جمهورية العراق

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

جامعة ديالى / كلية الزراعة

قسم البستنة وهندسة الحدائق

الدراسة الجزيئية ودور الثيادوزورون والبورون والتربتوفان في بعض صفات النمو والحاصل الكمية والنوعية والخزنية لثمار المشمش صنف عموشة

اطروحة تقدمت بها

لمى بشير حسين العباسي

الى مجلس كلية الزراعة / جامعة ديالى

وهي جزء من متطلبات درجة دكتوراه فلسفة في العلوم الزراعية / البستنة وهندسة الحدائق (فاكهة وخضر)

بإشراف

أ.د. علي محمد عبد الحياني **أ.د. غالب ناصر حسين الشمري**

1446 هـ 2024 م

leaves and reduced fruit drop (second season only) and fruit size. The interaction between thidiazuron at a concentration of 20 mg L^{-1} and tryptophan at a concentration of 100 mg L^{-1} led to an increase in the potassium content of the leaves and the acidity of the fruit juice.

Storage experiment:

A factorial experiment was designed using a completely randomized design (C.R.D.) on apricot fruits, Amousha variety, with three replicates in one of the private cold stores in Diyala Governorate during the 2022 season, where the fruits taken from the two best treatments of the field experiment were stored as the first factor. The fruits were immersed before storage with calcium chloride at a concentration of 5% and potassium silicate at a concentration of 2 ml L^{-1}, in addition to the non-immersion treatment (comparison) as the second factor. After that, the fruits were packed in plastic containers, and all treatments were stored at a temperature of 0 + 0.5 C and relative humidity (85 - 90%). The fruits were stored for 30 days, after which measurements were taken for the studied traits. The results were analyzed using the SAS program, and the differences between the averages were compared according to Duncan's multiple range test at a probability level of 0.05. The most important results can be summarized as follows:

- The spraying treatment with Thidiazuron + Boron + Tryptophan reduced the percentage of weight loss and spoilage after 30 days of cold storage and gave the highest percentage of total soluble solids, carotene pigment content in the fruit peel, total sugars, and the highest respiration rate and vital heat.
- The calcium chloride immersion treatment outperformed with the lowest percentage of total spoilage, the highest content of vitamin C, and the lowest rate of respiration rate and vital heat, while the potassium silicate immersion treatments gave the lowest percentage of weight loss and total fruit spoilage

and the highest percentage of total soluble solids, total protein, carotene, and vitamin C content of the fruit peel, total sugars, and fruit quality.

- The interaction between the spraying treatment with Thidiazuron + Boron + Tryptophan and immersion in calcium chloride was superior in giving the lowest percentage of total damage and the highest content of protein and vitamin C and reduced the rate of respiration and vital temperature, while the interaction between Thidiazuron + Boron + Tryptophan and immersion in potassium silicate gave the lowest percentage of weight loss and the highest percentage of total soluble solids and the highest content of protein, vitamin C, and total sugars and the highest quality of fruits.

التجربة الجزيئية

1-المقدمة

ينتمي المشمش الى فصيلة prunoideae التابعة للعائلة الوردية وانتشر المشمش في جميع أنحاء العالم عبر ثلاثة طرائق انتشار: شرق آسيا إلى اليابان، ومنطقة القوقاز الإيرانية، وأوروبا القارية (Bourguiba واخرون، 2020) ومن المنطقة الإيرانية القوقازية وصلت إلى بلدان البحر الأبيض المتوسط عبر طريقين ثانويين، جنوب أوروبا وشمال أفريقيا، مما أدى إلى نشوء ثلاث مجموعات رئيسة للمشمش في جميع أنحاء حوض البحر الأبيض المتوسط: "القوقاز الإيراني"، و"حوض شمال البحر الأبيض المتوسط". و"حوض جنوب البحر الأبيض المتوسط" (Bourguiba واخرون، 2012)، نشأت جميع أصناف المشمش المزروعة في العالم من نوع واحد فقط هو *Prunus armeniaca L.* (Hormaza واخرون، 2007)،

يعتمد اكثار النباتات على موارد الأصول الوراثية واسعة النطاق إذ أحدث علم الجينيوم ثورة في طرائق التربية، وهناك العديد من التقنيات التي يجري تطويرها وتحسينها لتربية النباتات والتي تنعكس على النمط الظاهري فضلا عن دراسة العلاقة بين النمط الظاهري والنمط الوراثي (Geuna واخرون، 2024)، مع زيادة عدد الأصناف يصبح التمييز بينها على أساس المؤشرات المظهرية اكثر صعوبة اذ تتأثر بالعديد من العوامل مثل نوعية الثمار والامراض التي تصيب الثمار والأوراق فضلا عن تأثرها بالعوامل البيئية وعوامل خدمة البساتين مما يجعل هذه العوامل غير دقيقة مما دعى الباحثين الى إيجاد مؤشرات اكثر دقة وكفاءة في التصنيف، لذا كانت الحاجة الى اتباع طرائق جديدة كإجراء البصمة الوراثية للنباتات، فأنتقلت البحوث في الآونة الأخيرة لاعتماده أداة قوية لا تتأثر بالظروف التي تتأثر بها المؤشرات المظهرية وفيها نسبة ثبات عالية (Jaccoud واخرون، 2001)

هدفت هذه الدراسة الى انشاء مجمع وراثي للاصناف المزروعة في محافظة ديالى بغية الحفاظ عليها وتثبيت البصمة الوراثية لها وتحديد القرابة الوراثية بين الأصناف شركة، وزاغينيا، قيسي وعموشة باستعمال تقانة DNA-Sequence Markers.

2 – مراجعة المصادر

2-1: تفاعل PCR (Polymerase Chain Reaction)

تفاعل البلمرة المتسلسل PCR هو احد التقنيات العلمية في البيولوجيا الجزيئية لتضخيم نسخة واحدة او بضع نسخ من قطعة من الحمض النووي خارج الجسم الحي مما ينتج الاف الى ملايين النسخ من تسلسل DNA معين، اذ تسمح هذه التقنية بتضخيم كمية صغيرة من DNA عدة مرات بطريقة أُسية مع توفير المزيد من مكونات DNA، كما تعد تقنية شائعة تستخدم في مختبرات البحوث الطبية والبيولوجية لمجموعة متنوعة من التطبيقات مثل الكشف عن الامراض الوراثية وتحديد البصمات الوراثية، استنساخ الجينات وحساب الحمض النووي (Baretlett و Stirling، 2003 ، Rahman واخرون، 2013)

2-2: مؤشرات تتابع شريط DNA (DNA Sequence Marker)

تلعب التتابعات النيوكليوتيدية لشريط DNA دوراً مهماً في تحديد هوية النبات ودرجة القرابة الوراثية له، وهي احدى الطرائق التحليلية السريعة والموثوقة في تحديد جينيوم النبات والتي تعتمد على تقنية PCR، وهي تمثل تسلسلاً لمنطقة معينة من الجينيوم مثل منطقة ITS1 و ITS2 (Internal Transcribed Spacer) 5.8s و18s و25s الموجودة على احد الكروموسومات او عدد منها والتي توجد على مناطق معينة من rRna تكون غير مشفرة ولكن لها دور في ترجمة البروتينات وبنائها (Gillespie واخرون، 2006)، وقد أجريت دراسات عديدة لأنواع نباتية مختلفة، اذ نفذت دراسة جزيئية من قبل المياحي (2018) على أشجار الرمان *Punica granatum*، جرى فيها تحديد البصمة الوراثية وتمييز 10 طرز الرمان المحلي، وجمعت من 7 مواقع تمثل اهم مناطق زراعة وإنتاج الرمان في العراق، استعملت تقانة ISSR لتحديد العلاقات الوراثية بين طرز

الرمان المدروسة (10 طرز) باستعمال 10 بادئة، وقد تراوحت درجة التشابه بين هذه الطرز من 64–97%، وامكن تقسيم الطرز المدروسة الى مجموعات وفق درجة القرابة الوراثية. ومنها ما قام به Sevindik و Murthan (2023) بدراسة على سبعة أنماط وراثية من الكمثرى (*P. communis*) باستخدام الجين DNA rbcL وأُنشِئت الشجرة الوراثية لتحديد العلاقات بين الأنماط الجينية لهذا الجنس وتراوحت متواليات cpDNA rbcL المضخمة بين 546 و551 نيوكليوتيدة. كما اجرت Abdulrahman واخرون (2023) تحليلا وراثيا لجنس *prunus* باستخدام مؤشرات جينية كتوصيف بايولوجي عضوي كيميائي لتحديد التنوع الجيني لانواع مختلفة من هذا الجنس في العراق بالاعتماد على مؤشرات جزيئية DNA ومؤشرات البلاستيدات الخضراء وجمع 12 نوعا من اللوز (*P. amygdalus*) واختبرت 10 علامات مناطق جينية على كل من DNA و DNA البلاستيدات الخضراء باستخدام PCR مع 10 بادئات منطقة الجينات وتحليل التتابع ل matK وان أسماء منطقة الجينات المستخدمة هي ITS (منطقة ترميز 5.8s + ITS2 + ITS1) ، rb116، matK، rbcL، pbSM+trnD، trnk–rps16، rp136–infArps8، atpB–rbcL ، trnL–trnF، psbA–trnH ونتيجة لذلك تم الحصول على خمسة أشجار مختلفة من النشوء والتطور من التسلسل الجيني للعينات.

3- المواد وطرائق العمل:

3-1: جمع العينات النباتية

جمعت العينات النباتية من الأصناف (زاغينيا، شركة (أبو الزنجيل)، عموشة والقيسي) اذ كانت الأصناف زاغينيا، شركة (أبو الزنجيل)، عموشة مزروعة في منطقة الكصيرين وصنف القيسي مزروع في منطقة دلي عباس التابعتين لقضاء الخالص/ محافظة ديالى، اخذت نموات ورقية حديثة من كل نبات ثم نظفت وغسلت بالماء المقطر وعقمت بالكحول 70% وحفظت في المجمدة عند درجة حرارة $^{-}85$ مْ لحين استخدامها لاستخلاص DNA.

*اجري العمل المختبري في مختبرات شركة وهج الدنا في محافظة بغداد.

جدول 1: المحاليل المستخدمة لاستخلاص DNA

ZR Plant/Seed DNA MiniPrep™ (Kit Size)	D6020 (50 preps.)	Storage Temperature
ZR BashingBead™ Lysis Tubes	50	Room Temp.
Lysis Solution	40 ml	Room Temp.
Plant/Seed DNA Binding Buffer*	100 ml	Room Temp.
DNA Pre-Wash Buffer**	15 ml	Room Temp.
Plant/Seed DNA Wash Buffer	50 ml	Room Temp.
DNA Elution Buffer	10 ml	Room Temp.
Zymo-Spin™ IV Spin Filters (Orange Tops)	50	Room Temp.
Zymo-Spin™ IV-HRC Spin Filters (Green Tops)	50	Room Temp.
Zymo-Spin™ IIC Columns	50	Room Temp.
Collection Tubes	200	Room Temp.
Instruction Manual	1	-

3-2: استخلاص DNA

استخلصت المادة الوراثية (DNA) من العينات قيد الدراسة وفقاً للطريقة الموصوفة من قبل Vogelstein واخرون (1979) مع اجراء بعض التعديلات الطفيفة عليها وكما موضح بالخطوات الآتية :

1- اضيف 150 ملغم من عينة الاجزاء النباتية الى انبوب تحليل ZR Bashing Bead™ واضيف 750 مايكرولتر من محلول التحليل الى الانبوب.

2- وضع الانبوب في جهاز دوران بمجموعة حامل انبوب سعة 2 مل

3- اجريت عملية الطرد المركزي لأنبوب التحلل ZR Bashing Bead™ بجهاز طرد مركزي دقيق microcentrifuge بقوة 10000 دورة لمدة دقيقة.

4- نقل 400 مايكرولتر من المادة الطافية الى مرشح الدوران Zymo-spin™ IV (الجزء العلوي برتقالي) في انبوب التجميع وعمل طرد مركزي عند 7000 دورة في الدقيقة.

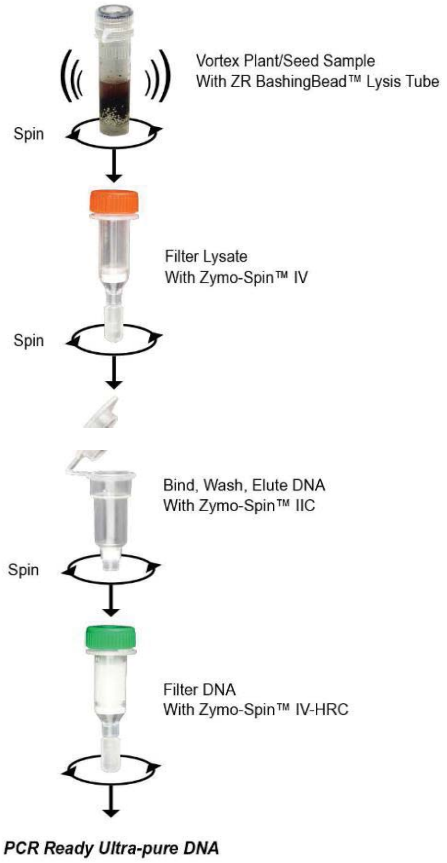
5- اضيف 1200 مايكرولتر من منظم حزم DNA (DNA Binding Buffer) الى المرشح الموجود في في انبوب التجميع من الخطوة الرابعة وخلطه.

6- نقل 800 مايكرولتر من الخليط الناتج في الخطوة 5 الى عمود Zymo-spin™ IIC في انبوب تجميع وعمل طرد مركزي عند 10000 X غم لمدة دقيقة.

7- اهملت المادة الطافية من خلال انبوب التجميع وتكرر الخطوة السادسة.

8- اضيف 200 مايكرولتر من منظم DNA pre-wash الى عمود الى Zymo-spin™ IIC في انبوب تجميع جديد وعمل طرد مركزي عند 10000 x غم لمدة دقيقة واحدة.

9- اضيف 500 مايكرولتر من محلول غسل الى عمود Zymo-spin™ IIC وعمل طرد مركزي عند 10000 x غم لمدة دقيقة واحدة.



شكل3: يوضح خطوات استخلاص DNA

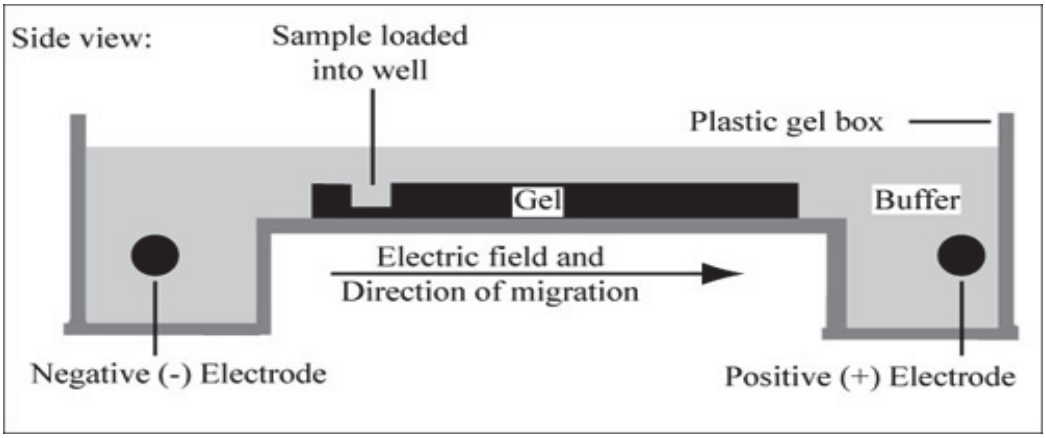
10- نقل عمود Zymo-spin™ IIC الى انبوب طرد مركزي دقيق 1.5 مل ثم يتم اضافة 50 – 100 مايكرولتر من محلول شطف DNA العازلة مباشرة الى انبوب الحشوة وعمل طرد مركزي عند 10000 x غم لمدة 30 ثانية لاستخراج DNA.

11- نقل DNA المعزول من الخطوة 10 الى مرشح Zymo-spin™ IV- HRC spin (القمة خضراء) في انبوب طرد مركزي نظيف سعة 1.5 مل وعمل طرد مركزي له بدقة 800 x

غم لمدة دقيقة واحدة، وعندها اصبح DNA المرشح جاهزا لتطبيقات PCR والتطبيقات الاخرى.

3-3: الترحيل الكهربائي على هلام الاكاروز (AGE) Agarose Gel Electrophoresis

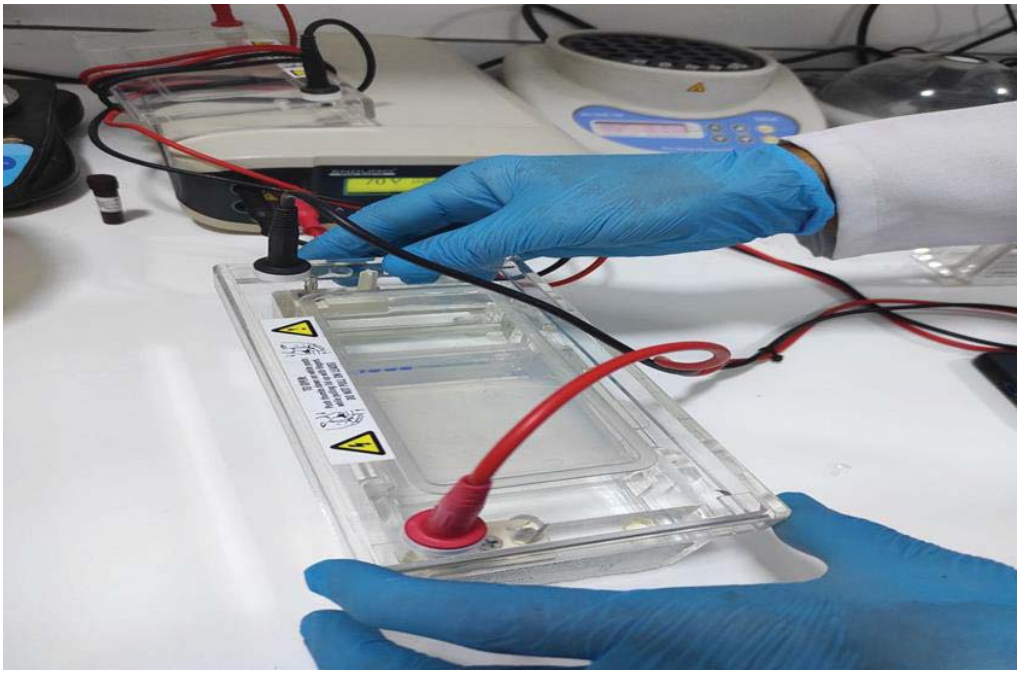
حضر هلام الاكاروز وفقا للطريقة المتبعة من قبل Sambrook وآخرون (1989) بتكثيف 1.5% عن طريق اذابة 1.5 غم من الاكاروز في 100 مل من محلول TBE المحضر مسبقا، اذ سخن الاكاروز حتى الغليان ثم ترك ليبرد عند درجة 45-50 م°، سكب الهلام (الجل) في لوحة الصب لتحضير لوحة دعم الاكاروز بعد تثبيت المشط لعمل ثقوب من شانها ان تحمل العينات، سكب الهلام برفق (لعدم السماح بتكوين فقاعات هوائية) وترك لمدة 30 دقيقة كي يبرد، وازيل المشط بلطف من الاكاروز الصلب، وثبتت اللوحة على حاملها في قسم الترحيل الكهربائي افقيا متمثلة بخزان الترحيل الكهربائي المستخدم، اذ ان الخزان ممتلئ بمحلول TBE الذي يغطي سطح الهلام.



شكل 4 : نظام عمل الترحيل الكهربائي

3-4: تهيئة العينات Preparation of samples

خلط 3 مايكرولتر من منظم التحميل المعالج Processor loading buffer (Intron/Korea) مع 5 مايكرولتر من DNA المرحل (صبغة التحميل Loading dye)، بعد عملية الخلط يتم التحميل عليه في فتحات الهلام (الجل) ثم يعرض الى تيار كهربائي بقوة 7 v c2 / لمدة 1 – 2 ساعة لحين وصول الصبغة الى الجانب الاخر من الهلام، جرى اختبار الهلام (الجل) بواسطة مصدر للاشعة فوق البنفسجية بطول 336 نانومتر بعد وضع الجل في حوض يحتوي على 3 مايكرولتر من محلول تصبيغ Redsafe Nucleic acid و500 مل من الماء المقطر.



شكل 5: عملية الترحيل الكهربائي باستخدام هلام الاكاروز (Agarose gel)

3-5: تحضير Redsafe Nucleic acid staining solution

حضرت الصبغة بإذابة 1 غم من مسحوق صبغة Redsafe في 100 مل من الماء المقطر وحفظت في قنينة معتمة بدرجة حرارة الغرفة (Maniatis وآخرون، 1982).

3-6: اجراء التفاعل التضاعفي لسلسلة البوليميريز (PCR)

3-6-1: خليط التفاعل الرئيس (i-Taq) Maxime PCR PreMix kit والذي يحتوي على المواد الموضحة في الجدول 4.

جدول 2 : مكونات خليط التفاعل الرئيس (i-Taq) Maxime PCR PreMix kit

المادة	الحجم
i-Taq DNA Polymerase	5U/µl
DNTPs	2.5mM
Reaction buffer (10X)	1X
Gel loading buffer	1X

3-6-2: تشخيص الجينات Diagnosis of Gene

جدول 3: خليط التفاعل المحدد لجين التشخيص

المواد	التركيز
Taq PCR PreMix	5µl
Forward primer	10 picomols/µl (1 µl)
Reverse primer	10 picomols/µl (1 µl)

DNA	2 µl
ماء مقطر	16 µl
حجم التفاعل النهائي	25µl

ووضعت في جهاز البلمرة الحراري Thermocycler حسب البرنامج الآتي:

جدول 4: الحالة المثلى للكشف عن الجين

ت	الخطوات	درجة الحرارة (م°)	المدة الزمنية (دقيقة)	عدد الدورات
1	Initial Denaturation	94°C	3	1 دورة
2	Denaturation −2	94°C	1	40 دورة
3	Annealing	35°C	1	
4	Extension−1	72°C	1	
5	Extension −2	72°C	10	1 دورة

(Haider وآخرون، 2012)

3-7: استخدام تقنية Sequencing and Sequence Alignment

اجري عزل لناتج PCR على 2% من الترحيل الكهربائي على هلام الاكاروز وجرى تصويرها بتعريضها للأشعة فوق البنفسجية عند طول موجي 302 نانومتر بعد التصبيغ بصبغة Redstain، ثم اجري Sequencing للجينات بوساطة شركة Macrogen الكورية، ومن ثم اجري بحث Homology باستخدام برنامج Basic Local Alignment Search (BLAST)

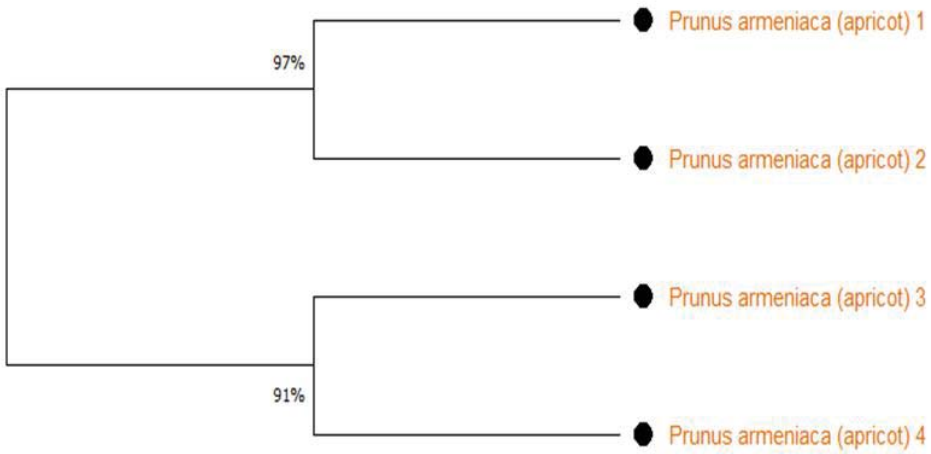
Tool والمتوفرة معلوماته في المركز الوطني لمعلومات التكنولوجيا الحيوي (NCBI) National Center Biotechnology Information على الانترنت وبرنامج BioEdit تمت تنقية ناتج PCR وتتابعاتها في الاتجاهين كلاهما باستخدام BigDye Terminator v3.1 cycle sequence kit، ثم اجري تحليل للبيانات وتسلسل لقواعدها النيتروجينية باستخدام برنامج BLAST الخاص بـ NCBI لتحديد العينة وارسالها الى مخزن البيانات (ID) GenBank وتم الحصول على التسلسلات الخاصة بالعينة او العينات من قاعدة بيانات النيوكليوتيدات الخاصة بـ NCBI وتم تضمينها في Multiple alignment باستخدام برنامج (ID) Bio (Tamura واخرون، 2011).

4: النتائج والمناقشة:

يبين الجدول 5 قيم البعد الوراثي على المستوى الجزيئي بين الأصناف المدروسة، بلغت متواليات cpDNA rbcL المضخمة 680 نيوكليوتيدة، اذ يلاحظ ان اعلى قيمة بعد وراثي كانت بين الصنف عموشة والصنف زاغينيا بلغت 0.212، في حين بلغت اقل قيمة بين الصنف زاغينيا والصنف شركة (أبو الزنجيل) وبلغت 0.155 ، ويلاحظ أن الصنف عموشة كان الأكثر تباعدا مع الصنفين (شركة وقيسي) اذ بلغت (0.188 و 0.195)، وهو ما يتماشى مع النتائج الحقلية (ملحق1) للأصناف المدروسة اذ كان الصنف عموشة يحمل صفات تختلف عن بقية الأصناف اذ تميز الصنف بتحمله لانخفاض درجات الحرارة (ملحق 4) اثناء مرحلة تصلب النواة فيما تأثر صنف القيسي تأثرا كبيرا بتحول لون النواة الى اللون البني، في حين يلاحظ ان تاثر صنفي الشركة وزاغينيا كان طفيفا، وهذا الاختلاف يعود للمحتوى الوراثي لهذه الأصناف واختلاف أصولها الوراثية البذرية. ووفقا لنتائج التباعد الوراثي المبينة في جدول 5، تم رسم شجرة التوزيع العنقودي للاصناف المدروسة إذ يلاحظ ان الأصناف انقسمت الى عنقودين رئيسين شمل العنقود الأول صنفي شركة وزاغينيا الذي اعطى نسبة تقارب بلغت 97%، في حين شمل العنقود الثاني صنفي عموشة وقيسي نسبة تقارب وصلت الى 91%، يتضح من النتائج ان الصنف عموشة مختلف من الناحية الوراثية عن جميع الأصناف الأخرى وهذا يدل على ان اصله الوراثي مختلف عن بقية الأصناف.

جدول 5: قيم البعد الوراثي على المستوى الجزيئي بين الأصناف المدروسة

	1	2	3	4
1. ***Prunus armeniaca*** **(apricot)1 شركة**				
2. ***Prunus armeniaca*** **(apricot) 2 زاغينيا**	**0.155**			
3. ***Prunus armeniaca*** **(apricot) 3 قيسي**	**0.165**	**0.184**		
4. ***Prunus armeniaca*** **(apricot) 4 عموشة**	**0.188**	**0.212**	**0.195**	



رسم الشجرة العنقوي للاصناف الأربعة قيد الدراسة

الاختلافات في القواعد النتروجينية بين أصناف المشمش: 1 شركة، 2 زاغينيا، 3 قيسي و4 عموشة.

```
           ....|....| ....|....| ....|....| ....|....| ....|....|
                   10         20         30         40         50
Prunus arm   TTGAACA-GC CTAGTACACG ACCCGAGA-C TAGTTTCAAA GCGGGGGACG
Prunus arm  ATGGACT-GC TAGGTAGACG ACCCGAGAAC TAGTTTCAAA GCGGGGGACG
Prunus arm  CCGGACATGC CTAGAAGACG ACCCGAGAAC TAGTTTCAAA GCGGGGGACG
Prunus arm  CGGGACG-TG CTAGCAGACG ACCCGAGAAC TAGTTTCAAA GCGGGGGACG

             ....|....| ....|....| ....|....| ....|....| ....|....|
                     60         70         80         90        100
Prunus arm   AGGGGCCGTC TCGGCGTGCT CCTCGTCCTT TTATCTCGGG GGGGTTCATA
Prunus arm   AGGGGCCGTC TCGGCGTGCT TCTCGTCCTT TTATCTCGGG GGGGTTCATA
Prunus arm   AGGGGCCGTC TCGGCGTGCT CCTCGTCTTT TTATCTCGGG GGGGTTCATA
Prunus arm   AGGGGCCGTC TCGGCGTGCT CCTCGTCCCT TTATCCCGGG GGGGTTCATA

             ....|....| ....|....| ....|....| ....|....| ....|....|
                    110        120        130        140        150
Prunus arm   CCCTTCCGGG CGTACAAACG AACACCGGCG CGAATTGCTT GTAGGAACTT
Prunus arm   CCCTTCCGA- CGTACAAACG AACACCGGCG CGAATTGCTT GTAGGGACTT
Prunus arm   CCCTTCCGGG CGTACAAACG AACACCGGCG CGAATTGCTT CTAGGAACTT
Prunus arm   CCCTTCCGGG CGTACAAACG AACACCGGCG CGAATTGCGC CGAGGAACTT

             ....|....| ....|....| ....|....| ....|....| ....|....|
                    160        170        180        190        200
Prunus arm   GAACGAGAGA GCGCGTCCCC TTTGTCCCGG AAACGGTGTG CGCGGGCGGG
Prunus arm   GAACGAGAGA GCGCTTCCCC TTTGTCCCGG AAACGGTGTG CGCGGGCGGG
Prunus arm   GAACGGGAGA GGGCGTCCCC TTTGCCCCGG AAACGGGGTG GGGGGGGGGG
Prunus arm   GAACGAGAGA GCGCGTCCCC GTTGCCCCGG AAACGGTGTG CGCGGCCGGC

             ....|....| ....|....| ....|....| ....|....| ....|....|
                    210        220        230        240        250
Prunus arm   GTCGTCATCT TCAAATATGT CAAAACGACT CTCGGCAACG GATATCTCGG
Prunus arm   GTCGTCATCT TCAAATATGT CAAAACGACT CTCGGCAACG GATATCTCGG
Prunus arm   GCGGCCATCT TCAAATTTGT CAAAACCACT CTGGGCAACG GAATTGTCGG
Prunus arm   GTCGTCATCT TCAAATATGT CAAAACGACT CTCGGCAACG GATATCTCGG

             ....|....| ....|....| ....|....| ....|....| ....|....|
                    260        270        280        290        300
Prunus arm   CTCTCGCATC GATGAAGAAC GTAGCGAAAT GCGATACTTG GTGTGAATTG
Prunus arm   CTCTCGCATC GATGAAAAAC GTAGCGAAAT GCGATACTTG GTGTGAATTG
Prunus arm   CTCTCGCATC GATGAAGAAC GTAGCGAAAT GCGATACTTG GTTTGAATTG
Prunus arm   CTCTCGCATC GATGAAGAAC GTAGCGAAAT GCGATACTTG GTGTGAATTG

             ....|....| ....|....| ....|....| ....|....| ....|....|
                    310        320        330        340        350
Prunus arm   CAGAATCCCG TGAACCATCG AGTCTTTGAA CGCAAGTTGC GCCC-GAAGC
Prunus arm   CAAAATCCCG TGAACCATCG AGTCTTTGAA CGCAAGTTGC GCCCCAAAGC
Prunus arm   CAAAATCCCG TGAACAATCG AGTCTTTGAA CGCAAGTTGC GCCC-CAAGC
Prunus arm   CAGAATCCCG TGAACCATCG AGTCTTTGAA CGCAAGTTGC GCCC-GAAGC

             ....|....| ....|....| ....|....| ....|....| ....|....|
                    360        370        380        390        400
```

```
Prunus arm   CATTAGGCCG AGGGCCCGCC TGCCTTGGGC GTCACACGTC GTTGCCCCCC
Prunus arm   CATTAGGCCG AGTCCCCCCC TGCCTTGGGC GTCACACGTC GTTGCCCCCC
Prunus arm   CATTAGGCCG AGGGCCCGCC TGCTT-GGGC GTTCCA-GTC GTTGCCCCCC
Prunus arm   CATTAGGCCG AGGGCC-GCC TGCCT-GGGC GTCACACGTC GTTGCCCCCT

             ....|....| ....|....| ....|....| ....|....| ....|....|
                     410        420        430        440        450
Prunus arm   CATTTACCCC TTTGGGATTT GCGGGGGG-- GGAAGATGGG CCCCCGGCGG
Prunus arm   CCTTTTCCCC TTTGGGATTT TCCGGGGGTT GAAAAAAGGG CCTCCCGTGC
Prunus arm   C-TCTACTCC TTCGGGATTC GAGAGGTG-- --AAGATGG- CCTCCCGCCG
Prunus arm   CCATCTATTC CTTGGGGATT GCGGGGGGC- GGATGATGGC GCTCCCGTGC

             ....|....| ....|....| ....|....| ....|....| ....|....|
                     460        470        480        490        500
Prunus arm   CTACA-CCGG TTGTT--GGG AAAAAAGGCA AAGCCTCTCG GGATC-AAAG
Prunus arm   CCCTGGCTGG GTGTTTGGGG AAAAAAGGCA AGGCCCTTCG GGGTTGAAGG
Prunus arm   CCTTCACCG- -TGGTT--GG CATAAATGCA AAGC---TCG GCGAT-CAAG
Prunus arm   GCCTCGGCGC GCGGTC-GGT ATAAAATACC AAGTC-CTCG GCGACGCACG


             ....|....| ....|....| ....|....| ....|....| ....|....|
                     510        520        530        540        550
Prunus arm   CCAATTAGAT TGGTT--GCT GCCAAGCTCC G-TTTGGCCC GCCGGGGGGG
Prunus arm   TCATTGACAA TGGTTTGGTT CCGAAACTCT GGTTTTCCCC GCCCGTGTGG
Prunus arm   TCACTACA-- TTGT---GGT GCGAAACTCG G-----TGCC GTCGGA--GG
Prunus arm   CCACGACAAT CTGTG--GGT GCGAAAGCTC G--TTTGCCC GTCGTGTGCG

             ....|....| ....|....| ....|....| ....|....| ....|....|
                     560        570        580        590        600
Prunus arm   GTCGAACCCC CCCCGGGGTA AAAAAACAAT GTGCGAGGTC CAGGTTGGCC
Prunus arm   GTTCGTCCCC CCATCGGGGG TACAAAAAAT TTGCGGGGCT CGGGTGAGCC
Prunus arm   GTCG---TAC CCCTCGGGGC TCAGAACAAT A-GCGGGTTC --GGTGG---
Prunus arm   GTCG--TCGC GCATCGAGGG CTCGAAAAAT TGTCGGCCTC CGGCTCGGAC

             ....|....| ....|....| ....|....| ....|....| ....|....|
                     610        620        630        640        650
Prunus arm   TTTCGAACCG GCCCCTGGAT CATG-GGGGG CTGCCCGGTG AACTTGAGGG
Prunus arm   TTTTAACCGC GACTTTGGAA AAGGCGTGTG TGACCCCTTT GACTTGAGAG
Prunus arm   CTTCA--CGC GACT-TGGAT AGCG-----G GTACC--GTG TATT--AGCG
Prunus arm   TTTCAA-CGC GACCCCAGGT CATGCGGGGG TTACCCGCTG AATTCAAGCA

             ....|....| ....|....| ....|....| ....
                     660        670        680
Prunus arm   --TTTCAATA GA-GTGAGCG TAC--CGCAG CTCC
Prunus arm   CGTATCAATA AT-GCGATCG GACCCCGCAG TACC
Prunus arm   --TATCAATA GC-GAGGACG C--------G TCCC
Prunus arm   --TATCATCA GACGCGAGAG GA------AG TTCT
```