مساهمة في تحديد درجة القرابة التصنيفية لخمسة أنواع من جنس *Euphorbia* L. من الفصيلة الأفوربية Euphorbiaceae بالاعتماد على خصائص المحتوى البروتيني

د. جورجيت بابوجيان*

الملخص

عُيِّن المحتوى البروتيني في الأوراق كمياً، وفي البذور بطريقة الرحلان الكهربائي (SDS–PAGE) لـ 5 أنواع من الأفورب الموجودة في الفلورا السورية، وهي:
E. helioscopia, E. peplus, E. prostrate, E. pilulifera, E. paralias.
بهدف الكشف عن جدوى هذه المعايير في تحديد درجة القرابة التصنيفية بين هذه الأنواع.

بيَّن التحليل الكمي للبروتين في أوراق الأنواع المدروسة وجود نسب مئوية متباينة، كانت أقل نسبة بروتين في النوع *E. paralias* (2.75%)، وأعلى نسبة للبروتين وُجدت في النوع *E. peplus* (19.06%).

*أستاذة في قسم علم الحياة النباتية– كلية العلوم – جامعة دمشق – سورية.

أمكن الحصول على شجرة القرابة التصنيفية بإجراء التحليل العنقودي للنتائج التي جرى الحصول عليها من البصمة البروتينية لبذورهذه الأنواع، وقد تمت الاستفادة من40 صفة لهذ االتحليل. انفصلت شجرة القرابة إلى تحت عنقودين: ضم الأول نوع *E.Paralias* وضم الثاني بقية الأنواع بنسب تتشابه 0.065، وشمِل تحت العنقود الثاني مجموعتين، ضمّت الأولى النوعين *E.helioscopia* و*E. peplus* بنسبة تشابه 0.143، وضمّت الثانية النوعين *E.prostrata* و*E Pilulifera* بنسبة تشابه 0.333.

الكلمات المفتاحية: Euphorbia، المحتوى البروتيني، البصمة البروتينية، شجرة القرابة، التحليل العنقودي.

Contribution in determining the degree of taxonomic relationship of five species of *Euphorbia* L. (Euphorbiaceae) Depending on Protein Contents Properties

Dr. Gorget Babojian*

Abstract

The protein content in the leavesand in the seeds of electrophoresis (SDS-PAGE) in five Species of genus Euphorbia found in Syrian flora was determined for 5 species of Genus *Euphorbia* L. found in the Syrian flora*: E.* helioscopia, *E. peplus, E. prostrata, E. pilulifera, E. paralias.*

In order to reveal the usefulness of these criteria in determining the degree of taxonomic relationship between these species.

Quantitative protein analysis in the studied species showed different percentages, the lowest percentage of *E.* paralias (2.75%), and the highest protein found in *E.* peplus (19.06%).

The resultes helped us to obtained a pylogenetic tree by conducting cluster analysis

of the results obtained from the protein footprint of the seeds of studies species, and 40 samples were used for this analysis.

* Professor, Department of Botany, Faculty of science, Damascus university

The first pair of species was separated into two clusters: the first included E. paralias and the other two species were joined by a similarity of 0.065 and separated under the second cluster into two clusters. The first species E. helioscopia and E. peplus were associated with a similarity of 0.143, and the two types E. prostrate and E pilulifera by a similarity of 0.333.

Key Words: Euphorbia. Proteins Content, Protein Fingerprint, Phylogenetic Tree, Cluster Analysis.

المقدمة:

تشكل الدراسات الشاملة لمعايير متباينة، مورفولوجية، وتشريحية، وكيميائية حيوية..... وغيرها، والتي تتناول الزمر التصنيفية–من مرتبة فصيلة وما دون، لبنات معتبرة لدى المهتمين في مجال التنوع الحيوي عموماً والتصنيف النباتي خصوصاً، وذلك لتوضيح درجة القرابة التصنيفية التي تربط هذه الزمر. اختُبرت 5 أنواع من جنس الأفوربEuphorbia L. لتقييم درجة قرابتها من خلال دراسة خصائص المحتوى البروتيني للأوراق، من ناحية النسبة المئوية له، والبذور بطريقة الرحلان الكهربائي لدى هذه الأنواع.

يأخذ جنس الأفوربب بالموقع التصنيفي: Plantae، Angiosperms، Eudicots، Rosids، Euphorbiaceae، Euphorbioideae، Euphorbieae، Euphorbiinae. تضم الفصيلة الأفوربية 300 جنساً و7500 نوعاً تنتشر في المناطق الاستوائية وشبه الاستوائية والمناطق المعتدلة، وأغلبها نباتات عشبية، أومعمرة أو حولية، ومنها جنبات أو أشجار، وبعضها عصارية. تُقسم الفصيلة Euphorbiaceae إلى ثلاث تحت فصائل وهي: Euphorbioideae وCrotonoidea وAcalyphoideae. ويُعد جنس *Euphorbia* من بين أكثر أجناس النباتات الزهرية عدداً حيث يضم نحو 2008 نوعاً (APG IV, 2016).

ويوجد فيسورية 45 نوعاً و6 أصناف من الأفورب (Mouterde, 1970).

يشكل اللبن النباتي (Latex) السمة الأبرز لأنواع جنس الأفورب، وتمتلك أغلب الأنواع خواصاً طبية (Frohne und Jensen,1973;Boulos, 2000).

في دراسة تناولت البروتينات الادخارية لبذور 24 نوعاً تابعاً لـ 10 أجناس من الفصيلة الأفوربية ومنها 4 أنواع تابعة لجنس الأفورب، تبين أنه لدى النوع *E. paralias* إجمالي البروتين غير القابل للذوبان نسبته 69.7% لكل بذرة (Lalonde*et al*.,1984).

تحتوي السوق والأوراق في النوع *E. pilulifera* على كميات ضئيلة من الصابونينات وكميات وفيرة من الفلافونوئيدات، وتوجد الغليكوزيدات بكميات أكبر في السوق مقارنة بالأوراق، كما يحتوي النبات على بروتين بنسبة 7.5% في الأوراق و2.0% في السوق، ومواد دهنية بنسبة 2.0% في الأوراق و6.0% في السوق وكربوهيدرات بنسبة 20% في الأوراق و11% في السوق (Essiett and Okoko, 2013).

بيَّن التحليل الكيميائي النباتي للمواد الخام (المسحوق الخام للسوق والأوراق) في النوع *E. helioscopia* أنّ المحتوى الكلي للمواد اللبيدية بلغ نسبة 2.4% في السوقو0.4% في الأوراق، وبلغ المحتوى الكلي للبروتين نسبة 0.91% في السوق و0.83% في الأوراق، أما المحتوي الكلي للكربوهيدرات فبلغ نسبة 76.44% في السوق و78.27% في الأوراق (Uzma*et al*., 2014).وبيَّن استخلاص البروتين من أعضاء إعاشية وتكاثرية لأنواع تابعة لعدة فصائل منها الأفوربية أنّ محتوى السوق من البروتين في النوع نفسه هو0.215مستخلص مغ/مل (Haseena *et al*., 2015)،

البروتينات (بنية وقيمة تصنيفية)

تُعد البروتينات المكوِّن الأساس للمادة الحية –البروتوبلاسما. هي مركبات عضوية معقدة، عالية الوزن الجزيئي. تدعى أصغر بنية للبروتين ببتيد Peptide، وترتيب هذه الببتيدات في سلاسل Polypeptide هي بمثابة البنية الأولية للبروتين (Stern *et al*., 2008, Strasburger, 1983).

يمكن لأي جزء إعاشي من النبات أن يكون مكاناً للادخار بشكل عام ومنهاالمدخرات البروتينية.

تتميز بعض الفصائل بغنى بذورها بالبروتينات الادخارية (Seed storage Protein)، بحيث باتت من أهم المصادر للبروتين النباتي اقتصادياً، ومنها الفصيلة الفولية Fabaceae والفصيلة الكلئية Poaceae(Jensen and Grumpe, 1983; Frohne und Jensen, 1973).

أمكن من خلال دراسة الرحلان الكهربائي لبروتينات البذور فيخمسة أنواع من نبات الفصة Medicago الحصول على نماذج مميزة لهذه الأنواع من خلال تفاوت الأوزان الجزيئية للعُصابات الناتجة (أزعط وبابوجيان،2012).

أظهرت نتائج دراسة خصائص المحتوى البروتيني في الأوراق والبذور من الناحية الكمية وبطريقة الرحلان الكهربائي لثلاثة أصناف لنبات القبار *Capparisspinosa*.L وجود تجانس بين هذه الأصناف وفروق معنوية مقبولة بحيث يمكن الاعتماد عليها كمعايير تصنيفية للتمييز بينها (بابوجيان، 2015).

ساهمت دراسة خصائص المحتوى البروتيني في الأوراق والبذور ضمن أفراد (Intraspecific) نبات الحمَّاض بإضافة فروقات معنوية عززت التباين بين النوع – أفراده ذات الأوراق الخضراء– وصنفه الأرجواني *Oxaliscorniculata* L. var. *atropurpurea* Planch. (بابوجيان، 2016).

يفتقر الثبت المرجعي لدراسات تناولت معيار المحتوى البروتيني لدى أنواع جنس الأفوربب واعتماده صفة تصنيفية لتحديد درجة القرابة بين الأنواع، سواءً لأجزاء إعاشية كالأوراق والسوق أو لأجزاء ادخارية كالبذور، لهذا تعد هذه الدراسة الأولى التي تناولت

هذا المعيار وأكدت أهميته وإمكانية الاستفادة منه معياراً إضافياً لتدعيم المعايير الأخرى كالمعيار المورفولوجي والتشريحي وخصائص عروق الأوراق .... وغيرها.

مواد البحث وطرائقه:

1. مواقع جمع العينات

جُمعت العينات النباتية في محافظتي دمشق واللاذقية خلال الأعوام 2016 و2017، كما تمّت الاستفادة من عينات معشبية تعود للأعوام 2013 و 2014(الجدول 1)، وتم الحصول على عينات الدراسة (الأوراق والبذور) من 25 فرد نباتي لكل نوعمن الأنواع المدروسة.

الجدول (1). الأنواع النباتية المدروسة وأماكن جمع العينات من جنس الأفوربEuphorbia.

المحافظة	مكان الجمع	النوع
دمشق، اللاذقية	الربوة، البرامكة، حديقة البطرني	*E. helioscopia*L.
دمشق، اللاذقية	الربوة، البرامكة، القصاع، حديقة جامعة تشرين	*E. peplus*L.
اللاذقية	اللاذقية شاليهات الكرنك، الشاطئ الأزرق	*E. paralias* L.
دمشق، اللاذقية	منطقة البرامكة، حديقة جامعة تشرين	*E. pilulifera*L.
دمشق، اللاذقية	حديقة جامعة دمشق، البرامكة، اللاذقية (الكورنيش)	*E. prostrata*Ait.

2. الطرائق والمواد:

2. 1. الاستخلاص، الترسيب والتنقية والمعايرة اللونية

اتُبع في تنقية البروتينات ومعايرتها كمياً ما يلي (عن بلشكوف، 1968):

– أُخِذ وزن (1 غ) من عينات جافة للأوراق

– طُحنت المادة النباتية في هاون مع قليل من الرمل السيليسي المعدّل حتى الحصول على مسحوق ناعم جداً. ومن ثم نُقلت إلى أنابيب بلاستيكية وغُسلت ضمن الأنابيب بالمحاليل التالية وفق التسلسل الآتي:

الإيتانول؛ مزيج من الإيتانول والأسيتون 1/1؛ الأسيتون؛ الإيتر الإيتيلي أو الأسيتون؛ الأسيتون؛ ثم أُضيف وعلى البارد مادة ثلاثي كلور حمض الخل وحُضِن في البراد لمدة عشرين دقيقة؛ ثلاثي كلور حمض الخل المبرد؛ الإيتانول؛ مزيج من الإيتانول والإيتر 1/1؛ الإيتر أو الأسيتون؛ الإيتانول.

أما تراكيز المحاليل المستعملة فكانت كالتالي: الإيتانول96%؛ الإيتر85%؛الأسيتون 85%؛ ثلاثي كلور حمض الخل 5%.

طريقة الغسل: أُضيف محلول الغسل إلى الأنابيب بحيث غَمر المقاطع المسحوقة ومن ثم حُرِّك محتوى الأنابيب جيداً –بوضعه على هزاز– وبعد ذلك ثفل بسرعة قدرها 4000 دورة/الثانية لمدة 10 دقائق ثم أُزيل المحلول بالإبانة.

بعد الانتهاء من عملية الغسيل بالمحاليل السابقة جُفف الراسب بالمجفف حرارته 26°م لمدة 24 ساعة.استُخدم محلول ماءات البوتاسيومKOH 10 % لحل البروتينات وذلك بصبه فوق راسب البروتينات (الحجم المضاف منه 2 – 3 ملم أو حتى الغمر) وحُرك جيداَ وحُضن في محم درجة حرارته30°ممدة ساعة وكُررت هذه العملية حتى انتهاء عملية الاستخلاص، أُخذت الرشاحة دائماً بطريقة الإبانة بعد التثفيل.

بعد جمع الرشاحات جرى توحيد حجوم العينات بإضافة مزيد من KOH 10% إليها حتى 50 مل. أُخِذ مقدار 1 مل من كل خلاصة وأُضيف لها 3 مل من محلول البيوريت، بعد التحريك الجيد تم تركها مدة 30 دقيقة في درجة حرارة المختبر، ثم

قيست الامتصاصية (OD) بوساطة جهاز مقياس الطيف (VIS 7220) وذلك عند طول الموجة 540(E 540 nm).

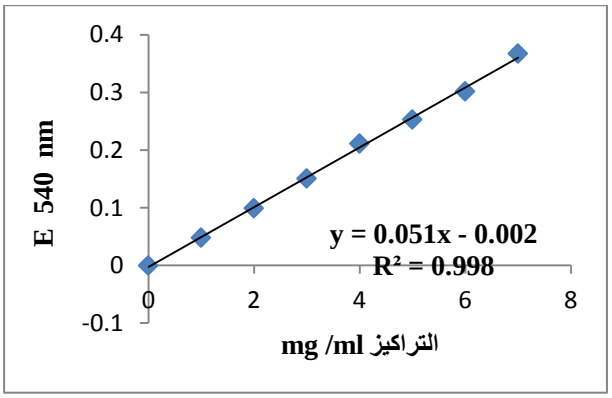
جرت المعايرة اللونية تبعاً للخطوات التالية:

– حُضرت السلسلة المعيارية بدءاً من محلول الكازئين (وزن 1غ من بودرة الكازئين وأُضيف إليه قليل من الماء المقطر للذوبان ثم وُضع على هزازة وبعد ذلك جرى تكملة المحلول إلى 100 مل ماء مقطر).

– رُسم الخط البياني للسلسلة كما هو موضح في الشكل1 .

– قِيست الامتصاصية في الخلاصات البروتينية مجهولة التركيز.

– حُسب تركيز البروتين في الخلاصات بالتعويض في معادلة الخط (y = 0.051x – 0.002) الظاهرة في الشكل 1، حيث يمثل المتغير y الامتصاصية والمتغير x التركيز.



الشكل 1 . المنحني المعياري لبروتين الكازئين بطريقة البيوريت

2 . 2 . الاستخلاص، الترسيب والتنقية والرحلان الكهربائي:

يستخدم الرحلان الكهربائي SDS-PAGE (صوديوم دوديسيل سلفات بولي أكريل أميد جيل الكتروفوريزير) لفصل البروتينات اعتماداً على سرعة انتقالها تبعاً لأوزانها الجزيئية على هلام بولي أكريل أميد أسيد تحت تأثير الحقل الكهربائي المطبق(Laemmli, 1970).

– أُخِذ وزن (1 غ) من البذور الجافة للأنواع المدروسة

– تم طحن هذه البذور مع 3 مل موقي فسفاتي مبرد (0.1 مول/ل، pH 7.8) ثم ثُفل المحلول مدة 15 دقيقة بسرعة 5000 دورة/دقيقة عند درجة الحرارة 4°م.

– مُزِج 32ميكروليتر من العينة مع 8 ميكروليتر من موقي العينة (SDS%10، 5% β–ميركابتوايتانول، 25%غليسيرول ، تريس –HCL 0.2 مول/ل pH-6.8، 0.01% أزرق بروم الفينول) بشكل جيد وسُخن على حمام مائي لمدة 5 دقائق.

– تم تحميل 40ميكروليتر من كل عينة على هلام بولي أكريل أسيد 5% هلام التركيز و12% هلام الفصل مع تيار ثابت 50 ميلي أمبير. بعد ترحيل البروتينات وُضعت الهلامة لمدة ساعتين في محلول الصباغ (500 ملغ من أزرق الكوماسي، 20 مل حمض خل ثلجي، 90 مل ميتانول ويتمم الحجم بالماء المقطر إلى 200 مل). أُزيل اللون باستخدام محلول إزالة الصباغ (350 مل ميتانول، 100 مل حمض خل ثلجي ويتمم الحجم بالماء المقطر إلى 1 ليتر).

أخيراً تم وضع الهلامة على صفيحة من البورسلان وقياس المسافة النسبية RF لرحلان العُصابة (وهي نسبة مسافة رحلان العُصابة إلى مسافة الرحلان الكلية). ومن

ثم حساب الأوزان الجزيئية لها وفق العلاقة اللوغاريتمية: Rf = 1n Mw (حيث n1 اللوغارتم الطبيعي و Mw الوزن الجزيئي للعُصابة).

2. 3. الدراسة الإحصائية

استُخدم الاختبار الإحصائي Testing of goodness of fit-chi square من البرنامج الإحصائي SPSS الإصدار 25 للحكم على مدى معنوية الفروق الخاصة بالنسب المئوية للبروتين، واستُخدم برنامج MVSP 3.2 بالاعتماد على قرينة "جاكارد" لحساب المسافة الوراثية بين الأنواع وعلى UPGMA Method.

3. النتائج والمناقشة

3. 1. نتائج المعايرة الكمية

تم حساب تركيز البروتين في الخلاصات التي جرى تحضيرها وذلك بالتعويض في معادلة الخط (y = 0.051x – 0.002). يبين الجدول(2) قيم المحتوى الكمي للبروتين (النسبة المئوية للبروتين) للأوراق في الأنواع المدروسة.

الجدول (2). النسب المئوية للبروتين في الأوراق في الأنواع المدروسة من جنس الأفوربEuphorbia

E. helioscopia	17.55%
E. peplus	19.06%
E. paralias	2.75%
E. pilulifera	11.37%
E. prostrata	17.84%

3. 1. 1. تقييم نتائج التحليل الكمي لبروتين الأوراق في الأنواع المدروسة:

تم تطبيق الاختبار الإحصائي Testing of goodness of fit-chi square– وهو تربيع لجودة التوافق بين النسب المئوية التي حصلنا عليها، بيّنت النتيجة وجود فروق إحصائية بين هذه النسب على الشكل التالي: قيمة إحصائية الاختبار Chi-square=13.536، ودلالة إحصائية p.value = 0.009<0.05.

يُلاحظ من الجدول (3) أن أقل نسبة بروتين موجودة في النوع *E. paralias* (2.75%)، بينما أعلى نسبة للبروتين وُجدت في النوع *E. Peplus* (19.06%).

يبين الجدول(3) نتائج دراسة الفروق الإحصائية بين نسب الأنواع الخمسة مثنى مثنى.

الجدول(3). الفروق بين الأنواع المدروسة بالنسبة لصفة المحتوى البروتيني للأوراق (NS الفروق غير معنوية، * الفروق معنوية)

	E. helioscopia	*E. peplus*	*E. paralias*	*E. pilulifera*	*E. prostrata*
E.helioscopia	-				
E. peplus	NS	-			
E. paralias	*	*	-		
E. pilulifera	NS	NS	*	-	
E. prostrata	NS	NS	*	NS	-

3. 2. نتائج الرحلان الكهربائي لبذور الأنواع المدروسة

3. 2. 1.صفات مورفولوجية وكمية للبذور

تتميز أنواع جنس الأفورب بثمار من نمط كبسولة، تشبه ثمرة منشقة إلى ثلاث ثميرات، كل ثميرة تحوي بذرة واحدة. وقد لوحظ أثناء عزل البذور من الثميرات خلو الكثير منها من البذور أو احتوائها على بذور غير ناضجة ولاسيما في النوع *E. paralias*، مقابل النضج شبه الكامل لثمار النوعين *E. pilulifera* و *E.prostrata* .

أبدت بذور الأنواع المدروسة تبايناً في الشكل وفي الوجوه: المنظر البطني، المنظر الجانبي، المنظر الظهري (اللوحة1)، كما تباينت أيضاً بالشكل الهندسي لمقطعها العرضي. يتضمن الجدول 4 وصفاً للبذور: شكل البذرة، وشكل المقطع العرضي للبذرة، والوجه البطني، والوجه الظهري، ووزن 100 بذرة عُزلت من الثمار وجُففت بدرجة حراة المختبر(الجدول 4).

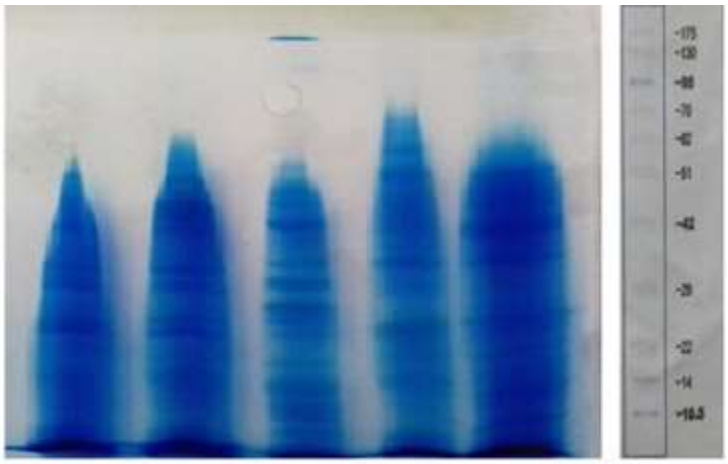
تُشكل هذه الخصائص إضافة معنوية لتدعيم الوصف المورفولوجي لبذور الأنواع المدروسة والموجود مرجعياً (Mouterde, 1970; Zohary, 1972؛حداد،2016).

الجدول (4). بعض من الصفات المورفولوجية لبذور الأنواع المدروسة من جنس الأفوربيا

النوع	شكل البذور	شكل المقطع العرضي للبذرة	الوجه البطني	الوجه الظهري	وزن 100 بذرة (mg)
E. helioscopia	بيضوية	شبه دائري (وجود تسطح بسيط للوجه البطني)	خط التحام (لا يشكل تلما)	خط الالتحام يساير تحدب الوجه	199
E. peplus	مضلعة بيضوية سداسية الوجوه	مضلع خماسي إلى سداسي	يتشكل من التحام ضلعين بزاوية حادة	محدب يتشكل من التحام ضلعين بزاوية منفرجة	64
E. paralias	بيضوية شبه دائرية	شبه دائري (وجود تسطح بسيط للوجه البطني)	خط الالتحام البطني شبه أخدودي، وجزؤه الأعلى عريض يشبه الدلتا	محدب مع بروز بسيط لخط الالتحام	462
E. pilulifera	رباعية الوجوه، قاعدتها مربعة وقمتها مدببة قليلاً	شبه مربع	خط الالتحام أخدودي سطحي متجانس على مساره	التحام بزاوية حادة، بارز قليلاً	7
E. prostrata	رباعية الوجوه، قاعدتها شبه مربعة وقمتها حادة	مربع قريب من المعين	خط الالتحام أخدودي سطحي متجانس على مساره	التحام بزاوية حادة إلى شبه منفرجة ، بارز قليلاً	9

3. 2. 2. نتائج المرتسم البروتيني الناتج عن الرحلان الكهربائي للبذور

يبين الشكل (2) نتائج الرحلان الكهربائي لبروتينات بذور الأنواع المدروسة من جنس *Euphorbia* L. على هلامة عديد الأكريلاميد.



الشكل (2). نتائج الرحلان الكهربائي لبروتينات بذور الأنواع المدروسة من جنس *Euphorbia* L. على هلامة عديد الأكريلاميد

جرى حساب المسافة التي قطعتها عُصابات البروتينات الخاصة بالبذور مقدرة بالسنتمتر. بمقاربة المسافات المقطوعة تم حساب الأوزان الجزيئية للعُصابات البروتينية وفق المعادلة:

Y= 163.67e-2.931X (معادلة الخط البياني لبروتين الماركر Marker Protein–) (الشكل 3).

E.prost-rata	*E. pilulifera*	*E.paralias*	*E. peplus*	*E.helioscopia*
		133.7		
	62		60	
	53.1		51	51
46.96			48.07	
42	44.94	45.87		44.94
39.15	38.25	39.15	37.47	38.25
30.52	30.52	31.24	31.24	31.9
29		29		
		23.24		22.17
	22	22	20.25	22
16.89	16.89	16.16	16.88	16.54
15.1	15.1	13.79	15.1	13.47
	14	12.3	13.47	10.5
		10.5	9.79	10
		10.26		

الشكل(3). الأوزان الجزيئية للعصابات محسوبة وفق المعادلة:
Y= 163.67e-2.931X
لبروتينات بذور الأنواع المدروسة من جنس *Euphorbia* L. على هلامة عديد الأكريلاميد

يمكننا تفسير نتائج الرحلان الكهربائي بناءاً على قراءة هذه المعطيات كما يلي:

- أبدت نتائج الرحلان الكهربائي لبذور الأنواع المدروسة من الأفورب تجانساً نسبياً فيما يخص تواجد عُصابات عديدات الببتيد، والعدد الأكبر من هذه العُصابات أقل من الوزن الجزيئي 51 kDa.
- تميَّز النوع *E.paralias* بأكبرعدد من العُصابات البروتينية الواضحة (12 عُصابة)، تراوحت أوزانها الجزيئية بين 10.26 kDa و45.87kDa وانفرد بعُصابة وزنها 133.7 kDaخلافاً لبقية الأنواع المدروسة.

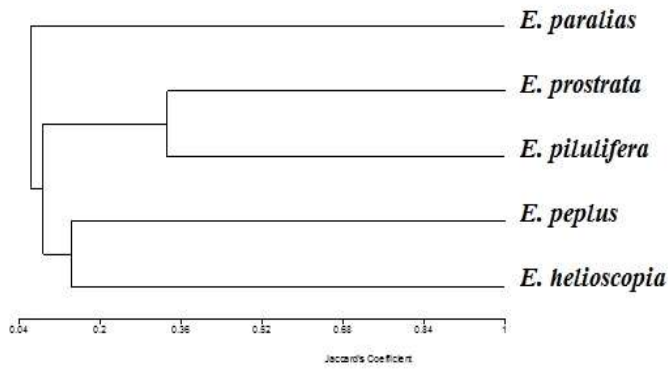
- يوضح الشكل أن حزمة العصابة البروتينية ذات الوزن الجزيئي 16kDa(تحديداً بين 16.16 kDa و16.89 kDa) هي الأكثر تجانساً بين الأنواع الخمسة المدروسة.

3. 2. 3. التحليل العنقودي وشجرة القرابة

لمعرفة علاقات القرابة بين الأنواع تم إجراء التحليل العنقودي cluster analysis لخصائص عُصابات البروتين للأنواع الخمسة (الوزن الجزيئي للعُصابات، عدد العُصابات، ووزن البذور) وذلك باستعمال برنامج MVSP 3.2 بالاعتماد على قرينة "جاكارد" لحساب المسافة الوراثية بين الأنواع وعلى UPGMA Method لفصلها إلى مجموعات. وقد ضُمّت المصفوفة 5 أسطر تمثل الأنواع الخمسة المدروسة و40 عموداً تمثل أربعين متغيراً (منها 33 متغيراً أفادت بهم الأوزان الجزيئية للبروتين في الأنواع المدروسة)، فكانت النتيجة كما في الجدول(5) والشكل (4).

الجدول (5). نتائج التحليل العنقودي باستخدام برنامج MVSP 3.2 (UPGMA method, Jaccard's Coefficient)، المعتمد على تحليل 40 متغير يخص 5 أنواع من جنس Euphorbia.

العقدة (Node)	المجموعة 1	المجموعة 2	نسبة التشابه	عدد عناصر المجموعة
1	*E. pilulifera*	*E. prostrata*	0.333	2
2	*E. helioscopia*	*E. peplus*	0.143	2
3	Node 2	Node 1	0.088	4
4	Node 3	*E. paralias*	0.065	5



الشكل (4). شجرة القرابة المعتمدة على المرتسم البروتيني لبذور الأنواع المدروسة كما يظهرها التحليل العنقودي (UPGMA Method) cluster analysis.

يبين كل من الجدول (5) والشكل (4) ما يلي:

انفصلت شجرة القرابة إلى تحت عنقودين: ضم الأول النوع *E. paralias* وضم الثاني بقية الأنواع بنسبة تشابه 0.065، وشمِل تحت العنقود الثاني مجموعتين، ضمت الأولى النوعين *E. helioscopia* و *E. peplus* بنسبة تشابه 0.143، وضمت الثانية النوعين *E. prostrata* و *E. pilulifera* بنسبة تشابه 0.333 .

- فُرزت الأنواع المدروسة بمستوى العقدة 4 إلى مجموعتين: ضمّت المجموعة الأولى فقط النوع *E, paralias*، وشكلت الأنواع الأربعة الباقية المجموعة الثانية، بنسبة تشابه 0.065.
- شملت المجموعة الثانية تحت عنقودين، ضم تحت العنقود الأول الأنواع *E. peplus, E.helioscopia*، بنسبة تشابه 0.143، وضم تحت العنقود الثاني النوعين *E. prostrate* و *E. pilulifera* بنسبة تشابه 0.333 .

- أوضحت العقدة 1 أعلى درجة تشابه وذلك بين النوعين*E. Prostrate* و *E. pilulifera* بنسبة تشابه 0.333 .
- لدى مقارنة شجرة النسب هذه مع شجرة النسب التي تم استقراؤها من دراسة خصائص مورفولوجيا الأوراق وخصائص عروق الأوراق (بابوجيان وحداد، 2016) يلاحظ أن النوعين *E. prostrate* و *E. pilulifera* انتميا أيضاً لعقدة واحدة وبنسبة تشابه 0.381، مما يعني وجود تقارب تصنيفي واضح يعكس تقارب وراثي بين هذين النوعين.

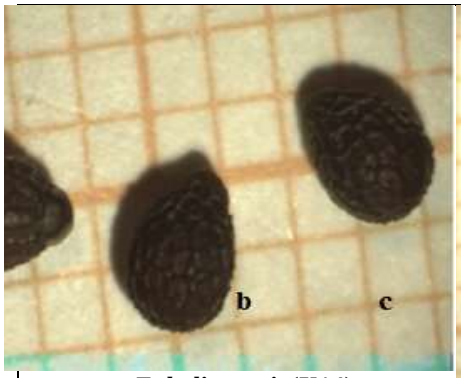
التوصيات:

- متابعة القراءات التصنيفية لأنواع جنس *Euphorbia*باستخدام المعيار الكيميائي الحيوي وبخاصة المحتوى البروتيني للبذور.
- توسيع الدراسة لتشمل جميع أنواع جنس *Euphorbia* المنتشرة في الفلورا السورية.

اللوحة 1. أشكال البذور لدى الأنواع المدروسة من نبات *Euphorbia*

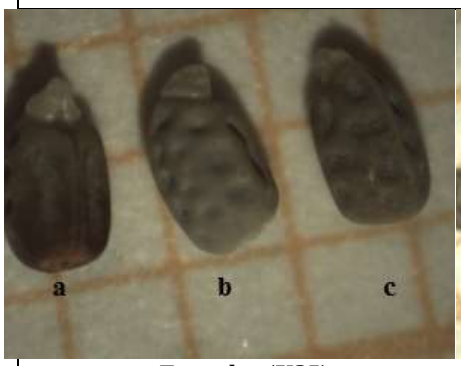
يمين: صورة لعدد من البذور؛ يسار: صورة لرؤية وجوه البذرة

(a- وجه بطني؛ b-منظر جانبي؛ c- وجه ظهري)



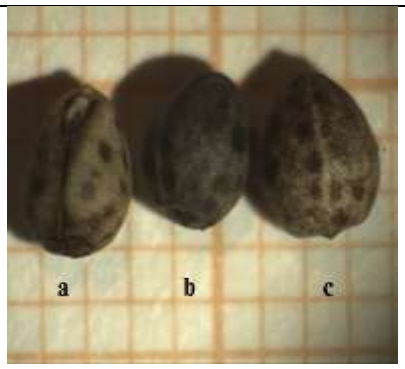
***E. helioscopia*(X14)**

***E. helioscopia*(X10)**



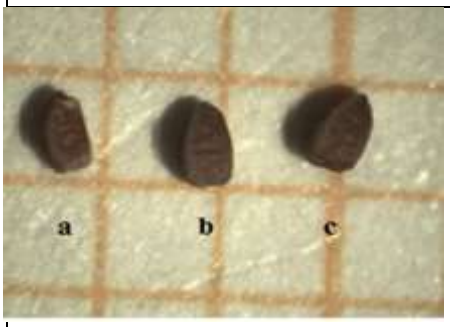
***E. peplus* (X25)**

***E. peplus*(X10)**



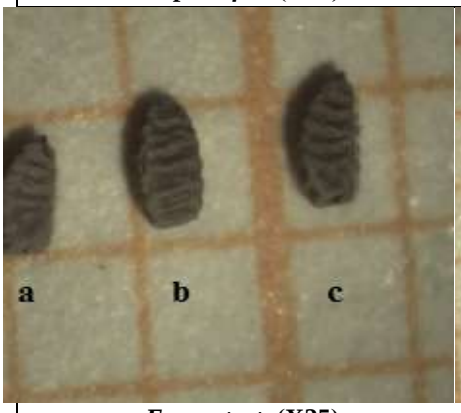
***E. paralias*(X12)**

***E. paralias*(X8)**



***E. pilulifera*(X25)**

***E. pilulifera*(X14)**



***E. prostrata*(X25)**

***E. prostrata*(X15)**

المراجع References:

- أزعط أسيل وبابوجيان، جورجيت، 2012. دراسة المحتوى البروتيني لبذور بعض أنواع الفصة Medicago المنتشرة في القنيطرة. مجلة جامعة دمشق للعلوم الأساسية، المجلد (28)،العدد الثاني، 461 – 474.
- بابوجيان، جورجيت، 2015. مساهمة في تحديد المراتب التصنيفية لأصناف جنس القبار في سورية بالاعتماد على خصائص المحتوى البروتيني. مجلة جامعة دمشق للعلوم الأساسية ،المجلد(31)، العدد الأول، 71– 88.
- بابوجيان، جورجيت، 2016. خصائص تصنيفية مميِّزة للصنف *Oxalis corniculata* L. var. *atropurpurea* Planchon من الفصيلة الحمَّاضية Oxalidaceae. مجلة جامعة دمشق للعلوم الأساسية ،المجلد (32)، العدد الثاني، 141 – 155.
- –بابوجيان، جورجيت و حداد، دينا، 2016. استعمال خصائص الأوراق في تحديد درجة القرابة التصنيفية لأنواع من جنس الأفورب Euphorbia L.. مجلة جامعة دمشق للعلوم الأساسية ،رقم السجل 898 ، 22 ص.
- –بلشكوف، 1968. كتاب العملي في بيوكيمياء النبات، مؤسسة العلوم، موسكو.
- حداد، دينا، 2016. مقارنة الصفات الشكلية لأنواع من جنس Euphorbia (Euphorbiaceae) وإضافة E. serpensKunth للفلورا السورية. مجلة جامعة تشرين للبحوث والدراسات العلمية ،المجلد (38) العدد (3)، 19 ص.

- -Angiosperm Phylogeny Group, 2016. Euphorbia L. In: APG IV system – Wikipediahttps://en.wikipedia.org/wiki/APG_IV_system, 17. 1. 2017
- -Boulos, L., 2000. Flora of Egypt (GERANIACEAE - BORAGINACEAE). ALHadara Publishing, Cairo, Egypt, Vol. two, 352 p.
- -Essiett, U. A. and Okoko, A. I., 2013. Comparative Nutritional and Phytochemical screening of the Leaves and Stems of AcalyphafimbriataSchum. &Thonn. AndEuphorbia hirta Linn. Bull. Env.Pharmacol. Life Sci., Vol 2 (4), pp. 38-44
- Frohne, D. und Jensen, U., 1973.Systematik des Pflanzenreichs.Verlag Jena.
- HaseenaGulzar, JaweriaGul and Gul Hassan, 2015.Protein Profiles of Phytoagglutinins from Indigenous Species of Euphorbiaceae, Leguminosae
  And Moraceae From Pakistan. Pak. J. Bot., 47(SI): 119-126.
- -Jensen, U. and Grumpe, B.,1983,Seed storage proteins. In Proteins and nucleic
  acids in plant systematics, Springer.
- Laemmli, U. K., 1970. Cleavage of structural proteins during the assembly of the
- head of bacteriophage T4. Nature, 227, pp. 680-685.
- - Lalonde, L., Fountain, D. W., Kermode, A., Ouellette, F. B., Scott, K., Bewley, J.D.,andGifford, D. J., 1984. A comparative study of the insoluble storage proteins and thelectins ofseeds of the Euphorbiaceae. Can. J. Bot. 62: 1671-167

- Mouterde, P.,1970, Nouvelle Flora du Liban et de la Syria. Tom II, Dar el Machreq,Editeurs, Bayreuth, Liban.
- Stern,R. K., *et al*, 2008.Introductory Plant Biology.Ed.11, McGraw Hill.
- Strasburger, E.,1983, Lehrbuch der Botanik. 32 Aufl.,VEB Gustav Fischer Verlag Jena.
- UzmaSaleem, Khalid Hussain, Mobasher Ahmad, NadeemIrfanBukhari, Arif Malik and Bashir Ahmad, May 2014. Physicochemical and phytochemical analysis of *Euphorbia helioscopia* (L.), Pak. J. Pharm. Sci., Vol.27, No.3, pp.577-585.
- Zohary, M.,1972. Flora Palaestina. Part two – Text, Jerusalem, pp. 269-286.