كليـــة العلـــوم

قســـم النبات

دراسات تصنيفية وجزيئية على النتراريا ريتيوزا و بعض أنواع مختارة من الفصيلة الزيجوفيلية في مصر

رسالة مقدمة للحصول على درجة دكتوراه الفلسفة في العلوم

(نبات – تصنيف جزيئي)

من

أحمد عيسى عباس الشباسي

(بكالوريوس علوم ٢٠٠٢ – ماجستير علوم ٢٠٠٨)

تحت إشراف

أ.د./ هدى محمد صبحي بركات

أستاذ الخلية و الوراثة

قسم النبات- كلية العلوم- جامعة عين شمس

أ.د/ محمد السيد طنطاوي خليفه

أستاذ تصنيف النباتات الزهرية والفلورا

و رئيس قسم النبات السابق

قسم النبات- كلية العلوم- جامعة عين شمس

د/ هالة محمد عبده الأطروش

مدرس البيولوجيا الجزيئية

قسم النبات-كلية العلوم-جامعة عين شمس

٢٠١٥

Faculty of Science

Botany Department

Taxonomic and Molecular studies on *Nitraria retusa* (Forssk) Asch. and selected species of Zygophyllaceae in Egypt.

A thesis Submitted for the Degree of Doctor of Philosophy of Science in Botany (Molecular taxonomy).

By

Ahmed Eesa Abas El-Shabasy

(B.Sc. 2002, M.Sc. 2008)

Supervisors

Prof. Dr. Hoda M. Barakat
Professor of Plant Cytology & Genetics
Botany Dept., Faculty of Science
Ain Shams University

Prof. Dr. Mohamed E. Tantawy
Professor of Plant Taxonomy & Flora
Ex-Head of Botany Department
Botany Dept., Faculty of Science
Ain Shams University

Dr. Hala M. El-Atroush
Lecturer of Molecular Biology
Dept. of Botany, Faculty of Science
Ain Shams University

2015

Approval sheet

Title: Taxonomic and molecular studies on *Nitraria retusa* (Forssk) Asch. and selected species of Zygophyllaceae in Egypt.

Degree: Doctor of Philosophy of Science in Botany (Molecular taxonomy).

Student Name: Ahmed Eesa Abas El-Shabasy

Examination committee

Prof. Dr. Abdel Fatah Badr. Faculty of Science, Helwan University.

Prof. Dr. Mohamed Hesham Lotfy. Faculty of Education Ain Shams University

Prof. Dr. Huda Mohamed Barakat. Faculty of Science, Ain Shams University

Prof. Dr. Mohamed El-Sayed Tantawy. Faculty of Science, Ain Shams University

Prof. Dr. Maher M. Shehata

Head of Botany Department

In the Name of GOD, Most Gracious Most Merciful

It is He who produces gardens with trellises and without, and dates and tilth with produce all kinds, and olives and pomegranates, similar in kind and different in variety: eat of their fruit in their season, but render the dues that are proper on the day that the harvest is gathered but waste not by excess: for God loveth not the wasters.

An'Am (141)

The Holy Quran

Text translation and commentary

A. Yousuf Ali

Volume one

1938

DECLARATION

This thesis has not been previously submitted for a degree at this or any other university, and is the original work of the author.

Ahmed Eesa El-Shabasy

DEDICATION

I dedicate this work to my wife and my sons; Moustafa and Yassin.

ACKNOWLEDGEMENT

I would like to express my sincere gratitude to **Prof. Dr. Hoda M. Barakat** (Professor of Plant Cytology and Genetics, Botany Department, Faculty of Science, Ain Shams University), **Prof. Dr. Mohamed E. Tantawy** (Professor of Plant Taxonomy and Flora, Botany Department, Faculty of Science, Ain Shams University) and **Dr. Hala M. El-Atroush** (Lecturer of Molecular Biology, Botany Department, Faculty of Science, Ain Shams University) for suggesting the research problem, continuous help, encouragement and valuable instructions during the field work, keen supervision and critical revision.

Many thanks with great indebtedness to **Prof. Dr. Mohamed E. Tantawy** (ex-Head of Botany Department, Faculty of Science, Ain Shams University) for his hearted support and kind advice.

My sincere thanks to **Prof. Dr. Maher M. Shehata** (Head of Botany Department, Faculty of Science, Ain Shams University) for his indispensable efforts.

I would like to thank **Dr. Wael T. Kassem** (Ass. Professor of Plant Taxonomy, Botany Department, Faculty of Science, Azhar University) and **Mr. Ahmed Ismael** (Demonstrator, Faculty of Dentistry, International Egypt Univ.) for their kind help in collection of studied species.

Special thanks to Dr. Mohamed Moawed (Lect. of Plant Taxonomy, Botany Department Faculty of Science, Ain Shams University) for his effort to teach me data analysis using the NTsys-pc software.

Professor of Plant Taxonomy and Flora, Botany Department, Faculty of Science, Ain Shams University

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

هُوَ الَّذِي أَنشَأَ جَنَّاتٍ مَّعْرُوشَاتٍ وَغَيْرَ مَعْرُوشَاتٍ وَالنَّخْلَ وَالزَّرْعَ مُخْتَلِفًا أُكُلُهُ وَالزَّيْتُونَ وَالرُّمَّانَ مُتَشَابِهًا وَغَيْرَ مُتَشَابِهٍ كُلُواْ مِن ثَمَرِهِ إِذَا أَثْمَرَ وَآتُواْ حَقَّهُ يَوْمَ حَصَادِهِ وَلاَ تُسْرِفُواْ إِنَّهُ لاَ يُحِبُّ الْمُسْرِفِينَ

سورة الأنعام

الآية رقم (١٤١)

حَدَّثَنَا قُتَيْبَةُ بْنُ سَعِيدٍ حَدَّثَنَا يَعْقُوبُ يَعْنِي ابْنَ عَبْدِ الرَّحْمَنِ عَنْ سُهَيْلٍ عَنْ أَبِيهِ عَنْ أَبِي هُرَيْرَةَ ﴿أَنَّ رَسُولَ اللَّهِ صَلَّى اللَّهُ عَلَيْهِ وَسَلَّمَ قَالَ لَا تَقُومُ السَّاعَةُ حَتَّى يُقَاتِلَ الْمُسْلِمُونَ الْيَهُودَ فَيَقْتُلُهُمْ الْمُسْلِمُونَ حَتَّى يَخْتَبِئَ الْيَهُودِيُّ مِنْ وَرَاءِ الْحَجَرِ وَالشَّجَرِ فَيَقُولُ الْحَجَرُ أَوْ الشَّجَرُ يَا مُسْلِمُ يَا عَبْدَ اللَّهِ هَذَا يَهُودِيٌّ خَلْفِي فَتَعَالَ فَاقْتُلْهُ إِلَّا الْغَرْقَدَ فَإِنَّهُ مِنْ شَجَرِ الْيَهُودِ﴾

أَخْرَجَهُ مُسْلِمٌ

جامعة عين شمس
كلية العلوم
قســـــم النبات

صفحة الموافقة على الرسالة

اسم الطالب: أحمد عيسى عباس الشباسي

عنوان الرسالة: دراسات تصنيفية وجزيئية على النتراريا ريتيوزا وبعض أنواع مختارة من الفصيلة الزيجوفيلية في مصر

اسم الدرجة: دكتوراه الفلسفة في العلوم (نبات – تصنيف جزيئي)

لجنة الممتحنين

أ.د. عبد الفتاح بدر محمد بدر
أستاذ الخلية والوراثة قسم النبات كلية العلوم – جامعة حلوان

أ.د. محمد هشام عبد الحميد لطفي
أستاذ تصنيف النباتات الزهرية والفلورا قسم العلوم البيولوجية والجيولوجية كلية التربية – جامعة عين شمس

أ.د./ هدى محمد صبحي بركات
أستاذ الخلية و الوراثة قسم النبات- كلية العلوم- جامعة عين شمس

أ.د/ محمد السيد طنطاوي خليفه
أستاذ تصنيف النباتات الزهرية والفلورا ورئيس قسم النبات السابق قسم النبات-كلية العلوم جامعة عين شمس

تاريخ البحث / / ٢٠١٥م

موافقة الدراسات العليا **موافقة مجلس الكلية** **موافقة مجلس الجامعة**

جامعة عين شمس
كلية العلوم
قســـــم النبات

صفحة العنوان

اسم الطالب: أحمد عيسى عباس الشباسي

الدرجة العلمية: دكتوراه الفلسفة في العلوم – نبات

القسم: النبات

الكلية: العلوم

الجامعة: عين شمس

سنة التخرج: ٢٠٠٢

سنة المنح: ٢٠١٥

Table of Contents

Contents	Page
1. Preface	**1**
2. Historical Introduction	**8**
2.1. Palynological studies	**8**
2.2. Molecular studies	**15**
2.3. Biochemical studies (Protein analysis)	**25**
2.4. Systematy	**31**
2.5. Species Morphology	**38**
3. Material and Methods	**45**
3.1. Plant Material	**45**
3.2. Methods	**48**
3.2.1. Palynological studies	**48**
3.2.1.a. Scanning electron microscope (SEM) studies	**48**
3.2.1.b. Scoring of data and cluster analysis	**50**
3.2.2. Molecular studies	**51**
3.2.2.a. Genomic DNA extraction and quantification	**51**
• Solutions and buffers	**51**
• DNA extraction	**52**
• Electrophoretic separation on agarose gel	**55**
3.2.2.b. Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD)	**56**
3.2.2.c. Inter Simple Sequence Repeat (ISSR)	**59**
3.2.2.d. Genetic diversity analysis	**61**

3.2.2.e. Data analysis	**62**
3.2.3. Biochemical studies (Protein analysis)	**64**
• SDS-PAGE of soluble seed storage proteins	**64**
• Solutions and buffers	**64**
• Extraction of protein	**66**
• Polyacrylamide gel preparation	**66**
• Electrophoresis of protein	**67**
• Scoring of data and cluster analysis	**68**
3.3. Combined data analysis	**69**
4. Results	
4.1. Palynological studies	**70**
• **Genus (1): *Fagonia* L.**	
1. *F. arabica* L.	**70**
2. *F. cretica* L.	**72**
• **Genus (2): *Nitraria* (Forssk) Aschers**	
3. *N. retusa* (Forssk) Aschers.	**74**
• **Genus (3): *Peganum* L.**	
4. *Peganum harmala* L.	**76**
• **Genus (4): *Tribulus* L.**	
5. *Tribulus terrestis* L. v. *robustus* Boiss.	**78**
• **Genus (5): *Zygophyllum* L.**	
6. *Zygophyllum album* L.	**80**
7. *Z. coccenium* L.	**82**

8. *Z. decumbens* Del.	**84**
9. *Z. simplex* L.	**86**
4.1.1. The quantitative characters of pollen morphology	**94**
4.1.2. The qualitative characters of pollen morphology	**96**
4.1.3. Pollen grains data analysis	**99**
4.2. Molecular studies	**102**
4.2.1. Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD)	**102**
• Detection of RAPD products via agarose gel electrophoresis	**102**
• Polymorphism as detected by RAPD analysis	**112**
• Species identification by unique RAPD markers	**114**
• Genetic relationships among the studied species as revealed by RAPD marker	**118**
• Cluster analysis as revealed by RAPDs	**118**
4.2.2. Inter simple sequence repeat (ISSR)	**121**
• Detection of ISSR products via agarose gel electrophoresis	**121**
• Polymorphism as detected by ISSR analysis	**124**
• Species identification by unique ISSR markers	**126**
• Genetic relationships among the studied species as revealed by ISSR marker	**128**
• Cluster analysis as revealed by ISSRs	**129**
4.2.3. Collective RAPD and ISSR analysis	**131**
• Cluster analysis as revealed by collective RAPD and ISSR analysis	**132**