دراسة القرابة الوراثية بين طرز من الزيتون البري المزروع في منطقة مصياف باستخدام تقنية ISSR

غادة قطمة [1] ، فيصل حامد[2] و سهيل مخول[3]

ملخـص

أجري اختبار البصمة الوراثية لثمانية طرز شكلية من الزيتون البري المزروع في منطقة مصياف بمحافظة حماة السورية لدراسة البعد الوراثي بين هذه الطرز باستخدام 27 مرئسة لتقنية ISSR.

أثبتت تقنية ISSR فعالية عالية في تمييز الطرز البرية المدروسة، حيث أعطت المرئسات المستخدمة 1065 حزمة منها 689 حزمة متعددة شكلياً بمتوسط قدره 25.5 حزمة متعددة شكلياً/ مرئسة، و نجحت جميعها في إعطاء تعددية شكلية بين الحزم الناتجة، بينما بلغ عدد سطور الحزم 281 سطراً منها 211 سطراً متعدداً شكلياً بمعدل 7.8 سطر متعدد شكلياً/ مرئسة.

أظهرت نتائج الدراسة وجود تنوع وراثي بين الطرز المدروسة، حيث تراوحت قيم عدم التوافق بين 17 و 43 %. وكانت أقل قيمة لعدم التوافق بين الطرازين WH10 وWH11، و كانت قيمة عدم التوافق أعلى ما يمكن بين الطرازين WH16 وWS30.

تجمعت الطرز المدروسة في شجرة القرابة الوراثية وفقاً لتوزعها الجغرافي في الحقول، بينما لم يتوافق التجمع العنقودي للطرز مع ارتفاع مناطقها عن سطح البحر، كما استطاعت تقنية ISSR تمييز معظم الطرز المدروسة بحزمة فريدة من الدنا.

الكلمات الدالة: زيتون بري مزروع، قرابة وراثية، ISSR.

المقدمـة

ازداد الاهتمام في العقود الأخيرة بالمصادر الوراثية للزيتون لاسيما البرية منها فبدأ التوجه نحو دراستها وتوصيفها وحفظها خارج أماكن وجودها الطبيعية في مجمعات وراثية للاستفادة منها في برامج التحسين الوراثي للزيتون (الباكير،2005).

يندرج الزيتون البري في سوريا ضمن تحت-النوع *Olea europaea subs.Oleaster* (Bartolini and Petrucelli,2002)، وتنتشر غاباته في الطوابق المناخية الرطبة وشبه الرطبة، بينما تغطي أشجار الزيتون البري المزروع أغلب السفوح المتاخمة لغاباته الطبيعية، حيث قام المزارعون في هذه المناطق بتعليم أشجار من الزيتون البري الطبيعي ذات صفات مرغوبة (وزن ثمار، نسبة زيت) وزراعة أجزاء منها (قرم) في حقولهم وهي مازالت موجودة اليوم بين أشجار أصناف الزيتون المحلية (قطمة،2009)، وهذه المصادر الوراثية تشكل بنكاً وراثياً ومصدراً لمورثات (صفات) متفوقة فريدة تسهم في التحسين الوراثي للزيتون (Malus,1999)، الأمر الذي يسهم في دعم استقرار النظام الزراعي في سوريا. وصلت نسبة الزيت في بعض تلك الطرز إلى 27% ونسبة حمض الأوليك إلى 75%، بينما وصل وزن الثمار في أحد الطرز المدروسة إلى 3.54غ.

تشكل تقنيات البصمة الوراثية أداة التوصيف الأكثر حداثة ودقة، لكشف درجة التشابه بين الأصناف أو الطرز الشكلية، حيث تأخذ الدراسات الوراثية، وخاصة في مجال الزيتون البري، اهتماماً كبيراً من الباحثين في العالم

---

[1] مساعد باحث أول.

[2] أستاذ في قسم علوم البستنة، كلية الزراعة، جامعة دمشق، سورية.

[3] باحث، الهيئة العامة للبحوث العلمية الزراعية، دوما، دمشق، سورية.

تاريخ استلام البحث 2009/4/29 وتاريخ قبوله 2010/8/12.

(Sedgely,2004) ، وقد أظهرت تلك الدراسات وجود فروقات وراثية بين طرز الزيتون البري في شرق المتوسط وتلك الموجودة في غرب المتوسط (Besnard et al.,2002;Angiolillo et al.,1999) ، وكذلك بين الطرز البرية والأصناف المزروعة (Baldoni et al., 2006).

استخدمت تقنية Inter Simple Sequence Repeat (ISSR) للتمييز بين أصناف الزيتون المزروعة في الدول المتوسطية (Essadki and Quazzani,2003) وكذلك بين طرز الزيتون البري في فنزويلا (Vergas and Kadereit,2001)، وأثبتت تلك التقنية فعالية عالية في التمييز بين الأصناف والطرز المدروسة. و تعتبر هذه التقنية حديثة نسبياً وأكثر موثوقية لأنها تحتاج لمرئسات ذات عدد أسس أكبر مما يتطلب استخدام درجات حرارة التحام (Annealing) أعلى، و من ثم فهي أكثر تخصصية (Bornet and Branchard, 2001).

كما استخدمت هذه التقنية في دراسة التباين الوراثي للعديد من الأنواع كالتين (عبود،2010) والزعرور البري (ميرعلي وزملاؤه،2009). وأعطت نتائج جيدة للكشف عن التعددية الشكلية الجزيئية والتمييز بين الطرز.

يشهد الزيتون البري في سورية اهتماماً كبيراً من الباحثين في المراكز البحثية والجامعات السورية، إلا أن الدراسات الوراثية في هذا المجال مازالت محدودة جداً (الباكير،2005). لذلك يعتبر بحثنا هذا - في حدود علمنا- الأول الذي يدرس التنوع الوراثي لهذه المادة النباتية (الزيتون البري المزروع) في سورية.

مواد البحث وطرائقه

المادة النباتية: هي عبارة عن ثمانية طرز برية يزيد عمرها على 50 سنة ومزروعة في حقول المزارعين في ثلاث قرى تابعة منطقة مصياف – حماة (حزور، وراقة، شكارة) وهي: WH10 و WH11 و WH16 (طرز منطقة حزور)، و WW4 و WW2 و WW1 (طرز منطقة الوراقة)، وWS30 و WS31 (طرز منطقة شكارة).

طرائق البحث

أخذت عينات التحليل الجزيئي من أوراق فتية (25-30 ورقة لكل طراز) من النموات الحديثة لأشجار الطرز البرية المدروسة، حيث اعتبرت كل شجرة طرازاً، ونقلت في اليوم نفسه لمختبر التقانة الحيوية – هيئة الطاقة الذرية – لإجراء بصمة وراثية للطرز المنتخبة باستخدام تقانة (ISSR).

1-عزل DNA : بعد غسل أوراق العينات بالماء المقطر المعقم عدة مرات اتبعت مراحل العزل - طريقة CTAB (Williams *et al*., 1990) ثم قدرت كمية DNA بواسطة جهاز المطياف الضوئي Spectrophotometer (GeneQuant) (شركة Amersham Biosciences) بحيث وحدت تراكيز كافة العينات إلى 10 نانوغرام في المايكرولتر.

2- تفاعل PCR: كان الحجم النهائي لمكونات التفاعل 25 ميكرولتر متضمناً: 10 ميليمول Tris-HCl (pH 8.8 في درجة حرارة 25°م)، 50 ميليمول KCl، Nonidet P40 % 0.08، 3 ميليمول $MgCl_2$ ، 0.25 ميليمول لكل واحد من الأسس (dCTP, dGTP, dTTP, dATP) (صنع شركة Q-BIOgene)، 0.5 وحدة من Taq DNA Polymerase، 30 نانوغرام من DNA و 100 بيكومول من كل مرئسة primer (صنع شركة Invitrogen)، حيث تم استخدام 27 مرئسة – الجدول (2). تضمن برنامج التسخين الحلقي تمسخاً (Denaturation) أولياً لفصل جديلتي DNA وذلك في درجة حرارة 94 درجة مئوية ولمدة خمس دقائق أتبعت بـ 40 دورة كل دورة تضمنت:

أ- التمسخ (Denaturation) في حرارة 94 درجة مئوية ولمدة عشر ثوانٍ. ب- الالتحام (Annealing) في درجة حرارة 50 درجة مئوية ولمدة عشر ثوانٍ.ج- الاستطالة (Extension) في درجة حرارة 72 درجة مئوية ولمدة عشر ثوانٍ، والاستطالة النهائية لدورة واحدة في درجة حرارة 72°م ولمدة سبع دقائق. وأبقيت نواتج التفاعل في درجة حرارة 4°م.

3- الرحلان الكهربائي لنواتج التضخيم: جرى ترحيل نواتج تفاعل PCR على هلامة أغاروز 1.8% (صنع شركة Q-BIOgene) ضمن محلول دارئ TBE 0.5X، وأضيف لتلك الهلامة ما مقداره 3 ميكرو لتر من صبغة اللودينغ و3 ميكرو لتر من إثيديوم بروميد من شركة Fluka لكشـف حزم DNA من خلال الضوء فوق

البنفسجي (UV) واستعمل سلم الدنا (100 bp Ladder) (صنع شركة Vivantis) للإشارة لمواقع الحزم وأحجامها.

4- التحليل الإحصائي لبيانات ISSR: درست نواتج التضخيم للمرئسات المختلفة المستخدمة بمقارنة المسارات الناتجة فيما بينها، و أحصيت الحزم على أساس وجود الحزمة (1) أو غيابها (0)، وأخذت بالاعتبار الحزم الواضحة فقط والمكررة في اختبارين مستقلين. ولمعرفة درجة القرابة الوراثية بين الأصناف المستخدمة اعتمادا على عدد نواتج التضاعف المشتركة، جرى إنشاء مصفوفة النسب المئوية لقيم عدم التوافق Percent Disagreement Values (PDVs) الناجمة عن تطبيق متوسطات المجموعات الزوجية غير المزانة (UPGMA)، ومن ثم تم رسم شجرة القرابة الوراثية Genetic Dendrogram.

النتائج والمناقشة

1- التعددية الشكلية

أثبتت المرئسات الرباعية (التي تتكون من تتالي أربعة أسس آزوتية) مقدرة عالية على كشف التنوع في التوزع الحزمي للشدف المضخمة، حيث يتبين من الجدول (1) أنها أعطت أعلى تعددية شكلية بين أنماط المرئسات المستخدمة، وبلغ متوسط التعددية الشكلية للحزم (%) لهذا النمط 83.1%، تلتها المرئسات الثلاثية مع لاحقة بنسبة 70.96%.

يبين الجدول (2) المرئسات المستخدمة وتسلسلها وعدد سطور الحزم (العدد الكلي لوحدات التضاعف) وعدد السطور التي أعطت تعددية شكلية؛ إذ نتج عن تطبيق 27 مرئسة 281 سطراً بمتوسط قدره 10.4 ، وحققت المرئسة D3 أعلى معدل لوحدات التضاعف بلغ 21 وحدة تضاعف، في حين بلغ أقل معدل لوحدات التضاعف 3 وحدات مع المرئسة D2. وكان عدد السطور المتعددة شكلياً 211 بمتوسط قدره 7.8 حيث بلغ متوسط نسبة السطور المتعددة شكلياً إلى السطور الكلية 77.8%.

ويوضح الجدول (2) أيضاً أن تقنية ISSR أثبتت فعالية عالية في تمييز الطرز البرية المدروسة، ونجحت جميع المرئسات المستخدمة في إعطاء تعددية شكلية بين الحزم الناتجة التي تراوح وزنها الجزيئي بين 200 و 1800 bp، حيث أعطت المرئسات 1065حزمة منها 689 حزمة ذات تعددية شكلية بنسبة قدرها 64.7% ، بينما كانت هذه النسبة (39.5%) في الدراسة التي أجراها (عبود، 2010) على أصناف من التين في سورية و (79%) على عينات زعرور برية قام بدراستها (مير علي وزملاؤه،2009).

أعطت المرئسات A34 و B4 وD4 و 164/3أعلى نسبة للتعددية الشكلية بين الحزم بلغت 100 % ، بينما كانت أقل نسبة للتعددية الشكلية 23.8 % أعطتها المرئسة D2. وهذا يتفق مع ما توصل إليه (عبود،2010) في دراسته الجزيئية باستخدام التقنية ذاتها (23 مرئسة مشتركة) حيث توصل إلى أربع مرئسات أعطت 100% من الحزم ذات التعددية الشكلية.

يوضح الشكل (1) هلامة الأغاروز الناتجة من استخدام الطرز البرية المدروسة والشاهد مع المرئسة 164/1 والتي توضح التنوع الوراثي بين هذه الطرز الذي تم الحصول عليه باستخدام تقنية ISSR.

2- دراسة الواسمات المميزة (Unique Bands) الناتجة عن استخدام تقنية ISSR

تمكنت تسع مرئسات من إعطاء حزم فريدة (واسمات) لبعض الطرز المدروسة تميزها عن باقي الطرز؛ فعلى سبيل المثال تميز الطراز WH16 بإعطاء حزمة مميزة عن باقي الطرز مع عدة مرئسات: B16 ، D3، B4 (الجدول 3)، بينما لم تظهر حزم مميزة للطرازين WW2 و WH10 مع أي من المرئسات المستخدمة.

إن قدرة ISSR على تمييز معظم الطرز المدروسة بحزمة وحيدة من DNA وجدت في طراز معين وغابت في الطرز الأخرى كما يتبين من الشكل (2). ويمكّن ذلك من معرفة هذا الطراز قبل قدوم موسم الإنتاج، وبالتالي يمكن الاستفادة من هذه التقنية في عمليات التصنيف النباتي لأشجار الزيتون البري في أماكن وجودها في الغابات الطبيعية، ولأصناف الزيتون المزروع في المجمعات الوراثية بشكل داعم للتوصيف الشكلي. وهذا الدور الهام الذي تلعبه المعلّمات الجزيئية في تربية النبات وتحديد الأصناف أكده (مير علي والنابلسي، 2003) عندما استطاعا تمييز عدد من أصناف الزيتون المحلية والمدخلة بحزم DNA مميزة باستخدام تقنية RAPD.

3- دراسة العلاقة الوراثية

لمعرفة درجة القرابة الوراثية بين الطرز البرية المدروسة اعتماداً على نواتج التضاعف المشتركة ، تم إنشاء مصفوفة النسب المئوية لعدم التوافق (PVD) الناجمة عن تطبيق متوسطات المجموعات الزوجية غير المزانة (UPGMA) باستخدام برنامج STATISTICA .

يبين الشكل (3) أن أعلى قيمة لعدم التوافق PVD كانت 0.43 وهي بين الطرازين WH16 و WS30 ، تلتها القيمة 0.42 بين الطرازين WH16 وWS31 . بينما كانت أقل قيمة 0.17 وهي بين الطرازين WH10 و WH11. وبلغ المتوسط العام لقيم عدم التوافق لهذه الطرز 0.30.

ويعني ذلك أن نسبة التشابه الوراثي بين الطرز البرية المدروسة تراوحت بين 57 % و 83 % وهي أعلى من نسبة التشابه بين الطرز البرية التي درسها (القيم، 1999).

4- التحليل العنقودي

تبين شجرة القرابة (Dendrogram) – الشكل (4) - للطرز البرية المحللة باستخدام تقنية ISSR أن درجة الاختلاف الوراثي بين الطرز البرية المدروسة عالية مقارنة مع ما توصل إليه (مير علي والنابلسي، 2003) في دراستهما لأصناف زيتون من دول حوض المتوسط باستخدام تقنية RAPD. وهذا يشير إلى الدقة العالية لتقنية ISSR في تمييز طرز الزيتون وإلى الغنى الوراثي لمصادر الزيتون البري المدروس.

انقسمت شجرة القرابة عند قيمة عدم توافق بلغت 0.37 إلى عنقودين رئيسين (2 clusters) : العنقود الأول (cluster -1) يضم الطرازين WS30 و WS31 المنتخبين من منطقة شكارة وهما أكثر بعداً وراثياً عن باقي الطرز ، والعنقود الثاني (cluster -2) يضم باقي الطرز المدروسة.

ويندرج ضمن العنقود الثاني عنقودان فرعيان: (two subclusters) كل منهما يضم ثلاثة طرز لها البعد الوراثي نفسه، حيث كان الطرازان WH10وWH11 أكثر قرابة وشكّلا مع الطراز WH16 العنقود الفرعي subcluster الأول وهي تمثل طرز منطقة حزور، وكذلك فإن درجة القرابة كانت عالية بين الطرازين WW1 و WW2 اللذين شكّلا مع الطراز WW4 العنقود الفرعي subcluster الثاني (طرز منطقة الوراقة) .

تناسب التجمع العنقودي للطرز المدروسة مع توزعها الجغرافي ضمن الحقول كما يتضح من الشكل (4)، وهذا يتفق مع ما توصل إليه كل من (Belaj *et al*.,2002) و(Belaj *et al*.,2007) و (مير علي والنابلسي ،2003)؛ إذ لم تستطع تقنية ISSR التمييز بين الطرز المنتخبة فحسب بل استطاعت أن تبرز العلاقة بين هذه الطرز و مناطق توزعها الجغرافي، وهذا أكده (Gomes *et al*.,2006) في توصيفه لعدة أصناف زيتون من حوض المتوسط باستخدام ISSR.

وتوضح شجرة القرابة الوراثية - الشكل (4) – أيضاً عدم وجود علاقة بين الطرز البرية المدروسة وبين ارتفاع مناطق زراعتها عن سطح البحر، حيث تجمعت طرز منطقة الوراقة الهضابية مع طرز حزور الجبلية في عنقود واحد، وتوضعت طرز شكارة الجبلية في عنقود مستقل.

تضيف هذه الدراسة دليلاً جديداً على غنى بلادنا بالمصادر الوراثية للزيتون، والتنوع الوراثي الكبير في غاباتها البرية. ولعل العامل الأهم الذي تعزى إليه هذه الاختلافات الوراثية بين الطرز المدروسة التنوع الوراثي للطرز البرية في الغابة الطبيعية التي انتخب منها المزارع أشجاره، أو أن بعض هذه الطرز تعرض بعد زراعته خلال السنوات الماضية لطفرات طبيعية spontaneous mutations أدت إلى تغير في تركيبها الوراثي وظهور أشكال وراثية متنوعة من الزيتون البري المزروع.

الاستنتاجات

1- وجود قرابة وراثية كبيرة بين الطرازين WH10 و WH11 (PVD = 0.17)، بينما كان البعد الوراثي أكبر مايمكن بين الطرازين WH16 و WS30 (PVD = 0.43).

2- وجود قدرة لتقنية ISSR على التمييز بين الطرز البرية المنتخبة حيث بلغ المتوسط العام للتعددية الشكلية 64.7%.

3- أظهرت مصفوفة عدم التوافق وجود تنوع وراثي كبير بين الطرز البرية المدروسة.

4- تجمعت الطرز المدروسة في شجرة القرابة

الوراثية وفقاً لتوزعها الجغرافي في الحقول .

5- لم يتوافق تجمع الطرز البرية المدروسة في شجرة القرابة مع ارتفاع مناطقها عن سطح البحر.

6- استطاعت بعض المرئسات أن تميز بعض الطرز المدروسة بحزم DNA مميزة.

التوصيات

1- التوسع بدراسة الزيتون البري في كل مناطق انتشاره في سورية من خلال عمليات الانتخاب وتقييم طرزه باستخدام التقانة الحيوية.

2- إجراء دراسات متعمقة لدراسة القرابة الوراثية بين الزيتون البري و الأصناف المحلية المزروعة في المناطق القريبة لأماكن غابات الزيتون البري الطبيعية.

3- الاستمرار باستخدام المعلمات الجزيئية في التمييز بين المصادر الوراثية البرية في سورية.

الجدول 1. متوسط التعددية الشكلية % لأنماط المرئسات المستخدمة.

أنماط المرئسات المستخدمة	مثال	متوسط التعددية الشكلية لمرئسات النمط (%)
رباعية بدون لاحقة	164/3	%83.1
ثلاثية بدون لاحقة	B10	%43.5
ثلاثية مع لاحقة	A37	%70.96
ثنائية مع لاحقة	A1	%63.67

الجدول 2. المرئسات المستخدمة في تقنية ISSR مع تسلسلاتها، وعدد سطور الحزم لكل مرئسة، وعدد سطور الحزم المتعددة شكلياً، وعدد الحزم الناتجة من التضخيم.

الرقم المتسلسل	المرئسة	تسلسل القواعد الأزوتية	درجة حرارة الالتحام °م	عدد سطور الحزم لكل مرئسة	عدد السطور المتعددة شكلياً	نسبة سطور التعددية للسطور الكلية (%)	عدد الحزم الكلي	عدد الحزم المتعددة شكلياً	التعددية الشكلية لمجموع الحزم (%)
1	A1	(CA)6RR	50	8	7	87.5	25	17	68
2	A4	(CA)6RY	50	7	6	85.7	28	20	71.4
3	A7	(CA)6RM	50	12	11	91.7	44	36	81.8
4	A10	(CA)6RK	50	6	3	50	39	15	38.5
5	A13	(CA)6RS	50	9	7	77.8	37	21	56.8
6	A16	(CA)6R	50	9	6	66.7	47	23	48.9
7	A25	(CA)6K	50	12	10	83.3	53	37	69.8
8	A31	(AGC)4R	50	14	13	92.9	52	44	84.6
9	A34	(AGC)4Y	50	13	13	100	41	41	100
10	A37	(AGC)4M	50	9	8	88.9	34	26	76.5
11	A41	(AGC)4K	50	14	13	92.9	51	43	84.3
12	A44	(AGC)4S	55	9	6	66.7	42	18	42.9
13	B1	(CT)8TG	50	9	8	88.9	37	29	78.4
14	B4	(CA)6GC	50	15	15	100	41	41	100

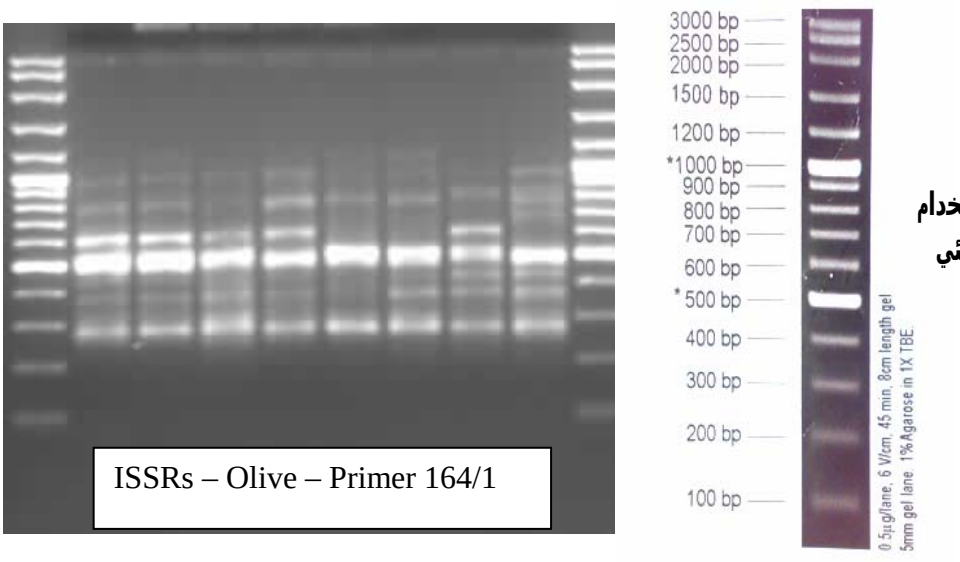
الرقم المتسلسل	المرئسة	تسلسل القواعد الأزوتية	درجة حرارة الالتحام °م	عدد سطور الحزم لكل مرئسة	عدد السطور المتعددة شكلياً	نسبة سطور التعددية للسطور الكلية (%)	عدد الحزم الكلي	عدد الحزم المتعددة شكلياً	التعددية الشكلية لمجموع الحزم (%)
15	B7	(GTG)3GC	50	10	8	80	44	28	63.6
16	B10	(GAG)5	50	6	4	66.7	39	23	59
17	B13	(CAA)5	50	4	2	50	24	8	33.3
18	C22	(AG)8T	50	9	6	66.7	49	25	51
19	C24	(CT)8G	50	7	5	71.4	35	19	54.3
20	C25	(GTG)3GC	50	6	4	66.7	29	13	44.8
21	C30	(CAA)5	50	11	9	81.8	38	22	57.9
22	D2	(CAG)5	50	3	1	33.3	21	5	23.8
23	D3	(GACA)4	50	21	16	76.2	79	39	49.4
24	D4	(GATA)4	50	12	12	100	28	28	100
25	164/1	(AG)10T	50	7	4	57.1	39	15	38.5
26	164/2	(AG)10C	50	9	7	77.8	54	38	70.4
27	164/3	(ACTG)4	60	7	7	100	15	15	100
28		**المجموع**		281	211	2100.7	5610	689	1747.9
29		**المتوسط**		10.4	7.8	77.8	39.4	25.5	64.7

R= A+G Y= C+T M=A+C K= G+T S=G+C

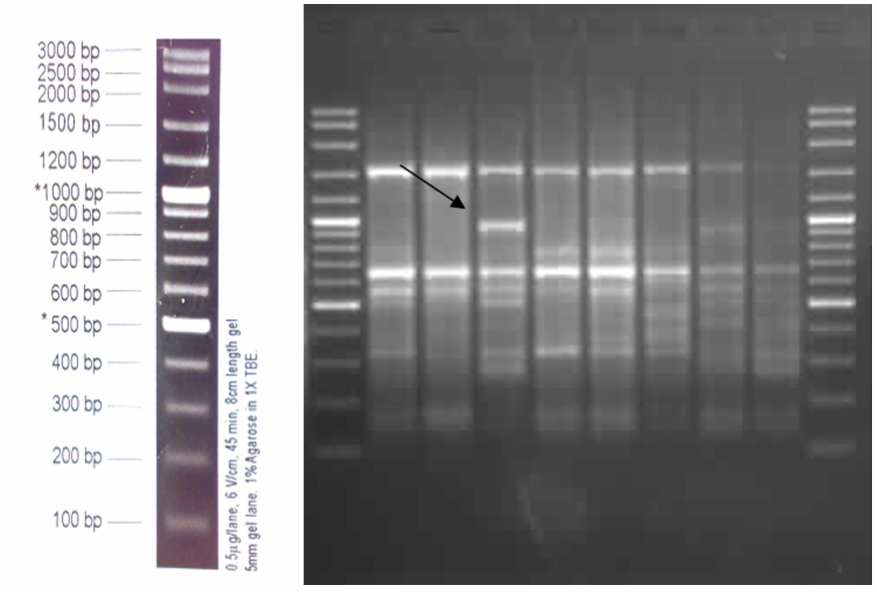
الجدول 3. الأوزان الجزيئية للحزم المميزة لبعض طرز الزيتون المدروسة باستخدام تقنية ISSR.

المرئسة	الطراز	الوزن التقريبي للحزم المميزة
A7	WW1	bp 1300
A7	WW4	bp 1100
A7	WW4	bp 400
B16	WH16	bp 1000
D3	WH16	bp 1000
B4	WH16	bp 1000
164/3	WS31	bp 1200
164/2	WS31	bp 800

المرئسة	الطراز	الوزن التقريبي للحزم المميزة
A25	WS31	bp 800
A13	WW4	bp 1100
A37	WH11	bp 1300



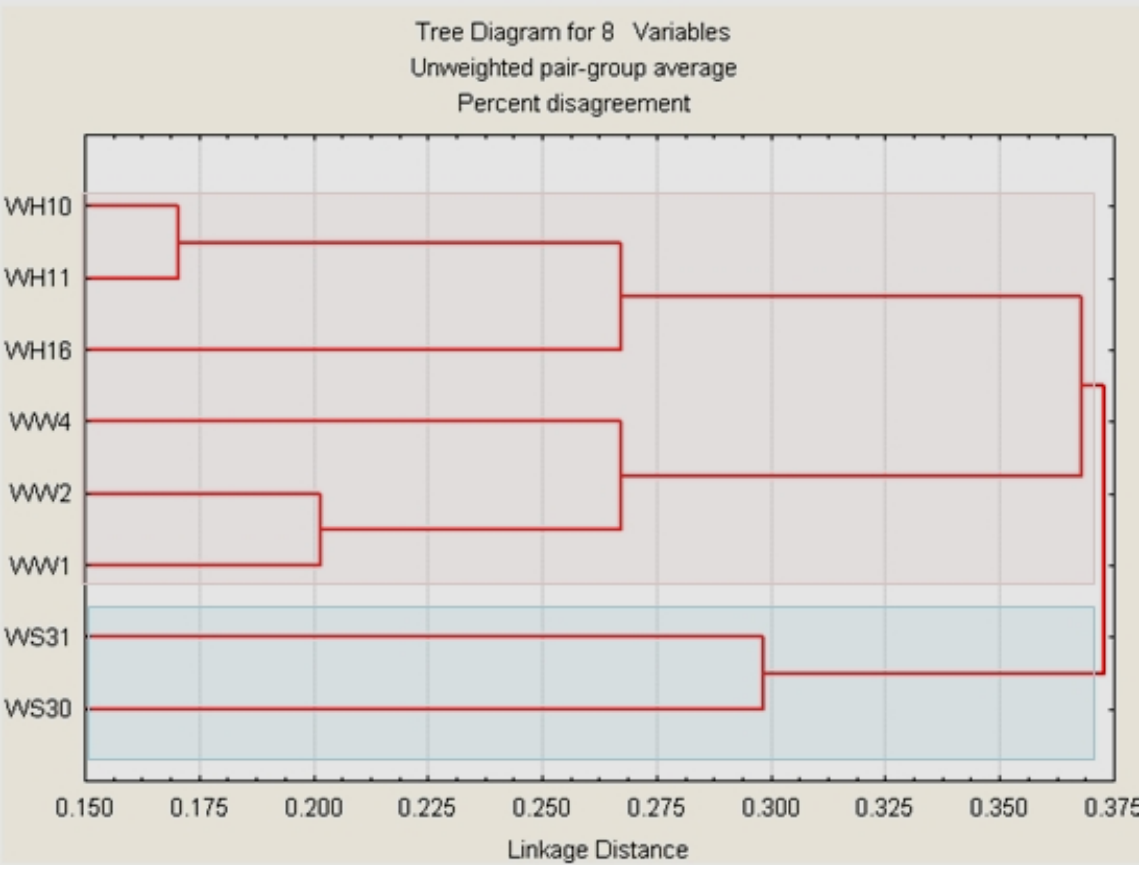
الشكل 1. الهلامة الناتجة عن استخدام المرئسة (164/1)، المعلم الجزيئي Ladder(100bp).



الشكل 2. الحزمة الفريدة (bp 1000) للطراز WH16 على الهلامة عند استخدام المرئسة D3، المعلم الجزيئي Ladder (100bp).

	WH10	WH11	WH16	WW4	WW2	WW1	WS31	WS30
WH10	0.00							
WH11	0.17	0.00						
WH16	0.23	0.30	0.00					
WW4	0.31	0.36	0.41	0.00				
WW2	0.34	0.32	0.41	0.21	0.00			
WW1	0.34	0.41	0.41	0.32	0.20	0.00		
WS31	0.37	0.31	0.42	0.40	0.37	0.41	0.00	
WS30	0.37	0.36	0.43	0.34	0.35	0.35	0.30	0.00

الشكل 3. مصفوفة نسب قيم عدم التوافق (PDVs) الناتجة عن تقنية ISSR على أشكال الزيتون البري المدروسة.



الشكل 4. شجرة القرابة الوراثية بين الأشكال البرية المدروسة المحللة باستخدام بيانات ISSR.

المراجع

المراجع العربية

الباكير، ساهر، 2005، الاختلافات الوراثية ونوعية الإنتاج بين بعض أصناف الزيتون المزروع .*Olea europea* L والبري في المنطقة الشمالية من سورية. رسالة دكتوراه في الهندسة الزراعية، جامعة حلب،228 صفحة.

الفيم ، فاضل، 1999، دراسة التنوع الوراثي للزيتون البري *Olea sylvestris mill* في الساحل والجبال الساحلية السورية . رسالة دكتوراه.

عبود،علاء ،2010، دراسة توصيفية وجزيئيية لبعض أصناف التين السورية المزروعة في مجمعي جلين وإدلب الوراثيين. رسالة ماجستير، جامعة دمشق، 118 صفحة.

قطمة، غادة، 2009، دراسة التنوع الحيوي لبعض طرز الزيتون البري المزروع في منطقة مصياف – حماة والكشف عن درجة القرابة بينها باستخدام البصمة الوراثية. رسالة ماجستير. جامعة دمشق، 108صفحات.

مير علي ، نزار،النابلسي ، عماد، 2003، التوصيف الجزيئي ودرجة القرابة بين أصناف الزيتون المزروعة في سورية باستخدام تقانة التضخيم العشوائي المتعدد الأشكال للدنا RAPD. هـ ط ذ س- ب / ت ن ب ع 229، 21 صفحة.

ميرعلي، نزار، العودات، محمد، خير، ناديا والنابلسي، عماد،2009، جنس الزعرور: دراسة بيئية وجزيئية. تقرير عن دراسة علمية مخبرية – هيئة الطاقة الذرية هـ ط ذ س – ب ج/ ت د ع 48 .810.

المراجع الأجنبية

Angiolillo, A., Mencuccini, M. and Baldoni, L. 1999. Olive Genetic Diversity Assessed Using Amplified Fragment Length Polymorphisms. ***Theoretical and Applied Genetics***, 98: 411–421.

Baldoni, L., Tosti, N., Ricciolin, C., Belaj, A., Arcioni,S., Pannelli,G., Antonnietta ,M., Mulas, M. and Porceddu, A. 2006.Genetic Structure of Cultivated and Wild Olive in the Central Mediterranean Basin.***Oxford Journal***, 98(2):935-942.

Bartolini , G . and Petrucelli , R . 2002 . Classification , Origin , Diffusion and History of the Olive . Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO), Rome, 568:21-24.

Belaj,A.,Trujillo,I. and Rallo,L.2002.RAPD Analysis Supports the Autochthon Origin of Olive Cultivars. ***ISHS Acta Horticulturae***, 586:83-86. IV International Symposium on Olive Growing, Vol.2,No.204.

Belaj, L., Diez, C., Baldoni, L., Porceddu, A., Barranco, D. and Satovic, Z. 2007.Genetic Diversity and Population Structure of Wild Olives from the North-Western Mediterranean Assessed by SSR Markers. ***Annals of Botany***, 100(3): 449 - 458.

Besnard, G., Khdari, B., Baradat, P. and Berville, A. 2002. Combination of Chloroplast and Mitochondrial DNA Polymorphisms to Study Cytoplasm Genetic Differentiation in Olive Complex (*Olea europaea* L.). ***Theoretical and Applied Genetics***,105:139-144.

Bornet, B. and Branchard, M. 2001. Non-anchored Inter-simple Sequence Repeat (ISSR) Markers: Reproducible and Specific Tools for Genome Fingerprinting. ***Plant Molecular Biology Reporter***, 19: 209-215.

Essadki,M. and Ouazzani,N.2003.Preliminary Results of Varietal Identification with Aid of ISSR Genetic Markers. ***Olivae***, 97: 42-45.

Gomes, S., Martins-Lopes, P., Lima-Brito, J. and Guedes-Pinto, H. 2006. Molecular Typing of 38 Olive Cultivars (*Olea europaea* L.). ***Olivebioteq***, 1: 37-44.

Malus, M.1999. Characterization of Olive Wild Ecotypes. ***Acta Hort (ISHS)***, 474:121-124.

Sedgley, M. 2004. Wild olive selection for quality oil products. Rural Industries Research And Development Corporation Project. No. UA-54A RIRDC publication. No. 04/101.

Vergas,P. and Kadereit, J. W. 2001. Molecular Fingerprinting Evidence (ISSR) for a Wild Status of *Olea Eropaea* L. (Oleaceae) in the Eurosiberian North of the Iberian Peninsula.***Flora***, 196:142-152.

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 Resources***, 18: 6531-6535.

Studying the Genetic Relationship of Some Cultivated Wild Olive Types in Mesiaf Region by Using ISSR Technique

Ghada Kattmah [1], Faisel Hamed[2] and Souhel Makhool[3]

ABSTRACT

A fingerprint experiment was conducted on eight phenotypes of cultivated wild olive in Mesief region – Hamah Province, Syria in order to study the genetic distance among these types, by using 27 primers of ISSR technique.

ISSR technique was able to discriminate among the wild types included in the study, the used primers have given 1065 bands 689 of which were polymorphisms and the general average has reached 25.5 polymorphism/ primer, whereas the total band lines were 281 and 211 of them were polymorphisms with an average of 7.8 polymorphism lines / primer.

The results have revealed high genetic variation among studied types. The values of dissimilarity ranged between 17 and 43%. The lowest value of dissimilarity has been found between WH10 and WH11; whereas the highest one was between WH16 and WS30.

The studied types were clustered according to geographic diffusion in the fields; whereas these clustering groups of types have not coincided with the height of their region above sea level, and the ISSR marker technique was useful in identifying most of these types by a unique DNA band.

Keywords: Cultivated wild olives, Genetic relation, ISSR.

[1] First Researcher Assistant.
[2] Prof., Department of Horticulture Science, Faculty of Agriculture, Damascus University, Damascus, Syria.
[3] Researcher, General Commission for Scientific Agriculture Research, Douma, Damascus, Syria.
Received on 29/4/2009 and Accepted for Publication on 12/8/2010.