القرابة الوراثية لأصناف زيتون مزروعة في المنطقة الساحلية بسوريا باستخدام تقانة الـ SSR

ريم عبد الحميد[1] ، رحيم أبو الجدايل[2]، نور أسعد[3]، الاء الشعال[3] ، رمزي مرشد[4]

1. الهيئة العامة للبحوث العلمية الزراعية، إدارة بحوث البستنة، قسم بحوث الزيتون
2. جامعة دمشق، كلية العلوم.
3. الهيئة العامة للبحوث الزراعية، قسم التقنيات الحيوية
4. جامعة دمشق ،كلية الزراعة، قسم علوم البساتين

المستخلص

نفذ هذا البحث خلال الفترة 2017-2018 بهدف تحديد القرابة الوراثية لسبعة أصناف زيتون مزروعة في المنطقة الساحلية بسوريا، حيث تم استخدام 21 بادئة من بادئات التسلسلات البسيطة المتكررة SSR. نتج عن استخدام هذه البادئات ما مجموعه 58 أليلاً، وبمعدل 2.76 أليلاً لكل بادئة، حيث تراوح عدد الأليلات لكل بادئة بين أليل واحد لدى ثلاث بادئات (UDO99-026-DCA18- UDO99-027) و6 أليلات للبادئ DCA3. وأظهرت نتائج البحث أن قيمة ألـ PIC تراوحت ما بين0.2149 للبادئة UDO99-027،UDO99-031 و0.7913 للبادئة DCA3، وبمعدل 0.3907 لكل بادئة. وتراوحت قيمة التنوع المورثيgenetic diversity ما بين 0.103 للبادئة UDO99-031 و0.755 للبادئة 008- UDO99 وبمعدل 0.488. وأظهرت نتائج التحليل العنقودي أن شجرة القرابة الوراثية انقسمت إلى ثلاث مجموعات: ضمت المجموعة الأولى الصنف دبا1 فقط، وضمت المجموعة الثانية الأصناف الخضيري، الدعيبلي، دبا 2، السكري والعيروني، بينما ضمت المجموعة الثالثة الصنف فرونتويو. أثبتت نتائج هذه الدراسة مقدرة تقانة ألـ SSR على الكشف عن درجة القرابة الوراثية بين أصناف من الزيتون المزروعة في المنطقة الساحلية.

الكلمات الدالة: أصناف زيتون ، قرابة وراثية، SSR .

المقدمة

سورية الطبيعية هي الموطن الأصلي لشجرة الزيتون، مما انعكس على غنى وتنوع كبيرين بكل من الزيتون البري والأصناف المزروعة التي تعد بالعشرات (دليل زراعة الزيتون،2007). يعد محصول الزيتون في سورية من المحاصيل الزراعية ذات الأهمية الكبرى، ويأتي ترتيبه من حيث الأهمية الاقتصادية الثالث بعد المحاصيل الرئيسية، وتحتل شجرة الزيتون المكانة الأولى بين أشجار الفاكهة بحيث تمثل ما يزيد عن 55% من المساحة المزروعة الكلية (دليل زراعة الزيتون،2007).

تعتبر المنطقة الساحلية من المناطق الهامة التي تنتشر فيها زراعة الزيتون؛ حيث تشكل 21% من مناطق انتشار الزيتون في سورية. تعتبر طرائق توصيف وتصنيف الأنواع

للاتصال: ريم عبد الحميد. الهيئة العامة للبحوث العلمية الزراعية، إدارة بحوث البستنة، قسم بحوث الزيتون
هاتف: . البريد الالكتروني: reem_ahamid@yahoo.com
استلمت بتاريخ: 2019/3/25 أجيزت بتاريخ: 2019/12/1

النباتية اعتماداً على الصفات الشكلية والإنتاجية الأكثر قدماً، ولكنها تتأثر غالبا بالظروف البيئية السائدة وتعطي نتائج متقاربة ومتشابهة يصعب الاعتماد عليها في تمييز الاختلافات (Wjhani, 2004)، كما أنها تتطلب وقتا وجهداً كبيرين، لذلك يجب دعم هذه الطرائق بطرائق التقانات الحيوية الحديث (Riccardo *et al.,* 2002) في توصيف المصادر الوراثية وخاصة مؤشرات الحمض النووي الريبي منقوص الأكسجين (DNA) والتي تدعى المؤشرات الجزيئية Molecular indicators ؛ حيث تتميز بكثرة عددها وثباتية نتائجها وعدم تأثرها بالظروف البيئية، ويمكن استخدامها في تحاليل التنوع الوراثي وتقدير التشابه الوراثي (Eleuch *et al.*, 2008).

تم استخدام العديد من مؤشرات (DNA) والتي تتضمن RAPD و AFLP لكشف الاختلافات بين الطرز الوراثية للزيتون، تم استخدام تقنية RAPD للتمييز بين الطرز المختلفة لصنف الزيتون دان في ريف دمشق وبينت النتائج إمكانية تقسيم الطرز المدروسة إلى أربع مستويات حسب درجة القرابة (عبد الحميد،2011). واستخدمت تقانة ISSR وتقانة SSR لدراسة التنوع الوراثي لـ 41 صنفاً من أصناف الزيتون البرتغالي المزروعة، وبينت نتائج استخدام احدى عشر بادئة لتقانة ISSR أنها أعطت تعددية شكلية 135 حزمة، كما تم استخدام ست بادئات لتقانة SSR أعطت 67 اليل بمعدل 11 اليل لكل بادئة، (Gomes, *et al.*, 2009) .

استخدامات تقانة الـ SSR وتقانة .AFLP لإجراء التوصيف الجزيئي لأصناف من الزيتون مزروعة في لبنان؛ حيث تم دراسة 140 شجرة زيتون مزروعة في مناطق مختلفة بينت النتائج أن معامل التشابه بين الأصناف باستخدام تقانة AFLP بين 0.7-0.99 هذا يشير إلى صعوبة التفريق بين الأصناف جزيئيا" باستخدام تقانة AFLP بينما تقانة الـ SSR كشفت عن وجود تسعة طرز مختلفة، مما يدل على فعالية تقانة لSSR في التوصيف الجزيئي لأصناف الزيتون (Rony, *et.al.* 2009). أجريت دراسة لبيان الاختلافات بين ثلاثة أصناف من الزيتون في إيران باستخدام تقانة الـ SSR باستخدام 13 بادئاً، وبينت نتائج التحليل أن التنوع الوراثي كبير ضمن وبين الأصناف (Zahra *et al.*, 2009). كذلك استخدمت تقانة الـ SSR لدراسة 12 صنفاً من أصناف الزيتون الرئيسية المزروعة في تونس، حيث تم استخدام عشر بادئات أعطت 73 اليل بمعدل 7 اليلاً لكل بادئة (Abdelhamid *et al.*, 2013). كما أجريت دراسة مورفولوجية جزيئية لسبعة أصناف زيتون مزروعة في تونس، وبينت الدراسة أن مواصفات الثمرة والبذرة من أهم المواصفات المورفولوجيا المدروسة للتفريق بين أصناف الزيتون، كما استخدمت تقانة الـ SSR للتفريق بين أصناف الزيتون باستخدام 10 مرئسات، وبينت نتائج هذه الدراسة أهمية هذه التقانة في دراسة التنوع الوراثي بين أصناف الزيتون في المناطق الجافة وإمكانية استخدامها في عمليات التهجين مستقبلاً (Mnasri *et al.*, 2014) .

قام (Adakalic and Lazovic, 2018) بإجراء دراسة مورفولوجيه كيميائية جزيئية لأصناف قديمة من الزيتون في الجبل الأسود ومقارنتها مع أهم صنف محلي بينت النتائج وجود فروق مورفولوجيا وكيميائية بين الأصناف المدروسة، تمكنت تقانة الـ SSR باستخدام 11 زوجاً من بادئات من التوصل إلى نموذج وراثي يميز كل صنف . وأجريت دراسة على عشرة أصناف من الزيتون مزروعة في العراق بهدف إجراء التوصيف الجزيئي والقرابة الوراثية بين الأصناف باستخدام 15 زوجاً من بادئات الـ SSR أعطت 239 أليلاً بمعدل3.93 أليلاً بينت النتائج فعالية هذه التقانة في إيجاد العلاقة الوراثية والتفريق بين الأصناف (Harbi *et al.*, 2012).

أجريت دراسة في إيطاليا على المجمع الوراثي للزيتون باستخدام 11 زوجاً من بادئات الـ SSR، حيث بينت هذه الطريقة فعاليتها في برامج التحسين الوراثي للزيتون وتعتبر نموذج لإدارة المجمعات الوراثية للزيتون (Muzzalupo *et al.*, 2014) ، أجريت دراسة في سورية

باستخدام 21 زوجاً من بادئات الـ SSR للتفريق بين أصناف مزروعة وطرز منتخبة من الزيتون البري ونتج عن استخدام هذه البادئات ما مجموعه 76 أليلاً وبمعدل 3.6 أليلاً لكل بادئة (عبد الحميد وآخرون، 2018).

يهدف هذا البحث إلى إجراء التوصيف الجزيئي والقرابة الوراثية لأصناف الزيتون المزروعة والمعتمدة في المنطقة الساحلية والصنف الإيطالي فرونتويو باستخدام تقنية التتابعات التكرارية البسيطة (SSR)، وحساب درجة التنوع الوراثي ما بين الأصناف المدروسة، وتحديد درجة القرابة الوراثية بين أصناف الزيتون المزروعة، وتحديد مؤشرات جزيئية قادرة على تمييز كل صنف مزروع على حدا لتفادي حدوث أي خلط وراثي أو تقني في المشاتل.

المواد وطرائق البحث

المادة النباتية

جمعت العينات النباتية من المنطقة الساحلية (حقول المزارعين وحقول أمهات الزيتون في مشاتل وزارة الزراعة من الأصناف التي يتم إكثارها في المشاتل). وتم تنفيذ الدراسة الجزيئية في مخابر الهيئة العامة للتقانة الحيوية في دمشق.

1. استخلاص الحمض النووي الريبي منقوص الأوكسجين (DNA):

تم استخلاص الحمض النووي DNA من 3-5 أوراق الزيتون الغضة اليافعة والخالية من الإصابات المرضية، الحشرية بطريقة CTAB، (Williams et.al.1990). ثم خففت عينات الـ DNA للحصول على تركيز موحد (50 نانوغرام/ميكرولتر) لتستخدم في التفاعل التسلسلي البوليميرازي (Maniatis, *et al*.1982).

2. التفاعل التسلسلي للبوليميراز (PCR): تم تضخيم الحمض النووي DNA باستخدام 21 زوجاً من بادئات التسلسلات البسيطة المتكررة (SSR) الموضحة في جدول (1). وأجري التفاعل في حجم نهائي قدره 25 ميكروليتر. وكانت مكونات تفاعل الـ PCR هي: 12.5 ميكرولتر من الماء المقطر المعقم، 2.5 ميكرولتر من5X PCR buffer، 25 ميلليمولر من $MgCl_2$، 2 ميلليمولر من dNTPs، 0.2 ميكرولتر من *Taq* DNA Polymerase، 20 نانوغرام من كل بادئة و100 نانوغرام من الـ DNA. وتمت عملية التضخيم في جهاز PCR البرنامج الحراري التالي:فصل أولي لجديلتي الـ DNA (Initial denaturation) عند درجة حرارة 94م لمدة 5 دقائق، تتبعها 36 دورة تضمنت كل منها ثلاث خطوات (1- فصل جديلتي الـ DNA Denaturation عند درجة حرارة 94م لمدة 45 ثانية، 2- التحام االبادىء Annealing عند درجة حرارة اختلفت حسب البادىء لمدة 45 ثانية، 3- استطالة Extensionعند درجة حرارة 72 °م لمدة 1.5 دقيقة)، واستطالة نهائية لدورة واحدة فقط عند درجة حرارة 72 °م لمدة 7 دقائق. تم فصل نواتج تفاعل الـPCR على هلامة الآغاروز تركيز 2 %، واستعمل معلم جزيئي (pb100).

التحليل الإحصائي

حدد حجم قطع الـ DNA الناتجة عن تفاعلات PCR بوجود بادئات الـ SSR المختلفة، وذلك باستخدام برنامج Total Lab (Ultra• Lum Inc., Claremont, Calif.). ثم حولت النتائج إلى النظام الثنائي (وجود الأليل ="1" ، غياب الأليل = "0"). وتم حساب عدد الأليلات والتنوع الوراثي genetic diversity وقيمة معامل التعددية الشكلية polymorphism information content (PIC) لكل بادئ باستخدام برنامج Pop gene 1.32، حيث تم حساب محتوى التعددية الشكلية (PIC) لكل بادئ من البادئات المستخدمة على مستوى الموقع الواحد وفقاً لـ Weir (1996) حسب العلاقة التالية:

$$PIC = 1 - \sum pi^2 \qquad (1)$$

حيث pi هي نسبة تكرار كل نظير على الموقع الوراثي نفسه.

كذلك تم حساب التنوع الوراثي Gene Diversity (GD) لكل بادئ من البادئات المستخدمة ضمن مجموعة الطرز الوراثية المدروسة وفقاً لـ Nei (1979) تبعاً للعلاقة التالية:

$$GD = n\left(1-\sum pi^2\right)/(n-1) \qquad (2)$$

حيث تمثل n عدد المدخلات وتمثل p نسبة تكرار كل نظير على الموقع الوراثي نفسه.

وحساب مصفوفة الاختلاف الوراثي اعتماداً على معـامل Jaccard (1908) ، واستخدمت هذه المصفوفة في رسم شجرة القرابة الوراثية Dendrogram tree بتطبيق طريقة متوسطات المجموعات الزوجية غير المزانة UPGMA، باستخدام برنامج Xlstst.

جدول 1. بادئات التسلسلات البسيطة المتكررة (SSR) المستخدمة وتسلسلها النكليوتيدي.

البادئة		التسلسل النكليوتيدي للبادئة	
		R	F
P1	**DCA3**	TGC TTT TGT CGT GTT TGA GAT GTT G	CCC AAG CGG AGG TGT ATA TTG TTA C
P2	**DCA7**	AGG GTA GTC CAA CTG CTA ATA GAC G	GGA CAT AAA ACA TAG AGT GCT GGG G
P3	**DCA9**	GAT CCT TCC AAA AGT ATA ACC TCT C	AAT CAA AGT CTT CCT TCT CAT TTC G
P4	**DCA15**	TAT ACC TTT TCC ATC TTG ACG C	GAT CTT GTC TGT ATA TCC ACA C
P5	**DCA18**	GTT TTC GTC TCT CTA CAT AAG TGA C	AAG AAA GAA AAA GGC AGA ATT AAG C
P6	**UDO99-006**	TTG TAA TAT GCC ATG TAA CTC GAT	TCA GTT TGT TGC CTT TAG TGG A
P7	**UDO99-012**	TCA AGC AAT TCC ACG CTA TG	TCA CCA TTC TTA ACT TCA CAC CA
P8	**UDO99-014**	ACT GCA GTT TGG GAA TCA AA	TTC CCC TTA TTC AAT GTG AAC C
P9	**UDO99-017**	GCG ATT TTT CCC TGT ATT TAG GT	GCC CAC AAA CTC TTT GAA CC
P10	**UDO99-019**	GGC CTG ATC ATC GAT ACC TC	TCC CTT GTA GCC TCG TCT TG
P11	**UDO99-025**	GGC ATC AAT CTA CTT CCC ACA	AAC ATG CCG TTG CAT TTT TA
P12	**UDO99-026**	ACC TAT TTC ATG GTT TGC AC	AAT TGA CAC CTA CAC ACA CAC A
P13	**UDO99-027**	TTG ATG ACT AGC ACA CAT GTA GGA	TCC GTG CAA ACC ATG AAA TA
P14	**UDO99-028**	GCA GAT CAT CAT TTG GCA CT	CTG CAG CTT CTG CCC ATA C
P15	**UDO99-031**	TTG GTT AAA AGG ATT GAT ACA	TAT CCT CTA TGT GGC GAT G
P16	**UDO99-034**	TTG CAT ATT TGT ATG ATT CAT TT	CTC TCG GGC ATG TAT CAT TT
P17	**UDO99-036**	GAA CCC AAC CCC CAT CTT AC	AAC ACT GTG CCA CCT CAA CA
P18	**UDO99-039**	CCC CAA AAG CTC CAT TAT TGT	AAT TAC CAT GGG CAG AGG AG
P19	**UDO99-042**	CAT CTG TCT CCG CTA ACA ATT T	CGA GCA CAA CAT GTG GAA TC
P20	**UDO99-043**	TGC CAA TTA TGG GGC TAA CT	TCG GCT TTA CAA CCC ATT TC
P21	**UDO99-044**	CAC AGC ACC CAA CCA GAT TT	AAT TCC GAC AAG TTG TGT GTG

النتائج والمناقشة

تم استخدام 21 بادئة من بادئات التسلسلات البسيطة المتكررة SSR لتقييم التنوع الوراثي ودراسة درجة القرابة الوراثية ما بين 7 أصناف من الزيتون المزروعة في المنطقة الساحلية. ونتج عن استخدام هذه البادئات ما مجموعه 58 أليل وبمعدل 2.76 أليل لكل بادئة (جدول 2). وتراوح عدد الأليلات لكل بادئة بين أليلاً واحد لدى ثلاثة بادئات (DCA18-UDO99-026- UDO99-027) و6 أليل لدى (DCA3).بينما نتج عن استخدام 6 بادئات SSR لدراسة التنوع الوراثي للزيتون في البرتغال ما مجموعه 67 أليل بمعدل 11 أليلاً لكل بادئة (Gomes *et al.*, 2009)، تم استخدام 15 بادئة، كما تم استخدام عشر بادئات SSR لتقييم التنوع الوراثي لأصناف الزيتون المزروعة في تونس

ونتيجة استخدام البادئات أعطت 73 أليلاً وبمتوسط 0.7 أليلات لكل بادئة. (Abdelhamid *et al.*, 2013). حيث نتج عن استخدام 21 بادئة من SSR لدراسة القرابة الوراثية بين أصناف مزروعة وطرز منتخبة من الزيتون البري في سورية 76 اليل بمعدل 3.6 اليل لكل بادئة.(عبد الحميد وآخرون، 2018)، وفي تونس، تم استخدام 7 بادئات SSR لدراسة التنوع الوراثي لأصناف الزيتون نتج عنها 51 أليلاً متوسط قدره 7.2 اليل لكل بادئة (Abdelhamid, *et al.*, 2017). تم استخدام 11 بادئة من SSR لدراسة القرابة الوراثية بين أصناف زيتون مزروعة في إيران نتج عنها 93 أليلاً بمعدل 8.45 أليلاً لكل بادئة (Sorkheh and Khalegh, 2016) تمثل قيمة معامل التعددية الشكلية (PIC) لموقع معين قدرة هذا الموقع على التمييز بين الطرز الوراثية؛ أي: تعبر عن احتمال أن يكون للعينتين المسحوبتين عشوائياً أليلين مختلفين لذات الموقع الوراثي. وأظهرت نتائج البحث أن قيمة الـ PICتراوحت ما بين 0.00 للبادئات UDO99-026 وUDO99-027 وDCA18 و0.7913 للبادئة UDO99-044، وبمتوسط0.3907 لكل بادئة (جدول 2).

وتعد أكثر البادئات قدرة على التمييز بين الطرز الوراثية هي التي أعطت أعلى قيمة لـ PIC وهي: DCA3(0.7913)، UDO99-039(0.775)، UDO99-006(0.68470). هذا وتختلف قيمة الـ PIC في دراستنا عن قيمته في دراسات أخرى، وذلك حسب البادئات المستخدمة، حيث أعطت مثلاً العشر بادئات المستخدمة في دراسة للتنوع الوراثي لـ 12 صنفاً من الزيتون المزروع في تونس قيمة PIC تراوحت ما بين 0.6 و 0.86 وبمتوسط 0.72 لكل بادئة (Abdelhamid, *et al.*, 2013). بينما في دراسة التنوع الوراثي للمصادر الوراثية للزيتون في سورية وتحديد هويتها الوراثية قيمة PIC تراوحت ما بين 0.101 و 0.74 وبمتوسط 0.47 لكل بادئة (عبد الحميد وآخرون، 2018). دراسة التنوع الوراثي لأصناف الزيتون في تونس كانت قيمة PIC (0.693) (Abdelhamid, *et al.*, 2017).

دراسة القرابة الوراثية لأصناف من الزيتون مزروعة في ايران وتحديد هويتها الوراثية قيمة PIC تراوحت ما بين (0.9-0.6) (Sorkheh& Khalegh, 2016).

تراوحت قيمة التنوع المورثي gene diversity ما بين 0.103 للبادئة UDO99-031 و0.755 للبادئة-UDO99 008، وبمتوسط 0.488 (جدول 2). ونلاحظ أن البادئات التي أعطت أعلى قيمة لمعامل التعددية الشكلية (PIC) هي التي أعطت أعلى قيمة للتنوع المورثي (GD)، وكانت قيم معامل التعددية الشكلية (PIC) متقاربة مع قيمة التنوع الوراثي (GD) لكل بادئة. وهذا يتوافق مع نتيجة (Abdelhamid, *et al.*, 2013) ، حيث أشاروا إلى أن معامل التعددية الشكلية (PIC) مرادف للتنوع المورثي (GD). وقد أعطت البادئتان DCA3 و UDO99-039 أعلى قيمة للتنوع المورثي، وهما البادئتان الأكثر تمييزاً للطرز الوراثية. كما أن البادئة التي أعطت أعلى عدد من الأليلات أعطت أعلى قيمة للتنوع المورثي، والبادئة التي أعطت أقل عدد من الأليلات أظهرت أقل قيمة للتنوع المورثي، فالبادئة DCA3 أعطت 6 أليلات، وهو أعلى عدد من الأليلات كما أعطت أعلى قيمة للتنوع الوراثي 0.8163، بينما أعطت البادئاتDCA18 وUDO99-026 وUDO99-027 أليلاً واحداً فقط وأظهرت أقل قيمة للتنوع المورثي (0.000)، وللتعددية الشكلية (0.000)، مما يدل على عدم فعالية هذه البادئات في إظهار التنوع المورثي والتعددية الشكلية، بينما أعطت البادئات DCA7 -DCA9 --UDO99- 2014 أليلاً وقيمة التنوع المورثي (0.4898)، مما يؤكد على وجود ارتباط إيجابي بينهما، وهذا ما أكدته العديد من الدراسات، فقد وجد (Abdelhamid, *et al.*, 2013) و(عبد الحميد وآخرون، 2018) أن هناك ارتباطاً إيجابياً بين عدد الأليلات الناتجة عن مؤشرات SSR وقيمة التنوع الوراثي. نجحت تقانة الـ SSR في التفريق بين أصناف الزيتون المزروعة المعتمدة وإيجاد القرابة الوراثية بينها، وهذا يتوافق مع Rony, *et al.*, (2009).

جدول 2. عدد الأليلات الناتجة عن البادئات المستخدمة وقيمة معامل التعددية الشكلية(PIC) والنسبة المئوية للتعددية الشكلية (%) والتنوع الوراثي (GD) لكل منها.

	البادئة	عدد الأليلات	معامل التعددية الشكلية (PIC)	النسبة المئوية للتعددية الشكلية	التنوع الوراثي (GD)
P1	**DCA3**	6	0.7913	100	0.8163
P2	**DCA7**	2	0.3698	100	0.4898
P3	**DCA9**	2	0.3249	100	0.4082
P4	**DCA15**	3	0.4065	100	0.4490
P5	**DCA18**	1	0.0000	0	0.0000
P6	**UDO99-006**	4	0.6847	100	0.7347
P7	**UDO99-012**	4	0.5698	100	0.6122
P8	**UDO99-014**	2	0.3249	100	0.4082
P9	**UDO99-017**	4	0.6414	100	0.6939
P10	**UDO99-019**	2	0.2149	100	0.2449
P11	**UDO99-025**	4	0.6847	100	0.7347
P12	**UDO99-026**	2	0.2149	50	0.2449
P13	**UDO99-027**	2	0.2149	100	0.2449
P14	**UDO99-028**	3	0.4065	100	0.4490
P15	**UDO99-031**	2	0.3698	50	0.4898
P16	**UDO99-034**	1	0.0000	100	0.0000
P17	**UDO99-036**	1	0.0000	0	0.0000
P18	**UDO99-039**	3	0.5298	0	0.6122
P19	**UDO99-042**	5	0.7397	100	0.7755
P20	**UDO99-043**	3	0.5015	100	0.5714
P21	**UDO99-044**	2	0.2149	100	0.2449
المجموع		58		**80.952**	
المتوسط		2.7619	0.3907		0.439

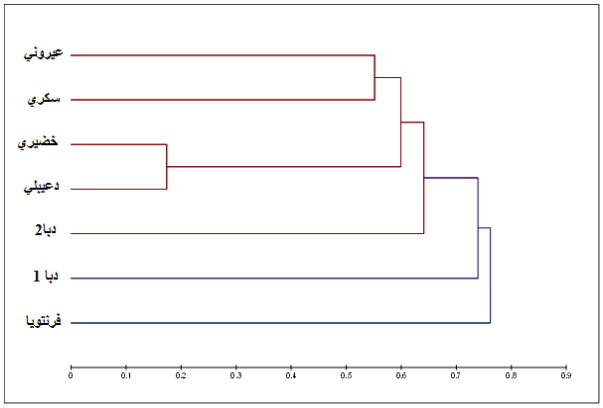
يفيد تحديد درجة القرابة الوراثية بين وضمن الأنواع في برامج التحسين الوراثي وذلك من خلال الاعتماد على الطرز المتباعدة وراثياً والتي تؤمن الحصول على قاعدة وراثية كبيرة، وقد تم حساب مصفوفة التباين الوراثي باستخدام معامل Jaccard (جدول3)، حيث تظهر هذه المصفوفة قيمة البعد الوراثي بين الطرز المدروسة، ويدل ارتفاع القيم على وجود اختلاف وراثي وبازدياد هذه القيم يزداد التباين الوراثي بين الأصناف المدروسة. وقد كانت أعلى قيمة في البعد الوراثي هي 86% بين الصنف فرونتويو والصنف السكري، وأقل قيمة في البعد الوراثي هي 17% بين الخضيري والدعيبلي، مع أن الصنفين مختلفين بالمواصفات المورفولوجية من حيث نمو الأشجار والمواصفات المورفولوجية للأصناف.

تم إجراء التحليل العنقودي للأصناف المدروسة اعتماداً على معطيات الـ SSR ، ويسمح التحليل العنقودي بتقسيم الأصناف المدروسة إلى مجموعات تعكس درجة

القرابة الوراثية فيما بينها، وقد تتجمع الطرز ضمن مجموعة واحدة بناءً على موطنها أو على أصلها، وذلك لتقليل عدد الطرز المستخدمة في برامج التحسين الوراثي واختيار الآباء المتباعدة وراثياً في عملية التهجين لإنتاج هجن أكثر تفوقاً. وقد انقسمت الأصناف وفق التحليل العنقودي إلى ثلاث مجموعات مختلفة (شكل 1)، حيث ضمت المجموعة الأولى الصنف دبا1 فقط ببعد وراثي عن المجموعة الثانية قدره 0.739. وضمت المجموعة الثانية خمسة أصناف انقسمت إلى ثلاث تحت مجموعات، ضمت تحت المجموعة الأولى الصنف دبا2 ببعد وراثي عن باقي المجموعة قدره 0.641، بينما ضمت تحت المجموعة الثانية الصنفين الخضيري والدعيبلي ببعد وراثي بينهما قدره 0.174 وببعد وراثي عن تحت المجموعة الثالثة قدره 0.599، وضمت تحت المجموعة الثالثة الصنفين السكري والعيروني ببعد وراثي فيما بينهما قدره 0.552. بينما ضمت المجموعة الثالثة الصنف فرونتويو فقط ببعد وراثي عن باقي المجموعات قدره 0.762. واعتمادا على هذه النتائج يمكن القول أن تقانة الـ SSR نجحت في التمييز ما بين أصناف الزيتون المزروعة والمعتمدة والتي يتم إكثارها في مشاتل وزارة الزراعة اعتبار الصنفين دبا 1 ودبا 2 أصناف مختلفة عن الصنفين سكري وعيروني كما تبين بالتحليل الجزيئي .

جدول 3: مصفوفة عدم التوافق ما بين الأصناف المدروسة حسب معامل Jaccard.

	دبا1	دبا2	دعيبلي	خضيري	فرنتويو	سكري	عيروني
دبا1	0						
دبا2	0.645	0					
دعيبلي	0.765	0.600	0				
خضيري	0.800	0.600	0.174	0			
فرنتويو	0.865	0.800	0.727	0.688	0		
سكري	0.688	0.765	0.600	0.645	0.765	0	
عيروني	0.800	0.600	0.552	0.600	0.727	0.552	0



شكل 1 . التحليل العنقودي للأصناف المدروسة

جدول 4. تقسيم أصناف الزيتون المزروع والمعتمدة اعتماداً على شجرة القرابة الوراثية

المجموعة الرئيسية	تحت المجموعة الرئيسية	الأصناف المزروعة
الأولى	-	دبا1
الثانية	-	فرونتويو
الثالثة	تحت المجموعة الرئيسة الثالثة	سكري،عيروني
	تحت المجموعة الرئيسة الثالثة	خضيري، دعيبلي
	تحت المجموعة الرئيسة الثالثة	دبا2

شكر

البحث ممول بشكل كامل من صندوق دعم البحث العلمي والتطوير التقاني للتعليم العالي في وزارة التعليم العالي في سورية.

المراجع

الإبراهيم أنور، عابدين مالك، حلاق حسين، القيم فاضل، وزاز نضال، براني أيمن، جعفر عبد المهيمن و عبد الحميد ريم. (2007). دليل زراعة الزيتون في سورية، وزارة الزرعة والإصلاح الزراعي، مديرية الإرشاد، قسم الإعلام، 913.

عبد الحميد ريم، حامد فيصل و الإبراهيم أنور.(2011). دراسة جزيئية لصنف الزيتون دان في ريف دمشق باستخدام مؤشرات التعددية الشكلية المضخمة عشوائياً. المجلة الأردنية للعلوم الزراعية ، مجلد(7)،عدد(3):575-588 .

عبد الحميد ريم، أبو الجدايل رحيم، عباس شهيناز، الشعال الاء و مرشد رمزي. (2018). التوصيف الجزيئي والقرابة الوراثية لبعض أصناف الزيتون المزروعة وطرز منتخبة من الزيتون البري في محافظة حماة سورية باستخدام تقانة التتابعات التكرارية البسيطة SSR. مجلة جامعة دمشق للعلوم الزراعية.

Abdelhamid, S.; kamoun, G. ; Marra P. and Caruso, T. 2013. Genetic similarity among Tunisian cultivated olive estimated through SSR markers. Sciences, Agriculture, Vol.70, (1):33-38.

Abdelhamid, S. ; Omri, A. ; Kamoun, G. ; Marra, P. ; and Caruso, T. 2017. Molecular characterization and genetic relationships of cultivated Tunisian olive varieties (*Olea europaea* L.) using SSR markers. Journal of new sciences, Agriculture and Biotechnology ,40(5): 2175-2185.

Adakalic, M. and Lazovic, B. 2018. Morphological, Chemical and Molecular Characterization of 'Old olive' (*Olea europaea* L.) from Montenegro. Brazilia Agriculture. Biotechnology. vol. 61" Curitiba" 2018 "Epub". Nov 14, 2018, ISSN 1516-8913 On-line version ISSN 1678-4324.

Chalak, L.; Chehade, A.; Elbitar, H. and Youssef, H. 2014. Morphological and molecular characterization for assessment of genetic variation within the 'Baladi' Olive Cultivar. Acta Horticulturae 1057:741-748.

Eleuch, L. ; Jalil, A. ; Grando, S. ; Ceccarelli, S. ; Schmising, M. K. ;Tsujimoto, A. ; Daaloul, A. and Baum, M. 2008. Genetic Diversity and association analysis for salinity tolerance, heading date and plant height of barley germplasm using simple sequence repeat

Ricciardi L. ; Giorgio, V. ; DeGiovanni, C. ; Lotti, C. ; Gallotta; A. and Fanizza, G. 2002. The genetic of apulian apricot genotypes (*Prunus armeniaca* L.) assessed using AFLP markers. Cellular and Molecular Biology Letters, 7:431-436.

Rony, C.; Baalbaki, R.; Kalaitzis, P.; Salma, N. and Talhouk S. 2009. Molecular characterization of Lebanese olive germplasm. Tree Genetics & Genomes, 5:109–115.

Sorkheh, K. and Khaleghi, E. 2016. Molecular characterization of genetic variability and structure of olive (*Olea europaea* L.) germplasm collection analyzed by agromorphological traits and microsatellite markers. Turkish Journal of Agriculture and Forestry. 40: 583-596.

Weir, B. S. 1996. Genetic data analysis II. 2nd ed. Sinauer Associates. Inc. Sunderland, MA. . 377pp. ref.10pp. of, ISBN : 0878938729.

Williams. J. G. K.; Kubelik, A. R. ; Levak, K. J.; Rafalski, J. A.; and Tingey, S. V. 1990. DNA polymorphism amplification by arbitrary primers are useful as genetic markers. Nucleic Acids Research, 18:6531-6535.

Wjhani Y. 2004. Genetic studies on the biodiversity of local and wild Syrian wheat using modern biotechnological techniques. Thesis submitted in partial fulfillment for the requirements of the degree of doctor of philosophy in agriculture science (genetics), Department of genetics, Cairo university, Faculty of agriculture, 119 p.

Zahra, N.; Mehdi, H. M.; Isabel, T. and Angjelina, B. 2009. Study of intracultivar variation among main Iranian olive cultivars using SSR markers. Acta Biologica Szegediensis. 53(1):27-32.

markers. Journal of integrative plant, 50(8): 1004-1014.

Gomes S.; Martins-Lopes, P.; Lopes, J.; and Guedes, H. 2009. Assessing Genetic diversity in *Olea Europaea* L. using ISSR and SSR markers. Plant Molecular Biology Reporter, 27(3):356-373.

Harbi, I. ; Al-Awadi, S. ; Imad, A.; and Moner, M. 2012. Molecular characterization of olive Cultivars in Iraq Using SSR markers and compare with phenotype characterization. Journal of Life Sciences, 6:1343 - 1350

Maniatis, T.; Fritsch, E. F. and Sambrook, J.1982. Molecular cloning: Laboratory manual. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor/ NY. Pages : 3. ISBN : 0879693096, 9780879693091.

Mnasri, R.; Saddoud, S.;Ben, S. and Ferchichi, A.2014. Morphological and molecular characterization of the main olive varieties cultivated in the region of Hbebsa (North West of Tunisia). International Journal of Agronomy and Agricultural Research, 5(2): 87-93.

Muzzalupo I. G.; Vendramin, C. and Chiappetta, A. 2014. Genetic biodiversity of Italian olives (*Olea europaea*) Germplasm analyzed by SSR markers. The Scientific World Journal. Volume 2014, Article ID 296590, 12 pages. 1-12. http://dx.doi.org/10.1155/2014/296590

Nei, M. and Li, W. H. 1979. Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 76: 5269–5273.

THE LIBYAN JOURNAL OF AGRICULTURE
Volume (24), No. (2), 2019: 45-54

Genetic relationship of some olive cultivars grown in Syria by using SSR Technology

Reem Abd Al-hameed[1]*, Rahim Abu Aljadael[2], Noor Alasaad[3], Alaa Alshaal [3] and Ramzi Murshed[4]

[1]General Commission for Scientific Agricultural Research, Horticulture department

[2]Damascus university, Faculty of science

[3]General Commission for Scientific Agricultural Research, Biotechnology department

[4]Department of Horticulture Faculty of Agriculture Damascus

ABSTRACT

This study was carried out during the period of 2017-2018 aiming to study genetic relationship for seven olive cultivars grown in the Coastal Area of Syria. We used 21 pairs of Simple Sequence Repeats (SSR) markers. The total markers produced 58 alleles with an average of 2.76 allele per locus, number of alleles generated SSR markers, and the number of SSR markers per primer pair ranged from 1 to (UDO99-027 - UDO99-026- DCA18), 6 alleles (for one marker DCA3).

Polymorphic information content (PIC) values ranged from 0.2149 (UDO99-027-UDO99-031) to 0.7913 DCA3 with an average 0.3907. Genetic diversity (GD) ranged from 0.103 (UDO99-031) to 0.755(UDO99-008) with an average 0.488. The results of cluster analysis and dendrogram discriminated all genotypes and clustered them separately into three major groups. Group I: Dab1, group II: KHODEIRI, DOEBLI, Dab 2, SUKARY, AYRONY, groups III: FRONTOYO. The results confirmed the ability of SSR markers to be used for the determination of genetic diversity among the olive verity.

Key Words: Olive cultivars, genetic relationship, SSR.

Corresponding Author:Reem Abd Alhameed, General Commission for Scientific Agricultural Research, Horticulture department

Phone. ..... **Email: reem_ahamid@yahoo.com**

Received: 25/3/2019 **Accepted: 1 / 12/ 2019**