة صغيرة الحجم ٢-٣,٥ ملليمترات أجاصية الشكل بنية مصفرة ومخططة. يستغرق نضج الثمار أكثر من سنة عند نضجها [٢،٥،٦].

أظهرت بعض الدراسات على ثمار الشماري أنها تحتوي على نسبة مرتفعة من الرطوبة (٨٣%)، السكريات (١١,٧٢%)، البروتين (٠,٦٩%)، زيوت (٠,٥٢%)، نسبة المواد الصلبة الكلية(١٧,١٤%) والألياف الخام(٢%) على أساس الوزن الرطب ، بالإضافة إلى احتوائها على العناصر المعدنية مثل البوتاسيوم (١٧٧)، الكالسيوم (٢٢,٥)، المغنيسيوم (١١,٧)، الحديد (٠,٧١)، الفسفور (٢٣) والكبريت (١٣,٤) محسوبة بالملليجرام لكل ١٠٠ جرام . بالإضافة إلى احتوائها على فيتامين (أ) A بنسبة كبيرة إلى جانب المركبات الأخرى ذات الأهمية الغذائية[٧]، كما تدخل الأزهار في تربية نحل العسل ويستعمل خشب الشماري لإنتاج الفحم ويمكن أيضا استخلاص بعض الصبغات من الجذور وأيضا استخلاص مادة دباغية من قشرتها إلى جانب استعمال الخشب لأغراض صناعية مختلفة [٨].

وبعد ابتكار التقنيات الحديثة التي تعتمد على البروتين والحامض النووي منزوع الأكسجين الـ DNA أو غيرها في علم التصنيف فقد أمكن الوصول إلى تصانيف فائقة الدقة بل أحدث الحامض النووي ثورة في مجال التصنيف التقليدي، فمثلاً أمكن أيضا الاعتماد على نمط التحزيم للبروتينات الكلية المستخلصة من الأنسجة النباتية على هلام الأكريل أمايد بوجود الـ SDS في تصنيف العديد من النباتات [٩-١٥]، كما ساعدت هذه التقنية في تمييز المواطن الجغرافية للعديد من التاكسات [١٣؛ ص ص ٢٩١-٣١٥] ، بالإضافة إلى التمييز بين الأصناف المتوالدة داخليا أو خارجيا [٢، ٦]، كما تستخدم نتائج هذه التقنية لإثبات التهجين الضمن نوعي[١٧] ولمتابعة التباين في الأصول الوراثية [١٧، ١٨؛ ص ص ٤٣-٦١، ١٩] وقد سبق أن استخدم [٢٠، ٢١]، مستخلص البذور لتحديد العلاقات بين أنواع جنس *Trifolium* ، وأيضًا على بذور البلوط [٢٢].

المواد وطريقة العمل

نظرًا لملاحظة اختلافات الشكل الظاهري لشجيرات الشماري في شكل، حجم وحافة الأوراق وكذلك حجم، لون وطعم الثمار لنبات *Arbutus pavarii* Pamp. ، ولندرة الدراسات السابقة في هذا الموضوع فقد أجريت هذه الدراسة الحالية.

(١) دراسة الشكل المظهري للأوراق والثمار

تم اختيار ١٢ موقعًا مختلفًا تغطي مناطق الانتشار الطبيعي في الجبل الأخضر- ليبيا، (الجدول رقم [١])، وتم رصد ٣٠ مكررًا لكل موقع لدراسة شكل الأوراق وحجمها والثمار وكما استخدمت نفس العينات لتقدير البروتين الكلي.

تم تطبيق نظام CRD العاملي وتحليل النتائج وذلك بالاعتماد على برنامج Statgraphics.

(٢) تقدير البروتين الكلي للأوراق

تم تقدير البروتين الكلي للأوراق بالأسلوب أدناه وذلك بالاعتماد على الطريقة المحّورة التي قام بتعديلها الباحث [٢٣] والتي تتلخص فيما يلي :

الجدول رقم (١). يوضح أسماء المناطق المأخوذة منها النماذج لنبات الأشجار الـشماري في منطقـة الجبل الأخضر ورموز النماذج.

ت	اسم المنطقة	رمز العينة
١	لملودة	Sh1
٢	رأس هلال	Sh2
٣	سيدي مسعود	Sh3
٤	الأبرق	Sh4
٥	شحات	Sh5
٦	البيضاء - الغريقة	Sh6
٧	وادي الكوف	Sh7
٨	طريق سيدي الحمري	Sh8

٩	طريق البيضاء - درنة	Sh9
١٠	طريق البيضاء - الحمامة	Sh10
١١	تكناس	Sh11
١٢	توكرة	Sh12

(أ) تحضير مستخلص البروتين الكلي للأوراق

تم جمع الأوراق الطازجة السليمة من النباتات وغسلت مرتين بالماء المقطر المعقم وقطعت إلى فتات صغير بوزن ٥ جرام ثم طحنت بالخلاط في وسط مبرد (صفر درجة مئوية). ومن ثم تم ترشيح الخليط بواسطة تصفيته عبر قماش شاش معقم مرتين وعومل الراشح الناتج مع ثلاثة أحجام من محلول 0.5 أستات الصوديوم رقم هيدروجيني (pH 5.2) يحتوي على 15 mM من كحول مركابتوإثانول (2-mercapto ethanol). بعد ذلك تم ادخال الخليط الى جهازالطرد المركزي بقوة 15 rpm ولمدة ١٥ دقيقة عند درجة حرارة ٤ْم. ومن ثم تم وضع المحلول الرائق لتعريضه مرة أخرى للطرد المركزي بقوة 15 rpm ولمدة ٦٠ دقيقة عند درجة حرارة 4ْم. ثم فصلت الطبقة الرائقة بعد ترسب المستخلص الكلي للبروتين وذلك بمعاملته مع أربعة أضعاف حجمه من الأسيتون المبرّد (صفر درجة مئوية). ومرة أخرى أدخل المستخلص للطرد المركزي لمدة ٥ دقائق وتكررت عملية الغسل بالاسيتون المبرّد مرة ثانية وبعدها تم تجفيف الراسب بواسطة عملية التفريغ الهوائي، ثم إذابة الراسب باستخدام أستات الصوديوم دارئ (0.5 M) (pH 5.2). وبعدها تم حفظ محلول البروتين الخام تحت ظروف مبردة (في الثلاجة بدون تجميد لحين الاستخدام).

(ب) قياس طيف البروتين باستخدام جهاز طيف الامتصاص للأشعة فوق البنفسجية

تم تحليل الطيف الكمي لكل مستخلص بروتيني وذلك باستخدام جهاز طيف الامتصاص للأشعة فوق البنفسجية من طراز (UV/VIS Spectrometry , England Spectroscopy Co. Philips, type PU 8735). وأجري القياس عند طول موجي (O.D. 280 nm) ومقارنه الناتج مع بروتين قياسي محضر مسبقا من البومين المصل البقري (BSA).

(جـ) الترحيل الكهربائي على هلام الاكريل أمايد

Polacrylamide gel electrophoresis (PAGE)

أجري الترحيل الكهربائي للبروتين على هلام الأكريل أمايد بوجود SDS وكان سمك طبقة الهلام 1.5 mm والمكون من 30 mm من الأكريماليد (3% acrylamide pH 6.8)، بالنسبة لهلام الرص 120 mm (12.5% acrylamide , pH 8.8) أما هلام الفصل المحضر في أستات الصوديوم دارئ 25 mm من Tris و 192 mm من الجلسرين (glycine) ذو الرقم الهيدروجيني 8.3 pH.

أجري ترحيل البروتين الكلي تحت تيار كهربائي ثابت 70 mA عند درجة حرارة 4°م لمدة ٨ ساعات كما تم تقدير الوزن الجزيئي لكل حزمة بروتين وذلك بالمقارنة مع بروتينات قياسية مسبقة (شركة سيجما Sigma) والتي تتضمن BSA (68 KDa) والافالبومين Ovalbumin (43 KDa) ، ترابيسين Trypsin (24 KDa) وليسوزيم Lysozyme (14 KDa). صبغ الهلام باستخدام صبغة أماسي الزرقاء (Oomassie brilliand blue R250).

جدول رقم (٢). يوضح شكل، وحافة ونهايات أوراق الشماري للموافع المدروسة ونسبتها المئوية.

نهايات الأوراق		حواف الأوراق		شكل النصل	
نوع	%	نوع	%	نوع	%
المستدقة Acuminate	٣٥	ملساء Entire	٦٣	بيضاوي Ovate	٥٤
المنفرجة Obtuse	٢٤	مسننة Serrate	٣١	بيضاوي مقلوب Oboavte	٢٣
المستديرة Rounded	٢٢	المتموجة Repand	٦	المتطاول الرمحي Oblong-Lanceolate	١٥
Caspidate	١١			أهليجي Elliptic	٨
المسننة الحافة Emaginate	٨				

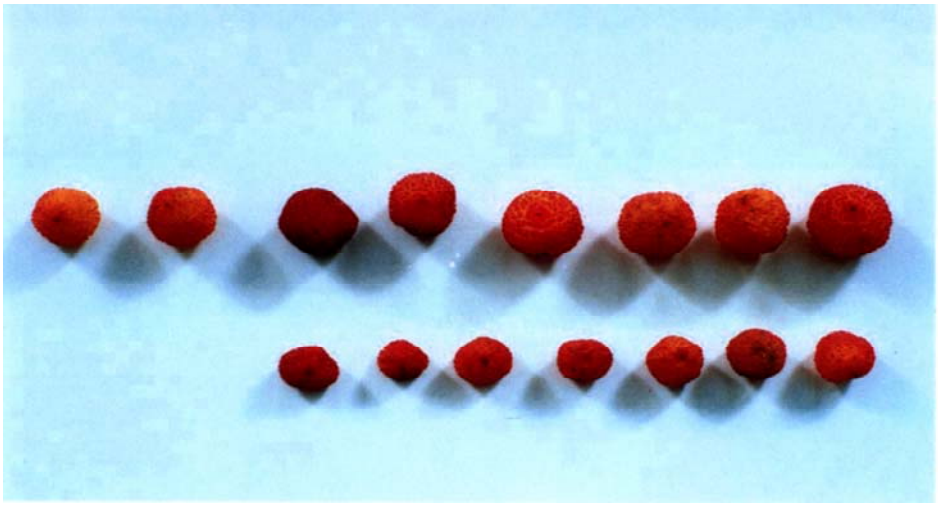
النتائج والمناقشـــة

المظهر الخارجي للأوراق

بالرغم من أن أنصال الأوراق تتأثر بالعوامل البيئية إلا أن الأوراق كأعضاء خضرية لها دور مهم في التصنيف [٢٤]، لهذا كانت الحاجة لدراسة أوراق الشماري من مواقع مختلفة في الجبل الأخضر وقد تبين من الدراسة وجود اختلافات معنوية بين أطوال الأوراق (F=17.978) وقد تراوح طول الورقة بين (٣-٧ سم) أما عرض الورقة فقد أظهر اختلافات معنوية (F=30.24) وتباين بين (١،٥-٤سم).

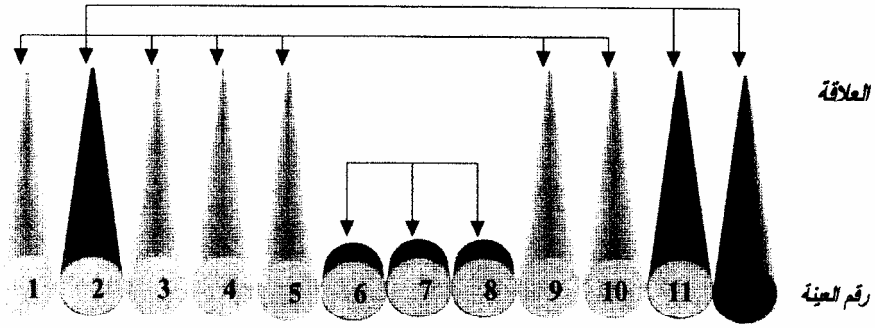
أوضحت الدراسة اختلافات في شكل النصل [جدول رقم(٢)]، كان البيضي منه بنسبة (٥٤%) ، يليه البيضي المقلوب بنسبة (٢٣%) ثم المتطاول الرمحي بنسبة (١٥%) وأخيرًا الإهليجي بنسبة (٨%) ويتفق هذا مع ماذكره [٢] ماعدا الشكل الأخير الذي تم تسجيله لأول مرة في هذه الدراسة. أما حواف الأوراق فقد أظهرت اختلافات فهي إما ملساء بنسبة (٦٣%) أومسننة بنسبة (٣١%)، كما تبين وجود نسبة (٦%) فقط لشكل الحواف المتموجة ، كما لوحظ أيضًا اختلافات في نهايات الأوراق وكانت تشمل النهاية المستدقة بنسبة (٣٥%) والمنفرجة (٢٤%) والمستديرة (٢٢%) والـ Caspidate (١١%) وأخيرًا المسننة الحافة (٨%) .

أظهرت الدراسة وجود اختلافات معنوية بين المجاميع الثلاثة للمواقع المدروسة والتي تم تحديدها عند تقدير البروتين الكلي كما سيأتي ذكره فكانت الفروقات معنوية بين طول الأوراق وعرضها (F=13.984) و (F= 4.04) على التوالي وكذلك التداخل بين النويعات والموقع (F= 2.773).



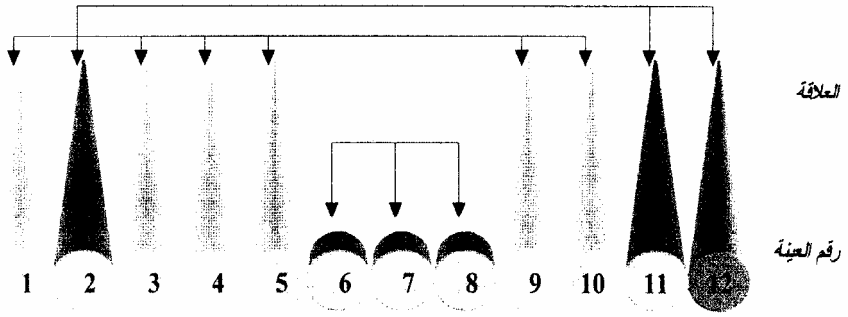
شكل رقم (٣). ثمار الشماري **والاختلافات** في الحجم **واللون.**

الجدول رقم (٣). أنماط الحزم البروتينية بالاعتماد على الوزن الجزيئي KDa للمواقع المختلفة لنبـات الشماري.



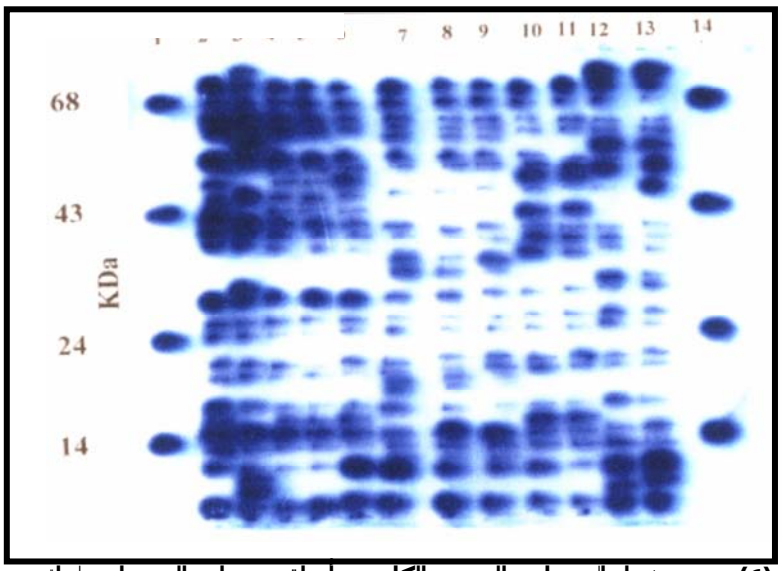
عدد الحزم	الوزن الجزيئي (K Da)											
24	26	24	24	24	27	27	27	24	24	26	26
–	80	–	–	–	–	–	–	–	–	80	80
71	71	71	71	71	71	71	71	71	71	71	71
68.5	68.5	68.5	68.5	68.5	68.5	68.5	68.5	68.5	68.5	68.5	68.5
65.5	65.5	65.5	65.5	65.5	65.5	65.5	65.5	65.5	65.5	65.5	65.5
63	63	63	63	63	63	63	63	63	63	63	63
–	60.5	–	–	–	60.5	60.5	60.5	–	–	60.5	60.5
57	57	57	57	57	57	57	57	57	57	57	57
54.5	54.5	54.5	54.5	54.5	54.5	54.5	54.5	54.5	54.5	54.5	54.5
52	–	52	52	52	52	–	–	52	52	–	–
50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50
42	–	42	42	42	42	–	–	42	42	–	–
40	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40
37	37	37	37	37	37	37	37	37	37	37	37
35.5	35.5	35.5	35.5	35.5	35.5	35.5	35.5	35.5	35.5	35.5	35.5
–	–	–	–	–	33	33	33	–	–	–	–
–	–	–	–	–	32	32	32	–	–	–	–
–	30.5	–	–	–	–	–	–	–	–	30.5	30.5

تابع الجدول رقم (٣).



عدد الحزم	الوزن الجزيئي (K Da)											
24	28.5	27	25	21.5	20	–	–	17	16	15	12.5	–	10	–	–	3.5	2
26	28.5	27	25	21.5	20	–	–	17	–	15	12.5	–	10	8	5.5	3.5	2
24	28.5	27	25	21.5	20	–	–	17	16	15	12.5	–	10	–	–	3.5	2
24	28.5	27	25	21.5	20	–	–	17	16	15	12.5	–	10	–	–	3.5	2
24	28.5	27	25	21.5	20	–	–	17	16	15	12.5	–	10	–	–	3.5	2
27	28.5	27	25	21.5	20	19	18	17	–	15	12.5	11	10	–	–	3.5	2
27	28.5	27	25	21.5	20	19	18	17	–	15	12.5	11	10	–	–	3.5	2
27	28.5	27	25	21.5	20	19	18	17	–	15	12.5	11	10	–	–	3.5	2
24	28.5	27	25	21.5	20	–	–	17	16	15	12.5	–	10	–	–	3.5	2
24	28.5	27	25	21.5	20	–	–	17	16	15	12.5	–	10	–	–	3.5	2
26	28.5	27	25	21.5	20	–	–	17	–	15	12.5	–	10	8	5.5	3.5	2
26	28.5	27	25	21.5	20	–	–	17	–	15	12.5	–	10	8	5.5	3.5	2

أظهرت الثمار فروقًا مظهرية في الحجم واللون [شكل رقم (٣)] ولم تكن معنوية إذ تراوحت الأقطار بين (٢,٠-٠,٥سم) والوزن (٢٢٠جم / ١٠٠ ثمرة) ويميل لونها إلى الأصفر والأحمر القرمزي فالأحمر القاتم.

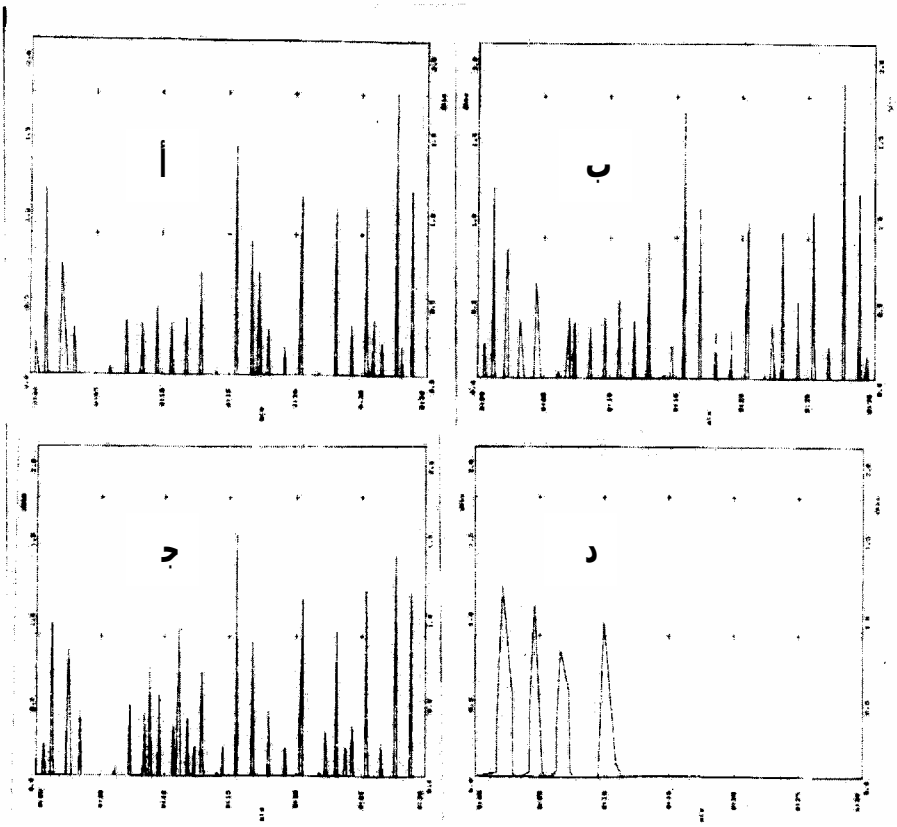


الشكل رقم (٤). يوضح فصل المستخلص البروتيني الكلي من أوراق شجيرات الـشماري لمواقـع مختلفـة باستخدام الترحيل الكهربائي على هـلام (SDS polyacrylamide gel) موزعـة كـالآتي: (Sh12.....Sh2, Sh1) حسب المجالات (٢، ٣،.....، ١٣) والمجـال ١ و ١٤ تحتوي على بروتينات قياسية بالـ كيلودالتن Kilodaltons.

التحليل البروتيني للأوراق

يوضح الشكل رقم (٤) نمط الترحيل الكهربائي لمستخلص البـروتين الكلي من الأوراق ، إذ تم تحديد الوزن الجزيئي (KDa) لكل حزمة بروتينية [الجـدول رقـم (٣)] وذلـك بالاعتمـاد علـى المنحنـى القياسـي للبروتينـات القياسية الأربعة المستخدمة . ويتضح من الشكل المشار إليه إمكانية تقسيم أنماط الحزم البروتينية إلى ثلاثة أنماط رئيسة. حيث **يـشتمل الـنمط الأول** على سـت عينـات هـي ١ ، ٣ ، ٤ ، ٥ ، ٩ و ١٠ (المجـالات ٢ ، ٤ ، ٥ ،

٦، ١٠ ، ١١ على التوالي) إذ يتضمن العدد الكلي للحزم البروتينية ٢٤ حزمة [شكل رقم (٥) أ]. **ويشتمل النمط الثاني** على ثلاث عينات هي ٢ ، ١١ ، ١٢ (المجالات ٣ ، ١٢ ، ١٣ على التوالي) ويتضمن العدد الكلي للحزم البروتينية ٢٦ حزمة [شكل رقم (٥) ب]. أما **النمط الثالث** فيشتمل على ثلاث عينات أيضًا هي ٦ ، ٧ ، ٨ (المجالات ٧ ، ٨ ، ٩ على التوالي) فيكون العدد الكلي للحزم البروتينية ٢٧ حزمة [الشكل رقم (٥) جـ].



الشكل رقم (٥). قياس طيف البروتين باستخدام جهاز طيف الامتصاص للأشعة فوق البنفسجية لمستخلص البروتين للشماري.

وبعد إجراء عملية المطابقة مع الوزن الجزيئي للحزم البروتينية لتحديد مستوى التشابه بين هذه العينات تبين وجود ٢١ حزمة مشتركة في

جميـع العينـات ذات أوزان جزيئيـة : ٧١ ، ٦٨,٥ ، ٦٥,٥ ، ٦٣ ، ٥٧ ، ٥٤,٥ ، ٥٠ ، ٤٠ ، ٣٧ ، ٣٥,٥ ، ٢٨,٥ ، ٢٧ ، ٢٥ ، ٢١,٥ ، ٢٠ ، ١٧ ، ١٥ ، ١٢,٥ ، ١٠ ، ٣,٥ و ٢ كيلـودالتن . بحيـث **يتفرد الـنمط الأول** بوجود ثلاث حزم تكون محصلة للمعادلة:

عدد الحزم الكلي - **عدد الحـزم المـشتركة** (٢٤ - ٢١ = ٣) وهـي ذات أوزان جزيئية ٥٢ ، ٤٢ و ١٦ كيلودالتن ، في حـين **يتفـرد الـنمط الثـاني** بوجود أربع حزم ذات أوزان جزيئيـة (٨٠ ، ٣٠,٥ ، ٨ و ٥,٥ كيلـودالتن) بالإضافة إلى حزمة مشتركة مع **الـنمط الثالـث** ذات وزن جزيئـي ٦٠,٥ كيلـودالتن ، وبهـذا يكـون عـدد الحـزم المنفـردة ماعـدا الحزمـة المـشتركة تخضع للمعادلة (٢٦ - ٢١ = ٥)، أمـا **النمط الثالـث** يتميـز بتفـرده بخمـس حـــزم ذات أوزان جزيئيـــة (٣٣ ، ٣٢ ، ١٩ ، ١٨ و ١١ كيلـــودالتن) بالإضافة للحزمة المشتركة مع الـنمط الثـاني ذات الـوزن الجزيئـي (٦٠,٥ كيلودالتن) وبهذا يكون عدد الحـزم المتفـردة بعـدد الحـزم المـشتركة الكليـة والخاضعة للمعادلة (٢٧ - ٢١ = ٦).

يتضح من هذه النتـائج وجـود ثلاثـة نويعـات (sub-species) علـى الأقـل لنبات الشماري في منطقة الجبل الأخضر، أما الاختلافات المظهرية والتـي تعطي انطباعا عن وجود نويعات أكثر فقد يكون ناتج عن التـأثيرات البيئيـة المختلفة.

في دراسة مشابهة تمت علـى جـنس النفـل Trifolium [٢١] تراوحـت عدد الحزم على أعـداد كبيـرة كمـا فـي نـوع *Trifolium hybridum* الـذي أظهـر وجود ٣٠ حزمة في حين نـوع *Trifolium subterroneum* أظهـر وجـود ٨ حـزم فقط ، وقد لوحظ اشتراك ٥ حـزم فـي كـل الأنـواع المدروسـة تقريبًـا، كمـا شوهد تفرد بعض الحزم في عدد من الأنواع كما هو الحال بوجود حـزمتين متفردتين للنمط البروتيني للنوع *T. subterroneum* وثلاث حزم منفردة للنـوع *T. resupinatum* ، إن هذا التباين الواضح المعالم سواء كان في عدد الحزم في قلة أعـدادها المـشتركة يعـود إلـى كـون الدراسـة أعـلاه تمـت علـى أنـواع مختلفـة مقارنـة بالدراسـة الحاليـة التـي كانـت علـى مـستوى تحـت النـوع

(النويعات) الأمر الذي أدى إلى اشتراك هذه النويعات بعدد كبير من الحزم بلغت ٢١ حزمة.

وبما أن غالبية الصفات المظهرية المدروسة تعد من الصفات الكمية ولذلك فإن تأثرها بالعوامل البيئية يكون واضح [٢٤] (الشكل رقم (٢)) الأمر الذي انعكس على التمايز الذي تم ملاحظته عند إجراء التحليل الإحصائي. ولهذا يفضل الاعتماد على النتائج المعبّرة عن النمط الوراثي (Genotype) عند إجراء المقارنات على المستوى التقسيمي، ويعتبر تحليل النمط البروتيني إحدى الوسائل الفعّالة في هذا المجال [٢١].

المراجع

[١] Mabberey, D.J. *The Pant-Book*. Cambridge: Cambridge University Press, 1987.

[٢] Jafri, S.M.H. and El-Gadi, A. *Flora of Libya*. Liba: Al-Fateh Univ. Fac. Of Science, 1978.

[٣] الجنيدي، محمود جبريل . *نباتات الأردن*. الأردن ، عمّان: دار الطباعة والنشر، ١٩٦٣م.

[٤] Zunni, S.A. "The Forests of Jebel El-Akhdar, Libya." *M.S.c. Thesis*, Colorado State Univ., Fortcollins, U.S.A, 1977.

[٥] Keith, H.G. *A Preliminary Check List of Libyan Flora*. Libya: Minis. Agric. Tripoli, 1965.

[٦] الزني، السنوسي عبدالقادر . *تقرير فني حول تطوير الشماري بالجبل الأخضر - ليبيا*. ليبيا، درنة: مركز البحوث الزراعية/ محطة بحوث الفتائح، ١٩٨٧م.

[٧] الفرجاني، سالم عمر، وشحات، سالم محمد "التقييم الطبيعي والكيميائي والتغذوي لثمار الشماري في منطقة الجبل الأخضر، الخواص الكيمياوية والطبيعية والتغوية لثمار الشماري." *المختار للعلوم*، العدد الثاني (١٩٩٥م)، ٢٠-٣٧.

[٨] Sengonal, K. "Water Repellenly in Macchia Soils and Its Relation to Plant Species, Soil Properties and Fire." *Istanbul Univ. Orman Fakaltest Dergist*. Seri A. 37, 2 (1987), 69-83 and *C.F. Forestry Alostraets* 52, 1 (1987), 241.

[٩] Aliaga – Morell; J.R.; Culians Macia, F.A.; Clemente Marin, G. and Yufera, Primo. "Differentiation of Rice Varieties by Electrophoresis of Embryo Protein." *Theor. APPL. Genet*. 74, (1987), 224-232.

[١٠] Collada, C.; Caballero, R.G.; Casado, R. and Argoncilld, C. "Different Types of Major Storage Seed Proteins in Fagaceae Species. *J. Exp. Bot*. 39, (1988), 1751-1758.

[١١] Jensen, U. and Lixue, C. *Abies Seed Proteing Profile Divergent* , 1991.

[١٢] Ladizinsky, G. and Hymowitz, T. "Seed Proteing Electrophoresis in Lanomic and Evolutionary Studies-Review." *Theor. Appl. Genet*., 54, (1979), 145-151.

[١٣] Meige, M.N. "Protein types and distribution." In: C. Boulter and B. Parthier (eds) *Nucleic Acids and Proteins in Plants*. Berlin: Springer, 1989.

[١٤] Schirone, B.; Piovesan, G.; Bellarosa, R. and Pelosi, C., "A Taxonomic Analysis of Seed Proteins in *pinus spp.* (Pinaceae)." *Plant Syst, Evol*. 178 (1999), 43-53.

[١٥] بروخل، باولوفان. "المصادر الوراثية للغابات." *نشرة IPGRI-CWANA*، العدد ١٩ (نيسان ١٩٩٩م).

[١٦] Cook, R.J. "The Use of Electrophoresis for the Distinctness Testing of Varieties of Autogamouse Species." *Plant Varieties Seeds*, 2 (1989), 3-13.

[١٧] Gardiner, S.E. and Forde, M.B. "Identification of Cultivars and Species of Pasture Legumes by Sodium Dodecylsulphate Polyacrylamide Gel Electrophoresis of Seed Proteins." *Plant Varieties Seeds*. 1 (1988), 13-26.

[١٨] _____ . "Identification of Cultivars of Grasses and Forage Legumes by SDS-PAGE of Seed Protein." In: H.F. Linkens and J.F. Jakson (eds.) *Seed Analysis*. Berlin, NewYork: Springerverlage, 1992.

[١٩] Gilland, T.J. "Electrophoresis of Sexually and Vegetatively Propagated Cultivators of Allogamous Species." *Plant Varieties Seeds*, 2 (1989), 15-25.

[٢٠] Badr, A. "Elctrophoretic Studies of Seed Proteins in Relation to Chromosomal Criteria and Relationships of Some Taxa of *Trifolium*." *Taxon*, 44 (1995), 183-191.

[٢١] Sheidai, M.; Hamta, A.; Jaffari, A. and Norri-Daloii, M.R. "Morphometric and Seed Protein Studies of *Trifolium* Species and Cultivars in Iran." *Plant Genetic Resources News letters*, 120 (1999), 52-54.

[٢٢] Bellarosa, R. and Schirone, R. "Characterization and Conservation of *Querous suber* Germplasm in Italy." *EUFORGEN, IPGRI.* Report of the Third and Fourth Meeting 9-12 June 1996, Sassari, Sardinia, Italy and 20-22 February 1997, Almoraima, Spain. P. 23-31.

[٢٣] Kim, Y.J. and Hwang, B.K. "Differential Accumulation of β-1, 3-glucanase and Chitinase Isoforms in Pepper Stems Infected by Compatible Isolates of *Phytophthora Capsici." Physiological and Molecular Plant Pathology*, 45 (1994), 195-209.

[٢٤] Jones, S.B. and Luchsinger, A.E. *Plant Systematics.* New York: McGraw-Hill Book Company, 1979.

The Use of Protein Electrophoresis Technique for Differentiation of *Arbutus pavarii* Pamp. Family Ericacea

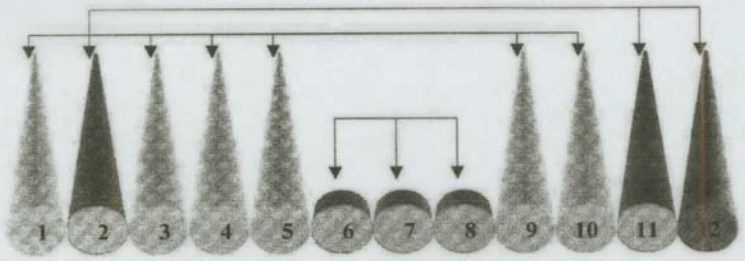
R.A. Fathi Al-Taai
Biology Department, Faculty of Science, P.O. Box 70270,
IBB University, IBB, Yemen

(Received 1/11/1424; accepted for publication 13/6/1425)

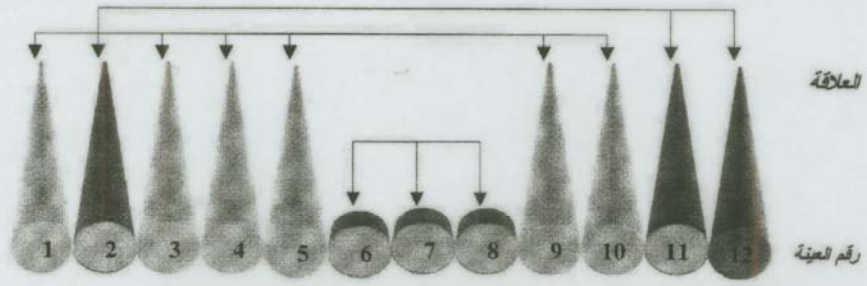
Abstract. The Strawberry tree *Arbutus pavarii* Pamp, related to the heath family Ericaceae , is naturally distributed on the area of Jabal El-Akhdar in Libya. It has its environmental and economical importance as protective natural forest products utilization such as fruits and extractives. It is used for bee raising to produce high quality honey (Hanoon) .

Due to many phenotype variations especially in the shape and size of the leaf and also to the absence of taxonomical records, twelve locations representing the natural distribution of these tree within the area of Jabal El-Akhdar were selected for this study. The morphological variances of the leaves, fruits and flowers were studied compared with that of the total protein binding study for the extracted proteins from the plant tissues on the polyacrylamide gel in the presence of SDS (electrophoresis protein technique). The protein spectrum was measured using spectrophotometer based on UV absorption. Significant differences were noticed on the length and width of the leaf and its shape. There were no significant differences related to the size of the fruits, its weight and number of flowers.

In spite of the morphological differences, the electrophoresis model of the protein showed only three subspecies for the strawberry tree at Jabal El-Akhdar area. The results could be attributed to the fact that morphological differences may be due to the effects of environemental factors rather than genetical factors .



24	26	24	24	24	27	27	27	24	24	26	26	عدد الحزم
28.5	28.5	28.5	28.5	28.5	28.5	28.5	28.5	28.5	28.5	28.5	28.5	الوزن الجزيئي (K Da)
27	27	27	27	27	27	27	27	27	27	27	27	
25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	
21.5	21.5	21.5	21.5	21.5	21.5	21.5	21.5	21.5	21.5	21.5	21.5	
20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	
–	–	–	–	–	19	19	19	–	–	–	–	
–	–	–	–	–	18	18	18	–	–	–	–	
17	17	17	17	17	17	17	17	17	17	17	17	
16	–	16	16	16	–	–	–	16	16	–	–	
15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	
12.5	12.5	12.5	12.5	12.5	12.5	12.5	12.5	12.5	12.5	12.5	12.5	
–	–	–	–	–	11	11	11	–	–	–	–	
10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	
–	8	–	–	–	–	–	–	–	–	8	8	
–	5.5	–	–	–	–	–	–	–	–	5.5	5.5	
3.5	3.5	3.5	3.5	3.5	3.5	3.5	3.5	3.5	3.5	3.5	3.5	
2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	



عدد الحزم	الوزن الجزيئي (K Da)											
24	26	24	24	24	27	27	27	24	24	26	26	
–	80	–	–	–	–	–	–	–	–	80	80	
71	71	71	71	71	71	71	71	71	71	71	71	
68.5	68.5	68.5	68.5	68.5	68.5	68.5	68.5	68.5	68.5	68.5	68.5	
65.5	65.5	65.5	65.5	65.5	65.5	65.5	65.5	65.5	65.5	65.5	65.5	
63	63	63	63	63	63	63	63	63	63	63	63	
–	60.5	–	–	–	60.5	60.5	60.5	–	–	60.5	60.5	
57	57	57	57	57	57	57	57	57	57	57	57	
54.5	54.5	54.5	54.5	54.5	54.5	54.5	54.5	54.5	54.5	54.5	54.5	
52	–	52	52	52	52	–	–	52	52	–	–	
50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	
42	–	42	42	42	42	–	–	42	42	–	–	
40	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40	
37	37	37	37	37	37	37	37	37	37	37	37	
35.5	35.5	35.5	35.5	35.5	35.5	35.5	35.5	35.5	35.5	35.5	35.5	
–	–	–	–	–	33	33	33	–	–	–	–	
–	–	–	–	–	32	32	32	–	–	–	–	
–	30.5	–	–	–	–	–	–	–	–	30.5	30.5	