



دراسة درجة القرابة الوراثية لبعض أصناف الزيتون المزروعة في مجمع أكساد الوراثي بجلين

[٦]

نوران مصطفى^١ - فيصل حامد^٢ - سلام لاوند^٣

- ١- قسم علوم البستنة - كلية الزراعة - جامعة دمشق - سوريا
- ٢- قسم علوم البستنة - كلية الزراعة - جامعة دمشق - سوريا
- ٣- قسم المحاصيل - كلية الزراعة - جامعة دمشق - سوريا

المقدمة

تعد شجرة الزيتون (*Olea europaea* L.) من أقدم أشجار الفاكهة المثمرة التي عرفها الإنسان واستزرعها منذ زمن بعيد، وتعد سوريا الموطن الأصلي لشجرة الزيتون، حيث لوحظ انتشار الزيتون البري في مناطق عديدة من سوريا (حارم والغاب وسفوح جبل الشيخ)، وأشار (Breton et al 2006) إلى وجود عدد من طرز الزيتون البري التابعة للصنف *Olea europaea* ssp. *europaea* var *sylvestris* أو ما يعرف باسم *Oleaster* في سوريا وتركيا وفلسطين وتونس وليبيا وسبيليا وجزيرة كورسيكا.

وتحتل شجرة الزيتون المركز الأول بين الأشجار المثمرة في سوريا وذلك بمساحة بلغت ٦١٧٠٦٠ هكتارا، بإنتاجية قدرها ٨٢٧٩٣٣ طن ويبلغ عدد الأشجار المزروعة في سوريا ٩٠٤٢٩٠٠ شجرة منها ٦٦٣٩٣٧٠٠ شجرة مثمرة. (إحصائيات وزارة الزراعة والإصلاح الزراعي للعام ٢٠٠٨).

يقدر عدد أصناف الزيتون المزروعة في أنحاء العالم بـ ١٢٠٠ مع أكثر من ٣٠٠٠ مرادف لأسماء الأصناف (Rugini and Lavee, 1992). وفي سوريا سجل ما يزيد عن ٥٠ صنفا محليا وأكثر من ٤٠ صنفا مدخلا (زغلولة، ٢٠٠٠).

الكلمات المفتاحية: زيتون، شجرة القرابة الوراثية، التكرارات البسيطة الترادفية الداخلية (ISSR)

الموجز

تعد شجرة الزيتون (*Olea europaea* L.) إحدى أهم أشجار الفاكهة محليا وعالميا. ولهذه الشجرة عدد كبير من الأصناف مترافقة مع أخطاء في التسمية وكثرة المتجانسات والمترادفات، الأمر الذي يسبب مشاكل حقيقية في إكثارها والحصول على مادة وراثية لعمليات التحسين الوراثي. تمت في هذا البحث دراسة درجة القرابة الوراثية لإثني عشرة صنف زيتون (ماوي إستنبولي، خلخالي خشن، دان، منيقري، أدكم، دعبيلي، جلط، خلخالي صغير، قرماني مدعبيل، ماوي أبو شوكة، صوراني، أبو شوكة)، مزروعة في المجمع الوراثي للمركز العربي لدراسات الأراضي الجافة و المناطق القاحلة (أكساد) في جلين، باستخدام تقنية ISSR بهدف تحديد درجة القرابة بين هذه الأصناف حيث لوحظ وجود درجة قرابة عالية نسبيا بين هذه الأصناف و بدرجة تتراوح بين ٦٠% و ٨٥%، ولوحظ تباعد الصنف منيقري بصفاته عن باقي الأصناف، كما كانت نسبة التعددية الشكلية ٩٢,٩٤%.

(سلم البحث في ٨ أكتوبر ٢٠١٠)

(ووفق على البحث في ١ نوفمبر ٢٠١٠)

المشاكل وعدم اهتمام المزارعين في بعض المناطق بالصفة الذي يزرعونه نظراً لخص أسعار شتلات الزيتون مقارنة بشتلات الأشجار المثمرة الأخرى. كل هذه الأمور تجعل من المهم بل من الضروري إجراء توصيف جزئي لأصناف الزيتون المختلفة بحيث يصبح لكل صنف بصمة وراثية خاصة به تميزه عن غيره .

تعتبر التكرارات البسيطة الترادفية الداخلية (Inter simple sequence repeats) (ISSR) من المعلمات الجزيئية البسيطة والسريعة ذات المصدقية العالية، ويمكن تصميم بادئاتها بسهولة وبدون معلومات مسبقة عن التسلسل الجيني لقطعة الحمض الريبي النووي منقوص الأكسجين DNA المستهدف، كما أنها تعطي حزمًا ذات تعددية شكلية عالية، وتستخدم بشكل واسع في مجالات تحديد الأصناف، ورسم الخرائط الوراثية، والتنوع الوراثي ووضع بادئات التكرارات البسيطة الترادفية (Simple ISSR (sequence repeats) (Qian et al 2007).

وقد أجريت أبحاث عديدة على تطبيق ISSR على الزيتون، نذكر منها مما أجري على تحديد الأصناف، فقد قام (Gomes et al 2009)، بدراسة التنوع الوراثي لـ ٤١ صنفاً من الزيتون البرتغالي باستخدام تقنية ISSR، وأعطت ١١ بادئة ١٣٥ حزمة، كان منها ١٠٨ ذو تعددية شكلية بنسبة ٧٩%، وبينت هذه الدراسة الأهمية الكبيرة لاستخدام بادئات ISSR لدراسة الاختلاف بين الأصناف.

وقد تم التركيز في هذا البحث على عدد من الأصناف المحلية ذات الأهمية الاقتصادية الجيدة لجودة ثمارها أو لتحملها للظروف البيئية المختلفة بغرض تسليط الضوء عليها للعمل على زيادة نشر زراعتها وتوثيقها كمادة وراثية ذات أهمية عالية لتكون لبنة يعتمد عليها في برامج التحسين الوراثي للزيتون.

مواد وطرائق البحث

المادة النباتية واستخلاص DNA

تم الحصول على عينات من أوراق أشجار الزيتون من مجمع جلين الوراثي (محافظة درعا) التابع للمركز العربي لدراسات المناطق الجافة

ويسبب هذا العدد الكبير من الأصناف مشكلة كبيرة نتيجة الخلط الواضح والملموس في أسماء العديد منها. حيث أن البعض منها متشابه جداً من الناحية المورفولوجية (Cipriani et al 2002). وأكثر من ذلك فإن التنوع الوراثي ضمن الصنف الواحد أدى لظهور طرز عديدة ضمن نفس المجمعات المزروعة (Gregoriou, 1996) الأمر الذي أدى لتباين في الإنتاج وصفات الجودة (Besnard et al 2001).

ويظهر الزيتون تغيراً مستمراً ومرونة عالية في معظم صفاته الشكلية والفسولوجية والبيوكيميائية كونه محصول خلطي التلقيح. الأمر الذي يزيد إمكانية حصولاً أخطاء في التوصيف والتسمية (Hernandez et al 2001).

كما أن الأصناف المحلية خلطية التلقيح والموزعة عشوائياً مع التسمية الخاطئة لها والنقل المستمر للمادة النباتية بين مختلف المناطق والدول الزراعة التي تزرع الزيتون بدون تحديد واضح للأصناف مما يزيد من تعقيد تحديدها، معطياً نموذجاً مضطرباً لتوزعها الجغرافي (Sarri et al 2006).

ولهذا السبب يعد توصيف المصادر الوراثية للزيتون وتطويرها ضرورياً، على الرغم من أن تحديد هوية أصناف الزيتون معقد نظراً للأعداد الكبيرة من المتجانسات والمترادفات والتبدل الكبير للمادة النباتية، وتواجد الكلونات المختلفة ومشاكل سوء تسمية الأصناف في المشاتل (Bandelj et al 2002).

إن غنى المجمع الوراثي السوري للأصناف المزروعة من الزيتون، والإرباك في الأسماء المنسوبة لها وفق المناطق المختلفة، إضافة إلى وجود اختلافات فيما بينها وعدم التوازن بين مجموعاتها ضمن البلاد المختلفة لزراعة الزيتون لاستخدامها كمصدر للمادة النباتية الموثوقة والمجربة، مما يفسر المشكلات الكبيرة التي تواجه عملية توصيف هذه الأصناف. (Trujillo et al 2006).

يضاف إلى هذا الخلط الذي يحصل للأصناف عند قيام مزارعي الزيتون بإجراء عمليات الإكثار العشوائية للزيتون بغية تجديد الشجرة أو تغيير الصنف المزروع، مما يعيق معرفة الأصناف بشكل دقيق، إضافة إلى عدم توثيق الشتلات المباعة من قبل

الحزم الكلية الناتجة عن البادئات الـ ١٣ المستخدمة ٩٦ حزمة، بمعدل ٧,٣٨. وكان عدد الحزم التي أعطت تعددية شكلية ٨٨ حزمة، وبلغت النسبة المئوية للتعددية الشكلية ٩٣%، وأعطت ٨ بادئات تعددية شكلية بنسبة ١٠٠%. أعطى البادئ ٤١ أعلى عدد للحزم المدروسة (١٦ حزمة)، وأعطى البادئ ٣٤ أقل عدد من الحزم (حزمتين فقط).

تراوحت قيم النسبة المئوية لعدم التوافق (PDV) لمعلومات ISSR بين أصناف الزيتون الإثنى عشر المدروسة بين ٠,٥٩ (منقري وخلقالي خشن)، و٠,١٥ (صوراني و أبو شوكة) بمتوسط عام قدره ٠,٣٠.

وكانت أعلى درجة قرابة وراثية بين الصنفين صوراني مع أبو شوكة (PDV=0.15)، يليها بين الصنفين قرماني مدعبل مع ماوي أبو شوكة، وقرماني مدعبل مع أبو شوكة (PDV=0.16)، يليها بين الصنفين ماوي أبو شوكة مع أبو شوكة (PDV=0.18).

وبشكل عام أظهرت نتائج الدراسة وجود درجة تشابه وراثي عالية بين الأصناف المدروسة وكانت ٧٠% (PDV=0.30).

وبين الشكل (٢) شجرة القرابة العنقودية للصفات الجزئية للأصناف المدروسة والتي انقسمت إلى مجموعتين رئيسيتين، ضمت الأولى Cluster-1 للصنف منقري فقط وهو الأكثر بعدا عن بقية الأصناف (٠,٢١).

أما المجموعة الثانية Cluster-2 فقد ضمت بقية الأصناف المدروسة. حيث انقسمت إلى تحت مجموعتين، ضمت تحت المجموعة الأولى الصنفين ماوي استنبولي و جسط (٠,١٥)، وضمت تحت المجموعة الثانية بقية الأصناف المدروسة، وقسمت هذه المجموعة إلى فرعين، ضم الأول الصنفين دان وأدكم (٠,١٢)، وضم الثاني الأصناف الباقية.

المقترحات

يعد الزيتون من أكثر المحاصيل الزيتية انتشارا وأهمية في منطقة حوض المتوسط، و يؤثر الخلط في الأصناف سلبا على نوعية الزيت، وعلى هذا نوصي باستخدام الطرق الوراثية في التمييز بين أصناف

والأراضي القاحلة (أكساد) من اثنا عشر صنفا من الزيتون السوري المزروع في المجمع وهي (ماوي استنبولي، خلخالي خشن، دان، منقري، أدكم، دعبلي، جلط، خلخالي صغير، قرماني مدعبل، ماوي أبو شوكة، صوراني، أبو شوكة)، وكانت هذه الأوراق خالية من الإصابات المرضية والحشرية. وقد تم استخلاص DNA من أوراق الأصناف المدروسة وفق (Pospiech & Neumann, 1995) مع إجراء بعض التعديلات عليها.

تضخيم DNA

أجري تضخيم DNA الناتج من عملية الاستخلاص للأصناف الإثنى عشرة المدروسة باستخدام ١٣ بادئة ISSR، حيث كان الحجم النهائي في الأنبوب الواحد ٢٥ ميكروليتر، متضمنة: ١٢,٥ ميكروليتر Master Mix ماء مقطر معقم ٦,٥ ميكروليتر، البادئ المستخدم ٢ ميكروليتر، و ٤ ميكروليتر DNA. وبيّن الجدول (١) رموز البادئات المستخدمة، وتسلسلها النكليوتيدي، ودرجات حرارة التزاوج لكل منها، بعد ذلك تم فصل نواتج التضخيم على جيل الأجاروز ٢% ضمن محلول الفصل الكهربائي TBE1X مع إضافة معلم متدرج (1 Kb ladder) للكشف عن مواقع وأحجام الحزم باستخدام التصوير بالأشعة فوق البنفسجية UV كما في الشكل (١).

التحليل الإحصائي

تم تحديد درجة القرابة الوراثية بين الأصناف المدروسة اعتمادا على بياناتها الجزئية، وقد حلت باستخدام برنامج PopGen 32 الإحصائي وذلك بعد تحويل البيانات إلى صيغ رقمية بوجود الحزمة أو عدم وجودها (١ أو ٠). ورسمت شجرة القرابة الوراثية اعتمادا على هذا البرنامج شكل (٢)، كما بيّن الجدول (٢) مصفوفة نسب عدم التوافق PDV بتطبيق UPGMA.

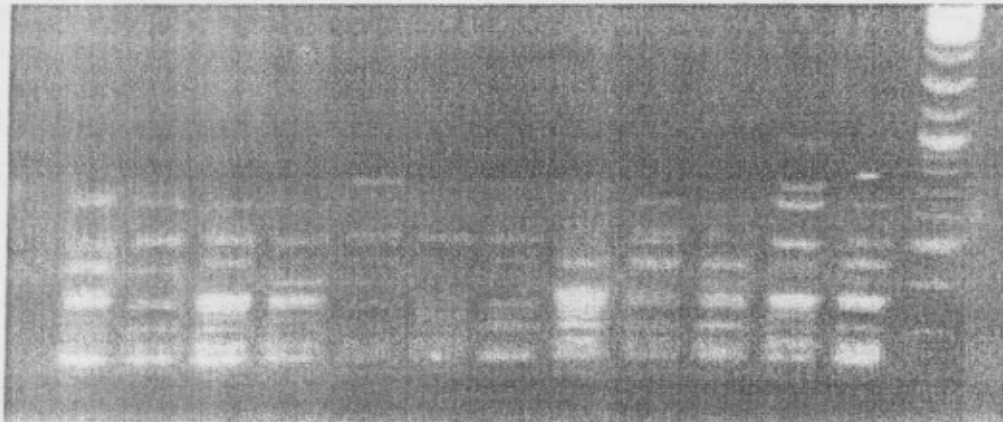
النتائج والمناقشة

بيّن الجدول (٣) البيانات التي تم الحصول عليها من استخدام البادئات الـ ١٣، من حيث عدد الحزم الكلية وعدد الحزم ذات التعددية الشكلية. وكان عدد

جدول ١. الرموز والتسلسل النكليوتيدي ودرجة الحرارة للبادئات المستخدمة

رقم البادئ	التسلسل النكليوتيدي	درجة حرارة التزاوج °م
1	(AG) ₈ T	50
3	(CA) ₈ A	50
4	(CA) ₈ G	52
5	(AC) ₈ T	50
6	(GA) ₈ CG	56
9	(AC) ₈ GG	56
14	CCAG(GT) ₇	56
15	(GT) ₄ (GA) ₅	54
16	(AC) ₇ (AT) ₃	54
34	(CT) ₈ G	50
37	(TG) ₈ G	50
40	(AC) ₈ TT	50
41	(AC) ₈ CG	50

١ ٢ ٣ ٤ ٥ ٦ ٧ ٨ ٩ ١٠ ١١ ١٢ M



الشكل ١. نواتج التضخيم على جيل الأجاروز ٢% ضمن محلول الفصل الكهربائي

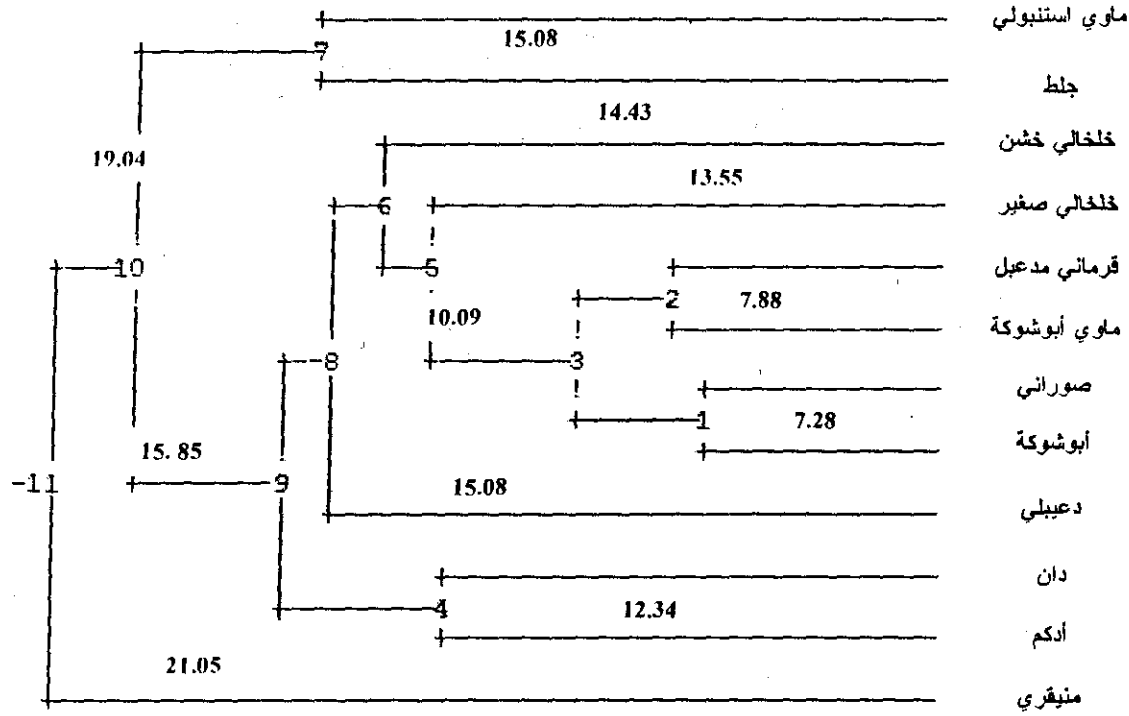
M: معلم، ١: الصنف ماوي استبولي، ٢: الصنف خلخالي خشن، ٣: الصنف دان، ٤: الصنف منيقري، ٥: الصنف ادم، ٦: الصنف دعبلي، ٧: الصنف جلط، ٨: الصنف خلخالي صغير، ٩: الصنف قرماني مدعبلي، ١٠: الصنف ماوي أبوشوكة، ١١: الصنف صوراني، ١٢: الصنف أبوشوكة

جدول ٢. مصفوفة المتوسط العام لنسب عدم التوافق الناتجة عن دراسة متوسط التشابه الوراثي للصفات الكمية للأصناف المدروسة

	ماوي إستنبولي	خلخالي خشن	دان	منقري	أدكم	دعيلي	جلط	خلخالي صغير	قرماني مدعيل	ماوي أبو شوكة	صوراني	أبو شوكة
ماوي إستنبولي	0.00											
خلخالي خشن	0.42	0.00										
دان	0.37	0.42	0.00									
منقري	0.50	0.59	0.34	0.00								
أدكم	0.36	0.44	0.25	0.39	0.00							
دعيلي	0.42	0.41	0.33	0.45	0.32	0.00						
جلط	0.30	0.37	0.39	0.33	0.41	0.47	0.00					
خلخالي صغير	0.47	0.30	0.26	0.44	0.42	0.36	0.45	0.00				
قرماني مدعيل	0.30	0.26	0.27	0.42	0.29	0.21	0.32	0.22	0.00			
ماوي أبو شوكة	0.27	0.29	0.22	0.36	0.26	0.26	0.26	0.30	0.16	0.00		
صوراني	0.44	0.36	0.29	0.41	0.36	0.33	0.39	0.29	0.22	0.25	0.00	
أبو شوكة	0.36	0.23	0.27	0.39	0.29	0.29	0.37	0.27	0.16	0.18	0.15	0.00
المتوسط	0.38	0.37	0.29	0.40	0.34	0.32	0.36	0.27	0.18	0.22	0.15	0.00

جدول ٣. الحزم الناتجة عن البيانات المستخدمة والتعددية الشكلية

النسبة المئوية للمنوي للحزم غير المتعددة	عدد الحزم غير المتعددة	النسبة المئوية للحزم المتعددة شكليا	عدد الحزم المتعدد شكليا	عدد الحزم الكلي	اسم البادئ
0	0	100	7	7	1
20	1	80	4	5	3
0	0	100	7	7	4
0	0	100	8	8	5
0	0	100	4	4	6
0	0	100	9	9	9
0	0	100	8	8	14
11	1	89	8	9	15
17	1	83	5	6	16
0	0	100	2	2	34
12.5	1	87.5	7	8	37
0	0	100	7	7	40
31.25	4	68.75	12	16	41
91.75	8		88	96	المجموع
7.06	0.62	92.94	6.77	7.38	المعدل



الشكل ٢. شجرة القرابة بين الأصناف المدروسة حسب البيانات الجزئية

ثانياً: المراجع الأجنبية

- Bandelj, D.; J. Jakse and B. Javornik, (2002). DNA fingerprinting of olive varieties by microsatellite markers. *Food Technol. Biotechnol.* 40(3): 185-190.
- Besnard, G.; C. Breton; P. Baradat; B. Khadari and A. Bervillé, (2001). Cultivar identification in olive based on RAPD markers. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, 126: 668-675.
- Breton, C.; M. Tersac and A. Bervillé, (2006). Genetic diversity and gene flow between the wild olive (*Olea europaea* L.) and the olive: several Plio-Pleistocene refuge zones in the Mediterranean basin suggested by simple sequence repeats analysis. *Journal of Biogeography* 33: 1916-1928.
- Cipriani, G.; M.T. Marrazzo; R. Marconi; A. Cimato and R. Testolin, (2002). Microsatellite markers isolated in olive (*Olea europaea* L.) are suitable for individual fingerprinting and reveal polymorphism within ancient cultivars. *Theor. Appl. Genet.*, 104: 223-228.

الزيتون المختلفة، وتوسيع العمل ليشمل بقية الأصناف المحلية والمدخلة في مجتمعات المركز العربي الوراثية ليكون لكل صنف بصمة شتتية ووراثية خاصة به تميزه عن غيره، وذلك للحصول على مادة وراثية تستخدم في برامج التحسين الوراثي.

المراجع

أولاً: المراجع العربية

- المجموعة الإحصائية الزراعية السورية (٢٠٠٨). قسم الإحصاء، مديرية الإحصاء والتخطيط، وزارة الزراعة والإصلاح الزراعي، دمشق.
- زغلولة محمد عادل. أطلس أهم أصناف الزيتون المحلية و المدخلة المنتشرة في سوريا (٢٠٠٠). قسم بحوث البستنة الشجرية، مديرية البحوث العلمية الزراعية، وزارة الزراعة والإصلاح الزراعي، دمشق.

- Gomes, S.; P. Martins-Lopes; J. Lopes and H. Guedes-Pinto (2009). Assessing Genetic diversity in *Olea europaea* L. using ISSR and SSR markers. **Plant Molecular Biology Reporter**. V. 27(3): 365-373.
- Gregoriou, C. (1996). Assessment of variation of landraces of olive tree in cyprus. **Euphytica**, 87: 173-176.
- Hernández, P.; R. de la Rosa; L. Rallo; G. Dorado and A. Martín, (2001). Development of SCAR markers in olive (*Olea europaea*) by direct sequencing of RAPD products: Applications in olive germplasm evaluation and mapping. **TAG 103**: 788-791.
- Pospiech, A. and B. Neumann, (1995). A versatile quick-prep of genomic-DNA from Gram-positive bacteria. **Trends in Genetics**. V(11):217-218.
- Qian Z.; D. Hong and Z. Dong Hang, (2007). ISSR Molecular Marker and its application in plant researches. **Molecular Plant Breeding V(6)**: 123-129.
- Rugini, E. and S. Lavee, (1992). Olive. In: F.A. Hammerschlag and R.E. Litz (eds.). **Biotechnology of Perennial Fruit Crops**, PP. 371-382.
- Sarri, V.; L. Baldoni; A. Porceddu; N.G.M. Cultrera; A. Contento; M. Frediani; A. Belaj; I. Trujillo and P.G. Cionini, (2006). Microsatellite markers are powerful tools for discriminating olive cultivars and assigning them to geographically defined populations. **Genome**, 49: 1606-1615.
- Trujillo, I.; M.A. Ojed; L. Baldoni and A. Belaj, (2006). Olive cultivar Identification By Means of Microsatellites (ISSR). **Jour-FAO Olive Network**, 25: 24-27.



STUDY OF GENETIC RELATIONSHIP BETWEEN SOME OLIVE VARIETIES IN GELLIN GENE BANK

[6]

Nouran Moustafa¹; Faisal Hamed² and Slam Lawand³

1- Department of Horticulture Science, Faculty of Agriculture, University of Damascus, Syria,
P.O. Box 30621

2- Department of Horticulture Science, Faculty of Agriculture, University of Damascus, Syria,
P.O. Box 30621

3- Department of Agronomy, Faculty of Agriculture, University of Damascus, Syria, P.O. Box
30621

Keywords: Olive, Dendrogram, Inter Simple Sequence Repeat (ISSR)

ABSTRACT

Olive tree (*Olea europaea* L.) is one of the most important fruit trees, there is a lot of varieties with the possibility of mislabeling, homogenous and synonyms, which makes major troubles when having plant material for propagation and breeding programs. In this search, 12 olive varieties (Mawi Istanbuli, Khilkhali Khishen, Dan, Mniekri, Adkam, Doabli, Jlot, Khilkhali Saghir, Karamani Modabal,

Mawi abo Shokeh, Sourani, and Abo Shokeh), cultivated in ACSAD Gene bank in Gellin, were characterized by ISSR molecular markers to determine the relationship between these varieties. Depending on quantitative traits the results indicated that these varieties are so close to each other's, ranged from 60% and 85%. It was noticed that Mniekri was apart from the other varieties in its traits, (polymorphic rate was 92.94%).

(Received October 8, 2010)
(Accepted November 1, 2010)

تحكيم: أ.د. سمير عبد العزيز إبراهيم